

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2018. 04. 024

影响凝血 4 项检测结果异常原因的研究

陈 勇, 凌 建, 徐 容, 李 倩

(四川省绵阳市人民医院检验科 621000)

摘 要:目的 探讨凝血标本的采集量、离心时间、离心速度、储存时间和标本是否溶血等对凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(Fib)检测指标的影响。方法 回顾性分析 2016 年 1—12 月该院检验科 859 例不同因素的凝血标本对 PT、APTT、TT、Fib 指标的影响。结果 采血量小于 2.0 mL 标本和大于 2.0 mL 标本检测 PT、APTT、TT 结果均明显长于重新采血合格的标本($P < 0.05$), Fib 检测结果短于重新采血合格的标本($P < 0.05$); 标本经 5、10、15 min 后不同离心时间检测 PT、APTT、TT、Fib 水平比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 4 项指标的标本经 4 000 r/min 离心 5 min 和 3 000 r/min 离心 15 min 比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 标本在室温(20~25 °C)环境下储存 1 h 后检测凝血 4 项结果与立即送检比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 标本储存 4 h 后检测 APTT 长于储存 2 h 的标本, TT 明显短于储存 2 h 的标本($P < 0.05$), PT 和 Fib 检测结果与储存 2 h 的标本比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 标本在 4 °C 环境下储存 1、2、4 h 后的凝血 4 项结果, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 不同储存时间与立即送检标本的凝血 4 项结果比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 溶血标本检测 PT 和 APTT 结果明显短于未溶血标本($P < 0.05$); 溶血标本检测 TT 结果明显长于未溶血标本($P < 0.05$); 溶血标本检测 Fib 结果与未溶血标本比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 抗凝比例不合适、室温时间储存过长和标本溶血与否等都可导致检测结果的准确性和可靠性出现异常, 采用 4 000 r/min 离心 5 min 替代 3 000 r/min 离心 15 min 可更快速地向临床报告检测结果。

关键词:凝血四项; 乏血小板血浆; 溶血; 采血量

中图法分类号: R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2018)04-0510-04

Analysis on the abnormal causes of the four detection results of coagulation*

CHEN Yong, LING Jian, XU Rong, LI Qian

(Department of Clinical Laboratory, the People's Hospital of Mianyang City, Mianyang, Sichuan 621000, China)

Abstract: Objective To analyse blood samples collection, centrifugal time, centrifugal speed, storage time and specimen whether hemolysis influence factors and detection of plasma prothrombin time(PT), activated partial thromboplastin time(APTT), thrombin time(TT) and fibrinogen(FIB) quantitative four results, which is convenient for daily inspection process control. **Methods** Retrospective analysis from January 2016 to December 2016 in our hospital laboratory test 859 cases of different factors of coagulation specimens for PT, APTT, TT and Fib four indicators of clinical data. **Results** PT, APTT and TT results were significantly longer than the qualified samples($P < 0.05$) were test by blood sampling volume $< 2.0 \text{ mL}$ and $> 2.0 \text{ mL}$ specimens. Fib test results are shorter than the resampling of qualified samples($P < 0.05$). The results of APTT, TT, PT and Fib were test by 5, 10, 15 min centrifugation time, and there were no significant differences($P > 0.05$). There were no statistical differences between the samples centrifugated by 4 000 r/min 5 min and 3 000 r/min 15 min($P > 0.05$). Specimens at room temperature(20 °C to 25 °C) storage 1 h test after coagulation four results and immediately specimens testing results, there was no significant difference($P > 0.05$), the specimens were stored in 4 h and the APTT was longer than that in 2 h specimens, TT was significantly shorter than that of 2 h specimens($P < 0.05$); PT and Fib testing results compared with stored 2 h specimens, there were no significant differences($P > 0.05$). The samples were stored at 4 °C environment 1, 2, 4 h after the testing of coagulation four results, the comparison between different time, there were no significant differences($P > 0.05$), comparison of different storage time and immediately specimens of four items of blood coagulation detection results, there were no significant differences($P > 0.05$). Hemolysis tests of PT and APTT were significantly shorter in hemolysis test results($P < 0.05$); hemolysis specimens for the detection of TT results significantly longer than without hemolysis($P < 0.05$); Fib results of hemolysis and not hemolysis was no signifi-

cant difference($P>0.05$). **Conclusion** The inappropriate proportion of anticoagulation, inappropriate storage in room temperature for long time, and hemolysis specimen or not, the causes of the detection accuracy and reliability of the anomaly. We could use 4 000 r/min centrifugation replacing 3 000 r/min centrifugation for reporting the detection results to clinicians quicker.

