

时间分辨荧光免疫分析仪实验报告

1. 实验目的

本次实验为验证时间分辨荧光免疫分析仪校准规范中的计量特性主要技术指标的合理性。

2. 仪器型号

时间分辨荧光免疫分析仪多分为全自动和半自动两种模式，主要生产厂商有：珀金埃尔默股份有限公司（PE）、赛默飞世尔科技 ThermoFisher、瑞士 TECAN、苏州新波生物技术有限公司（被 PE 收购）、广州市达瑞生物科技股份有限公司、广州丰华生物工程有限公司、广州万孚生物技术有限公司、南京岚煜生物科技有限公司、光景生物科技(苏州)有限公司等。目前市场主流产品主要为 PE、达瑞等品牌。表 1 为目前市场主要产品。

表 1 常见的几种仪器型号

进口/国产	品牌	型号	备注
进口	PE	Wallac 1235 AutoDELFIA	全自动
		Wallac 1420 Victor2 D	半自动
		EasyCuta	全自动
		Anytest2000	（新波）
	Biotech	SynergyH1	半自动
	TECAN	SPARK	半自动
国产	广州达瑞	DR6606	全自动
	广州万孚	LS1000	半自动
	丰华	TALENT-II	半自动

根据规范方法，采用以上部分型号仪器的计量性能进行校准和比对。

3. 实验人员

周瑾艳、黄彦捷

4. 实验时间

2022 年 05 月至 2022 年 09 月

5. 环境条件

温度：（10~30）℃，相对湿度：≤ 70%

6. 实验所用校准装置及标准物质

- （1）镉单元素溶液国家有证标准物质，GBW(E)082185，100 μg/mL，U=1 μg/mL（k=2）。
- （2）甲胎蛋白血清（液体）标准物质 GBW(E)090088，25.6 IU/mL，U=1.2 IU/mL

($k=2$)。

冰冻人血清未结合雌三醇标准物质 GBW(E)091049, 33.6nmol/L, $U=1.6$ nmol/L ($k=2$)。

(3) 试剂：配套体外诊断试剂盒。

(4) 数字温度计：测量范围（0~100）℃，最小分度 0.1℃。

(5) 电子天平：分度值不低于 0.1 mg，I 级合格。

(6) 容量瓶、移液管：A 级合格。

7. 实验对象

挑选市场上部分时间分辨荧光免疫分析仪进行校准，主要采用为一台达瑞 DR6606、一台 PE Wallac 1420(半自动)、一台 PE EasyCuta 2750、一台 PE EasyCuta MiNi 2730。

8. 实验方法

时间分辨荧光免疫分析仪的各计量性能指标测量方法详见时间分辨荧光免疫分析仪校准规范。

9. 实验结论

通过对这些不同生产厂家生产的时间分辨荧光免疫分析仪进行检测限、线性、重复性、稳定性、温度准确度和波动度、临床项目示值误差、临床项目检测重复性、携带污染率测量。实验结果表明，该校准规范规定的计量特性、校准项目、校准方法等要求科学合理，适用于仪器的校准工作。

时间分辨荧光免疫分析仪实验原始记录

1. 检测限

因时间分辨荧光免疫分析仪荧光信号因仪器而异，且常检测的临床项目常为阴性样本或者低浓度样本，因而通过考察仪器荧光性能最低检测限尤为必要。本部分采用配套的增强液稀释配制的铕标准溶液物质实现，参考行标 YYT1533 根据大部分仪器可达到的检测下限，选用 1×10^{-12} mol/L Eu 溶液，并以增强液作为空白，均分别测试 10 次，计算各实验标准偏差，采用公式 (1) $\overline{X}_{EU}-2.58s_{EU} > \overline{X}_{ES}-2.58s_{ES}$ 评估，当满足公式(1)要求，则仪器检测限不大于 1×10^{-12} mol/L (Eu) 。

