

数之间不符合(其中,以第一位患者为例,迈瑞 MB-5800 血液分析仪几个重要参数值为:RBC $0.35 \times 10^{12}/L$, HCT 0.045, MCV 114 fL, MCH 95 pg, MCHC 448 g/L)。

表 1 第 2、3 例患者在 37℃ 孵育前后的数据对比
(Sysmex SE-5000)

项目	第 1 例患者		第 2 例患者		第 3 例患者	
	孵育前	孵育后	孵育前	孵育后	孵育前	孵育后
RBC($\times 10^{12}/L$)	0.35	1.13	0.59	3.7	0.64	3.9
HCT	0.045	0.098	0.039	0.41	0.031	0.53
MCV(fL)	114	91.31	109	93.1	117	94.2
MCH(pg)	95	103	110	26	115	29
MCHC(g/L)	448	410	476	347	483	351

2.2 在结果异常时,首先,采取的是镜下观察血涂片,发现 RBC 有凝集现象,RBC 聚集成团,成缗钱状排列,皱缩似棘形 RBC。用稀释法(600 μL 稀释液+20 μL 全血)混匀后,肉眼观察可见稀释液中出现了肉眼可见的小凝块。

2.3 为了排除人为及随机因素,对患者重新进行采血复查,结果与初次检查一致。为了防止吸样孔被凝块堵塞,将患者的全血置于 37℃ 水浴箱中孵育 10 min,重新涂片在镜下观察。此时,镜下已无明显凝集块,第 2、3 例患者的检测数据已恢复正常,具体数值见表 1。此时,第 1 例患儿的再次检测的结果稍有恢复,但仍有些异常(Sysmex SE-9000 血液分析仪,显示数据:RBC $1.13 \times 10^{12}/L$, HCT 0.098, MCV 91.3 fL, MCH 103 pg, MCHC 410 g/L)。

2.4 继续将第 1 例患儿的全血放在 37℃ 水浴箱中孵育 10 min,重新在 2 台血液分析仪上检测,2 台仪器检测结果,见表 2。

表 2 第 1 例患儿 37℃ 孵育后在 2 台仪器上的检测数据

项目	迈瑞 MB-5800	Sysmex SE-5000
	孵育后	孵育后
RBC($\times 10^{12}/L$)	3.5	3.7
HCT	0.43	0.41
MCV(fL)	90.5	93.1
MCH(pg)	28	26
MCHC(g/L)	330	347

采用孵育的方法后,第 2、3 例患者的血常规检查数据均已恢复正常,可能第 1 例患儿体内,冷凝集素效价较高,需要孵育的时间较长,经过大约 20 min 在 37℃ 水浴箱中的孵育,第 1

• 经验交流 •

肝浸液在流感嗜血杆菌分离培养中的应用评价

段雄波,刘青芹,郝娟,沈洋,胡秀伟,唐会娜,李金钟

(河北省新乐市医院检验科,河北新乐 050700)

摘要:目的 评价肝浸液在流感嗜血杆菌分离培养中的应用效果。方法 用肝浸液对巧克力琼脂进行改良,配制改良培养基(LSBCh),并与标准巧克力琼脂(Choc)比较,统计分析 2 种培养基嗜血杆菌生长指数(GI 值)和分离率。结果 LSBCh 的 GI 值明显高于 Choc($P < 0.01$);对 216 例呼吸道标本检测,LSBCh 分离率(43.5%)较 Choc(8.3%)明显提高($P < 0.01$)。结论 肝浸液能够很好促进嗜血杆菌生长发育,不仅菌落大,而且更易于识别,对提高流感嗜血杆菌分离率具有应用价值。

关键词:肝浸液; 培养基; 嗜血杆菌; 生长指数

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.23.054

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)23-3267-03

肝浸液富含蛋白质、糖类、氨基酸和维生素等多种营养物

例患儿的血常规数据恢复至正常范围。

3 讨 论

冷凝集素是针对红细胞膜抗原的一种 IgM 型自身抗体,可存在于健康人血清中,是一种较强的可逆性凝集红细胞抗体,低效价时一般无临床意义,部分患者在某些疾病发作时,冷凝集素滴度可明显增高,在低温时可与自身红细胞、“O”型红细胞或患者的同型红细胞发生冷凝集,从而引起较为严重的临床症状,称为冷凝集素综合征,当外界环境温度升高后,凝块消失。

