

试剂盒^[1];通过试验发现英科新创试剂比北京万泰的灵敏度高,灵敏度最低为英科新创(厦门)科技有限公司生产的试剂条。32 例中 4 例因试剂盒问题初检阳性,复查阴性,假阳性占总阳性率的 12.50%。

3.1.2 溶血标本的影响 国内有报道,酶联免疫吸附试验(ELISA)HBsAg 试剂检测溶血标本时,可造成假阳性^[2]。溶血后,血清中含有血红蛋白,血红蛋白中的亚铁血红素具有弱过氧化物酶活性,其作用效应与辣根过氧化物酶(HRP)类似,能与包被抗体结合,一步法难以完全洗脱,残留的过氧化物酶催化底物四甲基联苯胺(TMB)产生假阳性。

3.1.3 标本离心 标本离心不全,血液未完全凝固或血清未完全析出就加入标本进行检测,致使检测反应孔出现凝血现象或残留细胞成分干扰,血清中的补体可与 IgG 的 Fc 段结合,血浆纤维蛋白质和酶结合物一起易黏附到 ELISA 检测板上不易洗掉,免疫球蛋白的聚合物,免疫复合物易吸附于塑料表面,可造成非特异性吸附,这些都可引起假阳性^[3]。

3.1.4 加样时间的影响 前后标本加样时间过长,特别是夏天温度高,对 HBsAg 检测结果影响较大。

3.1.5 洗板影响 洗涤剂浓度配制不合格,洗板机堵孔,蒸馏水不合格,残留液较多等诸多因素,使洗板不彻底,本底增高,产生假阳性。

3.1.6 显色 温度和时间对显色非常重要,温度 37℃ 时,时间与显色的颜色深浅成正比。

3.1.7 操作不当与其他。 加样量不准确,加错标本,标本污染,放标本至试管架时造成 HBsAg 阳性的标本溅到其他标本里,未加入包被孔底物^[4]。

3.2 体会和解决方法 ELISA 法检测 HBsAg 检测虽然操作简便,但要保证检验质量,避免假阳性产生,在日常检验工作中必须注意以下几点。

3.2.1 选择卫生部批准的合格的试剂盒 保存试剂温度为 2~8℃,要每天检查并做好记录,避免频繁开关。

3.2.2 空腹采血 无溶血,血清分离完全,避免纤维蛋白丝混入,很多尿毒症患者的血标本,因做透析用抗凝血剂低分子肝素钠、肝素,因而标本很难凝固,经离心后有血清析出,但吸到孔去几分钟又凝固了。处理的方法是吸出血清放到干净管内,等几分钟凝固后用竹枝剥离纤维蛋白,这样重复三次就不再凝固便可检测了。溶血标本应重新采集检测。

3.2.3 加样时必须使用一次性吸头 加样一定要加到孔的底部,标本应轻拿轻放,严防标本外溅,避免交叉污染。

3.2.4 严格按照说明书进行操作 显色时间要合适,控制室内温度,水温必须保持 37℃。

3.2.5 应用洗板机代替人工操作 可以防止人为的操作失误,为了防止仪器洗板不干净,必须定期检查洗板机管道是否堵塞,抽液瓶压力是否合适。经反复实验确认,将洗板次数调至 7 次可以满足要求。

3.2.6 坚持室内质控和阴、阳性空白对照同时做 HBsAg 弱阳性标本一定要进行复查,并选用不同厂家,不同批号试剂复检,这样才能保证检验结果的准确性,降低 HBsAg 假阳性出现的概率。

参考文献

- [1] 刘思寨. ELISA 法检测 HBsAg 影响因素的探讨[J]. 现代预防医学, 2004, 31(6): 882-883.
- [2] 龚显恩. 探讨标本溶血对酶联免疫吸附试验检测乙型肝炎表面抗原的影响[J]. 实用医技杂志, 2008, 15(14): 1821-1822.
- [3] 刑培清, 刘玉振. 实用输血检测[M]. 郑州: 郑州大学出版社, 2001: 95-145.
- [4] 黄秋芳, 王微, 李永. ELISA 检测 HBsAg 复检结果分析[J]. 检验医学, 2004, 19(4): 603-604.