Key words: four blood coagulation; platelet-poor plasma; hemolysis; blood volume

凝血 4 项检测广泛用于出血性疾病的辅助诊断、口服抗凝药的监测及术前筛查凝血性疾病等,是临床极为重要的检查手段及重要的实验室检测指标。包括凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(Fib),其结果的准确性和可靠性直接影响临床疾病的诊断和治疗,以及医患关系。由于凝血在实验室检测具有一定的特殊性,检测不是对某一种特定物质的分析,而是对一系列酶促反应终点的监测,所以检测结果受(如凝血标本采集量、离心时间、存储、标本是否溶血等)诸多因素的影响^[1]。分析凝血 4 项检测结果的异常因素,具有提高检测结果的准确性、可靠性和提高治疗正确性的重要意义。现探讨各种影响凝血 4 项检测结果的因素,为常规临床检验工作更好地控制不良因素,建立该实验室质量控制标准而提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取 859 例于 2016 年 1—12 月在该院体检中心进行的健康体检者作为研究对象,凝血功能经临床检测均正常。采用美国 BD(碧迪)公司生产的真空凝血采血管(10^9 mmol/L 枸橼酸钠 1:9 抗凝),由专职护士进行空腹(禁食 8 h 以上)平静状态下,采集静脉外周血 2.0 mL。

1.2 仪器与试剂 日本希斯美康(Sysmex)公司生产的 CA550 全自动血凝仪,试剂均为原装进口配套试剂,检测前试剂预热 15~20 min。离心仪器为北京时代北利离心机公司生产的 DT5-3 型低速自动平衡离心机。均严格按照试剂盒说明书,以及 CA550 离心机的标准进行操作。

1.3 方法 对 5 组标本进行凝血 4 项检测:(1)采血量小于 2.0 mL(采血量不足)的标本 57 例,采血量大于 2.0 mL(采血量过量)的标本 64 例,以及为该部分对象重新采集 2.0 mL 静脉血的 121 例标本。(2)3 000 r/min 离心,离心时间为 5、10、15 min 的标本分别为 62、60、63 例。(3)60 例标本充分混匀后,用一次性塑料吸管吸出约 1 mL 至洁净塑料试管中,得到 2 份相同的血液标本,第 1 份 3 000 r/min 离心 15 min,第 2 份 4 000 r/min 离心 5 min。(4)室温(20~25 ℃)环境下储存 1、2、4 h 的标本分别为 57、53、50 例,4 ℃环境下储存 1、2、4 h 的标本分别为 56、58、53 例,在各自储存时间达到后及时检测,以及随机选取的 55 例标本。(5)56 例肉眼观察血浆为浅红色颜色的溶血标本,与 55 例肉眼观察血浆颜色正常的未溶血标本。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析并使用 Excel 建立数据库,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,使用配对 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学

意义。

2 结果

2.1 不同采集量对凝血 4 项检测的结果比较 采血量小于 2.0 mL 的标本和大于 2.0 mL 的标本检测 PT、APTT、TT 均明显长于重新采血合格的标本($P<0.05$),但 Fib 检测结果短于重新采血合格的标本($P<0.05$)。见表 1、2。

表 1 采血量不足对凝血 4 项检测的结果比较($\bar{x}\pm s$)					
标本类型	例数 (<i>n</i>)	PT(s)	APTT(s)	TT(s)	Fib(g/L)
<2.0 mL 标本	57	17.23±3.15	45.64±10.25	21.54±5.64	2.68±0.28
合格标本	57	11.99±1.25	28.69±3.13	14.92±0.78	3.12±0.43
<i>t</i>		4.87	13.19	3.16	3.25
<i>P</i>		0.025	0.038	0.018	0.042

表 2 采血量过量对凝血 4 项检测的结果比较($\bar{x}\pm s$)					
标本类型	例数 (<i>n</i>)	PT(s)	APTT(s)	TT(s)	Fib(g/L)
>2.0 mL 标本	64	18.12±4.15	40.15±8.63	20.87±3.45	2.73±0.17
合格标本	64	12.31±0.31	27.56±7.25	15.36±1.27	3.29±0.23
<i>t</i>		3.27	20.35	2.49	4.007
<i>P</i>		0.041	0.029	0.033	0.037

