

• 检验仪器与试剂评价 •

罗氏 Cobas c501 全自动生化特定蛋白检测项目的性能验证及评价

刘光明, 黄小兵, 谭柏松, 张伟坚

(南方医科大学附属新会医院检验科, 广东江门 529100)

摘要:目的 验证及评价该院罗氏 Cobas c501 全自动生化检测系统特定蛋白检测项目的分析性能。方法 对免疫球蛋白 G(IgG)的精密度、正确度、分析测量范围、临床可报告范围、比对实验、干扰实验进行验证实验。结果 批内精密度变异系数(CV)高低值分别为 2.37%和 3.04%;日间精密度 CV 高低值分别为 3.65%和 4.77%,均少于 1/4 CLIA'88 和 1/3 CLIA'88 水平(6.25%, 8.33%);相对偏倚为 1.86%和 4.37%,少于 1/2 CLIA'88 水平(12.5%);分析测量范围为 3.30~48.28 g/L,临床可报告范围为 3.30~289.68 g/L;与 Biosystems A15 全自动特定蛋白分析仪比较,相关系数 $r=0.989\ 6$,回归方程: $Y=1.083\ 3X-0.48$;干扰实验结果显示 2.5 mmol/L TG、5 g/L 血红蛋白、98.5 $\mu\text{mol/L}$ 胆红素对 IgG 检测结果无明显干扰。结论 罗氏 Cobas c501 全自动生化检测系统的特定蛋白 IgG 项目可用于临床检测,主要分析性能符合质量目标要求。

关键词:全自动生化检测系统; 免疫球蛋白 G; 性能验证

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.20.053

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)20-2744-03

按照《医学实验室质量和能力的专用要求》(ISO15189)对医学实验室认可标准,以及美国颁布的《临床实验室修订法案》(CLIA'88)、美国病理学会(CAP)的认证标准,均要求实验室对引进或改变的检测系统做性能验证后方可应用于常规工作,参加认可的实验室需对开展的项目提供相关的方法学验证实验数据。本院使用的罗氏公司 COBAS 6000 全自动生化免疫分析模组中的 c501 全自动生化检测模块有部分特定蛋白检测项目,作者参照美国临床和实验室标准协会(CLSI)指南文件对其检测特定蛋白项目结果的可靠性做性能验证,现选取对免疫球蛋白 G(IgG)的检测情况进行报道。

1 材料与方法

1.1 样本来源 本院住院患者新鲜血清(样本无溶血、无黄疸、无脂浊)。

1.2 仪器与试剂 德国 Roche 公司 COBAS 6000 全自动生化免疫分析模组中的 c501 全自动生化检测模块,所用试剂为仪器原装配套试剂盒、校准品及质控品。

1.3 方法

1.3.1 精密度验证 参考 CLSI EP15-A2 文件^[1],选择低浓度(批号 Lot 168330)和高浓度(批号 Lot 168410)两个浓度水平的质控品,实验持续 5 d,每批每个水平重复测定 3 次。计算批内不精密度、日间不精密度。批内不精密度判断限:1/4CLIA'88 允许总误差水平(6.25%);日间不精密度判断限:1/3CLIA'88 允许总误差水平(8.33%)。

1.3.2 正确度验证 根据 CLSI EP15-A2 文件使用参考物质的正确度方案,以卫生部临检中心发放的室间质控品作为参考物质,对 2 个不同水平的室间质控品在 5 d 内每批进行 2 次重复,然后计算均值和标准差以及相对偏倚。若相对偏倚在参考物质允许的偏倚范围内,结果为可接受。

1.3.3 比对实验 参考 CLSI EP9-A2 文件^[2]要求作方法学对比实验,选择 48 份包括高中低浓度的临床样本,每天测定 8 份样本,分别在罗氏 c501 全自动生化检测模块和西班牙 Biosystems A15 全自动特定蛋白分析仪上按 1 至 8 再 8 至 1 的顺序进行双份平行测定,分 6 个工作日完成,数据用统计软件 SPSS19.0 进行处理。

1.3.4 分析测量范围验证 参考 CLSI EP6-A2 文件^[3],设定

实验室线性的允许误差范围均为 5%,选择低(L)、高(H)浓度水平混合血清,按比例配制成系列浓度的 6 个样本:5L、4L+1H、3L+2H、2L+3H、1L+4H、5H。在质控在控的情况下,每个样本重复检测 2 次,数据通过统计软件 SPSS19.0 拟合为一次($Y=b_0+b_1X$)、二次($Y=b_0+b_1X+b_2X^2$)和三次($Y=b_0+b_1X+b_2X^2+b_3X^3$)多项式,判断各项系数与 0 之间的差异是否具有统计学意义(t 检验)。如果非线性系数 b_2 和 b_3 与 0 比较差异无统计学意义($P>0.05$),则认为存在线性关系,否则该组数据存在非线性,则要进行非线性度的评价。

