

度为 38%~87%^[6]。随着阑尾炎疾病严重性的增大 hs-CRP 水平升高越明显,因此,临床常规检测其浓度变化对急性阑尾炎的诊断、鉴别诊断有一定的临床价值,但临床医师仅凭 hs-CRP 水平的升高不足以判断是否需要手术治疗。本研究同时检测单纯性、化脓性、阑尾周围脓肿、穿孔性及坏疽性阑尾炎患者 hs-CRP 水平和 WBC 计数,结果显示 hs-CRP 水平随着阑尾炎病变程度的加重而明显增高,有一定的相关性,其中穿孔性及坏疽性阑尾炎患者 hs-CRP 水平较其他 3 种阑尾炎类型明显升高($P < 0.05$),而不同病理类型患者 WBC 计数比较差异无统计学意义($P > 0.05$),提示 hs-CRP 水平变化能反映阑尾炎病变的严重程度。

PCT 的生物学效应目前尚无明确的结论,主要包括:抗炎和保护作用、趋化因子作用及次级炎性因子作用^[7-8]。健康人群体内 PCT 水平很低(< 0.05 ng/mL),在病毒感染、肿瘤及手术创伤时 PCT 保持低水平,但在人体细菌性感染和脓毒症时,PCT 水平明显升高。在细菌感染 2 h 后即可检测到 PCT 水平的异常升高,细菌感染后 12~24 h 显著升高并达到反应峰值,随着抗菌药物的有效治疗和炎性病灶的有效控制与清除,PCT 水平则迅速下降,对细菌性感染的早期诊断、治疗监测及评估有较高的价值。PCT 是一种新的炎症指标,特别是在诊断细菌性感染中发挥了极其重要的价值,近年来临床各科室都在广泛应用,PCT 在化脓性状态中会升高,同样地在急性阑尾炎中也会升高,尤其穿孔性及坏疽性阑尾炎患者 PCT 水平升高更明显^[9-10]。本研究结果显示,穿孔性及坏疽性阑尾炎患者 PCT 水平明显高于急性化脓性阑尾炎患($P < 0.05$)。但与其他细菌性感染相比较,PCT 在急性阑尾炎中的升高程度较低。

临床上经常碰到部分急性阑尾炎患者 WBC 升高不明显,这可能是因为患者在感染之前其 WBC 计数较低或者部分患者化疗后 WBC 计数处在一个较低的状况,感染时 WBC 虽有轻度的增加但仍位于正常参考值范围内,或部分老年患者细胞免疫力下降,感染后 WBC 计数不升高。因此,该类患者如果仅凭 WBC 计数来判断人体是否存在感染会造成漏诊和误诊,

• 临床研究 •

酶标仪与血小板聚集仪测定血小板抗低渗休克反应的比较分析

甘新宇,杨 洋,赵景岚,于丽君

(成都军区总医院输血科,四川成都 610083)

摘要:目的 通过与血小板聚集仪法进行比较,建立用酶标仪测定血小板低渗休克反应(HSR)的方法。方法 分别用酶标仪和血小板聚集仪对含不同比例新鲜血小板的富血小板血浆进行 HSR 检测,并对这两种方法的灵敏度、准确度和重复性进行比较分析。结果 酶标仪法和血小板聚集仪法测得 HSR 分别为 $(65 \pm 24)\%$ 和 $(69 \pm 20)\%$,灵敏度均为 20%;采用酶标仪法和血小板聚集仪法对分别含 75%、50%、25%球形血小板样品重复测定 10 次,变异系数(CV)分别为 10.3%、5.2%、3.5%和 11.0%、6.2%、4.1%;HSR 测定值准确度与球形血小板百分比相关,其相关系数 r 分别为 0.959 8 和 0.968 4。结论 酶标仪法与血小板聚集仪法对 HSR 的测定无明显差异,酶标仪可用于 HSR 的标准化检测。

关键词:血小板低渗休克反应; 酶标仪; 血小板聚集仪

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.05.041

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)05-0670-03

血小板低渗休克反应(HSR)是指血小板(PLT)在渗透压低的环境中会发生肿胀变形,一定时间后又可恢复其原有形状,这种变形后又恢复的能力是反映 PLT 功能的一项重要指标,它与 PLT 的回收率和存活时间呈正相关^[1-2]。目前,国内

但此时患者 PCT、D-D、hs-CRP 水平均升高。因此,PCT、D-D、hs-CRP 及 WBC 计数联合应用才能有效提高诊断感染性疾病的准确率,更好地指导临床诊治。

