

healthy individuals and liver fibrosis patients[J]. Data Brief, 2017, 6(14):777-781.

[11] 刘序友, 舒建昌. Hedgehog 信号通路及肝纤维化发病相关机制研究新进展[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2016, 25(1):108-111.

[12] NEUMAN M G, COHEN L B, NANAU R M. Hyaluronic acid as a non-invasive biomarker of liver fibrosis[J]. Clin Biochem, 2016, 49(3):302-315.

[13] MAK K M, MEI R. Basement membrane type IV collagen and laminin; an overview of their biology and value as fi-

bro sis biomarkers of liver disease[J]. Anat Rec (Hoboken), 2017, 300(8):1371-1390.

[14] 陈丽, 邓泽虎. 透明质酸、Ⅲ型前胶原及Ⅳ型胶原与肝纤维化程度的相关性研究[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(12):1659-1660.

[15] 孙蕾. 不同程度肝纤维化患者的血清学检验分析[J]. 临床输血与检验, 2016, 18(2):144-145.

(收稿日期:2019-08-18 修回日期:2019-12-25)

• 短篇论著 •

某全自动循环荧光免疫分析仪 cTnI 项目的性能验证

梅竹, 孙思, 白欣鹭, 胡礼仪[△]

(重庆两江新区第一人民医院医学检验科, 重庆 401121)

摘要:目的 对星童 Pylon3D 全自动循环增强荧光免疫分析仪肌钙蛋白 I(cTnI)定量检测系统进行性能评估。方法 参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)相关文件,通过室内质控数据分析该仪器 cTnI 项目的精密性、正确度、灵敏度、线性范围、生物参考区间,并与相应方法学进行比对试验,与厂商声明的性能或公认的质量目标进行比较。结果 cTnI 项目低、高水平标本的批内变异系数(CV)分别为 6.13% 和 7.05%,均小于厂家最大允许误差(10%),且均小于 1/4 允许总误差(TEa);灵敏度验证合格;低、高水平质控品的检测结果与靶值的相对偏倚为 13.50% 和 5.29%, < 1/4TEa;检测的线性范围与厂家提供的范围相近; cTnI 的测量值在提供的参考区间内;星童免疫荧光法与西门子化学发光法检测的 cTnI 结果有较好的相关性。结论 该仪器检测 cTnI 的主要分析性能既符合质量目标要求,又能满足临床需要,所采用的验证方案简便可行,具有实用价值。

关键词:循环增强荧光免疫分析仪; 肌钙蛋白 I; 性能验证

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.14.035

中图法分类号:R446.6

文章编号:1673-4130(2020)14-1789-04

文献标识码:B

心肌肌钙蛋白 I(cTnI)是调节肌肉收缩的肌钙蛋白复合物中的组成成分,也是仅存在于心肌上而非骨骼上的肌钙蛋白^[1]。敏感和准确的 cTnI 检测对心肌梗死的诊断至关重要^[2]。cTnI 在心肌梗死发生数小时内即可释放入血,胸痛发作后 3~6 h 即可在血清中检出,于 12~16 h 达到峰浓度,其峰值可超出参考区间几十倍,具有高度的心肌特异性和敏感性,是目前最理想的心肌梗死诊断标志物之一。快速、准确地检测人体内 cTnI 水平与医学检验实验室工作息息相关。为确保所给出结果的准确性,医学检验实验室认可工作近年来备受关注。国际标准化组织颁布的医学实验室认可标准《医学实验室质量和能力的专用要求》(ISO15189)及美国《临床实验室改进法案修正案最终法规》(CLIA'88)明确指出,临床实验室在开展某一检测项目前,实验室需要对其相关方法学分析性能予以验证,对厂商提供的评价资料中的主要性能予以确认,以及对于仪器配套系统做基本的性能验证试

验,即对精密性、正确度、可报告范围和参考区间等进行验证^[3-5]。为此,本实验室对常规使用的星童 Pylon3D 全自动循环增强荧光免疫分析仪 cTnI 项目的主要质量指标进行性能验证,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 8 月本院体检中心的健康体检者 20 例,其中男、女各 10 例,年龄 20~65 岁,所有标本均无溶血、黄疸及脂血。另选取本院患者的低、高值 cTnI 血清标本各 1 份。

