

还节省了大量的人力,因此值得临床推广应用。

参考文献

[1] Orken DN, Kenangil G, Ozkurt H, et al. Prevention of deep venous thrombosis and pulmonary embolism in patients with acute intracerebral hemorrhage[J]. Neurologist, 2009, 15(6): 329-331.

[2] 陈富荣, 吴彦. 低分子肝素诱发脑出血 1 例[J]. 中国医药导刊, 2002, 4(5): 381.

[3] 莫咪蓉, 沈佩娟, 洪爱莲. 气压治疗仪预防妇科手术后

肢静脉血栓的观察及护理[J]. 护理研究, 2007, 21(8): 2120-2121.

[4] Ogata T, Yasaka M, Wakugawa Y, et al. Deep venous thrombosis after acute intracerebral hemorrhage[J]. J Neurol Sci, 2008, 272(1-2): 83-86.

[5] 马欣, 贾建平, 王拥军. 急性脑卒中后下肢深静脉血栓形成的研究[J]. 中国康复理论与实践, 2005, 11(3): 211-212.

(收稿日期: 2011-02-24)

肺炎支原体抗体检测在儿童呼吸道感染中的应用

费倩倩, 范建英, 陈小波(江苏省南通市妇幼保健院检验科 226006)

【摘要】 目的 探讨肺炎支原体抗体检测在儿童呼吸道感染中的应用, 达到明确病因, 及时对症治疗的目的。
方法 日本富士肺炎支原体抗体检测试剂 SERODIA-MYCOⅡ被动凝集试验。**结果** 2 258 例呼吸道感染患者肺炎支原体 IgM 抗体检出阳性 833 例, 检出率为 36. 89%。该病全年均有发病, 以春季发病较多, 儿童发病率高于成人。**结论** SERODIA-MYCOⅡ被动凝集试验检测肺炎支原体 IgM 抗体具有敏感度高、特异性强、操作简便快速的特点, 可作为早期诊断支原体肺炎的客观指标。

【关键词】 肺炎支原体; 儿童; IgM 抗体; 明胶粒子
DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2011. 16. 054 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2011)16-2010-02

肺炎支原体(MP)感染引起的肺炎是我国 6 岁以上儿童最常见的肺炎类型之一, 近年来婴幼儿发病也有增多趋势^[1]。其临床表现多种多样, 可引起全身各脏器损害, 还可引起肺部以外的多器官疾病。仅依据临床表现常很难与病毒性肺炎、细菌性肺炎相鉴别。本文应用日本富士 SERODIA-MYCOⅡ被动凝集试验试剂盒检测肺炎支原体 IgM 特异性抗体, 通过对 2 258 例呼吸道感染患者按年龄组进行对比, 进行了结果分析, 现报道如下。

1 材料与与方法

- 1.1 标本来源** 2009 年 6 月至 2010 年 12 月本院门诊与住院呼吸道感染患者 2 258 例, 年龄 20 d 至 59 岁。
- 1.2 试剂** 日本富士肺炎支原体抗体诊断试剂盒(被动凝集法)赛乐迪亚-麦可Ⅱ(SERODIA-MYCOⅡ)。
- 1.3 方法** 取患者全血 2 mL 分离血清按日本富士 SERODIA-MY2COⅡ被动凝集试验试剂盒说明加入血清稀释液和明胶粒子(致敏粒子和未致敏粒子试验前 30 min 用规定量的血清稀释液复溶), 混匀后置室温 3 h, 用裸眼判读每个孔中的颗粒凝集情况(阳性和阴性对照也包括在内), 未致敏颗粒在 1: 20 稀释倍数处显示阴性结果, 而致敏颗粒在稀释倍数 1: 40 或更高处凝集的样品被判为阳性结果。

2 结果

- 2.1 应用 SERODIA-MYCOⅡ被动凝集试验检测 2 258 例呼吸道感染患者肺炎支原体特异性 IgM 抗体的效价, 结果有 833 例阳性, 阳性率为 36. 89%。**
- 2.2 不同年龄组的检测结果见表 1。**

表 1 不同年龄组患者抗 Mp2IgM 检测结果		
年龄	受检例数	阳性(%)
0~6 岁	980	347(35. 41)
7~16 岁	765	396(51. 76)
17~59 岁	513	90(17. 54)
合计	2 258	833(36. 89)

