

• 短篇论著 •

3 种不同除脂方法在消除脂血对丙氨酸转氨酶检测干扰的比较研究*

王霞, 潘彤, 杨文玲[△]
(天津市血液中心, 天津 300110)

摘要:目的 评价不同除脂方法在消除脂血对丙氨酸转氨酶(ALT)检测干扰中的效果。方法 首先配制不同浓度模拟脂血并进行三酰甘油(TG)和 ALT 检测。使用 3 种待评价除脂方法对重度模拟脂血(即脂血浓度为 5%)进行预处理和 ALT 检测。使用 3 种不同除脂方法对检测中随机收集的 46 袋乳糜血浆袋的标本进行预处理并检测 ALT。结果 低浓度脂血对 ALT 检测无明显影响, 脂血浓度为 5% 时对 ALT 检测产生严重干扰。3 种不同除脂方法处理重度模拟脂血的效果不同, 相比较而言聚乙二醇(PEG)法和超速离心法处理效果要优于乙醚萃取法。3 种不同除脂方法对随机收集的乳糜血浆标本进行处理, PEG 法、超速离心法处理后与原值进行比较, 差异无统计学意义($P>0.05$), 而乙醚法检测结果明显低于原值和其余 2 种方法, 差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 当模拟脂血浓度达到 5% 以上时, 对 ALT 检测产生严重干扰。本研究结果表明, PEG 法和超速离心法均可有效消除脂血对 ALT 检测的干扰, 但相比较而言, PEG 法经济、简便易行。

关键词:脂血; ALT; PEG 法; 超速离心法; 乙醚萃取**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2018.09.030**中图法分类号:**R446.1**文章编号:**1673-4130(2018)09-1126-03**文献标识码:**B

根据我国《献血者健康检查要求》(GB18467-2001)的规定, 采供血机构应采集提供丙氨酸转氨酶(ALT)检测合格的血液。各地血筛结果报道显示, ALT 不合格是血液报废的首要原因^[1-5]。实验室采用连续监测法检测 ALT 时, 乳糜标本对某些检测系统会产生干扰, 如不对此类标本进行有效的干预, 会出现异常提示, 如异常增高或降低, 甚至出现负值或错误报警等。确保检验标本在分析前的质量, 是提高检测质量的重要环节^[6-10]。为此, 本课题组通过配制模拟脂血来探讨脂血对 ALT 测定的影响, 并采用了 3 种不同的除脂方法即聚乙二醇(PEG)沉淀法(PEG 法)、超速离心法及乙醚萃取法并进行比较, 以便为实验室推荐更为简便易行的除脂方法。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2014 年 10 月至 2015 年 10 月在检验科常规检测中随机收集外观澄清、三酰甘油(TG)水平正常的 0.56~1.70 mmol/L 及 ALT 水平正常的血浆标本 30 份, 用于配制不同程度的模拟脂血。收集因重度乳糜血导致 ALT 检测失败而报废的血浆 46 例, 使用待评价的 3 种除脂方法同时进行处理。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器 赛默飞世尔公司 SoRVall[®] 台式冷冻超速离心机(型号 fresco); 东芝公司 TBA-120FR 全自动生化分析仪。

1.2.2 试剂 ALT 检测试剂盒购自上海科华生物工程有限公司(批号:20130131); TG 试剂盒购自上海科华生物工程有限公司(批号:20121127); PEG-6000 购自北京鼎国生物技术有限公司(美国默克公司进口分装); 脂肪乳注射液(英脱利匹特 20%)购自华瑞制药有限公司(批号:80FF130), 每瓶中组分为注射用大豆油 50 g、注射用卵磷脂 3.0 g、注射用甘油 5.5 g; 乙醚购自天津化学试剂三厂; ALT 高、低值质控品为英国朗道实验诊断有限公司产品(批号分别为 759UN、551UE)。

