

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.13.011

不同 FDPs 及 D-D 试剂盒检测结果一致性及 FDPs/D-D 的临床价值分析

赵学峰, 罗丽贞, 袁晓文, 谭莹飞, 梁伯林, 区海萍

南方医科大学附属南海医院检验科, 广东佛山 528200

摘 要:目的 分别比较 6 种 D-二聚体(D-D)试剂盒和 4 种纤维蛋白(原)降解产物(FDPs)试剂盒之间的一致性,并探索 FDPs/D-D 的临床价值。**方法** 根据 D-D 水平将 400 份血液标本分为 D-D >500 ng/mL 组和 D-D <500 ng/mL 组,各 200 份。检测所有标本中 D-D 和 FDPs 水平;分析不同 FDPs 及 D-D 试剂盒检测结果一致性;比较不同试剂盒检测 FDPs/D-D 的差异,并分析 FDPs/D-D 在不同临床科室标本中的分布。**结果** 6 种 D-D 试剂盒的检测结果显示呈正相关,以上海太阳生物科技公司 and 日本积水生物公司 D-D 试剂盒的检测结果显示相关性最高,重庆博士泰与法国思达高、法国梅里埃 VIDAS D-D 试剂盒的检测结果显示相关系数在 0.7 以上;6 种 D-D 试剂盒检测结果与临床检测结果不一致的标本有 21 份,排除类风湿因子、抗动物抗体、嗜异性抗体和钩状效应的干扰。4 种 FDPs 试剂盒检测结果呈正相关,但是与 D-D 试剂盒检测结果相比,数据较为分散,回归方程的斜率和截距偏大。4 种试剂盒检测 FDPs/D-D 的结果差异有统计学意义($P<0.05$);除了中国南京普瑞柏生物科技有限公司试剂盒检测 FDPs/D-D 的结果在不同科室标本间差异有统计学意义($P<0.05$),其他试剂盒检测 FDPs/D-D 的结果在不同临床科室标本间差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 不同 FDPs 及 D-D 试剂盒检测结果一致性较好,尚未发现 FDPs/D-D 的临床价值。

关键词:D-二聚体; 纤维蛋白(原)降解产物; 试剂盒

中图分类号:R446.11

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)13-1834-05

Consistency among four FDPs kits,six D-D kits and study on clinical value of FDPs/D-D

ZHAO Xuefeng, LUO Lizhen, YUAN Xiaowen, TAN Yingfei, LIANG Bolin, QU Haiping

Department of Clinical Laboratory, Nanhai Hospital Affiliated of

Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 528200, China

Abstract: Objective To compare the consistency of six D-dimer (D-D) kits and four fibrin (ogen) degradation product (FDPs) kits, and to explore the clinical value of FDPs/D-D. **Methods** According to D-D level, 400 coagulation test samples were divided into D-D >500 ng/mL group and D-D <500 ng/mL group, 200 cases in each group. The levels of D-D and FDPs were tested with 14 kits in all the samples. The differences of FDPs/D-D in different kits and the distribution of FDPs/D-D in different clinical department were analyzed.

Results The D-D levels detected by six kinds of D-D kits were positively correlated with each other, and the correlation between Taiyang D-D kit (TYDD) and Jishui D-D kit (JSDD) were highest. There was a good correlation among Boshitai D-D kit (BSTDD), Stago D-D kit (STDD) and Merier D-D kit (MLDD), with the correlation coefficients above 0.7. The D-D levels of twenty-one samples detected by six kinds of D-D kits were inconsistent with clinical results, which excluded the existence of rheumatoid factors, anti-animal antibodies, heterophilic antibody and HOOK effects. The detection results of four FDPs reagents were positively correlated, but the data were relatively dispersed with more slope deviation of regression equation and larger intercept. There were significant differences in FDPs/D-D levels among the four kits ($P<0.05$). There was no statistically significant difference between FDPs/D-D levels in different departments samples ($P>0.05$) except that the detection results of Puruibai kit were significantly in different department samples ($P<0.05$). **Conclusion** Different FDPs and D-D kits have good consistency. There is no evident clinical value of FDPs/D-D tentatively.

