

稀释血清及 EXCEL 与 MVS 在线性验证中的应用比较研究

张学平, 杨桂英, 杜 刚, 许海峰, 张 萍, 葛 霞
(新疆克拉玛依市中心医院检验科, 新疆克拉玛依 834000)

摘 要:目的 研究稀释血清及 EXCEL 与 MVS 在线性性能验证中的应用价值。方法 分别以收集到的低值混合血清和用去离子水 2~3 倍稀释后的低值混合血清与同一高浓度血清配制系列浓度标本进行线性实验, 实验结果分别用 EXCEL 和 MVS 两个软件统计判定线性。结果 3 个稀释血清的实验, 两个软件均判定为线性; 在 6 个实验中, 肌酐(CREA)原血清实验结果 EXCEL 判定为线性, MVS 判定为非线性, 但在决定性浓度水平, 两个回归方程的结果差异分别为 $-2.02 \mu\text{mol/L}$ 和 $4.23 \mu\text{mol/L}$, 均小于两种浓度水平下 CLIA'88 最大允许误差 ($26.52 \mu\text{mol/L}$ 和 $39.78 \mu\text{mol/L}$) 的 1/9, 其余 5 个实验两种统计软件均判定为线性。结论 对低值血清用去离子水适当稀释不影响线性性能验证; 在线性性能验证中, EXCEL 可以满足验证需要, MVS 对线性的判定更为严格。

关键词: 稀释血清; 线性性能验证; 实验室技术和方法

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.16.044

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)16-2222-02

Comparative study on application of diluted serum and EXCEL and MVS in linear validation

Zhang Xueping, Yang Guiying, Du Gang, Xu Haifeng, Zhang Ping, Ge Xia

(Department of Clinical Laboratory, Karamay Municipal Central Hospital, Karamay, Xinjiang 834000, China)

Abstract: **Objective** To study the application value of diluted serum and EXCEL and MVS in the linear performance verification. **Methods** The series of concentration samples were prepared by mixing the collected low value mixed serum and the low value mixed serum diluted with 2—3 times of deionized water and the same high concentration serum for conducting the linear experiments. The linearity of the experimental results was statistically judged by the two softwares of EXCEL and MVS. **Results** The 3 diluted serum experiments were linear by the judgement of the two softwares; in 6 experiments, the original serum experimental results of CREA were linear by the judgement of EXCEL and nonlinear by the judgement of MVS, but the decisive concentration levels, the differences of the two regression equations were $-2.02 \mu\text{mol/L}$ and $4.23 \mu\text{mol/L}$ respectively, which were less than 1/9 of CLIA'88 maximum allowable error under the two concentrations ($26.52 \mu\text{mol/L}$ and $39.78 \mu\text{mol/L}$), the remaining 5 experiments were linear by the judgement of the two softwares. **Conclusion** The low value serum appropriately diluted by deionized water does not affect the linear performance verification; in the linear performance verification, EXCEL can meet the verification needs and MVS is more strict in judging linearity.

Key words: diluted serum; linear performance verification; laboratory techniques and procedures

线性是定量分析方法的一个重要特征, 线性验证也是检测系统性能验证的重要一环。线性性能验证的用途有: 验证仪器和方法的线性性能, 决定测量的范围, 核实校准的正确性, 发现试剂的变质和评估偏倚大小, 所以线性验证也是最有效的质量评价工具之一。本文在三甲医院的复审中对全自动生化分析仪进行线性性能验证, 如按标准方法, 理想的低值血清要求用厂家推荐或实验室已证实可用的稀释液进行稀释, 或用层析、透析等方法来获得^[1], 这在普通实验室很难进行, 故本文将收集到的低值混合血清和用去离子水稀释来获得的低值血清, 与同一高值混合血清配制系列浓度标本进行实验, 对实验的同一数据用常用的 EXCEL2003 和专用的临床检验方法评价确认及验证系统(MVS)进行处理, 报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 本院患者新鲜血清标本。

