

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.07.012

## 成人新鲜血清补体 C3、C4 正常参考区间的建立及影响因素

朱月星,唐大海,蒋梦洁,贺嘉蕾<sup>△</sup>

(海军军医大学附属长海医院虹口院区检验科,上海 200083)

**摘要:**目的 建立西门子 BNProSpec 全自动蛋白分析仪检测成人新鲜血清补体 C3、C4 的正常参考区间,探讨不同储存时间和不同方式对检测结果的影响。方法 对 373 例体检结果正常者进行空腹采血,分离后的血清在室温放置 8 h 内测定;同时随机抽取 70 例血清标本置于室温 8 h 内及 4 °C 冰箱 24 h 和 48 h 后进行测定;另外随机抽取 40 例血清标本置于室温 8 h 内及 -30 °C 冰箱冷冻保存 3 个月后进行测定。结果 (1)室温放置 8 h 内测定新鲜血清补体 C3 的正常参考区间为 0.747~1.354 g/L,补体 C4 的正常参考区间为 0.127~0.352 g/L。(2)新鲜血清补体 C3、C4 水平在不同性别和不同年龄组比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。(3)保存于 4 °C 的血清标本,随着存放时间延长,补体 C3、C4 在 24、48 h 的检测水平明显高于室温放置 8 h 水平,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );-30 °C 冰箱冷冻保存 3 个月后的血清标本补体 C3 水平较室温放置 8 h 明显升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),但补体 C4 水平差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 每个医疗机构应结合自身实际建立实验室血清补体 C3、C4 的参考区间。

**关键词:**参考区间; 补体 C3; 补体 C4; 储存时间; 储存方式

中图分类号:R34;R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)07-0906-03

## Establishment of the reference range for fresh serum C3, C4 and its influencing factors

ZHU Yuexing, TANG Dahai, JIANG Mengjie, HE Jialei<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Naval Military Medical University, Shanghai 200083, China)

**Abstract: Objective** To establish the normal reference interval of Siemens BNProSpec automatic protein analyzer for detecting complements C3 and C4 in fresh adult serum, and to explore the influence of different storage time and methods on the detection results. **Methods** Fasting blood sampling was performed in 373 healthy subjects with normal physical examination results. The serum after isolation was measured within 8 hours at room temperature. At the same time, 70 serum samples were measured within 8 hours at room temperature and within 24 hours and 48 hours stored in 4 °C refrigerator. In addition, 40 serum samples were randomly sampled and frozen at -30 °C for 3 months. **Results** (1) The normal reference interval for the determination of fresh serum complement C3 was 0.747-1.354 g/L within 8 hours, and the normal reference interval for complement C4 was 0.127-0.352 g/L. (2) There was no significant difference in the levels of C3 and C4 in fresh serum between different sex and age groups ( $P>0.05$ ). (3) Serum samples were saved in 4 °C, with the prolongation of storage time, the detection levels of complement C3 and C4 at 24 and 48 hours were significantly higher than those at room temperature for 8 hours ( $P<0.05$ ). After 3 months of freezing storage at -30 °C, the level of complement C3 was significantly higher than that at room temperature for 8 hours ( $P<0.05$ ), and the difference was significant ( $P<0.05$ ). There was no significant difference in complement C4 ( $P>0.05$ ). **Conclusion** Each medical institution should establish reference intervals for serum C3 and C4 complements in our laboratory according to its own reality.

**Key words:** reference range; complement C3; complement C4; storage time; storage method

西门子 BNProSpec 全自动蛋白分析仪在临床上已得到广泛应用,厂商提供的血清补体 C3、C4 临床参考区间与《全国临床检验操作规程》第 4 版<sup>[1]</sup>(以下简称《操作规程》)相同。本科室引进该仪器后通过 20 例健康人血清进行验证,结果合格,符合参考区间可被转移的条件,故本实验室采用此范围。后经查阅文献,发现厂商提供的临床参考区间是采用血液收集后

