

对不同乙肝标志物阳性模式的结果进行了比较分析:“HBsAg(+), HBeAg(+), HBeAb(+)”、“HBsAg(+), HBeAb(+), HBeAb(+)”、“HBsAg(+), HBeAg(+), HBeAb(+)”、“HBsAg(+), HBeAb(+), HBeAb(+)”、“HBsAb(+), HBeAb(+), HBeAb(+)”、“HBeAb(+), HBeAb(+), HBeAb(+)”等阳性模式的检出例数分别为 57、107、10、17、25、27 例。其中“HBsAg(+), HBeAg(+), HBeAb(+)”、“HBsAg(+), HBeAg(+), HBeAb(+)”阳性模式的 HBV DNA 阳性检出率分别为 98.2% 和 100%, HBV DNA 水平明显高于其他模式, 与其他阳性模式组相比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。

3 讨论

FQ-PCR 法检测不同临床类型的乙肝患者的血清中乙型肝炎病毒, 其 HBV DNA 阳性病例中体内乙肝水平(对数值)急性乙型肝炎、肝硬化、肝癌与慢性乙型肝炎比较具有显著性差异。HBV DNA 阳性率急性乙型肝炎较高, 与体内乙肝病毒复制活跃有关。

乙肝血清标志物作为临床病原学诊断的重要依据, 其中大三阳“HBsAg(+), HBeAg(+), HBeAb(+)”提示患者体内乙肝病毒复制活跃, 传染性强, 该模式的 HBV DNA 检出率为 98.2%, 水平显著高于其他模式, 略低于文献报告值^[1], 可能与某患者使用抗病毒药物治疗有关。小三阳“HBsAg(+), HBeAb(+), HBeAb(+)”患者的 HBV DNA 检测的阳性率为 66.4%, 体内 HBVDNA 水平显著低于大三阳模式及 1.3 阳性模式, 但高于其他模式。一般情况下, HBeAb(+) 表明 HBV 复制处于较低水平, 并可能与宿主 DNA 发生整合, 导致水平降低^[2], 故“HBsAg(+), HBeAb(+), HBeAb(+)”无法直接判断体内 HBV DNA 复制水平, 应进行 HBVDNA 的定量检测。

e 抗原阳性和阴性的 HBV 感染者相比, 体内 HBV DNA

• 临床研究 •

样本收集和保存对降钙素原检测结果的影响

荀新菊¹, 赵勇^{2△}, 荀春华³

(1. 江西省九江县港口中心医院内科, 江西九江 332105; 2. 九江学院基础医学院, 江西九江 332000; 3. 九江学院附属医院检验科, 江西九江 332000)

摘要:目的 研究样本收集和保存对降钙素原(PCT)检测结果的影响, 从而评估 PCT 在样本中的稳定性。方法 抽取严重全身细菌感染或脓毒血症患者血液, 同时注入 3 种真空采血管分别为血清管、含有 EDTA 或枸橼酸钠血浆管。分别在样本收集和保存后的 2 h 之内、4 °C 保存 24、48 及 72 h, 采用罗氏 cobase411 电化学发光仪检测 PCT 水平。结果 研究显示抽血 2 h 内 PCT 在血清中水平比血浆高; 当血清/血浆分离后 4 °C 保存, 72 h 内 PCT 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$); 4 °C 保存全血, 48 h 和 72 h 血清 PCT 水平低于 2 h, 而血浆 72 h 内差异仍无统计学意义($P > 0.05$); PCT 在血浆或血清中具有强烈的相关性。结论 血液抽取后 2 h 内分离血清/血浆 4 °C 可保存 72 h, 如 24 h 内检测 PCT 可不分离血清。

关键词:降钙素原; 样本收集; 电化学发光; 罗氏 cobase411

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.12.058

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)12-1774-03

血液生化标志物常常作为流行病学研究的样本^[1], 而收集管类型及样本保存条件对一些检测项目是非常重要的^[2-3], 使用一些抗凝剂如枸橼酸钠或 EDTA 对有些结果会有一定的影响^[4], 抗凝剂的使用会引起一些蛋白-蛋白之间的交叉反应及稳定性^[5]。目前, 样本收集是否对降钙素原(PCT)有影响尚未见报道。试剂商通常建议免疫分析采用 EDTA 抗凝血浆或血

