

• 论 著 •

不同抗凝剂对 5 种特定蛋白检测结果的影响

黄莹¹, 刘敬喜²

(1. 白银市第一人民医院检验科, 甘肃白银 730900; 2. 宁波美康生物科技股份有限公司, 浙江宁波 315100)

摘要:目的 观察常见的 4 种血样采集管对 C3、C4、IgA、IgG、IgM 这 5 项生化项目检测结果的影响, 探讨能否用抗凝血浆替代血清用于生化检测。方法 对 43 名体检人员的静脉血管, 连续用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝管、肝素锂抗凝管、普通血清管、枸橼酸钠抗凝管各抽取一管血液, 经混匀、离心分离后提取血清或血浆在仪器上同时用 C3、C4、IgA、IgG、IgM 试剂盒进行测定。结果 在相同条件下, 5 个项目中心肝素锂抗凝管与普通血清管比较差异无统计学意义($P>0.05$), 枸橼酸钠抗凝管与用普通血清管的结果比较差异有统计学意义($P<0.05$), EDTA-K₂ 抗凝管与用普通血清管的结果比较, IgA、IgM、IgG 差异无统计学意义($P>0.05$), C3、C4 差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 IgA、IgM、IgG 生化检验项目可用肝素锂抗凝血浆和 EDTA-K₂ 血浆代替血清, C3 和 C4 生化检验项目可用肝素锂抗凝血浆代替血清, 但 C4 应建立血浆参考区间。

关键词:补体; 免疫球蛋白; 抗凝剂

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.04.015 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2016)04-0468-03

Impact on the measurement results of five different specialty protein blood collection tube project

Huang Ying¹, Liu Jingxi²

(1. Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Baiyin, Baiyin, Gansu 730900, China;
2. Ningbo Medical System Biotechnology Co. Ltd., Ningbo, Zhejiang 315100, China)

Abstract:Objective To investigate the effects of a common four kinds of blood collection tubes for C3, C4, IgA, IgG, IgM test results of five biochemical projects, exploring the possibility of using an alternative anticoagulant plasma serum for biochemical testing. Methods Vein 43 medical personnel, continuous tube with EDTA-K₂ anticoagulant, heparin lithium anticoagulant tube, normal serum tubes, sodium citrate anticoagulation a tube of blood drawn each tube, after mixing, extracted after centrifugation the serum or plasma to the instrument while in using C3, C4, IgA, IgG, IgM kit were measured. Results Under the same conditions, lithium heparin anticoagulant tube with normal serum tube difference five projects was not statistically significant ($P>0.05$), sodium citrate anticoagulation tube and pipe the results with normal serum difference was statistically significance ($P<0.05$), EDTA-K₂ anticoagulated tubes and compare the results with normal serum tubes, IgA, IgM, IgG was no significant difference ($P>0.05$), C3, C4 difference was statistically significant ($P<0.05$). Conclusion IgA, IgM, IgG biochemical test items available lithium heparin anticoagulant plasma and EDTA-K₂ plasma instead of serum, C3 and C4 biochemical test items available plasma instead of serum lithium heparin anticoagulant, but C4 should establish plasma reference range.

Key words:complement; immunoglobulin; anticoagulants

样本采集过程是保证样本质量的关键环节, 其中就有抗凝剂的使用和样本容器的要求^[1]。现在医院广泛使用一次性真空采血管采集样本进行生化项目检测, 可能在实际操作过程中, 为了减少采血管数量, 常会统一使用一种或两种采血管, 或者是为了使患者尽快拿到检测报告而使用抗凝血浆进行检测。而一般的 C3、C4、IgA、IgG、IgM 试剂说明书上均要求使用血清, 所以本文对常见的 3 种抗凝血浆与普通血清在生化检验分析上进行对比试验, 现将本次试验所检测情况报道如下。

1 资料与方法

1.1 仪器与试剂 东芝 TBA-2000FR 型全自动生化分析仪, 由日本东芝医疗系统公司提供。维护完成后对 5 个试剂进行校准, 质控结果在控后待用。补体 C3 检测试剂盒(免疫比浊法), 批号为 20111103。补体 C4 检测试剂盒(免疫比浊法), 批号为 20120309。免疫球蛋白 IgA 检测试剂盒(免疫比浊法), 批号为 20120116。免疫球蛋白 IgG 检测试剂盒(免疫比浊法), 批号为 20120621。免疫球蛋白 IgM 检测试剂盒(免疫比浊法), 批号为 20120109。5 种试剂均由宁波美康生物科技股份有限公司生产。抗凝剂的选用^[2]: 临床检验常用的 3 种抗凝

