

- [18] DILLINGER J G, SIDERIS G, HENRY P A, et al. Twice daily aspirin to improve biological aspirin efficacy in patients with essential thrombocytemia[J]. Thromb Res, 2012, 129(1): 91-94.
- [19] BONELLO L, CAMOIN-JAU L, ARQUES S A, et al. Adjusted clopidogrel loading doses according to vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation index decrease rate of major adverse cardiovascular events in patients with clopidogrel resistance: a multicenter randomized prospective study[J]. J Am Coll Cardiol, 2008, 51(14): 1404-1411.
- [20] PAARUP D N, JOHANSSON P I, LONBORG J T, et al. Tailored antiplatelet therapy to improve prognosis in pa-

tients exhibiting clopidogrel low-response prior to percutaneous coronary intervention for stable angina or non-ST elevation acute coronary syndrome[J]. Platelets, 2015, 26(6): 521-529.

[21] SAMARDZIC J, KR PAN M, SKORIC B, et al. Serial clopidogrel dose adjustment after platelet function testing improves outcome of acute coronary syndrome patients undergoing percutaneous coronary intervention with high on-treatment platelet reactivity[J]. J Thromb Thrombolysis, 2014, 38(4): 459-469.

(收稿日期: 2018-01-15 修回日期: 2018-03-25)

• 综 述 •

标本溶血对临床检验项目的影响

左 芳¹, 刘更夫¹综述, 尚小玲^{2△}审校

(鄂东医疗集团黄石市中心医院/湖北理工学院附属医院: 1. 临床输血科; 2. 医学检验科, 湖北黄石 435000)

摘 要: 标本溶血是临床检验质量控制中对检验结果最常见的一种干扰因素, 也是实验室拒收的主要原因之一。因此, 识别并合理处理溶血标本是临床实验室的重要工作, 由于其干扰机制并不单一, 往往是同时发挥着作用, 解决方案应根据干扰机制的侧重点不同采取不同的措施, 但是没有一种方法可以完全消除干扰, 避免溶血干扰最根本的方法是标本的采集、运输、分离、保存等环节的规范化, 以及对标本采集人员、转运人员进行规范化培训。

关键词: 溶血; 干扰; 溶血指数

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2018. 11. 024

文章编号: 1673-4130(2018)11-1367-04

中图法分类号: R446. 1

文献标识码: A

在临床检验工作中常常遇到标本溶血, 是最常见的分析前干扰因素, 其发生率可高达 3. 3%, 占所有不合格标本的 40%~70%。溶血后因细胞内外物质的转移、光学干扰、与试剂成分发生化学反应等机制对检测产生不同程度的干扰, 导致某些检验项目测定结果假性降低或升高, 未识别溶血样本的结果可能导致临床诊疗差错。因此, 识别及处理溶血标本是临床检验工作的重要环节。

1 溶血成因

溶血是指由于标本采集、转运、处理及保存过程中, 因红细胞膜破裂, 细胞内的血红蛋白(Hb)释放到血浆或血清中的过程。判定标本是否溶血, 一般定义是检测血清或血浆中 Hb 的水平, 对血浆或血清中 Hb>0. 3 g/L 称为溶血^[7], 而较严格的定义则认为血浆中 Hb>20 mg/L 或血清中 Hb>50 mg/L 则认为溶血^[1]。主要原因有(1)穿刺操作不当: 止血带扎得过紧, 时间过长; 消毒液未拭干; 抽血不顺; 血肿处采血; 血液注入真空管过快或产生气泡; 输液同侧采血; 标本在混匀过程中力度过大^[2]。(2)分离操作不当: 离心时提速过快。(3)标本容器不合格, 空针质量不

过关, 密封不好造成溶血。(4)水浴时温度过高、冰冻、振荡等各种原因。还有少部分为体内溶血, 可见于获得性、遗传性和医源性疾病, 如严重感染、输血反应、自身免疫性溶血性贫血、血红蛋白病、药物性^[3]。

