

AP22 Speedy 型全自动酶免分析系统性能验证

徐琼峰(中国南方航空股份有限公司航空卫生中心检验科,广州 510406)

【摘要】 目的 评价 AP22 Speedy 型全自动酶免分析系统的主要性能,以期用于实验室管理机构的相关认证及认可工作,同时为仪器故障的诊断及处理提供依据。**方法** 按照 YZB/ITA 1679-2009 标准,选定 TORCH 优生项目,对 AP22 Speedy 全自动酶免分析系统加样精密度和准确性、携带污染率、测光值稳定性、批内测量重复性进行验证。**结果** AP22 Speedy 全自动酶免分析系统检测 TORCH 优生项目质控血清的加样精密度和准确性、携带污染率、测光值稳定性、批内测量重复性均满足厂商声明范围。**结论** AP22 Speedy 全自动酶免分析系统在加样精密度和准确性、携带污染率、测光值稳定性、批内测量重复性 4 个方面性能验证合格。

【关键词】 全自动酶免分析系统; 性能验证

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.13.003 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)13-1638-02

AP22 Speedy automatic enzyme immunoassay system performance validation XU Qiong-feng (Department of Clinical Laboratory, China Southern Airlines Company Limited Aviation Health Centre, Guangzhou, Guangdong 510406, China)

【Abstract】 Objective To evaluate AP22 Speedy automatic enzyme immunoassay analysis of main performance of the system, with a view to the relevant certification and accreditation of laboratory management mechanism, and to provide basis for diagnosis and treatment instrument failure. **Methods** According to YZB/ITA 1679-2009 standard, the selected TORCH eugenics project, immunoassay system with precision and accuracy, the rate of contamination, the photometric value stability, repetitive experiments to verify the AP22 Speedy automatic enzyme. **Results** The AP22 Speedy automatic enzyme immunoassay analyzer to detect TORCH eugenics project quality control serum sample precision and accuracy, the rate of contamination, the photometric value stability, repetitive experiments all met the firm statement of scope. **Conclusion** System performance in the sampling precision and accuracy, the rate of contamination, the photometric value stability, repetitive experiments is qualified by DAS AP22 Speedy automatic enzyme.

【Key words】 full automatic enzyme immunoassay system; performance validation

根据我国《医疗机构临床实验室管理办法》和国际标准化组织针对医学实验室颁发的 ISO15189-医学实验室质量和能力认可准则的国际标准要求,设备在临床应用之前必须进行性能验证,以确定设备能达到所要求的性能指标。不同检测系统需选择证实的分析性能实验各不相同,每种方法学进行的先后顺序也有所不同。因此,现按照 YZB/ITA 1679-2009 标准对本科室购买的 AP22 Speedy 全自动酶免分析系统进行加样精密度和准确性、携带污染率、测光值稳定性、批内测量重复性的性能验证。

1 材料与与方法

1.1 仪器与试剂 AP22 Speedy 全自动酶免分析系统;电脑 (windows XP 系统);分析天平;微量移液枪;意大利 DIESSA 公司生产的 TORCH 优生试剂盒,包括:弓形体 IgM 检测试剂盒(酶联免疫法)、风疹病毒 IgM 检测试剂盒(酶联免疫法)、巨细胞病毒 IgM 检测试剂盒(酶联免疫法)、单纯疱疹病毒 IgM 检测试剂盒(酶联免疫法)、弓形体 IgG 检测试剂盒(酶联免疫法)、风疹病毒 IgG 检测试剂盒(酶联免疫法)、巨细胞病毒 IgG 检测试剂盒(酶联免疫法)、单纯疱疹病毒 IgG 检测试剂盒(酶联免疫法);蒸馏水等。

1.2 标本 选取本中心 2012 年 12 月至 2013 年 1 月空勤人员参与航空医学体检鉴定人员的血样。

1.3 方法 性能验证检测工作开始前需用蒸馏水清洗管路,检测工作环境(15~32℃)、相对湿度(45%~85% RH)、水质

(电导率小于 14 μS/cm)、电压(220 V)达标,UPS 工作正常,确保仪器连接的洗液瓶内洗液充足,废液瓶保持空瓶,并确认仪器设备各组成机构工作正常。

1.3.1 加样精密度和准确性 运用 AP22 Speedy 全自动酶免分析系统提供的配套专用软件 ELISA 设置加样程序。采用称量法测定加样精密度和准确性^[1],方法如下:取适量的酶标板条作为恒重的量具,以纯化水代替试液,分别取 20、30、50、100、200 μL 的加样量放入到不同的恒重量具中,用分析天平称量。加样次数为 10 次,用公式(1)计算变异系数(CV)来表示加样的精密度,用公式(2)计算相对偏差(Bias%)来表示加样的准确性。

$$CV = \frac{2}{x} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}} \times 100\% \dots\dots\dots \text{公式(1)}$$

