

• 论 著 •

影响献血者 ALT 初筛结果的原因分析

高 艳,车火娇,麦永平,吴剑云

(茂名市中心血站,广东茂名 525000)

摘要:目的 探讨采用干化学法初筛献血者丙氨酸氨基转移酶(ALT)的影响因素,以有效建立初筛 ALT 标准,减少血液浪费。**方法** 收集 2013 年 1~6 月茂名市中心血站无偿献血者血样标本 21 065 份,对比测试标本溶血、脂血、加样量、加样后等待时间等因素对干化学法检测 ALT 的影响,并根据结果规范操作,设定适宜的初筛限值标准。**结果** 标本溶血对 ALT 检测结果产生影响,溶血率小于或等于 0.5% 对 ALT 检测无明显影响;脂血对检测结果无明显影响;加样量为 $(32 \pm 3)\mu\text{L}$ 、加样后等待时间为 10~40 s, ALT 检测结果可接受。设定初筛限值标准为 ALT $\leq 40 \text{ U/L}$ (女), ALT $\leq 45 \text{ U/L}$ (男)。**结论** 标本溶血、加样量、加样后等待时间对干化学法检测 ALT 产生影响,而脂血对检测结果无明显影响,规范操作、合理设置正常限值可保证检测的准确性和稳定性,节约血液资源,进一步保证血液安全,值得广泛应用和推广。

关键词:干化学法; 丙氨酸氨基转移酶; 初筛; 质量控制; 献血者

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.13.030

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)13-1872-02

Analysis of factors affecting results of ALT preliminary screening in blood donors

Gao Yan, Che Huojiao, Mai Yongping, Wu Jianyun

(Blood Center of Maoming City, Maoming, Guangdong 525000, China)

Abstract: Objective To explore the factors affecting results of alanine aminotransferase(ALT) preliminary screening by using dry chemical method in blood donors, so as to establish standards of ALT preliminary screening and reduce waste of blood.

Methods A total of 21 065 blood specimen of blood donors in Blood Center of Maoming City were collected from January to June 2013. The influences of specimen hemolysis, lipidemia, different sample amount and waiting time after adding sample on the detection results of ALT by using dry chemical method were comparatively analysed, and standardized procedures and established appropriate limits of ALT preliminary screening according to the results. **Results** The specimen hemolysis affected test results of ALT, which was not obvious when the hemolysis rate was less than or equal to 0.5%. There was no obvious interference of lipidemia on ALT test. When the sample amount was $(32 \pm 3)\mu\text{L}$ or the waiting time after adding sample was 10 to 40 seconds, the detection results of ALT were acceptable. The standard limit of ALT was less than or equal to 40 U/L of female and less than or equal to 45 U/L of male. **Conclusion** Hemolysis, sample amount and waiting time after adding sample can influence the results of ALT detected by using dry chemical method, while lipidemia had no interference on ALT test. Standardizing operation and reasonably setting normal limits standard may ensure the accuracy and stability of determination, save blood resources, further ensure blood safety, which should be worthy of wide application.

Key words: dry chemical method; alanine aminotransferase; preliminary screening; quality control; blood donors

我国属于肝炎高发区,肝炎病毒健康携带者的人数较多,而丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测在某种程序上能检出处于“窗口期”和隐匿性感染者,对提高血液质量具有积极意义^[1-2]。国家《献血者健康检查要求(GB18467-2011)》明确规定 ALT 应符合相关要求,卫生部《血站技术操作规程(2012 版)》也明确规定献血前应采用干化学法(或速率法)对献血者进行 ALT 初筛。笔者在实际工作中发现,标本、操作及检测限值标准等因素对检测结果影响较大。加上《临床常用生化检验项目参考区间(WS/T404-2012)》颁布后,血液复检速率法 ALT 正常参考值范围发生了变化,男女为不同标准,原初筛标准已不再适用。鉴于以上各种原因,为进一步保证检测结果的稳定性与准确性,避免不规范操作造成的误差,以及血液的报废与献血者的流失增加,笔者针对影响该方法检测献血者 ALT 结果的因素进行了探讨和研究,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 2013 年 1~6 月茂名市中心血站无偿献血者血样标本 21 065 份。

1.2 仪器与试剂 Reflotron Plus 干式生化分析仪[罗氏诊断

产品(上海)有限公司],离心机(德国 Hettich 公司),进口全自动生化分析仪及配套试剂。

1.3 方法

1.3.1 标本检测方法 按仪器和试剂说明书进行操作,操作前仪器自动进行自检,每天均进行质控测试,标本量为 32 μL ,检测时间为 120 s。仪器每年定期经厂家校准合格,日常操作严格执行操作规程。

