

[16] Korkmaz C, Tercan US, Kasifoglu T, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide (CCP) antibodies in patients with long-standing rheumatoid arthritis and their relationship with extra-articular manifestations[J]. Clin Biochem, 2006, 39(10): 961-965.

[17] van der Woude D, Swersen SW, van der Voort EI, et al. The AC-

PA isotype profile reflects long-term radiographic progression in rheumatoid arthritis[J]. Ann Rheum Dis, 69(6): 1110-1116.

(收稿日期: 2011-01-03)

• 综 述 •

血凝分析仪的性能评估方法的研究进展

胡丽涛¹综述, 王治国^{2△}审校

(1. 北京协和医学院研究生院 100730; 2. 卫生部北京医院卫生部临床检验中心 100730)

关键词: 研究; 血凝分析仪; 性能评估

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 09. 025

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)09-0975-03

随着血凝仪的发展, 关于血凝的评估方法也在更新。实验室应参照临床实验标准化协会 (CLSI) H57-A^[1] 及相关文件^[2-10] 并根据实际情况来对仪器进行评估和使用。仪器的性能评估内容包括精密度、准确度、参考区间、可比性、携带污染率等。在仪器评估之前应该为整个评估过程制订一个评估计划。

1 标本选择

用于血凝仪性能评估的标本应该严格按照 CLSI 提供的指南进行收集、处理、运输和保存。血凝检测适用标准血浆, 其钠浓度必须与实验室标本相同。标本类型包括冰冻血浆、冻干血浆、新鲜标本和基质。除在 4 h 内完成的平行检测外, 评估分析最好使用冰冻或者冻干血浆, 其中冰冻又优于冻干血浆。如果使用冰冻血浆, 应保存在 -70 ℃ 以下, 在 -20 ℃ 保存超过 2 周即可使某些凝血因子失活, 其结果不能和新鲜血浆比较。

2 检测项目选择

基本的评估项目包括凝血筛查试验 I 期凝血酶原时间 (PT)、活化部分凝血活酶时间 (APTT) 和凝血酶时间 (TT) 和 (或) Clauss 法测纤维蛋白原, 评估范围取决于每个实验室的检测范围和标本类型。大规模方法评估需包括正常和病理的血浆, 检测方法包括凝固法 (也称生物学方法)、发色底物法 (用于出血或血栓倾向筛查)、自动免疫比浊法以及监测抗凝检测。评估一台凝血仪所有凝血因子以及发色底物法检测项不太实际, 合理的组合能够较好地评估仪器的性能: 一个基于 PT 的凝血因子 (如 V 因子活性)、一个基于 APTT 的凝血因子 (如 VIII 因子活性)、直接显色反应 (如蛋白 C 活性)、间接显色反应 (如抗凝血酶活性) 和免疫反应 (如 vW 因子抗原)。D-二聚体没有统一标准, 不适宜用于方法比较。

3 试剂选择

条件有限的实验室通常用新的仪器和试剂与使用中的方法进行对比。如果允许, 筛选方法的试剂和仪器应该与参考试剂和仪器 (通过室内质量评估计划评估) 相比较。由于筛选试剂的成分已知, 经常用含相似物质的试剂进行比较。促凝血酶原激酶试剂应该与含有相同类型组织因子的试剂比较, 如重组人源试剂与重组人源试剂、含兔脑组织试剂与含兔脑组织试剂, 至少要有相同的国际敏感度指数 (ISI)。如有需要, APTT 的激活物也应该相匹配。

4 主要性能指标

4.1 精密度 推荐方法: 将同批两水平浓度各 3 份相同标本

作重复测定, 持续 5 个工作日。若一批内出现失控数据, 舍去这个批次的数据, 重新再测定另外一批。每一批应该由 2~3 份不同浓度的血浆组成, 一般是 1 份正常和 1 份高值异常血浆作 PT、APTT 和 TT, 也可以是 1 份正常和 2 份不同浓度的异常血浆作定量检测。至少有 1 份异常血浆的浓度接近医学决定水平 (如抗凝血酶正常参考范围的低限)^[11]。不精密度的可接受限随实验室的不同而不同, 实验室可咨询仪器制造商来确定各自的正常和异常标本不精密度的可接受水平, 比较测得的不精密度与仪器制造商的重复性声明。如果厂家的重复性是用 CV 表示, 通过下面的公式将 CV 转换成 $s: s = CV\%$ ^[12-14]。如果测得的 s 小于厂家声明的 s 说明厂家实现了重复性声明^[12-14]。

