

术后 2~5 d 出院,平均住院 4 d。

3 讨论

2 孔腹腔镜下精索静脉高位结扎术是安全、有效的手术方式。同开放手术相比,患者损伤小、康复快,术后住院周期短,无明显的手术瘢痕,切口美观,特别是双侧曲张者,无需另外开口即可完成手术,减少了损伤;开放手术复发的患者因手术部位瘢痕组织粘连、解剖层次不清,再次行开放手术有漏扎曲张静脉的可能。在进行腹腔镜手术时,术中配合显得非常重要,同时对手术室护士也提出了高层次的技术要求。因此,手术室护士必须掌握腹腔镜的构造原理及使用方法,手术步骤和各手术医生的操作特点及习惯等;做好术前健康教育、心理护理、术前准备、术中配合、术后器械保养等,相对固定配合手术的护理人员,以及对参加手术的所有医护人员均需进行培训,培训合格后方可进行手术配合、操作,以提高手术质量和成功率,缩短手术时间和延长机器及器械的使用寿命,确保手术的顺利进行。

行之。总之,医护人员娴熟、密切的配合是手术成功的关键。

参考文献

[1] 陈鸥. 382 例腹腔镜下小儿腹股沟斜疝高位结扎的手术配合[J]. 全科护理, 2011, 9(9): 2509-2510.
 [2] 巴特巴依尔. 2 孔腹腔镜精索静脉高位结扎术治疗精索静脉曲张[J]. 中国社区医师杂志, 2010, 12(28): 60.
 [3] 陈静. 妇产科腹腔镜手术的配合体会[J]. 中国社区医师杂志, 2011, 13(33): 213.
 [4] 孔磊, 黄志灵. 腹腔镜手术器采用低温等离子体灭菌的效果观察[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(22): 3519-3520.

(收稿日期: 2012-06-19)

日立 7180 与迈瑞 BS-380 全自动生化分析仪的比对试验和偏倚评估

余少雄(湖北省荆门市沙洋人民医院检验科 448299)

【摘要】 目的 对日立 7180 和 BS-380 两种不同检测系统的多个项目进行方法比对和偏倚评估,探讨同一医院不同检测系统间测定结果是否具有可比性。**方法** 以参加室间质评的日立 7180 检测系统为比对方法(X),实验室内部急诊使用的 BS-380 检测系统为实验方法(Y),每天测定 8 个样本的天门冬氨酸氨基转移酶、肌酸激酶、尿素氮、葡萄糖、肌酐(Cr)的值,连续测定 5 d 并对结果进行分析评估。**结果** Cr 在其医学决定水平上的 95% 可信区间预期未达到 1/4CLIA'88 的标准,不可接受,其余 4 个项目的预期偏倚可以接受。**结论** 不同检测系统应定期对相同测定指标进行方法比对和偏倚评估,以确保检测结果的可比性。

【关键词】 比对试验; 偏倚评估; 全自动生化分析仪

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2012. 21. 042 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2012)21-2735-03

检验科随着业务量的增长,很多医院已拥有多台不同品牌或不同型号的同类型仪器,由于测定原理或试剂性质的不同,造成结果存在潜在的差异,然而一个实验室一般只能有 1 台比较先进的检测系统参加室间质评,如果不在室内进行比对,将会使检测结果出现偏差,给临床解释结果带来混乱。提高同一实验室不同仪器间分析结果的一致性,是检验科与临床医生关心的热点问题。通过偏倚评估,找到有效的控制方法,达到同一实验室检测结果的一致性,具有积极的临床意义。

1 材料与与方法

1.1 实验仪器 日立 7180 和迈瑞 BS-380 全自动生化分析仪。

1.2 试剂、校准品 葡萄糖(GLU)、尿素氮(BUN)和肌酸激酶(CK)使用北京利德曼公司的试剂及配套的标准品和校准品;肌酐(Cr)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)使用日本第一化学株式会社的试剂及配套的标准品和校准品。

