

- [4] Pepys MB, Baltz ML. Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein[J]. Adv Immunol, 1983, 34: 141-212.
- [5] 王凌旭, 范泽旭. C 反应蛋白与 2 型糖尿病血管并发症的临床关系[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(3): 213.
- [6] 华一民. CRP 与糖尿病心血管并发症的关系[J]. 中国误诊学杂志, 2007, 7(2): 243.
- [7] 祁素霞, 潘时中. PAI-1、CRP 与胰岛素抵抗及 2 型糖尿病的关系[J]. 医学综述, 2007, 13(3): 212-214.
- [8] 龙敏, 严钟德. C-反应蛋白和糖尿病[J]. 国外医学内分泌学分册, 2002, 22(2): 75-77.
- [9] Torzewski J, Torzewski M, Bowyer DE, et al. C-reactive protein frequently colocalizes with the terminal complement complex in the intima of early atherosclerotic lesions of human coronary arteries[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1998, 18(9): 1386-1392.
- [10] Schieffer B, Schieffer E, Hilfiker-kleiner D, et al. Expression of angiotensin II and interleukin-6 in human coronary atherosclerotic plaques potential implications for inflammation and plaque in-

- stability[J]. Circulation, 2000, 101(12): 1372-1378.
- [11] Burbea Z, Nakhoul F, Zoabi R, et al. Haptoglobin phenotype as a predictive factor of mortality in diabetic haemodialysis patients[J]. Ann Clin Biochem, 2004, 41(Pt 6): 469-473.
- [12] Levy AP, Hochberg I, Jablonski K, et al. Haptoglobin phenotype is an independent risk factor for cardiovascular disease in individuals with diabetes: The Strong Heart Study[J]. J Am Coll Cardiol, 2002, 40(11): 1984-1990.
- [13] Aso Y, Okumura K, Yoshida N, et al. Plasma interleukin-6 is associated with coagulation in poorly controlled patients with type 2 diabetes[J]. Diabet Med, 2003, 20(11): 930-934.
- [14] Yu HI, Sheu WH, Song YM, et al. C-reactive protein and risk factors for peripheral vascular disease in subjects with type 2 diabetes mellitus[J]. Diabet Med, 2004, 21(4): 336-341.
- [15] Taniguchi A, Nagasaka JE, Fukushima M, et al. C-reactive protein and insulin resistance in non-obese Japanese type 2 diabetic patients[J]. Metabolism, 2002, 51(12): 1578-1581.

(收稿日期: 2010-12-19)

• 综 述 •

临床酶学标准化的研究

李 恒 综述, 吕 磊 审校

(四川迈克生物科技股份有限公司参考系统部, 成都 611731)

关键词: 生物统计学; 参考方法; 参考物质; 互通性

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 09. 028

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)09-0981-03

临床实验室的首要目的是通过厂商试剂获取有利于疾病诊断、治疗和监控的信息, 而检测结果应该在时间和空间上具有可比性。自 20 世纪 50 年代以来, 酶学测量逐步应用于临床检验和诊断领域, 从手工检测到全自动检测系统, 从原理单一化到方法多样化, 临床酶学已历经 50 多年的发展历程。对于同一分析物, 各厂商试剂的测量原理和条件有所不同, 尽管 1998 年 Lorentz 代表国际临床化学和实验室医学联盟 (IFCC) 发表淀粉酶测量程序, 但目前市场上用于淀粉酶检测试剂的底物就有 20 多种, 而不同试剂检测结果存在巨大差异^[1]。2002 年欧盟委员会联合研究中心标准物质与测量研究院 (the institute for reference materials and measurements, IRMM) 发起国际测量评估计划 (international measurement evaluation program, IMEP), 全球 950 家实验室检测数据显示 γ -谷氨酸转移酶 (GGT) 样本 (34.7 ± 0.93) U/L 的室内偏差为 $-60\% \sim 30\%$, 室内变异较大, 而临床实验室却使用同一参考范围, 这引发了检测结果准确性与可比性的讨论^[2]。临床实验室尝试采用 Multiple of URL (upper limit of reference values by lab) 表示样本室内变异以减小差异, 结果适得其反。临床酶学检测的标准化成为急需解决的问题。

