

# 不同采血管在不同存放条件下对循环酶法同型半胱氨酸测定结果的影响\*

李 慧, 白利芬, 惠玉芬, 叶文瑞, 雷光星, 王兴宁<sup>△</sup>(延安大学附属医院检验科, 陕西延安 716000)

**【摘要】** 目的 探讨不同的血样采集管, 不同存放时间及不同存放温度对同型半胱氨酸(Hcy)测定结果的影响。方法 选取 32 例健康体检者, 分别用普通真空采血管、促凝真空采血管、肝素锂抗凝真空采血管、EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝真空采血管各抽取两管静脉血, 将同一受检者的相同采血管分别分入室温组和冷藏组, 编号并于室温放置 0.5 h 离心, 离心后立即将冷藏组置于冰箱, 并检测室温组 Hcy 浓度; 同时立刻吸取每例受检者普通真空采血管及肝素锂抗凝真空采血管血清及血浆 200 μL 于 1 mL EP 管并置于 2~8 °C 冰箱冷藏保存, 为分离组。在离心后 3、6、9 h 测定室温组及冷藏组 Hcy 浓度, 测定完成后选取冷藏组普通真空采血管及肝素锂抗凝真空采血管继续在冰箱中放置为未分离组, 并在 24、48 h 测定分离组与未分离组 Hcy 浓度。结果 4 种采血管标本的 Hcy 即刻值血清标本高于血浆标本( $P < 0.05$ )。同组相同采血管放置 3、6、9 h 与各自即刻值比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。在相同测定时间比较同种采血管室温组与冷藏组的 Hcy 浓度结果, 9 h 测定值比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。不及时分离血细胞层, 普通真空采血管血清和肝素锂抗凝真空采血管血浆中 Hcy 浓度在 2~8 °C 下, 48 h 结果与即刻值比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 不同的血样采集管, 不同存放时间及不同存放温度都会影响循环酶法 Hcy 的测定结果。

**【关键词】** 同型半胱氨酸; 稳定性; 采血管; 循环酶法

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.22.002 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)22-3294-03

**Influence of different blood collection tubes and different storage conditions on results of homocysteine detection by enzymatic cycle method\*** LI Hui, BAI Li-fen, HUI Yu-fen, YE Wen-ru, LEI Guang-xing, WANG Xing-ning<sup>△</sup> (Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an, Shaanxi 716000, China)

**【Abstract】** **Objective** To study the influence of different blood sample collection tubes, different storage time and different storage temperatures on the results of homocysteine(Hcy) detection by enzymatic cycle assay. **Methods** The venous blood sample was collected from 32 individuals undergoing the healthy physical examination. The general vacuum blood collection tubes, procoagulant vacuum blood collection tubes, lithium heparin anticoagulation vacuum blood collection tubes and EDTA-K<sub>2</sub> anticoagulation vacuum blood collection tubes were respectively adopted to collect 2 tubes of venous blood for each kind of tube. The same blood tubes from the same person were divided into the room temperature group and the cold storage group respectively, centrifuged after giving serial number and storing for 0.5 h at the room temperature, Hcy in the room temperature group was detected at once, while the cold storage group was stored in the fridge; meanwhile 200 μL of serum and plasma were extracted from the general tube and lithium heparin anticoagulation tube and placed into 1 mL EP tube for storage in fridge at 2-8 °C (separation group). The Hcy levels in the room temperature group and the cold storage group were detected at 3, 6, 9 h after centrifugation. After detection, the general tube and lithium heparin anticoagulation tube in the cold storage group were continuously placed in fridge (non-separation group). The Hcy levels in the separation group and the non-separation group were detected at 24, 48 h. **Results** The serum Hcy instant values of 4 kinds of blood collection tube for serum specimen were significantly higher than those for plasma specimen ( $P < 0.05$ ). The Hcy levels had no statistically significant differences between the placing for 3, 6, 9 h by the same collection tube in the same group and the instant values ( $P > 0.05$ ). In the comparison of the Hcy detection results of the same blood collection tube at the same detection time between the room temperature group and the cold storage group, the detection value at 9 h had statistical difference ( $P < 0.05$ ). The Hcy levels at 48 h under 2-8 °C in the general tube serum and lithium heparin anticoagulation tube plasma without timely separating blood cell layers had statistical difference compared with the results detected at 48 h ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Different blood collection tubes, different storage time and different storage temperatures will affect the detection results of Hcy by enzymatic cycle assay.