1.3 质控品 均采用 Ranox 质控品,分高、中值两种水平。

1.4 标本 采集医院门诊及住院患者当天无溶血、黄疸和脂浊等干扰的新鲜血清,其浓度选择符合 EP9-A2 文件数据分布建议的要求。

1.5 方法

1.5.1 参比方法与实验方法 因日立 7180 生化分析仪构成的检测系统参加全国、全省室间质评成绩优秀,室内质控日间 CV 均小于 1/4CLIA'88 允许误差,故以其作为参比方法。BS-

380 生化分析仪所构成的检测系统作为实验方法。

1.5.2 样本测定 每天收集 8 份患者新鲜血清,每份样本都用实验方法和参比方法进行双份测定。测定时先对实验样本排序,每组样本按顺序 1~8 测定第 1 次,再按顺序 8~1 测定第 2 次。对于同一样本,应在 2 h 内用实验方法和参比方法完成测定,连续 5 d,共 40 份样本^[1]。

1.5.3 方法内及方法间离群值检查 按 EP9-A2 文件要求进行方法内及方法间离群值检查。如果发现超过 2.5% 的离群点,则应调查是否存在干扰、人为错误或仪器故障^[2]。

1.5.4 作图 散点图 1: Y 轴为实验方法每样本双份测定的均值(Y_i), X 轴为参比方法每样本双份测定的均值(X_i),以待评方法的结果为 Y,参比方法的结果为 X。使 X、Y 轴的原点和刻度一致,作一条通过原点、斜率为 1 的直线。散点图 2: Y 轴为实验方法每样本双份测定值(Y_{ij}), X 轴为参比方法每样本双份测定的均值(X_i),相同方式作图。偏倚图 3: Y 轴为(Y_i-X_i), X 轴为(Y_i+X_i)/2,以直线 X=0 作为水平中线作图。偏倚图 4: Y 轴为 Y_{ij}-(Y_{ij}+X_i)/2, X 轴为(Y_i+X_i)/2,以直线 X=0 作为水平中线作图。以上散点图均以 GLU 为例^[3]。}

1.5.5 参比方法(X)测定范围的检验 参比方法(X)的测定范围是否合适,可用相关系数(r)来判断,如 r ≥ 0.975 或 r² ≥ 0.95,则认为 X 的取值范围足够宽,其测定误差对回归估计的影响可以忽略不计,可用直线回归计算斜率(b)和截距(a);如 r < 0.975,则说明 X 精密较差和(或)X 范围不够宽,直线回

归统计的 b 和 a 不可靠,需改善方法的精密度后重新试验。

1.5.6 计算预期偏倚及其 95% 的可信区间 计算所测项目在给定医学决定水平(X_c)处的预期偏倚及 95% 的可信区间,然后以 CLIA'88 规定的室间质量评价允许误差范围的 1/4 作为依据,判断两种检测系统结果偏倚是否可接受。

