

ALT, AST, GGT 和 LDH 检测 JSCC 法变更 IFCC 法性能验证*

陆雅春, 宁 芬, 李婷婷, 黄开泉 (安徽中医药大学第一附属医院检验中心, 合肥 230031)

摘要:目的 对 ALT, AST, GGT 和 LDH 检测方法由 JSCC 法变更为 IFCC 法进行性能验证。方法 对新方法进行正确度、精密度验证, 线性范围评价, 临床可报告范围评价, 并与原方法进行方法学比对试验。结果 ALT, AST, GGT 和 LDH 正确度偏倚 $<1/2$ 允许总误差; 批内精密度 $CV < 1/4$ 允许总误差, 日间精密度 $CV < 1/3$ 允许总误差; 线性范围评价所得的回归方程 $Y = aX + b$, a 在 $0.97 \sim 1.03$ 范围内, b 在可接受范围内; 可报告范围验证结果显示, 标本经不同比例稀释后, 实测值/预期值均在 $90\% \sim 110\%$, 说明在一定范围内的标本稀释检测结果可靠。与原方法进行的回归比对所得回归方程相关系数均接近于 1。结论 ALT, AST, GGT 和 LDH 检测的新方法分析性能满足临床检测需求。

关键词: IFCC; JSCC; 性能验证; 精密度; 线性范围; 可报告范围; 回归分析

中图分类号: R446.112 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2015)02-111-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.02.034

Evaluation of the Method Change from JSCC to IFCC for ALT, AST, GGT and LDH Detection

LU Ya-chun, NING Fen, LI Ting-ting, HUANG Kai-quan

(Clinical Laboratory Center,

the First Affiliated Hospital of Anhui Chinese Medicine University, Hefei 230031, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the method change from JSCC to IFCC for ALT, AST, GGT and LDH Detection. **Methods** The accuracy, precision, linearity and reportable range of the new detection method for ALT, AST, GGT and LDH, and the comparison analysis on the two different reagents were evaluated. **Results** All the accuracy bias of the testing items were within the required $1/2TEa$, and all the within-run precision and between run precision were within the required $1/4TEa$ and $1/3TEa$ respectively. The linear verification results got the regression equation of the theoretical and measured values $Y = aX + b$, in which a was within the range of $0.97 \sim 1.03$, b was within an acceptable range. The reportable range verification results showed that after the samples being diluted by different proportions, the measured/expected values were all between 90% and 110% , indicating that within a certain range of sample dilution the test results were reliable. The comparison results showed the R^2 closed to 1. **Conclusion** The evaluation of the method change for ALT, AST, GGT and LDH detection met the basic requirements of the experiments in clinical diagnosis.

Keywords: IFCC; JSCC; performance verification; precision; linear range; AMR; regression analysis

依据 CNAS-CL02:《医学实验室质量和能力认可准则》(ISO 15189:2012)对医学实验室检测系统性能评价的相关要求,医学实验室需对其检验方法的性能进行验证和评估。在用于医学检验之前应评估所选用方法和程序,证实其并给出满意结果后方可进行医学检验。

由于厂家原因,我检验中心生化组 ALT, AST, GGT 和 LDH 四个项目检测方法由 JSCC 法更改为国际临床化学联合会(IFCC)法,故需要对该四个项目进行方法学性能验证。主要从正确度、精密度、线性范围、临床可报告范围几个方面进行验证及评价,并将新检测方法与原检测方法进行回归比对试验。评价标准为分析性能在本实验室允许总误差(TEa)内,本实验室允许总误差参照卫生

部临床检验中心室间质量评价允许总误差。定量检测项目:正确度偏倚 $<1/2TEa$;批内精密度 $CV < 1/4 TEa$, 日间精密度 $CV < 1/3 TEa$ 。

1 材料与方法

1.1 实验样本

1.1.1 正确度采用卫生部室间质评质控品(201322, 201325)。

1.1.2 精密度试验采用伯乐质控标本(三个水平批号分别为:45651, 45652, 45653)。

1.1.3 线性范围验证采用高、低值病人标本,高值标本为接近线性范围上限或高于线性上限 $10\% \sim 20\%$ 的标本,低值标本为接近线性范围下限的标本。已知的高值标本浓度值为:ALT:1 410 U/L, AST:1 410 U/L, GGT:2 089 U/L, LDH:1 517

