

· 论 著 ·

新指南 CLSI EP9-A3 在凝血分析仪比对中的研究与运用

施雄飞, 林 云, 张兴宗, 刘晓敏, 刘 曦, 詹 倩

(云南省中医医院检验科, 昆明 650021)

摘 要:目的 运用美国临床和实验室标准化协会(CLSI)EP9-A3 指南对该科室 2 台不同凝血检测仪进行检测结果比对。方法 以 STAGO-Evlution 凝血分析仪为参照系统(X), STAGO-Compact 凝血分析仪为实验系统(Y), 依据 CLSI EP9-A3 文件要求, 分别测定 40 例标本的血浆凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、血浆纤维蛋白原(FIB)。结果应用 ESD 法进行离群值检验, 选用最佳回归模型拟合回归方程, 计算各检测项目 95% 置信区间(CI)和医学决定水平处的偏倚, $\leq 1/2 TEa$ 为可接受标准。结果 ESD 法未发现离群值点。PT、FIB 差值具有恒定 CV 变化, 采用加权最小二乘法(WLS)回归分析; APTT 差值为混合变化, 使用 Passing-Bablok 回归分析; 应用回归方程直接计算医学决定水平处的偏倚及回归各项目可信区间, 其偏倚均小于可接受标准。结论 STAGO-Evlution 与 STAGO-Compact 2 台凝血仪检测 PT、APTT、FIB 结果具有可比性。

关键词: EP9-A3 文件; 结果比对; 凝血分析仪

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2017. 13. 020 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2017)13-1901-03

The application of new Guidelines CLSI EP9-A3 in the blood coagulation analyzer comparison

SHI Xiongfei, LIN Yun, ZHANG Xingzong, LIU Xiaomin, LIU Xi, ZAN Qian

(Department of Clinical laboratory, The Traditional Chinese Medicine Hospital of Yunnan, Kunming 650021, China)

Abstract: **Objective** Using the guidelines CLSI EP9-A3 in this department to compare testing results in different clotting detector. **Methods** PT(plasma prothrombin time), APTT(activated partial thromboplastin time), FIB(plasma fibrinogen). In serum of 40 specimens were measured by STAGO-Evlution of blood coagulation analyzers as reference system(X) and STAGO-Compact blood coagulation analyzer for experiment system(Y), according to CLSI EP9-A3 document requirements. Outlier test were analyze by application of ESD technique. Those bias of 95% confidence interval and Medical decision level were tested by the best regression model fitting regression equation. $1/2 TEa$ or less were acceptance criteria. **Results** Outliers were not identified through the ESD. Those CV of PT and FIB. Were not change by Using the WLS regression analysis. APTT were mix change by the Passing-Bablok regression analysis. Those bias of medical decision level and 95% confidence interval were accepted. **Conclusion** The results of the PT, APTT, FIB were measured by STAGO-Evlution and STAGO-Compact were consistent.

Key words: EP9-A3; results comparing; blood coagulation analyzer

目前, 大多数三甲医院临床实验室为满足常规或急诊检测的需求, 同一科室配置了不同品牌、不同型号的凝血分析仪, 实现同一检验项目不同检测系统检验结果具有可比性, 是质量管理的最终目标。不同检测系统测定结果的一致性研究已成为关注的重点, ISO/15189《医学实验室质量和能力认可》具有相应的要求^[1]。美国临床和实验室标准化协会(CLSI)颁布的 EP9-A3 文件, 为生产厂家和临床实验室提供了最新的方法学比对和偏移评估指南^[2]。现将 EP9-A3 文件对该科室使用的 STAGO-Evlution 与 STAGO-Compact 2 台凝血分析仪检测血浆凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、血浆纤维蛋白原(FIB)结果进行比对及偏倚评估, 报道如下。

1 材料与与方法

1.1 一般材料 收集该院住院和门诊患者, 抽取其枸橼酸钠抗凝新鲜血液, 检测 PT、APTT、FIB 等指标范围分布具有均匀性, 任何 1 例标本未经任何处理, 比对标本数量及值满足 EP9-A3 文件要求, 所有标本采集后 2 h 内完成检测。

