

但 CA153 在乳腺癌早期的灵敏度较低^[6]。本研究资料显示乳腺癌组 CA153 浓度为 (35.2±9.5) U/mL, 乳腺良性病变组为 (15.6±4.7) U/mL, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。乳腺癌组其阳性检出率为 21.3%, 乳腺良性病变组阳性检出率仅 2.3%, 阳性率差异有统计学意义 ($P<0.05$), 故血清中 CA153 水平升高在乳腺癌的诊断中有较高的应用价值。

CEA 是由内胚层细胞分泌的一种糖蛋白, 是胃肠道等空腔脏器恶性肿瘤的常用标志物, 近年来在乳腺肿瘤诊断中应用越来越广泛, 研究表明 CEA 在乳腺癌诊断中与其他肿瘤标志物联合检测, 其检出率更高^[7-8]。

TSGF 在 20 世纪 90 年代后期被用作肿瘤筛查项目, 是由肿瘤细胞特异产生并与其生长、浸润及转移密切相关的一种多肽物质, 在恶性肿瘤形成早期即可明显升高, 所以 TSGF 不仅是恶性肿瘤的特异标志, 而且对早期诊断有重要价值。本研究中, TSGF 诊断乳腺癌的阳性率为 76.2%, 与相关报道类似^[9]。

综上所述, CA125、CA153、CEA、TSGF 联合检测使乳腺癌的阳性检出率大大提高。因此, 肿瘤标志物联合检测在乳腺癌早期诊断、临床分期, 以及疗效和复发监测等方面具有重要的临床应用价值。

参考文献

- [1] Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, et al. WHO classification of tumours of the breast[M]. France: Iarc Press, 2012: 100-109.

- [2] Brooks M. Breast cancer screening and biomarkers[J]. Methods Mol Biol, 2009, 472(43): 307-321.
- [3] Wang GP, Zhang H, Zhang ZF, et al. Clinical and pathological characteristics of intraductal proliferative lesions and coexist with invasive ductal carcinomas[J]. 中德临床肿瘤学杂志: 英文版, 2013, 12(12): 574-580.
- [4] 李继广, 任更朴, 蔡庆岭. CA153, CA125 与细针吸取细胞学联检在乳腺癌诊断中的应用价值[J]. 中国实用医刊, 2012, 38(2): 1-2.
- [5] 陈文思, 丁莲, 王潭枫. 联合检测血清 CA153、CA125、CA199 对乳腺癌的临床意义[J]. 热带医学杂志, 2007, 7(9): 879-881.
- [6] 董源芬. 肿瘤标志物的检测及应用[J]. 中国优生与遗传杂志, 2011, 19(2): 126-127.
- [7] 徐凤亮, 刘丽娟, 许祯杰. 血清肿瘤标志物联合检测诊断乳腺癌的临床价值[J]. 中国实用医刊, 2012, 39(16): 21-22.
- [8] 孙听, 李嘉嘉, 王道斌. 乳腺癌生物标志物 CK19, HER2 和血清 CEA, CA153 联合检测的临床意义[J]. 中国医药科学, 2013, 3(8): 37-39.
- [9] 王英, 黄文成, 朱波, 等. CYFRA21-1、CA153 和 TSGF 联合检测对乳腺癌诊断的临床意义[J]. 中国现代医学杂志, 2006, 16(20): 3104-3106.

