

• 检验仪器与试剂评价 •

BH2100 型钨舟原子吸收光谱仪分析性能验证

梁玉杰¹, 郭丽丽¹, 李守霞^{1△}, 郭胜利², 陈丁莉¹

(1. 河北邯郸市中心医院检验科, 河北邯郸 056001; 2. 河北邯郸市邯钢医院检验科, 河北邯郸 056001)

摘要:目的 对钨舟原子吸收光谱仪进行性能验证。方法 对 BH2100 型钨舟原子吸收光谱仪测定血铅的精密度、平行双样测定偏差、准确度、分析灵敏度、分析测量范围(AMR)、临床可报告范围(CRR)、携带污染率和生物参考区间等八大分析性能进行验证和评价。结果 血铅含量在 51、104、203 $\mu\text{g/L}$ 时, 日间不精密度分别为 10.20%、9.03%、5.92%, 平行双样测定偏差分别为 1.1%~14.6%、2.0%~10.2%、0.52%~9.6%; 5 个不同浓度的室间质控品的检测值与靶值的相对偏倚为 0.64%~7.87%; 检测低限(LLD)为 2.31 $\mu\text{g/L}$, 生物检测限(BLD)为 5.56~6.07 $\mu\text{g/L}$, 功能灵敏度(FS)为 6.06 $\mu\text{g/L}$; 仪器的 AMR 为 2.31~30.0 $\mu\text{g/L}$, CRR 为 6.06~1 500 $\mu\text{g/L}$; 携带污染率为 0.91%; 生物参考区间可以使用厂家提供的参考区间(儿童小于 100 $\mu\text{g/L}$, 成人小于 200 $\mu\text{g/L}$)。结论 BH2100 型钨舟原子吸收光谱仪检测血铅的各项分析性能符合《血铅临床检验技术规范》的要求, 能够满足临床需求, 对规范血铅检测、提高检测质量有重要意义。

关键词:钨舟原子吸收光谱法; 铅; 性能验证

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.21.038

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)21-2640-03

钨舟无焰原子吸收光谱法是当前血铅检测中一项重要技术, 应用钨舟电热原子化技术, 具有特有自吸扣背景技术和专用稀释液, 无需化学前处理, 操作简单快速, 被广泛地应用于临床实验室, 铅是痕量元素, 对仪器的分析性能有着很高的要求。为确保检验结果的准确与可靠, 美国《临床实验室改进法案修正案》(CLIA'88)、国际标准化组织颁布的《医学实验室质量和能力的专用要求》(即 ISO15189)以及卫生部 2006 年颁布的《医疗机构临床实验室管理办法》中都明确要求对检测系统的分析性能进行验证, 笔者参考 CLSI 系列文件和《血铅临床检验技术规范》, 结合实际情况, 对 BH2100 型钨舟原子吸收光谱仪进行了性能验证, 现报告如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 北京博晖 BH2100 型血铅分析仪以及配套的铅元素检测原装试剂(批号 1030610)、校准品(批号 1090610)、质控品(批号 0266)。

1.2 实验方法 严格按照实验室及仪器的 SOP 文件进行加样、制备校准曲线、质量控制、项目检测、维护保养等操作。

1.2.1 制备标准曲线实验 以吸光度值为纵坐标, 以浓度为横坐标制作标准曲线, $r \geq 0.995$ 为可接受^[1]。

1.2.2 精密度验证实验 测定低值(51 $\mu\text{g/L}$)、中值(104 $\mu\text{g/L}$)、高值(203 $\mu\text{g/L}$)三个浓度水平, 每天 1 次, 连续 20 d。浓度在 20~100 $\mu\text{g/L}$ 时, $CV \leq 15\%$; 浓度大于 100 $\mu\text{g/L}$ 时, $CV \leq 10\%$ 为可接受限^[1]。

1.2.4 平行双样测定偏差验证实验^[1] 两个平行结果的偏差[平行样的最大允许偏差(%)=(两个平行结果之差/两个平行结果之和)×100]与《血铅临床检验技术规范》中要求比较。分析结果浓度在 20~100 $\mu\text{g/L}$ 范围内, 平行样最大允许偏差小于 15%; 分析结果浓度大于或等于 100 $\mu\text{g/L}$, 平行样最大允许偏差小于 10%。

