

• 论 著 •

强生 Vitros 350 生化分析仪验收及性能的综合评价

张雅芳, 张 云, 陈宝娟, 白巨明, 马 聪
(中国人民解放军海军总医院检验科, 北京 100048)

摘 要:目的 对强生 Vitros 350 生化分析仪验收及性能进行综合评价。方法 依据 ISO/15189 对实验室质量和能力的要求对强生 Vitros 350 生化分析仪进行验收。参照临床实验室标准化协会的 EP6-A、EP9-A2 文件和强生公司提供的性能评价方案, 对 21 项生化指标的准确度、精密度、临床参考区间和线性范围进行验证, 与 Beckman LX-20 生化分析仪进行相关性比较, 并用 Westgard 标准决定图描述实验系统误差。结果 21 项生化指标的准确度、精密度、线性范围和正常参考区间均符合厂商说明; K 和 Na 在 Level 1 水平的 Westgard 标准决定图中处于良好操作点, 其余各项和 Level 2 所有项目均在优秀操作点; 与 Beckman LX-20 生化分析仪进行相关性比较, 除 CK-MB($Y=0.8317X-2.8822, r=0.850$)和 Bc($Y=0.7619X-4.1093, r=0.913$)不呈线性相关外, K、Na、Cl、Glu、Urea、Cre、Uric、ALT、TP、Alb、TBil、AST、CK、TC 和 TG 均呈线性相关($r>0.975$)。以 Statland 医学决定水平(X_c)判断临床可接受性, ALT 和 Urea 在 X_{c1} 处不可接受, 但无临床意义; TP 在 X_{c1} 处不可接受, 可经过强生 Vitros 350 的斜率和截距进行调整; TBil 差异较大, 考虑到方法学的因素, 暂时以强生 Vitros 350 为基准。结论 强生 Vitros 350 生化分析仪已通过系统的验收和验证。

关键词:评价研究; 验收; 性能验证

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.01.002

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)01-0003-03

Vitros 350 biochemical analyzer acceptance and demonstration of the comprehensive evaluation

Zhang Yafang, Zhang Yun, Chen Baojuan, Bai Juming, Ma Cong

(Department of Clinical Laboratory, Navy General Hospital of PLA, Beijing 100048, China)

Abstract: Objective To evaluate the acceptance of the John&John Vitros 350 assay system. Methods Based on laboratory quality and competence requirements of the ISO/15189 to evaluate the Vitros 350 biochemistry analyzer. According to CLSI's EP6-A, EP9-A2, and John&John corporation demonstration project to demonstrate for potassium(K) and other 21 items of the accuracy, reliability, linear range and clinical reference, and compared with Beckman LX-20 analyzer, and use Westgard method evaluation decision chart to describe the systematic errors. Results 21 items of the accuracy, reliability, linear range and clinical reference accorded all with the declaration of the corporation; K and sodium(Na) in the Level 1 decision diagram Westgard standards in good operating point, all items remaining and Level 2 are in excellent operating point. Compared with the Beckman LX-20 analyzer, except CK-MB($Y=0.8317X-2.8822, r=0.850$) and Bc($Y=0.7619X-4.1093, r=0.913$) is not linearly related to external, K, Na, Cl, Glu, Urea, Cre, Uric, ALT, TP, Alb, TBil, AST, CK, TC and TG of the values are >0.975 . To judge the clinical acceptability with the level of Statland Medicine(X_c), ALT and Urea in the X_{c1} unacceptable, but no clinical significance. TP in the X_{c1} unacceptable and through adjust the slope and intercept acceptance. TBil difference Significantly, think methodology over, use Vitros 350 as the benchmark. Conclusion The function of Vitros 350 is accorded to the requirements of acceptance and demonstration for quality assurance for laboratories.

