

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.21.025

56 °C 30 min 灭活标本后对肿瘤标志物和激素相关指标检验结果及存储稳定性的影响

毕冬明¹, 张 欣¹, 杨 雪^{2△}, 许安春²

成都中医药大学附属医院:1. 核医学科;2. 检验科, 四川成都 610000

摘要:目的 探讨疑似新型冠状病毒或普通检验标本在 56 °C 30 min 灭活前后, 肿瘤标志物和激素相关指标检验结果的变化及灭活标本的稳定性。方法 比较 30 例标本灭活前后肿瘤标志物和激素相关指标检验结果的变化, 比较灭活后标本在保存期内稳定性的变化, 并比较神经元特异性烯醇化酶(NSE)、胰岛素(INS)、细胞角蛋白 19 片段(CYFRA-211)在非溶血状态下灭活前后的变化水平。结果 NSE、INS、CYFRA-211 灭活前后检验结果差异有统计学意义($P < 0.05$); 灭活后所有项目稳定性回收率均在 90%~110%, 符合要求。在非溶血状态下, NSE、INS 灭活前后检验结果差异无统计学意义($P > 0.05$), CYFRA-211 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 在 56 °C 30 min 条件下灭活新型冠状病毒或普通血清标本后, 检验激素相关指标及肿瘤标志物仅 NSE、INS、CYFRA-211 出现明显变化。NSE、INS 是由于溶血导致结果显著改变, 对 CYFRA-211 灭活前后结果显著差异的原因有待进一步研究。

关键词:新型冠状病毒; 灭活; 肿瘤标志物; 激素

中图法分类号:R730.4

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)21-3165-04

Effect of inactivation of samples at 56 °C for 30 min on test results of tumor markers and hormone related indexes and its storage stability

BI Dongming¹, ZHANG Xin¹, YANG Xue^{2△}, XU Anchun²

1. Department of Nuclear Medicine; 2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, Sichuan 610000, China)

Abstract: Objective To explore the changes in the detection results of tumor markers and hormones related indexes and the stability of the inactivated samples before and after inactivation of suspected SARS-CoV-2 or ordinary test samples at 56 °C for 30 min. **Methods** For 30 samples, the changes of tumor markers and hormone related indexes results before and after inactivation were compared, and the changes of stability during the storage period after inactivation were compared, the changes of neuron specific enolase (NSE), insulin (INS) and CYFRA-211 before and after inactivation were compared in non hemolytic state. **Results** The results of NSE, INS and CYFRA-211 were significantly different before and after inactivation ($P < 0.05$); the stability recovery rates of all items after inactivation were 90%~110%, which met the requirements. In non hemolytic state, there was no significant difference between NSE and INS inactivation ($P > 0.05$), but there was significant difference in CYFRA-211 ($P < 0.05$). **Conclusion** After inactivating the SARS-CoV-2 or ordinary serum specimens at 56 °C for 30 minutes, only NSE, INS, and CYFRA-211 showed significant changes in hormone related indexes and tumor markers. NSE and INS were caused by hemolysis to cause significant changes. The reasons for the significant difference in the results before and after CYFRA-211 inactivation need to be further studied.

Key words:SARS-CoV-2; inactivation; tumor markers; hormones

新型冠状病毒(SARS-CoV-2)为冠状病毒 β 属中的新成员, 病毒传染性强, 其导致的新型冠状病毒肺炎(COVID-19)已纳入《中华人民共和国传染病防治法》规定的乙类传染病, 并按甲类传染病管理。在《新型冠状病毒肺炎诊疗方案》(试行第七版)^[1]中明确指出:“在相对封闭的环境中长时间暴露于高浓度气溶

胶情况下存在经气溶胶传播的可能”, 在多人同时工作的大空间式实验室中, 离心后开盖产生的气溶胶扩散范围更广, 这有可能是导致实验室检验工作者暴露并感染的潜在原因之一。如何做好实验室生物安全防护是值得探讨的问题, 诊疗方案中提出“基于对冠状病毒理化特性的认识研究, 病毒对紫外线和热敏

