

症状,高达 60% 的妇女间歇带菌,但 2%~4% 孕妇发生 GBS 尿路感染,也有少数孕妇在怀孕期间发生胎膜早破、羊膜炎、子宫内膜炎、产褥感染、早产、败血症等严重后果。因此,对 GBS 阳性孕妇采取积极的预防措施具有重要的意义。本研究对本院在 2012 年 7 月至 2014 年 6 月从孕 35~37 周的孕妇中检出的 104 株 GBS 进行耐药性分析,结果发现 GBS 耐药现象不严重,青霉素可作为首选药物,若对青霉素过敏,而克林霉素或红霉素敏感,可选择克林霉素或红霉素;若克林霉素和红霉素均耐药,可选用万古霉素,但由于万古霉素具有明显耳毒性、肾毒性,因此要慎重使用。本文中四环素的耐药率为 57.69%,低于 Persson 等^[6]报道的四环素 68.00% 的耐药率。

GBS 主要通过阴道上行扩散感染子宫和胎膜,它可在分娩时垂直传播或分娩后水平传播,从而引起新生儿肺炎、败血症和脑膜炎等严重感染,是新生儿感染的常见原因之一^[7]。本文中 104 例 GBS 阳性的孕妇中有 94 例在本院分娩,对这 94 例新生儿采集咽拭子、外耳道拭子和脐带血标本并进行培养,有 3 例新生儿 3 种标本中均检出 GBS,判断这 3 例为 GBS 感染,3 例新生儿均为足月产出,产后一般状况尚可,经对症治疗 10 d 后痊愈出院。94 例新生儿中有 1 例 3 种标本均检出草绿色链球菌,考虑草绿色链球菌可在孕妇阴道中存在,在生产过程中可能使新生儿携带,但不一定会对新生儿致病,故对这例新生儿密切观察,一旦出现感染症状要进行治疗,结果这例新生儿并未出现感染症状。有 1 例新生儿仅脐带血培养检出大肠埃希菌,由于大肠埃希菌为肠道正常菌群,在采集新生儿脐带血时可能因消毒不彻底而造成污染,再者这例新生儿其他 2

• 临床研究 •

种标本并未检出大肠埃希菌,且无感染症状,故判断为污染菌。

综上所述,围产期孕妇发生 GBS 感染现象并不罕见,应加强对孕晚期孕妇的 GBS 筛查,并对 GBS 阳性孕妇采取积极的预防和治疗措施;对于其新生儿应根据情况进行分析,一旦确认为 GBS 感染,要进行对症治疗,保证围产期孕妇和新生儿的生活质量和生命安全。

参考文献

[1] 周庭银. 临床微生物学诊断与图解[M]. 2 版. 上海:上海科学技术出版社,2007.
[2] 陈恒,江立千,万芳,等. 围产期 B 群链球菌感染及相关研究[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(18):2370-2371.
[3] 陈慧慧,范建霞,陆庭嫣,等. 孕妇 B 族溶血性链球菌感染对母婴的影响[J]. 上海医学,2009,32(2):128-130.
[4] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S20 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing twentieth informational supplement[S]. Wayne,PA,USA:CLSI,2012.
[5] 郭主声,刘仿. 围产期 B 群链球菌感染及预防的研究进展[J]. 海南医学,2013,24(9):1336-1339.
[6] Persson E, Berg S, Bergseng H, et al. Antimicrobial susceptibility of invasive group B streptococcal isolates from south-west Sweden 1988-2001[J]. Scand J Infect Dis, 2008, 40(4):308-313.
[7] 曲首辉,张洁,王爱武. 产前 B 族溶血性链球菌带菌现象对妊娠结局的影响[J]. 医药论坛杂志,2011,32(2):103-105.

