

非临床实验室对心肾功能生化指标检测能力的验证

苗玉发^{1#}, 顾玥^{2#}, 张琳¹, 王超¹, 黄芝瑛², 王雪¹, 潘东升¹, 吕建军¹, 张河战^{1*}
(1. 中国食品药品检定研究院, 北京 100176; 2. 中山大学药学院, 广州 510006)

摘要 目的: 评价检测实验室对肌酸激酶、乳酸脱氢酶、血清肌酐和血尿素4种生化指标的检测能力。方法: 分别采用单因素方差分析和 t 检验对能力验证样品的均匀性和稳定性进行了研究。对能力验证数据进行正态性检验, 按照能力验证评价标准, 对各实验室的结果进行评价。结果: 肌酸激酶满意率为95%, 乳酸脱氢酶满意率为96.9%, 血尿素满意率为87.8%, 血清肌酐满意率为95.3%。结论: 部分实验室的心肌酶和肾功生化指标检测能力有缺陷, 实验室的检测质量需要改进。

关键词: 心肌酶; 肾功能; 能力验证

中图分类号: R95 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2019)02-0182-06

doi:10.16153/j.1002-7777.2019.02.011

Proficiency Testing on Biochemical Indicators of Heart and Kidney Function at Non-clinical Laboratories

Miao Yufa^{1#}, Gu Yue^{2#}, Zhang Lin¹, Wang Chao¹, Huang Zhiying², Wang Xue¹, Pan Dongsheng¹, Lü Jianjun¹, Zhang Hezhan^{1*} (1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100176, China; 2. Pharmaceutical College of Zhongshan University, Guangzhou 510006, China)

Abstract Objective: To evaluate the detection abilities of four biochemical of clinical laboratories: creatine kinase (CK), lactic dehydrogenase (LDH), serum creatinine (CRE) and blood urea (UREA). **Methods:** The uniformity and stability of proficiency testing samples were analyzed by one-way ANOVA and t test respectively. Data distribution of proficiency testing was analyzed by normality test and the proficiency testing results were evaluated according to evaluation criteria. **Results:** The satisfaction rate of CK was 95%, the satisfaction rate of LDH was 96.9%, the satisfaction rate of UREA was 87.8% and the satisfaction rate of CRE was 95.3%. **Conclusion:** The defects of detection ability of biochemical indicators of myocardial enzymes and kidney function were discovered in several laboratories, and the detection quality of the laboratories needs to be improved.

Keywords: myocardial enzymes; kidney function; proficiency testing

肌酸激酶 (creatinine kinase, CK) 是一个与细胞内能量转运、肌肉收缩以及三磷酸腺苷 (adenosine-triphosphate, ATP) 再生直接关联的激酶。体内有四种同功酶形式: 肌肉型

(MM)、脑型 (BB)、杂化型 (MB) 和线粒体型 (MiMi)。MM型主要存在于各种肌肉细胞中, BB型主要存在于脑细胞中, MB型主要存在于心肌细胞中, MiMi型主要存在于心肌和骨骼肌线粒

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项 (编号 2018ZX09201017)

作者简介: 苗玉发, 硕士; 主要从事食品药品安全性研究; Tel: (010) 67876252; E-mail: miaoyufa@nifdc.org.cn

共同第一作者: 顾玥, 硕士; 主要从事食品药品毒理学研究; E-mail: 839552317@163.com

通信作者: 张河战; E-mail: zhanghz@nifdc.org.cn

体中。在临床疾病诊断中,血清CK浓度检测常用于肌肉萎缩和心肌梗塞等疾病的诊断^[1-2]。乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)是一种糖酵解酶,存在于机体所有组织细胞的胞质内,其中以肾脏含量较高。LDH常联合CK-MB、肌红蛋白以及肌钙蛋白等检测用于心肌梗死的诊断^[3]。血清肌酐(serum creatinine, CRE)和血尿素(blood urea, UREA)水平是肾脏毒性的常规检验指标,常常联合肾毒性早期标志物胱抑素C的检测对肾脏损害的程度进行评价^[4]。目前,这4项指标都在药物安全性评价研究中得以广泛应用,来检测药物在实验动物体内的毒性作用。实验室对这些指标的检测能力直接影响药物的毒性评价结果,从而对能否进一步研发这些药物产生重要影响。为了评价各检测实验室检测这4项指标的准确性和可比性,促进检验能力提高,故开展了本次能力验证研究。

