

• 基础实验研究论著 •

以参考方法实验室网络赋值的人血清为校准品
改善酶学结果可比性的研究^{*}童 清^{1,2}, 陈宝荣³, 王清涛^{1,2△}(1. 首都医科大学附属北京朝阳医院, 北京 100020; 2. 北京市临床检验中心, 北京 100020;
3. 北京航天总医院, 北京 100076)

摘要:目的 应用参考方法实验室网络赋值的人源新鲜冰冻血清作为校准品, 改善不同检测系统间酶学检测结果的可比性。方法 由国内 6 家实验室组成的酶学参考方法实验室网络使用国际临床化学和检验医学联合会(IFCC)推荐的磷酸肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)参考测量程序为新鲜冰冻混合人血清赋值。再用此赋值血清(B Cal)校准常规检测系统。各实验室在 B Cal 校准前、后, 重复检测 B Cal、水平 1 患者样本(S1)和水平 2 患者样本(S2)2 次, 记录并收集实验数据。结果 使用 B Cal 测得各检测系统的偏移, CK 项目, 69 家实验室的 62.3% 的偏移小于或等于 5%; 95.7% 的实验室的偏移小于或等于 10%。LDH 项目, 68 家实验室的 52.9% 的偏移小于或等于 5%; 92.6% 的实验室的偏移小于或等于 10%。B cal 校准后, 2 个水平患者样本 CK 项目系统间 CV 从 5.15% 和 5.98% 下降至 1.93% 和 1.81%; LDH 项目系统间 CV 从 5.86% 和 5.50% 下降至 3.39% 和 3.53%。依医院级别分别统计的数据显示: 校准后, 三级、二级医院 CK、LDH 的室间 CV 均有明显降低, 且两者无明显差异。两组均值也较校准前更趋接近。少数封闭的检测系统 B Cal 检测结果显示: CK、LDH 各系统的偏移分别为 -7.0%~8.8% 和 -21.9%~12.7%, 系统间 CV 分别为 5.18% 和 11.30%。结论 应用参考方法实验室网络赋值的新鲜冰冻人源血清做校准品, 可在相当程度上改善酶学检验结果的可比性, 并确保结果溯源至参考方法。对于少数不适用的封闭系统, 应制定相应的正确度判定标准, 并敦促生产厂家予以改进。

关键词:血清酶; 校准; 溯源

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.04.002

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)04-0386-04

Reference laboratories network assigned fresh human serum value improves the
comparability of enzymology results among laboratories^{*}Tong Qing^{1,2}, Chen Baorong³, Wang Qingtao^{1,2△}

(1. Beijing Chaoyang Hospital Affiliated to Capital University of Medical Sciences, Beijing 100020, China; 2. Beijing Center for Clinical Laboratories, Beijing 100020, China; 3. Beijing Aerospace General Hospital, Beijing 100076, China)

Abstract: Objective Using the frozen human-pooled serum samples assigned by the reference measurement laboratories network as calibrator, to improve the comparability of enzymology results. **Methods** References were obtained using laboratories network consisting of 6 domestic reference laboratories according to the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) reference measurement procedures of creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH). Then assigned serum and two levels of patient samples were detected by laboratory's measurement systems before and after calibration, respectively. **Results** There were 62.3% laboratories biases are less than 5% and 95.7% less than 10% for CK. As for HDL, 52.9% laboratories biases were less than 5% and 92.6% are less than 10%. After calibration, the interlaboratory coefficients of variation (CVs) of two patient samples were decreased from 5.15% to 1.93%, 5.98% to 1.81% for CK and from 5.86% to 3.39%, 5.50% to 3.53% for LDH. After calibration, the CVs of tertiary and secondary hospital for CK and LDH were significantly reduced, and there were no significant difference between them. **Conclusion** Using the frozen serum samples assigned by the reference measurement laboratories network as calibrator, may improve considerably the comparability of enzyme results and ensuring their traceability to reference procedures.

