

极有效的监测及预防措施,防止疾病进一步传播蔓延;可使临床医护人员对患者传染性病原微生物携带情况有一个了解,防止院内感染,避免职业暴露^[4],保护相邻患者及医务人员的人身健康,对 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV、抗-TP 检测阳性的患者所使用过的医疗器械、所产生的医疗废物给予明显的标记,严格消毒,有效地控制医源性传播,对医患双方都具有积极作用;减少患者与采供血机构的医疗纠纷,采供血机构通过严格验收评审标准,接受卫生部督导检查,从低危人群中采集血液,提高检测质量等,在预防和控制输血相关传染病的发生方面取得了很大的进展,但是由于检测的“窗口期”问题,输血导致血源性疾病的传播,仍然不可避免。所以,如果患者在输血后一段时间内发现某传染性标志物阳性,就认为其感染与输血存在因果关系,其实输血并不是病毒感染的惟一途径。所以进行受血者输血前 4 项传染性标志物检测,采供血机构可以避免大量医疗纠纷案件。

受血者输血前传染性标志物检测方法的改进:近年来,为了缩短病毒检测的“窗口期”,核酸检测已逐步应用到采供血机构对 HBV、HCV、HIV 的检测中^[5]。输血前患者血标本检测同样存在“窗口期”问题,目前 ELISA 检测结果阴性也不能完全排除已被感染的可能,所以有条件最好能保存受血者输血前

的血液标本,以备日后处理医疗纠纷时取证,可使用核酸检测技术,缩短病毒检测“窗口期”,提高检测的准确性,对被检测者、医疗机构及采供血机构负责。

参考文献

- [1] 杨成民,李家增,季阳. 基础输血学[M]. 北京:中国科学技术出版社,2001:400-403.
- [2] 黄祖翔,李军. 传染病学[M]. 北京:科学出版社,2002:23-24.
- [3] 李荣敏,罗建文,覃宏志,等. 河池地区 2004~2008 年输血前患者传染性标志物调查分析[J]. 中国输血杂志,2010,23(4):302.
- [4] 郭勇,郭桂英,石小彬. 输血前感染性指标检测意义探讨[J]. 中国输血杂志,2005,18(1):52.
- [5] 叶贤林,李活,许晓绚,等. 核酸扩增技术在献血者血液 HBV DNA、HCV RNA 及 HIV-1 RNA 筛查中的应用研究[J]. 中国输血杂志,2010,23(1):6-10.

(收稿日期:2011-08-25)

血尿的实验室检验及临床应用分析

马新英¹,王 颖²(1. 新疆维吾尔自治区石河子市人民医院检验科 832000;2. 新疆维吾尔自治区石河子市中医医院检验科 832000)

【摘要】 目的 探讨血尿实验室检验的方法及临床意义。**方法** 1 596 份标本利用干化学尿液分析仪检验,UF-100 流式尿沉渣分析仪和光学显微镜进行离心沉渣镜检。**结果** 仪器与镜检符合率为 80.7%(1 288/1 596),仪器与干化学仪符合率为 71.2%(1 136/1 596),显微镜与干化学仪符合率为 75.5%(1 205/1 596),差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** UF-100 流式尿沉渣分析仪检测尿红细胞较敏感准确、客观可靠,是一种有价值的鉴别肾性和非肾性血尿的过筛试验;干化学仪快捷,但假阳性和假阴性率高;显微镜检查法是尿液有形成分检查的金标准。3 种方法有机结合、交叉互补是血尿检验理想的选择。

【关键词】 UF-100 流式尿沉渣分析仪; 血尿红细胞形态; 干化学尿液分析仪; 显微镜检查
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.22.053 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2011)22-2787-03

血尿检查不仅对各种肾脏、泌尿系统疾病、创伤、炎症、结石、肿瘤等疾病的诊断有意义,而且对种种原发性或继发性急性和慢性肾小球肾炎或肾病的诊断和鉴别诊断也有一定的诊断价值^[1-2]。引起血尿的原因有很多,所以确定血尿来源的部位十分重要。使用尿沉渣显微镜检查、尿干化学法及 UF-100 流式尿沉渣分析仪(简称 UF-100)三者联合检查可提高血尿检查的阳性率以及肾前血尿、肾后血尿诊断的准确率。UF-100 作为目前较为先进的尿液有形成分分析系统,可识别和计数红细胞,同时还提供了红细胞形态学信息:如 70%红细胞前向散射光(RBC-P70FSC)、红细胞前向散射光分布宽度 SD 值(RBC-FCS-DW)以及表示非溶血红细胞的 fsc 变化。即可分辨出红细胞体积大小均一性与非均一性,也就是非肾性红细胞与肾性血尿,显微镜镜检确证红细胞形态及数量信息以提供临床分析诊断。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 随机收集本院 2011 年 2~3 月住院患者晨尿 1 596 份。要求用专用试管收集患者新鲜中段晨尿 12 mL 待检测。

1.2 仪器与试剂 UF-100(日本 Sysmex 公司)及原装配套试

剂:UFII SHEATH(鞘液)、UFII SEARCH-SED(染色液)、UFII PACK-SED(稀释液)、UFII SEARCH-BAC(染色液)、UFII PACK-BAC(稀释液)。质控物 UFII CONTROL-H 和 UFII CONTROL-L;质控品品牌:SYSMEX;代码:UF-100。BW-500 尿干化学分析仪及配套试纸条,质控液均在有效期范围内。光学显微镜,标准离心机。

