

## · 临床研究 ·

## 混匀对不同保存条件下血清生化结果影响的研究

林 晶, 钟培英, 王 宇, 李广权<sup>△</sup>

(成都三六三医院检验科, 四川成都 610041)

**摘要:**目的 研究混匀对不同保存条件下的血清生化结果的影响。方法 对收集的 20 例患者新鲜血清分别检测常规生化项目后,各自分装于 4 组编号相同的样本管中,两组置-20℃保存,一组 4℃冰箱保存,一组室温保存,24 h 后检测常规生化项目,对-20℃保存的两组血清,一组不混匀检测,一组充分混匀后检测。结果 室温放置 24 h 后血清生化结果与初始结果比较,除 ALT、AST、TBIL、DBIL 项目差异有统计学意义( $P < 0.05$ )外,其余项目差异均无统计学意义( $P > 0.05$ );4℃冰箱放置 24 h 后血清生化结果与初始结果比较,除 TBIL、DBIL 项目差异有统计学意义( $P < 0.05$ )外,其余项目差异均无统计学意义( $P > 0.05$ );-20℃保存血清,未混匀血清生化结果与初始结果比较,所有项目差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),充分混匀后血清生化结果与初始结果比较,所有项目差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 室温和 4℃冰箱保存的血清,各种化学成分的均一性不受影响;-20℃保存后的血清,复融后上层血清化学成分浓度明显低于下层血清,为保证检测结果的可靠性,检测前务必充分混匀。

**关键词:**混匀; 保存条件; 冰冻保存; 生化结果

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.08.050

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)08-1130-03

临床检验工作中常有不能及时检测的标本,需在室温、4℃冰箱或冰冻保存。而血液离开人体后在不同的条件下会发生不同的反应和作用,从而导致检验结果出现偏差<sup>[1]</sup>。如血液中的有形成分如红细胞、白细胞等在室温条件下放置一定时间,在试管中有自然沉降的现象。那么血清中的化学成分如糖、脂、蛋白、无机盐等在常温、4℃、冰冻不同保存条件下是否存在自然沉降现象?目前未见相关报道。因此,本文主要研究血清样本在不同储存条件下保存一定时间后生化结果的准确性和可靠性,现报道如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 样本来源** 收集当天 20 例患者新鲜血清于 20 个样本管中,20 例血清标本中至少 10 例标本谷丙转氨酶(ALT),谷草转氨酶(AST)、谷氨酰转氨酶(GGT)、碱性磷酸酶(AKP)、总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)、尿素(BUN)、肌酐(Cr)、尿酸(UA)、葡萄糖(GLU)、三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)项目中至少有一项或多项同时存在异常结果,溶血脂血标本除外,每例研究对象血清确保 4 mL 以上。

**1.2 仪器与试剂** 仪器采用日本 HITACHI7600-010 生化仪。试剂:ALT、AST、GGT、AKP、TBIL、DBIL、BUN、Cr、HDL-C 试剂由日本和光株式会社提供,UA、GLU、TG、TC、TP、ALB 由四川迈克公司提供。多项目校准液由德国罗氏公司提供(批号:177955),质控液(包括中值和高值)由英国朗道公司提供。

**1.3 方法** (1)按实验项目标准化操作程序(SOP),确保当天的质控结果通过后,将收集的 20 份样本分别编上号,并进行 ALT、AST、GGT、AKP、TBIL、DBIL、BUN、Cr、HDL-C、UA、GLU、TG、TC、TP、ALB 检测,检测结果以初始结果表示。检测后立即分装于 4 组编号相同容量为 1 mL 有盖样本管中,每个样本管分装 1 mL 血清,分装后密闭保存。将两组样本直立放置于-20℃冰箱保存,一组直立放置于 4℃冰箱保存,一组置室温(25℃)保存。(2)当 4 组分装血清保存 24 h 后,将室温保存的血清和 4℃冰箱保存的血清及时进行上述生化指标检测,检测结果分别以室温保存后结果和 4℃保存后结果表示;

