

• 质控与标规 •

血清总胆汁酸检测的临床可报告范围建立和评价

朱颖珊

(广东省人民医院/广东省医学科学院惠福分院检验科, 广东广州 510000)

摘要:目的 探讨应用四川迈克试剂在 Beckman LX20 生化仪上检测血清总胆汁酸(TBA)功能灵敏度(FS)、最大允许稀释度(MAD)、分析测量范围(AMR)和临床可报告范围(CRR),为临床提供可靠的检测结果。方法 参照 CLSI(EP6-A)文件,选用覆盖厂家声明 AMR 的高、低值患者混合标本配制系列等间距不同浓度样本进行 TBA 重复测定 2 次,对所得数据利用 SPSS19.0 软件进行多项式回归分析 AMR;直接选用 5 份较低浓度患者标本进行日间重复测定 TBA,以相应的变异系数与检测均值关系确定 FS;选用 3 份高浓度 TBA 标本用生理盐水进行不同倍数稀释后测定,计算回收率,在 90%~110%内确定 MAD,并结合 FS 确定 CRR。结果 TBA 检测的 AMR 为 2.70~104.70 mmol/L;FS 为 2.26 mmol/L;最大允许稀释度为 1:3;CRR 为 2.26~314.10 mmol/L。结论 应用四川迈克试剂在 Beckman LX20 生化仪上进行血清 TBA 检测的 AMR 比厂家声明的宽;用生理盐水作为介质稀释患者标本的 MAD 比较小;所建立的 CRR 还可满足临床常规需要。

关键词:总胆汁酸; 临床可报告范围; 评价研究

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.18.047 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2013)18-2450-02

国际标准化组织颁布的《医学实验室质量和能力的专项要求》(ISO15189)和中国《医疗机构临床实验室管理办法》要求对自建系统方法学性能需进行验证达到相应标准后才能用于临床。验证实验有:准确度、精密度、灵敏度、分析特异性、可报告范围、最大稀释度等^[1]。本研究的总胆汁酸检测是一种自建系统;参照美国临床实验室标准化协会(CLSI)EP6-A 文件^[2]对该系统功能灵敏度、分析测量范围、最大允许稀释度和临床可报告范围进行探讨。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 美国贝克曼 Beckman LX20 全自动生化分析仪;四川迈克公司生产的总胆汁酸生化试剂(试剂盒批号:0512161);英国 Randox 公司生产的质控品(批号:667UN);一系列经校准的 Thermo 高精度移液枪。

1.2 实验操作及标本要求 严格遵守各项试验标准操作规程。严格按仪器操作说明书进行操作、维护保养和校准,确保仪器处于良好状态。使用四川迈克生化试剂配合 Beckman LX20 全自动生化分析仪经过校准并质控在控的。根据试剂说明书,实验所用患者标本均来自广东省人民医院惠福分院;标本要求新鲜、所含胆红素小于 855 μmol/L、无脂浊和无溶血。

1.3 AMR 实验 参照 CLSI EP-6 文件,收集足够量高值患者血清混合标本,要求超过厂家线性范围 20%~30%,离心后取上清液作为高值标本(H);以同样方法收集低值标本(L)。将标本 H 和 L 按 40L+0H,39L+1H,38L+2H,36L+4H,32L+8H,24L+16H,20L+20H,16L+24H,8L+32H,4L+36H,2L+38H,1L+39H,0L+40H 混合配制得到 13 个试验样本(A1~A13)。对每个样本重复测定 2 次。记录检测结果。各种操作当天内完成。应用 SPSS19.0 统计软件进行重复性误差和多项式回归分析。设定实验重复性和线性允许误差分别为 5%和 10%。

1.4 FS 试验 收集 5 个足够量的分别标记为 B1、B2、B3、B4、B5 的低浓度患者标本(接近厂家声明 AMR 下限),然后分装,-21℃保存;每天 1 批,每批重复测定 2 次,连续 10 d。FS 是指日间重复 CV 为 20%时对应检验限样品具有的平均浓度。

应用 SPSS19.0 统计软件计算每个标本的检测均值、标准差和变异系数,并以变异系数为 X 轴和检测均值为 Y 轴进行多项式回归分析,根据最适回归方程来确定 FS。

1.5 MAD 及 CRR 试验 收集 3 个高浓度患者标本(C1、C2、C3 浓度分别为 42.5、84.2、100.8 mmol/L),用生理盐水分别进行 2~5 倍稀释,然后进行检测。记录稀释后实测值。计算稀释回收率,以回收率在 90%~110%范围内确定 MAD。CRR 是指患者标本经稀释、浓缩或其他处理后,向临床所能报告的结果范围。CRR 的下限为 FS,它的上限是 AMR 上限乘以 MAD。