对冷凝集素抗体的研究表明,冷凝集素抗体有 3 种类型,最多见的抗体是针对 I 抗原的“抗 I”冷凝集素抗体,而 I 抗原几乎存在于所有成人的红细胞表面,在低温下即与红细胞发生凝集反应,其作用在 4℃ 时最强,而在 37℃ 时不发生作用。所以,即使是健康人群在体检时也可能会碰到冷凝集现象。

在输血科做血型的配型时,冷凝集素的存在会导致正反定型的结果不一致。冷凝集素对 RBC、HCT、MCV、MCH、MCHC 等相关检测的各种参数有存在较大影响,会导致临床检验项目的失常。

在今后的临床血常规检验中,若遇到 RBC、HCT、MCV、MCH、MCHC 等参数明显不符。同时,患者为急重症患者或外界环境温度比较低时,应首先考虑是否是冷凝集素过高引起。在对标本进行检验时,可对标本及检验试剂和用具作适当的加温处理,这样可消除冷凝集素对检测结果的影响。

参考文献

- 杨世明,张勇萍,潘晓莉.冷凝集素综合症的血清学特性及检测方法探讨[J].细胞与分子免疫学,2006,22(5):541-543.
- 夏爱军,张献清,穆士杰,等.无偿献血中高效价冷凝集素致血型错误 1 例[J].第四军医大学学报,2007,28(2):224-224.
- 张晨光,庞桂芝,赵庆伟,等.高效价冷凝集素致交叉配血困难分析[J].现代预防医学,2007,34(9):958-960.
- 杨世明,张勇萍,潘晓莉.冷凝集素综合症的血清学特性及检测方法探讨[J].细胞与分子免疫学,2006,22(5):541-543.
- 崔付生.冷凝集素综合征一例[J].中国医药导报,2010,10(1):121-121.
- 李去文,黄珊珊,陈金花.儿童原发性冷凝集综合征一例报告并文献复习[J].中国实用医药,2015,14(2):177-178.
- 张晓伟,陈文明.冷凝集素综合征一例[J].首都医科大学学报,2008,29(2):245-246.

(收稿日期:2014-06-20)

质^[1]。1943 年 Tohnson 及 Trusson 发明了肝浸液培养基,常

用于营养要求较高的细菌培养,如布氏杆菌^[2]。肝浸液在流感嗜血杆菌培养中的应用效果如何,目前国内尚未见相关报道。用新鲜肝浸液对巧克力琼脂进行改良,并与标准巧克力琼脂进行对比,评价其在流感嗜血杆菌分离培养中的应用效果。

1 材料与方法

1.1 标本来源 216 例临床标本,其中痰液标本 177 例,咽拭子 39 例;痰液均取自呼吸内科住院患者,咽拭子取自儿科门诊咳嗽、发热患儿。

1.2 仪器与试剂 (1)哥伦比亚琼脂、XV 因子纸片、X 因子纸片、V 因子纸片均购自英国 OXOID 公司;(2)新鲜猪肝、绵羊血均为市售;(3)试验菌株:ATCC49247 购自卫生部临床检验中心;流感嗜血杆菌(Hi)10 株,为本室分离,脱脂牛乳-20℃冻存,试验时 37℃复活。

1.3 方法 (1)肝浸液的制备^[2]:取 500 g 新鲜猪肝,洗净去除筋膜、大血管后绞碎呈浆液状,准确测量肝浆液体积,并加入 2 倍体积去离子水,充分混匀,流通蒸汽加热 30 min,期间不断搅拌,取出调匀后再蒸煮 90 min,无菌滤出上清液为肝浸液,4℃保存备用,-20℃可长期保存。(2)标准巧克力琼脂(Choc)按规程配制^[3],4℃备存。(3)肝浸液巧克力琼脂(LSBCh)按标准巧克力琼脂配制方法,琼脂冷至 50℃~60℃时,加入新鲜肝浸液,使其浓度达 50%(v/v),调 PH 7.6,倾注平板,4℃备存。