(收稿日期: 2015-06-28)

3 种方法测定糖化血红蛋白结果的相关性分析和偏倚评估

何毅勇¹, 唐菊英², 苏 镜³, 赵可伟^{3△}

(1. 广州市南沙区灵山医院, 广东广州 510060; 2. 中山大学孙逸仙纪念医院, 广东广州 510240; 3. 广州中医药大学附属骨伤科医院, 广东广州 510240)

摘要:目的 通过对 3 种检测糖化血红蛋白方法(高效液相色谱法、免疫层析法、增强免疫比浊法)的结果进行相关性分析和偏倚评估, 探讨这 3 种方法检测糖化血红蛋白结果的可比性和临床可接受程度。**方法** 参照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)EP9-A2 文件, 选定高效液相色谱法为参比方法, 免疫层析法、增强免疫比浊法为试验方法, 收集 40 例不同浓度水平的标本分别用 3 种检测方法测定对结果进行相关回归分析, 并对其进行偏倚评估。**结果** 免疫层析法、增强免疫比浊法(迈克)、增强免疫比浊法(科方)与高效液相色谱法比对后, 直线回归方程分别是 $Y=1.0081X-0.3153$ 、 $Y=1.0864X-1.1391$ 、 $Y=1.3170X-2.6304$, 计算得 r^2 分别是 0.9942、0.9809、0.9756; 在 4%~14% 范围内平均相对偏倚分别是 3.2%、6%、11.3%。**结论** 免疫层析法与高效液相色谱法符合度最高, 偏倚最小, 增强免疫比浊法(迈克)次之, 增强免疫比浊法(科方)偏倚较大。

关键词: 高效液相色谱法; 免疫层析法; 增强免疫比浊法; 相关性分析; 偏倚评估

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.19.059

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)19-2903-03

根据国际标准组织(ISO)2012 年 15189 文件——《医学实验室质量和能力认可准则》^[1]的要求, 实验室应参加定期比对计划, 方法学比对试验是实现测量结果准确度溯源和患者标本检验结果可比性的重要途径, 为此, 本文按照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)EP9-A2 文件^[2]对高效液相色谱法、免疫层析法、增强免疫比浊法 3 种糖化血红蛋白(HbA1c)检测方法进行比对分析, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本采集 采用乙二胺四乙酸二钾盐(EDTA-K₂)抗凝真空管采集静脉血 2 mL, 选取 HbA1c 结果分布于不同范围的标本, 连续收集 5 d, 每天收集 8 份来自于不同患者的血液标本, 共 40 份标本。其中 10 份低于正常参考范围下限 4.27%,

20 份在正常参考范围内(4.27%~6.07%), 10 份高于正常参考范围上限(6.07%)

1.2 仪器 VARIANT II HbA1c 分析仪及其配套试剂购自美国 Bio-Rad 公司, 该仪器采用离子交换高效液相色谱法, 其受干扰因素影响少, 结果稳定, 是目前 HbA1c 检测较为公认的方法^[3], 故选择该方法为参比方法; 免疫荧光检测仪及其配套试剂购自广州市万孚生物技术股份有限公司, 该仪器采用免疫层析法, 其为试验方法; AU5800 HbA1c 试剂盒及配套试剂和质控物分别由广州科方有限公司和四川迈克生物科技股份有限公司提供, 该仪器采用增强免疫比浊法, 其为试验方法。

1.3 检测方法 每例标本分别用 3 种方法重复检测 2 次, 于采集标本后 6 h 内完成, 记录 5 d 共 40 组结果, 进行比对分析。

△ 通讯作者, E-mail: 1065804572@qq.com.

1.4 质量控制 (1)每批测量均应进行常规质控。(2)质控图由连续测定 20 d 的质控数据计算靶值、标准差,采用±2s 作为警告限,使用±3s 作为失控限。

1.5 统计学处理

1.5.1 离群值的检验 (1)方法内离群值的目测检查,计算 2 次检测结果的绝对差值及其差值平均值,取 2 次检测结果的平均绝对差值的 4 倍作为方法内的“可接受”限。(2)方法间离群值的目测检查,计算 2 种方法间的绝对差值及其差值平均值,取 2 种方法的平均绝对差值的 4 倍作为方法间的“可接受”限。

1.5.2 数据作图 (1)线性关系的目测检查,在整个测量范围内,检查 X(参比仪器)和 Y(试验仪器)的数据图是否呈直线关系。(2)目测检查离散度,目测离散图,检查离散的均匀性。

