

- [3] 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: 157-164.
- [4] 王金行, 宋鉴清, 戚其学. VITROS950 全自动干化学分析仪生物参考区间适用性验证探讨[J]. 中国血液流变学杂志, 2011, 21(2): 333-336.
- [5] 林国跃, 张和平, 王秋慧, 等. Vitros350 干化学分析仪参比液使用对血清离子测定的影响研究[J]. 西北国防医学杂志, 2010, 31(3): 230-230.
- [6] 左军. Vitros-350 干式化学分析仪影响因素的探讨[J]. 中国实用医药, 2012, 7(25): 246-247.
- [7] 沈学耕. 如何排除不同批号参比液对 VITROS350 干化学分析仪电解质测定结果的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(4): 478-479.
- [8] 贺勇, 陈嵌, 唐治贵, 等. 干、湿化学检测系统测定肾功能高值标本时稀释液的选择与评价[J]. 重庆医学, 2012, 41(6): 542-544.
- (收稿日期: 2012-11-21)

• 检验仪器与试剂评价 •

免疫比浊法检测血浆 D-二聚体的性能评价

马升俊

(广西南宁市第二人民医院检验科, 广西南宁 530031)

摘要:目的 评价 Stago STA-R 全自动血凝仪采用免疫比浊法检测血浆 D-二聚体的分析性能。方法 参照 NCCLS 相关文件, 对 Stago STA-R 全自动血凝仪检测血浆 D-二聚体的正确度、不精密度、携带污染率、抗干扰性、线性范围、可比性和参考区间等方面的分析性能进行验证。结果 两个水平质控血浆的正确度结果均落在其质控参考范围内; 批内和批间的不精密度的标准差(s)都小于 0.1; 携带污染率为 0.56%; 血红蛋白、总胆红素和三酰甘油对 D-二聚体测定的影响度在 -6.67%~7.14%; 线性 b 值为 0.997 2, r 值为 0.999 4; 相关试验的 SE%=3.78%, r=0.997 9; 验证的参考区间为 (0.04~0.48)mg/L, 比率 R(%)=95%。结论 Stago STA-R 全自动血凝仪采用免疫比浊法检测血浆 D-二聚体的各项分析性能符合质量目标要求, 推荐的参考区间适用, 可以满足临床检测要求。

关键词:全自动血凝仪; 免疫比浊法; D-二聚体; 性能评价

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.05.040

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)05-0602-03

按照《医疗机构临床实验室管理办法》的要求, 临床实验室应当保证检测系统的完整性和有效性, 应对仪器设备检测系统和方法的分析性能进行验证, 证实其能够达到临床检测要求的标准。本次研究参照美国国家临床实验室标准化委员会(NCCLS)有关文件要求, 对采用免疫比浊法检测血浆 D-二聚体的法国 Stago STA-R 全自动血凝仪的正确度、不精密度、携带污染率、抗干扰性、线性范围、可比性和参考区间等方面的性能进行验证, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 分析样本为质控定值血浆和患者血浆。质控定值血浆为法国 Stago 公司生产的原装正常(N 值)及病理(P 值)质控血浆, 批号为 108092, 有效期至 2013 年 7 月。患者血浆为本院门诊、住院患者及健康体检者, 血浆标本用 3.2% 枸橼酸钠(109 mmol/L)真空抗凝管, 按 1:9 采集新鲜全血 2 mL, 以 3 000 r/min, 离心 10 min 分离出血浆。

1.2 仪器与试剂 法国 Stago STA-R 全自动血凝仪, 以及原装配套的 D-二聚体试剂, 试剂批号分别为 108304, 有效期至 2013 年 10 月。

1.3 方法

1.3.1 正确度验证 根据 NCCLS EP15-A2 文件^[1], 使用 2 个水平(N 值和 P 值)的定值质控血浆连续测定 10 次, 计算均值($\bar{x}$), 要求结果落在厂家提供的质控参考范围内。

1.3.2 不精密度验证 (1)批内不精密度: 根据 NCCLS EP5-A2 文件^[2], 取两个水平的定值质控血浆, 连续重复测定 20 次, 计算均值($\bar{x}$)、标准差(s)、变异系数(CV), 要求 $s \leq 0.1$ 。(2)批间不精密度: 取两个水平的定值质控血浆, 每天分别测定两次, 两次之间的时间间隔大于 2 h, 连续检测 10 d, 共收集 20 个数

据, 计算 $\bar{x}$ 、s、CV 值, 要求 $s \leq 0.2$ 。

1.3.3 携带污染率验证 取高值和低值患者血浆各 1 份, 连续测定 3 次高值样本(H1, H2, H3)后立即连续测定低值样本 3 次(L1, L2, L3), 计算携带污染率(%)=(L1-L3)/(H3-L3)×100%, 要求携带污染率(%)小于或等于 10%。