将两组-20℃保存血清取出室温复融 30 min 后,将其中一组血清(确保不进行任何形式的倾斜混匀)进行上述生化指标检测,检测结果以未混匀结果表示;将另外一组-20℃保存血清充分颠倒混匀后再进行上述生化指标检测,检测结果以混匀后结果表示。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS19.0 统计软件处理,计量资料采用  $M(P_{25} \sim P_{75})$  表示,组间比较采用配对秩和检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 室温保存后生化结果与初始结果比较** 20 例样本经 25℃室温保存 24 h 后检测 ALT、AST、GGT、AKP、TP、ALB、TBIL、DBIL、BUN、Cr、UA、GLU、TG、TC、HDL-C 项目结果平均水平与初始结果平均水平比较,采用配对秩和检验,对应 Z 值分别为-2.362、-2.230、-1.023、-0.983、-0.994、-0.950、-2.846、-2.545、-1.025、-1.572、-1.020、-1.020、-1.683、-1.688、-0.982,除 ALT、AST、TBIL、DBIL 4 项目  $P < 0.05$  外,其余项目均  $P > 0.05$ ,表明血清样本室温放置 24 h 后,除 ALT、AST、TBIL、DBIL 4 项目结果与初始结果的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )外,其余生化项目结果与初始结果的差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

**2.2 4℃冰箱保存后生化结果与初始结果比较** 20 例样本经 4℃冰箱保存 24 h 后检测 ALT、AST、GGT、AKP、TP、ALB、TBIL、DBIL、BUN、Cr、UA、GLU、TG、TC、HDL-C 项目结果平均水平与初始结果平均水平比较,对应 Z 值分别为-1.764、-1.685、-1.515、-1.410、-1.012、-0.982、-2.366、-2.241、-1.520、-1.322、-1.423、-1.623、-1.645、-1.781、-1.322,除 TBIL、DBIL 两项目对应的  $P < 0.05$  外,其余项目的  $P > 0.05$ ,表明血清样本经 4℃冰箱放置 24 h 后,除 TBIL、DBIL 两项目结果与初始结果的差异有统计学意义外,其余生化项目结果与初始结果的差异均无统计学意义,见表 2。

**2.3 -20℃冷冻保存 24 h 复融后未混匀检测结果与初始结果比较** 20 例样本经-20℃保存 24 h 复融后未混匀就检测 ALT、AST、GGT、AKP、TP、ALB、TBIL、DBIL、BUN、Cr、

<sup>△</sup> 通讯作者,E-mail:499191009@qq.com。

UA、GLU、TG、TC、HDL-C 结果平均水平与初始结果平均水平比较,采用配对秩和检验,对应 Z 值分别为 -3.922、-3.890、-3.473、-3.883、-3.174、-3.920、-3.846、-3.141、-3.920、-3.922、-3.920、-3.920、-3.847、-3.883、-3.922,所有项目  $P < 0.05$ ,表明血清样本在 -20 °C 冷冻保存 24 h 复融后未混匀就检测,其常规生化项目结果与初始结果的差异均有统计学意义,见表 3。

表 1 室温保存 24 h 后测定生化结果与初始结果比较

项目	初始结果	室温保存后结果	Z	P
ALT(U/L)	32(18~59)	28(16~48)	-2.362	<0.05
AST(U/L)	31(21~39)	29(19~36)	-2.230	<0.05
GGT(U/L)	63(26~124)	63(26~125)	-1.023	0.352
AKP(U/L)	91(72~172)	92(71~166)	-0.983	0.365
TP(g/L)	68.4(62.3~71.0)	68.3(62.4~70.9)	-0.994	0.359
ALB(g/L)	40.6(35.5~44.9)	41.0(35.4~45.0)	-0.950	0.366
TBIL( $\mu$ mol/L)	12.5(9.0~16.7)	10.1(7.2~13.1)	-2.846	<0.05
DBIL( $\mu$ mol/L)	4.1(3.7~6.6)	3.5(3.1~6.0)	-2.545	<0.05
BUN(mmol/L)	5.00(4.31~5.84)	4.98(4.32~5.78)	-1.025	0.351
Cr( $\mu$ mol/L)	62(57~79)	61(56~77)	-1.572	0.112
UA( $\mu$ mol/L)	286(236~378)	284(232~370)	-1.020	0.353
GLU(mmol/L)	5.33(4.59~6.27)	5.31(4.56~6.25)	-1.020	0.352
TG(mmol/L)	1.23(0.95~1.86)	1.21(0.94~1.82)	-1.683	0.097
TC(mmol/L)	4.29(3.58~4.47)	4.29(3.54~4.49)	-1.688	0.091
HDL-C(mmol/L)	1.04(0.91~1.20)	1.05(0.90~1.21)	-0.982	0.365

