

• 临床探讨 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2019. 01. 022

某全自动凝血分析仪检测 D-二聚体的性能评价

陈艳铭, 姚 伟, 汪俊汉

(华中科技大学医院检验科, 武汉 430074)

摘要:目的 对某全自动凝血分析仪及其配套试剂检测 D-二聚体(D-D)的基本性能进行验证及评价。方法 参考美国临床实验室标准化协会(CLSI)的相关文件,对该仪器检测 D-D 的精密度、正确度、线性范围、临床可报告范围、参考区间进行验证,并将测定结果与厂家声明的性能指标进行比较。结果 该仪器检测 D-D 的批内精密密度为 9.96%,批间精密密度为 5.25%,均小于厂家指标;正确度在允许偏倚范围内;线性范围的斜率(a)为 1.015 5,在 0.97~1.03 范围内;相关系数 r 为 0.999 2,符合 $r \geq 0.95$;临床可报告范围为 0.5~120.0 $\mu\text{g/mL}$;生物参考区间符合率 $\geq 90\%$ 。结论 该全自动凝血分析仪使用配套试剂检测 D-D 的主要分析性能与厂家的声明相符,结果准确可靠,能较好地用于临床检验分析。

关键词:凝血分析仪; D-二聚体; 性能评价

中图分类号:R446.69

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)01-0071-03

D-二聚体(D-D)是凝血过程中形成的交联纤维蛋白在纤溶系统作用下产生的特异性降解产物,是体内高凝状态和继发性纤溶亢进的分子标志物之一。D-D 在临床中主要与排除深静脉血栓(DVT)和肺栓塞(PE)、弥散性血管内凝血(DIC)的诊断及预后判断、脑梗死和心肌梗死等心脑血管疾病、恶性肿瘤等相关。实验室常用检测 D-D 的方法有凝集法、酶联免疫吸附试验(ELISA)法、酶联荧光分析(ELFA)法、免疫比浊法、免疫过滤胶体金染色法等,其中胶乳免疫比浊法应用最广泛^[1]。该实验室的凝血分析仪是集凝固法、合成底物法、胶乳比浊法等 3 种测定原理于一体的全自动凝血分析仪,通过胶乳免疫比浊法检测 D-D 水平。根据中国合格评定国家认可委员会《医学实验室质量和能力认可准则(2012)》CNAS-CL02 的相关要求,临床实验室需对相应检测系统或方法的分析性能进行评价,保证检验质量^[2-4]。本研究结合实际情况,参考相关文件,对该全自动凝血分析仪及其配套试剂检测 D-D 的基本性能进行分析评价。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院门诊及住院患者静脉血, 10^9 mmol/L 枸橼酸钠 1:9 抗凝,离心速度 1 500 r/min,离心 15 min,并在 2 h 内完成检测^[5]。

1.2 仪器与试剂 CP2000 全自动凝血分析仪,及其配套定标液、质控品、D-二聚体试剂盒。

1.3 验证方法 试验之前按照中华人民共和国医药行业标准(YY/T 0659-2008)对 CP2000 全自动凝血分析仪进行校准,严格按照仪器操作说明书的规定对仪器进行维护、保养及操作。

1.3.1 精密度验证 收集 D-D 正常值和高值患者血浆标本,混匀后分装成 5 份, -20℃ 冷冻保存。按照

EP15-A2 文件^[6],每天各取 1 份正常、高值混合血浆标本,每个浓度重复检测 4 次,连续检测 5 d。计算 $\bar{X}$ 、 $S_{\text{批内}}$ 、 $S_{\text{批间}}$ 、 $CV_{\text{批内}}$ 、 $CV_{\text{批间}}$ 。

1.3.2 正确度验证 对定值校准品进行测定,每个浓度重复测定 2 次,计算均值、偏倚,结果应在允许偏倚范围内。

1.3.3 线性范围(分析测量范围 AMR)验证 参照 EP6-A 文件^[7]提供的方案,选取高值(H)和低值(L)新鲜血浆,将高值与低值按比例配制不同浓度的混合标本:4L、3L+1H、2L+2H、1L+3H、4H。每个浓度标本重复测定 2 次,计算 2 次结果的均值,以均值(Y)和预期值(X)进行直线回归统计,回归方程: $Y = aX + b$,若相关系数 $r \geq 0.95$,斜率(a)在 0.97~1.03 范围内,则线性范围验证通过。

