

[18] 杨雪梅,王倩倩,魏国静.围绝经期妇女激素替代治疗认知度及治疗率调查[J].中国基层医药,2016,23(14):2194-2196.

mone replacement therapy;lebanese women's awareness, perception,and acceptance[Z],2020:5240932.

[19] SALAME A A,JAFFAL M J,KHALIFEH F,et al. Hor-
• 临床研究 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.05.027

(收稿日期:2023-05-10 修回日期:2023-12-10)

D-二聚体和纤维蛋白(原)降解产物质控品复溶后稳定性研究*

李亚军,孙滔,余抒[△]

重庆邮电大学附属重钢总医院检验科,重庆 400081

摘要:目的 探讨 D-二聚体(D-D)和纤维蛋白(原)降解产物(FDP)冻干质控品复溶后不同保存方法对其结果稳定性的影响。方法 取同批次 10 瓶低值 FDP 质控品分别复溶后混合成一瓶并充分混匀后分装入 30 支 EP 管,每支分装 300 μ L;再取同批次 10 瓶高值 FDP 质控品进行同样复溶分装处理。低值和高值各取 15 支 EP 管作为冷藏组(4 $^{\circ}$ C 保存),再将低值和高值分别剩余的 15 支 EP 管作为冷冻组(-20 $^{\circ}$ C 保存)。每日分别取冷藏组和冷冻组 EP 管各 1 支,室内自然复温平衡 30 min 后使用相同仪器及试剂检测 D-D 和 FDP 各 5 次,连续进行 15 d,共检测 150 次,评价分装质控样本的均一性、冷冻保存法的精密度。观察分装冷冻保存法累积精密度[均值(\bar{x})、标准差(s)和变异系数(CV)]与室内质控效果。结果 冷藏组 D-D 和 FDP 低值第 4~15 天、D-D 高值第 6~15 天、FDP 高值第 10~15 天检测值均明显低于第 1 天,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。冷冻组 D-D 低值第 10~15 天、D-D 高值第 11~15 天、FDP 低值和高值第 14~15 天检测值均明显低于第 1 天,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。冷冻组 D-D、FDP 的低值与高值下降趋势均比冷藏组缓慢,且 D-D 和 FDP 低值与高值的 $\bar{x} \pm s$ 均高于冷藏组, CV 均低于冷藏组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。D-D 和 FDP 各水平 10 个月的室内质控结果累积 CV 符合美国临床实验室改进修正案'88 规范。结论 分装冷冻保存对 D-D 和 FDP 冻干质控品复溶后的保存效果好,值得推广应用。

关键词:D-二聚体;纤维蛋白(原)降解产物;质控品;冷冻保存法;稳定性

中图分类号:R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2024)05-0703-05

质控品是用于实验室质量监测、评估并确保结果可靠的重要元素,质控品复溶后的稳定性是确保质量一致性的关键,正确的冻存方式、合适的冻存温度、冻存速率是保证质控品性能稳定的关键因素。为确保质控品的质量和可靠性,其存储和复溶方式的选择应根据每种质控品的理化性质和稳定性来决定。血浆 D-二聚体(D-D)和纤维蛋白(原)降解产物(FDP)是交联纤维蛋白或纤维蛋白(原)经纤溶酶作用后的降解产物,D-D 是最小的片段,相对分子质量约为 62 ku,在人体内半衰期约为 3 h,D-D 与 FDP 是反映机体凝血及纤溶状态的重要标志物^[1]。

近年来,D-D 和 FDP 的应用价值不断被发掘,且随着检测技术精确性的不断提高,D-D 和 FDP 在对血栓、肿瘤、脓毒症等相关疾病的诊断和治疗评估中具有至关重要的作用^[2-8]。但目前 D-D 和 FDP 既无国际标准、国内外也无统一标准品,且检测位点不统一,各检测系统的方法一致性较差,导致二者的质量控制存在难度和瓶颈。为保证质控品质量稳定,多数实验室采用进口的 D-D 和 FDP 冻干质控品,但冻干