1.2 仪器与试剂 星童 Pylon3D 全自动循环增强荧光免疫分析仪及原装配套试剂、校准品,苏州星童医疗技术有限公司生产的低值质控品(批号 2103171801)及高值质控品(批号 2203171801)。

1.3 方法

1.3.1 精密性验证 批内精密性(重复性)测定:按照操作说明书的要求对仪器进行常规的保养、维护和校准,保证室内质控在控的前提下再进行验证试验。

[△] 通信作者, E-mail: hlyhhy@163.com。

本文引用格式:梅竹,孙思,白欣鹭,等.某全自动循环荧光免疫分析仪 cTnI 项目的性能验证[J].国际检验医学杂志,2020,41(14):1789-

选择患者低、高值 cTnI 新鲜血清标本各 1 份,在较短间隔时间内各标本连续重复测定 10 次,计算均值、标准差与变异系数(CV)。参照美国临床实验室标准化协会(CLSI)EP15-A2 评价方案,将所得结果与厂商提供的性能指标和公认的质量目标进行比较,若批内 $CV \leq 1/4$ 允许总误差(TEa),说明该检测系统的精密度符合要求。

1.3.2 灵敏度验证 采用厂家配套的稀释液按一定比例的关系配制系列水平的标本,按照要求测试 10 次。判断现有灵敏度与测量下限范围是否相符。判断标准:参照 CLSI EP17-A2 评价方案,如有不超过 1 个数值(测试结果的 10%)在初始采纳的检测下限(0.025 ng/mL)外,认为实验室采纳的灵敏度可接受。

1.3.3 正确度验证 参照 CNAS-CL38:2012《医学实验室质量和能力认可准则在临床化学检验领域的应用说明》(简称 CNAS-CL38:2012)的评价方案,用厂家质控品或标准品作为定值参考物质。最少测定高、低 2 个水平的质控品或标准品,每个水平重复测定 2 次,根据两次测定结果的平均值与靶值来计算偏倚,以偏倚 $\leq 20\%$ 为可接受。

1.3.4 线性范围验证 参照 CLSI EP6-A2 评价方案并结合相关报道^[6],选取 1 份高值 cTnI 血清标本(H),1 份低值 cTnI 血清标本(L),按照平均斜率法稀释为梯度水平标本,即将 H 和 L 按 5L、4L+H、3L+2H、2L+3H、L+4H、5H 的比例混合成 6 份标本。对所有标本进行 2 次测定,取其均值进行结果计算和判断(在高水平标本不易获取时,可以通过在低水平标本中添加分析物制备)。计算结果时,以预测值即理论水平为横轴,实际测量值的均值为纵轴,绘制散点图,进行回归分析,得出线性回归斜率 b、相关系数 r,以及直线回归方程 $Y = bX + a$ 。若相关系数 $r \geq 0.975$,b 值为 0.9~1.1,a 接近于 0,则线性范围验证通过。

1.3.5 参考区间验证 本项目的参考区间引用原国家卫生部颁布的参考区间。按相关要求从健康体检人群中选取 20 例,判断现有参考值范围与测量范围是否相符。判断标准:如有不超 2 个数值(测试结果的 10%)在初始采纳的参考范围外,那么实验室采纳的参考范围可接受,即该参考区间可有效地应用于本实验室。

1.3.6 方法学比对 参照 CLSI EP9-A2 评价方案,进行星童 Pylon3D 免疫荧光法与西门子化学发光法 cTnI 检测结果的比对。按照要求选取 10 份血清标本,在保证检测系统处于良好状态下,将两种仪器所检测的 cTnI 结果进行比较。以星童 Pylon3D 免疫荧光法的检测结果为 Y 轴,西门子化学发光法的检测结果为 X 轴,绘制散点图,计算回归方程。得到直线回

归方程 $Y = bX + a$,若相关系数 $r \geq 0.975$,则说两种仪器所用方法检测的 cTnI 结果具有较好的相关性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件和 Excel2003 软件进行统计处理和分析,采用直线相关与回归分析数据间的关系,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 精密度验证结果 星童 Pylon3D 全自动循环增强荧光免疫分析仪检测 cTnI 的批内精密度结果显示,在批内测定低、高水平标本的均值分别为 0.214、60.600 ng/mL,标准差分别为 0.013 和 4.270,CV 分别为 6.13%、7.05%,CV 均小于厂家最大允许误差(10%),且均 $< 1/4TEa$ 。

