

显增加。实验室 2010 年 2 月不完全数据显示,至 2 月 24 日,甲型 H1N1 检出率为 0,乙型流感病毒阳性检出 4 例。相信依据国家制定的防控措施和本州的实际情况,结合免疫接种等预防手段,本州将遏制此次疫情。

流感常引起全球性的大流行,如在 1957 年和 1968 年源于亚洲的全球流感疫情分别导致 400 万和 200 万人死亡。在全球范围内,每年流行的季节性流感也造成约 300 万至 500 万例严重疾病和约 25 万至 50 万例死亡。而此次甲型 H1N1 疫情,截止 2010 年 2 月 19 日,WHO 公布至少 15 924 人死亡。由此可见,流感是一个严重的全球公共卫生问题。目前我国甲型 H1N1 疫情总体有所缓解,本州疫情也得到缓和,然而季节性流感开始增加,因此继续加强对流感的监测是本中心流感网络实验室的工作重点。

参考文献

[1] Novel Swine-Origin Influenza A(H1N1)Virus Investiga-

tion Team. Emergence of a novel swine-origin Influenza A (H1N1)Virus in humans[J]. Engl J Med,2009,360(25): 2605-2615.

[2] 王云龙,李彦霞,李智涛,等. 甲型(H1N1)流感病毒三重 RT-PCR 快速检测方法的建立[J]. 山东医药,2010,50(32):22-24.

[3] 常宏伟. 流感病毒 RT-PCR 核酸检测及流行病学特点[J]. 中华疾病控制杂志,2010,14(8):701-704.

[4] Vaqu Rafart J, Gil Cuesta J, Brotons Agull M. Main features of the new influenza virus a pandemic (H1N1)[J]. Med Clin(Barc),2009,133(13):513-521.

[5] Whiley DM, Bialasiewicz S, Bletchil C, et al. Detection of novel influenza A (H1N1) virus by real time PT-PCR [J]. J Clin Virol,2009,45(3):203-204.

(收稿日期:2010-08-30)

• 临床研究 •

# 比色时间与存放温度对酶联免疫吸附试验结果判读的影响

李 颖,黄永升(广西中医学院附属瑞康医院检验科,南宁 530011)

**【摘要】 目的** 探讨比色时间与存放温度对酶联免疫吸附试验(ELISA)结果判读的影响。**方法** 用酶免试剂盒对两对半标本进行检测。加终止液后分别置于不同条件下保存,用双波长(450 nm/630 nm)在不同时间段读取各孔吸光度(OD)值。**结果** 各时间段与第一次相比,结果有明显变化。**结论** 比色时间及标本终止后的保存条件对 ELISA 的检测结果影响明显,应对其作有效限定。

**【关键词】** 比色时间; 存放温度; 酶联免疫吸附试验

DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2011. 04. 039 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)04-0450-03

酶联免疫吸附试验(ELISA)有敏感性高、特异性强、重复性好的特点,但该方法影响因素较多,如加样、温育、显色、比色等都检测结果判读有着直接影响,国内亦有多篇报道<sup>[1-2]</sup>。本文着重对 HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe、抗-HBc 等两对半项目进行检测,探讨比色时间延迟与存放温度对 ELISA 吸光度(OD)变化的影响,以提高 ELISA 的质量。

## 1 材料与方 法

**1.1 仪器与试剂** 英科新创(厦门)科技有限公司提供的 HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe、抗-HBc 质控品,英科新创(厦门)科技有限公司提供的两对半检测试剂盒。Rayto RT-

6000 酶标仪。

**1.2 方法** 标本按说明书操作,加终止液后混匀,用双波长(450 nm/630 nm)读取 OD 2 次,取其均值。将终止后标本分别置于 37 ℃温箱、8 ℃冰箱、室温(25 ℃)暗处及室温(25 ℃)亮处保存,前 1 小时每隔 15 min 比色 1 次,2 h 后每隔 30 min 比色 1 次,比色方法同上。观察 OD 值至 3 h 的变化。