表 2 4 °C 保存 24 h 后测定生化结果与初始结果比较

项目	初始结果	4 °C 保存后结果	Z	P
ALT(U/L)	32(18~59)	31(19~49)	-1.764	0.088
AST(U/L)	31(21~39)	30(20~38)	-1.685	0.092
GGT(U/L)	63(26~124)	62(25~125)	-1.515	0.147
AKP(U/L)	91(72~172)	91(71~176)	-1.410	0.180
TP(g/L)	68.4(62.3~71.0)	68.5(62.4~70.9)	-1.012	0.316
ALB(g/L)	40.6(35.5~44.9)	41.0(35.6~45.3)	-0.982	0.376
TBIL( $\mu$ mol/L)	12.5(9.0~16.7)	10.9(8.1~14.3)	-2.366	<0.05
DBIL( $\mu$ mol/L)	4.1(3.7~6.6)	3.7(3.2~5.8)	-2.241	<0.05
BUN(mmol/L)	5.00(4.31~5.84)	5.02(4.32~5.78)	-1.520	0.154
Cr( $\mu$ mol/L)	62(57~79)	62(56~78)	-1.322	0.183
UA( $\mu$ mol/L)	286(236~378)	278(232~372)	-1.423	0.176
GLU(mmol/L)	5.33(4.59~6.27)	5.31(4.55~6.16)	-1.623	0.108
TG(mmol/L)	1.23(0.95~1.86)	1.21(0.93~1.81)	-1.645	0.102
TC(mmol/L)	4.29(3.58~4.47)	4.22(3.54~4.39)	-1.781	0.084
HDL-C(mmol/L)	1.04(0.91~1.20)	1.03(0.90~1.18)	-1.322	0.184

**2.4 -20 °C 冷冻保存 24 h 复融并混匀后检测结果与初始结果比较** 20 例样本经 -20 °C 保存 24 h 复融并混匀后检测 ALT、AST、GGT、AKP、TP、ALB、TBIL、DBIL、BUN、Cr、UA、GLU、TG、TC、HDL-C 项目结果平均水平与初始结果平均水

平比较,采用配对秩和检验,对应 Z 值分别为 -1.564、-1.615、-1.415、-1.310、-1.112、-0.982、-1.366、-1.441、-1.320、-1.122、-1.220、-1.525、-1.547、-1.683、-1.122,所有项目  $P > 0.05$ ,表明血清样本经 -20 °C 保存 24 h 复融并混匀后,其常规生化项目结果与初始结果的差异无统计学意义,见表 4。

表 3 -20 °C 冷冻保存 24 h 复融后未混匀测定生化结果与初始结果比较

项目	初始结果	未混匀结果	Z	P
ALT(U/L)	32(18~59)	20(11~44)	-3.922	<0.05
AST(U/L)	31(21~39)	21(14~29)	-3.890	<0.05
GGT(U/L)	63(26~124)	43(18~99)	-3.473	<0.05
AKP(U/L)	91(72~172)	71(52~116)	-3.883	<0.05
TP(g/L)	68.4(62.3~71.0)	50.3(40.4~57.9)	-3.174	<0.05
ALB(g/L)	40.6(35.5~44.9)	31.8(21.6~35.0)	-3.920	<0.05
TBIL( $\mu$ mol/L)	12.5(9.0~16.7)	8.6(6.2~11.1)	-3.846	<0.05
DBIL( $\mu$ mol/L)	4.1(3.7~6.6)	3.4(3.1~6.0)	-3.141	<0.05
BUN(mmol/L)	5.00(4.31~5.84)	4.12(3.38~4.58)	-3.920	<0.05
Cr( $\mu$ mol/L)	62(57~79)	51(36~61)	-3.922	<0.05
UA( $\mu$ mol/L)	286(236~378)	215(162~282)	-3.920	<0.05
GLU(mmol/L)	5.33(4.59~6.27)	4.21(3.46~5.18)	-3.920	<0.05
TG(mmol/L)	1.23(0.95~1.86)	0.95(0.74~1.22)	-3.847	<0.05
TC(mmol/L)	4.29(3.58~4.47)	3.22(2.44~3.69)	-3.883	<0.05
HDL-C(mmol/L)	1.04(0.91~1.20)	0.75(0.56~0.95)	-3.922	<0.05

