

• 检验仪器与试剂评价 •

# EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝剂对干式法检测 ALT 的基质效应分析

苏武锦

(南宁中心血站, 广西南宁 530003)

**摘要:**目的 观察 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝剂对罗氏干式法检测丙氨酸氨基转移酶(ALT)的基质效应。方法 罗氏 Cobas P800 全自动生化分析仪、罗氏 Cobas ALT 测定试剂盒、罗氏 Cobas 校准品及质控品组合为比较的检测系统(X), Reflotron 快速干式生化分析仪、配套 ALT 检测试纸及质控条组合为待评价的检测系统(Y), 分别对新鲜血清样品和 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝血浆进行 ALT 比对检测, 参考 EP14-A 文件介绍的方法, 对新鲜血清样品的结果做直线回归分析, 绘出估计值( $\bar{Y}$ )的 95% 预期区间, 用于观察 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝血是否存在基质效应。结果 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝血浆的部分对比点在新鲜血清对比点估计值的 95% 可信区间以外, 结果呈线性偏差。结论 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝剂对罗氏干式法检测 ALT 引入的基质效应, 浓度越高, 基质效应越明显。

**关键词:**丙氨酸转氨酶; 血清; 抗凝药; 实验室技术和方法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.24.044

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)24-3035-02

基质效应是指检测系统检测样品中的分析物时, 处于分析物周围的所有非分析物质对分析物参与反应的影响<sup>[1]</sup>。在实际工作, 笔者发现, Reflotron 快速干式生化分析仪在测定全血和对血清时, 其丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测值准确度很高, 但是在测定经 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝剂处理过的样品时, 却又发生很大的偏倚。为了了解血清样品和 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝剂样品间是否有明显差异, 笔者根据 EP14-A2 文件介绍的方法<sup>[2]</sup>(评估经过物理或化学方法处理过的样本在分析过程中是否存在基质效应)进行了实验。现将结果报道如下。

## 1 材料与与方法

**1.1 材料** 20 份 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝的血浆样本; 20 份新鲜的血清样本, 其内含分析物浓度的分布范围覆盖抗凝过样本的分析物浓度。

**1.2 仪器与试剂** Reflotron 快速干式生化分析仪、配套使用的 ALT 检测试纸及质控条(组合为待评价的检测系统); 罗氏 Cobas P800 全自动生化分析仪、罗氏 Cobas ALT 测定试剂盒、罗氏 Cobas 校准品及质控品(组合为比较的检测系统)。

## 1.3 方法

**1.3.1** 将 20 份 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝的血浆样本随机排列在 20 份新鲜的血清样本之中, 用待评价检测系统对血清样本、EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝的血浆样本进行检测。

**1.3.2** 用比较检测系统对 20 份新鲜的血清样本、EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝的血浆样本进行检测, 步骤同 1.2.1。

## 1.4 数据分析

**1.4.1** 绘制散点图和回归分析 以 X 轴为比较检测系统的结果, Y 轴为待评价检测系统的结果, 在 X、Y 坐标点上各组数据, 并且对新鲜血清样本、抗凝的样本使用不同的符号标记。对新鲜血清样本和抗凝标本的结果分别作直线回归分析, 回归模型为:  $Y = bX + a$ 。

**1.4.2** 临床可接受性能判断 在 40U/L 水平浓度处, 计算待评价检测系统(Y)与比较检测系统(X)之间的系统误差(SE), 即  $SE = |Y_c - X_c| = |(b-1)X_c + a|$ , 以 CLIA'88 对室间评估的允许误差为判断依据, 由方法学比较评估的系统误差(SE)不大于允许误差的 1/2, 认为不同检测系统间的测定结果具有可比性<sup>[1,3-4]</sup>。

**1.4.3** 计算 95% 可信(预期)区间<sup>[5-6]</sup> 根据血清样本比对数据的回归曲线, 对已给定的值可以计算出一个预期  $\bar{Y}_{pred}$  值, 根据下面公式计算  $\bar{Y}_{pred}$  的 95% 预期区间 =  $\bar{Y}_{pred} \pm t$

$(0.975, n-2), S_{y.x} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{X}_i - \bar{X})^2}{\sum(\bar{X}_i - \bar{X})^2}}$  式中: n 为绘制回归曲线所使用的患者样本的数目;  $S_{y.x}$  为回归曲线的标准误;  $\bar{X}_i$  为第 i 个样本或重复测定结果的均值;  $\bar{X}$  为所有血清样本对比方法重复测定结果均值的均值; 预期  $\bar{Y}_{pred}$  值的预期区间: 本实验判断结果时只需要计算抗凝过样本的预期值的预期区间。

