

草);中青年与老年组主要过敏较为一致,以食入性海鲜类产品(鱼、虾、螃蟹)为主。过敏性疾病的发展有其自然进程,即在婴幼儿阶段,由食物过敏引起皮肤、胃肠道和呼吸道症状比吸入性过敏原更多见;儿童后期形成对吸入性变应原过敏,更多表现为过敏性鼻炎和哮喘^[1]。本研究结果显示,婴幼儿阶段到儿童后期过敏原逐步由食入物转变为吸入物,与以往结果较为一致^[3-7]。但是随年龄进一步增加,吸入性过敏原又逐渐降低,转变为以海鲜类为主要代表的食物过敏反应。

对单一过敏原分析显示,不同过敏原随过敏性疾病患者年龄增长,其阳性率变化趋势存在显著差异,并表现出一定的规律。本文总结出四类过敏原阳性检出率随年龄变化的模式,分别为:先升后降模式、上升模式、下降模式和不变模式。本研究结果显示,食物过敏原阳性率随年龄变化包含三种模式,吸入性过敏原阳性率随年龄变化包含两种模式。婴幼儿常摄主食(牛奶和鸡蛋)及本地区常见食物(牛肉和羊肉)类过敏原随着年龄增加,其阳性率呈现“下降模式”;对于非产自本地区且生活食谱中间断性摄入的食物类过敏原(海鱼、虾及螃蟹),随着年龄增加其阳性率呈现“上升模式”;对于食入性过敏原中的花生和黄豆以及吸入性过敏原中的尘螨、屋尘、蟑螂、狗上皮和霉菌组合,随着年龄增加其阳性率呈现“不变模式”;对于季节性植物类(树组合、艾蒿、矮豚草)过敏原,随着年龄增加其阳性率呈现“先升后降模式”。笔者分析,对过敏原首次接触时间、持续接触频率以及过敏原产地等因素可能是导致过敏原阳性率随患者年龄出现不同变化模式的主要因素:(1)鸡蛋、牛奶与鱼肉类是婴幼儿首先接触的辅食,这正是在过敏性患儿阳性率最高的一些过敏原。随着年龄增加,儿童活动能力及活动范围扩大,接触外界吸入性物质的机会增加,在青少年时期吸入性过敏原称为最主要的过敏原。(2)持续性接触的过敏原随年龄增加可得到逐步耐受。食物中的牛奶、鸡蛋、牛羊肉以及吸入物中的季节性植物过敏原均在初次全面接触过敏原阶段,诱发对标的过敏原反应率极大值出现,随后对该过敏原过敏率逐步降低。(3)以海鲜为代表间断性接触的过敏原,其在过敏性疾病患者中的阳性率持续增加,提示对过敏原的接触频率会显著影响过敏进程。(4)各个年龄段的人群有同等概率接触的过敏原,人群对其过敏率会稳定在一定水平。(5)控制年龄与接触频率等因素,不同过敏原的阳性率间的差异性,作者推测可能

• 临床研究 •

源自不同人群对该类过敏原的免疫性差异(遗传因素)。

过敏性疾病的干预研究显示^[1,7-10],着重于预防,才可能从根本上改变过敏性疾病的自然进程。变应原过敏的出现情况随年龄变化而改变,并且在不同的特应性疾病中表现不同,构建不同地区过敏原阳性率随年龄变化模式谱,并对相关因素进行深入研究将对过敏性疾病干预疗法的制订具有一定价值。

