

• 临床生物化学与检验论著(全军检验大会优秀论文) •

溶血、脂血、黄疸对同型半胱氨酸测定的影响

张巧云,龙宪连,欧红玲,贾连玲,王欣茹[△]

(第二炮兵总医院检验科,北京 100088)

摘要:目的 观察溶血、脂血、黄疸对同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)测定的影响。**方法** 10例正常血清用血红蛋白液配制成溶血程度为5、10、15、20、25、30 g/L的系列血清,10例正常血清用脂肪乳配制成三酰甘油(TG)为2、4、8、16 mmol/L的系列血清,10例正常血清用胆红素标准品配制成总胆红素(TBIL)为20、40、80、160 μmol/L的系列血清,采用全自动生化分析仪检测上述30例标本Hcy的变化,并与正常血清Hcy水平进行比较。**结果** 溶血程度为5、10、15、20、25、30 g/L时,Hcy降低程度依次为0.9%(0.2%~3.4%)、2.3%(0.4%~12.2%)、8.6%(1.8%~29.4%)、66.2%(47.8%~90.0%)、88.0%(82.2%~96.7%)、102.9%(97.7%~116.3%)(此时大多数Hcy检测值为负值)。不同浓度TG和TBIL下的Hcy检测值差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 溶血对Hcy的测定有显著影响,脂血、黄疸对Hcy的测定无明显影响。

关键词:同型半胱氨酸; 溶血; 脂血; 黄疸**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2012.20.012**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2012)20-2460-03

Influence of Hemolysis, Lipaemia or Icterus on the Results of Homocysteine Assay

Zhang Qiaoyun, Long Xianlian, Ou Hongling, Jia Lianling, Wang Xinru[△]

(Department of Clinical Laboratory, Second Artillery General Hospital of PLA, Beijing 100088, China)

Abstract: Objective To observe the influence of hemolysis, lipaemia or icterus on the results of homocysteine assay. **Methods**

Ten normal sera samples were prepared into series with 5, 10, 15, 20, 25, 30 g/L of hemolysis degree by adding hemoglobin solution; ten normal sera samples were prepared into series with 2, 4, 8, 16 mmol/L triglyceride(TG) by adding fat emulsion; ten normal sera samples were prepared into series with 20, 40, 80, 160 μmol/L total bilirubin(TBIL) by adding bilirubin standard preparation; and Hcy levels were assayed in these samples with automatic biochemistry analyzer. **Results** When hemolysis degree was 5, 10, 15, 20, 25, 30 g/L, respectively, the accordingly decreased extent of Hcy was 0.9% (0.2%~3.4%), 2.3% (0.4%~12.2%), 8.6% (1.8%~29.4%), 66.2% (47.8%~90.0%), 88.0% (82.2%~96.7%), 102.9% (97.7%~116.3%) (when the value of Hcy test in most samples was negative). However, Hcy values showed no significant difference in samples with higher concentration of TG and TBIL ($P>0.05$). **Conclusion** Hcy assay were influenced by hemolysis significantly, but not by lipaemia or icterus.

Key words: homocysteine; hemolysis; lipaemia; icterus

近年来研究资料表明,同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)是心脑血管疾病的独立危险因素^[1],因此,准确测定Hcy非常重要。溶血、脂血及黄疸是影响检验项目准确性的最常见因素,但是否影响Hcy测定还缺少报道,本实验就此进行了探讨,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011年8~12月来本院就诊的患者30例,其中男14例,女16例,年龄22~78岁,平均52岁,抽取每例患者空腹静脉血3 mL,以3 000 r/min离心10 min,留取血清标本,所有标本均无溶血、黄疸及脂血。各取10例血清分别用于溶血、脂血和黄疸干扰试验。

1.2 仪器与试剂 德国Roche P800全自动生化分析仪,日本希森美康800i全自动血常规分析仪,Hcy试剂、三酰甘油(TG)试剂、总胆红素(TBIL)试剂及其质控品及标准品为Roche仪器的配套试剂。

