

• 论 著 •

通过新鲜血清赋值传递提高自建与配套生化检测系统结果的一致性*

孙宏华¹, 石凌波¹, 康 红¹, 胡远明¹, 谢进进¹, 沙 瑶¹, 王露霞², 史惠群³

(1. 广州中医药大学祈福医院检验科, 广东广州 511495; 2. 广州军区广州总医院检验科, 广东 510000; 3. 广州市越秀区第二人民医院检验科, 广东 510000)

【摘要】 目的 通过新鲜血清赋值传递提高自建与配套生化检测系统结果的一致性。**方法** 依据美国临床实验室标准化委员会 EP9-A2 文件要求, 分别用配套和自建检测系统测定 AST、Urea、Cr、TCH、TG, 进行相关回归分析。计算在各医学决定水平处的预期偏差及其 95% 置信区间, 与生物学变异的偏倚限度相比较, 判断其偏差是否可接受。不可接受的项目通过新鲜血清赋值传递, 使自建与配套检测系统的结果之间具有较好的一致性。**结果** 自建系统检测 AST、Urea、Cr、TCH、TG 的结果与配套系统之间的偏差不可接受, 经新鲜血清赋值传递后偏差小于允许范围。**结论** 应用 EP9-A2 评估偏差的可接受性, 并通过新鲜血清赋值传递、校准、验证是使自建与配套检测系统结果具有一致性的有效途径。

关键词: 血清; 赋值; 检测系统

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 02. 001 文献标识码: A 文章编号: 1673-4130(2011)02-0156-03

Improvement Consistency by Transferring Value Assignment in Fresh Sera between Self-built and Matching Biochemistry Detection System

SUN Hong-hua¹, SHI Ling-bo¹, KANG Hong¹, WANG Lu-xia², SHI Hui-qun³

(1. Clifford Hospital Laboratory, Guangzhou Guangdong 511495, China; 2. Laboratory of General Hospital of Guangzhou Military Command, Guangzhou Guangdong 510000, China; 3. The Second People's Hospital of Yuexiu District of Guangzhou, Guangdong 510000, China)

Abstract: Objective To improvement consistency by transferring value assignment in fresh sera between self-built and matching biochemistry detection system. **Methods** Regarding to the Protocol EP9-A2 of National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), matching biochemistry and self-built detection systems were used respectively to measure value of AST, Urea, Cr, TCH and TG. Correlated regression analysis was performed. An estimated deviation and its 95% confidence interval were calculated to compare the bias limitation of biological variation so as to judge the acceptance of its deviation. A better consistency could be confirmed between self-built system and matching biochemistry one. **Results** The deviations of self-built system and matching biochemistry cannot be accepted in AST, Urea, Cr, TCH and TG. The deviation was permitted in the conference limitation after transferring value assignment in fresh sera. **Conclusion** The method was confirmed to be a consistent pathway between self-built and matching biochemistry detection system, by using EP9-A2 to evaluate the acceptance of deviation and fresh sera value assignment in transferring, calibrating and verifying.

Key words: serum; value assignment; testing system

目前, 循证医学、ISO/CD17511、18153 以及国家实验室管理标准都强调患者样品检测结果的溯源性, 只有使用配套生化检测系统才能达到此要求。但因实验条件等原因制约, 同时应用两个或两个以上自建(非配套)系统是国内医院普遍存在的情况。如何实现不同生化检测系统结果的一致性成为迫切需要解决的实际问题。

1 材料与方法

1.1 材料 (1) 配套检测系统。①仪器: 日本 OLYMPUS AU400 全自动生化分析仪。②试剂: 仪器配套 AST 试剂(批号 6545)、Urea 试剂(批号 6149)、Cr 试剂(批号 6761)、TCH 试剂(批号 6462)、TG 试剂(批号 6572)。③校准物: OLYMPUS 校准物(批号 66300)。(2) 自建检测系统。①仪器: 日本 OLYMPUS AU400 全自动生化分析仪。②试剂: AST 试剂(上海复旦张江生物医药股份有限公司, 批号 080701)、Urea 试剂(中生北控生物科技股份有限公司, 批号 080231. 200811)、Cr 试剂(广州市番禺区华鑫科技有限公司, 批号 A083372-1)、TCH 试剂(浙江伊利康生物技术有限公司, 批号 090401)、TG

试剂(浙江伊利康生物技术有限公司, 批号 090201)。③校准物: 罗氏 cfas, 批号 10759350 190。(3) 质控物: 质控物采用英国朗道公司生产的质控血清。中值批号 460UN/4 (HN1530); 高值批号 292UE/1 (HE1532)。(4) 样品: 样品采用祈福医院门诊及住院患者新鲜本, 血清应无溶血、脂血、黄疸等, 标本浓度涵盖低、中、高值, 分布范围符合 EP9-A2^[1] 文件要求。

