

物或一种抗结核药物治疗其他感染性疾病,造成了一线抗结核药物严重耐药性,进一步加重非结核分枝杆菌感染的患者的治疗难度。本研究统计的一线抗结核药总耐药率为 95.96%,但二线抗结核药物总耐药率为 69.70%,比一线耐药率要低,提示一线抗结核药对非结核分枝杆菌治疗已失效,当诊断为非结核分枝杆菌感染时应提早及时足量改用二线抗结核药物治疗^[7]。而任何耐 6 种药占 55.88%,提示非结核分枝杆菌多重耐药率高^[8-10],建议通过药物敏感试验,选择敏感二线药物进行高效治疗方案,提高治疗率和治愈率。笔者研究没有对新发和复治肺结核患者的非结核分枝杆菌检出率进行对比,同时存在病例数偏小,有待今后实验中完善。通过进一步分析,非结核分枝杆菌在 PNB 培养管生长的特性,提示在酸性罗氏培养同时进行 PNB 培养管培养进行准确鉴定非结核分枝杆菌,对未开展药敏试验的地区,推广应用有一定的意义。

综上所述,本研究从一定的程度上反映了广东肇庆市结核病的流行病学特征及耐药因素,提示对具有传染性的肺结核患者强制留医住院规范化治疗至关重要。临床治疗方案依据菌株鉴定和药物敏感试验结果,可以制定出耐多药治疗方案,并严格实行归口管理,进一步减少 NTM 发生。

参考文献

[1] 全国结核病流行病学抽样调查技术指导组. 2000 年全国结核病流行病学抽样调查报告[J]. 中国防痨杂志, 2002, 24(2): 65-108.
[2] 全国第五次结核病流行病学抽样调查技术指导组. 2010 临床研究 •

年全国第五次结核病流行病学抽样调查报告[J]. 中国防痨杂志, 2012, 34(8): 485-508.
[3] 唐惠红, 何志青, 罗春明, 等. 广州市越秀区 2008—2011 年非结核分枝杆菌肺病临床特征及影响治愈因素分析[J]. 实用预防医学, 2015, 22(11): 1316-1322.
[4] 刘一典, 郝晓晖, 唐神结, 等. 非结核分枝杆菌 170 株耐药情况分析[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版), 2012, 6(19): 6018-6020.
[5] 郭明日, 张丽霞, 周洪经, 等. 非结核分枝杆菌肺病患者下呼吸道感染病原菌分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(20): 4641-4644.
[6] 吴海良, 扈广欣, 林爱清. 40 株非结核分枝杆菌菌种鉴定及其耐药情况分析[J]. 山东医药, 2014, 54(40): 44-45.
[7] 李哲明, 谭守勇, 邝浩斌, 等. 耐多药肺结核患者既往治疗情况对治疗效果的影响[J]. 广东医学, 2015, 36(20): 3169-3172.
[8] 郭晶, 施旭东, 张侠. 南京地区结核分枝杆菌耐药监测疫情趋势分析[J]. 临床肺科杂志, 2014, 19(7): 1267-1269.
[9] 周泐, 陈建波, 秦杰, 等. 深圳市 HIV 感染者结核分枝杆菌初始耐药谱分析[J]. 中国艾滋病性病, 2014, 20(7): 516-518.
[10] 韩珍, 李晓芬, 冷雪. 惠州市结核分枝杆菌的耐药状况及原因分析[J]. 现代预防医学, 2015, 42(10): 1850-1852.

(收稿日期: 2016-09-16 修回日期: 2016-11-17)

应用 CLSI EP12-A2 评价免疫-化学双联法检测粪便隐血试验准确度

郑惠心

(南昌市中西医结合医院检验科 350001)

摘要:目的 探讨美国临床实验室标准化协会(CLSI)EP12-A2 文件在免疫-化学双联法检测粪便隐血定性试验性能评价中的应用。**方法** 患者粪便标本用免疫-化学双联法试纸检测隐血, 结果与内窥镜镜检查比较, 评价其检测性能。**结果** 757 份粪便标本检测与内窥镜镜检查结果进行比对, 胶体金免疫法比化学法的灵敏度差, 但特异性度较好。当两者联合检测, 与内窥镜镜检查结果对比, 平行试验灵敏度、特异度、符合率分别为 98.1%、86.3%、92.2%, $\kappa=0.844$, 一致性为优; 系列试验灵敏度、特异度、符合率分别为 66.7%、96.0%、81.4%, $\kappa=0.627$, 一致性良好。**结论** 双联检测试验提高了诊断的特异性度, 也提高了和内窥镜镜检查结果的一致程度, 平行试验提高排除出血性疾病的灵敏度的同时, 未明显降低和内窥镜镜检查结果的一致性; 双联法检测隐血时, 应采用平行试验用于辅助诊断消化系统出血性疾病, 系列试验用于排除该类疾病。

