

• 短篇论著 •

## GLP 实验室生化检测系统的性能验证\*

赵映淑, 林应学, 黎良程, 刘 春<sup>△</sup>

(海南省药品检验所/海南省药物研究重点实验室, 海南海口 570216)

**摘要:**目的 在良好实验室规范(GLP)体系下,对生化试剂改变后 7100 型全自动生化分析仪的性能进行验证。方法 根据美国临床和实验室标准化协会的评价标准,选择丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、 $\gamma$ -谷氨酰基转肽酶、碱性磷酸酶、总蛋白、清蛋白、总胆红素、总胆固醇、血糖、三酰甘油、肌酸激酶、尿素和肌酐 13 项生化指标,对 7100 型生化分析仪精密度、准确性、线性和携带污染率进行验证。结果 13 项生化指标批内变异系数(CV%) $<1/4$  美国临床实验室修正法规(CLIA'88)允许总误差(TEa),批间 CV% $<1/3$  CLIA'88 TEa;准确度检测值与靶值比较,相对偏差 $<1/3$  CLIA'88 TEa;线性验证相关系数均 $>0.995$ ,且线性偏差 $<1/2$  CLIA'88 TEa;携带污染率均 $<0.5\%$ 。结论 经 GLP 条件下的性能验证,该日立 7100 型全自动生化分析仪在更换试剂后各方面性能良好,可用于毒理学试验中的临床检验工作。

**关键词:**实验室技术和方法; 生物化学/仪器和设备; 指示剂和试剂; 精密度; 准确度; 线性; 性能验证

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.01.030

中图法分类号:R446.112

文章编号:1673-4130(2019)01-0115-04

文献标识码:B

生化检测体系(系统)由生化分析仪与检测试剂及其校准品组成,该体系的性能在一定程度上受仪器本身和(或)试剂的影响,在进行常规工作前应该对其性能进行分析评价,以证实其能满足预期要求<sup>[1-2]</sup>。除在仪器首次使用前进行安装验证、操作验证和性能验证外,仪器安装地点发生改变、有过重大维修、控制系统或检测方法发生改变也应该视情况对仪器重新进行 3Q 验证<sup>[3-4]</sup>。这也是良好实验室规范(GLP)对仪器设备验证的最基本要求<sup>[5-7]</sup>。医学实验室质量和能力认证也要求仪器设备在常规使用中能达到规定的性能指标<sup>[8-10]</sup>。本实验室由日立 7100 型全自动生化分析仪与日本和光试剂及其校准品组成的生化检测体系在首次使用前已进行 3Q 验证,运行稳定良好,但因其运行成本较高,考虑使用国产试剂进行替代,故该体系的有效性必须加以验证<sup>[11]</sup>。本研究所述生化指标体系改变后的验证,是在 GLP 条件下,以 7100 型日立全自动生化分析仪为依托,基于检测试剂改变(更换为国产科华生化检测试剂)后,选择血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、 $\gamma$ -谷氨酰基转肽酶(GGT)、碱性磷酸酶(ALP)、总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、总胆红素(TBIL)、总胆固醇(TC)、血糖(GLU)、三酰甘油(TG)、肌酸激酶(CK)、尿素(Ur)和肌酐(Cr)13 项常规生化指标进行精密

度、准确性、线性和携带污染率等性能验证。

## 1 材料与方法

**1.1 样本来源** 质控血清 I (批号:TP738)、质控血清 II (批号:DP658)购于日本和光纯药株式会社,线性及携带污染率实验采用的血清样本由海南省肿瘤医院提供。

**1.2 仪器与试剂** 仪器为日立 7100 型全自动生化分析仪(日本日立高新技术株式会社)。ALT(批号:20170722)、AST(批号:20170222)、ALP(批号:20170812)、GGT(批号:20170712)、CK(批号:20170712)、TP(批号:20170122)、ALB(批号:20170612)、TBIL(批号:20170722)、TG(批号:20170412)、CHO(批号:20170322)、GLU(批号:20170712)、CERA(批号:20170622)、BUN(批号:20170512)及其校准品均购于上海科华生物工程有限公司。

## 1.3 方法

**1.3.1 精密度** 按照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)EP15-A2<sup>[12]</sup>文件要求,将高、低水平质控血清复溶后每天重复测定 3 次,连续测定 5 d,记录每天的测定结果,计算批内变异系数(CV%)及批间 CV%,并与美国临床实验室修正法规(CLIA'88)比较,若批内 CV% $<1/4$  允许总误差(TEa),批间 CV% $<1/3$ TEa 证明其性能良好。

**1.3.2 准确度** 将正常值质控血清连续测定 5 次,

\* 基金项目:海南省自然科学基金资助项目(20158364)。

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: hnzhaoysh@163.com。

本文引用格式:赵映淑,林应学,黎良程,等. GLP 实验室生化检测系统的性能验证[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(1): 115-118.

