

自制混合血浆在血浆纠正试验中的临床应用初探

龚 娅, 何宗忠[△], 王晓冬, 史秋霞, 林林东 (广州军区广州总医院 157 分院检验科, 广州 510510)

【摘要】 目的 通过比较不同温度保存的自制混合血浆与正常混合血浆对血浆纠正试验的影响, 探讨自制混合血浆在血浆纠正试验中的临床应用价值。**方法** 收集凝血酶原时间(PT)≥18.0 s 和(或)活化部分凝血活酶时间(APTT)≥52.0 s 的血浆标本 35 份, 分别与正常混合血浆(A 组)、-80 °C(B 组)和-20 °C(C 组)保存的自制混合血浆按体积 1:1 混合后做血浆纠正试验, 即混合后立即测定 PT 和(或)APTT, 37 °C 孵育 1 h 后再次检测。计算 35 份标本可被正常混合血浆纠正的比例及 3 组的纠正率。**结果** 88.57%(31/35)可被正常混合血浆立即纠正, 4 例未被纠正, 其中 1 例孵育后比孵育前测定时间更加延长, 占 2.86%; 3 例孵育前后测定结果不变, 占 8.57%。在 PT 延长的血浆纠正试验中, 各组之间纠正率差异无统计学意义($P>0.05$)。在 APTT 延长的纠正试验中, 孵育前 A 组、B 组和 C 组的纠正率分别为(32.93±16.17)%、(27.56±23.48)%和(13.70±12.87)%, A 组和 B 组之间纠正率差异无统计学意义($P>0.05$), 其余各组之间纠正率差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** -80 °C 保存的自制混合血浆可代替商品化的正常混合血浆进行血浆纠正试验。

【关键词】 正常混合血浆; 血浆纠正试验; 凝血酶原时间; 活化部分凝血活酶时间

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.16.023 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)16-2357-02

Preliminary investigation on clinical application of homemade mixed plasma in plasma correcting test GONG Ya, HE Zong-zhong[△], WANG Xiao-dong, SHI Qiu-xia, LIN Lin-dong (Department of Clinical Laboratory, 157 Branch Hospital, Guangzhou General Hospital of Guangzhou Military Region, Guangzhou, Guangdong 510510, China)

【Abstract】 Objective To explore the clinical application value of homemade plasma in the plasma correct test by comparing the influence of normal mixture plasma and homemade plasma storage at different temperatures. **Methods** 35 plasma samples of prothrombin time(PT)≥18.0 s and/or activated partial thromboplastin time (APTT)≥52.0 s were collected and mixed with the normal mixture plasma(group A), homemade plasma stored at -80 °C (group B) and -20 °C (group C) with the proportion of 1:1 respectively, then PT and APTT were tested immediately, and retested after 37 °C incubating for 1 h, finally the correcting proportion in 35 samples and the correct ratio of these three groups were calculated. **Results** In the 35 cases of PT and/or APTT prolongation, 31 cases (88.57%) could be corrected by the normal mixture plasma and 4 cases were not corrected, among them, the detection time after incubation in 1 case (2.86%) was prolonged than that before incubation, and the detection results before and after incubation in 3 cases were unchanged, accounting for 8.57%. In the PT prolonged correction test, there was no statistical difference in the correct ratio among 3 groups ($P>0.05$). In the APTT prolonged correction test, the correcting ratios before incubation in the group A, B and C were (32.93±16.17)%, (27.56±23.48)% and (13.70±12.87)% respectively, there was no statistical difference in the correct ratio between the group A and B ($P>0.05$), which in the other groups had statistical difference ($P<0.05$). **Conclusion** The homemade plasma stored at -80 °C can replace the commercialization normal mixture plasma for conducting the plasma correcting test.

【Key words】 normal mixture plasma; plasma correcting test; prothrombin time; activated partial thromboplastin time

临床上常遇到凝血酶原时间(PT)和(或)活化部分凝血活酶时间(APTT)延长(PT 延长超过 3 s, APTT≥1.3 倍正常参考值)的患者, 其原因有可能为凝血因子缺乏、存在特异性的抗凝血因子或非特异性抗凝物质(如磷脂抗体或副蛋白)等^[1-2]。临床上可表现为以凝血因子缺乏为主的出血倾向和存在狼疮抗凝物质的血栓形成倾向, 这 2 种不同倾向采取的治疗方案也不相同。在经济发达国家或地区可以采取检测具体的凝血因子、特异性或非特异性抗凝物质等进一步加以确认, 但基层单位往往由于费用昂贵而无力开展, 为此笔者选取 2015 年 1~3 月本院收治的 PT≥18.0 s 或 APTT≥52.0 s 且满足凝血酶时间(TT)正常和纤维蛋白原(FIB)≥2.0 g/L 的患者的异常血浆 35

