

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.06.024

华法令和低分子肝素对狼疮抗凝物检测的干扰研究

靳 岩,张风华,曹盛吉,王筱雨,袁晓阳[△]
(大连医科大学附属第一医院检验科,辽宁大连 116011)

[摘要] **目的** 探讨口服华法令和肌肉注射低分子肝素(LMWH)对狼疮抗凝物(LA)检测的干扰。**方法** 选择心脏瓣膜置换术后口服华法令和肾病透析肌肉注射 LMWH 患者各 80 例为研究对象(排除引起 LA 阳性疾病),对照组为健康体检者 20 例,检测各组 LA 比值,观察 LA 比值假阳性率。从口服华法令 LA 比值假阳性样本中随机选出 20 例,用健康人混合血浆 1:1 稀释做混合试验,重新检测上述指标。**结果** 口服华法令、肌肉注射 LMWH 各组筛选、确证试验时间均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.01$);且随着 INR、LMWH 抗 Xa 活性增加,筛选、确证试验时间值及 LA 比值、LA 比值假阳性率呈上升趋势。混合试验中,口服华法令组筛选、确证试验时间均高于对照组($P<0.01$),LA 比值差异无统计学意义($P>0.05$),LA 比值假阳性率均为 0。**结论** 口服华法令和肌肉注射 LMWH 对 LA 检测有较大干扰。

[关键词] 狼疮凝固抑制物;华法令;肝素,低分子量;干扰

[中图法分类号] R446 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2019)06-0990-03

Study on interference of warfarin and low molecular weight heparin on lupus anticoagulant detection
JIN Yan,ZHANG Fenghua,CAO Shengji,WANG Xiaoyu,YUAN Xiaoyang[△]
(Department of Clinical Laboratory,First Affiliated Hospital of Dalian Medical University,Dalian,Liaoning 116011,China)

[Abstract] **Objective** To study the interference of oral warfarin and intramuscular injection of low molecular weight heparin(LMWH) on the lupus anticoagulant (LA) detection. **Methods** Each 80 patients with oral warfarin after heart valve replacement and 80 patients with intramuscular injection of LMWH due to nephropathy dialysis were selected as the study subjects(excluding the diseases causing LA positive). Twenty persons undergoing the physical examination served as the control group. The LA value in each group was detected. The false positive rate of LA ratio was observed. Then 20 cases were randomly selected from the LA ratio false positive samples in oral warfarin. The mixed test was conducted with healthy person mixed plasma 1:1 dilution. The above index was detected again. **Results** The time of screening test and time of confirmatory test in the oral warfarin group and intramuscular injection LMWH group were higher than those in the control group,and the difference was statistically significant($P<0.01$),moreover,with the INR value and anti-Xa activity increase,the time of screening test and confirmatory test,LA ratio and LA ratio false positive rate showed the increasing trend. In the mixed test,the time of screening and confirmatory tests in the oral warfarin group were all higher than those in the control group($P<0.01$),and the difference in the LA ratio had no statistical significance($P>0.05$). The false positive rate of LA ratio was 0. **Conclusion** Oral warfarin and intramuscular injection of LMWH have great interference on LA detection.

[Key words] lupus coagulation inhibitor;warfarin; heparin,low-molecular-weight;interference

狼疮抗凝物(LA)是抗磷脂抗体的一种,LA 的持续存在常见于抗磷脂综合征,主要表现为血栓和反复流产^[1],有非常广泛的产科风险^[2]。LA 检测受到多种因素干扰,抗凝药物是其中之一。本文探讨口服华法令和肌肉注射低分子肝素(LMWH)对 LA 检测的干扰。

1 资料与方法
1.1 一般资料 选取 2017 年 2—9 月本院门诊及病房心脏机械瓣膜置换术后口服华法令患者 80 例,其中男 48 例,女 32 例,年龄 35~83 岁,平均(68.8±21.5)岁;肾病透析肌肉注射 LMWH 患者 80 例,男 43 例,女 37 例,年龄 16~85 岁,平均(64.5±16.2)岁。

表 1 各组 LA 情况

组别	<i>n</i>	筛选试验时间($\bar{x}\pm s,s$)	确证试验时间($\bar{x}\pm s,s$)	LA 比值($\bar{x}\pm s$)	LA 比值假阳性率(%)
对照组	20	35.20±4.20	31.20±2.47	1.120±0.058	0
INR					
≤1.5	20	43.50±4.70*	38.90±2.60*	1.110±0.092	5
>1.5~2.0	20	50.80±2.90*	43.40±1.49*	1.150±0.060	17
>2.0~2.5	20	59.90±7.42*	49.60±3.15*	1.220±0.110	60
>2.5	20	62.80±9.95*	52.90±3.48*	1.250±0.120	69
LMWH 抗Ⅹa(IU/mL)					
≤0.5	20	55.20±2.16*	46.20±3.62*	1.240±0.100	60
>0.5~1.0	20	60.60±2.40*	50.60±3.78*	1.280±0.190	62
>1.0~1.5	20	64.90±3.19*	52.40±3.44*	1.290±0.170	75
>1.5	20	87.80±5.21*	59.60±6.98*	1.400±0.190	90

