

干化学与湿化学分析仪的可比性分析

李金密, 龚春梅, 何秀玲, 陈开春, 王 丰[△] (第三军医大学大坪医院野战外科研究所检验科, 重庆 400042)

【摘要】 目的 探讨不同生化分析仪 16 项常规生化指标测定结果的可比性。**方法** 参照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)EP9-A2 文件,以贝克曼 DXC800 全自动生化分析仪为参比系统,以强生 VITROS5600 全自动生化免疫分析仪为待比系统,用患者新鲜血清分别在 2 台仪器上检测 16 项常规生化指标,检查离群点,计算相关系数和直线回归方程,评估 2 个系统的预期偏差,并以美国临床实验室改进修正案(CLIA'88)对室间评估的允许误差的 1/2 为判断依据,对强生 VITROS5600 干化学系统的临床可接受性进行评价。**结果** 参比系统与待比系统具有良好的相关性,除丙氨酸氨基转移酶(ALT)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酐(Crea)及部份医学决定水平处天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总钙(Ca)、血清总蛋白(TP)测定结果的偏差外,其余指标测定结果的偏差临床均可接受。**结论** 强生 VITROS5600 干化学分析仪与 Beckman DXC800 全自动生化分析仪的检测结果具有可比性,但 ALT、AST、LDH、Ca、Crea、TP 临床比对多水平处的偏差不可接受,仍有必要针对不同方法建立不同的参考区间。

【关键词】 干化学; 医学决定水平; 可比性

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.05.011 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)05-0606-03

Comparability analysis between dry chemistry analyzer and wet chemistry analyzer LI Jin-mi, GONG Chun-mei, HE Xiu-ling, CHEN Kai-chun, WANG Feng[△] (Department of Clinical Laboratory, Research Institute of Field Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

【Abstract】 Objective To investigate the comparability of the results of 16 routine biochemical indexes detected by different biochemical analyzers. **Methods** With the Beckman DXC800 automatic biochemical analyzer as the reference system and the VITROS5600 automatic biochemical immune analyzer as the compared system according to the EP9-A2, guideline established by NCCLS. The 16 routine biochemical indexes were detected in serum of patients by the two instruments. The clinical acceptability of the VITROS5600 dry chemistry system was evaluated according to the judgment basis of 1/2 allowable error of the external quality assessment in CLIA'88 standard. **Results** The reference system and the compared system had better comparability. All tests showed good correlation between the two analytical systems. The biases of all tests were clinically acceptable, except for ALT, LDH, Crea, AST, Ca and TP. **Conclusion** The VITROS5600 dry chemical instrument could have good comparability with the Beckman DXC800 automatic biochemical analyzer. But the biases of ALT, AST, LDH, Ca and Crea and TP in the clinical comparison at multiple levels were not acceptable. It is necessary to establish the different reference ranges aiming at different methods.

【Key words】 dry chemistry; medical decision level; comparability

近年来随着检验医学的不断发展,为满足不同层次的临床需求,各检验科配备了多套生化分析系统分别承担急诊和平诊的生化检验工作。干化学法以其操作简便、快速的特点,成为急诊生化检测的一种新手段^[1]。但在临床实践中,同一标本同一项目在不同仪器上的检测结果可能存在一定的差异,在一定程度上会影响临床诊疗过程^[2-3]。因此,分析不同检测系统之间的相关性及各检测系统的检验性能具有十分重要的意义^[4]。故本文参考美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)的 EP9-A2 文件要求,以贝克曼 DXC800 系统检测结果为基准,将强生 VITROS5600 干化学系统检测结果与基准仪器检测结果进行比较及偏倚评估。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集本院门诊及住院患者不同浓度新鲜血清 40 份,浓度覆盖各项目医学决定水平,排除黄疸、乳糜、溶血标本。

1.2 仪器与试剂 美国贝克曼 DXC800 全自动生化分析仪(简称 DXC800)及原装配套试剂、质控品、校准品;美国强生

VITROS5600 全自动生化免疫分析仪(简称 VITROS5600)及原装配套试剂、质控品、校准品。

1.3 方法

1.3.1 标本处理 DXC800 具有较好的量值传递性能,测定结果的变异系数小,重复性好,参加室间质评成绩优秀,且定期校准,测定结果可靠,作为参比系统^[4-5];美国强生 VITROS 5600 作为待比系统^[6-7]。参照 NCCLS 的 EP9-A2 文件要求^[5-8],每日选取患者新鲜血标本 8 份,使用上述 2 个系统对血清总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、碱性磷酸酶(ALP)、淀粉酶(AMY)、尿酸(UA)、尿素(Urea)、钠(Na⁺)、氯(Cl⁻)、钾(K⁺)、葡萄糖(Glu)、总胆红素(TBIL)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、总钙(Ca)、肌酐(Crea)分别进行双份重复测定,连续 5 d,共分析 40 个标本。实验前按常规方法进行检测前的维护和保养,确保仪器处于正常运行状态,每个指标的检测严格按照厂商试剂盒说明书进行操作,室内质控在控,各标本均在采集后 2 h 内完成测定。