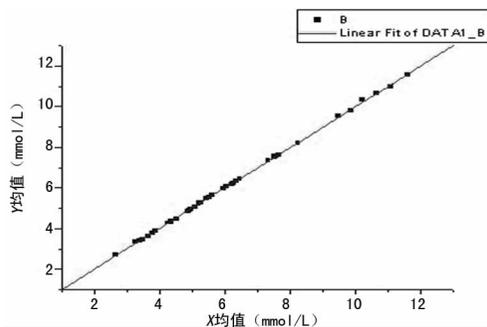


图 1 实验方法均与比较方法均值

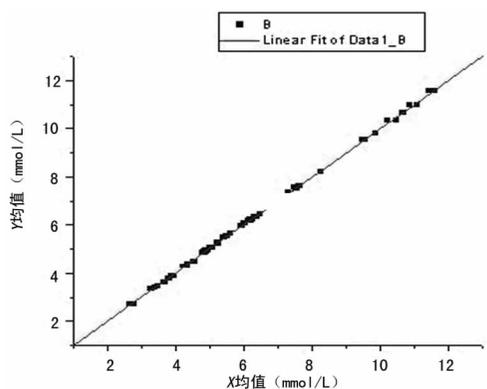


图 2 单个实验方法与比较方法均值

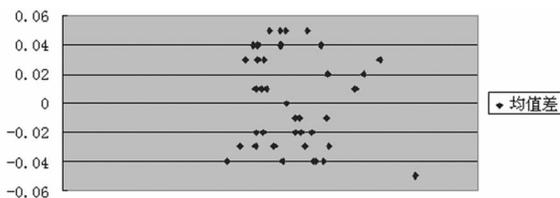


图 3 单个实验方法与比较方法均值的偏倚图

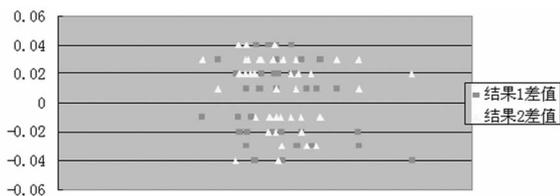


图 4 单个实验方法与比较方法均值的偏倚图

1.6 统计学方法 使用 Excel2003 软件对实验检测数据进行分析处理。

2 结果

2.1 方法内及方法间的离群值 CK、Cr 均有一个方法内离群值,未超过样本总数的 2.5%,删除离群值,重新测定一组替代离群数据。其余项目无方法内的离群值。两种方法间测定结果无离群点。

2.2 参比方法测定范围 由表 1 可见,本实验测定 AST、CK、BUN、GLU、Cr 的 r 均大于 0.975,由此说明两种检测系统测定的物质浓度达到了足够的宽度,分布范围合适。

2.3 直线回归分析 各项目的 a、b 及线性回归方程见表 1。

表 1 各比对项目的 r 和直线回归方程

项目	r	a	b	$Y=bX+a$
AST	0.991 5	-1.621 3	1.027 7	$Y=1.027 7X-1.621 3$
BUN	0.999 4	-0.631 8	1.074 2	$Y=1.074 2X-0.631 8$
GLU	0.997 8	0.096 7	0.983 1	$Y=0.983 1X+0.096 7$
CK	0.993 0	4.465 4	0.998 1	$Y=0.998 1X+4.465 4$
Cr	0.997 7	6.151 4	0.978 6	$Y=0.998 6X+6.151 4$

2.4 在给定医学决定水平上预期偏倚及可信区间 见表 2。由表 2 可见,AST、CK、BUN、GLU 的预期偏倚符合 1/4CLIA'88 规定的允许误差范围的标准,Cr 在其医学决定水平上的偏倚未达到 1/4CLIA'88 的标准。通过系数调整使两种检测系统的结果一致。在 BS-380 上加上系数: $b = 0.980 7$, $a = 1.246 8$ 。

表 2 各比对项目及系数调后 CHE 在 X_c 上的预期

项目	X_c	$X_c \times$ 1/4CLIA'88	B_c	B_c 95%可信区间	
				下限	上限
AST(mmol/L)	20	1.0	-1.067 3	-2.691 3	0.556 7
	60	3.0	0.040 7	1.583 3	1.664 7
BUN(mmol/L)	3.0	0.068	-0.409 2	-0.481 2	-0.337 2
	14.2	0.322	0.421 8	0.309 8	0.533 8
GLU(mmol/L)	2.8	0.07	0.049 4	0.033 6	0.132 4
	10.0	0.25	-0.072 3	-0.155 3	0.010 7
CK(U/L)	100	7.5	4.655 4	3.031 4	6.279 4
	240	18.0	4.921 4	3.297 4	6.545 4
Cr(μ mol/L)	30	1.125	6.104 9	4.868 4	7.341 4
	141	5.288	5.954	5.415 6	6.492 4
Cr 系数调整后(μ mol/L)	30	1.125	0.667 8	0.325 3	1.010 3
	141	5.288	-1.474 5	-1.817	-1.132

