

续表 2 各参比检测项目的预期偏倚及 95% 可信区间 (mmol/L)

项目	X_c	1/2 CLIA'88	\hat{B}_c	95% 可信区间	
				下限	上限
LDL-C	1.50	0.225 0	-0.112 4	-0.08	-0.07
(系数调整后)	3.12	0.468 0	-0.270 4	-0.11	-0.09
	6.24	0.936 0	-0.694 0	-0.21	-0.18

3 讨 论

3.1 检测系统是指完成一个检验项目所涉及的仪器、试剂、校准品、质控品、检验程序、保养计划等组合^[3]。该院有两台日立全自动生化分析仪,其中 7600-020 安装于总院,仪器运行良好,日常工作精密度高,参加全国及省内室间质评成绩优秀;7600-010 安装于 B 区,主要负责 B 区常规生化检测。两台仪器有许多相同的检测项目,故以 7600-020 作为参照,对两台仪器所构成的检测系统进行方法比对和偏倚评估,以保证其结果的一致性。

3.2 EP9-A2(2002)与 EP9-A(1995)不同之处在于 EP9-A2 文件是计算预期偏倚 \hat{B}_c 的 95% 可信区间,并判断 \hat{B}_c 的 95% 可信区间与可接受误差的关系,替代了 EP9-A 文件中用相对偏倚(在 X_c 浓度上偏倚的百分比)来判断偏倚是否可接受。

3.3 表 1 表明 TG、TC、HDL-C、LDL-C 的相关系数均大于 0.975,说明两种检测系统测定的物质浓度达到足够的宽度,分布范围合适,用作回归统计的 b 、 a 可靠,可以用医学决定水平处的预期偏倚来判断方法间是否具有可比性。

3.4 表 2 显示 TG 和 TC 的预期偏倚符合 1/2 CLIA'88 规定的允许误差标准,HDL-C、LDL-C 均超过 1/2 CLIA'88 规定的允许误差标准,偏倚不可接受,判断标准以美国临床实验室修正法规(CLIA'88)对室间质评允许误差(T_{ea})的 1/2 为判断依据为可接受误差。(1)可接受误差落在 B_c 95% 置信区间范围内,表示两系统的偏倚可以接受;(2)可接受误差大于 B_c 95% 置信区间的上限,表示有 97.5% 的概率两系统得出的结果具有一致性,偏倚可以接受;(3)可接受误差小于 B_c 95% 置信区间的下限,表示有 97.5% 的概率两系统得出的结果不具一致性,偏倚不可接受。

3.5 HDL-C 和 LDL-C 均超过 1/2 CLIA'88 规定的允许误差标准,偏倚不可接受,原因是 7600-020 检测 HDL-C 和 LDL-C

• 质控与标规 •

方法为直接法,而 7600-010 检测上述两个项目为清除法,直接法在复活 HDL-C、LDL-C 时或多或少都有可能将其他的胆固醇复活,所以做出的结果比过氧化氢酶清除法高,导致超过 1/2 CLIA'88 规定的允许误差标准。处理方法:(1)作出本地区 HDL-C 和 LDL-C 清除法的正常参考值及动脉硬化风险指数,再与 7600-020 直接法比较。(2)因其相关性良好($r=0.997 1$ 、 $0.999 8$),故可通过系数调整使两种检测系统的结果一致。在 7600-010 上加上系数 HDL-C $b=1.09$, $a=0.351$;LDL-C $b=1.10$, $a=0.181$,系数调整后,按照原方法重新测定 40 份标本,系数调整后预期偏倚符合 1/2 CLIA'88 规定的允许误差标准,本组采用第 2 种方法进行处理。

