

• 论 著 •

羟苯磺酸钙对肌酐检测的干扰效应评价

潘练华, 麦爱芬, 吕婉娴, 何玉怡, 冯振华, 梁权辉[△]
佛山市第一人民医院检验科, 广东佛山 528000

摘要:目的 评价不同浓度羟苯磺酸钙对常见肌酐检测试剂的干扰剂量效应情况。方法 依据 WS/T 416-2013 干扰实验指南, 参考医学决定浓度选取 4 种肌酐浓度的新鲜标本, 定量配制成 8 种药物浓度梯度, 比较 3 种肌酐检测试剂对不同浓度羟苯磺酸钙干扰剂量效果, 以 1/3 允许总误差(4%)为最大允许干扰限。结果 3 种检测肌酐试剂随羟苯磺酸钙剂量增加, 负干扰效应愈加明显。血清标本肌酐浓度为 40 $\mu\text{mol/L}$ 时, 随羟苯磺酸钙浓度增加, 普通酶法负偏差高达 64.17%, 新酶法最大负偏差仅为 3.07%; 血清标本浓度为 141 $\mu\text{mol/L}$ 时, 新酶法、普通酶法和干化学试剂在羟苯磺酸钙浓度为 15 mg/L 时负偏差分别为 3.91%、29.67%、6.53%; 血清标本浓度为 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 、干扰物浓度为 15 mg/L 时, 新酶法、普通酶法和干化学法负偏差依次为 3.21%、9.09%、2.39%。结论 新酶法在检测肌酐过程中对于羟苯磺酸钙药物产生负干扰在最大允许干扰限内, 普通酶法肌酐试剂基本无抗干扰能力, 干化学法在高肌酐浓度检测中其抗干扰能力更优越。

关键词:肌酐; 羟苯磺酸钙; 干扰试验; 剂量效应

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.19.022

中图法分类号:R446.1

文章编号:1673-4130(2021)19-2400-04

文献标志码:A

Evaluation of dose effect of creatinine detection reagents on calcium dobesilate interference

PAN Lianhua, MAI Aifen, LYU Wanxian, HE Yuyi, FENG Zhenhua, LIANG Quanhui[△]

Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Foshan,
Foshan, Guangdong 528000, China

Abstract: **Objective** To evaluate the interference dose effect of common creatinine detection reagents on different concentrations of calcium dobesilate. **Methods** On basis of the WS/T 416-2013 interference test guide, according to the medical decision level, 4 fresh samples with creatinine concentration levels were selected and quantitatively prepared into 8 drug concentration gradients. The interference dose effects of 3 creatinine detection reagents on different concentrations of calcium dobesilate were compared, and the maximum allowable interference limit was 1/3 of the allowable total error (4%). **Results** The negative interference effect of 3 creatinine reagents was more obvious with the increase of calcium dobesilate dose. When serum creatinine concentration was 40 $\mu\text{mol/L}$, the negative deviation of common enzyme method was as high as 64.17%. The maximum negative deviation of dry chemical reagent was 13.81%, while the maximum negative deviation of new enzyme method was only 3.07%. When 141 $\mu\text{mol/L}$, the negative deviations of the new enzyme method, the common enzyme method and the dry chemical reagent were 3.91%, 29.67% and 6.53%, respectively, which the concentration of Calcium dobesilate was 15 mg/L. When 1 000 $\mu\text{mol/L}$ and the interference concentration was 15 mg/L, the negative deviation of the new enzyme method, common enzyme method and dry chemical method were 3.21%, 9.09% and 2.39% respectively. **Conclusion** The negative interference causes by calcium dobesilate in the new enzyme method was within the maximum allowable interference limit, while the normal enzyme creatinine reagent has basically no anti-interference ability, while the dry chemical method has performed better in the detection of high creatinine concentration.