1.3.5 临床可报告范围验证 首先进行稀释回收实验,稀释回收率=(实测值/预期值) $\times 100\%$ 。选择一份初检为 48.13 g/L 的高浓度样本,用 0.9% NaCl 分别作 1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7 稀释。参考仪器说明书,回收率在 90%~110%结果为可接受。实验得到最大稀释度,结合分析测量范围上限来确定临床可报告范围。

1.3.6 干扰实验 参考 NCCLS EP7-P 文件,取浓度为 10.2 g/L 的 IgG 标准液 5 份,每份 500 μL ,其中每份分别加入 25 μL 的含 0.9% NaCl、2.5 mmol/L TG、4.0 mmol/L TG、5 g/L 血红蛋白、98.5 $\mu\text{mol/L}$ 胆红素的纯品,对每例样本作三次测定。计算平均值,以 95%置信区间 $\bar{x} \pm 1.96s$ (批内)作为可接受范围进行抗干扰能力的评价^[4],测定值在范围内,则视为无明显干扰。

2 结果

2.1 精密度验证结果 见表 1。

2.2 不正确度(偏倚)验证结果 见表 2。

2.3 比对实验 两仪器检测结果呈高度正相关($r=0.989\ 6$, $P<0.01$),以西班牙 Biosystems A15 全自动特定蛋白分析仪结果为 x ,罗氏 c501 全自动生化检测模块结果为 y ,行直线回归分析,得回归方程: $Y=1.083\ 3X-0.48$ 。

2.4 分析测量范围验证 IgG 的低值和高值分别为 3.30 和 48.28 g/L,经计算得 IgG 的重复检测集合方差(SDr)未超过实验室设定允许误差范围 5%,检测结果可用于分析测量范围评价。统计软件多项式回归数据拟合结果显示,各指标 b_2 、 b_3 与 0 比较差异无统计学意义($P>0.05$),为一次线性,线性方程为 $Y=1.003X-0.71$ ($r=1.000$, $P<0.05$)。分析测量范围为

3.30~48.28 g/L。

表 1 质控品批内及日间不精密度

样本靶值 (g/L)	批内			日间		
	测定值(g/L, $\bar{x}\pm s$)	CV(%)	判断标(%)(<1/4CLLA'88)	测定值(g/L, $\bar{x}\pm s$)	CV(%)	判断标(%)(<1/4CLLA'88)
7.41	7.46±0.18	2.37	6.25	7.44±0.28	3.65	8.33
11.2	11.23±0.34	3.04	6.25	11.25±0.54	4.77	8.33

表 2 测定 IgG 的偏倚

项目	靶值(g/L)	测定均值(g/L)	允许范围(g/L)	测定范围(g/L)	允许偏倚(%)	测定偏倚(%)
IgG 浓度 I	10.2	10.01	8.93~11.48	9.91~10.36	±12.5	1.86
IgG 浓度 II	29.3	30.58	25.64~32.96	29.85~31.24	±12.5	4.37

2.5 临床可报告范围验证 本项目在 90%~110%的可接受范围内最大稀释度为 1:6 以线性最高浓度 48.28 g/L 计算,本项目可报告的最高浓度为 289.68 g/L,见表 3。

表 3 稀释可回收实验结果

稀释倍数	实测平均值(g/L)	理论值(g/L)	回收率(%)	是否通过
1:2	16.31	16.09	101.4	是
1:3	12.55	12.07	103.9	是
1:4	10.21	9.66	105.7	是
1:5	8.46	8.05	105.1	是
1:6	7.33	6.90	106.2	是
1:7	6.87	6.04	113.7	否

2.6 干扰实验 见表 4。

表 4 干扰实验结果

干扰物浓度	测定结果(g/L)	干扰浓度(g/L)	变异值(%)
0.9% NaCl	9.88	—	—
2.5 mmol/L TG	10.23	0.35	3.54
4.0 mmol/L TG	10.56	0.68	6.88
5 g/L 血红蛋白	9.76	0.12	1.21
98.5 μmol/L 胆红素	10.11	0.23	2.33

—:无数据。

3 讨论

ISO15189《医学实验室质量和能力的专用要求》要求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^[5]。作者依照相关文件和指南,参考已通过 ISO15189 实验室认可实验室的经验并结合仪器实际性能,探讨并制定了罗氏 COBAS 6000 全自动生化免疫分析模组中的 c501 全自动生化检测模块仪器性能验证方案,对该检测系统的特定蛋白项目免疫球蛋白 G(IgG)进行了评价,为临床提供准确可靠的检验结果。

