

• 四川大学华西医院实验医学科专题 •

维生素 C 对单试剂氧化酶法检测总胆固醇和三酰甘油的干扰分析*

李得娟^{1,2}, 唐云芳^{1,3}, 罗静萍^{1,4}, 巩琳莉^{1,5}, 李红^{1,6}, 张瑶^{1,7}, 梁珊珊¹, 贺勇^{1△}

(1. 四川大学华西医院实验医学科, 四川成都 610041; 2. 青海省心脑血管病专科医院检验科, 青海西宁 810000; 3. 云南省云县人民医院检验科, 云南临沧 675800; 4. 四川省成都市武侯区第三人民医院检验科, 四川成都 610041; 5. 四川省成都市民用航空医学中心检验科, 四川成都 610041; 6. 四川省广元市旺苍中医院检验科, 四川广元 628200; 7. 四川省仁寿县中医医院检验科, 四川眉山 620500)

摘要:目的 分析不同维生素 C(VC)浓度对单试剂氧化酶法检测总胆固醇(CHOL)和三酰甘油(TG)的干扰影响, 确定影响临床应用价值的最低 VC 干扰浓度。方法 收集覆盖 CHOL、TG 检测线性范围的新鲜血清样本各 10 份, 制备不同浓度梯度的 VC 干扰管, 单试剂氧化酶法测定 CHOL 和 TG, 计算加入不同梯度浓度的 VC 前后 CHOL、TG 的差值及相对偏差, 使用国家卫生行业标准(WS/T403-2012)的允许总误差判断偏差是否具有临床意义, 确定不同 CHOL、TG 浓度对 VC 影响检测结果不可接受的浓度。结果 VC 对单试剂酶法检测 CHOL、TG 的干扰为负干扰, 干扰值与 VC 干扰浓度呈正相关关系, 随着干扰浓度的增加, 干扰值越大。相关关系方程式为 TG: $Y = -1.0021X (r^2 = 0.9956)$; CHOL: $Y = -0.997X - 0.0213 (r^2 = 0.9976)$ 。结论 VC 对单试剂氧化酶法检测 CHOL 和 TG 产生负干扰, 产生具有临床意义的干扰与 VC 干扰浓度及 CHOL、TG 值密切相关。

关键词: 总胆固醇; 三酰甘油; 维生素 C; 氧化酶法; 单试剂; 允许总误差

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.07.005 **中图法分类号:** R446.112

文章编号: 1673-4130(2020)07-0787-04 **文献标识码:** A

Interference of vitamin C to oxidase assay with single reagent in the determination of total cholesterol and triglyceride*

LI Dejuan^{1,2}, TANG Yunfang^{1,3}, LUO Jingping^{1,4}, GONG Linli^{1,5},
LI Hong^{1,6}, ZHANG Yao^{1,7}, LIANG Shanshan¹, HE Yong^{1△}

(1. Department of Laboratory Medicine, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Qinghai Province Cardiovascular and Cerebrovascular Disease Hospital, Xining, Qinghai 810000, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Yun Country People's Hospital, Lincang, Yunnan 675800, China; 4. Department of Clinical Laboratory, the third People's Hospital of Chengdu Wuhou District, Chengdu, Sichuan 610041, China; 5. Department of Clinical Laboratory, Chengdu Civil Aviation Medical Center, Chengdu, Sichuan 610041, China; 6. Department of Clinical Laboratory, Guangyuan Wangcang Traditional Chinese Medicine Hospital, Guangyuan, Sichuan 628200, China; 7. Department of Clinical Laboratory, Renshou Country Traditional Chinese Medicine Hospital, Meishan, Sichuan 620500, China)

Abstract: Objective To analyze the influence of the different concentration of vitamin C on total cholesterol(CHOL) and triglyceride(TG) by oxidase assay with single reagent, and confirm the lowest interference concentration of vitamin C which influences clinic application value. **Methods** Ten blood samples covering in the detection linear range of CHOL and TG were collected, and different concentrations of vitamin C were prepared as interfering tubes, the concentration of CHOL and TG were detected by oxidase assay with single reagent, and calculated the difference value and relative deviation of CHOL and TG before and after adding differ-

