

群肌颤,30 例;3 级,超过 1 组肌群肌颤,70 例;4 级,全身肌颤。本研究入选患者寒战程度均为 2~4 级。

## 2 结 果

所有患者寒战均得到不同程度的缓解,0 级 92 例,1 级 30 例,2 级 12 例,患者的舒适度增加。

## 3 讨 论

**3.1 心理护理** 做好术前心理护理,有针对性与患者进行交流,以消除紧张恐惧心理给患者带来的负面影响,使患者坦然接受手术。在麻醉苏醒对清醒的患者进行个体化心理疏导,让患者了解手术后可能出现的各种不适,对患者的疑问给予及时有效的回答,缓解患者的紧张情绪,积极配合。有效的心理疏导可调整患者的心理环境,减轻心理负担,使其思想放松<sup>[8]</sup>。

**3.2 保证恢复室良好的环境** 保持恢复室安静、整洁,温度维持 24~26℃,湿度应控制 40%~60%,避免室温过低,以减少患者热量的蒸发。

**3.3 加强保暖,减少和弥补热量散失** 首先对寒战患者尽量减少不必要的护理操作,从而减少患者能量消耗。目前常用保暖措施为体表覆盖棉被、电热毯、热水袋等,棉被要遮住颈部、上胸部、下肢及足部,电热毯、热水袋要注意温度,避免烫伤。同时床单位注意保持平整、干燥,勿折叠,以免损伤皮肤。其次输入液体加温至 35~37℃,提高患者的深部温度,减少由于热交换所致热量丢失,使患者的中心温度迅速升高,维持体温和的相对恒定,减少寒战发生,同时可以减少寒冷的感觉,提高患者的舒适度。研究显示,液体加温治疗虽然加温仅局限于输注液体,但也能取得明显的保持患者体温和的临床效果。对于经过上述措施处理后寒战仍未缓解的患者,汇报麻醉医生遵医嘱使用药物治疗。临床上应用抗寒战药物时,对剂量的把握非常重要,剂量不足起不到预期效果,剂量过大可引起呼吸抑制和咳嗽反射,且低温状态下,药物代谢率降低<sup>[9]</sup>。因此在用药物治疗时,要密切观察患者寒战的缓解程度,还要观察患者血氧饱和度的变化,让药物达到最佳治疗效果,同时要注意观察药物的不良反应。

**3.4 吸氧** 寒战时患者血糖升高,心率、心律也出现相应变化,氧利用减少,如供氧不足很容易发生低氧血症,为避免出现低氧血症,缓解寒战,应及时给予持续氧气吸入,防止不良事件发生,湿化瓶内灭菌注射用水也可给予适当加温。

**3.5 加强监测** 密切观察患者各项生命体征,定时监测血气、电解质,记录输液速度、输血量、尿量等。一旦发现患者热量丢失过多,有可能发生寒战时,应采取相应的措施,预防寒战发生。

总之,采取积极有效的护理措施后,患者寒战均得到不同程度的缓解,有效率达 100%,患者的舒适度增加,对护理工作表示满意。

## 参考文献

- [1] Singh P, Dimitriou V, Mahajan RP, et al. Double-blind comparison between doxapram and pethidine in the treatment of postanaesthetic shivering[J]. Br J Anaesth, 1993, 71(5):685-688.
- [2] 林成新,谭冠先. 麻醉后寒战[J]. 国外医学:麻醉学与复苏分册,1996,19(3):160-162.
- [3] 刘俊杰,赵俊. 现代麻醉学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,1997:4-8.
- [4] 曹泽毅,翁梨驹. 中华妇产科临床手册[M]. 济南:山东科学技术出版社,1998:297-305.
- [5] Buggy DJ, Crossley AW. Thermoregulation, mild perioperative hypothermia and postanaesthetic shivering[J]. Br J Anaesth, 2000, 84(5):615-628.
- [6] Wrench IJ, Singh P, Dennis AR, et al. The minimum effective doses of pethidine and doxapram in the treatment of post-anaesthetic shivering[J]. Anaesthesia, 1997, 52(1):32-36.
- [7] 耿秀娟. 直肠癌手术患者实施全程优质护理体会[J]. 齐鲁护理杂志,2006,12(8):693-694.
- [8] 王锦花,仲茜,李婵. 剖宫产术中发生寒颤的原因及护理对策[J]. 国际医药卫生导报,2006,12(10):122-123.
- [9] Holden M, Makic MB. Clinically induced hypothermia: why chill your patient[J]. AACN Adv Crit Care, 2006, 17(2):125-132.

