

自然状态下溶血对生化检测结果的影响 以及溶血指数警告值的确定

宋彩虹 朱勤惠

作者单位: 223300 江苏淮安, 淮安市第五人民医院检验科

通信作者: 朱勤惠, Email: 1216617247@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2023.02.005

【摘要】 目的 分析自然溶血状态下不同溶血指数(HI)对生化检测结果的影响,确定贝克曼 AU 5800 生化分析系统的 HI 警告值,为生化标本拒收和报告审核提供依据。**方法** 配对收集淮安市第五人民医院在 2021 年 12 月—2022 年 7 月同一时间采集于同一患者符合要求的 HI 异常和 HI 正常血清标本,同时进行生化项目检测。分析不同 HI 对生化检测结果的影响是否具有统计学意义,并进一步与美国临床实验室改进法案修正案 1988 (CLIA'88)能力验证计划质量要求和国家卫生健康委临床检验中心(NCCL)室间质量评价标准进行比较,分析其是否具有临床意义。**结果** 共配对收集到 26 对符合要求的血清样本。溶血造成直接胆红素(DBil)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)、肌酸激酶(CK)、血钾(K^+)检测结果升高以及尿酸(UA)检测结果降低,具有临床意义。HI=1+ 时,溶血对 DBil、LDH、CK-MB 检测结果的影响具有临床意义,因此确定 HI=1+ 为警告值;HI=2+ 时,溶血对 AST 检测结果的影响具有临床意义,因此确定 HI=2+ 为警告值;HI=3~4+ 时,溶血对 ALT、UA、CK、 K^+ 检测结果的影响具有临床意义,因此确定 HI=3+ 为警告值。对 12 个具有统计学意义而无临床意义的项目〔总胆红素(TBil)、三酰甘油(TG)、血肌酐(SCr)、总蛋白(TP)、白蛋白(Alb)、血糖(Glu)、氯离子(Cl^-)、血清淀粉酶(AMY)、血尿素氮(BUN)、总胆固醇(TC)、血磷(P)、谷氨酰转氨酶(GGT)〕确定 HI=4+ 为警告值。**结论** 不同程度溶血对生化检测结果的影响不同,确定适合本实验室的 HI 警告值有利于生化检测结果报告的准确发放。

【关键词】 溶血; 溶血指数; 警告值; 生化检测; 干扰分析

Effect of hemolytic index in natural state on biochemical test results and determination of hemolysis index warning value

Song Caihong, Zhu Qinhui. Department of Clinical Laboratory, the Fifth People's Hospital of Huai'an, Huai'an 223300, Jiangsu, China

Corresponding author: Zhu Qinhui, Email: 1216617247@qq.com

【Abstract】 Objective To analyze the influence of different hemolytic index (HI) on biochemical detection results under natural hemolytic state, and determine the HI warning value of Beckmann AU5800 biochemical analysis system, so as to provide the basis for rejecting biochemical specimens and reviewing reports. **Methods** Abnormal and normal serum samples of HI meeting the requirements were collected from the same patient at the same time in the Fifth People's Hospital of Huai'an from December 2021 to July 2022, and biochemical tests were carried out at the same time. The influence of different HI on biochemical test results were statistically significant, and were compared with Clinical Laboratory Improvement Amendments 1988 (CLIA'88) validation plan quality requirements and Capability Verification Program and the National Center for Clinical Laboratories (NCCL) requirements of external quality assessment to analyze whether they had clinical significance. **Results** A total of 26 pairs of serum samples were collected. The results of direct bilirubin (DBil), lactate dehydrogenase (LDH), creatine kinase isoenzyme (CK-MB), aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), creatine kinase (CK) and potassium (K^+) were increased in hemolysis, and the results of uric acid (UA) were decreased. When HI = 1+, hemolysis had clinical significance on the results of DBil, LDH and CK-MB, and HI = 1+ was determined as warning value. When HI = 2+, hemolysis had clinical significance on the results of AST, and HI = 2+ was determined as warning value. When HI = 3~4+, it had clinical significance on the results of ALT, UA, CK and K^+ , and HI = 3+ was determined as warning value. HI = 4+ was determined as

warning value for 12 statistically significant but not clinically insignificant items [including total bilirubin (TBil), triglyceride (TG), serum creatinine (SCr), total protein (TP), albumin (Alb), blood glucose (Glu), chlorine (Cl^-), amylase (AMY), blood urea nitrogen (BUN), total cholesterol (TC), phosphorus (P) and glutamyltranspeptidase (GGT)]. **Conclusion** Different degrees of hemolysis have different effects on the results of biochemical detection, and determining the HI warning value suitable for the laboratory is conducive to the accurate release of biochemical detection results report.

