

• 论 著 •

2 种生化分析系统对血清 CK、AST、LDH 检测结果的比对分析和偏倚评估

彭琪彦^{1,2}

(1. 武汉大学基础医学院, 湖北武汉 430000; 2. 荆州市第三人民医院检验科, 湖北荆州 434000)

摘要:目的 探讨血清肌酸激酶(CK)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)3 项指标在 2 种生化分析系统间检验结果的可比性,为实验室 2 种生化分析系统检验结果互认和实验室认可提供依据。方法 取 2 个不同浓度的质控品分别在 2 种生化分析仪进行批内和批间精密度检测,并以厂商注明和该实验室设定的精密度要求为评估标准,再依照美国临床实验室标准化协会(CLSI)的 EP9-A2 文件,分别测定 100 例患者血清 CK、AST、LDH 的含量,计算 2 种方法的相对偏倚(SE%)。然后以美国临床实验室修正法规(CLIA'88)规定的室内质量评价允许总误差范围的 1/2 为临床可接受判断标准,评估两种生化分析系统对 CK、AST、LDH 检测结果的一致性。结果 2 种生化分析系统对 CK、AST、LDH 检测的批内变异系数和批间变异系数均低于厂商注明和该实验室设定的精密度要求,且结果与临床诊断相符,实验结果比对可靠。除 LDH 在低医学决定水平处的 SE%超过了临床可接受判断标准,其余项目均低于可接受限,2 种生化分析系统结果一致。结论 当有 2 个检测系统对同一检验项目进行检测时,应进行比对分析和偏倚评估,以保证检验结果的准确性和可比性。

关键词:可接受性能评价; 比对分析; 偏倚评估

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.14.035

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)14-2031-03

The comparative analysis and bias evaluation on the results of serum CK, AST and LDH between two different kinds of biochemical analysis system

Peng Qiyang^{1,2}

(1. Basic Medical College of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the Third People's Hospital of Jingzhou, Jingzhou, Hubei 434000, China)

Abstract:Objective To discuss the comparability and bias evaluation on the results of serum creatine kinase (CK), aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH) inspection results between the two different kinds of biochemical analysis system. **Methods** The control quality materials with two concentration were detected respectively for degree of precision, and the assessment standard was from manufacturer introductions and laboratory setting. Then in accordance with American Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) document EP9-A2, 100 patients serum CK, AST, LDH were detected. Afterwards the relative bias (SE%) was calculated, and the comparative analysis bias evaluation was judged according to the half of CLIA'88 allowed total error. **Results** The variable coefficients mainly conformed to the requirements, and the experimental results were reliable. The others mainly lower than the acceptable limit besides SE% for LDH higher than it. **Conclusion** It is necessary to execute comparative analysis and bias evaluation to ensure the accuracy and comparability if the same item is detected in two analysis system.

Key words: acceptable performance evaluation; comparative analysis; bias evaluation

近年来,随着医学检验的发展,大多数实验室都引进了多台全自动生化分析仪,以满足临床检验需求。而一台生化分析仪的配备,不仅仅是仪器,而且包括试剂、校准品、质控品、检验流程等,从而形成不同的生化分析系统。而实现同一检测项目在不同检测系统中的结果具有可比性,是实验室也是质量管理的最终目的^[1]。因此,本研究参照美国临床和实验室标准协会(Clinical and Laboratory Institute, CLSI)的 EP9-A2 文件^[2]要求,对本院两种生化分析系统,即西门子 ADVIA2400 和迈瑞 BS-2000M 全自动生化分析仪上血清肌酸激酶(creatinase, CK)、乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)的检验结果进行比对分析和偏倚评估,判断其是否一致,为实现同一检测项目在不同检测系统中的检验结果的可比性提供依据。

1 材料与方法

1.1 样本 每日收本院门诊及住院患者新鲜血清 8 份,不包含严重溶血、乳糜血、黄疸等因素影响的样本,连续收集 5 天,共 40 份样本。其浓度选择,控制在试剂检测的线性范围内,其

中 CK 浓度范围为 5~1 000 U/L, AST 为 4~800 U/L, LDH 为 4~1 000 U/L 浓度分布基本上符合 EP9-A2 文件数据分布建议表的要求,见表 1。若当日无法集齐 10 份满足条件的新鲜样本,则分离出样本血清,于 -20 ℃ 冰箱冷冻保存。

