

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.18.020

标本处理方法对甲状旁腺激素检测的影响

王路长,魏晓玲,贺 晨,游 婷,胡 莹

四川省成都市第二人民医院检验科,四川成都 610017

摘 要:**目的** 探讨不同的血液标本及处理方法在日本东曹 AIA2000 全自动化学发光分析仪上测定甲状旁腺激素(PTH)水平的差异,以选择合适的上机标本类型及处理办法。**方法** 用血清管、肝素抗凝管(肝素管)、乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝管(EDTA 管)3 种不同的真空采血管采集同一患者血液,每一患者每种试管各采 3 管,共 10 例患者纳入研究,均在 2 h 内测定 iPTH 水平;然后分 3 组,每组每例患者 3 种试管各一管,一组放于冷藏 2~8 ℃,一组放冷冻-18~-22 ℃(分离血清或血浆),分别在第一次检测后 8、24 h 及 72 h 测定;另外一组,放于室温(18~25 ℃),分别在第一次测定后 2、4、8、24 h 进行检测;最后对所有数据进行统计分析。**结果** 所有标本在 2 h 内的测定结果,血清管与 EDTA 管、肝素管与 EDTA 管比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。血清管的结果在室温、冷藏下均随着时间的推移逐渐降低,2、4、8、24 h 的检测结果与 0 h 比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。肝素管的结果在室温下 4 h 内结果差异无统计学意义($P>0.05$),8 h 后结果下降,8、24 h 的检测结果与 0 h 比较,差异有统计学意义($P<0.05$);肝素管在冷藏下 72 h 内结果稳定性较好,8、24、72 h 的检测结果与 0 h 比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。EDTA 管的结果在室温下 24 h 内结果差异无统计学意义($P>0.05$),在冷藏下 72 h 内结果差异无统计学意义($P>0.05$)。血清管、EDTA 管和肝素管在冷冻保存下,8、24、72 h 的检测结果均较 0 h 降低,差异均有统计学意义($P<0.05$),但是在冷冻 8 h 后,随着时间增加降低效果不明显。**结论** 在日本东曹 AIA2000 全自动化学发光分析仪上测定 PTH 最好使用 EDTA 抗凝标本,如果使用肝素标本,需放于 2~8 ℃ 保存,可保存 72 h,血清标本则必须在 2 h 内尽快进行测定分析。

关键词: 甲状旁腺激素; 标本类型; 标本处理; 抗凝剂**中图分类号:** R446**文献标志码:** A**文章编号:** 1672-9455(2020)18-2661-04**Effect of specimen treatment method on detection of parathyroid hormone**

WANG Luchang, WEI Xiaoling, HE Cheng, YOU Ting, HU Ying

Department of Clinical Laboratory, Chengdu Municipal Second People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610017, China

Abstract:**Objective** To investigate the difference of different blood specimens and treatment methods for detecting the parathyroid hormone(PTH) level on the TOSOH AIA2000 automatic chemiluminescence analyzer in order to select the appropriate the specimen type and treatment method on the machine.**Methods** The three different kinds of vacuum blood collection tubes serum tubes, heparin anticoagulant tubes, and dipotassium ethylenediamine tetraacetate(EDTA-K₂) anticoagulant tubes, were used to collect the blood of the same patient. Each kind of tube collected each 3 tubes of blood in each patient. A total of 10 patients were included into the study and the iPTH level was measured within 2 h. Then the patients were divided into the three groups, each case in each group had 1 tube among 3 kinds of test tubes. One group was put for cold storage at 2~8 ℃ and the another group was put for freezing at -18~-22 ℃ (separating serum or plasma), the detection was conducted at 8, 24, 72 h after the first detection; the another group was placed in the room temperature(18~25 ℃), the detection was conducted at 2, 4, 8, 24 h after the first detection; finally the whole data conducted the statistical analysis.**Results** All specimens were detected within 2 h. There was no statistically significant difference between the serum tube and EDTA tube and between the heparin tube and EDTA tube ($P>0.05$). The results of serum tubes were decreased gradually with the time lapse at room temperature and under cold storage. The results at 2, 4, 8, 24 h had statistically significant difference compared with those at 0 h ($P<0.05$). There was no statistically significant difference in the results of heparin tubes under the room temperature within 4 h ($P>0.05$), but the results were decreased after 8 h. The detection results of heparin tubes had statistical difference between at 8 h and 24 h with 0 h ($P<0.05$). The detection results of heparin

