

生化分析仪检测酶活性过程中底物耗尽的监测和处理

刘 成¹, 刘爱华² (1. 山东省乳山市人民医院检验科 264500; 2. 山东省乳山市南黄中心医院 检验科 264511)

【摘要】 目的 监测生化分析仪检测酶活性过程中底物耗尽情况。**方法** 设置完善的生化分析仪监测报警功能。**结果** 有效杜绝报出与实际酶活性相差甚远的假结果。**结论** 酶活性过程中底物耗尽的监测是杜绝报出与实际酶活性相差甚远假结果的关键。

【关键词】 底物耗尽; 假结果; 零级反应; 监测报警
DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2011. 04. 061 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2011)04-0484-02

酶活性检测是临床生化实验室常规一个重要组成部分, 项目一般有丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)等等。由于全自动生化分析仪的高精密度和光栅的应用, 为用速率法来准确检测各种酶的活性提供很好的保证。但是, 当人体肝脏、心脏等器官发生严重损伤时, ALT、AST 等酶的大量释放使血中浓度急剧升高, 有时超过正常水平的几百倍甚至几千倍^[1]。此时就容易出现在检测过程中反应底物被耗尽、被检血清中酶活性过剩现象^[2], 导致检测之血清酶活性大大低于实际水平的结果。而且此种现象若仅从检测结果分析, 难以引起检验人员注意, 从而无法进行应有的样品稀释、重新检测等纠正程序, 最终报出与实际酶活性相差甚远的假结果。因此, 如何监测和处理全自动生化分析仪酶活性检测过程中底物耗尽的现象, 对于检验人员来说是一项非常重要的工作。

1 速率法检测酶活性的原理

1.1 在酶促反应过程中, 不是任何时期的反应速率都和酶活性成正比。当酶促反应刚开始, 底物(S)处于过量状态, 酶(E)和底物结合生成复合物(ES), 逐步使底物浓度开始下降, 此时产物(P)尚未生成。当复合物分解, 生成产物, 酶促反应速度急剧上升。经过很短的作用时间后, 产物的生成量或底物的减少量与反应时间呈线性关系, 此时反应速度保持恒定不变, 这一时期称为零级反应期。随着酶促反应继续进行, 底物的不断消耗, 酶促反应条件逐渐变化: 酶促反应速度逐渐减慢, 产物生成量或底物减少量的变化曲线逐渐趋于平坦, 此阶段称为一级反应期。此时的反应速率常常不能准确反映出酶的活性。

1.2 底物浓度对酶促反应速度有很大的影响, 只有当底物浓度足够大时, 酶促反应速度才能保持恒定, 此时的酶促反应速度和酶浓度才有线性关系。因此, 只有在零级反应期, 单位时间内吸光度(A)变化值才与酶活性成正比。

2 酶活性检测过程中底物耗尽的现象

2.1 在酶活性检测工作中, 检测试剂盒由试剂公司提供。不同公司提供的试剂其酶活性检测线性范围与试剂的质量有直接关系。试剂公司提供的试剂盒所含的底物浓度在一般情况下是足够大的, 可以满足绝大多数临床标本的实际检测需要。

2.2 当人体肝脏、心脏等器官发生损伤时, ALT、AST、CK 等酶的释放使血中浓度大幅升高, 但通常这些酶活性不会超过试剂盒所提供的检测线性范围。所以绝大多数检测结果是可靠、准确的。但是, 当器官损伤特别严重, 样本中酶的活性远远超过试剂盒所提供的检测线性范围时, 也就是零级反应期非常短, 不能有效完成速率法检测, 此时的检测结果是无效的、不准确的。

2.3 根据血清酶活性大小与试剂盒中反应底物含量的相对比值, 实际工作中, 容易出现假结果的情况主要有 2 种。现以罗

氏全自动生化分析仪检测反应曲线呈下降趋势的 ALT、AST 等为例, 作进一步分析。

2.3.1 样本中酶的活性大大超过检测线性范围时, 底物在瞬间被耗尽。也就是零级反应期极短, 速率法检测所设定的吸光度读点完全不在零级反应期, 即反应界限内的吸光度点数为零 (见图 1)。由于 $\Delta A \approx 0$, 酶活性单位 $U/L = \Delta A / \min \times K \approx 0$ 。 ΔA 是个变化值, 当底物耗尽时, A 值在低值区域有很微小波动, 结果近乎为零。甚至有时 ΔA 可能是个很小的负值, 那么结果就相应出现负值。这是个无效、不准确的检测结果, 但此种情况下, 检验人员仅仅从检测结果分析, 就容易引起注意、发现问题, 一般能得到及时处理。