1.3 方法

1.3.1 模拟脂血的配制 (1)取 30 份已收集的澄清血浆(以澄清血浆设立对照组)分别加入不同量的脂肪乳配制成脂肪含量分别为 1%、2% 及 5% 的模拟脂血组, 即临床所定义的轻、中及重度脂血标本, 进行 ALT 和 TG 的检测。(2)使用 3 种待评价的除脂方法对模拟重度脂血标本分别进行处理并进行 ALT 检测。

1.3.2 重度乳糜标本的处理 对常规检测中收集的因重度乳糜而报废的 46 袋血浆, 37℃ 水浴融解混匀后采用一次性注射器进行采样, 然后使用 3 种待评价的除脂方法进行处理并检测 ALT。

1.3.3 3 种不同除脂方法的具体步骤 (1)PEG 法: 取 200 μL 血浆加入等体积的 10% PEG 工作液, 混匀

* 基金项目:天津市卫生局基金资助项目(2012KY27)。

[△] 通信作者, E-mail: Yangwenling@tjbc.org.cn。

室温静置 15 min, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液进行 ALT 检测, 测定结果乘以 2 为标本 ALT 的实际值^[11]。(2) 超速离心法: 取 300 μ L 血浆加入离心管中, 15 000 r/min 离心 15 min, 吸取下层的血浆进行 ALT 检测。(3) 乙醚萃取法: 取 300 μ L 血浆与乙醚等体积混匀, 震荡 30 s, 室温静置 5 min, 3 500 r/min, 离心 5 min, 用吸头穿过乙醚层吸取下层澄清血浆进行 ALT 检测。

1.4 统计学处理 使用 SPSS16.0 软件对所有结果的数据进行统计分析, 组间比较采用独立样本 *t* 检验, *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同浓度的模拟脂血标本 ALT 和 TG 检测结果 各模拟脂血组 TG 检测结果, 与澄清组比较差异有统计学意义(*P*<0.05)。轻、中度模拟脂血组 ALT 检测结果与澄清组比较差异无统计学意义(*P*>0.05), 但重度模拟脂血对 ALT 检测有严重影响直至无法测出, 见表 1。

表 1 模拟脂血标本 ALT、TG 的检测(<i>n</i> =30, $\bar{x}\pm s$)		
组别	TG(mmol/L)	ALT(IU/L)
澄清组	1.767 \pm 0.915	13.150 \pm 4.557
轻度模拟脂血组	8.155 \pm 1.147*	13.294 \pm 4.831
中度模拟脂血组	14.023 \pm 1.076*	13.050 \pm 4.312
重度模拟脂血组	30.739 \pm 1.231*	/

注: 与澄清血浆比较, **P*<0.05; / 表示无法测出

2.2 重度模拟脂血标本处理后的比较 模拟脂血用三种方法处理后, ALT 均能有效测出具体检测值; PEG 法、超速离心法处理后与澄清组比较, 差异均无统计学意义(*P*>0.05); 乙醚提取法处理后与澄清组比较, 差异有统计学意义(*P*<0.05), 见表 2。

表 2 3 种方法对重度模拟脂血处理前后 ALT 测定结果比较(<i>n</i> =30, $\bar{x}\pm s$)		
组别	ALT(IU/L)	
	处理前	处理后
澄清组	13.150 \pm 4.557	—
PEG 法	/	11.968 \pm 6.361
超速离心法	/	13.105 \pm 4.677
乙醚提取法	/	5.798 \pm 3.686*

注: 与澄清组比较, **P*<0.05; — 表示该项无数据; / 表示无法测出

表 3 3 种方法对收集的脂血浆处理前后 ALT 测定结果比较(<i>n</i> =46, $\bar{x}\pm s$)		
组别	ALT(IU/L)	
	未处理	处理后
超速离心法	/	18.717 \pm 8.090
PEG 法	/	16.413 \pm 6.981
乙醚提取法	/	12.587 \pm 5.123* Δ

注: 与超速离心法比较, **P*<0.05; 与 PEG 法比较, Δ *P*<0.05

2.3 3 种方法对重度乳糜标本分别进行处理后 ALT 检测结果的比较 处理前由于重度乳糜干扰了 ALT 的检测, 本检测系统无法给出测定结果, 而使用 3 种不同除脂方法处理后均能检测出 ALT 水平, 见表 3。