作者简介:王路长,男,主管技师,主要从事临床生化及分子生物检验方面的研究。

tube under the room temperature within 4 h had no statistical difference, the results after 8 h were decreased, the detection results had statistical difference between at 8, 24 h with 0 h ($P<0.05$). The detection results of the heparin tube under cold storage within 72 h had good stability. The detection results had no statistical difference between at 8, 24, 72 h and 0 h ($P>0.05$). The detection results of EDTA tube under room temperature within 24 and within 72 h under cold storage had no statistical difference ($P>0.05$). The detection results of serum tube, EDTA tube and heparin tube at 8, 24, 72 h under freezing storage were decreased compared with those at 0 h, and the differences were statistically significant ($P<0.05$), however, after 8 h freezing, the reducing effect was not obvious with the increase of time. **Conclusion** The determination of PTH on the TOSOH AIA200 automatic chemiluminescence analyzer is best to use EDTA anticoagulation specimen. If using heparin specimen, it is needed to be kept at 2-8 °C for 72 h, or serum specimen must be determined and analyzed as soon as possible within 2 h.

Key words: parathyroid hormone; specimen types; specimen treatment; anticoagulant

甲状旁腺激素(PTH)在甲状旁腺合成,并分泌到血液中。完整甲状旁腺激素(iPTH)是含有 84 个氨基酸的单个直链多肽,相对分子质量约为 9 500;其生物活性决定于 N 端的第 1~27 个氨基酸残基;生物活性 N-端片段的半衰期仅有几分钟。iPTH 的选择性测定可直接判定甲状旁腺的分泌能力^[1-3]。血液中 PTH 存在 3 种形式^[4]:(1)iPTH(1~84),具有生物活性,占 5%~20%,半衰期非常短(2~4 min);(2)羧基端 PTH 片段,无生物活性,如 PTH(36~84)、PTH(44~84)、PTH(49~84)、PTH(53~84)等,占 75%~95%,半衰期可达 25~60 min;(3)氨基端 PTH 片段,有生物活性,如 PTH(1~34),血中水平较低,半衰期亦短。《全国临床检验操作规程》^[5]推荐使用血清检测;世界卫生组织(WHO)文件^[6]则推荐使用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝血浆检测,但针对不同的机型,也可使用或限制性使用血清、肝素抗凝血浆和枸橼酸钠抗凝血浆。本院使用日本东曹 AIA2000 全自动化学发光分析仪,在测定 PTH 的说明书上要求使用血清或者 EDTA 抗凝血浆。由于笔者曾遇到过因质控保存问题导致结果失控的事件,后来在文献中发现标本保存对其结果存在影响,为了明确标本类型及保存条件对 PTH 检测结果的影响,特设计此试验进行验证。

1 资料与方法

1.1 标本来源 选择 2019 年 3—7 月在本院就诊的 10 例患者,所取标本的 iPTH 结果覆盖本仪器测定的线性范围(0~1 000 pg/mL)高中低值。

1.2 仪器与试剂 日本东曹 AIA2000 全自动化学发光分析仪及其配套的 iPTH 检测试剂(批号: I9R5217)及校准品(批号: 200520646180000),质控品采用美国伯乐公司生产的内分泌质控品(批号: 54640)双水平,采血管采用成都瑞琦科技实业有限公司生产的血清管(黄管)、EDTA 管(紫管)、肝素管(绿管),所有试管、试剂、定标液、质控品均在有效期内。

1.3 方法 仪器处于稳定状态,所有测试与患者标本同时检测,在检测过程中,两水平质控 CV 值均低于 8%(1/3 个最大允许误差 25%)。所有标本在采集后 2 h 内进行初次检测,每例患者采集 9 管血液,每种试管各 3 管,分为 3 组,每组包括每例患者每种试管各一管,一组冷藏(2~8 °C,平均温度 4.9 °C)保存,一组冷冻(-18~-22 °C,平均温度 -21 °C)保存,测定时间均为 0、8、24、72 h;一组室温(18~25 °C)保存,测定时间为 0、2、4、8、24 h。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 对数据进行处理及统计分析,非正态分布的计量资料以 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示,组间比较均采用非参数秩和检验;正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表述,组间比较采用 t 检验;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各种试管 0 h 结果比较 以试剂说明书及 WHO 推荐的 EDTA 抗凝管作为标准管进行比较。所有标本 0 h(2 h 内)测定结果的比较时,血清管、肝素管分别与 EDTA 管之间的结果比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 血清及不同抗凝剂 0 h(2 h 内测定结果) 所测 PTH 结果比较

