

标本放置时间对常规生化指标的影响与临床可接受性评价*

孙卫民, 陈瑞丽, 黄式文, 邓小燕, 吴晓蔓(广州医科大学附属第二医院 510260)

【摘要】 目的 探讨标本放置时间对常规生化指标的影响, 分析评价其偏倚临床接受性。方法 按美国临床实验室标准化委员会的 EP9-A2 文件要求, 采用 cobas8000 全自动生化分析仪每天分别测定 8 例患者的肝素锂抗凝新鲜血标本 0、1、2、3、4、5、6 h 的常规生化指标, 连续检测 5 d。分析标本放置时间对常规生化指标的影响, 以美国临床实验室修正法规规定的室内质量评价允许误差的 1/4 为临床接受范围, 判断其偏倚的临床接受性。结果 标本放置 6 h, 清蛋白、丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、尿素氮、直接胆红素、钾、低密度脂蛋白检测结果差异无统计学意义($P > 0.05$)。标本放置一定时间后, 碱性磷酸酶、尿酸、肌酐、 γ -谷氨酰转移酶(GGT)、高密度脂蛋白胆固醇、钠(Na^+)、总胆红素、钙、总胆固醇(TC)、氯(Cl^-)、二氧化碳结合力(CO_2CP)、葡萄糖(GLU)、三酰甘油(TG)检测结果差异均有统计学意义($P < 0.05$)。其中 GLU 放置 2 h, Cl^- 放置 6 h, CO_2CP 放置 1 h, Na^+ 放置 5 h, TG 放置 3 h, TC 放置 2 h 后, 其结果偏倚不能被临床所接受。结论 临床生化应根据实际建立标本放置时间对检测项目影响可接受性评估标准, 判断其偏倚临床接受性。同时常规生化项目应在有效时间内完成检测, 以保证检测结果的可靠性。

【关键词】 放置时间; 常规生化指标; 偏倚; 临床可接受性

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.13.029 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)13-1810-03

常规生化检验血标本从采样到上机检测耗时较长, 对生化检验结果有无影响, 是分析前质量控制中需重点关注的问题之一。一般住院患者血样采集大多集中在早上 6:00~7:00, 再从临床各科送到检验科, 经样本前处理后, 9:00 左右才能上机检测, 有部分外出体检标本医务工作者到体检单位采血, 再运回医院检测, 标本预处理时间更长。尽管应用了大型全自动生化分析仪, 提高了检测速度, 大多数标本仍不能得到即刻检测。有文献报道, 血标本放置时间对部分项目检测结果有较大的影响^[1-3], 但标本放置后检测项目微小差异在临床应用上能否被接受, 报道较少。为此, 本研究拟通过探讨标本放置时间对常规生化指标的影响并对其进行临床可接受性评价, 从而明确常规生化指标检测的合理放置时间, 为临床实验室常规生化指标检测时限提供可靠的实验基础, 为临床提供稳定而可靠的诊断依据。

1 材料与与方法

1.1 标本 采用肝素锂抗凝管采集广州医科大学附属第二医院门诊及住院患者当天无溶血、黄疸和脂浊等干扰的新鲜血浆。

1.2 仪器与试剂 cobas8000 全自动生化分析仪; 所有试剂及校准品均采用罗氏原装试剂。

1.3 方法 参考美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)的 EP9-A2 文件^[4]。每天采集 8 份患者新鲜血标本, 肝素锂抗凝, 3 500 r/min 离心 5 min, 以采集标本后立即(约 30 min)分离上机检测作为 0 h 对照, 然后室温放置 1、2、3、4、5、6 h 后采用 cobas8000 全自动生化分析仪检测 21 项常规生化指标: 天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、 γ -谷氨酰转移酶(GGT)、碱性磷酸酶(ALP)、总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)、葡萄糖(GLU)、二氧化碳结合力(CO_2CP)、尿素(UREA)、肌酐(Cr)、尿酸(UA)、钾(K^+)、钠(Na^+)、氯(Cl^-)、钙(Ca^{2+})、三酰甘油(TG)、总胆固

醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C), 并记录检测结果。连续检测 5 d, 每个项目共 40 个数据。实验前对仪器进行常规维护与保养, 按常规方法进行校准和质控, 室内质控在控后, 每个项目严格按厂商试剂说明书及科室标准操作程序进行检测。