* 作者简介:陆雅春(1982-),女,硕士,初级检验师,主要从事临床生物化学检验诊断, Tel:18655136100, E-mail: luyachun. happy@163.com。

U/L。

1.1.4 临床可报告范围评价采用线性范围内高值病人标本。

1.1.5 回归比对试验采用涵盖医学决定水平值的不同浓度病人标本。

1.2 试剂和仪器

1.2.1 ALT, AST, GGT 和 LDH 试剂均为日本和光试剂公司提供。

1.2.2 检测仪器为 HITACH7600 全自动生化分析仪。

1.3 方法

1.3.1 正确度验证:根据 CLSI EP15-A2^[1] 文件使用参考物质的正确度方案,采用两个浓度卫生部室间质评质控品(201322, 201325),混匀后分别连续进行 5 次测定,计算其平均值,然后与靶值相比较,计算相对偏倚,若相对偏倚均小于 1/2 实验室允许总误差 TEa,结果为可接受。

1.3.2 精密度验证:根据 CLSI EP5-A^[2] 文件:批内精密度分析:三个浓度伯乐质控在一个批次内连续进行 20 次检测。日间精密度分析:每天检测 3 个浓度(高、中、低值)伯乐质控,每个浓度重复测定 4 次,每次间隔 2 h 以上,连续检测 5 天。

每天应进行正常的室内质量控制,在控后方可进行检测。所检测所有数据超出 3s 的数据不能超过 2 个,否则应分析失控原因纠正后重新进行试验,计算批内及日间精密度,并将批内精密度和日间精密度与实验室允许总误差比较,批内精密度 < 1/4 TEa, 日间精密度 < 1/3 TEa。

1.3.3 线性范围评价:取评价项目的高、低值病人标本各一份^[3],高值标本为接近线性范围上限或高于线性上限 10%~20% 的标本,低值标本为接近线性范围下限的标本。将高浓度混合样品与低浓度混合样品按 5H, 4H+1L, 3H+2L, 2H+3L, 1H+4L, 5L 的比例精确配制,重复测定 3 次。所有样品在一次运行中或几次间隔很短的运行中随机测定,在一天之内完成。统计数据,剔除离群值,单个离群值可直接由数据组中剔除并进行重测,全部样品无需重新测定。如发现多个离群值或数据点过于分散,需检查造成此误差的可能原因,对可能原因进行纠正后,对全部样品进行重新测定。将 3 次测定结果取平均值并与稀释后的预期值比较。采用线性回归分析,以预期值为 X,以按比例稀释的实测均值为 Y,得线性方程 $Y=aX+b$,得到 a, b 及 R^2 值。X 和 Y 分别为自变量和应变量, a 为斜率, b 为 Y 轴截距, R^2 为相关系数的平方,判断其是否线性。判断标准: a 在 0.97~1.03 范围内, b 在可接受范围内, $R^2 > 0.99$ 。

1.3.4 可报告范围评价:选用厂家提供的高值参考物质或者仪器线性范围内高值病人标本^[4],分别做 2.5 倍、5 倍、10 倍、15 倍稀释检测,重复测定 3 次,将 3 次测定结果取平均值并与稀释后的预期值比较,所测项目稀释后实测值/预测值结果均在 90%~110% 之间,符合该条件的最大稀释度为该项目的最大稀释倍数。

1.3.5 IFCC 法与 JSCC 法的回归比对:每天取涵盖医学决定水平值的不同浓度病人标本 8 份,分别用原 JSCC 法试剂与新 IFCC 法试剂对 ALT, AST, GGT 和 LDH 四个酶类进行检测,顺序逆序各检测一次,计算平均值,连续检测 5 天,分别得到 40 个数据。以 IFCC 法检测所得数据为纵轴, JSCC 法检测所得数据为横轴,计算回归方程,得到相关系数 R^2 。所用试剂均在开瓶有效期内。