1.2 仪器与试剂 STAGO-Evlution 凝血分析仪、STAGO-Compact 凝血分析仪及其配套试剂、校准品、质控品, 均为 STAGO 公司产品。

1.3 方法

1.3.1 标本测定 测定之前对仪器进行校准, 室内质控在控。按 CLSI EP9-A3 文件要求, 选用 PT、APTT、FIB 值, 并在其范围内将分布较为均匀的标本(40 例)通过凝血分析仪予以测定, 对检测结果进行测定。当标本出现离群值时进行排除后对标本予以相应的补充, 再进行检测。

1.3.2 检验离群值 按照 EP9-A3 文件及文献[3]所述进行操作, 应用 ESD 法检验离群值点。

1.3.3 方法比较及偏倚评估 绘制相应的偏差图和散点图, 并采用适合的线性回归(OLR), 加权最小二乘法(WLS)及 PB (Passing-Bablok)模拟方程对其进行计算, 将每个项目的 95% 置信区间(CI)进行检测, 同时对医学水平位置的偏倚予以正确计算, 其接受标准为小于 $1/2 TEa$, 同时 PT 在 $\pm 7.5\%$ 以下, APTT 在 $\pm 7.5\%$ 以下, FIB 在 $\pm 10\%$ 以下。

1.4 统计学处理 采用 Microsoft Excel2007 统计软件包、SPSS19.0、Med Calc 软件对研究中所涉及的数据进行分析和计算。

2 结 果

2.1 离群值 1~40 号标本经计算后对其数据结果进行散点

图绘制,无明显异常值,选择 ESD 方法对结果进行检验,其标本 PT、APTT、FIB 数据中并未产生离群值。

2.2 方法比对与偏倚评估

2.2.1 选择偏差图对方法之间差值所产生的潜在特点分析按照 EP9-A3 文件中对无离群值的检测数据结果进行偏差图的绘制,结果表明,各检测项目在不同检测系统中检测存在系统间差值,PT、FIB 为恒定 CV 变化,采用 WLS 回归分析;

APTT 为混合变化,采用 PB 回归分析。

2.2.2 偏倚初步估算 绘制 STAGO-Evlution 和 STAGO-Compact 系统对间差值频数采用柱状图,PT、APTT、FIB 并未出现正态分布,可以选择中位数对数据中的偏倚予以估算,PT 为 1.86%、APTT 为 2.94%、FIB 为 2.19%,均小于 1/2 TEa。

2.2.3 回归分析 PT、FIB 为恒定 CV 变化,采用 WLS 回归分析;APTT 为混合变化,采用 PB 回归分析。见表 1、2。

表 1 2 种检测系统比对回归方程及各项目结果

检测内容	模型表示	方程表示	95%CI	95%CI	偏倚 (%)	接受范围 (%)	是否可接受
PT	WLS	$Y=1.0487X-0.1310$	0.9824~0.9872	-0.0673~-0.0171	-1.97~1.36	±7.5	接受
FIB	WLS	$Y=1.0943X-0.1729$	0.9798~0.9856	-0.1965~-0.0412	1.03~-1.98	±10.0	接受
APTT	PB	$Y=0.9817X+0.4173$	1.0116~1.0214	1.5194~-2.0434	-1.94~-1.37	±7.5	接受

注:X 为参照系统 STAGO-Evlution,Y 为试验系统 STAGO-Compact

表 2 2 种检测系统比对回归模型医学决定水平处的偏倚结果

检测内容	模型表示	方程表示	医学决定水平(Xc)	估算值(Yc)	(Xc+Yc)/2	偏倚(绝对)	偏倚(相对)	可接范围 (%)	是否接受
PT	WLS	$Y=1.0487X-0.1310$	14.5	15.08	14.79	0.57	3.8	±7.5	接受
			16.0	16.65	16.32	0.65	4.0	±7.5	接受
			30.0	31.33	30.67	1.33	4.3	±7.5	接受
FIB	WLS	$Y=1.0943X-0.1729$	0.3	0.32	0.31	0.02	6.4	±7.5	接受
			1.0	0.92	0.96	0.08	8.7	±10.0	接受
			5.0	5.30	5.15	0.30	5.8	±7.5	接受
APTT	PB	$Y=0.9817X+0.4173$	5.0	5.33	5.16	0.33	6.3	±7.5	接受
			45.0	44.59	44.80	0.41	0.9	±7.5	接受
			90.0	88.77	89.38	1.23	1.3	±7.5	接受