(收稿日期: 2010-05-22)

临床研究

血浆纤维蛋白原和 D-二聚体及血小板测定在新生儿窒息中的应用

林 伟, 徐桂秋(福建省福州市第一医院检验科 350009)

【摘要】目的 探讨纤维蛋白原(FIB)、D-二聚体(D-D)及血小板(PLT)在新生儿窒息中的变化及临床意义。**方法** 选取 46 例健康新生儿及 36 例重度窒息新生儿,比较两组 FIB、D-D、PLT 变化情况。从 36 例重度窒息新生儿中随机选取治疗组 20 例在常规治疗基础上每次加用微剂量肝素(0.05~0.1 mg/kg),加生理盐水 1~2 mL 稀释后静脉推注,每 12 h 1 次,同时监测凝血指标。对照组 16 例采用常规治疗,观察 3 d 后两组 FIB、D-D、PLT 变化情况。**结果** 重度窒息新生儿 FIB、D-D、PLT 与健康组相比差异有统计学意义($P < 0.01$)。肝素治疗组 FIB、D-D 与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.01$),而两组 PLT 相比差异无统计学意义($P > 0.05$),两组 FIB、D-D、PLT 在治疗前后差异均有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** 检测 FIB、D-D、PLT 不仅可以了解窒息新生儿凝血功能变化, FIB、D-D 还可以作为新生儿窒息疗效监测指标。

【关键词】 纤维蛋白原; D-二聚体; 血小板; 肝素; 新生儿窒息

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2010.24.029

中图分类号: R722.12

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2010)24-2742-03

新生儿窒息是引起新生儿死亡和儿童伤残的重要原因之一,国内发病率约为 5%~10%^[1]。窒息时的缺氧和酸中毒可

以促使组织因子释放,红细胞和血小板损伤可直接释放促凝物质,组织因子结合并活化因子Ⅶ,进而激活外源凝血系统,内皮

细胞损伤后胶原组织暴露、活化因子Ⅻ,或直接活化因子Ⅻ,进而激活内源凝血系统。凝血系统激活后产生大量病理性凝血酶,血液呈高凝状态,导致微循环内广泛血栓形成,病理性凝血酶使纤溶酶原转化为纤溶酶,大量纤溶酶导致纤维蛋白溶解亢进。D-二聚体是纤维蛋白溶解酶降解交联纤维蛋白的特异性降解产物,为纤维蛋白降解产物中的最小片段。检测 FIB、D-D、PLT 不仅可以了解窒息新生儿凝血功能变化,FIB、D-D 还可以作为新生儿窒息疗效监测指标。

1 资料与方法

1.1 研究对象 健康新生儿组:选取本院产科分娩的健康足月新生儿 48 例,其中男 25 例,女 23 例,出生体质量(3 250±650)g,平均日龄 8.7 h,1 min 和 5 min Apgar 评分为 9~10 分。重度窒息组 36 例,其中男 20 例,女 16 例,出生体质量(3 210±700)g,平均日龄 7.9 h,1 min Apgar 评分小于或等于 3 分。36 例重度窒息新生儿随机分为肝素治疗组和常规治疗组,其中肝素治疗组 20 例,男 11 例,女 9 例,平均体质量(3 190±720)g,平均日龄 7.5 h;常规治疗组 16 例,男 9 例,女 7 例,平均体质量(3 235±680)g,平均日龄 8.4 h。所有研究对象均为足月儿,均无家族性出血史、凝血疾病史,新生儿生后及母亲产前、产后均未使用对凝血功能有影响的药物。健康新生儿组与重度窒息组,肝素治疗组与常规治疗组在出生体质量、性别、日龄比较无统计学意义。

1.2 治疗方法 常规治疗组采用常规对症及复苏治疗,肝素治疗组采用微剂量肝素(0.05~0.1 mg/kg),加生理盐水 1~2 mL 稀释后静脉推注,每 12 h 1 次,连用 3 d,同时监测凝血指标。

表 2 肝素治疗组和常规治疗组治疗前后 FIB、D-D、PLT 检测结果

组别	n	FIB(g/L)		D-D(mg/L)		PLT(×10 ⁹ /L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
肝素治疗组	20	1.58±0.39	2.13±0.36	3.61±1.83	1.01±0.52	111.93±35.18	118.55±35.74
常规治疗组	16	1.50±0.36	1.79±0.33	3.36±1.46	2.07±0.87	103.57±24.77	109.56±23.97

肝素治疗组与常规治疗组组间比较,两组治疗前 FIB、D-D、PLT 结果均为 $P>0.05$ 。治疗后两组 FIB、D-D 结果比较 t 值分别为 2.92,4.30,均为 $P<0.01$;PLT 结果比较 t 值为 0.86, $P>0.05$ 。同组治疗前后比较,FIB、D-D、PLT 结果均为 $P<0.01$ 。

3 讨论

本文测定了 48 例健康新生儿与 36 例重度窒息新生儿 FIB、D-D、PLT,结果发现重度窒息新生儿组 FIB、PLT 明显低于健康新生儿组,而 D-D 结果明显高于健康新生儿组,说明重度窒息新生儿体内存在凝血激活和纤溶亢进,血液处于高凝状态。有报道新生儿窒息可引起血管内皮损伤,从而诱发血小板的聚集活化。测定结果显示外周血血小板数减少,提示新生儿窒息可引起血小板的活化和破坏。