放置 8 h 以上的检测结果设定<sup>[2]</sup>,但《操作规程》提出,由于补体易失活,因此补体检测在室温条件下放置不得超过 6 h,与厂家的条件不符。本科室在实际工作中标本的检测都是在当天、存放时间在 8 h 以内完成。为此,本研究按照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)C28-A2《如何确定临床检验的参考区间》的要求<sup>[3]</sup>,测定并建立本地区本实验室健康成人的参考区

间,探讨不同储存时间和不同储存方式对检测结果的影响,现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 标本来源** 选取 2017 年 3—5 月来本院体检,排除糖尿病,肿瘤,心、肝、肾、甲状腺功能异常,炎症反应及免疫系统疾病,年龄 20~75 岁的成人 373 例,并按年龄分为青年组(18~45 岁)126 例,其中男 66 例,女 60 例;中年组(>45~60 岁)124 例,其中男 63 例,女 61 例;老年组(>60 岁)123 例,其中男 60 例,女 63 例。采用真空采血技术采集空腹静脉血。

**1.2 仪器与试剂** 仪器为西门子 BNProSpec 全自动蛋白分析仪,试剂为原厂配套试剂(免疫散射比浊法)。按要求定期进行定标,室内、室间质量控制均在控,仪器状态良好。

**1.3 方法** 依据仪器和试剂盒说明书要求设置参数,3 000 r/min 离心 5 min 后,吸取上层血清置于标本杯中,按照标准操作常规进行检测。随机抽取 70 例血清标本置于室温 8 h 内及 4 °C 冰箱分别于 24、48 h 检测。随机抽取 40 例血清标本置于室温 8 h 内及 -30 °C 冰箱冷冻保存 3 个月后检测。

### 1.4 数据处理

**1.4.1 离群值处理** 离群值的剔除采用 NCCLS 推荐的狄克逊检验法进行,方法为:定义 R 为极差(当前所有值中最大值和最小值之差),D 为可疑值与下一个值之间差值的绝对值。如果  $D/R > 1/3$ ,该值则作为离群值被剔除<sup>[4]</sup>。

**1.4.2 统计学处理** 采用 SPSS 21.0 统计软件对数据进行分析。Q-Q 图分析数据均呈正态分布,标本均数与总体均数比较采用单样本 *t* 检验,两独立样本比较采用两独立样本 *t* 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。多个独立样本均数比较采用方差分析。参考区间计算采用百分位数法,2.5%~97.5% 表示参考区间。

## 2 结果

**2.1** 373 例被检者新鲜血清标本补体 C3、C4 的参考区间(2.5%~97.5%) 经 SPSS21.0 统计软件分析,补体 C3、C4 检测结果呈正态分布,其中补体 C3 2.5%~97.5% 百分位数检测参考区间为 0.747~1.354 g/L;补体 C4 为 0.127~0.352 g/L。

**2.2** 20 例参考个体与本实验室建立的参考区间比较 见表 1。用 20 例满足排除和分组标准的个体室温放置 8 h 内的血清标本补体 C3、C4 检测结果与本实验室建立的整体人群参考区间进行比较,差异均无统计学意义( $P=0.741,0.635$ )。

**2.3 不同保存时间血清补体 C3、C4 检测结果比较** 见表 2。70 例被检者血清标本置于室温 8 h 内及 4 °C 冰箱 24、48 h 检测结果采用两独立样本 *t* 检验,其补体 C3 水平随存放时间延长而明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );补体 C4 水平 4 °C 冰箱存放 24 h 与室温放置 8 h 比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),

4 °C 冰箱存放 48 h 与 24 h 比较明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 1 20 例参考个体与本实验室建立的参考区间比较( $\bar{x} \pm s, g/L$ )

检测项目	对象	<i>n</i>	室温 8 h
补体 C3	整体人群	373	0.970 ± 0.155
	参考个体	20	0.963 ± 0.146
补体 C4	整体人群	373	0.213 ± 0.062
	参考个体	20	0.220 ± 0.043

表 2 不同保存时间血清补体 C3、C4 检测结果比较( $\bar{x} \pm s, g/L$ )

