

同一仪器不同试剂测定纤维蛋白原的方法评价

郭桂英,郭 勇,余仕金,郑春莲(四川省乐山市人民医院检验科 614000)

【摘要】 目的 对用配套进口试剂和国产试剂在 CA-1500 型全自动凝血仪上测定纤维蛋白原(Fib)的两种方法进行评价。**方法** 用正常和异常值临床样本检测 Fib,并对测定结果进行统计学分析。**结果** CA-1500 型全自动凝血仪 Von Clauss 法和凝血酶原导出法(PT-der)测定 Fib,当 Fib 含量低于 5 g/L 时,测定结果差异无统计学意义;当 Fib 含量大于 5 g/L 时,后者测定的 Fib 结果偏高。**结论** 建议临床在应用全自动凝血仪时,当 PT-der 衍算出来的 Fib 较高时,应改用 Von Clauss 法进行测定。

【关键词】 全自动凝血仪; 纤维蛋白原; 凝血酶原导出法; Von Clauss 法
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.12.014 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)12-1438-02

Evaluation of fibrinogen determination method with different reagents in same equipment GUO Gui-ying, GUO Yong, SHE Shi-jin, ZHENG Chun-lian (Department of Laboratory, Leshan Municipal People's Hospital, Leshan, Sichuan 614000, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the two methods of fibrinogen(Fib) determination with matched imported reagent and domestic reagent in the CA-1500 fully automatic coagulation analyzer. **Methods** The clinical specimens with normal and abnormal values were adopted to detect plasma Fib and the detection results were statistically analyzed. **Results** In Fib detection with Von Clauss method and PT-der method in CA 1500 fully automatic coagulation analyzer, when Fib level < 5g/L, the detection results had no statistical difference, when Fib level >5 g/L, the detection results of the PT-der method was on the high side. **Conclusion** It is suggested that when Fib value calculated by the PT-der method in the fully automatic coagulation analyzer is higher in clinic, the Fib detection should be changed to adopt Von Clauss method.

【Key words】 fully automatic coagulation analyzer; Fib; PT-der method; Von Clauss method

纤维蛋白原(Fib)是血浆中最早分离出来的一种蛋白质,也是含量最高的一种凝血蛋白,由肝细胞和巨核细胞合成,是急性期蛋白之一。长期以来,Fib 都是作为消耗性凝血疾病的诊断指标,但近年来的研究表明,Fib 水平的变化不仅与凝血障碍、出血性疾病、弥散性血管内凝血(DIC)、应激有关,而且与心血管疾病、血栓病、糖尿病及恶性肿瘤等密切相关;高水平的 Fib 是冠心病的危险因素之一^[1]。Fib 的遗传变异所致的出血或血栓性疾病及反复自发流产也屡见报道。因而近年来临床对 Fib 的检测倍受重视,对其测定的精度也提出了更高的要求。

近年来随着自动化凝血分析仪的广泛使用,使测定趋于自动化和标准化。本研究主要对日本 Sysmex 公司生产的 CA-1500 型全自动凝血仪检测 Fib 所具有的两种测定方法[Von Clauss 法和凝血酶原导出法(PT-der)]进行方法学评价,并对配套进口试剂和国产试剂的使用情况进行比较,旨在指导日常工作,提高 Fib 检测的准确性。

1 材料与方法

1.1 材料

97 份本院随机抽取的患者静脉血。

1.2 试剂与仪器

进口配套凝血酶原时间(PT)测定试剂盒批号:545166,ISI:1.04;DADE BEHRING 公司产品。国产 PT 测定试剂盒:批号:2001035,ISI:0.99;上海太阳生物有限公司产品。进口配套 Fib 测定试剂盒批号:540261,DADE BEHRING 公司产品。国产 Fib 测定试剂盒:批号:20350063,上海太阳生物有限公司产品。日本 Sysmex 公司生产的 CA-1500 型全自动血

