

分化的时间只有数秒,稍纵即逝,时间上不易掌握,也不利于不具备看片经验且为初级职称的技术操作人员,特别不适合在基层单位的病理科开展。

刚果红染色是病理特殊染色的一种,特殊染色是针对特殊病例而采取的特殊方法,每一种特殊染色的具体试剂、流程、时间的掌控均有差别<sup>[10-11]</sup>。而淀粉样变性刚果红染色更不易掌握,难点在于分化及衬染时间上的配合,染色效果有时出现的阳性信号不突出,背景模糊,阳性与阴性染色区域效果对比不分明;有时又出现阳性信号微弱、弥散,无明显阳性与阴性染色区域效果对比,非常容易造成误诊和漏诊。因此,只有严格按照程序操作,才能确保质量,给病理诊断提供最有力的保障。

参考文献

[1] 王伯云,李玉松,黄高昇,等.病理学技术[M].北京:人民卫生出版社,2000:156-157.

[2] 中国系统性淀粉样变性协作组,国家肾脏疾病临床医学研究中心.系统性轻链型淀粉样变性诊断和治疗指南[J].中华医学杂志,2016,96(44):3540-3548.

[3] 刘志红,黄湘华.重视系统性淀粉样变性的诊断和治疗[J].肾脏病与透析肾移植杂志,2012,21(4):301-303.

[4] 朱淑玲.浅谈淀粉样变性肾病的染色方法体会[J].中国实用医药,2016,11(5):118-119.

[5] 李玉莲,袁宏伟,徐晓艳.刚果红染色在临床病理诊断中的应用价值[J].山西医科大学学报,2014,45(7):661-662.

[6] 徐斌,陈晓抛,刘辉,等.两种改进的甲醇刚果红染色[J].临床与实验病理学杂志,2001,17(2):174.

[7] 褚杨芳.淀粉样变病的消化系表现、诊断及治疗[J].中外健康文摘,2011,8(33):45-46.

[8] 刘明辉,陈军.原发性淀粉样变性诊治进展[J/CD].转化医学电子杂志,2014,2(1):44-47.

[9] 孟庆虎,赵珊珊,曲春城.淀粉样变脑出血的临床特点及诊断方法[J].中外神经外科杂志,2012,28(8):823-825.

[10] 林洁,段云,武永吉.原发性系统性淀粉样变性的诊断及治疗[J].中华血液学杂志,2003,24(6):335-336.

[11] 王娟.33例消化系统淀粉样变性临床分析[D].杭州:浙江大学,2013.

(收稿日期:2018-11-17 修回日期:2019-04-01)

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.13.036

## 不同孕期孕妇血浆 D-二聚体和凝血 4 项水平变化及临床价值

周 军,张 玮,王 飞,陈 荣<sup>△</sup>

湖北省鄂州市妇幼保健院检验科,湖北鄂州 436000

**摘要:**目的 分析不同孕期孕妇凝血 4 项及 D-二聚体(D-D)水平变化及临床价值。方法 选取 2017 年 11 至 2018 年 6 月该院 66 例孕妇作为孕妇组,纳入同期 50 例健康非孕妇作为对照组。检测孕妇组孕早期、中期、后期、临产期纤维蛋白原(FIB)、凝血酶时间(TT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶原时间(PT)和 D-D 水平,检测对照组上述指标水平并与孕妇组不同孕期进行比较;比较孕后期 D-D 水平升高组、正常组的不良妊娠结局;观察产后出血组和未出血组凝血 4 项和 D-D 水平。**结果** (1)孕妇组孕早期至临产期 FIB 水平呈递增趋势,且高于对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );孕妇组孕后期、临产期 APTT、PT 较孕早期、孕中期及对照组短,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );孕妇组不同孕期 TT 比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),但均短于对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );孕早期、中期、后期及临产期 D-D 水平呈进行性升高,且高于对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。(2)与孕后期 D-D 水平正常组比较,孕后期 D-D 水平升高组早产、胎盘早剥、重度子痫前期发生率更高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。(3)与产后出血组产前比较,产后出血组产后 FIB 水平降低,D-D 水平升高,APTT、PT 延长,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );与未出血组产前比较,出血组产前 APTT、PT 延长,D-D 水平升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );与未出血组产后比较,出血组产后 FIB 水平降低, D-D 水平升高,APTT、PT 延长,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 动态监测孕妇孕期凝血 4 项及 D-D 水平,有助于预估产后异常出血等不良结局风险,指导临床预防工作。

