

血液凝固环节,缩短检验时间,提高生化指标检测值的准确性,但需要注意的是,应用肝素抗凝血浆进行生化检验,CO₂、K、TP 等生化指标可能出现一些差异,临床中需注意进行校正与调整。高艳飞^[10]在临床研究发现,血浆、血清检测中,K⁺出现明显的差异,究其原因,主要有以下两点:(1)K⁺外渗,未加抗凝剂的试管,其分离时间较长,K⁺易渗入到血清中,影响检测结果;(2)溶血现象,肝素抗凝血浆极少出现溶血现象,而血清在凝固过程中,受到离心机等因素的影响,易出现溶血现象。本院在急诊患者生化检验中,常规抽取 83 例急诊患者的静脉血 4 mL,注入 2 支试管中,1 支试管加入肝素抗凝剂,1 支试管未加入肝素抗凝剂,每支 2 mL,分别进行各项生化指标检测,结果显示,血浆、血清中 CO₂、K、TP 生化指标检测结果比较差异有统计学意义($P<0.05$);血浆、血清中 GLU、UA、ALT、Na、CK、BUN、Cl、AST、Mg、Cr、Ca、P 生化指标检测结果比较差异无统计意义($P>0.05$),证实肝素抗凝血浆可应用于急诊生化检验。

综上所述,在急诊患者生化检验中应用肝素抗凝血浆取代传统的血清,不仅可以缩短检验时间,有助于急诊患者的早期治疗,而且可取得理想的检验效果,提高 GLU、UA、ALT、Na、CK、BUN、Cl、AST、Mg、Cr、Ca、P 等生化指标检测值的准确性,但 CO₂、K、TP、等生化指标应根据临床进行调整。

参考文献

[1] 徐震,吴继华,钮丽萍,等. 肝素抗凝血浆用于生化检验的
• 临床研究 •

可行性分析[J]. 安徽医药,2014,18(11):2154-2156.
[2] 葛秋芬. 浅析肝素抗凝血浆用于急诊生化检验的有效性[J]. 临床医药文献杂志,2015,2(11):6915-6918.
[3] 刘秀瑰. 肝素抗凝血浆在急诊患者生化检验中的应用[J]. 中国民康医学,2015,27(8):50-51.
[4] 徐秀英. 肝素抗凝血浆在急诊生化检验的应用研究[J]. 中国医学创新,2012,9(7):26-27.
[5] 陈立峰. 肝素抗凝血浆用于急诊生化检验的分析与观察[J]. 中国医药指南,2016,14(8):132.
[6] 李泽文,席文华. 肝素抗凝血浆用于急诊生化检验的可行性分析[J]. 中国医药指南,2012,10(29):228-229.
[7] 郝思香. 肝素抗凝血浆用于急诊实验室检验的可行性探讨[J]. 吉林医学,2013,34(26):5329-5331.
[8] 薛乐,高明惠. 肝素抗凝血浆用于检测十项酶活力生化指标可行性分析[J]. 延安大学学报(医学科学版),2012,10(2):56-57.
[9] 宋庆欣. 肝素抗凝血浆在急诊生化检验中的应用[J]. 北方药学,2014,11(10):183-184.
[10] 高艳飞. 探讨肝素抗凝血浆用于急诊生化检验的可行性[J]. 中国伤残医学,2014,22(9):208-209.

(收稿日期:2016-06-09 修回日期:2016-08-29)

实时荧光核酸恒温扩增技术在解脲脲原体检测中的应用

陈小波¹,朱庆文¹,徐爱萍¹,苏良香¹,费倩倩^{2△}

(江苏省南通市妇幼保健院:1. 产前诊断中心;2. 生殖助孕中心 226001)

摘要:目的 应用实时荧光核酸恒温扩增检测技术(SAT)对不孕不育症患者的泌尿生殖道拭子及尿液进行解脲脲原体(UU)检测,并评价其敏感性和特异度。**方法** 对 452 例不孕不育症患者的泌尿生殖道拭子标本,采用 SAT 检测法、培养法、荧光定量聚合酶链反应(PCR)进行 UU 检测,同时再对同一患者的尿液标本进行 SAT 检测,根据实验结果评估 SAT 在拭子及尿液标本 UU 检测中的灵敏度和特异度;同时 UU 培养阳性的标本经过临床 UU 规范治疗后,仍采用上述方法对患者进行 UU 复查,根据实验结果评估 SAT 在 UU 检测中的判断预后效果。**结果** 初检时与 UU 培养结果作比较,UU-SAT 拭子标本的检测灵敏度为 97.1%(170/175),特异度为 97.8%(271/277),差异无统计学意义($\chi^2=0.010\ 2,P=0.919\ 7$);UU-SAT 尿液标本的检测灵敏度为 96.0%(168/175),特异度为 98.9%(274/277),差异无统计学意义($\chi^2=0.163\ 5,P=0.686\ 0$)。**结论** SAT 检测泌尿生殖道患者拭子及尿液 UU 检测具有很高的灵敏度和特异性,同时又有很好的判愈效果,为 UU 的临床实验室诊断提供了新的检测手段。