(收稿日期:2014-08-27 修回日期:2014-10-10)

# 环介导等温扩增法在常见性病病原体检测中的应用\*

邓鹏程,王岐本,邝满元,徐松(湘南学院基础医学部解剖教研室,湘南郴州 423000)

**【关键词】** 环介导等温扩增法; 常见性病; 病原体检测

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.03.061 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2015)03-0425-03

20 世纪 70 年代后期,性病在我国一些地区死灰复燃,发病地区不断扩大,发病人数直线上升,危害日益严重,从沿海到内地,从城市到农村,从社会到家庭,性病疫情逐步扩散蔓延。据 2002 年全国对 7 种常见性病:非淋菌性尿道炎、尖锐湿疣、生殖器疱疹、梅毒、淋病、软下疳、性病淋肉芽肿累计报道为 744 848 例,发病率为 58.15/10 万。另外由于各种原因的漏诊和漏报,中国疾病预防控制中心性病麻风病防治中心的调查结

果显示,性病实际发病数是报告数的 10~20 倍。世界卫生组织估计,我国每年实际新发病例数为 1 600~2 000 万<sup>[1]</sup>。近十几年来,中国性病发病率每年以 20%至 30%速度增加,性病已成为五大传染病之一,给社会和人民都带来了严重的危害。为防治和控制性传播疾病,对性病病原体的准确快速检测意义重大。传统的性病检测法大多繁琐费时,不利于性病的早期诊断以及及时控制,因此开发一系列能应用于基层医疗机构的性

\* 基金项目:湖南省高等学校 2010 年科学研究项目(10C1240)。

病原体检测方法成为当务之急。近年来发展的环介导等温扩增法(LAMP)因为具有特异、敏感及操作简便等特征已用于各种病原体的检测。本研究探讨 LAMP 在常见性病病原体检测中的可行性及应用前景进行分析,报道如下。

## 1 传统的性病病原体检测法

**1.1 涂片镜检法** 涂片镜检法一般是直接将各种分泌物及体液标本涂片后,通过革兰染色或巴氏染色后进行显微镜下观察判定。该方法简单、易操作,成本低,对实验要求不高,多用于男性急性淋病的诊断。女性宫颈和阴道中杂菌很多,有的杂菌很像淋球菌,给诊断造成困难,出现较高的假阳性率。针对沙眼衣原体的检查,常用姬姆萨染色法和碘染色法,但敏感性不高。更重要的是此方法对医生的经验要求较高,镜检结果以主观判断为主,容易造成误诊和漏诊,检测结果阳性率不高,特别是在基层医院很难较好地应用<sup>[2]</sup>。

**1.2 免疫学检测法** 20世纪80年代以来,免疫学检测法广泛运用于性病检测中,其基本原理是将某种发光剂或其衍生物加入到一个免疫反应体系中,在酶的催化作用下发光,可以根据发光强度来计算待测抗原或抗体的量。加入发光增强剂后,持续时间延长,可以重复测量,方法灵敏、准确。如何红霞等<sup>[3]</sup>以人工合成的人类免疫缺陷病毒(HIV)-1 gp41.1(sp1)等5条多肽,采用双抗原夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)原理建立检测抗 HIV-1P2 总抗体的双抗原夹心 ELISA。该实验通过检测卫生部药品生物制品检定所提供质控参比血清,发现其特异性和灵敏度均为100%。其优点是特异性强、敏感性高,操作简便快捷,适合于献血者大范围筛选,缺点是免疫学检测方法在新感染或未产生高抗体滴度的人群中敏感性较低,IgG 基因突变可影响检出率,IgG 抗体产生的延迟性会影响早期诊断和及时治疗。

**1.3 聚合酶链反应(PCR)** 20世纪90年代以后,随着分子生物学检测方法的发展,性病病原体的各种分子生物学检测方法也应运而生,主要方法有:PCR、连接酶链反应技术基因芯片、Gene Chip 技术、蛋白芯片技术等。其中 PCR 应用较为广泛,PCR 是指在 DNA 聚合酶催化下,以母链 DNA 为模板,以特定引物为延伸起点,通过变性、退火、延伸等步骤,体外复制出与母链模板 DNA 互补的子链 DNA 的过程,是一项 DNA 体外合成放大技术,能快速特异地在体外扩增任何目的 DNA。随着微生物基因组学的发展,PCR 在感染性疾病检测和诊断中的应用日趋广泛,特别是在致病微生物,如病毒、细菌、衣原体、支原体、螺旋体等引起的性病感染 DNA 检测应用较广。PCR 检测技术较之传统方法有许多优点,但其费用昂贵、易受污染,其假阳性尤其是一个主要需要考虑的问题。由于需要昂贵的 PCR 等仪器和高技术要求,该技术在基层医疗机构尚未开展病原体的核酸检测。