1.4 统计学方法

1.4.1 将各常规生化项目 1、2、3、4、5、6 h 所测得的值与其 0 h 所测得的值做配对 t 检验。分析结果偏倚(95% 可信区间)差异是否有统计意义。

1.4.2 计算相关系数和直线回归方程, 根据回归方程计算各指标在医学决定水平上的预期偏倚, 然后以美国临床实验室修正法规(CLIA'88)规定的室内质量评价允许误差范围的 1/4 为临床接受范围, 判断偏倚是否可以接受。相对偏倚($SE\%$) $\leq 1/4\text{CLIA}'88$ 属临床可接受水平^[5]。

2 结果

2.1 13 个项目 6 h 内 t 检验结果 见表 1。标本放置 6 h, ALB、ALT、AST、BUN、DBIL、 K^+ 、LDL-C 7 项检测结果 t 检验差异无统计学意义($P > 0.05$); 其余 13 个项目放置 6 h 内在不同时间段检测结果 t 检验差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 6 h 内 t 检验差异有统计学意义的项目

项目	放置时间(h)	t	P
ALP	6	-2.660	0.011
UA	3	2.177	0.042
Cr	2	2.977	0.005
GGT	2	2.889	0.006
HDL-C	2	-2.418	0.021
Na^+	1	-3.132	0.030
TBIL	1	2.625	0.012

* 基金项目: 广州市医药卫生科技项目(20121A011145)。

续表 1 6 h 内 *t* 检验差异有统计学意义的项目

项目	放置时间(h)	<i>t</i>	<i>P</i>
Ca ²⁺	1	2.200	0.034
TC	1	-5.758	<0.01
Cl ⁻	1	4.270	<0.01
CO ₂ CP	1	13.718	<0.01
GLU	1	4.935	<0.01
TG	1	-4.173	<0.01

2.2 6 h 内各项目检验结果 见表 2。计算各项目 0~6 h 的均值, BUN、ALP、ALB、Cr、Ca²⁺、K⁺ 等 6 个项目结果随时间改变无明显变化; HDL-C、LDL-C、AST、TG、TC、Na⁺ 浓度随时间改变呈递增趋势; GLU、CO₂CP、Cl⁻、GGT、ALT、UA、TBIL、DBIL 浓度随时间改变呈递减趋势。

2.3 预期偏倚临床可接受性评价 以 0 h 检测结果为参考, 以 1、2、3、4、5、6 h 各时间段检测结果与其比较, 对不同放置时间检测结果的相关性与回归进行分析, 以 1/4CLIA'88 允许误差为标准, 对各项目医学决定水平(*X_c*) 计算偏倚, 对临床可接受性进行评价, 见表 3。其中 GLU 放置 2 h 时检测结果降低, 低值 *X_c* 为 3.80 mmol/L, *SE*% > 1/4CLIA'88 允许误差, 不能被临床所接受。CO₂CP 放置 1 h 时结果降低, *X_c* 预期偏倚不能被临床所接受。Cl⁻ 放置 6 h 时结果降低, 低值 *X_c* 预期偏倚不能被临床所接受。Na⁺ 放置 1 h 时结果差异有统计学意义, 但临床尚可接受; 当放置 5 h 时其结果相关性较差 (*r* = 0.854), 高值 *X_c* 预期偏倚不能被临床所接受。TG 放置 1 h 时结果差异有统计学意义, 但临床尚可接受; 当放置 3 h 时高值 *X_c* 预期偏倚不能被临床所接受。TC 放置 1 h 时结果差异有统计学意义, 但临床尚可接受; 当放置 2 h 时其结果偏倚不能被临床所接受。其余项目测定结果的偏差临床均可以接受。

表 2 6 h 内各项目检测结果

标本放置时间(h)	BUN(mmol/L)	ALP(U/L)	TP(mmol/L)	ALB(U/L)	Cr(mmol/L)	Ca ²⁺ (mmol/L)	K ⁺ (mmol/L)
0	9.79	92	65.42	34.8	122	2.22	4.05
1	9.72	92	65.08	34.8	122	2.21	4.05
2	9.72	91	64.95	34.8	121	2.21	4.04
3	9.65	92	64.88	35.1	121	2.20	4.04
4	9.74	92	65.24	34.8	124	2.21	4.04
5	9.78	92	65.35	34.7	123	2.22	4.05
6	9.78	93	65.47	34.6	123	2.22	4.06

