

以 LDH 为例来探讨具有溯源性和互换性的校准品在临床生化应用中的重要性^{*}

张莹,周铁成,童开,马越云,郝晓柯

(第四军医大学西京医院全军临床检验中心,西安 710032)

摘要:目的 通过在临床实验室使用具有溯源性和互换性的校准品,寻求血清酶测定标准化的新途径。方法 以乳酸脱氢酶(LDH)为例,收集混合血清,由4家酶学参考实验室联合赋值,制备具有溯源性和互换性的参考物质。参加试验的8个实验室先使用自己的校准品,在校准通过后,将高中低3个水平的血清样本和参考物质各测定3次,记录检验结果;再使用具有溯源性和互换性的参考物质作为校准品校准后,重复测定高中低3个水平的血清样本和参考物质各3次,记录检验结果。计算8家实验室在使用具有溯源性和互换性的参考物质作为校准品校准前后,参考物质检测结果与靶值的偏倚和高中低3个水平的血清样本 LDH 检测结果的变异系数(CV%)。结果 使用具有溯源性和互换性的参考物质参后,参考物质检测结果与靶值的偏倚由6.80%降到1.40%;高中低3个水平的血清样本 LDH 检测结果的变异系数 CV 由11.41%,9.93%和9.87%降到了4.13%,3.55%和3.80%。结论 在临床实验室使用具有溯源性和互换性的参考物质作校准品,能大大降低实验室间结果的正确度和精密度,提高检测结果的准确性,有利于各个实验室各设备间结果的标准化和一致性。

关键词:乳酸脱氢酶;溯源性;互换性;校准品

中图分类号:R446 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2015)06-105-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2015.06.032

With Lactate Dehydrogenase as An Example to Evaluate the Importance of the Traceability and Commutability Calibration in Clinical Biochemical Detection

ZHANG Ying, ZHOU Tie-cheng, TONG Kai, MA Yue-yun, HAO Xiao-ke

(Center of Clinic Laboratory Medicine of People's Liberation Army,

Xijing Hospital of Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

Abstract: **Objective** With the use of traceability and commutability calibration in clinical laboratory, try to seek new way in the standardized of serum enzyme determination. **Methods** For example to the lactate dehydrogenase (LDH), to collect mixed serum, which assigned by four enzymology reference laboratory, produced the traceability and commutability reference materials. Firstly, eight laboratories used their own calibration to calibrate their detection systems. After calibration, every laboratory detected one enzyme calibrator and three patient samples and then recorded the results. Additionally reused the traceability and commutability reference materials to calibrate their detection systems. After calibration, every laboratory detected them again and recorded the results. Calculated the calibration products for the determination of the bias between the results of the overall mean and labeled values, determination of serum samples from the changes of the results of precision before and after calibration. **Results** After the use of the traceability and commutability reference materials, the bias between results of reference materials test and the target was value from 6.80% decline to 1.40%. The precision of three levels of serum samples were from 11.41%, 9.93% and 9.93% to 4.13%, 3.55% and 3.80%. **Conclusion** Using the traceability and commutability reference materials as calibration in clinical laboratory, can greatly reduce the accuracy and precision of the results among these laboratory and improve the accuracy of test results, and then is increase the standardization and consistency in clinical laboratory.

Keywords: lactate dehydrogenase; traceability; commutability; calibrator

血清酶检测结果由于各个试剂生产厂家会对试剂缓冲液的种类和浓度以及样本/试剂体积比

有不同的规定,加之不同生化分析仪比色杯光径的精密度和反应槽恒温性能的不同,使得常规检测系

^{*} 作者简介:张莹(1981—),女,硕士研究生,主管技师,主要从事临床生化及酶学参考实验室室内比对工作, Tel:13759901311, E-mail:xxfzy@163.com。
通讯作者:周铁成, E-mail:tiecheng@fmmu.edu.cn。

统之间的检测结果有差异。为了降低常规检测系统之间的检测结果的差异,临床实验室一直都在为寻求如何使天然临床患者样品,不论实验室在何处、何时,不论使用什么常规检测方法,都能得到可比较的结果而努力。为使血清酶定量测定的结果具有可比性,国际临床化学学会(IFCC)研究并形成多个酶学检测的参考方法,并研究开发参考物质等。所有这些努力全部是为了使临床实验室使用这些参考物质和参考方法后,日常患者样品的检测结果在不同实验室间、不同检测方法间实现检测结果的可比性。但在大家都一味的强调这样的标准化的同时却忽略了更重要的参考物质应该具备的特性,即参考物质的互换性。著名的标准化专家 Dr. Miller 和参与 ERM470 参考物质制备的 Zegers 专家都提出了作为校准品的参考物质互换性的重要性和目前仍存在的问题^[1,2]。而国际上目前对具有溯源性和互换性的校准品在临床应用的研究较少。

