

挑战。抗真菌药物种类相对较少,大多数药物所需疗程较长、价格昂贵,长期应用会产生严重的副作用,药物的应用不合理及对真菌感染不恰当的预防性用药等,导致耐药菌株不断出现及种类不断增多^[5-6],严重影响了真菌感染的治疗。因此积极开展真菌体外药物敏感试验,监测医院真菌感染药物敏感情况,对指导临床用药及有效控制耐药性发展有重要意义。

本研究临床分离的 106 株念珠菌,主要来自血液、咽拭子、痰液、尿液、烧伤创面及粪便标本,白色念珠菌和热带念珠菌是引起真菌感染最常见的念珠菌,国内相关研究报道比例分布相似^[7-9]。从病原菌来源统计,106 株念珠菌主要分离自痰和尿液标本,痰标本占大多数,表明呼吸道是住院患者最容易发生机会感染的部位,这可能与本研究标本主要来源于 ICU 病房、感染科患者有关。痰液和尿液标本的送检率较高,各种免疫力严重低下、呼吸衰竭患者,住院时间长的患者因并发肺部真菌感染使病情进一步恶化,给临床治疗带来了很大的困难。Rosco 纸片扩散法对临床检验分离的 101 株念珠菌(白色念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌、克柔念珠菌)进行抗真菌药物敏感试验,发现这 4 种念珠菌对常用的抗真菌药物两性霉素 B、氟胞嘧啶、酮康唑和氟康唑都存在不同程度的耐药,但氟康唑对念珠菌治疗效果较好。白色念珠菌是医院感染最主要病原真菌,也是致病性最强的念珠菌,念珠菌可广泛黏附于上皮细胞、血管内皮细胞、细胞外基质和其他组织细胞等表面,通过多种途径引起局部或播散性感染。念珠菌黏附到宿主细胞表面是其致病首要条件,通过黏附素与宿主细胞表面受体相互作用而发生黏附,特异性转录调节因子 UME6 水平升高可引起白色念珠菌形成假菌丝及分泌胞外蛋白酶,促进生物膜形成和增加组织侵袭性^[10]。由于抗真菌药物的大量使用,光滑念珠菌、克柔念珠菌等对氟康唑的低敏感性或不敏感性所产生的选择压力,致使非致病性白色念珠菌引起深、浅部真菌感染的机会增加及耐药^[11]。鉴于不同种类的真菌对抗真菌药物的耐药性不同,临幊上更应重视对真菌的鉴定和体外的药物敏感试验,指导临幊的合理用药,避免念珠菌耐药性的进一步上升。Rosco 纸片扩散法操作简单方便,易于在临幊推广使用,临幊医生可根据

• 经验交流 •

Roche Modular 速率法检测谷氨酸脱氢酶的性能验证

罗浩元, 刘集鸿, 邓宇伟, 梁金霞

(惠州市第一人民医院检验科, 广东惠州 516001)

摘要:目的 对 Roche Modular P800 全自动生化分析仪速率法检测谷氨酸脱氢酶(GLDH)进行方法学性能验证。方法 参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)系列文件和相关文献的实验方案,对速率法检测 GLDH 的精密度、准确度、线性范围、临幊可报告范围、生物参考区间进行验证,将实验结果与厂家声明的性能或者公认的质量目标进行比较。**结果** 精密度和准确度均符合厂商所声明的性能标准,GLDH 的检测呈一次线性,线性方程为 $Y = 17.738X - 17.75$,线性范围为 1.2~86.6 U/L,临幊可报告范围 1.2~8 668.0 U/L。**结论** Roche Modular P800 全自动生化仪速率法检测 GLDH 的主要分析性能均符合质量目标要求,能满足临幊需要。

关键词:谷氨酸脱氢酶; 性能验证; 全自动生化分析仪

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.21.069

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)21-2998-03

谷氨酸脱氢酶(GLDH)作为肝细胞损伤的诊断、鉴别诊断、疗效和预后的重要指标,已广泛应用于临幊^[1-2]。为了保证患者检测结果的可靠性,向临幊提供有价值的检验报告,本文参照美国临床和实验室标准协会(CLSI)相关文件,对 GLDH 的精密度、准确度、线性范围、临幊可报告范围(CRR)、生物参考区间进行评价,现报道如下。

