

论著 · 临床研究

LIAISON 化学发光免疫分析仪检测的性能验证*

陈兰兰¹, 邵 婧¹, 刘义庆^{1△}, 张培莉¹, 牛登冉¹, 段文冰¹, 赵万辉¹, 张 栋²
(山东大学附属省立医院: 1. 临床医学检验部, 2. 泌尿外科, 济南 250021)

摘 要: **目的** 验证 LIAISON 化学发光免疫分析仪检测产前筛查优生四项 (TORCH) 的分析性能。**方法** 参考美国临床和实验室标准化协会 (NCCLS) 系列文件和相关文献, 结合工作实际, 设计验证方案, 并对 LIAISON 化学发光免疫检测系统测定弓形虫 IgG 抗体 (Tox IgG)、弓形虫 IgM 抗体 (Tox IgM)、风疹病毒 IgG 抗体 (Rub IgG)、风疹病毒 IgM 抗体 (Rub IgM)、巨细胞病毒 IgG 抗体 (CMV IgG)、巨细胞病毒 IgM 抗体 (CMV IgM)、单纯疱疹病毒 IgG 抗体 (HSV IgG)、单纯疱疹病毒 IgM 抗体 (HSV IgM) 的精密度、准确度、分析线性范围、临床可报告范围和生物参考区间等进行验证和评价, 并将实验结果与厂家 (意大利索灵) 提供的分析性能或公认的质量指标进行比较。**结果** 批内不精密度 CV 值在 3.58%~7.03%, 均小于规定的范围; 批间不精密度 CV 值在 3.13%~10.73%。线性范围验证回归系数 a 值在 0.97~1.03, $r^2 > 0.95$, 线性均符合要求。生物参考区间及可报告范围均符合要求。**结论** LIAISON 化学发光免疫检测系统检测分析性能符合临床要求, 测定结果灵敏度高, 特异度好, 稳定性强, 检测范围宽, 有良好的准确性和重复性, 适合应用于临床。

关键词: 化学发光免疫分析; 准确度; 精密度; 性能验证
DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.02.007 **中图法分类号:** R392.33
文章编号: 1673-4130(2018)02-0149-04 **文献标识码:** A

Performance verification of LIAISON chemiluminescence immunity analyzer*
*CHEN Lanlan¹, SHAO Jing¹, LIU Yiqing^{1△}, ZHANG Peili¹, NIU Dengran¹,
DUAN Wenbing¹, ZHAO Wanhui¹, ZHANG Dong²*
(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Urology, Shandong Provincial Hospital
Affiliated to Shandong University, Ji'nan, Shandong 250021, China)

Abstract: **Objective** To verify the performance of LIAISON chemiluminescence immunoassay analyzer in the prenatal screening for TORCH. **Methods** Reference to the US Institute of Clinical and Laboratory Standards (NCCLS) series of documents and literature and combining with actual work, we designed the verification program, and tested and evaluated the LIAISON chemiluminescent immunoassay systems for the measurement precision, accuracy, linearity analysis, clinical reportable range and biological reference intervals of Tox IgG, Tox IgM, Rub IgG, Rub IgM, CMV IgG, CMV IgM, HSV IgG, HSV IgM. We also compared the results with analysis performance provided by manufacturers (Italy LIAISON) or recognized quality indicators. **Results** Intra-assay imprecision CV values were between 3.58%—7.03%, which were less than the predetermined range; inter-assay imprecision CV values were between 3.13%—10.73%. Linear range validation regression coefficients a values were between 0.97—1.03 and $r^2 > 0.95$. The linear relationship met the requirements. Both biological reference interval and reportable range meet the requirements. **Conclusion** The performance of LIAISON chemiluminescence immunoassay detection system satisfied the clinical requirements, and the measurement results had advantages of high sensitivity, specificity, stability, wide detection range, good accuracy and repeatability, which was suitable for clinical application.

Key words: chemiluminescence immunoassay; accuracy; precision; performance verification

LIAISON 化学发光免疫分析的原理是将抗原或抗体包被磁珠 (固相) 并结合于异鲁米诺衍生物。在第一步孵育中, 校准品、血清或质控品中的抗原或抗体结合到固相和抗原或抗体标记物, 构成夹心。第二步孵育中, 抗原或抗体标记物与已结合在固相上的免疫复合物反应, 未结合的物质被洗掉。然后加入启动

* 基金项目: 山东省自然科学基金资助项目 (ZR2016HM52); 山东省科学技术发展计划资助项目 (2014GGH218041); 山东省临床重点专科建设项目经费资助 (鲁卫医字 [2013] 26 号)。

作者简介: 陈兰兰, 女, 技师, 主要从事免疫学检验研究工作。△ 通信作者, E-mail: yqliu1979@163.com。
本文引用格式: 陈兰兰, 邵婧, 刘义庆, 等. LIAISON 化学发光免疫分析仪检测的性能验证 [J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(2): 149-152.

