

院感染的常见病原菌,近年来,随着新型广谱抗菌药物在临床上广泛应用,鲍曼不动杆菌在临床的感染率以及对多种抗菌药物的耐药率呈逐渐上升趋势。部分菌株对高效、广谱的亚胺培南等碳青霉烯类抗菌药物也产生了耐药性,给临床治疗带来困难。

本研究表明,感染标本类型构成比由高至低依次为痰液 85 株(82.52%)、分泌物 6 株(5.83%)、尿液 3 株(2.91%)、血液 2 株(1.94%)。由此表明呼吸道为鲍曼不动杆菌医院感染的高发部位,应注意预防呼吸道发生医院感染。

本研究结果显示,感染科室构成比由高至低依次为 ICU 48 株(46.6%)、呼吸内科 26 株(25.24%)、神经外科 12 株(11.65%)、骨科 3 株(2.91%)、普外科 2 株(1.94%)和其他科室 7 株(6.80%)。入住 ICU 的患者病情危重,是心、肝、肾等多种脏器功能衰竭,各种严重外伤、恶性肿瘤、器官移植、胸腹腔等大手术后的患者,这些患者机体免疫功能极度受损;在住院期间多接受过大剂量 X 线、纤维支气管镜、胃镜或肠镜、组织活检等侵入性检查;多接受大剂量抗菌药物、激素、放疗、化疗以及气管切开及机械通气、静脉穿刺、鼻饲管、留置导尿管、静脉留置针等侵入性治疗。呼吸内科重症患者呼吸功能差,多行气管切开、使用呼吸机等医疗器械进行侵入性治疗来维持生命,抗菌药物和激素的使用非常普遍。神经外科多为大手术患者,住院时间长,各种检查与治疗手段多,往往身体免疫系统严重受损。以上病区患者均为医院感染的高危人群。

由表 1 可见,分离到的鲍曼不动杆菌具有多重耐药性,除亚胺培南外其耐药率均大于 57.0%。耐药率较高的药物分别是头孢曲松、妥布霉素、氨苄西林/舒巴坦,其耐药率均大于 80.0%。由于近几年来本院亚胺培南的广泛应用,其耐药率有明显上升趋势,已达 31.1%,与王远杰和刘家瑞^[3]的报道一致,高于申俊芳和段金菊^[4]及尤涛等^[5]的报道,低于付丽娟和吕胜江^[6]的报道,可能与各地区的用药习惯不同有关。由此可以说明本院有多重耐药鲍曼不动杆菌的流行趋势,应引起高度重视。

鲍曼不动杆菌被比作革兰阴性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌^[7],分离率逐年增高,耐药性逐渐增强,多重耐药菌株分离率也逐年增高,应引起广大医务工作者的高度重视。及时监测和掌握区域性鲍曼不动杆菌的耐药特点,结合细菌药敏结果,合理使用抗菌药物,确保患者用药安全,提高临床对感染性疾病的治疗水平,防止耐药菌株的蔓延;重视各种医疗器械和医务人员的手卫生,及时、有效地控制或减少鲍曼不动杆菌引起的医院内感染;了解和掌握鲍曼不动杆菌流行病学规律和地域性耐药特点,有效预防与控制医院感染暴发流行。

参考文献

[1] 王辉,陈民均. 1994~2001 年中国重症监护病房非发酵糖细菌的耐药变迁[J]. 中华医学杂志,2003,83(5):385-390.

[2] 黄文密,陈榆,毛培华,等. 鲍曼不动杆菌耐药性及 β -内酰胺酶基因型研究[J]. 中华检验医学杂志,2003,26(11):683-685.

[3] 王远杰,刘家瑞. 136 株鲍曼不动杆菌分布及耐药性分析[J]. 重庆医学,2009,38(20):2586-2587.

[4] 申俊芳,段金菊. 2007~2008 年某院抗菌药物的使用情况及鲍曼不动杆菌的耐药性分析[J]. 中国药物与临床,2009,9(12):1162-1165.

[5] 尤涛,康伟,辛娜. 鲍曼不动杆菌临床分布与耐药性分析[J]. 陕西医学杂志,2009,38(11):1506-1508.

[6] 付丽娟 吕胜江. 86 株鲍曼不动杆菌的耐药性分析[J]. 中国实用医药,2009,4(35):140-141.

