

利用反应曲线监测高值 ALT 的测定

李鹏宇

(武警北京总队医院检验科 100027)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.01.077

文献标识码:C

文章编号:1673-4130(2011)01-0143-02

丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)是肝功能检查应用最普遍的酶指标,在日常工作中,常出现 ALT 的检测值太低并与其他指标或临床症状不相符的情况,这通常是由于 ALT 的浓度太高而超出了试剂允许的检测范围。这就需要反应曲线进行分析,从而及时采取措施,排除干扰,获取真实的检测结果,现就正常和超出测量范围的反应曲线进行对比,报道如下。

1 材料与与方法

1.1 一般资料

1.1.1 仪器 HITACHI7180 全自动生化分析仪,实验前生化仪经过认真的保养维护,并执行了清洗和杯空白、试剂空白检测,各项指标均符合工作要求^[1]。

1.1.2 试剂 日本和光原装的 ALT 液体双试剂(批号为 AJ216),朗道定植生化质控(批号 374UN/3)。

1.1.3 标本 高值 ALT 患者血清标本 1 例。

1.2 方法

1.2.1 实验原理 谷丙转氨酶催化 L-丙氨酸的氨基转移,生成丙酮酸。丙酮酸与 NADH 在 LDH 的催化下反应生成乳酸和 NAD⁺。NADH 在 340 nm 处有特异吸收峰,其被氧化的速率与血清中 ALT 的活性呈正比,在 340 nm 处测定 NADH 下降速率,即可测出 ALT 活性。



1.2.2 参数设置 反应采用速率法;反应主波长 340 nm,副波长 405 nm;反应温度 37 ℃;反应方向为负向;线性范围 0~

800 U/L;反应时间 10 min;测光区 20~34。

2 结果

朗道定植生化质控血清实际检测值为 36 U/L,与理论靶值相符;高值 ALT 患者血清标本检测值初测为 2 U/L,并伴有结果异常的提示信息,用生理盐水 10 倍稀释后测得最终结果为 3 640 U/L,见图 1、2。

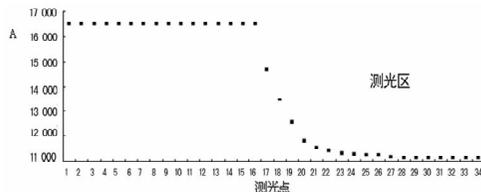


图 1 异常反应曲线

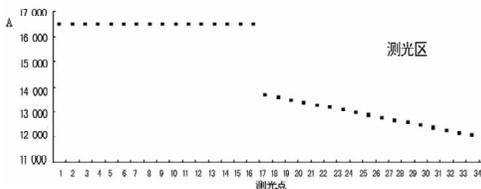


图 2 正常反应曲线

3 讨论

3.1 当酶促反应刚开始时,底物处于过量状态,酶与底物开始结合,酶促反应速度急剧上升,经过很短的作用时间后,产物的生成量或底物的消耗量与反应时间呈线性关系,反应速度保持恒定不变,这一时期称为零级反应期。众所周知,底物浓度对酶促反应速度有很大影响,只有当底物浓度大大超过酶饱和度

时,酶促反应才能保持恒速,此时的酶促反应速度才和酶浓度有线性关系。反应曲线主要是看在测光区是否是零级反应区,仪器所读取的测光点的吸光度数值是否呈线性关系,因为只有这样才能保证所测的反应速度是酶促反应所能达到的最大速度。根据这个速度计算出的酶活力才是酶真正的活力单位,如果测量不在零级反应区或线性较差,必须分析原因,重新检测。

3.2 从图 1 可以看出,由于患者血清的 ALT 浓度过高,丙酮酸大量生成使第 2 步反应加速,在延迟区大部分的 NADH 已被耗尽^[2]。在到达测光区时 ALT 反应曲线几乎成为 1 条平坦的直线,吸光度变化已经极小甚至没有变化,测量值远低于实际值,这就造成了结果的失真。

3.3 经过用生理盐水稀释 10 倍后重新测定,作者得到了真实结果。如图 2 所示:正确的反应曲线应该是 ALT 的浓度在试剂允许的测量线性范围内,其在测光区准确地处在零级反应区内,反应曲线有明显的线性下降趋势,所测得的结果就是可靠的。

除 ALT 外,速率法检测的酶类项目(如 AST、LDH、CK

等)都存在上述的现象。在日常工作中,若发现有特殊异常结果,首先应排除参数、试剂和样本等因素的干扰,除此之外,查看该项目的反应曲线也是重要的和必要的手段。当前主流的全自动生化仪都会针对这种异常给出提示信息,检测结果异常偏低和异常偏高的,要及时查看反应曲线,如果测光区全部在零级直线反应区内,其结果可以不复查,反之,只有稀释后复查才能得到更准确、更真实的结果^[3]。

参考文献

- [1] 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,2006:406.
- [2] 李鑫,徐卫平. 血 ALT 测定异常偏低的原因分析[J]. 医学理论与实践,2005,18(2):197.
- [3] 罗永杰,周登全,冯泳涛. 日立 7080 全自动生化分析仪性能评价[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(5):封 3.