

NT-proBNP 作为一种新的评价心功能的血清标志物近年来受到临床广泛关注,大量研究证实其在诊断心衰和对心血管疾病的预后评估方面有重要意义,但年龄、肥胖、肾功能障碍等因素都会对它的测定结果产生影响从而干扰临床诊断,因此要找出可以排除各种干扰因素的最佳诊断策略还有待进一步的研究。

参考文献

[1] Pemberton C, Yandle T, Rademaker M, et al. Amino-terminal proBNP in ovine plasma: evidence for enhanced secretion in response to cardiac overload[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2008, 275: 1200-1208.

[2] Hunt P, Richards A, Nicholls M, et al. Immunoreactive amino-terminal pro-brain natriuretic peptide(NT-PROBNP): a new marker of cardiac impairment[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2009, 47(3): 287-296.

[3] 王兰兰, 蔡蓓, 刘兴斌, 等. N 末端脑型钠尿肽定量检测在心力衰竭诊断中的价值[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 37(1): 35-38.

[4] Januzzi J, Kimmenade R, Lainchbury J, et al. NT-proBNP testing for diagnosis and short-term prognosis in acute destabilized heart failure: an international pooled analysis of 1256 patients; the international collaborative of NT-proBNP study [J]. Eur Heart J, 2008, 30(3): 330-337.

[5] Mogelvang R, Goetze J, Schnohr P, et al. Discriminating between cardiac and pulmonary dysfunction in the general population with dyspnea by plasma pro-B-type natriuretic peptide[J]. J Am Coll Cardiol, 2008, 58(17): 1694-1701.

[6] Green S, Martinez-Rumayor A, Gregory S, et al. Clinical uncertainty, diagnostic accuracy, and outcomes in emergency department patients presenting with dyspnea[J]. Arch Intern Med, 2008, 168(7): 741-748.

[7] Chenevier-Gobeaux C, Allo J, Arthaud M, et al. N-Terminal pro B-type natriuretic peptide testing for short-term prognosis in breathless older adults[J]. Am J Emerg Med, 2008, 26(5): 555-560.

[8] Koo M, Bozkurt A, Acartürk E. Usefulness of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide increase with exercise for predicting cardiovascular mortality in patients with heart failure. [J]. Am J Cardiol, 2008, 101(8): 1157-1162.

[9] Verdiani V, Ognibene A, Rutili M. NT-ProBNP reduction percentage during hospital stay predicts long-term mortality and readmission in heart failure patients[J]. J Cardiovasc Med, 2008, 9(7): 694-699.

[10] Kragelund C, Grenning B, Koher. N-terminal pro B-type natriuretic peptide and long-term mortality in stable coronary heart disease[J]. N Eng J Med, 2008, 355(7): 666-675.

[11] Rothenburger M, Wichter T, Schmid C. Aminoterminal pro B-type natriuretic peptide as a predictive and prognostic marker in patients with chronic heart failure[J]. J Heart Lung Transplant, 2008, 23(10): 1189-1197.

[12] Krauser D, Lloyd-Jones D, Chae C, et al. Effect of body mass index on natriuretic peptide levels in patients with acute congestive heart failure: a ProBNP Investigation of dyspnea in the Emergency Department (PRIDE) substudy[J]. Am Heart J, 2008, 154(4): 744-750.

[13] Chenevier-Gobeaux C, Claessens Y, Voyer S, et al. Influence of renal function on N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) in patients admitted for dyspnoea in the Emergency Department: comparison with brain natriuretic peptide (BNP) [J]. Clin Chim Acta, 2008, 369(1/2): 167-175.

(收稿日期: 2013-08-08)

• 综 述 •

乳糜血丙氨酸氨基转移酶检测的研究进展*

王霞, 潘彤综述, 杨文玲[△] 审核
(天津市血液中心检验科 300110)