药敏结果合理选择抗真菌药物,加强对抗真菌药物的耐药性监测,为临幊诊断治疗提供正确的用药依据。

参考文献

- 廖万清,顾菊林. 医学真菌学研究进展[J]. 自然杂志, 2011, 33(1): 1-5.
- 张锐元. 侵袭性真菌感染的正确诊断和合理治疗是当前值得重视的问题[J]. 中国感染与化疗杂志, 2007, 7(1): 1-3.
- Charles PE, Dalle F, Aube H, et al. Candida spp. colonization significance in critically ill medical patients: a prospective study[J]. Intensive Care Med, 2005, 31(3): 393-400.
- 徐英春,王澎,谢秀丽,等. 美国临床实验室标准化委员会酵母菌纸片扩散法敏感试验 2003 年版方案介绍[J]. 中华检验医学杂志, 2003, 26(9): 579-580.
- 陈红丽. 216 株深部念珠菌感染分布及耐药性分析[J]. 实用预防医学, 2012, 19(12): 1861-1863.
- 赵景,耿玉兰,赵帅,等. 294 株白念珠菌药物敏感试验及耐药性分析[J]. 中国真菌学杂志, 2013, 8(5): 289-290.
- 陈翠珠,徐英春,王澎,等. 1 557 株酵母菌的鉴定及其药敏试验分析[J]. 中国真菌学杂志, 2006, 1(3): 134-138.
- 方惠祥,彭泽湘. 岳阳地区 328 份阴道分泌物标本真菌培养及药敏分析[J]. 现代预防医学, 2008, 35(9): 1631-1633.
- 周万青,沈翰,张之烽,等. 白念珠菌临幊分离调查及基因分型研究[J]. 中国真菌学杂志, 2012, 17(1): 20-23.
- Banerjee M, Uppuluri P, Zhao XR, et al. Expression of UME6, a key regulator of *Candida albicans* hyphal development, enhances biofilm formation via Hgc1-and Sun41-dependent mechanisms[J]. Eukaryotic Cell, 2013, 12(2): 224-232.
- Yang YL, Ho YA, Cheng HH, et al. Susceptibilities of candida species to amphotericin B and fluconazole: the emergence of fluconazole resistance to *candidatropicalis*[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2004, 25(1): 60-64.

(收稿日期:2014-04-08)

1 资料与方法

1.1 一般资料 高、低浓度血浆标本来自本院健康体检中心健康成人,样本要求为新鲜肝素抗凝血浆,无溶血、黄疸和脂血。

1.2 仪器与试剂 德国 Roche Modular P800 全自动生化分析仪及配套试剂、校准品和质控品。

1.3 方法

1.3.1 精密度验证 参照 CLSI EP15-A2 文件^[3],选择低值 Roche PCC1(批号 166630)和高值 Roche PCC2(批号 167260)两个不同浓度水平的质控品,每天重复测定 GLDH 3 次,持续 5 d,记录实验数据。若当天 GLDH 室内质控失控或仪器故障则删除数据,并重新进行检测。依文件要求,计算批内标准差($s_{\text{批内}}$)、批间标准差($s_{\text{批间}}$),与厂商声明的批内标准差($\sigma_{\text{批内}}$)、批间标准差($\sigma_{\text{批间}}$)比较。如果 $s_{\text{批内}} < \sigma_{\text{批内}}, s_{\text{批间}} < \sigma_{\text{批间}}$, 则厂商声明的精密度验证通过。若 $s_{\text{批内}} > \sigma_{\text{批内}}, s_{\text{批间}} > \sigma_{\text{批间}}$, 则需进一步验证。

1.3.2 准确度验证 对不同于当前使用校准品批号的另一校准品进行检测,结果与被测校准品靶值比较,计算偏倚^[4];再进行回收实验,向一混合新鲜血浆样本加入不超过总体积 10% 的被测校准品溶液,进行回收率验证^[5]。若回收率在 90%~110%, 则准确度验证通过。

