

• 临床检验研究论著 •

参考方法在丙氨酸氨基转移酶测定标准化中的应用*

郑松柏, 王建兵, 黄宪章[△], 马 艳, 庄俊华, 徐 宁, 周华友, 陈 茶

(广东省中医院检验医学部, 广州 510120)

摘要:目的 调查不同检测系统使用经参考方法赋值的冰冻人血清样本作为校准品进行校准后, 不同来源样本丙氨酸氨基转移酶(ALT)测定结果的可比性与准确性的改变程度。**方法** 5份经4家候选参考实验室应用不含磷酸吡哆醛的ALT参考方法定值的冰冻人混合血清样本用于评价广州地区10个不同检测系统ALT催化活性结果的可比性与准确性。其中一个样本用作校准品校准各系统。比较校准前后各系统间新鲜血清样本与商品制备物测定结果的变异与偏倚。**结果** 校准后, 各检测系统间新鲜血清测定结果的变异由11.90%~8.60%下降到6.78%~2.30%, 偏倚则从-12.52%~-8.44%下降到-3.36%~-0.08%。校准后, 常规系统测定新鲜血清结果与参考方法的回归曲线的斜率和截距比校准前更接近1和0; 而商品制备物测定结果校准后的斜率和截距则无明显改善。**结论** 采用定值冰冻人血清样本作为校准品可以改善不同检测系统测定结果的准确性和可比性, 但由于基质效应的存在不能改善商品制备物测定结果的可比性。

关键词: 丙氨酸转氨酶; 标准化; 检测系统

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.14.002

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)14-1668-03

Application of reference method in the standardization for the determination of alanine aminotransferase*

Zheng Songbai, Wang Jianbing, Huang Xianzhang[△], Ma Yan, Zhuang Junhua, Xu Ning, Zhou Huayou, Chen Cha

(Department of Clinical Laboratory, Guangdong Provincial Hospital of Chinese

Medicine, Guangzhou, Guangdong 510120, China)

Abstract: **Objective** To investigate the accuracy and comparability of alanine aminotransferase(ALT) measurement results in human serum samples and commercial materials before and after calibration with frozen human serum calibrator assigned by reference method. **Methods** Five frozen human-pooled serum samples were assigned values by the reference method without pyridoxal 5-phosphate for ALT in four candidate reference laboratories, which were used to evaluate the results of ALT catalytic activity detected by ten testing systems in Guangzhou. One of the serum sample was used as the common calibrator. The results of serum samples and commercial materials from different systems before and after calibration were analyzed for biases and intersystem variations. **Results** After calibration, the variance of the systems for the results of serum samples decreased from between 11.90% and 8.60% to between 6.78% and 2.30%, and the bias decreased dramatically from between -12.52% and -8.44% to between -3.36% and -0.08%. Slopes of the regression lines of ALT results of serum samples between reference systems and routine systems after calibration were closer to 1 and intercepts closer to 0 than those obtained before calibration. **Conclusion** Accuracy and comparability of ALT measurements could be improved by using a common human serum calibrator. But commercial materials might not be commutable for human serum in ALT measurements.

Key words: alanine aminotransferase; standardization; detection system

丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测是临床实验室血清酶学测定中非常重要的项目,它是迄今为止国内外应用最为广泛的反映肝细胞损害的指标,其结果的准确性和实验室间结果的可比性对于疾病的诊断、治疗以及预后的判断具有重要意义。欧盟指令要求体外诊断器具应溯源到国际推荐的参考方法,但在国内大部分实验室还是使用非配套系统,试剂与仪器以及校准品的组合多种多样,因此有必要应用参考方法来评价常规检测系统测定ALT结果的可比性与准确性。早在2002年国际临床化学与检验医学联合会(IFCC)就公布了包括ALT在内的37℃条件下5个血清酶的一级参考测量程序,然而该方法配方是含有磷酸吡哆醛^[1],而在国内大部分ALT试剂均不含

磷酸吡哆醛,这就对ALT测定的标准化提出了挑战。本研究应用4家候选参考实验室建立的不含磷酸吡哆醛的参考方法对5份冰冻人混合血清样本进行赋值,调查广州地区10家常规实验室ALT测定结果的变异和偏倚,接着使用血清校准品来校准各检测系统,比较校准前后实验室间的变异和偏倚,探讨一条适合中国国情的ALT标准化途径。

