

照组,两组之间的差异具有统计学意义($P<0.05$)。详见表 1。

表 1 观察组 and 对照组的诊断结果比较($\bar{x}\pm s$)				
组别	<i>n</i>	阳性	特异度	符合率
观察组	40	36	92.5% ^a	90.0% ^a
对照组	40	33	77.5%	82.5%

注:与对照组比较,^a $P<0.05$ 。

3 讨 论

一般生理情况下,女性阴道上皮细胞有很多糖原,寄生乳酸杆菌,能有效抑制其他病原菌的生长和繁殖^[6]。细菌性阴道病为阴道内正常菌群失调而导致细菌大量繁殖^[7],影响着女性的生活质量,因此即时准确地诊断对于女性健康具有重要的意义。在本次研究中选择免疫荧光法进行检测,取得了较好的效果,观察组的特异度为 92.5%,符合度为 90%,明显高于对照组中的 77.5%和 82.5%。免疫荧光技术是将不影响抗原体活性的荧光色素标记在抗体上,并且与相应的抗体结合之后在荧光显微镜下呈现出一种特异性荧光反应^[8]。该技术的主要特点是:特异性强、敏感性高、速度快。主要缺点是:非特异性染色问题尚未完全解决,结果判定需要临床工作者具备一定的经验以避免客观性不足,技术程序也还比较复杂,在进行免疫荧光检测的时候需要注意的细节比较多,如:(1)在对荧光标记时需要保证抗体的蛋白有一定的浓度,抗体浓度过低的话会导致产生的荧光过弱,影响到观察的结果。(2)染色的温度和时间需要根据不同标本和抗原而变化。(3)需要设置对照来保证荧光染色的正确性,从而排除非特异性荧光染色的干扰^[5]。另

外,免疫荧光法检查其相对费用高于常规的线索细胞检查法也影响了其在基层医院的广泛应用。

参考文献

[1] 任勇,任军,于志湖,等. 男性非淋菌性尿道炎患者尿道加德纳菌检测[J]. 中华皮肤科杂志,2005,38(9):586-587.
[2] 肖华英. 阴道炎 986 例阴道分泌物检测结果分析[J]. 中国药物经济学,2012,4(5):116-117.
[3] 王会平,李岩,李斌,等. 细菌性阴道炎临床检测及分析[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(8):900-901.
[4] 郭飒,樊伯珍,涂少华,等. 细菌性阴道病患者加德纳菌感染及药敏[J]. 同济大学学报:医学版,2004,25(1):41-42.
[5] 倪少娟,黄琳,余尚扬,等. 线索细胞在男性泌尿生殖道感染的意义[J]. 中华男科学杂志,2005,11(8):598-600.
[6] 赖玮玲,李丽,郝晓莹. 2930 例应用两种实验方法诊断细菌性阴道病的比较[J]. 中国微生态学杂志,2009,21(12):1114-1115.
[7] Marrazzo JM. Evolving issues in understanding and treating bacterial vaginosis[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2004,2(6):913-922.
[8] 马瑞亮,刘维琴,韩保良. 妇科门诊阴道分泌物常规检测 2634 例分析[J]. 菏泽医学专科学校学报,2011,23(3):37-38.

(收稿日期:2012-12-25 修回日期:2013-04-16)

• 临床研究 •

肝素和 EDTA-K₂ 抗凝剂引入基质效应的评价及分析

苏武锦¹,张 翊¹,黄 广²(1. 广西壮族自治区南宁中心血站 530003,2. 广西壮族自治区血液质量监测中心 530021)

【摘要】 目的 观察肝素和 EDTA-K₂ 两种不同抗凝剂对罗氏干式法检测丙氨酸氨基转移酶(ALT)的基质效应。**方法** 罗氏 Cobas P800 全自动生化分析仪、罗氏 Cobas ALT 测定试剂盒、罗氏 Cobas 校准品及质控品组合为比较的检测系统(X),Reflotron 快速干式生化分析仪、配套 ALT 检测试纸及质控条组合为待评价的检测系统(Y),分别对新鲜血清样品、肝素抗凝血浆、EDTA-K₂ 抗凝血浆进行 ALT 比对检测,参考 EP14-A2 文件介绍的方法,对新鲜血清样品的结果做直线回归分析,绘出估计值($\bar{Y}$)的 95%预期区间,用于观察肝素抗凝血浆、EDTA-K₂ 抗凝血浆是否存在基质效应。**结果** 肝素抗凝血浆的对比点全部在新鲜血清对比点估计值的 95%可信区间以内,估算的系统误差可接受;EDTA 抗凝血浆的部分对比点在新鲜血清对比点估计值的 95%可信区间以外,估算的系统误差不可接受。**结论** EDTA 抗凝剂对罗氏干式法检测 ALT 引入的基质效应,浓度越高,基质效应越明显;而肝素抗凝剂可用于干式化学法 ALT 检测。

