

• 检验仪器与试剂评价 •

某国产纤维蛋白原试剂在 Sysmex CA1500 血凝仪的临床性能验证

马艳侠^{1,2}, 肇玉博², 王 丽², 陈静宏^{1△}

(1. 西安交通大学医学院, 陕西西安 710061; 2. 陕西中医学院附属医院检验科, 陕西咸阳 712000)

摘要:目的 某国产纤维蛋白原凝固法-Clauss 法试剂在日本 Sysmex CA1500 血凝仪上的临床性能验证。方法 国产纤维蛋白原试剂为 A 试剂, 德国西门子 Dade Thrombin Reagent 试剂为 D 试剂, 均采用 Clauss 法, 分别测试两个水平质控品的批内精密密度、批间精密密度; 165 例正常临床样本用 A 试剂进行参考值范围验证; 用 A 试剂和 D 试剂的 200 例临床样本纤维蛋白原结果对比, 进行显著性检验和等效性检验。结果 A 试剂和 D 试剂两个水平质控的批内精密密度 CV 分别为 4.28%、6.98% 和 3.45%、5.22%, A 试剂和 D 试剂两个水平质控的批间精密密度 CV 分别为 6.23%、10.34% 和 6.20%、9.89%, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); A 试剂参考值范围为 2.08~3.92 g/L; A 试剂和 D 试剂临床样本的纤维蛋白原结果对比, 差异有统计学意义 ($P = 0.025$); 但是, 两组试剂结果均数之差的 90% 双侧可信区间 (90% CI: -0.09, 0.15) 位于等效区间 (-0.27, 0.27) 内。结论 国产纤维蛋白原凝固法-Clauss 法试剂结果可靠, 适用于日本 Sysmex CA1500 血凝仪, 和德国西门子 Dade 试剂临床应用等效。

关键词: 纤维蛋白原; 实验室技术和方法; 等效性

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.13.050

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)13-1778-03

Clinical validation of a domestic fibrinogen reagent on coagulometer Sysmex CA1500

Ma Yanxia^{1,2}, Zhao Yubo², Wang Li², Chen Jinghong^{1△}

(1. Medical College, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi 712000, China)

Abstract: **Objective** To validate the clinical performance of a domestic fibrinogen reagent by freezing method (Clauss method) on the coagulometer Japan Sysmex CA1500. **Methods** The domestic fibrinogen reagent as the reagent A and the Germany Siemens Dade thrombin reagent as the reagent D, the Clauss method was adopted to measure the within-run precision and between-run precision in two levels of quality control respectively. The reference value range was verified by the reagent A in 165 cases of normal clinical samples. The fibrinogen detection results in 200 cases of clinical samples were compared between by the reagent A and the reagent D. The significance test and the equivalence test were performed. **Results** The within-run precision CV of the reagent A and D in two levels of quality control were 4.28%, 6.98% and 3.45%, 5.22% respectively, the between-run precision CV of the reagent A and D in two levels of quality control were 6.23%, 10.34% and 6.20%, 9.89% respectively, the differences had no statistical significance ($P > 0.05$). The reference value range of the reagent A was 2.08-3.92 g/L. The fibrinogen detection results of the clinical samples by the reagent A and D had the statistically significant differences ($P = 0.025$). But the 90% bilateral confidence interval (90% CI: -0.09, 0.15) of the difference in the mean detection results by these two reagents located in the equivalent interval (-0.27, 0.27). **Conclusion** The domestic fibrinogen reagent for Clauss method has reliable detection results and is suitable for the coagulometer Japan Sysmex CA1500, which is equivalent to the clinical application of Germany Siemens Dade thrombin reagent.