3 讨论

3.1 检测系统是指完成一检验项目所涉及的仪器、试剂、校准品、质控品、检验程序、保养计划等的组合。当实验室有相同项目在两种或两种以上的检测系统上分析时,应定期对其进行比对分析和偏倚评估,以保证不同检测系统的测定结果具有可比性和连续性。本院生化室有 2 台全自动生化分析仪,其中日立 7180 用于完成日常工作,仪器较新,工作状态良好,日常工作精密度好,参加全国、全省室间质评成绩优秀;BS-380 主要用于处理夜班和急诊的标本。2 台仪器有相同的检测项目,故以日立 7180 作为参照,对 2 台仪器所构成的检测系统进行方法比对和偏倚评估,以保证其结果的一致性^[4-6]。

3.2 由表 1 可见,AST、CK、BUN、GLU、Cr 等项目的 r 均大于 0.98,由此说明两种检测系统测定的数据分布范围合适,用作回归统计的 b、a 可靠,可以用医学决定水平处的预期偏倚来评估方法间是否具有可比性。由表 2 可见,所检测的 5 个项目中,Cr 的预期偏倚比较大,EP9-A2 规定,根据最后的计算结果,判断允许误差与 95% 可信区间的关系,有以下 3 种情况:(1)允许误差大于预期偏倚的可信区间上限,表示有 97.5% 的概率两种系统得出的结果具有一致性,偏倚可接受;(2)允许误差介于预期偏倚的可信区间上限和预期偏倚的可信区间下限之间,偏倚可接受;(3)允许误差小于预期偏倚的可信区间下

限,表示有 97.5% 的概率两种系统得出的结果不具一致性,倚倚不可接受。所以 AST、BUN、GLU、CK 的预期倚倚均可接受,测定结果可比性良好,而 Cr 在其医学决定水平处的预期倚倚不可接受,需要调整。

3.3 Cr 在 2 台仪器上测试的相关性虽然好,但由于 BS-380 的定标方式与日立 7180 的不同,而且 BS-380 采用的滤液片的光学系统,而日立 7180 采用的光栅,存在系统误差。为使结果一致,以利于临床观察,根据比对的 a 和 b 对 BS-380 测定的结果添加相应的系数,经系数调整后,再次进行比对结果显示,两种方法具有可比性,允许误差大于 95% 的可信区间上限,符合 1/4CLIA'88 的标准,结果可接受。

当实验室使用不同的检测系统测定相同项目时,应定期对其检测结果进行比对和倚倚评估。如果倚倚不可以接受,根据直线回归方程 $Y=bX+a$ 的 a 和 b,在实验方法上添加相应的系数,可以使不同检测系统结果具有可比性,从而为临床提供稳定而可靠的诊断依据。

参考文献

[1] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3

版. 南京:东南大学出版社,2006:59-60.

[2] 张秀明,庄俊华,徐宁,等. 不同检测系统血清酶测定结果的偏差评估和可比性的研究[J]. 中华检验医学杂志, 2006,29(4):346-349.

[3] 邱玲,程歆琦,刘荔,等. 多台生化分析仪多项目同时进行比对的实验研究设计及应用[J]. 中华检验医学杂志, 2007,30(9):1001-1004.

[4] 王丽,牛璐璐,权翠侠,等. 组合生化检测系统实验结果倚倚评估[J]. 临床检验杂志,2007,25(6):425-426.

[5] 房玉珠,姚冬明,顾红兵,等. 3 种检测系统测定血清电解质的方法学对比与评估[J]. 江苏大学学报:医学版, 2008,18(1):73-76.

[6] 张勤寂,刘堂斌,陈丽峰. 室间不同生化检测系统测定结果的比对及倚倚评估[J]. 实验与检验医学,2008,26(2): 151-152.