质控品价格昂贵、开瓶复溶后的效期短、不能反复冻融,可使用频次受限,不仅浪费质控品,而且加大了实验室质控成本。因此,寻找质控品复溶后在一定时间均能稳定保存及使用的方法是解决质控品质量控制的技术难题。李曼辉等^[9]自制的凝血 3 项质控品在 -20 $^{\circ}$ C 保存可稳定 22 d。况妮娜^[10]指出,进口凝血质控品复溶后冷冻保存在 -20 $^{\circ}$ C 可稳定 5 d。黄新强等^[11]报道商品化纤维蛋白(原)质控品复溶后在 4 $^{\circ}$ C 冷藏保存时稳定性更好。吴晓华等^[12]自制的 D-D 质控品在 -20 $^{\circ}$ C 保存稳定性良好。为进一步明确 D-D 和 FDP 质控品复溶后的保存条件,本研究将 D-D 和 FDP 质控品复溶后分别保存在 4 $^{\circ}$ C 和 -20 $^{\circ}$ C 环境中,并对其稳定性、精密度进行了分析,以期寻找简单、实用的保存方法,为临床保存 D-D 与 FDP 提供参考依据,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 仪器选用日本积水医疗生产的 CP3000 全自动凝血分析仪,试剂选用原装 D-D、FDP 检测试剂和配套耗材。质控品选择检测系统生产商配套的

* 基金项目:重庆市科卫联合面上项目(2022MSXM042)。

[△] 通信作者,E-mail:ys13368146418@126.com。

日本积水医疗生产的 D-D 与 FDP 质控品^[13] (批号: 908RAT), 含低值和高值两个水平。

1.2 方法

1.2.1 实验方法 采用胶乳免疫比浊法检测 D-D 和 FDP 水平, 由固定人员采用相同操作进行实验。根据质控品说明书, 开瓶配制质控品后在 2~10 °C 环境可保持 2 周稳定, -80 °C 冻存可保持 1 个月稳定, 复溶后冻融仅限 1 次。结合本实验室条件将质控品分为冷藏组和冷冻组, 取两个不同水平(批号: 908RAT, D-D 与 FDP 靶值浓度低值分别为 2.7 μg/mL、10.0 μg/mL, 高值分别为 8.4 μg/mL、30.2 μg/mL) 的 FDP 质控品各 10 瓶作为研究对象, 每瓶分别加入 1 mL 蒸馏水复溶 10 min。将 10 瓶低值混合成一瓶并充分混匀后分装入 30 支 EP 管中, 每支分装 300 μL; 再将 10 瓶高值同样处理分装为 30 支 EP 管中, 每支分装 300 μL。从分装好的 EP 管中低值和高值各取 15 支作为冷藏组(30 支, 4 °C 保存), 低值和高值分别剩余的 15 支作为冷冻组(30 支, -20 °C 保存)。从冷藏组低值和高值各取 1 支当日检测 D-D 和 FDP 水平各 5 次, 剩余的放入 4 °C 冷藏保存; 从冷冻组低值和高值各取 1 支当日检测 D-D 和 FDP 水平各 5 次, 剩余的放入 -20 °C 冷冻保存。次日起, 每日分别取冷藏组和冷冻组各水平 EP 管 1 支, 室内自然复温平衡 30 min 后使用相同仪器及试剂检测 D-D 和 FDP 各 5 次, 连续进行 15 d, 共检测 150 次。以复溶当天的检测结果作为第 1 天, 后续每天按顺序记为第 2、3 天, 直至第 15 天, 观察质控品复溶后两种保存方法的稳定性及精密性。