2.2 灵敏度验证结果 采用厂家配套的稀释液按一定比例的关系配制系列水平的标本,按照要求使用星童 Pylon3D 全自动循环增强荧光免疫分析仪测试 10 次。结果显示,10 份标本的测试结果 < 0.025 ng/mL,无任何 1 例数据在初始采纳的检测下限(0.025 ng/mL)外,符合 EP17-A2 评价方案标准,灵敏度验证通过。

2.3 正确度验证结果 结果显示,低水平质控品检测结果均值为 0.212 ng/mL,靶值为 0.245 ng/mL,计算其偏倚为 13.50%;高水平质控品检测结果均值为 0.841 ng/mL,靶值为 0.888 ng/mL,计算其偏倚为 5.29%。高、低两个水平质控品检测结果的偏倚 $\leq 20\%$,符合 CNAS-CL38:2012 评价方案标准,正确度验证通过。

2.4 线性范围验证结果 对所有标本进行 2 次测定,取其均值进行结果计算和判断,得到直线回归方程 $Y = 1.0223X + 0.0651 (R^2 = 0.9989)$,相关系数 $r > 0.975$,b 值为 0.9~1.1,a 接近于 0,说明预期值与实测值相关性好,线性范围验证通过。见表 1。

表 1 线性范围验证结果(nmol/L)

系列水平血清	实测值均值(Y)	预期值(X)
5L	0.025	0.025
4L+1H	8.140	8.800
3L+2H	16.950	17.600
2L+3H	53.650	52.800
1L+4H	67.350	70.400
5H	85.950	88.000

2.5 参考区间验证结果 按照要求从健康体检人群中选取 20 份采集血清标本,经检测,无检测值在初始采纳的参考范围(0.1 ng/mL)外,即均处于所引用的参考区间内,说明该生物参考区间适用于本实验室。见表 2。

2.6 方法学比对结果 选取 10 份血清标本,在保证检测系统处于良好状态下,进行星童 Pylon3D 免疫荧

光法与西门子化学发光法 cTnI 项目检测结果的对比。直线回归方程为 $Y = 2.1038X + 0.0052$ ($R^2 = 0.9997$), 相关系数 $r = 0.9998 > 0.975$, 可见两种方法有较好的相关性。见表 3。

表 2 参考区间验证结果 (ng/mL)

序号	标本号	检测值	序号	标本号	检测值
1	1804180214	<0.025	11	1804180188	<0.025
2	1804180238	<0.025	12	1804180213	<0.025
3	1804180232	<0.025	13	1804180191	<0.025
4	1804180220	<0.025	14	1804180215	<0.025
5	1804180219	<0.025	15	1804180223	<0.025
6	1804180231	<0.025	16	1804180237	<0.025
7	1804180233	<0.025	17	1804180226	<0.025
8	1804180234	<0.025	18	1804180224	<0.025
9	1804180203	<0.025	19	1804180227	<0.025
10	1804180207	<0.025	20	1804180235	<0.025

表 3 方法学对比结果 (ng/mL)

序号	标本号	星童免疫荧光法	西门子化学发光法
1	802	<0.025	<0.006
2	804	<0.025	<0.006
3	805	0.026	0.038
4	806	<0.025	0.015
5	813	0.133	0.276
6	820	0.125	0.210
7	824	0.347	0.432
8	825	0.798	2.097
9	826	0.084	0.175
10	827	15.400	32.390

注:星童免疫荧光法检测下限为 0.025 ng/mL,西门子化学发光法检测下限为 0.006 μg/L。

3 讨论

在临床工作中,临床医生常依靠医学实验室给出的结果对患者进行诊断、用药指导及预后评估等。因此,医学实验室需要确保所给出结果的准确性,实验室检测系统的良好分析性能是保证检验结果准确的前提。根据《医疗机构临床实验室管理办法》的要求和《医学实验室认可准则》的规定,临床实验室在开展新的检测项目、更换检测系统或改变检测试剂盒时必须对主要分析性能进行验证或确认,以证实其满足要求。星童 Pylon3D 全自动循环增强荧光免疫分析仪在本实验室用于 cTnI 项目检测,尽管厂家声明本仪器具有良好的性能,但针对本实验室,该仪器的主要性能如精密度、正确度、线性范围、生物参考区间等仍需进一步验证^[7-9]。

