

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. 东南大学出版社. 2006:59-60.

[2] 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,2004:111-114.

(收稿日期:2013-06-03)

• 检验仪器与试剂评价 •

## 游离脂肪酸检测试剂盒的性能评价

布威海丽且姆·图鲁普<sup>1</sup>,胡治宝<sup>2△</sup>

(1. 和田洛浦县人民医院检验科,新疆和田 834000;2. 宁波美康生物科技股份有限公司,浙江宁波 315104)

**摘要:**目的 对由宁波美康公司生产的游离脂肪酸检测试剂盒进行了精密度、线性范围、准确度以及干扰试验的研究。方法 分别根据美国临床和实验室标准协会(CLSI)标准文件 EP5-A2, EP6-A, EP7-A2 对游离脂肪酸检测试剂盒进行精密度评价、线性范围评价、干扰物质实验,同时参考相关文献方法进行了准确度回收率评价。结果 精密度:高、低浓度水平的批内精密度 CV 分别为 2.47% 和 3.12%,总精密度 CV 分别为 3.51% 和 3.89%;线性范围:在 0~2.5 mmol/L 范围内,线性良好( $r=0.9994$ );准确度:高低浓度水平回收率分别为 96.3% 和 94.8%;干扰实验:非结合胆红素在 80 mg/dL 以内,结合胆红素在 20 mg/dL 以内,维生素 C 在 25 mg/dL 以内,三酰甘油在 12 mmol/L 以内和血红蛋白在 12 g/L 以内,产生的相对偏差小于 5.0%。结论 该试剂盒的精密度、线性范围、准确度、抗干扰能力能满足临床检测需求。

**关键词:**游离脂肪酸检测试剂盒; 精密度; 线性范围; 准确度; 干扰物

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.20.057

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)20-2751-02

胰岛素、促酰化蛋白、过氧化物酶增殖因子激活受体  $\gamma$ 、脂联素和泛酸等因素会导致 NEFA 水平降低;肿瘤坏死因子  $\alpha$ 、儿茶酚胺类激素、白细胞介素-6 和瘦素会导致 NEFA 水平升高<sup>[1]</sup>。NEFA 升高与糖尿病、冠心病和非酒精性脂肪性肝病等疾病有良好的相关性<sup>[2-5]</sup>。为了评价该试剂盒的性能指标,作者依据美国临床和实验室标准协会(CLSI)颁发 EP5-A2、EP6-A 和 EP7-A2 对该试剂盒进行了精密度、线性范围和抗干扰能力方面的评价实验。同时参考文献[6],对该试剂盒进行了准确度回收率评价试验。

### 1 材料与与方法

**1.1 仪器与试剂** 游离脂肪酸检测试剂盒(酶法)为宁波美康生物科技股份有限公司生产(批号:20130115),仪器为日立 7180 全自动生化分析仪。

**1.2 材料** 实验中用到的血清样本来源于和田洛浦县人民医院检验科。用于干扰试验的非结合胆红素、结合胆红素、维生素 C 和三酰甘油以及用于线性范围和准确度评估的游离脂肪酸高值纯品由宁波美康公司赠送,血红蛋白为溶血处理的血细胞,其浓度经过血液分析仪测定。

**1.3 方法** (1)精密度评价:按照 EP5-A2 进行;每天分 2 批测定样本,上午和下午各一批。每批测定 2 个浓度样本,每个样本重复测定 2 次,连续测定 20 d。(2)线性范围评价:按照 EP6-A 文件进行;将线性范围实验高值样本和生理盐水分别按 5:0,4:1,3:2,2:3,1:4,0:5 的比例稀释成不同浓度样本,每个样本重复测定 4 次,记录测定结果。(3)准确度评价:将一混合血清分为 3 份,其中 1 份加入 10% 体积生理盐水,第 2 份加入 10% 体积 2.5 mmol/L 的游离脂肪酸纯品,第 3 份加入 10% 体积 10 mmol/L 的游离脂肪酸纯品,每个样本测定 3 次,计算回收率。(4)干扰试验:参考 EP7-A2 文件进行非结合胆红素、结合胆红素、维生素 C、甘油三酯、血红蛋白干扰

