

[12] Yun SM, Cho JE, Ju YR, et al. Molecular epidemiology of Japanese encephalitis virus circulating in South Korea, 1983 – 2005 [J]. Virology, 2010, 7(16):127.

[13] Wang HY, Gao XY, Song LZ, et al. Isolation and identification of Japanese encephalitis virus firstly in Shandong province [J]. Zhongguo Yi Miao He Mian Yi, 2009, 15(4):337-340.

[14] Zhang JS, Zhao QM, Zhang PH, et al. Genomic sequence of a Japanese encephalitis virus isolate from southern China [J]. Arch Virol, 2009, 154(7):1177-1180.

[15] 姜红月, 李铭华, 杨小兵, 等. 湖北省新分离的 2 株乙型脑炎病毒全基因组序列特征分析 [J]. 中华预防医学杂志, 2010, 44(50):438-443.

[16] Yoshida Y, Tabei Y, Hasegawa M, et al. Genotypic analysis of Japanese encephalitis virus strains isolated from swine in Tokyo, Japan [J]. Jpa J Infect, 2005, 58(62):259-261.

[17] Okuno Y, Okuda T, Kondo A, et al. Immunotyping of different strains of Japanese encephalitis virus by antibody-absorption, haemagglutination-inhibition and complement-fixation test [J]. Bulletin of World Health Organization, 1968, 212(14):547-563.

[18] Ni H, Chang GJJ, Xie H, et al. Barrett ADT(1995) molecular basis of attenuation of neurovirulence of wild-type Japanese encephalitis virus strain SA14 [J]. J Gen Virol, 2008, 76(21):409-413.

[19] Chambers TJ, Droll DA, Jiang X, et al. Nakayama/JE SA14-14-2 virus structural region intertypic viruses; biological properties in the mouse model of neuroinvasive disease [J]. Virology, 2007, 366(35):51-61.

[20] Zhao Z, Date T, Li Y, et al. Characterization of the E-138 (Glu/

Lys) mutation in Japanese encephalitis virus by using a stable, full-length, infectious cDNA clone [J]. J Gen Virol, 2005, 86(42):2209-2220.

[21] Tajima S, Nerome R, Nukui Y, et al. A single mutation in the Japanese encephalitis virus E protein (S123R) increases its growth rate in mouse neuroblastoma cells and its pathogenicity in mice [J]. Virology, 2010, 396(67):298-304.

[22] Hung JJ, Hsieh MT, Young MJ, et al. An external loop region of domain III of dengue virus type 2 envelope protein is involved in serotype-speci? binding to mosquito but not mammalian cells [J]. J Virol, 2004, 78(9):378-388.

[23] Lee E, Lobigs M. Mechanism of virulence attenuation of glycosaminoglycan-binding variants of Japanese encephalitis virus and murray valley encephalitis virus [J]. J Virol, 2002, 76(62):4901-4911.

[24] Schuh AJ, Li L, Tesh RB, et al. Genetic characterization of early isolates of Japanese encephalitis virus; genotype II has been circulating since at least 1951 [J]. J Gen Virol, 2010, 91(8):95-102.

[25] Mohammed MA, Galbraith SE, Radford AD, et al. Molecular phylogenetic and evolutionary analyses of muar strain of Japanese encephalitis virus reveal it is the missing fifth genotype [J]. Infect Genet Evol, 2011, 71(24):2311-2320.

[26] Wang. HY, Takasaki T, Fu SH. Molecular epidemiology of Japanese encephalitis virus in China [J]. Virology, 2007, 88(14):885-894.