1.3 方法

1.3.1 溶血血清的制备 采用文献[2]描述的方法:取EDTA抗凝全血5 mL,用生理盐水反复洗涤制备成洗涤纯红细胞,用蒸馏水破坏洗涤红细胞,制备成Hb=80 g/L的血红蛋白液,将血红蛋白液与10份不溶血血清以不同比例混合,制备成Hb分别为5、10、15、20、25、30 g/L的系列血清。

1.3.2 脂血血清的制备 将10例TG正常血清直接上全自动生化分析仪检测TG和Hcy,然后分别将脂肪乳加入其中,制备成TG分别为2、4、8、16 mmol/L的系列血清,再上机检测Hcy。

1.3.3 黄疸血清的制备 将10例TBIL正常血清直接上全自动生化分析仪检测TBIL和Hcy,然后分别将胆红素标准液加入其中,制备成TBIL分别为20、40、80、160 μmol/L的系列血清,再上机检测Hcy。

1.3.4 测定方法 Hcy用循环酶法,TG用GPO-PAP法,TBIL用酶动力学比色法,检测前各项目均进行室内质控且结果在控。

1.4 统计学处理 采用Microsoft Excel 2003统计软件进行数据分析。非正态分布资料以中位数(范围)表示,溶血(或脂血、黄疸)组与非溶血(或脂血、黄疸)组之间Hcy的比较采用非参配对秩和检验,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 溶血对Hcy测定的影响 10例非溶血血清的Hcy水平为46.6(17.2~97.2) μmol/L,在溶血程度为5、10、15、20、25、30 g/L时,Hcy测定值分别降低为46.0(17.3~97.0) μmol/L、42.7(17.1~96.8) μmol/L、36.7(16.8~76.8) μmol/L、13.3(4.3~33.7) μmol/L、3.4(0.7~17.3) μmol/L、-1.3(-2.8~

1.9) $\mu\text{mol/L}$ 。与不溶血标本相比,上述溶血程度的 Hcy 分别相对下降 0.9% (0.2%~3.4%)、2.3% (0.4%~12.2%)、8.6% (1.8%~29.4%)、66.2% (47.8%~90.0%)、88.0% (82.2%~96.7%)、102.9% (97.7%~116.3%), 其中在溶血程度为 20 g/L 时 Hcy 急剧降低, 在溶血程度为 30 g/L 时大多

数 Hcy 结果变为负值。各溶血组 Hcy 绝对值或相对降低百分比均不呈正态分布, 溶血各组与正常血清相比 Hcy 检测值的差异均有统计学意义 (H 值均为 0, $P < 0.01$), 溶血严重组与溶血较轻组相比 Hcy 检测值的差异也均有统计学意义 (H 值均为 0, $P < 0.01$)。结果详见表 1。

表 1 不同溶血程度下 Hcy 水平变化 ($\mu\text{mol/L}$)

| 标本编号 | 不溶血 | Hb=5 g/L | Hb=10 g/L | Hb=15 g/L | Hb=20 g/L | Hb=25 g/L | Hb=30 g/L |
|------|------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 1 | 97.2 | 97.0 | 96.8 | 76.8 | 33.7 | 17.3 | -0.3 |
| 2 | 35.8 | 35.2 | 35.1 | 32.9 | 17.5 | 3.9 | -1.2 |
| 3 | 81.5 | 78.7 | 75.3 | 73.0 | 26.8 | 10.6 | 1.9 |
| 4 | 37.4 | 37.2 | 36.4 | 34.0 | 13.2 | 5.1 | -1.0 |
| 5 | 23.0 | 22.7 | 21.6 | 21.4 | 12.0 | 1.8 | -1.8 |
| 6 | 22.3 | 22.2 | 22.0 | 21.9 | 10.8 | 3.0 | -1.7 |
| 7 | 70.6 | 68.7 | 66.0 | 62.6 | 21.7 | 9.7 | 1.2 |
| 8 | 17.2 | 17.1 | 17.1 | 16.8 | 4.3 | 0.7 | -2.8 |
| 9 | 76.0 | 75.8 | 75.4 | 74.3 | 7.6 | 2.5 | -1.5 |
| 10 | 55.8 | 54.8 | 49.0 | 39.4 | 13.3 | 2.6 | -1.7 |

