

GFR 方面,具有较肌酐更高的敏感度与特异性^[2]。从本文可以看出,肾病患者血 Cys C 的变化是非常明显的,肾炎、肾病和肾结石患者阳性率与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$), ARF 组与 CRF 组不仅与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$),而且 ARF 组与 CRF 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),由此说明 Cys C 在肾脏疾病诊断与鉴别诊断中的作用是非常明显的,有传统项目不可替代的作用。

血清 LPS 主要由胰腺细胞分泌,绝大多数进入十二指肠,只有极少部分进入血液,故在健康人血清中只能检测低水平的 LPS,在胰腺炎发作后,胰腺腺泡被大量破坏造成胰管堵塞,阻碍 LPS 进入十二指肠而返流入血,血清 LPS 迅速升高,所以 LPS 主要用于急性胰腺炎的诊断,在肾脏疾病的诊治中应用较少。肾衰竭引起 LPS 升高的机制还不十分明确,可能是肾衰竭毒素引起的血管病变致胰腺血液循环障碍,而且这些微循环的变化与胰腺病变的严重程度及血浆胰酶升高水平相平行。胰腺缺血引起胰腺炎或胰腺缺血导致炎症反应介质和血管活性物质如血栓素、前列环素、血小板活化因子、内皮细胞舒张因子释放进一步加重胰腺炎。再者尿毒症体内氧自由基常升高,氧自由基还可通过促进内皮素(ET)的信使核糖核酸(mRNA)或 ET 基因表达,使 ET 的生成或释放增加。ET 是由血管内皮细胞产生的一种作用极强的缩血管多肽,能收缩微血管,使腺泡细胞缺血坏死^[3],引起胰腺组织损伤。本科室对对照组、肾炎组、肾结石组、肾病组、ARF、CRF 各组进行血清 LPS 测

定,从表 1 中可以看出,对照组 LPS 水平明显低于各疾病组,但肾炎组、肾结石组、肾病组略高于对照组,差异无统计学意义($P > 0.05$),而 ARF、CRF 组 LPS 大大高于其他各组,差异有统计学意义($P < 0.01$),ARF 与 CRF 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),与文献报道一致^[4],从而说明肾衰竭时血中 LPS 实验室检查不失为又一个较好的诊断和鉴别诊断依据。

实验结果表明,LPS 可以成为反映肾衰竭的一种血清学指标,血 Cys C 和 LPS 同时测定不适为肾衰竭的诊断及鉴别诊断的又一血清学指标。

参考文献

- [1] 刘军,杨好治. 胱抑素 C 的临床意义与测定应用[J]. 医学检验与临床,2008,19(2):78-79.
- [2] 李海霞,张春丽,徐国宾,等. 健康人群血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 与肌酐分布及其评价慢性肾脏病患者肾小球滤过功能的比较研究[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(11):970-974.
- [3] Klar E, Werner J. New pathophysiologic knowledge about acute pancreatitis[J]. Chirurg,2000,71(3):253-264.
- [4] 唐琼英,赵景,韩世明,等. 血清脂肪酶在慢性肾功能衰竭中的应用[J]. 检验医学与临床,2006,3(5):193-195.

(收稿日期:2010-03-22)

临床研究

腺苷脱氨酶双试剂测定的全自动分析方法

何忠发¹,陈敬捷^{2△},罗雪林¹,韦 炜¹,黄玉庭¹,俞广全¹,陈桂兰¹,杨小兵²(1. 广西来宾市人民医院检验科 546100;2. 广西柳州市龙潭医院检验科 545000)

【摘要】 目的 在全自动生化仪上建立双试剂测定腺苷脱氨酶(ADA)活性的方法。**方法** 在全自动生化仪上编写测定程序,孵育时间 240 s,读空白时间 60 s,延迟时间 30 s,连续监测时间 120 s,主波长 340 nm,副波长 410 nm。**结果** 本法试剂稳定,精密度良好,批内 CV 3.1%,批间 CV 3.9%,线性范围 200 U/L,参考范围 4~25 U/L。**结论** 双试剂全自动分析腺苷脱氨酶,方法设计符合全自动分析条件,精密度高,结果准确。

