

体。ELISA 是利用双抗原夹心法检测血清中的梅毒特异性抗体,该方法操作简便,试剂成本低,性质稳定易于保存,适用于血液筛查<sup>[2-3]</sup>;CMIA 检测梅毒抗体是近年来应用的一项新方法,其原理是将重组 TP 抗原包被于微粒子,通过该微粒子与检验标本稀释液混合,检测标本中存在的梅毒抗体,从而大大提高了检测的灵敏度和特异度<sup>[4-6]</sup>;TPPA 是目前公认的梅毒确认试验之一,所检测的抗体属于特异性抗体,具有高灵敏度、高特异性及高准确度的特点,但由于操作较繁杂,试剂较昂贵,结果判断不易自动化,适用于作为确诊试验<sup>[7-9]</sup>。

从表 1、2 中可以看出,ELISA 和 CMIA 两种方法初筛了 175 例阳性,但经 TPPA 确认试验,只确认了 93 例阳性,阳性率为 53.14%,另还有 4 例可疑标本。初筛实验灵敏度高,但存在一定的假阳性率,应和 TPPA 结合,避免误诊的发生。梅毒的主要传播途径为性接触、母婴和血液传播,男性发生不良性行为的可能性比女性大,这个有可能是男性阳性率比女性高的原因之一。从表 3 来看,梅毒在各个年龄段,各个行业均有分布,而且还有低龄化感染的趋势,此结果和已报道的梅毒传播有低龄化和在大学生人群中传播趋势相吻合<sup>[10]</sup>。

梅毒发病率有不断上升趋势,并且已从高危人群向普通人群扩散,全社会应该加强宣传教育,提高民众对梅毒的认识,减少梅毒的感染率及传播率。梅毒血清学检查是诊断梅毒的重要依据,但不是唯一依据,更要了解患者的临床表现、病史和生活史等,综合分析后慎重做出判断。

#### 参考文献

- [1] 尹静,徐贵江,刘艳. 4 种梅毒血清学检测方法的临床应用  
• 临床研究 •

及评价[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(23):3244-3245.

- [2] 宋明健. 3 种梅毒血清检测方法在不同期梅毒样本检测中的结果对比[J]. 中国医药指南,2011,9(32):159-160.  
[3] 章迎春,陋永梅,张雁. 4 种常用梅毒抗体检测方法的应用评价[J]. 中国卫生检验杂志,2015,25(2):196-197.  
[4] 顾俊旭,和晓,贾枚. 化学发光法检测梅毒抗体在血清学中的临床应用[J]. 基层医学论坛,2014,18(13):1650-1651.  
[5] 袁明生. 化学发光微粒子免疫分析法检测梅毒螺旋体抗的应用评价[J]. 检验医学,2010,25(7):571-572.  
[6] 张东梅,徐韞健,张婷. 化学发光微粒子免疫法和梅毒螺旋体颗粒凝集试验检测梅毒抗体的比较[J]. 中国微生态学杂志,2013,25(10):1212-1214.  
[7] 孙红,朱安庆,郭普,等. TP-ELISA、TRUST 和 TPPA 联合检测在梅毒诊断中的应用[J]. 检验医学,2015,10(40):1392-1394.  
[8] 王晶华. 3 种梅毒螺旋体检测方法的比较和分析[J]. 中国卫生检验杂志,2015,25(1):50-54.  
[9] 杨海云,许峰,李欢华,等. 江门市五邑中医院医院感染现患率调查及发病因素分析[J]. 中国慢性病预防与控制,2008,16(12):1483-1485.  
[10] 黄新宝,杨坤. 2006~2009 年贵港市无偿献血者梅毒感染情况分析[J]. 中国输血杂志,2011,24(2):136-137.

