

肺炎链球菌、β-溶血型链球菌、金黄色葡萄球菌及其他阴性杆菌为主^[1],但有关矽肺合并结核菌、毛霉菌及其他少见病原体感染的报道在不断增多^[2]。

据本例患者下呼吸道分泌物病原学检查结果显示,涂片检查中发现了大量真菌孢子及菌丝和抗酸阳性的丝状杆菌,经鉴定确认分别为白色念珠菌和星形诺卡氏菌,表明矽肺患者在合并念珠菌感染的同时也可伴发细菌感染。念珠菌作为一种条件致病菌,在人体上呼吸道中普遍定植,当机体抵抗力低下及菌群失调时可导致继发感染。本例患者因为长期矽肺病,抵抗力较低下,定植于上呼吸道的念珠菌可大量增殖并移行至下呼吸道而导致内源性感染。星形诺卡氏菌是一种存在于环境中的少见条件致病菌,可经呼吸道入侵,通常仅对免疫力低的人才致病,本例患者因矽肺致机体抵抗力减退致星形诺卡氏菌入侵而引起外源性感染。

星形诺卡氏菌由于生长缓慢,实验室检查中漏检率较高,而感染患者临床表现与其他常见病原体感染无特异性。因此,很容易导致漏诊或误诊,从而错失治疗机会,甚至导致患者死亡,及时发现一些少见性病原体对感染性疾病的诊断和治疗尤为重要。本例患者入院后经 7 d 的抗菌药物规范治疗后,病情

· 个案与短篇 ·

不但尚未控制,反而继续恶化。后增加磺胺甲恶唑治疗 5 d 后,患者临床症状有了较大改善,外周血白细胞数与中性粒细胞比例都明显降低、CRP、PCT 等感染性指标均也明显下降,说明通过针对星形诺卡氏菌和白色念珠菌的治疗取得了明显疗效。

对一些基础性疾病严重或具有免疫力低下的患者,在不明原因的肺部感染,经常规治疗无效时,应考虑真菌感染或一些少见病原体感染的可能,如念珠菌及诺卡菌等。当临床怀疑有可能是少见病原体感染时,可及时反馈临床实验室,让实验室注意并提高少见病原体的检出率,这也不失为研究者临床诊治特殊感染性疾病的一种切实可行方法。

参考文献

[1] 李光杰,刘灿珍,李文菊,等. 尘肺合并肺部感染临床分析[J]. 中国职业医学杂志,2010,37(6):496-500.
[2] 林海英. 矽肺并发肺结核 48 例临床分析[J]. 临床合理用药,2011,4(5):54.

(收稿日期:2013-01-03)

二步夹心 ELISA 分析中“HD-HOOK”效应的抗体铰链区变构假说

杜 华

(中国人民解放军第一六一医院,湖北武汉 430010)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.12.077

文献标识码:C

文章编号:1673-4130(2013)12-1630-02

二步夹心 ELISA 分析是将待测抗原与固相包被抗体反应,洗涤去除未结合成分,然后加入标记抗体与被捕捉的抗原结合,其反应信号通常正比于抗原浓度,当抗原超过一定量时,使固相包被抗体呈饱和和结合状态,其剂量反应曲线呈平台状延伸。1974 年 Miles 等^[1]在二步夹心 ELISA 法测定铁蛋白的实验中发现,当抗原浓度达到或超过某一高值时,反应信号呈现降低态势,即二步夹心 ELISA 分析中“HD-HOOK”效应。

二步夹心 ELISA 分析中出现“HD-HOOK”效应时,被包被抗体捕捉结合的抗原分子,为何在第二步与标记抗体反应后,却离开包被抗体而被洗脱呢?针对该问题,Fernando 等^[2]与 Cook 等^[3]提出了“抗原变构”学说。该学说认为:如被测抗原为大分子且存在多重决定簇时,被捕捉抗原与亲中性包被抗体大的酶标抗体发生交叉重叠结合后,由于立体效应和互相挤压,使抗原分子发生构型改变,从包被抗体上解离并被洗脱,造成反应信号降低。

