

存放时间和温度对凝血功能指标检测结果的影响

黎建安, 刘紫菱, 林 珠 (广东省妇幼保健院检验科, 广州 510010)

【摘要】 目的 探讨标本放置时间和温度对凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(FIB)等凝血指标检测结果的影响。**方法** 选取抗凝静脉血标本 50 例, 血浆用于立即测定凝血 4 项指标和在室温放置 2 h、4 h、6 h 和 24 h 后测定凝血 4 项指标; 并分别于室温、-4 °C 和 -20 °C 下保存 24 h 后测定凝血 4 项指标。抗凝血室温放置 2 h, 离心分离血浆后立即进行凝血指标检测。采用血液凝固仪测定研究指标, 采用随机单位组设计资料方差分析比较各组间差异。**结果** 与留取即刻检测相比, 血浆放置 2 h APTT、PT、TT 和 FIB 等各种指标水平均无明显差异; 血浆标本放置 4 h 开始, APTT、PT 和 TT 等指标出现明显延长, 且变化程度随放置时间延长加重, FIB 水平无明显改变; 抗凝血标本放置 2 h 留取的血浆标本各指标均有明显变化。-4 °C 下血浆标本保存 24 h APTT、PT、TT 和 FIB 等指标测定结果未出现明显改变, -20 °C 下 24 h APTT 出现明显延长。**结论** 对于凝血功能 4 项指标的测定, 采集标本后应及时送检和尽快分离血浆。常温下血浆标本应在 2 h 内完成测定; -4 °C 下血浆标本保存 24 h PT、APTT、TT 和 FIB 等指标测定结果未受影响, 低温保存应注意避免标本冻融过程。

【关键词】 凝血功能; 活化部分凝血活酶时间; 保存时间; 保存温度

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2012. 01. 003 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)01-0005-02

Influence of storage time and temperature on plasma indices of coagulation function LI Jian-an, LIU Zi-ling, LIN Zhu (Department of Clinical Laboratory, Guangdong General Health Centers for Women and Children, Guangzhou, Guangdong 510010, China)

【Abstract】 Objective To investigate whether storage time and temperature influence the measurement of activated partial thromboplastin time (APTT), prothrombin time (PT), thrombin time (TT) and fibrinogen (FIB) in plasma. **Methods** 50 anticoagulative venous blood samples from inpatients were collected. The coagulometer system was used to detect the levels of APTT, PT, TT and FIB. These indices in plasma were measured immediately after separation, at 2, 4, 6, 24 h after keeping at room temperature, after 24 h storage at room temperature, -4 °C and -20 °C. Anticoagulative blood was kept for 2 h at room temperature and centrifugally separated for immediately determining 4 coagulative indices. Random two-way ANOVA was used to compare differences among groups. **Results** Compared to measurement for immediately separated plasma, PT, APTT, TT and FIB for 2 h keeping plasma showed no significant differences. APTT, PT and TT for 4 h keeping plasma were begun to be significantly prolonged, the degrees of change became greater with the increase of storage time. The FIB level had no significant change. The various indices in anticoagulative samples for 2h keeping had significant changes. The measurement results of APTT, PT, TT and FIB in the plasma samples kept for 24 h at -4 °C had no significant changes. APTT in the plasma sample stored for 24 h at -20 °C was significantly prolonged. **Conclusion** In the measurements of coagulation indices, after collecting blood sample, separating plasma should be conducted as soon as possible. The plasma sample should be detected within 2 h at room temperature. The measurement results of PT, APTT, TT and FIB remain uninfluenced for the plasma samples stored 24 h at -4 °C. Hypothermic storage should be paid attention to avoid the freezing process of sample.

【Key words】 coagulation function; activated partial thromboplastin time; storage time; storage temperature

凝血功能检测是临床上非常重要的检验内容。目前各家医院多采用的凝血功能检验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)和纤维蛋白原(FIB)的凝血 4 项。采用自动血凝仪对凝血 4 项进行检测, 效率更高, 结果更可靠。但为了减轻患者的痛苦, 减少静脉穿刺次数, 目前各家医院多数将住院患者各项血液检查标本的采血时间在 06:00~06:30 由夜班护士一次性完成, 并将这些标本一次性送检。检验科室有时由于标本量大, 可能造成标本待检时间延长。凝血试验检测结果准确性与分析前过程密切相关, 尤其与标本采集后的放置时间和温度等因素有关, 所以待检标本放置时间延长可能影响检测结果。为此, 作者设计本研

