

• 检验仪器与试剂评价 •

贝克曼库尔特 AU680 生化分析系统肌酸激酶可报告范围的评价

苏炳森, 黄 婷, 许惠根

(中山火炬开发区医院检验科, 广东中山 528437)

摘要:目的 用贝克曼库尔特 AU680 全自动生化分析系统对肌酸激酶(CK)的分析测量范围(AMR)进行验证,根据实验结果确定该检测系统的临床可报告范围(CRR)。方法 参考美国临床实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) EP6-A 文件和相关文献,在贝克曼库尔特 AU680 全自动生化分析仪上进行 CK 的相关实验(最大稀释度实验、功能灵敏度实验及分析测量范围实验),并由此确定其临床可报告范围。结果 肌酸激酶(CK)的最大允许稀释度为 1:16;功能灵敏度为 2.0 U/L;在分析测量范围(2.0~1 000 U/L)内呈线性($r^2=0.999\ 3$),与厂商声明基本一致,故其临床可报告范围为 2.0~16 000 U/L。结论 贝克曼库尔特 AU680 全自动生化分析系统检测 CK 在厂家声明的分析测量范围内线性良好,所建立的临床可报告范围可以满足临床需要。

关键词:肌酸激酶; 实验室技术和方法; 生物化学

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.01.035

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)01-0085-03

Evaluate the reportable range of CK by Beckman Coulter AU680 biochemical measurement system

Su Bingsen, Huang Ting, Xu Huigen

(Department of Clinical Laboratory, Zhongshan Torch Development Zone Hospital, Zhongshan, Guangdong 528437, China)

Abstract: **Objective** To test the analytical measurement range(AMR) of creatine kinase with Beckman Coulter AU680 automatic biochemical analysis system, and analyze the measuring range according to the result of the experiment to determine the clinical reportable range. **Methods** Referring to clinical and laboratory standards institute(CLSI) EP6-A evaluation protocols and pertinent literature, we performed the CK validate experiments of max dilution limit, functional sensitivity and analytical measurement range(AMR), and established clinical report range(CRR) for Beckman Coulter AU680 automatic analyzer. **Results** All experimental data according to the setting requires, the max dilution limit was 1:16, functional sensitivity was 2.0 U/L, and CK showed good linearity($r=0.999\ 3$) in AMR(2.0~1 000 U/L). According to the declaration of the manufacture, the CRR was 2.0~16 000 U/L. **Conclusion** There is fine linearity within the AMR claimed by manufacture of Beckman Coulter AU680 biochemical measurement system in the detection of CK and CRR established in this research can meet the needs of clinical laboratory.

Key words: creatine kinase; laboratory techniques and procedures; biochemistry

分析测量范围(analytical measurement range, AMR)的验证是验证厂家说明书上所标明的线性范围,对于实际工作非常实用。临床可报告范围(clinical reportable range, CRR)指对临床诊断有意义的待测物浓度范围。如果 CRR 超出 AMR 范围,可以对标本进行适当处理(稀释或浓缩),最后经过换算得出最终结果,发出可靠的报告。国际上的 ISO 15189 和国内《医疗机构临床实验室管理办法》都要求实验室在引进或改变检测系统或方法时,对其主要分析性能进行验证或评价,证明其能达到临床检测所要求的标准后才能用于临床检测^[1]。现在许多厂家都提供相关参数,需要实验室验证后才能使用。

肌酸激酶(creatine kinase, CK),又名磷酸肌酸激酶,主要存在于骨骼肌、脑和心肌中。肌酸激酶对诊断急性心肌梗死有较高价值。当 CK 浓度超出线性范围时,必须对其进行稀释。但是否可以随意稀释、稀释多少倍后仍然准确、报告范围是否可以满足临床需要,这就需要实验验证。本文就是通过收集本院 6 月份符合实验要求的标本进行 CK 的相关实验,以此评价 CK 的临床可报告范围。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院患者或健康体检人群中血清 CK 活

性高值和低值的标本,标本分离血清放置于低于-20℃冰箱保存(保存时间不超过 30 d)。高值的标本浓度应大于线性范围最高值,低值的样本浓度在线性范围下限。

1.2 仪器与试剂 仪器使用美国 Beckman Coulter 公司的 AU680 全自动生化分析仪;试剂使用北京澳斯邦肌酸激酶检测试剂盒,批号为 121108;质控品使用美国伯乐多项生化质控品,两个水平,批号分别为 27601、27602;校准品使用罗氏多项目生化校准品,批号为 163 947-03。

