

• 检验仪器与试剂评价 •

罗氏电化学发光免疫分析仪残留试剂的检测结果分析

徐文莉, 廖长征, 林燕华

(深圳市龙岗中心医院, 广东深圳 518116)

摘要:目的 探讨电化学发光免疫分析仪残留试剂的检测性能。方法 合并残留试剂检测癌胚抗原(CEA)、甲胎蛋白(AFP)、总前列腺特异性抗原(TPSA), 评价其精密度和回收率; 同时依据美国国家临床实验室标准委员会 EP9-A2 文件要求, 每天选取 8 例, 连续 5 个工作日, 共分析 40 个样本, 以新试剂为比较方法, 合并试剂为试验方法, 对检测结果进行对比和偏倚评估。结果 回收的残余试剂检测低、高浓度质控品批内和批间变异系数均符合相关标准; 回收率在 90%~110% 间; 两种试剂检测结果相关性较好($r^2 > 0.95$); CEA、AFP、TPSA 在两个医学决定水平上的 SE% 均在允许偏差的范围内。结论 电化学发光免疫分析仪残留试剂检测 CEA、AFP、TPSA 的性能符合临床要求, 能够保证检测质量, 同时降低检测成本。

关键词: 残留试剂; 电化学发光免疫分析仪; 结果分析

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.18.046

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)18-2529-02

Analysis of test results using residual reagents in electrochemiluminescence immunoassay analyzer

Xu Wenli, Liao Changzheng, Lin Yanhua

(Shenzhen Longgang Center Hospital, Shenzhen, Guangdong 518116, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the detection efficiency of residual reagent used in electrochemiluminescence immunoassay analyzer. **Methods** Alpha fetoprotein (AFP), carcino-embryonic antigen (CEA) and total prostate specific antigen (TPSA) were detected by using remaining reagents. The precision and recovery rate of remaining reagents were analyzed. Referring to the document of NCCLS EP9-A2, 8 clinic samples were detected everyday by residual reagent and new reagent respectively. The test results of total 40 samples were recorded within 5 days. The test results derived from 2 kinds of reagents were analyzed comparatively and their bias was evaluated by using new reagent as a control method and residual reagent as experimental methods. **Results** The within-run and between-run coefficients of variation (CV) of the 3 items measured by residual reagents in low and high levels of quality control products met the related standard. The recovery rate was variable from 90% to 110%. The test results of the 2 kinds of reagents were positively correlated ($r^2 > 0.95$). Their anticipated biases were within allowed biases on the medical decision level of CEA, AFP and TPSA. **Conclusion** Residual reagent of electrochemiluminescence immunoassay analyzer can meet the clinical practice needs, which also can ensure the quality of measurement and the reduction of the cost.

Key words: residual reagent; Electrochemiluminescence immunoassay analyzer; Result analysis

电化学发光免疫测定(ECL)是在电场作用下发生的化学发光反应,是电化学和免疫测定技术相结合的产物,ECLI是继放射免疫、酶免疫、化学发光免疫测定之后的新一代标记免疫测定技术,也是目前全球最先进的免疫标记分析技术。因具有自动化、快速、简便、灵敏、特异、无污染等优点,是免疫分析重要的发展方向^[1],现已广泛应用于各种激素、肿瘤标志物、药物及其他微量生物活性物质的测定^[2]。但该仪器使用试剂依赖进口试剂,价格昂贵,如何在保证检测质量的情况下,降低成本,成为用户最关心的问题。实际应用中,每瓶试剂在仪器提示用完后,还有 20%~30% 剩余,若能充分利用这部分剩余试剂可以降低成本。本文对利用较快的几种试剂的混合残留试剂进行检测,以了解该部分试剂的有效性。

1 材料与方

1.1 标本来源 符合要求的本院门诊和住院部送检标本。

1.2 仪器与试剂 RocheE 170 全自动电化学发光分析仪,癌胚抗原(CEA)、甲胎蛋白(AFP)、总前列腺特异性抗原(TPSA)新试剂为罗氏公司提供的原装配套试剂,定标液由该仪器厂家提供,质控品为 Bio-Rad 公司提供。合并试剂为同一项目,同一批号的试剂经仪器测定显示为 0,将 3~4 瓶的剩余部分合并为一瓶,合并试剂在有效期内尽快使用。