Key words: fibrinogen; laboratory techniques and procedures; equivalent

纤维蛋白原是对凝血过程有着重要影响的凝血因子 I, 其定量检测是临床上用于血栓和止血诊断的常用项目^[1]。目前, 国际上纤维蛋白原的定量测定大多采用凝固法-Clauss 法, 它适用于以凝固法原理设计的全自动血凝仪。不同的血凝仪大多采用配套的检测试剂, 每种试剂的敏感性和特异性也有差别, 其检测的线性范围、参考值范围也不同^[2]。在日本 Sysmex CA1500 血凝仪上配套使用的是德国西门子 Dade 试剂, 本研究采用某国产试剂在 Sysmex CA1500 血凝仪上进行临床性能验证, 结果和 Dade 试剂对比, 以确定其精密密度、准确度和临床适用性, 建立本地区健康人群的参考值范围。

1 资料与方法

1.1 一般资料 在陕西中医学院附属医院共纳入 200 例临床样本, 均排除黄疸、脂血和溶血标本。

1.1.1 正常组 165 例, 男 85 例, 女 80 例, 年龄 12~76 岁, 平均年龄 43 岁, 在门诊健康体检后无心、肺、肝、肾等器质性疾病, 无感染性疾病。

1.1.2 异常组 35 例, 男 18 例, 女 17 例, 年龄 15~78 岁, 平均年龄 44 岁, 包括术后 6 例, 肝硬化 6 例, 冠心病 5 例, 糖尿病 4 例, 产科 3 例, 宫颈癌 3 例, 脑梗死 3 例, 急性心肌梗死 3 例, 尿毒症 2 例。均来源于陕西中医学院附属医院 2011 年 6 月住院的确诊患者, 根据患者的临床表现、病理检查、影像学诊断、实验室指标等符合各自的诊断标准。

1.2 仪器与试剂 纤维蛋白原的测定采用日本 Sysmex CA1500 全自动血凝仪。国产纤维蛋白原试剂由国内某生物科技有限公司提供, 批号 20101021, 简称 A 试剂; 德国西门子 Healthcare Diagnostics Products GmbH 公司提供 Dade

Thrombin Reagent 试剂,批号为 537992A,简称 D 试剂,目前在 Sysmex CA1500 血凝仪上配套使用,临床普遍认为质量较好。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 空腹 12 h 左右,清晨抽取静脉血于 0.109 mol/L 的枸橼酸钠抗凝管,枸橼酸钠与血液比例为 1 : 9,全血于 0.5 h 内用 2 500 r/min 离心 10 min 分离血浆,在 2 h 内完成检测。

1.3.2 检测方法 两种试剂检测方法均为凝固法-Clauss 法。

1.3.3 质量控制方法 两种试剂校准采用线性回归法,校准品由日本积水医疗株式会社提供,批号为 804RGH;质控品由德国西门子 Healthcare Diagnostics Products GmbH 公司提供,正常值质控批号为 503144,低值质控批号为 509925。1 d 内取 3 瓶质控品,分别用 2 种试剂测定 10 次纤维蛋白原,计算批内精密密度;连续 10 d 每天分别用两种试剂测定质控品,结果在质控控制限范围内才能进行样本测定,计算批间精密密度。

1.4 统计学处理 符合正态分布的结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,偏态分布的结果以中位数(M)、四分位间距(Q)、百分位数表示。两组质控品批内、批间精密密度比较,数据分布符合正态性和方差齐性,采用两独立样本 *t* 检验;两组临床样本的结果差值 *d* 不满

足正态性,结果比对采用配对设计的 Wilcoxon 符号秩和检验,使用 SPSS 20.0 进行统计分析,显著性检验水准 $\alpha=0.05, P < 0.05$ 为差异有统计学意义。等效性检验采用可信区间推断法,显著性水准 $\alpha=0.05$,为双单侧检验,等效界值 δ 取主要指标 D 试剂均数的 1/10,等效区间为 $(-\delta, \delta)$,如果两组结果均数之差 $(1-2\alpha) \times 100\%$ 双侧可信区间(CI)位于等效区间 $(-\delta, \delta)$ 内,则认为两组试剂等效^[3]。

