

- Hp 抗原检测对萎缩性胃炎和胃癌的诊断价值[J]. 东南大学学报(医学版), 2018, 37(3): 406-410.
- [5] 陈晓兵. 胃癌患者幽门螺杆菌感染情况与肿瘤恶性程度的相关性研究[J]. 海南医学院学报, 2017, 23(4): 475-478.
- [6] 薛辉, 辛凤池, 穆素恩, 等. 血清胃蛋白酶原联合 G-17 对萎缩性胃炎及胃癌早期诊断价值[J]. 现代生物医学进展, 2017, 30(11): 455-456.
- [7] 唐磊, 李子禹, 付佳, 等. 胃癌侵犯胰腺的 CT 影像学特征及在原发灶可切除性判断中的意义[J]. 中华消化外科杂志, 2017, 16(3): 304-309.
- [8] 郑春雷, 张忠泰, 高红. 胃癌组织中生存素和基质金属蛋白酶 9 的表达及其与胃癌临床病理特点的关系[J]. 中华实验外科杂志, 2017, 34(2): 214-216.
- [9] 许国梁. 腹腔镜辅助远端胃大部切除术与传统开腹胃癌切除术对老年胃癌患者血清 TNF- α 、IL-6、CRP 的影响及短期疗效比较[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(18): 4581-4582.
- [10] 徐徽, 吴文涌, 张震, 等. 胃癌组织中 NLRC5 表达的意义
- 短篇论著 •
- 及其影响胃癌侵袭转移的可能机制[J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(10): 1455-1462.
- [11] 毛爱芹, 张育荣, 李宝奇, 等. CA19-9、CA72-4 和 CEA 在阿帕替尼治疗胃癌患者中的变化及意义[J]. 标记免疫分析与临床, 2018, 25(5): 657-660.
- [12] 林凯, 宋莎莎, 章礼久. 胃蛋白酶原、癌胚抗原、黏蛋白类癌胚抗原联合检测对胃癌的诊断及鉴别诊断效能[J]. 山东医药, 2017, 57(47): 95-98.
- [13] 李迎今, 苏军燕, 徐长妍. 血清 CEA、PGR、G-17 检测在胃癌诊断中的价值分析[J]. 中国实验诊断学, 2017, 21(9): 1498-1501.
- [14] 曹龙磊, 龚治林, 于杰, 等. 幽门螺杆菌促进程序性死亡配体 1 在胃癌中的表达[J]. 中国老年学杂志, 2018, 20(17): 816-818.
- [15] 陈晓露, 罗昊, 吴蓉宜. 胃癌合并 Hp-L 感染患者 MIF 和 MMP-9 表达变化及其与血清炎症因子的关系[J]. 重庆医学, 2017, 46(2): 60-62.
- (收稿日期: 2019-06-06 修回日期: 2019-10-25)

血清反复冻融对 25-羟基维生素 D 水平的影响^{*}

张晨曦¹, 石莲花², 金有训², 马瑞敏¹, 刘书筠¹, 刘佳佳¹,

张文丽¹, 吕虹^{1,3}, 张国军^{1,3}, 康熙雄^{1,3△}

(1. 首都医科大学附属北京天坛医院实验诊断中心, 北京 100071; 2. 中国计量科学研究院, 北京 100029; 3. 北京市免疫试剂临床工程技术研究中心, 北京 100050)

摘要:目的 研究 4℃、-20℃、-80℃ 不同温度下血清标本反复冻融对 25-羟基维生素 D 水平的影响。方法 分离采集多份静脉血制备血清, 混合制备成血清标准物质, 测得 25-羟基维生素 D 水平为初始水平, 取出 12 份血清随机分配到不同温度条件下进行冻存, 每个温度条件下 4 份血清。反复冻融 5 次, 分别与相应的初始水平进行分析比较。结果 各个温度条件下, 反复冻融 4 次及以上时, 其结果与初始水平比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 与初始水平相比, 冻融使得检测结果升高。结论 反复冻融对血清标本中 25-羟基维生素 D 水平有较大影响, 在保存标本时, 应该分装冻存, 且避免反复冻融检测, 以免影响结果检测。

