

· 论 著 ·

溶血和乳糜血对 PT 和 APTT 测定干扰的评价*

张海涛¹, 赵宝鹤², 张吉奎¹, 杨亚轩¹, 高文育¹, 徐福海¹, 郑福和¹, 于水江¹, 王华新^{1△}

(1. 河北省黄骅开发区博爱医院, 河北沧州 061100; 2. 河北省唐山市丰润区疾病预防控制中心 063000)

摘要:目的 依据美国临床实验室标准化协会(CLSI)EP7-A2 文件评价溶血和乳糜血对凝血酶原时间(PT)和活化部分凝血活酶时间(APTT)测定的干扰。方法 按照“配对差异”方案,配置含不同浓度血红蛋白(Hb)和不同浊度的乳糜的正常及高值 PT 和 APTT 标本,进行干扰评价试验。结果 正常水平的 PT 和 APTT 不受 Hb 和乳糜浊度的干扰。当 $Hb \geq 2.55$ g/L 时, Hb 对高值 APTT 测定产生负干扰,并呈线性函数关系, $Hb \geq 10.20$ g/L 时对高值 PT 有干扰;当乳糜浊度 ≥ 745 FTU 时,乳糜血对高值 PT 测定产生正干扰,呈线性函数关系;高值 APTT 测定不受乳糜血干扰。结论 中度溶血对高值 APTT 干扰明显,重度溶血对高值 PT 测定有干扰;中度乳糜血对高值 PT 干扰明显;正常水平的 PT 和 APTT 不受溶血和乳糜血的干扰,高值 APTT 不受乳糜血干扰。

关键词:溶血; 乳糜; 凝血酶原时间; 活化部分凝血活酶时间; 干扰试验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.01.012

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)01-0032-03

Evaluation the interference of PT and APTT on hemolysis and chyle blood*

ZHANG Haitao¹, ZHAO Baohe², ZHANG Jikui¹, YANG Yaxuan¹, GAO Wenyu¹, XU Fuhai¹,ZHENG Fuhe¹, YU Shuijiang¹, WANG Huaxin^{1△}

(1. Boai Hospital of Huanghua District, Cangzhou, Hebei 061100, China; 2. Fengrun District Center of Disease Control and Prevention, Tangshan, Hebei 063000, China)

Abstract: Objective To investigate the interference effect of prothrombin time(PT) and activated partial thromboplastin time (APTT) on hemolysis and chyle blood according to EP7-A2 document from the Clinical Laboratory Standards Institute(CLSI). **Methods** Different concentrations of hemoglobin(Hb) and chyle(Chy) plasma of normal and high levels prothrombin(PT) and activated partial thromboplastin time(APTT) were tested according to the "paired difference" scheme. **Results** The normal level of PT and APTT revealed insignificantly interference by Hb or Chy. A negative interference and a linear function relationship were found between Hb and high level of APTT, especially when $Hb \geq 2.55$ g/L. However, this circumstances had happened in the high level of PT only when $Hb \geq 10.20$ g/L. Besides, a significant positive interference and a linear function relationship between Chy and high level of PT were found, especially when $Chy \geq 735$ FTU. Interestingly, no significant interference effect was found between high level of APTT and Chy. **Conclusion** Moderate hemolysis has a significant interference of high level APTT. Severe hemolysis and moderate Chy interference the high value of PT obviously. Normal level of PT and APTT showed on interference effect on hemolytic and Chy. Meanwhile, the high level of APTT showed on interference effect on Chy.

Key words: hemolysis; chyle blood; prothrombin time; activated partial thromboplastin time; interference testing

凝血试验是临床实验室最常见的检测项目之一,检验者在接受溶血或乳糜血标本时因怀疑对凝血试验产生干扰而拒收标本,护理人员因需重新采集标本而遭受患者抱怨,医生因延误报告时间而贻误抢救治疗最佳时机而危及患者生命。这一系列问题给医生、护理、检验人员造成许多麻烦甚至医疗纠纷。本研究依据美国临床实验室标准化协会(CLSI)EP7-A2 文件,评估溶血和乳糜血对凝血酶原时间(PT)和活化部分凝血活酶时间(APTT)测定的干扰,为相关人员解决此类问题提供帮助。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院门诊健康体检者标本。全血用 109 mmol/L 枸橼酸钠 1:9 抗凝,按照凝血试验标本 SOP 要求进行处理,要求血浆外观无溶血、黄疸、浑浊。收集正常 PT 和

