

• 检验技术与方法 •

胆红素对干化学法测定总蛋白结果的影响

郭丽丽¹, 王国平¹, 郭胜利², 李海新¹

(1. 河北省邯郸市中心医院检验科 056001; 2. 河北省邯郸市邯钢医院检验科 056001)

摘要:目的 研究总胆红素(TBIL)对干化学方法测定血清总蛋白结果的影响。方法 对 81 份含有不同浓度 TBIL 的临床血清标本分别用干、湿化学法测定血清总蛋白浓度,对结果进行统计学分析。结果 TBIL<79.3 μmol/L 的血清标本,干、湿化学法测定血清总蛋白的结果无统计学意义差异($P>0.05$);TBIL>80.5 μmol/L 的血清标本,干、湿化学法测定血清总蛋白结果有统计学意义差异($P<0.05$);两种方法所得结果差值与 TBIL 浓度呈正相关,相关系数 $r=0.847\ 9$,回归方程 $Y=0.018\ 4X+0.161\ 6$ 。结论 TBIL>80.5 μmol/L 时,会使干化学方法测定血清总蛋白结果偏高。

关键词:胆红素; 蛋白; 干化学法; 湿化学法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.15.037 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2011)15-1736-02

近年来,临床对急诊检验结果报告时间的时效性要求越来越高,急诊标本的生化分析对于传统的生化分析是一种挑战^[1],目前临床常规生化检测方法为湿化学法和干化学法^[2],由于干化学学生化分析仪具有准确度、精密度高,重复性好,操作简便、快捷,分析项目广泛,可以全天候急诊测试等优点^[3],越来越多的医院检验科将其应用于急诊检验中。血清总蛋白的测定方法包括干化学法和湿化学法等,据文献报道^[4],两者的结果差异无统计学意义,但在临床实践中发现,血清总胆红素(TBIL)水平升高时,两种方法测定总蛋白的结果差异较大。为此笔者选用干化学法和湿化学法分别检测了 81 份不同 TBIL 水平的临床血清标本,对 TBIL 在干化学法测定血清总蛋白结果中的干扰情况进行了观察,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 81 份不同 TBIL 水平的临床血清标本。
1.2 仪器与试剂 干化学法测定采用美国强生 VIPROS-350 型全自动生化分析仪,配套试剂和定标液由美国强生公司提供;湿化学方法测定采用日本奥林巴斯 AU 2700 型全自动生化分析仪,配套浓缩试剂和定标液由奥林巴斯公司提供;室内质控品均由英国朗道公司提供。

表 1 不同 TBIL 水平下干化学法与湿化学法测定血清总蛋白结果的比较

TBIL(μmol/L)	<i>n</i>	湿化学法($\bar{x}\pm s$,g/L)	干化学法($\bar{x}\pm s$,g/L)	两种方法差值($\bar{x}\pm s$,g/L)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
4.2~21.9	30	64.097±9.568	64.057±9.719	0.043±0.957	0.248	>0.05
22.2~79.3	20	59.625±16.317	60.105±16.197	0.480±2.155	1.368	>0.05
80.5~505.3	31	57.929±10.994	62.348±11.316	4.419±2.343	10.598	<0.05

3 讨 论

血清总蛋白升高常见于多发性骨髓瘤、由于脱水而引起的血浆浓缩等,文献[5]报道了在湿化学法中血清 TBIL 水平升高对测定总蛋白结果的影响。通过本实验结果可知,血清 TBIL 升高会使得干化学法测得的总蛋白浓度高于湿化学法,可以认为血清总蛋白的检测中高 TBIL 对干化学法测定的影响比对湿化学法大,但低浓度的 TBIL 对两种方法测定血清总蛋白浓度没有影响,因此在使用干化学法和湿化学法测定高 TBIL 血清中总蛋白时,应注意对标本去除 TBIL 再测定总蛋白浓度,以降低干扰,以免引起临床误诊。

湿化学法是目前首推的蛋白质定量方法,该法操作简便、特异度和准确度好、精密度高,灵敏度虽不高,但对血清总蛋白定量较为适用;干化学方法也以其操作简便快速、样本用量少的优点而被广泛应用。湿化学法测定总蛋白时,TBIL 对测定结果有影响,可能是由于 TBIL 受到双缩脲试剂中碱性环境的

1.3 方法 收集不同浓度水平 TBIL(4.2~505.3 μmmol/L)的血清标本,首先用湿化学法检测每个标本中的总蛋白浓度,然后在 0.5 h 内再采用干化学方法检测总蛋白浓度。

1.4 统计学处理 以湿化学法作为对比方法,其所测结果作为配对资料,采用配对样本 *t* 检验比较两组数据的差异,取 $\alpha=0.05$;对直线回归方程进行方差分析,取 $\alpha=0.01$ 。