1.5.3 方法相关性检验 (1)X 值合适范围的检验,计算相关系数(*r*),如果 $r \geq 0.975$ (或 $R^2 \geq 0.95$),则可认为 X 值取值范围合适。(2)线性回归分析,计算斜率和截距得出回归方程 $Y = bX + a$ 。

1.5.4 计算偏倚与临床可接受性判断 预期偏倚: $SE = (b - 1)X_c + a$ 。相对偏倚: $SE\% = SE / X_c \times 100\%$ 。X_c 为 HbA1c

检测的医学决定水平。以美国临床实验室改进修正法案(CLIA'88)的要求作为对比判定规则,即以 SE%不大于厂家提供的允许总误差(*TEa*)的 1/2 作为临床可接受水平^[4]。

2 结 果

2.1 离群值检查结果 通过数据计算得到高效液相色谱法差值平均值为 0.05,免疫层析法差值平均值 0.08,增强免疫比浊法(迈克)差值平均值 0.12,增强免疫比浊法(科方)差值平均值 0.09;这 3 种方法的差值平均值均小于 2 次检测结果的平均绝对差值的 4 倍。高效液相色谱法与免疫层析法差值的均值 0.32,高效液相色谱法与增强免疫比浊法(迈克)差值的均值 0.56,高效液相色谱法与增强免疫比浊法(科方)差值的均值 0.87;方法间的差值的均值均小于 2 种方法的平均绝对差值的 4 倍。经离群值检验未发现方法内和方法间有离群数据。

2.2 X 合适范围的检验结果 通过制作散点图得出高效液相色谱法与免疫层析法、高效液相色谱法与增强免疫比浊法(迈克)、高效液相色谱法与增强免疫比浊法(科方)回归直线方程和相关系数 R^2 ,经过 R^2 的检验均大于 0.95,得到 X 值合适范围,具有较高的相关性,见表 1。

表 1 3 种方法回归方程

方法	回归直线	R^2 的检验	X
高效液相色谱法与免疫层析法	$Y = 1.008\ 1X - 0.315\ 3$	$R^2 = 0.994\ 2 > 0.95$	合适
高效液相色谱法与增强免疫比浊法(迈克)	$Y = 1.086\ 4X - 1.139\ 1$	$R^2 = 0.980\ 9 > 0.95$	合适
高效液相色谱法与增强免疫比浊法(科方)	$Y = 1.317\ 0X - 2.630\ 4$	$R^2 = 0.975\ 6 > 0.95$	合适

2.3 偏倚评估和临床可接受性判断 根据回归直线计算得到该试验方法在参考方法假定值出的预期值,然后根据 $SE = (b - 1)X_c + a$ 计算出预期偏倚,再根据 $SE\% = SE / X_c \times 100\%$ 计算得出相对偏倚,最后得出相对偏倚与 1/2*TEa* 比较,若

SE%不大于厂家提供的允许总误差(*TEa*)的 1/2 则可为临床接受。X_c 为参比方法检测假定值,因为迈克和科方厂家都是采用增强免疫比浊法,为了区别哪个厂家试剂性能更好,故两种厂家的试剂方法均与参比方法比较。见表 2。

表 2 3 种方法的预期值、预期偏倚、相对偏倚(%)

