

全自动生化分析仪测定血清高密度脂蛋白胆固醇分析性能评价

冯 倩, 邓德耀, 周林华, 陈 弟, 李增安, 支国华, 薛云松(云南省第二人民医院检验科, 昆明 650021)

【摘要】 目的 对日立 7600 全自动生化分析仪上用均相测定法检测高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)的分析性能进行评价。**方法** 参考国内外有关性能评价的文件和报道, 结合临床工作实际, 对全自动生化分析仪测定血清 HDL-C 的精密度、正确度、分析测量范围、分析干扰和生物参考区间 5 项分析性能进行验证和评价。**结果** HDL-C 测定在 3 个不同浓度水平的批内和天间不精密度都小于厂家规定的不精密度要求; 5 个不同批号的室间质控品检测结果与靶值的相对偏倚均小于允许偏倚; 分析测量范围为 0~5.21 mmol/L, 略宽于厂家给定的范围; 生物参考区间验证结果均在设定的范围之内; 不同浓度游离胆红素、结合胆红素、乳糜物、血红蛋白对 HDL-C 检测不产生影响。**结论** 日立全自动生化分析仪测定 HDL-C 的分析性能与厂家声明基本一致, 符合临床的要求, 可以应用于临床。

【关键词】 高密度脂蛋白胆固醇; 全自动生化分析仪; 性能评价

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.08.006 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)08-0923-02

Performance evaluation of automatic biochemical analyzer on detection of serum high density lipoprotein cholesterol
FENG Qian, DENG De-yao, ZHOU Lin-hua, CHEN Di, LI Zeng-an, ZHI Guo-hua, XUE Yun-song (Department of Clinical Laboratory, the Second People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650021, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the performance feature of automatic biochemical analyzer on detection of serum high density lipoprotein cholesterol (HDL-C). **Methods** Referring to the evaluation protocol documents and literature and combining our actual work, the precision, accuracy, analytical measurement range, and biotic interval of HDL-C were validated. **Results** The within-run and day precision were all consistent with the claim of manufacturer. The biases of mean and target value that detected in five quality control specimens were in the range of permission. Analytical measurement range was 0—5.21 mmol/L, that wider than the manufacture's claim slightly. The biological reference range was within the setting range. Different concentrations of free bilirubin, direct bilirubin, chylomicrons, and hemoglobin had no influence on HDL-C detection. **Conclusion** The main analytical performances of serum total bile acid by automatic biochemical analyzer were consistent with the claim defined by manufacturer, and could be satisfied with the clinical detection.

【Key words】 high density lipoprotein cholesterol; automatic biochemical analyzer; performance evaluation

众多流行病学与研究表明, 随着血清高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平降低, 缺血性心血管病的发病危险增加。目前, 检测 HDL-C 的参考方法是超速离心法, 直接测定方法即均相测定法因其具有简便、快速、易于自动化, 所以作为常规方法在临床广泛应用, 但有关的性能评价报道较少。为了深入了解在全自动生化分析仪上检测 HDL-C 的性能, 作者参考美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)的相关文件、国内一些定量检测性能评价的报道以及试剂厂家的标准, 在全自动生化分析仪上对试剂进行了性能评价。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 标本 受检者均隔夜空腹 8 h 以上抽血, 3 500 r/min 离心 5 min, 取血清检测, 或留取血清标本置于 -20 ℃ 待检。

1.1.2 仪器 日立 7600 全自动生化分析仪。

1.1.3 试剂 (1) 日本积水医疗株式会社 HDL-C 检测试剂(批号: 805RCJ); (2) 配套校准品(批号: 823RJI); (3) Bio-Rad 质控血清水平 2(批号 46452)和水平 3(批号 46453); (4) 干扰材料(日本 Sysmex 公司), 包括游离胆红素、结合胆红素、血红蛋白和乳糜物。

1.2 方法

1.2.1 精密度验证 用两个水平的质控品和患者新鲜混合血清按标本检验程序进行测定, 在批内重复测定 20 次, 以及每份样本每天测定 1 次, 连续测定 20 d。分别计算批内及天间均值($\bar{x}$)、标准差(s)和变异系数(CV)。并判断是否小于厂家规定的性能标准。

1.2.2 正确度验证 依据参考文献[1], 结合本室的实际情况, 选择卫生部临床检验中心 2012 年 5 月发放的 5 个批号的质控品进行检测, 每个质控品测定 HDL-C 两次, 计算检测均值与靶值的相对偏倚(%), 偏差小于卫生部临检中心组织的室间质评的允许偏倚, 则正确度验证成功。

