

凝血试验对检验结果的影响及临床应用

马新英¹, 王 颖² (1. 新疆维吾尔自治区石河子人民医院检验科 832000;
2. 新疆维吾尔自治区石河子中医院 832000)

【摘要】 目的 探讨凝血试验对检验结果的影响因素, 并提出合理化建议, 以保证临床正确应用。**方法** 从标本的来源、标本的采集及处理、护士及护理人员等方面进行调查、统计分析, 找出检验结果的影响因素。**结果** 以上各方面都不同程度地对检验结果产生影响, 任何一个环节都不容忽视。**结论** 凝血试验分析的影响因素很多, 不能有效控制标本的来源及处理、护士、护理及检验人员等方面的质量, 就不能保证检验结果的准确性。

【关键词】 凝血试验; 抗凝剂; 检验

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.06.040 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2012)06-0717-02

目前, 在血液病、糖尿病、高脂血症、心脑血管疾病、心胸外科手术治疗等领域的研究、诊断与治疗方面, 止血与血栓检验具有重要意义。由于凝血试验与一般的检验项目测定不同, 其影响因素具有特殊性。当其启动因子被某些因素激活后, 就会发生一系列连锁反应, 导致检测结果的极大误差。因此, 对于检验人员和临床医生、护士掌握和了解影响凝血试验相关因素显得尤为重要。凝血试验的影响因素主要有以下几个方面。

1 血液样本的采集与处理

1.1 患者应处于平静状态。因为情绪紧张, 剧烈运动会激活或干扰血小板、凝血因子和纤溶酶原等成分。

1.2 患者应空腹。进餐后血中的乳糜微粒等将对凝血试验结果造成干扰。如茶叶中的茶多酚, 桔子汁中的枸橼酸盐, 海带中的藻酸二酯钠等都有抗凝作用, 会使凝血时间延长。非相关治疗药物如口服避孕药会使凝血时间缩短。

1.3 静脉采血前不应拍打采血部位, 必须“一针见血”, 避免混入组织液或发生溶血。因为组织液中会有丰富的因子Ⅲ, 可激活外源性凝血途径, 加速凝血酶原的消耗, 使试验结果偏低, 凝血酶原时间延长。采血速度要适当, 若太快易产生气泡, 使纤溶蛋白原、因子Ⅴ、因子Ⅲ变性。因此, 建议使用定量真空采血管。溶血标本对所有方法均有影响, 脂血与黄疸血主要影响使用浊度法原理的设备, 而对 Clause 法的影响不大^[1]。

1.4 压脉带不应扎得太紧, 压迫时间不应过长。压力过大及束缚时间过长可影响局部血液的浓缩和内皮细胞释放组织型纤溶酶原激活物(T-PA), 后者可引起纤溶活性增强。

1.5 切忌在输液侧采集血液标本, 禁止在套管针处采血, 因为此处有肝素抗凝剂会影响检验结果。输脂肪乳的患者, 应在输完 8 h 后采血^[2]。

1.6 采血后要立即与抗凝剂混合, 但不要用力震荡。拔盖离心后应在一定时间内完成试验, 否则血浆 pH 值升高, 影响试验结果。血液标本采集后应尽快分离血浆, 血浆的保存是室温不超过 2 h, 2~8℃ 不超过 4 h, -20℃ 不超过 2 个星期, 70℃ 不超过 6 个月, 低温保存的样本测试时为降低凝血因子的消耗, 要 37℃ 迅速解冻。标本离心: 血液离心是凝血试验标本处理的关键步骤, 离心的目的就是尽可能地除去血浆中的血小板, 使标本成为缺乏血小板血浆, 以便排除血小板数量和功能对试验的影响, 有报道^[3]认为标本离心的相对离心力(RCF)≥2 000 r/min, 离心时间不少于 15 min 为宜。

1.7 负压管质量要有保证, 负压一致并在有效期内使用。真空管“死腔”会使活化部分凝血活酶时间(APTT)结果缩短,

PF4 活性增强^[4]。采血顺序对试验结果也有影响, 朱忠勇报道^[5]: 凝血酶原时间(PT)血样采集顺序第二管、第三管与第一管比较差异有统计学意义($P < 0.01$), APTT 的差异则无统计学意义($P > 0.05$)。这可能与采血时压脉带压迫时间过长激活凝血系统有关。因此, 采多管血样时, 凝血试验标本应取第一管。