能力验证(proficiency testing, PT)是利用实验室间比对,按照预先制定的准则评价参加实验室的检测能力^[5]。能力验证组织者必须是经过CNAS认可的合格的能力验证提供者,并按照能力验证的相关指南开展能力验证研究^[6-7]。本研究由中国食品药品检定研究院组织,由安全评价研究所负责实施。本文总结了本次能力验证研究的相关内容,并对不满意结果进行了分析,为实验室采取纠正措施,促进质量改善以及监管部门评价实验室检测能力提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

能力验证样品为市售的某品牌高、低2个浓度的血清冻干粉,批号分别为875UE和1144UN,有效期至2020年7月。

1.2 仪器与试剂

HITACHI 7180型全自动生化分析仪(日本日立公司);HB-RO/60制水机(杭州惠邦净水设备有限公司);IGS60通用型培养箱(美国Thermo公司);P1000 Gilson移液枪(美国吉尔森公司);CK试剂和校准品、LDH试剂和校准品、UREA试剂和校准品以及CRE试剂和校准品,均购自日本和光纯药工业株式会社。

1.3 试验方法

1.3.1 样品制备及发放

对高、低2个浓度的血清冻干粉进行均匀性和

稳定性检验,结果符合要求后,再分成5个样品瓶,即1号(低)、2号(高)、3号(低)、4号(高)和5号(高),4℃冷藏保存。运输时将样品瓶放入塑料泡沫盒中,内置冰袋冷藏运输。使用时,每瓶加入5 mL去离子水,室温放置30 min,混匀、配制成上机样品。

1.3.2 均匀性和稳定性检验

依据CNAS-GL03《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》,对高、低浓度能力验证样品的均匀性和稳定性进行检验,检验结果符合要求后,再进行标记^[8]。采用单因素方差分析法(F检验)对样品进行均匀性检验。稳定性检验是以均匀性检验测定结果作为第1次稳定性数据,分别对室温条件保存8 d的样品、模拟运输条件保存7 d的样品以及在温度37℃加速试验条件下保存16 h的样品进行检测,采用t检验法判定样品的稳定性。

1.3.3 数据统计方法和能力评价方法

随机抽样、均匀性和稳定性数据分析以及能力验证结果均采用SPSS19.0软件进行分析。通过单样本Kolmogorov-Smirnov检验进行能力验证结果数据的正态性检验,设置显著性水平 $P < 0.05$ 。

按照CNAS-GL02《能力验证结果的统计处理和能力评价指南》的评价原则以及美国临床实验室改进法案(CLIA'88)中生化指标的质量分析要求,制定本研究的评价标准,如表1所示。依据美国病理学家学会(College of American Pathologists, CAP)组织的生化指标能力验证的评价要求,每个指标分配5个样品,一个样品通过记20分,得分大于或等于80分判定为该指标评价结果满意^[9-10]。

2 结果

2.1 样品均匀性和稳定性考察结果

按照随机化原则,随机抽取高、低浓度样品各10瓶,混匀后每瓶再分成2份,随机测定20次,对结果进行单因素方差分析,当 F 值 $< F_{\alpha}(v_1, v_2)$ 时,判定样品均匀分布^[8]。研究中高、低浓度样品的各指标检验 F 值 $< F_{\alpha}(9, 10)$,样品是均匀的分布,能满足本次能力验证的要求,均匀性检验结果如表2和表3所示。

随机抽取高、低浓度样品各6瓶,将样品在温度37℃培养箱中放置16 h,进行加速稳定性研究。随机抽取高、低浓度样品各6瓶,按照实际运输时的要求进行包装后,放置在室外环境中7 d,进行

运输条件下的稳定性研究。随机抽取高、低浓度样品各6瓶,放置在室温环境中8 d,进行室温条件下的稳定性研究。当 t 检验 $P > 0.05$ 时,判断样品稳

定。研究结果显示,3种条件下高、低浓度样品的 t 检验 P 值都大于0.05,样品的稳定性符合能力验证的要求,稳定性检验结果如表4所示。

表1 生化指标的评价标准

指标	靶值	评价标准
CK/ (U · L ⁻¹)	组均值	± 30%
LDH/ (U · L ⁻¹)	组均值	± 20%
UREA/ (mmol · L ⁻¹)	组均值	± 9%
CRE/ (μmol · L ⁻¹)	组均值	± 15%

