

低温高速离心法消除脂血对部分生化项目检测干扰的效果评价

何君¹, 石秀艳², 李世群³, 周同舟¹, 肖姗¹

1. 南京市职业病防治院检验科, 江苏 南京 210004; 2. 南京市职业病防治院皮肤科, 江苏 南京 210004;

3. 南京市职业病防治院护理部, 江苏 南京 210004

摘要: **目的** 观察低温高速离心前后脂血样本中5项生化项目检测结果的差异,并对低温高速离心消除部分生化指标检测的干扰作出效果评价。**方法** 随机收集南京市职业病防治院健康管理中心2016年12月至2019年3月体检人群76例脂血标本,对收集的标本经低温高速离心去除脂浊颗粒前后的脂血血清样本用日立7600全自动生化分析仪检测5项生化项目:总胆红素(TB)、总蛋白(TP)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)及葡萄糖(GLU),比较低温高速离心前后这5项生化项目检测结果的差异和一致性。**结果** 76例脂血标本去除脂浊颗粒前后, TB、TP、TC和TG检测结果差异均有统计学意义($P<0.01$),而GLU差异无统计学意义($P>0.05$);同时,脂浊颗粒对TP、TC和TG的影响较大,对它们都产生了正偏差,而对TB产生了负偏差,对GLU产生的偏差不明显。**结论** 低温高速离心法可以消除脂浊颗粒对部分生化项目检测带来的干扰。

关键词: 低温高速离心法; 生化项目; 脂血; 效果评价; 脂血消除

中图分类号: R446.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2022)03-0368-04

Evaluation on the effect of eliminating the interference of lipemia on some biochemical items by low-temperature and high-speed centrifugation

HE Jun*, SHI Xiu-yan, LI Shi-qun, ZHOU Tong-zhou, XIAO Shan

*Clinical Laboratory, Nanjing Prevention and Treatment Center for Occupational Diseases, Nanjing, Jiangsu 210004, China

Corresponding author: XIAO Shan, E-mail: 369512622@qq.com

Abstract: Objective To investigate the difference of five biochemical items in lipemic samples before and after low-temperature high-speed centrifugation, and to evaluate the effect of low-temperature high-speed centrifugation on eliminating the interference of some biochemical indexes. **Methods** A total of 76 lipemic samples were randomly collected from Nanjing Prevention and Treatment Center for Occupational Diseases from December 2016 to March 2019. Before and after removing lipemia elimination by low-temperature and high-speed centrifugation, the serum samples of lipemia were tested with Hitachi 7600 automatic biochemical analyzer for five biochemical items: total bilirubin (TB), total protein (TP), total cholesterol (TC), triglyceride (TG) and glucose (GLU). The differences and consistency of the test results of these five biochemical items before and after low-temperature high-speed centrifugation were compared.

Results There were significant differences in TB, TP, TC and TG before and after lipemia elimination in 76 cases of lipemic samples ($P<0.01$), but there was no significant difference in GLU ($P>0.05$); At the same time, lipid particles had positive deviations on TP, TC and TG, a negative deviation for TB and no obvious deviation for GLU. **Conclusion** Low-temperature high-speed centrifugation could eliminate the interference of lipid particles on the detection of some biochemical items.

Keywords: Low-temperature high-speed centrifugation; Biochemical project; Lipemia; Impact assessment; Lipemia elimination

Fund program: Nanjing Medical Science and Technology Development Project (YKK17207); Scientific Research Project of Nanjing Science and Technology Development Plan (201803041)

DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2022.03.016

基金项目: 南京市医学科技发展项目(YKK17207); 南京市科技发展计划科研课题(201803041)

通信作者: 肖姗, E-mail: 369512622@qq.com

在临床标本的检验中,脂浊颗粒作为一种重要的内源干扰物质,使血清产生浑浊^[1-2]。当今湿式全自动生化分析仪广泛应用于临床,利用透射光谱的原理,测定穿过反应液的特定波长光线强度的衰减,通过朗伯-比尔定律,对显色物质进行定量,从而推算出标本中待测物质的含量,所以基质中任何浑浊都可能影响生化检测的准确度^[3]。