1.2.2 记录质控品复溶分装后管间均一性 将上述

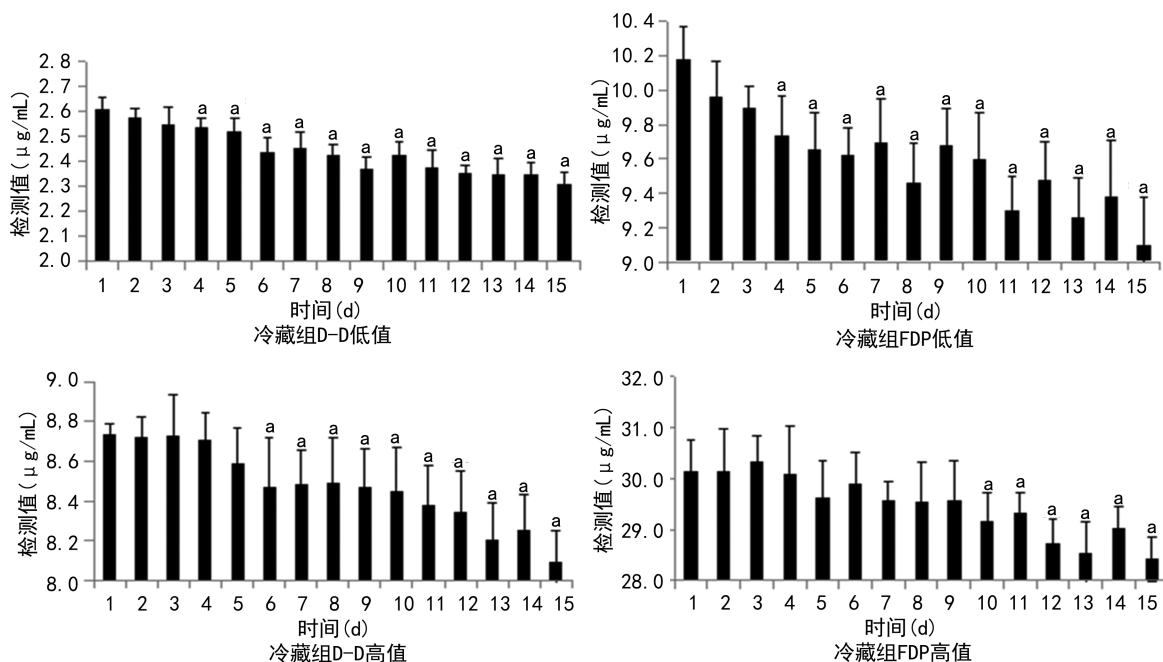
复溶分装好的质控品在分组前, 分别随机抽取高值和低值的 30 支 EP 管中的 6 支样本, 每支分别检测 D-D 和 FDP 水平, 各 5 次, 对获得的数据进行分析, 评价同水平各管间均一性。

1.2.3 观察分装冷冻保存法累积精密性与室内质控效果 (1) 累积精密性: 将上述同批次高值和低值和 D-D 和 FDP 质控品按照每次分别复溶 1 瓶的方式分装成 9 支 -20 °C 冻存, 每日各取 1 支随标本进行室内质控 1 次, 连续 9 d。再重复上述操作 9 次, 共连续进行 90 d, 分别计算累积的均值(\bar{x})、标准差(s)和变异系数(CV)。(2) 室内质控效果: 使用两个水平的 D-D 和 FDP 质控品按照分装冷冻法处理后进行日常室内质控, 运用 Levey-Jennings 质控图和 Westgard 多规则质控法判断质控结果, 观察累积 10 个月的室内质控应用效果。

1.3 统计学处理 采用 SPSS21.0 统计软件进行数据处理和统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验, 多组间比较用方差分析。计数资料以例数或百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组不同保存时间稳定性比较 冷藏组 D-D 和 FDP 低值第 4~15 天、D-D 高值第 6~15 天、FDP 高值第 10~15 天的检测值均明显低于第 1 天, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见图 1。冷冻组 D-D 低值第 10~15 天、D-D 高值第 11~15 天、FDP 低值和高值第 14~15 天的检测值均明显低于第 1 天, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见图 2。

