

干湿化学法对乳糜状态标本部分生化指标检测结果的影响

陈少莲, 马晓桂, 卢汉威, 李瑞莹 (广东药学院附属第一医院检验科, 广州 510080)

【摘要】 目的 比较干、湿化学法对乳糜状态标本部分生化指标检测结果的影响。**方法** 收集 50 例乳糜样标本, 分别用日立 7180 和 VITROS 350 对丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、葡萄糖(GLU)、肌酐(Cr)、总蛋白(TP)五项指标进行检测。**结果** GLU、Cr、TP 用两种方法测定结果差异均无统计学意义($P > 0.05$); 而 ALT、AST 结果比较, 两种方法间差异有统计学意义($P < 0.05$), 但二者结果具有良好的相关关系。**结论** 定期对不同生化分析仪的测定结果进行比对和校准, 是保证检验结果准确性的一种可靠方法。

【关键词】 干化学法; 湿化学法; 乳糜

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.19.025 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)19-2448-02

Influence of dry and wet chemical methods on detection results of partial biochemical indexes of chylous state specimens

CHEN Shao-lian, MA Xiao-gui, LU Han-wei, LI Rui-ying (Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital, Guangdong Pharmacy College, Guangzhou, Guangdong 510080, China)

【Abstract】 Objective To compare the results of partial biochemical indexes of chylous state specimens detected by the dry and wet chemical methods so as to find out a predominant testing method applicable to chylemia. **Methods** 50 samples of chylous state specimens were collected and detected the 5 indexes ALT, AST, GLU, Cr and TP by the Hitachi 7180 and the VITROS350 analyzers. The testing results were compared. **Results** There was no statistical difference in GLU, Cr and TP between the two methods ($P > 0.05$). But statistical difference existed in ALT and AST between the two methods ($P < 0.05$), which showing that the detection results of the two methods had better correlation. **Conclusion** Periodically conducting comparison and calibration on the detecting results of different biochemical analyzers is a reliable method to ensure the accuracy of the detecting results.

【Key words】 wet chemical method; dry chemical method; chylemia

本院生化检测中常见有乳糜血样标本。由乳糜血标本中乳糜微粒所造成血浆颜色呈乳白色或是乳浊状。本院检验科采用湿化学方法测定的总胆红素、清蛋白、肌酐等生化指标结果常受乳糜血干扰, 常呈假性升高, 导致检测结果不可靠, 不能为临床医生提供有用的可靠数据。最近几年来, 多学科高新技术在干化学领域相互渗透、结合, 使干化学分析有了飞跃式的发展, 并在临床生化检验中得以使用和普及。这种方法以其方便、快速、试剂保存时间较长、干扰因素较少等优点, 成为生化检测的又一新领域^[1]。此外, 由于干化学检测所需样本量较少(10 μ L), 及分析速度快(350 test/h), 可连续检测多个项目, 结果准确、可靠, 该方法成为检验科的急诊生化项目的检测手段。干化学法和湿化学法检测目前在检验科皆已普遍使用, 由于检测方法不一样, 致使测定结果之间难以比较, 尚缺乏足够依据^[2]。

为比较本院干化学法和湿化学法在一般乳糜样标本检测结果之间的差异, 比较乳糜状态标本在不同测定方法中结果的可靠性, 选用了急诊生化项目中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、葡萄糖(GLU)、肌酐(Cr)、总蛋白(TP)五项指标进行测定。通过比较不同类型的生化分析仪、不同测定方法检测结果之间的可比性, 用于进一步探讨不同检测方法的特点以及各自优缺点。

1 资料与方法

1.1 研究对象 随机选取 2011 年 5~12 月本院住院患者送检 50 份乳浊标本。

1.2 实验仪器与设备 实验仪器为日立 7180 全自动生化仪, 强生 VITROS 350 全自动干化学分析仪。测定项目包括 ALT、AST、GLU、Cr、TP。

1.3 实验试剂 干化学法: 强生公司生产用于 VITROS 350

原干片试剂。湿化学法: ALT、AST 试剂由广州科方生物技术有限公司提供, GLU 由四川迈克生物科技股份有限公司提供, Cr 由世诺临床诊断制品贸易有限公司提供, TP 由中生北控生物科技股份有限公司提供。

