

### 3 讨 论

精液分析是判断男性生育能力的重要手段,在男性不育的治疗、男性节育措施的效果评价以及男性生殖生理研究中具有不可替代的作用<sup>[7]</sup>。以往精液分析多采用手工法,不仅检测项目少,影响因素多,且结果变异大,不能满足临床需求。随着男科学实验室检测技术的发展,许多新的检测工具陆续应用于临床。精液分析的临床应用价值决定于分析结果准确性。CASA 在客观定量评价精子质量方面具有独特的优越性,克服了手工法缺少严格的量化指标、主观性大等缺陷<sup>[8]</sup>,但 CASA 系统也存在一定的不足,例如:识别精子的准确性受精液中细胞成分和非细胞颗粒的影响;仅将可产生一定位移的精子记为活动精子,导致精子活率实测值低于真值;不能进行精子形态检查;分析结果受系统参数、阈值设定的影响;系统设置缺乏统一标准,不同厂商和型号的 CASA 系统分析结果间缺乏可比性。SQA-V GOLD 基本克服了 CASA 的缺点,例如前者有 5 项可量化检测指标,包括 SMI、总功能精子浓度(total functional sperm concentration,TFSC)、精子密度(sperm total concentration,STC)、活动精子百分率(% sperm motility,SMP)、正常形态精子百分率(% normal morphology,NMP)等。SQA-V GOLD 采用与 CASA 截然不同的检测原理,前者把精子运动所引起的光密度变化转化为电信号,并依据特定的数学模型计算精子密度、活率、活力等指标,而作为衡量精液质量综合指标的 SMI 与 STC、SMP 等存在相关性;CASA 则是在显微镜检查的基础上,利用计算机辅助图形分析技术检测精液各指标<sup>[9]</sup>。本研究显示,两种分析方法检测相同类型(正常或异常)精液标本的各指标结果间差异没有统计学意义( $P>0.05$ ),而检测不同类型(正常或异常)精液标本的各指标结果间差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),说明两种方法的检测结果具有一定的一致性,并能用于正常或异常标本的鉴别。有研究表明,CASA 对精子形态和活力的辨别能力较低<sup>[10]</sup>。本研究也发现无论精液标本的相关参数是否正常,精子活率 CASA 分析结果均低于 SQA-V GOLD,可能的原因包括:(1)CASA 所采用的计数池空间较薄,精子只能单层活动,而 SQA-V GOLD 则是将精液置于体积为 0.5 mL 的计数空间中,精子活动状态比较接近精

子排出体外后的自然状态,所受约束较少;(2)CASA 视原地摆动的精子为不活动精子。因此,在判断精子活率时,SQA-V GOLD 优于 CASA。SMI 是 SQA-V GOLD 对精液质量进行综合分析的结果。本研究显示,以 80 作为 SMI 的临界值,比较 SMI 异常标本检出能力,结果两组间 SMI 比较差异有统计学意义。SMI 的高低可直观反映精子质量,而其他分析方法无法直接获得类似数据。SQA-V GOLD 检测结果具有变异系数较小的特点,说明该检测系统具有良好的重复性。除此以外,SQA-V GOLD 还具有操作简便、结果直观、实用性强等特点,可以在短时间内获得精液各主要参数分析结果,有利于提高实验室诊断水平,值得推广应用。

### 参考文献

- [1] 余文辉.无精子症男性激素水平变化及睾丸病理分析[J].国际检验医学杂志,2009,30(3):264-265.
- [2] 黄开权,张淑芳,沈熔.ZKPACS 多功能显微图像分析系统在精液分析中应用与评价[J].安徽医学,2010,31(3):270-272.
- [3] 肖松山,范世福,李彦芳,等.计算机辅助精子运动分析系统的研究[J].天津大学学报,2000,33(6):811-813.
- [4] 许瑞娜,许业栋,李娟,等精液分析仪与传统检测法的对比[J].实用医技杂志,2007,14(25):3420-3421.
- [5] 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,2006:319.
- [6] 马学斌,马骥,车文伟,等.330 例 sQA II B 精液常规分析[J].海军总医院学报,2005,18(3):173-174.
- [7] 王益鑫.男性不育临床研究进展[J].中国男科学杂志,1999,13(4):195-196.
- [8] 阮杰,黄华振,刘新光.蛋白激酶 CK2 活性与人精子质量相关性的初步探讨[J].国际检验医学杂志,2007,28(4):289-291.
- [9] 戈一峰,汪春晖,邵永,等.两种精子分析系统的比较研究[J].中华男科学杂志,2008,14(10):923-926.
- [10] 安茂伟,韩秀娟,王世礼,等.计算机辅助精子质量分析与常规精液分析的对比性研究[J].现代诊断与治疗,2008,19(1):7-9.

