

• 临床检验研究论著 •

脂类物质对血清总胆汁酸检测的干扰和携带污染分析

李海聪, 方欢英, 陈智瑾, 蔡金凤, 张 军[△]

(上海市公共卫生临床中心检验科, 上海 201508)

摘要:目的 探讨脂类物质对循环酶法测定血清总胆汁酸(TBA)的干扰和试剂可能携带的污染,寻找减少和消除干扰和污染的方法。方法 采用循环酶法测定血清 TBA,观察高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)试剂对 TBA 检测的携带污染,以及高血脂样本对 TBA 检测的干扰,并尝试通过设置不同的冲洗程序和检测顺序来减少对 TBA 的干扰和携带污染。结果 用低值和高值混合血清进行 TBA 检测,研究表明,在检测 TBA 前后清洗过程中,用水做冲洗液比酸性洗液做冲洗液,血清 TBA 检测结果的准确更高,设置清洗和不设置清洗对检测结果的影响显著($P<0.01$)。以脂类试剂为样品重复检测其 TBA 浓度,取均值,发现 HDL-C 对 TBA 检测稳定性的影响最大 $[(476.06 \pm 1.88) \mu\text{mol/L}]$,其次是 TC 和 TG,分别为 $[(127.78 \pm 1.18)$ 、 $(121.05 \pm 1.08) \mu\text{mol/L}]$,而 LDL-C 影响最小 $[(2.23 \pm 0.51) \mu\text{mol/L}]$ 。干扰 TBA 检测结果稳定性的严重程度由大到小依次为 HDL-C、TC、TG 和 LDL-C。设置检测顺序,冲洗程序。再用多干扰项目混合样本/TBA,结果表明血脂样本对 TBA 的干扰大大降低($P<0.01$),但是不能完全排除干扰。结论 生化分析仪的分析顺序和冲洗程序以及试剂成分的外源性物质干扰严重影响测定结果的准确性。要想保证结果准确、可靠,不但需要设置合理的冲洗和反应顺序,还要熟练掌握仪器操作和项目的反应原理,了解试剂的成分,更加要掌握仪器的定期维护和保养等方面的知识。

关键词:脂类物质; 胆汁酸; 干扰试验; 携带污染

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.11.013

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)11-1407-03

Interference of lipid compositions and carry-over contamination of lipid reagents on measurement of serum total bile acid

Li Haicong, Fang Huanying, Chen Zhijin, Cai Jin Feng, Zhang Jun[△]

(Department of Clinical Laboratory, Shanghai Public Health Clinical Center, Shanghai 201508, China)

Abstract: Objective To investigate whether lipids and reagents would interfere the results when serum total bile acid(TBA) was measured by enzymatic cycling assay. **Methods** The serum TBA was measured by enzymatic cycling assay. The carry-over contaminations of high density lipoprotein(HDL-C), low density lipoprotein(LDL-C), cholesterol(TC), and triglyceride(TG) reagents were evaluated. In order to reduce the interference and carry-over contaminations, different washing procedures and detection sequence were set. **Results** By measuring the levels of TBA in pooled serums with low and high levels of lipids, the results showed that there was statistically significant difference between the groups with and without the addition of cleaning process before and after TBA measurement($P<0.01$). Cleaning with water might be more effective on reducing interference than those with acid solution. Moreover, the mean of TBA levels in HDL-C, TC, TG and LDL-C reagents were (476.06 ± 1.88) , (127.78 ± 1.18) , (121.05 ± 1.08) , and $(2.23 \pm 0.51) \mu\text{mol/L}$, respectively. The stability of TBA level was greatly affected by HDL-C reagents, following by TC and TG reagents, and was little affected by LDL-C reagent. Setting up proper detection sequence and flushing procedures could obviously reduce the interference($P<0.01$), but not completely rule out. **Conclusion** Analysis sequence and flushing procedures of biochemical analyzer as well as exogenous substance from reagents may seriously affect the accuracy of determination results. To ensure the accuracy and reliability of the results, it is necessary not only to set up reasonable irrigation and reaction sequence, but also to master the instrument operation, to know the principle of test reaction and the components of reagents as well as equipment maintenance.