1.3 方法

1.3.1 试剂信息的录入 新试剂由仪器自动扫描完成,合并

试剂的信息扫描时先将黑色瓶上的条形码撕下,在该瓶试剂对应位置处手工录入白色瓶上的数字。

1.3.2 质量控制 检验人员应熟悉仪器的标准操作规程、试剂的定标与质控,熟悉评价方案,按照 SOP 文件完成室内质控。

1.3.3 精密度的试验 根据《体外诊断试剂分析性能评估指导原则》进行,选取 Bio-Rad 公司的 TM1 和 TM3 两个浓度的质控品,每天做两个质控品的测试 20 次,用于计算批内的标准差和变异系数;两个质控品连续监测 20 d,用于计算批间的标准差和变异系数。

1.3.4 回收试验 分别在 1 000 μL 正常血清内加入 CEA、AFP、TPSA 低值和高值质控液 100 μL ,制成两个待测标本,进行回收试验,每次检验重复检测 3 次,取平均值,计算回收率、回收率 90%~110%,结果可接受^[3]。

1.3.5 对比试验及偏倚评估 依据美国临床实验室标准化委员会 EP2-A2 文件,每天选取 8 例新鲜血液标本,该标本要求覆盖分析方法的线性范围,包括高、中、低 3 个水平,每个标本检测两次,在样本的双份测定中,制定第 1 次测定顺序为 1 至 8 号标本,按反向检测第 2 次顺序为 8 至 1 号标本,消除交叉污染及在一批内双份测定结果的偏倚,连续 5 个工作日,共分析 40 个样本。将每例标本分别用合并试剂盒原装新试剂进行检测,以新试剂为比较方法,合并试剂为试验方法,对检测结果

进行对比和偏倚评估。合并试剂检测结果作为 Y 变量,新试剂结果为 X 变量,做相关分析,根据 EP2-A2 要求 $r \geq 0.975$ (或 $r^2 \geq 0.95$),则认为 X 范围合适,直线回归统计斜率和截距可靠,否则需改善精密度后重新试验。偏倚评估,根据临床使用要求,将各个项目给定的医学决定水平(X_c)代入回归方程,计算预期偏倚(SE)和相对偏倚($SE\%$), $SE = |Y_c - X_c|$, $SE\% = (SE/X_c) \times 100\%$ 。

1.3.6 离群性检验 批内离群点:计算样本重复测定间差值的平均数,样本重复测定间差值超出该平均数 4 倍时,则判断为离群点,如离群点超过 1 个时,整组数据应舍弃,寻找原因后重新进行评价。如离群点为 1 个,可以补充数据后重新进行统计。批间离群点:计算两种方法测定结果间均值差值的平均数,如两种方法测定结果间均值差值超出该平均数 4 倍时,则判断该样本为离群点,如离群点超过 1 个时,整组数据应舍弃,寻找原因后重新进行评价。如离群点为 1 个,可以补充数据后重新进行统计。

1.4 统计学处理 数据采用 SPSS17.0 软件进行分析,两种试剂检测结果的关系采用相关分析,并计算直线回归方程及相关系数、SE 和 $SE\%$ 。

2 结 果

2.1 精密度试验结果 合并试剂检测质控品 CEA、AFP、TPSA 的批内和批间 CV 均小于 4%,符合卫生部临床检验中心的要求,见表 1。

表 1 合并试剂检测质控品 CEA、AFP、TPSA 批内和批间 CV (%)

检测样本类型	CEA		AFP		TPSA	
	批内	批间	批内	批间	批内	批间
低值	3.48	3.39	2.77	3.81	3.41	3.66
高值	2.28	3.31	1.99	1.15	2.91	3.39

2.2 回收试验结果 用合并试剂检测两个浓度的 CEA、AFP、TPSA 水平,回收试验结果,见表 2。

表 2 回收试验结果 (%)

检测样本类型	CEA	AFP	TPSA
低值	96.63	108.84	99.04
高值	102.97	106.17	101.65

表 3 合并试剂的 SE%和临床的可接受性

检测项目	$X_c(\mu\text{g/L})$	1/2 允许误差 (%)	SE%	临床可接受性
CEA	5	± 10	2.57 2	可接受
	20	± 7.5	0.388	可接受
	20	± 7.5	1.228	可接受
AFP	400	± 7.5	0.052 6	可接受
	4	± 7.5	0.332 5	可接受
TPSA	10	± 7.5	0.385	可接受