【关键词】 干式化学法; 丙氨酸氨基转移酶; 抗凝剂; 基质效应
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.16.033 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)16-2124-03

基质是指一个物质系统中除被测物之外的所有成份,基质效应是指独立于被测物质存在的对测量和可测量数值产生影响的样品特性^[1]。它是一个现象的描述,包括总的干扰作用。同一基体状态的基体效应随方法和检测条件而异,例如检测新鲜样品时不常见的偏倚,在检测处理过的样品时却常见,因为在处理过样品中有新鲜样品所没有的基体变化^[2]。在实际工作,作者发现,使用 Reflotron 快速干式生化分析仪对血浆标本进行 ALT 检测时,由于抗凝剂不一样,结果是相差甚远。为探明这些问题,方便选择合适的抗凝剂,提高血站采血前丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测结果的可靠性,笔者根据 EP14-A2

文件介绍的方法^[3](评估经过物理或化学方法处理过的样本在分析过程中是否存在基质效应)进行了实验。现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 抗凝管 3 种留样管分别是普通管、EDTA-K₂ 抗凝管、肝素抗凝管,由福州长庚医疗器械有限公司提供。

1.1.2 样本来源 随机选 20 例无偿献血者,静脉采血后,注入普通管、EDTA-K₂ 管、肝素管各 5 mL,抗凝样品充分混匀,30 min 内离心。

1.1.3 仪器与试剂 Reflotron 快速干式生化分析仪、配套使用的 ALT 检测试纸及质控条(组合为待评价的检测系统);罗氏 Cobas P800 全自动生化分析仪、罗氏 Cobas 丙氨酸氨基转移酶(ALT)测定试剂盒、罗氏 Cobas 校准品及质控品(组合为比较的检测系统)。

1.2 方法

1.2.1 分别将 20 份肝素抗凝、20 份 EDTA-K₂ 抗凝的血浆样本随机排列在 20 份新鲜的血清样本之中,用待评价检测系统对血清样本、肝素抗凝的血浆样本、EDTA-K₂ 抗凝的血浆样本进行检测。

1.2.2 用比较检测系统对 20 份新鲜的血清样本、肝素抗凝的血浆样本、EDTA-K₂ 抗凝的血浆样本进行检测,步骤同 1.2.1。

1.3 数据分析^[2-7]

1.3.1 绘制散点图和回归分析 以 X 轴为比较检测系统的结果,Y 轴为待评价检测系统的结果,在 X、Y 坐标点上各组数据,并且对新鲜血清样本、抗凝的样本使用不同的符号标记。对新鲜血清样本和抗凝标本的结果分别作直线回归分析,回归模型为:Y=bX+a。

1.3.2 临床可接受性能判断 在 40 U/L 水平浓度处,计算待评价检测系统(Y)与比较检测系统(X)之间的系统误差(SE),即 $SE = |Y_c - X_c| = |(b-1)X_c + a|$,以 CLIA'88 对室间评估的允许误差为判断依据,由方法学比较评估的系统误差(SE)不大于允许误差的 1/2,认为不同检测系统间的测定结果具有可比性。

1.3.3 计算 95%可信(预期)区间 根据血清样本比对数据的回归曲线,对已给定的 $\bar{X}_i$ 值可以计算出一个预期 $\bar{Y}_{pred}$ 值,根据下面公式计算 $\bar{Y}_{pred}$ 的 95%预期区间。 $\bar{Y}_{pred} \pm t(0.975, n-2)S_{y \cdot x} \cdot \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{X}_i - \bar{X})^2}{\sum(\bar{X}_i - \bar{X})^2}}$

式中:n 为绘制回归曲线所使用的患者样本的数目; $S_{y \cdot x}$ 为回归曲线的标准误; $\bar{X}_i$ 为第 i 个样本或重复测定结果的均值; $\bar{X}$ 为所有血清样本对比方法重复测定结果均值的均值;预期 $\bar{Y}_{pred}$ 值的预期区间;本实验判断结果时只需要计算抗凝过样本的预期 $\bar{Y}_{pred}$ 值的预期区间。

