

· 论 著 ·

日本积水 FDP 试剂在 STAGO STA-R 全自动血凝仪上使用的性能评价

刘 艳

(上海中医药大学附属曙光医院检验科, 上海 201203)

摘要:目的 验证由日本积水(SEKISUI)医疗株式会社生产的 FDP 检测试剂盒在 STAGO STA-R 全自动血凝分析仪上的分析性能。方法 参照美国临床实验室标准化研究所(CLSI)系列文件和其他相关文献的实验方案,对 FDP 试剂盒应用在 STAGO STA-R 全自动血凝分析仪上检测 FDP 的精密度、检测限、线性范围、准确度、临床可报告范围和参考范围等性能进行验证,并与试剂说明书提供的质量性能进行比较。结果 FDP 批内不精密度小于 5.0%;批间不精密度小于 10.0%,检测限为 0.44 mg/L 小于说明书提供的检测限,符合要求。FDP 的线性方程为: $Y=1.003X+0.675$, $r^2=0.995$,检测范围为 0.44~150.00 mg/L。干扰试验:在总胆红素小于 220 $\mu\text{mol/L}$,血红蛋白小于 4.0 g/L,三酰甘油小于 7.5 mmol/L 的情况下,对 FDP 测定结果影响不明显,其相对偏差均小于 10%。参考范围区间:20 例健康者的 FDP 的检测结果均在厂商的生物参考区间范围内。结论 日本积水医疗株式会社生产的纤维蛋白(原)降解产物(FDP)试剂盒应用在 STAGO STA-R 全自动血凝分析仪上,主要性能指标符合要求。

关键词:纤维蛋白/纤维蛋白原降解产物; 全自动血凝仪; 分析性能; 验证

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.14.039

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)14-2040-03

Performance Verification of FDP kits made in Sekisui Medical CO., LTD
on STAGO STA-R automatic coagulation analyzer

Liu Yan

(Department of Clinical Laboratory, Shu Guang Hospital Affiliated to Shanghai University of
Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

Abstract: Objective To verify the analytical performance of fibrin/fibrinogen degradation products(FDP) detection on STAGO STA-R automatic coagulation analyzer by using the FDP kits made in Sekisui Medical CO., LTD. **Methods** In this study, the validations of FDP's precision, detection limit, linear range, accuracy, the clinical allowable range and reference range were according to a series of files of American clinical laboratory standardization institute(CLSI) and other relevant experimental documents and compared with its quality performance which showed in kit introductions. **Results** Precision: The within-run coefficients of variations (CV) were less than 5.0%, between-run coefficients of variations were less than 10.0%. The detection limit of FDP was 0.44 mg/L. It was less than that in the kit introductions, the detection limit meets the requirement. The linear equation of FDP was $Y=1.003X+0.675$, $r^2=0.995$, its linear range was 0.44-150.00 mg/L. Interference test: there was no obvious interference observed when the concentration of total bilirubin <220 $\mu\text{mol/L}$, hemoglobin <4.0 g/L and triglyceride <7.5 mmol/L in the sample. The relative deviation was <10%. Reference range: the measured results of FDP in 20 normal individuals were all in the reference interval of producers. **Conclusion** The main performance index of FDP kits made in Sekisui Medical CO., LTD is comply with the requirements on STAGO STA-R automatic coagulation analyzer.

Key words: fibrin/fibrinogen degradation products; automatic coagulation analyzer; analytical; validation

纤维蛋白/纤维蛋白原降解产物(fibrin/fibrinogen degradation products, FDP)是纤溶亢进时在纤溶酶的作用下,纤维蛋白或纤维蛋白原被分解后产生的降解产物的总称。血液中的 FDP 浓度上升可证明有纤溶亢进,在恶性肿瘤、产科疾病、血管病变、弥漫性血管内凝血(DIC)等疾病时显示高值。尤其在凝固和纤溶亢进显著时会引发 DIC。因此, FDP 检测是 DIC 诊断及观察治疗过程中的重要指标之一。长期以来血浆中 FDP 多采用定性或半定量手工方法,尚未实现自动化准确定量检测,并属于非急诊项目。本研究结合法国 STAGO 全自动血凝分析仪和日本积水医疗 Nanopia P-FDP 试剂,应用乳胶免疫比浊法,对 FDP 的定量检测系统依据 ISO15189《医学实验室质量和能力的专用要求》标准和“医学实验室质量体系的建