水平差异有统计学意义($P < 0.05$)。但 e 抗原阴性不能排除 HBVDNA 的复制, 因为当 HBV 前 C 区发生基因突变时, 这种突变导致不能产生 HBeAg, 但病毒本身仍在复制^[3]。HBV 前 C 区变异与乙型肝炎慢性化、慢性肝炎活动加剧、重型肝炎和肝癌有关。因此 e 抗原阳性不能作为传染性的唯一指标。由于 FQ-PCR 可以定量地检测 HBVDNA, 且具有较高的灵敏度, 故适合乙肝的早期诊断。

HBV DNA 作为乙肝病毒感染的分子生物学指标, 可以反映体内病毒的复制。常规定性 PCR 由于本身方法学的缺陷以及实验室人员的水平, 实验室的条件限制, 易出现假阳性和假阴性, 导致灵敏度和特异度的降低。而 FQ-PCR 由于融汇了 PCR 和 DNA 探针杂交技术, 通过探测 PCR 过程中荧光信号的变化和 PCR 反应的酶动力学特点, 进行 HBV DNA 的定量检测, 可以了解乙肝病毒血症的消长规律。同时, FQ-PCR 由于采用荧光技术和闭管检测, 完全克服了常规 PCR 方法不能准确定量和产物间的交叉污染。对乙型肝炎的早期临床诊断、病情评估、疗效观察、预后判断和新药验证都具有十分重要的意义。

参考文献

- [1] 何英, 卢道英. PCR 方法检测 HBV DNA 与 ELISA 检测 HBV-M 的对比分析[J]. 上海医学检验杂志, 1998, 13(3): 147.
- [2] 郝飞, 李梦东. 聚合酶链反应检测 HBV DNA 的意义[J]. 临床肝胆杂志, 1992, 8(3): 116.
- [3] 吕娇健, 孙慧伶. 乙型肝炎病毒 DNA 含量与血清标志物的关系[J]. 上海医学检验杂志, 2001, 16(6): 338.

(收稿日期: 2015-03-15)

清检测 PCT, 然而, 参考区间并没有依据样本类型而建立。本文研究不同介质(加有促凝剂或 EDTA 和枸橼酸钠抗凝剂)对严重全身细菌感染或脓毒血症患者 PCT 检测的影响, 另外, 分析血清/血浆或全血保存于 4 °C 对血清或血浆 PCT 稳定性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 为了分析样本收集对 PCT 检测的影响, 研究

者将 20 例严重全身细菌感染或脓毒血症患者纳入研究对象^[6-8]。

1.2 方法 血液同时注入 3 种试管,含有促凝剂的血清管、含有 EDTA 及枸橼酸钠的血浆管。血清/血浆 PCT 检测 4 次;2 h 内的新鲜样本;分离到 EP 管的血清/血浆或未分离的血液 4 °C 保存 24、48 和 72 h。

1.3 血清/血浆 PCT 检测 血清/血浆 PCT 采用电化学发光仪 Roche cobase411 检测。参考区间小于 0.046 ng/mL;线性范围 0.02~100 ng/mL。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行配对样本 *t* 检验、Pearson 秩相关分析,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

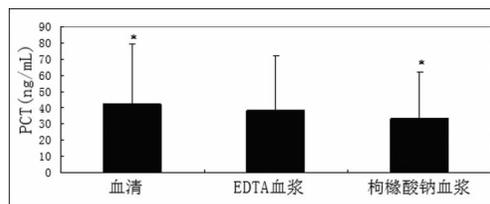
2 结果

2.1 PCT 水平比较 配对样本 *t* 检验显示抽血后 2 h 内, PCT 在血清中水平高于 EDTA ($t = 5.997, P = 0.000 < 0.05$) 和枸橼酸钠血浆 ($t = 5.611, P = 0.000 < 0.05$),且 EDTA 管血浆 PCT 明显高于枸橼酸钠管 ($t = 4.026, P = 0.001 < 0.05$),见图 1。