检测项目	<i>n</i>	室温 8 h	4 °C 冰箱 24 h	4 °C 冰箱 48 h
补体 C3	70	0.998 ± 0.182	1.070 ± 0.205*	1.196 ± 0.205#
补体 C4	70	0.215 ± 0.047	0.228 ± 0.050	0.252 ± 0.054*

注:与同项目 8 h 比较,\*  $P < 0.05$ ,#  $P < 0.01$

**2.4 不同保存方式血清补体 C3、C4 检测结果比较** 见表 3。40 例被检者血清标本 -30 °C 冰箱冷冻保存 3 个月后测定结果与室温放置 8 h 内比较,冷冻保存的血清标本补体 C3 水平明显升高,差异有统计学意义( $P=0.000$ ),但补体 C4 差异无统计学意义( $P=0.166$ )。

表 3 不同保存方式血清补体 C3、C4 检测结果比较( $\bar{x} \pm s, g/L$ )

检测项目	<i>n</i>	室温 8 h	-30 °C 冷冻 3 个月
补体 C3	40	0.962 ± 0.177	1.178 ± 0.211
补体 C4	40	0.192 ± 0.050	0.215 ± 0.063

**2.5 不同性别被检者新鲜血清补体 C3、C4 检测结果比较** 见表 4。新鲜血清补体 C3、C4 水平在不同性别间比较,差异无统计学意义( $P=0.636,0.293$ )。

表 4 不同性别被检者新鲜血清 C3、C4 补体检测结果比较( $\bar{x} \pm s, g/L$ )

检测项目	性别	<i>n</i>	室温 8 h
补体 C3	男	189	0.970 ± 0.154
	女	184	0.980 ± 0.142
补体 C4	男	189	0.213 ± 0.061
	女	184	0.223 ± 0.066

**2.6 不同年龄组被检者新鲜血清补体 C3、C4 检测结果比较** 见表 5。各年龄组间测定结果数据呈正态分布,方差分析结果显示,不同年龄组之间血清补体 C3、C4 检测结果差异均无统计学意义( $P=0.083,0.235$ )。

表 5 不同年龄组被检者新鲜血清补体 C3、C4 检测结果比较( $\bar{x} \pm s, g/L$ )

检测项目	分组	<i>n</i>	室温 8 h
补体 C3	青年组	126	0.969 ± 0.145
	中年组	124	0.972 ± 0.142
	老年组	123	0.952 ± 0.149
补体 C4	青年组	126	0.223 ± 0.056
	中年组	124	0.203 ± 0.059
	老年组	123	0.209 ± 0.045

### 3 讨 论

补体是机体的重要防御因子,补体有其独特的理化性质,补体及补体系统广泛参与机体的抗感染防御反应及免疫调节,介导免疫损伤,在体内具有重要生物学功能<sup>[5]</sup>。补体水平检测对于一些炎症反应、肿瘤、免疫性疾病和组织损伤性疾病的诊疗有重要参考价值,目前多以检测补体 C3、C4 为代表。

在 30 多种补体成分中,C3、C4、C1q、B 因子和 C1 酯酶抑制物等 5 种成分常被作为单个补体成分的检测指标。测定方法常分为免疫溶血法和免疫化学法,前者用来检测单个补体成分活性,后者可测定其水平。免疫化学法分为单向免疫扩散、火箭免疫电泳、透射比浊法和散射比浊法,前两种方法手工操作繁琐,消耗时间长,影响因素多,结果重复性差,已逐渐被淘汰;后两种方法可通过仪器对补体单个成分进行自动化定量测定。本实验室使用的仪器为西门子 BNProSpec 全自动蛋白分析仪,试剂为原厂配套试剂(免疫散射比浊法)。