1.4 统计学分析 数据处理及线性回归方程散点图绘制均采用 Microsoft office excel 2003 软件。

2 结果

2.1 正确度验证 采用 2013 年第二次卫生部室间质评质控标本进行的正确度验证结果显示,两个不同浓度四个酶类项目计算的偏倚均 < 1/2 TEa, 结果可以接受,见表 1。

表 1 IFCC 法检测四个酶类项目正确度验证结果

项 目	靶值(U/L)	测定均值(U/L)	偏倚(%)	1/2TEa(%)
ALT	201322 88	90	2.65	10
	201325 237	249	5.06	10
AST	201322 90	95	5.56	10
	201325 244	248	1.64	10
GGT	201322 171	180	5.26	10
	201325 370	39	4.5	10
LDH	201322 354	362	2.17	10
	201325 812	834	2.67	10

2.2 精密度验证结果 三个不同批号的伯乐质控结果显示,4 个酶类项目的批内精密度 CV 均 < 1/4 TEa, 日间精密度 CV 均 < 1/3 TEa, 结果满足性能要求,见表 2。

2.3 线性范围验证结果 4 个酶类项目线性回归分析所得线性方程 $Y=aX+b$ 结果显示, a 值均在 0.97~1.03 范围内, b 值也较小,相关系数 $R^2 > 0.99$, 线性良好,通过验证的线性范围见表 3。

2.4 临床可报告范围验证结果 四个项目选定标本按照 2.5 倍、5 倍、10 倍、15 倍进行稀释,所得到的最大稀释倍数为 15 倍,此时实测值/预期值(%)在 90%~110% 之间。则这四个酶类项目的可报告范围为:线性范围×15,结果见表 4。

表2 IFCC法检测四个酶类项目精密度验证结果,批内CV均在1/4TEa范围内,日间CV均在1/3TEa范围内

项目		批内精密度				日间精密度			
		均数(U/L)	标准差	CV(%)	1/4TEa(%)	均数(U/L)	标准差	CV(%)	1/4TEa(%)
ALT	45651	24.05	0.69	2.87	5	24.05	0.83	3.45	6.67
	45652	80.70	1.29	1.60	5	82.50	3.00	3.63	6.67
	45653	196.45	1.90	0.97	5	195.85	2.06	1.05	6.67
AST	45651	35.95	0.83	2.31	5	35.60	0.94	2.64	6.67
	45652	94.05	1.36	1.45	5	95.05	2.68	2.82	6.67
	45653	222.55	1.67	0.75	5	222.85	2.11	0.95	6.67
GGT	45651	29.10	0.31	1.07	5	29.10	0.45	1.55	6.67
	45652	81.75	1.02	1.25	5	82.85	2.41	2.91	6.67
	45653	134.45	0.94	0.70	5	133.45	1.23	0.92	6.67
LDH	45651	107.80	0.77	0.71	5	109.75	0.85	0.77	6.67
	45652	162.00	2.45	1.51	5	164.85	4.61	2.80	6.67
	45653	397.65	2.35	0.59	5	396.90	3.68	0.93	6.67

表3 四个酶类项目线性范围验证结果

项目	线性方程	R ²	通过验证线性范围(U/L)
ALT	$Y=1.0121X+3.3333$	1	2.2~1410
AST	$Y=1.0118X+3.7333$	1	2.6~1410
GGT	$Y=1.0211X+8.4$	0.9999	2.3~2089
LDH	$Y=1.0218X+15.633$	0.9994	5.4~1517

2.5 IFCC法与JSCC法回归比对 分别用IFCC法与JSCC法对这四个酶类项目进行检测,进行回归比对,结果显示两种方法检测结果一致性很好,

相关系数均>0.999。线性回归比对散点图见图1。

表4 四个酶类最大稀释倍数为15倍

项目	实测值/预期值(%)				可报告范围(U/L)
	2.5倍	5倍	10倍	15倍	
ALT	103	102	105	95	2.2~21150
AST	102	102	106	102	2.6~21150
GGT	105	105	106	105	2.3~30000
LDH	107	106	108	110	5.4~19500

