

某国产 D-二聚体试剂的临床验证研究

马艳侠¹, 张建平², 穆彦龙¹ (1. 陕西中医学院附属医院检验科, 陕西咸阳 712000; 2. 咸阳市中心医院医学检验科, 陕西咸阳 712000)

【摘要】 目的 验证某国产 D-二聚体(D-D)胶乳免疫比浊法试剂在日本 Sysmex 公司 CA1500 型全自动血凝仪上的临床性能。方法 将 2013 年 1~12 月于陕西中医学院附属医院以及陕西省咸阳市中心医院就诊的患者 38 例纳入患者组, 同期体检健康者 162 例纳入对照组。分别采用胶乳免疫比浊法国产试剂(A 试剂)和日本积水医疗株式会社试剂(J 试剂)进行血浆 D-D 检测, 同时进行低值及高值质控品检测以分析批内、批次间精密度。以对照组检测结果进行 A 试剂参考区间验证; 临床标本两种试剂 D-D 检测结果进行显著性检验和等效性检验。结果 A、J 试剂检测低值质控品批内精密度分别为 5.04%、4.45%, 检测高值质控品的批内精密度分别为 1.81%、2.03%, 检测低值质控品的批间精密度分别为 4.60%、5.69%, 检测高值质控品的批间精密度分别为 1.93%、2.15%, 比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。A 试剂参考区间为 0.14~0.97 $\mu\text{g/mL}$ 。A 试剂和 J 试剂临床标本 D-D 检测结果比较差异无统计学意义($P>0.05$)。临床标本两种试剂 D-D 检测结果总体均数之差的双侧 90% 置信区间为 -0.85~0.89, 位于等效区间 -1.04~1.04 内。结论 该国产 D-D 试剂检测结果可靠, 适用于 CA1500 型全自动血凝仪, 与进口试剂临床应用等效。

【关键词】 D-二聚体; 试剂; 性能验证; 等效性

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.18.040 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)18-2589-02

D-二聚体(D-D)是交联纤维蛋白特异性降解产物, 是反映凝血和纤溶系统功能的指标, 主要用于高凝状态和继发性纤溶亢进的诊断^[1]。目前还没有国际约定的 D-D 参考测量程序和校准品, 商品化检测试剂采用胶乳凝集法、酶联免疫吸附试验、胶体金显色法、胶乳免疫比浊法等方法。每种方法各有优缺点, 灵敏度和特异度也有很大差别。即使采用相同检测方法的不同厂家试剂, 采用的参考测量程序和校准品溯源性也有所不同, 导致其线性范围、参考区间存在差异。D-D 最常用的检测方法为胶乳免疫比浊法, 以全自动血凝仪进行检测^[2]。本研究通过比较国产试剂和进口试剂的检测性能, 旨在确定国产试剂的精密度、准确度, 以及建立适用于本地区人群的参考区间。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 1~12 月于陕西中医学院附属医院以及陕西省咸阳市中心医院就诊的患者 38 例纳入患者组, 男 20 例、女 18 例, 年龄 18~75 岁, 包括手术后 9 例、产科 8 例、肝硬化 4 例、卵巢癌 4 例、乳腺癌 3 例、肺栓塞 3 例、脑血管疾病 3 例、急性心肌梗死 2 例、尿毒症 2 例。同期体检健康者 162 例纳入对照组, 男 84 例、女 78 例, 年龄 10~70 岁, 无心、肺、肝、肾等器质性疾病, 无糖尿病、高血压、肿瘤等病史, 排除妊娠期女性。年龄、性别等一般资料组间比较差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性。

1.2 仪器与试剂 日本 Sysmex 公司 CA1500 全自动血凝仪。国产胶乳免疫比浊法 D-D 检测试剂(A 试剂)购自国内某生物科技有限公司, 批号 20101019。进口胶乳免疫比浊法 D-D 检测试剂(J 试剂)及配套校准品、质控品购自日本积水医疗株式会社, 批号分别为 819RHH、811RIH、815RHH。

1.3 方法

1.3.1 标本采集与检测 采集所有受试对象晨起空腹静脉血至含有 0.109 mol/L 枸橼酸钠的抗凝管中(枸橼酸钠与血液比例为 1:9), 30 min 内以 3 000 r/min 离心 10 min 分离血浆标本, 2 h 内采用 A、J 试剂进行 D-D 检测, 检测方法参照仪器及试剂说明书。以 J 试剂作为对照试剂。