2 溶血对常见生化检验项目的干扰

血液标本溶血前后对钠(Na⁺)、钾(K⁺)、肌酸激酶(CK)、总蛋白(TP)、肌酸激酶-同工酶(CK-MB)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)及 α-羟丁酸脱氢酶(α-HBDH)与溶血程度具有较大的相关性^[1, 3, 6], 溶血主要从以下几方面对生化检测项目产生不同的干扰。

2.1 红细胞内待测物的水平高于血清或血浆 有文献报道, 红细胞内 K⁺ 水平是血浆的 22 倍, AST 水平是血浆的 38 倍^[4, 7], LDH 水平是血浆的 180 倍^[5], 因此, 轻微的溶血就可导致结果显著增高, LDH 受溶血影响最大。红细胞中的 ALT、AST、酸性磷酸酶(ACP)活性分别是血浆的 7、38、67 倍, 轻度溶血即使 ACP 明显升高, 随着溶血程度的升高, 其影响呈正相关, 受溶血影响仅次于 LDH。

2.2 Hb 对吸光度的干扰 溶血能干扰某些光谱分

析,不同类型的分析方法受 Hb 吸光度干扰的程度不同。Hb 是重氮试剂法测定血清总胆红素(TBIL)的重要干扰因素,溶血后 Hb 可竞争性地抑制胆红素与重氮试剂的偶氮反应,使测定结果低于真值,改良 J-G 法可减小溶血对检测结果的影响。溶血对 TP 测定的干扰则是源于 Hb 与双缩脲试剂发生内源性反应,其反应复合物可使 540 nm 的吸光度增加,导致结果偏高^[8]。由于 Hb 对吸光度的干扰,酶法测定溶血标本的 CO₂ 时容易出现负值,呈负干扰^[8]。另外,有文献报道,溶血对检验项目的影响与所用检测系统有关,溶血对不同检测系统某些项目的干扰不完全一致,因此,实验室在引用文献的结果时应充分考虑所用的检测系统^[9]。

2.3 血细胞成分作为干扰物对检验方法的影响 红细胞内的物质作为干扰物参与待测物质的检测反应而引起的化学性干扰,如谷胱甘肽、Hb 等。谷胱甘肽可与具有氧化性的中间产物(如过氧化氢)发生氧化还原反应从而影响检测结果,如溶血对尿酸(UA)产生负干扰,这主要是由于溶血后红细胞内的谷胱甘肽可竞争检测反应体系中过氧化氢而导致结果假性偏低。Hb 中的 Fe²⁺ 可被某些试剂中的氧化剂氧化为 Fe³⁺,生成黄色的正铁血红素既可引起光学干扰,又因消耗氧化剂,对血清中目标分析物的检测造成负干扰^[8]。

2.4 血细胞成分进入血清(浆)中,因化学反应而引起水平改变 红细胞中不含 CK,含有大量腺苷酸肌酶(AK),它与 ADP 反应产生 ATP,ATP 可参与 CK 的酶偶联法的反应体系,活性是血浆的 15 倍,导致 CK 值假性增高^[6]。如红细胞的破坏达 1% 时,所造成标本溶血时 CK 检验的结果可为实际水平的 212%,ALT 检验的结果可为实际水平^[2]。其次,溶血后磷脂进入血清被血清中磷酸酯酶水解,造成血清无机磷水平显著增高。当 Hb 达到某种水平时则会抑制生物化学反应^[9],导致测定值要低于实际值,Hb 能将 BIL 氧化成胆绿素使血清 BIL 降低^[10]。另外,尿素(Urea)、肌酐(Cr)、钙(Ca²⁺)项目的测定值差异无统计学意义,首先这可能是由于这些试验受溶血影响不大,其次是溶血引起的稀释负干扰与 Hb 增加吸光度的正干扰相互抵消的结果。