脂浊颗粒是引起血清浑浊的主要原因:脂血中的乳糜微粒(CM)和极低密度脂蛋白(VLDL)颗粒在血清中悬浮,引起光的散射,产生云雾状或牛奶样的浑浊,从而对透射浊度检测产生正向的误差^[4-6]。因此,在医院检验科寻找一种简便、可行、经济的消除脂浊颗粒对某些生化检测指标的影响很有必要。笔者查阅了相关文献^[7-9]发现,临床生化项目检验中消除脂血的最佳方式为高速离心法,经过此法处理后生化项目检测准确性得到了提高,可为临床诊断及治疗方案的制定提供更加精准的参照指标。本研究观察低温高速离心前后脂血样本中5项生化项目检测结果的差异,对低温高速离心能否消除部分生化指标检测的干扰作效果评价。

1 资料与方法

1.1 样本 收集南京市职业病防治院健康管理中心2016年12月至2019年3月体检人群脂血标本76份,标本管为黄色真空管采血(不含抗凝剂,含惰性分离胶和促凝剂),血清标本外观为乳白色。

1.2 检测项目 总胆红素(TB)、总蛋白(TP)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、葡萄糖(GLU)共5项生化项目。

1.3 仪器与试剂

1.3.1 仪器 普通离心机(By-Centrifuge-Lr600),低温高速离心机(By-Centrifuges-G20),全自动生化分析仪(HITACHI7600 SERIES Automatic analyzer),移液器(Dragon labor 100~1 000 ul)。

1.3.2 试剂 TB:富士胶片和光;TP:上海复兴长征;TC:四川迈克;TG:富士胶片和光;GLU:四川迈克(注:由于收集的数据时间比较长,所用试剂批号前后不一致,未一一列举)。

1.4 质控品和校准品 质控品高、中值购自上海复兴长征有限公司,校准品购自罗氏cfas。

1.5 方法

1.5.1 质量控制 每年做两次仪器校准并参加两次市级、省级质控;每天标本检测前先做高、低质控血清,当质控结果在控后开始检测样本。

1.5.2 样本检测 将76例样本经普通离心机离心(离心半径17.48 cm,3 000 r/min离心10 min)后,在生化分析仪上检测TB、TP、TC、TG和GLU;再将标本经低温高速离心机离心(离心半径15.83 cm,12 000 r/min离心10 min),标本再一次离心后上层为悬浮脂质,下层为相对清亮血清,弃去上层后用吸管取下层较清亮血清在7600生化分析仪上检测。

1.6 统计学方法 使用SPSS 18.0统计学软件。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,通过配对 t 检验判断低温高速离心前后检测结果的差异;计算相对偏差的95%置信区间,并通过两组数据的线性回归计算二者间的相关系数 R^2 。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清脂浊颗粒去除前后5项生化检测结果的变化 TB、TP、TC、TG 4项在低温高速离心前后差异有统计学意义($P<0.01$);而GLU在低温高速离心前后差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 普通离心后和低温高速离心后生化项目检测结果的比较 ($\bar{x}\pm s$)

Tab. 1 Comparison of biochemical test results after ordinary centrifugation and after low temperature and high speed centrifugation ($\bar{x}\pm s$)

项目	样本量	普通离心后	高速离心后	t 值	P 值
TB($\mu\text{mol/L}$)	76	8.15±4.57	9.11±4.80	3.43	<0.01
TP(g/L)	76	79.98±14.64	75.07±6.17	3.48	<0.01
TC(mmol/L)	76	5.76±3.31	5.48±3.18	2.94	<0.01
TG(mmol/L)	76	10.85±7.10	7.88±4.77	6.38	<0.01
GLU(mmol/L)	30	7.14±2.90	7.18±2.97	0.75	>0.05