Key words: acceptance; performance demonstration; evaluation

随着检验医学的飞速发展, 检验科必须进行更加科学、更加严谨的全面质量管理(TQM)。ISO/15189:2003(E)《医学实验室-质量和能力的专用要求》国际标准的发布, 为医学实验室的质量管理提供了 1 个科学的方法, 也是我国临床实验室的认可准则^[1]。以 ISO/15189 的要求为准则, 依据强生公司的验证方案和临床实验室标准化协会(CLSI)的 EP6-A 和 EP9-A2 文件, 对本科新购的强生 Vitros 350 生化分析仪进行验收和性能综合评价, 对其过程报道如下^[2-4]。

1 材料与方法

1.1 材料 实验系统为强生 Vitros 350 生化分析仪, 比对系统为 Beckman LX-20 全自动生化分析仪。检测项目有: 钾(K)、钠(Na)、氯(Cl)、二氧化碳(CO₂)、血糖(Glu)、尿素氮(Urea)、肌酐(Cre)、尿酸(Uric)、谷丙转氨酶(ALT)、总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、总胆红素(TBil)、结合胆红素(Bc)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、淀粉酶(Amy)、脂肪酶(Lipa)、谷草转氨酶(AST)、肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、

血氨(Amon)等 21 个项目, 所有检测均由专人严格按照仪器及试剂说明书进行。

1.2 试剂、标准品及质控品 Vitros 350 生化分析仪采用配套干片试剂及相应的校准品和质控品; Beckman LX-20 全自动生化分析仪的试剂由德国 Prodia 公司(北京莱帮生物技术有限公司总代理)提供, 室内质控品由 Beckman 公司提供(批号: M608321、M608323), 全部实验过程使用单一批号的试剂和质控物。

1.3 方法

1.3.1 按照 ISO/15189 资源和技术中关于仪器设备的管理要求, 医学工程科配合专业组长对仪器进行逐项验收。

1.3.2 精密度和准确度评估 使用强生公司提供的 Performance Verifier 2 个浓度质控品(Level 1 批号: A8625; Level 2 批号: B8627), 依据强生公司的验证方案, 准确度取双份实验均值、精密度用精密度指数评价。

1.3.3 线性评估 依据 CLSI 的 EP6-A 文件, 对系统的线性

进行验证。使用强生公司校准品 Calibrate Kit1-6(批号:0149、0249、0359、0478、0539、0629)的低浓度(L)和高浓度(H)血清,取 L、3L+H、2L+2H、L+3H、H 等 5 个浓度混合血清进行测定,通过线性回归分析判断每个浓度下对于线性的偏倚,与规定的允许偏倚作比较,通过图解的方式直观说明。

1.3.4 参考区间验证 依据强生公司的验证方案,选择 20 份健康个体的血清,对每个项目水平进行检测,验证是否 90%或 90%以上结果在参考区间内。

1.3.5 比对实验 依据 CLSI 的 EP9-A2 文件,每日收集不同浓度的新鲜标本 8 份,连续收集 5 d,浓度范围尽可能覆盖该项目的分析测量范围,以 Vitros 350 为实验方法(Y),Beckman LX-20 检测系统(X)为比较方法,标本按 1→8、8→1 的顺序重复检测,计算线性回归方程,并绘制双份测定平均值的散点图,以及每次测定的 Y 均值与 X 均值之差及与相应 X 均值的偏差图,以相对偏差 $SE\% \leq 1/2$ 美国临床医学检验部门修正法规 CLIA'88 允许总误差(*TEa*)为临床可接受^[5]。

1.4 统计学处理 所有数据处理均应用 Excel 2003 软件和 SPSS13.0 统计软件。

2 结 果

2.1 仪器验收 强生公司确认 Vitros 350 生化分析仪的检验合格证明、仪器使用说明书、维护和诊断手册等;代理商美中互利公司提供仪器注册证、试剂注册证、安装测试报告、仪器校准报告;专业组长收集所有相关文书,建立完整的仪器档案;代理商公司对使用人员进行培训、考核和授权;主任签发操作者授权。