1.2 仪器与试剂 (1) 西门子 ADVIA2400 型全自动生化分析仪; 上海科华试剂(批号 CK20131012, AST 20140542, LDH 20140212); 校准均为因数法校准; 质控品为英国 Randox 非定值质控物 UN1557-02 和 UN1558-02。(2) 迈瑞 BS-2000M 型全自动生化分析仪; 迈瑞原装试剂(批号 CK142514011, AST 140214014, LDH 142714008); 采用迈瑞常规生化复合校准品(批号: 150114007); 质控品为英国 Randox 非定值质控物 UN1557-02 和 UN1558-02。

1.3 方法 采用在精密度实验之后进行方法比对实验的步骤进行。

1.3.1 精密度实验 (1) 批内精密度: 一日内, 将英国 Randox 非定值质控物 UN1557-02(低值)和 UN1558-02(高值)同时在 2 种生化系统上进行 CK、AST、LDH3 种项目的检测, 每种项

目连续重复检测 20 次。(2)批间精密度:将质控物 UN1557-02 和 UN1558-02 同时在 2 种生化系统上进行 CK、AST、LDH3 种项目的检测,每日检测 1 次,共测 20 日。

1.3.2 方法比对实验 因西门子 ADVIA2400 全自动生化分析仪在本实验室使用已有 5 年,属具有溯源性的检测系统,数年来参加卫生部以及湖北省室间质量评价,成绩优秀;而且定期进行仪器校准和维护,检测结果可靠。迈瑞 BS-2000M 全自动生化分析仪新近引入本实验室,其检测性能有待比较,故将西门子 ADVIA2400 全自动生化分析仪作为参比仪器(X),迈瑞 BS-2000M 全自动生化分析仪作为待评仪器(Y),分别在 2 种生化分析系统上检测血清 CK、LDH、AST 这 3 种项目。而这 3 项在 2 种仪器上检测的原理基本相同,分别是 CK 为 N-乙酰半胱氨酸法,LDH 为乳酸法,AST 为紫外-苹果酸脱氢酶法。样本检测前,对 2 种仪器进行每日常规维护保养,保证室内质控在控。每日检测 10 例样本,每例样本分作两份分别在 2 种仪器上检测,样品按 1→10 和 10→1 顺序进行连续测定,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^[2],确保在 2 h 内检测完毕。连续测定 10 天,记录检测结果。

表 1 样本 CK、AST、LDH 浓度分布	
检测项目	所占比例(%)
CK(U/L)	
<87	15
87~174	25
174~348	30
348~870	20
870~1 000	10
AST(U/L)	
<20	20
20~40	30
40~80	30
80~160	10
160~800	10
LDH(U/L)	
<122.5	15
122.5~245	25
245~490	30
490~1 000	30

1.3.3 数据处理

1.3.3.1 精密度评价 分别计算 2 种生化分析仪 3 个项目低值和高值的均值、标准差以及变异系数(coefficient of variance, CV),CV_{批内}和 CV_{批间}都应小于厂商声明和本实验室规定的精密度要求(CK<5%,LDH<5%,AST<8%)为评价标准^[3]。

1.3.3.2 方法比对实验评价 (1)离群值检查:按照 EP9-A2 文件要求进行离群值检查。(2)参比方法(X)合适范围的检验:如 $r \geq 0.975$ (或 $r^2 \geq 0.95$),则可认为 X 值取值范围合适,可用直线回归来估计斜率和截距。(3)计算线性回归方程:待评方法 $Y = bX + a$;(4)计算系统误差和相对偏倚:采用线性回归法计算偏倚。将 CK、AST、LDH 3 个项目的医学决定水平浓度 X_c ^[4]分别带入线性回归方程 $Y = bX + a$ 。待评方法(Y)与参比方法(X)之间的系统误差(SE)和相对偏倚(SE%)分别为: $SE = Y_c - X_c$, $SE\% = SE / X_c \times 100\%$ 。以 CLIA'88 对室间质量评价允许总误差为判断依据,由 SE%不大于允许总误差的 1/2 为临床可接受水平^[5]。

2 结 果

2.1 2 种生化分析系统的精密度实验结果评价 2 种生化分

析系统的 CK、LDH、AST 的批内和批间精密度均符合临床要求,见表 2。

2.2 离群值检查 检测结果显示 CK、LDH、AST 3 项分别在 2 种生化分析系统上双份测定结果无离群数据。同一标本在两种生化分析系统间检测也无离群数据。

2.3 2 种生化分析系统检测结果的相关回归分析 由表 3 可以看出,CK、AST、LDH 在 BS-2000M 与 ADVIA2400 生化分析系统间的相关系数 $r > 0.975$,可认为 X 值取值范围合适,回归分析的斜率和截距可靠。

