

• 论 著 •

GLP 体系下全自动血凝分析仪的 3Q 验证*

张 谦¹, 张 微¹, 吕晓丽², 曹晓东¹, 常福厚^{1,2,△}

(内蒙古医科大学:1. 新药安全评价研究中心;2. 药学院,呼和浩特 010110)

摘要:目的 以 Sysmex CA7000 全自动血凝分析仪为例,探究良好实验室规范(GLP)体系下全自动血凝分析仪 3Q 验证过程。方法 选择凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(FIB)4 项检验指标,对仪器的批内精密度、日间精密度、准确性、线性、携带污染率进行性能验证。结果 PT、APTT、TT、FIB 的批内精密度 CV 值分别为 1.33%、1.57%、1.47%、1.90%;日间精密度 CV 值分别为 1.73%、1.52%、1.55%、2.14%;在准确度方面,PT、APTT、TT、FIB 的正常质控 CV 值分别为 7.45%、3.88%、-4.98%、4.36%,PT、APTT 的异常质控 CV 值分别为 8.11%、8.77%;FIB 的线性相关系数(r)值为 0.999 3, a 值为 1.02;标本携带污染率最高 CV 值为 2.15%;所测结果均符合行业通用标准和仪器厂家要求。结论 通过 GLP 体系下的 3Q 验证, Sysmex CA7000 血凝分析仪各方面性能优良,可以用于临床检验部的检验工作。

关键词:良好实验室规范; 全自动血凝分析仪; 3Q 验证

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.23.001

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)23-3241-03

3Q verification of automatic blood coagulation analyzer under good laboratory practice system*

ZHANG Qian¹, Zhang Wei¹, LV Xiaoli², CAO Xiaodong¹, CHANG Fuhou^{1,2,△}

(1. Center for New Drug Safety Evaluation and Research, Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia 010110, China; 2. College of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia 010110, China)

Abstract: Objective To explore the procedures of 3Q validation for blood coagulation analyzer under the good laboratory practice (GLP) system based on the Sysmex CA7000 automatic blood coagulation analyzer. **Methods** Four test indicators of PT, APTT, TT and FIB were chosen to conduct the performance verification in the within-run precision, between-day precision, accuracy, linearity, carry-over contamination rate of the automatic blood coagulation analyzer. They were prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), thrombin time (TT), and fibrinogen (FIB). **Results** The within-run precision CV values of PT, APTT, TT and FIB were 1.33%, 1.57%, 1.47% and 1.90%, respectively; the inter-day precision CV values of PT, APTT, TT and FIB were 1.73%, 1.52%, 1.55% and 2.14% respectively; in terms of accuracy, the normal quality control CV values were 7.45%, 3.88%, -4.98% and 4.36% respectively; the abnormal quality control CV values of PT and APTT were 8.11% and 8.77% respectively; the r value of FIB linear correlation coefficient was 0.999 3, the a value was 1.02; the highest CV value of carry-over contamination rate was 2.15%; the detected results all conformed to the general industry standards and requirements of instrument manufacturer. **Conclusion** The 3Q validation under the GLP system proves that the Sysmex CA7000 automatic blood coagulation analyzer is good in performance and is appropriate for the laboratory work of clinical laboratory department.

Key words: good laboratory practice; automatic blood blood coagulation analyzer; 3Q verification

良好实验室规范(GLP)主要是针对食品化妆品、新药等进行安全性评价实验而制订的规范^[1-3]。GLP 实验室目的是严格控制食品化妆品、新药等安全性评价试验的各个环节,在最大限度上消除可能影响实验结果的主观和客观因素,降低误差,确保实验结果的真实、可靠^[4-5]。国家食品药品监督管理局(CFDA)、美国食品与药物管理局(FDA)均有相应文件明确规范 GLP 实验室中备案仪器设备应定期进行 3Q 验证^[6]。以确保仪器产生的实验数据可靠、准确。所谓 3Q 验证,即指仪器的安装验证(IQ)、操作验证(OQ)和性能验证(PQ)^[7]。CA7000 全自动血凝分析仪购置后,查看仪器预安装的地点及周边环境、配套设施是否符合要求,安装仪器运行所需的硬件及软件,即进行安装验证。安装验证完成后,调试仪器、设置仪器参数、校准仪器项目、开机运行仪器、查看各项功能是否正