肝素具有抗炎、抗过敏、抗凝、抑制微血栓形成、增强网状内皮系统吞噬细胞活性、中和多种炎症反应因子及降低内皮细胞通透性等作用,肝素还可以降低血液黏稠度,改善微循环。微剂量肝素早期应用在国外已有报道^[2]。微剂量肝素静脉注射,可持续用输液泵静滴或分次静滴,对危重病例尤其新生儿可选择静滴,最好用生理盐水稀释,其他溶液可降低肝素活性,由于小剂量肝素疗法剂量小,一般无明显不良反应^[3]。本研究

1.3 检测方法 健康新生儿和重度窒息新生儿均于出生后 24 h 内采集静脉血 2 mL 注入 EDTA 抗凝管充分混匀后采用 SYSMEX X800i 全自动血细胞分析仪测定血小板,同时采集静脉血 1.8 mL 注入 1:9 枸橼酸钠抗凝管充分混匀后采用 SYSMEX CD1500 全自动血凝仪测定 FIB、D-D。肝素治疗组和常规治疗组于治疗 3 d 后采用上述方法采集静脉血测定 FIB、D-D、PLT。SYSMEX X800i 全自动血细胞分析仪和 SYSMEX CD1500 全自动血凝仪均采用原装试剂。

1.4 统计学方法 所有均数以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间均数比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 48 例健康新生儿组与 36 例重度窒息组 FIB、D-D、PLT 检测结果 见表 1。

表 1 48 例健康新生儿组与 36 例重度窒息组 FIB、D-D、PLT 检测结果

组别	n	FIB(g/L)	D-D(mg/L)	PLT(×10 ⁹ /L)
健康新生儿组	48	2.30±0.43	0.37±0.13	215.67±41.67
重度窒息组	36	1.54±0.37	3.50±1.66	108.21±30.86

将健康新生儿组与重度窒息组 FIB、D-D、PLT 进行 t 检验, t 值分别为 8.50,2.73,13.02,三组结果 $P<0.01$,健康新生儿组与重度窒息组 FIB、D-D、PLT 差异均有统计学意义。

2.2 肝素治疗组和常规治疗组治疗前后 FIB、D-D、PLT 检测结果 见表 2。

中肝素治疗组采用微剂量肝素对重度窒息新生儿早期高凝状态进行干预治疗,使得治疗后 FIB、PLT 明显升高,D-D 显著降低,并且与常规治疗组相比,除 PLT 外,FIB 明显高于常规治疗组,D-D 明显低于常规治疗组。肝素治疗组和采用常规对症及复苏治疗组治疗前后 FIB、D-D、PLT 均有明显好转。说明小剂量肝素有利于治疗新生儿窒息的早期血液高凝状态,改善微循环,D-二聚体是直接反映凝血和纤维溶解活化酶的理想指标,其水平高低反映继发性纤维蛋白溶解活性高低,可作为体内高凝状态和纤维溶解亢进的分子标志物之一^[4]。FIB、D-D 可以作为新生儿窒息判断病情转归和疗效监测指标,而血小板因回升缓慢(数天至数周),且易受相关因子补充治疗影响,难以作为疗效监测指标。

综上所述,通过检测窒息新生儿 FIB、D-D、PLT 水平,可以快速了解窒息新生儿体内血液的高凝状态和继发性纤溶活性高低,为早期诊断和治疗提供依据。FIB、D-D 作为一种快速、准确的新生儿窒息疗效监测指标,值得临床推广。

参考文献

[1] 杨锡强,易著文.儿科学[M].6版.北京:人民卫生出版社,2004:5.

[2] Hawkins OL, Mackay RJ, Mackay SL, et al. Human interleukin10 suppresses production of inflammatory mediators by LPS-stimulated equine peritoneal macrophages [J]. Vet Immunol Immunopathol, 1998, 66(1): 1-10.

[3] 胡皓夫. 小剂量肝素疗法在儿科急重症中的应用 [J]. 中

国实用儿科杂志, 1997, 12(5): 305.

[4] 苏浩彬, 李文益. 新生儿弥漫性血管内凝血的诊治进展 [J]. 中国实用儿科杂志, 2002, 17(11): 649-651.

