

血清肌酸激酶活性检测的分析测量范围建立与评价

潘锡龙(广东省中山市第三人民医院检验科 528451)

【摘要】 目的 探讨应用上海科华试剂在日立 7020 生化仪上检测血清肌酸激酶(CK)活性的分析测量范围。**方法** 参照临床和实验室标准化协会(CLSI)EP6-A 文件要求,选用超过厂家声明的分析测量范围上限的高值血清标本(H)和低浓度的低值血清标本(L),按比例配成等间距的 10 个不同浓度标本,每个标本重复测定 2 次。对所得数据应用 SPSS19.0 统计软件进行多项式回归分析。**结果** 得到线性回归方程 $Y=397.442X-1.211$ 。其中 $b_0=-1.211$ 与 0 的差异无统计学意义($t=-0.175, P>0.05$)。肌酸激酶活性的分析测量范围是 13.5~3 178.5 U/L。**结论** 应用科华试剂在日立 7020 生化仪上检测血清肌酸激酶活性可得到比较理想的分析测量范围,能够满足大部分精神疾病临床常规检测的需要。

【关键词】 肌酸激酶; 分析测量范围; 建立; 评价; EP6-A 文件

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.02.018 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)02-0167-02

Establishment and evaluation of the analytical measurement range of in the detection of serum Creatine Kinase PAN Xi-long (Department of Clinical Laboratory, The third People's Hospital of Zhongshan, Guangdong 528451, China)

【Abstract】 Objective To explore the analytical measurement range of the serum Creatine Kinase(CK)detected by Hitachi 7020 automatic analyzer with the ShangHai KeHua biochemistry reagent kits. **Methods** According to the EP6-A document published in 2004 by American Clinical and Laboratory Standards Institution(CLSI), the ten samples with equal interval,proportional prepared with the low levels serum(L)and the high levels serum(H)exceeding the high limit claimed by manufacture were detected twice each. The results were registered and analyzed by the SPSS19.0 statistic software with polynomial regression analysis. **Results** The polynomial regression curve was: $Y=397.442X-1.211$. There was not significantly different between " $b_0=-1.211$ "and" 0 ", by t test($t=-0.175, P>0.05$). The analytical measurement range of Creatine Kinase was 13.5-3 178.5 U/L. **Conclusion** Hitachi 7020 automatic analyzer with the KeHua biochemistry reagent kits has a good analytical measurement range, which can meet more needs of clinical routine for detecting CK of the mentlly ill persons.

【Key words】 creatine kinase; analytical measurement range; establishment; evaluation; EP6-A document

血清肌酸激酶(CK)活性与精神病发病期的阳性症状及病情关系密切且平行,特别在发病期会异常升高;在协助精神疾病诊断、疗效监测和预后判断中有重要作用^[1-3]。现结合临床和实验室标准化协会(CLSI)EP6-A 文件要求及相关文献^[4-6],针对其活性检测分析测量范围的建立展开相关试验与分析讨论。

1 材料与方 法

1.1 标本准备 收集足够量来自中山市第三人民医院就诊患者高值 CK 血清混合标本,要求超过厂家提供的线性范围,离心后取上清液作为高值标本(H);以同样方法收集 CK 尽可能低的低值标本(L);要求标本新鲜、无黄疸、无脂浊和无溶血。

1.2 仪器与试剂 日立 7020 全自动生化分析仪;上海科华公司生产的 CK 试剂(批号 20120112);英国朗道的质控品(批号 714UN、608UE);ependorf 精度移液枪。

1.3 方 法

1.3.1 一系列试验标本配制 将标本 H 和 L 按 9L,8L+1H,7L+2H,6L+3H,5L+4H,4L+5H,3L+6H,2L+7H,1L+8H,9H 的配比关系进行配制,得到 10 个试验标本(S1~S10)。

1.3.2 试验标本检测 使用 7020 生化仪配合科华试剂对 10 个试验标本进行检测,每个标本重复测定 2 次。7020 生化仪

经过校准并且质控在控,记录检测结果。各种操作应严格执行相应操作规程,要求在当天内完成检测。

1.4 统计学方法 对试验所得数据应用 SPSS19.0 统计软件进行多项回归分析。设定本实验室重复性和线性允许误差分别为 3%和 5%。

2 结 果

2.1 一系列试验标本检测结果,见表 1。

表 1 10 个不同浓度试验标本检测结果(U/L)

