

• 论 著 •

脂血标本对时间分辨荧光免疫分析法测定游离雌三醇水平的影响

汪国庆, 赵 军, 周玉球
(广东省珠海市妇幼保健院检验科 519000)

摘要:目的 探讨脂血标本对时间分辨荧光免疫分析法检测游离雌三醇水平的影响。方法 收集男性呈正常和乳糜样外观的不同水平脂血标本,与不同水平的游离雌三醇定值血清混匀,制成混合血清,用时间分辨荧光分析法测定其游离雌三醇水平以评价不同乳糜样和正常外观脂血标本对游离雌三醇水平的影响。结果 对于乳糜样外观标本,轻度脂血可使游离雌三醇水平增高,中度及高度脂血则使游离雌三醇水平降低,且对游离雌三醇水平的影响十分接近。外观正常的中度脂血对游离雌三醇水平无显著干扰。结论 乳糜样外观脂血对时间分辨荧光分析法测定游离雌三醇存在不同的影响,进而影响唐氏筛查的准确度。

关键词:脂血; 时间分辨荧光免疫分析法; 游离雌三醇

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.02.016 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2017)02-0189-02

Effect of lipidemia on time-resolved fluoroimmunoassay for determination of unconjugated estriol

WANG Guoqing, ZHAO Jun, ZHOU Yuqiu

(Department of Clinical Laboratory, Zhuhai Municipal Maternity and Child Healthcare Hospital, Zhuhai, Guangdong 519000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of different degree lipidemia on time-resolved fluoroimmunoassay (TRFIA) for determination of unconjugated estriol (uE3). **Methods** Mixed serum was prepared by collecting different levels of lipidemia samples which were normal and chylous appearance from male and by mixing with definite value serum of uE3. The levels of uE3 in the samples were measured by TRFIA and the effect of lipidemia on TRFIA for determination of uE3 was evaluated. **Results** For the appearance of chylous specimens, mild lipidemia increased uE3, mid-or hiper-lipidemia samples reduced uE3 and the effect of both was considerable. **Conclusion** The chylous lipidemia has variant degree of influence to TRFIA for determination of uE3, then the results effect accuracy of Down's screening.

Key words: lipidemia; time-resolved fluoroimmunoassay; unconjugated estriol

21-三体综合征又称唐氏综合征,是当今世界范围内发病率较高的出生缺陷之一,发病率 1/600~1/800^[1]。通过母体血清用生化免疫方法筛查高风险唐氏儿始于 20 世纪 70 年代,多年以来,国际上多采用检测母体血清中甲胎蛋白、游离人绒毛膜促性腺激素 B 亚单位 2 项血清标志物作为孕中期唐氏综合征筛查指标,但近年来越来越多的研究表明,孕妇血清中游离雌三醇水平与唐氏综合征有密切的关系。Reynolds 等^[2]报道,唐氏综合征妊娠妇女血清游离雌三醇水平只有健康妊娠孕妇的 0.78 倍,并证实有游离雌三醇参与的三联筛查比二联筛查的效率明显要高 ($P<0.05$),国内也有相关报道^[3]。此外,母体血清中游离雌三醇水平与胎盘存在着非常密切的关系,通过连续多次动态观察以及联合其他指标综合分析,还可有效地监测胎儿-胎盘功能以及胎儿预后^[4-5]。随着经济发展,人们生活方式和饮食结构发生了较大的改变,高血脂群体也随之增加。脂血对生化、血液等检验结果的影响屡有报道,但其对时间分辨荧光分析法检测游离雌三醇的影响如何尚不得知^[6-7]。为此,本文探讨了脂血标本对时间分辨荧光分析法测定游离雌三醇的影响,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 美国 PerkinElmer (PE) 公司生产的 Auto DELFIA 1235 全自动时间分辨荧光免疫分析仪,游离雌三醇试剂盒由 PE 公司提供;日本 HITACHI 公司生产的 7180 全

自动生化分析仪,三酰甘油试剂盒由上海科华生物工程股份有限公司提供。质控品为 BIO-RAD 提供的产前 3 项血清质控物 level1、level2、level3,批号分别为 39141、39142、39143。

