

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 FASCCanto 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 μ L 和 50 μ L 抗凝全血充分混匀,避光染色 15 min。然后加 1 mL 溶血素轻轻混匀避光 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 μ 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

准操作规程处理样本上机检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 日内精密度和日间精密度检测 高、中、低 3 份标本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%,日内精密度均小于 5%,符合仪器要求。日间精密度 CV 12%、15%、13%,日间精密度均大于 5%,仪器日间差异较大。

2.2 稳定性检测 流式细胞仪检测 HLA-B27 的稳定性见。结果显示高、中、低 3 份标本在 4℃条件下 30、60、120、180、240 min 几个时间点检测结果比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 日间差异 抗凝血在 4℃保存前 2 d 对检测结果无影响,但 2 d 以后检测结果逐低渐降($P<0.05$)。

表 1 流式细胞仪检测 HLA-B27 的日间差异性比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

标本	1 组	2 组	3 组	4 组	5 组
高	190.0±1.0	186.3±1.5	176.0±1.0 [△]	150.6±0.5 [△]	145.3±1.5 [△]
中	146.3±1.52	139.3±1.1	121.7±2.0 [△]	111.7±2.0 [△]	104.3±4.0 [△]
低	92.7±1.53	92.7±1.15	83.3±1.52 [△]	73.3±1.15 [△]	67.3±2.08 [△]

△: $P<0.05$,与 1 d 比较。

2.4 染色时间对检测结果的影响 结果发现随着染色时间的延长,溶血时间不变的情况下检测结果值逐渐增高($P<0.05$)。

2.5 溶血时间对检测结果的影响 结果发现随着溶血时间的延长,在染色时间不变的前提下检测结果逐渐增高但在 5、15、30 min 3 个时间点变化不大;60 min 结果变化较大($P<0.05$)。

2.6 加样方式对检测结果的影响 先加试剂和先加标本对检测结果无影响,见表 2。

表 2 不同加样方式对检测结果的影响($\bar{x}\pm s$)

分组	先加样本组	先加试剂组	F	P
高	191.3±2.08	191.7±1.53	0.21	0.80
中	146.0±2.00	146.7±3.06	0.33	0.76
低	91.3±2.08	91.0±1.00	0.23	0.83

3 讨 论

强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)是一种病因未明而累及中轴关节和脊柱的慢性进行性炎症疾病,在我国 AS 发病率为 0.4%^[1],其中约 1/3 AS 患者最终出现永久性关节功能丧失。其发病部位在富有韧带和肌腱附着的骨突出部分,几乎累及全部骶髂关节^[2-3]。由于发病早期与一般关节酸痛病相似,容易产生误诊与漏诊情况,使 AS 患者的病情无法得到有效控制,可能会产多种并发症,严重者导致残疾。如能早期诊断和早期治疗,绝大部分患者可以得到有效控制,达到临床治愈目的。人们很早就发现 HLA-B27 抗原的表达与 AS 有着高度相关性,90%以上的 AS 患者其 HLA-B27 抗原表达阳性^[4]。大量学者试图把 AS 的发病机制、临床诊断、预后评价等方面与 HLA-B27 联系起来。取得了很大的进步^[5-7],其中在临床诊断方面检测 HLA-B27 的方法主要有抗原-抗体-补体

结合的淋巴细胞毒试验、流式细胞仪检测和 PCR 方法,但多属定性或半定量检测 只能进行辅助诊断^[8]。而 AS 由于其症状与许多疾病相似而难以确诊,因此在早期对疑为 AS 的患者进行 HLA-B27 的检测,在病情的早期诊断中有着重要意义。

既然,HLA-B27 对早期 AS 的诊断有着重要的辅助作用,那么 HLA-B27 检测结果的准确性、特异性及影响因素对临床诊断和治疗都有着极其重要的作用。了解这些影响因素以便于临床辅助临床诊断和治疗。目前临床上用于 HLA-B27 检测的方法很多有 ELISA、流式细胞仪法等。由于 FCM 方法操作简便、快速、标本用量少,结果判断准确,减少了人为因素的影响,为目前较为理想的方法。国外已经将 FCM 检测 HLA-B27 作为诊断 AS 的常规方法^[9]。但目前对其性能验证及其影响因素的研究很少。