【Key words】 Hemolysis; Hemolytic index; Warning value; Biochemical detection; Interference analysis

据统计,在淮安市第五人民医院 2021 年的生化标本拒收登记资料中,由于各种原因导致的不合格生化标本总数为 248 份,其中因溶血导致标本拒收的有 174 例,占有拒收样本的比例达 70.2%,为样本拒收的最主要原因。溶血导致的待测血清成分改变,对生化分析仪光学系统的影响,以及对化学反应的干扰,均会给生化检测结果带来假性增高或降低的后果,如溶血导致血钾(K^+)结果假性升高,从而严重影响临床对结果的判读^[1-2]。对溶血影响生化结果的相关研究临床上多使用加入血红蛋白或人工破坏血细胞的方式,但实际工作中发生的溶血比人工溶血更复杂,二者对生化检测结果造成的影响也不尽相同^[3]。本研究收集临床工作中自然溶血状态下的溶血标本和同时期同一患者的非溶血标本进行配对分析和比较,利用生化检测系统的血清乳糜、溶血、黄疸指数测定,对标准化溶血指数(hemolytic index, HI)进行等级划分。测定自然溶血状态下不同 HI 对生化测定结果的干扰,能够更好地反映溶血在临床实际工作中对生化检测结果的影响^[4],确定合理的针对不同项目的 HI 警告值,有利于生化检验报告单的准确发放,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 标本收集 选择淮安市第五人民医院 2021 年 12 月—2022 年 7 月门诊收治的健康体检者和住院患者(除外新生儿、血液病患者及自身免疫性疾病患者)作为研究对象,将当天生化检测结果为 $\text{HI} \geq 1+$ 的血清作为测定样本,根据医院系统查询该患者同一时间采集的且其他使用黄盖促凝管收集样本项目(如肿瘤标志物、传染病标志物等)的检测样本,选择外观正常(无溶血、黄疸和脂浊)的血清标本,经过测定,将 HI 结果无溶血警告的标本作为配对对照样本。本研究共收集 26 组配对样本,其中 9 份样本 $\text{HI}=1+$, 10 份样本 $\text{HI}=2+$, 6 份样本 $\text{HI}=3+$, 1 份样本 $\text{HI}=4+$, 未收集到 $\text{HI}=5+$ 且符合要求的配对样本。

1.2 仪器与试剂 AU 5800 全自动生化分析仪购自

美国贝克曼库尔特有限公司。总蛋白(total protein, TP; 双缩脲法)、胆碱酯酶(cholinesterase, ChE; 速率法)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP; 速率法-AMP 缓冲液)、白蛋白(albumin, Alb; 溴甲酚绿法)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN; 脲酶紫外速率法)、血肌酐(serum creatinine, SCr; 酶法)检测试剂盒均购自宁波天康生物科技有限公司; 天冬氨酸转氨酶(aspartate transaminase, AST; 速率法)、谷氨酰转移酶(glutamyl transpeptidase, GGT; 速率法- γ 谷氨酰 3 羧基 4 硝基)、总胆红素(total bilirubin, TBil; 化学氧化法)、直接胆红素(direct bilirubin, DBil; 化学氧化法)、肌酸激酶(creatine kinase, CK; 速率法)、肌酸激酶同工酶(creatine kinase isoenzyme, CK-MB, 免疫抑制法)、尿酸(uric acid, UA; 尿酸酶比色法)、葡萄糖(glucose, Glu; 己糖激酶法)、总胆固醇(total cholesterol, TC; 胆固醇氧化酶法)、血磷(P; 磷钼酸紫外法)、淀粉酶(amylase, AMY; 酶法底物-麦芽七糖苷)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C; 直接法-过氧化氢酶清除法)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C; 选择性清除法)检测试剂盒均购自宁波瑞源生物有限公司; 三酰甘油(triglyceride, TG)检测试剂盒(GPO-POD 法)购自上海玉兰生物技术有限公司; 丙氨酸转氨酶(alanine transaminase, ALT; 速率法)、乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH; 速率法-乳酸-丙酮酸)检测试剂盒购自上海九弗生物科技有限公司; 血钙(Ca^{2+})检测试剂盒(偶氮砷Ⅲ法)购自上海科华生物工程股份有限公司; K^+ 、血钠(Na^+)、血氯(Cl^-)检测试剂盒(离子选择电极 ISE 间接法)均购自美国贝克曼库尔特有限公司。

