

## • 论 著 •

# 湿化学酶法测定华氏巨球蛋白血症患者血清肌酐假性增高的评析\*

汤 菲, 安黎云, 贾克然, 王宪灵

(中国人民解放军白求恩国际和平医院检验实验科, 河北石家庄 050082)

**摘要:**目的 探讨湿化学酶法检测华氏巨球蛋白血症患者肌酐假性增高的原因及解决方法。方法 以 2010~2012 年中国人民解放军白求恩国际和平医院收治的 5 例华氏巨球蛋白血症患者为研究对象, 采用离心超滤管将采集的患者血清中大分子蛋白滤去, 分别用湿化学酶法、苦味酸法、干化学酶法检测超滤前后患者血清肌酐水平并进行比较分析。结果 超滤前其中 2 例华氏巨球蛋白血症患者用湿化学酶法测得血清肌酐水平与苦味酸法、干化学酶法比较有明显差异, 而 5 例患者后 2 种方法测得的肌酐水平差异不明显。而以离心超滤管滤去大分子蛋白后, 3 种方法测得的血清肌酐水平无明显差异。结论 采用湿化学酶法检测华氏巨球蛋白血症患者血清肌酐时, 应去除大分子蛋白以防止所测血清肌酐水平异常增高, 或用干化学酶法或苦味酸法测定以确定检测的准确性, 为临床提供真实可靠的检验结果。

**关键词:**酶法; 肌酐; 华氏巨球蛋白血症**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2015.08.025**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2015)08-1070-02

## The evaluation analysis of false estimates of elevated serum creatinine in patients with Waldenstrom's macroglobulinemia through wet chemical enzymatic method\*

Tang Fei, An Liyun, Jia Keran, Wang Xianling

(Department of Inspection Experiment, the Bethune International Peace Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050082, China)

**Abstract: Objective** To explore causes and solutions of false estimates of elevated serum creatinine in patients with Waldenstrom's macroglobulinemia through wet chemical enzymatic method. **Methods** 5 cases of patients hospitalized in the Bethune International Peace Hospital were enrolled as subjects from 2010 to 2012. The large molecular proteins were removed from serum samples collected from patients with Waldenstrom's macroglobulinemia by using centrifugal ultrafiltration tube. The serum creatinine levels were detected through using the wet chemical enzymatic method, wet chemical picric acid method and dry chemical enzymatic method before and after ultrafiltration, and data were compared. **Results** Before ultrafiltration, the levels of serum creatinine of 2 cases of patients with Waldenstrom's macroglobulinemia detected by using wet chemical enzymatic method differed with those detected by using wet chemical picric acid method and dry chemical enzymatic method. While there were no obvious differences between levels of serum creatinine detected by wet chemical picric acid method and dry chemical enzymatic method. While, after ultrafiltration, no obvious differences were founded in levels of serum creatinine detected by the three methods. **Conclusion** The large molecular proteins should be eliminated when using the wet chemical enzymatic method in the detection of serum creatinine levels, in order to avoid abnormal increase. And the wet chemical picric acid method and dry chemical enzymatic method could also be utilized to determine the accuracy, and provide reliable determination results.

**Key words:** enzymatic method; creatinine; Waldenstrom's macroglobulinemia

目前临床生化测定血清肌酐主要以苦味酸法和酶法为主。而酶法以其特异性好、线性范围广、抗干扰能力强、对仪器污染小等优点, 成为实验室全自动生化分析仪测定血清肌酐的常用方法<sup>[1]</sup>。本院发现 2 例华氏巨球蛋白血症患者, 由于患者血液中的异常蛋白, 导致酶法(湿化学)检测的血清肌酐假性异常增高, 但对苦味酸法和肌酐酶法试剂(干化学)检测结果却无影响, 为进一步探讨其形成原因并探索解决方法, 进行以下试验。

## 1 材料与方法

**1.1 标本来源** 2010~2012 年到本院就诊, 根据临床表现、免疫固定电泳、骨髓涂片等临床检查, 排除意义未明单克隆丙种球蛋白及其他 B 淋巴细胞增殖性疾病, 临床确诊为华氏巨球蛋白血症的患者 5 例, 记为患者 1~5。实验室检查免疫球蛋白 M(IgM) 分别为 67.5、73.0、58.0、62.3 和 48.5 g/L。

