

· 短篇论著 ·

全血标本红细胞浓度对不同放置时间后血糖测定结果影响研究*

管丽红¹, 陈卓敏^{2▲}, 王占科^{3△}, 黄杰³, 李丽萍⁴, 周媛³, 王康⁵, 关晓辉⁶

(1. 中国人民解放军第九四医院体检中心, 江西南昌 330002; 2. 中国人民解放军第九四医院护理部, 江西南昌 330002; 3. 中国人民解放军第九四医院检验科, 江西南昌 330002; 4. 南昌大学附属第三医院检验科, 江西南昌 330008; 5. 南昌大学第二附属医院中医科, 江西南昌 330006; 6. 河北省复员军人医院护理部, 河北邢台 054000)

摘要:目的 观察全血标本红细胞浓度对不同放置时间后血糖测定结果影响, 为科学分析不同红细胞浓度患者全血标本不同放置时间后血糖检测结果变化机理, 提供实验室依据。**方法** 选择中国人民解放军第九四医院体检中心和住院部不同红细胞浓度的血糖正常人员的抗凝静脉血标本, 根据标本红细胞浓度分为低红细胞浓度标本组(RBC-L 组, $n=20$)、正常红细胞浓度标本组(RBC-N 组, $n=20$)和高红细胞浓度标本组(RBC-H 组, $n=20$), 各组标本即刻做血糖测定, 然后放置 1、2、3、4、5、6、7、8、12 和 24 h 后分别测定血糖(GLU)并记录, 统计学分析比较不同组标本不同放置时间血糖测定结果、平均每小时血糖下降量和血糖下降累积量变化。**结果** 3 组血标本放置 4 h 后血糖结果均低于该组即刻检测结果, 且 RBC-H 组血标本放置同样时间后的血糖结果低于 RBC-N 组, RBC-N 组血标本放置同样时间后的血糖结果低于 RBC-L 组, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 3 组血标本放置 4 h 后的平均每小时血糖结果下降量和血糖下降累积量均低于放置 2 h 内的改变量($P < 0.01$), 且 RBC-H 组血标本放置同样时间后平均每小时血糖结果下降量和血糖下降累积量高于 RBC-N 组, RBC-N 组血标本放置同样时间后平均每小时血糖结果下降量和血糖下降累积量高于 RBC-L 组, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** 全血抗凝标本放置时间越长, 血糖结果越低, 但随着标本放置时间延长, 血糖下降速度变慢。全血抗凝标本离体后血糖下降速度与标本内红细胞浓度呈正相关, 红细胞浓度越高, 血糖下降速度越快, 提示对于高浓度红细胞患者血糖检测标本更需要及时检测, 高红细胞浓度全血标本离体后血糖下降速度快可能与红细胞摄取葡萄糖速度快有关。

关键词: 红细胞浓度; 全血标本; 放置时间; 血糖结果; 下降

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.12.023

中图法分类号: R446.11

文章编号: 1673-4130(2019)12-1506-04

文献标识码: B

随着人们生活水平提高, 糖尿病发病率逐年升高^[1]。血糖测定指血液葡萄糖浓度测定, 是医院检验科常规实验室检查项目, 血糖测定不仅在诊断糖尿病和评估药物治疗效果方面, 而且在评估糖尿病、肥胖和创伤感染患者胰岛素抵抗方面, 均具有重要参考价值^[2-4]。血糖测定标本质量是保证血糖检测结果准确性的前提保证, 静脉血标本采集质量容易控制, 血糖测定准确性高, 同一个标本可重复测定, 静脉血标本常用于血糖测定^[5]。静脉血标本血糖测定需要及时检测^[6], 但医院内患者静脉采血往往不在检验科生化实验室内完成, 而是由专业的抽血护士在检验科以外的门诊部和体检中心以及临床科室完成, 这不可避免造成标本不能即刻检测, 到达检验科实验室需要一定的放置时间。据文献报道, 静脉血标本在检测之前, 放置时间越长, 血糖检测结果越低, 但详细机理尚不

