

选择 Jaffe 法消除胆红素对肌酐测定的干扰

杨 闯, 靳文忠, 陆晓琴(四川省雅安职业技术学院附属医院检验科, 四川雅安 625000)

【摘要】 目的 通过调整全自动生化仪测试参数,合理选择比色时间,以消除高胆红素对 Jaffe 法测定肌酐的干扰。**方法** 使用 Jaffe 速率法测定血清肌酐,不加入任何化学物品,只通过调整迈瑞 BS400 全自动生化分析仪的比色周期来消除高胆红素对肌酐测定的干扰。**结果** 试验组(高胆红素组)和对照组(低胆红素组)在 44~49 比色周期之间读取吸光度变化,可消除高胆红素对肌酐测定的干扰($0.01 < P < 0.05$)。**结论** 根据仪器特点,合理调整参数可有效排除高胆红素对肌酐测定的干扰,取得与低胆红素含量条件下相同的结果。

【关键词】 肌酐; 胆红素; 假肌酐; 速率法

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.22.023

中图分类号:R446.1 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2010)22-2480-02

Study of the feasibility of elimination of the interference of high concentration bilirubin to creatinine test by Jaffe kinetic assay method YANG Chuang, JIN Weng-zhong, LU Xiao-qin, Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Yaan Academic Technique School, Sichuan 625000, China

【Abstract】 Objective To eliminate interference of high concentration bilirubin in creatinine test with Jaffe kinetic assay method by adjusting the test parameters and reasonable choose of the colorimetric time of automatic biochemical analyzer. **Methods** Jaffe kinetic assay method was employed for serum creatinine detection. Only by adjusting colorimetric cycle of BS-400 automatic biochemical analyzer and without adding any chemicals, we can eliminate the interference of high concentration bilirubin involved in the creatinine detection. **Results** Obtaining the variety of absorbance value during 44 to 49 colorimetric cycle between the test groups (high concentration bilirubin groups) and control groups (low concentration bilirubin groups) might eliminate the interference of high concentration bilirubin for creatinine detection($0.01 < P < 0.05$). **Conclusion** According to the feature of this instrument, reasonable adjustment of parameters could exclude the interference of high concentration bilirubin in the creatinine determination effectively, and achieve the same test results with low bilirubin level.

【Key words】 creatinine; bilirubin; false creatinine; kinetic assay method

本科室于 2008 年 9 月安装深圳迈瑞 BS400 全自动生化分析仪,肌酐测定使用原装配套试剂,室内质控一直满意,但回顾总结 2008~2009 年连续 3 次室间质评结果时发现,胆红素含量较高样本,肌酐结果与靶值相比均明显偏低。本研究认为是血清中胆红素在碱性条件下转化为胆绿素,使反应的吸光度明显下降引起的测定负干扰,而这类负干扰一般在 Jaffe 法反应的后期即 80~100 s 以后发生^[1]。为此,笔者回顾了近几年相关文献^[2-4],对仪器测定参数进行了修改,与低胆红素血清做了比对试验,结果满意,现将实验结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 深圳迈瑞 BS400 全自动生化分析仪及配套 Jaffe 法肌酐检测试剂盒。胆红素检测试剂盒及标准品(340 $\mu\text{mol/L}$)、分析纯肌酐标准品来自北京中生公司。不同肌酐、胆红素浓度的混合血清来自生化室临床收集标本。

1.2 方法

1.2.1 Jaffe 法测定肌酐 原厂配套试剂,按试剂说明书设置参数:固定时间法(速率法)、双试剂 R1 NaOH 160 μL , R2 碱性若味酸 160 μL ,标本量 16 μL ,主波长 505 nm,副波长 700 nm,比色点是第 45~56 个周期,即加入 R2 后 4~15 周期(BS400 设定 9 s 为 1 个比色周期),笔者定义为 A 法;用 A 法

测定总胆红素含量为 100 $\mu\text{mol/L}$ 、肌酐含量为 430 $\mu\text{mol/L}$ 的混合血清,实际反应曲线,见图 1。由图可见从第 50 周期开始,已明显不呈线性。根据反应曲线,其他参数与 A 法相同,将比色点定在第 44~49 即加入试剂 R2 后第 3~8 个周期,笔者定义为 B 法。

图 1 高胆红素样本肌酐测定反应曲线

1.2.2 临床收集胆红素浓度在 15 $\mu\text{mol/L}$ 以下的不同肌酐浓度的混合样本 4 份(试验组),要求其肌酐含量由低至高涵盖临床常见浓度,分别取 4 份混合血清加入一定量高胆红素标准品,使其浓度达到 80 $\mu\text{mol/L}$ 左右;再取 4 份原样混合血清加入同样体积的生理盐水(对照组)。分别用 A、B 两法对两组每

份样本进行肌酐测定 3 次,结果取均值,同时测定总胆红素含量。

1.2.3 回收试验 用分析纯肌酐,按《全国临床检验操作规程》3 版配制 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 溶液^[1]。取试验组 1、3、4 号样本,按 9∶1 比例加入标准品溶液,用 B 法测定肌酐。