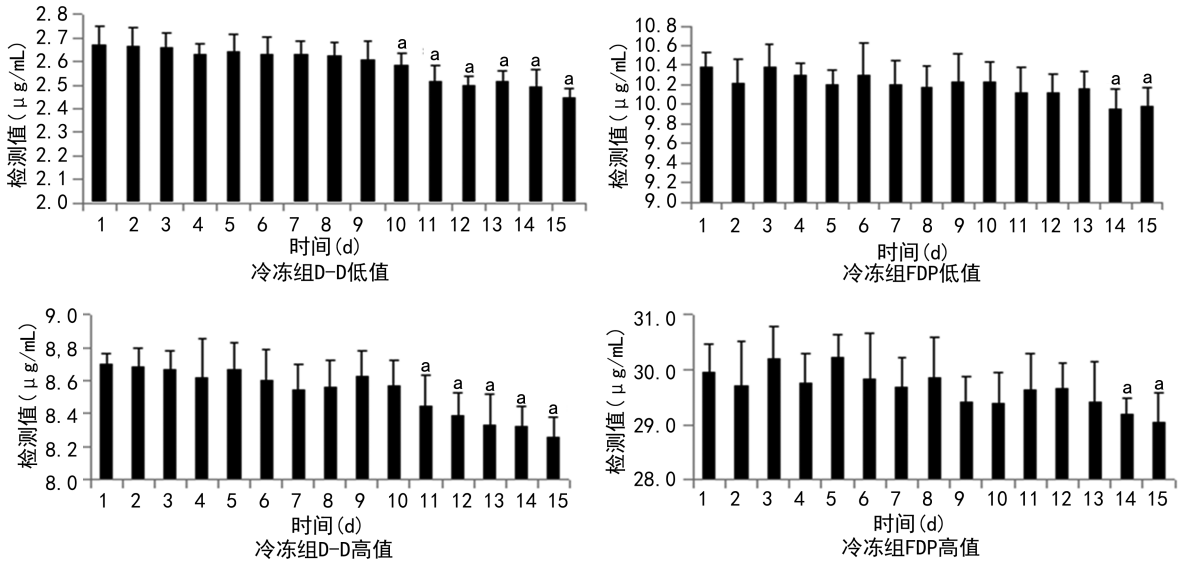


注: 与第 1 天比较, ^a $P < 0.05$ 。

图 1 冷藏组不同保存时间稳定性比较

2.2 两组精密度比较 冷冻组 D-D、FDP 的低值与高值下降趋势均比冷藏组缓慢,且冷冻组 D-D 和 FDP

低值与高值的 $\bar{x} \pm s$ 均高于冷藏组, CV 值均低于冷藏组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 3、表 1。



注:与第 1 天比较, $^a P < 0.05$ 。

图 2 冷冻组不同保存时间稳定性比较

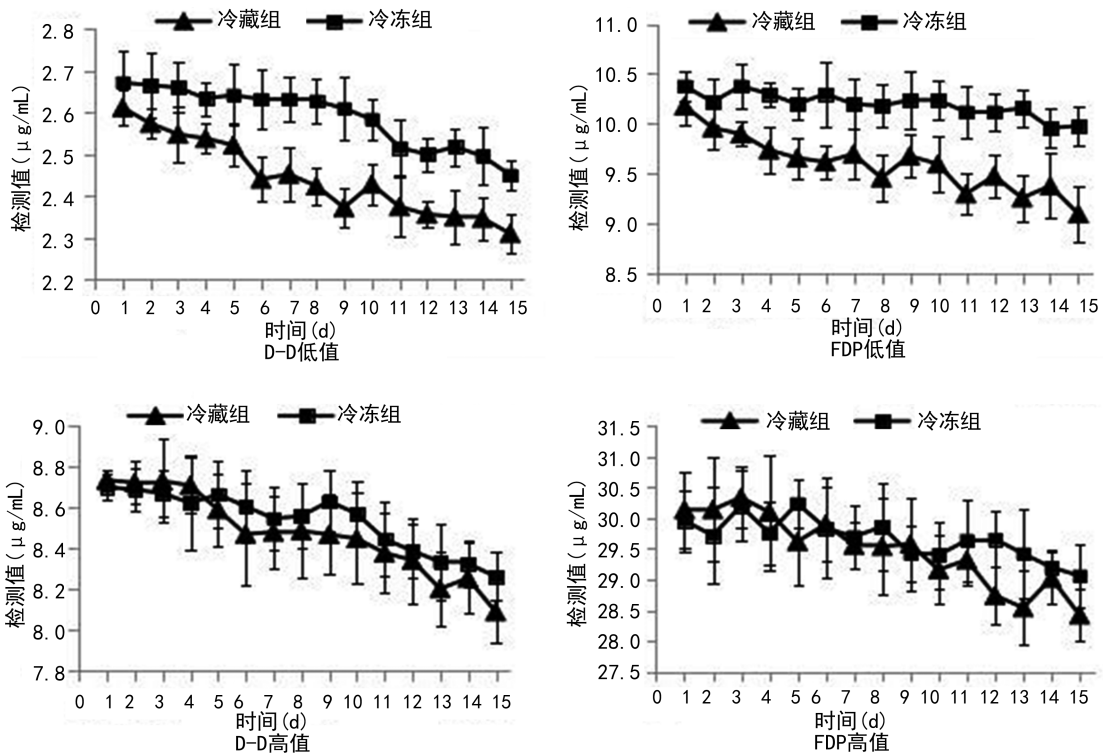


图 3 两组累积精密度比较

2.3 复溶分装后管间均一性比较 D-D 低值、FDP 低值、D-D 高值、FDP 高值管间均一性比较, 差异均无统计学意义 ($F = 0.134, 0.399, 0.157, 0.188, P = 0.983, 0.845, 0.976, 0.964$)。

