

《狼疮抗凝物检测与报告规范化共识》解读

杜彦艳¹,焦文静¹,郭秀娟¹,姚影珍²,李洁¹,马鸣^{1*}

(1.河北医科大学第四医院检验科,河北石家庄 050011;2.河北医科大学第四医院血液内科,河北石家庄 050011)

[摘要] 2024年2月,中华检验医学杂志发表了我国研究型医院学会血栓与止血专业委员会制订的《狼疮抗凝物检测与报告规范化共识》,该共识结合国内外研究,基于检验前中后全过程提出狼疮抗凝物(lupus anticoagulants,LA)检测与报告的指导意见,是我国首个专门针对LA实验室检测的专家共识,不仅有助于国内实验室在LA检测全流程的规范化,还为医师在临床实践中对患者LA检测的准备和报告解读提供了更规范、更全面的依据。本文对该共识意见进行解读,以期加深实验室及临床对该共识的理解,促进LA检测和报告的标准化。

[关键词] 红斑狼疮,系统性;狼疮抗凝物;共识解读 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2025.06.001

[中图分类号] R593.241 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-3205(2025)06-0621-05

狼疮抗凝物(lupus anticoagulants,LA)是一种抗磷脂抗体,其可通过诱导组织因子表达、凝血酶原激活物释放等多种机制诱导机体高凝状态,是促进血栓形成的重要因素^[1]。在体外环境中,其主要通过与带负电荷的磷脂或磷脂-蛋白质复合物结合,拮抗其促凝血功能,从而造成凝血时间假性延长,尤其在APTT检测中血浆LA通过与磷脂结合,是造成APTT假性延长的主要因素之一^[2]。因此,LA检测是抗磷脂综合征(antiphospholipid syndrome,APS)、系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus,SLE)实验诊断的重要组成部分,因其为基于凝固时间的检测项目,故LA结果易受多种抗凝药物的干扰。2024年2月,我国研究型医院学会血栓与止血专业委员会牵头发布了《狼疮抗凝物检测与报告规范化共识》(以下简称“本共识”)^[3],基于分析前中后全过程提出LA检测与报告的指导意见,是我国首个专门针对LA实验室检测的专家共识,不仅有助于国内实验室在LA检测全流程方面的规范化,还促进医生在临床实践中对患者LA检测的准备和报告解读等方面的认识。现结合临床和实验室标准学会(Clinical and Laboratory Standards Institute,CLSI)发布的LA检测指南(以

下简称CLSI指南)^[4]及2019年《抗磷脂抗体检测的临床应用专家共识》(以下简称2019版共识)^[5]等相关文献,对本共识进行解读,以期加深实验室检验人员及临床医护人员对本共识的理解,促进LA检测和报告的标准化,进而更好地服务于临床。

1 关于患者选择

CLSI指南中将适宜进行LA检测的患者分为两大类^[4],①疑诊为抗磷脂抗体综合征(antiphospholipid antibody syndrome,APS),应同时检测LA、抗心磷脂抗体(anticardiolipin antibody,ACA)和抗 β_2 糖蛋白I等抗磷脂抗体,以评估患者的风险特征。该类患者包括:<50岁的无诱因的静脉血栓栓塞症(venous thromboembolism,VTE);患有缺血性中风、短暂性脑缺血发作或其他脑缺血证据的年轻患者(<50岁);年轻患者其他部位的动脉血栓形成(<50岁);微血管血栓形成;亚治疗剂量抗凝、患者不依从或恶性肿瘤导致的复发性VTE;病理性妊娠:10周后胎停、复发性早期(前3个月)流产、与严重(先兆)子痫相关的早产(<34周妊娠)、HELLP综合征、胎盘功能不全(胎儿生长受限)、死胎;红斑狼疮:诊断及风险评估。②可考虑进行LA检测的情况。该类患者包括:免疫性血小板减少症,特别是伴有关节痛或关节炎、脱发、日光过敏、口腔溃疡、皮疹、血栓栓塞的患者;网状青斑,特别是伴有系统性自身免疫性疾病或轻度血小板减少症的患者;年轻患者(<50岁)伴非典型临床表现如认知功能障碍、瓣膜性心脏病伴其他系统性自身免疫性疾病;环境诱因和VTE的