常、对操作人员进行操作培训,即完成仪器的操作验证。临床检验部全自动血凝分析仪在新药非临床安全性评价中承担血液学指标的检测,其检测数据是否准确在一定程度上影响着药物毒理学结果^[8]。而其中涉及的性能验证是整个 3Q 验证中的关键步骤,需要在实验前精心设计验证指标和验证方案^[9]。以 Sysmex CA7000 全自动血凝分析仪为例,探究在 GLP 体系下 CA7000 全自动血凝分析仪的性能验证过程。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂 仪器为 Sysmex CA7000 全自动血凝分析仪;试剂为凝血酶原时间(PT)测定试剂盒(批号 105273)、活化部分凝血活酶时间(APTT)测定试剂盒(批号 112183)、凝血酶时间(TT)测定试剂盒(批号 121150)、纤维蛋白原(FIB)测定试剂盒(批号 1320791);质控品为正常凝血质控品(批号

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81260499)。

作者简介:张谦,男,自然科学研究实习生,主要从事临床医学检验研究。△ 通讯作者,E-mail:zhang2005qian2006@126.com。

182018)、异常凝血质控品(批号 183015)。试剂、质控品生产厂家为上海太阳生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 批内精密度的测定 根据 NCCLS EP5-A 文件取当日门诊患者新鲜血浆制成混合血浆^[10],取混合血浆快速、连续、重复检测 20 次,计算标准偏差(s)和变异系数 CV 值, CV 值必须小于或等于厂家的要求。

1.2.2 日间精密度的测定 根据 NCCLS EP5-A 文件将正常凝血质控品用 1.0 mL 蒸馏水复溶^[10],取正常凝血质控连续测定 20 d,每日检测 1 次,计算标准偏差(s)和变异系数 CV 值, CV 值必须小于或等于厂家的要求。

1.2.3 准确性的测定 根据 NCCLS EP15-A 文件分别取两个水平的定值质控品(正常、异常)验证凝血 4 项的准确度^[11],每个项目重复测定 3 次, CV 值应小于或等于厂家规定的 10%。

1.2.4 线性范围的测定 根据 CLSI EP6-A 文件从当日门诊患者标本中筛选高值和低值标本^[12],高值标本为 1 号,低值标本为 5 号,二者 3:1 混合为 2 号,1:1 混合为 3 号,1:3 混合为 4 号,配制成具有 5 个浓度梯度的标本,每个标本检测 1 次,将实测值与理论值作比较(偏离应小于 10%),将两组数据进行线性回归拟合,应用 Excel2010 软件中函数 CORREL 和函数 SLOPE 求得相关系数(r)和斜率(a), a 值在 1±0.03 范围内, r>0.98。

1.2.5 携带污染率的测定 根据 CLSI EP10-A 文件^[13],高值标本对低值标本的污染:低值标本(L)为 1、3 号,高值标本(H)为 2 号,每个标本顺序测定 3 次,记录结果 L1、L2、L3、H1、H2、H3、L4、L5、L6 利用公式 $K1 = [L4 - \text{mean}(L1, L2, L3)] / \text{mean}(L1, L2, L3)$,结果应小于或等于厂家标识的 10%;低值对高值标本的污染率:高值标本(H)为 1、3 号,低值标本(L)为 2 号,每个标本顺序测定 3 次,记录结果 H1、H2、H3、L1、L2、L3、H4、H5、H6 利用公式 $K2 = [H4 - \text{mean}(H1, H2, H3)] / \text{mean}(H1, H2, H3)$,结果应小于或等于厂家标识的 10%。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行统计学处理。