关键词:大便潜血; 免疫法; 化学法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.08.052 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2017)08-1132-03

粪便隐血试验是粪常规检测项目, 是急、慢性消化道疾病所致出血的辅助诊断, 亦是消化道恶性肿瘤筛查的重要手段。依检测原理分化学法和免疫法两种定性检测法, 方法学本身的局限性导致两种检测方法的结果均可出现假阳性或假阴性。国产试剂盒品种繁多、应用广泛, 但制造商提供的性能指标却很有限, 真实性能成为检验与临床都关注的重点。美国临床实验室标准化协会(CLSI)EP12-A2 文件提供了成熟的评价定性试验分析性能的方案^[1], 本研究在评估两种粪便隐血检测方法(免疫-化学双联法)检测临界值(C50), 关键值 C5 及 C95。评价两种方法的重复性的基础上, 依照 EP12-A2 文件, 以两种粪便隐血检测方法检测患者标本结果作为实验方法, 以影像学检查(胃镜或者肠镜)结果作为对比方法, 评价实验室检测结果准确性, 并探讨检测的应用方式。临界值 C50 定义为多次重复检测时, 阴阳结果各 50% 的浓度, C5 与 C95 分别对应阳性结

果 5% 和 95% 时的标本浓度, 这 3 个浓度值是评价定性诊断试验盒重复性的最关键指标, 是评价检测准确度的前提。C50±20% 浓度范围与 C5、C95 的关系是衡量定性试剂盒检测灰区的关键。

1 材料及方法

1.1 标本来源 选取本院 2015 年 8 月至 2016 年 7 月患消化系统疾病并确诊有消化道出血的住院及门诊患者粪便标本 378 份为试验组, 其中 39 份为柏油样便标本; 选取经内窥镜镜检查确认无消化道出血的健康体检者以及无消化系统疾病的患者粪便标本 379 份为对照组。受检者年龄 18~69 岁, 性别不限。控制实验全程各质量环节, 如指导待检者正确采集标本、及时送检, 选用弱阳性质控品检测, 接收标本后尽快检测等。

1.2 试剂及材料 粪便隐血双联法(消康保粪便隐血双联检测试剂盒, 万华普曼生物工程有限公司)试剂及组分: 粪便隐血

免疫试纸条(金标法,批号 13010048)、化学法显色剂(有效成份为硫酸甲氨基酚,3%过氧化氢;批号 216081)。C50 评估标本制备:选取健康体检人员来源的乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝新鲜全血制备洗涤红细胞,使用血细胞分析仪检测血红蛋白,依检测结果调至血红蛋白浓度为 100 g/L,用血细胞分析仪配套溶血剂使其完全溶血。用生理盐水稀释溶血后标本,制备 0.04~0.40 mg/L 系列浓度的血红蛋白溶液。室内质量控制标本制备:以稍高于 C50+20%浓度的标本作为弱阳性质控品,分装置-80℃冰箱待用。

1.3 方法

1.3.1 室内质量控制 每批检测开始前检测自制质控品,质控品结果为阳性才进行后续检测。

1.3.2 C50 浓度的确定 检测说明书声称的灵敏度附近的前述 C50 测试标本各 20 次,进而评价两种方法的 C50。

1.3.3 隐血双联法检测患者标本 严格按试剂说明书操作,遵照说明书提供的判断方法判读结果。

表 1 不同浓度监测阳性率结果(n=20,%)

方法	浓度(mg/L)									
	0.04	0.08	0.12	0.16	0.20	0.24	0.28	0.32	0.36	0.40
免疫法	0	5	35	55	95	100	100	100	100	100
化学法	0	5	50	90	100	100	100	100	100	100

注:免疫法 C5、C50、C95 对应浓度 0.08、0.16、0.20 mg/L;化学法 C5、C50、C95 对应浓度 0.08、0.12、0.20 mg/L。

