

• 论 著 •

不同采血管、标本处理过程以及存放时间对 NSE 检测结果的影响*

黄婉姣¹, 田春华², 朱伟才³, 晁 艳¹, 陈炜烨¹, 柯培锋¹

(1. 广东省中医院检验医学部, 广州 510120; 2. 长治医学院检验系, 山西长治 046000;

3. 广东医科大学检验系, 广东湛江 524023)

摘要:目的 探究不同采血管、标本处理过程以及存放时间对神经元特异性烯醇化酶(NSE)检测结果的影响。方法 随机选取广东省中医院 50 例住院患者, 空腹采静脉血, 每份血液标本同时分装于 2 个试管, 试管 1 为无添加剂干燥管(红管), 试管 2 为促凝剂分离胶管(黄管), 用罗氏 E601 全自动电化学发光免疫分析仪测定两管血清 NSE 水平。每管标本共测定 3 次, 测定时间分别为标本采集后 1、24、48 h。其中 1 h 和 24 h 之间, 标本经历了 4 ℃ 保存 24 h、标本稍混匀和再离心的处理过程; 24 h 和 48 h 之间, 标本只经历了 4 ℃ 保存 24 h, 随后直接上机检测 NSE。结果 红黄两管血清 NSE 水平在 1 h 时结果, 差异无统计学意义($P>0.05$); 红管在 24 h 时结果的均差值及阳性率显著高于 1 h 结果的均差值及阳性率, 且差异有统计学意义($P<0.05$); 红管的 48 h 结果的均差值及阳性率与 24 h 相比, 差异无统计学意义($P>0.05$)。黄管标本的 3 次(1、24、48 h)NSE 测定结果的均差值及阳性率差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 促凝剂分离胶管(黄管)对 NSE 血清测定结果的稳定性优于无添加剂干燥管(红管)。

关键词:无添加剂干燥管; 促凝剂分离胶管; 神经元特异性烯醇化酶

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.15.007 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2016)15-2090-03

Effects of different vacuum tubes, specimen processing and storage time on the detection results of neuron specific enolase*

HUANG Wujiao¹, TIAN Chunhua², ZHU Weicai³, CHAO Yan¹, CHEN Weiye¹, KE Peifeng¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Guangdong Province Traditional Chinese Medical Hospital,

Guangzhou, Guangdong 510120, China; 2. Medical Examination of Changzhi Medical College, Changzhi, Shanxi

046000, China; 3. Medical Examination of Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong 524023, China)

Abstract: **Objective** To explore the effects of different vacuum tubes, specimen processing and storage time on the detection results of neuron specific enolase (NSE). **Methods** Totally 50 hospitalized patients were randomly selected. The venous blood of each patient was split into 2 tubes. One was drying tubes without additive (red tubes) and the other was separating gel tubes with coagulator (yellow tubes). NSE was then measured by ROCHE E601. NSE of each tube was detected after 1, 24, 48 h of blood separating. Between 1 h and 24 h, sample experienced storage (4 ℃, 24 h) and specimen processing (such as: mixing slightly and centrifuge again). However, between 24 h and 48 h, sample experienced only storage (4 ℃, 24 h). **Results** There was no significant difference in the NSE of 1 h for red and yellow tubes ($P>0.05$). To red tubes, concentration and positive rate of 24 h for NSE were significantly higher than that of 1 h ($P<0.05$), and there was no significant difference in 48 h and 24 h ($P>0.05$). To yellow tubes, there was no significant differences in 1, 24, 48 h ($P>0.05$). **Conclusion** The stability of the coagulant separating tube (yellow tubes) was better than that of the non additive drying tube (red tube) for the determination of NSE in serum.

