

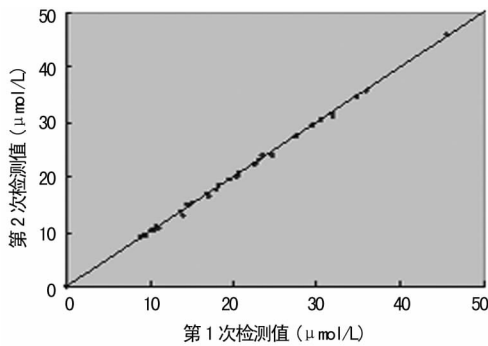


图 2 Hcy 重复性检测散点图

3 讨 论

结果显示,不论是分性别、年龄还是综合统计,两种方法均具有良好的相关性,其检验结果在临床水平上具有一致性,使用酶法代替免疫学方法后,其结果具有前后可持续性,不会对临床诊断造成影响。酶法本身又具有良好的方法学评价,可以在不降低检验水平的基础上减轻患者的经济负担,符合国家医保的精神。为临床检验提供了更优化的选择,使 Hcy 检测在临床上的广泛使用成为可能。另外,希望我室在如何统一不同系统的检验结果上所提出的探讨方向能为大家提供帮助。

参考文献

- [1] De Koning ABL, Werstuck GH, Zhou J, et al. Hyperhomocysteinemia and its role in the development of atherosclerosis [J]. Clin Biochem, 2003, 36(3): 431-441.

- [2] 陈建军,王兴木. 血浆 Hcy 水平与 DM2 慢性并发症的关系[J]. 放射免疫学杂志, 2009, 22(6): 620-621.
- [3] Semen LJ, Mcnamara JR, Schaeter EJ. Lipoprotein, homocysteine and remnantlike particles; emerging risk factors [J]. Curr Opin Cardiol, 1999, 14(2): 186-191.
- [4] 傅雷,杜同信,王书奎,王自正. 荧光偏振免疫法测定血同型半胱氨酸在临床中的应用[J]. 放射免疫学杂志, 2005, 18(2): 58-60.
- [5] Ueland PM, Reflum H, Stabler SP et al. Total homocysteine in plasma of serum [J]. Clin Chem, 1993, 39(16): 1764-1779.
- [6] Pfeiffer CM, Twite D, Shih J, et al. Method comparison for total plasma homocysteine between the abbott IMX analyzer and an HPLC assay with internal standardization [J]. Clin Chem, 1999, 45(1): 152-153.
- [7] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP5-A2 Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline [S]. Wayne, PA: CLSI, 2008.
- [8] CLSI. EP9-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline second edition [S]. Wayne, PA: CLSI, 2010.

(收稿日期: 2012-10-02)

γ-谷氨酰转肽酶 37 °C 参考方法的建立在临床中的初步应用

张 莹, 周铁成[△], 童 开, 岳乔红, 郝晓柯

(第四军医大学西京医院全军临床检验中心, 陕西西安 710032)

摘 要:目的 建立 37 °C γ-谷氨酰转肽酶(GGT)的参考方法, 并对酶校准品定值, 探讨血清 GGT 测定结果的准确性与可比性。**方法** 依据国际临床化学与检验医学联合会(IFCC)推荐的参考测量程序建立 GGT 酶催化活性参考方法, 用参考方法测定 GGT(ERM AD452/IFCC)参考品, 验证参考方法的准确度, 并对其精密度进行方法学评价, 同时用参考方法对制备的酶校准品进行准确定值, 按照 NCCLS EP9-A 方案分别比较 40 例人血清用酶校准品校正的非配套常规方法、配套常规方法、理论 K 值常规方法和参考方法 GGT 结果, 计算常规方法与参考方法的相关系数及相对偏倚。**结果** 用参考方法测定 ERM-AD 452 GGT 参考品结果 113.6 U/L, 在其给定的(114.1±2.4)U/L 范围内。初步建立的 37 °C GGT 参考方法总 CV<1%。用酶校准品校正的非配套常规方法、配套常规方法、理论 K 值常规方法和参考方法比较, 相关性均良好, r^2 分别为 0.999 8、0.999 6 和 0.999 5, 与配套常规方法、理论 K 值常规方法相比较, 酶校准品校正的非配套常规方法与参考方法的相对偏倚明显降低, 在 10% 以下。**结论** GGT 参考方法基本建立, 采用参考方法为酶校准品定值, 可以提高血清 GGT 测定结果的准确度和可比性。