## 2 结 果

两对半各项在不同存放温度下不同时段 OD 值见表 1。两对半各项目 3 h 不同存放温度下 OD 值的变化分别见图 1~5。

表 1 两对半各项在不同存放温度下不同时段 OD 值

项目	保存温度	保存时间(min)								
		0	15	30	45	60	90	120	150	180
HBsAg	37℃	3.117	2.835	2.676	2.400	2.328	2.154	2.039	1.944	1.810
	8 ℃	2.729	2.375	1.424	0.893	0.734	0.555	0.488	0.425	0.382
	25 ℃(暗)	3.114	3.078	2.456	2.003	1.782	1.427	1.312	1.218	1.107
	25 ℃(亮)	2.759	2.635	2.309	1.830	1.547	1.292	1.123	1.034	0.983
抗-HBs	37 ℃	3.132	2.894	2.628	2.467	2.345	2.188	2.085	1.993	1.826
	8 ℃	2.671	2.380	1.833	1.182	0.950	0.713	0.616	0.528	0.477
	25 ℃(暗)	2.943	2.700	1.875	1.521	1.368	1.136	1.075	1.019	0.859
	25 ℃(亮)	2.737	2.516	1.942	1.590	1.421	1.231	1.098	1.013	0.974

续表 1 两对半各项在不同存放温度下不同时段 OD 值

项目	保存温度	保存时间(min)									
		0	15	30	45	60	90	120	150	180	
HBeAg	37 ℃	3.638	3.335	2.921	2.713	2.560	2.402	2.395	2.257	2.103	
	8 ℃	2.417	2.194	2.103	2.035	1.988	1.836	1.745	1.622	1.578	
	25 ℃(暗)	2.546	2.473	2.433	2.165	1.677	1.659	1.513	1.200	1.018	
	25 ℃(亮)	3.697	3.580	3.445	3.402	3.359	3.266	3.179	3.116	3.103	
抗-HBe	37 ℃	2.138	2.088	1.962	1.927	1.855	1.766	1.689	1.628	1.543	
	8 ℃	2.167	2.046	1.534	1.032	0.838	0.657	0.551	0.483	0.356	
	25 ℃(暗)	2.848	2.696	1.930	1.414	1.228	1.021	0.933	0.893	0.746	
	25 ℃(亮)	2.453	2.314	2.119	1.743	1.536	1.320	1.136	1.031	0.988	
抗-HBc	37 ℃	1.479	1.386	1.366	1.340	1.292	1.266	1.225	1.192	1.073	
	8 ℃	1.346	1.286	1.274	1.264	1.238	1.144	1.011	0.885	0.729	
	25 ℃(暗)	1.688	1.509	1.496	1.468	1.439	1.353	1.294	1.233	1.187	
	25 ℃(亮)	1.679	1.652	1.637	1.615	1.500	1.325	1.187	1.075	1.033	