1.3.4 基质评价 如果抗凝血浆样品的 $\bar{Y}_i$ 值在 $\bar{Y}_{pred}$ 的 95%预期区间之外,说明处理过的样本存在基质效应,反之则说明其没有基质效应。

1.4 统计学处理 数据在 SPSS18.0 软件包及 Microsoft Office Excel 2003 上进行统计分析。

2 结果

20 份新鲜血清样本的比对结果通过直线回归分析,得到回归式 $Y_{血清} = 0.9528X_{血清} + 0.9111, r = 0.999 (P < 0.01)$, 95%区间预测线(上限 $Y = 0.9553X + 4.426$, 下限 $Y = 0.9503X - 2.604$);20 份肝素抗凝血浆样本的比对结果通过直线回归分析,得到回归式 $Y_{肝素} = 0.941X_{肝素} + 1.6928, r = 0.998 (P < 0.01)$,所有检测值均在 Y 估计回归值 95%可信区间的内,表现为无基质效应,在 40 U/L 水平浓度处估算系统误差 $SE = 0.67 \text{ U/L}$;20 份 EDTA-K₂ 抗凝血浆样本的比对结果通过直线回归分析,得到回归式 $Y_{EDTA} = 0.8102X_{EDTA} + 2.7339, r = 0.990 (P < 0.01)$,大部分检测值超出了 Y 估计回归值 95%可信区间的下限,表现为负基质效应;在 40 U/L 水平浓度处估算系统误差 $SE = 4.86 \text{ U/L}$ 。见图 1(◆为肝素抗凝血浆样本的比对检测点,▲为 EDTA-K₂ 抗凝血浆样本的比对检测点)。

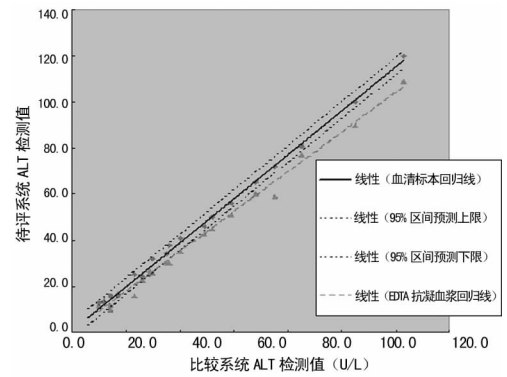


图 1 基质效应分析图

3 讨论

Reflotron 快速干式生化分析仪检测血清 ALT 准确度好(见图 1),检测速度较快,操作简便,较适合无偿献血者 ALT 快速筛查等工作。但是无偿献血者筛查工作中,筛查项目除了 ALT 项目外,例如筛查机采血小板献血者,还需要进行血细胞分析测定。这些检查项目是否可以合用同一抗凝管呢?已知 EDTA-K₂ 对血细胞的形态和体积影响很小,常作为血细胞分析测定的抗凝剂^[8];肝素抗凝性强,不影响血细胞体积,极少产生溶血,常用于红细胞比积、血气分析及生化测定^[9]。本文根据 EP14-A2 文件介绍的方法,研究了肝素和 EDTA-K₂ 抗凝剂的基质效应对干式法检测血浆样品 ALT 的影响。

从图 1 可知,Reflotron 快速干式生化分析仪相对于罗氏 Cobas 全自动生化分析,检测肝素抗凝血浆 ALT 时,所有检测值均在 Y 估计回归值 95%可信区间的内,表现为无基质效应,在 40 U/L 水平浓度处估算系统误差 $SE = 0.67 \text{ U/L}$,即系统误差在 40 U/L 水平浓度可接受;而检测 EDTA-K₂ 抗凝血浆 ALT 时,其检测值随着浓度变高,偏倚越大,大部分检测超出了 Y 估计回归值 95%可信区间的下限,说明 EDTA-K₂ 抗凝标本使用 Reflotron 快速干式生化分析仪检测时具有明显的基质效应,由基质效应产生的系统误差在 40 U/L 水平浓度不可接受。