2.2 血清/血浆中 PCT 稳定性 为了阐明 PCT 在 3 种介质中的稳定性,血清/血浆分离到 EP 管中保存于 4 °C 冰箱。血液抽取后 24、48 和 72 h 分别进行 PCT 检测。配对样本 *t* 检验

显示与新鲜样本相比, PCT 在 24、48 及 72 h 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),提示 PCT 在分离的血清/血浆中至少可稳定 72 h,见表 1。

2.3 PCT 在全血中的稳定性 血液保存于 4 °C 冰箱,分别在抽血后 24、48 和 72 h 分离血清/血浆进行 PCT 检测。血清中,配对样本 *t* 检验显示 PCT 在 48 h 和 72 h 明显低于新鲜样本 ($t = -2.578, P = 0.018 < 0.05; t = -3.475, P = 0.003 < 0.05$),而与 24 h 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),提示其在未分离的血清管中 4 °C 可保存 24 h;而在 EDTA 或枸橼酸钠血浆中 24、48 和 72 h 均与新鲜样本比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),提示其在 EDTA 或枸橼酸钠血浆管中至少可稳定 72 h,见表 1。



*: $P < 0.05$,与 EDTA 血浆 PCT 水平比较。

图 1 抽血后 2 h 内各项 PCT 水平比较

表 1 各项 PCT 稳定性比较 (ng/mL)

项目	新鲜样本	24 h	48 h	72 h
及时分离的血清	42.22 ± 34.78	42.3 ± 35.32	41.98 ± 35.4	41.71 34.86
未及时分离的血清	—	41.37 ± 35.03	40.81 ± 34.92*	40.31 34.11*
及时分离的 EDTA 血浆	38.52 ± 33.20	38.68 ± 33.34	38.82 ± 33.16	38.58 ± 33.29
未及时分离的 EDTA 血浆	—	38.52 ± 33.20	39.24 ± 33.74	38.09 ± 32.92
及时分离的枸橼酸钠血浆	33.11 ± 28.07	33.76 ± 28.82	33.57 ± 28.63	35.00 ± 31.02
未及时分离的枸橼酸钠血浆	—	33.62 ± 29.76	34.47 ± 30.38	33.96 ± 30.10

*: $P < 0.05$,与新鲜样本比较。—:无数据。

2.4 相关分析 标准血清分离管和 EDTA 试管是厂家推荐的采集管,因此,研究者仅对血清和 EDTA 进行线性回归分析,研究显示 PCT 在血清和 EDTA 血浆中有明显的相关性,无论是先分离血清/血浆后 4 °C 保存还是先 4 °C 保存后分离血清/血浆的样本,见图 2(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

3 讨论

严重全身细菌感染 PCT 水平急剧增高,目前,PCT 作为脓毒血症早期炎症标志物之一^[9],不同的方法被用于进行 PCT 检测,如蛋白芯片技术,液相色谱和化学发光分析^[10-14],电化学发光法检测 PCT 是目前广泛采用的方法^[15]。厂家建议 PCT 在血清中稳定 8 h、血浆中稳定 24 h,且参考范围没有根据样本类型不同而设定。研究显示 PCT 水平在不同的介质中检测的数值是不同的,由此推测样本类型不同其参考范围可能不同。血清中 PCT 高于血浆提示检测血清比检测血浆更敏感;为了阐明 PCT 在 3 种介质中的稳定性,血清/血浆分离到 EP 管中保存于 4 °C 冰箱。血液抽取后 24、48 和 72 h 分别进行 PCT 检测。配对样本 *t* 检验显示与新鲜样本相比, PCT 在 24、48 及 72 h 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),提示, PCT 在分离的血清/血浆中至少可稳定 72 h。血液保存于 4 °C 冰箱,分别在抽血后 24、48 和 72 h 分离血清/血浆进行 PCT 检

