

• 临床检验研究论著 •

肌酸激酶同工酶 POCT 检测系统的性能评价

苏 荣, 叶桂样, 张劲丰

(广州中医药大学附属佛山中医院检验科, 广东佛山 528000)

摘 要:目的 评价 Triage Metet 荧光免疫干式快速定量检测系统检测肌酸激酶同工酶(CK-MB)的精密度、正确度, 以确保床边检验(POCT)结果的可靠性。方法 采用美国临床与实验室标准化协会(CLSI)EP5-A2 文件进行精密度验证, 采用 EP9-A2 文件对 Triage Metet 荧光免疫干式快速定量分析仪与 mini VIDAS 全自动荧光免疫分析仪进行方法学比对, 验证正确度。结果 CK-MB 均值为 5.00、39.10 ng/mL 时 CV 批内分别为 3.40%、0.79%, CV 总分别为 3.40%、1.07%, 均小于厂家声明的不精密度; CK-MB 在两仪器的比对结果相关性良好($r^2=0.998\ 6$, $P<0.05$), CK-MB 的医学决定水平分别为 15、90, 相对偏差(SE%)分别为 2.53%、0.17%, 均小于 1/4 CLIA'88 的允许误差(30%)。结论 美国 Biosite Biagnostics 公司生产的 Triage Metet 荧光免疫干式快速定量检测系统测定 CK-MB 的精密度、正确度性能良好, 可满足临床需求。

关键词:床边检验; 肌酸激酶同工酶; 酶联荧光; 性能评价

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.10.004

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)10-1209-03

The creatine kinase isoenzyme POCT method detection system performance evaluation

Su Rong, Ye Guiyang, Zhang Jinfeng

(Department of Clinical Laboratory, Foshan Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Guangzhou University of Chinese Medicine, Foshan, Guangdong 528000, China)

Abstract: Objective To Evaluate the precision and accuracy of triage metet fluorescence immunoassay dry quick quantitative detection system in the detection of creatine kinase isoenzyme (CK-MB) to ensure the reliability of bedside testing (POCT) results. **Methods** The American clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP5-A2 file was applied in precision verification, the EP9-A2 file was applied in the method comparison between Triage Metet fluorescence immunoassay dry fast quantitative analyzer and mini VIDAS automated fluorescence immunoassay analyzer, and verify the correctness. **Results** When the mean CK-MB was 5, 39.10 ng/mL, the CV with a group were 3.40, 0.79 respectively, CV among groups 3.40, 1.07 respectively, which were less than manufacturers' declaration of imprecision; CK-MB results in two instrument were correlated well($r^2=0.998\ 6$, $P<0.05$), When the medical decision level of CK-MB were 15 and 90, relative standard deviation SE% were 2.53% and 0.17% respectively, which are less than 1/4 allowable error of CLIA'88(30%). **Conclusion** The triage metet fluorescence immunoassay dry quick quantitative detection system produced by United States Biosite Biagnostics are with good precision and accuracy in the detection of CK-MB, which meets the clinical needs.

Key words: point of care testing; creatine kinase isoenzyme; enzyme-linked fluorescent; performance evaluation

床边检验(POCT)的使用便捷, 检测和应用的范围广泛, 主要应用于医院急诊室、ICU(重症病房)、手术室及野战外科等科室^[1]。肌酸激酶同工酶(CK-MB)作为常用的 POCT 检测项目多用于心肌梗死患者的快速诊断, 而医生在救治患者过程中时间就是生命, 不可能有时间进行第二次测试来验证结果的可靠性, 为确保 POCT 检测系统的性能, 医学实验室认可国家标准 ISO15189《医学实验室质量和能力专用要求》和《医疗机构临床实验室管理办法》均要求检测系统在用于常规工作前应对其分析性能进行验证确认或分析评价, 证实其能够满足预期用途^[1], 本实验室依据 CLSI EP5-A2、EP9-A2 文件要求, 对本实验室用于 POCT 检测 CK-MB 项目的精密度、正确度性能进行实验评价, 报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集佛山市中医院门诊患者不同浓度水平血清混合, 分两水平浓度分装于子弹头中, 储存于零下 6~20℃, 每批试验各复溶 1 支, 开启后进行精密度试验, 剩余的样品应丢弃。从佛山市中医院收集不同浓度水平血清, 标本按照操作规程收集和处理新鲜患者标本, 每个样本有足够量进行两种方法的双份测定。如果从一个患者得不到所需的样本量, 可以将两个(不超过两个)病史相同, 被测物浓度也大致相近的患者标

