

## • 检验技术与方法 •

## 高浓度胆红素对血清尿酸测定的干扰分析及解决方法

高应东, 朱成宾, 窦露, 张瑞生, 夏永祥<sup>△</sup>

(南京医科大学附属南京医院/南京市第一医院医学检验科, 江苏南京 210006)

**摘要:**目的 探讨引起血清尿酸测定(尿酸酶法)结果偏低的原因并研究解决办法。方法 在混合血清中加入不同浓度的胆红素纯品,分别测定尿酸浓度,计算出偏差,若偏差超过 CLIA'88 标示允许误差为有干扰;将高浓度(线性范围内)尿酸样本用生理盐水稀释成不同浓度分别测定 3 次,通过计算偏差来得到其最大与最佳稀释倍数;将尿酸低值样本用生理盐水稀释成 4 个浓度,每个浓度样本及空白样本重复测定 20 次,以 95% 下限结果大于空白样本的 95% 上限结果的样本浓度为检测下限。结果 胆红素对尿酸测定产生负干扰的最低浓度为 85  $\mu\text{mol/L}$ ,尿酸测定的最大稀释倍数为 10 倍,最佳稀释倍数为 6 倍;尿酸检测下限为 36.14  $\mu\text{mol/L}$ 。结论 高浓度胆红素会导致血清尿酸测定结果偏低,可以通过将血清样本稀释的方法(但稀释后的浓度应大于 36.14  $\mu\text{mol/L}$ )或在试剂中加入胆红素氧化酶的方法加以解决。

**关键词:**胆红素; 尿酸; 实验室技术和方法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.08.042

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)08-1003-02

在最近 2 次卫生部室间质评中,发现尿酸测定结果不理想,初步考虑是试剂盒性能方面的原因。通过分析发现,尿酸测定结果偏低的样品其胆红素浓度均较高,胆红素浓度越高,偏差越大,见表 1。因此,怀疑尿酸测定结果偏低可能是胆红素干扰而引起,因而试图通过一系列试验来证明它并找到解决办法。

表 1 2012 年本室卫生部 2 次室间质评  
部分尿酸测定值及偏差

样本编号	尿酸测定值 ( $\mu\text{mol/L}$ )	靶值 ( $\mu\text{mol/L}$ )	与靶值偏差 (%)	胆红素靶值 ( $\mu\text{mol/L}$ )
201211	207	248	-16.53	89.0
201212	103	150	-31.33	113.8
201222	90	151	-40.40	107.2
201224	206	252	-18.25	84.2

## 1 材料与方 法

**1.1 材料** 卫生部室间质评样品。胆红素纯品由贝克曼库尔特实验诊断(苏州)有限公司提供。

**1.2 仪器与试剂** 日本 Olympus AU5421 全自动生化分析仪。南京奥林公司提供尿酸测定试剂盒。

## 1.3 方法

**1.3.1 尿酸测定方法<sup>[1]</sup>** 尿酸经尿酸酶作用后生成尿囊素、二氧化碳和过氧化氢,所生成的过氧化氢在过氧化物酶存在下与 3,5 二氯-2-羟苯磺酸(DHBS)和 4-氨基安替吡啉(4-AAP)发生氧化反应,使无色的 4-氨基安替吡啉(还原型)生成红色的苯醌亚胺(氧化型)。

**1.3.2 干扰试验方法** 将不同浓度的胆红素与混合血清按 1:9 加入到实验样本中,然后分别测定加与不加胆红素的样本浓度 3 次,比较二者有无偏差,并了解胆红素浓度与偏差程度的关系。偏差(%)=(干扰管测定结果-对照管测定结果)/对照管测定结果 $\times 100\%$ 。判定标准:小于 CLIA'88 标示误差为(尿酸 $\pm 17\%$ )即可接受。

**1.3.3 最佳稀释倍数试验方法** 用生理盐水对所选取高值样本(须在该方法所规定的线性范围内)分别进行 2、3、4、5、6、8、10 倍稀释,对每个样本连续测定 3 次,计算各稀释倍数均值;计算各稀释倍数的还原浓度(测定均值 $\times$ 稀释倍数)与理论浓度的偏差(%)。偏差小于或等于方法标示允许误差时的最大

稀释倍数为方法推荐的最大稀释倍数。偏差最小时的稀释倍数为最佳稀释倍数。

**1.3.4 检测下限试验方法** 选取一低值样本,用生理盐水对样本作不同浓度的稀释,使其浓度接近厂家说明书标示的低限值。在一次运行中将空白样本(不含被测物,但其基质应与测定常规样本相同)及各低值样本重复测定 20 次。计算各样本 20 次测定结果的均值及标准差。以该样本的 95% 下限结果大于空白样本的 95% 上限结果为检测下限。