**1.2 仪器与试剂** 日本奥林巴斯 AU5400 全自动分析生化

仪, 美国强生 Vitros-5600 全自动干化学分析仪, 德国 Sigma 3K15 台式冷冻离心机, 0.5 mL 100KD 离心超滤管(美国 Millipore 公司)。酶法肌酐试剂(湿化学)和总蛋白检测试剂(北京森美希克玛生物科技有限公司), 苦味酸法肌酐检测试剂(罗氏), 肌酐测定干片(美国强生公司)。

**1.3 方法** 采集患者血清置于离心超滤管, 14 000×g 离心 1 h, 采用干、湿化学酶法和苦味酸法分别检测患者血清超滤前和超滤后的肌酐水平, 并进行对比分析。

## 2 结 果

5 例患者血清超滤前和超滤后采用 3 种方法所测血清肌酐水平, 见表 1~2。超滤后, 5 例患者血清总蛋白水平均降低, 离心超滤将血浆中大分子蛋白分离。其中患者 1~2 血清超滤前后采用湿化学酶法所测肌酐水平有很大差异, 而用苦味酸法和干化学酶法所测肌酐水平在超滤前后差别不大。并且血清

\* 基金项目: 河北省自然科学基金项目(C2010001882)。

作者简介: 汤菲, 女, 主管技师, 主要从事临床免疫学和生化研究。

超滤前,患者 1~2 血清经湿化学酶法与苦味酸、干化学酶法所测同一血清肌酐水平差别很大,另外 3 例患者 3 种方法所测血清肌酐水平差别不大。超滤后,5 例患者采用 3 种方法所测同一血清肌酐水平差别不大,应是患者肌酐检测水平的真实值。

表 1 超滤前 3 种方法测定血清肌酐和总蛋白结果比较

	肌酐(μmol/L)			总蛋白(g/L)
	湿化学酶法	苦味酸法	干化学酶法	
患者 1	1 608.5	165.2	170	108.8
患者 2	292.6	71.0	73	106.5
患者 3	45.2	48.3	51	105.4
患者 4	53.8	55.6	57	101.2
患者 5	38.2	42.1	44	100.4

表 2 超滤后 3 种方法测定血清肌酐和总蛋白结果比较

	肌酐(μmol/L)			总蛋白(g/L)
	湿化学酶法	苦味酸法	干化学酶法	
患者 1	179.0	140.3	153	4.7
患者 2	76.0	65.0	69	3.8
患者 3	43.7	46.5	50	3.6
患者 4	54.4	53.2	55	3.4
患者 5	36.2	40.8	42	4.1

### 3 讨 论

苦味酸法因受黄疸、乳糜血、维生素 C, 以及体内代谢物质如尿酸、丙酮酸等众多因素的干扰使肌酐测定出现假性升高或降低<sup>[2]</sup>, 给临床带来不便, 因此已逐渐被酶法取代。而酶法测定肌酐特异性好, 且不受上述物质的干扰, 已广泛应用于临床。目前报道的干扰酶法测定肌酐的因素较少, 其中肝素钠可造成正干扰, 酚磺乙胺可造成负干扰<sup>[3]</sup>。由于华氏巨球蛋白血症病例罕见, 对肌酐产生正干扰的原理也不明确, 在国内文献中尚未见报道。本院 5 例华氏巨球蛋白血症患者, 采用湿化学酶法所测血清肌酐水平并非均假性升高。考虑到华氏巨球蛋白血症是来自 B 细胞具有合成分泌 IgM 能力的淋巴样浆细胞恶性增殖性疾病<sup>[4]</sup>, 因此患者血中的异常蛋白可能和酶法肌酐试剂中的某种成分发生反应形成沉淀, 从而干扰酶反应的检测, 而上述试验证实了上述观点。IgM 的相对分子质量大于  $100 \times 10^3$ , 因此本试验用  $100 \times 10^3$  的离心超滤管将其超滤去除。经超滤去除大分子蛋白后, 其中 2 例患者湿化学酶法测定肌酐水平与超滤前比较差异较大。而超滤后用 3 种肌酐检测试剂检