起草小组在验证实验过程中，采用 GBW(E)082185，按照规范附录 A 的方法配制溶液，对不同型号仪器的检测限进行校准，具体结果如表 2-3 所示。

表 2 不同型号仪器检测限校准结果

仪器型号	$\overline{X}_{E0}-2.58s_{E0}$	$\overline{X}_{EU}-2.58s_{EU}$	结论
达瑞 DR6606	374.28	3515.04	满足： $\overline{X}_{EU}-2.58s_{EU} > \overline{X}_{ES}-2.58s_{ES}$ 检测限不大于 1×10^{-12} mol/L (Eu)
PE Wallac 1420 (半自动)	374.87	3434.95	
PE EasyCuta MiNi 2730	617.37	2145.81	
PE Easycuta2750	541.74	2462.27	

表 3 不同型号仪器检测限校准原始数据

达瑞 DR6606		PE Wallac 1420 半自动		PE EasyCuta MiNi 2730		PE Easycuta2750	
空白	10^{-12} mol/L(Eu)	空白	10^{-12} mol/L(Eu)	空白	10^{-12} mol/L(E u)	空白	10^{-12} mol/L(Eu)
433	3923	444	3444	665	2342	1052	2828
453	3915	420	3651	690	2286	844	2823
399	3831	408	3747	820	2488	1071	2819
439	3682	418	3681	764	2339	787	2883
458	3814	396	3714	762	2637	988	2714
448	3934	451	3655	744	2444	721	2749
393	3809	425	3684	720	2610	995	2623
427	3781	418	3596	747	2427	738	2595
459	3908	451	3673	689	2544	890	2615

459	3571	459	3725	735	2391	765	2662
436.8	3816.8	429	3657	733.6	2450.8	885.1	2731.1
24.23	116.96	20.98	86.06	45.05	118.21	133.09	104.20
374.28	3515.04	374.8 7	3434.95	617.37	2145.81	541.74	2462.27

2. 线性

采用配制好的 ($1 \times 10^{-12} \sim 1 \times 10^{-8}$) mol/L Eu 溶液进行荧光值测量, 重复测量 6 次, 取其平均值。将各标准镧浓度对数值 (X_i) 与荧光对数值 (Y_i) 进行线性回归, 计算线性相关系数 r 。结果如表 5-6 所示。

表 5 各仪器线性校准结果

仪器型号	达瑞 DR6606	PE Wallac 1420	PE EasyCuta 2750	PE EasyCuta MiNi 2730
r	0.996	0.993	0.996	0.997

表 6 各仪器线性校准原始数据

仪器	X_i	$C_{Eu}/$ (mol/L)	Y_i						$\bar{Y}_i$	Y_i	r
			1	2	3	4	5	6			
达瑞 DR660 6	-12	1.0E-12	8224	8054	7278	7423	7436	6807	7537.00	3.88	0.996
	-11	1.0E-11	36932	37425	36248	36754	38001	38159	37253.17	4.57	
	-10	1.0E-10	357995	351734	353070	356851	361174	362296	357186.67	5.55	
	-9	1.0E-09	3586700	3453618	3447645	3464380	3470989	3455228	3479760.00	6.54	
	-8	1.0E-08	11961310	11961189	11961125	11961304	11961211	11961191	11961221.67	7.08	
PE Wallac 1420	-12	1.0E-12	12571	11337	11346	10767	10675	10801	11249.50	4.05	0.993
	-11	1.0E-11	49604	49221	48585	48640	50510	50187	49457.83	4.69	
	-10	1.0E-10	471124	458837	470149	466436	467934	470911	467565.17	5.67	
	-9	1.0E-09	4731956	4490605	4469760	4536363	4465319	4476277	4528380.00	6.66	
	-8	1.0E-08	12038357	12038361	12038427	12038440	12038471	12038465	12038420.17	7.08	
PE EasyC uta 2750	-12	1.0E-12	2691	2619	2544	2550	2408	2618	2571.67	3.41	0.996
	-11	1.0E-11	9988	9910	9668	9709	9510	9318	9683.83	3.99	
	-10	1.0E-10	122627	122679	122115	121131	121150	119852	121592.33	5.08	
	-9	1.0E-09	1130792	1125539	1114954	1113307	1110519	1101929	1116173.33	6.05	
	-8	1.0E-08	10129405	9912529	9734186	9696676	9439562	9333852	9707701.67	6.99	
PE EasyC uta MiNi 2730	-12	1.0E-12	2823	2883	2749	2595	2662	2744	2742.67	3.44	0.997
	-11	1.0E-11	12176	12420	11759	12120	11806	11526	11967.83	4.08	
	-10	1.0E-10	124886	122971	120635	122939	120932	119562	121987.50	5.09	
	-9	1.0E-09	1188948	1172048	1155405	1127165	1119011	1111784	1145726.83	6.06	
	-8	1.0E-08	10775538	10539410	10296374	9851436	9862426	9547170	10145392.33	7.01	