Key words: creatinine; calcium dobesilate; interference experiment; dose effect

血肌酐水平是临床用于监测患者肾小球滤过功能状态及进展的重要指标, 对慢性肾炎、尿毒症等肾脏疾病的诊断和治疗发挥着重要作用。目前, 临床常用的肌酐检测方法有肌氨酸氧化酶法(简称酶法)、碱

性苦味酸法、高效液相色谱法等^[1], 其中酶法具有测定结果稳定、重复性好、线性范围宽、较苦味酸法特异性好等优势, 在临床检验中被广泛应用。但随着酶法的深入应用, 研究者发现其检测过程会受一些药物的

作者简介: 潘练华, 男, 副主任技师, 主要从事临床生化检验和 LIS 信息管理研究。 [△] 通信作者, E-mail: liangqh0520@163.com。

本文引用格式: 潘练华, 麦爱芬, 吕婉娴, 等. 羟苯磺酸钙对肌酐检测的干扰效应评价[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(19): 2400-2402.

干扰,如羟苯磺酸钙、抗坏血酸、酚磺乙胺等^[1],其中羟苯磺酸钙作为微血管保护药,被广泛应用于糖尿病肾病、慢性肾功能不全等疾病治疗中。鉴于临床对结果质疑情况频现,且国内对此现象评价实验较少,本文通过添加定值羟苯磺酸钙干扰物到 4 种医学决定浓度的新鲜血清标本中,探讨新酶法、普通酶法和干化学法的 3 种不同肌酐检测试剂对不同浓度羟苯磺酸钙抗干扰能力,为临床疾病治疗提供参考^[2-3],避免出现由于方法学缺陷影响检验结果的情况。

1 材料与方法

1.1 一般资料 选取本院肾内科及体检中心无羟苯磺酸钙药物用药史且当天完成检测无溶血、无乳糜、无黄疸、符合浓度要求的新鲜人血清标本 20 份作为待测血清标本。

1.2 仪器与试剂 西门子 ADVIA2400 全自动生化分析仪、强生 Vitros4600 全自动生化免疫分析仪。中山标佳新酶法肌酐检测试剂(批号 192830,试剂盒内配套校准品批号 192830),西门子普通酶法肌酐检测试剂(批号 56140,校准品 453025A)、强生干化学法肌酐检测试剂(批号 153134996628,校准品 0190)。羟苯磺酸钙(宁夏康亚药业有限公司,0.25 克/粒,国药准字:003982H00)。

1.3 方法 (1)依据 WS/T 416-2013 干扰实验指南^[4],参考医学决定浓度、定量上下限,选取标本浓度 40、141、530、1 000 $\mu\text{mol/L}$ 4 种肌酐浓度的新鲜标本。(2)制备羟苯磺酸钙干扰物原液浓度为 696.4 mg/L ,与生理盐水比例配制为 50、100、150、200、250、300、350 mg/L 的溶液。(3)在 4 种浓度的新鲜标本中,分别按 9 : 1 的体积比例配置干扰物浓度,分别为 0、5、10、15、20、25、30、35 mg/L 。(4)应用 3 种肌酐检测试剂分别对混合后的血清标本重复检测 3 次,通过目测及散点图检查是否有缺失值和离群值;用各梯度测定均值减去最低浓度标本均值得出偏差值,以偏差值对干扰物浓度绘图,选定 1/3 允许总误差(4%)作为最大允许干扰。

1.4 统计学处理 采用 Excel2019 软件和 SPSS22.0 软件对试验数据进行分析。采用回归方程及干扰效果图分析 3 种检测试剂对不同浓度梯度羟苯磺酸钙抗干扰的效果。

2 结 果

2.1 肌酐浓度在 40 $\mu\text{mol/L}$ 时的干扰剂量效应 血清标本肌酐浓度为 40 $\mu\text{mol/L}$ 时,8 种浓度梯度羟苯磺酸钙对其检测的干扰效果见图 1。血清标本浓度为 40 $\mu\text{mol/L}$ 时,新酶法试剂负偏差为 0.07%~4.00%;干扰物浓度为 5 mg/L 时,普通酶法试剂最小负偏差为 25.00%,干扰物浓度 35 mg/L 时,普通酶法试剂最大负偏差为 64.17%;随着干扰物浓度增加,干化学法试剂负偏差依次为 1.34%、5.35%、6.90%、9.13%、11.58%、11.14%、13.81%。新酶法在此浓度有优越的抗干扰能力。