(收稿日期:2016-05-16 修回日期:2016-07-28)

## 罗氏公司 COBAS C501 全自动生化分析仪检测系统性能验证

夏万宝,张冬青,周庆丰,沈 嘉,侯彦强<sup>△</sup>

(上海市松江区中心医院检验科 201600)

**摘要:**目的 系统地罗氏公司 COBAS C501 全自动生化分析仪(简称 COBAS C501)酶学指标丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、L-γ-谷氨酰基转移酶(GGT)及碱性磷酸酶(ALP)的分析性能进行评价,了解和掌握罗氏公司 COBAS C501 全自动生化分析仪检测 ALT、AST、GGT 及 ALP 的精密度(批内、日间)、线性范围、临床可报告范围、正确度及生物参考区间等相关性能。**方法** 根据美国临床实验室标准化研究所(NCCLS)文件(EP5-A2、EP15-A2)及中华人民共和国卫生行业标准(简称卫生行业标准)的相关文件进行评价。**结果** ALT、AST、GGT 及 ALP 的高、中、低值的批内精密度均小于 1/4 总误差(TEa),日间精密度均小于 1/3 TEa;ALT、AST、GGT 及 ALP 的各项目线性良好,线性回归方程的斜率均在 1.00±0.03 范围内, $R^2$ 均 $\geq 0.95$ ,线性范围分别为 2~730、2~673、3~1 266、3~1 156 U/L,临床可报告范围分别为 2~14 600、2~13 460、3~25 320、3~23 120 U/L;对上海市 5 份室间质控物的 ALT、AST、GGT 及 ALP 检测结果与靶值的偏倚分别为 0%~5.88%、1.03%~3.33%、-1.64%~1.68%、-0.34%~6.25%,均小于 1/2 TEa;各项目的生物参考区间验证结果均在本实验室引用的参考区间内。**结论** 罗氏公司 COBAS C501 全自动生化分析仪对 ALT、AST、GGT 及 ALP 检测的主要性能符合质量目标要求,能够满足各大、中型医院的临床检测需求。

**关键词:**COBAS C501 分析仪; 性能验证; 精密度; 线性范围; 行业标准

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.24.041

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)24-3482-04

根据 CNAS-CL02:2012《医学实验室质量和能力认可准则》要求医学实验室应定期对设备、检测系统或方法的主要析性能进行验证,证实其能够达到临床检测所要求的标准及 CNAS-CL38:2012《医学实验室质量和能力认可准则在临床化学检验领域的应用说明》第 5 条款“技术要求”中的 5.5“检验

过程”5.5.1.2 要求罗氏公司 COBAS C501 全自动生化分析仪的性能验证内容至少应包括精密度、正确度、可报告范围等<sup>[1-2]</sup>。本实验室参照中华人民共和国卫生行业标准(WS/T 403-2012、WS/T 404.1-2012、WS/T 408-2012),对罗氏公司 COBAS C501 全自动生化分析仪进行性能评价,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 所用标本均采自本院健康体检人群或就诊患者,标本要求为新鲜血清(无溶血、无黄疸、无脂血);标本采集严格按照《临床化学检验血液标本的收集与处理》(WS/T 225-2002)<sup>[3]</sup>要求进行。

1.2 仪器与试剂 仪器为罗氏公司 COBAS C501 全自动生化分析仪。试剂和校准品为罗氏公司原装丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、L-γ-谷氨酰基转移酶(GGT)及碱性磷酸酶(ALP)检测试剂盒(批号分别为 13354101、12398201、11948901、62159401);校准品 c. f. a. s(批号 17795803)。质控品为低值质控品(批号 M407081)、中值质控品(批号 M407082)、高值质控品(批号 M407083),均由美国贝克曼库尔特有限公司提供。罗氏公司 COBAS C501 全自动生化分析仪所使用的试剂、校准品及质控品均在有效期内。

1.3 方法

1.3.1 质控检测 选择低、中、高值 3 个浓度质控品,每天进行室内质量控制,所检测的指标在控状态下对精密度、线性范围、临床可报告范围、正确度及生物参考区间进行评价。

1.3.2 批内精密度 参考美国临床实验室标准化研究所(NCCLS)EP5-A2 文件<sup>[4]</sup>,用配套的高、中、低值 3 个浓度质控品,每个浓度的质控品连续测定 20 次,统计 20 次的检测均值( $\bar{x}$ )和标准差(s),计算变异系数(CV),判定标准为小于 1/4 总误差。

