

• 经验交流 •

不同保存温度和时间对 EBV-DNA 载量检测结果的影响\*

李友琼, 黄慧嫔, 阳文辉, 覃桂芳<sup>△</sup>  
(广西壮族自治区人民医院检验科, 广西南宁 530021)

**摘要:**目的 了解不同保存温度和时间对 EBV-DNA 载量检测结果的影响。方法 搜集 15 份 EBV-DNA 载量检测阳性的标本, 高、中、低载量各 5 份, 分成两管, 分别在室温和 4 ℃ 保存 3、5、7、9 d, 然后进行检测。结果 在不同的保存温度下, 高、中、低载量组 EBV-DNA 载量结果比较, 差异有统计学意义(分别为  $P<0.001$ 、 $P<0.05$ 、 $P<0.05$ )。在相同的保存温度不同保存时间里, 随着时间的延长, EBV-DNA 载量有所减少, 但是其差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 检测 EBV-DNA 载量的样本, 4 ℃ 保存、1 周内检测完效果较佳。

**关键词:** EBV-DNA; 保存时间; 保存温度; 影响  
**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.07.062 **文献标识码:** B **文章编号:** 1673-4130(2013)07-0877-02

鼻咽癌(NPC)是中国南方人群发病率比较高的一种恶性肿瘤。目前, EBV-DNA 载量检测可以作为 NPC 诊断、疗效观察和预后一种有效的监测指标<sup>[1-3]</sup>, 然而 EBV-DNA 载量的检测受到仪器、试剂、人员等因素影响<sup>[4]</sup>, 同时还可能受到保存温度和时间的影响<sup>[5]</sup>。由于有些实验室检测样本不多, 或者遇到节假日时患者减少, 一般都需要凑足样本数量再上机进行检测, 因此探讨不同的保存温度和时间对 NPC 患者 EBV-DNA 载量检测结果产生的影响有实际的应用价值。

1 材料与方法

**1.1 标本来源** 选取 2011 年 6~9 月在本院门诊和住院部 EBV-DNA 载量检测阳性的病例 15 例, 其中高 $[(5.39\pm0.17)$  copies/mL]、中 $[(4.50\pm0.19)$  copies/mL]、低 $[(3.50\pm0.24)$  copies/mL]的载量各 5 例, 男性 9 例, 女性 6 例, 年龄 $(52\pm12)$  岁。

**1.2 仪器与试剂** 荧光定量 PCR 分析仪为 Roche 公司的 LightCycler 480, EBV-DNA PCR 检测试剂盒购于广东中山大学达安基因股份有限公司。

1.3 方法

**1.3.1 标本采集** 使用 EDTA 钾盐抗凝管抽取静脉血 3 mL, 颠倒混匀后, 立即送实验室检测。1 500 r/min 离心 5 min, 进行检测, 然后将上层血浆平均分成 2 份, 分别放置室温 $(25\pm2)$  ℃ 和冷藏冰箱 $(4\pm2)$  ℃ 3、5、7、9 d 后, 进行检测。

**1.3.2 EBV-DNA 载量检测** 取上层血浆 100  $\mu$ L, 加入 100  $\mu$ L 浓缩沉淀液, 振荡混匀后, 12 000 r/min 离心 10 min, 弃上清; 加入 DNA 提取液, 振荡溶解后, 100 ℃ 干浴 10 min; 12 000 r/min 离心 10 min, 上清即为 DNA 模板, 备用。PCR 反应体系: 43  $\mu$ L 反应液和 2  $\mu$ L DNA 模板; PCR 反应条件: 93 ℃ 2 min; 93 ℃ 20 s, 57 ℃ 45 s, 共 40 个循环。以试剂说明书中, EBV-DNA 载量大于或等于 500 copies/mL 为阳性判断标准。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析。计量资料用  $\bar{x}\pm s$  表示, 不同温度组间比较用配对  $t$  检验, 不同时间组间比较用单因素方差分析, 以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

**2.1 不同的保存温度和时间, EBV-DNA 载量检测结果, 见表 1。**不同保存温度之间的结果进行比较, 高、中、低载量的标本其差异均有统计学意义, 统计值分别为  $t=4.415$ ,  $P<0.001$ ;  $t=3.246$ ,  $P<0.05$ ;  $t=3.781$ ,  $P<0.05$ 。

