

高浓度三酰甘油对免疫比浊法检测项目的影

宋霖¹, 戴雯¹, 张宁²

(武汉大学人民医院:1. 检验科;2. 肾内科, 湖北武汉 430060)

摘要:目的 利用脂肪乳模拟不同浓度三酰甘油(TG)的脂血样本,分析不同浓度 TG 对常见免疫比浊法生化检测项目的影。方法 通过向基质血清中加入不同量的脂肪乳,模拟 5 个不同浓度 TG 的脂血样本(M1 组为 0 μ L 脂肪乳、20 μ L 生理盐水,M2 组为 5 μ L 脂肪乳、15 μ L 生理盐水,M3 组为 10 μ L 脂肪乳、10 μ L 生理盐水,M4 组为 15 μ L 脂肪乳、5 μ L 生理盐水,M5 组为 20 μ L 脂肪乳、0 μ L 生理盐水)。使用全自动生化分析仪检测不同组中免疫比浊法检测项目,随后通过高速离心(12 000 r/min 离心 10 min),检测离心前后免疫比浊项目测定值的变化。结果 随着 TG 浓度的升高,纤维蛋白原(Fn)检测值逐步升高,M1~M5 组 Fn 检测值比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);视黄醇结合蛋白(RBP)检测值逐步降低,M1~M5 组 RBP 检测值比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。当 TG 浓度超过 9 mmol/L 前清蛋白(PA)检测值随 TG 浓度升高逐步降低,M3~M5 组 PA 检测值比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。M2~M5 组补体 C1q(C1q)水平与 M1 组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),且 M5 组 C1q 水平与 M2~M4 组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。各组胱抑素 C(CYC)、 β_2 -微球蛋白(β_2 -MG)、脂蛋白 a[Lp(a)]、载脂蛋白 A1(ApoA1)、载脂蛋白 B(ApoB)、宽范围超敏 C 反应蛋白(wr-CRP)比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。M1 组超速离心后所有检测指标与离心前比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);M2 组超速离心后 TG 水平与离心前比较,M3 组超速离心后 TG、Fn、RBP 水平与离心前比较,M4、M5 组超速离心后 TG、Fn、RBP、PA 与离心前比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论 不同浓度的 TG 会对不同的免疫比浊项目检测造成干扰,超高速离心可减轻这种干扰,但不能完全消除。检验人员与临床医生均应知晓脂血对生化检测结果的影响,为更好地解读检验报告,更准确地诊断病情、判断预后奠定理论基础。

关键词:高脂血症; 甘油三酯类; 散射测浊法和比浊法; 对比研究

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.10.020 **中图法分类号:**R446.61

文章编号:1673-4130(2019)10-1236-04 **文献标识码:**A

Influence of high concentration of triglyceride in detecting with turbidimetric inhibition immunoassay

SONG Lin¹, DAI Wen¹, ZHANG Ning²

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Nephrology, Renmin Hospital of Wuhan University Hubei, Wuhan 430060, China)

Abstract: Objective To analyze the influence of different concentrations of triglyceride in detecting items with turbidimetric inhibition immunoassay, using the fat emulsion to imitate the lipemia samples. **Methods** Five lipemia samples (M1 was with 0 μ L fat emulsion and 20 μ L normal saline, M2 was with 5 μ L fat emulsion and 15 μ L normal saline, M3 was with 10 μ L fat emulsion and 10 μ L normal saline, M4 was with 15 μ L fat emulsion and 5 μ L normal saline, M5 was with 20 μ L fat emulsion and 0 μ L normal saline), with different concentrations of triglyceride were imitated by adding different volume of fat emulsion into basic serum. Automatic biochemical analyzer was used to detect the test items with turbidimetric inhibition immunoassay in different group, then to detect the values of test items with turbidimetric inhibition immunoassay through high speed centrifugal (12 000 r/min for 10 min) before and after the centrifugal. **Results** With the increasing of the concentration of triglyceride, the detection value of Fn was increasing and the detection value of retinol-binding protein (RBP) was decreasing among the 5 groups with statistically significant difference ($P<0.05$). While the concentration of triglyceride >9 mmol/L, the level of Prealbumin (PA) was decreasing with the increasing of triglyceride among the M3 group, M4 group and M5 group, with statistically significant difference ($P<0.05$). Compare with the M1 group, the level of complement C1q in the M2 group, M3 group, M4 group and M5 group showed statistically significant difference ($P<0.05$); compared with M5, the level of complement

作者简介:宋霖,男,硕士研究生,主要从事临床生化检验方向的研究。

本文引用格式:宋霖,戴雯,张宁.高浓度三酰甘油对免疫比浊法检测项目的影[J].国际检验医学杂志,2019,40(10):1236-1239.

