

低了复检率,提高了检验人员的工作效率,经过实际评价研究该法性能较好,可以满足临床的需求,值得在大中型医院中推荐使用。

参考文献

[1] Eng CW, Wansaicheong G, Goh SK, et al. Exclusion of acute pulmonary embolism: computed tomography pulmonary angiogram or D-dimer? [J]. Singapore Med J, 2009, 50(4): 403-406.
[2] Reber G, de Moerloose P. D-dimer assays for the exclusion of venous thromboembolism[J]. Semin Thromb Hemost, 2000, 26(6): 619-624.
[3] 徐国宾, 蒋琳. 临床生物化学常规定量方法的分析性能评价[J]. 中华医学检验杂志, 2007, 30(6): 718-720.
[4] 马斌荣. 医学统计学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 34-36.

[5] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP10-A2 Preliminary evaluation of quantitative clinical laboratory methods [S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2002.
[6] 王志国. 临床检验方法确认与性能验证[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 289.
[7] 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: 66-67.
[8] Rylatt DB, Blake AS, Cottis LE, et al. An immunoassay for human D dimer using monoclonal antibodies[J]. Thromb Res, 1983, 31(6): 767-778.
[9] Emancipator K, Kroll MH. A quantitative measure of nonlinearity [J]. Clin Chem, 1993, 39(5): 766-722.

(收稿日期: 2012-07-09)

• 检验仪器与试剂评价 •

胆汁酸测定试剂抗干扰性能评价

石展鹰, 杨 瑜, 郭 旺, 陆明清

(中国人民解放军第一一三医院检验科, 浙江宁波 315040)

摘 要:目的 应用 CLSI EP7-A2 文件对酶比色法和酶循环法胆汁酸(TBA)检测试剂抗胆红素、血红蛋白及乳糜干扰性能进行评价。方法 根据 CLSI EP7-A2 文件, 对酶比色法和酶循环法 TBA 检测试剂抗胆红素、血红蛋白及乳糜干扰性能进行评价。结果 配对差异实验结果显示: 0.2 g/L 游离胆红素、0.288 g/L 结合胆红素、5 g/L 血红蛋白对酶比色法和酶循环法 TBA 试剂测定均有干扰, 1 450 浊度乳糜对酶比色法 TBA 试剂测定有干扰, 对酶循环法测定试剂无干扰。5 个浓度系列的剂量效应实验结果显示, 各干扰物对酶比色法和酶循环法 TBA 试剂测定可产生线性或非线性干扰。结论 依据 EP7-A2 文件, 应用医学统计软件分析显示, 胆红素、血红蛋白对酶比色法和酶循环法 TBA 试剂均存在干扰, 乳糜对酶比色法 TBA 试剂测定有干扰, 对酶循环法测定试剂无干扰。

关键词:比色法; 临床酶试验; 胆汁酸类和盐类
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.22.033 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)22-2757-02

总胆汁酸(TBA)是胆汁中存在的一类胆烷酸的总称, 由胆固醇在肝细胞内代谢分解而来^[1]。TBA 的测定方法主要有气相色谱法、放免法、酶免法、高效液相色谱法(HPLC)及酶学分析方法等, 其中酶学分析法测定简便、快速且可以应用于全自动生化分析仪, 很适合于常规测定, 目前酶法已发展到了酶循环法检测产品^[2]。本文根据美国临床实验室标准化委员会(CLSI)2005 年通过的指南文件 EP7-A2《临床化学干扰试验——批准指南》, 对酶比色法和酶循环法 TBA 检测试剂抗胆红素、血红蛋白及乳糜干扰性能进行评价^[3-6]。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 日立 7180 全自动生化分析仪: 购于日本日立公司; 游离胆红素及结合胆红素: 购于百灵威科技有限公司, 批号分别为 LK50L19 和 JH10-4286; 血红蛋白: 购于上海瑞齐生物科技有限公司, 批号: 20101203; 中/长链脂肪乳注射液(C6-C24): 购于华瑞制药有限公司, 批号: 80DH066。

1.2 方法

1.2.1 试剂配制及测试^[7] 酶比色法 TBA 测定试剂: 试剂 1 包括黄递酶 1 KU/L, 氧化型辅酶 I 1 mmol/L, 丙酮酸 50 mmol/L, 碘化硝基四氮唑盐 0.5 mmol/L 溶于 100 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.5)中; 试剂 2 包括 3-羟类固醇脱氢酶 2 KU/L, 溶于 100 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.5)中; 反应类型为两点终点法, 波长为 505 nm(主波长)/700 nm(副波长), 主要试验参数为温度: 37 ℃; 样品 25 μL; 试剂 1 用量 200 μL, 试剂 2 用量 50 μL; 反应时间 5 min; 酶循环法 TBA 测定试剂: 试剂 1 包括硫代辅酶 2 mmol/L 溶于 20 mmol/L Good's 缓冲液(pH 4.0)中; 试剂 2 包括 3-羟类固醇脱氢酶 15 KU/L, 还原型辅酶