高效液相色谱法	免疫层析法			增强免疫比浊法(迈克)			增强免疫比浊法(科方)		
	预期值	预期偏倚	相对偏倚	预期值	预期偏倚	相对偏倚	预期值	预期偏倚	相对偏倚
假定值									
4.4	4.12	-0.28	-7.0	3.61	-0.79	-20	3.04	-1.36	-34.0
5.0	4.73	-0.27	-5.4	4.30	-0.71	-14.0	3.96	-1.04	-21.0
6.5	6.23	-0.27	-4.5	5.88	-0.62	-10.0	5.78	-0.72	-12.0
7.0	6.74	-0.26	-3.7	6.50	-0.53	-7.5	6.60	-0.40	-5.7
8.0	7.75	-0.25	-3.1	7.60	-0.44	-5.5	7.92	-0.08	-1.0
9.8	9.56	-0.24	-2.7	9.45	-0.35	-3.9	10.04	0.24	2.7
10.0	9.77	-0.23	-2.3	9.80	-0.26	-2.6	10.56	0.56	5.6
11.6	11.37	-0.23	-2.1	11.43	-0.17	-1.5	12.47	0.87	7.9
12.0	11.78	-0.22	-1.8	12.00	-0.08	-0.6	13.20	1.19	9.9
13.0	12.79	-0.21	-1.6	13.10	0.01	0.08	14.52	1.52	11.7
14.3	14.10	-0.20	-1.4	14.40	0.10	0.7	16.14	1.84	13.0

3 讨 论

HbA1c 水平与平均血糖浓度及血循环中红细胞生存时间相关,通过检测 HbA1c 浓度能较为特异性地反映人体 4~8 周平均血糖水平,是糖尿病患者血糖控制和监测的良好指标,也

是预防和减少糖尿病并发症发生的重要监控指标之一。目前 HbA1c 检测的方法主要有高效液相色谱法、电泳法、免疫层析法和免疫化学法等,从 HbA1c 检测方法原理上讲,主要有 2 种:一种是高效液相色谱法及电泳法,是根据 HbA1c 与血红蛋

白电荷不同进行检测,另一种是免疫层析法、免疫化学法,是根据血红蛋白糖化基团的结构进行检测^[5]。目前医院使用最多的是高效液相色谱法,常作为公认的参考方法^[3],检测结果准确性高,但成本较贵。而免疫层析法以快速、操作方便的优点适用于床旁诊断。而免疫化学法以价格便宜的优势,也逐渐地应用于临床上。

随着社会老龄化,糖尿病患者越来越多,目前本院检验科准备新开展 HbA1c 检测项目,故进行几种方法学的比对分析,通过比对研究结果显示,单纯从 3 种方法内的差值的均值来看高效液相色谱法检测 HbA1c 的变异最小,增强免疫比浊法(迈克)检测 HbA1c 的变异最大,但差异都不大,说明这 3 种方法具有较好的精密度;从 3 种方法间的差值的均值来看,高效液相色谱法与免疫层析法检测 HbA1c 结果的差异最小,高效液相色谱法与增强免疫比浊法(科方)检测 HbA1c 结果的差异最大,但差异都不大,粗略判断这 3 种方法具有较好的准确性;回归直线和相关系数(R^2 都大于 0.95)说明实验选取的统计数据分布合理,回归方程的截距和斜率可靠,2 种检测方法具有良好的相关性^[6];通过回归直线计算 3 种方法的预期值、预期偏倚、相对偏倚结果显示 HbA1c 结果在 4%~14% 范围内,免疫层析法检测预期值均低于高效液相色谱法检测值,产生负值的预期偏倚,说明免疫层析法较高效液相色谱法检测 HbA1c 结果偏低,但相对偏倚均在 $\pm 10\%$ 内,说明结果在临床参考方面可接受;增强免疫比浊法(迈克)检测的预期值在浓度 12% 以下,都产生负值的预期偏倚,其中在浓度为 4% 和 5% 时相对偏倚都大于 10%,偏倚较大;增强免疫比浊法(科方)检测的预期值在浓度 8% 以下,都产生负值的预期偏倚,其中在浓度为 4%、5% 和 6% 时相对偏倚都大于 10%,偏倚较大,预期值在浓度 13% 以上,产生正偏倚,且相对偏倚都大于 10%;说明这几