**关键词:**D-二聚体; 纤维蛋白原; 凝血酶时间; 凝血酶原时间; 活化部分凝血活酶时间

中图分类号:R714.1;R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)13-1906-05

妊娠是复杂的生理过程,该过程中人体各器官及系统均出现一系列生理性改变,其中凝血系统表现为高凝状态,并启动纤溶系统。孕妇在孕期雌激素、孕激素分泌增多,体内血液状态发生改变,随着孕期进

展,其体内分泌的凝血因子越来越多,故呈现高凝状态;适当高凝状态能减少产后出血的发生率,适当纤溶能促进血栓清除,但是如果当纤溶和凝血平衡被打破,就会导致病理性妊娠结局<sup>[1-2]</sup>。D-二聚体(D-D)是

<sup>△</sup> 通信作者,E-mail:981754602@qq.com.

反映凝血、纤溶亢进与活态的重要指标,有研究发现,孕期女性 D-D 水平较非孕期健康女性高,且随着孕周延长,其水平呈进行性升高趋势。因此,采用非孕期女性 D-D 正常参考范围来衡量该阶段女性并不可行<sup>[3]</sup>。本研究对不同孕期孕妇纤维蛋白原(FIB)、凝血酶时间(TT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶原时间(PT)(下称凝血 4 项)及 D-D 水平变化进行比较,探讨其临床意义,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2017 年 11 月至 2018 年 6 月本院 66 例孕妇作为孕妇组,纳入同期 50 例健康非孕妇作为对照组。孕妇组年龄 23~39 岁,平均(26.12±2.81)岁;初产妇 43 例,经产妇 23 例;孕次 1~4 次,平均(2.12±0.42)次。对照组年龄 23~41 岁,平均(26.14±2.13)岁;孕次 0~4 次,平均(2.01±0.41)次。孕妇组与对照组年龄、孕次等比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。本研究获得本院伦理委员会批准。

### 1.2 孕妇组纳入和排除标准

**1.2.1 纳入标准** (1)签署知情同意书;(2)完成孕早期、孕中期、孕晚期、临产期、产后凝血 4 项及 D-D 水平检测;(3)既往无高血压、糖尿病、肝肾功能异常、凝血功能异常、血液系统疾病,近期未接触止血、凝血药物和放射线;(4)单胎妊娠。

**1.2.2 排除标准**<sup>[4]</sup> 凝血功能异常、糖尿病、高血压;有血栓栓塞性疾病史、不良孕产史、胎儿生长受限;正在服用可能影响纤溶系统、凝血功能的药物;贫血;肾、心、肝及脑血管疾病;自身免疫性疾病;恶性肿瘤;甲状腺疾病;30 d 内有感染史且体温 $>37.5^{\circ}\text{C}$ ;30 d 内有外伤史或手术史;6 个月内有输血史;采血前 1 d 为应激状态。

### 1.3 方法

**1.3.1 检测指标** 采集研究对象清晨空腹外周静脉血 1.8 mL,注入有 0.2 mL 枸橼酸钠的真空抗凝管中,混合均匀并以 3 000 r/min 离心 15 min,分离血浆,2 h 内采用 ACLTOP700 全自动血凝分析仪测定凝血 4 项指标及 D-D 水平。试剂和校准品均为配套产品,严格按照试剂盒说明书执行。

**1.3.2 D-D 异常升高观察** D-D 超过第 95 百分位数为 D-D 水平异常升高<sup>[5]</sup>,观察孕后期 D-D 水平,将达到上述标准的孕妇归为 D-D 水平异常升高组,未达到者为 D-D 水平正常组,观察不良妊娠结局(产后出血、早产、胎盘早剥等)。