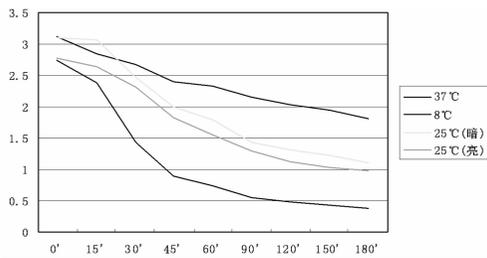


图 1 HBsAg 3 h 内 OD 值的变化

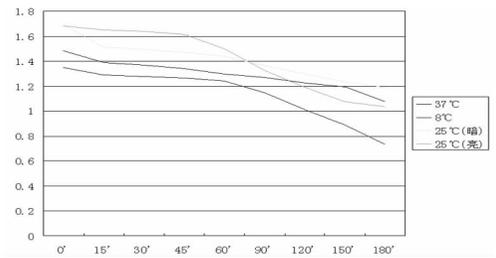


图 5 抗-HBc 3 h 内 OD 值的变化

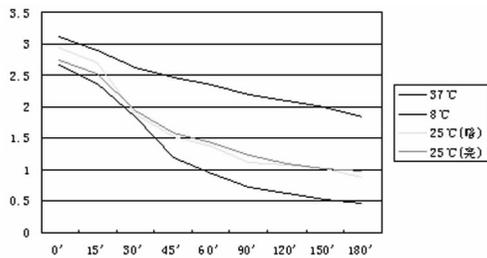


图 2 抗-HBs 3 h 内 OD 值的变化

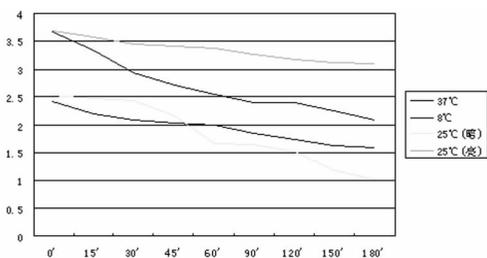


图 3 HBeAg 3 h 内 OD 值的变化

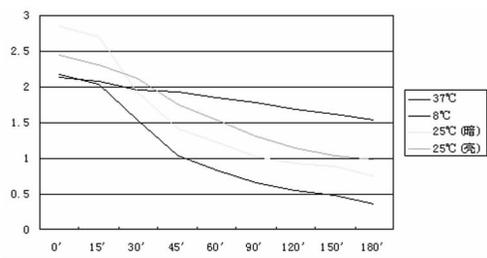


图 4 抗-HBe 3 h 内 OD 值的变化

3 讨 论

酶联免疫吸附试验(ELISA)法是目前免疫学检验的应用最广泛的技术手段之一,是将抗原、抗体反应的高度特异性与酶对底物催化作用的高效性结合起来检测液体标本中微量的免疫物质的一种方法,操作快速简便<sup>[3]</sup>。ELISA 的操作常涉及到标本的收集保存、试剂准备、加样、温育、洗板、显色、比色等步骤,其中任一环节的操作不当都会影响测定结果。

目前国产 ELISA 试剂盒的色原底物常为 A、B 两种液体,分别为一定浓度的过氧化氢和四甲基联苯胺(TMB),TMB 经过氧化氢作用后显蓝色,经酸性终止液则会使蓝色转变成黄色,此时可用特定的波长(450 nm/630 nm)测读 OD 值<sup>[4]</sup>。

表 1 的数据及图 1~5 表明,两对半各项目的比色结果随时间推移有明显的下降趋势,与时间呈非线性负相关,在前 15 min 内各项 OD 值相对比较平稳。在 37 ℃ 下保存的样本 OD 值下降的速度相对较慢。除 HBeAg 外,HBsAg、抗-HBs、抗-HBe、抗-HBc 4 项在 8 ℃ 保存时,其 OD 值的下降较其他 3 种条件下要快得多。试验证明,观察和判读结果在 15 min 内完成结果观察和判定较为理想,这与国内其他学者所作研究是一致的<sup>[5-6]</sup>。因此,对 ELISA 的比色时间及终止后样本的保存温度应作有效限定,检测时应保证终止显色后及时比色。以免错误结果影响对受检者的诊断和治疗。在临床检验工作中,常要对大批样品进行检测,需较长时间进行读数,如果不能在 15 min 内完成对样本的比色,也应当尽可能置于 37 ℃ 环境下保存,以尽可能减少对 OD 值的影响。

参考文献

[1] 苏燕,胡琼. 酶联免疫吸附试验法测定中需注意的几个问题[J]. 检验医学与临床,2008,9(17):1086-1088.

[2] 王静. 酶联免疫吸附试验法检测乙型肝炎病毒表面抗原的影响因素分析[J]. 检验医学与临床, 2010, 4(7): 671-672.

[3] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 572.

[4] 黄嵘. ELISA 试验测定需要把握的环节[J]. 实用医技杂志, 2004, 12(11): 2520-2521.

[5] 张少敏. 谈 ELISA 操作在免疫实验中应注意的三个问题[J]. 检验医学与临床, 2005, 3(2): 134.

[6] 魏献英. 影响酶联免疫吸附试验结果的常见因素及控制方法[J]. 临床医学, 2009, 11(29): 115.

(收稿日期: 2010-09-06)

• 临床研究 •

# 老年 2 型糖尿病合并泌尿系感染 66 例临床分析

李春北, 张燕燕, 曾兴蓉(四川省攀枝花市中心医院内分泌科 617067)

**【摘要】** 目的 探讨老年糖尿病并发泌尿系统感染的临床特点及细菌耐药情况。方法 对 66 例糖尿病并发泌尿系统感染患者的临床资料进行回顾性分析。结果 66 例中男 5 例, 女 61 例, 年龄超过 60 岁。60 岁以上糖尿病合并泌尿系感染患者的感染率为 33.56%, 明显高于小于 60 岁组( $P < 0.05$ )。最常见的病原菌是大肠埃希菌, 其次是变形杆菌、肺炎克雷伯菌等。大肠杆菌及变形杆菌等对环丙沙星、氧氟沙星、头孢噻肟钠敏感。无明显尿路刺激征 15 例。死亡 1 例。结论 老年糖尿病并泌尿系感染多见于女性, 早期经验性选用对大肠埃希菌敏感性高的抗生素可缩短病程。无尿路刺激征泌尿系感染有相当比例, 老年糖尿病患者应常规做尿常规检查。

**【关键词】** 2 型糖尿病; 泌尿系感染; 老年

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.04.040 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)04-0452-02

2 型糖尿病患者易合并各种感染, 而泌尿系感染在糖尿病合并感染性疾病中居首位或仅次于呼吸道感染, 其中大多数患者为女性<sup>[1-3]</sup>。作者对本院内分泌科 2004 年 10 月至 2010 年 10 月收治的老年 2 型糖尿病合并泌尿系感染患者的临床特点进行分析, 报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2004 年 10 月至 2010 年 10 月在本院内分泌科住院的老年 2 型糖尿病患者, 并且经中段尿培养确诊泌尿系感染的患者 66 例。