1998 年欧盟发布 EU 98/79/EC-IVD Directive, 对体外诊断产品提出有关溯源的法规要求: 厂商必须确保其校准品和 (或) 质控物的值溯源到更高级别的公认参考测量程序和 (或) 参考物质^[3]。2003 年, 国际标准化组织发布 ISO17511 和 ISO18153 文件, 文件指出溯源到国际公认参考方法或参考物质是确保临床实验室检测结果准确性和可比性的关键要素^[4-5]。从法规要求、客户服务和产品品质提升等战略角度考虑, 体外诊断厂商必需严格遵守法规, 切实贯彻标准, 保证产品具有溯源性。

临床酶学标准化的首要目标是在不同的临床实验室通过不同厂商的试剂和仪器获得具有可比性的结果。IFCC 推荐了重要的临床酶学项目的参考系统。本文对参考系统的某些概念和临床酶学的标准化现状作一综述。

1 参考系统

20 世纪 80 年代, Bergmeyer 大会提出了标准化和溯源模型, 并建立了以计量学溯源和测量程序等级制为基础的参考测量系统。参考系统的关键要素是参考测量程序和参考物质, 利用参考方法对参考物质进行赋值和认证, 诊断厂商采用参考方法和 (或) 有证参考物质通过其选定测量程序为其校准品赋值, 临床实验室使用校准品校准检测系统并检测样本。通过这样的途径, 样本测量值即溯源到参考方法和 (或) 参考物质, 实现标准化。而完整的参考系统应包括定义被测量、参考物质、参考方法、参考实验室 (网络)、参考范围以及溯源图所包括的三级机构和各级测量程序^[6-11]。

ISO18153 和 ISO17511 文件对临床酶学的溯源作了详细阐述和规定, 但必须注意如下两点: (1) 检测试剂应具有良好的分析特异性和精密性; (2) 用作量值传递的参考物质必须具有互通性。

2007 年 Infusio 等^[12] 和 2009 年 Panteghini^[13] 提出了更加简捷、有效的酶学参考测量系统和溯源途径 IFCC 参考测量程序认证参考物质, 有认证参考物质用于验证参考方法有效性, 如果参考物质与人血清样本不具有互通性, 则不能直接校准厂家选定测量程序进行量值传递, 而必须通过系列人血清样本进行传递。

2 互通性

互通性是酶参考物质在测量中反应变化的性质与血清酶性质一致的能力。若采用一级参考物质直接赋值到校准品时,

必须验证其互通性。美国临床化学协会曾组织评价冻干肌酸激酶同工酶(CK-MB)参考物质(重组)的特性,数据显示使用不具有互通性的参考物质校准反而降低两检测系统的相关性^[14]。而酶原料来源、分离纯化程序、冻干工艺和添加剂等均可影响互通性。二级参考物质的使用是溯源执行过程中互通性的解决方法,混合人血清则是首选基质,可减小个体生物学变异^[15-19]。而互通的人血清参考物则可以用于检测试剂的直接校准,用于溯源。

3 分析物定义

目前,某些酶学项目位于临床实验室最频繁的检测项目之列,他们是肝脏、胰腺、骨骼肌和骨组织等疾病的诊断和监控的重要生化参数,其标准化迫在眉睫。根据溯源途径将参考系统中分析物分为两类:(1)清晰定义的化学物,可溯源到 SI 单位;(2)在人血清样本中为非均质(heterogeneous),以多种形式存在,不能直接溯源到 SI 单位。而酶学分析物被视为一种特殊类别,它不同于上述两类分析物^[6]。IFCC 相关文件规定:活性浓度为在特定测量系统规定的反应条件下,通过指示剂的转化速率来反映酶活性浓度。例如 CK 酶活性浓度定义为在 IFCC 推荐的参考测量程序下,每秒催化转化 1 mol 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)的酶量,即 1 katal。酶活性浓度单位的测量决定于测量程序的反应条件,条件发生变化,酶活性浓度单位将不是所规定的酶活性浓度单位。