究探讨在室温下存放的时间长短和保存 24 h 过程保存温度对标本凝血指标检测结果是否有影响。

1 材料与方法

1.1 对象与标本 采集 2007~2009 年本院无出血性疾病住院患者标本 50 例, 均为女性, 年龄为 (43.2±10.5) 岁, 产科疾病 25 例, 妇科疾病 25 例。采集静脉血以 9:1 的比例加入 109 mmol/L 枸橼酸钠的抗凝管混匀。采集后立即取部分抗凝血以 3 000 r/min 离心 10 min, 分离血浆, 部分血浆用于立即测定凝血 4 项指标和在室温 (20~25 °C) 放置 2、4、6、24 h 后测定凝血 4 项指标, 部分即刻分离出的血浆分别于室温 (20~25 °C)、-4 °C 和 -20 °C 下保存 24 h 后测定凝血 4 项指标。部分血标

本采集后以抗凝血的形式室温放置 2 h,再离心分离血浆后即刻进行凝血指标检测。排除标准:标本溶血、黄染、高脂血症和糖尿病。

1.2 仪器与试剂 采用日本威达士公司 Sysmex-CA-1500 型血液凝固仪。Sysmex-CA-1500 型血液凝固仪在做 PT 的同时可获得 FIB 浓度结果。凝血试验试剂和质控品均由德国 Dade 公司提供,严格按说明书操作。

1.3 统计学处理 各指标结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。经检验,各组凝血功能各指标均呈正态性分布,采用随机单位组设计资料方差分析,组间两两比较采用 SNK 检验。双向 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。所有数据处理均采用 SPSS13.0 完成。

2 结果

2.1 室温下标本放置不同的时间对检测结果的影响 见表 1。与留取标本即刻测定结果相比,采集后即刻分离血浆放置

2 h PT、APTT、TT 和 FIB 等各种指标水平差异均无统计学意义;标本放置 4 h, APTT、TT 出现明显延长,PT 水平变化差异无统计学意义,FIB 水平出现明显减低;标本放置 6 h 和 24 h 后,PT、APTT 和 TT 延长,差异均有统计学意义,FIB 水平明显降低。抗凝血标本在放置 2 h 后再分离,血浆的 PT、APTT、TT 和 FIB 水平等指标已经有明显改变。

2.2 不同温度下标本放置 24 h 对检测结果的影响 见表 2。与留取标本即刻测定结果相比,室温下标本放置 24 h PT、APTT、TT 和 FIB 等各种指标水平均出现明显减低,但在 -4℃ 放置的标本各指标均未出现明显改变,在 -20℃ 放置的标本, APTT 显著延长,其他指标变化差异无统计学意义。与 -4℃ 和 -20℃ 放置的标本相比,室温放置的凝血 4 项各指标均有明显降低。

表 1 室温下不同时间点凝血指标测定结果比较

项目	放置时间	PT (s)	APTT (s)	TT (s)	FIB(g/L)
采血后即刻分离血浆	即刻	12.37±2.02	33.10±5.32	16.51±1.81	3.32±1.01
	2 h	12.51±2.01	33.32±6.14	16.76±1.71	3.09±1.10
	4 h	12.56±2.10	34.13±5.90*	17.81±1.57*	3.81±0.98
	6 h	13.65±2.34*	35.10±7.29*	17.67±2.20*	3.72±0.75
	24 h	18.43±3.21**	43.90±7.72**	19.89±3.53**	4.04±0.63
抗凝血放置 2 h 再分离血浆		13.32±2.11*	35.00±6.35*	17.51±1.76*	2.72±0.93*

注:与即刻相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

表 2 不同温度下标本放置 24 h 凝血指标测定结果比较

放置时间	PT (s)	APTT (s)	TT (s)	FIB(g/L)
对照组	12.37±2.02	33.10±5.32	16.51±1.81	3.32±1.01
室温(20~25℃)	18.43±3.21**	43.90±7.72**	19.89±3.53**	4.04±0.63
-4℃	12.70±2.38#	33.59±7.65##	16.63±2.42##	3.45±1.27
-20℃	12.91±2.23##	35.09±7.45**	17.39±2.67#	3.37±1.38

注:对照组为采血后即刻分离血浆、即刻进行凝血指标检测的检测结果;与对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与室温组相比,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