注:X 为参照系统 STAGO-Evlution,Y 为试验系统 STAGO-Compact

3 讨 论

凝血常规检查现已广泛应用于临床出血及血栓性疾病的诊疗,是有创检查前必须检测的项目,同时也是口服抗凝药物、肝素治疗及溶栓治疗等患者监测病情及疗效评估必不可少的检测项目^[4]。为满足临床需求,同一实验室对同一个项目进行检测时采用不同系统较为广泛,每项检测系统结果均具有比对性,已成为当前实验室质量控制的必然要求,为确保最终检测结果具有稳定性及持续性,应不定期对仪器的性能予以检验,并对同一个项目进行检测时采用不同系统计算后的结果予以比对^[5-6]。目前评价结果一致性的方法有多种,大部分多采用 CLSI EP9-A2 方案,最新 EP9-A3 与以前版本比较,对实验计划及统计计算有一定的改变,应用范围更广、可操作性更强、方案设计更合理,统计分析更科学,临床实验室在方法学比对和偏倚评估时应采用最新的指南性文件^[7-8]。2 个文件比较,EP9-A2 文件的说明方法之间的差值仅只能采用 OLR 进行模拟计算,按照其系数对标本浓度进行估计计算,从而查看是否合适(R^2 是否大于 0.95),当数据并未处于范围过程中,需通过残差方法对其予以计算^[9]。EP9-A3 进行对比之后,需按照散点图及偏差图对其进行检测和目测,随后按照不同方法计算后

的差值变化选择适合的回归方程对其进行计算,最终将斜率的 95%CI 进行计算,获取偏倚。EP9-A3 有 4 种模型,每种模型均具有自身的适用性。

本研究根据 EP9-A3 文件要求^[10],采用 STAGO-Evlution 和 STAGO-Compact 2 种系统检测 PT、APTT、FIB 并对结果进行对比分析,需对检测系统检测后的结果进行散点图绘制,同时对其予以目测,查看是否存在明显离群值,随后选择 ESD 方法对其进行确定,查看是否存在离群值,如无离群值点需要通过偏差图或柱状图进行探讨,PT、APTT、FIB 差值表现为正态分布,对数据的中位值进行相应的计算,对方法间偏倚予以相应的评估,分别为 PT 1.86%、APTT 2.94%、FIB 2.19%,均小于 1/2 TEa。因其准确性不理想,故进一步选用最佳回归模型进行回归分析,PT、FIB 差值为恒定 CV 变化,选择 WLS 回归模型,APTT 差值为混合变化,选择 PB 回归模型。拟合分析结果为各检测项目的偏倚均小于可接受标准,再将各项目医学决定水平分别代入回归方程,其结果表明偏倚也均小于可接受标准。

综上所述,STAGO-Evlution 和 STAGO-Compact 2 个凝血检测系统测定 PT、APTT、FIB 结果具有较(下转第 1905 页)

薄片时,应在尽可能少切组织块表面的情况下,切出符合要求的超薄切片,以免切出的超薄切片不是需要观察的部分。

综上所述,不管是二甲苯还是 TO 型生物制片透明剂进行制样的石蜡包埋块,采用 TO 型生物制片透明剂替代二甲苯常规脱蜡途径转电镜制样,各组效果差异不大。使用 TO 型生物制片透明剂替代二甲苯快速脱蜡途径转电镜制样,对效果有一定影响,但仍可为快速超微诊断提供参考。TO 型生物制片透明剂可用于超微病理诊断中石蜡组织块转电镜制样时脱蜡。

参考文献

[1] 范京川,王红,徐晨,等. 离心速度及时间对培养细胞透射电镜样品制备的影响[J]. 重庆医科大学学报,2009,12(8):1008-1010.

[2] 盛金良,刘升学,杨江华. 一种石蜡组织块转制透射电镜标本的方法[J]. 石河子大学学报(自然科学版),2002,20(3):195-197.