2 结果

2.1 A 试剂和 D 分别测试 10 次 2 个水平质控品的批内精密密度,纤维蛋白原结果差异均无统计学意义(*P* 分别为 0.402、0.106)。2 组数据满足正态性(A 试剂 *W* 分别为 0.952、0.869, *P* 分别为 0.687、0.097;D 试剂 *W* 分别为 0.926、0.886, *P* 分别为 0.398、0.155)和方差齐性(*F* 分别为 0.152、1.300, *P* 分别为 0.701、0.269),见表 1。

2.2 A 试剂和 D 试剂连续 10 d 分别测试 2 个水平质控品的批间精密密度,结果差异均无统计学意义(*P* 分别为 0.979、0.370)。2 组数据满足正态性(A 试剂 *W* 分别为 0.869、0.909, *P* 分别为 0.098、0.273;D 试剂 *W* 分别为 0.938、0.962, *P* 分别为 0.530、0.810)和方差齐性(*F* 分别为 0.313、0.008, *P*=0.583、0.931),见表 2。

表 1 2 种试剂纤维蛋白原批内精密密度的比较

组别	<i>n</i>	正常值(g/L)	CV(%)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	低值(g/L)	CV(%)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
A 试剂组	10	2.57±0.11	4.28	-0.859	0.402	0.86±0.06	6.98	-1.701	0.106
D 试剂组	10	2.61±0.09	3.45	—	—	0.90±0.05	5.22	—	—

—:无数据。

表 2 2 种试剂纤维蛋白原批间精密密度的比较($\bar{x} \pm s, g/L$)

组别	<i>n</i>	正常值(g/L)	CV(%)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	低值(g/L)	CV(%)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
A 试剂组	10	2.57±0.16	6.23	-0.027	0.979	0.87±0.09	10.34	-0.920	0.370
D 试剂组	10	2.58±0.16	6.20	—	—	0.91±0.09	9.89	—	—

—:无数据。

2.3 165 例正常临床样本用 A 试剂纤维蛋白原浓度的 95% 参考值范围验证。数据不满足正态性(*W* = 0.966, *P* = 0.000),呈右偏态分布,采用百分位数法计算双侧 95% 参考值范围,见表 3。

表 3 165 例正常临床样本纤维蛋白原浓度的统计描述(g/L)

组别	<i>n</i>	<i>W</i> 值	<i>P</i> 值	<i>M</i>	<i>Q</i>	<i>X</i> _{2.5%}	<i>X</i> _{97.5%}	95%参考值范围
A 试剂组	165	0.966	0.000	2.81	0.79	2.08	3.92	2.08~3.92

2.4 200 例临床样本分别用 A 试剂和 D 试剂的纤维蛋白原结果进行比对,结果差异有统计学意义(*Z* = -2.246, *P* = 0.025)。两组数据配对差值 *d* 不满足正态性(*W* = 0.464, *P* = 0.000),采用配对设计的 Wilcoxon 符号秩和检验。等效性检验的等效区间 $(-\delta, \delta)$ 取 D 试剂组均数的 1/10,为 -0.27、0.27,两组总体均数之差的 90% 可信区间为 -0.85 和 0.89,位于等效区间内,可认为两组试剂等效,见表 4、5。

表 5 2 种方法纤维蛋白原含量的等效性检验(g/L)

组别	<i>n</i>	\bar{x}	<i>s</i>	$-\delta$ 值	δ 值	90%CI 下限	90%CI 上限
A 试剂组	200	2.75	0.75	—	—	—	—
D 试剂组	200	2.72	0.73	—	—	—	—
$\bar{x}_A - \bar{x}_D$	200	0.03	0.25	-0.27	0.27	-0.09	0.15