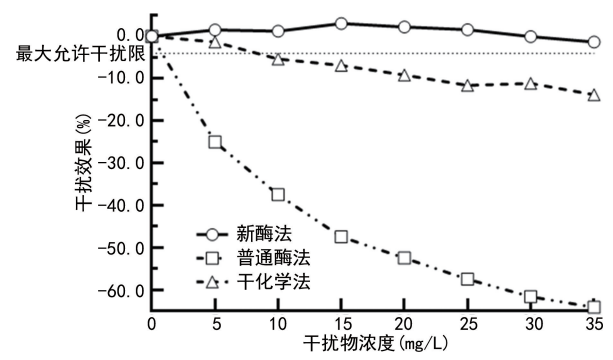


图 1 不同羟苯磺酸钙浓度对肌酐浓度 40 $\mu\text{mol/L}$ 血清标本的剂量效应图

2.2 肌酐浓度在 141 $\mu\text{mol/L}$ 时的干扰剂量效应 血清标本肌酐浓度为 141 $\mu\text{mol/L}$ 时,8 种浓度梯度羟苯磺酸钙对其检测的干扰效果见图 2。新酶法、普通酶法和干化学法试剂在羟苯磺酸钙浓度 15 mg/L 时负偏差分别为 3.91%、29.67%、6.53%;只有新酶法试剂结果尚在最大允许干扰限内,普通酶法试剂结果已超过允许总误差。

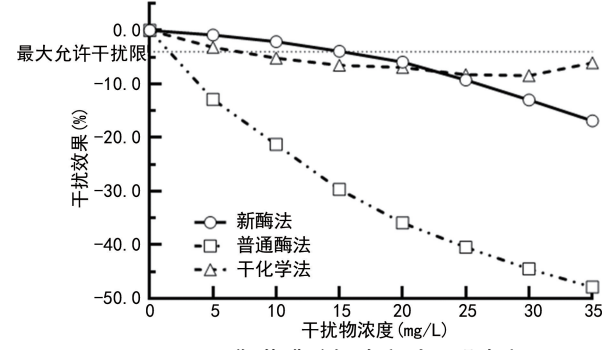


图 2 不同羟苯磺酸钙浓度对肌酐浓度 141 $\mu\text{mol/L}$ 血清标本的剂量效应图

2.3 肌酐浓度在 530 $\mu\text{mol/L}$ 时的干扰剂量效应 血清标本肌酐浓度为 530 $\mu\text{mol/L}$,8 种浓度梯度羟苯磺酸钙对其检测的干扰效果见图 3。干扰物浓度为 5 mg/L 时,新酶法试剂最小负偏差为 0.76%,干扰物浓度为 20 mg/L 时,负偏差为 3.75%;干扰物浓度为 5 mg/L 时,普通酶法试剂最小负偏差已达 5.63%;干扰物浓度为 5 mg/L 时,干化学法试剂最小负偏差为 0.31%,干扰物浓度为 35 mg/L 时,干化学法试剂最大负偏差为 5.95%。

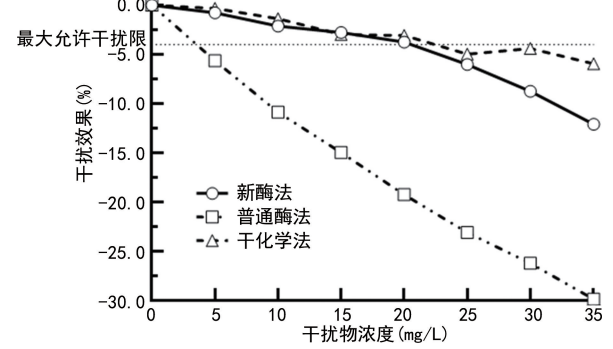


图 3 不同羟苯磺酸钙浓度对血清肌酐浓度 530 $\mu\text{mol/L}$ 的剂量效应图

2.4 肌酐浓度在 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 时的干扰剂量效应 血清标本肌酐浓度为 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 时,8 种浓度梯度羟苯磺酸钙对其检测的干扰效果见图 4。随着羟苯磺酸钙浓度的增加,新酶法试剂的负偏差依次为 1.27%、2.19%、3.21%、4.37%、5.74%、6.83%、8.45%;普通酶法试剂依次为 3.21%、6.69%、9.09%、11.66%、14.29%、16.62%、18.60%,唯一点在最大允许干扰限内;干化学法试剂依次为 0.36%、1.40%、2.39%、3.02%、1.86%、4.40%、5.71%。在 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 肌酐浓度下,干化学法试剂展现良好的抗干扰能力。

