

• 论 著 •

血清 56 °C 加热 30 min 灭活对生化指标检测结果的影响研究

刘长德¹, 焦明远², 高 超³, 张德怀¹, 崔丽艳^{4△}

(1. 北京市回民医院检验科, 北京 100054; 2. 北京市通州区妇幼保健院检验科, 北京 101101;

3. 上海慧中诊断技术有限公司, 上海 200085; 4. 北京大学第三医院检验科, 北京 100191)

摘 要:目的 探讨血清 56 °C 加热 30 min 病毒灭活对生化指标检验指标的影响。方法 采集患者标本 35 例, 离心后分离出血清, 检测灭活前和灭活后标本的 38 项生化指标, 并比较灭活对生化检测的影响。结果 (1) 与新型冠状病毒肺炎相关的生化指标中, 丙氨酸氨基转移酶(ALT)、 γ -谷氨酰转肽酶(GGT)、肌酸激酶(CK)、碱性磷酸酶(ALP)和胆碱酯酶(CHE)在灭活前、后的检测值差异有统计学意义($P < 0.05$), 与灭活前相比, 灭活后检测值分别平均下降了 16.76%、2.53%、56.77%、34.39% 和 7.31%, 天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)和 C-反应蛋白(CRP)在灭活前、后的检测值差异无统计学意义($P > 0.05$), 但 AST、LDH 两个指标 20.00% 以上的标本灭活前后检测值偏差超过最大允许偏差。(2) 其他的生化指标中, 二氧化碳总量(TCO₂)、血清球蛋白(GLO)、总胆红素(TBIL)、间接胆红素(IBIL)、高密度脂蛋白(HDL)、血清前清蛋白(PA)和血清 β_2 微球蛋白(β_2 -MG)在灭活前、后的检测值差异有统计学意义($P < 0.05$), 与灭活前相比, 灭活后的检测值分别平均下降了 11.09%、2.55%、4.08%、4.89%、6.16%、2.08% 和 3.65%; TP 和 ALB 灭活前、后的检测值差异无统计学意义($P > 0.05$), 但 20.00% 以上的标本灭活前后检测值偏差超过最大允许偏差。结论 56 °C 加热 30 min 灭活处理对 22 项生化指标无影响, TCO₂、GLO、TBIL、IBIL、HDL、PA、 β_2 -MG、血清总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)和酶类指标受灭活影响, 临床应用时应进行校正。

关键词: 灭活; 生化; 新型冠状病毒肺炎病毒

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.11.020

中图法分类号: R563.1

文章编号: 1673-4130(2020)11-1366-05

文献标识码: A

Effects of inactivation of serum at 56 °C for 30 min on biochemical test results

LIU Changde¹, JIAO Mingyuan², GAO Chao³, ZHANG Dehuai¹, CUI Liyan^{4△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Huimin Hospital of Beijing, Beijing 100054, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Tongzhou District Maternal and Child Health Hospital of Beijing, Beijing 101101, China; 3. Huizhong Diagnostic Technology Co., Ltd, Shanghai 200085, China; 4. Department of Clinical Laboratory, the Third Hospital of Peking University, Beijing 100191, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of virus inactivation on serum biochemical test indexes after heating at 56 °C for 30 min. **Methods** After centrifugation, 35 patients were collected to separate haemorrhagic serum, 38 biochemical indexes were detected before and after inactivation, and the effect of inactivation on biochemical test was compared. **Results** (1) Among the biochemical indicators related to neo-coronary pneumonia, there were significant differences in the detection value of alanine aminotransferase (ALT), γ -glutamyl transpeptidase (GGT), creatine kinase (CK), alkaline phosphatase (ALP), and cholinesterase (CHE) before and after inactivation ($P < 0.05$), compared with that before inactivation, the detection value after inactivation decreased by 16.76%, 2.53%, 56.77%, 34.39% and 7.31% respectively. There was no significant difference in the detection value of AST, LDH and CRP before and after inactivation ($P > 0.05$), but the detection value deviation of AST and LDH before and after inactivation exceeded the maximum allowable deviation. Among the other biochemical indexes, there were significant differences in the total carbon dioxide

作者简介: 刘长德, 男, 副主任技师, 主要从事临床病原微生物感染检测与控制以及实验室质量管理方面的研究。△ 通信作者, E-mail: cliyan@163.com.