表 1 Glu 线性验证数据表

项目	不同浓度混合血清				
	L	3L+H	2L+2H	L+3H	H
X1	1.80	8.70	16.50	23.70	31.80
X2	1.70	8.60	16.60	23.90	31.80
X3	1.70	8.70	16.80	23.90	31.70
X4	1.80	8.80	16.60	23.80	30.80
均值($\bar{x}$)	1.75	8.70	16.63	23.83	31.53
理论值	1.73	9.08	16.43	23.78	31.14

注:“L”表示低浓度;“H”表示高浓度。

表 2 15 项比对实验可接受性评价

项目	回归方程	<i>r</i> 值	不同医学决定水平浓度(<i>Xc</i>)及相对偏差						1/2CLIA'88(%)
			<i>Xc</i> 1	<i>SE</i> %	<i>Xc</i> 2	<i>SE</i> %	<i>Xc</i> 3	<i>SE</i> %	
K	$Y=1.025\ 5X-0.053\ 7$	0.999	3.00	+0.02	5.80	+0.09	7.50	+0.14	±0.25
Na	$Y=1.009\ 6X-1.008\ 3$	0.995	115.00	+0.10	135.00	+0.29	150.00	+0.43	±2.00
Cl	$Y=1.005\ 5X+0.103\ 7$	0.993	90.00	+0.66	112.00	+0.64	/	/	±2.50
Glu	$Y=0.965\ 0X+0.039\ 2$	0.997	2.50	-1.90	6.70	-2.90	10.00	-3.10	±5.00
Urea	$Y=1.068\ 8X-0.460\ 4$	1.000	2.10	-15.00*	9.30	+1.90	17.90	+4.30	±4.50
Cre	$Y=1.073\ 0X-23.052\ 0$	0.993	177.00	-5.70	707.00	+4.00	946.00	+4.90	±7.50
Uric	$Y=0.974\ 5X+8.936\ 0$	0.997	118.00	+5.00	472.00	-0.70	631.00	-1.10	±8.50
ALT	$Y=1.017\ 9X-3.771\ 5$	0.996	20.00	-17.10*	60.00	-4.50	300.00	+0.50	±10.00
TP	$Y=1.045\ 0X-5.171\ 0$	0.983	45.00	-7.00#	60.00	-4.10	80.00	-2.00	±5.00
Alb	$Y=1.094\ 6X-2.574\ 8$	0.993	20.00	-3.40	35.00	+2.10	52.00	+4.50	±5.00
TB	$Y=0.932\ 7X-3.841\ 1$	0.999	24.10	-22.70*	42.80	-15.70#	342.00	-7.80#	±10.00
TC	$Y=1.072\ 6X-0.209\ 8$	0.996	2.30	-1.90	6.70	+4.10	9.00	+4.90	±5.00
TG	$Y=1.121\ 5X-0.099\ 9$	0.998	0.45	-10.10	1.69	+6.20	4.52	+9.90	±12.50
AST	$Y=1.074\ 4X-0.305\ 8$	0.994	20.00	+5.90	60.00	+6.90	300.00	+7.30	±10.00
CK	$Y=1.029\ 7X-11.561\ 0$	0.997	100.00	-8.60	240.00	-1.80	1 800.00	+2.30	±15.00

注: * 表示 *SE* CLIA'88 不可接受; # 表示 *SE*% 1/2CLIA'88 不可接收,但 CLIA'88 可接收。“/”表示无数据。

2.2 性能验证

2.2.1 精密度、准确度、线性、参考区间的评估:各类期刊上发表关于强生公司各型号干化学分析仪性能验证的论文很多,均按照 CLIA 规定检测系统性能评估的最小需求,对精密度、准确度、可报告范围和正常参考区间进行评价,性能验证均合格^[6-9]。本组对准确度、精密度(包括批内 CV%、批间 CV%、日间 CV%、总 CV%),线性和参考区间验证结果亦全部合格,与其相符。笔者认为,这和其“仪器、试剂、质控品”全部由强生公司提供,“封闭式”配套系统密切相关。精密度指重复检测间的一致性,代表随机误差;准确度指检测值和真值的一致性,即系统误差;随机误差和系统误差构成总误差^[10]。现用 Westgard 标准决定图来描述由不精密度(CV% of *TEa*)和不准确度