(收稿日期:2011-02-16)

• 综 述 •

使用尿液流式分析仪 UF-1000i 进行尿液检测的研究进展

何雨峰¹综述,赵克斌^{2△},杨泽华²,李 浩²审校
(1. 山西医科大学研究生学院,太原 030001;2. 山西医科大学附属第一医院,太原 030001)

关键词:泌尿道感染; 尿液流式细胞仪; 细菌培养
DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 18. 021 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2011)18-2092-03

尿液检测以其简便、快捷、标本易得而被临床广泛应用,是目前检验科三大常规检查项目之一,能为临床提供丰富的信息。如今多数实验室对于尿液中有形成份的分析采用尿沉渣显微镜检测、尿干化学法、尿细菌培养以及尿液流式细胞分析。尿沉渣显微镜检测虽然被视为尿沉渣检测的金标准,但受检测者的主观因素影响较大,结果判断不一致,可比性差且费时费力^[1]。干化学法灵敏度较高,但受多种物质干扰,假阳性和假阴性较多^[2]。为了提高尿液检测的准确性和提高效率,流式细胞分析应运而生。UF-1000i 全自动尿液流式细胞仪是日本希森美康医用电子有限公司继 UF-50、UF-100 和 UF-100i 后于 2005 年推出的一套较先进的尿液有形成份分析系统,其以简便、快速、有效的特点受到临床工作者的青睐^[3]。

1 UF-1000i 的工作原理

UF-1000i 的分析原理是用红色半导体激光束照射染色后在鞘流贯流分析池中形成的鞘流样本,并通过对各粒子产生的前向散射光、侧向散射光以及侧向荧光信号转换成的光电信号进行分析,从而对各个粒子进行识别。

1.1 流式细胞计数技术 UF-1000i 利用鞘流机制使染色后的标本形成细胞流,确保尿液中的细胞成份始终以单队列穿过检测系统并处于悬浮状态。在红色半导体激光束的照射下,每个尿细胞都将暴露在高度密集的激光束下,单个细胞会按不同角度发出荧光和散射光。从前向散射光中获得细胞大小的信息,从侧向散射光中获知细胞表面和胞质内的性状的信息,从荧光强度可以获知细胞核的性状(核糖核酸和脱氧核糖核酸的数量)。

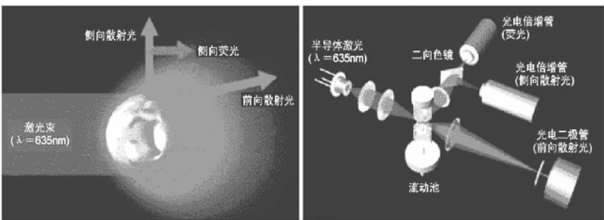


图 1 UF-1000i 半导体激光技术和核酸染色技术原理图

1.2 荧光染色技术 UF-1000i 具有两种荧光染料,一种是

△ 通讯作者, E-mail: syyyjygzkb@sina. com.

0.01% 的特异性核酸染料,主要针对的是细菌的 DNA/RNA^[4],当样本进入细菌通道后,对其进行荧光染色;另一种是 0.01% 的聚甲炔荧光染料,为沉渣通道专用,对白细胞、似酵母细胞及其尿液中其他颗粒的细胞膜进行染色。新鲜的尿液标本自动混匀、吸样(手动模式 0.8 mL,自动模式 1.2 mL),然后在两个专用通道中各自进行荧光染色。

1.3 半导体激光技术 UF-1000i 使用带有稳定波长、高能量和高度方向性的红色半导体激光束(波长:636 nm)作为其光源,大大地减小了激光的大小并且节约了电功率。激光束从垂直方向照射,在聚光器透镜系统集中形成一个光点,然后该光点集中照射在贯流分析池中的单个尿细胞上,形成单个细胞的前向散射光、侧向散射光、侧向荧光。这些光信号通过光电二极管或光电倍增管转化为电信号后被系统检测。散射光或荧光强度和脉冲宽度组合后生成二维散点图和直方图,从而分析各有形成份含量^[5]。见图 1。

