

• 临床检验研究论著 •

3 种方法消除脂血对生化测定干扰的对比研究

胥华猛

(四川省广元市第一人民医院检验科 628017)

摘要:目的 探讨脂血对生化检测的干扰,对比乙醚萃取法、稀释法及高速离心法消除脂血干扰的研究。方法 选取 2011 年 5 月至 2012 年 5 月该院门急诊就诊或住院患者的脂血标本 80 例,将标本分为 4 份,1 份原血浆检测,另 3 份分别给予离子水稀释法、乙醚萃取法、低温高速离心法处理后检测。用配对 t 检验分析处理前后各组间差异,3 种方法之间比较采用单因素方差分析。结果 处理前后 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 、BUN 检测值比较无统计学意义($P>0.05$);3 种处理方法对 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 、BUN 检测方分析差异无统计学意义($P>0.05$); Ca^{2+} 、ALT、AST、rGT、LDH、HBDH、CK、CKMB、AMY、TBIL、DBIL、TP、ALB、Glu、Cr、UA 检测值处理前后比较差异有统计学意义($P<0.05$),3 种处理方法对 Ca^{2+} 、ALT、AST、rGT、LDH、HBDH、CK、CKMB、AMY、TBIL、DBIL、TP、ALB、Glu、Cr、UA 检测方差分析差异有统计学意义($P<0.05$),血浆原液检测值最高,乙醚萃取法降低最明显,低温高速离心次之,离子水稀释法降低最少。结论 脂血对生化检测干扰导致检测值偏高,乙醚萃取法对蛋白质类的检测项目影响明显,稀释法影响最小,在临床工作根据检测目的不同,三者可结合应用。

关键词:脂类; 高脂血症; 生物化学; 乳糜微粒

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.14.017

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)14-1813-02

Comparative study of three methods of eliminating lipid blood on biochemical interference

Xu Huameng

(Inspection Department of Guangyuan City the first people's Hospital of Sichuan Province, Sichuan 628017, China)

Abstract: Objective To investigate the blood lipid on biochemical interference and compare difference between ether extraction method, dilution method and low temperature and high speed centrifugation method. **Methods** 80 lipid blood samples were dealt with ether extraction method, dilution method and low temperature and high speed centrifugation method from May 2011 to May 2012 in our hospital. The significance was investigated between the before and after testing. The difference between three methods was compared. **Results** It is not significant between before and after testing for the level of K^+ , Na^+ , Cl^- and BUN ($P>0.01$). There is significance in the level of Ca^{2+} , ALT, AST, rGT, LDH, HBDH, CK, CKMB, AMY, TBIL, DBIL, TP, ALB, Glu, Cr and UA. The differences were significant between three methods in testing the concentration except for K^+ , Na^+ , Cl^- and BUN ($P<0.05$). **Conclusion** Lipid in serum biochemical detection interference led to the detection of high value. Project detection of proteins by ether extraction effect obviously and the minimum effect is dilution. In clinical work three methods should be combined with each other according to the purpose of test.

Key words: lipids; hyperlipidemias; biochemistry; chylomicrons

近年来,随着人们生活的水平提高,高脂血症在人群中的发病率呈上升趋势,其中高三酰甘油的患者占高脂血症人群的 70% 左右;另外,门、急诊患者往往空腹未达 12 h 以上;随着现代医学的发展,临床治疗支持治疗明显提高,对一些营养不良及消耗性疾病的患者施以脂肪乳等营养支持治疗等,以上诸多情况可使临床检验工作中常遇到不同程度的出现脂血,当血清三酰甘油浓度大于 3.0 mmol/L 时,血清外观可呈现不同程度的浑浊^[1],如不处理,生化指标的测定将会受到干扰,特别是高脂血清和临床注射脂肪乳的患者血清,大量的乳糜微粒对入射光产生散射,严重干扰生化结果^[2]。血脂增高对检验结果的影响越来越明显,也严重影响临床安全,确保检验数据的可靠性及安全性是每个检验医务人员时刻面临的严峻问题之一。目前关于消除脂血影响的主要方法有沉淀法、乙醚萃取法、高速离心法及稀释法等,为此 2011 年 5 月至 2012 年 5 月本院进行了乙醚萃取法、稀释法及高速离心法消除脂血干扰的对比研究,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 本研究选取 2011 年 5 月至 2012 年 5 月本院

