

[3] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP5-A Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline[S]. Wayne, PA: CLSI, 1999; 1-28.
 [4] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 2 版. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2007; 111-176.
 [5] 冯仁丰. 分析灵敏度(检测限)[J]. 上海医学检验杂志, 2002, 17(3): 133-136.
 [6] 徐宁, 罗强, 曹永坚, 等. 日立 7170A 生化检测系统检测项目的溯源研究[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 12(4): 165-167.
 [7] 郑沁, 黄亨建, 张国福, 等. Roche E170 检测系统测定促甲状腺激素(TSH)分析灵敏度的验证[J]. 现代检验医学杂志, 2007, 22

(3): 58-60.
 [8] 刘巍, 李家伟, 张东升. 对吡喃糖氧化酶法测定血清中葡萄糖的评价[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(6): 201-203.
 [9] 阳莘, 周秀娥, 张莉萍, 等. 罗氏 MODULAR E170 全自动电化学发光免疫分析仪性能验证[J]. 重庆医学, 2009, 38(19): 2395-2397.
 [10] 李丽, 王建新. 肌钙蛋白 I 检测系统评价及临床应用[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(13): 1299-1300.

(收稿日期: 2010-02-11)

• 仪器使用与排障 •

东芝 FR-40 全自动生化分析仪检测血清胱抑素 C 的方法学评价及参考区间建立

李加平, 郭平, 喻巧云

(湖北省大悟县人民医院检验科, 湖北孝感 432800)

摘要:目的 对东芝 FR-40 全自动生化分析仪免疫比浊法检测血清胱抑素 C(CysC) 的检测系统进行方法学评价, 并建立本实验室的参考区间。**方法** 通过回收试验评价准确度; 取高、中、低值混合血清分别进行批内 20 次和连续 20 d 检测, 统计分析批内和批间变异系数(CV); 用不同浓度低值血清连续检测 10 d, 统计分析检测功能灵敏度; 将高、低值血清按一定比例混合, 形成不同浓度的 5 份血清, 进行分析测量范围(AMR)评价; 通过检测含不同浓度的血红蛋白、胆红素及三酰甘油的血清标本进行干扰试验; 取 240 名健康体检者样本检测 CysC, 统计分析建立参考范围。**结果** 回收试验显示回收率为 97.8%, 高、中、低值批内 CV 分别为 1.92%、1.36%、1.61%, 批间 CV 分别为 3.67%、2.72%、3.23%; 功能灵敏度为 0.2 mg/L; AMR 为 0.31~7.52 mg/L; 血红蛋白浓度大于 1.2 g/L 时产生负干扰, 胆红素浓度小于 150 mmol/L 及三酰甘油浓度小于 8.5 mmol/L 时无明显干扰; 本实验室 CysC 参考区间为 (0.97±0.16)mg/L, 男女之间差异无统计学意义。**结论** 本系统检测性能符合美国病理学家协会(CAP)要求, 参考区间与厂家提供的参数有较大差异, 说明厂家提供的参考区间不可直接引用, 也说明了进行方法学评价的重要性。

关键词: 参考值; 方法学评价; 胱抑素 C

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.09.037

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)09-0995-03

胱抑素 C(cystatinC, CysC) 是半胱氨酸蛋白酶抑制物之一, 其浓度不受肌肉量和食物影响, 是反映肾小球滤过率(GFR)的良好指标, 优于肌酐, 与菊粉清除率相当^[1]。虽然菊粉清除率虽一直被认为是反映 GFR 的“金标准”, 但操作繁琐, 测定较难且受性别、年龄和体表面积等诸多因素的影响^[2]。CysC 的检测方法由最初的酶联免疫分析、放射免疫分析发展到现代的胶乳免疫分析方法。胶乳免疫分析方法易于自动化、耗时少、操作简便, 成为理想的临床常规检测方法, 特别是其中的颗粒增强透射免疫比浊法, 不需要特别的仪器, 在普通的生化分析仪上就能检测^[3]。根据美国病理学家协会(CAP)对实验室质量管理要求^[4]和实验室认可的要求^[5], 每个实验室必须对检测系统进行方法学评价和根据各自的就诊人群建立本实验室的参考区间。因此, 对本实验室 CysC 的检测系统进行方法学评价, 并建立本实验室 CysC 的参考区间。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 健康对照人群 健康体检者 240 名, 其中男 141 名, 女 99 名, 年龄 18~60 岁, 无高血压、糖尿病、肾病等慢性疾病, 无肿瘤且肝肾功能、空腹血糖、β₂ 微球蛋白、尿液常规分析等指标均正常。