剂, 枸橼酸钠(柠檬酸钠), 枸橼酸与血液的比例为 1 : 9; 乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂); 肝素: 本次所用为肝素锂抗凝管。普通血清管: 所用血清管为不加任何促凝剂的红色普通管。所有采血管均由美康国宾体检中心提供。

1.2 方法 在体检中, 对自愿献血的 43 人抽 4 管静脉血(EDTA-K₂ 抗凝管、肝素锂抗凝管、普通血清管、枸橼酸钠抗凝管各一管)。所有血样都是一针见血, 以防止组织损伤外源性凝血因子进入试管影响试验结果^[3]。立即将 3 种抗凝管进行混匀、编号、分类、静置。选择 4 000 r/min(约 1 160 × g)的转速, 离心 10 min^[4]。离心完成后, 将 4 种采血管, 每管用一次性吸管轻轻吸取中段血清或血浆, 放入生化分析仪中进行检测并记录结果。

1.3 统计学处理 采用 Microsoft Excel 2003 软件对数据进行处理。

2 结 果

2.1 3 种抗凝血浆与血清生化检验结果 见表 1。5 个项目的肝素锂血浆管结果与普通血清管结果比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$); 枸橼酸钠抗凝管结果与普通血清管结果比

作者简介:黄莹,男,主管检验师,主要从事临床生化研究。

较,差异均有统计学意义($P<0.05$);3 个免疫球蛋白 IgA、IgG、IgM 的 EDTA-K₂ 抗凝管结果与普通血清管结果比较,差异无统计学意义($P>0.05$);补体 C3 和 C4 的 EDTA-K₂ 抗凝管结果与普通血清管结果比较,差异均有统计学意义($P<$

0.05)。
2.2 结果分析 血清和 3 种抗凝血浆生化检测结果的相关性和回归方程、血浆检测结果与血清检测结果的平均偏倚见表 2、3。

表 1 血清与 3 种抗凝血浆的结果(g/L)

检测项目	C3	C4	IgA	IgG	IgM
血清	0.98±0.18	0.31±0.11	2.13±0.7	13.88±2.43	1.11±0.32
肝素	0.94±0.18	0.27±0.09	2.06±0.68	13.69±2.48	1.09±0.31
枸橼酸钠	0.68±0.12	0.22±0.08	1.52±0.51	9.87±1.95	0.78±0.23
EDTA-K ₂	0.87±0.15	0.22±0.07	2.01±0.66	13.23±2.37	1.01±0.29
<i>P</i> _{肝素}	0.389	0.078	0.649	0.722	0.814
<i>P</i> _{枸橼酸钠}	3.8×10^{-13}	1.1×10^{-4}	2.0×10^{-5}	2.6×10^{-12}	1.1×10^{-6}
<i>P</i> _{EDTA-K₂}	0.01	2.2×10^{-5}	0.408	0.227	0.157

表 2 血清和 3 种抗凝血浆生化检测结果的相关性和回归方程

项目		回归方程	相关系数(r^2)	临界水平偏倚(%)	平均偏倚(%)
C3	肝素	$Y=0.930X+0.034$	0.933 5	-4.7	-3.4
	枸橼酸钠	$Y=0.607X+0.090$	0.869 9	-33.4	-29.8
	EDTA-K ₂	$Y=0.805X+0.089$	0.921 4	-13.6	-10.1
C4	肝素	$Y=0.794X+0.024$	0.970 4	-14.4	-12.3
	枸橼酸钠	$Y=0.690X+0.008$	0.954 1	-28.8	-28.1
	EDTA-K ₂	$Y=0.577X+0.038$	0.909 2	-32.2	-28.8
IgA	肝素	$Y=0.978X-0.023$	0.989 4	-2.7	-3.4
	枸橼酸钠	$Y=0.723X-0.019$	0.978 7	-28.1	-28.7
	EDTA-K ₂	$Y=0.945X-0.008$	0.983 7	-5.7	-5.9
IgG	肝素	$Y=0.993X-0.102$	0.942 3	-1.3	-1.4
	枸橼酸钠	$Y=0.753X-0.579$	0.876 4	-28.1	-29.0
	EDTA-K ₂	$Y=0.944X+0.129$	0.932 1	-4.8	-4.6
IgM	肝素	$Y=0.976X+0.01$	0.981 4	-2.1	-1.4
	枸橼酸钠	$Y=0.702X+0.009$	0.956 2	-29.5	-28.9
	EDTA-K ₂	$Y=0.908X+0.006$	0.977 4	-9.0	-8.6

表 3 偏倚要求

项目	CLIA'88 规定的 偏倚(%)	试剂说明书规定的 偏倚(%)	1/2 的试剂说明书 规定的偏倚(%)
C3	10	15	7.5
C4	24	15	7.5
IgA	10	15	7.5
IgG	10	15	7.5
IgM	10	15	7.5