2.4 分装冷冻保存法累积精密度室内质控效果比较 D-D 和 FDP 各水平质控品的累积 \bar{x} 、 s 、CV 值分别为 D-D 低值 (2.70、0.108、4.010%)、FDP 低值 (10.43、0.430、4.142%)、D-D 高值 (8.35、0.297、

3.559%) 和 FDP 高值 (30.25、1.000、3.309%)。按照美国临床实验室改进修正案'88 (CLIA'88) 中凝血功能指标要求^[14], $CV \leq 1/3$ CLIA'88 (5.0%), 各水平的累积 CV 均符合规定。D-D 和 FDP 各水平 10 个月的室内质控结果显示, 累计在控、失控数及失控率分别为 D-D 低值 (296、8、2.632%)、FDP 低值 (299、5、1.645%)、D-D 高值 (293、11、3.618%) 和 FDP 高值 (301、3、0.987%), 累积 CV 分别为 D-D 低值

4.707%、FDP 低值 4.250%、D-D 高值 4.103% 和 FDP 高值 3.815%。室内质控结果累积 CV 符合 CLIA'88 规范。

表 1 两组累积精密度比较

组别	n	D-D 低值		FDP 低值		D-D 高值		FDP 高值	
		$\bar{x} \pm s$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	CV(%)	$\bar{x} \pm s$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	CV(%)	$\bar{x} \pm s$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	CV(%)	$\bar{x} \pm s$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	CV(%)
冷藏组	75	2.44 \pm 0.09	4.23	9.60 \pm 0.28	3.59	8.48 \pm 0.20	3.01	29.48 \pm 0.60	2.76
冷冻组	75	2.59 \pm 0.07 ^a	3.47	10.20 \pm 0.12 ^a	2.25	8.54 \pm 0.15 ^a	2.38	29.67 \pm 0.33 ^a	2.08

注:与冷藏组比较,^a $P < 0.05$ 。

3 讨 论

质量是检验工作的核心,质量控制是保证质量的有效手段,优质的质控品是实现质量控制的重要元素。凝血相关因子检测是法规规定必须进行室内质控的项目^[15],目前凝血相关因子的质控品大多数为冻干粉制剂,其优点是瓶间差异小、性能稳定、保存时间长,但价格较贵。本实验室配备的 CP3000 凝血分析仪,因其精密度优、准确度高、检测线性范围宽、检测限低、携带污染低等特点^[16],目前在全国实验室使用广泛。该仪器采用胶乳免疫比浊法检测 D-D 和 FDP,配套质控品为冻干粉血浆,需复溶后使用,但不可反复冻融,若每天新溶一支质控品使用不仅浪费,而且会使质控成本飙升,不利于中小实验室质控工作开展。因此,对冻干质控品复溶后采取恰当的保存方式延长其稳定性、有效提高质控品使用效率、保证质控效能、显著降低实验室质控成本十分必要。

本研究将质控品复溶分装后分别按冷藏和冷冻的方式保存,结果显示,冷藏保存 D-D 和 FDP 的低值均在 4 d 就开始明显降低,高值分别在 6、10 d 开始降低,冷冻保存时两个水平的 D-D 均超过 10 d, FDP 均超过 14 d 时才开始明显降低,表明质控品复溶后低温保存可以延长其稳定时间,温度越低稳定时间越长,与武建伟等^[17]研究的 D-D 在低温环境保存时间更长一致。D-D 和 FDP 低值在冷藏时仅稳定保存 3 d,冷冻时则可稳定保存 9 d, D-D 和 FDP 高值在冷藏时可稳定保存 5 d,而冷冻时能稳定保存 10 d。冷冻保存的稳定时间是冷藏的 2~3 倍,特别是在低值时,差距更是达到 3 倍,表明冷冻保存的稳定性更好。冷藏时 D-D 和 FDP 高值的稳定时间是低值的 2~3 倍,表明冷藏对质控品不同水平之间的影响较大,而冷冻时 D-D 和 FDP 不同水平的稳定时间基本一致,表明冷冻对质控品不同水平之间的影响较小,进一步表明冷冻保存的稳定性更好。D-D 和 FDP 质控品复溶后会持续降解,导致结果持续降低,而低温可延缓降解速度,温度越低降解速度越慢,与凝血质控品保存效果相似^[18]。

