

## • 临床检验研究论著 •

# 己糖激酶法与葡萄糖氧化酶法测定血糖的实验研究

张凤霞, 张立群, 孟宇, 孙艳艳<sup>△</sup>

(首都医科大学石景山教学医院北京市石景山医院, 北京 100043)

**摘要:**目的 评价己糖激酶法(HK 法)与葡萄糖氧化酶法(GOD-PAP 法)测定血糖的稳定性、可靠性及临床应用,为临床实验室方法的选择和检验结果的评价提供理论依据。方法 依据美国国家临床实验室标准委员会(NCCLS)和中华人民共和国卫生行业标准的有关文件对 HK 法与 GOD-PAP 法测定血糖精密度、正确度及线性进行评价,对两种测定方法的相关性进行比较。结果 两种方法的总不精密度(CV)均小于 2.5%;GOD-PAP 法和 HK 法正确度偏倚符合要求,GOD-PAP 法的均值与定值比较,  $t=1.5, P=0.155$ ;HK 法的均值与定值比较,  $t=1.7, P=0.115$ 。两种方法的均值与定值比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );HK 法与 GOD-PAP 法方法学比较:以 HK 法为比较方法,GOD-PAP 法为实验方法,血糖的回归方程,  $Y=0.988X+0.053$ ,相关系数( $r$ )=0.999,相对偏倚(0.31%)小于实验室的质量要求(2%),  $t=1.754, P=0.087$ 。因此认为总体上 2 种方法的结果比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性;GOD-PAP 法与 HK 法线性范围较宽,线性回归方程分别 GOD-PAP 法:  $Y=1.011X-0.066$ ,相关系数( $r$ )=0.999,  $P=0.000$ 。HK 法:  $Y=1.002X-0.007$ ,相关系数( $r$ )=1.000,  $P=0.000$ ,说明 2 种方法的实测值与预期值呈显著相关,实验范围内 2 种方法线性关系良好。结论 HK 法与 GOD-PAP 法测定血糖的精密度、正确度、相关性、线性均较好,均适用于临床实验室检测,各实验室可根据自己的条件选择不同的检测方法。

**关键词:**血糖; 己糖激酶法; 实验室技术和方法**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.06.019**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2014)06-0697-03

## Experimental research of HK and GOD-PAP assays for glucose detection

Zhang Fengxia, Zhang Liqun, Meng Yu, Sun Yanyan<sup>△</sup>

(Capital Medical University Shijingshan Teaching Hospital Beijing Shijingshan Hospital, Beijing 100043, China)

**Abstract: Objective** To evaluate the stability, reliability and clinical application of the hexokinase (HK) method and the glucose oxidase method (GOD-PAP) for detecting blood glucose to provide the theoretical basis for the selection of clinical laboratory methods and the evaluation of the detection results. **Methods** To evaluate the precision, accuracy and linearity of HK and GOD-PAP according to NCCLS and the related documents about the standards of health profession of PRC. And the correlation between the two detection methods was compared. **Results** The total imprecision (CV) of the two methods were less than 2.5%; the accuracy bias of HK and GOD-PAP met the requirement, comparing the mean value with the definite value in GOD-PAP,  $t=1.5, P=0.155$ ; comparing the mean value with the definite value in HK,  $t=1.7, P=0.115$ . The mean value and the definite value had no statistically significant difference between the two methods ( $P>0.05$ ). In the methodological comparison of HK and GOD-PAP, HK was the comparative method, while GOD-PAP was the experimental method. The regression equation of blood glucose was  $Y=0.988X+0.053, r=0.999$ , the relative bias (0.31%) was less than the requirement of the laboratory (2%),  $t=1.754, P=0.087$ . The detection results had no statistical difference between the two methods ( $P>0.05$ ). The linear range of GOD-PAP and HK methods was wider, their linear regression equation were  $Y=1.011X-0.066, r=0.999, P=0.000$  and  $Y=1.002X-0.007, r=1.000, P=0.000$ , which indicated that the practical test value of the two methods were significantly associated with the predicted value, the linear relation of the two methods was good in the range of the experiment. **Conclusion** HK and GOD-PAP have good precision, accuracy, comparability and linearity in the determination of blood glucose, which are suitable for the laboratory detection. Clinical laboratory can choose an appropriate method according to its own conditions.