2.2 脂血对 Hcy 测定的影响 10 例 TG 正常血清 Hcy 水平为 15.0 (9.6~112.0) $\mu\text{mol/L}$, 在 TG 为 2、4、8、16 mmol/L 时, Hcy 测定值分别为 15.0 (9.8~113.5)、15.1 (9.6~110.0)、14.6 (9.6~112.3)、15.3 (9.5~116.9) $\mu\text{mol/L}$ 。与 TG 正常血清相比, 高 TG 各组的 Hcy 增加值为 0 (-0.7~4.9) $\mu\text{mol/L}$, 相对增加百分比为 0% (-5.6%~6.3%)。高 TG 各组与 TG 正常组相比, Hcy 差异无统计学意义 (H 值均为 6, $P > 0.05$)。

2.3 黄疸对 Hcy 测定的影响 10 例 TBIL 正常血清 Hcy 水平为 17.4 (5.6~57.6) $\mu\text{mol/L}$, 在 TBIL 为 20、40、80、160 $\mu\text{mol/L}$ 时, Hcy 测定值分别为 17.1 (5.6~58.6)、17.6 (5.4~57.1)、17.6 (5.4~58.6)、17.8 (5.7~59.3) $\mu\text{mol/L}$ 。与 TBIL 正常组相比, 高 TBIL 各组的 Hcy 增加值为 0.2 (-0.6~1.7) $\mu\text{mol/L}$, 相对增加百分比为 1.2% (-4.2%~15.8%)。高 TBIL 各组与 TBIL 正常组相比, Hcy 差异无统计学意义 (H 值均为 6, $P > 0.05$)。

3 讨 论

本研究结果表明, 标本溶血对 Hcy 测定有显著影响。轻度溶血时对 Hcy 影响不大, 这可能是因为红细胞中 Hcy 比血浆 Hcy 低 10 倍^[3], 轻度溶血对血浆 Hcy 增加贡献不大, 且因红细胞溶解导致血浆被稀释, 使得 Hcy 相对减少, 中、重度溶血时大量红细胞溶解, 血浆被稀释明显, 血浆 Hcy 下降明显, 特别是 Hb=20 g/L 时的溶血程度下, Hcy 下降开始有明显变化。脂血和黄疸对血浆 Hcy 影响不大, 可能原因是德国 Roche P800 全自动生化分析仪检测 Hcy 所用方法为循环酶法^[4], 比色波长采用双波长^[5], 分别为 340 nm 和 402 nm, 双波长消除了脂血及黄疸对血浆本底的干扰。

溶血可分为体内溶血和体外溶血^[6]。体内溶血有物理因素(如人工心脏瓣膜或大血管手术后)、生物因素(如疟疾)和药物毒性反应、配血不合引起的输血反应等因素。体外溶血有物理因素(如机械性破坏、冰冻、抽血时负压过大)、化学因素(如血样接触活性剂)和代谢性因素(如遗传性疾病引起的血细胞脆性增加)引起。为最大限度地减少溶血的发生, 必须注意: 在采血过程中严格按照操作技术规范执行^[7]。采血多选肘正中

