

甘露糖用於血糖保存的評估

林世傑 劉嘉斌

血糖測定時常使用保存劑來延緩葡萄糖的分解，以減少測定前之誤差；其中尤其以氟化鈉最常使用，但其抑制糖解反應的速度較慢，且會影響血液中其他成份，故此檢體保存劑只能供血糖測定用。甘露糖是最近被發現的另一種保存劑，我們使用自動生化分析儀ASTRA IDEAL葡萄糖氧化酶的方法來比較它們的效果，發現甘露糖抑制糖解反應的速度較氟化鈉快，效果較佳；而且對血液中其他生化成份除肌酸激酶（CK）會下降外，沒有明顯的影響。故建議生化實驗室使用甘露糖取代氟化鈉，可同時用於血糖及其他生化成份的測定。

Key words: sodium fluoride, D-mannose, glycolysis, blood glucose determination

（中山醫學 3: 1~6, 1992）

血液中葡萄糖（血糖）的定量是臨床生化學重要的例行檢查之一。而因為血液細胞的糖解（glycolysis）反應，會使檢體中的葡萄糖濃度隨時間而逐漸降低⁽¹⁻⁵⁾，所以測定血糖須立即操作不可耽誤⁽⁶⁾；但臨床上常不易立即測定，於是有多種檢體保存法被使用，例如將血液檢體置於冰水浴中⁽⁷⁾或加入碘醋酸鈉（sodium iodoacetate）^(1,4,8)或加入氟化鈉（NaF）^(1,4,9-13)都可降低葡萄糖的分解速率。其中尤其氟化鈉最廣為使用，但氟離子抑制糖解反應的速度較慢⁽¹⁴⁾，且會影響部份生化例行檢查^(14,15)。

最近有人報告甘露糖（D-mannose）保存血糖的效果比其他方法好，能單獨加入血液檢體使用或與他種抗凝劑合併使用，且不會對大多數的生化檢查造成干擾⁽¹⁴⁾；但甘露糖含葡萄糖，會使血糖測定值增高^(16,17)，於是分析其葡萄糖含量及對檢體的影響。再比較其抗糖解反應的效果，並進一步探討甘露糖對其他例行生化檢查的影響。

材料與方法

一、甘露糖內葡萄糖含量之測定：

甘露糖（D-mannose, Sigma Co.）以去離子水配製0~100 g/L的連續濃度，利用ASTRA IDEAL（Beckman Co.）葡萄糖氧化酶的方法測定葡萄糖，再計算出甘露糖內葡萄糖含量之百分比。

二、池血漿添加不同濃度甘露糖對葡萄糖測定值的影響：

收集新鮮的肝素血漿，各加入0, 3, 6, 9, 12, 15 g/L的甘露糖後，以同法測定葡萄糖，即可知臨床檢體中甘露糖濃度造成葡萄糖測定值增加的量。

三、池血漿加入甘露糖後因時間造成葡萄糖測定值之變異：

收集二支池血漿，加入甘露糖使最終濃度為3.0 g/L，分別在0, 1, 2, 3, 4小時測定其葡萄糖濃度，計算出變異係數（C.V.），以觀察加入甘露糖血漿是否仍有糖解反應存在。

四、抗糖解反應的比較：

從12名自願的實驗室工作者抽血，分別裝入含肝素 (Monoject Lot No. 11431)、氟化鈉 (Greiner內含K₂EDTA, cat No. 103186) 和甘露糖 (在Monoject 肝素試管加入甘露糖使其最終濃度為3.0g/L) 的三種試管內，混合均勻後，放於室溫環境下，分別在0, 1, 2, 3, 4小時取出部份血液離心，取得血漿，立即以ASTRA IDEAL測葡萄糖濃度，便可比較這三種血液葡萄糖值在不同時間的變化。

