

· 论 著 ·

干、湿化学检测系统测定肾功能高值标本时稀释液的选择与评价

贺 勇<sup>1</sup>, 陈 嵌<sup>2</sup>, 唐治贵<sup>1</sup>, 刘容海<sup>1</sup>, 唐 佳<sup>1</sup>, 高中燕<sup>1</sup>, 米永华<sup>1</sup>, 袁作为<sup>1</sup>

(1. 重庆医科大学附属永川医院检验科 402160; 2. 重庆市南川区人民医院检验科 408400)

**摘 要:**目的 系统评价不同稀释液对于干化学、湿化学检测系统测定肾功 3 项高值标本的影响, 确定理想的稀释液。方法 收集接近各系统肾功能 3 项检测上限的新鲜血清, 分别用蒸馏水(DH<sub>2</sub>O)、生理盐水(NS)、7%小牛血清(7%BSA)、混合血清进行倍比稀释(最高稀释倍数为 1:32), 在美国强生 Vitros 350 干化学分析仪和日本日立 7600 全自动生化分析仪上分别测定, 然后进行偏差分析和线性评价。结果 在湿化学检测系统上, 尿素用 NS、BSA、混合血清稀释, 偏差分析均符合要求。肌酐、尿酸用 DH<sub>2</sub>O、BSA、混合血清均符合要求。在干化学检测系统上, 尿素、尿酸用 DH<sub>2</sub>O 和混合血清稀释均符合要求, 肌酐除了 BSA 外各稀释液均符合要求。根据分析测量范围评价(AMR), 在湿化学检测系统中, 尿素、肌酐、尿酸用 4 种稀释液稀释后均符合要求; 在干化学检测系统中, 尿素只有 DH<sub>2</sub>O 和混合血清稀释后符合要求, 肌酐只有 NS 和混合血清稀释后符合要求, 尿酸用 4 种稀释液稀释后均符合要求。结论 混合血清是最理想的稀释液。

**关键词:** 稀释液; 干、湿检测系统; 尿素; 肌酐; 尿酸

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.06.009

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)06-0542-03

Choice and evaluation of different diluents for dectcting high-value samples  
of renal function items with dry and wet chemistry systems

He Yong<sup>1</sup>, Chen Kan<sup>2</sup>, Tang Zhigui<sup>1</sup>, Liu Ronghai<sup>1</sup>, Tang Jia<sup>1</sup>, Gao Zhongyan<sup>1</sup>, Mi Yonghua<sup>1</sup>, Yuan Zuowei<sup>1</sup>

(1. Department of Laboratory Medicine, Affiliated Yongchuan Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 402160, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Affiliated Yongchuan Hospital of Nanchuan District, Chongqing 408400, China)

**Abstract:** Objective To compare the results with different diluents on the high values of renal function test items by dry and wet chemistry systems and to find the ideal diluent. **Methods** Fresh serum samples with high concentration of renal function indexes including urea, creatinine (Cr) and uric acid (UA) were collected, which high value was close to the up limitation of the linear range, respectively. The samples of serum were diluted with distilled water (DH<sub>2</sub>O), normal saline (NS), BSA and mixed serum, respectively, and the highest dilutability was 1:32 for each sample. All the samples were simultaneously tested by Qiangsheng Vitros 350 dry chemistry analyzer and Hitachi 7600 automatic biochemical analyzer. The results were analyzed by variance analysis and linear estimation. **Results** In wet chemistry system it was found that urea diluted with NS, BSA and mixed serum could meet the standard of quality assay, both Cr and UA diluted with DH<sub>2</sub>O, BSA and mixed serum could meet the standard. In dry chemistry system, both Urea and UA diluted by DH<sub>2</sub>O and mixed serum could meet the standard, Cr diluted with all diluents except BSA could meet the standard. For linear estimation; in wet chemistry system, urea, Cr and UA diluted by four diluents all could meet the standard; in dry chemistry system urea diluted with DH<sub>2</sub>O and mixed serum could meet the standard, Cr diluted with NS and mixed sernm could meet the standard, UA diluted with four diluents all met the standard. **Conclusion** Mixed serum is the ideal diluent.