1.3.3 日间精密度 参考 NCCLS EP5-A2 文件<sup>[4]</sup>,每天检测高、中、低值 3 个浓度的质控品 1 次,连续检测 20 d,剔除失控数据(失控结果已得到纠正)后,统计 20 d 的检测均值( $\bar{x}$ )和标准差(s),计算 CV,判定标准为小于 1/3 总误差。

1.3.4 正确度 参考 NCCLS EP15-A2 文件<sup>[5]</sup>,使用 5 份 2015 年上海市临检中心第 2 次室间质控物(批号 RC2015021、RC2015022、RC2015023、RC2015024、RC2015025)分别进行单次检测,计算每份标本检测结果与靶值的偏倚,判定标准为小于 1/2 总误差。

1.3.5 线性范围及临床可报告范围验证

1.3.5.1 线性范围 参考卫生行业标准(WS/T408-2012)《临床化学设备线性评价指南》<sup>[6]</sup>,选取新鲜高值(H)血清和低值(L)血清标本各 1 份,将 H 和 L 按 5L、1H+4L、2H+3L、3H+2L、4H+1L、5H 配制 6 个浓度标本,每标本按照从低浓度到高浓度顺序测定 3 次,再按照从高浓度到低浓度顺序测定 3 次,计算均值,以 X 表示各标本的预期值,以 Y 表示各标本的实测均值,得直线回归  $Y=aX+b$ ,得到 a、b 及  $R^2$  值。a 为斜率,b 为 Y 轴截距, $R^2$  为相关系数的平方,判断其是否呈线性关系。

1.3.5.2 临床可报告范围(CRR) 选取仪器线性范围内高值患者标本,分别做 5 倍、10 倍、20 倍稀释检测,每个浓度重复测

定 3 次,将 3 次测定结果的平均值与稀释后的理论值比较,计算稀释回收率;稀释回收率=(实测值/理论值)×100%,回收率应在 90%~110%,符合该条件的最大稀释度为该项目的最大稀释倍数。线性范围乘以最大稀释倍数为该项目的临床可报告范围。

1.3.6 生物参考区间 参考卫生行业标准(WS/T 404. 1-2012)《临床常用化学检验项目参考区间》<sup>[7]</sup>,挑选本院健康成人(20~79 岁)体检者 40 例,男女各半,对参考范围进行验证,只允许 10%的数据超过所验证的参考范围,否则需建立新的参考范围。判定标准  $R=(\text{测定结果在参考范围的例数}/\text{总测定例数})\times 100$ ,结果 $\geq 90\%$ 为合格。

2 结果

2.1 批内精密度 COBAS C501 检测高、中、低值的质控品,ALT、AST、GGT 及 ALP 的批内精密度均满足卫生行业标准(WS/T 403-2012)的 1/4 总误差,见表 1。

表 1 各项目的批内精密度结果

项目	低值		中值		高值		卫生行业标准(%)	结论
	均值	CV%	均值	CV%	均值	CV%		
ALT	24.49	1.22	166.65	0.71	313.47	0.53	$\leq 4.00$	接受
AST	29.97	1.30	181.20	0.59	330.33	0.65	$\leq 3.75$	接受
GGT	36.00	0.90	237.95	0.93	435.40	0.60	$\leq 2.75$	接受
ALP	28.95	1.76	114.05	1.15	198.30	0.93	$\leq 4.50$	接受

2.2 日间精密度 COBAS C501 检测高、中、低值的质控品,连续检测 20 d,统计 ALT、AST、GGT、ALP 的日间精密度,均满足卫生行业标准(WS/T 403-2012)的 1/3 总误差,见表 2。

表 2 各项目的日间精密度结果

项目	低值		中值		高值		卫生行业标准(%)	结论
	均值	CV%	均值	CV%	均值	CV%		
ALT	25.18	1.90	172.40	2.02	322.65	2.03	$\leq 5.33$	接受
AST	30.14	2.35	182.85	1.04	335.33	1.48	$\leq 5.00$	接受
GGT	36.70	1.79	240.90	0.82	442.60	1.07	$\leq 3.67$	接受
ALP	28.75	2.22	115.05	1.04	200.65	0.97	$\leq 6.00$	接受

2.3 正确度 COBAS C501 检测 5 个批号质控物的 ALT、AST、GGT、ALP 的偏倚均符合卫生行业标准(WS/T 403-2012)的 1/2 总误差,见表 3。