1.2.5 准确度验证实验 参考 CLSI EP15-A 文件^[2], 取卫生部临检中心 2011 年 2 月发放的 5 个不同浓度的室间质控品进行检测, 计算检测值与靶值的相对偏倚, 与可接受限进行比对, 若相对偏倚在参考物质允许的偏倚范围内, 结果为可接受。相对偏倚 = |(靶值-测定值)/靶值| × 100%。

1.2.6 分析灵敏度验证实验 参照文献[3-4]进行。(1)样品制备:用稀释液作为空白样品;用稀释液将浓度为 10 $\mu\text{g/L}$ 的低浓度校准品稀释成低浓度系列, 作为分析灵敏度的实验样品。(2)样品测定:空白样品批内重复测定 10 次, 其他系列实验样品日间重复测定 10 次, 记录每次检测的吸光度值(A)和浓度值。(3)检测低限(LLD)的确定:单次空白检测响应量可达到的非空白检测响应量对应的分析物浓度。按 99.7%的可信限, 检测响应量所对应的血铅浓度为 LLD。(4)生物检测限(BLD)的测定:实验样品单次检测可能具有的最小响应量刚大于空白 LLD 响应量, 该样品内含有的分析物浓度为 BLD。按 99.7%的可信限, 以 LLD 的检测响应量为界, 在系列低浓度结果中, 某浓度下的检测响应量刚好大于 LLD 检测响应量, 此样品对应的分析物浓度为 BLD。(5)功能灵敏度(FS)的确定:以样本 $CV_{\text{样本}} = 20\%$ 时对应实验样品的平均浓度值作为检测系统可定量报告分析物的 FS。系列低浓度样品日间重复测定 A 均值减去空白样品 A 均值后, $CV = 20\%$ 的样品对应的血铅浓度为 FS。

1.2.7 分析测量范围(AMR)验证实验 (1)AMR 即定量检测项目的线性检测范围, 指患者标本未经任何处理(稀释、浓缩或其他处理), 由检测系统直接检测得到的可靠检测范围。对于多点定标(一般为 5 个水平, 至少包括高、中、低三个水平)的检测项目无需进行 AMR 的验证实验, 此时该系统的测量范围由定标品的定值范围决定^[5]。(2)对由定标品定值范围确定的 AMR 进行简单验证(根据 CLSI EP6-A2 文件并结合实际情况设计实验方案):取空白样品(稀释液)和 GBW(E)090033(51 $\mu\text{g/L}$)、GBW(E)090034(104 $\mu\text{g/L}$)、GBW(E)090035(203 $\mu\text{g/L}$)、GBW(E)090036(203 $\mu\text{g/L}$)四个浓度水平的国家二级标准物质, 稀释 10 倍后和定标品定值范围一致, 按标本检验程序分别重复测定 4 次, 绘制均值(Y)与预期值(X)的坐标图, 计算回归方程 $Y = bX + a$ 。若相关系数 $r \geq 0.975$, b 在 0.97~1.03 范围内, a 与 0 无显著性差异, 则可判断此根据定标品定值范围确定的 AMR 有效^[6]。

1.2.8 临床可报告范围(CRR)验证实验 CRR 为患者标本经稀释、浓缩或其他处理后, 向临床所能报告的结果范围。对

△ 通讯作者, E-mail:lishouxia1968@163.com。

于 CRR 大于 AMR 的检测项目,需进行最大稀释度验证实验。先进行稀释回收实验,确定标本稀释后可靠检测浓度的低限。选择血铅浓度在 AMR 内的高值标本 3 份,用稀释液分别作 2、3、4、5、6、7、8 倍稀释,检测结果与预期值比较,计算回收率,回收率在 80%~120% 的结果为可接受;然后选择初检超过 AMR 上限的高铅血症患者血清,分别作 10、20、30、40、50、60 倍稀释,检测结果与预期值比较,从而确定标本的最大稀释度,结合 FS 和医学决定水平确定 CRR^[5]。

1.2.9 样品携带污染率验证实验 是指由测量系统将一个检测样品反应携带到另一个检测样品反应的分析物不连续量,由此错误地影响了另一个检测样品的表现量。按照 CLSI EP10-A 的要求^[7],选取高值和低值样品各一例,先连续测定高值样品三次,浓度值依次为 H1、H2、H3,接着连续测定低值样品三次,浓度值依次为 L1、L2、L3,携带污染率 = [(L1 - L3) / (H3 - L3)] × 100%。