求平均值,与质控血清靶值进行比较采用相对偏差判断各项的准确度<sup>[13]</sup>。相对偏差=(检测值-靶值)/靶值×100%。偏差小于 CLIA'88 对检测项目分析质量要求的 TEa 的 1/3 则判定测定结果准确、可靠。

**1.3.3 线性** 根据 CLSI EP6-P2<sup>[14]</sup> 文件要求进行实验。将高值(H)、低值(L)血清按一定比例混合(H、4H+1L、3H+2L、2H+3L、1H+4L、L),每个混合物重复检测 4 次,取均值。以稀释度为横轴、每个稀释度的测量均值为纵轴进行线性回归,根据线性回归方程求出每个稀释度的理论浓度,计算每一稀释度下实测浓度和理论浓度的差异,即线性偏差。若相关系数( $R^2$ )>0.995、线性偏差≤1/2TEa 则可判断测定方法在实验所涉及的浓度范围内成线性。

**1.3.4 携带污染率** 根据 CLSI EP10-A2 文件要求<sup>[15]</sup>,将低水平血清分为 3 份(分别为 L1、L2、L3)和一份高水平血清(H),按 L1、L2、H、L3 顺序排列进行测定,根据携带污染率计算公式 [(L3-L2)/H ×

100%],计算每项携带污染率,<0.5%为合格。

**1.4 统计学处理** 采用 Excel2003 软件对数据进行分析。

**2 结 果**

**2.1 精密度及准确度实验** 13 项生化指标水平 I 和水平 II 的批内 CV% 和批间 CV% 分别小于基于生物学变异确定 1/4 CLIA'88 和 1/3 CLIA'88,均符合性能要求,说明该仪器具有较高的精密度。见表 1。标准质控血清水平 I 和水平 II 测定值与靶值的相对偏差均小于 CLIA'88 对检测项目分析质量要求的总允许误差的 1/3,13 项生化指标中有 10 项相对偏差均在±3%以内,其余 3 项指标也均符合该仪器的准确度要求。见表 2。

**2.2 线性实验** 13 项生化指标的线性决定系数  $R^2$  值均>0.995,说明该仪器在定值血清的稀释范围内呈良好的线性关系。见表 3。

表 1 精密度检测结果与性能比较 (n=5)

检测项目	水平 I		水平 II		1/4TEa (CLIA'88)	1/3TEa (CLIA'88)
	批内 CV%	批间 CV%	批内 CV%	批间 CV%		
ALT(U/L)	3.18	2.65	0.66	0.65	5.00	6.67
AST(U/L)	1.52	0.23	2.67	0.76	5.00	6.67
GGT(U/L)	1.19	0.46	1.41	0.51	5.00	6.67
ALP(U/L)	0.83	0.39	1.06	0.56	7.50	10.00
TP(g/L)	0.60	0.33	0.50	0.49	2.50	3.33
ALB(g/L)	0.45	0.79	0.62	0.69	2.50	3.33
TBIL(μmol/L)	0.85	0.50	0.98	0.60	5.00	6.67
TC(mmol/L)	0.42	0.57	0.44	0.76	2.50	3.33
GLU(mmol/L)	0.73	0.44	0.88	0.69	2.50	3.33
TG(mmol/L)	0.29	0.57	0.39	0.50	6.25	8.33
CK(U/L)	0.69	0.48	0.90	0.43	7.50	10.00
Ur(mmol/L)	0.61	0.58	1.08	0.51	2.25	3.00
Cr(μmol/L)	1.15	0.41	1.78	0.73	3.75	5.00

表 2 准确度检测结果与性能比较 (n=5)

检测项目	水平 I			水平 II			1/3TEa (CLIA'88)
	靶值	检测值	相对偏差(%)	靶值	检测值	相对偏差(%)	
ALT(U/L)	31.00	31.00	0.00	100.00	104.00	-4.67	6.67
AST(U/L)	41.00	38.33	6.50	189.00	192.00	-1.41	6.67
GGT(U/L)	39.00	38.00	2.56	148.00	149.00	-0.90	6.67
ALP(U/L)	97.00	94.00	3.44	400.00	402.00	-0.42	10.00
TP(g/L)	64.00	62.30	2.66	39.90	41.10	-2.92	3.33
ALB(g/L)	39.00	36.20	7.18	27.00	26.60	1.60	3.33
TBIL(μmol/L)	17.10	17.39	-1.68	70.11	71.53	-2.03	6.67

续表 2 准确度检测结果与性能比较 (n=5)

