

# 血清尿酸自主研发生化诊断试剂的临床研究\*

王惠萱<sup>1</sup>, 贾雄飞<sup>1</sup>, 唐建国<sup>2△</sup>, 滕毅<sup>1</sup>, 佘文婕<sup>1</sup>, 朱光旭<sup>1</sup>

(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 进行自主研发的血清尿酸(UA)生化诊断试剂的临床研究。方法 对自主研发的血清 UA 生化诊断试剂进行性能评价, 并与进口优质 UA 生化诊断试剂进行对比和偏移评估。结果 自主研发血清 UA 生化诊断试剂空白吸光度、重复性和线性检测符合要求; 与公认的优质进口 UA 生化诊断试剂具有良好的相关性, 系统误差符合国际标准要求。结论 自主研发 UA 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。

**关键词:**尿酸; 指示剂和试剂; 生物医学研究

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.03.002

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)03-0290-03

## Clinical research of serum uric acid biochemistry diagnosis reagent of independent research and development\*

Wang Hui-xuan<sup>1</sup>, Jia Xiong-fei<sup>1</sup>, Tang Jianguo<sup>2△</sup>, Teng Yi<sup>1</sup>, She Wen-jie<sup>1</sup>, Zhu Guang-xu<sup>1</sup>

(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 uric acid(UA) biochemistry diagnosis reagent. Methods Evaluate the performance of independent research and development serum UA biochemistry diagnosis reagent; measure blank absorbance, repeatability and linearity. Design to experiment a project, take imports the biochemistry diagnosis reagent of German Olympus as the control group, the biochemistry diagnosis reagent of domestic Biosino as the experimental group. Results Blank absorbance, repeatability and linearity of independent research and development serum UA biochemistry diagnosis reagent are up to the mustard. Conclusion The independent research and development UA biochemistry diagnosis reagent is security, effective and meets the clinical practice requirement.

**Key words:** uric acid; indicators and reagents; biomedical research

临床上血清尿酸(uric acid, UA)浓度测定主要用于痛风性关节炎的诊断,也是肾功能检查的常规检测项目之一。UA 浓度测定的准确性和如何选择品质优秀的生化诊断试剂是检验工作者最为关心的问题。本研究采用 Olympus UA 生化诊断试剂和自主研发的中生 UA 生化诊断试剂对血清 UA 的检测结果进行分析和方法学比对研究,并对自主研发试剂自身的性能进行试验研究,将结果报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集解放军昆明总医院日常进行 UA 检测的新鲜、无溶血、无黄疸患者血清标本,剔除测定值小于定量下限(15 μmol/L)和大于定量上限(1 120 μmol/L)的标本。在小于或等于 178、178~595 和 595~1 120 μmol/L 范围内共选定 100 例标本,男性 66 例,女性 34 例。年龄 3~88 岁,其中小于或等于 178 μmol/L 9 例(9%),178~595 μmol/L 86 例(86%),595~1 120 μmol/L 5 例(5%)。

**1.2 仪器及试剂** 采用日本 Olympus AU5421 自动生化分析仪进行 UA 检测。对照试剂(X):Olympus UA 生化诊断试剂(批号 LOT 7368);尿酸酶比色法配套校准品(批号 LOT 0113),配套质控品水平 1(批号 LOT 0025 2010-06-01),水平 2(批号 LOT 0026 2010-06-01)。试验试剂(Y):中生 UA 生化诊断试剂(批号 LOT 090091);尿酸酶比色法配套校准品(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本室标准操作规程进行试验。第 1 步定标:分别用试剂(X)和试剂(Y)各自配套定标液进行试剂定标;第 2 步质量控制:分别用试剂(X)和试剂(Y)的配套质控液进行质控,各重复 3 次,结果都在控;第 3 步检测:每天选取高、中、低值临床血清标本各 10 例,分别用试剂(X)和试剂(Y)以 1~10 顺序进行 UA 测定,再按相反顺序重复测定,检测在 2 h 内完成,以上步骤重复 10 d,通过空白吸光度试验、重复性试验和线性试验评价试验试剂(Y)的自身性能,并与对照试剂(X)进行临床比对和偏移评估。

**1.4 统计学处理** 试验试剂的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 UA 测定结果的统计分析在 Excel 2003 上进行,2 种试剂的比对和偏移评估依据美国临床实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)EP9-A2 文件标准<sup>[1]</sup>。

