

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.18.014

酚磺乙胺对酶法检测血清尿酸的影响^{*}

井 沆¹,牛志杰¹,刘子砚¹,凌晓午¹,李青青²,武红权^{1△}

1. 贵州省人民医院检验科,贵州贵阳 550002;2. 首钢水钢总医院肿瘤科,贵州六盘水 553000

摘 要:**目的** 探讨酚磺乙胺对酶法检测血清尿酸(UA)干扰的临床研究。**方法** 参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)制定的 EP7-A2 文件,对酶法检测血清 UA 进行干扰筛选试验和剂量效应试验,通过酚磺乙胺对不同水平 UA 检测的干扰效应来确定酚磺乙胺对酶法检测 UA 的影响。**结果** 干扰筛选试验:干扰配对试验组均值为 207.33 μmol/L,对照样品均值为 496.86 μmol/L,试验样品的干扰值 95%CI 为(-226.53±1.96) μmol/L,当干扰值 95%CI 最低值的绝对值大于预设的干扰试验的可接受标准时,说明酚磺乙胺对酶法检测 UA 存在严重的干扰。剂量效应试验:低值 UA 标本,干扰效应回归曲线方程为 $Y = -2.474e - 6X^3 + 0.0024X^2 - 0.777X - 3.614$ ($F = 1596.39, R^2 = 0.995, P < 0.001$),当酚磺乙胺水平在 29.84 mg/L 以上时,干扰值的绝对值高于干扰试验的可接受标准;而高值 UA 样品,干扰剂量效应回归方程 $Y = -3.175e - 6X^3 + 0.00333X^2 - 1.294X - 9.832$ ($F = 1582.615, R^2 = 0.996, P < 0.001$),当酚磺乙胺水平在 44.43 mg/L 以上,干扰值的绝对值高于干扰试验的可接受标准。**结论** 酚磺乙胺对酶法检测血清 UA 存在负干扰,在低、高水平 UA 样品中,酚磺乙胺的水平分别在 <29.84 mg/L 和 <44.43 mg/L 时,负干扰程度未超过干扰试验的可接受标准。在临床工作中须采取措施以避免这种干扰。

关键词:酚磺乙胺; 酶法; 血清尿酸; 药物干扰

中图法分类号:R446

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)18-2641-04

Effect of etamsylate on enzymatic method for detecting serum uric acid^{*}

JING Hang¹, NIU Zhijie¹, LIU Ziyang¹, LING Xiaowu¹, LI Qingqing², WU Hongquan^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang, Guizhou 550002, China; 2. Department of Oncology, Shougang Shuigang General Hospital, Liupanshui, Guizhou 553000, China

Abstract: **Objective** To conduct the clinical study on the interference of etamsylate on the enzymatic method for detecting serum uric acid (UA). **Methods** Referring to the EP7-A2 document formulated by the American Society for Clinical and Laboratory Standardization (CLSI), the interference screening experiments and dose-response experiments were performed on the enzymatic method for detecting serum UA, and the effect of etamsylate on the enzymatic method for detecting serum UA was determined by the interference effect of etamsylate on different concentrations of UA detection. **Results** The interference screening experiment: the average value of the interference pairing test group was 207.33 μmol/L, the average value of the control sample was 496.86 μmol/L, the interference value 95% CI of the test sample was (-226.53±1.96) μmol/L. When the interference value (when the minimum lower limit value of interference value 95% CI was greater than the presupposed acceptable standard of the interference experiment, indicating that etamsylate had a serious interference to the enzymatic method for detecting UA. The dose effect experiment: low-value UA samples, the regression curve equation of interference effect $Y = -2.474e - 6X^3 + 0.0024X^2 - 0.777X - 3.614$ ($F = 1596.39, R^2 = 0.995, P < 0.001$), when the etamsylate level was above 29.84 mg/L, the interference value was higher than the acceptable standard of the interference experiment; for the high-value UA samples, the interference dose effect regression equation $Y = -3.175e - 6X^3 + 0.00333X^2 - 1.294X - 9.832$ ($F = 1582.615, R^2 = 0.996, P < 0.001$). When the etamsylate level was above 44.43 mg/L, the interference value was higher than the acceptable standard of the interference experiment. **Conclusion** Etamsylate has the negative interference on the enzymatic method for detecting serum UA. In the high and low concentrations of UA samples, the etamsylate level was <29.84 mg/L and <44.43 mg/L respectively, the negative interference

