

白电荷不同进行检测,另一种是免疫层析法、免疫化学法,是根据血红蛋白糖化基团的结构进行检测^[5]。目前医院使用最多的是高效液相色谱法,常作为公认的参考方法^[3],检测结果准确性高,但成本较贵。而免疫层析法以快速、操作方便的优点适用于床旁诊断。而免疫化学法以价格便宜的优势,也逐渐地应用于临床上。

随着社会老龄化,糖尿病患者越来越多,目前本院检验科准备新开展 HbA1c 检测项目,故进行几种方法学的比对分析,通过比对研究结果显示,单纯从 3 种方法内的差值的均值来看高效液相色谱法检测 HbA1c 的变异最小,增强免疫比浊法(迈克)检测 HbA1c 的变异最大,但差异都不大,说明这 3 种方法具有较好的精密度;从 3 种方法间的差值的均值来看,高效液相色谱法与免疫层析法检测 HbA1c 结果的差异最小,高效液相色谱法与增强免疫比浊法(科方)检测 HbA1c 结果的差异最大,但差异都不大,粗略判断这 3 种方法具有较好的准确性;回归直线和相关系数(R^2 都大于 0.95)说明实验选取的统计数据分布合理,回归方程的截距和斜率可靠,2 种检测方法具有良好的相关性^[6];通过回归直线计算 3 种方法的预期值、预期偏倚、相对偏倚结果显示 HbA1c 结果在 4%~14% 范围内,免疫层析法检测预期值均低于高效液相色谱法检测值,产生负值的预期偏倚,说明免疫层析法较高效液相色谱法检测 HbA1c 结果偏低,但相对偏倚均在 $\pm 10\%$ 内,说明结果在临床参考方面可接受;增强免疫比浊法(迈克)检测的预期值在浓度 12% 以下,都产生负值的预期偏倚,其中在浓度为 4% 和 5% 时相对偏倚都大于 10%,偏倚较大;增强免疫比浊法(科方)检测的预期值在浓度 8% 以下,都产生负值的预期偏倚,其中在浓度为 4%、5% 和 6% 时相对偏倚都大于 10%,偏倚较大,预期值在浓度 13% 以上,产生正偏倚,且相对偏倚都大于 10%;说明这几

• 临床研究 •

种试验方法中免疫层析法的结果稳定性好、偏倚最小,而增强免疫比浊法(科方)出现低浓度偏低高浓度偏高的情况,说明线性范围不太合适。在本次检测过程中,发现免疫层析法检测受温度影响很大,可能与血红蛋白糖化基团的功能结合区和试剂结合时在合适的温度下发生反应有关,例如抗原抗体反应。

比对试验方法中,免疫层析法具有成本低、操作方便、诊断快速、结果准确性高等诸多优点,并且试剂采用单人份独立包装,便于长期保存,更适合标本量不大的机构使用;增强免疫比浊法是通过生化仪检测,其优点是无需另外购置专用仪器,开放型试剂,但其缺点是试剂开瓶后有效期短(15 d),在标本量不大的情况下,易造成试剂的浪费。

参考文献

- [1] 中国合格评定国家认可委员会. ISO15189《2012 医学实验室质量和能力认可准则》[S]. 北京:中国标准出版社,2012.
- [2] Clinical Laboratory Standards Institute. EP9-A2 Method comparison and bias estimation using patient samples[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2004.
- [3] 张文华,侯晗宇,张建荣,等. 高效液相色谱法检测糖化血红蛋白的方法学评价[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(18): 2305-2306.
- [4] 王治国. 临床检验质量控制技术[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社, 2008.
- [5] 童华诚,刘慧,张美,等. 三种检测系统测定糖化血红蛋白相关性分析及偏倚评估[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(7): 1156-1158.
- [6] 梁俊,王红筱,鲁雅诵,等. Primus PDQ PLUS 及 NycoCarderII 测定糖化血红蛋白的比对分析及偏倚评估[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(4): 145-147.