• 临床研究 •

种试验方法中免疫层析法的结果稳定性好、偏倚最小,而增强免疫比浊法(科方)出现低浓度偏低高浓度偏高的情况,说明线性范围不太合适。在本次检测过程中,发现免疫层析法检测受温度影响很大,可能与血红蛋白糖化基团的功能结合区和试剂结合时在合适的温度下发生反应有关,例如抗原抗体反应。

比对试验方法中,免疫层析法具有成本低、操作方便、诊断快速、结果准确性高等诸多优点,并且试剂采用单人份独立包装,便于长期保存,更适合标本量不大的机构使用;增强免疫比浊法是通过生化仪检测,其优点是无需另外购置专用仪器,开放型试剂,但其缺点是试剂开瓶后有效期短(15 d),在标本量不大的情况下,易造成试剂的浪费。

参考文献

- [1] 中国合格评定国家认可委员会. ISO15189《2012 医学实验室质量和能力认可准则》[S]. 北京:中国标准出版社,2012.
- [2] Clinical Laboratory Standards Institute. EP9-A2 Method comparison and bias estimation using patient samples[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2004.
- [3] 张文华,侯晗宇,张建荣,等. 高效液相色谱法检测糖化血红蛋白的方法学评价[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(18): 2305-2306.
- [4] 王治国. 临床检验质量控制技术[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社, 2008.
- [5] 童华诚,刘慧,张美,等. 三种检测系统测定糖化血红蛋白相关性分析及偏倚评估[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(7): 1156-1158.
- [6] 梁俊,王红筱,鲁雅诵,等. Primus PDQ PLUS 及 NycoCarderII 测定糖化血红蛋白的比对分析及偏倚评估[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(4): 145-147.

(收稿日期:2015-07-28)

健康高校学生丙氨酸氨基转移酶参考区间的建立与验证分析^{*}

赵 冰, 孙 晶, 翟英芬, 杨立红, 刘计荣
(华北电力大学医院检验科, 北京 102206)

摘 要:目的 建立该院丙氨酸氨基转移酶(ALT)参考区间,同时验证国家行业标准在该院的可用性。方法 采用贝克曼库尔特 Au400 型全自动生化分析仪对 2 926 例新生血清 ALT 进行分析。结果 该院本科生(16~24 岁)男性 ALT 参考区间为 8.00~65.00 U/L,研究生(25~45 岁)男性 ALT 参考区间为 9.00~77.40 U/L;该院女性 ALT 参考区间为 7.00~35.00 U/L。该研究两个年龄段(本科生、研究生)男性 ALT 参考区间上限高于试剂厂家提供数据和行业标准,和济宁地区报道数据接近,女性 ALT 参考区间和行业标准基本一致,上限和试剂厂家相同。结论 行业标准可以在该室应用,并初步建立了该院的 ALT 参考区间,实验室工作中可以对两者结合使用。

关键词:参考区间; 丙氨酸氨基转移酶; 行业标准

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.19.060

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)19-2905-03

丙氨酸氨基转移酶(ALT)是一种参与人体蛋白质新陈代谢的酶,是机体内 60 多种氨基转移酶中最重要的一种,起加快蛋白质氨基酸在体内转化的作用。ALT 在肝脏细胞的线粒体中存在最多(约 70%),肝细胞内浓度高于血清 7 000 倍,只要有千分之一的肝细胞被破坏,就可以使血清 ALT 增高 1 倍,因此 ALT 是判断肝损伤的灵敏指标,也一直是国内献血、招生和招聘工作中的常规体检项目。因此,其参考区间就十分必

要。国际临床化学联合会(IFCC)建议各实验室应建立自己的参考值范围^[1]。国际标准化组织(ISO)在 ISO 15189 中提到应该对参考区间进行周期性的验证^[2]。如果实验室有充分的理由相信某个参考区间不再适合特定的参考人群,就应重新制定参考区间。原卫生部近期颁发了 ALT 的全国行业标准^[3],但是没有分年龄段,而本校学生来自全国 31 个省市自治区,包括

* 基金项目:中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(2015QN27)。