五、血中生化成份在添加和不添加甘露糖之相關性：

從前面12人檢體的肝素試管和甘露糖試管各取2ml血液放入另兩組試管，在室溫放置兩小時，待血液內成份穩定後離心取血漿，以ASTRA IDEAL測定BUN, Na, K, Cl, Creatinine, GGT, ALT, AST, ALP, LDH, CK, Amylase, Ca, Total Bilirubin, Direct Bilirubin, Albumin, Total Protein, Phosphorus, Triglyceride, Cholesterol和Uric Acid等21項生化試驗，然後計算這兩種檢體間的迴歸分析和相關係數。

表1. 甘露糖內葡萄糖含量之測定

甘露糖濃度 (g/L)	0	2.5	5.0	10.0	20.0	40.0	60.0	80.0	100.0
葡萄糖測定值(mg/dl)	2.0	5.0	7.0	11.0	16.0	29.0	43.0	57.0	71.0
葡萄糖含量 (%)	0	2.0	1.4	1.1	0.8	0.7	0.7	0.7	0.7

表2. 池血漿添加不同濃度甘露糖對葡萄糖測定值之影響

甘露糖濃度 (g/L)	0	3.0	6.0	9.0	12.0	15.0
葡萄糖測定值 (mg/dl)	98.0	100.0	102.0	104.0	106.0	109.0

表3. 兩支池血漿加入甘露糖後因時間造成葡萄糖測定值之變異

	1	2
總和	646.0	584.0
平均值 (Mean)	129.2	116.8
標準偏差 (Mean)	2.2	0.8
變異係數 (CV, %)	1.7	0.7

結 果

甘露糖所含葡萄糖的量約為0.7% (表1)。而以3.0g/L的甘露糖及其2, 3, 4, 5倍濃度添加到同一池血漿檢體，測得每增加3.0g/L的甘露糖會使葡萄糖測定值增加約2mg/dl (表2) 此結果可用於當送檢血液量不足導致甘露糖濃度增高時所造成陽性干擾之扣除。

兩支含甘露糖池血漿在不同時間測定葡萄糖濃度 (表3)，由變異係數得知並無明顯變化，表示血球與血漿分離後糖解反應不再進行，血漿葡萄糖維持穩定狀態；所以血漿適於保存以備再核對 (recheck) 使用。

以含肝素血液糖解反應速度當指標，在比較目前最常用的血糖保存劑——氟化鈉和甘露糖間的差異；竟然發現氟化鈉在0~1小時並無抗糖解的作用，而在1小時後才顯出其作用。而甘露糖不僅作用較早，且效果也較佳 (圖1)。

血液在添加甘露糖後，除CK活性稍有降低外，其他生化項目並無明顯改變 (表5)，而添加前後之相關係數都在0.84以上，可見相關性良好。

討 論

甘露糖濃度在2.5, 5, 10和100 g/L時，葡萄糖測定值為5, 7, 11和71mg/dl，由於71mg/dl在本法之線性較佳，且甘露糖濃度在40 g/L以上時，測定值皆佔甘露糖的0.7%，可知甘露糖內所含葡萄糖的量約0.7%；而

表4. 血液葡萄糖濃度之變化

血液添加物	Heparin				NaF (+ EDTA)				Mannose (+ Heparin)						
	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
1	110	106	97	91	76	110	96	101	93	91	113	112	108	107	95
2	115	111	103	97	88	114	111	106	107	99	118	116	111	112	101
3	107	102	92	85	73	108	103	99	100	91	109	110	102	111	95
4	98	95	84	77	67	99	94	89	90	82	103	102	96	97	87
5	100	94	85	77	67	99	94	88	90	82	102	100	97	96	88
6	106	100	92	88	71	104	104	97	99	84	108	110	106	100	89
7	113	106	96	90	72	111	104	99	102	86	116	114	113	109	94
8	102	96	87	86	72	100	96	93	95	80	104	103	100	98	84
9	94	94	85	80	66	97	94	88	90	78	101	99	97	98	82
10	106	104	95	85	66	111	108	103	107	92	112	114	110	105	91
11	94	91	85	78	60	96	93	86	90	74	99	98	96	94	82
12	114	108	100	95	75	112	108	103	98	90	111	112	103	97	96
平均值 (Mean)	104.9	100.6	91.8	85.8	71.1	105.1	100.4	96.0	96.8	85.8	108.0	107.5	103.3	101.2	90.3
下降程度 (%)	0	-4.1	-12.6	-18.3	-32.3	0	-4.3	-9.3	-7.9	-18.4	0	-0.5	-4.4	-6.3	-16.4