**1.2 诊断标准** 糖尿病诊断按 WHO1997 年标准。泌尿系感染以清洁尿沉渣中白细胞超过 5 个/HP 为筛选标准, 白细胞异常者另取晨起清洁中段尿进行细菌培养及药敏试验。患者体温超过 38℃、膀胱刺激症状伴有腰痛、肋脊角压痛或叩击痛, 血白细胞升高者诊断为肾盂肾炎。患者主要表现为膀胱刺激症状, 有白细胞尿、血尿者诊断为下泌尿系感染。

**1.3 统计学方法** 所有数据采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 临床特点** 糖尿病合并泌尿系感染 66 例中男 5 例, 女 61 例, 年龄超过 60 岁。女性泌尿系感染是男性的 12.2 倍。超过 60 岁组糖尿病合并泌尿系感染率 33.56%, 明显高于年龄小于 60 岁组的 19.25% ( $P < 0.05$ )。无明显尿路刺激征者 15 例(22.7%)。

**2.2 感染类型及病原体** 急性肾盂肾炎占 42.3%, 下泌尿系感染占 57.7%。66 例尿培养结果中, 大肠埃希菌 48 株(72.7%), 变形杆菌 5 株(7.57%), 肺炎克雷伯菌 3 株(4.54%), 阴沟肠杆菌 2 株(3.03%), 粪肠球菌 2 株(3.03%)。培养出真菌 6 株, 其中白色念珠菌 4 株, 大肠埃希菌与白色念珠菌混合感染 4 例。

**2.3 药敏试验** 大肠埃希菌及变形杆菌等对环丙沙星、氧氟沙星、头孢噻肟钠、复方甲基异恶唑敏感, 对庆大霉素、头孢唑林、氨苄西林耐药。粪肠球菌对呋喃妥因和磺胺嘧啶敏感, 白

色念珠菌对氟康唑、两性霉素敏感。

**2.4 治疗结果** 66 例患者中, 16 例采用二联抗生素治疗, 其余为一联抗生素治疗。疗程 3~4 周, 以尿培养结果阴性为治愈标准。其中治愈率为 82.3%。5 例在停药后 3 周内复发, 1 例因发生多器官功能衰竭而死亡。

## 3 讨论

糖尿病合并泌尿系感染以女性居多, 为男性的 12.2 倍, 与文献报道相符。其原因与女性泌尿器官的解剖生理及妊娠、经期、导尿等诱发感染的机会较多有关。其中老年女性的发病率高于青年女性, 其原因为老年女性尿道组织发生生理改变, 如卵巢功能衰退、雌激素水平下降使尿道黏膜萎缩, 萎缩的上皮不能有效抵御病菌。

糖尿病合并泌尿系感染的机制为: (1) 长期高血糖状态使血浆渗透压升高, 抑制白细胞吞噬能力, 使体内蛋白质合成减少、分解加快, 以致免疫球蛋白、补体等生成能力减弱, 淋巴细胞转化降低, T、B 淋巴细胞和抗体数量减少, 从而使机体免疫功能下降而发生感染<sup>[4]</sup>。并且血糖水平与感染的发生率呈正相关性。(2) 老年糖尿病患者大多病程较长, 糖尿病慢性并发症更为常见, 糖尿病患者的血管神经病变使患者易患神经性膀胱, 致使膀胱和输尿管运动能力降低, 膀胱不能排空、尿潴留, 加之尿糖增多更为细菌入侵、滋生、繁殖提供了便利条件。并且尿潴留常需反复导尿, 易发生逆行性尿路感染, 甚至引起肾盂肾炎。以及病情较重, 甚至会导致多器官功能衰竭。(3) 糖尿病患者长期营养不良, 低蛋白血症, 血糖控制不良, 病程长, 老年患者免疫系统老化防御机能下降等都有利于细菌的生长繁殖, 导致尿路感染<sup>[5-6]</sup>。(4) 老年糖尿病尿路刺激征不明显, 可能与高血糖、多尿可掩盖尿频、尿急、尿痛等尿路刺激征, 以及糖尿病神经病变致感觉神经局部敏感性应激性差有关。关于抗生素选用应遵循以下原则: (1) 无药敏试验结果时, 宜选用对革兰阴性杆菌有效的抗菌药。本组药敏试验结果表明大肠埃希菌、克雷伯菌、变形杆菌等对复方磺胺甲基异恶唑、环丙沙