1.2 方法 将临床收集的成年男性乳糜样外观重度脂血、中度脂血、轻度脂血血清标本各 20 份,分别混匀后与高、中、低水平游离雌三醇定值血清按 2:1 比例混合,作为试验组;将 20 份血脂正常的混合血清与高、中、低水平游离雌三醇定值血清按 2:1 比例混合,作为对照组。此外,收集外观正常但三酰甘油中度异常的 20 份成年男性混合血清,分别与高、低水平游离雌三醇定值血清按 2:1 比例混合,用解离-增强镧系荧光免疫分析法 (DELFA) 检测以观察其对游离雌三醇的影响。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据分析,游离雌三醇检测水平以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组数据间比较采用配对 t 检验。

2 结 果

2.1 乳糜样外观脂血对游离雌三醇水平的影响 结果显示,乳糜样外观轻度脂血对游离雌三醇低、中、高水平平均产生显著正干扰;乳糜样外观中、重度脂血对低水平游离雌三醇无明显影响,但对游离雌三醇中、高水平平均产生明显负干扰。具体见表 1~3。

2.2 正常外观中度脂血对游离雌三醇低、高水平的影响 结果显示,正常外观中度脂血对游离雌三醇低、高水平测定的干

扰差异无统计学意义($P>0.05$)。具体见表 4。

表 1 乳糜样外观脂血对低水平游离雌三醇的影响			
组别	游离雌三醇 (nmol/L)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
对照组	1.52±0.26	—	—
轻度脂血	1.93±0.06	−14.288 70	<0.05
中度脂血	1.52±0.25	−0.565 30	>0.05
重度脂血	1.57±0.11	−0.073 49	>0.05

注:—表示无数据。

表 2 乳糜样外观脂血对中水平游离雌三醇的影响			
组别	游离雌三醇 (nmol/L)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
对照组	5.25±0.26	—	—
轻度脂血	6.13±0.32	−7.731 20	<0.05
中度脂血	4.29±0.12	−17.150 00	<0.05
重度脂血	4.63±0.17	−7.204 40	<0.05

注:—表示无数据。

表 3 乳糜样外观脂血对高水平游离雌三醇结果的影响			
组别	游离雌三醇 (nmol/L)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
对照组	15.40±0.57	—	—
轻度脂血	18.70±1.13	6.893 30	<0.05
中度脂血	12.80±0.85	−6.997 60	<0.05
重度脂血	13.10±0.78	−7.442 70	<0.05

注:—表示无数据。

表 4 正常外观中度脂血对低、高水平游离雌三醇的影响			
组别	游离雌三醇 (nmol/L)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
低值游离雌三醇对照组	1.52±0.26	—	—
低值游离雌三醇试验组	1.51±0.12	−1.304 40	>0.05
高值游离雌三醇对照组	15.40±0.57	—	—
高值游离雌三醇试验组	14.60±1.18	−1.781 30	>0.05

注:—表示无数据。

3 讨 论

时间分辨荧光分析法具有敏感度高、操作简便、无放射性污染等优点,已成为临床常用的分析手段之一。其有多种类型,其中以镧系元素为标志物的时间分辨荧光分析法称之为 DELFIA。DELFIA 具有极高的敏感度,是因为镧系离子螯合物本身荧光极弱,但在荧光增强液的作用下, Eu³⁺ 从免疫复合物上完全解离,游离的 Eu³⁺ 同增强液中的另 1 种螯合剂形成 1 种胶态分子团,这种分子团在激发光的激发下能够发出强烈荧光,使得 Eu³⁺ 荧光得以成千上万倍放大,其中所形成的胶态分子团可以避免水对荧光的淬灭作用。