参考文献

- [1] 赵曦,张子通,王斌,等.超敏 C 反应蛋白、白细胞计数与阑尾炎病情的相关性分析[J].广东医学院学报,2011,29(5):485-487.
- [2] 朱秋良.D-二聚体,降钙素原和 C 反应蛋白在急性阑尾炎中的评价[J].国际检验医学杂志,2013,34(17):2248-2249.
- [3] 楼亚玲,王伟群,韩杰华.D-二聚体、纤维蛋白原、白细胞联检在急性阑尾炎中的应用[J].放射免疫学杂志,2013,26(4):500-501.
- [4] 陈涛,王应良,王一萍,等.胱抑素 C、同型半胱氨酸、超敏 C 反应蛋白和 D-二聚体联合检测动脉粥样硬化性脑梗死的临床意义[J].中国临床神经科学,2013,21(5):562-565.
- [5] 陈涛,王一萍,王应良,等.血浆胱抑素 C、同型半胱氨酸、D-二聚体及超敏 C 反应蛋白检测在急性脑梗死诊治中的临床应用[J].国际检验医学杂志,2013,34(23):3168-3169.
- [6] Akyildiz HY,Sözüer E,Akcan A,et al.The value of D-dimer test in the diagnosis of patients with nontraumatic acute abdomen[J].Ulus Travma Acil Cerrahi Derg,2010,16(1):22-26.
- [7] Menéndez R,Cavalcanti M,Reyes S,et al.Markers of treatment failure in hospitalised community acquired pneumonia[J].Thorax,2008,63(5):447-452.
- [8] Christ-Crain M,Opal SM.Clinical review:the role of biomarkers in the diagnosis and management of community-acquired pneumonia[J].Crit Care,2010,14(1):203.
- [9] Maruna P,Frasko R,Gürlich R.Plasma procalcitonin in patients with ileus.Relations to other inflammatory parameters[J].Physiol Res,2008,57(3):481-486.
- [10] Markogiannakis H,Memos N,Messaris E,et al.Predictive value of procalcitonin for bowel ischemia and necrosis in bowel obstruction[J].Surgery,2011,149(3):394-403.

(收稿日期:2015-09-22)

HSR 检测方法尚未标准化,常用方法包括分光光度计检测法和血小板聚集仪检测法^[2-3]。本研究利用酶标仪对 HSR 进行检测,并与血小板聚集仪检测法进行灵敏度、准确度和重复性等方面的对比研究,分析酶标仪法检测 HSR 的效能。现报道

如下。

1 材料与方 法

1.1 样品制备^[4] 采用血小板单采仪采集 1 个治疗量的 PLT,取 10 mL 乏血小板血浆 (PPP),加入单采 PLT 调节 PLT 浓度至 $(250\sim 300)\times 10^9/L$,即富血小板血浆 (PRP),将其分为两份:(1)1 份 PLT 悬液放入专用 PLT 保存箱中静置 25 h,再振荡 1 h,即为 100% 的正常 PLT;(2)另 1 份加入 2 g/L 的乙二胺四乙酸二钠 (EDTA- Na_2)后,放入 2~4 °C 冰箱储存 24 h,取出放入 PLT 专用保存箱静置 1 h,再振荡 1 h,即为 100% 的球形 PLT。两份均用羟乙基哌嗪乙磺酸 (HEPES)缓冲液调节 pH 值至 7.0 后待用。

1.2 主要仪器 Thermo MK3 型酶标仪 (天津开元医疗有限公司),500CA 型血小板聚集分析仪 (美国 Chrono-log 公司),ABX60 型血细胞计数仪 (日本 Sysmex 公司)。

1.3 方 法

1.3.1 血小板聚集仪法测定 HSR^[4] 将血小板聚集仪搅拌速度旋钮调至刻度 10 并开机预热 30 min,然后将 PPP、PRP、磷酸盐缓冲液 (PBS)和蒸馏水 4 种液体放入预热槽中预热 10 min。吸取 500 μL PRP 和 PPP 至两个测试杯中,搅拌加有 PPP 的测试杯后放置到测试位,调节基线至 0%~100%,待基线稳定后吸取 250 μL PBS 加入到 PPP 中,立即运行 30 s,记录 PBS 的吸光度 (A)值 (以 X 表示);吸取 250 μL 蒸馏水加入 PRP 中行相同测试,记录 A 值,待 A 值达到平衡后终止测定,记录样品最大 A 值 (以 Y 表示)和最小 A 值 (以 Z 表示)。计算 $HSR = [(Y - Z) / (Y - X)] \times 100\%$ 。