**Key words:** blood glucose; hexokinase; laboratory techniques and procedures

随着经济的发展和生活方式的改变,糖尿病发病率逐年增高,其患病人群已趋流行化和年轻化。目前糖尿病诊断主要依据是临床症状和血糖水平,而血糖水平是其主要诊断依据。临床实验室普遍采用葡萄糖氧化酶(GOD-PAP)法,己糖激酶(HK)法。实验室医学质量要求标准 ISO/15189<sup>[1]</sup>对检验结果的溯源性和可比性提出了明确要求,并指出方法学比较试验(比对试验)是实现溯源的途径之一。是临床实验室质量的保证。依据美国国家临床实验室标准委员会(NCCLS)和中华人民共和国卫生行业标准的有关文件对己糖激酶法(HK 法)与葡萄糖氧化酶法(GOD-PAP 法)测定血糖的总不精密度、正确度及线性进行评价,以及对两种测定方法进行相关性比较。

## 1 资料与方法

**1.1 仪器与试剂** Cobas8000 全自动生化分析仪;OLYMPUS-AU2700 全自动生化分析仪。HK 法所用试剂为 Cobas8000 全自动生化分析仪原装配套;GOD-PAP 法所用试剂由柏定生物工程有限公司生产,按说明书设置上机参数。多项校准液:校准品 CFAS 批号 165676;伯乐质控血清批号 16641 和 16642。

**1.2 临床标本** 本院住院患者,空腹 12~14 h 后,坐位采集静脉血 6 mL,室温静置,凝集后 3 500 r/min,离心半径 17.5 cm,离心 10 min,血清样品在 2 h 内分离出血清,3 h 内分析完毕<sup>[2]</sup>。

**1.3 评估方法**

**1.3.1 精密度** 参考 NCCLS 制定的精密度和正确度性能的用户验证(EP15-A2)<sup>[3]</sup>文件进行, 分别用 2 种方法进行, 伯乐质控血清 2 份, 1 份正常, 1 份病理, 每天进行一批实验, 每个浓度重复测定 3 次, 共测定 5 d。计算批内标准差及总不精密度。

**1.3.2 正确度** 参考美国国家临床实验室标准委员会(NCCLS)制定的精密度和正确度性能的用户验证(EP15-A2)的文件<sup>[3]</sup>进行, 选用与实验室现用批号(165676)不同的罗氏校准液 CFAS(165681), 分别用 2 种方法进行, 每天重复测定 2 次, 共测定 5 d。将 2 种方法的测定结果与定值比较。计算偏倚, 并对 2 种方法的均数分别与定值进行 t 检验。

**1.3.3 HK 法与 GOD-PAP 法用于临床标本的相关性比较** HK 法在 Cobas8000 全自动生化分析仪上测定; GOD-PAP 法在 OLYMPUS-AU2700 全自动生化分析仪上测定。参考美国国家临床实验室标准委员会(NCCLS)制定的用患者样本进行方法学比对和偏倚评估(EP9-A2)文件<sup>[4]</sup>进行。选择 40 份包含高、中、低浓度的临床样本, 每天取 8 份, 分别用 2 种方法按顺序 1~8 进行样本测定, 再按相反顺序 8~1 重复测定, 连续测定 5 d, 共测定 40 个样本, 以 HK 法为比较方法(Y), GOD-PAP 法为实验方法(x), 将两种方法的测定结果进行比较, 回

归与相关性分析、偏差分析及 t 检验。

**1.3.4 线性** 参考美国国家临床实验室标准委员会(NCCLS)制定的定量分析方法的线性评价(EP6-A)<sup>[5]</sup>和 WS/T4088 临床化学设备线性评价指南<sup>[6]</sup>的文件进行, 对 2 种方法的线性范围进行评价。样本准备, 收集患者血清, 待测物浓度高值和低值包含仪器可能检测到的最高和最低界限, 作为低浓度(L)和高浓度(H)样品; 再按下列比例: 3 份低值+1 份高值, 2 份低值+2 份高值, 1 份低值+3 份高值, 制成 5 份系列线性评价血清样品。每个浓度重复测定 4 次。对结果作线性评价。

**1.4 统计学处理** 采用 Microsoft Office Excel 2003 和 SPSS13.0 统计学软件, 对检测结果进行分析。总不精密度评价精密度, 正确度采用单个样本 t 检验评价, 两种方法的比较采用回归分析、相关分析、偏差分析及配对 t 检验, 以 P<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 精密度** 己糖激酶与 GOD-PAP 法总不精密度均小于 3%, 符合中华人民共和国卫生行业标准 WS/T403<sup>[7]</sup>要求。结果见表 1。

表 1 己糖激酶与 GOD-PAP 法测定葡萄糖的精密度结果

项目	正常值		病理值	
	HK 法	GOD-PAP 法	HK 法	GOD-PAP 法
测定个数	15.00	15.00	15.00	15.00
总均值	4.790 0	4.954	16.145 0	16.604
批内方差	0.000 3	0.002	0.006 0	0.016
批内 s	0.016 5	0.041	0.077 7	0.126
批间 s	0.036 3	0.064	0.190 2	0.399
批间方差	0.001 3	0.004	0.036 2	0.159
总方差	0.001 5	0.005	0.040 7	0.171
实验室 s	0.039 0	0.073	0.201 8	0.414
总不精密度 CV%	0.810 0	1.474	1.249 7	2.490