1.3.4 抗干扰试验 根据 NCCLS EP7-A 文件^[3], 从临床标本留取实验用干扰血浆, 其最高浓度分别为血红蛋白(Hb)5.0 g/L、总胆红素(TBIL)430 μ mol/L、三酰甘油(TG)19.8 mmol/L, 各干扰物质按 100%、80%、60%、40%、20%的比例进行稀释, 将不同浓度的干扰物质和待测血浆按 1:9 的比例混合, 各样本分别测定两次取均值, 计算其影响度; 影响度(%)=(加入后测定值-加入前测定值)/加入前测定值×100%; 要求影响度(%)在±10%范围内。

1.3.5 线性范围验证 根据 NCCLS EP6-A 文件^[4], 取接近预期上限的高值样本血浆, 按 100%、80%、60%、40%、20%、10%的比例进行稀释, 每个稀释度重复测定 3 次, 计算均值。将实测均值与理论值作比较, 计算 SE%, 回归方程 $Y=bX+a$, r; 结果要求 SE%≤10%, b 值在 1±0.03 范围内, r≥0.975。

1.3.6 相关性分析 根据 NCCLS EP9-A2^[5]对能力比对与偏差评估的相关要求, 选取新鲜患者血浆(包含正常、异常结果的标本, 也应覆盖黄疸、脂血和溶血标本)检测各在至少 5 d 共选用患者标本 40 份, 分别在 Stago STA-R(仪器 A)和 Stago Compact(仪器 B)血凝仪上检测, 每个样本在各仪器上分别测定 2 次, 取均值; 计算 2 台血凝仪间比对结果的 SE%和 r; SE%≤10%, r≥0.975 为可接受。

1.3.7 参考区间验证 选择 40 个健康体检者样本(男女各 20 例, 年龄 16~65 岁), 各样本均按标准操作程序检测各项

目,参照 NCCLS C28-A 2 文件^[6],统计各参考个体检测值,与推荐的参考区间比较,计算 $\bar{x}$ 、 s 、比率 R 值及 95% 分位数; $R(\%) = \text{参考个体落在推荐参考区间的个数} \div \text{总的参考个体数} \times 100\%$,若 $R(\%) \geq 90\%$,则验证结果适用^[7]。

1.4 统计学处理 用 Excel 2003 软件进行统计分析。

2 结 果

2.1 正确度 两个水平的定值质控血浆测定结果的平均值分别为 0.27 mg/L、1.96 mg/L,结果都在各自质控靶值的范围内 $[N \text{ 值}(0 \sim 0.5) \text{ mg/L}, P \text{ 值}(1.65 \sim 2.45) \text{ mg/L}]$ 。

2.2 不精密度 批内和批间不精密度验证结果见表 1,各检测结果统计的标准差(s)都小于 0.1。

2.3 携带污染率 血浆 D-二聚体连续测定 3 次高值(3.75、3.72、3.73 mg/L)对低值(0.15、0.14、0.13 mg/L)的测定携带污染率为 0.56%。

2.4 抗干扰性 Hb、TBIL 和 TG 对血浆 D-二聚体测定结果的影响度在 -6.67%~7.14%,结果见表 2。

表 1 不精密度验证结果($n=20$)

D-二聚体(mg/L)	N 值			P		
	$\bar{x}$	s	CV%	$\bar{x}$	s	CV%
批内不精密度	0.28	0.037	13.21	1.96	0.043	2.19
批间不精密度	0.29	0.043	14.83	1.95	0.069	3.54

表 2 3 种干扰物质对血浆 D-二聚体测定结果的影响

Hb 的干扰			TBIL 的干扰			TG 的干扰		
Hb 浓度 (g/L)	D-二聚体 (mg/L)	影响度 (%)	TBIL 浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	D-二聚体 (mg/L)	影响度 (%)	TG 浓度 (mmol/L)	D-二聚体 (mg/L)	影响度 (%)
0	0.28	0.00	0.00	0.30	0.00	0.00	0.28	0.00
1.0	0.30	7.14	86	0.28	-6.67	3.96	0.28	0
2.0	0.27	-3.57	172	0.31	3.33	7.92	0.30	7.14
3.0	0.28	0.00	258	0.29	-3.33	11.88	0.27	-3.57
4.0	0.30	7.14	344	0.30	0.00	15.84	0.29	3.57
5.0	0.29	3.57	430	0.32	6.67	19.80	0.30	7.14

