

水平与 HBV DNA 载量结合起来分析病毒活跃程度,能更有效地判断病情并指导诊疗。ALT 水平与 HBeAg 定量呈正相关($r=0.200, P=0.000$), ALT 水平与 HBeAb 定量呈负相关($r=-0.156, P=0.001$),说明肝损害与病毒活跃程度存在有一定相关性,将三者结合起来观察对患者的感染状态、传染性以及治疗效果和预后都有十分重要的意义^[6]。

综上所述,本研究分析了不同临床类型 HBV 感染者 HBV 血清标志物定量水平、HBV DNA 载量与肝功能水平的关联性,发现不同病程阶段三者数值特点及相互关系存在差异,将 3 个指标结合起来分析有利于临床对乙型肝炎病情的准确判断及指导治疗。

参考文献

[1] 郭纯. 肝纤维化患者临床检验血清学检测指标分析[J]. 中国当代医药, 2011, 18(27): 75.

[2] 曾钢, 吴斌, 李彩东, 等. 308 例慢性乙肝患者血清 HBV DNA 载

量与肝功能及 HBV-M 检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(14): 1908-1910.

[3] 唐长华. 乙型肝炎肝硬化患者 HBeAg 与血清 HBV DNA 定量分析[J]. 实用肝脏病杂志, 2009, 12(4): 277-278.

[4] 中华医学会肝病学会, 感染病学会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. 中华肝脏病杂志, 2011, 19(1): 13-24.

[5] 褚兴桂. 乙肝病毒标志物和肝功能损伤的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 15(19): 2623-2624.

[6] 李菲菲, 任万华, 丁贵航, 等. 肝组织水平与血清病毒学应答后治疗时间的关系[J]. 中华肝脏病杂志, 2009, 17(3): 167-170.

[7] 李云, 夏正武. 乙型肝炎血清学标志物与 HBV DNA 的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(4): 442-443.

[8] 陈光辉, 孙长义. HBV 血清学标志物与 HBV-DNA 荧光定量相关性分析[J]. 中华实验与诊断治疗杂志, 2013, 16(2): 181-182.

(收稿日期: 2016-01-20)

• 临床研究 •

电化学发光技术测定 25 羟基维生素 D 的性能验证

向波, 刘忠民, 覃润东

(广州医科大学附属第一医院检验科, 广东广州 510120)

摘要:目的 对电化学发光技术检测 25 羟基维生素 D 项目进行性能验证, 以确保实验室检测结果的准确。方法 依据国家标准文件, 对电化学发光技术检测 25 羟基维生素 D 的精密度、正确度、线性范围、参考区间进行验证试验。结果 高、低浓度的批内变异系数(CV)分别为 3.18% 和 3.38%, 批间变异系数分别是 13.37% 和 6.23%, 均小于厂家声明的不精密度或验证值; 正确度验证试验偏倚未超过原卫生部规定的最大允许误差的 1/2; 验证的线性范围为 3.165~48.515 ng/mL; 参考范围验证 20 份体检标本检测结果均在厂家提供的参考区间内。结论 电化学发光技术检测 25 羟基维生素 D 项目性能验证通过, 可用于临床检测。

关键词: 25 羟基维生素 D; 性能验证; 精密度; 电化学发光技术

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.06.029

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)06-0786-03

维生素 D 状态评估是防止骨质疏松症的基础环节, 众多研究均强调良好的维生素 D 状态对骨骼健康和长期接受抗骨质疏松治疗非常重要。在老年人常见的高血压、肿瘤(前列腺癌、结肠癌、乳腺癌等)、糖尿病、多发性硬化、免疫功能失调等疾病的发生、发展过程中, 维生素 D 也起重要作用。血清 25 羟基维生素 D 是评估维生素 D 状态的最佳指标^[1]。本实验室拟开展 25 羟基维生素 D 检测项目。按照中华人民共和国卫生行业标准《临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证(WS/T 420-2013)》要求, 临床实验室使用厂家已经过严格评估的检验方法或试剂盒之前, 还要验证相关分析性能以证实在本实验室能达到厂家声称的分析性能指标, 从而保证检验结果准确。因此本实验室对电化学发光技术检测 25 羟基维生素 D 的精密度、正确度、线性范围、生物参考区间进行验证。

1 材料与与方法

1.1 标本来源 选择 2014 年 8 月 1 日至 10 月 31 日在本院就诊患者和体检者的新鲜血清和中山大学附属第一医院(以下简称中大附一医院)体检者的新鲜血清, 标本无溶血、黄疸、脂浊。