Key words: D-dimer; fibrin (ogen) degradation products; kit

健康人体的血流稳定在于凝血功能与抗凝及纤维蛋白溶解(以下简称“纤溶”)功能的平衡。机体发

生凝血时,凝血酶作用于纤维蛋白,转变为交联纤维蛋白,同时纤溶系统被激活,降解纤维蛋白形成各种

碎片。但是纤溶酶对底物的特异性不强,可以直接作用于纤维蛋白原而生成纤维蛋白(原)降解产物(FDPs)。FDPs 由 X 片段、D 片段、Y 片段、E 片段等以不同数量组合而成,形成的片段大小不等,相对分子质量为 $2.5\times 10^5\sim 1.0\times 10^7$ 。D-二聚体(D-D)是包含 D 片段在内的与 E、Y 片段组合形成大小不一的混合物,但是其相对分子质量明显低于 FDPs。

FDPs 和 D-D 在深静脉血栓(DVT)和肺栓塞(PE)的排除、弥散性血管内凝血(DIC)的诊断及溶栓治疗监测等方面具有良好的临床应用价值。目前临床也常根据 FDPs 与 D-D 的变化鉴别诊断原发性纤溶和继发性纤溶。但是 FDPs 和 D-D 因缺乏标准物质,所使用的捕获与检测抗体不同,报告单位不同等而使实验室难以对一些检测结果进行合理解释,给科室质量管理带来困惑。

有文献报道了不同品牌 FDPs 和 D-D 试剂盒检测结果间无可比性^[1],尽管 ISO15189 等质量管理体系均要求各实验室建立或验证参考区间,事实上绝大多数单位和体外诊断厂家所声明的截断值却基本一致。本研究旨在调查当前在国内广泛使用的 6 种 D-D 和 4 种 FDPs 试剂盒检测结果的可比性,研究 FDPs/D-D 潜在的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2016 年 3 月至 2017 年 3 月在本院进行凝血功能检测的门诊及住院患者血液标本 400 份。根据 D-D 水平分成 D-D 水平>500 ng/mL 组和 D-D<500 ng/mL 组,各 200 份。所有纳入研究的病例不区分年龄、性别和疾病类型。

1.2 仪器与试剂 法国思达高(以下简称“ST”)和法国梅里埃 VIDAS(以下简称“ML”)试剂盒采用原装配套检测系统,其余试剂盒采用原装试剂、校准品、质控品和日立 7600 全自动生化检测仪的自建检测系统,按照说明书提供的信息设置参数、定标,在质控在控的前提下采集数据。分别选择 ST 的 D-D 试剂盒(STDD),ML 的 D-D 试剂盒(MLDD),日本积水生物公司(以下简称“JS”)的 D-D 与 FDPs 试剂盒(JSDD、JSFDP),中国南京普瑞柏生物科技有限公司(以下简称“PRB”)的 D-D 与 FDPs 试剂盒(PRBDD、PRBFDP),重庆博士泰生物科技公司(以下简称“BST”)的 D-D 与 FDPs 试剂盒(BSTDD、BSTFDP),上海太阳生物科技公司(以下简称“TY”)的 D-D 与 FDPs 试剂盒(TY-DD、TYFDP),并配套选择校准品和质控品,统一结果单位为纤维蛋白原当量单位(FEU,ng/mL),其中 JS-FDP 和 JSDD 采用 D-D 单位(DDU),乘以 1.96 换算为 FEU 单位。

1.3 方法 所有研究对象采集外周血液 2 mL,注入包含 3.8%的枸橼酸钠抗凝剂的真空采血管,缓慢颠倒 3 次混匀,30 min 内以 $1\,600\times g$ 离心 5 min 分离血

