

凝血功能分析的系统差异性对临床决策的影响探讨

王海 王成彬 齐晓伟 李健

【摘要】 目的 通过研究临床标本凝血功能检验的系统差异及其对临床决策的影响程度,探索进行系统数据校正的可能性。方法 以 STA Evolution、CA 7000 和 ACL Advance 凝血分析系统为研究对象,检测 247 例临床标本的凝血酶原时间(PT)、国际标准化比值(INR)、活化部分凝血活酶时间(APTT)和纤维蛋白原(FIB),通过完全随机区组方差分析和相关性分析,INR 按量值水平分为 <2、2~3 和 >3 三组进行多个相关样本非参数检验,判断系统差异对抗凝治疗的影响。结果 系统间 PT、APTT 和 FIB 的差异有统计学意义($F=32.570, P<0.01$; $F=134.076, P<0.01$; $F=99.873, P<0.01$), STA-R 和 CA-7000 测量 PT($r=0.984, P<0.01$)和 APTT($r=0.944, P<0.01$)相关性良好。使用系统特异的 ISI 时,INR 的系统差异有统计学意义($\chi^2=7.583, P<0.05$)。Clauss 法 FIB 定量与演算法的差异有统计学意义($F=99.873, P<0.01$),其中 ACL Advance 与 STA-R 的相关性较好($r=0.909, P<0.01$),在低浓度区间最接近。结论 尽管系统间相关性良好,其差异仍不便于用方程式简单校正,提高对试剂性能与溯源性要求,倡导系统特异性对于保证数据准确性至关重要。

【关键词】 血液凝固; 国际标准化比; 部分促凝血酶原时间; 纤维蛋白原

Influence of systematic discrepancy in coagulation tests on clinical decision WANG Hai, WANG Cheng-bin, QI Xiao-wei, LI Jian. Clinical Laboratory Center, Hainan Branch of Chinese PLA General Hospital, Sanya 572000, China
Corresponding author: LI Jian, Email: hemthm@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To investigate discrepancies of coagulation parameters in different systems, and try to standardize or calibrate these index. **Methods** 247 samples were collected from patients, to observe difference of PT/INR, APTT, and FIB tested in STA-R, CA7000 and ACL-Advance, and then analyzed by Student-Newman-Keuls test. INR data was divided into 3 groups: < 2, 2-3, and > 3 to make further analysis by nonparameter test. **Results** There were significant difference in PT, APTT and FIB ($F=32.570, P<0.01$; $F=134.076, P<0.01$; $F=99.873, P<0.01$) respectively. Both PT and APTT from STA-R and CA-7000 system were correlated ($r=0.984$ and 0.944 , all $P<0.01$). Nonparameter test showed no difference ($\chi^2=7.583, P<0.05$) of INR in three levels, when system-specific ISI was used. Fibrinogen measured by Clauss were different from that of PT-derived ($F=99.873, P<0.01$). Moreover ACL Advance and STA-R showed good correlation ($r=0.909, P<0.01$) in Fib, especially in low fibrinogen level. **Conclusions** It is difficult to minimize the difference merely by a correct formula, although good correlation lies between systems. We should continue to emphasize on the reagent quality and traceability, and pay more attention on system specialty to keep accuracy of coagulation tests.

【Key words】 Blood coagulation; International normalized ratio; Partial thromboplastin time; Fibrinogen

凝血功能筛查是诊断和治疗出血与血栓性疾病的常规项目,决定着抗凝治疗或手术愈合的效果^[1]。随着医疗条件的不断改善,越来越多的实验室已经或准备使用新型凝血分析仪,而多系统并存带来的参考区间差异给临床决策带来了新的困惑甚至误判。特别是

长期使用抗凝药物者本身就容易出现凝血异常和并发症^[2],凝血检验的系统偏差将导致严重的结果。凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、国际标准化比值(international normalized ratio, INR)、活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)和纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)在不同分析系统上的差异对诊断和预后判断的影响如何,引起了业界高度关注。为此,笔者对法国 STA-R、美国 ACL Advance 和日本 Sysmex CA-7000 三种国内主流的全自动凝血分析系统进行了