### 2 结果

#### 2.1 试验试剂(Y)临床性能评价结果

**2.1.1 空白吸光度** 在波长 546 nm(光径 1 cm)处检测,以纯水为检测样本,重复测定 2 次,测得试验试剂(Y)空白吸光度分别为 0.013 5 和 0.012 8,均小于 0.300,符合试剂的设计要求。

**2.1.2 重复性** 用试验试剂(Y)重复测定 2 个浓度水平的血

\* 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。

清样本各 20 次,计算不同样本测定值的均值( $\bar{x}$ )和标准差( $s$ ),重复测定结果的变异系数(CV)均小于 4%,符合试剂的设计要求。

**2.1.3 线性** 在 15~1 120  $\mu\text{mol/L}$  范围内,用接近定量上限的高浓度 UA 标本和生理盐水,按比例稀释成 8 个浓度。以此作为样本,分别用试验试剂(Y)测定每个浓度样本,重复测定 3 次,对测定数据进行多项式拟合,结果表明此试剂的线性呈一阶线性。

**2.2 2 种试剂临床比对和偏倚评估**

**2.2.1 2 种试剂均值结果** 试剂(X)对血清 UA 测定结果的均值为 340.0  $\mu\text{mol/L}$ ,试剂(Y)对 UA 测定结果的均值为 335.6  $\mu\text{mol/L}$ ,两者无统计学意义差异( $P>0.05$ )。

**2.2.2 方法内重复性检查** 计算 2 种试剂各自 2 次测定的标准化值,得到试剂(X)2 次测定值的标准化值的均值  $\overline{DX'} = 0.0068$ ;试剂盒(Y)2 次测定值的标准化值的均值  $\overline{DY'} = 0.0132$ 。可以看出,  $DX'_i \leq 4 \overline{DX'}$ ,  $DY'_i \leq 4 \overline{DY'}$ , ( $4 \overline{DX'} = 0.0272$ ,  $4 \overline{DY'} = 0.0528$ ),说明 2 种试剂均重复性好,符合相关性试验要求。

**2.2.3 离群点检查** 计算了 2 种试剂之间的绝对偏差( $E_{ij}$ )、相对偏差( $E_{ij}'$ )、绝对偏差的平均值( $\overline{E}$ )、相对偏差的平均值( $\overline{E}'$ )。结果显示,  $E_{ij} \leq 4 \overline{E}$ ,  $E_{ij}' \leq 4 \overline{E}'$  ( $4 \overline{E} = 21.6$ ,  $4 \overline{E}' = 0.0661$ ),说明无离群点存在。

**2.2.4 线性回归及偏倚分析** Excel 2003 线性回归显示,  $r = 0.999$ ,满足 EP9-A2 文件  $r \geq 0.975$  (或  $r^2 \geq 0.95$ ) 的要求。继而对数据进行分组分析和趋势线分析,结果见图 1~4。图 1 显示,试剂(Y)平均值与试剂(X)平均值线性关系良好;图 2 显示,试剂(Y)单个测定值与试剂(X)平均值线性关系良好;图 3 显示,2 种试剂对同一例血清 UA 的测定均值差值较小,分布较合理;图 4 显示,试剂(Y)测定单个值与试剂(X)均值相比,偏差较小,分布较合理。

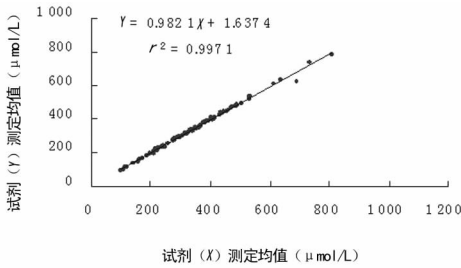


图 1 试剂(Y)平均值与试剂(X)平均值线性关系图

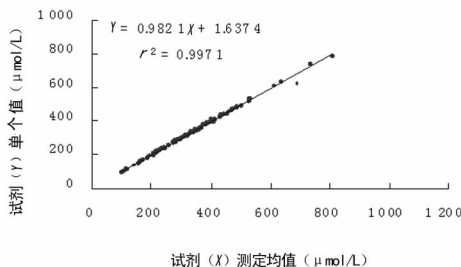


图 2 试剂(Y)单个测定值与试剂(X)平均值线性关系图

**2.2.5 系统误差的估计值及其置信区间计算** 根据美国

CLIA'88 允许变异,试验试剂(Y)与对照试剂(X)的偏倚应小于 1/2 CLIA'88 允许差,因此将 UA 的医学决定水平浓度定为 356.4  $\mu\text{mol/L}$ 。据此计算得到试验试剂(Y)相对于对照试剂(X)系统误差的估计值为 4.7014,95% 可信区间为 (0.89, 8.55),系统误差符合临床要求。

