

者本身客观原因等造成。工作人员应具有特殊情况处理能力,加强血细胞分离机的培训,重点对机器的特点、适应人群和一般故障的应对处理方法的培训并加以演练。同时,单采血小板采集仪器要定期做好日常维护,定期检验,出现故障及时维修。血小板过期报废占 3.7%。由于血小板保存期限(5 d)相对较短,需进一步完善单采血小板采血计划、完善流程,建立预约采集制度。血小板脂肪血报废占 3.7%。单采血小板初筛时,观察血液离心后血浆的颜色及脂肪程度,避免血浆颜色异常或脂肪血导致的单采血小板报废。

血小板报废的主要原因是复检血液不合格,建立一支固定的单采血小板献血者队伍是提高血液质量的保障^[7]。因此有针对性地加大无偿献血单采血小板的宣传力度,强调献血队伍的建设和招募,降低互助献血者比例^[8-9]。建立单采血小板的招募、采集、全程护理及回访服务模式,使较多的初次自愿献血者发展成为固定献血者,以及招募已经有过全血献血经历的献血者,不断扩大和巩固这支固定单采血小板献血者队伍^[10-12]。完善单采血小板献血者招募、采集和检测的质量管理,有效降低单采血小板报废率。

参考文献

- [1] 蔡俊丽,魏胜男.机采血小板报废原因分析[J].临床输血与检验,2013,15(2):156-158.
- [2] 宋毅,刘棋,任少敏.青岛市机采血小板报废原因分析及对策[J].现代医药卫生,2009,25(1):57-57.
- [3] 王志文.干式生化仪在献血者 ALT 初筛中的应用[J].中华临床研究.

国输血杂志,2012,25(11):1213.

- [4] 韩增林,王玉青,张秀铮.献血前 ALT 快检模式的选择及开展意义[J].中国输血杂志,2014,27(2):201-202.
- [5] 田庆华,李延伟,张晓飞,等.机采血小板献血者血液检测低报废率原因分析[J].临床输血与检验,2014,16(4):405-406.
- [6] 姚瑞英.机采血小板报废原因分析[J].中国医药科学,2015,5(16):207-209.
- [7] 陈涵薇,林卉,谢松丽.武汉地区单采血小板献血者招募、保留策略[J].中国输血杂志,2015,28(7):825-827.
- [8] 卢智勇,叶玲珍.机采血小板献血者血液初筛不合格原因分析及对策[J].中国输血杂志,2015,28(11):1392-1394.
- [9] 庞栋,周艳君.血小板捐献人群筛选不合格原因与对策分析[J].检验医学与临床,2013,10(11):1427-1428.
- [10] 孙友岭,王玮,张琼琼,等.单采血小板服务模式建立的探讨[J].临床输血与检验,2015,17(4):350-353.
- [11] 许爱琴,詹霞华,余森,等.从固定全血献血者中招募单采成分捐献者不合格原因分析[J].中国输血杂志,2012,25(3):262-263.
- [12] 范小伊,叶有玩,唐万兵,等.探讨建立自愿捐献机采血小板的招募策略及效果评估[J].临床输血与检验,2013,15(1):47-50.

(收稿日期:2016-03-16 修回日期:2016-05-21)

STAR Evolution 检测纤维蛋白原的方法学性能评价

朱克清

(安徽省宿州市医学检验中心 234000)

摘要:目的 评估 STAR Evolution 全自动血凝分析仪检测全血纤维蛋白原(FIB)浓度的临床性能。方法 参照相关标准检测 FIB 的准确度、精密性、交叉污染率、线性范围及参考区间。结果 水平 1、水平 2 批内精密性(CV)分别为 1.9%和 3.17%;批间精密性(CV)分别为 3.27%和 2.89%;5 份室内质控品检测结果与靶值偏倚为 1.18%~4.30%;线性范围为 1.95~9.81, $r > 0.975$; $SE\% < 8\%$,线性范围与厂家说明相近;FIB 验证的参考区间为 2.502~2.904g/L,比率 $R(\%) = 96.7\%$;交叉污染率为 0.11%。结论 STAGOEvolution 全自动血凝分析仪检测 FIB 的方法学性能良好,检验结果可靠、准确,可满足临床需要。