1.2 方法 (1) 检测原理: 配套和自建检测系统检测原理一致。AST、Urea、Cr 的检测方法分别为速率法、尿素酶法和苦味酸法; TCH、TG 的检测方法为氧化酶法。(2) 试验方法。①初步性能评价: 试验前应用 EP10-A2^[2] 对配套和自建检测系统进行初步性能评价, 评价指标包括偏差、总不精密度、截距、斜率、非线性度、互染率、漂移度。②方法学比对: 维护、校准仪器, 高、中两个水平质控结果在控后按常规操作。依据 EP9-A2 文件, 每天选取 8 份新鲜血清。在 2 h 内分别用两种检测系统对样本进行双份重复测定, 测定顺序为: 1~8、8~1。以上步骤重复 5 d (可以不连续), 共分析 40 份样本。以配套检测系统为对比方法, 自建检测系统为试验方法, 进行相关系数、直线回归

* 基金项目: 广州市番禺区科技局科研课题(2007-Z-74-1)

分析,并计算各测试项目在给定医学决定水平(Xc)处的预期值、预期值 95%置信区间、预期偏差(Bc)及预期偏差 95%置信区间。根据生物学变异确定的偏倚限度^[3],判断其与允许偏差(EA)的关系,a:EA>置上限(置上、下限为负值时,取其绝对值进行比较),BC 小于 EA 的概率很高(>97.5%),试验方法与对比方法相当,可以接受。b:置上限>EA>置下限,则数据未显示试验方法的偏差有别于 EA,试验方法与对比方法相当;c:EA<置下限,BC 大于 EA 的概率很高(>97.5%),试验方法与对比方法不相当,不能被接受^[4]。(3)校准及校准验证:①以患者样品为临时校准品,对自建系统进行初步校准,比对结果不可接受的项目需进行重新校准和校准验证。以患者新鲜血清作为临时校准品,先用配套系统重复测定 5 次,取均值。以此均值作为校准值,对自建系统进行校准。然后选取一批高、中、低值样品,分别用配套系统和自建系统测定,以配套系统为标准,计算其偏差,如果各偏差均小于 EA,则临时校准品

初步校准成功。②建立自建检测系统的稳定校准品。用初步校准成功后的自建系统重复测定 c. f. a. s 数次,取均值作为 c. f. a. s 的赋值,以 c. f. a. s 作为校准品,对自建系统进行再次校准及验证。如果配套系统和自建系统间检测高、中、低值标本的偏差小于生物变异的偏倚限度,则说明日常校准品校准成功。如果不成功,说明对校准品的赋值不是最佳值,根据所有样品结果差异的分布趋势,对控制品检测值作微小调整,再进行校准和验证。如此反复试验,直至校准验证成功。③再次比对。经校准验证成功后的项目再按 EP9-A2 文件要求,进行完整的方法学比对试验。

2 结 果

以配套系统检测结果为 X,自建系统检测结果为 Y,进行回归分析。AST、Urea、Cr、TCH、TG 在给定医学决定水平处的预期值、预期值 95%可信区间、BC、BC 95%CI、允许偏倚、相关系数、直线回归方程见表 1。赋值前后校准值见表 2。

