

两种不同评价方案对不同检测系统结果正确度的验证及方法比较

王 诚, 余红岚, 何伶俐, 陈帮丹, 方向林(贵州省六盘水市人民医院 553001)

【摘要】 目的 利用美国临床实验室标准化委员会(NCCLS) EP9-A2 和 EP15-A 指南对同系列的不同型号的 2 台全自动生化分析仪进行正确度验证并对不同评价方案进行比较。方法 根据 NCCLS EP9-A2 文件标准, 每天选取患者样本 8 份, 浓度尽可能分布于分析检测范围(AMR)的高、中、低内, 分别在日本东芝 TBA-40FR 和日本东芝 TBA-120FR 上测定钙(Ca)、磷(P)、天门冬氨酸氨基转移酶、乳酸脱氢酶、肌酸激酶、肌酸激酶同工酶、 α -羟丁酸脱氢酶(α -HBDH)5 种心肌酶谱和 Ca、P, 不连续测定 5 d, 对结果进行相关分析。根据 EP9-A2 直线方程计算在某医学决定水平处的预期偏倚和预期偏倚的 95% 可信区间, 并判断偏倚是否可以接受。依据 EP15-A 标准计算两种方法间的平均偏倚和偏倚的标准差, 并判断偏倚或百分比偏倚是否小于厂家声明的偏倚或百分比偏倚。结果 除 α -HBDH 在医学决定水平 145 U/L 处偏倚不可接受, 其余各指标测定结果预期偏倚均在要求范围内; 应用 EP15-A 文件时无法查到厂家声明的偏倚或百分比偏倚, 不能进行偏倚比较。结论 同一实验室同一检测项目存在两种以上检测系统时, 应进行方法学比对和偏差评估, 判断其临床可接受性, 以保证检验结果的可比性; EP15-A 简便实用, 但在难以获得厂家声明偏倚时, 进行正确度的评价应按照 EP9-A2 文件进行。

【关键词】 方法比对; 偏差评估; 医学决定水平

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.10.035 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)10-1222-03

检测系统是指完成一个检验项目所涉及的仪器、试剂、校准品、质控品、检验程序、保养计划等的组合^[1]。不同的生化分析仪由于系统不一样, 比如方法学原理、试剂、波长、介质等, 即使是同一品牌的不同型号仪器, 由于设置参数有区别, 这些因素常常造成检测结果不一致。实现同一检验项目不同检测系统检验结果的可比性是质量管理的最终目标。本研究参考美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)的 EP9-A2 文件《用患者样本进行方法比对及偏差评估-批准指南》和 EP15-A 文件《用户对精密度和正确度性能的核实验-批准指南》的要求对钙(Ca)、磷(P)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、 α -羟丁酸脱氢酶(α -HBDH)等测定结果进行方法比对和偏差评估并判断其临床可接受性能, 为实现不同检测系统间实验结果的可比性提供依据。同时对 EP9-A2 文件和 EP15-A 文件应用于核实正确度的适用范围进行评价, 选择适合本实验室的简便、可行的评价方法。

1 材料与方 法

1.1 样品 选择门诊及住院患者新鲜血清 40 份, 要求无黄疸、无溶血、无脂血, 样本浓度尽可能在分析测量范围内均匀分布。

1.2 仪器与试剂 日本东芝 TBA-120FR 和东芝 TBA-40FR 全自动生化分析仪, 因东芝 TBA-120FR 参加室间质评成绩理想, 室内质控日间 CV 值小于 CLIA'88 室间质评允许误差 1/2 而被选为比较方法(X), 东芝 TBA-40FR 作为实验方法(Y)。两种检测系统对应项目所用试剂相同, 其中 AST 由上海科华公司提供, LDH、CK、CK-MB、 α -HBDH、Ca、P 使用北京利德曼生化股份有限公司产品。

1.3 质控品及校准品 质控使用英国朗道公司的低、中、高值质控品, 校准品使用罗氏公司的定值校准品。

1.4 方 法

1.4.1 EP9-A2

1.4.1.1 样本检测 按 EP9-A2 文件要求对 7 个比对项目在两种不同检测系统进行测定。每个项目的测定严格按照生化检测系统的操作规程进行。检测前对仪器进行必要的维护保