3 讨论

本研究的结果显示,PT、APTT 和 TT 随放置时间延长而延长,而 FIB 水平无明显变化。特别是在标本放置 4 h 以上时,各标本 APTT 和 TT 的延长,与即刻相比差异均有统计学意义;标本放置 6 h 以上时,PT 亦明显延长,差异亦有统计学意义。而抗凝血标本在放置 2 h 后再分离,血浆的 PT、APTT、TT 和 FIB 水平等指标已经有明显改变。

关于标本放置时间对检测结果的影响,既往的研究也报告过类似的结果^[1-3],但过去的研究多数只探讨抗凝血离心后的血浆放置不同的时间对检验结果的影响,而未对离心前抗凝血放置时间对测定结果的影响进行探讨。在实际工作中,标本统一送到检验科前常常会耽误较长时间。由于全血中的血小板包含和分泌多种因子(其中包括凝血因子),促进凝血反应,所以这样的做法对检验结果可能有很大影响。本研究的检测结果证实了上述这种推测,说明采血后及早送检、尽早分离血浆对保证检测结果的准确性也是至关重要的。

关于保存温度对标本检测结果的影响,现有的研究多支持 -4℃ 下放置 24 h 对这些指标水平无明显影响^[2,4-5],但较少

研究探讨 -20℃ 下放置 24 h 这些指标检测结果是否出现明显变化。本研究结果显示,与留取血浆即刻检测结果相比,标本 -4℃ 下放置 24 h 这些指标水平未出现明显改变,-20℃ 下放置 24 h 仅 APTT 出现明显延长,而其他指标水平的变化差异无统计学意义。提示如果来不及检测血浆标本,一定要将血浆保存在 -4℃ 的低温环境。考虑血浆标本冻融过程可能使部分凝血因子、特别是因子Ⅷ的水平和活性受到影响,所以要注意不要在过低的温度中保存标本,避免标本出现冻融的过程。

标本存放的温度和时间不同,可影响凝血因子活性。有文献报道 32℃ 保存血浆 6、12、24 h 因子Ⅷ活性可分别消失 50%、60%、95%,即使保存在 4℃ 也分别消失 5%、55%、70%;因子 V 活性在 32℃ 分别消失 25%、40%、80%,而在 4℃ 则仅损失 0%、5%、10%^[6]。该研究的结果阐明了标本放置时间对 PT、APTT 和 TT 测定值产生影响的机制。从既往研究和本研究的结果还可看出,血浆标本放置时间超过 2 h 时各指标已经有变化,且放置 4 h 以上各指标的变化更明显,基本均达到差异有统计学意义的水平,提示在放置过程,标本中的因子Ⅷ和因子 V 等凝血因子可能更早出现降解或(下转第 9 页)

51 岁年龄组是高危年龄组,应作为重点预防年龄段,应当开展 HPV 常规筛查,而且应定时跟踪检测。

本研究中 HPV 多重感染的比例为 13.92%,以二重感染为主,与相关文献结果^[10]一致。最常见的基因型是 HPV58、16、6、52、31。有学者认为多重感染与宫颈病变有关。Ho 等^[11]认为 HPV 多重感染者出现持续感染的危险性更大,而 HPV 的持续感染是宫颈病变发生的原因,因此多重感染易导致宫颈病变。Lee 等^[12]认为,多重感染发生宫颈癌的概率比单一型别感染者增加约 1.5 倍。本研究中检出 1 例非常罕见的八重感染,提示机体免疫机制清除病毒不利,应引起重视。

参考文献

[1] 张学东,何春年.人乳头瘤病毒与子宫颈癌的研究进展[J].国外医学:妇产科学分册,2006,33(2):113-116.
 [2] 陶萍萍,卞美璐,欧华,等.导流杂交基因芯片技术在人乳头状瘤病毒检测中应用的研究[J].中华妇产科杂志,2006,41(1):43-47.
 [3] 陆少颜,朱坤仪,陈泳言.导流杂交基因芯片技术检测高危型人乳头瘤病毒在宫颈癌筛查中的应用[J].中国妇幼保健,2007,22(36):5215-5216.
 [4] Clifford GM, Gallus S, Herrero R, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis [J]. Lancet, 2005, 366 (9490): 991-998.
 [5] Lo WK, Wong YF, Chan KM, et al. Prevalence of human

papillomavirus in cervical cancer: a multicenter study in China[J]. Int J Cancer, 2002, 100(3): 327-331.