7~16 岁年龄组的阳性率最高, 达 51. 76%, 其余依次为 0~6 岁、17~59 岁年龄组。

3 讨论

肺炎支原体是介于细菌和病毒之间的一种“胸膜肺炎样微生物”, 为已知独立生活的病原微生物中的最小者, 与黏液病毒的大小相仿, 革兰染色阴性^[2]。且无细胞壁, 主要通过呼吸道飞沫传染, 潜伏期即具有传染性, 症状缓解后数周内仍具有传染性, 可引起小范围流行, 全年均可发病。肺炎支原体感染后最初在血清中出现的是 IgM 抗体, 日本富士 SERODIA-MYCOⅡ被动凝集试验试剂盒用低效价颗粒凝集, 应用特异性免疫凝集原理。当血清中存在肺炎支原体抗体时, 抗原抗体反应使颗粒凝集, 因它利用明胶而不是用动物红细胞为载体, 故能清除非特异性反应。又因肺炎支原体没有细胞壁, 但体内含有 DNA 和 RNA, 因此仅能阻碍病原微生物细胞壁合成的抗生素, 如青霉素等对肺炎支原体无疗效^[3], 而应选用大环内脂类抗生素, 如红霉素等。肺炎支原体抗体检测对于早期诊断、治疗呼吸道肺炎感染极有临床价值。支原体肺炎易感人群中学龄前儿童患病较多, 近年来发现, 婴幼儿发病有增多趋势^[4]。从笔者检测的 2 258 例结果来看, 小于 6 岁的婴幼儿感染率也达 35. 41%, 其中最小年龄为出生仅 20 d, 比文献报道的最小年龄 37 d 还小了 17 d, 说明该病的发病年龄有变小的趋势^[5]。结果表明, 小儿的感染率比成人高, 0~16 岁儿童感染率高达 42. 58%。SERODIA-MYCOⅡ被动凝集试验检测肺炎支原体 IgM 抗体具有特异性强, 敏感度高的优点, 而且操作简便, 肉眼观察结果, 可以作为早期诊断支原体肺炎的客观指标, 适合临床实验室应用。

参考文献

[1] 段想诚, 刘湘云. 儿科感染病学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2003: 459.

[2] 叶巍玲, 扬代秀. 阿奇霉素治疗重度支原体肺炎临床评价[J]. 实用儿科临床杂志, 2002, 17(4): 359.

- [3] 熊正东. 小儿肺炎支原体感染的治疗[J]. 实用儿科杂志, 1993, 8(3): 205.
- [4] 翟燕. 血清特异性抗体检测在肺炎支原体感染早期诊断意义[J]. 中华儿科杂志, 1993, 31(2): 101.
- [5] 董绍良, 陈述枚, 何政贤. 小儿内科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 276.

(收稿日期: 2011-02-24)

MPT-NAG 测定 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶的应用价值

余长福(浙江省温州市瓯海区第三人民医院检验科 325014)

【摘要】 目的 应用新型底物 6-甲基-2-硫代吡啶-N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷(MPT-NAG)建立检测 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶活力的紫外动力学新方法,用于尿液中 NAG 活性测定。**方法** 基于 NAG 催化水解对硝基苯-N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷生成有色的对硝基酚这一反应,对缓冲液离子强度、pH 值、底物浓度等最佳反应条件及各种实验参数进行研究。用该法测定了多种病尿样中 NAG 活性。**结果** 该法最低检出限为 1.5 U/L,线性范围可达 250 U/L($r=0.998\ 9$),批内 CV 为 $<3\%$,批间 CV $<5\%$,回收率为 101.3%。**结论** 本法灵敏度高,线性、精密度好,结果准确,且操作简便快速,适用于全自动生物化学分析仪操作。

【关键词】 甲基-2-硫代吡啶-N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷; N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶; 紫外动力学法
DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.16.055 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2011)16-2011-02

N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶(NAG)是一种位于溶酶体内的酸性水解酶,相对分子质量为 140×10^3 ,存在于所有组织中。尿中 NAG 主要来源于肾近曲小管上皮细胞,当近曲小管上皮细胞受损时,尿中 NAG 活性将显著升高且早于其他尿酶,对肾小管损害的早期诊断有较大价值^[1],且 NAG 上升程度与肾小管损伤程度成正比^[2]。可作为早期诊断肾损害的尿标志蛋白^[3]。本文基于 NAG 催化水解 6-甲基-2-硫代吡啶-N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷(MPT-NAG)生成无色的 6-甲基-2-硫代吡啶(MPT),经反复试验确定了最佳实验条件,建立起简便、灵敏、稳定的检测尿液中 NAG 活力的紫外动力学分析法,该方法不受尿色的影响。用于尿样中 NAG 活力的测定,均获得满意结果。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器 (1)试剂 1(R1):柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液 200 mmol/L(pH 4.6 $\pm$ 0.05)、表面活性剂 1 g/L、稳定剂和防腐剂适量。(2)试剂 2(R2):柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液 200 mmol/L(pH 4.6 $\pm$ 0.05)、MPT-NAG 7 g/L、稳定剂和防腐剂适量。(3)NAG 酶标准酶和质控品,由浙江伊利康生物技术公司提供。所有检测在 AU400 全自动生物化学分析仪上进行。