表 4 -20 °C 保存 24 h 复融并混匀后测定生化结果与初始结果比较

项目	初始结果	混匀后结果	Z	P
ALT(U/L)	32(18~59)	32(19~54)	-1.564	0.118
AST(U/L)	31(21~39)	32(22~40)	-1.615	0.104
GGT(U/L)	63(26~124)	62(27~135)	-1.415	0.157
AKP(U/L)	91(72~172)	92(73~179)	-1.310	0.190
TP(g/L)	68.4(62.3~71.0)	69.0(62.4~70.9)	-1.112	0.216
ALB(g/L)	40.6(35.5~44.9)	41.0(35.6~45.3)	-0.982	0.376
TBIL( $\mu$ mol/L)	12.5(9.0~16.7)	12.6(9.1~17.1)	-1.366	0.175
DBIL( $\mu$ mol/L)	4.1(3.7~6.6)	4.2(3.6~6.7)	-1.441	0.143
BUN(mmol/L)	5.00(4.31~5.84)	5.05(4.38~5.98)	-1.320	0.184
Cr( $\mu$ mol/L)	62(57~79)	62(58~81)	-1.122	0.203
UA( $\mu$ mol/L)	286(236~378)	295(242~382)	-1.220	0.196
GLU(mmol/L)	5.33(4.59~6.27)	5.31(4.56~6.18)	-1.525	0.138
TG(mmol/L)	1.23(0.95~1.86)	1.25(0.94~1.88)	-1.547	0.127
TC(mmol/L)	4.29(3.58~4.47)	4.32(3.54~4.59)	-1.683	0.097
HDL-C(mmol/L)	1.04(0.91~1.20)	1.05(0.96~1.24)	-1.122	0.204

3 讨 论

在临床检验工作中,受方法学及样本数量的制约,许多标本常需在 4 °C 或低温冷冻保存;以及临床科研中,一些标本的

采集因为严格的时间限制如术前、术中、卧位、立位等特殊情况,这些标本很难具有成批性<sup>[2]</sup>;另外,随着医疗服务质量的不断改善,病人要求随到随抽血,如果加上待检项目需要用放射免疫法或酶免疫法,这些标本更需在 4℃或甚至-20℃条件下保存一定时间<sup>[3]</sup>。市场上大多数校准品、质控品都是干粉制剂,一般用去离子水复溶后需要分装保存<sup>[4]</sup>。所以选择恰当的保存方式,使血清的化学成分的稳定性不受影响显得非常重要。目前实验室保存血清的主要方式有:室温,4℃冰箱以及-20℃冰冻保存。根据本次实验研究发现,25℃左右室温条件和 4℃冰箱密闭保存 24 h 的血清样本,其化学成分的均一性基本不受到影响,只是一些酶或胆红素会不同程度降低,室温保存条件下降低更明显。而-20℃冰冻保存 24 h 后的血清样本,充分颠倒混匀后其化学成分水平与初始结果并无明显差异,显然,在保存时间要求不是很长的情况下,-20℃冰冻保存是血清样本的最佳保存方式,优于室温保存和 4℃冰箱保存方式<sup>[5]</sup>,由于不需要特殊的设备,也是目前大多数实验室容易实现的方式。

-20℃冰冻保存作为实验室血清样本的常用保存方式,从本次实验研究发现,-20℃冷冻保存 24 h 后血清上下层各种化学成分的均一性很差。主要表现为血清上层的化学成分的浓度明显低于血清下层的浓度,导致这一现象的原因目前有不同的解释。有研究认为这是由于低温条件下各种化学成分的饱和度下降导致结晶的析出,而结晶沉积在样本管底部,血清上层化学成分浓度就降低<sup>[6-7]</sup>。而据笔者观察室温复融 30 min 后未发现样本管底部结晶存在。也有研究认为这一现象主要是由于低温条件下化学成分的自然沉降有关<sup>[8]</sup>。有研究发现,若将冷冻保存后的血清由上至下分成多层,血清中各种化学成分的浓度由上至下是逐渐增加的<sup>[9]</sup>。但是化学成分为什么在低温条件下会沉降?至今还无很合理的解释。所以上下层血清化学成分浓度差异大确切的原因还有待进一步探讨。

