

# CLSI EP9-A3 对顶空气相色谱法与干化学比色法 检测血液酒精含量的可比性分析

田欢<sup>1</sup>,程丰<sup>2</sup>,张剑波<sup>2</sup>,龚国富<sup>2</sup>,刘敏<sup>2</sup>

(1.湖北省鄂州市中心医院检验科,湖北 鄂州 436000;

2.湖北省鄂州市中心血站质量管理科,湖北 鄂州 436000)

**摘要:**目的 分析血液酒精含量的检测结果在不同方法间的可比性。方法 参照美国临床和实验室标准化协会 EP-A3 文件进行方法学比对和偏倚评估,用顶空气相色谱法与干化学比色法分别测定 40 份血液样本的酒精含量,通过广义极端学生化偏差(ESD)法检验离群值点,选用最佳回归模型拟合回归方程,并计算酒精含量阈值处的偏倚。结果 在散点图中未见异常值点,ESD 法检验未发现离群值点;顶空气相色谱法与干化学比色法检测结果相关性良好( $r^2>0.95$ );差值具有恒定 CV 变化,采用加权最小二乘法(WLS)回归分析,在血液酒精含量阈值处(20、80 mg/dl),偏倚分别为-2.84%、-1.77%,均小于 5%可接受标准。结论 干化学比色法测定血液酒精含量的偏倚可接受,顶空气相色谱法与干化学比色法测定血液酒精含量的结果具有可比性。

**关键词:**血液酒精含量;EP9-A3;顶空气相色谱法;干化学比色法

中图分类号:R446

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2021.19.045

文章编号:1006-1959(2021)19-0165-04

## Comparability Analysis of CLSI EP9-A3 on Headspace Gas Chromatography and Dry Chemical Colorimetry for Determination of Blood Alcohol Content

TIAN Huan<sup>1</sup>,CHENG Feng<sup>2</sup>,ZHANG Jian-bo<sup>2</sup>,GONG Guo-fu<sup>2</sup>,LIU Min<sup>2</sup>

(1.Department of Laboratory,Ezhou Central Hospital,Ezhou 436000,Hubei,China;

2.Department of Quality Management,Ezhou Central Blood Station,Ezhou 436000,Hubei,China)

**Abstract: Objective** To analyze the comparability of blood alcohol test results between different methods.**Methods** EP-A3 with reference to the clinical and laboratory standards institute file for methodology, comparison and bias evaluation by headspace gas chromatography method with dry chemical colorimetry respectively through determination of 40 samples of blood alcohol content, the generalized extreme deviation (ESD) to test the students outlier points, choose the best regression model fitting regression equation, and calculate the alcohol content of threshold bias.**Results** No abnormal value points were found in the scatter diagram, and no outliers were found in ESD test. The correlation between headspace gas chromatography and dry chemical colouring was good ( $r^2>0.95$ ). The differences presented constant CV changes and were analyzed by weighted least squares (WLS) regression analysis, the results showed that at the blood alcohol content thresholds (20, 80 mg/dl), the bias was -2.84% and -1.77%, which were all less than 5% acceptable standard.**Conclusion** The bias of dry chemical colorimetry is acceptable, and the results of headspace gas chromatography and dry chemical colorimetry are comparable.

**Key words:** Blood alcohol content;EP9-A3;Headspace gas chromatography;Dry chemical colorimetry

近年来,受酒文化大众性的影响,饮酒人数一直呈上升趋势。我国每年因酒后驾驶造成死亡的交通事故达 50%以上,不仅给受害者及其亲属带来了伤害和痛苦,同时还造成了巨大的经济社会损失<sup>[1]</sup>。酒精浓度与患者性别、年龄、身高、体重、酒精消耗量、酒精代谢酶的基因多态性等因素有关<sup>[2]</sup>,酒精浓度的检测常见方法有呼气酒精分析、化学发光法、干化学法、顶空气相色谱法等。顶空气相色谱法作为检测酒精含量的指南推荐方法,得到结果的准确度更为可信,有稳定性强,检测范围更广,用血量少等显著优势<sup>[3,4]</sup>,具有直接的法律效力。但是顶空气相色谱法在使用过程中需要气相色谱仪,升高了检测成本,且检测过程较长,不利于快速检测以及基层医院的开展。干化学比色法在使用过程中不会对待测物质产生干扰现象,并且对相对有干扰作用的物质选

择性去除<sup>[5-7]</sup>,整个反应过程所用时间短,自动化程度高,每个干片仅使用 1 次,避免样本及干片间的结果干扰。使整个操作过程耗时短、操作简单,且环保,但如何系统准确评价其检测效果亟需研究。本课题参照 CLSI 发布的 EP9-A3 文件<sup>[8]</sup>,以顶空气相色谱法为参比方法,干化学比色法为待评方法,对两个不同检测系统不同方法学血液酒精浓度检测结果进行方法学比对,评估两者之间的差异。

