三酰甘油对临床生化检查的干扰剂量效应分析*

孟凡超, 赵宗玲, 张 梅, 李 宇 (首都医科大学密云教学医院检验科, 北京 101500)

【摘要】 目的 探讨三酰甘油(TG)对 16 项常见临床生化检测结果的干扰剂量效应。**方法** 参照美国临床和实验室标准化协会《临床化学干扰试验-批准指南》(EP7-A2)要求进行干扰试验, 确定干扰物 TG 与干扰效果(偏差)之间的剂量效应。**结果** TG 对总蛋白、清蛋白、葡萄糖、尿素、碱性磷酸酶、镁、无机磷、钙、血清丙氨酸氨基转移酶、门冬氨酸氨基转移酶、铁存在正向干扰, 其中前 8 项回归方程线性关系显著($P < 0.05$), 后 3 项回归方程二次项关系显著($P < 0.05$)。对 γ -谷氨酰转肽酶、肌酸激酶、乳酸脱氢酶、肌酐、尿酸存在负向干扰, 回归方程线性关系显著($P < 0.05$)。**结论** TG 对临床常见生化检测结果存在不同剂量效应的干扰。

【关键词】 三酰甘油; 干扰; 剂量效应

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.18.012 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)18-2526-03

Analysis on the dose response of triglycerides on common biochemical test* MENG Fan-chao, ZHAO Zong-ling, ZHANG Mei, LI Yu (Department of Clinical Laboratory, Miyun Teaching Hospital of Capital Medical University, Miyun, Beijing 101500, China)

【Abstract】 Objective To explore the dose response of triglycerides(TG) on 16 common biochemical examination results. **Methods** According to the clinical and laboratory standards institute EP7-A2 file to conducted interference test, determine the dose response between distractors (triglycerides) and interference effect (deviation). **Results**

TG had positive interference on total protein, albumin, glucose, urea, alkaline phosphatase, magnesium, phosphorus, calcium, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and iron. And the first eight were significant entered the linear regression equation ($P < 0.05$), and the latter three quadratic regression equation were significant ($P < 0.05$). The interference of TG on glutamyltranspeptidase, creatine kinase, lactic dehydrogenase, creatinine and uric acid were negative, and the linear regression equation were significant ($P < 0.05$). **Conclusion** There might be different dose response of TG on common biochemical examination indicators.

【Key words】 triglycerides; interference; dose response

随着人们生活水平的提高, 高脂血症发病率明显上升。相关文献报道, 国内成年人高三酰甘油(TG)血症患病率为 11.90%, 且随年龄增长, 患病率逐渐升高^[1]。当血清 TG 浓度大于 3.0 mmol/L 时, 患者外周血标本离心后的血清可呈现不同程度的混浊, 形成乳糜样改变, 从而对生化项目的检测产生不同程度的影响^[2]。乳糜微粒是血液中颗粒最大的脂蛋白, 其含 TG 近 90%^[3]。因此, 可以利用 TG 替代乳糜微粒作为干扰物进行定量检测。本文参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)文件《临床化学干扰试验-批准指南》(EP7-A2) 进行干扰试验, 确定 TG 对 16 项常见生化指标产生干扰的剂量效应^[4]。

1 材料与方法

1.1 标本来源

1.1.1 本底血清 本研究共涉及血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、碱性磷酸酶(ALP)、 γ -谷氨酰转肽酶(GGT)、葡萄糖(GLU)、肌酐(CRE)、尿素(UREA)、尿酸(UA)、肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、钙(Ca)、无机磷(P)、铁(Fe)、镁(Mg)等 16 项生化指标, 针对每项指标收集 2 例本底血清, 要求观察指标相应浓度分别接近参考区间两端的医学决定水平, 且 TG 浓度低于 0.7 mmol/L。

1.1.2 脂浊血清 收集本院 2013 年 1~10 月进行生化检测的全部脂浊血清标本, 标本无黄疸、溶血。

1.2 仪器与试剂 日本 OLYMPUS 公司 AU2700 全自动生化分析仪; 美国 SIGMA 公司 3-18K 低温高速离心机。TG 试剂盒(批号 131020)、ALT 试剂盒(批号 130561)、AST 试剂盒(批号 130501)、TP 试剂盒(批号 131161)、ALB 试剂盒(批号 131291)、ALP 试剂盒(批号 130661)、GGT 试剂盒(批号 130671)、GLU 试剂盒(批号 130551) 购自中生北控生物科技股份有限公司。CRE 试剂盒(批号 307221F)、UREA 试剂盒(批号 310151D)、UA 试剂盒(批号 306172E)、CK 试剂盒(批号 307242F)、LDH 试剂盒(批号 305212E)、Fe 试剂盒(批号 910131H) 购自北京利德曼生化股份有限公司。Ca 试剂盒(批号 4069)、P 试剂盒(批号 3333)、Mg 试剂盒(批号 4319) 购自美国贝克曼库尔特公司。