关键词: γ-谷氨酰转肽酶; 参考方法; 酶校准品

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 04. 035

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)04-0465-03

血清 GGT 主要用于诊断肝脏疾病, 结果的准确性对临床的诊断和治疗有很大的影响。由于各个试剂生产厂家为了适应分析的需要和生产、运输、储存的要求, 会对试剂缓冲液的种类和浓度以及样本/试剂体积比有不同的规定, 加之不同生化分析仪性能的不同, 会使常规检测系统之间的检测结果有差异^[1]。目前同一酶学项目存在多种参考范围, 各实验室间的结果差异性较大, 明显高于一般检测项目的测定结果^[2]。实验室检测结果准确的、最有效的办法就是建立和保证检测结果的溯源性, 检验量值溯源的必要条件是具备参考系统。利用参考方

法对酶活性测定结果进行标准化, 可以保证检验结果的溯源性, 减少不同实验室间同一酶学指标测定结果的差异。本文依据 IFCC 推荐的参考测量程序建立 GGT 参考方法^[3], 验证其准确性, 并用参考方法对制备的人血清标准品进行定值, 将其用于常规方法的校准, 从而提高常规方法与参考方法的可比性。

1 材料与方

1.1 仪器 U-3310 紫外分光光度计(日立公司); Fluke 点式温度计(美国); Thermo Ph 计(美国); 分析天平 AUW220(岛

[△] 通讯作者, E-mail: tiecheng@fmmu.edu.cn.

津);RAININ 加样枪(美国);日立全自动生化分析仪 7600。

1.2 试剂

1.2.1 参考方法用试剂 N-甘氨酸甘氨酸(Sigma 公司,批号:117K5435); L-γ 谷氨酰-3-羧-4-硝基苯胺(Fluke 公司,批号:2644187); NaOH((Sigma 公司,批号:140153414208274),试验用水;去离子水,电导率大于 17 兆欧。

1.2.2 常规方法用试剂盒 和光 GGT 试剂盒,批号:DR984/DR985;罗氏 GGT 试剂盒,批号 620-060-01;罗氏校准品,批号:153-317-04。

1.2.3 精密度评价试剂 Roche 公司生产的 cfas ,批号 180122。

1.2.4 GGT(ERM AD452/IFCC) 比利时标准物质研究所研制。批号:No. 899,ERM 靶值:(114.1±2.4)U/L,冷冻干燥粉末,要求测定前-20℃以下保存。

1.2.5 酶校准品的制备 收集新鲜患者混合血清 5 mL,分装到 500 μL 子弹头放入-80℃冷冻冰箱。

1.2.6 样品 按照 NCCLS EP9-A 留取 40 份人血清,保存于-20℃冰箱。

1.3 方法

1.3.1 建立 GGT 参考方法 为有效避免由于仪器误差给酶活性测定带来影响,在进行样本测定前,对影响酶活性测定的主要仪器性能进行检定与校准。该室的仪器与设备均由省计量研究院检定与校准,并附有检测合格报告。主要包括:(1)点式温度计;(2)分光光度计;(3)天平;(4)加样枪、容量瓶、移液管等;(5) pH 计校准。具体操作及反应和测量条件见 IFCC 提供的 GGT 37℃参考测量程序^[3]。

1.3.2 精密度评价 参考临床实验室标准化委员会(NCCLS)的 EP-5 文件,测定 cfas 样本,连续测定 5 天,每天测定 4 次,计算 CV 值。

1.3.3 GGT(ERM AD452/IFCC) 按照说明书复溶 GGT(ERM AD452/IFCC),用参考方法测量 3 次。

1.3.4 酶校准品定值 取 5 份制备的酶校准品,用参考方法对其进行准确定制取均值。

1.3.5 临床检测 用和光试剂参考方法定值的酶校准品组成非配套常规方法、罗氏试剂及其校准品组成配套常规方法、和光试剂理论 K 值常规方法和参考方法同时测定 40 例人新鲜血清。

1.4 统计学处理 使用 EXCEL 软件对数据进行相关性和相对偏倚的分析处理。

2 结 果

2.1 精密度 cfas 样本测定 CV<1%。

2.2 准确性 用参考方法测定 GGT(ERM AD452/IFCC)的值为 112.9、113.5、114.4 U/L,均值为 113.6 U/L,在其给定的(114.1±2.4)U/L 范围内。