检测项目	水平 I			水平 II			1/3TEa (CLIA'88)
	靶值	检测值	相对偏差(%)	靶值	检测值	相对偏差(%)	
TC(mmol/L)	6.44	6.18	4.09	2.56	2.52	1.69	3.33
GLU(mmol/L)	4.55	4.05	10.92	16.60	16.40	1.49	3.33
TG(mmol/L)	2.03	1.99	2.13	0.93	1.01	-8.24	8.33
CK(U/L)	137.00	135.67	0.97	413.00	431.00	-4.44	10.00
Ur(mmol/L)	6.07	5.19	14.55	19.17	18.60	2.97	3.00
Cr( $\mu$ mol/L)	55.81	55.67	-1.56	491.50	493.67	-0.44	5.00

表 3 线性检测结果 (n=4)

检测项目	线性公式	R <sup>2</sup>	测定线性范围	验证线性范围	1/2TEa(CLIA'88)	结论
ALT(U/L)	Y=197.09X-206.95	0.998 2	5.19~1 000.00	1.00~962.50	10.0	合格
AST(U/L)	Y=36.35X-27.60	0.999 6	7.10~1 000.00	10.50~191.50	10.0	合格
GGT(U/L)	Y=29.129X-25.033	0.999 6	6.570~450.000	4.750~149.500	10.0	合格
ALP(U/L)	Y=149.79X-127.33	0.999 5	0.00~1 000.00	28.00~767.25	15.0	合格
TP(g/L)	Y=17.961X-16.315	0.999 5	1.740~100.000	1.430~90.050	5.0	合格
ALB(g/L)	Y=6.583X-3.098	0.999 7	0.310~60.00	3.40~36.130	5.0	合格
TBIL( $\mu$ mol/L)	Y=12.778X-5.268	0.999 7	2.000~684.00	7.140~71.520	10.0	合格
TC(mmol/L)	Y=1.098X-0.456	0.998 8	0.090~25.850	0.610~6.180	5.0	合格
GLU(mmol/L)	Y=2.716X-1.080	0.999 1	0.000~25.000	1.540~15.350	5.0	合格
TG(mmol/L)	Y=1.767X-1.698	0.999 7	0.050~11.300	0.020~8.790	12.5	合格
CK(U/L)	Y=86.360X-84.467	0.998 7	16.000~2 000.000	4.500~432.250	15.0	合格
Ur(mmol/L)	Y=3.114X-1.665	0.999 6	0.590~35.700	1.600~17.180	4.5	合格
Cr( $\mu$ mol/L)	Y=99.093X-96.700	0.999 7	12.700~8 840.000	5.000~495.000	7.5	合格

2.3 样品携带污染率实验 13 项生化指标检测的携带污染率均 < 0.5%, 说明前一个样品对下一个样品测定结果不存在影响, 符合该仪器的基本要求。见表 4。

表 4 携带污染率检测结果

检测项目	携带污染率(%)	允许污染率(%)	结果
ALT(U/L)	-0.10	0.50	合格
AST(U/L)	0.00	0.50	合格
GGT(U/L)	0.00	0.50	合格
ALP(U/L)	-0.17	0.50	合格
TP(g/L)	-0.33	0.50	合格
ALB(g/L)	-0.39	0.50	合格
TBIL( $\mu$ mol/L)	0.14	0.50	合格
TC(mmol/L)	0.16	0.50	合格
GLU(mmol/L)	0.00	0.50	合格
TG(mmol/L)	0.00	0.50	合格
CK(U/L)	-0.20	0.50	合格
Ur(mmol/L)	-0.12	0.50	合格
Cr( $\mu$ mol/L)	0.20	0.50	合格

### 3 讨论

本研究依据 CLIA'88 对 13 个常规生化项目检测的精密度、准确度及线性偏差的结果进行了判定, 结果显示, 批内 CV% < 1/4 CLIA'88TEa, 批间 CV% < 1/3 CLIA'88TEa; 准确度相对偏差明显小于 1/3 CLIA'88TEa; 线性验证 R<sup>2</sup> 均 > 0.995, 线性偏差均 < 1/2 CLIA'88 TEa。表明该仪器检测重复性、准确性和线性良好, 也说明国产试剂和校准品与日立 7100 型全自动生化分析仪构成的新检测体系符合质量要求, 能保证毒理学研究中的临床检验工作。

GLP 实验室的临检对象是实验动物, 一般以提供客观检测数据为主, 不涉及疾病诊断, 在检测方法、仪器选择和结果解释方面与临床存在差异, 且实验动物饲养和样品采集的标准化也使临床常见的干扰现象减少。除定期测试精密度、准确度、线性范围和携带污染率外, 首次验证还应该考虑最低检测限和最大稀释度。