本混合使用, 用于正确度检测。

1.2 仪器与试剂 待评方法为 POCT 检测采用 Triage Metet 荧光免疫干式快速定量诊断仪(美国 Biosite Biagnostics 公司), 配套专用试剂(批号: 01284ER), 校准物(批号: 01295E2); 参比方法为采用 mini VIDAS 全自动荧光免疫分析仪(法国梅里埃), 配套专用试剂(批号: 1001089610), 校准物(S1: 1025980, S2: 1025981, C1: 1026010)。

1.3 方法

1.3.1 荧光免疫干式快速定量测定 是由微孔层析和免疫荧光技术组成, 样品加入加样孔后, 过滤掉血细胞和其他粒子, 反应区域含有荧光标记了的对应反应的抗体或抗原和待测物质结合, 产生反应而显色, 机器的测量系统将荧光信号进行测量, 定量的对靶向待测物进行分析, 结合反应密码芯片的标准曲线计算出样品的浓度。

1.3.2 CK-MB 酶联荧光测定 酶联荧光(ELFA)法, 仪器使用酶联荧光技术, 样本中的待检物由固相捕获, 再与共轭物结合, 通过酶(碱性磷酸酶)转化荧光底物, 最后由仪器根据荧光讯号给出定量结果。

1.4 性能评价

1.4.1 精密度试验 参照 CLSI EP5-A2 文件要求, 每天检测

2 批样品血清, 分开检测(间隔 2 h), 每份样品检测 2 次, 连续检测 20 d, 记录实验检测数据。获得批内不精密度、批间不精密度、日间不精密度、总不精密度。

1.4.2 正确度试验 参照 CLSI EP9-A2 文件要求, 使用两种方法每天测定 8 个样本, 每个样本重复测定 2 次, 共测定 5 d, 当天收集当天测定。在样本的重复测定中, 指定第 1 次测定顺序, 按反向顺序检测第 2 次。例如: 样本可以按下述顺序进行: 1→8 和 8→1。顺序中的浓度应尽可能随机排列。第二次标本的反向顺序可以减少交叉污染及漂移对重复测定标本平均值的影响。每天的样本应在 2 h 内测定完毕, 以确保分析物的稳定, 记录实验结果。

1.4.3 X 值合适范围检验 如果比较方法(X)的取值范围足够宽, 比较方法的误差在回归分析中可忽略不计。可用相关系数(r)来粗略估计 X 取值范围是否足够宽。若 $r \geq 0.975$ (或者是 $r^2 \geq 0.95$) 则认为 X 范围适合, 直线回归统计的斜率和截距可靠。若不符合要求, 则需改善方法的精密度后重新试验。

1.4.4 计算线性回归方程 $Y=a+bX$ 。

1.4.5 临床可接受性能判断 将 CK-MB 的医学决定水平(X_c)代入回归方程, 根据公式: $SE = |Y_c - X_c|$, $SE\% = (SE/X_c) \times 100\%$, 以 CLIA'88 对室内评估的允许误差为判断依据, 由方法学比较评估的 $SE\% \leq 1/2$ CLIA'88 属临床可接受水平, 即不同检测系统间的测定结果具有可比性。