浆。将血浆分配至 eppendorf 管-80 ℃保存待用,每管分装 200 μL。使用前至 37 ℃水浴解冻,确认血浆清晰、无凝块。

1.4 统计学处理 应用 SPSS17.0 软件进行数据分析,不同试剂盒检测 D-D 和 FDPs 结果的一致性均采用 Pearson 相关进行分析;各试剂盒检测 FDPs/D-D 中位数的比较、FDPs/D-D 在不同临床科室标本间比较均采用秩和检验;采用多元线性回归分析法建立各试剂盒检测结果之间回归方程。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同 D-D 试剂盒检测结果的一致性 结果显示,对于 D-D<500 ng/mL 的 200 例标本,6 种 D-D 试剂盒检测结果均处于该范围内,与临床的检测结果一致。对于 D-D>500 ng/mL 的标本,各试剂盒检测结果之间呈正相关($P<0.001$),TYDD 和 JSDD 的相关系数最大,BSTDD 与 STDD 和 MLDD 的相关系数在 0.7 以上,见表 1。不同 D-D 试剂盒检测结果线性回归方程见图 1。

表 1 不同 D-D 试剂盒检测结果的 Pearson 相关系数(r)

试剂盒	MLDD	JSDD	PRBDD	BSTDD	TYDD
STDD	0.723*	0.675*	0.723*	0.739*	0.681*
MLDD		0.692*	0.470*	0.782*	0.664*
JSDD			0.720*	0.710*	0.954*
PRBDD				0.583*	0.503*
BSTDD					0.693*

注:* $P<0.001$ 。

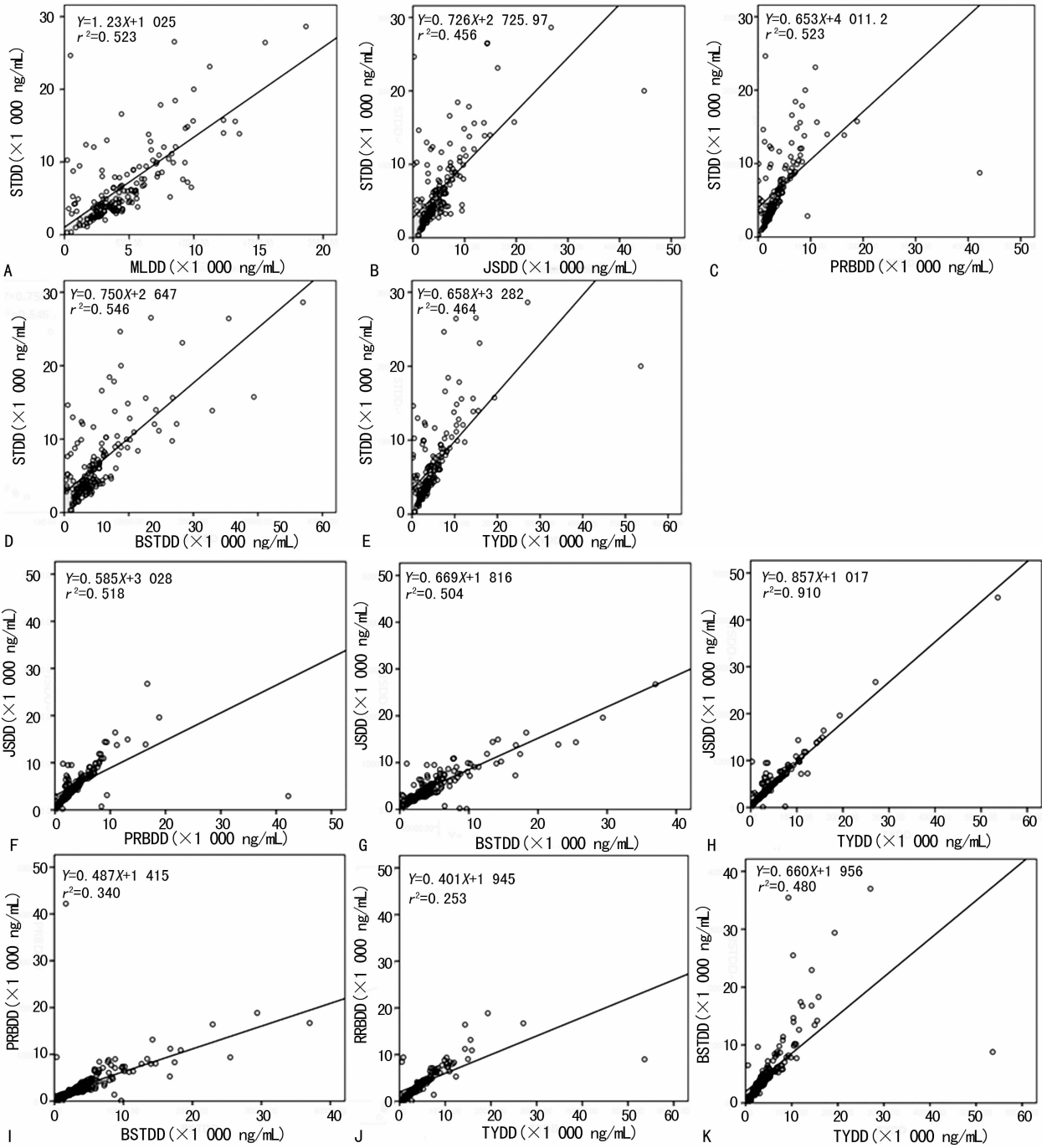
2.2 不同 FDPs 试剂盒检测结果的一致性 4 种 FDPs 试剂盒的检测结果显示呈正相关($P<0.001$),但是与 D-D 试剂盒检测结果相比,数据较为分散,回归方程的斜率和截距偏大。见图 2。

