

总误差等同于室内质量评价标准,比对要求应该设为 PT 7.5%、APTT 7.5%、FiB 10%。本实验室根据平时室内质控情况良好且室内质评优秀,将比对标准提高为小于或等于 1/3 允许总误差(即批间精密度标准),即便如此,也仅有一例 APTT 结果超出 1/3 允许总误差,完全符合 CNAS-CL43 文件的要求,说明两种离心方法的凝血项目检测结果具有可比性。

本实验还对两种离心条件下的血浆中 PLT 值进行了测定,并作统计学分析,两者差异有统计学意义($P < 0.05$)。3 000 r/min 离心 10 min 后血浆 PLT 平均值为 $0.85 \times 10^9/L$,4 000 r/min 离心 5 min 后血浆 PLT 平均值为 $5.20 \times 10^9/L$,后者 PLT 值明显高于前者,说明标准离心方法确实能够分离到近乎无血小板的血浆,充分满足凝血试验的要求。临床实验室标准化协会(CLSI)H21-A4 关于凝血试验标本的采集、运送和处理(第 4 版)要求分离出的血浆 PLT 应小于 $10 \times 10^9/L$,本研究中 4 000 r/min 离心 5 min 后血浆中 PLT 数值完全符合该规定的要求,不足以影响上述凝血试验项目的比对结果。

国外有研究者报道离心温度等条件对 PT、APTT、FiB、D-Dimer 的影响^[6-9],但并未见离心速度对凝血试验结果的探讨。国内有文献认为 APTT 检测的标本离心速度和时间不应低于 3 000 r/min 离心 10 min;如果只针对 PT、FiB 的检测,则可适当缩短离心时间^[10]。本文认为 4 000 r/min 离心 5 min 的凝血项目检测结果与标准离心方法具有可比性,在实际工作可以替代标准离心方法,以达到快速向临床提供准确检验报告的目的,具有较高的临床应用价值。

参考文献

[1] 陈晓燕.临床血栓与止血检验分析的质量保证探讨[J].实用医技

• 检验技术与方法 •

杂志,2011,18(5):527.

- [2] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3 版.南京:东南大学出版社,2006:210-211.
- [3] 苍金荣,王华,任建康.凝血与止血检测的质量保证[J].现代检验医学杂志,2003,18(6):45-46.
- [4] 卢淑兰,王玉红,程树杰.关于凝血组合项目离心要求的探讨[J].中外医学研究,2011,9(13):36.
- [5] 张建萍,张静.增加离心速度减少离心时间制备乏血小板血浆凝血试验结果比较[J].中国医学工程,2012,20(4):96.
- [6] Salvagno GL, Lippi G, Montagnana M, et al. Influence of temperature and time before centrifugation of specimens for routine coagulation testing[J]. Int J Lab Hematol, 2009, 31(4):462-467.
- [7] Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, et al. Influence of the centrifuge time of primary plasma tubes on routine coagulation testing[J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 2007, 18(5):525-528.
- [8] Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, et al. Influence of Centrifuge Temperature on Routine Coagulation Testing[J]. Clin Chem, 2006, 52(3):537-538.
- [9] van Geest-Daalderop JH, Mulder AB. Preanalytical variables and off-site blood collection: influences on the results of the prothrombin time/international normalized ratio test and implications for monitoring of oral anticoagulant therapy[J]. Clin Chem, 2005, 51(3):561-568.
- [10] 郭江梅,邹灵丽.不同离心时间的凝血测定结果比较[J].江西医学检验,2007,25(6):641.

(收稿日期:2013-04-10)

溶血和标本保存条件对血清 NSE 检验结果的影响

武春梅,李 玲,徐丽萍,杜叶平,李霞莲

(中国人民解放军二六四医院检验科,山西太原 030001)

摘 要:目的 探讨标本放置时间、温度及溶血对血清神经元特异性烯醇化酶(NSE)检测结果的影响。方法 应用电化学发光免疫分析法,分别检测在不同温度、放置不同时间及不同溶血程度标本中 NSE 的含量。结果 (1)NSE 检测结果随着标本放置时间的延长和保存温度的升高而增高。全血标本在 25 ℃ 分别放置 1 h 和 4 h 后比较,血清 NSE 检测结果比较差异有统计学意义($P < 0.05$);在 4 ℃ 和 -20 ℃ 与 25 ℃ 分别放置 4 h 后比较,检测结果差异有统计学意义($P < 0.05$)。(2)溶血对 NSE 检测结果的影响程度与溶血程度呈正相关($r = 0.983$)。未溶血标本中 NSE 均值为 $7.97 \mu g/L$,当每溶解红细胞释放 1 g/L 血红蛋白时血清 NSE 为 $26.75 \mu g/L$,血清 NSE 受溶血干扰程度比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 血清 NSE 含量会因溶血,全血标本放置时间的延长以及保存温度的升高而增高,溶血标本不适用于临床 NSE 检测。