**2.2 4 ℃ 保存, 不同天数间比较, 差异没有统计学意义**( $F=0.035$ ,  $P>0.05$ ); 室温保存温度, 不同天数间比较, 结果无统计学意义( $F=0.195$ ,  $P>0.05$ )。不同保存时间和温度条件下检测到的载量水平趋势见图 1~3(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

表 1 不同的保存温度和时间 EBV-DNA 载量检测结果( $\bar{x}\pm s$ , copies/mL)

| 分组     | 1 d       | 3 d       | 5 d       | 7 d       | 9 d       |
|--------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 高载量    |           |           |           |           |           |
| 4 ℃ 保存 | 5.39±0.17 | 5.38±0.17 | 5.36±0.17 | 5.37±0.16 | 5.31±0.18 |
| 室温保存   | 5.39±0.17 | 5.37±0.18 | 5.33±0.18 | 5.27±0.18 | 5.22±0.20 |
| 中载量    |           |           |           |           |           |
| 4 ℃ 保存 | 4.50±0.19 | 4.47±0.19 | 4.44±0.27 | 4.42±0.31 | 4.40±0.34 |
| 室温保存   | 4.50±0.19 | 4.47±0.18 | 4.43±0.25 | 4.37±0.32 | 4.32±0.36 |
| 低载量    |           |           |           |           |           |
| 4 ℃ 保存 | 3.50±0.24 | 3.49±0.26 | 3.42±0.27 | 3.36±0.32 | 3.27±0.35 |
| 室温保存   | 3.50±0.24 | 3.46±0.26 | 3.40±0.35 | 3.29±0.30 | 3.20±0.38 |

3 讨 论

对于临床实验室检测样本, 其分析前的保存温度和时间, 会影响到检测结果, 影响的程度因检测项目不同而异<sup>[6-8]</sup>。如果标本处理不当会造成检测结果的误差, 甚至会造成假阴性。

\* 基金项目: 广西卫生厅科研项目(桂卫 Z2010248)。 <sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: liyouqiong327@yahoo.com.cn。

因此,检验人员必须留意保存温度和时间影响因素,控制好检测的时机。

本研究显示,保存在室温和 4 ℃ 条件下,高、中、低载量 EBV-DNA 的检测结果见都存在明显差异。推测在室温保存条件下,DNA 可能会存在微量的降解,而 PCR 技术具有高度的敏感性,检测的结果容易受到影响。因此,对于 DNA 或 RNA 检测的项目,如果样本不是立即进行检测,短暂的保存应该放置于 4 ℃ 冷藏冰箱里,如果是需要更长时间的保存,应该放入-20 ℃ 冷冻冰箱,有条件的放于-80 ℃ 冷冻冰柜中保存。

随着保存时间的延长,高、中、低载量组,无论是室温还是 4 ℃ 条件下,检测结果都呈下降趋势,室温的条件比 4 ℃ 条件下下降更明显,其中有 2 例低载量样本在第 9 天的时候,检测显示为阴性。随着保存时间的延长,EBV-DNA 载量检测结果显示在 1 周内比较,差异没有统计学意义。这提示样本的放置不能超过 1 周,5 d 内保存,检测结果没有明显的差别。在临床工作中,如果样本采集较难的,可能保存的时间更长久的,可以通过离心分离血浆后,放置于-20 ℃ 冷冻冰箱保存,以避免 DNA 降解造成的检测结果差异。

