

• 调查报告 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.19.028

重庆地区婴幼儿和儿童血凝五项参考区间的调查

全 莎,周小川,盛朝凯

(重庆医科大学附属儿童医院检验科/儿童发育疾病研究教育部重点实验室/儿童发育重大疾病国家国际合作基地/儿科学重庆市重点实验室,重庆 400000)

[摘要] **目的** 建立重庆地区婴幼儿和儿童血凝检查项目的参考区间,以更好地服务于临床。**方法** 采用 Sysmex CS5100、Sysmex CSA2000 全自动血凝分析仪检测重庆地区经健康筛查的 5 119 例儿童的凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、血浆纤维蛋白原(FIB)、凝血酶时间(TT)、血浆 D-二聚体(D-D)血凝五项。将所有儿童根据年龄分为 6 组:新生儿(0~<15 d)、新生儿(15 d 至小于 1 个月)、婴儿(1~<7 个月)、幼儿(7 个月至小于 3 岁)、儿童(3~<7 岁)、儿童(7~15 岁)组,进行比较分析。正态分布的资料按照 $\bar{x} \pm 1.96s$ 确定参考区间,偏态分布的资料按照 $P_{2.5} \sim P_{97.5}$ 确定参考区间。**结果** 本室血凝五项参考区间,PT: 11.1~20.2 s(0~<15 d)、10.7~15.8 s(15 d 至小于 1 个月)、9.9~13.5 s(1 个月至 15 岁);APTT: 28.8~91.6 s(0~<15 d)、33.3~64.2 s(15 d 至小于 1 个月)、24.0~53.2 s(1~<7 个月)、21.2~39.2 s(7 个月至 15 岁);FIB: 1.45~3.52 g/L(0~<3 岁)、1.50~3.52 g/L(3~15 岁);TT: 15.4~26.3 s(0~<15 d)、14.9~21.4 s(15 d 至小于 7 个月)、14.7~20.1 s(7 个月至小于 3 岁)、14.9~19.3 s(3~15 岁);D-D: 0.1~5.1 mg/L(0~<15 d)、0.2~2.2 mg/L(15 d 至小于 1 个月)、0.1~1.1 mg/L(1~<7 个月)、0.1~1.4 mg/L(7 个月至小于 3 岁)、0.1~1.3 mg/L(3~<7 岁)、0~1.0 mg/L(7~15 岁)。**结论** 初步建立了重庆地区婴幼儿和儿童血凝五项(PT、APTT、FIB、TT、D-D)的参考区间,为该地区婴幼儿及儿童相关疾病的诊疗提供了更准确的依据。

[关键词] 儿童;血液凝固试验;参考区间;重庆

[中图分类号] R446.11

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)19-2689-03

Investigate on reference intervals of five indexes of blood coagulation tests among infants and children in Chongqing

Tong Sha, Zhou Xiaochuan, Sheng Chaokai

(Department of Clinical Laboratory, Children Hospital of Chongqing Medical University, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, China International Science and Technology Cooperation base of Child development and Critical Disorders, Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Chongqing 400000, China)

