

不同试剂参数下 CA-1500 血凝仪检测血浆 D-二聚体结果的可比性研究

徐正良, 李亚山, 李德璇[△], 刘光彩, 沈 乾(云南省第三人民医院/大理学院昆明附属医院检验科, 昆明 650031)

【摘要】 目的 比较不同试剂参数下 CA-1500 血凝仪检测血浆 D-二聚体(DD)结果的可比性。**方法** 依据美国临床实验室标准化委员会(CLSI)颁布的 EP9-A2 文件,在 CA-1500 血凝仪上修改 DD-Innovance 试剂参数,比较修改参数前后的血浆 DD 检测值,评价二者的可比性。**结果** 以参数修改前所测 DD 结果为 X,参数修改后所测 DD 结果为 Y,对结果进行回归分析,所得方程为 $Y=0.959\ 7X+0.046\ 5$, $r=0.998$,修改参数前后的 DD 检测结果具有可比性。**结论** 在保证仪器检测质量的前提下,可以通过调整检测系统的检测参数,缩减试剂用量,节约分析成本。

【关键词】 D-二聚体; 定量检测; 试剂参数

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.19.019 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)19-2861-02

Study on comparability of results of Sysmex CA-1500 coagulation analyzer for detecting plasma D-dimer with different reagent parameters XU Zheng-liang, LI Ya-shan, LI De-xuan[△], LIU Guang-cai, SHEN Qian (Department of Clinical Laboratory, Yunnan Provincial Third People's Hospital /Affiliated Kunming Hospital of Dali University, Kunming, Yunnan 650031, China)

【Abstract】 Objective To compare the comparability of the Sysmex CA-1500 coagulation analyzer for detecting plasma D-dimer(DD) under different reagent parameters. **Methods** According to the EP9-A2 file issued by CLSI, the DD-Innovance reagent parameters were modified in the Sysmex CA-1500 blood coagulation analyzer. The detection values were compared between before and after modification for evaluating their comparability. **Results** With the DD detection results before the parameter modification as X and which after the parameter modification as Y, the detection results were performed the regression analysis, the obtained equation was $Y=0.959\ 7X+0.046\ 5$, $r=0.998$, showing that the DD detection results had the comparability between before and after the parameter modification. **Conclusion** Under the premise of ensuring the instrument detection quality, adjusting the detection parameter of the detection system can reduce the reagent consumption and save the analytical costs.

【Key words】 D-dimer; quantitative detection; reagent parameters

血浆 D-二聚体(DD)是纤维蛋白原经凝血酶降解为纤维蛋白单体,然后经活化因子Ⅲ交联后,再经纤溶酶水解所产生的一种特异性降解产物,是一个特异性的纤溶过程标记物。采用血浆 DD 定量测定对深静脉血栓和肺栓塞的排除,弥散性血管内凝血(DIC)的诊断和溶栓疗效监测是一个很好的评价指标,但是目前常用的检测试剂为原装进口的 DD-Innovance 试剂,价格比较昂贵,限制了该项目在云南地区的开展。本文从节约试剂成本的角度出发,按照美国临床实验室标准化委员会(CLSI)EP9-A2 文件的要求^[1],比较 DD-Innovance 试剂参数修改前后的血浆 DD 检测结果,以探索是否可以在保证仪器检测结果的前提下,通过调整检测系统的检测参数,减少试剂用量,实现节约试剂成本的目的。

1 资料与方法

1.1 一般资料 每日收集本院住院患者枸橼酸钠抗凝(1:9)血标本 8 份,连续收集 5 d 共 40 例,其中男 24 例,女 16 例,平均 56.7 岁。标本要求抗凝比例符合要求(标本量不少于 2.7 mL 或多于 3.3 mL),尽量避免标本溶血、脂血和黄疸。标本采集后尽快离心,并在 4 h 内测试完毕^[2]。

1.2 仪器与试剂 仪器为日本希森美康生产的 CA-1500 血凝仪。血浆 DD 检测试剂为德国西门子医疗诊断公司生产的

DD-Innovance 试剂,包括:乳胶试剂 4.0 mL×6 瓶/盒;稀释液 5.0 mL×6 瓶/盒;缓冲液 5.0 mL×6 瓶/盒;封闭液 2.6 mL×6 瓶/盒。质控物和校准品均为检测试剂原装配套。