1.2.10 生物参考区间验证实验 参考 NCCLS C28-A2 文件^[8],选择 20 份体检合格的健康者标本,在检测系统上进行测定,检测结果进行 1/3 检验,对结果进行统计并与仪器说明书提供的参考区间进行比较,若 20 份标本的检测结果均在此参考区间内或仅有 2 个标本超出,则验证通过;否则进行参考区间确立实验。

2 结 果

2.1 制备校准曲线 血铅含量与吸光度值的回归方程为 Y = 0.004 9X + 0.011 8,相关系数 r = 0.998 3 > 0.995。

2.2 精密度验证 根据质控品给出的标准值及不确定度判断测定结果无明显离群点,见表 1。

2.3 平行双样测定偏差验证 分析浓度为 51.0 μg/L、104.0 μg/L、203.0 μg/L 时,平行双样测定偏差分别为 1.1%~14.6%,2.0%~10.2%,0.52%~9.6%,见表 1。

2.4 准确度验证 5 个不同浓度的室间质控品的检测值与靶值的相对偏倚为 0.64%~7.87%。

2.5 分析灵敏度验证 (1)按 99.7%的可信限,LLD 为 3s 空白检测响应量所对应的血铅浓度,LLD 为 2.31 μg/L。(2)按 99.7%的可信限,以 LLD 的检测响应量,即 3s_{空白} = 0.015 为界,5.56 μg/L 实验样品的 A 下限为 0.006 7 < 0.015,6.06 μg/L 实验样品的吸光值下限为 0.015 1 > 0.015,故 BLD 为 5.56~6.06 μg/L。(3)在 6.06 μg/L 浓度时,样本 CV_{日间} 为 19.04%,略小于 20%,故 FS 为 6.06 μg/L。

2.6 AMR 验证 (1)血铅检测项目属于多点定标,该系统的 AMR 由定标品的定值范围决定,结合标准曲线制备实验和 LLD 实验确定本仪器血铅的 AMR 为 2.31~30.0 μg/L,由于仪器配套试剂将样本进行处理后样本也就相应的稀释了 10 倍,所以检测铅全血标本的 AMR 为 23.1~300.0 μg/L。(2)对由定标品定值范围确定的 AMR 进行简单验证:回归方程 Y = 0.990 9X + 0.063 4, r = 0.999 9, b 为 0.97~1.03, a 接近 0,说明此根据定标品定值范围确定的 AMR 有效。

2.7 CRR 验证 (1)取血铅含量 30.0、28.9、31.5 μg/L 的全血 3 份,分别作 2、3、4、5、6、7、8 倍稀释,计算稀释回收率。当稀释 5 倍时,3 份标本稀释后的测定值分别为 5.42、4.05、5.39 μg/L,回收率分别为 90.3%、70.1%和 85.6%,只有 1 份标本回收率低于可接受范围;当稀释 6 倍及 6 倍以上时,标本回收率均超过可接受范围,因此确定标本稀释后可靠检测浓度的低限约大于 5.5 μg/L。(2)收集 1 份铅中毒患儿全血标本,初检 317.0 μg/L,将其分别作 20、30、40、50、60 倍稀释,测定结果,

当稀释倍数达到 30 倍时,标本仍有较好的回收率,当稀释倍数达到 40、50 倍时,标本回收率显著下降,但仍在可接受范围内,且标本稀释后的浓度也没有低于标本稀释后可靠检测浓度的低限,从而确定最大稀释倍数为 50。(3)AMR 上限乘以最大稀释倍数即为 CRR 上限,由于 FS 为 6.06 μg/L,故本检验系统测定血铅的 CRR 为 6.06~1 500 μg/L。

2.8 样品携带污染率 连续测定高值样品 3 次,浓度值依次为 H1 = 254.7、H2 = 260.4、H3 = 266.2,接着连续测定低值样品 3 次,浓度值依次为 L1 = 48.2、L2 = 49.0、L3 = 46.2,单位是 μg/L,携带污染率为 0.91%,可见铅的携带污染率影响很小,可以满足实验要求。