静脉, 婴幼儿采用颈外静脉, 避免选择过细的静脉, 更不要从血液处抽血; 扎止血带时间不要过长, 亦不要反复拍打穿刺部位, 以防机械刺激造成溶血; 如血管隐藏不清者最好热敷穿刺部位, 患者休息片刻, 重新选部位; 采集后的血标本应立刻送检, 不宜超过 2 h; 血清或血浆与血细胞应在采血后尽快分离, 不宜超过 2 h, 一般血标本室温放置 30~60 min 或 37 °C 水浴 30 min, 标本离心前自行凝集, 不用器物剥离血块; 离心时速度不可过快; 血液不可存放于冰箱冷冻室, 避免融化后引起溶血。总之, 溶血、黄疸及脂血是临床生化检验中最常见的一种干扰和影响因素, 标本检验结果的可靠性和真实性直接关系到临床诊断的准确性。在工作中一旦发现标本溶血, 立即采取相应的措施:(1)主动与临床联系, 结合临床首先排除体内溶血的可能。若不是体内溶血, 建议重新采集标本, 否则应在检验报告单上注明“轻度溶血”或“严重溶血”以提醒临床医生的注意。临床医生对所检查的重点项目应进行综合分析, 必要时重留标本复查, 以保证试验结果的准确, 有利于患者疾病的正确诊断。(2)利用溶血指数变化值, 根据各项目的回归方程, 对易受影响的结果进行部分纠正, 尤其对轻、中度溶血效果较好, 但对重度溶血标本则应重新抽血复查。随着全自动生化分析仪的普及使用, 检查血清标本外观有否溶血已成为试验过程中质控的重要一环节。综上所述, 正确处理溶血、黄疸及脂血标本, 才能得出比较准确的结果, 更好地把握检验工作质量并为临床提供优质服务。

参考文献

- [1] Aguilar B, Rojas JC, Collados MT. Metabolism of homocysteine and its relationship with cardiovascular disease [J]. J Thromb Thrombolysis, 2004, 18(2): 75-87.
- [2] Vermeer HJ, Steen G, Naas AJ. Correction of patient results for Beckman Coulter IX-20 assays affected by interference due to hemoglobin, bilirubin or lipids: a practical approach [J]. Clin Chem Lab Med, 2007, 45(1): 114-119.
- [3] Andersson A, Isaksson B, Hultberg B. Homocysteine export from

- erythrocytes and its implication for plasma sampling [J]. Clin Chem, 1992, 38(7): 1311-1315.
- [4] 袁平宗. 循环酶法测定同型半胱氨酸的临床研究 [J]. 检验医学与临床, 2011, 8(4): 424-425.
- [5] 邢凌生, 吕礼应, 张敏, 等. 脂血和黄疸对酶法测定血清钠的干扰分析 [J]. 安徽医科大学学报, 2008, 43(6): 664-666.
- [6] 刘雪峰, 张银菊. 标本溶血对生化检验结果的影响与干扰 [J]. 医学检验与临床, 2011, 22(4): 101-102.
- [7] 谭为, 周卫东. 标本溶血对干化学生化分析仪测定结果的影响 [J]. 实验与检验医学, 2010, 28(2): 180-181.

(收稿日期: 2012-08-09)

• 临床生物化学与检验论著(全军检验大会优秀论文) •

Logistic 回归和 ROC 曲线综合评价可溶性 Lox-1 等生化标志物联合检测对急性冠脉综合征的诊断价值

何家艳¹, 李丹², 刘春雷², 邰岩², 高娇², 敬华^{2△}

(1. 安徽医科大学研究生学院, 安徽合肥 230032; 2. 中国人民解放军第三〇六医院检验科, 北京 100101)