“抗原变构”学说存在一个无法解释的问题:在二步夹心 ELISA 分析中,如果立体效应和互相挤压是导致被捕捉抗原“变构”并从固相包被抗体上脱落的原因,那么抗原上结合的抗体越多,立体效应和互相挤压就越明显,也就越容易引起脱落。照此推理,待测抗原浓度较低时,平均每个抗原上就能结合更多的标记抗体,也就更容易引起抗原从固相脱落。同时,认为待测抗原在低剂量时不变构而在高剂量时发生变构,这显然也是不合理的。因此,曾有学者怀疑二步夹心 ELISA 分析中是否真的存在“HD-HOOK”效应。

已有研究证实抗原抗体结合时,抗体可转动的铰链区产生扭曲,一方面使可变区的抗原结合位点尽可能与抗原配合,另

一方面使抗体分子变构,暴露补体结合点。在此基础上,笔者提出一种引起二步夹心 ELISA 分析中“HD-HOOK”效应的“抗体铰链区变构”假说:当抗原抗体结合后,由于抗体铰链区的转动,抗体分子内两个 Fab 片段之间的夹角缩小,抗原结合位点超变区之间的距离缩短。在结合小分子抗原时,这一过程进行顺利。而对某些大分子抗原,若缩短后的超变区空间不足以容纳两个抗原分子时,一个抗体就可能只结合一个抗原,或者在高浓度抗原的“压力”下形成一种结合两个抗原分子不稳定的高能态。

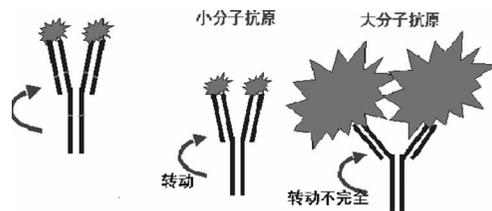


图 1 抗原抗体结合时抗体分子变构效应示意图

因此,笔者推测,二步夹心 ELISA 分析中,当存在极高浓度的大分子抗原时,第一步反应平衡的结果是,高浓度抗原克服斥力使得固相抗体结合两个抗原分子;洗涤后加入标记抗体启动第二步反应,由于高浓度抗原的“压力”去除,反应体系处于不平衡的状态,其中一个抗原分子与固相包被抗体分离是平衡反应的进展方向。此时,如果标记抗体的量不足够多于抗原相对分子质量,标记抗体就可能与固相包被抗体释放的游离抗原结合,存在于液相中而被洗涤去除,导致与固相捕捉抗原结合的量减少,甚至无结合,此时就会出现假低值甚至假阴性,

从而引起“HD-HOOK”效应。最具有说服力的例子是,在同一个检测系统中,单体 hGH 不会出现“HD-HOOK”效应,而双体 hGH 出现。这充分说明一个抗体分子结合两个大分子抗原形成的复合物高能状态(不稳定)是导致“HD-HOOK”效应的根本原因。

据此可以推测,当标记抗体相对分子质量两倍于包被抗体时,就能成功抑制钩状效应的产生。另外,如果以 Fab 片段代替完整的包被抗体,抗原抗体复合物不存在高能状态,也可避免“HD-HOOK”效应的发生。

参考文献

[1] Miles LE, Lipschitz DA, Bieber CP, et al. Measurement of serum

ferritin by a 2-site immunoradiometric assay[J]. Anal Biochem, 1974, 61(1):209-224.

[2] Fernando SA, Wilson GS. Multiple epitope interaction in the two-step sandwich immunoassay[J]. J Immun Meth, 1992, 151(1/2): 67-68.

[3] Cook AG, Wood PJ. Chemical synthesis of bispecific monoclonal antibodies: potential advantages in immunoassay systems[J]. J Immun Meth, 1994, 171(2):227-237.

