

3 种淀粉酶测定方法的应用评价

蒋晓军, 罗甫花, 王朝燕(湖南省邵阳市第一人民医院检验科 422001)

【摘要】 目的 对常用的几种淀粉酶(AMY)测定方法进行临床应用评价。方法 依照美国实验室标准化委员会(CLSI)EP7-A2、EP9-A2 文件对 3 种方法(EPS 法、CNPG3 法和麦芽四糖法即贝克曼专用试剂)的精密度、比对试验和偏倚评估、线性分析及干扰试验进行测试。结果 3 种淀粉酶测定方法的日内精密度小于 1/4 总分析误差, 日间精密度小于 1/3 总分析误差。以 EPS 法为比较方法(X), CNPG3 法与贝克曼专用试剂为实验方法(Y), 用临床标本作比对分析, 相关系数(r)分别为 0.999 和 0.998, 贝克曼专用试剂在 3 个医学决定水平($XC=50, 120, 200$)处相对偏差分别为 28.42%、18.35%、15.48%。CNPG3 法对高脂血的抗干扰能力较 EPS 法与贝克曼专用试剂要高, 但对混有较多红细胞的样品会出现假性增高; EPS 法的线性较 CNPG3 法和贝克曼专用试剂要高。结论 3 种方法的相关性较好, 贝克曼专用试剂存在偏差, 可进行一定修正。3 种方法的线性与抗高脂血的干扰都能满足临床要求, CNPG3 法容易受到红细胞的干扰而使结果假性增高造成临床的误诊。

【关键词】 淀粉酶; EPS; CNPG3

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.06.010 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)06-0661-02

Three kinds of amylase determination method of application evaluation JIANG Xiao-jun, LUO Fu-hua, WANG Zhao-yan (The First People's Hospital of Shaoyao, Shaoyang 422001, China)

【Abstract】 Objective To investigate the value of clinical application evaluation methods of common amylase. Methods Using SPSS and Excel software in accordance with CLSI EP7-A2 and EP9-A2 document to test (including EPS method, CNPG3 law, the malt tetrasaccharide law the is the Beckmann special-purpose reagent) with the precision, comparison test and bias assessment, linear analysis and interference experiment. Results Three kinds of amylase method of intra-day precision less than 1/4 of total analytical error and inter-day precision was less than 1/3 of the total analytical error. EPS law was the comparison method (X), the CNPG3 law and the Beckmann special-purpose reagent (Y) was the experimental technique with the clinical specimen compared to analyzes the correlation coefficient $r=0.999$ and $r=0.998$ respectively, the Beckmann special-purpose reagent in 3 medicine decision level ($XC=50, 120, 200$) place the relative deviation were 28.42%, 18.35%, 15.48% respectively. CNPG3 method in hyperlipidemic immunity was higher than the EPS method and beckman special reagent, but mixed with red blood cell samples would appear more false increase. In the linear EPS method was higher than CNPG3 law and beckman reagents specific. Conclusion Three method's relevance are good and there is a deviation in Beckman specific reagent, but it can be certain amendments. Three methods of linear interference and the anti-hyperlipidemia can meet clinical requirements, but CNPG3 law is vulnerable to interference from red blood cells caused by leaving the false increase and making the results of clinical misdiagnosis.

【Key words】 amylase; EPS; CNPG3

血清淀粉酶(AMY)检测是目前临床上最常用的急诊项目,也是危急值的一个报告指标,急性胰腺炎时血尿淀粉酶大于参考值 3 倍即有诊断价值。由于测定原理和底物性质的不同,淀粉酶的测定方法已超过 200 种,主要有干化学法、酶法和碘-淀粉比色法^[1]。现在最常用的是以麦芽糖为底物和辅助酶与指示酶组成的淀粉酶测定系统,本实验室贝克曼生化仪 CX9 与最常用的以亚乙基封闭的 4-NP-麦芽庚糖苷为底物的 EPS 法(参加省间质评为优秀)作为比较方法与贝克曼专用试剂(麦芽四糖法)及西门子 ADVIA2400 生化仪使用的 CNPG3 法为实验方法,按照 CLSI 指南对这 3 种方法进行了精密度、线性、抗干扰等试验^[2-4],依照美国临床实验室修正法规(CLIA'88)对 3 种方法进行评价。

1 材料与与方法

1.1 试剂 EPS 法:宁波美康生物科技有限公司麦芽庚糖苷酶法, CNPG3 法:上海科华生物股份有限公司, 麦芽四糖法(贝克曼专用试剂)美国贝克曼公司。脂肪乳:商品名力能,华

瑞制药有限公司,中/长链脂肪乳注射液。

1.2 仪器 贝克曼 CX9 生化分析仪, 西门子生化仪 ADVIA2400。

1.3 校准品与质控品 校准品与质控品为英国朗道(RANDOX)公司生产,批号为校准品 CAL2350-585UN,质控品中值为 HN1530-624UN;高值为 HE1532-403UE。

