

# 透射免疫比浊法定量测定血清中

## D 一二聚体的实验评价

李炜焯

**【摘要】 目的** 对透射免疫比浊法定量测定血清 D 一二聚体的方法进行临床实验评价。[方法] 实验评价包括精密度、线性测定、干扰实验以及与其他试剂的对照实验。**结果** 该 D-二聚体定量测定试剂在精密度测定 CV%均小于 10%，回收率在 91~95%。线性测定良好，可达 16ug/ml。对胆红素、血红蛋白、甘油三酯均具有很好的抗干扰能力。与对照试剂具有良好的线性相关性。回归方程为  $Y=0.1742+0.964X$ ，相关系数  $r=0.9801$ 。**结论** 该试剂符合临床使用的要求。

**【关键词】** D-二聚体定量测定，精密度，线性，干扰，对照实验

纤维蛋白是血栓的主要成分。它的生成引起纤溶系统的激活，导致纤溶酶的生成及纤维蛋白的溶解。凝血系统产生的凝血酶结合于纤维蛋白原的中央结构域，释放纤维蛋白肽 A 和纤维蛋白肽 B，生成纤维蛋白单体和多聚体在活化 FXIII 的作用下，生成交联的纤维蛋白。纤溶酶降解交联纤维蛋白，生成多种交联的纤维蛋白降解产物，其中包括 D-二聚体。

近几年来，应用 D-二聚体作为有症状的深层静脉血栓（VTE）的诊断指标已得到广泛的研究。许多研究表明 D-二聚体测定对于深层静脉血栓（VTE）、微细血管血栓（DVT）和肺梗死（PE）病症有高度的敏感性。对于深层静脉血栓病症（VTE）和微细血管血栓（DVT），目前常用静脉压迫 B 超或二维扫描或采用造影术加以诊断。至于诊断肺梗死，其诊断的金标准是肺血管造影。但这两种方法都要使用昂贵仪器，费用高，技术操作复杂，具有一定风险等缺点。而采用 D-二聚体测定可以作为排除深层静脉血栓（VTE）、微细血管血栓（DVT）和肺梗死（PE）的第一步筛选。

### 一、材料与方法

#### 1. 试剂：

1.1 D 一二聚体透射免疫比浊法定量测定试剂，滴宝牌，批号 021022。

1.2 D 一二聚体定量测定试剂配套定标液，滴宝牌，批号 021022。

#### 1.3 D 一二聚体定量测定试剂配套质控品（滴

作者单位：528000 佛山市，佛山市第二人民医院

宝，批号 021022。以上试剂均由华鑫科技有限公司生产并提供）。

1.4 对照试剂：Asserachrom D-D Test, Diagnostica, Inc.

2. 使用仪器：OLYMPUS AU800

3. 实验方法：

3.1 精密度测定：

3.1.1 批内精密度测定：取高、低值质控，用上述 D-二聚体定量测定试剂分别进行各 10 次测定。分别计算平均值 ( $\bar{x}$ )、标准差 (s)、变异系数 (CV%)。

3.1.2 日间精密度测定：取高、低值质控，用上述 D-二聚体定量测定试剂分别进行测试，连续测定 10 天。分别计算平均值 ( $\bar{x}$ )、标准差 (s)、变异系数 (CV%)。

3.2 回收率实验：取一个略较参考值高的非溶血、黄疸、脂浊血清标本进行测定十次，计算均值，然后在血清中添加已知不同浓度的标准物。再进行测定，最后计算回收率 (Re%)。

3.3 线性测定：取一个高值标准物进行梯度稀释，然后各浓度进行测定。将测定值与标准值进行线性回归分析。

3.4 干扰实验：按 NCCLS EP7-P 文件的要求，对 D-二聚体定量测定试剂进行干扰实验研究。用高、中、低三个浓度的血清标本，按浓度梯度分别添加胆红素、血红蛋白、甘油三酯。测定各干扰物对结果的影响。