* 基金项目: 四川省科技计划项目(2019YFS0320)。

作者简介: 李得娟, 女, 主管技师, 主要从事临床生物化学检验研究。△ 通信作者, E-mail: heyong1011@163.com。

本文引用格式: 李得娟, 唐云芳, 罗静萍, 等. 维生素 C 对单试剂氧化酶法检测总胆固醇和三酰甘油的干扰分析[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(7): 787-790.

ent concentrations of vitamin C, allowable total error of National industry standard(WS/T403-2012) was used to judge whether the deviation had clinic significance, to determine the different concentrations of vitamin C which were unacceptable for the test results. **Results** The vitamin C had a negative interference on the test of CHOL and TG by oxidase assay with single reagent, the testing value of CHOL and TG was positively correlated with vitamin C's concentration, with the increasing of the interference concentration, the interference value increasing. The correlation equations of TG and CHOL were respectively $Y = -1.0021X (r^2 = 0.9956)$ and $Y = -0.997X - 0.0213 (r^2 = 0.9976)$. **Conclusion** The different concentrations of vitamin C have a negative interference on the value of CHOL and TG by oxidase assay with single reagent, and whether the interference has clinical significance, it depends on the concentrations of vitamin C, CHOL and TG.

Key words: total cholesterol; triglyceride; vitamin C; oxidase method; single reagent; allowable total error

随着人们生活水平的提高,动脉粥样硬化的患病率逐年上升,高血脂症作为动脉粥样硬化的危险因素日益受到重视^[1-3],血清总胆固醇(CHOL)和三酰甘油(TG)是临床普遍应用的重要血脂常规检测指标,目前,国内实验室多采用单试剂氧化酶法检测,最后显色反应均为偶联终点比色法(Trinder 反应),该反应易受到维生素 C(VC)、胆红素等还原性物质的负干扰作用,造成检测值降低^[4-9]。而临床对 VC 的应用越来越广泛^[10-13],大量地补充 VC 可使其在患者体内大量蓄积,对临床部分检验项目如 CHOL、TG、葡萄糖(GLU)、尿酸(UA)等检测结果产生影响,现在还没有文献报道关于 VC 对 CHOL 和 TG 检测的干扰及多大干扰会使临床检测不可接受。本实验针对不同浓度的 VC 干扰浓度对 CHOL、TG 检测的干扰进行了系列干扰试验,分析了干扰值及干扰率与 CHOL、TG 浓度和 VC 干扰浓度的关系,临床及实验室分析提供相关数据。

1 材料与方 法

1.1 材料 收集四川大学华西医院 2018 年 10 月住院患者新鲜血清 40 例,覆盖 CHOL、TG 线性范围(CHOL 的线性范围:0.10~20.70 mmol/L;TG 的线性范围:0.22~8.95 mmol/L),将 CHOL 分成 4 个浓度梯度(0.10~<5.00、5.00~<10.00、10.00~<15.00、15.00~<20.70 mmol/L)、TG 分成 4 个浓度梯度(0.22~<2.00、2.00~<4.00、4.00~<6.00、6.00~<8.95 mmol/L)进行收集。因无法获取高浓度 CHOL 标本,所以 CHOL 只覆盖到 11.43 mmol/L。每个梯度收集 10 个标本,然后制备成 10 个不同浓度的混合血清;VC 标准液(10 mmol/L):取 VC(相对分子质量为 176.13)分析纯品 0.1761 g,加纯水稀释至 100 mL。所用仪器和试剂为罗氏 c702 全自动生化分析仪和配套的 CHOL、TG 试剂和校准品,检测方法为单试剂氧化酶法(GPO),单试剂未含抗坏血酸盐。