^{*} 基金项目:贵州省人民医院青年基金项目(GZSYQN201708)。

作者简介:井沆,男,主管技师,主要从事生化检验与免疫学研究。△ 通信作者, E-mail:502739962@qq.com。

degree does not exceed the acceptable standard of the interference experiment. The measures should be taken to avoid such interference in clinical work.

Key words: etamsylate; enzymatic method; serum uric acid; drug interference

尿酸(UA)是嘌呤核酸的代谢产物^[1-2],在肾功能治疗方面起着重要的作用。酚磺乙胺又名止血敏,通过加速血液凝固发挥止血作用^[3],临床工作中,发现有患者应用酚磺乙胺治疗后血清 UA 检测结果变化很大,与患者的临床表现有较大差异,有研究称酚磺乙胺对肌酐结果存在药物干扰^[4-5],而对 UA 可能存在干扰的具体研究尚未见报道。

本研究依据 CLSI EP7-A2^[6]和文献[7]推荐的干扰试验方法,通过体外干扰试验,探讨酚磺乙胺对酶法检测 UA 的干扰。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2019 年 10 月来贵州省人民医院就诊患者的新鲜血清,并配制低、高水平混合血清各一份。纳入标准:(1)未用药治疗的血清标本;(2)标本无黄疸、无脂血、无溶血;(3)UA 的测试水平为 EP7-A2 和指南建议的干扰试验水平。

1.2 仪器与试剂 美国雅培 C16000 全自动生化分析仪。酚磺乙胺注射液由国药集团容生制药有限公司提供,国药准字号为 H20057257,规格 0.5 g/2 mL。根据《中华人民共和国药典》^[8]及酚磺乙胺药代动力学特性^[9],本研究采用 0.5 g/L 酚磺乙胺的最高血药浓度。酶法 UA 检测试剂及配套校准品(美国雅培公司,批号 08465UN19)。试验前对检测仪器进行精密度评估,用试剂原装标准品对仪器项目进行校准并进行定期质控,观察检测方法的稳定性,室内质控品为美国伯乐公司(Bio-Rad)提供的生化多项质控物,两个水平,批号为 26421、26422。

1.3 方法

1.3.1 干扰筛选试验 (1)取酚磺乙胺注射液 1 瓶(250 g/L)与生理盐水按照 1:50 比例配置成酚磺乙胺水平为 5 g/L 的试验样品(原液),将 UA 水平为 500 $\mu\text{mol/L}$ 左右的混合血清与原液按照 9:1 的比例配制酚磺乙胺水平为 500 mg/L 的溶液,另用 UA 血清和生理盐水以同比例混合作为对照品,分析酚磺乙胺对酶法 UA 测定的干扰程度。(2)对生化仪进行 UA 校准、定期质控和精密度评估,观察检测方法的准确性。(3)按交互顺序分析检测样品和对照样品并记录试验结果。

1.3.2 干扰剂量效应试验 根据指南要求,被测 UA 试验水平的确定,宜选取被测量的 2 个医学决定水平作为干扰试验时的被测量水平。本试验依据 UA 参考范围的低限或病理水平,同时结合指南关于被测量 UA 的建议试验水平,选取 UA 值为 180 $\mu\text{mol/L}$ 、450 $\mu\text{mol/L}$ 作为剂量效应试验水平。