APTT 混合新鲜血浆约 40 mL,分为 2 管。其中 1 管用生理盐水稀释为异常高值 PT 和 APTT 标本。

1.2 仪器与试剂 ACL TOP500 全自动凝血分析仪,检测原理为凝固法。PT 和 APTT 试剂及校准品均为原装配套,PT 和 APTT 批号分别为 N0355377、N0355356;正常和高值质控品购自伯乐公司,批号为 14491、14492;A-Plus 干扰试剂盒购自 Sysmex 公司,批号 ZS4003。

1.3 方法

1.3.1 批内精密度 按照 CLSI EP5-A2 文件进行精密度评价^[1]。PT、APTT 正常和高值 2 种水平混合新鲜血浆标本,在 1 d 内每批间隔重复测试 10 次,按照 EP5-A2 方案剔除离群值,计算均值(\bar{x})、标准差(s)、变异系数(CV%)。根据 WS/T406-2012《临床血液学检验常规项目分析质量要求》规定,

* 基金项目:河北省卫生和计划生育委员会指令性课题(1120140226)。

△ 通信作者, E-mail: wanghuaxin004@163.com。

PT、APTT 批内最大允许 CV% 分别为 3.0%、4.0%。

1.3.2 配对差异试验 标本准备:参考 CLSI EP7-A2 文件,以 PT 和 APTT 正常和高值血浆作为基础标本;按照 A-Plus 试剂盒要求复溶血红蛋白(Hb)、乳糜干扰试剂和空白液,融溶后干扰物 Hb 为 51 g/L,乳糜为 14 900 FTU;分别用基础标本稀释复融后的 Hb 和乳糜干扰试剂和空白液,稀释后 Hb 浓度为 10.2 g/L,乳糜浊度为 2 980 FTU;将 PT、APTT 正常含 Hb 干扰试剂记作 A1,PT、APTT 正常含 Hb 空白液记作 a1,PT、APTT 高值含 Hb 干扰试剂记作 B1,PT、APTT 高值含 Hb 空白液记作 b1;将 PT、APTT 正常含乳糜干扰试剂记作 C1,PT、APTT 正常含乳糜空白液记作 c1,PT、APTT 高值含乳糜干扰试剂记作 D1,PT、APTT 高值含乳糜空白液记作 d1。将 A1-a1、B1-b1、C1-c1、D1-d1 配对按照一定比例稀释,得到稀释后 Hb 浓度为 0.00、0.31、0.63、1.25、2.55、5.10、10.20 g/L 的 14 份标本,乳糜系列浊度为 0.00、93.10、186.25、372.50、745.00、1 490.00、2 980.00 FTU 的 14 份标本。

1.3.3 确定重复测定次数 计算某浓度水平可接受的最大允

许干扰值(d_{max})与批内标准差(s)比值,查 d_{max}/s 重测对应表^[1]。根据 CLIA'88 规定,PT、APTT 最大总误差为 10%,PT、APTT 最大干扰值 d_{max} = 基础标本 PT(APTT) × 10%。 d_{obs} 即干扰值,是测试标本均值与基础标本均值之差。

1.3.4 干扰效应试验 按照交互顺序检测 28 个样品,共测定 3 次。分析检测结果,若 PT、APTT 测定结果与基础标本相比相对偏倚超过 10%,则判断为产生干扰效应。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 精密度 通过 ACL TOP500 全自动血凝分析仪日内精密密度以及根据检测结果计算 d_{max} 和 d_{max}/s 。结果显示,ACL TOP500 全自动血凝分析仪检测 PT、APTT 精密度符合 WS/T406-2012《临床血液学检验常规项目分析质量要求》规定批内最大允许 CV% 分别为 3.0%、4.0%。见表 1。

表 1 ACL TOP500 全自动血凝分析仪日内精密密度及 d_{max}/s (n=10)

分组	PT					APTT				
	\bar{x}	s	CV%	d_{max}	d_{max}/s	\bar{x}	s	CV%	d_{max}	d_{max}/s
正常	11.55	0.18	1.52	1.15	9.61	29.80	0.20	0.66	2.98	14.9
高值	28.10	0.30	1.01	2.81	9.36	78.80	0.85	1.07	7.88	9.27

表 2 Hb 干扰 PT 测定结果 ($\bar{x} \pm s$)

Hb 浓度 (g/L)	PT(s)		APTT(s)	
	正常	高值	正常	高值
0.00	11.60 ± 0.00	28.15 ± 0.27	29.80 ± 0.50	77.60 ± 1.70
0.31	11.70 ± 0.01	28.60 ± 0.18	29.90 ± 0.00	74.90 ± 0.14
0.63	11.70 ± 0.01	28.30 ± 0.00	29.60 ± 0.35	72.15 ± 1.29
1.25	11.65 ± 0.02	28.05 ± 0.07	30.55 ± 1.20	72.05 ± 1.32
2.55	11.70 ± 0.00	27.45 ± 0.47	31.05 ± 0.60	69.30 ± 0.85
5.10	11.20 ± 0.01	26.85 ± 0.27	30.30 ± 0.00	68.40 ± 1.56
10.20	11.00 ± 0.01	25.20 ± 0.14	30.40 ± 1.27	67.20 ± 1.13