1.2 仪器与试剂 美国贝克曼全自动生化仪 DXC800, 试剂、校准品为贝克曼配套校准品, 肌酐(CREA)校准品 CAL1 批号为 58691203, CAL2 批号为 58711205, 门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)不需要校准。BIO-RAD 质控血清, 批号为 14411 和 14412。

1.3 方法

1.3.1 将生化分析仪按标准化操作规程进行试剂配制、装载和仪器保养、校准, 质控在控后进行标本测定, 测定数据用 EXCEL2003 和 MVS 两种软件处理。

1.3.2 线性范围验证 依据 EP6-A2 文件进行线性范围验证实验^[2]。收集 AST、ALT 和 CREA 低值和高值混合血清连续测定 3 次, 计算均值作为其理论值。把低值混合血清(L)和高值混合血清(H), 分别按照 $L+0.8L+0.2H$ 、 $0.6L+0.4H$ 、 $0.4L+0.6H$ 、 $0.2L+0.8H$ 配制系列血清标本, 每个标本重复测定两次; 为获得更低的低值标本并观察稀释血清对线性实验的影响, 将原低值血清标本分别用去离子水做两倍和 3 倍稀释后作为稀释后的低值标本, 再和原高值混合血清按上述方法配制系列标本, 每个标本重复测定两次。将上述两种方法处理的测定数据用 EXCEL2003 软件和专用的 MVS 软件进行统计处理。

1.4 统计学处理 同一数据用 EXCEL2003 处理时, 以理论值为 X, 实测值为 Y, 求回归方程和相关系数, 并采用 t 检验分析截距 a 与 0 是否存在统计学意义, 以相关系数和 t 检验结果判定是否为线性。用 MVS 处理时, 由软件直接判定是否为线性实验数据用 EXCEL2003 和中创易达公司的临床检验方法评价确认及验证系统(MVS)1.625 版进行统计处理。MVS 设

定的非线性不精密度为 5%，重复性不精密度为 2%，置信水平为 95%。

2 结 果

2.1 线性实验结果 见表 1(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”),表中原血清指低值混合血清,稀释后指稀释后的低值血清;MVS 未给出 γ 值,表中 γ 值由 EXCEL2003 统计而来。表中回归方程栏中,CREA 原血清 MVS 的非线性最优方程为 $Y = -4.253\,5 + 1.098\,7\,X^1 - 0.000\,2\,X^2 + 0.000\,0\,X^3$,EXCEL 计算的方程为 $Y = 5.572\,4 + 0.992\,7\,X$;其他回归方程,EXCEL2003 和 MVS 统计结果均相同。

2.2 CREA 原血清实验结果用 EXCEL 分析所得线性评价见图 1。

2.3 MVS 对 CREA 原血清结果回归系数分析数据 见表 2(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

2.4 MVS 对 CREA 原血清结果非线性不精密度分析数据见表 3。

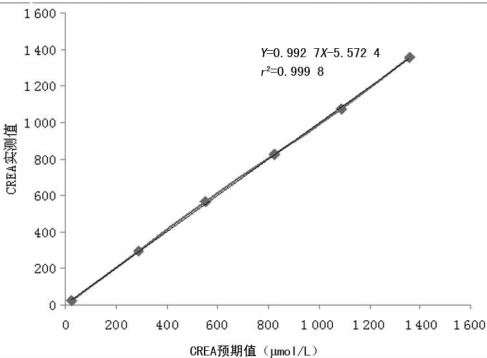


图 1 CREA 原血清线性评价

表 3 MVS 对 CREA 原血清结果的非线性不精密分析数据

检测浓度均值($\mu\text{mol/L}$)	一阶预测值($\mu\text{mol/L}$)	最优阶预测值($\mu\text{mol/L}$)	差值($\mu\text{mol/L}$)	差值百分数(%)	允许误差(%)
23.925	29.327 2	21.933 0	-7.394 2	-30.905 7	5
295.105	293.922 4	301.175 0	7.252 6	2.457 6	5
563.955	553.766 3	559.735 5	5.969 2	1.058 4	5
824.880	823.112 8	821.228 8	-1.884 0	-0.228 4	5
1 075.705	1 087.708 0	1 081.421 7	-6.286 3	-0.584 4	5
1 356.570	1 352.303 3	1 354.646 0	2.342 7	0.172 7	5