4 参考方法和参考物质

IFCC 酶学参考系统委员会(C-RSE)负责酶学参考系统工作,通过参考实验室网络建立参考方法、筛选和认证参考物质。C-RSE 对参考测量程序的底物和缓冲液浓度、pH、延迟时间等测量条件优化,详细规定所有测量条件,并严格控制测量程序控制点,目前已建立完整的 37 °C 酶学参考系统的项目有丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、GGT、淀粉酶(AMY)、血清碱性磷酸酶(ALP)参考测量程序最近将公布,脂肪酶的参考测量系统已在讨论中。

5 参考实验室(网络)

参考实验室负责建立和运行参考方法、赋值和认证参考物质,为室间质评和政府机构提供支持、服务。运行参考实验室应具备的基本要素:参考测量程序的持续应用和改进、测量不确定来源的持续探求、技术精湛的参考测量人员、强有力的资助机构、与临床实验室间的紧密联系和互助等。此外参考实验室应参加 IFCC 主办的参考实验室室间质评活动(RELA),并可向官方认可机构申请 ISO15195 和 ISO17025 参考实验室认可,申请检验医学溯源联合委员会(the joint committee on traceability in lab medicine, JCTLM)提名成为参考测量服务提供商者,实施对外参考测量^[20-22]。目前,中国酶学参考实验室有 14 家,约占国际酶学参考实验室一半左右,而全球获得官方认可的酶学参考实验室只有两家,中国和国际酶学参考实验室网络形成且有效运行,通过实验室网络,各机构开展了大量联合性研究。

6 参考范围和临床允许误差

医学参考范围为健康人血清中分析物量的范围^[23],参考范围可能受性别、年龄和种族等因素影响,参考范围的建立为参考系统研究的后续工作,对于某一分析物,通用的医学参考范围(至少是同一人种)急需建立,为此 IFCC 组织多家实验室采用已溯源的检测试剂对某些酶学项目的医学参考范围进行研究,实验建立了 6 个酶学项目的医学参考范围。通过研究确认溯源是一种建立全球通用参考范围的手段,溯源有效的检测

试剂可采用通用的参考范围(至少在单一人种)。

临床允许总误差是衡量检测系统在临床检验应用中允许的最大误差,它考虑了室间、室内、检测系统和样本生物学变异等多种因素,从侧面反应临床实验室样本检测的质量。通过查阅生物学变异数据库^[24],综合分析研究数据,目前已确立了 6 个酶学项目测量的临床允许总误差。

7 标准化执行

参考测量程序的建立和运行是一个复杂、耗资不菲的过程。临床实验室的标准化需通过国际合作来完成。为避免资源的混用和浪费,国际上并没有接受建立国家或区域参考方法来实现标准化。

2002 年在法国巴黎,由 IFCC、国际计量局(BIPM)和国际实验室认证联盟(ILAC)联合成立 JCTLM,参会单位包括 IVD 标准物质提供者、IVD 厂商、国家机构、认可组织和质评机构。会议围绕参考物质、参考方法和参考实验室展开讨论并确立了 JCTLM 今后工作的重点。为筛选适合的参考物质并组织对其认证,建立和实施参考测量程序,组织对参考实验室的认可和参考测量服务的提名。目前,在 JCTLM 网站上已公布大量的可溯源到 SI 单位的参考物质和参考测量程序,为临床检验的标准化奠定了坚实的基础。

参考实验室室间质评 RELA^[25]由 IFCC 主办,德国临床化学协会(DGKL)承办,是针对全球参考实验室的能力验证活动,其中酶学项目包括 ALT、AST、LDH、CK、GGT、AMY 共 6 项,从 2003 实施开始,为确保溯源有效实施和标准化作出了巨大贡献。

“Calibration 2000”项目^[1]由 IFCC 牵头对声称溯源的 6 家体外诊断试剂厂商(Dade、Olympus、Ortho、Roche、Abbott 和 Beckman)的 6 项酶学检测试剂的溯源性验证。全球 70 家实验室参与研究,2006 年 IFCC 公布其研究结果,结果显示所有公司的 CK 项目均出现显著偏差,LDH 和 AMY 检测试剂需要较大的改进。同时,发现某些厂商忽视客户利益,仍然在销售不具有溯源性的诊断试剂。