完全清楚^[7-8]。红细胞是血液中主要有形成分, 红细胞离开人体后, 有一定的存活时间, 有文献报道离体红细胞具有摄取葡萄糖的作用^[9-10], 因此, 研究不同红细胞浓度血标本血糖下降程度变化, 旨在探讨离体血标本内葡萄糖下降机理及其与红细胞浓度的关系, 为制定不同红细胞浓度静脉血标本血糖送检时间, 提供实验室依据。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院体检中心不同红细胞浓度人群 60 例, 男 48 例, 女 12 例, 年龄 8~70 岁, 均否认患有糖尿病、白血病、再生障碍性贫血等血液病。根据红细胞计数(RBC)大小, 参照 RBC 正常参考范围(男性: $4.5 \times 10^{12}/L \sim 5.5 \times 10^{12}/L$, 女性: $4.0 \times 10^{12}/L \sim 5.0 \times 10^{12}/L$)^[11], 将入选人群分为 3 组: 低红细胞浓度标本组(RBC-L 组, $n=20$), 其中男性

* 基金项目: 江西省卫生和计划生育委员会课题(20173024)。

△ 通信作者, E-mail: wangzhanke@sina.com。 ▲ 共同通信作者, E-mail: czm94yy@126.com。

本文引用格式: 管丽红, 陈卓敏, 王占科, 等. 全血标本红细胞浓度对不同放置时间后血糖测定结果影响研究[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(12): 1506-1509.

RBC 小于 $4.5 \times 10^{12}/L$, 女性 RBC 小于 $4.0 \times 10^{12}/L$; 正常红细胞浓度标本组 (RBC-N 组, $n=20$), 其中男性和女性 RBC 均在正常参考范围内; 高红细胞浓度标本组 (RBC-H 组, $n=20$), 其中男性 RBC 大于 $5.5 \times$

$10^{12}/L$, 女性 RBC 大于 $5.0 \times 10^{12}/L$ 。男女构成比、年龄构成比、空腹血糖 (GLU₀) 水平之间差异无统计学意义 ($P>0.05$)。所有研究对象均知情同意, 各组基本情况见表 1。

表 1 各组研究对象基本情况 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	男/女	年龄(岁)	RBC($\times 10^{12}/L$)	血红蛋白浓度(Hb,g/L)	GLU ₀	糖尿病或血液病
RBC-L	20	13/7	38.7±33.4	3.1±0.5	88.6±17.4	4.75±0.74	否
RBC-N	20	16/4	42.1±26.5	4.2±0.2	123.2±16.7	4.99±0.69	否
RBC-H	20	18/2	47.2±31.9	5.7±0.4	161.6±14.3	5.07±0.71	否

1.2 仪器与试剂 10 mL 肝素钠抗凝真空采血管由浙江康是医疗器械有限公司生产, 血糖检测试剂盒和 MR2000 型全自动生化分析仪由深圳迈瑞生物技术有限公司生产, 台式低速离心机由湖南长沙湘仪离心机仪器有限公司生产。