关键词: STAR Evolution; 性能评价; 纤维蛋白原

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.19.051

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)19-2771-03

检测纤维蛋白原(FIB)含量是凝血试验筛检的最常用项目之一,STAR Evolution 全自动凝血分析仪,是集免疫比浊法、凝固法及发色底物法等检测方法融于一体的全自动凝血分析系统^[1]。临床诊断许多疾病的出凝血机制异常、抗凝、止血和溶栓药物的应用,都离不开凝血功能的检测^[2]。依据医学实验室质量和能力认可准则(ISO15189 文件)及美国病理家协会(CAP)实验室质量的要求,为保证仪器检测系统的有效性和完整性。现对该仪器检测 FIB 进行系统性评价,包括准确度、精密性、变异系数(CV)、携带交叉污染率、线性范围及参考区间等相关指标,验证结果是否准确可靠,能否满足临床需要。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2015 年 10 月 1 日至 12 月 31 日宿州市医学检验中心的就诊患者,采集抗凝血(3.8%枸橼酸钠抗凝剂,抗凝剂与血量 1:9 混合)标本,3 000 r/min 离心 10 min;当红细

胞压积(HCT) $< 20\%$ 时,抗凝剂和血液比例按照公式调整:抗凝剂用量(L)=0.001 85(L) \times (100-HCT)。全血标本混匀后采用 STAR Evolution 全自动凝血分析仪进行检测。

1.2 仪器与试剂 法国 STAR Evolution 全自动凝血分析仪,试剂盒由北京利德曼生物工程有限公司提供(批号 015263K)。

1.3 检测方法 STAR Evolution 全自动凝血分析仪质控在控后,进行标本检测。

1.4 评价方法

1.4.1 批内精密性评价实验 参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI) EP5-A 文件^[3],选择法国思塔高公司生产的水平 1(批号 151033)和水平 2(批号 151034)的 FIB 质控品,连续重复测定 10 次,分别计算均数(\bar{x})、标准差(s)及 CV 评价批内不精密性,参照厂家说明书判断标准为 $CV < 4\%$;取同一批号质控品水平 1 和水平 2,每天分别测定 1 次,连续测定 20 次,计

算 $\bar{x} \pm s, s$ 及 CV, 作为批间不精密度, 参照厂家说明书判断标准 $CV < 8\%$ 。

1.4.2 准确度 以参加 2015 年 10 月安徽省临床检验中心组织的室间质评(EQA)活动进行评价, 对 5 份凝血室间质控品进行检测, 靶值标准以临检中心回报的 FIB 靶值, 相对偏倚计算采用本实验室上报结果与靶值比较, 验证本实验室检测结果是否在质控允许范围之内。

1.4.3 线性范围 参照 CLSI EP6-A 文件^[4], 选取 1 份接近预期下限(L)和 1 份接近预期上限(H)血浆浓度, 并按照 5L、4L+1H、3L+2H、2L+3H、1L+4H、5H 配制混合血浆, 组成一系列评价标本, 每个标本重复检测 3 次后计算其均值, 并将实测值与理论值进行比较, 计算 SE%; 以理论值为 X 轴, 实测值为 Y 轴, 回归方程 $Y = aX + b$; 线性范围判定标准是相关系数 $(r) > 0.975$ 或 $R^2 > 0.95$ 。

1.4.4 携带交叉污染率 取高值标本和低值标本 1 份, 分别检测 3 次, 获得 H1、H2、H3 和 L1、L2、L3, 携带交叉污染率为 $(L1-L3)/(H3-L3) \times 100\%$, 携带污染率小于或等于 3%。

1.4.5 参考范围 参照 CLSI C28-A2 文件^[5], 选取 60 例体检标本(男、女各 30 例), 同批分别检测各项目, 计算均值、SD 及结果落在正常参考范围的例数与总标本例数的比例, 即 R 值, $R > 0.900$ 则验证结果适用。