式中: \bar{x} ——为标本测定结果的平均值; x_i ——为第 i 个标本观测值;n:测量标本的数目。

$$\text{Bias}\% = (1 - \bar{x}/TV) \times 100\% \dots\dots\dots \text{公式(2)}$$

式中: \bar{x} ——为标本测定结果的平均值;TV——测定标本的靶值。

1.3.2 携带污染率 按照 TORCH 优生试剂盒说明书,运用 AP22 Speedy 全自动酶免分析系统提供的配套专用软件 ELISA 设置携带污染率测定实验程序。参考国际血液学标准化委员会(ICSH)推荐的方法^[2]。测定携带污染率的程序如下:(1)准备 TORCH 临床测试项目的高浓度样品(A_原),用蒸馏水作为零浓度样品(A₀);(2)使用 TORCH 临床测试项目的

试剂,以高浓度样品(A_原)和零浓度样品(A₀)作为样品,按照高浓度样品(A_原)、高浓度样品(A_原)、高浓度样品(A_原)、零浓度样品(A₀)、零浓度样品(A₀)、零浓度样品(A₀)的顺序为一组,在仪器上进行测定,共进行 5 组测定;(3)每一组的测定中,第 4 个样品的测定值为 A₄,第 6 个样品的测定值为 A₆;(4)按照公式(3)计算每组的携带污染率;

$K = (A_4 - A_0) / (A_{原} - A_0) \dots \dots \dots$ 公式(3)。式中:A₄——每组中第 4 个样品的测定值;A₆——每组中第 6 个样品的测定值;A_原——高浓度样品。(5)5 组携带污染率 K 值中的最大值,作为本次验证检测的最终携带污染率数值。

1.3.3 测光值的稳定性 待全自动酶免分析系统开机处于稳定工作状态后,使用 TORCH 临床测试项目上机测试相应正常值质控品和新鲜患者样品,重复读取吸光度值 3 次,计算测定结果的平均值,仪器待机 4、8 h 后分别再上机重新测试以上质控品和新鲜患者标本,并分别重复读取吸光度值 3 次,计算测定结果的平均值。以第 1 次实验的测定结果平均值作为基准值,按公式(4)计算相对偏倚(α ,%)。取最后 α 值最大值作为本次验证测光值稳定性的最终偏倚值。

$\alpha = (\bar{x}_n - \bar{x}_1) / \bar{x}_1 \times 100\% \dots \dots \dots$ 公式(4)

式中: \bar{x}_n ——第 4、8 小时测定值的平均值; \bar{x}_1 ——初始测定值的均值。

1.3.4 批内测量重复性 使用 TORCH 项目试剂上机测试相应正常值质控品和新鲜患者样品,当次实验重复测试吸光度 20 次,按公式(5)计算变异系数(CV%)。取所有 CV 值中最大值作为本次验证批内测量重复性的最终 CV 值。

$CV = \frac{1}{\bar{x}} \sqrt{\frac{\sum^n (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}} \times 100\% \dots \dots \dots$ 公式(5)

式中: \bar{x} ——为 20 次测量结果的平均值; x_i ——为第 i 的测量结果;n——实测的次数。

1.4 统计学处理 检测所得的数据采用 SPSS13.0 软件进行统计学处理。

2 结 果

2.1 加样精密度和准确性验证结果 加样精密度和准确性都符合厂商要求(表 1)。

表 1 加样精密度和准确性验证结果

加样量(μ L)	验证精密度(CV%)	相对偏差(%)	厂商精密度(CV%)	厂商准确性(%)
20	1.59	2.12	≤ 5.0	$\leq \pm 5.0$
30	2.13	1.31	≤ 5.0	$\leq \pm 5.0$
50	1.87	-0.19	≤ 5.0	$\leq \pm 5.0$
100	1.73	-0.51	≤ 5.0	$\leq \pm 5.0$
100	1.66	0.71	≤ 5.0	$\leq \pm 5.0$
200	1.29	0.39	≤ 5.0	$\leq \pm 5.0$

2.2 携带污染率验证结果 共检测 TORCH 优生 8 项目,分别是:弓形体 IgM、风疹病毒 IgM、巨细胞病毒 IgM、单纯疱疹病毒 IgM、弓形体 IgG、风疹病毒 IgG、巨细胞病毒 IgG、单纯疱疹病毒 IgG。各个项目的携带污染率均小于厂商要求的 0.5% (见表 2)。

2.3 测光值稳定性的验证结果 使用 TORCH 优生 8 项目试剂进行测光值稳定性的验证,各个项目的相对偏倚分别是:弓形体 IgM 为 7.25%、风疹病毒 IgM 为 5.69%、巨细胞病毒 IgM