1.3.2 离群值检查 按 EP9-A2 文件进行方法间离群值检查。

1.4 统计学处理 (1)参比方法(X)测定范围的检验:参比方法的测定范围是否合适,采用相关系数(r)进行评估,若 $r\geq 0.975$ 或 $r^2\geq 0.95$,认为 2 种方法具有良好的相关性;否则,说明 2 种方法的相关性不高。(2)计算线性回归方程:以待比方法 $Y=bX+a$ 计算临床可接受性,把各指标的医学决定水平值代入回归方程,计算待比方法(Y)与参比方法(X)之间的预期值、预期偏差、相对偏差($SE\%$)。(3)临床可接受性判断:以美国临床实验室改进修正案(CLIA'88)对室间评估的允许误差为判断依据,要求方法学比较评估的 SE 小于或等于 CLIA'88 标准的 1/2 属临床可接受水平,即不同检测系统的测定结果具有可比性。

2 结 果

2.1 离群点判断 按 EP9-A2 文件进行方法间离群点检验,此次所验证的 16 项常规生化指标均未发现离群点。

2.2 各指标相关系数及直线回归方程 经线性回归分析结果显示,贝克曼 DXC800 系统与强生 VITROS5600 干化学系统 16 项目常规生化指标检测结果具有良好的相关性, r^2 均大于 0.95,且回归分析的斜率和截距可靠。见表 1。

表 1 各指标相关系数及直线回归方程待比方法与参比方法的

指标	回归方程	r^2
TP	$Y=1.0148X-3.1271$	0.9723
ALB	$Y=0.9596X+0.5934$	0.9676
ALP	$Y=1.0052X+6.4584$	0.9634
AMY	$Y=0.9271X+7.4823$	0.9971
UA	$Y=0.9934X+5.8803$	0.9987
Urea	$Y=0.9741X+0.0975$	0.9967
Na ⁺	$Y=1.0093X-1.2920$	0.9562
Cl ⁻	$Y=0.9645X+1.6843$	0.9748
K ⁺	$Y=1.0156X-0.1406$	0.9750
Glu	$Y=0.9772X+0.2232$	0.9911
TBIL	$Y=0.9739X-0.1287$	0.9926
AST	$Y=0.7855X+4.4653$	0.9840
LDH	$Y=0.3790X-12.981$	0.9616
ALT	$Y=0.8595X-2.1667$	0.9965
Ca	$Y=0.7573X+0.5926$	0.9632
Crea	$Y=0.8788X+7.5316$	0.9804

2.3 实验方法的预期偏差及临床可接受性评价 本次共研究 16 个常规生化项目发现 TP 在低水平的预期偏差不能接受,且 AST、LDH、ALT、Crea、Ca 这 5 个指标在多水平的预期偏差不能接受,其余各指标各不同医学决定水平处的预期偏差均小于 1/2 CLIA'88,可以接受。见表 2。

表 2 实验方法的预期偏差可接受性评价

指标	医学决定水平	预期值	$SE(\%)$	1/2 CLIA'88	可接受性
TP(g/L)	45	42.54	-5.47	5.00%	不接受
	60	57.76	-3.73	5.00%	接受
	80	78.06	-2.43	5.00%	接受
ALB(g/L)	20	19.79	-1.07	5.00%	接受