参考文献

[1] 袁晖,杨蓓蓓,许则丰. 鼻咽癌患者血浆游离爱波斯坦-巴尔病毒 • 经验交流 •

DNA 定量测定的临床应用价值[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志,2004,39(3):162-165.  
[2] Wang WY,Twu CW,Chen HH,et al. Long-term survival analysis of nasopharyngeal carcinoma by plasma Epstein-Barr virus DNA levels[J]. Cancer,2013,119(5):963-970.  
[3] 廖勇,罗志强. 血浆 EB 病毒 DNA 定量测定对鼻咽癌的诊断价值[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2007,13(3):186-188.  
[4] 李友琼,覃桂芳. EB 病毒载量检测在相关疾病中标准化评价的进展[J]. 中国临床新医学,2011,4(12):1199-1202.  
[5] 林一民. 重视标本因素对检验结果准确性的影响[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(7):667-668.  
[6] Peakman TC,Elliott P. The UK Biobank sample handling and storage validation studies[J]. Int J Epidemiol,2008,37(Suppl 1):2-6.  
[7] Chaigneau C,Cabioch T,Beaumont K,et al. Serum biobank certification and the establishment of quality controls for biological fluids: examples of serum biomarker stability after temperature variation[J]. Clin Chem Lab Med,2007,45(10):1390-1395.  
[8] 黎建安,刘紫菱,林珠. 保存温度和保存时间对血清 HCV-RNA 定量检测结果的影响[J]. 实用医学杂志,2011,27(13):2454-2456.

(收稿日期:2012-08-09)

冠心病患者血清超敏 C-反应蛋白、白介素-18 和尿酸检测的临床意义

焦俊苹

(北京市怀柔区妇幼保健院检验科,北京 101400)

**摘要:**目的 探讨冠心病(CHD)患者血清高敏 C-反应蛋白(hs-CRP)、白细胞介素-18(IL-18)和尿酸(UA)检测临床意义和价值。**方法** 冠状动脉造影确诊的 CHD 患者 162 例,其中不稳定型心绞痛(UAP)组 55 例,稳定型心绞痛(SAP)组 67 例和心肌梗死(AMI)组 40 例。分析各组血清 hs-CRP、IL-18 和 UA 的检测结果。**结果** UAP、SAP、AMI 组血清 hs-CRP、IL-18 和 UA 高于对照组, $P<0.01$ 。**结论** 血清 hs-CRP、IL-18 和 UA 检测与 CHD 发生发展相关,三者联合检测对 CHD 诊断、治疗及预后具有重要意义。

**关键词:**冠状动脉疾病; C 反应蛋白质; 尿酸

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.07.063 文献标识码:B 文章编号:1673-4130(2013)07-0878-02

冠心病(CHD)在我国发病率与病死率呈迅速增长趋势,严重危害人类健康<sup>[1]</sup>。近年来研究发现,超敏 C-反应蛋白(hs-CRP)、白细胞介素-18(IL-18)和血尿酸(UA)在 CHD 发生发展过程中起着十分重要的作用。本文对本院收治的 162 例 CHD 患者和 117 例健康体检者分别进行 hs-CRP、IL-18 和 UA 检测,现将结果报道如下。

1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2011 年 1 月至 2012 年 9 月在本院住院的 CHD 患者 162 例,男 74 例,女 88 例,平均年龄(55.3±3.2)岁,分为稳定型心绞痛(SAP)组 55 例,不稳定型心绞痛(UAP)组 67 例,急性心肌梗死(AMI)组 40 例,并设对照组 67 例,所有入选对象均排除严重肝肾功能不全、脑血管疾病、高血压、糖尿病等。两组患者在一般资料上比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**1.2 方法** 所有测定对象均于空腹抽取静脉血 5 mL,离心 10 min 后备用。hs-CRP、IL-18 和 UA 的测定均使用美国贝克曼 DXC600 生化仪检测。试剂盒为美国贝克曼公司提供,操

作严格按照说明书进行。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS16.0 统计软件, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

各组 hs-CRP、IL-18 和 UA 检测结果比较 见表 1。

表 1 各组患者 3 种检测结果比较( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别    | <i>n</i> | hs-CRP(mg/L) | IL-18(ng/mL) | UA( $\mu$ mol/L) |
|-------|----------|--------------|--------------|------------------|
| SAP 组 | 55       | 17.63±0.89*  | 60.35±8.01*  | 345.6±65.25*     |
| UAP 组 | 67       | 38.12±1.41*  | 71.41±11.2*  | 462.3±71.23*     |
| AMI 组 | 40       | 77.50±12.7*  | 88.96±12.0*  | 474.6±77.71*     |
| 对照组   | 67       | 2.81±0.72    | 40.86±7.20   | 299.5±67.81      |

\*: $P<0.05$ ,与对照组比较。

3 讨论

CHD 是一种最常见心脏病<sup>[2]</sup>。近来研究显示 CRP 也产生于受损的冠状动脉。因而进一步探讨 CRP 与 CHD 患者的