

• 论 著 •

血小板聚集分析仪 LBY-NJ4A 与 Chrono-log700 性能比较*

李 勤,凌莉琴,刘超男,陈 思,周 静[△]
四川大学华西医院实验医学科,四川成都 610041

摘 要:**目的** 评价并比较全自动血小板聚集分析仪 LBY-NJ4A 与手工血小板聚集分析仪 Chrono-log700 的主要性能指标。**方法** 评价并比较 LBY-NJ4A 和 Chrono-log700 的精密度、通道一致性、参考范围、抗干扰能力以及携带污染率等主要性能,验证两种仪器的相关性。**结果** 两种仪器的精密度、通道一致性、抗干扰能力、参考范围均符合要求,仪器间的相关性好。另外,LBY-NJ4A 携带污染率符合标准,Chrono-log700 不存在携带污染率,因为其为一一次性加样。**结论** 血小板聚集分析仪 LBY-NJ4A 与 Chrono-log700 的性能基本符合临床及实验室需要,但 LBY-NJ4A 抗干扰能力优于 Chrono-log700,且自动化程度较高,人工需求较少,因此更有利于实验室大样本量工作的开展。

关键词:血小板聚集分析仪; LBY-NJ4A; Chrono-log700; 性能比较
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.06.001 **中图法分类号:**R446.1
文章编号:1673-4130(2022)06-0641-04 **文献标志码:**A

Comparison on the performances of light transmission aggregometry LBY-NJ4A and Chrono-log700*
LI Qin, LING Liqin, LIU Chaonan, CHEN Si, ZHOU Jing[△]
Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University,
Chengdu, Sichuan 610041, China

Abstract:**Objective** To evaluate and compare the main performances of automatic light transmission aggregometry (LBY-NJ4A) and manual light transmission aggregometry (Chrono-log700). **Methods** The main performances of LBY-NJ4A and Chrono-log700 were evaluated, such as precision, channel consistency, reference range, anti-interference ability and carried pollution rate, and the correlation were verified. **Results** The precision, channel consistency, anti-interference ability and reference range of the two instruments met the requirements, and two instruments were well correlated. The pollution rate carried by LBY-NJ4A met the standard; Chrono-log700 didn't have any contamination problem because it only needed disposable tips for loading samples. **Conclusion** Both LBY-NJ4A and Chrono-log700 are basically accorded with clinical and laboratory requirements. LBY-NJ4A has a better anti-interference quality than Chrono-log700. Additionally, it was highly automated and has less labor requirements, so it might be more favorable for laboratories with a large sample size.

Key words: light transmission aggregometry; LBY-NJ4A; Chrono-log700; performances comparison

血小板功能检测广泛应用于临床出血性疾病的诊断以及抗血小板药物的治疗监测^[1-3]。光透射血小板聚集检测(LTA)被认为是评价血小板聚集功能的“金标准”^[4],其检测原理是富血小板血浆(PRP)标本在诱导剂作用下发生血小板聚集,使血浆浊度降低,透光度增加,仪器将光信号转变为电信号经过放大和信号处理后,得到各个时间点的聚集率以及全检测过程的聚集曲线。

血小板聚集率结果的可信度受采血、分离、诱导剂效价和比色等环节的分析前质量控制和标准化操作影响。传统 LTA 操作步骤多,影响因素较多,结果重复性较低。因此,血小板聚集功能检测仪器的自动化需求越来越大。目前,厂商研制出了一种新型的全自动血小板聚集分析仪 LBY-NJ4A,可满足大样本量检测,但投入临床应用的时间尚短,相关研究较少,其应用价值仍有待进一步评估^[5]。因此,本文根据美国临床实验室标准化协会(CLSI)的仪器性能评价方法^[6]及美国临床实验室修正规规(CLIA'88)的评价方法^[7],评价并比较 LBY-NJ4A 与实验室常用的手动仪器 Chrono-log700 的主要性能指标,并对厂家提供的

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81371878)。
作者简介:李勤,女,技师,主要从事临床血液方面研究。 [△] 通信作者,E-mail:zhoujinghuaxi @163.com。
本文引用格式:李勤,凌莉琴,刘超男,等.血小板聚集分析仪 LBY-NJ4A 与 Chrono-log700 性能比较[J]. 国际检验医学杂志,2022,43(6): 641-644.