凝仪。

1.3 方法

每天随机抽取住院和门诊患者静脉血 1.8 mL 于含枸橼酸钠(109 mmol/L)0.2 mL 抗凝剂的一次性真空采血管中,立即颠倒混匀。置水平离心机以 2 500 r/min 离心 10 min,分离血浆。分别用进口配套试剂和国产试剂在 CA-1500 全自动凝血仪上同时用 Von Clauss 法和 PT-der 检测 Fib。

1.4 统计学方法

以 Von Clauss 法测得的结果分段,并进行配对 *t* 检验。

2 结 果

2.1 配套进口试剂两种方法 Fib 结果比较

见表 1。结果显示,当 Fib 含量小于 5 g/L 时,Von Clauss 法和 PT-der 测定 Fib 的结果较接近,差异无统计学意义($P>0.05$);而当 Fib 含量大于 5 g/L 时,Von Clauss 法和 PT-der 测定 Fib 的结果差异有统计学意义($P<0.05$),表现为 PT-der 测定值高于 Von Clauss 法。

表 1 配套进口试剂两种方法 Fib 结果比较($n=97$,g/L)

Fib	<i>n</i>	$\bar{x}$		<i>t</i>	<i>P</i>
		Von clauss 法	PT-der		
<2	9	1.66	1.82	0.69	> 0.05
2~<4	65	3.03	3.17	1.62	> 0.05
4~5	17	4.41	4.83	1.98	> 0.05
>5	6	5.45	6.76	5.17	< 0.05

2.2 国产试剂两种方法 Fib 结果比较 见表 2。结果显示,使用国产试剂检测 Fib 只有含量小于 4 g/L 时,Von Clauss 法和 PT-der 测定 Fib 的结果较接近,差异无统计学意义;而当 Fib 含量大于 4 g/L 时,Von Clauss 法和 PT-der 测定 Fib 的结果相差就较大,差异有统计学意义($P<0.05$),同样表现为 PT-der 测定值高于 Von Clauss 法,且较配套进口试剂的差异更显著。

表 2 国产试剂两种方法 Fib 结果比较($n=97$,g/L)

Fib	<i>n</i>	$\bar{x}$		<i>t</i>	<i>P</i>
		Von clauss 法	PT-der		
<2	9	1.70	1.92	1.45	> 0.05
2~<4	65	3.21	3.42	1.76	> 0.05
4~5	17	4.36	4.79	3.46	< 0.05
>5	6	5.39	6.73	5.58	< 0.05

3 讨 论

人体血浆中 Fib 生理含量为 210~410 g/L,该水平具有生理和病理双重作用^[2]。Fib 水平受创伤、炎性反应、妊娠、肥胖、吸烟等影响,也受遗传因素的影响,且随着年龄的增长呈进行性增高。许多文献已表明,Fib 水平增高被认为是缺血性心脑血管疾病发病的独立主要因素之一。Fib 水平的测定也有助于缺血性心血管疾病的危险度判断。因此,Fib 水平测定方法的选择就十分重要。

目前 Fib 测定方法大体有 3 类,第 1 类为功能测定法,Von Clauss 法与由 PT 测定衍生的 PT-der 均为功能法。其中 Von Clauss 法是美国国家临床实验室标准委员会推荐的参考方法^[3],为国外常规方法。该类方法测定的是有凝血功能的 Fib,即在血浆中加入凝血酶后测定所形成的纤维蛋白量或凝固时间。因此最能直接反映血浆中具有凝血功能 Fib 水平,所以特异性好。且 Von Clauss 法的稀释倍数较 PT-der 多,因此有较宽的线性范围。

PT-der 测定 Fib 不是直接测定 Fib,而是用全自动凝血仪在测定 PT 过程中,根据 PT 凝固曲线中光散射强度或 OD 的改变程度,推导出的 Fib 浓度,等于是 PT 测定的副产品,因此不需另外的试剂和消耗品,在测定 PT 的同时即可得到 Fib 结果。由于该法简单、快速,不需消耗试剂,所以现在较多的实验室在常规工作中采用此法测定 Fib。本法精密度较高,当含量在正常范围或轻度异常时,与 Von Clauss 法差异无统计学意义。国外有的学者认为 PT-der 与 Von Clauss 法结果的相关性随患者的组成和所用凝血活酶试剂的不同而改变,认为 PT-der 不是一种可靠的方法^[4]。本组实验结果也有所显示。但 PT-der 快速、简便、节省试剂,而且一般国外全自动凝血仪均有此功能,近年来随着自动化凝血仪的普及,由凝血酶原时间测定 PT 直接推算衍生的 PT-der 日渐增多。因此有些实验室在日常工作中,用 PT-der 代替 Von Clauss 法测定 Fib。