1.3 试验方案

1.3.1 最大允许稀释度试验^[2-3] 取混合血清标本 1(1 435.0 U/L)和混合血清标本 2(2 888.0 U/L),用生理盐水对两份样本分别进行 2、4、8、16、32、64、128 倍稀释。要求每个样本都测定 3 次,计算均值,最后计算稀释回收率:稀释回收率=(测量值均值/预期值均值)×100%,以重复性 CV 值小于 5%、回收率在 90%~110%以内为可接受,确定最大稀释倍数。

1.3.2 分析灵敏度试验^[4] 收集 CK 浓度为 20~40 U/L 的样本,混合得到样本 CK 浓度为 29.7 U/L,按以下比例(1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16)用生理盐水稀释样本。对所得

的每个样本重复测定 10 次,计算其均数、标准差及变异系数(CV),得到变异系数最接近 20% 所对应的浓度即为功能灵敏度。

1.3.3 分析测量范围试验^[5-6] 按照 EP6-A 文件要求,用混合血清浓度为 2 888.0 U/L(编号 H)与浓度为 29.7 U/L(编号 L)的样本按照 6L、5L+1H、4L+2H、3L+3H、2L+4H、1L+5H、6H 的比例,得到 7 个不同浓度的样本,每个水平重复测定 3 次,计算出各浓度的均值,用 Y 表示,预测值为理论计算值,用 X 表示,将所得结果作散点图,对数据进行回归统计分析。

1.3.4 临床可报告范围试验 根据功能灵敏度、最大稀释度和分析测量范围,建立本检测系统的临床可报告范围。下限即为功能灵敏度,上限即为分析测量范围上限乘以最大稀释度。

1.4 统计学处理 本文数据分析使用 Microsoft Office Excel 2003 软件统计分析。

2 结 果

2.1 最大允许稀释度试验结果 用样本 1 与样本 2 分别按比例稀释后,按要求测定各浓度水平,得到结果并计算(见表 1)。根据相关文件,CK 回收率在 90%~110%为可接受,因此本实验室 CK 的最大允许稀释度为 1:16。

表 1 CK 稀释回收率测定结果

稀释倍数	标本 1(U/L)		回收率 (%)	标本 2(U/L)		回收率 (%)
	测量值	预期值		测量值	预期值	
1:2	745.0	717.5	103.8	1 542.1	1 444.0	106.8
1:4	380.3	358.8	106.0	750.4	722.0	103.9
1:8	193.2	179.4	107.7	389.6	361.0	107.9
1:16*	98.0	89.7	109.2*	196.7	180.5	109.0*
1:32	49.8	44.8	111.1	100.8	90.3	111.7
1:64	25.4	22.4	113.3	52.2	45.1	115.7
1:128	13.5	11.2	120.4	26.9	22.6	119.2

*:最大稀释倍数时的回收率。

表 2 CK 功能灵敏度结果

稀释倍数	标准差(s)	平均数($\bar{x}$)	CV(%)
1:2	0.43	14.6	2.91
1:3	0.39	9.8	4.05
1:4	0.33	7.3	4.58
1:5	0.38	5.4	7.10
1:6	0.39	4.7	8.36
1:7	0.40	3.7	10.92
1:8	0.33	3.6	9.30
1:9	0.45	2.8	15.82
1:10	0.18	2.2	8.11
1:11	0.41	2.1	19.46
1:12	0.41	2.0*	19.85*
1:13	0.39	1.7	22.67
1:14	0.31	1.3	23.91
1:15	0.34	1.2	27.3
1:16	0.35	1.1	31.70

*:CV 最接近 20% 所对应的浓度。

2.2 分析灵敏度试验结果 用混合得到浓度为 29.7 U/L 的样本按上述方法测定,收集测定结果(见表 2)。功能灵敏度^[4](functional sensitivity,FS)是批间变异系数(CV)最接近 20% 时的最大稀释管浓度。由表 2 数据可得到本实验室 CK 的功能灵敏度为 2.0 U/L。

2.3 分析测量范围试验结果 用混合血清浓度为 2 888.0 U/L(编号 H)与浓度为 29.7 U/L(编号 L)的样本按上述要求配成各种浓度进行测定。预测值为 X,测量值为 Y,用 Excel 2003 作直线回归,散点图见图 1。经计算得知, $r^2=0.999\ 3$,两者有良好的相关性;b=1.000 3 非常接近 1,因此可得出结论:CK 在 2.0~1 000 U/L 之间呈良好线性,与厂家声明基本相符。