1 材料与方法

1.1 参考方法 (1)仪器:U-3310紫外可见分光光度计,带半导体温控和磁力搅拌,日本Hitachi公司;Hart1521型点式温度计,美国Fluke公司;Research型移液器,德国Eppendorf公司;ED-19型恒温水箱,美国Julabo公司;CP225D十万分之

* 基金项目:国家“十一五”计划科技重大专项(2008ZX09312-021);广东省科技计划项目(2010B031600128);广东省医学科研基金课题(A2010216)。 [△]通讯作者, E-mail: xianzhanghuang@yahoo.com.cn。

一分析天平,德国 Sartorius 公司;DOCU-酸度计,德国 Sartorius 公司;Simplicity UA 型超纯水机,法国 Millipore 公司;各种高精度玻璃器皿。(2)试剂:三羟甲基氨基甲烷、L-丙氨酸、 α -酮戊二酸二钠盐、还原型 β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸二钠盐、氯化钠、叠氮钠、盐酸、氢氧化钠、丙酮酸等购自 Sigma 公司。乳酸脱氢酶、牛血清清蛋白等购自 Roche 公司。

1.2 常规系统 10 家参加调查的常规实验室检测系统组成,见表 1。

表 1 常规检测系统组成

检测系统	仪器厂家型号	试剂(批号)	校准方法
1	罗氏 Modular PPI	罗氏(621021)	cfas 校准品(Roche)
2	奥林巴斯 AU 2700	奥林巴斯(6557)	校准品(Olympus)
3	西门子 ADVIA 1650	迈克(0708171)	校准品(Maker)
4	日立 7600P	迈瑞(R805BBA)	cfas 校准品(Roche)
5	日立 7170A	中生(080211)	理论 K 值
6	日立 7600P	中生(08191)	cfas 校准品(Roche)
7	奥林巴斯 AU 2700	Wako(AR105)	cfas 校准品(Roche)
8	奥林巴斯 AU 5421	中生(080211)	cfas 校准品(Roche)
9	日立 7170	科华(080211)	理论 K 值
10	奥林巴斯 AU 2700	迈克(0908181)	cfas 校准品(Roche)

1.3 方法

1.3.1 参考方法的建立 参照 IFCC 及相关文献建立方法,除不添加磷酸吡哆醛外,其余步骤相同。参照 CLSI 文件评价方法精密度的^[2-4],检测日本临床化学会由相同方法赋值的酶参考品 JC-ERM(批号:006)共检测 3 次,计算均值,比较其结果是否在给出的不确定度内,然后进行线性范围的评价。

1.3.2 冰冻混合血清样品的收集与定值 血清样本由北京大

学第一医院检验科提供,溶血或者脂血样本排除在外。共收集 5 个水平的样本,收集到的样本经过 0.2 μ m 孔径的滤膜过滤后分装至 1.8 mL 的冻存管中,每支 0.5 mL,分装后密封保存于 -80 $^{\circ}$ C 以保持其性质的稳定。5 份冰冻人血清样本通过 4 家候选参考实验室定值,这些实验室已建立起含有磷酸吡哆醛 ALT 参考方法并且在国际参考实验室比对实验中(RELA)取得较好成绩。冰冻新鲜血清样本每天测定 2 次,连续测定 5 d。剔除离群值后,4 家实验室的均值作为样本的靶值。

1.3.3 常规系统调查 (1)各实验室首先对参加本次调查的生化分析仪进行日常维护保养,并保证当日室内质控在控。按照本实验室标准操作程序测定样本,每份样本重复测定 2 次,记录测定结果,计算均值。除测定冰冻混合血清样本外,同时检测以下 11 份制备物样本:Roche 公司正常值质控品(批号 17898501)、病理值质控品(批号 17453109)、cfas 校准品(批号 17882001)、Randox 质控品(批号 522UN)。广东省临检中心能力验证盲样 3 份、国际参考实验室能力验证盲样 2 份(A、B)、卫生部临床检验中心能力验证盲样 2 份。(2)使用新鲜血清校准品校准各常规实验室的检测系统,校准后按照(1)中所述方法重新测定所有样本。