1.1.2 参照样本 收集日常检测的患者血清中的高、中、低值样本。

1.1.3 样本采集 用肝素抗凝真空管按常规采血步骤采血 3 mL, 在 1 h 内以 2 500 r/min 离心 10 min, 原试管直接上机检测。

1.2 方法

1.2.1 仪器 东芝 FR-40 全自动生化分析仪。

1.2.2 试剂 (1) 血清 CysC 检测试剂盒(免疫比浊法), 批号: 20090402A, 由宁波瑞源生物科技有限公司提供。另购其配套校准品, 浓度分别为 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mg/L(校准品用 DAKO 公司标准品定值)。

1.2.3 主要测定参数 波长 548 nm, 温度 37 °C, 方法为两点法, 试剂 I 240 μL、样本 8 μL, 反应 3 min, 再加试剂 II 60 μL, 温育 10 s, 读取吸光度 A₁, 5 min 后再读取吸光度 A₂, 计算 ΔA = A₂ - A₁。

1.2.4 检测方法

1.2.4.1 样本检测 先请厂家进行仪器校准, 然后进行项目定标, 每天检测高、中值质控品, 共 20 d, 计算均值(\bar{x})和标准差(s), 确认本仪器的质控范围。每次检测标本前先检测高、中值质控品, 确认在控后才进行样本检测。

1.2.4.2 准确度评价 制备 2 份混合血清标本作为基线标本, 第 1 份浓度为 1.25 mg/L, 第 2 份浓度为 6.34 mg/L; 向 1.8 mL 混合基线标本中加入 0、0.1、0.2 mL 三酰甘油浓度为 8.0 mg/L 的校准品, 再分别加入 0、0.1、0.2 mL 的生理盐水, 每份标本最后总体积为 2 mL, 进行 4 次重复检测取均值。通过测量值减去基线值确定回收量, 并计算回收率, 以回收率在 (100±5)% 为可接受标准。通过回收试验, 回收率在可接受范围内, 说明准确度符合要求。

1.2.4.3 精密度评价 选取高、中、低值混合血清各 1 份, 在 1 d 内连续测定 20 次, 分别计算其 \bar{x} 、s 和变异系数(CV), 评价批内 CV; 对高、中、低值血清每天测 1 次, 连续测定 20 d, 分别计算 \bar{x} 、s 和 CV, 评价批间 CV。

1.2.4.4 功能灵敏度确认 选择不同浓度的低值血清 5 份, 连续 10 d 每天各测 1 次, 计算各低值血清 \bar{x} 和 CV, 以 CV 为 20% 时所对应浓度为该检测系统的功能灵敏度。

1.2.4.5 分析测量范围(AMR)评价 即线性评价, 取高值和低值血清各 1 份, 并按高低比为 3:1, 2:1, 1:1:3 比例混合成不同浓度的 3 份血浆, 共 5 份; 将这 5 份血清分别检测 CysC 4 次, 计算 \bar{x} , 以理论值和测定值作回归分析。

1.2.4.6 干扰试验 自制 60 g/L 的血红蛋白(Hb)液, 在无溶血混合血清中分别加入不同量使成不同浓度的 Hb 液, 分别检测原血清及含不同浓度 Hb 血清的 CysC, 计算 Hb 的干扰程度为 Hb 干扰试验; 在无黄疸的混合血清中加入胆红素标准液, 在无脂血的混合血清中加入三酰甘油标准液, 分别进行胆红素及血脂干扰试验; 在各干扰试验中以偏差小于 5% 为无明显干扰标准。

2 结 果

2.1 准确度评价(回收试验) 平均回收率为 97.8%。

2.2 精密度评价 测定批内、批间高、中、低值混合血清, 重复测定 20 次, 结果为批内高、中、低值 \bar{x} 、 s 、CV 分别为 5.72、1.47、0.62、0.11、0.02、0.01、1.92%、1.36%、1.61%; 批间高、中、低值 \bar{x} 、 s 、CV 分别 5.72、1.47、0.62、0.21、0.04、0.02、3.67%、2.72%、3.23%。