1.3.3 线性范围验证 参考 EP6-A2 文件^[6], 设定实验室线性的允许误差范围为 5%, 收集覆盖厂商声明线性范围 20% 左右的低(L)、高(H)浓度的血浆,按比例配制成系列浓度的 6 个样本(5L、4L+1H、3L+2H、2L+3H、1L+4H、5H), 每个样本重复检测 3 次, 得到重复检测结果的不精密度(CVr)。利用 SPSS17.0 软件进行多项式回归统计, 将所得数据拟合为一次($Y = b_0 + b_1 X$)、二次($Y = b_0 + b_1 X + b_2 X^2$)和三次($Y = b_0 + b_1 X + b_2 X^2 + b_3 X^3$)多项式, 判断各项系数与 0 之间的差异是否显著。如果非线性系数 b_2 和 b_3 与 b_0 比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 则认为存在线性关系, 否则该组数据存在非线性, 应对其进行非线性评价。

1.3.4 CRR 验证 进行稀释回收实验, 选择接近线性范围上限的高浓度样本, 用生理盐水进行 5、10、20、50、100、200 倍稀释, 计算回收率。参照仪器说明书, 回收率在 90%~110% 结果为可接受。实验得到最大稀释度, 结合线性范围上限可确定临床可报告范围。

1.3.5 生物参考区间验证 参考 CLSI C28-A3 文件^[7], 男性组和女性组分别用 20 个健康人群(年龄 18~65 岁)标本进行验证, 如果 20 例参考个体中不超过 10% 的结果(或 2 例)的观测值在厂商声明的参考区间之外, 说明实验室报告的 95% 参考区间可接受, 否则需建立该项目的生物参考区间。

1.4 统计学处理 数据采用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析, 均值的比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 精密度验证结果 质控品低值 PCC1 和高值 PCC2 的 GLDH 浓度分别为 25.5 U/L 和 37.6 U/L, 实验获得的 $s_{\text{批内}}$ 和 $s_{\text{批间}}$ 与厂商提供的 $\sigma_{\text{批内}}$ 和 $\sigma_{\text{批间}}$ 进行比较, 结果显示, PCC1 和 PCC2 的 $s_{\text{批内}}$ 分别为 0.339、0.277, 分别小于厂家声明的 $\sigma_{\text{批内}}$ (0.357、0.301), 它们的 $s_{\text{批间}}$ 分别为 0.515、0.642, 分别小于厂家声明的 $\sigma_{\text{批间}}$ (0.689、0.827), 精密度验证通过。

2.2 准确度验证结果 检测系统先使用 Cfus(批号 170858, 靶值 26.1 U/L)对 GLDH 进行校准后, 对另一批号为 165680 的 Cfus 校准品(靶值 31.2 U/L)进行检测, 3 次检测的均值为 30.1 U/L, 得出相对偏倚为 3.52%; 再向 1000 μL 混合新鲜血浆中, 分别加入 20、50、100 μL 批号为 165680 的 Cfus 校准品, 进行回收实验。结果显示, 对校准品的回收率分别为 98.3%、104.2% 和 95.6%, 均在 90%~110% 范围内, 表明检测系统准确度良好。

2.3 线性范围验证结果 厂商声明的线性范围为 1~80 U/L, 选择低、高值新鲜血浆的浓度分别为 1.2 U/L 和 86.8 U/L, 对 6

个不同浓度系列标本重复测定 GLDH 的均值分别为 1.2、17.6、34.6、54.4、71.6、87.9 U/L, 经计算, 重复测定集合方差(SD_r)小于设定的允许误差(5%)。SPSS17.0 统计软件多项式回归数据拟合结果显示, b_2 、 b_3 与 b_0 比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 为一次线性, 线性方程为 $Y = 17.738X - 17.75$, 线性范围为 1.2~86.8 U/L, 与厂商声明的线性基本吻合。

2.4 CRR 验证结果 高值新鲜血浆 86.8 U/L, 当稀释 200 倍时, GLDH 的回收率为 139.5%, 超出仪器说明书的回收率范围(90%~110%), 表明 GLDH 的最大稀释倍数为 100 倍, 见表 1。

表 1 CRR 验证结果

稀释倍数	实测 3 次均值 (U/L)	预期值 (U/L)	回收率 (%)	通过与否
5	17.9	17.36	103.1	是
10	8.1	8.68	93.3	是
20	4.1	4.34	94.5	是
50	1.9	1.74	109.2	是
100	0.8	0.87	92.0	是
200	0.6	0.43	139.5	否