[7] 张永,唐英春,陆坚,等. 鲍曼不动杆菌对亚胺培南耐药分子机制的研究[J]. 中国抗生素杂志,2005,30(4):217-221.

(收稿日期:2010-06-29)

临床研究

免疫增强比浊法测定 β_2 -微球蛋白的研究

吕玉江¹,杨晓娟²(1. 云南省江川县人民医院检验科 652600; 2. 云南省玉溪市疾病预防控制中心 653100)

【摘要】 目的 建立免疫增强比浊法测定血清 β_2 -微球蛋白的全自动分析法。**方法** 采用日立 7080 全自动分析仪,根据美国临床实验室标准化委员会相关文件,对方法进行精密度、线性、准确性等评价及临床初步应用。**结果** 该方法批内 CV<4.0%,批间 CV<5.0%。抗干扰性强,Hb 小于或等于 4.0 g/L、胆红素小于或等于 400 μ mol/L、类风湿因子小于或等于 2 000 IU/L、三酰甘油小于或等于 12 mmol/L 对测定无影响;与进口试剂对比, $Y=1.021X+0.0043$, $r=0.9990$,二者相关性良好。试剂开瓶稳定性良好。**结论** 免疫增强比浊法测定血清 β_2 -微球蛋白具有方法简便、快速、灵敏的优点,且结果准确,可用自动分析仪测试,适合临床检验应用。

【关键词】 免疫增强比浊法; β_2 -微球蛋白; 肾小球滤过率
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.21.043
中图分类号:R446.62 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2010)21-2377-03

β_2 -微球蛋白(β_2 -MG)存在于有核细胞的表面,特别是淋巴细胞和肿瘤细胞,并由此释放入血液循环。健康人 β_2 -MG 的合成率及从细胞膜上的释放量相当恒定,可以从肾小球自由滤过,99.9%在近端肾小管吸收。所以正常情况下 β_2 -MG 的排

出是很微量的,说明 β_2 -MG 的升高可反映肾小球滤过功能受损或滤过负荷是否增加的情况,可作为肾小球和肾小管病变的敏感指标。有文献报道,慢性肾炎患者 β_2 -MG 浓度可随病情加剧而升高^[1]。本研究建立了免疫增强比浊法测定血清 β_2 -

MG 浓度的方法,并对其检测性能进行方法学评价。

1 材料与方法

1.1 样品均为本院门诊和住院患者。

1.2 试剂与仪器 试剂 1(R1):磷酸盐缓冲液、氯化钠、聚乙二醇、稳定剂适量;试剂 2(R2):结合乳胶微球的羊抗人 β_2 -MG 抗体。干扰物质:500 μ mol/L 胆红素标准液、5 g/L Hb 溶液。日立 7080 生化分析仪。

1.3 方法

1.3.1 原理 样品中 β_2 -MG 与试剂中相应的 β_2 -MG 抗体在溶液中相遇,立即形成抗原-抗体复合物,并形成一定浊度。该浊度的高低在一定量抗体存在时与抗原的含量成正比。通过与同样处理的校准液比较,计算未知样品中的 β_2 -MG 含量。

1.3.2 分析参数 样本体积 30 μ L,R1 体积 240 μ L,R2 体积 60 μ L,主波长 600 nm,副波长 800 nm,终点法。反应温度:37 $^{\circ}$ C,第 17 点读取 A1,第 34 点读取 A2,反应方向为上升反应。

1.3.3 操作方法 根据分析参数在仪器上编制检测程序,在日立 7080 生化分析仪上完成检测。

1.4 统计学方法 采用 Stata10.0 软件进行统计学处理。

2 结 果

2.1 精密度 根据美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)EP5-A2 文件对精密度评价的要求,分别测定低、中、高值 3 种水平的 β_2 -MG 浓度。2 h 内各水平连续测定 20 次,计算均值($\bar{x}$)、标准差(s)、批内 CV。每天测定 1 次,连续测定 20 d,计算 $\bar{x}$ 、 s 、日间 CV。批内 CV 和日间 CV 结果见表 1。

表 1 批内和日间 CV 结果(mg/L)

样本	标本	次数	批内			日间		
			$\bar{x}$	s	CV%	$\bar{x}$	s	CV%
1	低值	20	3.4	0.013	3.85	3.4	0.016	4.16
2	中值	20	8.5	0.064	2.12	8.5	0.058	2.34
3	高值	20	13.6	0.420	0.75	13.6	0.040	0.85