* :*P*<0.01,与对照组比较

表 2 口服华法令 LA 比值假阳性患者混合试验情况

组别	<i>n</i>	筛选试验时间(s)	确证试验时间(s)	LA 比值	LA 比值假阳性率
对照组	20	35.20±4.20	31.20±2.47	1.120±0.058	0
口服华法令组	20	41.10±1.31*	37.30±0.94*	1.110±0.045△	0

* :*P*<0.01,△:*P*>0.05,与对照组比较

排除抗磷脂综合征、系统性红斑狼疮、结蹄组织病等引起 LA 阳性患者。按国际标准化比值(INR)和 LMWH 抗Ⅹa 活性分组:口服华法令分为 INR≤1.5、>1.5~2.0、>2.0~2.5、>2.5,肌肉注射 LMWH 分为抗Ⅹa 活性(IU/mL)≤0.5、>0.5~1.0、>1.0~1.5、>1.5,每组 20 例。对照组为健康体检者(问卷调查和化验结果、体检报告结果表现正常),男 13 例,女 7 例,年龄 40~68 岁,平均(62.6±13.1)岁。本研究经伦理委员会批准,患者及家属知情同意。

1.2 方法 所有研究对象 109 mmol/L 枸橼酸钠抗凝血 2 000 r/min 离心 15 min,口服华法令患者采用凝固法在 cs-5100 血凝仪上检测凝血酶原时间(PT)并换算成 INR,肌肉注射 LMWH 患者采用发色底物法在 ACL TOP 700 血凝仪上检测 LMWH 抗Ⅹa 活性。检测后取出血浆再次离心去除血小板(低于 10×10⁹/L)后放入 EP 管中-40℃冰冻保存,待样本收集完全,37℃速溶后统一检测 LA。LA 用改良蝰蛇毒磷脂时间(DRVVT)法在 CS-5100 血凝仪上检测筛选试验时间(正常值 31~44 s)和确证试验时间(正常值 30~38 s),结果用比值表示(>1.2 为阳性)^[3]。试剂及质控品为原厂配套试剂。从口服华法令组 LA 比值假阳性样本中随机选取 20 例,用健康人混合血浆 1:1 稀释做混合试验,重新检测上述指标,混合血浆凝血因子接近 100%,血小板计数小于 10×10⁹/L。

1.3 统计学处理 采用 SPSS24.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较行 *t* 检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

口服华法令、肌肉注射 LMWH 各组筛选、确证试验时间均高于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.01),且随着 INR、LMWH 抗Ⅹa 活性增加,筛选、确证试验时间值及 LA 比值、LA 比值假阳性率呈上升趋势,见表 1。混合试验中,口服华法令组筛选、确证试验时间均高于对照组(*P*<0.01),LA 比值差异无统计学意义(*P*>0.05),LA 比值假阳性率均为 0,见表 2。

3 讨 论

2009 年国际血栓和止血协会(ISTH)建议对抗磷脂综合征患者进行 LA 检测,推荐 DRVVT 作为 LA 检测首选方法^[4],包括筛选试验和确证试验。在 LA 筛选试验中,鲁赛尔氏蝰蛇毒直接激活Ⅹ因子使血浆凝固。存在 LA 能使 LA1 筛选试剂的凝固时间延长,LA2 确证试剂和 LA1 筛选试剂一样,但含高浓度磷脂,外源性磷脂与 LA 抗体结合,很大程度上纠正了凝固时间。华法令使维生素 K 依赖凝血因子Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ合成减少,凝血酶原时间延长,从而达到抗凝血作用,世界卫生组织(WHO)要求采用 INR 统一判断治疗效果。口服华法令患者Ⅹ因子减少是引起 LA 假阳性的重要原因,华法令导致凝血时间延长与 LA

导致凝血时间延长叠加增加了 LA 检测难度^[5]。ISTH 2009 LA 诊断指南推荐患者停药 1~2 周或 INR<1.5 时再行检测^[6],当 INR>1.5 时用 1:1 混合试验。本研究发现即使 INR<1.5,也会有 LA 比值假阳性,并且会使筛选试验时间和确证试验时间延长,与此指南有差异。而英国血液学标准化委员会(BCSH)2012 LA 诊断指南^[7]删除了当 INR<1.5 时直接检测 LA 这一项,可能也发现了这个问题,推荐口服华法令做混合试验和大蛇毒凝固时间法(TS-VT)+蛇静脉酶时间(ET)检测 LA。TSVT+ET 目前国内很难展开,1:1 混合试验简单可行,即健康人混合血浆(至少 20 例)和患者血浆 1:1 混合后检测 LA,主要可排除凝血因子缺乏的影响。混合血浆补充了患者缺乏的 X 因子,使凝血时间正常,LA 比值正常。能纠正由华法令引起的假阳性,与本试验结果相吻合。但因为稀释效应可导致 1:1 混合试验出现假阴性^[8],本试验口服华法令 LA 假阳性患者混合试验的筛选、确证试验时间较健康者延长($P<0.01$)可以证明这一点,尽管筛选、确证试验时间都在正常范围内。混合试验阴性不能完全排除 LA 存在。