3 讨 论

首先对每个项目的血清和血浆检测结果进行统计学分析,从表 1 结果可知,5 个项目的肝素锂血浆管结果、IgA、IgG、IgM 的 EDTA-K₂ 抗凝管结果与普通血清管的差异均无统计学意义($P>0.05$);而 5 个项目的枸橼酸钠抗凝管结果、补体 C3 和 C4 的 EDTA-K₂ 抗凝管结果与普通血清管差异均有统计学意义($P<0.05$)。

对有统计学意义的项目进行相关性分析,对相关系数 $r^2<0.95$,计算每份血清和血浆样本的相对偏倚,再计算其平均偏倚。对 $r^2\geq0.95$,以血清检测结果为 X,血浆检测结果为 Y,计算回归方程 $Y=a+bX$,以临界水平的值代入回归方程,计算血浆(Y)与血清(X)检测结果之间的临界水平偏倚。本文的临

界水平偏倚或平均偏倚需同时满足小于或等于 1/2 的说明书偏倚要求和美国临床实验室修正法规对室间评估偏倚^[5]的要求(见表 3)。若符合要求,则对生化检测结果的影响在临床可接受范围之内,可用血清参考区间解释血浆检测结果。因此,可以发现 IgA、IgG、IgM 的肝素与 EDTA-K₂ 血浆、C3 的肝素血浆的偏倚均符合要求。而 C4 的肝素血浆的偏倚虽然符合说明书要求,但偏差超过了 1/2 的要求,有点偏大,故需要建立血浆参考区间。而枸橼酸钠抗凝管测定的 5 个项目结果均偏低应该与血液被稀释有关。

通常,血清样本中有纤维蛋白丝遗留及分离过程中血液有形成分易发生破坏等缺点^[6],而且肝素锂、EDTA-K₂ 等血浆能为更快速 f 的回报检测结果提供很多方便^[7]。涉及血液的液体成分,究竟应当选择血浆抑或血清,主要取决于该指标的质地和检测的目的^[8];涉及免疫成分的指标,绝大多数宜选用血清。可能受到凝血过程影响的指标,应当尽量选择血浆;待检物既不受凝血过程影响,也不会因制备血清而改变的指标,可以使用血清或血浆^[9]。

通过本次实验,发现宁波美康生物科技股份有限公司生产的 IgA、IgM、IgG 生化检验项目可用肝素锂抗凝血浆和 EDTA-K₂ 血浆代替血清,C3 和 C4 生化检验项目可用肝素锂抗凝血浆代替血清;C4 项目的血清和肝素锂抗凝(下转第 471 页)

表 1 两台电化学发光仪测定结果的线性回归方程及相关系数		
检测项目	回归方程	r^2
AFP	$Y=0.981\ 8X-0.446\ 9$	0.999 5
CEA	$Y=0.989\ 9X-0.246\ 0$	0.998 7
CA125	$Y=0.927\ 6X+1.017\ 9$	0.995 8
CA199	$Y=1.005\ 7X+0.309\ 8$	0.987 9
CA153	$Y=0.971\ 8X+0.789\ 2$	0.992 6
TPSA	$Y=0.997\ 7X-0.069\ 5$	0.996 4
FPSA	$Y=0.966\ 3X-0.029\ 3$	0.993 8

表 2 两台仪器检测项目结果比较				
检测项目	医学决定水平	预期值	SE	SE (%)
AFP	20 ng/mL	19.189 1 ng/mL	-0.810 9 ng/mL	4.05
	400 ng/mL	392.273 1 ng/mL	-7.726 9 ng/mL	1.93
CEA	25 ng/mL	24.501 5 ng/mL	-0.498 5 ng/mL	1.99
	200 ng/mL	197.734 0 ng/mL	-2.266 0 ng/mL	1.13
CA125	35 U/mL	33.483 9 U/mL	-1.516 1 U/mL	4.33
	200 U/mL	186.537 9 U/mL	-13.462 1 U/mL	6.73
CA199	40 U/mL	40.537 8 U/mL	+0.537 8 U/mL	1.34
	240 U/mL	241.677 8 U/mL	+1.677 8 U/mL	0.70
CA153	25 U/mL	25.084 2 U/mL	+0.084 2 U/mL	0.34
TPSA	20 ng/mL	19.884 5 ng/mL	-0.115 5 ng/mL	0.58
FPSA	20 ng/mL	19.296 7 ng/mL	-0.703 3 ng/mL	3.52

3 讨 论

医学实验室认可标准 ISO/15189 指出,当同样的检验应用不同程序或设备,或在不同地点进行,或以上各项均不同时,应有确切机制验证在整个临床适用区间内检验结果的可比性,并强调比对实验是实现准确度溯源和检验结果可比性的重要途径^[6-7]。所以,不同检测仪器测定相同的检验项目时,其检测结果是否具有可比性是极其重要的,它直接影响到临床的诊断和治疗工作^[8]。

