

痰热清注射液对常用临床生化检验项目的干扰研究*

尹元, 赵延荣, 王正印, 李亮亮, 顾征璟, 王伟灵[△]

(上海中医药大学附属上海市中西医结合医院检验科, 上海 200082)

摘要:目的 探讨痰热清注射液对 8 种常用临床生化检验项目的干扰。方法 配制 10 倍治疗浓度的痰热清注射液的干扰血清样本, 以注射用水配制对照组样本, 分别测定 8 种临床生化项目, 确定干扰情况。对存在干扰的项目进行剂量效应试验, 确定干扰药物浓度及干扰强度。分别通过配对差异试验评估痰热清注射液对肌氨酸氧化酶法和碱性苦味酸法测定肌酐(Cr)的干扰情况。结果 在配对差异试验中, 当血清中痰热清注射液浓度为 40 mL/L, 基础样本三酰甘油(TG)、尿酸(UA)及 Cr(肌氨酸氧化酶法)分别为 5.87 mmol/L、502 μ mol/L 和 142 μ mol/L 时, 测定产生负干扰, 与空白对照血清的偏差分别为 -27.21%、-59.80% 和 -46.21%。剂量效应试验结果表明, 引起 TG、Cr 和 UA 检测干扰的最低痰热清注射液浓度分别为 17.06、1.47、3.06 mL/L。配对差异试验表明痰热清注射液对碱性苦味酸法测定 Cr 无干扰。结论 痰热清注射液对部分临床生化检验项目存在干扰。

关键词:痰热清注射液; 干扰; 肌酐; 尿酸; 三酰甘油; 酶法**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2018.24.019**中图法分类号:**R446.1**文章编号:**1673-4130(2018)24-3066-05**文献标识码:**A**In vitro interference of Tanreqing injection on routine clinical biochemical assays***YIN Yuan, ZHAO Yanrong, WANG Zhengyin, LI Liangliang, GU Zhengjing, WANG Weiling[△]

(Department of Clinical Laboratory, Shanghai Traditional Chinese Medicine-Integrated Hospital, Shanghai 200082, China)

Abstract: **Objective** To investigate the interference of Tanreqing injection on 8 clinical biochemical assays. **Methods** The concentrations of 8 analytes were determined and prepared through mixed serum. 10 times of the therapeutic concentration of Tanreqing injection was prepared and used as the interference sample, and the control sample was injection water. The interference of the interference sample and the control sample were accessed through testing 8 clinical biochemical items respectively. Furthermore, dose effect test was conducted to determine the concentration and intensity of the interference drugs. Through the paired difference test, a evaluation on the Tanreqing injection interfering with the sarcosine oxidase and alkaline picric acid methods which were used to analyze serum creatinine was held. **Results** The paired difference tests showed negative interference when the concentration of Tanreqing injection in serum was 40 mL/L and the concentrations of TG, UA and Cr (enzymatic assay) in samples were 5.87 mmol/L, 502 μ mol/L and 142 μ mol/L, respectively. The deviations from drug-free serum were -27.21%, -59.80% and -46.21%. The dose effect tests were carried out on 3 negative interfering assays, which showed the lowest concentrations of Tanreqing injection that could cause interference on TG, Cr and UA detection were 17.06, 1.47 and 3.06 mL/L respectively. The paired difference test showed Tanreqing injection had no interference to the determination of creatinine on basic picric acid method. **Conclusion** The interference of Tanreqing injection exists on some clinical biochemical assays.

Key words: Tanreqing injection; interference; creatintine; uric acid; triacylglycerol; enzymatic assay

干扰物质是临床实验室检测中的常见问题, 严重影响测量结果的准确性。干扰物质分为内源性物质

* 基金项目: 上海市卫生和计划生育委员会科研课题资助项目(20174Y0016); 上海市虹口区卫生和计划生育委员会课题资助项目(虹卫1704-12)。

作者简介: 尹元, 男, 技师, 主要从事临床生化检验及相关研究。 [△] 通信作者, E-mail: wangweiling888@126.com。

本文引用格式: 尹元, 赵延荣, 王正印, 等. 痰热清注射液对常用临床生化检验项目的干扰研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(24): 3066-

