

## 建立福州地区健康人群血栓弹力图参考范围的探讨

福建省立医院检验科 (福州 350001) 王颖 窦敏 林一 陈渝

**【摘要】** 目的 测定福州地区常住中国成年居民健康志愿者血栓弹力图 (TEG) 数据, 探讨建立符合本地区特点的参考值范围, 并与试剂厂家提供的参考值范围进行比较。方法 2012 年 1~3 月采集健康成年志愿者静脉血 4 mL, 分别测定 TEG 和凝血 4 项。TEG 检测: 应用 TEG 5000 型血栓弹力图分析仪分别测定凝血反应时间 (R)、凝血形成时间 (K)、凝固角 ( $\alpha$ -angle)、最大振幅 (MA)、血栓块强度或弹性 (A) 和凝血指数 (CI)。凝血 4 项检测包括: 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。结果 156 名志愿 TEG 各参数正常参考值范围分别为 R 3.2~7.3 min, K 1.0~3.1 min,  $\alpha$ -angle 50.7~73.4°, MA 51.3~66.8 mm, A 49.0~69.2 mm, CI -2.9~2.8。有 75 名 (48.1%) 志愿者至少有一项指标超出厂家参考值范围。约有 1.3% 被诊断为凝血异常, 其检测的特异性为 51.9%。与西方人相比, 中国人健康志愿者的 R 和  $\alpha$ -angle 低。男女各组参数值差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。结论 TEG 检测实验室有必要根据检测人群特点建立自己的正常参考范围。

**【关键词】** 血栓弹力图; 参考值; 福州

**【中图分类号】** R446.11<sup>+</sup>9 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2006(2012)06-0058-03

血栓弹力图 (thromboelastography, TEG) 通过监测凝血的过程即凝血块的形成, 测定凝血块生成速度、强度以及凝血块稳定性, 能动态评估血小板与凝血级联反应相互作用以及其它细胞成分对血浆因子活动的影响, 从而全面反映血液凝固及溶解的全过程。目前这些参数的正常参考范围 (reference range) 由来自国外的试剂厂家提供。考虑种族和地区人群分布的差异, 试剂厂家建议各个 TEG 实验室应建立本地区健康人群的参考范围。Scarpelini 等<sup>[1]</sup> 研究发现, 如果依据厂家提供的参考范围进行 TEG 测定, 约 8.5% 的健康人群被诊断为凝血异常。因此, 有必要建立本地区中国人群健康志愿者 TEG 的参考范围, 并与厂家提供的数据进行比较, 探讨福州居民健康人群与西方健康人群凝血指标是否存在差异。

### 1 对象与方法

**1.1 对象:** 健康志愿者均为福州市常住成年汉族居民, 符合体检为健康人标准。排除标准: 孕妇、月经期女性、有出血病史或血栓病史者、服用影响凝血药物者, 以及 3 个月内患其他疾病者。2012 年 1~3 月经凝血 4 项检测筛查合格后, 共 156 名健康志愿者入选本研究。

**1.2 方法:** 静脉采集血液约 4 mL。分别将 1.8 mL 注入 2 支含有 3.2% 枸橼酸钠的真空抗凝管 (0.109 mol/L 枸橼酸钠 1:9 抗凝, 福州长庚医疗器械有限公司), 取一管 4 000 r/min 离心 5 min,

分离血浆, 应用 STAGO-STAR 血凝仪及试剂 (法国 STAGO 公司), 检测凝血酶原时间 (PT); 国际正常化比值 (INR); 活化的部分凝血活酶时间 (APTT); 凝血酶时间 (TT); 血浆纤维蛋白原 (Fib) 含量。筛查健康志愿者是否符合入选标准, 只有凝血 4 项检查全部正常才能入选。本研究应用 2 个 TEG 5000 型血栓弹力图分析仪 (美国 Haemonetics 公司) 共 4 个独立的通道, 与计算机相连, TEG 分析软件版本为 4.2.3。按照要求每日进行维护和质控。测定参数包括: R: 反应时间即从血液标本放入小杯至 TEG 描记幅度达 2 mm 的时间, 即第一块有意义的可检测到的凝血块形成, 代表纤维蛋白开始形成的时间。K: 凝血块形成时间, 即从 R 时间终点至描记图幅度达 20 mm 所需要的时间, 即形成一稳定凝血块所需要的时间, 代表纤维蛋白形成和交联导致血栓形成后获得固定的弹性粘度所需时间。 $\alpha$ -angle: TEG 扫描图中从 R 到 K 值形成的角度, 代表固定血栓形成的速度。A: 用于测量凝血块的溶解和退缩, 是纤溶活性指标。MA: 最大幅度为 TEG 描记图上的最大宽幅度, 反映正在形成的凝血块的最大强度或硬度及血栓形成的稳定性, 直接反映纤维蛋白和血小板的最大动力性质。CI: 凝血指数, 反映血液样本凝血状态。测定由一名固定的技术人员操作。