Key words: lipids; bile acid; interference experiment; carry over

胆汁酸(TBA)的合成与代谢与肝脏和肠道功能有着密切的关系,在肝脏发生实质损伤和病变时,血清中 TBA 是反映肝损伤的一种重要的实验室检测指标,尤其对急、慢性肝炎、肝硬化,肝内外胆道阻塞,胆汁淤积等疾病的诊断具有重要的临床意义^[1]。目前实验室广泛应用循环酶法测定血清 TBA,在自动化仪器上检测不仅具有快速、简便的优势,还具有较高的检测灵敏度和特异性。然而,临床实际检测工作中发现,血清 TBA 检测结果的准确性会受到诸多因素的影响,如样品携带污染、样品加样针、试剂针、搅拌针、水质、冲洗液等。试剂对测定 TBA 有明显的污染,存在系统误差,用普通的冲洗程序不能

有效地消除这种干扰,而通过设置生化仪的特殊冲洗程序可以有效控制这些干扰^[2]。本研究拟对脂类物质是否会携带污染、对 TBA 测定引起干扰进行研究,探讨 TBA 测定结果不稳定的原因,寻找提高 TBA 实验室自动化检测结果稳定性的有效方法。

1 资料与方法

1.1 标本来源 收集 2012 年 1~6 月上海市公共卫生临床中心收治患者的血清 TBA 检测标本 80 例,其中高值 TBA($>150 \mu\text{mol/L}$)血清 40 例,低值 TBA($<5 \mu\text{mol/L}$)血清 40 例。另外,高血脂血清[包括高胆固醇(TC)、高三酰甘油(TG)、高

高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、高低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)血清],正常血脂混合血清,乳糜血清和生理盐水各备 1 份。

1.2 仪器与试剂 仪器:Roche Modular P800 全自动生化分析仪(罗氏诊断,德国)。试剂及校准品:TBA 试剂和校准品(上海科华生物公司,中国);HDL-C、LDL-C、TC 及 TG 试剂和 CFAS 校准品(罗氏诊断试剂,德国)。

1.3 方法 采用循环酶法检测血清 TBA,测定程序的主要参数为:两点速率法,副、主波长分别为 600 nm、415 nm;本方法线性范围为 0~180 μmol/L。首先对仪器上的试剂针、样品针和搅拌棒进行清洗,然后设置特殊清洗方式:在“Utility”菜单中选择“Special Wash”,设置脂类项目对 TBA 的冲洗程序,选择 D1 酸性冲洗或水冲洗。最后对 TBA、HDL-C、LDL-C、TC 及 TG 进行校准及室内质量控制,确保检测结果的准确性。取高值和低值 TBA 血清样品各 40 例,将高值血清混合、低值血清混合,单独测定 TBA,以此作为对照。通过下列 3 种方式,利用脂类物质设置顺序测定 TBA 并对进行干扰试验,再进行结果比较:(1)冲洗程序设定对检测 TBA 影响,在“Special Wash”中设置冲洗关闭和开启,此外用 D1 酸性和水做冲洗液,分别取高值和低值混合样品各 40 例在不同设置状态下检测 TBA 浓度。(2)脂类试剂对检测 TBA 的影响,分别用 HDL-C、LDL-C、TG 和 TC 试剂作为样品进行 TBA 检测。(3)高脂血清和其他样本对检测 TBA 的影响,取 40 例低值混合血清,

设置检测顺序、冲洗程序,尽量避免污染,检测 TBA 浓度,取均值;利用高脂血清样本对 40 例低值混合血清分别进行高值 HDL-C 样本/TBA、高值 LDL-C 样本/TBA、高值 TG 样本/TBA 和高值 TC 样本/TBA 的 TBA 浓度检测,评价高浓度脂类物质样本中高值 HDL-C、LDL-C、TG、TC 项目检测对下一个样本直接检测 TBA 的干扰和污染。再用乳糜样本、正常血脂样本、高脂样本和生理盐水对 40 例低值血清分别进行乳糜样本/TBA、正常血脂样品/TBA、高脂样品/TBA 和生理盐水/TBA 检测。

