

标准化血清肌酐检测方法及南京地区健康儿童血清肌酐参考值的建立

郭一迪¹, 钱婷婷¹, 张云霞¹, 王丹霞¹, 张国英¹, 冯泉城^{2*}

¹南京市中西医结合医院检验科, 江苏 南京 210014; ²南京医科大学附属儿童医院肾内科, 江苏 南京 210008

[摘要] 目的: 确定血清肌酐标准化测定方法, 应用标准法测定南京地区健康儿童血清肌酐并建立参考值范围。方法: 同位素稀释液相色谱法确定肌酐测定标准法, 应用标准法测定 7 037 例健康儿童血清肌酐值, 并按年龄和性别分组统计, 以确立儿童血清肌酐的参考值范围。结果: 肌氨酸氧化酶法较苦味酸法更能反映肌酐真值。青春期不同性别儿童的血清肌酐水平男性组较女性组增高, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 其余各期不同性别之间差异无统计学意义。按年龄分期, 除婴儿期与幼儿期差异无统计学意义外, 其余各期之间差异均有统计学意义($P < 0.05$), 且随年龄增加逐渐增高。各组血清肌酐参考值为: 新生儿期 15.5~33.2 $\mu\text{mol/L}$, 婴儿期 12.8~29.4 $\mu\text{mol/L}$, 幼儿期 16.3~31.7 $\mu\text{mol/L}$, 学龄前期 20.5~42.0 $\mu\text{mol/L}$, 学龄期 25.9~54.6 $\mu\text{mol/L}$, 男性青春期 42.6~87.2 $\mu\text{mol/L}$, 女性青春期 34.0~72.8 $\mu\text{mol/L}$ 。结论: 不同性别不同年龄的儿童血清肌酐参考值差异有统计学意义, 针对这一特殊人群应建立合理的参考值范围, 以更好地明确诊断及判定预后。

[关键词] 肌酐; 儿童; 肌氨酸氧化酶法

[中图分类号] R446.11

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2018)10-1398-03

doi: 10.7655/NYDXBNS20181013

当前, 儿科肾脏病专业医生面临的一个突出问题是慢性肾衰竭(chronic renal failure, CRF)。由中华医学会儿科学分会肾脏病学组领导的全国范围内 1990—2002 年 0~14 岁住院儿童 CRF 的回顾性调查显示, 确诊 CRF 者占住院各种泌尿系统疾病的 4%, 且以年平均 13.67% 的速度递增, 因此早期诊断慢性肾脏病, 延缓其进展至 CRF 就显得至关重要。

肾小球滤过率(glomerular filtration rate, GFR)不仅是慢性肾脏病诊断及分期的重要依据, 而且是评价肾脏病进展速度和干预效果、药物剂量调整以及决定开始肾脏替代治疗的参考指标。美国慢性肾脏病及透析临床实践指南推荐的 GFR 估算方法, 均以血清肌酐为基础, 因此, 真实、准确的血清肌酐值是正确评估 GFR 的基础^[1-2], 而明确儿童血清肌酐正常参考值, 更早期界定异常血清肌酐就显得尤为重要。遗憾的是, 目前血清肌酐参考值的数据主要来源于成人, 这些参考值并不适用于儿童^[3], 并不能帮助儿科医生(尤其是非肾脏专科医生)更早期发现肾功能异常。