**1.3.3 产后出血判断** 产后 24 h 内出血量 $\geq 500$  mL 为产后出血,出血量使用称重法和容积法计算<sup>[6]</sup>。阴道分娩产后出血量计算:(1)容积法,娩出胎

儿后用记血盆放在产妇臀部下收集阴道出血;(2)称重法,总重(称重)-原纱布量/1.05(血液比重)。估计收集记血盆和纱布以外的血量,将容积法血量、称重法所得血量和未收集到的估计血量相加得到总血量<sup>[7]</sup>。剖宫产血量计算,(1)容积法:查看吸引瓶羊水量,缝合切口查看吸引瓶中血量;(2)称重法:总重(称重)-原纱布/1.05(血液比重)或面积法(一块纱布记血量 20 mL);(3)术后阴道和宫腔积血:用弯盘计量。对以上未收集到的血量进行估计,以上所有方法获得的血量之和为总血量<sup>[8]</sup>。

**1.3.4 观察指标** 记录对照组、孕妇组孕早期、孕中期、孕后期及临产期 FIB、TT、APTT、PT、D-D 水平。比较孕后期 D-D 水平升高组、正常组的不良妊娠结局发生率,比较产后出血组和产后未出血组产前、产后凝血 4 项及 D-D 水平。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS18.0 统计软件进行数据分析处理,符合正态分布的计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,两组间比较采用独立样本  $t$  检验,组内比较采用配对样本  $t$  检验;计数资料以例数或百分率表示,两组间比较采用  $\chi^2$  检验。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 孕妇组不同孕期及对照组凝血 4 项及 D-D 水平比较** 见表 1。孕妇组孕早期至临产期 FIB 水平呈递增趋势,不同孕期 FIB 水平比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );且孕妇组不同孕期 FIB、D-D 水平均高于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );孕妇组孕后期、临产期 APTT、PT 较孕早期、孕中期及对照组短,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。孕早期、中期、后期及临产期 D-D 水平呈进行性升高,且高于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。孕妇组不同孕期 TT 比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),但均短于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

**2.2 孕后期 D-D 水平升高组、正常组不良妊娠结局比较** 见表 2。与孕后期 D-D 水平正常组比较,孕后期 D-D 水平升高组早产、胎盘早剥、重度子痫前期发生率更高,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。

**2.3 产后出血组、产后未出血组产前、产后凝血 4 项及 D-D 水平比较** 见表 3。产后出血组产后 FIB 水平较产前低,D-D 水平较产前高,APTT、PT 较产前延长,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );产后出血组产前 APTT、PT 较未出血组产前延长,D-D 水平较未出血组产前高,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );产后出血组产后 FIB 水平较未出血组产后 FIB 水平低,D-D 水平较产后未出血组高,APTT、PT 较产后未出血组产后延长,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。

表 1 孕产妇组不同孕期及对照组凝血 4 项及 D-D 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	时间	FIB(g/L)	TT(s)	APTT(s)	PT(s)	D-D( $\mu\text{g/L}$ )
孕产妇组	66	孕早期	3.01±0.62	15.05±1.26	34.05±2.16	12.95±1.32	182.62±51.20
		孕中期	3.79±0.41	14.83±1.45	33.79±2.74	12.75±1.65	228.32±91.20
		孕后期	3.80±0.56	14.76±0.78	32.06±2.74	10.19±0.45	304.20±98.20
		临产期	4.68±0.56	14.52±0.52	30.41±2.62	9.81±0.56	378.20±78.20
对照组	50		2.65±0.67	16.21±0.19	34.37±1.12	13.21±1.23	62.15±19.20
t			104.21	79.09	28.52	145.13	73.19
P			0.000 0	0.375 7	0.000 0	0.000 0	0.000 0
t1			2.991 0	0.889 4	0.954 2	1.081 6	15.803 5
P1			0.003 4	0.000 0	0.342 0	0.281 7	0.000 0
t2			11.314 6	1.355 3	1.409 1	1.653 2	12.6603
P2			0.000 0	0.000 0	0.161 5	0.101 0	0.000 0
t3			10.060 0	11.074 8	5.612 1	18.407 5	17.165 2
P3			0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0
t4			17.758 1	34.829 7	10.009 0	19.916 2	27.920 5
P4			0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0