比较研究,尝试为规范凝血功能检验或最大限度地减少系统差异对临床的影响提供实践依据。

材料与方 法

1. 样本及处理:样本来自于本院门诊和住院部进行凝血功能检验的患者,共 247 例,晨间空腹静脉采血,0.109 mol/L 枸橼酸钠 1:9 抗凝,2500 × g 离心 10 min,分离血浆待检,4 h 内完成测定。明显黄疸、脂血、溶血标本除外。

2. 试剂和仪器:STA-R (Diagnostic Stago, 法国)、ACL Advance (Instrument Laboratory, 美国) 和 CA7000 (Sysmex, 日本) 全自动凝血分析仪和各自配套试剂。PT 试剂的批号 (ISI 值) 分别为 105996 (1.30), N0602778 (1.08) 和 545328 (1.06)。

3. 方法:使用系统预置程序建立定标曲线 (或预定义标),测定 PT、INR、APTT 和 FIB,参照华法林抗凝治疗的目标 INR 区间,根据 STA-R 的测定结果将标本分为 INR < 2、2 ~ 3 和 > 3 三组。

4. 统计学分析:实验数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用 Student-Newman-Keuls 分析,根据抗凝治疗的 INR 区间 (2 ~ 3) 将 INR 分组进行非参数检验 (多组相关样本用 Friedman 检验,两组相关样本用 Wilcoxon 检验),采用相关性分析,统计工具使用 SPSS 12.0 软件, $P < 0.05$ 作为差异有统计学意义。

结 果

1. 检测系统间的差异分析 (表 1):以临床标本为对象,STA-R、ACL Advance 和 CA-7000 检测结果间的差异有统计学意义:PT ($F = 32.570, P < 0.01$), INR ($F = 7.757, P < 0.01$), APTT ($F = 134.076, P < 0.01$), FIB ($F = 99.873, P < 0.01$)。

表 1 各系统凝血检测结果的比较 ($\bar{x} \pm s$)

仪器	PT(s)	INR	APTT(s)	FIB(g/L)
ACL ADVANCE	14.90 ± 5.05	1.30 ± 0.72	34.60 ± 8.37	2.62 ± 1.18
CA-7000	16.41 ± 6.60	1.39 ± 0.62	43.59 ± 14.96	3.10 ± 1.17
STA-R	17.19 ± 7.19	1.30 ± 0.72	42.40 ± 15.22	3.66 ± 1.78

四项研究参数在不同系统间的相关性均有统计学意义 (表 2),其中 PT、INR 在系统间有良好的线性关系 (图 1, 2),拟合度在 0.8 以上,而 APTT 在 ACL ADVANCE 与 STA-R 之间离散较大,拟合度仅为 0.5713 (图 3)。

2. 按治疗区间分组的 INR 比较 (表 3):统计分析表明系统间总体差异有统计学意义 ($\chi^2 = 7.583, P < 0.05$);而两两比较的结果则不尽然:ACL ADVANCE

与 CA-7000 ($z = -1.604, P > 0.05$)、STA-R ($z = -1.213, P > 0.05$) 差异无统计学意义,仅 CA-7000 与 STA-R 的差异 ($z = -2.837, P < 0.05$) 有统计学意义,从而提示系统间 INR 存在量值差异 (结果 1) 时,未必影响对抗凝疗效的判断。

表 2 系统间凝血参数的相关系数 (r)

仪器	PT	INR	APTT	FIB
ACL ADVANCE 与 CA-7000	0.935	0.909	0.735	0.897
ACL ADVANCE 与 STA-R	0.925	0.937	0.756	0.909
CA-7000 与 STA-R	0.984	0.938	0.944	0.892

注:表中相关系数均有统计学意义 ($P < 0.01$)

表 3 各系统检测的 INR 在不同抗凝区间的分布 ($\bar{x} \pm s$)