总之,目前临床针对性病病原体传统检测方法既有优势,也有许多不足,而在此基础上开发针对性病病原体的快速且准确的检测方法对防治和控制我国日益严重的性传播疾病意义重大。

## 2 LAMP 在性病病原体检测中的应用

2000年日本学者 Notomi 在 *Nucleic Acids Res* 杂志上公开了一种新的基因诊断技术,即 LAMP 中文名为“环介导等温扩增反应”,受到了世界卫生组织、各国学者和相关政府部门的关注,短短几年,该技术已成功应用于严重急性呼吸道综合征、禽流感、艾滋病等疾病的检测中。LAMP 具有以下几个优势:(1)等温高效。相比于常规 PCR 利用高温使双螺旋解链变

性成单链进行热循环,NASBA 和 3SR 则使用一系列转录和反转录过程来循环以避免高温变性作用,SDA 则使用限制性内切酶和修饰过的模板来循环扩增。虽然它们的敏感性都很高,可以检测并扩增小于 10 个拷贝的核酸样本,但是它们还有各自需要克服的缺点。技术要求、材料仪器要求、技术本身特异性缺陷等方面严重束缚了这些技术的推广应用。LAMP 则在这些方面有所突破。(2)有较高的特异性和抗干扰能力。当 2 对引物与目的基因片段的 6 个区域匹配上就能进行扩增。非目的基因片段对 LAMP 反应的干扰比小,这方面比 PCR 强。LAMP 的反应体系比较稳定可靠,在室温下放置 2 周后仍然稳定并且对于样品中原有或污染的干扰基因片段仍然不敏感,而其他反应体系则无法做到这一点。(3)敏感性较高。可以以单拷贝的基因为模板进行扩增。(4)反应过程简单快速且高效。能够在 1 h 内将单拷贝的基因模板扩增到 10<sup>9</sup> 个拷贝,这一过程是在 60~70 ℃ 的恒温下进行的。只需一台恒温箱即可,不需受昂贵仪器的束缚。另外 LAMP 结果的检测也无需仪器,这些在一定程度上降低了实验的操作成本。只要引物设计正确,并且完善各种反应条件之后,LAMP 对于样品处理、操作技术和仪器设备的要求都比较低,在野外工作时也能达到。

随着 LAMP 的发展,它已成功应用于细菌、病毒、支原体、真菌、寄生虫、乙型肝炎病毒检测等<sup>[4]</sup>。最近,国内、外专家也将其应用于各种性病病原体的检测当中。

**2.1 LAMP 在艾滋病病毒检测中的建立** 2009年 Hosaka 等<sup>[5]</sup>利用 RT-LAMP 对 HIV-1M 组进行检测,在 60 ℃ 的等温条件下,扩增反应在 35 min 内即可完成,其检测限可以达到 120 copy/mL。该试验对从艾滋病高发区——西非的喀麦隆所收集的 57 例感染 HIV-1 的患者和 40 例未感染 HIV-1 的居民体内血浆样本进行 RT-LAMP 分析,结果发现,57 例感染 HIV-1 的患者血浆样本中有 56 例带有 HIV-1M 组的血样本,例如图标类型 A、B、G、F2,以及循环重组形式(CRFs)\_01、\_02、\_09、\_11、\_13 都被检测为阳性。针对一个带有 HIV-10 组及 40 例未感染 HIV-1 的血浆样本分别进行检测,结果皆显示为阴性。这些发现证明了 RT-LAMP 对血浆样本中含有的 HIV-1M RNA 的检测快速且灵敏,而且具有特异性。这些数据也说明了 LAMP 在艾滋病病毒的诊断中是可行的,特别适宜于资源条件不足的环境。