测。血清中,配对样本 *t* 检验显示 PCT 在 48 h 和 72 h 明显低于新鲜样本 ($t = -2.578, P = 0.018 < 0.05; t = -3.475, P = 0.003 < 0.05$),而与 24 h 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),提示其在未分离的血清管中 4 °C 可保存 24 h;而在 EDTA 或枸橼酸钠血浆中 24、48 和 72 h 均与新鲜样本比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),提示其在 EDTA 或枸橼酸钠血浆管中至少可稳定 72 h。总之,研究数据揭示 PCT 水平在不同介质中水平是不同的,应根据样本类型不同而建立参考区间;抽取血液后 2 h 内分离血清或血浆 4 °C 可至少稳定 72 h,而未分离血清/血浆 4 °C 保存可稳定 24 h。本文为 PCT 检测的样本收集标准化提供了实验依据。

参考文献

[1] Holland NT, Smith MT, Eskenazi B, Bastaki M. Biological sample collection and processing for molecular epidemiological studies [J]. Mutat Res, 2003, 543(1): 217-234.

[2] Smith JC Jr, Lewis S, Holbrook J, et al. Effect of heparin and citrate on measured concentrations of various analytes in plasma [J]. Clin Chem, 1987, 33(2): 814-816.

[3] Tammen H, Schulte I, Hess R, et al. Peptidomic analysis of human blood specimens; comparison between plasma specimens and ser-

um by differential peptide display[J]. *Proteomics*, 2005, 20(5): 3414-3422.

[4] Haab BB, Geierstanger BH, Michailidis G, et al. Immunoassay and antibody microarray analysis of the HUPO Plasma Proteome Project reference specimens: systematic variation between sample types and calibration of mass spectrometry data[J]. *Proteomics*, 2005, 20(5): 3278-3291.

[5] Lopez JB, Peng CL. Can fluoride-oxalate and sodium citrate stabilise homocysteine levels after blood collection[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2003, 41(3): 1369-1372.

[6] Dorizzi RM, Polati E, Sette P, et al. Procalcitonin in the diagnosis of inflammation in intensive care units[J]. *Clin Biochem*, 2006, 39(12): 1138-1143.

[7] Hammer S, Meisner F, Dirschedl P, et al. Procalcitonin for differential diagnosis of graft rejection and infection in patients with heart and/or lung grafts[J]. *Intensive Care Med*, 2000, 26 Suppl 2: S182-186.

[8] Sauer U, Domnanich P, Preininger C. Protein chip for the parallel quantification of high and low abundant biomarkers for sepsis[J]. *Anal Biochem*, 2011, 419(1): 46-52.

[9] Kőszegi T. Immunoluminometric detection of human procalcitonin [J]. *J Biochem Biophys Methods*, 2002, 53(1/3): 157-164.

[10] Hubl W, Krassler J, Zingler C, et al. Evaluation of a fully automated procalcitonin chemiluminescence immunoassay[J]. *Clin Lab*,

2003, 49(7/8): 319-327.

[11] Koya J, Nannya Y, Kurokawa M. Evaluation of procalcitonin with liquid-phase binding assay in hematological malignancy[J]. *Clin Chim Acta*, 2012, 413(19/20): 1633-1636.

[12] Qi S, Li Q, Rao W, et al. Determining the concentration of procalcitonin using a magnetic particles-based chemiluminescence assay for the clinical diagnosis of sepsis[J]. *Anal Sci*, 2013, 29(8): 805-810.

[13] Dorizzi RM, Polati E, Sette P, et al. Procalcitonin in the diagnosis of inflammation in intensive care units[J]. *Clin Biochem*, 2006, 39(12): 1138-1143.

[14] Sauer U, Domnanich P, Preininger C. Protein chip for the parallel quantification of high and low abundant biomarkers for sepsis[J]. *Anal Biochem*, 2011, 419(1): 46-52.

