

• 论 著 •

标本类型对电化学发光法检测心脏标志物结果影响初探

段业芬

(四川省宜宾市第四人民医院检验科, 四川宜宾 644000)

摘要:目的 探讨不同抗凝剂对电化学发光法检测心肌肌钙蛋白 T(cTnT)、肌红蛋白(Myo)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)质量(CK-MBmass)、氨基末端 B 型钠尿肽原(NT-proBNP)的影响。方法 采用罗氏 cobas e411 电化学发光免疫分析仪分别检测 29 例住院患者血清、乙二胺四乙酸二钾盐(EDTA-K₂)抗凝血浆及肝素锂抗凝血浆 cTnT、Myo、CK-MBmass 及 NT-proBNP 水平,利用统计学方法比较各组心脏标志物差异。结果 肝素抗凝组与血清组 4 项结果差异均无统计学意义(t 分别为 -1.975、0.043、0.706、1.097, $P > 0.05$)。EDTA-K₂ 抗凝组与血清组 cTnT 结果差异无统计学意义(t 值为 -1.208, $P > 0.05$), Myo、CK-MBmass 及 NT-proBNP 结果差异有统计学意义(t 值分别为 2.831、3.920、6.293, $P < 0.05$)。结论 肝素锂抗凝血浆与无抗凝剂血清检测心脏标志物结果差别无临床意义,能够缩短心脏标志物测定的样品周转时间(TAT),是急诊心脏标志物检测的首选。

关键词:抗凝剂; 电化学发光法; 肌钙蛋白 T; 肌红蛋白; 肌酸激酶同工酶 MB 型; 氨基末端 B 型钠尿肽原

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.24.035

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)24-3591-03

Primary investigation on effect of different sample types on detection results of electrochemiluminescence for detecting heart markers

Duan Yefen

(Department of Clinical Laboratory, Yibin Municipal Fourth People's Hospital, Yibin, Sichuan 644000, China)

Abstract: Objective To explore the effect of different anticoagulants on the results of the electrochemiluminescence method for detecting cardiac troponin T(cTnT), myoglobin(Myo), creatine kinase isoenzyme mass (CK-MBmass) and N-terminal pro-type natriuretic peptide (NT-proBNP). **Methods** The levels of cTnT, Myo, CK-MB mass and NT-proBNP in serum, EDTA-K₂ anticoagulation plasma and heparin lithium anticoagulation plasma from 29 patients were measured by the Roche cobas e411 electrochemiluminescence immunity analyzer. **Results** The results of cTnT, CK-MBmass, Myo and NT-proBNP had no statistical differences between the heparin lithium anticoagulation plasma group and the serum group ($t = -1.975, 0.043, 0.706, 1.097, P > 0.05$). The results of cTnT had no statistical difference between the EDTA-K₂ anticoagulation plasma group and serum group, however the results of CK-MBmass, Myo and NT-proBNP showed statistically significant differences ($t = 2.831, 3.920, 6.293, P < 0.05$). **Conclusion** The detection results of heart markers levels have no clinical difference between the heparin lithium anticoagulation plasma and non-anticoagulant serum, which can shorten the turn-around time(TAT) of heart markers detection and is the first choice for emergent heart markers detection.

Key words: anticoagulant; electrochemiluminescence; troponin T; creatine kinase isoenzyme mass; N-terminal pro-type natriuretic peptide

心血管疾病是中国城市人群的常见疾病和死亡原因之一,而心脏标志物的检测是心血管疾病早期诊断和鉴别诊断的重要辅助手段之一。有研究结果表明,从起病到正确干预的时间与并发症、生存率直接相关。例如急性心肌梗死(AMI)发病后 1 h 内得到治疗,死亡率约为 1%;若 6 h 后才得到救治,死亡率将达到 10%~12%^[1]。这就要求临床实验室迅速向临床发出报告,从而提高诊断效率。缩短检测周转时间便成了实验室工作者研究的重点。临床工作中,一般推荐使用血清标本检测心脏标志物水平,但血清标本的标本前处理时间较长,不利于报告的迅速发出。使用血浆能有效缩短标本预处理时间,但能否替代血清进行心脏标志物检测尚需进行研究,国内外虽有抗凝剂对心肌肌钙蛋白 T(cTnT)、肌红蛋白(Myo)检测影响的报道^[2-3],但各家结论不一致。对此,笔者检测了 29 份血清、乙二胺四乙酸二钾盐(EDTA-K₂)抗凝血浆及肝素锂抗凝血浆标本,比较各组心脏标志物含量,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择宜宾市第四人民医院住院患者共 29 例,