2.2 不同离心时间对凝血 4 项检测的结果比较 标本经 3 000 r/min 离心 5、10、15 min 后,PT、APTT、TT、Fib 检测结果比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 3 不同离心时间对凝血 4 项检测的结果比较($\bar{x}\pm s$)					
离心时间 (min)	例数 (<i>n</i>)	PT(s)	APTT(s)	TT(s)	Fib(g/L)
5	62	12.38±0.11	27.82±3.24	15.73±1.61	3.01±0.32
10	60	11.97±0.29	27.19±2.95	15.89±1.99	3.14±0.21
15	63	12.11±0.24	26.85±1.98	15.66±1.22	2.97±0.14

2.3 不同条件下制备的乏血小板血浆的凝血 4 项检测结果比较 标本经 3 000 r/min 离心 15 min 与经 4 000 r/min 离心 5 min 所制备的乏血小板血浆的检测结果显示,PT、APTT、TT、Fib 的检测结果显示差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 4。

表 4 不同条件下制备的乏血小板血浆的凝血 4 项检测结果比较($\bar{x}\pm s$)					
标本类型	例数 (<i>n</i>)	PT(s)	APTT(s)	TT(s)	Fib(g/L)
3 000 r/min, 15 min	60	10.73±2.15	26.38±2.15	14.84±1.25	3.10±0.38
4 000 r/min, 5 min	60	10.56±2.25	25.98±2.13	14.62±1.08	3.12±0.43
<i>t</i>		0.675	0.574	0.689	0.250
<i>P</i>		0.554	0.589	0.523	0.734

2.4 不同储存时间对凝血 4 项检测的结果比较

2.4.1 室温环境下储存 1、2、4 h 检测结果比较 标本在室温(20~25℃)环境下储存 1 h 后检测凝血 4 项结果与立即送检标本比较,差异无统计学意义($P>0.05$);储存 4 h 后 APTT 检测结果显著长于 2 h 标本($P<0.05$),但 TT 明显短于 2 h 标本($P<0.05$);PT 和 Fib 检测结果与储存 2 h 标本比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 5。

表 5 室温下储存不同时间对凝血 4 项检测的结果比较($\bar{x}\pm s$)

储存时间(h)	例数(n)	PT(s)	APTT(s)	TT(s)	Fib(g/L)
0	55	12.08±0.32	27.12±3.54	15.03±1.41	3.05±0.32
1	57	12.17±0.44	26.65±1.68	15.36±1.17	3.12±0.26
2	53	11.85±0.37	26.58±3.15	15.29±1.64	3.01±0.33
4	50	12.02±0.41	38.22±7.56	10.16±3.75	3.15±0.29

2.4.2 4℃环境下在不同时间检测的结果比较 标本在 4℃环境下储存 1、2、4 h 后检测凝血 4 项结果比较,差异无统计学意义($P>0.05$),立即送检与储存不同时间后的检测结果比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 6。

表 6 4℃环境下储存不同时间对凝血 4 项检测的结果比较($\bar{x}\pm s$)

储存时间(h)	例数(n)	PT(s)	APTT(s)	TT(s)	Fib(g/L)
0	55	12.08±0.32	27.12±3.54	15.03±1.41	3.05±0.32
1	56	12.12±0.28	26.95±2.74	15.26±1.58	3.16±0.34
2	58	12.25±0.35	27.54±2.85	14.88±1.82	3.27±0.27
4	53	12.14±0.29	26.62±4.16	15.42±2.15	3.08±0.39

2.5 溶血和未溶血标本对凝血 4 项检测的结果比较 溶血标本的 PT 和 APTT 检测结果明显短于未溶血标本($P<0.05$);溶血标本的 TT 检测结果明显长于未溶血标本($P<0.05$);溶血标本的 Fib 检测结果与未溶血标本比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 7。

表 7 溶血与未溶血标本对凝血 4 项检测的结果比较($\bar{x}\pm s$)

标本类型	例数(n)	PT(s)	APTT(s)	TT(s)	Fib(g/L)
溶血标本	56	9.90±0.82	19.62±3.71	22.31±4.32	2.83±0.52
未溶血标本	55	12.34±0.35	26.81±2.95	15.87±0.63	2.95±0.43
<i>t</i>		3.690	8.350	4.146	0.850
<i>P</i>		0.045	0.027	0.034	0.417

3 讨 论

凝血的标本采集和前期处理过程均直接影响实验结果,且是凝血 4 项检测结果准确性和可靠性的质量控制关键。ISO15189《医学实验室质量和能力的专项要求》阐明,准确、可靠的检测结果来源于分析前、分析中、分析后的质量控制^[2]。临床实验室质量控制一般由检验科完成,但由于影响因素多、控制难度大容易出现问 题,其已成为医院质量控制管理中的薄弱环节。有学者对急诊检验误差发生的种类和发生率

