

• 论 著 •

稀释回归法在脂血标本凝血检测中的应用探讨

彭传梅,高 辉[△],王 杨,刘云芳,徐 敏,程 云,吴彦峰
(昆明市延安医院医学检验科,云南昆明 650051)

摘 要:目的 探讨稀释回归法在脂血标本凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)检测中应用的可行性。方法 随机收集昆明市延安医院 40 例门诊及住院外观正常(无脂血、无黄疸、无溶血)凝血标本,分别检测原血浆和 3 倍、5 倍稀释后血浆的 PT、APTT 两项指标,将稀释前与稀释后两组数据进行线性回归分析,得到各指标的回归方程。另外收集昆明市延安医院门诊及住院外观脂血标本 33 例,根据三酰甘油(TG)的不同浓度分成 3 组,轻度脂血组($1.7\text{ mmol/L} \leq \text{TG} < 11.0\text{ mmol/L}$)12 例,中度脂血组($11.0\text{ mmol/L} \leq \text{TG} < 20.0\text{ mmol/L}$)13 例,重度脂血组($\text{TG} \geq 20.0\text{ mmol/L}$)8 例,检测 3 倍稀释血浆和高速离心后血浆的 PT、APTT 两项指标,并将稀释后结果带入正常凝血标本的回归方程所得结果与高速离心法结果进行比较。结果 正常凝血标本 5 倍稀释血浆绝大部分标本无法检测出结果,所以取 3 倍稀释血浆稀释前后结果进行线性回归分析得到 PT、APTT 的回归方程。3 组脂血标本 3 倍稀释后的 PT、APTT 两项指标经过相应回归方程计算,所得结果与原血浆高速离心后检测结果的差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结论 稀释回归法可以用于临床脂血标本的凝血 PT 和 APTT 检测。

关键词:凝血检测; 脂血标本; 稀释回归法
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.04.026 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)04-0494-03

Application of dilution regression method in the coagulation detection of fat blood samples
Peng Chuanmei, Gao Hui[△], Wang Yang, Liu Yunfang, Xu Min, Cheng Yun, Wu Yanfeng
(Department of Medical Laboratory, Yan'an Hospital of Kunming, Kunming, Yunnan 650051, China)

Abstract: **Objective** To explore the dilution regression method of coagulation detection (PT, APTT) in fat blood samples. **Methods** We collected 40 normal blood coagulation specimens (no fat blood, no jaundice, no hemolysis) in Yan'an hospital of Kunming, then we detected the PT and APTT of the original plasma and 3-fold diluted plasma and 5-fold diluted plasma, then we used the data both of before dilution and diluted to do the linear regression analysis, and finally we got the regression equations of each index. we also collected 33 fat blood samples in Yanan hospital of Kunming, which be divide into three groups through the severity of triglycerides: mild fat blood group ($1.7\text{ mmol/L} \leq \text{TG} < 11.0\text{ mmol/L}$) and moderate fat blood group ($11.0\text{ mmol/L} \leq \text{TG} < 20.0\text{ mmol/L}$) and severe fat blood group ($\text{TG} \geq 20.0\text{ mmol/L}$), then we detected the PT and APTT after 3-fold diluted plasma and high-speed centrifugation plasma, and then we brought diluted results into the normal regression equations and the results were compared with the high-speed centrifugation results. **Results** Because most of the 5-fold diluted plasma can not get the effective results, so we use 3-fold diluted plasma to get the regression equations. The results of 3-fold diluted plasma was calculated by the regression equations, which then compared with high-speed centrifugation results, after the analysis of statistical software, two results had not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusion** Dilution regression method can be used to detect the fat blood samples in the clinical coagulation detection.

