

- quality and its importance in laboratory medicine for the management of extra-analytical processes[J]. Clin Chem Lab Med, 2018, 56(11):1838-1845.
- [9] 李润青, 宫丽君, 王腾蛟, 等. 西格玛方法在临床生化检验质量管理中的应用[J]. 中华检验医学杂志, 2017, 40(9): 727-732.
- [10] 中国合格评定国家认可委员会. 医学实验室质量和能力认可准则(ISO15189:2007):CNAS-CLO2[S]. 北京:中国标准出版社, 2008.
- [11] YEO J G, NG C T, ALBANI S. Precision medicine in pediatric rheumatology[J]. Curr Opin Rheumatol, 2017, 29(5):500-505.
- [12] WANG Z H, SONG X Y. Precision medical treatment of non-adenocarcinoma NSCLC patients with EGFR mutation[J]. Chinese J of Onco, 2017, 39(2):90-93.
- [13] MARTÍN A M, MARTÍN G J M, PRIETO J M. Diabetic ketoacidosis by empagliflozin and intestinal obstruction, the importance of arterial blood gas analysis[J]. Med Clin (Barc), 2018, 150(10):410-411.
- [14] AUENMUELLER K I, CHRIST M, SASKO B M, et al. The value of arterial blood gas parameters for prediction of mortality in survivors of out-of-hospital cardiac arrest [J]. J Emerg Trauma Shock, 2017, 10(3):134-139.
- [15] KUMAR B V, MOHAN T. Sigma metrics as a tool for evaluating the performance of internal quality control in a clinical chemistry laboratory[J]. J Lab Physicians, 2018, 10(2):194-199.
- [16] VARELA B, PACHECO G. Comprehensive evaluation of the internal and external quality control to redefine analytical quality goals[J]. Biochem Med (Zagreb), 2018, 28(2):020710.
- [17] HENS K, BERTH M, ARMBRUSTER D, et al. Sigma metrics used to assess analytical quality of clinical chemistry assays: importance of the allowable total error (TEa) target[J]. Clin Chem Lab Med, 2014, 52(7):973-980.
- [18] WESTGARD S, PETRIDES V, SCHNEIDER S, et al. Assessing precision, bias and sigma-metrics of 53 measurands of the Alinity ci system[J]. Clin Biochem, 2017, 50(18):1216-1221.
- [19] WESTGARD J O, WESTGARD S A. Quality control review: implementing a scientifically based quality control system[J]. Ann Clin Biochem, 2016, 53(1):32-50.
- [20] WESTGARD J O, WESTGARD S A. The quality of laboratory testing today: an assessment of sigma metrics for analytic quality using performance data from proficiency testing surveys and the CLIA criteria for acceptable performance[J]. Am J Clin Pathol, 2006, 125(3):343-354.

(收稿日期:2019-07-08 修回日期:2019-10-20)

• 短篇论著 •

## AST 参考方法的不同测定模式对测量结果精密度的影响

罗晓旭<sup>1</sup>, 秦大鹏<sup>2</sup>, 申 彬<sup>1</sup>, 梁转霞<sup>1</sup>, 杜怡青<sup>1</sup>, 杨泽华<sup>2△</sup>

(1. 山西医科大学, 山西太原 030001; 2. 山西医科大学第六医院检验科, 山西太原 030008)

**摘要:**目的 探讨天门冬氨酸氨基转移酶(AST)参考方法的不同测定模式对测量结果精密度的影响, 为提高 AST 测定结果的稳定性提供依据。方法 依据读点时间周期及延迟期混匀时间设计 A~I 共 9 种不同测定模式, 检测时间段均选取延迟反应时间 90 s 后连续读点 180 s, 依据国际临床化学与检验医学联合会(IFCC)推荐的 AST 参考测量程序建立 AST 改良参考方法, 对样本进行测定, 每种模式每天重复测定 2 次, 连续测定 20 d, 分别计算不同测定模式下的 AST 测量结果总不精密度。结果 A~I 共 9 种不同测定模式的测量总不精密度分别为 0.80%、0.69%、1.31%、1.21%、0.79%、1.55%、1.30%、0.74%、1.21%。结论 测定模式的差异对 AST 测定结果有明显影响, 读点时间周期为 15 s、延迟期混匀时间为 45 s 的测定模式 B 的 AST 测量精密度最好。