表 1 新鲜血清赋值传递前后自建系统与配套系统的方法学比较*

项目	医学决定水平	允许偏倚	预期偏差	Bc95%可信限		预期值	预期值 95%可信限		相关系数	回归方程 Y=bX+a
				下限	上限		下限	上限		
AST 赋值前	20.0	1.08	-2.10	-2.40	-1.80	17.90	17.60	18.20	1.000	Y=0.873X+0.405
	60.0	3.24	-7.20	-7.50	-6.90	52.80	52.50	53.1		
	300.0	16.20	-37.60	-38.30	-36.90	262.40	261.70	263.10		
AST 赋值后	20.0	1.08	0.70	0.40	1.00	20.70	20.40	21.00	1.000	Y=0.998X+0.707
	60.0	3.24	0.60	0.30	0.90	60.60	60.30	60.90		
	300.0	16.20	0.10	-0.80	1.00	300.10	299.20	301.00		
Urea 赋值前	3.0	0.17	0.42	0.34	0.50	3.42	3.34	3.50	0.999	Y=1.063X+0.233
	7.1	0.39	0.68	0.61	0.75	7.78	7.71	7.85		
	14.2	0.78	1.10	1.00	1.20	15.30	15.20	15.40		
Urea 赋值后	3.0	0.17	0.03	-0.01	0.07	3.03	2.99	3.07	1.000	Y=1.013X-0.006
	7.1	0.39	0.09	0.05	0.13	7.19	7.15	7.23		
	14.2	0.78	0.20	0.10	0.30	14.40	14.30	14.50		
Cr 赋值前	40.0	1.36	36.10	25.40	46.80	76.10	65.40	86.80	0.995	Y=1.148X+30.2
	141.0	4.79	51.10	42.00	60.20	192.10	183.00	201.20		
	530.0	18.00	108.60	98.20	117.80	638.60	628.20	647.80		
Cr 赋值后	40.0	1.36	-5.00	-9.15	-0.85	35.00	30.85	39.15	0.999	Y=1.034X-6.101
	141.0	4.79	-1.00	-4.60	2.60	140.00	136.40	143.60		
	530.0	18.0	12.0	8.50	15.50	542.00	538.50	545.50		
TCH 赋值前	1.8	0.07	-0.08	-0.12	-0.04	1.73	1.69	1.77	0.999	Y=0.920X+0.061
	5.2	0.21	-0.36	-0.37	-0.34	4.83	4.81	4.84		
	5.7	0.23	-0.41	-0.41	-0.38	5.30	5.29	5.32		
	7.3	0.30	-0.52	-0.54	-0.50	6.74	6.72	6.76		
TCH 赋值后	1.2	0.07	0.02	-0.02	0.06	1.83	1.79	1.87	0.999	Y=0.975X+0.06
	5.2	0.21	-0.07	-0.08	-0.06	5.11	5.10	5.12		
	5.7	0.23	-0.08	-0.09	-0.07	5.62	5.61	5.63		
	7.3	0.30	-0.12	-0.14	-0.10	7.14	7.12	7.16		
TG 赋值前	0.45	0.048	0.00	-0.03	0.03	0.45	0.42	0.48	0.999	Y=1.132X-0.061
	1.69	0.181	0.16	0.14	0.18	1.85	1.83	1.87		
	4.52	0.484	0.54	0.51	0.57	5.06	5.03	5.09		
TG 赋值后	0.45	0.048	-0.03	-0.04	-0.02	0.42	0.41	0.43	1.000	Y=1.069X-0.056
	1.69	0.181	0.06	0.05	0.07	1.75	1.74	1.76		
	4.52	0.484	0.26	0.25	0.27	4.78	4.77	4.79		

注:* AST 的单位为 U/L,Urea、TCH、TG 的单位为 mmol/L,Cr 的单位为 μmol/L。

表 2 AST、Urea、Cr、TCH、TG 赋值前后校准值

项目	AST (U/L)	Urea (mmol/L)	Cr (μmol/L)	TCH (mmol/L)	TG (mmol/L)
赋值前	87.0	18.0	376.3	4.10	1.63
赋值后	101.8	16.2	335.1	3.88	1.36

3 讨 论

不同生化检测系统分析结果的校准与比对,是一个长期困扰临床实验室人员的问题,随着医疗改革及患者保健意识的不断增强,这个问题就显得尤其突出。本研究就如何解决该问题作了如下尝试。

首先,在试验应用 EP10-A2 对配套和自建检测系统进行初步性能评价,结果表明配套和自建检测系统的总不精密度均小于美国临床实验室改进法案修正案 CLIA'88)能力验证计划的分析质量要求规定的总允许误差的 1/3^[5]。

在此基础之上,按 EP9-A2 文件要求进行比对试验。自建系统检测 AST、Urea、Cr、TCH、TG 在医学决定水平处的 EA 小于 Bc 95%CI 下限,偏差不可接受。经新鲜血清赋值传递后 EA 均在 Bc 95%CI 内或大于上限,偏差可以接受。校准前后的数据表明,经新鲜血清赋值传递后的自建系统检测结果与配套系统的可比性明显提高,实现了一致性。

EP9-A2 文件通过计算给定的医学决定水平处的 Bc 95%CI,以判断其与 EA 的关系,能够更严密的统计理论作出科学的结论^[6]。以生物变异的偏倚限度判断偏差的可接受性取代了以 CLIA'88 分析质量要求规定的总允许误差的 1/2 或 1/3 为判断标准的方法^[7],充分考虑了检测系统的能力、成本和效率。

为确保控制品的长期有效性,常规作法是一次性购买足够量控制品用于自建检测系统的校准。本研究以新鲜血清对非自建系统的控制品进行重新赋值,从而达到不同系统结果一致的目。此时,无论校准品还是质控品,其原有的赋值已没有意义。只要新赋值具有长期可靠、稳定的特性,就可作为自建系统的校准品。以控制品作为正确度传递的工具,要求瓶间差小、性能稳定。新鲜血清由于排除了基质效应,是最佳的临时校准品。两者结合应用既克服了基质效应,又具有良好稳定性。校准品是完成样品检测的一个组分,在具有良好性能的检测系统中,校准品的校准值对检测结果的量值起着重要作用^[8]。罗氏 cfas 校准物是目前国际公认的性能稳定的具有溯源性的定值校准物,但因自建系统使用的是非配套仪器和试剂,其检测结果与原校准值间存在一定的差异,试验表明新鲜

血清赋值传递这种差异减小。

综上所述,应用 EP9-A2 评估偏差的可接受性,采用方法学比对,通过新鲜血清赋值传递、校准、验证,可使不同检测系统的结果具有一致性。

参考文献

[1] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Medthod Comparison and Bias Estimation Using Patients Samples; Ap-proved Guideline, EP09-A2[S]. Ann Arbor; Thomson Reuters, 2002.

