

—20℃保存血清标本是否混匀 对临床常规生化项目检验结果的影响观察^{*}

崔福义¹, 杨 维²

(1. 唐山市丰润区人民医院检验科, 河北唐山 064000; 2. 西安市中医医院检验科, 西安 710021)

摘要:目的 探讨血清标本在—20℃保存下生化检验结果变化及混匀对其影响。方法 收集的24例患者的新鲜血清进行常规生化检测后,分别置于四组编号相同容量为1 ml的样本管中,一组25℃保存24 h,一组4℃冰箱保存24 h,两组置于—20℃保存24 h(一组未混匀检测,一组混匀后检测),并将四组血清样本的生化结果与初始结果进行比较。结果 25℃室温保存24 h后,ALT,AST,TBIL和DBIL四项生化指标的平均水平均低于初始结果($t=2.130, 2.308, 2.134, 3.286, P=0.042, 0.029, 0.042, 0.003$),其余生化指标结果比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);4℃冰箱保存24 h后,TBIL,DBIL的水平低于初始水平($t=2.103, 2.089, P=0.045, 0.046$),其余生化指标比较差异均无统计学意义($P>0.05$);—20℃冰箱保存24 h的两组血清样本中,未进行混匀的样本血清生化结果与初始结果比较,差异均有统计学意义($t=-4.218\sim 11.710$,均 $P<0.05$),而混匀的血清样本的生化结果与初始结果比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 血清样本化学成分均一性在4℃冰箱中不会有所改变,可将不能及时检测的血清样本置于其中保存,而—20℃冰箱保存的血清样本的上下层化学成分浓度差异显著,上高下低,而检测前进行充分混匀可保证其生化检测结果的准确性。

关键词:血清标本;温度;生化结果;混匀;保存条件

中图分类号:R446.112 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2017)05-126-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2017.05.034

Observation of Whether to Mix Evenly the Serum Samples Preserved at —20℃ for Clinical Routine Biochemical Test Results

CUI Fu-yi¹, YANG Wei² (1. Department of Clinical Laboratory,

Fengrun District People's Hospital of Tangshan, Hebei Tangshan 064000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Xi'an Traditional Chinese Medicine Hospital, Xi'an 710021, China)

Abstract: Objective To explore the change of conventional biochemical test results of serum specimens saved —20℃ and blending of its effects. **Methods** The fresh serum of 24 patients were conducted routine biochemical tests, respectively in four groups of numbers in the same capacity of 1 ml of the sample tube, a set of 25℃ kept 24 hours a day, a group of 4℃ refrigerated for 24 hours, 24 hours at —20℃ save the two groups (a group was not incorporated, a set of blended), and the four groups of serum samples in biochemical results comparing with the initial results. **Results** 25℃ at room temperature preservation after 24 hours, ALT, AST, TBIL and DBIL biochemical indicators of four average were below the initial results ($t=2.130, 2.308, 2.130$ and $2.308, P=0.042, 0.029, 0.042$ and 0.003), there were no statistically significant difference between the rest of the biochemical index results comparison ($P>0.05$). 4℃ refrigerator after 24 hours, TBIL, DBIL levels below the initial level ($t=2.103$ and $2.089, P=0.045$ and 0.046), and the rest of the biochemical indicators to compare differences had no statistical significance ($P>0.05$). —20℃ refrigerated in the two groups of samples, not each sample of serum biochemical results compared with the initial results, were kept statistically significant difference ($t=-4.218\sim 11.710$, all $P<0.05$), while serum samples of 15 items and biochemical indexes of blending the results compared with the initial results, the average level of had no statistical significance ($P>0.05$). **Conclusion** Serum samples of the chemical composition of the homogeneity in the 4℃ refrigerator will not change, but will not be able to timely detection of serum samples in the preservation, and minus —20℃ refrigerator on the serum samples of a significant difference was found in the lower concentration of chemical components, compete on low, and tests conducted before fully blending can ensure the precision of its biochemical test results.