关键词:实时荧光核酸恒温扩增检测技术; 解脲脲原体; 尿液检测; 聚合酶链反应
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.23.045 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)23-3348-03

解脲脲原体(UU)是一类原核细胞型微生物,是泌尿生殖道感染的常见病原体之一,它不仅引起非淋菌性尿道炎,还可引起多种泌尿生殖道疾病,如前列腺炎、附睾炎、宫颈炎、输卵管炎及其导致的输卵管妊娠等,是导致不孕不育症的重要原因之一。近年来,随着不孕不育症发病率的逐渐上升,UU 引起的生殖道感染日益受到关注。本文采用实时荧光核酸恒温扩增检测技术(SAT)对患者的泌尿生殖道拭子及尿液标本进行 UU 的 RNA 检测。SAT 技术是建立在 RNA 恒温扩增技术和

实时荧光检测技术基础上的第二代核酸检测技术。现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 所有 452 例患者标本均为 2015 年 9 月至 2016 年 2 月来本院生殖助孕中心就诊并计划行体外受精联合胚胎移植(IVF)手术的患者,其中男 125 例,女 327 例,年龄 23~45 岁,男性取尿道拭子及尿样,女性取宫颈拭子及尿样。

1.2 标本采集 拭子标本采集:用医用棉拭子伸入男性尿道

△ 通讯作者,E-mail:95235205@qq.com。

口或女性宫颈口约 1~2 cm,旋转 1 周,停留 10 s 后取出,并将拭子头放入 1 mL 生理盐水浸泡贴管壁挤干,取 0.5 mL 加入 0.5 mL 专用尿液保存液混匀,立即检测或-20 ℃ 保存待测。尿液标本采集:取清晨首次尿,或长时间(至少 1 h)不排尿后的首段尿 1 mL 加入 1 mL 专用尿液保存液混匀,立即检测或-20 ℃ 保存待测。

1.3 试剂与仪器 UU 核酸检测试剂盒(RNA 恒温扩增)和专用磁珠分离装置(上海仁度生物科技有限公司);UU 核酸扩增聚合酶链反应(PCR)荧光定量检测试剂盒(中山大学达安基因股份有限公司);UU 培养鉴定药敏试剂盒(珠海丽珠试剂有限公司);ABI Prism 7500 实时荧光定量 PCR 仪。

1.4 方法 同一患者拭子用培养法检测,尿液用 SAT 进行检测,若同一患者培养和 SAT 检测结果不一致,用 PCR 法对留存的拭子标本进行复测,操作严格按照说明书进行。

1.5 标本检测 同一患者收集到的 3 份拭子标本分别做 UU 培养、UU-PCR 及 UU-SAT,尿液标本只做 UU-SAT。若培养检测阳性,根据临床规范化治疗后,再次采集治疗后患者的生殖道拭子及尿液标本,采用初检时检测的方法和步骤进行

复检。
1.6 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行处理。计数资料以率表示,比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 452 例初检结果 与 UU 培养结果作比较,UU-SAT 拭子标本的检测灵敏度为 97.1%(170/175),特异度为 97.8%(271/277),差异无统计学意义($\chi^2=0.010\ 2,P=0.919\ 7$);UU-SAT 尿液标本的检测灵敏度为 96.0%(168/175),特异度为 98.9%(274/277),差异无统计学意义($\chi^2=0.163\ 5,P=0.686\ 0$),见表 1。

2.2 疗效判愈实验室指标分析 对 175 例 UU-培养阳性患者进行临床规范治疗后再次采集标本,按原方法进行复检,与 UU 培养结果作比较,UU-SAT 拭子标本的检测灵敏度为 97.8%(44/45),特异度为 99.2%(129/130);UU-SAT 尿液标本的检测灵敏度为 93.3%(42/45),特异度为 98.5%(128/130),见表 2。

表 1 452 例患者初检 3 种方法的检测结果(n)

UU 培养结果	UU 培养	UU-PCR(拭子)		UU-SAT(拭子)		UU-SAT(尿液)	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
UU 培养阳性	175	170	5	170	5	168	7
UU 培养阴性	277	12	265	6	271	3	274
合计	452	182	270	173	279	174	278