1.3.2 质量控制 采用线性回归法校准试剂后进行低值及高值质控品检测。在 1 d 之内取 3 瓶质控品, 采用两种试剂检测低值及高值质控品各 10 次, 计算批内精密度(以 $CV\%_{\text{批内}}$ 表示); 连续 10 d, 每天采用两种试剂检测低值、高值质控品各 1 次, 计算批间精密度(以 $CV\%_{\text{批间}}$ 表示)。在确认质控品检测结果在控制范围内后进行受试对象标本检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 进行数据处理和统计学分析。符合正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 偏态分布计量资料以中位数、四分位间距或百分位数表示。两种试剂批内、批间精密度数据均为正态分布且方差齐性, 组间比较采用两独立样本 t 检验。两组受试对象临床标本检测结果的差值为非正态分布, 组间比较采用配对设计 Wilcoxon 符号秩和检验。显著性检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为比较差异有统计学意义; 等效性检验采用置信区间推断法, 显著性水准 $\alpha=0.05$, 为双侧检验, 等效界值 δ 为 J 试剂检测结果标准差的 1/5, 等效区间为 $-\delta \sim \delta$, 如果两组总体均数之差的 $(1-2\alpha) \times 100\%$, 即双侧 90% 置信区间(90%CI)位于等效区间内, 认为两组试剂等效。

2 结果

2.1 质控品检测批内精密度分析 以 A 试剂和 J 试剂分别检测低值、高值质控品各 10 次, 批内精密度比较差异均无统计学意义(P 值分别为 0.087、0.238), 见表 1。两组数据均为正态分布(A 试剂 W 值分别为 0.935、0.944, P 值分别为 0.504、0.596; J 试剂 W 值分别为 0.955、0.965, P 值分别为 0.732、0.839), 且方差齐性(F 值分别为 0.003、0.249, P 值分别为 0.955、0.624)。

表 1 两种试剂 D-D 质控品检测批内精密度比较

组别	n	低值	$CV\%_{\text{批内}}$	高值	$CV\%_{\text{批内}}$
		($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/mL}$)	(%)	($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/mL}$)	(%)
A 试剂组	10	2.38 \pm 0.12	5.04	8.30 \pm 0.15	1.81
J 试剂组	10	2.47 \pm 0.11	4.45	8.39 \pm 0.17	2.03

2.2 质控品检测批间精密度分析结果 以 A 试剂和 J 试剂对低值、高值质控品进行连续 10 d 的检测,批间精密度比较差异均无统计学意义(P 值分别为 0.274、0.318),见表 2。两组数据均为正态分布(A 试剂 W 值分别为 0.902、0.932, P 值分别为 0.228、0.466;J 试剂 W 值分别为 0.986、0.922, P 值分别为 0.990、0.373),且方差齐性(F 值分别为 0.592、0.048, P 值分别为 0.452、0.829)。

表 2 两种试剂 D-D 质控品检测批间精密度比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	低值 ($\bar{x}\pm s, \mu\text{g/mL}$)	$CV\%$ 批间 (%)	高值 ($\bar{x}\pm s, \mu\text{g/mL}$)	$CV\%$ 批间 (%)
A 试剂组	10	2.39±0.11	4.60	8.29±0.16	1.93
J 试剂组	10	2.46±0.14	5.69	8.37±0.18	2.15

2.3 参考区间验证结果 以对照组标本 A 试剂检测结果进行 D-D 95% 参考区间验证。数据不满足正态性($W=0.952, P=0.000$),呈右偏态分布,采用百分位数法计算双侧 95% 参考区间,即 $X_{2.5\%}\sim X_{97.5\%}$ 为(0.14~0.97) $\mu\text{g/mL}$ 。

2.4 临床标本两种试剂检测结果比较 200 例临床标本, A 试剂 D-D 检测结果的中位数、四分位间距分别为 0.51、0.50 $\mu\text{g/mL}$, J 试剂 D-D 检测结果中位数、四分位间距分别为 0.53、0.40 $\mu\text{g/mL}$,组间比较差异无统计学意义($Z=-0.517, P=0.605$)。A、J 试剂检测结果配对差值为非正态分布($W=0.583, P=0.000$),中位数、四分位间距分别为 -0.02、0.19 $\mu\text{g/mL}$ 。采用配对设计 Wilcoxon 符号秩和检验。A 试剂 D-D 检测结果均值、标准差分别为 1.85、5.43 $\mu\text{g/mL}$, J 试剂 D-D 检测结果均值、标准差分别为 1.83、5.22 $\mu\text{g/mL}$,则等效性检验等效区间为 -1.04~1.04,两组总体均数之差的双侧 90% CI 为 -0.85~0.89,位于等效区间内,可认为两组试剂等效。