1.3 方法

1.3.1 干扰物的制备 脂浊血清标本在 -5°C 条件下 15 000 r/min 离心 30 min, 弃下清液, 加入约 5 倍体积的生理盐水, 充分混匀。重复上述操作 2 次, 经高速离心后, 收集上层浓缩脂质制成 TG 浓缩液作为干扰物。

1.3.2 干扰试验 (1) 每个生化指标的 2 例本底血清同时进行干扰试验, 试验方法参照 CLSI EP7-A2 文件^[4]。将本底血

* 基金项目: 北京市密云县科技计划项目(2012004)。

作者简介: 孟凡超, 男, 主管技师, 本科, 主要从事临床生化与分子诊断学研究。

清平均分成 2 份。按照本底血清与干扰物 20 : 1 的比例, 1 份加入干扰物, 充分混匀, 制成高 TG 血清(H); 另 1 份加入等量生理盐水, 充分混匀, 制成低 TG 血清(L)。(2)将 H 血清与 L 血清按特定比例充分混合, 制成 5 个 TG 浓度梯度的模型, 并按照 TG 浓度由低到高的顺序编号为 1~5 号, 分别为 L 血清、75% L 血清+25% H 血清、50% L 血清+50% H 血清、25% L 血清+75% H 血清、H 血清。(3)按 1~5、5~1、1~5 的顺序, 在 AU2700 全自动生化分析仪上进行相应观察指标和 TG 检测, 计算各管标本 TG 和 1 号管观察指标检测结果的平均值。(4)以 1 号管观察指标平均值为真值, 计算各管观测指标单次测量值与真值之差, 即偏差, 以偏差为干扰效果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行数据处理及统计

学分析。以干扰物浓度(TG 均值)为横坐标(X), 以干扰效果(偏差)为纵坐标(Y), 绘制曲线图, 并进行回归分析, 对回归方程进行显著性检验, $P < 0.05$ 为回归方程有统计学意义。

2 结 果

2.1 正向干扰结果 TG 对 TP、ALB、GLU、UREA、ALP、Mg、P、Ca 存在正向干扰, 回归方程线性关系显著($P < 0.05$), 其中高浓度本底血清标本 TP、ALB、GLU、UREA、ALP、Mg 回归方程的斜率大于低浓度本底血清标本, 而高、低浓度本底血清标本 P、Ca 回归方程的斜率相近。见表 1。TG 对 ALT、AST、Fe 也存在正向干扰, 且当 $TG > 7.0$ mmol/L 时, ALT 无法检测出结果; 当 $TG > 10.0$ mmol/L 时, AST 无法检测出结果, 三者回归方程二次项关系显著($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 TG 对 TP、ALB、GLU、UREA、ALP、Mg、P、Ca 的干扰

项目	检验方法	本底水平	回归方程($Y=a+bX$)	r	F	P
TP	双缩脲法	高	$Y = -1.393 + 2.906X$	0.997	1947.687	0.000
		低	$Y = -1.894 + 2.741X$	0.998	3523.185	0.000
ALB	溴甲酚绿法	高	$Y = -0.084 + 0.472X$	0.984	387.850	0.000
		低	$Y = -0.282 + 0.349X$	0.973	232.131	0.000
GLU	GOD-POD 法	高	$Y = -0.071 + 0.158X$	0.986	459.170	0.000
		低	$Y = -0.159 + 0.140X$	0.991	1094.557	0.000
UREA	脲酶 UV 法	高	$Y = -0.017 + 0.024X$	0.945	108.974	0.000
		低	$Y = -0.010 + 0.008X$	0.940	143.162	0.000
ALP	速率法	高	$Y = -0.317 + 0.632X$	0.937	137.170	0.000
		低	$Y = -0.065 + 0.107X$	0.922	107.321	0.000
Mg	二甲苯胺蓝法	高	$Y = -0.013 + 0.039X$	0.973	227.780	0.000
		低	$Y = -0.009 + 0.018X$	0.953	127.613	0.000
P	钼酸盐法	高	$Y = -0.001 + 0.003X$	0.926	114.396	0.000
		低	$Y = -0.003 + 0.003X$	0.932	126.045	0.000
Ca	偶氮肿 III 法	高	$Y = -0.006 + 0.014X$	0.948	168.083	0.000
		低	$Y = 0.001 + 0.017X$	0.986	650.971	0.000

