

血清酶检测 K 因子的探讨分析

恽志华(江苏省常州市武进人民医院检验科 213162)

【摘要】 目的 探讨血清酶校准品及定值质控血清在室内质量控制中的溯源性,建立血清酶检测 K 因子的可靠方法。**方法** 在 Olympus AU-5400 全自动生化分析仪上用贝克曼酶复合校准品以单点定标方式定标和理论校准参数 K 因子法对定值质控血清检测,分别测定定值质控血清中的丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LD)、 γ -谷氨酰转移酶(γ -GT)等 6 种酶的活性,比较其 X 和相对偏倚(D%)。**结果** 使用校准品检测 ALP、LD、ALT、AST、CK 所得实际 K 因子与理论 K 因子差异巨大,只有 γ -GT 所得实际 K 因子与理论 K 因子相对偏倚小于 3.5%。**结论** 血清酶校准品校准后检测定值质控血清与定值标示结果非常相近,显示用酶校准品校准检测血清酶的方法具有较好的溯源性,在无血清酶校准品时,甚至可以用定值质控血清代替以校准理论 KS 值。

【关键词】 溯源; 血清酶校准品; 定值质控血清; K 因子

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.22.044 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)22-3189-02

国际标准化组织(ISO)文件 ISO17511 和 ISO18153 对临床检验工作中的量值溯源进行了说明,认为量值溯源的关键是采用参考系统,即通过采用参考测量程序或参考物质的方法,对临床检验结果的准确性进行验证。参考系统除包括参考测量程序和参考物质外,还包括从事参考测量的实验室^[1]。在开展临床检验工作的医学实验室中,约 15% 的实验室存在因标准品误差而导致检测准确度不合格的现象^[2]。在这种情况下,本组利用贝克曼原装配套酶复合校准品定标 6 种酶类[丙氨酸氨基转移酶(ALT)、肌酸激酶(CK)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LD)、碱性磷酸酶(ALP)、 γ -谷氨酰转移酶(γ -GT)],所得实际 K 因子和理论参数 K 因子值对同一定值质控血清中 6 种酶测定结果进行比较,为定值质控血清和酶校准品在室内质控中的应用及溯源性的影响因素研究提供试验数据。

1 材料与与方法

1.1 仪器与试剂 日本 Olympus AU-5421 全自动生化分析仪;由贝克曼公司提供原装试剂 ALT(OSR6107)、AST(OSR6109)、ALP(OSR6104)、GGT(OSR6120)、CK(OSR6179) LD(OSR6128)。定值质控血清由伯乐(Bio-Rad)公司提供(Liquid Assayed Multiqual)血清,批号分别为 45663(下称质控高值)和 45662(下称质控中值),血清酶校准品为贝克曼公司提供的原装酶复合校准品(Beckman Coulter System Calibrator L66300-0115-ML01),批号为 66300。

1.2 方法

1.2.1 理论 K 因子法测定 按仪器、试剂的操作要求输入理论 K 因子值,进行定值质控血清高值和中值的测定,重复 3 次取平均值。理论 K 因子的换算方法:

$$K \text{ 因子} = \frac{\text{反应物总体积}}{\text{样品体积} \times \text{比色杯光径} \times \text{显色物摩尔吸光度}}$$

1.2.2 酶校准品实际校准后测定 用酶校准品进行校准后根据实际 K 因子检测定值质控血清高值和中值,重复 3 次取平均值。

2 结果

2.1 用贝克曼原装酶复合校准品进行校准得到实际 K 因子,

同时通过计算得到理论 K 因子。见表 1。

表 1 各指标实际校准 K 因子与理论计算 K 因子

酶种类	实际校准 K 因子	理论计算 K 因子	相对偏倚(%)
ALT	4 974	6 967	28.6
AST	4 768	6 967	31.6
ALP	4 398	5 555	20.8
GGT	5 349	5 516	3.0
CK	4 842	6 967	30.5
LD	10 152	14 558	30.3