2.3 对比试验和偏倚评估 合并试剂和原装新试剂检测 CEA、AFP、TPSA 结果做散点图,见附图 1~3(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”),分别得到直线回归方程及相关系数: $Y = 1.003 4X - 0.145 6$ ($r^2 = 0.999 9$)、 $Y = 0.998 8X + 0.269 6$ ($r^2 = 1$)、 $Y = 1.004 2X - 0.003 5$ ($r^2 = 0.998 1$),显示

两种试剂结果呈良好的线性相关。两种试剂检测 CEA、AFP、TPSA 在给定的医学决定水平 X_c 时,SE 和 $SE\%$ 的预期偏倚及临床可接受^[4],见表 3。

3 讨 论

罗氏电化学发光免疫分析仪试剂为专用试剂,每盒试剂条码记录显示 100 或 200 个测试,当试剂检测显示为零时,试剂瓶内仍有剩余,但仪器不再进行检测,实践观察每瓶剩余量为 20%~30%,直接丢弃会造成较大的浪费^[5]。

本文从精密度、回收率、偏倚评估等方面对残余试剂检测 CEA、AFP、TPSA 的性能进行评估,对比试验和偏倚评估按照美国临床实验室标准化委员会 EP9-A2 文件进行,EP9-A2 文件对患者标本进行方法对比和偏倚评估更接近临床标本的真实情况,评价结果真实可靠。

精密度反映了结果的重复性,批内精密度反映的是同一例标本在同一天使用同一盒试剂不同时间点检测结果的重复性,批间精密度反映的是同一例标本在不同天内检测结果的重复性。二者对实验室常规检测质量的评价具有重要影响。回收率是获得准确信息的一种有效的方法,因为它可检验在患者样本的基质中存有其他成分时该分析方法能否准确检测分析物,实际上在一定程度上能反映测试结果的准确度。本研究结果显示,合并剩余试剂检测 CEA、AFP、TPSA 肿瘤标志物精密度、回收率等性能指标均符合相关要求。

本研究严格按照 EP9-A2 文件的要求对两种试剂进行对比,对检验结果进行相关性分析、偏差评估和临床可接受性评价。结果显示 CEA、AFP、TPSA 的检测结果在两种试剂中的相关性较好($r^2 > 0.95$);CEA、AFP、TPSA 在两个医学决定水平上的 $SE\%$ 均在允许偏差的范围内,检测结果临床可接受,说明在治疗监测的过程中,可以用剩余试剂对患者的标本进行检测。

未开封试剂可稳定到表明的保质期,试剂开封后,放置在 2~8℃ 的环境中有效期为 8~12 周;放置在 E170 分析仪上有效期为 6 周。这是因为试剂开始使用后,由于温度变化、水分蒸发等不利因素,会引起试剂中包被的单克隆抗体活性降低^[6]。为保证检验结果的准确性,残留试剂应在规定时间内使用,同时利用操作过程中设置标本质控进行严密监控,如发现质控失控等情况,应查明原因,直至质控通过后方可进行标本检测^[7]。本文对残留试剂的检测性能进行了评估,其符合临床要求,同时降低了成本,提高了经济效益。

参考文献

[1] 谭浩. 电化学发光免疫分析系统 E170 的应用评价[J]. 实用预防医学, 2011, 18(3): 527-528.
 [2] 吕世静. 临床免疫学检验[M]. 2 版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 122.
 [3] 张葵. 定量检测系统方法学性能验证实验的基本方法[J]. 临床检验杂志, 2009, 27(5): 321-323.
 [4] 王治国. 临床检验质量控制技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 274.
 [5] 潘永康, 何炯彪. Roche E170 电化学发光仪开源节流三法[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(24): 1531-1531.
 [6] 李光富, 施绍瑞, 胡孝彬, 等. 罗氏 e411 电化学发光分析仪死腔试剂的性能评价[J]. 成都医学院学报, 2012, 7(1): 113-115.
 [7] 李炎梅, 莫思健, 梁太英, 等. ACCESS 化学发光仪残余试剂的回收方法及临床应用[J]. 中国临床新医学, 2012, 5(11): 1012-1014.