2.2 配对差异试验 从表 1 可知,正常及高值 PT、APTT 最小 d_{max}/s 为 9.27,经查表^[1],标本重复次数为 3 次。Hb 和乳糜对 PT 和 APTT 正常值及高值标本干扰试验检测结果见表 2、3,干扰效应分析结果见表 4。从表 4 可知,当 Hb ≥ 10.20 g/L 时,高值 PT 相对偏倚大于 10%,当 Hb ≥ 2.55 g/L 时,高值 APTT 相对偏倚大于 10%;当乳糜浊度 ≥ 745 FTU 时,高值 PT 相对偏倚大于 10%。正常 PT 和 APTT 在 Hb 0.31 ~ 10.20 g/L 和乳糜浊度 93.10 ~ 2 980.00 FTU 相对偏倚均小于 10%。按照判断原则,中度溶血对高值 APTT 干扰明显,重度溶血对高值 PT 测定有干扰;中度乳糜血对高值 PT 干扰明显。正常水平的 PT 和 APTT 不受溶血和乳糜血的干扰,高值 APTT 不受乳糜血干扰。

图 1 和图 2 为 Hb 和乳糜对 PT、APTT 干扰值 d_{obs} 情况示

意图。从图中可以发现,Hb 对高值 APTT 干扰明显并呈下降趋势,乳糜对高值 PT 干扰明显并呈上升趋势。对检测数据进行剂量效应回归分析,结果如下:高值 APTT 与 Hb 浓度线性方程为 $Y = -0.8159X + 73.993$, $R^2 = 0.6573$,表现为负干扰;高值 PT 与乳糜浊度线性方程为 $Y = -0.0024X + 29.357$, $R^2 = 0.9282$,表现为正干扰。

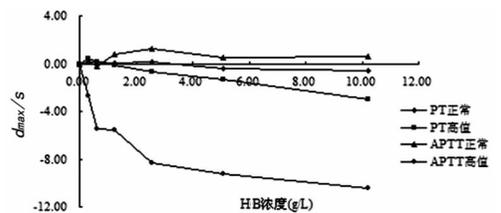


图 1 HB 对 PT 和 APTT 测定干扰 d_{obs} 示意图

表 3 乳糜干扰 APTT 测定结果 ($\bar{x} \pm s$)

乳糜浊度 (FTU)	PT(s)		APTT(s)	
	正常	高值	正常	高值
0.00	11.40 ± 0.01	28.20 ± 0.00	29.50 ± 0.14	80.55 ± 0.07
93.10	11.55 ± 0.07	29.45 ± 0.49	29.25 ± 0.21	78.65 ± 1.46
186.25	11.50 ± 0.14	29.90 ± 0.42	28.35 ± 0.49	79.30 ± 1.26
272.50	11.50 ± 0.14	30.55 ± 0.28	28.40 ± 0.99	77.60 ± 1.56
745.00	11.40 ± 0.00	31.40 ± 0.85	29.05 ± 0.21	76.30 ± 0.14
1 490.00	11.75 ± 0.07	33.90 ± 0.21	28.75 ± 0.35	79.50 ± 1.82
2 980.00	12.20 ± 0.14	35.85 ± 0.37	28.70 ± 0.28	79.80 ± 1.83

表 4 Hb 和乳糜干扰效应分析结果

Hb 浓度 (g/L)	相对偏倚 (%)				乳糜浊度 (FTU)	相对偏倚 (%)			
	PT		APTT			PT		APTT	
	正常	高值	正常	高值		正常	高值	正常	高值
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
0.31	0.86	1.60	0.34	-3.48	93.10	1.32	4.43	-0.85	-2.36
0.63	0.86	0.53	-0.67	-7.02	186.25	0.88	6.03	-3.90	-1.55
1.25	0.43	-0.36	2.52	-7.15	272.50	0.88	8.33	-3.73	-2.42
2.55	0.86	-2.49	4.19	-10.70	745.00	0.00	11.35	-1.53	-2.17
5.10	-3.45	-4.62	1.68	-11.86	1 490.00	3.07	20.21	-2.54	-1.30
10.20	-5.17	-10.48	2.01	-13.40	2 980.00	7.02	27.13	-2.71	-0.93