[收稿日期]2024-06-18

[基金项目]河北省医学科学研究重点课题计划项目(20200093)

[作者简介]杜彦艳(1981-),女,河北正定人,河北医科大学第四医院副主任检验师,医学博士,从事临床医学检验血栓与止血方向研究。

*通信作者。E-mail:maming19830419@163.com

发生无显著正相关的年轻患者(<50岁);偶然发现的不明原因活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)延长患者。

本共识明确对上述两大类患者进行整合简化,指出LA检测主要适用于与抗磷脂抗体相关的各类自身免疫相关的脑血管疾病、自身免疫性疾病、VTE的风险评估及不明原因凝血功能延长等患者。且各类患者送检LA同时均应送检IgG、IgM型ACA和抗 β_2 糖蛋白I等抗磷脂抗体检测^[3]。

2022年《抗磷脂抗体综合征诊疗规范》^[6]指出,对可疑APS患者,建议同时检测LA、ACA和抗 β_2 糖蛋白I抗体,以明确诊断并全面评估血栓事件或产科并发症的风险。同时,三者均已归为APS分类标准,且抗磷脂抗体阳性种类越多,其血栓再发风险越高。该规范对于APS分类标准外临床表现中明确指出,APS可能存在血栓事件、病理妊娠外的抗磷脂抗体相关临床表现,包括网状青斑、浅表性静脉炎、血小板减少症、抗磷脂抗体相关肾脏病变、心脏瓣膜病变(瓣膜赘生物、瓣膜增厚和瓣膜反流等)、溶血性贫血、舞蹈症、认知功能障碍和横贯性脊髓炎等,称之为“分类标准外临床表现”,其与血栓事件、病理妊娠风险、疾病预后存在密切关联。因此,共识对于具有上述症状患者同时进行LA、ACA和抗 β_2 糖蛋白I检测,有助于APS的鉴别诊断及避免漏诊。

2 关于分析前注意要点

2019版共识中指出,LA的检测应在抗凝药物治疗前或抗凝药物停用足够时间(至少1周)后采集血液标本。本共识亦指出由于LA检测会受到抗凝药物、妊娠等情况干扰而导致假阳性或假阴性,应尽量避免在此类情况下送检。必须送检时,临床医生应与检测人员共同分析,谨慎解读报告结果,并在报告中备注“提示结果可能受药物影响”。对于应用抗凝药物治疗的患者,共识建议检测人员了解其使用的LA试剂成分,根据试剂中是否含有肝素中和剂、II和X因子等可减少或消除普通肝素(unfractionated heparin, UFH)、低分子肝素(low molecular weight heparin, LMWH)、华法林等药物的影响,进而评价检测结果是否可接受。本共识推荐使用受维生素K拮抗药和直接口服抗凝药(direct oral anticoagulant, DOAC)干扰小的大班蛇毒试剂和蛇静脉酶试剂用于抗凝期间的LA检测。

凝血因子缺乏及华法林抗凝药物使用所导致的血液凝固时间延长可以通过将待测血浆与正常血浆

混合的纠正试验得以消除,但其他抗凝药物如利伐沙班、达比加群酯等抗凝药物的作用机制分别是通过拮抗活化凝血因子X(Xa)和活化凝血因子II(IIa),因此将待测血浆与正常血浆混合只能使正常血浆中的凝血因子同样被拮抗,导致血液凝固时间延长仍不能被纠正,因此本共识不建议通过将待测血浆与正常血浆混合的方式来消除抗凝药物的干扰。近些年,逐渐有抗凝药物使用过程中进行LA检测如何消除抗凝药物影响的研究^[7-8],例如:Zańbczyk等^[9]报道了DOAD-Stop(DOAC拮抗剂)用于直接口服抗凝药物患者LA检测,Lu等^[10]报道了活性炭可用于逆转利伐沙班对LA检测的干扰。