感,56 ℃ 30 min 可有效灭活病毒”,但灭活后标本的检测结果是否受影响,一直是检验工作者关注的重点^[2-3],此前已有 56 ℃ 30 min 对 SARS-CoV-2 核酸检测等临床指标灭活后检测结果是否有影响的相关研究^[4]。本研究关注的是一部分特定人群,如糖尿病、高血压、癌症、妊娠期孕妇等人群,这类人群本身机体免疫力低下,感染风险、重症及死亡可能性均高于普通人群,一旦感染,更容易引发急性呼吸窘迫综合征、多器官功能衰竭等危重症,危及生命。针对此类人群,实验室相关指标不但包括普通患者诊疗所需常规项目,还包括自身疾病或普通患者需求的其他特殊项目,如肿瘤标志物、激素等检测项目。本研究一方面研究肿瘤标志物、激素相关指标检验标本经过 56 ℃ 30 min 灭活后结果的变化并且探讨产生变化的原因,另一方面研究标本稳定性是否因灭活而发生变化,进而影响实验室复核工作。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 2 月 21 日本院普通住院患者 30 例送检血清(促凝剂)标本,无脂血、溶血,覆盖高、中、低浓度。30 例患者中,糖尿病患者 10 例,肿瘤标志物患者 10 例,妊娠期孕妇 10 例。验证项目为(1)甲状腺激素:甲状腺素(T4)、三碘甲状腺原氨酸(T3)、促甲状腺激素(TSH)、游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)、游离甲状腺素(FT4)、血清抗甲状腺过氧化物酶(A-TPO),促甲状腺素受体抗体(Anti-TRaB)、甲状腺球蛋白(TG)、甲状腺降钙素(HCT);(2)性激素:催乳素(PRL)、卵泡刺激素(FSH)、促黄体生成素(LH)、雌二醇(E2)、黄体酮(P)、睾丸素(T)、β-人绒毛膜促性腺激素(β-HCG);(3)肿瘤标志物:甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、铁蛋白(Fer)、血清糖类抗原(CA)125、CA199、CA153、CA724、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、细胞角蛋白 19 片段(CYFRA-211)、前列腺特异抗原(PSA)、游离前列腺特异抗原(fPSA)、胃泌素释放肽前体(ProGRP)、人附睾蛋白 4(HE4);(4)胰岛素功能:胰岛素(INS)、C 肽(C-P)。并检测在非溶血状态下灭活前后 NSE、INS、CYFRA-211 的水平。

1.2 仪器 罗氏 COBAS e601 电化学发光仪。

1.3 标本处理 灭活前后项目结果验证:标本放入事先设定好的 56 ℃ 干浴箱内,放置 30 min 灭活后检验所有项目。测定完后,保存至 2~8 ℃ 冰箱,在稳定期的最后时限内,复查所有项目,验证灭活标本的稳定性。NSE、INS、CYFRA-211 非溶血状态下灭活前后验证:先分离血清进行检验,检测后放置在 56 ℃ 30 min 干浴箱中灭活,再次检验,比较灭活前后 3 个指标的水平变化。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计学软件进行

数据分析。检验结果计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用配对 t 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。回收率(%)=(灭活标本保存后/灭活标本)×100%。依据 ISO15189 指南及新版文件《2012 医学实验室质量和能力认可准则:CNAS-CL02》^[5]《医学实验室质量和能力认可准则在临床化学检验领域的应用说明:CNAS-CL38》^[6],回收率在 90%~110% 表示在控。

2 结 果

2.1 灭活前后结果比较 灭活前 INS、CYFRA-211 水平低于灭活后,灭活前 NSE 水平高于灭活后,差异有统计学意义($P < 0.05$),其他所有项目差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 灭活后标本检验结果回收率 灭活后的所有项目回收率在 90%~110%,所有灭活标本在存储条件不变的情况下稳定性无差异。见表 2。

2.3 NSE、INS、CYFRA-211 在非溶血状态下灭活前后结果比较 在非溶血状态下,灭活前后 NSE、INS 水平变化,差异无统计学意义($P > 0.05$),CYFRA-211 水平差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 1 灭活前与灭活后检验指标比较($\bar{x} \pm s, n=30$)