试剂产生化学发光反应,光电倍增管检测光信号,得出相关光度数值(RLU),其与校准品、血清或质控中抗原或抗体浓度呈正比,通过相关计算得出结果。参照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)相关实验室认可的条款要求和《医疗机构临床实验室管理办法》的要求,为了保证检验质量,在引入新仪器设备和开展新项目,以及每年需要对仪器设备的性能进行方法学验证,包括准确度、精密度、线性范围、生物参考区间、可报告范围等方面^[1-7]。按照实验室标准化的要求,本实验室 LIAISON 化学发光免疫检测系统测定血清 Tox IgG、Tox IgM、Rub IgG、Rub IgM、CMV IgG、CMV IgM、HSV IgG、HSV IgM 的精密度、准确度、分析线性范围、临床可报告范围和生物参考区间等进行验证,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 选取 2015 年 6 月山东省立医院门诊患者的预留样本 20 例,溶血、黄疸、脂血等标本剔除,均经 LIAISON 化学发光免疫分析仪检测 TORCH,用于线性分析验证,上述所有样本均为日常检测剩余标本。

1.2 仪器与试剂 LIAISON 化学发光免疫分析仪,由意大利索灵公司所生产,拥有 15 个试剂位,测试速度达每小时 180 个测试,目前可检测项目有 80 多项。检测试剂为索灵原装试剂,仪器所使用的程序、试剂、校准品、质控品均由厂家提供,校准品和质控品的标识值必须与分析系统的方法、程序相一致。试剂批号 Tox IgG (004066X/1)、Tox IgM (035099X)、Rub IgG (036078X/1)、Rub IgM (037099X/1)、CMV IgG (161024X)、CMV IgM (167017X/1)、HSV IgG (075061X/1)、HSV IgM (077058X)及质控品批号(包括低值、高值 2 个水平)Tox IgG (8370310、8380310)、Tox IgM (5380320、5610320)、Rub IgG (5180330、5550330)、Rub IgM (5190330、5560330)、CMV IgG (1640060、1650060)、CMV IgM (2520080、2530080)、HSV IgG (6680320、6690320)、HSV IgM (6720320、6860350)。

1.3 方法

1.3.1 准确度验证 参加 2015 年国际室间质评计划(RIQAS),提供的室间质量评价材料(一般为 5 份)进行 1 次测定,其测定结果与回报靶值及可接受限进行比对以 RIQAS 国际室间质评结果为依据,成绩在 80%以上者即为验证通过。

1.3.2 精密度验证 根据 NCCLS-EP5-A2 和美国临床实验室标准化协会(CLSI)EP15-A2 文件进行精密度验证。批内精密度检测按照临床标本相同的检测方法,同批次内检测相同的 20 份混合的新鲜临床标本。记录结果并计算均值(\bar{x})、标准差(s)和批内变异系数 CV(%);批间精密度检测将室内质控标本连续检测 20 d。记录结果并计算 \bar{x} 、 s 和批间精密度 CV(%). 计算批内和批间精密度的 \bar{x} 、 s 及变异系数 CV(%),计算结果必须符合 NCCLS 文件的标准,即批内

和批间精密度应小于该项目的分析质量目标,结果与厂家性能要求比较。

1.3.3 线性范围验证 根据 EP6-A2 和 EP7-A2 文件的要求,取高值和低值标本各 1 份,按如下配比制备不同浓度的标本,标本 1:低浓度标本;标本 2:3 份低浓度标本与 1 份高浓度标本混匀;标本 3:2 份低浓度标本与 2 份高浓度标本混匀;标本 4:1 份低浓度标本与 3 份高浓度标本混匀;标本 5:高浓度标本。检测时按标本 1 至标本 5、标本 5 至标本 1 排列,每个标本测量 2 次,记录浓度。以理论浓度为纵坐标(Y),实测浓度为横坐标(X)。由统计学计算出决定系数(r^2)和回归方程式 $Y=aX+b$ 。 $r^2 \geq 0.95$, a 在 0.97~1.03 判断为线性范围验证通过。