当实验室内使用不同检测系统检测相同项目时应定期对其结果进行比对及偏倚评估。如果偏倚不接受但相关性好($r \geq 0.975$),根据直线回归方程 $Y=bX+a$ 的 a 和 b ,在实验方法上添加相应系数,可以使其具有可比性,从而为临床提供稳定而可靠的诊断数据^[4-7]。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 陈黎明,吴建平,赵莹.两个不同检测系统电解质测定结果的偏倚评估[J].实验与检验医学,2008,26(5):528-530.
- [3] 张秀明,庄俊华,徐宁,等.不同检测系统血清酶测定结果的偏差评估和可比性的研究[J].中华医学检验杂志,2006,29(4):346-349.
- [4] 邱玲,程歆琦,刘荔,等.多台生化分析仪多项目同时进行比对的实验研究设计及应用[J].中华医学检验杂志,2007,30(9):1001-1004.
- [5] 王丽,牛璐璐,权翠侠,等.组合生化检测系统实验结果偏倚评估[J].临床检验杂志,2007,25(6):425-426.
- [6] 房玉珠,姚冬明,顾红兵,等.三种检测系统测定血清电解质的方法学对比和评估[J].江苏大学学报(医学版),2008,18(1):73-76.
- [7] 张勤寂,刘堂斌,陈丽峰.室内不同生化检测系统测定结果的比对及偏倚评估[J].实验与检验医学,2008,26(2):151-152.

(收稿日期:2011-12-18)

日立 7600 邻苯三酚红比色法测定尿蛋白误差来源分析

李自越,沈建军,李菊香,张惠中

(第四军医大学唐都医院检验科,西安 710038)

摘要:目的 探讨在日立 7600 全自动生化分析仪上采用邻苯三酚红比色法测定尿蛋白的误差来源及解决方法。方法 收集患者尿蛋白浓度为 100~2 000 mg/L 的标本,检测不同浓度尿蛋白标本在日立 7600 全自动生化分析仪反应系统清洗前、后的结果。结果 (1)尿蛋白浓度越低,其 CV 越大,在仪器反应系统清洗前、后无改变;(2)尿蛋白浓度 2 000 mg/L 左右的标本,用 Decrease 模式测定后,其 CV 明显升高,而尿蛋白浓度 100~400 mg/L 左右的标本,用 Increase 模式测定后其 CV 明显降低。结论 日立 7600 邻苯三酚红比色法测定尿蛋白,误差来源可能主要由仪器本身引起,应注意仪器的日常保养,尽量减小仪器本身对检测结果的影响。

关键词:邻苯三酚红; 尿蛋白; 比色法; 误差

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.08.040

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)08-0973-03

邻苯三酚红比色法和传统的蛋白质检测(如双缩脲法、考

马斯亮蓝等)方法比较,试剂来源易得,操作简便,不污染比色

杯,线性范围较宽,灵敏度高,可应用于自动分析仪测试,经重复性试验及回收试验,符合应用要求,所以该法是目前检测尿蛋白较理想的方法^[1]。但本组实验过程中发现在日立 7600 全自动生化分析仪上用邻苯三酚红检测尿蛋白存在误差。现探讨解决方法,减少实验误差对检测结果的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集该院患者尿蛋白浓度分别为 100、200、400、500、600、700、1 000、2 000 mg/L 左右的标本。

1.2 仪器与试剂 日立 7600 全自动生化分析仪,752C 紫外可见分光光度计。保定长城临床试剂有限公司生产的尿总蛋白检测试剂、纯化水。

1.3 原理 显色剂在酸性条件下与蛋白质相结合,生成蓝紫色络合物,这种络合物在波长 600 nm 处有最大吸收峰,其颜色深浅与浓度成正比,通过与同样条件下检测标准液比较,即可计算出标本中蛋白的浓度^[2]。

1.4 方法 收集尿蛋白浓度分别为 100、400、500、600、700、1 000、2 000 mg/L 左右的标本,每个浓度的标本混匀后分成 20 份,每份 200 μL,在日立 7600 清洗前、后分别检测其各自的尿蛋白浓度,计算标准差(SD)和变异系数(CV)。

