

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.15.012

ISO 15189 尿液有形成分分析仪性能验证方案的建立与应用

梁涵瑜,任真,王宏,王琳[△]

南京医科大学第一附属医院检验学部,江苏南京 210029

摘要:目的 结合 ISO 15189 及相关行业标准建立一套完整的、用于尿液有形成分分析仪性能验证的方案并进行应用与评价。方法 对 iQ200 全自动尿液显微镜系统的检出限、精密度、识别率、假阴性率、稳定性、携带污染率、生物参考区间、可报告范围进行验证,并评价方案的可行性。结果 iQ200 全自动尿液显微镜系统的检出限、精密度、识别率、稳定性、生物参考区间、可报告范围的验证结果等均符合评价标准。结论 在符合 ISO 15189 相关规定的基础上该方案可用于 iQ200 全自动尿液显微镜系统的性能验证。

关键词:尿液有形成分分析仪; iQ200 全自动尿液显微镜系统; 性能验证; ISO 15189

中图分类号:R-331

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)15-2151-04

Establishment and application of performance verification scheme of urine formed component analyzer according to ISO 15189

LIANG Hanyu, REN Zhen, WANG Hong, WANG Lin[△]

Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210029, China

Abstract: Objective To establish a complete set of performance verification scheme used for the urine formed component analyzer by combining with ISO 15189 and related industry standards. **Methods** The detection limit, precision, recognition rate, stability, biological reference interval, and reportable range in iQ200 automatic urine microscopic system conducted the verification and the scheme feasibility was evaluated. **Results** The verification results of the detection limits, precision, recognition rate, stability, biological reference interval, and reportable range were all in line with the evaluation criteria. **Conclusion** Under the basis conforming to the corresponding stipulations of ISO 15189, this scheme can be used for the performance verification of the iQ200 automatic urine microscopic system.

Key words: urine formed component analyzer; iQ200 urine microscopic system; performance verification; ISO 15189

《医学实验室质量和能力认可准则》与《医学实验室质量和能力认可准则在体液学领域的应用说明》为实验室尿液常规检测仪器的管理提供了重要依据。尿液有形成分分析仪作为实验室最常用的尿液分析仪,因方法学不同,国内实验室在制订验证方案时并没有统一的规范化文件可参考。本实验室在满足 ISO 15189 要求的前提下,结合仪器特性及相关文件,建立了一套合适、全面、可操作性强的性能验证方案,并在实际应用中对该方案进行评估与完善,为将来制订这一空白领域的标准文件提供依据。

1 材料与方法

1.1 仪器 美国 Iris Diagnostics 生产的 iQ200 全自动尿液显微镜系统,仪器状态良好,按时校准及定标。

1.2 试剂 iQ200 鞘液(批号为 027-18)、iQ200 定标液(批号为 108-18)、iQ200 稀释液(批号为 032-18)、iQ200 质控/聚焦套件(批号为 080-18)。

1.3 方法

1.3.1 检出限 配制水平为 5 个/ μL 的红细胞和白细胞标本(临床高值标本稀释),重复检测 20 次,如果 18 次及以上检测结果大于 0 个/ μL 认为验证通过。

1.3.2 精密度

1.3.2.1 批内精密度 将 iQ200 阳性质控(颗粒数约 1 000 个/ μL)分别稀释 5 倍和 20 倍,得到标本的细胞水平约为 200 个/ μL 和 50 个/ μL ,同时准备白细胞水平接近 200 个/ μL 和 50 个/ μL 的临床新鲜尿液标本,各自重复检测 20 次,计算变异系数(CV),评价标准分别为 $CV \leq 15\%$ 、 $CV \leq 25\%$ 。

1.3.2.2 日间精密度 将 iQ200 阳性质控与 iQ200 阴性质控(颗粒数 0~20 个/ μL)在检测当天至少进行一次室内质控,剔除失控数据后按月份计算在控数据的 CV。

1.3.3 识别率

1.3.3.1 单项结果与镜检结果的符合率 对 150 份临床尿液标本进行仪器检测和镜检,评价红细胞符合

率时红细胞病例标本至少 90 份,评价白细胞符合率时白细胞病例标本至少 90 份,评价管型符合率时管型病例标本至少 30 份,按公式 $C = (t_1 + t_2) / t_{\text{总}} \times 100\%$ 计算符合率, C 为各细胞成分符合率, t_1 为镜检结果和仪器检测结果同为阳性的标本数, t_2 为镜检结果和仪器检测结果同为阴性的标本数, $t_{\text{总}}$ 为总标本数。镜检结果阴阳性判定界值为红细胞 3 个/HPF (17 个/ μL)、白细胞 5 个/HPF (28 个/ μL)、管型 1 个/LPF (1 个/ μL)。

