

• 论 著 •

血清葡萄糖氧化酶法自主研发生化诊断试剂的临床研究*

李雪梅¹, 王惠莹¹, 唐建国^{2△}, 贾雄飞¹, 王珂¹, 朱光旭¹, 陈忠明¹

(1. 中国人民解放军昆明总医院检验科, 昆明 650032; 2. 中生北控生物技术有限公司, 北京 102200)

摘要:目的 进行自主研发的中生北控生物科技公司(中生)血清葡萄糖(Glu)生化诊断试剂的临床研究。方法 自主研发血清 Glu 生化诊断试剂自身性能评价包括空白吸光度、重复性和线性检测。并以进口德国 Roche 诊断试剂为对照试剂(X), 中生诊断试剂为受试试剂(Y), 分别测定血清 Glu 含量。结果 受试试剂(Y)空白吸光度、重复性和线性检测均符合要求, 且与对照试剂(X)的检测性能具有良好的相关性。结论 受试试剂(Y)自身性能良好, 安全性和有效性符合临床应用要求。

关键词:血清; 葡萄糖; 氧化还原酶类; 方法; 指示剂和试剂; 生物医学研究

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.03.005

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)03-0297-02

Clinical research of serum glucose of glucose oxidase method biochemistry diagnosis reagent of independent research and development*

Li Xuemei¹, Wang Huiyuan¹, Tang Jianguo^{2△}, Jia Xiongfei¹, Wang Ke¹, Zhu Guangxu¹, Chen Zhongming¹

(1. Kunming General Hospital, Kunming 650032, China; 2. Biosino Bio-Technology and Science Inc., Beijing 102200, China)

Abstract: Objective To evaluate the performance of independent research and development serum glucose(Glu) biochemistry diagnosis reagent. Methods Evaluate the performance of independent research and development serum Glu biochemistry diagnosis reagent:measures blank absorbance, repeatability and linearity. To evaluate contrast and bias of two reagents in accordance with EP9-A2, science designs to experiment a project, take imports the biochemistry diagnosis reagent of German Roche as the control group(X), the biochemistry diagnosis reagent of domestic Biosino as the experimental group(Y). Measure the serum Glu content in Japanese Olympus AU5421 automatic biochemistry analyzer. Results absorbance, repeatability and linearity of independent research and development serum Glu the biochemistry diagnosis reagent are up to the mustard. Conclusion The independent research and development Glu biochemistry diagnosis reagent is security, effective and meets the clinical practice requirement.

Key words: serum; glucose; oxidoreductases; methods; indicators and reagents; biomedical research

葡萄糖(glucose, Glu)是人体新陈代谢的重要物质, 是人体能量的主要来源之一, 血浆 Glu 的测定在临床上具有重要意义。临床实验室质量管理的最终目的是保证不同检测系统, 同一检验项目检测结果的一致性 & 准确性。因此本组对自主研发的中生北控生物科技公司(中生)血清葡萄糖(Glu)生化诊断试剂进行了临床研究, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本 收集本院日常进行 Glu 检测的新鲜、无溶血、无黄疸血清标本 100 例, 剔除测定值在定量范围(2.22~22.20 mmol/L)之外的标本, 其中 Glu ≤ 2.77 mmol/L 5 例, 2.77~6.11 mmol/L 75 例, ≥ 6.11 mmol/L 20 例, 男性 64 例, 女性 36 例, 年龄 14~87 岁。

1.2 仪器及试剂 日本 Olympus AU5421 自动生化分析仪; 对照试剂(X)为 Roche Glu 生化诊断试剂(批号 LOT 609545-01), Glu 氧化酶法配套校准品(批号 LOT 181259-03), 配套质控品中值(批号 LOT 178985-01)、高值(批号 LOT 180667-04); 受试试剂(Y)为中生 Glu 生化诊断试剂(批号 LOT 090091), Glu 氧化酶法配套校准品(批号 LOT 090081), 配套质控品水平 1 与水平 2(批号均为 LOT 090081 201008)。