**1.3 统计学分析:** 应用 SPSS 19.0 统计软件进行分析。用 95% 可信区间确定 TEG 各参数的参数范

围。正态分布的计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 男女组样本比较用  $t$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

共 156 例健康志愿者参加本研究, 年龄 18~79

岁, 中位年龄 39 岁, 男 74 例, 女 82 例, 均为汉族。本研究获得的健康志愿者 TEG 参考范围见表 1。

表 1 156 名志愿者血栓弹力图正常参考值 ( $\bar{x} \pm 1.96 s$ )

统计量	R/min	K/min	alpha-angle/°	MA/mm	A/mm	CI
本研究正常参考值	3.2~7.3	1.0~3.1	50.7~73.4	51.3~66.8	49.0~69.2	-2.9~2.8
厂家的正常参考值	5.0~10.0	1.0~3.0	53.0~72.0	50.0~70.0	无	-3.0~3.0

根据厂家提供的 TEG 参考范围, 156 名志愿者各值超出厂家参考值范围的比例为: R 64 例 (41%)、alpha-angle 11 例 (7.1%)、K 9 例 (5.7%)、MA 和 CI 例数低于 5%。具体为 R 缩短 64 例, K 延长 9 例, MA 减低 4 例, alpha-angle 减低 11 例, CI 减低 5 例。共有 75 例 (48.1%) 志愿者至少有一项指标超出厂家参考值, 3 项和 2 项异常各 6 例, 1 项异常 63 例。根据 kaufmann 分类法<sup>[2]</sup>, 有两名志愿者被诊断为低凝状态 (均为 K 值

轻度升高, alpha-angle 和 MA 轻度降低, 以 alpha-angle 和 MA 更显著)。假设所有志愿者均不存在凝血异常, 应用厂家提供的参考范围, TEG 对福州地区人群健康志愿者检测的特异性为 51.9%。

我们将志愿者按性别分组, 发现 R、K、alpha-angle、MA、A、CI 在男女性别组之间差异有统计学意义, 并且建立了男性组和女性组 TEG 正常值参考值范围, 见表 2。

表 2 男女性别组间 TEG 参数比较 ( $\bar{x} \pm 1.96 s$ )

组别	例数	R/min	K/min	alpha-angle/°	MA/mm	A/mm	CI
男性组	74	3.6~7.4	1.3~3.4	48.3~69.7	50.4~63.4	47.0~66.7	-3.4~1.8
女性组	82	2.8~7.2	1.1~2.6	55.8~73.8	54.1~67.9	52.5~69.8	-1.8~3.0
P 值		0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

## 3 讨论

TEG 的图形改变可以作为疾病诊断及病程发展的指标, 指导、监测药物治疗和估计预后, 且能简便、直观、快速地了解患者的血凝状况, 目前被广泛应用于静脉内注射肝素水平监控、抗血小板药物监控、手术期间凝血状态监测、预测术后出血及鉴别出血术后出血原因等。

参考范围是影响临床诊断结果和临床应用的一个重要原因。许多研究报道 TEG 参考范围存在区域性差异<sup>[3-4]</sup>。试剂厂家和临床实验室改进修正案 (Clinical Laboratory Improvement Amengment, CLIA) 建议每个 TEG 检测实验室按规范建立符合本地区人群特点的参考范围。根据 CLIA, 一般凝血检测参考范围所需最小样本量为 30~40 例<sup>[1]</sup>, 本研究入选 156 例志愿者。

本研究获得的 TEG 参考范围与厂家提供的参考范围存在差异。如按照厂家参考范围, 有 75 例 (48.1%) 志愿者至少有一项指标超出厂家参考值范围。约有 1.3% 被诊断为凝血异常, 其检测的特

异性是 51.9%, 该特异性与要求的 95% 准确率差异有统计学意义。因此, TEG 临床实验室建立自己区域的参考范围十分必要。与厂家提供的参考范围比较, 福州地区健康志愿者 R 值和 alpha-angle 较低, 与北京地区居民的 TEG 调查结果相一致<sup>[5]</sup>, 表明福州居民启动凝血反应形成纤维蛋白速度较快但纤维蛋白原功能较低下, 机制与种族间差异相关, 有待进一步研究。此外, 受试者中有 40.4% (63/156) 只有 R 值缩短, 无相应的 CI 变化, 不支持高凝诊断, 可能与厂家提供的参考范围有关。

本研究发现, 男女两组间 TEG 参数存在差异, 表现女性凝血功能更强。此结果与 Scarpelini 等<sup>[1]</sup>和北京马丽等<sup>[5]</sup>的研究一致。

### 参考文献

- [1] Scarpelini S, Rhind S G, Nascimento B, et al. Normal range values for thromboelastography in healthy adult volunteers. Braz [J]. Med Biol Res. 2009, 42 (12): 1207-1210.
- [2] Kaufmann C R, Dwyer K M, Crews J D, et al. Usefulness of thromboelastography in assessment of trauma patient coagulation [J]. Trauma, 1997, 42 (4): 716-720.