表 2 2 种生化分析系统的精密度测定结果(%)							
项目名称		ADVIA2400		BS2000M		厂商声明	本室规定
		低值	高值	低值	高值		
CK	CV _{批内}	1.82	1.85	1.38	1.41	5.00	3.00
	CV _{批间}	2.82	1.45	1.59	1.77		
AST	CV _{批内}	3.15	3.33	2.42	2.6	8.00	3.50
	CV _{批间}	2.29	3.21	2.88	1.82		
LDH	CV _{批内}	1.43	1.56	1.62	1.81	5.00	3.00
	CV _{批间}	1.93	1.67	1.84	2.01		

表 3 CK、LDH、AST 在 BS-2000M 生化分析仪上的相关系数及回归方程		
检验项目	相关系数 r	回归方程
CK	0.999 8	$Y = 0.908\ 2X + 1.873\ 5$
AST	0.995 2	$Y = 1.055\ 4X - 2.523\ 0$
LDH	0.989 4	$Y = 0.981\ 4X - 13.66$

2.4 2 种生化分析系统间的偏倚评估 以 ADVIA2400 为参比方法,CK、LDH、AST 在迈瑞 BS-2000M 生化分析系统上在给定的医学决定水平 X_c 上的系统误差 SE 和相对偏倚 SE% 计算结果,见表 4。

表 4 2 种生化分析系统间的系统误差及偏倚评估				
检测项目	X_c	SE	SE%	可接受限(%)
CK(U/L)	100	7.31	7.30	15.0
		240	20.16	8.4
		1 800	163.37	9.1
AST(U/L)	20	1.42	7.10	10.0
		60	0.80	1.3
		300	14.10	4.7
LDH(U/L)	170	17.82	10.50*	10.0
		300	20.24	6.7
		500	23.96	4.8

*:为超出 1/2 CLIA'88 允许总误差,临床不可接受。

3 讨 论

近年来,随着检验医学的发展,大多数实验室均引进了多台生化分析系统,以满足临床检验需要。而检测系统的增加并不影响检验人员对质量要求的提高,所以检验工作者们开始意识到检测系统间比对的重要性。同一项目在不同仪器之间的检测结果是否具有可比性,已成为实验室工作的一个重要方面。

2 个实验室认可的国际标准 ISO/IEC17025^[6] (检测和校准实验室能力的通用要求) 和 ISO15189^[7] (医学实验室-质量和能力的专用要求) 都对检测结果的溯源性和可比性提出了明确要求, 强调方法学比较试验 (比对试验) 是实现准确度溯源和患者标本检验结果可比性的重要途径^[8]。

对于 ADVIA2400 和 BS-2000M 2 台生化分析仪, 本室均配备了相应的试剂和操作程序, 从而形成检测系统。虽然酶类项目, 例如此次实验的 CK、AST、LDH, 2 种试剂采用的方法大致相同, 但由于样本量、试剂量以及仪器差异等因素, 2 种检测系统的结果需要进行比对分析和偏倚评估, 以保证结果的准确性和可比性。

在整个比对实验中, 必须保证 2 种分析系统处于在控状态, 为此, 作者先做了批内和批间精密度实验, 结果表明, CK、AST、LDH3 项的 CV% 均低于 CLIA'88 规定的允许误差范围, 说明比对实验数据有效可靠。

随后相关回归分析表明, 待评方法与参比方法间的相关系数 (r) 均大于 0.975, 表明 X 值取值范围合适, 可用线性回归来估算斜率和截距。将 3 种项目的不同医学决定水平浓度 X_c 带入各自的线性回归方程, 计算出医学决定水平点的系统误差和相对偏倚, 以相对偏倚小于 1/2CLIA'88 允许总误差范围为临床可接受性能的判断标准^[9-10]。结果表明, 除 LDH 在低医学决定水平不具有可比性外, 其余项目在 ADVIA2400 和 BS2000M2 种生化分析系统间均具有可比性。所以, 当有两个检测系统对同一检验项目进行检测时, 有必要进行比对分析和偏倚评估, 以保证检验结果的准确性和可比性。

关于不同检测系统检验结果可比性的制定标准, 国际上还没有一致的看法, 用 CLIA'88 规定的允许总误差范围显得范围过宽, 不适合用于比对实验中可接受性能的评价。作者查阅大量文献, 发现张秀明等^[8]、刘怀平等^[11]、张勤寂等^[12]采用 1/2CLIA'88 规定的允许总误差范围作为判断标准, 故认为此标准操作性和可行性较好, 适合作为可接受性能评价的依据。

参考文献

[1] 丛玉隆, 冯仁丰, 陈晓东. 临床实验室管理学[M]. 北京: 中国医药

科技出版社, 2004; 111-114.

