

• 临床检验研究论著 •

# D-3-羟丁酸检测试剂抗干扰性能评价及其改进

王 洁<sup>1</sup>, 焦文学<sup>1</sup>, 张桂春<sup>2</sup>

(1. 甘肃陇南市第一人民医院检验科, 甘肃陇南 746000; 2. 宁波美康生物科技股份有限公司, 浙江宁波 315100)

**摘 要:**目的 应用 NCCLS EP7-A2 文件对 D-3-羟丁酸(D3H)检测试剂盒抗干扰性能进行评价, 并对其抗干扰性能进行改进。方法 根据 NCCLS EP7-A2 文件, 对 D3H 检测试剂盒进行干扰评价试验, 并通过添加维生素 C 氧化酶对其抗维生素 C 干扰性能进行改进。结果 342 mol/L 游离胆红素、342 mol/L 结合胆红素、1 450 FTU 乳糜、5 g/L 血红蛋白对低、高浓度 D3H 测定无干扰, 0.03 g/L 维生素 C 对低、高浓度 D3H 测定有干扰。剂量效应实验结果显示, 维生素 C 对 D3H 测定可产生线性正干扰。添加 2 500 U/L 维生素 C 氧化酶可对抗维生素 C 对检测的干扰。结论 维生素 C 会干扰 D3H 的检测, 试剂中添加维生素 C 氧化酶可对抗其干扰。

**关键词:**干扰试验; D-3-羟丁酸; 维生素 C 氧化酶

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.15.010

**文献标识码:**A

**文章编号:**1673-4130(2014)15-1991-02

## Evaluation and improvement of anti-interference performance of D-3-hydroxybutyrate detection reagent

Wang Jie<sup>1</sup>, Jiao Wenxue<sup>1</sup>, Zhang Guichun<sup>2</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Longnan Municipal First People's Hospital, Longnan, Gansu 746000 China;

2. Ningbo Meikang Biotechnology Co., Ltd., Ningbo, Zhejiang 315100, China)

**Abstract:** **Objective** To evaluate the anti-interference performance of D-3-hydroxybutyrate (D3H) reagent kit by using the NCCLS document EP7-A2 and to improve its anti-interference performance. **Methods** The anti-interference evaluation test of D3H kit was performed according to NCCLS document EP7-A2 and its anti-interference performance was improved by adding vitamin C oxidase. **Results** 342 mol/L free bilirubin, 342 mol/L conjugated bilirubin, 1 450 FTU chyle and 5 g/L hemoglobin had no interference on the high concentration D3H detection, 0.03 g/L vitamin C interfered with the low and high concentration D3H detection. The dosage-effect experiment results showed that vitamin C produced the linear positive interference effect on D3H detection. Adding 2 500 U/L of vitamin C oxidase could antagonize the interference of vitamin C on detection. **Conclusion** Vitamin C can interfere with the D3H detection and adding vitamin C oxidase in reagent can antagonize its interference.

**Key words:** interference; D-3-Hydroxybutyrate; vitamin C oxidase

酮体是检测代谢控制的一项重要标记物, I 型糖尿病患者最重要的特征之一就是易发展成为酮症酸中毒。人体内的酮体包括丙酮、乙酰乙酸和 D-3-羟丁酸(D3H), 这三者处于动态平衡之中, 其中 D3H 水平最高, 因此及时准确地检测 D3H 水平是十分关键的预知酮症酸中毒的重要手段。干扰是引起临床实验室测定误差的重要原因之一, 样本中共存的干扰成分对检测结果的影响可能影响医生的临床诊断与治疗, 因此越来越受到关注<sup>[1]</sup>。本文根据美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)指南文件 EP7-A2《临床化学干扰试验——批准指南》对 D3H 检测试剂盒抗干扰能力进行了评估<sup>[1-2]</sup>, 并对其抗干扰性能进行了改进。

### 1 材料与方法

**1.1 样本来源** 收集实验当天无溶血、黄疸和脂血等影响因素的新鲜血清制备成所需浓度混合血清。

**1.2 仪器与试剂** 日立 7180 全自动生化分析仪。D3-H 检测试剂购于申能德赛公司(批号: 17398); 游离胆红素(FBiL)及结合胆红素(CBiL)购于百灵威科技有限公司(批号: L7B0M22 及 JH10-4286); 血红蛋白(Hb)购于上海瑞齐生物科技有限公司(批号: 20101203); 维生素 C(vit C)购于国药集团(批号: 20130801); 中/长链脂肪乳注射液购于华瑞制药有限公司(批号: 80DH066); 维生素 C 氧化酶购于 Roche 公司(批号: 130130)。

### 1.3 方法

**1.3.1 干扰物贮存液配制**<sup>[1]</sup> FBiL 用 0.1 mol/L NaOH 配

制, CBiL、Hb、vit C 和乳糜用 0~5 ℃蒸馏水配制, 使其终浓度分别为 6.84 mmol/L、6.84 mmol/L、100 g/L、600 mg/L 和 29 000 浊度, 制备 2 h 之内所有测试应完成。

