

# 精浆天门冬氨酸氨基转移酶活性检测及方法学评价\*

彭 明, 顾向明(广州中医药大学附属中山中医院检验科, 广东中山 528400)

**【摘要】 目的** 建立精浆天门冬氨酸氨基转移酶(AST)活性的检测方法及方法学评价。**方法** 根据检测血清 AST 活性的方法建立检测精浆 AST 活性的方法。参考美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)的 EP5-A 和 EP6-A 文件, 观察其精密度、线性检测范围及不同技术人员检测结果之间的差异以评价方法的可接受性。**结果** 低水平样本批内变异系数(CV)为 1.93%, 批间 CV 为 2.77%, 日间 CV 为 3.45%, 总 CV 为 4.84%; 高水平样本批内 CV 为 0.48%, 批间 CV 为 0.53%, 日间 CV 为 0.53%, 总 CV 为 0.89%。线性检测范围达 1 652 U/L。2 位技术人员的检测结果差异无统计学意义( $P=0.423$ )。**结论** 通过血清 AST 检测方法可以建立可接受的精浆 AST 活性检测方法。

**【关键词】** 天门冬氨酸氨基转移酶; 精浆; 实验室技术和方法

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.05.002 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)05-0516-02

**Determination of AST activity in seminal plasma and methodology evaluation\*** PENG Ming, GU Xiang-ming (Department of Clinical Laboratory, Zhongshan Hospital of TCM, Guangzhou University of Chinese Medicine, Zhongshan, Guangdong 528400, China)

**【Abstract】 Objective** To establish the method of seminal plasma aspartate aminotransferase(AST)activity determination and the methodology evaluation. **Methods** The method of seminal plasma AST activity determination was established by the method of serum AST activity detection. According to National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS)document EP5-A and EP6-A, its precision and linearity and the difference of the results between different technicians were also observed to evaluate the acceptability of the method. **Results** The intraassay coefficient of variation(CV)was 1.93%, inter-assay CV was 2.77%, between-day CV was 3.45%, total CV was 4.84% for low level sample. The intraassay CV was 0.48%, inter-assay CV was 0.53%, between-day CV was 0.53%, total CV was 0.89% for high level sample. The linearity was 1652 U/L. There was no significant difference in the AST activity detected by 2 technicians( $P=0.423$ ). **Conclusion** The acceptable method of seminal plasma AST activity determination could be established by the method of serum AST activity detection.

**【Key words】** seminal plasma; aspartate aminotransferase; laboratory techniques and procedures

精子含有各种酶类, 其中包括脱氢酶类和转移酶类, 这些酶在精子发生和受精过程中起着重要的作用。在精子冷冻、解冻过程中, 精子质膜的破坏必然伴随着精子内容物的丢失, 其中包括酶的渗漏<sup>[1-3]</sup>。在精子中存在着天门冬氨酸氨基转移酶(AST)及其同工酶<sup>[4]</sup>。精子在冷冻保存时, 渗漏的 AST 可作为冷冻损伤程度的指示物<sup>[3]</sup>。AST 是精液质量和精子受精能力评估的重要酶类。对于采用速率法检测精浆中的 AST 活性, 极少有文献报道。本实验根据检测血清 AST 活性的速率法建立检测精浆 AST 活性的方法, 并参考美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)临床化学设备精密度性能的评价(EP5-A)<sup>[5]</sup>、定量分析方法线性的评价(EP6-A)<sup>[6]</sup>文件, 观察其精密度、线性检测范围及不同技术人员检测结果之间的差异, 以评价方法的可接受性。