分组	n	$M(P_{25} \sim P_{75})$ (pg/mL)	与 EDTA 管比较 P(双侧)
血清管	30	102.8(64.5~164.4)	0.088
肝素管	30	99.0(63.6~156.4)	0.082
EDTA 管	30	98.8(64.3~157.0)	

2.2 室温保存结果 血清管检测结果随着时间的推移,iPTH 检测结果逐渐降低,2、4、8、24 h 的检测结果与 0 h 比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),放置 24 h 后,结果降低幅度达 22.56%。EDTA 管检测结果随时间推移变化不大,2、4、8、24 h 的检测结果与 0 h 比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。肝素管检测结果在 4 h 内结果稳定,8、24 h 的检测结果与 0 h 比

较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 室温保存中血清及不同抗凝剂所测 iPTH 结果的比较及变化情况

采血管	时间	n	$M(P_{25} \sim P_{75})$	与相同管 0 h 进行比较	
			(pg/mL)	相对变化百分率(%)	P
血清管	0 h	10	97.1(58.4~248.9)		
	2 h	10	91.8(57.4~237.9)	-3.71	0.005
	4 h	10	87.8(55.35~225.3)	-7.77	0.005
	8 h	10	77.4(52.4~205.5)	-14.94	0.005
	24 h	10	65.1(48.8~182.9)	-22.56	0.005
EDTA 管	0 h	10	98.0(57.2~239.9)		
	2 h	10	100.8(54.0~236.5)	-0.79	0.262
	4 h	10	99.6(58.5~233.5)	0.32	0.575
	8 h	10	96.6(56.4~234.3)	-0.93	0.333
	24 h	10	97.4(59.0~235.0)	0.25	0.722
肝素管	0 h	10	95.9(57.9~242.2)		
	2 h	10	100.4(59.6~239.0)	1.60	0.799
	4 h	10	94.4(56.6~239.7)	-0.33	0.240
	8 h	10	92.5(57.6~236.1)	-2.04	0.022
	24 h	10	85.8(55.0~221.3)	-4.02	0.009

注:相对变化率= $\sum[(iPTH_i - iPTH_0)/iPTH_0 \times 100\%]/10$, $iPTH_i$ 表示第 i 小时 iPTH 测定结果, $iPTH_0$ 表示 0 h iPTH 测定结果。

2.3 冷藏保存结果 血清管随时间的推移逐渐降低,8、24、72 h iPTH 的检测结果显示与 0 h 比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),放置 72 h 后,结果降低幅度达 23.35%,从结果上显示冷藏降低的幅度略低于室温,24 h 达 15.98%;EDTA 管和肝素管在冷藏下 72 h 内结果稳定性较好,8、24、72 h 的检测结果显示与 0 h 比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 3 冷藏(2~8℃)血清及不同抗凝剂所测 iPTH 结果的比较及变化情况

采血管	时间	n	$M(P_{25} \sim P_{75})$	与相同管 0 h 进行比较	
			(pg/mL)	相对变化百分率(%)	P
血清管	0 h	10	106.9(59.5~231.9)		
	8 h	10	97.7(54.7~211.8)	-9.34	0.005
	24 h	10	85.8(50.8~198.4)	-15.98	0.005
	72 h	10	76.4(47.5~187.3)	-23.35	0.005
EDTA 管	0 h	10	104.8(58.4~218.4)		
	8 h	10	103.9(57.9~212.2)	-0.84	0.074
	24 h	10	103.3(58.3~213.2)	-0.98	0.203
	72 h	10	103.2(57.6~216.4)	-1.11	0.114
肝素管	0 h	10	100.4(59.0~220.7)		
	8 h	10	100.6(59.3~220.0)	-1.06	0.241
	24 h	10	101.3(57.0~220.8)	-1.25	0.646
	72 h	10	100.0(56.7~219.1)	-1.63	0.074