续表 2 6 h 内各项目检测结果

标本放置时间(h)	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	TC(mmol/L)	AST(U/L)	TG(mmol/L)	Na ⁺ (mmol/L)
0	1.00	2.22	3.87	87	1.21	139.1
1	1.00	2.22	4.00	88	1.25	139.3
2	1.02	2.20	4.09	88	1.30	139.2
3	1.03	2.21	4.22	89	1.35	139.3
4	1.03	2.22	4.31	90	1.38	139.4
5	1.04	2.24	4.41	89	1.40	140.0
6	1.05	2.25	4.52	89	1.44	140.0

续表 2 6 h 内各项目检测结果

标本放置时间(h)	GLU(mmol/L)	CO ₂ CP(mmol/L)	Cl ⁻ (mmol/L)	GGT(U/L)	ALT(U/L)	UA(μmol/L)	TBIL(μmol/L)	DBIL(μmol/L)
0	6.09	24.3	101.7	316	94	316	20.26	7.93
1	6.03	23.2	101.4	315	94	315	19.85	7.68
2	5.94	22.6	101.1	314	91	314	19.74	7.68
3	5.83	22.2	100.8	314	91	314	19.66	7.56
4	5.75	22.1	100.7	312	92	312	19.87	7.54
5	5.59	22.1	101.0	312	92	312	19.71	7.52
6	5.42	21.6	100.7	313	91	313	19.51	7.38

表 3 浓度随时间递减且其偏倚不被临床所接受

项目(mmol/L)	放置时间(h)	回归方程	相关系数(<i>r</i>)	<i>X_c</i>	SE%	1/4CLIA'88
GLU	2	Y=0.979 0X+0.281	0.995	3.80*	5.25	2.50
				6.11	2.48	
				11.00	0.44	
CO ₂ CP	1	Y=1.049 8X-0.058	0.988	22*	4.58	2.00
				32*	4.67	
Cl ⁻	6	Y=0.945 6X+6.455	0.962	96*	1.27	1.25
				108	0.53	
Na ⁺	5	Y=0.837 0X+21.93	0.854	136	-0.20	0.70
				146*	-1.28	
TG	3	Y=1.045 0X-0.202	0.961	0.56	-3.54	5.00
				1.70*	-7.34	
TC	2	Y=0.979 0X-0.134	0.960	2.85*	-6.80	2.50
				5.17*	-4.67	

注：* 表示检测项目在该水平偏倚不被接受。

3 讨 论

本研究结果显示,肝素抗凝血离心后放置不同时间检测结果呈现不同,与前期一些报道基本相符^[1-3]。有报道显示,干燥管血标本血清钾浓度随放置时间呈递增趋势,可能是干燥管血标本在离心过程中对细胞膜有一定损伤作用,细胞内钾离子逸出导致浓度显著升高^[6]。而本研究结果显示,肝素锂抗凝血浆放置 6 h 以内,血钾浓度无明显差异,推测肝素锂抗凝对细胞内钾外溢有一定抑制作用。人体组织细胞 70% 以上能量是由葡萄糖氧化提供,红细胞离开人体后仍可通过葡萄糖无氧酵解途径获得能量^[7]。沈晓如^[8] 研究显示,血糖检测应在 30 min 内完成,任爱英^[9] 研究则表明,肝素锂抗凝全血血浆标本室温放置 1 h 对 GLU 测定结果无明显影响,放置 2 h 以上测定结果存在显著差异。但本实验结果显示,GLU 浓度随放置时间呈递减趋势,GLU 放置 1 h 时,结果偏倚差异有统计学意义,但临床尚可接受,放置 2 h 时其结果偏倚不能被临床所接受。血标本室温放置,血液接触空气,造成通气过度,血中碳酸(H₂CO₃)浓度降低,HCO₃⁻浓度相对增高,细胞发生呼吸性碱中毒变化^[10]。一方面细胞内 H⁺ 逸出与血清 K⁺、Na⁺ 交换,引起 K⁺、Na⁺ 降低,H⁺ 与 HCO₃⁻ 结合形成 H₂CO₃;另一方面血清中 HCO₃⁻ 进入红细胞与 Cl⁻ 交换,HCO₃⁻ 在红细胞中分解生成 CO₂,进入血清生成 H₂CO₃,引起 CO₂CP 降低。室温有利于纤维蛋白收缩,由于红细胞内 Cl⁻ 很有限,所以主要表现为因纤维收缩引起的 Cl⁻ 降低。随血糖分解降低,能量供应不足,钠泵运转异常,血清 Na⁺ 增高^[10]。本研究 CO₂CP 随时间延长呈递减趋势,且 1 h 后结果偏倚不能被临床所接受;Cl⁻ 浓度随时间延长呈递减趋势,6 h 后结果偏倚不能被临床所接受;Na⁺ 浓度随时间延长呈递增趋势,5 h 后结果偏倚不能被临床所接受。此本外研究结果显示,TC 和 TG 浓度随时间延长呈递增趋势,而引起该趋势变化的原因少见报道,这一现象对临床血脂代谢类疾病的流行病学调查应引起注意。