Key words: blood coagulation detection; fat blood samples; dilution regression method

凝血功能检测是临床最常用的止血与血栓筛查试验,主要项目包括凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原等,在临床应用已日益广泛,特别是在止血与血栓性疾病的诊断、溶栓与抗凝治疗的监测、术前检查及术后监测中都有重要的临床意义^[1]。光学法全自动凝血分析仪是目前血栓与止血实验室中最常用的设备,其具有结构简单、灵敏度高的优点,为临床各种疾病的诊断、治疗及监测提供了简便、迅速、准确、可靠的监测平台,但是其最大缺点是易受特异血浆的干扰,尤其是易受血浆浊度的干扰^[2]。在实验室工作中经常遇到标本脂血的情况,常规离心无法消除其血浆混浊程度,导致凝血仪检测结果不准确或部分项目根本无法检测出结果^[3],解决此问题最为可靠的方法是高速离心法^[4],但一般血栓与止血实验室没有条件配备高速离心机,导致实验室工作人员无法在短时间内将准确有效的检测结果报告给临床,不利于临床快速诊疗疾病的需要。基层实验室

急需找出方便、快捷、准确的方法解决这一问题,因此本文拟探讨稀释回归法是否可以代替高速离心法在脂血标本凝血 PT 和 APTT 检测中得到普遍应用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集昆明市延安医院 2014 年 10 月至 2015 年 3 月门诊及住院外观正常(无脂血、无黄疸、无溶血)凝血标本 40 例,其中男 21 例,女 19 例,平均 45 岁。外观脂血标本 33 例,男 18 例,女 15 例,平均 37 岁。脂血标本另采取 3 mL 静脉血用于检测血清三酰甘油(TG),根据 TG 的浓度不同将脂血标本分为 3 组,轻度脂血组($1.7\text{ mmol/L} \leq \text{TG} < 11.0\text{ mmol/L}$)12 例,中度脂血组($11.0\text{ mmol/L} \leq \text{TG} < 20.0\text{ mmol/L}$)13 例,重度脂血组($\text{TG} \geq 20.0\text{ mmol/L}$)8 例。

1.2 仪器与试剂 日本 Sysmex 公司 CS5100 全自动血凝分析仪,美国 Beckman-coulter 公司 AU5421 全自动生化分析仪,湖南湘仪 TG16-WS 台式高速离心机,湖南湘仪 TDZ5-WS 多

管架自动平衡离心机。德国 Siemens 公司 PT、APTT 和 OVB 稀释液及仪器配套质控品。日本积水医疗株式会社 TG 试剂及仪器配套质控品。

1.3 方法 试验前均进行室内质量控制,质控在控后开始试验。40 例正常凝血标本以 3 500 r/min 离心 5 min,先各取 100 μ L 血浆,分别加入 200 μ L 和 400 μ L OVB 稀释液制成 3 倍和 5 倍稀释血浆,与剩余血浆同时用 CS5100 检测 PT 和 APTT。因 5 倍稀释后血浆绝大部分标本无法检测出结果,所以采用稀释前及 3 倍稀释后血浆检测结果进行线性回归分析,求出各指标相应的回归方程。33 例脂血标本以 3 500 r/min 离心 5 min,吸取 100 μ L 血浆,加入 200 μ L OVB 缓冲液 3 倍稀释。剩余血浆以 10 000 r/min 离心 10 min,弃去上层乳糜层,取下层清亮血浆与 3 倍稀释血浆同时用 CS5100 检测 PT 和 APTT。将 3 倍稀释后检测结果带入正常凝血标本的回归方程换算成稀释前原血浆结果,与高速离心后检测结果进行比较。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件进行统计学分析。计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 正常凝血标本稀释前后结果线性相关 40 例正常凝血标本稀释前和 3 倍稀释后 PT 和 APTT 检测结果散点图以 PT 和 APTT 稀释后结果为横坐标,稀释前结果为纵坐标,绘制散点图,结果显示 PT 和 APTT 稀释前后检测结果成线性相关,见图 1、2(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

2.2 正常凝血标本稀释法回归方程 应用 SPSS17.0 统计分析软件对正常凝血标本 PT 和 APTT 稀释前后的检测结果进行线性回归分析,分别得到如下回归方程(Y 表示稀释前结果, X 表示稀释后结果),PT: $Y=0.426X+3.049$ ($r=0.978, P=0.000$);APTT: $Y=0.285X+4.398$ ($r=0.897, P=0.000$)。