关键词:神经元特异性烯醇化酶; 时间; 溶血; 温度

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.19.044

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)19-2591-03

神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)为糖酵解关键酶,主要存在于神经内分泌细胞和这些组织来源的肿瘤组织中^[1],以二聚体形式存在,由 α 、 β 、 γ 3 种亚基组成,主要有 5 种同工酶($\alpha\alpha$ 、 $\beta\beta$ 、 $\gamma\gamma$ 、 $\alpha\beta$ 、 $\alpha\gamma$)。有国外文献报道,由于血小板和红细胞中有 NSE 同工酶存在,因此当全血标本存放时间延长或出现溶血时,其中的 NSE 同工酶便释放到细胞外,在血清 NSE 检测时可出现部分交叉免疫反应现象,引起血清 NSE 结果偏高^[2-4]。本实验分别就全血标本放置时间、温度以及溶血程度对 NSE 检测水平的影响进行了分析研究,以便为临床提供更加准确、可靠的结果判断依据。

1 资料与方法

1.1 标本来源和采集方法 选取健康体检者 46 例,年龄 22~45 岁,规范采集空腹静脉血适量,根据实验目的分别置于 4 个试管中。第 1 管在室温 25 ℃ 放置 1 h 离心为 1 h 组,第 2 管在室温放置 2 h 离心为 2 h 组,第 3 管在室温放置 4 h 离心为 4 h 组,第 4 管在室温放置 24 h 离心为 24 h 组。取 1 h 组适量血清按实验目的分装在离心管分别于 4 ℃ 冰箱冷藏和 -20 ℃ 冰箱冷冻后进行检测。以上标本均无溶血,冷冻血清需全部冻融并充分混匀后测定。

1.2 仪器与试剂 瑞士 Roche E601 全自动电化学发光仪,

NSE 检测试剂盒及其配套标准液、质控品均为 Roche 公司产品;日本希森美康公司生产的 Sysmex XE-2100 全自动血液分析仪及配套试剂。

1.3 检测方法 溶血标本的制备:取 23 份 1 h 组标本混匀经生理盐水洗涤 3 次制成红细胞悬液,放在-20℃ 30 min 后,14 000 r/min 高速离心 3min 使其溶血。用 Sysmex XE-2100 全自动血液分析仪多次测定,调整血红蛋白含量使其平均值为 2.0 g/L。最后将调整好血红蛋白含量的溶血标本稀释成 1.0、0.5、0.25、0.125 g/L 的 5 个不同浓度的待测标本。采用电化学免疫分析技术,分别检测 5 个不同浓度待测标本中的 NSE 均值($\mu\text{g/L}$),最后以 NSE 和血红蛋白总量计算出平均每克血红蛋白 NSE 含量($\mu\text{g/L}$)。整个操作严格按照 Roche E601 全自动电化学发光仪说明书进行。

1.4 统计学处理 采用 SPSS11.5 统计软件进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组内比较 t 检验,相关性分析采用 Spearman's rho 检验方法,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 全血标本在室温(25℃)放置时间不同对血清 NSE 检测结果的影响 将采集到的全血标本在 25℃ 分别放置 1、2、4、24 h 后,3 000 r/min 离心 5 min 分离血清,分别测定血清中 NSE 水平。实验结果显示,随着标本放置时间的延长,NSE 检测结果不断升高。其中 4 h、24 h 组与 1 h 组比较,差异有统计学意义($t=4.74, t=11.40, P<0.05$);4 h、24 h 组与 2 h 组比较差异有统计学意义($t=2.75, t=8.72, P<0.05$);4 h 组与 24 h 组比较差异有统计学意义($t=5.02, P<0.05$)。而 2 h 组与 1 h 组比较,差异无统计学意义($t=1.95, P>0.05$)。见表 1。

