

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.08.012

## 2 种检测系统测定血、尿淀粉酶高值标本时稀释液的评价与选择\*

周洪, 陈志菊, 周绍英

(重庆市渝北区人民医院检验科 401120)

**[摘要]** **目的** 对湿生化和干生化检测系统测定血、尿淀粉酶高值标本时的稀释液进行评价与选择,期望筛选出与检测系统和标本类型匹配的稀释液。**方法** 纯水、生理盐水(NS)、7%牛血清清蛋白(BSA)、低值血清、低值尿液作为候选稀释液,稀释对应的标本后在湿生化和干生化系统中测定,以卫计委颁布的最新标准分别对偏差和线性进行评价。**结果** 对高值血清标本,同一稀释液在 2 个系统间的偏差存在较大差异,在湿生化检测系统中,纯水、7%BSA、低值血清作稀释液的偏差均小于行业标准规定的总允许误差(15%),但以低值血清最优;在干生化检测系统中,纯水、NS、低值血清作稀释液的偏差均小于行业标准的规定,以 NS 最优。对高值尿液标本,在湿生化检测系统中,纯水、低值尿液作稀释液的偏差均小于行业标准规定的总允许误差,以低值尿液最优;在干生化检测系统中,仅低值尿液作稀释液的偏差小于行业标准之规定。线性评价显示,NS 不适合作高值血清标本在湿生化检测系统和高值尿液标本在干生化系统的稀释液,7%BSA 不适合作高值血清标本在干生化检测系统的稀释液。**结论** 相同稀释液在不同的检测系统中造成的影响不同。高值血清、尿液标本在湿生化检测系统中的最适稀释液分别是低值血清和低值尿液,在干生化检测系统最适稀释液分别是 NS 和低值尿液。

**[关键词]** 稀释液;湿化学系统;干化学系统;淀粉酶**[中图分类号]** R446.1**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)08-1048-04

## Evaluate and select the dilution for high blood and urine amylase among two measurement system\*

Zhou Hong, Chen Zhijiu, Zhou Shaoying

(Department of Laboratory, the People's Hospital of Chongqing Yubei District, Chongqing 401120, China)

**[Abstract]** **Objective** To evaluate and select the dilution for high blood and urinary amylase among wet chemical & dry chemical detection system, hope to screen the optimum dilution for different measurement system and specimen type. **Methods** Pure water (H<sub>2</sub>O), normal saline (NS), 7% bovine serum albumin (7% BSA), low amylase specimen of serum and urine selected as candidate dilution. The high amylase specimen was diluted, then was measured among wet chemical analyzer and dry chemical analyzer, then the bias and correlation was evaluated according to the professional standard of National health and family planning commission of china. **Results** For high amylase serum specimen, the same dilution resulted in different bias between two detecting system. The bias of H<sub>2</sub>O, 7% BSA and low amylase serum were less than the TEa (total error allowance) regulated by professional standard in wet chemical analyzer. Of them, the low amylase serum was the best. In dry chemical analyzer, the bias of H<sub>2</sub>O, NS and low amylase serum were no less than the professional standard. Of them, NS was the best. For high amylase urine specimen, the bias of H<sub>2</sub>O and low amylase urine were less than the professional standard in wet chemical analyzer, and the low amylase urine was the best. In dry chemical analyzer, only the bias of low amylase urine met the requirement of professional standard. The evaluation of linearity indicated that NS was unfit to the dilution for high amylase serum in wet chemical analyzer and for high amylase urine in dry chemical analyzer, 7% BSA was unsuitable to be the dilution for high amylase serum. **Conclusion** The effect of same dilution on different detecting system is different. The most suitable dilution is low amylase serum and urine for high amylase serum and urine specimen respectively in wet chemical analyzer, and the suitable dilution is NS and low amylase urine respectively in dry chemical analyzer.

