

基质效应

王毓三(江苏省临床检验中心, 南京 210009)

早在临床检验手工操作年代, 人们经常发现有些检验项目的标准管与测定管的色泽和显色强度不一致, 影响测定结果的准确性。这种现象在当时的血清胆红素测定过程中表现最为明显, 因为那时所用的胆红素标准液常配制于有机溶剂(氯仿)中, 与血清中的胆红素所处的介质环境不相同。分析物之间的相互干扰, 血清钾钠的火焰光度计测定是一个典型离子。在血清钾钠的火焰光度计测定时, 要用钾钠混合标准液, 而且最好配制高中低几种浓度的混合标准液, 这是因为标本中钠离子(浓度)能增强钾离子的激发光, 这种效应称为相互激发, 使能量从激发态的钠原子转移到钾原子。这些是人们对基质效应的早期认识。

许多较精密的生化测定, 首先将被测物质从血清中提取出来, 再经适当的纯化处理, 然后与同样处理的标准物质进行比色测定, 例如, 血清胆固醇的正庚烷抽提, L-B 反应显色法等。经这样处理后, 到达显色反应步骤时测定管与标准管中的基质状态达到基本相同, 此时与显色试剂的反应特性也基本相同, 基质效应很小或没有, 因此测定准确性较高。

现代临床化学分析方法的一个显著特点是直接测定血清或血浆中的分析物, 不经分离与纯化, 测定技术简化, 但在一定程度上导致特异性下降, 分析误差增高。因此, 为了适应自动生化分析仪的发展, 需要采用血清直接测定的方法, 并应用校准血清作为标准。关键在于校准血清的基质状态, 一定要尽可能地接近于新鲜病人血清的基质状态, 不然会产生基质效应。有些测定项目或测定方法, 对基质效应敏感; 也有些测定项目或测定方法, 对基质效应不敏感。胆固醇酶法测定对基质效应很敏感, 可能与胆固醇酶法测定试剂中工具酶的不同来源有关。1984 年 Demacker 在观测了 20 种胆固醇酶法测定试剂盒后, 指出商业质控血清(特别是冻干品)均可能出现与新鲜病人血清不同的反应特性。另外, 在结合胆红素酶法测定中, 要使用人血清型二牛磺酸胆红素标准液, 若使用牛血清白蛋白配制的二牛磺酸胆红素标准液, 将产生一定的基质效应。在酶活性测定质量控制中(主要是酶质控物的来源)以及免疫化学

分析中, 普遍存在着基质效应, 影响测定结果的准确性。因此, 在临床化学分析中基质效应的干扰, 日益受到重视。

1 名词解释

1.1 基质(matrix) 基质一词来源于拉丁语 mater 和希腊语 meter, 意思是“母亲”或“子宫”, 指围绕在分析物周围的各种物质。Robert Rej 在“准确测定酶活性”一文中叙述“基质”是“分析物所存在的整个环境”, 即“反应溶液中除分析物以外所有的组分”。

1.2 基质效应(matrix effect) 基质效应是指“样本中除分析物以外, 所有其他成份所介导的分析误差”, 影响分析物定量测定的准确性。“基质效应”是一个很广泛的概念, 它几乎存在于所有样本中, 当你想要测定样本中任何一个分析物时, 都不可避免地要受到“周围物质”的影响。按 Robert Rej 的观察, 基质效应是来自于生物标本中未知的或性质不明的物质或特性(Properties, 如黏度, 表面张力, 蒸汽压, pH)所引起干扰。

对于临床实验室来说, 首要目的是要准确地测定病人标本。因此, 厂家在仪器与试剂的研制过程中和在方法学的选择过程中, 是以病人的新鲜血清标本作为“最佳”的检测对象。此时, 测定系统对新鲜血清标本而言不考虑基质效应, 也就是说, 认定该测定系统对新鲜血清标本的基质效应接近于零。当测定质控血清或校准品时, 由于质控血清和校准品是经过加工处理过的, 因此它的反应特性不同于新鲜血清标本的反应特性, 使测定结果出现偏差。这就是基质效应。这种由于基质效应引起测定结果的偏差又称为基质偏差(matrix bias)。

1.3 基质干扰(matrix interference) 干扰(interference, 来自古老的法语 interferir)是一种妨碍或阻碍的过程, 美国测试与材料学会(American Society of Testing and Material)的定义: 由于一种物质的存在, 影响另一种物质的准确测定。基质干扰主要指一些化学性质明确的物质(如胆红素, 血红蛋白, 维生素 C)所引起的基质效应, 称为基质干扰, 称这些物质为干扰物质。国际纯化学和应用化学联合会(International Union of Pure and Applied)定义: 不

