

• 短篇论著 •

罗氏 Cobas e602 电化学发光分析仪分析性能验证

张兴宗, 施雄飞, 邹映东, 张清文, 林 云[△]

(云南省中医医院检验科, 云南昆明 650021)

摘要:目的 对罗氏 Cobas e602 电化学发光分析仪检测项目糖类抗原 19-9(CA19-9)、糖类抗原 15-3(CA15-3)、人绒毛膜促性腺激素(hCG)、促甲状腺激素(TSH))的精密密度、正确度、线性范围及参考区间性能指标进行验证, 确认电化学发光检测系统性能是否达到要求, 以保证检测系统性能符合质量目标。方法 根据美国临床实验室标准化研究所(NCCLS)文件(EP5-A2、EP15-A2、EP6-A2)及中华人民共和国卫生行业标准《WS/T 402-2012 临床实验室检验项目参考区间的制定》的相关文件, 对检测系统进行性能验证。结果 罗氏 Cobas e602 电化学发光分析仪精密密度、正确度、线性范围及参考区间性能指标均验证通过。结论 罗氏 Cobas e602 电化学发光分析仪检测性能符合要求, 能提供准确可靠的检测结果满足临床需求。

关键词:电化学发光; 精密密度; 正确度; 线性范围; 参考区间

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.03.027

中图法分类号:R-331

文章编号:1673-4130(2019)03-0368-03

文献标识码:B

根据 ISO15189 CNAS-CL02:2012《医学实验室质量和能力认可准则》的规定, 对开展新的检测项目, 更换检测系统或改变检测试剂盒厂商时, 实验室需对其相关方法学分析性能进行验证, 对厂商提供的评价资料主要性能进行确认, 并每年定期对仪器进行性能验证^[1]。本文根据 NCCLS(EP5-A2、EP15-A2、EP6-A2)文件及中华人民共和国卫生行业标准《WS/T 402-2012 临床实验室检验项目参考区间的制定》的相关文件^[2-5], 对罗氏 Cobas e602 电化学发光分析仪进行性能验证, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 血清样品来自于本院临床科室送达检验科的送检标本及健康体检中心体检标本。

1.2 标本采集及保存 采集空腹静脉血 3~5 mL 于一次性真空干燥管中, 室温放置 30 min, 以 3 000 r/min 离心 5 min, 分离血清后于 2~8 °C 冷藏保存, 5 d 内完成各项指标的验证工作。

1.3 仪器与试剂 仪器: 罗氏 Cobas e602 电化学发光分析仪; 试剂: 罗氏公司糖类抗原 19-9(CA19-9)批号 23161201、糖类抗原 15-3(CA15-3)批号 20990001、促绒毛膜性腺激素(hCG)批号 24044401、促甲状腺激素(TSH)批号 24169301, 同时期罗氏配套校准品及质控品。

1.4 方法 依据 NCCLS 各项文件, 对罗氏 Cobas e602 电化学发光分析仪精密密度、正确度、线性范围、参考区间指标进行性能验证。

1.4.1 精密密度验证 依据 NCCLS EP5-A2 对精密密度进行验证。选取 2 个浓度水平接近试剂说明书所声明浓度相似的样本(日常检测样本血清), 连续检测

5 d, 每日 2 个浓度水平分析 1 批, 每一水平同一样本做 4 次重复测定且于 2 h 内完成。计算批内(重复性)不精密度和总(中间/室内)不精密度。批内不精密度: $<1/4$ 生产厂商试剂说明书中声明的不精密度。总不精密度(中间/室内): $<1/3$ 生产厂商试剂说明书中声明的不精密度为验证通过。

1.4.2 正确度验证 依据 NCCLS EP15-A2 及卫生部 EQA 室间质评计划质评结果回执。以最近 2 次参加卫生部临床检验中心 EQA 室间质评回报的 10 个检测结果数据为依据, 对回馈的报告进行相应的数据统计分析。计算本室上报数据与回报结果设定的靶值的回收率, 回收率计算公式: $\text{回收率} = (\text{本室上报值} / \text{回报靶值}) \times 100\%$, 回收率控制在 90%~110%之间且偏移(Bias) $<1/2TEa$, 偏移计算公式: $\text{偏移} = (\text{本室上报值} - \text{回报靶值}) / \text{回报靶值} \times 100\%$, 则该项目正确度符合要求, 验证通过。

1.4.3 线性范围验证 依据 NCCLS EP6-A2 对线性范围进行验证。选择患者新鲜血清, 使用单独或混合的方式获取高值和低值样品浓度(严格按照试剂说明书进行选择), 使其与厂家声明的线性范围上限接近(高于上限约 20%~30%浓度更好)。使用低值(L)、高值(H)血清按一定比例关系配制形成系列浓度的混合血清, 各取份数按照 5L、4L+1H、3L+2H、2L+3H、1L+4H、5H 的比例配置混合, 形成系列验证样品。计算出以上 6 个样品的理论浓度, 并对配制的 6 个样品进行重复测定, 每份样品重复测定 2 次, 所有测定在 1 个分析批 2 h 内完成, 将实测值与理论值作比较。采用平均斜率法计算回归方程: $Y = bX + a$, 斜率 b 在 0.97~1.03 且 $r^2 \geq 0.95$, a 与 0 做 t 检验

[△] 通信作者, E-mail: ynszyyy@126.com。

本文引用格式: 张兴宗, 施雄飞, 邹映东, 等. 罗氏 Cobas e602 电化学发光分析仪分析性能验证[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(3): 368-370.

