

本研究分别对健康孕妇及胎膜早破孕妇做降钙素原、C-反应蛋白检测,结果显示,观察组孕妇血清C-反应蛋白及降钙素原水平均较对照组高,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),由此提示检测血清C-反应蛋白及降钙素原水平能早期诊断胎膜早破,具有一定得可行性。但是对2项指标的敏感度及特异性进行观察显示,降钙素原在诊断中的敏感度及特异性较C-反应蛋白明显较高,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),由此提示降钙素原可作为胎膜早破早期诊断的首选指标,对临床诊断具有指导作用。降钙素原为甲状腺细胞合成及分泌的物质,正常生理状态下,其水平极低,甚至难以测出,一旦机体受病原体入侵,其感染因素可促进甲状腺细胞合成及分泌降钙素原,也能加强实质细胞中降钙素原表达<sup>[6]</sup>。有学者研究中以降钙素原作为感染疾病诊断指标,结果发现,其敏感度达80.2%<sup>[7]</sup>,与本研究结果相符。因此,对降钙素原水平进行检测,在胎膜早破诊断中可有效提高准确性,减少漏诊。

胎膜早破可诱发早产、胎儿宫内窘迫等不良妊娠结局,增加剖宫产率及产后出血率,降低新生儿质量,也影响产妇机体修复<sup>[8]</sup>。本研究中,观察组妊娠结局明显较健康对照组差,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),由此提示胎膜早破与妊娠结局呈密切相关性,进一步表明早期诊断的重要性。降钙素原对胎膜早破的诊断作用显著,可预判母婴结局,从而指导临床治疗,通过针对性应用宫缩抑制剂,缓解羊膜及绒毛膜的炎性反应,对提高新生儿质量,延长妊娠时间具有一定价值<sup>[9-10]</sup>。由此可见,以降钙素原水平作为胎膜早破的早期诊断指标有重要意义。

综上所述,C-反应蛋白与降钙素原均能作为胎膜早破的诊断指标,但是降钙素原的敏感度及特异性更高,可有效提高诊断得准确性,从而为早期治疗提供更好的指导,对改善母婴预后有重要意义。

## 参考文献

[1] 王瑞. 78例早产合并胎膜早破孕妇的妊娠结局分析[J].

### • 临床研究 •

## 孕妇及新生儿游离甲状腺素和促甲状腺激素参考区间的探讨

刘伟玲,刘伟旗<sup>△</sup>,胡 河,蔡锦河,黎志全

(广东省佛山市禅城区中心医院检验科 528000)

**摘要:**目的 建立佛山市禅城区中心医院孕妇与新生儿游离甲状腺素(FT<sub>4</sub>)、促甲状腺激素(TSH)参考区间,为临床诊治孕妇及新生儿甲状腺疾病提供依据。方法 随机选取佛山市禅城区中心医院257例产前检查孕妇及其子代257例新生儿,采用Beckman Coulter UniCel DxI 800全自动化学发光免疫分析仪检测FT<sub>4</sub>、TSH水平。结果 佛山市禅城区中心医院孕妇FT<sub>4</sub>、TSH参考范围分别为7.37~20.66 pmol/L、0.071~6.772 μU/L;新生儿FT<sub>4</sub>、TSH参考范围分别为6.84~29.38 pmol/L、0.646~19.242 μU/L。孕妇和新生儿采用文献FT<sub>4</sub>、TSH参考区间对数据分析异常水平都高于佛山市禅城区中心医院检验科参考区间,FT<sub>4</sub>差异有统计意义( $P<0.05$ ),而TSH差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 不同地域、仪器及方法应建立各自实验室的孕妇及新生儿FT<sub>4</sub>、TSH的参考区间。

**关键词:**孕妇; 新生儿; 游离甲状腺素; 促甲状腺激素; 参考区间

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2016.11.046

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)11-1554-03

甲状腺激素是维持机体正常基础代谢和促进生长发育的重要内分泌激素,孕妇合并甲状腺疾病仅次于糖尿病,为较常见的内分泌系统疾病。妊娠合并甲状腺疾病可引起流产、死胎、胎儿早产、新生儿窒息等疾病,婴幼儿神经系统及生长发育快速发展,如出生后新生儿甲状腺功能异常可严重影响神经系统

重庆医学,2011,40(27):2780-2781.