表 2 4 种试剂盒检测 FDPs/D-D 的分布情况

试剂盒	中位数	四分位数间距	全距
JS 试剂盒	3.660	1.974	143.09
PRB 试剂盒	7.485	1.16	276.68
BST 试剂盒	1.463	0.94	17.05
TY 试剂盒	4.410	4.43	38.87

2.3 FDPs/D-D 的结果分析 共计获得 200 例有效的 FDPs/D-D 数据,其中产科标本占 20.0%(40/200)、感染科标本占 3.0%(6/200),骨科、普通内科、普通外科、心血管科、肿瘤科标本则分别占 20.6%、22.6%、19.6%、5.0%和 9.2%。4 种试剂盒检测 FDPs/D-D 的结果差异有统计学意义($H=298.6$, $P<0.001$),见表 2。除了 PRB 试剂盒检测 FDPs/D-D 的结果在不同科室标本间差异有统计学意义($P<$

0.05),其他试剂盒检测 FDPs/D-D 的结果在各科室 标本间差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。



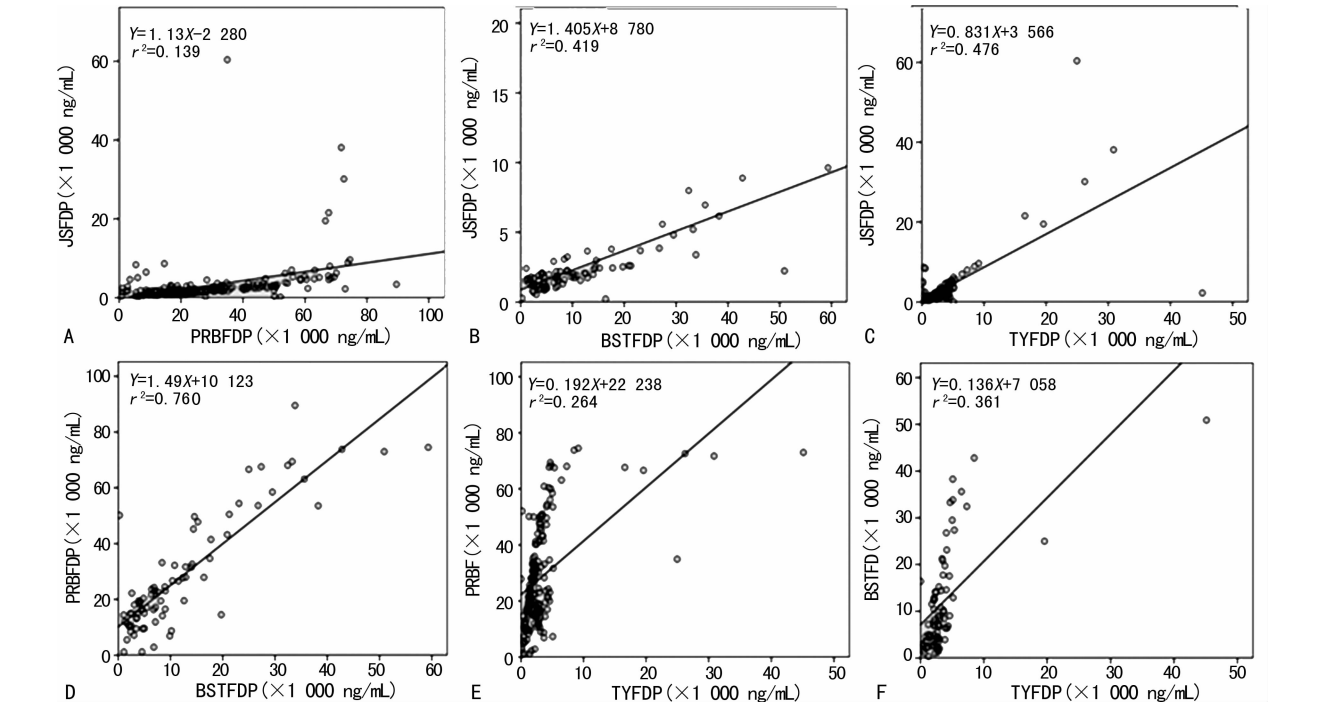
注:A为MLDD与STDD检测结果的相关性分析;B为JSDD与STDD检测结果的相关性分析;C为PRBDD与STDD检测结果的相关性分析;D为BSTDD与STDD检测结果的相关性分析;E为TYDD与STDD检测结果的相关性分析;F为PRBDD与JSDD检测结果的相关性分析;G为BSTDD与JSDD检测结果的相关性分析;H为TYDD与JSDD检测结果的相关性分析;I为BSTDD与PRBDD检测结果的相关性分析;J为TYDD与PRBDD检测结果的相关性分析;K为TYDD与BSTDD检测结果的相关性分析。

图 1 不同试剂盒对 D-D 检测结果的相关性及回归方程