参考范围进行验证,为今后血小板聚集仪的临床应用提供研究基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取试验当天本院收治的住院患者 80 例为研究对象。其中血小板最大聚集率(MAR)大于参考范围上限(高聚集率组)40 例(急性脑梗死 20 例,急性冠脉综合征 20 例);MAR 小于参考范围下限(低聚集率组)40 例(抗血小板药物治疗 20 例,肝硬化 20 例)。同时选取体检健康者 40 例,其中男 20 例,女 20 例,肝、肾、内分泌功能以及血常规、凝血功能指标等均在正常范围内,采血前 2 周内未服用任何影响血小板功能的药物。

1.2 仪器与试剂 血小板聚集分析仪(Chrono-log700,美国;LBY-NJ4A,中国);全自动血细胞分析仪(SysmexXN-9000,日本);以终浓度 $5 \mu\text{mol/L}$ 腺苷二磷酸(ADP)、 $500 \mu\text{g/mL}$ 花生四烯酸(AA)、 $4 \mu\text{g/mL}$ 胶原(COL)为诱导剂,3 种诱导剂均购于泰利信医疗科技有限公司。用 LTA 方法测定 5 min 内的 MAR。

1.3 方法 所有血液标本均使用美国 BD 公司生产的 109 mmol/L 枸橼酸钠 1:9 抗凝真空采血管采集空腹血。全血标本以 $160 \times g$ 离心 10 min 获得 PRP, $2\,000 \times g$ 离心 10 min 获得乏血小板血浆(PPP)。标本从开始采集到检测结束时间控制在 3 h 内。

1.3.1 批内精密度 选择患者两个水平的混合血浆标本,分别在两种仪器上检测 ADP 最大聚集率(MAR_{ADP})、AA 最大聚集率(MAR_{AA})和 COL 最大聚集率(MAR_{COL}),连续检测 10 次,计算均值($\bar{x}$)、标准差(s)和变异系数(CV)。

1.3.2 日间精密度 使用厂家提供的两个水平的标准浊度物,分别在两种仪器上检测 MAR_{ADP} 、 MAR_{AA} 和 MAR_{COL} ,每天 1 次,连续检测 20 d,计算 $\bar{x}$ 、 s 和 CV。

1.3.3 通道一致性 分别使用 ADP、AA 和 COL 3 种诱导剂进行通道一致性评价。以 ADP 为例,LBY-NJ4A 4 个不同通道(Chrono-log700 两个不同通道)测定同一标本的 MAR_{ADP} ,每个通道各检测 5 次。LBY-NJ4A 4 个不同通道的测定值使用单因素方差分析,Chrono-log700 两个不同通道的测定值使用配对样本 t 检验进行比较。此外,计算各通道均值($\bar{X}_1$ 、 $\bar{X}_2$ 、 $\bar{X}_3$ 、 $\bar{X}_4$),以通道 1 为标准通道,计算其余通道与通道 1 测定均值的相对偏差(RD)= $(\bar{X}_i - \bar{X}_1) / \bar{X}_1 \times 100\%$, $i=2,3,4$ 。

1.3.4 参考范围验证 以 ADP、AA、COL 为诱导剂,两种仪器分别测定 40 例体检健康者 PRP 的 MAR。根据 CLSI 颁布的 EP28-A3C^[6] 文件,若 40 例健康体检者中落在参考范围外的测定值不超过 4 例($R \geq 90\%$, $R = \text{落在参考区间例数} / \text{实测例数} \times 100\%$),认为该参考范围可以作为临床使用,否则应

考虑重新建立适用的参考范围。

1.3.5 抗干扰能力 收集多个水平 PRP 为基础样品,按不同比例混合分成 5 组。分别加入已知终浓度的生物性干扰物血红蛋白(Hb)、总胆红素(TBIL)和三酰甘油(TG)。测定并记录加入干扰物前后的标本 MAR,计算干扰率($\%$)= $(\text{干扰物后检测结果} - \text{干扰物前检测结果}) / \text{干扰物前检测结果} \times 100\%$ 。要求加入干扰物后的 PRP 中血小板水平不低于 $100 \times 10^9 / \text{L}$,以避免血小板水平过低对检测结果造成影响^[8]。