检测结果必须要有好的精密度,也即是好的重复性。如果没有良好的重复性,准确性就无从谈起^[6]。该 IgG 项目的批内不精密度分别为 2.37%和 3.04%,均小于 1/4CLLA'88 允许误差;日间不精密度分别为 3.65%和 4.77%,均小于 1/3CLLA'88 允许误差,可认为该仪器测定 IgG 的精密度验证通

过。正确度验证结果平均偏倚小于均小于 1/2CLLA'88 允许误差,可认为该仪器测定 IgG 的正确度验证通过,可满足临床要求,并可进行其他方法学验证实验。

分析测量范围验证是指患者标本不经任何预处理,在此范围内,报告结果显示标本中确实含有被测物的含量^[7]。本实验结果显示,IgG 项目的 SDr 未超过实验室设定允许误差范围 5%,线性评价有意义。回归方程显示,呈一次线性。该项目分析测量范围在 3.30~48.28 g/L,与厂家提供的线性范围 3~50 g/L 略有差异。原因可能为(1)样本选择的局限,样本浓度范围不够宽;(2)临床实验室条件和厂家检测条件存在差异,导致实验得出的分析测量范围与厂家略有不同^[8]。在与西班牙 Biosystems A15 全自动特定蛋白分析仪做 IgG 比对实验结果显示,两仪器 IgG 检测结果呈高度相关。临床实验室的主要干扰来源于黄疸、溶血和血脂^[9],本研究干扰实验结果显示,2.5 mmol/L TG、5g/L 血红蛋白、98.5 μmol/L 胆红素对 IgG 检测结果无明显干扰,抗干扰性强,符合实验室常规检测的需要。

在确定临床可报告范围时,一定要结合实际临床可能出现的浓度,以避免一些错误值报告给临床^[10]。在临床检测中,当被测物浓度(活性)超过检测系统提供的分析测量范围时,仪器一般会提示标本超出线性范围,即使有检测数据显示,也必须按要求将标本稀释到仪器检测的分析测量范围内重新测定,才能得到真实结果^[11],否则可能造成结果的不准确。本研究稀释度验证实验结果表明,IgG 项目的最大稀释度为 1:6(厂家提供最大稀释度为 1:5.5),回收率为 106.2%,符合 90%~110%的可接受范围,因此可以确立临床可报告范围为 3.30~289.68 g/L。

本研究表明 COBAS 6000 全自动生化免疫分析模组中的 c501 全自动生化检测模块检测特定蛋白项目 IgG 的主要分析性能验证结果与厂家提供的分析性能基本一致,主要分析性能符合质量目标要求,能满足临床的要求。

参考文献

[1] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP15-A2 User demonstration of performance for precision and accuracy[S]. Wayne, PA:CLSI,2004.
[2] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP9-A2 Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline-

Second edition[S]. Wayne,PA:CLSI,2002.

[3] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP6-A2 Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures[S]. Wayne, PA:CLSI,2003.

[4] 施金俏,俞兆伟.应用 EP7 文件对性激素测定的干扰评价[J]. 检验医学,2006,21(3):289-291.

[5] ISO. ISO15189:医学实验室质量和能力认可准则[S]. 北京:中国合格评定国家认可委员会,2008:1-36.

[6] 安萍,蔡惠芸,张艳,等.酶联免疫吸附试验操作中关键环节及质控方法研究[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版,2010,4(10):95-98.

[7] 万腊根,孔蕴源,罗清,等.定量检测系统临床可报告范围评价方法的探讨[J]. 现代检验医学杂志,2010,25(5):150-152.

[8] 陈斌鸿,罗恒,李炜焯,等.奥林巴斯 AU5400 全自动生化分析仪检测尿素氮临床可报告范围的建立与评价[J]. 实验与检验医学,2011,29(2):117-120.

[9] 徐建华,黄宪章,庄俊华,等.罗氏 Modular 全自动生化分析仪酶学指标检测性能验证[J]. 检验医学,2010,25(2):81-85.

[10] 陆怡德,杨帆,濮玉彪,等.自建半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 检测系统的方法学评价[J]. 陕西医学杂志,2011,40(11):1526-1528.

[11] Kroll MH, Praestgaard J, Michaliszyn E, et al. Evaluation of the extent of nonlinearity in reportable range studies[J]. Arch Pathol Lab Med,2000,124(9):1331-1338.