1.2 仪器与试剂 德国 Roche 公司 Modular E170 全自动电化学发光免疫分析仪, 所用试剂为仪器原装配试剂盒, 定标

液、质控液。

1.3 方法

1.3.1 精密度验证 选择低浓度(批号 173190)和高浓度(批号 173191)两个浓度水平的质控品, 试验持续 5 d, 每批每个水平重复测定 3 次, 计算批内不精密度、批间不精密度。若实测结果小于厂家声明的不精密度或验证值, 则结论为精密度验证通过。

1.3.2 正确度验证 本科室与使用相同检测系统的中大附一医院检验中心进行结果比对, 在获取的 20 份标本中随机抽取 5 份已在中大附一医院检验中心测定 25 羟基维生素 D 的标本, 在本实验室进行测定, 得出结果进行对比, 若结果偏倚未超过允许范围, 验证通过。

1.3.3 线性范围验证 选择低(L)、高(H)浓度水平混合血清(尽可能接近说明书的线性高低值), 按比例配制成系列浓度的 6 个标本: 5L、4L+1H、3L+2H、2L+3H、1L+4H、5H。在质控在控的情况下, 每个标本重复测定 2 次。判断标准: 预期值与实测值作回归统计, 斜率在 0.97~1.03 并且 $R^2 \geq 0.95$ 则认为在该浓度范围内呈线性。

1.3.4 生物参考区间验证 表面健康人入选原则: 从既往检验人员中获取 20 例表面健康者, 考虑性别和年龄分布。具体

人员情况:共 20 例。其中男 10 例,年龄 21~70 岁;女 10 例,年龄 23~69 岁。判断标准:若 20 份标本的检测结果均在厂家提供的参考范围内,则实验室可直接使用厂家提供的参考范围。

2 结果

2.1 精密度验证 批内及批间不精密度结果见表 1,批内及批间标准差与验证值见表 2。

表 1 批内及批间不精密度

项目	批内			批间		
	测定均值 (ng/mL)	CV (%)	厂家 CV (%)	测定均值 (ng/mL)	CV (%)	厂家 CV (%)
水平 1	17.44	3.18	6.50	17.44	13.37	8.50
水平 2	27.54	3.38	4.20	27.54	6.23	5.80

2.2 正确度验证 5 份标本比对结果见表 3。

表 3 正确度验证结果

标本编号	本科室结果(ng/mL)	中大附一医院结果(ng/mL)	偏倚(%)	1/2TEa(%)	允许范围(ng/mL)	验证结果
1	9.75	10.80	-9.7	12.5	7.32~13.24	通过
6	9.42	10.40	-9.4	12.5	6.95~12.87	通过
12	25.13	26.77	-6.1	12.5	22.99~28.91	通过
5	26.29	27.65	-4.9	12.5	24.01~29.93	通过
11	41.83	42.77	-2.2	12.5	39.34~45.26	通过

表 4 线性试验的实测均值与预期值

浓度	实测均值(ng/mL)	预期值(ng/mL)
5L	3.170	3.17
4L+1H	12.57	12.24
3L+2H	20.74	21.31
2L+3H	31.35	30.38
1L+4H	39.57	39.45
5H	48.52	48.52

3 讨论

维生素 D 有广泛的生理作用,不仅可以维持钙、磷浓度的稳定,促使骨的矿化,还能诱导细胞分化、抑制细胞增殖、促进肿瘤细胞凋亡以及免疫调节作用,是癌症和其他慢性疾病风险的独立预示因子^[2]。如有文献报道,宫颈癌患者的维生素 D 水平显著低于健康人群^[3]。维生素 D 因与阳光关系密切,又称为阳光维生素^[4]。但是近年由于环境污染加剧、雾霾天气增加等因素,人类从大自然中摄取维生素 D 的途径越来越少^[5]。因此,实验室及时开展维生素 D 检测,监测人体的维生素 D 水平,对预防疾病、维护机体健康有着重要意义。

根据 2003 年 CLIA'88 更新说明,由 FDA 证实的、未被修改的中等复杂的检验项目,在实验室报告患者结果前,需检查(确认)在产品说明书中的厂商性能指标:正确度、精密度、可报告范围、参考范围。我国的卫生行业标准也明确提出:临床实验室应在正式使用商品定量试剂盒前,对厂家声称的各项主要分析性能指标进行验证,依据 CLIA'88 要求,临床实验室可只

