

## • 检验仪器与试剂评价 •

## Hitachi 7600 型全自动生化分析仪理论 K 值与校准 K 值的应用

程志祥, 张华, 黄成利

(合肥市第二人民医院检验科, 安徽合肥 230011)

**摘要:** 目的 探讨 Hitachi 7600 型全自动生化分析仪理论 K 值与校准 K 值的应用。方法 应用速率法对丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、γ-谷氨酰转肽酶(γ-GT)、肌酸激酶(CK)及乳酸脱氢酶(LDH)进行检测, 理论 K 值及 2 种校准血清校准后的 K 值分别记为 K、K1、K2, 比较上述酶的 3 种校准结果。结果 ALT、AST、γ-GT、CK 及 LDH 的理论 K 值均小于 2 种实际 K 值, 校准 K 值的结果明显优于理论 K 值。5 种酶 2 种校准结果的  $R^2$  值均大于 0.95。结论 理论 K 值不适用于临床实验室, 2 种校准血清均能满足质控和临床工作的需要。

**关键词:** 生化分析仪; 酶活性; 校准血清; K 值

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.10.044

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)10-1331-02

## Application of the theoretical K value and the calibration K value on Hitachi 7600 Automatic Biochemical Analyzer

Cheng Zhixiang, Zhang Hua, Huang Chengli

(Department of Clinical Laboratory, the Second People's Hospital of Hefei, Hefei, Anhui 230011, China)

**Abstract: Objective** To investigate the application of theoretical K value and the calibration K value on Hitachi 7600 Automatic Biochemical Analyzer. **Methods** Rate method was employed to detect alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase(AST), gamma-glutamyl transpeptidase(γ-GT), creatine kinase(CK) and lactate dehydrogenase(LDH). The theoretical K value and K values calibrated by two kinds of calibration serum were recorded as K, K1, K2 and the three kinds of calibration results of enzymes mentioned above were compared. **Results** The theoretical K values of ALT, AST, γ-GT, CK and LDH were all less than their two kinds of actual K values. The results of the calibration K value were significantly superior to that of the theoretical K value. The calibration results  $R^2$  value of five kinds of enzymes were all greater than 0.95. **Conclusion** The theoretical K value is not suitable for clinical laboratories, and the two kinds of calibration serum can meet the needs of quality control and clinical work.

**Key words:** biochemical analyzer; enzymatic activity; calibration serum; K value

目前各临床实验室已广泛使用全自动生化分析仪来测定血清中酶的活性, 其选择的方法学多为速率法, 该方法通过现代化的仪器, 不断监测反应体系中吸光度值的变化, 在一定的线性范围内, 根据 K 值计算出所需酶的活性。但不同实验室、不同仪器、不同试剂和不同校准血清间的检测结果差异比较大, 随着时间推移, 仪器老化, 同一台仪器、同一套检测系统内的 K 值也往往会发生变化<sup>[1]</sup>。校准是一个测试和调整检验系统(仪器、试剂、方法学参数等)的过程, 从而建立该系统的计量学溯源性。国际临床化学联合会(International Federation of Clinical Chemistry, IFCC)提出酶活力的检测必须使用完整的检测系统, 依靠定值校准血清实现溯源, 使各实验室检测结果具有广泛可比性。笔者在 Hitachi 7600 型全自动生化分析仪上采用 2 种校准血清进行校准, 并与第 3 方认证标准参考体系进行对比, 初步探讨一种适合本实验室 Hitachi 7600 型全自动生化分析仪的校准方法, 以期实现酶检测结果的准确度和可靠性。

## 1 材料与方法

1.1 材料 新鲜血液标本 40 例, 及时分离血清并剔除脂血、溶血、黄疸等不合格标本, 标本分布宽度及保存符合美国临床实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) EP9-A 文件。

1.2 主要仪器与试剂 主要仪器: Hitachi 7600 型全自动生化分析仪(日本 Hitachi 公司), 进行仪器光路、吸样针、搅拌棒、杯空白校准。主要试剂: 丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、γ-谷氨酰转肽酶(gamma-glutamyl

transpeptidase, γ-GT)、肌酸激酶(creatine kinase, CK)及乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)检测试剂盒均为上海复星长征医学科学有限公司产品; 理论 K 值由上海复星长征医学科学有限公司提供, ALT、AST、γ-GT、CK 及 LDH 的理论 K 值分别为 -1746、-1746、1158、3333 及 8199; 临床校准血清 1 为 C. F. A. S(批号 165678-01), 为瑞士 Roche 公司产品; 临床校准血清 2 为上海复星长征医学科学有限公司产品(批号 770UN)。