2 结果

2.1 AMR 试验结果 在 A1~A13 中 A1 的重复性差,舍掉后分析得随机误差 CV_r=2.87%,小于 5%的设定目标。以加入 H 相对量为 X 与实测均值为 Y 作多项式回归分析得最适多项式为二次,在偏倚分析中 A2、A3 点超过设定的 10%允许偏差。经绘制散点图,见图 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。观察到 A13 点存在较明显偏差后舍掉该点在 A2 至 A12 点再作回归修正分析得直接判断为线性,最适为一次多项式 Y=2.688X+1.340,确定 AMR 为 2.70~104.70 mmol/L。见表 1~4。

表 1 13 个不同浓度试验样本 A1~A13 检测结果(mmol/L)

试验样本编号 i	测量结果 1	测量结果 2	测量均值	差值
A1(40L+0H)	1.2	0.5	0.85	0.7
A2(39L+1H)	2.6	2.8	2.7	-0.2
A3(38L+2H)	6.7	6.1	6.4	0.6
A4(36L+4H)	12.4	13.1	12.75	-0.7
A5(32L+8H)	22.9	23.9	23.4	-1.0
A6(24L+16H)	44.9	44.8	44.85	0.1
A7(20L+20H)	54.8	55.6	55.2	-0.8
A8(16L+24H)	66.5	65.7	66.1	0.8
A9(8L+32H)	88.1	87.1	87.8	1.0
A10(4L+36H)	99.4	98.6	99.0	0.8
A11(2L+38H)	102.7	103.9	103.3	-1.2
A12(1L+39H)	104.3	105.1	104.7	-0.8
A13(0L+40H)	105.6	105.0	105.3	0.6

表 2 A2~A13 样本检测数据多项式线性回归分析结果

阶别	系数符号	系数值	系数 SE	<i>t</i>	<i>P</i>	回归标准误
1	b0	1.595	0.656	2.431	0.035	—
1	b1	2.663	0.025	106.091	0.000	1.272
2	b0	0.496	0.717	0.693	0.506	—
2	b1	2.875	0.093	31.030	0.000	—
2	b2	−0.005	0.002	−2.354	0.043	1.055
3	b0	1.063	0.938	1.133	0.290	—
3	b1	2.642	0.265	9.988	0.000	—
3	b2	0.010	0.016	0.617	0.555	—
3	b3	0.000	0.000	−0.944	0.290	1.061

—:无数据。

表 3 A2~A13 样本检测数据多项式线性回归分析
线性偏离结果 (mmol/L)

测量均值	二次多项式 预期值(2nd)	一次多项式 预期值(1st)	2nd −1st	线性偏离(%)
2.7	3.336	4.258	−0.892	−20.95
6.4	6.226	6.921	−0.695	−10.04
12.75	11.916	12.247	−0.331	−2.70
23.4	24.275	22.899	1.376	6.01
44.85	45.216	44.203	1.013	2.29
55.2	55.996	54.855	1.141	2.08
66.1	66.616	65.507	1.109	1.69
87.8	87.376	86.811	0.565	0.65
99.0	97.516	97.463	0.053	0.05
103.3	102.256	102.789	−0.533	−0.52
104.7	105.016	105.452	−0.436	−0.43
105.3	107.496	108.115	−0.619	−0.57

表 4 多项式回归修正分析结果

阶别	系数符号	系数值	系数 SE	<i>t</i>	<i>P</i>	回归标准误
1	b0	1.340	0.431	3.122	0.012	—
1	b1	2.688	0.018	152.975	0.000	0.825
2	b0	0.709	0.491	1.446	0.186	—
2	b1	2.815	0.065	43.039	0.000	—
2	b2	−0.003	0.002	−1.985	0.082	0.716
3	b0	0.672	0.690	0.975	0.362	—
3	b1	2.830	0.201	14.049	0.000	—
3	b2	−0.004	0.013	−0.332	0.750	—
3	b3	7.713E−5	0.000	0.082	0.937	0.765

—:无数据。

2.2 FS 试验结果 将 B1~B5 样本重复检测的变异系数 CV%与实测均值作回归分析得最适曲线方程为 $Y = -0.079X + 3.841$ 。将 20%代入该方程计算得功能灵敏度 FS 为 2.26 mmol/L。见表 5。

表 5 5 个低浓度患者标本 B1~B5 重复检测结果

样品	实测均值(mmol/L)	<i>s</i>	变异系数(CV%)
B1	0.75	0.3028	40.37
B2	1.62	0.4366	26.95
B3	2.28	0.4022	17.64
B4	2.83	0.2869	10.14
B5	3.60	0.2582	7.17