2.9 生物参考区间验证 收集 20 份健康儿童血标本,其中 0~4 岁儿童标本 5 份,4~6 岁 4 份,6~10 岁 5 份,10~18 岁 6 份,全血标本血铅浓度为 31.0~112.3 μg/L,仅 1 例(男,6 岁),超出仪器说明书提供的儿童参考区间小于 100 μg/L 的范围;20 份健康成人全血标本血铅浓度为 11.3~97.8 μg/L,均在仪器说明书提供的成人参考区间小于 200 μg/L 的范围内。说明该参考区间有效。

表 1 精密度及平行双样误差测定结果

项目	GBW(E)090033	GBW(E)090034	GBW(E)090035
标定值($\bar{x} \pm s$, μg/L)	51 ± 11	104 ± 19	203 ± 20
实量值($\bar{x} \pm s$, μg/L)	49.31 ± 5.03	104.86 ± 9.47	202.89 ± 12.02
CV(%)	10.20	9.03	5.92
精密度要求	CV ≤ 15%	CV ≤ 15%	CV ≤ 10%
平行双样偏差(%)	1.1~14.6	2.0~10.2	0.52%~9.6
平行样最大允许偏差	<15%	<10%	<10%

3 讨 论

随着人类工业化进程的加快,铅的使用日益广泛,铅中毒的诊断与防治成为人类几十年来重要的医学课题。国内铅检测系统种类繁多,选择良好的检测系统或方法是保证患者检验结果可靠性的前提^[9];而良好检测系统或方法的选择只有通过全面的方法学性能验证实验,证实该检测系统所有的分析性能都符合要求,才可以将检测系统用于常规工作^[10],这是临床检验质量管理的重要内容。

检测系统最主要的性能指标是精密度和准确度^[11]。临床检测系统精密度的评价通常采用 CLSI EP5-A 文件^[12],准确度的评价通常采用 CLSI EP9-A2 文件,与参考系统进行方法比对和偏倚评估。本实验室根据实际情况设计实验方法得到总不精密度和平行双样偏差,结果均符合《血铅临床检验技术规范》要求;准确度检测值与“靶值”进行比对,结果均在 CLIA'88 规定的允许误差范围内。

分析灵敏度是反映检测系统分析性能的重要指标,包括检测 LLD、BLD、和 FS,厂家说明书上并未提及此指标。LLD 是能测出样本中分析物的最小量,一般是一个理想值,并不代表实际检测中可以达到这个数值,是基于零浓度基础上,反映了方法对空白样品测定的噪音,通过验证实验确定 LLD = 2.31 μg/L,符合《血铅临床检验技术规范》的要求(<6 μg/L);BLD 和 FS 均是确定检测系统或方法可定量报告分析物最低浓度或其他量值的限值,在临床检测中对于低值结果的报告具有一定参考价值^[13],FS 反映了实际检测中的灵敏度,因此比 BLD 更具临床价值,实验结果显示,本室检测系统测定血铅的 BLD 为

5.56~6.06 $\mu\text{g/L}$, FS 为 6.06 $\mu\text{g/L}$, 符合《血铅临床检验技术规范》的要求($<20 \mu\text{g/L}$)。

AMR 是建立 CRR 的基础, 当前各实验室在采用室内质控、室间比对等手段对检测系统精密度和准确度进行评估和监控的同时往往忽视了这两项指标的验证和评价。由于不同实验室的实验条件存在不同程度的差异, 故有必要对本实验室的检测系统进行 AMR 和 CRR 的分析和建立, 从而规范操作程序, 确保检验结果的可靠^[14], AMR 和 CRR 结果显示 AMR 为 2.31~30.0 $\mu\text{g/L}$, 标本稀释后可靠检测浓度的低限约大于 5.5 $\mu\text{g/L}$, 与 FS 基本吻合, 其差别可能与制备的样品浓度水平有关, 最大稀释倍数为 50 倍, 结合 AMR 上限、最大稀释度、FS 和临床决定水平, 确定本检测系统测定血铅的 CRR 为 6.06~1 500 $\mu\text{g/L}$ ^[5]。当患者标本检验结果高于 AMR 时, 必须稀释重新测定, 但最大稀释度不宜超过 50 倍, 标本稀释后的测定值必须大于 5.5 $\mu\text{g/L}$, 否则结果不可靠。

此外, 我们还对样品携带污染率和生物参考区间进行了验证, 结果表明: 血铅的携带污染率影响很小, 可以满足实验要求; 按照 CLSI C28-A 的要求^[8], 本实验室生物参考区间选取实验标本的验证结果为: 儿童 31.0~112.3 $\mu\text{g/L}$, 成人 11.3~97.8 $\mu\text{g/L}$, 均在厂家提供的参考区间, 说明该参考区间(儿童小于 100 $\mu\text{g/L}$, 成人小于 200 $\mu\text{g/L}$)有效, 可以直接使用。

