

· 论 著 ·

Vitros 350 干化学分析仪检测胆红素的临床性能评估

余琳, 李飞奉, 高月亭, 林勇平, 范婷婷, 刘忠民[△]
(广州医科大学附属第一医院检验科, 广东广州 510120)

摘要:目的 评价强生 Vitro350 干化学检测系统测定胆红素的临床性能, 保证检验质量。方法 应用美国临床和实验室标准化协会(CLSI)颁布的 EP15-A2 文件评价干化学法检测总胆红素(TBIL)、非结合胆红素(Bu)、结合胆红素(Bc), 并分析其精密度、准确度和可报告范围等性能; 同时对 TBIL 和 Bu、Bc 的参考区间进行诊断性能验证。结果 干化学法检测 TBIL 和 Bu、Bc 的精密度与准确度均在于原卫生部临检中心规定的允许误差内; TBIL 可报告范围为 6.57~428.83 $\mu\text{mol/L}$, Bu 4.5~320.1 $\mu\text{mol/L}$, Bc 4.5~364.9 $\mu\text{mol/L}$ 。结论 胆红素干化学检测系统的技术性能和诊断性能能够满足临床的需要。

关键词:胆红素; 干化学检测系统; 性能评估

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.19.016

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)19-2812-03

Clinical performance evaluation on dry chemistry method of Vitros 350 for the determination of serum bilirubin

Yu Lin, Li Feifeng, Gao Yueting, Lin Yongping, Fan Tingting, Liu Zhongmin[△]

(Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510120, China)

Abstract: Objective To evaluate clinical performance on dry chemistry method of Vitros 350 for the determination of serum bilirubin in order to ensure the quality of examination. **Methods** Evaluation protocols were employed to evaluate the precision, the trueness and the linearity of total bilirubin(TBIL), unconjugated bilirubin (Bu) and conjugated bilirubin (Bc) by dry chemistry method, to verify the reference ranges of TBIL, Bu and Bc simultaneously. **Results** The precision and trueness of TBIL, Bu and Bc were within the allowable ranges of Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). The linear range of TBIL, Bu and Bc in our laboratory were 6.57~428.83 $\mu\text{mol/L}$, 4.5~320.1 $\mu\text{mol/L}$ and 4.5~364.9 $\mu\text{mol/L}$ respectively. **Conclusion** Both technical performance evaluation and diagnostic performance verification of bilirubin by dry chemical detection system could meet the needs of the clinic.

Key words: bilirubin; dry chemical detection system; performance evaluation

检测系统性能评估是临床实验室的重要任务之一,也是获得高质量检验结果的前提。本院检验科于 2013 年 10 月引进强生 Vitro350 干化学分析仪,新开检测项目总胆红素(TBIL)、非结合胆红素(Bu)、结合胆红素(Bc)、 δ 胆红素(计算值),即胆红素 4 项检测。为能更好地帮助临床医生对患者作出准确的诊断和治疗,本研究对该仪器进行技术性能和诊断性能的综合评估,现将结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 2014 年 7~8 月收集本院临床患者血液标本 109 份。

1.2 仪器与试剂 验证系统为强生 Vitros 350 干化学分析仪(采用原装配套干片试剂和标准品,试剂批号 1402-0315-5679,质控品高值水平批号 F2271,低值水平批号 E2067);参照系统为 Beckman AU5800 全自动生化分析仪(使用贝克曼配套试剂,百乐质控品批号 27601、27602)和本地区三甲医院正在使用的强生 Vitros 350 干化学分析仪(质控品作为精密度评价标本,包含批内精密度和日间精密度,高值水平批号 F2271,低值水平批号 E2067)。

1.3 方 法

1.3.1 TBIL、Bu、Bc 的精密度评价 批内精密度:参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)颁布的 EP15-A2 文件^[1]进行操作。在仪器检测质量在控的条件下,将高、低值质控品复融后连续测定 20 次,在 30 min 内完成检测,计算变异系数(CV)