2 抗凝剂的选择及用量

2.1 抗凝剂的选择对结果起着重要作用, ICSH 及 ICTH 推荐 0.019 mol/L 的枸橼酸钠, 作为凝血因子检测的首选抗凝剂。因枸橼酸钠对Ⅴ、Ⅷ因子有一定的保护作用, 因不受肝素影响还适用于接受肝素治疗的患者的监测。而草酸盐能与钙离子形成不溶性沉淀物, 影响血凝仪的光电终点。肝素可与凝血酶Ⅲ(AT-Ⅲ)作用抑制凝血因子的反应, 乙二胺四乙酸(ED-TA)能抑制或干涉纤维蛋白凝块形成纤维蛋白原单体聚合, 且对Ⅴ因子保护性差。

2.2 使用真空静脉采血管, 抗凝剂为 109 mmol/L 枸橼酸钠 0.2 mL, 抽取静脉血 1.8 mL, 抗凝剂与血的比例为 1:9。血红蛋白正常时血量无论大于 1.8 mL 还是小于 1.8 mL, 都会使 APTT、PT 的凝固时间缩短或延长。抗凝剂只对血浆起作用, 如抗凝剂加入不准确和由于贫血或红细胞增多症血浆量的变化而引起抗凝剂在血浆中绝对含量改变, 进而影响试验结果。因此在日常工作中要注意红细胞比容(Hct)的变化, 当 Hct 小于 20% 或大于 55% 时, 应用计算公式随时调整抗凝剂的用量, 以保证抗凝剂在血浆中的绝对含量不变^[6]。公式: 抗凝剂用量(mL) = $0.00185 \times \text{全血量(mL)} \times (1 - \text{Hct}\%)$ 。这就要求检验者在测定过程中时刻关注血常规 Hct 的值, 如抗凝剂加入不准确时, 应根据换算结果重采血。

3 标本运输、保存

标本应在室温下运送, 因低温会损伤血小板活化因子使 PT、APTT 结果降低, 血浆标本原则上应立即检测, 血液一旦离体后即开始变化, 随离体的时间不同凝血因子逐渐消耗, 从而检测出的结果也不同。在原血浆管置室温 2 h 测得的结果与立即测定的 PT、APTT 结果差异无统计学意义($P > 0.05$), 而分离出血浆的试管置室温 2 h 所测结果与立即测定 PT、APTT 结果差异有统计学意义($P < 0.01$)^[7], 因此, 凝血试验应在室温保存 4 h 内完成, 否则会对结果产生影响^[8]。

4 试 剂

4.1 试剂的质量是确保结果可靠性的先决条件, 试剂的选择一方面要根据所用检测仪器的类型, 另一方面要根据试验检测

目的选择对其敏感的试剂。如 APTT 试验时所用的活化剂不同,对血内肝素痕抗凝物质及因子Ⅷ、Ⅸ缺乏症的敏感性也不同,所以要根据检测项目来选择不同活化剂的 APTT 试剂,为了试验结果便于比较和估计抗凝剂疗效或指导用药,最好选择 INR 报告方式,因此,选择试剂应标有 ISI 值,理论上 ISI 值越接近 1.0 越好,ISI 值的高低决定 INR 的精度,也决定了试剂的质量^[9]。

4.2 试剂在使用时应严格按说明书操作。试剂复溶剂一般为蒸馏水、注射用水及 pH 6.0~7.0 去离子水,如复溶 pH 值增高会使凝固时间延长。复溶后的试剂不能反复冻融,不用时应加盖并在 2~8℃ 保存;所有试剂均应在有效期内使用。试剂使用中要注意污染的问题,避免试剂瓶盖错盖,造成交叉污染,用同一吸管或移液管造成试剂标本的交叉污染等。

5 仪器工作前的因素

5.1 首先要检查仪器电源、光源是否稳定,预热时间或温度设置是否正确,使用前应清洗管道及加样针。

5.2 检查所有试剂、参比液、标本是否合格,如有问题要及时更换。

5.3 每次检测之前,应先检测参比血浆或质控血浆以确保检测结果的准确性。参比血浆与标本是一起操作的,质控标本远离靶值,这时检验者就要仔细分析结果,查对标准曲线,找出失控原因,应马上清洗试剂杯、加样管道后再重作。

5.4 加试剂及加样时要防止气泡产生,无论是透射光还是散射光测定,防止气泡产生是保证结果准确性的前提,有气泡时凝血时间会假性延长。

5.5 操作前应校正加样针,加样过程中除保证样品量的准确外,还应保持加样器与反应杯垂直,加样动作要稳、准、快,既要让感应器充分接触,又不能停顿时间过长。反应杯是一次性消耗品,一定要清洁。ACL 系列血凝仪在我国许多医院广泛使用,因其反应盘为一次性消耗品且其价格较高,许多医院对其进行清洗后重复使用,但清洗过程难免会造成磨损及清洗物残留影响测试结果,使 APTT 时间缩短。