1.3 方法 由专业技术人员严格按照标准操作规程进行试验。每天选取高、中、低值临床血清标本各 10 例, 分别用 2 种

诊断试剂以 1~10、10~1 号顺序进行测定, 检测在 2 h 内完成, 重复 10 d, 将所得结果整理打印, 进行统计学分析。

1.4 统计学处理 受试试剂(Y)自身性能研究应用统计学软件 SPSS13.0 对测定数据进行分析; 2 种诊断试剂对血清 Glu 测定结果的统计分析在 Excel 2003 上进行。

2 结果

2.1 受试试剂(Y)自身性能评价结果 以纯水为检测样本, 在波长 340 nm(光径 1 cm)处检测, 重复测定 2 次, 结果分别为 0.090 7、0.091 3, 空白吸光度均小于 0.500, 符合试剂的设计要求; 受试试剂(Y)重复测定 2 个浓度水平的血清样品各 20 次, 重复测定结果的变异系数(CV)均小于或等于 2%, 重复性符合要求; 受试试剂(Y)定量范围为 2.22~44.40 mmol/L, 用接近定量上限的高浓度人血清样品和生理盐水, 按比例混合成 7 个稀释浓度, 分别用受试试剂(Y)测定每个浓度样品, 重复测定 3 次, 试验数据经项式拟合, 结果呈二阶线性。

2.2 2 种试剂临床比对和偏倚评估

2.2.1 2 种试剂的均值结果 对照试剂(X)和受试试剂(Y)测得血清 Glu 均值分别为 4.84、4.86 mmol/L, 两者差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2.2 方法内重复性检查 对照试剂(X)和受试试剂(Y)2 次测定值的标准化值的均值分别为 0.045 6、0.461 0, 2 种试剂

* 基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)重点课题(2006AA020901)。△ 通讯作者, E-mail: 43jyk@163.com。

重复性较好,符合相关性试验要求。

2.2.3 离群点检查 检测数据无离群点存在。

2.2.4 线性回归及偏倚分析 通过 Excel 2003 线性回归显示, $r=0.999\ 6$, 满足 EP9-A2 文件的要求^[1-2]。对数据进行分组分析和趋势线分析结果见图 1~4, 受试试剂(Y)的平均值和单个观测值均与对照试剂(X)的平均值线性关系良好, 2 种试剂对同一例标本的测定均值差值较小, 分布较合理, 受试试剂(Y)的单个观测值与对照试剂(X)的平均值相比偏差较小, 分布较合理。

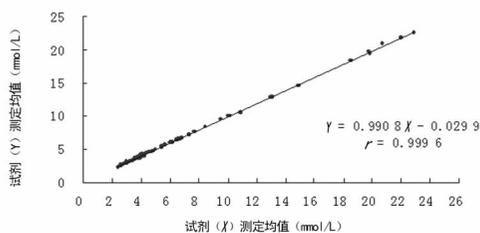


图 1 受试试剂(Y)平均值与对照试剂(X)平均值线性关系图

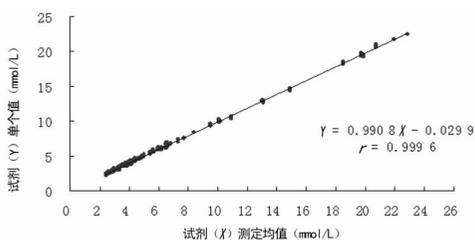


图 2 受试试剂(Y)单个观测值与对照试剂(X)平均值线性关系图

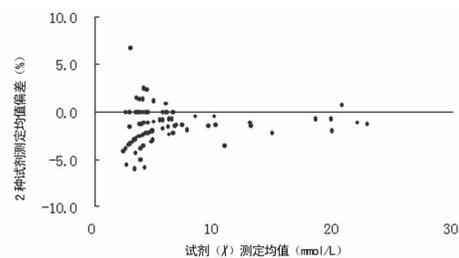


图 3 2 种试剂平均值相对偏差的偏置曲线图

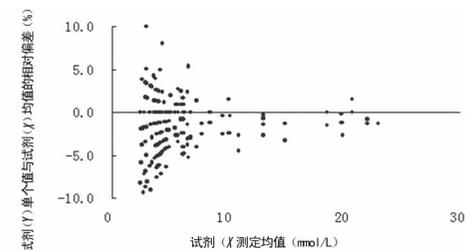


图 4 受试试剂(Y)单个值与对照试剂(X)平均值相对偏差的偏置曲线图

2.2.5 系统误差的估计值及其置信区间 根据美国 CLIA'88 允许变异, 受试试剂(Y)与对照试剂(X)的偏倚应该小于 1/2 CLIA'88 允许误差^[3], 因此将 Glu 的医学决定水平定为 2.78、6.99、11.00 mmol/L, 将其分别代入回归方程, 计算得到 3 个

