续表 4 检测项目携带污染统计表(%)

项目	携带污染率	要求	结论
Urea	-0.05	1	合格
UA	-0.07	1	合格
Cr	-0.06	1	合格
TP	0.02	1	合格
ALB	0.14	1	合格
TBIL	0.03	1	合格
ALT	-0.02	1	合格
AST	0.03	1	合格
ALP	0.13	1	合格
γ-GT	0.05	1	合格

3 讨论

CNAS-CL02 之 5.3.2 要求“设备(在安装时及常规使用中)应显示出能够达到规定的性能标准”,《医疗机构临床实验室管理办法》第 24 条要求“医疗机构临床实验室应当保证检测系统的完整性和有效性”,《全国临床检验操作规程(第 3 版)》中也对上述要求作了进一步阐述,“检测系统中的任何 1 个组合都可能对检验结果产生影响,因而,其任何改变(仪器、试剂、校准品、质控品的更换等)都可能反映在检验结果上”,本研究中的 BS-800 全自动生化检测系统为新购、使用非配套质控品,基于上述因素,进行性能验证及临床应用评估显得十分必要。

正确度验证,王萌等^[2]、张艳果等^[3]采用 EP9-A2 方案,即采用试验仪器与对照仪器进行比对,计算偏倚,以评价试验仪器的正确度。其操作需有性能可靠的对照仪,优势为数据获得直接,周期短。本研究借鉴张秀明^[4]推荐方法,采用 CLSI EP15-A2 方案,采用湖北省 EQA 反馈数据,直接进行误差评估,评价较为客观,但周期较长,适于没有目标仪器进行比对验证的医疗机构。

精密度试验是评价仪器随机误差大小的重要环节,采用批内、总 CV 评价。批内使用混合血清标本、总 CV 使用室内质控数据,材料与人员成本相对较低,方法简洁明了,既满足要求。
• 临床研究 •

求,又能真实反映检测运行状况。

分析范围内线性试验是性能验证的重要指标。其可评价该试剂盒线性范围是否适用于临床(是否覆盖项目的医学决定水平和常见疾病的检测值)。本研究基于平均斜率法的原理,采用简易的 3:2:1 体积比混合血清法;采用 EXCEL 的绘图功能,对理论预期值与实测值作线性分析,操作简单,图表直观便于判读。

本次对携带污染率仅作高值标本对低值标本的影响分析,获得结果较为理想,但未涉及低值对高值影响、仪器运行一段时间后的污染来源分析等,有待进一步观察。

参考区间是解释检验结果、分析检验信息的基本尺标,是临床判断受试者健康与否的依据,实验室须保证向临床提供的参考区间正确实用,否则会导致漏诊、误诊^[5]。本研究引用行业标准或《全国临床检验操作规程(第 3 版)》中提供的参考区间数据,结合仪器试剂说明书给出的参考范围,按照指南相关方案进行验证,本研究试验证实 BS-800 全自动生化检测系统提供的参考范围能够满足要求。

通过统计分析,该仪器检测系统的正确度、精密度、分析范围内线性、携带污染率等符合要求,生物参考区间通过验证。表明该仪器能达到检测要求,能满足临床需要。

参考文献

- [1] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2006:546.
- [2] 王萌,郭芷萱,谢楠,等. 国产大型生化分析仪——迈瑞 BS-800 性能验证及临床应用评价[J]. 中国医学装备杂志,2011,8(4):29.
- [3] 张艳果,唐爱国,李建忠,等. Beckman AU5800 生化分析仪性能评价[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(24):3394.
- [4] 张秀明. 浅析定量检验程序分析性能验证实验方案设计[J]. 中华检验医学杂志,2015,38(6):428-430.
- [5] 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,2003.

(收稿日期:2016-04-05 修回日期:2016-06-11)

肝炎后肝硬化患者凝血功能和 D-二聚体检测分析

王宝涛

(河南省直第三人民医院检验科,郑州 450000)

摘要:目的 探讨肝炎后肝硬化患者的凝血功能和 D-二聚体(D-D)水平变化,以及与 Child-Pugh 肝功能分级的关系。
方法 收集该院患者 80 例作为观察组,选取同时期 80 例健康成人作为健康对照组。检测 2 组研究对象的凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、血浆 D-D 及纤维蛋白原定量(Fbg)的变化情况及与不同肝功能分级的相关性。
结果 观察组患者 PT、TT、APTT 时间较健康对照组延长,D-D 水平较健康对照组升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。观察组 Fbg 水平较健康对照组下降,差异有统计学意义($P < 0.01$);随 Child-Pugh 分级的增加,观察组 PT、TT、APTT 时间延长、D-D 水平升高,Fbg 水平下降,差异有统计学意义($P < 0.01$)。
结论 凝血功能障碍是肝炎后肝硬化患者最重要的临床表现,通过检测 PT、TT、APTT、Fbg 及血浆 D-D 的变化,可有效判断肝功能损害程度,具有临床意义。