表 1 标本在室温(25℃)放置不同时间 NSE 水平比较($\bar{x}\pm s$)

时间(h)	<i>n</i>	NSE($\mu\text{g/L}$)
1	46	9.70±1.57
2	46	10.61±1.59
4	46	11.85±1.64
24	46	13.58±1.68

2.2 血清标本保存温度不同对血清 NSE 检测结果的影响 分别将血清标本在 4℃ 冷藏和-20℃ 冷冻保存后,检测血清 NSE 水平,观察标本保存温度对血清 NSE 检测结果的影响。实验数据显示,血清标本分别在 4℃ 和-20℃ 与 25℃ 放置 24 h 后检测血清 NSE 水平,差异有统计学意义($t=10.71, 11.85, P<0.05$)。血清标本分别在 4℃ 和-20℃ 与 25℃ 放置 4 h 比较,差异有统计学意义($t=4.51, 6.82, P<0.05$)。血清标本分别在 4℃ 和-20℃ 与 25℃ 放置 2 h 检测血清 NSE 水平,-20℃ 与 25℃ 比较,差异有统计学意义($t=2.18, P<0.05$),而 4℃ 与 25℃ 比较,差异无统计学意义($t=1.75, P>0.05$)。当标本分别在 4℃ 和-20℃ 放置 1、2、4、24 h 比较,血清 NSE 检测差异均无统计学意义($t=0.48, 0.52, 0.52, 0.58, P>0.05$)。结果见表 2。

2.3 溶血标本对血清 NSE 检测结果的影响 制备 23 份溶血标本,分别测定不同浓度血红蛋白含量的溶血标本中 NSE 水平。实验结果显示,溶血对 NSE 检测结果的影响程度与溶血程度呈正相关($r=0.983$)。标本未溶血 NSE 检测均值为 7.97 $\mu\text{g/L}$,当每溶解红细胞释放 1 g 血红蛋白时测 NSE 为 26.75 $\mu\text{g/L}$,血清 NSE 受溶血干扰程度比较差异有统计学意义($t=$

3.47, $P<0.05$)。

表 2 标本保存温度不同 NSE 水平比较($\bar{x}\pm s, \mu\text{g/L}$)

温度	<i>n</i>	1 h	2 h	4 h	24 h
25℃	46	9.70±1.57	10.61±1.59	11.85±1.64	13.58±1.68
4℃	46	9.69±1.48	9.71±1.51	9.74±1.72	9.79±1.72
-20℃	46	9.53±1.66	9.54±1.61	9.56±1.58	9.55±1.59

3 讨 论

NSE 是一种大分子物质,其相对分子质量为 78×10^3 ,是参与糖酵解途径的烯醇化酶中的一种,主要作用是催化 α -磷酸甘油变成烯醇式磷酸丙酮酸,在免疫特征上,NSE 有独立的基因编码^[5-6],NSE 在健康人脑组织中含量较高,起源于神经内分泌细胞的肿瘤组织呈异常表达,特别是小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)中有过量的 NSE 表达,导致血清中 NSE 明显升高。NSE 参与糖酵解,使癌肿组织糖酵解作用增强,细胞增殖周期加快,细胞内的 NSE 释放入血液增加,导致此酶在血清含量增高,NSE 是小细胞肺癌、神经母细胞瘤最敏感、最特异的肿瘤标志物。NSE 对小细胞肺癌敏感度为 80%,特异性为 80%~90%,与病情的发展相关,其值越高,疾病恶性程度越高^[7]。准确、可靠的 NSE 检测结果对于临床诊断、治疗及愈后的观察有着十分重要的意义。检验结果的精确程度受其检测方法的影响外,标本自身影响也是不能忽视的重要因素。

本次实验采用灵敏度、精密度较好的电化学发光免疫分析法进行血清 NSE 检测,以研究各种标本因素对检测结果的影响。实验结果发现,随着标本放置时间的延长,NSE 检测结果有较大变化。全血标本在室温 25℃ 分别放置不同时间后观察结果,1 h 组与 4 h 组、24 h 组比较血清 NSE 检测结果差异有统计学意义($P<0.05$)。分析原因是随着全血标本放置时间过长,导致血小板及红细胞内的 α 型烯醇化酶进入血液,引起血清中 NSE 水平升高,容易出现假阳性结果^[8]。为了观察标本保存温度对血清 NSE 检测结果的影响。将待测标本分别在 4℃ 和-20℃ 组放置 1 h 后与 25℃ 1 h 组比较,血清 NSE 检测结果差异无统计学意义($P>0.05$),而在-20℃ 与 25℃ 分别放置 2 h 后比较结果差异统计学意义,分析原因可能与细胞的保存损害作用随着温度的降低而减轻有关。在低温环境下,细胞膜的通透性改变趋于稳定,游离到细胞外的 NSE 减少,因此血清 NSE 含量增高不明显^[9]。