注:相对变化率= $\sum[(iPTH_i - iPTH_0)/iPTH_0 \times 100\%]/10$, $iPTH_i$ 表示第 i 小时 iPTH 测定结果, $iPTH_0$ 表示 0 h iPTH 测定结果。

2.4 冷冻保存结果 血清管、EDTA 管和肝素管在冷冻保存下,8、24、72 h iPTH 的检测结果显示均较 0 h 降低,差异均有统计学意义($P<0.05$),但是在冷冻 8 h 后,随着时间增加降低效果不明显。见表 4。

表 4 冷冻(-18~-22℃)血清及不同抗凝剂所测 iPTH 结果的比较及变化情况

采血管	时间	n	$M(P_{25} \sim P_{75})$	与相同管 0 h 进行比较	
			(pg/mL)	相对变化百分率(%)	P
血清管	0 h	10	108.4(59.9~232.5)		
	8 h	10	97.9(55.6~213.1)	-7.00	0.005
	24 h	10	95.5(56.1~211.9)	-7.98	0.005
	72 h	10	94.4(55.8~207.9)	-8.77	0.005
EDTA 管	0 h	10	103.4(59.7~213.2)		
	8 h	10	81.5(54.3~190.0)	-11.24	0.005
	24 h	10	83.7(55.1~188.7)	-9.54	0.005
	72 h	10	86.7(56.0~188.8)	-9.05	0.005
肝素管	0 h	10	100.3(58.2~216.6)		
	8 h	10	89.2(55.1~205.5)	-7.27	0.005
	24 h	10	90.3(54.6~201.8)	-7.90	0.005
	72 h	10	91.4(54.2~197.2)	-7.80	0.005

注:相对变化率= $\sum[(iPTH_i - iPTH_0)/iPTH_0 \times 100\%]/10$, $iPTH_i$ 表示第 i 小时 iPTH 测定结果, $iPTH_0$ 表示 0 h iPTH 测定结果。

3 讨 论

PTH 调节钙磷代谢,是维持机体钙平衡的主要激素,其分泌水平影响着血钙和血磷水平,促使血钙水平升高,血磷水平下降^[7-8]。PTH 作用的主要靶器官是骨和肾脏,其主要是通过促进肾小管对钙离子的重吸收和磷酸盐的排泄,使血钙水平增加和血磷水平下降。血清中 PTH 水平过低导致低钙血症,低钙血症导致的症状包括肌肉痉挛、手足抽搐,影响心功能,甚至引起心肌损伤,并有报告显示 PTH 导致的钙离子平衡紊乱与高血压相关。PTH 通过抑制近端肾小管磷酸钠协同转运蛋白增加肾脏排磷,其缺乏可引起高磷血症、甲状旁腺功能亢进等,可造成肾性骨病、周围神经系统改变以及顽固性的皮肤问题等,对患者的生命质量造成影响。因此,准确测量 PTH 水平对于采取何种治疗,以及对治疗的效果进行评估都非常重要。检验科的责任就是为临床提供真实、可靠的检验指标,为其诊疗提供指导和帮助,而分析前的因素对检验准确性影响巨大,检验人员必须严格控制这些因素,降低这些因素带来的危害,为患者为临床提供一份高质量的检验报告。

PTH 的检测最早使用放射免疫分析法,由于免疫方法的污染性强,现在基本试剂厂家均采用化学发光法进行检测。本科室的日本东曹 AIA2000 全自动化学发光分析仪采用双抗体夹心的方法测定血清中

iPTH,该片段为活性成分,但是半衰期较短,因此标本的保存处理将会大大地影响结果。通过本次研究,笔者发现该公司检测试剂的最佳抗凝剂与 WHO 推荐的使用 EDTA 抗凝管^[6]相符,EDTA 抗凝血清在室温(18~25 ℃)及冷藏(2~8 ℃)的稳定时间可以达到 72 h,与之前王春雷^[9]的研究结果基本相符,也可以使用肝素抗凝,虽然冷藏(2~8 ℃)稳定时间可达到 72 h,但是在室温时,4 h 内尚稳定,8 h 后下降明显,可能是随着时间的推移,部分 iPTH 与肝素非特异性结合导致^[10];对于血清管,在放置 2 h 结果就已经开始下降大约 4%,并且随后成倍降低,24 h 就降低高达 20%;原因可能为血标本在凝固时释放某些物质加速了 iPTH 的降解,而 EDTA 和肝素可以维持完整 iPTH 的稳定,降低其降解速度。虽然不同厂家在检测具体物质方面可能存在差异,但是通过本研究发现,对于检测完整的 iPTH 片段来说,最好使用 EDTA 或者肝素抗凝,而且在标本采集后应尽快离心检验,如果不能及时检验,可以放置于 2~8 ℃冰箱内,可以稳定 72 h,最好不要分装冻存。