1.3.2 初筛限值标准测试 对采用 ALT 速率法复检不合格的临界值标本进行干化学法检测以确定初筛限值标准。具体方法:取速率法检测 ALT 水平为 $(40 \pm 4)\text{ U/L}$ 的标本 5 份等量混合为标本 1, ALT 水平为 $(50 \pm 5)\text{ U/L}$ 的标本 5 份等量混合为标本 2, 取混合后的血液标本 1 和 2 分别用干式法平行检测 20 次, 取平均值。

1.3.3 标本溶血对检测结果的影响测试 取 ALT 不合格的临界值标本血清,吸取自身压积红细胞,分别配制成 0.5%、1.0%、1.5%、2.0% 的红细胞血浆溶液,置于 -20 ℃ 冰箱中冰冻 2 h, 取出置于 37 ℃ 水浴融化, 3 h 内用干式生化分析仪将标本平行检测 20 次,记录结果并进行分析。

1.3.4 脂血对检测结果的影响测试 取速率法检测 ALT 水平为高、中、低值的外观正常标本各 1 份, 分别用干化学法各自检测 5 次, 取平均值后以速率法检测值为横坐标, 干化学法检测值为纵坐标建立标准曲线, 取速率法检测 ALT 阳性的轻、中、重度脂血标本各 3 份, 分别查曲线得干化学法的理论值, 再用干化学法平行检测各标本 10 次取平均值, 将实测值与理论值进行比较。

1.3.5 加样量对检测结果的影响测试 取 ALT 不合格的全血标本 1 份, 分别取血量 23、26、29、32、35、38、41 μL , 用干化学法各自检测 ALT 10 次后取平均值。

1.3.6 加样后等待时间对测定结果的影响 取 2 份临界值全血标本进行 5 次平行检测, 设计加样后等待时间分别为 15、20、25、30、35、40、45、50 s。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理与统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示; 计数资料以百分率表示, 采用 χ^2 检验进行比较; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 初筛限值标准的确定 干化学法检测标本 1 的 ALT 水平为 (40 ± 4) U/L, 标本 2 的 ALT 水平为 (45 ± 5) U/L; 女性取 $\text{ALT} \leq 40$ U/L, 男性取 $\text{ALT} \leq 45$ U/L 作为初筛限值标准。

2.2 标本溶血对检测结果的影响 溶血率 1.0% 时检测结果下降 5%, 每增加 0.5%, ALT 检测值下降 5%, 溶血率小于或等于 0.5% 对 ALT 检测影响不明显。

2.3 脂血对检测结果的影响 轻、中、重度脂血回收率依次为 99.1%、97.3%、95.5%。回收率均大于 95%, 说明脂血对 ALT 检测的干扰处于可接受范围。

2.4 加样量对检测结果的影响 标本加样量为 (32 ± 3) μL 时, 检测结果处于标准值 $\pm 5\%$ 范围, 可接受, 加样量超出此范围均对检测结果影响较大。

2.5 加样后等待时间对测定结果的影响 加样后等待时间为 10~40 s 时检测结果处于标准 $\pm 5\%$ 范围, 可接受; 等待时间小于 10 s 时可能存在反应不完全而影响检测结果; 时间大于 40 s 以上存在反应时间过长结果不稳定、效率低等情况。

2.6 设定正常限值标准及规范操作前后献血者 ALT 报废率统计 按 2.1 设定标准限值, 避免标本出现溶血和重度脂血, 准确加样, 加样后 30 s 内完成检测。规范操作后 ALT 初筛淘汰率由 2.85% 下降至 1.48%, 血液 ALT 复检不合格率由 2.18% 下降至 1.51%, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 规范操作前后血液 ALT 初筛淘汰率及复检不合格率比较

项目	血液 ALT 初筛淘汰		血液 ALT 复检不合格	
	标本数 (n)	淘汰情况 [n(%)]	标本数 (n)	不合格情况 [n(%)]
规范操作前	10 000	285(2.85)	9 715	212(2.18)
规范操作后	11 065	164(1.48)	10 901	165(1.51)

2.7 重复性 批内重复性: 均值为 40.6 U, 标准差为 1.02 U, 变异系数(CV)为 2.5%; 批间重复性: 均值为 39.8 U, 标准差为 1.79 U, CV 为 4.5%。批内与批间 CV 均小于 5%。

3 讨 论

干化学试纸法是干式的试剂与体液进行化学反应的一种方式, 试剂以干物质固定在固相载体上, 实际反应仍开始于液态样品滴加后。ALT 的检测原理是 ALT 能够催化 L-丙氨酸