参考文献

- [1] 段延,张媛,张罗.过敏性疾病的自然进程及干预[J].首都医科大学学报,2011,32(1):55-59.
- [2] 向莉.过敏原检测在儿科临床应用[J].中国实用儿科杂志,2009,24(11):840.
- [3] 皮蕾,刘海英,刘云锋,等.广州地区 1136 例过敏患儿常见过敏原分布及尘螨交叉反应分析[J].临床儿科杂志,2011,29(1):51-54.
- [4] 胡燕,黎海芪.0~24 个月儿童食物过敏的流行病学研究[J].中华儿科杂志,2000,38(7):431.
- [5] 赵晓明.不同年龄反复咳嗽、喘息患儿过敏原分布特点分析[J].中国中西医结合儿科学,2012,4(6):533-535.
- [6] 张建华,郝创利,盛锦云,等.哮喘儿童过敏原抗体调查[J].临床儿科杂志,2002,20(3):152-154.
- [7] 王念蓉.婴儿期食物过敏预后及食物过敏与肠道菌群关系研究[D].重庆:重庆医科大学,2004.
- [8] Du-Toit G, Katz Y, Sasieni P, et al. Early consumption of Peanuts in infancy is associated with a low prevalence of peanut allergy[J]. J Allergy Clin Immunol, 2008, 122(5): 984-991.
- [9] 朱应红.婴儿期喂养行为与过敏性疾病之间的相关性分析[D].济南:山东大学,2012.
- [10] Prescott L, Smith Peter, Tang Mimi, et al. The importance of early complementary feeding in the development of oral tolerance: concerns and controversies[J]. Pediatr Allergy Immunol, 2008, 19(5): 375-380.

(收稿日期:2017-02-11 修回日期:2017-04-12)

三种布鲁氏菌血清学方法的评价

张国庆,韩 敏,韩来红,孙国芳,陈 晶

(呼伦贝尔市人民医院检验科,内蒙古呼伦贝尔 021008)

摘要:目的 探讨布鲁氏菌病三种血清学检测方法的检测性能。方法 将 719 例临床标本分别用虎红平板凝集试验(RBPT)、试管凝集试验(SAT)、酶联免疫吸附试验(ELISA)检测,其结果采用贝叶斯分析得出三种检测方法的灵敏性和特异度的后验分布。**结果** RBPT、SAT、ELISA 三种检测方法的灵敏度分别为 0.950、0.874、0.994,特异度分别为 0.983、0.990、0.923。**结论** 做大批量的布鲁氏菌抗体筛查 ELISA 法是最好的选择;而 RBPT 适合少量的标本的筛查,但可能出现一定的漏检;SAT 非常适合做筛查抗体阳性标本的复检。

关键词:布鲁氏菌病; 虎红平板凝集试验; 试管凝集试验; 酶联免疫吸附试验; 贝叶斯分析

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.13.047

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)13-1842-03

布鲁氏菌病是一种人兽共患的传染-超敏反应性疾病,患者可以出现多系统的损害,因此临床表现是复杂多样,缺乏特异度,给临床的诊治带来了困难。因此找到快速、准确的检测方法至关重要。从我国的布鲁氏菌病诊疗指南^[1]中不难看出

血清学检测仍然是布鲁氏菌病实验室检测中的首选。本次研究通过贝叶斯法分析呼伦贝尔市人民医院 2015 年 5 月至 6 月用三种方法:虎红平板凝集试验(RBPT)、试管凝集试验(SAT)、酶联免疫吸附试验(ELISA)检测的数据,从而得到三种检测方

法的灵敏度和特异度,为布鲁氏菌病的血清学检测结果的可靠性提供依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2015 年 5 至 6 月呼伦贝尔市人民医院门诊和病房送检 719 例血清样本,同时进行 RBPT、SAT、ELISA 检测。

1.2 仪器与试剂 布病虎红平板凝集抗原、布病试管凝集抗原、均由中国疾控中心传染病所提供;布鲁氏菌酶联免疫吸附试验诊断试剂(ELISA)购自德国 IBL 公司。

1.3 方法 RBPT 使用卡片凝集法;SAT 采用试管凝集法。严格按照<<实用临床布鲁氏菌病>>鲁氏菌病实验室诊断内容操作^[2]。布鲁氏菌酶联免疫吸附试验(ELISA)按试剂说明书在全自动酶免仪上进行。

1.4 贝叶斯分析 依据 Branscum 和 Rahman 提供的方法,把三种检测方法检测结果进行交叉排列最后可以得到 8 种检测结果的数值,然后运用 3 种检测结果比较的模型对检测结果进行分析^[3-4]。根据公式编辑贝叶斯分析模型程序,通过 WIN-

BUGS1.4 软件运行该程序,经马尔科夫链抽样后获得各个参数的后验分布。当把设计好的模型在 WINBUGS 软件中输入后,首先通过模型的 specifition tool 工具进行模型的检测,当模型检测无误后,要进行加载数据,合成运行模型,然后把要观察的参数录入到样品监测工具中,运行马尔科夫链抽样后将获得各个参数的后验分布。

