

• 论 著 •

生化试剂对循环酶法测定血清总胆汁酸的干扰原因

田光春

(襄阳市襄州区人民医院检验科, 湖北襄阳 441000)

摘要:目的 探讨生化试剂对循环酶法测定血清总胆汁酸(TBA)的干扰原因, 探寻消除干扰的办法。方法 以门冬氨酸氨基转移酶、碱性磷酸酶、钙等 20 个生化常规项目试剂作用作为观察对象, 确认对 TBA 具有显著干扰的生化试剂, 且经过设定特殊程序减小仪器的携带污染。结果 测定混合血清当中 20 份 TBA 水平, 其平均值为 $(8.16 \pm 0.012) \mu\text{mol/L}$; 在 20 个观察项目当中, 尿酸试剂(UA)对于测定总胆汁酸(TBA)结果影响差异具有统计学意义($P < 0.05$), 存在系统误差; 总胆固醇(CHOL)、三酰甘油(TG)项目试剂对于测定 TBA 结果影响差异具有统计学意义($P < 0.05$), 对于 TBA 测定具有明显干扰。结论 全自动化生化分析仪测定 TBA 时存在项目之间的互相污染, 因此设定有效、合理的特殊冲洗程序能够有效地对消灭携带污染对 TBA 测定干扰。

关键词:生化试剂; 循环酶法; 总胆汁酸; 干扰原因

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.12.045

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)12-1744-03

Biochemical reagents for circulating enzymatic determination of serum total bile acid interference

Tian Guangchun

(Department of Clinical Laboratory, Xiangzhou District People's Hospital of Xiangyang, Xiangyang, Hubei 441000, China)

Abstract: Objective To study the interference reasonsof biochemical reagents for serum Total Bile Acid assay kit by enzyme cycle method, explore the way to eliminate interference. **Methods** The AST, ALP, Ca etc. 20 biochemical conventional reagents as research object, confirming those biochemical reagents of significant interference to total bile acid assay kit by enzyme cycle method, and reducing the carry pollution of instrument by setting special procedures. **Results** The determination of 20 copies of serum total bile acid content in mix serum, their average was $(8.16 \pm 0.012) \mu\text{mol/L}$; Among 20 observation projects, UA reagents for the determination of total bile acid result influence had statistically significant($P < 0.05$), there was system error; CHOL, TG project reagents had statistically significant($P < 0.05$), and had obvious interferences. **Conclusion** There are the pollution between each other in the determination of Total Bile Acid project by Automatic Biochemical Analyzer, so the effective, reasonable and special wash program by seting can effectively eliminate the carrying pollution to determinate the interference of Total Bile Aid.

Key words: biochemical reagents; enzyme cycle method; total bile acid; interference reasons

总胆汁酸(TBA)是胆固醇代谢产物, 它的生成以及代谢都与肝脏的关系非常紧密, 血清当中 TBA 水平是反映肝实质损伤的一个重要指征。血清 TBA 的测定对慢性肝病、肝硬化、酒精肝以及胆汁淤积的诊断、预后和疗效评估方面经常优于多项肝酶学指标, 因此具有重要的临床运用价值。当前, 酶循环法则测量血清 TBA 已经被大众所知, 且也被广泛运用了, 此种方式比较适合全自动生化分析, 操作便捷、迅速。和传统的偶联法对比具有灵敏、对仪器管道无污染的优点^[1-2]。研究者在平时采用自动化生化分析仪测试血清 TBA 等组合项目的时候, 有时候会发觉 TBA 偏高, 在复查结果时却有正常, 那么有可能是由于部分试剂对 TBA 存在干扰。因此, 本次研究的主要目的是为了探讨浅谈生化试剂对循环酶法测定血清 TBA 的干扰原因, 探寻消除干扰的办法, 本次选取 20 个生化常规项目试剂作用作为观察对象, 确认对 TBA 测定具有显著干扰的生化试剂, 且经过设定特殊程序减小仪器的携带污染, 其具体报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 东芝 2000 型全自动生化分析仪器。检测

试剂为武汉生之源生物科技有限公司生产, 检测项目为总胆红素(DBIL)、肌酐(CREA)、TBA、低密度脂蛋白胆固醇(LDL)、门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、钙(Ca)、总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、直接胆红素(TBIL)、高密(HDL)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、葡萄糖(GLU)、植物 α 淀粉酶(AMS)、三酰甘油(TG)、尿素(BUN)、总胆固醇(CHOL)、乳酸脱氢酶(LDH)、尿酸(UA)、无机磷(P)、γ-谷氨酰转移酶(GGT)。