6 药物与疾病因素

某些药物本身就具有影响凝血机制的功能或是有协同抗凝作用,如水合氯醛、阿司匹林、保泰松、氯贝丁酯、吲哚美辛等可使口服抗凝药物在血液中浓度明显增高。有资料表明^[10],大剂量使用青霉素,当血浆青霉素浓度达 5 000 U/mL 时 PT、APTT 明显延长,且随药物浓度的增加而时间延长;头孢哌酮具有甲硫甲唑环的侧链与前凝血酶原相仿;羧酶可错误地与抗生索结合而导致凝血酶原的形成减少,干扰肝脏中维生素 K 的代谢,导致低凝血酶血症^[11]。肝素、华法林、双香豆素、低分子右旋糖酐等可抑制凝血酶,从而妨碍纤维蛋白原变为纤维蛋白,阻止血小板的黏附和聚集,使血浆中抗凝物质含量增多,影响凝血试验,使凝固时间延长。总之,检验人员发现异常结果应及时与临床科室沟通,排除分析前可能的干扰因素,结合患者体征综合分析诊断。

除药物对凝血试验结果的影响之外,很多疾病的因素也对结果有很大的影响。如弥散性血管内凝血(DIC)时,由于凝血因子的大量消耗和产生的 FDP 拮抗凝血酶的作用,使 PT 延长。但在 DIC 早期,患者血液处于高凝状态,PT 缩短。此时分析凝血结果一定要结合患者病情进展程度。各种疾病导致溶血、黄疸脂血、红细胞含有磷脂,能缩短 APTT 的值。当 Hct

>50% 时血浆中抗凝剂浓度增高,APTT 假性延长;相反,Hct <20% 时 APTT 假性缩短,应适当调整凝剂用量可减少影响。不能仅依靠凝血分析判断作为诊断指标,因为凝血分析受的影响因素太多太杂,应结合血小板计数、D-二聚体试验等共同作为诊断指标。高血压或急性呼吸窘迫综合征等疾病时,血管因缺氧和硬化发生,肿胀损伤,激活内外凝血途径,导致凝血功能显著增强,继而引起一系列敏感指标的改变^[12-13]。

7 小 结

样本的正确采集是分析前质量保证的重要一环,对质量不合格的样本进行检测不如不进行这项检测,是一条重要的原则。检验人员要特别重视对样本的验收和检查,收到样本后先观察样本量,然后看是否有凝块。样本离心后,观察有无脂血、溶血情况。血浆量和血浆颜色也需注意,对不符合要求的样本要及时退回,要求重新采集。抗凝剂比例要准确。血凝检测在出血性疾病及血栓性疾病中有着重要意义,也是抗凝、溶栓治疗及血栓前状态实验监测的重要步骤,应严格按照抗凝剂与血液的比例要求,排除分析外的一切干扰因素是凝血分析的质量保证。总之,血栓与止血实验室的质量控制,从一定程度上反映一个国家、一个地区、一个单位血栓与止血医疗水平和研究水平的高低,应加倍重视。

参考文献

- [1] 张时民,陈静.全科医生分则[M].北京:人民军医出版社,2009:127.
- [2] 申子瑜,李萍.临床实验室管理学[M].北京:人民卫生出版社,2003:30-31.
- [3] 张金莲.标本离心条件和放置时间对凝血酶原时间和活化部分凝血活酶时间的影响[J].郑州大学学报:医学版,2004,39(4):675.
- [4] 丛玉隆,吴丽媛.凝血试验真空管“死腔”所致 APTT、PF4 偏差探讨[J].临床检验杂志,2002,20(5):263.
- [5] 肖秀林,陈红宇,王昌富,等.PT 和 APTT 样本采集顺序和保存温度的探讨[J].上海医学检验杂志,2001,16(2):104.
- [6] 丛玉隆,王淑娟.今日临床学[M].北京:中国科学技术出版社,1997:10.
- [7] 康志荣.不同存放条件对血浆凝血试验结果的影响[J].临床检验杂志,1998,16(1):52.
- [8] 李立青.标本放置时间及温度对凝血三项测定结果的影响[J].大理学院学报,2004,3(5):47.
- [9] 程峰,朱忠勇.凝血酶原时间测定标准化及在抗凝治疗中应用[J].中华医学检验杂志,1995,18(2):111.
- [10] 常剑峰.大剂量 β -内酰胺类抗生素凝血实验的干扰[J].临床检验杂志,2000,18(4):211.
- [11] 徐淑云.临床用药指南[M].合肥:安徽科技出版社,1997:58.
- [12] 门剑龙.原发性高血压患者测定凝血抗凝等指标的临床意义[J].临床检验杂志,2000,18(4):250.
- [13] 门剑龙.急性呼吸窘迫综合征患者抗凝血及纤溶系统功能状态改变的观察[J].临床检验杂志,2000,18(6):372.