1.2 样本 随机中段尿样。

1.3 方法

1.3.1 测定原理 样本中的 NAG 催化底物 MPT-NAG 水解,生成产物 MPT。MPT 在 340 nm 处有最大吸收峰,通过测定 340 nm 处每分钟的吸光度变化速率,可计算出 NAG 的活性。即在最佳实验条件下,1 000 mL 样品中 NAG 每分钟水解 1 μmol/L 的 MPT-NAG 发生转变为 1 U 的 NAG 酶量为 1 个单位,简称 U/L。

1.3.2 实验参数反应类型 速率法,波长为 340 nm(主)/405 nm(副);反应温度:37℃;试剂 1 用 240 μL,试剂 2 用 60 μL;标本取 15 μL;读数时间 1~3 min。

1.3.3 统计学处理 实验数据的统计学处理采用 SPSS10.0 统计软件。

2 结果

2.1 吸收光谱 在本实验条件下从 300~450 nm 范围内测定标准溶液的吸光度,得知 6-甲基-2-硫基吡啶最大吸收波长为 340 nm。

2.2 最适缓冲离子强度的选择 分别配制 50、100、150、200 和 250 mmol/L 的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液,其他条件不变。分别测试同一份样品(45 U/L)。酶反应速率随缓冲液浓度的增加而增高,但当浓度大于 200 mmol/L 时,酶反应速率反而降低。这是缓冲液浓度太大反而抑制了 NAG 酶的活性,从而导致反应变慢。因此,选择柠檬酸-磷酸氢二钠浓度 200 mmol/L 作为最佳缓冲液和最佳浓度。

2.3 最适 pH 值的选择 分别配制 pH4.0、4.2、4.4、4.6、4.8、5.0、5.2 和 5.4 的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液 200 mmol/L,其他条件不变。对 45 U/L NAG 标准酶进行测定,在 pH 4.6 时酶促反应速率最大。

2.4 底物浓度选择 在其他条件不变的情况下,将试剂 2 中 MPT-NAG 浓度分别调整至 5、7、9 g/L,分别测定高、中、低 3 种浓度的质控品。结果显示试剂 2 中 MPT-NAG 浓度为 7 g/L 时底物浓度与酶反应速度的反应曲线尾部已趋于平坦,说明反应速度已到最大值,测定此处的反应速度,最能准确反映酶量的多少。所以试剂 2 中 MPT-NAG 的浓度确定为 7 g/L。

2.5 反应时间的选择 在其他条件不变的情况下,用样本按反应条件进行操作,观察 60~300 s 内各时间的吸光度变化,可见到时间变化与吸光率变化为线性关系。

2.6 精密度试验 根据 NCCLS(EP-5)的评估方案,取 1 份尿液作批内和批间试验,测定次数 20 次,结果批内 CV 为 2.6%,批间 CV 为 4.2%。

2.7 回收试验 在 1 份样品中分别加入低、中、高 3 个浓度的 NAG 质控品,同时样品中加入相同体积的蒸馏水做基础样本,每份样品重复测定 3 次,取均值,所得回收率分别为 103.2%、101.5%、99.2%,平均回收率 101.3%。

2.8 线性试验 根据 NCCKs(EP6.P)的评估方案,取浓度分别为 5 U/L 和 250 U/L 标本各 1 份。然后将两份标本按 1:0.4:1.3:1.2:1.1:1.2:1.3:1.4:0.1 的比例混合,产生 9 个不同浓度的样品,用本法从高到低和从低到高两个浓度顺序测定,将测定值(Y)与理论值(X)作线性回归分析,回归方程为 $Y=1.005X-0.281$, $r=0.998\ 9$,表明线性可达 250 U/L。

2.9 最低检测限 取浓度为 5 U/L 的质控品作为样品,重复测定 10 次,求出标准差 s,以 3 s 为最低检测限,结果为