

要原因在于植片扩散法与稀释法相融合,尽管该试验方法成本较高,但操作方法易于掌握,诊断准确率较高,结果更加直观<sup>[4]</sup>。

## 2 结 果

**2.1 临床症状和体征** 阴性杆菌所导致的 200 例下呼吸道感染患者中,8 例血痰,3 例不明发热,4 例低热,9 例稽留热,11 例不规则热,3 例午后低热,12 例中弛张热。阴性杆菌下呼吸道感染患者临床症状分布分别是:咳痰 162 例(81.0%),黄色浓痰 66 例(33.0%),白色黏痰 96 例(48.0%);咳嗽 186 例(93.0%);发热 144 例(72.0%),37.5~38.0℃ 24 例(12.0%),>38.0~39.0℃ 100 例(50.0%),>39.0℃ 20 例(10.0%);寒战 38 例(19.0%),畏寒 100 例(50.0%)。体征分别是干音 88 例(44.0%),湿啰音 144 例(72.0%),实变 4 例(2.0%),发绀 18 例(9.0%),神志模糊 4 例(2.0%),头痛 4 例(2.0%),气急 80 例(40.0%),胸闷 8 例(4.0%),胸痛 28 例(14.0%)。

**2.2 细菌培养** 200 例呼吸道感染患者均检出阴性杆菌,且超过 2 次连续显示为优势菌,其中 82 例患者为混合菌,约占 41.0%,主要包括 13 例结核杆菌,13 例不动杆菌,13 例产气肠杆菌,21 例肠杆菌,22 例肺炎克雷伯菌。下呼吸道感染患者体外药敏试验结果,见表 1。

表 1 下呼吸道感染中阴性杆菌体外药敏结果(n)

抗菌药物	n	敏感株数	耐药株数
头孢拉定	1	1	0
头孢噻吩	5	0	5
头孢唑啉	20	2	18
链霉素	1	1	0
妥布霉素	31	23	8
卡那霉素	4	3	1
庆大霉素	49	37	12
丁胺卡那	57	50	7

## 3 讨 论

氧哌嗪青霉素-他唑巴坦为第 3 代半合成青霉素,具有广谱抗菌作用。对革兰阳性菌的作用略低于氨苄西林,但对绿脓杆菌、变形杆菌和肺炎杆菌等的作用明显较氨苄西林、羧苄西林及磺苄西林强。对厌氧菌、肠球菌和部分沙雷菌也有效。对金黄色葡萄球菌一般有效,但对产 β 内酰胺酶的金黄色葡萄球

菌则完全无效<sup>[5]</sup>。阴性杆菌属于一种肠杆菌属,也称为阴沟气杆菌或阴沟肠杆菌,为有周边鞭毛有动力的革兰阴性杆菌。导致患者发生阴性杆菌的主要原因是创伤性检查导致的感染,感染场所常为重症监护病房(ICU)、小儿 ICU 及肿瘤病房等;气管插管、气管切开或机械通气;抗菌药物、免疫抑制剂和激素的应用,可改变机体免疫功能及引起体内正常菌群失调;多种严重的迁延性疾病,包括糖尿病、烧伤、恶性肿瘤和慢性肺部疾病等;机体生理性免疫功能低下,如老年人、早产儿和新生儿。

综上所述,随着我国临床医学技术的快速发展,临床上对于下呼吸道感染主要致病菌的研究也有所深入。阴性杆菌不仅是下呼吸道感染的主要致病菌类型,也是导致患者发生难治性肺炎、重症肺炎、婴幼儿肺炎等主要原因<sup>[6]</sup>。因此,针对下呼吸道感染患者阴性杆菌体外药敏试验结果选择相应的药物治疗,具有十分重要的意义。