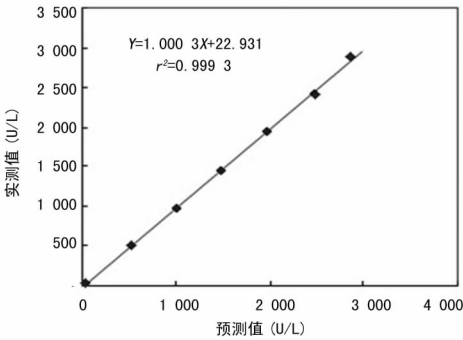


图 1 分析测量范围线性结果

2.4 临床可报告范围试验结果 根据公式:CRR 上限=AMR 上限×最大稀释度,本实验室 CRR 上限为 1 000 U/L×16=16 000 U/L,经试验得到 CK 功能灵敏度为 2.0 U/L,所以 CK 的临床可报告范围为 2.0~16 000 U/L。

3 讨 论

可报告范围是检测系统的重要分析性能之一,它的评价包括分析测量范围(AMR)和临床可报告范围(CRR)^[8]。但在实际工作中,每个实验室的仪器、试剂、环境存在差异,因此可报告范围也有不同。根据国际标准和国内要求,各实验室有必要定期对精密度、准确度、分析测量范围、临床可报告范围及参考区间等检测系统性能指标进行评价或验证^[9]。

由于各级主管部门对检验工作质量都有明确要求,因此每个实验室都会根据自己实际情况,做好室内质控并参加国家级、省级、市级等室间质评,以评价各实验室自身的精密度和准确度。但是分析测量范围和临床可报告范围等指标的评价和验证经常被忽视。AMR 是指用不需任何预处理而直接测量样本所得到的分析物值的范围,也被称为线性范围或直接可报告范围,它反映整个系统的输出特性。CRR 是检测系统的重要分析性能之一,是指可通过稀释、浓缩等预处理使待测物浓度处于分析测量范围内,是对临床诊断、治疗有意义的待测物浓度范围。生化定量检验工作中常常遇到浓度为分析测量范围上限好几倍的样本。怎样才能保证检测结果在线性范围以外的准确性呢?这就需要 CRR,它是利用功能灵敏度、最大允许稀释度以及分析测量范围等指标来确立。验证分析测量范围的目的是为了确定所使用的方法在这个范围内是否呈线性关系。但对于超出线性范围的结果,可以通过实验得出它的最大稀释倍数、功能灵敏度和 AMR 上限等性能指标,计算出它的临床可报告范围^[10-11]。验证 CRR 的目的是为了保证检验结

果数据准确,确保有临床实际价值,避免荒诞数据报出。

AMR 必须至少每年验证 2 次,在仪器大修、更换试剂厂家或批号改变时就要要求重新验证^[12]。如果验证未通过,应认真总结,分析原因,重做实验,看是否上限不行需要降低或延伸,还是下限不行需要确定系统低值的精密度。若有需要,应寻求技术支持以更好地解决问题。

EP6-A 指南采用多项式回归分析^[13],更优于 EP6-P 方案,是目前公认的分析测量范围评价中最好的统计学方法。EP6-A 指南推荐用高值和低值浓度的样本按比例精确配成等间距的不同浓度样本,但等间距不是必需的,只要知道各样本间的关系,用配成特殊浓度的样本也可以作为验证的材料。

本次实验顺序为最大稀释度试验、功能灵敏度试验、线性试验。用最大稀释倍数去稀释样本来指导功能灵敏度试验、线性试验。本次试验得到的结果为:最大允许稀释度为(1:16),功能灵敏度为(2.0 U/L),分析测量范围在 2.0~1 000 U/L 之间呈良好线性,与厂家声明基本相符,最终得出本实验室的检测系统 CK 项目的临床可报告范围为 2.0~16 000 U/L。

参考文献

[1] 严海忠,王伟佳,张秀明,等. 化学发光免疫法检测 BNP 的分析测量范围和临床可报告范围研究[J]. 现代检验医学,2011,26(1):40-45.

[2] 姚少羽,孙艳虹,高玲,等. Vitros950 生化检测系统最大稀释度测定[J]. 中国实用医药,2008,34(1):31-34.