值。日间精密度:参照 CLSI 颁布的 EP15-A2 文件方案进行操作。在仪器检测质量在控的条件下,将高、低值质控品复融后连续测定 5 d,每日重复测定 3 次,分别按照低-高、高-低、低-高顺序进行测定,计算 CV 值。

1.3.2 TBIL、Bu、Bc 的准确度验证 按照 EP15-A2 文件进行准确度验证,计算参考系统与验证系统结果之间的偏倚,评估验证结果是否在允许误差以内。TBIL 的参考系统为 Beckman AU5800 全自动生化分析仪;Bu、Bc 的参考系统为本地区正在使用的强生 Vitro350 生化分析仪,以上 2 个参考系统均通过原卫生部室间质评。

1.3.3 TBIL、Bu、Bc 可报告范围评价 参照 CLSI 颁布的 EP6-A 文件^[2]进行可报告范围评价。选取临床患者 TBIL、Bu、Bc 高值(H)和低值(L)血清标本各 1 份,按 5L、4L+1H、3L+2H、2L+3H、1L+4H 和 5H 的比例配得 6 份线性试验标本,分别标记为 1、2、3、4、5 和 6。按 1~6、6~1 的顺序,对每份标本测量 2 次,计算平均值,以已知分析物浓度为 x 轴,测定均值为 y 轴,用直线回归统计方法对数据进行处理,得直线回归方程 $Y=a+bX$ 。若相关系数(r) ≥ 0.975 , a 接近于 0, b 值在 0.97~1.03 范围内,则测定的分析范围可作为本实验室的真实可报告范围。

1.3.4 胆红素参考区间验证 选取 20 例健康体检者的血清标本,用 Vitros 350 干化学分析仪测定标本的 TBIL、Bu、Bc 值,记录数据。最多不超过 2 例患者的检测值在验证的参考限

之外,表明该参考区间的实验室报告的 95%参考区间可接受。

1.4 判断标准 计算得到的数据按照原卫生部临床检验中心的判断标准应小于 1/2 总允许误差 (TEa) (胆红素的 TEa = 20%)。

1.5 统计学处理 采用 Excel2007 及 SPSS20.0 软件进行数据处理及统计学分析。

2 结果

2.1 精密度的

2.1.1 TBIL 的批内和日间精密度 低值质控和高值质控的批内精密度 CV 分别为 1.69% 和 0.84%, 小于 1/4TEa; 日间精密度 CV 分别为 2.39% 和 0.94%, 小于 1/4TEa, 均符合原

卫生部临床检验中心推荐标准。见表 1。

2.1.2 Bu、Bc 的日间精密度 Bu、Bc 检测的低值质控和高值质控日间精密度 CV 分别为 4.40% 和 1.30%, 均小于 1/4TEa, 符合原卫生部临床检验中心推荐标准。

2.2 准确度

2.2.1 TBIL 检测的准确度 将强生 Vitro350 干化学分析仪 TBIL 数据与贝克曼 AU5800 化学分析仪数据 (浓度覆盖医学决定水平和符合文件要求的各浓度范围及比例) 进行回归分析, 得到回归方程 $Y = 0.998X + 0.6534$, $r = 0.998$; 计算医学决定水平 17.1 $\mu\text{mol/L}$ 和 34.2 $\mu\text{mol/L}$ 的偏倚, 分别为 3.62% 和 1.71%, 均小于允许偏倚 10.00%。见表 2。

表 1 检测 TBIL 精密度结果

样品	批内精密度			日间精密度		
	均值(\bar{x} , $\mu\text{mol/L}$)	标准差(s , $\mu\text{mol/L}$)	CV (%)	均值(\bar{x} , $\mu\text{mol/L}$)	标准差(s , $\mu\text{mol/L}$)	CV (%)
低值质控	24.240	0.409	1.69	24.430	0.58	2.39
高值指控	234.600	1.980	0.84	233.760	2.21	0.94

表 2 TBIL 医学决定水平附近偏倚结果及对比

医学决定水平 ($\mu\text{mol/L}$)	计算结果 ($\mu\text{mol/L}$)	偏倚 ($\mu\text{mol/L}$)	偏倚 (%)	允许偏倚 (%)
17.1	17.72	0.62	3.62	10.00
34.2	34.79	0.59	1.71	10.00