本共识建议当患者用药或病史不清时,应同时送检LA和凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、APTT、凝血酶时间(thrombin time, TT),以全面了解患者凝血功能状态。共识列举了各类抗凝药物对LA及常规凝血试验的影响,例如:PT延长时,提示患者可能使用维生素K拮抗剂或直接Xa抑制剂;而APTT和TT均延长则提示患者可能使用UFH或直接凝血酶抑制剂达比加群、阿加曲班、比伐卢定等,这些抗凝药物均可能导致LA试验凝固时间延长而出现假阳性结果,此时不建议检测LA,除非LA试剂成分中含有肝素中和剂,能够去除UFH或LMWH等药物干扰因素。

本共识同样提到了应用抗凝药物治疗患者检测LA的采样时机:注射LMWH后间隔至少12h(尽可能在下次注射前)和在开始服用DOAC前或服用后间隔至少48h采样送检。如可能,实验室可通过抗Xa检测明确是否有LMWH残余。

3 标本采集与处理

使用0.109 mol/L枸橼酸钠进行抗凝,抗凝剂与血液的比例为1:9。为保证获得乏血小板血浆(platelet-poor plasma, PPP),本共识明确提出PPP由常温下2 000×g离心15 min获得,并建议定期(如半年)验证实验室离心条件是否满足LA检测要求。2019版共识指出血液标本采集后应及时进行离心(推荐2次离心)。本共识也详细介绍了2次离心方法:将首次离心后上层血浆转移到塑料试管中并再次离心。

本共识建议LA检测在标本采集后的4 h内完成,同时给出不能及时检测时的标本保存及复溶方法。标本保存:分装的PPP于-20℃可保存14 d,-70℃可保存6个月,并确保标本在冻存前经过2

次离心,不建议冷藏(2~8℃)保存。标本复融:37℃水浴中放置约5 min。储存在干冰容器中的标本,应在37℃金属浴(培养箱)中无盖解冻至少15 min。标本要求:不可反复冻融,不能溶血或有血凝块。

4 检测原则

4.1 原理 完整的LA检测包含3项:筛查试验、确证试验和混合试验。原理是当血浆中存在LA时,其可竞争性结合磷脂从而导致依赖磷脂的凝血时间延长(筛查试验),提示可能存在循环抑制物;加入过量磷脂可中和LA从而纠正延长的凝固时间(确证试验),证实循环抑制物的磷脂依赖性;而将患者血浆与正常混合血浆(normal pooled plasma, NPP)1:1混合不能将凝固时间纠正至正常(混合试验),证实凝血时间延长并不是由于凝血因子缺乏所致。

4.2 方法选择 在凝血因子激活、血液凝固过程中,有2个需要磷脂参与的关键反应节点,即IX a-VIII a-Ca²⁺-磷脂复合物激活X因子和V a-X a-Ca²⁺-磷脂复合物激活II因子,因此,CLSI、国际血栓与止血协会(International Society on Thrombosis and Haemostasis, ISTH)等国际指南及本共识均建议选择至少2种基于不同凝血途径的方法同时检测LA^[3,11]。常用的方法为dRVVT(利用蝰蛇毒直接激活X因子,不受接触因子及VII、VIII、IX因子缺乏或抑制物的影响)和对LA敏感的APTT(推荐首选以硅土作为接触激活物的APTT试验,利用接触激活物激活内源凝血途径,不受VII因子缺乏或抑制物的影响)。每种方法均包含筛查、确证和混合试验,任一种方法结果阳性即提示存在LA。此外也可选用稀释凝血酶原时间、大班蛇毒凝血时间和蛇静脉酶凝血时间等检测方法。

4.3 检测方案 LA检测方案主要有2种,简言之,即整体试验(同时检测LA筛查和确证试验,必要时进行混合试验)和序列试验(先进行筛查试验,结果阳性再进行混合和确证试验),实验室选择其中任一种方案均可。整体试验方案节省检验时间、有利于临床综合考虑检验结果,提高了检测敏感度和结果的时效性;序列试验方案,在诸如妊娠期或感染、肿瘤急性期可能导致凝血因子活性偏高状态时,可能导致LA筛查试验假阴性,存在漏诊的可能,临床工作者应了解并重视。