1.2 样品制备 如表 1 所示,配置系列干扰样品管,基础管中不加 VC,7 个干扰管中各加入不同浓度

的 VC。

表 1 干扰试验样品制备

加入物	基础管	干扰样品管						
		I	II	III	IV	V	VI	VII
血清(μL)	360	360	360	360	360	360	360	360
VC(μL)	0	40	28	20	12	8	6	4
生理盐水(μL)	40	0	12	20	28	32	34	36
干扰浓度(mmol/L)	0	1.00	0.70	0.50	0.30	0.20	0.15	0.10

1.3 CHOL、TG 样本检测方法 CHOL、TG 室内质控检测在控后检测基础管及干扰管浓度。干扰物加入浓度、干扰值及干扰率按照干扰实验中公式计算:

$$\text{干扰物加入浓度 (mmol/L)} = \frac{\text{干扰物溶液浓度} \times \text{干扰物溶液浓度 (mL)}}{\text{血清量 (mL)} + \text{干扰物溶液量 (mL)} + \text{生理盐水量 (mL)}};$$

$$\text{干扰值 (mmol/L)} = \text{干扰管测定值} - \text{基础管测定值};$$

$$\text{干扰率 (\%)} = \frac{\text{干扰值}}{\text{基础值}} \times 100\%。$$

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 进行实验数据处理和分析,计算干扰值与干扰率,根据国家卫生行业标准(WS/T403-2012)《临床生物化学检验常规项目分析质量指标》总允许误差(TEa)作为标准判断相对偏差是否具有临床意义,若相对偏差 > 1/2TEa 则有临床意义,若相对偏差 ≤ 1/2TEa 则无临床意义。

2 结 果

2.1 VC 对 CHOL 及 TG 的干扰 VC 可降低 CHOL、TG 的测定值,干扰为负干扰;干扰值与 VC 干扰浓度呈正相关关系,随着干扰浓度的增加,干扰值越大;虽然同一 VC 干扰浓度对 CHOL、TG 测定的干扰值基本相同,但干扰率与 CHOL、TG 浓度相关,同一 VC 干扰浓度下,随着 CHOL、TG 浓度增加,干扰率越小。根据国家卫生行业标准,CHOL 检测分析的 TEa 为 9.0%,TG 的 TEa 为 14.0%,以 1/2TEa (CHOL 为 4.5%,TG 为 7.0%)为判断是否具有临床意义的标准。见表 2、3。

表 2 TG 干扰试验结果

样品	TG (mmol/L)	不同 VC 浓度干扰管													
		I		II		III		IV		V		VI		VII	
		干扰值 (mmol/L)	干扰率 (%)	干扰值 (mmol/L)	干扰率 (%)	干扰值 (mmol/L)	干扰率 (%)	干扰值 (mmol/L)	干扰率 (%)	干扰值 (mmol/L)	干扰率 (%)	干扰值 (mmol/L)	干扰率 (%)	干扰值 (mmol/L)	干扰率 (%)
1	0.49	-0.49*	-100.00*	-0.49*	-100.00*	-0.45*	-92.86*	-0.33*	-67.35*	-0.23*	-46.94*	-0.17*	-34.69*	-0.12*	-24.49
2	0.93	-0.91*	-97.85*	-0.72*	-77.42*	-0.55*	-59.14*	-0.32*	-34.41*	-0.22*	-23.66*	-0.17*	-18.28*	-0.12*	-12.90
3	1.92	-1.01*	-52.60*	-0.65*	-33.85*	-0.53*	-27.60*	-0.33*	-17.19*	-0.19*	-9.90*	-0.15*	-7.81*	0.10	-5.21
4	2.32*	-1.08*	-46.55*	-0.71*	-30.60*	-0.53*	-22.84*	-0.30*	-12.93*	-0.22*	-9.48*	-0.14	-6.03	-0.10	-4.31
5	3.91	-0.94*	-24.04*	-0.68*	-17.39*	-0.49*	-12.53*	-0.29*	-7.42	-0.22	-5.63	-0.19	-4.86	-0.11	-2.81
6	4.72	-0.90*	-19.07*	-0.55*	-11.65*	-0.41*	-8.69*	-0.28	-5.93	-0.24	-5.08	-0.17	-3.60	-0.10	-2.12
7	5.76	-1.10*	-19.10*	-0.73*	-12.67*	-0.49*	-8.51*	-0.27	-4.69	-0.18	-3.13	-0.13	-2.26	-0.09	-1.56
8	6.19	-1.14*	-18.42*	-0.73*	-11.79*	-0.46*	-7.43*	-0.36	-5.82	-0.27	-4.36	-0.16	-2.58	-0.13	-2.10
9	7.54	-1.02*	-13.53*	-0.67*	-8.89*	-0.50	-6.63	-0.30	-3.98	-0.36	-4.77	-0.23	-3.05	-0.10	-1.35
10	8.69	-0.98*	-11.28*	-0.66*	-7.59*	-0.49	-5.64	-0.29	-3.33	-0.26	-2.99	-0.22	-2.53	-0.09	-1.03
均值	-	-1.01	-	-0.68	-	-0.49	-	-0.31	-	-0.24	-	-0.17	-	-0.09	-

