

• 临床研究 •

# 罗氏公司 Cobas E602 电化学发光分析仪检测抗缪勒管激素的方法学评价

曾 玉,吴 畏,姚 辉,严忠亚,钟天鹰  
(江苏省南京市妇幼保健院检验科 210004)

**摘 要:**目的 对罗氏公司 Cobas E602 电化学发光分析仪检测抗缪勒管激素(AMH)进行方法学评价。方法 根据美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)的 EP 文件要求,制订定量检测方法的方法学评价方案,即通过在罗氏公司 Cobas E602 电化学发光分析仪检测 AMH 的精密度、准确度、分析测量范围和携带污染率来评价其性能。结果 AMH 低、中和高浓度时,批内精密度 CV 分别是 1.971%、1.540%和 1.707%,批间精密度 CV 分别为 3.508%、3.072%和 3.199%,均符合要求;多个不同浓度定值校准品的检测结果与靶值的相对偏倚均在±5%之内,且将已知浓度的 AMH 标本加入到健康人血清中,测得的添加回收率为 97.05%~102.52%,准确度满足判断标准;分析测量线性范围为 0.083~22.398 ng/mL,相关方程  $Y=0.9877X+0.1006$  ( $a$  值在 0.95~1.05,  $r^2\geq 0.95$ );携带污染率为 0.769%( $\leq 2.0\%$ )。结论 罗氏公司 Cobas E602 电化学发光分析仪检测 AMH 的精密度高、准确度好,具有良好的线性测量范围及携带污染率低,验证和评价标准符合,可为临床检测工作提供准确的参考依据。

**关键词:**Cobas E602; 电化学发光; 抗缪勒管激素; 方法学评价

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2016.23.039 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)23-3338-03

抗缪勒管激素(AMH)是 Jost 于 1947 年首先在睾丸支持细胞内发现的。AMH 是转化生长因子  $\beta$  超家族的生长和分化的反应调节剂的一个成员,在卵巢功能方面发挥着极其重要的作用,如评估卵巢储备功能、预测绝经年龄等。此外,AMH 可为辅助生殖技术的个性化治疗提供可靠证据,可对卵泡池中的卵子数量与质量及卵巢反应性进行评估并预测卵巢过度刺激综合征的发生,在生殖领域中也有着广阔的应用前景。AMH 正作为临床常用的生化指标,受到极度关注与应用<sup>[1-2]</sup>。德国罗氏公司研制的电化学发光法检测 AMH 为新近批准项目可进入临床应用,本科室最近引进该检测项目,现就罗氏公司 Cobas E602 电化学发光分析仪检测血清 AMH 的方法学进行评价,报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集本院 2015 年 10~12 月门、急诊及住院患者的新鲜血清标本,分别混合低、中、高 3 种浓度水平血清用于批内和批间精密度、准确度、添加回收率、分析测量范围以及携带污染率评价。

**1.2 仪器与试剂** 仪器采用德国罗氏公司 Cobas E602 电化学发光分析仪,使用配套 AMH 试剂。

### 1.3 评价方案与实验方法

**1.3.1 精密度评价** 参照美国临床和实验室标准协会(NCCLS)的 EP-5A 评价方案<sup>[3]</sup>,使用 Elecsys 试剂、标本和质控品确定精密度。具体为常规 IQC 在控后按标本检测程序进行测定,选择收集的低、中和高 3 种浓度混合血清标本,1 d 内连续重复测定 20 次,分别计算出批内精密度的标准差( $S_{批内}$ )和变异系数( $CV_{批内}$ );另将上述 3 种浓度的混合血清连续重复测定 20 d,每天上午下午各测定 1 次,分别计算出批间精密度的标准差( $S_{批间}$ )和变异系数( $CV_{批间}$ )。

**1.3.2 准确度评价** 参照 NCCLS 的 EP15-A<sup>[4]</sup> 评价方案,按照检测定值的参考物质计算偏差来验证:即将 AMH 校准品稀释至 5 个不同浓度,每个浓度校准品连续测定 2 次,计算结果均值,对检测结果与已知的“靶值”进行比对,计算检测值与靶值的相对偏倚(%),计算公式:偏倚=(测定值-靶值)/靶值 $\times 100\%$ ,偏倚应小于或等于 5.0%。将一定浓度的 AMH 标本加入到正常人血清中,计算添加回收率。