**Key words:** diluent; dry and wet chemistry system; urea, creatinine; uric acid

临床生化检验工作中, 经常遇到被测项目的活力或浓度较高, 超出测量线性范围, 需稀释后再测。不同的方法、不同的测定项目以及不同的仪器对标本稀释液有不同的要求, 不同稀释液在不同的检测系统中也会给测定结果带来不同的影响<sup>[1]</sup>。目前全自动生化仪器均没有配专用稀释液, 选用何种稀释液既方便易得又不影响结果的准确性, 各实验室的做法不尽相同, 也缺乏系统评价<sup>[2-4]</sup>。近年来, 干化学检测方法逐步推广, 尤其在急诊和门诊中应用广泛, 虽然部分厂家可以提供专用稀释液, 但在实际临床工作中很少使用, 也未见系统评价的报道。另一方面, 由于干、湿 2 个检测系统的检测原理完全不同, 相同稀释液在不同的系统中是否一致, 目前也未见报道<sup>[5-6]</sup>。本实验拟用不同稀释液对肾功能 3 项——尿素(Urea)、肌酐(Cr)、尿酸(UA), 分别在干、湿 2 个检测系统上的检测结果进行评价与比较, 以期找到与系统和项目相适应的理想稀释液。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 高值标本 收集本院患者新鲜血清, 无明显溶血及肉

眼可见的黄疸和脂血。其值均接近但未超出该项目的线性范围上限。

1.1.2 稀释液 蒸馏水(DH<sub>2</sub>O)为本实验室自制, 阻抗值大于 1.5 MΩ; 生理盐水(NS)注射液为四川科伦药业公司生产; 7%小牛血清(7%BSA)用 0.01 mmol/L 磷酸缓冲液(PBS)配制; 混合血清均取自重庆医科大学附属永川医院体检人员新鲜血清, 无明显溶血、肉眼可见黄疸和脂血, 其测定值均在参考区间内, 收集混匀离心, 取上清备用。

1.1.3 仪器 美国强生 Vitros350 干化学全自动生化分析仪, 日本日立 7600-020 全自动生化分析仪。

1.1.4 试剂 美国强生干化学检测系统采用配套试剂, 日立 7600-020 检测系统采用四川迈克公司试剂。

1.2 方法 分别在强生干化学系统(简称干系统)和日立 7600-020 湿化学系统(简称湿系统)测定高值标本和混合血清的 Urea、Cr 和 UA 原始值(Ap), 将标本用 DH<sub>2</sub>O、NS、BSA、混合血清 4 种稀释液分别进行 1:2、1:4、1:8、1:16、1:32 共 5 个系列的倍比稀释。在干、湿系统上分别对各稀释样品进行

检测,然后将实际测定结果(A1)与通过计算得到的理论值(T)进行偏差计算及相关性分析。

1.3 数据处理 在计算稀释后标本的理论值时,需考虑稀释液的本底值(A<sub>0</sub>),本底值为稀释液测定 3 次后的均值。稀释后标本的理论值计算公式如下:

$T = \frac{n}{m} \times A_0 + \frac{m-n}{m} \times Ap$ ,其中 m,n 分别为稀释时的比例,如进行 1:4 稀释时,则 m 为 4,n 为 3。

偏差(Bias,B)的计算公式为: $B\% = \frac{T-A}{T} \times 100\%$ 。以美国 CLIA'88 总允许误差(TEa)的 1/2 为判断标准,当偏差小于 1/2 时,判定为偏差可以接受,否则不可接受<sup>[7]</sup>。

相关性分析:以同一项目各稀释系列的理论值为 X,测定

值为 Y,拟合回归方程。以  $r \geq 0.975$  作为相关性良好的判断标准。所有数据分析均在 Excel 软件上完成。

2 结 果

2.1 在仪器检测范围内,分别在干、湿系统上测得 DH<sub>2</sub>O、NS、7%BSA、混合血清的本底值见表 1。

稀释液	日立 7600			强生 VITRO350		
	Urea	Cr	UA	Urea	Cr	UA
DH <sub>2</sub> O	0	0.1	0	<0.7	7.0	<30.0
NS	0.1	0	0	<0.7	6.0	<30.0
BSA	0.1	0	0	<0.7	6.0	<30.0
混合血清	4.5	59.1	248.0	4.4	75.5	271.0