另外,本研究发现部分项目随放置时间延长变化统计结果看,虽然 *t* 检验差异有统计学意义,但以 SE% ≤ 1/4CLIA'88 的临床可接受水平判断其偏倚可被接受。比如 Cl⁻ 浓度随

间延长呈递减趋势,Cl⁻ 放置 1 h 时结果偏倚差异有统计学意义,但临床尚可接受;当放置 6 h 时其结果偏倚不能被临床所接受。Na⁺ 浓度随时间延长呈递增趋势,Na⁺ 放置 1 h 时结果偏倚差异有统计学意义,但临床尚可接受;当放置 5 h 时其结果偏倚不能被临床所接受。TG 浓度随时间延长呈递增趋势,TG 放置 1 h 时结果偏倚差异有统计学意义,但临床尚可接受;当放置 3 h 时其结果偏倚不能被临床所接受。TC 浓度随时间延长呈递增趋势,TC 放置 1 h 时结果偏倚差异有统计学意义,但临床尚可接受;当放置 2 h 时其结果偏倚不能被临床所接受。因此建立适当的临床偏倚可接受性评估标准有一定实际意义。

综上所述,血标本放置时间会引起常规生化项目检验值的变化,常规生化项目应在有效时间内完成检测,及时发出检验报告,以保证检测结果的可靠性,为临床的判断提供合理的实验数据。因此建议在实际工作中,GLU 最好用含氟化钠的抗凝管采集标本,且在 2 h 内完成检测,CO₂CP 最好在 1 h 内完成检测,Cl⁻ 至少在 6 h 以内完成检测,Na⁺ 至少在 5 h 以内完成检测,TG 至少在 3 h 以内完成检测,TC 至少在 2 h 以内完成检测。在实际工作中要建立适当的临床偏倚可接受性评估标准,合理安排检测项目的顺序,对于需要检测 GLU、CO₂CP、Cl⁻、Na⁺、TG、TC 的标本应优先检测;同时改进实验室操作流程,缩短标本从采集到上机的时间。

参考文献

- [1] 金宇. 血液样本放置时间对生化学检验结果的影响[J]. 现代预防医学,2012,39(16):4236-4237.
- [2] 许云虎. 标本放置时间对生化检测结果的影响[J]. 临床和实验医学杂志,2010,9(9):705.
- [3] 杨凤珍. 血标本不同放置时间对生化指标的影响分析[J]. 中国医药科学,2011,1(22):126.
- [4] Anonymous. Medicare, Medicaid and CLIA programs, regulations implementing the clinical laboratory improvement amendments of 1998 (CLIA)-HCFA. Final (下转第 1815 页)

大鼠颅脑损伤模型结果证明, ICAM-1 水平与颅脑损伤的程度有关^[7]。本研究结果表明, ICAM-1 在损伤当天含量急剧上升, 1 d 就达高峰, 以后逐渐下降, 由此说明 ICAM-1 在颅脑损伤中起重要作用。

根据以上结果分析, 颅脑损伤后, 可能在损伤部位产生 TNF- α 刺激血管内皮细胞合成, 表达 IL-1 β , IL-1 β 通过诱导黏附分子, 如 ICAM-1 增加白细胞的黏附。此外, IL-1 β 还可能作用于 TNF- α , 加重 TNF- α 对内皮细胞的损害作用, 促进炎症细胞在损伤区聚集, 加重神经系统炎症, 从而诱发继发性脑损害、脑代谢改变和脑细胞死亡。最近还有一系列证据表明, 颅脑损伤后的急性期和缓解期炎症表现是不一样的, 对于康复来说有必要维持适当的炎症^[8-11]。