有研究者认为抗凝剂导致干化学法检测 ALT 值下降原因为抗凝剂稀释了标本的原浓度^[10],按此理论,干化学法检测 ALT 时,不管使用何种抗凝剂,都应导致干化学法检测 ALT 值下降,而本实验发现,肝素抗凝血浆对于干化学法检测 ALT 的结果影响并不大。因此,作者更倾向于使用 EP14-A2 文件介绍的方法,评估经过物理或化学方法处理过的样本在分析过程中是否存在基质效应,基于基质效应的角度查找原因。

EDTA 为常用螯合剂,具有较强的络合金属离子的作用,其分子或离子中含有两个氨基氮和四个羧基氧,可与金属离子配合,生成具有 5 个五元环结构的稳定性很高的螯合物。而干式化学法检测 ALT 的原理是丙酮酸氧化酶法,在丙酮酸氧化酶法中的第二步酶促反应所用催化剂丙酮酸氧化酶,其分子需结合黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)、焦磷酸硫酸素(TPP)及二甲金属离子(如 Mg^{2+})等辅酶或辅基构成全酶方可表现催化活性。当 EDTA 与 Mg^{2+} 络合形成螯合物后丙酮酸氧化酶活性便会随之降低,故而对被测物检测产生负干扰。而肝素则是通过肝素分子的磺酸基团等,带强大负电荷,具有抑制凝血活酶形成,解除抗凝血酶抑制物,起到抗凝的作用,对于干式化学法检测 ALT 未造成影响。

因此,干式化学法应用于无偿献血者 ALT 筛查时应尽量用全血或血清检测,如果需要用抗凝血时,建议使用肝素而不使用 EDTA-K₂。

参考文献

- [1] 杨小燕,肖九长. 检验科提高临床检验质量措施之浅议[J]. 赣南医学院学报, 2012, 32(5): 715.
- [2] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2007: 186-193.
- [3] Ep14-A₂, Evaluation of matrix effects, approved guideline, second edition[S], 2005.
- [4] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜, 等. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 58-64.
- [5] 王治国. 临床检验质量控制技术[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 55-61.

- [6] 郑松柏, 王建兵, 黄宪章, 等. 血清 ALT 与 AST 测定的基质效应评价[J]. 临床检验杂志, 2011, 29(5): 391-393.
- [7] 吕赛平, 伍志杰, 邹学森. 基质效应的评价[J]. 现代检验医学杂志, 2008, 23(5): 113-114.
- [8] 丛玉隆, 王淑娟. 今日临床检验学[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1996: 34.
- [9] 范侠, 黄伟刚, 何健. 抗凝剂对血液分析仪细胞多参数检测的影响[J]. 岭南医学检验与临床, 1998, 1(1): 5-6.
- [10] 李伍升. 抗凝剂导致干化学法检测 ALT 值下降原因分析[J]. 中国现代医生, 2007, 45(2): 62.

(收稿日期: 2012-12-24 修回日期: 2013-04-19)

• 临床研究 •

血清降钙素原在败血症诊断中的应用

赵 丽, 朱高层, 孙竹华(江苏省南通市第四人民医院/南通大学附属精神卫生中心检验科 226005)

【摘要】 目的 探讨败血症患者早期快速、可靠的诊断方法和降钙素原(PCT)在败血症中的临床意义。**方法** 对 112 例临床怀疑有败血症的患者, 采用免疫透射比浊法检测血清 PCT 和 C 反应蛋白(CRP), 同时进行血培养。**结果** 在 112 例病例中, PCT 平均含量为 (1.47 ± 0.43) ng/mL, 其中阳性 46 例, CRP 平均含量为 (13.2 ± 1.73) mg/mL, 其中阳性 22 例, 血培养阳性 12 例。38 例无明显感染组中 PCT 含量为 (0.85 ± 0.32) ng/mL, 阳性率 28.9% (11/38), CRP 含量为 (9.46 ± 0.38) mg/mL, 阳性率 13.2% (5/38); 在有明显感染灶组中 PCT 含量为 (1.76 ± 0.54) ng/mL, 阳性率 36.3% (16/44), CRP 含量为 (16.2 ± 2.36) mg/mL, 阳性率 23.6% (6/44), 两组中 PCT 与 CRP 比较, 均有统计学差异 ($P < 0.05$); 在伴有多脏器器官功能损害组中 PCT 含量为 (2.75 ± 0.62) ng/mL, 阳性率 95% (19/20), CRP 含量为 (20.4 ± 3.82) mg/mL, 阳性率 85% (17/20), 两指标无统计学差异 ($P > 0.05$), 但与有明显感染灶组比较, PCT 阳性率有统计学差异 ($P < 0.05$)。**结论** PCT 可作为败血症早期诊断的标志物, PCT 的动态变化可作为败血症预后的指标。PCT 持续升高或进行性升高提示预后差。