[Abstract] **Objective** To establish children's independent normal reference intervals of five coagulation indexes in Chongqing, in order to better provide references for clinic. **Methods** The plasma samples of 5 119 healthy children were collected and used to detecting prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT) and fibrinogen (FIB), thrombin time (TT) and D-Dimer (D-D) via Sysmex CS5100 and Sysmex CSA2000. According to ages, the children were divided into 6 groups: newborn (at 0 to less than 15 days of age), newborn (at 15 days to less than 1 month of age), infant (at 1 to less than 7 months of age), children (at 7 months to less than 3 years of age), children (at 3 to less than 7 years of age), children (at 7 to 15 years of age), and comparatively analysed. For normal distribution data, $\bar{x} \pm 1.96s$ was used to calculate the reference intervals; while for skewness distribution data, the reference intervals was calculated by 95% reference interval according to the percentile of $P_{2.5}$ and $P_{97.5}$. **Results** The normal reference intervals of five coagulation indexes in this clinical laboratory were as follows: PT 11.1–20.2 s (at 0 to less than 15 days of age), 10.7–15.8 s (at 15 days to less than 1 month of age), 9.9–13.5 s (at 1 month to 15 years of age); APTT 28.8–91.6 s (at 0 to less than 15 days of age), 33.3–64.2 s (at 15 days to less than 1 month of age), 24.0–53.2 s (at 1 to less than 7 months of age), 21.2–39.2 s (at 7 months to less than 15 years of age); FIB 1.45–3.52 g/L (at 0 to less than 3 years of age), 1.50–3.52 g/L (at 3 to 15 years of age); TT 15.4–26.3 s (at 0 to less than 15 days of age), 14.9–21.4 s (at 15 days to less than 7 months of age), 14.7–20.1 s (at 7 months to less than 3 years of age), 14.9–19.3 s (at 3 to 15 years of age); D-D 0.1–5.1 mg/L (at 0 to less than 15 days of age), 0.2–2.2 mg/L (at 15 days to less than 1 month of age), 0.1–1.1 mg/L (at 1 to less than 7 months of age), 0.1–1.4 mg/L (at 7 months to less than 3 years of age), 0.1–1.3 mg/L (at 3 to less than 7 years of age), 0–1.0 mg/L (at 7 to 15 years of age). **Conclusion** The normal reference intervals of five coagulation indexes, including PT, APTT, FIB, TT and D-D, are established, which provide more accurate references for the diagnosis of related diseases in infants and children in this area.

[Key words] children; blood coagulation tests; reference intervals; Chongqing

血液凝固是由凝血因子按一定顺序相继激活而生成凝血酶,最终纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)变为纤维蛋白的过程。在生理情况下,血液凝血机制与抗凝血、纤维蛋白溶解系统相

互制约,处于动态平衡状态,维持着血管内血液流畅。但在病理情况下,止血、抗凝血或纤溶系统发生异常,正常止血功能失去平衡,导致出血或者血栓生成^[1]。血凝、抗凝及纤溶的检

表 1 不同年龄组儿童血凝项测定结果 $[\bar{x}\pm s/(P_{2.5}, P_{97.5})]$

组别	PT(s)		APTT(s)		FIB(g/L)		TT(s)		D-D(mg/L)	
	n	均值	n	均值	n	均值	n	均值	n	均值
新生儿(0~<15 d)	349	(11.1, 20.2)	355	(28.8, 91.6)	234	(1.4, 3.6)	368	(15.4, 26.3)	279	(0.1, 5.1)
新生儿(15 d 至小于 1 个月)	141	(10.7, 15.8)	141	(33.3, 64.2)	122	(1.4, 3.5)	141	18.1±1.8	118	(0.2, 2.2)
婴儿(1~<7 个月)	168	(10.4, 14.1)	163	(24.0, 53.2)	126	(1.4, 3.6)	168	18.2±1.5	122	(0.1, 1.1)
幼儿(7 个月至小于 3 岁)	1 143	11.6±0.9	1 144	30.1±4.7	1 087	(1.5, 3.5)	1 149	17.4±1.4	927	(0.1, 1.4)
儿童(3~<7 岁)	1 653	11.7±0.9	1 546	30.1±4.6	1 598	(1.5, 3.6)	1 638	17.1±1.2	1 319	(0.1, 1.3)
儿童(7~15 岁)	1 636	11.9±0.8	1 634	30.4±4.5	1 596	(1.5, 3.6)	1 639	17.1±1.1	1 276	(0.1, 1.0)

测,在临床实验室越来越普及,并且检测项目也越来越多。而凝血功能的检测已经成为检验科常规检查项目之一,包括凝血酶原时间(prothrombin time,PT)、活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time,APTT)、血浆 FIB、凝血酶时间(thrombin time,TT)、血浆 D-二聚体(D-Dimer,D-D)。血凝五项的检测对出血性和血栓性疾病的诊断和治疗有重要价值。但是,重庆地区婴幼儿、儿童血凝检查项目没有独立的参考区间,一直沿用成人血凝参考区间。然而,儿童时期的凝血系统是不成熟的且不断发育的,和成人比较,儿童时期大多数血浆促凝和抗凝蛋白处于较低水平,血浆凝血蛋白水平变异较大,尤其在新生儿时期及 6 个月以内的婴儿^[2]。本研究按照美国临床实验室标准化协会(clinical and laboratory standards institute,CLSI)C28-A3 文件^[3]建立重庆地区婴幼儿和儿童血凝五项的参考区间。