2 UF-1000i 性能分析

UF-1000i 具有专用的细菌检测通道,提供前向和侧向散射光信息,为尿液检测提供更加准确的结果^[6]。其具有省时、精密性、自动化、标准化等优点,已广泛地应用于临床实验室自动检测尿沉渣的实验中。同时有多位学者已对 UF-1000i 的性能作出了评价。Okada 等^[7]利用标准菌株大肠埃希菌(ATCC11775)、金黄色葡萄球菌(ATCC29213)、粪场球菌(ATCC29212)制成菌悬液,对 UF-1000i 进行评价。其中吸样 6 μ L 时,变异系数从 7.6%(大肠埃希菌)到 11.2%(金黄色葡萄球菌)。用同样的菌悬液做细菌培养,其变异系数由 27.8%(大肠埃希菌)到 62.6%(金黄色葡萄球菌),两者相比,UF-1000i 的精密度明显优于培养法。线性范围细菌为 $10^3 \sim 10^7$ /mL,白细胞为 3 00 $\sim$ 2 500/ μ L,也优于其他检测方法。用 74 例患者标本进行相关性评价,即使在浓度低至 10^3 cfu/mL 时,UF-1000i 也能检测得到准确的结果。Wang 等^[8]用患者标本采用 UF-1000i 对变异系数(红细胞 3.5% $\sim$ 5.3%,白细胞 1.7% $\sim$ 8.9%,细菌 4.7% $\sim$ 15.2%,管型 8.4% $\sim$ 16.0%,上皮细胞 4.8% $\sim$ 19.7%)、相关系数、携带污染率(红细胞、白细胞、上皮、管型和细菌分别为 0.07%、-0.03%、-0.02%、0.49%和 -0.04%)、抗干扰性进行性能评价,表明此仪器有良

好的精密度、准确度、线性、阻止携带污染率和抗干扰性。还有众多学者也认为该仪器的性能优良,可用于临床实验室对尿路感染的快速诊断^[9-11]。

3 UF-1000i 在诊断尿路感染中的应用

尿路感染(urinary tract infection, UTIs)是一种较为常见的感染性疾病,具有较高的发病率。大约有 50% 的女性在一生中至少有一次尿道感染,而其中 25% 的患者在随后的 6 个月内会再次感染^[12]。据统计,尿路感染不仅在发病率上仅次于肺炎而位居第二,而且治疗费用和严重程度也是如此^[13]。尿路感染的症状表现为尿急、尿频、尿痛甚至全身感染为临床特征的感染性疾病,严重危害人类健康和生活质量,因此及时、准确的诊治尤其重要。临床上对尿路感染诊断的金标准仍然是尿液培养^[14]。但尿液细菌培养操作费时,结果报告时间较长,分析前如果处理不当可能造成培养结果的假阳性或假阴性,并且有些细菌培养较为困难^[15]。UF-1000i 在 1 h 内至少能检测 100 份尿液样本,并且尿液不用离心,保证了尿液中有形成份的完整性,已被临床科室用于尿路感染的快速诊断^[7]。

3.1 Cut Off 值的确立 用 UF-1000i 快速、准确地诊断尿路感染,应该确立临界值(Cut Off)。为了获得 Cut Off 值,实验者选择绘制 ROC 曲线(受试者工作特征曲线)得出了不同的临界值,实验的评价指标也出现了差异(见表 1),这说明了 Cut Off 值的确立和疾病的患病率、金标准的性能、人群分布情况及所用方法的性能有着密切的关系^[19]。作为金标准的实验如果有一定的缺陷,那么由此所得到的 Cut Off 值似乎也存在问题。

3.2 尿路感染正常参考区间的建立 根据国际临床化学和检验医学联合会(IFCC)的规定,推荐所有临床实验室建立自己的参考区间^[20]。国际标准化组织在 ISO 15189:2003 中提到当实验室改变检验项目的操作步骤或者检验前准备程序时,如有必要,也要重新修订参考区间^[21]。实验室在用 UF-1000i 诊断尿路感染时,也应该重新建立参考区间。研究者们均用 UF-1000i 为尿液中有形物质建立了参考区间,各参数的参考区间随着年龄、性别的不同而发生了变化(见表 2)^[22-23]。所以,每个实验室为 UF-1000i 建立参考区间更可以提高 UF-1000i 的性能。