本文引用格式: 刘长德, 焦明远, 高超, 等. 血清 56 °C 加热 30 min 灭活对生化指标检测结果的影响研究[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(11): 1366-1370.

(tCO₂), serum globulin (GLO), total bilirubin (TBIL), indirect bilirubin (IBIL), high density lipoprotein (HDL), serum prealbumin (PA) and serum β_2 -microglobulin (β_2 -MG) before and after inactivation ($P < 0.05$), compared with that before inactivation, the detection value after inactivation decreased by 11.09%, 2.55%, 4.08%, 4.89%, 6.16%, 2.08% and 3.65% on average; there was no significant difference between the detection values before and after inactivation of TP and ALB ($P > 0.05$), but the detection value deviation before and after inactivation of more than 20.00% samples exceeded the maximum allowable deviation. **Conclusion** Inactivation treatment at 56 °C for 30 min has no effect on 22 biochemical indicators. tCO₂, GLO, TBIL, IBIL, HDL, PA, β_2 -MG, TP, ALB, and enzyme indicators are affected by inactivation, and should be corrected for clinical application.

Key words: inactivation; biochemistry; COVID-19

新型冠状病毒感染的肺炎(下称新冠肺炎)作为急性呼吸道传染病,已于 2020 年 1 月 20 日被国家卫健委发布的 2020 年 1 号公告归为《中华人民共和国传染病防治法》规定的乙类传染病,按甲类传染病管理。

新型冠状病毒属于 β 属的冠状病毒^[1-2],该病毒有包膜,颗粒呈圆形或椭圆形,常为多形性,直径 60~140 nm,传播途径主要是呼吸道飞沫和接触传播^[3],但已有关于实验室检测人员感染新冠病毒的报道,因此专家认为新冠病毒也可通过气溶胶传染。

根据新冠肺炎诊疗方案,56 °C 加热 30 min 可有效灭活新型冠状病毒。因此,本研究收集北京市回民医院门诊和住院患者静脉血标本,分别检测标本灭活前和灭活后的生化指标,并对结果进行统计学分析,旨在评价灭活对生化检测结果的影响,为今后在常规实验条件下通过加热灭活病毒开展检测提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2020 年 1 月本院门诊和住院患者 35 例,其中男 20 例,平均年龄 58 岁,女 15 例,平均年龄 63 岁。由临床采用非可替真空采血管(批号 D190735H)采集静脉血 3 mL,标本无溶血、脂血。

1.2 标本处理和检测 采集的静脉血标本经 1 200 g 离心 10 min 分离血清,并将血清分成两份。一份血清用于检测 38 项生化指标(灭活前组),另一份血清放置于 56 °C 温箱孵育 30 min 后再进行生化检测(灭活后组)。生化检测采用贝克曼全自动生化分析仪 5811,检测项目包括离子、肝功能、肾功能、血脂、心肌酶谱等。

1.3 结果评价 用两种评价标准判断热灭活是否对该检测指标有影响:(1)根据国家卫生健康委员会临床检验中心室间质量评价标准,定义灭活前后检测值最大允许偏差=1/3 可接受范围^[4], $\geq 80.00\%$ 标本灭活前后检测值偏差小于最大允许偏差,判为热灭活对

该检测指标无影响。(2)对灭活前和灭活后的标本检测值进行比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)时,判为热灭活对该检测指标无影响。

1.4 统计学处理 使用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析。对标本检测结果做描述性统计分析和相关性分析,连续变量通过正态性检验后,组间比较采用参数检验^[4]。

2 结果

2.1 最大允许误差评价 血清灭活前和灭活后各项生化项目结果偏差见表 1 和表 2,平均偏差=(灭活后均值-灭活前均值)/灭活前均值 $\times 100.00\%$ 。