2.3 功能灵敏度确认 系列低值 CysC 浓度为 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 mg/L 标本的 CV 分别为 31.4%、20.1%、16.9%、14.5%、10.2%、6.3%、3.1%。CV 在 20% 时所对应的浓度为 0.2 mg/L, 即为检测的功能灵敏度。

2.4 AMR 的评估 选取理论值为 7.52、5.72、3.92、2.21、0.31 mg/L 的 CysC 标本, 其检测值分别为 7.52、5.70、3.91、2.09、0.30 mg/L; 回归方程为 $y = 0.964 2x + 0.128 2$ ($r = 0.978$), 按 $a = 1.00 \pm 0.05$, $r \geq 0.975$ 为判别标准, 本次 AMR 评估符合要求。故本检测系统的 AMR 在 (0.31~7.52)mg/L 之间。

2.5 干扰试验

2.5.1 溶血干扰试验 Hb 为 4.8、3.6、2.4、1.2、0.6 g/L 时对免疫比浊法分别产生 32%、20%、11%、5.5%、2.2% 的负干扰。说明 Hb 在大于 1.2 g/L 时即可对检测产生明显负干扰。

2.5.2 胆红素干扰试验 在无黄疸的混合血清中加入胆红素标准液使其浓度为 150 mmol/L 时, 产生 3.6% 的正干扰, 说明在胆红素浓度小于 150 mmol/L 时, 对检测无明显干扰。

2.5.3 脂血干扰试验 在无脂血的混合血清中加入三酰甘油标准液使其浓度为 8.5 mmol/L 时, 检测结果产生 4.0% 的正干扰, 说明三酰甘油小于 8.5 mmol/L 时对检测无明显干扰。

2.6 参考区间的确定 对 240 例检测结果按男、女分成 2 组进行统计分析, 按统计学要求去除离散度大的结果 3 个, 共计男 139 名、女 98 名, 绘制频数分布图呈正态分布, 取 95% 的数据分布范围即 $\pm 1.96s$ 作为参考区间。CysC 浓度男性 (0.98 \pm 0.17)mg/L、女性 (0.96 \pm 0.16)mg/L 差异无统计学意义 ($P < 0.05$), 总体为 (0.97 \pm 0.16)mg/L, 说明在 20~60 岁之间无性别差异。

3 讨 论

为保证检验质量, 检验科在使用新检测系统进行患者标本检测前, 必须用实验去评价检测系统的基本性能。由制造商进行的建立、证实或确认实验往往用于大型的、相对复杂的实验方案, 而由医学检验部门进行的验证实验的实验方案则要求简便、实用且易于操作^[6]。本科在开展 CysC 检测前, 应用本检测系统对厂商说明书提供的参数进行了验证。

参考文献^[7]指出, 回收是指将已知量物质加入到真实样

本中, 正确地测量分析物的能力。当分析参考方法和参考物质受到局限或不可获得时, 回收试验可以说是评价准确度的唯一实际方法。本院为基层实验室, 分析参考方法和参考物质很难获得, 故选取回收试验来评价本系统检测 CysC 浓度的准确度, 本研究资料显示回收率为 97.8%, 在可接受范围, 故本检测系统对 CysC 浓度检测的准确度是可靠的。

通过对混合血清标本的检测, 本次的高、中、低值 CysC 批内 CV 分别为 1.92%、1.36%、1.61%; 批间 CV 分别为 3.67%、2.72%、3.23%, 小于厂商说明书的 CV 小于 8.0% 和 10.0%, 也符合常规实验 CV 小于 5% 的要求。按最新的观点, 功能灵敏度才是该方法的最低检测限。一般采用 CV 在 20% 时对应的最低检测值作为功能灵敏度^[4]。本实验 CV 20.1% 时对应的浓度为 0.2 mg/L, 所以 0.2 mg/L 为本系统功能灵敏度, 与试剂说明书 0.2 mg/L 一致。

AMR 评估的目的是验证该方法的最高检测值和最低值之间是否呈线性关系, 本实验的 AMR 为 (0.31~7.52)mg/L, 与试剂说明书的 (0.2~7.5)mg/L 基本一致, 虽低值高于试剂说明书, 但低值无明确临床意义, 能够满足临床诊断要求。对分析特异性的评价, 本实验分别进行了 Hb、胆红素及血脂的干扰试验, Hb 浓度大于 1.2 g/L 时, 可造成大于 5% 的负干扰, 而胆红素浓度小于或等于 150 mmol/L, 三酰甘油小于或等于 8.5 mmol/L 无明显的干扰。试剂说明书上也要求采血后应及时分离, 避免溶血。