关键词:肝炎后肝硬化; 凝血功能; D-二聚体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.20.040

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)20-2899-03

肝炎后肝硬化可引起肝功能损害,是临床最主要的肝脏疾

病之一。并发肝硬化时,肝细胞广泛纤维性坏死,肝细胞结节

性再生,纤维组织增生及纤维化共同作用造成体内凝血系统和纤维系统失去平衡,出现凝血指标异常^[1]。随着肝硬化的进展,肝功能逐渐受损,凝血因子合成大量降低,进一步导致凝血功能障碍^[2]。现分析肝炎后肝硬化患者凝血功能和 D-二聚体(D-D)水平的变化,以及与 Child-Pugh 肝功能分级的相关性。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集该院 2015 年 1 月至 2016 年 4 月临床收治的肝炎后肝硬化患者 80 例作为观察组,男 52 例,女 28 例,年龄 32.5~56.8 岁,平均年龄(45.5±2.5)岁。Child-Pugh 肝功能分级:A 级 22 例,B 级 31 例,C 级 27 例。患者无其他原因导致的肝硬化、血液系统疾病、血栓栓塞性疾病、肝癌等,且均符合 Child-Pugh 分级标准^[3]。随机抽取同时期 80 例健康成人作为健康对照组,男 48 例,女 32 例,年龄 30.5~60.8 岁,平均年龄(42.5±3.5)岁。2 组研究对象的性别、年龄等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法 仪器采用日本 Sysmex 公司生产的 CA-500 全自动凝血分析仪及配套试剂盒,检测方法严格按照产品说明书进

行操作。受检者于清晨 6:00 空腹经肘正中静脉抽血 2.7 mL,加入含 3.2%枸橼酸钠(抗凝剂与血样比例为 1:9)的抗凝管中,立即 180°轻轻颠倒混匀 5~6 次,操作过程保证标本和试剂的充分混匀,避免污染。3 000 r/min 离心 10 min 后取血浆上机进行检测,操作环境温度为 0~37 °C。凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)采用凝固法,Fbg 使用 Clauss 法,D-D 应用免疫比浊法。

1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较使用 t 检验,计数资料组间比较应用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

观察组患者 PT、TT、APTT 时间较健康对照组延长,D-D 水平较健康对照组升高,差异有统计学意义($P<0.01$)。观察组 Fbg 水平较健康对照组下降,差异有统计学意义($P<0.01$)。随着 Child-Pugh 肝功能分级的增加(Child A~C 级),观察组患者 PT、TT、APTT 时间延长,D-D 升高,Fbg 下降,差异有统计学意义($P<0.01$)。见表 1、2。

表 1 2 组研究对象的凝血功能检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	PT(s)	TT(s)	APTT(s)	D-D(mg/L)	Fbg(g/L)
观察组	80	19.36±3.52	21.76±3.18	46.12±8.13	1.56±0.41	1.73±0.87
健康对照组	80	11.65±2.13	15.28±1.86	31.27±5.84	0.04±0.02	2.85±0.64
P		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

表 2 观察组患者肝功能分级与凝血功能、D-D 的关系($\bar{x}\pm s$)

肝功能分级	n	PT(s)	TT(s)	APTT(s)	D-D(mg/L)	Fbg(g/L)
Child A	22	14.96±1.51	17.34±2.68	38.76±5.25	0.68±0.26	2.45±1.03
Child B	31	18.52±3.24	20.69±2.91	45.29±8.72	1.12±0.38	1.86±0.86
Child C	27	25.95±4.17	26.87±3.85	59.83±9.87	2.04±0.87	1.27±0.65
P		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