表 1 列出了新冠肺炎诊疗方案中要求检测的生化项目,在标本灭活前后检测值平均偏差较大(超过 $\pm 10.00\%$),的项目有丙氨酸氨基转移酶(ALT)、肌酸激酶(CK)、碱性磷酸酶(ALP),为整体降低的趋势,其他项目平均偏差均在 $\pm 5.00\%$ 之内。灭活前后检测值相对稳定的项目是 C-反应蛋白(CRP)。用表中列出的最大允许误差做评价标准,酶类标志物均受灭活影响。

表 2 列出了其他生化项目检测结果,二氧化碳总量(TCO₂)检测值在灭活前后平均偏差较大(超过 $\pm 10.00\%$)且为整体降低趋势,检测值相对稳定的项目有钾(K)、钠(Na)、氯(Cl)、葡萄糖(Glu)、尿素(Urea)、肌酐(Crea)、尿酸(UA)、血清总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、胆固醇(CHO)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白(LDL)、血清载脂蛋白 A1(ApoA1)、Apo-B 等。用表中列出的最大允许误差做评价标准,受灭活影响的项目有 TCO₂、TP、ALB 和总胆红素(TBIL)。

综合表 1 和表 2,灭活前后,大部分检测项目的平均偏差在 $\pm 5.00\%$ 以内,天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、 γ -谷氨酰转肽酶(GGT)、血清球蛋白(GLO)、TBIL、间接胆红素(IBIL)等项目平均偏差较小,但波动较大。根据评价标准(1),酶类标志物、TCO₂、TP、ALB 和 TBIL 受灭活影响。

表 1 新冠肺炎相关生化指标灭活前后检测值偏差

项目	参考范围	灭活前均值	灭活后均值	平均偏差 (%)	最大偏差 (%)	最小偏差 (%)	最大 允许误差(%)	热灭活 影响判断
ALT(U/L)	9~50	20.46	17.03	-16.76	14.29	-40.00	±5.33	是
AST(U/L)	15~40	17.54	18.00	2.61	58.33	-28.57	±5.00	是
ALP(U/L)	45~125	82.30	54.00	-34.39	-11.24	-73.02	±6.00	是
GGT(U/L)	10~60	22.60	22.03	-2.53	6.25	-12.50	±3.67	是
CK(U/L)	50~310	57.37	24.80	-56.77	-15.79	-88.06	±5.00	是
LDH(U/L)	120~250	186.69	183.43	-1.74	17.01	-8.51	±3.67	是
CHE(U/L)	5 100~11 700	5 896.50	5 465.27	-7.31	-3.18	-17.77	±6.67	是
CRP(mg/L)	0.00~3.00	10.19	10.34	1.49	6.30	-7.30	±8.33	否