指标	灭活前	灭活后	t	P
甲状腺激素				
TSH(μIU/mL)	4.44±1.97	4.32±1.90	11.612	0.109
T4(nmol/L)	94.76±22.65	93.21±21.32	10.833	0.078
T3(nmol/L)	1.40±0.37	1.38±0.35	21.002	0.116
FT4(pmole/L)	21.61±6.64	20.39±6.69	-5.321	0.083
FT3(pmole/L)	9.96±2.36	9.82±2.21	0.388	0.092
TG(ng/mL)	82.61±17.6	83.33±16.33	10.234	0.113
Anti-TRaB(IU/L)	0.96±0.21	0.99±0.19	7.723	0.078
A-TPO(IU/mL)	61.96±11.60	59.33±10.73	-10.713	0.096
HCT(pg/mL)	1.62±0.15	1.59±0.14	0.112	0.121
性激素				
PRL(μIU/mL)	369.69±72.60	362.33±70.30	-13.136	0.079
FSH(mIU/mL)	8.92±1.02	9.01±0.98	2.194	0.114
LH(mIU/mL)	13.36±3.07	13.02±2.92	1.336	0.081
E2(pg/mL)	96.86±14.90	94.09±13.80	22.173	0.093
P(ng/mL)	5.23±2.68	5.03±2.09	10.321	0.072
T(ng/dL)	40.97±12.14	41.33±11.78	6.819	0.104
β-HCG(mIU/mL)	779.21±332.60	786.36±321.60	23.069	0.072
肿瘤标志物				
AFP(ng/mL)	40.01±12.72	38.01±11.32	6.746	0.136
CEA(ng/mL)	110.90±21.93	111.30±20.32	10.326	0.131
Fer(ng/mL)	451.23±187.32	433.60±179.74	4.319	0.072
CA125(U/mL)	329.26±126.32	318.22±122.75	6.397	0.106
CA199(U/mL)	47.21±9.32	45.11±8.11	2.936	0.083
CA153(U/mL)	37.47±7.78	37.01±6.61	1.354	0.196

续表 1 灭活前与灭活后检验指标比较($\bar{x} \pm s, n=30$)

指标	灭活前	灭活后	t	P
CA724(U/mL)	17.79±5.21	17.61±5.01	-2.369	0.081
NSE(ng/mL)	74.19±15.45	92.33±10.31	3.792	0.009
CYFRA-211(ng/mL)	2.29±0.69	0.88±0.12	0.264	0.001
PSA(ng/mL)	1.16±0.34	1.12±0.33	0.736	0.112
fPSA(ng/mL)	0.32±0.16	0.30±0.15	0.931	0.092
ProGRP(pg/mL)	55.66±15.94	56.33±15.99	5.637	0.103
HE4(pmol/L)	229.45±24.39	231.11±22.60	19.364	0.125
胰岛素功能				
INS(mIU/L)	121.21±56.32	103.6±42.21	9.612	0.005
C-P(nmol/L)	1.92±0.77	1.82±0.68	1.362	0.083

表 2 检验项目的保存时效及灭活后检验结果回收率

项目	保存时效(d)	回收率(%)	项目	保存时效(d)	回收率(%)
甲状腺激素			肿瘤标志物		
TSH	7	93	AFP	7	97
T4	7	105	CEA	7	97
T3	7	101	Fer	7	98
FT4	7	103	CA125	5	98
FT3	7	103	CA199	30	95
TG	3	97	CA153	5	97
Anti-T Rab	3	102	CA724	30	98
A-TPO	3	107	NSE	1	95
性激素			CYFRA-211	28	99
HCT	1	93	PSA	5	97
PRL	14	97	fPSA	5	98
FSH	14	95	ProGRP	3	93
LH	14	95	HE4	2	97
E2	2	107	胰岛素功能		
P	5	93	INS	1	95
T	7	104	C-P	1	95
β -HCG	3	95			

表 3 NSE、INS、CYFRA-211 在非溶血状态下灭活前后结果比较($\bar{x} \pm s, n=30$)

指标	灭活前	灭活后	t	P
NSE	86.19±12.45	85.22±12.07	5.936	0.102
INS	103.93±33.72	104.39±32.77	16.013	0.924
CYFRA-211	3.18±1.02	0.77±0.29	1.792	0.031

3 讨 论

糖尿病患者发生 COVID-19 的风险更高,病情更为严重,一篇关于 41 例 COVID-19 感染者的研究发现,32% 的感染者合并其他疾病,位居前 3 位的分别