表 2 在干、湿检测系统上,各稀释液的回归方程及相关系数

项目	DH <sub>2</sub> O	NS	BSA	混合血清
湿化学系统				
Urea	$Y=0.97X+0.21$ $r^2=0.999\ 9$	$Y=0.98X+0.09$ $r^2=0.999\ 9$	$Y=0.99X+0.08$ $r^2=0.999\ 9$	$Y=X+0.25$ $r^2=0.999\ 8$
CR	$Y=1.02X+2.35$ $r^2=0.999\ 8$	$Y=1.01X+3.76$ $r^2=0.999\ 7$	$Y=1.02X+2.60$ $r^2=0.999\ 5$	$Y=1.06X+2.16$ $r^2=1$
UA	$Y=1.02X+1.90$ $r^2=0.999\ 9$	$Y=1.02X+3.87$ $r^2=0.999\ 6$	$Y=1.03X+0.36$ $r^2=1$	$Y=X+0.58$ $r^2=0.999\ 8$
干化学系统				
Urea	$Y=0.954\ 5X+0.000\ 3$ $r^2=1$	$Y=0.903\ 8X-0.107\ 5\blacktriangle$ $r^2=0.999\ 8\blacktriangle$	$Y=0.901\ 7X-0.074\ 6\blacktriangle$ $r^2=0.998\ 9\blacktriangle$	$Y=1.012\ 9X+0.033\ 3$ $r^2=0.999\ 9$
CR	$Y=0.9373X+3.181\ 1\blacktriangle$ $r^2=0.99\ 9\blacktriangle$	$Y=0.992X+4.179\ 6$ $r^2=0.99\ 8$	$Y=1.056\ 3X+3.344\ 5\blacktriangle$ $r^2=0.998\ 1\blacktriangle$	$Y=1.032\ 5X+3.47$ $r^2=1$
UA	$Y=1.02X+1.90$ $r^2=0.999\ 9$	$Y=1.02X+3.87$ $r^2=0.999\ 6$	$Y=1.03X+0.36$ $r^2=1$	$Y=X+0.58$ $r^2=0.999\ 8$

▲:不符合 AMR 评价要求。

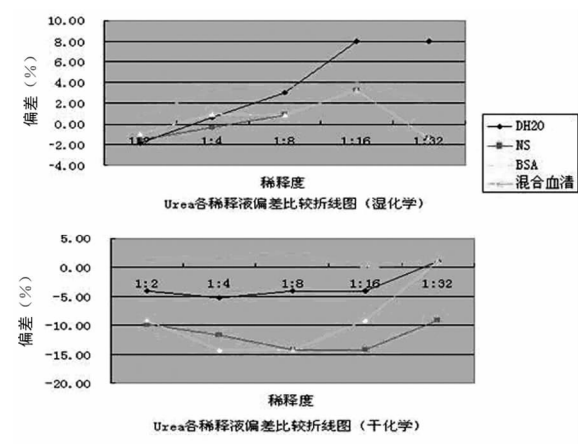


图 1 各稀释液在干、湿化学系统 Urea 测定中的偏差比较图

2.2 4 种稀释液在干、湿系统中不同项目检测结果的偏差比较见图 1~3。

2.2.1 以美国 CLIA'88 总允许误差的二分之一为判断标准,Urea、Cr、UA 偏差可接受范围分别为:±4.5%、±7.5%、±8.5%。从图 1 中可见,在湿系统中,Urea 用 NS、BSA、混合血清稀释均符合要求,而用 DH<sub>2</sub>O 在较高稀释倍数(>1:16)时不符合要求。在干系统中,Urea 用 NS 和 BSA 稀释超出了可接受范围,DH<sub>2</sub>O 和混合血清均符合要求,尤以混合血清稀释偏差值最小。本实验还发现 Urea 用 NS 和 7%BSA 稀释后,在干、湿检测系统中的偏差结果差异较大。

2.2.2 从图 2 可见,湿化学系统中,Cr 用 DH<sub>2</sub>O、BSA、混合血清稀释,测定结果均符合要求,而用 NS 稀释,在较高稀释倍数时就不符合要求。在干化学系统中,Cr 除了 BSA 以外,各稀释液均符合要求。从图 3 可见在湿化学系统中,UA 用 DH<sub>2</sub>O、BSA、混合血清稀释均符合要求,尤以混合血清稀释,其测定结果偏差最小。在较高稀释倍数时,用 NS 稀释不符合要求。在干化学检测系统中,在较高稀释倍数(≥1:16)时,UA 用 NS 和 BSA 稀释超出了可接受范围,用 DH<sub>2</sub>O 和混合血清稀释均符合要求,尤以混合血清稀释,测定偏差最小。