表2 低浓度样品的均匀性检验结果

指标	方差来源	平方和	自由度	均方	F	P 值	F_{α}
CK	样品间	63.450	9	7.050	2.238	0.113	3.02
	样品内	31.500	10	3.150			
LDH	样品间	22.200	9	2.467	1.370	0.314	3.02
	样品内	18.000	10	1.800			
UREA	样品间	0.048	9	0.005	1.333	0.329	3.02
	样品内	0.040	10	0.004			
CRE	样品间	72.800	9	8.089	1.156	0.410	3.02
	样品内	70.000	10	7.000			

表3 高浓度样品的均匀性检验结果

指标	方差来源	平方和	自由度	均方	F	P 值	F_{α}
CK	样品间	265.200	9	29.467	1.939	0.158	3.02
	样品内	152.000	10	15.200			
LDH	样品间	21.200	9	2.356	1.240	0.369	3.02
	样品内	19.000	10	1.900			
UREA	样品间	0.094	9	0.010	0.488	0.852	3.02
	样品内	0.215	10	0.022			
CRE	样品间	76.250	9	8.472	1.784	0.190	3.02
	样品内	47.500	10	4.750			

表4 样品稳定性试验结果 (p 值)

指标	低浓度样品 ($n=6$)			判定结果	高浓度样品 ($n=6$)			判定结果
	37℃	运输条件	室温条件		37℃	运输条件	室温条件	
CK	0.17	0.37	0.69	通过	0.09	0.11	0.23	通过
LDH	0.59	0.45	0.07	通过	0.64	0.27	0.19	通过
UREA	1.00	0.77	0.15	通过	0.74	0.12	1.00	通过
CRE	0.77	0.88	0.79	通过	0.13	0.61	0.13	通过

2.2 能力验证结果评价

2.2.1 参加实验室的基本情况

本研究共有43家实验室参加, 43家实验室分布于18个省、自治区或直辖市, 分布情况如表5所示。并向这43家实验室发送了能力验证样品, 回报CK、LDH、UREA和CRE结果的分别有40、32、41

和43家。

各参加实验室检测CK、LDH和UREA均分别采用了相同的检测方法, CK和LDH均采用速率法, UREA采用尿素酶法。CRE的检测方法有酶法和苦味酸法两种, 分组进行统计分析和评价。37家实验室的生化分析仪器为国外品牌, 6家为国产品牌。

表5 参加实验室的地域分布情况

地域	数量	地域	数量
海南省	1	江苏省	4
辽宁省	1	吉林省	1
北京市	7	山东省	6
四川省	2	山西省	1
广东省	3	上海市	2
广西壮族自治区	1	天津市	3
河北省	2	云南省	1
河南省	1	浙江省	4
湖北省	1	重庆市	2

2.2.2 数据正态性检验及统计量结果

对能力验证结果数据进行单样本 Kolmogorov-Smirnov 检验, $P>0.05$ 时, 数据成正态性分布, P 值小于或等于0.05时, 数据成非正态性分布。结果显示, 所有指标的Kolmogorov-Smirnov 检验 P 值均

大于0.05, 数据成正态性分布。5个样品的能力验证结果的统计量如表6所示。

2.2.3 评价结果

4个指标均出现不满意的结果, 评价结果如表7所示。

表6 能力验证结果的统计量

指标	数量	均值 (\bar{x})	标准差 (s)	K-S 检验 P 值	上限	下限
CK1	40	176.32	15.31	0.990	229.21	123.42
CK2	40	564.04	39.88	0.616	733.26	394.83
CK3	40	176.71	15.17	0.894	229.72	123.70
CK4	40	565.79	37.07	0.646	735.52	396.05
CK5	40	561.42	38.51	0.635	729.84	392.99
LDH1	32	190.72	12.90	0.169	228.86	152.58
LDH2	32	372.09	24.44	0.225	446.51	297.68
LDH3	32	190.97	12.87	0.320	229.16	152.78
LDH4	32	376.00	28.30	0.254	451.20	300.80
LDH5	32	371.69	24.64	0.084	446.03	297.35
UREA1	41	7.33	0.46	0.468	7.99	6.67
UREA2	41	18.76	1.48	0.588	20.45	17.07
UREA3	41	7.33	0.46	0.522	7.99	6.67
UREA4	41	18.82	1.41	0.342	20.51	17.12
UREA5	41	18.92	1.39	0.316	20.62	17.22
CRE1 (酶法)	29	125.15	9.76	0.196	143.92	106.38
CRE2 (酶法)	29	389.05	20.86	0.205	447.41	330.69
CRE3 (酶法)	29	124.95	9.10	0.156	143.69	106.20
CRE4 (酶法)	29	389.89	19.00	0.324	448.37	331.40
CRE5 (酶法)	29	390.98	17.49	0.274	449.63	332.33
CRE1 (苦味酸法)	14	131.74	8.70	0.998	151.50	111.98
CRE2 (苦味酸法)	14	373.99	30.01	0.186	430.09	317.89
CRE3 (苦味酸法)	14	131.75	8.32	0.904	151.52	111.99
CRE4 (苦味酸法)	14	376.47	25.71	0.310	432.94	320.00
CRE5 (苦味酸法)	14	375.30	32.15	0.310	431.60	319.01