1.4 统计学处理 利用 Microsoft Excel 2003 和 SPSS12.0 软件进行统计学处理,计量资料的比较采用配对 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 冲洗液的选择和冲洗开启及关闭的比较 在“Special Wash”过程中用 D1 酸性和水做冲洗液,用低值 TBA 和高值 TBA 混合血清进行 TBA 检测,各重复检测 40 次。研究结果表明,在检测 TBA 前后清洗过程中,用水做冲洗液比酸性洗液做冲洗液对血清 TBA 检测结果的准确度更高。40 例样本高、低值混合血清分别在设置“Special Wash”中设置清洗和不设置清洗,所检测 TBA 结果分析比较,发现设置清洗和不设置清洗差异有统计学意义(*P* < 0.01),见表 1。

表 1 水和酸性洗液洗后测定 TBA 的结果比较(μmol/L)

样品	水清洗	酸性清洗	冲洗开启	冲洗关闭
低值 TBA 混合血清	4.28±0.57	5.03±0.84 [#]	4.35±0.44	8.16±0.32 ^Δ
高值 TBA 混合血清	154.13±6.74	166.76±8.47 [*]	155.80±5.35	174.44±6.57 [▲]

[#]:*P* < 0.05,与水清洗的低值 TBA 混合血清样品比较;^{*}:*P* < 0.01,与水清洗的高值 TBA 混合血清样品比较;^Δ:*P* < 0.01,与低值 TBA 混合血清样品冲洗开启的检测结果比较;[▲]:*P* < 0.01,与高值 TBA 混合血清样品冲洗开启的检测结果比较。

2.2 血脂试剂对样品检测 TBA 的影响 以 HDL-C、LDL-C、TG 和 TC 试剂为样品,重复 40 次检测 TBA 浓度,结果分析发现 HDL-C 对 TBA 检测稳定性的影响最大,为(476.06 ± 1.88)μmol/L,其次是 TC 和 TG,分别为(127.78 ± 1.18)、(121.05 ± 1.08)μmol/L,而 LDL-C 影响最小,为(2.23 ± 0.51)μmol/L。

表 2 干扰前后 TBA 检测结果稳定性分析(μmol/L)

脂类单个项目	干扰后 TBA 结果	混合样本影响	干扰后 TBA 结果
高值 HDL-C	44.00±2.02	乳糜样本	9.60±2.42
高值 LDL-C	9.00±0.32 [#]	高血脂样本	6.90±1.02
高值 TC	36.00±2.40 [#]	正常血脂样本	4.70±0.36
高值 TG	15.00±1.60	生理盐水	4.56±0.33

[#]:*P* < 0.01,与高血脂样本干扰后的 TBA 结果比较。

2.3 高浓度脂类项目和混合样本对测定 TBA 干扰的比较 利用 40 例 TBA 低值血清混合样本,设置检测顺序,冲洗程序,检测 TBA 浓度。在高浓度脂类项目干扰前,TBA 检测结果为(4.35 ± 0.44) μmol/L。高脂成分样本中血脂单个项目/TBA:具体设置为高值 HDL-C 样本/TBA,高值 LDL-C 样本/TBA,高值 TG 样本/TBA 和高值 TC 样本/TBA 重复检测 40 次,取均值,可以看出干扰 TBA 检测结果稳定性的严重程度由大到小依次为 HDL-C、TC、TG 和 LDL-C。再用不同类型血脂样本

