

- [20] Wyllie DH, Bowler IC, Peto TE. Bacteraemia prediction in emergency medical admissions; role of C reactive protein [J]. J Clin Pathol, 2005, 58(4):352-356.
- [21] Lee CC, Hong MY, Lee NY, et al. Pitfalls in using serum C-reactive protein to predict bacteremia in febrile adults in the ED[J]. Am J Emerg Med, 2012, 30(4):562-569.
- [22] Clech C, Ferriere F, Karoubi P, et al. Diagnostic and prognostic value of procalcitonin in patients with septic shock [J]. Crit Care Med, 2004, 32(5):1166-1169.
- [23] Brunkhorst FM, Wegscheider K, Forycki ZF, et al. Procalcitonin for early diagnosis and differentiation of SIRS, sepsis, severe sepsis, and septic shock[J]. Intensive Care Med, 2000, 26(Suppl 2):S148-S152.
- [24] Nakamura A, Wada H, Ikejiri M, et al. Efficacy of procalcitonin in the early diagnosis of bacterial infections in a critical care unit[J]. Shock, 2009, 31(6):586-591.
- [25] Castelli GP, Pognani C, Meisner M, et al. Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction[J]. Crit Care, 2004, 8(4):R234-R242.
- [26] Bloos F, Marshall JC, Dellinger RP, et al. Multinational, observational study of procalcitonin in ICU patients with pneumonia requiring mechanical ventilation; a multicenter observational study[J]. Crit Care, 2011, 15(2):R88.
- [27] Ivaska L, Elenius V, Mononen I, et al. Discrepancies between plasma procalcitonin and C-reactive protein levels are common in acute illness[J]. Acta Paediatr, 2015, 86(24):1889-1893.
- [28] Standage SW, Wong HR. Biomarkers for pediatric sepsis and septic shock[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2011, 9(1):71-79.

(收稿日期:2016-02-16 修回日期:2016-04-18)

• 临床研究 •

IFN- γ 释放实验和结核抗体检测在肺结核诊断中的临床价值范慧洁, 张新丽[△]

(河南省周口市中心医院检验科 466000)

摘要:目的 探讨 IFN- γ 释放实验(IGRA)和结核抗体检测在肺结核诊断中的临床价值。方法 选取 2015 年 4 月至 2016 年 3 月该院确诊的 158 例肺结核患者(肺结核组)及 162 例其他呼吸道疾病患者(对照组)为研究对象,进行 IGRA 实验和结核抗体检测,比较 2 种方法检测 2 组患者的阳性率结果。结果 IGRA 实验和结核抗体检测在肺结核组的阳性率分别为 80.38% (127/158)和 50.63% (80/158),均高于对照组,差异有统计学意义(χ^2 分别为 6.008 和 132.662, $P < 0.05$)。IGRA 实验与结核抗体检测结果的符合率为 44.94%, IGRA 检测阳性率高于结核抗体检测,差异有统计学意义($\chi^2 = 4.516$, $P < 0.05$)。IGRA 实验的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、准确率分别为 80.38%、83.95%、83.01%、81.44%、82.19%,结核抗体检测分别为 50.63%、62.96%、57.14%、56.67%和 56.88%。结论 2 种检测方法为肺结核诊断提供有效的实验数据,IGRA 实验具有更高的灵敏度和特异度,但费用较高,尚不能大规模应用于临床。

关键词: IFN- γ 释放实验; 结核抗体; 肺结核

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.20.058

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)20-2931-03

结核病由结核分枝杆菌引起的传染性疾病,是影响公共健康的重大问题^[1]。2014 年全球新增结核感染病例 960 万,病死率达 150 万^[2]。肺结核作为一种最常见的结核病,早期诊断和治疗仍存在困难。现应用结核抗体检测和 IFN- γ 释放实验(IGRA)进行实验结果的对比分析,评估其在肺结核诊断中的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 4 月至 2016 年 3 月该院确诊的 158 例肺结核患者为研究对象(肺结核组),男 89 例,女 69 例,年龄 17~87 岁,平均年龄(57.34±16.56)岁。对照组为其他呼吸道疾病患者 162 例,男 72 例,女 50 例,年龄 15~85 岁,平均年龄(52.94±15.64)岁,包括 COPD、肺气肿、慢性支气管炎等。肺结核诊断依据临床症状、体征、影像学、细菌学、血清学及抗结核疗效并参照《内科学(第 8 版)》诊断标准^[3]。

