

表 1 1 mol/L H₂SO₄、0.2mol/L HCl 对同一标本终止反应后 A 值变化

终止液	0 h	0.5 h	1 h	1.5 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	10 h
1 mol/L H ₂ SO ₄	3.243	2.132	1.474	1.268	1.172	1.08	1.021	0.991	0.976	0.943	0.865
0.2 mol/L HCl(1)	2.731	2.974	2.847	2.797	2.861	2.709	2.73	2.746	2.630	2.622	2.342
1 mol/L H ₂ SO ₄	3.015	1.378	1.151	1.021	1.012	1.012	0.959	0.965	0.954	0.836	0.864
0.2 mol/L HCl(2)	3.075	3.099	3.096	3.075	2.938	2.821	2.749	2.561	2.595	2.506	2.342
1 mol/L H ₂ SO ₄	3.211	1.229	1.069	0.905	0.908	0.922	0.879	0.869	0.893	0.769	0.778
0.2 mol/L HCl(3)	3.24	3.178	3.073	3.053	2.973	2.834	2.711	2.643	2.561	2.495	2.296

3 讨 论

从图 1 可见,3 条曲线均为 0.2 mol/L HCl 终止的 A 值变化曲线,变化相对较为平稳,并在 2 h 前变化较小,下 3 条曲线为 1 mol/L H₂SO₄ 终止的 A 值变化曲线,在约 40 min 前变化较大且下降幅度较大。作者认为在 ELISA 中,由于终止剂的选用引起的持续发展的颜色变化虽然不会造成较大的实验误差,但由于这种现象主要对阴性和弱阳性样品影响较大,在有些情况下,如对弱阳性血清样品或是对需要定量检测终点效价的血清样品测定时,以及测定大批量样品需要较长时间进行读数的情况下,这种潜在的颜色逐渐变化现象就有可能成为重要的影响因素,造成假阴性结果而影响实验的准确性。从表 1 结果看出,假如用试剂盒内的终止剂半小时后再观察结果势必影响结果的准确性,因此,寻找最佳终止条件是值得考虑的影响因素之一。

1 mol/L H₂SO₄ 由于能显著增加 A 值,且可在常用波长(450 nm)下进行检测而被大多数实验选用,但主要的问题是终止反应后不稳定,一般在 0.5 h 内 A 值持续减小,约 1 h 后,A 值下降一半多。本实验结果发现其 A 值随时间下降的同时也伴有本底的增加,终止液加入 0.5 h 后肉眼可见到反应孔有显黑色的沉淀颗粒。0.2 mol/L HCl 的终止效果与 1 mol/L H₂SO₄ 在开始时 A 值大致相同,但随时间的变化相对于 1 mol/L H₂SO₄ 变化要小的多,在 2 h 前变化相对较小,同时也很少出现黑色沉淀颗粒。因此本实验结论认为用 0.2 mol/L HCl 作为终止剂要好于 1 mol/L H₂SO₄。

在 ELISA 实验中,使用试剂盒配套的 H₂SO₄ 作为实验的终止剂,在规定的时间内观察判断实验结果,虽不会造成较大的实验误差,但由于以 H₂SO₄ 作为终止剂不能有效地抑制显色反应随时间延长变化的现象,尤其在半小时后出现黑色的小颗粒,这对于阴性及弱阳性样品的发报告会造成较大的影响。特别是大批量样品检测时,如不能在规定时间内读数观察,更会造成假阴性的增加而影响报告的准确性。纵观本试验结果,建议使用 0.2 mol/L HCl 作为终止剂较为合适,只要在 2 h 前比色测其 A 值其变化不大,非常适合大批量标本的检测,尤其是大量需检测的标本。

参考文献

[1] 陈回应,张锦峰,岑小鹏,等. ELISA 检测乙型肝炎 HBsAg 室内质控血清的试剂和使用[J]. 上海医学检验杂志,2004,19(4):203-205.
[2] 许斌,朱虎定. ELISA 检测 HBsAg 影响因素的探讨[J]. 临床检验杂志,2000,8(4):231-234.
[3] 韩振格,孟继鸿,周镇先. 双抗原夹心 ELISA 检测抗 HCV 总抗体[J]. 临床检验杂志,2008,26(4):246-248.
[4] 王巧莲. 化学发光法与 ELISA 法检测乙肝病毒血清标志物结果比较[J]. 包头医学院学报,2006,22(1):82.

