

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.16.001

不同标本稀释液对直接化学发光法检测人血清 FT₄ 结果的影响^{*}李娜,黎锋,薛声能,唐菊英,张小云,吴宏适,严励[△]

中山大学孙逸仙纪念医院内分泌科,广东广州 510120

摘要:目的 该研究通过对稀释液产生的基质效应进行分析,以期为游离甲状腺素(FT₄)选择适当的稀释介质、稀释方法提供依据。**方法** 收集 FT₄ 血清标本 20 例,其中 FT₄ 高值组(22.7~155.0 pmol/L)、FT₄ 中值组(11.5~22.7 pmol/L)标本各 10 例。分别使用 0.9%氯化钠溶液、蒸馏水、10%牛血清+0.9%氯化钠溶液、10%牛血清+蒸馏水作为稀释介质进行手工 2 倍(1:1)及 4 倍(1:3)稀释后测定 FT₄ 水平,并与未稀释标本的血清 FT₄ 检测值进行比较。**结果** 中、高值 FT₄ 标本使用 0.9%氯化钠溶液或蒸馏水作为稀释液进行 2 倍稀释与直接测定值差异最小($P>0.05$)。**结论** 该研究推测,对于 FT₄ 超过检测上限的血清标本可使用 0.9%的氯化钠溶液或蒸馏水对标本进行 2 倍稀释。

关键词:游离甲状腺素; 稀释试验; 稀释介质**中图分类号:**R446.1**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2019)16-2273-03**Impact of different sample diluents on results of human serum free thyroxine hormone detected by direct chemiluminescence^{*}**LI Na, LI Feng, XUE Shengneng, TANG Juying, ZHANG Xiaoyun, WU Hongshi, YAN Li[△]

Department of Endocrinology, Sun Yat-Sen Memorial Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou, Guangdong 510120, China

Abstract: **Objective** To analyze the matrix effect produced by diluent in order to provide a basis for choosing appropriate dilution medium and dilution mode of free thyroid hormone (FT₄). **Methods** Twenty serum samples of FT₄ were collected, of which 10 cases in the high value group (22.7—155.0 pmol/L) and 10 cases in the medium value group (11.5—22.7 pmol/L). With 0.9% sodium chloride solution, distilled water, 10% bovine serum + 0.9% sodium chloride, 10% bovine serum + distilled water as the dilution medium, FT₄ was determined after manual dilution by 2 times (1:1) and 4 times (1:3), and the detected results were compared with the FT₄ detected value of undiluted sample. **Results** The difference between the results of high value and medium value of FT₄ sample which diluted by 2 times with 0.9% sodium chloride solution or distilled water as the diluent and the directly detected values was the smallest ($P>0.05$). **Conclusion** This study speculates that for serum sample of FT₄ exceeding the detection upper limit, 0.9% sodium chloride solution or distilled water could be used to dilute the samples by 2 times.

Key words: free thyroxine hormone; dilution test; dilution medium

化学发光免疫分析技术已被广泛应用于内分泌激素的测定,以游离甲状腺素(FT₄)测定为例,本实验室所使用的西门子 Centaur XP 化学发光分析仪的检测限(1.50~155 pmol/L)已能满足大部分临床需要,但部分甲状腺功能亢进患者 FT₄ 水平明显升高,已超过检测上限。为使检验结果能够准确反映患者真实的甲状腺激素水平,为临床治疗效果评价提供更为准确的依据,有必要对于 FT₄ 水平超过检测上限的标本进行稀释。如果要得出真实、有效的结果,选择适当的稀释液及稀释方法尤为关键^[1-4]。若本研究选取超出检测上限的标本进行测定,便无法获得该标本的直

接测定值,稀释后的结果准确与否无从判断。鉴于以上原因,本研究选择于本院进行 FT₄ 测定的血清高值和中值标本进行稀释试验,通过对稀释液产生的基质效应进行分析,以期为 FT₄ 检测选择适当的稀释介质、稀释方法提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择于本院进行 FT₄ 测定的血清标本 20 例,其中 FT₄ 高值组(22.7~155.0 pmol/L)、中值组(11.5~22.7 pmol/L)标本各 10 例。本实验室 FT₄ 的检测范围为 1.5~155.0 pmol/L,参考范围为 11.5~22.7 pmol/L。

^{*} 基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(81500640)。作者简介:李娜,女,主管技师,主要从事内分泌相关激素的检验研究。 [△] 通信作者, E-mail: hfxyl@163.net。

1.2 仪器与试剂 检测设备为西门子公司 Centuar XP 化学发光免疫分析仪。试剂为该仪器配套检测 FT4 试剂。采用 BIO-RAD 质控品(批号 40310)对本试验检测项目 FT4 试剂盒进行批内质控,该质控品 3 个水平均值分别为 0.808、2.260、3.770 ng/dL,范围分别为 0.606~1.010、1.760~2.760、2.940~4.600 ng/dL。本实验室当天质控结果经过换算分别为 0.82、2.15、3.69 ng/dL。低、中、高 3 个水平的质控品 CV 均<5%。