1.3.4 生物参考区间验证 收集 20 例健康人血清标本及时检测,要求其年龄性别等均匀分布。计算出比率(R) $\geq 95\%$ 的标本结果位于生物参考区间内为验证通过。

$$R = \frac{\text{检测值在参考区间的个体数}}{\text{总参考个体数}} \times 100\%.$$

1.3.5 可报告范围验证 采用高值样品,按 1:2、1:4、1:8、1:10 进行稀释,样品原倍均值结果作为样品的预期值,将样品进行稀释后得出的结果为检测值计算出偏差(S)。评价标准为 $-20\% \leq S \leq 20\%$ 。

$$S = \frac{\text{实测均值} - \text{预期值}}{\text{预期值}} \times 100\%.$$

2 结果

2.1 准确度验证结果 2015 年 RIQAS 国际室间质评提供的室间质量评价材料批号 201521~201525 的反馈结果依次为 Tox IgG(+、-、-、-、-),Tox IgM(-、+、-、-、-),Rub IgG(+、-、-、-、+),Rub IgM(-、-、-、-、+),CMV IgG(-、-、-、+、-),CMV IgM(-、-、-、+、-),HSV IgG(+、-、-、+、+),HSV IgM(-、-、-、-、+)检测结果的阴阳性与 LIAISON 化学发光免疫分析仪检测结果阴阳性均一致, LIAISON 化学发光免疫分析仪检验项目准确度的验证结果与质评反馈结果符合率为 100%,检验项目准确度的验证结果均为合格。

2.2 精密度验证结果 批内不精密度 CV 值在 3.58%~7.03%均小于规定的范围;批间不精密度 CV 值在 3.13%~10.73%。见表 1。

2.3 线性范围验证结果 对索灵化学发光免疫分析仪检测 TORCH 的分析范围进行评价,Tox IgG、Tox IgM、Rub IgG、Rub IgM、CMV IgG、CMV IgM、HSV IgG、HSV IgM 线性范围验证回归系数 a 值分别为 0.980 5、0.984 4、0.977 7、0.973 1、0.961 7、0.990 4、0.997 4、0.996 1; r^2 值为 0.997 5、0.996 9、0.997 1、0.998 6、0.996 1、0.997 3、0.997 4、0.997 9。以 CMV IgG、CMV IgM 线性统计结果为例,CMV IgG、CMV IgM 线性符合 EP6-A2 和 EP7-A2 文件的要求,见表 2、3 及图 1、2。

表 1 精密度验证

项目	批内精密度			批间精密度		
	\bar{x}	s	批内 CV(%)	\bar{x}	s	批间 CV(%)
Tox IgM	16.33	1.15	7.03	29.42	0.92	3.13
Tox IgG	43.17	2.13	4.93	34.07	2.98	8.75
Rub IgM	99.72	6.60	6.61	65.84	3.02	4.59
Rub IgG	63.17	3.04	4.82	139.35	4.67	3.35
CMV IgM	32.00	1.15	3.58	27.59	2.27	8.23
CMV IgG	152.22	6.03	3.96	142.57	4.77	3.35
HSV IgM	1.96	0.12	6.34	0.68	0.07	10.73
HSV IgG	8.95	0.35	3.86	3.07	0.24	7.92

表 2 CMV IgG 线性统计结果(U/mL)

编号	第 1 次	第 2 次	均值	理论值
1	5.1	5.6	5.4	5.9
2	46.2	48.9	47.6	46.7
3	79.8	85.6	82.7	87.5
4	121.4	131.6	126.5	128.2
5	174.8	179.3	177.1	169.0

表 3 CMV IgM 线性统计结果(U/mL)

编号	第 1 次	第 2 次	均值	理论值
1	8.6	7.1	7.9	7.4
2	37.6	39.3	38.5	41.2
3	73.8	67.8	70.8	75.0
4	105.0	104.8	104.9	108.8
5	142.7	146.9	144.8	142.6