1.3.3.2 假阴性率 随机选取至少 200 份临床尿液标本进行仪器检测和镜检,以镜检结果为金标准,按照公式 $F_n = t_{\text{假阴性数}} / t_{\text{总}} \times 100\%$ 计算红细胞、白细胞和管型的假阴性率, F_n 为假阴性率, $t_{\text{假阴性数}}$ 为红细胞、白细胞和管型镜检阳性结果而待检仪器测试阴性结果的标本数量,以假阴性率 $\leq 3\%$ 为评价标准。

1.3.3.4 稳定性 将 iQ200 阳性质控品稀释至 200 个/ μL 水平,分别在开机预热后,预热 4 h、8 h 分别重复检测 10 次,计算所有结果的 CV,评价标准为 $CV \leq 15\%$ 。

1.3.3.5 携带污染率 取细胞水平约为 5 000 个/ μL 的红细胞、白细胞尿液标本,连续检测 3 次,检测结果为 i_1 、 i_2 、 i_3 ,再将生理盐水连续检测 3 次,检测结果分别为 j_1 、 j_2 、 j_3 ,按公式计算携带污染率 $= (j_1 - j_3) / (i_3 - j_3)$,评价标准:携带污染率 $\leq 0.05\%$ 。

1.3.3.6 生物参考区间 选取 20 个参考个体,进行仪器常规检测,将测定值与现用的参考区间比较,参考个体的选择符合《WS/T 402 临床实验室检验项目参考区间的制定》的规定。判断标准:超出参考限外的测定值不超过 2 个,则验证通过。

1.3.3.7 可报告范围

1.3.3.7.1 分析测量范围 用稀释液将临床高值标本(细胞水平约为 1 000 个/ μL)按不同配比稀释成 5 种不同水平值标本,每个标本重复测定 3 次,将实测值与理论值作比较,验证线性范围,相关系数 $r \geq 0.975$, $0.97 < a < 1.03$ 。

1.3.3.7.2 临床可报告范围 将临床高值标本(细胞水平接近分析测量范围上限)分别做 2、4、8、16、32、64、128、256 倍的稀释,每个稀释度分别检测 3 次,计算均值,将均值与稀释后的预期值比较,满足回收率在 90%~110%,确定最大稀释度及临床可报告范围。

1.4 相关依据 《医学实验室质量和能力认可准则》(ISO 15189:2012)、《医学实验室质量和能力认可准则在体液学领域的应用说明》(CNAS-CL41:2012)、《尿液有形成分分析仪(数字自动成像识别)》(YY/T 0996-2015)、《临床实验室检验项目参考区间的制定》(WS/T 402-2012)、《临床化学设备线性评价指南》(WS/T 408-2012)、《iQ Series 操作手册》。

2 结 果

2.1 检出限 稀释后的红细胞和白细胞标本 20 次

检测结果均大于 0 个/ μL ,验证通过。

2.2 精密度

2.2.1 批内精密度 红细胞与白细胞的批内精密度均符合评价标准,验证通过,见表 1。

表 1 iQ200 批内精密度验证结果

项目	均值 (个/ μL)	<i>s</i>	CV (%)	评价标准	验证 结果
红细胞					
中值(约 50 个/ μL)	61.3	8.34	13.60	$\leq 25\%$	验证通过
高值(约 200 个/ μL)	242.6	15.88	6.55	$\leq 15\%$	验证通过
白细胞					
中值(约 50 个/ μL)	55.9	7.12	12.74	$\leq 25\%$	验证通过
高值(约 200 个/ μL)	226.4	14.46	6.39	$\leq 15\%$	验证通过

2.2.2 日间精密度验证结果 红细胞与白细胞的日间精密度符合评价标准,验证通过,见表 2。

表 2 iQ200 日间精密度验证结果

项目	均值 (个/ μL)	<i>s</i>	CV (%)	评价 标准	验证 结果
阴性质控(0~20 个/ μL)	2.2	1.50	68.18	$\leq 100\%$	验证通过
阳性质控(818~1 023 个/ μL)	992.8	75.42	7.60	$\leq 10\%$	验证通过

2.3 识别率

2.3.1 单项结果与镜检结果的符合率 iQ200 红细胞、白细胞和管型的符合率分别为 87.3%、93.3% 和 94.0%,见表 3。

表 3 iQ200 单项结果与镜检结果的符合率

项目	$t_{\text{总}}$	$t_1 + t_2$	符合率 (%)	评价标准	验证结果
红细胞	150	131	87.3	$\geq 70\%$	验证通过
白细胞	150	140	93.3	$\geq 80\%$	验证通过
管型	150	141	94.0	$\geq 50\%$	验证通过