和外源性物质,其中内源性干扰物有血红蛋白、胆红素、脂类等,外源性干扰物主要为患者使用的药物^[1]。近年来,针对内源性干扰物质对检验结果的干扰问题,试剂厂商常采取添加抗干扰物质等措施来降低干扰,同时对试剂抗内源性物质干扰能力进行评价并在试剂说明书中予以体现。随着患者使用药物种类的增加,以及临床检验工作者对检验质量的要求不断提高,药物对临床检验结果的干扰已引起了广泛关注^[2]。2017 年美国食品药品监督管理局就曾发布安全信息建议书,提醒临床医生、实验室人员注意患者补充高剂量外源性生物素(Biotin)对实验室检测结果的影响。

痰热清注射液具有抑菌抗毒、抗炎解热、祛痰镇咳、护胆利肝的作用,临床应用广泛^[3]。临床工作中多次发现使用痰热清注射液的患者多个生化检验项目出现大幅波动,目前尚未见痰热清注射液对临床生化检验项目干扰的试验数据报道。本研究将通过体外干扰试验,探讨痰热清注射液对常用临床生化检验项目的干扰。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究探讨痰热清注射液对 8 个常规使用的临床生化检验项目的干扰情况。根据各检测项目医学决定水平确定相关检验项目分析物浓度。干扰试验基础样本使用近期收集的未使用痰热清注射液的本院住院患者新鲜、混合血清(无黄疸、脂血和溶血)。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 检测试剂与仪器 本研究中使用的检测试剂丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测试剂盒(乳酸脱氢酶法,批号:AUZ3596)、总蛋白(TP)检测试剂盒(双缩脲法,批号:3628)、乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒(乳酸底物法,批号:3704)、尿酸(UA)检测试剂盒(尿酸酶过氧化物酶法,批号:AUZ3629)、三酰甘油(TG)检测试剂盒(磷酸甘油酯氧化酶法,批号:AUZ3592)、无机磷(P)检测试剂盒(磷钼酸法,批号:AUZ3606)、肌酐(Cr)检测试剂盒 1(肌氨酸氧化酶法,批号:9968)、葡萄糖(Glu)检测试剂盒(己糖激酶法,批号:AUZ3570)、Cr 检测试剂盒 2(碱性苦味酸法,批号:3220)和相关项目校准品(批号:0119)均购自贝克曼库尔特商贸(中国)有限公司。检测仪器为美国 Beckman-Coulter AU5800 全自动生化分析仪和 DXC 800 全自动生化分析仪,该生化分析仪为本实验室常规使用仪器,性能稳定,运行状况良好。质控品为 Beckman-Coulter 公司产品(批号:M507473)。

1.2.2 试验药物 痰热清注射液(20 mL/瓶)购自上海凯宝药业有限公司,批号 1609216。

1.3 方法 在体外将干扰药物加入血清样本,通过配对差异试验确定干扰物质。随后对确定的有干扰的检验项目进一步通过剂量效应试验评估干扰物浓

度和干扰程度两者间的关系。

1.3.1 样本制备 国际临床化学和检验医学联合会(IFCC)推荐在药物体外干扰评价研究中,使用的干扰药物浓度最高应为治疗浓度的 10 倍^[4]。痰热清注射液临床用量为每日 1 瓶(20 mL/瓶),成人平均血容量以 5 L 计算,即治疗浓度为 4 mL/L。本研究中使用干扰药物浓度为痰热清注射液 10 倍治疗浓度即干扰药物浓度为 40 mL/L。干扰筛选试验分别使用痰热清注射液和基础血清按照 1:19 体积比配制试验血清样本,对照样本为注射用水和基础血清 1:19 体积比配制。

1.3.2 干扰筛选试验 参考《全国临床检验操作规程》第 3 版相关检测项目的生物学变异确定临床可允许的最大干扰范围,并建立临床有临床意义的差别的可接受标准(d_{max}),见表 1^[5]。对检测仪器进行精密度评估和校准,根据每日室内质控结果,评估检测方法的稳定性,得到室内质控的精密度。重复检测次数通过最大允许干扰值(d_{max})/批内标准差(s)比值计算得出。本研究中各项目重复检测次数均为 3 次。按交互顺序分析试验样本(T)和对照样本(C),即 C1T1C2T2C3T3,记录各项目检测结果。

表 1 各检测项目方法学及临床可允许最大误差

检测项目	方法学	临床可允许最大误差(%)
ALT	乳酸脱氢酶法	32.1
LDH	乳酸底物法	11.4
Glu	己糖激酶法	6.3
TP	双缩脲法	3.4
TG	磷酸甘油酯氧化酶法	10.2
UA	尿酸酶过氧化物酶法	11.9
Cr	肌氨酸氧化酶法/碱性苦味酸法	6.9
P	磷钼酸法	10.2

