

• 临床研究 •

美国贝克曼库尔特 IMMAGE800 特种蛋白仪性能评价

杨娟娟

(临汾市人民医院检验科, 山西临汾 041000)

摘要:目的 通过评价美国贝克曼库尔特 IMMAGE800 特种蛋白仪的性能,提高实验室的检测能力和效率,为医学实验室认可提供可靠试验数据。**方法** 参照 CLSI 对 IMMAGE800 特种蛋白仪的精密度、准确度、线性试验、携带污染率及参考范围进行检测。**结果** IMMAGE800 特种蛋白仪 8 个项目的批内精密度变异系数、总不精密度变异系数小于评判标准,准确度验证小于厂家声明,抗链 O(ASO)、类风湿因子(RF)、C 反应蛋白(CRP)、IgA、IgG、IgM 呈线性而 C3、C4 呈非线性。各测定项目的携带污染率均小于 0.05%,属于可接受范围,参考范围验证通过。**结论** IMMAGE800 特种蛋白仪具有良好的准确性、重复性、携带污染率小,参考范围符合本实验室,完全可以满足临床实验室要求。

关键词:精密度; 准确性; 线性试验; 携带污染率; 参考范围
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.10.044 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)10-1402-03

IMMAGE800 特种蛋白仪是一款自动化程度高、操作简便且故障率较低的仪器,通过速率散射比浊法进行测量,根据医学实验室认可的标准,需进行 IMMAGE800 的检测系统进行性能评价。检测系统性能评价是医学实验室认可的重要内容,检测系统未经评价和验证直接应用有可能会降低其性能的可靠性和有效性^[1]。仪器的分析性能达到临床可接受标准后才可用于患者的检测^[2]。

1 资料与方法

1.1 仪器 美国贝克曼库尔特 IMMAGE800 特种蛋白仪。
1.2 试剂 IMMAGE800 特种蛋白仪所用试剂为配套试剂,试剂批号为:抗链 O(ASO),M408008;类风湿因子(RF),M501021;C 反应蛋白(CRP),M410280;IgA, M409246;IgG, M408071;IgM, M404011;C3, M309352;C4, M409210;血清学质控品批号为 M407012;蛋白质控品批号为 M407012;定标液 CAL1 批号为 M312002,定标液 CAL5 批号为 M402019。
1.3 标本 标本为本院门诊和住院患者的新鲜静脉血清(无抗凝剂负压管 3~5 mL),离心 3 000 r/min 离心 5 min,标本无溶血、黄疸和脂血,含相应检测项目高、中、低 3 个水平。BECKMAN 原装质控及定标液。对仪器进行常规维护保养,每日室内质控均在控。

1.4 方法

1.4.1 精密度验证 取新鲜患者血清包含高、中、低值的混合血清,每天重复测定 4 次,连续测定 5 d,计算均值(*M*)、批内和批间总不精密度^[3]。按照卫生部临床检验中心全国室间质量评价计划特种蛋白项目 25%的可接受范围,结合实验室的自身情况,以批内和批间均小于 1/4 总可允许范围为判断标准,评价 IMMAGE800 特种蛋白仪 8 个项目的精密度^[4-5]。
1.4.2 准确性验证 按照 CLSI EP15-A2 文件要求,使用已知浓度的标准物质进行准确性验证^[6]。每天重复测定 2 次,连续测定 5 d。根据 10 次测量值计算均值、标准差及相对偏差的绝对值。与厂家声明比较,校准品测定均值与标示值比较,相对偏差小于或等于 10%,则认为试验数据可以证实准确度,否则不能够证实。
1.4.3 线性试验 分别取 ASO、RF、CRP、IgM、IgA、IgG、C3、C4 测定接近预期上限的高值血清各一份,分别按 100%、80%、60%、40%、20%的比例进行稀释,每个稀释度重复测定 4 次,将实测与理论值比较(偏离小于 10%),实测值作为 *Y* 值,理论值作为 *X* 值,作 *X*-*Y* 坐标图,对试验数据进行多项式回归

分析处理,利用拟合的二次多项式系数 *b*₂,和 3 次多项式模型系数 *b*₂、*b*₃ 与 0 比较,*P*>0.05 时,差异无统计学意义,说明线性良好,*P*<0.05 时,差异有统计学意义,属于非线性。

1.4.4 携带污染率试验 高值标本对低值标本的污染,取 RF 为 1 180 U/mL 的高浓度标本,及低浓度标本 RF 为 24 U/mL,制备成 5 份标本。按照低高交叉的顺序重复测定 3 次(H1、L1、H2、L2、H3、L3、H4、L4、H5、L5),按下面公式计算污染率: $K_i=(C_iL-C_0)/3\times CH$,标本针携带污染率为 *K*₁ 到 *K*₅ 的平均值,*C*₀ 为低值标本测定 5 次的均值,*CH* 为高值标本测定 5 次的均值,*C*_{*i*}*L* 为低浓度标本序号。以低于 0.05%为符合要求。

