

## • 检验技术与方法 •

## 类风湿因子对免疫比浊法测定 D-二聚体结果的干扰分析

肖明锋, 吴芝兰, 刘基铎, 刘光平, 袁 晴

(广州中医药大学第一附属医院, 广东广州 510405)

**摘要:**目的 了解类风湿因子对两种 D-二聚体检测试剂测定 D-二聚体结果的干扰情况。方法 采用 DDimer PLUS 试剂和 INNOVANCE DDimer 试剂分别测定加入不同浓度类风湿因子干扰物的实验血浆 D-二聚体含量。结果 类风湿因子阳性的标本对两种试剂测定结果影响均较大,在类风湿因子浓度为 30.9 IU/mL 时,DDimer PLUS 试剂检测结果影响度为 11.4%,INNOVANCE DDimer 试剂检测结果影响度为 11.68%,两种试剂检测结果影响度均随类风湿因子浓度增加而增大。结论 D-二聚体两种试剂均受类风湿因子干扰,类风湿因子浓度越高,干扰越严重。

**关键词:**类风湿因子; 免疫比浊法; D-二聚体; 弥漫性血管内凝血

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2013.18.042

**文献标识码:**A

**文章编号:**1673-4130(2013)18-2443-02

D-二聚体是血浆中的纤维蛋白原在凝血酶的作用下形成纤维蛋白单体,纤维蛋白单体经活化因子 X 交联后再经纤溶酶降解产生的特异性终末产物。D-二聚体水平的提高反映了体内继发性纤溶活性增强,可作为高凝状态较为敏感的指标,是纤维蛋白降解产物和纤溶亢进的分子标志物,当血管内血栓形成时产生大量交联纤维蛋白,纤溶酶活性继发性增强,血浆 D-二聚体含量增高<sup>[1]</sup>。因此,检测血浆 D-二聚体含量对血栓性疾病的诊断及溶栓治疗监测等具有重要意义,也是鉴别原发性和继发性纤溶的良好指标。

### 1 材料与与方法

**1.1 标本收集** 抽取受检者静脉血 1.8 mL,加入装有 109 mmol/L 枸橼酸钠 0.2 mL 的塑料试管中,轻轻颠倒混匀,3 000 r/min,离心 10 min,分离血浆待测。注:若红细胞比容(HCT)明显异常,抗凝剂用量应校正,校正公式如下:抗凝剂的体积(mL)= $1.85 \times 10^{-5} \times$ 血量(mL) $\times$ (100-HCT)

**1.2 仪器与试剂** Sysmex 公司的 CA7000 血凝仪。试剂为 Simmens Healthcare Diagnostics Products GmbH 的 INNOVANCE DDimer 试剂盒,DDimer PLUS 试剂盒,Dade Owren's Veronal Buffer(OVB)。

**1.3 检测原理** 以抗 D-二聚体单克隆抗体标记聚苯乙烯颗粒,在此颗粒抗体集合物中加入受检血浆,如血浆中含 D-二聚体,则发生凝集反应,通过检测浊度的增加,可计算血浆 D-二聚体的含量。

**1.4 干扰物** 收集本院住院患者中类风湿因子检测结果高的血浆样本,住院患者同时经临床排除实质性器官病变。所有被测血浆急干抗干扰物检测前置于 -20 ℃ 保存,临检测时于 37 ℃ 水浴中快速复溶。

**1.5 实验方法** 干扰实验:实验采取体外干扰物影响测试-添加试验法,按浓度梯度分别添加类风湿因子于试验血浆中,测定 7 个不同浓度水平干扰物对两种试剂测定结果的影响。为了添加干扰物后使原实验血浆的基质变化保持在最小限度,研究者使用添加干扰物的溶液量与原实验血浆量之比为 1:9,原实验血浆 9 份加 1 份 OVB 作对照物 0 浓度。每个标本测定两次求平均值作为加干扰物后的测定值。实验结果以 ng/mL 为单位,以影响度作为评价指标<sup>[2]</sup>,影响度(%)=(加干扰物混合血浆测定值-未加干扰物混合血浆测定值)/未加干扰物混合血浆测定值。

### 2 结果

类风湿因子阳性标本对 D-二聚体检测的干扰影响见表 1。实验结果以 ng/mL 为单位,以影响度作为评价指标。类风湿

因子阳性的标本对两种试剂测定结果影响均较大,在类风湿因子浓度为 30.9 IU/mL 时,DDimer PLUS 试剂检测结果影响度为 11.4%,INNOVANCE DDimer 试剂检测结果影响度为 11.68%,两种试剂检测结果影响度均随类风湿因子浓度增加而增大,INNOVANCE DDimer 试剂检测结果影响度较 DDimer PLUS 试剂大。