2.4 线性范围及临床可报告范围

2.4.1 COBAS C501 检测 ALT、AST、GGT、ALP 的线性范围,a 均 $\leq 1\pm 0.03$ 、 $R^2$  均 $\geq 0.95$ ,均符合卫生行业标准(WS/T 408-2012)的要求,见表 4。

表 3 对质控物进行各项目检测的正确度结果

项目	测定值	靶值	偏倚(%)	卫生行业标准(%)	结论	项目	测定值	靶值	偏倚(%)	卫生行业标准(%)	结论
ALT	98	98	0.00	$\leq 8.00$	接受	AST	98	97	1.03	$\leq 7.50$	接受
	198	197	0.51				196	194	1.03		
	57	56	1.79				63	62	1.61		
	36	34	5.88				31	30	3.33		

续表 3 对质控物进行各项目检测的正确度结果

项目	测定值	靶值	偏倚(%)	卫生行业标准(%)	结论	项目	测定值	靶值	偏倚(%)	卫生行业标准(%)	结论
GGT	143	141	1.42	≤5.50	接受	ALP	147	145	1.38	≤9.00	接受
	129	127	1.57				132	130	1.54		
	242	238	1.68				293	294	-0.34		
	60	61	-1.64				33	32	3.13		
	38	38	0.00				17	16	6.25		
	147	146	0.68				208	206	0.97		

表 4 各项目的线性范围评价结果

项目	线性范围	回归方程	R <sup>2</sup>	卫生行业标准	结论
ALT	2~730 U/L	Y=0.989 3X+1.177 6	0.999 5	a≤1.00±0.03 R <sup>2</sup> ≥0.95	接受
AST	2~673 U/L	Y=0.992 0X+3.848 8	0.999 8		接受
GGT	3~1 266 U/L	Y=0.990 0X-2.238 0	0.999 4		接受
ALP	3~1 156 U/L	Y=1.003 1X-0.644 3	0.999 9		接受

2.4.2 各项目临床可报告范围验证结果 见表 5。

表 5 各项目的临床可报告范围验证结果(U/L)

项目	实测值/理论值(%)			验证结果
	5 倍稀释	10 倍稀释	20 倍稀释	
ALT	96.03	100.11	104.02	2~14 600
AST	98.30	99.98	107.57	2~13 460
GGT	98.26	100.00	106.52	3~25 320
ALP	101.81	101.48	109.62	3~23 120

2.5 生物参考区间 40 个参考值数据的验证结果均在卫生行业标准(WS/T 404.1-2012)给出的参考区间内,见表 6、7,R<sup>2</sup>均≥0.95。说明本实验室引用 ALT、AST、GGT、ALP 的成人参考区间符合临床要求。

表 6 成年男性各项目的生物参考区间验证结果

项目	ALT	AST	GGT	ALP
均数(U/L)	16.85	24.05	21.75	66.45
参考区间(男,U/L)	9.00~50.00	15.00~40.00	10.00~60.00	45.00~125.00
标本数量(n)	20	20	20	20
符合数(n)	20	20	19	20
R <sup>2</sup>	1	1	0.95	1

表 7 成年女性各项目的生物参考区间验证结果

项目	ALT	AST	GGT	ALP
均数(U/L)	17.35	19.55	17.40	61.70
参考区间(女,U/L)	7.00~40.00	13.00~35.00	10.00~60.00	35.00~135.00
标本数量(n)	20	20	20	20
符合数(n)	20	19	20	20
R <sup>2</sup>	1	0.95	1	1

3 讨 论

COBAS C501 是由罗氏公司生产的全自动生化分析仪,配套的检测系统具有完善的溯源性,检测系统或方法的性能可否

接受,是决定检测系统能否用于常规工作的前提。按照《医学实验室质量和能力的专用要求》(ISO15189)的要求医学实验室应定期对设备、检测系统或方法的主要分析性能进行验证,证实其能够达到临床检测所要求的标准,依照相关文件和卫生行业标准,探讨并制订了罗氏公司 COBAS C501 全自动生化分析仪对 ALT、AST、GGT、ALP 各个项目的性能验证方案,并对该检测系统进行了评价,验证主要包括精密度(批内、日间)、正确度、线性范围、临床可报告范围及生物参考区间。