表 2 TG 对 ALT、AST、Fe 的干扰

项目	检验方法	本底水平	回归方程($Y=a+b_1X+b_2X^2$)	r	F	P
ALT	速率法	高	$Y = 0.080 - 0.119X + 0.054X^2$	0.979	138.138	0.000
		低	$Y = 0.239 - 0.464X + 0.173X^2$	0.960	52.980	0.000
AST	速率法	高	$Y = 0.091 - 0.263X + 0.116X^2$	0.953	59.549	0.000
		低	$Y = 0.030 - 0.010X + 0.049X^2$	0.963	75.690	0.000
Fe	Ferene 法	高	$Y = 0.188 - 0.276X + 0.063X^2$	0.988	369.966	0.000
		低	$Y = 0.244 - 0.272X + 0.063X^2$	0.995	893.377	0.000

表 3 TG 对 GGT、CK、LDH、CRE、UA 的干扰

项目	检验方法	本底水平	回归方程($Y=a+bX$)	r	F	P
GGT	速率法	高	$Y = 0.198 - 0.303X$	0.995	1415.969	0.000
		低	$Y = 0.085 - 0.082X$	0.968	190.515	0.000
CK	DGKC 法	高	$Y = 0.170 - 0.471X$	0.964	172.510	0.000
		低	$Y = 0.142 - 0.121X$	0.955	136.296	0.000
LDH	速率法	高	$Y = 0.172 - 0.566X$	0.965	117.147	0.000
		低	$Y = 0.224 - 0.374X$	0.978	281.078	0.000
CRE	肌氨酸氧化酶法	高	$Y = 0.404 - 0.736X$	0.940	144.178	0.000
		低	$Y = 0.398 - 0.812X$	0.988	780.644	0.000
UA	尿酸酶-POD 法	高	$Y = 0.864 - 0.905X$	0.933	106.768	0.000
		低	$Y = 0.690 - 0.811X$	0.970	304.797	0.000

2.2 负向干扰结果 TG 对 GGT、CK、LDH、CRE、UA 存在负向干扰,回归方程线性关系显著($P < 0.05$),其中高浓度本底血清标本 GGT、CK、LDH、UA 回归方程的斜率绝对值大于低浓度本底血清标本,而 CRE 则相反。见表 3。

3 讨 论

脂蛋白主要包括乳糜微粒、极低密度脂蛋白、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白等,高脂蛋白血症是指血浆中存在上述一项或多项脂蛋白浓度过高的现象,世界卫生组织提出的高脂蛋白血症分型法将其分为 6 种类型,其中 I 型、IV 型和 V 型以 TG 升高为主,血清外观混浊^[5]。临床上常见高 TG 标本对生化检测结果造成干扰,此类标本主要来自于过量摄入高脂食物的患者,因治疗营养不良或消耗性疾病输入脂肪乳的患者,脂代谢紊乱患者^[6-7]。其干扰机制主要有浊度增加或光散射、增加空白吸光度、降低比色法反应吸光度的变化以及增加标本内物质的极性与非极性^[8-9]。临床上,低浓度的高脂蛋白血对常见临床生化指标检测影响不大,但中、高浓度的高脂蛋白血对临床生化指标的检测干扰极大^[10],即使采用速率法、乙醚提取法、空白扣除法也无法完全消除影响^[11],因此明确 TG 对常见生化指标的干扰程度,对于检验结果的准确性评估和检验报告的合理解读尤为重要。

本研究结果显示,TG 对 TP、ALB、GLU、UREA、ALP、Mg、P、Ca 存在正向干扰,且回归方程线性关系显著($P < 0.05$),表明随着 TG 浓度升高,上述观测指标的检测结果显示升高。其中 TP、ALB、GLU、UREA、ALP、Mg 6 项的高浓度本底血清水平回归方程斜率大于低浓度本底血清水平,而 P、Ca 在两种浓度的本底血清水平下的回归方程的斜率相近,说明 TG 对高浓度本底血清水平的干扰效果大于低浓度本底血清水平,而对 P、Ca 的干扰效果在 2 个本底水平上较为接近。TG 对 ALT、AST、Fe 同样存在正向干扰,但是回归方程呈二次项相关显著($P < 0.05$),说明随着 TG 浓度升高,血清 ALT、AST、Fe 的检测结果显示二次项升高,同时发现当 TG > 7.0 mmol/L 时,ALT 无法测出;TG > 10.0 mmol/L 时,AST 无法测出。