1.3 标本处理和检测方法 真空采血管空腹抽取肝素钠抗凝全血标本 5~6 mL, 充分混匀, 防止标本出现红细胞凝集, 并准确记录抽血时间 (精确到分钟)。抗凝血标本离心后析出血浆, 即刻放入全自动生化分析仪标本位, 通过酶动力学法进行血糖测定并记录为 GLU₀。全自动生化分析仪吸样检测后, 取出血标本, 小心混合血标本中血浆和红细胞层, 形成全血状态, 放置室温 (25.0±2.0)°C 1 h, 再离心后, 检测血糖并记录为 GLU₁, 再次摇匀血标本, 混合血浆和红细胞层呈全血状态, 继续放置 1 h, 再离心后检测血糖并记录为 GLU₂, 同样操作步骤, 依次记录全血标本即刻及放置 1、2、3、4、5、6、7、8、12 和 24 h 后的血糖值为 GLU₀、GLU₁、GLU₂、GLU₃、GLU₄、GLU₅、GLU₆、GLU₇、GLU₈ 以及 GLU₁₂ 和 GLU₂₄, 计算并比较各组血标本室温放置平均每小时血糖下降量和血糖下降累积量变化量。放置 x 小时的平均每小时血糖下降量计算公式为: $\Delta GLU/h = (GLU_x - GLU_0)/x$; 放置 x 小时血糖下降累积量计算公式为: $\Delta GLU = GLU_x - GLU_0$ 。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行统计分析, 计数资料用率或构成比表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析和 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同组血标本不同放置时间血糖检测结果变化 3组血液标本随着放置时间增长, 血糖检测数值呈下降趋势; RBC-N 组和 RBC-H 组 GLU₂ 检测数值均低于 GLU₀ 检测值, 差异有统计学意义 ($P<0.01$); 3组血标本 GLU₃ 检测数值均低于该组 GLU₀ 检测值, 差异有统计学意义 ($P<0.01$)。RBC-H 组血液标本 GLU₄ 检测值低于 RBC-N 组, RBC-N 组 GLU₄ 检

测值低于 RBC-L 组, 差异有统计学意义 ($P<0.01$)。见表 2。

表 2 不同组患者血标本不同放置时间血糖检测值变化 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

放置时间	RBC-L 组 (n=20)	RBC-N 组 (n=20)	RBC-H 组 (n=20)
GLU ₀	4.75±0.74	4.99±0.69	5.07±0.71
GLU ₁	4.55±0.57	4.64±0.43	4.55±0.42*
GLU ₂	4.37±0.34	4.32±0.37*	4.12±0.39*
GLU ₃	4.20±0.44*	4.11±0.40*	3.85±0.50*
GLU ₄	4.07±0.38*#	3.78±0.35*	3.32±0.31*#
GLU ₅	3.92±0.31*#	3.42±0.38*	3.15±0.29*#
GLU ₆	3.78±0.24*#	3.14±0.31*	2.29±0.30*#
GLU ₇	3.66±0.34*#	2.92±0.30*	2.46±0.27*#
GLU ₈	3.54±0.27*#	2.70±0.25*	2.33±0.22*#
GLU ₁₂	2.14±0.24*#	2.34±0.20*	1.55±0.13*#
GLU ₂₄	1.90±0.18*#	1.07±0.24*	0.28±0.05*#

注: 与本组 GLU₀ 比较, * $P<0.01$; 与 RBC-N 组比较, # $P<0.01$

2.2 不同组血标本不同放置时间平均每小时血糖检测结果下降量变化 RBC-L 组、RBC-N 组和 RBC-H 组血标本放置 4 h 后平均每小时血糖检测值下降量均低于放置 2 h 内, 差异有统计学意义 ($P<0.01$), 血标本平均每小时血糖检测值下降量均随放置时间呈下降趋势, 血标本放置时间越长, 平均每小时血糖下降量越小。RBC-H 组放置不同时间点内平均每小时血糖检测值下降量高于 RBC-N 组, RBC-N 组高于 RBC-L 组, 差异有统计学意义 ($P<0.01$), 同样放置时间的血标本平均每小时血糖检测值下降量随红细胞浓度升高呈升高趋势, 血标本红细胞浓度越高, 血糖下降量越大。见表 3。

2.3 不同组血标本不同放置时间血糖检测值下降累积量变化 RBC-L 组、RBC-N 组和 RBC-H 组血标本放置 4 h 后血糖下降累积量均高于放置 2 h ($P<0.01$), 且血标本血糖下降累积量均随放置时间呈增多趋势, 血标本放置时间越长, 血糖下降累积量越高。