仪器	INR		
	< 2	2 ~ 3	> 3
ACL ADVANCE	1.11 ± 0.32	2.10 ± 0.45	4.58 ± 0.33
CA-7000	1.21 ± 0.22	2.07 ± 0.35	3.13 ± 0.23
STA-R	1.14 ± 0.26	2.34 ± 0.26	4.86 ± 0.27

3. 不同激活剂间的 APTT 比较:以硅藻土为试剂主要成分的 STA-R 和 CA-7000 差异没有统计学意义 ($q = 37.75, P > 0.05$)。虽然不同激活剂对凝血因子的敏感性不同,但是同类激活剂间总体差异度较小。

4. FIB 的比较:同样以 Clauss 法测定 FIB,CA-7000 与 STA-R 之间却表现为曲线关系 (图 4),在 FIB 高浓度区间差异尤甚。虽然在 ACL Advance 上使用了 PT 衍生法测定 FIB (PT-FIB),但是与 STA-R 直线趋势明显。

讨 论

止血血栓学检验是术前凝血功能筛查的内容之一,对于疾病诊断、疗效观察和预后判断等也有重要应用价值。全自动化凝血仪的迅速普及和升级换代,极大地提高了检测的准确性和精密度。然而,由于自动化凝血分析仪的检测原理、试剂和校准品等不同,导致不同仪器测定同一项目出现差异,给临床诊断带来潜在风险,因此,凝血分析仪检测一致性的问题亟待解决^[3]。STA-R、ACL Advance 和 CA-7000 分别采用磁珠法、散射比色法和透射比色法,本研究就表明 PT、APTT 和 FIB 在不同系统上的差异有统计学意义。

2011 年开始实施的《医疗机构临床实验室管理办法》要求同类项目的结果具有可比性,在凝血检验差异性的认识上却存在很大分歧^[4,6],实际工作中并未采取有效措施加以规范;而国外在凝血检验标准化和系统校准上一直进行着积极的探索,并在 PT/INR 的校准上

