

· 论 著 ·

# 不同样本体积分数对 ALT 活性测定的影响

李军民, 谈 昀, 曾宪飞

(武警陕西省总队医院检验科, 西安 710054)

**摘要:**目的 探讨不同样本体积分数(SVF)对血清 ALT 测定准确度的影响。方法 采用 SVF 固定校准法和 SVF 不固定校准法测定血清 ALT 水平。结果 不同 SVF 条件下, SVF 固定校准法 ALT 高值标本检测结果间差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), SVF 不固定校准法 ALT 高值标本检测结果间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 SVF 不固定校准法能够准确检测血清 ALT 水平。

**关键词:**丙氨酸氨基转移酶; 样本; 体积分数; 校准; 酶活性

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.13.020

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)13-1445-02

## Infection of different sample volume fraction on the detection of ALT activity

Li Junmin, Tan Yun, Zeng Xianfei

(Department of Laboratory Medicine, Shanxi Province Corps Hospital, Chinese People's Armed Police Force, Xi'an 710054, China)

**Abstract: Objective** To explore the influence of sample volume fraction(SVF) on the accuracy of serum alanine aminotransferase (ALT) measurement. **Methods** Samples were detected by using fixed-SVF calibration and not fixed-SVF calibration. **Results** Under different SFV and for the detection of samples with high value ALT, there was statistical difference between the results of fixed-SVF calibration, but no statistical difference between the results of not fixed-SVF calibration. **Conclusion** For the detection of serum ALT, not fixed-SVF calibration could be accurate.

**Key words:** alanine transferase; sample; volume fraction; calibration; enzyme activity

样本体积分数(sample volume fraction, SVF)是样本体积(sample volume, SV)与反应体系总体积(total volume, TV)之比(SV/TV), 决定酶活性速率法 K 值的大小, 而 K 值设置不当是导致酶活性测定结果准确性降低的重要原因之一<sup>[1]</sup>。由  $K = SVF \times \epsilon^{-1} \times L^{-1} \times 10^6$  ( $\epsilon$ : 消光系数, L: 反应总体积)可见, SVF 的微小变化可导致检测结果的较大变化。丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)测定是常用的酶活性测定项目, 可用于多种疾病的诊断和鉴别诊断<sup>[2]</sup>。ALT 测定常会出现样本酶活性超出测定线性范围的情况, 此时通常的处理方法是稀释样本或减少样本用量后进行测定, 而减少样本用量导致 SFV 的改变, 影响测定结果准确性<sup>[3]</sup>。笔者采用以不同的 SVF 对 ALT 活性进行测定, 探讨不同 SVF 对血清 ALT 测定的影响。

### 1 材料与方 法

**1.1 标本来源** 收集新鲜血清, 要求外观清澈透明、无溶血, 黄疸, 乳糜, 且人免疫缺陷病毒和肝炎病毒检测为阴性。以无菌聚丙烯刻度管收集 ALT 高值、中值水平血清并分别混匀制

备高值(A)、中值(B)临床标本混合血清,  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存备用。

**1.2 仪器与试剂** (1)仪器: 7060 型全自动生化分析仪(HITACHI, 日本)。(2)试剂: ALT 试剂盒(东雅科美生物技术有限公司, 北京)批号 100915; 校准血清(批号 585UN, 靶值 44 U/L)、高值质控血清(批号 416UE, 靶值 138 U/L)、中值质控血清(批号 582UN, 靶值 37 U/L; RANDOX, 英国)。

**1.3 方法** (1)SVF 固定校准法: 校准体积分数不变, 使用不同的 SVF 进行样本测定, 即只改变测定时的样本体积分数, 结果乘以一定的系数。(2)SVF 不固定校准法: 校准体积分数和测定样本时的 SVF 同时改变, 使校准体积分数和 SVF 一致, 仪器自动校正 K 值, 直接获得测定结果。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS11.0 软件进行统计学分析。组间比较采用 *t* 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结 果

不同 SVF 条件下, 两种方法测定高值(3)、中值(2)质控血清及高值(A)、中值(B)临床标本混合血清 ALT 结果见表 1。

表 1 两种方法检测 ALT 结果(U/L)