1 资料与方法

1.1 标本来源及筛选 对 2014 年 4—11 月来本院就诊的 28 182 例新生儿、婴幼儿及儿童进行健康筛查,有以下症状和疾病者不作为研究对象:(1)新生儿包括重症肺炎、严重炎症如败血症、肝肾功能异常、降钙素原(PCT)>2.0 mg/L 的患儿;(2)婴幼儿、儿童包括血液病、心血管系统疾病、烧伤、消化系统疾病、行大手术、肿瘤、自身免疫性疾病、严重炎症(如败血症、胸腔积液、腹水)、PCT>0.5 mg/L、门诊知名专家接诊的有关血液疾病方面的患儿。于安静状态下采集空腹静脉血于 109 mmol/L 柠檬酸钠抗凝管中,其与血液抗凝比例为 1:9,轻轻颠倒 8 次混匀标本,采集后在 1 h 内送检。经筛查合格的标本共 5 124 份,根据年龄分为 6 个组,其中新生儿(0~<15 d)血标本 370 份,新生儿(15 d 至小于 1 个月)血标本 145 份,婴儿(1~<7 个月)血标本 168 份,幼儿(7 个月至小于 3 岁)血标本 1 149 份,儿童(3~<7 岁)血标本 1 653 份,儿童(7~15 岁)血标本 1 639 份。

1.2 方法

1.2.1 标本检测 血凝标本收到后立即离心,4 000 r/min 离心 8 min 后立即上机检测。选用 Sysmex CS5100 /Sysmex CSA2000 配套质控品和配套血凝试剂(日本西门子公司),质控项目均在控,在室温下完成检测。

1.2.2 筛查离群值 参照 CLSI C28-A3 文件^[3]方法筛查离群值:对 5 种项目测定结果分别按照年龄分组,测定结果按数值从小到大排序,将疑似离群值与其相邻值的差值(D)与数据全距(R)相除,D/R 值应小于或等于 1/3,若 D/R>1/3,考虑为离群值并剔除。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件计算各组血凝项测定结果的 $\bar{x}\pm s$,用直方图法和 Q-Q 图法进行数据的正态性检验。按年龄分组,正态分布计量资料组间两两比较采用 LDS-t 检验,参考区间使用 $\bar{x}\pm 1.96s$ 确定;偏态分布计量资料

组间比较采用 Mann-Whitney U 检验,参考区间使用 $P_{2.5} \sim P_{97.5}$ 确定。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各指标组间比较及参考区间的确定

2.1.1 PT 组间两两比较结果显示:新生儿(0~<15 d)与其余 5 组,以及新生儿(15 d 至小于 1 个月)与其余 5 组 PT 比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);婴儿(1~<7 个月)、幼儿(7 个月至小于 3 岁)、儿童(3~<7 岁)、儿童(7~15 岁)4 组间两两比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 1;PT 的参考区间:新生儿(0~<15 d)为(11.1, 20.2)s,新生儿(15 d 至小于 1 个月)为(10.7, 15.8)s,1 个月至 15 岁婴幼儿与儿童为(9.9, 13.5)s。

2.1.2 APTT 组间两两比较结果显示:新生儿(0~<15 d)与其余 5 组、新生儿(15 d 至小于 1 个月)与其余 5 组及婴儿(1~<7 个月)与其余 5 组 APTT 比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);幼儿(7 个月至小于 3 岁)、儿童(3~<7 岁)、儿童(7~15 岁)3 组间两两比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 1;APTT 的参考区间:新生儿(0~<15 d)为(28.8, 91.6)s,新生儿(15 d 至小于 1 个月)为(33.3, 64.2)s,婴儿(1~<7 个月)为(24.0, 53.2)s,7 个月至 15 岁婴幼儿与儿童为(21.2, 39.2)s。

2.1.3 FIB 组间两两比较结果显示:新生儿(0~<15 d)、新生儿(15 d 至小于 1 个月)、婴儿(1~<7 个月)、幼儿(7 个月至小于 3 岁)4 组间 FIB 水平两两比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);儿童(3~<7 岁)、儿童(7~15 岁)两组 FIB 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1;FIB 的参考区间:新生儿、幼儿(0~<3 岁)为(1.45, 3.52)g/L,儿童(3~15 岁)为(1.50, 3.52)g/L。