1.2 仪器及试剂 热电酶标仪 MK3 购自南京贝登生物科技

有限公司;结核抗体试剂有 3 种,即 TB-CHECK 试剂盒购自兰州雅华生物技术有限公司, TB-DOT 试剂盒购自北京贝尔生物工程技术有限公司, TB-Ab 试剂盒购自潍坊市生物技术有限公司; IGRA 试剂盒购自北京万泰生物药业股份有限公司。

1.3 结核抗体检测 采集患者血清, TB-CHECK 和 TB-DOT 2 种检测方法均为胶体金法,肉眼判断阴、阳性。TB-Ab 采用 ELISA 法,使用酶标仪测出 OD 值,根据说明书结果判断阴、阳性。3 种抗体任意一种或多种为阳性时均为结核抗体检测结果阳性。

1.4 IGRA 实验 采集人体肝素抗凝静脉血 4 mL 以上, 2 h 内将全血标本轻柔颠倒混匀 3~5 次后依次分装到“N”、“T”、“P”3 种培养管中, 1 毫升/管。将培养管轻柔颠倒混匀后放入 37℃ 水浴箱中(22±2)h, 取血浆按照说明书进行 ELISA 检测。每例患者 3 种培养血浆各 1 孔, 校准品各双孔, 空白对照 1 孔, 分别在相应孔中加入样品稀释液 20 μ L(空白对照孔除

[△] 通讯作者, E-mail: zhangxinli198@163.com.

外),然后分别在相应孔中加入待测标本或校准品 50 μL(空白对照孔除外),轻轻震荡混匀,封板至 37 °C 温育 60 min。每孔加入酶标试剂 50 μL(空白对照孔除外),轻轻震荡混匀,封板至 37 °C 温育 60 min。洗板机洗板 5 遍,最后 1 次甩干,每孔加入显色剂 A、B 各 50 μL,轻轻振荡混匀,37 °C 避光显色 15 min。每孔加终止液 50 μL,轻轻振荡混匀,10 min 内使用酶标仪波长 450 nm 处,用空白孔调零后检测各孔 OD 值,计算判断阴阳性。

1.5 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行数据分析,计数资料以率表示,组间比较使用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 种方法检测 2 组患者的结果比较 结核抗体检测和 IGRA 实验检测肺结核组的阳性率分别为 50.63%(80/158)和 80.38%(127/158),均高于对照组,差异有统计学意义(χ^2 分别为 6.008 和 132.662, $P < 0.05$)。见表 1。

表 1 2 种方法检测 2 组患者的结果比较[n(%)]

检测方法	肺结核组	对照组	χ^2	P
结核抗体				
阳性	80(50.63)	60(37.04)	6.008	0.014
阴性	78(49.37)	102(62.96)		
IGRA				
阳性	127(80.38)	26(16.05)	132.662	0.000
阴性	31(19.62)	136(83.95)		

2.2 2 种检测方法的结果比较 IGRA 实验与结核抗体检测肺结核组患者的结果符合率为 44.94%,IGRA 实验的阳性率高于结核抗体检测,差异有统计学意义($\chi^2 = 4.516, P < 0.05$),IGRA 实验和结核抗体检测的灵敏度分别为 80.38%和 50.63%,特异度为 83.95%和 62.96%,阳性预测值为 83.01%和 57.14%,阴性预测值为 81.44%和 56.67%,准确率为 82.19%和 56.88%。见表 2、3。

表 2 2 种检测方法的结果比较(n)

结核抗体检测	IGRA 实验		合计
	阳性(+)	阴性(-)	
阳性(+)	59	21	80
阴性(-)	68	10	78
合计	127	31	158

注: $\chi^2 = 4.516, P = 0.034$ 。

表 3 2 种检测方法的性能比较(%)

检测方法	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值	准确率
IGRA 实验	80.38	83.95	83.01	81.44	82.19
结核抗体实验	50.63	62.96	57.14	56.67	56.88

3 讨 论

结核抗体主要检测血清中结核特异分泌抗原抗体、结核特异外膜抗原抗体和结核分枝杆菌抗体免疫球蛋白 G(IgG),具有简便、快速、低成本特点,是临床常用辅助项目。IGRA 实

验通过检测经结核分枝杆菌特异性抗原刺激特异性效应 T 细胞产生的 γ -干扰素(IFN- γ)水平,从而判断是否具有针对结核分枝杆菌的特异性 T 细胞免疫反应,具有较高的灵敏度和特异度^[3-5]。