[15] Uusitalo-Seppälä R, Koskinen P, Leino A, et al. Early detection of severe sepsis in the emergency room; diagnostic value of plasma C-reactive protein, procalcitonin, and interleukin-6[J]. *Scand J Infect Dis*, 2011, 43(11/12): 883-890.

(收稿日期: 2015-02-22)



• 临床研究 •

对比稀释法测乳糜血清钾可行性分析

何 红

(长沙市第一医院检验科, 湖南长沙 410005)

摘要:目的 探讨对比稀释法测乳糜血清钾方法的可行性。方法 对 55 例乳糜血和 50 例非乳糜血分别测稀释前后血钾。结果 以直接检测法对稀释法进行评估, 非乳糜组和乳糜组两组血清经稀释前后两法均有直线相关关系(相关系数均 $r^2 < 0.97$)。乳糜组中有 5 例血清未稀释时测不出结果, 经 1:1 稀释后 2 例可测得结果。2 例 1:2 稀释后可测出, 1 例始终未测得结果。结论 两种方法测定血钾具有良好的相关性, 对比稀释法测乳糜血清钾的方法是可行的。

关键词:乳糜血; 血清钾; 稀释

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.12.059

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)12-1776-02

血钾对调节水与电解质, 渗透压与酸碱平衡, 维持神经肌肉的应激性, 心肌活动都有重要生理意义。血清钾为临床常规和急诊检验项目, 升高与降低与临床多种疾病相关^[1]。钾浓度过高或过低都将给患者带来危害, 所以血钾检测常视为急诊项目。在实际工作中, 乳糜血常见, 主要是进食高脂肪、高蛋白食物, 如肥肉、牛奶、鸡蛋、豆类制品等造成^[2]。混浊血清影响电解质的检测, 不能为临床提供及时, 真实, 可靠数据。采用对比稀释法可基本处理该问题, 测得结果也比较可靠。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 本院检验科 2014 年 1~3 月随机非乳糜血 50 例(非乳糜组)和乳糜血 55 例(乳糜组), 普通生化管抽血 2 mL, 温育 30 min, 3 000 r 离心 3 min 取血清。

1.2 方法 采用 E625 电解质分析仪, 所用的参考液, 定标液 1, 2(1 为漂移校正液, 2 为斜率校正液)为该分析仪配带试剂。样品用量 200 μ L。血清先直接上机测量血钾 K1, 再用定值定标液(血钾=4.00)按 1:1 稀释血清后测量 K2, 计算得实际血钾 K3, 公式如下: $K3 = 2K2 - 4.00$, 其中公式中 2 为稀释倍数,

4.00 为定值定标液钾。

1.3 统计学处理 应用 SPSS18.0 统计学软件, 采用直线相关分析统计学方法, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

非乳糜组稀释前后(1:1)两法相关系数 $r^2 = 0.977, P = 0.001$, 两者有直线相关关系, 相关性良好。乳糜组两法相关系数 $r^2 = 0.980, P = 0.001$, 两者有直线相关关系(见表 1), 两法之间有微小恒定偏差, 可以回归方程: $Y = -0.19 + 1.014X$ 进行校正, 减小偏差。另有 5 例乳糜血测不出结果, 经 1:1 稀释后只有 2 例可测出结果, 另 2 例经 1:2 稀释后可测出, 1 例始终未测得结果, 该标本血清乳白均匀浑浊不透光, 放置 24 h 后观察, 乳糜血清分为两层, 所测 OD 值大于 4.0, 超过仪器测量范围, 该血清三酰甘油(TG)高达 14.5 mmol/L, 总胆固醇(TC)为 6.4 mmol/L, 可能属于人高脂蛋白血症 V 型(该型特征:CM 增高, VLDL 增高, TC 正常或增高, TG 大量增高, 血清上层乳白, 下层混浊)。表 1 中非乳糜组两法相关系数为 $r^2 = 0.977, P = 0.001$; 乳糜组两法相关系数为 $r^2 = 0.980, P =$