不同保存方法对 D-D 和 FDP 质控品复溶后的稳

定性影响显著,但有学者指出,冷冻保存效果较好^[19-20]。本研究结果显示,冷冻组 D-D、FDP 低值与高值下降趋势均比冷藏组缓慢,且 D-D 和 FDP 低值与高值 $\bar{x} \pm s$ 值、CV 值均低于冷藏组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。表明冷冻组日内和日间变异较冷藏组小,进一步说明分装冷冻保存的稳定性更好,更适于日常使用。同时,本研究结果显示,复溶分装后的质控品各管测得结果之间无明显差异且均一性良好,表明分装对同批内质控品各管间均一性无影响。此外,本实验室以分装冷冻保存法累积的质控数据显示,D-D 和 FDP 各水平的累积 CV 均 $\leq 1/3$ CLIA'88 (5.0%),批间变异小,且远小于国标要求的 $\leq 7.5\%$ ^[13],表明质控品复溶后分装冻存的稳定性良好。本实验使用分装冷冻法近 1 年,期间室内质控结果稳定,室间质评成绩均合格,充分表明此方法质控效果优良,既能解决质控品成本损耗,又较好地保证了质控结果的稳定性和质控品的良好性能。

综上所述,分装冷冻法适用于 D-D 和 FDP 冻干质控品复溶后的保存,值得推广应用。

参考文献

- 王兆钺. D 二聚体临床应用的进展[J]. 血栓与止血学, 2014,20(1):46-48.
- "D-二聚体检测"急诊临床应用专家共识组. "D-二聚体检测"急诊临床应用专家共识[J]. 中华急诊医学杂志, 2013,22(8):1-14.
- 潘小高,柴湘平,杨贵芳,等. D-二聚体联合纤维蛋白降解产物预测急性主动脉夹层院内死亡风险的研究[J]. 中国循环杂志, 2020,35(7):660-664.
- WANG S J, LU M, ZHAO Z J, et al. Plasma levels of D-dimer and fibrin degradation products correlate with bul- lous pemphigoid severity: a cross-sectional study[J]. Sci Rep, 2021,11(1):17746.
- 陈文欣,薛赢俊,李贞,等. 胃癌、结直肠癌患者凝血和纤溶标志物水平变化[J]. 检验医学, 2022,37(5):496-498.
- 张方杰,李湘民,张娟,等. 急性胸痛患者血浆 D-二聚体、纤维蛋白原和纤维蛋白(原)降解产物的水平[J]. 中南大学学报(医学版), 2019,44(11):1209-1213.
- 白红晓,邓群,罗景怡. D-二聚体和 C-反应蛋白预测肿瘤

- 患者静脉血栓栓塞症复发的价值[J]. 中华航海医学与高气压医学杂志, 2019, 26(3): 251-254.
- [8] TANG J, YUAN H, WU Y L, et al. The predictive value of Heparin-Binding protein and D-Dimer in patients with sepsis[J]. Int J Gen Med, 2023, 16, 2295-2303.
- [9] 李曼辉, 杨宇勤, 姚元超. 健康者混合血浆制备凝血质控物及其稳定性的探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(7): 809-810.
- [10] 况妮娜. 凝血质控品复溶后稳定性研究[J]. 安徽医学, 2012, 33(7): 897-898.
- [11] 黄新强, 侯兵兵, 杨明, 等. 冷藏和冷冻 Fib 质控品的结果对比[J]. 中国妇幼健康研究, 2017, 28(增刊 2): 2.
- [12] 吴晓华, 黄寨荣. 自制 D-二聚体临界值质控品的性能评价及应用[J]. 中国血液流变学杂志, 2022, 32(2): 300-302.
- [13] 郭吉, 李嘉. 全自动凝血仪定量检测 D-二聚体两种试剂的对比探讨[J]. 中国医疗器械信息, 2019, 25(8): 30-31.
- [14] LYON E, SCHRIJVER I, WECK KE, et al. Molecular genetic testing for cystic fibrosis: laboratory performance on the college of American Pathologists external proficiency surveys[J]. Genet Med, 2015, 17(3): 219-225.
- [15] 中华人民共和国卫生部. 关于印发《医疗机构临床实验室管理办法》的通知[EB/OL]. [2024-01-20]. <http://www.ahwsjd.cn/ebook/crbfz/html/001/065.html>.
- [16] KIM B, SEO M S, PARK R. Analytical performance evaluation of automated coagulation analyzer CP3000 for routine and special coagulation assays[J]. Ann Clin Lab Sci, 2021, 51(1): 112-119.
- [17] 武建伟, 才蕾, 王继华, 等. 人 D-二聚体的制备及其冻干性质的分析[J]. 生物技术通报, 2014, 30(11): 219-224.
- [18] 彭赛亮. 分装冻存法凝血室内质控分析[J]. 实验与检验医学, 2019, 37(6): 1053-1055.
- [19] 杨清堂, 吴立翔, 张阳. D-二聚体质控品的制备及性能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(7): 776-778.
- [20] 刘小勇, 冯金. D-二聚体质控品复溶后稳定性及复融方式的研究[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2015, 36(2): 168-169.