机体受结核分枝杆菌感染时,针对其不同的抗原可产生特异性的免疫球蛋白 M(IgM)、免疫球蛋白 A(IgA)和 IgG 抗体,而 IgG 是构成结核抗体的主要部分。Feng 等^[6] 研究报道,活动性肺结核患者血清 IgG 阳性率在 46.2%~65.7%之间,与本研究结果大致相同。血清学结核抗体检测存在假阴性和假阳性,有以下几种情况:(1)新感染患者还未在体内产生抗体或抗体水平较低,未达到检测限,导致假阴性。(2)免疫缺陷患者产生抗体的能力较低,也会造成假阴性。(3)接种疫苗或曾经感染结核但已痊愈的患者体内仍有结核抗体,检测结果为阳性,但不能认为存在结核现症感染。(4)结核分枝杆菌与其他细菌存在交叉抗原决定簇,也可导致假阳性。本研究有 2 种结核抗体检测采用胶体金法,人工操作和结果判读存在某种程度的人为误差,提示结核抗体检测存在一定的局限性,必须与其他检测结合。

IGRA 实验的灵敏度和特异度均高于结核抗体检测,且不受卡介苗接种及机体免疫状况的影响,可用于新肺结核感染和隐匿性肺结核感染的辅助诊断^[7]。IGRA 实验为非创伤性体外实验,方便、快速,最低检出量为 2 pg/mL,并针对特异性的结核分枝杆菌抗原,具有较高的灵敏度和特异度。张宏宇等^[8] 研究报道,T-SPOT TB 实验在肺结核诊断方面的灵敏度和特异度均高于 PPD、涂片镜检法、痰培养法和结核抗体检测,与本实验结果一致。本研究使用的是 T-SPOT TB 实验的优化,与美国 FDA 认证的同类试剂 QFT 具有较高的符合率,可用于结核感染的辅助诊断,但其结果不能代替痰涂片、培养或影像学等较为经典的结核分枝杆菌感染的诊断方法,也不作为临床诊断的唯一证据。

综上所述,IGRA 实验优于结核抗体检测,但费用昂贵,并不适合临床结核分枝杆菌感染患者的筛查,所以结核抗体检测仍需继续开展。2 种方法联合检测可减少误诊和漏诊,更好地服务于临床。

参考文献

[1] Yi YX, Han JB, Zhao L, et al. Tumor necrosis factor alpha gene polymorphism contributes to pulmonary tuberculosis susceptibility: evidence from a meta-analysis[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(11): 20690-20700.

[2] Kastien-Hilka T, Abulfathi A, Rosenkranz B, et al. Health-related quality of Life and its association with medication adherence in active pulmonary tuberculosis- a systematic review of global literature with focus on South Africa[J]. Health Qual Life Outcomes, 2016, 14(1): 42-45.

[3] 葛均波, 徐永健. 内科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 64-67.

[4] Ferreira TF, Matsuoka F, Santos AM, et al. Diagnosis of latent Mycobacterium tuberculosis infection: tuberculin test versus interferon-gamma release [J]. Rev Soc Bras Med Trop, 2015, 48(6): 724-730.

[5] Matsushita I, Hang NT, Hong le T, et al. Dynamics of immune parameters during the treatment of active tuberculosis showing negative interferon gamma response at the time of diagnosis[J]. Int J Infect Dis, 2015, 40(31): 39-44.

[6] Feng X, Yang X, Xiu B, et al. IgG, IgM and IgA antibodies against the novel polyprotein in active tuberculosis[J]. BMC Infect Dis, 2014, 14(15): 336-339.

[7] Metcalfe JZ, Everett CK, Steingart KR, et al. Interferon- γ • 临床研究 •

release assays for active pulmonary tuberculosis diagnosis in adults in low- and middle-income countries: systematic review and meta-analysis[J]. J Infect Dis, 2011, 204(Suppl 4): S1120-S1129.

[8] 张宏宇, 陈春华, 王怀诚, 等. 结核感染 T 淋巴细胞检测试验在结核病快速诊断中的应用及意义[J]. 重庆医学, 2014, 43(27): 3634-3636.

(收稿日期: 2016-02-21 修回日期: 2016-04-15)

MP1 干式生化分析仪淀粉酶检测的精密度性能评价

张桂芝¹, 李峰屏²

(1. 青海省海晏县人民医院 812200; 2. 宁波美康保生生物医学工程有限公司, 浙江宁波 315100)

摘要:目的 应用美国临床和实验室标准协会(CLSI) EP5-A2 文件对 MP1 全自动干式生化分析仪定量测定淀粉酶(AMY)的精密度性能进行评价。方法 采用 MP1 全自动干式生化分析仪对高、低浓度 AMY 质控品进行检测, 计算批内、批间、日间及室内精密度。结果 MP1 全自动干式生化分析仪检测高、低值 AMY 批内精密度 CV 为 0.67% 和 2.50%, 批间精密度 CV 为 0.15% 和 0.52%, 日间精密度 CV 均为 0%, 室内精密度 CV 为 0.67% 和 2.43%。结论 MP1 全自动干式生化分析仪定量测定 AMY 的精密度性能良好, 重复性好, 能满足临床实验的要求。