(*Bias of TEa*)构成的总误差,判断实验方法的可接受性,不准确度根据卫生部临床检验中心同期室间质评回报结果计算,结果 Level 1 的 K、Glu、Urea、Cre、Uric、ALT、TP、ALB、TBil、AST、CK、AMY、TC、TG 操作点均在优秀范围内,Na 和 Cl 的操作点在良好范围内;Level 2 的所有操作点均在优秀范围内^[11]。强生公司提供的校准品采用多点定标,其定标品高、低值接近厂商说明的线性范围最高和最低水平,以 Glu 为例,结果见表 1。CLSI C28-A 推荐参考区间的建立至少需要 120 份或更多的样本,CLIA 法规和强生检测系统验证方案均要求实验室选择至少 20 份无此疾病的个体作统计学分析,本组验证结果 90%或 90%以上均在参考区间内^[12]。

2.2.2 不同检测系统间的比对实验 Beckman LX-20 是本科

常规生化检测的主要仪器,其室内质控和室间质评成绩均优秀,现将其作为比对系统(X),强生 Vitros 350 为实验系统(Y),比较两种检测系统共 17 个检测项目,按照 CLSI EP9-A2 文件要求,计算 2 次测试差值的均值(E),以 4E 为判断限检查离群点,并对离群点进行处理。计算线性回归方程 $Y=bX+a$ 和相关系数(r),结果除 CK-MB($Y=0.8317X-2.8822$, $r=0.850$)和 Bc($Y=0.7619X-4.1093$, $r=0.913$)外, K、Na、Cl、Glu、Urea、Cre、Uric、ALT、TP、ALB、TBil、AST、CK、TC 和 TG 的 $r>0.975$ 。将 Statland 医学决定水平(X_c)代入回归方程,参照 CLIA'88 推荐允许误差,用 $1/2CLIA'88 TEa$ 与相对偏差($SE\%$)进行比较,判断可接受性,结果见表 2^[13]。

3 讨 论

检验质量是临床检验部门赖以生存的根本,不同的医学检验部门一般每隔 5~10 年就需要更新相关的分析仪,从保证检验质量考虑,医学检验部门在使用新的检测仪器和检测系统进行患者标本检测前,必须结合本部门的具体条件,用实验去评价检测系统的基本分析性能。CLSI 和 CLIA 对新的检测系统都有一系列完整的验证方案,CLIA 强调的验证方案相对于 CLSI 收集标本量更简单。本组依据 ISO/15189 的要求对新购进的强生 Vitros 350 检测系统进行验收和验证。精密度、准确度和正常参考区间依据强生 Vitros 系统验证方案,线性范围依据 CLSI EP6-A 文件,不同检测系统比对实验依据 CLSI EP9-A2 文件,并采用 $1/2CLIA'88$ 总允许误差判断不同检测系统间的可接受性,结果精密度、准确度、线性和范围正常参考区间均符合强生公司提供的验证要求。利用 Westgard 标准决定图判断实验方法性能,将实验方法的相对偏差与 CLIA 总允许误差进行比较,Level 1 浓度的 Na 和 Cl 操作点为良好,表明该测定方法能满足质量要求。在日常工作中,只要精细计划统计质量程序且能运用每批 4~6 个控制测定值的多规则质控方案,测定方法就能被很好地进行管理;其余各操作点为优秀,表明在日常工作中测定方法易于管理,只需最少的花费。通常每批 2 个控制测定个数、单规则的质控方案就能很好地控制^[14]。