本实验室依据 IFCC 推荐的参考方法建立了 LDH 的参考测量程序并完成了国际室间质评,确保本实验室结果的准确性^[3,4]。本研究收集 HBV, HCV, 梅毒, HIV 全阴性混合血清, -80℃ 冻存。验证混合血清稳定性和互换性,并由四家酶学参考实验室联合赋值,制备成本研究所使用的参考物质。研究使用具有溯源性和互换性的参考物质作为校准品校准前后,参加试验的实验室间结果的正确度和精密度的变化,为进一步开展血清酶定量测定标准化工作提供实验数据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 实验样本:收集住院病人高中低三个水平的新鲜混合血清配制成检测样本。

1.1.2 参考物质:收集 HBV, HCV, 梅毒, HIV 全阴性混合血清,过滤分装后由酶学参考实验室赋值。

1.2 仪器 临床实验室:八家临床实验室使用的是日立全自动生化分析仪 7600,日立全自动生化分析仪 7180,罗氏全自动生化免疫分析仪 Cobas8000,奥林巴斯 5800。参考实验室:四家参考实验室设备是日立 U-3310 紫外分光光度计,安捷伦 Cary100 紫外分光光度计,岛津 UV2450 紫外分光光度计。

1.3 方法

1.3.1 参考物质的制备:收集混合血清 LDH 检测结果在 150~250 U/L 的 HBV, HCV, 梅毒, HIV 全阴性混合血清 50 ml,用 0.45 μm 的滤膜过滤除掉血清中的颗粒,将混合血清混匀后分装到

1.5 ml 的冻存管于 -80℃ 保存。

1.3.2 稳定性和互换性验证:稳定性评估:每季度对混合血清进行检测,评估血清检测结果的稳定性。互换性验证:收集 20 份临床标本,浓度尽可能覆盖高中低浓度,分别将 20 份标本和要验证的参考物质在临床实验室和参考实验室用参考方法进行检测,将两组数据进行直线回归,绘制常规方法对于参考方法的 95% 的置信区间,判断参考物质的测定值是否落在 95% 的置信区间内。参考物质的测定值落在 95% 的置信区间内,说明互换性良好。

1.3.3 参考物质酶学参考实验室联合赋值:由四家参加国际酶学实验室室间比对活动五年以上且成绩合格的实验室联合赋值。

1.3.4 参考物质作为校准品在临床的应用:参加试验的八个实验室先使用自己的校准品,在校准通过后,将高中低三个水平的血清样本和参考物质各测定 3 次,记录检验结果;再使用具有溯源性和互换性的参考物质作为校准品校准后,重复测定高中低三个水平的血清样本和参考物质各 3 次,记录检验结果。计算八家实验室在使用具有溯源性和互换性的参考物质作为校准品校准前后,参考物质检测结果与靶值的偏倚和高中低三个水平的血清样本 LDH 检测结果的变异系数(CV%)。

1.4 统计学分析 使用 SPSS14.0 软件对检测结果的均值、标准差等进行统计。

2 结果

2.1 参考物质稳定性和互换性验证

2.1.1 参考物质稳定性评估:分别于 2014 年 8 月,11 月和 2015 年 3 月对混合血清 LDH 结果进行检测,结果分别为 229.67, 229.33, 231.67 U/L 稳定性良好。LDH 检测结果均值为 230.22 U/L,标准差(s)为 1.26 U/L,变异系数(CV)为 0.55%。

2.1.2 参考物质互换性评估:经验证 LDH 参考物质互换性良好,见图 1。

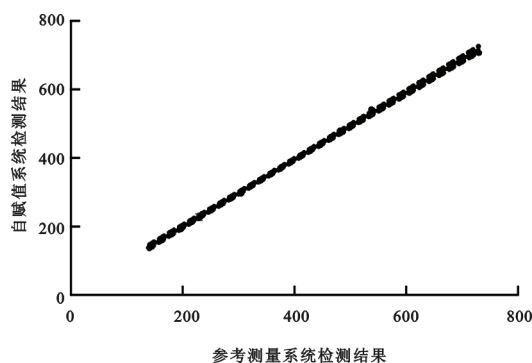


图1 LDH 参考物质互换性验证

2.2 酶学实验室联合赋值 此批混合血清由西京医院、四川迈克生物科技股份有限公司、宁波美康生物科技股份有限公司和航天总医院共四家酶学参考实验室联合赋值,结果分别为 228.91, 225.70, 227.40, 225.80 U/L,均值为 226.95 U/L,标准差(s)为 1.52 U/L,变异系数(CV)为 0.67%。

2.3 参考物质在临床实验室的应用 使用具有溯源性和互换性的参考物质后,参考物质检测结果与靶值的偏倚由 6.80%降到 1.40%;高中低三个水平的血清样本 LDH 检测结果的变异系数 CV 由 11.41%,9.93%和 9.87% 降到了 4.13%,3.55%和 3.80%,见表 1。

表 1 使用具有溯源性和互换性的参考物质作为校准品校准前后的检测结果(U/L)

