

血清钙检测受负干扰的试剂污染因素探讨

雷震山¹, 王毅², 吴少琴¹, 钟岸²

(1. 深圳市保健委员会办公室, 广东 深圳 518020;

2. 深圳市孙逸仙心血管医院检验科, 广东 深圳 518000)

【摘要】 目的 排查生化分析仪上对血清钙(Ca)检测产生负干扰的试剂交叉污染项目,并分析原因。方法 在 HITACHI 7600 全自动生化分析仪上,将 18 项常规生化项目与 Ca 配对组合检测,筛选出干扰明显的施污染项目,再将施污染试剂直接加入血清中,将试剂-血清混合物置生化仪上分析 Ca 浓度,根据 Ca 浓度是否明显偏离确定该试剂是否存在干扰。对各试剂成分进行调研,分析造成 Ca 负干扰的因素。结果 TBIL(钒酸盐法)、DBIL(钒酸盐法)、ALT、AST、HBD 和 GLU 对 Ca 存在明显试剂负干扰,原因可能是 EDTA、EGTA、柠檬酸盐等试剂添加剂致 Ca 失活。结论 Ca 的负干扰因素多而抗干扰能力较低,日常工作中应注意重点防范。

【关键词】 钙;负干扰;交叉污染;螯合剂

【中图分类号】 R446.11² **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2013)08-1170-02

Reagent contamination factors of serum calcium detection with negative interference. LEI Zhen-shan¹, WANG Yi², WU Shao-qin¹, ZHONG An². 1. Shenzhen Veteran Cadres Health Office, Shenzhen 518000, Guangdong, CHINA; 2. Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Sun Yat-sen Cardiovascular Hospital, Shenzhen 518000, Guangdong, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate reagent contamination factors of serum calcium (Ca) detection with negative interference on biochemical analyzer, and to analyze the reasons. **Methods** On HITACHI 7600 automatic biochemical analyzer, 18 routine biochemical projects and Ca paired combined detection were performed. Significant interfere with the implementation of pollution projects were screened, and then the pollution reagents were directly added to the serum. The reagent-serum mixture was analyzed for Ca concentration by biochemical analyzer. The apparent deviation from the reagent interference was determined based on Ca concentration. The reagent contamination factors with negative interference were analyzed. **Results** TBIL (the vanadate Act), DBIL (vanadate law), ALT, AST, HBD and GLU exerted obvious negative interference on Ca. The reason might be that to the application of EDTA, EGTA, citrate reagent induced inactivation of Ca. **Conclusion** Ca has lots of negative interference factors and low anti-interference ability, which should be paid attention to in daily work.

【Key words】 Calcium; Negative interference; Cross-contamination; Chelating agents

通讯作者:雷震山。E-mail:835331486@qq.com

方法。TP-ELISA 与 TPPA 比较,敏感性和特异性差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

上述三种检测方法各有其适用范围。在明确诊断是否感染梅毒时,需用具有较为特异的检测方法,由于各种梅毒血清学检测方法并不都能在梅毒的不同病期检测出抗类脂质抗体或抗 TP 抗体,为免误诊、漏诊,必要时需联合应用两类方法,同时多次动态检测;而在具体疗程中,为了观察患者血清中非特异性抗体的效价变化,可选择非特异性试验如 RPR^[6]。其滴度测定在已确诊梅毒螺旋体感染后对疗效的评判有重要价值。因此,在诊断梅毒时,实验室应充分结合临床,根据具体情形加以选择并对上述检测方法进行组合优化。

参考文献

- [1] 王靖, 王丽, 王春风. 梅毒临床诊断的 3 种检测方法的应用评价[J]. 临床和实验医学杂志, 2008, 7(3): 19-20.
- [2] Ebel A, Vanneste L, Cardinaels M, et al. Validation of the IN-NO-LIA syphilis kit as confirmatory assay for treponema pallidum antibodies [J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(1): 215-219.
- [3] 陈华英, 林伟华, 梁金明, 等. 三种梅毒检测方法的临床应用评价[J]. 中国热带医学, 2008, 8(4): 652-654.
- [4] 姚卫, 李红霞, 江智辉, 等. 梅毒血清学检测的适宜方法探讨[J]. 寄生虫病与感染性疾病, 2008, 6(2): 64-65.
- [5] 刘保林. ELISA 与 RPR 法检测梅毒抗体结果分析[J]. 中国误诊学杂志, 2005, 5(13): 2493-2494.
- [6] 陈刚. 梅毒血清学试验中特异性抗体与非特异性抗体检测的临床应用[J]. 临床和实验医学杂志, 2008, 7(2): 59-63.

(收稿日期:2012-11-16)

试剂交叉污染是临床实验室面对的常见问题。本实验室在对患者血清做生化项目检测时发现钙(Ca)在部分组合检查中偏低而单独检查又正常的现象,怀疑可能存在试剂交叉污染,遂作交叉污染排查试验以明确施污染项目,报道如下:

1 材料与方法

1.1 仪器试剂 仪器为日本 HITACHI 7600 Automatic Analyzer(全自动生化分析仪)。试剂:钙(Ca)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)为迈瑞公司产品;肌酐(CR)、尿酸(UA)、尿素氮(BUN)、葡萄糖(GLU)、肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、 α 羟丁酸脱氢酶(HBD)为利德曼公司产品;二氧化碳(CO₂)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)为新成公司产品。其中 Ca 采用偶氮胂 III 法, TBIL 和 DBIL 采用钒酸盐法, GLU 采用氧化酶法, BUN 采用谷氨酸脱氢酶法, HDL-C 和 LDL-C 采用直接法, 其他都是 IFCC 推荐的常规方法。