2 结 果

TBIL 浓度水平在 0~79.3 μmol/L 范围内时,干化学法和湿化学法测定的总蛋白浓度差异无统计学意义($P>0.05$),可以认为 0~79.3 μmol/L 范围内的 TBIL 对干化学法检测总蛋白浓度几乎无干扰。TBIL 浓度在 80.5~495.9 μmol/L 时,干化学法和湿化学法测定的总蛋白浓度差异有统计学意义($P<0.05$),可以认为 80.5~495.9 μmol/L 的 TBIL 对干化学法检测总蛋白浓度有干扰,见表 1。两种方法检测结果的差值随 TBIL 浓度的增加有增大的趋势,建立其直线回归方程为 $Y=0.018\ 4X+0.161\ 6$,相关系数 $r=0.847\ 9$,对直线回归方程进行方差分析,可以认为两种方法所测血清总蛋白结果差值与 TBIL 浓度之间存在线性关系。

作用逐渐转化成胆绿素^[6],从而增加了比色时的吸光度,使血清总蛋白测定值偏高,干化学方法和湿化学方法均采用可见光及紫外光分光光度法中的对比法^[7],干化学法是在湿化学法的基础上发展起来的^[8],两者因仪器结构、工作原理、测试方式等方法学上的差异,造成两种方法在测定血清总蛋白时受到 TBIL 的干扰大小不同。干化学方法的化学反应是在干燥的载玻片上进行的,载玻片由 5 层(干片上层、扩散层、试剂层、支持层、干片底层)构成,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^[9],扩散层不仅可以阻留细胞、结晶和其他小颗粒,也可以根据需要让大分子,如蛋白质等滞留^[10],以提高分析的特异性,使干化学方法具有优异的抗干扰能力,但在总蛋白的测定试验中,这种独特的设计并未起到抗 TBIL 干扰的作用,干生化法有待于进一步发展。

参考文献

[1] 龙欣,黄梁镔.运用不同测定方法检测急诊标本的结果分析[J].

- 检验医学与临床, 2010, 7(12): 1239-1240.
- [2] 满冬亮, 康辉. 血清 ALT 及 TP 干、湿化学法检测比较[J]. 中国公共卫生, 2010, 26(10): 1294-1295.
- [3] 杜建钢, 赵星. 体外溶血对于干化学法测定血清淀粉酶的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(4): 401.
- [4] 杨天平. 常规急诊项目的干化、湿化测定结果分析[J]. 检验医学, 2009, 24(1): 79-80.
- [5] 李曦光, 王敏, 陈黎忠. 血清总胆红素对血清总蛋白测定结果的影响[J]. 中国基层医药, 2002, 9(1): 28-29.
- [6] 杨小云, 徐焰, 秦庆. 胆红素浓度对于干化学法和湿化学法测定肌酐的影响[J]. 临床输血与检验, 2008, 10(2): 151-152.

• 检验技术与方法 •

导致微柱凝胶卡式交叉配血试验假阳性结果的原因分析

闫朝春, 蒋 玲, 陈丽梅, 金艳凤, 陈守庆, 秦继宝
(江苏省连云港市东方医院检验科 222042)

(收稿日期: 2011-02-16)

摘 要:目的 探讨凝胶卡式交叉配血试验中出现假阳性的原因及处理办法。方法 对 2 648 例微柱凝胶卡式交叉配血试验的过程和结果进行回顾性分析。结果 在 2 648 例试验中假阳性 16 例, 其原因有: 缩短温育时间 7 例, 占 43.75%; 红细胞悬液混匀不充分 5 例, 占 31.25%; 降低离心速度、缩短离心时间 3 例, 占 18.75%; 血型错误 1 例, 占 6.25%。结论 微柱凝胶试验法在交叉配血中应标准化, 实验室应建立阳性结果复检程序, 确保结果准确。

关键词: 血型鉴定和交叉配血; 影响因素; 微柱凝胶试验

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.15.038

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)15-1737-02

临床上在输注全血或红细胞悬液之前, 必须进行受血者和献血者之间的血液交叉配血试验, 以确保输血安全。目前在条件好的实验室, 交叉配血试验常用微柱凝胶试验(MGT), 又名微柱凝胶卡式法, 该法基于分子筛过滤作用, 通过离心分离游离红细胞和凝集的红细胞^[1]。在试验过程中, 会遇到不同程度的凝集现象, 这给结果判断带来一定程度的干扰。本文通过回顾性研究, 对于在 MGT 中出现的假阳性结果进行原因剖析, 并寻求解决的办法, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 对 2008 年 1 月至 2010 年 12 月在本实验室进行的 2 648 例 MGT 的过程和结果进行回顾性分析。进行交叉配血的受血者样本采用 EDTA 抗凝的全血标本。