和 α -酮戊二酸反应生成谷氨酸和丙酮酸, 而丙酮酸又与磷酸盐氧化反应生成过氧化氢, 最后通过过氧化氢在过氧化物酶的催化下释放出新生态氧, 最后生成蓝色复合物, 该物质在 610 nm 波长处有强吸收峰, 其检测波长为 550~670 nm, 通过测定反应垫的反射光强弱变化来推算 ALT 水平。红细胞 ALT 水平约是血清的 7~10 倍, 红细胞溶解后细胞内 ALT 释放入血^[3], 理论上溶血后检测结果应升高, 但由于干化学试纸条反应呈蓝绿色, 当溶血发生时, 血红蛋白与蓝绿色混合后, 降低了蓝绿色的强度, 减少对 550~670 nm 波长光的吸收, 使检测结果比实际值低^[4]。而脂血标本并不对光的反射产生干扰, 所以对检测结果无影响^[5-7]。

加样量对干化学法检测结果也产生影响, 若加样量少, 反应物生成少, 检测值偏低, 加样量多时检测结果偏高, 但当加样量达标准量 1.5 倍时, 可能由于标本与试剂比例失衡导致检测结果反而偏低。加样后等待时间为 10~40 s 时检测结果处于标准 $\pm 5\%$ 的可接受范围, 等待时间小于 10 s 时可能存在反应不完全而使检测结果偏低, 时间大于 40 s 时存在反应时间过长、结果不稳定、效率低等情况。

随着国家标准《临床常用生化检验项目参考区间(WS/T404-2012)》的颁布, ALT 正常参考值范围发生了变化, 血站血液复检标准从 $\text{ALT} \leq 40$ U/L, 调整到男性 $\text{ALT} \leq 50$ U/L, 女性 $\text{ALT} \leq 40$ U/L, 为了保证血液安全同时减少血源的流失和血液的浪费, 制订适当的初筛限值标准显得非常重要。本研究结果显示, 将献血者初筛 ALT 标准由小于或等于 35 U/L(不分性别)调整到 $\text{ALT} \leq 45$ U/L(男)、 $\text{ALT} \leq 40$ U/L(女)后, 血液 ALT 报废率下降 53%, 血源淘汰率降低 48%, 大大节省了血液资源。

本文对影响干化学法初筛献血者 ALT 结果的常见因素进行了探讨, 依据研究结果规范了操作流程、合理设定了正常值标准, 还通过加强仪器维护、试剂保存和每日室内质控频次等质控方法^[8-10], 在确保检测结果准确性和稳定性的同时, 保持了较低的血液报废率、节约了血液资源、保证了血液安全, 值得广泛应用。

参 考 文 献

- [1] 季阳, 王讯, 郑忠伟, 等. 重新评估献血者 ALT 检测的意义[J]. 中国输血杂志, 2009, 22(7): 521-522.
- [2] 程渝, 郭运芬. 乙肝病毒不同血清标志物 ALT 中与 HBVDNA 载量临床意义[J]. 西部医学, 2010, 22(5): 911-912.
- [3] 赵红胜, 刘玉振, 方建华, 等. 溶血对干化学法和赖氏法检测 ALT 的影响[J]. 中国输血杂志, 2004, 17(5): 337.
- [4] 邢培清, 刘玉振, 李伍升, 等. 影响干化学法初筛献血者 ALT 因素探讨[J]. 中国输血杂志, 2004, 17(6): 447.
- [5] 高均翠. 干化学法在无偿献血者 ALT 初筛中的应用分析[J]. 中国输血杂志, 2011, 24(11): 977-978.
- [6] 韩丽红, 张利芳, 邢少姬. 乳糜血对干化学法和湿化学法测定白蛋白和 ALT 活性的干扰[J]. 包头医学院学报, 2010, 26(6): 52-53.
- [7] 田纳, 梁健, 庞淑芬, 等. 街头献血乳糜血筛查结果对比分析[J]. 中国输血杂志, 2005, 18(6): 498.
- [8] 邱刚. 医用检验仪器应用与维护[M]. 北京: 人民日报出版社, 2011: 161-167.
- [9] 谢进荣, 徐顺党, 吴维华. 干式生化仪筛查献血者 ALT 不合格原因分析[J]. 中国现代医生, 2014, 52(18): 166-168.
- [10] 马健华, 贾幼珍, 范泽辉, 等. 室内质控在献血者转氨酶初筛检测中的应用研究[J]. 河北医药, 2012, 34(6): 931-932.