

• 经验交流 •

两种标本处理方法对电化学发光法测定甲状腺激素影响的研究

万 玲,吴 豫,潘小清,欧阳芳,龚跃云,王 军  
(中国人民解放军第九四医院检验病理科,南昌 330002)

**摘 要:****目的** 研究采用干燥试管和肝素钠抗凝试管分别处理的血液样本对电化学发光法检测甲状腺激素的影响。**方法** 采取 40 例门诊患者血液样本,用干燥试管和肝素钠抗凝试管,用罗氏 Cobas e411 型电化学发光免疫分析仪分别测定游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)、游离甲状腺素(FT4)、促甲状腺激素(TSH)浓度。**结果** 血清和血浆 FT3 检测浓度之间没有差异。血清和血浆之间的 FT4、TSH 检测浓度之间具有显著差异,且血浆检测浓度高于血清。**结论** 肝素钠抗凝血浆会导致 FT4 和 TSH 测定结果偏高。临床上用电化学发光法进行甲状腺激素测定时应该采用血清标本。

**关键词:**血清; 血浆; 甲状腺激素类; 电化学发光  
**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2011.10.050 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2011)10-1117-02

甲状腺功能状态与血液循环中游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)、游离甲状腺素(FT4)、促甲状腺激素(TSH)的浓度有着密切的关系,测定其浓度是区别甲亢、甲减、亚临床异常状态等甲状腺功能的灵敏指标,能直接反映甲状腺功能状态,并且不受血中甲状腺素结合球蛋白浓度及结合力改变的影响,因此 FT3、FT4、TSH 检测具有重要的临床应用价值<sup>[1]</sup>。传统常用放射免疫法对甲状腺激素进行检测,目前则多采用化学发光法或电化学发光法,且不同医院所使用的仪器和试剂各不相同,仪器设定的参数也多以各试剂说明书为准。特别是对于标本的处理方法,各试剂说明书要求不同,给临床工作带来了困惑和不便。因此,作者采用罗氏 Cobas e411 型电化学发光免疫分析仪及配套试剂,并对试剂说明书上提到的两种标本处理方式,同时用干燥试管和肝素钠抗凝试管处理血液标本,对血清和血浆的 FT3、FT4、TSH 测定结果进行比较分析,现报道如下。

1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2010 年 7~8 月在本院门诊检测甲状腺激素患者 40 例的血样,其中男 12 例,女 28 例;年龄 14~56 岁,中位年龄 39 岁。患者均早上 8 时空腹坐位采血,同时用干燥试管和肝素钠抗凝试管各抽血 2 mL,分别收集血清和血浆后于-20℃冻存。标本收集完毕后于 1 个月内检测。检测时,所有标本一次性同时完成,标本仅冻融 1 次。血样采集经本院伦理委员会批准,并取得患者知情同意。

**1.2 仪器及试剂** 采用罗氏 Cobas e411 型电化学发光免疫分析仪(德国罗氏诊断有限公司)进行 FT3、FT4、TSH 浓度检测。检测时,采用罗氏公司配套试剂。试剂批号:FT3 为 158371-01;FT4 为 158155-01;TSH 为 157491-02。严格按照仪器操作要求和试剂说明书进行操作,经定标和室内质控后,再进行标本检测。本实验室 FT3 参考值 3.95~6.8 pmol/L;FT4 参考值 12~22 pmol/L;TSH 参考值 0.27~4.2 IU/mL。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 16.0 统计软件进行数据分析,计量资料采用( $\bar{x}\pm s$ )表示。两种标本处理方式之间的数据比较采用配对 *t* 检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

全部实验周期为 1 个月,收集并测定 40 例患者共 80 例血清、血浆样本。检测结果显示,血清 FT3 最小值 5.13 pmol/L,最大值 69.62 pmol/L,均值 20.39 pmol/L;血浆 FT3 最小值 5.03 pmol/L,最大值 70.62 pmol/L,均值 20.54 pmol/L,经配对 *t* 检验,*P*=0.256>0.05,血清和血浆的 FT3 检测值差异无统计学意义。血清 FT4 最小值 2.10 pmol/L,最大值 25.59

pmol/L,均值 6.89 pmol/L;血浆 FT4 最小值 2.24 pmol/L,最大值 26.19 pmol/L,均值 7.06 pmol/L。经配对 *t* 检验,*P*=0.013<0.05,血清和血浆之间的 FT4 检测值之间差异有统计学意义,且血浆检测值高于血清。血清 TSH 最小值 0.005 IU/mL,最大值 35.4 IU/mL,均值 2.79 IU/mL;血浆 TSH 最小值 0.007 IU/mL,最大值 35.77 IU/mL,均值 3.17 IU/mL。经配对 *t* 检验,*P*=0.000 2,<0.05,血清和血浆之间的 TSH 检测值之间差异有统计学意义,且血浆检测值高于血清。结果见表 1。