**1.3.2 配对差异实验**<sup>[1-2]</sup> 参考 EP7-A2 文件, 每个分析物选择 2 个浓度的新鲜混合血清为基础样本, 作为对照样本, 并用基础样本分别以 1:20 比例稀释 5 种干扰物的贮存液, 作为测试样本。计算最大允许干扰值( $d_{\max}$ )/批内标准差( $s$ )比值, 然后查  $d_{\max}/s$  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,  $d_{\max}$  为项目临床意义差别标准, 本研究设定  $d_{\max}$  为基础样本均值的 10%。按交互顺序分析测试和对照样本, 并将所得数据进行干扰效应的“点估计”, 即  $d_{\text{obs}}$  (测试样本均值和对照样本均值之间的差值), 与鉴别值  $d_c$  比较, 如果点估计  $d_{\text{obs}} \geq d_c$ , 说明存在干扰。

**1.3.3 剂量效应实验**<sup>[1-2]</sup> 用基础样本稀释贮存液, 制备成所需高浓度样本, 参照对照样本的制备方法, 用基础样本稀释空白液制备成所需低浓度样本, 以高低浓度样本按一定比例混合 5 个系列浓度样本, 重测测定 3 次, 第 1 次按升序测定, 第 2 次按降序, 第 3 次再按升序。如果数据随机分布, 呈一条直线, 可用最小二乘法进行回归分析, 确定其斜率、截距, 在图上绘制回归线; 如各浓度水平的干扰不是一个线性函数, 绘图时显示是弯曲的, 则利用非线性二次多项式公式计算给定的干扰物浓度的干扰度。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS 10.0 统计软件进行分析。

2 结 果

2.1 配对差异实验 低浓度基础样本均值为 0.07 mmol/L, $s$  为 0.002 mmol/L;高浓度基础样本均值为 0.38 mmol/L, $s$  为 0.005 mmol/L。低浓度基础样本  $d_{\max}$  为 0.007 mmol/L, $d_{\max}/s$  为 3.5;高浓度基础样本  $d_{\max}$  为 0.038 mmol/L, $d_{\max}/s$  为 7.6。因此,低、高浓度水平的重测次数均为 3 次。配对差异试验结果显示:342 mol/L FBil,342 mol/L CBil、1450 浊度乳糜、5 g/L Hb 对 D3H 测定均无干扰;0.03 g/L vit C 对低浓度 D3H 的  $d_{\text{obs}}$  和  $d_c$  分别为 0.11 和 0.002 5,对高浓度 D3H 的  $d_{\text{obs}}$  和  $d_c$  分别为 0.06 和 0.005, $d_{\text{obs}}$  均大于  $d_c$ ,说明 0.03 g/L vit C 对 D3H 检测有干扰。

2.2 剂量效应实验 剂量效应结果显示,vit C 对低、高浓度 D3H 测定可产生线性正干扰,干扰效应结果见图 1、2。

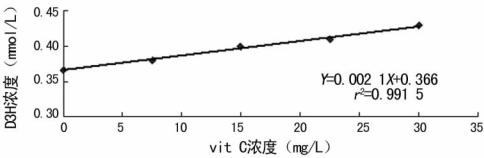


图 1 vit C 对低浓度 D3H 干扰的剂量效应图

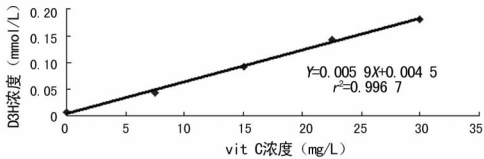


图 2 vit C 对高浓度 D3H 干扰的剂量效应图

2.3 vit C 干扰改进试验 取 D3H 试剂添加 2 500 U/L 维生素 C 氧化酶(实验试剂),与未添加维生素 C 氧化酶的对照试剂进行维生素 C 干扰的“配对差异试验”,结果显示,添加 2 500 U/L 维生素 C 氧化酶的实验试剂,0.03 g/L vit C 对低浓度 D3H 的  $d_{\text{obs}}$  和  $d_c$  分别为 0 和 0.002 5,对高浓度 D3H 的  $d_{\text{obs}}$  和  $d_c$  分别为 0 和 0.005, $d_{\text{obs}}$  均小于对应  $d_c$ ,说明 0.03 g/L vit C 对该试剂检测 D3H 无干扰作用,添加维生素 C 氧化酶可对抗 vit C 对 D3H 检测的干扰作用。