**[Key words]** dilution; wet chemical analyzer; dry chemical analyzer; amylase

血清淀粉酶、尿液淀粉酶测定是常见的急诊生化检测项目,既是急性胰腺炎辅助诊断的重要依据,也是临床判断病情进展和预后的重要指标。临床医生对血清淀粉酶、尿液淀粉酶的检测结果不仅仅要求快速,更要求准确,因为这 2 个指标的动态变化会为临床决策提供帮助。但是,在临床检验常规工作中,常常碰到血清、尿液淀粉酶检测结果超出测量线性范围,为了给出准确的结果,临床实验室往往稀释后再测。众所周知,低值血清是理论上引入基质效应最小的稀释剂,生理盐水、纯水等作为简单

易得的稀释液,在各临床实验室广泛使用。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<sup>[1]</sup>,也缺乏系统评价。近年来,干化学检测系统在急诊生化检验中广泛应用,虽然部分厂家有商品化的专用稀释液,但在实际临床工作中几乎未使用,也未见系统评价的报道<sup>[2]</sup>。由于干、湿生化检测系统的检测原理完全不同,在不同的系统中是否可以使用相同的稀释液来稀释高值淀粉酶标本,目前,也未见报道。基于此,本文拟对不同稀释液稀释高值淀粉酶标本的测定结果进行

\* 基金项目:重庆市渝北区科委基金资助项目(2013-098)。 作者简介:周洪(1966—),副主任技师,本科,主要从事临床生化、免疫和分子检验的研究。

比较与评价,以期找到与系统匹配的稀释液,为临床工作提供快速准确的检测结果。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 血清淀粉酶高值标本 收集本院患者外观合格新鲜血清,测定结果接近但未超出本室对血清淀粉酶性能评价的线性范围上限。尿液淀粉酶高值标本,收集本院患者送检外观合格新鲜尿液,1 000 r/min 低速离心后取上清液备用,测定结果接近但未超出本室对尿液淀粉酶性能评价的线性范围上限。

1.1.2 稀释液 共 5 种,分别为:(1)纯水(H<sub>2</sub>O),本实验室通过离子交换树脂法自制(成都圣泉环保科技有限公司,型号:TCHS-RO/80L),阻抗值大于 1.5 MΩ;(2)生理盐水(normal saline,NS)为昆明南疆制药有限公司生产;(3)牛血清清蛋白(bovine serum albumin,BSA,Sigma 公司),用 0.01 mmol/L 磷酸缓冲液配制,终浓度为 7%;(4)低值淀粉酶血清;(5)低值淀粉酶尿液。低值淀粉酶血清和低值淀粉酶尿液均取自本院体检人群,外观要求同高值标本,其测定结果均在参考区间范围之内的下限。

1.1.3 仪器与试剂 湿生化检测系统(以下简称湿化学):Olympus AU640 全自动生化分析仪,试剂为浙江伊利康有限公司生产。干生化检测系统:美国强生 Vitros350 干式自动生化分析仪(以下简称干化学),使用该公司提供的配套试剂弹夹,测定时按要求选择标本类型分别为血液和尿液。

1.2 方 法 血清淀粉酶的稀释液选用 H<sub>2</sub>O、NS、7%BSA、低值血清共 4 种,尿液淀粉酶稀释液选用 H<sub>2</sub>O、NS、低值尿液共 3 种,分别在湿生化检测和干生化检测系统进行评价和比较。原始值测定:评价前分别在 2 个系统测定高值标本及拟选用的稀释液 3 次,取其均值作为原始值。评价值测定:血清标本分别用 H<sub>2</sub>O、NS、7%BSA、低值血清进行 1:2、1:4、1:8、1:16、1:32 共 5 个系列的倍比稀释;尿液标本分别用 H<sub>2</sub>O、NS、低值尿液进行 1:2、1:4、1:8、1:16、1:32 共 5 个系列的倍比稀释。然后分别在湿生化检测和干生化检测系统上分别对各稀释样品进行测定,每个样品测定 3 次,取均值作为评价值。

1.3 统计学处理 理论值的计算:通过稀释倍数和稀释液本底引入的淀粉酶的量,计算各稀释标本的理论值,与稀释后的实际值进行偏差分析和线性分析。偏差分析:偏差(%) =  $\frac{\text{实测值} - \text{理论值}}{\text{理论值}} \times 100\%$ ,以临床生物化学检验常规项目分析质量指标(WS/T 403-2012)规定的总允许误差(TEa, ≤15%)为判断标准<sup>[3]</sup>,当偏差小于此 TEa 时可接受,否则不可接受。线性分析: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 Y=aX+b,以 a 介于 1±0.03 和 r<sup>2</sup>≥0.95 作为线性良好的判断标准。所有数据分析均在 Excel 软件上完成。