2.5 线性范围 6 种不同稀释浓度 D-二聚体的实测均值与理论值比较, $SE\% < 10\%$, b 值为 0.997 2, r 值为 0.999 4,结果呈线性,相关性良好。见表 3 和图 1。

表 3 同稀释浓度 D-二聚体检测结果

稀释度	实测均值(mg/L)	理论值(mg/L)	SE(%)
100%	3.96	3.97	-1.25
80%	3.25	3.17	2.25
60%	2.51	2.38	5.46
40%	1.65	1.59	3.77
20%	0.84	0.79	6.33
10%	0.43	0.40	7.50

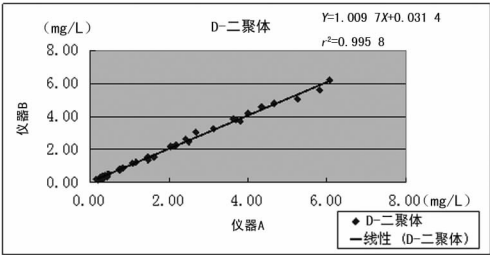


图 2 A、B 两台仪器 D-二聚体比对的相关性($n=40$)

3 讨 论

血浆 D-二聚体是交联纤维蛋白在纤溶酶作用下的降解产物^[8],同时也是反映体内高凝状态和纤溶亢进状态的重要标志物,其在临床上的应用越来越广泛。Stago STA-R 全自动血凝仪具有磁珠凝固法、发色底物法、免疫比浊法 3 种不同的检测系统,血浆 D-二聚体的检测采用免疫比浊法,是将 D-二聚体的单克隆抗体包被于乳胶颗粒上,标本中的 D-二聚体抗原与之发生特异性结合,产生凝集,以致浊度增加,通过测定浊度的变化量,求出 D-二聚体的浓度^[9]。

本次研究,从两个水平的定值质控血浆正确度的验证结果表明其准确度较高,统计的均值接近质控靶值。而两个水平的定值质控血浆批内和批间不精密度验证结果的标准差(s)分别为 0.037、0.043 和 0.043、0.069,符合厂家对精密度的要求,也说明该仪器具有良好的重复性和稳定性。携带污染率试验和抗干扰试验结果均符合设定要求,其线性实测值与理论值在(0.4~3.97) mg/L 的范围内呈良好的线性关系,且在实际工作中,当遇到高于检测范围的样本时,仪器可自动增加样本稀释倍数,获得更宽的检测范围,可满足临床需求^[10]。在比对试验中,两台仪器检测结果的相对平均偏差 $SE\% = 3.78\%$, $r =$

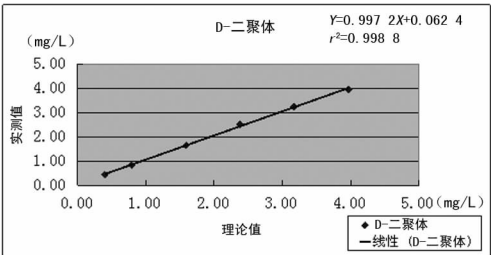


图 1 不同稀释浓度 D-二聚体实测值与理论值线性关系图

2.6 相关性 40 例样本比对结果表明,A、B 两台仪器间具有良好的相关性,其 $SE\% = 3.78\%$, $r = 0.997 9$ 。见图 2。

2.7 参考区间 40 例健康体检者血浆 D-二聚体检测结果, $\bar{x} = 0.26 \text{ mg/L}$, $s = 0.11 \text{ mg/L}$,比率 $R(\%) = 95\%$,其 95% 区间为(0.04~0.48) mg/L,其结果在厂家推荐的参考区间 0~0.50 mg/L 内,说明其推荐的参考区间适用。

0.997 9, 表明两台仪器间具有良好的相关性。从 40 例健康体检者的检测结果分析, 其参考个体符合厂家提供的参考区间的比率 $R(\%) = 95\%$, 说明厂家推荐的参考区间适用。

通过对 Stago STA-R 全自动血凝仪的性能评价, 初步确定该仪器采用免疫比浊法检测血浆 D-二聚体具有良好的分析性能, 其正确度、不精密度、携带污染率、抗干扰性、线性范围、相关性等均符合质量目标要求, 推荐的参考区间也适用, 可以满足临床检测要求。

参考文献

- [1] NCCLS. EP15-A2 User demonstration of performance for precision and accuracy: approved guideline[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2004.
- [2] NCCLS. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods: approved guideline[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2004.
- [3] NCCLS. EP7-A Interference testing in clinical chemistry: approved guideline[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2002.
- [4] NCCLS. EP6-A Evaluation of the linearity of quantitative analyti-

cal methods: approved guideline[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2003.