判断是否有差异性,所有数据在范围内则线性范围通过验证。

1.4.4 参考区间验证 依据卫生行业标准《WS/T 402-2012 临床实验室检验项目参考期间的制定》的规定,随机选择 20 例表面健康、体检合格的健康体检者,抽取样本进行检测。对结果进行统计并与试剂说明书提供的参考区间进行比较。 $\geq 90\%$ 以上的检测结果在参考区间范围内(判定标准 $R = \text{测定结果在参考范围的例数} / \text{总测定例数} \times 100\%$,结果 $\geq 90\%$ 为合格)说明该参考区间符合对健康人群的筛选,即参考区间验证通过。

表 1 2 个水平血清批内不精密度及总不精密度(中间/室内)结果

测定项目	水平 1			水平 2			1/4TEa	1/3TEa	验证结果
	均值	批内 CV(%)	总 CV(%)	均值	批内 CV(%)	总 CV(%)			
CA19-9	10.92	1.95	4.22	38.47	1.66	1.72	6.25	8.33	通过
CA15-3	23.99	2.49	3.55	97.14	2.30	2.07	6.25	8.33	通过
hCG	4.39	2.90	3.46	671.69	1.29	1.45	6.25	8.33	通过
TSH	1.21	1.72	1.57	4.29	1.72	1.53	6.25	8.33	通过

表 2 线性范围验证结果

测定项目	测量线性范围	实验验证范围	回归方程	r^2	验证结果
CA19-9	0.6~1 000	2.7~1 007.7	$Y = 1.003X + 3.21$	0.995	通过
CA15-3	1.0~300	1.98~317.2	$Y = 0.997X + 2.74$	0.999	通过
hCG	0.1~10 000	0.1~11 093.6	$Y = 1.0037X + 3.32$	0.995	通过
TSH	0.005~100	0.01~114.8	$Y = 0.998X + 2.74$	0.999	通过

2.4 参考区间 检测项目 CA19-9、CA15-3、hCG、TSH 所选 20 例健康体检者,检测结果有 19 例或 20 例在参考区间内,即 95% 以上的检测结果在参考区间内,R 值依次为 100%、95%、100%、95%,均符合 $\geq 90\%$ 的判断验证标准,说明该参考区间符合对健康人群的筛选,参考区间验证通过。

3 讨 论

对检测系统进行主要性能评价,是检验质量的重要保证,其分析性能能够满足临床要求是医学实验室认可和检验结果互认的根本保证^[6]。检验人员也应对所使用仪器的性能全面了解,才能更好地完成临床检验工作。检测系统的验证项目通常包括准确度、精密度、线性范围、参考区间等性能指标,达到厂家所声明的范围即为验证通过。

回归方程 b 值均在 1.00 ± 0.03 范围内,相关系数 $r \geq 0.975$,表明本仪器线性范围良好,在线性范围内的检测结果准确可靠。参考区间是指依据所有参考值的分布特性以及临床使用要求,选择合适的统计方法进行归纳分析后确定的限值,包括参考上限和参考下限,90% 以上的健康人群检测结果在参考区间范围内,说明该参考区间符合对健康人群的筛选^[11]。参

2 结 果

2.1 精密度验证结果 精密度验证通过,见表 1。

2.2 正确度验证 以 2017 年(最近)2 次参加卫生部临床检验中心 EQA 室间质量回报的 10 个检测结果数据为依据,对回馈的报告进行相应的数据统计分析。计算本科室上报的数据和设定靶值的回收率及平均偏移(Bias),4 项检测项目回收率均控制在 90%~110% 之间且 $Bias < 1/2TEa$,所有项目正确度符合要求,验证通过。

2.3 线性范围验证 线性范围验证通过,见表 2。

考区间验证均通过,说明厂商提供的参考区间适用于健康人群筛查,符合临床要求。

本实验研究分别选取 2 项激素和标志物进行研究,目的是对电化学发光检测系统制定出切实可行的验证方案,以此方案对其他激素检测项目及标志物检测项目依次进行验证。根据国家相关要求,医学实验室每年必须对所有检测项目进行 1 次验证,以保证检测结果的准确性。在实际工作中,本实验室已对目前所开展的 35 个电化学发光检测项目进行验证,以保证检测结果达到质量目标要求。本次研究表明,根据 NCCLS 及相关文件要求,对罗氏电化学发光系统主要性能指标精密度、正确度、线性范围、参考区间与厂家提供的资料比较,均达到厂家声明的性能标准,各项指标性能均验证通过,说明该 4 项检测项目能为临床诊断和治疗提供准确的检测结果,满足临床需求。在今后的研究中,应对其他性能指标,如:灵敏度、特异度、临床可报告范围以及存在性别、年龄,甚至生理周期不同的不同参考区间等性能指标进行验证。NCCLS 及相关文件要求中,对部分指标的验证方法按不同的验证等级提供给用户进行选择,用户在实验室条件允许的情况下,应选择使用更高级别的方法对相应

