

酚磺乙胺对不同方法测定肌酐的干扰

程涌江, 李 丽, 陈海鸣(广州中医药大学第一附属医院检验科 510405)

【摘要】 目的 探讨酚磺乙胺对苦味酸法和肌氨酸氧化酶法测定肌酐的干扰情况。方法 参照临床化学检验的干扰评价(CLSI EP7-A2)规则, 设计配对差异试验和剂量试验, 判断酚磺乙胺对苦味酸法和肌氨酸氧化酶法测定肌酐是否有干扰及干扰效应与酚磺乙胺浓度的关系。结果 酚磺乙胺对苦味酸法测定肌酐有正干扰, 对肌氨酸氧化酶法测定肌酐有负干扰, 其干扰效应与酚磺乙胺浓度的关系均为二次曲线关系, 酚磺乙胺对苦味酸法和肌氨酸氧化酶法测定肌酐的最小干扰浓度分别为 0.070 g/L 和 0.016 g/L。结论 酚磺乙胺对苦味酸法和肌氨酸氧化酶法测定肌酐均有干扰, 在临床上必须采取措施避免这种干扰的出现。

【关键词】 酚磺乙胺; 肌酐; 苦味酸法; 肌氨酸氧化酶法; 干扰

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.16.010 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)16-1939-02

The interference of different methods on testing serum creatinine by ethamsylate CHENG Yong-jiang, LI Li, CHEN Hai-ming (Department of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China)

【Abstract】 **Objective** To study the interference of Jaffé reaction-rate method and sarcosine oxidase method on testing serum creatinine by ethamsylate. **Methods** According to CLSI EP7-A2 document, paired-difference testing and dose-response experiment were designed to identify the interference and to determine the relationship between the ethamsylate concentration and the degree of interference by ethamsylate in Jaffé reaction-rate method and sarcosine oxidase method for serum creatinine test. **Results** The positive interference was identified in Jaffé reaction-rate method and the negative interference was identified in sarcosine oxidase method for serum creatinine test by ethamsylate. The relationship between the ethamsylate concentration and the degree of interference also showed a quadratic model. The lowest interferent concentrations were 0.070 g/L in Jaffé reaction-rate method and 0.016 g/L in sarcosine oxidase method. **Conclusion** There is significant interference of Jaffé reaction-rate method and sarcosine oxidase method for serum creatinine test by ethamsylate, and effective measures must be taken to avoid the interference.

【Key words】 ethamsylate; creatinine; jaffé reaction-rate method; sarcosine oxidase method; interference

在临床工作中, 经常发现个别患者血清肌酐(CREA)结果短期内变化很大, 有时采用苦味酸法和肌氨酸氧化酶法测定同一份标本的肌酐结果差异很大。经过认真查对患者临床资料后, 发现这种差异可能与临床使用酚磺乙胺(止血敏)药物有关。为了明确酚磺乙胺对苦味酸法和肌氨酸氧化酶法测定肌酐的干扰, 应严格按照临床化学检验的干扰评价(CLSI EP7-A2)规则^[1], 进行了酚磺乙胺对两种方法测定肌酐的体外干扰试验, 现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 标本 收集本院高浓度肌酐(530 μmol/L^[1]左右)血清标本 10 份, 混合后作为高值血清。

1.1.2 仪器 Olympus AU5421 全自动生物化学分析仪; Beckman CX9 全自动生物化学分析仪。

1.1.3 试剂 苦味酸法肌酐试剂来源于 Beckman Coulter, Inc., 批号 Z004025。肌氨酸氧化酶法肌酐试剂来源于日本 Sekisui Medical Co., Ltd., R1 批号 811 RFH, R2 批号 810 RDH。

1.1.4 药物 酚磺乙胺来源于上海第一生化药业有限公司, 批号 0806181, 浓度为 0.25 g/mL。

1.2 方 法 按中华人民共和国药典^[2], 酚磺乙胺使用的每日总量为 0.5~1.5 g, 80% 以原型从肾脏排出, 故试验中采用酚

磺乙胺 0.3 g/L 为最高血药浓度。试验设计严格按照 CLSI EP7-A2 标准进行, 包括配对差异试验和剂量试验。

1.2.1 试验准备 对两台仪器检测肌酐进行精密度评估和校准, 每天进行质控, 观察检测方法的稳定性。按照 CLSI EP7-A2 方法, 根据室内质控的精密度(苦味酸法 CV 为 2.22%, 肌氨酸氧化酶法 CV 为 1.94%)和最大允许误差^[3], 得出干扰试验所需重复测定次数为 3 次。