2.2 回收试验 取 2 个新鲜血清样品各 1 份,以不同比例混合成分析样品,然后分别测定 β_2 -MG 的浓度,计算回收率,结果见表 2。

表 2 回收试验结果

标本号	理论值(mg/L)	回收浓度(mg/L)	回收率(%)*
1	0.63	0.65	103.2
2	3.52	3.57	101.4
3	5.86	5.91	100.9
4	7.94	7.85	98.9
5	11.30	11.12	98.4
6	14.25	13.87	97.3

注:*血清 β_2 -MG 的平均回收率为 100.1%。

2.3 对比试验 将血清样品($n=40$)同时用免疫增强比浊法与日本进口原装 β_2 -MG 试剂分别测定进行比较,测定范围为 0.05~15.00 mg/L,计算回归方程为 $Y=1.021X+0.0043$ (x 为进口原装 β_2 -MG 试剂),相关系数(r)=0.999 0,经 t 检验差异无统计学意义($P>0.05$),高度相关。

2.4 稳定性试验 将免疫增强比浊法试剂按以下几种方式测

试:(1)2~8 $^{\circ}$ C 开瓶上机稳定性,即第一次校准后开瓶置于仪器冷藏,随后不再校准,每天监控相同批次标本,直到失控为止。(2)2~8 $^{\circ}$ C 开瓶第一次校准后,随后不再校准,每天监控相同批次标本,直到失控为止,但每天测定结束后应及时密闭瓶盖。(3)加速热破坏试验,37 $^{\circ}$ C 热破坏,每次测定前进行重新校准,每天监控相同批次标本,直到失控为止。从试验结果可看出,本法试剂显示出良好的开瓶稳定性(至少 1 个月以上)。结果见表 3。

表 3 稳定性试验结果(mg/L)

时间(d)	2~8 $^{\circ}$ C 开	2~8 $^{\circ}$ C 闭	37 $^{\circ}$ C
0	3.49	3.50	3.49
5	3.48	3.49	3.47
10	3.48	3.50	3.42
20	3.49	3.52	2.68
30	3.50	3.51	—

注:“开”指始终开瓶上机观察;“闭”指开瓶上机,测定结束后密闭;“37 $^{\circ}$ C”指热破坏性试验。—表示无数据。

2.5 干扰因素 用稀释好的不同浓度的 Hb、胆红素和类风湿因子(RF)分别与含 β_2 -MG 浓度较高的血清和生理盐水做回收试验,以回收率的好坏判断是否存在干扰。结果显示,RF $\leq 2\,000$ U/L、胆红素小于或等于 400 μ mol/L、三酰甘油小于或等于 12 mmol/L、Hb ≤ 4 g/L,对 β_2 -MG 测定无干扰。

2.6 灵敏度试验 用浓度为 2.25 mg/L 的定值样本重复测定 3 次,分别计算测定吸光度的 $\bar{x}$ 值,结果本试剂灵敏度为 0.182 0。

2.7 线性范围测定 以 NCCLS(EP6P)文件做线性评价标准,取一高浓度 β_2 -MG 标准品和一低浓度 β_2 -MG 标准品,然后把 2 份样本等量混匀产生中间值,再分别将中间值和低值,中间值和高值等量混匀,共产生 5 个不同浓度的样品。在分析仪上用本试剂从低值到高值,然后从高值到低值对 5 个不同浓度的标本分别平行测定 5 次,求得均值为 Y ,以理论值为 X ,经线性回归分析,得回归方程为 $Y=0.838\,4X+0.456$, $r^2=0.990\,2$,说明本试剂 β_2 -MG 浓度在 15 mg/L 范围内线性良好。