(收稿日期:2015-06-28)

肝纤维化患者血清和血浆中Ⅲ型胶原蛋白检测的价值比较

周 斐

(中国人民解放军第一六一中心医院,湖北武汉 430010)

摘 要:目的 比较肝纤维化或肝硬化患者血清和血浆中Ⅲ型胶原蛋白检测的价值,以寻找更简便的早期诊断肝纤维化的检测方法。**方法** 采集 20 例该院肝病门诊怀疑或确诊为肝纤维化或肝硬化的患者空腹静脉血,离心后分为 2 份,一份加入肝素抗凝,纳入血浆组(20 份);一份为未加抗凝剂,纳入血清组(20 份)。利用放射免疫分析法检测血液标本中Ⅲ型胶原蛋白水平,将 2 组数据通过 Excel 2007 和 SPSS19.0 进行比较和相关分析。**结果** 血清组和血浆组的检测值存在显著相关,相关系数为 0.926。**结论** 可用血浆Ⅲ型胶原蛋白值代替血清Ⅲ型胶原蛋白值来评估肝纤维化程度,若要将此法用于临床,还需要进行大量的临床试验,以建立新的正常值参考范围。

关键词:肝纤维化; 放射免疫分析; Ⅲ型胶原蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.19.045

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)19-2880-03

肝纤维化是机体对肝实质损伤的一种代偿修复反应,即以肝纤维来填充、连接保持组织器官相对完整性^[1-3]。肝纤维化进展到一定程度,会使肝脏萎缩变硬,即发展为肝硬化^[4]。在肝硬化基础上,肝癌发生的风险性也随之升高^[5]。因此,早期准确诊断和评估纤维化的程度,对肝纤维化的防治和预后具有重要的意义。Ⅲ型胶原蛋白与肝纤维化活动度密切相关^[6]。在常规血清检测中,由于某些患者的血清容易凝血,需反复离心,因而增加了检测的困难性。由于血浆添加了抗凝剂,故不存在凝血的问题。本研究比较了血清和血浆标本检测Ⅲ型胶原蛋白的价值,以寻找更简便的早期诊断肝纤维化的检测方法,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 采集 20 例本院肝病门诊怀疑或确诊为肝纤

维化或肝硬化的患者空腹静脉血。经 15℃,2 600 r/min 离心 5 min,离心处理获取血清标本 20 份(血清组)和血浆标本 20 份(血浆组),检测前置于 4℃冰箱妥善保存。

1.2 仪器与试剂 Ⅲ型胶原蛋白放射免疫分析试剂盒由上海史瑞可生物科技有限公司提供;试剂盒组成包括:Ⅲ型胶原蛋白标准品 6 瓶(水平为 0、40、80、160、320、640 ng/mL);125 I~Ⅲ型胶原蛋白 1 瓶,总放射性:5×10。4 Bq;Ⅲ型胶原蛋白抗体 1 瓶;磷酸缓冲盐(PBS)溶液 1 瓶;分离剂 1 瓶;质控血清 1 瓶,低值 70~130 ng/mL;DFM-96 型放射免疫 γ 计数器(合肥众城机电技术开发有限公司);KDC-2046 型低速冷冻离心机由安徽中科中佳科学仪器有限公司提供;微量振荡器、微量加样器(100、200、500 μL)、电热恒温水溫箱、冰箱(4℃)和负压吸引器。

1.3 方法 (1)编号:血清组编号为 1~20,血浆组编号为 21~40。(2)检测:按Ⅲ型胶原蛋白放射免疫分析试剂盒中附带的说明书步骤进行操作。取若干放射免疫测定管编号后依次放入试管架。将试剂盒待测样品平衡至室温,检测前缓缓摇匀,然后按编号依次操作。

1.4 数据采集 用放射免疫 γ 计数器测定放射性活度,设定计算机程序采用 Logit-log 方程进行拟合,各标准点结合率为 $B/B_0(B_0=[(B-NSB)/(B_0-NSB)] \times 100\%$,以结合率为 Y 轴($Y=\ln[(B/B_0)/(1-B/B_0)]$),标准品水平为 X 轴($X=\ln[C]$),绘制标准曲线。计算水平为 0、40、80、160、320、640 ng/mL 的 6 瓶Ⅲ型胶原蛋白标准溶液的结合率,绘制标准曲线,计算出线性回归方程为 $Y=4.1426X-0.9148(r=-0.9998)$,标准曲线相关系数绝对值为 0.9998,符合试剂盒所给的 $|r| \geq 0.9900$ 的主要技术指标要求。上述过程均由计数仪连线计算机系统自动完成。血清组和血浆组样品中Ⅲ型胶原蛋白水平可根据其结合率从该标准曲线中查得。

1.5 统计学处理 经自动放射免疫 γ 计数器配套程序初始转换得到数据,录入 Excel2007 工作表进行简单初步分析,获得相应的图表以及统计学资料,依照统计学方法和原理对资料进行详细解释和说明。采用 SPSS19.0 软件对血清组和血浆组Ⅲ型胶原蛋白水平值进行配对 t 检验及 Pearson 相关分析。