Keywords: serum specimens; temperature; biochemical results; blending; preservation conditions

人体血液成分的变化是明确人体病理生理变化的重要途径,因此在临床工作中血液样本常用于

疾病的判定与诊断^[1]。随着科学技术的进步,各种新型的全自动生化分析仪被广泛用于临床工作检

^{*} 作者简介:崔福义(1963—),男,主管检验师,E-mail:630452329@qq.com。

通讯作者:杨 维(1981—),女,硕士,主管检验师,研究方向:临床血液学检验,E-mail:95250473@qq.com。

验,大大提高生化结果检测的准确性,但人为原因造成的生化结果误差仍客观存在^[2]。当临床中的血清样本不能得到及时检测时,离开人体的血液在不同的保存条件下则会发生各种作用与反应,造成一定的误差,目前临床上常用室温、4℃或冰冻保存无法进行及时检测的血清样本,但对于在-20℃保存下的血清标本的生化结果的可靠性相对研究较少。因此为进一步探讨-20℃保存的血清标本生化检验结果变化及混匀对其影响,本文选取24例新鲜血清样本进行研究,分别在室温、4℃,-20℃中保存,现报道如下:

1 材料和方法

1.1 研究对象 选取本院检验科门诊当天收集的24例患者的24份新鲜血清样本作为研究对象,每份血清样本6 ml,其中超过12份血清样本中的肝功能生化指标[谷氨酰转肽酶(GGT)、碱性磷酸酶(AKP)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)、总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)],部分肾功能生化指标[尿素(BUN)和肌酐(Cr)]、尿酸(UA)、血糖(GLU)及血脂[三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)]检查结果中一项或多项生化指标结果异常。

1.2 试剂和仪器 选用日本的HITACHI7600-010生化仪进行检测。选用日本和光株式会社提供的试剂对ALT,AST,GGT,AKP,TBIL,DBIL,BUN,Cr及HDL-C的生化水平进行检测,采用四川迈克公司提供的试剂对TP,ALB,UA,GLU,TG,TC的生化水平进行测定,英国朗道公司提供

质控液。

1.3 实验方法 ①所有样本检测严格遵循实验项目标准化操作程序,选用英国朗道公司的质控液对样本进行质控检查;②所有血清样本均进行15项生化指标(ALT,AST,GGT,AKP,TBIL,DBIL,BUN,Cr,HDL-C,TP,ALB,UA,GLU,TG,TC)检测,以初始结果为有效检测结果;③将24份完成生化检测的血清样本分为四组,每组6份,同时将四组血清样本装入四组编号相同容量的有盖样本管中,每个样本管中装入1 ml血清样本,并密封保存。④四组血清样本中一组在室温(25℃)环境下保存,一组放置于4℃冰箱中直立保存,其余两组样本直立保存于-20℃的冰箱;⑤四组血清样本均完成24 h保存时间,然后对4℃冰箱中保存的样本(A组)与室温环境下保存的样本(B组)进行15项生化指标检测,分别记录A组及B组的检测结果,将余下两组样本-20℃冰箱中保存的样本在室温中进行30 min复融,然后对其中一组血清样本进行15项生化指标检测(C组),排除任何形式的倾斜混匀,C组的检测结果为未混匀结果,而另外一组样本在充分颠倒混匀后再行15项生化指标检测(D组),D组的检测结果为混匀后结果。

1.4 统计学分析 选用SPSS18.0统计学处理软件对该组研究涉及数据进行分析,计量资料的组间比较采用独立性 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同温度下保存及混匀对血清标本生化指标结果的影响 见表1。

表1 不同温度下保存24 h及混匀后生化结果与初始结果比较($\bar{x} \pm s$)