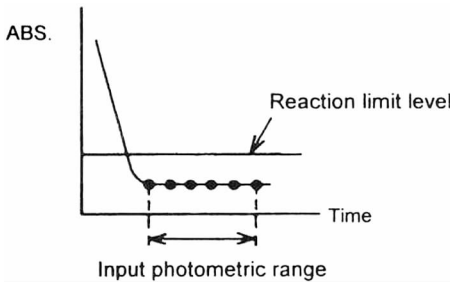


图 1 酶活性大大超过检测线性范围时反应曲线及吸光度读点

2.3.2 样本中酶的活性超过检测线性范围较多, 但低于上述极端过量情况时, 底物在很短的时间内被耗尽。也就是零级反应期较短, 速率法检测所设定的吸光度(A)读点不完全在零级反应期, 即反应界限内的吸光度点数仅有几点 (见图 2)。

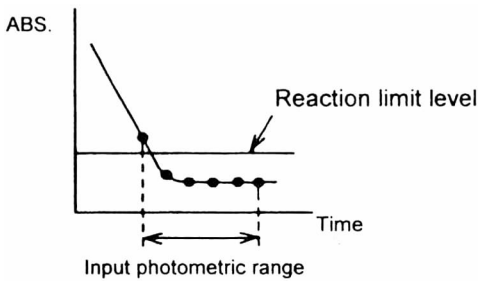


图 2 酶活性超过检测线性范围较多时反应曲线及吸光度读点

此时, 由于 ΔA 有一定的数值, 所以酶活性检测是有结果的。用于计算的吸光度点数按底物的不同, 其设置区间有所不同, 最少有 6 点, 分别在设置区间的前面和后面各 3 点。从图 2 可以看出, 这种情况下计算 ΔA 的读数多数不在有效区间, 不能真实反映样本中的酶活性, 同样是一个无效的、不准确的结果。由于这个结果尚有一定的数值, 一般不容易被检验技术

人员发现,操作中容易出现严重差错。如:某标本首次检测 ALT 结果为 127 U/L,属于一般转氨酶异常结果,本可以正常发出检测报告,但监控其反应曲线,发现该反应有底物耗尽现象,随将样本用蒸馏水稀释 10 倍,再次检测 ALT 并乘以稀释倍数 10,结果为 1 736 U/L(试剂线性范围为 1 000 U/L 为理论推算值)。由此可见,初次检测结果 127 U/L 是一个误差极大的结果。由于这类反应的检测结果难以被发现,很容易报出被大幅降低的检测结果。

- 3 酶活性检测过程中底物耗尽现象的监测和处理**
- 酶活性检测过程中底物耗尽现象经常会发生。为了防止错报结果,必须设置完善的生化仪监测报警功能^[3]。
- 3.1** 在选用速率法为分析模式时,在吸光度随反应进行呈升高的酶促反应中,吸光度应设置合理的最高限值;而在吸光度呈下降的反应中,则应设合理的最低限值。如果吸光度限值设置过高或过低,就失去监测报警功能。
- 3.2** 检测吸光度各个读点应全部设置在有效酶促反应界限内,如有一点超出界限,就应报警,以便及时得到处理。
- 3.3** 在选用试剂盒时,首先要注重试剂的质量。必须对试剂盒说明书中提供的线性范围等参数作认真评估,以确认其质量。
- 3.4** 每天要进行试剂空白检测,防止由于试剂储藏不当、污染等原因使试剂质量下降,线性变窄。如检测发现试剂空白吸光

度比平时高了许多或低了许多,就应及时更换试剂。有时轻微的试剂质量下降,它仅使线性变窄,容易造成底物耗尽,此时对低含量和中、高含量的酶活性检测影响不会很大,使得室内质控也不易发现问题。

总之,酶活性检测过程中底物耗尽的监测是比较复杂、繁琐的,却是非常重要的,来不得半点的疏忽。处理底物耗尽的样本却是很简单的,只要用生理盐水或蒸馏水将样本稀释 10~20 倍,再重新检测,结果乘以稀释倍数即可(当然也要注意稀释倍数过大以后,推导出的理论值与实际值可能存在一定差距,但不至于像未经稀释纠正可能酿成大幅降低的检测结果、掩盖病情、贻误治疗的后果)。

参考文献

[1] 李宾,秦成勇,姜军梅. 颈肩部疼痛 胸闷 憋气 转氨酶极度升高[J]. 中国全科医学,2008,11(4):312-313.