2 结 果

2.1 血清组与血浆组中Ⅲ型胶原蛋白水平点线图 为了更直观地观察测血清组与血浆组样品中Ⅲ型胶原蛋白水平,本研究在 Excel2007 表格中将标本测量值绘制散点图并以折线连接,见图 1。从图 1 可看出血清组和血浆组在相同的实验条件下,测量结果差异性不大;2 组数据直观上有相关性。但上述推论仅来源于对数据进行初步、简单处理的直观感受,未经统计学分析验证,不具有较高可信度和说服力。因此,通过统计分析对数据进行了更深入的处理和分析。

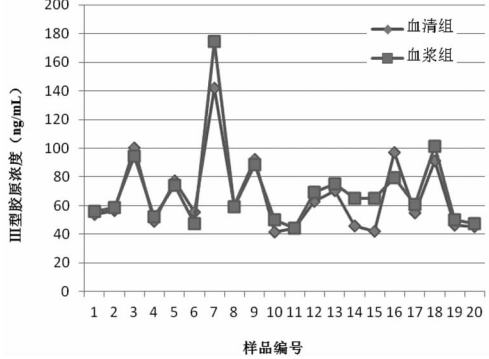


图 1 血清组和血浆组Ⅲ型胶原蛋白水平点线图

2.2 血清组与血浆组中Ⅲ型胶原蛋白水平比较 血清组和血浆组标本中Ⅲ型胶原蛋白水平均值分别为 66.398 ng/mL 和 70.605 ng/mL,2 组Ⅲ型胶原蛋白水平进行配对 t 检验,差异无统计学意义($t=1.693, P=0.107$)。

2.3 血清组与血浆组胶原水平相关分析 血清组和血浆组样品中Ⅲ型胶原蛋白水平显著相关($r=0.926, P=0.000$)。

3 讨 论

肝纤维化时血清Ⅲ型胶原蛋白水平与肝炎症、坏死和肝纤维化有关,因此血清Ⅲ型胶原蛋白是肝纤维化的重要标记物。Ⅲ型胶原蛋白对于诊断儿童肝疾病没有意义,它随儿童年龄的增长有所升高^[7]。许多学者报道,血清Ⅲ型胶原蛋白是反映成

人肝纤维化活动的良好指标,可弥补肝活检不能动态观察等不足^[8]。肝硬化患者明显升高,但在肝硬化晚期,因Ⅲ型前胶原肽合成率降低,血清中Ⅲ型胶原蛋白反而低于早期。Ⅲ型胶原蛋白有助于区别慢性活动性肝炎与慢性迁延性肝炎,慢性活动性肝炎患者Ⅲ型胶原蛋白水平明显升高,而慢性迁延性肝炎患者其Ⅲ型胶原蛋白水平与健康人无明显差异。相关文献报道Ⅲ型胶原蛋白合成速率及水平与肝纤维化活动度具有良好的相关性,在慢性肝病发展的各阶段的变化差异均有统计学意义($P<0.01$)^[6]。肝癌时Ⅲ型胶原蛋白检测结果常比肝硬化时升高^[9-10]。在常规血清检测中,由于某些患者的血清容易凝血,特别是在冬天的时候,这将导致采集到的血清因凝血而不能检测,需反复离心,因而增加了检测的困难性,间接地增加了检测成本。由于血浆添加了抗凝剂,故不存在凝血的问题。使用血浆代替血清则可以使检测简单化,降低成本。

本研究基于放射性免疫分析法检测Ⅲ型胶原蛋白的基本原理,试图通过分析人血清和血浆检测Ⅲ型胶原蛋白的差异,探索能否用血浆中的Ⅲ型胶原蛋白代替血清中Ⅲ型胶原蛋白的测量值。因此,本研究收集 20 例肝病门诊确诊或疑似肝纤维化或肝硬化的患者静脉血标本,同一个患者的血液标本离心后获得血清标本和血浆标本,一份纳入血清组,一份加有抗凝剂肝素,纳入血浆组,按照Ⅲ型胶原蛋白放射免疫分析试剂盒进行试验,经自动放射免疫 γ 计数器配套程序初始转换,得到血清组和血浆组共 40 个数据,经 Excel2007 及 SPSS 19.0 统计分析,结果显示本研究中血清组和血浆组在相同处理条件下所得的检测值之间差异无统计学意义($P=0.107$),相关系数为 0.926,显著相关。因此,笔者认为用血浆Ⅲ型胶原蛋白值代替血清Ⅲ型胶原蛋白值检测肝纤维化活动程度是可行的。