能被详细说明原因的干扰,可用基质效应这一名词。于是,可认为基质效应是标本中分析物周围所有基质成分的集体干扰,并指出“基质干扰”与“基质效应”在概念上是难以绝对分清的。

1.4 Commutability (可通用性或可兼容性) Rej 在分析美国二十年来酶质量控制中酶质控物的适用性问题时,发现酶质控物不能满意地模拟病人血清所具的反应特性。Rej 首先引用“Commutability”一词去评价校准品和质控品所具的反应特性,是指用不同分析方法测定一种参考物或质控物时,其反应特性与病人标本的反应特性要有可比性,意思是校准品与临床标本之间的测定结果要具有可交换性(exchangeable, or convertible),该参考物可用作一种以上测定方法的标准。参考物、质控物和临床标本的反应行为(Behavior)只要有任何差异,都将造成测定结果的误差。

2 控制基质效应的途径

2.1 参考物(或质控物)的组成 检验科日常的主要测定物是病人新鲜血浆或血清,测定方法的最佳条件就是依据新鲜血浆或血清而建立的。所以,理想的质控血清应该和实验室所用的临床标本的反应特性相一致(如用新鲜的,非冻干血清、血浆或全血的参考品)。美国负责实验室准确度和标准化的老兵事务中心(Veterans Affairs Center for Laboratory Accuracy and Standardization)规定的胆固醇测定标准化是采用新鲜血清。Marcovina 等十分重视基质效应对 apoA I、B 测定的影响,经过一系列实验与调查后发现,新鲜血清与冻干血清的 apoA I 测定值一致,显示冻干对 apoA I 测定不产生基质效应,故 apoA I 参考血清以冻干形式提供。但冻干对 apoB 有极明显的影响(包括 apoB 分子结构在冻干时的变化),在不同原理的免疫法中,基质偏差高达-26%至+4%。所以,apoB 参考血清是液态冰冻保存。总之,经认可的校准品(或定值质控血清)的质量,必需具备临床新鲜标本的反应特性,这一点是非常重要的。

在酶的质量控制中,酶的参考品(血清)中所含酶的来源,最好是人源性的酶,或者所用酶的催化行为应接近于人血清中酶的催化行为。就是说参考品或质控物中酶的催化行为(behavior)与临床标本中酶的催化行为之间的差异越小,基质效应就越小,那么这种参考品或质控物的“可通用性或可兼容性”就越大。否则,就会出现测定误差。

2.2 方法学特异性 基质效应与分析方法缺乏特异性有关。特异性的 IFCC 定义:一种分析方法能单独地测定出目标分析物的能力。如果,分析方法的特异性差,那么基质中与目标分析物相似的一些物质也同时被测定出。病人血清标本有时也会遇到异常特性(Attribute, 属性或特性),例如,总蛋白浓度异常,药物,或浊度等。因此,对临床标本的处理和稀释必须仔细规定。

方法学不同对基质效应的敏感性不同。有些测定方法对基质效应不敏感;有些测定方法对基质效应很敏感,例如,胆固醇和胆红素测定,需要用人血清型校准液。最近 Doumas BT 报道用胆红素氧化酶测定结合胆红素时,一定要用人血清配制的校准液。使用人白蛋白配制的校准液,测定结果有差异;用牛白蛋白配制的校准液,测定结果差异更大。因此,在选择用于临床测定方法时,应选择那些对参考品的基质效应不敏感的方法,这对用参考品来评价准确度时尤为重要。

2.3 试剂成分 试剂成分中,工具酶的来源(微生物源性或动物源性),浓度和纯度等影响检测特异性和检测结果。以酶法测定胆固醇的试剂为例,不同来源的胆固醇酯酶(微生物源性和胰源性)对长链脂肪酸胆固醇酯的水解效率不一样,例如胆甾烯基花生四烯酸在动物源性血清中含量很高,而在人血清中含量很低,从而造成质控血清中或病人血清中胆固醇酯水解效率的差别。Wiebe 和 Bernet 发现一种微生物源性的胆固醇酯酶(Boehringer Mannheim Diagnostics)和动物胰源性的胆固醇酯酶(Dow Diagnostics)对胆固醇酯(包括胆甾烯基花生四烯酸)水解效率几乎相同。所以,若在参考物中添加的是非人源性胆固醇酯,用不同酶法试剂盒测定时可能会产生基质效应。