份, 分别与正常混合血浆、-80 与-20 °C 保存的自制混合血浆按体积 1:1 混合后立即检测 PT 和(或)APTT, 接着 37 °C 孵育 1 h 后再次检测, 然后统计分析以探讨自制混合血浆应用于血浆纠正试验的临床应用价值, 现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 1~3 月本院收治的 PT 和(或)APTT 延长的 35 例血浆标本, 其中男 15 例, 女 20 例; 标本来源手术科室 12 例, 非手术科室 23 例; 年龄 3~88 岁, 平均(58.31±20.45)岁; 其中单独 PT 延长 10 例、单独 APTT 延长 11 例、二者均延长 14 例。纳入标准: PT≥18.0 s 或 APTT≥52.0 s 且满足 TT 正常和 FIB≥2.0 g/L。

1.2 方法

1.2.1 采集方法 0.109 mol/L 枸橼酸钠抗凝真空采血管(BD公司)采血至1.8 mL刻度线,充分摇匀,以3 000 r/min离心10 min,取血浆分别检测PT、APTT、TT、FIB。

1.2.2 仪器与试剂 全自动凝血分析仪为法国STAGO公司Stago-compact。正常混合血浆(批号111289)、PT(批号112094)、APTT(批号112290)、TT(批号112003)、FIB(批号112342)均为厂家配套原装试剂,室内质控品与定标品由STAGO公司提供,均严格按照说明书操作,所有试剂均在有效期内使用。所有标本均为室内质控在控的状态下检测。

1.2.3 自制混合血浆 收集PT、APTT、FIB、TT 4项结果均处于正常范围的20份以上无溶血、黄疸及脂浊的非孕妇血浆标本,充分混匀后以3 000 r/min离心10 min,弃底部血浆^[3];取0.8 mL上层血浆测定PT、APTT、FIB、TT,以确保4项结果均在正常范围内,37℃水浴1 h后再次检测4项指标均正常。取上层血浆分成2份,分别放置-80与-20℃冰箱保存以备后续试验。

1.2.4 血浆纠正试验 各取200 μL的异常血浆分别与200 μL的正常混合血浆(A组)、-80℃保存的自制混合血浆(B组)、-20℃保存的自制混合血浆(C组)充分混合后立即测定PT和(或)APTT,水浴1 h后再次测定PT和(或)APTT。

1.2.5 血浆纠正率的计算 血浆纠正率(%)=(纠正前的测定值-纠正后的测定值)/纠正前的测定值×100%。

1.3 统计学处理 采用SPSS16.0软件对数据进行处理及统计学分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,其差异采用One-way ANOVA,如方差不齐,则采用Welch法的近似F检验,组间比较采用LSD检验。检验水准 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血浆纠正试验检测结果构成比 88.57%(31/35)可被正常血浆立即纠正,提示可能存在凝血因子缺乏;2.86%(1/35)不能被纠正且孵育后较孵育前测定时间更长,提示受检血浆中可能存在特异性抗凝血因子抗体;8.57%(3/35)不能被立即纠正且孵育前后测定结果不变,提示血浆中可能有磷脂抗体或副蛋白等非特异性抗凝物质。

表1 血浆纠正试验结果($\bar{x} \pm s$)

项目	立即测定		孵育1 h后测定	
	时间(s)	纠正率(%)	时间(s)	纠正率(%)
PT				
A组	15.34±0.56	37.29±14.45	15.13±0.58	38.02±15.04
B组	14.65±0.47*	40.08±13.84	15.26±0.50*	35.36±15.21
C组	15.75±0.70#	33.47±12.22	17.30±0.84*#	27.30±11.50
APTT				
A组	44.36±5.31	32.93±16.17	43.35±5.75	32.62±15.27
B组	49.74±5.19*	27.56±23.48	54.35±6.65*	27.59±21.12
C组	52.84±5.72*	13.70±12.87*#	57.13±5.38*	11.92±16.06*#

注:与A组比较,* $P < 0.05$;与B组比较,# $P < 0.05$ 。

2.2 正常混合血浆与自制混合血浆在血浆纠正试验中的结果比较 在PT延长的血浆纠正试验中各组之间纠正率差异无统计学意义($P = 0.395$)。在APTT延长的纠正试验中,孵育前A组、B组和C组的纠正率分别为(32.93±16.17)%、

(27.56±23.48)%和(13.70±12.87)%,A组和B组纠正率接近,差异无统计学意义($P = 0.436$),A组和C组之间及B组和C组之间纠正率差异有统计学意义(P 值分别为0.005和0.028)。见表1。