续表 2 实验方法的预期偏差可接受性评价

指标	医学决定水平	预期值	$SE(\%)$	1/2 CLIA'88	可接受性
ALP(mmol/L)	35	34.18	-2.34	5.00%	接受
	52	50.49	-2.90	5.00%	接受
	50	56.72	13.44	15.00%	接受
	150	157.24	4.83	15.00%	接受
	400	408.54	2.13	15.00%	接受
AMY(mmol/L)	50	53.84	7.67	15.00%	接受
	120	118.73	-1.05	15.00%	接受
	200	192.90	-3.55	15.00%	接受
UA(μ mol/L)	118	123.10	4.32	8.50%	接受
	472	474.77	0.59	8.50%	接受
	631	632.72	0.27	8.50%	接受
Urea(mmol/L)	2.1	2.14	2.05%	4.5%	接受
	9.3	9.16	-1.54	4.50%	接受
	17.9	17.53	-2.04	4.50%	接受
Na ⁺ (mmol/L)	115	114.78	-0.22	2.0mmol/L	接受
	135	134.96	-0.04	2.0mmol/L	接受
	150	150.10	0.10	2.0mmol/L	接受
Cl ⁻ (mmol/L)	90	88.49	-1.68	2.50%	接受
	112	109.71	-2.05	2.50%	接受
K ⁺ (mmol/L)	3	2.91	-0.09	0.25mmol/L	接受
	5.8	5.75	-0.05	0.25mmol/L	接受
	7.5	7.48	-0.02	0.25mmol/L	接受
Glu(mmol/L)	2.5	2.67	0.166	0.1665mmol/L	接受
	6.7	6.77	1.05	5.00%	接受
TBIL(μ mol/L)	10	10.00	-0.05	5.00%	接受
	24.1	23.34	-0.758	3.42 μ mol/L	接受
	42.8	41.55	-2.91%	5.00%	接受
AST(nmol/L)	342	332.95	-2.65%	5.00%	接受
	20	20.18	0.88%	10.00%	接受
	60	51.60	-14.01%	10.00%	不接受
LDH(mmol/L)	300	240.12	-19.96%	10.00%	不接受
	150	43.87	-70.75%	10.00%	不接受
	300	100.72	-66.43%	10.00%	不接受
ALT(mmol/L)	500	176.52	-64.70%	10.00%	不接受
	20	15.02	-24.88%	10.00%	不接受
	60	49.40	-17.66%	10.00%	不接受
Ca(mmol/L)	300	255.68	-14.77%	10.00%	不接受
	1.75	1.92	0.168	0.125mmol/L	不接受
	2.75	2.68	-0.075	0.125mmol/L	接受
Crea(μ mol/L)	3.38	3.15	-0.228	0.125mmol/L	不接受
	177	163.08	-7.86%	7.50%	不接受
	707	628.84	-11.05%	7.50%	不接受
	946	838.88	-11.32%	7.50%	不接受

3 讨 论

本实验按 EP9-A2 文件要求采用患者血清标本进行方法比对, VITROS 5600 与 DXC800 的检测结果显示具有良好的相关性, 但偏差评估结果显示本次共研究 16 个常规生化指标发现 TP 在低水平的预期偏差不能接受, 且 AST、LDH、ALT、Crea、Ca 这 5 个项目在多水平的预期偏差不能接受, 其余各指标各不同医学决定水平处的预期偏差均小于 $1/2 \text{ CLIA}'88$, 可以接受。分析出现预期偏差不可接受的原因, TP 低水平处偏差不可接受可能是由于方法学不一致所致。干化学分析仪按浓度-反射光度关系, 将非线性关系转换成线性关系; 而湿化学分析仪遵循 Lambert-Beer 定律, 根据溶液颜色的深浅或测定光线被溶液吸收的程度来测定物质含量, 即浓度-透光度的关系, 呈线性。而 AST、LDH、ALT、Crea、Ca 这 5 项指标不但分析方法不一致, 两个系统的基本反应原理也不尽相同, 从而可以解释两者检测结果偏差在多水平不可接受。

强生干化学分析仪所使用的干片试剂由多层薄膜组成, 第 1 层为分布扩散层, 能使标本均匀分布, 过滤大分子, 将溶血、高血脂及胆红素干扰减低至最低, 同时还提供反射测定的背景; 第 2 层为试剂层, 包含干性试剂, 控制反应顺序; 第 3 层为指示剂层, 包含染料以产生显色复合物^[9]。其独特的多层膜技术, 不仅能掩盖待测物的有色物质并提供背景, 还能选择性地阻留或去除干扰物质, 有效提高其抗干扰能力^[10]。VITROS 5600 的干片试剂主要有 2 种类型, 其中比色/速率干片主要用以检测 TP、ALB、AMY、AST、AMY 等, 通过颜色的变化来测定化合物的浓度; 电动电势干片主要用以检测 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 离子, 通过测定两极间电势变化检测相应的离子浓度^[11]。