其中男 20 例,女 9 例,年龄 28~80 岁。所选患者心脏标志物浓度涵盖低中高水平。

1.2 仪器与主要试剂 罗氏 cobas e411 电化学发光免疫分析仪及配套 cTnT、Myo、肌酸激酶同工酶(CK-MB)质量(CK-MBmass)及氨基末端 B 型钠尿肽原(NT-proBNP)原装试剂、校准品、质控物。严格按照标准操作规程进行操作。真空采血管为成都普什医药塑料包装有限公司提供紫头管(内含 EDTA-K₂,批号 1403016A),绿头管(内含肝素锂,批号 1401023A),红头管(无添加剂,批号 1312018C)。

1.3 方法 收集受试者静脉血 6 mL,分别注入含 EDTA-K₂ 抗凝剂(EDTA 组)、肝素锂抗凝剂(肝素组)及无添加剂(血清组)的真空采血管中,每管约 2 mL。抗凝标本混匀后 2 260×g 离心 5 min 分离血浆,无添加剂的标本大约 30 min 血液凝固、血凝块回缩后,同样离心条件分离血清。立即上机测定 cTnT、Myo、CK-MBmass 及 NT-proBNP 水平。测定标本前先做质控,结果在控,确保仪器性能可靠。所有数据均重复平行测定 2 次取平均值。

1.4 统计学方法 应用 SPSS18.0 统计软件进行数据处理。正态性检验采用 K-S 检验,若为正态分布资料,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间数据比较采用配对 t 检验;若为偏态分布资料以中位数和四分位间距 $[M(P_{25}, P_{75})]$ 表示,数据比较采用秩和检验 Friedman 法及 Wilcoxon 法或者将偏态分布资料转换为正态分布资料进行配对 t 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 数据分布 经 K-S 检验,EDTA 抗凝组、肝素抗凝组及血清组的 cTnT、Myo、CK-MBmass、NT-proBNP 数据均为偏态分布 ($P < 0.05$),结果见表 1。各组数据取以 10 为底的对数后转化为正态分布资料 ($P > 0.05$),结果见表 2。

2.2 EDTA 组与血清组心脏标志物结果的比较 与血清组比

较,EDTA-K₂ 抗凝组 cTnT 差异无统计学意义 ($t = -1.208, P = 0.237$);Myo、CK-MB mass 和 NT-proBNP 差异有统计学意义 (t 值分别为 2.831、3.920、6.293, $P < 0.05$)。计算 Myo、CK-MB mass 和 NT-proBNP 与血清偏差,CK-MB mass 平均偏差为 5.69%,最大偏差 11.00%,Myo 平均偏差为 5.48%,最大偏差为 9.70%,NT-proBNP 平均偏差为 5.08%,最大偏差为 10.80%,均明显超过罗氏试剂盒提供的日内精密度的。

2.3 肝素组与血清组心脏标志物结果的比较 与血清组比较,肝素组 cTnT、Myo、CK-MB mass 和 NT-proBNP 差异均无统计学意义 (t 值分别为 -1.957、0.043、0.706、1.097, $P > 0.05$)。