表 1 不同实验者确立的 Cut Off 值

姓名	细菌临界值	特异度(%)	灵敏度(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)	尿液培养阳性标准
Barbara 等 ^[16]	65/mL	62.1	98.2	53.7	98.7	10^4 /mL
Fabio 等 ^[17]	125/ μ L	87.0	79.0	72.0	92.0	10^5 /mL
Rosa 等 ^[18]	170/ μ L	98.8	76.5	59.2	99.5	10^7 /mL
Wang 等 ^[8]	100/ μ L	86.0	95.0	91.0	94.0	10^5 /mL

表 2 UF-1000i 建立的尿液主要参数的参考区间(上限)(单位: μ L)

年龄(岁)	男性					女性				
	红细胞	白细胞	上皮细胞	管型	细菌	红细胞	白细胞	上皮细胞	管型	细菌
7 $\sim$ 15	11.6	5.8	4.8	0.27	3.4	19.1	9.2	7.7	0.25	34.8
$\leq$ 39	7.9	10.3	7.6	2.80	8.6	30.7	39.0	45.6	2.4	452.8
40 $\sim$ 49	13.0	9.5	5.9	2.30	13.6	25.8	43.9	52.3	2.5	454.1
50 $\sim$ 59	13.1	7.4	5.1	2.21	11.2	30.9	27.0	39.2	2.13	313.2
$\geq$ 60	15.0	9.7	5.5	1.65	11.5	34.0	36.2	24.0	2.05	139.8

4 小 结

综上所述,UF-1000i 准确度高、精密度好、操作简便、快

速,适用于临床检验,有很高的临床应用价值。为了提高全自动尿液分析仪 UF-1000i 诊断实验的准确性,每个实验室应建

立 UF-1000i 参考区间。相信随着以后检验技术的发展和现代科学技术的发展,对标准化实验室管理的要求,UF 系列将成为尿路感染诊断的有力手段。

参考文献

[1] Delanghe JR, Kouri TT, Huber AR, et al. The role of automated urine particle own cytometry in clinical practice[J]. Clin Chim Acta, 2000, 301(41): 1-18.

[2] 顾可梁. 尿有形成份的识别与检查方法的选择[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 28(9): 572-575.

[3] Santra J, Eeva LP, Pauliina K, et al. Screening of urine samples by flow cytometry reduces the need for culture[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(9): 3117-3121.

[4] Maarten B, Semiha B, Huib L, et al. Screening for urinary tract infection with the Sysmex UF-1000i urine flow Cytometer[J]. J Clin Microbiol, 2008, 63(14): 282-300.

[5] Nanos NE, Delanqhe JR. Evaluation of Sysmex UF 1000i for use in cerebrospinal fluid alysis[J]. Clin Chem Acta, 2008, 392(24): 30-33.

[6] Wang J, Zhang Y, Xu D, et al. Evaluation of the Sysmex UF-1000i for the diagnosis of urinary tract infection[J]. Am J Clin Pathol, 2010, 133(3): 577-582.

[7] Okada H, Horie S, Inoue J, et al. The basic performance of bacteria counting for diagnosis of urinary tact infection using the fully automated urine particle analyzer UF-1000i[J]. Sysmex J, 2007, 30(6): 95-103.

[8] Wang J, Zhang Y, Xu DW, et al. Evaluation of the Sysmex UF-1000i for the diagnosis of urinary tract infection[J]. Am J Clin Pathol, 2010, 133(12): 577-582.

[9] Tang J, Peisong C, Juan O, et al. Urine particles analysis: performance evaluation of Sysmex UF-1000i and comparison among urine cytometer, dipstick, and visual microscopic examination[J]. Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation, 2011, 71(6): 30-37.

[10] 赖利华, 邓济蛙, 彭楷, 等. Sysmex UF-1000i 尿液有形成份分析仪的性能评价[J]. 重庆医学, 2009, 38(19): 2404.