2.2 分别检测 6 种酶中值和高值结果,并与伯乐公司提供的结果进行比较,见表 2。

表 2 各指标中值和高值标本检测结果

酶种类	实际校准 K 因子法结果		理论计算 K 因子法结果		伯乐标示预期结果	
	中值	高值	中值	高值	中值	高值
ALT	89	200	124	280	90	204
AST	111	254	146	334	114	258
ALP	166	305	209	385	169	310
GGT	88	140	91	144	87	139
CK	283	670	407	960	274	656
LD	167	393	239	563	172	407

2.3 从表 1、2 中可以看出利用贝克曼原装复合校准品进行校准测得的 ALT、AST、ALP、CK、LDH 实际校准 K 因子与理论计算 K 因子之间的相对偏倚达 20.0%~30.0%,只有 GGT 之间相对偏倚为 3.0%。以实际校准校准所得 K 因子检测美国伯乐公司提供的中值和高值定值质控品,得知 ALT、AST、ALP、GGT、CK、LDH 检测值均接近于伯乐公司提供的标示预期结果,而使用理论 K 因子的检测结果明显与伯乐公司提供结果相差巨大,其相对偏倚达 20.0%~30.0%,其中 ALT、AST、CK、LD 相差尤为明显。

3 讨 论

目前,外周血中酶成分的测定通常是通过测量其催化反应的速度而进行定量检测,以酶催化浓度表示。与利用免疫反应原理,将酶视为蛋白质进行检测相比,酶促反应检测的优点在于快速、敏感度高、特异性强等。然而,酶催化浓度是一种相对结果,结果的准确性依赖于检测原理、单位的定义和检测条件,具体而言,其影响因素包括(1)酶促反应的底物、辅因子、变构剂、活化剂的种类和浓度;(2)在采用偶联酶促反应检测原理时,涉及的辅助酶和指示酶的种类和浓度;(3)反应体系的 pH、离子强度和缓冲剂种类;(4)其他因素,如抑制剂、杂酶等。上述因素中的任何一项发生变化,均有可能导致测定结果的改变。由于影响酶促反应的因素较多,导致临床检验工作中,酶成分检测的质量控制效果较其他生化项目相对较差^[3]。

为了提高酶成分检测结果的准确性和精密度,确保检测结果在不同方法学之间和不同实验室之间具有可比性,消除酶成分参考范围不一致的问题,提高酶成分检测的标准化程度势在必行。目前,国内外主要采用两种方法实现酶成分检测的标准化,即使用推荐方法或者使用经参考方法定值的酶参考物以校正常规检测方法^[4]。

国际临床化学联合会(IFCC)最早于 1979 年颁布了血清(血浆)酶催化浓度检测方法总则,并于 1985 年制定了 AST 和 ALT 检测的推荐方法^[5-7]。随后,某些国家或地区相继颁布了 GGT、ALP、CK、LDH 检测的推荐方法,但与 IFCC 的推荐方法相比,均存在一定程度的差异。通过使用推荐方法,酶测定的规范化、一致化程度有所提高,不同实验室间的检测结果也具有了可比性,检测结果的准确性和精密度也有了明显提高。然而,即使如此,针对同一种酶成分,目前尚无法实现推广采用推荐的单一方法的目标。

本次研究拟通过具有溯源的定值质控血清及血清酶校准品在实际工作中的应用,探讨酶校准物实际检测 K 因子与理论计算 K 因子的差异。比较使用血清酶校准品定标后测定定值血清 6 种酶(ALT、AST、ALP、GGT、CK、LDH)结果有无明显差异,分析发现只有 GGT 的偏离程度小于 3.5%,其种 5 种酶(ALT、AST、CK、ALP、LD)的相对偏倚均达 20.0%~30.0%,其结果有明显差异。使用校准品所得 K 因子检测 6 种血清酶均值与伯乐定值质控血清标示值间的相对偏倚均小于 3.5%,表明这 6 种酶与国际公认质控品有较好的相关性,另外通过近几年参加省级室间质量控制考评均取得了优异的成绩。