性能指标进行验证,以保证验证方法的权威性及可行性,为临床提供准确可靠的检测结果。

参考文献

- [1] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-CL02 医学实验室质量和能力认可准则(ISO15189:02)[S]. 北京:中国标准出版社,2012.
- [2] Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods: EP5-A2 [S]. PA, USA: NC-CLS, 2004.
- [3] NCCLS. User demonstration of performance for precision and accuracy: EP15-A2[S]. PA, USA: NCCLS, 2004.
- [4] National Committee for Clinical Laboratory standards. EP6-A E-evaluation of the Linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach: Approved Guideline[S]. Wayne, PA, AUS: NCCLS, 2003.
- [5] 周涛,马润,王玉明,等. 25 个常规生化检验项目的参考区间验证[J]. 国际检验医学杂志,2017,8(9):1253-1255.
- [6] 李金明,申子瑜. 正确认识临床实验室认可与提高检验质量之间的关系[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(2):136-139.
- [7] 李金明,刘辉. 临床免疫学检验技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2015:239-240.
- [8] 魏松,陈秋序,李宜珊,等. 罗氏电化学发光免疫分析仪检测系统的性能验证[J]. 国际检验医学杂志,2018,39(2):223-225.
- [9] 杨有业,张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:118.
- [10] 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.
- [11] 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:2018-08-10 修回日期:2018-10-21)

• 短篇论著 •

外周血 T 淋巴细胞亚群在白血病情监测及疗效判定中的检测价值

王 韧,刘佩佳,闫永毅[△]

(哈尔滨医科大学附属第二医院检验科,黑龙江哈尔滨 150001)

摘要:目的 探讨外周血 T 淋巴细胞亚群在白血病情检测及预后判定中的检测价值。方法 选取该院 2015 年 1 月至 2016 年 12 月收治的 190 例白血病患者及 190 例健康志愿者(对照组)为研究对象,其中白血病又分为急性白血病(AL)125 例和慢性白血病(CL)65 例。采用免疫荧光法测定白血病患者及对照组的外周血 T 淋巴细胞亚群的水平,对各分组的水平进行比较和分析。结果 CL 组的 CD3⁺、CD4⁺ 水平低于 AL 组和对照组,AL 组的 CD3⁺ 水平高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。AL 组的 CD8⁺ 水平高于对照组和 CL 组,AL 组和 CL 组的 CD4⁺/CD8⁺ 低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。急性淋巴细胞性白血病(ALL)组、急性髓细胞性白血病(AML)的 CD3⁺ 水平高于对照组,ALL 组的 CD4⁺ 水平低于 AML 组和对照组,ALL 组、AML 组的 CD8⁺ 水平高于对照组,ALL 组、AML 组的 CD4⁺/CD8⁺ 低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。慢性淋巴细胞性白血病(CLL)组的 CD3⁺ 水平低于慢性髓细胞性白血病(CML)和对照组,CLL 组和 CML 组的 CD4⁺ 水平低于对照组,CML 组的 CD8⁺ 水平高于对照组和 CLL 组,CLL 组和 CML 组的 CD4⁺/CD8⁺ 低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。AL 预后良好组的 CD3⁺、CD8⁺ 水平低于预后不良组,CD4⁺/CD8⁺ 高于预后不良组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。CL 预后良好组的 CD3⁺、CD4⁺ 水平、CD4⁺/CD8⁺ 高于预后不良组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 白血病患者存在外周血 T 淋巴细胞异常,外周血 T 淋巴细胞亚群检测在患者病情检测判断及预后中有较高应用价值。

关键词:外周血 T 淋巴细胞; 白血病; 免疫抑制

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.03.028

中图法分类号:R446.6

文章编号:1673-4130(2019)03-0370-04

文献标识码:B

白血病是造血干细胞的恶性疾病,以骨髓造血抑制为特征,呈现慢性进展。白血病的发病机制至今尚未完全清楚,可能与化学毒物、药物、遗传因素、放射、机体免疫功能异常等因素有关^[1]。其中免疫功能异

常是影响白血病发生和发展的重要因素,尤其是细胞免疫异常。在抗肿瘤免疫效应中,细胞免疫往往比体液免疫起着更为重要的作用。T 淋巴细胞是执行免疫功能的细胞,在机体免疫效应中发挥重要的作用,

[△] 通信作者, E-mail: xiaoyiyan529@163.com。