1.4 生长指数(GI)测定^[4] 比较 LSBCh 和 Choc 两种培养基上的流感嗜血杆菌生长能力。取经 16~18 h 培养的嗜血杆菌单个菌落于 1 mL 生理盐水中,进行 1:10 连续稀释,取各稀释度菌液 100 μL 均匀涂布 2 种培养基上,于 6% CO₂ 孵箱中 35℃孵育 48 h,测量少于 10 个菌落最高稀释度平板上的菌落直径(mm,精确到 0.02 mm),取均值,再乘以此最高稀释度的对数,计得 GI 值。

1.5 2 种培养基分离率的比较 将 216 例临床标本分别接种 2 种培养基分离嗜血杆菌,挑取可疑菌落,进行革兰染色,按规程^[5]鉴定到种。

1.6 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件, *t* 检验比较 2 种培养基 GI 值; χ^2 检验比较 2 种培养基嗜血杆菌分离率。

2 结 果

2.1 流感嗜血杆菌在新鲜肝浸液巧克力琼脂上菌落形态 将 ATCC49247 和痰液标本直接划线接种于 LSBCh 培养基上,经 6% CO₂ 孵箱,35℃培养 24 h。ATCC49247 经培养后,形成浅灰白色,光滑,边缘整齐,圆形稍凸起,湿润饱满,直径约为 2~3.5 mm 的大菌落,见图 1;痰液直接接种培养后,流感嗜血杆菌菌落特征鲜明,浅灰色或灰白色,水滴样的大菌落,极易区别于其他菌落,见图 2。



图 1 ATCC49247 经 6% CO₂ 35℃ 培养 24 h 菌落形态

2.2 流感嗜血杆菌在 2 种培养基生长指数(GI)比较 将流感嗜血杆菌分别接种在 2 种培养基上测定 GI 值,两者比较差异有统计学意义($P<0.01$),见表 1。

2.3 2 种培养基的嗜血杆菌分离率 216 例临床标本,LSBCh

培养基上分离出嗜血杆菌 5 种 94 株,分离率 43.5%;在 Choc 培养基上仅分离出 3 种 18 株,分离率 8.3%;2 种培养基分离率具有非常显著性差异($P<0.01$),分离结果见表 2。

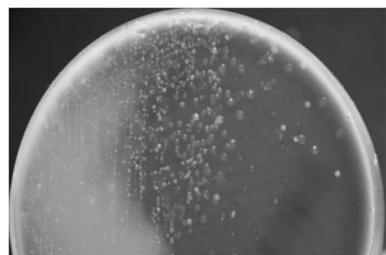


图 2 痰液直接接种经 6% CO₂ 35℃ 培养 24 h 菌落形态

表 1 216 例标本 2 种培养基 GI 比较

培养基	菌落直径(平均 mm)	GI($\bar{x} \pm s$)	<i>t</i>	<i>P</i>
Choc	1.0	4.74±1.39	7.074	<0.01
LSBCh	3.5	19.33±2.02	7.074	<0.01

表 2 216 例标本 2 种培养基嗜血杆菌分离结果

菌种	Choc 分离菌株 (%)	LSBCh 分离菌株 (%)	χ^2	<i>P</i>
流感嗜血杆菌	13(6.0)	63(29.2)	39.917	<0.01
副流感嗜血杆菌	4(1.9)	14(6.5)	5.797	<0.05
溶血嗜血杆菌	0	6(2.8)		
副溶血嗜血杆菌	1	10(4.6)		
嗜沫凝聚杆菌	0	1		
合计	18(8.3)	94(43.5)	69.621	<0.01

3 讨 论

流感嗜血杆菌是一种专性寄养的苛养菌,其生长必需 X 因子和 V 因子^[5]。培养基中的营养成分和生长因子的多少是流感嗜血杆菌分离成功与否的关键因素之一^[6]。本文利用新鲜肝浸液对巧克力琼脂进行改良,以补充流感嗜血杆菌生长所必需的生长因子和基础培养基中的营养成分,配制新鲜肝浸液 LSBCh。由图 1 可以看出,流感嗜血杆菌 ATCC49247 经 24 h 培养后,形成灰白色、光滑湿润、饱满和直径约 2~3.5 mm 的大菌落。通过 2 种培养基生长指数(GI 值)的比较,改良培养基更利于流感嗜血杆菌的生长发育,菌落直径明显增大,且两者 GI 值差异具有统计学意义($P<0.01$)。