Ho⁽¹⁶⁾等指出以氣體色層分析法測得Sigma出品之甘露糖受葡萄糖污染比率小於0.1%，比本法為低，可能是方法不同所造成的差異。而以池血漿實際測定時，原來葡萄糖值為98mg/dl；添加3 g/L甘露糖後，葡萄糖值升至100 mg/dl。以後甘露糖每增加3 g/L，葡萄糖約增加2 mg/dl。若予換算則與前面之0.7%葡萄糖含量相當，可資佐證。

在臨床上偶爾遇到申請葡萄糖定量的檢體較少⁽¹⁸⁾，例如只有要求檢體量的1/3，此時會使保存劑的濃度提高3倍，這種情形可以表2加以換算扣除，以消除保存劑本身造成的陽性干擾。

Blick和Liles⁽¹⁹⁾指出將血液細胞與血清分離後，血清便不會有糖解反應發生；於是我們在兩支池血漿加入甘露糖後，在不同時間比較其葡萄糖值，得知其變異係數為1.7%和0.7%，較本法測葡萄糖之變異係數(<3%)還小，可見含甘露糖血漿於室溫放置4小時後，其葡萄糖濃度沒有明顯的改變。

在加了肝素、氟化鈉和甘露糖的三種血液在0小時之葡萄糖濃度分別為104.9，105.1和108.0 mg/dl，可見甘露糖使葡萄糖值增加3 mg/dl；而在1小時肝素和氟化鈉之血糖值相近，可見在第1小時氟化鈉沒有抗糖解作用，此與Liss和Bechtel⁽²⁰⁾的發現相同，而甘露糖則有明顯的效果。另外氟化鈉在第3小時的血糖平均值較第2小時略高，原因不明，有待進一步研究。再從下降程度來看，在第4小時肝素、氟化鈉和甘露糖分別下降了32.3%，18.4%和16.4%，也就是平均每小時下降了8.1%，4.6%和4.1%，可見甘露糖效果比氟化鈉要好。若單看甘露糖對保存血糖的效果而言，在0~3小時內血糖變動不大，但3~4小時間則急遽下降；故建議若使用甘露糖來當血糖保存劑時，最好在3小時內測定完畢，以降低誤差。

血液中生化成份在添加和不添加甘露糖所得的平均值方面。僅CK由未添加的119.6 IU/L降到添加的103.6 IU/L，下降了13.4%，有較明顯的差異；這與Nakashima⁽⁴⁾等人的發現相同，但因其相關係數達0.992，故吾人認為可用迴歸方程式加以換算其測定值即可於臨床使用。另外在Direct Bilirubin項目，因為12人的健康良好，其濃度皆為0；但其Total Bilirubin之相關係數達0.9851，可視為相關良好。其他項目的相關係數除了Na, Cl, Ca三項