3 讨论

PT和(或)APTT延长的原因非常多,如采血时抗凝剂与血液标本比例差异、抗凝药物治疗、各种慢性肝病、弥散性血管内凝血、凝血因子Ⅱ缺乏、狼疮抗凝物阳性、蛋白C缺乏、维生素K依赖性因子Ⅱ、Ⅶ、Ⅺ及Ⅹ的联合缺乏等^[4-6]。具体的凝血因子、维生素K、蛋白C、狼疮因子等检测对判断出血倾向或血栓形成倾向具有重要临床意义,但设备和检测条件等限制了大多数的医疗单位无法开展较为全面的原因分析,影响了临床应用,探索经济实用的方法就尤为重要。分析PT和(或)APTT延长的原因,血浆纠正试验是一个重要方法,可提示是否缺乏凝血因子、存在特异性的抗凝血因子抗体或非特异性抗凝物质(如磷脂抗体或副蛋白)等。

研究结果表明,88.57%PT和(或)APTT延长的患者可能存在凝血因子缺乏,远远高于北京协和医院郭梦妮^[1]统计的数据,而非特异性抗凝物质远低于Chng等^[7]报道的数据,可能与本次的研究对象中无自身免疫性疾病患者有关。在PT延长的血浆纠正试验中,其纠正率的差异在各组之间差异无统计学意义,表明自制混合血浆可以替代正常混合血浆进行PT延长的血浆纠正试验。在APTT延长的纠正试验中,-80℃冰箱保存的自制混合血浆其纠正率虽低于正常混合血浆,但差异无统计学意义;-20℃保存的自制混合血浆其纠正率明显低于正常混合血浆与-80℃保存的自制混合血浆,其差异有统计学意义($P < 0.05$),表明-20℃保存的自制混合血浆不能代替正常混合血浆,其纠正效果也不如-80℃深冻冰箱保存的自制混合血浆。常规凝血指标的检测宜在采血后1 h内完成,置-20℃下仅能放置2周,-70℃条件下可放置6个月,而-80℃深冻冰箱保存则可维持新鲜冰冻血浆的凝血性质等同于新鲜血浆,保证凝血因子、抗凝物质的活性,可至少稳定8个月^[8]。本研究也证实了保存温度越低,凝血因子的促凝活性保持时间也越长,与文献^[9]报道一致。本研究结果发现,-20℃冰箱保存的自制混合血浆可用于PT的血浆纠正试验而不能用于APTT的纠正试验,这可能与Ⅷ、Ⅸ、Ⅺ因子为内源性凝血途径的关键因子,而这些因子在不同的保存条件下其活性变化也非常大有关。Ⅷ、Ⅸ、Ⅺ等因子随放置温度升高、时间延长,其活性呈下降趋势,尤其是Ⅷ因子最不稳定^[10]。数据显示Ⅷ因子在-80℃超低温保存能维持1个月以上,而-20℃条件下仅能保持1 d,室温仅能维持2 h,置20℃的室温12 h后其活性降至43%,24 h后则仅有30%,极易失去活性^[11]。另外,-80℃保存的自制混合血浆虽可代替商品化的正常混合血浆进行APTT血浆纠正试验,但纠正效果不如商品化的正常混合血浆,这可能是一80℃超低温虽然可以有效保持某些因子活性,但不如厂商采用冻干的方式保存更有效。

综上所述,建议优先使用商品化的正常混合血浆用于血浆纠正试验,其次使用置-80℃冰箱保存的自制混合血浆,不建议使用-20℃冰箱保存的自制混合血浆。总之,-80℃保存的自制混合血浆,使用方便,价格低廉,且不需要配置特殊设备,适合在基层实验室推广使用。

参考文献

[1] 郭梦妮.北京协和医院住院患者凝血(下转第2361页)

而女性哮喘患者以 30~50 岁中年人为主。全球调查对象分布的普遍规律是城市高于农村^[12]。本研究 250 例支气管患者中,有 161 例哮喘合并 AR,发生率 45.2%。种族和经纬度差异是导致哮喘合并 AR 发病率出现差异的原因之一,如日本的合并发病率为 52.4%,澳大利亚为 75%~80%,瑞典丹麦则仅占 46.3%。致敏原是引起 AR 的重要因素,不同人群对致敏原的敏感程度不一样。我国持续性 AR 致敏原的分布主要是以螨虫为主,约占 90%~95%。本研究中经过敏原检测试验发现屋尘螨和粉尘螨是导致 AR 的主要致敏原。在家族病史方面,本调查结果显示有 47.4% 患者的家人患有 AR 和(或)哮喘。