2.5 参考区间验证结果 男性 20 例参考个体中, 观测值最小为 1.0 U/L, 最大为 8.6 U/L, 仅 1 例的观测值在厂商提供的生物参考区间(男性: 0~7 U/L)之外; 女性 20 例参考个体的观测值全部在厂商提供的生物参考区间(女性: 0~5 U/L)之内。根据 C28-A3 文件, 验证通过。

3 讨 论

《医疗机构临床实验室管理办法》和国内实验室 ISO15189 认可要求规定, 对配套检测系统投入临床使用之前必须对厂商提供的精密度、准确度、线性范围、临床可报告范围、生物参考区间的性能指标进行验证^[8-9]。精密度检测系统的主要性能之一, 更是进行其他方法学评价的前提。本研究根据 CLSI EP15-A2 文件进行验证, 结果显示, $s_{\text{批内}}$ 和 $s_{\text{批间}}$ 均小于厂商提供的 $\sigma_{\text{批内}}$ 和 $\sigma_{\text{批间}}$, 精密度验证通过。

在确认精密度符合要求的基础上进行准确度验证。验证准确度的主要方法有: 根据 CLSI EP9-A2 文件进行方法学比较和使用有证参考物。由于本实验室无对照方法, 故不能进行方法学比较实验。因此, 本研究采用厂家提供的定值校准品进行检测和回收实验, 判断标准是相对偏倚在士 10% 内, 回收率在 90%~110%。结果显示, 相对偏倚为 3.52%, 3 个校准品样本的回收率分别为 98.3%、104.2% 和 95.6%, 均符合判断标准。通过上述 2 项实验, 表明 GLDH 在 Roche Modular P800 组成的配套检测系统中准确度高。

EP6-A2 文件采用多项式回归作为统计方法, 通过设定方法学允许偏倚, 具有较高的统计功效, 被认为是目前较好的评价线性方法。实验结果显示, SD_r 小于设定的允许误差目标 5%, 多项式回归数据拟合, 结果为一次线性, 线性范围 1.2~86.8 U/L, 与厂商声明的线性基本吻合。CRR 是指定量检测项目向临床能报告的检测范围, 患者样本可经过稀释、浓缩或其他预处理。对于 CRR 大于线性范围的项目, 可进行最大稀释倍数的验证实验。结果表明, GLDH 的最大稀释倍数为 100 倍, 因 GLDH 低值结果对临床意义不大, 结合线性范围上限, 本检测系统 GLDH 的 CRR 为 1.2~8680.0 U/L。

CLSI C28-A3 文件提供了 3 种方法来评估转移的参考区间是否可接受:(1)系统性评审;(2)用 20 个参考值数据验证;(3)用 60 个参考值数据验证。本研究采用第 2 种方法进行验

证,结果显示,厂商声明的参考区间可以转移使用。

本研究参照 CLSI 文件对罗氏公司提供的 GLDH 试剂和 Roche Modular P800 生化仪组成的检测系统进行了基本性能评价,结果表明,精密度、准确度、线性范围和参考区间均符合厂商声明要求,适合于临床推广应用。

参考文献

- [1] 刘金涛.谷氨酸脱氢酶活力变化在肝损伤中的应用[J].国际检验医学杂志,2011,32(2):270-271.
- [2] 赵元明.血清谷氨酸脱氢酶活性检测在肝胆疾病中的临床价值[J].检验医学,2013,28(2):163-165.
- [3] CLSI. EP15-A2 User demonstration of performance for precision and accuracy[S]. Wayne, PA: CLSI, 2004.
- [4] 张葵.定量检测系统方法学性能验证实验的基本方法[J].临床检验

· 经验交流 ·

验杂志,2009,27(5):321-323.

- [5] 王治国.临床检验方法确认与性能验证[M].北京:人民卫生出版社,2009:242-297.
- [6] CLSI. EP6-A2 Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures[S]. Wayne, PA: CLSI, 2003.
- [7] CLSI. C28-A3 Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; Approved guideline[S]. 3rd ed. Wayne, PA: CLSI, 2008.
- [8] 王前,庄俊华,冯桂湘,等.临床生化检验技术[M].北京:人民卫生出版社,2009:409-514.
- [9] 丛玉隆,邓新立.实验室 ISO15189 认可对学科建设的几点启示[J].中华检验医学杂志,2007,30(2):128-131.