1.2 实验方法 (1)先对于仪器实行保养, 即对搅拌棒、比色杯、试剂针进行清洗和浸泡, 避免仪器自身因素对结果产生影响。其次, 设定项目参数, 测定之前将仪器进行校准及定标, 测定标本同时测定控制品。(2)标本按照随机的方法收集当天新鲜标本并且制备混合血清, 独立且连续 5 次测定 TBA。(3)选取混合血清, 将其分成 20 份, 分别进行 AST/TBA, ALT/TBA, Ca/TBA 等组合项目测定各 5 次。(4)将 HOL、TG、UA 作为试剂标本, 同时测定 TBA 各 5 次。(5)设定特别冲洗程序重测 UA/TBA, TG/TBA, CHOL/TBA 等组合各 5 次。

1.3 统计学处理 采取统计包软件对所有研究数据进行统计

和处理,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 形式显示,组间比较应用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 处理前的影响 在没有进行处理之前测得 ALT/TBA、AST/TBA、Ca/TBA 等各组合 TBA 的测试结果。经过初步试验挑选出常规生化项目检测当中,UA、CHOL、TG 项目之后测得的血清总胆汁的结果和正常单独测量的 TBA 的结果具有显著差异,且实行配对 *t* 检验出现 UA 项目试剂对测定 TBA 结果比较差异有统计学意义($P < 0.05$),有系统误差的存在;CHOL、TG 项目试剂对测定 TBA 结果比较差异具有统计学意义($P < 0.05$),其他的项目比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。TBA 项目和 TG、UA、CHOL 分析项目中间差距与 TBA 测定结果的影响成正有关,可能以上 3 种试剂对 TBA 测定产生存在比较大的干扰。见表 1。

2.2 UA、CHOL、TG 和 R1 混合影响 以 CHOL、UA、TG 为标本 TBA 结果。测定混合血清当中 20 份血清 TBA 水平,他们的平均值是 $(8.16 \pm 0.012) \mu\text{mol/L}$ 。经 UA 和 R1 混合,TBA 均值变成 $(589.18 \pm 17.07) \mu\text{mol/L}$;经 CHOL 和 R1 混合,TBA 均值变成 $(198.17 \pm 4.16) \mu\text{mol/L}$;经 TG 和 R1 混合,TBA 均值变成 $(237.46 \pm 5.08) \mu\text{mol/L}$,3 种试剂 R1 均对测定 TBA 结果具有影响。

表 1 未进行处理组合 TBA 的测定结果

组合项目	TBA 均值($\mu\text{mol/L}$)	<i>t</i>	<i>P</i>
ALT/TBA	8.22 ± 0.037	1.53	>0.05
AST/TBA	8.13 ± 0.033	1.41	>0.05
GGT/TBA	8.23 ± 0.027	1.37	>0.05
ALP/TBA	8.14 ± 0.017	1.25	>0.05
TP/TBA	8.25 ± 0.022	1.45	>0.05
ALB/TBA	8.23 ± 0.018	1.40	>0.05
TBIL/TBA	8.24 ± 0.017	1.34	>0.05
DBIL/TBA	8.16 ± 0.015	1.19	>0.05
BUN/TBA	8.15 ± 0.023	1.33	>0.05
CREA/TBA	8.21 ± 0.018	1.32	>0.05
UA/TBA	486.56 ± 9.05	12.57	<0.05
GLA/TBA	8.17 ± 0.016	1.27	>0.05
TG/TBA	216.24 ± 5.82	7.63	<0.05
CHOL/TBA	176.26 ± 5.80	6.02	<0.05
HDL/TBA	8.27 ± 0.018	1.27	>0.05
LDL/TBA	8.14 ± 0.016	1.26	>0.05
LDH/TBA	8.18 ± 0.022	1.47	>0.05
AMS/TBA	8.14 ± 0.026	1.40	>0.05
P/TBA	8.15 ± 0.016	1.32	>0.05
Ca/TBA	8.17 ± 0.022	1.30	>0.05

2.3 经清洗后的影晌 经过清洗和浸泡,CHO、UA、TG 项目对测定 TBA 的结果影响。设置冲洗顺序依次为 UA、TBA、TG、TBA、CHOL、TBA 时采取反应杯冲洗,清洗液为氢氧化钠,剂量为 1 mol/L,试剂针均采用 1 mol 的氢氧化钠进行清洗。