表 2 其他生化指标灭活前后检测值偏差

项目	参考范围	灭活前均值	灭活后均值	平均偏差 (%)	最大偏差 (%)	最小偏差 (%)	最大 允许误差(%)	热灭活 影响判断
K(mmol/L)	3.50~5.30	4.95	4.97	0.42	3.81	-1.17	±2.00	否
Na(mmol/L)	137.00~147.00	137.50	137.11	-0.28	1.03	-3.82	±1.33	否
CL(mmol/L)	99.00~110.00	96.94	96.60	-0.36	0.82	-1.59	±1.67	否
GLU(mmol/L)	4.00~6.11	8.72	8.69	-0.28	1.64	-3.86	±2.33	否
TCO ₂ (mmol/L)	22.00~29.00	24.05	21.38	-11.09	-7.05	-15.28	±2.67	是
Urea(mmol/L)	3.60~9.50	27.59	27.48	-0.43	2.19	-2.69	±2.67	否
Crea(μmol/L)	57.00~111.00	931.17	929.26	-0.21	1.37	-2.17	±4.00	否
UA(μmol/L)	208.00~428.00	449.34	448.86	-0.11	2.94	-3.48	±4.00	否
TP(g/L)	65.00~85.00	64.92	64.55	-0.58	2.23	-3.16	±1.67	是
ALB(g/L)	40.00~55.00	38.13	38.44	0.81	5.78	-2.21	±2.00	是
GLO(g/L)	10.00~35.00	26.79	26.11	-2.55	6.57	-12.89	—	—
TBIL(μmol/L)	5.10~28.00	4.29	4.11	-4.08	7.29	-15.09	±5.00	是
DBIL(μmol/L)	0.00~10.00	0.97	0.95	-1.30	39.62	-48.72	—	—
IBIL(μmol/L)	5.10~18.00	3.32	3.16	-4.89	6.47	-22.55	—	—
CHO(mmol/L)	≤5.70	4.12	4.13	0.20	2.48	-2.17	±3.00	否
TG(mmol/L)	<1.70	2.16	2.16	-0.11	5.33	-3.78	±4.67	否
HDL(mmol/L)	1.03~1.55	1.26	1.18	-6.16	-0.93	-16.05	±10.00	否
LDL(mmol/L)	≤3.37	1.79	1.75	-2.01	0.88	-7.41	±10.00	否
ApoA1(g/L)	1.00~1.60	1.15	1.14	-0.24	2.82	-3.77	±10.00	否
Apo-B(g/L)	0.60~1.10	0.78	0.79	0.41	3.75	-5.13	±10.00	否
Lpa(mg/L)	0.00~300.00	426.32	398.62	-6.57	7.14	-7.20	±10.00	否
Ca(mmol/L)	2.11~2.52	2.20	2.18	-0.62	1.43	-2.07	±1.67	否
P(mmol/L)	0.85~1.51	1.97	1.97	-0.07	4.86	-1.84	±3.33	否
Mg(mmol/L)	0.75~1.02	1.14	1.13	-0.48	1.65	-2.13	±5.00	否
HBDBH(U/L)	72.00~182.00	151.91	149.86	-1.35	6.50	-6.41	±10.00	否
TBA(μmol/L)	0.00~10.00	4.81	4.78	-0.62	5.77	-3.61	—	—
CG(μmol/L)	<2.70	1.56	1.58	1.08	18.66	-15.96	—	—
PA(mg/L)	170.00~420.00	338.45	331.41	-2.08	1.29	-14.29	±8.33	否
β ₂ -MG(mg/L)	1.00~3.00	43.29	41.71	-3.65	-0.16	-12.22	±8.33	否
HCY(μmol/L)	≤15.00	36.69	36.46	-0.61	2.21	-3.00	±6.67	否

注：—表示无数据。

2.2 相关性分析和配对标本 *t* 检验评价 对新冠肺炎相关的 8 项生化指标做相关性分析,这 8 项指标在

标本灭活前和灭活后检测值的相关系数的 P 值均小于 0.05,说明存在相关关系。相关系数全部大于 0,说明灭活前和灭活后的测值均呈正相关关系。灭活前后 CK 测值的相关系数为 0.499,为低度相关;灭活前后 ALP 测值的相关系数为 0.730,为中度相关;其余 6 项检测指标的相关系数均接近 1,为高度相关。

对这 8 项生化指标做正态性检验,证实灭活前组和灭活后组检测值符合正态分布,因此做配对标本 t 检验(H_0 :均值相等, H_1 :均值不等),结果见表 3。AST、LDH 和 CRP 的 P 值大于 0.05,说明灭活前和灭活后检测值的均值差异无统计学意义($P>0.05$),可以认为这 3 项指标检测值在灭活前后是一致的。ALT、GGT、CK、ALP 和 CHE 的 P 值均小于 0.05,说明灭活前和灭活后的检测值的均值差异有统计学意义($P<0.05$),与灭活前相比,分别平均下降了 16.76%、2.53%、56.77%、34.39%和 7.31%。