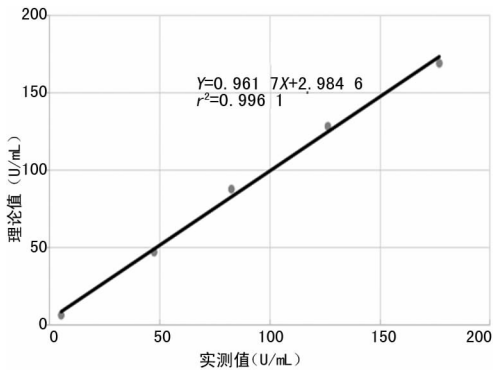


图 1 CMV IgG 线性评价示意图

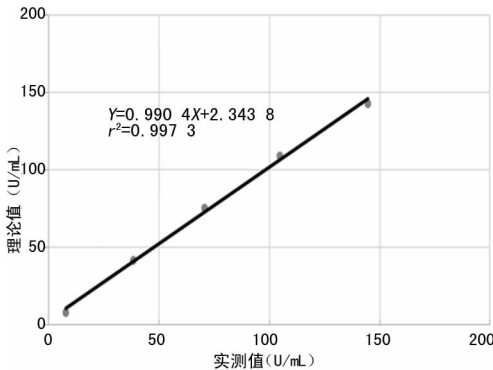


图 2 CMV IgM 线性评价示意图

2.4 生物参考区间验证 8 项检测的生物参考区间均在厂商提供的生物参考区间的范围之内即 Tox IgM、Tox IgG、Rub IgM、Rub IgG、CMV IgM、CMV

IgG、HSV IgM、HSV IgG 的生物参考区间分别为3~8 AU/mL、3~8.8 IU/mL、10~25 AU/mL、5~11 IU/mL、5~22 U/mL、5~14 U/mL、0.5~1.1 Index、0.5~1.1 Index。以 Tox IgG、Tox IgM 检测为例,生物参考区间验证结果见表 4、5。

表 4 Tox IgM 生物参考区间验证(AU/mL)

标本号	检测结果	标本号	检测结果
1	3.46	11	4.57
2	3.67	12	6.24
3	4.57	13	5.18
4	5.78	14	4.27
5	3.59	15	4.24
6	4.29	16	3.45
7	4.58	17	5.25
8	3.63	18	4.23
9	5.38	19	3.74
10	4.32	20	5.46

表 5 Tox IgG 生物参考区间验证(IU/mL)

标本号	检测结果	标本号	检测结果
1	3.43	11	3.65
2	3.56	12	3.89
3	4.35	13	4.29
4	5.98	14	5.37
5	3.75	15	3.98
6	5.78	16	4.58
7	4.35	17	3.89
8	5.35	18	4.92
9	4.25	19	5.39
10	4.78	20	3.75

3 讨论

LIAISON 化学发光免疫分析仪检测 TORCH 采用超顺磁微粒的固相载体,用化学发光法进行检测[8]。LIAISON 闪烁化学发光是基于异鲁米诺衍生物(ABEI),它作为标记物结合在抗体或抗原表面,反应由激发液触发。本反应完全在封闭系统内进行。根据仪器说明书提示,说明书上提供的参数都是厂家在最佳条件下完成的,这与本科室的水质、电压的稳定性,实验室环境温湿度,实验室人员的操作等实际外部条件均存在差异。因此,本科室对 LIAISON 上开展的 TORCH 共 8 个项目进行了方法学性能验证。

准确度验证中通过 RIQAS 国际室间质评,其测定结果与回报靶值及可接受限进行比对以 RIQAS 国际室间质评结果为依据, LIAISON 化学发光免疫分析仪检验项目准确度的验证结果与质评反馈结果符合率为 100%。表明检测系统准确度的性能符合要求,准确度高。

精密度是免疫定量测定中最基本的性能指标,反应检测结果的重复性。EP5-A2 要求对仪器进行精密度验证,从而客观的评价仪器的工作性能。根据美国临床实验室室间质量评估误差表中评价项目的允许误差范围,由实验数据统计的批内不精密度和批间不精密度小于允许误差的 1/4 和 1/3 作为检测系统不

精密度性能的可接受标准,且又小于厂商提供的精密度^[9-14]。本文测定的 TORCH 8 项结果的批内不精密度 CV 值在 3.58%~7.03%,均小于规定的范围,即批内 CV 值均小于 1/4 最低质量标准。批间不精密度 CV 值在 3.13%~10.73%,符合批间 CV 值均小于 1/3 最低质量标准,均符合厂商要求。说明仪器重复性好,结果稳定。

据文献[15]所述标本中物质的浓度在检测线性范围时,所测的结果均是可信的,即更接近被测物质的真实值。临床检验中心在生产厂家进行检定校准分析检测系统时,对厂家的线性范围进行了验证,验证结果与厂家提供的线性范围一致。本文对索灵化学发光免疫分析仪检测 TORCH 的分析范围进行评价,Tox IgG、Tox IgM、Rub IgG、Rub IgM、CMV IgG、CMV IgM、HSV IgG、HSV IgM 线性范围验证回归系数 a 值分别为 0.980 5、0.984 4、0.977 7、0.973 1、0.961 7、0.990 4、0.997 4、0.996 1; r^2 值为 0.997 5、0.996 9、0.997 1、0.998 6、0.996 1、0.997 3、0.997 4、0.997 9 均大于 0.95,线性均符合要求,默认厂家提供的线性范围为实验室的可报告范围。