3 讨 论

胶乳免疫比浊法检测 D-D 的原理是以 D-D 单克隆抗体包被乳胶颗粒,标本中的 D-D 与之产生特异的抗原抗体反应,使颗粒凝集而增加反应液的浊度,将浊度的变化与校准曲线进行比较,即可获得标本中 D-D 的定量检测结果。胶乳免疫比浊法 D-D 检测具有反应速度快、定量准确、敏感度高等特点,并且可以和常规凝血项目同时检测,因此广泛应用于自动化凝血仪^[3]。

D-D 水平反映体内凝血-纤溶系统活化状况,与多种疾病密切相关,可用于深静脉血栓、肺栓塞、弥散性血管内凝血、血栓疾病的诊断、溶栓疗效观察,在肝炎、心血管疾病、恶性肿瘤等领域也有一定的应用价值。受诸多因素的影响(如方法学、试剂成分等),不同 D-D 检测试剂的线性范围、参考区间等存在一定的差异^[4]。受试者年龄、生理变化、是否妊娠、药物治疗等因素对 D-D 检测结果也存在一定的影响^[5]。

本研究采用日本 Sysmex 公司 CA1500 型全自动凝血仪对国产 D-D 检测试剂的性能进行了验证,并建立了适合本地区的参考区间。研究结果显示,该国产试剂检测批内、批间精密度和日本积水医疗株式会社 D-D 检测试剂比较差异无统计学意义($P>0.05$),但关于该国产试剂的线性范围、功能灵敏度、临界值等其他检测效能指标,尚有待进一步验证^[6]。

值得注意的是,本次试验纳入的 162 例健康者中,60 岁以上人群所占比例不到 10%,且未纳入妊娠期女性。但有研究

显示,随着受试者年龄增长, D-D 水平有所升高,而妊娠期、月经期女性体内组织纤溶酶原激活物(t-PA)大量释放进入血液循环,使纤溶酶活性增高, D-D 水平也增高^[7]。此外,尿酸酶、链激酶、肝素、避孕药、雌激素、某些抗高血压药物也可导致 t-PA 活性升高,引起 D-D 水平的变化^[8]。因此,对存在上述特殊情况的人群而言,其 D-D 检测结果应给予更为全面的分析,所适用的参考区间可能也需单独建立。尤其是将 D-D 检测结果用于疾病诊断和疗效评价时,更应建立具有明确临床意义的临界值,避免单纯应用参考区间进行决策^[9]。

本研究结果显示,该国产试剂与采用相同方法的日本积水医疗株式会社 D-D 试剂检测效能相当^[10]。本研究采用了等效性检验的方法,与临床等效临界值比较,能够更为全面地验证其临床性能^[11]。在实际应用中,有研究者将等效性检验等同于差异性检验不拒绝零假设的情形,若差异性检验为 $P>\alpha$,则等效性检验结论为“等效”的比例随着标本量的增加而增加,当标本量大于 150 时,若差异性检验为 $P>\alpha$,则等效性检验结论为“等效”的比例可达 100%^[12]。本研究所纳入的标本量较大,因此等效性检验和差异性检验结论相符。笔者认为在临床试验研究中,应注意上述两种统计学方法的差异,并同时注意标本量的大小。

参考文献

- [1] 王鸿利,王学峰. 血栓病临床新技术[M]. 北京:人民军医出版社,2003:365-368.
- [2] 王鸿利,王学峰. D-D 检测的方法及其临床应用[J]. 中华医学杂志,2004,84(2):171-173.
- [3] 熊志刚,张庆怡. 胶乳凝集法和免疫比浊法检测 D-D 结果比较[J]. 检验医学与临床,2011,8(2):219-220.
- [4] 魏陵博,史红霞,戎冬梅,等. 饮酒对冠心病患者抗凝与纤溶因子的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2009,7(11):1278-1279.
- [5] 刘剑荣,廖永强. D-D 检测及临床意义分析[J]. 检验医学与临床,2013,10(1):61-62.
- [6] 许小英,于海涛,周存敏,等. 某型号全自动血凝分析仪的性能评价[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(11):1361-1362.
- [7] 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,2010,33(8):793-795.
- [8] 王振义,李家增. 血栓与止血基础理论与临床[M]. 上海:上海科学技术出版社,2004,10:636-638.
- [9] Huang FD, Yan ZB, Liao LS. Verification of linear range of determination of platelet by XE2100[J]. Experi Lab Med,2010,28(1):99.
- [10] 国家食品药品监督管理局. 体外诊断试剂临床研究技术指导原则[Z]. 北京:国家食品药品监督管理局,2007.
- [11] 颜虹,徐勇勇,赵耐青. 医学统计学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2012:292-304.
- [12] 安胜利,陈平雁. 等效性检验与差异性检验的区别及其模拟验证[J]. 中国卫生统计,2007,24(3):226-228.