养并做好质控工作。每天收集 8 份新鲜患者血清样品进行双份平行测定, 测定顺序 1~8、8~1, 共测试 5 d。同批样品在 2 h 内测定完毕。任何一批因为质控或操作困难而被拒绝, 应在问题纠正后重测该批标本。

1.4.1.2 离群值检验 按文件要求计算每个样本测定值的均值、每个样本重复测定值间的绝对差值、每个样本测定值的相对差值、两种方法测定结果均值间的绝对差值、两种方法测定结果均值间的相对差值按 EP9-A2 文件进行离群值检验。

1.4.1.3 X 合适范围检验 依相关系数(r)进行判断, 如果 $r \geq 0.975$ (或者 $r^2 \geq 0.95$) 则认为 X 取值范围足够宽, 比较方法取值范围合适。若 $r^2 < 0.95$, 则必须分析更多的样品以扩大数据浓度分布范围, 重新处理观测数据。

1.4.1.4 计算线性回归方程 计算斜率(b)和截距(a), 列出回归方程: $Y_{\text{实验}} = bX_{\text{目标}} + a$ 。

1.4.1.5 预期偏倚(B_c)及可信区间计算和可接受标准的比较 当数据通过了合适范围和均匀离散度的检验, 用线性回归法处理, 计算各个项目给定的医学决定水平(X_c)处的 B_c 和 B_c 的 95% 可信区间, 如数据未通过合适范围检查或数据有非恒定精密度的, 用残差法计算偏倚。按照 CLIA'88 允许误差的 1/2 作为评价标准, 计算在 3 个不同医学决定水平 X_c 处的各自 B_c 及 B_c 的 95% 可信区间。

1.4.2 EP-15A

1.4.2.1 样本检测 检测方法同 EP9-A2 文件, 因同时按 EP9-A2 文件和 EP-15A 文件的测定样本, 故使用上述结果中的前 20 个检测数据。

1.4.2.2 实验数据处理 计算每个标本两种方法间结果的差异: 偏倚(bi) = (试验方法结果 i - 比较方法结果 i)。偏倚(bi) 的百分比(%) = $100\% \times (\text{试验方法结果 } i - \text{比较方法结果 } i) / \text{比较方法结果 } i$ 。看两种方法间在检测的浓度范围内标本结果差异是否相对一致, 如果一致则可用平均偏倚与厂家声明比较; 如果偏倚或百分比偏倚在检测的浓度范围内没有一致性, 数据应被分割成几部分, 每部分独立计算平均偏倚; 如果偏倚对浓度表现出一个渐进性的改变关系, 不能计算平均偏倚。这

种情况下,需更多的数据来确认方法的准确性。

1.4.2.3 估计偏倚与厂家声明的偏倚比较 如果偏倚或百分比偏倚小于厂家声明的偏倚或百分比偏倚,则已核对了偏倚与厂家偏倚一致。如果偏倚或百分比偏倚大于厂家声明的偏倚或百分比偏倚,可能这种差异无统计学意义,可利用下面 3 步来进行差异的统计学检验。(1)假设一个错误拒绝率为 α ,通常选 $\alpha=1\%$ 或 $\alpha=5\%$ 。(2)确定 $t_{\alpha,n-1}$ 的值, n 代表患者标本的数量, $t_{\alpha,n-1}$ 值可从统计书上获得。(3)偏倚验证值的计算:

$$\frac{t \cdot \bar{S}\bar{b}}{\sqrt{n}} + \beta, \text{ 其中 } \beta \text{ 是厂家声明的偏倚值。}$$

如果估计的偏倚 \bar{b} 小于验证值,就核对了偏倚与厂家声明偏倚一致。如果使用百分比偏倚,计算百分比偏倚验证值:

$$\frac{t \cdot S\bar{b}\%}{\sqrt{n}} + \beta, \text{ 其中 } \beta \text{ 是厂家声明的百分比偏倚值。}$$

1.5 统计学方法 所有数据输入 Excel 软件进行数据处理和相关统计。

2 结果

2.1 r 和回归方程 按照 EP9-A2 文件计算的 AST、LDH、CK、CK-MB、 α -HBDH、P、Ca 的 r 、 r^2 、 b 、 a 及直线回归方程见表 1。由表 1 可见,所有项目 $r \geq 0.975$, $r^2 \geq 0.95$,说明数据通过合适范围检验,两种系统的相关性良好。