1.3.6 仪器间相关性 分别以 ADP、AA、COL 为诱导剂,LBY-NJ4A 为检测仪器,Chrono-log700 为对照仪器,对检测结果计算 R、回归方程。

1.3.7 携带污染率 分别以 ADP、AA、COL 为诱导剂,在 LBY-NJ4A 上用高值 PRP 和低值 PRP 两份标本进行连续测定 3 次,检测结果分别为 H1、H2、H3、L1、L2、L3,并按公式计算携带污染率($\%$)= $(L1 - L3) / (H3 - L3) \times 100\%$ 。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据统计分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 批内精密度 两种仪器测定的 MAR_{ADP} 、 MAR_{AA} 和 MAR_{COL} 批内精密度的 CV 为 $4.3\% \sim 4.9\%$,均符合 CLSI EP5-A2 文件推荐的小于 5% 的标准,见表 1。

2.2 日间精密度 两种仪器测定 MAR_{ADP} 、 MAR_{AA} 和 MAR_{COL} 日间精密度的 CV 为 $3.5\% \sim 4.8\%$,符合 CLSI EP5-A2 标准,见表 2。

2.3 通道一致性 两种仪器的通道一致性均符合 CLIA'88 的标准,即通道间测定值差异无统计学意义($P > 0.05$),通道间测定值 $\text{RD} \leq 1/2$ 总允许误差(10%),见表 3。

2.4 参考范围验证 以 ADP、AA 和 COL 为诱导剂,40 例体检健康者在 LBY-NJ4A 上的检测结果,全部在 LBY-NJ4A 厂家提供的参考范围内;在 Chrono-log700 上的检测结果, $\geq 95\%$ 在 Chrono-log700 厂家提供的参考范围内。两种仪器的参考范围验证均符合 CLSI EP28-A3C 要求。见表 4。

2.5 抗干扰能力 终浓度为 156 mg/L 的 Hb 和 3.7 g/L 的 TG 不影响两种仪器的检测结果(干扰率均小于厂家给定的批内变异率 10%);终浓度为 240 mg/L 的 TBIL 不影响 LBY-NJ4A 检测结果(5 个标本检测干扰率 $< 10\%$),但可影响 Chrono-log700 检测结果(3 个标本检测干扰率 $> 10\%$),见表 5。

2.6 仪器间相关性 ADP、AA、COL 为诱导剂时,两仪器相关系数 r 分别为 0.847、0.915 和 0.929 ($P < 0.05$),仪器相关性好。

2.7 携带污染率 LBY-NJ4A 携带污染率符合厂家要求($\leq 5.00\%$),见表 6。

表 1 批内精密度结果(%)

项目	LBY-NJ4A				Chrono-log700			
	患者水平 1		患者水平 2		患者水平 1		患者水平 2	
	$\bar{x}\pm s$	CV	$\bar{x}\pm s$	CV	$\bar{x}\pm s$	CV	$\bar{x}\pm s$	CV
MAR _{ADP}	42.1±1.8	4.3	89.0±4.0	4.5	41.8±1.9	4.5	91.0±4.1	4.5
MAR _{AA}	23.7±1.1	4.6	95.5±4.3	4.5	23.2±1.0	4.3	94.3±4.5	4.8
MAR _{COL}	32.3±1.5	4.6	88.0±4.3	4.9	33.5±1.6	4.8	87.4±4.3	4.9

表 2 日间精密度结果(%)

项目	LBY-NJ4A				Chrono-log700			
	患者水平 1		患者水平 2		患者水平 1		患者水平 2	
	$\bar{x}\pm s$	CV	$\bar{x}\pm s$	CV	$\bar{x}\pm s$	CV	$\bar{x}\pm s$	CV
MAR _{ADP}	25.9±0.9	3.5	73.5±3.1	4.2	25.9±1.0	3.9	73.7±3.2	4.3
MAR _{AA}	24.8±1.1	4.4	73.1±3.3	4.0	25.1±1.0	4.0	73.2±3.5	4.8
MAR _{COL}	24.4±1.0	4.1	71.5±3.2	4.5	24.6±1.1	4.5	71.6±3.4	4.7

表 3 仪器各通道测定结果(%)