2 结 果

2.1 719 例血清例标本三种方法检测结果 RBPT/SAT/ELISA 的检测模式为+++的有 312 例,++-的有 28 例,+-+为 0 例,+--为 3 例,-++为 1 例,--+为 41 例,-+-为 1 例,---为 333 例。

2.2 贝叶斯统计结果 WINBUGS 软件通过马可夫链抽样得到所需观察的参数。在先运行 5 000 次迭代抽样以消除初始值带来的影响,然后再运行 50 000 次迭代抽样分析就可以得到各参数的后验样本。贝叶斯统计出 3 中检测方法的灵敏度和特异度的概率,见表 1。

表 1 贝叶斯统计出的 3 种检测方法的灵敏度、特异度结果

项目	平均值	标准差	MC er	$P_{2.5}$	中位数	$P_{97.5}$	起始点	抽样(n)
ELISA 灵敏度	0.994	0.004	0.001	0.982	0.9947	0.999	5 001	50 000
RBPT 灵敏度	0.950	0.028	0.001	0.891	0.9561	0.994	5 001	50 000
SAT 灵敏度	0.874	0.029	0.001	0.814	0.8781	0.926	5 001	50 000
ELISA 特异度	0.923	0.030	0.001	0.863	0.9152	0.980	5 001	50 000
RBPT 特异度	0.983	0.007	0.001	0.965	0.9834	0.994	5 001	50 000
SAT 特异度	0.990	0.005	0.001	0.976	0.991	0.998	5 001	50 000

3 讨 论

目前评价一种诊断检测方法的优劣最常用的就是该检测方法的灵敏度和特异度两个指标,但是灵敏度和特异度的获得的前提是需要明确检测总体的性质这时就需要有一个“金标准”来判断的,但在现实当中要找到“金标准”是很难办到的。近年来人们对无“金标准”条件下的诊断试验评价应用的越来越多,贝叶斯分析模型在医疗检测技术评估中的应用逐年增加^[5]。贝叶斯方法认为用于检测的方法灵敏度与特异度不是绝对的,而是一个参数处于变动的,只能用后验大样本的概率形式体现出来,在设计出诊断和筛查试验先验分布和运行模型情况下,利用马尔科夫链抽样得到后验参数估计值就能观察到需要的参数。本次研究所给出的三种布鲁氏菌血清学检测方法就是用该方法获得的。

RBPT、SAT、ELISA 是目前我国医疗机构、疾控中心以及布鲁氏菌病防治单位最常用的血清学检测方法。三种方法因为操作相对简便、结果快速而广泛使用。因此对三种检测方法的方法学的评价很有意义^[6]。从贝叶斯统计结果可以看出 ELISA 法灵敏度最高,可达 99.3%,但是特异度在三种方法中最差为 92.3%这种结果的产生可能与做数据统计时的决定有一定的相关性(选取 ELISA 法阳性数据选择时只要布鲁氏菌 IgM、IgG 有一个为阳性时就定为阳性),这也印证了 ELISA 方法学的灵敏度好的特性^[7-8]。所以对布鲁氏菌的流行病学大规模筛查,ELISA 法是最好的选择。RBPT 是选用抗原良好牛种布鲁氏菌株在适宜培养基上培养收获菌体,经加热灭活,离心后用虎红染料染色,悬浮于乳酸缓冲液中(pH 值为 3.6~3.7)制成。它能抑制引起非特异度反应的 IgM 和增强特异度 IgG

的活性,其反应灵敏特异度好。从统计出的其灵敏度为95.0%特异度 98.3%可以看出 RBPT 作为初筛检查也是不错的选择尤其对于单个样本操作很方便。SAT 法灵敏度仅87.4%但特异度较好可达 99.0%,所以很适用筛查抗体呈阳性的样本的复检,同时其还可以给出样本的抗体滴度。

综上通过贝叶斯统计给出的三种方法的性能指标,在做大批量的布鲁氏菌抗体筛查,ELISA 法是最好的选择,而 RBPT 适合少量的标本的筛查,但可能出现一定的漏检。SAT 非常适合做筛查抗体阳性标本的复检。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部. 布鲁氏菌病诊疗指南(试行)[J]. 传染病信息,2012,25(6):323-324.