表 1 各项项目的 r 和直线回归方程

项目	回归方程	r	r ²
AST	Y=0.996X-1.347	0.999	0.998
LDH	Y=1.004X+0.782	0.999	0.998
CK	Y=0.999X+0.242	0.999	0.998
CK-MB	Y=0.986X-0.823	0.998	0.996
α -HBDH	Y=1.005X+16.223	0.996	0.992
P	Y=0.969X+0.014	0.998	0.996
Ca	Y=1.035X-0.027	0.985	0.970

表 2 各项目在给定 Xc 的偏差、相对偏差和 Bc95% 区间

项目	标准误 (S _{y, x})	Xc	1/2 CLIA'88	Bc	95%可接受区间 Bc	
					低	高
AST	1.37	20	5	1.43	-1.78	-1.06
		60		1.59	-1.92	-1.25
		300		2.55	-4.51	-0.59
		170		1.46	0.19	2.74
LDH	5.1	300	5	1.98	0.56	3.39
		500		2.78	-3.26	5.89
		100		0.34	-0.02	0.07
CK	1.56	240	7.5	0.48	0.06	0.91
		1 500		1.74	-1.21	4.69
CK-MB	1.64	16	7.5	-1.05	-1.43	-0.67
		90		-2.08	-2.97	-1.20
α -HBDH	11.23	145	5	16.948	14.15	19.75
		0.5		-0.002	-0.01	0.01
P	0.042	0.80	5	-0.01	-0.02	-0.001
		1.70		-0.04	-0.01	-0.03
		1.75		0.03	0.02	0.05
Ca	0.032	2.75	5	0.07	0.05	0.09
		3.380		0.09	0.04	0.14

2.2 临床可接受性评价结果 见表 2。由表 2 可见,除 α -HBDH 在医学决定水平 145 U/L 处可接受偏倚小于 95% 可信区

间的下限,偏倚不可接受外,其余测定项目在医学决定水平处的允许偏倚均落在 95% 可信区间内或者是大于 95% 可信区间的上限,偏倚可以接受。

2.3 各项单位和百分比 见表 3。按 EP-15A 文件计算 AST、LDH、CK、CK-MB、 α -HBDH、P、Ca 的可报告单位和百分比两种平均偏倚、偏倚和百分比偏倚标准差。由于无法获取厂家声明偏倚而不能进行偏倚的比较。

表 3 各项项目的可报告单位和百分比两种平均偏倚、偏倚和百分比偏倚标准差

项目	\bar{b}	% \bar{b} (%)	S \bar{b}	S % \bar{b} (%)
AST	-1.54	-4.55	0.99	4.22
LDH	0.20	0.08	4.70	2.34
CK	0.18	-0.05	1.33	1.61
CK-MB	-1.14	-4.58	1.49	7.38
α -HBDH	17.26	10.43	10.96	6.51
P	0.02	-4.17	0.06	4.96
Ca	0.05	2.35	0.03	1.42

3 讨论

随着检验医学技术的快速发展以及医院实验室检测方法的多样化,目前各大、中型医院的各个实验室大多配有多台不同型号的生化分析仪。仪器往往采用不同检测原理,使用的试剂及标准品、质控品来源均有差异,这样不同检测系统带来的误差混淆临床医生对检验结果的判读,影响对临床的诊治^[2]。因此,检验医学从业人员必须选用较好的方法学评价实验误差,分析检测系统间存在的可接受偏倚,从而确保临床实验室检测结果的准确,甚至各医疗单位之间检验报告具有良好的互认性尤显重要^[1,3-4]。在使用前对仪器的主要性能进行评价,是保证检验质量的一项重要措施,这也是实验室认可的要求,规范完善仪器性能检验验证是实验室检验质量的重要保证。所以本研究依据 EP9-A2 文件和 EP15-A 文件对同一厂家 2 台不同型号的全自动生化分析仪检测 AST、LDH、CK、CK-MB、 α -HBDH、Ca、P 的结果进行进行了方法学比对和偏倚评估。