目前检测肌酐的方法一般为苦味酸法(简称化学法)^[4]和肌氨酸氧化酶法(简称酶法)^[5]。有很多

报道显示, 化学法与酶法测定的肌酐结果之间并非线性关系。在实际临床工作中, 由于血清肌酐检测方法、检测仪器的差别, 造成了不同临床实验室的血清肌酐测定数值的偏差。在国家推行三级转诊的大前提下, 不同医院、实验室之间的检测结果不能互认仍然是一个巨大的现实阻碍, 因此, 血清肌酐检测的标准化势在必行^[6]。目前国际上已建立的肌酐参考方法包括由比利时根特大学、德国临床化学学会、美国国家标准和技术研究院建立的 3 种同位素稀释气相色谱质谱法(ID-GC/MS)和英国政府化学家实验室建立的同位素稀释液相质谱法(ID-LC/MS)^[7], 但 ID-GC/MS 或 ID-LC/MS 价格昂贵, 不适合常规性检验, 一般仅用于科学研究。本研究拟对同位素稀释液相质谱法(简称同位素法)、酶法和化学法血清肌酐检测结果的可比性进行分析, 为临床实验室不同检测系统肌酐检测结果的一致性提供参考; 同时调查南京市较大样本的健康儿童, 对其血清肌酐应用标准方法进行测定, 以求建立本地区儿童血清肌酐参考值范围。

1 对象和方法

1.1 对象

选择 2014 年 6 月—2017 年 6 月在本院及南京

[基金项目] 南京市卫计委科技发展项目(YKK14162)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: williamvon@126.com

医科大学附属儿童医院健康体检的南京地区儿童,经全身体检,无明显肝、肾疾病及其他影响血清肌酐水平的疾病者纳入研究;后期检测中有肌酐异常增高者,按照 Schwartz 公式计算内生肌酐清除率(Ccr) $<60\text{ mL}/(\text{min}\cdot 1.73\text{m}^2)$ 者予以剔除。最后共纳入 7 037 例,其中男 4 353 例、女 2 684 例,年龄 0~18 岁。所有儿童按年龄分为 7 组,不同年龄组又按性别分为男女两组。新生儿期组:14~28 d(0~14 d 新生儿因血肌酐水平受母体水平影响较大,未列入研究对象),男 418 例、女 264 例;婴儿期组:1~12 个月(不包括整 12 月幼儿),男 565 例、女 290 例;幼儿期组:1~3 岁(不包括整 3 岁幼儿),男 792 例、女 468 例;学龄前期组:3~7 岁(不包括整 7 岁儿童),男 948 例、女 486 例;学龄期组:7~13 岁(不包括整 13 岁少年),男 946 例、女 528 例;青春期组:13~18 岁(不包括整 18 岁青年),男 684 例、女 648 例。

1.2 方法

清晨空腹采集静脉血 2 mL,1 h 内分离血清,并于 4 h 内检测完毕。标本无溶血、脂血。

酶法采用上海科华生物工程有限公司的肌酐试剂盒,按试剂盒说明书设置西门子 VersaCell 全自动生化分析仪的测定参数,检测前用试剂配套定标液进行定标。将伯乐定值质控血清随标本一起测定。

化学法采用上海科华-东菱试剂及其校准品,按试剂盒说明加样后全自动生化分析仪测定。

同位素法采用液相色谱串联质谱联用系统(包括高效液相色谱仪 Agilent 1200、串联三重四极杆质谱仪 API 4000 和 Analyst I.4.2 数据处理软件)。

1.3 统计学方法

应用 SPSS17.0 统计软件进行分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。对所有数据进行正态性检验,男女组不同年龄段之间采用方差分析,并进一步采用 SNK 检验进行多组间均数的比较,同组男女均数比较用 t 检验,总体参考范围由 $\bar{x}\pm 2s$ 算出,相关性分析采用 Pearson 相关分析。 $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同检测方法的检测结果比较