大部分实验室均直接引用试剂厂商推荐的生物参考区间,但由于人群、地域、生活习惯、疾病流行病学表现等多方面的差异,直接引用试剂厂商推荐的生物参考区间可能不适合本地区人群。因此,建立各个实验室的生物参考区间非常有必要。本研究结果显示,随着标本存放时间延长,补体 C3、C4 检测水平明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),与使用相同方法学的文献<sup>[5]</sup>报道结果一致。原因可能是 C3 转化为无活性片段的 C3c、C3dg 后,C3c、C3dg 可在免疫化学分析中与抗体起交叉反应。因此,测定 C3c 应采用离心沉淀后绝不含任何颗粒或残存纤维的血清。西门子采用高纯度的人补体因子 C3c 免疫免制成单克隆抗血清,在特定蛋白 BN 系统上通过免疫散射比浊法对人血清中的补体因子 C3c 进行定量测定,抗血清作用于 C3 分子的 C3c 片段。而 C3 分裂成 C3c 片段的程度会随着标本存放时间和储存条件而不同。对于新鲜标本,在免疫散射比浊法检测中获得的补体 C3 水平,要比存放时间更长的标本低。

本研究结果显示,在进行参考区间验证时,20 例健康人血清补体 C3、C4 检测结果均有 2 例落在 95% 区间以外,其结果符合验证要求,故接受厂家和《操作规程》<sup>[1]</sup> 建议的参考区间。在实际工作中发现,本实验室的补体 C3 检测水平降低的标本数占 35%,补体 C4 检测水平降低的标本数占 20%,所以,建立本实验室的参考区间很有必要。本研究通过 373 例健康人群建立了本实验室的补体 C3、C4 参考区间,经与厂商和《操作规程》<sup>[1]</sup> 建议的参考区间进行比较,发现二者有差异。本实验室建立的参考区间的高低值均与厂商建议的参考区间高低值比较偏低,不完全相同。所

以,虽然参考区间是通过验证的,但是结合工作实际,还是有必要建立实验室自己的参考区间。

本研究结果发现,在 4 °C 冰箱放置的血液标本,24 h 的补体 C3 检测结果比室温放置 8 h 的检测结果显示升高,且差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),与《操作规程》<sup>[1]</sup> 不符。4 °C 冰箱存放 24 h 的补体 C4 检测结果与室温放置 8 h 的检测结果显示差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),与《操作规程》<sup>[1]</sup> 相符。-30 °C 冰箱冷冻保存 3 个月后补体 C3 水平明显升高,与室温放置 8 h 检测结果差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而补体 C4 无明显变化,说明冷冻储存条件对补体 C3 检测结果也是有影响的。新鲜血清补体 C3、C4 水平在男、女之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),与使用相同方法学的文献<sup>[5]</sup>报道不太一致,原因可能与地区差异有关。新鲜血清中补体 C3、C4 检测结果与年龄无关( $P > 0.05$ ),本研究中青年组、中年组、老年组补体 C3、C4 检测结果差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),与文献<sup>[6-7]</sup> 研究结果相一致。

本研究结果提示,实验室应保持相对固定的检测时间,尤其是补体 C3、C4 及血清神经元特异性烯醇化酶等随着保存时间和储存方法不同会对结果产生影响的项目。

总之,补体 C3、C4 的测定受血清标本多种因素的影响,应引起检验人员和临床医生的高度重视。

### 参考文献

- [1] 尚红,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].4版.北京:人民卫生出版社,2014:428.
- [2] CCRIATTI F, HIMZMANM R, PANTCGHIMI M. Reference intervals; the way forward[J]. Ann Clin Biochem, 2009,4(1):8-17.
- [3] 吕慧.健康成人新鲜血清补体 C3、C4 参考范围的调查[J].临床医药文献杂志,2017,4(7):1210.
- [4] AITKENHEAD H, HEALES S J. Establishment of paediatric age-related reference intervals for serum prolactin to aid in the diagnosis of neurometabolic condition affecting dopamine metabolism [J]. Ann Clin Biochem, 2013, 50(2):156-158.
- [5] 闫存玲,李志艳,燕蓉,等.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[J].检验医学,2009,4(4):260-263.
- [6] 徐文莉,廖长征,张洪德,等.健康成人新鲜血清补体 C3、C4 参考区间的建立[J].现代医学,2015,43(8):1030-1033.
- [7] 李伟,陈益平,汪洪娇.血清补体 C3、C4 水平与儿童慢性乙肝的临床关系[J].温州医学院学报,2002,44(5):317-318.