目前,大多数临床实验室在测定血清酶活性时不用校准品,而是根据仪器系统特性,用理论给定的 K 因子值计算酶的活性。而有的酶(如腺苷脱氨酶、肌酸激酶同工酶等)没有酶校准品,有的酶甚至连质控品都没有。这样可能与真实值有 4.5%~67.6% 的误差。虽然 IFCC 推出了血清酶活性的方法,可因每天仪器比色杯吸光度的变化、酶试剂稳定性的原因及其吸光度发生变化,测定结果的相对偏倚、离散程度也较大,需要进行校正后消除干扰因素,测定结果才能接近真实值。为此,ISO 于 1999 年起草了 5 个相关标准,ISO/DIS 18153 “酶催化浓度校准物质和质控物质定值的计量学溯源性”为其中标准之一。因此,首先建议用酶校准品进行定标,以消除测量值与

真实值之间的偏差。但由于酶为生物催化剂,稳定性差,而其标准物质的研制工作极为困难,进展缓慢^[8-9]。近几年 IFCC 组织多家国际实验室合作。对过去的 IFCC 酶催化浓度测量过程进行了修改和优化,包括 ALT、AST、AMY、CK 等,并对原参考物质重新定值。因而具有溯源性的酶校准品价格也较昂贵,经常使用会大大增加检验成本。尽管国际著名生产质控品的伯乐公司曾直截了当地宣布:“伯乐公司所有的控制品定值均不具有计量上的可追溯性,这完全符合 ISO17511 的要求”^[10]。但作为国内广大的实验室还大多数以此为标准,否则更加缺乏可比性。本组选择了国内较常用的全自动生化分析仪、原装配套试剂、定值质控血清和原装复合酶校准品,同时发现伯乐定值质控血清有许多优点:它是用与校准物相同的介质制备的,具有较好的稳定性和重复性,其作用主要是控制仪器的稳定性,以保证仪器、试剂、工作环境具有高度的稳定性;在缺乏酶校准品的情况下可以替代酶校准品。而校准物是根据权威或官方所制定的参考物为标准、具有较好准确性的标示物,用以校正仪器或方法准确性,使测定结果尽可能接近真实值,通过参加室间质量评价也获得了满意的结果。同时,相关部门应该明文禁止使用理论 K 因子的方法进行血清酶检测,只有这样才能为临床提供可靠的结果。

参考文献

- [1] 陈文祥. 临床检验量值溯源与参考系统[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(1): 17-19.
- [2] 叶应妩, 王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 南京: 东南大学出版社, 1999: 260.
- [3] 文庆成. 酶活性连续监测法的理论分析和实验探讨[J]. 化学试剂, 1990, 4(2): 196-202.
- [4] Moss DW. Standardisation of enzyme measurements[J]. Labquality News, 1997, 1(3): 810-817.
- [5] Bowers JR, Bergmeyer HU, Morder M, et al. Approved recommendations on IFCC methods for the measurements of catalytic concentrations of enzymes. part 1. General considerations concerning the blood serum or plasma of man[J]. Clin Chim Acta, 1979, 98: 163-174.
- [6] Bergmeyer HU, Horder M, Rej R. IFCC methods for aspartate aminotransferase[J]. J Clin Chem Clin Biochem, 1986, 24: 497-510.
- [7] Bergmeyer H, Horder M, Rej R. IFCC method for alanine aminotransferase[J]. Clinica Chimica Acta, 1980, 105(1): 171-172.
- [8] 罗佩. 临床化学方法学评价[M]. 北京: 兰州大学出版社, 1996: 80.
- [9] 周新. 检验医学考核指南[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 2000: 412.
- [10] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 2 版. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2007: 65.