测同一患者的肌酐水平差异不大。如果不是肌酐试剂的分析试剂引起的误差, 那么分析试剂以外的物质对 IgM 造成影响的可能性较大。缓冲液、表面活性剂、防腐剂等任意一个酶法测定肌酐的组成成分与异常蛋白质发生沉淀反应, 都可能影响吸光度。但是, 与异常蛋白发生反应并干扰酶法测定肌酐结果的具体酶法测定试剂成分还有待进一步研究确定, 以便改进酶法测定肌酐试剂的缺陷, 使其检测结果更接近于真实值。此外, 干化学法采用多层薄膜的固相试剂技术, 其中的分布扩散层能过滤大分子, 因此即使同样应用酶法检测肌酐水平, 但由于去除了异常蛋白而不会出现肌酐水平的假性增高<sup>[5-8]</sup>。

综上所述, 在临床实际工作中只要将患者血清中的大分子蛋白去除, 即可测得肌酐的准确水平。因此, 当患有华氏巨球蛋白血症的患者出现与临床表现不符的肌酐异常高值时, 应考虑到异常蛋白的影响, 可用干化学法或湿化学苦味酸法再次测定以确定其准确性, 防止临床误诊、误治, 为临床提供真实、可靠的检验结果。

### 参考文献

- [1] 谢继光, 蒙凯. 血清肌酐测定方法的研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2007, 6(12): 144-145.
- [2] 杨闯, 斯文中, 卢晓琴. 选择 Jaffe 法消除胆红素对肌酐测定的干扰[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(22): 2480-2481.
- [3] 蒋筠斐, 胡晓波, 季慧峰. 酚磺乙胺对不同方法肌酐检测的影响[J]. 中国实验诊断学, 2008, 12(3): 383-385.
- [4] 范立权, 熊民权. 浆细胞白血病实验室诊断与鉴别的分析[J]. 诊断学理论与实践, 2008, 7(4): 412-415.
- [5] Hummel KM, von Ahsen N, Kühn RB, et al. Pseudohypercreatininemia due to positive interference in enzymatic creatinine measurements caused by monoclonal IgM in patients with Waldenström's macroglobulinemia [J]. Nephron, 2000, 86 (2): 188-189.
- [6] 肖淑辉, 李公祥. 速率散射法测定 M 蛋白病免疫球蛋白及轻链结果分析[J]. 中国误诊学杂志, 2004, 4(9): 1468-1469.
- [7] 苏大林, 朱国勇, 刘富新. 全自动生化分析仪提示“有凝块”的标本发现巨球蛋白血症 1 例[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(7): 887.
- [8] Ghobrial IM, Zhang Y, Liu Y, et al. Targeting the bone marrow in Waldenstrom macroglobulinemia [J]. Clin Lymphoma Myeloma Leuk, 2011, 11 (1): 65-69.

(收稿日期: 2014-12-12)

(上接第 1069 页)

- [3] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准(试行)[J]. 中华医学杂志, 2001, 81(5): 314-320.
- [4] NCCLS. M2-A8 Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test: approved standard[S]. NCCLS, 2003: 100.
- [5] Majed M, Masad Nizar M, Alzoubi KH, et al. In vitro determination of the antibiotic susceptibility of biofilm-forming *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*: possible role of proteolytic activity and membrane lipopolysaccharide [J]. Infect Drug Resist, 2013, 6(1): 27-32.
- [6] 郑丽宏, 毛长庚. 下呼吸道铜绿假单胞菌的耐药性分析与相关危险因素探讨[J]. 临床肺科杂志, 2013, 18(7): 1256-1258.
- [7] 蔡少华, 张进川, 钱桂生, 等. 气管导管生物被膜与复发性铜绿假单胞菌呼吸机相关肺炎的相关性[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2001, 24(6): 339-341.

- [8] 何佩茹. 铜绿假单胞菌生物被膜研究进展[J]. 科技创新导报, 2011, 8(23): 4.
- [9] 吴会玲, 田德英, 陈安群, 等. 蹤行运动和胞外藻酸盐在铜绿假单胞菌生物被膜形成中的作用[J]. 华中科技大学学报: 医学版, 2009, 38(6): 729-733.
- [10] 谢铁, 杨维青, 贾文祥, 等. 铜绿假单胞菌耐药性在生物被膜形成过程中的变化[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2005, 25(4): 314-318.
- [11] 夏前明. 生物被膜与难治性感染[J]. 西南国防医药, 2003, 13(2): 117-119.
- [12] Kadar B, Kocsis B, Nagy K, et al. The renaissance of polymyxins [J]. Curr Med Chem, 2013, 20(30): 3759-3773.

(收稿日期: 2014-11-24)