

• 经验交流 •

# 分离胶促凝剂真空负压采血管对乙型肝炎病毒 DNA 荧光定量聚合酶链反应检测结果的影响

刘晓峰, 陈雪礼

(江西省九江市第一人民医院检验科 332000)

**摘要:**目的 探讨分离胶促凝剂真空负压采血管采集全血标本对荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)检测乙型肝炎病毒 DNA(HBV DNA)结果的影响。方法 分别用分离胶促凝剂真空负压采血管和普通第二代促凝剂真空负压采血管同时采集 90 例乙型肝炎患者空腹静脉血,对不同方式所采集标本测得的 HBV DNA 结果进行统计学分析。结果 以 HBV DNA 拷贝数的常用对数值表示检测结果,分离胶促凝剂真空负压采血管血清标本和普通第二代促凝剂真空负压采血管血清标本检测结果分别为  $4.92 \pm 0.19$  和  $4.81 \pm 0.18$ ,组间比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 分离胶促凝剂真空负压采血管对 FQ-PCR 法检测 HBV DNA 结果无影响。

**关键词:**肝炎病毒,乙型; DNA; 聚合酶链反应; 肝炎,乙型; 分离胶

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2011.04.032

**文献标识码:**B

**文章编号:**1673-4130(2011)04-0495-02

分离胶促凝剂真空负压采血管不仅填充有进口分离胶,而且在采血管内壁上均匀涂布有促凝剂,因此可大大缩短血液凝固时间。进口分离胶对血清中的蛋白的吸附能力低,稳定性强,离心后的分离胶固化形成屏障,平整地将血清与血细胞完全分离,能够有效阻止血清和血细胞间的物质交换,从而有利于获得高质量的血清,使血液检测的结果更加真实,也有利于提高血清的收集率<sup>[1-2]</sup>。目前分离胶促凝剂真空负压采血管主要用于以血清标本为检测对象的临床生化检验、免疫学检验等<sup>[3-4]</sup>。但对分离胶促凝剂真空负压采血管与普通第二代促凝剂采血管所采集全血标本,并在分离血清后以血清作为检测对象进行乙型肝炎病毒 DNA (hepatitis B virus DNA, HBV DNA) 荧光定量聚合酶链反应 (fluorescent quantitation-polymerase chain reaction, FQ-PCR) 测定结果差异的相关研究较少。为了探讨分离胶对血清中 HBV DNA 测定结果的影响,笔者进行了相关对比试验和分析,结果报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 随机选取 90 例本院住院和门诊乙型肝炎(乙肝)患者,其中男 52 例,女 38 例,平均年龄 45 岁。每例患者采用 2 种采血管进行全血标本采集(患者在接受 1 次静脉穿刺后,分别用 2 种采血管采集全血标本),其中分离胶促凝剂真空负压采血管为试验组,未添加分离胶的普通第二代促凝剂真空负压采血管为对照组,各采集 3 mL 静脉血标本。

## 1.2 耗材、仪器与主要试剂

**1.2.1 耗材** 不同类型一次性人体静脉血采集管:北京积水医疗科技(中国)有限公司生产的 ST 系列一次性使用分离胶促凝剂真空负压采血管(规格型号 ST740CG,批号 101004);湖南浏阳医用器具厂生产的一次性使用第二代促凝剂真空负压采血管(批号 100923)。

**1.2.2 仪器与试剂** 中山大学达安基因公司生产的 DA7600 型基因扩增仪及配套 HBV DNA FQ-PCR 检测试剂盒。

**1.3 方法** (1)90 例患者分别用分离胶促凝剂真空负压采血管和促凝剂真空负压采血管,同时各无菌采集空腹静脉血 3 mL;分离胶促凝剂真空负压采血管采血后立即 180°轻轻颠倒混匀 5~6 次,室温放置 20 min 后,以 8 cm 为离心半径 3 500 r/min 离心 10 min。将以上各组来源的血清标本分别按 HBV