C1q in the M2 group,M3 group and M4 group showed statistically significant difference ($P<0.05$). The difference among the 5 groups on Cysstatin C(CYC), β 2-microglobulin (β 2-MG),Lipoprotein a (Lp(a)),apolipoprotein A1 (ApoA1),apolipoprotein B (ApoB) and wide range high sensitive C-reaction protein (wr-CRP) had no difference ($P>0.05$). The level of triglyceride in the M2 group,the levels of TG,Fn and RBP in the M3 group and the levels of TG,Fn,RBP and PA in the M4 group and the M5 group before and after ultracentrifugation showed statistically significant difference ($P<0.05$). **Conclusion** Different concentrations of triglyceride may have different influence on different test items with turbidimetric inhibition immunoassay item, although ultracentrifugation could reduce the impact,it can not eliminate completely. Technicians and physicians should be aware of the influence that lipemia can have on the results of the laboratory tests,in order to reduce errors,better interpretation of the report and increase patient safety.

Key words:hyperlipidemias; triglycerides; nephelometry and turbidimetry; comparative study

脂血是临床生化检验中最常见的不合格样本类型之一,也是影响检验结果的重要的分析前影响因素^[1-3]。不同于溶血,对脂血样本单纯地进行样本退回,并嘱临床重新采血也无法避免脂血的再次出现。血清中三酰甘油(TG)的浓度过高,通常是引起脂血的重要原因。免疫比浊法是当今临床生化检验中常用的检测方法。其是通过血清中的抗原与试剂中的抗体,经一定时间后形成抗原抗体复合物,使反应体系中出现浊度。通过测定反应液的浊度与一系列标准品对照,即可计算出样本中抗原含量^[4]。从反应原理可知,免疫比浊法是否能准确测定出样本中分析物的含量,与样本的浊度密切相关。本研究利用脂肪乳模拟不同浓度 TG 的脂血样本,分析了不同浓度 TG 对常见免疫比浊法生化检测项目的影 响,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 收集检验指标正常且接近并排除有免疫球蛋白血症的血清样本 20 份。

1.2 方法

1.2.1 不同浓度 TG 脂血样本的制备 将 20 份血清样本制成混合基质血清 15 mL。将混合基质血清分为 50 份,每份 300 μ L。将样本分为 5 组(M1~M5 组),按下述比例向每组加入不同量的脂肪乳,模拟 5 种不同浓度 TG 的脂血样本:(1)M1 组为 0 μ L 脂肪乳、20 μ L 生理盐水;(2)M2 组为 5 μ L 脂肪乳、15 μ L 生理盐水;(3)M3 组为 10 μ L 脂肪乳、10 μ L 生理盐水;(4)M4 组为 15 μ L 脂肪乳、5 μ L 生理盐水;(5)M5 组为 20 μ L 脂肪乳、0 μ L 生理盐水。

1.2.2 检测方法 使用西门子全自动生化分析仪 Advia2400 测定血清总胆固醇(TC)、TG、前清蛋白(PA)、纤维蛋白原(Fn)、胱抑素 C(CYC)、 β 2-微球蛋白(β 2-MG)、视黄醇结合蛋白(RBP)、补体 C1q(C1q)、脂蛋白 a[Lp(a)]、载脂蛋白 A1(ApoA1)、载脂蛋白 B (ApoB)、宽范围超敏 C 反应蛋白(wr-CRP)。TC、TG、ApoA1、ApoB、wr-CRP 为西门子配套试剂,批号分别为 359288、348374、362876、357771、360673;PA、CYC、 β 2-MG、RBP 试剂来源自上海景源生物科技公

司,批号分别为 1630147、4090R、411H0、40695;Lp(a)试剂来源于 Orion Diagnosticaoy,批号为 1701021;Fn、C1q 试剂来源于上海北加生物科技公司,批号分别为 15102803、20151217。随后通过超高速离心(12 000 r/min 离心 10 min),检测离心前后免疫比浊项目测定值的变化。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件对数据进行分析,多组间比较采用单因素方差分析,超高速离心前后两组间比较采用配对 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基质血清各指标检测结果 20 份样本混合而成的基质血清所有检测指标均在正常范围内。见表 1。

表 1 基质血清各指标检测结果($n=20$)