注:t、P 为孕产妇组间比较;t1、P1 为对照组与孕早期比较;t2、P2 为对照组与孕中期比较;t3、P3 为对照组与孕后期比较;t4、P4 为对照组与临产期比较

表 2 孕后期 D-D 水平升高组、正常组不良妊娠结局比较[n(%)]

组别	n	产后出血	早产	胎盘早剥	重度子痫前期	妊娠期高血压
D-D 水平升高组	10	2(20.00)	1(10.00)	1(10.00)	1(10.00)	1(10.00)
D-D 水平正常组	56	13(23.21)	1(1.79)	1(1.79)	0(0.00)	2(3.57)
$\chi^2$		0.265 3	5.655 4	5.655 4	10.470 0	2.751 2
P		0.606 5	0.017 5	0.017 5	0.001 2	0.097 2

表 3 产后出血组、产后未出血组产前、产后凝血 4 项及 D-D 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	时间	FIB(g/L)	TT(s)	APTT(s)	PT(s)	D-D( $\mu\text{g/L}$ )
产后出血组	15	产前	4.03±0.95	15.60±1.21	32.70±4.62	13.62±2.42	410.03±152.96
		产后	2.01±0.33	16.49±1.61	40.21±3.97	19.36±3.95	525.97±174.62
产后未出血组	51	产前	4.24±1.01	16.28±1.95	29.82±4.17	11.51±1.42	143.20±62.29
		产后	4.43±0.98	16.27±2.03	29.76±4.32	11.84±1.39	140.46±0.24
t1			7.779 2	1.711 5	4.774 9	4.799 0	5.053 7
P2			0.000 0	0.098 0	0.000 1	0.000 0	0.000 0
t2			0.964 2	0.025 4	0.071 4	1.186 0	0.569 1
P2			0.337 3	0.979 8	0.943 3	0.238 4	0.570 5
t3			0.717 0	1.212 4	2.294 9	4.250 4	30.260 9
P3			0.476 0	0.229 8	0.025 0	0.000 1	0.000 0
t4			16.712 9	0.384 9	2.281 4	11.539 4	38.432 9
P4			0.000 0	0.701 6	0.025 9	0.000 0	0.000 0

注:t1、P1 为产后出血组产前和产后比较;t2、P2 为产后未出血组产前和产后比较;t3、P3 为两组产前比较;t4、P4 为两组产后比较

### 3 讨 论

健康状态下,人体抗凝血、止血均依靠凝血系统、纤溶系统动态平衡,确保二者之间的动态平衡是维持人体健康的关键。随着孕产妇孕期延长,要确保孕期和分娩过程中的需求,确保整个胎盘功能稳定,促使胎儿正常发育,并保证快速分娩胎盘剥离面止血,减少产后出血<sup>[9]</sup>。随着孕期延长,机体内凝血系统和纤溶系统也会发生一系列变化,血液中多种凝血因子(Ⅱ、Ⅴ、Ⅷ、Ⅸ、Ⅹ)的活性、水平也会出现明显改变;同时,

孕妇纤溶系统中 FIB 水平逐渐增加,促使凝血系统与纤溶系统间形成新的平衡,临床通过监测各种指标来反映凝血系统与纤溶系统的功能变化<sup>[10]</sup>。凝血过程、纤溶过程是维持血液流通,避免渗血、出血,保护人体的生理过程,若孕期大量凝血因子生成和释放,则可能导致孕妇发生血栓类疾病的风险明显升高,例如羊水栓塞、胎盘移位等,均可导致高凝状态,使血小板减少,形成大量血栓<sup>[11]</sup>。