项 目	初始结果	A组结果	B组结果	C组结果	D组结果
ALT(U/L)	32±11	22±6	31±12	20±7	33±10
AST(U/L)	31±6	25±4	30±7	20±7	32±7
GGT(U/L)	63±25	62±27	62±24	40±16	62±26
AKP(U/L)	91±18	92±21	90±2	71±17	92±20
TP(g/L)	68.4±1.9	68.3±1.8	68.5±2.2	50.3±6.9	69±1.7
ALB(g/L)	40.6±4.3	41±4	41±4.1	31.8±2.9	41±4.4
TBIL(μ mol/L)	12.5±3.7	9.1±2.3	9.2±1.8	8.6±1.8	12.6±3.6
DBIL(μ mol/L)	4.1±0.4	3.5±0.4	3.7±0.5	3.4±0.2	4.2±0.3
BUN(mmol/L)	5±0.6	4.9±0.7	5.1±0.4	4.2±0.3	5.1±0.7
Cr(μ mol/L)	62±7	61±6	61±5	51±6	63±4
UA(μ mol/L)	286±47	284±49	278±41	215±44	295±51
GLU(mmol/L)	5.3±0.8	5.2±0.7	5.4±0.9	4.2±0.5	5.2±0.6
TG(mmol/L)	1.2±0.4	1.1±0.3	1.1±0.7	0.8±0.3	1.3±0.5
TC(mmol/L)	4.2±0.1	4.1±0.3	4.3±0.2	3.2±0.4	4.3±0.3
HDL-C(mmol/L)	1.0±0.2	1.1±0.3	1.1±0.3	1.1±0.3	1.1±0.3

A组血清样本经室温(25℃)保存24 h后,ALT,AST,TBIL,DBIL四项生化指标平均水平明显低于初始结果,差异均有统计学意义($t=2.130, 2.308, 2.134, 3.286, P=0.042, 0.029, 0.042, 0.003$),而GGT,AKP,BUN,Cr,HDL-C,TP,ALB,UA,GLU,TG和TC的平均水平与初始结果比较,差异均无统计学意义(均 $P>0.05$);B组血清样本经4℃冰箱保存24 h后,血清样本中的TBIL和DBIL平均水平均低于初始结果,差异有统计学意义($t=2.103, 2.089, P=0.045, 0.046$),而该组其余指标与初始结果比较,差异均无统计学意义(均 $P>0.05$);C组血清样本经-20℃冰箱保存24 h,复融30 min后未进行混匀,其所有生化指标结果与初始结果比较,差异均有统计学意义($t=2.346, 3.893, 2.131, 2.458, 11.710, 4.719, 2.485, 4.120, 3.139, 3.527, 3.347, 3.191, 2.282, 11.423, -4.218$,均 $P<0.05$);D组血清样本(-20℃保存24 h复融并混匀)的生化指标平均水平与初始结果比较,差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。

3 讨论 人体血液化学成分的改变通常代表人体的病理与生理变化,而对临床血清标本进行准确检测既有利于筛查和诊断疾病,判定病程的发展和重要脏器的功能完整性^[3],又有利于判断疾病的康复进程,因此保证临床血清标本成分检测准确是确保临床检验有效性的重要手段。而目前临床上常用的血清标本成分检测手段为生化检测,即采用生物或化学的方法对人体血液成分进行检测,共包括ALT,AST,UA,LDH,CK,UA,TC和TG等36个项目的检查,常用的检测仪器为日立系列全自动生化分析仪、东芝全自动生化分析仪和奥林巴斯系列全自动生化分析仪等,血清生化结果有助于恶性肝癌、慢性乙型肝炎、冠心病、糖尿病等疾病的诊断,也可用于判断疾病的康复(如CRP是预后良好的诊断标志物)^[4,5],血清标本的生化检测结果是病理诊断的重要指标。

血清标本的质量对生化检测结果的准确性造成直接影响,且由于血液离开人体后会发生不同的反应和作用,血液成分也随之改变^[6],因此当血清标本不能及时进行生化检测时,生化结果会出现较大误差^[7]。虽然随着全自动生化分析仪的推广,血清标本的检测相对简化,但由于临床血清样本数量过多和方法学的制约,或血清样本的采集时间受到严格限制(如在手术的不同时期进行采集)难以大批量采集^[8],同时患者对医疗服务要求的提高,随到随抽血已成为临床工作的常态^[9],因此很多血清样本无法进行及时检测,而为保证血清样本的质