2.3.2 假阴性率 iQ200 红细胞、白细胞和管型的假阴性率分别为 2.5%、0.5% 和 0.5%,见表 4。

表 4 iQ200 各项假阴性率结果

项目	$t_{\text{总}}$	$t_{\text{假阴性数}}$	假阳性率(%)	评价标准	验证结果
红细胞	200	5	2.5	$\leq 3\%$	验证通过
白细胞	200	1	0.5	$\leq 3\%$	验证通过
管型	200	1	0.5	$\leq 3\%$	验证通过

2.4 稳定性 将配好的标本在开机预热后,预热 4 h、8 h 各检测 10 次,所有数据均值为 185.6 个/ μL , s 为 19.8 个/ μL , CV 为 10.7%,按照 $CV \leq 15\%$ 为评价标准,稳定性验证通过。

2.5 携带污染率 iQ200 红细胞和白细胞的携带污染率分别为 0.04%、0.02%,见表 5。

表 5 iQ200 携带污染率分析结果

项目	携带污染率(%)	评价标准	验证结果
红细胞	0.04	$\leq 0.05\%$	验证通过
白细胞	0.02	$\leq 0.05\%$	验证通过

2.6 生物参考区间 iQ200 红细胞、白细胞和管型的参考区间验证结果均符合评价标准,见表 6。

表 6 iQ200 生物参考区间验证结果

项目	参考区间 (个/ μ L)	超出参考区间 百分比(%)	评价标准	验证结果
红细胞	0~17	0	$\leq 10\%$	验证通过
白细胞	0~28	0	$\leq 10\%$	验证通过
管型	0~1	0	$\leq 10\%$	验证通过

2.7 可报告范围

2.7.1 分析测量范围 将系列稀释标本重复检测 3 次,均值与理论值比较,得出线性回归方程是 $Y = 1.0029X - 1.5916, r^2 = 0.99$,表明该仪器检测在 0~1 020 个红细胞/ μ L,线性良好,与厂家给出的范围一致,符合评价标准。

2.7.2 临床可报告范围 iQ200 红细胞与白细胞的临床可报告范围分别为 0~15 968 个/ μ L,0~16 832 个/ μ L,见表 7。

表 7 iQ200 临床可报告范围

项目	高值标本水平 (个/ μ L)	最大稀释倍数	临床可报告范围 (个/ μ L)
红细胞	998	16	0~15 968
白细胞	1 052	16	0~16 832

3 讨 论

尿液有形成分分析仪通过对尿液中有形成分计数和形态学分析,可提供红细胞、白细胞、上皮细胞、管型等定量结果,还可以对某些异常成分进行提示性报告。目前国内大多数实验室使用的尿液有形成分分析仪主要有两种,一种是基于流式细胞核酸荧光染色技术的尿沉渣仪,比如 Sysmex UF 系列,另一种是基于数字成像自动识别的分析仪。本实验室使用的就是后者,美国 Iris Diagnostics 生产的 iQ200 全自动尿液显微镜系统,它可将夹在鞘液包裹层中间的尿液标本输送至与摄像机连接的显微镜,经对焦和图像捕获,再在每帧中对各个粒子的图像进行分离、识别和输出。尿液有形成分分析仪的广泛使用有效地减少了镜检,提高了工作效率,也因此对于分析仪的性能有了更高的要求。每个实验室都应建立一套规范且适合的验证方案对仪器性能进行验证及评估,以保证仪器检测结果的准确性及可靠性。

然而,国内外对于尿液有形成分分析仪的性能研究多为不同仪器间或与镜检之间的比对^[1-7],而对于尿液分析仪完整的验证方案及评价报道不多^[8-10]。实验室在制订仪器性能验证方案时应首先参考国内现有的行业标准文件,其次可参考美国临床与实验室标准化协会(CLSI)的 EP 文件,后者常用的包括 EP15、EP9、EP6 等,但由于尿液有形成分复杂以及尿液分析仪种类多样化等因素,导致国内这一领域缺乏统一的行业标准文件。

国家食品药品监督管理局于 2015 年 3 月 2 日发布、2016 年 1 月 1 日实施的《尿液有形成分分析仪(数字自动成像识别)》是目前仅有的可适用于尿液有形成分分析仪(数字自动成像识别)性能验证及评估的参考文件。在此文件的基础上,本实验室结合《医学实验室质量和能力认可准则在体液学领域的应用说明》,建立了一套包括检出限、精密度、识别率、稳定性、生物参考区间及可报告范围的验证方案,并在实际操作中对该方案进行细化与完善。

