

β -羟丁酸湿化学在干化学分析仪上的探索

唐金玉, 李海林

上海杨思医院, 上海 200126

摘要： 目的 本研究旨在验证奥森多 VITROS-5600 全自动干化学分析仪开展 β -羟丁酸 (β -hydroxybutyric acid) 湿化学法检测的可行性。方法 通过在 VITROS-5600 全自动干化学分析仪上开展湿化学项目 β -羟丁酸, 选择 60 例糖尿病酮症住院患者作为研究组, 60 例非糖尿病健康体检作为对照组。比对两组 β -羟丁酸检测结果, 采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析, 用 t 检验进行组间比较。参照美国临床实验室标准化委员 (NCCLS) 指南有关检测系统性能验证文件 EP15A、EP6-A 的要求对选定生化检测项目的精密度、准确度、参考区间、线性范围和临床可报告范围进行性能验证。结果 两组结果相比较, 研究组 β -羟丁酸含量显著高于健康对照组, 与临床预期相符, 差异有统计学意义 ($t=16.64$, $P<0.05$)。该方法学在 VITROS-5600 上检测 β -羟丁酸结果呈现的精密度、线性范围均符合厂商要求; 经稀释后检测均值回收率均在 $90\%<R<110\%$ 之间。结论 在 VITROS-5600 干化学分析仪上开展 β -羟丁酸具有全自动标准化、操作简便、结果准确、分析速度快、无需分管、检测周转时间 (TAT) 缩短等优点, 能为糖尿病酮症中毒的早期诊断和治疗提供了有力支持, 并与其他湿化学项目在干化学分析仪上的拓展应用提供了参考。

关键词： 干化学分析仪; β -羟丁酸; 湿化学检测; 糖尿病酮症

Exploration of β -hydroxybutyric acid Wet Chemistry on a Dry Chemistry Analyzer

Tang Jinyu, Li Hailin

Shanghai Yangsi Hospital, Shanghai 200126

Abstract： Objective: The aim of this study was to verify the feasibility of performing β -hydroxybutyric acid (β -HB) wet chemistry testing on the Ortho Clinical Diagnostics VITROS-5600 Fully Automated Dry Chemistry Analyzer. Methods: Wet chemistry testing for β -HB was conducted on the VITROS-5600. A study group of 60 hospitalized patients with diabetic ketoacidosis and a control group of 60 non-diabetic healthy individuals undergoing physical examinations were selected. The β -HB test results of the two groups were compared, and statistical analysis was performed using SPSS 19.0 software with the t-test for intergroup comparisons. The precision, accuracy, reference range, linearity, and clinically reportable range of the selected biochemical test items were validated according to the requirements outlined in the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) documents EP15A and EP6-A for verification of test system performance. Results: The β -HB levels in the study group were significantly higher than those in the healthy control group, consistent with clinical expectations, with a statistically significant difference ($t=16.64$, $P<0.05$). The methodology for detecting β -HB on the VITROS-5600 demonstrated precision and linearity that met the manufacturer's requirements; the mean recovery rates after dilution were within the range of $90\%<R<110\%$. Conclusion: Performing β -HB testing on the VITROS-5600 Dry Chemistry Analyzer offers advantages such as fully automated standardization, ease of operation, accuracy of results, rapid analysis speed, no need for sample aliquots, and shortened test turnaround time (TAT). It provides strong support for the early diagnosis and treatment of diabetic ketoacidosis and serves as a reference for the expanded application of other wet chemistry tests on dry chemistry analyzers.

Keywords： dry chemistry analyzer; β -hydroxybutyric acid; wet chemistry testing; diabetic ketoacidosis

β -羟丁酸 (β -hydroxybutyrate) 是酮体的主要成份, 占酮体的 78%, 它与丙酮、乙酰乙酸一起总称为酮体^[1]。糖尿病患者, 如果血糖控制不良, 可能会导致血液中 β -羟丁酸的含量增高, 如不及时治疗将发展为糖尿病酮症酸中毒 (Diabetic ketoacidosis DKA)^[2]。DKA 的发生与体内 β -羟丁酸升高密切相关^[3]。因此, 准确、快速地检测 β -羟丁酸水平对于 DKA 的早期诊断和治疗至关重要。目前, β -羟丁酸检测方法多采用电化学法测试条、酶比色法。电化学法测试条虽然具有快速、准确等优点, 但也存在精度和稳定性问题 (受到温度, 湿度, 测试条存储影响)、操作限制、成本问题、局限性以及对用户的依赖等缺点。酶比色法在全自动生化分析仪上进行检