表 1 cTnT、Myo、CK-MBmass 及 NT-proBNP 测定结果 $[M(P_{25}, P_{75})]$

组别	n	cTnT(pg/mL)	MYO(ng/mL)	CK-MB(ng/mL)	NT-proBNP (pg/mL)
血清组	29	16.45(10.15,24.81)	52.60(42.48,118.25)	2.19(1.40,3.98)	368.90(168.00,3 301.00)
EDTA 组	29	18.03(11.25,25.55)	51.41(41.36,111.20)	2.09(1.29,3.74)	360.50(161.80,3 130.00)
肝素组	29	18.88(9.96,23.90)	53.63(41.01,114.10)	2.21(1.34,4.51)	310.60(167.40,3 160.00)

表 2 cTnT、Myo、CK-MBmass 及 NT-proBNP 取对数后结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	cTnT(pg/mL)	MYO(ng/mL)	CK-MB(ng/mL)	NT-proBNP(pg/mL)
血清组	29	1.28±0.42	1.81±0.32	0.40±0.37	2.76±0.80
EDTA 组	29	1.30±0.44	1.80±0.32*	0.38±0.37*	2.74±0.80*
肝素组	29	1.31±0.45	1.81±0.33	0.42±0.39	2.75±0.82

*: $P < 0.05$,与血清组比较。

3 讨论

肝素抗凝血浆、EDTA 抗凝血浆及血清均为罗氏心脏标志物检测试剂盒认可的样品类型,但并未说明三者间检测有无差别。急诊生化项目检测中,EDTA 由于其络合钙镁,影响酶活性检测^[9],一般不用于生化项目检测。常使用肝素抗凝血浆或血清作为急诊生化检测标本^[10-12]。肝素抗凝血浆(一般选用肝素锂)只需一管血即可进行多项目检测,且能缩短样品周转时间(TAT),有利于心血管事件快速诊断。

本研究结果显示,肝素抗凝血浆与血清检测心脏标志物结果差异无统计学意义 ($P > 0.05$),可以使用肝素抗凝血浆代替血清进行检测。与国内外多数报道相一致^[2-4],与黄婷等^[5]在研究中指出肝素抗凝血浆检测 BNP 的结果比 EDTA 抗凝血浆偏高的结论不一致,黄婷等采用的是 ADVIA Centaur-XP 全自动化学发光仪及其配套试剂,本实验以 Roche cobas e411 电化学发光免疫分析仪及配套试剂为基础,试剂成分差异可能造成结果的不同。也未出现陈望荣等^[6]报道肝素抗凝管检测 CK-MB 时出现负值的情况^[7],主要在于他们采用的是检测 CK-MB 活性而非 CK-MB 的质量,肝素带有负电荷,CK-MB 的活性部位中的氨基酸残基容易与带有负电荷的肝素结合失去活性而出现了负值。

本研究也表明 EDTA-K₂ 抗凝血浆与血清对电化学发光法检测 Myo、CK-MB mass 和 NT-proBNP 结果有较大的差异,而检测 cTnT 差异小。这与 Daves 等^[2]报道 EDTA 抗凝血浆可作为血清替代标本检测 cTnT 的观点一致,与 Dupuy 等^[4]结论不一致,这可能由于采用检测心脏标志物的方法不同造成结论相悖。本实验说明,EDTA-K₂ 抗凝血浆不适合代替血清检

测心脏标志物,如实际工作中需要采用 EDTA-K₂ 抗凝血浆检测,必须制订其自身的参考区间。

本试验初步探明了肝素抗凝血浆、EDTA 抗凝血浆以及血清检测心脏标志物结果的差别,但由于心脏标志物检测所需费用高,本实验选择的样本量偏少,同时抗凝剂量对心脏标志物检测的影响也有待于进一步研究。

综上所述,肝素抗凝标本与 EDTA 抗凝标本及血清标本相比,能缩短 TAT,减少患者抽血数量,另外还可以减少溶血,减少样品放置造成的误差,心脏标志物检测结果与血清差异无临床意义,是急诊心脏标志物检测首选标本类型。