Key words: serum enzymes; calibration; traceability

不同检测系统和不同实验室间酶学检验结果的差异已受到人们的注意^[1-3]。由此, 实现人血清样本检测结果的可比性, 不依赖于所使用的分析方法和仪器成为目前酶学测定标准化的主要任务。要实现这一目标, 基于计量学溯源性和参考测量程序等级概念提出的“参考系统”的方法已为国际共识^[4-5]。酶学参考系统得以应用的前提是传递正确性至常规方法的参考

物质具有互通性。当适于直接校准常规方法的参考物质缺乏时, 使用参考测量程序赋值的天然人血清作为二级参考物质是建立溯源性的唯一可能的替代方法^[6]。因此, 北京市临床检验中心启动了酶学参考测量体系的建立工作, 应用酶学参考方法实验室网络为人源新鲜冰冻血清赋值, 拟以此赋值血清作为媒介, 将正确性从参考方法传递至常规方法。2013 年 1 月至 3

^{*} 基金项目: 国家高技术研究发展计划(“863 计划”)重大项目(2011AA02A116)。 作者简介: 童清, 女, 副主任技师, 主要从事临床检验质量控制与标准化工作。△ 通讯作者, E-mail: wqt36@163.com。

月,北京市临床检验中心进行了北京市二、三级医疗机构共计八十余家常规实验室肌酸激酶(CK)和乳酸脱氢酶(LDH)量值传递的实验研究,以期通过此方式改善酶学检测结果的可比性。

1 材料与方法

1.1 材料 (1)定值血清校准品(B Cal):由首都医科大学附属北京朝阳医院、北京航天总医院、首都医科大学附属北京世纪坛医院、北京协和医院、北京利德曼生化股份有限公司、四川迈克生物科技股份有限公司 6 家实验室组成酶学参考方法实验室网络。6 家实验室均建立了国际临床化学和检验医学联合会(IFCC)酶学参考测量程序,并参加了 IFCC 组织的国际参考实验室室间质评计划(RELA)和国内参考实验室室间比对计划,并达到其要求。按血清样本收集与制备程序收集新鲜混合的患者血清,经过滤分装于 1.0 mL 离心管中,−80 ℃ 以下冰冻保存。由 6 家酶学参考方法实验室使用 IFCC 推荐的 CK、LDH 参考测量程序赋值。各实验室按照统一的赋值程序进行,即 2 天内对每种酶进行 4 个批次的测量,每个批次测量 3 次,共计测量 12 次,以 12 次测量结果的均值作为该室的血清定值,再以 6 家酶学参考方法实验室 CK、LDH 测定结果的均值(剔除均值±3.5%均值之外的结果)为血清样本的定值,将此定值血清作为常规检测系统的校准品。(2)2 个浓度水平患者样本:患者样本为北京市临床检验中心于 2011 年 9 月至 11 月收集的中国医学科学院阜外心血管病医院患者血清样本,经过滤、混合制备成 2 个不同浓度水平的样本,水平 1 患者样本(S1)CK 浓度接近 2 倍临界值水平;水平 2 患者样本(S2)CK 浓度接近 3 倍临界值水平。样本分装于 1.0 mL 离心管中,−80 ℃ 以下冰冻保存。(3)原系统校准品(Cal):各调查实验室当前常规检测系统上所使用的厂家校准品。

1.2 仪器 北京地区 81 家二级以上医疗机构(二级 34 家,三级 47 家)实验室常规检测系统。

1.3 方法

1.3.1 样本复融 实验当日,北京市临床检验中心组织分发样本,实验操作人员按统一要求处理样本。实验样本用 18~20 ℃ 水浴 30 min 融化,待完全溶解后轻轻颠倒 5 次混匀,避免产生气泡。再静置 5 min 后使用。溶解样本一直放于 18~20 ℃ 的水浴中待测,并要求于溶解 4 h 内测量完毕。

1.3.2 实验步骤 (1)使用 Cal 进行 CK、LDH 的项目校准或校准验证,确保仪器在校准状态;在质控在控的条件下,分别测定 B Cal、S1、S2 及 Cal,每份样本重复测定 2 次,记录检测结果。(2)对于开放的检测系统,实验室再用 B Cal 进行校准,校准后同样检测上述样本,记录检测结果。

1.3.3 结果汇总 北京市临床检验中心汇总实验结果及各实验室检测系统信息,并进行统计分析。

1.4 统计学处理 使用 Microsoft Office Excel 2007 软件进行数据的统计处理。

2 结果

2.1 酶学参考方法实验室网络血清赋值结果 以 6 家酶学参考方法实验室 CK、LDH 测定结果均值为人混合血清样本的定值,样本定值及统计结果见表 1。

2.2 原系统检测定值血清 CK、LDH 检测结果与血清定值的偏移 见表 2、3。CK 项目,69 家实验室的 62.3%的偏移小于或等于 5%;95.7%的实验室的偏移小于或等于 10%。二级、三级医院的偏移无明显差别。而 LDH 项目,68 家实验室的 52.9%的偏移小于或等于 5%;92.6%的实验室的偏移小于或等于 10%。三级医院的偏移略小于二级医院。