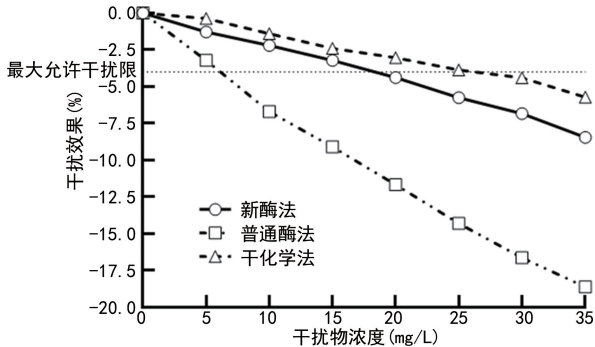


图 4 不同羟苯磺酸钙浓度对肌酐浓度 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 血清标本的剂量效应图

3 讨论

在临床检测过程中,检测结果会受多重因素的影响,如检测试剂的性能、检测仪器稳定性及患者服用的药物等,识别特定物质对临床常见检测方法产生的偏差显得尤其重要。临床上,在全自动生化分析仪应用酶法检测血清肌酐时,发现羟苯磺酸钙会影响检测结果,出现结果假性下降的情况^[5],石文等^[6]研究通过配对差异实验确认此干扰物质,肌酐水平的假性下降严重影响临床对患者病情进展的判断,为临床诊断带来困惑。检测方法的总分析误差可有 3 种主要来源:不精密度、方法特异性偏差、样品特异性偏差。本文中的羟苯磺酸钙对于酶法检测肌酐过程中造成负偏差的影响,是属于样品特异性偏差,目前大致有 3 种观点^[7-9]:(1)酶法检测肌酐是基于肌酐酶、肌酸酶和肌氨酸氧化酶降解肌酐及其反应产物,然后通过偶联终点比色法反应检测肌氨酸氧化产生的 H_2O_2 ,而羟苯磺酸钙的基本结构是二羟基苯环,它具有还原性,可能会消耗 H_2O_2 ,从而产生负干扰;(2)羟苯磺酸钙可能与偶联终点比色法反应中的其他成分发生反应,从而减少生色基团的形成,使检测结果假性降低;(3)羟苯磺酸钙可能会影响生色基团的稳定性。血清肌酐水平可反映肾小球滤过功能,是衡量和监测肾功能最常用的指标之一^[9],内源性干扰如溶血、脂浊、黄疸等容易被检验人员关注,但外源性干扰如抗坏血酸、酚磺乙胺、羟苯磺酸钙等药物干扰较难被发现,探究其干扰机制、寻求更优检测方法是临床一线工作者的重任。

本文依据 WS/T 416-2013 干扰实验指南^[4],探讨羟苯磺酸钙药物对于新酶法、普通酶法和干化学法检

测血清肌酐水平试剂的干扰剂量效应,旨在为临床提供干扰参考依据。作为一种常见的改善微循环血管保护药物^[10-11],羟苯磺酸钙药物稳态谷浓度为 6.64 mg/L;服药 500 mg 后,药物浓度在 2~3 h 达峰值,峰浓度为 15.00 mg/L^[12-15]。以 15.00 mg/L 作为最大干扰物浓度进行剂量效应实验,新酶法试剂在检测过程中出现的负干扰控制在 1/3 总误差内;干化学法试剂对其负干扰效应控制在 1/2 总误差附近,且对于高浓度肌酐水平的标本,展现的抗干扰能力甚至优于新酶法;对于慢性肾炎、尿毒症等肾脏疾病患者,干化学法可作为首选检测方法。本研究结果显示,作为目前临床上常用的检测方法,普通酶法试剂基本无羟苯磺酸钙抗干扰能力,与之前国内研究结果是一致的^[14-15],仅在肌酐浓度 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 和干扰物质 5 mg/L 下负偏差低于参考限。实验结果表明,对于羟苯磺酸钙带来严重的负性干扰,普通酶法检测试剂无法具备临床可接受的抗干扰能力,导致临床无法准确判断患者治疗效果;本院曾收到临床反馈同一时间抽取的血清检测肌酐,普通酶法和干化学法结果相差 200 $\mu\text{mol/L}$,而患者有服用羟苯磺酸钙类药物史,这高度提示临床医生特别是肾内科医生在送检血肌酐时,应关注患者是否服用羟苯磺酸钙类药物,并结合血尿素、胱抑素 C、肾小球滤过率等指标^[16]综合判断病情;同一医疗机构若可同时采用干化学法检测,应以干化学法结果为准。