表 2 175 例“培养初检阳性”患者规范治疗后的复检结果(n)

UU 培养结果	UU 培养	UU-PCR(拭子)		UU-SAT(拭子)		UU-SAT(尿液)	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
UU 培养阳性	45	44	1	44	1	42	3
UU 培养阴性	130	8	122	1	129	2	128
合计	175	52	123	45	130	44	131

3 讨 论

UU 是一类大小介于细菌和病毒之间的没有细胞壁的原核细胞微生物,是人类泌尿生殖道的常见病原体之一,也是育龄夫妇不孕不育的重要原因之一^[1-3]。目前,UU 临床检测主要有培养法和荧光定量 PCR 法,两种检测方法的标本来源均取自患者的泌尿生殖道分泌物,侵入式取样,容易增加患者的抵触情绪。同时培养法检测对标本的采集和保存要求都很高,存在培养时间长、主观判读,灵敏度和特异度都有所不足。SAT 是采用 RNA 恒温扩增技术原理,结合实时荧光检测的一种新的 RNA 检测技术。本文使用 SAT 技术对患者拭子及尿液标本进行 UU RNA 检测,结果显示 SAT 法具有很高的灵敏度和特异度,同时又有很好的判愈效果。实验表明该检测可以使用尿液作为标本进行检测,实现无创取样,改变目前 UU 检测大多用泌尿生殖道拭子标本的现状,优化了取样流程。

在初检结果中,与 UU 培养结果作比较,UU-SAT 拭子标本的检测灵敏度为 97.1%(170/175),特异度为 97.8%(271/277),差异无统计学意义($\chi^2=0.010\ 2,P=0.919\ 7$);UU-SAT 尿液标本的检测灵敏度为 96.0%(168/175),特异度为 98.9%

(274/277),差异无统计学意义($\chi^2=0.163\ 5,P=0.686\ 0$)。对于 SAT 检测阳性而 PCR 法或培养法检出阴性的情况,作者认为原因可能是:采集的试纸中病原菌含太少,培养灵敏性不足,也可能是患者正处于感染初期,病原体 DNA 量较少,RNA 量相对较多,则以检测 RNA 的 SAT 能检测到病原体的存在。SAT 法核酸提取过程中,反应抑制物少,可有效减少假阴性,提高检测灵敏度^[4-5];对于 SAT 检测阴性而 PCR 法或培养法检出阳性的情况,可能是标本保存不当引起检测的 RNA 丢失;尿液中存在着抑制核酸扩增的物质或者 UU 特异度序列突变;也很可能是操作过程中受到 RNase 的作用使得 RNA 降解,因此实验过程中必须使用专用加样器,离心管、洗头等一次性耗材实验前必须全部高压灭菌。但正是 RNA 容易降解的特点,使得 SAT 实验后扩增的 RNA 能迅速降解,大大降低了 PCR 实验室内交叉污染引起的假阳性问题^[6]。近年来研究认为,PCR 法虽然有较高的灵敏度和特异度,但不能区分所检测的 DNA 是来自活菌还是死菌,患者治疗后病菌死亡,但病菌 DNA 仍在体内继续存在一段时间,PCR 检测阳性,容易导致过度治疗^[7-11]。本文复查 175 例 UU 培养阴性患者中仍有 8

例 PCR 检测显示阳性, 作者认为可能和上述原因有关, 因而 PCR 法在判断愈后方面有所不足。此外, 对 175 例 UU-培养阳性患者进行临床规范治疗后再次采集标本, 按原方法进行复检, 与 UU 培养结果作比较, UU-SAT 拭子标本的检测灵敏度为 97.8%(44/45), 特异度为 99.2%(129/130); UU-SAT 尿液标本的检测灵敏度为 93.3%(42/45), 特异度为 98.5%(128/130); 在复查时发现, 虽然经过了规范的治疗但仍有 45 例患者标本检测结果阳性, 作者认为这可能和患者对药物治疗的个体差异、耐药性或针对特殊人群的治疗方案有关, 具体原因有待探讨。

需要强调的是, 现在认为 UU 也是正常人泌尿生殖道中寄居的微生物之一, UU 检测阳性并不完全表示泌尿生殖感染, 只提示泌尿生殖道 UU 的存在, 诊断还需与患者的临床症状相结合。

综上所述, 实时荧光核酸恒温扩增检测技术作为新一代的核酸检测技术在临床实验室生殖道 UU 检测中, 既具备了 PCR 的高灵敏度和高特异度, 又具有很好的判断预后效果, 同时又可采用尿液作为检测标本, 方便患者及医务人员, 适合临床实验室泌尿生殖道患者 UU 的检测, 是值得推广的一种检测方法。

参考文献

[1] 周璐, 蔡筠, 谢建生. 实时荧光核酸恒温扩增技术在不孕育龄妇女病原体检测中的应用研究[J]. 医药前沿, 2013, 7(21):55-56.