2.2 两种方法检测隐血与内窥镜结果比较 39 份柏油样便检测,化学法均为阳性,免疫法稀释前 11 份阳性,稀释后均阳性,两种方法阳性率比较,差异有统计学意义(P<0.05);757 份标本用两种隐血试验检测与消化内窥镜检查结果见表 2。

表 2 两种方法检测隐血与内窥镜结果比较(n=757)

结果		样本总数(n)	内窥镜(n)	
免疫法	化学法		阳性	阴性
阳性	阳性	267	252	15
阳性	阴性	44	42	2
阴性	阳性	112	77	35
阴性	阴性	334	7	327
合计		757	378	379

2.3 两种方法的一致性比较 和消化内窥镜检查结果相比,胶体金免疫法检测隐血的灵敏度为 77.8%[(252+42)/378],特异度为 95.5%[(35+327)/379],与内窥镜诊断符合率为 86.7%[(252+42+35+327)/757],kappa=0.733,一致性良好;化学法的灵敏度为 87.0%[(252+77)/378],特异度为 86.8%[(2+327)/379],与内窥镜诊断符合率为 86.9%[(252+77+2+327)/757],kappa=0.738,一致性良好。依 CLSI EP12-A2 文件提供的计算公式,计算两种方法灵敏度预测差值为-9.26%,95%CI 为(-14.8%,-3.64%);两种方法特异度的预测差值为 8.71%,95%CI 为(5.76%,12.1%)。当两者联合检测,与内窥镜检查结果对比,采用平行试验时,灵敏度为 98.1%[(252+42+77)/378],特异度为 86.3%(327/379),联合诊断的符合率为 92.2%[(252+42+77+327)/757],kappa=0.844,一致性为优;采用系列试验时,灵敏度为 66.7%(252/378),特异度为 96.0%[(2+35+327)/379],联合诊断的符合率为 81.4%[(252+2+35+327)/757],kappa=0.627,一致性良好。

3 讨 论

与确诊消化道出血的金标准(消化内窥镜检查)相比,粪便

1.3.4 特殊样本处理 柏油样大便及化学法强阳性而免疫法阴性的标本,用蒸馏水稀释 100 倍后再次检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行数据分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验;计数资料采用率(%)表示,比较采用 χ^2 检验,一致性检验采用 kappa 一致性检验,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两种不同方法不同浓度监测阳性率的比较 制备的系列浓度血红蛋白溶液用两种方法检测隐血试验阳性率,结果表明,该批号试剂免疫法 C50 浓度为 0.160 mg/L,C50+20%浓度为 0.192 mg/L,检测上限浓度为 1 000.000 mg/L,化学法 C50 为 0.120 mg/L,C50+20%浓度为 0.144 mg/L,测定上限约为 5.000 mg/L。两种方法 C50 较为接近,选择浓度为 0.240 mg/L 的标本作为室内质控检测用标本,此浓度大于两种方法的 C95 浓度,故可以得到稳定的分析结果。两种方法检测系列浓度血红蛋白溶液阳性率的结果见表 1。

隐血试验具有非侵入性检查、标本留取方便、检测快速、成本低廉等优势而容易被患者接受。化学法由于邻甲苯胺可与多种氧化剂反应导致特异度较差而影响诊断准确性,如消化不完全的动植物残留物可使隐血试验呈假阳性反应^[2],对照组化学法检测出现的假阳性反应,部分原因在此。服用维生素 C 等具有还原作用的药物,或因便秘、胃肠动力不足时出血在肠道中停留过久,或者出血量较少,血红蛋白被细菌降解也会导致假阴性。胶体金免疫法检测粪便隐血大多采用抗人血红蛋白或抗人红细胞基质抗体构建检测体系,一般认为免疫法特异度比化学法好,各种影响化学法检测的干扰因素不会影响检测^[2],邻甲苯胺化学法检测隐血属于高度灵敏的试验,可检出 0.2~1.0 mg/L 的血红蛋白^[3]。C50 浓度可大致反映出试剂灵敏度的差异,C50 浓度小的试剂对低浓度的标本检出能力强,检测灵敏度较高^[4],本研究中化学法和免疫法 C50 浓度分别为 0.12、0.16 mg/L,故两方法的检测灵敏度存在差异。