注:相对偏倚 (%)=(加入干扰物测定值-未加干扰物测定值)/未加干扰物测定值×100%。

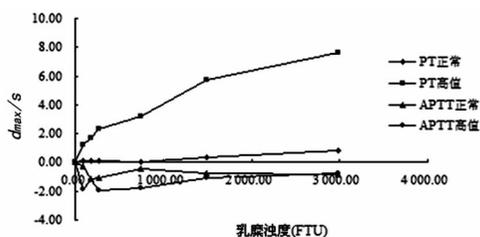


图 2 乳糜对 PT 和 APTT 测定干扰 d_{obs} 示意图

3 讨 论

PT 和 APTT 分别是筛查外源性和内源性凝血机制的常用项目,在临床中应用广泛。ACL TOP500 全自动血凝分析仪是经加入抗凝血浆中缺乏的凝血因子如组织因子、钙离子和磷脂等,启动凝血机制,产生大量凝血酶激活纤维蛋白原,形成纤维蛋白凝块,仪器采用散射比浊法检测纤维蛋白产生时间与标准曲线相比,得出检测结果^[2]。

CLSI 规定凝血试验标本应避免溶血^[3]。当游离 Hb 超过 0.3 g/L 时,肉眼可发现血清或血浆颜色发生变化,称之为溶血^[4]。Laga 等^[4]和 Arora 等^[5]采用组织均质器破坏红细胞或用注射器针头物理机械溶血等方法,发现溶血对正常 PT 和 APTT 测定无干扰或有缩短倾向。本研究结果显示,当发生肉眼可见轻度至重度溶血时,正常 PT 和 APTT 无影响,与 Laga 等^[4]和 Arora 等^[5]得出结果大致相同。

Laga 等^[4]和 Arora 等^[5]在研究中还发现,住院患者 PT 和 APTT 受溶血干扰明显,推测可能因住院患者体内药物等因素影响。为了避免未知因素干扰,本研究采用健康人血浆稀释的方法获取高值异常标本,研究发现中度溶血对高值 APTT 产生明显负干扰,与 Arora 等^[5]研究结果相同而与 Laga 等^[4]研究结果相反。Arora 等^[5]推测溶血干扰机制不仅 Hb 有干扰,红细胞溶解后细胞膜暴露的磷脂与 VIIa 因子竞争凝血活酶活性,但有许多争议^[5]。

Aksungar 等^[6]报道脂类(如胆固醇、三酰甘油等)对凝血试验无干扰。Salvagno 等^[7]在研究餐后凝血功能变化时发现清淡饮食后 APTT 开始缩短,至餐后 2 h 缩短近 7%;PT 在餐后开始延长至 1~2 h 达高峰延长近 3%。本研究显示,乳糜对正常和异常 APTT 无明显干扰但有缩短趋势与 Salvagno 等^[7]不同;中度乳糜血可致高值 PT 延长明显,与 Salvagno 等^[7]报道相似。推测干扰机制是由于乳糜浊度对测定系统产生干

扰所致。

标本管理是检验前质量控制的重要部分,溶血和乳糜血是最为常见的不合格标本,管理层应制定一系列措施尽量减少此类事件发生。但在抢救危急重患者时,如果因不合格标本重新采集而导致延误报告时间,甚至可能导致重大不良事件发生。从研究结果可以发现,溶血和(或)乳糜血对正常 PT 和 APTT 标本的干扰可以忽略,一旦发生此类标本可以进行测定;对凝血机制障碍或缺陷的患者应尽量避免溶血或乳糜血,一旦遇到中度或重度溶血和(或)乳糜血必要测定时,必须与临床沟通,告知溶血缩短 APTT 测定结果,乳糜血延长 PT 测定结果。

参考文献

- [1] 杨有业,张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京:人民卫生出版社,2008.
- [2] 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.
- [3] Arkin CF, Adcock DM, Ernst DJ, et al. Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma based coagulation assays; a approved guidelines[M]. 4th ed. NCCLS document H21-A4, 2003.
- [4] Laga AC, Checes TA, Sweeney JD. The effect of specimen hemolysis on coagulation test results [J]. Am J Clin Pathol, 2006, 126(5): 748-755.
- [5] Arora S, Kolte S, Dhupia JS. Hemolyzed samples should be processed for coagulation studies; the study of hemolysis effects on coagulation parameters[J]. Ann Med Health Sci Res, 2014, 4(2): 233-237.
- [6] Aksungar FB, Eren A, Ure S, et al. Effects of intermittent fasting on serum lipid levels, coagulation status and plasma homocysteine levels[J]. Ann Nutr Metab, 2005, 49(2): 77-82.
- [7] Salvagno GL, Lippi G, et al. Could light meal jeopardize laboratory coagulation tests[J] Biochimica Medica, 2014, 24(3): 343-349.