某国产甘胆酸测定试剂盒在贝克曼AU5800的性能验证

摘要：目的：验证某国产甘胆酸测定试剂盒（免疫比浊法）在贝克曼AU5800全自动生化仪上的性能指标是否满足试剂说明书及国家相关法规的要求。方法：依据WS/T420-2013和CLSI EP文件制定性能验证方案，分别对准确度、精密度、线性范围、可报告范围、参考区间进行试验性能验证。统计学采用直线相关与回归。结果：准确度验证中测定值与定值的相对偏差分别为4.44%、4.64%；低值批内不精密度3.89%，高值批内不精密度3.91%，低值批间不精密度6.22%，高值批间不精密度2.96%；线性范围0.43-70.30mg/L(R=0.9998);可报告范围0.5-600 mg/L;随机抽取的20例健康体检样本的测定结果均在参考值范围内。结论：该试剂各性能指标满足试剂说明书及相关法规要求，验证结论为合格。

关键词：肝胆酸；贝克曼AU5800；性能验证

甘胆酸（CG）是胆酸主要的成分之一，是由胆酸与甘氨酸在肝脏内合成的结合型胆汁酸，可用于早期反映肝胆功能异常的一项灵敏指标[1-2]。目前随着妊娠肝内胆汁淤积症(ICP)的发病率逐年增加的趋势,CG已成为ICP特异且灵敏的监测指标[3]。随着国家对国产体外诊断试剂的支持，市场上出现了国产肝胆酸测定试剂盒，然而该试剂盒在实验室全自动生化分析仪上的性能指标是否能够满足制造商标准和临床相关法律法规要求有待进一步验证[4]。依据美国《临床实验室改进修正法案》（CLIA’88）要求，本文试验主要对某国产甘氨酸测定试剂盒在贝克曼AU5800全自动生化分析仪上的性能指标进行验证，以观察其是否满足制造商标准和临床相关法规的要求。

1. 材料与方法

1.1仪器与试剂

仪器:贝克曼AU5800

试剂:某国产甘氨酸测定试剂盒与配套校准品

1.2方法

1.2.1准确度验证 根据NCLLS EP5-A文件，采用定值校准品进行正确度验证。首先使用Randox校准品进行检测系统的校准，之后分别检测浓度1和2复合质控品，每批重复测定3次，取平均值与质控品标定浓度值进行比较，计算偏倚值。

1.2.2精密度验证 根据CLSI的EP5-A2文件要求，取质控品高低值各一份，同一批次内分别检测20次，分别计算测量值的平均值( x )和标准差(S)，评价其批内精密度。实验后，将两份高低值质控放入日常工作标本中进行测定，每天各测定5次，连续测定4天，共各自获得40个测定值，计算各自的均值、标准差和变异系数，计算天间精密度。

1.2.3线性范围评价 依照CLSI的EP6-A文件的要求，取高、低值病人标本各一份（高值标本为接近线性范围上限或高于线性上限 10%~15%的标本，低值标本为接近线性范围下限的标本）。低值标本为1 号，高值标本为6 号，低高值标本4：1 混和为2 号，3：2 混和为3 号，2：3 混和为4 号，1：4混和为5号。每个编号标本重复测定2到3次，记录结果。 统计数据，求出2次测定结果的平均值和每一稀释度的预期值。采用线性回归分析，以理论值为X，以按比例稀释的实测均值为Y，得线性方程Y=bX+a，得到a、b及r值。X和Y分别为自变量和应变量，b为斜率，a为Y轴截距，r为相关系数，判断其是否线性。再根据线性方程以理论值为X计算出预期值，计算测量均值和预期值的偏差。

1.2.4可报告范围的验证 收集接近试剂给定的线性上限浓度的高值标本，用纯水分别做5,10,\*,...倍稀释，一共N份样本，每份测试2次，计算均值。稀释倍数应根据结果判断，超过相对偏差20%以上一个稀释单位。将实测值与理论值进行比较，相对偏差应小于20%。临床可报告范围下限等于分析测量范围下限，临床可报告范围上限等于限分析测量范围上限\*最大稀释倍数。

1.2.5参考区间的验证 依照C28-A2文件的要求，随机收集2019年6月内20名健康体检者血清进行测定。

1.2.6统计学分析 所有数据运用MICROSOFT eXCEL 2016进行数据处理和统计学分析。线性回归采用简单线性回归分析，相关性分析采用Pearson相关分析。