**关键词:**天门冬氨酸氨基转移酶; 参考方法; 影响因素; 读点周期; 混匀时间

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2020.03.028

**中图法分类号:**R446.1

**文章编号:**1673-4130(2020)03-0363-04

**文献标识码:**B

精密度是指在规定条件下对同一或类似被测对象重复测量所得示值或测得值间的一致程度, 是临床生物化学方法学性能评价的关键指标之一<sup>[1]</sup>, 可反映测定结果的离散程度。天门冬氨酸氨基转移酶

(AST)作为临床酶学常测定的指标之一, 对于心脏与肝脏等多种疾病的诊断具有重要的临床意义<sup>[2]</sup>。现在临床实验室在多数情况下为单次检测发出报告, 而提高实验室 AST 测量结果的精密度就尤为重要。

△ 通信作者, E-mail: zehuay026@163.com.

本文引用格式: 罗晓旭, 秦大鹏, 申彬, 等. AST 参考方法的不同测定模式对测量结果精密度的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(3):

国际临床化学标准协会已于 2002 年发布了关于酶学标准化程序的七部系列文件,其中第五部分即 AST 的参考方法<sup>[3]</sup>,该方法对影响 AST 活性的因素进行了详细规定,如试剂的种类、缓冲液的性质、反应体系的温度、酸碱度、波长等<sup>[4-5]</sup>,但其在读点时间周期方面仅表述为“检测时间 180 s,读点≥6”、在混匀时间方面仅表述为“充分混匀”<sup>[5]</sup>,并未作具体说明。AST 参考测量过程分为 3 个阶段:温育期、延迟期、测定期。在温育期,由于还未加入启动试剂,酶促反应还未开始,此时的反应体系理论上不需要混匀。在测定期即在比色时进行混匀会使反应曲线有一定程度上的“漂移”,并对测定结果造成影响<sup>[7]</sup>。因此本实验将从延迟期的混匀时间及读点时间周期方面设计不同的 AST 测定模式,对 AST 参考方法的最佳测定模式进行探讨,优化参考方法的测定模式,提高 AST 测定结果的稳定性。

1 材料与方法

1.1 样本 Randox 质控血清,批号为 1092UN;严格按照质控血清复溶说明溶解及混匀质控品。

1.2 仪器与试剂 紫外分光光度计及其配套比色皿、比色杯恒温电子控制装置、电子天平均购自日本 Shimadzu 公司;恒温水浴箱、pH 计、Finnpipette 移液器、电子温度计、秒表、容量瓶及各种高精密度玻璃器皿等购自中国北京化工公司;按照国际临床化学与检验医学联合会(IFCC)推荐的 AST 参考测量程序配制试剂。还原型-β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸二钠盐(NADH)、乳酸脱氢酶(LDH)均购自美国 Sigma 公司;氯化钠(NaCl)、叠氮钠(NaN3)、氢氧化钠(NaOH)、盐酸(HCl)购自中国北京化工公司;三羟甲基氨基甲烷(Tris)、L-天门冬氨酸、α-酮戊二酸二钠盐、乳酸脱氢酶(LDH)、苹果酸脱氢酶(MDH)、丙酮酸钠、牛血清白蛋白均购自中国上海生工有限公司。配制成反应液 R1,启动液 R2。

1.3 方法

1.3.1 质控品的溶解方法 按照质控品复溶要求将 Randox 冻干粉质控品用 5 mL 去离子水在室温下溶解混匀呈均一态,以每 0.5 mL 分装于小型离心管中,-20℃保存;室温复溶且复溶 1 次;开启瓶塞时应严格避免冻干粉的丢失<sup>[8]</sup>。

1.3.2 测定模式的设计 按照读点时间周期及混匀时间的不同将 AST 共设计为 A~I 共 9 种不同的测定模式。模式 A:读点时间周期 15 s,混匀时间 30 s;模式 B:读点时间周期 15 s,混匀时间 45 s;模式 C:读点时间周期 15 s,混匀时间 60 s;模式 D:读点时间周期 30 s,混匀时间 30 s;模式 E:读点时间周期 30 s,混匀时间 45 s;模式 F:读点时间周期 30 s,混匀时间 60 s;模式 G:读点时间周期 18 s,混匀时间 30 s;模式 H:读点时间周期 18 s,混匀时间 45 s;模式 I:读点时间周期 18 s,混匀时间 60 s。