1.3.4 临床可报告范围验证 选择高值新鲜血浆,根据检测系统说明书使用专用稀释液按比例进行稀释:1:2、1:4、1:8,每个浓度测定 2 次,分别计算各稀释比例的偏倚,以允许偏倚 $\pm 10\%$ 为可接受限,以小于允许偏倚的稀释比例为最大稀释度,以分析测量范围上线乘以最大稀释度为临床可报告范围上限。

1.3.5 生物参考区间验证 随机选取 20 例体检合格的健康者标本,年龄 20~79 岁,检测 D-D 水平,对试验数据排序,进行离群点判断,离群数据应予舍弃,并补充数据。所得分组数据中,20 个数据中有 18 个分布于引用的参考区间之内,可认为引用的参考区间适合该实验室。

2 结果

2.1 精密度验证结果 2 个浓度水平的精密度测定结果显示,正常水平测定均值为 0.66 $\mu\text{g/mL}$, $S_{\text{批内}}$ 为 0.065 9, $CV_{\text{批内}}$ 为 9.96%, $S_{\text{批间}}$ 为 0.034 8, $CV_{\text{批间}}$ 为 5.25%与厂家声明的批内、批间 $CV \leq 10\%$ 相符。高

值水平测定均值为 2.49 $\mu\text{g/mL}$, $S_{\text{批内}}$ 为 0.092 4, $CV_{\text{批内}}$ 为 3.71%, $S_{\text{批间}}$ 为 0.046 9, $CV_{\text{批间}}$ 为 1.88%, 与厂家声明的批内、批间 $CV \leq 10\%$ 相符。见表 1、2。

表 1 D-D 精密度验证正常值水平 ($\mu\text{g/mL}$)					
次数	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
1	0.58	0.62	0.59	0.53	0.70
2	0.77	0.65	0.70	0.64	0.57
3	0.72	0.72	0.75	0.63	0.58
4	0.71	0.70	0.72	0.67	0.68

表 2 D-D 精密度验证高值水平 ($\mu\text{g/mL}$)					
次数	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
1	2.59	2.56	2.57	2.31	2.52
2	2.60	2.51	2.57	2.41	2.47
3	2.59	2.48	2.39	2.44	2.66
4	2.39	2.48	2.45	2.50	2.35

2.2 正确度验证结果 用 5 个浓度水平的定值校准品进行测定, 计算均值和偏倚, 与厂家声明的允许偏倚范围($\pm 15\%$)相符。见表 3。

表 3 D-D 正确度验证结果 ($\mu\text{g/mL}$)					
标本编号	靶值	测量值 1	测量值 2	均值	偏倚 (%)
S1	1.0	1.09	1.10	1.095	9.50
S2	3.0	3.40	3.37	3.385	12.83
S3	15.0	15.63	15.63	15.630	4.20
S4	31.0	31.03	31.68	31.360	1.15
S5	61.0	63.68	64.63	64.160	5.17

2.3 线性范围验证结果 以预期值为 X , 测定均值为 Y , 计算得到回归方程: $Y = 1.015\ 5X - 0.377\ 2$ 。斜率(a)为 1.015 5, 在 0.97~1.03 范围内, 相关系数 r 为 0.999 2, >0.95 。结果证明该方法在试验所涉及的浓度范围内呈线性, 因此厂家提供的线性范围符合要求。见表 4。

表 4 线性范围系列浓度标本测定结果 ($\mu\text{g/mL}$)					
测定次数	4L	3L+1H	2L+2H	1L+3H	4H
1	0.00	15.34	29.56	46.51	63.12
2	0.02	15.22	29.37	44.17	60.66