[3] 韩俊平,高长. TO 型生物制片透明剂的应用[J]. 医学信息,2009,11(1):262-263.

[4] 张美玉,李连达. 一种新型环保透明剂替代二甲苯制片的探讨[J]. 中药药理与临床,2011,9(5):105-107.

[5] 宋颖,屈建国,洪涛,等. 基于石蜡切片定位的超薄切片技术的建立[J]. 中国卫生检验杂志,2016,17(22):3193-3195.

[6] 王萍,任力. 常规石蜡包埋组织的电镜制样及结果观察[J]. 诊断病理学杂志,2009,10(6):475.

[7] 曲淑贤,吕广艳,高船舟,等. 石蜡半薄切片制作透射电镜的方法[J]. 大连医科大学学报,2009,31(4):355-356.

[8] 肖莎,肖军,余力. 福尔马林固定及石蜡包埋组织透射电镜样品制备[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志,1999,12(4):475.

[9] 孙榆,应希,马千里,等. 石蜡包埋标本用于制作树脂半薄大切片的方法[J]. 第三军医大学学报,2003,25(16):1488-1489.

[10] 陆晓云,何松,杨书云,等. 石蜡组织转制电镜标本的优化技术[J]. 交通医学,2010,9(1):87-88.

[11] 王晶,朱晓滨,孙开华,等. 快速脱蜡超薄切片用于超微病理诊断[J]. 临床与实验病理学杂志,1995,18(3):244-245.

[12] 陆月良,颜永碧. 石蜡组织块改制超薄切片的方法[J]. 电子显微学报,1999,18(3):386-388.

[13] 魏志敏,马瑞霞,刘丽秋. 糖尿病肾病病理分型和肾组织内血管紧张素 2 表达的相关性分析[J]. 临床肾脏病杂志,2016,21(8):466-470.

[14] 夏勤,刘禄,杨娜,等. 新型环保生物组织透明剂在病理技术中的应用[J]. 临床医药实践,2014,10(1):35-36.

[15] 柴利,张翠薇,张旭. TO 型生物制片透明剂与二甲苯在病理制片中的应用比较[J]. 现代医药卫生,2012,22(12):1808-1809.

(收稿日期:2017-01-21

修回日期:2017-03-19)

(上接第 1902 页)

好的相关性和一致性,结果有可比性,能为临床提供稳定且准确的检测结果。

参考文献

[1] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-CL02:医学实验室质量和能力认可准则[EB-OL]. 2013-11-22.

[2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Measurement procedure comparison and bias estimation using patient samples; Approved Guideline-Third Edition [S]. CLSI EP9-A3,2013.

[3] 徐建华,刘冬冬,戴永辉,等. CLSI EP9-A3 在临床生化方法学比对中的应用[J]. 中华检验医学杂志,2015,38(5):346-348.

[4] 林莉,戴永辉,刘冬冬,等. 三种不同方法测定糖化血红蛋白的结果比对和偏移评估分析[J]. 中华医学杂志,2016,96(8):650-654.

[5] 徐建华,刘冬冬,黄宪章,等. 新指南 CLSI EP9-A3 在方法学比对及偏移评估中的应用[J]. 中华医学杂志,2015,

95(12):894-897.

[6] Clinical and Laboratory Standards Institute. Method comparison and bias estimation using patient samples, Approved Guideline-Second e-dition [S]. CLSI EP9-A2, 2002.

[7] 石文,戴永辉,邱峰,等. CLSI EP9-A3 在血液分析仪比对中的应用[J]. 临床检验杂志,2016,34(1):67-69.

[8] Araújo PA, Thomas D, Sadeghieh T, et al. CLSI-based transference of the CALIPER database of pediatric reference intervals to Beckman Coulter DxC biochemical assays[J]. Clin Biochem,2015,48(13/14):870-880.

[9] 胡丽涛,王治国. 血凝分析仪的性能评估方法的研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(9):975-977.

[10] 张磊,任晓艳,何超,等. 应用 CLSI EP9-A2 文件对不同血细胞分析仪进行比对[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(14):1988-1990.

(收稿日期:2017-01-22

修回日期:2017-03-20)