## 1 资料与方法

**1.1 仪器** HITACHI 7600-120 全自动生化分析仪。

**1.2 试剂** 采用日本和光公司提供的 AST 速率法试剂盒和定标液及英国朗道公司提供的质控品。

**1.3 样本来源** 精液样本来自本院男科门诊患者。手淫留取样本, 液化后 3 500 r/min 离心 15 min 分离精浆, 检测精浆

AST 活性。

**1.4 精浆 AST 活性检测** 根据血清 AST 活性的检测方法, 精浆直接上机检测 AST 活性, 同时测定质控品。

## 1.5 方法学评价

**1.5.1 精密度评价** 依据 EP5-A 文件。选取 2 份精浆(低水平样本为 44 U/L, 高水平样本为 280 U/L), 每天测定 2 次, 2 次测定间隔不少于 2 h。每次测定对样本均作双份检测, 共测定 20 d。每天测定至少做一个质控。分析低水平样本与高水平样本的总不精密度[包括批内、批间、日间和总变异系数(CV)]。

**1.5.2 线性检测范围评价** 依据 EP6-A 文件。选取 1 份患者精浆作为高值样本(H), 浓度为 413 U/L。取 1 份患者精浆加少量蒸馏水作为低值样本(L), 浓度为 22 U/L。H 和 L 样本按 4L、3L+1H、2L+2H、1L+3H、4H 配成系列样本。将预期值与实测值进行比较。每个样本重复测定 4 次( $Y_1 \sim Y_4$ ), 以预期值为横轴 X、实测值为纵轴 Y, 用直线回归统计处理结果, 直线所达的限值即为该方法结果的可报告范围。依据 EP6-A 文件要求, 在判断线性性能时要对实验数据的可靠性进行考核。所以必须进行组内离群点检验, 计算结果小于判断限

\* 基金项目: 广东省中山市科技计划项目资助课题(20102A061)。

0.765(0.05)或 0.889(0.01), 则无离群点。如果出现离群点, 依据 EP6-A 文件允许从分析数据中删除离群点, 再进行直线回归统计。同时要检验各组重复数据组间的方差大小是否比较一致, 从而判断线性是否真实, 计算结果小于判断限 0.598 1 (0.05)或 0.695 7(0.01), 则各组间离散程度较为均衡, 不会影响线性的判断。

**1.5.3 不同技术人员检测结果的差异比较。** 随机选取精液样本 10 例, 均分为 2 份, 分别由 2 位技术人员检测精浆 AST 活性, 进行结果差异比较。

**1.6 统计学方法** 采用 SPSS13.0 统计软件作相应统计。以连续变量的统计描述与参数估计作精密度评估; 以直线回归分析进行可报告范围评估; 不同技术人员检测精浆 AST 活性的结果差异比较采用配对 *t* 检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 精密度评估** 速率法测定精浆 AST 活性总不精密度评价结果见表 1。

表 1 速率法测定精浆 AST 活性总不精密度评价结果

样本	$\bar{x}$ (U/L)	批内		批间		天间		总	
		<i>s</i>	CV(%)	<i>s</i>	CV(%)	<i>s</i>	CV(%)	<i>s</i>	CV(%)
低水平样本	44	0.85	1.93	1.22	2.77	1.52	3.45	2.13	4.84
高水平样本	280	1.34	0.48	1.47	0.53	1.47	0.53	2.50	0.89

**2.2 线性检测范围评估** 速率法测定 AST 活性的线性检测范围评价结果, *X* 为 AST 活性的预期值,  $Y_1 \sim Y_4$  为 AST 活性 4 次重复测定的实测值, 见表 2。对实验数据进行组内离群点检验和组内变异均方差检验的计算结果均小于 0.05 的判断限, 不会影响线性的判断。速率法测定精浆 AST 活性的线性检测范围直线回归方程为  $Y = 0.989 5X - 22.965$ ,  $r^2 = 0.999 2$ , 线性检测范围达 1 652 U/L。

表 2 精浆 AST 可报告范围的预期值和实测值 (U/L)

预期值(X)	88	479	870	1 261	1 652
Y1	90	432	834	1 232	1 627
Y2	87	430	830	1 228	1 626
Y3	86	427	826	1 220	1 620
Y4	82	423	824	1 216	1 618
Y	86.2	428	828.5	1 224	1 622.7