门急诊就诊或住院患者的生化检验标本 80 例。采用肝素真空抗凝管静脉采血 4.0 mL,三酰甘油检测结果在 3.0 mmol/L~28.6 mmol/L。原发病分别为糖尿病 31 例,原发性高脂血症 24 例,腹膜透析 8 例,肾病综合征 7 例,医源性输注 8 例,急性胰腺炎 2 例。

1.2 试剂与仪器 日立公司生产日立 7180 型自动生化分析仪;长沙湘仪离心机仪器有限公司生产的 TDZ4A-WS 台式低速离心机和 TG16-W 台式微量高速离心机。试剂: K^+ 、 Cl^- 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(AST)、谷氨酰基转移酶(rGT)、乳酸脱氢酶(LDH)、羟丁酸脱氢酶(HBDH)、肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CKMB)、淀粉酶(AMY)、总胆红素(TBIL)、直胆红素(DBIL)、总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、肌酐(Cr)、尿素氮(BUN)、尿酸(UA)、血糖(Glu),由北京九强生物技术有限公司提供,质控品为英国朗道。去离子水由北京双峰创优纯水制造厂生产的 GN-RO-200 型净水处理设备制取。

1.3 方法 收集脂血标本 80 例,以 3 000 r/min 离心 10 min,得原血浆,将标本分为 4 份,1 份采用原血浆检测,另 3 份分别

给予以下方法处理。(1)离子水稀释法 参照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)EP7-A2 文件^[3]。将外观澄清的标准血清检测丙氨酸氨基转移酶等生化指标,然后将标准血清加入三酰甘油 10 个浓度梯队,再次检测以上生化指标,确定三酰甘油的干扰影响。根据干扰实验,确定最佳稀释浓度,对所有待测标本稀释至最佳浓度进行检测生化指标。(2)低温高速离心法 血液生化标本,采用以离心半径 8 cm,15 000~16 000 r/min,离心 20 min 后,分离出乳糜微粒层,吸下层清液测定。(3)乙醚萃取法 取分离血清与乙醚 1∶1 混匀,震荡 30 s,室温静置 5 min,3 500 r/min,离心 5 min,吸头穿过乙醚层吸取下层清亮血清测定。对 3 组生化结果进行配对比较及 3 种方法之间比较。以上操作均按照实验室标准化操作程序进行,保证试验结果准确可靠,测定项目共 20 项。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 18.0 进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用配对 t 检验分析处理前后各组间差

异,3 种方法之间的差异采用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

对分别采用低温高速离心、乙醚萃取法、离子水稀释法不同方式处理后的脂血血清及血清原液,同时在全自动生化分析仪上检测。结果显示:处理前后 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 和 BUN 检测值比较无统计学意义($P>0.05$);3 种处理方法对 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 和 BUN 检测,方差分析无显著性差异($P>0.05$); Ca^{2+} 、ALT、AST、rGT、LDH、HBDH、CK、CKMB、AMY、TBIL、DBIL、TP、ALB、Glu、Cr 和 UA 检测值处理前后比较差异有统计学意义($P<0.05$),3 种处理方法对 Ca^{2+} 、ALT、AST、rGT、LDH、HBDH、CK、CKMB、AMY、TBIL、DBIL、TP、ALB、Glu、Cr 和 UA 检测,方差分析差异有统计学意义($P<0.05$),血清原液检测值最高,乙醚萃取法降低最明显,低温高速离心次之,离子水稀释法降低最少。

表 1 乳糜血漿原液与 3 种不同处理方法 13 项生化指标前后比较($\bar{x} \pm sD$)