表 1 电化学发光法检测血清和血浆甲状腺素浓度( $\bar{x}\pm s$ )			
组别	FT3(pmol/L)	FT4(pmol/L)	TSH(IU/mL)
血清	20.39±13.39	6.89±4.99	2.79±6.56
血浆	20.54±13.27 <sup>△</sup>	7.06±5.14 <sup>▲</sup>	3.17±6.62 <sup>▲</sup>

△:*P*>0.05;▲:*P*<0.05,血清与血浆组比较。

3 讨 论

近年来,生物技术和新材料、新工艺的研究应用取得了高速发展,大大推动了免疫学检测技术的更新换代。化学发光法是继放射免疫、酶联免疫、荧光免疫之后发展起来的新的分子标志免疫分析技术,它将化学发光或生物发光体系与免疫反应相结合,用于检测微量抗原或抗体。因其简便易行、标志物稳定、灵敏度高、便于实现自动化和不污染环境等优点而深受临床好评,已被各级医疗单位广泛应用于临床测定血清和血浆中的内分泌激素、肿瘤标志物、血药浓度等项目<sup>[2]</sup>。

FT3、FT4、TSH 的测定对甲状腺疾病的诊断具有重要价值。目前甲状腺功能检测采用的化学发光免疫检测技术主要是吖啶酯标志物直接发光,Apase、HRP 催化底物发光和电化学发光 3 种类型<sup>[3]</sup>。近年来,国内、外许多机构研制出了多种不同型号的化学发光检测系统应用于临床诊断,然而各检测系统所需要的试剂盒参数、操作系统、标本要求等都存在一定的差异,在不同条件下检测结果发生的偏倚已引起检验人员和临床医师的高度重视<sup>[4]</sup>。例如在标本处理方式上,多数应用化学发光法检测甲状腺功能时要求采用血清,常用的参考值也为血清参考值,但是也有一些仪器的试剂说明书明确,血清和肝素抗凝血浆均可用于甲状腺功能检测,如罗氏电化学发光仪。为了能够使甲状腺功能检测方法更加规范,检测结果更加准确且具有可比性,作者应用罗氏 Cobas e411 型电化学发光免疫分析仪,分别对 40 例门诊患者的血清和肝素抗凝血浆对 FT3、FT4、TSH 进行平行检测。检测结果经配对 *t* 检验,血清和血浆 FT3 检测值之间差异无统计学意义,但是血清和血浆之间

的 FT4、TSH 检测值之间差异有统计学意义,且血浆检测值高于血清。

免疫检测法的特异性与抗原、抗体反应的特异性密切相关,同时也受到标本中抗原及其基质、试剂成分、交叉反应物质等的影响,即使是目前最新的免疫检测技术,仍无法完全避免各种干扰因素的影响<sup>[5]</sup>。尤其是内源性干扰因素给免疫检测带来的影响更加引人关注,其中一类可通过改变被检测物的浓度影响该物质最后的检测结果,如激素结合蛋白<sup>[6]</sup>。甲状腺生成的 T3、T4 在血液循环中大部分与激素结合蛋白结合,只有很小一部分呈游离状态。FT3、FT4 具有生物活性,并与 T3、T4 在血液中保持相对恒定。而肝素可以诱导血液酯酶活性,导致非酯化游离脂肪酸的产生,非酯化游离脂肪酸可从甲状腺球蛋白中置换出游离甲状腺素,使得其浓度升高<sup>[7]</sup>。当采用血清与肝素抗凝血浆同步测定 FT3、FT4 和 TSH 时,发现血浆的 FT4 浓度比血清偏高,差异有统计学意义,可能是抗凝剂肝素从甲状腺球蛋白中置换出游离甲状腺素,使其浓度升高。而血浆的 TSH 浓度与血清相比也出现了有统计学意义的升高,但是尚不清楚其机制。实验结果提示,尽管一些试剂说明书中提到血浆和血清都可以用于检测甲状腺激素,但血浆和血清检测浓度并不完全一致,而且两者之间的差异不可忽视。当在临床处理标本时,应该关注抗凝剂对于激素测定的干扰,采用血

• 经验交流 •

清进行甲状腺功能检测。

参考文献

[1] 费成英. 血清 TT3、FT3、TT4、FT4 以及 TSH 检测意义[J]. 国际医学检验杂志, 2010, 31(2): 121-122.  
[2] Wu AHB. A selected history and future of immunoassay development and applications in clinical chemistry[J]. Clin Chim Acta, 2006, 369(2): 119-124.  
[3] 李振甲, 应希堂, 马世俊. 化学发光免疫分析技术的研究现状与展望[J]. 国际医学检验杂志, 2006, 27(1): 95-97.  
[4] 李启欣, 李炜焯, 陈斌鸿, 等. 不同化学发光检测系统 FT3、FT4、TSH 结果的可比性和偏倚评估[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(8): 790-791.  
[5] 唐古生, 吴豫, 沈茜. 免疫检测干扰因素的分析、识别和对策[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(7): 725-729.  
[6] Kricka LJ. Commentary: interference in laboratory testes[J]. Clin Chem, 2008, 54(7): 1245.  
[7] Tate J, Ward G. Interference in immunoassay[J]. Clin Biochem Rev, 2004, 25(2): 105-120.