2.2.2 Bu、Bc 检测的准确度 将本院 Bu、Bc 数据与本地区某三甲医院数据 (浓度覆盖医学决定水平和符合文件要求的各浓度范围及比例) 进行回归分析, 得到 Bu 回归方程: $Y = 1.0283X + 0.3679$, $r = 0.9981$, Bc 回归方程: $Y = 0.9933X - 0.2600$, $r = 0.9994$, Bu 计算医学决定水平 19 $\mu\text{mol/L}$ 和 462 $\mu\text{mol/L}$ 的偏倚为 4.73% 和 2.88%, Bc 计算医学决定水平 5 $\mu\text{mol/L}$ 和 462 $\mu\text{mol/L}$ 的偏倚为 5.87% 和 0.73%, 均小于允许偏倚 10%, 本实验室强生 Vitro350 干化学分析仪测试 Bu、Bc 的实验结果与参考系统 Bu、Bc 的实验结果具有可比性。

2.3 可报告范围评价结果

2.3.1 TBIL 可报告范围 对 6 个样品 TBIL 检测结果和对应的理论值作散点图, 得直线回归方程: $Y = 0.9999X + 0.5036$, $r = 0.9999$, b 值在 0.97~1.03, a 接近 0。故本实验室强生 Vitros 350 干化学分析仪 TBIL 的可报告范围为 6.57~428.83 $\mu\text{mol/L}$ 。

2.3.2 Bu、Bc 可报告范围 对 6 个样品 Bu、Bc 检测结果和对应的理论值作散点图, 得直线回归方程 Bu: $Y = 0.9858X + 0.2495$, $r = 0.9992$, Bc: $Y = 0.986X - 6.8656$, $r = 0.9957$, b 值均在 0.97~1.03 之间, a 接近 0。故本实验室强生 Vitros 350 干化学分析仪 Bu 的可报告范围为 4.5~320.1 $\mu\text{mol/L}$, Bc 的可报告范围为 4.5~364.9 $\mu\text{mol/L}$ 。

2.4 胆红素参考区间验证 随机选取 20 份健康体检者的血清标本, 在强生 Vitro350 干化学分析仪上检测 TBIL、Bu 及 Bc, Bc 得到的数据中只有 1 例标本不在厂家声明的参考区间内, TBIL 和 Bc 的数据都在厂家声明的参考区间内, 故此 3 个新项目均可沿用说明书的参考区间。

3 讨论

胆红素是体内铁卟啉化合物的主要代谢产物, 有毒性, 可

对大脑和神经系统引起不可逆的损伤, 而且血清胆红素测定是对肝胆系统疾病进行诊断和鉴别诊断的重要指标, 其升高程度对病程观察有重要意义^[3], 所以临床上迫切要求检验科尽快给出胆红素的结果以协助临床判断。干化学法检测胆红素具有快速的优点, 适合临床急诊检验的要求。而且从反应的过程来看, 抗干扰 (如溶血、黄疸和脂血) 能力比传统的湿化学要强^[4]。近年来, 越来越多的文献报道 δ 胆红素已成为梗阻性黄疸患者预后效果的最佳指标^[5-6], 对临床有很好的指导意义。干化学法通过 TBIL、Bu、Bc 的直接检测, 可以同时计算出 δ 胆红素的值 (δ 胆红素 = TBIL - Bu - Bc), 而湿化学法却无法计算出此值, 这也是临床医生强烈要求检验科能提供结果的项目。

因此, 本院检验科根据临床需求开展新项目胆红素 4 项 (TBIL、Bu、Bc、 δ 胆红素) 干化学法的检测, 根据国际标准化组织 (ISO) 15189 对临床实验室质量的要求, 实验室应对其所使用的新检测系统进行临床性能评估, 但以往的性能评价很大部分只停留在技术性能评价阶段, 认为已能满足临床需要, 其实, 一个新检测系统的诊断性能评价也非常重要, 不容忽视, 当然也有部分研究只做了诊断性能方面的验证而忽略了技术性能方面的评价, 这也是不完整的, 他们两者是一个有机的整体。故本文除了对精密度的、准确度、可报告范围等技术性能进行评价以外, 也同时进行了重要的诊断性能 (如参考区间) 等方面的验证。