**1.4.4 基质评价** 如果抗凝血浆样品的值在的 95% 预期区间之外, 说明处理过的样本存在基质效应, 即测定值超过预测区间的上限, 则样品有正基质效应; 若低于预测区间的下限, 则有负基质效应; 若在预测区间内, 则无基质效应<sup>[6-7]</sup>。

**1.5 统计学处理** 用 SPSS18.0 统计学软件和 Microsoft Excel2003 软件进行数据统计。

## 2 结果

20 份新鲜血清样本的比对结果通过直线回归分析, 得到回归式  $Y_{血清} = 0.9528X_{血清} + 0.9111, r = 0.999 (P < 0.01)$ ; 20 份抗凝血浆样本的比对结果通过直线回归分析, 得到回归式  $Y_{血浆} = 0.8102X_{血浆} + 2.7339, r = 0.990 (P < 0.01)$ , 在 40U/L 水平浓度处估算系统误差  $SE = 4.86U/L$ , 大部分检测值超出了 Y 估计回归值 95% 可信区间的下限, 表现为负基质效应。见图 1。

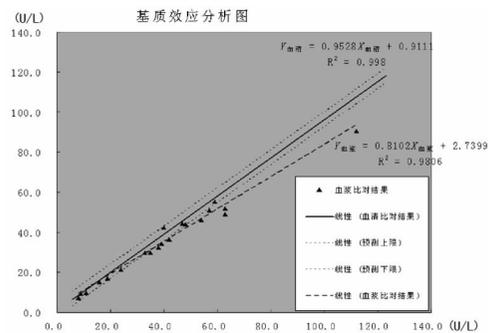


图 1 抗凝血浆的基质效应分析图

## 3 讨论

临床化学中基质效应的干扰, 日益受到广大检验者的重视<sup>[8]</sup>。如吕礼应<sup>[9]</sup>分析了室间质评标本的基质效应; 熊传银等<sup>[10]</sup>探讨了校准品的基质效应对离子测定的影响; 邹荣良<sup>[11]</sup>研究了不同质控物在不同检测系统中的基质效应。本文根据 EP14-A2 文件介绍的方法, 研究了 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝剂的基质效

应对干式法检测血浆样品 ALT 的影响。

从图 1 可知,检测血清 ALT 时,Reflotron 快速干式生化分析仪和罗氏 Cobas P800 全自动生化分析仪的检测结果,在 6~123 U/L 的浓度范围内具有良好的线性关系,40U/L 水平浓度处估算的 SE 远远小于允许误差的 1/2,说明检测血清样品时,罗氏干式法和全自动生化分析的 ALT 检测值具有可比性;而抗凝血浆的检测值,随着浓度变高,其偏倚越大,大部分检测超出了 Y 估计回归值 95%可信区间的下限,说明 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝标本使用 Reflotron 快速干式生化分析仪检测时具有明显的基质效应;由基质效应产生的系统误差在 40U/L 水平浓度不可接受。

EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝剂引入基质效应的原因可能是 EDTA-K<sub>2</sub> 为常用螯合剂,具有较强的络合金属离子的作用。而干式化学法检测 ALT 的原理是丙酮酸氧化酶法,在丙酮酸氧化酶法中的第 2 步酶促反应所用催化剂丙酮酸氧化酶,其分子需结合黄素腺嘌呤二核苷酸、焦磷酸硫酸素及 2 价金属离子(如 Mg<sup>2+</sup>) 等辅酶或辅基构成全酶方可表现催化活性。当 EDTA 与 Mg<sup>2+</sup> 络合形成螯合物后丙酮酸氧化酶活性便会随之降低,故而对被测物检测产生干扰。笔者认为,使用 Reflotron 快速干式生化分析仪检测 ALT 时,理想情况下,尽量采用血清标本;但从实际工作角度,选用 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝标本也是可以的,从图 1 可看出,尽管抗凝剂引入的基质效应带来不可接受的系统误差,但其误差呈良好的线性关系,可以根据回归式进行校正。

参考文献

[1] 冯仁丰, 临床检验质量管理技术基础[M]. 2 版. 上海:上海科学

(上接第 3031 页)

[7] Granda TG, Liu XH, Smaaland R, et al. Circadian regulation of cell cycle and apoptosis proteins in mouse bone marrow and tumor [J]. *FASEB J*, 2005, 19(2): 304-306.

[8] Fu L, Pelicano H, Liu J, et al. The circadian gene *Period2* plays an important role in tumor suppression and DNA damage response in vivo[J]. *Cell*, 2002, 111(1): 41-50.