2.2 血清脂浊颗粒去除前后相关系数、相对偏差参数分布(表2) 脂血对TB的干扰在高、低浓度区都有存在,低浓度区域更为明显,相对偏差以负偏差为主(图1)。脂血对TP的干扰在高、低浓度区没有明显的趋势,相对偏差以正偏差为主。脂血对TC的干扰在高、低浓度区都有存在,低浓度区域更为明显,相对偏差以正向为主。脂血对TG的干扰相当大,低浓度区域更为明显,相对偏差主要为正偏差,绝大多数点均体现为正偏差(图2)。TB、TP、TC、TG 4项相关系数均为 $R^2<0.95$,低温高速离心前后检测结果均无相关性。76例标本中有30例参与了GLU低温高速离心前后的比对,脂血对葡萄糖测定带来的干扰总体上较小,方向性不明显,相关系数 $R^2=0.9934>0.95$,低温高速离心前后检测结果有相关性,回归方程斜率为1.0216,截距为-0.1199,结果有很好的 consistency。

表2 低温高速离心前后5项生化项目
相关参数、相对偏差参数比较

Tab. 2 Comparison of relevant parameters and relative deviation parameters of biochemical items before and after low temperature and high speed centrifugation

检验项目	相关系数 R^2	相对偏差 95% 置信区间	最大正偏差 (%)	最大负偏差 (%)
TB	0.750 0	(-1.516, -0.402)	62.50	-67.80
TP	0.309 6	(2.097, 7.727)	43.48	-57.63
TC	0.935 7	(0.091, 0.475)	29.11	-54.88
TG	0.698 0	(2.045, 3.904)	186.05	-70.27
GLU	0.993 4	(-0.059, 0.127)	4.71	-8.08

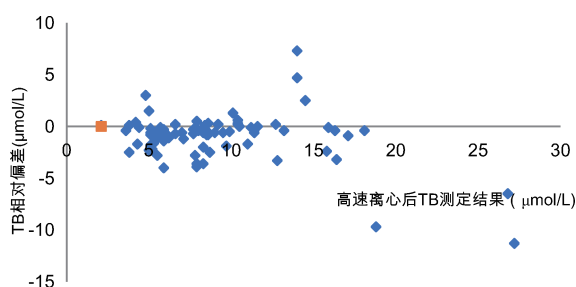


图1 脂浊颗粒去除前后TB检测相对偏差散点图

Fig. 1 Scatter plot of relative deviation of TB detection before and after removal of lipid particles

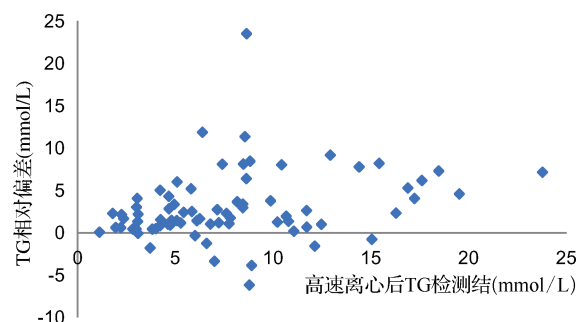


图2 脂浊颗粒去除前后TG检测相对偏差散点图

Fig. 2 Scatter plot of relative deviation of TG detection before and after removal of lipid particles

3 讨论

生化检验为临床疾病诊断过程中的重要手段,生化检测的项目较多,包括血脂检验、血糖检验、肝肾功能检查等。若生化检验结果不准确,则会导致患者的疾病无法得到及时确诊。但在实际的检验过程中,由于受到患者、采集人员和外界因素的影响,容易导致血液标本发生溶血或脂血情况,从而导致检验准确性受到影响^[10-11]。本文侧重探讨了脂浊颗粒对部分生化检测项目的影 响。脂血对临床生化项目检验带来了不良影响,实验室为了消除脂浊颗粒对检测结果带来的影响,通常采取以下策略^[9]:(1)通过在检验前进行低脂饮食、空腹采血等方式避免脂血的发生;