由于血液中的红细胞和血小板含有大量的 NSE,标本溶血和血小板去除不彻底对检测结果有较大影响^[10-11]。本实验结果显示,溶血对血清 NSE 检测结果有显著影响。溶血标本中血红蛋白浓度每增加 1 g/L, NSE 含量平均增加 26.75 $\mu\text{g/L}$ 。当标本出现肉眼不可见的轻微溶血时,就会使检测结果大大提高,导致假阳性结果出现。血红蛋白浓度为 0.5 g/L,肉眼仅可见微弱红色时, NSE 检测结果往往大于 16.3 $\mu\text{g/L}$ 。

在日常工作中,出现一些临床标本 NSE 水平异常升高的情况,在排除仪器和试剂因素后,标本因素如标本溶血、标本抽取后未能及时送检,有可能是造成检验结果不准确的重要原因。标本采集不顺利,普通管采集,分离繁琐,离心时间偏长等原因都会导致标本溶血。而采用血清分离胶真空采血管能够高效、高质量地分离血清,减少血液污染和红细胞血清间相互干扰,维持血清被测组分的稳定^[12]。因此建议在检测 NSE 时应规范采血,尽量使用分离胶采血管,尽早送检,及时分离血清。对当天无法检测的标本,实验室如不能及时测定,应在 1 h 内分离血清,最迟不能超过 2 h,并将离心所得血清冷冻保存。

总之, NSE 检测受血清标本多种因素影响, 应引起检验人员和临床医生的高度重视。

参考文献

[1] Komiya A, Yasuda K, Nozaki T, et al. Small cell carcinoma of the prostate after high-dose-rate brachytherapy for low-risk prostatic adenocarcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2013, 5(1): 53-56.

[2] Beaudoux JL, Leger P, Dequen L, et al. Influence of hemolysis on the measurement of S-100 β protom and neuron-specific enolase plasma concentrations during coronary artery bypass grafting [J]. *Clin Chem*, 2000, 46(7): 989-990.

[3] Planche V, Brochet C, Bakkouch A, et al. Importance of hemolysis on neuron-specific enolase measurement[J]. *Ann Biol Clin (Paris)*, 2010, 68(2): 239-242.

[4] Ramont L, Thoannes H, Volondat A, et al. Effects of hemolysis and storage condition on neuron-specific enolase (NSE) in cerebrospinal fluid and serum; implications in clinical practice[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2005, 43(11): 1215-1217.

[5] Watrowski R, Jäger C, Mattern D, et al. Neuroendocrine carcinoma of the breast--diagnostic and clinical implications[J]. *Anticancer Res*, 2012, 32(11): 5079-82.

[6] Gao W, Liu SM, Lu HZ, et al. Analysis of clinicopathological features of intestinal neuroendocrine neoplasms[J]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 2012, 34(6): 450-456.

[7] 李栩. 血清肿瘤标志物联合检测在肺癌临床诊断中的价值[J]. *肿瘤基础与临床*, 2011, 24(3): 260-261.

[8] 曾义锋, 邵美娟, 倪莉. 全血标本放置时间对神经元特异性烯醇化酶的影响[J]. *国际检验医学杂志*, 2006, 27(8): 56-58.

[9] 张亚松, 肖登岩, 麦富巨. 温度、时间及溶血对全血标本中 NSE 测定的影响[J]. *医学临床研究*, 2008, 25(7): 1193-1195.

[10] Berger R, Richichi R. Derivation and validation of an equation for adjustment of neuron-specific enolase concentrations in hemolyzed serum[J]. *Pediatr Crit Care Med*, 2009, 10(2): 260-263.

[11] Rech TH, Vieira SR, Nagel F, et al. Serum neuron-specific enolase as early predictor of outcome after in-hospital cardiac arrest: a cohort study[J]. *Crit Care*, 2006, 10(5): R133.