(收稿日期: 2010-06-22)

临床研究

血和尿中的胱抑素 C 对肾脏不同部位病变的评估价值

王武琴(江苏省南京市江宁区中医院检验科 211100)

【摘要】 目的 探讨血、尿胱抑素 C 浓度变化对肾脏不同部位病变的评估价值。**方法** 按非浓缩尿蛋白电泳定位的肾脏病变分组, 分别检测血、尿胱抑素 C, 用计算机软件进行统计分析。**结果** 与健康对照组比较除球性蛋白尿组尿胱抑素 C 浓度差异无统计学意义外($P > 0.05$), 其他各病理组差异均有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** 血、尿胱抑素 C 浓度变化对判断肾脏不同部位病变有指导意义。

【关键词】 非浓缩尿蛋白电泳; 血 CysC; 尿 CysC

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2010.24.030

中图分类号: R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2010)24-2744-02

近年来胱抑素 C(Cystatin C, CysC)以其独有的生物学特性, 在诊断肾脏病变中作用优于传统的肌酐指标而受到关注。CysC 相对分子质量小, 生成稳定, 几乎全部经肾小球滤过而由近端肾小管重吸收并降解, 且肾小管自身不分泌, 因而常以血 CysC 来判断肾小球滤过功能的改变, 但对尿 CysC 在判断肾脏病变中的作用却少有问津。现作者就 CysC 在血、尿中的浓度变化做一探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料 经非浓缩尿蛋白电泳后的球性蛋白尿 22 例, 年龄 18~78 岁。管性蛋白尿 10 例, 年龄 21~82 岁。混合性蛋白尿 28 例, 年龄 27~82 岁。正常无电泳蛋白尿组即健康对照组 25 例, 年龄 25~59 岁, 来自健康体检人员, 无高血压、糖尿病、肾脏病史, 并经体检无器质性疾病。

1.2 主要仪器与试剂 法国 Sebia Hydrasys 全自动凝胶电泳仪, 日本 Olympus Au2700 全自动生化分析仪, CysC 试剂由四川迈克有限责任公司提供。

1.3 测定方法 CysC 检测用胶乳增强免疫透射比浊法。

1.4 统计学方法 结果数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 独立样本 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

健康对照组血、尿 CysC 的检测值均在健康参考范围内。除球性蛋白尿组尿 CysC 与健康对照组比较差异无统计学意义外($P > 0.05$), 各病理组与健康对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 各病理组与健康对照组血、尿 CysC 浓度比较(mg/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	血 CysC	尿 CysC
健康对照组	25	0.792 ± 0.099	0.156 ± 0.075
球性蛋白尿组	22	1.365 ± 0.511**	0.210 ± 0.177*
管性蛋白尿组	10	2.380 ± 1.180**	0.780 ± 0.954**
混合性蛋白尿组	28	2.784 ± 1.485**	2.330 ± 2.533**

注: 与健康对照组比较, * $P > 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

3 讨论

已知肾脏穿刺病理检查是诊断肾脏病变的金标准, 但具有较大的风险, 且与穿刺部位密切相关。近年来非浓缩尿蛋白电泳利用尿蛋白相对分子质量大小对肾脏部位进行定位受到关注, 有资料显示其结果与肾穿诊断病变部位相符^[1-2]。将经尿蛋白电泳区分的球性蛋白尿、管性蛋白尿、混合性蛋白尿分别对应肾小球病变、管小球病变、混合性病变检测血、尿 CysC, 观察其在肾脏不同部位病变时的含量变化。

胱抑素 C(CysC)又名半胱氨酸蛋白酶抑制剂, 是一种看家基因, 即此基因在所有组织中持续恒定的转录和表达^[3], 可经肾小球自由滤过在近曲小管重吸收并降解, 肾脏是清除循环中 CysC 的惟一器官。其浓度受年龄、性别、疾病变化的影响较小, 可作为肾小球滤过功能的内源性标志物^[4]。Grubb 等首先报道了 CysC 血清浓度与肾小球滤过率(GFR)密切相关。肾小管功能受损时尿 CysC 浓度升高, 能敏感特异的反应肾小管功能, 且没有 24 h 昼夜节律的变化, 影响因素小^[5]。

本实验中, 球性蛋白尿组血 CysC 升高, 与健康对照组比较差异有统计学意义, 与文献报道一致^[6], 而尿 CysC 略有升高, 但与健康对照组比较没有统计学意义; 管性蛋白尿组, 一方面尿 CysC 升高与健康对照组比较差异有统计学意义; 与球性蛋白尿组比较, 也有升高且差异有统计学意义。说明管性蛋白尿时, 尿 CysC 升高较敏感地反映了肾小管重吸收功能的损伤。另一方面, 血 CysC 不仅高于健康对照组, 且也高于球性蛋白尿组, 并均为差异有统计学意义, 与通常认为血 CysC 反映的是肾小球滤过功能似有矛盾, 原因可能是电泳分类的管性蛋白尿包括清蛋白, 而尿清蛋白的出现往往提示肾小球滤过膜有早期电荷屏障改变, 此时肾小球基底膜负电荷减少而正电荷增加, 而 CysC 等电点为 pH9.3 带正电荷, 小球滤过膜从电荷效应上阻止了 CysC 的滤出, 导致电泳分类的管性蛋白尿血 CysC 升高; 混合性蛋白尿组血、尿 CysC 均升高, 且与其他病理组比较均最为显著, 可能是肾小球滤过功能和小管重吸收功能共同损伤的叠加效应所至。