(收稿日期:2012-11-08)

• 个案与短篇 •

深圳市某二甲综合性医院输血现状分析及对策

施培瑶

(深圳市盐田区人民医院,广东深圳 518081)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.12.078

文献标识码:C

文章编号:1673-4130(2013)12-1631-02

输血是临床救治患者的重要治疗手段之一。血液制品从血液中心采集、制备,到医院血库库存、配发,最终通过临床科室的医生应用于患者治疗,构成了一个完整的物流过程。在这一过程中,血液中心、血库和临床用血科室作为血液制品供应链中的 3 个关键环节,存在的紧密的相互依赖的关系。为了及时有效地保证临床用血,降低输血成本,笔者对本院近年来的临床用血情况,血制品出入库情况,以及血制品报废情况等进行调查,对医院的取血和供血渠道等问题进行探讨。现将有关情况报道如下。

1 资料与方法

1.1 调查对象 对深圳某二级医院临床用血科室、检验科及相关科室供输血工作人员、近 5 年血库保存资料、2011 年出车取血记录。

1.2 方法 采用访谈和问卷调查方式,对临床用血科室、检验科及相关科室供输血工作人员进行调查,了解本院涉及取血、库血、用血等方面的输血管理工作现状。采用统计学分析的方法,对本院近 5 年临床用血情况、血制品出入库情况以及血制品报废情况等进行调查;采用运筹学分析的方法,对本院取血渠道、库血计划等进行探讨,分析本院临床用血特点、血制品浪费的原因。

2 结果

2.1 医院血制品使用情况 2007 年 1 月至 2011 年 12 月,共使用各种血制品 5 561 袋,用量呈逐年增加的趋势,2007~2011 年用量分别为 712、805、2 053、903、1 088 袋,其中 2009 年用血 2 053 袋,占总用血量的 36.9%,是近 5 年中用量最多的一年,主要原因是该年承担了大规模的外伤集中抢救工作。成分用血量最多的是悬浮红细胞,5 年共计 5 169 U,其次是新鲜冰冻血浆和普通冰冻血浆,分别是 223 700 mL 和 83 750 mL。

2.2 血制品出入库和报废情况 2007 年 1 月至 2011 年 12 月,本院血制品出入库和报废情况见表 1。5 年共入库 5 855 袋、出库 5 561 袋、退血 15 袋、报废 236 袋、未记录 43 袋。A、B、O、AB 型出库率分别为 92.8%、82.6%、97.4%、92.5%,报

废率分别为 6.8%、17.0%、2.5%、7.5%。其中 O 型血出库率最高,报废率最低;B 型血出库率最低、报废率最高。报废数量最多的是悬浮红细胞,其次为冰冻血浆。报废的主要原因是过期失效、血袋破损和冰箱故障导致血制品失效。具体见表 1。

表 1 2007~2011 年血制品报废情况

血液成分	2007 年	2008 年	2009 年	2010 年	2011 年	合计
悬浮红细胞(U)	88	90	86	70	70	404
冰冻血浆(mL)	2 400	800	1 600	1 200	800	6 800

2.3 取血和送血的情况 2007 年 1 月至 2011 年 12 月 5 年内本院入库的 5 855 袋血制品中,通过医院派车前往血液中心取血的有 5 369 袋,占 91.7%,由血液中心定期派车送来的 486 袋,占 8.3%。本院在 2011 年与深圳市血液中心建立了定期送血机制,2011 年全年入库血量为 1 442 袋,医院派车前往血液中心取血的有 1 015 袋,占 70.4%,由血液中心定期派车送来的 427 袋,占 29.6%。

3 讨论

通过本次调查,发现本院在输血管理工作中存在的问题主要包括:(1)血库的管理职责没有充分发挥;本院血库仍隶属于检验科,未能行使监督管理职能。临床医生申请血制品类型及数量,血库通常都是照章执行,临床用血处于放任状态。(2)血库对临床指导不到位:当前,血库的工作新模式已由过去单纯的配发血向指导临床治疗用血、推广成分输血及科研用血转变,但是目前由于输血管理者专业知识的缺乏,在输血管理工作中难以胜任指导临床的工作。(3)血库自身质量管理亟待加强:血库未能配备专职的技术人员,日常配血工作由机动人员负责,不能及时主动地掌握临床用血需求,特别是对紧急用血情况缺乏预判,计划性备血、感染控制、输血不良反应跟踪检查报告等安全输血管理措施也无法得不到有效地实施^[1]。(4)血库的备血陷入两难困境:本院血库常规备血为各种血型红细胞悬液一个单位,冰冻血浆 100 mL。假如血库不备血,一旦临床紧急用血,血库因无血而导致医疗事故,医院将负重大责任;但