检测指标	第 1 次 检测值	第 2 次 检测值	第 3 次 检测值	均值
TC(mmol/L)	3.24	3.27	3.17	3.23
TG(mmol/L)	0.87	0.87	0.88	0.87
PA(mg/L)	253.56	246.77	249.85	250.06
Fn(mg/L)	149.00	151.00	154.00	151.33
CYC(mg/L)	0.41	0.41	0.44	0.42
β 2-MG(mg/L)	1.02	1.07	1.03	1.04
RBP(mg/L)	28.56	29.92	30.20	29.56
C1q(mg/L)	141.70	140.10	140.80	140.87
Lp(a)(mg/L)	160.00	161.00	162.00	161.00
ApoA1(g/L)	1.27	1.30	1.32	1.30
ApoB(g/L)	0.56	0.57	0.57	0.57
wr-CRP(mg/L)	0.23	0.17	0.22	0.21

2.2 不同浓度 TG 对免疫比浊法检测项目的影 响 M2~M5 组 TG、Fn 水平与 M1 组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),且随 TG 浓度升高,Fn 检测值逐步升高,M1~M5 组 Fn 检测值比较,差异均有统计学意义($P<0.05$); M2~M5 组 RBP 水平与 M1 组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),且随 TG 浓度升高,RBP 检测值逐步降低,M1~M5 组 RBP 检测值比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。M1 组 PA 检测值与 M2 组比较,差异无统计学意义($P>0.05$);但与

M3~M5 组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),且随 TG 浓度升高,PA 检测值逐步降低,M3~M5 组 PA 检测值比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。M1 组 C1q 水平与 M2~M5 比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),且 M5 组 C1q 水平与 M2~M4 比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。各组 CYC、 β_2 -MG、Lp(a)、ApoA1、ApoB、wr-CRP 比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 不同浓度 TG 对免疫比浊法检测项目的影响($\bar{x}\pm s$)

检测指标	M1 组($n=10$)	M2 组($n=10$)	M3 组($n=10$)	M4 组($n=10$)	M5 组($n=10$)
TC(mmol/L)	3.22±0.03	3.23±0.03	3.24±0.03	3.25±0.02	3.25±0.03*
TG(mmol/L)	0.87±0.01	4.96±0.03*	9.28±0.06*#	13.47±0.45*#▲	16.92±0.13*#▲△
PA(mg/L)	249.79±2.37	248.43±1.47	245.69±1.45*#	213.85±3.13*#▲	178.31±2.68*#▲△
Fn(mg/L)	151.40±1.58	216.70±1.64*	292.20±5.37*#	363.20±2.39*#▲	442.00±2.79*#▲△
CYC(mg/L)	0.43±0.01	0.41±0.02	0.42±0.01	0.42±0.02	0.42±0.01
β_2 -MG(mg/L)	1.05±0.02	1.05±0.02	1.04±0.02	1.04±0.01	1.04±0.01
RBP(mg/L)	29.47±0.72	26.68±0.56*	20.11±1.50*#	15.07±1.09*#▲	12.07±0.81*#▲△
C1q(mg/L)	140.30±1.79	146.71±3.10*	146.90±1.46*	147.48±1.46*	153.68±2.34*#▲△
Lp(a)(mg/L)	160.90±1.10	161.40±1.17	161.10±2.42	161.10±0.74	161.60±1.96
ApoA1(g/L)	1.32±0.03	1.34±0.02	1.32±0.01	1.35±0.02	1.35±0.02
ApoB(g/L)	0.57±0.01	0.58±0.02	0.58±0.01	0.58±0.02	0.58±0.01
wr-CRP(mg/L)	0.21±0.02	0.21±0.01	0.22±0.01	0.21±0.01	0.21±0.01

注:与 M1 组比较,* $P<0.05$;与 M2 组比较,# $P<0.05$;与 M3 组比较,▲ $P<0.05$;与 M4 组比较,△ $P<0.05$

表 3 离心前后脂血样本检验指标的变化($\bar{x}\pm s$)