1.3.3 干扰效应分析 计算观察到干扰效应的干扰值(d_{obs}), d_{obs} 为干扰试验样品均值(Test)与对照样品均值(control)之差($d_{obs} = Interference = X_{test} - X_{control}$),并将其与临界值(d_c)进行比较,若 $d_{obs} > d_c$,则说明存在干扰。通过公式 $d_c = \frac{d_{mlt} + SZ_{1-\alpha/2}}{\sqrt{n}}$ 计算 Cut-off 值得 d_c 。式中 s 表示分析方法标准差; n 表示重测次数; d_{mlt} 表示无效假设规定的值,通常为 0。

1.3.4 剂量效应分析 分别使用试验样本和对照样本作为高浓度样本(H)和低浓度样本(L)进行剂量效应试验样本制备。以高浓度和低浓度样本按照一定比例混合而成,具体制备方法见表 2。在同一分析批内测定 5 个系列浓度样本,每个样本各检测 3 次。同一检测批次内的 5 个样本,第 1 组样本按浓度升序检测,第 2 组样本按降序检测,第 3 组样本按升序检测。

表 2 痰热清注射液剂量效应试验样品配置方法		
痰热清注射液	配制方法	痰热清注射液浓度(mL/L)
1 号低浓度标本	500 μ L 对照样本	0
2 号 25%浓度标本	100 μ L 1 号标本+100 μ L 3 号标本	10
3 号中间浓度标本	200 μ L 1 号标本+200 μ L 5 号标本	20
4 号 75%浓度标本	100 μ L 3 号标本+100 μ L 5 号标本	30
5 号高浓度标本	500 μ L 试验标本	40

1.3.5 痰热清注射液对肌氨酸氧化酶法和碱性苦味酸法测定 Cr 的干扰 分别取近期末使用痰热清注射液的患者的血清样本,制备高、中、低 3 个浓度混合血清样本。3 份样本分别使用 AU5800(肌氨酸氧化酶法)和 DXC 800(碱性苦味酸法)测定 Cr 浓度,重复测定 3 次。分别添加 40 mL/L 痰热清注射液至混合血清制备试验样本,并使用注射用水制备对照样本,分别使用两仪器测定 Cr 浓度。

1.4 统计学处理 应用 SPSS19.0 统计软件对配对差异试验结果进行统计描述,并对剂量试验的干扰效应与痰热清注射液浓度进行非线性回归分析。

2 结 果

2.1 痰热清注射液对常用临床生化检验项目的干扰

表 3 痰热清注射液配对差异试验结果									
检验项目	基础 样本均值	试验组 样本均值	试验组 样本 SD	对照组 样本均值	对照组 样本 SD	d_{obs}	$s(\%)$	$d_c(\%)$	干扰情况
ALT(U/L)	94.00	90.67	0.58	90.67	0.58	0.00	0	30.17	无
UA(μ mol/L)	502.00	194.67	0.58	484.33	1.15	-289.66	-59.80	59.73	负干扰
LDH(U/L)	454.00	422.00	3.00	431.67	2.89	-8.33	-1.93	51.75	无
TP(g/L)	80.00	77.67	0.58	77.00	0.00	0.67	0.87	2.72	无
Cr(μ mol/L)	142.00	73.67	0.58	137.00	1.00	-63.33	-46.22	9.79	负干扰
TG(mmol/L)	5.87	4.04	0.032	5.55	0.075	-1.51	-27.21	0.598	负干扰
Glu(mmol/L)	11.80	11.07	0.00	11.07	0.058	0.00	0	0.743	无
P(mmol/L)	1.49	1.49	0.00	1.45	0.075	0.04	2.76	0.151	无

表 4 痰热清注射液剂量效应结果						
痰热清注射液浓度 (mL/L)	TG		Cr		UA	
	均值(mmol/L)	干扰效应(%)	均值(mmol/L)	干扰效应(%)	均值(mmol/L)	干扰效应(%)
0	5.44	0	138.00	0	481.33	0
10	5.11	-6.06	96.00	-30.43	347.00	-27.86
20	4.82	-11.39	84.00	-39.13	257.67	-46.57
30	4.46	-18.01	78.00	-43.47	217.67	-54.89
40	4.18	-23.16	75.00	-45.65	195.67	-59.46