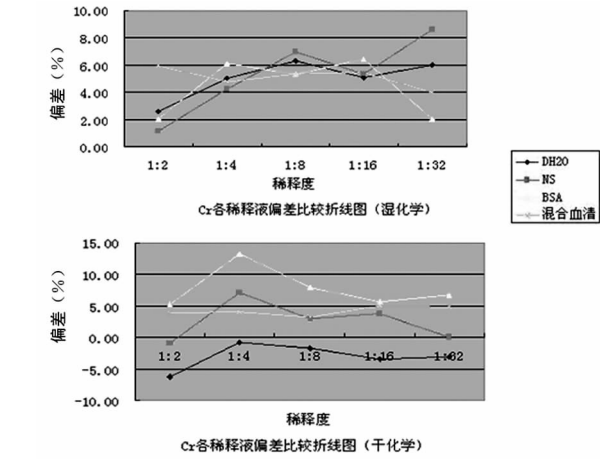


图 2 各稀释液在干、湿化学系统 Cr 测定中偏差比较图

2.3 相关性分析 Urea、Cr 及 UA 用不同的稀释液进行系列

稀释检测后,分别对理论值与实测值进行相关性分析,以实测值为  $Y$ ,理论值为  $X$  拟合回归方程,  $Y=b+aX$ 。其回归方程和相关系数平方见表 2。

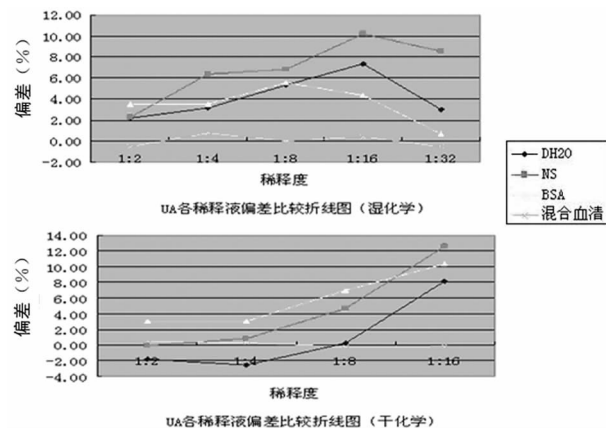


图 3 各稀释液在干、湿化学系统 UA 测定中的偏差比较图

### 3 讨 论

在临床常规生化检测中,经常会遇到超出检测系统线性范围的标本,需要稀释后复测,但究竟选用何种稀释液,目前各实验室做法并不相同<sup>[8-9]</sup>。同时干、湿系统检测原理不同,干化学的理论基础是 Kubelka-Munk 理论<sup>[10]</sup>,湿化学的理论基础是 Lamber-Beer 定律,它们在检测相同项目能否选用同一种稀释液还有待证明<sup>[11]</sup>。

本次实验选取用肾功能 3 项检查的高值标本以 4 种稀释液稀释后检测发现,在湿化学检测系统上,Urea 用 NS、BSA 及混合血清均符合要求,而用  $\text{DH}_2\text{O}$  稀释在较高稀释倍数( $>1:16$ )时不符合要求,可能是  $\text{DH}_2\text{O}$  对介质影响较大,故测定偏差也较大。对 Cr、UA 用  $\text{DH}_2\text{O}$ 、BSA、混合血清均符合要求,而用 NS 在较高稀释倍数时不符合要求,可能是因为 NS 的离子强度、pH 值与低值血清相近,但无蛋白质和血清成分,故测定结果偏差大。

在干化学检测系统上,Urea、UA 用  $\text{DH}_2\text{O}$  和混合血清稀释均符合要求,Cr 除了 BSA 以外各稀释液均符合要求。对于肾功能 3 项检查的高值标本,在湿化学系统中,均可用 BSA 和混合血清进行稀释;在干化学系统中,均可用  $\text{DH}_2\text{O}$  和混合血清进行稀释。而同时能应用于干、湿检测系统的稀释液只有正常人混合血清。可能因为低值血清的蛋白质、离子强度、pH 值和其他血清成分基本相近,因此其测定结果偏差最小<sup>[12]</sup>。

值得一提的是,在美国强生 Vitros350 干化学全自动生化分析仪 Urea 的试剂说明书上,写明了如果标本中尿素浓度超出系统的可报告范围,可以用 VITROS 7% 牛血清清蛋白溶液稀释样本<sup>[13]</sup>。而在本实验中 Urea 用 7% BSA 稀释,其结果超出了可接受范围。造成这种矛盾的原因,有待进一步研究。