2.3 线性范围验证 维生素 D 的低值和高值分别是 3.16、48.52 ng/mL。统计软件多项式回归数据拟合结果显示:线性方程为 $Y=1.0029X+0.0693$, R^2 为 0.9991,斜率为 1.003。见表 4。

表 2 批内及批间标准差与验证值比较

项目	批内			批间		
	实验室批 内标准差	自由 度	厂家标准 差验证值	实验室批 内标准差	自由 度	厂家标准 差验证值
水平 1	0.55	10	1.62	2.33	2.93	3.92
水平 2	0.93	10	1.66	1.72	4.42	3.44

2.4 生物参考区间验证 厂家提供的参考范围:>20 ng/mL;20 份体检标本检测结果最低值为 20.55 ng/mL,最高值为 50.28 ng/mL,均值为 30.90 ng/mL。

对正确度、精密度和线性主要分析性能进行验证^[6]。本实验室即依据以上标准,对 25 羟基维生素 D 检测项目进行开展前的性能验证。

本次精密度验证严格按照国家标准文件《临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证(WS/T 420-2013)》进行设计和结果判读。如果计算值小于或等于厂家声称值,则验证厂家声称的重复精密度可靠。如果计算值大于厂家声称值,则需将计算值与验证值比较,如小于验证值,说明此差异无统计学意义,表明厂家声称的重复精密度可靠。本试验的精密度验证批内变异系数分别是 3.18% 和 3.38%,均小于制造商声明的批内变异系数(6.50% 和 4.20%);而批间变异系数分别是 13.37% 和 6.23%,大于厂家声称值,但小于验证值。因此,本实验室电化学发光技术检测 25 羟基维生素 D 精密度验证通过。

本次正确度验证是依据中国合格评定国家认可委员会 CNAS-CL38-《医学实验室质量和能力认可准则在临床化学检验领域的应用说明》中 5.6.3.2 条款执行:对没有开展能力验证/室间质评的检验项目,应通过与其他实验室(如已获认可的实验室,使用相同检测方法的实验室,使用配套系统的实验室)对比,判读检验结果的可接受性。该条款要求:样品数量至少 5 份,包括正常和异常水平,频率至少每年 2 次,判定标准为应有不低于 80% 的结果符合要求^[7]。25 羟基维生素 D 属于无室间质量评价项目,根据 CNAS-CL38 中 5.6.3.2 替代方案,本次正确度试验选取的 5 份标本,偏倚均小于卫生部最大允许误差的 1/2,正确度验证通过。

本次线性范围的验证是严格按照国家标准文件《临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证(WS/T 420-2013)》进行

设计和结果判读。当实验室新使用一种试剂时,必须确定其线性范围,因线性范围宽窄对于定量检测的临床化学分析方法极为重要^[8]。Roche 公司对于 25 羟基维生素 D 声明的线性范围为 3~70 ng/mL,由于临床上患者高值标本十分缺少,无法满足厂商提供的线性范围。本试验选取了尽量靠近试剂说明书的线性高低值,低值为 3.165 ng/mL,高值为 48.515 ng/mL。统计软件多项式回归数据拟合结果显示:线性方程为 $Y = 1.0029X + 0.0693$, R^2 为 0.9991,斜率为 1.003。斜率在 0.97~1.03 并且 $R^2 \geq 0.95$,本实验室验证的线性范围为 3.165~48.515 ng/mL。

本次生物参考区间的验证是严格按照国家标准文件《临床实验室检验项目参考区间的制定(WS/T 402-2012)》进行设计和结果判读。若实验室希望或需要对参考区间进行验证,则实验室可以从本地参考人群中筛选少量参考个体($n = 20$),将其测得值与参考区间的原始参考值相比较。若 20 个测定值中落在参考限外的测定值不超过 2 个,则该参考区间可直接使用^[9]。本次生物参考区间验证结果均在厂家提供的参考区间内,实验室可直接使用厂家提供的 25 羟基维生素 D 参考范围(>20 ng/mL)。

参考文献

[1] 朱汉民,程群,甘洁民,等. 上海地区人群维生素 D 状态研究[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2010,3(3):157-163.