对本次检测的其他生化指标做相关性检验,标本

灭活前和灭活后检测值的相关系数的 P 值均等于 0.00,说明存在相关关系。相关系数均大于 0.80,接近 1,说明灭活前和灭活后的测值呈高度正相关关系。对这些指标做正态性检验,证实灭活前组和灭活后组检测值符合正态分布,因此做配对标本 t 检验(H_0 :均值相等, H_1 :均值不等),最大/最小测值偏差超过±10.00%的 9 项指标配对标本 t 检验结果见表 4, DBIL 和 CG 的 P 值均大于 0.05,说明灭活前和灭活后检测值的均值差异无统计学意义($P>0.05$),可以认为这两项指标检测值在灭活前后是一致的;其余 7 项指标的 P 值均小于 0.05,说明灭活前和灭活后检测值的均值差异有统计学意义($P<0.05$),与灭活前相比,灭活后 TCO₂、GLO、TBIL、IBIL、HDL、PA 和 β₂-MG 分别平均下降了 11.09%、2.55%、4.08%、4.89%、6.16%、2.08%和 3.65%。最大/最小检测值偏差在±10.00%以内的指标灭活前后的检测值差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 3 灭活前后新冠肺炎相关生化指标检测值配对标本 t 检验结果

项目名称	成对差分					t	自由度	P
	灭活前后均值的差值	标准差	均值的标准误	差分的 95%置信区间				
				下限	上限			
ALT	3.429	7.409	1.252	0.883	5.974	2.738	34	0.010
AST	-0.457	2.842	0.480	-1.434	0.519	-0.951	34	0.348
GGT	0.571	0.948	0.160	0.246	0.897	3.565	34	0.001
CK	32.571	30.019	5.074	22.260	42.883	6.419	34	0.000
LDH	3.257	9.886	1.671	-0.139	6.653	1.949	34	0.060
ALP	25.864	17.373	3.704	18.161	33.567	6.983	21	0.000
CHE	431.227	166.658	35.532	357.335	505.119	12.136	21	0.000
CRP	-0.152	0.462	0.098	-0.357	0.053	-1.542	21	0.138

注:灭活前后均值的差值=灭活前检测值均值−灭活后检测值均值。

表 4 灭活前后最大/最小检测值偏差超过±10.00%的生化指标配对 t 检验结果

项目名称	成对差分					t	自由度	P
	灭活前后均值的差值	标准差	均值的标准误	差分的 95%置信区间				
				下限	上限			
TCO ₂	2.666	0.497	0.084	2.495	2.836	31.731	34	0.000
GLO	0.683	1.112	0.188	0.301	1.065	3.633	34	0.001
TBIL	0.175	0.162	0.027	0.120	0.231	6.406	34	0.000
DBIL	0.013	0.142	0.024	−0.036	0.061	0.523	34	0.604
IBIL	0.163	0.222	0.038	0.086	0.239	4.328	34	0.000
HDL	0.078	0.032	0.007	0.064	0.091	11.371	21	0.000
CG	−0.017	0.116	0.025	−0.068	0.034	−0.682	21	0.502
PA	7.045	12.700	2.708	1.415	12.676	2.602	21	0.017
β ₂ -MG	1.582	1.457	0.311	0.936	2.228	5.094	21	0.000

注:灭活前后均值的差值=灭活前检测值均值−灭活后检测值均值。

2.3 两者综合评价 综合评价标准(1)和评价标准 (2),血清灭活对 16 项生化指标有影响,它们是 ALT、

AST、LDH、GGT、CK、ALP、CHE、TCO₂、TP、ALB、GLO、TBIL、IBIL、HDL、PA 和 β₂-MG, 对其余 22 项生化指标无影响。

3 讨论

气溶胶传播是指飞沫(大小为 0.001~100.000 μm)悬浮在空气中,吸入后造成的传播。新冠肺炎患者的血液标本暴露在空气里可能形成气溶胶。因此,气溶胶传播可能成为检验科感染新冠病毒的最大风险因素。

