

• 论 著 •

不同色原物葡萄糖检测试剂性能比较*

杨湘越¹, 兰小鹏¹, 周 伦², 许力军², 孙安吉²

(1. 中国人民解放军南京军区福州总医院, 福建福州 350000;

2. 宁波美康生物科技股份有限公司, 浙江宁波 315000)

摘要:目的 依 NCCLS 文件对 3 种不同色原物的葡萄糖检测试剂的性能进行初步评价, 并对其抗干扰性能进行考察。**方法** 按照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)EP10-A2 文件, 使用 3 种不同色原物的葡萄糖检测试剂分别对葡萄糖低、中、高值标本进行检测, 计算偏倚、总不精密度及其截距、斜率、携带污染、非线性、漂移性。根据 EP7-A2 文件, 对检测试剂进行干扰评价试验。**结果** 3 种试剂偏倚、总不精密度均在允许范围内, 截距、斜率、携带污染、非线性、漂移性差异 3 均无统计学意义($P>0.05$); 1450 浊度乳糜、5 g/L 血红蛋白和 0.03 g/L 维生素 C 对 3 种不同色原物葡萄糖检测试剂的测定均无干扰; 342 mol/L 游离胆红素、342 mol/L 结合胆红素对含 MAOS 色原物的葡萄糖试剂的检测无干扰。**结论** 3 种不同色原物的葡萄糖检测试剂准确度和精密度良好, 各性能指标基本符合临床要求, 含 MAOS 色原物的试剂的抗干扰性优于其它色原物的试剂。

关键词: 葡萄糖; 色原物; 评价

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.01.006

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)01-0015-02

Performance comparison among glucose detection reagents with different chromogens

Yang Xiangyue¹, Lan Xiaopeng¹, Zhou Lun², Xu Lijun², Sun Anji²

(Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Region, Fuzhou, Fujian 350000; 2. Ningbo Meikang Biotechnology Co., Ltd., Ningbo, Zhejiang 315000, China)

Abstract: **Objective** To preliminarily evaluate the performance of glucose detection reagents with three kinds of different chromogens and to investigate their anti-interference performance according to NCCLS document. **Methods** According to the protocol EP10-A2 provided by the National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS), the samples with low, middle and high level of glucose were detected by the glucose reagent kits with 3 kinds of different chromogens. The bias, total imprecision, intercepts, slope rates, nonlinearities, carryover rate and drifts were calculated. The interference evaluation test was performed according to the document EP7-A2. **Results** The bias and total imprecision of three kinds of reagent kits were all within allowed ranges. No statistically significant differences were showed in intercepts, slope rates, nonlinearities, carryover rate and drifts. 1450 turbidity chyle, 5 g/L hemoglobin and 0.03 g/L vitamin C did not interfere with the assay of three kinds of glucose reagent kits with different chromogens. 342 μ mol/L free bilirubin, 342 μ mol/L conjugated bilirubin did not interfere with the detection of reagent with MAOS. **Conclusion** The glucose detection reagents with three different chromogens have good accuracy and precision, and various performance indexes all conform to the clinical application requirements, reagent with chromogen MAOS is better than other chromogenic reagents in the anti-interference performance.

Key words: glucose; chromogen; evaluation

临床实验室常用葡萄糖氧化酶-过氧化物酶-4-氨基安替比林-酚(GOD-PAP)法测定血清葡萄糖, 测定波长为 505 nm, 但此法易受黄疸的干扰而影响检测结果的准确性, 本文按照美国国家临床实验室标准化委员会(NCCLS)EP10-A2 及 EP7-A2 文件的要求^[1-2], 对 3 种不同色原物葡萄糖检测试剂的性能进行初步评价, 并对其抗干扰性能进行了考察, 以评价不同色原物葡萄糖检测试剂的性能差异。