—:无数据。

3 讨论

本次试验 2 种纤维蛋白原测定均采用凝固法-Clauss 法,其反应原理是纤维蛋白原与凝血酶作用最终形成纤维蛋白,稀

表 4 2 种方法纤维蛋白原浓度的结果比对(g/L)

组别	<i>n</i>	<i>M</i>	<i>Q</i>	<i>W</i> 值	<i>P</i> 值	<i>Z</i> 值	<i>P</i> 值
A 试剂组	200	2.77	0.94	—	—	—	—
D 试剂组	200	2.70	0.89	—	—	—	—
差值 <i>d</i>	200	0.02	0.18	0.464	0.000	-2.246	0.025

—:无数据。

释血浆加入一定量的凝固酶后,血浆的凝固时间与血浆纤维蛋白原浓度呈反比,用已知浓度的纤维蛋白原血浆绘制成的标准曲线求出纤维蛋白原的浓度。因操作简便,结果较 PT 衍算准确,所以越来越广泛地应用于临床自动化凝血仪^[4]。

纤维蛋白原是一种在肝脏合成的急性期反应蛋白,其主要生理功能是作为凝血因子 I 直接参与体内凝血过程^[5]。纤维蛋白原是所有凝血因子中浓度最高的一种凝血蛋白,其浓度的改变是机体的一种非特异性反应,在许多疾病时均出现血浆纤维蛋白原水平的改变,并且纤维蛋白原对血液流变学又有很大影响,造成疾病的组织、器官进一步缺血。因此,纤维蛋白原浓度测定在判断疾病的发生、发展上具有重要的意义,可应用于 DIC 的诊断监测、机体感染和炎症的诊断、血栓倾向的诊断和冠心病、糖尿病、恶性肿瘤、肾病、肝病等诊疗^[6]。

本研究采用国产试剂在日本 Sysmex CA1500 凝血仪上进行临床性能验证,建立本地区健康人群的参考值范围。和目前临床普遍认为质量较好的德国西门子 Dade Thrombin Reagent 试剂比对,其精密度和进口试剂比较无差异,结果可靠。国产试剂成本低于进口试剂,适合在临床推广应用^[7]。其线性范围、回收试验及干扰试验、灵敏度及 Cutoff 值在以后的应用中,有待于进一步研究验证^[8]。

另外,在本次某国产试剂与“已有同品种批准上市”产品的临床试验中,与已批准上市的德国西门子 Dade 试剂针对临床样本进行对比试验研究,证明本品与已上市产品等效^[9],采用了等效性检验的方法,与临床等效界值比较,更能验证其临床性能。在实际应用中,常有人将等效性检验等同于差异性检验不拒绝零假设的情形,有研究表明,差异性检验为 $P > \alpha$, 等效性检验结果为等效结论的比例会随着样本量的增加而增加,当样本量大于 150 时,在差异性检验结果 $P > \alpha$ 时,等效性检验为等效结论者达 100%^[10]。反之,若差异性检验为 $P < \alpha$, 尤其当 P 在 α 附近时,更应注意统计学意义和实际意义的区别,因为在假设检验样本量足够大时,更容易得出差别有统计学意义

的结论,所以也不能轻易证明二者不等效,一定要采取等效性检验的方法,结合有临床意义的临床等效性界值 δ 来判断。本次试验等效性检验和差异性检验结果不相符,也说明了这一点,提醒研究者在以后的临床试验中要注意两种统计学方法的差异,不能以差异性检验代替等效性检验,并注意样本量的大小。