1.3 方法

1.3.1 试验前的准备 为保证结果的准确性和可重复性,要求室温在 18~24 ℃^[2],湿度低于 80%。试验前对 CA-1500 血凝仪进行日常维护保养。

1.3.2 未修改参数前血浆 DD 定量检测 按照试剂说明书设置 DD 检测的各项试剂参数:乳胶试剂 56 μL,稀释液 32 μL,缓冲液 60 μL,封闭液 24 μL,标本用量 16 μL。设置好试剂及标本用量参数后,按照要求进行定标和质控,然后选取 8 份不同 DD 浓度水平的患者血浆按照 CA-1500 血凝仪操作流程分别按 1~8 和 8~1 的顺序各测定 1 次。按照上述操作持续检测 5 d,共测试 40 例标本。如果按照上述试剂说明书的用量操作则理论上每盒试剂可以做 426 次测试。

1.3.3 修改参数后血浆 DD 定量检测 在 CA-1500 血凝仪上把各试剂用量设为:乳胶试剂 48 μL,稀释液 27 μL,缓冲液 53 μL,封闭液 21 μL,标本用量为 14 μL。设置完试剂及标本用量后,按照 1.3.2 标本处理要求同样测试上述 40 例标本。如果按照修改参数后的试剂用量操作则理论上每盒试剂可以做

500 次测试。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件对数据进行处理,以参数修改前所测结果为 X ,参数修改后所测结果为 Y 进行相关性分析和回归分析, $r \geq 0.975$ 或 $r^2 \geq 0.95$ 则认为 Y 的取值范围合适,相关性较好,数据满足临床要求,则说明 Y 值是可接受的。另外采用配对 t 检验分析截距 a 与 0 是否存在统计学差异,如无统计学意义差异,且斜率 b 在 1 ± 0.05 范围内,则说明在某一浓度范围内二者是呈线性关系的。

2 结 果

以参数修改前所测 DD 结果为 X ,参数修改后所测结果为 Y ,回归方程为: $Y=0.9597X+0.0465$, $r=0.998$,见图 1。 $r>0.975$,截距 $a=0.0465$,经配对 t 检验,截距 a 与 0 差异无统计学意义($t=0.149$, $P>0.05$),斜率 $b=0.9597$,在 1 ± 0.05 范围内。说明在线性范围 $0 \sim 10$ mg/L 内,修改试剂参数前后,CA-1500 血凝仪检测 DD 的结果具有可比性。

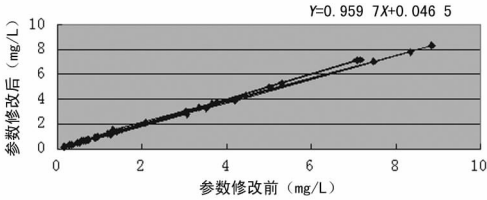


图 1 修改参数前后 DD 检测结果的相关性

3 讨 论

DD 是纤维蛋白单体经活化因子Ⅻ交联后,再经纤溶酶水解所产生的一种特异降解产物,是一个特异性的纤溶过程标记物。DD 来源于纤溶酶溶解的交联纤维蛋白凝块,是确定体内有无血栓形成及继发性纤溶的指标,可以作为体内血栓前状态和血栓形成的分子标志物之一^[3]。本研究所用的 DD-Innovance 试剂敏感性较高,但是相对检测范围较窄,主要用于深静脉血栓和肺栓塞的排除性诊断,其阴性预期值较高,据报道其阴性预期值可达 99%,敏感性可达 98%^[4]。临床上可结合临床验前概率(PTP)来排除深静脉血栓和肺栓塞。当 PTP 评估为低、中风险时,DD 的 cut off 值为阴性,即 $DD<0.5$ mg/L 即可排除深静脉血栓和肺栓塞,无需进一步的影像学检查,从而减少了有创检查,为患者减轻了经济负担。