4.2 准确度 准确度是指测量结果与被测量真值之间的一致性^[15-16]。真值的概念在血凝检测特别是筛查检测中不常用。国际标准化比率 (INR)^[17] 给了一定的标准, 但是 PT, APTT 和 TT 都没有标准。即使有些检测如 VIII 因子、纤维蛋白原、抗凝血酶有 WHO 的国际标准, 但是其评估方法和参考方法都取决于所使用的方法学、其他凝血因子的浓度和抗凝物质的存在情况。

4.3 参考区间 实验室希望能够在血凝仪的评估过程中为各项检测建立参考区间。这可能特别适用于 PT/INR, 通过其计算 PT 的几何平均值。但是为血凝仪所有的检测建立参考区间的工作有一部分属于仪器的使用阶段。需要使用 20 份健康人的血浆标本来建立和验证血凝仪的参考区间^[18-20], 并且需考虑性别、药物、激素情况、饮食等对结果的影响 (如蛋白 S、APC 抵抗)。检测条件应该和实验室平时工作的条件一致。例如, 很多医院的标本用新鲜血浆, 性能评估时也应该用新鲜血浆。样本应该在短时间内完成检测 (室温 4 h 内), 或者 -70 ℃ 保存。冰冻血浆样本应该用 37 ℃ 水浴, 温和混匀目快速检测。

4.4 可比性 由于真值的概念不适用于大多数血凝检测。在这种情况下, 可比性可以代替准确度。PT 和 APTT 应包含在任何可比性评估过程中^[21-22]。

4.4.1 PT/INR 的可比性评估 PT/INR 的可比性评估至少需要 40 份接受维生素 K 拮抗剂治疗的患者标本。这些标本应该覆盖了整个可报告范围, 包括 30 份标本的 INR 范围在 2.0~4.5 之间, 5 份标本 $INR < 2.0$, 5 份标本 $INR > 4.5$ 。只有 INR 值在 1.5~4.5 之间才有效。理论上, INR 值大于 4.5 的精密度和准确度未知, 然而实际工作中, 临床医生以 $INR > 4.5$ 作为干预的依据。可接受度可定义为大于 85% 的治疗范

△ 通讯作者, E-mail: zhiguo_w@hotmail.com.

围内(INR:2.0~4.0)的标本其结果在已有方法的 ± 0.5 INR 范围内。厂家或参考方法提供的 ISI 值应该用校正血浆进行验证。当各方法结果出现不一致时,用类似仪器评估的参考方法进行确认,如用手工参考方法确认手工终点检测方法^[23-24]。

4.4.2 APTT 的可比性评估 APTT 的可比性评估包括正常标本、普通肝素治疗(监测治疗)的患者标本、狼疮抗凝物的患者标本及凝血因子缺乏的患者标本。若实验室用 APTT 监测普通肝素治疗,则需要至少 20 份患者标本。肝素体内激发的血浆不适用,所得数据可用肝素治疗范围解释(抗-Xa 方法检测,范围在 0.3~0.7 之间),建立合适的 APTT 监测治疗范围。

4.5 携带污染 携带污染是指上轮检测的标本或试剂对待检标本造成的污染。最常见的原因是吸样针沾染了前面的标本或试剂。

4.5.1 标本污染 标本的污染程度可用 PT 和 APTT 评估,检测 1 份正常血浆(标本 A)和 1 份很异常的血浆(B)。对于 PT,含香豆素的血浆 INR=3.0~4.0 可作为异常血浆;含肝素的血浆 APTT 在 50~80 s 或者其他类似的 APTT 值血浆可作为异常血浆。标本按 A1、A2、A3、B1、B2、B3 的顺序测定。这个顺序可以看出正常血浆对异常血浆结果的影响。再将这个检测过程变成 B1、B2、B3、A1、A2、A3,这个顺序可以看出异常血浆对正常血浆的影响。每个顺序过程应该重复 10 次并计算污染率。用正常标本到异常标本检测所得 B1 和 B3 的均值做 *t* 检验,得出污染的显著性。平均均值是用异常标本到正常标本检测所得的 A1 均值与 A3 均值之差。污染率的计算公式:污染率=(B1-B3)/(A3-B2)×100%;污染率=(A1-A3)/(B3-A2)×100%。