1.4 临床判定标准 根据 CLIA'88 能力验证计划的分析质量要求,规定的室间质量评价标准靶值±允许误差, $T \pm 30\%$ 的 1/4 ($T \pm 7.5\%$) 作为批内变异系数; 1/3 ($T \pm 10\%$) 作为日间变异系数(CV)的允许范围和系统误差(SE)的临床可接受标准。

1.5 精密度分析 中值与高值质控品重复测定 20 次及每天随机测定 2 次,连续测定 20 d。

1.6 比对试验 根据 EP9-A2 文件,每日取结果分布于正常范围及较高与高的清亮无黄疸与脂血的患者标本 10 份,按照 1→10, 10→1 的次序测定 2 次,测 5 d,共测定了 50 例样品。

1.7 线性分析 选取低值和高值标本各一个,低值标本为 1 号,高值标本为 5 号,二者 3:1 混匀为 2 号,等份混匀为 3 号,1:3 混匀为 4 号,每份样品测定 4 次,设定值浓度=(C1V1+C5V5)/(V1+V5),C 为浓度,V 为体积。

1.8 干扰试验 依据 EP7-A2 文件收集足够多的外观清亮的血清混合,3 000 r/min 5 min 离心备用,分别吸取 2.8 mL 加入 0.2 mL 生理盐水为对照,2.8 mL 血清加入 0.2 mL 脂肪乳相当于 TG 32.6 mmol/L 为极重度脂血;2.8 mL 血清加入 0.15 mL 脂肪乳 0.05 mL 生理盐水相当于 TG 24.5 mmol/L 极重度脂血;2.8 mL 血清加入 0.10 mL 脂肪乳 0.10 mL 生理盐水相当于 TG 16.3 mmol/L 为重度脂血;2.8 mL 血清加入 0.05 mL 脂肪乳 0.15 mL 生理盐水相当于 TG 8.16 mmol/L 为中度脂血。按照 CLSI 文件要求对每个加入干扰物的样品重复测试 8 次对结果进行统计学分析^[4]。红细胞干扰试验,随机抽取 Amy 为正常值及异常值的外观清亮的样本血清各 10 份,每份样本血清分成 1 mL 两管,其中 1 份血清样本中加入该样本的压积红细胞 5 μL,配成 0.5% 的红细胞悬液,立即用 3 种方法重复检测 3 次。

2 结果

2.1 精密度 结果如表 1 所示 3 种方法的变异系数都小于 T±30% 的批内 1/4(T±7.5%) 和日间 1/3(T±10%),符合 CLIA'88 要求。

表 1 3 种 Amy 测定方法的精密度比较

方法	批内(n=20 次)				日间(n=20 d)			
	低值	CV	高值	CV	低值	CV	高值	CV
EPS 法	92	2.3	321	1.7	91	2.9	324	2.1
CNPG3 法	95	2.8	370	2.6	96	3.7	375	3.5
贝克曼专用试剂	89	2.6	225	1.9	88	3.3	221	2.5

2.2 比对试验 经 t 检验分析,CNPG3 法和贝克曼专用试剂与比较方法 EPS 法的相关系数分别为 r=0.999 与 r=0.998, P>0.05,统计结果表明 EPS 法与 CNPG3 法及贝克曼专用试剂分析结果良好。以参加室内质控评分优秀的 EPS 法比较方法,CNPG3 法及贝克曼专用试剂为实验方法用 Excel 进行线性回归其结果为:CNPG3 法 Y=1.001 4X-5.301 贝克曼专用试剂 Y=1.111 6X+8.627 4。按照美国 Statland 的建议,将血清淀粉酶 3 个医学决定水平(Xc=50、120、200)将其代入公式得到相应的 Yc 值,SE=|Yc-Xc|,SE%=|Yc-Xc|/Xc×100%。以淀粉酶可接受范围为 T±30% 的 1/2CLIA'88Ea(%) 即 15% 为标准,其临床可接受性能评价见表 2。

表 2 各检测方法的血清 Amy 测定结果可接受性能评价

Amy (U/L)	CNPG3 法				贝克曼专用试剂			
	Yc	SE	%SE	临床评价	Yc	SE	%SE	临床评价
50	44.76	5.24	10.48	可接受	64.21	14.21	28.42	不可接受
120	114.87	5.13	4.28	可接受	142.02	22.02	18.35	不可接受
200	194.98	5.02	2.51	可接受	230.95	30.95	15.48	不可接受

2.3 线性分析 每个样品取均值为测得值(Y)与设定值(X)的直线回归方程和相关系数如下:EPS 法 Y=0.996 3X-7.524 8,r²=0.999 8,CNPG3 法 Y=1.001 8X+18.079,r²=0.999 3,贝克曼专用试剂 Y=1.001X+8.725 2,r²=0.999 8,