随机抽取 100 份样本,分别用同位素稀释液质谱法、酶法和化学法血清肌酐检测。结果显示酶法较化学法更能反映肌酐真值(图 1)。

2.2 不同性别、年龄组血清肌酐的浓度

所有各组调查对象测得的肌酐值符合正态分

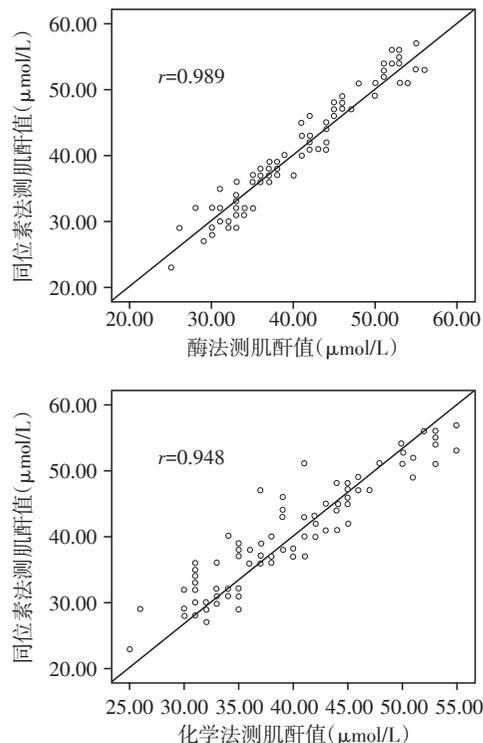


图1 不同检测方法的检测结果相关性

布,其中青春期组男女肌酐值差异有统计学意义($P<0.01$,表 1),男性组肌酐水平较女性组增高,其余各年龄组男女肌酐值差异无统计学意义($P>0.05$)。

按不同年龄组进行两两比较,除新生儿期组与幼儿期组差异无统计学意义外($P=0.864$),其余各组两两比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。新生儿期肌酐浓度水平较高,其后的婴儿期肌酐浓度水平最低,从婴儿期开始,肌酐浓度水平随着年龄增长有逐渐增高趋势(表 1)。

2.3 健康儿童血清肌酐参考值范围的确定

按 95%CI 对参考值范围进行估计,由于青春期组男女肌酐水平差异有统计学意义,因此对该组肌酐参考值范围分性别进行计算,其余组不分性别计算,结果显示新生儿组参考范围为 15.5~33.2 $\mu\text{mol}/\text{L}$,婴儿期为 12.8~29.4 $\mu\text{mol}/\text{L}$,幼儿期为 16.3~31.7 $\mu\text{mol}/\text{L}$,学龄前期为 20.5~42.0 $\mu\text{mol}/\text{L}$,学龄期为 25.9~54.6 $\mu\text{mol}/\text{L}$,男性青春期为 42.6~87.2 $\mu\text{mol}/\text{L}$,女性青春期为 34.0~72.8 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 。

3 讨论

儿童慢性肾衰竭发病率逐年增加,给社会及家庭带来了沉重负担,早期、准确地发现肾功能异常,尽早干预对延缓慢性肾脏病进展尤为关键。肾功能的评估依赖准确的肌酐测定,不同的检测方法影

表1 健康儿童血清肌酐测定值

组别	总体		男性		女性		P值*
	样本数	肌酐值(μmol/L)	样本数	肌酐值(μmol/L)	样本数	肌酐值(μmol/L)	
新生儿期组	682	24.4 ± 4.4	418	24.8 ± 4.7	264	23.7 ± 3.9	0.500
婴儿期组	855	21.1 ± 4.1	565	21.1 ± 4.1	290	21.1 ± 4.2	0.914
幼儿期组	1 260	24.0 ± 3.9	792	24.0 ± 3.8	468	24.1 ± 4.0	0.783
学龄前期组	1 434	31.3 ± 5.4	948	31.6 ± 5.4	486	30.6 ± 5.3	0.159
学龄期组	1 474	40.1 ± 7.1	946	40.0 ± 7.4	528	40.3 ± 6.6	0.796
青春期组	1 332	59.3 ± 11.9	684	64.7 ± 11.2	648	53.4 ± 9.7	<0.001

*P值为同一年龄段男性、女性组肌酐两两对比。

响血清肌酐的测定数值。国外有研究以同位素法为参考标准,选定不同的实验室测定同一份新鲜冻存的混合血清标本和4份常规血清标本的肌酐。结果发现,化学法与酶法的肌酐测定结果之间具有差异;并且对于血清肌酐处于低水平时测定值的差异更加明显。如果不克服血清肌酐检测上的偏差,就不可能获得准确的GFR结果。实现血清肌酐检测标准化,消除检测带来的血清肌酐数值的偏差,对于慢性肾脏病的防治非常重要。本研究显示酶法较化学法更能反映肌酐真值。