表 1 轻度脂血组高速离心法和稀释回归法 PT 和 APTT 结果比较 ($n=12, \bar{x}\pm s$)

项目	高速离心法	稀释回归法	t	P
PT(s)	10.533 $\pm$ 0.790	10.891 $\pm$ 1.898	0.603	0.553
APTT(s)	33.600 $\pm$ 9.965	28.701 $\pm$ 12.430	1.065	0.298

表 2 中度脂血组高速离心法和稀释回归法 PT 和 APTT 结果比较 ($n=13, \bar{x}\pm s$)

项目	高速离心法	稀释回归法	t	P
PT(s)	11.331 $\pm$ 2.573	11.829 $\pm$ 2.661	0.485	0.632
APTT(s)	32.277 $\pm$ 7.027	30.942 $\pm$ 9.696	0.402	0.691

表 3 重度脂血组高速离心法和稀释回归法 PT 和 APTT 结果比较 ($n=8, \bar{x}\pm s$)

项目	高速离心法	稀释回归法	t	P
PT(s)	16.112 $\pm$ 7.083	17.183 $\pm$ 7.211	0.300	0.769
APTT(s)	35.488 $\pm$ 10.495	30.761 $\pm$ 10.096	0.918	0.374

2.3 脂血标本检测结果 33 例脂血标本 3 倍稀释后的 PT 和 APTT 结果分别按照上述回归方程换算成稀释前原血浆结果,并与原血浆高速离心后的检测结果进行独立样本 t 检验。结

果显示轻度脂血组、中度脂血组、重度脂血组高速离心法和稀释回归法 PT 和 APTT 检测结果均无明显变化,差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。结果见表 1~3。

3 讨 论

临床工作中,脂血标本典型表现是外观血浆为白色或乳白色,检测血脂浓度会异常增高,其主要成分是乳糜微粒和极低密度脂蛋白,常规离心后其乳糜成分仍然悬浮于血浆中^[5]。散射比浊法是目前光学法全自动血凝分析仪所采用的主要方法之一,因其原理的特殊性导致血浆中的乳糜成分会干扰检测,造成检测结果的偏差^[6]。由于血脂严重程度的不同,导致结果偏差的程度未知,严重脂血标本甚至检测不出结果导致实验室人员误报大于检测上限,从而严重影响临床医生对疾病的判断^[7]。

脂血标本多由于患者饭后尤其是摄入过多油脂性食物后抽血所致,短时间内无法消除,对于急诊或术前患者必须由实验室工作人员迅速将标本进行去脂处理后将检测结果报告给临床。在日常工作中,遇到脂血标本时,常用以下几种方法来处理:一种是标本高速离心^[3]后再检测,结果准确,可信度高,是最好的解决办法。但一般的中小型医院止血与血栓实验室没有条件配备高速离心机,限制了高速离心法的广泛应用^[4]。另一种处理方法是利用滤器过滤血浆后再进行检测,但滤器价格较贵,且操作繁琐,也不利于基层医院广泛应用^[8]。还有一种处理方法是传统手工法,但操作过程繁琐,结果也因人而因素的差异导致可信度不高^[9]。为了尽可能简便地消除脂血干扰,短时间内为临床提供准确的检测报告,结合本实验室实际情况,研究者拟建立稀释回归法来解决这一问题,并与高速离心法进行比较,从而明确稀释回归法临床应用的可行性及应用范围。

本研究结果显示,正常凝血标本 PT 和 APTT 稀释前后的检测结果均具有较高度度的线性相关性,其相关系数分别为 0.978 和 0.897。由此建立了标准的正常标本稀释前后的回归方程。脂血标本试验验证表明,轻度、中度、重度脂血组高速离心法和 3 倍稀释后结果经回归方程再换算成原血浆的 PT 和 APTT 检测结果经统计学分析差异均无统计学意义 ($P>0.05$),证明稀释回归法可以替代高速离心法,在轻度、中度、重度脂血标本凝血 PT 和 APTT 检测中得到普遍应用,能满足目前临床绝大部分术前检查、止血与血栓疾病诊断、溶栓与抗凝治疗监测的需求。但是,需注意的是日常工作中更换不同批号的试剂仪器重新定标后,回归方程也需要重新制定才能运用^[10]。

参考文献

[1] 从玉隆. 关于卫生部出血凝血时间操作规程《通知》的理解[J]. 中华检验医学杂志, 2001, 24(1): 183-185.