### 1 资料与方法

**1.1 样本来源** 收集 40 份饮酒后的志愿者血液样本,样本浓度应在方法学的线性范围内,并覆盖酒精含量检测阈值。用参比方法和待评方法分别检测,同 1 天内两种方法在 4 h 内检测完毕。弃去溶血、脂血、黄疸样本,标本数量和浓度满足 EP-A3 文件要求。

**1.2 仪器与试剂** 美国安捷伦顶空气相色谱仪 7820A+7697A 及专用配套耗材、校准品 sigma 与质控品;美国强生全自动干化学分析仪 V350 及配套试剂(批号 552900903380)、校准品(批号 0847)与质控品(批号 D6163/G6496)。

作者简介:田欢(1987.5-),男,湖北十堰人,本科,主管技师,主要从事临床化学检验

通讯作者:刘敏(1975.6-),女,湖北鄂州人,本科,副主任技师,主要从事临床医学检验

### 1.3 方法

1.3.1 样本检测 按照 EP-A3 文件要求,同时采用顶空气相色谱法与干化学比色法在分析仪上分别随机测定 40 份血液样本,每份样本每种方法测定 2 次,记录测定结果并计算其平均值。测定之前对仪器进行保养,使 2 台仪器处于最佳工作状态,采用校准品进行校正,室内质控结果在控。如有离群值标本,排除后再补充相应浓度标本测定。

1.3.2 离群值检查 按照 EP-A3 文件要求,通过广义极端学生化偏差(ESD)方法检验离群值点<sup>[9]</sup>。具体步骤:①根据 40 份样本的测定结果计算 $[(y-x)/x]$ 的平均值( $d$ )和标准差( $SD$ );并根据  $d$  和  $SD$  计算最大偏移( $ESDi$ );②根据检验统计的样本数量计算临界值( $\lambda_i$ );③若  $ESDi > \lambda_i$ ,则认为该观察值为离群值;排除后需进行第 2 个最大偏移计算和比较;④离群值的个数是通过找到最大的  $i$  使得  $ESDi > \lambda_i$ ;⑤排除离群值后补充数据,达到 40 份样本数量要求。⑥离群值的上限不超过样本总量的 5%,本实验样本总量为 40,则离群值最多不能超过 2 个,如果多于 2 个,则需要扩大样本量,寻找出现偏差的原因<sup>[10]</sup>。

1.3.3 方法比对与偏倚评估 绘制相应的偏差图和散点图,并采用普通二乘回归(ordinary least squares regression, OLR)、加权最小二乘法(weighted least squares, WLS)及 PB(Passing-Bablok)模型拟合回归方程,并计算酒精含量阈值处(20、80 mg/dl)的偏倚,以小于 5%为可接受标准。

1.4 统计学方法 用 Microsoft Excel 2016、SPSS 19.0 和 MedCalc 软件进行统计学分析。

## 2 结果

2.1 离群值检测结果 根据顶空气相色谱法与干化学比色法测得的酒精浓度绘制散点图,图中未见异常值点。进一步采用 ESD 法检验,也未发现离群值,见图 1。

### 2.2 方法比对及偏移评估

2.2.1 偏差图的潜在特征分析 参照 EP9-A3 文件对无离群值的 40 组结果绘制偏差图,顶空气相色谱法与干化学比色法检测结果相关性良好( $r^2 > 0.95$ ),除低浓度波动较大外,总体具有恒定 CV 变化,采用 WLS 回归分析,见图 2、图 3。