为糖尿病(20%)、高血压(15%)、心血管疾病(15%)^[7]。2020 年 2 月 7 日,JAMA 上发表的 138 例 COVID-19 肺炎患者的回顾性研究显示,64 例(46.4%)有 1 种或以上的基础性疾病,其中 14 例(10.1%)合并糖尿病^[8]。而妊娠期孕妇由于妊娠引起心肺负荷增加,感染后病情可能会更加危重,导致严重的不良妊娠结局,甚至引起孕妇及围生儿死亡^[9]。医院是人流的集散地,也是感染的重灾区,但大多数肿瘤患者又常需到医院进行常规化疗或随诊复查,加之肿瘤患者机体免疫力低下,成为 COVID-19 的最易感人群。在 COVID-19 疫情下,检验项目更要保证结果不受影响及标本稳定性良好,确保复核标本不受干扰。

本研究使用的检验方法为免疫学中的电化学发光法,为抗原抗体结合反应,针对有糖尿病、高血压等基础疾病、孕妇及肿瘤等疑似 COVID-19 患者主要检验肿瘤标志物和激素等临床指标。诊疗指南推荐灭活方式为 56 °C 30 min,在此状态下,可能使蛋白质发生变性,使抗原抗体结合出现异常。经过本研究验证,只有 NSE、CYFRA-211、INS 水平在灭活前后出现变化,其他检验指标灭活前后水平及稳定性均无变化,证明灭活对抗原抗体结合位点、蛋白质活性或免疫原性没有影响。

NSE 和 INS 这两项指标检验结果受影响因素较多,影响最大的就是溶血^[10-12]。在高温灭活的过程中,红细胞发生膨胀,变形性降低^[13],导致红细胞膜破坏。本研究结果显示,NSE 和 INS 水平在非溶血状态下灭活前后无变化,但 CYFRA-211 水平出现了较大变化。由此推断,NSE 水平升高是由于红细胞破裂导致细胞内 NSE 释放入血升高,INS 降低也是由于红细胞破裂释放胰岛素降解酶(IDE)^[14],IDE 会高效、特异地降解胰岛素。而 CYFRA-211 是细胞角蛋白的 19 片段,是一种可溶性酸性多肽,相对分子质量约为 40 000,推测由于高温变性导致蛋白或蛋白结合位点变性,使结果有显著差异,此推断有待进一步研究。

检验工作者在接收检验肿瘤及激素标本后可针对性处理,严格按照实验生物安全操作指南进行检验,在对灭活前后检测结果无显著差异的项目标本进行 56 °C 30 min 灭活;有影响的项目,有条件的实验室应在生物安全柜里进行无害化处理后,才能进行检验,没有条件的应提前告知临床结果可能受影响。尽量降低检验人员职业暴露和感染风险,防止实验室污染,为临床提供准确的检验结果,更高效地服务于临床 COVID-19 防治救治工作。

参考文献

- [1] 国家卫生健康委.新型冠状病毒肺炎诊(下转第 3172 页)