关键词: 淀粉酶; 精密度; MP1 全自动干式生化分析仪

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.20.059

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)20-2933-02

淀粉酶(AMY)广泛存在于胰腺和唾液腺中, 能水解淀粉分子, 是一种重要的碳水化合物水解酶。AMY 被普遍作为急性胰腺炎的实验室诊断指标, 是临床诊断急腹症的常规检查项目^[1-2]。目前, 生化分析仪主要采用酶速率法检测血清 AMY 水平^[3]。近年来, 基于微流控芯片的便携式即时检测(POCT)已成为国内外研究的热点^[4-5]。现依照美国临床和实验室标准协会(CLSI)制订的 EP5-A2 评价方案^[6], 对宁波美康保生生物医学工程有限公司结合微流控芯片技术开发的 MP1 全自动干式生化分析仪检测 AMY 的精密度进行评价。报道如下。

1 材料与方 法

1.1 一般材料 宁波美康保生生物医学工程有限公司生产的全自动干式生化分析仪(型号 MP1), 以及 AMY 测定盘片(批号 20160420); AMY 低、高值质控品为 Randox 公司产品, 批号分别为 942UN 和 697UE。

1.2 方 法

1.2.1 检测原理 MP1 全自动干式生化分析仪定量测定 AMY 的方法为酶速率法, 检测盘片中装有 AMY 冻干试剂小球, 检测中冻干小球复溶, 试剂中对-硝基苯麦芽七糖与标本中 AMY 反应, 生成硝基苯麦芽三糖、对-硝基苯麦芽四糖、麦芽三糖、麦芽四糖, 前者在 α -葡萄糖苷酶作用下, 继续水解为对-硝基苯酚和葡萄糖, 对-硝基苯酚生成速率与 AMY 活性呈正比, 在 405 nm 处对生成物的吸光度变化进行测定, 计算标本中 AMY 的浓度。

1.2.2 精密度分析 室内质控在控, 依据 EP5-A2 文件对 MP1 全自动干式生化分析仪 AMY 检测的精密度进行评价。(1)仪器熟悉阶段: 包括熟悉仪器的日常操作、维护和保养。(2)方法熟悉阶段: 熟悉 EP5-A2 文件关于精密度评价的内容。实验每天分 2 批进行, 每批重复测定 2 次, 每批至少间隔 2 h, 持续 5 d。(3)质量控制: 最初 5 d 的质控数据计算靶值、标准

差, 采用 $\pm 3s$ 作为警告限, $\pm 4s$ 作为失控限。每 5 天重新计算所有可接受数据的靶值、警告限和失控限。(4)初步精密度评价阶段: 每个浓度质控物连续测量 20 次, 计算平均值(\bar{x}), 标准差(s)和变异系数(CV)。(5)后继实验阶段: 按方法熟悉阶段实验方法继续检测 15 d。

1.2.3 离群值检验 以 5.5 倍标准差作为判断依据, 如果重复测量的变异绝对值超出, 则拒绝该批数据。

1.2.4 精密度评价 参照 EP5-A2 文件, 每个浓度水平独立进行精密度的评价。每天取同一浓度标本 2 份, 分 2 批检测, 连续进行 20 d。计算批内精密度标准差(S_r), 批间精密度标准差(S_{rr}), 日间精密度标准差(S_{dd})和室内精密度(ST), 精密度 CV 计算采用标准差除以所有结果均值再乘以 100。参照文献 [7] 设定 MP1 全自动干式生化分析仪 AMY 检测的精密度 CV 评价标准: 批内精密度 $CV\% \leq 1/4 CLIA'88$ 允许总误差 (TEa), 批间及日间精密度 $CV\% \leq 1/3 CLIA'88 TEa$, 总精密度 $CV\% \leq 1/2 CLIA'88 TEa$ 。

1.3 统计学处理 采用 Excel 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, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 种浓度质控 AMY 检测结果比较 MP1 全自动干式生化分析仪检测 AMY 高、低值质控所有结果。见表 1。

表 1 AMY 高、低值质控检测结果比较($\bar{x} \pm s$, U/L)

类别	第 1 批		第 2 批	
	结果 1	结果 2	结果 1	结果 2
高浓度	239.6 \pm 1.46	239.6 \pm 1.67	239.5 \pm 1.81	239.3 \pm 1.61
低浓度	75.0 \pm 1.85	75.0 \pm 1.82	74.9 \pm 1.95	75.0 \pm 1.80