(收稿日期:2015-07-28)

健康高校学生丙氨酸氨基转移酶参考区间的建立与验证分析*

赵 冰, 孙 晶, 翟英芬, 杨立红, 刘计荣
(华北电力大学医院检验科, 北京 102206)

摘 要:目的 建立该院丙氨酸氨基转移酶(ALT)参考区间,同时验证国家行业标准在该院的可用性。方法 采用贝克曼库尔特 Au400 型全自动生化分析仪对 2 926 例新生血清 ALT 进行分析。结果 该院本科生(16~24 岁)男性 ALT 参考区间为 8.00~65.00 U/L,研究生(25~45 岁)男性 ALT 参考区间为 9.00~77.40 U/L;该院女性 ALT 参考区间为 7.00~35.00 U/L。该研究两个年龄段(本科生、研究生)男性 ALT 参考区间上限高于试剂厂家提供数据和行业标准,和济宁地区报道数据接近,女性 ALT 参考区间和行业标准基本一致,上限和试剂厂家相同。结论 行业标准可以在该室应用,并初步建立了该院的 ALT 参考区间,实验室工作中可以对两者结合使用。

关键词:参考区间; 丙氨酸氨基转移酶; 行业标准

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.19.060

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)19-2905-03

丙氨酸氨基转移酶(ALT)是一种参与人体蛋白质新陈代谢的酶,是机体内 60 多种氨基转移酶中最重要的一种,起加快蛋白质氨基酸在体内转化的作用。ALT 在肝脏细胞的线粒体中存在最多(约 70%),肝细胞内浓度高于血清 7 000 倍,只要有千分之一的肝细胞被破坏,就可以使血清 ALT 增高 1 倍,因此 ALT 是判断肝损伤的灵敏指标,也一直是国内献血、招生和招聘工作中的常规体检项目。因此,其参考区间就十分必

要。国际临床化学联合会(IFCC)建议各实验室应建立自己的参考值范围^[1]。国际标准化组织(ISO)在 ISO 15189 中提到应该对参考区间进行周期性的验证^[2]。如果实验室有充分的理由相信某个参考区间不再适合特定的参考人群,就应重新制定参考区间。原卫生部近期颁发了 ALT 的全国行业标准^[3],但是没有分年龄段,而本校学生来自全国 31 个省市自治区,包括

* 基金项目:中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(2015QN27)。

多个民族,年龄集中在 18~25 岁,并且基本上是健康人群,对于这样一个特定群体,有必要根据本校学生制定参考区间,验证行业标准,建立本校 ALT 参考区间。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2 727 例新生,其中本科生男 1 708 例,年龄 16~23 岁,平均(18.49±1.80)岁,女 1 019 例,年龄 16~24 岁,平均(18.23±1.65)岁;研究生(包括硕士研究生与博士研究生)男 145 例,年龄 25~44 岁,平均(27.69±4.08)岁,女 54 例,年龄 25~45 岁,平均(27.72±4.30)岁,来自全国 31 个省市自治区。所有纳入对象均经内外科、B 超、心电图、透视等体检项目排除肝病、血液病、肾炎、心血管疾病等。

1.2 仪器与试剂 贝克曼库尔特 Au400 型全自动生化分析仪及原装配套试剂、校准品和质控品;静脉真空采血管采用浙江拱东医疗科技有限公司提供的 2 mL 血清生化管。ALT 的试剂中第一试剂含乳酸脱氢酶(LDH)21.00 kU/L,L-丙氨酸 118.00 g/L,第二试剂含 α-酮戊二酸 14.50 g/L,还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)0.90 mmol/L。质量控制采取以下措施:实验室固定操作人员,严格按照检测要求操作,均未发现标准漂移等其他失控现象。实验时用贝克曼库尔特 Au 系列试剂进行仪器校准(批号 0015),并作质控(批号 0034、0035),每次测定的变异系数(CV)均在室内质控物±2s 之内。参加北京市临检中心室间质量控制成绩优秀,符合要求后进行测试。