RBC-H 组放置不同时间点血糖下降累计量高于 RBC-N 组, RBC-N 组高于 RBC-L 组, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 同样放置时间的血标本血糖下降累计量, 随红细胞浓度升高呈升高趋势, 血标本红细胞浓度越高, 血糖下降量越大。见表 4。

表 3 不同组血标本不同放置时间平均每小时血糖检测值下降量 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

放置时间	RBC-L 组 (n=20)	RBC-N 组 (n=20)	RBC-H 组 (n=20)
2 h 内	0.19 ± 0.02 [#]	0.35 ± 0.04	0.48 ± 0.06 [#]
4 h 内	0.17 ± 0.01* [#]	0.31 ± 0.02*	0.42 ± 0.05* [#]
8 h 内	0.14 ± 0.02* [#]	0.25 ± 0.03*	0.37 ± 0.04* [#]
12 h 内	0.12 ± 0.01* [#]	0.22 ± 0.02*	0.30 ± 0.03* [#]
24 h 内	0.10 ± 0.01* [#]	0.16 ± 0.01*	0.20 ± 0.02* [#]

注:与本组 2 h 内数据比较, * $P < 0.01$; 与同样放置时间 RBC-N 组数据比较, [#] $P < 0.01$

表 4 不同组血标本不同放置时间血糖累计下降量 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

放置时间	RBC-L 组 (n=20)	RBC-N 组 (n=20)	RBC-H 组 (n=20)
2 h	0.38 ± 0.05	0.70 ± 0.04	0.96 ± 0.07
4 h	0.68 ± 0.04* [#]	1.24 ± 0.08*	1.84 ± 0.09* [#]
8 h	1.12 ± 0.14* [#]	2.00 ± 0.01*	2.96 ± 0.31* [#]
12 h	1.44 ± 0.07* [#]	2.64 ± 0.30*	3.60 ± 0.54* [#]
24 h	2.40 ± 0.18* [#]	3.84 ± 0.22*	4.80 ± 0.57* [#]

注:与本组 2 h 内数据比较, * $P < 0.01$; 与同样放置时间 RBC-N 组数据比较, [#] $P < 0.01$

3 讨 论

检验科是检验患者标本的医学实验室^[12], 检验结果质量控制包括分析前、分析中和分析后, 其中分析前是检验结果质量控制的重要环节^[13], 研究标本离体后标本内检验指标信息变化, 对改善标本分析前质量控制具有指导意义。静脉血标本离开人体后随着放置时间延长, 葡萄糖水平明显下降^[14]。

静脉血标本离体后标本内葡萄糖水平变化和人体内葡萄糖水平变化不同。人体内血糖变化取决于体内葡萄糖来源和去路的比较^[15], 而静脉血离体后标本内的葡萄糖不会再有来源, 也不存在人体运动消耗葡萄糖的情况, 离体后血标本内葡萄糖水平下降与离体后血标本后内葡萄糖的去路有关。血标本内没有体内组织细胞, 只有血液细胞, 血标本离体后葡萄糖去路与血细胞具有摄取葡萄糖能力有关。

静脉血葡萄糖测定是测定血浆或血清中的葡萄糖浓度, 并不包括血液中红细胞内的葡萄糖浓度。从理论上讲, 静脉血标本离体后葡萄糖去路有 2 种途径, 一是葡萄糖直接被降解, 二是葡萄糖进入红细胞、白细胞等细胞内。由于外周血标本红细胞数量远远