2 结 果

2.1 本底值测定结果 备选稀释液 H<sub>2</sub>O、NS、7%BSA、低值血清、低值尿液以及高值血清和尿液标本在湿生化检测和干生化检测系统中测定 3 次结果的均值见表 1。

2.2 不同稀释液在 2 个系统中应用的偏差分析

2.2.1 不同稀释液在 2 个系统中稀释高值血清标本的偏差分析 H<sub>2</sub>O、NS、7%BSA、低值血清稀释高淀粉酶血清标本的偏差分析见表 2。

结果显示,仅仅低值血清做稀释液时,5 个稀释度的偏差在

2 个系统均小于临床生化检验常规项目分析质量指标规定的 TEa。对湿化学系统检测血清淀粉酶的稀释液来说,最优的是低值血清,其偏差分析不仅仅小于 TEa,而且小于 1/2 TEa;但低值血清稀释液在干生化检测系统中,其偏差虽然满足小于 TEa,但大于 1/2TEa,在干生化检测系统中,NS 稀释血清标本最优,但最大稀释倍数为 8 倍。当以 7%BSA 做稀释液时,在 2 个系统间偏差的差异非常大。4 种稀释液稀释高值血清标本在 2 个系统中的偏差比较见图 1。

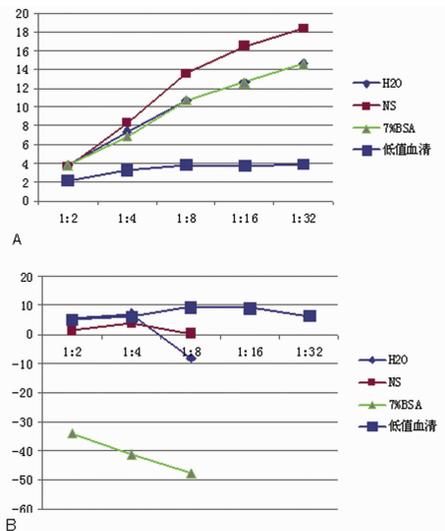
表 1 高值标本及稀释液本底淀粉酶测定结果(U/L)

稀释液	湿生化检测	干生化检测
H <sub>2</sub> O	0	<30
NS	0	<30
7%BSA	0	<30
低值血清	116.5	71.3
低值尿液	279.4	135.2
高值血清	838.4	504.3
高值尿液	2 084.3	1 061.2

表 2 4 种稀释液稀释高值血清标本的偏差分析(%)

稀释液	仪器	不同稀释度的偏差				
		1:2	1:4	1:8	1:16	1:32
H <sub>2</sub> O	湿生化	3.82	7.40	10.74	12.65	14.56
	干生化	5.56	7.14	-7.94	—	—
NS	湿生化	3.58	8.35	13.60	16.47	18.38
	干生化	1.19	3.97	0.2	—	—
7%BSA	湿生化	3.82	6.92	10.74	12.65	14.56
	干生化	-34.13	-41.27	-47.62	—	—
低值血清	湿生化	2.20	3.28	3.80	3.66	3.92
	干生化	5.04	6.00	9.49	9.11	6.47