**【Key words】** homocysteine; stability; blood collection tubes; enzymatic cycle assay

同型半胱氨酸(Hcy), 又称高半胱氨酸。近年来发现, 体内 Hcy 与心血管疾病、糖尿病<sup>[1]</sup>、老年痴呆和认知障碍、妊娠

\* 基金项目: 国家高新技术研究发展计划(863 计划)子课题(2011AA02A111)。

作者简介: 李慧, 女, 主管检验师, 本科, 主要从事临床生物化学检验研究。△ 通讯作者, E-mail: ydfwxn@163.com。

并发症等有联系<sup>[2-4]</sup>。所以准确测定 Hcy 的浓度有重要的临床意义。但目前国内外都没有规定使用哪种血样采集管能对 Hcy 准确测定,而且对于标本的存放条件也没有明确的规定。本试验针对不同血样采集管、不同存放条件对循环酶法 Hcy 测定结果的影响进行研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 1 月 7 日延安大学附属医院 32 例健康体检者作为标本来源,其中男 15 例,女 17 例,清晨空腹采血。

1.2 仪器与试剂 Hcy 检测采用循环酶法,使用美国 Beckman DXC800 全自动生化分析仪检测,检测试剂、校准品和质控品均由北京九强生物技术有限公司提供。普通真空采血管、促凝真空采血管、肝素锂抗凝真空采血管、乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K<sub>2</sub>)抗凝真空采血管均由上海科华检验医学产品有限公司生产。

1.3 方法 分别用普通真空采血管、促凝真空采血管、肝素锂抗凝真空采血管、EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝真空采血管各抽取每例体检者两管静脉血,将同一受检者的相同采血管分别分入室温组和冷藏组,编号并于室温放置 0.5 h 后以 3 000 r/min 离心 15

min;离心后即刻检测室温组 Hcy 浓度,并将冷藏组置于 2~8 ℃ 冰箱;同时立刻吸取每例受检者普通真空采血管及肝素锂抗凝真空采血管血清及血浆 200 μL 于 1 mL EP 管并置于 2~8 ℃ 冰箱冷藏保存,为分离组。在离心后 3、6、9 h 测定室温组及冷藏组 Hcy 浓度,测定完成后选取冷藏组普通真空采血管及肝素锂抗凝真空采血管继续在冰箱中放置为未分离组,并在 24、48 h 测定分离组与未分离组的 Hcy 浓度。

1.4 统计学处理 用 SPSS19.0 统计软件建立数据库并对数据进行处理,计量资料的描述用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间数据的比较采用 *F* 检验,两组间数据的比较采用配对样本 *t* 检验, *P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同采血管、不同温度放置不同时间的 Hcy 浓度测定结果

2.1.1 4 种采血管 Hcy 浓度的比较 普通真空采血管分别与肝素锂抗凝真空采血管、EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝真空采血管比较,差异有统计学意义(*P* < 0.05),促凝真空采血管分别与肝素锂抗凝真空采血管、EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝真空采血管比较,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 1。

表 1 4 种不同采血管,不同温度放置不同时间的 Hcy 浓度测定的比较( $\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/L}$ )

采血管	即刻值	3 h		6 h		9 h	
		室温	冷藏	室温	冷藏	室温	冷藏
普通真空管	19.23±10.56	19.62±10.85	19.58±10.61*	19.80±10.55	19.70±10.71**	21.64±10.43	20.20±10.59**
促凝真空管	20.43±10.78	20.71±10.77	20.66±10.68*	21.17±10.62	21.14±10.85**	22.04±10.71	21.38±10.99**
肝素锂抗凝管	18.41±10.65	18.69±10.58	18.74±10.65*	18.99±10.61	18.92±10.60*	19.34±10.62	19.13±10.80**
EDTA-K <sub>2</sub> 抗凝管	18.96±10.58	19.30±10.68	19.23±10.56*	19.53±10.73	19.51±10.78*	20.38±10.46	19.80±10.93**

注:与使用同一采血管同一测定时间所测得室温组数值比较,\* *P* > 0.05,\*\* *P* < 0.05。

2.1.2 测定时间对 Hcy 浓度测定的影响(稳定性分析) 对 4 种不同采血管 3、6、9 h 测定值与使用同种采血管测定的即刻值做 *F* 检验,结果显示(1)室温:普通真空采血管、促凝真空采血管、肝素锂抗凝真空采血管、EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝真空采血管测定结果差异均无统计学意义(*P* > 0.05);(2)冷藏:普通真空采血管、促凝真空采血管、肝素锂抗凝真空采血管、EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝真空采血管测定结果差异均无统计学意义(*P* > 0.05)。4 种不同采血管不同测定时间的结果与即刻值的比率结果见表 2,结果显示 Hcy 浓度呈时间依赖性增加。