[2] National Committee for Clinical Laboratory Standards. . Prelimi-nary Evaluation of Quantitative Clinical Laboratory Methods;Ap-proved Guideline, EP10-A2[S]. Ann Arbor; Thomson Reuters, 2002.

[3] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:79-80.

[4] 孙虹,台虹,赵崇吉. 不同生化分析系统间检测结果的偏差评估及应用[J]. 中华检验医学杂志,2003,26(10):587-590.

[5] 孙宏华,石凌波,康红,等. 应用 NCCLS EP10-A2 分别对自建和配套生化检测系统进行初步性能评价[J]. 热带医学杂志,2009,9(8):961-962.

[6] 杨剑虹,倪红兵. 不同检测系统常用血清酶测定结果对比及偏倚评估[J]. 检验医学与临床,2008,5(22):1366-1368.

[7] 张秀明,庄俊华,徐宁,等. 不同检测系统血清酶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(4):346-348.

[8] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 上海:上海科学技术文献出版社,2007.

(收稿日期:2010-07-01)

(上接第 155 页)

癌及癌旁组织基因表达谱的初步研究[J]. 放射免疫杂志,2007,20(3):282-284.

[4] Zhang X, Lin P, Zhu ZH, et al. Expression profiles of early esopha-geal squamous cell carcinoma by cDNA microarray[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2009, 194(1): 23-29.

[5] Ilhan M, Erbaydar T, Akdeniz N, et al. Palmoplantar keratoderma is associated with esophagus squamous cell cancer in Van region of Turkey; a case control study[J]. BMC Cancer, 2005, 28(5): 90-97.

[6] Sato-Kuwabara Y, Neves JI, Fregnani JH, et al. Evaluation of gene amplification and protein expression of HER-2/neu in esophageal squamous cell carcinoma using Fluorescence in situ Hybridization (FISH) and immunohistochemistry[J/OL]. [http://www. biomed-central. com/1471-2407/916](http://www.biomed-central.com/1471-2407/916).

[7] Matsushima K, Isomoto H, Kohno S, Nakao K. MicroRNAs and e-sophageal squamous cell carcinoma[J]. Digestion, 2010, 82(3): 138-44.

[8] 王海涛,刘芝华,王秀琴,等. EMP-1 基因对人食管癌细胞系生长的影响[J]. 癌症,2002,21(3):229-232.

[9] Ito T, Hashimoto Y, Tanaka E, et al. An inducible short-hairpin RNA vector against osteopontin reduces metastatic potential of human esophageal squamous cell carcinoma in vitro and in vivo [J]. Clin Cancer Res, 2006, 15;12(4):1308-1316.

[10] Wu IC, Wu DC, Huang CC, et al. Plasma decorin predicts the pres-ence of esophageal squamous cell carcinoma[J]. Int J Cancer, 2010, 127(9):2138-2146.

[11] Jules Lin, Duna A Raoof, Zhuwen Wang, et al. Expression and Effect of Inhibition of the Ubiquitin-Conjugating Enzyme E2C on Esophageal Adenocarcinoma[J]. Neoplasia, 2006, 8(12):1062-1071.

[12] Jiang L, Bao Y, Luo C, et al. Knockdown of ubiquitin-conjugating enzyme E2C/UbcH10 expression by RNA interference inhibits glioma cell proliferation and enhances cell apoptosis in vitro[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2010, 136(2):211-217.

[13] Bergqvist M, Brattstrom D, Brodin D, et al. Genes associated with telomerase activity levels in esophageal carcinoma cell lines[J]. Dis Esophagus, 2006, 19(1):20-23.

[14] Li Y, Ma J, Guo Q, Duan F, et al. Overexpression of MMP-2 and MMP-9 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Dis Esopha-gus, 2009, 22(8):664-667.

[15] Xie JJ, Xu LY, Wu JY, et al. Involvement of CYR61 and CTGF in the fascin-mediated proliferation and invasiveness of esophageal squamous cell carcinomas cells[J]. Am J Pathol. , 2010, 176(2):939-951.

(收稿日期:2010-05-04)