表 1 不同浓度类风湿因子对两种试剂测定 D-二聚体结果的影响

类风湿因子 (IU/mL)	DDimer PLUS (ng/mL)	影响度	INNOVANCE DDimer (ng/mL)	影响度
0	140	0.00	137	0.00
30.9	156	11.40	153	11.68
94.3	171.5	22.50	232	69.34
152.3	198.5	41.79	258	88.32
220	219	56.43	270	97.08
282.9	244.5	74.65	361	163.50
495	501	165.70	535.5	282.50
845	1 049	649.25	2 160	1 476.64

### 3 讨论

继发性纤溶症与原发性纤溶症的临床出血表现相似,又有类似的病因,有时很难鉴别,但是它们的发病机制和治疗原则却截然不同<sup>[3]</sup>。因此,实验室检查尤为重要。D-二聚体是其中一项有价值的指标<sup>[4-5]</sup>。目前大部分全自动血凝仪均采用胶乳凝集法测定 D-二聚体浓度<sup>[6-7]</sup>。

胶乳增强透射比浊法测定血浆 D-二聚体浓度,是将 D-二聚体的抗体包被在胶乳颗粒上,当抗原抗体结合形成免疫复合物时,反应体系的透光率降低,当达到稳定的下降速度时(线性期),透光率变化速率与 D-二聚体浓度呈正比,由此可测定 D-二聚体浓度<sup>[8-9]</sup>。

Dempfle<sup>[10]</sup>指出 D-二聚体测定结果很大一部分取决于单克隆抗体性质。一般 D-二聚体单抗的抗原决定簇位点在由 XII 因子诱导的纤维蛋白单体的交联部位。不同厂家试剂所针对的抗原决定簇位点不同。本科现有两种 D-二聚体检测试剂,两种试剂针对的抗原决定簇位点不同,在应用过程中发现两种试剂均易受类风湿因子影响。

结合实验结果分析,DDimer PLUS 试剂,当类风湿因子浓度在 30.9 IU/mL 时,影响度为 11.4%,影响度较大,并且随着类风湿因子浓度的升高,干扰越明显。而 INNOVANCE DDimer 试剂的干扰较 DDimer PLUS 试剂更为明显。两种试剂均有显著干扰。

类风湿因子是存在于类风湿关节炎<sup>[11]</sup>患者血浆中的一类以自身变性 IgG 为靶细胞的抗体,能够与 IgG 分子 Fc 片段上的抗原决定簇反应,使 IgG 致敏胶乳颗粒出现非特异性凝集。类风湿因子与天然 IgG 结合能力较差,但易与免疫复合物中的 IgG 发生聚合 IgG 反应。因此当临床中遇到类风湿因子阳性标本时,应对标本进行预处理,即在类风湿因子阳性标本中加入变性 IgG 以中和类风湿因子,混匀后置 37 ℃ 水浴 30 min,离心取上清液,再测 D-二聚体,减少对测定结果的影响。

实验室使用类风湿因子敏感试剂盒,原则和程序上必须评价有类风湿因子引起 D-二聚体结果升高的可能性。实验室在下列情况下应怀疑干扰物的存在:患者产生类风湿因子可能性的病史或与类风湿因子产生有关的疾病;临床医生根据其他的临床试验数据开始怀疑弥漫性血管内凝血(DIC),在这种情况下,实验室能通过直接测量类风湿因子的水平监测干扰物的存在,若结果正常,排除干扰的可能,升高的结果可怀疑由类风湿因子引起的 D-二聚体结果升高。

类风湿因子引起的一些 D-二聚体检测的假性升高,能够导致 DIC 的错误诊断和不当治疗。只有排除了类风湿因子的干扰,D-二聚体的测定结果与 DIC 才有密切关系。

参考文献

[1] 黄荣宁,陈显源,林英,等. D 二聚体、血气分析测定在慢性阻塞性  
• 检验技术与方法 •

肺疾病中的价值探讨[J]. 海南医学,2012,23(1):82.  
[2] Shankaran K,Desai HG. Helicobacter pylori in dental plaque[J]. J Clin Gastroenterol.1995,21(2):82-84.  
[3] 王鸿利. 血液学及血液学检验[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,1997:295-296.  
[4] 包承鑫. D-二聚体测定的生理基础和临床意义[J]. 血栓与止血杂志.1995,2(3):122.  
[5] 吴晓莲. 肝病患者 D-二聚体水平观察[J]. 浙江临床医学杂志,2008,10(1):91.  
[6] 张春荣. D-二聚体的检测及其临床应用[J]. 现代中西医结合杂志,2009,18(12):1440-1442.  
[7] 曾白华,吕连华,刘利华,等. D-二聚体的检测方法及其临床应用进展[J]. 现代医学,2013,41(3):216-219.  
[8] 夏汛生,唐宁,张碧玉,等. D-二聚体两种定量检测方法的评价[J]. 血栓与止血学,2007,13(2):82-85.  
[9] 崔焕波,侯晓杰,荣爱红. 两种 D-二聚体检测方法的比较[J]. 中国实验诊断学,2007,11(4):500-501.  
[10] Dempfle CE. Validation, calibration and specificity of quantitative D-dimer assays[J]. Semin Vasc Med,2005,5(4):315-320.  
[11] 赵金霞,孙琳,张霞,等. 血 D-二聚体检测在类风湿关节炎中的临床意义[J]. 中华风湿病学杂志,2011,15(3):168-171.