Key words: drying tubes without additive; separating gel tubes with coagulator; neuron specific enolase

神经元特异性烯醇化酶(NSE)是糖原酵解途径中甘油分解的最后的酶, 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。NSE 在临床应用广泛, 可作为神经元损伤的标志物, 也可作为肿瘤标志物用于神经母细胞瘤、小细胞肺癌、垂体腺瘤等疾病的诊断^[1]。由于红细胞和血小板内也有 NSE 同工酶存在, 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, 引起血清 NSE 水平偏高^[2]。为减少 NSE 分析前的影响因素, 本文研究了不同采血管、标本处理过程以及存放时间对 NSE 检测结果的影响, 以便为临床提供更准确的实验结果。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取广东省中医院 2015 年 7 月各病区共 50 例住院患者作为受试对象, 其中男 21 例, 女 29 例。年龄 17~90 岁, 平均年龄 59.5 岁。

1.2 方法

1.2.1 第 1 次 NSE 检测 患者晨起空腹采静脉血, 分装于两个试管中, 各 3 mL。试管 1 为无添加剂的真空采血管(红管), 试管 2 为促凝剂分离胶管(黄管), 标本采集分装后在 1 h 内完成离心(3 000 r/min, 10 min)和血清 NSE 测定(1 h 结果)。

1.2.2 第 2 次 NSE 检测 第 1 次 NSE 检测完成后将标本放 4 ℃ 冰箱静置, 24 h 后取出标本, 恢复至室温, 将采血管稍混匀(避免剧烈震荡)、再离心(3 000 r/min, 10 min)后, 进行第 2 次 NSE 检测(24 h 结果)。

1.2.3 第 3 次 NSE 检测 第 2 次 NSE 检测完成后将标本放 4 ℃ 冰箱静置, 24 h 后取出标本, 恢复至室温, 未经任何处理, 直接进行第 3 次 NSE 检测(48 h 结果)。

1.2.4 两种采血管(红管与黄管)之间的 NSE 检测结果的比较 比较红管和黄管 3 次 NSE 检测结果以及阳性率。阳性率

* 基金项目: 广东省科技计划项目(2014A020212270)。

作者简介: 黄婉姣, 女, 副主任技师, 主要从事临床免疫学检验与研究工作。

比较时,以 NSE>16.3 ng/mL 判断为 NSE 阳性。

1.3 仪器与试剂 两种真空采血管均购自广州阳普医疗科技股份有限公司(红管批号 JA80063,黄管批号 F610242),血清 NSE 检测仪器和试剂为罗氏 E601 全自动电化学发光免疫分析仪及其配套试剂、质控品和标准品(试剂批号:18421201)。实验操作过程严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学处理 用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析,配对计量资料的比较采用 ANOVA 分析,阳性率的比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 红管和黄管之间 NSE 测定结果比较 研究结果显示,两种试管 NSE 在 1 h 时,NSE 测定结果间差异无统计学意义($P>0.05$),标本经过处理以及存放后,两种试管在 24 h 和 48 h 的结果,差异有统计学意义($P<0.01$)。见表 1。

表 1 两种真空采血管之间 NSE 测定结果的比较($\bar{x}\pm s$,ng/mL)

采血管类型	NSE 测定时间		
	1 h	24 h	48 h
红管	11.3±7.9	19.8±9.1	20.4±8.9
黄管	11.4±8.2	12.1±7.5	11.9±7.0
P	>0.05	<0.01	<0.01

2.2 红管和黄管 3 次 NSE 测定结果的均值差及阳性率的比较 红管 3 次 NSE 结果阳性率分别为 1 h 6.0%,24 h 58.0%,48 h 58.0%,红管 NSE 的 24 h、48 h 与 1 h 的结果的均值差和阳性率差异均有统计学意义($P<0.01$),红管 24 h 和 48 h 之间差异无统计学意义($P>0.05$);黄管 3 次 NSE 结果阳性率分别为 1 h 8.0%,24 h 10.0%,48 h 8.0%,黄管 NSE (1、24、48 h)测定结果的均值差和阳性率差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 红管和黄管 3 次 NSE 测定结果的比较

测定时间	红管		黄管	
	均值差(d)	P	均值差(d)	P
1 h				
24 h	-8.4	0.00	-0.7	0.63
48 h	-9.0	0.00	-0.5	0.72
24 h				
1 h	8.4	0.00	0.7	0.63
48 h	-0.5	0.75	0.2	0.90
48 h				
1 h	9.0	0.00	0.5	0.72
24 h	0.5	0.75	-0.2	0.90