1 材料与方法

1.1 材料 100 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH 值 7.5), 葡萄糖氧化酶 5 kU/L, 过氧化物酶(POD)350 U/L, 亚铁氰化钾 0.1 mmol/L, 4-氨基安替比林(4-AAP)2 mmol/L, 叠氮钠 0.8 g/L 及色原物 2.5 mmol/L, 其中试剂 1 的色原为 3,5-二氯-2-羟基苯磺酸钠(DHBS), 试剂 2 中的色原为 N-乙基-N-(2-羟基-3-丙磺基)间甲苯胺(TOOS), 试剂 3 中的色原为 N-乙基-N-(2-羟基-3-磺丙基)-3,5-二甲苯胺钠盐(MAOS)。

1.2 试剂与仪器 采用 Roche 公司的低、高值质控血清, 批号分别为: 170143 和 170151。分析仪采用日立 7100 全自动生化分析仪。

1.3 方法 试剂性能初步评价按 NCCLS EP10-A2 文件要求^[1], 选择 Roche 公司的高值质控作为高值样本, 低值质控作为低值样本, 将低值样本和高值样本按 1:1 等比例混合作为中值样本, 每天按中、高、低、中、中、低、低、高、高、中的顺序测定, 第 1 个样本作为灌注系统用, 不做统计。每天测定 1 批, 连续测定 5 d。参照美国临床实验室修正法规(CLIA'88)规定的总允许误差, 允许偏倚设为 10%。总不精密度小于 CLIA'88 规定的总允许误差的 1/3, 允许不精密度为 3.3%。截距、斜率、携带污染、非线性、漂移性按照 NCCLS EP10-A2 文件计算。抗干扰性能评价参考 EP7-A2 文件^[2], 选择新鲜混合血清为基础样本, 作为对照样本, 并用基础样本分别以 1:20 比例稀释结合胆红素、游离胆红素、维生素 C、乳糜、血红蛋白 5 种干扰物

* 基金项目: 宁波市重大攻关项目(2012B10006)。 作者简介: 杨湘越, 女, 主任医师, 主要从事临床生物化学与检验工作。

的贮存液,作为测试样本。按交互顺序分析测试和对照样本,并将所得数据进行干扰效应评价,以相对偏差不低于 10%作为有明显干扰的评判指标。

1.4 统计学处理 采用 Excel 2007 统计软件进行偏倚、总不精密度、多重线性回归等统计。

2 结 果

2.1 试剂性能初步评价 以各浓度 5 d 的测定结果均值与其对应设定值计算偏倚,判断检测系统的偏倚可接受性,结果见表 1。总不精密度分析按照 EP10-A2 文件提供的方法,结果见表 1,试剂 1、2、3 的总精密度均小于 3.3%。对 5 d 测定结果进行计算,并按 EP10-A2 文件对数据进行 t 检验,取均值,试剂 1、2、3 的截距、斜率、携带污染、非线性、漂移性差异均无统计学意义($P>0.05$),结果见表 2。

表 1 4 个试剂偏倚和总不精密度结果				
试剂		测定值 (mmol/L)	实际偏倚 (mmol/L)	总不精密度 (%)
试剂 1	低值	2.84	-0.017	1.83
	中值	7.68	-0.000 7	0.90
	高值	12.51	0.009	0.44
试剂 2	低值	2.87	0.006	0.39
	中值	7.69	0.007	0.32
	高值	12.51	0.009	0.26
试剂 3	低值	2.87	0.0127	0.46
	中值	7.69	0.011	0.17
	高值	12.51	0.011	0.14

表 2 4 个试剂截距、斜率、非线性、携带污染率、漂移性分析						
试剂	统计分析	截距	斜率	携带污 染率(%)	非线性	漂移性
试剂 1	均值	-0.02	1.00	-0.02	-0.00	0.01
	<i>t</i>	-1.10	3.47	0.71	-1.36	0.98
试剂 2	均值	0.00	1.00	0.08	0.00	-0.00
	<i>t</i>	0.43	1.86	2.50	-0.06	-0.52
试剂 3	均值	0.01	1.00	0.03	-0.00	-0.0
	<i>t</i>	2.80	0.21	3.42	-0.66	-1.29