1.3.2 酶标仪测定 HSR^[5] 分别取样品 3 份,同时测定 HSR 并取测定结果的平均值。(1)测定最小吸光度 (A_0)和恢复 15 min 后吸光度 (A_{15}):在 96 孔酶标板微孔中加入 200 μL 蒸馏水,再加入样品 100 μL ,蒸馏水调零,以 630 nm 波长作为主波长,450 nm 波长为第 2 波长,用 MK3 型酶标仪测定样品的 A_0 ,并于 15 min 后振荡 15 s 再次测定该样品的 A_{15} 。(2)测定最大吸光度 (A_{max}):在 96 孔酶标板微孔中加入 200 μL PPP,再加入样品 100 μL ,PPP 调零,用 MK3 型酶标仪以相同波长测定样品的 A_{max} 值。(3)HSR 的计算: $HSR = (A_{15} - A_0) / (A_{max} - A_0) \times 100\%$ 。

1.3.3 重复性试验^[4] 将 1.1 样品制备中的正常 PLT 悬液与球形 PLT 悬液按不同比例混合,制成高 (75%)、中 (50%)、低 (25%) 的球形 PLT 板悬液,分别用酶标仪和聚集仪重复测定 HSR 10 次,分别计算均值 (\bar{x})、标准差 (s) 及变异系数 (CV)。

1.3.4 灵敏度试验^[4] 按 1.3.3 同样方法配制 0%、10%、20%、30% 的球形 PLT 悬液,同样用酶标仪和聚集仪分别重复检测 HSR 10 次,分别计算 \bar{x} 并进行比较分析。

1.3.5 准确性试验^[4] 按 1.3.3 同样方法配制 0%、25%、50%、75%、100% 的球形 PLT 悬液,同样用酶标仪和聚集仪分别检测 HSR,比较球形 PLT 水平及其与 HSR 测定值的相关性,以及两种检测方法的相关性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理与统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验进行比较分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两种方法 HSR 检测结果比较 酶标仪法测得 HSR 为 $(65 \pm 24)\%$,血小板聚集仪法测得 HSR 为 $(69 \pm 20)\%$,差异无

统计学意义 ($t = 0.7, P = 0.25$)。

2.2 两种方法检测 HSR 重复性比较 应用两种方法分别对高、中、低水平球形 PLT 悬液进行 HSR 检测,重复 10 次, \bar{x} 、s 及 CV 见表 1。

表 1 两种 HSR 检测方法的重复性比较 ($n = 10, \%$)

| 球形 PLT 百分比 (%) | 酶标法 | | | 血小板聚集仪法 | | |
|----------------|-----------|-----|------|-----------|-----|------|
| | \bar{x} | s | CV | \bar{x} | s | CV |
| 75 | 25.6 | 2.3 | 10.3 | 26.5 | 2.5 | 11.0 |
| 50 | 41.9 | 2.1 | 5.2 | 43.2 | 2.8 | 6.2 |
| 25 | 65.8 | 2.7 | 3.5 | 64.7 | 2.0 | 4.1 |

2.3 两种方法检测 HSR 的灵敏度比较 应用两种方法分别检测 0%、10%、20%、30% 球形 PLT 悬液,重复 10 次检测。分别与球形 PLT 百分比为 0% 的溶液比较,酶标法在球形 PLT 百分比为 20%、30% 时测得的 HSR 降低,差异有统计学意义 (t 值分别为 2.228、3.169, $P < 0.05$);血小板聚集仪法在球形 PLT 百分比为 20%、30% 时测得的 HSR 也降低,差异有统计学意义 (t 值分别为 2.764、3.581, $P < 0.05$)。当球形 PLT 增加到 20% 时,两种方法测得的 HSR 均开始明显降低,故两种方法的检测灵敏度均为 20%。见表 2。

表 2 两种 HSR 检测方法的灵敏度 ($n = 10, \bar{x} \pm s, \%$)

| 球形 PLT 百分比 (%) | 酶标法 | 血小板聚集仪法 |
|----------------|------------------|------------------|
| 0 | 92.3 ± 2.3 | 90.5 ± 3.8 |
| 10 | 85.6 ± 3.7 | 81.2 ± 4.0 |
| 20 | $72.7 \pm 4.3^*$ | $70.1 \pm 2.9^*$ |
| 30 | $64.5 \pm 3.3^*$ | $63.7 \pm 4.3^*$ |