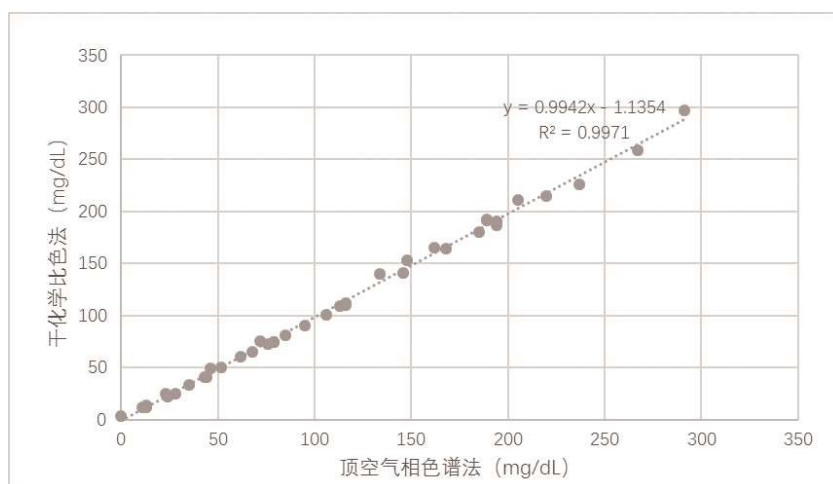


图 1 两种方法检测血液酒精含量的散点图

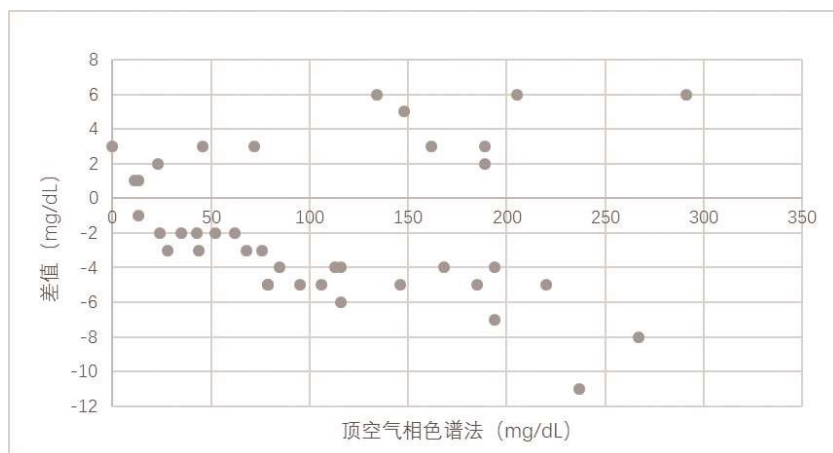


图 2 两种方法测定酒精含量的差值偏差图

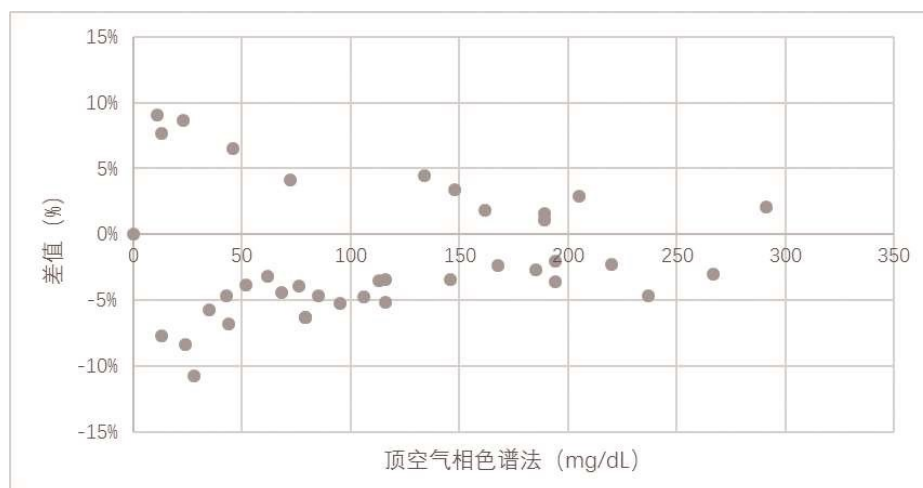


图 3 两种方法测定酒精含量的百分比差值偏差图

2.2.2 偏倚初步估算 绘制两种方法间差值频数柱状图,为非正态分布,利用中位数对数据中的偏倚予以估算,偏倚为 4.48%,小于可接受标准。

2.2.3 回归分析 根据两种方法差值具有恒定 CV 变

化,采用 WLS 回归分析,拟合后回归方程为  $Y=0.986X-0.278$ ,在血液酒精含量阈值处(20、80 mg/dl),偏倚分别为-2.84%、-1.77%,均小于 5%可接受标准,见表 1。

表 1 两种方法在酒精含量阈值处偏倚比较

回归模型	回归方程	酒精含量阈值(mg/dl)	估计值(mg/dl)	绝对偏倚(mg/dl)	相对偏倚(%)	可接受范围(%)	是否可接受
WLS	$Y=0.986X-0.278$	20	19.44	-0.56	-2.84%	±5	是
		80	78.60	-1.40	-1.77%	±5	是

### 3 讨论

酒精是一种常见的成瘾性精神活性物质,可以影响人类情绪、思维、行为和意识形态。大量饮酒、长期慢性饮酒会引起如酒驾、酒后肇事等有害的行为问题,肝脏疾病、心脏病等健康问题及酒精依赖、酒精型人格障碍等精神心理问题<sup>[1]</sup>,甚至会产生酒精中毒临床表现<sup>[2]</sup>。实时检测酒精浓度是准确诊断、避免误诊、漏诊,准确评估病情的关键<sup>[13]</sup>。