预稀释:取一支酚磺乙胺溶液,配置成药物水平

为 5 000.00、3 000.00、1 500.00、750.00、375.00、187.50、93.80、46.90、23.50、0.00 mg/L,一共 10 个水平。将高、低两种不同水平的 UA 混合血清与上述方法配制的不同水平的酚磺乙胺溶液按照 9:1 的比例配制上述酚磺乙胺水平梯度的溶液(试验组),对照组按上述步骤将酚磺乙胺注射液换成生理盐水,并按照相应比例将试验组与对照组样品分别配制成干扰物水平为 500.00、300.00、150.00、75.00、37.50、18.75、9.38、4.69、2.35、0.00 mg/L 的药物干扰剂量效应测试标本,每个标本重复检测 3 次^[10]。

1.3.3 重复测量 根据指南中基于生物学变异质量规范中允许总误差($T_{ea}\%$)和临床专家的共识,本研究选择以 UA 偏差 11.9%作为干扰试验的可接受标准(d_{max}),UA 批内标准差(s)通过标本重复测定 10 次计算得出,再计算出二者比值 d_{max}/s ,采用 95%置信区间(CI),根据 EP7-A2 文件附表得出干扰筛选试验的重复测量次数为 3 次。

1.3.4 干扰效应分析 干扰筛选试验:用试验样品与对照样品测定均值间的偏差(d_{abs})表示干扰效果,分别计算干扰值(d_{abs})和 d_{abs} 95%CI, d_{abs} 95%CI = $d_{abs} \pm t_{0.975, n-1} \times (2s^2/n)^{1/2}$ 。

干扰的判断标准:当 $|d_{abs}$ 95%CI 最低值| $\leq d_{max}$ 时,则可判断由被评价干扰物所致的偏差未超过允许误差,不认为此物质为干扰物,反之则认为被评价干扰物对被评价方法有明显干扰作用。

干扰剂量效应试验:将检测的不同水平的干扰物试验样品均值分别减去对照品均值得到单独的 d_{abs} 值,再用 SPSS 22.0 软件制作酚磺乙胺干扰物水平(X 轴)和单独的 d_{abs} (Y 轴)的散点图,再对数据进行回归分析曲线估计,选取相关系数 R^2 最高的曲线模型,绘制干扰剂量效应试验的效应图,并用软件算出干扰效应曲线的回归方程。

1.4 统计学处理 使用 SPSS22.0 统计软件进行数据统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。对干扰剂量效应试验中不同酚磺乙胺注射液水平及干扰值进行非线性回归分析。

2 结果

2.1 干扰筛选试验 根据 EP7-A2 文件附表, s 为 1.50, d_{max} 为 59.13 $\mu\text{mol/L}$, $d_{max}/s > 3$,故单个标本重复检测次数为 3 次,试验组(酚磺乙胺水平 50 mg/L)均值为 270.33 $\mu\text{mol/L}$,对照组均值为 496.86 $\mu\text{mol/L}$, d_{abs} = 试验组均值 - 对照组均值 = -226.53 $\mu\text{mol/L}$, d_{abs} 95%CI = (-226.53 $\pm$ 1.96) $\mu\text{mol/L}$, $|d_{abs}$ 95%CI 最低值| $> d_{max}$ 。

2.2 干扰剂量效应试验 酚磺乙胺水平在 0.00~

500.00 mg/L 所对应低、高 UA 样品的 d_{abs} 值见表 1, 干扰剂量效应回归曲线分析图见图 1、2。低值 UA (182.86 $\mu\text{mol/L}$) 样品, 用计算机得出干扰剂量效应回归方程显著性检验 $F=1\,596.39, R^2=0.995, P<0.001$, 酚磺乙胺药物浓度在 $<29.84\text{ mg/L}$ 时的 $|d_{abs}|<d_{max}$; 高值 UA (458.03 $\mu\text{mol/L}$) 样品, 干扰剂量效应回归方程显著性检验 $F=1\,582.615, R^2=0.996, P<0.001$, 酚磺乙胺在 $<44.43\text{ mg/L}$ 时 $|d_{abs}|<d_{max}$, 并且随着血中酚磺乙胺水平的升高, 血清 UA 的测定结果低于真实结果的程度越大。