1.4.5 参考范围验证 参照 CLSI C28-A2 文件中提供的方法,选择 20 例正常健康成人标本,在保证仪器运行良好的情况下随机测量 ASO、RF、CRP、IgM、IgA、IgG、C3、C4^[7],对数据进行分析,计算 *r* 值(落在参考范围内的标本数/总的试验标本数),要求 *r*>0.9,若 *r*<0.9,重新选择 20 例参考人体,计算 *r* 值,*r*>0.9 则可以接受,若 *r*<0.9 重新检查操作系统,如果操作没有问题,则认为该参考区间不适合于本实验室,需要重新建立参考区间。

2 结果

2.1 精密度验证 ASO、RF、CRP、IgM、IgA、IgG、C3、C4 批内精密度与总不精密度均小于 1/4 总可允许范围,按照卫生部临床检验中心全国室间质量评价计划特种蛋白项目 25%的可接受范围(即实验室的判断标准为 1/4×25%=6.25%),8 个项目均符合要求。见表 1。

表 1 不同标本精密度验证结果				
项目	<i>M</i>	批内精密度 (%)	总不精密度 (%)	判断标准 (1/4×25)
ASO(U/mL)	207.00	5.12	3.68	<6.25
RF(U/mL)	63.02	4.53	4.12	<6.25
CRP(mg/L)	46.08	1.77	2.17	<6.25
IgA(g/L)	2.10	3.47	3.75	<6.25
IgG(g/L)	11.84	4.19	5.23	<6.25
IgM(g/L)	0.89	3.50	4.50	<6.25
C3(g/L)	1.48	1.53	3.71	<6.25
C4(g/L)	0.38	3.88	3.55	<6.25

2.2 准确性验证 校准品 CAL1 测定的 IgM、IgA、IgG、C3、

C4 的相对偏差分别为 1.03%、1.14%、1.89%、1.50%、1.03%，小于厂家声明（小于 10%），校准品 CAL5 测定 ASO、RF、CRP 的相对偏差分别为 1.58%、1.00%、2.87%，远远小于厂家声明。所以准确度通过验证。见表 2。

2.3 线性范围验证 患者高值血清 ASO 为 5 420 U/mL，进行 100%、80%、60%、40%、20% 稀释，重复测定四次，测定值（Y）与计算值（X）作图，计算 r^2 值为 0.9 943，b2 为 -0.198，三次多项式模型系数 b2、b3 分别为 0.034、-0.018，与 0 比较，差异无统计学意义（ $P>0.05$ ）；方法同上，患者高值血清 RF 为 3 312 U/mL， r^2 值为 0.9 938；患者高值血清 CRP 为 204 mg/L， r^2 值为 0.991 2；IgA 高值 29.40 g/L， r^2 值为 0.990 9；IgG 高值为 68.7 g/L， r^2 值为 0.991 8；IgM 高值为 6.77 g/L r^2 值为 0.979；二次多项式系数 b2，三次多项式模型系数 b2，b3 与 0 比较，差异无统计学意义（ $P>0.05$ ）；判断以上项目检测系统均呈线性。C3 高值为 2.54 g/L， r^2 值为 0.930 9；C4 高值为

0.87 g/L， r^2 值为 0.879；C3、C4 项目 $r^2<0.95$ ，呈非线性。见表 3。

表 2 各标本准确度验证结果

项目	靶值	均值	标准差	相对偏差 %
ASO(U/mL)	430.00	423.20	18.10	1.58
RF(U/mL)	340.00	336.60	6.91	1.00
CRP(mg/L)	42.50	43.72	11.58	2.87
IgA(g/L)	2.10	2.08	0.03	1.14
IgG(g/L)	15.50	15.24	0.29	1.89
IgM(g/L)	1.55	1.53	0.02	1.03
C3(g/L)	2.25	2.29	0.03	1.50
C4(g/L)	0.60	0.59	0.01	1.03

表 3 各标本线性范围验证结果

项目	高值	R2	二次多项式系数 b2	三次多项式模型系数 b2	三次多项式模型系数 b3	P
ASO(U/mL)	5 420.00	0.9 943	-0.198	0.043	-0.018	>0.05
RF(U/mL)	3 312.00	0.9 938	0.172	0.037	0.021	>0.05
CRP(mg/L)	204.00	0.9 912	0.134	0.021	0.012	>0.05
IgA(g/L)	29.40	0.9 909	-0.140	0.040	-0.017	>0.05
IgG(g/L)	38.70	0.9 918	0.084	0.053	0.049	>0.05
IgM(g/L)	6.77	0.9 790	-0.079	0.008	-0.005	>0.05