1.2 仪器与试剂 微柱凝胶试剂卡由长春博迅生物技术有限责任公司提供, 执行标准为 YBS00802005, 批准文号为国药准字 S20050061。免疫微柱孵育器和 BYL 型血型血清学多用离心机, 均由长春博迅生物技术有限责任公司提供。

1.3 方法

1.3.1 配血操作方法 将受血者与献血者的血清离心分离红细胞, 分别将受血者与献血者红细胞配成 0.5% 生理盐水悬液; 将受血者血清 50 μ L 与献血者红细胞悬液 50 μ L 加入主侧凝胶管中; 将受血者红细胞悬液 50 μ L 与献血者血清 50 μ L 加入次侧凝胶管中; 加样后的凝胶试剂卡置于免疫微柱孵育器中 37 $^{\circ}$ C 温育 15 min; 温育后的凝胶试剂卡使用 BYL 型血型血清学多用离心机 900 r/min 离心 2 min, 再以 1 500 r/min 离心 3 min, 取出肉眼观察结果。

1.3.2 结果判定 阴性结果: 红细胞完全沉降于凝胶管底部, 表明受血者与献血者血型相合。阳性结果: 红细胞凝集块位于凝胶表面或凝胶中存在红细胞凝块(拖尾), 表明受血者与献血者血型不相合。按阳性结果的复检处理程序对受血者和献血者进行血型鉴定。采用试管法作为复检对照^[2], 检查仪器参数、操作过程, 进行复检。

2 结 果

通过对 2 648 例微柱凝胶卡式交叉配血试验的过程和结果

- [7] 孙曙华, 韩丽红. 干化学和湿化学方法对乳糜血标本总胆红素测定比较[J]. 包头医学院学报, 2010, 26(1): 27-28.
- [8] 孙艳虹, 高玲. 干、湿化学法测定血浆总蛋白的方法学比较[J]. 实用医学杂志, 2005, 21(18): 81-82.
- [9] 蒋荷萍, 蒋永林. 干化学法定量测定尿蛋白[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(1): 76.
- [10] 杨萍. 干、湿化学法检测部分生化项目结果比较[J]. 蚌埠医学院学报, 2006, 31(1): 83-84.

进行分析, 发现假阳性 16 例, 其原因有: 缩短温育时间 7 例, 占 43.75%; 红细胞悬液混匀不充分 5 例, 占 31.25%; 降低离心速度、缩短离心时间 3 例, 占 18.75%; 血型错误 1 例, 占 6.25%。

3 讨 论

MGT 的基本原理是通过调节凝胶的浓度来控制凝胶间隙的大小(筛孔), 使其只能允许游离的红细胞通过, 从而使游离的红细胞与凝集的红细胞分离; 如果通过离心红细胞沉积在凝胶管底部, 则表明红细胞未发生凝集, 为阴性反应, 若红细胞聚集在凝胶的上部或凝胶中, 则表明红细胞发生凝集, 为阳性反应^[3-4]。然而由于试验条件控制不好, 很可能造成假阳性反应。

笔者所在实验室对于造成假阳性的原因进行分析, 结果发现, 由于操作者求快心理因素, 缩短温育时间, 尤其在冬季, 由于温育时间短或存在冷凝集素的原因, 假阳性发生率最高, 常表现为拖尾的阳性结果, 占假阳性的 43.75%, 可通过检查仪器参数、试管法复检发现。试管法可以通过显微镜镜检区分凝集、聚集、假凝集, 而在 MGT 中则全部表现为阳性结果。由于红细胞悬液配制不均匀, 悬液中存在凝集红细胞被吸到凝胶管中, 而这种凝集红细胞可能是因为抗凝不充分引起, 使凝胶柱中出现拖尾现象, 造成假阳性, 占总假阳性 31.25%。陈才生等^[5]也报道过标本不抗凝或抗凝不完全, 可出现假阳性配血结果, 通过复检操作可发现。未按要求离心速度和时间执行造成的假阳性占总假阳性的 18.75%, 表现为双侧凝胶柱均阳性结果, 通过检查仪器参数可以发现, 主要是因为误将程序设置改变或使用错误程序造成。血型不合的假阳性占总假阳性的 6.25%, 表现为相应凝胶柱阳性结果, 通过复检血型发现用错受血者标本引起。

由于 MGT 的灵敏度高、特异性好、结果准确、操作简单快速, 所以进行 MGT 操作时一定要标准化。微柱凝胶卡使用前一定要先离心, 以防运输过程以及挥发造成凝胶附于微柱上端, 撕膜时各微柱内容物交叉污染, 影响反应结果, 血样要新鲜无污染。红细胞浓度过高、血清中含有高效价冷凝集素、温育时间过短^[6]、离心不彻底、血清中存在不规则抗体^[7]、血清中含纤维蛋白导致出现细胞凝块、血清蛋白异常增高、细菌污染等