表 3 不同色原物的葡萄糖检测试剂对结合胆红素干扰样本测定			
试剂	结合胆红素样本($\bar{x}\pm s,\mu\text{mol/L}$)		相对偏差 (%)
	对照值	干扰值	
试剂 1	6.16±0.04	5.38±0.02	12.7
试剂 2	6.17±0.02	5.53±0.06	10.4
试剂 3	6.16±0.02	6.10±0.05	1.0

2.2 抗干扰性能评价 试验结果显示,1450 浊度乳糜、5 g/L 血红蛋白 和 0.03 g/L 维生素 C 对 3 种不同色原物葡萄糖检

测试剂的测定均无干扰;342 mol/L 游离胆红素、342 mol/L 结合胆红素对试剂 1、2 的检测有干扰,对试剂 3 的检测无干扰,结果见表 3、4。

表 4 不同色原物的葡萄糖检测试剂对游离胆红素干扰样本测定			
试剂	游离胆红素样本($\bar{x}\pm s,\mu\text{mol/L}$)		相对偏差 (%)
	对照值	干扰值	
试剂 1	6.16±0.02	5.23±0.01	15.1
试剂 2	6.17±0.02	5.48±0.04	11.2
试剂 3	6.16±0.01	6.05±0.03	1.8

3 讨 论

临床试验室常用 GOD-PAP 法测定血清葡萄糖,由于苯酚在使用前要经溶解、蒸馏、重结晶处理,操作十分不便,现在更多使用人工合成的色原物替代苯酚^[3]。目前,葡萄糖检测多采用反应波长为 505 nm 的色原物,但该反应易受黄疸的干扰。本试验将反应波长为 505 nm 的色原物 DHBS、546 nm 的色原物 TOOS、600 nm 的色原物 MAOS 应用到葡萄糖检测试剂中,并对不同色原物的葡萄糖试剂性能进行了初步评价,结果显示,3 种葡萄糖试剂的总不精密度均小于允许不精密度,漂移性差异无统计学意义($P>0.05$),说明 3 个试剂均有较好的重复性,精密度高。以 Roche 公司质控血清设定值为靶值,分析偏倚,结果显示 3 个试剂的检测结果均在 CLIA'88 规定的允许误差范围内,并且 3 个试剂的截距、斜率、携带污染、非线性差异均无统计学意义($P>0.05$),说明各试剂的恒定误差均较小,检测结果具有良好的线性范围,并且不存在携带污染。

胆红素是临床检验工作中最常遇到的样本异常问题,本研究结果显示,胆红素对以 DHBS 及 TOOS 为色原物的葡萄糖试剂的检测干扰呈负干扰。由于在反应中胆红素可被主反应中间产物 H₂O₂ 氧化,400~540 nm 波长吸光度的下降会掩盖主反应吸光度的增高^[4-5],因此采用 505、546 nm 色原物的葡萄糖试剂胆红素对其呈负干扰,而 600 nm 色原物的葡萄糖试剂胆红素对其无干扰。因此,采用 600 nm 色原物的葡萄糖试剂性能可能更佳。

参考文献

[1] NCCLS. EP10-A2 Preliminary evaluation of quantitative clinical laboratory methods; approved guideline [S]. Wayne,PA,USA: NCCLS,2004.

[2] NCCLS. EP7-A2 Interference testing in clinical chemistry; approved guideline [S]. Wayne,PA,USA:NCCLS,2004.

[3] 李研,李立新,李娜,等. Trinder's 反应中四种色原物质的比较[J]. 中国检验医学杂志,2004,5(5):407-409.

[4] 程正江. 血红蛋白和胆红素干扰临床化学分析的机制初探[J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册,2004,25(6):488-493.

[5] 孙虹,牛华,赵崇吉,等. 胆红素、血红蛋白和乳糜微粒对生化检测结果的干扰评价[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(21):2509-2512.

(收稿日期:2014-11-08)