- [2] 中华医学会妇产科学分会产科学组. 胎膜早破的诊断与处理指南(2015)[J]. 中华妇产科杂志,2015,50(1):3-8.
- [3] 袁仕伟,张跃军,郑卫东,等. 降钙素原、C-反应蛋白及IL-6在早产胎膜早破新生儿败血症中的诊断价值[J]. 中国医药导报,2012,9(15):114-115.
- [4] 吴翼君,余静,管利荣,等. CRP以及PCT检测应用于胎膜早破新生儿细菌感染的诊断意义[J]. 标记免疫分析与临床,2015,22(7):640-642.
- [5] 霍会蚕,程国梅,崔世红,等. 降钙素原、新蝶呤与亚临床感染胎膜早破的相关性研究[J]. 现代妇产科进展,2011,20(3):190-192.
- [6] 陆竹梅,孟晓红. 血清细胞间黏附分子-1对未足月胎膜早破并发绒毛膜羊膜炎的诊断意义[J]. 中国妇幼保健,2015,30(19):3138-3140.
- [7] 黄伟平,江稳强,胡北,等. 降钙素原对全身炎症反应综合征患者病情预后的判断价值[J]. 中国危重病急救医学,2012,24(5):294-297.
- [8] 齐烨. 血清降钙素原测定在感染性疾病中的诊断价值[J]. 实用儿科临床杂志,2011,26(14):1141-1142.
- [9] 郭卫红,宋宏先,安艳芳,等. 血清降钙素原的测定及在临床中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(2):123-124.
- [10] 靳瑾,张燕,王志坚,等. 胎膜早破伴新生儿感染的高危因素分析及其临床意义[J]. 南方医科大学学报,2011,31(3):465-468.

(收稿日期:2016-01-09 修回日期:2016-03-16)

佛山地区孕妇及新生儿甲状腺功能诊治提供依据,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取禅城区中心医院 257 例产前检查孕妇及其子代 257 例新生儿,孕妇平均年龄(27±4)岁,新生儿年龄小于 28 d。孕妇入选对象选择标准为单胎妊娠妊娠前无个人或家族性甲状腺疾病史;无触及甲状腺肿大;近 3 个月没有服用含碘药物或抗甲状腺药物史;无不良嗜好,如酗酒、吸烟等;无遗传性疾病、其他自身免疫性疾病、脏器功能不全、精神病史等。

**1.2 标本采集** 研究对象均抽取静脉血 3 mL,3 000 r/min 离心 10 min,分离血清,所有标本当天完成所有项目检测。

### 1.3 方法

**1.3.1 仪器与试剂** 采用 Beckman Coulter UniCel DxI 800 全自动化学发光免疫分析仪及其原装配试剂。质控物由 Bio-rad 公司提供。

**1.3.2 标本检测**  $FT_4$  和 TSH 采用化学发光法进行检测。

**1.3.3 质量控制** 试验由固定检验人员操作,试验前用质控物校对仪器,结果显示符合质控要求后,再进行标本检测。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS19.0 统计软件对数据进行处理,正态分布数据以确定参考区间;非正态分布数据参考区间以第 5 百分位数和第 95 百分位数表示;计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 *t* 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 妊娠期孕妇与新生儿  $FT_4$  和 TSH 频数分布及参考区间** 对研究对象  $FT_4$ 、TSH 数据进行分析,结果发现,妊娠期孕妇  $FT_4$ 、TSH 及新生儿 TSH 分布呈非正态分布,而新生儿  $FT_4$  呈正态分布(图 1),其参考范围为孕妇  $FT_4$  为 7.37~20.66 pmol/L, TSH 为 0.071~6.772  $\mu$ U/L;新生儿  $FT_4$  为 6.84~29.38 pmol/L;TSH 为 0.646~19.242  $\mu$ U/L。