SVF	SVF 固定校准法				SVF 不固定校准法			
	质控血清 3	质控血清 2* <sup>▽</sup>	混合血清 A	混合血清 B <sup>▽</sup>	质控血清 3*	质控血清 2*	混合血清 A*	混合血清 B*
1/10	117 <sup>△</sup>	35	132	9	133 <sup>△</sup>	36	136	9
1/12.5	125 <sup>△</sup>	36	149	9	134 <sup>△</sup>	36	137	9
1/25	137*	37	187	9	137*	37	138	9
1/50	138*	37	202	9	138*	37	138	9
1/100	147 <sup>△</sup>	38	273	10	139 <sup>△</sup>	38	139	9

<sup>△</sup>:  $P < 0.05$ , 相同校准方法、不同 SVF 水平测定结果比较; \* :  $P > 0.05$ , 相同校准方法、不同 SVF 水平测定结果比较。<sup>▽</sup>:  $P > 0.05$ , 与 SVF 不固定校准法、相同 SVF 水平检测结果比较。

### 3 讨 论

SVF 与反应体系中样本、样本稀释液、试剂及试剂稀释液的体积比例关系,即反应体系中样本稀释倍数密切相关。以终点法或两点法检测酶活性时,由于校准物与样本具有相同的 SVF,因此样本和(或)试剂体积改变对检测结果的影响较小,但以速率法测定酶活性时,SVF 的微小变化可导致检测结果的较大变化<sup>[4]</sup>。临床通常以速率法,采用商品试剂盒进行 ALT 测定,不同品牌的试剂往往具有不同的最佳参数,一般要求按比例改变样本、试剂用量,保持恒定的 SVF,以获得较为稳定、准确的测定结果<sup>[2,5-6]</sup>。在进行 ALT 检测时,可以根据厂家提供的 K 值用因素法(以该 K 值为 ALT 的校准因子,并乘以 $\Delta A$ )进行测定,也可以用校准血清以校准法进行测定<sup>[7]</sup>。采用因素法进行测定时,必须严格遵守厂家提供的参数,且仪器必须在标准状态,以确保测定结果的准确性。由于各实验室所使用的生化分析仪的性能,尤其是加样准确性各不相同,因此实际 SVF 与仪器用于计算 K 值时的理论 SVF 存在一定的差异,从而造成系统误差<sup>[8]</sup>。采用校准法进行测定时,仪器自动计算 K 值,且此时的 K 值是在实际工作条件下计算获得的,反映仪器和试剂等当时的实际情况,从而有利于获得准确的测定结果;校准血清则必须是与仪器和试剂配套的校准品,否则影响测定结果的准确性<sup>[9-10]</sup>。本研究显示,由于 SVF 的改变使 K 值发生了变化,因此不同的 SVF 水平对酶活性检测结果产生了不同程度的影响,特别是在进行高活性样本测定时,因 SVF 的改变使测定结果间有较大差异。采用 SVF 不固定校准法进行样本测定时,保持校准品与样本的检测条件一致,有利于保证标本检测结果的准确性<sup>[11-12]</sup>。本研究显示,采用不同的校准法检测 ALT 活性相对较低的标本时,检测结果间的差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),且在 SVF 在 1/25 和 1/50 时,相同方法检测 ALT 活性相对较高的标本时,检测结果间的也无统计学意义( $P > 0.05$ )。由于 SVF 的改变会导致检测线范围的改变,而在不同线性范围条件下相同标本的检测结果的必然存有差异:标本稀释倍数降低时,SVF 减小,检测线性范围缩小,

高值标本测定低于定值;在增加稀释倍数时,SVF 升高,检测线性范围扩大,高值标本测定结果接近或略高于定值;但稀释倍数超过一定限度时将会扩大测定误差,使测定结果偏高。因此,在选择 SVF 时,应考虑样本体积、试剂体积、稀释液体积、加样系统准确性等多方面因素;在参考厂家给定值的同时,应确定适合本实验室的 SVF。