(2)通过样品稀释减少脂血的影响;(3)使用有机溶剂萃取除去血清中的脂质;(4)使用对脂血不敏感的非透射光谱方法如干化学法;(5)通过低温(2~8℃)静置的方式;(6)通过高速离心去除血清中悬浮的脂质:这种方法作为低温静置法方法的升级,通过对血清进行低温高速离心使脂滴加速上浮,并分层。该方法只需要有一台低温高速离心机,10 min 即可完成,分层效率高,比较方便实用^[12]。目前在排除脂血中脂浊颗粒方面比较便捷有效的方法主要为有机溶剂萃取和高速离心,由于有机溶剂萃取对基质的改变较大,目前主流更倾向于高速离心法^[13-14]。

本研究结果提示,脂血对大多数项目均产生了显著影响,尤其对TB、TP、TC和TG的影响较大,同时脂血对TP、TC和TG产生的都是正偏差,这与文献^[8,15-16]的报道基本一致,而与解春宝等^[9]报道的不完全一致,这可能与他们在处理脂血中脂浊颗粒时采用离心机离心转数和离心时间不一样有关。脂血对检测结果带来影响的原因与脂浊颗粒在反应体系中产生的散射增大了光路中非特异的吸收有关。值得注意的是脂浊颗粒对TB的检测结果产生了负偏差,这在TB中表现特别明显,其显然不能用脂浊颗粒的光谱特性解释。为此本研究观察了上机前标本的形态,发现部分处理前标本在测定前有较长的放置过程,由于天然脂浊颗粒的稳定性不够好,血脂在试管中有分层现象,上层为乳糜,那么就可能存在有仪器吸样针吸到乳糜的情况,而TB是最早测定的,吸样针从上层吸下,更有可能吸入较多乳糜,导致结果降低,同时也给检测带来了更多的不确定性;这也与本研究 中TB偏差的变异非常大相呼应,提示在进行脂血样本测量的时候,上机前混匀的重要性。

本研究结果还显示,脂血对GLU测定带来的干扰总体上较小,低温高速离心前后检测结果未检出统计学差异,偏差方向性不明显,相关系数 $R^2 = 0.993 4$,回归方程斜率为1.021 6,截距为-0.119 9,前后检测结果有很好的 一致性。这与朱玲^[17]报道的结果完全不一致。原因可能是在实际操作过程中,普通离心后直接用乳糜层进行检测,之后通过高速离心处理,随着时间延长,可能发生了葡萄糖的分解,导致低温高速离心前后结果无统计学差异;当然也可能是本研究样本量太小造成。下一步将注意葡萄糖的分解效应,同时加大标本量进行验证。