在线性验证实验中,根据分析测量范围(AMR)评价要求( $a=1.00\pm 0.05$ , $r\geq 0.975$  或者  $r^2\geq 0.95$ )<sup>[14-15]</sup>,在湿化学检测系统中,Urea、Cr 及 UA,用 4 种稀释液稀释后 AMR 评价均符合要求,表明肾功能 3 项指标在湿化学系统中检测值与理论值相关性良好,符合临床检验的要求。而在干化学检测系统中,Urea 以  $\text{DH}_2\text{O}$  或混合血清稀释后,AMR 评价符合要求,而以 NS 或 BSA 均不符合要求;Cr 只有 NS 和混合血清稀释后,AMR 评价符合要求,而  $\text{DH}_2\text{O}$  和 BSA 均不符合要求;UA 用 4 种稀释液稀释后 AMR 评价均符合要求,BSA 稀释液在 Urea、Cr 的检测中均不符合要求,可能与 BSA 影响了参加反应的酶的活性有关。

由偏差分析和线性评价可以看出,在湿化学检测系统上,即使 4 种稀释液均符合 AMR 评价要求,但是偏差分析仍有差异,应引起重视。提示需同时进行偏差分析和线性评价,才能得出科学的结论。

日常工作中,不同的检测系统都会遇到样本的结果超过检测项目的线性范围。本研究发现,在肾功能常规 3 项检查超限时,同时能应用于干、湿检测系统的稀释液只有健康人混合血清,它是比较理想的稀释液,建议实验室可以建立自己的混合血清标本库,以便用于常规生化检测项目超限标本的稀释。

### 参考文献:

- [1] Hashim IA,Zawawi TH. Wet vsdry chemical analysis of renal stones[J]. Ir J Med Sci,1999,168(2):114-118.
- [2] 郑军,赵明. 不同稀释液对测定血清淀粉酶和脂肪酶的影响[J]. 现代检验医学杂志,2005,17(2):10-11.
- [3] 陈燕,赵明,王金行. 不同稀释液对 CK,CK-MB,LDH 和 AST 检测结果的影响[J]. 中国血液流变学杂志,2003,13(2):172-173.
- [4] 胡伟,毕永春,宋景秋,等. 不同稀释液对血清中 HBsAg 定量测定的影响[J]. 东南大学学报:医学版,2010,29(4):464-466.
- [5] Lin MH,Wu MC,Lin J. Variable classifications of glyce-mic index determined by glucose meters[J]. J Clin Bio-chem Nutr,2010,47(1):45-52.
- [6] Feng JF,Chen TM,Wen YA,et al. Study of serum argini-nosuccinate lyase determination for diagnosis of liver dis-eases[J]. J Clin Lab Anal,2008,22(3):220-227.
- [7] 中应妩,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,2006:80-82.
- [8] 刘成忠,肖传宇,侯文华,等. 不同稀释液对高值血清肌酸激酶稀释测定的影响[J]. 实用医学杂志,2009,25(14):2361-2362.
- [9] 黄志基,黄铭颖,岑屹,等. 罗氏电化学发光检测系统检测泌乳素的方法学评价及参考范围建立[J]. 检验医学,2007,22(6):623-626.
- [10] Barron V,Torrent J. Use of the Kubelka-Munk theory to study the influence of iron oxides on soil colour[J]. J Soil Sci,1986,37(4):499-510.
- [11] 姚少羽,孙艳虹,高玲,等. Vitros950 生化检测系统最大稀释度测定[J]. 中国实用医药,2008,3(34):31-34.
- [12] 丁忠旗,李永培,盛强. 不同稀释液对高浓度 HCG 测定值的影响[J]. 中华核医学杂志,2002,22(1):39.
- [13] 喻靓,张煜,左桂兰,等. Vitros 350 不同稀释液在线性评估中的比较[J]. 检验医学与临床,2008,5(24):1489-1493.
- [14] Yang X,Liu L,Wu M,et al. Wet-chemistry-assisted nano-tube-substitution reaction for high-efficiency and bulk-quant-ity synthesis of boron- and nitrogen-codoped single-walled carbon nanotubes[J]. J Am Chem Soc,2011,133(34):13216-13219.
- [15] Prakash C,Shaffer CL,Nedderman A. Analytical strate-gies for identifying drug metabolites[J]. Mass Spectrom Rev,2007,26(3):340-369.