表 1 高、低系列干扰剂量效应样品对应的 d_{abs} 值($\mu\text{mol/L}$)

酚磺乙胺水平 (mg/L)	低水平 UA 样品 d_{abs}			高水平 UA 样品 d_{abs}		
	重复 1 次	重复 2 次	重复 3 次	重复 1 次	重复 2 次	重复 3 次
2.35	-3.07	-1.53	-3.07	-6.11	-3.74	-7.28
4.69	-6.14	-4.99	-4.58	-8.47	-11.61	-15.94
9.38	-12.08	-9.59	-11.69	-18.3	-20.08	-23.62
18.75	-20.7	-17.63	-18.58	-34.64	-36.61	-38.58
37.50	-35.63	-31.23	-32.77	-61.41	-61.81	-65.54
75.00	-52.12	-49.63	-50.19	-97.24	-98.21	-101.56
150.00	-72.62	-69.37	-71.28	-125.58	-125.77	-124.99
300.00	-90.62	-88.71	-88.9	-188.93	-187.37	-189.74
500.00	-104.23	-102.51	-102.51	-221.71	-218.86	-221.04

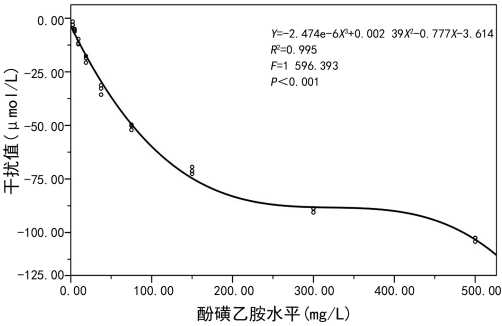


图 1 酚磺乙胺与低水平 UA 干扰剂量效应回归曲线

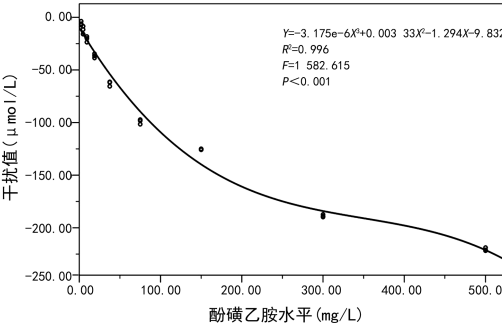


图 2 酚磺乙胺与高水平 UA 干扰剂量效应回归曲线

3 讨 论

不精密度、方法特异性偏差和干扰等都可造成患者检出值与真实值之间的偏差, 在本试验中, 选择的是雅培原装 UA 试剂, 该项目均全年参加国家卫生健

康委员会室间质评, 结果成绩优异, 本实验室为 ISO15189 认可实验室, 运行着一套完整且严格的质量管理体系, 故在本试验中样品的检测出值与真实值之间的差距为干扰物质所造成的。

药物干扰试验是用来衡量检测方法准确度的一个重要指标, 通过在反应过程中加入一定量的干扰药物, 来测试是否会对检测结果造成影响。干扰物质的水平不同, 造成的干扰结果也不同。本试验根据 EP7-A2 和文献[7]提供的方案来制订干扰筛选试验和干扰剂量效应试验。酚磺乙胺干扰剂量效应试验的药物浓度是依据其动力学特点尽可能选择药物进入人体后所能够达到的峰值水平, 模拟药物浓度在人体的相对浓度, 保证试验的真实性、准确性。干扰试验的临床可接受标准并无明确指标, 在 EP7-A2 文件和文献[7]中提出了一些参考的依据, 包括部分分析物的准确度要求、基于生物学变异的质量规范以及临床专家的意见等。本研究综合以上各因素确定选用基于生物学变异的质量规范中 $Tea\%$ 的期望值作为 d_{max} 。