1.3 方法 采用 IFCC 推荐的乳酸脱氢酶法测定 ALT 活性,反应中 ALT 催化将丙氨酸上的氨基转移至 α-酮戊二酸,形成丙酮酸和谷氨酸。生成的丙酮酸盐与 NADH 在 LDH 的催化作用下转化成乳酸和 NAD⁺,引起波长 340 nm 处吸光度下降,吸光度下降速率与标本中 ALT 的活性呈正比。参照美国临床和实验室标准协会(CLSI)H18-A2 文件^[4]推荐方法收集健康参考个体,采用 IFCC 推荐方式——直接抽样技术,即使用事先规定好标准从参考人群中选择参考个体,并且采用事后法,即筛选标准在标本收集和分析后采用^[5]。静脉血采集采用坐位,收集在含促凝剂的生化真空采血管标本保存在 15~20℃条件下,在取血 2 h 内离心完毕,离心后 2 h 内完成检测。

1.4 统计学处理 采用统计软件 SPSS16.0 进行统计学处理,进行数据处理及统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,ALT 参考区间采用非参数方法的百分位数法,将 ALT 结果分成 N 个秩次,按 $P_{2.5}$ 、 $P_{97.5}$ 表示参考区间,即 95% 置信区间(95% CI),组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。采用 IFCC 推荐的 Dixon 法判断并去除离群值^[1]。

2 结 果

本研究 ALT 参考区间,经 Mann-Whitney U 检验,本科生男性 ALT 参考区间明显高于女性($Z = -47.21$),研究生男性 ALT 参考区间明显高于女性($Z = -17.96$),差异均有统计学意义($P < 0.05$)。本科生男性 ALT 参考区间明显低于研究生男性,差异有统计学意义($Z = -13.13$ 、 $P < 0.05$),本科生女性 ALT 参考区间与研究生女性差异无统计学意义($Z = -0.61$ 、 $P > 0.05$)。

表 1 2 926 名大学生 ALT 检测结果(U/L)		
学生类型	<i>n</i>	95%CI
本科生	2 727	
男	1 708	8.00~65.00
女	1 019	7.00~35.50*#

续表 1 2 926 名大学生 ALT 检测结果(U/L)		
学生类型	<i>n</i>	95%CI
研究生	199	
男	145	9.00~77.40*#
女	54	8.00~31.80

*: $P < 0.05$,与本科男性比较;#: $P < 0.05$,与研究生女性比较。

3 讨 论

由于学生是相对健康的人群,按 IFCC 关于抽样的要求可以采取事后法(间接抽样技术)^[6]。并且考虑到新生刚入校疲劳、精神紧张等因素对 ALT 测定的影响,对于 ALT 增高的学生一个月后复查修订结果,所以本研究选取的研究对象完全符合 IFCC 对参考人群的要求,数据符合参考区间统计学要求。由于 ALT 结果的分布均为偏态分布,所以采用非参数方法的百分位数法计算参考区间。

有研究认为参考区间的应用要考虑区间的适用性、方法学因素和人群因素三方面因素^[6],目前国内各实验室采用不同厂商生产的试剂盒,其组成成分各有差异^[7],测定参考区间各不相同,采用的参考区间来源各异^[8],同时由于不同地区的人群在遗传生活环境和饮食习惯上都存在差异^[9],所以参考区间直接应用时可能会存在一定的偏差,为此 IFCC 建议每个临床实验室都能建立符合本地人群特征的参考区间,或者至少能够验证由其他途径获得的参考区间^[1]。原卫生部颁布的参考区间不是强制执行,所以本研究将此次检测结果放在行业标准和本研究参考区间进行验证,以确定其适用性。按 CLSI C28-P3 文件^[1]推荐的方法进行验证,并计算比值(R)=检测值在引用参考区间的参考个体数/总的参考个体数×100%。判断参考区间适宜引用的标准为: $R \geq 90\%$,表示可以接受,该参考区间可用于本实验室。验证结果显示门诊患者超过这两个参考区间的数据范围为 2.3%~4.5%,低于 10%的标准,2 个参考区间均可在本实验室应用。