2.3 痰热清注射液对不同方法学 Cr 测定结果的干扰 为探讨痰热清注射液对不同方法测定 Cr 的干扰情况,分别使用碱性苦味酸法和肌氨酸氧化酶法测定

筛选试验 体外干扰试验表明,痰热清注射液对 ALT、LDH、TP、P 和 Glu 等 5 项生化检测项目无干扰,对 TG、Cr 和 UA 等 3 个项目存在明显负干扰。当血清中痰热清注射液浓度为 40 mL/L,基础样本中 TG、UA 及 Cr(肌氨酸氧化酶法)为 5.87 mmol/L、502 μ mol/L 和 142 μ mol/L 时,检测结果与空白血清的偏差分别为-27.21%、-59.80%和-46.21%,均高于干扰可接受范围,见表 3。

2.2 痰热清注射液对 TG、Cr 和 UA 检测干扰的剂量效应试验 对在体外干扰筛选试验中发现存在干扰的 3 个检测项目分别进行剂量效应分析,具体结果见表 4。分别将干扰药物痰热清注射液浓度与对分析项目干扰效应进行多项式回归,得到痰热清注射液对 TG 检测的干扰剂量效应拟合方程为 $Y = -0.582X - 0.07(R^2 = 0.998)$,对 Cr 检测的干扰剂量效应拟合方程为 $Y = -0.043X^2 - 2.782X - 2.713(R^2 = 0.970)$,对 UA 检测的干扰剂量效应拟合方程为 $0.0407X^2 - 3.872X - 0.4274(R^2 = 0.9984)$,见图 1~3。根据本研究中确定的临床可允许最大误差,计算得到引起 TG、Cr、UA 检测干扰的最低痰热清注射液浓度分别为 17.06、1.47、3.06 mL/L。

3 个浓度、无痰热清注射液用药史患者血清样本,两方法检测回归结果为 $Y = 1.057X - 6.7441(R^2 = 0.9999)$,其中 X 为肌氨酸氧化酶法,Y 为碱性苦味

酸法,经统计学分析,两种方法测定 Cr 的偏倚在允许范围内。干扰筛选结果表明,痰热清注射液对肌氨酸氧化酶法测定 Cr 有负干扰,对碱性苦味酸法无干扰,见表 5。

表 5 痰热清注射液对不同方法检测 Cr 的干扰

方法	均值(μmol/L)			d_{obs} (μmol/L)	d_c (%)	干扰情况
	基础样本	试验组样本	对照组样本			
肌氨酸氧化酶法	67.33	34.33	64.33	-30.00	4.64	负干扰
	118.67	61.33	114.33	-53.00	8.19	负干扰
	286.33	147.00	276.00	-129.00	19.75	负干扰
苦味酸法	63.67	58.67	61.33	-2.66	4.39	无干扰
	119.67	108.00	116.00	-8.00	8.26	无干扰
	295.67	277.33	283.67	-6.34	20.40	无干扰