试验标本编号	测量结果 1	测量结果 2	测量均值	差值
S1(9L)	13	14	13.5	-1
S2(8L+1H)	399	397	398.0	2
S3(7L+2H)	764	778	771.0	-14
S4(6L+3H)	1 198	1 195	1 196.5	3
S5(5L+4H)	1 572	1 587	1 579.5	-15
S6(4L+5H)	1 991	1 985	1 988.0	6
S7(3L+6H)	2 378	2 392	2 385.0	-14
S8(2H+7H)	2 767	2 807	2 787.0	-40
S9(1H+8H)	3 196	3 161	3 178.5	35
S10(9H)	3 542	3 566	3 554.0	-24

对表 1 数据进行随机误差分析,根据公式: $CVr =$

$$\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^L (Ri1 - Ri2)^2}{2 \times L}}$$

$i = S1, S2, \dots, S10$, $Ri1$ 为第 i 个试验标本测量结果 1 与测量均值的百分比, $Ri2$ 为第 i 个试验标本测量结果 2 与测量均值的百分比, L 为试验标本总数, 2 为重复测定 2 次。计算得误差 $CVr = 1.784\%$, 小于 3% 的设定目标, 不精密度符合要求, 可直接用于多项回归分析。

2.2 下面将对表 1 数据进行多项式回归分析, 结果见表 2。

表 2 多项式线性回归分析结果

阶别	系数符号	系数值	系数 SE	t	P	回归标准误
1	b0	1.955	7.194	0.272	0.793	
1	b1	396.255	1.348	294.047	0.000	12.240
2	b0	1.295	10.281	0.126	0.903	
2	b1	396.749	5.320	74.574	0.000	
2	b2	-0.055	0.569	-0.097	0.926	13.076
3	b0	13.687	7.861	1.741	0.132	
3	b1	374.079	8.002	46.751	0.000	
3	b2	6.584	2.137	3.080	0.022	
3	b3	-0.492	0.156	-3.156	0.020	8.661

在表 2 中, 二次回归多项式非线性系数 $b2(t = -0.097, P = 0.926 > 0.05)$ 不具显著性, 三次回归多项式 $b2(t = 3.080, P = 0.022 < 0.05)$ 与 $b3(t = -3.156, P = 0.020 < 0.05)$ 均具显著性, 且有较小的回归标准误, 所以, 最适多项式为三次。

2.3 线性偏倚分析 从表 2 可知, 一次多项式为 $Y = 396.255X + 1.955$, 三次多项式为 $Y = -0.492X^3 + 6.584X^2 + 374.079X + 13.687$ 。三次多项式与一次多项式预期值及线性偏离结果见表 3。

表 3 三次多项式与一次多项式预期值及线性偏离结果

序号	实测值	三次多项式 预期值 3rd	一次多项式 预期值 1st	3rd - 1st	线性偏离 (%)
1	13.5	13.687	1.955	11.732	86.90
2	398.0	393.858	398.210	-4.352	1.09
3	771.0	784.245	794.465	-10.220	1.33
4	1 196.5	1 181.896	1 190.720	-8.824	0.74
5	1 579.5	1 583.859	1 586.975	-3.116	0.20
6	1 988.0	1 987.182	1 983.230	3.952	0.20
7	2 385.0	2 388.913	2 379.485	9.428	0.40
8	2 787.0	2 786.100	2 773.785	12.315	0.44
9	3 178.5	3 175.791	3 171.995	3.796	0.12
10	3 554.0	3 555.034	3 568.250	-13.216	0.37

由表 3 可见, 第一个浓度点大大超过实验室设定的 5% 允许偏差, 因而判断 CK 在 13.5~3 554.0 U/L 呈非线性, 且其引入的误差不能被接受。故必须进行修正重新分析。

2.4 多项式回归修正 以加入 H 相对量为 X 轴, 标本实测均值为 Y 轴绘制散点图, 见图 1。从图 1 可以看出, 最后一个浓度点可能存在较大偏差, 试图去掉此点后, 重新作多项式回归修正分析, 结果见表 4。从表 4 可知, 二次回归多项式非线性系数 $b2(t = 1.213, P = 0.271 > 0.05)$ 和三次回归多项式 $b2(t = 1.974, P = 0.105 > 0.05)$ 、 $b3(t = -1.753, P = 0.140 >$

0.05) 均不具显著性。一次多项式 $b1(t = 273.253, P = 0.000 < 0.05)$ 具显著性, 可直接判断为线性, 其一次多项式为 $Y = 397.442X - 1.211$ 。