注：* 表示检测受干扰具有临床意义；- 表示无数据。

表 3 CHOL 干扰试验结果

样品	CHOL (mmol/L)	不同 VC 浓度干扰管													
		I		II		III		IV		V		VI		VII	
		干扰值 (mmol/L)	干扰率 (%)	干扰值 (mmol/L)	干扰率 (%)	干扰值 (mmol/L)	干扰率 (%)	干扰值 (mmol/L)	干扰率 (%)	干扰值 (mmol/L)	干扰率 (%)	干扰值 (mmol/L)	干扰率 (%)	干扰值 (mmol/L)	干扰率 (%)
1	1.56	-1.06*	-67.95*	-0.64*	-41.03*	-0.54*	-34.62*	-0.35*	-22.44*	-0.25*	-16.03*	-0.17*	-10.90*	-0.13*	-8.33*
2	2.71	-1.06*	-39.11*	-0.71*	-26.20*	-0.48*	-17.71*	-0.36*	-13.28*	-0.21*	-7.75*	-0.15*	-5.54*	-0.14*	-5.17*
3	2.93	-0.96*	-32.76*	-0.59*	-20.14*	-0.41*	-13.99*	-0.27*	-9.22*	-0.19*	-6.48*	-0.15*	-5.12*	-0.12	-3.41
4	3.57	-1.03*	-28.85*	-0.77*	-21.57*	-0.53*	-14.85*	-0.28*	-7.84*	-0.18*	-5.04*	-0.17*	-4.76*	-0.10	-2.80
5	4.17	-0.96*	-23.02*	-0.64*	-15.35*	-0.54*	-12.95*	-0.34*	-8.15*	-0.17	-4.08	-0.15	-3.60	-0.11	-2.64
6	4.35	-1.07*	-24.60*	-0.68*	-15.63*	-0.51*	-11.72*	-0.32*	-7.36*	-0.18	-4.14	-0.15	-3.45	-0.10	-2.30
7	6.6	-1.03*	-15.61*	-0.67*	-10.15*	-0.43*	-6.52*	-0.26*	-3.94*	-0.17	-2.58	-0.11	-1.67	-0.04	-0.61
8	8.65	-1.04*	-12.02*	-0.81*	-9.36*	-0.62*	-7.17*	-0.38*	-4.39*	-0.23	-2.66	-0.20	-2.31	-0.17	-1.97
9	9.42	-1.03*	-10.93*	-0.70*	-7.43*	-0.46*	-4.88*	-0.36	-3.82	-0.24	-2.55	-0.15	-1.59	-0.08	-0.85
10	11.43	-1.18*	-10.32*	-0.67*	-5.86*	-0.60*	-5.25*	-0.39	-3.41	-0.37	-3.24	-0.32	-2.80	-0.28	-2.45
均值	-	-1.04	-	-0.67	-	-0.51	-	-0.33	-	-0.22	-	-0.17	-	-0.13	-