为此,作者对流式细胞仪的性能进行了验证。选取了高、中、低 3 分标本进行检测,发现仪器的重复性和日内精密度都很好在仪器控制的范围之内;日内精密度小于 2%。但天间精密度较大;说明标本放置的时间对于检测结果有很大的影响。为了观察标本放置时间对检测结果的影响,分别将标本处理好在 4℃避光条件下在不同的时间点进行检测和将标本保存在 4℃冰箱中每天重新进行处理然后进行检测连续 5 天观测其结果有无差异。实验结果说明在 4℃条件下避光保存同一份标本在 4 h 之内检测的结果是没有差异性的;但抗凝血在 4℃冰箱中保存中前 2 d 是无差异的,2 d 以后结果的差异较大。具体什么原因有待于进一步研究。这就要求我们最好当天标本当天处理不要放置。

为了规范操作规程,防止因实验方法不同而造成的误差而影响到临床对患者的诊断。作者观察了不同染色时间、固定时间以及不同加样方式对检测结果的影响。实验结果表明染色时间和溶血时间的长短对检测结果有影响;随着染色时间和溶血时间的延长结果逐渐增高。加样的顺序对结果无影响。

总之,流式细胞仪检测 HLA-B27 具有很高的特异性、重复性和灵敏度,能够很好地适应现在临床的需要。但天间差异较大,需要标本要在短时间内检测完毕,如果不能应放在 4℃冰箱但不能超过 2 d。另外溶血和染色时间对结果的影响也很大,这就要求必须严格按照试剂盒说明书及本实验室的 SOP 文件来操作以防操作对结果的影响,从而影响患者的临床诊断和治疗。

参考文献

[1] 蒋明,朱立平,林孝义,等.风湿病学[M].北京:科学出版社,1995:941.
[2] 孙静,蔡跃增.强直性脊柱炎骶髂关节 CT 与临床研究[J].天津医科大学学报,2010(3):515-517.
[3] 王小敏,赵英,蔡俊宏,等.强直性脊柱炎及 HLA-B27 的遗传倾向研究[J].现代预防医学,2009(22):4314-4316.
[4] 王桂叶,孙振昌,张明智等.强直性脊柱炎与 HLA-B27 关联性的分析[J].中原医刊,2006,33(5):11-12.
[5] WickMC, WeissR, aschkeW, et al. Erosions are the most relevant magnetic resonance imaging features in quantification of sacroiliac joints in ankylosing spondylitis[J]. J Rheumatol, 2010, 37(3): 622-627.
[6] WrightC, EdelmannM, DigleriaK, et al. Ankylosing spondy litis Monocytes show upregulation of proteins involved in inflamma-

tion and the Ubiquitin proteasome pathway[J]. Ann Rheum Dis, 2009,68(10):1626-1632.

[7] Yang ZX, Yan L, Hao W, et al. Preliminary clinical measurement of the expression of TNF-related apoptosis inducing ligand in patients with ankylosing spondylitis [J]. Clin Lab Anal, 2008, 22 (2):138-145.

[8] 隋聪,卜海富.强直性脊柱炎发病机制与治疗的研究进展[J]. 临

• 检验仪器与试剂评价 •

床骨科杂志,2010(2):217-220.

[9] Levering WH, Wind H, Sinmicolaas K, et al. Flow cytometric HLA-B27 screening: cross-reactivity patterns of commercially available anti-HLA-B27 monoclonal antibodies with other HLA-B27 antigens[J]. Cytometry B Clin Cytom, 2003, 54(1):28-38.

(收稿日期:2013-03-23)

Dimension. xpand. plus 与日立 7600 生化分析仪检测结果的可比性研究

曾宇娟¹, 黄子初¹, 刘光金², 陈苑芬²

(1. 深圳龙岗区人民医院检验科, 广东深圳 518172; 2. 深圳龙岗区平湖镇人民医院, 广东深圳 518111)