—:此项无数据。



A:湿生化检测;B:干生化检测。

图 1 4 种稀释液稀释高值血清标本在 2 个系统中的中的偏差

2.2.2 不同稀释液在 2 个系统中稀释高值尿液标本的偏差分

析 H<sub>2</sub>O、NS、低值尿液稀释高淀粉酶尿液标本的偏差分析见表 3。

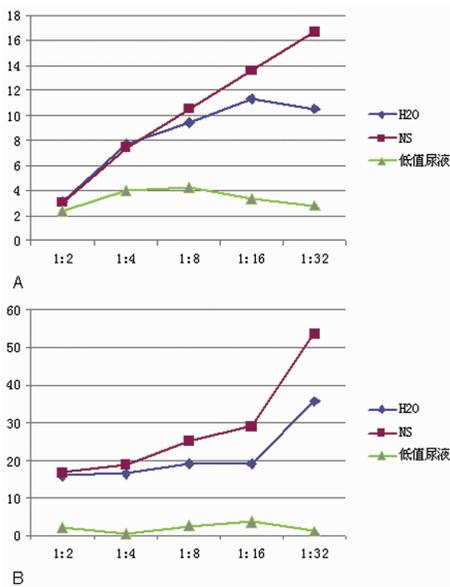
表 3 4 种稀释液稀释高值尿液标本的偏差分析(%)

稀释液	仪器	不同稀释度的偏差				
		1:2	1:4	1:8	1:16	1:32
H <sub>2</sub> O	湿生化	3.17	7.68	9.40	11.32	10.56
	干生化	15.93	16.49	19.13	19.13	35.72
NS	湿生化	3.07	7.49	10.56	13.63	16.70
	干生化	16.87	18.76	25.16	29.19	53.82
低值尿液	湿生化	2.37	3.97	4.25	3.37	2.86
	干生化	2.01	0.41	2.49	3.77	1.26

表 4 各稀释液在 2 个系统中的线性评价参数

项目	拟合方程及相关系数				
	H <sub>2</sub> O	NS	7%BSA	低值血清	低值尿液
湿化学					
淀粉酶	Y=0.994X+10.60 r <sup>2</sup> =0.999 6(n=6)	Y=0.906X+12.61* r <sup>2</sup> =0.999 6(n=6)	Y=0.994X+10.40 r <sup>2</sup> =0.999 6(n=6)	Y=0.993X-2.134 r <sup>2</sup> =0.990 0(n=6)	—
尿淀粉酶	Y=0.994X+23.86 r <sup>2</sup> =0.999 6(n=6)	Y=0.992X+26.48 r <sup>2</sup> =0.999 7(n=6)	—	—	Y=0.993X+22.65 r <sup>2</sup> =0.999 8(n=6)
干化学系统					
淀粉酶	Y=1.001X+4.304 r <sup>2</sup> =0.998 1(n=4)	Y=0.996X+3.044 r <sup>2</sup> =0.999 9(n=4)	Y=1.084X-61.83* r <sup>2</sup> =0.977 1(n=4)	Y=0.984X+12.02 r <sup>2</sup> =0.999 2(n=6)	—
尿淀粉酶	Y=0.999X+30.14 r <sup>2</sup> =0.993 9(n=6)	Y=0.963X-27.12 r <sup>2</sup> =0.934 3(n=6)*	—	—	Y=0.995X+7.50 r <sup>2</sup> =0.999 8(n=6)

—:未用该类稀释液稀释这类标本;\*:不符合线性评价要求。



A:湿生化检测;B:干生化检测。

图 2 3 种稀释液稀释高值尿液标本在 2 个系统中的偏差

结合偏差和线性分析相关参数,对高值血淀粉酶标本,在湿生化检测系统中,最佳稀释液为低值血清,在干生化检测系统中,最佳稀释液为生理盐水。对高值尿液标本,在湿生化检测和

结果显示,仅低值尿液做稀释液时,在 2 个系统的 5 个稀释度的偏差均小于中华人民共和国卫生行业标准规定的 TEa,且均小于 1/2 TEa,对 2 个系统来说均最优。在 1:8 的稀释度以内,纯水和 NS 做稀释液在湿生化检测上检测均能满足标准的要求,但在干生化检测系统中,已超出标准的要求,这在 2 个系统间显示出非常大的差距。3 种稀释液稀释高值尿液标本在 2 个系统中的偏差比较见图 2。

2.3 线性评价 高淀粉酶血清和高淀粉酶尿液用对应的稀释液进行系列稀释后在 2 个系统进行测定,并计算其理论值。通过成对的理论值与实测值拟合回归方程进行线性评价,以实测值为 Y,理论值为 X 拟合回归方程,  $Y=aX+b$ 。参照文献[4-5]以 a 介于  $1.00 \pm 0.05$  和  $r^2 \geq 0.95$  为判断标准,判断是否符合线性评价要求,相关参数详见表 4。