[2] 李福兴. 实用临床布鲁氏菌病[M]. 哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,2010.

[3] Branscum J, Gardner A, Johnson O. Estimation of diagnostic-test sensitivity and specificity through Bayesian modeling[J]. Prev Vet Med,2005,68(2/4):145-163.

[4] Rahman AA, Claude S, Dirk B, et al. Bayesian estimation of true prevalence, sensitivity and specificity of indirect ELISA, Rose Bengal Test and Slow Agglutination Test for the diagnosis of brucellosis in sheep and goats in Bangladesh[J]. Prev Vet Med,2013,110(2):242-252.

[5] 刘沛,羊海涛,强来英,等. 贝叶斯统计在高准确度筛检试剂评价中的应用[J]. 中国卫生统计,2010,27(4):348-350.

- [6] 蔡一非,钟旗,伊日盖,等.两奶牛场布氏杆菌分离鉴定及四种血清学检测方法比较[J].中国人兽共患病学报,2009,25(5):456-459.
- [7] Minas A,Stournara A,Christodouloupoulos G,et al. Validation of a competitive ELISA for diagnosis of Brucella melitensis infection in sheep and goats[J]. Vet J,2008,177(3):411-417.
- [8] 刘晓民,杨华,高明春,等.3 种奶牛布鲁氏菌病血清学检测方法的贝叶斯评估[J].畜牧兽医学报,2010,41(4):449-453.
- (收稿日期:2017-02-08 修回日期:2017-04-12)
- 临床研究 •

血清 miRNA-21、miRNA-126 异常表达对慢性心力衰竭患者的临床意义

谭顺林

(资阳市第一人民医院内科,四川资阳 641300)

摘要:目的 探讨循环血清 miRNA-21、miRNA-126 检测对慢性心力衰竭患者的临床意义。方法 选取该院收治的慢性心力衰竭患者 128 例(CHF 组)为研究对象(NYHA 心功能Ⅱ级 40 例,NYHA 心功能Ⅲ级 46 例,NYHA 心功能Ⅳ级 42 例),另选择同期 100 例体检中心健康患者为对照组,采用实时荧光定量 PCR(qPCR)检测血清 miRNA-21 和 miRNA-126 水平,同时测定 CHF 患者 B 型脑钠肽(BNP)、左室舒张末内径(LVEDD)和左室射血分数(LVEF),并进行统计学分析。结果 CHF 组患者血清 miRNA-21 和 miRNA-126 水平显著高于健康对照组($P<0.05$);心功能Ⅳ级患者 miRNA-21 水平显著高于心功能Ⅱ级、Ⅲ级患者($P<0.05$),心功能Ⅲ级患者 miRNA-21 显著高于心功能Ⅱ级患者($P<0.05$);心功能Ⅳ级患者 miRNA-126 水平显著高于心功能Ⅱ级、Ⅲ级患者($P<0.05$),但是心功能Ⅱ级、Ⅲ级患者间比较差异无统计学意义($P>0.05$);CHF 患者血清 miRNA-21 水平与 BNP($r=0.792,P=0.001$)、LVEDD($r=0.618,P=0.003$)呈正相关,与 LVEF 呈负相关($r=-0.521,P=0.010$),血清 miRNA-126 水平与 BNP 呈正相关($r=0.753,P=0.001$),与 LVEDD($r=0.207,P=0.096$)、LVEF($r=-0.159,P=0.176$)无明显相关性;血清 miRNA-21(RR:2.158,95%CI:1.681~3.539, $P=0.005$)和 miRNA-126(RR:1.852,95%CI:1.105~2.996, $P=0.012$)均是 CHF 的独立危险因素。结论 慢性心力衰竭患者血清 miRNA-21、miRNA-126 水平异常升高,二者可能参与了慢性心力衰竭的发生与进展,是其独立危险因素。

关键词:慢性心力衰竭; 血清; miRNA-21; miRNA-126

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.13.048 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2017)13-1844-03