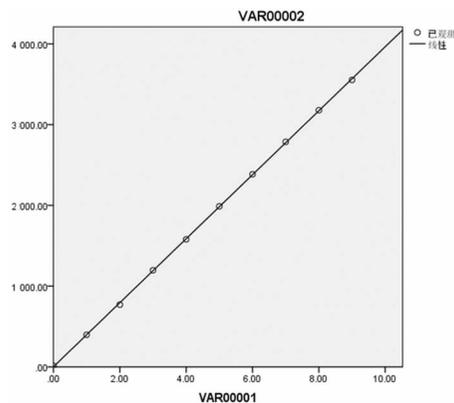


图 1 H 相对加入量与实测均值散点图

表 4 多项式回归修正分析结果

阶别	系数符号	系数值	系数 SE	t	P	回归标准误
1	b0	-1.211	6.925	-0.175	0.866	
1	b1	397.442	1.454	273.253	0.000	11.266
2	b0	5.824	8.863	0.657	0.535	
2	b1	391.411	5.166	75.760	0.000	
2	b2	0.754	0.621	1.213	0.271	10.905
3	b0	13.157	8.712	1.510	0.191	
3	b1	375.612	10.054	37.358	0.000	
3	b2	5.991	3.036	1.974	0.105	
3	b3	-0.436	0.249	-1.753	0.140	9.402

3 讨论

分析测量范围是反映实验方法学性能的重要指标之一。在日常检测过程中标本真实浓度只有在分析测量范围内才能保证其检测结果的可靠性, 否则, 可能会导致分析结果的假性偏高或偏低。故分析测量范围的建立有助于获得准确可靠的检测结果。分析测量范围的评价主要有平均斜率法、EP6-A 方法和 CAP-IRC 方法, 但相对最好的为 EP6-A 方法^[7]。为了尽量避免由于基质效应带来的影响, 试验使用了低值混合血清 (L) 作为稀释介质^[7]。

应用科华试剂在日立 7020 生化仪上检测 CK 有理想的精密度, 得到误差 $CVr = 1.784\%$, 小于 3% 的设定目标, 可直接用于对精密度要求较高的多项式回归分析。从表 2 和图 1 可以看出, 三次多项式非线性系数 $b2, b3$ 与 0 之间的差异性显著 ($P < 0.05$), 存在非线性关系; 且有最小的回归标准误, 故, 最适多项式为三次。接着进行线性偏倚分析, 即每个试验样本浓度处线性偏倚与设定误差的比较。如果偏倚小于设定误差说明非线性只是在统计学上的结论, 但在临床工作中是可以接受的, 否则就不可接受。经分析发现第一个浓度点处的偏倚为 86.90% 大于设定的 5%, 并由图 1 观察到可能由于最后一个浓度点存在较大偏差引起。故去掉该浓度点重新分析, 得到二次和三次多项式非线性系数与 0 之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 直接判断为线性, 最适模型为一次多项式 $Y = 397.442X - 1.211$, 其检测在 13.5~3 178.5 U/L 范围内呈线性, 比试剂说明书规定的 (0~2 000 U/L) 要宽得多。也包含 CK 参考范围 25~200 U/L 在内。故可确定 13.5~3 178.5 U/L 为其分析测量范围。由表 4 中一次多项 (下转第 170 页)

2 结 果

2.1 两个检测系统的精密度的评价 使用 Randox 水平 2, 水平 3 质控品连续 20 次盲测, 计算均值(\bar{x})、标准差(s)和变异系数($CV\%$), 结果见表 1, 其 CV 均小于厂家声明的 5%。

表 1 两个系统精密度评价

质控水平	自建系统		Roche 参考系统	
	ADA	CV%	ADA	CV%
水平 2	11.4±0.5	4.4%	11.4±0.4	3.5
水平 3	19.5±0.7	3.6%	19.4±0.6	3.1

2.2 自建检测系统和参考系统之间比较 自建检测系统与参考系统结果均数及标准差分别为 12.2、6.5, 12.1、6.5, 二者之间差异无统计学意义($P>0.05$)。回归方程为 $Y=1.0014X+0.0732$, $r^2=0.9984$, 显示自建系统和参考系统之间具有显著相关性, 结果见图 1。自建系统和参考系统偏倚图见图 2, 其平均偏差为 2.32%。