**2.2 正确度** GOD-PAP 法和己糖激酶法正确度偏倚程度符合要求, GOD-PAP 法的均值与定值比较, 经 t 检验, t=1.551, P=0.155, 己糖激酶法的均值与定值比较, 经 t 检验, t=1.743, P=0.115。两种方法均值与定值比较差异无统计学意义(P>0.05)。结果见表 2。

表 2 GOD-PAP 法和 HK 法结果

方法	n	$\bar{x}$	s	定值	偏倚	t	P
GOD-PAP 法	10	10.844 0	0.293 64	10.7	0.144	1.551	0.155
HK 法	10	10.761 0	0.110 70	10.7	0.061	1.743	0.115

## 2.3 方法学比较

**2.3.1 回归分析和相关分析** n=40, 线性回归方程: Y=0.988X+0.053, (Sy,x)=0.184。二次多项式 Y=0.977 X<sub>1</sub>+0X<sub>2</sub>+0.100, (Sy,x)=0.186。复合函数 (Sy,x)=0.194。根据回归分析的标准误(Sy,x)的大小, 以最小者确定最适合其中, 线性方程最优(Y=0.988X+0.053)。结果见图 1, 相关系数为 0.999, P=0.000, 说明实验方法与比对方法具有显著的相关性。

**2.3.2 测定结果可接受性判断** 参考 NCCLS 标准化文件中 EP15-A2<sup>[3]</sup>的统计方案, 对 2 种方法检测结果进行分析。相对偏倚(0.31%)小于中华人民共和国卫生行业标准 WS/T403<sup>[7]</sup>的要求(B=2.00%), 则认为偏倚可接受; GOD-PAP 法与 HK

法检测结果可接受, 见图 2, x 轴表示比对方法, y 轴表示偏倚(实验方法-比对方法)。

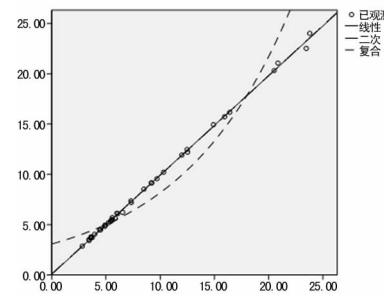


图 1 己糖激酶与 GOD-PAP 法回归分析

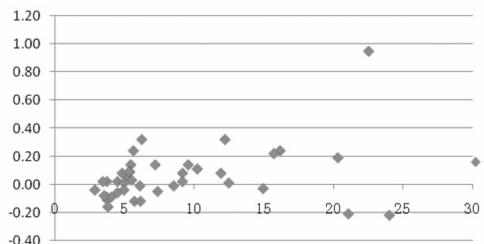


图 2 HK 法与 GOD-PAP 法的偏倚分析

**2.3.3 差异性分析** 2 种方法的均值作比较, 采用配对 t 检验

中的差异均值进行分析<sup>[8]</sup>,  $t=1.754$ ,  $P=0.087$ 。因此认为总体上 2 种方法的结果比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 具有可比性。

## 2.4 线性范围结果

**2.4.1 GOD-PAP 法** 线性回归方程:  $Y=1.011X-0.066$ ,  $(Sy, x)=0.337$ 。二次多项式:  $Y=1.055X_1-0.002X_2-0.248$ ,  $(Sy, x)=0.377$ 。复合函数:  $(Sy, x)=0.625$ , 根据回归分析的标准误(Sy, x)的大小, 以最小者确定最适合方程, 其中线性方程为最优, 见图 3, 相关系数( $r$ )=0.999,  $P=0.000$ , 在 0.01 水平(双侧)上显著相关, 说明实验值与预期值呈显著相关。

**2.4.2 HK 法** 线性回归方程:  $Y=1.002X-0.007$ ,  $Sy, x=0.168$ 。二次多项式:  $Y=1.017X_1+0X_2-0.082$ ,  $Sy, x=0.183$ 。复合函数  $Sy, x=0.593$ , 根据回归分析的标准误  $Sy, x$ , 以最小者确定最适合, 其中线性方程为最优, 见图 4。相关  $r=1.000$ ,  $P=0.000$  在 0.01 水平(双侧)上显著相关, 说明实测值与预期值呈显著相关。实验范围内两种方法线性关系良好。见表 3。

表 3 HK 法与 GOD-PAP 法的线性测定结果

方法	测定范围	斜率	截距	相关系数	P
GOD-PAP 法	1.08~28.0	1.011	-0.066	0.999	0.000
HK 法	1.57~38.5	1.002	-0.007	1.000	0.000