EP 文件是目前最为规范的检验方法或检测系统分析性能评价工具, 其中 EP15-A2 是针对临床实验室而设计, 主要用于验证确认检验方法或检测系统的精密度和准确度^[7]。根据此文件提供的方法进行精密度和准确度评价, 结果提示 $CV < 5\%$, 偏倚均在允许范围 (10%) 内, 结果能满足原卫生部临床检验中心推荐的技术性能要求, 值得注意的是用于检测的患者标本浓度需要覆盖医学决定水平, 同时要符合文件要求的各浓度范围及比例, 否则, 结果就会大打折扣。

技术性能评价除了精密度和准确度外, 主要还包括可报告范围的确定。可报告范围的确定有助于发现方法学原理、仪器、校准品、试剂、操作程序、质量控制计划等很多方面的误差来源, 所以每一实验室在使用新的检测系统时, 很有必要建立实验室该项目自己的可报告范围, 这在开展 (下转第 2816 页)

72.90%；SLE 组和对照组符合率达到 84.85%，非 SLE 自身免疫疾病符合率较低，但也达到 71.19%，符合率最低的是非自身免疫疾病组，仅 58.14%。综上所述，ELISA 检测具有较好的灵敏度和特异度。

本研究使用的 ELISA 试剂盒，仅包含 10 种特异性的自身抗体，不能代表所有 Hep-2 细胞能检测的抗体，所以会漏掉某些自身抗体，ANA 阳性率会降低，若增加抗原种类将会使 ANA 检测漏诊率更低，更适合临床筛查自身免疫疾病的要求。对于 ANA 的检测，经典的 IIF 法由于具有良好的灵敏度，仍是筛查 ANA 的金标准方法，但是 ELISA 法操作简单，利于标准化，其检测特异度好，随着临床的应用，检测的灵敏度和特异度提高，在疾病的诊断中的价值会逐渐被认可。本研究的方法如果增加免疫条带法，进行多种特异性自身抗体的检测如抗 ENA 抗体的免疫印迹，可为疾病诊断提供更多的线索。原因是抗 ENA 抗体试剂现已同时检测 14 种抗体 (RNP 68、RNP A、RNP C、SmB、SmD、SsA 60、SSA 52、ssB、Po、PCNA、CENP-B、Scl-70、Jo-1 和组蛋白)。

综上所述，ELISA 检测可提高对 ANA 检测的灵敏度和特异度。

参考文献

- [1] Nossent H, Rekvig OP. Antinuclear antibody screening in this new millennium: farewell to the microscope? [J]. Scand J Rheumatol, 2001, 30(3):123-128.
- [2] Jaskowski TD, Schroder C, Martins TB, et al. Screening for antinuclear antibodies by enzyme immunoassay[J]. Am J Clin Pathol, 1996, 105(22):468-473.
- [3] Bernardini S, Infantino M, Bellincampi L, et al. Screening of antinuclear antibodies: comparison between enzyme immunoassay based on nuclear homogenates, purified or recombinant antigens and immunofluorescence assay[J]. Clin Chem Lab Med, 2004, 42(10):1155-1160.
- [4] 彭玲, 王开正. 自身抗体临床应用及实验诊断研究进展[J]. 国际

检验医学杂志, 2015, 36(10):1425-1428.