2.4 分析仪的性能 仪器的设计与分辨率也是造成基质效应的另一个重要因素。高性能高分辨率能在一定程度上排除基质效应的影响。仪器设计中与基质效应有关的因素有样品,样品空白,(酶活性测定)加热单元的稳定性,吸样系统的精确度,试剂/样品的携带污染,分光光度计分辨率,自动化程度及分析后数据处理方式等也是产生基质效应的重要因素。上述因素可以解释,为什么有些自动分析仪对参考物或质控物表现出较小的基质效应,而另一些自动分析仪则表现出较明显的基质效应。Naito 等人向 174 家获得认证的实验室发放了 5 份 CAP 胆

固醇质控物和 5 份新鲜血清(由 CDC 研究者用 Abell et al 总胆固醇测定参考方法确定靶值)对每个实验室的仪器进行同批 3 份测定,经统计分析后发现各仪器组之间的测定结果存在着一定偏差。

3 基质效应的检测与评价

通常认为测定新鲜(或冰冻)血清无基质效应,决定性方法和参考方法也无基质效应。参考方法和常规方法平行测定同一批新鲜血清时,两者测定结果一致,表示该项常规方法没有方法学误差;如有测定差异,表示常规方法存在“校准偏差”(Calibration bias)。参考方法和常规方法测定参考物或质控血清时,往往得不到一致的结果,这种偏差称调查偏差(survey bias),调查偏差与校准偏差之间的差数,属于基质效应产生的偏差:

基质效应 = 调查偏差 - 校准偏差

美国病理学家学会提出的“CAP 基质效应分析方案”,简要介绍如下:

【材料与方法】

1. 常规方法(可能存在基质效应)。
2. 参考方法或决定性方法(不存在基质效应)。
3. 5 份质控血清(分布在测定浓度范围内)。
4. 20 份新鲜病人血清(均匀地分布在测定浓度范围内)。

【操作】

1. 溶解质控血清。
2. 常规方法测定:将 5 份质控血清随机插入 20 份新鲜病人血清中,重复测定 3 次,每次测定前都要校准仪器。
3. 参考方法测定:测定 5 份质控血清和 20 份新鲜病人血清,重复测定 3 次,得出每份标本的靶值,此操作应与常规方法测定同时平行进行,避免标本因存放所引起的误差。
4. 将上述测定结果填入表 1。

【数据分析】

1. 计算方法:

(1) 计算出,用参考方法和常规方法平行测定新鲜病人血清时,产生的校准偏差。

(2) 计算出,用参考方法和常规方法测定质控血清时,产生的调查偏差。

(3) 基质效应(%) = 调查偏差(%) - 校准偏差(%)。

2. 作图分析:将 20 份新鲜病人血清和 5 份质控血清,用参考方法和常规方法的测定值(3 次测定

的平均数)作图分析,以常规方法的测定值为 Y 轴,以参考方法的测定值为 X 轴,从图中的回归线可以看出基质效应的影响。

(1) 参考方法测定值和常规方法测定值用不同符号表示。

(2) 质控血清的测定值分布在回归线的 95% 预测范围以外,表示这种质控血清有明显的基质效应。

(3) 现引用 NCCLS, 1998, EP14 - P, Evaluation of Matrix Effects; Proposed Guideline 文中的 2 幅图作为分析例子,说明如下:

表 1 测定结果

	对比方法 (参考方法)			被评价方法(常规方法)		
	# 1	# 2	# 3	# 1	# 2	# 3
质控血清# 1						
病人血清 1						
病人血清 2						
病人血清 3						
病人血清 4						
病人血清 5						
质控血清# 2						
病人血清 6						
病人血清 7						
病人血清 8						
病人血清 9						
病人血清 10						
质控血清# 3						
病人血清 11						
病人血清 12						
病人血清 13						
病人血清 14						
病人血清 15						
质控血清# 4						
病人血清 16						
病人血清 17						
病人血清 18						
病人血清 19						
病人血清 20						
质控血清# 5						