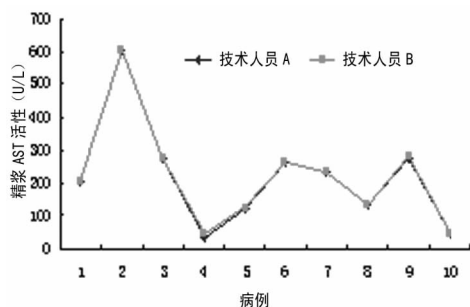


图 1 2 名技术人员精浆 AST 测定结果的比较

**2.3 不同技术人员检测结果的差异比较** 2 名技术人员对 10 例精浆标本的 AST 活性检测结果见图 1。2 名技术人员检测

的 AST 活性分别为  $(218.9 \pm 162.7)$  U/L 和  $(219.7 \pm 161.2)$  U/L, 二者比较差异无统计学意义 ( $t = -0.840, P = 0.423$ )。

**3 讨 论**

在精子中存在着 AST 及其同工酶, 分为 AST 胞质同工酶 (c-AST) 和 AST 线粒体同工酶 (m-AST) 等, 检测精浆中这两种同工酶可反映精子的不同损伤<sup>[4]</sup>。即测定精浆中的 c-AST 可反映精子膜的损伤, 测定精浆中的 m-AST 可反映精子线粒体的损伤。因此, 检测精浆 AST 活性对辅助诊断男性不育可能有重要意义。

采用速率法测定精浆 AST 的活性, 容易在自动生化分析仪上操作, 具有简单、快速、易标准化的特点, 为临床检测精浆 AST 活性提供了极大方便。本实验依据 NCCLS 制定的评价方案, 对速率法测定精浆 AST 活性的精密度、线性检测范围进行方法学评价, 同时对不同技术人员检测结果之间的差异作出评价。结果显示低水平样本批内 CV 为 1.93%、批间 CV 为 2.77%、天间 CV 为 3.45%、总 CV 为 4.84%, 高水平样本批内 CV 为 0.48%、批间 CV 为 0.53%、天间 CV 为 0.53%、总 CV 为 0.89%。精密度的评价采用美国临床医学检验部门修正法规 (CLIA'88) 的 1/4 允许误差范围为批内不精密度判断限, 1/3 允许误差范围为批间、天间和总不精密度的判断限。本实验的低水平和高水平样本的批内 CV 均小于 5%, 批间 CV、天间 CV、总不精密度 CV 均小于 6.67%, 且 2 名技术人员的检测结果之间差异无统计学意义 ( $P = 0.423$ ), 所以本实验的总不精密度属可接受。而线性检测范围达 1 652 U/L, 稍高于试剂说明书给出的线性范围 ( $< 1 600$  U/L)。所以在遇到高浓度样本时, 需要稀释一定倍数后再进行测定, 以保证结果的准确性。

总之, 通过血清 AST 检测方法可以建立可接受的精浆 AST 活性检测方法。

**参考文献**

- [1] Alvarez JG, Storey BT. Evidence for increased lipid peroxidative damage and loss of superoxide dismutase activity as a mode of sublethal cryodamage to human sperm during cryopreservation[J]. J Andrology, 1992, 13(3): 232-241.
- [2] Zhu WJ, Liu XG. Cryodamage to plasma membrane integrity in head and tail regions of human sperm[J]. Asian J Androl, 2000, 2: 135-138.
- [3] Mortimer D, Bramley TA. Glutamic-oxalacetic transaminase leakage from human spermatozoa as an indicator of cryodamage [J]. Arch Androl, 1981, 6(4): 337-341.
- [4] Mortimer D, Johnson AV, Long-Simpson LK. Glutamic-oxalacetic transaminase isozymes in human seminal plasma and sperm extracts[J]. Int J Fertil, 1988, 33(4): 291-295.
- [5] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices[S]. Wayne, Pennsylvania; EP5-A, NCCLS, 1999.
- [6] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of the linearity of quantitative analytical methods[J]. Wayne, Pennsylvania; EP6-A, NCCLS, 1986.