为 8.01%、单纯疱疹病毒 IgM 为 5.09%、弓形体 IgG 为 2.04%、风疹病毒 IgG 为 2.13%、巨细胞病毒 IgG 为 2.22%、单纯疱疹病毒 IgG 为 5.76%。各个项目相对偏倚均小于厂商要求的 10%。

2.4 批内测量重复性验证结果 使用 TORCH 优生 8 项目试剂进行批内测量重复性的验证,各个项目的变异系数分别是:弓形体 IgM 为 1.25%、风疹病毒 IgM 为 1.01%、巨细胞病毒 IgM 为 0.98%、单纯疱疹病毒 IgM 为 0.11%、弓形体 IgG 为 1.95%、风疹病毒 IgG 为 1.91%、巨细胞病毒 IgG 为 0.93%、单纯疱疹病毒 IgG 为 0.57%。各个项目批内测量重复性的 CV 值均小于厂商要求的 5%。

表 2 各个项目携带污染率验证结果

实验项目	A _原 OD 值	A ₄ OD 值	A ₆ OD 值	携带 污染率(%)
弓形体 IgM	2.503	0.132	0.127	0.210
风疹病毒 IgM	3.050	0.167	0.159	0.277
巨细胞病毒 IgM	2.794	0.080	0.080	0.000
单纯疱疹病毒 IgM	2.147	0.101	0.101	0.000
弓形体 IgG	2.564	0.111	0.102	0.365
风疹病毒 IgG	3.191	0.098	0.092	0.199
巨细胞病毒 IgG	1.639	0.094	0.094	0.000
单纯疱疹病毒 IgG	2.598	0.102	0.102	0.000

3 讨 论

对于一些已应用的检测项目,若检测系统有重大改变、仪器重要部件更换或进行可能影响仪器性能的维修,都需要对改变后的检测系统的分析性能进行详细充分的评价^[3-4]。

3.1 加样精密度和准确性 加样精密度指重复加样同一标本结果的一致性,是仪器加样性能评估的重要指标之一,代表着加样系统的随机误差,而准确性是检定项目与“真值”之间的一致性,度量准确度以不准确度即偏倚来表示(Bias)^[5-6]。仪器加样性能的评估一般是对加样精密度和准确性进行验证,根据标准 YZB/ITA 1679-2009 提供的评价加样精密度和准确性的方法进行实验,结果显示,全自动酶免分析系统加样精密度变异系数小于厂家声明的 5%、准确性相对偏差小于厂家声明的 $\pm 5\%$,表明全自动酶免分析系统加样精密度和准确性良好。

3.2 携带污染率 携带污染率是表示各标本之间交叉污染的指标。对于一些检测范围较宽的项目,临床上可能出现极高检测值的标本,较小的携带污染也可能对后面的低值标本产生较大的影响,携带污染率越小说明标本之间的影响越小。检测表明 AP22 Speedy 全自动酶免分析系统的各检测项目的携带污染率都小于 0.5%,说明仪器对加样系统和反应体系冲洗得很干净,几乎没有交叉污染。

3.3 测光值稳定性 测光值稳定性是在仪器长时间开机使用状态下,某间隔时间段后仪器测量测光值与开机测定的仪器测光值之间的一致性,用相对偏倚表示。仪器加样的精密度和准确性、携带污染直接影响单次检测结果的稳定和可靠性,而测光值稳定性则与长时间仪器操作下检测实验结果准确度相关。AP22 Speedy 全自动酶免分析系统的各检测项目测光值的相对偏倚均小于 10%,测光值稳定性好,说明该系统能在长时间运作的的环境下保持良好的检测结果。

3.4 批内测量重复性 临床检验工作中经(下转第 1642 页)

表 3 尿液中念珠菌主要种类的耐药率和中介率

抗菌药物	白色念珠菌			光滑念珠菌			热带念珠菌			近平滑念珠菌		
	n	R(%)	I(%)	n	R(%)	I(%)	n	R(%)	I(%)	n	R(%)	I(%)
两性霉素 B	105	0.0	0.0	59	0.0	3.4	53	0.0	1.9	23	0.0	4.3
5-氟胞嘧啶	104	9.6	3.8	58	5.2	0.0	52	7.7	3.8	23	8.7	0.0
氟康唑	105	0.9	3.8	59	5.1	1.7	53	9.4	3.8	23	8.7	8.7
伊曲康唑	105	0.0	4.8	59	5.1	8.3	53	9.4	1.9	23	8.7	4.3