### 参考文献

- [1] 蒋胜高,高许斌,程梅,等. 实测摩尔吸光度在酶活性测定质量控制中的应用[J]. 临床检验杂志,2000,18(6):342-344.
- [2] 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,2006:406-410.
- [3] 葛熙. 样品体积分数影响 APO-A1 校准曲线的实验分析[J]. 医学检验与临床,2008,19(6):96.
- [4] 李冬,王志富,焦连亭,等. 丙氨酸氨基转移酶测定波长设置的实验研究[J]. 国际检验医学杂志,2007,28(7):602-606.
- [5] 孟泽,李勇,史利宁,等. 酶活性测定中 4 种 K 值的计算方法与应用价值[J]. 临床检验杂志,2002,20(3):185-186.
- [6] 吕赛平,邹学森. 自动生化分析仪的分析参数设置[J]. 江西医学检验,2007,25(2):159-161.
- [7] 李金奎. 通过标准品测定值验证初设实验参数可靠性的探讨[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(11):1125.
- [8] 居漪,唐立萍,王美娟,等. 上海地区丙氨酸氨基转移酶测定标准化探讨[J]. 检验医学,2008,23(5):460-465.
- [9] 郭健,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.
- [10] 邹荣良,朱军,陆伟石,等. 应用校准血清校准血清酶测定结果的调查[J]. 临床检验杂志,2003,21(3):180.
- [11] 张克坚,张传宝,杨振华. 如何在自动生化分析仪上设定测定酶活性的 K 值[J]. 临床检验信息,1999,6(2):45-48.
- [12] 杨炳益,赵新新. 岛津 CL-7000 全自动生化分析仪限额参数的设置[J]. 临床检验杂志,1995,13(2):77-78.

(收稿日期:2011-01-20)

(上接第 1444 页)

LN、hpc III、IV C) 增加,使汇管区出现纤维间隔分割小叶、假小叶而破坏肝正常结构,进而发展成肝硬化甚至发展成肝癌。肝纤维化的发生和形成是一个多因素相互促进、相互制约的结果,炎症病理损害贯穿于始终。而 HA、LN、hpc III、IV C 作为无创性指标判断肝纤维化已被认可<sup>[6]</sup>。

由于使用 RNAi 技术可以特异性剔除或关闭特定基因的表达,因此已被广泛用于探索基因功能和传染性疾病及恶性肿瘤的基因治疗。其优点在于以 DNA Oligo 为模板,通过体外转录合成 siRNA,成本低于化学合成法,而且在更短的时间内即可获得 siRNA<sup>[7]</sup>。

基于上述 RNA 干扰技术的优越性,本研究通过合成高效的抗 CTGF siRNA,且通过动物实验抗 CTGF siRNA 能明显减轻大鼠肝细胞变性、坏死及炎性细胞浸润。亦可显著抑制 CCl<sub>4</sub> 诱导的肝纤维化的发生、发展,说明抗 CTGF siRNA 可以明显改善大鼠肝纤维化时肝脏功能并预防肝纤维化的发生及发展,且对于已发生的肝纤维化也有一定的治疗作用,提示应用抗 CTGF siRNA 治疗肝纤维化将有潜力成为抗肝纤维化治疗新的亮点。

### 参考文献

- [1] 张锦生. Micro-RNAs 在肝纤维化发生中的作用[J]. 世界华人消化杂志,2009,17(36):3671-3674.
- [2] Li GM, Li DG, Fan JG, et al. Effect of silencing connective tissue growth factor on the liver fibrosis in rats[J]. Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi, 2010, 18(11):822-825.
- [3] Li G, Li D, Xie Q, et al. RNA interfering connective tissue growth factor prevents rat hepatic stellate cell activation and extracellular matrix production[J]. Gene Med, 2008, 10(9):1039-1047.
- [4] Boison D. Inhibitory RNA in epilepsy: research tools and therapeutic perspectives[J]. Epilepsia, 2010, 51(9):1659-1668.
- [5] Novina CD, Sharp PA. The RNAi revolution[J]. Nature, 2004, 430(6996):161-164.
- [6] 钟佩怡,邓常春. HA、LN、P III NP、IV-C 在肝纤维化诊断中的意义[J]. 中国西部科技,2006,5(7):46.
- [7] Geley S, Muller C. RNAi: ancient mechanism with a promising future[J]. Exp Gerontol, 2004, 39(7):985-998.

(收稿日期:2011-01-07)