根据试剂说明书提示,每个实验室都要建立自己的生物参考区间,而实际情况中实验室验证采用厂商提供的生物参考区间的居多。本研究严格按照 NCLLS EP-P2 文件和文献[16]的要求,生物参考区间进行实验前必须对检测系统进行性能评价。主要为精密度和准确度是否符合临床要求。在检测系统在控状态下检测实验标本,记录实验数据。健康参考个体选择要求;根据文献和实验研究,总结该项目检验结果产生生物变异和分析干扰的因素,确定参考个体的选择原则^[17]。个体来源于体检中心不同性别,年龄自愿体检者。验证结果,根据计算,R 值均为 100%,根据验证要求, $R \geq 95\%$ 即为验证通过。8 项检测的生物参考区间均在厂商提供的生物参考区间的范围之内即 Tox IgM、Tox IgG、Rub IgM、Rub IgG、CMV IgM、CMV IgG、HSV IgM、HSV IgG 的生物参考区间分别为 3~8 AU/mL、3~8.8 IU/mL、10~25 AU/mL、5~11 IU/mL、5~22 U/mL、5~14 U/mL、0.5~1.1 Index、0.5~1.1 Index,因此,本实验室采用试剂厂家提供的生物参考区间。

综上所述,本研究对索灵化学发光免疫分析仪厂家提供的 TORCH 检测的精密性、准确性、线性范围和可报告范围、生物参考区间的验证,为临床提供了准确、可靠的依据,精密性、线性范围、准确性、携带污染率及参考范围的测定参数均符合该仪器技术要求。

参考文献

[1] NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Method comparison and bias citi-

mation using patient samples; EP9-A2[S]. Wayne, PA, USA; NCCLS, 2002.

[2] NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; EP5-A2[S]. Wayne, PA, USA; NCCLS, 2004.

[3] CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. User verification of performance for precision and trueness; EP15-A2[S]. Wayne, PA, USA; CLSI, 2005.

[4] NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures; EP6-A2[S]. Wayne, PA, USA; NCCLS, 2003.

[5] INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Medical laboratories-Requirements for quality and competence; ISO15189[S]. International Organization for Standardization, 2012.

[6] 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: 中华人民共和国卫生部, 2006.

[7] 田兴珍, 陆建刚, 曹东, 等. ADVIA centaur XP 化学发光免疫分析系统性能验证方法[J]. 宁夏医科大学学报, 2013, 35(8): 947-949.

[8] 林金明. 生物检测技术中的化学发光免疫分析方法研究[J]. 分析化学, 2009, 37(1): 95.

[9] 陈海斌. 化学发光免疫分析技术及其进展[J]. 中国医学装备, 2011, 8(5): 56-59.

[10] 杨丽, 何叶莉, 王晗, 等. 罗氏 Cobas6000 全自动电化学发光分析仪检测 AFP、CEA 的性能验证[J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(6): 127-130.

[11] 徐春芝, 吴继明, 刘贵建, 等. 临床实验室检测系统精密性验证方法比较及应用体会[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(17): 2304-2305.

[12] 方宏翌. 罗氏 Modular 全自动生化分析仪酶指标精密性验证[J]. 医学信息, 2014, 15(9): 138-139.

[13] 梅丽春, 王凡, 蒋红君, 等. 电化学发光法检测甲胎蛋白的精密性验证[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(2): 250-251.

[14] 王强, 王东生, 凡瞿明, 等. LIAISON XL 免疫分析仪检测性能验证及评价[J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(4): 132-134.

[15] 周远青, 梁瑞莲, 吕伟标, 等. 应用 EP6-A2 方案评价自建检测系统中尿蛋白的线性范围[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(13): 1898-1899.

[16] 沈隽霏, 宋斌斌, 潘柏申. 间接法建立生物参考区间[J]. 检验医学, 2015, 23(4): 391-396.

[17] 邹麟, 张莉萍, 徐华健. Vitros5.1FS 自动生化分析仪生物参考区间验证[J]. 重庆医学, 2013, 42(3): 332-333.

(收稿日期: 2017-06-11 修回日期: 2017-09-29)