数据均未发现离群点,线性评价良好(P<0.05),EPS 法线性可达到 5~2 500 U/L,较 CNPG3 法 8~1 800 U/L 与贝克曼专用试剂 6~1 700 U/L 高。

2.4 干扰分析 TG 为 32 mmol/L 时 3 种方法所得的结果差异有统计学意义(P<0.05),有较大干扰,当 TG 为 24.5 mmol/L 时 CNPG3 法 P>0.05 无显著性差异,EPS 法与贝克曼专用试剂则 P<0.05 有显著性差异。当 TG 为 16.3 mmol/L 3 种方法差异无统计学意义(P>0.05)。红细胞干扰试验 CNPG3 法测得的混有 0.5% 红细胞的血清较原血清结果明显偏高,经统计学处理,差异有统计学意义(P<0.001),EPS 法与贝克曼专用试剂测得结果差异无统计学意义(P>0.05)。

3 讨论

淀粉酶是急性胰腺炎最常用的诊断指标,由于测定方法太多,有时同一患者结果出现较大差异,影响临床的诊断与治疗,也影响了同级别医院间的结果互认。EPS 法与 CNPG3 法及贝克曼专用试剂的精密度都符合要求。通过线性测定 EPS 法的线性可达到 2 500 U 较 CNPG3 和贝克曼的方法高。使用 RANDOX 的中值与高值质控品发现,中值结果较为一致,高值质控品结果有较大差异,CNPG3 方法最高,贝克曼专用试剂最低,根据 EP9-A2 文件用临床标本作比对试验则 3 种方法无显著性差异,EPS 法与 CNPG3 法结果较一致,EPS 法略高于 CNPG3 法,而贝克曼专用试剂结果有一定倚偏,在 3 个医学决定水平(Xc=50、120、200)处相对偏差分别为 28.42%、18.35%、15.48%,超出了 T±30% 的 1/2CLIA'88Ea(%) 即 15% 的标准,其结果临床不可接受,可以进行一定修正。质控品与患者样本作比对有较大差异可能与质控品中的基质效应有关,因而不能根据质控品调整与衡量患者样本结果。因为胰腺炎多暴发于暴饮暴食后,所以很多临床标本严重脂血,故干扰试验特模拟临床高脂标本^[5]来测定,根据 EP7-A2 文件进行临床生化干扰试验,3 种方法在极重度脂血时有显著性干扰,会使结果假性增高与宋红美所测不同^[6-7],CNPG3 法在三酰甘油达到 24 mmol/L 时无显著差异而强于其他两种方法,3 种方法在三酰甘油达到 16.3 mmol/L 时也就是正常参考值 10 倍左右都无显著性差异。临床标本三酰甘油超过正常参考值十倍也并不太多,所以 3 种方法在临床试验中抗高血脂的干扰都能满足需要,如果遇到极高血脂标本应注明为脂血样品并且建议同时加测尿淀粉酶。在日常工作中发现西门子 ADVIA2400 仪器上使用 CNPG3 法测淀粉酶有时结果较高,甚至达到正常值的 3 倍以上而报危急值时在与临床联系时发现与患者诊断不符合,有时仪器会提示比色分析时反应曲线异常。查原因时发现这些样本的血清都混有较多红细胞,可能是用抽血管离心后直接上机,在取管塞时晃动将血弄浑了,因为程度并不大,操作人员也就没有注意,或者由于血清较少,仪器加样时吸入较多的红细胞而没有达到凝块检测的标准,当血清混有红细胞达到一定程度时会造成 CNPG3 法的淀粉酶假性增高。这些标本重新离心复查时结果则明显降低。本试验特别模拟混有红细胞的血清作干扰试验,虽没有相应的指南进行标准化操作,但提示西门子 ADVIA2400 仪器上使用 CNPG3 法在红细胞达到 0.5% 时会引起淀粉酶的结果假性增高,特别是对结果原处于正常范围的样本明显增高容易造成临床医生的误诊或者干扰临床医生的判断,所以特别注意使用 CNPG3 法时原血管作淀粉酶时应避免弄浑血清,对血清较少者可选择用样品杯加血清再作,或者采用分离胶管抽血从而避免干扰红细胞干扰。综合以上试验 EPS 法还是淀粉酶首选方法。(下转第 664 页)

仪器)分别对不同浓度的 40 份尿标本进行 WBC、RBC、EC、CAST、BACT、电导率 6 个项目测定的结果见表 3,经统计学处理,两种方法检测的上述 5 个项目检测结果的平均值、标准差和变异系数均极为接近,行配对 *t* 检验,*P* 值均大于 0.05,差异无统计学意义。相关系数均在 0.99 以上,是高度正相关性。

表 2 重新利用仪器主要参数的批间精密度(*n* = 20)

Table with 7 columns: 项目, RBC (μL), WBC (μL), EC (μL), CAST (μL), BACT (μL), 电导率 (ms/cm). Rows include 测定均值(̄x), CV(%), and 厂商性能参数.