【关键词】 败血症; 降钙素原; C 反应蛋白

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.16.034 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)16-2126-02

严重感染和败血症是 ICU 当前所面临的一个棘手难题, 特别是由其诱发的感染性休克和多器官功能障碍综合征, 已成为危重患者死亡的主要原因之一^[1-2]。因此对感染和败血症及其并发症进行早期诊断和治疗尤其重要。近年来发现降钙素原(PCT)是一个具有潜在诊断价值的实验指标, 在患细菌或真菌感染性疾病时, PCT 选择性诱导升高, 并与疾病的严重程度成正比; 在病毒感染、肿瘤疾病及手术创伤时则保持低水平^[3-4]。为进一步提高败血症患者抢救的存活率, 探讨败血症早期诊断的快速可靠的方法, 对临床上怀疑有败血症的患者进行了 PCT 的测定。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2009 年 11 月至 2010 年 10 月入住本院 ICU 危重患者 112 例, 其中男 67 例, 女 45 例, 年龄 38~78 岁。在入院的第一个 24 h 对每一个患者测定并记录其体温、血压、白细胞数, 并抽血进行微生物培养及 PCT 和 C 反应蛋白(CRP)等检测。在回顾分析所有临床及生理指标后, 将患者分为以下三组: 有明显感染灶(肠炎、肺炎、局部感染)44 例, 无明显感染 38 例, 伴有多脏器器官功能损害 20 例。患者被认为具有临床感染指征至少符合以下标准中的 2 点: (1) 外周血白细胞数异常 ($WBC > 12\ 000$ 个/微升或 $< 4\ 000$ 个/微升); (2) 体温(T)异常 ($T > 38\ ^\circ\text{C}$ 或 $< 35\ ^\circ\text{C}$); (3) 体内存在脓性分泌物; (4) 胸片示肺部有感染; (5) 临床决定开始或已经维持抗生素治疗^[5]。

1.2 方法 PCT、CRP 采用免疫透射比浊法, PCT 试剂由广

东虹业公司提供, 仪器为日立 7080 生化分析仪, 检测参数按试剂说明书要求设置, 样本量 $3\ \mu\text{L}$, R1 缓冲液 $240\ \mu\text{L}$, R2 抗体液 $80\ \mu\text{L}$, 检测波长 340/600 nm, 反应时间 10 min。正常值小于 $0.5\ \text{ng/mL}$; CRP 试剂由日本生研公司提供, 正常值小于 $6\ \text{mg/L}$; 血培养采用双相培养瓶法。

1.3 统计学处理 所得结果采用 SPSS13.0 进行统计分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 对于非配对方差不齐资料采用非参数法秩和检验; 对于方差齐性资料采用 t 检验; 率的比较采用卡方检验; $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

38 例无明显感染组中 PCT 含量为 (0.85 ± 0.32) ng/mL, 阳性率 28.9% (11/38), CRP 含量为 (9.46 ± 0.38) mg/mL, 阳性率 13.2% (5/38); 在有明显感染灶组中 PCT 含量为 (1.76 ± 0.54) ng/mL, 阳性率 36.3% (16/44), CRP 含量为 (16.2 ± 2.36) mg/mL, 阳性率 23.6% (6/44), 两组中 PCT 与 CRP 比较, 均有统计学差异 ($P < 0.05$); 在伴有多脏器器官功能损害组中 PCT 含量为 (2.75 ± 0.62) ng/mL, 阳性率 95.0% (19/20), CRP 含量为 (20.4 ± 3.82) mg/mL, 阳性率 85% (17/20), 两指标无统计学差异 ($P > 0.05$), 但与有明显感染灶组比较, PCT 阳性率有统计学差异 ($P < 0.05$)。44 例 PCT 增高者, 其中 39 例治疗后恢复正常, 治愈出院, 另 5 例在治疗过程中无明显的下降或进行性上升, 其中 4 例死亡, 1 例自动出院。

3 讨论

生理情况下, PCT 由甲状腺 C 细胞产生, 其量极少, 在健