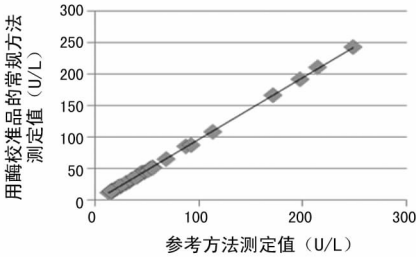


图 1 用酶校准品的非配套常规方法与参考方法测定值的比较

2.3 用参考方法测定制备的酶校准品 分别为 101.3、100.9、102.1、100.3、101.7 U/L;均值为 101.3 U/L。

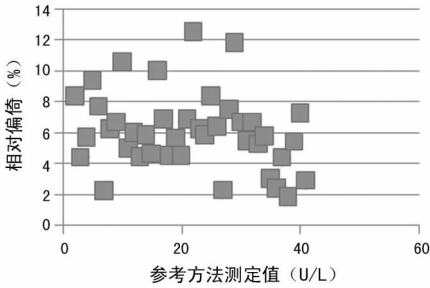


图 2 用酶校准品的非配套常规方法与参考方法测定值的相对偏倚

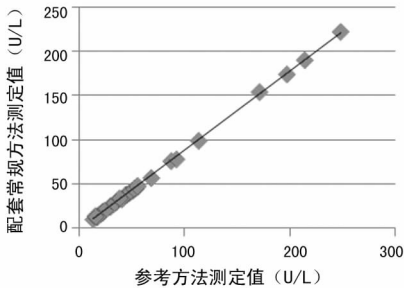


图 3 配套常规方法与参考方法测定值的比较

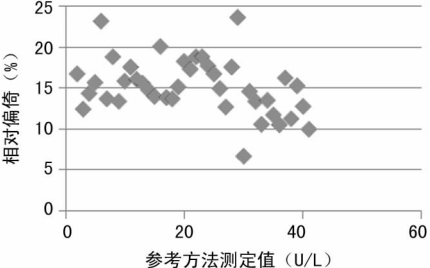


图 4 配套常规方法与参考方法测定值的相对偏倚

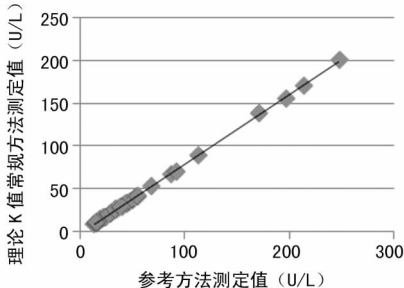


图 5 理论 K 值常规方法与参考方法测定值的比较

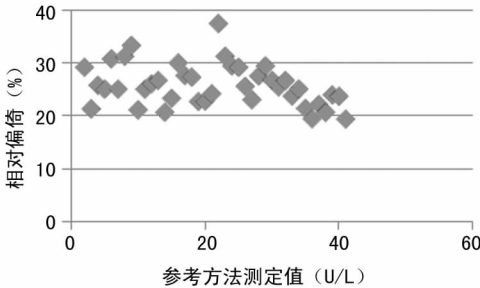


图 6 理论 K 值常规方法与参考方法测定值的相对偏倚

2.4 相关性

- 2.4.1** 参考方法定值的酶校准品组成非配套常规方法与参考方法相关系数 $r^2=0.999\ 8$, 相对偏倚在 10% 以下, 见图 1、2。
- 2.4.2** 配套常规方法与参考方法相关系数 $r^2=0.999\ 6$, 相对偏倚在 20% 以下, 见图 3、4。
- 2.4.3** 理论 K 值常规方法与参考方法相关系数 $r^2=0.999\ 5$, 相对偏倚在 30% 以下, 见图 5、6。

3 讨 论

血清酶测定结果的准确性和可比性是预防疾病和提高人类健康水平的基本要求, 也是检验医学界的工作目标。由于酶本身的生物学性质及其对催化反应的特殊要求, 各个实验室间酶活性测定结果差异较大, 加之实验室酶学测定结果可溯源性较差。为了提高酶测定的正确性、精密度和酶学检测结果的溯源性^[4], 使酶测定结果在实验室间有可比性, 就必须开展酶测定的标准化。酶学测定参考方法的建立是开展酶学标准化工作的重要部分^[5]。本实验室利用参考方法制备酶校准品也是为了获得较统一的实验结果。

本实验室建立 γ -谷氨酰转肽酶 37 °C 参考方法的目的是为了酶标准品赋值, 以此来校准常规检测系统, 为临床检测系统提供溯源依据, 提高各实验室间的 GGT 检测结果的准确性和可比性。依据 IFCC 推荐的参考测量程序建立了本实验室的 GGT 标准测量程序, 并将精密度控制在 1% 以下^[6]。通过测定 GGT(ERM AD452/IFCC)参考品进行准确性验证。同时本实验室也通过了 2009 年和 2010 年的国际 RELA GGT 的样本比对活动, 本实验室建立的参考方法准确性可靠。

用参考方法为自制的冰冻血清赋值, 并利用其校准非配套检测系统常规方法, 结果与 IFCC 推荐的参考方法相关性良好, 同时相对偏倚在 10% 以内, 是 CLIA'88 的 1/3; 配套检测系统由于是由 IFCC 溯源下来的, 但配套检测系统经过厂家主校准品和工作校准品溯源而来, 中间环节较多造成偏差较大, 故