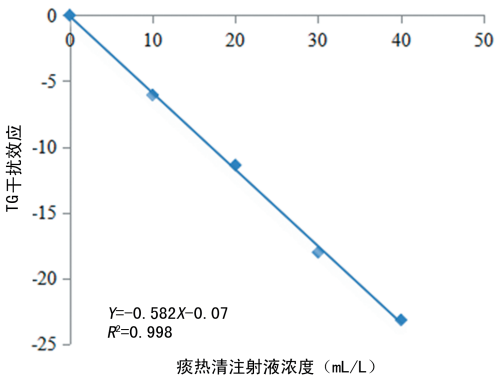


图 1 TG 剂量效应结果

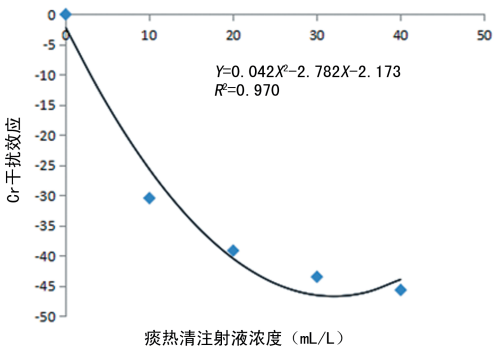


图 2 Cr 剂量效应结果

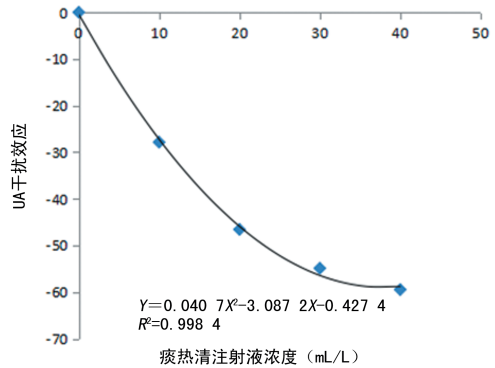


图 3 UA 剂量效应结果

3 讨 论

近年来,药物作为对临床检验结果干扰的一大因

素,越来越引起检验医学界和临床医生的关注。由于西药成分及含量明确,目前西药对检验结果干扰情况的研究已较成熟。由于中药成分复杂,制作过程复杂,炮制方法不统一,生产厂家制定的标准存在差异,导致各厂家产品成分含量不尽相同,因此目前关于中药对检验结果的干扰研究鲜有报道。

痰热清注射液主要由黄芩、熊胆粉、山羊角、金银花、连翘等成分组成。不同产地金银花中绿原酸和木犀草苷含量、连翘中连翘苷含量、熊胆中熊去氧胆酸含量差异均较大,同时药材的采收期对其中有效成分含量亦有较大影响^[6],导致不同厂家生产的痰热清注射液有效成分存在较大差别。此外中药注射液有效成分物质研究基础不足,缺少控制其质量稳定性的评价指标;药物进入体内的入血成分不明确,药动力学特征亦不够清晰。因此,开展中药对检验结果的干扰研究具有较大难度,也不能仅仅研究某个单体成分,而应将中药作为一个整体对其干扰临床实验室指标测定的情况进行探讨^[7]。本研究发现痰热清注射液对磷酸甘油酯氧化酶法检测 TG、尿酸酶过氧化物酶法检测 UA 及肌氨酸氧化酶法检测 Cr 的检测结果产生了负干扰。

血清 Cr 是评价肾功能的重要指标。碱性苦味酸法和肌氨酸氧化酶法是目前临床实验室测定 Cr 的常用方法。据国家卫生健康委员会临床检验中心数据显示,全国参加室间质评的实验室中使用肌氨酸氧化酶法测定 Cr 的比例从 2009 年的 54% 上升至 2014 年的 67%,近年来肌氨酸氧化酶法已逐渐取代碱性苦味酸法成为国内使用最广泛的 Cr 检测方法^[8]。由于酶作用特异性高,使测定的准确性、灵敏度、重复性、线性测量范围等都有了相应的提高,然而这种方法也存在多种物质的干扰。本研究发现痰热清注射液对 TG、UA 及 Cr(肌氨酸氧化酶法)的检测结果产生干扰。上述 3 种反应均为基于 Trinder 反应的方法,经初步分析,可能是 Trinder 反应过程中产生的过氧化氢与痰热清注射液中的还原性物质反应,导致过氧化氢被消耗,产生负干扰。研究发现还原型谷胱甘肽、

羟苯磺酸钙、维生素 C、胆红素、利福平、阿司匹林、他巴唑、酚磺乙胺、磷酸肌酸钠等药物也可产生负干扰^[9-10]。碱性苦味酸法成本较低,虽然易出现交叉污染,但仍有不少实验室一直在使用。本研究发现痰热清注射液对碱性苦味酸法测定 Cr 无干扰。碱性苦味酸法受到内源性含有甲基或亚甲基功能团的物质的干扰,其与苦味酸可反应生成 α -甲基酮或 α -亚甲基酮类化合物而使结果偏高^[11]。此外胆红素浓度升至 165 $\mu\text{mol/L}$ 时,会使苦味酸法 Cr 测定结果偏低^[12]。近年来也有报道称药物对碱性苦味酸法测定 Cr 产生干扰,如头孢替坦二钠、头孢西丁钠、硫酸卡那霉素、链霉素、甲氧苄啶等会使 Cr 测定结果明显偏高^[13-14],阿司匹林、对乙酰氨基酚、安乃近、马来酸罗格列酮等也可产生正干扰^[15-17];而羟钴胺素、美司钠、脂质体阿霉素则对碱性苦味酸法 Cr 测定结果呈负干扰^[18]。鉴于痰热清注射液对 Cr 测定的干扰情况,临床工作中在两种方法均使用的实验室,建议出现 Cr 测定结果与尿素结果明显不匹配时,应及时了解患者用药情况并采用其他方法进行复检。