本研究选择 240 名 20~60 岁健康体检者作为研究对象, 取 95% 分布范围的大小表示参考区间, CysC 浓度男性 (0.98 \pm 0.17)mg/L、女性 (0.96 \pm 0.16)mg/L, 差异无统计学意义 ($P < 0.05$), 总体为 (0.97 \pm 0.16)mg/L。李玉林等^[8]对 17~60 岁健康人群进行血清 CysC 水平调查, 结果为男性 (0.62~0.92)mg/L, 女性 (0.52~0.83)mg/L; 姚锦绣等^[9]报道 60 例健康体检者血清 CysC 水平为 (0.48 \pm 0.23)mg/L; 李淑莲^[10]报道南京 2~50 岁健康人群的参考范围为 (0.42~1.07)mg/L, 与本实验室参考区间差异很大 ($P < 0.05$), 本实验的参考区间与试剂说明书提供的 (0.0~1.16)mg/L 的参考区间也有很大的差异; 上述结果说明可能存在人群及检测系统的差异。由此可见, 每个实验室必须建立自己的参考区间, 使临床诊断更为合理, 更为科学。

通过本次实验, 说明本检测系统的各项性能指标符合厂商说明要求, 但参考区间有很大差别, 也说明了进行性能评价实验的必要性和重要性。总之, 本 CysC 检测系统作为一种简便、快捷的方法完全能够应用于临床。

参考文献

- [1] 刘人伟. 检验与临床: 现代实验诊断学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 174.
- [2] 侯振江, 魏明竟. 胱抑素 C 及其检测方法研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 11(28): 1013-1015.
- [3] 周天龙. 血清胱抑素 C 的检测及临床意义[J]. 咸宁学院学报: 医学版, 2007, 21(6): 565.
- [4] College of American Pathologists. Clinical Immunology Checklist [R]. Northfield: CAP, 2006: 1-21.
- [5] 丛玉隆, 冯仁丰, 陈晓东. 临床实验管理学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004: 72-73, 89-102.
- [6] 张莉, 吴炯, 郭玮, 等. 医学检验检测系统应用前的性能评价[J]. 检验医学, 2006, 21(6): 560-561.
- [7] 王治国. 临床检验质量控制技术[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 102.
- [8] 李玉林, 徐国宾, 朱立华. CystatinC 与肌酐在评价肾小球滤过功能的比较研究[J]. 中国实验诊断学, 2001, 5(4): 154-156.

[9] 姚锦绣,梁红峰,苏勇.血清胱抑素 C 的测定在肾脏疾病中的应用价值[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(9):912-913.

检验医学与临床,2010,7(24):2536-2537.

[10] 李淑莲.南京市健康人群血清胱抑素 C 浓度参考范围的调查[J].

(收稿日期:2010-10-09)

• 仪器使用与排障 •

Sysmex XE-2100 血细胞分析仪检测后手工复检经验体会

司秉华

(江苏省南通市通州区人民医院检验科 226300)

摘要:目的 通过观察血细胞分析数据、直方图、散点图、报警信息等,指导检验人员进行手工复检。方法 采用 XE-2100 血液分析仪常规检测标本,从抗凝剂选择到用量、标本采集到上机检测等都严格按照操作规程进行操作,主要参数均在参考范围内,直方图无异常,无警示信息,可直接报告,否则应进行手工复检。**结果** 通过手工复检可以鉴别是淋巴细胞真性升高还是出现大量幼稚细胞,可以发现核红细胞(NRBC)、退化细胞或裸核以此纠正仪器的分类偏差,发现有红细胞聚集可以纠正红细胞计数偏低。**结论** 作为过筛性质的仪器,为了做到准确检测,每份标本检验人员必须重视手工复检。

关键词:血细胞; 涂片分类; 临床检验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.09.038

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)09-0997-01

XE-2100 血液分析仪在实际临床检测过程中,可以通过仪器测定的数据、直方图、散点图、报警信息、临床诊断等对检测结果进行过筛:(1)仪器测定的标本、结果、WBC、PLT、HGB、有核红细胞(NRBC)及分类均在参考范围内;(2)白细胞体积直方图正常,无警示信息。符合以上两点者,可直接报告,否则必须手工涂片加以复检^[1-2]。