本研究参考区间与试剂厂家提供的参考区间男性与女性分别为小于 50.00 U/L、小于 35.00 U/L;原卫生部颁布的行业标准提供的参考区间男性与女性分别为 9.00~50.00、7.00~40.00 U/L^[3];一项以济宁地区 25.00~45.00 岁的被试为研究对象的研究建议济宁地区 ALT 参考区间男性与女性分别为小于 63.00 U/L、小于 43.80 U/L^[10]。本研究两个年龄段(本科生、研究生)男性 ALT 参考区间上限高于试剂厂家提供数据和行业标准,和济宁地区报道数据接近,女性 ALT 参考区间和行业标准基本一致,上限和试剂厂家相同。

本研究显示,ALT 参考区间同行业标准相比,女性参考区间上限两者仅相差 5 U/L,基本一致,没有年龄差异可以直接应用,但是男性参考区间上限同行业标准和试剂厂家相差较大,2 个年龄段高于行业标准 15~27 U/L,同其他地区如北京地区^[11]、济宁地区^[10]、邯郸地区^[12]接近,并且不同年龄段之间有差异,研究生(25~45 岁)组高于本科生(16~24 岁)组,同海口^[9]、西双版纳^[13]等地研究一致。Elinav 等^[14]研究认为,年龄与 ALT 活性相关性曲线呈倒“U”型,且 ALT 活性最高峰出现在 40~55 岁。而引起 ALT 升高的非病理因素,王坤英等^[15]报道这种不明原因的血清 ALT 升高与代谢综合征密切相关。所以男性参考区间有必要根据年龄分组。考虑到本校学生相对于其他医院是健康的人群,大部分学生年(下转插 I)

(上接第 2919 页)

试管,由原来的留取 5 mL 血样标本试管,改为留取 7 mL 血样标本试管。

2.2 解决取用可凝标本困难的问题 由于使用的是 96 孔深孔微板,血液标本冰冻保存后,要取用其中一个可凝标本时比较困难。因为在溶解这个血液标本的过程中有可能引起到周边血液标本的融化,从而引起其他标本生物活性的改变。可采取使用 8×12 联 1~2 mL 的可剪小塑料圆形试管,需要复查时,把所要复查的小塑料圆形试管找出后单独剪开,复溶后就可以按要求进行复查^[1]。

2.3 热合封口机封口技术 采用的是热合封口机通过高温使密封膜与深孔微板各孔口紧密结合技术。深孔留样板上的密封膜一旦撕开,就算重新封口也能看到痕迹,这样保证了留样标本的公正性。

2.4 时效性 本站自从使用这种血液标本保存管理模式以来,工作人员从耗时、费力、繁琐的血袋辫子的核对、整理、离心分离、热合、包装等过程中解脱出来;同时,采用深孔留样微板保存大幅度减少了占用冰柜贮存空间,原来一个低温冷冻冰柜只能保存大概半年左右的血袋辫子血液标本,现在可以保存两年左右的深孔留样微板血液标本。

3 讨 论

2014 年 10 月,中国共产党第十八届中央委员会第四次全体会议首次专题讨论依法治国问题。10 月 28 日中共中央关于《全面推进依法治国若干重大问题的决定》发布。随着社会主义法制制度的进一步完善,依法治国、依法执政、依法行政等法治社会逐步形成,广大人民群众法律意识得到提高。特别是在医疗卫生领域,《最高人民法院关于民事诉讼证据的若干规定》^[2]中第四条第八项明确规定:“因医疗行为引起的侵权诉

讼,由医疗机构就医疗行为与损伤结果之间不存在医疗过错承担举证责任”即“举证责任倒置”规则。临床输血是医疗救治中必不可少的一种治疗手段。但是由于受医学科学技术水平的限制等众多方面的原因。而且无论采用何种方法,均无法彻底避免处于“窗口期”的血液漏检,因此输血传播疾病的风险持续存在^[3]。因此,采供血机构建立一套可靠、安全、有效的无偿献血者血液标本的保存信息管理系统是十分必要的。