新酶法试剂之所以具备抗干扰能力,在于试剂中添加了特殊物质如硫酸联氨、过氧乙酸、过氧丙酸等高分子过氧酸或碳酸钠,可针对性地与羟苯磺酸钙等药物进行反应,有效减少该类物质在后续显色反应中的干扰作用;而干化学自动生化分析仪使用干片试剂拥有多层膜结构,其扩散层可过滤大分子物质,将干扰效应降低。本研究结果提示,临床检验工作者除应关注饮食、标本采集、试验方式、实验条件等影响临床检验结果因素外,更应关注另一个非常重要的干扰因素:药物干扰,且需要了解不同干扰物剂量对不同检测系统和检测方法之间检验结果的差异性,逐步提高临床检验质量的重视程度。

综上所述,新酶法和普通酶法检测原理均为肌氨酸氧化酶法,但前者增加抗药物干扰能力,在临床服用羟苯磺酸钙血药峰浓度下检测肌酐浓度所产生负干扰效应在最大允许干扰限内,普通酶法肌酐试剂基本不具备抗干扰能力,容易造成使用类似药物史的患者出现肌酐结果假性下降的情况,阻碍临床对病情的正确判断,干化学法试剂在高肌酐浓度检测中抗干扰能力更为优越。

参考文献

[1] 余久如,潘桂红,鞠萍.羟苯磺酸钙对肌氨酸氧化酶法检测肌酐的干扰[J].中华检验医学杂志,2013,36(2):161-164. (下转第 2406 页)

ApoA-I 和 KIM-1 联合检测对诊断冠心病有一定价值。开展多中心、大样本随机对照研究有助于深入阐明 2 项指标的临床诊断和预后价值,有利于冠心病患者的早期危险分层及预后评估。

参考文献

[1] VAN CAPELLEVEEN J C,BOCHEM A E,BOEKHOLDT S M, et al. Association of highdensity lipoprotein-cholesterol versus apolipoprotein a-i with risk of coronary heart disease; the european prospective investigation into cancer-norfolk prospective population study, the atherosclerosis risk in communities study, and the women's health study[J]. J Am Heart Assoc, 2017, 6(8): e006636.

[2] ROSENSEN R S, ANSELL B J, BARTER P, et al. Dysfunctional HDL and atherosclerotic cardiovascular disease [J]. Nat Rev Cardiol, 2016, 13(1): 48-60.

[3] PU L J, LU L, ZHANG R Y, et al. Glycation of apoprotein A-I is associated with coronary artery plaque progression in type 2 diabetic patients[J]. Diabetes Care, 2013, 36(5): 1312-1320.

[4] SRIVASTAVA R. Dysfunctional HDL in diabetes mellitus and its role in the pathogenesis of cardiovascular disease[J]. Mol Cell Biochem, 2018, 440(1/2): 167-187.

[5] PAAPSTELK K, ZILMER M, EHA J, et al. Early biomarkers of renal damage in relation to arterial stiffness and inflammation in male coronary artery disease patients [J]. Kidney Blood Press Res, 2016, 41(4): 488-497.

[6] IBRAHIM N E, JANUZZI J L, MAGARET C A, et al. A clinical and biomarker scoring system to predict the pres-

ence of obstructive coronary artery disease[J]. J Am Coll Cardiol, 2017, 69(9): 1147-1156.