2.4 携带污染验证 取高浓度标本及低浓度标本进行测定，计算高浓度标本对低浓度标本的污染率。高浓度标本浓度为 1 180 U/mL，低浓度标本的浓度为 24 U/mL，按照低高交叉的顺序进行测定，计算携带污染率。高值测定的平均值为 1 208 U/mL，低值测定的平均值为 24 U/mL。按照公式计算污染率： $Ki = (CiL - C0) / 3 \times CH$ 。加样针的携带污染率为 0.025%，小于 0.05% 为符合要求。

2.5 参考范围验证 随机抽取健康成人 20 例，进行 ASO、RF、CRP、IgA、IgG、IgM、C3、C4 测定，测定结果与成人参考范围进行对比，计算 R 值（R 值为落在参考范围内的标本数/总的试验标本数）ASO、RF、CRP、IgA、IgG、IgM 测定的 20 组数据均落在参考值范围内 R 值均为 1.0；而 C3 有 2 组数据低于参考值范围，R 值为 0.9；C4 有 1 组数据低于参考值范围，R 值为 0.95，所有结果均符合要求。见表 4。

表 4 成人参考范围结果验证

项目	成人参考区间	R	是否符合
ASO(U/mL)	0~116	1.00	是
RF(U/mL)	<20	1.00	是
CRP(mg/L)	0~8	1.00	是
IgA(g/L)	0.82~4.53	1.00	是
IgG(g/L)	7.51~15.60	1.00	是
IgM(g/L)	0.46~3.04	1.00	是
C3(g/L)	0.79~1.52	0.90	是
C4(g/L)	0.16~0.38	0.95	是

3 讨 论

随着检验技术的不断发展、项目的不断增加、仪器及试剂品种繁多，检验质量的控制变得越来越重要。目前，国内外对于医学实验室质量管理要求主要是以美国临床实验室改进法案修正案（CLIA'88）、美国病理学家协会（CAP）的实验室认可计划以及国际标准化组织制定的标准 ISO15189 医学实验室认可为主^[8]。医学实验室认可管理强调临床实验室必须有计划地定期对实验室内 的检测系统参数进行验证^[9]。本实验按照国际标准化组织 ISO15189 质量体系认可要求，通过实验设计，对已使用 8 年的 IMMAGE800 特种蛋白仪进行验证。

检测系统中最主要、最基础的分析性是精密度和准确度。精密度是首先完成的评价，在重复性良好的情况下完成其他试验，否则评价缺乏基本保证^[10]。CLIS 为检测系统的不同分析性能提供了各种评价验证方案，EP15 主要用于评价与验证临床实验室定量分析方法的精密度和准确度，方法简单、方便，适用于日常和单个医学实验室的验证评价^[11]。参照 CLIS EP15-A2 文件，对 IMMAGE800 特种蛋白仪测试的 8 个项目进行精密度性能分析，结合试验室自身条件，将评判标准按照卫生部临床检验中心室内质量评价特种蛋白项目的可接受范围 1/4 标准执行。试验结果，8 个项目的批内精密度和总不精密度均小于评判标准，精密度符合临床要求。

准确度是检测系统中另一项非常重要的性能评价指标，是其他性能评估试验的基础。按照 CLSI EP15-A2 文件要求，使用已知浓度的标准物质进行准确性验证。结果显示，IM-MAGE800 特种蛋白仪上的 8 个项目的相对偏差远远小于厂家声明，准确度性能完全符合临床要求。

按照 EP6-A 方案，采用多项式回归方法评价仪器的线性，

结果显示 ASO、RF、CRP、IgG、IgM、IgA 6 个项目在给定的范围内呈线性。而 C3、C4 呈非线性,原因可能为:C3、C4 的检测范围较小,稀释增加了基质效应,故在日常工作中,C3、C4 稀释后的结果是不可靠的。

在临床工作中,高值标本对低值标本的携带污染不容小觑,IMMAGE800 特种蛋白仪标本针携带污染率为 0.025%,小于 0.05%,可满足临床需求,不影响加样顺序。

由于种族不同、区域不同、人群分布不同、人群生活习惯不同,故应建立适合本实验室的参考值范围;首先根据说明书的健康成人参考值范围进行验证,随机选择 20 位健康成人,验证参考值范围;经验证,参考值符合要求。故认为可以使用厂家的参考值范围。

通常一个检测系统应用到临床之前,实验室必须对其进行性能验证,最主要的性能指标包括精密度、准确度、检测线性范围以及参考范围是否符合当地人群^[12]。IMMAGE800 虽然不属于新的检测系统,但因为使用年限长达 8 年,故也需要进行性能验证。根据验证结果,证明该仪器在按时按需进行保养情况下,可保持良好的工作状态。