2.4 不同 D-D 检测结果间不一致的数据分析 对于 D-D >500 ng/mL 的标本,结合原卫生部临床检验中心和美国临床实验室改进修正案 1988 (CLIA'88) 颁布的可允许总误差为判定标准和临床血液学医生的判定结果,6 种 D-D 试剂盒检测结果与临床检测结果不一致的标本有 21 份,未发现不一致标本的病种、性别、年龄、住院科别、试剂品牌的分布特点。

为了排除钩状效应和免疫干扰所造成的不一致,分别选取 100 份 D-D <500 ng/mL 和 100 份 >500 ng/mL 的标本检测类风湿因子,结果均在说明书声明的参考区间。对 6 种 D-D 试剂盒检测结果不一致的 21 份标本用生理盐水稀释 5 倍后重新检测,结果均在目标结果 $\pm 10\%$ 的范围内,基本排除钩状效应所致。21 例标本和随机选取 20 例 D-D >500 ng/mL 的标

本,按照相关标准进行抗动物抗体(HAAA)和嗜异性 干扰。
抗体(HAHA)的检测,未发现 HAAA 和 HAHA 的



注:A为PRBFDP与JSFDP检测结果的相关性分析;B为BSTFDP与JSFDP检测结果的相关性分析;C为TYFDP与JSFDP检测结果的相关性分析;D为BSTFDP与PRBFDP检测结果的相关性分析;E为TYFDP与PRBFDP检测结果的相关性分析;F为TYFDP与BSTFDP检测结果的相关性分析。

图 2 4 种 FDPs 试剂盒检测结果的相关性分析及回归方程

表 3 不同临床科室检测不同试剂盒 FDPs/D-D 的分布情况比较				
科室	TY 秩均值	PRB 秩均值	BST 秩均值	JS 秩均值
产科	90.6	133.5	37.4	95.0
感染科	42.7	88.0	43.5	72.0
骨科	74.5	114.8	38.9	81.6
普通内科	78.7	92.0	20.0	82.9
普通外科	99.5	105.3	29.4	120.0
心血管科	103.2	76.3	45.9	117.0
肿瘤科	84.6	79.0	48.6	103.5
H	13.26	25.53	7.94	12.24
P	0.039	<0.001	0.242	0.057