关键词: 25-羟基维生素 D; 反复冻融; 血清

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.08.026

文章编号: 1673-4130(2020)08-0998-03

中图法分类号: R446.11

文献标识码: B

维生素 D 作为人体必需的营养素之一, 对人体健康有非常重要的作用。越来越多的研究发现, 维生素 D 不但具有调节钙磷代谢等效应, 还与心血管疾病、肿瘤、糖尿病、高血压、免疫性疾病等多种疾病密切相关。因此监测体内的维生素 D 水平对预防疾病及疾病的诊断治疗尤为重要^[1-2]。目前, 25-羟基维生素 D 检测方法按照检测原理可分成免疫法和色谱法两大类。可根据检测目的、检测对象、实验室人员技术能力和实验设备等因素综合考虑, 选择合适的检测方

法^[3]。但检测结果的准确性, 受检测前、检测中等多因素的影响。检测前的影响之一就是标本的储存条件, 由于标本储存不当造成检验结果不准确的现象时有发生, 受很多条件的限制影响, 许多标本不能当天检测, 需要对本标本进行保存^[4]。保存条件可分为低温保存及冻融保存等, 血清中的各种成分对反复冻融的次数可能有不同的耐受性, 会出现相应指标的升高降低或是不变^[5-7]。严格控制实验条件, 探索反复冻融对血清中 25-羟基维生素 D 水平的影响。

* 基金项目: 中国计量科学研究院基本科研业务费(AKY1709); 国家重点研发计划项目(2016YFD0500809)。

△ 通信作者, E-mail: kangxxtt@sina.com。

本文引用格式: 张晨曦, 石莲花, 金有训, 等. 血清反复冻融对 25-羟基维生素 D 水平的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(8): 998-1000.

1 材料与方法

1.1 标本来源 由符合正态分布的静脉血混制而成,制备成血清标准物质,无溶血、乳糜、黄疸等。

1.2 仪器与试剂 高速低温离心机(Thermo Scientific 公司,美国);涡旋振荡器(Thermo Scientific 公司,美国);-80℃低温冰箱(Thermo Scientific 公司,美国);-20℃低温冰箱(Sanyo 公司,日本);Cobas e 602 全自动电化学发光免疫分析仪(Roche 公司,瑞士);巴瑞医疗器械有限公司提供的 25-羟基维生素 D 检测试剂盒(电化学发光法)。

1.3 方法 取制备好的血清标准物质 12 份,随机分配为 3 组,每组 4 份并编号处理,分别检测 25-羟基维生素 D 水平作为初始水平。然后分别密封保存于相应温度下的冰箱中,每隔 2 h 取出,恢复至室温,震荡混匀后,再分别测试其水平并记录。每次测试前,都保证仪器在质控范围内,除外仪器误差。

1.4 统计学处理 因原始标本来自正态分布的总体,分析时利用 SPSS22.0 对其进行配对样本 *t* 检验,计量资料比较时采用均值进行比较,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。分别比较每次冻融水平与初始水平, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

血清冻融前后,25-羟基维生素 D 均值水平变化见表 1、图 1。在 3 个温度条件下探索反复冻融对 25-羟基维生素 D 水平的影响,第 4 次及以上反复冻融

时,与初始水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。4℃条件下,第 5 次冻融时与初始水平相比,差异无统计学意义($P > 0.05$),但仍呈升高趋势;而在-80℃条件下,第 1 次冻融时 25-羟基维生素 D 水平与初始水平相比,差异有统计学意义($P < 0.05$),可见-80℃保存样本,受冻融循环影响更大。图 2 分别描述了不同温度条件下,每个样本随冻融次数的变化趋势。每个标本在每次冻融时,25-羟基维生素 D 水平变化不稳定,但与初始水平比较,均是升高趋势,可见 25-羟基维生素 D 水平随冻融次数增加,呈现升高趋势,且与冻融次数相关,反复冻融会明显影响 25-羟基维生素 D 水平检测。