[2] 朱燕. 解脲支原体感染与输卵管妊娠的关系分析[J]. 当代医学, 2008, 14(20):84285.

[3] 张颖, 赵琼珍, 李彦奇, 等. 不孕不育人群生殖支原体感染情况研究及疗效评估[J]. 新疆医学, 2015(12):1771-1773.

• 临床研究 •

[4] Miron ND, Socolov D, Mare M, et al. Bacteriological agents which play a role in the development of infertility [J]. Acta Microbiol Immunol Hung, 2013, 60(1):41-53.

[5] Diaz N, Dessì D, Dessole S, et al. Rapid detection of coinfections by Trichomonas vaginalis, Mycoplasma hominis, and Ureaplasma urealyticum by a new multiplex polymerase chain reaction[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2010, 67(1):30-36.

[6] 李林海, 陈丽丹, 刘文婷, 等. 实时荧光核酸恒温扩增技术和液体培养法检测解脲脲原体的比较[J]. 生物技术通讯, 2013, 24(2):251-253.

[7] Lowe P, Oloughin P, Evans, et al. Comparison of the genprobe APTMA Combo-assay to the AMPLICOR CT/NG assay for detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in urine samples from Australian men and women[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(18):2619-2621.

[8] 成松, 刘成永, 周冬青, 等. 实时荧光核酸恒温扩增检测技术在胸腔积液结核分枝杆菌检测中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(18):2697-2698.

[9] 顾伟鸣, 杨阳, 吴磊, 等. 实时荧光核酸恒温扩增检测技术检测泌尿生殖道沙眼衣原体感染[J]. 临床检验杂志, 2010, 28(4):271-272.

[10] 李林海, 何宇玲, 石玉玲, 等. 实时荧光定量 PCR 检测泌尿生殖道患者尿液解脲脲原体[J]. 热带医学杂志, 2012, 12(1):57-59.

[11] 霍虹, 王清涛, 李金明. 沙眼衣原体聚合酶链反应检测研究进展[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(11):1038-1040.

(收稿日期:2016-06-15 修回日期:2016-09-05)

急性胰腺炎 miR-216a 的临床表达及其在胰腺炎诊断中的临床意义

李 毅

(汉江水利水电(集团)有限责任公司汉江医院, 武汉 442799)

摘 要:目的 探讨急性胰腺炎 miR-216a 的表达与其在胰腺炎诊断中的临床意义。**方法** 选取 2014 年 5 月至 2015 年 10 月该院收治的急性胰腺炎患者 30 例作为 A 组, 30 例伴有血淀粉酶升高的非急性胰腺炎患者作为 B 组, 选取同期到该院体检的健康者 30 例作为 C 组, RNA 抽提各组研究对象的血浆标本, 并采用反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)对所有标本的 miR-216a 进行检测分析。**结果** A 组患者的外周血细胞 miR-216a 表达明显高于 C 组($P<0.05$)。而 B 组患的 miR-216a 和 C 组相比则差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 急性胰腺炎患者的外周血细胞 miR-216a 表达水平升高, 可以作为急性胰腺炎临床诊断的一项重要生物标志物, 在急性胰腺炎患者的临床治疗中具有较高的临床价值。

关键词:急性胰腺炎; miR-216a; 临床诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.23.046

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)23-3350-03

急性胰腺炎(AP)主要是因为患者体内的胰酶被多种病因于胰腺内激活, 进而导致患者的胰腺局部出炎性反应, 常伴随或者不伴随其他器官功能变化疾病, 该疾病病发后如果得不到及时有效的治疗, 很可能会发展为重症胰腺炎, 给患者的生命带来威胁^[1-2]。当前, 临床上诊断 AP 主要有腹膜炎的具体体征、麻痹性肠梗阻的实际表现、血性腹水情况、腹水淀粉酶上升情况及影像学检测等, 但是这些诊断效果并不显著^[3-4]。近年来, 经过临床医学深入研究 AP 发病机制后, 发现胰腺炎患者

胰腺组织中的蛋白表达会发生变化, 而且在蛋白表达调节时, miRNA 又起着至关重要的作用, 并且认为 miR-216 持续升高是胰腺高特异性 miRNA 之一^[5-6]。本文主要就 AP miR-216a 的表达与其在胰腺炎诊断中的临床意义进行分析, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 5 月至 2015 年 10 月本院收治的 AP 患者 30 例作为 A 组, 男 17 例, 女 13 例, 平均年龄