APTT 是内源性凝血系统的敏感指标,主要用于

VIII、IX、X 等检测;PT 主要在 II、V、VIII、X 中体现,常用于外源性凝血系统观察;TT 主要反映 FIB 向纤维蛋白转变的过程中有无异常抗凝,是否有 FIB 异常,是否有纤溶或其降解产物增多;FIB 是肝脏合成的糖蛋白,在血凝过程中有重要作用,在凝血酶作用下可生成肽 A 和肽 B,转为纤维蛋白单体,形成包绕血液有形成分的纤维网,促使血栓形成<sup>[11-12]</sup>。

本研究中孕妇组孕早期至临产期 FIB 水平呈递增趋势,不同孕期 FIB 水平比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );且孕妇组不同孕期 FIB 水平均高于对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。孕妇组孕后期、临产期 APTT、PT 较孕早期、孕中期及对照组短,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。进一步说明孕后期至临产期孕妇血液均为高凝状态。此外也有研究者发现,APTT 在孕中期到孕晚期无明显变化,在临产期明显缩短,提示内源性凝血功能主要在临产期起作用<sup>[13]</sup>。本研究中临产期孕妇 APTT 最短,与上述研究结果一致。临产期维持胎儿正常发育,为了确保整个胎盘功能稳定,应加速分娩过程中胎盘剥离面止血、子宫修复和减少产后出血量,其纤溶系统和凝血系统均未发生变化。临产期凝血因子大量释放可导致孕妇血栓类疾病发生率升高到正常者的 5 倍,一旦发生羊水栓塞等,孕妇处于高凝状态,血小板、凝血因子消耗量增大,大量血栓形成,同时激活纤溶系统,增加产后出血的风险,因此,APTT 在临产期最短<sup>[1]</sup>。FIB 水平升高表示在妊娠过程中血小板聚集能力增强,红细胞数量增加,维持高凝状态,可提高止血功能。本研究中孕妇组不同孕期 TT 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),提示孕期大量纤溶蛋白原激活,凝血系统也被激活,二者达到新的平衡。本研究通过比较产后出血组与产后未出血组产前、产后凝血 4 项指标,发现产后出血组产前、产后 FIB、PT、APTT 水平差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );产后出血组产前部分凝血指标与产后未出血组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。提示产后异常出血与凝血指标变化相关,因此,及时检测凝血指标对评估产后异常出血风险有意义。产后出血组 APTT、TT 在产前和产后均较未出血组高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),FIB 仅在产后出血组产后低于未出血组,提示产后出血组凝血程度较未出血组低,为低凝血状态,APTT、TT 监测产后出血风险的价值优于 FIB。

D-D 是纤溶酶水解作用下经交联纤维蛋白产生的降解产物,是重要的血栓溶解指标,血浆中 D-D 水平升高标志着静脉血栓风险升高。本研究中孕早期、中期、后期及临产期 D-D 水平呈进行性升高,且均高于对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。史艳

春<sup>[14]</sup>研究指出,分娩前 D-D 水平异常提示孕妇此时纤溶系统功能活跃,诱发血栓风险较高,出血风险增高。本研究 D-D 水平在孕早期至临产期呈进行性升高,可能是因为孕期胎儿、胎盘附着面持续产生滋养细胞、小碎片组织,其中一部分进入循环系统,经过微小动静脉时凝血系统活化,导致微小血管凝血反应,血栓风险增加;在这一过程中,继发性纤溶反应激活后能消除血栓,导致 D-D 水平进行性升高。本研究产后出血组 D-D 水平较未出血组高,提示产后出血组血液凝固平衡转向低凝状态,产前 D-D 是预估产后出血的重要指标。与孕后期 D-D 水平正常组比较,孕后期 D-D 水平升高组早产、胎盘早剥、重度子痫前期发生率更高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。提示孕后期 D-D 水平异常升高标志着不良妊娠结局风险增加。考虑可能是因为 D-D 水平升高后在内皮细胞表面有纤维蛋白沉积物,对毛细血管床的营养、氧气运输功能有所阻碍,甚至可导致胎盘灌注低下、螺旋动脉栓塞、胎盘血栓等,最终导致早产、胎盘早剥等不良妊娠结局。