1.2.2 配对差异试验 将酚磺乙胺配成浓度为 3 g/L, 取高值血清 0.45 mL 加入 3 g/L 的酚磺乙胺 0.05 mL 作为试验组, 高值血清 0.45 mL 加入 0.05 mL 等渗盐水作为对照组。分别用苦味酸法和肌氨酸氧化酶法检测试验组和对照组的肌酐浓度, 重复测定 3 次, 结果取均值。试验组和对照组结果均值之差即为干扰效应, 按照 CLSI EP7-A2 标准, 计算干扰效应的 95% 可信区间, 并与最大允许误差比较, 判断酚磺乙胺对两种方法测定肌酐是否有干扰。

1.2.3 剂量试验 将酚磺乙胺配成以下 8 个浓度水平: 3.0、1.5、1.0、0.50、0.3、0.15、0.06、0.03 g/L, 取高值血清 0.45 mL 分别加入各水平浓度的酚磺乙胺 0.05 mL 作为试验组, 高值血清 0.45 mL 加入 0.05 mL 等渗盐水作为对照组。用苦味酸法和肌氨酸氧化酶法检测试验组和对照组的肌酐浓度, 重复测定 3 次, 结果取均值。试验组和对照组结果均值之差即为干扰效应, 将干扰效应与酚磺乙胺浓度进行非线性回归, 估计干扰

效应为最大允许误差时酚磺乙胺的浓度,即为最小干扰浓度。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 17.0 统计软件对配对差异试验结果进行统计描述,对剂量试验中干扰效应与酚磺乙胺浓度进行非线性回归分析。

2 结 果

2.1 配对试验 结果见表 1。

根据 CLSI EP7-A2 要求,95%可信区间的下限超过最大允许误差即认为有干扰,得出酚磺乙胺对苦味酸法测定肌酐有

正干扰,对肌氨酸氧化酶法测定肌酐有负干扰。

2.2 剂量试验 结果见表 2。

对数据进行非线性回归分析,最优拟合曲线均为二次曲线。回归曲线见图 1($r^2 = 0.997, P = 0.000$)和图 2($r^2 = 0.994, P = 0.000$),估计最大允许误差处的酚磺乙胺剂量得出产生干扰的最小有效剂量:苦味酸法为 0.070 g/L,肌氨酸氧化酶法为 0.016 g/L。

表 1 配对差异试验结果

检测方法	试验组	对照组	干扰效应	批内标准差(s)	95%可信区间	最大允许误差 ^[3]
苦味酸法($\mu\text{mol/L}$)	620	523	97	2.2	89~105	36
肌氨酸氧化酶法($\mu\text{mol/L}$)	229	492	-263	5.1	-281~-245	34

表 2 剂量试验结果

剂量(g/L)	苦味酸法($\mu\text{mol/L}$)		肌氨酸氧化酶法($\mu\text{mol/L}$)	
	试验组	干扰效应	试验组	干扰效应
0.300	620	97	229	-263
0.150	594	71	301	-191
0.100	572	49	343	-149
0.050	548	25	397	-95
0.030	536	13	425	-67
0.015	528	5	455	-37
0.006	528	5	478	-14
0.003	524	1	486	-6

注:苦味酸法对照组结果为 523 $\mu\text{mol/L}$,肌氨酸氧化酶法对照组结果为 492 $\mu\text{mol/L}$ 。

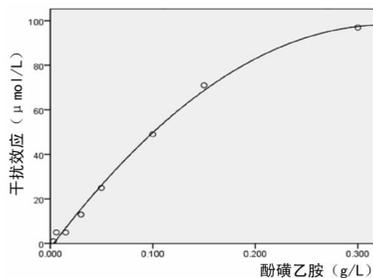


图 1 苦味酸法剂量试验回归曲线

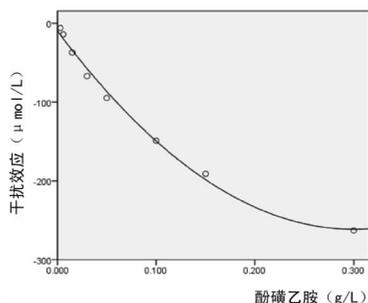


图 2 肌氨酸氧化酶法剂量试验回归曲线

3 讨 论

肌酐是临床常用检验项目,主要用于评价肾脏功能,其结果的准确性直接影响临床的诊断和治疗。肌酐检测常用的方

法有苦味酸法和肌氨酸氧化酶法,苦味酸法使用时间较长,其干扰因素研究也较为完整^[4],主要是非特异色原干扰,如抗坏血酸、 α -酮酸、丙酮、乙酰乙酸、葡萄糖、蛋白质、胍、胍乙酸内酰胺等。肌氨酸氧化酶法的临床应用时间较晚,具有操作简便、特异性强、线性范围宽、抗干扰能力强等优点,目前黄疸、溶血对肌氨酸氧化酶法肌酐检测没有影响,药物干扰方面的报道也较少^[5]。