2 结果

2.1 批内精密度 批内精密度检测结果均小于厂家标识的要求,验证通过。见表 1。

测定项目	PT(s)	APTT(s)	TT(s)	FIB(g/L)
均值	12.55	28.50	16.63	2.597
CV(%)	1.33	1.57	1.47	1.90
厂家标识 CV(%)	≤5	≤5	≤5	≤8

2.2 日间精密度 日间精密度检测结果均小于厂家标识的要求,验证通过。见表 2。

测定项目	PT(s)	APTT(s)	TT(s)	FIB(g/L)
均值	12.22	29.13	16.65	2.54
s	0.21	0.44	0.26	0.05
CV(%)	1.73	1.52	1.55	2.14
厂家标识 CV(%)	≤10	≤10	≤10	≤15

2.3 准确性 准确性检测结果均小于厂家标识的要求,验证通过。见表 3。

项目	正常质控			异常质控		
	均值	靶值	CV(%)	均值	靶值	CV(%)
PT(s)	13.6	12.5	7.45	43.3	40.0	8.11
APTT(s)	28.1	27.5	3.88	54.3	50.0	8.77
FIB(g/L)	2.38	2.50	-4.98			
TT(s)	18.0	17.3	4.36			
厂家标识 CV(%)	10			10		

注:TT、FIB 无异常质控,仅验证正常水平。

2.4 线性范围的测定 只验证以浓度为结果的项目,依次测定 FIB 5 个浓度梯度的标本,实测值分别为 8.13、6.22、4.57、2.73、0.79 mg/dL,与理论值相比相对偏差均小于 10%,FIB 的线性相关系数 r 值为 0.999 3, a 值为 1.02,符合仪器厂家要求,表明该全自动血凝仪在稀释范围内呈良好的线性相关性。

2.5 携带污染率的测定 各项目携带污染率均小于判定标准 10%,符合行业通用标准要求。见表 4。

项目	高值对低值	低值对高值
PT	0.28	-0.35
APTT	0.21	0.31
FIB	2.15	1.56
行业通用标准 CV(%)	≤10	≤10

3 讨论

对 CA7000 的性能验证表明,批内精密度 CV 值为 1.33%~1.90%,日间精密度 CV 值为 1.52%~2.14%,均在仪器厂家标识范围内;准确性方面,正常质控 CV 最大值 7.45%,异常质控 CV 最大值 8.77%,均小于仪器厂家标识的 10%;FIB 的线性相关 r 值为 0.999 3, a 值为 1.02, a 值在 1±0.03 范围内, r>0.98。携带污染率的 CV 值为 -0.35%~2.15%,均小于厂家标识的 10%。说明 CA7000 血凝分析仪具有良好的精密度和准确性,良好的线性范围和低携带污染率从另一角度也保证实验结果的真实、可靠性。

3Q 验证中的 PQ 验证频率为每年 1 次^[14]。仪器有下列情况之一则需要重新验证:仪器的放置地点改变、仪器的检测方法改变、仪器进行重大维修^[15]。GLP 体系下仪器的性能验证需在部门负责人的监督下由有经验的工作人员完成^[16]。性能验证报告由检测人员和部门负责人签名确认后连同原始数据和之前完成的安装验证和操作验证报告共同以书面形式归档,即一个完整的 3Q 验证过程,3Q 验证过程需要质量保障部门人员的监督^[17]。

经过 GLP 体系下的 3Q 验证,此台 Sysmex CA7000 全自动血凝分析仪各项性能指标良好,所测定的实验数据真实、准确,可用于药物非临床研究安全性评价的临床检验中血液学指标的检测。

参考文献

[1] 吴建辉,闫晗,苏欣,等. GLP 人员的岗(下转第 3245 页)