注解: 1. 分析物名称 2. 计量单位
3. 对比方法名称 4. 被评价方法名称

例 1: 校准血清(处理过的样品)显示基质效应,测定结果见表 2。

X 轴为对比方法(参考方法),Y 轴为被评价方法(常规方法),根据表 2 的数据,进行作图,结果见图 1。结论:校准血清(处理过的样品)显示基质效应。

例 2, 质控血清(处理过的样品)显示没有基质效应,测定结果见表 3。

表 2 测定结果

对比方法(参考方法)	被评价方法(常规方法)	
质控血清 # 1	229.6	252
新鲜病人血清 1	246.6	245
新鲜病人血清 2	194.9	195
新鲜病人血清 3	267.9	268
新鲜病人血清 4	279.3	281
新鲜病人血清 5	182.3	190
质控血清 # 2	161.7	188
新鲜病人血清 6	249.2	252
新鲜病人血清 7	115.5	116
新鲜病人血清 8	181.9	182
新鲜病人血清 9	219.1	218
新鲜病人血清 10	128.7	136
质控血清 # 3	240.8	265
新鲜病人血清 11	148.3	148
新鲜病人血清 12	230.2	230
新鲜病人血清 13	273.7	265
新鲜病人血清 14	159.9	161
新鲜病人血清 15	187.8	187
质控血清 # 4	149.2	173
新鲜病人血清 16	105.9	107
新鲜病人血清 17	176.4	176
新鲜病人血清 18	202.3	207
新鲜病人血清 19	210.0	211
新鲜病人血清 20	204.4	205
质控血清 # 5	179.5	197

分析物: 胆固醇; 单位: mg/dl; 表中数字为 3 次测定的均值

表 3 测定结果

对比方法(参考方法)	被评价方法(常规方法)	
质控血清 # 1	28.96	28.23
新鲜病人血清 1	27.77	26.9
新鲜病人血清 2	9.34	9.3
新鲜病人血清 3	28.13	28.27
新鲜病人血清 4	7.33	7.87
新鲜病人血清 5	27.6	26.77
质控血清 # 2	22.3	23.03
新鲜病人血清 6	25.27	25.63
新鲜病人血清 7	25.1	24.83
新鲜病人血清 8	9.6	10.5
新鲜病人血清 9	17.0	18.73
新鲜病人血清 10	24.97	24.4
质控血清 # 3	17.63	18.73
新鲜病人血清 11	22.3	22.73
新鲜病人血清 12	19.7	20.47
新鲜病人血清 13	19.2	19.93
新鲜病人血清 14	14.23	15.2
新鲜病人血清 15	18.5	19.73
质控血清 # 4	9.97	9.53
新鲜病人血清 16	14.67	15.23
新鲜病人血清 17	6.77	6.93
新鲜病人血清 18	14.83	15.13
新鲜病人血清 19	5.73	6.23
新鲜病人血清 20	14.03	16.37
质控血清 # 5	6.40	7.53

分析物: 水杨酸; 单位: mg/dl; 表中数字为 3 次测定的均值

法(常规方法), 根据表 3 的数据, 进行作图, 结果见图 2。结论: 校准血清(处理过的样品)显示没有基质效应。

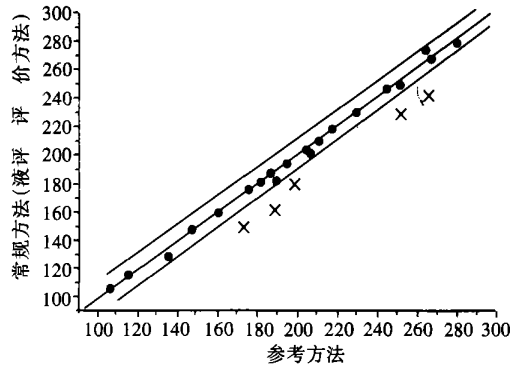


图 1 血清胆固醇测定评价图

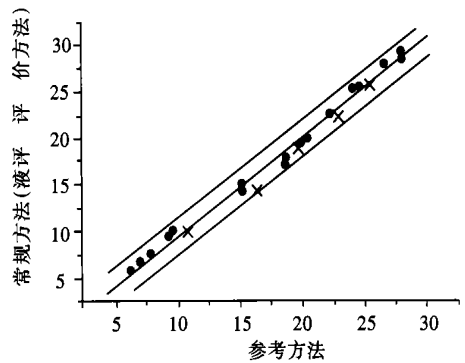


图 2 血清水杨酸测定评价图

【结束语】

1. 基质效应是用来说明参考物, 校准品或质控物对分析方法的反应特性与临床标本对分析方法的反应特性之间的差异。参考物或校准品经过决定性方法或参考方法定值后, 能否向一种以上常规方法传递“准确性”, 这与基质效应有关, 基质效应越小, 参考物或校准品的“可通用性或可兼容性”(Commutability) 就越大。