2.3 MAD 及 CRR 实验结果 3 份高浓度样本用生理盐水作 1:3 倍数稀释时其稀释回收率在设定的 90%~110%范围内,因此确定 MAD 为 1:3,见表 6。结合上述试验所得 FS 2.26 mmol/L、AMR 上限是 104.70 mmol/L、MAD 为 1:3,确定该检测系统 CRR 为 2.26~314.10 mmol/L。

表 6 3 个高浓度标本 C1~C3 稀释回收率试验结果

浓度 (mmol/L)	稀释倍数	稀释后实测值 (mmol/L)	稀释后预期值 (mmol/L)	稀释回收率 (%)
42.50	1:2	22.3	21.25	104.94
	1:3	15.5	14.17	109.39
	1:4	11.9	10.63	111.94
	1:5	9.8	8.50	115.29
84.20	1:2	43.6	42.10	103.56
	1:3	30.4	28.07	108.30
	1:4	24.2	21.05	114.96
	1:5	20.0	16.84	118.76
100.80	1:2	51.2	50.4	101.59
	1:3	34.9	33.6	103.87
	1:4	27.4	25.2	108.73
	1:5	22.6	20.16	112.10

3 讨 论

目前关于参考 CLSI-EP 文件在使用四川迈克试剂配合贝克曼生化仪进行血清 TBA 检测的自建系统分析性能验证和评价方面的报道比较少见,特别是临床可报告范围的分析。该性能是决定广大检验工作者最终能否向临床发出可靠检验报告的重要指标之一。

在 FS 的探讨时直接采用一系列低浓度患者标本进行日间重复性检测,比起采用系列稀释的低浓度样品进行 FS 试验的方法可避免由于稀释可能带来的各种误差^[3]。FS 是分析系统向临床定量报告分析物的最低浓度的限值。本次试验确定功能灵敏度为 2.26 mmol/L,说明在日常检测中向临床报告时最低浓度不能低于此值,否则,所发出的检验报告就不可靠。

在 AMR 建立的研究中,采用的 13 个等间距不同浓度样本,其浓度覆盖了厂家声明的 AMR(0.8~85.0 mmol/L)。实验所得数据中 A1 浓度点重复测定的不精密度很不理想(两次重复测定数分别为 1.2、0.5 mmol/L),这可能由于 A1 浓度完全超出该自建系统分析检测范围。结合 TBA 高浓度才有临床意义,故将舍掉 A1 点后不精密度符合要求。进行多项式回归分析得二次回归多项式系数 $b_2(t = -2.354, P < 0.05)$,差异有统计学意义,三次回归多项式系数 $b_2(t =$ (下转第 2489 页)

的。循证检验医学的临床实践提供了科学、有效的检测流程,体现了检验分析前、中、后三个阶段的全程质量控制的重要性,更能尽快使实习学生懂得临床疾病诊断,认识疾病发生发展阶段与临床检验结果的关系。

在转组实习的开始日,带教老师应首先强调各专业组操作须按照《全国临床检验操作规程》及各专业组的“循证检验医学标准”,医学检验流程即是全程质量控制;并介绍该专业组操作的工作流程。在对结果进行审核时,老师须与学生面对面、即时分析每一份检验结果的可信度,结合标本采集情况、标本状况、临床诊断、用药等进行分析,最终做出科学的决策—分析检测结果能否发出。例如临床上常遇到的血小板假性增高的问题,应教会学生如何看血小板直方图,并涂片染色,用显微镜观察血小板、红细胞的形态,若血小板直方图没有与横坐标重叠,平均红细胞体积降低,镜下红细胞体积小,则考虑血小板的增高是因为小红细胞干扰所致。若镜下见许多红细胞破碎,则认为溶血性疾病引起血小板的假性增高的可能性较大。老师按照循证检验医学的方法与学生一起讨论分析,发挥学生的思维能力,让学生尽快掌握检验结果对疾病诊断的有效性,并使其认识到检验质量的重要性。

总之,临床医学学生的实验诊断学教学应以临床应用为目的,以临床整体思维能力的培养为核心,教会学生通过对各种实验结果的理解、综合、分析,来判断疾病的分期、疗效及预后,重在提高学生的实际应用能力。另外,随着现代科技的发展,新的检验技术、检验方法和检验项目将不断地涌现,现有的学习知识是不可能完全满足学生毕业后长期的临床工作需要的。因此,在教学上不要追求内容的“多”和“全”,而应该探索新的教学模式,以学生为中心,进行启发式授课,鼓励学生自由思