1.5 统计学处理 所测数据输入 EP 文件专用数据处理软件, 计算相关系数并作图。

2 结 果

2.1 精密度评价 检测 5.0、39.1 ng/mL 两水平混合样品血清, 获得批内不精密度、批间不精密度、日间不精密度、总不精密度, 见表 1。

2.2 荧光免疫干式快速定量法与酶联荧光法试验的相关性及偏倚分析 两种方法测定值相关良好($r^2 = 0.9986$, $P < 0.05$), CK-MB 医学决定水平(15、90), 卫生部临床检验中心室内质量评估允许误差为 30%, 两医学决定水平检测相对偏差(SE%)均小于 1/4 允许误差(表 2)。CK-MB 两方法的回归方程为 $Y=1.0068X-0.4822$ (图 1), 各数据分布范围宽, 散点图分布均匀(图 2)。

表 1 荧光免疫干式快速定量测定 CK-MB 不精密度评价结果

样本	均值 (ng/mL)	批内不精密度		批间不精密度		日间不精密度		总不精密度	
		s	CV(%)	s	CV(%)	s	CV(%)	s	CV(%)
低值	5.00	0.17	3.40	0.10	2.00	0.05	1.00	0.17	3.40
高值	39.10	0.31	0.79	0.30	0.77	0.16	0.41	0.42	1.07

表 2 荧光免疫干式快速定量法检测系统的可接受性能评价

项目	医学决定水平 (X_c)	预期值 (Y_c)	系统误差 (SE)	相对偏差 (SE%)	1/2 允许误差 (TEa)	1/4 允许误差 (TEa)
CK-MB	15	14.62	0.38	2.53	15	7.5
	90	90.15	0.15	0.17		

—: 无数据。

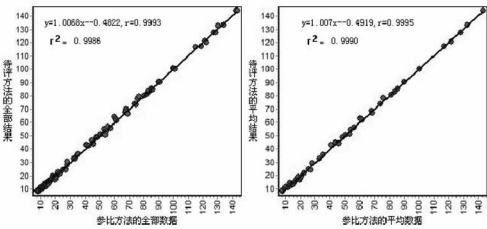


图 1 荧光免疫干式快速定量法与酶联荧光法试验双份测定散点图

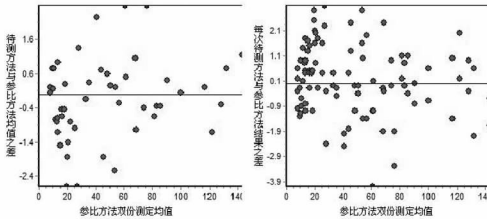


图 2 荧光免疫干式快速定量法与酶联荧光法试验双份测定偏倚图

3 讨 论

POCT 优点在于简化的检验工作, 操作方便, 不需要复杂的仪器设备, 能即时得到结果, 为临床一些急、重症患者的早期诊断和及时治疗提供了有利的条件, 因此 POCT 已成为临

床检验工作中令人瞩目的热点及急诊检验工作中的一种新工作模式。实践已经证明了 POCT 的优越性, 但因 POCT 自身的特点也使其必须满足快速、准确、精密等要求^[2], 但缺乏严密的对照实验, 因而很难说明问题, 所以加强这方面的研究对明确如何合理应用 POCT 至关重要。顾权等^[3]指出 CK-MB 是目前诊断和排除心肌梗死应用最多的血清生化标志物, 采用 POCT 检测心肌梗死多用于急诊室等。杨缙等^[2]总结了现有的急性心肌梗死心肌标志物床旁检测技术的种类, 本院就使用其中一种, POCT 质量控制的难点在于不同其他液体同质试剂, 统一定标、质控后可以连续检测数百或上千个样品, 每一测试都可质量统一, 但 POCT 就不同, 每个试验都是独立包装, 则存在试剂间的误差, 如何确保每一批试剂检测结果都一致呢? 为此, 笔者针对此情况对本实验室 POCT 检测 CK-MB 的精密度、正确度按 CLSI EP5-A2、EP9-A2 文件要求进行性能实验评估。