*: $P < 0.05$,与同种方法球形 PLT 百分比为 0% 的悬液比较。

2.4 两种方法检测 HSR 的准确性及其与 PLT 水平的相关性 用两种方法分别对 0%、25%、50%、75%、100% 的球形 PLT 悬液进行 HSR 检测,测得 HSR 与球形 PLT 水平呈明显正相关 (酶标仪法: $r = 0.9598$;血小板聚集仪法: $r = 0.9684$)。两种方法测得 25%、50%、75%、100% 球形 PLT 悬液的 HSR 比较,差异均有统计学意义 (t 值分别为 1.735、1.799、1.703、1.621, $P < 0.05$),且两种方法测得 HSR 也呈正相关 ($r = 0.9875$)。见表 3。

表 3 两种 HSR 检测方法的准确性 ($n = 10, \bar{x} \pm s, \%$)

| 球形 PLT 百分比 (%) | 酶标法 | 血小板聚集仪法 |
|----------------|------------------|----------------|
| 0 | 92.3 ± 2.3 | 90.5 ± 3.8 |
| 25 | $65.8 \pm 2.7^*$ | 64.7 ± 2.0 |
| 50 | $41.9 \pm 2.1^*$ | 43.2 ± 2.8 |
| 75 | $25.6 \pm 2.3^*$ | 26.5 ± 2.5 |
| 100 | $4.5 \pm 1.3^*$ | 5.0 ± 1.8 |

*: $P < 0.05$,与相同球形 PLT 百分比悬液血小板聚集仪法测得 HSR 比较。

3 讨 论

血小板聚集仪检测原理有比浊法和电阻法两种,电阻法适用于全血和血浆检测,而比浊法仅适用于血浆检测。比浊法实际就是 A 值检测法,酶标仪的检测原理也是 A 值检测。在检

测血浆中 PLT 的聚集时,如果能用方便快捷的酶标仪代替血小板聚集仪,将会极大地方便检验人员。

HSR 反映了 PLT 在低渗环境中因水进入发生变形后又恢复其原有正常形态的能力,在 PLT 悬液中加入水,悬液即处于低渗状态,水渗入 PLT,PLT 的体积随即发生肿胀,光透射增强;如果 PLT 功能正常,就能逐出细胞内的水份,其体积又能恢复到正常状态,于是光的折射率增强,A 值降低。PLT 这一体积膨胀又恢复的变化是由细胞内一系列的复杂活动和细胞膜离子通道变化及外部刺激所引起。与其他动物细胞一样,在低渗环境中,PLT 通过产生一系列反应使自身体积肿胀后再恢复正常,这主要是通过降低细胞内各种离子的浓度来维持 PLT 的体积,通常这种反应通过腺苷三磷酸(ATP)来完成。即在低渗溶液中细胞通过渗透吸水作用使水进入,细胞发生肿胀,此时细胞钙离子(Ca^{2+})浓度很快下降, Ca^{2+} 浓度下降导致细胞 ATP 的释放,ATP 与 G-蛋白-磷脂酶 C 相连接,而后 G-蛋白腺苷酸脱氢酶与 Ca^{2+} 受体连接,导致细胞膜上钾离子(K^+)、氯离子(Cl^-)通道开启, K^+ 、 Cl^- 同向转移, K^+ 、氢离子(H^+)泵关闭。这一系列信号传导导致 K^+ 、 Cl^- 和水又从细胞内移出,于是细胞的体积又恢复正常^[5-6]。检测 HSR 就是通过检测 PLT 体积膨胀时光透射变强,而 PLT 体积恢复时光透射又变弱,来评价 PLT 的体外功能,以细胞反应恢复率表示。PLT 在低渗环境中体积膨胀到最大时所需时间约为 18 s。应用酶标仪测定 HSR 时,加入 PRP 后混匀 8 s,再放入酶标仪进行吸光度监测,这段时间大约需要 10 s;PLT 体积从最大恢复到正常所需时间约为 15 min,故检测时间设定在 15 min。值得注意的是,环境温度对 HSR 的测定有较大影响,22 °C 保存的 PLT 悬液在测定前需预温至 37 °C 后再行测定。

本研究结果显示,酶标仪和血小板聚集仪两种方法测定 HSR 无明显差异,与文献[6-10]报道的 40%~80% 结果比较吻合,说明酶标仪是可以用于测定 HSR 的。酶标仪是实验室常用仪器,采用酶标仪测定 PLT 的 HSR,其方法简单,所需样