考、自主发现,在解决问题中学习知识^[10]。“授人以鱼,不如授之以渔”,一个好的教师和教学方法,不但要给学生以知识,还要教会学生自学的方法;只要有改革的决心和行动,并积极探索实践,更好地促进实验诊断学的发展,一定能培养出研究型、创新型的临床医学和检验医学的复合型人才。

参考文献

- [1] 王鸿利. 实验诊断学[M]. 北京:人民卫生出版社 2005:1.
- [2] 张继瑜,郑磊,王前,等. PBL 教学模式在实验诊断学教学中的应用与思考[J]. 检验医学教育,2008,15(4):4.
- [3] 赵艳艳,武俊松. 实验诊断学教学方法改革初探[J]. 河南教育:高校版,2011,7(2):42-43.
- [4] 李小宁. 浅谈实验诊断学的教学改革[J]. 教育与教学研究,2011,10(1):86.
- [5] 周芸,王斌全,郭佳,等. 实验诊断学 PBL 教学的实践与探索[J]. 中国实验诊断学,2009,13(8):1110.
- [6] 潘世秀,胡丽华,崔天益,等. PBL 在实验诊断教学中的应用[J]. 医学与社会,2006,19(5):49.
- [7] 李幼平,刘鸣. 循证医学-21 世纪的临床医学[J]. 实用医学杂志,2000,16(7):517.
- [8] 梁艳,王皓,杨再兴,等. 开设循证检验医学课程在实验诊断学教学中的作用探索[J]. 中国实验诊断学,2009,13(3):419.
- [9] 范颖,孟秀香,韩记红,等. 医学留学生《实验诊断学》实验教学方法探讨与展望[J]. 医学教育探索,2010,9(2):242.
- [10] 朱敏,宋先东,王汝良,等. 关于循证医学在影像教学中的几点思考[J]. 牡丹江医学院学报,2010,31(4):102.

(收稿日期:2013-01-08)

(上接第 2451 页)

0.617, $P > 0.05$)与 $b_3(t = -0.944, P > 0.05)$, 差异无统计意义,最适多项式为二次方程,在 2.70~105.3 mmol/L 内呈非线性。在线性偏倚分析中, A2、A3 点偏倚超过设定的允许偏差,其引入的误差不能被接受,必须进行回归修正。经绘制散点图(图 1)并观察到 A13 点存在较明显的线性偏倚,经去掉 A13 点后重新修正,得最适为一次方程 $Y = 2.688X + 1.340$, 直接判断在 A2-A12 内呈线性,建立该检测系统 AMR 为 2.70~104.70 mmol/L,比李顺康等^[4]报道的线性可达 150 mmol/L 要窄,这可能与使用的仪器、评价方法不同有关。虽然所建立的 AMR 比试剂厂家声明的要宽,但在实际检测中还是存在着相当多的超出 104.70 mmol/L 的标本,还需进行适当倍数稀释后处理。这就涉及到稀释介质和最大允许稀释度问题。参照试剂说明书,采用生理盐水对 3 个高浓度标本进行稀释探讨 MAD。在对标本进行 1:3 倍稀释时回收率在设定的 90%~110%内,1:4 倍稀释时回收率在 85%~115%内,且随着稀释倍数增大其所得回收率也增大,与朱爱萍等^[5]报道的“在 1:5 倍以内与原倍血清测定结果的差异没统计意义且随稀释倍数增大其所得回收率逐渐降低”有很大区别,估计是与采用不同的试剂、质量管理目标、实验室条件有关。所确定的 MAD 1:3 比较小,这可能由于基质效应引起,在日常操作时

应注意。故,最后所建立的 CRR2.26~314.10 mmol/L 不是很宽,还可满足临床常规需要。

通过本次研究充分了解了该自建检测系统分析测量范围和临床可报告范围等相关分析性能,给在日常实际检测工作中确保该项目检测的准确性提供指导意义。

参考文献

- [1] 毕波,吕元. 定量检测方法性能验证的系统设计[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(2):143-145.
- [2] National Committee of Clinical Laboratory Standard. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures; A Statistical Approach. Approved guideline NCCLS document EP6-A[S]. Wayne, Pennsylvania: NCCLS,2003.
- [3] 陈鸿斌,罗恒,李炜焯. 奥林巴斯 AU5400 全自动生化分析仪检测尿素氮临床可报告范围的建立与评价[J]. 实验与检验医学,2009,29(2):117-120.
- [4] 李顺康,钟方才,朱俊,等. Thio-NADH 酶法检测血清总胆汁酸的方法评价[J]. 医药前沿,2011,11(1):58.
- [5] 朱爱萍,吕秀英,郭书云. 不同介质对 15 个生化项目测定的影响[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(3):214-216.

(收稿日期:2013-06-10)