1. 结果

2.1准确度验证 结果如表1浓度1和2复合质控品测定CG的相对偏倚分别为4.44%和4.64%，均小于10%，验证通过。

表1 相对倚值测定

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 实测值 | | | 平均值 | 标示值 | 偏倚 |
| 配套质控品浓度1 | 2.19 | 2.19 | 2.20 | 2.19 | 2.10 | 4.44% |
| 配套质控品浓度2 | 15.32 | 15.79 | 15.98 | 15.70 | 15.00 | 4.64% |

2.2精密度验证 结果如表2表3表4表5所示低值批内变异系数CV（%）：3.89%＜产品技术要求：10%，低值批间变异系数CV（%）：6.22%＜产品技术要求：12%，高值批内变异系数CV（%）：3.91%＜产品技术要求：10%，高值批间变异系数CV（%）：2.96%＜产品技术要求：12%，验证通过。

表2 低值批内不精密度

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 低值批内不精密度 | | | |
| 次数 | 结果（单位：mg/L ） | 次数 | 结果（单位：mg/L） |
| 1 | 1.63 | 11 | 1.64 |
| 2 | 1.50 | 12 | 1.58 |
| 3 | 1.62 | 13 | 1.65 |
| 4 | 1.45 | 14 | 1.60 |
| 5 | 1.57 | 15 | 1.62 |
| 6 | 1.63 | 16 | 1.49 |
| 7 | 1.57 | 17 | 1.47 |
| 8 | 1.60 | 18 | 1.57 |
| 9 | 1.55 | 19 | 1.60 |
| 10 | 1.49 | 20 | 1.62 |
| 均值 | | 1.5725 | |
| 标准差 | | 0.061205005 | |
| 变异系数 | | 3.89% | |

表3 高值批内不精密度

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 高值批内不精密度 | | | | | | |
| 次数 | 结果（单位：mg/L ） | | 次数 | | 结果（单位：mg/L） | |
| 1 | 27.38 | | 11 | | 26.80 | |
| 2 | 27.96 | | 12 | | 26.60 | |
| 3 | 29.34 | | 13 | | 27.30 | |
| 4 | 30.06 | | 14 | | 29.30 | |
| 5 | 28.76 | | 15 | | 29.58 | |
| 6 | 28.35 | | 16 | | 27.19 | |
| 7 | 27.19 | | 17 | | 29.01 | |
| 8 | 27.19 | | 18 | | 29.00 | |
| 9 | 26.79 | | 19 | | 28.50 | |
| 10 | 26.60 | | 20 | | 27.90 | |
| 均值 | 28.0400 | | | | | |
| 标准差 | 1.096458414 | | | | | |
| 变异系数 | 3.91% | | | | | |
| 表4低值批间不精密度 | | | | | | | | | | | |
|  | |  | |  | |  | |  |  |  |  |
| 次数 | | Test1 | | 次数 | | Test2 | | 次数 | Test3 | 次数 | Test4 |
| 1 | | 1.55 | | 1 | | 1.8 | | 1 | 1.7 | 1 | 1.64 |
| 2 | | 1.62 | | 2 | | 1.6 | | 2 | 1.56 | 2 | 1.65 |
| 3 | | 1.73 | | 3 | | 1.74 | | 3 | 1.55 | 3 | 1.65 |
| 4 | | 1.68 | | 4 | | 1.8 | | 4 | 1.54 | 4 | 1.60 |
| 5 | | 1.52 | | 5 | | 1.92 | | 5 | 1.6 | 5 | 1.62 |
| 均值 | | | | 1.653 | | | | | | | |
| 标准差 | | | | 0.103 | | | | | | | |
| 变异系数 | | | | 6.22% | | | | | | | |

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 表5高值批间不精密度 | | | | | | | |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
| 次数 | Test1 | 次数 | Test2 | 次数 | Test3 | 次数 | Test4 |
| 1 | 27.23 | 1 | 27.23 | 1 | 28.0 | 1 | 28.35 |
| 2 | 28.45 | 2 | 28.65 | 2 | 27.05 | 2 | 27.19 |
| 3 | 27.37 | 3 | 27.7 | 3 | 27.08 | 3 | 27.19 |
| 4 | 26.03 | 4 | 28.44 | 4 | 28.94 | 4 | 26.79 |
| 5 | 27.27 | 5 | 29.07 | 5 | 27.7 | 5 | 26.60 |
| 均值 | | 27.615 | | | | | |
| 标准差 | | 0.817 | | | | | |
| 变异系数 | | 2.96% | | | | | |

2.3线性范围评价 如表6所示，获得线性回归方程y=0.987x+0.4274,相关系数R=0.9998>0.990.在（0.5-10）mg/L范围内，线性绝对偏差≤1.0mg/L；在（10-60）mg/L范围内，线性相对偏差≤10.0%。**在标本状态良好无干扰的情况下，在规定范围内呈线性。**