【关键词】 腺苷脱氨酶; 连续监测法; 全自动生化分析仪

DIO:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.17.036

中图分类号:R446.11

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2010)17-1859-03

腺苷脱氨酶(adenosine deaminase, ADA)广泛分布于体内组织中,它主要起催化水解腺苷生成肌苷和氨的作用,与细胞免疫有关。近年来,ADA 测定在临床疾病实验室诊断中的应用日益广泛。目前将检测 ADA 方法可归纳为 berthelot(波氏)显色方法^[1-2]、酶偶联法(GLDH,简称偶联)连续监测法^[3-5]、利用 Trinder 反应的酶联比色法^[6-7]。前者只能手工操作,后者能够实现自动分析。虽然从原理上说已经相当成熟了,但从报道的文献研究看,均存在不足之处。为延续作者 ADA 测定方法研究,作者在文献^[3-4]的研究基础上改进为双试剂自动测定,取得满意效果,现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 仪器 日立 7600 全自动生化仪;上海精密 PHSJ-5 型酸度计;上海凤凰 UV1901 紫外可见分光光度计。

1.2 试剂 试剂 1:装载量 50 mL,其中含三乙醇胺 0.15

mmol/L, α-酮戊二酸 15 mmol/L, ADP 1.5 mmol/L, 谷氨酸脱氢酶(GLDH) > 500 U/L, 稳定剂。试剂 2:装载量 10 mL,含 20 mmol/L 腺苷。质控和校准品:由北京科美公司提供。对照试剂为北京科美公司 ADA 的商品试剂,批号 20090304。

1.3 实验方法

1.3.1 测定原理 腺苷 + H₂O $\xrightarrow{\text{ADA}}$ 次黄苷 + NH₄⁺, NH₄⁺ + NADH + α-酮戊二酸 $\xrightarrow{\text{GLDH}}$ 谷氨酸 + NAD⁺ + H₂O。

1.3.2 实验参数 (1)方法:速率法;(2)波长:主波长 340 nm,副波长 410 nm;(3)反应方向:负;(4)样本 20 μL, R1 200 μL, R2 40 μL;(5)检测时间参数:R1 和样品加入后 240 s 开始读取空白,300 s 结束,加入 R2 延时 30 s 后检测 120 s;(6)单位计算:U/L = ΔA/min × 10³ × 260/6.22 × 20 × 0.5,理论 K 值 4 180。

△ 通讯作者。

1.4 统计学方法 实验数据采集应用 Excel 软件,统计学处理采用 SPSS13.0 软件包,计量资料 t 检验及回归分析。

2 结果

2.1 反应进程与曲线 由曲线图可见,在反应启动后的 360 s 处连续读取 120 s,其为动态反应最佳时段,反应曲线见图 1。

2.2 准确度试验 将本试剂与对照试剂(北京科美产品)对 50 个样品双份平行测定,取平均值进行相关分析,结果 $r=0.996$,取得关系方程: $Y=1.00X-0.29$,回归散点图见图 2。

2.3 精密度分析

2.3.1 批内 取一批配制试剂对同一标本进行连续 15 次测定,计算 \bar{x} 、 s 、 CV ,结果 CV 为 3.1%。

2.3.2 批间 取 3 批间隔 1 周配制试剂对同一标本进行 3 管平行测定,分别计算测定结果平均值;同一批试剂测定该标本结果的平均值,3 批试剂测定结果的平均值,结果 $CV=3.9\%$ 。

图 1 反应曲线

图 2 回归散点图

2.4 灵敏度试验 以 50 U/L 的质控样品为检测样本采用 UV1901 紫外可见分光光度计在 37℃、波长 340 nm 下,取 20 μ L 质控液和 200 μ L R1 加入比色杯中,温育 1~5 min,再加 40 μ L R2 进行两点吸光度测定,计算 $\Delta A/\text{min}$,结果每分钟吸光度变化值($\Delta A/\text{min}$)为 0.035A,大于 0.015A 的相关要求。