## 参考文献

- [1] 侯丽萍,郭宏波,于庆萍,等.不动杆菌下呼吸道感染的临床和药敏测定[J].内蒙古医学杂志,2000,32(3):176-178.
- [2] 上海医学会肺科学会肺部感染和肺纤维化学组.阴沟杆菌下呼吸道感染的临床和药敏测定[J].中华结核和呼吸杂志,1997,20(4):208-209.
- [3] 王文晶,黄茂,赵旺胜,等.下呼吸道感染病原体流行和耐药现状分析[J].南京医科大学学报:自然科学版,2006,26(1):29-32.
- [4] 塔吉古丽,多力坤,何萍,等.重症感染性疾病患儿病原菌检测及耐药性观察[J].临床儿科杂志,2007,25(3):224-226.
- [5] 杨亚静,张砺,夏万敏,等.产超广谱 β-内酰胺酶菌在儿童下呼吸道感染中的分布[J].临床儿科杂志,2007,25(5):364-366.
- [6] 刘建华,胡皓夫,李兰凤,等.下呼吸道感染患儿超产 β-内酰胺酶细菌耐药及临床特征[J].实用儿科临床杂志,2006,21(16):1082,1114.

(收稿日期:2013-05-09 修回日期:2013-07-14)

## • 临床研究 •

# 低离子强度溶液在抗人球蛋白试验中的应用

邓安彦,周守容,吴春磊,穆万洋,刘 敏,邓小倩(四川省南充市中心医院 637000)

**【摘要】 目的** 探讨低离子强度溶液(LISS)在抗人球蛋白试验中的应用效果。**方法** 选择好 IgG 型抗-D 的最佳稀释度,用试管法间接抗人球蛋白试验和微柱凝胶卡分别在盐水介质和 LISS 介质中检测,观察其凝集强度。**结果** 0.03 mol/L LISS 液 10 min 的致敏效果和盐水介质 60 min 的致敏效果和凝集强度相当;与高稀释度抗-D 血清在微柱凝胶卡上反应相比较,盐水介质的低于 LISS 介质的凝集强度。**结论** LISS 可加快红细胞抗原抗体结合速度,缩短反应时间,提高试验的敏感度,对于输血安全和及时性提供了保障。

**【关键词】** 低离子强度溶液; 间接抗人球蛋白; 微柱凝胶

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.23.063 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)23-3203-03

抗原和抗体反应的影响因素较多,低离子强度溶液(LISS)可减少红细胞周围的阳离子,增加抗原、抗体间的静电

引力,加快抗体与抗原的结合速度,因此可以缩短检出大多数抗体的孵育时间。现以 IgG 抗-D 为例,就 LISS 在间接抗人球

蛋白试验(IAT)中的技术细节进行相应探讨,现报道如下。

### 1 材料与与方法

**1.1 材料与仪器** 上海血液中心国家参比实验室的人源抗-D 抗体(IgG 型批号 20120823),多特异抗人球蛋白试剂(批号 20120228),D 抗原阳性的筛选谱细胞(批号 20130315),微柱凝胶卡购自瑞士达亚美公司(批号 50531.72.501/2013.12),浓度为 0.03 mol/L 低离子强度溶液和新鲜 O 型 D 抗原阳性的红细胞由本科室自备<sup>[1]</sup>,凝胶卡温浴和专用离心机为瑞士达亚美公司产品,离心机为日本久保田公司产品。

### 1.2 方法

**1.2.1 人源抗-D 血清最佳稀释度选择** 取试管 8 支,分别标注 2~256 共 8 个稀释度,使用新鲜 AB 型血清做稀释基质,第 1 支试管加入 100 μL 人源抗-D,倍比稀释至第 8 管(注:32 倍稀释管后更换枪头以避免携带影响),其终容积均为 100 μL。然后在上述每个试管中加入 D 抗原阳性的 II 号筛选细胞 50 μL,混匀置于 37 ℃ 水浴箱温浴 30 min 后取出,用生理盐水洗涤红细胞 3 次,去上清液,加入 1 滴多特异抗人球蛋白试剂摇匀,3 400 r/min 离心 15 s,结果显示,本批次人源抗-D 血清在 1:16 稀释度处最先出现“2+”凝集,故选 1:16 稀释比例作为后续试验的工作液。