**1.3.3 分析测量范围(AMR)评价** 按照 NCCLS 的 EP6-A

文件<sup>[5]</sup>,先确定实验室 AMH 测定的重复性和线性的允许误差范围分别为 2%和 5%;再选择 AMH 浓度靠近厂家提供线性范围上限的患者血清标本作为高浓度血清(H),AMH 浓度低的患者血清标本作为低浓度血清(L),按 5H、4H+1L、3H+2L、2H+3L、1H+4L 和 5L 的关系各自配制,形成系列浓度检测标本,用 Cobas E602 对系列浓度标本进行 AMH 检测,每个浓度水平测定 2 次,记录结果,对检测结果的均值和理论值进行直线回归统计。实测值与理论值作比较(偏离应小于 10%),以稀释后的理论值为横坐标 X,实测值的平均浓度为纵坐标 Y,数据采用直线回归统计处理,计算回归方程: $Y=aX+b$  和相关系数  $r^2$ ,若  $a$  值在  $1\pm 0.05$  范围内,且  $r^2\geq 0.950$ ,则可为真实的测量分析范围,作临床参考依据。

**1.3.4 携带污染率的评价** 取高浓度 AMH 血清标本连续测定 3 次,测定值分别为 H1、H2、H3;再取低浓度 HE4 血清标本连续测定 3 次,测定值分别为 L1、L2、L3,按公式计算携带污染率。携带污染率=(L1-L3)/(H3-L3) $\times 100\%$ 。携带污染率应小于等于 2.0%。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS16.0 软件进行统计分析。计量数据以  $\bar{x}\pm s$  表示。

## 2 结 果

**2.1 AMH 精密度评价结果** 参考 NCCLS 的 EP-5A 文件,用收集的低、中、高 3 种浓度混合血清做批内精密度和批间精密度,见表 1。

表 1 Cobas E602 测定 AMH 的精密度评价结果

AMH 浓度	批内			批间		
	$\bar{x}$	$S_{批内}$ (ng/mL)	$CV_{批内}$ (%)	$\bar{x}$	$S_{批内}$ (ng/mL)	$CV_{批内}$ (%)
人血清低值	0.233	0.005	1.971	0.235	0.008	3.508
人血清中值	8.713	0.134	1.540	8.778	0.270	3.072
人血清高值	22.398	0.382	1.707	22.222	0.711	3.199

**2.2 AMH 准确度评价结果** 参考 NCCLS EP15-A 文件,与 AMH 校准品的标定值相比,验证值的相对偏倚在±5%之间,见表 2。

表 2 Cobas E602 测定 AMH 的准确度评价结果				
标定值 (ng/mL)	验证值 (ng/mL)	绝对偏倚 (ng/mL)	相对偏倚 (%)	验证结果
1.00	1.028	0.027	2.750	通过
2.00	1.967	-0.034	-1.675	通过
4.00	4.059	0.059	1.463	通过
6.00	5.989	-0.011	-0.183	通过
8.00	8.082	0.082	1.025	通过

将已知浓度的 AMH 标本加入到健康人血清中,测得的添加回收率为 97.05%~102.52%。

**2.3 AMH 分析测量范围评价结果** 选取 AMH 高浓度(22.398 ng/mL)和低浓度(0.083 ng/mL)血清,根据配制关系稀释并计算出 6 例标本的 AMH 水平,作为这些标本的理论预期值,以预期值为横坐标,实测均值为纵坐标,将实测值与理论值作比较(偏离应小于 10%),进行直线回归分析,观察其线性范围,计算  $Y=aX+b$ ,结果显示  $a=0.987\ 7$ ,  $r^2=0.999\ 6$ ,满足要求( $a$  值在  $1\pm0.05$  范围内,相关系数  $r^2\geq0.95$ ),见表 2,散点图见图 1。因此,AMH 浓度在 0.083~22.398 ng/mL 范围内线性良好。

表 3 AMH 分析测量范围评价						
项目(ng/mL)	5L	H+4L	2H+3L	3H+2L	4H+L	5H
理论值	0.083	4.546	9.009	13.472	17.935	22.398
测定值	0.098	4.644	8.909	13.720	17.665	22.178