立与维持”的要求^[1],进行临床应用评估,如符合质量要求,将取代定性分析,应用于临床。

1 材料和方法

1.1 样本来源 采集本院就诊的患者或正常体检者新鲜抗凝血浆标本,无溶血、脂血、黄疸。

1.2 仪器与试剂 法国 STAGO 全自动血凝分析仪,序列号 9047796。试剂:日本积水医疗株式会社生产的纤维蛋白(原)降解产物(FDP)试剂盒、标准品和质控品,注册号:国食药械(进)字 2012 第 2401296 号;试剂盒批号:823RDK; FDP 标准品生产批号 804RIF,浓度分别是:7.0、14.3、30.0、58.0 和 115.0 mg/L;质控品生产批号 820RDI,低水平的浓度:1.0~3.2 mg/L[(2.1±1.1)mg/L];高水平的浓度 9.0~13.0 mg/L

[$(11.0 \pm 2.0) \text{mg/L}$]。干扰物质为 Sysmex 干扰检查试剂盒,批号为 ZS1001。

1.3 方法

1.3.1 精密度验证 参照美国临床实验室标准化研究所(CLSI)的 EP 15-A 和 EP5-A2 文件^[2-4]验证:(1)批内不精密度:取低值和高值质控血浆,连续测定 20 次,计算均值(\bar{X})、标准差(s)、变异系数(CV),要求 $CV \leq 5\%$ (参考 FDP 试剂盒说明书)。(2)批间不精密度:取正常水平(低值质控)和异常水平(高值质控)血浆,2 个水平每天分别测定 2 次,且间隔时间大于 2 h,连续检测 20 天,共收集 40 个数据,计算 s 和 CV,要求 $CV \leq 10\%$ (参考 FDP 试剂盒说明书)。

1.3.2 检测限验证 在质控和仪器处正常状态下,用 5 g/L 人血清清蛋白作为空白样本,检测 FDP,重复检测 20 次,计算均值(\bar{X})和标准差(s),以 $\bar{x} \pm s$ 作检测限。

1.3.3 线性范围验证 参照美国临床实验室标准化研究所(CLSI)的 EP6-A2 文件^[5],将 FDP 的低值(L)、高值(H)分别是 0.4 mg/L 和 140.0 mg/L 的 2 个标本按 0.5+0、0.4+0.1、0.3+0.2、0.2+0.3、0.1+0.4 和 0+0.5(单位:mL),配成 6 个系列浓度样本,每个样本重复测 3 次,以样本理论浓度为 X 轴,以测定结果为 Y 轴绘图。计算相关系数和回归方程,观察方法的线性^[6-7]。

1.3.4 准确度验证 (1)回收试验:取不同于定标批号的另一批号标准品共 5 个水平,每个水平测定 3 次,取 3 次测定的平均值,计算回收率,回收率在 90%~110%为符合要求。(2)稀释回收实验:选择高浓度的样本一份,用灭菌生理盐水稀释,血浆和生理盐水按 1:1、1:2、1:5、1:9、1:19、1:49 和 1:99 稀释成 7 个样本进行检测,重复 3 次,计算稀释回收率。稀释回收率=(实测值/理论值)×100%。

1.3.5 干扰试验 将 Sysmex 干扰物用纯水复溶至 2 mL,再用纯水稀释成初始浓度的 1/10、1/9、1/8、1/7……1/2。收集正常血浆(无黄疸、溶血和脂血等),混合后待用。将上述干扰物不同梯度的稀释液和原液按 1:9 的比例分别加入样本中,对照样本中加入同体积的生理盐水,2 组样本同时进行测试,计算干扰管的相对偏差。

1.3.6 参考区间验证 在体检标本中抽取 20 例各项体检指标正常的血浆做 FDP 检测,以验证厂商提供的生物参考区间。

2 结 果

2.1 精密度实验结果 精密度验证结果见表 1。

表 1 FDP 精密度性能验证结果

指标	n	低水平			高水平		
		\bar{X}	s	CV%	\bar{X}	s	CV%
批内	20	2.23	0.06	2.50	11.83	0.23	1.93
批间	40	2.26	0.1	4.29	11.88	0.26	2.22

2.2 检测限验证 FDP 的 $\bar{x} \pm s$ 为 $(0.28 \pm 0.08) \text{mg/L}$,检测限为 0.44 mg/L,小于说明书提供的检测限。

2.3 线性评价结果 线性评价结果见表 2,回归曲线见图 1。线性方程为 $Y = 1.003X + 0.675$, $r^2 = 0.995$, $r^2 > 0.975$,并且斜率 b 在 0.97~1.03 范围内。该试验已验证在 0.44~140.00 mg/L, FDP 结果呈线性。