3.1 EP9-A2 文件为临床实验室及生产厂家提供了一个评价实验室方法、试剂、仪器性能的指南,用于评价测定同一被检物的两种方法、试剂或仪器间的偏倚,它要求:(1)操作者必须足够地熟悉仪器操作及维护步骤;(2)操作者有足够的时间熟悉评价方案;(3)在评价过程中,两种方法必须保证有适当的质量控制;(4)两种方法采集的数据范围必须足够宽,以保证结果具有代表性。研究过程中,坚持每日常规室内质控,并按指南要求确定样本研究量。

3.2 EP9-A2 文件通过计算 Bc95% 可信区间,并判断 Bc95% 可信区间与可接受误差的关系,替代了过去 EP9-A 文件中以相对偏倚(在 Xc 浓度上偏倚的百分比)来判断偏倚是否可以接受。从 Bc95% 可信区间的计算公式: $[\hat{B}c_{low}, \hat{B}c_{high}] = \bar{B}c \pm$

$$2S_{y \cdot x} \sqrt{\frac{1}{2N} + \frac{(Xc - \bar{x})^2}{\sum \sum (x_{ij} - \bar{x})^2}} \quad (1)$$

由此公式(1)可以看出,可信区间范围分布的宽度跟标准误(S_{x, y})的计算密切相关,标准误是残量的标准差,表示测定数据点与回归方程的离散程度,一定程度上与两种系统测定该项目的标准差有关^[5-6]。由此可见,EP9-A2 文件 Bc95% 可信区间的计算方法不仅涉及两种系统间的一致性,同时两种系统各自的精密度最后也影响到该区间的分布,这样比 EP9-A 文

件仅以相对偏倚来判断偏倚是否可以接受显得更为科学合理。

3.3 当 $r > 0.975$ 时, $\hat{B}c95\%$ 可信区间可根据公式(1)来计算; 当 $r < 0.975$ 时, 直线回归方程已无法很好地反映两组数据的关系, 此时可采用以下两种方式来处理: (1) 需要增加测定样本的数量并扩展测定样本的浓度范围, 重新进行比对计算; (2) 无法扩展浓度范围时, 可将样本按实验方法测得的浓度(即 Y 值)从低到高分成 3 组(低、中、高), 每组包含的样本数大致相当, 同时尽可能在每一组内包含一个相应的 X_c 的浓度(低、中、高), 单独计算每组内两种方法差值的均值和标准差, 按以下公式计算 $\hat{B}c95\%$ 可信区间:

$$[\hat{B}c_{low}, \hat{B}c_{high}] = \bar{B}_k \pm 2 \frac{(SD_k)}{\sqrt{N_k}} \quad (2).$$

k 是分组, $k=1, 2, 3$; k 为各组差值的均值, SD_k 为各组差值的标准差, N_k 为各组所包含的数据。以一个相应的 X_c 浓度或最接近该 X_c 浓度的组的均值和标准差来计算 $\hat{B}c95\%$ 可信区间并判断偏倚是否可以接受。

3.4 EP9-A2 规定, 根据最后的计算结果, 判断允许偏倚与 $\hat{B}c95\%$ 可信区间的关系, 有以下 3 种情况: 允许偏倚落在 $\hat{B}c95\%$ 可信区间范围内, 表示两种系统的偏倚可以接受; 允许偏倚大于 $\hat{B}c95\%$ 可信区间的上限, 表示有 97.5% 的概率两种系统得出的结果具有一致性, 偏倚可以接受; 允许偏倚小于 $\hat{B}c95\%$ 可信区间的下限, 表示有 97.5% 的概率两种系统得出的结果不具一致性, 偏倚不可接受。从表 2 可以看出, 东芝 TBA-120FR 和东芝 TBA-40FR 之间 α -HBDH 的测定在医学决定水平 145 U/L 处的允许偏倚小于 $\hat{B}c95\%$ 可信区间的下限, 偏倚不可接受, 其余测定项目在医学决定水平上的允许偏倚均落在 $\hat{B}c95\%$ 可信区间内或者是大于 $\hat{B}c95\%$ 可信区间的上限, 偏倚可以接受。