另外,本共识提到混合试验所用NPP可选用商品化制剂或自制,自制NPP应取至少20例正常成

人标本,保存条件同LA待测标本。

5 关于检测流程与结果报告

5.1 检测与报告流程 2019版共识中引用CLSI提出的LA检测流程,对LA检测及报告流程进行了描述,推荐LA的检测程序为筛查试验—确证试验—混合试验,当筛查试验和确证试验检测结果难以解释时再进行混合试验。同时2019版共识指出,混合试验即将患者血浆与正常人血浆进行1:1混合,以证实凝血时间延长并非由于凝血因子缺乏。本共识对CLSI及ISTH指南推荐的LA检测的整体试验和序列试验方案分别进行了更为详细地描述,对可能出现的各类检测结果进行了总结分析。

与2019版共识一致,本共识建议检测并报告患者LA筛查、确证凝血时间与正常对照凝血时间的比值。本共识建议计算并报告筛查和确证比值之比,即标准化比值;同时可报告混合标准化比值(将患者血浆与NPP以1:1混合后进行dRVVT筛查和确证试验,可分别获得dRVVT混合筛查比值与混合确证比值,并计算得到混合标准化比值)。标准化比值的应用可提高LA检测的敏感度,避免漏检。

本共识对整体试验和序列试验方案给出了清晰明确的检测流程,标准化比值的应用可提高LA检测的敏感度,避免漏检。以dRVVT检测为例,即使筛查和确证试验检测结果均为阴性,但标准化比值为阳性,也提示LA存在,故可排除因凝血因子活性增高造成的dRVVT检测假阴性结果。而当筛查、确证试验及标准化比值结果均为阴性则是LA不存在的可靠证据。因此,在单独序列试验中,先检测LA筛查试验,如结果阴性,则直接报告LA阴性,不再进行确证试验并计算标准化比值,当遇到某些凝血因子活性偏高时(例如妊娠期或感染、肿瘤急性期),可能导致LA筛查试验假阴性,故存在漏诊可能性。

混合试验在鉴别LA存在和凝血因子缺乏或其他抑制物方面具有重要意义,例如在dRVVT检测中,LA筛查及确证试验均为阳性时,混合筛查比值或混合标准化比值为阴性是患者可能存在凝血因子缺乏或其他抑制物而不存在LA的重要证据;而混合筛查试验比值为阳性,但混合确证试验比值为阴性或混合标准化比值结果为阳性说明患者可能同时存在LA和凝血因子缺乏;同时,如果混合筛查试验及混合确证试验结果均为阳性,则提示可能存在其他抑制物或极高滴度LA,建议择期复查或结合其他检查。

5.2 报告注意事项 在结果报告方面,共识结合 ISTH 和 CLSI 指南中的建议,明确了 LA 报告中应在结合其他抗磷脂抗体等相关检测结果、患者临床病史及治疗史等情况的基础上,包含各步骤比值结果以及解释性说明,包括提示是否存在 LA(阳性/阴性)、可能的干扰因素并给出进一步检查的建议,如当标准化比值或混合标准化比值等于阈值时,可备注“为临界值(可疑)结果,建议择期复查”。此外,共识还进一步提出:“LA 报告形式也可遵循试剂制造商建议,同时进行 2 种 LA 检测,任一种方法结果阳性即提示存在 LA”。

5.3 正常对照值与判定阈值的确定 本共识建议选取至少 20 例正常人血浆(或 1 份 NPP 由至少 20 例正常标本混合获得)检测 LA 的筛查和确证凝血时间,计算均值作为正常对照值,分别用于 LA 筛查、确证比值结果的计算。也可在检测每批(天)患者血浆 LA 时平行检测 1 份 NPP,用于计算比值结果,该 NPP 建议由至少 20 例正常标本混合获得。

在判定阈值方面,ISTH 与英国血液协会(British Society for Haematology, BSH)指南分别建议以正常人结果的第 99 和第 97.5 百分位数作为 LA 检测各筛查、确证及标准化比值的判定阈值。2019 版共识也建议采用 ISTH 指南推荐的第 99 百分位数作为临界值。但两个指南推荐入组正常人群标本例数为至少 120 例(不含离群值)^[4,12],对于多数国内实验室来说,达到此标准十分困难。基于此,共识结合国内大多数实验室实际情况建议:可验证并采用商品化试剂制造商提供的判定阈值(收集至少 20 例正常人标本,90%及以上的标本结果≤申明的阈值为验证通过),但需确保使用配套的检测设备和试剂,并适时评价其适宜性。