**1.2.2 LISS 液在间接抗人球蛋白试验中的应用** 取试管 12 支分成 2 排分别标注 2 h、1 h、30 min、10 min、5 min、0 min,最先在 2 h 管中加入 100 μL 上述标化抗-D 血清和 50 μL II 号筛选 D 抗原阳性的谱细胞,一管加入 2 滴 LISS 液,另一管不加 LISS 液摇匀后放入 37 ℃ 水浴箱温浴 2 h,相隔 1 h、30 min、20 min、10 min、5 min 后分别进行相同操作,6 管在同一时刻到达各自的温浴时间,均用生理盐水进行 3 次洗涤,去上清液后加入多特异抗人球蛋白试剂 1 滴,摇匀后 3 400 r/min 离心 15 s,观察并记录各个温浴时间点加 LISS 液和不加 LISS 液所对应的凝集强度。

**1.2.3 LISS 液在微柱凝胶卡检测中的应用** 将 1:16 稀释度的人源 IgG 抗-D 血清重新稀释为 128~4 096 共 6 种稀释度备用,将新鲜 O 型 D 抗原阳性的红细胞献血员标本用生理盐水进行 3 次洗涤后取压积红细胞分别用生理盐水和 LISS 液配制为 3% 的红悬液备用。取 2 张凝胶卡每孔柱下面分别标注“128~4 096”,三卡分别再编 1、2 号。在 1 号凝胶卡每孔加入 20 μL 3% 盐水稀释的红细胞悬液,再分别加入 40 μL 相应稀释度的抗-D 血清;在 2 号凝胶卡的每孔分别加入 20 μL 3% LISS 液稀释的红细胞悬液。所有孔均加入 40 μL 相应稀释度的抗-D 血清。将 2 张凝胶卡一同孵育 15 min 后离心观察结果。

## 2 结 果

**2.1 IAT 试验在盐水介质和 LISS 介质在不同孵育时间点的凝集强度结果** 见表 1。

表 1 两种介质不同孵育时间点的凝集强度

温浴时间(min)	LISS 介质凝集强度	盐水介质凝集强度
120	2+ <sup>s</sup>	2+
60	4+	2+ <sup>s</sup>
30	3+	2+
10	2+ <sup>s</sup>	1+ <sup>s</sup>
5	2+	1+
0	1+	±

**2.2 在盐水介质和 LISS 介质下微柱凝胶卡凝集强度观察结果** 见表 2。

表 2 盐水介质和 LISS 介质下微柱凝胶卡凝集强度

稀释度	1 号卡凝集强度	2 号卡凝集强度
128	3+	3+
256	2+ <sup>s</sup>	2+ <sup>s</sup>
512	2+	2+ <sup>s</sup>
1 024	1+ <sup>s</sup>	2+
2 048	1+	1+ <sup>s</sup>
4 096	—	±

## 3 讨 论

抗原(尤其是红细胞类颗粒抗原)抗体结合出现凝集反应分 2 个步骤,第 1 步抗原抗体形成复合物,第 2 步形成晶格(可见的凝集)。因为抗原抗体分子大多是胶体粒子,而在反应体系 pH 大多高于其等电点,故抗原抗体的颗粒均带负电荷,与溶液中氧离子等形成双电层。当在第 1 步抗原抗体复合物形成时离子强度越低,可减少红细胞周围的阳离子云,同时增加抗原、抗体间的静电引力,其反应的平衡常数 K 值增大,从而加快了反应速度。

自 1976 年 Moore 将 LISS 应用于红细胞抗体筛选试验以来,目前 LISS 在国内临床输血实验室广泛使用,不同的实验目的所选用的抗体筛选方法有所不同<sup>[2]</sup>。本文以抗-D 抗体(IgG 型)为例,使用浓度为 0.03 mol/L 低离子强度溶液,探讨了其在 IAT、凝胶微柱法中的一些技术细节。