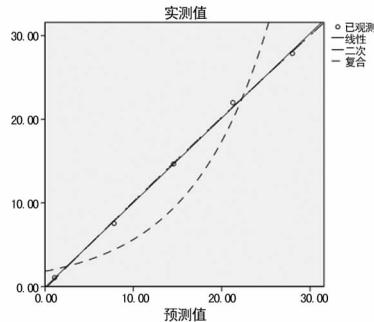


图 3 GOD-PAP 法线性回归分析

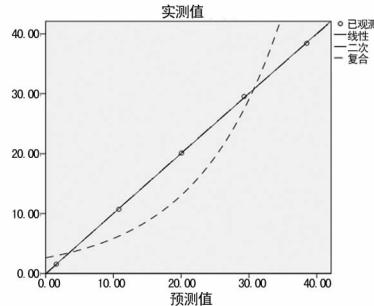


图 4 HK 法线性回归分析

## 3 讨论

葡萄糖是人体内新陈代谢的重要物质, 是人体能量的主要来源之一<sup>[9]</sup>。血糖测定的常规方法包括 GOD-PAP 法和 HK 法(其中参考方法为 HK 法)<sup>[10]</sup>。参考美国国家临床实验室标准委员会(NCCLS)标准化文件中的 EP-15A2 对 HK 法与 GOD-PAP 法的精密度进行评价, 总不精密度较小, 均小于 2.5%, 符合中华人民共和国卫生行业标准 WS/T403<sup>[7]</sup>的要求。表明 2 种方法的变异较小, 稳定性较好。

参考 NCCLS 标准化文件中 EP-15A2 对 HK 法与 GOD-PAP 法的正确度进行评价, GOD-PAP 法与 HK 法正确度偏倚符合要求, GOD-PAP 法的均值与定值比较, 经  $t$  检验,  $t=$

1.551,  $P=0.155$ ; HK 法的均值与定值比较, 经  $t$  检验,  $t=1.743$ ,  $P=0.115$ , 2 种方法的均值与定值比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 表明 2 种方法的准确性较好。

参考 NCCLS 标准化文件中 EP-9A2, 对 HK 法与 GOD-PAP 法的进行比较, 相关系数( $r$ )=0.999, 表明结果之间有较高的相关性, 同时用配对  $t$  检验( $P=0.87$ )又表明两者方法具有良好的一致性。均能准确地反映血液中葡萄糖的浓度值。参考中华人民共和国卫生行业标准 WS/T403<sup>[7]</sup> 的偏倚为判断标准, 相对偏倚(0.31%)小于或等于实验室允许偏倚 2.00%, 则认为偏倚可接受; 表明两种方法有很好的可比性。

参考 NCCLS 标准化文件的“定量分析方法的线性评价(EP6-A)<sup>[3]</sup>”和 WS/T408“临床化学设备线性评价指南”<sup>[6]</sup>的文件, 对 HK 法与 GOD-PAP 法的线性范围进行评价, HK 法相关系数  $r=1.000$ , GOD-PAP 法相关系数  $r=0.999$ , 实测值与理论值线性关系良好, 表明两者在临床范围均具有较好的准确度。

依据以上实验数据, GOD-PAP 法与 HK 法的稳定性, 正确度, 线性均较好且两者具有很好的相关性。比较而言, HK 法为参考方法, 价格昂贵, 反应速度快, 线性范围较宽, 而 GOD-PAP 法的特点是只要样品的某个反应完成, 就能看到该项目的结果, 经济实用, 所以更适合于急诊检验, 现在很多大医院拥有不止一台的生化仪, 而试剂也有多个厂家, 方法也多种, 这就有必要对不同仪器方法做出评估。实验表明, 葡萄糖的两种方法均能满足临床要求, 适用于葡萄糖的常规和自动化分析。

## 参考文献

- [1] 魏昊,丛玉隆. 医学实验室质量管理与认可指南[M]. 北京:中国计量出版社,2004:72-75.
- [2] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the handling and processing of blood specimens[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 1990.
- [3] National Committee for Clinical Laboratory Standards. User Verification of Performance for Precision and Trueness: Approved Guideline -Second edition[S]. EP15-A2, 2004.
- [4] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Method of Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples: Approved Guideline -Second edition[S]. EP9-A2, 2002.
- [5] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures A Statistical Approach: Approved Guideline -Second edition[S]. EP6-A2, 2003.
- [6] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. WS/T408-2012: 临床化学设备线性评价指南[M]. 北京:中国标准出版社, 2012.
- [7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. WS/T403-2012: 临床生物化学检验常规项目分析质量指标[M]. 北京:中国标准出版社, 2012.
- [8] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 上海:上海科学技术文献出版社, 2007:188-190.
- [9] 贾珂珂,陈文祥,张捷,等. 血清葡萄糖参考方法的复现及与临床常用检测方法的比对研究[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(3): 347.
- [10] 陈文祥,申子瑜,郭健,等. 临床检验量值溯源中的重要术语与概念及有关问题[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(2): 142-146.