3 讨 论

NSE 是烯醇化酶的一种同工酶。烯醇化酶同工酶根据 α 、 β 、 γ 三个辅基的不同,可分为 $\alpha\alpha$ 、 $\beta\beta$ 、 $\gamma\gamma$ 、 $\alpha\beta$ 、 $\alpha\gamma$ 5 种二聚体同工酶,其中 $\alpha\gamma$ 和 $\gamma\gamma$ 酶异构体称为 NSE 或 γ -酶,高水平存在于神经细胞、神经内分泌细胞以及这些细胞引发的肿瘤细胞中,因此,NSE 不仅是反映脑损伤程度的重要指标^[3],也是小细胞肺癌、神经母细胞瘤临床诊断敏感度和特异性较好的肿瘤标志物^[4]。

NSE 在临床应用广泛,但其检测的影响因素较多,因为血液中的红细胞和血小板也含有大量的 NSE,标本前处理过程

中,由于存放时间延长、温度改变、不同程度的震荡、多次离心等因素都可能使红细胞和血小板中的 NSE 释放入血清中,引起 NSE 测定结果升高^[5-6]。实验室 NSE 检测试剂盒说明书要求,样本采集后,应在 1 h 内离心血液样本并完成血清 NSE 测定。但实际工作中,实验室达不到该要求,因为病房血液标本大多在早上 6 时开始采集,标本被送到检验科上机测定时,至少已经超过了 3 h。而且,本院规模较大,各分院的 NSE 标本需送到总院进行集中检测,如果没赶上当天运送标本的物流车,就需要第 2 天再送检。一直以来,临床医生和患者都反映 NSE 结果偏高,引起了患者较大心理压力和额外的检查负担,因此,本实验观察了不同采血管、标本处理流程以及存放时间对 NSE 测定结果的影响,以便为临床提供更准确的 NSE 测定结果。

结果显示,红管和黄管在 1 h 时,NSE 检测结果差异无统计学意义,说明实验室如果能严格按照 NSE 试剂盒说明书要求进行操作,两种采血管均可用于临床。但本研究模仿分院标本保存、送检和处理流程后,红管的第 2 次 NSE 检测结果(24 h)和阳性率都大幅上升,与 1 h 相比,差异有统计学意义($P<0.05$);随后继续将标本于 4℃静置 24 h 后,未经任何处理直接上机进行第 3 次检测,结果发现 24 h 和 48 h 的 NSE 检测结果的均值差和阳性率差异均无统计学意义($P>0.05$),说明红色采血管 NSE 标本由于运送和接收过程中的轻微碰撞、混匀以及再次离心等处理过程,是引起 NSE 结果偏高的主要因素,而单纯 4℃静置 24 h,NSE 不会出现较大改变,推测可能是在 4℃下,细胞膜通透性的改变趋于稳定,使细胞内 NSE 游离到细胞外的趋势减少,血清 NSE 水平增高不明显^[5]。

血清分离胶是一种疏水性有机化合物,其比重介于血清和血块之间,离心后分离胶可很好地将血块和血清分离隔开^[7]。本试验中,分离胶管(黄管)的 3 次 NSE 测定结果的均值差(1、24、48 h)和阳性率均无显著性差异,说明分离胶管离心后,标本血清 NSE 的测定受保存时间、再次混匀、再次离心等标本处理过程的影响较小。闫存玲等^[8]研究了分离胶采血管制备血清对血糖、补体 C3 和 NSE 测定结果及稳定性的影响,发现分离胶管 NSE 的测定结果稳定性较好,4℃保存 72 h 后测定结果的偏差均低于 4.2%,显然使用分离胶管可以解决 NSE 测定中样本前处理因素对结果影响的难题。随着各医院规模扩大后各分院的建成,以及第三方独立实验室的成立,越来越多标本需要送到一个地方集中检测,对于当天无法送检或实验室不能及时测定的标本,建议在检测 NSE 时应规范采血,尽量使用分离胶采血管,及时分离血清,尽早送检,减少红细胞血清间相互干扰,保证 NSE 检测结果的稳定性和准确性。

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] 武春梅,李玲,徐丽萍,等. 溶血和标本保存条件对血清 NSE 检验结果的影响[J]. 国际检验医学杂志,2013,34 (19):2591-2593.