干生化检测系统中,最佳稀释液均为低值尿液。

### 3 讨论

血清淀粉酶、尿液淀粉酶测定作为急性胰腺炎诊断和病情评估的指标之一,在平诊和急诊生化中广泛使用。目前,大中型医院的平诊生化往往采用湿生化检测系统,而急诊生化往往采用干生化检测系统进行检测<sup>[6]</sup>。湿生化检测系统的检测是以 Lambert-beer 定律为基础,而干生化检测系统最具代表性的是以 Kubelka-Munk 为主要理论基础的多层膜法,主要通过测定反射光进行定量<sup>[7]</sup>。在临床常规检测中,血、尿淀粉酶检测超出线性范围的情况经常发生,往往需要稀释后再测定,而理论基础完全不同的 2 个系统中,能否使用相同的稀释液进行稀释后再测定<sup>[8-9]</sup>,目前并未见系统评价和相关报道,因此,有必要进行深入研究<sup>[10-11]</sup>。

对于高值血淀粉酶标本,本研究选用了临床检验工作中被广大检验工作者广泛使用的纯水、NS 作稀释液,同时选用了干化学系统推荐的其他检测项目的稀释液(7%BSA),以及从理论上引入基质效应最小、容易获取的低值血清<sup>[12]</sup>,共 4 种稀释液进行研究。以中国卫生行业标准——临床生物化学检验常规项目分析质量指标规定的淀粉酶检测的总 TEa $\leq 15\%$  为偏差判断的依据,结合线性评价的要求进行判断,结果显示,在湿生化检测系统中,H<sub>2</sub>O、7%BSA、低值血清均符合要求,但如果用偏差小于 1/2TEa,仅仅低值血清符合;在干生化检测系统中,H<sub>2</sub>O、

NS、低值血清均符合要求,但由于干生化检测的检测下限较低,所以,最多只能做 1:8 稀释。Vitros 淀粉酶干片说明书中对高值淀粉酶血清标本推荐用低值血清稀释,仅仅能满足卫计委最新规定的 TEa,以卫计委最新规定的 1/2TEa 为标准的话,应该选用 NS 为宜。与喻颀等<sup>[13]</sup>在干生化检测系统中对高值尿素氮、总胆红素、丙氨酸氨基转移酶和肌酐标本稀释液评价的结果不一致,可能与涉及测量过程的反应不同有关。

对于高值尿液淀粉酶标本,本研究选用了临床检验工作中被广大检验工作者广泛使用的纯水、Vitros 淀粉酶干片说明书推荐的等渗盐水,以及从理论上引入基质效应最小的低值尿液,共 3 种稀释液进行研究。以中国卫计委最新行业标准规定的淀粉酶检测的总 TEa $\leq$ 15% 为偏差判断的依据,结合线性评价的要求进行判断,结果显示,在湿生化检测系统中,3 种稀释液基本满足要求,但只有低值尿液做稀释液时其偏差满足较严格的质量要求( $<1/2TEa$ );在干生化检测系统中, $H_2O$ 、NS 均不符合要求,只有低值尿液符合要求,其 5 个稀释度的偏差均小于卫计委最新规定的 1/2TEa。值得注意的是,Vitros 淀粉酶干片说明书推荐的等渗盐水,在偏差和线性分析 2 个方面,均不符合要求。作者再次重复了该实验,得到相同的结果。提示在常规检验工作中,应及时验证和纠正厂家提供的一些参数。

不管是高值淀粉酶的血清标本还是尿液标本,本研究均发现同一稀释液在 2 个系统中稀释后对结果造成的影响是不同的,这与 Hashim 等<sup>[14]</sup>分别使用湿生化检测和干生化检测分析肾结石的结果吻合。本实验中, $H_2O$ 、生理盐水、7%BSA 均存在显著差异,究其原因,主要是检测原理不同造成的。应引起广大检验工作者的高度重视,建议必须在评价后才能用于临床工作。本研究还发现,即使是同一检测系统,使用不同的稀释液稀释高值淀粉酶血清和尿液标本,所造成的偏差也是完全不同的,这与王森等<sup>[15]</sup>在肌酸激酶中的研究结论一致。

#### 参考文献

- [1] 刘成忠,肖传宇,侯文华,等.不同稀释液对高值肌酸激酶稀释测定的影响[J].实用医学杂志,2009,25(14):2361-2362.
- [2] 贺勇,陈嵌,唐治贵,等.干、湿化学检测系统测定肾功能高值标本稀释液的选择与评价[J].重庆医学,2012,41(6):542-544.
- [3] WS/T403-2012.临床生物化学检验常规项目分析质量指标

[S].中华人民共和国卫生部,2012.