目前,呼吸道标本中分离培养流感嗜血杆菌常使用巧克力琼脂平板,但在日常应用中,菌落发育较小,且易受正常菌群生长干扰,不易识别,这也是影响临床分离率的原因之一^[7]。由图 2 可以看出,痰液标本直接接种在改良培养基 24 h 培养后,流感嗜血杆菌菌落非常大,且不受干扰菌生长影响,菌落特征鲜明极易区别。对比 216 例临床标本嗜血杆菌分离结果(见表 2),LSBCh 培养基共分离出 5 种 94 株嗜血杆菌,分离率为 43.5%,其中流感嗜血杆菌和副流感嗜血杆菌分离率分别为 29.2%、6.5%;Choc 培养基仅分离出 3 种 18 株嗜血杆菌;比较 2 种培养基嗜血杆菌分离率及流感嗜血杆菌分离率,差异均具有统计学意义($P<0.01$);比较两者副流感嗜血杆菌分离率,差异具有统计学意义($P<0.05$)。本组试验中,LSBCh 培养基上分离出 1 株嗜沫凝聚杆菌,Choc 培养基未能分离,可能与琼脂营养成分有关。

近年来,随着临床分离率的不断提高,流感嗜血杆菌越来越受到临床医学及预防医学的重视,对其分离培养基的研究也越来越深入^[10]。为提高流感嗜血杆菌分离率,国内外^[6]多采用营养成分更高的基础培养基和(或)添加必需商品化生长因

子配制培养基,或购买成品平板,存在材料来源困难,培养成本过高等问题,在临床微生物实验室(尤其基层实验室)中难以推广应用;含抗菌药物的选择性培养基,在一定程度上提高了呼吸道标本流感嗜血杆菌的分离率,但同时也影响混合致病菌的分离^[11],可能在一定程度上造成漏诊。本文仅用新鲜肝浸液改良巧克力琼脂,嗜血杆菌生长不仅快速,16~18 h 直径可达 2 mm 以上,且菌落发育良好,特征鲜明,受干扰菌生长影响小,易于识别,见图 2。

综上可见,新鲜肝浸液富含嗜血杆菌所需生长因子,能够促进嗜血杆菌生长发育,明显提高了临床标本嗜血杆菌分离率,不失为一种良好添加剂;但其制备工艺以及所含营养物质,有待标准化和进一步研究。

参考文献

- [1] 娄永新,王金良.实用临床细菌学检验与进展[M].天津:天津科技翻译出版社,1993:354-355.
- [2] 张颖悟.临床微生物学[M].大连:大连出版社,1990:487.
- [3] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3 版.南京:东南大学出版社,2006:728-729.

• 经验交流 •

氨基末端脑钠肽前体在无症状心功能不全患者中的临床价值

冯 强,张 丽,延欢欢,刘建功

(陕西省铜川市人民医院,陕西铜川 727000)

摘要:目的 研究氨基末端脑钠肽前体(NT-proBNP)在纽约心脏病学会(NYHA)不同分级心功能不全患者中的分布情况,在无症状患者的发病异常率,提高氨基末端脑钠肽前体的诊断价值。方法 对 NT-proBNP>300 pg/mL 的 153 例住院患者结果回顾性分析,结合 NYHA 分级,评价各个年龄组无症状的心功能 I 级患者的临床情况。结果 N 端脑钠肽前体水平与心功能不全程度存在正相关,在无症状的心功能 I 级中处于判定标准和参考值之间的“灰区”有 72.3% 的异常率。结论 NT-proBNP 对于合理评估 NYHA 分级具有重要意义,对于处于判定标准和参考值之间的“灰区”结果,应当重视基础疾病,临床观察评价预后情况。