(收稿日期:2014-03-26)

血浆 D-二聚体检测对下肢深静脉血栓形成的诊断价值研究

张 剑¹,韩建伦¹,马波江¹,何文婧²,叶生明¹

(陕西榆林市第一医院:1. 心内科;2. 检验科,陕西榆林 719000)

摘要:目的 探讨 D-二聚体检测对于下肢深静脉血栓形成(DVT)诊断的临床价值。方法 对 80 例疑诊为 DVT 的患者(患者组)及 61 例健康体检者(对照组)血浆中的 D-二聚体进行定量检测,并对检测结果进行分析比较。结果 患者组血浆 D-二聚体浓度明显高于对照组,差异有统计学意义($t=7.125, P<0.01$)。血浆 D-二聚体对于 DVT 诊断的敏感性为 100.0%、特异性为 55.6%、阳性预测值为 94.6%、阴性预测值为 100.0%。结论 D-二聚体可作为 DVT 诊断的敏感、快速指标,值得在临床推广。

关键词:下肢; 深静脉血栓形成; D-二聚体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.21.070

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)21-3000-02

下肢深静脉血栓形成(DVT)是血液在深静脉内不正常凝结引起的静脉回流障碍性疾病,血栓脱落可引起肺动脉栓塞(PE),严重者影响患者生活质量甚至导致猝死发生。DVT 的诊断依赖辅助检查,主要包括血浆 D-二聚体测定、多普勒超声检查、螺旋 CT 静脉成像、MRI 静脉成像和静脉造影,其中血浆 D-二聚体测定由于简单、快速,在临床中广泛应用,本文对本院 2010 年 1 月 1 日至 2014 年 2 月 1 日收治的疑诊 DVT 患者 80 例及健康体检者 61 例血浆 D-二聚体定量检测资料进行回顾性分析,意在探讨血浆 D-二聚体检测对 DVT 的诊断价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 1 月 1 日至 2014 年 2 月 1 日收治的疑诊 DVT 患者 80 例(患者组),其中男 31 例,女 49 例,年龄 21~89 岁,平均 42.4 岁,其中无明显诱因 48 例,近期有卧床病史者 14 例,因有机磷农药中毒卧床并行血液灌流者 2 例,3 例合并妊娠史,下肢骨折制动者 11 例,有腹部手术史者 2 例。主要临床症状为患肢肿胀、疼痛,患侧肢体较健侧肢体膝上、下 10 cm 周径相差超过 2 cm,排除淋巴管堵塞及下肢软组织炎症等疾病。对照组为健康体检者 61 例,其中男 33 例,女 28 例,年龄 21~77 岁,平均 41.7 岁。两组间性别、年龄差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法 患者组及对照组入院当天无用药情况下抽取空腹静脉血 1 mL 至普通试管,3 000 r/min 离心 10 min,分离血浆,所有血浆样本均使用日本 Sysmex 公司生产的全自动凝血分析仪 CA1500 定量测定 D-二聚体浓度。所有操作严格按照仪器使用说明书进行。血浆 D-二聚体浓度高于 500 μg/L 判为阳性。

使用美国通用电气公司生产的 Vivid 7 Dimension 彩色多普勒诊断仪对患者组疑诊 DVT 患者进行下肢静脉超声检查。

1.3 统计学处理 采用 SPSS11.5 统计软件。各组数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,均数的组间比较采用 t 检验,率的比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

患者组与对照组血浆 D-二聚体浓度分别为(8 188.75 ± 4 581.52)、(1 891.80 ± 1 003.71) μg/L,患者组血浆 D-二聚体水平明显升高,两组间差异有统计学意义($t=7.125, P<0.01$)。患者组 80 例中,有 5 例血浆 D-二聚体检测结果低于阳性界值,下肢血管超声证实无 DVT,其余 75 例行下肢静脉超声检查后,有 71 例确诊为 DVT。血浆 D-二聚体检测对于 DVT 诊断的敏感性为 100.0%、特异性为 55.6%、阳性预测值为 94.6%、阴性预测值为 100.0%,见表 1。

表 1 患者组 D-二聚体、下肢静脉超声检测结果比较(n)

D-二聚体	超声检查		合计
	+	-	
+	71	4	75
-	0	5	5
合计	71	9	80

3 讨 论

DVT 是血液在深静脉内不正常凝结引起的静脉回流障碍性疾病,多发生在下肢,发生下肢深静脉血栓形成的高危因素