对照表 1,免疫法 C50±20% 的浓度(0.128、0.192 mg/L)包含于免疫法(C5、C95)之内,故本研究中免疫法检测灰区为 0.04~0.24 mg/L,化学法 C50±20% 的浓度(0.096、0.144 mg/L)包含于化学法(C5、C95)之内,故本研究中化学法灰区为 0.04~0.20 mg/L,待检标本浓度位于灰区之外,将获得稳定、可靠的诊断实验结果。制造商说明书声称检测敏感度为 0.20 mg/L,和研究中结果一致。

CLSI EP12-A2 定性试验性能评价方案因为纳入了灵敏度和特异度 95%CI 统计学原理,分析结果直观且更科学,不仅能提供方法间差异存在的证据,也能评估差异的大小和方向,进而评价方法的优劣。根据这一方案,两种检测隐血的方法灵敏度和特异度预测差值 95%CI 未包含 0;分析差异的方向,结果表明胶体金免疫法比化学法的灵敏度好,胶体金免疫法比化学法的特异度好。对 39 份柏油样大便稀释与不稀释进行检测的结果比较分析表明:柏油样大便 100 倍稀释后再检测,可避免钩状效应所致假阴性结果。免疫法对检测上消化道少量出血的患者可出现假阴性^[5],故单独进行免疫法检测时可能漏检,研究中 28 份柏油样便免疫法阴性以及 84 份内窥镜检查发

现出血点而免疫法为阴性部分原因可能在此。

24 h 胃肠道出血 >2 mL/d 视为病理性出血^[6], 隐血检测判断出现的方法过于敏感, 胃肠道少量出血可测出阳性结果。研究中在对照组 17 份免疫法阳性, 追踪患者病史, 9 份慢性浅表性胃炎, 2 份结肠息肉, 1 份服用糖皮质激素药物, 2 份有牙龈出血, 1 周后复查胃镜肠镜, 仍未见出血灶, 免疫法均为阴性; 3 份未找到原因, 复查免疫法仍为阳性; 化学法检出的 50 份阳性者, 29 份在标本采集前有食肉类或动物血或长期生食蔬菜习惯; 9 份慢性浅表性胃炎, 2 份结肠息肉, 1 份服用糖皮质激素药物, 2 份伴牙龈出血, 经控制饮食、用药后再次复查均为阴性; 另 7 份未找到明显的影响检测结果的因素。

与胃镜检查的结果相比, 联合检测时, 平行试验的灵敏度及一致性提高, 系列试验的特异度也提高, 但诊断一致率下降。提示了进行平行试验更有助于消化道出血性疾病的诊断, 系列试验则更有助于排除。本研究表明两种检测方法均存在影响因素, 联合检测在应用中要注意以下几个方面: (1) 免疫法阴性而化学法阳性时, 必须用蒸馏水稀释 10~100 倍后再进行免疫法检测; (2) 平行试验中单独化学法阳性时, 优先考虑假阳性的影响因素, 认真采集病史^[7], 排除可能导致假阳性的因素如饮食、用药、标本污染等; (3) 系列试验阴性, 基本能排除消化道出血, 但仍注意排除能导致假阴性的因素; (4) 注重病史采集及分析前的影响因素导致的双联检测阳性反应: 标本污染、牙龈出血、鼻衄下咽、痔疮出血等。

综上所述, 该双联检测试剂性能符合声称的最低分析浓度; 双联检测试剂的检测结果显示与消化内镜检查结果一致性较好; 双联检测的系列试验提高了诊断的特异度, 也提高了和內

• 临床研究 •

窥镜检查结果的一致性, 平行试验提高排除出血性疾病的灵敏度的同时, 未明显降低和內窥镜检查结果的一致度。双联法检测简便, 可作为一种筛查试验, 平行试验结果辅助诊断消化系统出血性疾病, 系列试验结果用于排除该类疾病。