2.4.1 回收试验 5 个水平回收率分别为 104.57%、102.18%、103.11%、97.47% 和 101.89%

2.4.2 稀释回收率 稀释回收实验结果见表 3。

表 2 FDP 线性评价结果

样本配制	理论值(mg/L)	测定值(mg/L)	SE%
L	0.44	0.44	0.00
0.8L+0.2H	28.19	26.53	5.88
0.6L+0.4H	55.94	57.70	3.14
0.4L+0.6H	83.70	91.67	9.52
0.2L+0.8H	111.45	108.70	2.47
H	139.20	139.20	0.00

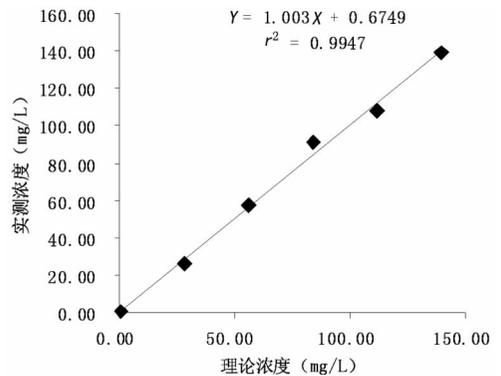


图 1 FDP 线性回归曲线

表 3 FDP 稀释回收实验结果

项目	稀释比例						
	1:1	1:2	1:5	1:9	1:19	1:49	1:99
实测均值(mg/L)	66.34	42.34	22.36	11.78	5.27	0.97	0.50
理论值(mg/L)	65.00	43.30	21.70	13.00	6.50	2.60	1.30
实测/理论值(%)	102.07	97.79	103.04	90.62	81.08	37.31	38.46

2.5 干扰试验结果 在总胆红素 < 220 μmol/L, 血红蛋白 < 4.0 g/L, TG < 7.5 mmol/L 的情况下,对 FDP 测定结果影响不明显,其相对偏差均 < 10%,介于 3.7%~7.9%之间。

2.6 参考区间验证 统计 20 个健康体检者 FDP 的检测结果介于 0.42~4.90 mg/L 之间,均值为 2.17 mg/L,中位数 2.65 mg/L,全部处于厂商提供的生物参考区间 FDP < 5.0 mg/L 范围内。

3 讨 论

FDP 是诊断 DIC 的基础实验,是术后危重患者、败血病或严重感染、恶性肿瘤、羊水栓塞、严重毒性反应等严重疾病的重要观察指标之一^[8]。FDP 定量动态监测对 DIC 的诊断具有重要意义,能为临床提供更准确的病情变化和疗效判断。

目前 FDP 的检测方法多样,有定性或半定量的免疫凝集法、免疫渗透金标法、酶联免疫吸附试验(ELISA)以及乳胶增强免疫比浊法。乳胶增强的免疫比浊法可以应用于生化分析仪^[9],但如在全自动血凝分析仪上使用则可与凝血功能的其他指标整合,更大程度满足临床特别是急诊的需要。

STAGO STA-R 血凝仪采用磁珠凝固法、发色底物法及免

疫法检测系统进行多项指标检测,且检测耗时短,能够为疾病诊断和疗效观察提供及时准确的检测结果^[10-11],广泛应用于急诊凝血功能检测。STAGO 血凝仪在每个反应杯内设置不锈钢小珠,小珠在磁场作用之下按一定轨迹和振幅运动。对于采用磁珠凝固法的测试来说,在血凝激活物质的激活下,血浆开始凝固,随着血浆黏度增加,小珠运动受阻,摆动振幅减小,通过这种变化换算成相应的凝固时间。在 STAGO 全自动血凝仪上使用乳胶免疫比浊法检测的 FDP,不锈钢小珠在反应杯内的运动可以起到搅拌的作用,加速抗原抗体反应,使得反应更为充分和快速,整个检测过程仪器自动完成,仅几分钟就可以定量报告检测结果。

FDP 的定量分析属本实验室的新项目,按 IS015189《医学实验室质量和能力的专用要求》标准和“医学实验室质量体系的建立与维护”的要求:分析系统应具有完整性和有效性,实验室应使用与分析系统相适应的试剂、校准品、质控品和消耗品等,并能提供测定结果的溯源性^[12]。使用非配套分析系统的实验室应按照 CLSI EP9-A 文件的要求对自建检测系统进行分析性能评估合格后才能用于临床。