显示,威海地区儿童血铅异常的情况较轻,共检出高血铅 11 例,人数分布随着年龄的增加而逐渐增多。这可能与儿童随着年龄的增长,活动范围逐渐扩大,接触到的外界环境中铅元素的概率远远大于婴儿期,加之近年来环境污染严重等因素有关。近年来有研究表明,补充钙剂可以有效降低儿童血铅水平,但具体机制还不清楚,还有待于后续更进一步的研究。

综上所述,威海地区儿童血钙的水平随年龄的增长呈逐渐下降的趋势;而锌、铁和铅元素的水平则随年龄的增长呈现逐渐上升的趋势,符合我国微量元素分布趋势的一般规律。低血锌和低血铁的发生率较高,这可能与儿童的生长周期及喂养方式有关。因此,依据本次研究的结论,建议要保证婴儿期儿童有足够的母乳摄入量,并注意铁元素和锌元素的补充;幼儿期则应注意微量元素的均衡和足量摄入,为生长发育提供足量原料。各年龄段的儿童都应注意生活环境卫生,养成良好的个人卫生习惯以预防铅中毒的发生。同时应定期检测儿童血液微量元素水平,及时了解儿童营养状况。

参考文献

[1] Osei A, Houser R, Bulusu S, et al. Nutritional status of primary schoolchildren in Garhwali Himalayan villages of India[J]. Food Nutr Bull, 2010, 31(2): 221-233.

[2] Nakagawa K, Pérez EC, Oh J, et al. Cinacalcet does not affect longitudinal growth but increases body weight gain in experimental uraemia[J]. Nephrol Dial Transplant, 2008, 23(9): 2761-2767.

[3] Plum LM, Rink L, Haase H. The essential toxin; impact of zinc on human health[J]. Int J Environ Res Public Health, 2010, 7(4): 1342-1365.

[4] 于行堂,王磊,张春江,等.威海市儿童静脉血微量元素钙铁锌参考值调查[J]. 检验医学与临床, 2013, 4(10): 921-922.

[5] Nojilana B, Norman R, Dhansay MA, et al. Estimating the burden of disease attributable to iron deficiency anaemia in South Africa in 2000[J]. S Afr Med J, 2007, 97(8): 741-746.

[6] 林涛,陈翊,邝间玲,等.广州地区儿童全血部分微量和常量元素含量年龄差异的分析[J]. 广东医学, 2011, 32(14): 1859-1861.

[7] 方清,杨幕贞,朱秀坤,等.586 例儿童微量元素检测结果分析[J]. 海南医学, 2009, 20(8): 129-130.

[8] 薛峰,罗红权,叶成燕,等.成都地区儿童 5 种微量元素检测结果现状分析[J]. 四川医学, 2009, 30(11): 1798-1800.

[9] 吴美琴,颜崇淮.必需微量元素与儿童健康研究进展[J]. 广东微量元素科学, 2008, 15(12): 1-5.

[10] 陈洪.探讨微量元素与妇女儿童健康的影响[J]. 中外健康文摘, 2012, 9(18): 40-41.

[11] Counter SA, Buchanan LH, Ortega F, et al. Comparative analysis of zinc protoporphyrin and blood lead levels in lead-exposed Andean children[J]. Clin Biochem, 2007, 40(11): 787-792.

[12] 张秀英.儿童血铅含量的调查分析[J]. 中国妇幼保健, 2007, 22(12): 1682-1683.

(收稿日期:2016-03-04 修回日期:2016-05-22)

(上接第 3242 页)

位职责与各类人员的培训[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2013, 27(3): 458.

[2] 于文莲,陈会明,宋乃宁,等.良好实验室规范与实验室认证[J]. 分析实验室, 2010, 29(5): 120-122.

[3] 余珊珊,李正奇. GLP 认证现场检查常见问题简析[J]. 药物评价研究, 2014, 37(4): 295-299.