在实验操作中非常强调加样本或试剂后通过搅拌、震荡方式混匀使反应更充分,而保存样本检测前需混匀常被大家忽视,特别是低温冷冻保存后的血清样本。这是因为目前大家对低温冷冻保存后血清样本化学成分上下层巨大的浓度差异认识不足有关。对低温冷冻保存后的血清样本,复融后充分混匀再检测尤为重要,建议写入相关实验标准操作规程。当然,可

• 临床研究 •

以利用低温冷冻保存后的血清上下层浓度差异大的特点,通过检测冷冻保存后的下层血清的肿瘤、病毒及核酸标志物浓度,以提高检测灵敏度。

本研究表明,经室温或 4℃冰箱保存 24 h 的血清,各种化学成分均一性基本不受影响,但是一些酶和胆红素会不同程度降低,室温保存的血清降低更明显;-20℃保存的血清,复融后上下层血清化学组分的均一性很差,上层血清化学成分浓度明显低于下层血清,为保证检测结果的可靠性,检测前务必充分混匀。

## 参考文献

- [1] 邵大祥. 标本保存时间及温度对血液生化检测结果的影响分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(21): 2896-2897.
- [2] 高政聪. 血液标本采集过程及放置时间对检验结果的影响[J]. 甘肃医药, 2012, 31(11): 865-867.
- [3] Cuhadar S, Koseoglu M, Atay A, et al. The effect of storage time and freeze-thaw cycles on the stability of serum samples[J]. Biochem Med (Zagreb), 2013, 23(1): 70-77.
- [4] 刘梅华. 两种保存温度对生化室内冻干质控血清的影响[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(9): 1074-1075.
- [5] Borges CR, Rehder DS, Jensen S, et al. Elevated plasma albumin and apolipoprotein A-I oxidation under suboptimal specimen storage conditions[J]. Mol Cell Proteomics, 2014, 13(7): 1890-1899.
- [6] 滕龙, 王建泉. 不同保存温度标本自然沉降对测定结果影响初步探讨[J]. 医学研究杂志, 2006, 35(8): 106-108.
- [7] Zelent B, Bryan MA, Sharp KA, et al. Influence of surface groups of proteins on water studied by freezing/thawing hysteresis and infrared spectroscopy[J]. Biophys Chem, 2009, 141(2/3): 222-230.
- [8] Beetham R, Monk C, Keating L, et al. Effects of storage at -20 degrees C on ischaemia-modified albumin results[J]. Ann Clin Biochem, 2006, 43(Pt 6): 500-502.
- [9] 林德华, 顾国浩, 杨炳华. 反复低温冻融血清化学成分浓度梯度的分布特性[J]. 苏州医学院学报, 1997, 17(3): 439-441.

(收稿日期: 2016-01-11)

# 联合检测降钙素原、C 反应蛋白和白细胞计数在 小儿感染性肺炎诊断中的价值

黎 艺

(罗定市人民医院检验科, 广东罗定 527200)

**摘要:**目的 探究联合 C 反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)、白细胞(WBC)应用于小儿感染性肺炎诊断过程中的临床效果。**方法** 选取 2013 年 8 月至 2015 年 8 月期间本院收治的肺炎患儿 119 例以及同期来本院进行健康体检儿童 62 例作为研究对象,依据身体情况划分为非细菌性肺炎组(60 例)、细菌性肺炎组(59 例)、健康组(62 例),对比 CRP、PCT、WBC 等相关情况。**结果** 细菌组患儿 CRP、PCT、WBC 等 4 个指标都明显高于非细菌组、健康组的水平,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** PCT 比 CRP、WBC 指标具有更高的特异度以及灵敏度,联合检测可判断导致肺炎产生的病原体种类。

**关键词:** 降钙素原; C 反应蛋白; 白细胞计数; 肺炎; 儿童

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.08.051

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)08-1132-03

肺炎是导致患儿死亡的重要原因之一,有支原体、病毒、细菌性肺炎等类型,其中细菌性肺炎最为常见。该种疾病病