3 讨 论

脂血标本是血站检验科日常检测中经常遇到的棘手问题, 而血站实验室不宜也不可能采用临床实验室对检测标本的要求, 并对献血者进行重新采样。因此, 对于实验室来讲, 寻找一种简便而有效的消除脂血对检测干扰的方法至关重要。众所周知, 采集后的标本经过离心后其血浆(清)外观可呈现不同程度的浑浊。对于轻度的脂质浑浊实验室可以通过采用双试剂和/或仪器检测参数设置等方法, 基本上可以消除脂质对常规生化项目的影响。而重度脂质浑浊时由于标本中存在大量的乳糜微粒, 其会对入射光产生散射作用进而对生化分析仪光学系统的透光产生严重干扰^[12], 最终结果导致检测出现异常的情况。如果不对此种标本进行有效的干预, 势必会造成 ALT 检测结果的误报, 从而造成该血液标本所对应的血液成分的浪费和宝贵的血液资源的浪费。

本研究针对高脂质浑浊对全自动生化分析仪连续监测法 ALT 测定有一定干扰的现象, 采用了 3 种不同的样品预处理方式(即 PEG 法、超速离心法及乙醚萃取法)对重度脂血标本进行处理。3 种不同除脂方法处理效果不同, 相比较而言 PEG 法和超速离心法处理效果要优于乙醚萃取法。3 种不同除脂法对随机收集的因乳糜影响 ALT 检测而报废的标本进行处理, 结果显示 PEG 法、超速离心法无明显差异, 而乙醚法检测结果明显低于其余 2 种方法。目前, 实验室处理严重脂质浑浊标本采取稀释法、标本放置法、高速离心法、乙醚萃取进行预处理。但采用稀释法处理高脂质浑浊标本时, 会产生稀释误差, 且随着稀释倍数的增高其检测误差就越大^[13-14], 难以保证检测的准确性。而且对于稀释后的标本而言, 乳糜微粒依然存在于反应体系中, 对检测光的散射干扰并没有消除。所以, 标本稀释法不能有效地完全去除脂质浑浊对检测系统的干扰。标本放置法因标本需放置较长时间, 不能及时完成检测而延误报告的发放。

而高速离心法^[15]对设备的依赖性较高, 费用也偏高。乙醚萃取中使用的乙醚是一种较强的有机溶剂。当使用乙醚对标本进行处理时, 容易造成蛋白质和酶类发生变性, 进而使酶的活性发生改变甚至于完全失活, 导致检测结果较真实结果偏低。而且乙醚抽提法在检测糖类、无机离子、非蛋白氮化合物项目时也存在干扰现象。此外, 乙醚属于危险化学品, 必须严格地进行管理, 其致畸性对操作人员有一定的风险。本研究也有不足之处, 因检测系统有限, 未进行乳糜血对不同检测系统的干扰程度的探讨, 以及未对使用不同除脂方法的效果是否存在差异作进一步探讨。

本研究的结果表明 PEG 法的除脂效果良好、价格经济、操作简便、实验室容易采购和管理,因此推荐 PEG 法作为血站实验室常规使用的除脂方法。

参考文献

- [1] 刘李栋,李超,高瑜,等.丙氨酸转移酶血液筛查应用意义的初步探讨[J].中国输血杂志,2009,22(7):527-530.
- [2] 孟宪成,马莉,袁玉华,等.天津市 2005—2007 年无偿献血情况分析[J].中国输血杂志,2009,22(7):578-580.
- [3] 赵光香.研究血站成分制备过程中血液报废的原因及预防方法[J].中国保健营养,2016,26(17):21-22.
- [4] 庄永华.血液成分制备过程中血液报废情况及其原因分析[J].中国卫生产业,2017,14(21):13-14.
- [5] 方春英.宜昌市无偿献血者血液报废原因和对策分析[J].中国输血杂志,2013,26(6):581-582.
- [6] 卢建强,王伟佳,杜满兴,等.11 024 份血液类不合格标本原因分析及应对措施[J].国际检验医学杂志,2015(22):3248-3249.
- [7] 周迎端,陈敏,邓茜.血液标本临床检验不合格的原因和对策分析[J].中国医药导报,2013,10(10):97-100.