1.3 方法

1.3.1 标本配制 由于西门子公司未提供配套稀释液,且无 0 水平的定标液,根据文献[2,5-9]报道和实际工作经验,本实验室自行配制以下稀释介质:(1)0.9%氯化钠溶液(四川科伦药业股份有限公司);(2)蒸馏水(医院自制);(3)10%牛血清(广州晶欣生物科技有限公司)+0.9%氯化钠溶液,牛血清与氯化钠的体积比为 1:9;(4)10%牛血清+蒸馏水,牛血清与蒸

馏水的体积比为 1:9。

1.3.2 稀释试验 将收集到的 20 例血清标本分别以 0.9%氯化钠溶液、蒸馏水、10%牛血清+0.9%氯化钠溶液、10%牛血清+蒸馏水作为稀释介质进行手工 2 倍(1:1)及 4 倍(1:3)稀释后测定 FT4,同时测定未稀释的血清 FT4 值(直接测定值)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据处理分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内比较采用配对 *t* 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

FT4 高值组和中值组中使用 0.9%氯化钠溶液 2 倍稀释和蒸馏水 2 倍稀释测定结果与直接测定值比较,差异均无统计学意义(*P*>0.05);使用 0.9%氯化钠溶液 4 倍稀释、蒸馏水 4 倍稀释、10%牛血清+0.9%氯化钠溶液 2 倍稀释和 4 倍稀释、10%牛血清+蒸馏水 2 倍稀释和 4 倍稀释结果与同组直接测定值相比,差异均有统计学意义(*P*<0.05)。见表 1、2。

表 1 FT4 高值组各种稀释介质和稀释倍数测定结果(pmol/L)

直接测定值	0.9%氯化钠溶液		蒸馏水		10%牛血清+0.9%氯化钠溶液		10%牛血清+蒸馏水	
	2 倍稀释	4 倍稀释	2 倍稀释	4 倍稀释	2 倍稀释	4 倍稀释	2 倍稀释	4 倍稀释
72.25	73.66	80.15*	73.15	82.55*	76.99*	84.13*	75.94*	84.13*
45.07	45.76	55.24*	44.26	55.32*	46.67*	52.11*	48.99*	50.51*
45.03	45.93	40.15*	45.43	58.96*	44.10*	53.12*	46.13*	52.12*
36.87	35.12	51.12*	36.11	50.21*	38.12*	43.93*	38.12*	43.48*
36.81	37.91	48.22*	35.77	51.32*	37.99*	56.93*	37.99*	42.88*
33.07	33.87	45.36*	32.98	46.61*	34.19*	40.11*	34.17*	40.12*
29.53	30.06	43.99*	28.71	48.11*	30.98*	35.63*	30.45*	36.10*
27.39	27.94	35.12*	26.53	39.62*	28.93*	30.13*	28.10*	34.20*
25.19	25.77	35.98*	25.99	40.15*	26.11*	32.12*	27.83*	30.60*
24.19	25.32	34.11*	25.12	30.99*	25.92*	30.66*	26.23*	31.30*

注:与直接测定值比较,**P*<0.05

表 2 FT4 中值组各种稀释介质和稀释倍数测定结果(pmol/L)

直接测定值	0.9%氯化钠溶液		蒸馏水		10%牛血清+0.9%氯化钠溶液		10%牛血清+蒸馏水	
	2 倍稀释	4 倍稀释	2 倍稀释	4 倍稀释	2 倍稀释	4 倍稀释	2 倍稀释	4 倍稀释
17.74	18.22	18.93*	17.41	19.32*	19.48*	23.12*	19.45*	20.33*
17.19	17.87	19.12*	18.21	19.36*	20.10*	23.11*	20.12*	23.12*
16.97	17.12	17.83*	15.98	17.21*	19.35*	13.21*	20.10*	22.11*
16.66	17.34	18.66*	17.35	20.45*	18.77*	19.55*	19.99*	19.43*
15.45	16.00	16.10*	15.98	18.87*	19.33*	20.68*	17.43*	19.33*
15.43	16.34	16.77*	15.99	17.78*	18.49*	20.43*	21.45*	20.12*
14.42	13.12	15.96*	15.36	16.72*	16.77*	18.44*	18.43*	21.46*
14.29	15.16	15.73*	15.12	18.33*	18.43*	20.44*	17.45*	18.23*
13.79	14.33	15.98*	14.99	19.52*	16.43*	18.43*	16.31*	19.54*
13.75	14.67	15.67*	14.21	15.48*	10.52*	19.45*	15.44*	16.78*