5.4 质量管理 本共识建议,LA 检测至少每天进行一次包含正常和异常 LA 质控物的室内质控测定,并建议参加室间质评或比对(每年 1~2 次,并包含阈值附近的弱阳性标本)。目前,国内主要 LA 检测试剂盒中室内质控品基本满足条件,如 IL 公司 LA 检测试剂盒中包括阳性质控物 HemosIL LA Positive Control 和阴性质控物 HemosIL LA Negative Control 2 个水平。每次检测患者标本前,进行 2 个浓度水平的质控品检测。此外校准后、更换新试剂及大保养后,均需进行室内质控。质控结果通过后才能检测患者标本。

6 临床意义

6.1 在 APS 中的应用 本共识提出年龄<50 岁或

不明原因反复发生动、静脉血栓者;各类病理妊娠患者等疑诊为 APS 的患者建议进行 LA 检测。LA 作为 APS 特征性的生物学标志物之一,是 APS 分类标准中的实验室指标。2006 年国际血栓与止血学会修订的 APS 分类标准以血栓形成和病理妊娠作为临床标准^[13],以 LA、ACA、抗 β 2GP I 抗体检测分别阳性作为实验室标准,该标准明确指出符合至少满足 1 条临床标准和 1 条实验室标准方可诊断 APS。在该标准中,LA 检测阳性定义为在血浆中测得狼疮抗凝物至少 2 次,每次间隔至少 12 周;同时,与 ACA、抗 β 2GP I 抗体相比,LA 阳性与血栓形成和病理妊娠具有更强的相关性,三者同时阳性的血栓形成和病理妊娠发生率更高。2019 版共识指出,抗磷脂抗体检测在 APS 筛查及诊断、血栓及病理妊娠的风险评估方面具有重要意义。本共识对各类疑诊 APS 患者更为强调进行 LA 检测,与 2019 版共识是一致的。

本共识进一步依据美国风湿病学会和欧洲抗风湿病联盟共同发布的最新 2023 APS 分类标准^[14],详细介绍了 LA 检测在该分类标准中的加权评分标准。同时,依据全面 APS 评分(global anti phospholipid syndrome score, GAPSS)分类标准^[15],LA 检测在评估 APS 患者血栓风险方面具有重要意义。

6.2 在 SLE 中的应用 SLE 是一种以全身多脏器受累为主要表现的系统性自身免疫病,由于大量自身抗体产生和持续存在,患者呈反复发作的临床特点^[16]。SLE 患者临床表现与抗磷脂抗体密切相关,同时 LA 检测阳性患者 SLE 患者血栓事件发生率明显高于阴性患者^[17]。2019 年欧洲抗风湿病联盟/美国风湿病学会的 SLE 分类标准^[18]中,纳入 7 类临床标准和 3 类免疫学标准,每一类又有若干细则,总分取每一类标准中最高分相加,排除药物、肿瘤、感染等因素,且总积分 ≥ 10 分即可诊断 SLE,其敏感度 96%,特异度 93%。作为其中的免疫学标准,LA、ACA 抗体与抗 β 2 糖蛋白 I 抗体,三者任何一个阳性的权重均为 2 分。

6.3 在 VTE 风险评估中 本共识指出,在目前进行 VTE 风险评估的 Caprini^[19]或 Padua 评分^[20]表中,LA 或 APS 的危险因素积分权重分别为 3 分,LA 检测阳性直接或间接影响患者综合评分。

综上所述,作为凝血功能相关检测项目,LA 检测的影响因素较多,其检测流程及结果报告标准化、规范化是临床检验人员重要关注点。本共识从检验全流程各个细节为 LA 检测及结果报告提供了