量,减少误差,需对样本进行妥善保存,尽量保证血液成分的稳定性。目前临床上常用的保存方式为室温(25℃)保存、4℃冰箱与-20℃冰箱保存^[10]。Stubenrauch等^[11]在关于血液标本的保存方法与保存时间对生化检测结果影响的研究中指出,在4℃冰箱中保存的血清样本血液成分的稳定性优于室温环境下保存的样本,王伟佳等^[12]研究指出,不同浓度BNP和NT-proBNP血清样本在室温下均可稳定保存2 h,生化性质不出现明显改变,而本文的研究结果表明,当血清标本在室温环境下保存24 h后,4项生化指标的结果出现改变($P<0.05$),在4℃冰箱中保存24 h的样本中2项生化指标异常($P<0.05$),而-20℃冰箱中保存24 h的标本经复融并混匀后,全部血清生化指标结果较初始结果均未有明显改变($P>0.05$),说明在保存时间较短的情况下,零下20℃冰箱保存是目前最佳也是较为容易实现的保存方式。

有资料表明,血清中的红细胞等有形成分在室温保存下会发生自然沉降现象,但关于血液中的化学成分在不同保存条件下是否发生沉降,国内相关报道较为少见^[13]。而本文的研究发现,-20℃冰箱保存24 h后的血清标本的化学成分均一性极差,血清下层化学成分的浓度显著高于血清上层,有学者解释这与低温下化学成分的饱和度均得到不同程度的下降,导致盐晶析出并沉积于下部^[14],但本文C组与D组的血清样本经室温复融后未发现盐晶存在,而Yue等^[15]解释化学成分均一性的改变是由于低温环境下化学成分发生自然沉降,但关于低温环境下化学成分发生自然沉降的原理仍未有明确解释,因此低温环境下血清标本化学成分均一性改变的具体原因仍需深入研究。

由于检验科医务人员对经低温保存后血清样本上下层化学成分浓度差异的认识不足,血清标本检测前的混匀常被忽略,而本文的研究结果中,两组同样在-20℃冰箱中保存24 h并复融的血清标本,检测前未进行混匀的样本的生化结果较初始结果有较大差异($P<0.05$),而进行充分混匀的样本的血清结果无明显改变。说明复融后混匀再行检测是保证低温保存下样本生化结果准确性有效方式。

综上所述,笔者认为室温(25℃)保存和4℃冰箱保存血清标本的化学成分的均一性不会发生明显改变,但ALT与TBIL等会稍稍降低,而4℃冰箱保存不大明显,-20℃冰箱保存的血清样本的下层化学成分的浓度显著高于上层浓度,而检测前混匀则能消除其对生化结果的影响。

参考文献:

- [1] 毕聪玺,臧亮,邓雪莲,等.不同振荡方式对全自动酶免系统检测结果的影响[J].中国输血杂志,2015,28(6):712-713.
Bi CX, Zang L, Deng XL, et al. The influence of different modes of oscillation on automatic ELISA test [J]. Chinese Journal of Blood Transfusion, 2015, 28(6):712-713.
- [2] 黄伯泉,郑优荣,李玉笑,等.不同振荡方式对 FAME 全自动酶免分析系统检测结果影响的分析[J].热带医学杂志,2015,15(7):904-906.
Huang BQ, Zheng YR, Li YX, et al. Effect of different modes of oscillation on ELISA results using the microlab FAME system[J]. Journal of Tropical Medicine, 2015, 15(7):904-906.
- [3] 黄婉姣,田春华,朱伟才,等.不同采血管、标本处理过程以及存放时间对 NSE 检测结果的影响[J].检验医学与临床,2016,13(15):2090-2091,2094.
Huang WJ, Tian CH, Zhu WC, et al. Effects of different vacuum tubes, specimen processing and storage time on the detection results of neuron specific enolase[J]. Laboratory Medicine and Clinic, 2016, 13(15):2090-2091,2094.
- [4] Soria MA, Bonnet MA, Bueno DJ. Relationship of salmonella infection and inflammatory intestinal response with hematological and serum biochemical values in laying hens[J]. Vet Immunol Immunopathol, 2015, 165(3/4):145-153.
- [5] 张铁,邵苗,李江,等.血清标本的保存条件对胃泌素释放肽前体检测结果的影响[J].中日友好医院学报,2015,29(3):164-165,176.
Zhang T, Shao Z, Li J, et al. Impacts of samples storage temperature and time on results of serum pro-gastrin-releasing peptide [J]. Journal of China-Japan Friendship Hospital, 2015, 29(3):164-165,176.
- [6] 杜亚梅,张国军,陈燕,等.标本保存方法和时间对血清总二氧化碳结果的影响[J].首都医科大学学报,2014,35(4):438-442.
Du YM, Zhang GJ, Chen Y, et al. Effect of sample storage method and time on the test results for serum total carbon dioxide[J]. Journal of Capital Medical University, 2014, 35(4):438-442.
- [7] 周洪,陈志菊,周绍英.2种检测系统测定血、尿淀粉酶高值标本时稀释液的评价与选择[J].重庆医学,2015,44(8):1048-1051.
Zhou H, Chen ZJ, Zhou SY. Evaluate and select the dilution for high blood and urine amylase among two measurement system[J]. Chongqing Medicine, 2015, 44(8):1048-1051.
- [8] Moshkin AV. The percentage of blood serum tests with hemolysis in different groups of patients[J]. Klin Lab Diagn, 2015, 60(6):14-17.
- [9] 采云. HbA1c 在不同检测系统及不同储存条件下结果的比较[J].标记免疫分析与临床,2016,23(11):1344-1347.
Cai Y. Comparison of the results of HbA1c by different detection systems and under different storage conditions[J]. Labeled Immunoassays and Clinical Medicine, 2016, 23(11):1344-1347.
- [10] 张辉亮,黄树华,刘健玲.重度乳糜血标本对三种常见类型生化检测方法的影响[J].现代检验医学杂志,2015,30(1):128-131.
Zhang HL, Huang SH, Liu JL. Influence of severe chyle blood serum to the three types of common biochemical detection method [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2015, 30(1):128-131.
- [11] Stubenrauch K, Mackeben K, Vogel R, et al. Generic anti-drug antibody assay with drug tolerance in serum samples from mice exposed to human antibodies [J]. Anal Biochem, 2012, 430(2):193-199.
- [12] 王伟佳,张秀明,温冬梅,等.不同抗凝剂、样本放置时间及保存温度对 B 型利钠肽和氨基末端 B 型利钠肽原检测的影响[J].现代检验医学杂志,2012,27(2):83-87.
Wang WJ, Zhang XM, Wen DM, et al. Effect of different anticoagulant, standing time and storage temperature on analysis of B-type natriuretic peptide and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2012, 27(2):83-87.
- [13] 成景松,余永辉,邱昌凤,等.迈瑞 BS-800 生化分析仪血清指数参考区间的确立及性能评价[J].现代检验医学杂志,2014,29(4):97-100.
Cheng JS, Yu YH, Qiu CF, et al. Establish reference interval of serum indexes and its performance evaluation in mindray BS-800 automatic biochemical analyzer [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014, 29(4):97-100.
- [14] 黄莹,刘敬喜.不同抗凝剂对 5 种特定蛋白检测结果的影响[J].国际检验医学杂志,2016,37(4):468-469,471.
Huang Y, Liu JX. Impact on the measurement results of five different specialty protein blood collection tube project [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2016, 37(4):468-469,471.
- [15] Yue CY, Ying CM. Comparability of the effect of storage time and temperature on serum anti-Mullerian hormone measurement between original and modified enzyme-linked immunosorbent assay [J]. Clin Chim Acta, 2017, 464:79-84.

收稿日期:2017-03-01

修回日期:2017-06-29