实验室 检测设备	校准前			校准后		
	低值	中值	高值	低值	中值	高值
日立 7600	174.33	243.00	369.00	177.66	248.00	373.00
日立 7180	132.33	184.00	277.33	161.00	227.00	338.66
日立 7180	160.33	228.66	345.33	160.33	222.00	337.00
日立 7180	155.33	215.33	327.33	161.00	226.66	340.33
罗氏 Cobas8000	155.66	223.66	344.00	163.00	232.33	359.00
奥林巴斯 5800	129.66	185.00	267.63	160.10	227.90	328.56
奥林巴斯 5800	161.33	228.33	356.00	158.00	223.00	351.33
日立 7600	160.13	229.50	355.70	160.53	228.80	354.80
均值	153.63	217.18	330.29	162.70	229.46	347.83
s	15.16	21.56	37.71	6.19	8.16	14.38
CV(%)	9.87	9.93	11.41	3.80	3.55	4.13

3 讨论 近年来,全世界临床化学专家都致力于标准化的研究,探索着如何将参考物质或参考方法的可靠性通过溯源链传递给检测系统的校准品,常规实验室使用具有溯源性的校准品,使患者样品的检测得到可溯源的结果,实现患者样品检测结果的世界大同^[5]。但是,如果不认识到参考物质还需要具备互换性的话,一致性将无法实现,更无法谈及实现溯源性^[6]。

国外有学者对参考物质互换性做了一些研究,Anna Carobene 等^[7]以 GGT 为例评估了参考物质的互换性,C. Perich 等^[8]在欧洲多个实验室也做了类似的研究。国内也有学者研究质控品和校准品的互换性^[9],但制备与血清基质一致的具有溯源性和互换性的参考物质并应用于临床的研究却较少。

有些校准品是血清基质的,但不是添加了防腐剂就是为了使这样的参考物质在冻融时不会出现浑浊而事先去除了血清中的 α 脂蛋白。最终引入

了更多的处理和去除更多原血清中的成分使这样的参考物质与新鲜患者血清的互换性遭遇了严重问题。本研究收集新鲜混合血清去除杂质后分装,验证混合血清的稳定性和互换性后由四家酶学参考实验室联合赋值,最后在临床应用。使用具有溯源性和互换性的参考物质后,检测结果与靶值间的偏倚降低了,实验室间结果的 CV 也降低了。在临床实验室使用具有溯源性和互换性的参考物质作校准品,能大大地提高实验室间结果的正确度和精密密度,提高检测结果的准确性,有利于各个实验室各设备间结果的标准化和一致性。如果我们在任何时候始终以新鲜患者样品为实验对象,始终以方法学比较作为度量是否实现可比性,去度量使用的校准品是否与患者样品间具有互换性,我们的实验室结果可比性一定会不断改善。

参考文献:

- [1] Miller WG, Myers GL. Commutability still matters [J]. Clin Chem, 2013, 59(9): 1291-1293.
- [2] Zegers I, Beetham R, Keller T, et al. The importance of commutability of reference materials used as calibrators: the examples of ceruloplasmin [J]. Clin Chem, 2013, 59(9): 3122-3129.
- [3] Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 3. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of lactate dehydrogenase [J]. Clin Chem Lab Med, 2002, 40(16): 642-648.
- [4] 张莹,周铁成,童开,等. 酶学参考实验室室内质量评价技术方案的建立 [J]. 现代检验医学杂志, 2010, 25(3): 146-148.
Zhang Y, Zhou TC, Tong K, et al. Established technical solutions of the enzymology reference laboratory external quality assessment [J]. J Mod Lab Med, 2010, 25(3): 146-148.
- [5] International Organization for Standardization (ISO). In vitro diagnostic medical devices-measurement of quantities in biological samples-metrological traceability of values assigned to calibrators and control materials [S]. ISO 17511, ISO, 2003.
- [6] Greg Miller W, Myers GL, Lou Gantzer M, et al. Roadmap for harmonization of clinical laboratory measurement procedures [J]. Clin Chem, 2011, 57(8): 1108-1117.
- [7] Carobene A, Guerra E, Ceriotti F. A mechanism-based way to evaluate commutability of control materials for enzymatic measurements. The example of gamma-glutamyltransferase [J]. Clinica Chimica Acta, 2013 (424): 153-158.
- [8] Perich C, Ricós C, Alvarez Z, et al. External quality

assurance programs as a tool for verifying standardization of measurement procedures: Pilot collaboration in Europe[J]. Clinica Chimica Acta, 2014(432): 82-89.

- [9] 李 民, 王延伟, 陈 阵, 等. 几种 α -淀粉酶校准品和质控品的互换性研究[J]. 临床军医杂志, 2012, 40

(4): 942-943.

Li M, Wang YW, Chen Z, et al. Evaluation of the commutability of several calibrators and quality control materials of the α -amylase[J]. Clinical Journal of Medical Officers, 2012, 40(4): 942-943.

收稿日期: 2015-06-01

修回日期: 2015-06-11