(收稿日期:2011-01-06)

### • 仪器使用与排障 •

## 某型号免疫分析仪甲胎蛋白分析性能验证

李观强,叶有玩<sup>△</sup>,万彦彬,唐万兵,黄伟强,吴丽珊  
(广东省深圳市龙岗区人民医院检验科 518172)

**摘要:**目的 对 Beckman DXI800 免疫分析仪甲胎蛋白(AFP)分析性能进行验证。方法 根据美国临床实验室标准化研究所(CLSI)系列文件制定实验方案,对该免疫分析仪检测 AFP 的精密度、准确度、灵敏度、测量范围、分析干扰、参考区间进行验证,并与厂商声明的性能或公认的质量标准进行比较。结果 精密度、灵敏度、临床可报告范围、分析干扰、参考区间均符合厂家标准,准确度达卫生部要求。结论 Beckman DXI800 免疫分析仪 AFP 分析性能符合质量目标要求,CLSI 实验评价方案具有可操作性和实用性。

**关键词:**甲胎蛋白类; 分析性能; 验证

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2011.13.048

**文献标识码:**A

**文章编号:**1673-4130(2011)13-1502-03

中国合格评定国家认可委员会 2006 年颁布的《医学实验室质量和能力的专用要求》(ISO15189:2003)指出:申请认可的

实验室应对设备、检测系统或方法的主要分析性能进行验证,证实其能够达到临床检测所要求的标准<sup>[1]</sup>。笔者所在科室新

<sup>△</sup> 通讯作者,E-mail:yeyouwan@163.com.

近引入 Beckman DXI800 免疫分析仪用于肿瘤标志物、激素、抗体等检测。本文根据 CLSI EP5-A2<sup>[2]</sup>、EP15-A2<sup>[3]</sup>、EP17-A<sup>[4]</sup>、EP6-A2<sup>[5]</sup>、EP7-A2<sup>[6]</sup>及 C28-A2<sup>[7]</sup>等文件的要求对甲胎蛋白(AFP)检测进行分析性能验证,结果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 仪器 Beckman DXI800 免疫分析仪

1.1.2 主要试剂 Beckman DXI800 配套 AFP 试剂及校准品,AFP 试剂批号为 011228,AFP 校准品批号为 011178。室内质控品购自伯乐公司,批号为 40221、40222、40223。

1.1.3 标本来源 笔者所在科室的临床标本。

### 1.2 方法

1.2.1 精密度试验 每天室内质控的前提下,根据 EP5-A2 的要求,选择 2 个浓度实验样本,每天 2 批,每批重复检测 2 次。

1.2.2 准确度试验 用卫生部临床检验中心的室间质量评价活动提供的控制品作为定值参考物质,将检测结果与控制品的靶值进行比较,计算偏倚度<sup>[2]</sup>。

1.2.3 灵敏度试验 用 AFP 配套定标液 S0(0 ng/mL)作为空白样品,将 S1(2.5 ng/mL)用 S0 作系列稀释,组成 AFP 系列样品(0、0.25、0.30、0.50、0.60、1.225、2.50 ng/mL)。空白样品批内重复测定 10 次,其他样品日间重复测定 10 次。记录每次检测的浓度值和光强度值(RLU)。具体计算方法参照文献<sup>[4,8-9]</sup>。

1.2.4 测量范围验证试验 参考 CLSI EP6-A2 文件,设定实验室的重复性和线性的允许误差(TEa)范围均为 5%,选取新鲜高值血清(H)和低值血清(L)各 1 份,将 H 和 L 按 L、H+4L、2H+3L、3H+2L、4H+L、H 的体积比例分别配制,形成 6 个系列样品,每份样品重复测定 3 次,计算均值,将实测值与理论值相比较来验证线性范围。

1.2.5 干扰试验 根据 CLSI EP7-A2,收集高、中、低 3 个浓度的血清标本各 1 份,加入不同量的生物性干扰物胆红素、血红蛋白和乳糜物质,记录加入前后测定值的变化,计算偏差以衡量相同干扰物对 3 个不同浓度标本影响度的均值。

1.2.6 参考区间验证 参考 CLSI C28-A2 文件验证 Beckman 公司试剂盒说明书提供的参考区间。按照纳入标准选择 20 例本院体检健康个体,依照标准操作规程检测样本,检测结果用 1/3 规则进行离群值检验。发现离群值均弃用,并用新的参考个体代替,以确保 20 例测试结果不含离群值。若 20 份标本的