测时,虽然具有许多优点,但也存在交叉污染、分析时间较长,难以满足临床快速检测的需求,不利于临床的及时诊断和治疗。

VITROS-5600(以下简称V5600)全自动干化学分析仪是由美国奥森多公司近年来推出的配备有“湿化学”检测通道的全自动化、免疫一体机。作为一种先进的检测设备,以其全自动化、操作简便、结果准确等优点,在临床急诊检验中发挥了重要作用。干化学模块性能评价与大型普通湿化学分析仪检测结果有很高的一致性^[4]。两种分析系统之间的所有测试具有良好的相关性^[5-6]。然而,关于V5600是否适用于β-羟丁酸的湿化学法检测,目前尚缺乏相关的研究验证。本研究对60例糖尿病酮症住院患者和60例非糖尿病健康体检者进行检测,β-羟丁酸显著增高,具有统计学意义。并验证该方法的批内和批间精密度、准确度、参考区间、线性范围和临床可报告范围等性能指标,该方法非常优秀。该技术可望实现β-羟丁酸的快速、准确检测、无需分管、可随时加入急诊样本,弥补其他方法学的不足。同时,验证V5600在β-羟丁酸检测中的适用性,有助于推动临床检验技术的进步。

一、材料和方法

(一)材料

1.仪器:美国奥森多VITROS-5600全自动干化学分析仪(V5600)。

2.试剂:β-羟丁酸检测试剂盒(绍兴圣康生物科技有限公司),配套质控品和校准液。

3.样本:选择2024年7月至9月期间,在我院就诊的60例糖尿病酮症住院患者作为研究组,同时选择同期60例非糖尿病健康体检者作为对照组。研究组均符合以下纳入标准:①糖尿病诊断采用国际糖尿病联合会(IDF)诊断标准;②排除妊娠糖尿病及其他特殊类型糖尿病者;空腹血糖值通常显著升高,一般大于13.9mmol/L,血气分析pH值小于7.3,尿酮体表现为“++”以上。DKA组单纯糖尿病酮症,男患者40例,平均年龄(56.58±13.58)岁,女性20例,年龄(55.76±17.92)岁。健康对照组60例,男性45例,年龄(58.88±12.43)岁,女性15例,年龄(63.82±12.49)岁,均签署知情同意书。

(二)方法

1.样本采集:研究组患者和对照组体检者均在清晨空腹状态下采集静脉血样本3mL,肝素锂进行抗凝,充分混匀。

2.样本处理:将采集的静脉血样本用离心力2500g,离心10分钟,分离出血浆,放于-80℃环境中待检。

3.检测方法:在V5600全自动干化学分析仪上,按照仪器和试剂的操作说明进行检测β-羟丁酸浓度。

二、性能验证

选择部分样本,按照美国临床和实验室标准协会(NCCLS)《用户验证定量测量程序的精密度和准确度性能的指南》检验程序性能验证的流程、方法和判断标准,进行批内和批间精密度、准确度、参考区间、线性范围和临床可报告范围的验证。

1.批内精密度验证:在室内质控结果在控的前提下,采用冻存样本,样本浓度至少评估2个水平的不精密度,所选样本的被测物水平应在测量区间内,至少有1个样本的被测物水平在医学决定水平左右。在一批内每一浓度水平的标本重复测定20次,根据公式计算出SD与CV值。得到批内不精密度。数据分析时,应排除

离群值,以确保结果的准确性。

$$\text{精密度} = \sqrt{(\sum (\text{测量值} - \text{平均值})^2 / (n-1))}$$

其中,Σ表示求和,测量值为每次测量得到的结果,平均值为所有测量结果的平均值(剔除异常数据后的平均值),n为测量次数(剔除异常数据后的测量次数)。

判断标准:批内精密度<厂家的要求或1/4TEa。

2.批间精密度验证:准备高、低浓度水平样本各一个(尽可能与医学决定水平一致),进行5天时间检测,每日分析一批。每日两个浓度水平,每一水平同一标本重复测定3次,记录并保存原始检测数据。将所有检测所得浓度数据输入项目性能验证计算表格中对应位置,即可自动计算得到批内不精密度、批间不精密度、总不精密度数值。

判断标准:检测系统不精密度要求:以能力验证/室间质评评价界限作为允许总误差(TEa),若无相关数据则参考westgard生物变异度。重复性精密度<1/4TEa;中间(室内)精密度<1/3TEa。

3.准确度验证:选择适宜的临床样本,不少于8份,被测物浓度在测量区间内均匀分布,并关注医学决定水平。在相同时段内完成对同一样本的两种方法(待验证方法和参考方法)的平行检测。每份样本每个检测方法重复检测3次,计算每份样本两种方法检测结果的均值。将检测结果与参考方法(CNAS认可实验室使用的参考方法高效液相色谱法)进行比较,计算相对偏移。偏移=测量值的均值-参考值。判断标准:偏倚<1/2TEa或厂家声称的标准。