3 讨论

肝脏是机体最大的实质脏器和消化腺,是维持凝血系统和纤溶系统动态平衡的重要器官。肝脏不但能合成多种凝血因子和纤溶因子,还能灭活活化的凝血因子和纤溶激活物。感染肝炎病毒后,肝硬化的发病率升高且治疗效果较差,但其发病机制仍不明确^[4]。肝硬化是肝脏各种慢性疾病的终末阶段,是不可逆的病理改变。肝炎并发肝硬化时,由于正常的肝细胞遭到破坏,导致凝血因子减少,凝血系统和纤溶系统失去平衡,进而出现各种凝血功能异常。当肝脏凝血因子减少时,可导致肝内出血。出血是肝炎后肝硬化较常见的并发症,也是肝硬化患者病死的主要原因之一^[5]。根据患者是否伴有腹腔积液、肝性脑病、PT、血清胆红素、血清清蛋白等,将肝炎后肝硬化分为 Child A、B、C 3 个等级,已得到临床广泛认可。

PT、TT、APTT、血浆 D-D 及 Fbg 是检查机体凝血功能的重要指标,其检测水平的变化及肝功能受损程度和肝硬化病情发展密切相关。PT 反映外凝血功能,APTT 反映内凝血功能,TT 反映血浆纤维蛋白及肝素样物质水平,Fbg 是具有凝血功能的蛋白质。D-D 是交联纤维蛋白的降解产物,其在纤维蛋白降解的早期即可被检测,被认为是纤维蛋白降解的特异性标志物^[6]。D-D 水平升高反映继发性纤溶活性增强,是肝硬化患者

门静脉血栓的潜在标志物之一。当肝脏功能受损时,可引起 TT 及 Fbg 的变化。本研究结果表明,观察组患者 PT、TT、APTT 时间较健康对照组显著延长,D-D 水平较健康对照组升高,Fbg 水平下降,差异均有统计学意义($P<0.01$),与其他报道相符^[1,7]。林莎等^[8]研究报道,当患者伴有腹腔积液时,PT、TT、APTT 时间明显延长,说明腹腔积液的肝硬化患者有更严重的凝血功能障碍。本研究未对有无腹腔积液患者的凝血功能做相关统计,还有待其他同行进一步研究。本研究结果显示,随着肝损害的加重、Child-Pugh 分级的增加,观察组患者 PT、TT、APTT 时间逐渐延长,D-D 水平逐渐升高,Fbg 逐渐下降,说明各种危险因素共同作用加剧肝硬化患者肝脏损伤程度。

综上所述,肝炎后肝硬化存在明显的凝血功能障碍,其严重程度与肝功能损害程度呈正相关关系。通过检测 PT、TT、APTT、Fbg 及血浆 D-D 的变化,可有效判断肝功能损害程度,对肝硬化的病情评估起着重要的临床作用。

参考文献

[1] 胡晓,程超,冯立民.乙型肝炎后肝硬化患者凝血功能和血浆 D-二聚体水平与 Child-Pugh 肝功能分级的关系分

- 析[J]. 现代检验医学杂志, 2013, 28(2): 60-62.
- [2] 王莉娟, 吴金明, 余震, 等. 肝炎后肝硬化失代偿期住院患者营养状况分析[J]. 现代实用医学, 2012, 24(7): 796-797.
- [3] 徐黎. 乙型肝炎后肝硬化患者医院感染临床分析与护理干预[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(1): 103-105.
- [4] 闫兰菊. 替比夫定治疗失代偿期乙型肝炎肝硬化的疗效分析[J]. 河南医学研究, 2014, 23(4): 58-59.
- [5] 孙玉洁, 吴兵, 金雪琴, 等. 肝炎后肝硬化患者 D-二聚体、血小板相关免疫球蛋白 G 变化及临床意义[J]. 中国血液流变学杂志, 2014, 24(1): 66-69.
- [6] 李玉梅, 刘然, 卜凡叶, 等. 肝炎后肝硬化与酒精性肝硬化 D-二聚体测定分析[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2012, 33(6): 740.
- [7] 刘同丽. 乙型肝炎肝硬化患者凝血功能与 Child-Pugh 肝功能分级的关系[J]. 河南医学研究, 2015, 24(3): 88-89.
- [8] 林莎, 祁晓婷, 毛卫林, 等. 血浆 D-二聚体及凝血指标在肝硬化、肝癌患者中的应用价值[J]. 实验与检验医学, 2011, 29(3): 279-280.