在批内精密度及稳定性验证中,笔者使用了仪器配套的阳性质控品,主要原因是该阳性质控品中唯一可测得的有形粒子成分是人造红细胞,性质稳定,检测后可从仪器自带的 runfile 中直接获得总粒子数,经系数修正后,所得即为红细胞数。部分实验室使用第三方质控品比如伯乐质控品来评价精密度^[11],笔者认为并不合适,主要原因是伯乐质控品包含红细胞、白细胞、结晶等多种有形成分,无法从 runfile 直接获得单一成分的数据,如果从仪器工作列表中获取结果,尤其是高值水平,仪器会把大量红细胞归入白细胞栏或者未分类栏里,CV 过大,需要人工修正,而由于修正时主观因素的影响,势必造成验证过程中不确定度的增加,影响精密度检测结果。然而使用阳性质控品并不能对尿液白细胞进行精密度验证,所以笔者采用了临床高值白细胞标本作为补充。

ISO 15189 体液应用说明中明确规定尿液有形成分分析仪性能验证的内容至少应包括精密度、携带污染率和可报告范围,而 YY/T 0996-2015 中没有引入可报告范围这一内容,所以笔者对方案进行了补充。iQ 系列的线性范围相对较窄,最多可线性执行 1 000 个细胞/ μ L。因为随着粒子数的增加,粒子间的相互作用会影响到粒子的位置分布,从而导致结果的准确性降低。在进行可报告范围的验证中,标本的选取非常重要。应尽量选取成分单一的高值标本,或可直接使用配套的定标液(细胞水平约为 1 200 个/ μ L),若有形成分种类复杂,会使总粒子数超出线性而影响检测结果。

上述结果表明,使用本方案对 iQ200 全自动尿液显微镜系统进行验证,其验证参数均符合评价标准,验证通过。本方案的验证参数包括检出限、精密度、识别率、稳定性、生物参考区间及可报告范围,相较于传统的验证方案增加了识别率与稳定性,尤其识别率是反映 iQ200 成像后细胞成分识别的重要性能参数,是此类仪器特有的。同时依据 ISO 15189 要求,弥补了 YY/T 0996-2015 文件中可报告范围这一参数的缺失。并且在实际应用中,该方案针对仪器特性,可操作性强,内容完善,可对仪器性能进行全面的评估,为仪器正常运行与临床实验室检测质量提供保证,同时也为将来国内制订这一领域的规范化标准文件提供了有力依据。