测定 UA/TBA、TG/TBA、CHOL/TBA 等不同组合项目之后 TBA 的测定结果。经过清洗机浸泡后,UA、CHO、TG 项目对测定 TBA 的结果影响无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 经过清洗机浸泡后 UA、CHO、TG 项目对测定 TBA 的结果

组合项目	TBA 均值($\mu\text{mol/L}$)	<i>t</i>	<i>P</i>
UA/TBA	8.25 ± 0.026	1.37	>0.05
TG/TBA	8.21 ± 0.020	1.36	>0.05
CHOL/TBA	8.17 ± 0.016	1.33	>0.05

3 讨 论

在运用全自动化分析仪的过程当中,具有差异的试剂也会有互相干扰的影响,不同品牌的试剂对于某个项目的干扰也并不统一,这可能和不同品牌试剂自身成分或者其自身水平的差异有关^[3-5]。在自动化分析过程当中,携带污染一般情况下来源于试剂针以及反应杯的存残物,用一般的方式进行清洗,比较难以将某些特殊试剂的化学分子彻底处理干净,测定 TBA 就是一个十分明显的例子。倘若前一分析项目的试剂成分当中残存着对后一试剂有影响的成分,而等待测定项目的浓度和其比较又很微量时,特别容易造成分析项目之中的携带污染,对于测验结果产生干扰^[3-5]。

此次试验结果表明,用循环没法测定 TBA 的时候,单一测量 TBA 和 TBA 与其他项目组合分析的时候,最后的实验结果具有比较大的差异,特别是 CHO、UA、TG 3 个项目试剂对测定 TBA 有着非常明显的污染,存在系统误差,用常规的冲洗方式无法很好地清除这种干扰,但是经过设置生化仪的特殊冲洗的方式就能够很好的控制这些干扰问题。

为了分析 TBA 测定过程中的携带污染因素,本次设计了将 CHOL、UA、TG 这 3 个项目的试剂作为标本去测定 TBA,用来明确这些试剂是不是含有 TBA 成分,最后结果表明,其测定的 TBA 水平和正常血清标本当中 TBA 水平比较具有十分显著的不同,其差异的实际因素应该是 CHOL、UA、TG 这 3 个项目的试剂的配方含有造成试剂携带污染的部分^[6-8]。经过翻阅试剂说明书,UA 实际当中均含有抗坏血酸盐成份,CHO、TG 试剂当中都含有胆汁酸钠,而这些成分对于 TBA 测量的精准性均会产生一定的影响。

当前许多研究当中都有提过,有效地安排各项之间的分析顺序,把 TBA 以及干扰试剂的项目,比如罗氏试剂当中 CHOL、UA、TG 的分析顺序间隔开,能够防止试剂之间的互相干扰,此次试验也进行了这样的尝试,从本次试验效果来看还是存在一定的价值的,但是在平时的日常工作当中却发现有时候仍然会出现一定的干扰,究其原因可能是同一份标本的不同项目的检测顺序能够按键设置进行,但是不同的标本之间就比较难以控制,比如标本 1 做完 UA,标本 2 单做 TBA;另外,TB2000 全自动生化分析仪进行检测顺序设置后,检测速度就会下降,设置顺序就无意义。对于这样的情况,目前几乎全部自动化分析仪都自带特殊冲洗的程序,能够依据用户的需求进行设定,在自动化生化分析当中,设立有效、适合的特殊冲洗程序是消除携带污染的有效办法^[9-11]。

(下转第 1748 页)

续表 1 部分样本红细胞参数及红细胞渗透脆性实验

编号	性别	年龄	OFT (%)	Hb(g/L)	MCV(fL)	MCH(pg)	MCHC(g/L)	RDW(%)	RBC($\times 10^{12}/L$)
4	男	43 d	70	123	81	26	321	18	4.7
5	男	19岁	18	103	65	20	303	22	5.2
6	男	6岁	18	88	57	16	288	21	5.3
7	女	19岁	28	101	64	20	319	17	4.9
8	女	5岁	15	93	59	17	290	22	5.4
9	女	27岁	21	111	67	22	327	18	5.1
10	男	1d	81	168	113	37	327	18	4.5