以上四种型号的仪器在镧浓度($10^{-12} \sim 10^{-8}$) mol/L 范围内线性均满足 $r > 0.99$ 。

3. 重复性

采用 10^{-10} mol/L 钨标准溶液，连续测量 6 次，计算测得荧光值的相对标准偏差作为重复性的表征，同样采用上述四种仪器测量，得到结果如表 7-8 所示。

表 7 各仪器重复性校准结果

仪器型号	达瑞 DR6606	PE Wallac 1420	PE EasyCuta 2750	PE EasyCuta MiNi 2730
RSD/%	0.99	0.61	0.90	1.73

表 8 各仪器重复性校准原始数据

仪器	1	2	3	4	5	6	平均值	STDEV	RSD/%
PE Wallac 1420	471124	458837	470149	466436	467934	470911	467565.17	4650.33	0.99
达瑞 DR6606	388217	382395	383685	381764	385726	384289	384346.00	2358.06	0.61
PE EasyCuta 2750	122627	122679	122115	121131	121150	119852	121592.33	1091.95	0.90
PE EasyCuta MiNi 2730	124788	122681	119699	122600	120495	119358	121603.50	2106.81	1.73

以上仪器荧光信号重复性 RSD<3%，满足规范建议要求。

4. 稳定性

采用 10^{-10} mol/L 钨标准溶液，连续测量 10 次，计算测得荧光值的平均值，过 4 h、8 h 后分别再上机重复测试 10 次，计算测定荧光的平均值，以第 1 次的测定结果作为基准值，按式(7)计算相对偏移以表示稳定性(α , %):

$$\alpha = \frac{\bar{y}_n - \bar{y}_1}{\bar{y}_1} \times 100\%$$

表 9 所示为四种型号仪器的稳定性数据，其稳定性均不大于±10%。

表 9 不同型号仪器稳定性校准结果

仪器型号	达瑞 DR6606	PE Wallac 1420	PE EasyCuta 2750	PE EasyCuta MiNi 2730
RSD/%	7.87	4.58	-2.61	3.39

表 10 不同型号仪器稳定性校准原始数据

仪器	时间/h	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均值	稳定性 /%
PE Wallac 1420	0	471124	458837	470149	466436	467934	470911	476532	468971	473219	459523	468363.60	/
	4	471345	476532	481128	476890	479845	480931	480992	480199	483764	486541	479816.70	2.45
	8	489734	490276	490421	490532	491123	490652	490409	487012	482346	495766	489827.10	4.58
达瑞 DR6606	0	357995	351734	353070	356851	361174	362296	357995	351734	353070	356851	356277.00	/
	4	373551	370904	370684	364641	375971	373340	361174	362296	367531	371569	369166.10	3.62
	8	388217	382395	383685	381764	385726	384289	389321	381256	385439	381129	384322.10	7.87
PE Easycuta 2750	0	127762	128072	126114	126291	124553	124183	122877	122238	122007	121382	124547.90	/
	4	122740	122681	122870	121997	121887	120597	121487	120495	119691	118552	121299.70	-2.61
	8	123965	123071	123636	124092	122867	123184	122090	121590	121955	122218	122866.80	-1.35

PE	0	118464	118352	117707	119142	119519	118195	118664	119055	118688	119415	118720.10	/
EasyCuta	4	118647	118527	117779	117231	117890	116968	117429	118181	118241	117924	117881.70	-0.71
MiNi 2730	8	122286	122564	122766	122960	122340	122567	122617	123448	122024	123837	122740.90	3.39