精密度是反映方法学性能的主要指标,体现了系统的随机误差,可确保标本在实验室检测过程中的稳

定性、可靠性,良好的精密度和准确度是保证结果准确的前提,也是进行其他性能验证试验的前提^[10]。常规的精密度验证参考品至少需要包含两个水平,因此本实验室在批内测定了两个不同水平 cTnI 新鲜血清标本各 1 份,为尽可能地排除各类影响因素,在较短间隔时间内各标本连续重复测定 10 次,计算各指标。验证结果显示,低、高水平标本的批内 CV 分别为 6.13%、7.05%,参照 CLSI EP15-A2 评价方案,均远低于厂家最大允许误差(10%),且均小于 1/4TEa。以上验证结果提示,星童 Pylon3D 全自动循环增强荧光免疫分析仪检测系统的精密度符合要求,可以投入临床使用。

灵敏度是指某方法对单位浓度或单位量待测物质变化所致响应量的变化程度,观察某种方法是否能够快速检出待测指标,也是反映方法学性能的重要指标之一^[11]。参照 EP17-A2 评价方案,本实验室采用厂家配套的稀释液按一定比例的关系配制成系列水平的标本,按照要求使用星童 Pylon3D 全自动循环增强荧光免疫分析仪测试 10 次。结果提示所有数据均在初始采纳的检测下限内,符合 EP17-A2 评价方案标准,分析灵敏度验证通过。

正确度可反映检测系统的系统误差。验证有两种方法:(1)待验证的方法与其他检验方法或试剂盒同时检测患者标本来进行正确度验证;(2)用参考物质进行正确度验证试验^[12]。本实验室采用第二种方法对 cTnI 项目加以验证,测定厂家提供的高、低两个水平的质控品,每个水平均重复测定 2 次,根据两次测定结果的均值与靶值来计算偏倚。验证结果提示,高、低两个水平质控品的相对偏倚分别为 13.50% 和 5.29%,均 ≤ 20%,符合 CNAS-CL38:2012 评价方案标准,表明该检测系统正确度性能符合要求。

在日常检验工作中,可能存在少数病例某一指标直接检测结果为阴性,但增加一定稀释倍数再测结果即可变为阳性,这就与检测系统的线性范围相关。线性范围定义为患者标本未经任何稀释、浓缩等预处理,由检验方法得到可靠结果的范围,其反映了分析结果与标本真实水平之间呈恒定比例的关系,所以患者结果可报告范围可视为对系统线性范围的验证。依据 EP6-A2 文件方案,线性范围验证可进行多项式回归计算,或者国内常用的较简便的平均斜率法^[13]。结合实际情况,本实验室选择了平均斜率法,经计算发现预测值与实际测量值之间相关性好(相关系数 $r > 0.975$),提示线性范围验证通过,满足临床实际应用要求。

通常某一指标的参考区间是研究人员对未患相应疾病的健康人群进行相应检查,用统计学方法对检查结果进行统计,取其 95.0% 或 97.5% 的范围作为

参考范围。而不同地区、不同实验室都会确定实验室检测项目的参考范围,只有这样才能有效指导临床正确分析试验结果。由于参考区间的建立是针对某一部分人群确立的,对于一些生物学变异较大的测试项目,不同人种乃至不同地区的人群,其参考范围不尽相同。ISO15189 要求实验室在每个新的测试项目开展前或其分析方法学改变,甚至患者群体改变时都需要进行参考区间验证试验^[14]。美国病理学家学会(CAP)要求对引用的试剂说明书、参考文献中的参考区间进行证实。实验室检测了 20 份健康体检人群血清标本,结果显示所有结果均在初始采纳的参考范围内,该生物参考区间适用于本实验室。