关键词: 乳糜血; 丙氨酸氨基转移酶; 聚乙二醇; 高速离心; 乙醚

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 02. 031

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)02-0196-03

丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)作为肝脏疾病诊断、治疗、随访及健康查体常用的指标之一,同时还是献血者献血前筛查的一项非特异性的指标。中国《献血者健康检查要求》(GB18467-2001)的规定,采供血机构应采集提供 ALT 检测合格的血液及血液制品。国内各地区血液筛查结果显示 ALT 不合格是导致血液报废的主要原因^[1-2]。ALT 检测结果受到多种生理、病理和检测因素的影响,如酗酒、剧烈运动、药物、标本溶血等均可引起 ALT 异常^[3]。文献^[4-6]报道乳糜血对多种检测项目造成干扰,特别是血站的血液检验中的 ALT 检测最容易受到乳糜血的影响。目前因样本不同程度乳糜导致 ALT 检测失败的标本在血站 ALT 检测的标本总数中约占 0.2%~0.5%^[4],鉴于此,如不采取有效的干预措施,这

些标本对应的全血、成分血和相关的血液制品将被报废^[6-7],造成血液资源的严重浪费。本文将 ALT 在血站血液筛查中的意义、乳糜血对 ALT 检测的干扰机制及乳糜血多种预处理方法作一综述。

1 ALT 检测在血站血液筛查中的意义

ALT 检测对预防和排除 HBV 和 HCV 以外的其他肝炎病毒的传播有一定价值。此外,ALT 异常还可能与其他疾病有关,因此排除 ALT 异常的献血者,同时还可以预防肝病以外的其他疾病的经血传播。ALT 在某种程度上能减少 HCV “窗口期”及隐匿性 HBV 感染的风险:在 HCV 感染的早期 ALT 已经升高,其升高的时间要早于抗-HCV 检出的时间。ALT 是一项成本较低的检测项目,运用得当在保障血液安全

* 基金项目:天津市卫生局基金项目(2012KY-27)。 作者简介:王霞,女,主管检验技师,主要从事临床输血与检验研究。 [△] 通讯作者, E-mail: yangwenling@tjbc.org.cn。

上能获得较好的效果^[8]；由于 NAT 血筛的成本高、对实验室条件及管理要求比较严格，当前包括中国在内的大多数发展中国家和地区还没有全面开展 NAT 检测计划，因此在无法避免酶免检测“窗口期”及隐匿性感染漏检的前提下，进行 ALT 检测有助于减少输血传染病发生的风险。

2 乳糜血对 ALT 检测的干扰机制

乳糜血是多种脂质在血液中形成的乳糜颗粒，三酰甘油、胆固醇、磷脂及游离脂肪酸等是其组成成分，因其血浆外观呈乳白色故称脂肪血或乳糜血。众所周知，随着中国无偿献血事业的发展，采血时间和地点的灵活性增加，再加上献血者献血前的生理状态具有多样性，这些因素将不可避免地产生一定数量的乳糜血。目前乳糜血样本是血站检验科实际工作中经常遇到的棘手问题。临床实验室对于不符合规定的标本，检验科可以拒收并要求重新按要求采集样本，但血站检验科则不宜也不可能采用同样的方法处理样本。严重的乳糜血影响血液的质量，特别是冰冻血浆临床上难以接受，常造成血液资源的严重浪费。此外，临床上若输注此类血制品，会增加患者发生过敏、发热及脂肪栓塞等不良输血反应的几率。

目前已知乳糜颗粒含有 84%~88% 的三酰甘油和约 4% 的胆固醇及其他脂类，因而具有较强的光散射作用，对 ALT 等多项检测产生不同程度的干扰。虽然，多数分析仪采用了双试剂和双波长来消除轻、中度脂血对生化检测的干扰。但针对严重乳糜血，有文献报道部分生化指标仍受到明显干扰，如 ALT、谷草转氨酶及尿素等无法测出结果^[9]。石凌波等^[10]的研究结果显示严重乳糜血对检测的干扰效应是随脂血浓度的增加其样本空白的扣除与脂血的干扰并不成比例增加。其研究也表明，当反应体系的 A 值超过一界限（鉴于所使用的检测系统不同，其 A 值有所不同），乳糜颗粒会对检测的入射光产生散射效应，分析仪将不能准确测定 A 值变化，分析仪发出报警提示，通常为浊度超范围或吸样失败等，导致 ALT 在内检测结果出现异常（包括异常增高、降低或为负值）。另外，检测时样本与试剂体积比例不同，脂血对反应的干扰程度也不相同。