酚磺乙胺是临床常用止血药,主要用于防治手术前、后出血和止血,以及各种内脏出血等。酚磺乙胺说明书示:酚磺乙胺注射后,1 h 血药浓度达峰值,蛋白结合率达 90%,作用时间持续 4~6 h,80%以原型从肾脏排出,小部分从胆汁、粪便排出,静脉滴注的半衰期为 1.9 h。

本试验结果表明,酚磺乙胺对苦味酸法和肌氨酸氧化酶法测定肌酐均有干扰。酚磺乙胺对苦味酸法测定肌酐有正干扰,浓度为 0.3 g/L 时可使肌酐的结果偏高 18.5%(97/523)。苦味酸法测定肌酐是由于肌酐在碱性介质中均以烯醇式肌酐形式存在,具有较强的还原性,与碱性苦味酸反应,产生一种桔红色的苦味酸肌酐复合物。而酚磺乙胺与维生素 C、丙酮酸、丙酮、葡萄糖、氨基马尿酸等一样作为假肌酐直接与苦味酸反应生成桔红色而产生正相干扰^[4]。

酚磺乙胺对肌氨酸氧化酶法测定有负干扰,浓度为 0.3 g/L 时可使肌酐的结果偏低 53.5%(263/492),可能会对临床诊疗活动带来较大的困扰。肌氨酸氧化酶法测定肌酐用的是 Trider 反应,即酶促反应产生的 H_2O_2 在有过氧化物和酚存在时氧化 4-氨基安替比林形成红色醌亚胺,醌亚胺颜色的深浅与酶促反应产生的 H_2O_2 成正比。酚磺乙胺对肌氨酸氧化酶法测定肌酐产生负干扰,可能是由于酚磺乙胺具有较强的还原性。在过氧化物酶(POD)反应中, H_2O_2 作为受氢体的速率(K)为 9×10^8 L/mol,反应中能很快与 POD 反应。酚磺乙胺的基本结构是氢醌环,氢醌环作为供氢体速率(K)为 3×10^6 L/mol。因此,酚磺乙胺将会消耗 POD 反应中的 H_2O_2 ,产生无色产物^[6],从而使酚磺乙胺对基于 Trider 反应的检测产生负干扰。

酚磺乙胺对常用方法测定肌酐有如此大的干扰,必须采取一定的措施避免这种干扰的出现。首先可以改进方法学,比如可以改用肌酐氨基水解酶法,文献报道酚磺乙胺对肌酐氨基水解酶法没有干扰^[7],但肌酐氨基水解酶法价格较高限制了它的应用。其次,可以推迟用药后的抽血时间。按照本研究的剂量试验结果,酚磺乙胺浓度为 0.07 g/L 以上(下转第 1942 页)

示。应用固定效应模型分析结果。

2 结 果

2.1 不同血清脂联素水平 2 型糖尿病的差异 共纳入符合标准的病例对照及队列研究 4 项。分别来自广东、广西、湖北、河北^[2-5]。其中有两项研究是针对 2 型糖尿病及肥胖,两项只研究 2 型糖尿病。总共参与例数为 459 例,脂联素的测定方法主要采用酶联免疫法。

用固定效应模型进行分析,针对 2 型糖尿病患者血清脂联素水平与健康人的 Meta 分析存在异质性。研究显示,血清脂联素水平在健康人与 2 型糖尿病中相比($SMD = -4.27, Z = 34.94, P < 0.01$)有明显的差异;2 型糖尿病组的血清中脂联素水平明显低于健康组,呈负相关。

2.2 胰岛素抵抗(HOMA-IR)与 2 型糖尿病的相关性 共纳入符合标准的病例对照及队列研究 3 项。分别来自广西、湖北、河北^[3-5]。其中有两项研究是针对 1 型糖尿病及肥胖,两项只研究 2 型糖尿病。总共参与例数为 239 例,胰岛素抵抗状态的评价:根据 HOMA 模型给出的公式计算胰岛素抵抗指数 $HOMA-IR = \text{空腹血糖} \times \text{空腹胰岛素} / 22.5$ 。

用固定效应模型进行分析,针对 2 型糖尿病患者胰岛素抵抗与健康人的 Meta 分析存在异质性。研究显示,胰岛素抵抗在 2 型糖尿病与健康人中相比($SMD = -4.27, Z = 22.71, P < 0.01$)有明显的差异。2 型糖尿病组的胰岛素抵抗水平明显高于正常组,呈正相关性。