在日常的临床工作中,实验室常常会使用一些新的方法、试剂、仪器,但是在使用它们之前,往往需要对其进行一些评价。有学者认为,其中很重要的一项便是和实验室目前使用的方法、试剂、仪器进行方法学比对试验,以确定新方法、试剂、仪器测定的结果是否在允许的范围^[15]。CLSI 颁发的 EP9-A2 文件可以指导实验室使用患者标本进行方法学比对。本研究中,实验室严格按照 EP9-A2 文件,选取 10 份血清标本,在保证检测系统处于良好状态下,进行星童 Pylon3D 免疫荧光法与西门子化学发光法 cTnI 项目检测结果的比对。结果提示,两种仪器所用方法检测的 cTnI 结果具有较好的相关性,说明星童 Pylon3D 免疫荧光法可以在临床工作中使用。

综上所述,星童 Pylon3D 全自动循环增强荧光免疫分析仪性能好,既能符合质量目标要求,又能满足临床对 cTnI 的定量检测要求。

参考文献

- [1] MARIATHAS M, ALLAN R, RAMAMOORTHY S, et al. True 99th centile of high sensitivity cardiac troponin for hospital patients: prospective, observational cohort study[J]. *BMJ*, 2019, 364: 1729.
- [2] 崔建英,高蓉,牛黎明,等.血清 cTnI、CK-MB、hs-CRP 联合 SAA 与 LDH1 在重症哮喘患者并发心肌损伤的相关性分析[J]. *标记免疫分析与临床*, 2019, 26(1): 102-106.
- [3] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-CL02 医学实验室质量和能力认可准则: ISO15189-02[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.
- [4] 中华人民共和国卫生部. 医疗机构临床实验室管理办法(卫医发[2006]73号)[EB/OL]. (2016-03-06) [2018-01-02]. <http://www.nhc.gov.cn/zwgk/jdjd/201304/8d7f782839154d53ab4ff32db9f9257f.shtml>.
- [5] CLSI. Accreditation criteria for quality and competence of medical laboratories: ISO15189[S]. Wayne, PA: CLSI, 2012.
- [6] 潘婕,罗浔阳,胡晓菡,等. OLYMPUS AU5421 型全自动生化分析仪电解质模块应用的评价[J]. *国际检验医学杂志*, 2014, 35(9): 1177-1178.
- [7] 曹修娥,栾芳,刘义庆,等. PDF-贝克曼 AU5800 全自动生化分析仪检测血浆脂蛋白磷脂酶 A2 的性能验证[J]. *国际检验医学杂志*, 2018, 39(18): 2600-2603.
- [8] 张兴宗,施雄飞,邹映东,等. 罗氏 Cobas e602 电化学发光分析仪分析性能验证[J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(3): 368-370.
- [9] 常凡,侯永彬,黄利君,等. 日立 7600-210 检测系统对血糖检测的性能验证[J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(2): 192-195.
- [10] CUI M, JU S Q, SHI Y J, et al. Performance verification of the iris iQ200 spring automated urine microscopy analyzer in a hospital routine laboratory[J]. *Clin Lab*, 2017, 63(10): 1607-1612.
- [11] 罗全民,牟红兰,游德红. 低离子聚凝胺技术在输血检验交叉配血中的稳定性、灵敏度分析[J]. *临床医药文献杂志*, 2015, 15(67): 18-19.
- [12] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证: WS/T420-2013[S]. 北京: 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 2013.
- [13] 刘亚军,周君. 血站实验室 HIV 检测性能验证的研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2019, 27(4): 1287-1290.
- [14] TESTA R, CERIOTTI F, GUERRA E, et al. Glycated albumin: correlation to HbA1c and preliminary reference interval evaluation[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2017, 55(2): e31-e33.
- [15] LEE S H, CHUNG A M, LEE A, et al. KRAS mutation test in korean patients with colorectal carcinomas: a methodological comparison between sanger sequencing and a Real-Time PCR-based assay[J]. *J Pathol Transl Med*, 2017, 51(1): 24-31.

(收稿日期: 2019-11-22 修回日期: 2020-03-16)

勘误证明

本刊 2020 年 6 月 11 期“专家面对面”栏目《检验医学在中医药传承发展中的作用与展望》一文,将作者刘贵建刊登为孙贵建。

特此更正!