项目	血漿原液	离子水稀释法	高速离心法	乙醚萃取法
K^+	4.0±0.3	4.1±0.1 [#] %	4.0±0.2 [#] %	4.1±0.4 [#] %
Na^+	140.0±3.5	141.0±4.2 [#] %	139.0±4.5 [#] %	139.0±3.6 [#] %
Cl^-	105.0±3.8	102.0±4.1 [#] %	98.0±2.9 [#] %	100.0±3.7 [#] %
Ca^{2+}	2.1±0.2	2.1±0.3 [*] \$	1.9±0.4 [*] \$	1.9±0.47 [*] \$
ALT	37.0±18.0	28.0±8.0 [*] \$	29.0±5.0 [*] \$	24.0±9.0 [*] \$
AST	36.0±12.0	30.0±8.0 [*] \$	31.0±3.0 [*] \$	24.0±8.0 [*] \$
rGT	34.0±11.0	33.0±15.0 [*] \$	34.0±12.0 [*] \$	12.0±6.0 [*] \$
LDH	256.0±74.0	188.0±45 [*] \$	198.0±84.0 [*] \$	174.0±21.0 [*] \$
HBDH	203.0±19.0	189.0±21.0 [*] \$	178.0±34.0 [*] \$	162.0±28.0 [*] \$
CK	734.0±172.0	636.0±105.0 [*] \$	601.0±98.0 [*] \$	584.0±82.0 [*] \$
CKMB	24.0±6.0	20.0±4.0 ^{\$} *\$	16.0±8.0 ^{\$} *\$	9.0±3.0 ^{\$} *
AMY	84.0±32.0	72.0±21.0 [*] \$	70.0±18.0 [*] \$	64.0±14.0 [*] \$
TBIL	10.8±2.3	9.2±1.8 [*] \$	9.0±2.6 [*] \$	8.5±3.4 [*] \$
DBIL	6.5±1.5	6.1±0.8 [*] \$	5.9±1.1 [*] \$	5.4±0.3 [*] \$
TP	60.0±12.0	45.0±12.0 [*] \$	42.0±11.0 [*] \$	40.0±16.0 [*] \$
ALB	38.0±5.0	35.0±4.0 [*] \$	34.0±9.0 [*] \$	28.0±11.0 [*] \$
Cr	84.0±21.0	81.0±15.0 [*] \$	78.0±8.0 [*] \$	76.0±6.0 [*] \$
BUN	5.2±1.4	5.5±1.7 [#] %	5.4±1.8 [#] %	5.3±1.2 [#] %
UA	327.0±78.0	297.0±94.0 [*] \$	284.0±52.0 [*] \$	276.0±63.0 [*] \$
Glu	7.2±0.7	5.3±0.8 [*] \$	4.8±0.4 [*] \$	4.1±0.7 [*] \$

[#]:与血漿原液配对比较, $P>0.05$;[%]:三种方法之间的比较($P>0.05$);^{*}:与血漿原液配对比较, $P<0.05$;^{\$}:3 种方法之间的比较($P<0.05$)。

3 讨 论

近年来糖尿病血脂代谢紊乱,高脂血症患者越来越多,在临床检验中,高脂血标本很常见,脂血标本是临床检验常见的干扰原因,了解脂血干扰检验的机制,降低甚至消除脂血带来的干扰,对避免发出与临床不符的检测报告给临床医师造成误诊有重要意义。对于轻度的脂质浑浊,通过双试剂和仪器检测参数设置基本上可以去除脂质对常规生化项目的检测的干扰,重度脂质浑浊时血中大量的乳糜微粒对入射光产生散射,对生化分析仪的透光产生严重干扰^[4]。对生化项目的干扰机制主要有光散射、不可溶物质增多使标本混浊、增加标本内物质的极性与非极性等等。为了消除脂血干扰,目前文献报道的消除脂血的方法主要有高速离心法^[5]、乙醚萃取法^[6]、磷钨酸-镁-