3 讨 论

D-D 的增高既能提示机体已发生血栓性疾病,又表明纤溶活性的增强,临床上广泛应用于 DIC、DVT、PE、急性心肌梗死、恶性肿瘤、癌症、败血症、肝病、妊娠、创伤等疾病的诊断。

纤维蛋白原在受到凝血酶的作用后形成纤维蛋白,Ⅹ因子对交连后的纤维蛋白具有增强聚合作用,后者在纤溶酶作用下裂解为大小不等的片段,而纤维蛋白原也可以在纤溶酶作用下直接降解。纤维蛋白

(原)受纤溶酶降解后形成的片段包括 D、E、Y、X 片段,其聚合后可形成 D-D。这些组合片段大小不等,造成体外诊断试剂盒中的捕获抗体与检测抗体所识别的抗原决定簇难以等同识别,这就使得 D-D 和 FDPs 的试剂盒难以标准化。目前在市场上 D-D 试剂盒共有 30 多种检测方法和 20 多种单抗,不同试剂盒测定同一份标本的 D-D 往往不具有可比性。ISO15189 及其他质量管理与认证体系均要求临床实验室确立或验证体外诊断试剂的参考区间,因此,验证不同品牌试剂盒检测 D-D 和 FDPs 的一致性具有重要意义。WAKABAYASHI 等^[3]分析了 3 种 FDPs 和 D-D 试剂盒,采用了十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)耦联蛋白质印迹法确定造成品牌间不一致的原因是抗体对大小片段识别差异。MADOIWA 等^[4]对 4 种 FDPs 和 6 种 D-D 试剂盒的检测结果进行评估,显示抗体对大小不同片段的识别具有差异性。

虽然无法得知各生产厂家捕获的具体抗体与检测抗体的抗原决定簇,但本研究结果显示,各试剂盒检测 D-D 的结果具有良好的相关性,尤其是 JSDD 与 TYDD 的相关系数达到 0.954,斜率为 0.857,STDD 和 MLDD 也有着较好的相关性。FDPs 的相对分子质量差异较大,标准化更难以实现,本研究结果显示尽管各试剂盒检测 FDPs 显著相关,但是相关系数与

D-D 相比稍小,截距也较大,说明 FDPs 相对分子质量差异较大。

本研究结果显示,6 种 D-D 试剂盒检测结果与临床检测结果不一致的标本有 21 份,不一致的原因有抗体识别的差异性、类风湿因子的免疫干扰、线性范围的差异等。本研究对说明书所声明的线性范围进行验证,排除了线性范围的干扰。而在免疫干扰方面,本研究通过定量检测 HAAA 和 HAAA,排除了免疫干扰所导致的不一致,而稀释试验则排除了钩状效应的存在。

早期的 D-D 检测采用凝集法,灵敏度较低,表现为 D-D 和 FDPs 变化不一致,而随着方法学的发展(如胶乳比浊法和酶联免疫吸附法)FDPs 和 D-D 变化基本一致。有研究显示,主动脉夹层患者中,FDPs 和 D-D 的曲线下面积(AUC)均为 0.863^[6],且二者对盆腔骨折患者积液外渗^[7]的预测价值的和外伤严重性^[14]的诊断价值相似。对于肺炎和肺结核患者,FDPs 和 D-D 联合检验与单项指标检验诊断价值比较差异无统计学意义($P>0.05$)^[8]。KUMANO 等^[9]评估了新一代纤维蛋白降解产物试剂 lias auto P-FDPs 和 lias auto D-D,检测变异仅 3.8%,FDPs 和 D-D 的相关系数达到 0.999,但是 FDPs 与纤溶酶- $\alpha 2$ 抗纤溶酶复合物(PIC)的相关性更好,认为 FDPs 更能反映纤溶亢进情况。