综上所述,为减少产后出血发生,在妊娠过程中应加强对凝血 4 项及 D-D 水平的监测,同时能帮助妊娠结局的预估。

## 参考文献

- [1] 尤优,严双琴,黄锟,等.妊娠意愿与孕中晚期妊娠相关焦虑关联的队列研究[J].中华流行病学杂志,2017,38(9):1179-1182.
- [2] 吴茜,刘娜,潘超,等.妊娠不同阶段并发颅内静脉血栓形成的临床特征[J].神经损伤与功能重建,2017,12(5):399-402.
- [3] 连李斌,杜冬青.PAPP-A、Cys-C、D-D 在妊娠期高血压孕妇中的表达及其意义[J].医学临床研究,2016,33(9):1715-1717.
- [4] 陈曼如,梅立,谢兰,等.外生型剖宫产瘢痕妊娠三种治疗方法的对比研究[J].实用妇产科杂志,2015,31(4):278-281.
- [5] 李善玲,王谢桐,李红燕,等.对三胎妊娠孕妇实施减胎术后双胎或单胎的妊娠结局及流产发生风险的分析[J].中华妇产科杂志,2015,14(4):268-273.
- [6] 时培景.剖宫产切口妊娠患者清宫前血  $\beta$ -hCG、CSM 厚度、RI 与术中出血量的关系[J].山东医药,2018,58(21):67-69.
- [7] WAGNER C L, BAGGERLY C, MCDONNELL S L, et al. Post-hoc comparison of vitamin D status at three time-points during pregnancy demonstrates lower risk of preterm birth with higher vitamin D closer to delivery[J]. J Steroid Biochem Mo Biol, 2015, 148(13): 256-260.
- [8] 王光伟,刘晓菲,王丹丹,等.选择性子宫动脉栓塞术联合

- 宫腔镜手术治疗外生型剖宫产术后子宫瘢痕妊娠 67 例临床分析[J]. 中华妇产科杂志, 2015, 18(8): 576-581.
- [9] 刘玮, 徐亮, 张炜, 等. 双胎妊娠子痫前期的高危因素分析[J]. 中国计划生育和妇产科, 2018, 10(6): 55-59.
- [10] 高颖, 林胜兰. 血清钙离子、D-二聚体和 25-羟基维生素 D 与妊娠期高血压疾病的相关性分析[J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(3): 533-535.
- [11] FOSHAT M, BATES S, RUSSO W, et al. Effect of freezing plasma at -20 degrees C for 2 weeks on prothrombin time, activated partial thromboplastin time, dilute russell viper venom time, activated protein C resistance, and D-Dimer levels[J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2015, 21(1): 41-47.
- [12] BOBBITT K R, PETERS R M, LI J, et al. Early pregnancy vitamin D and patterns of antenatal inflammation in African-American women[J]. J Reprod Immunol, 2015, 107(14): 52-58.
- [13] KARLSSON T, ANDERSSON L, HUSSAIN A, et al. Lower vitamin D status in obese compared with normal-weight women despite higher vitamin D intake in early pregnancy[J]. Clin Nutr, 2015, 34(5): 892-898.
- [14] 史艳春. 孕妇妊娠不同时期凝血功能四项、D-二聚体、FDP 指标检测的临床意义[J]. 川北医学院学报, 2018, 33(1): 114-117.