3 消除溶血对生化项目干扰的措施

溶血可分为体外溶血与体内溶血两类。两者的主要区别在于前者为血浆或血清 Hb 与 LDH、K⁺ 平行升高,而后者通常是血浆或血清 Hb 与 LDH 升高而 K⁺ 不升高^[11]。在溶血标本的检测中,往往是溶血对检测项目的几种干扰机制同时存在并相互作用,使受干扰的检测项目变得更为复杂。消除干扰的措施根据干扰机制的不同分为以下几种。

3.1 测定溶血指数 传统由人工肉眼判断标本是否溶血,受主观影响大,造成肉眼判断的不稳定性及不

可靠性^[12]。有文献报道干扰大小与 Hb 水平呈一定相关性,并可通过公式予以校正,但由于溶血标本对结果的影响个体差异很大,这种做法不值得推荐^[13]。但随着医学检验技术的不断发展,有文献报道提出,可以通过测定标本的溶血指数(HI),快速准确识别溶血标本,反映不同标本的分析前处理情况,进而提高质量管理水平和保护患者安全,是分析前质量控制后续分析的一个有价值的工具^[14]。

3.2 双波长除干扰 如前所述,由于 Hb 在溶液中呈现特异吸收谱,所以溶血标本中分析物与 Hb 两种组分吸收光谱很容易相互重叠,这时可采用双波长吸收测定法对单个组分进行测定。从理论上分析,使用双波长主要有两个优点:(1)除噪音,可以排除在仪器运行中除被测物以外的一切信号的波动和变化的干扰;(2)除干扰,可以排除各种物质化学反应产生的特异的和非特异的干扰。

3.3 通过二元回归纠正 溶血标本 TP 的测定不仅受 Hb 自身颜色所带来的影响,而且还存在着 Hb 本身同双缩脲试剂反应而产生干扰,所以,测定溶血标本的 TP 时,用一空白来消除溶血的影响是不正确的,但可以通过回归法很方便地解决这一问题。根据美国 CLIA'88 能力比对检验的分析质量要求,经二元回归纠正后,TBIL、DBIL、 γ -GT、ALP、LDH、CK、Ca²⁺ 纠正值 100.0% 达到预期可接受范围;ALT、TP、ALB、UA、GLU、K⁺、Na⁺、Cl⁻、CO₂ 纠正值 90.0% 以上达到预期可接受范围;AST 纠正值 87.5% 达到预期可接受范围^[10]。

3.4 设置空白管、双试剂法除干扰 生化项目的测定,是以光谱分析为基础。溶血标本中的血红素为有色物质,根据被测溶液的颜色与有色物质颜色的不同,对吸光度造成不同的干扰。试剂空白可以消除试剂对吸光度的影响,标本空白可以消除标本对吸光度的影响。在实际工作中,尽量使用双试剂的工作方法,以第一试剂做样品对照校正,第二试剂才是实际显色反应^[15]。

3.5 改进试剂组成或改变检测方法 由参与某种分析法的化学反应产生的溶血干扰,其解决方法是可通过改变所用试剂的类型或改进试剂组成成分来纠正溶血干扰^[9]。有文献报道,溶血对葡萄糖氧电极法和葡萄糖己糖激酶法有负干扰,而对葡萄糖氧化酶法则无明显干扰^[16]。测定血清 Cr,Jaffe's 速率法受内源性物质的影响,而酶法测血清 Cr 几乎无干扰,Jaffe's 速率法则有负干扰,故酶法是目前测定血清 Cr 的最好方法。

4 溶血对常见免疫项目的干扰及消除

4.1 对酶联免疫吸附试验(ELISA)一步法检测乙型肝炎病毒血清标志物结果的干扰及消除 溶血及带血细胞标本对 ELISA 一步法检测乙肝表面抗原(HB-sAg)有干扰作用。Hb 中的亚铁血红素具有类似过氧