- 对小儿轮状病毒性肠炎心肌损害的临床意义[J]. 中国临床医生杂志, 2018, 46(10):1233-1235.
- [2] 王琦. 降钙素原和 C 反应蛋白水平在小儿细菌性肠炎和病毒性肠炎诊断中的应用[J]. 疾病监测与控制, 2017, 11(4):314-315.
- [3] GREORY K E, DE FORGE G E, NATALE K M, et al. Necrotizing enterocolitis in the premature infant; neonatal nursing assessment, disease setion pathogenesis, and clinical presentation[J]. *Adv Neonatal Care*, 2014, 11(3): 165-166.
- [4] 何昀. 降钙素原测定在小儿肠炎鉴别诊断中的应用价值分析[J]. 中国医药科学, 2015, 5(13):82-84.
- [5] 李磊, 王军, 张静. 降钙素原、C 反应蛋白和心肌酶 CK-MB 检测在轮状病毒性肠炎患儿中的诊断价值[J]. 宁夏医学杂志, 2017, 39(8):705-707.
- [6] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年·广州)[J]. 中华内科杂志, 2012, 51(10):818-831.
- [7] 张爱明, 郑梅. 血常规、CRP 和 PCT 在婴幼儿感染性疾病早期诊断中的临床价值[J]. 现代中西医结合杂志, 2015, 24(2):187-188.
- [8] 陈思如. PCT、CRP、hs-CRP 在急性轮状病毒肠炎伴心肌损害中的表达[J]. 现代临床医学, 2017, 43(3):185-186.
- [9] HOFFMAN J M, MCKNIGHT N D, SHARKEY K A, et al. The relationship between inflammation-induced neuronal excitability and disrupted motor activity in the guinea pig distal colon[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2015, 23(7):673-679.
- [10] 高喜容, 刘新晖, 尹芳, 等. SNAPPE-II 评分结合 Bell 分期预测新生儿坏死性小肠结肠炎预后的相关研究[J]. 儿科药学杂志, 2015, 21(11):1-4.
- [11] 李红新, 侯德红, 屠文娟, 等. 粪便钙卫蛋白水平检测在极低出生体质量儿坏死性小肠结肠炎中的意义[J/CD]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2015, 14(3):62-66.
- [12] 陈绪勇, 焦春雷, 冯晨钊, 等. 巨噬细胞表型改变在先天性巨结肠相关性小肠结肠炎中的研究[J]. 腹部外科, 2016, 29(6):467-472.
- [13] 蒋义贵, 曹美娟, 张生君, 等. hs-CRP 与 PCT 及炎症因子在新生儿消化系统感染性疾病中的诊断价值[J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 28(19):3007-3010.
- [14] GAI X Y, WEI Y H, ZHANG W, et al. Echinacoside induces rat pulmonary artery vasorelaxation by opening the NO-cGMP-PKG-BKCa channels and reducing intracellular Ca²⁺ levels[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2015, 36(5):587-596.
- [15] 水楠楠, 徐方丽, 李丽乐, 等. 麦纤散促溃疡性结肠炎大鼠受损肠黏膜屏障修复机制初探[J]. 浙江中医药大学学报, 2016, 40(12):876-882.
- [16] 路勇明. 新生儿坏死性小肠结肠炎发病危险因素及血清肠脂肪酸结合蛋白在其早期诊断的临床价值[J]. 中外医学研究, 2016, 14(19):113-114.
- [17] 黄霞. PCT 及 CRP 水平检测在小儿细菌性肠炎和病毒性肠炎中的诊断价值[J]. 淮海医药, 2017, 35(5):535-536.
- [18] 屈冬艳. 心肌酶谱检测在小儿轮状病毒性肠炎中的临床应用价值[J]. 临床医学研究与实践, 2018, 3(11):105-106.
- [19] 王琦. 降钙素原和 C 反应蛋白水平在小儿细菌性肠炎和病毒性肠炎诊断中的应用[J]. 疾病监测与控制, 2017, 11(4):314-315.

(收稿日期:2019-03-22 修回日期:2019-05-05)

(上接第 2153 页)

参考文献

- [1] BAKAN E, OZTURK N, BAYGUTALP N K, et al. Comparison of cobas 6500 and iris IQ200 fully-automated urine analyzers to manual urine microscopy[J]. *Biochem Med (Zagreb)*, 2016, 26(3):365-375.
- [2] BARTOSOVA K, KUBICEK Z, FRANEKOVA J, et al. Analysis of four automated urinalysis systems compared to reference methods[J]. *Clin Lab*, 2016, 62(11):2115-2123.
- [3] 肖华. 科宝 XS 和 IQ200 尿沉渣分析仪在对红细胞与白细胞检测的比较及评价[J]. 实验与检验医学, 2015, 33(2):180-181.
- [4] 刘爱胜, 陈荣贵, 文艳, 等. IRIS IQ200 尿干化学分析仪与 CK-500 尿液分析仪临床标本检测性能对比分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(23):2905-2906.
- [5] 谢文锋, 林川, 严海燕, 等. IRIS iQ200 与 Sysmex UF-1000i 自动尿沉渣分析仪检测尿液红、白细胞的性能评价[J]. 实验与检验医学, 2010, 28(6):595-596.
- [6] 韩淑娥. IQ200 全自动尿液分析仪与人工镜检法检测尿中红细胞的比较研究[J]. 中国药物与临床, 2016, 16(7):1071-1073.
- [7] 万东文. 全自动尿沉渣分析仪与显微镜法在尿液检测中的比较分析[J]. 中国现代药物应用, 2016, 10(6):266-267.
- [8] CUI M, JU S, SHI Y, et al. Performance verification of the iris iQ200 sprint automated urine microscopy analyzer in a hospital routine laboratory[J]. *Clin Lab*, 2017, 63(10):1607-1612.
- [9] 赵莹, 丁生乐. AVE-764B 尿液有形成分分析仪检测尿有形成分的性能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(24):3418-3419.
- [10] 张建明. 体液检测中 iQ200 全自动尿沉渣分析仪的应用评价分析[J]. 中国医药指南, 2017, 15(13):37-38.
- [11] 王芳, 冯长超, 吴迪, 等. ISO15189 认可中 IQ-200 全自动尿液显微镜系统性能验证[J]. 标记免疫分析与临床, 2017, 24(4):460-463.

(收稿日期:2019-01-24 修回日期:2019-04-24)