1.3.3 样本检测方法 依照 IFCC 参考测量程序建立 AST 改良参考方法,为不加磷酸吡哆醛方法,依照上述测定模式对样本进行检测,每天对每种模式重复测定 2 次,间隔时间大于 2 h,连续测定 20 d<sup>[9]</sup>。样本在规定的反应条件下进行测定:温度(37.0±0.1)℃;波长 340 nm;频带宽度≤2 nm;光路 10.00 mm;孵育时间 360 s;延迟时间 90 s;检测时间 180 s。

1.4 统计学处理 汇总不同测定模式的全部数据,利用 Excel 软件计算在每种测定模式下的 AST 测定结果及总不精密度(CV<sub>总</sub>)并进行比较,判断测量结果精密度是否符合参考方法精密度要求<sup>[10]</sup>。

2 结果

2.1 AST 催化活性的水平 依据动力学反应曲线和以下公式计算 AST 催化活性的水平 AST 水平= $\frac{\Delta A}{\min} \times K, \frac{\Delta A}{\min}$ 表示单位时间内吸光度的变化(线性回归计算方法)。

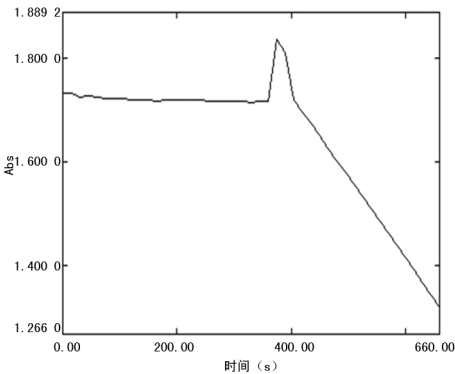


图 1 AST 动力学反应曲线

表 1 不同测定模式下 AST 测量结果及其精密度

测定模式	A	B	C	D	E	F	G	H	I
均值(U/L)	36.25	36.13	36.46	36.01	36.51	36.24	36.81	36.46	36.27
偏倚(%)	0.69	0.36	1.27	0.03	1.42	0.67	2.25	1.27	0.75
CV <sub>总</sub> (%)	0.80	0.69	1.31	1.21	0.79	1.55	1.30	0.74	1.41

**2.2 不同条件下的 AST 测量结果及其精密度** 结果发现:测定模式 B 即读点时间周期为 15 s、混匀时间为 45 s 的测定模式的 AST 测量总不精密度最小,且小于 1%,符合参考方法精密度要求;读数时间周期

相同时,延迟期混匀时间为 45 s 的测定模式下测量总不精密度最小;延迟期混匀时间相同时,读数时间周期为 15 s 的测定模式下测量总不精密度最小。见表 1~3。

表 2 不同读点时间周期的测定模式下 AST 测量结果及其精密度

测定模式	读点时间周期 15 s			读点时间周期 30 s			读点时间周期 18 s		
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
均值(U/L)	36.25	36.13	36.46	36.01	36.51	36.24	36.81	36.46	36.27
偏倚(%)	0.69	0.36	1.27	0.03	1.42	0.67	2.25	1.27	0.75
CV <sub>总</sub> (%)	0.80	0.69	1.31	1.21	0.79	1.55	1.30	0.74	1.41

表 3 不同混匀时间的测定模式下 AST 测量结果及其精密度

测定模式	混匀时间 30 s			混匀时间 45 s			混匀时间 60 s		
	A	D	G	B	E	H	C	F	I
均值(U/L)	36.25	36.01	36.81	36.13	36.51	36.46	36.46	36.24	36.27
偏倚(%)	0.69	0.03	2.25	0.36	1.42	1.27	1.27	0.67	0.75
CV <sub>总</sub> (%)	0.80	1.21	1.30	0.69	0.79	0.74	1.31	1.55	1.41