[2] 廖萍, 周文杰, 张霞, 等. Sysmex CS5100 全自动血凝仪抗干扰性能研究[J]. 血栓与止血, 2015, 21(1): 5-9.

[3] 李宗杰, 陈北方, 王广兰, 等. 脂肪乳对两种凝血检测系统检测结果的影响比较[J]. 实用医药杂志, 2014, 31(9): 785-786.

[4] 陈建芸, 石凌波, 任峰, 等. 高速离心法消除高脂血对凝血酶原时间测定的影响[J]. 检验医学, 2005, 20(4): 401-402.

[5] 郭斌, 龙春燕, 谢宁, 等. 不同浓度脂质对 PT 及 APTT 凝血结果的影响[J]. 重庆医学, 2012, 41(28): 2973-2975.

[6] 郑志友, 徐玉兵, 杨柳生, 等. 溶血和脂血对凝血指标检测的影响因素探讨[J]. 临床输血与检测, 2013, 15(1): 25-27.

[7] 张健, 厉淑青. 凝血因子检测工作中两种处理乳糜血方法的评价[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(13): 1724-1725. (下转第 498 页)

2.4 抗类似物干扰 将表 3 浓度的 TSH 类似物分别加入 TSH 校准品 C₀ 中,测得的 TSH 浓度均小于 0.2 μ IU/mL, 结果见表 3(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

2.5 抗内源性干扰 血清内源物对 TSH 测定结果的干扰介于-6.91%~8.60%。测试结果见表 4。

2.6 精密度 使用 TSH 试剂盒测试 3 个混合血清样本和 2 个质控品,每天在 2 个不同时间段分别测试 2 次,持续 20 d 后共得到 80 个测试数据,测试结果见表 5。TSH 总不精密度介于 3.24%~5.34%。

2.7 校准一致性 使用 2 批试剂盒、2 批校准品和 3 台分析仪组成 3 个组合,测定低、高值质控的结果见表 6(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”),3 个组合的校准一致性介于-6.58%~5.26%。

3 讨 论

TSH 的检测通常是临床诊断甲状腺功能紊乱的首选指标。血液中游离甲状腺激素含量的轻微改变,都会通过负反馈引起 TSH 的较大变化。因此,TSH 的检测可以灵敏、特异地反映甲状腺功能,是评估下丘脑-垂体-甲状腺轴动态平衡的重要早期参数^[2-5]。

临床检验过程中,为采用通用指南对疾病进行诊断和治疗,理想情况下要求不同检测系统对临床样本检验结果一致并具有可比的参考范围。实现检测结果一致性,对逐步推行临床检验结果互认,提高医疗服务质量具有重要价值。2005 年,IFCC 成立甲状腺功能标准化工作组。2012 年,该组织升格为甲状腺功能标准化委员会,并在全球召集更多参与者推动一致性研究^[4]。IFCC 开展 TSH 一致性研究已达数年,目前正采用尽可能多的检测系统测试具有互换性的真实人血清样本,用所有检测结果的均值(APTM)替代参考测量程序实行一致性检测^[6-8]。