化物酶的活性,其作用效应与辣根过氧化物酶相似。如果反应孔因非特异性吸附红细胞残留,使加入的 TMB 底物液产生非特异显色反应,就会造成假阳性结果。有研究表明^[17,18],对于一步法试剂,随着溶血程度的增高,吸光度值也随之升高,而二步法的抗溶血干扰的能力较强,轻中度溶血时会导致 HBsAg 结果偏低,但对阴性、弱阳性、灰区、强阳性标本 S/CO 值则无明显干扰。因此,出现罕见的结果模式或灰区结果时,可应用 ELISA 二步法、时间分辨等方法复查或重新抽血。

4.2 对胰岛素、铁蛋白及肌钙蛋白 T 测定的干扰及消除 红细胞内存在的胰岛素降解酶释放,能高效水解胰岛素(INS),导致 INS 水平下降,且随着溶血程度的加重,INS 下降也愈明显^[19]。应注意标本检验前过程保持低温环境,降低酶活性,减轻溶血所造成的影响。NSE 存在于红细胞和血小板中,溶血会导致结果显著升高^[19],有研究表明,血清中 Hb 水平每增加 1 克,将导致 NSE 值增加 34.53 $\mu\text{g/L}$ ^[20]。RBC 中叶酸(FA)水平约为血清的 16.7 倍,溶血会导致 FA 明显升高。由于红细胞内富含铁蛋白,将导致血清铁蛋白增加,且铁蛋白增加量与溶血程度相关^[19]。有文献报道,蛋白酶的释放能降解血清肌钙蛋白,若 Hb 水平达到 0.75 g/L,肌钙蛋白将比原始水平下降超过 10%^[17]。

5 溶血对凝血项目的干扰及避免措施

根据 APTT 和 PT 的测定原理,在凝血过程中磷脂是促凝物质,测定 APTT 和 PT 时,溶血样本中含有成熟红细胞膜破裂而释放出的磷脂,使得 APTT 和 PT 比非溶血样本的测定值增高。有研究表明,通过建立稀释法消除溶血,APTT 和 PT 检测值在稀释前后均具有较高的相关性,且当 Hb 水平 < 23 g/L 的溶血标本检测 APTT 和 PT 是可行的,能较好消除溶血对凝血检测结果造成的影响^[22]。

6 溶血对血常规测定的干扰及避免

采用电阻抗法原理的血液分析仪,标本溶血时由于 RBC 破坏而产生大量碎片,同时,嗜中性粒细胞(NEU)由于外力作用被破坏成裸核,而被仪器计作淋巴细胞(LYM),因此 LYM 比例升高,而 NEU 比例明显下降。鱼增娟等^[23],隆维东等^[24]学者报道,当溶血出现后,RBC、白细胞(WBC)及血小板均能够释放影响检验结果的成分进入血清,会引起红细胞计数(RBC)、中性粒细胞百分比(NEU%)、红细胞压积(Hct)、平均红细胞容积(MCV)减低,平均血红蛋白量(MCH)、平均血红蛋白水平(MCHC)、红细胞体积宽度(RDW)、淋巴细胞百分比(LYM%)及血小板计数(PLT)显著增高。而对 Hb、WBC 的结果影响则不大。标本溶血时对红细胞及白细胞直方图基本无影响,而血小板直方图图形分布峰右侧明显抬高上抬^[25]。因此,可应用血小板直方图来筛查标本的溶血

状态,遇可疑标本可通过推片染色镜下观察或离心后观察上清液进行确认。遇到分类特别异常的结果,可以应用流式细胞术和目视显微镜计数法作校正。

7 结 论

本文对生化、免疫、凝血等领域主要项目因标本溶血对结果的干扰及消除进行总结,影响巨大。因此,采取有效的质量管理方法,控制检验前影响因素,提高标本采合格率,是检验科与临床护士重点工作。近年来,新的质量管理办法如流程管理、质量管理圈等都应用到检验前过程中,其中品管圈(QCC)具有成本低、可持续性强、方法较成熟等优点^[26],在标本检验前质量控制应用广泛,且效果良好。同时,检验科也可将标本溶血率纳入科室质量指标的监控中,采用柏拉图、鱼骨图、趋势图等质量管理工具进行 PD-CA 循环,分析主要原因,采取相应的措施达到预期目标。国家卫生和计划生育委员会颁布的《临床实验室质量指标》^[27]中,已将标本溶血率纳入检验前质量指标,并要求各临床实验室定期上报监控数据。