3 讨 论

临床常用放射免疫法测定 β_2 -MG 含量,RIA 具有准确灵敏、特异性高的特点,但该法需时长,操作繁琐,有放射污染的缺点^[2]。毛细管电泳免疫分析法均需要昂贵的免疫测定仪。微流控芯片电泳免疫法虽然具有微型化、集成化、分析速度快、试剂消耗少等显著特点,但仪器到目前为止没有得到普及,只有在极少部分大学和研究机构的实验室能开展检测,因此开展血 β_2 -MG 分析均会受到一定的限制^[3-4]。本文将日立 7080 全自动生化分析仪、 β_2 -MG 免疫增强比浊法试剂、配套标准品组成一个新的检测 β_2 -MG 的检测系统。为了评价该系统对 β_2 -MG 的测定效果,本文对重复性试验、回收试验、干扰试验、灵敏度和线性范围进行了分析。该法是利用包被在纳米微球上的抗人 β_2 -MG 抗体与 β_2 -MG 抗原反应产生浊度,其浊度与 β_2 -MG 浓度成正比。该法在 HITACHI 7080 全自动生化分析仪上有高度的精密度和良好的准确度,较宽的线性范围和较长的开瓶稳定性。在抗干扰方面也有良好操作性能,表明本法完全符合临床检验使用的要求。

参考文献

[1] 杜兰彩. β_2 -微球蛋白对泌尿系疾病的实用价值[J]. 中外健康文摘, 2009, 8(1): 237.
 [2] 黄志伟, 沈均南, 陈文. 胶乳增强免疫比浊法试剂测定 β_2 -微球蛋白的临床使用评价[J]. 标记免疫分析与临床, 2007, 14(2): 117-118.
 [3] 潘爱平, 王惠民, 金庆辉, 等. 微流控芯片电泳免疫法检测 β_2 -微球蛋白[J]. 南通大学学报, 2008, 28(1): 17-19.
 [4] 林敏, 朱柳君, 李辉. 尿微量蛋白检测及尿蛋白电泳在肾脏疾病诊断中的应用[J]. 放射免疫学杂志, 2006, 19(6): 502.

(收稿日期: 2010-06-30)

临床研究

396 例恶性淋巴瘤骨髓涂片分析

李虎生, 张 华 (广西壮族自治区玉林市红十字会医院血液科 537000)

【摘要】 目的 了解恶性淋巴瘤首次骨髓穿刺时骨髓侵犯的发生率。**方法** 对 396 例恶性淋巴瘤骨髓涂片结果做回顾性分析。**结果** 以骨髓涂片细胞分类中淋巴瘤细胞大于或等于 5.0% 诊断为骨髓侵犯, $\geq 20.0\%$ 诊断为淋巴瘤细胞白血病。在 396 例恶性淋巴瘤中, 正常骨髓象 292 例, 占 73.7% (292/396), 淋巴瘤骨髓侵犯 (LBMI) 104 例, 占 26.3% (104/396), 其中淋巴瘤细胞白血病 61 例, 占 15.5% (61/396)。104 例 LBMI 患者中非霍奇金淋巴瘤占 85.6% (89/104), 霍奇金淋巴瘤占 14.4% (15/104)。104 例 LBMI 患者中 III~IV 期患者占 89.4% (93/104), II 期患者占 10.6% (11/104)。儿童 LBMI 患者占 34.4% (21/61), 其中淋巴瘤细胞白血病 13 例, 占 21.3% (13/61)。**结论** 非霍奇金淋巴瘤侵犯骨髓较常见, 明显高于霍奇金淋巴瘤, III~IV 期患者明显高于 II 期患者; 儿童 LBMI 患者也有较高的发生率。当明确诊断为恶性淋巴瘤时应常规做骨髓涂片细胞学检查, 必要时行骨髓活检。

【关键词】 恶性淋巴瘤; 骨髓检查; 骨髓涂片
 DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2010.21.044
 中图分类号: R733.4 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2010)21-2379-02

恶性淋巴瘤是一种原发于淋巴结或结外淋巴组织的恶性肿瘤, 分为霍奇金淋巴瘤 (HL) 和非霍奇金淋巴瘤 (NHL) 两类。临床上以 NHL 多见, 淋巴瘤骨髓侵犯 (LBMI) 或并发淋巴瘤细胞白血病 (LMCL) 临床上比较常见, 在 NHL 中发生率为 16%~75%^[1], HL 中为 2%~32%, 其中 16%~25% 可并发 LMCL^[2]。探讨 LBMI 对指导恶性淋巴瘤的正确分期、治疗和预后判断都有十分重要的临床意义。本文回顾分析了本院 2000 年 1 月至 2010 年 5 月 396 例恶性淋巴瘤的骨髓涂片检查结果, 对其 LBMI 做如下分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2000 年 1 月至 2010 年 5 月本院住院患者 396 例, 其中男 281 例, 女 115 例, 年龄 2~81 岁, 平均 51 岁。均为本院初治患者, 经临床及病理检查确诊。其中 NHL 345 例, HL 51 例; 成人 331 例, 儿童 65 例。按 Ann Arbor 分期: I 期 23 例, II 期 87 例, III 期 182 例, IV 期 104 例。B 组 125 例 (有发热、盗汗及体质量下降), A 组 271 例 (为无以上症状者)。