PEG 沉淀法^[7]、低温冷凝法^[8]、去脂剂等^[9]。本文对比研究了目前常用的低温高速离心、乙醚萃取法、离子水稀释法 3 种方法。实验结果提示是否消脂对 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 、BUN 检测影响不大,3 种方法之间无明显区别。但现实临床中使用离子选择电极检测的钾、钠、氯等指标,血脂将沉积于电极表面,将影响到测定的准确性和电极的寿命,因此对严重脂血进行处理仍然有一定的意义。通过我们的对比研究发现脂血对蛋白质类的检测指标影响比较大,经过 3 种方法处理检测,处理与未处理测定比较有统计学意义。血清原液检测值最高,乙醚萃取法降低最明显,低温高速离心次之,离子水稀释法降低最少。一般认为,试剂中的成分将改变测定的原反应体系,将会影响测定结果^[10]。乙醚、稀释法均对反应体系有影(下转第 1817 页)

程、斑块的破裂及血栓形成,CD3 降低则显示细胞免疫功能低下,有学者认为与免疫过程中过量的消耗有关^[8],同时 CD3 降低可导致干扰素- γ 生成减少,对动脉粥样硬化的抑制作用减弱^[9]也是动脉粥样硬化产生的因素之一。临床有研究显示^[10],CHD 冠状动脉病变程度与病变 CD3、CD8 及 CD4/CD8 比值的异常程度相关,CHD 患者经过有效治疗后,CD3、CD8 均出现不同程度的升高,CD4/CD8 比值也恢复至正常范围。

在 4 组的免疫球蛋白及补体比较中,AMI 组、UAP 组 IgG、C3、C4 均出现升高,AMI 组 IgA 也出现升高,与其他各组比较均存在统计学差异,急性心肌梗死及不稳定性心绞痛患者存在不同程度的体液免疫亢进,免疫球蛋白由 B 细胞活化增殖为浆细胞所分泌,具有抗体活性,临床研究^[11]表明,动脉粥样硬化斑块中存在特异性的抗氧化低密度脂蛋白(Ox-LDL)抗体,Ox-LDL 诱发机体对修饰后产物产生反应,而在动脉粥样硬化斑块中的免疫球蛋白 IgG 则含有这种抗体^[12]。抗原抗体反应导致的组织损伤,引起机体免疫球蛋白的增加及补体合成功能的亢进。国内有学者^[13]认为,IgG 升高是血管内皮受损标志,免疫球蛋白及脂蛋白可损伤内皮细胞及深层动脉壁细胞,暴露血管壁结构抗原,形成免疫复合物,造成血小板粘附、聚集及脂质沉积。

综上所述,冠心病患者存在细胞免疫功能低下及 CD4、CD8 细胞功能失衡,体液免疫功能亢进,这与冠心病的病理基础冠状动脉粥样硬化的发生、发展及斑块的稳定有关,研究冠心病患者的免疫功能状态,对冠心病的防治有重要的临床意义。

参考文献

- [1] 刘江生.我国康复心脏病学的发展及现状[J].心血管康复医学杂志,2008,17(5):417-427.
- [2] 夏乐欢,张桔红.冠心病患者血同型半胱氨酸和脂蛋白(α)联合检

测的临床意义[J].国际检验医学杂志,2012,33(3):318-320.

- [3] Kim HS, Cho KI. Association of carotid artery parameters of atherosclerosis in coronary artery disease[J]. J Cardiovasc Ultrasound, 2013,21(2):72-80.
- [4] 汤涌,陆治平,黄进.早发冠心病患者淋巴细胞亚群分析[J].四川医学,2010,31(7):984-987.
- [5] Stoll G, Bendszus M. Inflammation and atherosclerosis: novel insights into plaque formation and destabilization[J]. Stroke, 2006, 37(7):1923-1932.
- [6] Steffens S, Burger F, Pelli G, et al. Short-term treatment with anti-CD3 antibody reduces the development and progression of atherosclerosis in mice[J]. Circulation, 2006, 114:1977-1984.
- [7] Heller EA, Liu E, Tager AM, et al. Chemokine CXCL10 promotes atherogenesis by modulating the local balance of effector and regulatory T cells[J]. Circulation, 2006, 113:2301-2312.
- [8] 卢雄,陈次滨,李文杰,等.冠心病患者外周血 T 淋巴细胞亚群绝对计数的变化[J].广东医学,2005,26(7):967-969.
- [9] 王芊.动脉粥样硬化疾病中相关危险因子表达差异分析[J].国际检验医学杂志,2012,33(1):40-43.
- [10] Beatriz D Schaan, Alexandre S Quadros, Rogério Sarmiento-Leite, et al. Serum transforming growth factor beta-1(TGF-beta-1) levels in diabetic patients are not associated with pre-existent coronary artery disease[J]. Cardiovascular Diabetology, 2007, 6(12):19-21.
- [11] 杨小云,袁娅娟,张莹.探讨血清 GGT, LDL-C 及胆红素水平与冠心病的关系[J].国际检验医学杂志,2010,31(11):1310-1313.
- [12] 李虹.老年冠心病患者免疫功能探讨[J].人民军医,2007,50(12):742-745.
- [13] 王昀,颜乾麟,季蓓.冠心病患者免疫功能紊乱及中医药研究概况[J].中国中医药科技,2005,12(5):327-330.