1.5 统计学处理 运用 Excel2003 统计软件进行数据分析。

2 结果

2.1 精密度验证结果 批内、批间 $CV < 8\%$, 检测结果均小于厂家提供的标准, 提示该仪器具有较高的批内和批间精密度。见表 1。

表 1 FIB 批内、批间检测不精密度检测结果

项目	批内		批间	
	质控品 1	质控品 2	质控品 1	质控品 2
检测次数	10	10	20	20
$\bar{x} \pm s$ (g/L)	2.91±0.05	1.11±0.02	2.9±0.09	1.17±0.03
CV(%)	0.71	1.95	3.27	2.89

2.2 准确度评价结果 安徽省临床检验中心回馈的 FIB 室间质评结果显示, 5 份 FIB 室间质控品的检测结果与靶值偏倚为 1.18%~4.30%, 结果均为“符合”。采用厂家提供的正常及病理值质控血浆 FIB, 每个项目分别检测 3 次, 均值分别为 2.87、1.12 g/L, 结果均在厂家提供的质控范围之内。见表 2。

表 2 FIB 准确度评价结果

标本编号	结果(g/L)	靶值(g/L)	允许范围(g/L)	偏倚(%)
20150206	2.51	2.54	2.03~3.05	-1.18
20150207	2.65	2.77	2.22~3.35	-4.30
20150208	2.45	2.50	2.00~3.00	-2.00
20150209	2.46	2.50	2.00~3.00	-1.60
20150210	2.67	2.62	2.10~3.14	1.91

2.3 线性范围评价结果 以理论值为 X 轴, 实测值为 Y 轴进行比较, 结果偏差均在 $\pm 8\%$ 之间, 回归方程 $Y = 1.029 8X + 0.040 8$, $r = 0.997 0$, $r^2 \geq 0.975$, 斜率 a 为 0.97~1.03, 线性范围为 1.95~9.81 g/L。见表 3 和图 1。

2.4 交叉污染率评价结果 3 次连续检测的低浓度标本结果

分别是 L1 为 1.68 g/L, L2 为 1.7g/L, L3 为 1.67 g/L, 3 次连续检测的高浓度标本结果分别是 H1 为 9.84 g/L, H2 为 9.86 g/L, H3 为 9.85 g/L, 交叉污染率为 0.11%。

表 3 FIB 的线性范围评价结果

稀释度	第 1 次 (g/L)	第 2 次 (g/L)	第 3 次 (g/L)	均值 (g/L)	理论值 (g/L)	SE(%)
5L	1.91	2.03	1.92	1.95	1.95	0.00
4L+H	3.6	3.41	3.43	3.48	3.52	-1.14
3L+2H	5.15	5.00	5.15	5.1	5.09	0.20
2L+3H	6.25	6.25	6.25	6.25	6.67	-6.30
L+4H	7.58	7.82	7.70	7.70	8.23	-6.44
5H	8.94	10.87	9.81	9.81	9.81	0.00

注: a=1.029 8; r=0.997 0。

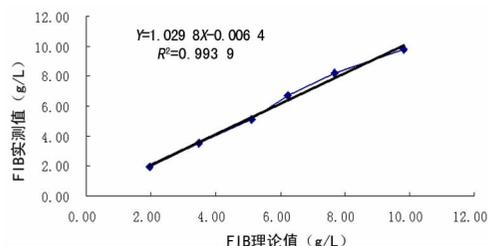


图 1 STAR Evolution 检测 FIB 的实测值与理论值相关线性关系

2.5 参考区间范围 20 例健康体检者 FIB 检测结果, $\chi^2 = 3.33$, $S = 0.41$ g/L, 比率 $R(\%) = 92.0\%$, 95%CI 为 (2.30~3.82)g/L, 其结果在厂家推荐的参考区间(2.0~4.0)g/L 范围内。

3 讨论

FIB 是血栓性疾病的一个独立危险因素, 也是反映血液高凝状态的指标之一, 在诊断和评估糖尿病具有非常重要的临床价值^[6]。由于各地区各实验室之间存在差异, 应定期对检测仪器进行性能评价, 保证检验质量的可靠性, 也是开展实验室认可的重要措施。STAR Evolution 全自动凝血分析仪可实现自动标本加样、自动稀释样品、自动搅拌试剂、重复测定、定标、控温、感应试剂和样品液面的自动化^[7]。