1.3 研究方法

1.3.1 HI 分级 通过生化检测系统对血清吸光度进行测定,得出血红蛋白的近似浓度,从而标记血清的 HI 等级。具体分级及判断标准见表 1。

1.3.2 样本检测 收集符合要求的样本,在 2 h 内进行配对,检测常用生化项目并记录检测结果。

表 1 HI 分级表

标记等级	Hb 近似浓度 (mg/L)	HI 判断水平 (吸光度值)
N	<500	
1+	500 ~ 999	0.170
2+	1 000 ~ 1 999	0.350
3+	2 000 ~ 2 999	0.700
4+	3 000 ~ 5 000	1.000
5+	>5 000	1.700

注: HI 为溶血指数, Hb 为血红蛋白, N 为正常血清标本; 空白代表无此项

1.4 观察指标 根据 HI 将配对比较的生化检测数据分为 3 组, 第 1 组为 HI=1+, 第 2 组为 HI=2+, 第 3 组因样本量较少, 将 HI=3+ 和 4+ 的样本合并分析。

1.5 统计学分析 使用 SPSS 23.0 统计软件分析数据, 因研究样本量较少, 选用非参数检验, 两组相关配对样本采用 Wilcoxon 符号秩和检验, 分析不同 HI 标记等级下对照样本和测定样本生化检测结果差异是否具有统计学意义。P<0.05 为差异具有统计学意义。将各组差异具有统计学意义配对样本

的生化项目计算均值, 得出的偏倚或偏差与美国临床实验室改进法案修正案 1988 (Clinical Laboratory Improvement Amendments 1988, CLIA'88) 能力验证计划质量要求的可接受范围和国家卫生健康委临床检验中心 (National Center for Clinical Laboratories, NCCL) 室间质量评价标准作为判断标准进行比较, 分析结果设定不同生化检测项目的 HI 警告值。

2 结果

2.1 不同 HI 对生化检测结果的影响 分析不同 HI 对生化检测结果的干扰, 差异具有统计学意义。见表 2。① 第 1 组 HI=1+ 检测 TBil、DBil、AST、TG、K⁺、LDH、CK、CK-MB 结果溶血组>对照组, SCr 结果溶血组<对照组; ② 第 2 组 HI=2+ 检测结果溶血组>对照组比第 1 组增加的项目为 TP、Alb、ALT、Glu、Cl⁻, 溶血组<对照组比第 1 组增加的项目为 UA、AMY; ③ 第 3 组 HI=3~4+ 检测结果溶血组>对照组比第 1 组和第 2 组增加的检测项目为 BUN、TC、P, 溶血组<对照组比第 1 组和第 2 组