3.5 对照实验：随机抽取临床标本 120 份，分别采用滴宝试剂和对照试剂进行测定，作线性回归分

析。

高值和低值标本时的测定精密度。另外考虑到试剂稳定性的问题，也增加了日间变异的测定。实验结果见表1。

## 二、结果

### 1. 精密度检查

分别对高、低值质控血清进行测定，检查试剂在

表1 D-二聚体定量测定试剂的精密度检查结果

	低值质控血清 1.2±0.4µg/ml	高值质控血清 10.5±2.1µg/ml
批内测定均值 ( $\bar{x}$ )	1.10µg/ml	12.14µg/ml
批内标准差 (s)	0.06	0.10
批内变异系数 (CV%)	5.75	0.84
批间测定均值 ( $\bar{x}$ )	1.12µg/ml	12.21µg/ml
批间标准差 (s)	0.11	0.13
批间变异系数 (CV%)	9.62	1.06

从测定结果可见，该试剂在精密度方面完全符合临床使用的要求。试剂在高、低值范围内的重复性

能均表现良好。测定结果均在靶值范围内。

### 2. 回收率测定

表2 D-二聚体定量测定试剂回收率测定

测定结果 (ug/ml)	加入的标准物浓度 (ug/ml)	回收率 (%)
5.20	0.00	-
5.18	5.00	95.00
5.40	10.00	93.00
5.60	15.00	91.00

注：血清与标准物的混合浓度为：血清 2.0ml+标准物 0.1ml

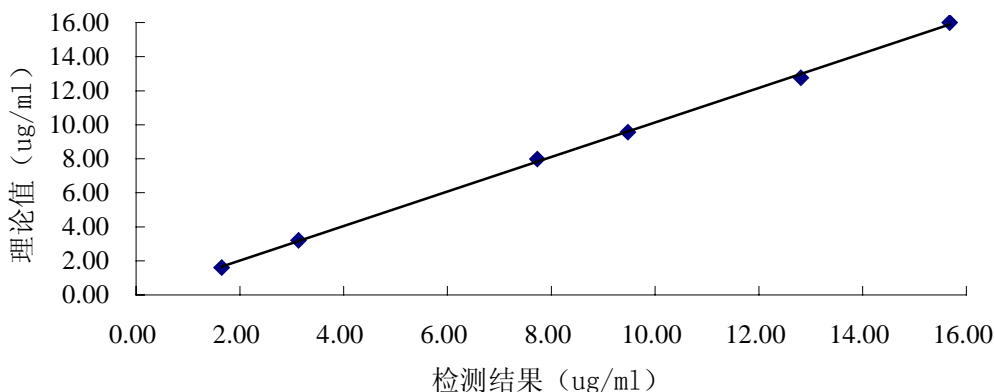
从结果可以看出，该试剂在各浓度段的回收率均大于90%，非特异性结合的影响较少。使用上可合乎临床上使用的要求。实验结果见表2。

栓(VTE)病人中数值可达到10ug/ml以上。从实验结果可见，该试剂的线性测定范围可达到16ug/ml，线性良好( $y = 0.0076 + 1.0133x$ ,  $R^2 = 0.9994$ )，完全满足临床的测定要求。线性测定结果见图1。

### 3. 线性测定

D-二聚体的正常参考值为5ug/ml。在深层静脉血

图1: D-二聚体定量检测试剂线性检测结果



#### 4. 干扰实验

临床上对于血清测定的干扰主要有脂浊、黄疸和溶血。实验采用添加干扰物的方式进行，分别在高、

中、低值血清中添加不同浓度的干扰物质。测定加入前后结果的差异。

**表 3** 胆红素干扰实验结果

加入的胆红素浓度 (mg/dl)	0	4	8	12	16	20
血清标本 1 (ug/ml)	0.72	0.67	0.72	0.74	0.71	0.71
偏差 (%)	100.00%	93.10%	100.00%	102.80%	98.60%	98.60%
血清标本 2 (ug/ml)	1.38	1.35	1.38	1.43	1.41	1.45
偏差 (%)	100.00%	97.80%	100.00%	103.60%	102.20%	105.00%
血清标本 3 (ug/ml)	7.11	7.12	7.10	6.99	6.92	7.22
偏差 (%)	100.00%	100.10%	99.90%	98.30%	97.30%	101.50%