4.线性范围验证方法:参照卫生部WS/T408-2012线性评价^[6]进行评价,收集患者高限值与低限值标本,要求有足够的样本量能满足所需样本稀释和测量,将高浓度混合样品与低浓度混合样品按H,4H+L,3H+2L,2H+3L,1H+4L,L的比例精确配制,重复测定2次。所有样品应在一次运行中随机测定,将2次测定结果取平均值并与稀释后的预期值比较。采用线性回归分析,以预期值为Y,以按比例稀释的实测均值为X,得线性方程Y=aX+b,得到a、b及R2值。X和Y分别为自变量和应变量,a为斜率,b为Y轴截距,R2为相关系数的平方,判断其是否线性。若0.97<a<1.03且R2>0.95,可直接判断线性范围在实验已涉及浓度;若a不在0.97-1.03范围内,b较大,舍去高值或低值数据,另作回归统计。直至缩小的分析范围其回

归方程中 a 和 b 的判断符合要求，该范围为线性范围。

5.临床可报告范围验证方法：选取含被测物的高值样本检测二次，并计算出理论浓度，使用在机给定稀释度对高值待测样本依次进行稀释，并记录各稀释倍数和每个稀释倍数的理论浓度。每度稀释样本重复检测2次，分别计算其平均值并计算还原浓度与理论浓度的百分比，即回收率试验。

判断标准：90% < R < 110%

6.参考区间验证方法：选择10 ~ 70岁，男女比例大致相、无基础疾病的健康体检者血样，作为为参考个体。在检测系统上进行测定，对结果进行统计并对试剂说明书提供的参考区间进行验证。

判断标准：若20份标本的检测结果均在《全国临床检验操作规程》（第四版），或试剂说明书提供的参考区间内或仅有2个标本超出，则验证通过。

7.采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。计量资料以均数 ± 标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，组间比较采用 t 检验。

三、结果

（一）两组 β-羟丁酸和葡萄糖检测结果比较

研究组患者的 β-羟丁酸和葡萄糖含量均显著高于对照组体检者，差异有统计学意义（ $t=16.64$ ， $P < 0.05$ ）见表1。

表1 两组患者 β-羟丁酸、葡萄糖水平情况（ $\bar{x} \pm sd$ ）

	β-羟丁酸平均值
研究组（n=60）	1.66 ± 0.82
对照组（n=60）	0.11 ± 0.1
t 值	16.64
P 值	< 0.050

（二）性能验证结果

该方法学在 V5600 上的批内和批间精密度、准确度、参考区间、线性范围和临床可报告范围均符合 CNAS-GL037《临床化学定量检验程序性能验证指南》标准和要求。

1.批内精密度结果：见表2。

表2 β-羟丁酸（D3-H）批内精密度验证结果

	水平1	水平2
20次均值	0.136	0.275
标准差	0.001	0.002
批内精密度 CV%	1.05%	0.87%
1/4TEa	5.00%	5.00%
结果	合格	合格

2.批间精密度结果

表3 β-羟丁酸（D3-H）精密度验证试验结果

批内不精密度	0.79%	0.89%
批间不精密度	1.31%	0.88%
总不精密度	0.95%	1.20%
结论	合格	

3.准确度结果：

表4 β-羟丁酸（D3-H）准确度验证试验结果

实验项目：D3H（mmol/L）	水平1	水平2
本方法测定平均值	0.455	0.875
参考方法测定值	0.45	0.90
偏倚	1.19% -2.81%	

结论：准确度评估符合要求。两种方法的检测结果高度一致，相对偏差在可接受范围内（如≤10%）。

（三）线性范围验证结果

表5 β-羟丁酸（D3-H）线性范围验证试验结果（mmol/L）

	第一次	第二次	均值	理论值
L	0.022	0.025	0.02	0.0235
4L+H	0.904	0.913	0.91	0.9255
3L+2H	1.796	1.782	1.79	1.8275
2L+3H	2.714	2.708	2.71	2.7295
L+4H	3.602	3.610	3.61	3.6315
H	4.523	4.544	4.53	4.5335
a	1.0002			
R ²	0.9999			

结论：线性范围验证符合要求。

（四）临床可报告范围验证结果

表6 β-羟丁酸（D3-H）回收试验验证试验结果

样品	稀释	检测值1	检测值2	均值	理论值	回收率（%）	判定结果	线性范围
1	原倍	4.523	4.544	4.534	4.534	100.00%	—	0.02 -4.534
	1:2	2.263	2.268	2.266	2.267	99.94%	可接受	
	1:4	1.135	1.143	1.139	1.133	100.50%	可接受	
	1:8	0.585	0.578	0.582	0.567	102.61%	可接受	
	1:16	0.326	0.337	0.332	0.283	117.00%	不可接受	