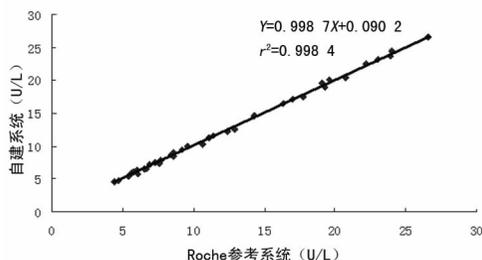


图 1 自建系统与参考系统比较

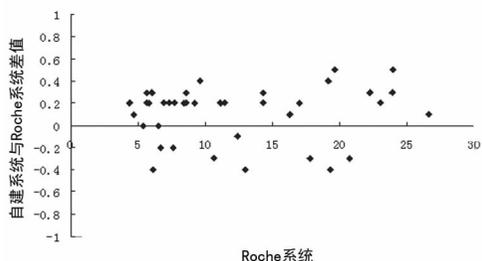


图 2 自建系统和 Roche 系统偏倚

3 讨 论

一致性是指在统一计量单位的基础上, 无论何种检测系统

(上接第 168 页)

或 $b_0(t=-0.175, P>0.05)$ 与 0 的差异无统计学意义, 说明截距只是由统计引入的, 而实际的曲线通过原点。

通过本次研究可知, 应用科华试剂配合日立 7020 生化仪检测 CK 可得到比较理想的分析测量范围, 能够满足大部分精神临床常规检测。对高于 3 178.5 U/L 的标本应使用低值或灭活血清进行稀释, 使得稀释后浓度在 13.5~3 178.5 U/L 内, 然后重测, 以保证检测结果的可靠性。

参考文献

[1] 沈广虎, 魏明竟. 精神病患者血清肌酸激酶表现[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(7): 697-698.

[2] 王琦, 王晓俭. 精神患者血清酶测定临床价值[J]. 齐鲁医学杂志, 2010, 25(6): 526-527.

[3] 李均, 王艳娉, 罗敏, 等. 精神疾病血清肌酸激酶活性研究

其测量结果都应该在给定的区间内一致。也就是说, 测量结果应是可重复、可再现、可比较的^[4]。由于原装试剂价格较贵, 如果在保证标本的检验质量不降低的前提下, 使用既适合本科室检测仪器, 能够降低成本, 又能让临床上接受的国产试剂成为作者要解决的问题。现在很多医院的检验科都有根据自身情况选择仪器、校准品、试剂等建立检测系统的情况, 虽然降低了检测的成本, 但是需要解决的是自建检测系统的结果可比性和临床可接受性。同一仪器使用不同试剂的现象在国内较为普遍, 对不同试剂系统检测结果的可比性评估就显得非常重要^[5]。在目前国产试剂建立的检测系统还不完善的情况下, 可以对自建的检测系统进行方法学比较, 以保证临床检测结果的准确性以及可比性。CLSI 标准中 EP9-A 文件为临床各实验室提供了方法学比较的标准化途径。由表 1 可见, 两个检测系统的精密度均符合临床要求, 对比实验数据是可靠的, 这是进行下一步对比实验的前提。两个检测系统相关性分析显示, 其回归方程为 $Y=0.9987X+0.0902$, $r^2=0.9984$, 两个系统的平均偏差为 2.32%, 表明北京利德曼 ADA 检测试剂盒在 Roche Modular DPP 全自动生化分析仪上建立的检测系统与 Roche 参考系统之间具有很好的可比性, 相关性好, 自建系统的检测结果可以被临床所接受。但是自建检测系统与参考检测系统结果有很好的可比性, 相关性好, 只能表明自建系统的检测结果可以替代参考系统检测临床标本, 其检测结果可以被临床接受, 但不能证明自建系统具有与参考检测系统一样的可溯源性。

参考文献

[1] 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: 14-16.

[2] 丛玉隆. 临床实验室管理[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004: 48-50.

[3] 刘九江, 张立. 腺苷脱氨酶活性测定方法学及临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 30(7): 690-691.

[4] 杨振华. 临床实验室质量管理[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 143-146.

[5] 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, 2003: 12-16.

(收稿日期: 2012-06-24 修回日期: 2012-11-12)

[J]. 中国医学创新, 2010, 7(19): 3-4.

[4] 陈斌鸿, 罗恒, 李炜焯, 等. 奥林巴斯 AU5400 全自动生化分析仪检测尿素氮临床可报告范围的建立与评价[J]. 实验与检验医学, 2011, 29(2): 117-120.

[5] 张秀明, 温冬梅, 王伟佳, 等. 电化学发光免疫法检测 NT-proBNP 的分析性能评价[J]. 中华检验医学杂志, 2011, 34(12): 1152-1157.

[6] 杨有业, 张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 168-192.

[7] 刘成忠, 肖传宇, 候文华, 等. 不同稀释液对高值血清肌酸激酶稀释测定的影响[J]. 实用医学杂志, 2009, 25(14): 2361-2362.

(收稿日期: 2012-06-18 修回日期: 2012-11-19)