本研究仍存在以下 2 点不足:(1)本试验是探索性试验,实验人员操作可能存在误差;(2)样本量不够大,说服力不够。因此,若要应用于临床,还需扩大样本量,展开进一步研究,以建立新的正常值参考范围。本研究可为以后的相关实验提供借鉴意义。

参考文献

- [1] 张斌. 肝纤维化的发病机理研究进展[J]. 现代诊断与治疗, 2004, 15(6):354-359.
- [2] 邵祥强, 肖华胜. 肝纤维化发病机制与临床诊断的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2011, 19(3):268-274.
- [3] Hernandez-Gea V, Friedman SL. Pathogenesis of liver fibrosis[J]. Annu Rev Pathol-Mech, 2011, 117(6):425-456.
- [4] Czaja AJ. Hepatic inflammation and progressive liver fibrosis in chronic liver disease[J]. World J Gastroentero, 2014, 20(10):2515.
- [5] Yada N, Kudo M, Kawada N, et al. Noninvasive diagnosis of liver fibrosis; utility of data mining of both ultrasound elastography and serological findings to construct a decision tree[J]. Oncology, 2014, 87(1):63-72.
- [6] Nielsen MJ, Veidal SS, Karsdal MA, et al. Plasma Pro - C3 (N - terminal type III collagen propeptide) predicts fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C[J]. Liver Int, 2015, 35(2):429-437.
- [7] Tanwar S, Trembling PM, Guha IN, et al. Validation of terminal peptide of procollagen III for the detection and assessment of non-alcoholic steatohepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatology, 2013, 57(1):103-111.
- [8] Nielsen MJ, Nedergaard AF, Sun S, et al. The neo-epitope specific

PRO-C3 ELISA measures true formation of type III collagen associated with liver and muscle parameters[J]. Am J Transl Res, 2013;5(3):303.

[9] Karsdal M, Krarup H, Sand J, et al. Review article: the efficacy of biomarkers in chronic fibroproliferative diseases-early diagnosis and prognosis, with liver fibrosis as an exemplar[J]. Aliment Pharm Therap, 2014, 40(3):233-249.

[10] Vassiliadis E, Larsen DV, Clausen RE, et al. Measurement of CO3-610, a potential liver biomarker derived from matrix metalloproteinase-9 degradation of collagen type iii, in a rat model of reversible carbon-tetrachloride-induced fibrosis[J]. Biomarkers, 2011, 104(6):49.

(收稿日期:2015-05-21)

• 临床研究 •

胶乳凝集法检测糖化血红蛋白

陈爱莲, 马小宏[△]

(江苏省如皋市人民医院检验科, 江苏如皋 226500)

摘要:目的 探讨在全自动生化分析仪上用胶乳凝集法检测糖化血红蛋白(HbA1c)的可靠性。方法 收集糖尿病患者和健康体检者标本共 40 份, 分别在全自动生化分析仪上用胶乳凝集法, 在糖化血红蛋白分析仪上用高效液相色谱(HPLC)法检测 HbA1c, 以 HPLC 为参比方法, 与胶乳凝集法进行比对。计算在全自动生化分析仪上采用胶乳凝集法检测 HbA1c 的精密度、准确度、线性试验、回收试验。结果 胶乳凝集法批内平均变异系数(CV)为 3.43%, 批间平均 CV 为 4.19%, 平均回收率为 99.58%, 胶乳凝集法与 HPLC 法回归方程为 $Y=0.9762X+0.0235$, $r^2=0.9983$ 。结论 胶乳凝集法精密度能满足临床需要, 与 HPLC 法相关性较好, 适用于临床常规自动分析。

关键词:胶乳凝集法; 糖化血红蛋白; 糖尿病; 高效液相色谱法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.19.046 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2015)19-2882-02