[7] BEKER B M, CORLETO M G, FIEIRAS C, et al. Novel acute kidney injury biomarkers: their characteristics, utility and concerns[J]. Int Urol Nephrol, 2018, 50(4): 705-713.

[8] 向瑞, 李振江. 急性肾损伤相关新型生物标志物的研究进展[J]. 中国临床研究, 2020, 33(1): 113-117.

[9] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南(2019) [J]. 中华心血管病杂志, 2019, 47(10): 766-783.

[10] 中华医学会心血管病学分会介入心脏病学组, 中华医学会心血管病学分会动脉粥样硬化与冠心病学组, 中国医师协会心血管内科医师分会血栓防治专业委员会, 等. 稳定性冠心病诊断与治疗指南[J]. 中华心血管病杂志, 2018, 46(9): 680-694.

[11] 齐玥, 刘静, 王森, 等. 携带载脂蛋白 E 的 HDL-C 与冠心病发病风险的前瞻性队列研究[J]. 中华流行病学杂志, 2021, 42(2): 297-302.

[12] ROSENSEN R S, BREWER H B, ANSELL B J, et al. Dysfunctional HDL and atherosclerotic cardiovascular disease[J]. Nat Rev Cardiol, 2016, 13(1): 48-60.

[13] LI B Q, ZHONG Y C, WANG X. Plasma oxidized high-density lipoprotein and glycated apolipoprotein A-I concentrations in ST-segment elevation myocardial infarction patients with stress hyperglycaemia or high thrombus burden[J]. Ups J Med Sci, 2018, 123(3): 158-166.

(收稿日期: 2021-02-08 修回日期: 2021-06-05)

(上接第 2402 页)

[2] 张锡波, 何慧君, 叶旭鑫, 等. 羟苯磺酸钙对干化学和湿化学酶法检测肌酐的干扰分析[J]. 医药前沿, 2019, 9(31): 244-245.

[3] 王军. 两种仪器和试剂测定尿肌酐对比研究及偏倚评估[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(16): 2298-2299.

[4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WS/T 416-2013 干扰实验指南[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013: 1.

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

[6] 石文, 黄婕如, 刘冬冬, 等. 应用 CLSI EP7-A3 评价肌酐测定的干扰因素[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(3): 307-311.

[7] GUO X, ZHAO F, YIN Y, et al. Calcium dobesilate: a drug treatment for diabetic retinopathy can negatively interfere with the measurement of glycated albumin using the enzymatic method[J]. Clinica Chimica Acta, 2018, 483(3): 1-5.

[8] GUO X, HOU L, YIN Y, et al. Negative interferences by calcium dobesilate in the detection of five serum analytes involving Trinder reaction-based assays[J]. PLoS One, 2018, 13(2): e192440.

[9] 陈克娜. 酶法检测肌酐水平降低的秘密: 羟苯磺酸钙的干扰[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(1): 121-125.

[10] 郭正勇, 赵观进, 张宇, 等. 羟苯磺酸钙联合氯沙坦钾片治疗早期糖尿病肾病的临床研究[J]. 实用医学杂志, 2020, 36(1): 101-104.

[11] 王莹, 李彩, 朱峰, 等. 羟苯磺酸钙对动脉粥样硬化斑块形成的影响及其机制[J]. 温州医科大学学报, 2020, 50(5): 47-50.

[12] 王美珠, 康伟, 黄勤烽, 等. 3 种肌酐测定方法的分析性能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(1): 68-71.

[13] 余久如, 卢锦莲, 廖建红, 等. 高效液相色谱法检测慢性肾功能不全患者羟苯磺酸钙稳态血药浓度与 eGFR 及肌酐干扰值相关性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(4): 62-66.

[14] 宋静芳, 潘本友, 伍贤鼎, 等. 羟苯磺酸钙对氧化酶法检测血清肌酐影响的临床研究[J]. 当代医学, 2019, 25(9): 175-177.

[15] 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.

[16] 宋亚男, 朱蓓, 高飞, 等. 羟苯磺酸钙对肌酐氧化酶法评估肾功能的影响[J]. 中南医学科学杂志, 2019, 47(3): 250-254.

(收稿日期: 2020-12-10 修回日期: 2021-05-27)