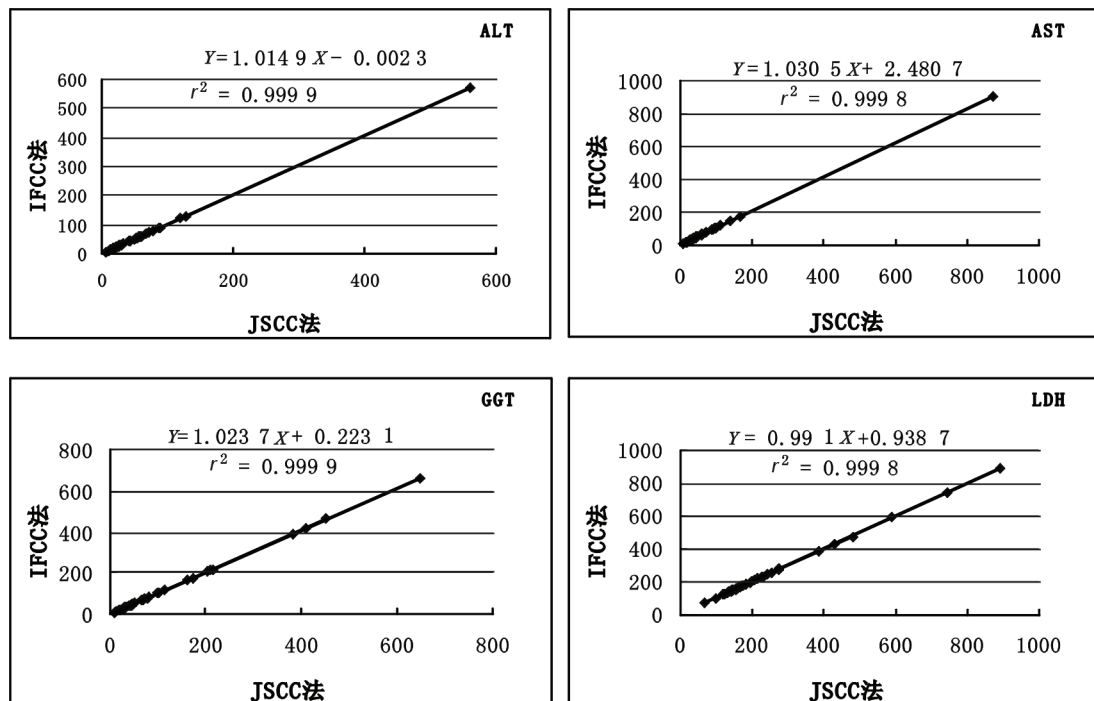


图1 IFCC与JSCC法检测ALT,AST,GGT和LDH的回归比对

3 讨论 依据卫生部《医疗机构临床实验室管理办法》和ISO15189要求,我们应该对新引入的或检测系统有一方发生了变化时重新进行检测系统的性能验证,只有通过验证并与厂商提供的资料一致时才能将此系统用于临床检验^[5],本文中,我检验中心酶类项目ALT,AST,GGT及LDH,由于

厂家原因更改了试剂检测方法,由原来的JSCC法更改为现在的IFCC法,故我们应对新方法进行验证。主要从正确度、精密度、线性范围、临床可报告范围等方面进行验证。整个实验过程中,质控均在控,只有在控的数据才是有效的。