表 1 结果显示,LISS 可以明显加快抗体致敏到细胞表面的速度,0.03 mol/L LISS 液 10 min 致敏效果和盐水介质的 60 min 致敏效果相当,而生理盐水的离子强度值在 0.15 mol/L,在 1 h 内抗体致敏量随时间的推移而增加,但超过 60 min 后抗体的致敏量并不增加,反而有减少的趋势。在经典抗人球试验中,每个试管加入 2 滴 LISS 液可以减少孵育时间,提高抗体检测效率,这对于临床保证快速、安全的输血,尤其是急诊抢救用血有重要意义。另外通过孵育时间梯度试验证实,在进行抗人球蛋白实验室无论是盐水 IAT 还是 LISS 介质,IAT 孵育时间都不要超过 1 h,孵育时间过长反而会会影响抗体致敏到红细胞上,其凝集强度反而降低,具体的机制仍需进一步研究证实。

表 2 结果显示,用生理盐水配制的红细胞悬液和用 LISS 液配制的红细胞悬液在与各个高稀释度的抗-D 血清在微柱凝胶卡上反应凝集强度相比较,盐水介质敏感度略低。这与微柱凝胶法的方法学本身有较高的敏感性有关<sup>[3-5]</sup>;但是对于弱抗体或低浓度抗体的检出,在本研究中采用 LISS 介质的结果来看其敏感度很高,这也是国内学者用微柱凝胶卡在 LISS 介质下检测药物抗体的一些研究的原因<sup>[6-7]</sup>。

综上所述,LISS 液可加快红细胞抗原抗体结合速度,缩短反应时间,提高试验敏感度,对输血安全和及时性提供了保障。同时也要求检验工作者在实际工作中一定要严格按说明书操作。对于 IAT,LISS 液的加入量应选择自己试验的最佳加入量,以保证快速、准确获得结果。

## 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]. 2 版. 南京:东南大学出版社,2006:264-265.  
 [2] Phillips PK, Bebbington C. The pH, conductivity and osmolality of low ionic strength solutions used within the U. K. for the antiglobulin test[J]. Transfus Med, 1991, 1

(3):155-158.  
 [3] 孟庆宝. 微柱凝胶技术在输血相关实验中的评价及应用研究[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(9):848-851.  
 [4] 龙华泉, 陈世豪, 张伟坚. 凝聚胺法与微柱凝胶法检测不规则抗体的对比分析[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(1): 39-40.  
 [5] 秦立红, 蔡利星. 微柱凝胶法配血试验 2 316 例结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(4):500-501.

[6] 谢作昕, 钱林利, 陶志华, 等. 血清青霉素 IgM 和 IgG 抗体检测方法的建立和评价[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(6):527-528.  
 [7] 林观祥, 潘晓锋, 郭红, 等. 微柱凝胶法检测人血中美洛西林针剂的 IgM 和 IgG 抗体[J]. 中国药业, 2010, 19(9): 21.

(收稿日期:2013-04-28 修回日期:2013-07-11)

• 临床研究 •

## 直肠癌患者血浆肿瘤型 M2 丙酮酸激酶的变化

于建新, 梁文英(山东省菏泽市单县中心医院检验科 274300)

**【摘要】** 目的 分析不同临床分期直肠癌患者血浆肿瘤型 M2 丙酮酸激酶(TuM2-PK)水平的变化,初步探讨 TuM2-PK 在直肠癌诊断、病情监测中的临床价值。方法 采用酶联免疫吸附试验检测 126 例直肠癌患者、63 例直肠良性肿瘤患者及 32 例健康对照者血浆 TuM2-PK 水平,同时检测血清癌胚抗原(CEA)浓度。以 TuM2-PK >15 U/mL 为阳性,分析直肠癌患者血浆 TuM2-PK 水平与临床病理参数的相关性,ROC 曲线法分析 TuM2-PK 与 CEA 的诊断性能。结果 直肠癌组、直肠良性肿瘤组及健康对照组血浆 TuM2-PK 水平中位数分别为 23.00、14.57、12.68 U/mL,直肠癌组显著高于直肠良性肿瘤患者及健康对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),直肠良性肿瘤患者与健康对照组血浆 TuM2-PK 水平差异无统计学意义。直肠癌血浆 TuM2-PK 水平与肿瘤细胞分化程度、淋巴结转移与否、临床分期有关;TuM2-PK 与 CEA 诊断直肠癌的敏感度与特异性分别为 74.60%、79.16%与 73.51%、69.18%。结论 血浆 TuM2-PK 水平可辅助诊断直肠癌,但不能用于直肠癌的早期诊断,对病情的评估、临床分期、浸润转移的判断有一定意义。