本研究应用 EP7-A2 文件体外研究分析酚磺乙胺对 UA 项目的干扰, 它的试验思路是先进行干扰筛选试验, 在高浓度下判断药物是否会造成干扰, 在确定酚磺乙胺有干扰效应后, 可通过干扰剂量效应试验具体评估不同酚磺乙胺水平与干扰程度的关系。根据本次试验干扰筛选试验的结果 $|d_{abs}|95\%CI$ 最低值 $|>d_{max}|$, 说明酚磺乙胺对 UA 存在严重显著负干扰^[10]。本试验 UA 的反应原理为 UA 的测定应用 UA 酶法, UA 经 UA 酶氧化生成尿囊素, 同时生成过氧化氢(H_2O_2)。 H_2O_2 在过氧化物酶(POD)的作用下与 4-氨基安替比林(4-AAP)和 N-(3-磺丙基)-3-甲氧基-5-甲基苯胺(HMPS)反应生成一种琨亚胺染料, 604 nm 处吸收光度的改变与标本中 UA 的水平呈正比。查阅文献并结合 UA 酶法原理发现, 血清中的 UA 是在酶催化作用下生成 H_2O_2 , H_2O_2 又继续参与 Trinder 反应从而形成红色琨亚胺化合物, 最后进行比色得出结果^[11]。 H_2O_2 酶的特异性较低, 一些还原物质如维生素 C 和谷胱甘肽可与色原性物质竞争 H_2O_2 , 从而干扰氧化酶法的测定。而酚磺乙胺作为一种还原性物质, 能对最终通过氧化反应产生色度改变的检测项目产生负干扰。同时干扰剂量效应试验分析结果得出, 酚磺乙胺对酶法检测 UA 存在负干扰, 且药物浓度越高对检测结果的负干扰程度越大。在低、高水平 UA 样品中, 酚磺乙胺的水平分别在 $<29.84\text{ mg/L}$ 和 $<44.43\text{ mg/L}$ 时, 负干扰程度未超过干扰试验的 d_{max} 。

由酚磺乙胺药代动力学特性可知, 静脉注射后 1 h 血药浓度达到高峰, 作用持续 4~6 h, 平均峰值 300 mg/L, 血中半衰期为 5 h, 4 个半衰期排泄 93.75%^[12]。酚磺乙胺对 UA 能够产生干扰所需的最小浓度为血药峰值浓度的 9.95%~14.81%, 为尽量

避免其对检验结果的干扰,建议使用酚磺乙胺的患者检测 UA 时,应在用药至少 24 h 后进行抽血检测。对于肾功能代谢功能差的患者,可能需要更长时间关注酚磺乙胺药物对 UA 的干扰。

针对酚磺乙胺对检测 UA 所存在的干扰,肾功能不全患者用药后检测结果差异,建议服用酚磺乙胺患者的血清检测结果在临床评价时需加以高度警惕,当知道患者使用过酚磺乙胺以后,或者发现患者的 UA 结果与上次相比有明显下降的趋势,要考虑可能是药物影响检测结果,或采取另外的检测方法来进行复检,以便对患者肾功能做出正确、客观的评价。

参考文献

- [1] KOCAM M Z, AKTAS G, DUMAN T T, et al. Is Uric Acid elevation a random finding or a causative agent of diabetic nephropathy? [J]. Rev Assoc Med Bras (1992), 2019, 65(9):1155-1160.
- [2] 吴永耀, 费剑英, 高依依, 等. 高尿酸血症肾病患者 Cys-C、AIP、肾功能检测及其肾损害状况分析[J]. 现代实用医学, 2019, 31(8):1002-1004.
- [3] 袁景春. 维生素 K1、酚磺乙胺联合治疗新生儿凝血功能障碍的疗效观察[J/CD]. 实用妇科内分泌杂志(电子版), 2017, 4(21):32-33.
- [4] 叶竟妍, 周迎春, 朱晔, 等. 应用 EP7-A2 文件探讨酚磺乙胺对常用临床生化项目的体外干扰[J]. 临床和实验医学

杂志, 2013, 12(15):1235-1237.