I 3 mmol/L 溶于 200 mmol/L Good's 缓冲液(pH 9.3)中; 反应类型为速率法, 检测波长为 405 nm(主波长)/660 nm(副波长), 主要试验参数为温度: 37 ℃; 样品 3 μL; 试剂 1 用量 200 μL, 试剂 2 用量 50 μL; 延迟时间 1 min, 读取 4 min 的吸光度变化率。

1.2.2 配对差异实验^[3] 参考 EP7-A2 文件, 选择 2 个浓度的新鲜血清作为基础样本。用基础样本分别以 1:20 比例稀释 5 种干扰物贮存液和空白液作测试样本和对照样本, 稀释后测试样本中游离胆红素、结合胆红素、血红蛋白和乳糜的浓度分别是 0.2、0.288、5 g/L 和 1 450 浊度。计算最大允许干扰值(d_{max})/批内标准差(s)比值, 查 d_{max}/s 与重测次数对应表, 得出 2 个浓度水平重复测定次数。其中 s 由基础样本重复测定 20 次计算而得; d_{max} 为各项目临床意义差别标准。按 EP7-A2 文件要求以交互顺序进行测定, 根据 EP7-A2 文件进行干扰效应分析。

1.2.3 干扰剂量效应实验^[3] 参考 EP7-A2 文件, 以高浓度样本和低浓度样本按比例混合成 5 个系列浓度样本, 按升序-降序-升序顺序重复测定 3 次, 根据 EP7-A2 文件进行剂量效应分析。

1.3 统计学处理 采用 SPASS10.0 统计软件进行分析。

2 结 果

2.1 配对差异实验 酶比色法 TBA 试剂低浓度样本测定均值为 7.24 μmol/L, s 为 0.109 5; 高浓度样本测定均值为 21.88 μmol/L, s 为 0.185 2。酶循环法 TBA 试剂低浓度样本测定均值为 8.71 μmol/L, s 为 0.105 0; 高浓度样本测定均值为 18.41 μmol/L, s 为 0.143 2, 查对应表可知, 酶比色法和酶循环法

TBA 试剂高、低浓度水平重测次数均为 3 次。0.2 g/L 游离胆红素、0.288 g/L 结合胆红素和 5 g/L 血红蛋白对酶比色法和酶循环法 TBA 试剂测定均有干扰,1 450 浊度乳糜对酶比色法 TBA 试剂测定有干扰,对酶循环法测定试剂无干扰。

2.2 剂量效应实验 见图 1、2。游离胆红素对酶比色法 TBA 测定可产生非线性正干扰,结合胆红素对其产生线性的负干扰,乳糜及血红蛋白对其产生线性正干扰。游离胆红素、结合胆红素和血红蛋白对酶循环法 TBA 测定可产生非线性正干扰。