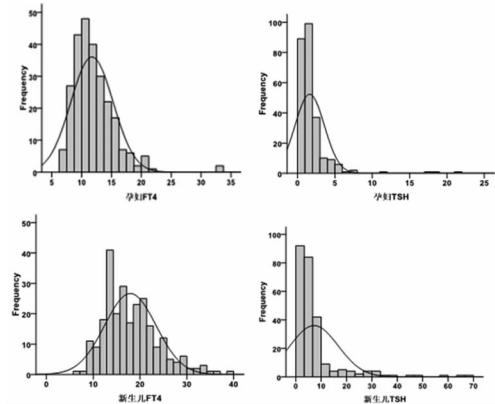


图 1 妊娠期孕妇与新生儿  $FT_4$ 、TSH 分布示意图

**2.2 妊娠期孕妇与新生儿  $FT_4$ 、TSH 检测结果比较** 见表 1。对 257 例孕妇、新生儿  $FT_4$ 、TSH 进行分析,发现孕妇  $FT_4$ 、TSH 与新生儿二者之间差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 1 孕妇与新生儿  $FT_4$ 、TSH 检测结果比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$FT_4$ (pmol/L)	TSH( $\mu$ U/L)
孕妇	12.02±3.52	1.886±2.388
新生儿	18.11±5.75	5.175±4.756
Z	6.352	6.396
P	0.000	0.000

**2.3 孕妇与新生儿  $FT_4$ 、TSH 水平与文献参考区间比较** 见表 2、3。研究对象  $FT_4$ 、TSH 水平与文献参考区间相比较,结

果显示,孕妇与新生儿文献  $FT_4$ 、TSH 异常水平都高于佛山地区,二者  $FT_4$ 、TSH 异常水平进行比较,  $FT_4$  差异有统计意义( $P < 0.05$ ),TSH 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表 2 孕妇  $FT_4$ 、TSH 水平与文献[1]参考区间比较

项目	范围	异常[n(%)]	$\chi^2$	P
$FT_4$ (pmol/L)	佛山地区 7.37~20.66	13(5.06)	176.342	0.000
	文献[1] 12.00~22.00	154(59.92)		
TSH( $\mu$ U/L)	佛山地区 0.071~6.772	12(4.67)	2.133	0.144
	文献[1] 0.270~4.200	20(7.78)		

表 3 新生儿  $FT_4$ 、TSH 水平与文献[2]参考区间比较

项目	范围	异常[n(%)]	$\chi^2$	P
$FT_4$ (pmol/L)	佛山地区 6.84~29.38	12(4.67)	181.380	0.000
	文献[2] 19.00~49.00	155(60.31)		
TSH( $\mu$ U/L)	佛山地区 0.646~19.242	12(4.67)	2.623	0.105
	文献[2] < 20.000	21(8.17)		

**2.4 妊娠期孕妇与新生儿  $FT_4$ 、TSH 相关性分析** 孕妇与新生儿  $FT_4$ 、TSH 进行相关性分析,  $FT_4$  与 TSH 相关系数分别为 0.02、0.09,说明二者相关程度弱,基本不相关。

## 3 讨 论

近年来,妊娠期甲状腺疾病已成为围生医学研究的热点,孕妇在正常妊娠过程中甲状腺激素水平的变化对胎儿的生长及大脑发育有重要影响<sup>[3-4]</sup>。妊娠期甲状腺功能亢进可增加妊娠妇女流产、胎盘早剥、先兆子痫等疾病的发病率,而妊娠期甲状腺功能减退则可引起低体质量儿、早产儿等;同时胚胎期人类脑神经发育主要依赖于甲状腺激素,胎儿甲状腺组织在妊娠 10~12 周开始形成,18~20 周时开始分泌甲状腺激素,参与神经髓鞘生成、突出发生、神经递质调节等过程<sup>[5]</sup>。在 20 周前,供给胎儿脑发育所需的甲状腺激素主要来源于母体,因此,妊娠期间甲状腺功能异常可直接影响其后代的发育。由于甲状腺疾病的临床症状进程缓慢,且其症状与妊娠反应相似,因此,妊娠期甲状腺疾病易发生漏诊,对妊娠期患甲状腺疾病孕妇及时进行治疗,可减少甚至避免对胎儿大脑发育的损伤<sup>[6]</sup>。故合理甲状腺激素区间对筛查妊娠期甲状腺疾病显得尤为重要。妊娠期孕妇甲状腺激素水平具有独特的生理变化,妊娠期甲状腺疾病的诊治对实验室检测结果的依赖性较强,因此,妊娠期甲状腺激素参考区间的确定至关重要<sup>[7]</sup>。TSH 作为垂体合成分泌的糖蛋白,是调节下丘脑-垂体-甲状腺系统的主要激素,血液中甲状腺激素水平的变化可负反馈地导致血清 TSH 水平的显著变化,且 TSH 不与血浆蛋白结合,干扰因素少且结果可靠;而  $FT_4$  代表血清中  $T_4$  的代谢活性部分,反映激素产生(甲状腺分泌,甲状腺外  $T_4$  向  $T_3$  转化)和激素清除(血管外转动、代谢)的真实状态。妊娠早期  $FT_4$  水平可较非妊娠期升高 10%~15%, $FT_4$  并不依赖人群和各人体内差异的结合蛋白浓度,比  $TT_4$  测定更有意义。因此,国内、外均推荐把血清  $FT_4$ 、TSH 测定作为妊娠期甲状腺功能首选筛查项目。各地实验室应根据区域、实验室所用仪器和方法建立孕妇  $FT_4$ 、TSH 参考区间,为临床诊断妊娠期甲状腺疾病提供可靠依据。本研究采用化学发光法对孕妇  $FT_4$ 、TSH 水平参考区间进行探讨,其  $FT_4$  为 7.37~20.66 pmol/L, TSH 为 0.071~6.772  $\mu$ U/L。本研究  $FT_4$  参考区间低于文献参考区间,而 TSH 参考区间大于文献参考区间。应用本试验参考区间与文献参考区间对本研究数据进行分析发现,文献参考区间异常率高于本试验参考区间,二者异常水平进行比较,  $FT_4$  差异有统计意义