1.3 方法 严格按照酶检测试剂盒提供的 Hitachi 7600 型全自动生化分析仪分析参数, 分别采用因子及 2 种校准血清进行校准, 并分别进行 2013 年第 2 次卫生部室间质评质控血清检测。工作前常规保养仪器、检查吸光度值和杯空白。酶检测方法均采用两点速率法, 校准方法采用两点法。其中, 校准 K 值按照 Hitachi 7600 型全自动生化分析仪保养手册提供公式计算:  $K = C_2 - C_1 / A_2 - B$ , 其中, C2 为校准血清浓度; C1 为三蒸水浓度, 取值 0; A2 为校准血清吸光度值, B 为本底吸光度值。校准分别进行 2 次, 吸光度值取平均值计算。理论 K 值及 2 种校准血清校准后的 K 值分别记为 K、K1、K2。采用 CLSI EP9-A 文件, 按照血液样本进行方法对比, 偏差评估与第三方认证(ISO 15189)参考体系比对。

1.4 统计学处理 采用 Excel 2003 软件进行统计学处理, 组间比较采用配对 t 检验, 利用 Excel 2003 软件对临床血清标本酶检测结果分别进行线性回归和趋势线添加, 以参考方法检测结果为横坐标, 分别以 2 种校准 K 值校准后检测结果为纵坐标, 进行简单线性回归分析, 以  $\alpha = 0.05$  为检验水准, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 理论 K 值和 2 种校准 K 值的比较** 运用校准血清 1 和校准血清 2 进行校准后的 2 种校准 K 值与理论 K 值的差异见表 1。ALT、AST、γ-GT、CK 及 LDH 的理论 K 值均小于 2 种实际 K 值, 其中 γ-GT 的理论 K 值与校准血清 1 的差异最大, 为 35.8%。校准血清 1 与校准血清 2 的校准 K 值相对接近, 差异不明显。

**2.2 3 种校准方法室间质评结果的比较** ALT、AST、γ-GT、CK 及 LDH 的理论 K 值基本位于允许范围内, 但大多数接近边缘值, 其偏差较大; 实际校准 K 值的结果明显优于理论 K 值, 偏差总体较小, 评价结果均为通过, 成绩为 100%。在 K1 与 K2 的结果比较中, 5 种酶在不同浓度梯度上的活性有差异, K2 校准的偏差小于 K1, K2 校准的结果更接近靶值。

表 2 40 例新鲜血清 5 种酶活性比对结果的线性回归分析

项目	K1	K2
ALT	$Y = 1.0060X - 0.8305, R^2 = 0.9897$	$Y = 1.0080X - 0.9524, R^2 = 0.9913$
AST	$Y = 1.0080X - 0.8432, R^2 = 0.9892$	$Y = 0.9978X - 0.0054, R^2 = 0.9902$
γ-GT	$Y = 0.8781X + 2.8283, R^2 = 0.9895$	$Y = 0.9716X + 1.1976, R^2 = 0.9921$
CK	$Y = 0.9743X + 3.9486, R^2 = 0.9915$	$Y = 0.9814X + 2.4853, R^2 = 0.9968$
LDH	$Y = 0.9476X + 2.7899, R^2 = 0.9904$	$Y = 0.9915X - 1.2711, R^2 = 0.9988$

## 3 讨 论

血清酶类检测是医学实验室检测最多的项目, 多用速率法来检测酶的活性, 往往多应用理论 K 值来计算酶的活性, 应用理论 K 值进行检测有严格的参数要求, 样本与试剂体积必须与对应仪器的说明书严格一致, 比色杯光径要根据实际厂家说明书进行换算, 但随着时间的推移, 仪器光源和比色杯老化, 实测值与厂家提供的该仪器的理论值差异越来越大<sup>[2-3]</sup>。本研究显示校准 K 值和因子间存在的差异较大。因子在新装仪器上利用第三方质控品进行验证, 可校准仪器偏差对测定的影响, 但无法校准试剂、样本偏差。在实际工作中, 有的实验室为了增加酶活性检测的线性范围, 可能提高试剂体积, 相应减少样本体积, 而有的实验室为了减少成本, 会相应缩小试剂体积, 理论 K 值的使用均不适合这些情况。