(收稿日期:2013-04-28)

## 某院多重耐药鲍曼不动杆菌菌株亲缘性分析

季 萍,热依汗·谢依提,张 琼<sup>△</sup>

(新疆医科大学第一附属医院,新疆乌鲁木齐 830054)

**摘要:**目的 了解新疆地区鲍曼不动杆菌(A. baumannii,ABA) $\beta$ -内酰胺酶、氨基糖苷类修饰酶编码基因、氯己定-磺胺耐药基因存在状况。方法 对 20 株 ABA 菌进行了 9 种  $\beta$ -内酰胺酶基因、3 种氨基糖苷类修饰酶基因和氯己定-磺胺耐药基因检测。以耐药基因为分子标记作检测结果的样本聚类分析,分析菌株亲缘性。结果 20 株 ABA 菌中 blaTEM 阳性 13 株(65%)、blaADC 阳性 12 株(60%)、blaSHV 阳性 1 株(5%),其余  $\beta$ -内酰胺酶基因均阴性;20 株 ABA 菌中氨基糖苷类修饰酶基因 aac(3)-I 阳性 12 株(60%)、aac(6')-I 阳性 13 株(65%)、ant(3'')-I 阳性 14 株(70%);14 株检出 qacE $\Delta$ 1-sul1 基因(70%)。以耐药基因为分子标记作检测结果的样本聚类分析显示,其中 9 株为克隆传播。结论 该 20 株菌  $\beta$ 内酰胺类、氨基糖苷类抗菌药物耐药与产  $\beta$ -内酰胺酶和氨基糖苷类修饰酶密切相关,并存在克隆传播。

**关键词:**鲍曼不动杆菌; 医院感染; 药物耐受性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.18.043

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)18-2444-02

鲍曼不动杆菌(Acinetobacter baumannii,Ab)属于条件致病菌,该菌具有很强的环境适应能力和获得外源性耐药基因的能力,因此,极易引起医院感染的集散流行和菌株耐药<sup>[1]</sup>。近年来该菌的分离率和耐药率逐渐增高,已成为医院内感染暴发流行中的主要细菌<sup>[2]</sup>判断病原菌散在性感染还是暴发流行性感染(尤其是医院内感染)和分析传播途径的有用方法是同种病原菌作菌株间的亲缘性分析,进而为采取控制措施提供依据。因此,研究者对 20 株从 ICU 病分离到的多药耐药鲍氏不动杆菌(MDR-ABA)进行了  $\beta$ -内酰胺酶基因和氨基糖苷类耐药基因(含氨基糖苷类修饰酶基因、16S rRNA 基因甲基化酶基因)以及质粒、转座子、I 类整合子遗传标记检测。并以该 36 种基因为分子标记,对检测结果作样本聚类分析讨论菌株亲缘性。现报道如下。

### 1 材料与方法

1.1 菌株来源 20 株 MDR-ABA(已剔除重复株)均分离自

2010 年 9~12 月本院 ICU 住院患者临床标本,分别为:痰液 10 份,尿液 7 份,血液 3 份。全部菌株均使用 VITEK-2 细菌鉴定仪鉴定菌种。标准菌株为大肠埃希菌 ATCC25922 和铜绿假单胞菌 ATCC27853。

1.2 抗菌药物敏感性试验 为微量肉汤稀释法和 K-B 法测定 24 种抗菌药物的敏感性。并根据美国 CLSI 2010 年版要求进行敏感性判断。

1.3 细菌处理 挑纯培养菌落置入 0.5 mL 离心管内(内预置 200 ng/mL 蛋白酶 K 溶液 200  $\mu$ L),56 ℃ 水浴 2 h,改 95 ℃ 水浴 10 min,加入 Chelex-100 40  $\mu$ L,离心(15 000 r/min)30 s。上清液即为基因检测的模板液,-20 ℃ 冰箱保存备用。

1.4 基因检测 均为 PCR 法。各种靶基因引物序列和目的产物长度见表 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。各种靶基因 PCR 扩增体系均为:每反应体系 P1、P2 引物各 0.5  $\mu$ mol/L, dNTPs200 各 mmol/L, KCl 10 mmol/L,

<sup>△</sup> 通讯作者,E-mail:zhangqun@163.com。