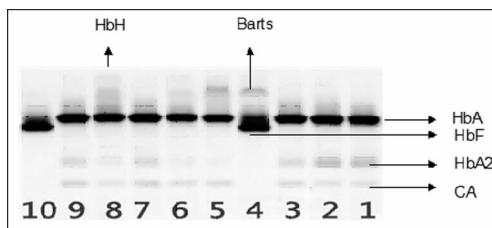


图 1 改良方法制备 Hb 液的电泳图

3 讨论

与现有技术相比,本文方法的有益效果是本文方法省掉了溶血素和四氯化碳两种有毒化学试剂接触,减少了加溶血素后等待红细胞溶解缓慢的时间,省掉了前后两次漩涡充分混匀时间,整个制备血红蛋白液的过程中不需接触任何化学试剂,不会对环境有污染。离心过程最多只需 5 min,检测临床标本效率高。制备过程中,一只手一次性可以握 4~6 支管,替代了传统方法用真空泵一枝枝吸走上清液,节省人力,节省时间,为患者提前发报告,节省试剂成本,减小人体伤害。整个制备过程中不需接触任何化学试剂,不会对环境有污染,离心过程最多只需 5 min,检测临床标本效率高,节省人力。本文方法与传统方法、国际地贫协会推荐的 HPLC 方法所测结果与地贫基因确认方法比较结果符合性较高,能客观地评价试验的可靠性,

(上接第 1745 页)

综上所述,全自动化生化分析仪测定 TBA 存在项目之间的互相污染,因此设定有效、合理的特殊冲洗程序能够有效地对消灭携带污染对测定 TBA 干扰。

参考文献

- [1] 唐芳,何文军,尹向阳等.生化分析仪总胆汁酸试剂的携带污染对总二氧化碳测定的干扰分析[J].重庆医学,2011,40(17):1739-1741.
- [2] 汪亮.生化分析仪试剂间交叉污染对总胆汁酸测定的影响研究[J].国际检验医学杂志,2014,35(8):1069-1070.
- [3] 朱武军,邹飞,邵燕丽,等.循环酶法测定总胆汁酸试剂交叉污染及预防措施[J].国际检验医学杂志,2011,32(9):990.
- [4] 沈金华,刘琴.协和高密度脂蛋白、总胆固醇、肌酐试剂对总胆汁酸测定影响初探[J].中国血液流变学杂志,2010,20(4):666-667.
- [5] 易向民,郑敏.生化分析仪试剂间交叉污染对总胆汁酸测定的影响

值得临床推广应用。

参考文献

- [1] 曾溢滔.血红蛋白疾病的诊断和治疗[J].中华血液学杂志,1996,17(1):393-394.
- [2] 龙桂芳.血红蛋白与血红蛋白病[M].南宁:广西科学技术出版社,2003.
- [3] 黄有文.血液病诊断及疗效标准[M].2 版.北京:科学出版社,1998:49-58.
- [4] Kenneth WD,Boehn C,Jemes R,et al.Proactical guide to the diagnosis of thalassemia[J].Am J Med Genet,1996,62(2):29-37.
- [5] Silvestroni E,Bianoo I.A highly cost effective method of measurement for thalassemia[J].Br Med J,1983,286(2):1007-1009.
- [6] 周玉球,李文典.a-地中海贫血的表型筛查和基因诊断[J].中国优生优育,2001,12(3):143-144.

(收稿日期:2015-01-18)



响及分析[J].临床医学工程,2010,17(3):21-23.

- [6] 高磊.关于血脂检测试剂对总胆汁酸测定结果的影响研究[J].健康必读中旬刊,2013,12(2):120-121.
- [7] 谢祺,杨绍敏.Cobas 6000 生化分析仪检测总胆汁酸试剂性能验证[J].世界最新医学信息文摘:电子版,2013,(25):147-148.
- [8] 刘香萍,程明刚,许伟珊,等.甘油三酯试剂与总胆固醇试剂对总胆汁酸测定的干扰[J].中华全科医学,2013,11(4):621-622.
- [9] 王林武.肌酐酶法试剂对总胆汁酸测定的干扰作用[J].医学检验与临床,2012,23(3):7-8.
- [10] 张翠莉.三酰甘油总胆固醇试剂对总胆汁酸测定结果的影响分析[J].检验医学与临床,2013,12(20):2738-2739.
- [11] 林雪丹,杨天兴.脂肪酶试剂对血清总胆汁酸测定结果的影响[J].中国医疗前沿,2012,7(1):51,

(收稿日期:2015-02-28)