8 展 望

检验质量是检验科的立根之本,现今的医学检验已从单纯的质量控制与质量评价转向了全方位的质量管理。检验技师在做好质量控制与质量评价的同时,更需要加强检验与临床的有效沟通,只有构建好这种全方位质量管理才能保障检验结果的准确性。检验科人员首先要树立起全面质量管理的思想观念,认真学习全面质量管理的知识,向临床医生与护士讲解全面质量管理及参与的重要性。加强培训和互动沟通,加强与医疗部及护理部沟通和交流以获取领导层对全面质量管理工作的支持,加强检验人员自身专业知识学习,全面提高检验质量,以便为临床诊断和治疗提供支持。

参考文献

- [1] 谢跃,刘一亚.标本溶血对 18 项常规生化指标检验结果的影响[J].辽宁医学院学报,2015,36(1):33-35.
- [2] 刘金华,简庆佳,符传东,等.赵双玉标本溶血对生化检验结果影响的研究与探讨[J].中国当代医药,2017,24(9):138-140.
- [3] 夏良裕,徐二木,曹新策,等.溶血对 41 个生化免疫项目的影响评估及溶血警告指数的确立[J].中华检验医学杂志,2017,40(12):947-952.
- [4] 张允,王薇,周平.标本溶血对 TP、AST 测定的干扰及纠正[J].江西医学检验,2004,22(1):79-79.
- [5] 李恒.标本溶血对生化检验结果的影响及对策[J].海军总医院学报,2011,24(1):54-55.
- [6] 孟焱.标本溶血对生化检验结果的影响[J].临床合理用药杂志,2015 13(17):122-123.
- [7] 赵丽.标本溶血对生化检验结果的影响及对策[J].医学综述,2011,17(19) 3031-3032.
- [8] 范德胜.酶法测定血清的 CO₂ 干扰分析[J].国际检验医

学杂志,2008,29(6):537-538.

[9] 罗祖军,邹德学,王强,等. 标本溶血对生化检验结果的干扰和影响及处理对策的研究[J]. 重庆医学,2014,43(22):2879-2880.

[10] 阴斌霞,王香玲,赵丽华,等. 溶血对生化检验准确性的影响及纠正[J]. 现代检验医学杂志,2007,22(6):25-29.

[11] SINUNDIC A M, NIKOLAC N, IVANKOVIC V, et al. Comparison of visual vs. automated detection of lipemic, icteric and hemolyzed specimens; can we rely on a human eye[J]. Clin Chem Lab Med,2009,47(11):1361-1365.

[12] SDERBERG J, JONSSON P A, WALLIN O, et al. Haemolysis index—an estimate of preanalytical quality in primary health care[J]. Clin Chem Lab Med ,2009,47(8):940-944.

[13] CLSI. Hemolysis, Icterus, and Lipemia/Turbidity Indices as Indicators of Interference in Clinical Laboratory Analysis; Approved Guideline(C56-A)[S]. Wayne,PA:CLSI. 2012.

[14] FARRELL C J,CARTER A C. Serum indices;managing assay interference[J]. Ann Clin Biochem,2016,53(Pt 5):527-538.

[15] 符贻峰. 溶血,黄疸,脂浊,样本对生化项目结果干扰的探讨[J]. 海南医学,2003,14(3):78-79.

[16] 费维伦,梁春阳. 3 种血清葡萄糖测定方法的比较[J]. 检验医学与临床,2012,9(20):2573-2574.