(收稿日期: 2023-08-16 修回日期: 2023-11-26)

• 临床研究 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2024.05.028

股动脉 ECMO 辅助治疗冠状动脉旁路移植术后患者预后不良的危险因素*

刘艳¹, 帅玉婷¹, 涂娇子¹, 刘云², 应志兰³

南昌大学第二附属医院: 1. 心脏大血管外科 ICU; 2. 耳鼻喉科; 3. 肾内科, 江西南昌 330006

摘要:目的 分析股动脉体外膜肺氧合(ECMO)辅助治疗冠状动脉旁路移植(CABG)术后患者预后不良的危险因素。方法 回顾性选取该院 2020 年 1 月至 2022 年 10 月间接受股动脉 ECMO 治疗的 200 例 CABG 术后患者作为研究对象, 以顺利出院为观察终点分为生存组(112 例)和死亡组(88 例), 比较两组患者的临床资料, 并采用多因素 Logistic 回归分析股动脉 ECMO 辅助治疗 CABG 术后患者预后不良的危险因素。结果 两组患者性别、体质量指数(BMI)、合并症发生率、手术类型、罪犯血管、ECMO 前 6 h 血乳酸水平、主动脉内球囊反搏(IABP)使用情况及吸烟史比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 两组患者年龄、急性生理和慢性健康评分(APACHE II 评分)、序贯器官衰竭估计评分(SOFA 评分)、ECMO 治疗前心脏骤停时间(CA-ECMO)、病变血管支数、ECMO 后 24 h 血乳酸水平、ICU 住院时间比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 多因素 Logistic 回归分析结果显示: 年龄 ≥ 60 岁、APACHE II 评分 ≥ 30 分、SOFA 评分 ≥ 10 分、CA-ECMO ≥ 33 h、病变血管支数 ≥ 3 支、ECMO 后 24 h 血乳酸水平 ≥ 10.00 mmol/L、ICU 住院时间 ≥ 14 d 为 CABG 术后接受股动脉 ECMO 治疗患者预后不良的危险因素($P < 0.05$)。结论 年龄、APACHE II 评分、SOFA 评分、CA-ECMO、病变血管支数、ECMO 后 24 h 血乳酸水平及 ICU 住院时间为 CABG 术后行股动脉 ECMO 治疗患者预后不良的影响因素, 在临床中需对此加以重视。

关键词: 冠状动脉旁路移植; 体外肺氧合; 预后; 危险因素; 辅助治疗

中图法分类号: R541.4

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2024)05-0707-05

冠状动脉旁路移植(CABG)是心脏外科常见的治疗手段之一, 而股动脉体外膜肺氧合(ECMO)辅助治疗作为一种过渡性的体外心肺功能支持手段, 可代替心脏泵血, 为 CABG 术后出现呼吸、循环衰竭的患者提供血液循环和呼吸循环支持, 从而为患者心功能恢

复或接受更高级别的后续治疗赢得抢救时间^[1-3]。相关研究指出, 虽然 ECMO 治疗拯救了大量心脏外科手术患者的生命, 但采取 ECMO 治疗患者住院期间的病死率也非常高^[4-5], 这表明部分患者并未从 ECMO 治疗中获益。因此, 为提高 CABG 术后患者预后, 本研究探