DNA FQ-PCR 检测试剂盒说明书进行 HBV DNA 定量扩增检测。所测结果用拷贝数的对数值表示。(2)HBV DNA 提取和扩增:直接吸取血清 100  $\mu$ L,加等量的 DNA 浓缩液充分混匀,以 5 cm 为离心半径 12 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,加 20  $\mu$ L DNA 提取液充分混匀,100  $^{\circ}$ C 金属浴 10 min(前后误差不超过 1 min),转至 4  $^{\circ}$ C 静置 6~8 h,以 5 cm 为离心半径 10 000 r/min 离心 5 min,取上清液 5  $\mu$ L 做 PCR 反应。将点好样的反应管放入 PCR 仪上,93  $^{\circ}$ C 2 min 预变性,然后按 93  $^{\circ}$ C 45 s  $\rightarrow$  55  $^{\circ}$ C 60 s 反应 10 个循环,再按 93  $^{\circ}$ C 30 s  $\rightarrow$  55  $^{\circ}$ C 45 s 反应 30 个循环。每批 PCR 试验均同时检测阴、阳性对照标本和临界阳性标本。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS13.0 统计软件对试验数据进行配对统计学处理;采用配对 *t* 检验进行检测结果比较, $P < 0.05$  时比较差异有统计学意义。

## 2 结果

分离胶促凝剂真空负压采血管与普通第二代促凝剂真空负压采血管分离血清进行 HBV DNA 检测结果见表 1。

表 1 HBV DNA 检测结果对数值比较

| 组别          | n  | 检测结果对数值           | CV(%) |
|-------------|----|-------------------|-------|
| 分离胶促凝剂真空采血管 | 90 | $4.92 \pm 0.19^*$ | 4.27  |
| 普通第二代促凝剂采血管 | 90 | $4.81 \pm 0.18^*$ | 4.05  |

\*: $P > 0.05$ ,与普通第二代促凝剂采血管检测结果比较。

由表 1 可以看出,使用分离胶促凝剂真空负压采血管的 90 例乙肝患者血清 HBV DNA 的检测结果对数值为  $4.92 \pm 0.19$ ,使用普通促凝剂真空负压采血管时乙肝患者血清 HBV DNA 的检测结果对数值为  $4.81 \pm 0.18$ 。经配对 *t* 检验比较,两者间的差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

## 3 讨论

随着分子生物学的发展,乙肝患者的血清学检测已经从以常规的"两对半"检测间接反映患者体内病毒是否复制,开始转向血清学的 HBV DNA 检测。乙肝对人类危害性极大,病毒的活跃复制则是启动或激发肝脏组织炎性反应的因素,因此从 HBV DNA 定量的角度检测对临床诊断和评价病毒复制水平

有十分重要的意义<sup>[5-10]</sup>。目前临床上绝大多数都是以分离自用普通第二代促凝剂真空负压采血管所采集的全血标本的血清进行 HBV DNA 检测,所以本研究选择该种采血管作为对照组。FQ-PCR 技术是在常规 PCR 基础上添加了荧光标记探针,在无特异性 PCR 发生时,荧光信号不改变;当有特异性 PCR 扩增时,荧光信号增强。在 FQ-PCR 检测过程中,实时检测反应体系中荧光信号的变化,参照阳性梯度标准品,由电脑自动计算出样品起始 DNA 定量结果。

由于分离胶技术不断得到推广,分离胶促凝剂真空负压采血管在临床检验医学工作中得到广泛应用<sup>[11]</sup>。但分离胶促凝剂真空负压采血管分离血清后对 HBV DNA 检测结果的影响相关报道很少。本研究结果显示,使用分离胶促凝剂真空负压采血管的 90 例乙肝患者血清 HBV DNA 的检测结果对数值为  $4.92 \pm 0.19$ ,使用普通促凝剂真空负压采血管时乙肝患者血清 HBV DNA 的检测结果对数值为  $4.81 \pm 0.18$ ;经配对 *t* 检验分析比较,两者间的差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。因此使用分离胶促凝剂真空负压采血管不会对 HBV DNA 检测产生影响,而分离胶促凝剂真空负压采血管有利于更快速度分离血清进行 HBV DNA 检测,能大大提高工作效率,值得在临床 PCR 扩增实验室中广泛应用。

参考文献

[1] 王永安,韩宝祥.血清分离胶的理论及应用[J].上海医学检验杂志,1995,10(4):234-236.  
 [2] 曾平,刘虹,刘运双.真空采血管内添加物对常见生化项目测定结果的影响[J].四川医学,2010,31(7):933-935.