2.1.4 TT 组间两两比较结果显示:婴儿(1~<7 个月)与其余 5 组、幼儿(7 个月至小于 3 岁)与其余 5 组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);新生儿(0~<15 d)与新生儿(15 d 至小于 1 个月)两组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$);儿童(3~<7 岁)与儿童(7~15 岁)两组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1;TT 的参考区间:新生儿(0~<15 d)为(15.4, 26.3)s,婴儿(15 d 至小于 7 个月)为(14.9, 21.4)s,幼儿(7 个月至小于 3 岁)为(14.7, 20.1)s,儿童(3~15 岁)为(14.9, 19.3)s。

2.1.5 D-D 组间两两比较结果显示:新生儿(0~<15 d)、新生儿(15 d 至小于 1 个月)、婴儿(1~<7 个月)、幼儿(7 个月至小于 3 岁)、儿童(3~<7 岁)、儿童(7~15 岁)之间两两比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 1;D-D 的参考区间:新生儿(0~<15 d)为(0.1, 5.1)mg/L,新生儿(15 d 至小于 1 个月)为(0.2, 2.2)mg/L,婴儿(1~<7 个月)为(0.1, 1.1)mg/L,幼儿(7 个月至小于 3 岁)为(0.1, 1.4)mg/L,儿童(3~<7 岁)

表 2 本文建立的重庆地区婴幼儿和儿童血凝五项参考区间与成人参考区间比较

项目/年龄	PT(s)	APTT(s)	FIB(g/L)	TT(s)	D-D(mg/L)
新生儿(0~<15 d)	11.1~20.2	28.8~91.6	1.45~3.52	15.4~26.3	0.10~5.10
新生儿(15 d 至小于 1 个月)	10.7~15.8	33.3~64.2	1.45~3.52	14.9~21.4	0.20~2.20
婴儿(1~<7 个月)	9.9~13.5	24.0~53.2	1.45~3.52	14.9~21.4	0.10~1.10
幼儿(7 个月至小于 3 岁)	9.9~13.5	21.2~39.2	1.45~3.52	14.7~20.1	0.10~1.40
儿童(3~<7 岁)	9.9~13.5	21.2~39.2	1.50~3.52	14.9~19.3	0.10~1.30
儿童(7~15 岁)	9.9~13.5	21.2~39.2	1.50~3.52	14.9~19.3	0.10~1.00
成人*	9.0~12.8	19.5~35.4	1.10~3.30	14.4~22.2	0~0.55

*:调查前本室采用参考区间

为(1.0,1.3)mg/L,儿童(7~15岁)为(0.1,1.0)mg/L。

2.2 本文建立的重庆地区婴幼儿和儿童血凝五项参考区间与成人参考区间比较 见表 2。

3 讨 论

生物参考区间是临床判断健康与否的标准,实验室必须保证给临床提供的生物参考区间正确、实用,否则会导致误诊,甚至错误的治疗^[4]。目前大部分实验室均直接引用教科书、文献或者厂家提供的参考区间,而这些参考区间较少涉及婴幼儿及儿童的研究。由于年龄的差异、方法学的变迁,以及生活水平的提高,这些参考区间显然已不适合中国现阶段的儿童^[5]。因为儿童生长发育的特殊性,血凝五项的参考区间存在差异性,因此实验室建立健康儿童的生物参考区间意义非常重大。