慢性心力衰竭(CHF)为常见心血管系统疾病,多由于冠心病、高血压、肺心病等引起,是多种心血管系统疾病的终末期表现^[1]。心肌重构是 CHF 进展过程中的主要病理生理学改变,衰竭心肌的“重构”理论得到众多学者认可,近年来的研究显示在此过程中微小 RNA(miRNA)的表达变化可能扮演重要作用^[2]。miRNA 参与到细胞分化、增殖、凋亡,免疫应答,肿瘤发生等一系列病理生理过程,目前在恶性肿瘤疾病得到广泛研究^[3]。最初的研究认为 miRNA 异常表达只存在于组织中,但随着研究的深入,发现 miRNA 失衡表达在循环血液中也有一定表现。miRNA-21 和 miRNA-126 可能与心血管疾病有一定关系,Stephan 等^[4]的研究发现外周循环血 miRNA-21 和 miRNA-126 在冠状动脉心脏病呈异常高表达。但是二者是否参与到 CHF 的发病,目前还不十分明确。本研究选择 CHF 患者为研究对象,分析 miRNA-21、miRNA-126 在血清的表达情况,以期明确 miRNA-21、miRNA-126 对 CHF 的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2015 年 6 月至 2016 年 6 月收治的 CHF 患者 128 例为研究对象(CHF 组),男 71 例,女 57 例,年龄 45~70 岁,平均(61.9±10.5)岁,病程 1~8 年,平均(6.2±5.1)年。诊断标准:参照中华医学会心血管病分会于 2007 年制定的《慢性心力衰竭诊断治疗指南》^[5],并结合患者临床体征和病史进行诊断,NYHA 心功能Ⅱ级 40 例,NYHA 心功能Ⅲ级 46 例,NYHA 心功能Ⅳ级 42 例。纳入标准:(1)所有患者 CHF 诊断明确;(2)患者心功能 NYHA 分级在Ⅱ~Ⅳ级,左室射血分数(LVEF)<50%,病程≥1 年;(3)排除心肌梗死所致急性心力衰竭,甲状腺功能亢进、频发室性期前收缩至心功能

不全;(4)患者均排除恶性肿瘤,严重肝、肾、肺及代谢性疾病。另选择同期本院健康体检中心健康体检者 100 例为对照组,男:60 例,女 40 例,年龄:42~65 岁,平均(58.3±9.2)岁。所有患者均知晓本研究目的、过程和意义,签署知情同意书,本研究得到医院伦理委员会支持。CHF 组与对照组在性别、年龄等一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 采集 CHF 患者入院后次日清晨空腹静脉血 5 mL,促凝管促凝,室温静置 15~20 min,4℃、3 500 r/min 离心 5 min,取血清置于洁净 1.5 mL 离心管,保存于-80℃冰箱待测。

1.2.2 cDNA 合成 严格按照血清 RNA 提取试剂盒说明书(美国 Applied Biosyste 公司)提取血清总 RNA,以分光光度仪检测 A260/280 吸光度,吸光度值在 1.8~2.2 之间为合格标本。逆转录:逆转录反应体系:1.0 μgRNA,10.0 mmol/L dNTP 0.70 μL,5×RT 缓冲液 5.0 μL,逆转录酶 0.25 μL、RNA 酶抑制剂 0.25 μL,其余以去离子水补足至 20 μL。PCR 仪设置逆转录条件:16℃30 min,42℃30 min,75℃15 min,待转录结束后置于-20℃冰箱备用。

1.2.3 实时荧光定量 PCR(qPCR) 以 ABI-7300 荧光定量 PCR 仪(ABI 公司,美国)使用 miRNA Real-time PCR 实时荧光定量反应试剂盒(北京艾德莱生物)进行扩增反应,以 U6 为内参基因,U6、miRNA-21、miRNA-126 引物序列见表 1(上海生工,中国)。反应体系:cDNA 产物 1.0 μL,2×miRNA qPCR Mix10 μL,正、反向引物各 0.5 μL,引物序列见表 1,去离子水 18 μL。扩增条件:94℃预变性 3 min,94℃35 s、60℃35 s、72℃60 s,共 40 个循环,设立 3 个复孔。根据 qPCR 曲线得到