注:与直接测定值比较,**P*<0.05

3 讨 论

FT4 是指在血液循环中未与血浆蛋白结合的甲状腺激素,具有代谢活性,也是三碘甲状腺原氨酸(T3)的前体,在循环中以游离形式存在。FT4 的水平与甲状腺的功能相关。在甲状腺功能减退和甲状腺功能亢进的患者体内,FT4 水平与总甲状腺素(TT4)一般平行发生变化。在健康个体体内,甲状腺结合球蛋白(TBG)的水平相对稳定,但在某些条件(如:正常妊娠或接受甾体类激素治疗)下,TBG 水平则可能发生变化,TT4 受到 TBG 水平变化的影响,无法真实反映患者甲状腺功能。准确测定这类患者 FT4 水平显得尤为重要^[10-13]。

西门子子公司 ADVIA Centaur 的 FT4 检测法是使用直接化学发光技术的竞争性免疫分析法,基质效应会影响测定的准确性。本研究也证实了不同稀释介质产生的基质效应会对检测结果产生不同的影响。本研究选用临床工作中常用的 0.9%的氯化钠溶液或蒸馏水作为稀释液,为了模拟血浆中的胶体成分,还选用了 10%牛血清+0.9%氯化钠溶液和 10%牛血清+蒸馏水作为稀释液,稀释结果表明,中、高值的 FT4 标本使用 0.9%氯化钠溶液或蒸馏水作为稀释液是合理可行的,而使用 10%牛血清+0.9%氯化钠溶液和 10%牛血清+蒸馏水的稀释结果均与直接测定值偏差较大。这可能和牛血清与健康人血浆蛋白成分差异较大有关。此外,使用 0.9%氯化钠溶液 4 倍稀释或蒸馏水 4 倍稀释标本结果也与直接测定值差异较大,提示稀释倍数不宜过大,以 2 倍为宜。此外,根据文献^[14]报道,当标本存在异嗜性抗体的干扰时,即使使用合适的标本稀释液和稀释倍数也可能无法获得准确的检测结果。

本研究推测,对于 FT4 检测结果超过检测上限的标本,可使用 0.9%的氯化钠溶液或蒸馏水对标本进行 2 倍稀释。该方法简单、经济,且对检测结果的影响最小。

参考文献

[1] 戴玉柱,王国政,吴遥遥,等. 临床免疫学试验标本稀释液的实验评价及选择原则[J]. 现代检验医学杂志,2011,26(5):52-54.

[2] 李洋,何瑞冰,曹振毅,等. 不同稀释介质及方式对化学发光免疫法测定血清雌二醇浓度的影响[J]. 临床输血与检

验,2015,17(4):327-330.

[3] 赵敏,笪宏华,杨贤芳,等. 甲功五项化学发光免疫分析的基质效应对临床测值的影响[J]. 现代生物医学进展,2012,12(19):3714-3718.

[4] 奂秀芳. 化学发光免疫分析测定甲功五项的基质效应评价[J]. 医药前沿,2017,7(17):229-231.

[5] 顾凡磊,赵瑞芳,季志英,等. 儿童化学发光免疫分析中稀释方法的探讨[J]. 现代生物医学进展,2014,14(1):114-116.

[6] 岑美婷,陈纯旭,吴振兴,等. 儿童化学发光免疫检测中的稀释方法研究[J]. 广州医药,2016,47(1):59-61.

[7] 包安裕,李艳,苏汉文. 稀释介质与稀释方式对化学发光免疫法测定血清雌二醇浓度的影响[J]. 标记免疫分析与临床,2011,18(4):271-273.

[8] 张翠平,凌雨,陈璟. ADVIA Centaur CP 化学发光免疫分析仪检测血 HCG 浓度的稀释倍数选择[J]. 徐州医学院学报,2013,33(10):695-696.

[9] CARSLAKE H B,PINCHBECK G L,MCGOWAN C M. Evaluation of a chemiluminescent immunoassay for measurement of equine insulin[J]. J Veter Int Med,2017,31(2):568-574.

[10] ALEXANDER E K,PEARCE E N,BRENT G A,et al. 2017 Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and the postpartum[J]. Thyroid,2017,27(3):315-389.

[11] STAGNARO-GREE N A,ABALOVICH M,ALEXANDER E,et al. Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum[J]. Thyroid,2011,21(10):1081-1125.

[12] TIM K,MEDICI M,VISSER T J,et al. Thyroid disease in pregnancy:new insights in diagnosis and clinical management[J]. Nature Rev Endocrinol,2017,13(10):610-622.

[13] REVET I,BOESTEN L S M,LINTHORST J,et al. Misleading FT4 measurement: assay-dependent antibody interference[J]. Biochem Med,2016,26(3):436-443.

[14] 倪娟,高洪柳,王国洪,等. 化学发光法检测促甲状腺激素结果假性增高 1 例[J]. 临床检验杂志,2016,34(9):720-720.

(收稿日期:2019-03-04 修回日期:2019-05-08)