( $P < 0.05$ ), 而 TSH 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 由此说明文献参考区间对孕妇 FT<sub>4</sub> 诊治易造成误诊。

新生儿时期先天性甲状腺功能减低症(CH)是新生儿筛查的重要疾病之一, 它常因甲状腺激素合成不足或其受体缺陷所导致<sup>[8]</sup>。婴幼儿身体快速生长发育, 出生后新生儿如果甲状腺功能异常可严重影响神经系统及体格的发育。FT<sub>4</sub>、TSH 作为先天性甲状腺功能减低症诊断依据, 不但能避免漏诊, 早期诊断, 还可及时补充甲状腺素, 避免造成不可逆的损伤。本研究对新生儿 FT<sub>4</sub>、TSH 水平参考区间进行探讨, 结果显示, 本研究新生儿 FT<sub>4</sub> 为 6.84~29.38 pmol/L, TSH 为 0.646~19.242 μU/L, 新生儿 FT<sub>4</sub>、TSH 明显高孕妇, 以及成年人 FT<sub>4</sub>、TSH 水平, 以 TSH 尤为突出, 这与较早前文献<sup>[9]</sup>报道的结果一致。据文献报道, 新生儿甲状腺激素随年龄增长而降低, 且生后 1 个月内明显高于其他年龄段<sup>[10]</sup>, 这与本研究结果相一致。应用本实验室参考区间与文献参考区间对研究对象的 FT<sub>4</sub>、TSH 结果进行分析, 本实验室 FT<sub>4</sub>、TSH 参考区间低于文献参考区间, 二者比较 FT<sub>4</sub> 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); TSH 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。说明应用文献参考区间对新生儿 FT<sub>4</sub>、TSH 诊治易造成误诊。

本研究以本单位为中心, 参考个体涵盖面不够广泛, 若能进行多单位联合研究, 则能获取更多的客观数据, 降低客观因素的影响, 使参考区间更加客观有效, 更有助于对临床孕妇及新生儿甲状腺疾病的诊治。

## 参考文献

[1] 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: 526-527.

## • 临床研究 •

# 链球菌溶血素 O 的表达、纯化及生物活性鉴定

陈鸿恩<sup>1</sup>, 梁海琦<sup>1</sup>, 肖士宾<sup>1</sup>, 李富勇<sup>2</sup>

(1. 江西省赣州市立医院 341000; 2. 宁波美康生物科技股份有限公司, 浙江宁波 315104)