1.2 标本 混合血清,以 10 个健康检查者血清混合而成。

1.3 方法

1.3.1 步骤 1 运行系统清洗后,单独测定混合血清钙(Ca),重复 5 次,计算均值为对照值 A1。

1.3.2 步骤 2 初筛交叉污染试验。将生化仪上 18 项其他项目(ALT、AST、TP、ALB、TBIL、DBIL、CR、UA、BUN、CO₂、TC、TG、HDL-C、LDL-C、GLU、CK、LDH、HBD)分别与 Ca 配对组合测定,样本为混合血清,重复 5 次计算均值,筛选出与对照值偏差(干扰率)≥3%的项目(数目为 N)。由于 Ca 的通道号在仪器上处于最末位,反应时间也是各项目的最大值 10 min,根据仪器检测顺序逻辑,Ca 在任何组合中都是最后开始检测。这样可以直接观察各项目试剂对 Ca 的交叉污染影响程度。

1.3.3 步骤 3 将上一步筛选出 N 个项目做交叉污染确证试验^[1]。将混合血清分出(N+1)份,每份 100 μ l,第一份加 50 μ l 生理盐水,其余 n 份分别加相应项目试剂(R1) 50 μ l,测定 Ca,重复 5 次计算均值,第一份结果为对照值 A2。之所以只选择各试剂的 R1,是因为 Ca 为单试剂,唯 R1 有交叉污染的可能。

2 结果

对 18 个项目进行 Ca 交叉污染初筛试验,结果显示有 7 个项目在常规检测条件下对 Ca 的干扰率超过 3%,见表 1。对以上 7 个项目进行试剂交叉污染确证试验,结果与初筛试验基本吻合,见表 2。根据表 1 和表 2 可知,常规检测项目确实可能对 Ca 产生负干扰性质的交叉污染。初筛试验以 TBIL(钒酸盐法)、DBIL

(钒酸盐法)干扰最大,而确证试验则显示 ALT(IFCC 速率法)、AST(IFCC 速率法)影响最大。

表 1 初筛试验中对 Ca 有负干扰的项目

结果	A1	测定以下项目后测定钙浓度						
		BUN	HBD	DBIL	GLU	ALT	AST	TBIL
钙(mmol/L)	2.33	2.27	2.23	2.01	2.15	2.12	2.20	1.92
干扰率(%)	-	-3	-4	-14	-8	-9	-6	-18

表 2 确证试验结果

结果	A2	100 μ l 混合血清+50 μ l 以下各试剂 R1 所测钙浓度						
		BUN	HBD	DBIL	GLU	ALT	AST	TBIL
钙(mmol/L)	1.53	1.31	0.10	0.37	0.74	0.03	0.04	0.33
干扰率(%)	-	-14	-94	-76	-51	-98	-98	-78

3 讨论

随着全自动生化分析仪向高速度和样本、试剂微量发展,交叉污染尤其是试剂间的交叉污染越来越突出。长期以来,关于很多项目间交叉污染已屡见报道,如 ALT 对 LDH 正干扰、CK 对 GLU 正干扰等,甚至也有 Ca 对 ALT 交叉污染的报道^[2],然而对于 Ca 受到的干扰却鲜见报端。

在等同的测定条件下,在本实验众多常规项目中,Ca 受到负干扰现象最先被发现,可见其抗干扰能力较低,或存在 Ca 特异性污染源。实验证明, TBIL、DBIL、ALT、AST、HBD、GLU 试剂可对 Ca 测定产生严重负干扰,是可能施污染项目。经调查研究,可能是这些试剂中的螯合剂成份络合样品中的 Ca 所致。为营造稳定的反应环境,生化试剂常添加 EDTA、EGTA、柠檬酸盐等的螯合剂。有报道证实镁(Mg)试剂中 EGTA 成份对 Ca 造成了负干扰。为了消除微量重金属导致的酶催化反应中的抑制作用,EDTA 被广泛应用于酶类试剂或有酶促反应的试剂配制,本实验中 ALT、AST、HBD 和 GLU 试剂中可能含有较高浓度的 EDTA,故对 Ca 造成了明显的负干扰。而在 TBIL 和 DBIL 试剂中,同时含有 EDTA 和柠檬酸盐,所以一旦污染,对 Ca 造成的负干扰尤其明显。

由此可见,Ca 作为一个低值项目(参考范围 2.2~2.7 mmol/L),其抗干扰能力本身就存在天然缺陷,再置身于众多潜在的污染源中间,遭受干扰的风险可想而知,必须引起实验室的重视,并采取对策加以防范。防范措施包括:加强仪器试剂针和搅拌棒清洗、增加试剂针清洗程序、变换项目检测通道顺序等^[3]。

参考文献

- [1] 于雷. 生化自动分析仪项目间试剂的交叉污染及其避免方法[J]. 临床检验杂志, 2003, 21(3): 168.
- [2] 龚见习, 宋万英, 黄乾吉. 血清钙测定影响血清谷丙转氨酶测定结果的观察[J]. 西部医学, 2008, 20(2): 387-388.
- [3] 覃彦平, 柯柳华. 浅析生化分析仪试剂间交叉污染及解决方法[J]. 中国医学创新, 2012, 25(9): 152.

(收稿日期:2012-11-28)