注：* 表示检测受干扰具有临床意义；- 表示无数据。

2.2 VC 干扰浓度与干扰值的相关关系 CHOL、TG 检测干扰值与 VC 干扰浓度呈正相关关系,随着干扰浓度的增加,干扰值越大。相关关系方程式为 TG: $Y = -1.0021X (r^2 = 0.9956)$; CHOL: $Y = -0.997X - 0.0213 (r^2 = 0.9976)$,从相关方程式可以看出,VC 干扰浓度将产生约等摩尔浓度的负干扰值。

2.3 CHOL、TG 受 VC 负干扰具有临床意义的最低浓度 根据原数据算出的干扰值和干扰率反推出 CHOL、TG 受 VC 负干扰具有临床意义的最低浓度见表 4。当 TG 浓度为 1.00 mmol/L 时,0.07 mmol/L 的 VC 干扰浓度对 TG 产生的干扰就具有临床意义;当 TG 浓度为 5.00 mmol/L 时,0.35 mmol/L 的 VC 干扰浓度对 TG 产生的干扰大于 1/2TEa,具有临床意义;随着 TG 浓度的增加,产生临床意义的 VC 干

扰浓度也增加;当 TC 浓度为 1.00 mmol/L 时,0.05 mmol/L 的 VC 干扰浓度对 TC 产生的干扰就具有临床意义;当 TC 浓度为 7.00 mmol/L 时,0.32 mmol/L 的 VC 干扰浓度对 TC 产生的干扰大于 1/2TEa,具有临床意义;随着 TC 浓度的增加,产生临床意义的 VC 干扰浓度也增加。

表 4 CHOL、TG 受 VC 负干扰具有临床意义的最低浓度

项目	样本浓度 (mmol/L)	1/2TEa (%)	干扰值 (mmol/L)	VC 干扰浓度 (mmol/L)
TG	1.00	7.0	0.07	0.07
	2.00		0.14	0.14
	3.00		0.21	0.21
	4.00		0.28	0.28
	5.00		0.35	0.35

续表 4 CHOL、TG 受 VC 负干扰具有临床意义的最低浓度

项目	样本浓度 (mmol/L)	1/2TEa (%)	干扰值 (mmol/L)	VC 干扰浓度 (mmol/L)
CHOL	1.00	4.5	0.05	0.05
	2.00		0.09	0.09
	3.00		0.14	0.14
	4.00		0.18	0.18
	5.00		0.23	0.23
	6.00		0.27	0.27
	7.00		0.32	0.32

注：干扰值=样本浓度×1/2TEa。

3 讨 论

目前,国内实验室检测 CHOL、TG、血糖(GLU)、尿酸(UA)等项目最后显色反应均为 Trinder 反应,VC 能还原 Trinder 反应过程中产生的 H₂O₂,使反应过程中生成的红色醌亚胺化合物减少而使检测结果呈负干扰,给实际检测结果带来一定的分析误差^[14-17]。GLU 和 UA 多采用双试剂,加入的抗坏血酸盐可以避免 VC 带来的干扰,但 CHOL、TG 检测多采用单试剂,无法避免 VC 的负干扰。

VC 作为一种还原剂在临床大量使用时,在体内通常以脱氧型和还原型两种形式存在,可以经尿液从体内排出,因此在一般情况下,患者在空腹采血时不会存在干扰。但是对于住院患者来说,在使用大剂量 VC 治疗,或采血非空腹的情况下,CHOL、TG 等检测项目很容易受到干扰;另外肾功能不良患者也会易存在干扰的情况^[14]。

VC 对单试剂氧化酶法检测 CHOL、TG 会产生负干扰,这与其他研究结果相近^[3-5],结合研究报告^[18-20],本研究首次采用国家卫生行业标准(WS/T403-2012)《临床生物化学检验常规项目分析质量指标》TEa 作为标准判断相对偏差是否具有临床意义。经过相关性分析,发现 VC 干扰浓度将产生约等摩尔浓度的负干扰值,通过 1/2TEa,计算出了 CHOL、TG 不同浓度下,干扰具有临床意义的 VC 干扰浓度,给实验室及临床提供了数据依据。

4 结 论

因此,当实验室采用单试剂氧化酶法检测 CHOL、TG 时,应了解患者的用药情况,对检测结果造成的负干扰作出合理解释,协助临床医生的诊疗。另外,还应积极改进检验方法,消除干扰,减少误差,提高了实验结果的准确性。

参考文献

[1] 罗薇,郭英,都向阳,等.冠状动脉粥样硬化患者血脂及修

饰化脂蛋白水平研究[J]. 检验医学与临床,2018,15(12):1749-1752.