因此, 本文认为, IL-1 β 、TNF- α 及 ICAM-1 在颅脑损伤后的炎症中具有重要作用, 血清 IL-1 β 、TNF- α 及 ICAM-1 水平可以作为评价颅脑损伤早期炎症损伤程度的重要指标。对脑损伤患者血清中 IL-1 β 、TNF- α 及 ICAM-1 水平进行联合动态观察, 为法医鉴定及临床研究对颅脑损伤程度的评价提供了理论依据, 并为病程进展、治疗及预后提供了可靠指标。

参考文献

[1] Denes A, Thornton P, Rothwell NJ, et al. Inflammation and brain injury: acute cerebral ischaemia, peripheral and central inflammation[J]. Brain Behav Immun, 2010, 24(5):708-723.

[2] Helmy A, De Simoni MG, Guilfoyle MR, et al. Cytokines and innate inflammation in the pathogenesis of human traumatic brain injury[J]. Prog Neurobiol, 2011, 95(3):352-372.

[3] Clausen F, Hanell A, Björk M, et al. Neutralization of interleukin-1beta modifies the inflammatory response and improves histological and cognitive outcome following

traumatic brain injury in mice[J]. Eur J Neurosci, 2009, 30(3):385-396.

[4] Clausen F, Hanell A, Israelsson C, et al. Neutralization of interleukin-1 β reduces cerebral edema and tissue loss and improves late cognitive outcome following traumatic brain injury in mice[J]. Eur J Neurosci, 2011, 34(1):110-123.

[5] Frugier T, Morganti-Kossmann MC, O'reilly D, et al. In situ detection of inflammatory mediators in post mortem human brain tissue after traumatic injury[J]. J Neurotrauma, 2010, 27(3):497-507.

[6] Shoji H, Kaneko Y, Mabuchi T, et al. Genetic and histologic evidence implicates role of inflammation in traumatic brain injury-induced apoptosis in the rat cerebral cortex following moderate fluid percussion injury[J]. Neuroscience, 2010, 171(4):1273-1282.

[7] Tsai YD, Liliang PC, Cho CL, et al. Delayed neurovascular inflammation after mild traumatic brain injury in rats[J]. Brain Inj, 2013, 27(3):361-365.

[8] Ziebell JM, Morganti-Kossmann MC. Involvement of pro- and anti-inflammatory cytokines and chemokines in the pathophysiology of traumatic brain injury[J]. Neurotherapeutics, 2010, 7(1):22-30.

[9] 丁永忠, 孙群周, 张建生. 急性颅脑损伤后血清 TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 含量变化及其临床意义[J]. 中国临床神经外科杂志, 2006, 11(1):17-19.

[10] 朱力. 急性颅脑损伤后血清 IL-10 和 IL-18 的含量变化及临床意义[J]. 临床和实验医学杂志, 2009, 8(3):11-13.

[11] 戚传平. 急性颅脑损伤患者脑积液 IL-6 与 IL-10 的含量及意义[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(2):158-159.

(收稿日期:2013-11-21 修回日期:2014-02-02)

(上接第 1812 页)

rule with comment period[J]. Fed Regist, 1992, 57(40):7002-7186.

[5] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP9-A2 method comparison and bias estimation using patient samples[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2002.

[6] 段红萍, 帅虎. 血液标本的放置对血糖血钾浓度测定值的影响[J]. 国际医药卫生导报, 2002, 8(8):85.

[7] 朱大年. 生理学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008:

449.

[8] 沈晓如. 血标本放置时间对血液化验结果的影响[J]. 中华护理杂志, 2003, 38(3):207-208.

[9] 任爱英. 血液标本放置时间对血糖测定结果的影响[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(1):59-60.

[10] 李桂源. 病理生理学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010:8-10.

(收稿日期:2013-10-30 修回日期:2014-02-16)

误差

误差指测量值与真值之差, 也指样本指标与总体指标之差。包括系统误差、随机测量误差和抽样误差。系统误差指数据收集和测量过程中由于仪器不准确、标准不规范等原因, 造成观察(检测)结果呈倾向性的偏大或偏小, 是可避免或可通过研究设计解决的。随机测量误差指由于一些非人为的偶然因素使观察(检测)结果或大或小, 是不可避免的。抽样误差指由于抽样原因造成样本指标与总体指标的差异, 是不可避免但可减少的。