(收稿日期:2013-04-08)

• 检验仪器与试剂评价 •

Sysmex XE-2100 与 Beckman LH750 血细胞分析仪白细胞识别能力的比对

张 磊,王金华,朱建宏,何 谦,黄 仓,王香玲
(西安交通大学医学院第二附属医院检验科,陕西西安 710004)

摘 要:目的 探讨不同检测系统的血液分析仪对白细胞分类的准确性,评价血细胞分析仪对不同种类白细胞识别的能力。
方法 随机抽取 50 例健康查体、130 例血液科门诊患者外周 EDTA-K2 抗凝血液,样本同时通过 Sysmex XE-2100 和 Beckman LH750 血细胞分析仪进行血常规检测。利用仪器系统不同报警旗标提示,对样本进行自动推片人工机镜检,对所得数据进行结果比较分析。
结果 中性粒细胞比例、淋巴细胞比例、单核细胞比例、嗜酸性粒细胞比例、嗜碱性粒细胞比例,两种血液分析仪检测之间无统计学差异($P>0.05$)。分别与手工推片镜检所得结果比较,无统计学差异。130 例血液科门诊患者样本三种方法比对中,4 种旗标提示总的结果为:Sysmex XE-2100 灵敏度为 87.10%,特异度为 63.64%;Beckmann LH750 灵敏度为 65.52%,特异度为 73.27%。两种分析仪在四种不同旗标(原始细胞、未成熟粒细胞、异性淋巴细胞、有核红细胞)提示中, Sysmex XE-2100 血液分析仪灵敏度分别为:85.71%、94.44%、66.67%、66.67%, 其特异度分别为:91.06%、93.75%、89.76%、96.06%; Beckman LH750 血液分析仪灵敏度分别为:66.67%、68.75%、33.33%、75.00%;其特异度分别为:93.55%、91.23%、96.06%、96.82%。
结论 对于正常健康查体样本检测,2 种血细胞分析仪白细胞识别能力不存在差异,但对于血液科门诊患者,两种血液分析仪白细胞识别能力 Sysmex XE2100 优于 Beckmann LH750。

关键词:血细胞分析仪; 白细胞识别能力; 性能比对

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.20.054 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2013)20-2746-03

白细胞分类作为临床血液学检验中的常规项目,已经得到广泛的运用。一直以来,显微镜目测法被认为是测定白细胞分类的“金标准”^[1]。然而相对于显微镜目测法费时、人为误差大的弊端,血细胞分析仪测定白细胞分类具有快速、简便等优点^[2-5]。近年来,根据国际血液学标准化委员会颁布文件的要求,我国已经逐步建立起血细胞分析的溯源体系^[6-7]。全国各临检中心以及各大型综合医院开展了大量的工作,通过室内质控、室间质评等方式进行血液分析仪的比对工作。但是,这些主要针对血液分析仪 RBC、WBC、Hb、PLT、Hct 检测指标的溯源和比对工作。现今血细胞分析仪提供许多血细胞的检测参数,特别是白细胞分类检测中,通过各种仪器旗标提示,可以提供更多的检测样本中血细胞分类信息^[8-12]。本研究针对两种血液分析仪与显微镜目测法进行比对,评价两种不同检测原理血细胞分析仪对白细胞识别的能力,验证血细胞检测系统的准确性,为临床运用血液分析仪白细胞分类检测提供科学的依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院 2012 年 1 月至 2012 年 3 月随机抽取 50 例健康查体患者(中位年龄为 36.3 岁,男女比例为 1.28:1)。同期的 130 例血液科门诊患者。

1.2 仪器与试剂 日本东亚 Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪;美国 Beckman-Coulter LH750 全自动血细胞分析仪;Leica 双筒显微镜。所用试剂为 Sysmex 和 Beckman-Coulter 公司原装配套试剂。采血用管乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)真空抗凝采血管取外周血。

1.3 方法 (1)每台血细胞分析仪在操作前先用各自指定原配质控品进行检测,结果在室内质控规则允许范围内。(2)对随机抽取同一血液样本在两台仪器上进行自动进样检测两次,2 h 内完成,并且进入电脑工作程序信息区,观察旗标所示的红色警示信号,以及白细胞分类通道散点图、红细胞直方图、血小板直方图等所示信息。记录两台仪器检测结果及旗标提示信息。(3)180 例检测标本在 SP-1000 自动推片机推片染色(Wright-Giemsa 染色法),由两名具有血液细胞形态学基础和临床经验的工作人员分别进行白细胞分类计数,每片计数 200 个白细胞,取均值结果与仪器检测进行比较。(4)参照 NCCLS H20A 标准^[13]规定,确定同一临床运用形态学异常标准(见表 1),比较 Sysmex XE2100 和 Beckman LH750 仪器旗标旗标对 50 例健康查体、130 例血液门诊患者样本检测的效力。所得数据进行统计学分析,利用 SPSS13.0 行四个表卡方(χ^2)检验(McNemar 检验),以及单因素方差分析(LSD 法两两比较),以