1.4 测定方法 (1)干化学法: Glu 和各种酶用干片酶法; TP 用干片比色法; (2)湿化学法: Glu 用己糖激酶(HK)法; AST、ALT 用酶速率法; TP 用双缩脲法测定; Cr 用肌氨酸氧化酶法测定。两种方法测定前均已采用标准品进行该批号试剂分析结果的定标, 并用质控品与日常标本一起测定对仪器进行质控。在前者有保障的前提下, 将 50 份血清标本分别在强生 VITROS350 全自动生化分析仪和日立 7180 全自动生化仪上对 ALT、AST、GLU、Cr、TP 进行测定, 记录所测结果。根据临床使用要求, 以医学决定水平的系统误差来判断检测系统的结果是否可以接受^[2]。可在各个临床决定水平浓度 X_c 处, 了解 Y 方法引入后相对于 X 方法的相对系统误差(SE%)。SE% = $(|Y_c - X_c| / X_c) \times 100\% = [|(b-1)X_c + a| / X_c] \times 100\%$ 。以 CLIA'88 对室间评估的允许误差的二分之一为判断依据, 由方法学比较评估的 SE% 不大于允许误差的二分之一。

1.5 统计学分析 采用配对 t 检验、直线回归和相关分析。

2 结果

2.1 配对 T 检验和相关性分析 采用两种方法分别检测 50 例相同的血清样本, 结果如表 1; 配对 t 检验结果分析显示 GLU、Cr、TP 两种测定方法结果比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 而 ALT、AST 两种测定方法结果比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 可认为这些检测项目的测定结果之间有差异。对两种方法分析结果进行线性相关分析, 其中 ALT、AST、Cr 相关系数(r) > 0.95 , 说明两种不同仪器、使用不同的分析方法, 检测结果之间相关性较好, 这说明, 具有统计学差异的检测

指标可能是系统误差引起的。

表 1 配对 T 检验及相关系数分析结果比较($\bar{x} \pm s, n=50$)

项目	ALT(U/L)	AST(U/L)	GLU(mmol/L)	Crea(μ mol/L)	TP(g/L)
湿化学	34.68 $\pm$ 54.423 73	26.000 0 $\pm$ 10.087 71	6.282 4 $\pm$ 2.823 43	89.280 0 $\pm$ 51.530 47	77.060 0 $\pm$ 9.558 43
干化学	40.77 $\pm$ 54.446 84	30.325 6 $\pm$ 10.188 04	6.158 4 $\pm$ 2.876 30	89.728 0 $\pm$ 49.529 21	75.980 0 $\pm$ 9.556 47
P	0.00	0.00	0.581	0.656	0.240
r	0.990	0.967	0.847	0.991	0.774
t	-5.139	-10.805	0.556	-0.448	1.189

2.2 线性回归分析 对两种方法进行线性回归分析,以湿化学法(X)作为对比方法,对干化学法(Y)进行评估,结果如表 2。由数据分析可知,经过线性回归方程的假设检验, $F>4.04, P<0.05$,GLU、Cr、TP、ALT、AST 干湿化学法的检测结果存在线性回归关系。见表 2。

表 2 回归方程及方差分析结果

项目	回归方程	F(4.04)	P
ALT(U/L)	$Y=5.225+0.99X$	1 780.342	0.000
AST(U/L)	$Y=4.946+0.967X$	581.761	0.000
GLU(mmol/L)	$Y=0.736+0.863X$	122.041	0.000
Cr(μ mol/L)	$Y=4.687+0.953X$	2 631.999	0.000
TP(g/L)	$Y=16.336+0.774X$	71.797	0.000