正确度验证通常有两种方法,一是采用定值参

考物质检测,首先使用定值参考物1进行检测系统的校准,之后分别检测定值参考物1和不同批号的定值参考物2,每个项目每批校准品重复测定5次,取平均值与校准品的定值进行比较,计算绝对偏倚与相对偏倚。没有定值物质可采用不同批号校准品,或室间质评质控品,由于本实验室没有定值参考物质,故采用卫生部室间质评所发放的质控标本进行验证试验;另外一种可以采用室间质评EQA数据进行统计,算出本实验室的正确度,根据最近的EQA上报数据(至少连续2次的),不少于10个数据进行统计,计算偏倚,偏倚 $<1/2$ 卫生部临床检验中心室间质评允许范围。由于方法学刚刚更改,故没有连续的采用该方法得到的室间质评数据,故不能采用此种方法计算正确度。检测结果的保证需要良好的精密度^[6],因此我们平时工作中对精密度的质量要求是,批内精密度 $<1/4TEa$,日间精密度 $<1/3TEa$,并定期进行重新验证评审^[7]。本次实验中,四个酶类项目的批内精密度以及日间精密度均满足性能要求。线性范围验证判定标准:若 a 在0.97~1.03范围内, $R^2>0.95$,可直接判断线性范围在实验已涉及浓度;若 a 不在0.97~1.03范围内, b 较大,舍去高值或低值组数据,另作回归统计。直至缩小的分析范围其回归方程中 a 和 b 的判断符合要求,该范围为线性范围。线性试验采用的高值标本为厂家提供的高值物质或者病人标本。线性试验有助于评价偏倚的大小(但非线性并不是偏倚的全部),偏倚是测量误差的一部分。在临床工作中我们经常会遇到一些高值标本结果超出了仪器检测范围,对于此类标本通常我们会将标本稀释到仪器检测的线性范围内进行测定^[8],为了保证稀释后结果的可靠性,故需进行可报告范围验证,在进行验证实验选取标本时,应挑选在仪器线性范围内高值标本,保证验证结果准确可靠。本文四个酶类项目最大进行了15倍稀释,因结果已经满足临床需求,故没有进行更大倍数的稀释。方法学比对评价的目的在于确定两种方法得到的相

应结果是否在实验统计学的范围内。本实验中IFCC法检测的数据与原JSCC法检测的数据回归比对结果显示,一致性很好,新的检测方法有效性得到验证。

综上所述,对仪器等其它检测条件未更改的情况下,对四个酶类项目方法学变更进行的性能验证结果显示,新的检测方法与分析性能一致,满足临床检测要求。

参考文献:

- [1] NCCLS document EP15-A. User demonstration of performance for precision and accuracy. Approved Guideline[S]. Wayne: PA, NCCLS EP15-A, 2001: 1-15.
- [2] NCCLS document EP15-A. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices[S]. Wayne: PA, NCCLS EP6-A, 1999: 1-28.
- [3] NCCLS document EP15-A. Evaluation of the linearity of quantitative analytical methods[S]. Wayne: PA, NCCLS EP6-A2, 2003: 1-47.
- [4] 张 葵. 定量检测系统方法学性能验证的基本方法[J]. 临床检验杂志, 2009, 27(5): 321-323.
Zhang K. The basic method of quantitative detection system performance validation[J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory, 2009, 27(5): 321-323.
- [6] 安 萍, 蔡惠芸, 张 艳, 等. 酶联免疫吸附试验操作中关键环节及质控方法研究[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2010, 4(10): 95-98.
An P, Cai HY, Zhang Y, et al. Study on the quality control of operating problems in ELISA[J]. Chinese Journal of Clinicians (Electronic Version), 2010, 4(10): 95-98.
- [7] 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(12): 1332-1335.
Bi Bo, Lu Y. Evaluation on the acceptability of method performance validation for quantitative tests[J]. Chin J Lab Med, 2007, 30(12): 1332-1335.
- [8] Kroll MH, Praestgaard J, Michaliszyn E, et al. Evaluation of the extent of nonlinearity in reportable range studies[J]. Arch Pathol Lab Med, 2000, 124(9): 1331-1338.

收稿日期: 2014-08-13

修回日期: 2015-01-04

黏液型铜绿假单胞菌感染实验鉴定和病例回顾分析*

张保荣¹, 臧志梅² (1. 宿迁市第一人民医院检验学部, 江苏宿迁 223800;

2. 邳州市人民医院检验科, 江苏邳州 221300)

摘要:目的 探讨黏液型铜绿假单胞菌的临床分布特点及对常用抗菌药物敏感度。方法 对医院2013年分离的53株非重复性黏液型铜绿假单胞菌感染病例进行回顾性分析,通过查阅病历获得患者一般资料、疾病情况、抗生素使用等信息,并对菌株进行药敏分析。结果 所有菌株均分离自痰标本,患者以老年人为主,平均年龄 66.7 ± 9.1 岁。50例患者有呼吸道感染的慢性病史;所有患者住院期间均使用了2种或2种以上抗菌药物,联合使用过大环内酯类的仅11例。53株菌

* 作者简介:张保荣(1972-),女,本科,副主任技师,主要研究方向:临床微生物学,Tel:13852233133,E-mail:2029138059@qq.com。