[12] 杨九华, 刘万利, 吕礼应. 分离胶真空管标本保存时间对血测定结果的影响[J]. *安徽医药*, 2010, 14(5): 550.

(收稿日期: 2013-01-28)

• 检验技术与方法 •

应用胶体金免疫层析法快速检测甲型流感病毒

杨溪霖¹, 罗 皓²

(1. 成都市第一人民医院检验科, 四川成都 610041; 2. 四川省第二人民医院检验科, 四川成都 610041)

摘要:目的 应用胶体金免疫层析法调查本地甲型流感病毒(FluA)的流行情况。方法 利用免疫层析技术, 采用双抗体夹心法, 对 1 031 例鼻咽拭子样本进行特异性 FluA 抗原检测。结果 1 031 例鼻咽拭子样本 FluA 抗原总阳性率为 6. 69%; 男性阳性率为 6. 58%, 女性阳性率为 6. 79%; 按年龄分组统计, 11~20 岁和 21~30 岁年龄组 FluA 抗原阳性率均较高, 分别达到 7. 43% 和 7. 95%。结论 采用胶体金免疫层析法可快速检测呼吸道标本中的 FluA 抗原, 用于人群 FluA 病例筛查和疫情监测, 对预防控制流感疫情蔓延具有重要意义。

关键词:胶体金免疫层析法; 甲型流感病毒; 快速检测

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 19. 045

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)19-2593-01

流行性感冒, 俗称“流感”, 是由流感病毒引起的急性呼吸道传染病, 具有很强的传染性, 主要通过咳嗽和打喷嚏传播。流感病毒根据其核蛋白和基质蛋白抗原性的不同而分成甲(A)、乙(B)、丙(C)3 种类型, 其中甲型流感病毒具有很强的变异性, 是引起人类、家畜及禽类流感流行的主要病毒^[1-3]。预防流感, 就必须尽快筛选出感染者, 然后对传染源进行控制, 从而防止流感的大范围暴发。胶体金免疫层析法是一项简便快速的免疫学检测方法, 能对可疑患者快速给出检测结果。本研究通过该方法对本地区 2011~2012 年 1 031 例 FluA 门诊及住院患者鼻咽分泌物进行 FluA 抗原检测, 以了解本地 FluA 感染状况, 探讨其流行趋势, 加强流感预防控制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 成都市第一人民医院 2011~2012 年门诊及住院患者 1 031 例。

1.2 检测原理 诊断试剂盒为广州万孚生物技术有限公司产品, FluA 抗原检测利用免疫层析技术, 采用双抗体夹心法检测 A 型流感病毒。检测时, 将处理后的待测样品滴加于测试卡的加样孔, 当待测样本中含有 FluA 抗原且抗原浓度高于最低检出量时, FluA 抗原先和标记抗体形成反应复合物, 在层析作用下, 反应复合物沿着硝酸纤维素膜向前移动, 被硝酸纤维素膜上检

测区预先包被的流感 A 核蛋白单克隆抗体捕获而在检测区形成一条红色/粉丝反应线。结果判断: 在检测区和质控区各出现一条红色/粉色条带为阳性结果; 仅在质控区出现一条红色/粉色条带为阴性结果; 无条带出现或仅在检测线位置出现一条红色/粉色条带, 按照试剂盒操作说明书的要求用新测试卡重新检测。

2 结果

1 031 份鼻咽拭子标本中, 共检出 FluA 抗原阳性标本 69 例, 总阳性率为 6. 69%; 其中男性 486 份, 阳性标本 32 例, 阳性率 6. 58%; 女性 545 份, 阳性标本 37 例, 阳性率 6. 79%。将收集到的标本按 0~10 岁、11~20 岁、21~30 岁、31~50 岁和 > 50 岁分成 5 个年龄组, 其阳性率依次为 0%(0/7)、7. 43%(11/148)、7. 95%(33/415)、5. 96%(19/313) 和 4. 05%(6/148)。

3 讨论

流感的确诊需要实验室检查证实, 目前较为常用的检测方法有病毒分离培养、病毒核酸检测、抗体检测、病毒抗原检测^[4-5]。实验室诊断金标准是病毒分离培养法, 但细胞鉴定周期需要 2~3 周, 且只在专业病毒研究实验室进行^[6], 严重影响临床对患者及时用药指导, 故该法在临床应用中受到限制。反转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)与细胞培养(下转第 2640 页)