检测指标	M1 组		P	M2 组		P	M3 组		P
	离心前	离心后		离心前	离心后		离心前	离心后	
TC(mmol/L)	3.22±0.03	3.22±0.03	0.343	3.23±0.03	3.21±0.10	0.631	3.24±0.03	3.24±0.22	0.489
TG(mmol/L)	0.87±0.01	0.87±0.01	0.343	4.96±0.03	4.86±0.09	0.004	9.28±0.06	7.58±0.28	0.001
PA(mg/L)	249.79±2.37	249.56±2.06	0.343	248.43±1.47	242.22±13.87	0.198	245.69±1.45	245.24±2.82	0.636
Fn(mg/L)	151.40±1.58	151.30±1.77	0.343	216.70±1.64	216.20±6.97	0.818	292.20±5.37	235.60±5.58	0.001
CYC(mg/L)	0.43±0.01	0.43±0.01	0.343	0.41±0.02	0.41±0.02	0.823	0.42±0.01	0.41±0.01	0.070
β_2 -MG(mg/L)	1.05±0.02	1.05±0.02	0.343	1.05±0.02	1.07±0.01	0.065	1.04±0.02	1.03±0.02	0.153
RBP(mg/L)	29.47±0.72	29.53±0.66	0.343	26.68±0.56	26.74±0.42	0.695	20.11±1.50	24.55±1.73	0.001
C1q(mg/L)	140.30±1.79	140.10±1.72	0.343	146.71±3.10	147.29±1.92	0.365	146.90±1.46	147.52±0.66	0.269
Lp(a)(mg/L)	160.90±1.10	160.90±1.10	0.343	161.40±1.17	161.60±1.71	0.726	161.10±2.42	162.40±1.71	0.191
ApoA1(g/L)	1.32±0.03	1.32±0.03	0.343	1.34±0.02	1.35±0.02	0.494	1.32±0.01	1.33±0.01	0.173
ApoB(g/L)	0.57±0.01	0.57±0.01	0.343	0.58±0.02	0.57±0.02	0.382	0.58±0.01	0.59±0.03	0.175
wr-CRP(mg/L)	0.21±0.02	0.21±0.02	0.343	0.21±0.01	0.21±0.01	0.758	0.22±0.01	0.21±0.01	0.373

续表 3 离心前后脂血样本检验指标的变化($\bar{x}\pm s$)

检测指标	M4 组		P	M5 组		P
	离心前	离心后		离心前	离心后	
TC(mmol/L)	3.25±0.02	3.24±0.02	0.780	3.25±0.03	3.22±0.08	0.269
TG(mmol/L)	13.47±0.45	9.71±0.71	0.001	16.92±0.13	10.41±1.15	0.001
PA(mg/L)	213.85±3.13	238.91±4.34	0.001	178.31±2.68	207.14±8.40	0.001
Fn(mg/L)	363.20±2.39	306.72±11.21	0.001	442.00±2.79	377.60±20.66	0.001
CYC(mg/L)	0.42±0.02	0.42±0.01	0.209	0.42±0.01	0.42±0.01	0.132
β_2 -MG(mg/L)	1.04±0.01	1.04±0.01	0.423	1.04±0.01	1.03±0.01	0.095
RBP(mg/L)	15.07±1.09	20.93±1.02	0.001	12.07±0.81	19.21±1.60	0.001
C1q(mg/L)	147.48±1.46	146.77±1.63	0.355	153.68±2.34	153.90±1.90	0.635
Lp(a)(mg/L)	161.10±0.74	160.90±0.57	0.394	161.60±1.96	161.80±1.32	0.735
ApoA1(g/L)	1.35±0.02	1.34±0.01	0.057	1.35±0.02	1.33±0.61	0.171
ApoB(g/L)	0.58±0.02	0.57±0.02	0.081	0.58±0.01	0.58±0.01	0.758
wr-CRP(mg/L)	0.21±0.01	0.21±0.01	0.555	0.21±0.01	0.21±0.01	0.982

2.3 超高速离心前后脂血样本检验指标的变化

M1 组超高速离心后所有检测指标与离心前比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);M2 组超高速离心后 TG 水平与离心前比较,M3 组超高速离心后 TG、Fn、RBP 水平与离心前比较,M4、M5 组超高速离心后 TG、Fn、RBP、PA 与离心前比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

3 讨 论

脂血是临床常见的不合格样本类型,对临床生化检测结果具有巨大影响^[5-7]。造成脂血的原因主要分为生理性和病理性两大类。生理性脂血主要是由于患者进食后 1~2 h 内采血造成的,这类情况可通过嘱患者空腹 8 h 后采血得到消除;病理性脂血主要是由于脂肪代谢或运转异常使血浆中一种或多种脂质水平高于正常范围,病因包括糖尿病、肾脏疾病、甲状腺功能减退症、肥胖、雌激素作用、高尿酸血症、大量摄入单糖、吸烟、饮酒、糖皮质激素、久坐不动、基因异常等^[8]。