1.2 LBMI 诊断标准 国内标准按周威本等^[3] 标准划分: 骨髓涂片中淋巴瘤细胞大于或等于 5.0% 者诊断为 NHL 侵犯骨髓, 当淋巴瘤细胞大于或等于 20.0% 者诊断为 LMCL; 骨髓涂片中找到 RS 细胞诊断为 HL 骨髓浸润。国外标准参照 FAB-MDS-RAEB (1982), 以骨髓中原加幼稚淋巴细胞大于 5% 为浸润标准, 将淋巴瘤患者骨髓细胞中原始或幼稚淋巴细胞 5%~25% 诊断为某种淋巴细胞侵犯骨髓, $\geq 25\%$ 称为某种淋巴瘤细胞白血病^[4]。

1.3 检查方法 本组病例均是治疗前首次行骨髓穿刺, 抽取骨髓液涂片至少 6 张并推外周血片 3 张, 经瑞特染色 (必要时加做碱性磷酸酶、过氧化物酶、酯酶与糖原染色) 后仔细观察 200 个骨髓有核细胞, 对其进行分类计数, 算出百分率。

2 结果

骨髓穿刺涂片检查发现, 在 396 例恶性淋巴瘤中, 正常骨

髓象 292 例, 占 73.7% (292/396), LBMI 104 例, 占 26.3% (104/396), 其中 LMCL 61 例, 占 15.4% (61/396)。104 例 LBMI 中 III~IV 期占 89.4% (93/104), II 期患者占 10.6% (11/104)。NHL 的患者 LBMI 占 85.6% (89/104), HL 占 14.4% (15/104)。儿童 LBMI 患者占 34.4% (21/61), 其中 LMCL 13 例, 占 21.3% (13/61)。

3 讨论

恶性淋巴瘤是我国常见的恶性肿瘤, 其发病率约为 3~4/10 万, 分为 LMCL HL 和 NHL 二类。临床上主要表现为浅表淋巴结无痛性肿大, 部分患者有发热、盗汗、消瘦等症状。按 Ann Arbor 分期标准^[5], 一旦发现淋巴瘤细胞侵犯骨髓, 即可以判断患者为 IV 期病例。国内文献报道 LBMI 率多大于 20.0%^[6-8], 而本组 396 例恶性淋巴瘤中, 正常骨髓象 292 例, 占 73.7% (292/396), LBMI 104 例, 占 26.3% (104/396), 其中 LMCL 61 例, 占 15.4% (61/396), 与文献报道相似。国内袁宇宁等^[7] 报道 LBMI 大多见于 III、IV 期患者, 极少见于 I、II 期病例。但董群生等^[9] 报道 681 例淋巴瘤初诊时行骨髓检查, LBMI 占 12.99%, III、IV 期患者占 86.4%, II 期患者占 13.6%。本组 104 例 LBMI 患者中 III~IV 期患者占 89.4% (93/104), II 期的患者占 10.6% (11/104), 与文献^[9] 报道相似, 由此表明早期患者也有骨髓侵犯的可能, 不容忽视。本组 104 例 LBMI 患者中 NHL 的患者占 85.6% (89/104), HL 占 14.4% (15/104)。儿童 LBMI 患者占 34.4% (21/61), 其中 LMCL 13 例, 占 21.3% (13/61)。表明了 NHL 及儿童患者 LBMI 的发生率明显高于 HL 患者。

一般认为, 恶性淋巴瘤患者合并骨髓侵犯大多数处于疾病的晚期, 治疗效果差, 容易复发, 生存期短。所以骨髓检查对恶性淋巴瘤的分期及治疗效果、预后判断十分重要。作者认为, 只要临床一旦确诊为恶性淋巴瘤, 就应常规做骨髓涂片检查。当骨髓增生极度活跃、增生低下或骨髓纤维化时常得不到满意