(收稿日期:2012-11-08)

(上接第 1814 页)

响。乙醚是一种有机溶剂,易导致蛋白质变性,当用乙醚抽提样本时易使蛋白质酶类发生变性,使检测结果较真实情况偏低,另乙醚抽提样本在检测糖类、无机离子、非蛋白氮化合物项目时也存在干扰现象。稀释法改变了反应体系,稀释倍数越大,检查误差越大,而且稀释后的样本乳糜微粒依然存在于反应体系中,对检测光的散射干扰没有彻底消除,所以稀释法不能完全去除脂质浑浊对检测的干扰,影响检测的准确性^[11]。高速离心法不改变反应体系,但分离血清的效果并不理想,而且部分实验室未配备高速离心机,而且部分项目离心后同样受影响^[12]。

综上所述,各方法都有优缺点,目前脂血难以避免。因此,对脂血干扰的评估应当涉及到所有的方法,探讨和研究更好的脂脂法是临床工作面临的重要课题,在没有更好的措施之前,我们只有各种方法相互结合,对脂血干扰作出准确性评估,对于临床检验结果报告的准确性非常重要的。

参考文献

- [1] 红梅,张英兰,侯小红.外观异常的血清标本对生化结果的影响[J].实用医技杂志,2003,10(12):1495.
- [2] 彭华,戴盛明.高脂血标本对临床检验项目的干扰及消除[J].国际检验医学杂志,2010,31(10):1140-1142.
- [3] 张蕴秀,石育英,盛惠光.稀释法消除血脂对生化检测结果干扰的

效果评价[J].武警医学,2012,23(4):281-283.

- [4] 董立杰.标本脂血对临床生化检测结果的评估及其对策[J].实用医技杂志,2010,17(4):344-346.
- [5] 张帆.高速离心对临床常规生化项目测定结果的影响[J].国际检验医学杂志,2010,31(8):887-888.
- [6] 刘万彬,隆维.聚乙二醇 4000 处理脂血后对生化结果的影响[J].国际检验医学杂志,2012,33(4):504-506.
- [7] 熊俊,石文静,闪全忠.磷酸酸-镁-PEG 法消除脂血干扰的方法评估[J].现代检验医学杂志,2008,23(1):50-52.
- [8] 刘畅,姜友珍,李爽.乳糜血 β_2 微球蛋白测定的影响及去除方法探讨[J].现代中西医结合杂志,2009,18(31):3886-3887.
- [9] Vermeer HJ, Steen G, Naus AJ, et al. Correction of patient results for Beckman Coulter LX-20 assays affected by interference due to hemoglobin, bilirubin or lipids: a practical approach[J]. Clin Chem Lab Med, 2007, 45(1):114-119.
- [10] 石凌波,史惠群.利用高速离心法消除脂血对生化测定的干扰[J].检验医学,2004,19(2):138-140.
- [11] 李强,冯丽梅,郑磊.稀释法在严重脂血标本凝血检测中的应用[J].血栓与止血,2011,17(4):172-174.
- [12] 刘俊,黄文红,付波.三种消除血浆高脂质浑浊方法对酶类检测结果的影响[J].华南国防医学杂志,2010,24(1):42-43.

(收稿日期:2012-12-12)