医学决定水平下的系统误差的 95% 的可信区间分别为 (-0.13, -0.06)、(-0.13, -0.06)、(-0.14, -0.04), 3 个医学决定水平下的允许误差范围分别为 (-0.333, 0.333)、(-0.699, 0.699)、(-1.1, 1.1), 系统误差符合临床要求^[4]。

3 讨论

血 Glu 主要来源于食物、肝糖原分解、非糖物质的糖异生, 并通过氧化供能、糖原合成、转变成其他糖类或非糖物质等方式消耗^[5-8]。正常情况下机体通过神经系统、肝脏及激素对 Glu 水平进行调节, 使其浓度保持在 3.89~6.11 mmol/L 的范围内^[9-10]。Glu 水平增高见于糖尿病、垂体前叶机能亢进、肾上腺皮质机能亢进、甲亢、嗜铬细胞瘤、脑外伤、脑出血、脑膜炎、脱水、麻醉、窒息、肺炎等疾病。Glu 水平减低见于运动后、饥饿、注射胰岛素后、妊娠、哺乳期和服降糖药后等生理性或暂时血糖降低或胰岛 β 细胞瘤、垂体机能减退、肾上腺机能减退、长期营养不良、肝炎、肝坏死、肝癌、糖原累积等疾病状态下^[11-12]。自主研发的中生血清 Glu 生化诊断试剂通过检测 500 nm 处吸光度的变化, 可实现对 Glu 浓度的测定, 为验证该试剂在临床应用上的适用性和准确性, 本研究根据《体外诊断试剂临床研究技术指导原则》的要求, 对本品的自身性能进行了检测, 并以进口优质生化诊断试剂为对照, 进行了比对试验和偏倚评估, 结果证明自主研发 Glu 生化诊断试剂自身性能良好, 安全性和有效性符合临床应用要求, 说明国内生化诊断试剂在临床应用方面与进口试剂具有相同的应用价值。

参考文献

- [1] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP9-A2 Method comparison and bias estimation using patient samples [S]. Wayne, PA: NCCLS, 2002, 22(19): 21-22.
- [2] 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: 111-123.
- [3] 王惠莹, 贾雄飞, 滕毅, 等. 不同试剂检测血清 ALT 结果的可比性及偏倚评估研究[J]. 现代检验医学杂志, 2009, 24(5): 61-63.
- [4] 林莲英, 李强, 王美兰, 等. 3 个不同检测系统血糖测定结果的偏倚评估[J]. 国际医药卫生导报, 2006, 12(14): 4-6.
- [5] 罗福东, 黄宪章, 庄俊华, 等. 不同检测系统测定血糖结果的可比性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(2): 97-99.
- [6] 王云凤. 改良葡萄糖氧化酶法测定乳糜血清葡萄糖[J]. 北京医学, 2005, 27(5): 290.
- [7] 刘胜勇, 王长友, 李立和, 等. 葡萄糖氧化酶法测定慢性肾衰患者血清葡萄糖样品体积分数的实验研究[J]. 哈尔滨医药, 2010, 30(1): 6-7.
- [8] 王彦明. 葡萄糖氧化酶法测定血清葡萄糖反应终点观察[J]. 实用医技杂志, 2008, 15(14): 1822-1823.
- [9] 宋海彬, 刘彦慈, 赵国先, 等. 葡萄糖氧化酶对肉鸡血清指标与免疫性能的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2010, 53(17): 75-77.
- [10] 刘超, 袁建国, 王元秀, 等. 葡萄糖氧化酶的研究进展[J]. 食品与药品, 2010, 12(7): 285-289.
- [11] 殷爱琴, 金晶, 夏玉庆, 等. 葡萄糖氧化酶法测定人体静脉血中血糖含量的不确定度评定[J]. 中国实用医药, 2010, 21: 120-121.
- [12] 张茜, 闫冰, 王勤, 等. 修饰剂对青霉菌葡萄糖氧化酶的效应研究[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2010, 49(5): 707-710.