3 讨 论

酮体是脂肪代谢的产物,健康人体内的每个细胞均含有脂

肪酸,当体内需要更多的能量时,就要求脂肪细胞释放脂肪酸进入血液,然后脂肪酸被运输到肝脏转化为酮体。酮体包括丙酮、乙酰乙酸和 D3H,这三者处于动态平衡之中,其中 D3H 水平最多。酮体和血糖一样,是检测代谢控制的一项重要标记物,I 型糖尿病患者的最重要的特征之一就是易发展成为酮症酸中毒,因此及时准确地检测 D3H 水平是十分关键的预知酮症酸中毒的重要手段<sup>[3-5]</sup>。本文利用 EP7-A2 文件“干扰筛选”方法考察临床常见的干扰物 FBil、CBil、vit C、乳糜和 Hb 对 D3H 试剂测定的影响,初步对其临床应用抗干扰性能进行评价,结果显示,342 mol/L FBil、342 mol/L CBil、1 450 FTU 乳糜、5 g/L Hb 对低、高浓度 D3H 测定无干扰,0.03 g/L vit C 对低、高浓度 D3H 测定有干扰。根据文件规定,对于经干扰筛查证明对被评价方法有明显干扰作用的可能干扰物,需对其在不同浓度下对测定结果的干扰效应进行评价<sup>[1]</sup>,根据干扰效应曲线,可初步判断不同浓度的干扰物质对检测的干扰,以助于临床诊断分析。本实验 5 个浓度系列的剂量效应结果显示,vit C 对 D3H 测定可产生线性正干扰,而此干扰效应可通过往试剂中添加 2 500 U/L 维生素 C 氧化酶对抗。

参考文献

[1] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP15-A2 Interference testing in clinical chemistry[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS,2002.

[2] Ji JZ,Meng QH. Evaluation of the interference of hemoglobin, bilirubin, and lipids on Roche Cobas 6000 assays[J]. Clin Chim Acta,2011,412(17/18):1550-1553.

[3] Sacks DB,Arnold M,Bakris GL,et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus[J]. Clin Chem,2011,57(6):1-47.

[4] 王立军,梁常喜,胡邦浩. 53 例不同病程糖尿病患者血清 D-3-羟丁酸水平与尿酮体含量的对比分析[J]. 国际医药卫生导报,2010,16(7):793-795.

[5] 李天勇. D3 羟丁酸在临床中的研究[J]. 中国医药指南,2012,10(33):447-448.

(收稿日期:2014-01-28)

(上接第 1990 页)

[4] Takamitsu I,Fukui Y,Ono N,et al. Examination of metallo-beta-lactamase-producing different types of Serratia marcescens detected in the same patient[J]. Kansenshogaku Zasshi,2013,87(2): 189-194.

[5] Berges L,Rodriguez-Villalobos H,Deplano A,et al. Prospective evaluation of imipenem/EDTA combined disc and E test for detection of metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa [J]. J Antimiemb Chemother, 2007,59(4):812-813.

[6] Doosti M,Ramazani A,Garshasbi M. Identification and characterization of metallo-β-lactamases producing Pseudomonas aeruginosa clinical isolates in University Hospital from Zanjan Province, Iran [J]. Iran Biomed J,2013,17(3):129-133.

[7] Fast W,Sutton LD. Metallo-β-lactamase; inhibitors and reporter substrates[J]. Biochim Biophys Acta,2013,1834(8):1648-1659.

[8] Tang XL,Liu P,Cai SY,et al. Roseomonas mucosa Isolated from Bloodstream of the MDS Patient[J]. Journal of Pure and Applied Microbiology,2013,7(2):1279-1283.

[9] 辜依海,罗燕萍,张文莉,等. 耐亚胺培南铜绿假单胞菌的耐药性分析及金属 β-内酰胺酶检测[J]. 中华医院感染学杂志,2005,15

(3):339-341.

[10] Fujisaki M,Sadamoto S,Hishinuma A. Evaluation of the double-disk synergy test for New Delhi metallo-β-lactamase-1 and other metallo-β-lactamase producing gram-negative bacteria by using metal-ethylenediaminetetraacetic acid complexes [J]. Microbiol Immunol,2013,57(5):346-352.

[11] 杜艳,陈瑞春,穆玉娇,等. 耐亚胺培南铜绿假单胞菌及其产金属酶的相关基因 blaVIM-2 研究[J]. 中国抗生素杂志,2012,37(7): 507-509.

[12] 付玉梅,杨晓仪,梁惠芬,等. 社区感染耐亚胺培南铜绿假单胞菌金属酶的筛选及基因分析[J]. 广东医学,2013,34(12):1880-1882.

[13] 王兴力,多丽波,铜绿假单胞菌金属酶及其检测方法研究[J]. 中国卫生检验杂志,2012,22(9):2252-2254.

[14] FrancoMR,Caiaffa-Filho HH,Burattini MN,et al. Metallo-beta-lactamases among imipenem-resistant Pseudomonas aeruginosa in a Brazilian university hospital[J]. Clinics,2010,65(9):825-829.

(收稿日期:2014-02-18)