参考文献

- [1] 王振义,李家增. 血栓与止血基础理论与临床[M]. 上海:上海科学技术出版社,2004:636-638.
- [2] 李黎. 两种常用方法测定血浆纤维蛋白原的临床评价[J]. 检验医学与临床,2013,10(1):64-65.
- [3] 颜虹,徐勇勇,赵耐青. 医学统计学[M]. 北京:人民卫生出版社,2012:292-304.
- [4] 郭桂英,郭勇,余世金,等. 同一仪器不同试剂测定纤维蛋白原的方法评价[J]. 检验医学与临床,2012,9(12):1438-1439.
- [5] 王鸿利,王学峰. 血栓病临床新技术[M]. 北京:人民军医出版社,2003:365-368.
- [6] 王晓明. 糖尿病肾病患者 D-二聚体和纤维蛋白原检测的应用价值[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(11):256-257.
- [7] 许小英,于海涛,周存敏,等. 某型号全自动凝血分析仪的性能评价[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(11):1361-1362.
- [8] Huang FD, Yan ZB, Liao LS. Verification of linear range of determination of platelet by XE2100[J]. Exp Lab Med, 2010, 28(1): 99-102.
- [9] 国家食品药品监督管理总局. 体外诊断试剂临床研究技术指导原则[Z]. 北京:国家食品药品监督管理总局,2007.
- [10] 安胜利,陈平雁. 等效性检验与差异性检验的区别及其模拟验证[J]. 中国卫生统计,2007,24(3):226-228.

(收稿日期:2014-01-08)

(上接第 1777 页)

尔定律。如果被测溶液里含过多的乳糜颗粒会产生浑浊干扰测定结果,而且乳糜颗粒也会影响溶血剂的溶血速度,造成 RBC 破坏不完全而影响结果^[8]。乳糜颗粒大小在 7.0~9.0 fL,和小血小板直径相近易产生干扰,三酰甘油浓度高于 14.00 mmol/L 时,PLT 直方图会出现异常使测定结果明显偏高。RBC 值经置换,均与未置换前样本差异无统计学意义($P > 0.05$)。

乳糜现象程度的不同对血细胞分析仪的影响幅度不等。某些血细胞分析仪有浑浊/血红蛋白(Turb/HGB)等类似的提示信息,或出现 RBC 和 HGB 比例失调时,应特别予以关注,对间接判断乳糜血现象有很大帮助。在置换血浆过程中,对难以区分乳糜血浆、PLT 和 WBC 界限层的,可分多次分离,尽量避免触及 PLT 和 WBC 层,以免人为因素造成结果的差异。因此,当临床出现特殊病例时,检验医师要特别注意病理及生理因素对实验结果的影响,加强与临床沟通,为临床提供准确的结果。

参考文献

- [1] 李丽琴,洪军,刘晶. 乳糜血对 AFP、CEA 放免检测的影响[J]. 放

射免疫杂志,2004,17(2):290-292.

- [2] 韩丽红,张利芳,邢少姬. 乳糜血对干化学法和湿化学法测定清蛋白和 ALT 活性的干扰[J]. 包头医学院学报,2010,26(1):52-53.
- [3] 许顺姬,朴美花. 标本放置时间及溶血、乳糜血对 PT 和 APTT 的影响[J]. 现代检验医学杂志,2007,22(1):128-130.
- [4] 乐家新,王海红,傅岩. 白细胞直方图的特点与临床意义[J]. 中华检验医学杂志,2004,27(2):270-272.
- [5] Grimaldi E, Scopacasa F. Evaluation of the Beckman-Coulter Gen-S hematology analyzer[J]. Lab Hematol, 1998, 4(2): 264-268.
- [6] 乐家新,马骏龙,徐菡,等. 红细胞冷凝集对不同血型血细胞分析仪检测结果的影响探讨[J]. 医疗卫生装备,2009,30(1):69-71.
- [7] Igout, Fretigny M, Vasse M, et al. Evaluation of the Coulter LH750 haematology analyzer compared with flow cytometry as the reference method for WBC, platelet and nucleated RBC count [J]. Clin Lab Hamatol, 2004, 26(1): 127-129.
- [8] 田薇薇,邢桂英,田敏丽,等. 乳糜血对血红蛋白测定的影响和去除方法的探讨[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(6):708-709.

(收稿日期:2014-01-23)