## 2 结 果

**2.1 胆红素对尿酸测定干扰试验结果** 胆红素浓度为 85  $\mu\text{mol/L}$  时,其相对偏差为 -14.72%,接近 CLIA'88 标示误差( $\pm 17\%$ )。随着胆红素浓度的升高,其产生的负偏差越大。当胆红素浓度为 680  $\mu\text{mol/L}$  时,其相对偏差已经达到 -105.84%,说明该试剂盒抗胆红素干扰的能力非常弱。

**2.2 尿酸测定最佳稀释倍数试验结果** UA 最大稀释倍数为 10 倍时,其相对偏差为 14.36%,小于 CLIA'88 标示误差( $\pm 17\%$ );当稀释倍数为 6 倍时,其相对偏差最小(-2.6%),因而尿酸最佳稀释倍数为 6 倍。

**2.3 尿酸检测下限试验结果** 尿酸的检测下限为 36.14  $\mu\text{mol/L}$ ,也即对尿酸做稀释测定时,其稀释后的浓度至少应达到 36.14  $\mu\text{mol/L}$ 。

**2.4 卫生部室间质评样品在不同稀释倍数下尿酸测定值及偏差** 分装后冰冻保存的室间质评样品(201222、201224)复融后,分别稀释成不同浓度加以测定。尿酸稀释后的测定值更接近靶值,其与靶值的偏差均很小(在 $\pm 17\%$ 范围内),且稀释后尿酸的浓度均大于最低检测限(36.14  $\mu\text{mol/L}$ )。

## 3 讨 论

尿酸测定(尿酸酶-过氧化物酶法)灵敏且不需要去蛋白,是多数医院的首选方法。但此反应体系极易受到血清中还原性物质的负干扰,其中以高浓度胆红素干扰尤其明显。

胆红素对尿酸测定的干扰分为光谱干扰和化学干扰。光谱干扰主要是由于胆红素被主反应中间产物  $\text{H}_2\text{O}_2$  氧化,在 400~540 nm 波长吸光度的下降可掩盖主反应吸光度的增高;而化学干扰主要是由于高浓度胆红素破坏了 Trinder 的中间反应,导致有色终反应产物减少而使测定结果偏低<sup>[2]</sup>。对于以非结合胆红素为主的新生儿黄疸、溶血性黄疸及以直接胆红素为主的恢复期梗阻性黄疸标本,其尿酸测定结果相对是准确

<sup>△</sup> 通讯作者, E-mail:xyx518@21cn.com。

的;而对于含有较高结合胆红素的肝细胞性黄疸、非恢复期梗阻性黄疸,其尿酸测定结果会偏低较多<sup>[3]</sup>。国外也有研究表明,胆红素对 Trinder 反应的干扰以糖结合胆红素最为明显,其次为清蛋白-糖结合胆红素、未结合胆红素<sup>[4]</sup>。

为确保尿酸测定质量,在选择试剂品牌时,需对试剂盒做性能验证(包括线性范围、精密度、干扰等)。当发现已经在使用的试剂盒部分或某一性能不能满足临床要求时,要分析原因并尽可能找到解决方法。如本文尿酸测定受胆红素干扰可采取稀释的办法以减少干扰。同时,向试剂生产厂家建议在试剂中加入抗干扰物质<sup>[5-8]</sup>。

## 参考文献

- [1] 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,2006:471-473.
- [2] 金鹤成. 三酰甘油、尿酸试剂盒抗还原性干扰能力的评价[J]. 上

海医学检验杂志,2001,16(2):111-112.

- [3] 王缚鲲,王宪灵,安黎云,等. 各种胆红素对氧化酶法测定血清尿酸浓度的影响[J]. 检验医学杂志,2005,20(1):4-6.
- [4] 沈建军,顾炳权,刘树林,等. 蓝光照射法消除血清尿酸测定中胆红素负干扰[J]. 中国康复杂志,2003,18(3):163-164.
- [5] 张艳超. 试剂交叉污染对尿酸测定结果的影响[J]. 河南大学学报:医学版,2009,28(4):300-301.
- [6] 全德胜,杨静. 高密度脂蛋白胆固醇试剂对血清尿酸自动检测影响及分析[J]. 实验与检验医学,2008,26(4):443.
- [7] 刘怀平,庞国菊. 一种消除维生素 C 干扰的血清尿酸检测方法[J]. 检验医学,2006,21(4):337-339.
- [8] 孙家放. 四种尿酸酶法测定尿酸试剂的比较[J]. 医学检验进修杂志,1997,4(4):166.