TG 对 GGT、CK、LDH、CRE、UA 存在负向干扰,回归方程线性关系显著($P < 0.05$),即随着 TG 浓度升高,GGT、CK、LDH、CRE、UA 的检测结果显示线性下降。其中 GGT、CK、LDH、UA 高浓度本底血清水平回归方程的斜率的绝对值大于低浓度本底血清水平,CRE 两个浓度的本底血清水平回归方程的斜率相反。说明 TG 对 GGT、CK、LDH、UA 4 项高浓度本底血清水平的干扰效果大于低浓度本底血清水平,而 CRE 正好相反。

因为 TG 对常见生化检测存在不同程度的干扰,所以检验工作者需要格外注意脂血标本检测结果的准确性问题。对于脂血标本的生化检测报告,尤其是个别生化指标接近重要医学决定水平时,要充分考虑到 TG 的干扰使检验结果“失真”的情况。笔者建议检验工作人员可以根据回归方程对高 TG 血标本的检测结果显示进行适度修正;同时,临床实验室可以根据本实验室设定的允许总误差,通过回归方程,计算超过允许偏倚时 TG 的浓度,作为高 TG 血标本的准入标准。

既往的研究多使用特制商品化的干扰试剂盒进行干扰试验,结果以乳糜浊度的形式反映其对观察指标的干扰情况。如胡勤辛等^[12]研究结果显示乳糜物质在 155~1 550 浊度单位时,对 10 项常见酶类均无干扰。徐建华等^[13]研究表明 835 浊度的乳糜物质对前清蛋白测定有负干扰作用。然而,对于临床检验工作,笔者认为以 TG 定量替代乳糜浊度显得更加简单明了,对临床检验工作更具有现实指导意义。

本次研究使用内源性 TG 浓缩液作为干扰物,由于离心机性能原因(最大相对离心力不超过 20 627 g),尚无法获得到足够浓缩的脂质浓缩液,干扰物的最高试验浓度未超过 15 mmol/L,因此对于更高浓度 TG 的干扰效果有待进一步研究。

参考文献

- [1] 任洁,赵冬. 中国人群血脂水平的流行病学现状[J]. 中国现代神经疾病杂志,2009,9(1):8-11.
- [2] 刘俊,黄文红,付波. 三种消除血浆高脂质浑浊方法对酶类检测结果的影响[J]. 华南国防医学杂志,2010,24(1):42-43.
- [3] 中国成人血脂异常防治指南制订联合委员会. 中国成人血脂异常防治指南[J]. 中华心血管病杂志,2007,35(5):391-394.
- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP7-A Interference testing in clinical chemistry; Approved Guideline [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2005.
- [5] 周新,涂植光. 临床生物化学和生物化学检验[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2003:116-117.
- [6] 林景涛,翟敏,代艳杰,等. 高脂血对血清酶类活性测定影响及处理方法[J]. 检验医学与临床,2010,7(15):1542-1545.
- [7] 张妍,李君,李津鸿,等. 高脂血清对胰岛素测定的影响及处理方法[J]. 天津医科大学学报,2008,14(4):566-567.
- [8] 文江平,郭拥军,鲁辛辛,等. 临床实验室认可中临床化学抗干扰性能的系统评估[J]. 临床检验杂志,2008,26(3):216-218.
- [9] 晋华猛. 3 种方法消除脂血对生化测定干扰的对比研究[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(14):1813-1814.
- [10] 朱征,丁显平,杨敏,等. 高脂血对临床生化测定影响及处理方法的临床研究[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(20):2533-2534.
- [11] 臧素纲,吴李培. 消除溶血黄疸及脂血对生化检测干扰的探讨[J]. 实用医技杂志,2008,15(27):3742-3743.
- [12] 胡勤辛,王强,毕其华,等. 常用酶类检测项目干扰试验的实验分析[J]. 检验医学,2008,23(1):86-88.
- [13] 徐建华,何敏,柯培锋,等. CLSI EP7-A2 文件在临床化学分析干扰试验中的应用评价[J]. 检验医学,2010,25(12):971-974.