以 Beckman LX-20 为比对检测系统,结果 Urea、ALT、TP 和 TBil 不同程度地不符合 $1/2CLIA'88 TEa$ 。考虑到 Urea 和 ALT 在 X_{c1} 处的偏倚对临床诊断治疗没有价值,暂不作调整。Beckman LX-20 用双缩脲法检测 TP,特异性、准确度和精密度都很高,干扰因素少。有学者认为,血清 TBil 会使 TP 测定结果偏高,因此,本组对 TP 的比对实验未收集黄疸标本^[15]。TP 的干化学检测也是在双缩脲法基础上发展起来的,血清 TP 测定结果对疾病的诊断没有特异性,但结合临床资料可以用来判断疾病的严重程度,特别是肝病预后的判断指标之一。对于 TP $X_c=45$ g/L 时,两检测系统之间的相对偏差达 7.0%,临床不能接受。在 Vitros 350 上调整斜率和截距后再进行比对,结果回归方程为 $Y=1.0017X+0.3753$, $r=0.9975$,将 X_c 代入方程得到相对偏差分别是 1.0%、0.8%、0.6%,临床可接受。

胆红素检测方法较多,但多种方法间缺乏可比性,美国病理协会(CAP)调查发现, TBil 为 38 $\mu\text{mol/L}$ 的样本,不同方法测定结果为 34~46 $\mu\text{mol/L}$; TBil 为 24 $\mu\text{mol/L}$ 的样本,相同方法之间 $CV>8\%$, DBil 的差别更大^[16]。Beckman LX-20 采用重氮法,强生 Vitros 350 采用原理也是基于重氮反应的干化学多层膜片分离光散射法,未结合胆红素(Bu)和结合胆红素(Bc)的检测原理是利用各种异构胆红素不同的反射特性,不同于 Beckman LX-20 的检测方法。临床上长期以来习惯于将直

接胆红素(DBil)作为 Bc,间接胆红素作为 Bu^[17]。以胆道梗阻患者为例,长期处于高胆红素状态,胆红素与清蛋白共价结合形成 δ -胆红素, Bc 和 δ -胆红素是 DBil 的主要成分, DBil/TBil 比值特异性升高。梗阻解除后,由于 δ -胆红素半衰期较 Bc 长,如将 DBil 作为 Bc,可能会产生 DBil/TBil 比值下降趋势不明显的假象,而强生 Vitros 350 直接检测 Bc,能更敏感地反映手术解除梗阻的疗效。针对 TB 和 Bc 比对实验结果较差,考虑临床患者用药和方法学差异等检测影响因素,基于强生 Vitros 350 参加卫生部 and 北京市的室间质评成绩优秀,且实验方法影响因素小。本组实验认为,胆红素测定暂以强生 Vitros 350 为基准。

本组对肌酐的比对实验在 Standland 3 个医学决定水平浓度相对偏差均小于 $1/2CLIA'88$ 总允许误差,将《全国临床检验操作规程》3 版中正常参考区间上限女性小于 95 $\mu\text{mol/L}$, 男性小于 117 $\mu\text{mol/L}$ 代入回归方程 $Y=1.0730X-23.052$, 得到 SE 为 17.0% 和 12.4%, 为 $1/2CLIA'88(7.5\%)$ 不能接受。Beckman LX-20 测定肌酐采用经典方法——苦味酸法,但受许多假肌酐物质的干扰,易交叉污染。干化学法能消除胆红素对肌酐测定的干扰,测定结果准确性、特异性均优于酶法和苦味酸法。因本组实验均采用住院患者的新鲜血清,且大于 100 $\mu\text{mol/L}$ 的标本相对较多(27/40),考虑到假肌酐物质和标本选择上的影响,将进一步对影响肌酐测定的因素进行排查并增加小于 100 $\mu\text{mol/L}$ 的标本例数重新比对。