采供血机构在采供血过程中需要长期保存无偿献血者的血液检测标本,以便于发生因输血而引起的医疗纠纷时能够及时准确地供追踪使用。本站一直采用截留 20 cm 与血袋相连的全血导管,放入低温冰柜中保存的方法,此方法存在血浆不易分离、全手工作业易出现遗漏、大批量冰冻保存后不易定位查找、占用贮存空间较多等不利因素。通过使用条码信息化、自动化操作及改进的留样程序和保存管理信息系统,减少人为因素影响,防止出现漏留、误留、污染、变质、丢失、误用等影响标本复检的情况,并在需要时及时找出指定的标本。一旦出现争议时,可对血液标本进行快速查找并封存,由权威部门检测,维护自身利益。

参考文献

- [1] 梁志豪,梁丽华,廖扬勋,等.采供血机构血清标本新保存管理模式的探讨[J].中国医药指南,2010,8(11):151-152.
- [2] 中华人民共和国最高人民法院.关于民事诉讼证据的若干规定,2002-4-1.
- [3] 叶萍,张磊,梁晓华,等.采供血机构在输血医疗纠纷中面临的问题和相应对策[J].中国输血杂志,2013,26(1):24-27.

(收稿日期:2015-01-08)

(上接第 2906 页)

龄处于青年,无不良饮食生活习惯,在应用的时候,尤其在入学体检时,对于 ALT 高于行业标准,但是在本研究得出的参考区间范围内的学生,排除病毒性肝炎后可适当放宽标准采用本研究测得的参考区间判断。

参考文献

- [1] International Federation of Clinical Chemistry. C28-P3 Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory[S]. 3rd ed. Paris: Clinical and Laboratory Standards, 2008.
- [2] International Standards Organisation. ISO15189 Medical laboratories-particular requirements for quality and competence[S]. Geneva: ISO, 2012.
- [3] 尚红,陈文祥,潘柏申,等.中国成人常用肝功能和电解质及血细胞分析项目参考区间[J].中华检验医学杂志,2013,36(5):393-394.
- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute. H18-A2 Procedures for handling and processing of blood specimens[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 1999.
- [5] 曾洁,陈文祥,申子瑜.参考区间研究现状概述[J].中华检验医学杂志,2010,33(6):570-573.
- [6] Jones GR. Validating common reference intervals in routine laboratories[J]. Clinica Chimica Acta, 2014, 432 (432): 119-121.
- [7] 杨宏云,李海霞,王学品,等.健康人群丙氨酸氨基转移酶及天门

冬氨酸氨基转移酶参考区间初步调查[J]. 检验医学, 2010, 25 (10): 761-764.

- [8] 康凤凤,王薇,何法霖,等.重点专科检验科常规生化项目检测性能现状研究[J].现代检验医学杂志,2013,28(4):20-22.
- [9] 李春芸,唐爱国,姚敏.海口地区健康成年人血清 ALT 正常值参考区间调查[J].海南医学,2013,24(10):1478-1479.
- [10] 董海新,程盼盼.济宁市区健康成人血清 ALT AST 参考区间研究[J].济宁医学院学报,2013,36(1):37-38.
- [11] 曾洁,闫颖,张传宝,等.北京地区汉族人群 ALT、AST、GGT 和 LDH 的参考区间研究[J].中华检验医学杂志,2011,34(12):1073-1077.
- [12] 王洪,王立芹,张红梅,等.邯郸市健康献血人群丙氨酸氨基转移酶参考值范围调查[J].中国误诊学杂志,2012,12(14):3470-3472.
- [13] 王坤英,刘平华,杨玲,等.西双版纳州健康人群血清丙氨酸氨基转移酶参考区间调查[J].检验医学,2009,24(5):361-363.
- [14] Elinav E, Ben-Dov IZ, Ackerman E, et al. Correlation between serum alanine aminotransferase activity and age: an inverted U curve pattern[J]. Am J Gastroenterol, 2005, 100(10): 2201-2204.
- [15] 王坤英,丁进芳,韩平治.不明原因的 ALT 升高与代谢综合征的研究进展[J].中国医学检验杂志,2007,8(2):150-152.

(收稿日期:2015-06-26)