(收稿日期:2011-05-13)

肝硬化患者凝血酶原时间和血小板参数检测分析

张雪松,张晓燕(江苏省如东县中医院检验科 226400)

【摘要】 目的 观察肝硬化患者凝血酶原时间(PT)、国际标准化比值(INR)和血小板参数的检测结果,探讨肝硬化患者的肝功能和凝血功能变化,及其对肝硬化患者病情发展、治疗和预后的临床应用价值。**方法** 采用 Coulter-HMX 全自动血细胞分析仪和配套试剂检测 127 例肝硬化患者的血小板计数(PLT)、平均血小板体积(MPV)、血小板分布宽度(PDW)、血小板比积(PCT),采用 ACL ELITE PRO 全自动血凝仪和配套试剂检测 PT、INR。**结果** 肝硬化患者的 PT 和血小板参数检测结果明显高于健康对照组($P<0.01$),且肝硬化消化道出血组明显高于无出血患者组($P<0.01$)。**结论** PT、INR 和血小板参数对肝硬化患者病情发展、治疗和预后有一定临床应用价值。

【关键词】 肝硬化; 凝血酶原时间; 国际标准化比值; 血小板参数
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.20.048 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2011)20-2518-02

出血是肝硬化最为常见的并发症和导致死亡的主要原因,能否有效预测肝硬化患者出血的发生、发展对疾病的控制有十分重要的意义。本文通过对 127 例肝硬化患者和 50 例健康体检者凝血酶原时间(PT)、国际标准化比值(INR)和血小板参数检测结果进行分析,进一步探讨肝硬化患者肝功能及凝血功

能变化的临床意义,为临床治疗和预后提供依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2008 年 4 月至 2009 年 12 月,在本院肝病科就诊的病毒性肝炎引起的肝硬化患者(住院为主)127 例,其中男 89 例,女 38 例,年龄 36~73 岁,平均 45 岁。根据其是否出

血分为肝硬化合并出血患者(出血组)39 例,无合并出血患者(无出血组)88 例,病例诊断均符合 2001 年《病毒性肝炎防治方案》诊断标准^[1]。健康对照组为 50 例健康体检合格人员,男 34 例,女 16 例,年龄 35~66 岁,平均 46 岁。受检者检测前均未应用过影响凝血的药物。

1.2 标本采集 所有病例均采集静脉血,血常规用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝血 1~2 mL,摇匀;血凝用血凝管(内含 0.1 mol/L 枸橼酸钠 0.2 mL),采集静脉血 1.8 mL,摇匀,3 000 r/min 离心 15 min,分离血浆。

1.3 检测方法 采用 Coulter-HMX 全自动血细胞分析仪和

配套试剂检测血小板计数(PLT)、平均血小板体积(MPV)、血小板分布宽度(PDW)、血小板比积(PCT),采用 ACL ELITE PRO 全自动血凝仪和配套试剂检测 PT、INR,标本均于 2 h 内完成检测。

1.4 统计学方法 应用 SPSS13.0 统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

肝硬化患者的 PT 和血小板参数检测结果见表 1。肝硬化合并出血者的 PT 和血小板参数测定结果与无出血患者比较见表 2。

表 1 肝硬化患者 PT 和血小板参数检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	PT(s)	INR	PLT($\times 10^9$ /L)	PCT(%)	MPV(fL)	PDW(fL)
健康对照组	50	12.9±1.55	1.05±0.11	195.±41.2	0.36±0.06	11.3±0.7	13.2±1.54
肝硬化组	127	18.7±2.80	1.58±0.19	67.4±18.8	0.24±0.08	14.1±0.9	18.6±1.75
<i>t</i> 值	—	16.45	18.15	22.25	10.55	23.2	22.15
<i>P</i> 值	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注:—表示无数据。