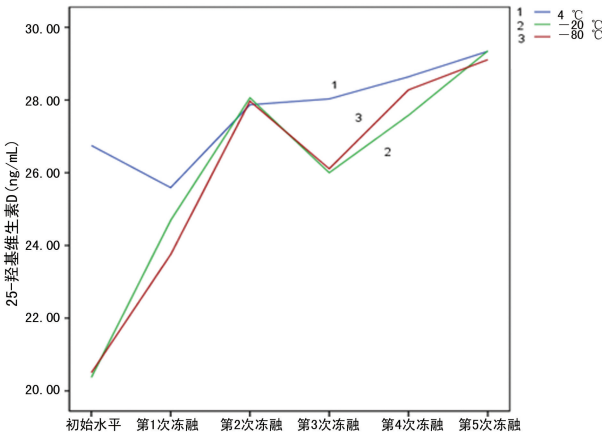
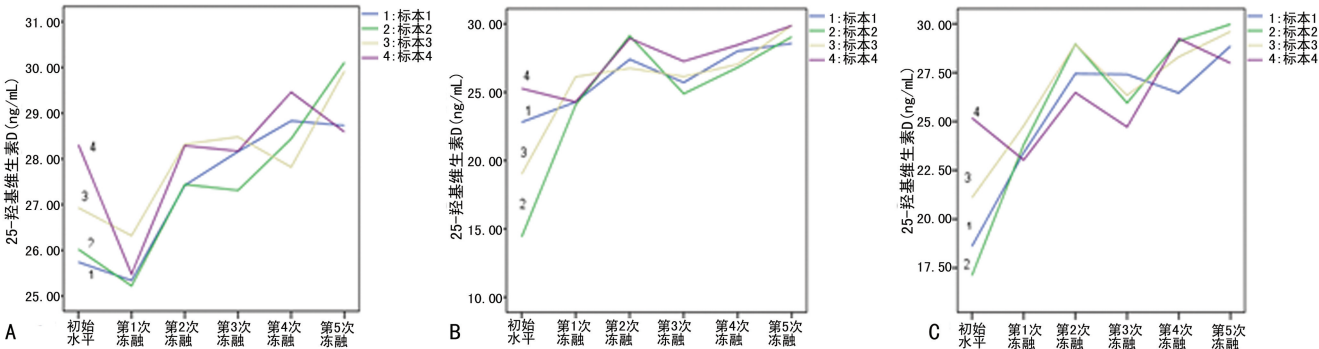


图 1 不同温度下反复冻融 25-羟基维生素 D 均值水平变化趋势

表 1 不同温度下反复冻融时 25-羟基维生素 D 的均值水平比较 (ng/mL, $\bar{x} \pm s$)

检测温度(℃)	初始水平	第 1 次冻融	第 2 次冻融	第 3 次冻融	第 4 次冻融	第 5 次冻融
4	26.75±1.00	25.59±0.43	27.87±0.44	28.03±0.44	28.64±0.60 *	29.34±0.68
-20	20.37±4.10	24.69±0.84	28.06±1.01	26.00±0.85	27.58±0.68 *	29.35±0.57 *
-80	20.50±3.06	23.75±0.65	27.97±1.06	26.11±0.96	28.28±1.11 *	29.11±0.76 *

注:与初始水平比较,* $P < 0.05$ 。



注:A 表示 4℃下 25-羟基维生素 D 水平;B 表示-20℃下 25-羟基维生素 D 水平;C 表示-80℃下 25-羟基维生素 D 水平。

图 2 不同温度下 25-羟基维生素 D 水平随冻融次数变化趋势

3 讨 论

探讨反复冻融对生物指标水平影响的相关文献中,范泽涵等^[8]研究冻存温度、次数及时间对血清生化指标稳定性的影响,发现相关生化指标在各种贮存

条件下均不稳定。并且发现导致检测结果波动的因素有冻存温度、反复冻融次数、冻存时间,以及冻存温度、冻融次数与冻存时间分别产生的交互效应。GAO 等^[9]研究了反复冻融对相关肿瘤标志物的影响,发现

某些指标不受短时间冻存的影响,而某些肿瘤标志物在第 1 次冻融时就出现显著变化。MAELEGHEER 等^[10]研究结论为反复冻融不影响抗磷脂抗体滴度。众所周知,血清中生物活性分子(包括蛋白质、代谢物、离子等)的变化可反映人体动态健康状态,某些分子可作为疾病诊断或预后的生物标志物,因此准确检测生物标志物水平至关重要。此次研究的 25-羟基维生素 D 的作用之一是抗佝偻病,维持婴幼儿的正常生长发育,因此检测血循环中 25-羟基维生素 D 水平是良好的评价维生素 D 营养水平的理想指标,也是维生素 D 缺乏和早期诊断佝偻病的重要依据^[11-12]。此外亦有研究报道,血清中 25-羟基维生素 D 水平与子痫前期的发生之间具有一定的相关性^[13]。考虑 25-羟基维生素 D 与多种疾病的相关性,使得准确检测 25-羟基维生素 D 水平至关重要。在本次实验中,分别研究了在 4℃、-20℃、-80℃条件下,每隔 2 h 将标本从冰箱中取出,恢复至室温,然后分别检测相应水平变化,结果显示 25-羟基维生素 D 水平呈现升高趋势,且随冻融次数增加,检测结果与初始水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$),综合分析其原因,尽管采取标本封盖、封口膜封口,防止血清标本蒸发等措施,因冻存时间的延长,最终还是影响检测结果,此结果与相关研究报道一致,随着保存时间的延长致使血清中水分蒸发加大,血清浓缩,其成分水平相对增加,检验结果也升高^[14-16]。本研究探索了 3 个温度下的冻融影响,根据相关结果可以得出,维生素 D 在保存过程中的不稳定性,-80℃对其影响作用相对更为明显。