4.5.2 试剂污染 如果仪器使用的是专用的传输系统,没有必要评估试剂的污染。如果同一吸样针用于所有的试剂和样本,试剂污染可能会存在一定的问题。如 Clauss 法检测纤维蛋白原,试剂中存在凝血酶很有可能造成污染^[25]。厂家可能会提供关于携带污染的信息。测量凝血酶污染对结果的影响推荐重复检测 5 份足量的正常血浆的 APTT 和用 Clauss 法检测纤维蛋白原。由于血凝仪的检测顺序可能有随机性,所以确保一下检测顺序很重要:A1 APTT、A2 APTT、A3 APTT、A4 APTT、A5 APTT、A1 Clauss 纤维蛋白原、A1 Clauss 纤维蛋白原、A2 Clauss 纤维蛋白原、A3 Clauss 纤维蛋白原、A4 Clauss 纤维蛋白原、A5 Clauss 纤维蛋白原。每份标本重复检测 10 次,比较 A1 APTT 与 A5 APTT 的均值。用配对 *t* 检验分析 Clauss 纤维蛋白原检测前后 5 个标本 APTT 值的改变。

5 结 论

临床实验室所使用的血凝分析仪越来越先进,血凝仪的性能评估工作也越来越复杂,除了常规筛查检测(PT、APTT、TT 和 Clauss 法测纤维蛋白原)外,很多血凝仪还使用显色法和免疫比浊法,还有的血凝仪用到了化学发光检测方法。凝血检测以及试剂仪器的不断发展要求新的血凝仪性能评估指南。早期的评估趋向于将仪器性能与手工技术比较。尽管还保留了 PT/INR 的国际参考方法,但是这种评估方法渐渐从常规实验室消失。随着这种趋势,需要用一种新的理念去展望仪器性能评估。

参考文献

- [1] Clinical and Laboratory Standards Institute. H57-A Protocol for the evaluation, validation, and implementation of coagulometers; approved guideline[S]. Wayne, PA: CLSI, 2008.
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. P7-A2 Interference

- testing in clinical chemistry; approved guideline-second edition [S]. Wayne, PA: CLSI, 2005.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. AUTO 8-A Managing and validating laboratory information systems; approved guideline [S]. Wayne, PA: CLSI, 2006.
- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute. GP19-A2 Laboratory instruments and data management systems; design of software. User Interfaces and end-user software systems validation, operation, and monitoring; approved guideline-second edition [S]. Wayne, PA: CLSI, 2003.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute. H49-A Point-of-care monitoring of anticoagulation therapy; approved guideline [S]. Wayne, PA: CLSI, 2004.
- [6] U. S. Department of Health and Human Services. Guideline for isolation precautions; preventing transmission of infectious agents in healthcare settings 2007 [EB/OL]. [2007-11-27]. <http://www.guideline.gov>.
- [7] Clinical and Laboratory Standards Institute. M29-A3 Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; approved guideline-third edition [S]. Wayne, PA: CLSI, 2005.
- [8] International Organization for Standardization. ISO/DIS 17593 Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems-in vitro monitoring systems for anticoagulant therapy self-testing [S]. Geneva: ISO, 2005.
- [9] International Organization for Standardization. ISO 14971 Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems-guidance on risk analysis for in vitro diagnostic medical devices-complementary element [S]. Geneva: ISO, 2004.
- [10] 王治国. 临床检验方法确认与性能验证 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 131-284.
- [11] Clinical and Laboratory Standards Institute. H21-A5 Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline-fifth edition [S]. Wayne, PA: CLSI, 2008.
- [12] 杨志钊, 缪丽韶, 杨山虹, 等. 利用 CLSI EP15-A 指南验证精密度和准确度 [J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(3): 231-232.
- [13] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline-second edition [S]. Wayne, PA: CLSI, 2004.
- [14] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP15-A2 User verification of performance for precision and trueness; approved guideline-second edition [S]. Wayne, PA: CLSI, 2005.
- [15] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP17-A Protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation; approved guideline [S]. Wayne, PA: CLSI, 2004.
- [16] Clinical and Laboratory Standards Institute. H54-A Procedures for validation of INR and local calibration of PT/INR systems; approved guideline [S]. Wayne, PA: CLSI, 2005.
- [17] 姜俊. 不同血凝仪国际敏感指数值的对比 [J]. 检验医学与临床, 2010, 7(18): 2001-2002.
- [18] Clinical and Laboratory Standards Institute. C28-A2 How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline-second edition [S]. Wayne, PA: CLSI, 2000.
- [19] Ansell J, Hirsh J, Poller L, et al. The pharmacology and management of the vitamin K antagonists; the seventh ACCP conference on antithrombotic and thrombolytic therapy [J]. Chest, 2004, 126 (Suppl 3): 204S-233S.
- [20] 唐万兵. CA-6000 全自动血凝分析仪的应用评价 [J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(2): 187.
- [21] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP9-A2 Method com-