• 短篇论著 •

- [8] 刘桂晔.血站血液检验标本误差因素及预防措施研究[J].国际医药卫生导报,2016,22(1):108-110.
- [9] 辛本勤,董艳.血站检验科关键控制点质量管理的探讨[J].中国卫生产业,2016,13(16):17-19.
- [10] 罗昭玲.无偿献血血液报废原因及对策分析[J].实用心脑血管病杂志,2012,20(7):1218-1219.
- [11] 王霞,潘彤,李红珠,等.聚乙二醇消除脂血干扰 ALT 检测的实验研究[J].中国输血杂志,2014,27(9):956-958.
- [12] 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.
- [13] 郑红芬.血液标本处理方式对生化检验结果的干预作用[J].医药前沿,2016,6(2):349-350.
- [14] 张蕴秀,石育英,盛惠光,等.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.
- [15] 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.

(收稿日期:2017-09-12 修回日期:2017-11-02)

糖尿病肾病患者脂肪因子、炎症因子的检测及意义

邬亦华¹,龙 泉²,石晓欣³,王瑞良^{3△}

(1. 上海国际医学中心内分泌科,上海 201321;2. 上海国际医学中心肾脏科,上海 201321;

3. 上海交通大学医学院附属新华医院老年科,上海 200092)

摘要:目的 探讨对糖尿病肾病患者脂肪因子和炎症因子进行检测的临床意义。方法 选择院内收治的 150 例确诊为 2 型糖尿病的患者作为观察对象,依据患者 24 h 尿微量清蛋白(MAU)水平将其分为糖尿病肾病组(A 组)、早期糖尿病肾病组(B 组)和单纯糖尿病组(C 组),选择同时期行健康体检的 60 例健康者作为对照组,对各组 MAU、脂肪因子及炎症因子水平含量进行检测、对比。**结果** A 组在平均病程、收缩压及舒张压方面显著高于 B 组和 C 组,差异有统计学意义($P < 0.05$);B 组在平均病程、收缩压及舒张压方面显著高于 C 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。A 组、B 组及 C 组的脂联素、血清抵抗素及胰岛素样生长因子-1(IGF-1)水平均显著高于对照组,且随着病情的加重呈现递增趋势,A 最高,B 次之,C 最低,组间比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。A 组、B 组及 C 组的白细胞介素(IL)-6、转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)及 C 反应蛋白(CRP 水平)均显著高于对照组,且随着病情的加重呈现递增趋势,A 最高,B 次之,C 最低,组间比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。MAU 与脂肪因子及炎症因子均呈正相关性。**结论** 机体内脂肪因子与炎症因子的水平与糖尿病患者肾病肾脏功能的损害程度存在密切关系,可作为糖尿病肾病临床诊断和预后的相关检测指标。

关键词:糖尿病肾病; 脂肪因子; 炎症因子; 检测意义

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.09.031

中图法分类号:R446.11

文章编号:1673-4130(2018)09-1128-03

文献标识码:B

糖尿病肾病在临床中多见于糖尿病病史 > 10 年的患者,此时期患者往往伴有大量蛋白尿、水肿、高脂血症及低蛋白血症的“三高一低”临床表现,即所谓肾病综合征^[1-2]。糖尿病肾病是糖尿病患者临床较为常

见的一种微血管并发症,若得不到及时有效的对症处理,在较短时间内会引起肾功能的衰竭,并且还会在一定程度上增加心血管疾病的发病率和致死率,故成为导致糖尿病患者致死和致残的最常见原因,且近年

△ 通信作者, E-mail: wuyihua938@163.com。

本文引用格式:邬亦华,龙泉,石晓欣,等.糖尿病肾病患者脂肪因子、炎症因子的检测及意义[J].国际检验医学杂志,2018,39(9):1128-1130.