表 2 溶血组和对照组的生化检测结果比较

检测项目	第 1 组 HI=1+ (n=9)				第 2 组 HI=2+ (n=10)				第 3 组 HI=3~4+ (n=7)			
	对照组	溶血组	偏差或偏倚 (%)	P 值	对照组	溶血组	偏差或偏倚 (%)	P 值	对照组	溶血组	偏差或偏倚 (%)	P 值
TBil (μmol/L)	15.14	15.47	2.20	0.021	14.53	14.97	3.00	0.037	18.78	20.84	11.00	0.018
DBil (μmol/L)	4.56	6.24	36.80	0.008	3.58	6.15	71.90	0.005	4.31	15.63	262.80	0.018
TP (g/L)	70.41	71.23	1.20	0.192	66.82	70.10	4.90	0.005	70.47	76.59	8.70	0.018
Alb (g/L)	40.86	41.11	0.60	1.000	41.03	41.73	1.70	0.007	40.77	42.80	5.00	0.018
ALT (U/L)	22.44	23.00	2.50	0.248	17.90	19.30	7.80	0.004	32.43	40.71	25.60	0.018
AST (U/L)	27.44	31.89	16.20	0.012	24.80	32.50	31.00	0.005	37.71	81.29	115.50	0.018
GGT (U/L) ^b	40.00	39.67	-0.80	0.439	26.20	25.20	-3.80	0.085	48.86	45.29	-7.30	0.017
ALP (U/L)	113.78	113.33	-0.40	0.724	84.00	84.50	0.60	0.569	65.86	66.00	0.20	0.914
ChE (U/L) ^b	8 257.80	8225	-0.40	0.515	8 345.80	8 438.20	1.10	0.114	7 602.40	7 602.90	0.00	0.866
BUN (mmol/L) ^a	7.74	7.87	0.13	0.050	5.81	5.85	0.04	0.508	5.66	5.75	0.09	0.028
SCr (μmol/L)	75.67	72.24	-4.50	0.017	58.55	55.94	-4.50	0.008	84.13	74.23	-11.80	0.018
UA (μmol/L)	339.22	328.67	-3.10	0.050	261.80	255.00	-2.60	0.009	298.29	242.43	-18.70	0.018
Glu (mmol/L)	6.05	6.11	1.10	0.173	8.08	8.31	2.90	0.022	6.00	6.15	2.50	0.018
TG (mmol/L)	1.74	1.78	2.50	0.008	1.21	1.27	5.30	0.007	1.16	1.41	21.3	0.018
TC (mmol/L)	5.04	5.00	-0.80	0.235	4.49	4.55	1.20	0.109	4.46	4.47	0.10	0.671
HDL-C (mmol/L)	1.49	1.43	-3.80	0.097	1.29	1.29	0.40	0.259	1.18	1.18	0.10	0.833
LDL-C (mmol/L) ^b	2.38	2.37	-0.40	0.575	2.29	2.30	0.00	0.952	2.26	2.11	-6.50	0.235
LDH (U/L)	242.67	344.56	42.00	0.008	216.70	344.40	58.90	0.005	189.86	564.86	197.50	0.018
CK (U/L)	327.89	387.00	18.00	0.008	115.90	139.80	20.60	0.005	124.14	217.57	75.30	0.018
CK-MB (U/L) ^b	19.56	44.22	126.10	0.008	18.60	55.70	199.50	0.005	12.00	115.43	861.90	0.018
K ⁺ (mmol/L) ^a	4.29	4.60	0.31	0.008	3.89	4.37	0.48	0.005	3.90	5.08	1.18	0.018
Na ⁺ (mmol/L) ^a	141.40	141.23	-0.17	0.677	139.14	139.78	0.64	0.878	140.49	140.50	0.01	0.865
Cl ⁻ (mmol/L)	105.06	105.69	0.60	0.286	104.46	105.31	0.80	0.038	102.99	102.99	0.00	1.000
Ca ²⁺ (mmol/L)	2.41	2.41	0.00	0.953	2.36	2.41	0.05	0.097	2.26	2.26	0.00	0.666
P (mmol/L) ^b	1.33	1.34	0.80	0.260	1.17	1.19	2.10	0.113	0.92	0.95	3.30	0.034
AMY (U/L)	49.90	48.99	-1.80	0.214	49.64	48.38	-2.50	0.005	116.56	116.47	-0.10	0.499

注: HI 为溶血指数, TBil 为总胆红素, DBil 为直接胆红素, TP 为总蛋白, Alb 为白蛋白, ALT 为丙氨酸转氨酶, AST 为天冬氨酸转氨酶, GGT 为谷氨酰转氨酶, ALP 为碱性磷酸酶, ChE 为胆碱酯酶, BUN 为血尿素氮, SCr 为血肌酐, UA 为尿酸, Glu 为葡萄糖, TG 为三酰甘油, TC 为总胆固醇, HDL-C 为高密度脂蛋白胆固醇, LDL-C 为低密度脂蛋白胆固醇, LDH 为乳酸脱氢酶, CK 为肌酸激酶, CK-MB 为肌酸激酶同工酶, K⁺ 为血钾, Na⁺ 为血钠, Cl⁻ 为血氯, Ca²⁺ 为钙离子, P 为血磷, AMY 为淀粉酶; ^a 为使用偏差比较的项目, 其余均使用偏倚比较; ^b 为使用国家卫生健康委临床检验中心 (NCCL) 室间质量评价标准比较的项目, 其余均使用美国临床实验室改进法案修正案 1988 (CLIA'88) 能力验证计划质量要求比较

增加的项目为 GGT。3 组中具有统计学意义的配对生化项目结果数据求出均值后计算偏差或偏倚,与 CLIA'88 能力验证计划质量要求的可接受范围和 NCCL 室间质量评价标准作为判断标准进行比较,有临床意义的项目有第 1 组 HI=1+ 的 DBil、LDH、CK-MB,第 2 组 HI=2+ 增加 AST,第 3 组 HI=3~4+ 增加 ALT、UA、CK、K⁺。其余项目溶血对其影响均无统计学意义。

2.2 生化项目 HI 警告值设定 比较统计结果与上述质量要求标准,对有临床意义的项目设定 HI 警告值。DBil、LDH、CK-MB 的 HI 警告值设为 HI=1+, AST 设为 HI=2+, ALT、UA、CK、K⁺ 设为 HI=3+, 将 12 个具有统计学意义而无临床意义的项目(TBil、TG、SCr、TP、Alb、Glu、Cl⁻、AMY、BUN、TC、P、GGT)的 HI 警告值设为 HI=4+。