- [5] NCCLS. EP9-A2 Method comparison and bias estimation using patient samples: approved guideline[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2002.
- [6] NCCLS. C28-A2 How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory: approved guideline[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2000.
- [7] 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.
- [8] 曾秋丽, 李明. D-二聚体临床应用价值的探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(11): 1203-1204.
- [9] 周静, 孙家瑜, 孙加冠, 等. 五种 D-二聚体检测方法用于排除可疑静脉血栓栓塞症的临床评价[J]. 四川大学学报: 医学版, 2009, 40(6): 1078-1081.
- [10] 许小英, 于海涛, 周存敏, 等. 某型号全自动血凝分析仪的性能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(11): 1361-1362.

(收稿日期: 2012-11-19)

• 检验仪器与试剂评价 •

4 种检测试剂对 350 例临床标本 ENA 多肽抗体谱检测结果分析

刘 春[△], 马 云, 王 彬

(深圳市人民医院, 广东深圳 518020)

摘要:目的 通过 4 种检测试剂对 350 例临床标本 ENA 多肽抗体谱检测结果的对比, 探讨最佳检测方案。方法 选取 2012 年 1~6 月, 在深圳人民医院、北大深圳医院肾内科、风湿免疫科门诊及住院的患者 ANA 阳性(IIF 法), 并疑似自身免疫性疾病的患者, 共 350 例, 其中男 142 例, 女 208 例, 年龄 18~70 岁, 平均 46.5 岁。采用 4 种不同检测试剂对上述患者血清进行检测。结果 350 例临床标本中, 4 种试剂检出的阳性标本数分别为: 试剂 1 阳性率为 62.9%(220/350); 试剂 2 阳性率为 63.7%(223/350); 试剂 3 阳性率为 65.7%(230/350); 试剂 4 阳性率为 45.1%(158/350), 差异有统计学意义($P < 0.05$); 4 种试剂一致性最高的为 SSB, 83.3%, 一致性最低的为 Scl-70, 45.5%。结论 4 种检测试剂对这组抗体检测结果均有不一致的情况出现, 如果不能对 ENA 自身抗体谱的抗体特征充分了解以及应用多种检测试剂联合互相验证、互相补充势必出现对这组抗体检测结果的错误判断, 导致为数不少的患者被误诊、漏诊。

关键词: 实验室技术和方法; ENA 多肽抗体谱; 敏感性与特异性

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.05.041

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)05-0604-03

ENA 多肽抗体谱是指不含 DNA 和组蛋白, 但可被盐水提取的可溶性核抗原的一类核蛋白的总称, 主要成分为核酸和蛋白质。ENA 抗体的出现是自身免疫性结缔组织疾病诊断的主要血清学指标, 其抗体的存在和滴度通常与疾病的活动性不明显相关, 因此它并不代表疾病的严重程度, 而常常做为回顾性诊断的重要依据^[1-2]。常用的检测 ENA 抗体的方法有 IBT, ELISA、CIE 及 ID 等, 近几年在 IBT 的基础上又区分出斑点印迹、传统免疫印迹两种检测模式的试剂。不同的抗原、不同的检测试剂, 会导致不同的检测结果。本文通过两种斑点印迹试剂、一种 ELISA 法试剂和一种传统免疫印迹试剂, 四种检测试剂对 350 例临床标本的检测结果进行分析、对比, 探讨最佳检测方案。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 1~6 月在深圳人民医院、北大

深圳医院肾内科、风湿免疫科门诊及住院的患者 ANA 阳性(IIF 法), 并疑似自身免疫性疾病的患者, 共 350 例, 其中男 142 例, 女 208 例, 年龄 18~70 岁, 平均 46.5 岁。留取上述患者的空腹静脉血, 取血清, 体积不少于 150 μ L, 排除溶血和高脂血标本, -20 $^{\circ}$ C 保存。

1.2 方法 用 4 种试剂对抗 ENA 抗体进行检测, 包括 UIRNP、Sm、SSA-52、SSB、Scl-70、JO-1、rRNP 7 种。试剂 1 为欧蒙医学实验诊断有限公司生产的抗 ENA 抗体 IgG 检测试剂盒(斑点印迹)。试剂 2 为深圳伯劳特生物制品有限公司提供的风湿病自身抗体检测试剂盒(斑点印迹)。试剂 3 为美国 INOVA, Diagnostics, Inc 公司生产的 ELISA 检测试剂盒。试剂 4 为深圳伯劳特生物制品有限公司提供的风湿病自身抗体检测试剂盒(传统免疫印迹)。

1.3 统计学处理 用 SPSS13.0 统计软件进行数据处理, 计

[△] 通讯作者, E-mail: 13651407949@126.com。