[3] 王永安,吉本秋雄,廖富荣,等.血清(或血浆)分离胶采血管的理论基础及临床应用[J].国际检验医学杂志,2007,28(9):864,F3-4.  
 [4] 付俊,张洪海.分离胶/促凝剂管在检验科的应用分析[J].中国中医药咨询,2010,2(32):164-165.  
 [5] 陶其敏,魏来.我国病毒性肝炎病原学诊断的发展和展望[J].中华检验医学杂志,2003,26(12):723-725.  
 [6] 杨小蓉,陈小明,丁彩屏,等.HBV-DNA 实时荧光定量检测与 HBV 免疫标志物结果相关性分析[J].临床医学工程,2010,17(11):61-62.  
 [7] 黄华泥,张业久,徐五星.HBV-DNA 定量检测结果与乙肝两对半模式相关性分析[J].现代中西医结合杂志,2010,19(31):3459-3460.  
 [8] 穆占义.HBV M 与 HBV-DNA 定量检测的临床关系[J].中外医疗,2010,29(28):75-80.  
 [9] 欧阳琳,刘小华,刘先林.荧光定量 PCR 检测 HBV-DNA 与乙肝两对半检测结果的相关性探讨[J].中外医学研究,2010,8(18):7-8.  
 [10] 张金花,肖邦,毛黎.HBV 血清学标记物与 HBV-DNA 定量检测的相关性及临床意义[J].国际检验医学杂志,2009,30(3):292-294.  
 [11] 韩秋青,王爱玲,韩风杰.血液分离胶采血试管在临床检验中的应用[J].吉林医学,2010,31(15):2245-2246.

(收稿日期:2010-10-09)

• 经验交流 •

## 尿胱抑素 C 检测对 2 型糖尿病肾小管早期损伤的应用价值

杜开春<sup>1</sup>,李诺飞<sup>2</sup>

(1.湖北省宜昌市第一人民医院检验科 443000;2.湖北省宜昌市中医院检验科 443003)

**摘要:**目的 探讨尿胱抑素 C(Cys C)浓度在 2 型糖尿病患者肾小管早期损伤中的临床应用价值。方法 用透射免疫比浊法测定尿 Cys C;连续监测比色法测定尿 N-乙酰-β-氨基葡萄糖苷酶(NAG);免疫比浊法测定尿 β<sub>2</sub> 微球蛋白(β<sub>2</sub>-MG)。结果 24 h 尿清蛋白排泄率(UAER) < 30 mg 的 DM1 组患者尿 Cys C、NAG、β<sub>2</sub>-MG 与正常对照组尿 Cys C( $0.08 \pm 0.04$ )mg/L、NAG( $10.8 \pm 8.6$ )U/L、β<sub>2</sub>-MG( $0.10 \pm 0.08$ )mg/L 比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ );24 h 尿 UAER 在 30~300 mg 时,尿 Cys C、NAG、β<sub>2</sub>-MG 均显著增高( $P < 0.01$ )。结论 在糖尿病肾病早期,尿 Cys C、NAG、β<sub>2</sub>-MG 的浓度均升高,尿 Cys C 显著升高,尿 Cys C 可以作为糖尿病早期肾小管损伤的评价指标。

**关键词:**肾小管损伤; 尿胱抑素 C; N-乙酰-β-氨基葡萄糖苷酶; β<sub>2</sub> 微球蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.04.033

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2011)04-0496-02

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是 2 型糖尿病(DM)主要的并发症之一,是导致末期肾功能衰竭的主要原因。DN 起病隐匿,早期常缺乏明显的临床表现,因此,早期诊断 DN 具有重要临床意义。近来的研究表明,肾小管间质损伤在 DN 的发生、发展中起重要作用<sup>[1]</sup>。本文对 122 例 2 型 DM 患者检测尿胱抑素 C(Cys C)、N-乙酰-β-氨基葡萄糖苷酶(NAG)、β<sub>2</sub> 微球蛋白(β<sub>2</sub>-MG)旨在探讨它们在 2 型糖尿病肾小管早期损伤中的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 (1)对照组:50 例为本院体检健康者,男 22 例,女 28 例,年龄 25~65 岁,平均年龄 47 岁。均无肝、肾、高

血压、糖尿病等。(2)疾病组:2 型糖尿病患者 122 例,为本院内分泌科 2009 年 4 月至 2010 年 3 月住院患者,其中男性 54 例,女性 68 例,年龄 25~70 岁,平均年龄 49 岁。均按 WHO1997 年关于糖尿病的诊断标准确诊,无其他疾病引起的肾损害。根据 24 h 清蛋白排泄率(UAER)又将其分为 3 组。其中,DM1 组(无肾病)46 例,24 h UAER < 30 mg;DM2 组(早期 DN)40 例,24 h UAER 在 30~300 mg 之间;DM3 组(临床 DN)36 例,24 h UAER > 300 mg。

1.2 仪器 日立 7170A 全自动生化分析仪。

1.3 试剂与方法 采用日立 7170A 全自动生化分析仪检测