3 乳糜血 ALT 的实验室检测

3.1 聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 沉淀法

PEG 是医学检验中广泛应用的高分子聚合物。PEG 沉淀反应常用于临床检验及分子生物学研究领域^[11]，如核酸和酶的分离与纯化、免疫复合物的测定及高泌乳素中巨催乳素检测等^[12-17]。已知 PEG 可沉淀含载脂蛋白 B 的脂蛋白，除高密度脂蛋白外，大部分脂质均被沉淀，其中 PEG6000 易于沉淀富含三酰甘油的脂蛋白^[18]。目前对 PEG 发生沉淀反应有 3 种学说：(1) 共沉淀学说；(2) PEG 与生物大分子之间以氢键结合形成复合物，在重力作用形成沉淀而析出；(3) 空间排阻作用使生物大分子发生聚集而沉淀；此外，PEG 能降低溶质的溶解度有利于形成沉淀。PEG 沉淀反应特点是操作简便、反应条件温和，不易引起生物分子变性，不影响酶等的生物活性。而且具有沉淀效率高及易于去除等优点。但 PEG 沉淀效果受多种因素影响如生物分子质量、PH 值、溶液的离子强度、沉淀温度和离心温度^[19]及 PEG 的聚合度等。目前大多数研究^[20-22]采用 PEG6 000 可以达到良好的除脂效果，但不同检测项目，不同实验室 PEG 工作浓度要求不同，因此，应根据不同实验条件及检测项目进行应用前的确认。但也有文献报道^[23-24]PEG4000 也能有效消除高脂对生化检测的影响。因此，不同聚合度 PEG 的处理效果有待进一步研究。

3.2 高速离心法

离心技术是根据颗粒在作匀速圆周运动时

受到一个外向的离心力的行为而发展起来的一种分离技术。其反应原理是在同一离心力作用下，利用不同粒子在离心力场中沉降的不同，其沉降速度也不同，通过相对离心力地不断增加，使不同粒子分部沉淀。相对离心力 (RCF) 的计算公式： $RCF = m\omega^2 r / mg = \omega^2 r / g = 4 \times (3.14)^2 N^2 r / 980 \times 3 600 = 1.118 \times 10^{-5} \times N^2 r$ ，其中 N 为离心机每分钟离心转数 (r/min)，r 为离心半径 (cm)。高速离心时 r 为 6.4 cm，故 10 000 r/min 的 RCF 为 $7 155 \times g$ 。高速离心法通常是将样本先进行常规离心，然后将血清或血浆加入专用的加盖密封离心管，经一定转速的高速离心后，吸下层的清液进行待测物活性测定等。研究表明采用高速离心法能有效的消除脂血干扰^[10,25]。高速离心除脂法的优点是操作简便快捷，高速离心对生化测定结果的影响不大，多数测定项目可直接报告结果，有部分测定项目可通过直线回顾方程处理后给出结果。但高速离心法易受多种因素的影响如离心力及时间、取上清液的方式及取样体积等均可影响测定结果。因此，实验室采取高速离心法除脂最好制定一标准化操作规程。刘俊等^[26]的研究表明常温高速离心是一种简便、易行的除脂方法。但高速离心法对设备要求较高，费用较大，一般实验室难以配备，从而限制了实验的开展。

3.3 有机溶液抽提法及稀释法

乙醚、氯仿是工业和实验室常用的有机溶剂。郑洽纲等^[27]研究表明脂血经乙醚处理后可排除混浊对部分检测项目（包括 ALT）的干扰，得出测定实际结果，但研究也显示乙醚对一些生化项目的检测产生干扰。而且乙醚、氯仿作为较强有机溶剂，当用于抽提样本时易使蛋白质、酶类发生变性而失去活性，致使检测结果偏低。乙醚对糖类、无机离子及非蛋白氮化合物项目检测也存在干扰现象^[26]。

另外，有实验室采取稀释法处理严重脂血标本。但稀释法存在稀释误差问题。而且稀释倍数越高，误差越大。本质上，稀释作用并没有从根本上消除乳糜微粒检测光的散射干扰作用。张蕴秀等^[28]的研究表明用稀释法消除三酰甘油干扰时，首先应通过干扰试验确定三酰甘油对不同项目的干扰程度，再选择适中的稀释倍数。但由于不同检验科使用的生化分析仪和试剂不同，脂血对不同生化项目的干扰也不同。因此，各实验室应重新检测脂血对每个项目的干扰程度，然后根据标本的三酰甘油水平来建立适合于本室的标本稀释程序。