2.4 临床可报告范围验证结果 稀释比例为 1:2 时, 偏倚为 -2.44%, 在允许偏倚范围内。结合线性范围的验证结果, D-D 的临床可报告范围为 0.5~120.0 $\mu\text{g/mL}$ 。见表 5。

2.5 生物参考区间验证结果 20 份健康者标本的 D-D 测定值统计分析, 20 个试验数据无离群点, 全部分布于引用的参考区间之内。验证试验表明引用厂

家提供的参考区间可作为该实验室的参考区间。

表 5 临床可报告范围评价				
稀释比例	0	1/2	1/4	1/8
1	64.63	31.07	12.37	4.51
2	63.68	31.52	12.09	4.23
均值	64.20	31.30	12.20	4.40
理论值		32.10	16.00	8.00
偏倚 (%)		-2.49	-23.75	-45.00

3 讨 论

D-D 是交联纤维蛋白的降解产物, 在各种高凝状态及血栓性疾病时均会增高。本院为社区医院, 门诊及住院的老年人群偏多, 脑梗死和心肌梗死等心脑血管疾病比例较大。动态检测 D-D 水平对心脑血管疾病的发病机制、诊断、疗效观察、预后评价均有重要的临床意义, 可作为监测溶栓药物的疗效指标^[8]。

根据《医学实验室质量和能力认可准则(2012)》CNAS-CL02 的相关要求, 临床实验室需对相应检测系统或方法的主要分析性能进行验证。该实验室参照 CLSI 颁布的 EP 系列文件, 结合工作实际, 对 CP2000 全自动凝血分析仪使用配套试剂检测 D-D 的精密度、正确度、线性范围、临床可报告范围、生物参考区间进行了验证和评价。

精密度是检验仪器在一定条件下进行多次测定时, 所得测定结果之间的符合程度。本实验室参照 CLSI EP15-A2 文件, 对 CP2000 凝血分析仪检测 D-D 的精密度进行了验证, 结果显示 2 个浓度的批内、批间精密度测定值均低于厂家声明, 说明使用 CP2000 全自动凝血分析仪检测 D-D 的重复性好, 结果稳定, 能够满足临床要求。

正确度是反映多次测量结果的均值与靶值的一致程度。该实验室参照 EP15-A2 文件, 对 5 个浓度的定值校准品进行测定以验证其正确度, 结果显示仪器测定的偏倚与厂家声明的允许偏倚范围相符, 说明 CP2000 全自动凝血分析仪检测 D-D 的正确度高, 结果可靠。

线性是检测标本时, 在一定范围内可直接按比例关系获得分析物水平的能力^[9]。该实验室参照 EP6-A 文件, 选取接近厂家声明的线性范围的高值和低值新鲜血浆, 将高值与低值按比例配制成不同浓度的混合标本用于线性范围验证。结果显示相关系数 r 为 0.999 2, 斜率(a)为 1.015 5, 说明该方法在试验所涉及的浓度范围内呈线性, 与厂家提供的线性范围相符。

临床可报告范围是对临床诊断有意义的待测物浓度范围, 此范围如果超出了线性范围, 可通过稀释使待测物浓度处于线性范围内, 最后乘以稀释倍数。

该实验室验证结果显示当稀释比例为 1 : 2 时, 偏倚为 - 2. 44 %, 在允许偏倚范围内。结合线性范围的验证结果, D-D 的临床可报告范围为 0. 5 ~ 120. 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 能够满足临床诊断的需要。

生物参考区间反映了某项检查结果在健康者的分布范围, 是作为疾病诊断、解释检验结果临床意义的重要指标, 各实验室应为其相应患者建立适合的生物参考区间。由于生物参考区间的建立其程序复杂, 且受年龄、性别、民族、地区等因素及方法学差异的影响, 实验室自行制订生物参考区间有一定难度。依据 CLSI C28-A2 文件推荐临床实验室生物参考区间确立的要求, 如果引用权威书刊, 厂家试剂说明书或其他医院实验室的生物参考区间应当通过验证^[10]。该实验室随机选取 20 份体检合格的健康者标本, 检测其血浆 D-D 水平, 结果显示 20 个试验数据全部分布于引用的厂家提供的参考区间之内, 说明该参考区间可以适用于该实验室。