大于白细胞数量, 血浆葡萄糖进入红细胞内可能是导致血液标本离体后血糖下降的主要原因。

为了研究离开体内的血标本内葡萄糖去路及其机理, 笔者选择不同 RBC 的血糖正常人群作为研究对象, 观察外周血标本离体后不同放置时间血糖下降量与红细胞浓度的关系, 结果发现, 静脉血标本离体后 2 h 血糖测定浓度就明显低于即刻检测的血糖结果, 并随标本放置时间延长而呈降低趋势, 降低速度与 RBC 呈正比, 血标本红细胞浓度越高, 血糖降低速度越快, 提示高红细胞浓度人群的外周血标本血糖测定更需要及时送检, 因其血标本血糖浓度下降速度更快。血标本内红细胞数量多, 摄取的葡萄糖量也多, 可能是高红细胞浓度血标本血糖下降速度更快的原因之一。低红细胞浓度的贫血患者血标本血糖下降速度较慢, 可能与标本内的红细胞数量少, 摄取的葡萄糖也相对少有关。有文献报道, 红细胞膜上有葡萄糖转运体^[16], 离体后抗凝血标本内红细胞可能仍具有摄取和转运葡萄糖的能力。

在医院血糖检测具体实践中, 很难做到静脉血标本离体后即刻就进行血糖测定。如果能准确记录静脉血标本采血时间, 研究血标本不同放置时间下降规律, 包括每小时血糖下降量和累积下降量等, 对科学纠正标本离体一定时间后的血糖检测不准确性具有重要意义。笔者研究发现, 离体静脉血标本血糖下降存在一定的规律, 离体静脉血标本平均每小时血糖下降量(离体血浆葡萄糖消失的量)不仅与 RBC 呈正比, 而且还与放置时间呈反比, 单位时间葡萄糖下降量, 随着离体标本体外放置时间延长, 呈下降趋势, 提示离体静脉血标本内的红细胞摄取红细胞的能力随放置时间延长而降低。本研究结果发现, 离体静脉血标本 2 h 内血糖下降量速度最快, 正常红细胞浓度标本离体 2 h 后, 血糖平均每小时下降 0.35 mmol/L, 离体 4 h, 平均每小时下降 0.31 mmol/L, 高红细胞浓度外周血标本血糖下降速度更快, 而低红细胞浓度的贫血标本血糖下降速度相对慢, 提示静脉离体血标本血糖下降与红细胞数量和活性有关。

结果还发现, 尽管离体血标本平均每小时血糖下降量随放置时间呈下降趋势, 但随着放置时间延长, 血糖下降累积量越来越大, 尤其 RBC-H 组血糖累积下降量更明显, 如果患者血糖为低血糖或血糖偏低, 静脉血标本放置 24 h, 血糖检测值可能会出现结果为 0 的现象, 提示对于低血糖患者或血糖在正常参考范围上限附近的人群, 血糖测定标本更应该及时进行检测, 否则血糖检测结果可能严重影响临床医生对疾病和亚健康程度的准确判断。离体静脉血标本血糖下降机理可能还涉及其他因素, 红细胞浓度可能只是其中的一种影响因素。静脉血标本离体后血糖变化详细机理, 值得进一步研究。

参考文献

[1] 王凌, 刘建宏, 崔欣, 等. 西安市体检人群 2 型糖尿病流行病学调查及相关因素分析[J]. 解放军预防医学杂志, 2018, 35(4): 483-485.

[2] 中华医学会糖尿病学分会. 中国动态血糖监测临床应用指南(2012 年版)[J/CD]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2013, 4(1): 51-60.

[3] 洪忠新, 华鑫. 两种处方饮食对 2 型糖尿病患者血糖及胰岛素抵抗的影响[J]. 首都医科大学学报, 2011, 32(1): 142-145.

[4] KIRAN R P, TURINA M, HAMMEL J, et al. The clinical significance of an elevated postoperative glucose value in nondiabetic patients after colorectal surgery: evidence for the need for tight glucose control? [J]. Ann Surg, 2013, 258(4): 599-604.

[5] 张瑞. 影响静脉血标本采集质量的因素及分析[J]. 中国卫生产业, 2014, 11(10): 195-196.

[6] 何盛. 临床送检合格标本不同保存时间对肾功能指标及血糖检测结果的影响[J]. 临床医学工程, 2017, 24(8): 1133-1134.