糖化血红蛋白(HbA1c)是血红蛋白与葡萄糖进行非酶促反应结合的产物, 它们的糖基化位点是血红蛋白 β 链 N 末端的缬氨酸残基, 其生成是一个缓慢不可逆的过程, 生成量与血糖的浓度和高血糖存在的时间相关。HbA1c 的浓度与红细胞的寿命和血糖平均浓度有关, 不受每天葡萄糖波动的影响, 也不受运动或食物的影响, 所以 HbA1c 反映的是过去 6~8 周的平均血糖浓度。HbA1c 作为糖尿病诊断、疗效观察的重要指标, 已在临床广泛应用。经过几十年的发展, 检测 HbA1c 的方法众多, 目前临床应用较多的主要有高效液相色谱(HPLC)法、免疫比浊法和电泳法等。美国临床化学协会(AACC)糖化血红蛋白标准化分会和国际临床化学和实验室医学联盟(IFCC)糖化血红蛋白标准化工作组建议将 HPLC 法作为检测 HbA1c 的金标准^[1]。但 HPLC 法仪器较昂贵, 电泳法操作繁琐不易在基层医院开展, 胶乳凝集法可在生化分析仪上检测, 不需特殊仪器, 便于在基层医院开展。本研究对在自动生化分析仪上用胶乳凝集法检测 HbA1c 的检测方法精密度、准确度、线性试验、回收试验进行了探讨, 并与 HPLC 法进行对比分析, 评价其临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院确诊为糖尿病的患者 20 例, 其中男 10 例, 女 10 例; 健康体检者 20 例, 其中男 11 例, 女 9 例。

1.2 仪器与试剂 日本 TOSOH Automated Glycohemoglobin Analyzer HLC-723G8 全自动糖化血红蛋白分析仪及其配套试剂、校准品和质控品; 日本 HITACHI 7600-110 全自动生化分析仪, 胶乳凝集法试剂及其配套校准品、质控品由 POINTE 公司提供。

1.3 检测方法 用乙二胺四乙酸二钾盐(EDTA-K₂)真空采血管采集空腹静脉血 2 mL, 颠倒混匀 8 次。HPLC 法检测时将采集后的标本直接进行检测; 胶乳凝集法检测时, 需将上述标本以 2 000 r/min 离心 2 min, 从血细胞层中取 20 μ L 加入 1

mL 溶血素中溶血后在生化分析仪上检测。2 种方法实验前均先使用配套的校准品进行校准, 检测配套质控品且结果在控, 再检测标本。生化分析仪检测参数按说明书设置。

1.4 精密度试验 根据美国临床和实验室标准化协会(CLSI) EP5-A2 文件^[2]要求, 用胶乳凝集法检测高、低值两个批号质控品, 连续检测 20 次计算批内精密度; 将上述复融好的质控品分装 20 支, 每天取一支连续检测 20 d, 计算批间精密度。

1.5 准确度试验 根据 CLSI EP9-A2 文件^[3]要求, 以 HPLC 法为参比方法, 胶乳凝集法为实验方法做比对试验。每天收集高、中、低值 8 份标本, 分别用 HPLC 法和胶乳凝集法检测, 每份标本检测 2 次, 第一次按 1→8 顺序, 第二次按 8→1 顺序检测, 取两次检测结果的平均值, 连续检测 5 d, 共 40 份标本。以 HPLC 法检测结果为参比方法(X), 以胶乳凝集法实验方法(Y)作比对, 计算回归方程。

1.6 线性试验 根据 CLSI EP6-A2 文件^[4]要求, 取 HbA1c 检测结果分别为 4.6% 和 15.2% 的 2 份标本, 经预处理后按 10L(4.6% 浓度标本)、8L+2H(15.2% 浓度标本)、6L+4H、4L+6H、2L+8H、10H 比例混合后, 得到一系列不同浓度的标本, 对每份标本进行 4 次重复检测, 并记录结果。

1.7 回收率计算 取一份已知 HbA1c 浓度为 10.5% 的新鲜血液标本, 经预处理后分成 5 管, 每管 400 μ L, 第一管中加入 40 μ L 蒸馏水, 其余 4 管分别加入 40 μ L 不同浓度的配套校准品混合后进行检测, 并记录计算回收率。

1.8 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行数据处理及统计学分析。

2 结果

2.1 精密度 用胶乳凝集法检测高、低值两个批号质控品测得的批内、批间变异系数(CV)见表 1。

2.2 准确度 以 HPLC 法检测结果为参比方法(X), 以胶乳

[△] 通讯作者, E-mail:13912216818@139.com。