- [2] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP9-A2 Method comparison and bias estimation using patient samples [S]. Wayne, PA, USA: NC CLS, 2002.
- [3] 冯仁丰. 临床实验室质量管理技术基础[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2003; 5-8.
- [4] 托马斯. 临床实验诊断学: 实验结果的应用和评估[M]. 朱汉明, 沈霞, 吕元, 等译. 上海: 上海科学技术出版社, 2004; 10-57.
- [5] Anonymous. Medicare, Medicaid and CLIA programs, regulations implementing the Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1998 (CLIA)-HCFA: Final rule with comment period[J]. Fed Regist, 1992, 57(40): 7002.
- [6] International Organization for Standardization. ISO/IEC17025 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories [S]. Geneva: International Organization for Standardization, 1999.
- [7] 魏昊, 丛玉隆. 医学实验室质量管理与认可指南[M]. 北京: 中国计量出版社, 2004; 72-75.
- [8] 张秀明, 庄俊华, 徐宁, 等. 不同检测系统血清酶学测定结果的偏倚评估与可比性研究[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(3): 346-349.
- [9] 邱玲, 程歆琦, 刘荔, 等. 多台生化分析仪多项目同时进行比对的实验研究设计及应用[J]. 中华医学检验杂志, 2007, 30(9): 1001-1004.
- [10] 王丽, 牛璐璐, 权翠侠, 等. 组合生化检测系统实验结果偏倚评估[J]. 临床检验杂志, 2007, 25(6): 425-426.
- [11] 刘怀平, 孙金芳, 陈欣, 等. 不同检测系统 21 项常规生化结果的比对与临床可接受性评价[J]. 中国实验诊断学, 2009, 20(13): 1406-1409.
- [12] 张勤寂, 刘堂斌, 陈丽峰. 室内不同生化检测系统测定结果的比对及偏倚评估[J]. 江西医学检验, 2008, 26(2): 151-152.

(收稿日期: 2015-02-22)

(上接第 2030 页)

参考文献

[1] Huang G, Yang L. Expression of hypoxia-inducible factor 1 α and vascular endothelial growth factor in hepatocellular carcinoma: Impact on neovascularization and survival[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(11): 1705-1708.

[2] Ding L, Chen X, JING K, et al. Inhibition of the VEGF expression and cell growth in hepatocellular carcinoma by blocking HIF-1 α and Smad3 binding site in VEGF promoter[J]. J Huazhong Univ Sci Technol: Med Sci, 2006, 26(1): 75-78.

[3] Zheng SS, Chen XH, Yin X, et al. Prognostic significance of HIF-1 α expression in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis[J]. PLOS One, 2013, 8(6): e65753.

[4] Ma X, Li J, Tan B, et al. Expression of HIF-1 α in hepatocellular carcinoma and its relationship with vasculogenic mimicry and clinical pathology[J]. German J Clin Oncol, 2013, 11(5): 528-531.

[5] Jin J, Huang M, Wei H, et al. Mechanism of 5-fluorouracil required resistance in human hepatocellular carcinoma cell line Bel7402[J]. World J Gastroenterol, 2002, 8(9): 1029-1034.

[6] Wang H, Chen X. Correlation of expression of multidrug resist-

ance protein and messenger RNA with 99mTc-methoxyisobutyl isonitrile (MIBI) imaging in patients with hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2004, 9(10): 1281-1285.

- [7] Jin J, Huang M, Wei HL et al. Mechanism of 5-fluorouracil required resistance in human hepatocellular carcinoma cell line Bel (7402). [J]. World Journal of Gastroenterology, 2002, 8(6): 612-614.
- [8] Dong J, Zhiping P. Such as antisense oligonucleotides and ultrasound contrast agent microbubbles combined with ultrasound irradiation transfected hepatoma reversal of multidrug resistance [J]. J Hepatol, 2006, 14(5): 341-345.
- [9] Ding L, Chen X, Zhang Z, et al. Synergistic effect of bromocriptine and tumor necrosis factor- α on reversing hepatocellular carcinoma multidrug resistance in nude mouse MDR1 model of liver neoplasm[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(54): 5621-5626.
- [10] Wang H, Chen XP, Qiu FZ, et al. Correlation of expression of multidrug resistance protein and messenger RNA with (99m)Tc-methoxyisobutyl isonitrile (MIBI) imaging in patients with hepatocellular carcinoma. [J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(9): 923-925.

(收稿日期: 2015-02-22)