药物干扰是临床实验室检测中普遍存在,却又常被忽视的问题。美国食品药品监督管理局明确要求在药品说明书中须包含有关药物对临床实验室测定干扰的相关内容。相比之下,我国的药品说明书,仅提到了适应证、特殊人群用药注意事项、药物相互作用、不良反应等注意事项,缺乏药物对实验室检测指标的干扰情况等重要内容;同时试剂厂商一般只对如溶血、黄疸等对检测结果的干扰情况进行评价,而缺少药物干扰信息。中药由于自身成分的复杂性及标准欠缺,导致相关内容更是欠缺,这都将给临床及患者合理、安全、有效地使用药品造成障碍。因此,本组建议将药物对临床实验室检测指标的干扰信息列入药品说明书及检测系统或试剂说明书,同时建立中药对检验结果影响的数据库并将其与实验室管理系统整合,加强检验与临床沟通,切实降低检测结果偏差给患者带来的风险。

4 结 论

综上所述,本研究通过体外干扰试验,分析了痰热清注射液对 8 种常用临床生化检验项目的干扰情况,发现痰热清注射液对磷酸甘油酯氧化酶法检测 TG、尿酸酶过氧化物酶法检测 UA 及肌氨酸氧化酶法检测 Cr 的检测结果产生了负干扰,同时基于中药的复杂性和相关标准的缺乏,本组提出了相应的建议,以期临床更加合理、安全、有效地使用中药提供数据支持。

参考文献

[1] KROLL M H, ELIN R J. INTERFERENCE WITH CLINICAL LABORATORY ANALYSES [J]. Clin Chem, 1994, 40(11): 1996-2005.

[2] 倪翀,尹元,王伟灵. 常用中成药对检验结果的干扰和预防策略[J]. 检验医学, 2017, 32(2): 149-152.

[3] 潘佩香. 痰热清注射液的药理作用及临床应用[J]. 临床合理用药杂志, 2015, 8(6): 174-175.

[4] SONNTAG O, SCHOLER A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies[J]. Ann Clin Biochem, 2001, 38(Pt 4): 376-385.

[5] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社, 2006: 79-80.

[6] 姚文冰. HPLC 法测定痰热清注射液中的黄芩苷和连翘苷的含量[J]. 中国药师, 2011, 14(10): 1479-1480.

[7] 尹元,赵延荣,倪翀,等. 红花注射液对 8 种临床生化检验项目的体外干扰研究[J]. 检验医学, 2017, 32(10): 22-26.

[8] 王学晶,徐国宾,夏昌宇,等. 常用肌酐检测系统的准确度评估[J]. 中华检验医学杂志, 2011, 34(11): 1037-1043.

[9] GUO X, HOU L, CHENG X, et al. Strong negative interference by Calcium dobesilate in sarcosine oxidase assays for serum creatinine involving the trinder reaction[J]. Medicine, 2015, 94(23): e905.

[10] 王正印,尹元,王伟灵. 肌酐检测方法及其常见药物对肌酐检测干扰的研究进展[J]. 检验医学, 2018, 33(4): 370-373.

[11] LOLEKHA P H, JARUTHUNYALUCK S, SRISAWASDI P. Deproteinization of serum: another best approach to eliminate all forms of bilirubin interference on serum creatinine by the kinetic Jaffe reaction[J]. J Clin Lab Anal, 2001, 15(3): 116-121.

[12] 石凌波,林龙顺. 常见肌酐测定方法中存在的干扰[J]. 中华检验医学杂志, 2001, 24(2): 102-104.

[13] YAO H, RAYBURN E R, SHI Q, et al. FDA-approved drugs that interfere with laboratory tests: A systematic search of US drug labels[J]. Crit Rev Clin Lab Sci, 2017, 54(1): 1-17.

[14] SYAL K, SRINIVASAN A, BANERJEE D. Streptomycin interference in Jaffe reaction - possible false positive creatinine estimation in excessive dose exposure[J]. Clin Biochem, 2013, 46(1/2): 177-179.

[15] LUNA-ZÁIZAR H, VIRGEN-MONTELONGO M, CORTEZ-ÁLVAREZ C R, et al. In vitro interference by acetaminophen, aspirin, and metamizole in serum measurements of glucose, urea, and creatinine[J]. Clin Biochem, 2015, 48(7/8): 538-541.

[16] 李金密,高飞,陈开春,等. 马来酸罗格列酮造成肌酐苦味酸法检测结果假性增高[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(19): 2311-2312.

[17] BLEL A, ORVEN Y, PALLET N, et al. Pegylated liposomal doxorubicin (Caelyx®) interference with the spectrophotometric Jaffe method for quantitative determination of creatinine in human plasma[J]. Clin Biochem, 2017, 50(7/8): 455-457.