结论：β-羟丁酸（D3-H）的线性范围为0.02-4.534mmol/L，最佳稀释度为1：8，临床可报告范围为36.272mmol/L。

（五）参考区间验证结果

通过检测20份样本值均在参考区间内，厂家说明书内提供的参考区间适用。

四、讨论

本研究旨在验证 V5600 全自动干化学分析仪开展 β-羟丁酸湿化学法检测的可行性。通过对比糖尿病酮症住院患者和非糖尿病健康体检者的 β-羟丁酸检测结果，我们发现研究组患者的 β-羟丁酸含量均显著高于对照组，这与临床预期相符，进一步验证了 V5600 在 β-羟丁酸检测中的准确性和可靠性。根据《医疗机构临床实验室管理办法》《医学实验室质量和能力认可准则》的要求。新的检测系统或指标进行常规工作前应对其分析性能进行验证，以满足预期要求^[7]。在性能验证方面，本研究选择了部分

样本进行批内和批间精密性、准确性、参考区间、线性范围和临床可报告范围的验证。结果显示,该方法在 V5600 上的各项性能指标均符合相关标准和要求,表明 V5600 全自动干化学分析仪能够稳定、准确地开展 β -羟丁酸湿化学法检测。

此外,其美国奥森多 Vitros4600、5600、7600 三款型号的仪器配备有“湿化学”检测通道,目前,“湿化学”检测通道的开发和使用率比较低,使得市面上质优价廉的液体试剂用于干式生化仪检测成为可能。奥森多 Vitros 系列仪器以其高精度、高灵敏度、操作简便等特点而著称^[8]。其还具有全自动标准化、操作简便、分析速度快、无需分管、检测周转时间(TAT)缩短、不需纯水,不产废液等优点。这些优点使得在 V5600 上开展 β -羟丁酸检测,在糖尿病酮症酸中毒的早期诊断和治疗中具有显著优

势,能够为临床提供及时、准确的检测结果,有助于医生制定更为有效的治疗方案。

同时,本研究也为其他湿化学项目在干化学分析仪上的拓展应用提供了参考依据。随着医疗技术的不断进步和临床需求的不断增加,未来将有更多的湿化学项目被引入到干化学分析仪中^[9],以进一步提高临床急诊检验的效率和准确性。因此,本研究的结果不仅具有重要的临床价值^[10],也为未来的研究提供了有益的启示和借鉴。

在干生化分析仪 V5600 上开展湿生化 β -羟丁酸检测虽然具有诸多优点,但也存在一些潜在的缺点或局限性。检测时用的是一次性比色杯和一次性吸头,增加了检测的成本。V5600 干化学分析仪在市、县级医院比较常见,但乡镇及以下医院很难普及。

参考文献

[1] 南静,张麦浪,张海雄,等.血清 β -羟丁酸检测在糖尿病酮症酸中毒诊疗中的意义[J].中国医药指南,2019,17(14):112-113.DOI:10.15912/j.cnki.gocm.2019.14.075.

[2] 中华医学会内分泌学分会.中国糖尿病血糖监测专家共识[J].中华内分泌代谢杂志,2014,30(3):177-183.

[3] 卢宇,费小蕾,杨淑芳,等.血 β -羟丁酸和尿酮在糖尿病酮症诊断中的应用[J].中国糖尿病杂志,2015,23(03):254-256.

[4] 王然,王晓东.VITROS 5600 全自动生化免疫分析系统常见故障处理及保养[J].国际检验医学杂志,2016,37(16):2356-2358.

[5] 李金密,龚春梅,何秀玲,等.干化学与湿化学分析仪的对比性分析[J].检验医学与临床,2015,12(05):606-608.

[6] 陈社安,李炜焯,李美珠,等.干、湿化学两检测系统4种生化分析仪检测结果的对比性评价[J].国际检验医学杂志,2011,32(21):2450-2451+2453.

[7] 卢佩佩,黄国虹,崔彦杰,等.强生 Vitros V5600 全自动生化分析仪性能评价及在急诊检验中的应用[J].中国卫生产业,2016,13(12):93-95.DOI:10.16659/j.cnki.1672-5654.2016.12.093.

[8] 林海标,范雪莲,王建兵,等.分析和评价强生 Vitros 5.1FS 生化仪的精密度和正确度[J].检验医学与临床,2014,11(15):2047-2048,2050.

[9] 庄则东,徐婷.强生 350 全自动干化学分析仪的常见故障及维修[J].医疗装备,2020,33(08):133-134.

[10] 陶莹莹,于楠,李嵩秀,等.高频超声联合萤火虫成像技术在无症状高尿酸血症患者中的应用分析[J].当代医学,2022,28(07):117-119.