[4] 杨琛懋,马璟.关于 GLP 实验室仪器验证的探讨[J]. 毒理学杂志, 2007, 21(4): 285.

[5] 贾栗,赵瑞勤,赵君,等. GLP 体系下生化分析仪的 3Q 验证过程及要点[J]. 军事医学, 2013, 37(10): 752-755.

[6] 王三龙,沈连忠,齐卫红,等.安全药理遥测系统进行 3Q 验证的关注点[J]. 中国药学杂志, 2010, 45(10): 797-800.

[7] 刘晓萌,谢寅,孟建华,等. GLP 实验室仪器验证的质量保证[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2013, 27(3): 607-607.

[8] 冯厚梅,孙德华,郑磊,等. Sysmex CA 7000 全自动凝血仪性能评价[J]. 检验医学, 2011, 26(1): 58-62.

[9] 吴洪海,李五一,阮慧,等.综合性高校 GLP 实验室建设的探索[J]. 实验技术与管理, 2013, 30(2): 202-204.

[10] NCCLS. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods: approved guideline-second edition[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2004.

Health, 2010, 7(4): 1342-1365.

[4] 于行堂,王磊,张春江,等.威海市儿童静脉血微量元素钙铁锌参考值调查[J]. 检验医学与临床, 2013, 4(10): 921-922.

[5] Nojilana B, Norman R, Dhansay MA, et al. Estimating the burden of disease attributable to iron deficiency anaemia in South Africa in 2000[J]. S Afr Med J, 2007, 97(8): 741-746.

[6] 林涛,陈翊,邝间玲,等.广州地区儿童全血部分微量和常量元素含量年龄差异的分析[J]. 广东医学, 2011, 32(14): 1859-1861.

[7] 方清,杨幕贞,朱秀坤,等.586 例儿童微量元素检测结果分析[J]. 海南医学, 2009, 20(8): 129-130.

[8] 薛峰,罗红权,叶成燕,等.成都地区儿童 5 种微量元素检测结果现状分析[J]. 四川医学, 2009, 30(11): 1798-1800.

[9] 吴美琴,颜崇淮.必需微量元素与儿童健康研究进展[J]. 广东微量元素科学, 2008, 15(12): 1-5.

[10] 陈洪.探讨微量元素与妇女儿童健康的影响[J]. 中外健康文摘, 2012, 9(18): 40-41.

[11] Counter SA, Buchanan LH, Ortega F, et al. Comparative analysis of zinc protoporphyrin and blood lead levels in lead-exposed Andean children[J]. Clin Biochem, 2007, 40(11): 787-792.

[12] 张秀英.儿童血铅含量的调查分析[J]. 中国妇幼保健, 2007, 22(12): 1682-1683.

(收稿日期:2016-03-04 修回日期:2016-05-22)

[11] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP15-A2 User verification of performance for precision and trueness: approved guideline-second edition[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2005.

[12] NCCLS. EP6-A2 Evaluation of the linearity of quantitative analytical methods[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2000.

[13] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP10-A3 Preliminary evaluation of quantitative clinical laboratory measurement procedures: approved guideline-third edition[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2006.

[14] 吕会田. GLP 条件下实验仪器的验证和管理[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2013, 27(3): 457-458.

[15] 古海锋,郭洪祝,厉进忠,等.药品检验用仪器设备性能验证指导原则和技术标准的探讨[J]. 中国药事, 2014, 28(7): 710-714.

[16] 项新华,黄海伟,左宁,等.建立性能管理为核心的仪器设备质量管理新模式[J]. 中国药事, 2014, 28(7): 721-725.

[17] 杨锋,王红星,艾应先,等.质量控制在 GLP 中的实践与体会[J]. 中国卫生质量管理, 2011, 18(4): 70-72.

(收稿日期:2016-04-11 修回日期:2016-07-13)