参考文献

[1] 张萌萌. 甲状旁腺素的生物学研究与成骨作用[J]. 中国骨质疏松杂志,2017,12(23):1648-1653.
[2] 邱丹丹,蒋松. 慢性肾脏病甲状旁腺激素代谢异常的研究

进展[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志,2017,26(2):174-178.
[3] 秦辛玲,石青峰. 甲状旁腺激素检测的临床应用进展[J]. 医学理论与实践,2018,31(23):3498-3500.
[4] CARON P, MAIZA J C, RENAUD C, et al. High third generation/second generation PTH ratio in a patient with parathyroid carcinoma: clinical utility of third generation/second generation PTH ratio in patients with primary hyperparathyroidism[J]. Clin Endocrinol (oxf), 2009, 70(4):533-538.
[5] 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,2015:137.
[6] World Health Organization. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations[S]. Geneva:WHO,2002.
[7] 朱建明,黄建平. 甲状旁腺功能减退症的激素替代治疗进展[J]. 医药导报,2017,36(A1):59-61.
[8] 陈澎涛. 甲状腺全切手术后患者甲状旁腺激素和血钙的水平变化[J]. 上海医药,2017,38(13):45-47.
[9] 王春雷. 标本不同处理方法对全段甲状旁腺激素测定的影响[J]. 国际检验医学杂志,2015,36(23):3467-3468.
[10] HANON E A, STURGEON C M, LAMB E J. Sampling and storage conditions influencing the measurement of parathyroid hormone in blood specimens: a systematic review[J]. Clin Chem Lab Med,2013,51(10):1925-1941.

(收稿日期:2012-12-25 修回日期:2020-07-15)

(上接第 2660 页)

[2] 谢茜,吴艳,钟晓云,等. 妊娠糖尿病孕妇糖化血红蛋白对新生儿血糖水平的影响[J]. 重庆医学,2017,46(8):1085-1087.
[3] Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis[J]. JAMA,2002,288(16):2015-2022.
[4] DUSCHEK N, GHAI S, SEJKIC F A, et al. Homocysteine improves risk stratification in patients undergoing endarterectomy for asymptomatic internal carotid artery stenosis[J]. Stroke,2013,44(8):2311-2314.
[5] KIM B J, KIM B S, KANG J H. Plasma homocysteine and coronary artery calcification in Korean men[J]. Eur J Prev Cardiol,2015,22(4):478-485.
[6] 李晓莉,郭欣. 高同型半胱氨酸血症患者同型半胱氨酸浓度与血糖、血脂的关系[J]. 河北医药,2015,37(18):2829-2830.
[7] 中华医学会妇产总会产科学组. 中华医学会围产医学分

会妊娠合并糖尿病协作组. 妊娠合并糖尿病临床诊断与治疗推荐指南(草案)[J]. 中华围产医学杂志,2007,42(6):426-428.
[8] 丰有吉,沈铿. 妇产科学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2010:140-143.
[9] 李伶俐,杜永光. 血清同型半胱氨酸检测在妊娠期糖尿病中的应用价值[J]. 中国实用医刊,2018,45(3):101-102.
[10] 王泓,王霞,崔亚利,等. 妊娠期妇女 HbA1c 水平测定及其在妊娠期糖尿病的早期筛查及诊断应用[J]. 重庆医学,2016,45(13):1770-1772.
[11] 崔淑娟,张晶,马艳芬,等. 血清 GA、ADP、RBP4、Hcy 与妊娠糖尿病胰岛素抵抗的相关性研究[J]. 疑难病杂志,2016,15(4):401-404.
[12] 冯霖,朱香清,乔玉芳,等. 妊娠糖尿病患者血清脂联素表达及与炎症因子、胰岛素抵抗关系[J]. 中国计划生育学杂志,2019,27(2):210-212.

(收稿日期:2020-01-16 修回日期:2020-07-11)