注:偏倚指测定结果均值与质控品所示目标值的偏倚。

3 讨 论

临床生化检验为临床实验室工作的重要内容,其中临床酶学检验又为临床生化检验的重要组成部分。精密度是检验系统重要的分析指标,是检验结果准确度的前提<sup>[11-12]</sup>,临床医师看重的是同一份标本在不同检测时间段的重复性,如果同一份标本在不同检测时间段的检测结果差异很大,临床医生及患者就会不相信实验室的检测结果<sup>[13]</sup>,从而影响临床决策、患者安全及检验科自身的发展。因此,提高检测结果的精密度,保证分析性能满足临床检测要求是检验室日常工作的重要一部分。

本实验从 AST 的读点时间周期及延迟期的混匀时间着手,探讨不同测定模式对 AST 测量结果精密度的影响。从实验结果来看,在读点时间周期为 15 s、延迟期混匀时间为 45 s 的测定模式 B 下,AST 的测量结果不精密度最小,为 0.69%,小于参考方法设定目标值。按照读点时间周期的不同将 9 种测定模式分为 3 组可以发现,每组中即读点时间周期相同的情况下,不精密度最小的为混匀时间为 45 s 的混匀模式,而混匀时间为 30 s 和 60 s 时精密度不好可能是因为混匀时间过短和混匀时间过长。混匀时间过短会造成反应体系混匀不充分,而混匀时间过长影响精密度可能有两方面原因:(1)检测时间段一致的情况下,混匀时间过长则反应体系静止时间缩短,即在反应体系还未稳定时即开始进行比色测定,直接影响测定结果的稳定性<sup>[5]</sup>;(2)半自动生化分析仪加 R2 试剂时需开盖,这样室温就会影响比色杯内反应体系的温度<sup>[14]</sup>,且混匀时间越长,对反应体系的影响就越大。

按照延迟期混匀时间的不同将 9 种测定模式继续分为 3 组可以看出,每组中即在延迟期混匀时间相同的情况下,读数时间周期为 15s 的测定模式下 AST 测定不精密度最小,可能原因为读数时间周期越短,相同检测时间段内所读取的点越多,采用线性回归计算单位时间内吸光度变化所得值就越接近。另外,参考方法为纯手工操作,因此酶学测定结果还会受实验室环境、操作人员等的不同的影响<sup>[15-16]</sup>,不同实验室的酶学最佳测定模式也可能有所不同。

从本实验结果来看,测定模式的差异对 AST 测量结果精密度有明显的影响,不同酶学指标的精密度最好的测定模式可能不同。实验室应探索适合自己的酶学测定模式,对每个酶学指标的测定模式进行具体探讨,完善参考测定程序中的测定条件,提高酶学测量结果的精密度。

参考文献

[1] 孙慧颖,邵燕,刘淑明,等. 系统测量程序评价校准模式和样品复融对血糖等 26 个临床生化项目测量结果精密度的影响[J]. 中华检验医学杂志,2018,41(2):149-154.

[2] 李芳. 肝损伤酶活性联合检测在肝胆疾病诊断中的临床意义[J]. 检验医学与临床,2018,15(12):1833-1835.

[3] 齐天琪,汪静,陈文祥. 血清酶学检测标准化和溯源性进展[J]. 国际检验医学杂志,2018,39(16):2046-2049.

[4] 郑松柏,庄俊华,张秀明. 临床酶学参考系统研究进展[J]. 临床检验杂志,2008(4):309-311.

[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] SCHUMANN G,BONORA R,CERIOTTI F, et al. IFCC primary reference procedures for IFCC primary reference

- procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C, Part 5, reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of aspartate aminotransferase [J]. Clin Chem Lab Med, 2002, 40(7): 725-733.
- [7] 刘春龙, 胡滨, 孙慧颖, 等. 不同混匀模式对乳酸脱氢酶参考方法测量结果的影响[J]. 临床检验杂志, 2014, 32(10): 788-789.
- [8] 王民玉, 贺仆, 许苗. 影响 Roche 生化 QCS 的因素及分析[J]. 医学检验与临床, 2006, 17(4): 88-97.
- [9] National Committee for Clinical Laboratory Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of Clinical chemistry devices: approved guideline-second edition: EP5-A [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 1999.
- [10] 郑松柏, 庄俊华, 林莉, 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.
- [11] 周龙, 谭玉洁. 全自动生化分析仪检测系统精密度和准确度性能验证[J]. 中国医药指南, 2018, 16(10): 1-3.
- [12] 王晶, 宋昌盛. 浅议准确度、正确度和精密度的[J]. 科技资讯, 2011, 9(25): 236.
- [13] 赵建忠. 生化分析仪精密度的、准确性以及线性范围性能验证[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(10): 1111-1112.
- [14] 齐志宏. 天门冬氨酸氨基转移酶(AST)和丙氨酸氨基转移酶(ALT) 37°C 参考测定程序的建立及其临床应用[D]. 北京: 中国协和医科大学, 2006.
- [15] 迟珊, 沈默, 杨桂花, 等. 天门冬氨酸氨基转移酶参考方法建立及性能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(8): 934-935.
- [16] 邸茜, 张芳, 齐志宏, 等. 乳酸脱氢酶(LDH) 37°C 参考方法的建立及其临床应用[J]. 现代检验医学杂志, 2010, 25(3): 19-21.
- (收稿日期: 2019-07-13 修回日期: 2019-10-29)
- 短篇论著 •

## 血小板和凝血功能筛查对复发性流产监测的临床意义研究

舒利琼, 冉 曦, 杜春兰, 项贵明<sup>△</sup>

(陆军军医大学第二附属医院检验科, 重庆 400037)

**摘要:**目的 研究复发性流产与正常妊娠血小板计数(PLT)、凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(Fbg)、D-二聚体、抗凝血酶Ⅲ(ATⅢ)水平变化情况, 探讨血小板与凝血功能改变对复发性流产监测的临床价值。方法 回顾性分析该院 2015—2018 年复发性流产患者(RM 组) 179 例, 同期同年龄段 160 例正常妊娠体检者(NP 组)和 150 例女性健康体检者(对照组)作为对照, 对各组 PLT、PT、APTT、Fbg、D-二聚体、TT 和 ATⅢ进行统计学分析。结果 RM 组与 NP 组比较: PLT、Fbg、D-二聚体和 ATⅢ显著升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), PT 和 APTT 无明显变化, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); RM 组与对照组比较: PLT、PT、APTT 显著降低, Fbg、D-二聚体和 ATⅢ显著增高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); NP 组与对照组比较: PLT、PT、APTT、ATⅢ显著降低, 而 Fbg 和 D-二聚体显著升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 三组 TT 无显著变化, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 复发性流产患者血小板和凝血功能较正常妊娠明显增强, 临床定期监测妊娠血小板和凝血功能改变对复发性流产患者诊断和病情监测具有重要参考意义。

**关键词:** 血小板; 凝血; 复发性流产; 纤维蛋白原; D-二聚体

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.03.029

**中图法分类号:** R446.11

**文章编号:** 1673-4130(2020)03-0366-03

**文献标识码:** B

由于妊娠期血容量增大等生理变化, 产妇止凝血较健康人群更复杂, 因此临床医生应全面把握正常和异常妊娠止凝血变化。在欧美国家, 复发性流产通常指妊娠 20 周前连续 3 次或 3 次以上的自然流产(在中国为妊娠 28 周前), 在妊娠中发病率约 0.5%~1.0%<sup>[1-2]</sup>。目前复发性流产的发病机制尚未完全清楚, 主要包括基因、免疫、感染和止凝血因素<sup>[3]</sup>。有研究认为, 遗传性或获得性血栓和/或凝血功能障碍时,

血管微血栓形成导致胎盘发育和功能受损可能导致流产<sup>[4]</sup>。由于复发性流产病因复杂且缺乏特异性临床表现, 临床医生在对妊娠期常规监测过程中需进行一系列筛查。当前中国在对妊娠期常规监测的实验室检查项目主要是血常规和凝血, 故本文将探讨临床常用的几个止凝血指标: 凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(Fbg)、D-二聚体、抗凝血酶Ⅲ(ATⅢ)在正常孕

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: 1598225545@qq.com。

本文引用格式: 舒利琼, 冉曦, 杜春兰, 等. 血小板和凝血功能筛查对复发性流产监测的临床意义研究[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(3):