随着人们越来越重视自身的健康状况,AFP、CEA、CA125、CA199、CA153、TPSA 和 FPSA 等肿瘤标志物已经作为常规体检项目大量应用于临床。其中 AFP 主要作为原发性肝癌的诊断标志物,CEA 对大肠癌、乳腺癌和肺癌的疗效判断、病情发展、监测和预后估计是一项较好的指标,CA125 用于卵巢肿瘤的诊断,CA199 升高常见于消化系统肿瘤,CA153 是乳腺癌最重要的特异性标志物,TPSA 和 FPSA 是临床常规

用于前列腺良性与恶性疾病诊断与鉴别诊断及前列腺癌患者术后随访的重要指标。

本院检验科于 2009 年和 2013 年先后引进了罗氏 E411 和 E601 电化学发光仪进行常规肿瘤标志物的检测,在保证室内质控在控,室内质评成绩良好的前提下,本实验室使用了罗氏配套的试剂、校准品和质控品,按照 EP9-A2 文件的要求,对 AFP、CEA 等 7 种肿瘤标志物的结果进行比对。结果显示,实验方法和比对方法的检测结果 r^2 均大于 0.95,检测数据分布范围合适,直线回归统计的斜率和截距可靠^[6]。从表 2 可以看出实验方法和比对方法间的 SE 和 SE% 均较小,在临床可接受范围。通过这次比对实验,不仅对 E411 和 E601 两系统间的偏倚有了明确的了解和准确的评估,而且还引起了对不同检测仪器间结果一致性评价和质量控制的重视^[8],为今后的工作积累了宝贵的经验。

参考文献

[1] 朱文元,廖昆灵,刘芹,等.不同凝血分析仪检测纤维蛋白原结果的一致性评价[J].检验医学与临床,2012,9(4):479-481.

[2] 王露,徐红珍,王平.雅培 i2000SR 和 Beckman DXI800 全自动电化学发光仪测定 AFP、CEA 水平的可比性研究[J].中国医药科学,2013,3(21):122-123.

[3] 唐妮娜.常规肿瘤标志物在罗氏 E411 和 E601 两个检测系统之间的比对分析[J].医学理论与实践,2013,26(21):2823-2824.

[4] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP9-A2 Method comparison and bias estimation using patientsamples[S]. Wayne,PA,USA:NCCLS,2002.

[5] 冯仁丰.临床检验质量管理技术基础[M].2 版.上海:上海科学技术文献出版社,2007:185.

[6] 黄翠波.两台全自动电化学发光分析仪测定结果的比对评估[J].检验医学与临床,2012,9(6):729-730.

[7] 魏昊,丛玉隆.医学实验室质量管理与认可指南[M].北京:中国计量出版社,2004:72-75.

[8] 黄萧苇,黄江渝,王炯,等.Roche Elecsys2010 和 Roche E170 电化学发光分析仪器对血清中 AFP、CEA 测定结果的可比性分析[J].重庆医学,2010,39(19):2659-2661.

(收稿日期:2015-09-28)



(上接第 469 页)

血浆相比有差异,临床实验室应为 C4 项目确定可靠的参考区间^[10],方可使用肝素锂抗凝血浆代替血清。

参考文献

[1] 丛玉隆.临床实验室分析前质量管理及对策[J].中华检验医学杂志,2004,27(8):483-487.

[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,2008:122.

[3] 丛玉隆,张海鹏,任珍群.血液学检验分析前质量控制的重要因素-标本的采取及其控制[J].中华医学检验杂志,1998,21(1):52-55.

[4] 张丽霞.临床化学检验血液标本的采集和处理[J].中华检验医学杂志,2000,23(7):252.

[5] National Committee for Clinical Laboratory Standards. GP22-A

Continuous quality improvement essential management approaches[S]. Wayne,PA,USA:NCCLS,1999.

[6] 周伟青.抗凝剂在临床检验中的应用[J].现代中西医结合杂志,2009,12(24):3403-3404.

[7] 蔡美莉.肝素锂抗凝血浆用于生化检验分析的可行性分析[J].医学理论与实践,2012,25(6):643-644.

[8] 贺石林,葛金文.临床检验和医学科研中血浆标本的检测价值[J].诊断学理论与实践,2005,4(6):513-516.

[9] 贺石林,葛金文.正确选择血标本的思考[J].诊断学理论与实践,2005,4(6):433-434.

[10] 杨有业,张秀明.临床检验方法学评价[M].北京:人民卫生出版社,2008:235.

(收稿日期:2015-09-28)