血凝五项已作为临床溶栓、抗凝治疗及手术前的一项必要的检测项目。近年来,随着自动化凝血仪的普及,止血试验的速度、准确性和重复性都大幅度提高,但仍受各种因素的影响。例如,血凝五项的检测对采血量要求非常严格,抗凝剂与血液的比例必须为 1:9,比例减小,会造成 PT、APTT 显著延长^[6];比例过大,在 1:6 抗凝比例时即产生显著性差异^[7]。大剂量青霉素加入体外混合血浆(血浆水平达 5 000 U/mL)可使 PT、APTT 明显延长,且随药物浓度的增加而延长^[8]。肝素、华法林、双香豆素、低分子右旋糖酐等可抑制凝血酶,影响 FIB 变为纤维蛋白,阻止血小板的黏附和聚集,使血浆中抗凝物质增多,影响凝血试验,使凝固时间延长^[9]。弥漫性血管内凝血(DIC)时,由于凝血因子的大量消耗和产生的纤维蛋白降解产物(FDP)拮抗凝血酶的作用,使 PT 延长^[10]。但在 DIC 早期,患者血液处于高凝状态,PT 缩短。因此,分析血凝结果一定要结合患者的病情进展程度。高血压或急性呼吸窘迫综合征等疾病会导致凝血功能显著增强,继而引起一系列敏感指标的改变^[9]。建立合适的纳入和排除标准,调查重庆地区婴幼儿、儿童血凝五项正常参考范围具有重大意义。

通过本次研究发现婴幼儿、儿童的血凝五项正常参考范围与成人参考范围有较大的差异,原因可能如下:(1)不同实验室采用的方法、仪器及试剂不同,所得到的结果差异较大。即使在同一实验室,试剂批号的更换也可能引起结果的变化。(2)本研究的调查对象为婴幼儿、儿童,处于生长发育阶段,其促凝和抗凝蛋白水平和成人有显著差异,但此差异并非一成不变。其中新生儿 APTT 延长最为显著,是由于其维生素 K 依赖的凝血因子和接触系统因子水平较低^[11],以及较高的红细胞比容导致血浆相对于抗凝比例不足。不过新生儿凝血抑制蛋白水平也较低,使机体能生成足够的凝血酶以维持血管壁的完整性;并且由于凝血激活处于较低水平的平衡,血栓事件的发生率低。儿童的止血平衡状态与成人不同,成人凝血参数的参考范围不能直接外推应用于儿童^[12]。

综上所述,每个实验室都应该建立自己的正常参考范围。本研究建立的生物参考区间存在一定的局限性,需要在以后的研究工作中进一步完善。本研究参照 CLSI C28-A3 文件^[3],初步建立了重庆地区婴幼儿、儿童血凝五项(PT、APTT、FIB、TT、D-D)的正常参考范围,为婴幼儿、儿童出血性疾病和血栓性疾病的诊断和治疗提供了必要依据,在抗凝血等方面也具有非常重要的意义。

参考文献

- [1] 熊立凡,刘成玉.临床检验基础[M].4版.北京:人民卫生出版社,2010,69-70.
- [2] Kuhle S, Male C, Mitchell L. Developmental hemostasis: pro- and anticoagulant systems during childhood[J]. Semin Thromb Hemost, 2003, 29(4): 329-338.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline: C28-A3[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2010.
- [4] 李启亮,李玉清,靳剑南.北京地区健康儿童 PT 和 APTT 正常参考范围的探讨[J].现代检验医学杂志,2011,26(2):84-86.
- [5] 陈大鹏,陈元,刘来成,等.重庆地区学龄前和学龄后健康儿童常用肝肾功能检验项目参考区间的调查[J].重庆医科大学学报,2015,40(5):785-789.
- [6] 李谨艳.质量控制凝血四项中的临床价值[J].临床合理用药杂志,2011,4(4):66-67.
- [7] 王秀明,李志武,孙冀兵,等.凝血四项检测分析前标本采集处理及影响因素[J].河北医药,2013,35(14):2187-2190.
- [8] 刘云芳,杨舒.β-内酰胺类抗生素对凝血功能影响的研究[J].现代检验医学杂志,2008,23(4):118-119.
- [9] 杜春然.凝血试验结果的影响因素分析[J].中国实用医药,2012,7(10):130-131.
- [10] 池志芳.凝血试验在肝病中的临床应用价值[J].实用医技杂志,2006,13(11):1861-1862.
- [11] 朱名超,朱娅,孙莉.PT 和 APTT 检测常见影响因素分析[J].临床和实验医学医学杂志,2015,14(19):1653-1655.
- [12] Lippi G, Franchini M, Montagnana M, et al. Coagulation testing in pediatric patients: the young are not just miniature adults[J]. Semin Thromb Hemost, 2007, 33(8): 816-820.