酶在检测过程中受到光学分析系统波长以及测定过程各方面的影响, 不同厂家试剂的底物浓度、缓冲液组成、pH 值、辅酶纯度及浓度的不同导致利用理论 K 值计算酶活性的结果缺乏可比性<sup>[4]</sup>。IFCC 推荐 2 种解决方案: 一是推荐统一的酶测定方法; 二是用酶标准品对各测定系统进行统一校正<sup>[5]</sup>。然而, 人血清一级标准品价格非常昂贵, 无法在临床实验室推广使用, 目前多用一些厂家提供的可溯源到人血清一级标准品的工作校准血清作为标准品来进行仪器的校准<sup>[6]</sup>。但这些不同厂家的工作标准品与不同的试剂和不同仪器组合所带来的结果是不同的。目前较为统一的观点是, 同一品牌的仪器应用同一品牌的校准液和同一品牌的试剂进行校准后, 在同一品牌的质控和临床标本中有着良好的表现。目前, 除了少数公司能提供完整、统一的检测系统外, 大多数临床实验室均不能满足这样的要求。笔者选择某医科大学认证实验室一套标准参考系统为标准, 应用 2 种校准结果进行比对, 并以 2013 年第 2 次卫生部室间质评结果为参考, 结果发现, 应用理论 K 值的室间质评结果远没有实际校准后的结果理想, 应用校准血清 1、2 校准后, 结果虽无明显差异, 但校准血清 2 校准后的结果更接近靶值。在比对试验进行回归分析中也发现, 校准血清 2 校准后,

**2.3 40 例新鲜血清 5 种酶活性比对结果的线性回归分析** 2 种实际 K 值校准不同浓度梯度的酶活性结果与参考方法进行线性回归方程分析, 5 种酶 2 种校准结果的  $R^2$  值均大于 0.95, 而 K2 校准结果的  $R^2$  值更接近 1, K2 校准结果与参考方法的线性拟合程度更高, 见表 2。

表 1 2 种校准 K 值与理论因子间差异的比较

项目	K	K1	K2	变异系数 1(%)	变异系数 2(%)
ALT	-1 746	-1 960	-1 833	12.3	5.0
AST	-1 746	-2 006	-1 833	14.9	5.0
γ-GT	1 158	1 573	1 527	35.8	31.9
CK	3 333	3 859	3 786	15.8	13.6
LDH	8 199	9 304	8 756	13.5	6.8

结果与参考方法线性拟合程度提高, 与参考方法结果更加符合。通过与认证参考体系进行比对发现, 2 种校准方法的校准结果均能满足临床实验室的质量控制和临床需要。

IFCC 已推出血清酶活性测定的推荐方法和试剂配方, 并强调具有溯源性的酶校准血清能对试剂、仪器及测定的全过程进行校准, 可消除不同检测系统和同一检测系统本身固有的系统误差的影响, 使检测结果之间具有较强的可比性<sup>[7]</sup>。本研究所用的 2 种校准血清虽不一定是最佳校准方案, 但均可应用于 Hitachi 7600 型全自动生化分析仪上, 上海复星长征医学科学有限公司的校准血清校准结果准确。随着生化仪的使用, 实测 K 值往往会发生变化, 因此, 需要定期进行实测 K 值的校正, 以保证结果可靠。

## 参考文献

- [1] 郭建, 王清涛, 童清, 等. 血清酶测定标准化的实验研究[J]. 中华检验医学杂志, 2002, 25(3): 147-149.
- [2] 王成河. 自行设定酶活性测定的 K 值[J]. 实验与检验医学, 2008, 26(5): 565-566.
- [3] 叶应妩, 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.
- [4] 李鹏宇, 陈激扬. 校准品与理论 K 值在血清酶测定中的应用比较[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(13): 1500-1501.
- [5] Steinmetz J, Schiele F, Gueguen R, et al. Standardization of gamma-glutamyltransferase assays by intermethod calibration. Effect on determining common reference limits[J]. Clin Chem Lab Med, 2007, 45(10): 1373-1380.
- [6] 李懿. 血清酶校准品在不同检测系统中的应用[J]. 广西医科大学学报, 2007, 24(4): 561-564.
- [7] 程茂玲, 乔刚. 因子与校准品校准在血清酶检测中的应用比较[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(4): 499-501.