综上所述, CP2000 全自动凝血分析仪使用配套试剂检测 D-D 的主要分析性能与厂家声明相符, 其重复性好、正确度高、线性良好、临床可报告范围能满足临床诊断的需要, 生物参考区间可靠, 可用于临床检验分析。

参考文献

[1] 姜宏兵. D-二聚体检测方法学现状[J]. 兵团医学, 2017, 9
• 临床探讨 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2019. 01. 023

(3): 380-281.
[2] 官燕飞. STA-R 凝血分析仪检测 D-二聚体的性能验证[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(14): 2168-2169.
[3] 吴红. INNOVANCE 测定血浆 D-二聚体的分析性能验证[J]. 医学信息, 2015, 28(12): 234-235.
[4] 吴素碧. 高敏 D-二聚体试剂在 ACL-TOP700 血凝分析仪上的性能评价[J]. 医学理论与实践, 2017, 30 (17): 1123-1124.
[5] 马学斌. 离心条件对凝血三项检测结果的影响及分析[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(19): 1677-1678.
[6] User Demonstration of Performance for Precision and Accuracy: EP15-A2[S]. Wayne, PA: CLSI, 2001.
[7] Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: a statistical approach; approved guideline: EP6-A[S]. Wayne, PA: CLSI, 2010.
[8] 曾白华. D-二聚体的检测方法及临床应用进展[J]. 现代医学, 2013, 41(3): 863-864.
[9] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 临床化学设备线性评价指南: WS/T408-2012[S]. 北京: 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 2013.
[10] 李天明. 全自动血凝仪 CA-7000 性能及生物参考区间的验证与评价[J]. 实用检验医师杂志, 2017, 9(4): 658-659.

(收稿日期: 2018-04-12 修回日期: 2018-07-26)

某血细胞分析流水线复检规则的评估及验证

左 玥, 李顺君, 张 弘

(四川省医学科学院/四川省人民医院检验科, 成都 610072)

摘要:目的 通过参考国际血液学复检专家组推荐的血细胞复检规则, 结合实验室数据对某全血细胞分析仪生产商推荐使用的复检规则进行验证, 制订该实验室使用的血细胞计数和白细胞分类复检规则。方法 选取该院门诊与病房 356 份乙二胺四乙酸二钾(EDTA- K_2)抗凝的静脉全血标本, 在该血液细胞分析仪流水线上进行检测, 全部标本由 4 位有经验的技术人员进行涂片镜检、人工计数、仪器复测、标本性状复测。应用涂片镜检阳性标准对其进行评估, 计算真阳性、假阳性、真阴性、假阴性、复检率, 对该复检规则进行验证。结果 根据生产商推荐的复检规则及镜检阳性标准对检测结果进行统计学分析, 真阳性率为 24. 2 % (86/356), 假阳性率为 7. 0 % (25/356), 真阴性率为 66. 9 % (238/356), 假阴性率为 2. 0 % (7/356), 涂片复检率为 31. 2 % (111/356), 无血液病标本漏检。结论 验证实验数据显示, 假阴性率为 2. 0 %, 低于国际血液学专家组确定的 5. 0 % 的最大可接受限, 有诊断意义的白血病细胞无漏检, 保证检验结果, 制订适合该实验室的白细胞复检规则, 满足实验室日常血常规检测需求。

关键词: 血细胞分析; 复检规则; 验证

中图分类号: R446. 9

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)01-0073-04

近年来, 各大医院检验科标本量与日俱增, 检测工作繁重, 全自动血细胞分析流水线的应用能极大地提升工作效率, 减轻工作人员的工作量。随着血细胞分析流水线的应用, 血细胞分析复检规则的讨论与评

价一直备受关注^[1-4]。因此, 为了避免病理标本的漏检及错误检验报告的发放, 全自动血细胞分析仪的复检规则的准确性很重要^[5]。某全血细胞分析流水线是我国第一款完全拥有自主知识产权的流水线, 本实