表 1 参考方法实验室网络人混合血清样本酶项目定值及统计结果

项目	n	定值($\bar{x} \pm s$, U/L)	CV(%)
CK	6	370.90±4.48	1.21
LDH	5	309.70±1.78	0.58

表 2 原系统定值血清 CK 检测结果与定值的偏移

项目	偏移(二级医院)			偏移(三级医院)			总体偏移		
	≤±5%	≤±10%	>±10%	≤±5%	≤±10%	>±10%	≤±5%	≤±10%	>±10%
实验室数(n)	21	27	2	22	39	1	43	66	3
百分比(%)	72.4	93.1	6.9	55.0	97.5	2.5	62.3	95.7	4.3
偏移范围(%)	−8.0~17.2			−7.7~15.2			−8.0~17.2		

表 3 原系统定值血清 LDH 检测结果与定值的偏移

项目	偏移(二级医院)			偏移(三级医院)			总体偏移		
	≤±5%	≤±10%	>±10%	≤±5%	≤±10%	>±10%	≤±5%	≤±10%	>±10%
实验室数(n)	11	24	4	25	39	1	36	63	5
百分比(%)	39.3	85.7	14.3	62.5	97.5	2.5	52.9	92.6	7.4
偏移范围(%)	−17.3~21.6			−10.6~7.5			−17.3~21.6		

2.3 B Cal 校准前、后,患者样本 S1、S2 室间精密度统计结果见表 4。依医院等级分别统计的 CK、LDH 室间精密度统计结果见表 5、6。B Cal 校准后,CK 项目,患者样本 S1、S2 室间 CV 分别从 5.15%和 5.98%下降至 1.93%和 1.81%;LDH 项目,室间 CV 分别从 5.86%和 5.50%下降至 3.39%和 3.53%。依

医院级别分别统计的数据显示:校准前,LDH 项目,三级医院患者样本 S1、S2 的室间 CV 均略小于二级医院,但校准后,CK、LDH 的室间 CV 均有明显降低,且两者无明显差异。两组均值也较校准前更趋接近。

表 4 B Cal 校准前、后,患者样本 S1、S2 室间精密度统计结果

项目	CK(S1)		CK(S2)		LDH(S1)		LDH(S1)	
	校准前	校准后	校准前	校准后	校准前	校准后	校准前	校准后
样本例数(<i>n</i>)	69	69	69	69	69	69	69	69
$\bar{x}$ (U/L)	386.1	378.8	681.7	669.9	252.9	253.2	444.4	445.7
<i>s</i> (U/L)	19.89	7.32	40.75	12.1	14.83	8.58	24.46	15.74
CV(%)	5.15	1.93	5.98	1.81	5.86	3.39	5.50	3.53
最大值(U/L)	448.0	401.0	783.7	709.0	289.9	274.1	525.6	484.3
最小值(U/L)	346.6	353.0	604.4	637.6	214.0	230.8	388.0	421.0

表 5 定值血清校准前、后,患者样本 CK 室间精密度统计结果

项目	S1(二级医院)		S1(三级医院)		S2(二级医院)		S2(三级医院)	
	校准前	校准后	校准前	校准后	校准前	校准后	校准前	校准后
样本例数(<i>n</i>)	29	29	40	40	28	28	40	40
$\bar{x}$ (U/L)	386.3	379.7	385.9	378.2	679.7	668.5	683.2	670.9
<i>s</i> (U/L)	22.50	7.64	18.06	7.11	41.4	14.60	40.77	9.98
CV(%)	5.82	2.01	4.68	1.88	6.08	2.18	5.97	1.49
最大值(U/L)	448.0	401.0	429.0	397.3	773.7	709.0	783.7	706.1
最小值(U/L)	346.4	364.0	352.9	353.0	604.4	637.6	605.3	654.0

表 6 定值血清校准前、后,患者样本 LDH 室间精密度统计结果

项目	S1(二级医院)		S1(三级医院)		S2(二级医院)		S2(三级医院)	
	校准前	校准后	校准前	校准后	校准前	校准后	校准前	校准后
样本例数(<i>n</i>)	29	29	40	40	28	28	40	40
$\bar{x}$ (U/L)	256.9	252.8	250.1	253.5	451.2	445.9	439.7	445.6
<i>s</i> (U/L)	16.97	7.30	12.62	9.46	29.46	14.96	19.26	16.46
CV(%)	6.60	2.89	5.04	3.73	6.53	3.36	4.38	3.69
最大值(U/L)	289.9	270.0	270.9	274.1	525.6	478.0	478.1	484.3
最小值(U/L)	214.0	244.7	224.0	230.8	388.0	422.9	399.0	421.0