1.3 统计学方法 用多个样本均数比较(SNK 法)对两组试验结果之差进行比较,用 SPSS13.0 软件包处理数据。

2 结 果

2.1 两组血清测定结果 见表 1。

表 1 不同肌酐浓度样本测试结果($\mu\text{mol/L}$)						
组别	试验组(Tbi=78.5)			对照组(Tbi=13.7)		
	A	B	d=A-B	A	B	d=A-B
1	41.5	49.6	8.1	49.3	50.8	1.5
2	125.1	156.4	31.3	159.2	161.4	2.2
3	224.8	277.1	52.3	260.7	269.1	8.4
4	438.9	519.7	80.8	518.5	520.2	1.7

注:Q=3.6074,0.01<P<0.05,差异具有统计学意义,说明通过仪器参数的调整来排除高胆红素对肌酐测定干扰的方法有效。

2.2 回收试验结果 见表 2。

表 2 回收试验($\mu\text{mol/L}$)			
组别	原样本 CRE 浓度	9∶1 加入标准品后	回收率(%)
1	49.6	146.5	102.0
3	277.1	346.0	95.0
4	519.7	564.3	93.0

表 2 表明改进后方法比例误差较小,准确度高,结果令人满意。

3 讨 论

肌酐是肌酸代谢的最终产物,仅由肾小球排泄,不被肾小管重吸收,所以血清肌酐浓度是评价肾小球滤过功能的重要指标,在肾脏疾病诊断和治疗中有非常重要的意义。目前肌酐测定方法有化学测定法(Jaffe 法)、肌酐酶法、高效液相层析法、毛细管电泳法及电极法等。其中临床常用的是 Jaffe 法和酶法,酶法测定结果稳定,重复性好,但试剂价格昂贵,现阶段还

难以在基层医院推广。Jaffe 法是利用在碱性条件下肌酐和苦味酸反应生成红黄色化合物,在波长 505~520 nm 处比色,与标准品进行比较,测定肌酐含量。本法成本低廉,操作简便,是目前国内测定肌酐常用的方法之一。缺点是特异性不高,维生素 C、丙酮酸、丙酮、乙酰乙酸、蛋白质和一些抗生素如青霉素 G、头孢噻吩、头孢西丁、头孢唑啉等也能与碱性苦味酸反应生成红色^[4]。这些非肌酐却能与苦味酸起反应的物质称为假肌酐。特别是高胆红样本在临床工作中较为常见,胆红素在碱性条件下转化为胆绿素,使反应的吸光度明显下降引起测定负干扰,这给肌酐的正确测定带来了一定麻烦。有人使用在反应中加入碱性铁氰化钾的办法来降低高胆红素对 Jaffe 法测定的干扰^[5],但方法较为繁琐。也可以采取做去蛋白滤液等方法消除假肌酐对测定的干扰,但这类方法费时且重复性较差。另外可采用速率法,亦称动力学法,它根据肌酐与碱性苦味酸形成复合物的速度与假肌酐不同来测定,肌酐与苦味酸反应较快,一般在 20~80 s 之间反应占绝对优势(窗口期)^[1],而假肌酐的反应一般在 80 s 以后反应才逐步增加,本研究利用这个时期,合理设定比色时间,最大程度降低假肌酐对反应的影响。试验结果表明,通过合理设置仪器测定参数,可最大程度消除高胆红素对肌酐测定的影响,无需对样本特殊处理,也不需加入其他任何试剂,方法简单,结果可取。

参考文献

[1] 叶应妩,王毓三,申子喻,等. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:467-468.
[2] 郭洪晨. 胆红素对临床检验结果的干扰及消除[J]. 检验医学与临床,2009,18(6):1573-1575.
[3] 帅虎,梅敏,谭尚华,等. 利用 Rate-Blank 消除胆红素对肌酐测定的负干扰因素[J]. 检验医学与临床,2006,17(4):42-43.
[4] 张东玲. 肌酐测定的方法学进展[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(6):521-522.
[5] 毛丽萍. 碱性铁氰化钾消除胆红素对 Jaffe 动力法的负干扰[J]. 陕西医学检验,1999,14(5):29-30.

(收稿日期:2010-06-12)

《中国科技论文在线》最受关注论文第三名

本刊讯 湖南省第二人民医院检验科欧阳旋等发表在《检验医学与临床》杂志 2010 年 8 月 7 卷 15 期 1559-1560 页的《246 例血清同型半胱氨酸测定结果的临床分析》一文,被《中国科技论文在线》评为最受关注科技期刊论文第 3 名。该文通过对 246 例血清同型半胱氨酸(HCY)测定结果的临床分析,探讨 HCY 测定的临床意义。于 2010 年 9 月 8 日上传至中国科技论文在线网站,截止 2010 年 11 月 3 日,在 356889 篇期刊论文中,该文被下载次数就高达 406 次,深受广大读者的喜爱。

(曾 玲 报道)