其中,检测系统 ALT、AST、GGT、ALP 各项目的批内精密度均小于 1/4 总误差,日间精密度均小于 1/3 总误差,符合卫生行业标准,可认为该仪器测定的各个项目的精密度验证通过;再确认检测系统精密度符合要求的基础上,进行正确度验证,结果显示,ALT、AST、GGT、ALP 正确度分别为 1.02%~2.94%、0.52%~3.33%、0.68%~2.63%、0.49%~6.25%,均小于 1/2 总误差,可认为该仪器测定 ALT、AST、GGT、ALP 的正确度验证通过,能够满足临床要求;该仪器检测各项目线性范围较宽,线性范围基本涵盖了临床标本分布的浓度范围,线性符合要求。

在检验过程中,经常会遇到一些高值标本,超出了仪器的检测范围,对于此类情况通常会对标本进行稀释。为了保证稀释后结果的准确可靠,针对临床不同项目高值的需要,选用仪器线性范围内的高值标本进行不同稀释倍数的验证。各项目稀释后的回收率均在 90%~110%,说明稀释后的结果准确可靠,能够满足临床需求。

实验室在开展检测项目前,所引用的参考区间是否适用于本实验室服务的人群,若适合,实验室应按要求进行验证;经验证,本实验室检测的 ALT、AST、GGT、ALP 的 R<sup>2</sup> 值均≥90%,因此,引用的生物参考区间符合本实验室服务的人群。

综上所述,罗氏公司 COBAS C501 全自动生化分析仪检测 ALT、AST、GGT、ALP 各项性能均已达到国家卫生行业标准要求,是一台具有检测精度高、速度快、功能强等优点的全自动生化分析仪,能够满足各大、中型医院的临床检测需求。

参考文献

[1] 中国合格评定国家认可委员会. 医学实验室质量和能力认可准则:CNAS-CL02[S]. 北京:中国合格评定国家认

- 可委员会,2014:1-54.
- [2] 中国合格评定国家认可委员会. 2012 医学实验室质量和能力认可准则在临床化学检验领域的应用说明:CNAS-CL38[S]. 北京:中国合格评定国家认可委员会,2015.
- [3] 张丽霞,孙艳虹,孙芹敏,等. 临床化学检验血液标本的收集与处理:WS/T 225-2002[S]. 北京:中国标准出版社,2002.
- [4] NCCLS. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; EP5-A2[S]. PA, USA: NCCLS, 2004.
- [5] NCCLS. User demonstration of performance for precision
- 临床研究 •
- and accuracy; EP5-A2[S]. PA, USA: NCCLS, 2004.
- [6] 汪静,郭健,张传宝,等. 临床化学设备线性评价指南:WS/T 408-2012[S]. 北京:中国标准出版社,2012.
- [7] 尚红,陈文祥,张传宝,等. 临床生化常用检验项目参考区间:WS/T 404-2002[S]. 北京:中国标准出版社,2012.
- [8] 陈文祥,尚红,申子瑜,等. 临床生物化学检验常规项目分析质量指标:WS/T 403-2002[S]. 北京:中国标准出版社,2012.
- (收稿日期:2016-05-16 修回日期:2016-07-27)

## 支气管镜下导管吸引采样法诊断重症肺炎病原菌的研究

曾 敏,李再清<sup>△</sup>

(南华大学附属邵阳市中心医院呼吸内科,湖南邵阳 422000)

**摘 要:**目的 比较支气管镜下不同采样法诊断重症肺炎病原菌,评价支气管镜下导管吸引采样法在重症肺炎病原菌的诊断价值。**方法** 选择邵阳市中心医院呼吸内科重症监护室 2014 年 12 月至 2015 年 12 月已行有创机械通气重症肺炎患者 60 例及非肺部感染的门诊患者 30 例经支气管镜下吸引导管吸引、经支气管镜直接吸引和肺泡灌洗分别获取标本,分析比较 3 种不同方法获取痰标本培养病原菌的阳性率及其敏感度、特异度、正确率、阳性预测值、阴性预测值。**结果** 3 种方法采样标本阳性率分别为 75.0%、38.3%、56.7%。其敏感度、特异度、正确率、阳性预测值、阴性预测值分别为 75.00%、38.33%、56.67%、100.00%、96.67%、96.67%、83.33%、57.78%、70.00%、100.00%、95.83%、97.14%、66.67%、43.94%、52.73%。**结论** 支气管镜下吸引导管采样与其他方法比较其诊断效率更高,具有良好的推广应用价值。