表6 标本稀释度对应的预期值

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 梯度 | Test1 | Test2 | 均值 | 理论值 | 预期值 | 偏倚 |
| L | 0.68 | 0.84 | 0.76 | 0 | 0.43 | 0.33 |
| 4L+1H | 14.04 | 14.81 | 14.425 | 14.158 | 14.40 | 0.16% |
| 3L+2H | 27.04 | 29.46 | 28.25 | 28.316 | 28.38 | 0.44% |
| 2L+3H | 41.61 | 41.77 | 41.69 | 42.474 | 42.35 | 1.58% |
| 1L+4H | 55.86 | 56.65 | 56.255 | 56.632 | 56.32 | 0.12% |
| H | 69.42 | 72.16 | 70.79 | 70.79 | 70.30 | 0.70% |

图1理论值为X，以按比例稀释的实测均值为Y，得线性方程

2.4可报告范围 如表8结合该项目分析测量范围为0.5-60mg/L ，故本检测系统测定的临床可报告范围为0.5-600mg/L。

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 表8临床可报告范围实验数据 | | | | | |
| 稀释倍数 | 测定序号（单位：mg/L） | | 均值 | 理论值 | 相对偏差% |
| 1 | 2 |
| 0 | 69.42 | 72.16 | 70.79 | 70.79 | 0.00% |
|  | 测定序号（单位：mg/L） | | 均值 | 理论值 | 相对偏差% |
| 3 | 4 |
| 5 | 14.04 | 14.81 | 14.425 | 14.158 | 1.89% |
|  | 测定序号（单位：mg/L） | | 均值 | 理论值 | 相对偏差% |
| 5 | 6 |
| 10 | 7.21 | 7.35 | 7.28 | 7.079 | 2.84% |
|  | 测定序号（单位：mg/L） | | 均值 | 理论值 | 相对偏差% |
| 7 | 8 |
| 20 | 2.51 | 2.3 | 2.405 | 3.5395 | -32.05% |

2.5参考区间的验证 如表9厂家提供参考范围10mg//L可用.

表9 20名健康体检者的测定值

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 样本 | 结果（单位：mg/L） | 样本 | 结果（单位：mg/L） |
| 1 | 1.21 | 11 | 2.75 |
| 2 | 1.27 | 12 | 1.00 |
| 3 | 3.86 | 13 | 0.41 |
| 4 | 1.22 | 14 | 0.68 |
| 5 | 4.07 | 15 | 0.89 |
| 6 | 1.65 | 16 | 1.43 |
| 7 | 0.84 | 17 | 0.95 |
| 8 | 1.72 | 18 | 1.10 |
| 9 | 2.86 | 19 | 0.72 |
| 10 | 0.72 | 20 | 2.86 |
| 正常参考区间 | | 10mg//L | |
| 离群点数 | | 0 | |

1. 讨论

在本实验中，我们在贝克曼AU5800自动生化仪器对某国产肝胆酸（CG）试剂盒进行准确度、精密度、线性范围、可报告范围、参考区间进行性能验证，以判断该试剂是否满足厂商说明及国家法规要求。

本次验证中，两浓度相对偏倚分别为4.44%和4.64%，均小于10%允许范围，其准确度高；低值批内不精密度 3.89%，高值批内不精密度3.91%，低值批间不精密度6.22%，高值批间不精密度2.96%，其精密度好；线性范围验证结果说明肝胆酸实测值与预期值有良好的线性关系，而参考区间验证结果显示20例代表实验室健康总体的标本的检测值均在试剂说明书参考范围内，验证通过。

综上所述，该国产肝胆酸（CG）监测试剂盒各项性能指标均符合产品说明书和行业标准的相关要求，在贝克曼AU5800生化仪上表现出较好的性能状态，能满足医院临床要求。

参考文献

1. 宴峰，周颖，徐伟珍，慢性组塞性肺疾病患者血清肝胆酸、C反应蛋白与肺、肝功能改变的相关性研究[J].检验医学，2017.32（2）：90-93
2. 张雅琴，沈玲珑.餐后2小时血清肝胆酸测定对妊娠期肝内胆汁淤积症的早期诊断意义[J].中华全科医学，2015,13（4）；636-637.
3. 袁鹏.妊娠期肝内胆汁酸淤积症临床治疗体会[J].中外医学研究，2013,35（35）：45-46
4. 张望明，由志钰，李学会，聂映.国产肝胆酸测定试剂在西门子ADVIA1800的性能验证[J]家庭医药，2018，05（5）