(收稿日期:2012-06-15)

连接酶检测反应法检测乙型肝炎病毒核苷(酸)类似物耐药突变的可行性

孙艺艳,吴月平,毛丽萍,陆建荣,陈琳,陆仁飞(江苏省南通市第三人民医院 226006)

【摘要】 目的 探讨依据寡核苷酸等位基因特异性聚合酶链反应(PCR)扩增及连接酶检测反应(LDR)方法检测乙型肝炎病毒(HBV)4 种核苷(酸)类似物耐药突变的可行性。**方法** 以基因库公布的 981 条 HBV 基因序列为基础,针对拉米夫定、替比夫定、阿德福韦和恩替卡韦 8 个耐药位点上的氨基酸替换形式,设计 15 对特异性引物,采用多重 PCR 扩增 HBV P 基因区野生型和突变型目的片段,然后进行多重 LDR,最后在 ABI3130 测序仪上电泳,根据内参标记、LDR 产物的长度进行结果判读。应用此方法对 12 例慢性 HBV 感染患者血清进行检测,同时采用荧光 PCR、焦磷酸测序技术对其验证,判断其特异性和准确性。**结果** LDR 法能有效区分包括 rtL180M、YMDD、YIDD、YVDD、rtA181V/T、rtN236T、rtT184G、rtS202I、rtM250V 野生株和部分突变株;4 例 HBV DNA $>10^6$ copy/mL 患者检测出野生株和突变株,结果与焦磷酸测序一致;LDR 法与荧光 PCR 法检测结果一致率达 83.3% (10/12)。**结论** 血清 HBV DNA $>10^6$ copy/mL 时结合多重 PCR 的复合 LDR 可通过一次扩增检测产物中的多个单突变或野生型位点,有助于核苷(酸)类似物耐药的诊断和治疗。

【关键词】 乙型肝炎病毒; 连接酶检测反应; 突变

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.21.043 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2012)21-2737-03

近年来转录依赖的扩增系统(TAS)、自主序列复制(3SR)、Q β 复制酶、链替代扩增反应(SDA)以及连接酶链反应(LCR)、循环探针反应(CPR)等体外核酸扩增技术作为聚合酶链反应(PCR)技术的补充或改进而得以建立和发展。连接酶检测反应(LDR)与 LCR 原理相似,它是通过一对紧邻引物与双链靶 DNA 中的一条单链杂交获得线性扩增结果,LDR 通常与一种一级扩增(PCR、3SR、Q β 复制、RT-PCR)联合应用。结合 PCR 的复合 LDR 可通过一次扩增检测产物中的多个单突变位点。本文利用此技术对乙型肝炎病毒(HBV)4 种核苷(酸)类似物耐药突变位点进行检测,为临床慢性 HBV 感染患者抗病毒治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 对 2010 年 8 月至 2011 年 1 月本院感染科门诊、住院处送检的 12 例慢性 HBV 感染患者血清标本进行 HBV P 基因分析,其中男 8 例,女 4 例。年龄 29~58 岁。患者分别处于接受核苷类药物的治疗前、中、后;住院患者 11 例

有完整的核苷类治疗病史记录,单用恩替卡韦(ETV)2 例、替比夫定(L-dT)3 例,7 例序贯治疗或联合治疗均在临床治疗欠佳或出现病毒学、甚至生物化学突破时使用。

1.2 方法

1.2.1 血清中 HBV DNA 含量检测采用荧光 PCR 法(上海科华试剂),血清阿德福韦酯变异株 HBV RT-A181V/T 变异株、HBV RT-N236T 变异株检测采用荧光 PCR 法(上海之江生物科技有限公司试剂),血清拉米夫定变异株 L180M 变异株、M204V/I 变异株检测采用荧光 PCR(浙江夸克生物科技有限公司)。

1.2.2 血清 HBV DNA 的抽提 血清标本复融后,取 50 μ L,加入 50 μ L 浓缩液,13 000 r/min 离心 10 min;弃去上清液,往沉淀中加入 50 μ L 裂解液,煮沸 10 min,13 000 r/min 离心 10 min,上清液作为 PCR 模板用于检测。

1.2.3 结果判读 HBV 4 种核苷(酸)类似物耐药突变检测采用 LDR 法进行结果判读:根据测序仪控制软件提示进行数