对于 TSH 这样具有重要临床价值的待测物,开展一致性研究必须获取可靠临床样本。这要求样本临床背景信息清晰可查,浓度分布涵盖特定范围并包含对临床判断有意义的点。样本要包括健康人样本、患者样本及相关的可能影响测试结果的干扰样本^[9]。有研究曾使用 9 个制造商的 16 种 TSH 免疫试剂盒,对 40 个血清样本进行检测^[7-10]。结果表明,16 种试剂盒的批内精密度和总精密度分别为 1.5%~5.5% 和 2.5%~7.7%。其中 13 种试剂盒检测结果与 APTM 相差小于 10%,在中间浓度范围(0.05~5.00 mIU/L),大部分试剂盒比对较好。但也有少数 TSH 试剂盒在低浓度范围(0.03~0.05 mIU/L)相对于 APTM 有明显负偏差。在有临床价值的浓度范围(<0.05 mIU/L 和 >5.00 mIU/L),一种试剂盒表现出高达-21%~-33% 的负偏差,另一种试剂盒则表现出 8%~12% 的正偏差。这一结果表明,不同的 TSH 检测试剂盒间测试结果差异明显。通过重新校准,不同检测系统的 TSH 测值分布离散性减少,中间浓度范围的精密度由 9.1% 改善到

5.9%。由此可见,不同 TSH 检测试剂盒可通过一组患者血清样本进行校准,实现检测一致性。

通过对迈瑞全自动化学发光免疫检测系统 CL2000i TSH 试剂盒的测定,其最低检测限、功能灵敏度、线性、分析特异度、抗内源性干扰、精密度和校准一致性均满足行业标准和临床使用需求,满足 IFCC 检测系统方法学比对第 1 期研究的性能要求,为 TSH 项目的 IFCC 检测系统国际溯源一致性第 2 期研究奠定了基础。

参考文献

[1] Van Uytfgange K, Linde A, Thienpont LM. A “Step-Up” approach for harmonization[J]. Clin Chim Acta, 2014, 432(1): 62-67.

[2] Surks MI, Chopra IJ, Mariash CN, et al. American thyroid association guidelines for the use of laboratory tests in thyroid disorders [J]. JAMA, 1990, 263(1): 1529-1532.

[3] Keffer JH. Preanalytical considerations in testing thyroid function [J]. Clin Chem, 1996, 42(1): 125-135.

[4] Ladenson PW. Optimal laboratory testing for diagnosis and monitoring of thyroid nodules, goiter and thyroid cancer [J]. Clin Chem, 1996, 42(1): 183-187.

[5] Nicoloff JT, Spencer CA. The use and misuse of the sensitive thyrotropin assays [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1990, 71(1): 553-558.

[6] Van Houcke SK, Van Aelst S, Van Uytfgange K, et al. Harmonization of immunoassays to the all-procedure trimmed mean-proof of concept by use of data from the insulin standardization project [J]. Clin Chem Lab Med, 2013, 51(5): 103-105.

[7] Thienpont LM, Van Houcke SK. Traceability to a common standard for protein measurements by immunoassay for in-vitro diagnostic purposes [J]. Clin Chim Acta, 2010, 411(23): 2058-2061.

[8] Thienpont LM, Van Uytfgange K, Van Houcke S. Standardization activities in the field of thyroid function tests; a status report [J]. Clin Chem Lab Med, 2010, 48(11): 1577-1583.

[9] Van Houcke SK, Thienpont LM. “Good samples make good assays” the problem of sourcing clinical samples for a standardization project [J]. Clin Chem Lab Med, 2013, 51(5): 967-972.

[10] Thienpont LM, Van Uytfgange K, Beastall G, et al. Report of the IFCC Working Group for Standardization of Thyroid Function Tests; part 1: thyroid-stimulating hormone [J]. Clin Chem, 2010, 56(6): 902-911.

(收稿日期: 2015-11-02)



(上接第 495 页)

[8] 何亚萍, 乔国显, 张国栋, 等. 乳糜血不同前处理方法对光学法凝血指标检测结果的影响 [J]. 现代检验医学杂志, 2013, 28(1): 119-121.

[9] 卢美红, 景蓉蓉. 分析前处理对比浊法凝血仪检测结果的影响 [J]. 海南医学, 2012, 23(18): 80-82.

[10] 柳东升, 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): 83.

(收稿日期: 2015-10-22)