[3] 毕波,吕元. 定量检测方法学性能验证的系统设计[J]. 中华检验

医学杂志,2007,30(2):143-145.

[4] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[J]. 2 版. 上海:科学技术文献出版社,2009:115.

[5] CLSI. EP6-A Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures[S]. Wayne,PA:CLSI,2003.

[6] Jhang JS,Chang CC,Fink DJ,et al. Evaluation of linearity in the clinical laboratory[J]. Arch Pathol Lab Med,2004,128(1):44-48.

[7] 李俊立,彭长华,王昌富,等. BACKMAN LX20 生化检测系统 ALT 可报告范围的评价[J]. 现代检验医学杂,2010,25(1):71-73.

[8] 潘超,王文龙. 定量检测分析测量范围(AMR)验证. 论文汇编(第五届全国临床实验室管理学术会议):258-259.

[9] 金丕焕. 医学统计学[M]. 2 版. 上海:复旦大学出版社,2006.

[10] 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,2006:58-73.

[11] 张秀明,庄俊华,郑松伯,等. 临床化学发光免疫检测测定 AFP 的分析性能验证与实验方法[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(11):70-765.

[12] 王治国. 临床检验方法确认与性能验证[M]. 北京:人民卫生出版社,2009:289-297.

[13] 周琦,李少男,李小鹏,等. 利用美国临床实验室标准化委员会 EP6-A 指南判定线性[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(1):1256-1260.

(收稿日期:2013-10-15)

(上接第 84 页)

防、早治疗及改善预后的目的。

通过对两种方法学的比较,发现 GICA 法检测抗-CCP 抗体,性能可靠,操作简便、快速,完全能够满足对 RA 的初步筛查,值得在临床上推广使用。

4 结 论

GICA 法作为一种简单又有效的方法,能很好地提高临床实验室操作人员的工作效率,并能节约成本。根据本次实验研究发现,GICA 法的敏感性略差,有待进一步提高,同时建议厂家对试剂加以改进,使其受客观因素的影响降到最低,这将更有利于 GICA 法在实际工作中的应用。ELISA 法具有特异性强、敏感性高、可信度高的特性,临床确诊检查应首选 ELISA 法。同时,笔者建议根据实际情况,将两种方法联合起来,特别是在大批量检测时可用 GICA 法作为初筛,对疑似患者或者需要确诊的患者进行 ELSIA 法检查。这样可以大量地节约时间,并且能更快速、准确地为患者服务。

参考文献

[1] Scott DL,Pugner K,Kaarela K,et al. The links between joint damage and disability in rheumatoid arthritis[J]. Rheumatology (Oxford),2008,47(2):122-132.

[2] Bukhari M,Harrosiont B,Lunt M,et al. Prospective community-based study[J]. Anhritis Rheum,2001,44(10):1248-1253.

[3] 许亚辉. 免疫学检验现状与发展[J]. 现代中西医结合杂志,2005,

14(19):2609-2611.

[4] Bejarno V,Quinn M,Conaghan PG,et al. Effect of the early use of the anti-tumor necrosis factor adalimumab on the prevention of job loss in patients with early rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum,2008,59(10):1467-1474.

[5] 谢其冰,刘钢,王兰兰,等. 抗环瓜氨酸肽抗体在类风湿关节炎诊断中的意义及对关节侵蚀预测的价值[J]. 中华风湿病学杂志,2004,8(6):356-358.

[6] 曾小峰,艾脉兴,甘晓丹,等. 抗环瓜氨酸肽抗体检测在类风湿关节炎中的意义[J]. 中华风湿病学杂志,2008,12(2):281-284.

[7] Schellekens GA,Visser H,de Jong BAW,et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide[J]. Arthritis Rheum,2008,51(2):155-163.

[8] Schellekens GA,de Jong BA, Van den Hoogen FHJ,et al. Citrulline is an essential constituent of antigenic of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies[J]. J Clin invest,2007,101(2):273-281.

[9] Schellekens GA, Visser H, De Jong BA, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide[J]. Arthritis Rheum,2008,51(1):155-163.

[10] Bizzaro N,Mazzanti G,Tonutti E,et al. Diagnostic accuracy of the anti-citrulline antibody assay for rheumatoid arthritis[J]. Clin Chem,2011,47(6):1089-1093.

(收稿日期:2013-09-28)