- [5] 王广杰, 刘辉. 自身抗体检测新技术及其临床应用[J]. 医学与哲学, 2014, 35(8):65-69.
- [6] 夏勇, 李齐光, 唐希才, 等. 间接免疫荧光法与酶联免疫吸附试验检测抗核抗体对比分析[J]. 实用医学杂志, 2011, 27(13):2449-2451.
- [7] 田卫花, 马文媛, 李莎莎. ELISA 与胶体金免疫层析法检测血清抗 CCP 抗体在 RA 诊断中的比较[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(11):1528-1529.
- [8] Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, et al. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific auto antibodies to nuclear antigens[J]. Arch Pathol Lab Med, 2000, 124(4):71-81.
- [9] Maguire GA, Ginawi AA, Lee J, et al. Clinical utility of ANA measured by ELISA compared with ANA measured by immunofluorescence[J]. Rheumatology, 2008, 47(2):98.
- [10] 张弢, 陈宝平, 张健君, 等. 抗核抗体的荧光模式图文报告的应用[J]. 国际免疫学杂志, 2010, 33(4):332.
- [11] 王莉, 任丽玲, 高宇, 等. 抗核抗体荧光模型与抗核抗体谱对应关系研究[J]. 华西医学, 2015, 30(1):84-88.
- [12] Faria AC, Barcellos KS, Andrade LE. Longitudinal fluctuation of antibodies to extractable nuclear antigens in systemic lupus erythematosus[J]. J Rheumatol, 2005, 32(7):1267-1272.
- [13] 谢丽华, 张浩, 彭萍. 间接免疫荧光法和酶联免疫吸附法检测抗双链 DNA 抗体的比较[J]. 实用预防医学, 2011, 18(11):2173-2175.
- [14] 王艳, 刘晓辉, 张学智, 等. 间接免疫荧光法和酶联免疫吸附法检测抗线粒体抗体的分析与比较[J]. 中日友好医院学报, 2015, 29(3):154-157.
- [15] 徐吟亚. 核抗体荧光免疫检测质量控制方法的建立和应用研究[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(2):245-246.

(收稿日期:2015-06-18)

(上接第 2813 页)

这个项目后与临床进行沟通方面和指导临床进行诊断治疗方面都起着重要作用。本研究根据文件获得了本室实际条件下的可报告范围为 TBIL:6.57~428.83 $\mu\text{mol/L}$, Bu:4.5~320.1 $\mu\text{mol/L}$, Bc:4.5~364.9 $\mu\text{mol/L}$, 从结果可见, 本室胆红素可报告范围均能覆盖临医学决定水平浓度点, 且线性较宽能满足临床检验室常规检测的要求。

当技术性能评价达到要求后, 应该进一步对常用的诊断性能指标(如参考区间等)进行实用性验证。因为, 本院检验科准备使用的强生干化学系统为美国进口产品, 仪器和原装试剂盒说明书给出的生物参考区间是否适合中国人群? 其次, 本院检验科使用分离胶促凝管采集标本, 与说明书上标本采集方法有区别, 是否会影响参考区间? 而且同一检验项目, 即使使用同一检测系统, 不同实验室的参考区间也可能存在差异, 所以, 临床实验室为所开展的新检验项目确定可靠的参考区间是其重要任务之一, 也为指导临床诊疗提供切实可行的指标打下了坚实的基础。

综上所述, 临床对检验结果有两方面的要求, 首先, 要求得到准确的结果, 同时要求这些结果对临床的诊疗起指引性作用, 所以对每一个新的检测系统既要进行技术性能的评估, 也

要进行诊断性能的验证, 这样才能真正满足临床一线的需求。

参考文献

- [1] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP15-A2 Verification of performance for precision and trueness[S]. Wayne, PA, USA: CLIS, 2006.
- [2] 林佳媛. 胆红素代谢及其调节的研究进展[J]. 复旦学报: 医学版, 2014, 41(3):405-411.
- [3] 崔玲. 干化学法与湿化学测定血清胆红素的比较[J]. 内蒙古中医药, 2013, 32(1):78-79.
- [4] 冯琪. 新生儿胆汁淤积症[J]. 中国新生儿科杂志, 2013, 28(2):73-75.
- [5] 邢宝宝. 强生 VITROS350 干式生化仪胆红素测定的结果分析及临床应用价值[J]. 中国保健营养, 2013, 24(1):47.
- [6] 徐建华, 庄俊华, 郑松柏, 等. 常规方法检测血清总胆红素的正确度评价[J]. 临床检验杂志, 2012, 30(12):946-949.
- [7] 张秀明. 临床生化检验诊断学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 603-605.

(收稿日期:2015-06-25)