进行统计分析,发现约 60% 的检验误差发生在检验前,护理人员对标本采集和运送是分析前质量控制的第 1 个重要环节。本研究对 859 例临床标本进行分析,结果显示有 177 例标本出现异常,其中采血量比例不当 121 例,占 68.36%;离心致标本溶血 56 例,占 31.64%。本研究采血量异常结果表明,采血量小于 2.0 mL 的标本和采血量大于 2.0 mL 的标本检测 PT、APTT、TT 结果均明显长于重新采血合格的标本($P<0.05$),Fib 检测结果短于重新采血合格的标本($P<0.05$)。说明采血量不足或过量都会影响凝血 4 项检测结果的准确性,与王茂彩等^[3]报道相符。

凝血 4 项检测采用血浆作为标本,所以采集后的标本须经离心处理,《全国临床检验操作规程(第 4 版)》要求,须采用“低速离心”,即 3 000 r/min 离心 15 min 后分离血浆标本,并立即检测^[4]。本研究采用增加离心速度减少离心时间(4 000 r/min 离心 5 min)来制备乏血小板血浆,2 种离心条件得到的乏血小板血浆,其凝血 4 项检测结果比较,差异无统计学意义($P>0.05$)与王贞等^[5]研究结果有差异。本研究结果证实,可采用 4 000 r/min 离心 5 min 替代 3 000 r/min 离心 15 min 制备乏血小板血浆,缩短标本处理时间,可更快地向临床提供准确的凝血检验报告,尤其是紧急手术患者的凝血检查。

丛玉隆等^[6]认为,血液离体即开始变化,随存放方式和时间的不同,凝血因子逐渐消耗而导致检验结果不同。美国临床和实验室标准协会(CLSI)推荐血液标本应在室温(20~25℃)保存条件下 2 h 内完成检测,4℃保存 4 h 内完成,若 4 h 内未能完成检测,应将血浆标本置低温保存(-70~-20℃)。检测前将血浆于 37℃下快速融化即可。本研究结果显示,标本经 5、10、15 min 后不同离心时间检测 PT、APTT、TT、Fib 结果比较,差异无统计学意义($P>0.05$),与有关研究一致^[7-9]。本研究结果显示,标本在室温(20~25℃)环境下储存 1 h 后检测凝血 4 项结果与立即送检比较,差异无统计学意义($P>0.05$);标本储存 4 h 后检测 APTT 显著长于储存 2 h 标本($P<0.05$),TT 明显短于储存 2 h 标本($P<0.05$);PT 和 Fib 检测结果与储存 2 h 标本比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。标本在 4℃环境下储存 1、2、4 h 后检测凝血 4 项结果比较,差异无统计学意义($P>0.05$),立即送检与储存不同时间后标本检测结果比较,差异无统计学意义($P>0.05$),提示标本在室温(20~25℃)条件下随储存时间延长,对凝血因子的促凝活性有一定影响,而 4℃环境下储存 4 h 后,检测凝血 4 项结果无影响。

标本发生溶血是临床生化检验较常见的影响因素,也是凝血 4 项检测结果最常见的影响因素之一^[10]。溶血是由于采血或离心操作不当等因素使红细胞破裂造成血红蛋白溢出,成熟红细胞破裂后释放出血小板第Ⅲ因子相似凝血活性的磷脂,进而影响凝血 4 项检测结果的准确性^[11]。本研究结果表明,溶血标本检测 PT 和 APTT 结果明显短(下转第 516 页)

综上所述,COPD 急性加重期的向心性 LVH 患者住院期间具有较高的 NIV 使用率和使用时间,且与 NIV 使用时间具有较强的相关性。

参考文献

[1] CHEN C Y, LIAO K M. Chronic obstructive pulmonary disease is associated with risk of chronic kidney disease: a nationwide case-cohort study[J]. Scientific Reports, 2016, 6(3):258-259.

[2] ANDERSON W J, LIPWORTH B J, REKHRAJ S, et al. Left ventricular hypertrophy in COPD without hypoxemia: the elephant in the room? [J]. Chest, 2013, 143(1): 91-97.

[3] VALLABHAJOSYULA S, HADDAD T M, SUNDARA-GIRI P R, et al. Role of B-type natriuretic peptide in predicting in-hospital outcomes in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease with preserved left ventricular function: a 5-year retrospective analysis[J]. J Intensive Care Med, 2016, 88(50):6661-6682.

[4] ASTIN R, KEMP P R, HOPKINSON N S. Renin-angiotensin system blockade: a novel therapeutic approach in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Clin Sci, 2012, 123(8):487-498.