1.2.3 分析干扰实验 采用 Sysmex 干扰检查试剂盒。空白液与新鲜混合血清按 1:9 比例制备各自干扰物的空白对照 A 液。将结合胆红素、血红蛋白、游离胆红素和乳糜物用蒸馏水溶解, 按 1:9 的比例分别加入相同的新鲜混合血清, 制成不同的干扰物 B 液, 制成后结合胆红素 B 液浓度为 200 mg/L, 血红蛋白 B 液 5 000 mg/L, 游离胆红素 B 液 200 mg/L, 乳糜物 B 液 3 000 FTU。将 A 液与 B 液按照 10:0(空白管), 8:2(1 号管), 6:4(2 号管), 4:6(3 号管), 2:8(4 号管), 0:10(5 号管)比例混合, 制备成空白管及含不同干扰物浓度的 1~5 号管。对每一份样品进行两次 HDL-C 浓度测定, 结果取平均

值。计算影响度(F)=(含干扰物质标本检测值-无干扰物质标本(空白)检测值)/无干扰物质标本检测值×100%^[2]。F 绝对值大于 10%认为该浓度干扰物质对 HDL-C 检测有影响。

1.2.4 分析测量范围(AMR)验证 按参考文献[3-5],使用厂家提供的高值质控品(其值大于厂家给定的分析测量范围上限),用生理盐水稀释。稀释液(L)与高值样本(H)按照 10L、9L+1H、8L+2H、7L+3H、6L+4H、5L+5H、4L+6H、3L+7H、2L+8H、1L+9H、10H 的关系配制,形成系列浓度样品。每个浓度重复测定 2 次,以平均值为实测值,按照公式预期浓度=(C_L×V_L+C_H×V_H)/(V_L+V_H)计算预期值。将实测值与预期值作比较,确定 HDL-C 的分析测量范围。检测低限(LLD)的确定:LLD 为样品单次检测,可以达到的非空白检测响应量对应分析物的量。按 99.7%的可信限,生理盐水在批内重复测定 10 次空白样品均值±3 s 所对应 HDL-C 的量即为 LLD。

1.2.5 生物参考区间(biological reference interval)的验证 参考 NCCLS C28-A2 文件^[6],选取健康体检者 20 例,年龄 20~56 岁,平均 36 岁,男女各 10 例。按照标准操作程序进行检测,对结果进行统计并与设定的参考区间进行比较,若 20 份标本的检测结果均在设定的参考区间内或不超过 2 份标本超出,则验证通过。否则,进行参考区间确立实验。

1.3 统计学方法 应用 SPSS11.5 统计软件进行数据分析。分析测量范围的验证中截距 a 与 0 的比较用 t 检验。

2 结 果

2.1 不精密度验证结果 结果见表 1,批内 CV 均小于 5%,天间 CV 均小于 10%,达到厂家性能标准。

表 1 日立 7600 全自动生化分析仪测定 HDL-C 的批内、天间不精密度结果

样品	批内不精密度		天间不精密度	
	$\bar{x}\pm s(\text{mmol/L})$	CV(%)	$\bar{x}\pm s(\text{mmol/L})$	CV(%)
质控 1	1.197±0.010	0.94	1.25±0.04	3.34
质控 2	1.822±0.037	2.02	1.86±0.07	3.75
混合血清	2.272±0.060	2.64	2.30±0.09	3.91

2.2 准确度验证结果 结果见表 2,相对偏倚均小于 30%,小于卫生部临检中心规定的室间质评允许偏倚。

表 2 日立 7600 全自动生化分析仪测定 HDL-C 的偏倚结果

质控品批号	靶值(mmol/L)	验证值(mmol/L)	相对偏倚(%)
201211	0.90	0.94	4.44
201212	1.72	1.77	2.91
201213	0.97	0.99	2.06
201214	0.98	1.08	10.20
201215	1.83	1.90	3.83

2.3 抗干扰能力检测结果 结果见表 3,不同浓度游离胆红素、结合胆红素、血红蛋白和乳糜物对 HDL-C 检测的干扰(F)绝对值都小于 10%。

2.4 分析测量范围验证结果 以实测值为 Y 轴、预期值为 X 轴,将结果点在 X-Y 坐标图上,计算回归方程 Y=bX+a。得到回归方程 Y=0.995X-0.011,r=0.999,相关系数 r≥0.975,b 在 0.97~1.03 范围内,a 与 0 差异无统计学意义(P>

0.05),可判断分析测量范围(AMR)在实验已涉及的浓度。生理盐水在批内重复测定 10 次,结果均为 0,本检测系统的检测低限(LLD)是 0 mmol/L。结合 LLD,本方法的 AMR 为 0~5.21 mmol/L。

表 3 不同浓度干扰物质对 HDL-C 检测的干扰(%)