1 材料与方 法

1.1 检测材料 XE-2100 血细胞分析仪及配套试剂和质控品。

1.2 标本来源 门诊急诊及病区常规全血标本。

1.3 检测方法 按照操作规程将全血标本上机检测,将符合手工复检规则的标本进行染色、镜检。

2 结 果

2.1 白血幼稚细胞增多 当发现检测数据 WBC 总数异常升高,淋巴细胞绝对值和百分比异常升高,参考警示信息,必须手工涂片检查,以此鉴别是淋巴细胞真性升高还是出现大量幼稚细胞,只有通过涂片才能做出正确的鉴别,并及时与临床取得联系^[3-4]。

2.2 NRBC 增加 血细胞检测数据如可见 NRBC 比例明显升高,仪器直方图和散点图的提示信息改变,就会出现 NRBC 多项报警信息,不能完成白细胞分类。虽然 XE-2100 可以通过特有 NRBC 检测程序计算得到 NRBC 的数量,在仪器计数 WBC 总数时自动减除得到真值,但 NRBC 会被分类到体积较小的淋巴细胞群中,会观察到淋巴分类过高,须手工镜检重新获得分类结果^[1,5-6]。

2.3 退化细胞增加 血细胞测定数据淋巴细胞绝对值和分类明显增高,须进行手工涂片镜检。由于手工镜检不会把退化细胞或裸核计入任何一类细胞中,可以纠正仪器的分类偏差,通过手工涂片可以发现淋巴细胞是真性增高或是假性增高。当然在手工涂片时应避免机械性破坏造成的假性改变,可以多推几张涂片加以区分^[2,7-8]。

2.4 红细胞冷凝集 红细胞计数过低,可以通过观察血细胞分析数据、直方图、散点图以及报警信息来发现。一般情况下,可见红细胞计数与 MCV、MCH、MCHC 结果明显不符,检查标本,观察管壁有无细沙样颗粒现象。手工涂片可发现有无聚

集的红细胞。可以通过 37℃ 水浴箱复溶后,立即上机测定来纠正结果^[1,9-10]。

2.5 报警信息提示 XE-2100 对多种现象可提示报警信息。比如不成熟的粒细胞增多,提示为 ImmGram 报警信息。血小板聚集、大血小板增多、疟原虫感染等,可提示血小板计数明显减少^[1,5]。

3 讨 论

由于自动化仪器的广泛使用,使实验人员从繁重的劳动中解脱出来,但不能完全依赖于仪器,细胞形态学镜检仍然是细胞形态学分析的金标准。通过观察血细胞分析数据、直方图、散点图、报警信息等进行手工复检,可以减少漏检、误检,其重要性必须得到实验人员的高度认识。

参考文献

- [1] 张时民.五分类法血细胞分析仪测定原理和散点图特征[J].中国医疗器械信息,2008,14(12):1-10.
- [2] 彭黎明,邱广斌,赵威,等.自动血细胞计数和白细胞分类计数的复检规则[J].中华检验医学杂志,2007,30(4):377-379.
- [3] 卢兴国,丛玉隆.应重视和提升传统血液形态学检验诊断水平[J].中华检验医学杂志,2006,29(6):481-482.
- [4] 朱晓辉,何菊英,朱忠勇.应用血液分析仪后复查血片的内容和方法及程序[J].中华检验医学杂志,2003,26(12):785-787.
- [5] 凌励,沈茜,周道银,等.XE-2100 血液分析仪白细胞分类功能评价[J].上海医学检验杂志,2003,18(6):391-393.
- [6] 李顺义.应重视血常规检验中的形态学观察[J].中华检验医学杂志,1999,22(1):22-23.
- [7] 艾红梅,肖秀林,王昌富,等.血细胞分析仪异常警示与镜检的比较分析[J].国际检验医学杂志,2006,27(2):183-184.
- [8] 李德发,曹科,罗小娟,等.XS-800i 血细胞分析仪异常报警在儿科血液分析中的评价[J].国际检验医学杂志,2009,30(3):293-294.
- [9] 张春平,钟亚玲,陈梅,等.自动血细胞分析仪全血细胞计数和白细胞分类复检规则[J].现代检验医学杂志,2010,25(5):37-41.
- [10] 刘东东.KX-21 血细胞分析仪白细胞分类异常的影响因素[J].辽宁医学院学报,2010,31(3):249-250.

(收稿日期:2011-01-03)