其相对偏倚较非配套检测系统大, 较理论 K 值常规方法小。

从本实验室结果可以看出, 由参考方法校准的常规方法优于配套检测方法, 故用参考方法定值的酶校准品可以校准常规方法, 并且结果与参考方法间的偏倚较小, 可以提高实验室间结果的准确性和可比性。用参考物质对各个检测系统进行统一校准是可行的。这种方法也是用公认的酶参考物使一种或多种常规方法测定结果与参考方法相同, 使测定结果的数值在参考方法和常规方法间传递, 从而提高常规方法与参考方法间检测结果可比性的最有效的措施。

参考文献

- [1] 王涛, 齐丽丽, 刘海燕, 等. 六种临床诊断酶学测定参考方法的应用及国际比对结果分析[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31: 264-268.
- [2] 张克坚, 杨振华. 临床酶学标准化的新途径[J]. 中华检验医学杂志, 1999, 22(1): 54-56.
- [3] Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part6. Reference procedure for the measurement of catalytic activity concentration of γ -glutamyl-transferase[J]. Clin chem Lab Med, 2002, 40(6): 734-738.
- [4] 郭建, 王清涛, 童清, 等. 血清酶学测定标准化的实验研究[J]. 中华检验医学杂志, 2002, 25(3): 147-149.
- [5] 徐国宾, 吴南, 王海涛. 要重视血清酶学测定的标准化工作[J]. 临床检验杂志, 2007, 25: 161-164.
- [6] 张莹, 周铁成, 童开, 等. 酶学参考实验室室间质量评价技术方案的建立[J]. 现代检验医学杂志, 2010, 25(3): 146-148.

(收稿日期: 2012-10-09)

(上接第 447 页)

解, 避免一些为了单纯的检测血液而隐瞒高危性行为的献血者前来献血, 对血液的安全起到很好的屏障作用。我们还要加强低危固定无偿献血队伍的建立, 对献血者进行必要的健康教育, 培养健康的生活方式, 印制各式各样的和献血相关的宣传小册子。血液检测是阻断病毒传播的重要手段, 在采用高灵敏度的进口和国产 ELISA 第四代 HIV 抗原抗体结合试剂进行筛查的同时, 最好同时采用先进的核酸检测技术^[11-12], 对血液进行严格把关, 特别是针对献血周期短的机采成分血, 核酸检测意义尤为显著, 缩短了“窗口期”, 降低了输血传播疾病的残余风险, 确保临床用血安全、高效。

参考文献

- [1] 曹占良, 朱守兰, 刘 霜. 我国 HIV/AIDS 的流行和疫苗研究现状[J]. 武警医学院学报, 2011, 10(20): 842-844, 848.
- [2] 邵长庚, 曹宁校. 性接触和性传播疾病[J]. 中华皮肤科杂志, 2005, 38(5): 259-260
- [3] 卢显福. 加强血液安全管理确保人民群众身体健康[J]. 中国输血杂志, 2009, 22(6): 507-509.
- [4] 向春萍, 邱淑华, 王 军, 等. 贵阳市无偿献血人群 HIV 感染情况调

查分析[J]. 贵州医药, 2011, 9(35): 834-835.

- [5] 唐卫国, 廖红文, 段恒英. 重庆市无偿献血人群 HIV 感染情况的调查分析[J]. 重庆医学, 2011, 40(23): 2343-2345.
- [6] 周生建, 潘传波, 孟晓容, 等. 重庆市男性接触者性行为与 HIV 感染相关性研究[J]. 中国感染控制杂志, 2008, 7(6): 381- 384.
- [7] UNAIDS. Men who have sex with men and HIV/AIDS[R]. World AIDS Campaign, 2001.
- [8] 张京姬, 孙丽君, 高清荣, 等. 梅毒合并 HIV 感染 41 例临床分析[J]. 山东医药, 2010, 50(1): 83-84.
- [9] 陈辉, 罗 伟, 李媛, 等. 831 名男性性行为者 HIV 和梅毒感染状况分析[J]. 皮肤病与性病, 2011, 33(4): 236-237.
- [10] 张晓丽, 徐祥莲, 刘绍少. 南昌市无偿献血者 HIV 感染状况[J]. 实用临床医学, 2011, 12(6): 133-134.
- [11] 任芙蓉. 核酸检测技术在国内外血液筛查中应用[J]. 北京医学, 2008, 30(8): 561-563.
- [12] Engelfriet CP, Reesink HW. Implementation of donor screening for infectious agents transmitted by blood by nucleic acid technology(International Forum)[J]. Vox Sanguinis, 2002, 82(1): 87-111.

(收稿日期: 2012-11-09)