随着检验医学的不断发展,检测技术不断更新,同一项目可能会存在不同的检测方法,同一实验室也将面临不同检测方法、检测系统间检测结果的一致性问题。同时,不同检测方法的比对文件也在与时俱进。检测系统或方法的性能是否可接受,通过评估该分析方法在稳定状态下具有的误差,并对这些误差做出判断,来决定检测系统能否应用于常规工作,而正确度是其重要分析性能之一<sup>[14]</sup>。本研究检测血液中酒精含量以顶空气相色谱法为参比方法,干化学比色法为待评方法,采用 CLSI EP9-A3 指南进行方法学比对和偏移评估。

自 1986 年 CLSI 首次推出 EP9-P 指南以来,经过 4 次修订,于 2013 年推出新版本 EP9-A3 指南,为医学实验室提供了最新的方法学比对及偏移评估

指南<sup>[9]</sup>。相较 EP9-A2,EP9-A3 在比对方案、离群值检验、回归模型选择和分析等方面均有较大程度改进,其适用范围更广、实验方案更合理、不同类型数据统计方法选择更科学<sup>[15]</sup>。EP9-A3 提供了 OLR、WLS、Deming 回归、Passing-Bablok 回归 4 种模型进行回归分析,每种模型均有各自适用范围。本研究综合分析 2 种系统不同方法学检测血液酒精含量的散点图、偏差图,结果显示两种检测系统相关性良好( $r^2>0.95$ ),差值具有恒定 CV 变化,因此采用 WLS 回归分析,结果显示在血液酒精含量阈值处(20、80mg/dl),偏倚分别为-2.84%、-1.77%,均小于 5%可接受标准。

综上所述,快速、经济的干化学比色法可在紧急情况下及时检出结果以供交警参考,及时处置,之后可再用顶空气相色谱法检测出具司法鉴定报告。同时对酒精中毒及重度酒精依赖患者也能及时出具检查报告,动态监测患者体内酒精浓度控制水平,指导临床及时调整更合理的治疗方案。

### 参考文献:

- [1]赵璐.酒后代驾法律规制研究[D].上海:上海师范大学,2016.
- [2]Posey D,Mozayani A.The estimation of blood alcohol concentration: Widmark revisited[J].Forensic Sci Med Pathol,2007,3 (1):33-39.

- [3] 龚源, 吴杰. 顶空气相色谱法测定生脉注射液中乙醇残留量[J]. 中国医院用药评价与分析, 2018, 18(2): 208-210.
- [4] 王鹏, 梅宏成, 朱颖涛, 等. 人体内乙醇含量的检测及结果分析述评[J]. 中国法医学杂志, 2014, 29(2): 178-180.
- [5] 华星, 荆成宝, 刘婕, 等. 干化学比色法与顶空气相色谱法两种方法测试酒精结果比较及实际应用[J]. 河北医学, 2016, 22(10): 1745-1747.
- [6] 吴胜. 血液中乙醇检测方法的探讨[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(16): 3316-3318.
- [7] 段爱军, 常文海, 何全利, 等. 血液乙醇检测的影响因素分析[J]. 医药论坛杂志, 2005(6): 6.
- [8] CLSI. Measurement procedure comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline - third edition [S]. CLSI document EP09-A3, Wayne, PA, USA, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013.
- [9] 徐建华, 刘冬冬, 黄宪章, 等. 新指南 CLSI EP9-A3 在方法学比对及偏移评估中的应用[J]. 中华医学杂志, 2015, 95(12): 894-897.
- [10] 胡红霞, 张秀明, 温冬梅, 等. 糖化血红蛋白不同测定方法的可比性研究[J]. 临床检验杂志, 2016, 34(2): 147-151.
- [11] 崔佳彬, 那龙, 孙宁, 等. 酒精依赖综合征及戒酒措施[J]. 中国医学前沿杂志, 2019, 11(6): 19-23.
- [12] Giasov ZA, Makhsumkhonov KA. Specific features of suicides committed in a state of alcoholic intoxication [J]. Sud Med Ekspert, 2015, 58(3): 17-20.
- [13] 陈意飞, 郭明, 董世童, 等. 急性酒精中毒风险防范的现状与思考[J]. 中华卫生应急电子杂志, 2019, 5(1): 36-37.
- [14] 黄小兵, 刘光明, 张伟坚. 罗氏全自动生化分析仪自建生化检测系统的性能验证及评价[J]. 海南医学, 2013, 24(16): 2417-2419.
- [15] Araujo PA, Thomas D, Sadeghieh T, et al. CLSI-based transference of the CAHPER database of pediatric reference intervals to Beckman Coulter DxC biochemical assays [J]. Clin Biochem, 2015, 48(13-14): 870-880.
- 收稿日期: 2021-01-15; 修回日期: 2021-03-01  
编辑/宋伟