2.1.3 存放温度对 Hcy 浓度测定的影响 采用配对样本 *t* 检验,在相同测定时间比较相同采血管室温组和冷藏组 Hcy 测定结果,结果在 9 h 时,普通真空采血管、促凝真空采血管、肝

素锂抗凝真空采血管、EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝真空采血管测定结果差异均有统计学意义(均 *P* < 0.05)。

表 2 4 种不同采血管,不同温度放置不同时间测定值与各自即刻值比率结果(%)

采血管	3 h		6 h		9 h	
	室温	冷藏	室温	冷藏	室温	冷藏
普通真空管	2.0	1.8	3.0	2.4	13.0	5.0
促凝真空管	1.4	1.1	3.6	3.4	7.8	4.6
肝素锂抗凝管	1.5	1.7	3.2	2.8	5.1	4.0
EDTA-K <sub>2</sub> 抗凝管	1.8	1.4	3.0	2.9	7.5	4.4

表 3 两种采血管离心后血细胞分离与未分离在冷藏条件放置不同时间 Hcy 浓度比较( $\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/L}$ )

组别	普通真空采血管			肝素锂抗凝真空采血管		
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	48 h
分离组	19.23±10.56	19.28±10.59	19.58±10.70*	18.41±10.65	18.56±10.60	18.66±10.68*
未分离组	19.23±10.56	22.23±10.03*	27.47±10.39**	18.41±10.65	21.87±10.50*	27.07±9.98**

注:与使用同一采血管所测即刻值比较,\* *P* > 0.05,\*\* *P* < 0.05。

2.2 分离与未分离血细胞层对 Hcy 浓度测定的影响 两种采血管离心后血细胞分离与未分离在冷藏条件下放置不同时间的 Hcy 浓度测定结果见表 3,对普通真空采血管未分离组

24、48 h 测定值与即刻值差异有统计学意义(*P* < 0.05),48 h 测定值与即刻值比较差异有统计学意义(*P* < 0.05)。对肝素锂抗凝真空采血管未分离组 24、48 h 测定值与即刻值差异有

统计学意义( $P < 0.05$ ), 48 h 测定值与即刻值比较有统计学意义( $P < 0.05$ )。采用配对样本  $t$  检验, 比较相同采血管在同一测定时间分离组和未分离组的结果, 24 h 时普通真空采血管、肝素锂抗凝真空采血管的分离组和未分离组测定值差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。

### 3 讨 论

人体内 Hcy 的水平与心血管疾病密切相关。据调查, 相当大比例的人群面临高 Hcy 血症的危险, 因此必须要注意 Hcy 浓度测定的准确性<sup>[5]</sup>。本次试验使用循环酶法测定 Hcy 浓度, Hcy 测定的参考方法是高效液相色谱法(HPLC), 但是其操作复杂, 耗时且费用较高<sup>[6]</sup>。循环酶法有多种优点, 能满足大批量标本的自动化检测, 并且与目前临床上常用的测定 Hcy 浓度的荧光偏振免疫分析法(FPIA)结果一致<sup>[7]</sup>。

本次试验通过对 4 种不同的采血管比较, 结果显示使用肝素锂抗凝真空采血管、EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝真空采血管与使用普通真空采血管和促凝真空采血管测定 Hcy 的结果之间差异均有统计学意义, 即血清标本测定的 Hcy 浓度明显高于血浆标本, 可能与离心前从血液凝固到离心测定需一定时间, 血细胞释放 Hcy 到血清中有关<sup>[8]</sup>, 也可能是血液凝固后释放血小板因子到血清中, 对 Hcy 测定产生干扰而导致假性增高。而血浆标本测定的 Hcy 结果则与临床实际较符合<sup>[9]</sup>。研究证明, 即使是使用最佳方法制备的血清较血浆而言, 其值也稍高<sup>[10]</sup>, 并且血清标本中可能有纤维蛋白遗留及分离过程中血液有成分发生破坏等缺点, 推荐使用血浆标本测定 Hcy 浓度。目前采用何种标本类型测定 Hcy 浓度争议较大, 也有文献证明可以用血清标本测定 Hcy 浓度。若实验室使用血清测定 Hcy 浓度应建立参考范围。