2.3 参考 ALT、AST 的允许误差,统计数据表明,两种方法学测定 ALT、AST 结果的系统误差属临床不可接受水平。

3 讨 论

VITROS 350 全自动干化学分析仪是美国强生公司推出的主要用于急诊生化检验的生化仪器之一,与日立 7180 全自动生化仪最大的区别是被测物质的化学反应在干燥基质中进行,入射光通过基质被吸收后,检测反射光的减弱程度来反映出被测物质浓度的大小^[3]。其特点是有独特的多层膜涂层技术,不仅能掩盖待测物的有色物质,提供背景、选择性的阻留或去除干扰物质,还将等同于湿化学反应原理的各种物理、化学反应在各分层中进行,使某一产物又可进入另一层中进行反应,从而引导反应序列,使各层可以给出一种特定的环境用以控制反应序列和反应时间^[4]。干化学检测系统无需蒸馏水冲洗,完全避免了样本间、干片间的结果干扰。日立 7180 和 VITROS 350 分别代表了不同的分析方法,由于仪器的结构、工作原理等均存在很大不同,其检测结果也存在明显差异。由于两种测定方法存在准确性的差异,对于同一患者在不同仪器检测的结果会出现不一致,从而影响医生的诊断和治疗。

乳浊可以通过多种途径影响生化检测的结果^[5]:(1)目前大部分生化检测项目都是用比色、比浊等分析方法来检测的,而且乳浊对光线有一定的散射作用,因此乳浊血清的标本空白吸光度值会增高,因此对吸光度产生正向干扰。(2)血清中水分被不溶性的脂浊微粒所取代,这样除三酰甘油等少数项目以外,乳浊可以使大部分血清成分产生一定负误差。(3)乳浊标本由于其黏度增大及乳浊微粒的屏蔽作用,可以减少抗原抗体结合的机会,因而对免疫比浊法产生相应的影响。(4)乳浊使分析标本分布呈非均一性,因此测定过程中的随机误差增大。

对于轻度乳浊的标本,常常不需要对其进行特殊处理,只要将参数设定时注意以下几点^[6]:(1)设定样本空白的附加分析参数;(2)选用两点终点法可以消除样本空白产生的干扰;

(3)速率法对乳浊标本也有一定的抗干扰能力;(4)选择合适的双波长。对于中重度乳浊标本,必须对标本进行预处理,具体方法有以下几点:(1)生理盐水稀释法;(2)乙醚抽取法;(3)沉淀分离法;(4)血清静置实验;(5)高速离心法;(6)干化学法。对于前 5 种方法,鉴于各自的优缺点,均有各自的适用对象。而干化学法基本原理是将肝素化全血加在干化学分析仪试剂盒的血浆分离区上,当全血通过玻璃纤维层时,血细胞、乳浊微粒等物质可以被阻截,血浆被过滤到血浆分离区并渗入辅助试剂层,再通过转移介质层与干试剂相作用而呈色并显示检测结果,因此该法亦可有效地去除乳浊对生化测定结果的影响。

对两台仪器的测定结果进行配对检验,GLU、Cr、TP 的结果差异无统计学意义($P>0.05$),可以认为结果一致。AST、ALT 测定结果的差异有统计学意义($P<0.05$),但相关性良好($r>0.95$),说明两种结果的误差为系统误差,其产生的原因主要是分析原理的不同和试剂的加入方式不同(即不同的测系统)引起。由于不同分析方法的结果存在准确性的差异,会影响医生的诊断和治疗。如何消除不同仪器之间测定结果的差异,作者认为有 3 种办法:(1)对于不同的分析仪器或分析方法,制订相应的参考范围。(2)由于误差来源于系统误差,可以将某一台仪器作为参考标准,其他仪器向其靠拢,具体方法是在参数设定过程中,利用线性方程 $Y=aX+b$,设定 a 和 b,可获得一致的结果。(3)标准化方法。目前人们最为关心的标准化问题,相对于某一特定的仪器而言,应该有其获得认可的相应的配套试剂和校准品,这就是目前实验室认可最为关键的一点。

参考文献

[1] 文庆成,马志荣,师本章.干化学分析在医学检验中的应用[J].辽宁医学杂志,1995,9(4):171-173.

[2] 王文科.干化学法与湿化学法测定血清 AST 结果分析[J].国外医学:临床生物化学与检验学分册,2005,26(9):670-671.

[3] 李贵星,陆小军.临床生化干化学分析和湿化学分析的初步比较[J].华西医学,2003,18(1):69-71.

[4] Hemry C,Royden NR. Early history of Eastman Kodak Ekt-Achem slides[J]. Clin Chem, 1997, 63(9): 1647-1652.

[5] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3版.南京:东南大学出版社,2006:43.

[6] 吕赛平,邹学森.自动生化分析仪的分析参数设置[J].江西医学检验,2007,25(2):159-161.