表 2 肝硬化消化道出血和无出血患者 PT 和血小板参数检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	PT(s)	INR	PLT($\times 10^9$ /L)	PCT(%)	MPV(fL)	PDW(fL)
无出血组	39	16.7±2.12	1.42±0.20	86.5±25.8	0.26±0.08	13.1±0.8	16.4±1.4
出血组	88	21.8±3.49	1.92±0.29	55.6±14.9	0.21±0.10	15.9±1.1	20.3±2.1
<i>t</i> 值	—	7.92	13.50	8.25	5.83	10.46	9.34
<i>P</i> 值	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注:—表示无数据。

3 讨 论

肝脏是凝血因子合成的重要场所,是合成和灭活纤维蛋白溶解物与抗纤溶物质的场所,在凝血与抗凝血系统的动态平衡中起调节作用。肝硬化时,由于肝细胞已大量的损伤和坏死,其合成凝血酶原、纤维蛋白原等凝血因子功能下降,因子Ⅱ、Ⅴ、Ⅶ合成减少,PT 延长。PT 变化能准确反映肝功能受损程度,PT 越延长。提示肝功能越差^[2]。肝硬化在 Child-Pugh 分级中,分级越差,肝细胞损伤越严重,出血发生率越高,出血程度就越严重,PT 明显延长,本研究结果显示,肝硬化组的 PT 比健康对照组延长(*P*<0.01),出血组比无出血组延长(*P*<0.01),说明 PT 的延长与肝硬化病程和出血有关,肝硬化患者的 PT 越延长,肝硬化程度和出血倾向性越明显,原因是由于肝脏随着肝硬化病情的进展,肝功能逐渐衰竭,凝血因子合成减少而发生凝血功能障碍,导致出血。

血小板主要来源于骨髓成熟的巨核细胞,其大小和体积可反映骨髓中巨核细胞增生、代谢及血小板生成情况,血小板 PLT、MPV、PCT 及 PDW 4 项参数与血小板功能有良好相关性,可间接反映血小板功能状况。本研究发现肝硬化患者的 PLT、MPV、PDW、PCT 等血小板参数与对照组比较差异有统计学意义(*P*<0.01),显示肝硬化患者存在血小板障碍,可能与以下因素有关:(1)肝炎病毒对骨髓巨核细胞系统有明显的抑制作用,骨髓增生不良导致血小板数量减少。(2)肝硬化患者存在获得性血小板贮存池病,使血小板在体内发生释放反应,导致血小板衰竭,故使其体积减少。(3)肝硬化患者脾功能

亢进,免疫复合物形成,血小板破坏增多,寿命缩短等。另外本研究结果还显示出,血组的 MPV 和 PDW 高于无出血组,PLT 和 PCT 低于无出血组,提示肝硬化患者的血小板参数变化能反映肝硬化的出血情况,原因可能是:血小板是具有酶和生理活性的细胞,在二期止血上,通过黏附、聚集和释放凝血因子等功能起到重要止血作用,故血小板严重减少者多有出血倾向,同时肝硬化患者由于门脉高压,脾梗阻性充血而肿大,特别是晚期多发生脾功能亢进,单核-巨噬细胞系统大量吞噬和破坏血小板而使血小板减少明显,骨髓巨核细胞代偿性增生,导致新生血小板反应性增多,MPV 增加,形成“应激性大血小板”等。

综上所述,肝硬化患者的 PT 和血小板参数,能反映肝硬化患者的肝功受损程度和出血情况,所以,在检查肝硬化患者肝功能的同时检测 PT 和血小板参数,有助于准确判断肝硬化病情,对治疗和预后评估有重要指导意义。

参考文献

[1] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会,肝病学会.病毒性肝炎防治方案[J]. 中华传染病杂志,2001,19(1):56-62.
[2] 陈月燕,王潭枫.慢性乙型病毒性肝炎患者 PT、APTT、FIB 临床价值再评价[J]. 新医学,2007,38(8):519-520.