精密度既是临床检验的方法评价, 也是仪器性能评价的重要指标之一, 为客观地反映仪器在长期日常工作中的性能和自身工作状态, 同时不能单靠某一天、某一时期或是常规质量控制结果的不精密度来判断, EP5-A2 性能评价文件能够较为严密、客观地反映出检测系统的精密度。参照文件, 总不精密度是完整地权衡了批内、批间及日间种种误差因素, 较为真实地反映了分析仪总的精密度, 并且为了更好地检出不稳定的误

差,已明确提出检测系统的批内不精密度应为美国的临床实验室室间质量评估 CLIA'88 允许误差的 1/4,天间标准差应为该允许误差的 1/3,达到这样要求的检测系统,可认为它的随机误差属于可接受的水平^[4],本次检测 CLIA'88 推荐 CK-MB 允许误差为 30%,CK-MB 的 1/4 允许误差为 7.5%,实验结果显示采用 Triage Metet 型荧光免疫干式快速定量诊断仪检测 CK-MB 的两水平样本批内不精密度、批间不精密度、天间不精密度、总不精密度结果均小于 1/4 CLIA'88 允许误差,在可接受范围内,说明 Triage Metet 荧光免疫干式快速定量诊断仪检测 CK-MB 精密度良好,符合实验室要求。

本院 mini VIDAS 全自动荧光免疫分析仪检测系统采用原装配套试剂,同时操作人员经过系统培训,整个系统一直参加全国卫生部临床检验中心的室间质评活动,质评结果均优秀,是一可靠检测系统,以此作为参照系统对 Triage Metet 荧光免疫干式快速定量诊断仪检测系统检测 CK-MB 作相关性方法比对,两套检测系统均无离群点,重复性较好。本次检测 CK-MB 医学决定水平 15 的相对偏差 SE% 为 2.53,医学决定水平 90 的相对偏差 SE% 为 0.17,均小于 1/2CLIA'88 对室间评估的允许误差(CK-MB 的允许误差为 30%),属临床可接受水平,即两检测系统间的测定结果具有可比性,相关性良好,与黄静沁等^[5]实验得出 CK-MB 采用 POCT 法与电化学发光法有很强的相关性结果相似。

临床检测 CK-MB 分质量与活性两种,CK-MB 质量在心肌患者血中升高倍数高于 CK-MB 活性,这是因为心肌发病时酶从受损区域释放入血中,而组织酶进入血循环后会发生变性,使部分酶活性丧失^[6],同时,由于检测环境要求,溶血和血液中大 CK、CK-BB 和 CK-MM 亚型等都会产生干扰现象,导致 CK-MB 结果偏高,董矜等^[7]指出 CK-MB 质量的测定结果假阳性率低,稳定不因受外界影响,灵敏度高,适合作为各类疾病尤其是心血管类疾病检测的指标之一,所以,笔者建议采用 CK-MB 质量检测,提高结果准确性。

大多实验室检测 CK-MB 质量都用发光方法检测,但对急诊快速检测,POCT 法有他先天的优势,肖华等^[8]指出采用 POCT 法检测 CK-MB 有冠心病诊断中的敏感度为 90.5%,特异度为 100%。但高敏感度和特异度前提是在良好的质量管

理下才有意义。POCT 的质量管理是现时临床开展遇到的最大问题,张明明和郑佐娅^[9]指出在一项 POCT 模拟实验中,在采血点被污染的情况下,只有 5.4% 的护士意识到问题并正确地解读了结果。因此,必须有计划地对操作人员进行必要的培训,制定操作规程和定期进行质量控制,并对反馈的数据进行统计处理,评价各 POCT 测试系统的可靠性及稳定性等内部质量管理工作要有计划地落实推行。