(收稿日期:2012-12-06)

## • 检验技术与方法 •

# 乙肝核心抗体 IgG 改良加样模式在 e-Lisa 全自动加样器中的应用

崔建设<sup>1</sup>,郭媛媛<sup>2</sup>

(河南省三门峡黄河医院:1. 输血科;2 心内科,河南三门峡 472000)

**摘要:**目的 建立 1 种在 e-Lisa 全自动加样器中快速、方便、实用的检测抗乙肝核心抗体 IgG(Anti-HBc-IgG)加样模式。方法 随机收集该院住院、门诊和常规体检血清标本 90 份,用 e-Lisa 全自动加样器分别按仪器自带加样模式 A 和改良加样模式 B 加样,用 ELISA 检测 Anti-HBc-IgG,采用化学发光定量检测作为参比方法。结果 A、B 模式假阴性率分别为 6.7%、3.3%,假阳性率分别为 4.4%、6.7%,Kappa 值为 0.632。结论 2 种加样模式结果较一致。A 加样模式检测结果假阴性率偏高,易漏诊。B 加样模式结果假阳性率稍高,但可通过复检排除。改良加样模式 B 检测结果可靠、方便、实用,值得推广。

**关键词:**肝炎病毒,乙型; 酶联免疫吸附测定; 肝炎抗体,乙型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.08.043

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)08-1004-01

乙型肝炎病毒(HBV)血清学标志物检测是临床判断患者传染性与预后重要指标<sup>[1]</sup>,而抗乙肝核心抗体 IgG(Anti-HBc-IgG)是反映 HBV 感染的重要指标之一。目前,国内主要采用 ELISA 竞争抑制法原理检测。e-Lisa 全自动加样器由于需要消耗一次性稀释杯和加样枪头,在实际操作而选择手工稀释手工加样。笔者对全自动加样器加样模式改良编程,通过对自带加样模式 A 和改良加样模式 B 检测结果分析来评估改良加样模式是否符合要求,以期对全自动加样器加样模式进行优化。

## 1 资料与方法

**1.1 标本来源** 随机收集本院住院、门诊和常规体检血清标本 90 份。

**1.2 仪器与试剂** e-Lisa 全自动加样器(郑州安图绿科生物工程公司);Lumo 化学发光检测仪(郑州安图绿科生物工程公司);奥地利 anthos2010 酶标仪(奥地利 ASYS-Hitech 有限公司);iWO-960 洗板机(上海众生命科学发展有限公司)。酶联免疫法及化学发光法乙型肝炎病毒核心抗体诊断试剂盒均由郑州安图绿科生物工程公司提供。

## 1.3 方法

**1.3.1 加样模式 A** 加样模式:一次性稀释杯中加入 0.6 mL 生理盐水,然后加入 20  $\mu$ L 血清,混匀,加稀释后血清 50  $\mu$ L。B 加样模式:微孔反应板中分别加入 100  $\mu$ L 生理盐水,然后加入 10  $\mu$ L 血清。以上 2 种加样模式分别设 3 个阴性对照、2 个阳性对照和 1 个空白对照。空白孔不加酶标记物,其他孔均加 50  $\mu$ L 酶标记物。阴性对照、阳性对照分别加入阴性对照血清和阳性对照血清 50  $\mu$ L。其他步骤按仪器说明书操作。采用化学发光法对 90 份血清样本定量检测,步骤按试剂说明书

操作。

**1.3.2 检测标准** 临界值(cut off 值)=(阴性对照孔平均 OD 值+阳性对照孔平均 OD 值)/2。OD 值/cut off $\geq$ 1 为阴性,反之为阳性。化学发光法检测:浓度值不小于 2 NCU/mL 为阳性,反之为阴性。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS 18.0 软件进行分析,比较 2 种加样模式检测结果的一致性采用 Kappa 检验,Kappa $\geq$ 0.4 表明结果具有一致性。

## 2 结果

加样模式 A 真阳性数 10 例,真阴性数 70 例,假阳性率 4.4%(4/90),假阴性率 6.7%(6/90),总符合率 88.9%(80/90);加样模式 B 真阳性数 13 例,真阴性数 68 例,假阳性率 6.7%(6/90),假阴性率 3.3%(3/90),总符合率 90.0%(78/90)。Kappa 值为 0.632。

## 3 讨论

今后 HBc-IgG 将取代 HBsAg 成为 HBV 感染的主要标志<sup>[2]</sup>。国内检测抗 HBc-IgG 方法多种多样,而 ELISA 最为常用。化学发光免疫分析法与 ELISA 法相比更加具有临床应用价值<sup>[3]</sup>。通过对随机抽取的 90 例血清样本进行标准加样模式 A 和改良加样模式 B 检测结果对比分析,并用化学发光定量检测作为参比方法。结果显示加样模式 A 和 B 与参比方法符合率都达到或接近 90%。但是,加样模式 A 假阴性率高于 B 模式,存在一定程度的漏检,可能与样本稀释倍数偏高有关,成军等<sup>[4]</sup>建议日常工作 ELISA 检测抗 HBc-IgG 5~10 倍稀释为宜。在约 5%健康献血者中发现单一抗-HBc 阳性,而 HBsAg 阴性、抗 HBc 阳性的血样仍有较高的传播(下转第 1019 页)