(收稿日期: 2011-02-07)

产 ESBLs 及 AmpC 酶阴沟肠杆菌的检测及耐药性分析

赵德军, 胡昭宇, 武 静, 刘 彬, 曹 雁, 田维涛  
(中国人民解放军第四四医院检验科, 贵阳 550009)

**摘 要:**目的 调查该院阴沟肠杆菌产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶(ESBLs)和 AmpC  $\beta$ -内酰胺酶(AmpC 酶)的情况, 以及其对常用抗菌剂的耐药性, 为临床用药治疗提供依据。**方法** 采用法国生物梅里埃 ATB 分析仪进行细菌鉴定, K-B 法做体外药敏实验, 并同时进行 AmpC 酶及 ESBLs 的检测。**结果** 91 株阴沟肠杆菌中共检出产酶菌株 39 株(42.8%), 其中产 AmpC 酶 21 株(23.1%), 产 ESBLs 13 株(14.3%), 同时产 AmpC 酶及 ESBLs 5 株(5.5%)。产酶菌株感染分布以老年病科及 ICU 为主。药敏结果显示, 阴沟肠杆菌对抗菌剂耐药性严重, 除亚胺培南 100.0%敏感外, 产酶菌株对其他抗菌剂的耐药率明显高于非产酶菌株( $P<0.05$ )。**结论** 阴沟肠杆菌对常用抗菌剂具有较高耐药性, 临床应合理使用抗菌剂, 加强对阴沟肠杆菌耐药性监测, 碳青霉烯类抗菌剂可作为阴沟肠杆菌严重感染的首选抗菌剂。

**关键词:**  $\beta$  内酰胺酶类; 耐药性; 阴沟肠杆菌  
**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.10.051

**文献标识码:** B **文章编号:** 1673-4130(2011)10-1118-02

阴沟肠杆菌属于肠杆菌科细菌, 广泛存在于自然环境中, 是人体的正常菌群。随着医学技术的进步及侵入性诊断技术的增加, 其已成为医院感染的重要病原菌。近年来, 由于各种广谱抗菌剂的广泛应用, 阴沟肠杆菌对抗菌剂的耐药率不断上升, 成为临床抗感染治疗的难题。AmpC 酶和超广谱  $\beta$ -内酰胺酶(ESBLs)的产生是导致阴沟肠杆菌对抗菌剂耐药的重要原因之一, 对于产 AmpC 酶和 ESBLs 菌株感染的治疗临床显得十分棘手, 是困扰临床医师的难题, 也是目前医院感染中急需控制的一个重点和难点<sup>[1]</sup>。为调查本院阴沟肠杆菌产 ESBLs 和 AmpC 酶的状况以及对常用抗菌剂的耐药性, 对本院临床分离的 91 株阴沟肠杆菌进行 AmpC 酶和 ESBLs 的检测及耐药性监测, 现报道如下。

1 材料与方

**1.1 菌株来源** 本院住院患者送检的痰、尿、血液、分泌物等标本中分离的阴沟肠杆菌 91 株, 同一患者相同部位分离多株的只算为 1 株。

**1.2 细菌鉴定及药敏实验** 细菌鉴定采用了法国生物梅里埃 ATB 分析仪; 药敏实验采用 K-B 法, 用大肠埃希菌(ATCC25922)和肺炎克雷伯菌(ATCC700603)作为质控菌株, 所用药敏纸片为英国 Oxoid 公司产品。

1.3 产 AmpC 酶及 ESBLs 检测

**1.3.1 AmpC 酶检测** (1)AmpC 酶初筛实验: 采用头孢西丁药敏纸片法进行 AmpC 酶的筛选, 操作步骤同 K-B 法, 当头孢西丁抑菌圈直径小于或等于 18 mm, 疑为产 AmpC 酶菌株。(2)AmpC 酶确证实验: 采用改良 Hodge 实验, 将 0.5 麦氏单位大肠埃希菌(ATCC25922)均匀涂抹于 M-H 琼脂平板, 待平板表面干燥后, 在平板中央贴头孢西丁药敏纸片, 然后用接种环挑取 2~3 个待检菌落, 沿纸片边缘向平板边缘划, 将平板置于 35℃ 孵箱培养 18 h, 观察待检菌周围头孢西丁抑菌圈的变化, 如果抑菌圈变化大于或等于 2 mm, 提示产 AmpC 酶<sup>[2]</sup>。  
**1.3.2 ESBLs 检测** 采用双纸片确证法, 将头孢他啶(30  $\mu$ g)、头孢他啶/克拉维酸(30  $\mu$ g/10  $\mu$ g)、头孢噻吩(30  $\mu$ g)、头