[2] 谭丽芳,肖建美,肖拥军. 30 例 ALT 严重底物耗尽现象的探讨[J]. 实用医技杂志,2008,15(20):2633-2664.

[3] 焦连亨. 我国生化分析仪临床应用中应注意的若干问题[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(5):472-474.

(收稿日期:2010-08-19)

16 例胆囊内瘘的临床分析

陈文军(贵州省贵阳市乌当区人民医院急诊科 550018)

【摘要】 目的 分析胆囊各部位内瘘形成的原因及总结其治疗手段。**方法** 施行胆囊切除及瘘口修补术。**结果** 16 例均获得满意效果,1 例胆囊癌患者术后进行了化疗。**结论** 胆囊内瘘常缺乏特征性的临床表现,又较胆道疾病的其他并发症少见,故术前诊断率很低。应提高对该病的认识,避免漏诊和误诊。

【关键词】 胆囊内瘘; 溃疡; 坏死

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.04.062 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2011)04-0485-02

胆囊内瘘是胆囊与临近各脏器之间形成的异常通道,是胆道系统的一种较少见的并发症。由于本病并发于其他胆道疾病,症状与常见胆道疾病相似,往往由于发现既有的原发胆道疾病而忽视本病存在的可能,导致漏诊^[1]。本文将 1998~2008 年收治的 16 例患者资料分析报道如下,以提高对本病的认识。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本组男 4 例,女 12 例,男女比例 1:3。年龄 32~78 岁,其中 60~78 岁 12 例。16 例中,胆囊十二指肠瘘 11 例,胆囊结肠瘘 4 例,胆囊肝总管瘘 1 例。4 例胆囊十二指肠瘘和 1 例胆囊结肠瘘在术前确诊,其余 10 例均在术中发现。1 例胆囊十二指肠瘘因结石嵌顿在回盲部,术前诊断为肠梗阻,经手术后确诊。1 例胆囊十二指肠瘘术后病理证实为胆囊癌。

1.2 手术方法 16 例均施行胆囊切除及瘘口修补术。11 例胆囊十二指肠瘘,在切除胆囊及修补瘘口后,放置胃管,其远端越过瘘口以下,同时本组还施行了空肠造瘘术。4 例胆囊结肠瘘均胆囊切除,中断瘘管,闭合瘘口。1 例胆囊肝总管瘘口直径超过肝总管直径的 1/3,为 mirizzi 综合征 2 型,切除胆囊后,行肝总管空肠 Rouxeny 型吻合。

2 结果

本组 16 例均获得满意的治疗效果,1 例胆囊癌患者术后

进行了化疗。

3 讨论

胆囊内瘘常缺乏特征性的临床表现,又较胆道疾病的其他并发症少见,故术前诊断率很低。只有提高对本病的认识,才能避免漏诊和误诊。

大多数病例是因为胆囊结石患者未能及时治疗而反复发作导致胆囊浆膜与临近的空腔脏器之间形成紧密的粘连,当炎症多次发作时,发生胆囊以及周围肠(管)壁充血水肿,血栓形成及管壁坏死等病理变化,最终形成内瘘。尤其是当胆囊颈管等处由于结石嵌顿而使胆囊内压升高,以及结石压迫等原因,一方面使得胆囊壁水肿,又减少其血供及静脉和淋巴回流,胆囊壁因而淤血、坏死、穿孔,形成内瘘。同时由于胆囊底部囊壁相对薄弱,血液供应差,是发生坏死、穿孔形成内瘘的另一方面原因^[2-4]。

胆囊肝总管瘘是由于结石嵌顿在胆囊颈或胆囊管壶腹部,长期压迫肝总管形成局部组织坏死和溃疡,随着病情的迁延,当管腔内压增高后进一步发作而形成,为 mirizzi 综合征。

有文献报道,胃十二指肠溃疡与胆囊粘连,溃破后也可形成胆囊十二指肠瘘。胆道手术中,不恰当的胆总管探查,也可引起胆管十二指肠之间的异常通道直接形成内瘘。另外,胆管损伤形成胆道周围感染、脓肿,冲破临近脏器导致胆囊内瘘。