(检测项目包含 HDL-C、LDL-C、TC 及 TG)/TBA,设置检测顺序,冲洗程序。具体设置为乳糜样本/TBA,高血脂样本/TBA,正常血脂样本/TBA 及生理盐水/TBA,重复检测,取均值,结果可以看出血脂样本对 TBA 的干扰大大降低,差异都有统计学意义(*P* < 0.01),但是不能完全排除干扰,见表 2。

3 讨 论

临床生化实验室用循环酶法测定血清 TBA 的方法具有简便、灵敏度高、对仪器管道无污染等优点^[3],现代检验高自动化程度为临床大规模开展 TBA 检测创造了条件。但是,在使用全自动生化分析仪的过程中,一般的生化检测项目分析仅需要几微升体积的标本,而试剂的加样体积往往需要几十至几百微升,试剂针因与各种不同的试剂接触。若按照常规的清洗方式,很难彻底清洗干净。如果前一分析项目的试剂组分中含有对后一分析项目中待测物质有干扰的成分(如血脂试剂),而待测物质的浓度与之相比又很微量时,极易造成分析项目之间的携带污染^[4]。

本研究结果表明,在自动化分析仪厂商设置的“Special Wash”中,用水冲洗比酸性清洗液减少污染的程度更明显,冲洗程序开启和关闭对血清 TBA 检测结果影响有显著差异。本研究结果显示血脂 HDL-C 试剂、TC 试剂、TG 试剂成分可检测到较高值的 TBA,生化分析仪的加样针,在 2 个样品间或 2 个测试项目之间以去离子水清洗,若清洗不干净,前一测试样

本的试剂针或样品针的残留部分会直接影响下一样本的测定。常见的影响原因是前一次试验的试剂含有下一被测项目的待测成分或者试剂中某物质能够参与下一个项目的反应以及影响下一个项目的反应^[5]，基本以外源性物质为主，从而对试验产生干扰。在用循环酶法检测 TBA 时发现单独检测 TBA 和其他项目与 TBA 组合分析时，所得到的试验结果有时有较大的差异^[6]。本研究结果提示若按照这种顺序检测，结果会不稳定，同样如果设置不同的反应顺序则可以大大降低试剂间的携带污染。

目前很多文献就生化项目对 TBA 检测可能的携带污染的处理方法，都做了比较好的分析和报道，主要包括：(1)增加纯水、碱性洗液、酸性洗液冲洗量；(2)调整检测顺序；(3)固定试剂探针、比色杯的使用范围；(4)换用相互污染小的试剂或方法；(5)综合处理措施^[7]等。但是日常工作中仍会发生携带污染和产生干扰，例如大量标本连续检测，设置清洗项目不完全等等，给检验结果带来很大的影响。提示仪器生产厂家在设计时应考虑合理的冲洗液、冲洗条件和反应顺序等因素，检验人员实际操作时也应考虑采用降低污染的方式，以提高检验结果准确性。

综上所述，生化分析仪分析顺序和冲洗程序的选择对测定结果的影响非常大，面对大量的检测样本，在自动化检验条件下，应注意避免试验之间的交叉污染。但究竟哪些试验间存在干扰，干扰的原因是什么？怎样隔离试验项目，有效避免相互干扰？目前没有非常明确的标准作业流程和措施，给临床的准确检测带来许多不定因素的干扰和困扰。将已知有相互干扰的试验项目分别设置在不同的分析模块或用不同的仪器测定，是防止干扰的根本办法^[8]。也可通过对试剂成分的分析以避免引入外源性物质造成的干扰。由于试剂成分的复杂多样

性，不同仪器具有各自的独特性，发生试剂间干扰的情况也不尽相同。总之，为确保检测结果的准确可靠，不但需要熟练掌握仪器操作规程、项目的反应原理、仪器的工作原理、试剂的成分、仪器保养等方面知识，还要在临床实践中不断摸索检出污染的方法，通过试验找到污染的来源，最终找到克服携带污染的办法，增加检测结果的稳定性和准确性^[9]。

参考文献

[1] 王文英. 血清总胆汁酸(TBA)测定在各种肝病中的临床意义[J]. 当代医学, 2011, 17(31): 28-29.