目前血清肌酐正常参考值的数据主要来源于成人,而儿童处于特殊的生长发育期,在体型、肌肉量、代谢水平及肾脏排泄功能等方面与成人的明显差异导致其血清肌酐水平也与成人有明显差异,故而这些参考值并不适用于儿童,并不能提示儿科医生(尤其是非肾脏专科医生)更早期发现肾功能异常。因此,针对不同年龄段、不同性别的儿童建立相应的血清肌酐浓度参考值范围是非常有必要的,可为早期诊断肾功能不全提供确切的诊断依据。我们的研究显示,各年龄期儿童之间血清肌酐水平存在统计学差异。新生儿期可能由于母体激素水平的影响,生长速度、代谢能力均较高,使得血清肌酐浓度也比较高。而在婴幼儿期,由于母体激素影响减少,活动度较低,肌肉量较少等原因,血清肌酐浓度反而较新生儿期有所降低。从新生儿期至学龄期,各期儿童血清肌酐浓度在不同性别之间差异无统计学意义,这可能跟男女孩童在这一阶段体型、肌肉含量及肌酸代谢差异不大有关。随着年龄的增长,儿童生长加快,活动度加大,代谢能力增强,发育期的激素影响等因素,儿童血清肌酐浓度逐渐增高,至青春期已逐渐接近成人水平,且不同性别间差异有统计学意义。

建立准确有效的儿童血清肌酐正常值参考范围,需要最大程度地排除影响血清肌酐水平的因

素。GFR是影响血清肌酐水平的最主要因素,但在肾功能损伤的早期,尽管GFR明显下降,但血清肌酐可无明显变化,只有当GFR降低1/2以上时血肌酐才开始升高。本实验中,血清肌酐异常值已剔除。此外,血清肌酐水平受年龄、性别、种族、体表面积、营养状况、饮食和药物的影响^[5,8],本研究尚未涉及患儿种族及饮食结构的调查,期待后续研究补充。

[参考文献]

- [1] Kannapiran M, Nisha D, Madhusudhana Rao A. Underestimation of impaired kidney function with serum creatinine [J]. Indian J Clin Biochem, 2010, 25(4):380-384
- [2] Patel SS, Kimmel PL, Singh A. New clinical practice guidelines for chronic kidney disease: a framework for K/DOQI [J]. Semin Nephrol, 2002, 22(6):449-458
- [3] Cohen M. What is the normal serum creatinine concentration in children? [J]. Pediatr Radiol, 2008, 38(11):1265
- [4] Chromy V, Rozkosna K, Sedlak P. Determination of serum creatinine by Jaffe method and how to calibrate to eliminate matrix interference problems [J]. Clin Chem Lab Med, 2008, 46(8):1127-1133
- [5] Uemura O, Ushijima K, Nagai T, et al. Reference serum creatinine levels determined by an enzymatic method in Japanese children: relationship to body length [J]. Clin Exp Nephrol, 2009, 13(6):585-588
- [6] Myers GL. Standardization of serum creatinine measurement: theory and practice [J]. Scand J Clin Lab Invest Suppl, 2008, 241:57-63
- [7] Liu WS, Chung YT, Yang CY, et al. Serum creatinine determined by Jaffe, enzymatic method, and isotope dilution-liquid chromatography-mass spectrometry in patients under hemodialysis [J]. J Clin Lab Anal, 2012, 26(3):206-214
- [8] Uemura O, Honda M, Matsuyama T, et al. Age, gender, and body length effects on reference serum creatinine levels determined by an enzymatic method in Japanese children: a multicenter study [J]. Clin Exp Nephrol, 2011, 15(5):694-699

[收稿日期] 2018-07-29