以上结果说明检测系统状态良好, 严格按照本实验室及仪器的 SOP 文件操作可保证血铅检验结果的可靠, 能够满足临床需求, 对规范血铅检测、提高检测质量有重要意义。

参考文献

- [1] 卫生部. 卫医发[2006]10 号 血铅临床检验技术规范[D]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2006.
- [2] CLSI. EP15-A User demonstration of performance for precision

and accuracy[S]. PA, USA: CLSI, 2001: 1-15.

- [3] CLSI. EP17-A protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation[S]. PA, USA: CLSI, 2004: 1-39.
- [4] 张葵. 定量检测系统方法学性能验证实验的基本方法[J]. 临床检验杂志, 2009, 27(5): 321-323.
- [5] 毕波, 吕元. 定量检测方法学性能验证的系统设计[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(2): 143-145.
- [6] CLSI. EP6-A2 Evaluation of the linearity of quantitative analytical methods[S]. PA, USA: CLSI, 2003: 1-47.
- [7] CLSI. EP10-A2 National Committee for Clinical Laboratory Standards Preliminary evaluation of quantitative clinical laboratory methods approved guideline[S]. PA, USA: CLSI, 2002.
- [8] CLSI. C28-A2 how to define and determine reference intervals in the clinical laboratory[S]. PA, USA: CLSI, 2000: 1-31.
- [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: 1.
- [10] 毕波, 吕元. 定量检测系统的方法学性能验证实验结果的评价[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(12): 1332-1335.
- [11] 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.
- [12] CLSI. EP5-A2 Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices[S]. PA, USA: CLSI, 1999: 1-28.
- [13] 张亚松, 谢秋燕. HITACHI7170、7600 以及 ROCHE Cobas C501 全自动生化分析仪分析灵敏度的评价[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(9): 993-995.
- [14] 严海忠, 王伟佳, 张秀明, 等. 化学发光免疫法检测 BNP 的分析测量范围和临床可报告范围研究[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(2): 40-45.

(收稿日期: 2012-05-02)

• 检验仪器与试剂评价 •

BECKMAN AU680 全自动生化分析仪的性能评价

李 敏

(绵竹市人民医院检验科, 四川绵竹 618200)

摘要:目的 对 BECKMAN AU680 全自动生化分析仪的主要性能进行评价。方法 按照美国 CLIA'88 的性能验证文件的方法, 选择 6 个项目(ALT, AST, BUN, CREA, GLU, K^+), 对 AU680 精密度、准确度、线性试验及携带污染率等指标进行测试。结果 $\text{CV}_{\text{批内}} < 4\%$, $\text{CV}_{\text{批间}} < 5\%$, 相对偏差低于 1/4 CLIA'88 要求的总代许误差(TEa), 携带污染率低于 2%, 线性回归系数 0.99。结论 BECKMAN AU680 全自动生化分析仪具有良好的线性、准确性和重复性, 是临床实验室较理想的全自动生化分析仪器。

关键词: 设备和供应; 生物学标记; 性能验证

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.21.039

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)21-2642-03

随着现代医学科学技术的发展, 临床诊断水平的不断提高, 对仪器的性能评价也提出了更高的要求, 其中包括精密度、准确度、线性试验及携带污染率等指标的性能评价^[1-3]。本科购进的一台 BECKMAN AU680 生化分析仪, 测试速度 800 T/h, 具有试剂用量少, 分析速度快等功能, 清洗彻底。为了进一步了解该仪器的性能, 笔者参照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)的仪器性能验证方法, 参照美国临床实验室改进修正案 CLIA'88 法案为评价标准, 对该仪器进行性能评价, 报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源 均来自本院住院患者新鲜血清标本的混合血清标本, 各个测定项目低值和高值各 1 份。

1.1.2 仪器与试剂 BECKMAN AU680 全自动生化分析仪, 试剂由宁波美康生物科技有限公司生产。

1.2 方法

1.2.1 精密度试验 取罗氏质控品水平 2, 和罗氏质控品水平 3, 上机检测, 批内数据取在同一天内测定的 20 个数据, 批