**【关键词】** 肿瘤型 M2 丙酮酸激酶; 直肠癌; ROC 曲线

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.23.064 文章编号:1672-9455(2013)23-3205-02

目前国内有关直肠癌患者血浆肿瘤型 M2 丙酮酸激酶(TuM2-PK)表达水平的研究多数通过检测粪便中 TuM2-PK 浓度在不同病变程度患者中的分布,来探讨它的诊断价值及是否具有作为一项新直肠癌筛查指标的价值<sup>[1-4]</sup>。对于以直肠良性肿瘤为对照研究血浆中 TuM2-PK 水平表达的状况及与临床病理参数相关性研究报道很少,本文对此进行研究,现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择本院肿瘤外科 2012 年 1~12 月住院的直肠癌患者 126 例,其中 TNM 分期 I、II、III、IV 各 23 例、31 例、37 例、35 例,年龄 46~82 岁,男 87 例,女 39 例;选择同期直肠良性肿瘤患者 64 例,其中直肠息肉 11 例、低级别直肠上皮内瘤变 17 例、高级别直肠上皮内瘤变 36 例,年龄 42~73 岁,男 47 例,女 17 例;随机选取无肿瘤史、癌胚抗原(CEA)、糖类抗原(CA199)、CA724、CA242 正常的健康体检者 43 例,年龄 39~72 岁,男 31 例,女 12 例。所有癌症患者均由病理诊断证实,直肠癌患者术前未接受任何放疗和化疗。

**1.2 标本收集** 所有患者与健康对照者均于早晨空腹采集静脉血 8 mL,平均分加于乙二胺四乙酸二钾抗凝管与带分离胶的无抗凝试管中,1 h 内以 3 000 r/min 离心 8 min,分离出血浆与血清存于 -80 °C 冰箱备用。

**1.3 仪器与方法** TuM2-PK 测定采用酶联免疫吸附试验(ELISA),试剂购于美国 ABI 公司的原装进口 M2-PK 检测试剂盒,酶标仪为 Bai-Rad 680 型,检测波长 450 nm 参考波长 620 nm。CEA、CA199、CA242、CA724 采用化学发光法测定,仪器为美国贝克曼公司的 DXI800,定标液、检测试剂及其他辅

助试剂均为配套试剂。所有操作严格按试剂和仪器说明书进行, TuM2-PK >15 U/mL 判断为阳性结果<sup>[4-5]</sup>。

**1.4 统计学方法** 采用 SPSS13.5 软件进行统计操作分析,不同分类水平非参数分布资料比较采用多个样本秩和检验,率的比较采用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 直肠癌患者、直肠良性肿瘤患者及健康对照者血浆 TuM2-PK 测定结果** 见表 1。

表 1 3 组 TuM2-PK 测定结果(U/mL)

组别	n	中位数	范围
健康对照组	43	12.68	5.11~18.23
直肠良性肿瘤组	64	14.57	5.22~24.67
直肠息肉	11	12.86	5.00~23.34
低级别上皮内瘤变	17	14.56	6.89~21.75
高级别上皮内瘤变	36	15.06	8.39~24.78
直肠癌组	126	23.00	5.36~112.71
I 期	23	15.99▲	5.36~18.85
II 期	31	19.63★★	7.42~26.67
III 期	37	28.61★★	11.69~41.12
IV 期	35	33.00★★	10.83~112.71

注:与健康对照组比较,▲ $P < 0.05$ ;与良性病变组比较,★ $P < 0.05$ 。

**2.2 直肠癌不同临床病理参数间 TuM2-PK 表达阳性结果比较** 见表 2。