- [5] 包国祥, 杨国灿, 谢海英. 紫外酶法和肌氨酸氧化酶法测定血清肌酐时对酚磺乙胺抗干扰性研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(1):64-67.
- [6] CLSI. Interference testing in clinical chemistry: Approved guideline-second edition: EP7-A2[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2005.
- [7] 王治国. 临床检验质量控制技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008:457-460.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2005 版[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005:470-471.
- [9] 徐建华, 何敏, 柯培锋, 等. CLSI EP7-A2 文件在临床化学分析干扰试验中的应用评价[J]. 检验医学, 2010, 25(12):971-974.
- [10] 余久如, 卢锦莲, 廖建红, 等. 高效液相色谱法检测慢性肾功能不全患者羟苯磺酸钙稳态血药浓度与 eGFR 及肌酐干扰值相关性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(4):62-66.
- [11] 段敏, 王薇, 赵海建, 等. 2018 年全国临床检验质量指标室间质量评价结果分析及初步质量规范的制定[J]. 临床检验杂志, 2018, 36(12):931-936.
- [12] 宋静芳, 潘本友, 伍贤鼎, 等. 羟苯磺酸钙对氧化酶法检测血清肌酐影响的临床研究[J]. 当代医学, 2019, 25(9):167-169.

(收稿日期:2020-01-22 修回日期:2020-06-26)

(上接第 2640 页)

- [2] SHAH A S, GHORMLI L E, VAJRARELU M E, et al. Heart rate variability and cardiac autonomic dysfunction: prevalence, risk factors, and relationship to arterial stiffness in the treatment options for type 2 diabetes in adolescents and youth (TODAY) study[J]. Diabetes Care, 2019, 42(11):2143-2150.
- [3] MASROOR S, BHATI P, VERMA S, et al. Heart rate variability following combined aerobic and resistance training in sedentary hypertensive women: a randomised control trial[J]. Indian Heart J, 2018, 70 Suppl 3: S28-S35.
- [4] MUDRIKOVA T, JURCOVA V, TOKARCIKOVA A, et al. Effect of bisoprolol on heart rate variability in patients with hyperthyroidism[J]. Vnitr Lek, 2000, 46(2):87-91.
- [5] 邓文, 徐彩霞, 王建国, 等. 不同第二代抗精神病药物对精神分裂症患者心率变异性影响[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2012, 38(11):680-682.
- [6] 邓达治. 精神压力分析系统对工作压力的评价意义[J]. 广西医学, 2011, 33(6):730-731.
- [7] 伍海林. 广泛性焦虑障碍及其共病抑郁的心率变异性研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2016.
- [8] STRATFORD T, MEARA A, PSYCHOTHERAPY M G, et al. Heart rate variability and the anxious client: car-

diac autonomic and behavioral associations with therapeutic alliance[J]. J Nerv Ment Dis, 2014, 202(8):613-619.

- [9] ZIMMERMANN-VIEHOFF F, KUEHL L K, DANKER-HOPFE H, et al. Antidepressants, autonomic function and mortality in patients with coronary heart disease: data from the heart and soul study[J]. Psychol Med, 2014, 44(14):2975-2984.
- [10] HENRY B L, MINASSIAN A, PAULUS M P, et al. Heart rate variability in bipolar mania and schizophrenia [J]. J Psychiatr Res, 2010, 44(3):168-176.
- [11] JOHNSON A K, GRIPPO A J. Sadness and broken hearts: neurohumoral mechanisms and co-morbidity of ischemic heart disease and psychological depression [J]. J Physiol Pharmacol, 2006, 57 Suppl 11: S5-S29.
- [12] CLAMOR A, LINCOLN T M, THAYER J F, et al. Resting vagal activity in schizophrenia: a meta-analysis of heart rate variability as a potential endophenotype[J]. Br J Psychiatry, 2016, 208(1):9-16.
- [13] 覃旭辉, 潘小美. 抗精神病类药物对精神分裂症患者心脏功能的影响及心脏超声结果分析[J]. 吉林医学, 2018, 39(5):895-897.

(收稿日期:2019-12-01 修回日期:2020-07-04)