[2] 梁耀荣, 谢国强. 生化试剂对循环酶法测定血清总胆汁酸的干扰因素分析和改进措施[J]. 现代医院, 2012, 12(2): 64-66.

[3] 张秀明, 温冬梅, 袁勇. 临床生物化学检验质量管理与标准操作规程[M]. 北京: 北京人民军医出版社, 2010: 248-251.

[4] 朱武军, 邵飞, 邵燕丽, 等. 循环酶法测定总胆汁酸试剂交叉污染及预防措施[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(9): 990-990.

[5] 曾方银, 王从容, 张豫明. 循环酶法试剂盒测定血清总胆汁酸的差异[J]. 检验医学, 2004, 19(5): 409-412.

[6] 陈继中, 李旭光, 唐吉斌. 试剂携带污染对血清总胆汁酸测定结果的影响及消除措施[J]. 检验医学, 2006, 21(3): 228-230.

[7] 李元宽. 临床化学分析系统试剂携带污染检测方法 & 处理措施[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(15): 1836-1837.

[8] 齐振普, 王淑娟, 张敏. 设置特殊清洗程序消除试剂携带污染对总胆汁酸测定的干扰[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(2): 191-192.

[9] 邱玲, 程歆琦, 刘茜, 等. 自动生化分析仪携带污染来源检出及处理[J]. 医学研究杂志, 2007, 36(6): 64-67.

(收稿日期: 2014-01-20)

(上接第 1406 页)

呈正比, 不受真菌、滴虫等的影响^[11]。研究表明, 与 Amsel 标准和革兰染色评分法相比较, 唾液酸酶法具有灵敏度高、特异度强、操作简便和快速等优点, 比常规方法更适用于临床检测^[10, 12]。在本研究检测系统中, 不仅使用了唾液酸酯酶这一个检测指标, 还加入了 LE、H₂O₂、pH 这 3 个诊断指标, 一起联合生理盐水涂片查找线索细胞共同辅助诊断细菌性阴道病。

由此可见常规盐水涂片显微镜检查和快速、简便、检出率高的阴道炎五联检联合使用可提高常见阴道病的诊断率并对其有一定的鉴别诊断价值, 对临床治疗阴道病有着积极的指导作用。

参考文献

[1] 饶芸, 李江. 胎膜早破阴道分泌物异常对母婴结局的影响[J]. 中国实验诊断学, 2012, 15(11): 1876-1878.

[2] 张继瑜, 刘建华, 谢浩俊, 等. 广州地区女性阴道分泌物的常规检验及分析[J]. 实用医技杂志, 2011, 18(4): 343-346.

[3] 邹春晓. 杭州地区 241 346 例阴道分泌物常规检查结果分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(12): 1532-1533.

[4] 马蔡响, 童明庆, 王美莲. 女性阴道微生态变化与年龄、妊娠及 4

种阴道疾病关系的探讨[J]. 南京医科大学学报, 2005, 25(10): 722-724.

[5] 罗南英. 阴道分泌物 2 342 例的镜检分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2009, 8(2): 65-66.

[6] 吴秀英. 五联试剂在阴道炎中的应用体会[J]. 吉林医学, 2012, 33(20): 4378-4379.

[7] 马玉楠. 细菌性阴道病及其诊断[J]. 中华检验医学杂志, 2000, 23(5): 303-304.

[8] 乐杰. 妇产科学[M]. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 261.

[9] 王会平, 李岩, 李斌, 等. 细菌性阴道炎临床检测及分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(8): 900-901.

[10] 彭芬, 刘行超, 曾桂芬. 唾液酸酶法检测对细菌性阴道病的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(2): 197-198.

[11] 王娟. 细菌性阴道病实验室诊断方法比较[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(8): 764-767.

[12] 伍亚云, 郭建华, 张昭勇, 等. 唾液酸酶联合线索细胞检测对细菌性阴道病的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(2): 195-196.

(收稿日期: 2014-01-04)