项目	LBY-NJ4A				Chrono-log700	
	$\overline{X}_1$	$\overline{X}_2, RD$	$\overline{X}_3, RD$	$\overline{X}_4, RD$	$\overline{X}_1$	$\overline{X}_2, RD$
MAR _{ADP}	69.9	74.0, 5.9	64.9, 7.2	73.5, 5.2	65.8	69.2, 5.2
MAR _{AA}	76.4	81.9, 7.2	80.5, 5.4	81.8, 7.1	74.0	78.1, 5.5
MAR _{COL}	71.0	66.0, 7.0	66.7, 6.1	69.5, 2.1	65.8	69.0, 4.9

表 4 MAR_{ADP}、MAR_{AA}、MAR_{COL} 参考范围验证(n=40)

项目	LBY-NJ4A		Chrono-log700	
	厂家提供的参考范围	符合率[% (n)]	厂家提供的参考范围	符合率[% (n)]
MAR _{ADP}	52%~84%	100.0(40)	71%~88%	97.5(39)
MAR _{AA}	52%~84%	100.0(40)	74%~99%	95.0(38)
MAR _{COL}	52%~84%	100.0(40)	50%~86%	100.0(40)

表 5 干扰物对仪器检测 MAR_{ADP} 的影响(%)

标本	Hb 干扰率		TG 干扰率		TBIL 干扰率	
	LBY-NJ4A	Chrono-log700	LBY-NJ4A	Chrono-log700	LBY-NJ4A	Chrono-log700
1	1.51	2.44	7.88	9.33	5.81	7.14
2	3.84	1.43	2.56	7.59	4.46	4.55
3	6.19	8.96	2.97	9.86	3.36	11.27
4	1.54	5.71	7.83	8.57	7.30	15.87
5	7.52	9.41	5.19	6.06	9.32	10.45

表 6 LBY-NJ4A 携带污染率测定结果(%)

项目	H1	H2	H3	L1	L2	L3	携带污染率	携带污染率的厂家标准
MAR _{ADP}	72.2	78.5	74.1	35.7	33.9	34.4	3.27	≤5.00
MAR _{AA}	92.9	87.8	87.6	75.1	73.3	75.6	4.17	≤5.00
MAR _{COL}	74.9	74.2	75.2	58.3	55.4	58.9	3.92	≤5.00

3 讨 论

血小板具有黏附、聚集、释放等生理功能^[9]。其聚集特性不仅在生理止血中发挥重要作用,也是病理血栓形成的首要因素之一^[10-12]。血小板膜上存在

ADP 受体, 当其与 ADP 结合可使血小板发生聚集。ADP 来源于血管损伤部位发生血小板黏附后的损伤组织及红细胞, 但血小板释放的内源性 ADP 是主要的小血小板诱导剂^[13-14]。除 ADP 外, AA、COL 和瑞氏托霉素等也可使血小板发生聚集, 并诱发血小板释放内源性 ADP 进一步促进聚集。目前, 血小板聚集功能检测已成为常规检验项目, 血小板聚集功能检测可对血栓性疾病和出血性疾病的诊断和治疗进行评估, 还可以对抗血小板聚集药物的临床效果进行初步评估, 具有很好的临床指导性。

LTA 至今被认为是世界范围内血小板聚集功能检查的“金标准”, 传统 LTA 操作步骤多, 包括制备 PRP 和 PPP 标本、检测标本原始透光度、手动加入诱导剂、实时检测透光度变化等, 因此标本检测周期较长, 影响因素较多, 结果不够稳定。为此, 采用自动化仪器检测血小板聚集功能的临床需求越来越受到重视。

本研究对传统手工法 Chrono-log700 与自动化仪器 LBY-NJ4A 的检测性能进行了比较。由于血小板聚集功能检测的特殊性(体外血小板易被激活, 不易保存及运输), 本研究利用仪器间相关性分析, 对 Chrono-log700 与 LBY-NJ4A 的检测结果相互验证正确度。结果表明 Chrono-log700 与 LBY-NJ4A 的检测结果具有良好的相关性($r>0.8$)。另外, 两种仪器均具有良好的精密度、通道一致性和临床实用的参考范围区间。因此, 两种仪器均满足血小板聚集功能检测的基本要求。