[2] 罗薇,郭英,丁霏,等.冠状动脉粥样硬化患者血脂及血糖水平的研究[J]. 中国实验诊断学,2018,22(6):964-967.

[3] 徐凤珍. 维生素 C 对酶法测定总胆固醇甘油三酯的干扰[J]. 黔南民族医学学报,1999,20(3):133-134.

[4] 齐子芳. 维生素 C 对血糖总胆固醇甘油三酯测定的干扰[J]. 实验与检验医学,2008,26(6):697-698.

[5] 刘奉亭,梁继伟,孙桂滨,等. 维生素 C 对胆固醇和甘油三酯测定的干扰及机理研究[J]. 海军医学杂志,2000,22(4):314-316.

[6] 苟棋玲,干学东,王忠莉. 234 例冠状动脉粥样硬化性心脏病患者临床分析[J]. 武汉大学学报(医学版),2017,38(2):329-333.

[7] 李娜,秦俭,辛克学. 碱性氧化法消除维生素 C 对 Trinder's 指示反应系统的干扰作用[J]. 中国中医药现代远程教育,2010,8(1):164-166.

[8] 王冰. 消除葡萄糖检测中维生素 C 干扰的临床观察[J]. 检验医学与临床,2015,12(12):1784-1786.

[9] 冯艳岷. 酶法测定胆固醇氧化酶方法的比较及优化[J]. 轻工科技,2015,31(11):99-101.

[10] 王和平. 环磷腺苷联合维生素 C 对病毒性心肌炎患儿疗效及细胞免疫功能的影响[J]. 基层医学论坛,2019,23(8):1072-1073.

[11] 卫艳宁,张彬. 磷酸肌酸钠与维生素 C 联合参麦注射液治疗轮状病毒性肠炎继发心肌损害疗效及其作用机制研究[J]. 现代中西医结合杂志,2019,28(7):763-766.

[12] 刘尧,陈立平,孙凯,等. 维生素 C 治疗带状疱疹疼痛的研究进展[J]. 中国疼痛医学杂志,2018,24(3):161-165.

[13] 马东阳,刘芸,邢晓萍. 维生素 C 与阿尔茨海默病关系的 Meta 分析[J]. 中国老年学杂志,2018,38(2):445-447.

[14] 陈虹燕,周上策,陈卫琴,等. 维生素 C 对痛风性关节炎首次发作后预防再发的疗效研究[J]. 中国医学创新,2019,16(2):37-41.

[15] 徐坚强,谢服役,顾华庆. 血清胆固醇单试剂酶法测定[J]. 现代实用医学,2012,24(10):1146-1147.

[16] 张娟丽,田林奇,徐玉茵,等. 维生素 C 干扰尿酸检测准确性的限值测定[J]. 中外医学研究,2015,13(34):78-79.

[17] 陈鸿恩,张裕芳,王润生,等. 游离脂肪酸检测试剂盒抗干扰性能的临床研究[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(1):102-104.

[18] 夏玲玲. 探讨药物对常用临床检验指标的干扰因素[J]. 中国卫生标准管理,2016,7(1):86-87.

[19] 吕赛平,邹学森. 应用 EP7-A 文件探讨维生素 C 干扰血糖测定的剂量响应曲线[J]. 实验与检验医学,2008,20(5):499-500.

[20] 叶雪玲,叶碧峰,王晓光. 以 Trinder 反应为基础的酶法测定血清肌酐时的影响因素分析[J]. 中国卫生检验杂志,2015,25(18):3201-3202.