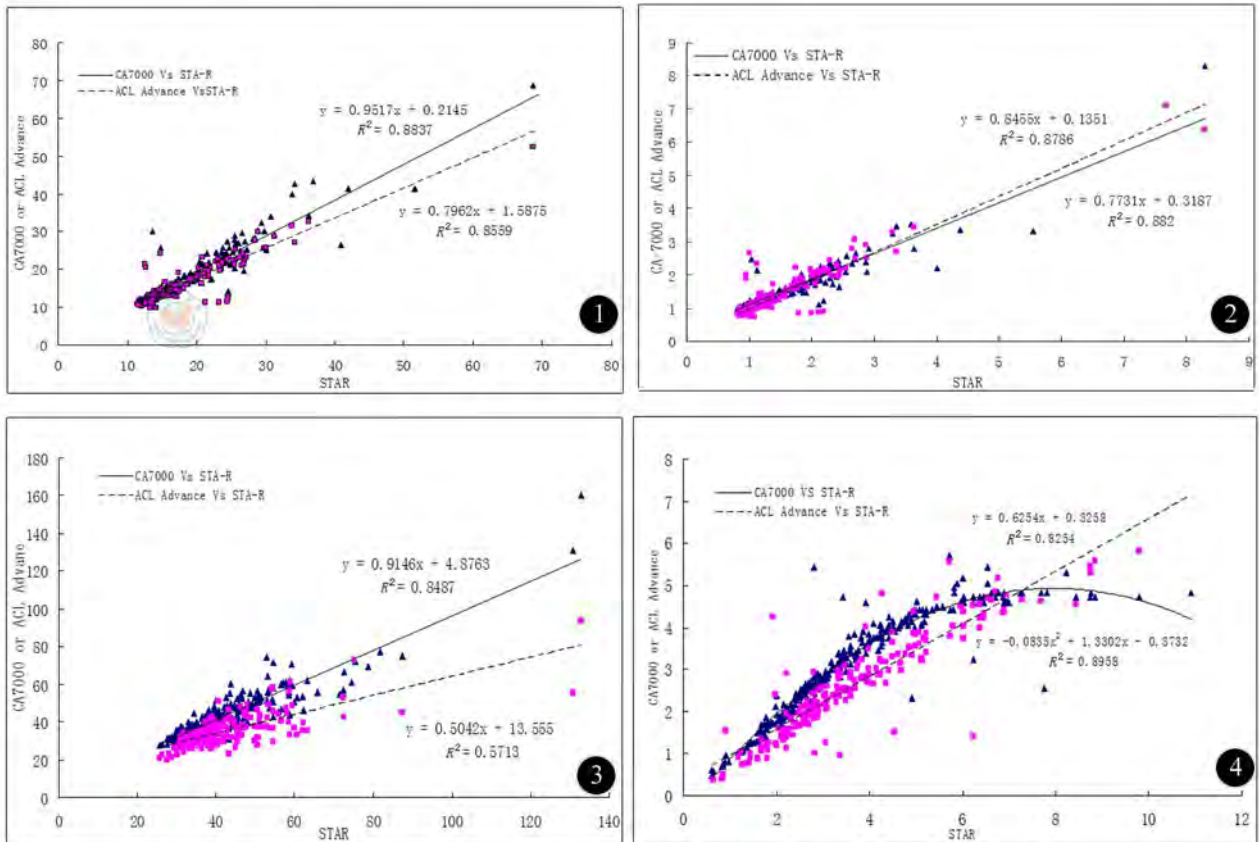


图1 各系统间PT检测结果的差异比较 图2 各系统间INR检测结果的差异比较 图3 各系统间APTT检测结果的差异比较 图4 各系统间FIB检测结果的差异比较

取得了实质性进展^[7]。WHO 为了实现口服抗凝治疗监测的标准化而采用了 INR 系统,通过 PT 向 INR 的转换来提高不同系统间的可比性,然而,通过单因素三水平的方差分析发现系统间仍然存在量值上的差异,即 INR 未能完全消除 PT 差异。有学者认为应该使用商品化血浆进行校准,实验室自行检查或验证出厂 ISI 的准确性^[8]。另一方面,我们也要认识到:临床上检测 INR 是为了观察患者是否需要调节抗凝剂量,如果 INR 在目标范围内(如 INR 2~3),可以不予调整。因此,笔者又采用多个相关样本的非参数检验对 INR <2、2~3 和 >3 分三个区间进行了分析,发现分区后系统间的差异无统计学意义,由此说明这些凝血分析仪在监测口服抗凝治疗时具有等效性。不过 INR 并不能完全代替 PT 的作用,术前止血功能筛查是以 PT 作为依据的(与对照相比延长 3 s 视为异常)。如果系统差异足够大,那么可能因为实验室内部换用仪器而掩盖自身止血功能异常,导致意外出血。此外,仪器对于标本枸橼酸化程度的敏感性也是不同的^[7],而抽血困难或采集量不准等情况均可造成枸橼酸钠的相对过量,这也是系统间 INR 差异的重要原因。应该强调的是主流机型之间 PT 的差异通常在性能评估时由于相关性良好而被忽略,这是止血功能筛查的重要隐患。

试剂不同也是产生结果差异的原因之一,APTT 试剂包括硅土、白陶土和鞣花酸等,不同激活剂对凝血因子的敏感性各不相同,或者激活剂种类相同而性能存在差异。本研究表明同类型激活剂之间的总体差异不大(结果 3),尽管如此,不同机型之间仍然难以通过简单的校正曲线实现系统间的一致,也就是说两者间的趋势性关系不能消除大量检测结果的离散性,总体趋势的校正反而容易造成个别检验结果性质的改变而酿成差错。