本实验室通过检测 FIB, 对该仪器的性能进行评价, 结果显示, STAR Evolution 检测 FIB 批内精密度水平 1、2 的 CV 分别为 1.95% 和 0.17%, 批间精密度浓度的 CV 分别为 3.27% 和 2.89%, 均小于说明书要求的 8%, 提示 STAR Evolution 检测 FIB 精密度良好。EQA 是由外部独立实验机构收集和反馈各实验室上报结果, 是评价实验室检测结果准确性的重要依据^[8]。本实验室检测的 5 份质控品 FIB 结果与靶值偏倚介于 1.18%~4.30%, 评价结果均为“符合”, 通过室间质量评价, 说明 STAR Evolution 有较高的准确度。本组系列稀释血浆标本结果表明, 该仪器检测 FIB 的线性范围为 (1.95~9.8)g/L, $r = 0.997 0$, 证实线性较好, 实际工作中遇到高于检测范围的标本, 仪器可自动对标本稀释倍数增加, 获得较宽的检测范围, 满足临床需求^[9]。交叉污染率评价验证结果表明, 交叉污染率仅为 0.11%, 结果准确可靠。随机抽取 60 例健康体检者, 获得 95%CI 为 (2.502~2.904)g/L, 与说明书提供的参考区间基本一致。由于生活方式、习惯、饮食和仪器、方法、试剂、检测条件等各种原因, 应当建立本实验室的参考区间, 这将是下一步工

作;同时也要重视检验前质量控制。

综上所述,STAR Evolution 检测 FIB 具有良好的方法学性能,可为临床提供可靠、准确的检验结果,很好地满足临床需要。

参考文献

- [1] 何洁静,李林海,全静雯,等. STA-R Evolution 全自动凝血分析仪常见故障处理和维护保养[J]. 中国误诊学杂志,2009,9(31):7637-7638.
 - [2] 陆红兵,孙文旦,王妍,等. STA-Compact 型全自动凝血仪的性能评价[J]. 血栓与止血学,2005,11(4):174-175.
 - [3] NCCLS. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods[S]. Approved guideline-second edition,PA;NCCLS,2004.
 - [4] NCCLS. EP6-A Evaluation of the Linearity of quantitative measurement procedures[S]. Statistecal approved guide-
- 临床研究 •

line,PA;NCCLS,2003.

- [5] NCCLS. C28-A2 How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory[S]. Approved guideline second edition,PA;NCCLS,2000.
- [6] 杨春生,梁金山,刘艳梅,等. 缓冲液在全自动凝血仪内摆放位置对纤维蛋白原测定的影响[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(8):1055.
- [7] 何艳,洪流. STA-R 全自动凝血仪应用性能评价[J]. 河北医学,2011,17(2):263-266.
- [8] 陆明洋,邓海峰,李敏,等. 肿瘤标志物室间质评结果的评价[J]. 标记免疫分析与临床,2011,18(2):135-136.
- [9] 许小英,于海涛,周存敏,等. 某型号全自动凝血分析仪的性能评价[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(11):1361-1362.

(收稿日期:2016-03-18 修回日期:2016-05-23)

磁微粒-吡啶酯化学发光游离甲状腺素检测试剂的研制及应用

张建锋

(英科新创/厦门科技有限公司,福建厦门 361022)

摘要:目的 研制定量检测游离甲状腺素的化学发光免疫试剂。方法 制备吡啶酯-T4 结合物作为信号标记物质,制备链霉亲和素-磁性微球作为固相载体,结合生物素标记的甲状腺素(T4)抗体,建立小分子竞争法免疫分析体系,分析其灵敏度、准确度和线性范围等性能指标。结果 灵敏度为 1.5 pmol/L,线性范围 2~75 pmol/L,批内不精密度 CV 为 5.62%~8.24%,批间不精密度 CV 为 7.08%~9.82%,与 T3 和 rT3 无交叉反应,37 ℃ 6 d 后发光值降幅为 10.7%~14.6%,检测 100 例临床血清标本,测定结果与进口试剂的相关性 r 值等于 0.924 5。结论 该试剂具有灵敏度高、线性范围广、稳定性好、受环境影响小、检测结果准确等特点,可配套全自动化学发光免疫分析系统,应用于临床检测。