表 7 不适用检测系统 B Cal 检测的统计结果

编号或项目	CK			LDH		
	$\bar{x}$	绝对偏移	相对偏移	$\bar{x}$	绝对偏移	相对偏移
	(U/L)	(%)	(%)	(U/L)	(%)	(%)
1	366.0	-4.9	-1.3	311.0	1.3	0.4
2	396.5	25.6	6.9	349.0	39.3	12.7
3	358.5	-12.4	-3.3	271.5	-38.2	-12.3
4	403.5	32.6	8.8	310.0	0.3	0.1
5	373.5	2.6	0.7	266.5	-43.2	-13.9
6	345.0	-25.9	-7.0	252.0	-57.7	-18.6
7	360.5	-10.4	-2.8	242.0	-67.7	-21.9
8	360.5	-10.4	-2.8	267.5	-42.2	-13.6
9	359.0	-11.9	-3.2	278.5	-31.2	-10.1
10	349.3	-21.6	-5.8	294.5	-15.2	-4.9
$\bar{x}\pm s$ (U/L)	367.2±19.0			284.2±32.1		
CV(%)	5.18			11.30		
最大值(U/L)	403.5			349.5		
最小值(U/L)	345.0			266.5		

2.4 不适用检测系统 B Cal 检测的统计结果见表 7。有 10 台检测系统不适用 B Cal 进行校准,用其直接检测 B Cal 2 次,其均值及偏移见表 7。CK 项目各系统的相对偏移为-7.0%~8.8%,系统间 CV 为 5.18%;LDH 项目的相对偏移为-21.9%~12.7%,系统间 CV 为 11.30%。

3 讨 论

建立酶学参考系统是保证不同实验室间和不同检测系统间检验结果准确且有可比性的基础。在参考系统理论中,酶的测量是一类特殊的分析项目,它属于活性测量,其催化活性的数值依赖于测量的实验条件。因此,定义了特定酶活性测定条件的参考测量程序占据了溯源链的最高水平。除了参考测量程序,该系统也需要参考物质作为媒介,将正确性从参考方法传递到常规方法。临床实验室使用商品方法和经验证的校准品测量患者样本可以得到溯源到参考测量程序的结果。所获得的结果不依赖于所使用的分析系统,最终可以实现酶学检验结果的可比性。

ISO 18153 文件^[7]指出:确保酶催化活性浓度值的计量学

溯源性的要求之一是用于参考测量体系中的酶校准品和质控品具有互通性。长期以来,临床实验室普遍使用厂家的校准品,由于厂家校准品缺乏互通性以及实验室选用校准品的随意性,使酶学结果产生较大差异;在酶学参考系统尚未建立及应用的条件下,甄别检测系统的正确性存在一定困难,消除差异成为难题。

北京市临床检验中心以参考方法实验室网络赋值的新鲜冰冻人血清为互通性校准品,相对目前多数实验室使用的厂家校准品,此赋值血清在溯源链中具有较高的级别。因此,将其直接用于常规检测系统的校准,可减少中间环节,缩短溯源链,减少结果的不确定度,提高正确性。此项研究结果显示:使用赋值血清检出的调查实验室检测系统偏移,CK、LDH 项目,约 1/2 检测系统的偏移小于或等于 5%;1/2 检测系统的偏移小于或等于 10%。三级医院 LDH 项目的偏移略小于二级医院,见表 2、3。用赋值血清校准后,2 个水平患者样本 CK 项目系统间 CV 分别从 5.15% 和 5.98% 下降至 1.93% 和 1.81%;LDH 项目系统间 CV 分别从 5.86% 和 5.50% 降至 3.39% 和 3.53%,见表 4。依医院等级分组的统计结果显示:校准后,三级、二级医院室内精密度均有相当程度的改善,两者 CV 无差异。并且两者的组均值较校准前更趋接近,见表 5、6。因此,使用参考方法实验室网络赋值的新鲜冰冻人血清作校准品,可以在很大程度上改善结果可比性,并使检测结果溯源至参考方法。