早在 1972 年 Gaffney 首先提出了 DD 检测。1983 年 Ry-latt 等首先报道了用单克隆抗体 DD-386/22 检测 DD。20 世纪 90 年代,酶联免疫吸附试验、乳胶增强型免疫分析法等开始逐步应用于 DD 检测。直到 20 世纪 90 年代末,免疫比浊法在血凝仪上才实现了自动化,从而实现了快速、单样本、定量、高敏感性的 DD 检测。但目前尚无统一的 DD 检测国际标准,不同厂家生产的检测试剂所含的单克隆抗体不同,所检测的 DD 片段也不同。目前市售的 DD 检测试剂涉及 20 多种单克隆抗体,检测方法有 30 多种,尚无统一的国际标准品^[5]。由于不同品牌检测试剂中的单克隆抗体是针对不同相对分子质量的纤维蛋白降解片段制备的,因此不同试剂间 DD 检测结果差异显著,可比性较低。本实验室所用的试剂为 DD-Innovance 试剂,仪器为 CA-1500 血凝分析仪,本研究中的试剂参数仅限于 CA-1500 血凝分析仪上设置的 DD 线性范围内($0 \sim 10$ mg/L)使用,对于超出线性范围时,两种参数下 DD 检测结果是否具有相关性,还有待进一步验证。

参考文献

[1] CLSI. EP9-A2 Method comparison and bias estimation using patient samples; Approved guideline[S]. Wayne, PA: CLSI, 2002.

[2] 彭明婷,李臣宾. 出凝血检验卫生行业标准与质量改进[J]. 检验医学, 2015, 30(4): 308-310.

[3] 徐正良,李德璇,刘光彩,等. 用 SysmexCA-7000 血凝仪测量血浆 D-二聚体全量法与减量法的比较[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(3): 344-346.

[4] Haas FJLM, Schutgens REG, Biesma DH. An age-adapted approach for the use of D-dimers in the exclusion of deep venous thrombosis[J]. Am J Hematol, 2009, 84(8): 488-491.

[5] 门剑龙,任静. D-二聚体临床应用及标准化分析进展[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(8): 793-797.

(收稿日期:2015-03-20 修回日期:2015-06-25)

(上接第 2860 页)

性心肌梗死临床疗效观察[J]. 临床医学, 2011, 31(2): 47.

[3] Takeuchi I, Fujita H, Yanagisawa T, et al. Impact of doctor car with mobile cloud ECG in reducing door-to-balloon time of Japanese ST-elevation myocardial infarction patients[J]. Int Heart J, 2015, 56(2): 170-173.

[4] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 2010 急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南[J]. 中华心血管病杂志, 2010, 38(8): 675-678.

[5] Brener SJ, Oldroyd KG, Maehara A, et al. Outcomes in patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction treated with clopidogrel versus prasugrel (from the INFUSE-AMI trial)[J]. Am J Cardiol, 2014, 113(9): 1457-1460.

[6] 殷禄昌. rhTNK-tPA 和 rt-PA 治疗急性心肌梗死疗效和安全性的随机对照研究[D]. 长春: 吉林大学, 2007.

[7] 余巧燕,孙晋民. 溶栓药物的研究进展[J]. 医学理论与实践, 2009, 22(1): 30-33.

[8] 冯雷. 替罗非班联合尿激酶血管内超选择溶栓的实验及临床研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2012.

[9] 麻彬. 重组凝血因子Ⅶa 对心脏瓣膜替换术后早期恢复的影响[D]. 上海: 第二军医大学, 2006.

[10] 巨天賦,姬喜荣. 急性心肌梗死急诊 ICU 静脉溶栓的临床研究[J]. 中国社区医师, 2009, 11(16): 37.

[11] 董馨. 冠心病 PCI 患者血脂水平的随访调查[D]. 大连: 大连医科大学, 2013.

[12] 陈昊. 基于移动物联网的区域协同心血管病急救模式研究[D]. 重庆: 第三军医大学, 2012.

[13] Armstrong PW, Gershlick AH, Goldstein P, et al. Fibrinolysis or primary PCI in ST-segment elevation myocardial infarction [J]. N Engl J Med, 2013, 368(15): 1379-1387.

(收稿日期:2015-03-18 修回日期:2015-04-20)