[11] 黄松音, 胡俊庭, 林海雄, 等. UF-1000i 全自动尿沉渣分析仪的应用评价[J]. 中国医药导刊, 2009, 11(8): 1352-1353.

[12] Nys S, Mcrode T, Bartelds C, et al. Urinary tract infections in general practice patients: diagnostic tests versus bacteriological

culture[J]. J Antimicrob Chemother, 2006, 57(17): 955-958.

[13] Inan D, Saba R, Gunseren F, et al. Daily antibiotic cost of nosocomial infections in a Turkish University Hospital[J]. BMC Infect Dis, 2005, 5(5): 1-6.

[14] Graham JC, Galloway A. The laboratory diagnosis of urinary tract infection[J]. J Clin Pathol, 2001, 54(12): 911-919.

[15] Manoni F, Valverde S, Antico F, et al. Field evaluation of a second-generation cytometer UF-100 in diagnosis of acute urinary tract infections in adult patients[J]. Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2002, 8(6): 662-668.

[16] Barbara P, Pietro B, Beatrice P, et al. Bacteriuria and leukocyturia: the role of automated flow cytometry compared with urine culture[J]. J Clin Microbiol, 2009, 23(11): 84-86.

[17] Fabio M, Lucia F, Mauro E, et al. Cut Off values for bacteria and leukocytes for urine flow cytometer Sysmex UF-1000i in urinary tract infections[J]. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2009, 65(14): 103-107.

[18] Rosa R, Shamanta G, Graziano B, et al. Evaluation of the Sysmex UF1000i cytometer for ruling out bacterial urinary tract infection [J]. Clinica Chimica Acta, 2010, 86(411): 1137-1142.

[19] Regeniter A, Haenni V, Risch L, et al. Urine analysis performed by flow cytometry: reference range determination and comparison to morphological findings, dipstick chemistry and bacterial culture [J]. Clin Nephrol, 2001, 55(5): 384-392.

[20] International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), International Committee for Stalndardization in Haematology. Approved recommendation(1986) on the theory of reference values[J]. Clin Chim Acte, 1987, 165(22): 111-118.

[21] Iternational Organization for Standardization. Medical laboratories-particular requirements for quality and competence[S]. ISO 15189. Geneva ISO; 2003.

[22] Shigeru T, Hajime Y, Astuko Y, et al. Evaluation study for reference intervals of urine sediments using UF-1000i in medical checkup population[J]. Sysmex J, 2008, 31(6): 82-86.

[23] Mayumi T, Youko N, Junko F, et al. Evaluation study for reference interval of UF-1000i using urine specimens from schoolchildren[J]. Sysmex J International, 2009, 19(2): 433-440.

(收稿日期: 2011-03-21)

• 综 述 •

转化医学在国内外的发展现状

刘小荣¹, 张 笠¹综述, 王勇平², 陈根元³审校

(1. 甘肃省第二人民医院检验科, 兰州 730020; 2. 上海交通大学附属第六人民医院骨科 200023; 3. 兰州大学附属第一医院骨科 730000)

关键词: 临床医学; 实验室; 研究; 转化医学; 基础医学

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 18. 022

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)18-2093-04

转化医学(translational medicine, TM), 也叫转化研究(translational research or translational study)或临床转化科学(clinical and translational science), 是进入 21 世纪以来国际生物医学及健康领域出现的新概念, 指以患者为中心, 从临床工作中发现和提出问题, 由基础研究人员进行深入研究, 然后再将基础科研成果快速转向临床应用, 基础与临床科技工作者密切合作, 以提高医疗总体水平。转化医学是医学研究的一次伟

大革命, 转化医学概念一经提出, 就引起基础医学、临床医学、预防医学和生物制药界, 以及医学科技规划与管理等领域的极大关注, 已经成为全球医学研究的一个新的起点和着力点。

1 概 述

1.1 转化医学的概念及演化 1992 年美国《Sciece》杂志首次提出从实验室到病床(bench to bedside)的概念^[1]。1994 年开始出现转化研究(translational study or translational research)