实验。对于同一种干扰物浓度不同时,基础血清浓度一致,样本中加入的干扰物体积不超过基础血清体积的 5%,对照样本中加入与实验样本相同体积的溶媒,确保样本基质的一致性。干扰物及其加入浓度见表 1。

表 1 干扰物及其加入浓度

干扰物	加入浓度				
非结合胆红素(mg/dL)	0	7.5	30	60	80
结合胆红素(mg/dL)	0	1.875	7.5	15	20
维生素 C (mg/dL)	0	2.344	9.375	18.75	25
三酰甘油(mmol/L)	0	1.125	4.5	9	12
血红蛋白(g/L)	0	1.125	4.5	9	12

### 2 结果

**2.1 精密度评价** 按照 EP5-A2 方法进行精密度实验,进行批内精密度和总精密数据统计,结果见表 2。

表 2 精密度实验结果

均值(mmol/L)	批内精密度 CV	总精密度 CV
0.53	3.12%	3.89%
1.45	2.47%	3.51%

**2.2 线性范围评价** 按照 EP6-A 方法进行实验,实验数据采用 Excel 2003 软件统计。以稀释浓度为 X,检测浓度为 Y 进行一元线性回归,得回归方程  $Y=0.988X+0.0233$  ( $r=0.9994, r^2=0.9988$ )。将稀释浓度 X 代入回归方程,计算 Y 的估计值及其与稀释浓度的相对偏差。当稀释浓度大于 0.5 mmol/L 时,相对偏差小于 5%;当稀释浓度小于 0.5 mmol/L 时,绝对对偏差小于 0.05 mmol/L。

△ 通讯作者, E-mail:619223921@qq.com.

**2.3 准确度评价** 向基础血清中添加高低两个浓度水平纯品,回收率分别为 96.3%和 94.8%。

**2.4 干扰试验** 按照 EP7-A2 方法进行试验,非结合胆红素在 80 mg/dL 以内,结合胆红素在 20 mg/dL 以内,维生素 C 在 25 mg/dL 以内,三酰甘油在 12 mmol/L 以内和血红蛋白在 12 g/L 以内,产生的相对偏差小于 5.0%。通过对宁波美康公司 NEFA 试剂的性能评价,该试剂的精密度良好,线性范围宽,准确度回收率较高,常见的干扰物质影响较小。

### 3 讨论

**3.1** 作者依据 CLSI 文件对该试剂的主要分析性能进行了评价,试剂能满足临床应用需求。

**3.2** 试剂盒的线性范围实验结果显示,在 2.5 mmol/L 范围内线性良好,高于试剂盒说明书声称的线性范围。试剂盒的精密度实验结果显示,精密度很好,高于说明书声称的 CV 10%。

**3.3** 对试剂盒的性能评价,即是实际工作的对试剂盒性能了解的需要,也是执行《医疗机构临床实验室管理办法》及 ISO15189 认证的需要。

· 检验仪器与试剂评价 ·

## 流式细胞仪检测 HLA-B27 的性能评价及其影响因素的探讨

滕凤猛,高峰,余清,邓亚静

(南京中医药大学附属江苏省中医院检验科,江苏南京 210029)

**摘要:**目的 评价流式细胞仪测定人类外周血白细胞抗原 B27(HLA-B27)的性能及探讨其影响因素。方法 应用 BD FACSCanto II 流式细胞仪检测外周血 HLA-B27,并进行精密度、重复性和稳定性的评价;以及染色时间、溶血时间和加样方式对检测结果的影响。结果 取高、中、低 3 个值经流式细胞仪检测外周血 HLA-B27 日内精密度分别为 CV 1.8%、2.7%、1.9%和日间精密度 CV 12%、15%、13%。在 4℃ 重复性较好,日间差异较大;检测结果的稳定性较好。不同染色时间和不同溶血时间均对结果有影响;先加试剂和先加样本对检测结果无影响。结论 流式细胞仪测定 HLA-B27 性能较好能满足临床需要。