通过对两种不同生化检测系统检测结果进行比对, 结果显示, 两种检测系统的检测结果相关性很好。EP9-A2 主要用于确认和验证声明的性能, 也可通过该方案获得检测系统的分析性能特征。但是其实验过程较繁琐, 统计过程也较复杂。NC-CLS 于 2001 年出版了 EP15-A 文件, 其目的就是使用户通过最小的努力即可以核实厂家声明的精密度和准确度性能。该指南简便实用, 与 EP9-A2 相比该方案仅需检测 20 份患者标

本, 且统计学过程简单, 只需要计算偏倚和百分比两种平均偏倚; 当计算的偏倚或(和)百分比偏倚大于厂家声明时, 是否有统计学差异, 可根据文件计算验证值和比较偏倚与验证值的大小来判断; 能在不同的实验室应用, 而且其提供的统计学结论也足够严密^[7]。

使用 EP15-A 这种方案来核实准确度, 由于这种方案较简单, 只有较低的能力去检测方法间的偏倚, 因此比较方法的选择很关键, 最好使用厂家声明中使用的比较方法; 使用这种方案时已经假定了比较方法和实验方法间偏倚很小而且在不同浓度具有相对一致的偏倚, 这样在统计时才可使用各浓度的平均偏倚。应用该方案进行正确度验证应能够获取厂家声明偏倚, 如果达不到上述要求, 应参考 EP9-A2 文件来进行仪器性能验证实验。

参考文献

- [1] 丛玉隆, 冯仁丰, 陈晓东. 临床实验室管理学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004: 111-114.
- [2] 房玉珠, 姚冬明, 顾红兵, 等. 三种检测系统测定血清电解质的方法学比对与评估[J]. 江苏大学学报: 医学版, 2008, 18(1): 73-76.
- [3] 郑菲. 自动生化分析仪方法学比较[J]. 中国误诊学杂志, 2007, 7(6): 1197-1199.
- [4] 魏昊, 丛玉隆. 医学实验室质量管理与认可指南[M]. 北京: 中国计量出版社, 2004: 72-75.
- [5] Westgard JO, Hunt MR. Use and interpretation of common statistical tests in method comparison studies[J]. Clin Chem, 1973, 19(1): 49-57.
- [6] Stockl D, Dewitte K, Thienpont LM. Validity of linear regression in method comparison studies: is it limited by the statistical model or the quality of the analytical input data[J]. Clin Chem, 1998, 44(11): 2340-2346.
- [7] 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: 136-138.

(收稿日期: 2011-12-08)

• 临床研究 •

肝病患者 3 种血清酶联合检测及其意义

杨 丽, 高艳章, 杨 伟, 赵三红(云南省肿瘤医院/昆明医学院第三附属医院检验科, 昆明 650118)

【摘要】 目的 探讨肝病患者血清腺苷脱氨酶(ADA)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)及 γ -谷氨酰转移酶(GGT)联合检测对肝病的诊断价值。**方法** 对 77 例肝癌、32 例肝硬化、38 例慢性肝炎、45 例急性肝炎及 50 例健康人血清中 ADA、ALT、GGT 进行检测。**结果** ADA 在肝病组和健康对照组间差异有统计学意义($P < 0.01$), 但各肝病组间差异无统计学意义。肝病组 ALT 明显高于健康对照组, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 按升高排序依次为: 急性肝炎、肝癌、慢性肝炎、肝硬化。肝病组中以肝癌组 GGT 升高最为明显, 而慢性肝炎和肝硬化 GGT 水平差异无统计学意义。**结论** 患肝病时联合检测 3 种血清酶可辅助临床对肝病进行诊断和鉴别诊断, 同时对预后判断也有指导价值。

【关键词】 腺苷脱氨酶; 丙氨酸氨基转移酶; γ -谷氨酰转移酶

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.10.036 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)10-1224-03

腺苷脱氨酶(ADA)是一种与机体细胞免疫系统有重要作用的核酸代谢酶, 它广泛存在于人体各种细胞和体液中。作为反映肝损伤的敏感指标, ADA 可作为肝功能常规检查的项目

之一, 与丙氨酸氨基转移酶(ALT)、 γ -谷氨酰转移酶(GGT)等组成肝脏酶谱, 能较全面地反映肝脏病的酶学改变^[1]。为探讨不同肝病患者血清 ADA 的变化情况, 本实验对 192 例肝病患