- 与化疗杂志,2019,19(2):212-217.
- [2] 郑辉,夏大静.1 106 例血培养与血浆降钙素原结果分析[J].中华急诊医学杂志,2016,25(10):1304-1306.
- [3] 杨小平,许小敏,陈琳,等.血流感染患者病原菌特点与死亡相关因素分析[J].中华医院感染学杂志,2018,28(8):1154-1157.
- [4] LI Z,RICKARD C M. Non-culture based diagnostics for intravascular catheter related bloodstream infections [J]. Expert Rev Mol Diagn Actions,2017,17(2):181-188.
- [5] PHUA J,NGERNG W,SEE K,et al. Characteristics and outcomes of culture-negative versus culture-positive severe sepsis[J]. Crit Care,2013,17(5):R202.
- [6] 凌利芬,陆学东.血流感染的实验室诊断研究进展[J].中华医院感染学杂志,2018,28(14):2234.
- [7] 刘兆玮,马科,胡景玉,等.重症监护病房血流感染的危险因素及预后分析[J].中国感染与化疗杂志,2019,19(1):12-17.
- [8] MARTELIUS T,JALAVA J,KARKI T,et al. Nosocomial bloodstream infections caused by Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae resistant to third-generation cephalosporins,Finland,1999—2013:trends,patient characteristics and mortality[J]. Infect Dis (lond),2016,48(3):229-234.
- [9] QUAN J,LI X,CHEN Y,et al. Prevalence of mcr-1 in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae recovered from bloodstream infections in China:a multicentre longitudinal study[J]. Lancet Infect Dis,2017,17(4):400-410.
- [10] 宋茜,张霞,高梅兰,等.医院血培养常见病原菌的耐药性分析[J].中华医院感染学杂志,2017,27(8):1729-1731.
- [11] 王素梅,张健东,王宇凡,等.2015—2017年血培养病原菌分布与耐药性研究[J].中国实验诊断学,2018,22(12):2099-2103.
- [12] 陈森,江唯波,韩贤达,等.2014—2017年医院血流感染病原菌分布及耐药性变迁[J].中华医院感染学杂志,2018,28(23):3532-3535.
- [13] 李寅环,刘小燕,林晓晖,等.2015年医院临床常见细菌耐药性监测分析[J].中华医院感染学杂志,2016,26(21):4909-4912.
- [14] 杨小平,许小敏,陈琳,等.血流感染患者病原菌特点与死亡相关因素分析[J].中华医院感染学杂志,2018,28(8):1154-1157.
- [15] 张晓琳,焦红梅,刘新民.老年患者血流感染预后的相关因素[J].中国老年学杂志,2015,35(23):6878-6882.
- [16] 刘文静,徐英春,杨启文,等.2018年北京协和医院细菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2019,19(6):639-646.
- [17] 李艳明,晏群,邹明祥,等.2018年中南大学湘雅医院细菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2019,19(6):647-652.
- [18] 中华医学会呼吸病学分会感染学组.铜绿假单胞菌下呼吸道感染诊治专家共识[J].中华结核和呼吸杂志,2014,37(1):9-15.

(收稿日期:2020-03-09 修回日期:2020-06-28)

(上接第 3167 页)

- 疗方案(试行第七版)[EB/OL].(2020-03-04)[2020-06-09].http://www.cac.gov.cn/2020-03/04/c_1584872634644633.htm.
- [2] 张耀辉,刘志锋,韦厚瑜.两种血清加热灭活法对 HIV 抗体和生化检测结果影响对比[J].右江民族医学院学报,2009,31(5):772-773.
- [3] 李晓东,廖昊,刘妍,等.60 ℃加热 1 小时灭活病毒方法对常规临床检测指标的影响研究[J].传染病信息,2016,29(3):160-163.
- [4] 钟慧钰,赵珍珍,宋兴勃,等.新型冠状病毒核酸临床检测要点及经验[J].国际检验医学杂志,2020,41(5):523-526.
- [5] 中国合格评定国家认可委员会.2012 医学实验室质量和能力认可准则:CNAS-CL02[S].北京:中国合格评定国家认可委员会,2013.
- [6] 中国合格评定国家认可委员会.医学实验室质量和能力认可准则在临床化学检验领域的应用说明:CNAS-CL38[S].北京:中国合格评定国家认可委员会,2012.
- [7] CHAOLIN H,YEMING W,XINGWANG L.Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan,China[J]. Lancet,2020,395(10223):497-506.
- [8] DAEWEI W,BO H,HU C,et al.Clinical characteristics of

- 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan,China[J]. JAMA,2020,323(11):1061-1069.
- [9] 吕斌,陈锰,刘兴会.新型冠状病毒感染疫情下的妊娠管理策略[J].实用妇产科杂志,2020,36(2):1-6.
- [10] 陈博,李自生,秦文燕,等.不同温度条件下不同采血管对神经元特异性烯醇化酶检测结果的影响[J].中国社区医师,2018,34(16):104-105.
- [11] 王强,卢小嵒,汪光蓉,等.新生儿血液标本溶血对血清 NSE 检测结果的影响及其校正公式的建立[J].检验医学,2019,34(1):42-46.
- [12] 李勇,张妍,罗微,等.标本溶血对化学发光免疫分析法测定胰岛素、叶酸及铁蛋白结果的影响[J].检验医学与临床,2019,16(11):1480-1482.
- [13] 余群,王丽平,翁锡全.高温高湿环境下耐力运动对红细胞溶血影响的研究现状及展望[J].现代预防医学,2015,42(13):2334-2337.
- [14] 薛金娥,汪长银,罗文静,等.血浆标本的保存温度与保存时间对胰岛素浓度的影响[J].中华全科医学,2014,12(3):353-355.

(收稿日期:2020-03-21 修回日期:2020-07-01)