3 讨论

导致临床生化标本溶血的原因有很多,除了标本采集不畅、采样量过少、过度震荡、采血针头规格过小、消毒剂未完全干燥时采样、压脉带使用时间过长、采样管污染、标本采集后未及时送检、部分采样者从静脉留置针接口直接采集血液等体外因素之外,还有部分体内因素,如溶血性贫血、输血反应等^[5-6]。本研究与以往关于溶血对生化检测结果影响的研究相比,具有以下优点:① 采用生化仪的血清乳糜、黄疸、溶血(LIH)指数测定功能将溶血等级划分进行标准化;② 非人工加入血红蛋白或采用外力(反复冻融、搅拌、震荡)破坏红细胞的方法,选用自然溶血标本,最贴合实际工作中导致溶血的标本真实状态,减少人为误差。本研究缺点为:① 收集配对样本耗时较多,无法收集到较多样本,临床标本量少的医院较难收集;② 生化分析仪需要具有 HI 测定功能;③ 因为溶血标本选择的不确定性,导致无法收集到足够多不同浓度范围的样本,本研究中自然溶血的标本多为生化检测结果正常范围内,无法进行溶血对不同范围生化结果影响的研究;④ HI=4~5+ 的自然溶血标本很难找到配对不溶血标本,本研究中 HI=4+ 的标本只收集到 1 份,未收集到 HI=5+ 的标本,因此关于重度溶血标本对生化结果影响的研究具有局限性。

有研究表明,溶血是否对生化检测结果产生影响还与检测时使用的仪器、试剂和检测方法有关^[7],如使用 ADVIA 2400 全自动生化分析仪及配套 DBil(重氮法)试剂盒检测 HI=1~4+ 的样本时,结果偏

倚为 -18.5%~-3.9%,溶血导致检测结果偏低,与本研究完全相反。也有研究显示,采用葡萄糖氧化酶-过氧化物酶法进行血清葡萄糖测定时,标本溶血会使检测结果明显偏低,而本研究使用的己糖激酶法测定葡萄糖结果只有轻度降低,无临床意义^[8]。因此本研究设定的 HI 警告值仅限于 AU 5800 生化分析系统和本研究所用试剂与检测方法。根据设定的 HI 警告值,遇到溶血标本可以根据检验申请单申请检测的项目来确定是否对标本进行拒收及退回操作,可以减少临床标本检测周转时间(turn around time, TAT),对急诊标本和采血困难标本有较大意义。通过确定 HI 警告值统计不同警告值与生化检测结果的相关性,可对结果进行校正^[9],对接医院信息管理系统,有助于对检验结果进行正确研判^[10]。

综上所述,溶血对生化检验结果的影响受溶血程度、生化检测分析系统、试剂检测方法等多种因素影响,各实验室应确定适合本实验室的 HI 警告值。在实际工作中规范化检验前、中、后的各种操作,减少溶血现象的发生,是最好的降低溶血对生化结果影响的方式。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 1 罗宏伟.标本溶血对生化检验结果的影响[J].中国实用医药,2020,15(32):205-206. DOI: 10.14163/j.cnki.11-5547/r.2020.32.086.
- 2 吴瑶,付阳阳,唐晗琪,等.急诊高钾血症治疗现状及预后影响因素研究[J].中华危重病急救医学,2023,35(3):321-325. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20220711-00653.
- 3 陈勋,段彤梅,吴晶,等.生化分析仪检验项目溶血干扰试验的研究[J].检验医学与临床,2019,16(21):3107-3110,3114. DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2019.21.010.
- 4 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. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2017.12.009.
- 5 吴学军,赵芳竹.血液标本临床检验不合格原因及优化方法分析[J].健康必读,2021,(11):286.
- 6 易艳华,徐长志.静脉血标本不合格的原因分析及改进措施[J].实用检验医师杂志,2021,13(1):25-27. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2021.01.009.
- 7 倪莉,叶悦荻,徐晓杰,等.溶血对 27 项西门子 ADVIA2400 生化检验项目的影响及纠正[J].温州医科大学学报,2020,50(10):834-838. DOI: 10.3969/j.issn.2095-9400.2020.10.012.
- 8 陈启华,曹冰,赵洋.标本溶血对葡萄糖氧化酶-过氧化物酶法测定血糖的影响[J].实用检验医师杂志,2019,11(3):178-179. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2019.03.016.
- 9 徐昕伟.溶血对生化检验结果准确性的影响分析[J].医药前沿,2020,10(33):44-45.
- 10 穆润清,满东亮,宋鉴清,等.标本质量分级评估的信息化解决方案[J].临床检验杂志,2019,37(1):67-70. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2019.01.18.

(收稿日期:2023-05-29)

(本文编辑:邵文)