详细的指导,为临床实验室规范开展 LA 检测提供了文件支持,对于 APS、SLE 等相关疾病的临床诊断及疗效监测等方面具有重大的现实意义。

[参考文献]

- [1] 李忠信,杨硕,崔丽艳.抗磷脂综合征炎症反应及其为靶点的诊疗策略[J].中华检验医学杂志,2022,45(11):1109-1114.
- [2] Garcia D, Erkan D. Diagnosis and management of the antiphospholipid syndrom[J]. N Engl J Med,2018,378(21):2010-2021.
- [3] 中国研究型医院学会血栓与止血专业委员会.狼疮抗凝物检测与报告规范化共识[J].中华检验医学杂志,2024,47(2):129-135.
- [4] Devreese K, de Groot PG, de Laat B, et al. Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis; Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection and interpretation [J]. J Thromb Haemost,2020,18(11):2828-2839.
- [5] 中国医师协会风湿免疫科医师分会自身抗体检测专业委员会,国家风湿病数据中心,国家风湿病临床医学研究中心.抗磷脂抗体检测的临床应用专家共识[J].中华内科杂志,2019,58(7):496-500.
- [6] 赵久良,沈海丽,柴克霞,等.抗磷脂综合征诊疗规范[J].中华内科杂志,2022,61(9):1000-1007.
- [7] De Kesel PM, Devreese KMJ. Direct oral anti-coagulant adsorption: impact on lupus anti-coagulant testing-Review of the literature and evaluation on spiked and patient samples [J]. J Thromb Haemost,2020,18(8):2003-2017.
- [8] Siriez R, Dogné JM, Gosselin R, et al. Comprehensive review of the impact of direct oral anticoagulants on thrombophilia diagnostic tests; Practical recommendations for the laboratory [J]. Int J Lab Hematol,2021,43(1):7-20.
- [9] Zańczyk M, Kopytek M, Natorka J, et al. The effect of DOAC-Stop on lupus anticoagulant testing in plasma samples of venous thromboembolism patients receiving direct oral anticoagulants[J]. Clin Chem Lab Med,2019,57(9):1374-1381.
- [10] Lu S, Huerman N, Li M, et al. Evaluation of activated carbon treatment on overcoming the interference of rivaroxaban on the detection of functional lupus anticoagulant [J]. Acta Haematol,2022,145(4):430-439.
- [11] Pengo V, Tripodi A, Reber G, et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis [J]. J Thromb Haemost,2009,7(10):1737-1740.
- [12] Keeling D, Mackie I, Moore GW, et al. Guidelines on the investigation and management of antiphospholipid syndrome [J]. Br J Haematol,2012,157(1):47-58.
- [13] Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS) [J]. J Thromb Haemost,2006,4(2):295-306.
- [14] Barbhaiya M, Zuily S, Naden R, et al. 2023 ACR/EULAR antiphospholipid syndrome classification criteria [J]. Ann Rheum Dis,2023,82(10):1258-1270.
- [15] Sciascia S, Sanna G, Murru V, et al. GAPSS: the global antiphospholipid syndrome score [J]. Rheumatology (Oxford),2013,52(8):1397-1403.
- [16] 詹皓婷,李永哲.系统性红斑狼疮生物标志物临床应用进展 [J].中华检验医学杂志,2020,43(9):939-944.
- [17] 张素真,赵旭辉.系统性红斑狼疮患者外周血 FXIIa-AT、TSP-1、LA 比值水平变化及联合诊断血栓事件的临床价值 [J].中国实验血液学杂志,2022,30(2):577-582.
- [18] 高云洁,王慧静,蔡方豪,等.2019 年欧洲抗风湿病联盟/美国风湿病学会系统性红斑狼疮分类标准的临床应用分析 [J].中华肾脏病杂志,2021,37(10):789-794.
- [19] Caprini JA. Thrombosis risk assessment as a guide to quality patient care [J]. Dis Mon,2005,51(23):70-78.
- [20] Barbar S, Noventa F, Rossetto V, et al. A risk assessment model for the identification of hospitalized medical patients at risk for venous thromboembolism: the Padua Prediction Score [J]. J Thromb Haemost,2010,8(11):2450-2457.

(本文编辑:何祯)