注:R 表示耐药,I 表示中介。

3 讨 论

本院近几年尿液培养病原菌的分布特征,与本院往年资料及其他医院报道的资料比较基本一致^[3-5],一直以大肠埃希菌和肠球菌属为主,念珠菌属感染病例有增多趋势。

G⁻杆菌耐药率较低的为亚胺培南、美洛培南、阿米卡星、头孢哌酮/舒巴坦和哌拉西林/他唑巴坦。大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌产 ESBLs 比例居高不下,产 ESBLs 菌株绝大多数为多重耐药菌,临床医生应限制和慎重使用广谱 β-内酰胺类抗菌药物^[6-9]。G⁺球菌对万古霉素、替考拉宁和利奈唑胺的敏感率均为 100.0%。念珠菌对临床常用抗菌药物的耐药率均低于 10.0%。

临床医生应重视对疑为泌尿系感染患者及时采集尿液标本进行涂片革兰染色、镜检、培养鉴定及药敏试验结果,根据检验结果合理使用抗菌药物^[4]。大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌均出现碳青霉烯类抗菌药物耐药株,鲍曼不动杆菌对临床常用抗菌药物全耐药的菌株约 30%,应引起重视,对相应患者应做好隔离。

参考文献

[1] 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,2006:472-531.
 [2] 芮勇宇,耿穗娜,王前,等. 5504 株临床分离细菌和念珠菌

的分布及耐药性分析[J]. 中国实验诊断学,2007,11(12):1651-1654.

[3] 马冬梅,齐宏伟. 泌尿系统感染病原菌分布及耐药性分析[J]. 检验医学与临床,2012,9(14):1691-1693.
 [4] 朱德妹,汪复,胡付品,等. 2010 年中国 CHINET 尿液标本中细菌的分布和耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2012,12(4):241-250.
 [5] 薛亮,茅庆云,别晓莹. 507 株尿液分离的革兰阴性杆菌的构成和耐药性分析[J]. 检验医学与临床,2012,9(1):41-43.
 [6] 张小江,杨启文,孙宏莉,等. 2005~2010 年北京协和医院细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2012,12(5):330-339.
 [7] 邓法文. 泌尿系感染病原菌分布及耐药性调查分析[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(17):3890-3892.
 [8] 郑珉. 尿路感染的病原菌分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(8):1730-1731.
 [9] 黄烈,林广城,聂署萍,等. 尿液培养主要病原菌分布和耐药性分析[J]. 现代预防医学,2012,39(4):969-971.

(收稿日期:2012-11-21 修回日期:2013-02-27)

(上接第 1639 页)

常使用的设备仪器,其检测结果必须具有较好的重复性,如果没有良好的重复性,准确性就无从谈起^[7]。临床检测中医疗器械的重复性检验必须定期进行^[8],特别是在检测结果不理想的情况下应该首先进行,以排除仪器、试剂或交叉污染的情况,保证检测结果稳定可靠^[9]。根据 YZB/ITA 1679-2009 标准,要求 AP22 Speedy 全自动酶免分析系统在正常工作中的批内测量重复性变异系数 CV 值必须小于 5%。经验证,AP22 Speedy 全自动酶免分析系统批内测量重复性变异系数 CV 值不但满足厂家声明的 5%要求,而且检测各项目 CV 值小于 2%,说明 AP22 Speedy 全自动酶免分析系统批内测量重复性良好。

综上所述,AP22 Speedy 型全自动酶免分析系统的加样精密度和准确性、携带污染率、测光值稳定性、批内测量重复性经初步验证符合要求,可以用于临床工作。同时也建议医学工程部门应该在仪器设备验收和维修后,能够严格按照相关要求,对设备的性能进行验证,以保证临床检测的质量。

参考文献

[1] 陈亚军,史桂兰,冯岭,等. TECAN RMP 150 型全自动酶免仪应用评价[J]. 临床和实验医学杂志,2007,6(10):33-35.

[2] 陈仲连. 差值与全自动生化分析仪流动比色池携带污染率的关系初探[J]. 现代中西医结合杂志,2005,14(4):506.
 [3] 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.
 [4] 胡柏成. 不同生化检测系统误差原因分析及处理[J]. 中国医疗设备,2009,24(11):48-51.
 [5] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 2 版. 上海:上海科学技术文献出版社,2007:37-38.
 [6] 李熙建. 校准和溯源在提高临床生化检验质量中的应用[J]. 现代检验医学杂志,2008,23(3):113-116.
 [7] Kroll MH, Praestgaard J, Michaliszyn E, et al. Evaluation of the extent of nonlinearity in reportable range studies [J]. Arch Pathol Lab Med, 2000, 124(9):1331-1338.
 [8] 马红雨,熊雪松,罗丹,等. 7600 生化分析仪检测系统的性能验证[J]. 中华临床医师杂志:电子版,2011,5(9):2619-2623.
 [9] 向秀华,冯磊,徐文波,等. 罗氏 Modular P 模块仪器性能验证[J]. 医疗装备,2012,25(2):14-16.

(收稿日期:2013-02-18 修回日期:2013-03-12)