4 小 结

综上所述，鉴于无偿献血的行为特点，街头采血不可能杜绝和保证献血者不吃油腻的食物，因此，不可避免地产生乳糜血，因而血站检验工作中，乳糜样本对 ALT 检测干扰的问题将长期存在。目前，多种乳糜血预处理方法越来越受到关注，相比之下，PEG 法简便易行，结果可靠，可作为实验室常规除脂方法。

参考文献

- [1] 刘李栋,李超,高瑜,等.丙氨酸转氨酶血液筛查应用意义的初步探讨[J].中国输血杂志,2009,22(7):527-530.
- [2] 孟宪成,马莉,袁玉华,等.天津市 2005~2007 年无偿献血情况分析[J].中国输血杂志,2009,22(7):578-580.
- [3] 葛红卫,王鸿捷,沈莉,等.丙氨酸氨基转移酶异常血液报废原因分析[J].中国输血杂志,2008,21(1):27-28.
- [4] 修淑丽,张考,王梅华,等.乳糜血标本的丙氨酸氨基转移酶检测[J].北京医学,2008,30(5):341.
- [5] 刘忠,杜广有,刘玉振.脂血对干化学法和赖氏法检测丙氨酸氨基转移酶结果的影响[J].河南职工医学院学报,2003,15(1):77-78.
- [6] 邱艳,赵海燕,杨海平,等.测定血液乳糜程度的新方法[J].临床输血与检验,2008,26(1):19-20.

[7] 张晓云,郭善文,张乐峰. 无偿献血者脂肪性原因调查及对策[J]. 中国实用医药杂志, 2011, 6(3): 273-274.

[8] 季阳,王迅,郑忠伟,等. 重新评估献血者 ALT 检测的意义[J]. 中国输血杂志, 2009, 22(4): 521-522.

[9] 董立杰. 标本脂血对临床生化检测结果的评估及其对策[J]. 实用医技杂志, 2010, 17(4): 344-346.

[10] 石凌波, 史惠群. 利用高速离心法消除脂血对生化测定的干扰[J]. 检验医学, 2008, 23(2): 138-140.

[11] 李璐, 顾光煜. 聚乙二醇及其衍生物在检验医学中的应用[J]. 临床检验杂志, 2008, 26(6): 469-471.

[12] Veljkovic K, Servedio D, Don-Wauchope AC. Reporting of post-polyethylene glycol prolactin; precipitation by polyethylene glycol 6000 or polyethylene glycol 8000 will change reference intervals for monomeric prolactin[J]. Ann Clin Biochem, 2012, 49(pt4): 402-404.

[13] Heald AH, Blantern E, Anderson SG, et al. Quantitative adjustment for macroprolactin is an integral part of laboratory assessment of hyperprolactinaemia[J]. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2012, 12(2): 376-380.

[14] Bell DA, Hoad K, Leong L, et al. A high pressure liquid chromatography method for separation of prolactin forms[J]. Ann Clin Biochem, 2012, 49(3): 285-288.

[15] Beda-Maluga K, Pisarek H, Komorowski J, et al. The detection of macroprolactin by precipitation and ultrafiltration methods[J]. Endokrynol Pol, 2011, 62(6): 529-536.

[16] Boughen L, Liggat J, Ellis G. Thermal degradation of polyethylene glycol 6000 and its effect on the assay of macroprolactin[J]. Clin

Biochem, 2010, 43(6): 750-753.

[17] 方军, 潘恩云. 高泌乳素血症患者筛查巨泌乳素的临床意义[J]. 检验医学, 2011, 26(5): 686-689.

[18] 丁振若. 现代检验医学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2007: 514-515.

[19] 丁杰锋, 屠凤娟, 赵文, 等. 用聚乙二醇沉淀法筛检巨催乳素血症及临床意义分析[J]. 临床检验杂志, 2008, 26(4): 284-285.

[20] 林景涛, 翟铤, 代艳杰, 等. 高脂血对血清酶类活性测定影响及处理方法[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(15): 1542-1545.

[21] 吕娟, 陈莉娜, 杨雪飞, 等. 高脂血清对糖化血清蛋白测定的影响及处理方法[J]. 西北药学杂志, 2012, 27(3): 226-229.