FIB 定量主要使用 Clauss^[9] 和 PT-FIB 法,并由此产生了室间质控甚至临床报告的显著偏差。PT-FIB 不仅依赖于校准血浆,还受到仪器原理或凝血活酶差异的影响出现较大离散^[10]。与 Clauss 法不同的是,PT-FIB 在同一系列不同型号的仪器之间也存在差异,在光散射法的凝血仪上,如果使用了不同系列的反应杯,就会导致散射光与浓度之间的定量关系发生变化,影响到检测结果;乳糜标本也会因为浊度较大而影响 FIB^[11]。血栓性疾病如 DIC、溶栓、口服抗凝药或高纤维蛋白原血症时,方法学的差异将表现得更加明显,FIB 将出现较大偏差。本研究发现,虽然 WHO 推荐的 Clauss 法与 ACL-Advance 上 PT 衍生法报告的 FIB 有统计学差异,但是 ACL Advance 与 STA-R 的相关性较好

($r=0.909$)。其原因在于本研究在 CA-7000 上使用的定标血浆 FIB 定值较低 ($<5 \text{ g/L}$), 测定高 FIB 标本时, 其结果低于实际水平, 在相关曲线上表现为“低伏”现象; 因此, 在诊断高纤维蛋白原血症时应该考虑使用适当的检测上限。

综上所述, 凝血检验的系统差异对于术前凝血功能的筛查和抗凝治疗的影响是不容置疑的, 而这并非一种人为误差, 需要我们不断进行新的尝试去尽可能消除。通常, 临床医师不易获知方法学的局限性所产生的检测结果偏差, 这就要求检验科室不仅要把好质量关, 还应积极与临床沟通信息, 全面解释检验报告的内涵, 及时提供必要的建议, 搭建起检验和临床的桥梁。

参 考 文 献

- [1] 彭黎明, 王鸿利. 我国临床血液学检验亟待解决的问题. 中华检验医学杂志, 2005, 28: 235-236.
- [2] 倪红斌, 梁维邦, 蒋健, 等. 抗凝药物相关性脑出血 35 例的临床分析[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2010, 4: 2518-2520.
- [3] 赵明, 范滨, 王金行, 等. 关于凝血自动分析装置 Thrombo Screen 400C 与 ACL200 对 PT、APTT 和 Fibrin 检测结果及参考值的对比观察. 中国医科大学学报, 2001, 30: 77-78.
- [4] 徐宁, 黄宪章, 庄俊华, 等. 不同检测系统凝血三项测定结果的可比性研究. 微循环学杂志, 2005, 15: 50-52.
- [5] 郭惠, 张乾碧, 杨晏, 等. 两种血液凝固仪测定 PT、APTT、Fib 的比较. 血栓与止血学, 2004, 10: 179-180.
- [6] Poller L, Ibrahim S, Keown M, et al. Simplified method for international normalized ratio (INR) derivation based on the prothrombin time/INR line: an international study. Clin Chem, 2010, 56: 1608-1617.
- [7] Favalaro EJ, Hamdam S, McDonald J, et al. Time to think outside the box? Prothrombin time, international normalized ratio, international sensitivity index, mean normal prothrombin time and measurement of uncertainty: a novel approach to standardization. Pathology, 2008, 40: 277-287.
- [8] Lottin L, Woodhams BJ, Saureau M, et al. The clinical relevance of the citrate effect on International Normalized Ratio determinations depends on the reagent and instrument combination used. Blood Coagul Fibrinolysis, 2001, 12: 399-404.
- [9] 朱文元, 廖昆灵, 刘芹, 等. 不同凝血分析仪检测纤维蛋白原结果的一致性评价. 检验医学与临床, 2012, 9: 479-481.
- [10] 丛玉隆, 李健. 浅析国际标准化比值与纤维蛋白原测定的实验室校准. 中华检验医学杂志, 2010, 33: 568-569.
- [11] Mackie J, Lawrie AS, Kitchen S, et al. A performance evaluation of commercial fibrinogen reference preparations and assays for Clauss and PT-derived fibrinogen. Thromb Haemost, 2002, 87: 997-1005.

(收稿日期: 2012-04-12)

(本文编辑: 戚红丹)

王海, 王成彬, 齐晓伟, 等. 凝血功能分析的系统差异性对临床决策的影响探讨[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2012, 6(15): 4371-4374.

中华医学会