(收稿日期: 2016-04-16 修回日期: 2016-07-13)

• 临床研究 •

利福平耐药实时荧光定量核酸扩增技术检测 333 例肺结核患者痰标本的结果分析

林日文, 李 静[△]

(广东省惠州市结核病防治研究所检验科 516008)

摘要:目的 探讨采用利福平(RFP)耐药实时荧光定量核酸扩增技术(Xpert MTB/RIF)检测肺结核患者痰标本的结果并进行分析。方法 选择 2015 年 1~12 月该所就诊的肺结核患者痰标本 333 例, 分别进行抗酸染色涂片镜检、Xpert MTB/RIF、传统罗氏培养法检测, 使用 Xpert MTB/RIF 检测痰标本的结核分枝杆菌(MTB)和 RFP 耐药的敏感度和特异度, 并与传统罗氏培养法检测结果进行一致性比较。结果 Xpert MTB/RIF 检测 MTB 的敏感度为 93.6%, 特异度为 92.0%, 2 种方法进行 Kappa 检验, Kappa=0.82, 具有良好的一致性; RFP 耐药的敏感度和特异度分别为 78.6% 和 93.4%, 2 种方法的 Kappa=0.78, 具有良好的一致性。结论 应用 Xpert MTB/RIF 检测肺结核患者痰标本, 检测速度快, 准确性高, 快速获得患者是否耐药的结论, 可指导临床准确用药, 值得临床应用和推广。

关键词:肺结核; 利福平; Xpert MTB/RIF 检测技术

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.20.041

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)20-2901-02

我国属于全球 22 个结核病高负担国家之一, 患者数据居全球第 2 位^[1]。结核病疫情具有高患病率、高耐药率、高感染率的特点。广东地区人口流动性大, 外来人口多, 结核病疫情尤为严峻。目前结核病比较突出的问题是患者产生耐药性, 治疗效果差。如何早期发现患者对抗结核药产生耐药性是临床面临的挑战。耐多药结核病是指至少对抗结核药物中异烟肼(INH)和利福平(RFP)产生耐药, 由于 90% 的结核杆菌对 RFP 耐药同时也对 INH 耐药, 因此 RFP 耐药被认为是耐多药的重要标志^[2-3]。传统罗氏结核杆菌耐药检测法, 需要的检测时间至少 2 个月, 因为检测时间长, 对患者的及时治疗 and 临床用药造成障碍, 利福平耐药实时荧光定量核酸扩增技术(Xpert MTB/RIF)快速检测法则弥补了其不足。现检测 111 株结核分枝杆菌, 并对 RFP 耐药情况进行总结分析, 为临床提供科学依据和经验用药参考。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2015 年 1~12 月在惠州市结核病防治研究所就诊的肺结核患者痰标本 333 例, 年龄 19~69 岁, 男 170 例, 女 163 例, 嘱患者清晨清理口腔后用力咳出深部浓痰, 一式 2 份。进行涂片镜检, 分别标记出涂片阴性和阳性的标本, 采用 Xpert MTB/RIF 核酸检测和改良罗氏培养, 培养阳性者进行药物敏感试验^[3-4]。评价 2 种方法检测结核分枝杆菌

(MTB)和 RFP 耐药的敏感度和特异度, 并对 2 种方法结果的一致性进行比较。

1.2 仪器与试剂 使用珠海 Baso 公司生产的培养基和标准菌株 HRV, 抗结核药由华南制药生产, Xpert MTB/RIF 核酸检测仪是美国 Motyd 公司生产, Cartridge 反应盒由北京芬尼公司提供。

1.3 方法 Xpert MTB/RIF 核酸检测采用 Cepheid 公司 Gene-Xpert 检测系统是一种半巢式定时荧光 PCR 体外诊断技术, 针对 rpoB 基因 81 bp 利福平耐药核心区(RRDR)设计引物、探针、检测其是否发生突变, 进而用于诊断患者是否结核及是否对 RFP 耐药(rpoB 序列存在突变)。打开 Gene-Xpert 检测仪的电源开关, 然后运行 Gene-Xpert 操作软件, 使用扫码器扫描反应盒正面的识别码。软件将全自动填写所需信息。点击“开始测试”, 2 h 出结果, 可判读是否 MTB 感染及是否 RFP 耐药。MTB 检出高度: CT<16, 阳性级别高, 定义为 4+; MTB 检出中度: 16<CT<22, 阳性级别中, 定义为 3+; MTB 检出低度: 22<CT<28, 阳性级别低, 定义为 2+; MTB 检出极低度: 28<CT<38, 阳性级别极低, 定义为 1+。RIF 耐药的评定: CT≥3.5 RFP 耐药(R), CT<3.5 RFP 敏感(S)^[5-7]。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行数据分析, 0<Kappa<1, 其值越大, 一致性越好。

[△] 通讯作者, E-mail: ldwt010203@126.com.