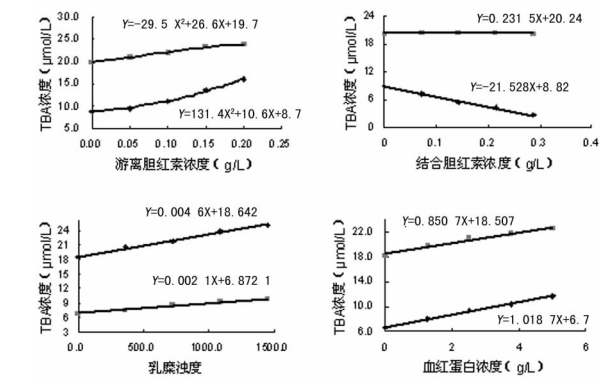


图 1 酶比色法 TBA 试剂干扰剂量效应图

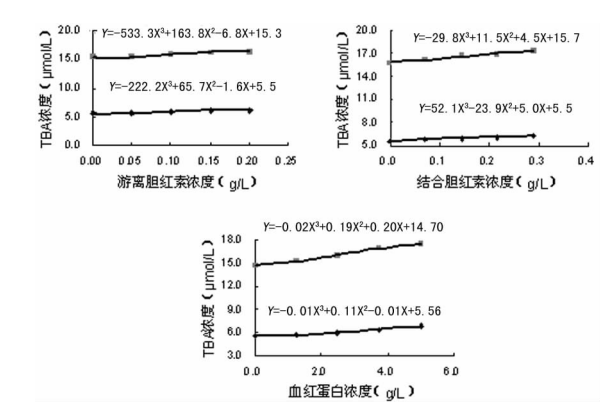


图 2 酶循环法 TBA 试剂干扰剂量效应图

3 讨 论

酶法测定 TBA 简便、快速且可应用于全自动生化分析仪,

(上接第 2751 页)选择法测量的影响,会出现假性偏低,而直接法更为准确。

美国强生干式生化分析仪结合了干化学和电化学的特点,用直接离子选择电极法测定 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- ,具有底物浓度足,测定范围宽,,测试标准化,结果准确,多层膜涂层技术使干扰降低到最低等优点^[4]。

本研究中证实,对于血脂正常、轻中度血脂升高的标本,两种方法检测 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 的结果具有很高的相关性($r>0.95$),且检测结果差异无统计学意义($P>0.05$);对于重度血脂升高标本,两种方法检测的结果虽有良好的相关性($r>0.90$),但是结果差异有统计学意义($P<0.05$)。说明干化学直接离子选择电极法对脂血的抗干扰能力强于间接离子选择电极法。有报道也指出^[5],干化学能有效地消除不同程度脂血对生化检测指标的干扰,面对临床脂血标本,最好选择干化学法进行分析。

适合于常规测定。自 1974 年挪威学者分离得到 3-羟类固醇脱氢酶后,TBA 测定方法得到了快速发展^[2]。其中,酶比色法以 3-羟类固醇脱氢酶为启动试剂,以碘化硝基四氮唑盐为指示剂,通过生成在 505 nm 处有吸收峰的蓝色产物,大大提高了检测灵敏度和准确度,但此法产物为蓝色非水溶性沉淀,容易沉积在反应杯及管道壁,对仪器有很大污染,因此目前更倾向于使用酶循环法。该法采用速率法检测,经过循环放大微量的 TBA,通过在 405 nm 处测定硫代辅酶在单位时间内的吸光度变化值来计算 TBA 含量。此法因不生成有色沉淀产物,克服了反应产物污染问题,同时因采用循环酶法,放大了微量 TBA,从而大大提高了实验灵敏度和特异性^[2]。

本文根据 EP7-A2 文件,按“干扰筛选”实验方法,对临床常见的胆红素、溶血和脂血对胆红素测定的影响进行了评价,结果显示,酶比色法和酶循环法均受胆红素、血红蛋白的干扰,而乳糜仅对酶比色法产生干扰。根据 EP7-A2 文件,本文进一步对干扰物在不同浓度下对测定结果的干扰效应进行了评价,根据所得的干扰效应曲线,可初步判断不同浓度干扰物对检测的干扰,以助于临床诊断分析。

参考文献

[1] 段正军,段生寿,徐杰,等.血清总胆汁酸与肝脏功能酶学指标联合检测在肝脏疾病诊断中的应用价值[J].国际检验医学杂志,2011,32(5):612-613.

[2] 梁剑琦.总胆汁酸检测的方法学发展及其在临床上的应用[J].怀化医学学报,2002,1(2):98-99.

[3] CLSI. EP7-A Interference testing in clinical chemistry [S]. Wayne,PA,USA:CLSI,2002.

[4] 吕赛平,伍志杰,邹学森.临床化学检验中干扰物质的筛选[J].江西医学检验,2007,25(6):610-613.

[5] 刘奉亭.临床实验室的干扰问题[J].国外医学:临床生物化学与检验学分册,1996,17(6):274-276.

[6] 李丰品,樊建辉,李正祯.标本状态对临床检验结果的影响[J].检验医学与临床,2010,7(17):1913-1914.

[7] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].南京:东南大学出版社,1997:458.

(收稿日期:2012-07-09)

参考文献

[1] 顾光煜.离子选择电极分析在生物医学检验中的应用[J].临床检验杂志,2002,20(2):29.

[2] 郑铁生,鄯盛恺.临床生物化学检验[M]北京:中国医药科技出版社,2010:102-103.

[3] Dimeski G,Mollee P,Carter A. Effects of hyperlipidemia on plasma sodium,potassium,and chloride measurements by an indirect ion-selective electrode measuring system[J]. Clin Chem,2006,52(2):155-156.

[4] 张旭,胡金曹,顾光煜,等. Vitros250 干化学直接电位法测定钾、钠、氯的性能评价[J].临床检验杂志,2007,25(2):158.

[5] 董立杰.标本脂血对临床生化结果的评估及其对策[J].实用医技杂志,2010,17(4):346.

(收稿日期:2012-06-12)