**2.2 LAMP 在淋球菌检测中的建立** 崔亚利等<sup>[6]</sup>利用 Primer Explorer V3 软件分别针对淋球菌 porA 及 16S rRNA 基因设计 2 条内引物 FIP、BIP,2 条外引物 F3、B3,2 条环引物 LF、LB,共 6 条引物,以淋球菌标准菌株基因组 DNA 为模板,进行 LAMP 扩增。同时,以外引物 F3、B3 为 PCR 引物,进行 PCR 扩增,并比较两种扩增方法的灵敏度和特异性,探讨 LAMP 用于淋球菌感染早期诊断的可行性。他们经过试验得出结论:LAMP 与 PCR 灵敏度相同,可检测到 10 个拷贝的目的基因;其针对淋球菌 porA 和 16S rRNA 基因的引物对脑膜炎奈瑟菌、肺炎链球菌和大肠埃希菌的 DNA 均不能扩增,其试验成功建立了检测淋球菌 porA 和 16SrRNA 基因的 LAMP。他们认为与 PCR 相比,LAMP 不需要使用 PCR 仪等昂贵、精密的仪器设备,避免了 DNA 的热变性,长时间的温度循环,一级产物后续检测等步骤,更为快速,且操作简便,检测成本更低,为淋球菌的快速检测提供了新的手段,有望成为淋球菌常规检测的简便方法。

**2.3 LAMP 在沙门菌检测中的建立** 沙门菌病也属于一种

常见的性病, 叶宇鑫等<sup>[7]</sup>以沙门杆菌为研究对象, 探讨了将原位荧光 LAMP 应用于检测沙门菌所需要的具体实验方法与数据, 成功将原位荧光 LAMP 应用于检测人工污染食品中的沙门菌。该试验选取 *invA* 基因作为靶序列设计了 2 对引物进行 LAMP 扩增。结果显示, 与 PCR 相比, LAMP 扩增无需破碎细胞提取 DNA, 操作简便, 反应过程耗时少; 反应条件恒温便可, 基因检测水平证明 LAMP 扩增产物高度特异性; 根据反应结果颜色变化肉眼便可作出判断。

### 3 LAMP 在性病病原体检测中的应用展望

与传统性病病原体检测法相比, LAMP 具有明显优势。首先, LAMP 经济实用, 不需要昂贵的 PCR 仪, 对于中、小医院只需要一台恒温水浴箱即可。其次, LAMP 最大的优势就在于操作的简便性及对仪器设备和人员要求不高, 人员只需简单培训即可, 最适合基层医院和场外应用。LAMP 操作步骤简单, 只需按反应体系要求加入反应液、酶、引物及模板于 PCR 管中, 于恒温箱反应 45 min 左右, 经肉眼观察反应管颜色是否变为白色浑浊就能判断结果。另外, LAMP 高效快速, LAMP 不需要扩增产物双链 DNA 热变性, 避免了温度循环从而节省大量时间, 核酸在 1 h 内便可完成扩增, 从而快速检测到扩增产物, 在性病检测中应用能达到快速诊断的目的。与免疫学检测方法相比, LAMP 能更为精准, 因为其能扩增出病原体基因的特异性梯状条带。与涂片镜检法相比, LAMP 省时省力、不易漏诊、检测结果更具客观性。如果研发相关性病基因检测试剂盒, LAMP 有望成为性病常规检测的简便方法, 为基层医院进行性病检测创造有利条件, 同时为患者提供快速、准确的检

测, 在防治与控制性疾病的传播中发挥重要作用。

### 参考文献

- [1] 张红兵, 李琦, 马骏, 等. 我国性病流行现状及应对措施[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2004, 27(6): 377-380.
- [2] 何江, 仇东辉, 余伍忠, 等. 性传播疾病实验检测综述[J]. 中国优生与遗传杂志, 2004, 12(5): 139-140.
- [3] 何红霞, 貌盼勇, 侯俊, 等. 双抗原夹心法检测抗 HIV-1/2 总抗体方法的建立和评价[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2002, 16(3): 288-291.
- [4] 张如胜, 魏泉德. LAMP 技术在病原微生物检测中的应用[J]. 华南预防医学, 2007, 33(5): 45-49.
- [5] Hosaka N, Ndembu N, Ishizaki A, et al. Rapid detection of human immunodeficiency virus type 1 group M by a reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay[J]. J Virol Methods, 2009, 157(2): 195-199.
- [6] 崔亚利, 何於娟, 刘鑫, 等. 快速检测淋球菌 *porA* 和 16S rRNA 基因的环介导等温扩增技术的建立[J]. 中国生物制品学杂志, 2010, 23(10): 1125-1128.
- [7] 叶宇鑫, 李琳, 山崎伸二, 等. 原位荧光 LAMP 技术检测食源性沙门氏菌[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(3): 137-142.