表7 能力验证评价结果

指标	回报结果数	满意结果数	满意率/%	不满意的实验室代码
CK	40	38	95	045, 533
LDH	32	31	96.9	961
UREA	41	36	87.8	442, 474, 725, 856, 893
CRE	43	41	95.3	357, 375

3 讨论

在本研究制定评价标准时,参照了美国临床实验室改进修正法案(CLIA'88)、美国病理学家学会以及中国卫生行业标准《临床生物化学检验常规项目分析质量指标》(WS/T 403-2012)对这4项指标的质量要求,这保证了评价标准的科学性、权威性和适用性^[11]。

CRE有酶法和苦味酸法两种测定方法,当CRE浓度处于较低或中等水平时,由于干扰物的影响,苦味酸法测定的结果偏高。而当CRE浓度较高时,由于受到线性检测限的影响,苦味酸法测定的结果偏低^[12]。本研究中CRE浓度范围覆盖了高低水平,为了更客观真实地评价实验室的检测水平,避免因方法学不同所导致的误判,因此,将两种检测方法分为两组分别统计分析和评价。各实验室检测CK、LDH和UREA的方法都相同,因此,未进一步分组。本研究中实验室数量为43家,但所用仪器品牌或型号却多达25种,因此,也没有按照仪器品牌或仪器型号进行分组评价。

研究中的4项指标,只有CRE是所有实验室均开展的项目,其余项目均没有全部开展。所有指标均出现不满意结果,多种因素可以导致结果不满意,比如仪器未校准、检测参数设定错误、试剂浓度变化、人员操作以及机械方面的因素等。

实验室应查找不满意结果发生的具体原因,并采取纠正措施。实验室还可以申请测量审核进行再次评价,直至评价结果满意。否则,实验室的检测结果不准确、不具有可比性,也无法通过监管部门的实验室认证或审查。

参考文献:

- [1] 朱文秀,杨桂英.血清肌酸激酶同工酶活性大于肌酸激酶的病例分析[J].国际检验医学杂志,2017,38(1):104-105.
- [2] 任永霞.急性脑血管病患者心肌酶的变化及意义[J].中国医药导报,2017,14(28):129-132.
- [3] 段秀群,龚国富.心肌梗死三项联合检测在急性心肌梗死诊断中的价值[J].临床和实验医学杂志,2007,6(7):96.
- [4] 袁俊蓉.胱抑素C、肌酐和尿素氮在肾脏损害中的诊断价值[J].中外医学研究,2017,15(18):47-48.
- [5] GB/T 28043-2011/ISO 13528 利用实验室间比对进行能力验证的统计方法[S].2011.
- [6] GB/T 27043-2012/ISO/IEC 17043:2010 合格评定-能力验证的通用要求[S].2012.
- [7] CNAS-CL03 能力验证提供者认可准则[S].2012.
- [8] CNAS-GL03 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南[S].2012.
- [9] CNAS-GL02 能力验证结果的统计处理和评价指南[S].2011.
- [10] 刘远兴,吴新伟,李建杰,等.质量控制工具在临床生化项目过程能力验证中的应用[J].嘉应学院学报,2013,31(5):73-79.
- [11] WS/T 403-2012 临床生物化学检验常规项目分析质量指标[S].2012.
- [12] 程开书,孙建民,方兰.血清肌酐两种测定方法偏倚的比较[J].检验医学与临床,2013,10(16):2092-2094.

(收稿日期 2018年5月30日 编辑 范玉明)