2.5 空白吸光度值变化试验 以蒸馏水为检测样本采用 UV1901 紫外可见分光光度计在 37℃、波长 340 nm 下,取 20 μ L 蒸馏水和 200 μ L R1 加入比色杯中,温育 1~5 min,再加 40 μ L R2 将进行两点吸光度测定,从曲线上可看到每分钟吸光度变化值($\Delta A/\text{min}$)为 0.003A,小于 0.010A 的相关要求。

2.6 线性范围 取高值标本进行系列稀释,配制 5 个不同浓度的标准品(浓度在 0~200 U/L),按试剂所列参数进行检测,每个浓度重复测定 3 次,计算 r 值为 0.993,证明本试剂线性范围达到 0~200 U/L。

2.7 稳定性试验 将配制完成试剂分两份封装,置于 37℃ 恒温箱中 15 d 和 30 d 分别取出,将其进行灵敏度和空白吸光度值变化试验,其 $\Delta A/\text{min}$ 分别为 0.026A、0.018A 和 0.005A、

0.008A,结果 $\Delta A/\text{min}$ 分别大于 0.015A 和 $\Delta A/\text{min} < 0.003A$,因此认为试剂能稳定 12 个月以上。

2.8 参考范围 血清取自健康体检者,ADA($\bar{x} \pm s$)男性(50 例,年龄 16~68 岁)为 $(13 \pm 5) \text{U/L}$,女性(49 例,16~65 岁)为 $(13 \pm 6) \text{U/L}$,男女间 ADA 差异无统计学意义($P > 0.05$)。胸腔积液,取自本院住院诊断的非结核患者,ADA($\bar{x} \pm s$)30 例为 $(14 \pm 5) \text{U/L}$ 。参考范围总体取 $\bar{x} \pm 1.96s$ 。参考值血清分别取 3~25 U/L,胸腔积液 4~24 U/L。

3 讨论

为使 ADA 的自动分析能适合更多的仪器和更便利应用,本研究在 3 批试剂自动分析^[3-4]基础上研究了双试剂检测 ADA 试剂。本方法为液体双试剂测定 ADA,通过将 ADA 测定的有关试剂合理配合、测定程序适当编程从而达到排除内外氨的干扰,并且通过添加试剂稳定剂(甘油、乙二醇、山梨醇),使试剂的稳定性得到进一步提高。经稳定性试验,ADA 液体双试剂的 4℃ 储存期达到 1 年,上机开盖稳定期达 30 d,达到目前商品试剂规定的保质期。与北京科美公司的 ADA 商品试剂进行准确性、重复性、相关性比较,本研究自配的 ADA 液体双试剂的性能质量达到国内同类产品的先进水平。尤其是由于采用双试剂配方,使其更适合实际工作需要,能在大多数全自动生化仪器上应用。

本试剂与北京科美商品试剂比较,相关性良好($r=0.996$),批内、批间精密度为 3.1% 和 3.9%,线性可达 200 U/L,试剂稳定性实验表明于 4℃ 冰箱存放稳定期可达 12 个月。经近 1 年的实际应用,认为本试剂经济环保、方便快捷、准确,适宜在临床上推广应用。

ADA 日益引起临床重视,尤其是对结核病和肝病的辅助诊断有突显作用。特别是对结核性胸膜炎、结核性脑膜炎诊断有重要价值。血清 ADA 活性升高,常见于肝炎、肝硬化、血色素沉着症、肿瘤引起的阻塞性黄疸、前列腺和膀胱癌、溶血性贫血、风湿热、伤寒、痛风、重症地中海贫血、骨髓性白血病、结核、自身免疫性疾病、传染性单核细胞增多症和心力衰竭等。ADA 在良恶性难辨的渗出液鉴别诊断上有重要价值。国内外研究表明,ADA 对诊断结核性渗出液的特异性和敏感性明显优于活检和细菌学检查。结核性胸腔积液、腹水 ADA 活性显著增高,癌性胸腹水不增高,而血清 ADA 活性二者差异无统计学意义。此外,脑脊液 ADA 检测可作为中枢神经系统疾病诊断和鉴别诊断的重要指标。结核性脑膜炎显著增高,病毒性脑膜炎不增高,颅内肿瘤及中枢神经系统白血病稍增高。