哮喘伴有 AR 的患者中,未应用药物治疗鼻炎的占 78.3%,主要原因是缺乏对 AR 防治知识的了解。本研究中有 33.2% 为农民,多数为自费治疗,其经济水平和文化程度也会妨碍其对哮喘伴 AR 的正确认识和及时治疗。患者发病时采用激素药物进行治疗,与国外治疗性用药习惯存在差异^[11]。对于哮喘合并 AR 发病率的调查,全球调查的主要对象是儿童多于成人,年龄段也普遍偏小^[12]。而本研究的患者多为成人,且年龄段偏大并以女性居多。这一现象与前期对哮喘吸入装置使用的调查研究中出现的女性比例较大及年龄段偏高一致。

本研究通过对 2013 年 1~9 月哮喘合并 AR 患者的基本情况及治疗现状进行调查发现,患者对综合治疗哮喘和 AR 的认识较低,对 AR 的重视程度低,且由于经济基础和文化水平限制,导致病情加重,应加强哮喘患者对相关合并疾病的认识,扩大其治疗性用药方案。本研究仅为重庆地区的不完全调查,其患者特征可在一定程度上说明该地区的哮喘合并 AR 的患病及治疗情况,应进一步扩大调查范围及增加调查方法的多样性,为我国哮喘合并 AR 流行病学提供数据支持。

参考文献

[1] Brozek JL, Baena-cagnai CE, Canonica GW, et al. Methodology for development of allergic rhinitis and its impact on

asthma guide line 2008 update[J]. Allergy, 2008, 63(1): 38-46.

[2] 张金花,武若军,薛俊仙. 变应性鼻炎与支气管哮喘患者 TH1、TH2 相关性研究[J]. 中国现代医学杂志, 2008, 18(18): 2736-2737.

[3] 鲁春慧,薄建萍. 变应性鼻炎对支气管哮喘的影响[J]. 当代医学, 2009, 15(1): 91-92.

[4] 王菲,陈若希,程雷. 儿童变应性鼻炎与哮喘[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2011, 5(2): 120-123.

[5] 莎米拉·吐尔逊. 老年哮喘 76 例疗效观察[J]. 医学检验, 2013, 9(1): 136-137.

[6] Rottem M. Allergic rhinitis and its impact on asthma[J]. Harefuah, 2010, 149(6): 374-376.

[7] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2003, 42(3): 132-138.

[8] 中华医学会耳鼻喉科分会. 变应性鼻炎诊断标准及疗效评价标准[J]. 中华耳鼻喉科杂志, 1998, 33(3): 134-135.

[9] 温志红,周薇雅,胡琼燕. 支气管哮喘患儿 clara 细胞分泌蛋白水平的变化及吸入糖皮质激素对其影响[J]. 实用儿科临床杂志, 2010, 25(16): 1225-1226.

[10] Allakhverdi Z, Delespesse G. Hematopoietic progenitors cells are innate Th2 Cytokine-producing cell[J]. Allergy, 2012, 67(1): 4-9.

[11] Valovirta E, Pawankar R. Survey on the impact of comorbid allergic rhinitis in patients with asthma [J]. BMC Pulm Med, 2006, 6(S1): 68-73.

[12] Braunstahl GJ. United airways concept: what does it teach us about systemic inflammation in airways disease [J]. Proc Am Thorac Soc, 2009, 6(8): 652-654.

(收稿日期: 2015-01-22 修回日期: 2015-03-19)

(上接第 2358 页)

四项异常原因分析[D]. 北京:北京协和医学院临床学院, 2013.

[2] 彭黎明,邓承祺. 现代血栓与止血的实验室检测及应用[M]. 北京:人民卫生出版社, 2004: 146-147.

[3] 华丽姿. 自制凝血质控物稳定性及复融方式探讨[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(10): 1299-1301.

[4] 白轰,廖君群,赖晓霏. 不同比例抗凝剂对凝血 4 项检测结果的影响[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(23): 3174-3175.

[5] 孙磊. 凝血酶原时间和活化部分凝血活酶时间测定的问题[J]. 中国医药指南, 2013, 11(5): 177-178.

[6] 唐金凤,陈先春,钟磊,等. 血浆凝血因子 V、Ⅷ及蛋白 C 活性与下肢深静脉血栓形成的相关性[J]. 实验与检验医学, 2015, 33(1): 103-105.

[7] Chng WJ, Sum C, Kuperan P. Causes of isolated prolonged activated partial thromboplastin time in an acute care general hospital[J]. Singapore Med J, 2005, 46(9): 450-456.

[8] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社, 2006: 211-215.

[9] 平竹仙,孙武,蒋红君,等. 自制凝血室内质控品的使用与评估[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(20): 2841-2842.

[10] 丛玉隆,殷宗建,张立文,等. 贫血、血栓及遗传学检验技术与临床[M]. 天津:天津科学技术出版社, 2002: 156-157.

[11] 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: 86-92.

(收稿日期: 2015-02-12 修回日期: 2015-04-15)