验证结果显示,由日本积水医疗株式会社生产的 FDP 检测试剂盒与 STAGO STA-R 全自动血凝分析仪组成的检测系统,检测 FDP 的批内不精密度 $CV \leq 5\%$ 、批间不精密度 $CV \leq 10\%$,说明该系统具有良好的重复性和稳定性。在线性范围的验证中,依据所测结果,计算得到相关系数 $r = 1.003$,说明期望值与测定值的相关系数线性良好。FDP 稀释回收试验结果显示,当稀释倍数超过 10 倍时,回收率达不到 90~110%。所以对于高值 FDP,稀释倍数不应超出 10 倍,以保证结果的准确性。干扰试验的结果显示系统抗干扰能力负荷要求,抗干扰能力强则降低了测试对样本的要求,从另一角度也保证实验室结果的准确度。20 例健康体检者检测结果显示,统计的参考区间均落在引用的参考区间内,说明目前引用的参考区间适用。

本研究对日本积水医疗株式会社生产的 FDP 检测试剂盒与 STAGO STA-R 全自动血凝分析仪组成的检测系统进行了检测性能评价,初步确定该系统主要分析性能验证结果与厂商

提供的分析性能一致,符合质量目标的要求,可以应用于临床。

参考文献

- [1] 胡丽涛,王治国.血凝分析仪的性能评估方法的研究进展[J].国际检验医学杂志,2011,32(9):975-976.
- [2] Clinical and Laboratory standards Institute. EP15-A2 User verification of performance for precision and trueness: approved guideline-second edition [S]. Wayne,PA:CLSI,2005.
- [3] Clinical and Laboratory standards Institute. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods: approved guideline-second edition [S]. Wayne,PA:CLSI,2004.
- [4] 杨志钊,缪丽韶,杨山虹,等.利用 CLSI EP15-A2 指南验证精密度和准确度[J].国际检验医学杂志,2010,31(3):231-232,237.
- [5] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP6-A2 Evaluation of linearity of quantitative analytical method [S]. Wayne,PA:NCCLS,2002.
- [6] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP10-A2 Preliminary evaluation of quantitative clinical laboratory methods [S]. Wayne,PA:NCCLS,2002.
- [7] 王志国.临床检验方法确认与性能验证[M].北京:人民卫生出版社,2009:289.
- [8] 王兰兰.医学检验项目选择与临床应用[M].北京:人民卫生出版社,2010:76-79.
- [9] 谭同均,龙琴,彭宇生,等.日立 7600-020 全自动生化分析仪检测 FDP 和 D-D 的性能验证[J].现代检验医学杂志,2012,27(1):91-94.
- [10] 栾桂红.法国 STAGO 全自动血液凝固仪评价[J].国际检验医学杂志,2007,28(1):3-4.
- [11] 马升俊.STAGO STA-R 全自动血凝仪性能验证与评价[J].国际检验医学杂志,2013,34(1):91-93.
- [12] 殷昌斌,刘巍,李家伟,等.非配套检测系统的溯源性和可比性[J].现代检验医学杂志,2008,23(2):122-124.

(收稿日期:2015-03-15)

(上接第 2039 页)

且 3 组之间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。其中患者的瘦素水平和 BMI 有着非常密切的相关性。女性病患的脂联素水平和 TG、LDL、HD 密切相关($P < 0.05$)。体内的瘦素水平和 TG 与 BMI 相关。从实验结果中能够获知,1 组病患的相关指标和 A/L 的关系较为密切,但和 HOMA-IR 的指标无关,剩余两组除了女性病患的 BMI 指标有关系之外,其余均无关联性存在。由此可见,HOMA-IR 并不能作为评估胰岛素抵抗的重要指标。A/L 和其相比则较为适合。

参考文献

- [1] 邵挥戈,黄干.2 型糖尿病患者血清内脂素和脂联素和瘦素水平的变化[J].实用预防医学,2010,17(2):265-267.

(收稿日期:2015-03-08)

- [2] 胡静芳,金杰.2 型糖尿病患者脂联素/瘦素比例与代谢指标关系的研究[J].同济大学学报:医学版,2014,6(1):49-53.
- [3] 黎明,阴津华,张葵,等.高灵敏酶联免疫分析法测定人脂肪细胞瘦素分泌[J].中华医学杂志,2008,88(3):293-297.
- [4] 张黎群,李晋芳.血清瘦素、脂联素等指标与 2 型糖尿病湿热证相关性研究[J].中医学报,2011,23(1):79-80,83.
- [5] 韩卓笑,牛尚梅,王芸,等.肥胖与 2 型糖尿病肾病的研究进展[J].医学综述,2015,3(4):479-481.
- [6] 刘福成,陈鲁原,黎励文,等.冠心病患者脂联素、血红素加氧酶与冠状动脉病变程度的相关性[J].中国动脉硬化杂志,2010,18(6):475-478.