1.4 统计学处理 所有统计学处理均在 Microsoft Excel 2003 及 SPSS13.0 上进行,分别对校准前后各实验室检测系统测定结果与参考方法测定结果进行直线回归以及偏倚分析等处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 参考方法的性能 新建参考方法在 2 个水平处的批内不精密度分别为 0.43% 和 0.74%,总不精密度为 1.57% 和 1.26%,均符合设定目标。检测酶参考品结果均值为 169.9 U/L,也在其允许范围内。方法的检测范围上限为 335.8 U/L。

表 2 常规系统校准前后测定新鲜冰冻血清 ALT 结果比较

指标	水平 1(29.7 U/L)		水平 2(48.6 U/L)		水平 3(73.8 U/L)		水平 4(218.4 U/L)		水平 5(155.4 U/L)	
	校准前	校准后	校准前	校准后	校准前	校准后	校准前	校准后	校准前	校准后
\bar{x}	27.60	29.50	44.50	48.30	67.10	73.70	194.60	214.70	135.90	150.20
s	3.29	1.64	5.24	3.28	5.77	1.70	17.98	8.00	13.58	5.47
CV(%)	11.90	5.56	11.78	6.78	8.60	2.30	9.24	3.73	9.99	3.64
偏倚(%)	-7.03	-0.67	-8.44	-0.59	-9.06	-0.08	-10.89	-1.70	-12.52	-3.36

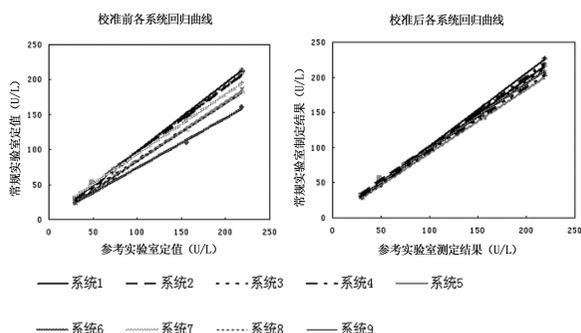


图 1 校准前后新鲜冰冻血清样本测定结果回归曲线比较

2.2 冰冻血清样本靶值确定 4 家候选参考实验室检测结果进行离群值检验,得到 5 个水平 ALT 结果的均值,分别为 29.7、48.6、73.8、218.4、155.4 U/L。73.8 U/L 浓度的样本被选作常规系统的血清校准品。

2.3 使用定值血清校准前后的比较 见图 1、2 和表 2。1 家实验室由于回报数据不全,所以未纳入统计。由表 2 可见,校准后系统间的新鲜血清测定结果变异由 11.90%~8.60% 下降到 6.78%~2.30%。偏倚则从 -12.52%~-8.44% 下降到 -3.36%~-0.08%。图 1 显示,新鲜血清测定结果校准前后回归线,校准后的斜率和截距更接近 1 或 0;而图 2 中制备物测定结果校准后的斜率和截距则无明显改善。

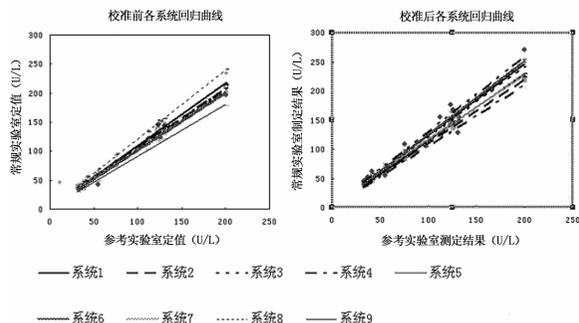


图 2 校准前后制备物测定结果回归曲线比较

3 讨 论

准确测量的关键是结果能够溯源到一个公认的通用参考物质或者方法。然而,由于临床实验室采用不同的分析仪器、试剂、校准品以及操作程序,导致不同实验室间检测结果缺乏可比性,重复检查给患者造成了不必要的负担。以前围绕检验结果的统一,检验界做了很多尝试,但存在最大的问题就是以哪个检测系统作为标准,依据是什么。缺乏令人信服的参考结果阻碍了检验结果的互认,随着临床检验参考方法的发展及参考系统概念的提出,有望解决这一难题,为检验结果的互认提供技术平台^[5]。