检测结果均在仪器说明书提供的参考区间内或仅有 2 个以内标本超出,则验证通过;反之则进行参考区间确立试验。

## 2 结果

2.1 精密度试验 根据 EP5-A2 提供的统计方法进行分析后显示, $\chi^2$  值均低于相应自由度(R)95%CI 的上限,说明检测的批内和总不精密度与 Beckman AFP 试剂说明书提供的精密度性能基本一致,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 1。

2.2 准确度试验 采用 2010 年卫生部室间质评肿瘤标志物专业第 2 次质评的 5 个标本,进行准确度验证试验,测定值和“靶值”比较,偏倚度为 2.70%~4.37%,符合卫生部要求。

2.3 灵敏度试验 空白样品 RLU 均值为 9 970,标准差为 317,空白样品 RLU 的 3 倍标准差为:3×317=951,即为 99.7%CI 上限;2.50 ng/mL 样品扣除空白后的 RLU 为 31 498,因此 RLU 为 951 时相当于检测下限 LLD=(951/31 498)×2.50=0.075 ng/mL;0.25 ng/mL 日间 CV 为 21.46%,0.30 ng/mL 日间 CV 为 15.82%,保守估计功能灵敏度为 0.30 ng/mL。

表 1 精密度性能验证结果

项目	批内精密度		总精密度	
	低值	高值	低值	高值
R 值	40	40	40	40
$\chi^2$ 值	4.08	32.47	8	59.39
相应 R95%CI 上限	55.8	55.8	67.5	98.5

2.4 测量范围验证试验 AFP 的低值(L)、高值(H)分别为 1.52、2 048 ng/mL,低值(L)、高值(H)重复检测集合分差(SDr)分别为 1.64%、0.68%,均未超过 5%的设定 TEa 范围,检测结果可用于线性评价。多项式回归统计结果显示,b<sub>2</sub>、b<sub>3</sub> 与 0 比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),AFP 为一次线性,线性方程为  $Y=480.32X-474.13$  ( $P<0.05$ ),线性范围为 1.53~2 399.33 ng/mL。

2.5 干扰试验 AFP 回收实验结果见表 2。回收率为 95%~105%,根据美国国家临床生化学会(NACB)和欧洲肿瘤标志物专家组(EGTM)对肿瘤标志物检测的规定和临床应用中的推荐,以批内 CV 小于 5%、批间 CV 小于 10%为标准<sup>[10]</sup>。血红蛋白(12 g/L)、乳糜物质(520 mg/L)、胆红素(25 mg/L)对 AFP 检测结果无影响。

表 2 AFP 回收试验结果

AFP 水平	血红蛋白(12 g/L)			乳糜物质(520 mg/L)			胆红素(25 mg/L)		
	预期值 (ng/mL)	实测值 (ng/mL)	回收率 (%)	预期值 (ng/mL)	实测值 (ng/mL)	回收率 (%)	预期值 (ng/mL)	实测值 (ng/mL)	回收率 (%)
水平 1	1.62	1.70	104.94	1.57	1.59	101.27	1.52	1.48	97.37
水平 2	12.61	11.99	95.08	13.59	12.96	95.36	13.31	13.32	100.08
水平 3	2 499.86	2 623.21	104.93	2 695.92	2 713.59	100.66	2 638.74	2 507.49	95.03
均值	—	—	101.65	—	—	99.10	—	—	97.49

—:无数据。

2.6 参考区间验证试验 20 份血清标本 AFP 浓度为 1.02~6.98 ng/mL,均在仪器说明书参考区间之内,即健康成人 AFP<9 ng/mL,可以直接使用生产厂商提供的参考区间。

## 3 讨论

肝癌是严重威胁人类健康的疾病,血清 AFP 检测对原发性肝癌的诊断具有重要意义<sup>[11-12]</sup>。目前 AFP 的检测方法主要

是化学发光法。为满足临床诊疗需要,本实验室新近引进 Beckman DXI800 化学发光分析仪,此仪器说明书中提供的所有参数都是厂家在最佳条件下设定的。但不同实验室实际的外部条件存在较大的差异,包括电压的稳定性、环境的温度和湿度、人员的操作习惯等。因此,每个实验室在新检测系统投入使用前都应验证其分析性能。

精密度是反映仪器整体性能的首要指标,是进行其他方法学验证试验的前提。EP5-A2 是临床化学设备和检测系统精密度评价的常用标准。实验结果表明,Beckman DXI800 的 AFP 不精密度声明可被接受。