参考文献

- [1] Nordin G. Before defining performance criteria we must agree on what a "qualitative test procedure" is[J]. Clin Chem Lab Med, 2015, 53(6): 939-941.
- [2] 鲍蕴文, 韦婕, 胡俊庭. 化学-免疫双联法检测粪便隐血的分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(S1): 21-24.
- [3] 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.
- [4] 黄惠, 黄宪章, 李强, 等. 应用 EP12-A2 评价 HBsAg 定性分析不精密度[J]. 临床检验杂志, 2011(4): 314-316.
- [5] 李冬梅. 便隐血胶体金检测应用中存在的问题与对策[J]. 中国误诊学杂志, 2006, 6(21): 4287-4288.
- [6] 吴鹏, 李艳, 陈进, 等. 联合免疫法和化学法检测粪便隐血的临床应用评价[J]. 检验医学, 2010, 25(3): 176-178.
- [7] Liu C, Chen T, Lin J, et al. Evaluation of the performance of four methods for detection of hepatitis B surface antigen and their application for testing 116, 455 specimens [J]. J Virol Methods, 2014, 196(21): 174-178.

(收稿日期: 2016-10-02 修回日期: 2016-12-11)

儿童过敏性紫癜凝血系列指标改变及早期抗凝治疗的意义

刘元梅¹, 郝冬荣²

(1. 河北省唐山市人民医院医疗集团开平医院儿科 063021; 2. 河北省唐山市

妇幼保健院肾脏风湿免疫科 063000)

摘要:目的 观察儿童过敏性紫癜患者凝血系列指标的改变情况, 统计早期抗凝治疗的效果, 分析抗凝治疗的意义。方法 选取 2014 年 1 月至 2016 年 12 月唐山市人民医院医疗集团开平医院收治的儿童过敏性紫癜患者 90 例作为研究对象, 再选取同期来该院健康体检的非过敏性紫癜健康儿童 80 例作为健康组, 对比两组研究对象的凝血指标异常情况; 将 90 例患儿随机分为试验组和对照组, 对照组患儿给予常规治疗, 试验组患儿在对照组治疗基础上给予早期抗凝治疗, 观察并对比两组患儿的 D-二聚体(DD)、凝血酶时间(TT)、凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血时间(APTT)、纤维蛋白原(Fbg)、抗凝酶Ⅲ(AFⅢ)以及血小板(PLT)等指标, 分析早期抗凝治疗儿童过敏性紫癜的临床意义。结果 儿童过敏性紫癜患者的 DD、TT、PT、APTT 及 Fbg 指标的异常率分别为 77.8%、72.2%、75.6%、76.7%、73.3%, 明显高于健康组儿童, 差异均具有统计学意义($P<0.05$)。试验组与对照组患儿治疗前 DD、TT、PT、APTT、Fbg、AFⅢ及 PLT 指标比较差异无统计学意义($P>0.05$), 治疗后试验组 DD、TT、PT、APTT、Fbg、AFⅢ及 PLT 指标与对照组比较, 差异具有统计学意义($P<0.05$), 试验组和对照组治疗前后 DD、TT、PT、APTT、Fbg、AFⅢ及 PLT 指标组内比较, 差异均具有统计学意义($P<0.05$)。试验组患儿治疗半年后的复发率为 8.9%, 对照组患儿治疗半年后的复发率为 17.8%, 两组患儿复发率比较差异具有统计学意义($P<0.05$)。结论 儿童过敏性紫癜患者的凝血系列指标发生改变, 采取早期抗凝治疗能够有效改善凝血相关指标, 降低复发率, 具有一定的临床意义。

关键词: 儿童过敏性紫癜; 凝血系列改变; 早期抗凝; 临床意义

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.08.053

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)08-1134-03

儿童过敏性紫癜又称出血性毛细血管中毒症, 是一种比较常见的微血管变态反应性出血性疾病, 主要致病因素包括感染、食物过敏、药物过敏、花粉、昆虫咬伤等。最近几年随着生活环境和生活方式的改变, 儿童过敏性紫癜的发病率呈显著上升趋势, 严重影响患儿的健康及生活质量^[1-3]。目前针对儿童过敏性紫癜研究重点集中在免疫机制异常方面, 缺乏对凝血机制异常的研究, 本研究为了深入研究儿童过敏性紫癜凝血机制

异常, 选取部分患者作为研究对象进行临床研究, 同时探讨早期抗凝治疗的临床意义, 现将研究结果总结报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 1 月到 2016 年 12 月唐山市人民医院医疗集团开平医院收治的儿童过敏性紫癜患者 90 例作为研究对象, 其中男 50 例, 女 40 例, 年龄 2~16 岁, 平均 (6.3 ± 2.5) 岁; 再选取同期来该院检查的非过敏性紫癜的健康