TG 血症是高脂血症中最常见的类型,更重要的是临床常通过 TG 的浓度来判断脂血的程度,权衡检验结果的准确性^[9-10]。因此,探讨 TG 对生化检验中免疫比浊项目的影响是十分有必要的。

本研究通过向混合基质血清中添加不同量的脂肪乳,模拟了轻度脂血样本(M2)、中度脂血样本(M3)、高度脂血样本(M4)和重度脂血样本(M5)。结果发现,轻度脂血即可使 Fn、RBP 检测结果受到干扰,且 TG 浓度越高,检测的干扰就越严重。轻度脂血对 PA 的检测并无影响,但当 TG 水平超过 9 mmol/L,达中度脂血后 PA 检测值明显降低,且 TG 浓度越高,检测的干扰就越严重。轻度脂血使补体 C1q 检测值轻微升高,而重度脂血才会对补体 C1q 的检测产生明显干扰。同时,本研究还发现,不同浓度 TG 对 CYC、 β_2 -MG、Lp(a)、ApoA1、ApoB、wr-CRP 的检测均未产生显著影响。表明不同浓度 TG 对不同免疫比浊项目会产生不同程度的干扰。

实验室常用的消除脂血影响的方法主要是稀释法和超高速离心法^[11-12]。前者由于对结果正常或低值的检测项目会产生较大的误差,因而不建议作为一般处理方法使用。本研究结果表明,采用超高速离心法去除浑浊后可明显减轻对 Fn、RBP、PA 的干扰,然而这种干扰并不能完全消除至对照水平。同时,超高速离心法无法消除 TG 对补体 C1q 测定的干扰。因此,对脂血样本,建议超高速离心后再检测 Fn、RBP、PA。必须注意的是,超高速离心法必定会造成 TG 浓

度的降低,因此,对 TG 项目的测定不能采用超高速离心法,建议使用稀释法进行测定。

4 结 论

不同浓度的 TG 会对不同免疫比浊项目检测造成干扰,超高速离心法可减轻这种干扰,但不能完全消除。因此,检验人员应强化分析前质量控制重要性的教育,建立规范的样本前处理流程,及时将脂血样本筛选出来进行预处理,减少其对检测的干扰。面对脂血样本,检验人员必须备注样本性状为脂血或重度脂血,提示临床医生样本的检测结果存在不准确性;另一方面,临床医生也应深入学习脂血样本对检测项目的影响,为更好地解读检验报告,更准确地诊断病情、判断预后奠定理论基础。

参考文献

- [1] NIKOLAC N. Lipemia; causes, interference mechanisms, detection and management[J]. Biochem Med (Zagreb), 2014,24(1):57-67.
- [2] 陈国华. 溶血脂血对生化检验结果的影响[J]. 医药前沿, 2013(21):182-183.
- [3] 马秀珍. 血液样本检验结果的影响因素及管控对策[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2016,4(16):13-14.
- [4] 王建柱,周聚荷,贾兴旺,等. 免疫比浊法检测梅毒螺旋体抗体的方法评价[J]. 标记免疫分析与临床, 2015,22(1):56-58.
- [5] 李建芬. 临床检验中不合格血液标本的原因分析[J]. 中国当代医药, 2012,19(27):88.
- [6] 孙天石,刘杨. 溶血脂血对生化检验结果的影响[J]. 健康必读:中旬刊, 2013,12(10):103.
- [7] 朱征,丁显平,杨敏,等. 高脂血对临床生化测定影响及处理方法的临床研究[J]. 国际检验医学杂志, 2012,33(20):2533-2534.
- [8] 林旻洁,赵水平. 高甘油三酯血症的防治进展[J]. 中华内科杂志, 2013,52(3):232-235.
- [9] 彭华,戴盛明. 高脂血标本对临床检验项目的干扰及消除[J]. 国际检验医学杂志, 2010,31(10):1140-1142.
- [10] 李福林,侯香萍,唐敏. 1 种新的血红蛋白推算公式及其在高脂血标本检测中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2016,37(18):2616-2617.
- [11] 鄢仁晴,高松. 消除脂血对临床生化检验常用指标干扰的方法比较[J]. 遵义医学院学报, 2011,34(6):601-604.
- [12] 蔡丽君,林赞,陈凤平. 消除血浆高脂血标本对生化项目测定结果干扰的方法研究[J]. 现代医药卫生, 2016,32(12):1883-1885.

(收稿日期:2018-09-22 修回日期:2019-01-18)