[3] 章彩娣,陈爱娟,李剑. 脑梗死患者血浆 NSE 的检测及临床意义[J]. 放射免疫学杂志,2013,26(4):513-514.

[4] 徐红萍,薛冰,徐笛. 肿瘤标志物 CEA、NSE、CYFR21-1 联合检测在肺癌诊断中的应用[J]. 实(下转第 2094 页)

Anti-Tg 一般认为对甲状腺无损伤作用,故在 HT 的各个期水平及阳性率无明显差异。由于本文的样本量较少,还需进一步探讨。

甲状腺球蛋白(TG)由甲状腺上皮细胞产生并贮存于甲状腺滤泡中,在致病因素作用下,TG 从甲状腺滤泡内溢入血液,可作为抗原产生对甲状腺自身免疫反应的抗体 Anti-Tg,具有高度特异性^[2]。Anti-Tg 是第一个被发现的甲状腺自身抗体。Anti-Tg 在自身免疫性甲状腺病(AITD)中的致病作用主要包括抗体依赖细胞倡导的细胞毒性作用(ADCC)和对 TG 的水解作用^[3]。课题组在分析后发现 Anti-Tg 在 HT 中高于 GD、SG 组及对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。这与杨杨等^[4]报道结果相似。

Anti-TPO 和 Anti-Tg 的阳性率在 HT 中最高,其次是 GD 组和 SG 组,说明 2 种抗体共同对甲状腺造成的免疫损害程度,以桥本甲状腺炎最为明显,GD 较 HT 低,而在单纯性甲状腺肿的患者中阳性率则大大降低。在临床上,HT 与 GD 的临床表现很难鉴别,从本文探讨中可以得出 Anti-TPO, Anti-Tg 在 2 种疾病中阳性率及水平均存在差异($P<0.05$),可以作为临床鉴别诊断的重要依据。

TRAb 是 AITD 患者体内产生的针对促甲状腺素受体(TSHR)的异质性多克隆抗体从功能上可分为甲状腺刺激抗体(TSAb)和甲状腺阻断抗体(TSBAb),这 2 种抗体分别作用在促甲状腺素受体(TSHR)胞外区域的不同结合位点上^[5]。国外学者 Cho 等^[6]认为,在患有甲状腺疾病的体内可能同时存在这 2 种抗体,其含量及其与 TSHR 的亲合力决定其最后的生物学效应。据文献报道,刺激性抗体主要存在于毒性弥漫性甲状腺肿伴 GD 患者血清中^[7],而抑制性抗体主要存在于甲减患者血清中^[8]。国内外学者均认为引起 GD 的主要原因是 TSAb。目前在实验室尚不能检测 TSAb 及 TsBAb 2 种抗体类型,通常采用检测 TRAb 来替代。有文献报道 GD 患者血清 TRAb 阳性率为 70%~90%^[9]。本研究探讨中 GD 患者的 TRAb 的阳性率为 91.30%,GD 组 TRAb 水平与健康对照组和 HT 组相比差异均有统计学意义($P<0.01$),与相关文献报道相一致^[10],可见 TRAb 对 GD 的诊断有较强的特异性^[11]。因此,TRAb 的测定对鉴别诊断各种类型的自身免疫性甲亢具有很高的价值。但值得关注的是,GD 患者血清中 TRAb 也可能出现阴性结果,这可能与检测 TRAb 的方法学及病人的差异相关。同时应引起警惕在 HT 患者的甲亢期 TRAb 仍有 33.33%的阳性,虽然 TRAb 浓度在 HT 患者的水平低于 GD 患者,但在鉴别诊断时仍需值得注意。