- [4] Prakash C, Shaffer CL, Nedderman A. Analytical strategies for identifying drug metabolites[J]. Mass Spectrum Rev, 2007,26(3):340-369.
- [5] Yang X, Liu L, Wu M, et al. Wet-chemistry-assisted nano-tube-substitution reaction for high-efficiency and bulk-quantity synthesis of boron- and nitrogen-codoped single-walled carbon nanotubes[J]. J Am Chem Soc, 2011, 133(34):13216-13219.
- [6] 林有东,蔡鹏威. VITROS 250 全自动干化学分析仪的评价[J]. 福建医药杂志,2006,28(6):116-117.
- [7] 丛玉隆.实用检验医学[M].北京:人民卫生出版社,2009:469-471.
- [8] Lin MH, Wu MC, Lin J. Variable classifications of glycemic index determined by glucose meters[J]. J Clin Biochem Nutr, 2010,47(1):45-52.
- [9] Feng JF, Chen TM, Wen YA, et al. Study of serum arginino-succinate lyase determination for diagnosis of liver diseases[J]. J Clin Lab Anal, 2008,22(3):220-227.
- [10] 胡伟,毕永春,宋景秋,等.不同稀释液对血清 HBsAg 定量测定的影响[J].东南大学学报:医学版,2010,29(4):464-466.
- [11] 陈燕,赵明,王金行.不同稀释液对 CK、CK-MB、LDH 和 AST 检查结果的影响[J].中国血液流变学杂志,2003,13(2):172-173.
- [12] 胡士玉,王海清,程正江,等.自制稀释液在化学发光定量检测 HCG 浓度的应用[J].标记免疫分析与临床,2013,20(3):192-193.
- [13] 喻颀,张煜,左桂兰,等. Vitros350 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):1489-1490,1493.
- [14] Hashim IA, Zawawi TH. Wet vs dry chemical analysis of renal stones[J]. Ir J Med Sci, 1999,168(2):114-118.
- [15] 王森,宋世平,闫宏斌,等.三种稀释液对干化学测定肌酸激酶(CK)结果的影响[J].中国卫生检验杂志,2011,21(12):3013.

(收稿日期:2014-10-15 修回日期:2014-12-15)

(上接第 1047 页)

- DNA fragmentation of normal spermatozoa negatively impacts embryo quality and intracytoplasmic sperm injection outcome[J]. Fertil Steril, 2010,94(2):549-557.
- [11] Rawe VY, Boudri HU, Alvarez Sedo C, et al. Healthy baby born after reduction of sperm DNA fragmentation using cell sorting before ICSI[J]. Reprod Biomed Online, 2010,20(3):320-323.
  - [12] Nili HA, Mozdarani H, Aleyasin A. Correlation of sperm DNA damage with protamine deficiency in Iranian subfertile men[J]. Reprod Biomed Online, 2009, 18(4):479-485.

- [13] Erenpreiss J, Elzanaty S, Giwercman A. Sperm DNA damage in men from infertile couples[J]. Asian J Androl, 2008, 10(5):786-790.
- [14] Smart DJ, Ahmedi KP, Harvey JS, et al. Genotoxicity screening via the gammaH2AX by flow assay[J]. Mutat Res, 2011,715(1-2):25-31.
- [15] Tavalae M, Deemeh MR, Arbabian M, et al. Density gradient centrifugation before or after magnetic-activated cell sorting: which technique is more useful for clinical sperm selection[J]. J Assist Reprod Genet, 2012,29(1):31-38.

(收稿日期:2014-10-22 修回日期:2014-12-18)