[22] 张妍, 李君, 李津涛. 高脂血清对胰岛素测定的影响及处理方法[J]. 天津医科大学学报, 2008, 14(4): 566-567.

[23] 朱征, 丁显平, 杨敏, 等. 高脂血对临床生化测定影响及处理方法的临床研究[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(20): 2533-2560.

[24] 刘万彬, 隆维东. 聚乙二醇 4000 处理脂血后对生化结果的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(4): 504-506.

[25] 张帆. 高速离心对临床常规生化项目测定结果的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(8): 887-888.

[26] 刘俊, 黄文红, 付波. 三种消除血浆高脂质浑浊方法对酶类检测结果的影响[J]. 华南国防医学杂志, 2010, 24(1): 42-43.

[27] 郑治纲, 杨可, 蔡迪娅, 等. 脂血经乙醚处理后对生化指标测定结果的影响[J]. 陕西医学检验, 2008, 23(3): 28-29.

[28] 张蕴秀, 石育英, 盛惠光, 等. 稀释法消除脂血对生化检测结果干扰的效果评价[J]. 武警医学, 2012, 23(3): 281-283.

(收稿日期: 2013-08-17)

• 综 述 •

中药抑菌的研究现状及思考

李亚娜 综述, 陶庆春 审校

(首都医科大学附属北京友谊医院检验科, 北京 100050)

关键词: 中药; 抑菌; 抑菌机制

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 02. 032

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)02-0198-03

由于抗菌药物的不合理使用,使得细菌对抗菌药物的耐药性不断升级。中国具有大量宝贵的中药资源,无论在感染控制还是在现代医疗方面都凸显出独特的优势,中药取药天然,起效方式全面,近年来,有大量抑制及杀灭细菌的报道,在此将有关中药的抑菌作用、实验方法、抑菌机制等方面做总结。

1 抑菌效果

很多中药具有抑菌杀菌作用,其作用的有效成分也较为多样,其有效成分多为挥发油、有机酸、生物碱、萜类、黄酮、醌类、多糖类等。

1.1 单味中药 很多单味中药具有抑菌作用,如板蓝根、大黄、大青叶、地锦草、百部、大蒜、黄柏、杜仲、秦皮、蛇床子等等。

有研究^[1]采用琼脂扩散法对 18 种中草药对水产动物的致病弧菌进行实验,发现地锦草、苏木、五倍子、石榴皮对病原性弧菌具有良好的抑制和杀灭作用,这对于水产养殖行业的发展具有中药的支持作用。

邓业成等^[2]等的研究采用滤纸片法和带药培养基涂布法对石菖蒲的茎和野的甲醇提取物的抑菌活性进行测定,结果表明石菖蒲的茎对痢疾志贺菌、表皮葡萄球菌、蜡样芽孢杆菌等 9 种病原菌具有明显的抑制作用,相对于茎来说,石菖蒲的叶

的抑菌活性不及其茎。

有研究发现^[3]当百部的浸出液浓度为 1 : 80 时可以在 10 min 内将结核分枝杆菌杀灭,而百部的有效成分为百部碱,此种成分对结核分枝杆菌的杀灭具有重要作用。

刘涛峰等^[4]用单味中药土槿皮、黄柏、百部、蛇床子、苦参、白藓皮、大风子、地肤子以及几种药物的混合液对马拉色菌进行体外抑菌实验,结果表明同一种中药对不同种的马拉色菌的抑制程度不同,而且作用混合。

有研究^[5]对大蒜、黄柏、辣椒粉、青黛、乌梅等 12 种中药的体外抑菌作用进行实验,结果表明除青黛,其余中草药对金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、大肠杆菌、伤寒沙门菌都具有不同程度的抑制作用。此外,其抑菌性能还与培养基相关,在最适培养基上生长旺盛的病原菌对中药的抵抗作用强,这也说明体内和体外实验环境的不同也会使得中药的抑菌作用有差异,因此,尽量模拟体内环境才能更准取的发挥中药的性能。

1.2 复方制剂 在实际医疗中,复方制剂应用的更为广泛,很多研究表明,复方制剂具有更好地抑制和杀灭细菌的作用。常用的复方制剂有:痰热清、双黄连、连翘甘草汤等,另外根据各个疾病特点制定的组方,在临床方面具有良好的作用。