摘要: 目的 应用 Logistic 回归和 ROC 曲线探讨可溶性 Lox-1、肌钙蛋白 I、肌酸激酶同工酶、肌红蛋白及超敏 C 反应蛋白单独或联合检测对急性冠脉综合征的诊断价值。方法 收集经冠状动脉造影确诊的冠心病患者 119 例, 其中急性冠脉综合征组 78 例、稳定型心绞痛组 41 例; 另收集经冠状动脉造影证实冠脉无狭窄者 41 例为非冠心病组。分别检测可溶性 Lox-1、肌钙蛋白 I、肌酸激酶同工酶、肌红蛋白及超敏 C 反应蛋白浓度。应用 Logistic 回归模型, 绘制 ROC 曲线, 获得单独或联合检测时的曲线下面积等诊断效能参数, 进而评价各指标用于急性冠脉综合征的诊断价值。结果 sLox-1 诊断 ACS 时的曲线下面积为 0.934, 95%CI(0.894~0.975)。上述 5 种生化标志物水平与诊断 ACS 的相关程度为 sLox-1>Myo>cTnI>CK-MB>hs-CRP; “sLox-1+肌钙蛋白 I+肌红蛋白”联合检测的曲线下面积为 0.987[95%CI(0.974~1.000)], 敏感度为 93.9%, 特异度为 96.2%, 高于上述生化标志物单独检测及“肌钙蛋白 I+肌红蛋白+CK-MB”联合检测。结论 sLox-1 用于 ACS 的诊断具有一定临床意义, 与肌钙蛋白 I 和肌红蛋白进行联合检测时可以发挥较好的互补作用, 与单独检测相比诊断效能大大提高, 且高于“肌钙蛋白 I+肌红蛋白+CK-MB”联合检测。

关键词: 可溶性凝集素样低密度脂蛋白受体-1; 急性冠脉综合征; Logistic 模型; ROC 曲线

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.20.013

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)20-2462-03

Logistic regression and ROC curve evaluates soluble Lox-1 and other four biomarkers in diagnosis of acute coronary syndrome

He Jiayan¹, Li Dan², Liu Chunlei², Bing Yan², Gao Jiao², Jing Hua^{2△}

(1. Graduate School, Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230032, China;

2. Department of Clinical Laboratory, the PLA 306th Hospital, Beijing 100101, China)

Abstract: Objective Using the Logistic regression and the ROC curve to evaluate the diagnostic value of soluble Lox-1, cTnI, Myo, CK-MB, hsCRP to ACS, both alone and combined. **Methods** 119 patients with coronary heart disease which had been confirmed by coronary angiography were included in this study, including acute coronary syndrome group(78 cases) and stable angina group(41 cases). Another group included 41 cases without coronary heart disease, which had also been confirmed by coronary angiography. Concentrations of sLox-1, Myo, cTnI, CK-MB and hs-CRP were measured, and the Logistic regression model and the ROC curves were used to evaluate the diagnostic value for ACS. **Results** For sLox-1, the area under the ROC curve was 0.934[95%CI (0.894~0.975)]. The diagnostic relevance of the five biochemical markers for ACS was sLox-1>Myo>cTnI>CK-MB>hs-CRP. The area under the ROC curve of the “sLox-1+cTnI+Myo” combination for ACS was 0.987[95%CI(0.974~1.000)]. The diagnostic sensitivity and specificity were 93.9% and 96.2%, respectively, which is higher than any of the biomarkers alone and the combination of “Myo+cTnI+CK-MB”. **Conclusion** sLox-1 has certain value for diagnosing ACS. “sLox-1+cTnI+Myo” combination plays a better role in diagnosing ACS than sLox-1 alone and the “Myo+cTnI+CK-MB” combination.

Key words: soluble lectin-like oxidized LDL receptor-1; acute coronary disease; logistic models; ROC curve

目前认为急性冠脉综合征(ACS)与斑块不稳定、破裂和继发的血栓形成所致管腔严重狭窄或闭塞有关, 易损斑块破裂合并血栓形成是 ACS 的病理学基础^[1-2]。凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体-1(Lox-1)是氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)在动脉粥样硬化斑块细胞表面的主要受体, 有研究表明 Lox-1 介导了 ox-LDL 的诸多生物学作用, 其代谢产物可溶性 Lox-1

(sLox-1)是动脉粥样硬化斑块稳定性的重要标志^[3-4]。近年来, 陆续有文献报道 sLox-1 水平在 ACS 发病早期就有显著升高^[5-7]。本文中分别测定 ACS 患者组和对照组的 sLox-1、肌钙蛋白 I(cTnI)、肌酸激酶同工酶 MB(CK-MB)、肌红蛋白(Myo)及超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)水平, 并利用 Logistic 回归和 ROC 曲线探讨 sLox-1 等上述生化标志物单独和联合检测时