标准化的执行仍然存在一些急需解决的问题,首先为法规的贯彻学习,通过对 IVD 指令文件的深入学习和贯彻宣传,使诊断试剂厂商和终端用户加深对溯源的认识和执行的力度。其次,IVD 产品的售后监控^[9]是关系标准化的重要事项,通过室间质量评价(EQA)或能力验证活动,采用参考方法赋值并具有互通性的真值质控物,临床检验行业可采用此样本验证厂商试剂溯源的有效性,同时评价临床实验室的能力,并以准确性为基础对其能力分级。通过售后监控对标准化形成闭环,以确保标准化的持续改进。

8 结 论

应用通用医学参考范围,不改变现用的方法或实验室对分析系统的喜爱,全球临床实验室提供可比性结果的时代已经来临。计量学概念在临床检验标准化领域将得到更加广泛的应用。大量的研究项目正在通过参考系统的途径来提高临床实验室的检测质量。由于非均质分析物的复杂性,一些非均质分析物的标准化进程相对缓慢,在短时间内难以解决。事实上,标准化是一个持续改进的过程,其进程与分析技术和医学知识水平是一致的。标准化将随着医学科学知识和认知水平的提高不断改进。

参考文献

- [1] Jansen R, Schumann G, Baadenhuijsen H, et al. Trueness verification and traceability assessment of results from commercial systems for measurement of six enzyme activities in serum; an inter-

- national study in the EC4 framework of the Calibration 2000 project[J]. Clin Chim Acta, 2006, 368(1/2): 160-167.
- [2] Van Nevel L, Örnemark U, Smeyers P, et al. IMEP-17 Trace and minor constituents in human serum[S]. GEEL, Belgium; European commission-Joint Rseaseard center, 2007.
 - [3] European Union. Directive 98/79/EC of the European parliament and of the council of 27 October 1998 on in vitro diagnostic medical devices[J]. Official Journal of the European Communities, 1998, L331: 1-37.
 - [4] International Organization for Standards. ISO 17511 In vitro diagnostic medical devices—measurement of quantities in biological samples—metrological traceability of values assigned to calibrators and control materials [S]. 1st. Geneva, Switzerland; ISO, 2003.
 - [5] International Organization for Standards. ISO 18153 In vitro diagnostic medical devices—measurement of quantities in biological samples—metrological traceability of values for catalytic concentration of enzymes assigned to calibrators and control materials [S]. 1st. Geneva, Switzerland; ISO, 2003.
 - [6] Thienpont LM, Van Uytfanghe K, De Leenheer AP. Reference measurement systems in clinical chemistry[J]. Clin Chim Acta, 2002, 323(1/2): 73-87.
 - [7] Panteghini M. Traceability, reference systems and result comparability[J]. Clin Biochem Rev, 2007, 28(3): 97-104.
 - [8] 熊亮, 李丽, 马清峰. 定值质控血清及血清酶校准品在室内质控中的溯源性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(9): 847-848.
 - [9] 刘远程, 郭永灿, 张帮林, 等. 非配套检测系统溯源性的建立及其确认[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(6): 531-532.
 - [10] Infusino I, Schumann G, Ceriotti F, et al. Standardization in clinical enzymology: a challenge for the theory of metrological traceability[J]. Clin Chem Lab Med, 2010, 48(3): 301-307.
 - [11] Hosogaya S. Standardization of clinical laboratory data in Japan by the JAMT and JCCLS[J]. Rinsho Byori, 2009, 57(6): 579-583.
 - [12] Infusino I, Bonora R, Panteghini M. Traceability in clinical enzymology[J]. Clin Biochem Rev, 2007, 28(4): 155-161.
 - [13] Panteghini M. Traceability as a unique tool to improve standardization in laboratory medicine[J]. Clin Biochem, 2009, 42(4/5): 236-240.
 - [14] Panteghini M, Pagani F. AACC creatine kinase MB (CKMB) standardization material used as manufacturer's working calibrator is unable to harmonize CK-MB results between two commercial immunoassays[J]. Clin Chem, 2004, 50(9): 1711-1712.
 - [15] 翁文浩, 李智. 酶标准品的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(1): 54-56.
 - [16] Cattozzo G, Guerra E, Ceriotti F, et al. Enzyme working group of the italian society of clinical biochemistry and clinical molecular biology (SIBioC). Commutable calibrator with value assigned by the IFCC reference procedure to harmonize serum lactate dehydrogenase activity results measured by 2 different methods[J]. Clin Chem, 2008, 54(8): 1349-1355.
 - [17] Canalias F, Camprubí S, Sánchez M, et al. Metrological traceability of values for catalytic concentration of enzymes assigned to a calibration material[J]. Clin Chem Lab Med, 2006, 44(3): 333-339.
 - [18] Xia C, Tong Q, Wang Q, et al. Application of five frozen human-pooled serum samples assigned by the International federation of clinical chemistry and laboratory medicine reference procedure in a traceability investigation of gamma-glutamyltransferase catalytic concentration measurements in China[J]. Ann Clin Biochem, 2010, 47(Pt 3): 189-194.
 - [19] Canalias F, Garcia E, Sánchez M. Metrological traceability of values for alpha-amylase catalytic concentration assigned to a commutable calibrator materials[J]. Clin Chim Acta, 2010, 411(1/2): 7-12.
 - [20] Wang J, Zhang CB, Ju Y, et al. Performance of IFCC enzyme reference method laboratory network in China[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2008, 31(3): 258-263.
 - [21] International Organization for Standards. ISO/IEC 17025 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories[S]. 1st. Geneva, Switzerland; ISO, 2005.
 - [22] International Organization for Standards. ISO 15195 Laboratory medicine—requirements for reference measurement laboratories [S]. 1st. Geneva, Switzerland; ISO, 2005.
 - [23] Ceriotti F, Hinzmann R, Panteghini M. Reference intervals: the way forward[J]. Ann Clin Biochem, 2009, 46(Pt 1): 8-17.
 - [24] Ricós C, Alvarez V, Cava F, et al. Current databases on biological variation: pros, cons and progress[J]. Scand J Clin Lab Invest, 1999, 59(7): 491-500.
 - [25] Wang T, Qi LL, Liu HY, et al. Application of reference methods suggested by IFCC and analysis of the 2006 ring trial results[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2008, 31(3): 264-269.