关键词:利钠肽; 脑; 心功能不全

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.23.055

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)23-3269-02

心功能不全被定义为由不同病因引起的心脏舒缩功能障碍,发展到使心排血量在循环血量与血管舒缩功能正常时不能满足全身代谢对血流的需要,从而导致具有血流动力异常和神经系统激活两方面特征的临床综合征。心功能不全可分为无症状与有症状两个阶段,前者有心室功能障碍的客观证据(如心左室射血分数降低),但无典型充血性心力衰竭的症状,心功能尚属纽约心脏病学会(NYHA) I 级,是有症状心力衰竭(HF)的前期,如不进行有效治疗,迟早会发展成有症状心功能不全^[1]。在临床诊疗过程中,氨基末端脑钠肽前体(NT-proBNP)对于心力衰竭的诊断和治疗起着重要的作用。对于一部分主诉并非心脏疾患的患者,存在漏诊和误诊的情况。为了更好地了解 NT-proBNP 对于无症状的心功能不全患者诊断意义,回顾性地分析和研究。

1 资料和方法

1.1 一般资料 2013 年 12 月至 2014 年 2 月,本院住院检测 NT-proBNP 患者合计 423 例,NT-proBNP>300 pg/mL 的患者 153 例,男 78 例,女 75 例,年龄 21~95 岁,平均年龄 (78.22 ± 12.44) 岁。高血压心脏病 22 例,扩张性心肌病 18 例,冠状动脉粥样硬化心脏病 32 例,肺源性心脏病 7 例,慢性支气管炎 24 例,肺气肿 30 例,腹膜炎 8 例,肝炎 10 例,肾病综合征 2 例。

- [4] Anstey RJ, Gun-Munro J. Laboratory and clinical evaluation of modified New York City medium(henderson formulation) for the isolation of neisseria gonorrhoeae[J]. J Clin Micro, 1984, 28(8): 905-908.
- [5] 陈东科,孙长贵.实用临床微生物学检验与图谱[M].北京:人民出版社,2011:469-470.
- [6] 陈民钧.为什么有的细菌室分离不出流感嗜血杆菌[J].中华医学检验杂志,1996,19(1):85-87.
- [7] 陈东科,胡云建,张秀珍.嗜血杆菌分离培养基的评价与应用[J].中华检验医学杂志,2001,24(1):28-30.
- [8] 吴丽华,徐培元,周第.流感嗜血杆菌培养基及培养条件的研究[J].中华医学检验杂志,1994,17(3):187.
- [9] 邓光贵,张文俊,陶红群.改良 G C Y S B 培养基分离流感嗜血杆菌的应用评价[J].临床检验杂志,1995,13(3):115-116.
- [10] Hannah N. Chemically defined media for growth of haemophilus influenzae strains[J]. JCM, 2003, 9(41):4408-4410.
- [11] 张立志,刘朱梅,曹月生,等.一种新的流感嗜血杆菌分离培养方法研究[J].河北中西医结合杂志,1995,4(2):102-103.

(收稿日期:2014-06-12)

1.2 仪器与方法 NT-proBNP 采用 FIA8000 免疫定量分析仪,南京基蛋生物科技公司生产。配套质控品由厂家提供,操作严格按照规范进行。先测定 NYHA 心功能分级不同患者 NT-proBNP 水平,NT-proBNP<300 pg/mL 排除心力衰竭可能^[2]。考虑到年龄在评价心功能分级时有影响,各个年龄组的理想参考值设定如下。<50 岁,NT-proBNP ≥ 450 pg/mL;50~75 岁,NT-proBNP ≥ 900 pg/mL;>75 岁,NT-proBNP ≥ 1800 pg/mL。超出范围时诊断心衰可能性较高,在 NT-proBNP>300 以上,各个年龄组参考值以下为“灰区”^[3],比较各个年龄组的异常率。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验与单因素方差分析,检验水准 $\alpha = 0.05, P < 0.05$ 差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 按照 NYHA 心功能分级标准, I 级 65 例, II 级 38 例, III 级 46 例, IV 级 11 例。心功能分级 I~IV 中, NT-proBNP 各组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$),心功能分级越高, NT-proBNP 浓度越高,明显正相关($r = 0.83, P < 0.01$)。

2.2 根据 NYHA 心功能分级标准,心功能 I 级的患者 65 例。处于判断标准“灰区”之间的 47 例。其中主要是非心源性疾病的患者,高血压心脏病 3 例,慢性支气管炎 19 例,肺气肿 12