以前关于酶学标准化方面的研究主要将结果统一到具有溯源性的检测系统来实现各检验结果的可比性^[6-8],然而这样仅是解决了可比性的问题,由于没有直接溯源到参考方法对结果的准确性问题还需进一步研究。近年来,中国酶学标准化研究发展很快,特别是由卫生部临床检验中心推动的酶学参考实验室网络建设已初步成形,缩小了与国外实验室的差距。关于应用酶学参考方法进行的相关研究时有报道,但是涉及到 ALT 的研究却很少,原因就是在中国、日本使用的是不含磷酸吡哆醛的 ALT 试剂,而目前酶学参考实验室建立的均是含有磷酸吡哆醛的方法^[9]。因此,对本室建立的 IFCC 原方法进行微小改动去除了磷酸吡哆醛,值得一提的是厂家以及日本临床化学会试剂配方也是如此,这就使本研究更具有针对性。而对于使用不含磷酸吡哆醛的 ALT 试剂的国家和地区来说,这种候选方法更具有现实意义。

研究中可见,校准前结果与靶值差异有统计学意义,各系统偏倚 -12.52% ~ -8.44%,各实验室间的变异也较大,可比性有待提高。本研究使用最小限度处理过的患者混合血清用于评价各系统结果的溯源性,因为它没有复融带来的误差,而且最接近患者样本,同时也使用合适浓度新鲜混合血清作为校准品。结果校准后系统间的新鲜血清测定结果变异由 11.90% ~ -8.60% 下降到 6.78% ~ 2.30%,偏倚则从 -12.52% ~ -8.44% 下降到 -3.36% ~ -0.08%。然而与新鲜血清测定结果表现不同,各检测系统校准前后测定制备物的结果无明显变化,可能原因是制备物的基质效应影响^[10],另外,制备物靶值并非由网络定值,也可能对结果评价有影响,应进一步评

价制备物在各系统的互通性。

鉴于国内已初步建立了酶学参考实验室网络^[11],因此,不同实验室间 ALT 测定结果完全可以通过经参考实验室网络定值新鲜血清作为校准品进行校准来实现结果的一致性和溯源性,但校准的频率还需进一步研究^[12]。

(志谢:向广东省临床检验中心、北京大学第一医院、南方医院、广东省人民医院、广州中医药大学第一附属医院、广东省第二人民医院、广州军区陆军总医院、广州市第一人民医院、广州市第八人民医院、广州市儿童医院、广州市红十字会医院检验科对本次研究的协助深表感谢。)

参考文献

- [1] Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 4. Reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of alanine aminotransferase[J]. Clin Chem Lab Med, 2002, 40(7): 718-724.
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline-second edition[S]. Wayne, PA: CLSI, 2004.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP15-A User demonstration of performance for precision and accuracy approved guideline[S]. Wayne, PA: CLSI, 2001.
- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP6-A Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures; a statistical approach; approved guideline[S]. Wayne, PA: CLSI, 2003.
- [5] 李恒, 吕磊. 临床酶学标准化的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(9): 981-983.
- [6] 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.
- [7] 张秀明, 李炜焯, 郑松柏, 等. 不同检测系统 17 项常规生化结果的比对和偏倚评估[J]. 检验医学, 2007, 22(2): 164-168.
- [8] 孙宏华, 石凌波, 康红, 等. 新鲜血清赋值传递提高自建与配套生化检测系统结果一致性的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(2): 156-158.
- [9] 郑松柏, 庄俊华, 王建兵, 等. ALT 和 AST 参考方法的建立与性能评价[J]. 检验医学, 2009, 24(12): 869-873.
- [10] 郑松柏, 王建兵, 黄宪章, 等. 血清 ALT 与 AST 测定的基质效应评价[J]. 临床检验杂志, 2011, 29(5): 391-393.
- [11] 汪静, 张传宝, 居漪, 等. 国际临床化学联合会酶学测定参考方法实验室网络的初步建立[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(3): 258-263.
- [12] 徐宁, 郑松柏, 林莉, 等. 血清 γ -谷氨酰基转移酶参考方法在国产试剂量值溯源中的应用[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(5): 494-498.

(收稿日期: 2012-01-03)