[6] An HJ, Cho NH, Lee SY, et al. Correlation of cervical carcinoma and precancerous lesions with human papillomavirus (HPV) genotypes detected with the HPV DNA chip microarray method[J]. Cancer, 2003, 97(7): 1672-1680.
 [7] Kim CJ, Jeong JK, Park M, et al. HPV oligonucleotide microarray-based detection of HPV genotypes in cervical neoplastic lesions[J]. Gynecol Oncol, 2003, 89(2): 210-217.
 [8] 罗招凡,王惠英,彭永排,等.快速导流杂交法检测人乳头状瘤病毒基因分型及其临床意义[J].中国热带医学,2007,7(9):1540-1541.
 [9] 陈占国,周武,许张晔,等.导流杂交方法检测人乳头状瘤病毒分型的临床应用[J].中华医院感染学杂志,2008,18(9):1345-1348.
 [10] Huang LW, Chao SL, Hwang JL, et al. Human papillomavirus-31-related types predict better survival in cervical carcinoma[J]. Cancer, 2004, 100(2): 327-334.
 [11] Ho GY, Bierman R, Beardsley L, et al. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women [J]. N Engl J Med, 1998, 338(7): 423-428.
 [12] Lee SA, Kang D, Seo SS, et al. Multiple HPV infection in cervical cancer screened by HPV DNA Chip[J]. Cancer Letter, 2003, 198(2): 187-192.

(收稿日期:2011-06-07)

(上接第 6 页)

失活。本研究结果提示,PT 和 FIB 在放置过程检测结果变化程度小于 APTT 和 TT 这两个指标。PT 主要反映外源性凝血过程,不仅受因子 V 的影响,也受其他如因子 VII 等外源性凝血途径相关的凝血因子水平和活性的影响。研究显示,血浆放置过程中因子 VII 可能出现激活^[7],这可能抵消放置过程因子 V 降解或失活的影响。FIB 是血浆中含量最多的凝血因子。本研究中,血浆在正常温度和低温下放置 FIB 水平均未出现明显变化。国外 Lamboo 等^[8]研究检测结果显示血浆 FIB 6 h 内相对稳定。国内陈林兴和黄华^[2]研究结果显示,FIB 水平在标本放置 5 d 后仍未出现明显减低。联合这些研究结果和本研究结果,考虑血浆放置过程 FIB 降解较慢,而标本放置过程中水分蒸发甚至可使放置后血浆 FIB 检测结果比放置前有所增高。

综上所述,对于凝血功能 4 项指标的测定,采集标本后应及时送检和尽快分离血浆。常温下血浆标本应在 2 h 内完成测定;-4℃下血浆标本保存 24 h PT、APTT、TT 和 FIB 等指标测定结果未受影响,低温保存应注意避免标本冻融过程。

参考文献

[1] 汤荔,冯忠盈,曹文俊,等.样本存放时间对凝血指标影响的实验评估[J].检验医学,2010,25(1):8-12.

[2] 陈林兴,黄华.时间和温度对凝血酶原时间、活化部分凝血活酶时间、凝血酶时间、纤维蛋白原检测结果的影响分析[J].汕头医学院学报,2004,17(1):42-43.
 [3] 林向华,曾华,王惠英,等.保存温度和时间对凝血标本 APTT 和 PT 结果的影响[J].现代医院,2007,7(3):68-69.
 [4] 朱力芬.标本采样部位、放置时间和温度对 PT、APTT 测定结果的影响[J].全科医学临床与教育,2008,6(2):124-126.
 [5] 梁庆华.凝血四项标本放置时间和温度对测定结果的影响[J].右江民族医学院学报,2008,30(6):1061.
 [6] 丛玉隆.关于卫生部出凝血时间操作规程《通知》的理解[J].中华检验医学杂志,2001,24(3):183-185.
 [7] 朱忠勇.凝血酶原时间和活化部分凝血活酶时间测定标准化[J].中华医学检验杂志,1998,21(5):308-312.
 [8] Lamboo M, Poland DC, Eikenboom JC, et al. Coagulation parameters of thawed fresh frozen plasma during storage at different temperatures[J]. Transfus Med, 2007, 17(3): 182-186.

(收稿日期:2011-05-10)