DRVVT 试验的试剂中存在抗肝素剂,试剂说明书中明确规定当肝素水平达到 1 U/UL 时,对结果没有影响,因 LA 筛选试剂和 LA2 确证试剂中含中和试剂,可能针对的是小剂量的普通肝素而对 LMWH 无效,其原因是 LMWH 主要含抗 Xa,LMWH 抗 Xa 活性检测是专家推荐的监测 LMWH 抗凝效果的方法^[9]。而 DRVVT 蝰蛇毒直接激活 X 因子,因而使用 LMWH 会出现 LA 比值假阳性。有报道接受 LMWH 治疗的患者血浆抗 Xa 活性能够被检出,但水平仍然很低^[10]。本研究发现即使血浆中 LMWH 抗 Xa 活性不高也能使筛选、确证试验时间延长,出现 LA 比值的假阳性。

LA 阳性大多伴血栓,而血栓患者大多服抗凝药物,调查显示 1/3 患者在进行 LA 检测时已经进行抗凝治疗^[11]。实验室与临床应建立及时有效的沟通程序,减少分析前干扰因素对结果解释的影响^[12]。应在

报告阳性结果时审查患者当前治疗药物,间隔 12 周重新检测,LA 持续阳性与血栓风险更相关。

参考文献

- [1] 贾敏,刘建辉,冯志山.抗 β_2 糖蛋白 I 抗体和抗磷脂抗体综合征[J].医学检验与临床,2006,17(5):48-49.
- [2] GRIS J C,BOUVIER S,NOUVELLON E,et al. Antiphospholipid antibodies and the risk of pregnancy complications[J].Thromb Res,2017,151(Suppl 1):34-37.
- [3] 饶绘,陈斌.狼疮抗凝物阳性结果的临床分析[J].临床输血与检验,2016,18(5):488-490.
- [4] 李洋,吕明恩,薛峰.狼疮抗凝物二例报告并文献复习[J].中华血液学杂志,2016,37(2):130-133.
- [5] 谢波,徐升强,崔天盆.狼疮抗凝物实验室规范化检测进展[J].临床检验杂志,2016,34(2):144-146.
- [6] PENG V,TRIPODI A,REBER G,et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection[J].J Thromb Haemost,2009,7(10):1737-1740.
- [7] KEELING D,MACKIE I,MOORE G W,et al. Guidelines on the investigation and management of antiphospholipid syndrome[J].Br J Haematol,2012,157(1):47-58.
- [8] 寿玮玲,陈倩,吴卫,等.不同狼疮抗凝物检测试验的临床诊断效能研究[J].中华医学杂志,2015,95(34):2760-2765.
- [9] 中华医学会心血管病学分会肺血管病学组.急性肺栓塞诊断与治疗中国专家共识[J].中华心血管杂志,2016,44(3):197-211.
- [10] 胡荣荣,李臣宾,周文宾,等.肝素抗凝治疗监测相关项目的性能验证[J].临床输血与检验,2017,19(3):252-257.
- [11] FAVALORO E J,BONAR R,MARSDEN K. Internal quality control and external quality assurance in testing for antiphospholipid antibodies: part II-Lupus anticoagulant[J].Semin Thromb Hemost,2012,38(4):404-411.
- [12] 寿玮玲,陈倩,吴卫,等.改良蝰蛇毒磷脂时间试验和硅凝固时间试验检测狼疮抗凝物的性能验证[J].检验医学,2017,32(3):224-228.

(收稿日期:2018-10-26 修回日期:2018-12-26)

(上接第 989 页)

- [9] 马武华,关健强,高婉菱,等.CPAP 对化疗后单肺通气时氧合及肺内分流的影响[J].中山大学学报(医学科学版),2004,25(1):81-84.
- [10] BENUMOF J L,AUGUSTINE S D,GIBBONS J A. Halothane and isoflurane only slightly impair arterial oxygenation during one lung ventilation in patients undergoing thoracotomy[J].Anesthesiology,1987,67:910-915.
- [11] 尧永华,郭子林.CPAP 对单肺通气氧合的影响[J].河北

医学,2006,12(8):733-735.

- [12] STRENDBERG A,TOKICS L,BRISMAR B,et al. Atelectasis during anaesthesia and in the postoperative period[J].Acta Anaesthesiol Scand,1986,30:154-158.
- [13] 张光明,钱刚,朱明.持续气道正压对高龄肺癌患者单肺通气时肺泡灌洗细胞 IL-1 β 和 IL-8mRNA 表达的影响[J].复旦学报(医学版),2011,38(2):141-143.

(收稿日期:2018-10-12 修回日期:2018-12-04)