LTA 为比浊法, 检测过程易受血浆中的一些具有光散射性物质如 Hb、TG、TBIL 等的影响, 造成检测结果不准确^[15]。本研究结果表明终浓度为 156 mg/L 的 Hb 和 3.7 g/L 的 TG 不影响两种仪器的检测结果, 表明两种仪器对 Hb 及 TG 抗干扰能力均较强; 而终浓度为 240 mg/L 的 TBIL 不影响 LBY-NJ4A 检测结果, 但可影响 Chrono-log700 检测结果, 表明 LBY-NJ4A 抗 TBIL 干扰能力优于 Chrono-log700。Chrono-log700 检测过程为手工加样, 不涉及管道系统和加样针, 无携带污染率; 而 LBY-NJ4A 为自动化检测过程可避免人为误差, 保证标准化操作, 虽有一定的携带污染率(3.27%~4.17%), 但也符合厂家要求($\leq 5.00\%$)。

综上所述, LBY-NJ4A 与 Chrono-log700 均符合 CLSI、CLIA'88 及厂家的相关标准, 可用于检测血小板聚集功能。但 LBY-NJ4A 抗干扰能力更强, 自动化程度较高, 人工需求较少, 因此 LBY-NJ4A 将更有利于实验室大样本量工作的开展。

参考文献

[1] MAHLA E, TANTRY U S, SCHOERGHUBER M, et al. Platelet Function Testing in Patients on Antiplatelet

Therapy before Cardiac Surgery [J]. Anesthesiology, 2020, 133(6): 1263-1276.

[2] BOLLIGER D, LANCE M D, SIEGEMUND M. Point-of-Care Platelet Function Monitoring: Implications for Patients With Platelet Inhibitors in Cardiac Surgery [J]. J Cardiothorac Vasc Anesth, 2021, 35(4): 1049-1059.

[3] 世界华人检验与病理医师协会, 中国医师协会检验医师分会心血管检验医学专业委员会. 血小板功能检测在急性冠脉综合征患者抗血小板治疗中的应用专家共识 [J]. 中华医学杂志, 2018, 98(22): 1743-1751.

[4] BLANC J L, MULLIER F, VAYNE C, et al. Advances in Platelet Function Testing-Light Transmission Aggregometry and Beyond [J]. J Clin Med, 2020, 9(8): 2636.

[5] 石冬敏, 吴元健, 马伟. 普利生 LBY-NJ4A 全自动血小板聚集仪性能评价 [J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(22): 2721-2725.

[6] Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical Laboratory; approved guideline, third edition; EP28-A3C [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2010.

[7] Centers for Medicare and Medicaid Services. Clinical Laboratory Improvement Amendment [S]. Woodlawn, Maryland: CMS, 1988.

[8] LING L Q, JIANG H, ZHOU J, et al. Evaluation of an automated light transmission aggregometry [J]. Platelets, 2017, 28(7): 712-719.

[9] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline-second edition; EP5-A2 [J]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2004.

[10] NEEDLEMAN L, CRONAN J J, LILLY M P, et al. Ultrasound for Lower Extremity Deep Venous Thrombosis: Multidisciplinary Recommendations From the Society of Radiologists in Ultrasound Consensus Conference [J]. Circulation, 2018, 137(14): 1505-1515.

[11] 范晓东, 赵月. 冠心病患者血栓前状态的影响因素与血小板聚集率的相关性 [J]. 中国卫生工程学, 2020, 19(6): 935-936.

[12] 黑国真, 蔡蕊, 李昱, 等. 血小板聚集率对产后下肢深静脉血栓形成的预测价值及其可能机制 [J]. 中国妇幼保健, 2020, 35(17): 3147-3150.

[13] 贾媛, 白世茹, 李如意, 等. 二磷酸腺苷血小板聚集率与急性冠脉综合征患者近期心血管事件的相关性研究 [J]. 中国循证心血管医学杂志, 2019, 11(3): 371-375.

[14] 江梦泉, 刘俊, 周康熙, 等. 蛋白激酶 A 活化对血小板聚集功能的影响 [J]. 中国实验血液学杂志, 2020, 28(3): 899-903.

[15] MYLOTTE D, FOLEY D, KENNY D. Platelet function testing: methods of assessment and clinical utility [J]. Cardiovasc Hematol Agents Med Chem, 2011, 9(1): 14-24.