parison and bias estimation using patient samples; approved guideline-second edition[S]. Wayne, PA; CLSI, 2002.

[22] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP10-A3 Preliminary evaluation of quantitative clinical laboratory measurement procedures; approved guideline-third edition[S]. Wayne, PA; CLSI, 2006.

[23] 黄宏耀, 王长翠, 李玲. 建立新鲜健康抗凝血多仪器比对室内质量控制措施的探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(11): 1033-1034.

• 综 述 •

1034.

[24] 鞠辉, 张茂海. 不同检测系统测定纤维蛋白原结果的可比性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(2): 195-198.

[25] 许蕾, 胡晓波, 李泳. 纤维蛋白原测定系统的探讨[J]. 上海医学检验杂志, 2003, 18(5): 257-260.

(收稿日期: 2010-12-19)

临床输血与肝癌治疗研究进展

蒋学兵¹综述, 王洪波²审校

(1. 中国人民解放军海军总医院输血科; 2. 中国人民解放军空军总医院输血科, 北京 100048)

关键词: 肝肿瘤; 出血; 输血; 血液制品
DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.09.026 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2011)09-0977-03

随着手术技术、手术前后护理技术的发展及手术经验的积累, 肝癌患者术中输血的概率不断减少, 但肝全切、次全切、肝移植等肝脏手术仍然需要进行围术期输血, 而与输血相关的术后感染、肿瘤复发和生存率降低等观点在医学界尚有争论^[1-15]。由于肝癌患者长期的慢性机体消耗及放、化疗后外周血三系细胞减少, 输血又可作为一种支持治疗而有其不可替代的作用。因此, 弄清输血对机体免疫机制的影响和如何对肝癌患者进行合理输血是医学界普遍关注的问题, 现将近年来的相关研究做一简要综述。

1 输血对于肝癌患者治疗的支持作用

肝癌是临床最常见的恶性肿瘤之一, 其发展迅速、预后很差, 在所有的恶性肿瘤中肝癌患者病死率已升至第 2 位。在肝癌的肿瘤切除、肝移植和肝癌术后, 输血作为一种支持治疗又是不可避免的。输血对于肝癌患者治疗的主要支持作用是纠正患者的贫血状况、提高血氧含量, 导致肿瘤细胞氧化, 加速肿瘤细胞变性坏死。因此, 对于肝癌患者伴有贫血和相应症状时及时给予红细胞输注是很有必要的。肝癌患者在放、化疗期间, 血小板减少也是常见的并发症, 循环血小板数量与出血的发生直接相关, 因此给予放、化疗的肝癌患者输注血小板是预防出血及减少死亡的重要手段。由于凝血因子缺乏导致出血, 此时输注新鲜冰冻血浆, 以补充相应的凝血因子可有效地控制出血, 从而对肿瘤治疗起辅助作用。虽然有些学者认为术中输血可引起肝癌患者肿瘤复发, 但在 Kwon 等^[2]的研究中没有找到相应证据。尽管有研究报道外科技术的发展可减少术中出血和输血, 但术中输血的支持治疗仍然不可避免^[3]。