**表 4** 血红蛋白干扰实验结果

加入的血红蛋白浓度 (mg/dl)	0	100	200	300	400	500
血清标本 1 (ug/ml)	0.75	0.69	0.74	0.72	0.78	0.71
偏差 (%)	100.00%	92.00%	98.70%	96.00%	104.00%	94.70%
血清标本 2 (ug/ml)	1.42	1.36	1.43	1.42	1.40	1.42
偏差 (%)	100.00%	95.80%	100.70%	100.00%	98.60%	100.00%
血清标本 3 (ug/ml)	7.16	7.07	7.23	7.10	7.12	7.13
偏差 (%)	100.00%	98.70%	101.00%	99.20%	99.40%	99.60%

**表 5** 甘油三酯干扰实验结果

加入的甘油三酯浓度 (mg/dl)	0	300	600	900	1200	1500
血清标本 1 (ug/ml)	0.7	0.75	0.72	0.73	0.74	0.67
偏差 (%)	100.00%	107.10%	102.90%	104.30%	105.70%	95.70%
血清标本 2 (ug/ml)	1.42	1.38	1.43	1.45	1.46	1.43
偏差 (%)	100.00%	95.80%	100.70%	102.10%	102.80%	100.70%
血清标本 3 (ug/ml)	7.31	7.34	7.52	7.48	7.57	7.48
偏差 (%)	100.00%	100.40%	102.90%	102.30%	103.60%	102.30%

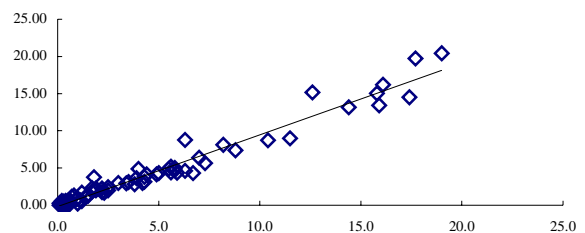
从上述结果可见，该试剂在胆红素浓度为 0~20mg/dl，血红蛋白浓度为 0~500mg/dl，甘油三酯浓度为 0~1500mg/dl 的情况下，各浓度范围的平均偏差均在 10% 内。为临床上使用的可接受范围。

#### 5. 对照实验

随机抽取 120 份病人标本，使用滴宝 D-二聚体定量试剂和对照试剂同时进行测定。结果进行线性回归统计  $y = 0.1742 + 0.964x$ ， $R^2 = 0.9607$ 。结果表明，

两种试剂测定结果相关性良好。实验结果见图 2。

图2: D-二聚体定量检测试剂对照检测结果



### 三、讨论

D 一二聚体试剂盒按性质主要分有两大类: 定性

与定量; 按采用的方法学又分为乳胶法、ELISA 法和免疫比浊法。乳胶法的试剂盒基本上是定性测试。它

要求操作者根据乳胶凝集的情况来分别阴性与阳性标本。采用这种方法对一些临界值标本往往难于判定，由于要依赖操作者的判断，所以准确性较其他方法低。ELISA 法的敏感性较乳胶法的好，是测定 D-二聚体的经典方法。但它存在操作费时、复杂，不适用于急诊应用等缺点。即使现在有些厂家的试剂盒采用快速 ELISA 方法，但报告结果也要 30 分钟以上。而用户还要另外购买相关免疫测定机器，增加了操作成本。由于深层静脉血栓（VTE）、微细血管血栓（DVT）和肺梗死（PE）病症发病时间较短，通常在数小时内。所以一种快速简便的 D-二聚体定量测定方法，将大大有益于临床对深层静脉血栓（VTE）、微细血管血栓（DVT）和肺梗死（PE）病症的诊断。

该 D-二聚体定量测定试剂采用透射免疫比浊法，

其反应原理是采用极细的乳胶粒子包被 D-二聚体抗体。当血浆中含有 D-二聚体时产生特异的抗原抗体反应，导致光产生散射效应。从而引起反应系统中吸光度的增加。由此定量测定出血浆中 D-二聚体的含量。该试剂盒可适用于各种生化分析仪。使用方便，操作简单。在不增加仪器成本的基础上，可实现定量测定。测试时间只需 10 分钟，满足了临床急诊需要。特别对深层静脉血栓（VTE）、微细血管血栓（DVT）和肺梗死（PE）病症的提前诊断意义更大。另外也可作为临床溶栓治疗的动态观测指标。

综合上述实验分析结果，该试剂在临床使用方面表现了良好的操作性能。特别是采用了免疫比浊法原理，使测定的特异性得到增强。在生化分析仪上可进行检定，值得在各大中型医院中推广使用。