• 临床研究 •

肺心病患者上呼吸道感染产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌的检测

王向臣

(山东省烟台市烟台山医院检验科,山东烟台 264001)

摘要:目的 检测反复呼吸道感染(RRI)慢性肺心病患者咽拭子培养产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)病原菌,回顾分析其耐药性。方法 收集 2012 年 10 月至 2015 年 1 月于该院就诊的 1 098 例老年肺心病伴 RRI 患者咽拭子标本进行培养,用法国生物梅里埃细菌分析软件对患者进行菌株鉴定及药敏试验,结果按美国临床实验室标准化协会(CLSI)标准判读,并进行统计分析。结果 共检出大肠埃希菌 197 株、肺炎克雷伯菌 156 株,其中产 ESBLs 菌株的检出率分别为 44.16%、30.77%。产 ESBLs 菌株较非产 ESBLs 菌株有更强的耐药性,两者对亚胺培南、哌拉西林/舒巴坦及阿米卡星高度敏感,但对三代以下头孢类抗菌药物呈多重耐药性。结论 慢性肺心病合并 RRI 患者产 ESBLs 病原菌检出率较高,该类细菌对头孢类抗菌药物呈较高耐药性,依据细菌培养结果及药敏试验进行治疗是治疗成功的关键。

关键词:肺心病; 上呼吸道感染; 超广谱 β -内酰胺酶; 耐药性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.05.042

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)05-0672-03

反复呼吸道感染(RRI)是老年慢性肺心病患者的常见病,其发病率约为 25%。一般认为,老年人由于机体抵抗力下降及自身免疫功能降低,易患上呼吸道感染,尤其在春冬季节,因昼夜温差变化大,这一现象更加明显。RRI 已经成为严重影响

品少,重复性完全能达到要求,结果准确,检测迅速,可同时测定多份样品。对于没有血小板聚集仪的实验室,可以选择用酶标仪进行 HSR 检测。

参考文献

- [1] 谢如锋. 血小板体外质量评价及其临床意义[J]. 中国输血杂志, 2007, 20(3): 261-263.
- [2] Holme S, Moroff G, Murphy S. A multi-laboratory evaluation of in vitro platelet assays: the tests for extent of shape change and response to hypotonic shock[J]. Transfusion, 1998, 38(1): 31-40.
- [3] Gigout T, Blondel W, Didelon J, et al. Development and evaluation of an automatic method for the study of platelet osmotic response [J]. Technol Health Care, 1998, 5(7): 371-380.
- [4] 黄成根, 肖建宇, 蒋妮真, 等. 2 种血小板低渗休克反应测定方法的比较研究[J]. 中国输血杂志, 2008, 21(7): 514-516.
- [5] 孙晓红, 赵凤绵, 韩卫, 等. 酶标仪与分光光度计测定血小板抗低渗休克反应的对比分析[J]. 河北医药, 2013, 35(6): 928-929.
- [6] Rebulli P, Bertolini F, Holme S, et al. In vitro assessment of the quality of stored platelet concentrates[J]. Transfus Med Rev, 1994, 8(1): 29-36.
- [7] 韩玮, 刘景汉, 欧阳锡林, 等. 两种血小板保存箱保存富血小板血浆效果的比较[J]. 中国输血杂志, 2004, 17(5): 301-303.
- [8] Ringwald J, Walz S, Zimmermann R, et al. Hyperconcentrated platelets stored in additive solution: aspects on productivity and in vitro quality[J]. Vox Sang, 2005, 89(1): 11-18.
- [9] 赵凤绵, 孙晓红, 张爱红, 等. 采用 HSR 方法测定手工汇集浓缩血小板在不同保存温度下的保存效果[J]. 中国输血杂志, 2008, 21(2): 116-118.
- [10] 王红, 刘嘉馨, 雷宇, 等. 2 种国产血小板滤器滤除白细胞对体外血小板功能的影响[J]. 中国输血杂志, 2011, 24(4): 323-326.

(收稿日期: 2015-10-06)

老年人身体健康及生活质量的公共卫生问题。有研究认为, 由于受凉、淋雨、过度疲劳等因素, 导致老年人呼吸道局部防御能力降低, 使得原本存在于上呼吸道的病原体能够迅速繁殖并侵入人体导致感染。RRI 以病毒感染最为常见, 细菌感染次