2007 年 1 月 26 日通过鉴定的研究“腺苷脱氨酶 3 试剂测定的自动分析方法建立研究”课题,虽已经能成功地对 ADA 进行测定,但由于需要具备 3 试剂功能的全自动生化分析仪器才能发挥作用。因此继续研究能适用大多数全自动生化分析仪器的试剂很有必要。另外,对 ADA 建立起快速、准确的方法,一定会有广大的市场,它能在一定规模的较大型医疗单位或结核病专科医院得到很好的应用,为广大的结核病患者得到及时的治疗及为肝炎、白血病、器官移植提供有用的参考依据。

参考文献

- [1] 何战胜,邓健,许金生,等.催化光度法测定体液腺苷脱氨酶的活性[M].中国卫生检验杂志,2005,15(5):546-547.
- [2] 叶应妩,王敏三.全国临床检验操作规程[M].南京:东南大学出版社,1997:235.
- [3] 陈敬捷,杨小兵,秦长明.腺苷脱氨酶的全自动分析方法

的建立[J]. 临床荟萃, 2001, 16(13): 615-617.

- [4] 陈敏捷, 杨小兵, 秦长明. 腺苷脱氨酶三试剂测定的全自动分析方法的建立[J]. 广西医科大学学报, 2001, 18(5): 658-660.
- [5] 李素, 李清华. 连续监测法测定腺苷脱氨酶[J]. 现代医药卫生, 2005, 21(14): 1885-1886.

- [6] 马志如, 黄天禄, 陈宏础, 等. 两点法测定腺苷脱氨酶[J]. 四川省卫生管理干部学院学报, 1997, 16(3): 131-133.
- [7] 周美霞, 管茶英, 陈肖燕. 全自动酶偶联法测定腺苷脱氨酶[J]. 临床检验杂志, 2004, 22(5): 338-340.

(收稿日期: 2010-06-01)



关节镜治疗 30 例膝关节及周围骨折临床分析

陈军华¹, 程国林² (1. 江苏省金坛市儒林镇卫生院 213225; 2. 江苏省金坛市人民医院骨科 213200)

【摘要】 目的 评价关节镜在膝关节及周围骨折中的应用价值。方法 2003 年 12 月至 2006 年 5 月对 30 例膝关节及周围骨折患者, 采用镜下微创手术治疗髌骨骨折(均为横行)8 例; 采用经皮钢丝环扎或空心钉固定, 或可吸收螺钉固定治疗股骨远端骨折 8 例, 其中 Liss 钢板 2 例, 逆行交锁钉 4 例, 空心钉 1 例, 可吸收钉 1 例; 胫骨平台骨折 10 例, 6 例采用空心螺钉固定, 4 例采用 Liss 钢板固定; 前交叉韧带止点撕脱性骨折 4 例, 采用经皮空心钉固定。结果 随访 3 个月至 2 年半, 全部骨性愈合, 关节活动度 102°, 未出现感染等并发症, 3 例有膝关节轻微疼痛, 膝关节功能按 Merchant 功能评分, 优 24 例, 良 3 例, 优良率 90%。结论 关节镜用于治疗膝关节及周围骨折, 能起到良好的监视作用, 并能同时处理关节内病变, 创伤小, 并发症少, 恢复快, 疗效好, 值得临床推广。

【关键词】 膝部损伤; 髌骨骨折; 股骨骨折; 胫骨骨折; 关节镜

DIO: 10.3969/j.issn.1672-9455.2010.17.037

中图分类号: R683; R684

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2010)17-1861-02

随着微创技术的发展, “BO” 理念的形成及关节镜技术的日趋成熟, 本院从 2003 年 12 月至 2006 年 5 月对膝关节及周围骨折从传统的切开复位内固定到关节镜监视下复位固定治疗, 取得了初步成效, 现报道如下。

1 临床资料

1.1 一般资料 本组病例 30 例, 男 21 例, 女 9 例, 年龄 29~60 岁。其中, 髌骨横行骨折 8 例, 股骨远端骨折 8 例, 胫骨平台骨折 10 例, 前交叉韧带止点撕脱性骨折 4 例。