56℃加热 30 min 可有效灭活新型冠状病毒。本研究涵盖检验科大部分生化检测项目,采用相同热灭活方式处理标本,证实血清灭活对 22 项生化指标无影响,对 ALT、GGT、CK、ALP、CHE、TCO₂ 等 16 项生化指标有影响,与国内外的研究报道基本一致^[4-7]。酶类项目灭活后的检测值显著低于灭活前,这是因为 56℃加热 30 min 处理影响了酶的活性;TCO₂ 受灭活影响显著是因为加热使得血清中的二氧化碳丢失所致,另外 TCO₂ 也易受标本采集后到上机检测的时间长短的影响;其他受影响的项目可能是由于加热引起被检物变性所致。对于受影响的项目,建议参照该项目的平均偏差,对结果进行校正,以便减少偏差。

4 结论

血清标本 56℃加热 30 min 处理对 22 项生化指标无影响,16 项指标受到影响。受灭活影响的指标,在临床应用前,应进行必要的校正,以减小偏差。该方法简单易行、无需昂贵的设备,是防止新型冠状病毒气溶胶感染风险的有效措施。本文存在的不足之处是标本量较少,且入组标本检测值过于集中,因此

结论仅供参考,建议有条件的实验室收集更多标本评估加热灭活对实验室检测指标的影响,以制订合适的标本处理方式,降低实验室人员医源性感染的风险。

参考文献

[1] ZHOU P, YANG X, WANG X, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin[J]. *Nature*, 2020, 579(7798): 270-273.

[2] NANSHAN C, MIN Z, XUAN D, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study [J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 507-513.

[3] 田怀玉. 2019-nCoV: 来自冠状病毒的新挑战[J]. *中华预防医学杂志*, 2020, 54: E001-E001.

[4] 贾俊平. 统计学-基于 R[M]. 北京: 中国人民大学出版社, 2014: 183.

[5] 李晓东, 廖昊, 刘妍, 等. 60℃加热 1 小时灭活病毒方法对常规临床检测指标的影响研究[J]. *传染病信息*, 2016 (3): 160-163.

[6] CHONG Y K, NG W Y, CHEN S P, et al. Effects of a plasma heating procedure for inactivating Ebola virus on common chemical pathology tests[J]. *Hong Kong Med J*, 2015, 21(3): 201-207.

[7] MITCHELL S W, MCCORMICK J B. Physicochemical inactivation of Lassa, Ebola, and Marburg viruses and effect on clinical laboratory analyses[J]. *J Clin Microbiol*, 1984, 20(3): 486-489.

(收稿日期: 2020-02-29 修回日期: 2020-05-20)

(上接第 1365 页)

et al. Thromboelastography-guided transfusion decreases intraoperative blood transfusion during orthotopic liver transplantation: randomized clinical trial[J]. *Transplant Proc*, 2010, 42(7): 2590-2593.

[10] 侯涛, 赵广超, 邵小宝, 等. 血栓弹力图与常规凝血试验指导临床输血的对比[J]. *临床检验杂志*, 2016, 34(10): 739-741.

[11] 吕自兰, 王宾琳, 郭变琴, 等. 乳腺癌患者血栓弹力图与常规凝血指标的相关性分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(2): 218-221.

[12] EMEKTAR E, DAGAR S, CORBACIOGLU S K, et al. The evaluation of the audit of Fresh-Frozen Plasma (FFP) usage in emergency department[J]. *Turk J Emerg Med*, 2016, 16(4): 137-140.

[13] 傅云峰, 赵国胜, 高萌, 等. 血栓弹力图在住院重症患者临

床合理用血中的应用[J]. *中华危重病急救医学*, 2016, 28 (5): 396-400.

[14] MOHAMED M, MAJESKE K, SACHWANI G R, et al. The impact of early thromboelastography directed therapy in trauma resuscitation[J]. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*, 2017, 25(1): 99.

[15] HAIYAN S, BO S, JUN L, et al. Application value of thromboelastography in perioperative clinical blood transfusion and its effect on the outcome of patient[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(5): 3483-3488.

[16] ROBERTA E R, KEVIN F, REBEKAH L, et al. Thromboelastography-Directed Transfusion in Cardiac Surgery: Impact on Postoperative Outcomes [J]. *Ann Thorac Surg*, 2019, 107(5): 1313-1318.

(收稿日期: 2019-11-12 修回日期: 2020-03-10)