1.5 统计学处理 将实验所得数据用 SPSS 10.0 软件求其 SD、CV 值。

2 结果

2.1 仪器反应系统清洗对不同浓度尿蛋白标本检测的影响 仪器反应系统清洗前、后不同浓度尿蛋白的标本检测结果标准差及变异系数差异无统计学意义($P > 0.05$),且尿蛋白浓度约为 100 mg/L 标本检测结果变异系数明显高于其他各浓度组。见表 1。

表 1 仪器反应系统清洗前、后尿蛋白检测结果比较

\bar{x} (mg/L)		SD(mg/L)		CV(%)	
清洗前	清洗后	清洗前	清洗后	清洗前	清洗后
127.9	150.3	71.62	85.31	56.0	56.8
440.7	430.2	45.36	48.39	10.3	11.2
543.3	557.9	42.88	46.13	7.9	8.3
613.8	620.3	51.21	49.98	8.3	8.1
743.2	737.1	48.17	55.71	6.5	7.6
1 091.0	1053.1	44.53	48.82	4.1	4.6
2 346.1	2097.6	85.24	88.12	3.6	4.2

表 2 样本稀释前、后尿蛋白检测精密度的变化

类别	\bar{x} (mg/L)	SD(mg/L)	CV(%)
正常模式	2 346.10	85.24	3.6
Decrease 模式	2 951.63	755.24	25.6

表 3 不同检测模式对尿蛋白测定精密度的影响

\bar{x} (mg/L)		SD(mg/L)		CV(%)	
正常模式	Increase	正常模式	Increase	正常模式	Increase
127.9	143.35	71.62	17.49	56.0	12.2
440.7	417.3	45.36	36.47	10.3	8.7
743.2	744.7	48.17	46.16	6.5	6.1

2.2 不同检测模式对尿蛋白检测精密度的影响

2.2.1 Decrease 模式对尿蛋白测定结果的影响 Decrease 模式检测高浓度尿蛋白标本时,增大了检测结果的标准差及变异系数。见表 2。

2.2.2 Increase 模式对尿蛋白检测结果的影响 Increase 模式测定低浓度尿蛋白标本时,降低了检测结果的标准差及变异系数,且尿蛋白浓度约为 100 mg/L 的标本检测结果的标准差及变异系数的降低程度明显高于其他浓度组。见表 3。

3 讨论

尿液中蛋白浓度的高低可作为肾损伤程度的参考指标,其检测适用于健康者体检,可对肾脏及全身其他系统的疾病进行早期排查,可用于慢性肾小球肾炎、肾病综合征等疾病的疗效观察^[3]。临床上常用的尿蛋白检测方法有:考马斯亮蓝法、双缩脲法、磺基水杨酸法、干试带法等,这些方法各有优劣^[4-5]。而邻苯三酚红法,操作简便,所需样本量少,可用于全自动分析仪测定,目前已逐步取代双缩脲法、磺基水杨酸法等成为检测尿蛋白的主要方法^[6-7]。

日立 7600 型全自动生化分析仪,具有透光性好、抗蛋白吸附性强、导热快、耐酸碱,成本低等优点,其在三甲医院广泛应用。保定长城临床试剂有限公司生产的尿蛋白试剂盒试剂单一,而且配有标准液,操作简便,易于掌握,减少了操作中产生的许多误差,便于进行室内质控和室间质控;而且该方法所需样本量少(5~10 μL),检测时间短(10~15 min),便于自动化分析,更适合批量样本处理。邻苯三酚红比色法操作简便,无需沉淀,影响因素少,提高了精密度^[8];该方法对清蛋白、球蛋白的反应灵敏度略有差异,但选择性蛋白尿主要成分是清蛋白,其比例占 70%~80%,即使是非选择性蛋白尿也与血清成分相似,仍以清蛋白成分为主,所以对于该法来说影响不大^[9-10]。