FDPs 和 D-D 的检测常用来鉴别诊断原发性纤溶亢进和继发性纤溶亢进。纤溶酶原广泛存在于具有分泌功能的脏器器官,在肾脏最为丰富,蛇咬伤是原发性亢进的典型疾病,往往伴随着 FDPs 和 D-D 的显著升高,且 FDPs 升高幅度大于 D-D。

有学者试图采用对 FDPs 和 D-D 共同识别的抗体来判断二者在临床应用的一致性,研究结果显示,在血栓性疾病中 FDPs 的价值较大,但是在败血症患者中,二者的诊断价值差异无统计学意义($P>0.05$);在外科患者中,D-D 的诊断价值高于 FDPs^[10]。本研究试图分析 FDPs/D-D 可能的临床价值,并纳入 200 例有效的 FDPs/D-D 数据,包括产科、感染科、骨科、普通内科、普通外科、心血管科、肿瘤科的患者,由于各试剂盒 D-D 和 FDPs 的差异,不同试剂盒检测 FDPs/D-D 的结果差异有统计学意义($P<0.05$),各品牌试剂盒之间不具可比性;除了 PRB 外,其他试剂盒检测 FDPs/D-D 的结果在不同科室标本间的差异无统计学意义($P>0.05$)。但是本研究只是探索性分析,标本量较为有限,还需要更为严格、标本量更大的研究。

总之,纤维蛋白相关标志物有着重要的临床价

值,急需标准物质和检测试剂的标准化。检验科向临床提供纤维蛋白相关标志物检测结果时,需要认真评估试剂盒的性能和临床价值,评估临床意义、患者医疗负担、社会资源消耗之间的平衡。

参考文献

- [1] FREYBURGER G, TRILLAUD H, LABROUCHE S, et al. D-dimer strategy in thrombosis exclusion: a gold standard study in 100 patients suspected of deep venous thrombosis or pulmonary embolism; 8 DD methods compared[J]. *Thromb Haemost*, 1998, 79(1): 32-39.
- [2] SPAN P N, NICOLAI G, GEURTS-MOESPOT J, et al. Screening for interference in immunoassays [J]. *Clin Chem*, 2003, 49(10): 1708-1709.
- [3] WAKABAYASHI S, ISHIKAWA S, HIROTA-KAWADOB-ORA M. Analysis of antibody reactivity for FDP D-dimer fragments by Western blotting[J]. *Rinsho Byori*, 2008, 56(6): 449-454.
- [4] MADOIWA S, KITAJIMA I, OHMORI T. Distinct reactivity of the commercially available monoclonal antibodies of D-dimer and plasma FDP testing to the molecular variants of fibrin degradation products [J]. *Thromb Res*, 2013, 132(4): 457-464.
- [5] BARTELS E M, RIBEL-MADSEN S. Cytokine measurements and possible interference from heterophilic antibodies: problems and solutions experienced with rheumatoid factor[J]. *Methods*, 2013, 61(1): 18-22.
- [6] DONG J, DUAN X, FENG R, et al. Diagnostic implication of fibrin degradation products and D-dimer in aortic dissection[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 43957.
- [7] AOKI M, HAGIWARA S, TOKUE H, et al. Prediction of extravasation in pelvic fracture using coagulation biomarkers[J]. *Injury*, 2016, 47(8): 1702-1706.
- [8] WANG M, JIANG Z F, XU J L, et al. Role of the fibrinogen degradation products and D-Dimer in the differential diagnosis of pulmonary tuberculosis and community-acquired pneumonia[J]. *Clin Lab*, 2018, 64(1): 135-140.
- [9] KUMANO O, IEKO M, KOMIYAMA Y, et al. Basic evaluation of the newly developed "lias auto P-FDP" assay and the influence of plasmin- $\alpha 2$ plasmin inhibitor complex values on discrepancy in the comparison with "lias auto D-Dimer Neo" assay[J]. *Clin Lab*, 2018, 64(4): 433-442.
- [10] KOGAN A E, MUKHARYAMOVA K S. Monoclonal antibodies with equal specificity to D-dimer and high-molecular-weight fibrin degradation products[J]. *Blood Coagul Fib*, 2016, 27(5): 542-550.