**关键词:**支气管镜; 吸引导管; 重症肺炎; 诊断; 病原菌

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2016.24.042

**文献标识码:**A

**文章编号:**1673-4130(2016)24-3485-03

重症肺炎是病死率非常高的疾病<sup>[1-2]</sup>。及时有效地明确病原菌诊断对改善重症肺炎患者的预后意义重大。本文通过研究支气管镜下吸引导管(多功能标本采集器)吸引采样法与其他两种采样法对重症肺炎病原菌的诊断效率,对 3 种方法采样的诊断效率进行比较分析,现将结果报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择本院呼吸内科重症监护室 2014 年 12 月至 2015 年 12 月已行有创机械通气重症肺炎患者 60 例及 30 例非肺部感染的门诊患者。重症肺炎患者入选标准参照美国感染疾病学会/美国胸科学会(IDSA/ATS)于 2007 年制定的重症肺炎诊断标准。门诊患者入选标准为非肺部感染而需要行支气管镜检查的患者,胸片或胸部 CT 无肺炎表现者。重症肺炎患者 60 例中男 42 例,女 18 例,年龄 37~85 岁,平均(66.9±11.4)岁;非肺部感染患者 30 例中男 26 例,女 4 例,年龄 44~78 岁,平均(62.6±8.8)岁。

### 1.2 研究方法

**1.2.1 仪器** Olympus BF TYPE P60 纤维支气管镜;吸引导管选用多功能标本采集器(专利号 ZL201120168251.2)。

**1.2.2 采样方法** 所有患者在行支气管镜检查前,完善血常规、凝血功能、心电图、胸部 CT 等检查,有创机械通气重症肺炎患者常规予咪达唑仑 10 mg 静脉注射。(1)经气管插管常规插入支气管镜,观察气管、各级支气管内分泌物多少,通过纤维支气管镜活检孔道,在病变部位插入多功能标本采集器吸引导管,连接负压吸引,操作者通过上下抽拉吸引导管,使吸引导管

尽量抽吸到尽可能多的分泌物,当看到分泌物灌满整个吸引导管后停止吸引,拔出吸引导管,用注射器将吸引导管内标本推入标本采集器中,留取标本<sup>[3]</sup>。(2)在支气管镜下对病变叶段直接吸引分泌物进行病原学检查,留取标本。(3)经活检孔道注入无菌生理盐水 100~150 mL 灌洗病变叶段,每次 20 mL 注入此肺段,并用回收负压为 50~80 mm Hg 连接负压吸引立即将液体回抽<sup>[4]</sup>,留取标本,分别标号送检。30 例非肺部感染的门诊患者常规予 2%利多卡因 5 mL 雾化吸入麻醉,麻醉充分后经鼻腔插入支气管镜,在右中叶开口处经支气管镜下吸引导管吸引、经支气管镜直接吸引和肺泡灌洗以上 3 种方法获取标本,作为阴性对照。所有留取痰标本均要求立即送细菌室,送检时间不超过 2 h<sup>[5]</sup>。

所有患者的支气管镜下灌洗及吸引等操作均由特定医师完成,减少由不同操作者操作方法及熟练程度的不同对结果造成影响。

**1.2.3 送检标本病原菌培养** 根据《全国临床检验操作规程》按常规方法进行<sup>[6]</sup>。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS18.0 软件进行统计学分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用  $t$  检验,计数资料以率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结 果

**2.1 不良反应发生情况** 90 例患者经支气管镜下吸引导管吸引均顺利完成,所有患者无不良反应。

**2.2 3 种方法采样标本分离菌株构成及痰培养阳性率** 60 例

<sup>△</sup> 通讯作者,E-mail:limi28@126.com。