结合相关文献及此次实验结果,在对临床样本进行分析时,应尽快检测,避免标本反复冻融及多次重复检测,以免影响实验结果,对临床判断造成误差。此次实验只是探索了多次冻融的影响作用,未涉及到长时间冻存是否也影响相关指标的变化,因此后期实验中,可以进一步研究冻存时间对血清中 25-羟基维生素 D 水平的影响。进一步指导临床样本检测。

参考文献

[1] 李津鸿. 25-羟基维生素 D 检测方法 & 临床应用的研究进展[J]. 临床检验杂志, 2017, 6(3): 631-632.

[2] SUN P L, ZHANG S. Correlations of 25-hydroxyvitamin D3 level in patients with ulcerative colitis with inflammation level, immunity and disease activity [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(17): 5635-5639.

[3] 童小平. 25-羟基维生素 D 检测方法综述[J]. 预防医学,

2018, 30(3): 278-280.

[4] 张国军, 卜颖, 贾楠, 等. 血清样本反复冻融对甲状腺功能相关实验室指标检测结果的影响[C]. 宁夏: 第五次全国免疫诊断暨疫苗学术研讨会, 2011.

[5] GISLEFOSS R E, LAURITZEN M, LANGSETH H, et al. Effect of multiple freeze-thaw cycles on selected biochemical serum components [J]. Clin Chem Lab Med, 2017, 55(7): 967-973.

[6] HILLEBRAND J J, HEIJBOER A C, ENDERT E. Effects of repeated freeze-thaw cycles on endocrine parameters in plasma and serum [J]. Ann Clin Biochem, 2017, 54(2): 289-292.

[7] CUHADAR S, KOSEOGLU M, ATAY A, et al. The effect of storage time and freeze-thaw cycles on the stability of serum samples [J]. Biochem Med (Zagreb), 2013, 23(1): 70-77.

[8] 范泽涵, 章月蟾, 索晨, 等. 冻存温度、冻融次数和冻存时间对血清生化指标稳定性的影响[J]. 转化医学杂志, 2018, 37(4): 24-29.

[9] GAO Y C, YUAN Z B, YANG Y D, et al. Effect of freeze-thaw cycles on serum measurements of AFP, CEA, CA125 and CA19-9 [J]. Scand J Clin Lab Invest, 2007, 67(7): 741-747.

[10] MAELEGHEER K, DEVREESE K M J. The impact of repeated freeze-thaw cycles on antiphospholipid antibody titer [J]. Res Pract Thromb Haemost, 2018, 2(2): 366-369.

[11] 刘玉昌, 沈红英, 刘秀芝, 等. 25-羟基维生素 D3 测定在社区 0~6 岁儿童健康管理中的应用分析[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(20): 2941-2942.

[12] ZITTERMANN A, PILZ S, BERTHOLD H K. Serum 25-hydroxyvitamin D response to vitamin D supplementation in infants: a systematic review and meta-analysis of clinical intervention trials [J]. Eur J Nutr, 2020, 59(1): 359-369.

[13] 郑明阳, 孟晓东. 25-羟基维生素 D3 检测在子痫前期患者中的临床意义[J]. 中国医学创新, 2018, 15(27): 133-137.

[14] 孙昌华, 刘娜, 王春芳, 等. 探讨 -20℃ 冻存条件下分装冻融对 SD 大鼠血清生化检测结果的影响[J]. 实验动物科学, 2018, 35(5): 56-59.

[15] 王秀利. 血液标本放置方式对生化指标检测结果的影响[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(12): 1445-1446.

[16] 郑罡. 血标本放置时间和方式对生化指标检测结果的影响分析[J]. 中外医学研究, 2013, 11(13): 67-68.