本研究结果显示, Anti-Tg、Anti-TPO 在正常组和其他甲状腺疾病组远低于 HT 的甲状腺功能亢进期、正常期、甲状腺功能减退期($P<0.05$),在 GD 组次之,在单纯性结节性甲状腺

肿及健康对照组阳性率及测定值最低($P<0.05$),提示了在诊断 HT 中 Anti-TPO、Anti-Tg 测定对其具有重要价值,对于鉴别诊断 HT 和 GD 也有一定意义,对于非 AITD,如单纯性甲状腺肿虽没有诊断意义,但 Anti-TP、Anti-Tg 也存在较低的阳性率。从本研究分析得出: Anti-TPO, Anti-Tg 阴性基本可以排除 AITD。同时从本文结果探讨中可以得出结论: Anti-TPO, Anti-Tg 对诊断 HT 更具敏感性,与其他疾病差别显著,证实 Anti-TPO 可作为 HT 等诊断和鉴别诊断的首选指标。TRAb 可以作为 GD 与 HT 的诊断依据。因而在临床上建议联合定量检测 Anti-Tg 和 Anti-TPO 作为 AITD 的筛选项目,用以作为临床作为相关甲状腺疾病的鉴别诊断的辅助指标。

参考文献

[1] 高青,简立信,许金国,等. 桥本甲状腺炎病因病机与临床治疗研究进展[J]. 中国中药杂志,2012,37(20):3003-3006.

[2] 张国富,师伟. 甲状腺自身抗体与甲状腺疾病[J]. 实用医技杂志,2010,17(11):1033-1034.

[3] 陶征,吴洁,李连喜. 自身免疫性甲状腺疾病甲状腺自身抗体的临床研究[J]. 江苏大学学报:医学版,2004,14(2):123-125.

[4] 杨杨,刘铁峰,韩波. 血清 TGAb 和 TPOAb 在桥本甲状腺炎诊断中的意义[J]. 临床和实验医学杂志,2010,9(17):1311-1312.

[5] 周亚芹,苏谢. 促甲状腺素受体抗体的检测方法[J]. 放射免疫学杂志,2009,22(1):40-43.

[6] Cho BY. Clinical application of TSH receptor antibodies in thy-roid disease[J]. J Korean Med Sci,2002,17(3):293-301.

[7] 徐琴芳;朱燕. 血清 TRAb 检测在 Graves 甲亢治疗中的意义[J]. 放射免疫学杂志,2001,14(6):328-330.

[8] 张文镇,李红,高永棣. 血清 TRAb 放免检测在甲状腺疾病诊治中的价值[J]. 同位素,2001,14(2):122-125.

[9] 杨晓岚,潘辉,范淑欢. 应用血液测定实验室诊断自身免疫性甲状腺疾病[J]. 中国预防医学杂志,2011,12(6):544-546.

[10] 厉淑红,胡成进. 血清 TGAb TPOAb 检测在甲状腺疾病中的诊断意义[J]. 中国实验诊断学,2011,15(2):347-348.

[11] 宋武战,池君,汪静. 促甲状腺素受体抗体(TRAb)测定的临床价值[J]. 放射免疫学杂志,2007,20(5):399-401.

(收稿日期:2016-03-02 修回日期:2016-05-11)

(上接第 2091 页)

用医学杂志,2010,26(16):2943-2944.

[5] 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):1193-1197.

[6] Ramont L,Thoannes H,Volondat A,et al. Effects of he-molysis and storage condition on neuron-specific enolase (NSE)in cere-brospinal fluid and serum: implications in clinical practice[J]. Clin Chem Lab Med,2005,43(11):

1215-1217.

[7] 王永安,王家民,韩宝祥,等. 血清分离胶的理论基础及应用[J]. 上海医学检验杂志,1995,10(4):234-236.

[8] 闫存玲,李志艳,燕蓉,等. 分离胶采血管制备血清对血糖、补体和 NSE 测定结果及稳定性的影响 [J]. 检验医学,2009,24(4):260-263.

(收稿日期:2016-02-15 修回日期:2016-05-21)