• 临床研究 •

AQT90 FLEX 分析仪检测全血肌钙蛋白 I 的方法学评价

易火春¹,朱建辉¹,王思瑜¹,谢芳¹,刘亚黎²

(厦门大学附属中山医院:1. 检验科;2. 胸外科,福建厦门 361004)

摘要:目的 对 AQT90 FLEX 分析仪检测全血标本肌钙蛋白 I(TnI)进行方法学评价。方法 通过测定 TnI 的精密度、准确度、分析测量范围、携带污染率、功能灵敏度和参考区间来评价其性能。结果 中、高值质控品总不精密度分别为 5.27%、4.49%,均小于 CLIA'88 规定的允许误差范围的 1/2(15%);国家卫生和计划生育委员会临检中心 5 个质评物检测结果,有 4 个在 CLIA'88 规定的允许误差范围的 1/2(15%)内,结果为可接受;在 0.011~16.6 μg/L 范围内线性良好,相关方程为 $Y = 0.996X - 0.524$;携带污染率小于 10%;功能灵敏度为 0.011 μg/L,在参考区间(TnI<0.023 μg/L)范围内;试剂说明书建议参考区间(TnI<0.023 μg/L)验证通过。结论 该系统检测全血标本 TnI 精密度高,正确度好,并具有良好的线性,参考区间验证合格,分析灵敏度及携带污染率能够达到实验室质量要求,能满足临床需求。

关键词:心肌梗死; 肌钙蛋白 I; 方法学

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.06.030

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)06-0788-03

急性心肌梗死(AMI)是冠状动脉急性、持续性缺血缺氧所引起的心肌坏死,起病急,病死率高。如何从胸痛患者中快速识别出 AMI 患者,从而及时进行治疗,是降低病死率和改善预后的关键。研究表明心肌肌钙蛋白 I(TnI)对 AMI 诊断的特异度可达 90%以上,敏感度为 85%以上,可作为心肌梗死突发时的快速辅助诊断指标,被越来越多地应用^[1]。目前,临床上检测 TnI 大都采用血浆标本,离心等前处理过程需要花 10 多分钟,影响了 TnI 的报告时间。本科室最近引进 Radiometer AQT90 FLEX 分析仪,能够检测全血标本 TnI,减少了离心过程所需要的时间,缩短了报告时间。现就该系统检测全血 TnI 的方法学进行评价,报道如下。

1 材料与与方法

1.1 标本 本院门、急诊及住院患者经乙二胺四乙酸二钾

[2] Fleet JC, DeSmet M, Johnson R, et al. Vitamin D and cancer: a review of molecular mechanisms[J]. Biochem J, 2012, 441(1): 61-76.

[3] 蔡叶樾,张红河,倪慧群,等. 血浆 Th17 细胞相关因子与 25-羟基维生素 D 检测对宫颈癌的临床价值[J]. 全科医学临床与教育, 2014,12(3):263-265.

[4] 查锡良. 生物化学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社,2010:435-436.

[5] 考验,施卫星,陈栢青. 环境污染物质对儿童身高发育迟缓的影响[J]. 国际儿科学杂志,2009,36(5):491-493.

[6] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 中华人民共和国卫生行业标准 临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证[S]. 北京:中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,2013.

[7] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-CL38 医学实验室质量和能力认可准则在临床化学检验领域的应用说明[S]. 北京:中国合格评定国家认可委员会,2012.

[8] 吴惠,吴炯,郭伟,等. 临床常用线性评价方案的应用比较[J]. 检验医学,2006,21(6):576-580.

[9] 中华人民共和国卫生部. 中华人民共和国卫生行业标准 临床实验室检验项目参考区间的制定[S]. 北京:中华人民共和国卫生部,2012.

(收稿日期:2015-12-26)

(EDTA-K₂)抗凝的静脉血标本。

1.2 仪器和试剂 仪器采用丹麦 Radiometer AQT90 FLEX 免疫分析仪,试剂为配套 TnI 测试卡(批号 10397)。

1.3 方法

1.3.1 精密度试验 根据 EP-5A 文件^[2],选择低、中两个浓度的质控品,每天上、下午分两批进行试验,每批做双份检测,连续检测 20 d,共 40 对,80 个数据。根据所得到的数据计算出批内不精密度的标准差($S_{批内}$)、批间变异估计值(A)、批间不精密度的标准差($S_{批间}$)、日间变异估计值(B)、日间不精密度的标准差($S_{日间}$),最后按照方差和的方式将批内、批间和日间标准差结合起来求出总不精密度。

1.3.2 准确度验证 根据 EP15-A 文件^[3],选择国家卫生和