参考文献

[1] 朱永辉,栗勇.急性心肌梗死心肌损伤生化标志物检测进展[J].国际检验医学杂志,2010,31(9):995-997.
 [2] Daves M, Trevisan D, Cemin R. Different collection tubes in cardiac biomarkers detection[J]. J Clin Lab Anal, 2008, 22(6): 391-394.
 [3] 汪桂华,孙长江.血浆与血清标本对心肌钙蛋白检测的影响[J].检验医学与临床,2010,7(17):1844-1845.
 [4] Dupuy AM, Terrier N, Dubois M, et al. Heparin plasma sampling as an alternative to EDTA for BNP determination on the Access-Beckman Coulter—effect of storage at -20 degrees C[J]. Clin Lab, 2006, 52(7/8): 393-397.
 [5] 黄婷,张宝华.抗凝剂类型、标本存放的时间及温度对 B 型钠尿肽检测的影响[J].国际检验医学杂志,2013,34(6):658-659.
 [6] 陈望荣,杨绿舜,郑定容. CK-MB 在肝素钠管与普通干燥管中的检测比较[J].实用医技杂志,2008,15(11):1415-1416.(下转第 3595 页)

2.3 血浆 Hcy、内皮素水平的比较 治疗前,两组间血浆 Hcy 和内皮素水平治疗前比较,差异无统计学意义($P>0.05$); 研究组血浆 Hcy、内皮素水平治疗后较治疗前降低,差异有统计学意义($P<0.05$); 对照组血浆 Hcy、内皮素水平治疗前后比较,差异无统计学意义($P>0.05$); 治疗后,研究组血浆 Hcy、内皮素水平均低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

2.4 两组血液流变学指标比较 两组全血低切黏度、全血高切黏度及血浆黏度治疗前后比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 5。

2.5 安全性评价 治疗期间两组均未见严重不良反应。

3 讨 论

厄贝沙坦氢氯噻嗪是一种新型制剂,其组成包括厄贝沙坦和氢氯噻嗪^[7]。其中厄贝沙坦是常用的一种降压药物,其半衰期为 12~20 h,降压作用持续时间较长,不良反应少,且服用较为简单,依从性高,且适用于多种类型高血压;其中氢氯噻嗪是一种利尿剂,主要通过利尿、排钠等降低血容量,从而达到降压目的。已有研究报道显示,厄贝沙坦氢氯噻嗪对高血压患者除具有明显的降压作用,还可显著降低血清炎症因子,发挥抗炎作用^[8]。

目前,与高血压相关性炎症因子包括 CRP、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等^[9]。CRP 是与炎症相关的一种急性期反应蛋白。高浓度的 CRP 可降低内皮一氧化氮(NO)的释放,而 NO 的降低为促进高血压、动脉粥样硬化及血管事件的关键一步。IL-6 是由内皮细胞、T 细胞分泌的一种多效细胞因子,该细胞因子具有细胞保护功能与致炎效应等多种生理学效应。IL-6 可促进内皮功能紊乱、提升外周血管阻力,从而促进高血压的发生;此外,IL-6 可促进平滑肌细胞增殖,快速增加平滑肌细胞钙离子(Ca^{2+}),导致血管收缩,致使血压上升^[10]。研究报道显示,高血压患者血清 CRP 浓度和 IL-6 水平明显高于健康者^[11]。

Hcy 是一种体内蛋氨酸代谢途径中形成的含硫氨基酸。近年来,报道发现高 Hcy 已成为继糖尿病、高血脂、肥胖、吸烟及高血压等因素后,又一动脉粥样硬化独立危险因素。高 Hcy 主要通过内质网应激、氧化应激及炎症激活损伤内皮细胞功能,且会造成内皮素分泌增加,降低 NO 分泌,影响低密度脂蛋白(LDL)、凝血因子、血管平滑肌细胞及血小板等,以及加速动脉粥样硬化的发展。研究报道显示,大多心血管疾病如肺动脉高压、动脉粥样硬化及高血压等,内皮功能紊乱起着重要作用,且高血压患者内皮素水平高于健康者^[12]。本研究表明,研究组血浆 Hcy 和内皮素治疗后明显低于对照组,提示厄贝沙坦