参考文献

[1] Ledue TB, Collins MF, Ritchie RF. Development of immunoturbidimetric assays for fourteen human serum proteins on the Hitachi 912[J]. Clin Chem Lab Med, 2002, 40(5): 520-528.
[2] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Method comparison and bias estimation using patient sample; approved

guideline[S]. EP9-A, NCCLS, 1986.
[3] Füzéry AK, Levin J, Chan MM, et al. Translation of proteomic biomarkers into FDA approved cancer diagnostics: issues and challenges[J]. Clin Proteomics, 2012, 10(1): 1-14.
[4] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 5 版. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2003.
[5] 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.
[6] 魏昊, 丛玉隆. 中国实验室国家认可委员会技术委员会医学分会. 医学实验室质量管理与认可指南[M]. 北京: 中国计量出版社, 2004.
[7] 程文琴, 章复湘, 张如. 医院传染病信息管理系统的应用研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(14): 3107-3109.
[8] 李萍. 临床实验室质量和能力要求[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(8): 958-960.
[9] 郭拥军, 李大为, 文江平, 等. 罗氏 Modular P-800 生化分析仪检测 6 种血清特种蛋白性能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(11): 1220-1221.
[10] 韩静, 胡梅, 杨桂花, 等. BNⅡ 特种蛋白仪测定 IgG、IgA 和 IgM 性能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(10): 1292-1294.
[11] 张莉, 吴炯, 郭玮, 等. 医学检验检测系统应用前的性能评价[J]. 检验医学, 2006, 21(6): 560-563.
[12] 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.

(收稿日期: 2016-01-27)

• 临床研究 •

肌红蛋白在氧化镍纳米粒子中的固定及新型生物传感器的制备

马大威

(黄石市阳新县第三人民医院, 湖北黄石 435000)

摘要:目的 对肌红蛋白(Mb)在氧化镍纳米粒子中的固定情况和新型生物传感器的制备情况进行探讨。方法 测试氧化镍纳米粒子改性石墨电极(GE)上 Mb 所表现出来的电化学情况, 同时进行新型生物传感器制备。结果 Mb 固定在 Mb/氧化镍(NiO)/二甲亚砜(DMSO)膜中时, 其分子所具有的活性能够得到更好的维持, 其对 H₂O₂ 具有电催化活性, 且表现米氏常数具体为 0.21 mmol/L、灵敏度表现为 417mA cm²/mol, 具有极高的亲和性; Mb 的检出限表现为 0.039 μmol/L。结论 Mb 存在明显和稳定的氧化还原峰, Mb 分子与电极间发生的电子传递受到 DMSO 的严重影响; 将其固定于 Mb/NiO/DMSO 膜中时, 更有利于其分子活性的维持, 其对 H₂O₂ 表现出高亲和性。

关键词:肌红蛋白; 氧化镍纳米粒子; 新型生物传感器
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.10.045 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)10-1404-03

肌红蛋白(Mb)为具有 1 个含铁血红素辅基和 153 个氨基酸的多肽链共同组合而成的一个亚铁血红素蛋白, 其相对分子质量为 17.5×10³, 其在机体中主要存在于心肌、骨骼肌等组织中^[1]。加强对蛋白质电催化、直接电化学的深入研究, 对认识机体电子转移机制、相关具有生命物质在机体中的代谢情况等均具有极为重要的价值^[2]。目前, 诸多学者在研究过程中, 利用纳米材料、离子聚合物等进行组装、交联等之后, 使血红素蛋白质能够被固定在电极表面, 进而实现对 Mb 与电极存在的传递关系进行研究。本研究中主要对 Mb 在纳米粒子上的固定情况进行探讨, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 在本研究中, 在石墨电极的表面进行氧化镍(NiO)纳米粒子修饰, 然后将 Mb 固定于石墨电极的表面, 进

而实现对蛋白质在电极上所发生的直接电化学行为进行分析和研究。

1.2 仪器与试剂 本研究所应用到的相关仪器主要有: CHI660C 电化学工作站(生产企业: 上海辰华仪器公司)、Vector22FT-IR 傅立叶红外光谱(生产企业: Bruker 公司)、扫描电子图像分析仪(生产企业: 德国 Gemini 公司)、TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(生产企业: 北京普析通用仪器有限责任公司), 此外还有石墨电极(GE)和饱和甘汞电极(SCE)。研究中所用的试剂主要有: M1882 Mb, 研究所用水均为二次蒸馏水, 使用到的其他试剂全部为分析纯。研究过程中还需要溶液 A、溶液 B、溶液 C 共 3 种溶液; A 种为 Mb 浓度为 2.0 g/L 水溶液; B 种为 NiO 浓度为 4.0 g/L 二甲亚砜(DMSO)悬浮液; C 种为溶液 NiO 浓度为 4.0 g/L 水溶液。