国际标准委员会对准确度进行了新的定义,并提出了正确度(trueness)的概念;准确度是指测量结果与真值之间的一致程度<sup>[13]</sup>,正确度是大量测量的均值与真值的接近程度<sup>[14]</sup>,而精密度强调的是测量结果之间的一致程度。因此,准确度涵盖正确度和精密度,与测量正确度和精密度均有关。王薇等<sup>[15]</sup>认为使用定值参考样本的正确度验证方案尚未被同行广泛接受。结合临床实际情况,本文选用准确度作为仪器的主要分析性能指标进行验证,在确认检测系统精密度符合要求的基础上,进行实验。结果显示,Beckman DXI800 检测 AFP 的准确度符合卫生部要求。

灵敏度的检验低限为 0.075 ng/mL,功能灵敏度为 0.30 ng/mL,功能灵敏度优于厂家声明的 0.50 ng/mL,可能与厂家在评估 AFP 功能灵敏度时较为保守有关。

CLSI EP6-A2 线性试验的多项式回归统计方法的统计功效与精密度有关,要求项目具有较高的检测精密度,因此试验前一般先用  $SDr$  判断检测项目的精密度。结果显示,AFP 低值、高值的  $SDr$  均小于  $TEa$  (5%),线性评价有意义。SPSS13.0 拟合结果显示 AFP 检测线性范围为 1.53 ~ 2 399.33 ng/mL,比厂家给出的线性范围 0.50 ~ 2 700 ng/mL 要小,可能与实验室条件或检测仪器状态不同有关。

EP7-A2 提供了 2 种干扰分析方法,即干扰筛选和用患者样本评价干扰。笔者利用 Sysmex A2PLUS 干扰试剂盒,采用干扰筛选方法评估临床实验室的主要干扰(胆红素、血红蛋白和乳糜物质)。结果表明,Beckman DXI800 的 AFP 试剂声明的血红蛋白(12 g/L)、乳糜物质(520 mg/L)、胆红素(25 mg/L)对 AFP 检测结果无影响。

虽然验证结果显示可以直接引用厂家给出的参考区间,但由于本地区人群流动性大,所以尚不能排除直接引用厂家提供的参考区间不完全适合本实验室使用的可能性。实验室应定期评审参考区间,这亦是 ISO15189 的要求。

综上所述,Beckman DXI800 全自动化学发光免疫分析仪 AFP 检测的主要分析性能验证结果与厂商的声明基本一致,符合质量目标要求。本研究选用的验证方案具有可操作性和

实用性。

## 参考文献

- [1] 中国合格评定国家认可委员会. 医学实验室质量和能力认可准则(ISO 15189)[S]. 北京:中国合格评定国家认可委员会,2008:1-36.
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP5-A2. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods [S]. Wayne PA:CLSI,2004.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP15-A2. User demonstration of performance for precision and accuracy [S]. Wayne PA: CLSI,2004.
- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP-17A. Protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation; approved guideline [S]. Wayne PA:CLSI,2004.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP6-A2. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures [S]. Wayne PA:CLSI,2003.
- [6] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP7-A2. Interference testing in clinical chemistry [S]. Wayne PA:CLSI,2005.
- [7] Clinical and Laboratory Standards Institute. C28-A2. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory [S]. Wayne PA:CLSI,2000.
- [8] 张秀明,庄俊华,郑松柏,等. 临床化学发光免疫法检测 AFP 的分析性能验证与实验方法[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(11): 1293-1297.
- [9] 丛玉隆,冯仁丰,陈晓东. 临床实验室管理学[M]. 北京:中国医药科技出版社,2004.
- [10] 吴健明. 影响肿瘤标志物检测的因素[J]. 中华检验医学,2005,28(4):352.
- [11] Sun Y, Mi W, Cai J, et al. Quantitative proteomic signature of liver cancer cells; tissue transglutaminase 2 could be a novel protein candidate of human hepatocellular carcinoma [J]. J Proteome Res, 2008,7(9): 3847-3859.
- [12] Nakagawa T, Miyoshi E, Yakushijin T, et al. Glycomic analysis of alpha-fetoprotein L3 in hepatoma cell lines and hepatocellular carcinoma patients [J]. J Proteome Res, 2008,7(6): 2222-2233.
- [13] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP6-A2. Evaluation of the linearity of quantitative analytical methods [S]. Wayne PA: CLSI,2003:1247.
- [14] 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,2007:37-85.
- [15] 王薇,王治国,李少男. 临床实验室对厂家声明的精密度和真实度的性能验证要求[J]. 检验医学,2010,25(12):1001-1005.

(收稿日期:2011-05-06)

# 欢迎投稿

# 欢迎订阅