本实验表明,日立 7600 邻苯三酚红比色法检测不同浓度的尿蛋白,尿蛋白浓度大于 500 mg/L 的标本,其 SD 基本在 40~50 mg/L 左右,CV 均小于 10%,尿蛋白浓度为 2 000 mg/L 左右的标本,SD 虽然很大(80~90 mg/L),但其 CV 却只有 4%左右,说明尿蛋白浓度大于 500 mg/L 的标本,其检测结果相对稳定;而尿蛋白浓度为 100 mg/L 和 400 mg/L 左右时 CV 很大,尤其是 100 mg/L 左右的尿蛋白 CV 甚至达到了 56%,说明尿蛋白浓度越小的标本,其检测结果的稳定性越差,而在仪器系统清洗后此现象依然存在,因此由仪器交叉污染引起的可能性很小,这些误差来源的主要原因可能是由仪器本身的因素(如温度、电流、光源及吸光度波动干扰等)引起的。尿蛋白浓度 2 000 mg/L 左右的标本,用 Decrease 模式检测后,其 SD 及 CV 明显增大,而尿蛋白浓度为 100~400 mg/L 左右的标本通过 Increase 模式检测后其 CV 值明显改善。

综上所述,日立 7600 全自动生化分析仪邻苯三酚红比色法检测尿蛋白浓度小于 400 mg/L 的样本重复性差,用 Increase 模式检测可以减少误差,提高精密度。目前对于日立 7600 全自动生化分析仪本身引起的系统干扰尚没有解决的办法,也无法完全避免其对检测结果带来的影响,因此平时使用过程中应定期检查光源,每日对仪器比色杯、采样针、搅拌棒进行清洗,尽可能减小这些因素对检测结果的干扰。

参考文献

[1] 王淑清,侯自然.邻苯三酚红显色法测定尿蛋白方法的建立及应

- 用[J]. 吉林医学, 1994, 15(4): 245-246.
- [2] 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: 281.
- [3] 曾祝伦, 张莲. BECKMAN CX3 DEL TA 检测脑脊液和尿液总蛋白的应用与评价[J]. 重庆医科大学学报, 2004, 29(4): 540-543.
- [4] 吴家新, 杨华丽, 覃晓燕. 三种脑脊液蛋白质测定方法比较[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(5): 4-5.
- [5] Smith J. A comparative evaluation of various methods for microalbuminuria[J]. Screening Am J Nephrol, 2008, 28(7): 324-329.
- [6] 王颖, 王家瑞. 不同方法检测尿、脑脊液蛋白结果的比较[J]. 华北煤炭医学院学报, 2008, 10(2): 199-200.
- [7] Ng WY, Lui KF, Thai AC. Evaluation of a rapid screening test for microalbuminuria with a spot measurement of urine albumin-creatinine ratio[J]. Ann Acad Med Singapore, 2000, 29(41): 62-65.
- [8] 李岱容, 黄维嘉, 程大林, 等. 邻苯三酚红比色法定量测定尿蛋白[J]. 江西医学检验, 2002, 20(4): 197-198.
- [9] 陈增强, 张雪青, 陈筱菲, 等. 两种方法检测脑脊液蛋白质的比较[J]. 临床检验杂志, 2006, 24(3): 209-210.
- [10] 王洪礼, 宁莉. 尿液蛋白质分离检测及临床意义的研究进展[J]. 天津医科大学学报, 2010, 16(4): 701-703.

(收稿日期: 2011-12-02)

• 质控与标规 •

体液常规中细胞学检查内容与报告方式的规范化探讨

谭家成

(江苏省苏北人民医院临床医学检测中心, 江苏扬州 225001)

摘要:目的 探讨体液常规中细胞学检查的规范化。方法 (1)采用有核细胞计数和有核细胞分类作为统一的项目名称; 有核细胞计数采用 $10^6/L$ 作为计数单位; (2)采用统一报告形式, 主要内容包括: 有核细胞计数、有核细胞分类计数、有核细胞组分特征性描述、检验诊断与建议; (3)二甲以上医院必须提供图文报告; (4)明确不同职称人员的报告权限和内容, 加强体液细胞学检查的质量管理。结果 通过改进极大地提高了工作效率和管理质量。结论 新的检验报告方式更有利于工作。