2. 基质效应是相对于病人新鲜标本的反应特性, 也相对于方法学的特异性、试剂质量和分析仪的先进性。

(收稿日期: 2002- 06- 18)

(本文编辑: 陈军)

本期主要作者简介



童明庆 1944年生,教授,研究员。《临床检验杂志》副主编,南京医科大学第一附属医院检验中心主任,临床检验诊断学硕士点学科带头人。中华医学会检验专业委员会常委、微生物专家委员会主任委员,江苏省医学会检验分会副主任委员,南京市检验分会主任委员,国家药品监督管理局药品审评专家。曾获江苏省政府科技进步三等奖2项、四等奖4项,江苏省卫生厅科技进步二等奖1项。主编著作4部,主译著作1部。发表科研论文数十篇。



王毓三 1934年生,浙江省黄岩县人,中共党员,《临床检验杂志》副主编,1959年毕业于南京医学院医学系,先后就职于扬州医专生化教研室、江苏医院检验科,1979年5月调入江苏省肿瘤防治研究所肿瘤生化研究室。1985年初受江苏省卫生厅委托组建江苏省临床检验中心,并任临床检验中心副主任(1985年~1995年)。1994年1月起享受国务院政府特殊津贴。社会兼职先后有:卫生部第四届药品审评委员会委员,中华医学会检验分会第四届委员会常务委员,江苏省医疗机构评审委员,江苏省血液质量管理委员会委员,中华医学会江苏分会检验学会第五届副主任委员,《全国临床检验操作规程》、《检验医师必读》第二主编,《临床检验信息导报》主编,国家药品监督管理局药品审评专家。主要从事临床生化检验及其方法学研究。公开发表学术论文40余篇,获卫生部科技进步三等奖1项。



许文荣 1963年生,副教授,硕士研究生导师,在读博士研究生,《临床检验杂志》副主编。现任江苏大学医学技术学院院长,检验医学研究所副所长,卫生部专业技术资格考试委员会委员,中华医学会检验学教学委员会委员,江苏省血液学实验诊断学会委员。近年发表学术论文30余篇,出版学术著作及全国教材10部。主持国家自然科学基金、省自然科学基金招标项目、省教育厅自然科学基金等资助的5项课题的研究,获省市成果奖三项。



顾可梁 1933年生,《临床检验杂志》常务编委。1956年毕业于江苏医学院,1963年调入检验科。原镇江医学院副院长、临床检验教研组主任、检验系主任、教授、主任医师。享受国务院特殊津贴。2002年中华医学会检验分会第五届委员会聘为血液学与体液学检验专家委员会成员。现为江苏大学医学检验技术学院检验系名誉主任,尿路结石研究室主任,德国生化学会国际会员。国内外发表论文数十篇,主编专著多部。



陈宏础 1933年生,曾任中华医学会检验分会第一至四届委员、常委,《中华医学检验杂志》第三、四届编委,四川省检验学会第三、四届主任委员,四川省临床检验中心顾问,重庆医科大学检验系副主任。现任重庆市检验学会名誉主任委员、重庆市临床检验中心顾问,《临床检验杂志》、《国外医学生物化学及检验分册》等五杂志编委、特约编委、国家药品监督管理局新药评审专家库成员、卫生部卫生专业资格考评委员会检验医学专业考试委员会顾问、第五届检验学会血液学与体液学检验专家委员会顾问,重庆医科大学医学检验系及附一院检验科教授,硕士研究生导师。享受国务院特殊津贴。从事临床生化及临床检验专业。无论在上海医学院和重庆医学院,长期在教学、科研及临床实验室第一线工作。两次获四川省政府科技进步三等奖。参加《全国临床检验操作规程》一、二版编写,担任高等医学院校统编教材《临床基础检验学》一、二版(人民卫生出版社)副主编,参编其他参考书7本,先后发表论文70余篇。



卢煜明 香港中文大学化学病理系教授,南京医科大学客座教授。曾就读剑桥大学和牛津大学,并获得医学博士(MD)和哲学博士(PhD)学位。现任英国皇家内科学院和病理学院院士,并担任香港临床化学学会会长和《临床化学》(Clinical Chemistry)编委,《临床检验杂志》特约编委。在血浆(血清)DNA研究方面,卓有成就,做了大量开拓性工作。在国际性学术期刊上发表论著100多篇。