[17] 甄志军,李荣雪,张志红. 溶血对一步法和两步法 HBsAg 酶联免疫试剂检测结果影响的研究[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(15):1864.

[18] 何星,黄小明. 溶血标本在 ELISA 二步法中对 HBsAg 测定结果的影响[J]. 中国输血杂志,2013,26(9):900-902.

[19] 陈海斌,梁业宾,黄慧嫦,等. 标本溶血对电化学发光免疫法结果的影响[J]. 检验医学,2012,27(8):651-653.

[20] 邹自英,黄海,袁成良,等. 标本保存时间和溶血对神经特异性烯醇化酶测定的影响[J]. 西南国防医药,2006,16(6):610-611.

[21] SODI R, DARN S M, DAVISON A S, et al. Mechanism of interference by haemolysis in the cardiac troponin T immunoassay[J]. Ann Clin Biochem, 2006, 43(Pt 1):49-56.

[22] 王秋菊,肖辉建,吴双,等. 稀释法消除溶血对凝血 PT、APTT 检测的影响分析[J/CD]. 临床检验杂志(电子版),2015,4(3):910-912.

[23] 鱼增娟. 标本溶血对血常规测定结果的影响[J]. 医疗装备,2016,29(17):109-110.

[24] 隆维东,刘万彬,李坚,等. 标本溶血对血常规检测结果的影响分析[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(9):1127-1129.

[25] 丛玉隆,乐家新. 现代血细胞分析技术与临床[M]. 北京:人民军医出版社,2005:3.

[26] 周丽萌,徐建萍. 品管圈活动在检验标本分析前质量控制中的应用[J]. 中国护理管理,2013,13(4):73-76.

[27] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WST/T 496-2017[S]. 临床实验室质量指标,2017.

(收稿日期:2018-01-22 修回日期:2018-04-02)

• 综 述 •

细胞间黏附分子 1 及血清可溶性细胞间黏附分子 1 与肿瘤关系的研究进展*

陈昌国 综述,陈秋圆 审校

(中国人民解放军海军总医院检验科,北京 100048)

摘 要:目的 细胞间黏附分子 1(ICAM-1)及血清可溶性细胞间黏附分子 1(sICAM-1)是一类黏附分子,其主要功能是介导细胞间接触、黏附及淋巴细胞的穿内皮。ICAM-1 作为共刺激分子和信号转导分子来激活细胞内的信号通路,导致淋巴细胞的活化,细胞因子的分泌和促炎性瀑布的激发。ICAM-1 能够介导细胞间连接,恶性肿瘤组织通过表达 ICAM-1 使得肿瘤细胞转移和侵袭能力增强,而血清 sICAM-1 不但是肿瘤免疫逃逸的重要手段,也与肿瘤的侵袭和转移密切相关。近年来研究发现,ICAM-1/sICAM-1 在肿瘤中表达量增加与肿瘤的治疗效果及预后密切相关。

关键词:细胞间黏附分子-1; 血清; 肿瘤侵袭; 肿瘤转移; 标志物

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.11.025 **中图法分类号:**R73

文章编号:1673-4130(2018)11-1370-05 **文献标识码:**A

近年来,有关细胞间黏附分子 1(ICAM-1)在肿瘤中过量表达及其与肿瘤浸润、转移和机体免疫功能调节之间的关系受到众多学者的广泛关注。血清可溶性细胞间黏附分子 1(sICAM-1)与其他分子如可溶性血管内皮细胞黏附因子-1 和 P 选择素等是介导肿瘤细胞发生和发展的重要分子,在肿瘤浸润和复发的过

* 基金项目:首者临床特色应用研究吴阶平基金(Z141107006614009)。

本文引用格式:陈昌国,陈秋圆. 细胞间黏附分子 1 及血清可溶性细胞间黏附分子 1 与肿瘤关系的研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2018,39(11):1370-1374.