关键词: 体液; 细胞学检查; 报告方式

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.08.041

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)08-0975-02

体液常规检验是临床诊疗活动中最基本的实验诊断项目之一, 其检查结果对于体液性质的鉴别至关重要, 特别是细胞学检查内容, 对于辅助诊断和指导治疗不可或缺, 有时甚至是疾病得以明确诊断的唯一依据^[1-3]。然而, 在实际工作中, 体液细胞学检查的质量并不理想, 细胞学检查的内容与报告方式有待规范。

1 主要存在问题

1.1 细胞计数

1.1.1 名称不统一 根据《全国临床检验操作规程》, 脑脊液检查中细胞计数分为细胞总数、白细胞数和细胞分类三项, 浆膜腔积液检查中细胞学检查分为细胞总数及有核细胞计数和细胞分类。其中, 白细胞计数和有核细胞计数的操作方法基本相同, 但名称及其内涵并不一致。无论是脑脊液还是浆膜腔积液, 或者是其他体液, 其含有的细胞成分多样, 除白细胞外, 还可见到其他多种细胞成分, 如脑脊液中可能存在的脉络丛细胞和室管膜细胞、浆膜腔积液中可能存在的间皮细胞、各种体液标本中可能存在的肿瘤细胞等。按照前述方法计数的细胞应为有核细胞总数, 如冠以白细胞计数之名显然不妥。在实际工作中, 各级医院的体液细胞学检验报告中细胞计数、白细胞计数、有核细胞计数 3 种名称均有使用, 有待统一。

1.1.2 单位不统一 根据《全国临床检验操作规程》, 脑脊液及浆膜腔积液检查中, 细胞计数结果以 $10^6/L$ 为报告单位。当被检体液标本所含有核细胞数很高 (大于 $1\ 000 \times 10^6/L$ 甚至大于 $10\ 000 \times 10^6/L$) 时, 其结果以 $10^6/L$ 为报告单位显然不符合科学记数法的规定, 在这种情况下, 是否需要转化为以 $10^9/L$ 为报告单位, 转换的规则有待统一。

1.2 细胞分类

1.2.1 对应于细胞计数的不同名称, 细胞分类的内容就有了

很大的差异。与白细胞计数对应的应是白细胞分类, 与有核细胞计数对应的则是所有有核细胞的分类。由于各种体液标本的来源不同, 导致其中所含有核细胞的组分差异很大; 而同一种类的体液标本在不同的病理状态下所含有核细胞组分也有本质性差异。因此, 对各种体液标本中有核细胞分类的内容进行规范统一尤显重要。

1.2.2 细胞分类的方法有待统一 目前常用的细胞分类方法有直接分类法和染色分类法, 而计数板直接分类法显然过于简单粗糙, 一方面, 直接分类法将有核细胞分为单个核细胞和多核细胞, 而这两类细胞都并非由单一细胞构成, 如单个核细胞, 既可以是淋巴细胞, 也可以是单核细胞, 既可以是成熟的白细胞, 也可以是幼稚的白细胞, 还可能是各种类型的恶性肿瘤细胞; 同样是淋巴细胞, 在不同病理状态下又可呈现不同的形态特征, 而这些形态特征在直接分类法中是难以区分的。另一方面, 某些病原体在直接分类法中可能会误判为单个核细胞, 如新型隐球菌。因此, 统一使用染色分类法而弃用直接分类法已成为必然。

1.3 报告方式 前述各种存在问题集中表现在检测结果的报告上。名称、内容、格式的不统一, 直接影响检测报告的科学性、规范性、可靠性。目前各级医院的体液常规细胞学检测报告多只提供有核细胞数和粗略的分类结果, 既没有特征性细胞图片, 也没有特征性细胞学描述, 更没有细胞学诊断结论或建议, 大大降低了细胞学检查的质量和价值。

2 常见影响因素

2.1 标本因素 不同来源不同病理状态的标本, 其细胞数量及细胞组成的复杂程度相差悬殊, 加上不同条件下细胞形态的各种变化, 造成了细胞学检查的名称、内容和报告形式的多样性。