2 输血与免疫抑制、术后感染和肿瘤复发

2.1 输血与免疫抑制 虽然输血可在疾病的治疗中发挥替代性作用, 但输血亦可能增加术后感染、肿瘤复发、器官功能衰竭等并发症的概率。输血可能通过不同的途径影响受血者的特异性和非特异性免疫机制, 致受血者免疫效应细胞的功能受到抑制及免疫抑制细胞激活^[4]。目前, 尚无法解释临床上观察到的输血导致的免疫抑制现象。研究发现, 输血可影响免疫调节因子的产生从而抑制非特异性免疫, 包括增强前列腺素 E2 (PGE2) 的产生及下调白细胞介素 2 (IL-2) 的表达。PGE2 可提供强有力的免疫抑制信号, 抑制巨噬细胞表面组织相容性复合物 (MHC) II 类分子的表达和抗原呈递功能, 同时抑制 IL-2 的产生, 降低靶细胞对 IL-2 的反应性, 诱导免疫抑制。输血对特异性免疫的抑制多表现为 MHC 异常, 使 T 淋巴细胞不能发

挥有效的功能, 或发生克隆衰竭。由于输血导致体内 IL-2 合成能力下降, 从而影响 NK 细胞的活性, 产生免疫抑制。同种异体输血可能引起受血者淋巴细胞亚群的改变, 表现在 CD2、CD3、CD4、CD4/CD8 T 细胞亚群均显著降低, 提示细胞免疫功能普遍受抑制。同时, 研究显示输血量越多, 免疫功能抑制越明显^[5]。输血可能是免疫效应细胞的潜在抑制剂, 也是免疫抑制细胞的刺激剂, 可使有益的免疫功能下调, 也可引起有害的免疫抑制作用。但 Kwon 等^[2]前瞻性研究了 108 例行肝切除的肝癌患者, 分析了围术期输血与无瘤生存、NK 细胞活性、T 淋巴细胞亚群、植物凝集素 (PHA) 反应的关系, 认为虽然输血组 CD8 升高、PHA 反应增加、NK 细胞活性下降, 但没有统计学意义。

2.2 输血与感染 有资料表明患者围术期输血能增加术后感染等并发症, 降低长期生存率。Silliman^[6]研究了输血与肿瘤患者术后感染的相关性, 发现输血可导致肿瘤患者手术后感染率增高, 输血组为 25%, 而未输血组为 7%, 两组间存在明显差异。恶性肿瘤患者由于体内肿瘤细胞的恶性增殖及广泛转移, 常导致机体的免疫功能下降, 从而导致感染等各种并发症的发生^[7], 异基因造血干细胞移植作为特殊的输血方式, 移植后常引起侵袭性真菌感染^[8]。因此, 免疫调节治疗是肝癌患者的重要辅助治疗之一。

2.3 输血与肿瘤复发 许多研究证实肝癌复发与输血关系密切, 输血可使肝癌复发率增高, 可能的机制是输血可致受血者免疫抑制, 阻碍机体对肿瘤的免疫应答, 导致肿瘤发生免疫逃逸, 从而促进肿瘤的生长和复发^[9-10]。Tachibana 等^[11]对 235 例胸段食管癌患者术后的研究发现, 未输血或少量输血 (≤ 2 个单位) 与大量输血 (≥ 3 个单位) 的患者 5 年存活率分别是 69.0% 和 31.7% ($P < 0.01$)。大多数研究结果表明, 输血的患者较未输血的患者预后差、肿瘤复发率高, 并且肿瘤复发率与输血量呈正相关。但应注意的是输血的患者往往肝癌病情较重、病情较长、肿瘤或许已有转移、手术复杂, 而未输血的患者则相反。

3 肿瘤患者自体输血问题

自体输血是指采集或收集患者自身的血液或血液成分, 经适当的保存或处理后回输给患者本人, 以满足手术或紧急情况时需要的一种输血疗法。自体输血有术前预存式 (PAT)、急性等容稀释式 (ANH) 和术野血回收式 (IAT) 3 种方法。

自体输血问题过去曾被认为是肿瘤患者的禁忌, 但近来的