CK-MB 在 2 个检测系统之间不呈线性相关($Y=0.8317X-2.8822$, $r=0.850$),由于 CK-MB 主要存在于心肌细胞的外浆层,健康人血清中 CK-MB 占 CK 的总活力不超过 5%,两种检测系统的原理都基于免疫抑制法,以抗 CK-M 亚基抑制血清中 CK-M 亚基单位的活力,测定 B 亚基酶活力,结果乘以 2 作为 CK-MB 活力。大量临床资料显示,巨 CK1(多为 CK-BB、CK-MM 与免疫球蛋白的复合物)、CK-BB、线粒体型 CK 和溶血标本中红细胞含有的腺苷酸激酶(AK)等都会产生干扰现象,由于众多的干扰因素,使比对实验的标本留取带来很大困难,这可能也是本组比对实验两检测系统不呈线性相关的重要因素。徐国宾和黄燕^[18]不推荐该法用于心肌损伤的诊断。本组比对实验也认为,对于心肌损伤患者,CK-MB 的测定尽量使用稳定性和敏感性都有明显优势的免疫学质量法。

通过本组对强生 Vitros 350 生化分析仪系统的验收和基本性能验证,证实其基本性能符合公司说明的要求。相同型号的仪器在不同的运行环境、操作情况下各性能指标会出现差异,获得各实验室仪器实际运行情况的资料,为实验室工作的正常开展和质量保证奠定了基础。通过同一实验室不同生化分析仪的比对实验,保证同一实验室中不同仪器结果的一致性,对检测结果的差异可有直观了解。判断造成差异的原因,对于检测原理不同而造成的差异可通过调整相关系数后的方法解决,其为实验室正常工作的开展和质量保证奠定坚实基础。

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(ISO 15189:2003)[M]. 北京:中国计量出版社,2006.
- [2] VITROS system verification[S]. Ortho-clinical Diagnostics, USA, 2004.
- [3] National Committee for Clinical Laboratory (下转第 8 页)

- Standards. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures; a statistical approach, approved guideline[S]. Wayne,PA;EP6-A. NCCLS. 2003.
- [4] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Method comparison and bias estimation using patient samples[S]. Approved Guideline, 2nd ed, EP9-A2, 2002.
- [5] U. S. Department of Health and Human Services. Medicare, medicaid and CLIA programs; Regulations implementing the clinical laboratory improvement amendments of 1998(CLIA)[S].
- [6] U. S. Department of Health and Human Services. 42 CFR Part 493; medicare, medicaid and CLIA programs; Laboratory requirements relating to quality systems and certain personnel qualifications; Final rule[J]. Federal Register, 2003, 68:3640-3714.
- [7] 张心菊, 吴炯. 强生 Vitros 950 生化检测系统性能验证[J]. 检验医学, 2006, 21(6):564-569.
- [8] 李文娟. 强生 Vitros 350 生化检测系统性能验证[J]. 新医学学刊, 2008, 5(12):2089-2090.
- [9] 林有东, 蔡鹏威. VITROS 250 全自动干化学分析仪的评价[J]. 福建医药杂志, 2006, 28(6):116-117.
- [10] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2003:1.
- [11] Westgard JO. A method evaluation decision chart(MEDx Chart) for judging method performance[J]. Clin Lab Sci, 1995, 8:277-283.
- [12] National Committee for Clinical Laboratory Standards. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory. Approach guideline [S]. 2nd ed Wayne, PA; C28-A. NCCLS. 2000.
- [13] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3版. 南京: 东南大学出版社, 2006:59-60.
- [14] 李萍, 刘小娟. 利用 Westgard 标准决定图判定测定方法性能[J]. 临床检验杂志, 2006, 24(1):69-70.
- [15] 李曦光, 王敏. 血清总胆红素对血清总蛋白测定结果的影响[J]. 中国基层医药, 2002, 9(1):28-29.
- [16] Lott JA. "Direct" and total bilirubin tests contemporary problems[J]. Clin Chem, 1993, 39(4):641-647.
- [17] 张东玲. 肌酐测定的方法学进展[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(6):521-523.
- [18] 徐国宾, 黄燕. CK 及同工酶 CK-MB 测定的方法学进展和临床应用[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(12):1418-1421.