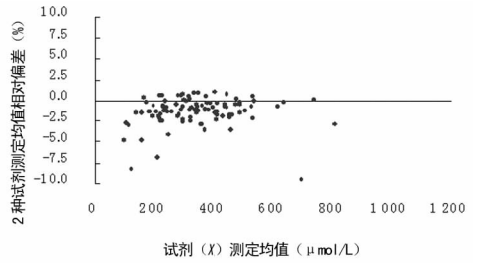


图 3 2 种试剂均值相对偏差的偏置曲线图

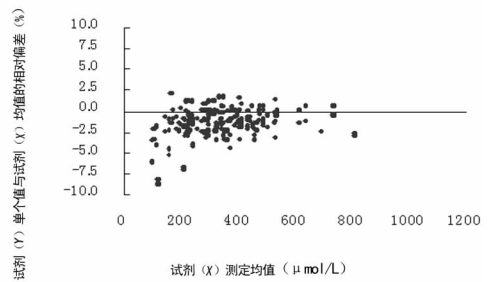


图 4 试剂(Y)单个值与试剂(X)均值相对偏差的偏置曲线图

**3 讨论**

UA 是嘌呤代谢的终末产物,人体内 UA 来源于 2 条途径,一是来源于体内细胞核蛋白嘌呤碱的分解代谢;二是来源于摄入的动物性或其他含嘌呤丰富的食物,经消化吸收的嘌呤碱大部分被分解代谢生成 UA,只有少部分被利用再合成核苷酸或组织核酸。血中 UA 除小部分在肝脏代谢外,大部分被肾小球滤过。尿酸盐的溶解度较低,血中尿酸盐达到或超过其饱和度,将析出结晶,沉积于关节、肾小球、肾小管等组织处引起痛风性关节炎、肾炎、肾和输尿管结石等疾病<sup>[2-7]</sup>。嘌呤合成代谢紊乱、能量代谢异常及肾脏对 UA 的排泄障碍均可引起血清 UA 浓度异常。为验证自主研发血清 UA 生化试剂盒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,开展临床验证工作。

根据 UA 在尿酸酶催化下,氧化生成尿囊素和  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  与 4-氨基安替吡啉(4-AAP)和 N-乙基-N-(2-羟基-3-磺丙基)-3-甲基苯胺(TOOS)在过氧化物酶的催化下,生成有色醌亚胺化合物,且生成量与 UA 浓度呈正比,研发了中生血清尿酸生化诊断试剂。通过采用生化分析仪测定 546 nm 波长处吸光度的变化,可知被检测血清中 UA 的浓度。本试剂为液体双试剂,开瓶即用,可应用于全自动生化分析仪。本试剂在临床上用于检测人血清 UA 的浓度,可为原发性高尿酸血症急性痛风、Lesch-Nyhan 综合征、继发性高尿酸血症肾功能不全、核酸代谢增高如白血病、多发性骨髓瘤、真性红细胞增多症、低尿酸血症等疾病提供临床诊断参考依据<sup>[8-12]</sup>。

中国临床生化诊断试剂的潜在市场相当巨大,如果能够实

现国产试剂研发并替代进口试剂,不仅能节约成本,减少支出,减轻老百姓看病就医的负担,而且将在体外诊断试剂方面缩小与国外的差距。本研究根据 EP9-A2 有关文件,结合临床工作实际情况选择不同 UA 浓度的新鲜血清标本,用进口生化诊断试剂和国内自主研发生化诊断试剂对 UA 的检测结果进行对比及偏移评估研究。结果表明自主研发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,在临床应用方面与进口试剂也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] 殷丽. 血清尿酸含量在临床上的应用[J]. 中国误诊学杂志, 2004, 4(5): 694-695.
- [3] 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.
- [4] 卢妙莲, 石汉振, 张健媛, 等. 不同检测系统尿酸测定结果的偏移评估[J]. 安徽中医学院学报, 2007, 26(3): 58-59.
- [5] 王惠莹, 贾雄飞, 滕毅, 等. 不同试剂检测血清 ALT 结果的可比性

及偏移评估研究[J]. 现代检验医学杂志, 2009, 24(5): 61-63.