3 讨 论

线性是定量分析方法的一个重要特征,也是性能验证中的难点。NCCLS 的 EP6-A2 指南判定线性的是多项式回归分析方法,多项式回归分析更为严格,也被认为是目前判断线性的最佳方法[2]。多项式回归分析是研究一个因变量与一个自变量间的多项式的方法,即比较一阶(直线)、二阶(抛物线)与三阶(S形线)多项式的回归分析方法,其最大优点是可以建立最优的多项式回归方程。用 EXCEL2003 处理时,如斜率在 0.97~0.03, t 检验分析截距 a 与 0 无统计学意义,则判定验证范围内呈线性[3-4]。MVS 对线性判定采用多项式回归分析,在做线性判定时,对二阶(b_2)和三阶(b_2, b_3)回归系数作 t 检验,如都无统计学意义则判定为线性[3,5];如有统计学意义则判定为非线性,然后根据非线性不精密度对非线性程度判定。

本文实验结果用 EXCEL 和 MVS 两种软件处理,6 个实验中,除 CREA 原血清外,两种软件的线性判定结果和回归方程均相同。对 CREA 原血清的实验结果,用 EXCEL 数据分析统计,斜率为 0.992 7,在 0.97~0.03,将截距与 0 比较, t 为 1.215 6, $P=0.31$,说明截距与 0 无统计学意义,判定验证范围内呈线性;用 MVS 分析,二阶回归系数无显著性,但三阶的两个回归系数均有显著性,进一步对非线性不精密度分析,低值血清测定最优阶预测值与一阶预测值的差值百分数为 -30.90%,大于允许误差 5%,其他均小于允许误差,判定为非线性,实验的非线性最优方程为三阶回归方程。

将 CREA 决定性水平浓度 88.4 $\mu\text{mol/L}$ 和 265.2 $\mu\text{mol/L}$ 作为 X 值,计算两个浓度水平下 CREA 原血清的 MVS 与 EXCEL 的两个方程预期结果的差值,分别为 -2.02 $\mu\text{mol/L}$ 和 4.23 $\mu\text{mol/L}$,均小于两种浓度水平下 CLIA'88 最大允许误差[6](26.52 $\mu\text{mol/L}$ 和 39.78 $\mu\text{mol/L}$)的 1/9,说明在两个决定性浓度水平下,两个方程的结果无明显差别[7-8]。实验证明,在线性验证时,EXCEL 有很好的使用价值,可以满足验证需要。

在线性性能验证中,理想的低值血清较难得到,要求用厂

家推荐或实验室已证实可用的稀释液对患者标本进行稀释,或用患者标本经透析、热处理、层析等预处理而降低分析物浓度水平达到所需浓度,但在实际工作中,普通实验室很难做到这一点。故为找到一个获得理想低值血清的简便易行的方法,本文对低值血清用普通去离子水进行 2~3 倍的稀释,实验发现,稀释后的低值血清的线性实验数据,用两种统计方法处理所得结果一致,证明在部分项目的线性性能验证中可以用去离子水适当稀释标本,以获得理想的低值血清。

参考文献

[1] 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,2008:172-173.
[2] CLSI. EP6-A Evaluation of the linearity of quantitative measurement; procedures; a statistical approach[S]. Wayne USA: CLSI, 2003.
[3] 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,2008:180-187.
[4] 马莉,程建平,张凯,等. 化学发光微粒子免疫分析法检测血清 C 肽的方法学性能评价[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(8):1010-1011.
[5] 迟珊,沈默,杨桂花,等. 天门冬氨酸氨基转移酶参考方法建立及性能评价[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(8):934-935.
[6] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:60.
[7] 赵建忠. 生化分析仪精密度、准确度以及线性范围性能验证[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(10):1111-1112.
[8] 吕慧,赖战峰,李海炜,等. 血尿素氮、肌酐及尿酸在两种生化分析系统的比对和偏倚评估[J]. 中华检验医学杂志,2012,35(6):550-553.