**摘要:** 目的 重组表达链球菌溶血素 O(SLO), 纯化后验证其生物学活性。方法 合成目的基因, 采用聚合酶链反应扩增、酶切连接的方式构建 SLO-pET28a 载体, 经酶切和测序验证后, 转化大肠杆菌 BL21(DE3) 中, 经诱导表达条件优化, 采用镍亲和柱和分子筛纯化 SLO。分别检测重组 SLO 和天然 SLO 对试剂盒校准品的响应情况和与临床样本匹配程度。结果 成功构建了 SLO-pET28a-BL21(DE3) 菌株, 在 OD<sub>600</sub>=0.8 时, 25 °C, 0.4 mmol IPTG 诱导, 大于 90% 目的蛋白会可溶性表达。纯化后 SLO 纯度大于 95%。重组的 SLO 与提取的 SLO 对试剂盒校准品的响应相当, 与临床样本的匹配程度一致。结论 重组 SLO 的生物学活性与提取相当, 为检测血清中的抗链球菌溶血素 O 奠定了基础。

**关键词:** 重组链球菌溶血素 O 抗原性; 溶血活性; 表达; 纯化; 生物活性

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.11.047

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2016)11-1556-04

大部分链球菌溶血素 O(SLO) 是由  $\beta$ -溶血型中的 a 组链球菌(GAS) 分泌的, 是具有溶血活性的蛋白分子, 相对分子质量约为  $68 \times 10^3$ , 其溶血活性和抗原性对氧敏感<sup>[1]</sup>。抗链球菌溶血素 O(ASO) 是常用的诊断感染的标志, 测定的机制是 SLO 和 ASO 的抗原抗体反应, 可以采用 ELISA 或者胶乳比浊等技术手段放大反应的信号, 配以标准品可以定量检测血清中的 ASO<sup>[2-3]</sup>。SLO 属于细菌膜穿孔蛋白家族, 由于这个家族绝大多数成员的膜受体都是胆固醇, 所以命名为胆固醇依赖溶细胞毒素家族(CDCs)。CDCs 中多数蛋白对氧非常敏感, 其功能活性是依靠还原剂而存在。国内医学微生物学教材解释 SLO 对分子氧敏感, 是因为在氧化时 SLO 可形成链内二硫键。但 SLO 肽链内只有 1 个半胱氨酸残基(Cys, C), 有的 CDC 甚至 1

- [2] 托马斯, 朱汉民等译. 临床实验诊断学: 实验结果的应用和评估 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004: 1004-1007.
- [3] Lazarus JH. Thyroid function in pregnancy [J]. Br Med Bull, 2011, 97(2): 137-148.
- [4] 陈桂山, 杨有业, 温冬梅, 等. 临床生化检验项目生物参考区间适用性验证探讨 [J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(2): 170-174.
- [5] Patel J, Landers K, Li H, et al. Thyroid hormones and fetal neurological development [J]. J Endocrinol, 2011, 209(1): 1-8.
- [6] 康燕. 孕妇甲状腺疾病对胎儿及新生儿的影响 [J]. 实用儿科临床杂志, 2011, 26(2): 80-82.
- [7] 范建霞, 宋梦帆. 妊娠期甲状腺功能特异性参考值的意义 [J]. 中华围产医学杂志, 2012, 15(2): 69-72.
- [8] 中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢学组, 中华预防医学会儿童保健分会新生儿疾病筛查学组. 先天性甲状腺功能减低诊疗共识 [J]. 中华儿科杂志, 2011, 49(6): 421-423.
- [9] 胡亚美. 诸福棠实用儿科学 [M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 101-105.
- [10] Chaler EA, Fiorenzano R, Chileli C, et al. Age-specific thyroid hormone and thyrotropin reference intervals for a pediatric and adolescent population [J]. Clin Chem Lab Med, 2012, 50(5): 885-890.

(收稿日期: 2016-01-13 修回日期: 2016-03-21)

个 Cys 也没有, 根本不可能形成链内二硫键。同时说明 SLO 对氧敏感与二硫键无关。SLO 的获得一般有两种途径: (1)用含有 1% 葡萄糖的 Todd-Hewitt 肉汤培养 GAS<sup>[4]</sup>。该方法培养提取的 SLO 虽然活性及抗原性好, 但是产量低, 提纯方法较复杂, 且有链球菌感染的风险, 现较少使用。 (2)通过重组表达。该蛋白为原核蛋白, 故可以采用大肠杆菌表达, 该技术成熟简便、产量高、加入标签后易纯化<sup>[5]</sup>。本研究即利用 pET 系统表达重组 SLO, 通过优化诱导表达条件, 减少原核表达包涵体蛋白比例。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 质粒与细胞 TOP10、BL21(DE3) 感受态和 pET28a