稳定性测量结果，当采用钨溶液测量时，溶液的在 8h 内的保存应密封保存在 2~8℃下，测试时，溶液回到室温下再进行测试。

5. 温度准确性与波动性

采用温度计对仪器各孵育舱进行温度校准，仪器孵育温度设定值为 37℃，对每个孵育舱重复测定 10 次，计算得到温度准确度和波动性，表 11~13 为 PE EasyCuta MiNi 2730、PE Easycuta 2750 两个型号的温度校准数据。

表 11 各仪器温度校准结果

	准确度(±1.5℃)	波动度(±1.5℃)
PE EasyCuta MiNi 2730	0.70	0.95
PE Easycuta 2750	-0.81	0.65

表 12 PE EasyCuta MiNi 2730 温度校准数据

PE EasyCuta MiNi 2730	CH1(1 号 舱)	CH2(2 号 舱)	CH3(3 号 舱)	CH4(4 号 舱)	CH5(5 号 舱)	CH6(6 号 舱)	CH7(7 号 舱)	CH8(8 号 舱)
1	36.9	36.9	36.4	36.9	36.6	37.5	37.7	37.2
2	36.7	36.7	36.3	36.8	36.6	37.5	37.7	37.1
3	36.7	36.9	36.4	36.7	36.5	37.3	37.6	37.1
4	36.9	36.7	36.4	36.7	36.2	37.5	37.6	37.2
5	37.0	36.9	36.5	36.9	36.2	37.3	37.7	37.1
6	37.0	37.0	36.6	36.9	36.1	37.5	37.9	37.2
7	36.9	36.9	36.4	36.8	35.9	37.4	37.6	37.2
8	36.9	36.9	36.4	36.7	35.7	37.4	37.7	37.2
9	36.8	36.8	36.4	36.8	35.6	37.5	37.8	37.3
10	37.0	37.0	36.9	37.0	37.5	37.7	37.7	37.3
Mean	36.88	36.87	36.47	36.82	36.29	37.46	37.70	37.19
Max	37.00	37.00	36.90	37.00	37.50	37.70	37.90	37.30
Min	36.70	36.70	36.30	36.70	35.60	37.30	37.60	37.10
准确度 (±1.5℃)	-0.12	-0.13	-0.53	-0.18	-0.71	0.46	0.70	0.19
波动(±1.5℃)	0.15	0.15	0.30	0.15	0.95	0.20	0.15	0.10

表 13 PE Easycuta 2750 温度校准数据

PE Easycut a 2750	CH1(1 号 舱)	CH2(2 号 舱)	CH3(3 号 舱)	CH4(4 号 舱)	CH5(5 号 舱)	CH6(6 号 舱)	CH7(7 号 舱)	CH8(8 号 舱)	CH9(9 号 舱)	CH10(1 0 号舱)	CH11(1 1 号舱)	CH12(1 2 号舱)
1	35.7	36.5	36.8	36.5	37.1	36.6	35.9	35.9	36.9	37.3	38.4	36.2
2	35.7	36.6	36.8	36.7	37.3	36.8	36.1	36.0	37.0	37.4	38.1	36.4

3	35.9	36.7	36.9	36.8	37.3	36.8	36.1	36.1	37.2	37.4	37.7	36.5
4	36.1	36.9	37.1	37.0	37.4	36.9	36.3	36.3	37.2	37.6	37.4	36.6
5	36.1	36.9	37.1	37.0	37.5	37.0	36.3	36.3	37.3	37.6	37.2	36.8
6	36.2	37.0	37.4	37.1	37.6	37.2	36.4	36.6	37.5	37.7	36.9	37.0
7	36.4	37.0	37.3	37.1	37.7	37.2	36.6	36.7	37.5	37.8	36.7	37.1
8	36.5	37.2	37.6	37.5	37.8	37.4	36.7	36.8	37.6	37.9	36.4	37.3
9	36.5	37.1	37.5	37.4	38.0	37.5	36.8	37.0	37.7	38.2	36.3	37.4
10	36.8	37.3	37.6	37.6	38.0	37.5	36.9	37.1	37.8	38.2	36.1	37.5
Mean	36.19	36.92	37.21	37.07	37.57	37.09	36.41	36.48	37.37	37.71	37.12	36.88
Max	36.80	37.30	37.60	37.60	38.00	37.50	36.90	37.10	37.80	38.20	38.40	37.50
Min	35.70	36.50	36.80	36.50	37.10	36.60	35.90	35.90	36.90	37.30	36.10	36.20
准确度 ($\pm 1.5^{\circ}\text{C}$)	-0.81	-0.08	0.21	0.07	0.57	0.09	-0.59	-0.52	0.37	0.71	0.12	-0.12
波动 ($\pm 1.5^{\circ}\text{C}$)	0.55	0.40	0.40	0.55	0.45	0.45	0.50	0.60	0.45	0.45	1.15	0.65