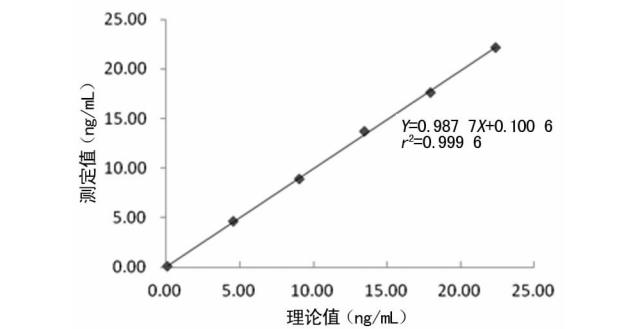


图 1 AMH 线性范围验证

**2.4 AMH 携带污染率结果** AMH 的 H1、H2、H3 测定值分别是 22.429、22.391 和 22.763 ng/mL;L1、L2、L3 测定值分别是 0.409、0.285 和 0.237 ng/mL。携带污染率=(L1-L3)/(H3-L3)×100%,计算得 0.769%,携带污染率满足要求。

3 讨 论

AMH 检测是在罗氏公司 Cobas e602 型全自动电化学发光免疫分析仪进行检测,该试剂盒为罗氏公司研发的采用电化学发光免疫法(ECLIA)测定。ECLIA 是在电场作用下发生的化学发光反应,是电化学和免疫测定技术相结合的产物,是目前全球最先进的免疫标记分析技术之一。ECLIA 基本原理为电化学发光过程产生的光信号强度与二价的三氯联吡啶钨[Rubpy3]<sup>2+</sup>的浓度呈线性关系。将二价的三氯联吡啶钨[Rubpy3]<sup>2+</sup>与免疫反应体系中的一种物质结合,经免疫反应、分离后,检测免疫反应体系中剩余二价的三氯联吡啶钨[Rubpy3]<sup>2+</sup>经上述过程后所发出的光,即可得知待检物的浓度。

ECLIA 技术是目前最先进的标记免疫测定技术之一,具有准确度高、灵敏度高、稳定性好、无放射性污染,而且操作简便,可实现完全自动化,检测速度快等特点,与传统的检测方法相比具有无可比拟的优越性<sup>[6]</sup>。

虽然 Cobas E601 检测系统为封闭系统,采用配套的试剂、质控品和标准品,但是每个实验室在水质、电压稳定性、实验室温湿度和人员操作习惯等条件方面存在差异,实际分析性能与厂家提供的性能参数不一定一致。因此,根据《医疗机构临床实验室管理方法》和《ISO15189:2008 医学实验室质量和能力认可准则》对目前临床实验室质量要求<sup>[7]</sup>,临床实验室在开展新的检测项目之前需对新检测系统(仪器、试剂、校准品等)进行必要的性能验证,确保检验系统可对临床应用满意,确保可靠性,方法学评价内容在操作过程中通常包括可报告的精密度、准确度、携带污染率等,其中准确度和精密度的测定为最主要的验证指标<sup>[3-4]</sup>。本研究通过 Cobas E602 检测系统测定 AMH 的相关性能指标进行检测,以验证厂家给定的 AMH 性能参数并评估 AMH 作为新的检测项目在临床应用的可行性。

根据 NCCLS 的 EP-5A 文件对批内和批间精密度的评估,结果显示 AMH 低、中和高浓度时,批内精密度 CV 分别是 1.971%、1.540%和 1.707%,批间精密度 CV 分别为 3.508%、3.072%和 3.199%,与罗氏厂家说明书提供的参数基本相同,且符合 CLSI 的 EP-5A 文件标准,表明该方法稳定性和重复性均很好,精密度属于可接受范围。根据 EP15-A 文件,选择 AMH 校准品的不同稀释浓度作为参考物质,每个浓度校准品连续测定 2 次,计算结果均值,对检测结果与已知的“靶值”进行比对,计算检测值与“理论靶值”的相对偏倚(%),结果 5 个不同浓度的 AMH 样品相对偏倚均在±5.0%之内,满足要求,表明准确度可接受。