干扰物质	F1	F2	F3	F4	F5
游离胆红素	0.0	-0.8	-0.8	0.4	2.3
结合胆红素	-2.6	-3.4	-2.3	-3.8	-3.8
血红蛋白	-1.5	-2.3	-1.5	-0.4	0.8
乳糜物	-1.5	-1.5	-2.3	-2.7	-4.3

2.5 生物参考区间验证结果 20 份表面健康人血清 HDL-C 检测结果浓度为 1.11~2.78 mmol/L,均在设定的参考范围大于 1.04 mmol/L 之内。

3 讨 论

均相法测定 HDL-C 根据检测原理的不同分为清除法、选择性抑制法、PEG 修饰酶法、免疫抑制剂法等^[7-8]。本检测系统试剂的检测原理是利用脂蛋白与表面活性剂的亲和性差异,选择性地使 HDL-胆固醇可溶,所释放的胆固醇与胆固醇酯酶和胆固醇氧化酶反应,生成 H₂O₂,并作用于 4-AAP 色原体产生颜色反应。临床实验室的管理部门和相关机构要求实验室要选择适当的方法对检测系统的分析性能进行评价,证实其能够达到所要求的性能标准,才可将分析系统用于常规工作。本文对日立 7600 全自动生化分析仪测定 HDL-C 的主要分析性能进行评价,包括不精密度、不准确度、分析测量范围、分析干扰试验、生物参考区间,来了解该系统的性能。

一个检测系统最基本的性能指标是精密度,在本检测系统,两个质控品及患者混合血清的批内、天间变异都小于厂家声明的 CV 值。正确度的验证,有关文献建议可以通过与参考方法比对或检测定值参考物(包括由参考方法或决定性方法定值的样本,从能力比对试验获得的参考物,厂家提供的正确度参考物或质控物,室间质量评价样本,由第三方提供的已用一些不同方法定值的物质)来验证^[9]。本实验使用卫生部临检中心发放的 5 个不同批号质控品进行正确度验证,结果均小于卫生部临检中心规定的室间质评允许偏倚。不同浓度的游离胆红素、结合胆红素、血红蛋白和乳糜物对检测结果的影响度均小于 10%,可认为这些浓度的干扰物质不影响 HDL-C 的检测。本检测系统分析测量范围为 0~5.21 mmol/L,略宽于厂商给出的线性范围(0.04~3.89 mmol/L)。20 份健康人血清浓度均在设定的参考区间大于 1.04 mmol/L 范围内,可以认为现用参考区间适用于本实验室。

总之,本文参考试剂厂家、NCCLS 文件以及国内关于定量检测分析系统性能评价的相关报道,评价了循环酶法在全自动生化分析仪上检测 HDL-C 的性能,基本与厂家声明的性能一致,该检测系统能够用于临床。

参考文献

- [1] 杨有业,张秀明.临床检验方法学评价[M].北京:人民卫生出版社,2008;142-167.
- [2] 孙虹,牛华,赵崇吉,等.胆红素、血红蛋白和乳糜微粒对生化检测结果的干扰评价[J].国际检验医学杂志,2011,32(21):2509-2512.
- [3] 王治国.临床检验方法确认与性能验证(下转第 928 页)

以 Abbott 为代表的全自动微粒子酶免疫分析系统、以 Bayer、Beckman 为代表的全自动化学发光分析系统和以 Roche 为代表的电化学发光分析系统精密度高,上述进口检测系统性能较为稳定,除个别批次外,组内 CV 值较小,大部分检测系统的平均 CV 值小于 12%,与马冬红等^[5]的研究结果相似。化学发光、时间分辨荧光等国产检测系统的 CV 值明显高于进口检测系统,出现这种现象的原因主要是国产检测系统精密密度差,组内实验室数量少,组内实验室间结果离散度大。与进口检测系统相比,国产检测系统整体检测结果不理想,一方面由于国产检测系统定量测定不够精确,实验室内与实验室间精密密度较差,另一方面设备操作者的技术水能力有待提高。由于进口检测系统整体检测质量较高,本地区进口检测系统使用比例从 43.38% 增长到 57.14%。对于国产检测系统,建议厂家与进口检测系统进行方法学比对,获取不同检测系统的参考区间转换系数,并将相应数据提供给用户以利其与周边实验室进行比较参照。鉴于大部分国产检验系统及部分进口检测系统精密密度较差,建议用户对所使用的检验系统从准确度、精密密度、可报范围、参考区间等方面进行临床性能评估,从而满足临床需要。