综上所述,美国 Biosite Biagnostics 公司生产的 Triage Metet 荧光免疫干式快速定量诊断仪检测 CK-MB 的精密度良好,符合实验室要求,参比方法测定的结果具可比性,在确保落实质量管理的前提下可为心肌梗患者提供准确、稳定、可靠的检测数据。

参考文献

- [1] 徐建新,李福刚. POCT 对传统医疗模式带来的新机遇[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(12):1329-1331.
- [2] 杨筑,刘秀菊,周道民. 急性心肌梗死心肌标志物及其床旁检测技术[J]. 国际检验医学杂志,2008,29(6):520-521,524.
- [3] 顾权,金旭,张立晶,等. cTnI、Mb、CK-MB 在急性心肌梗死早期诊断中的价值[J]. 中国现代医生,2007,45(7):8-25.
- [4] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 上海:上海科学技术出版社,2003.
- [5] 黄静沁,左玫,李智,等. POCT 法与 Roche 电化学发光法检测心肌标志物的比较[J]. 检验医学,2010,25(9):734-736.
- [6] Joris RD, Annick MDM, Mare LDB. Comparison and analysis the quality concentration and the activation concentration of CK-MB in the AMI[J]. Am Coll Cardiol,2000,35(19):1342-1350.
- [7] 董矜,董振南,田亚平. 肌酸激酶同工酶质量与活性测定在心血管疾病中的应用[J]. 军医进修学院学报,2005,26(5):354-355.
- [8] 肖华,洪长江,邱健,等. 床旁检验在急性冠脉综合征患者中的应用[J]. 实用医学杂志,2010,26(23):4327-4329.
- [9] 张明明,郑佐娅. POCT 的研究进展及应用[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(11):1021-1022,1025.

(收稿日期:2012-12-17)

(上接第 1208 页)

- cobalt binding and ischemia modified albumin generation: an endogenous response to ischemia[J]. Int J Cardiol,2006,108(3):410-411.
- [19] Bar-Or D, Curtis G, Rao N, et al. Characterization of the Co(2+) and Ni(2+) binding amino-acid residues of the N-terminus of human albumin: An insight into the mechanism of a new assay for myocardial ischemia[J]. Eur J Biochem,2001,268(1):42-47.
 - [20] Bar-Or D, Rael LT, Bar-Or R, et al. The cobalt-albumin binding assay: insights into its mode of action[J]. Clin Chim Acta,2008,387(1/2):120-127.
 - [21] Marx G, Chevion M. Site-specific modification of albumin by free radicals. Reaction with copper(II) and ascorbate[J]. Biochem J,1986,236(2):397-400.
 - [22] Gidenne S, Ceppa F, Fontan E, et al. Analytical performance of the Albumin Cobalt Binding (ACB) test on the Cobas MIRA Plus analyzer[J]. Clin Chem Lab Med,2004,42(4):455-461.
 - [23] Xi L, Taher M, Yin C, et al. Cobalt chloride induces delayed cardiac preconditioning in mice through selective activation of HIF-1 α and AP-1 and iNOS signaling[J]. Am J Physiol Heart Circ

Physiol,2004,287(6):H2369-2375.

- [24] Bar-Or D, Lau E, Winkler JV. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia-a preliminary report[J]. J Emerg Med,2000,19(4):311-315.
- [25] Keating L, Bengner JR, Beetham R, et al. The PRIMA study: presentation ischaemia-modified albumin in the emergency department[J]. Emerg Med J,2006,23(10):764-768.
- [26] Christenson RH, Duh SH, Sanhai WR, et al. Characteristics of an Albumin Cobalt Binding Test for assessment of acute coronary syndrome patients: a multicenter study[J]. Clin Chem,2001,47(3):464-470.
- [27] Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, et al. ACC/AHA 2002 guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction——summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina)[J]. J Am Coll Cardiol,2002,40(7):1366-1374.

(收稿日期:2012-12-28)