1.2 治疗方法

1.2.1 髌骨骨折 关节镜监视下微创小切口, 去除骨折断端软组织, 膝过伸位, 点式巾钳两把经皮将髌骨复位, 用手掌心挤压或叩击髌骨, 使关节面基本达到解剖复位, 然后关节镜监视软骨面, 确实复位后, 双克氏针垂直穿过骨折线固定骨折块, 以克氏针为导向, 旋入 2 枚空心钉, 或者辅助小切口用可吸收钉固定, 也可经皮双钢丝张力带固定。

1.2.2 股骨远端骨折 曲膝 30°~90°, 适当牵引, 关节镜监视下, 对髌间骨折, 利用克氏针推顶压, 关节面复位后, 股外侧小切口, 插入 Liss 钢板系统固定, 内侧髌骨骨折, 利用克氏针撬拨复位固定, 顺克氏针导向打入空心螺钉或小切口可吸收螺钉, 对髌上骨折, 镜下监视, 髌韧带前作 1 cm 小切口, 后交叉韧带前方 0.5 cm 开孔, 插入导针, 逆行交锁钉固定。

1.2.3 胫骨平台及前交叉韧带撕脱性骨折 往往合并关节内损伤, 先处理关节内病变, 视野清晰后, 胫骨平台骨折通过镜下撬拨、复位, 必要时小切口开窗植骨防止塌陷, 证实复位后, 克氏针固定, 以此为导针空心钉固定, 达对侧皮质, 移位不大可用可吸收钉固定, 对 Schatzker V 型及 VI 型骨折, 必要时 Gerdey 结节辅助小切口用 Liss 系统钢板固定, 对前交叉韧带撕脱性骨块, 镜下清理骨折断端, 骨块必须向前推拉复位, 曲膝 45°, 膝正中髌韧带撬入克氏针固定骨块, 注意方向, 以克氏针为导向

旋入空心螺钉。

1.3 术后处理 术后要求膝关节棉垫包扎 3~5 d, 第 2 天开始肌肉舒缩运动, 5~7 d 后连续被动运动仪(CPM)锻炼, 视情况逐渐负重, 主张早活动, 晚负重。

2 结果

本组全部随访, 时间 3 个月至 2 年, 全部骨性愈合, 关节活动度达 102°, 未出现感染等并发症, 3 例有膝关节轻微疼痛, 膝关节功能按 Merchant 功能评分, 优 24 例, 良 3 例, 优良率 90%。

3 讨论

关节内骨折是手术切开复位内固定的指征, 要求解剖复位, 坚强固定, 早期功能锻炼。对膝关节及周围骨折, 以往本科室采用传统的切开复位内固定术, 创伤大, 剥离多, 关节内环境遭到破坏, 常遗留关节挛缩及僵直等并发症, 随着微创技术的发展, 尤其是关节镜监视下对膝关节及周围骨折的应用, 其优势越来越明显。

3.1 髌骨骨折 传统的治疗方法有髌前弧形或纵形切口, 采用钢丝环扎, 钢丝环扎联合“8”字张力带, 克氏针联合张力带等方法, 创伤大, 剥离多, 有时需石膏外固定, 冯宗权等^[1]对髌骨骨折采用关节镜下手术, 认为固定合理、可靠, 可减少创伤及感染率, 缩短住院时间, 作者认为镜下监视能直接观察关节面的平整, 创伤小, 保护了骨块血运, 减少皮瓣坏死, 提高骨折愈合率, 但只适用于横行或纵形, 如为粉碎性、难以复位的骨折, 应有限切开。

3.2 股骨远端骨折 于晓雯等^[2]采用开放手术治疗股骨远端骨折, 逆向交锁髓内针固定, 优良率达 89.7%, 是治疗股骨远端骨折的有效方法, 但切开复位创伤大, 剥离多。陈志林等^[3]认为经关节镜应用逆行交锁钉治疗股骨髁上骨折具有创伤小, 定位准确, 操作简单, 能及时处理膝关节并发症等优点。利用