**关键词:**流式细胞仪; 性能验证; HLA-B27; 影响因素

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.20.058

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)20-2752-03

流式细胞仪具有检测速度快、需要血量少等特点能够适应现在临床的需求,但较少检测 HLA-B27 的性能评价及其影响因素目前报道。因此,本文就流式细胞仪检测 HLA-B27 的性能及其影响因素探讨如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2012 年来自本院风湿免疫科和骨伤科门诊的患者。

**1.2 仪器与试剂** 美国 BD FACSCanto II 流式细胞仪及原装配套试剂,试剂均按照标准化操作规程操作。

#### 1.3 方法

**1.3.1 标本采集** 采用奥地利格雷那公司生产的肝素抗凝真空采血管,早晨空腹采集抗凝全血 2 mL。

**1.2.2 操作步骤** 取 HLA-B27 检测试剂(美国 BD)30  $\mu$ L 和 50  $\mu$ L 抗凝全血充分混匀,避光染色 15 min。然后加 1 mL 溶血剂轻轻混匀避光 10 min,1 500 r/min 离心 5 min 弃上清液在加 1 mL 百特稀释液混匀,1 500 r/min 离心 5 min 弃上清液留大约 50  $\mu$ L,将处理好的样本管避光保存。4 h 内上机检测,分析前充分混匀上样管。

**1.2.3 精密度** 日内精密度按照美国临床实验室标准化委员会制定方案。随机将标本分为高、中、低 3 组;HLA-B27 按仪

### 参考文献

- [1] 常燕琴,李伟.影响血浆游离脂肪酸水平的因素[J].兰州大学学报:医学版,2007,33(2):81-84.
- [2] Bakan E, Yildirim A, Kurtul N, et al. Effects of type 2 diabetes mellitus on plasma fatty acid composition and cholesterol content of erythrocyte and leukocyte membranes[J]. Acta Diabetol, 2006, 43(4): 109-113.
- [3] 李谊文,贾绍斌.游离脂肪酸和冠心病关系的研究进展[J].宁夏医学杂志,2008,30(2):187-188.
- [4] 汪明东,孙立山,郑慧雅,等.游离脂肪酸与非酒精性脂肪性肝病的相关性[J].同济大学学报:医学版,2012,33(4):54-56.
- [5] 徐正捷,范建高,王国良.游离脂肪酸在脂肪性肝炎发病中的作用[J].中华肝脏病杂志,2000,8(2):127-128.
- [6] 申子瑜,李萍.临床实验室管理学[M].2版.北京:人民卫生出版社,2007:144-145.

(收稿日期:2013-05-18)

器初步测量结果,分组重复 10 次,并计算平均值和变异系数。日间精密度因临床血液标本稳定性差,采集后置于 4℃ 冰箱,每天上午间隔测定 3 次,取均值,连续测定 5 d 并计算平均值和变异系数。

**1.2.4 稳定性试验** 因考虑温度为主要影响因素,血样皆为低温保存。每份标本分为 3 管,染色后避光放置 4℃ 冰箱 30 min,1、4、8、12、24 h 每个时间点测定 3 次,取均值。同时取全血放置 4℃ 冰箱分别取 1、2、3、4、5 d,每天按照标准操作规程操作看时间对其影响。

**1.2.5 重复性试验** 对取高、中、低 3 个点分别重复测定 10 次,计算平均值和标准差。

**1.2.6 染色时间对结果的影响** 考虑染色时间对结果的影响,先固定溶血时间分别设立标准对照组、染色 10、20、30、60 min 然后加溶血剂避光溶血 10 min 后,1 500 r/min 离心 5 min,百特洗 2 次,上机检测。

**1.2.7 溶血时间对结果的影响** 考虑溶血时间对结果的影响,首先固定染色时间分别设立标准对照组、溶血 5、15、30、60 min,然后 1 500 r/min 离心 5 min 百特洗 2 次,上机检测。

**1.2.8 加样方式对检测结果的影响** 考虑加样顺序对检测结果的影响分别设立两组先加试剂组合先加标本组,然后按照标