[9] Gauger MA, Sancar A. Cryptochrome, circadian cycle, cell cycle checkpoints, and cancer [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(15): 6828-6834.

[10] Gorbacheva VY, Kondratov RV, Zhang R, et al. Circadian sensitivity to the chemotherapeutic agent cyclophosphamide depends on the functional status of the CLOCK/BMAL1 transactivation complex[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(9): 3407-3412.

[11] Antoch MP, Gorbacheva VY, Vykhovanets O, et al. Disruption of the circadian clock due to the Clock mutation has discrete effects on aging and carcinogenesis [J]. *Cell Cycle*, 2008, 7(9): 1197-1204.

[12] Yang MY, Chang JG, Lin PM, et al. Downregulation of circadian clock genes in chronic myeloid leukemia: alternative methylation pattern of hPER3[J]. *Cancer Sci*, 2006, 97(12): 1298-1307.

[13] Gery S, Gombart AF, Yi WS, et al. Transcription profiling of C/EBP targets identifies *Per2* as a gene implicated in myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2005, 106(8): 2827-2836.

[14] Hoffman AE, Zheng T, Stevens RG, et al. Clock-cancer connection in non-Hodgkin's lymphoma: a genetic association study and pathway analysis of the circadian gene cryptochrome 2 [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(8): 3605-3613.

[15] Levi F. Cancer chronotherapy [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1999, 51

技术文献出版社, 2007: 39-50.

[2] CLSI. EP14-A2 Evaluation of matrix effects, approved guideline, second edition[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2005.

[3] 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: 58-64.

[4] 王志国, 临床检验质量控制技术[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 55-61.

[5] 王志国, 临床检验方法确认与性能验证[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 66-82.

[6] 郑松柏, 王建兵, 黄宪章. 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.

[7] 吕赛平, 伍志杰, 邹学森. 基质效应的评价 [J]. *现代检验医学杂志*, 2008, 23(5): 113-114.

[8] 阿拉法特, 邢文革. 制备样品基质效应的评估与控制 [J]. *中国医药导刊*, 2007, 9(2): 158-159.

[9] 吕礼应. 质控材料的基质效应对三酰甘油测定的影响 [J]. *临床检验杂志*, 2004, 22(2): 141.

[10] 熊传银, 朱秋玲, 潘小平. 基质效应对钾、钠、氯比色法测定结果的影响 [J]. *长江大学学报(自然科学版)*, 2009, 6(2): 57-58.

[11] 邹荣良. 基质效应在临床化学检测中的影响研究 [J]. *中国误诊学杂志*, 2009, 9(34): 8491-8492.

(收稿日期: 2012-06-12)

(8): 891-898.

[16] Kobayashi M, Wood PA, Hrushesky WJ. Circadian chemotherapy for gynecological and genitourinary cancers [J]. *Chronobiol Int*, 2002, 19(1): 237-251.

[17] Levi F, Okyar A, Dulong S, et al. Circadian timing in cancer treatments [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2010, 50(1): 377-421.

[18] Kang TH, Lindsey-Boltz LA, Reardon JT, et al. Circadian control of XPA and excision repair of cisplatin-DNA damage by cryptochrome and HERC2 ubiquitin ligase [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(11): 4890-4895.

[19] Levi F, Schibler U. Circadian rhythms: mechanisms and therapeutic implications [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2007, 47(2): 593-628.

[20] 邓香群, 张鹏飞, 贺印旋. 生物钟基因 hClock hBmal1 在肿瘤中的表达研究 [J]. *中国肿瘤临床*, 2011, 38(10): 556-559.

[21] 邓香群, 贺印旋. 生物钟基因 hClock, hBmal1 在结直肠癌中的意义 [J]. *中华消化杂志*, 2010, 30(12): 916-918.

[22] 邓香群, 张灿云, 刘保安. 生物钟基因 hClock 蛋白在结直肠癌中的表达研究 [J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 2009, 18(4): 369-370.

[23] 王朝霞, 李莉. 生物钟基因 *Per2* 与肿瘤 [J]. *国际生殖健康/计划生育杂志*, 2009, 28(6): 377-379.

[24] 晨晨, 江舟, 王正荣. 生物钟基因与心血管疾病的联系 [J]. *四川生理科学杂志*, 2009, 31(2): 80-83.

[25] 戴弘季, 陈可欣. 生物钟基因与女性乳腺癌发生的关系 [J]. *肿瘤*, 2008, 28(4): 360-362.

(收稿日期: 2012-09-09)