按照 NCCLS EP6-A 文件评价 AMH 的分析测量范围,用以验证该方法的高、低检测值之间是否呈线性关系,将高值和低值 AMH 标本按不同关系各自配制并根据各稀释点数据进行直线回归统计方法处理,得方程  $Y=0.990\ 3X+0.018\ 9$ ,  $r^2=0.999\ 6$ ,可见  $a$  值在规定的 0.95~1.05 范围内,且  $r^2\geq0.95$ ,表明 AMH 在 0.083~22.398 ng/mL 范围呈较好的线性相关,此可为真实实施的测量分析范围,为临床提供参考依据。但此线性范围的低值为 0.083 ng/mL,略高于罗氏公司给予的 AMH 低值 0.01 ng/mL,亦表明不同实验室之间存在差异。本研究将已知浓度的 AMH 标本加入到正常人血清中,测得的添加回收率为 97.05%~102.52%,符合要求。另外,由于罗氏公司 Cobas E602 采用一次性加样系统,大大减少了携带污染,检测结果显示该系统携带污染率仅为 0.769%。

综上所述,应用罗氏公司 Cobas E602 电化学发光分析仪检测 AMH,精密度和准确度高,具有良好的线性测量范围及携带污染率低,验证和评价标准符合,可为临床检测工作提供准确的参考依据。

参考文献

[1] 王巧丽,舒婷婷,陈晓红,等. 抗苗勒管激素与卵巢储备功能关系的研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2015,36(1): 104-105.

[2] Jamil Z, Fatima SS, Ahmed K, et al. Anti-Mullerian hormone: above and beyond conventional ovarian reserve markers[J]. Dis Markers, 2016, 2016(3): 1-9.

[3] NCCLS. EP5-A Evaluation of precision performance of

- clinical chemistry devices; approved guideline[S]. Wayne, PA, USA; NCCLS, 1999.
- [4] NCCLS. EP15-A User demonstration of performance for precision and accuracy; approved guideline[S]. Wayne, PA, USA; NCCLS, 2001.
- [5] NCCLS. EP6-A Evaluation of linearity of quantitative measurement procedures; a statistical approach approved guideline[S]. Wayne, PA, USA; NCCLS, 2003.
- [6] 田润华, 郑春喜, 王士珍. 电化学发光免疫分析与临床应用[J]. 齐鲁医学杂志, 2004, 19(5): 464-465.
- [7] 中华人民共和国卫生部. 医疗机构临床实验室管理办法[S]. 北京: 卫生部, 2006: 6.
- (收稿日期: 2016-06-18 修回日期: 2016-09-08)
- 临床研究 •

贵港市妇幼保健院 2015 年中孕期妇女血清学产前筛查结果分析

郭庆同, 何浩瑜, 梁景欣  
(广西壮族自治区贵港市妇幼保健院遗传实验室 537100)

**摘 要:**目的 分析 2015 年该院中孕期妇女产前筛查阳性率并了解各年龄段中孕期产前筛查阳性情况, 为进行临床干预措施提供依据。方法 采用双抗体夹心时间分辨荧光免疫分析法, 对孕周在 15~20<sup>+</sup>周的孕妇进行血清甲胎蛋白(AFP)、游离 β-绒毛膜促性腺激素(Free-βhCG)的检测, 结合孕妇孕周、出生日期、末次月经、体质量等因素, 采用广州市丰华产前筛查风险评估软件对数据进行综合风险评估, 回顾性分析 2015 年进行中孕期血清学产前筛查结果。结果 3 556 例孕妇中筛查高风险 295 例, 阳性率为 8.30%。其中 21-三体综合征(T21)高风险 244 例, 阳性率为 6.86%; 18-三体综合征(T18)高风险 5 例, 阳性率为 0.14%; 神经管缺陷(NTD)高风险 46 例, 阳性率为 1.29%; 在各年龄段中, 小于 20 岁有 108 例, 高风险有 10 例, 阳性率为 9.52%; 20~<26 岁有 1 115 例, 高风险有 88 例, 阳性率为 7.87%; 26~<31 岁有 1 796 例, 高风险有 132 例, 阳性率为 7.33%; 31~<35 岁有 532 例, 高风险有 62 例, 阳性率为 11.65%。≥35 岁的只有 5 例, 高风险 0 例, 只归为年龄高风险。平均年龄(27.2±3.8)岁, 年龄标准偏差 3.8 岁。结论 低龄和大龄怀孕高风险率较高, 大龄孕妇比低龄孕妇高风险率更高, 产前筛查可减少缺陷胎儿出生。