不同检测系统靶值差异较大,在实施实验室间检验结果互认工作中,必须坚持相同检测系统间互认为原则。不同检测系统间靶值差异很大的原因可能为:(1)室间质评物的基质效应,由于质评物对于不同检测系统基质效应不同,客观上引起不同检测系统间检验结果差异;(2)量值溯源问题,无法溯源至 SI 单位,导致不同检测系统间靶值差异很大;(3)不同方法或试剂盒使用的单克隆抗体针对抗原的位点不同也是导致测定结果差异的重要原因。由于内分泌激素连续动态结果观察比单次测定结果的可靠性要高得多,医生亦需通过连续监测来进行病情评估与疗效分析,当对患者诊断与治疗进行连续观察时,应使用相同的检测方法或试剂盒。内分泌激素检验的标准化是保证结果一致性的重要途径^[7]。部分国外试剂采用标准物质对其检测进行量值溯源及标准化,其量值间具有较好的一致性。实验室在选择相应试剂时,可要求厂家提供相应的量值溯源依据,并在使用中,通过室内质量控制和参加室间质量评价,密切观察试剂检测量值的准确性情况,及时做出相应的调整^[8-10]。

各项目 2010~2011 年连续 4 次平均及格率依次为 74.04%、80.47%、85.26% 和 87.75%,项目年度合格率分别为 55.85% 和 69.59%,本地区内分泌激素检验质量水平有了较大的提高,但项目年度合格率仍较低,总体检验质量水平有

待进一步提高。实验室要取得良好的检验质量,须规范开展室内质量控制,参加室间质量评价活动。由于质控物、试剂价格较高,大部分实验室内分泌激素室内质量控制开展不规范,每周或每月做 1~2 次,更有少部分实验室从未开展室内质量控制。室内质量控制是基础性工作,该项工作的缺失或不规范将严重影响内分泌激素的检验质量。各实验室应当以保证医疗质量为目标,规范室内质量控制工作,保证检验质量,同时加强相关工作人员专业技术及质量控制知识培训。

综上所述,本地区内分泌激素检验质量水平有了较大的提高,但总体检验质量水平有待进一步提高。建议实验室选用符合临床需要的仪器设备,规范开展室内质量控制,参加室间质量评价,以不断提高内分泌激素检验质量,为实现检验结果的可比互认打好基础。

参考文献

[1] 王鸿利,仲人前,周新,等.实用检验医学[M].北京:人民卫生出版社,2009:405-407.

[2] 麦爱芬,梁指荣.96 例不孕症患者血清性激素 6 项检测分析[J].检验医学与临床,2012,9(14):1734-1736.

[3] 谭群英.检验甲状腺激素 T₃,T₄,TSH 在甲状腺疾病中的临床意义[J].医学信息:下旬刊,2009,1(8):224-224,226.

[4] 赵进喜.血胰岛素检测及其临床意义[J].糖尿病新世界,2008,10:47.

[5] 马冬红,陆汉魁,高云朝,等.六种 TSH 检测方法的对比研究[J].标记免疫分析与临床,2010,17(2):102-106.

[6] 胡珺,黄宪章,徐宁,等.不同检测系统游离甲状腺素测定结果的可比性研究[J].实用医学杂志,2007,23(7):1063-1065.

[7] Sturgeon CM, Ellis AR. Standardization of FSH, LH and hCG—current position and future prospects[J]. Mol Cell Endocrinol, 2007, 260-262:301-309.

[8] 李金明.免疫测定技术的临床应用及应注意的问题[J].中华检验医学杂志,2008,31(11):1205-1208.

[9] 张智英,朱瑞敏.临床免疫测定中存在的问题及对策[J].中国现代药物应用,2011,5(9):19-20.

[10] 郑家深,黄泽礼.临床免疫检验质量控制研究[J].内蒙古中医药,2011,30(14):44-45.

(收稿日期:2012-09-01 修回日期:2012-11-25)

(上接第 924 页)

[M].北京:人民卫生出版社,2009:153-159.

[4] 冯仁丰.临床检验质量管理技术基础[M].2 版.上海:上海科学文献技术出版社,2008:111-138.

[5] 张秀明,庄俊华,郑松柏,等.临床化学发光免疫法检测 AFP 的分析性能验证与实验方法[J].中华检验医学杂志,2007,30(11):1293-1297.

[6] National Committee for Clinical Laboratory Standards. NCCLS C28-A2 How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory[S]. Wayne, PA, USA:

NCCLS, 2000.

[7] 鄢盛恺.高、低密度脂蛋白胆固醇的匀相测定法及技术要求[J].临床检验杂志,2002,20(6):325-328.

[8] 王跃国,王惠民,王忠慧,等.毛细管等速电泳法分离血清脂蛋白[J].临床检验杂志,2006,24(4):244-246.

[9] 毕波,吕元.定量检测方法学性能验证的系统设计[J].中华检验医学杂志,2007,30(2):143-145.

(收稿日期:2012-11-06 修回日期:2012-12-20)