DXC 800 与 VITROS 5600 对 ALT、AST 测定的底物一样, 化学反应原理一样, 除反应体系的干、湿差别外, 其区别主要在于 VITROS 5600 干化学反应体系中加入磷酸吡哆醛作为辅基, 可增强 ALT 的活性, 所以理论上同一样本的 ALT 测定值, VITROS 5600 应高于 DXC 800。在 DXC 800 系统对 LDH 的检测中, LDH 催化 L-乳酸氧化为丙酮酸, 同时将 β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)可逆地还原为还原型 β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH), 系统通过监测 340 nm 处的吸光度变化检测 LDH 活性。而 VITROS 5600 系统则通过反射光光度测定法监测 LDH 催化丙酮酸和 NADH 转化为乳酸和 NAD^+ 的氧化过程, 再将其转化成 LDH 活性而进行检测。在 Ca 的测定中, DXC800 系统采用一个钙离子选择电极和一个钠参考电极测定总钙浓度; 而强生 VITROS5 600 系统采用比色法, 即钙与偶氮肿 III 染料形成一种复合物, 使最大吸收峰发生偏移, 孵育后有色复合物的反射强度通过分光光度法进行测定^[12]。DXC800 系统采用碱性苦味酸法测定 Crea 浓度, 标本中的 Crea 与碱性苦味酸结合, 生成一种红色络合物, 光吸收率显示与样品中 Crea 浓度成正比^[13]。VITROS5600 系统测定 Crea 浓度时, Crea 扩散到试剂层水解为肌酸, 通过肌酸酐基水解酶的作用, Crea 转化为肌氨酸和尿素; 肌氨酸在肌氨酸氧化酶的作用下氧化为甘氨酸、甲醛和过氧化氢; 最后通过一种无色染料的过氧化物酶催化氧化作用产生一种有色物质; 测量两个时

间点上所产生的反射强度的变化, 该反射强度差值与标本中的 Crea 浓度成正比。

目前, 干化学和湿化学分析仪均已得到广泛的应用。本实验中 VITROS 5600 与 DXC800 的检测结果显示具有可比性, 但 ALT、AST、LDH、Ca、Crea、TP 临床比对多个医学决定水平处的偏差不可接受。杨萍^[14]报道, 临床应用中可各自建立独立的参考区间, 不能以单一改变校正因数或系数来矫正干、湿化学的分析偏倚。因此, 干化学分析仪在临床应用中, 尤其对于预期偏差不能接受的检测指标, 应建立适合本实验室的参考区间。

参考文献

- [1] 李鸿飞, 邱广斌. 常用生化指标干化学与湿化学检测结果的比较分析[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(1): 109-111.
- [2] 梁瑞莲, 周远青, 谢丽明, 等. 同室不同生化检测系统测定结果的比对的比对和偏倚评估[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(14): 1159-1160.
- [3] 冯仁丰. 互换性依然是问题[J]. 检验医学, 2013, 28(12): 1063-1068.
- [4] 丛玉隆. 临床实验室管理[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004: 48-50.
- [5] 何谦, 赵丽华, 王香玲, 等. 不同检测系统生化结果的可比性研究[J]. 现代检验医学杂志, 2007, 22(6): 53-55.
- [6] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP9-A2 Method comparison and bias estimation using patient samples [S]. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
- [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, 2009: 118-136.
- [8] 黄维纲, 贾汝静, 张健, 等. 医学检验领域能力验证计划的比较[J]. 检验医学, 2013, 28(10): 937-943.
- [9] 袁平宗, 汤雪彪, 胡江红, 等. 强生干化学 350 与日立 7600-020 检测系统可比性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(10): 1299-1301.
- [10] Curc H, Rand RN. Early history of Eastman Kodak ekt-achem slides[J]. Clin Chem, 1997, 43(9): 1647-1652.
- [11] 刘丰伟, 邹国英, 贺军宇, 等. 强生 VITROS 5600 全自动生化免疫分析仪生化检测项目正确度评价[J]. 中国医疗前沿, 2012, 7(18): 1-3.
- [12] 钟金清, 胡亚远. 贝克曼库尔特 DxC800 生化分析仪离子选择电极国产试剂的应用与评价[J]. 实用医技杂志, 2010, 17(10): 968-969.
- [13] 梁凌云, 陈佳, 周德鹏. 不同检测系统间肌酐、淀粉酶结果参考区间转移的可行性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(2): 210-212.
- [14] 杨萍. 干、湿化学法检测部分生化项目结果比较[J]. 蚌埠医学院学报, 2006, 31(1): 83-84.

(收稿日期: 2014-11-10 修回日期: 2014-12-20)