(收稿日期: 2014-08-30 修回日期: 2014-10-20)

## 血浆吸附治疗严重多发伤并发重度淤胆型肝炎的护理

熊丽<sup>1</sup>, 董荔<sup>2</sup>△(重庆市急救医疗中心: 1. 重症医学科; 2. 护理部 400014)

【关键词】 血浆吸附; 严重多发伤; 淤胆型肝炎

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.03.062 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2015)03-0427-02

严重多发伤是指在事故发生时, 同一致伤因素可使人体 2 个以上的解剖部位或脏器造成较严重损伤<sup>[1]</sup>。严重多发伤患者通过早期的损伤控制外科处理及复苏治疗后, 仍可能出现继发器官功能障碍而导致死亡。严重多发伤后患者在无直接肝胆损伤及胆道梗阻的情况下, 可出现氨基转移酶升高为主的肝细胞性黄疸, 但出现进行性加重的淤胆型肝炎极为少见, 且药物治疗效果不佳, 预后不良<sup>[2-3]</sup>。本科室于 2013 年 7 月收治 1 例严重多发伤并发重度淤胆型肝炎的患者, 在保肝、降低胆红素等基础治疗的同时经血浆吸附治疗后取得满意的效果, 现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 患者, 王某, 女, 48 岁, 因高处坠落致全身多处伤 1 d 入院, 入院时呈创伤失血性休克, 行紧急复苏抢救和急诊手术后入本院重症医学科治疗。入科时查体: 体温 36.5℃, 脉搏 150 次/分, 呼吸 23 次/分(呼吸机支持通气), 血压 109/58 mm Hg, 中-深度昏迷, 巩膜稍黄染, 球结膜水肿明显, 左侧瞳孔 3 mm, 对光反射迟钝, 右侧瞳孔 2 mm, 对光反射灵敏。胸廓挤压试验阳性, 双侧胸壁分别置胸腔引流管, 可见血性液体引出。右下肺呼吸音稍减低, 可闻及散在痰鸣音。心率 150 次/分, 律齐, 未闻及明确心脏杂音。腹部伤口未见明显

渗血渗液, 腹腔引流管可见淡血性液体引出。双下肢、会阴部水肿明显, 骨盆畸形、右侧大腿肿胀畸形, 已行清创缝合及胫骨牵引。血常规: 白细胞(WBC)  $6.87 \times 10^9/L$ , 红细胞(RBC)  $2.30 \times 10^{12}/L$ , 红细胞压积(HCT) 0.205, 血红蛋白(Hb) 74 g/L, 血小板(PLT)  $21 \times 10^9/L$ ; 凝血象: 活化部分凝血活酶时间(APTT) 37 s, 凝血酶原时间(PT) 15.3 s, 凝血酶时间(TT) 14.7 s, 纤维蛋白原(FBG) 4.03 g/L; 肝肾功能: 尿素氮(BUN) 6.71 mmol/L, 肌酐(Cr) 69.7  $\mu\text{mol}/L$ ; 清蛋白(ALB) 25.1 g/L, 丙氨酸氨基转移酶(ALT) 47 U/L, 天门冬氨酸氨基转移酶(AST) 115 U/L, 总胆红素(TB) 109.0  $\mu\text{mol}/L$ , 直接胆红素(DB) 44.2  $\mu\text{mol}/L$ ,  $\delta$ 胆红素( $\delta$ -Bil) 25.0  $\mu\text{mol}/L$ , 碱性磷酸酶(ALP) 46 U/L,  $\gamma$ -谷氨酰转氨酶(GGT) 23 U/L。入院诊断为严重多发伤、创伤失血性休克, 住院治疗 5 d 后, 补充诊断为严重多发伤并发重度淤胆型肝炎。

### 1.2 血浆吸附治疗方法

**1.2.1 治疗方法** 采用贝朗 CRRT 机, 贝朗血浆分离器及珠海健帆血浆胆红素吸附器 BS330, 隔日治疗 1 次, 每次持续 2~3 h。

**1.2.2 原理** 血浆吸附是通过血浆分离和特异性吸附器, 吸附清除血浆或全血中特定物质(配体)。

△ 通讯作者, E-mail: 770199993@qq.com.