第 2 类是物理化学法,主要通过盐析沉淀、热变性沉淀、电泳等测定 Fib,该类方法多数比较简单、快速,但是特异性不高,所测定 Fib 不仅包括可凝固 Fib,而且含有异常 Fib(无凝固功能)和纤维蛋白降解产物和(或)其他蛋白,其中有的方法精

密度差,影响因素多。

第 3 类免疫测定法,用抗 Fib 多克隆抗体或单克隆抗体测定 Fib,该类方法大部分比较简单,缺点是因与纤维蛋白降解产物和异常纤维蛋白有共同抗原,而特异性不高。3 类方法经程烽等^[5]比较认为:正常范围组(Fib116~410 g/L),高值组(Fib>410 g/L),低值组(Fib<116 g/L),国内较常用的物理化学法和免疫浊度法与 von Clauss 法均有较大差异,仅与功能法中的 PT-der 在正常和低值范围差异无统计学意义($P>0.05$),但在高值时仍高于 Von Clauss 法,因此选择标准化的 Fib 水平测定方法对 Fib 临床诊断和研究十分必要,应采用功能法,并建议用 Von Clauss 法作为常规方法。

1500 型血凝仪采用先进光电散射光测试法,配合百分比(测本底)凝固时间测定原理^[6],根据待检样品在凝固过程中散射光的变化并扣去原始血浆标本中原有色泽或浊度的百分比法来确定凝固终点的检测方法。Von Clauss 法是加入过量的凝血酶,以 50%凝集作为终点,测量稀释血浆的凝固时间而定量 Fib 含量,此法属于功能法。

由上述可知,由于测定原理不同,使 PT-der 准确性受到一定影响。据国外学者调查显示,在异常标本或口服抗凝药监测时,PT-der 准确性受到影响。虽然越来越多的全自动凝血仪在方法学上多方面去改进与更新,但据本研究的实验统计,除 Fib 浓度在较低范围时,Von Clauss 法和 PT-der 测定的结果差异无统计学意义,而在高于 Fib 测定的正常参考范围时,两种方法的结果有显著性差异,PT-der 测定的结果偏高。这与国外的报道较为一致^[7]。故建议在临床应用时,当 PT-der 测定的结果偏高(尤其超出正常参考范围)时,最好还是用 Von Clauss 法复查再发出结果。

参考文献

[1] 毛积分,李存新,李彤,等. 血浆纤维蛋白原与急性心梗及其危险因素的关系[J]. 武警医学院学报,2008,17(5): 423-425.

[2] 张犁,姜昕. 纤维蛋白原是否为可治性危险因素[J]. 国外医学:脑血管疾病分册,1996,4(5):3306.

[3] NCCLS. H30-A Procedure for the determination of Fibrinogen in plasma; Approved Guideline[S]. NCCLS info-base,1999:99-110.

[4] 丁钰,郑春喜,孙迎娟. 全自动血凝仪二种纤维蛋白原测定方法的评价[J]. 医学检验与临床,2007,18(3):80-81.

[5] 程烽,朱忠勇,王丹,等. 5 种纤维蛋白原测定方法的比较[J]. 临床检验杂志,2000,18(1):12-14.

[6] 顾国龙,潘瑾. 血浆纤维蛋白原测定的进展[J]. 国外医学:临床生物化学与检验分册,2001,22(3):130.

[7] Lawrie AS,McDonld SJ,Purdy G,et al. Prothrombin time derived fibrinogen determination on sysmex CA-6000[J]. J Clin Pathol,1998,51(6):462-466.