[5] NEILAN T G, BAKKER J P, SHARMA B, et al. T1 measurements for detection of expansion of the myocardial extracellular volume in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Can J Cardiol, 2014, 30(12):1668-1675.

[6] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性

阻塞性肺疾病诊治指南(2013 年修订版) [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2013, 36(4):484-491.

[7] WANG Y Z, ZHAO M L, AND ZHANG L L. Early changes of cardiac structure and function in COPD patients with mild hypoxemia [J]. Chest, 2005, 127(6): 1898-1903.

[8] INOUE Y, KAWAYAMA T, IWANAGA T, et al. High plasma brain natriuretic peptide levels in stable COPD without pulmonary hypertension or cor pulmonale[J]. Internal Medicine, 2009, 48(7):503-512.

[9] ABROUG F, OUANESBESBES L, NCIRI N, et al. Association of left-heart dysfunction with severe exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: diagnostic performance of cardiac biomarkers [J]. Am J Res Care, 2006, 174(9):990-996.

[10] SHORT P M, ANDERSON W J, ELDER D H J, et al. Impact of left ventricular hypertrophy on survival in chronic obstructive pulmonary disease [J]. Lung, 2015, 193(4):487-495.

[11] SMITH B M, KAWUT S M, BLUEMKE D A, et al. Pulmonary hyperinflation and left ventricular mass: the multi-ethnic study of atherosclerosis COPD study [J]. Circulation, 2013, 127(14):1503-1511.

[12] VIZZARDI E, CORDA L, SCIATTI E, et al. Echocardiographic evaluation in subjects with α 1-antitrypsin deficiency[J]. Eur J Clin Invest, 2015, 45(9):949-954.

(收稿日期:2017-07-29 修回日期:2017-10-21)

(上接第 512 页)

于未溶血标本($P<0.05$);溶血标本检测 TT 结果明显长于未溶血标本($P<0.05$);溶血标本检测 Fib 结果与未溶血标本比较,差异无统计学意义($P>0.05$),提示标本溶血可致 PT 和 APTT 缩短,TT 延长,从而导致凝血 4 项检测结果的异常。因此,在标本采集或离心处理过程中应加强标准化操作,避免标本溶血发生。

综上所述,实验室外在因素对实验的准确性十分重要,抗凝比例不合适、室温时间储存过长、标本溶血与否等都是导致检测结果不准确性的主要因素^[12]。因此,检验科在开展凝血实验时,应建立该实验室的标准操作程序,遵循《血浆凝固实验血液标本的采集及处理指南(WS/T 359-2011)》标准,对凝血标本从采集量、离心、储存至送检过程等环节的控制;加强对相关人员的培训、提高其责任心、规范操作流程,均可保证凝血 4 项检测结果的准确性,为临床提供正确依据。

参考文献

[1] 吴园园, 窦琳, 南黎, 等. 凝血四项检测分析前标本采集处理及影响因素[J]. 中国医药指南, 2015, 25(10):209.

[2] 王静, 王伟娟, 郑辉. 凝血四项的影响因素初探[J]. 中国伤残医学, 2015, 23(3):46-47.

[3] 王茂彩, 程茂玲, 王惠玲. 凝血四项采集送检注意事项[J]. 医学前沿, 2014, 4(2):120-122.

[4] 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, 2015:86-88.

[5] 王贞, 靳岩, 马晓露, 等. 改变离心条件制备乏血小板血浆凝血试验结果比较[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(19):2589-2591.

[6] 丛玉隆, 王丁. 当代检验分析技术与临床[M]. 北京:中国科技出版社, 2012:254-256.

[7] 刘志锋, 张耀辉, 李雯丽. 标本离心时间对凝血四项检测结果的影响[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(12):1547-1548.

[8] SMITH C. Results between fresh and once frozen-thawed plasma[J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 2015, 26(1):69-74.

[9] GOSSELIN R C, HONEYCHURCH K, KANG H J, et al. Effects of storage and thawing conditions on coagulation testing[J]. Int J Lab Hematol, 2015, 37(4):551-559.

[10] 柳升东, 李倩. 凝血四项检测结果影响因素的分析[J]. 中外医学研究, 2013, 11(23):84-85.

[11] 王双. 浅谈标本因素对凝血四项检测结果的影响[J]. 当代医药论丛, 2015, 13(11):51-52.

[12] KOMIYAMA Y. Samples in coagulation test[J]. Rinsho Byori, 2015, 63(12):1397-1404.

(收稿日期:2017-07-12 修回日期:2017-09-16)