表 3 重新利用仪器与原装仪器主要参数的测定结果比较(̄x ± s, n = 40)

Table with 6 columns: 项目, 重新利用仪器, 原装仪器, t 值, P 值, 相关系数. Rows include RBC(μL), WBC(μL), EC(μL), CAST(μL), BACT(μL), and 电导率(ms/cm).

2.4 线性实验 比较不同稀释度的实测值与理论值,进行回归与相关分析,所得结果见表 4。相关性均非常显著。

表 4 重新利用仪器主要参数的回归曲线及相关系数

Table with 3 columns: 项目, 回归曲线, 相关系数. Rows include RBC(μL), WBC(μL), EC(μL), CAST(μL), BACT(μL), and 电导率(ms/cm).

3 讨 论

UF-1000i 尿沉渣分析仪过滤装置的通过孔大小约 1 mm 左右,处于过滤装置的中轴线上,装置中的过滤网大小约 7

mm,因此其有效使用部分仅仅是正中心位于通过孔的 1 mm 左右面积。在测定过程中,滤网能将待检测尿液中过大的杂质过滤,起着防止杂质堵塞分流器与检测器的作用。因尿液中成分复杂多样,特别是脓尿、结晶尿、血尿等尿液标本中的细胞凝块、结晶块等大杂质块更容易堵塞过滤网,因此过滤装置常常会发生堵塞。过滤装置堵塞是 UF-1000i 吸样量不足、检测结果全部趋近于零、样本报警频发的最常见原因[5],通常可用去离子水反冲过滤装置排堵[6-7],但多次堵塞反冲后会引引起过滤装置滤网变形,此时再反冲已不能解决,严重影响检验结果。考虑到滤网的有效使用面积仅正中心 1 mm 左右面积,而滤网周边部分因未使用而完好无损,因此作者对堵塞变形滤网进行了重新利用。本文对装有重新利用的过滤装置的 UF-1000i 尿沉渣分析仪进行了相关技术指标的检测和分析,结果表明,装有重新利用的过滤装置的 UF-1000i 尿沉渣分析仪的其精密度、线性范围等方面均达到厂家性能要求,并与装有原装过滤装置的 UF-1000i 尿沉渣分析仪的相关性良好。

综上所述,UF-1000i 尿沉渣分析仪过滤装置的重新利用具有检测结果可靠、节约成本等优点,值得推广应用。

参考文献

[1] 兰玲玲. 尿沉渣检查在肾病中的应用[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(22): 1388.
[2] 张娟安, 肖秀林, 孙光辉. UF-1000i 尿液有形成分分析仪的性能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2001, 32(3): 386.
[3] 丛玉隆, 马骏龙. 尿液有形成分镜检与自动化检测方法学利弊和互补分析[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(5): 609.
[4] 荣琴, 张金彪. 尿沉渣分析仪 UF-100 故障排除 2 例[J]. 现代检验医学杂志, 2009, 24(1): 61.
[5] 瑞娜, 徐志康, 李红萍, 等. UF-1000i 全自动尿液沉渣分析仪常见故障排除与保养[J]. 医疗卫生装备, 2011, 34(1): 134.
[6] 邵伟兵. 希森美康尿有形成分分析仪常见故障分析与快速解决[J]. 中国医疗设备, 2010, 25(8): 111.
[7] 李震乾. 尿中主要成分对 UF-1000i 全自动尿液沉渣分析仪检测结果的影响[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2011, 32(19): 3110-3111.

(收稿日期: 2011-11-22)

(上接第 662 页)

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.
[2] 杨昌国, 许叶, 张抗. 线性评价和干扰试验中 NCCLS 评价方案的应用[J]. 临床检验杂志, 1999, 17(1): 184-186.
[3] 杨滨, 李贵生, 李萍, 等. 血清胰淀粉酶试剂盒方法性能评价[J]. 华西医学, 2008, 23(4): 832-833.
[4] 胡勤辛, 王强, 毕其华, 等. 常用酶类检测项目干扰试验的

实验分析[J]. 检验医学, 2008, 23(1): 86-88.

[5] 董立杰. 标本脂血对临床生化检测结果的评估及其对策[J]. 实用医技杂志, 2010, 17(4): 344-346.
[6] 宋红美, 纵瑞美. 极度脂血对急性胰腺炎血尿酸淀粉酶测定的影响[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(15): 1660.
[7] 张正飞. 血清淀粉酶两种测定方法医学决定水平值测定[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(20): 2544-2545.

(收稿日期: 2011-09-28)