6. 临床项目示值误差

采用甲胎蛋白国家标准物质 GBW (E) 090088, 对 PE Wallac 1420、达瑞 DR6606 仪器进行校准。示值误差分别为-4.24%和 1.54%。满足规范不大于 $\pm 10\%$ 要求。

同时我们也采用 GBW (E) 090088 稀释 10 倍进行测量, 稀释剂为试剂盒内缓冲溶液。如表 14 所示, 示值误差分别为 27.98%和 23.02%, 均大于 10%。这是由于免疫分析的基质效应, 导致结果偏差。因而校准示值误差时不建议将有证标准物质稀释使用, 否则可能影响互换性。

同时我们也采用客户自用的标准品进行验证。如表 14 第三组所示, 达瑞试剂盒自带的甲胎蛋白标准品进行示值误差实验, 示值误差均小于 10%, 表明客户试剂盒准确度满足要求。

表 14 各仪器甲胎蛋白示值误差校准结果

仪器型号	标准值 (IU/mL)	测量值			平均值	示值误差 /100%
		1	2	3		
PE Wallac 1420	25.6	23.98	26.172	23.393	24.515	-4.24
	2.56	3.06	3.188	3.581	3.276	27.98
达瑞 DR6606	25.6	25.633	24.536	27.813	25.994	1.54
	2.56	3.179	3.153	3.116	3.149	23.02
达瑞 DR6606	120	119.109	121.285	124.353	121.582	1.32
	1.5	1.584	1.458	1.554	1.532	2.13

7 临床项目重复性

采用甲胎蛋白国家标准物质 GBW(E)090088，对 PE Wallac 1420、达瑞 DR6606 仪器进行临床项目重复性校准。在仪器上重复测试 6 次，计算测量结果实验相对标准偏差，以表征临床项目检测重复性。如表 15 所示。

同时，采用客户配套的标准品高低值进行实验。

所有实验结果均表明，临床项目重复性均不大于 15%。

表 15 各仪器临床项目重复性校准原始数据

仪器型号	浓度值	1	2	3	4	5	6	平均值	STD EV	重复性
PE Wallac 1420	25.6	23.98	26.172	23.393	24.572	26.764	23.672	24.515	1.46	5.97
达瑞 DR6606	25.6	25.633	24.536	27.813	26.705	25.064	28.295	25.994	1.67	6.42
达瑞 DR6606	120	119.109	121.285	124.353	119.1	115.272	116.498	121.582	2.63	2.17
	1.5	1.584	1.458	1.554	1.478	1.418	1.408	1.532	0.07	4.30

8 携带污染率

采用达瑞甲胎蛋白试剂盒中高低值校准品对 PE EasyCuta 2750、达瑞 DR6606 仪器进行携带污染率校准。依次对低值、高值、低值重复测定 4 次，依据规范中公式计算携带污染率，具体数据如表 16 所示。

表 16 各仪器携带污染率校准结果

仪器型号	浓度	1	2	3	4	携带污染率%
PE EasyCuta MiNi 2730	低	1.0032	-1.0073	1.0039	-1.0009	/
	高	2726.7343	2816.2448	2797.5180	2759.6923	2.31
	低	1.0463	1.0478	1.0346	1.0438	0.00
达瑞 DR6606	低	9.487	9.702	9.834	9.8788	/
	高	99.992	97.333	95.888	95.564	-4.31
	低	9.326	9.109	9.322	9.345	0.08