[7] 李方伟, 蒋勇. 静脉血标本采集后不同放置时间离心对血糖测定结果的影响[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(14): 1771-1772.

[8] 张勇, 李小鸣, 邓发乾. 血糖检验结果受血液标本的放置时间的影响[J/CD]. 临床检验杂志(电子版), 2017, 6(3):

606-607.

[9] 权国波, 吕翠翠, 刘敏霞, 等. 人红细胞对糖类摄取的规律性研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2006, 14(3): 592-596.

[10] HOLLAND C, GIVENS V, SMOLLER B R. Expression of the human erythrocyte glucose transporter glut-1 in areas of sclerotic collagen in necrobiosis lipoidica[J]. J Cutan Pathol, 2001, 28(6): 287-290.

[11] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社出版, 2016: 203.

[12] NING H C, LIN C N, CHIU D T, et al. Reduction in Hospital-Wide clinical laboratory specimen identification errors following process interventions: a 10-Year retrospective observational study[J]. PLoS One, 2016, 11(8): e0160821.

[13] 傅瑜, 李东升, 刘江虹, 等. 检验分析前的质量控制及管理[J]. 解放军医院管理杂志, 2000, 7(4): 300-301.

[14] 任爱英. 血液标本放置时间对血糖测定结果的影响[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(1): 59-60.

[15] 李宝军, 关小宏, 盛薇, 等. 老年糖尿病患者低血糖原因分析及预防性护理[J]. 空军总医院学报, 2010, 26(2): 107-108.

[16] GARG M, THAMOTHARAN M, BECKER D J, et al. Adolescents with clinical type 1 diabetes display reduced red blood cell glucose transporter isoform 1 (GLUT1) [J]. Pediatr Diabetes, 2014, 15(7): 511-518.

(收稿日期: 2018-12-16 修回日期: 2019-02-21)

• 短篇论著 •

与 α -烯醇化酶相关的 ELISA 方法的建立及在肝纤维化检测中的应用探索*

王 波, 杨婷婷, 李 志

(大连市中心医院检验科, 辽宁大连 116033)

摘要:目的 探索肝纤维化期诊断的潜在标志物, 建立与 α -烯醇化酶(ENO1)相关的酶联免疫吸附试验(ELISA)模型, 并应用于肝纤维化期的抗 α -烯醇化酶自身抗体的检测。**方法** 人工合成获得 ENO1 基因序列设计特异性引物, 采用聚合酶链反应(PCR)技术扩增 ENO1 基因序列, 构建该基因的克隆载体及表达载体, 通过 IPTG 诱导表达重组蛋白 ENO1。以纯化的重组蛋白为包被抗原建立 ELISA 模型, 用建立的模型检测肝纤维化期和肝硬化期患者血清中 ENO1 抗体的表达。**结果** 获得 47×10^3 ENO1 蛋白, 成功建立 ENO1-ELISA 模型, 检测肝纤维化期患者血清 ENO1 抗体阳性率为 25.7%, 高于肝硬化期患者的 10.4%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 人源 α -烯醇化酶可以通过原核表达技术获取, 建立的 ENO1-ELISA 模型可以用于 α -烯醇化酶抗体的检测, α -烯醇化酶对肝纤维化的早期诊断具有重要意义。

关键词: α -烯醇化酶; 原核表达; 酶联免疫吸附试验; 肝纤维化

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.12.024

中图法分类号: R-331; R575

文章编号: 1673-4130(2019)12-1509-04

文献标识码: B

肝纤维化是由各种致病因子所致肝内结缔组织 异常增生按严重程度, 分为早期阶段(肝纤维化期阶

* 基金项目: 大连市医学科学研究计划项目(1511015)。

本文引用格式: 王波, 杨婷婷, 李志. 与 α -烯醇化酶相关的 ELISA 方法的建立及在肝纤维化检测中的应用探索[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(12): 1509-1512.