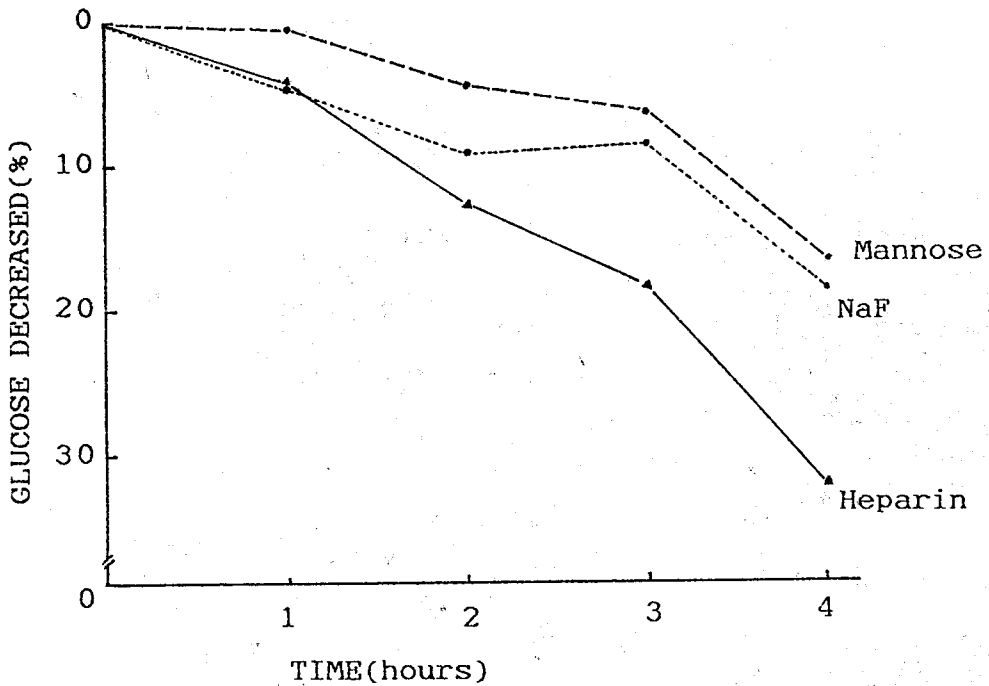


圖1. 血液葡萄糖濃度與時間之關係

表5. 血漿中生化成份在添加 (y) 和不加 (x) 甘露糖之迴歸及相關係數

	\bar{x}	\bar{y}	y-intercept	Slope	r
BUN	14.6	14.8	0.3478 mg/dl	0.9876	0.9928
Na	140.3	141.0	23.9033 mmol/L	0.8343	0.8478
K	3.82	3.90	0.2547 mmol/L	0.9551	0.9532
Cl	106.0	106.4	-5.2619 mmol/L	1.0536	0.8765
creatinine	0.79	0.85	0.1351 mg/dl	0.9030	0.9399
GGT	22.0	23.0	1.0893 IU/L	1.0111	0.9892
ALT	33.1	32.8	0.9848 IU/L	0.9627	0.9951
AST	34.5	31.8	2.7320 IU/L	0.8435	0.9171
ALP	71.2	69.2	1.3053 IU/L	0.9536	0.9867
LDH	399.8	405.4	399.7500 IU/L	1.0960	0.9694
CK	119.6	103.6	-1.2164 IU/L	0.8764	0.9992
Amylase	63.8	65.8	3.5247 U/L	0.9761	0.9931
Ca	9.2	9.3	3.8607 mg/dl	0.5925	0.8471
Total Bilirubin	0.84	0.78	0.0010 mg/dl	0.9196	0.9851
Albumin	4.68	4.70	-0.8110 g/dl	1.1770	0.9848
Total Protein	7.32	7.46	0.0967 g/dl	1.0062	0.9825
Phosphorus	3.67	3.65	-0.1104 mg/dl	1.0256	0.9965
Triglyceride	141.3	138.2	-3.0907 mg/dl	0.9995	0.9982
Cholesterol	177.8	180.0	-3.7795 mg/dl	1.0334	0.9942
Uric Acid	5.20	5.13	0.1711 mg/dl	0.9543	0.9942