3 讨 论

脂联素是脂肪细胞合成的,由 ApM1 基因编码的脂肪组织特异性的血浆蛋白,血浆浓度为 5~30 mg/L,约占总蛋白的 0.01%,其分泌无昼夜节律变化,亦不受进餐的影响。脂联素由 244 个氨基酸组成,包含其氨基末端的一个分泌信号序列,一个小的非螺旋区,一个 22 个胶原重复序列的延伸和一个球形结构域,此结构域是脂联素发挥生物学功能的重要结构。2 型糖尿病是目前严重危害患者生命的慢性疾病之一,且患病率逐年升高。多种因子参与了这一病理过程,近年认为脂联素在其中扮演了重要角色;全基因组扫描显示该区域存在 2 型糖尿病和代谢综合征的易感位点^[6]。目前发现的脂联素受体有两

种:AdipoR1 和 AdipoR2。AdipoR1 主要表达于骨骼肌,而 AdipoR2 主要表达于肝脏。本文的 Meta 分析表明,2 型糖尿病组中血浆脂联素均低于正常对照组,差异有统计学意义。由此可见,2 型糖尿病会导致血浆脂联素水平下降。血清脂联素与 HOMA-IR 呈负相关,说明血清脂联素水平的降低与胰岛素敏感性下降相平行,与胰岛素抵抗程度呈负相关。有研究表明补充脂联素后可使血糖下降和胰岛素敏感性增强,说明脂联素缺乏可能是导致胰岛素敏感性下降的机制之一。

2 型糖尿病与胰岛素抵抗呈正相关性,脂联素作为一种脂肪细胞因子,新近的研究表明其对于 2 型糖尿病的发生、发展具有独特和重要的影响。但是其作用机制还有很多不明确的地方,对其进一步研究可以为 2 型糖尿病的早期干预提供新的思路。

参考文献

- [1] Ziemke F, Mantzoros CS. Adiponectin in insulin resistance; lessons from translational research [J]. *Am J Clin Nutr*, 2010, 91(1): 258-261.
- [2] 蔡晓玲, 黄敏. 血浆脂联素水平变化与 2 型糖尿病胰岛素抵抗相关性的探讨[J]. *中国临床医药研究杂志*, 2008, 18(1): 6-8.
- [3] 董家书. 脂联素与 2 型糖尿病胰岛素抵抗德尔相关性探讨[J]. *中国实用医药*, 2008, 3(19): 79-80.
- [4] 卢慧玲, 王宏伟, 林汉华, 等. 血浆脂联素与 2 型糖尿病胰岛素抵抗关系的研究[J]. *临床内科杂志*, 2003, 20(11): 594-596.
- [5] 何云, 催克勤. 血清脂联素水平与 2 型糖尿病胰岛素抵抗的关系[J]. *河北医药*, 2008, 30(3): 276-277.
- [6] Takahashi M, Arita Y, Yamagata K, et al. Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin [J]. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2000, 24(7): 861-868.

(收稿日期:2011-02-25)

(上接第 1940 页)

会对苦味酸法测定肌酐产生干扰,而酚磺乙胺静脉滴注的半衰期为 1.9 h, 2 个半衰期排泄 75%, 其血药浓度在 0.07 g/L 以下;酚磺乙胺浓度为 0.016 g/L 以上会对肌氨酸氧化酶法测定肌酐产生干扰, 4 个半衰期排泄 93.8%, 其血药浓度为 0.019 g/L, 5 个半衰期排泄 96.9%, 血药浓度为 0.01 g/L。因此,对于苦味酸测定肌酐,可在用药后 4 h 再抽血检测,对于肌氨酸氧化酶法测定肌酐则要在用药 9~10 h 之后抽血检测。另外,对于肾功能减退的患者,酚磺乙胺的代谢情况并不明确,用药后多久抽血检测肌酐值得进一步探索。

参考文献

- [1] Clinical and Laboratory Standard Institute. EP7-A2: Interference testing in clinical chemistry; Approved Guideline-Second Edition[S]. Pennsylvania: CLSI, 2005.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 化学工

业出版社, 2005: 470-471.

- [3] 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, 2007: 79-80.
- [4] 顾新民. 碱性苦味酸测定肌酐影响因素[J]. *中华现代中西医杂志*, 2005, 3(4): 356.
- [5] 朱鸿, 孙国华, 孙树馨, 等. 利用酶法检测肌酐的方法学评价[J]. *大连医科大学学报*, 2002, 24(1): 50.
- [6] Fushimi R, Suminoe A, Yasuhara M, et al. Negative interference by ethamsylate in enzymatic assay of serum creatinine involving peroxidase-coupled reaction[J]. *Clin Chem*, 1992, 38(1): 169-170.
- [7] 王金果, 郑佳音, 吴小乐, 等. 酚磺乙胺对两种不同酶法检测血清肌酐的干扰分析[J]. *现代实用医学*, 2009, 21(7): 759-760.

(收稿日期:2011-02-27)