许多研究表明,脂血标本对检验结果有不同的影响^[8-9]。本研究结果显示,不同程度的乳糜样外观脂血对游离雌三醇的测定存在不同的干扰,究其原因,可能在于反应体系中的乳糜微粒影响了胶态分子团的形成,或破坏了其稳定性,引发了荧光的淬灭,同时,乳糜微粒的屏蔽效应减少了抗原、抗体结合的概率而对结果产生影响。轻度脂血使游离雌三醇水平增高的原因在于反应体系中乳糜微粒所引起的干扰以荧光淬灭效应为主,轻度脂血乳糜微粒相对较少而导致其所产生的屏蔽效应

较弱,从而使与荧光强度呈负相关的游离雌三醇水平增高;中、重度脂血使游离雌三醇中、高水平降低,则是随着乳糜微粒的增多,反应体系中产生了以屏蔽效应为主,荧光淬灭效应相对较轻的干扰;而中度及重度三酰甘油异常混浊血清对低水平游离雌三醇无明显影响,原因则为反应体系中荧光淬灭效应与屏蔽效应处于相对平衡状态。从表 4 可知,正常外观中度三酰甘油异常的血清,对游离雌三醇水平的干扰差异无统计学意义($P>0.05$),乳糜微粒可能是干扰游离雌三醇水平的主要原因。因此,在产前唐氏筛查血清生化免疫分析前可以根据血清外观对标本进行初步的筛选。

虽然现有可与产前诊断相媲美的母体血浆胎儿游离 DNA 产前筛查技术应用于产前唐氏综合征筛查,但由于其技术要求高,价格昂贵,不适合于唐氏综合征的群体筛查,在现有条件下,也不能完全替代唐氏筛查。因此,提高唐氏综合征筛查的检出率尤为重要,从表 1~3 可知,轻度脂血就可对游离雌三醇低、中、高水平产生显著的正干扰($P<0.05$),其增加了唐氏综合征筛查的假阴性率而造成漏诊;中、重度脂血对游离雌三醇中、高水平均产生明显的负干扰($P<0.05$),其增加了唐氏综合征筛查的假阳性率和有创产前诊断的概率。不必要的产前诊断不仅浪费了医疗资源,同时也增加了孕妇的心理和经济负担以及潜在的穿刺风险。

综上所述,为保证产前唐氏综合征筛查结果的可靠性,血液标本采集前必须空腹。对于空腹标本外观仍呈乳糜样者,因其对游离雌三醇水平存在较大的干扰,则不能采用,建议行基于高通量基因测序技术的母体血浆胎儿游离 DNA 的产前筛查,以提高筛查结果的可靠性。

参考文献

[1] 杨锡强,易著文. 儿科学[M]. 6 版. 北京:人民卫生出版社,2004:164.

[2] Reynolds T, Vranken G, Van Nueten J, et al. Down's syndrome screening: population statistic dependency of screening performanc[J]. Clin Chem Lab Med, 2008, 46 (5): 639-647.

[3] 巩敏红,王玉. 孕中期唐氏综合征产前筛查两种方式筛查效率比较[J]. 吉林医学, 2014, 35(11): 2392-2393.

[4] 薛艳春,朱伟,沈丽,等. 测定孕妇血清游离雌三醇含量预测早产的发生[J]. 中外医疗, 2012, 31(21): 38-39.

[5] 白雪,范祎. 游离雌三醇和人胎盘催乳素测定在子痫前期的意义[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(13): 1870-1871.

[6] 张辉亮,黄树华,刘健玲. 重度乳糜血标本对三种常见类型生化检测方法的影响[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30 (1): 128-131.

[7] 徐玉兵,高春芳,赵琳. 脂血对 Sysmex XE-2100D 血液分析仪检测指标的影响研究[J]. 检验医学, 2012, 27(12): 1017-1020.

[8] 郭华国,桂瑞丰,汪宏,等. 高血脂、肝素对乙型肝炎病毒 DNA 实时荧光定量 PCR 测定干扰机制的探讨[J]. 现代检验医学杂志, 2007, 22(1): 58-60.

[9] 温秀明,彭及良,李丹红,等. 中、重度乳糜血对血液 5 项检验指标检测结果的影响分析[J]. 国际输血及血液学杂志, 2015, 38(4): 312-316.