在0.84以上，剩下的項目更高達0.91以上，顯示這兩種檢體的生化成份相關性良好，亦即可用含甘露糖的血液檢體取代只含肝素的血液。

總之，甘露糖抗糖解反應的效果較氟化鈉好，且檢體可同時用來測定其他的生化檢查項目，免除目前測定血糖須另抽一支含氟化鈉血液的麻煩。

誌 謝

本文承蒙藥理學科林瑞生主任，附設醫院檢驗科生化組長江蕙玲及科內同仁之協助得以順利完成，謹此致謝。

參考文獻

- Bueding E, Goldfarb W: The effect of sodium fluoride and sodium iodoacetate on glycolysis in human blood. *J. Biol Chem* 1942; 141: 539-44.
- Weissman M, Klein B: Evaluation of glucose determinations in untreated serum samples. *Clin Chem* 1958; 4: 420-2.
- Ruiter J, Weinberg F, Morrison A: The stability of glucose in serum. *Clin Chem* 1963; 9: 356-9.
- Overfield CV, Savory J, Heintages MG: Glycolysis: a reevaluation of the effect on blood glucose. *Clin chem Acta* 1972; 39: 35-40.
- Meites S, Saniel-Banrey K: Preservation, distribution and assay of glucose in blood, with special reference to the new born. *Clin Chem* 1979; 25: 531-4.
- Tietz NW: *Fundamentals of Clinical Chemistry*. Ed1. Philadelphia: WB Saunders, 1976: 242-51.
- Lin YL, Smith CH, Dietzler DN: Stabilization of blood glucose by cooling with ice: an effective procedure for preservation of samples from adults and newborns. *Clin Chem* 1976; 22: 2031-3.
- Marabach EP, McLean MH, Scharn M et al: Preservation of blood glucose. Serum, fluoride or iodoacetate? *Clin Chem* 1974; 20: 876.
- Dietzler DN, Smith CH: Carbohydrates. In Sonnenwirth AC, Jarett L (Eds): *Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis*. Ed8 St. Louis, CV Mosby, 1980: 210-49.
- Alberti KGMM: Diagnostic tools for diabetes mellitus. In Krall LP, Albert KGMM, Turtle JR (Eds): *World Book of Diabetes in Practice*. vol. 3 New York: Elsevier Science, 1988: 12-5.
- Chan AYW, Swaminathan R, Cockram CS: Effectiveness of sodium fluoride as a preservative of glucose in blood. *Clin Chem* 1989; 35: 315-7.
- Chan AYW, Ho CS, Cockram CS et al: Handling of blood specimen for glucose analysis. *J Clin Chem Clin Biochem* 1990; 28: 185-6.
- Howanitz PJ, Howanitz JH, Henry JB: Carbohydrates. In Henry JB (Ed): *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. Ed18 Philadelphia, WB Saunders, 1991: 175-83.
- Nakashima K, Takei H, Nasu Y et al: D-mannose as a preservative of glucose in blood samples. *Clin Chem* 1987; 33: 708-10.
- Young DS, Thomas DW, Friedmann RB et al: Effects of drug on clinical laboratory test. *Clin Chem* 1972; 18: 1041-2.
- Ho CS, Fung SL, Chan AYW: Interference of D-mannose in glucose measurements by glucose oxidase and hexokinase method. *Clin Chem* 1991; 37: 477.
- Passey RB, Gillum RL, Fuller JB et

- al: Evaluation and comparison of 10 glucose methods and the reference method recommended in the proposed product class standard (1974). [Selected Method] Clin Chem 1977; 23: 131-9.
18. van Dijck P, Lievens MM: Interference of D-mannose, antglycolytic agent, in glucose determinations. Clin Chem 1991; 37: 1308-9.
19. Blick KE, Liles SM: Principles of Clinical Chemistry. Ed1 New York: Wiley Medical, 1985: 201-5.
20. Liss E, Bechtel S: Improvement of glucose preservation in blood samples. J Clin Chem Clin Biochem 1990; 28: 689-90.

Evaluation of D-mannose as a Preservative of Glucose in Blood

Shyh-Jye Lin Chia-Bin Liu

Presservation of blood glucose to delay glycolysis for minimizing preanalytical error is very important in glucose determination. Sodium fluoride, used widely as a preservative, works too slowly, and will interfere certain other blood constituents. As recently shown, D-mannose is a new preservative. Thus we used a glucose oxidase method (in ASTRA IDEAL) to measure blood glucose to compare the effectiveness of sodium fluoride and D-man

nose. We found that D-mannose works faster than sodium fluoride in anti-glycolysis. The added D-mannose didn't interfere certain blood constituents, except for creatine kinase, which showed lower activity but could be corrected by using linear regression. Therefore, we recommend clinical chemistry laboratory using D-mannose instead of sodium fluoride to perform blood glucose and other biochemistry tests.

(CSMJ 3: 1~6, 1992)