综上所述,脂血对TB、TP、TC和TG的检测结果影响较大,低温高速离心法可以消除脂浊颗粒对部分生化项目检测带来的干扰。

参考文献

- [1] Nikolac N. Lipemia; causes, interference mechanisms, detection and management[J]. *Biochem Med (Zagreb)*, 2014, 24(1): 57-67.
- [2] Bornhorst JA, Roberts RF, Roberts WL. Assay-specific differences in lipemic interference in native and intralipid-supplemented samples [J]. *Clin Chem*, 2004, 50(11): 2197-2201.
- [3] Nikolac N, Simundic AM, Miksa M, et al. Heterogeneity of manufacturers' declarations for lipemia interference—an urgent call for standardization [J]. *Clin Chim Acta*, 2013, 426: 33-40.
- [4] 权明花. 观察血清标本发生溶血和脂血对生化检验结果的影响 [J]. *中国保健营养*, 2020, 30(6): 371.
Quan MH. To observe the effect of hemolysis and lipid blood on biochemical test results [J]. *China Health Care & Nutrition*, 2020, 30(6): 371.
- [5] 王玉华. 探析高脂血症对临床生化检验造成的干扰和消除策略 [J]. *中国医药指南*, 2016, 14(18): 172-173.
Wang YH. To explore the interference and elimination strategy of hyperlipidemia on clinical biochemical test [J]. *Guide China Med*, 2016, 14(18): 172-173.
- [6] Mainali S, Davis SR, Krasowski MD. Frequency and causes of lipemia interference of clinical chemistry laboratory tests [J]. *Pract Lab Med*, 2017, 8: 1-9.
- [7] 马建娥. 消除脂血对临床生化检验常用指标干扰的方法比较 [J]. *中国医药指南*, 2020, 18(36): 125-126.
Ma JE. Comparison of methods to eliminate interference of lipid blood to common indicators in clinical biochemical examination [J]. *Guide China Med*, 2020, 18(36): 125-126.
- [8] 夏宇. 探讨消除脂血对临床生化检验常用指标干扰的方法 [J]. *当代医学*, 2020, 26(13): 151-153.
Xia Y. Discuss the method to eliminate the interference of lipemia on common indicators of clinical biochemical tests [J]. *Contemp Med*, 2020, 26(13): 151-153.
- [9] 解春宝, 罗江蓉, 向娜娜, 等. 高速离心消除脂血对肝功能项目检测干扰的分析 [J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(11): 1311-1313.
Xie CB, Luo JR, Xiang NN, et al. Interference analysis for elimination of lipid blood on liver function tests by high speed centrifugal method [J]. *Int J Lab Med*, 2019, 40(11): 1311-1313.
- [10] 周亚莉, 张永涛. 观察血清标本发生溶血和脂血对生化检验结果的影响 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(62): 177-178.
Zhou YL, Zhang YT. To observe the effect of hemolysis and lipid blood on biochemical test results [J]. *World Latest Med Inf*, 2019, 19(62): 177-178.
- [11] Nougier C, Jousset E, Sobas F, et al. Effects of hemolysis, bilirubin, and lipemia interference on coagulation tests detected by two analytical systems [J]. *Int J Lab Hematol*, 2020, 42(1): 88-94.
- [12] 周垚, 韩刚, 季佳雯, 等. 序贯高速离心消除脂血对常规生化项目检测干扰的效果评价 [J]. *南通大学学报(医学版)*, 2017, 37(5): 409-412.
Zhou Y, Han G, Ji JW, et al. Evaluation on effect of eliminating the lipemia interference in routine biochemical tests using consecutive high speed centrifugation [J]. *J Nantong Univ Med Sci*, 2017, 37(5): 409-412.
- [13] 钱建平, 熊怀民, 蒋廷旺. 消除脂血对临床生化检验常用指标干扰的方法比较 [J]. *北华大学学报(自然科学版)*, 2013, 14(5): 575-578.
Qian JP, Xiong HM, Jiang TW. Comparison of methods for eliminating blood lipid disturbance to the detection of clinical biochemical indexes [J]. *J Beihua Univ Nat Sci*, 2013, 14(5): 575-578.
- [14] Mainali S, Davis SR, Krasowski MD. Frequency and causes of lipemia interference of clinical chemistry laboratory tests [J]. *Pract Lab Med*, 2017, 8: 1-9.
- [15] 高永庆. 高脂血标本对临床生化、血凝等指标的干扰及对策 [J]. *昆明医科大学学报*, 2018, 39(9): 112-114.
Gao YQ. Interference and countermeasures of hyperlipidemic specimens on the indexes of clinical biochemistry and hemagglutination [J]. *J Kunming Med Univ*, 2018, 39(9): 112-114.
- [16] Zheng YZ, Pearce RW, McShane AJ. Lipemia interference for ALT and AST; effect from native lipid and commercial lipid emulsion-supplemented samples [J]. *J Appl Lab Med*, 2020, 5(4): 817-819.
- [17] 朱玲. 血清标本发生溶血和脂血对生化检验结果的影响评价 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(6): 191-192.
Zhu L. Evaluation of the influence of hemolysis and lipid blood on biochemical test results in serum samples [J]. *World Latest Med Inf*, 2019, 19(6): 191-192.

收稿日期: 2021-03-25 修回日期: 2021-05-30 编辑: 王娜娜