关键词:游离甲状腺素; 化学发光; 吡啶酯; 磁性微球

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.19.052

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)19-2773-03

甲状腺素(T4)是甲状腺滤泡细胞合成及分泌的激素。体内游离的甲状腺素(FT4)通过维持体温及刺激热量生成来调节正常生长与发育,其含量与甲状腺功能状态密切相关。检测 FT4 水平并结合其他甲状腺检验和临床表现,可对甲状腺功能亢进和甲状腺功能减退作出诊断^[1]。血清 FT4 检测方法有平衡透析法、放射免疫测定法、酶免疫测定法、时间分辨荧光免疫法和化学发光免疫分析法等^[2-6]。其中化学发光免疫分析法是最具发展前景的新型非放射性免疫标记技术。本研究成功制备小分子-吡啶酯结合物,基于小分子物质的竞争法检测原理,研制定量检测 FT4 的磁性微球-吡啶酯标记-化学发光免疫分析试剂。报道如下。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂 LB960 型化学发光读数仪(Berthold 公司),2695-2696 液相色谱仪(Waters 公司),DXI800 全自动免疫分析系统(Beckman 公司)。T4 单抗、链霉亲和素(SA)购自罗氏公司;生物素、脱盐柱购自 Thermo fisher 公司;NSP-DMAE-NHS 购自上海迈拓威公司;T4 标准品购自中国药品生物制品检定所;T4 纯品、BSA 购自 Sigma 公司,临床标本来自福建医科大学附属协和医院。其他试剂均购自阿拉丁试剂公司。

1.2 试剂组分制备

1.2.1 SA 磁性微球制备 按照摩尔比 2:1 称取适量氯化铁

和氯化亚铁,在超纯水中溶解混匀后加入氨水至终浓度为 0.5%,60 ℃ 搅拌反应 4 h,所得磁性微球用超纯水洗涤后,重新分散于 50%乙醇中,再依次加入 0.5%的 PEG4000、0.1%的氨水和 0.1%的正硅酸乙酯,60 ℃ 搅拌反应 16 h,获得改性后的磁性微球用超纯水和无水乙醇交替洗涤后,重悬于 50%乙醇中,再分别加入 0.05%的氨水、0.5%的四甲基氢氧化铵(TMA)和 2.5%的 3-氨基三甲氧基硅烷,室温搅拌反应 16 h,即得表面修饰氨基的磁性微球。取适量该氨基磁性微球,用 PBS 缓冲液清洗并重悬,再加入 0.1% TMA 和 2.5%的戊二醛,室温搅拌反应 30 min,之后用碳酸缓冲液清洗并重悬,超声分散后按 20 μg/mg 磁性微球加入 SA,37 ℃ 搅拌反应 16 h,然后分别加入 0.1%的谷氨酸和 1%的 BSA 继续反应 1 h, PBS 缓冲液(含 0.05%的 tween-20)洗涤 3 次后,重悬于 1% BSA 中,超声分散,即得 SA 磁性微球。

1.2.2 生物素化抗体制备 取适量 Anti-T4 单抗,pH 7.4 的 PBS 缓冲液透析纯化后,加入 15 倍(摩尔比)已活化的长链磺化生物素 Sulfo-NHS-LC-Biotin,2~8 ℃ 反应 2 h,再转入室温继续反应 30 min,最后加入 100 倍(摩尔比)的赖氨酸反应 30 min,反应液用脱盐柱纯化,加入等体积甘油和 0.1% Na₂S₂O₃。

1.2.3 吡啶酯-T4 结合物制备 称取 T4 纯品适量,溶于 DMSO 中,配制浓度为 0.1 mmol/L 的溶液 A。再称取 NSP-