综上所述, 经 GLP 条件下的性能验证, 本实验室日立 7100 型全自动生化分析仪在更换试剂后各方面性能良好。

## 参考文献

- [1] 崔明,王惠民,鞠少卿,等. Excel 在评价 XE-2100 全自动血细胞分析仪精密度的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2017,38(23):3240-3242.
- [2] 蒋红君,蒋杰,王凡. 全自动生化分析仪的检测精密度、正确度评价及参考区间的验证[J]. 国际检验医学杂志, 2013,34(9):1147-1148.
- [3] 于森琛,孙芹敏,姜凤全. 强生 VITROS 5600 全自动生化免疫分析仪性能验证报告[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(1):56-60.
- [4] 贾栗,赵瑞勤,赵君,等. GLP 体系下生化分析仪的 3Q 验证过程及要点[J]. 军事医学, 2013,37(10):752-755.
- [5] 吕会田. GLP 条件下实验仪器的验证和管理[J]. 中国药理学与病毒学杂志, 2013,27(3):457.
- [6] 张谦,张微,吕晓丽,等. GLP 体系下全自动血凝分析仪的 3Q 验证[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(23):3241-3245.
- [7] 刘晓萌,谢寅,孟建华,等. GLP 实验室仪器验证的质量保证[J]. 中国药理学与病毒学杂志, 2013,37(3):607.
- [8] 林海标,范雪莲,王建兵,等. 分析和评价强生 Vitros 5. 1 FS 生化仪的精密度和正确度[J]. 检验医学与临床,

2014,11(15):2047-2048.

- [9] 郑自立,李燕. 罗氏 cobas8000 全自动生化分析仪检测系统性能验证试验[J]. 检验医学与临床. 2013, 10(1):78-80.
- [10] 陈渊博,郑文婷,尹志军,等. CA7000 全自动凝血仪性能验证[J]. 国际检验医学杂志, 2013,34(2):209-211.
- [11] 刘玉侠,张凡,李兴武. COBAS 8000 生化分析仪的性能评价[J]. 蚌埠医学院学报, 2015,40(11):1567-1569.
- [12] Clinical and Laboratory Standards Institute. User verification of performance for precision and trueness; EP15-A2 [S]. Wayne, PA USA: CLSI, 2006.
- [13] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社, 2015:1017-1018.
- [14] National Committee for Clinical Laboratory. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach; EP6-P2 [S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2003.
- [15] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Preliminary Evaluation of Quantitative Laboratory Methods; EP10-A2[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2004.

(收稿日期:2018-08-12 修回日期:2018-10-18)

(上接第 114 页)

- [17] LAU Y L, LAI M Y, TEOH B T, et al. Colorimetric detection of dengue by single tube Reverse-Transcription-Loop-Mediated isothermal amplification[J]. PLoS One, 2015,10(9):e0138694.
- [18] DAMHORST G L, DUARTE-GUEVARA C, CHEN W, et al. Smartphone-Imaged HIV-1 Reverse-Transcription Loop-Mediated isothermal amplification (RT-LAMP) on a chip from whole blood[J]. Engineering (Beijing), 2015, 1(3):324-335.
- [19] CHANDER Y, KOELBL J, PUCKETT J, et al. A novel thermostable polymerase for RNA and DNA loop-mediated isothermal amplification(LAMP)[J]. Front Microbiol, 2014,5(3):395.
- [20] ZHANG Y, YAO Y, DU W, et al. Development of loop-mediated isothermal amplification with Plasmodium falciparum unique genes for molecular diagnosis of human malaria[J]. Pathog Glob Health, 2017,111(5):247-255.
- [21] POOLE C B, ETTWILLER L, TANNER N A, et al. Genome filtering for new DNA biomarkers of Loa loa infection suitable for Loop-Mediated isothermal amplification [J]. PLoS One, 2015,10(9):e0139286.
- [22] NZELU C O, GOMEZ E A, CACERES A G, et al. Devel-

opment of a loop-mediated isothermal amplification method for rapid mass-screening of sand flies for Leishmania infection[J]. Acta Trop, 2014,132(2):1-6.

- [23] NKOUAWA A, SAKO Y, OKAMOTO M, et al. Simple identification of human taenia species by multiplex Loop-Mediated isothermal amplification in combination with dot Enzyme-Linked immunosorbent assay[J]. Am J Trop Med Hyg, 2016,94(6):1318-1323.
- [24] TANNER N A, ZHANG Y, EVANS T C J R. Visual detection of isothermal nucleic acid amplification using pH-sensitive dyes[J]. Biotechniques, 2015,58(2):59-68.
- [25] MORI Y, KANDA H, NOTOMI T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): recent progress in research and development[J]. J Infect Chemother, 2013,19(3):404-411.
- [26] WATTS M R, JAMES G, SULTANA Y, et al. A Loop-Mediated isothermal amplification (LAMP) assay for strongyloides stercoralis in stool that Uses a visual detection method with SYTO-82 fluorescent dye [J]. Am J Trop Med Hyg, 2014,90(2):306-311.

(收稿日期:2018-08-08 修回日期:2018-10-14)