摘要:目的 探讨美国西门子 Dimension. xpand. plus 自动生化分析仪与日立 7600 自动生化仪检测结果之间是否具有可比性。**方法** 按照 EP9-A 文件的要求选取实验标本, 将 Dimension. xpand. plus 自动生化分析仪作为比对仪器, 日立 7600 作为参考仪器, 观察二者之间在尿素(Urea)、血清总蛋白(TP)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)和血糖(GLU)等 4 个检测项目上面的检测结果, 并使用 SPSS 13.0 软件对之进行计算、分析, 得出相关系数(r)和回归方程 $Y=bX+a$ 。**结果** 日立 7600 检测 Urea、TP、AST 和 GLU 的结果分别为 (12.2 ± 6.1) mmol/L、 (46.58 ± 12) mmol/L、 (144.9 ± 70.8) U/L、 (16.9 ± 8.5) mmol/L; Dimension. xpand. plus 检测 Urea、TP、AST 和 GLU 的结果分别为 (12.1 ± 6.2) mmol/L、 (47.62 ± 12) mmol/L、 (145.1 ± 71.1) U/L、 (17.1 ± 8.6) mmol/L。2 台生化仪检测结果比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** Dimension. xpand. plus 与日立 7600 全自动生化仪检测结果具有可比性, 在临床上具有相同的效果。

关键词: Dimension. xpand. plus; 日立 7600 生化分析仪; 比对试验; 可比性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.20.059 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2013)20-2754-02

随着临床医学检验技术的发展, 作为临床生化检验的重要工具, 自动生化分析仪的使用大大地提高了分析的速度, 其便捷的操作方法减去了手工操作的复杂繁琐程序^[1]。本院先后购入日立 7600 和 Dimension. xpand. plus 自动生化分析仪用于临床生化检验, 正是因为不同仪器之间的性能有差异, 所以会导致同一个标本在不同仪器上出现检测结果有差异, 由此造成数据正确性判断的困难, 因此这对检验人员的要求就更加的严格。一般来说, 检验人员使用不同的仪器检测同一个标本要做好比对实验^[2]。本文基于美国临床实验室标准化委员会(National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS)于 1995 年提出的关于用患者标本进行方法学比较和倚评估的 EP9-A 文件, 使用日立 7600 和 Dimension. xpand. plus 分别对 Urea、TP、AST 和 GLU 4 个指标进行了检测, 并将检测结果进行了分析和比较, 结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院患者的新鲜全血标本 50 个, 及时分离出血清; 其浓度选择按照美国国家临床实验室标准化委员会(NCCLS)EP9-A 文件中的要求。

1.2 仪器与试剂 日立公司生产的 7600 全自动生化分析仪和美国生产的西门子 Dimension. xpand. plus 自动生化分析仪。试剂: 两部仪器均使用浙江东欧公司生产的试剂。校准品和质控品: C.f.a.S 校准品和 BLO-RAD 高、低定值质控品。

1.2 方法

1.2.1 操作步骤和方法 按照仪器和试剂说明书输入检测参数, 准备好试剂、校准液和质控液, 然后进行定标、做室内质控, 如果质控结果在允许范围内时, 对 50 个血清标本进行尿素(Urea)、总蛋白(TP)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)和血糖

(GLU)4 个项目的检测。4 个项目分别在 5 个不同工作日每天选择 10 个标本进行双份平行测定, 排好序号, 1~10, 先按顺序检测一遍, 再按反序检测一遍, 计算出每个标本检测的平均值。

1.2.2 试验数据处理 使用 Excel 2007 软件和 SPSS13.0 软件进行统计性分析, 给出相关系数(r)和回归方程 $Y=bX+a$ 。其中, Y 为 Dimension. xpand. plus 实验仪器, X 为日立 7600 比对仪器。

1.2.3 判断数据可信度 根据 NCCLS 的 EP9-A 文件, m 为 2 台仪器测定值之间的离群值。X 测定范围的检验使用相关系数即 r 进行大致的估计, $r^2 \geq 0.95$ (或 $r \geq 0.975$) 则认为 X 取值范围合适, 直线回归统计的斜率和截距没有问题; $r^2 < 0.95$ 则说明 X 取值范围不合适, 其直线回归统计的斜率和截距也存在问题, 若遇此情况则需要改善统计方法和调整仪器的精密度之后再进行试验。

2 结果

2.1 Dimension. xpand. plus 和日立 7600 的检测结果 见表 1。

表 1 Dimension. xpand. plus 和日立 7600 的检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

仪器	Ure (mmol/L)	TP (mmol/L)	AST (U/L)	GLU (mmol/L)
日立 7600	12.2±6.1	46.58±12	144.9±70.8	16.9±8.5
Dimension. xpand. plus	12.1±6.2	47.62±12	145.1±71.1	17.1±8.6
t	0.163	0.087	0.003	0.024
P	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05