(收稿日期: 2018-11-28 修回日期: 2019-03-15)

• 临床探讨 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2019.13.037

## ELISA 和 RT-PCR 联合检测手足口病患儿 5 种病毒结果比较

贾文魁<sup>1</sup>, 胡玉洁<sup>2</sup>, 邓海兰<sup>1</sup>, 朱自平<sup>1</sup>

1. 湖北省襄阳市传染病医院检验科, 湖北襄阳 441003; 2. 湖北省襄阳市疾病预防控制中心检测科, 湖北襄阳 441022

**摘要:**目的 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)和实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)检测手足口病患儿血清肠道病毒 71 型(EV-A71)IgM、柯萨奇病毒 A 16 型(CV-A16) IgM 和粪肠道病毒通用型(EV)、EV-A71、CV-A16 型病毒 RNA, 并对检测结果进行比较分析。方法 采用 ELISA 检测对 2 596 例手足口病患儿血清 EV-A71IgM、CV-A16IgM, 采用 RT-PCR 检测粪便或肛拭子标本中 EV-RNA、EV-A71RNA、CV-A16RNA。结果 2 596 例患儿中 EV-A71IgM、EV-A71RNA、CV-A16IgM、CV-A16RNA 阳性分别为 367 例(14.1%)、50 例(1.9%)、320 例(12.3%)、91 例(3.5%)。ELISA 和 RT-PCR 检测 EV-A71 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ), 且两种方法一致性较差( $P < 0.01$ ); 检测 CV-A16 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ), 且一致性较差( $P < 0.01$ )。EV-RNA 阳性 2 296 例(88.4%), EV-A71IgM 和 CV-A16IgM 双阳性 137 例(5.3%), EV-A71RNA 和 CV-A16RNA 双阳性 0 例(0.0%)。结论 手足口病患儿进行 EV-A71 和 CV-A16 检测, ELISA 血清学检测阳性率高于 RT-PCR 粪便中核酸检测, 且两种方法一致性较差。

**关键词:**手足口病; 酶联免疫吸附试验; 实时荧光定量聚合酶链反应**中图分类号:** R446.6; R725.1**文献标志码:** A**文章编号:** 1672-9455(2019)13-1910-03

手足口病由肠道病毒引起, 主要致病血清型包括柯萨奇病毒(CV)A 组 4~7、9、10、16 型和 B 组 1~3、5 型, 埃可病毒的部分血清型和肠道病毒 71 型(EV-A71)等, 其中以 CV-A16 和 EV-A71 最常见。重症及死亡病例多由 EV-A71 所致, 近年来部分地区 CV-A6、CV-A10 有增多趋势<sup>[1]</sup>。本研究对手足口病患儿 5 种病毒采用两种方法进行检测, 并对检测结果进行比较分析, 现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2016 年 9 月至 2017 年 12 月来襄阳市传染病医院就诊的 2 596 例手足口病患儿作为研究对象, 其中男 1 522 例, 女 1 074 例, 年龄 3 个月至 6 岁。确诊标准参照手足口病诊疗指南(2010 年版), 排除接种 EV-A71 疫苗后的病例。

**1.2 试剂与仪器** EV-A71IgM 抗体检测试剂盒和 CV-A16IgM 抗体检测试剂盒[酶联免疫吸附试验

(ELISA), 北京万泰生物药业股份有限公司]; 病毒采样管(友康恒业生物科技北京有限公司), EV-A71 核酸测定试剂盒、CV-A16 核酸测定试剂盒、肠道病毒通用型核酸测定试剂盒[实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR), 上海之江生物科技股份有限公司]; 洗板机(GF-W3000, 山东高密彩虹分析仪器公司); 酶标仪(GF-M3000, 山东高密彩虹分析仪器公司); RT-PCR 试剂盒(ABI7300, 美国 ABI 公司)。

**1.3 样本收集和处理** 同时采集患者静脉血、粪便或肛拭子标本。静脉血凝固离心后, 当天采用 ELISA 检测; 粪便或肛拭子标本采集于病毒采样管内, 立即放置于 -20 °C 冰箱中, 次日进行 RT-PCR 检测。

**1.4 方法** ELISA 严格按试剂盒说明书操作, 于主波长 450 nm 和次波长 630 nm 测定吸光度(A)值, 以 0.1 + A 阴性对照均值为 cut off 值, A 阴性对照 < 0.05 按 0.05 计算; RT-PCR 严格按试剂盒说明