赋值血清适用于单点校准模式的开放的检测系统。其他检测系统,如:采用摩尔消光系数进行校准、多点校准模式和封闭的检测系统均不适用。此次调查显示:有少数(10/82)检测系统属此类检测系统。对于不适用的检测系统,本课题组使用了定值血清验证了其系统偏移,CK 项目各系统的偏移为 -7.0%~8.8%,系统间 CV 为 5.18%;LDH 项目的偏移为 -21.9%~12.7%,系统间 CV 达 11.30%。研究结果显示,对于这些不适用定值血清进行校准的检测系统,应进行正确的验证,若系统存在较大的偏移,应予以修正,否则将给结果互认带来困难,这是需要着手解决的关键问题。有关部门应该制

定相应的正确度判定标准,并敦促生产厂家予以改进。

志谢:原卫生部临床检验中心杨振华教授对本项研究的全局指导与悉心帮助;首都医科大学附属北京朝阳医院、北京航天总医院、首都医科大学附属北京世纪坛医院、北京协和医院、北京利德曼生化股份有限公司、四川迈克生物科技股份有限公司的参考方法实验室为本项研究所做的血清赋值工作。

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[J]. Clin Chim Acta, 2006, 368(1/2): 160-167.
- [2] 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: γ -glutamyltransferase catalytic concentration measurements in China[J]. Ann Clin Biochem, 2010, 47(Pt 3): 189-194.
- [3] 陈宝荣, 孙慧颖, 邵燕, 等. 血清 CK 常规方法测量结果的正确性评价与系统偏倚的修正[J]. 中华检验医学杂志, 2011, 34(12): 1078-1080.
- [4] 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.
- [5] Panteghini M. Traceability, reference systems and result comparability[J]. Clin Biochem Rev, 2007, 28(3): 97-104.
- [6] Infusino I, Bonora R, Panteghini M. Traceability in clinical enzymology[J]. Clin Biochem Rev, 2007, 28(4): 155-161.
- [7] International Organization for Standardization. ISO 18153 In vitro diagnostic medical devices: Measurement of quantities in biological sample, metrological traceability of values for catalytic concentration of enzymes assigned to calibrators and control materials[S]. Switzerland: International Organization for Standardization, 2003.

(收稿日期: 2013-10-26)

(上接第 385 页)

决策、不当的疾病预后等临床结果,尤其需要引起重视。因此,当可能存在 HAMA 干扰时,尤其当结果与临床情况不一致时,应当采取以下方法重新检测:使用已商业化的抗体阻断试剂进行处理;加入其他正常的、不发生免疫反应的固相清蛋白或球蛋白;用聚乙二醇(PEG)沉淀免疫球蛋白;换用不同的方法检测;多次稀释以评估稀释的线性关系。此外,还可以采用不同的检测方法来保证高质量的检测结果。同时,还要加强与临床的沟通,判断是否需要采用鼠单克隆抗体进行成像或治疗。

在免疫学检测中,尤其是 ELISA(一步法)检测中,由于待检标本中抗原浓度的显著升高,而导致捕获抗体不足造成检测结果假阴性或假低测定值,这种现象称之为钩状效应。由于 TM 浓度可达到多个数量级,而且任何一种 TM 都可能超过固相抗体结合数量,对于非常严重但是能治愈的疾病(如儿童期肝母细胞瘤和妊娠期滋养层肿瘤),如果不能识别非常高的 TM(AFP 和 HCG),将会导致严重的临床错误。在临床检测

中,AFP、HCG 和 CA125 这 3 个 TM 需要密切关注钩状效应。实验室应依据患者的临床诊断或关注患者的其他实验室检查结果,准备好能鉴定发生钩状效应样本的明确方案,不放过任何异常的检测值或模式。

另外,还需注意的是,在目前不同检验系统结果难以标准化的情况下,应先要求同一检验系统内检测结果的通用。由于目前 TM 不同方法或试剂盒检测结果缺乏可比性,在对患者进行病情评估和治疗监测而需要对 TM 水平进行动态监测的情况下,必须使用相同的检测方法或试剂盒。如需要改变检测方法,则必须先使用新方法检测病人的 TM 的基础水平。此外,对于不同方法或试剂盒 TM 检测结果,也应该使用不同的正常参考区间。如果可能,每个实验室应该制定自己的参考区间,如果没有条件,至少应该对实验室使用方法的参考区间进行验证实验。

(收稿日期: 2013-06-08)