- [6] 靳京美. 痛风与高尿酸血症的发病原因及诊治分析[J]. 中国现代药物应用, 2010, 4(24): 49-50.
- [7] 任虹, 苏广兴, 田春兰. 中学生血尿酸水平现状及相关因素分析[J]. 甘肃中医学院学报, 2010, 27(6): 74-75.
- [8] 万鹏程, 美国跃, 李金鹤. 上海政府公务员血尿酸水平与代谢综合征相关性研究[J]. 中国实用医药, 2010, 5(31): 3-5.
- [9] 杨雷, 王宾友, 刘雅, 等. 成都社区中老年高血压前期人群血尿酸测定及相关因素研究[J]. 西南国防医药, 2010, 20(10): 1061-1063.
- [10] 王建, 邵永强, 陈祎, 等. 温州市居民高尿酸血症及影响因素分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(10): 2545-2547.
- [11] 黄志杰, 谈金, 欧阳健明. 尿酸结石患者尿液中的微晶组分及其与结石形成的关系[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(9): 2350-2354.
- [12] 王丹丹, 夏勇. 尿酸与心脑血管疾病之间的关系[J]. 当代医学, 2010, 17(27): 56-57.

(收稿日期: 2011-01-06)

(上接第 289 页)

研相结合的技术创新体系建设,大幅度提升中国体外诊断试剂产业的国产能力和国际竞争能力,近年来,国内诊断试剂行业在政府的大力支持和产学研体系建设的推动下,已有了长足的发展。

“十一五”期间,国家 863 计划首次支持了“生物医学关键试剂”重点项目,已取得了良好的阶段性成果。“生化诊断试剂临床研究”课题是“生物医学关键试剂”重点项目的 6 个大方向课题之一。这是生物医学试剂发展研究的里程碑工程。“十一五”期间,本课题瞄准临床生化诊断试剂发展的前沿和市场需求,通过自主创新及消化吸收型创新,进行了如下诊断试剂产品的研发:肝功能生化检测产品;心血管生化检测产品;糖尿病生化检测产品;肾功能生化检测产品;离子检测试剂;干化学诊断试剂等临床生化诊断关键试剂。已申报 6 项发明专利,获得新产品注册证 6 个,新产品累计销售 547 万,改进产品累计新增销售额 5 074 万。本课题的实施不仅为国产生化诊断试剂市场带来新的活力,同时也带动了常规生化诊断试剂质量的

提升。

医院检验科参与国家 863 计划体外诊断试剂研究是历史以来第 1 次,事实证明检验科在研发自主体外诊断试剂中起到非常重要的作用。例如医学伦理论证、提供配方、自主研发、临床验证、科学统计、出具验证报告等临床一线的许多关键工作需要医院检验科具体实施。根据临床验证报告提供的科学数据和依据,国家食品药品监督管理局确认试剂的有效性和安全性后,才决定给予产品注册证书,生产企业才能批量生产,最终投放医疗市场,进入各医院检验科用于临床患者标本的检测分析,最终为临床疾病的诊断治疗提供科学的实验室诊断意见。实践是检验真理的唯一标准,临床试验是检验自主研发试剂能否应用的唯一标准。医院检验科对研发产品的临床比对和研究,使自主研发的体外诊断试剂能够更快更好的造福于患者和社会。

(收稿日期: 2011-02-16)

## 医学统计工作的基本内容

按工作性质及其先后顺序,可将医学统计工作分为实验设计、收集资料、整理资料、分析资料。实验设计是开展某项医学研究工作的关键,包括医学专业设计和统计学设计,医学专业设计的内容包括研究对象纳入和排除标准、样本含量、获取样本的方法、分组原则、观察(检测)指标、统计方法等。收集资料的方法包括各种试验、检测或调查,要求资料完整、准确、及时、有足够数量、具有代表性和可比性等。整理资料包括原始资料的检查与核对、对资料进行分组与汇总等。分析资料即对资料进行统计学分析,包括进行统计描述和统计推断。