(收稿日期: 2010-12-19)

(上接第 963 页)

参考文献

- [1] 何林, 张立军, 李勇, 等. 铜绿假单胞菌对 22 种抗生素耐药性的差异[J]. 中华医院感染学杂志, 2002, 12(11): 853-855.
- [2] 吴安华, 任南, 文细毛, 等. 医院内感染非发酵革兰阴性杆菌的病原学与耐药性监测研究[J]. 中华临床医学杂志, 2004, 27(11): 764-766.
- [3] 蔡炎, 范昕建, 吕晓菊. AmpC 酶、 β -内酰胺酶的分子生物学研究进展[J]. 国外医药抗生素分册, 2006, 23(4): 165-167.
- [4] 吴安华, 罗晓燕. 铜绿假单胞菌多重药物主动排泵与抗生素耐药[J]. 中华医院感染学杂志, 2003, 13(1): 93-95.
- [5] 张卓然. 临床微生物学和微生物检验[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 1-10.
- [6] National Committee for Clinical Laboratory Standards. M2-A7 performance sandards for antimicrobial susceptibility testing; eleventh informational supplement[S]. Wayne, PA: NCCLS, 2004.
- [7] Marchese A, Arler G, Schito GC, et al. Characterization of FOX-3, an AmpC-type plasmid-mediated-lactamase from an Italian isolate of klebsiella oxytoca[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1998, 42(2): 464-467.
- [8] 陈东科, 张志敏, 张秀珍. 三维法检测 β -内酰胺酶的影响因素探讨及方法的改进[J]. 中华检验医学杂志, 2003, 26(10): 600-604.
- [9] 陈曼丹, 辜红妮, 林漫燕, 等. 开放性伤口感染的病原菌及其耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(5): 404-406.
- [10] Bou G, Olive A, Martinez-Beltrá J. OXA-24, a novel class D beta-lactamase with carbapenemase activity in an acinetobacter baumannii clinical strain[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44(6): 1556-1561.
- [11] 戴自英. 实用抗菌药理学[M]. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2000: 1-10.

(收稿日期: 2011-02-03)