[3] Ellis T C, Nielsen V G, Marques M B, et al. Thrombolytic measures of clot propagation; a comparison of alpha with the maximum rate of thrombus generation [J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2007, 18 (1): 45-48.

[4] Chan K L, Summerhayes R G, Ignjatovic V, et al. Reference

values for kaolin-activated thromboelastography in healthy children [J]. *Anesth Analg*, 2007, 105 (6): 1610-1613.

[5] 纪宏文, 马丽, 高旭蓉, 等. 中国北京地区健康人群血栓弹力图参考范围的建立 [J]. *中华医学杂志*, 2011, 91 (14): 980-983.

## • 实验诊断与临床 •

# 102 例尖锐湿疣患者人乳头瘤病毒基因分型分析

福建医科大学附属第一医院皮肤病性病分院 (福州 350009) 林立真 庄文豪 张丹群 林品珍 向 姐

**【摘要】** 目的 分析 102 例尖锐湿疣患者人乳头瘤病毒 (HPV) 基因分型检测的结果。方法 采用流式荧光杂交技术对 102 例尖锐湿疣患者进行 HPV 基因分型检测。结果 102 例标本中 HPV 阳性 95 例, 总检出率是 93.14%, 其中高危型阳性率 48.04% (49/102), 低危型 70.59% (72/102); 单一型别阳性率 58.82% (60/102), 多重型别阳性率 34.31% (35/102), 检出率型别最高的为 HPV6、HPV11。HPV 感染阳性的尖锐湿疣患者中, 20~29 岁组与其他年龄组比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论 本组尖锐湿疣患者 HPV 基因型以低危型 HPV6、HPV11 为主, 感染高峰年龄为 20~29 岁。

**【关键词】** 人乳头瘤病毒; 尖锐湿疣; 基因型

**【中图分类号】** R373; R752.5<sup>+</sup>3 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2012)06-0060-02

尖锐湿疣 (condyloma acuminata, CA) 是由人乳头瘤病毒 (humca papillomavirus, HPV) 感染引起的一种全球较为常见的性传播疾病之一<sup>[1]</sup>。该病潜伏感染较为常见, 这也是尖锐湿疣难以根除的部分原因。流式荧光杂交技术是近年检测 HPV 型别的一项新的手段, 能一次检测 26 种 HPV 基因型别。本文拟通过流式荧光杂交法来检测尖锐湿疣 HPV 基因型别, 了解本地区尖锐湿疣基因分型的状况及分布特点。

### 1 材料与方法

**1.1 标本与采集:** 102 例标本取自我院 2011 年 4 月至 2012 年 6 月性病专科门诊尖锐湿疣患者, 均具有典型临床特征, 其中男 68 例, 女 34 例; 年龄 5~66 岁, 平均 26 岁。标本取自龟头、包皮、系带、尿道口、冠状沟、阴道口、大小阴唇、宫颈及肛周。采集方法: 暴露疣体, 采集疣体表面脱落细胞, 女性患者可采用试剂盒提供的宫颈刷取脱落细胞, 把宫颈刷放入取样管内。

### 1.2 方法:

**1.2.1 仪器与试剂:** HPV 基因分型检测试剂盒由上海透景生命科技有限公司提供, Luminex 流式点阵仪由我院检验科提供。

**1.2.2 HPV 基因分型检测:** 采用流式荧光杂交技术检测 26 种 HPV 亚型 (包括 HPV6、11、16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、

66、26、53、55、68、82、83、6、11、40、42、44、61 和 73)。基本原理是采用多重 PCR 技术对检测样品的核酸 DNA 进行扩增, 并用包被有核酸探针的多种编码微球和扩增产物进行杂交, 结果用流式点阵仪检测分析。

**实验步骤:** 1) 核酸提取; 2) PCR 试剂配置及 PCR 扩增: 将 PCR 相关试剂从冰箱中取出, 室温下放置 30 min, 将样品按照 5  $\mu$ L/管的量逐一加入到相应的 PCR 反应管中, 盖紧盖子后以 2 000 r/min 转速离心 10 s, 使反应液体集中在 PCR 反应管的底部。再放入 PCR 仪, 设定好热盖功能, 进行扩增反应; 3) 杂交检测: 在扩增产物分析区, 将微球杂交液试剂瓶置于涡旋仪上倒立振荡 10 s 再正立振荡 30 s, 使微球充分混悬在溶液中。每个样本吸取 PCR 扩增产物 3  $\mu$ L, 依次加入到相应的杂交孔中, 并抽吸几次加以混匀。将杂交板置于金属恒温浴, 而后在 48  $^{\circ}$ C 下孵育 15 min。将微孔杂交板转移至预热好的 Luminex 流式分析仪上进行阅读, 最后进行检测结果分析和报告。

**1.3 统计学分析:** 采用 SPSS 13.0 进行统计学处理, 统计学方法采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 HPV 基因型分布情况:** 102 例病例标本中, 95 例检出 HPV 基因型, 检出率为 93.14%, 其中