**关键词:** 产前筛查; 阳性率; 年龄  
**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2016.23.040 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)23-3340-02

产前筛查是指通过简便、无创伤和经济的检验方法, 从孕妇中筛查出怀有某些先天性疾病胎儿的高风险孕妇, 为进一步明确诊断, 最大限度地减少异常胎儿的出生率<sup>[1]</sup>。产前筛查是降低缺陷胎儿出生的重要方法, 是通过对孕妇进行血清甲胎蛋白(AFP)、游离 β-绒毛膜促性腺激素(Free-βhCG)的检测, 结合孕妇孕周、出生日期、末次月经、体质量等因素, 对胎儿进行评估患有先天性缺陷的风险值<sup>[2]</sup>。出生缺陷是严重影响我国人口和社会可持续发展的重要公共卫生和社会问题, 无论是对家庭还是社会都会带来沉重的负担<sup>[3]</sup>。产前筛查主要筛查的疾病有 21-三体综合征(T21)(又称唐氏综合征)、神经管缺陷(NTD)和 18-三体综合征(T18)等<sup>[4]</sup>。唐氏综合征是我国危害极大、发病率高的先天缺陷性疾病。此类病并非家系遗传而来, 大多数是突发的, 每个孕妇都有高风险的可能。患儿一旦出生则无法治愈, 唯一避免的方法就是进行产前筛查和产前诊断, 选择终止妊娠, 本研究对本院 2015 年产前筛查结果进行回顾性分析, 为降低出生缺陷患儿进行干预提供科学依据。现报道如下。

1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2015 年在本院就诊 15~20<sup>+</sup>周做产前筛查的 3 556 例中孕期孕妇为研究对象, 孕妇年龄 20~<31 岁, 平均(27.2±3.8)岁, 年龄标准偏差 3.8 岁, 平均孕周 17.5 周。由于大于或等于 35 岁样本量太少, 不利于分析, 所以不归入本次研究对象。分 4 个年龄段进行分析。分别为: <20 岁、20~<26 岁、26~<31 岁和 31~<35 岁。

**1.2 仪器与试剂** 广州丰华时间分辨荧光免疫分析仪及配套试剂、评估软件。

**1.3 方法** 每位孕妇在 15~20<sup>+</sup>周内抽静脉血 2~3 mL, 离

心后取血清检测。结合孕妇孕周、出生日期、末次月经、体质量及是否双胎等参数进行风险值评估。

**1.4 评估标准** T21≥1:270 为高风险, T18≥1:350 为高风险, 或 NTD 以 AFP≥2.5 MoM 值为高风险, 预产年龄大于或等于 35 岁为年龄高风险。

2 结 果

**2.1 筛查结果** 3 556 例孕妇筛查结果中, 筛查阳性 295 例, 阳性率 8.30%, 其中 T21、T18 和 NTD 各检出 244、5、46 例, 阳性率分别为 DS 6.86%、T18 0.14% 和 NTD 1.29%。

**2.2 不同年龄段孕妇产前筛查结果** 3 556 例孕妇中年龄小于 20 岁 108 例, 占 3.05%; 20~<26 岁 1 115 例, 占 31.35%; 26~<31 岁 1 796 例, 占 50.51%; 31~<35 岁 532 例, 占 14.95%。阳性情况为小于 20 岁阳性 10 例, 20~<26 岁 88 例, 26~<31 岁 132 例, 31~<35 岁 62 例。在各自年龄段中阳性率分别为 9.52%、7.87%、7.33%、11.65%。平均年龄(27.2±3.8)岁, 见表 1。

表 1 各年龄段分析情况				
年龄(岁)	总例数(n)	比例(%)	阳性数(n)	阳性率(%)
<20	108	3.05	10	9.52
20~<26	1 115	31.35	88	7.87
26~<31	1 796	50.51	132	7.33
31~<35	532	14.95	62	11.65

3 讨 论

中国每年有 100 万出生缺陷儿发生, 其中只有 30% 可以治愈或纠正。全国大约有近 3 000 万个家庭曾生育过出生缺