Hcy 可从血细胞释放入血清或血浆, 室温下健康人体的 Hcy 水平每小时增高 5%~15%, 这种增高与血液 Hcy 原水平无关<sup>[11]</sup>。实验结果显示 4 种采血管在室温或冷藏条件放置, 3、6、9 h 测定值与即刻值相比差异无统计学意义, 但差异越来越大, 9 h 内 Hcy 浓度呈时间依赖性增加。临床工作中应尽快测定 Hcy 浓度, 测定时间越晚, 所测 Hcy 浓度可信度就越低。用相同采血管在 3、6 h 测定 Hcy 浓度, 比较室温组与冷藏组结果差异均无统计学意义, 而在 9 h 测定 Hcy 浓度, 比较室温组与冷藏组结果差异有统计学意义, 若标本不能立即测定, 需短时间保存, 在 2~8 ℃ 冰箱中存放比室温条件下存放更稳定, 但不要超过 9 h。

对普通真空采血管和肝素锂抗凝真空采血管, 分离血细胞后 48 h 测定 Hcy 值与即刻值比较差异无统计学意义, 不分离血细胞 48 h 测定 Hcy 浓度与即刻值比较差异有统计学意义; 在 24 h 比较相同采血管分离组和未分离组测定值, 结果差异均有统计学意义。可能是因为不分离血细胞, 血细胞中的 Hcy 逐渐释放到血清及血浆中<sup>[12]</sup>。若某些医疗单位无检测条件需

将标本送至专业检测机构测定 Hcy 浓度, 或因某些特殊情况在 24 h 以后测定 Hcy 浓度, 建议分离血细胞层。分离细胞层后冷藏放置至少可以稳定 48 h, 而不分离细胞层冷藏放置, 24 h 测定 Hcy 浓度与分离细胞层后测定结果比较, 差异较大, 48 h 测定 Hcy 浓度临床意义已经不明显。

综上所述, 不同的血样采集管、不同存放时间及不同存放温度都会影响 Hcy 的测定结果, 在测定过程中, 应积极采取恰当措施, 防止干扰临床的诊断。

### 参考文献

- [1] 鞠洪艳. 同型半胱氨酸的临床研究进展[J]. 中国医疗前沿, 2010, 5(20): 25-26.
- [2] 汪兴周. 血浆同型半胱氨酸测定与老年痴呆患者相关性研究[J]. 实验与检验医学, 2014, 32(3): 336-339.
- [3] 周冬梅, 柴文慧, 李健, 等. 高同型半胱氨酸血症与老年人轻度认知功能障碍的关系[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(2): 772-773.
- [4] 李晨辉, 王淑媛. 同型半胱氨酸浓度变化与妊娠高血压综合征患者的关系[J]. 中国优生与遗传杂志, 2012, 20(3): 140.
- [5] 金蕾, 杜娟, 韩继啸, 等. 中老年人同型半胱氨酸分布特点及其健康教育[J]. 健康研究, 2014, 34(6): 605-607.
- [6] 高静, 董振南, 田亚平. 循环酶法测定血清同型半胱氨酸的临床应用研究[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(3): 199-202.
- [7] 王兴宁, 雷光星, 李慧, 等. 循环酶法测定同型半胱氨酸试剂盒评价[J]. 标记免疫分析与临床, 2014, 21(3): 318-320.
- [8] 潘志雄, 刘晓峰, 刘丹. 不同采血管对同型半胱氨酸测定结果的影响[J]. 实验与检验医学, 2012, 30(4): 400-402.
- [9] 王永峰, 田宇. 同型半胱氨酸两种不同类型标本测定结果比较[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(20): 1259-1260.
- [10] Refsum H, Smith AD, Ueland PM, et al. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion[J]. Clin Chem, 2004, 50(1): 3-32.
- [11] Andersson A, Saksson A, Hultberg B. Homocysteine export from erythrocytes and its implication for plasma sampling[J]. Clin Chem, 1992, 38(7): 1311-1315.
- [12] 彭军, 谭海明. 4 种不同血样采集管对同型半胱氨酸项目测定结果的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(10): 1301-1302.

(收稿日期: 2015-06-25 修回日期: 2015-09-10)

(上接第 3293 页)

et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels reflect damage to glomeruli, proximal tubules, and distal nephrons[J]. Kidney Int, 2009, 75(3): 285-294.

[18] Heise D, Rentsch K, Braeuer A, et al. Comparison of urinary neutrophil glucosaminidase-associated lipocalin, cys-

tatin C, and  $\alpha 1$ -microglobulin for early detection of acute renal injury after cardiac surgery[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2011, 39(1): 38-43.

(收稿日期: 2015-05-13 修回日期: 2015-09-01)