氢氯噻嗪能够显著降低 Hcy 和内皮素水平,改善患者血管内皮功能,进而可延缓和预防动脉粥样硬化。

综上所述,厄贝沙坦氢氯噻嗪可明显降低高血压患者血压、血清炎症、Hcy、内皮素水平,但对血液流变学无影响,未见严重不良反应,安全可靠,具有重要研究意义。

参考文献

- [1] Ballard-Croft C, Wang D, Jones C, et al. Resolution of pulmonary hypertension complication during venovenous perfusion-induced systemic hyperthermia application [J]. *Asaio Journal*, 2013, 59(4):390-396.
- [2] 王宣淇. 我国高血压流行病学及老年高血压防治[J]. *医学综述*, 2011, 17(11):1674-1677.
- [3] Sun L, Gao Y, Liu H, et al. An assessment of the relationship between excess fluoride intake from drinking water and essential hypertension in adults residing in fluoride endemic areas [J]. *Sci of the Total Envi*, 2013, 443(9):864-869.
- [4] 李姜溶, 刘同奇, 虞德忱, 等. 厄贝沙坦氢氯噻嗪对高血压病患者血清 C-反应蛋白浓度影响[J]. *心血管康复医学杂志*, 2013, 22(5):514-515.
- [5] 张跃超. 厄贝沙坦氢氯噻嗪片与厄贝沙坦治疗轻中度高血压疗效观察[J]. *现代中西医结合杂志*, 2014, 6(34):3847-3848.
- [6] 中国高血压防治指南修订委员会. 中国高血压防治指南 2010 [J]. *中华心血管杂志*, 2011, 39(7):579-616.
- [7] 高风光. 厄贝沙坦氢氯噻嗪片治疗原发性高血压疗效观察[J]. *河北医药*, 2014, 12(5):754-755.
- [8] 林允信, 王恒辉, 王伯良, 等. 厄贝沙坦氢氯噻嗪片对原发性高血压患者肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 6 水平的影响[J]. *医学综述*, 2012, 18(4):628-629.
- [9] 周淑娟, 雷娟, 张玉玲, 等. 高血压患者胰岛素抵抗与血清脂联素及炎症标志物水平[J]. *中华高血压杂志*, 2008, 16(2):166-170.
- [10] Grant J. Protective role of IL-6 in vascular remodeling in schistosoma pulmonary hypertension [J]. *American J resp cell and mol biology*, 2013, 49(6):951-959.
- [11] Hong Kong, Yue-Sheng Qian, Xiao-Feng Tang, et al. C-reactive protein (CRP) gene polymorphisms, CRP levels and risk of incident essential hypertension: findings from an observational cohort of Han Chinese [J]. *Hyp res: Official J the Japanese Society of Hyp*, 2012, 35(10):1019-1023.
- [12] 韩青. 同型半胱氨酸与高血压的相关性[J]. *医学综述*, 2013, 19(8):1447-1450.

(收稿日期:2015-07-18)

(上接第 3592 页)

- [7] 胡记妹, 杨绿舜, 郑定容. 三种真空管中 CK-MB 浓度的检测结果比较[J]. *现代医院*, 2009, 9(1):60-61.
- [8] 王伟佳, 张秀明, 温冬梅, 等. 不同抗凝剂, 样本放置时间及保存温度对 B 型利钠肽和氨基末端 B 型利钠肽原检测的影响[J]. *现代检验医学杂志*, 2012, 27(2):83-87.
- [9] 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, 2006:122-123.

- [10] 杜国有, 顾向明. 血清与肝素锂抗凝血浆急诊生化项目的结果比较[J]. *国际检验医学杂志*, 2006, 27(11):1050.
- [11] 胡军红, 杨同朝, 陆玲, 等. 不同类型采血管对 4 种酶活性测定影响的研究[J]. *检验医学与临床*, 2013, 10(7):831-832.
- [12] 杜丽新, 李凤莲, 李书清, 等. 不同抗凝剂对血糖检测结果的影响[J]. *山西医药杂志*, 2013, 42(2):218-219.

(收稿日期:2015-08-08)