1.3 检测方法 参照《全国临床检验操作规程》第 3 版^[3]。UF-100、BW-500 尿液分析仪均需在测定前用配套校准物校准,并在每次测定前用配套质控物进行室内质量控制,仪器方可正常测试。所有实验使用同一批号质控物。UF-100 使用仪器自动进样器模式,每管样本放置在样本架上自动搅拌与抽吸进行分析。BW-500 干化学尿液分析仪操作使用 UF-100 测试后混匀的尿液测试。最后取 10 mL 尿液用标准离心机离心,1 300 r/min 离心 5 min 后取 0.2 mL 沉渣涂片,观察 10 个视野红细胞的平均数,以每一高倍视野多少个细胞报告显微镜镜检结果。尿液标本在收集后 2 h 内测试完毕。

2 结 果

2.1 文献报道参考值 UF-100 结果男性 RBC<12/ μ L,女性 RBC<24/ μ L^[4];显微镜检查结果红细胞小于 3/HPF。超出此

范围视为阳性^[5]。

2.2 将同一样本用 3 种方法检查结果见表 1、2。

表 1 3 种方法组合结果对红细胞结果的比较

序号	UF-100	干化学法	显微镜法	人数
I	—	—	—	612
II	+	—	—	189
III	+	—	+	217
IV	+	+	+	404
V	—	+	—	54
VI	+	+	—	109
VII	—	—	+	11

注：+表示阳性，—表示阴性。

表 2 3 种方法红细胞阴、阳性结果及阳性率比较

项目	UF-100		干化学法		显微镜检查	
	+	—	+	—	+	—
RBC	919	677	567	1 029	632	964
血尿检出率(%)	57.6		35.5		39.6	

注：+表示阳性，—表示阴性。

2.3 UF-100 结果与显微镜检查结果不同的有 309 例,其中有 120 例为草酸盐结晶和酵母菌,干化学学法与显微镜结果不同的有 109 例溶解红细胞(影红细胞)可出现在 RBC 直方图上向前散射光低的区域,能为 UF-100 所检出来。由于方法学不同、检出红细胞的原理不同以及干扰因素的影响存在不同结果偏差。

2.4 由表 1 可以看出,显微镜镜检与 UF-100 红细胞符合率为 80.7%,与干化学仪红细胞的符合率为 75.5%,UF-100 与干化学仪红细胞符合率为 71.2%。对于 UF-100 与显微镜检查、干化学尿液分析仪 3 种方法之间敏感性与特异性的比较采用卡方检验,差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨 论

3.1 血尿分镜下血尿和肉眼血尿,即显微镜下红细胞大于 3 个/HPF 为镜下血尿(肉眼不能看到尿液显红色),尿液中含血量在 1 mL 以上,肉眼观察为红色,称为肉眼血尿^[6]。根据尿中红细胞形态可分为非均一性红细胞血尿(肾源性),其变形红细胞大于或等于 80%,常见于急、慢性肾炎紫癜肾等;血尿多形性红细胞小于 50%,称非肾小球源性血尿,见于肾结石、肾盂肾炎、急性膀胱炎等;混合性血尿尿中有均一性和非均一性两类红细胞。

3.2 根据参考标准 UF-100 将红细胞信息分为 3 种情况:(1)小红细胞。RBC 直方图 RBC-P70FSC < 80 ch; RBC-FSC-DW>或<50 ch 即为肾源性红细胞。(2)未分类或混合性红细胞。其又分为两种情况。RBC-P70FSC>100 ch; RBC-FSC-DW>50 ch 及 RBC-P70 FSC 80~100 ch; RBC-FSC-DW>或<50 ch 这两种情况均视为混合性血尿。(3)正常红细胞。RBC-P70FSC>100 ch; RBC-FSC-DW<50 ch 即为非肾源性红细胞,测试中有 257 例为红细胞形态正常的,经显微镜镜检符合 249 例,符合率达 97%。根据以上信息本研究再用显微镜镜检做确证试验,这样既提高了阳性检出率,又能准确确定红细胞的来源以及干扰因素的影响。由于尿中有形成分复杂,有时对红细胞难以正确识别。如草酸钙结晶引起的假阳性,酵母

菌、细菌的干扰引起的假阳性结果。因为红细胞的形态大小、染色性与草酸钙、非晶形盐等结晶非常相似,在散射图上二者交叉分布,因此草酸钙等结晶对红细胞形态分析结果影响较大;细菌、酵母样菌的散点分布介于红细胞和白细胞之间,在大部分情况下仪器可以区分,但仍有和红细胞发生重叠的情况。而由于草酸钙、非晶形盐、细菌、酵母菌又是尿中常见的有形成分,因此当尿液中出现上述成分而提示红细胞结果异常,同时亦导致 RBC-INFOR 结果分析错误,出现较高的假阳性^[7],必须镜镜检查。这 4 种因素影响红细胞计数的原因可能是:(1)草酸钙结晶、非晶形盐对荧光染料几乎不着色且大小、形态不均,所以其荧光强度很低,UF-100 不能将草酸钙结晶、非晶形盐与红细胞区分;(2)细菌由 RNA 或 DNA 构成,但 UF-100 对染料菲啶对膜渗透性低,所以染色后其荧光强度低,前向散射光强度也低(但比红细胞稍强),所以当尿液中细菌超过一定量聚集时,仪器将细菌误认为红细胞;(3)酵母菌影响的原因可能是酵母菌的形态大小与红细胞类似,仪器分析时得不到准确的信息所致。以上结果与文献[8]报道相符。另外,UF-100 对影红细胞、小红细胞的辨认存在误差,易导致假阴性。

3.3 干化学尿液分析检测红细胞的原理是利用光的吸收和反射采用尿中血红蛋白含有亚铁血红素,后者具有过氧化酶样活性,可使过氧化物和有色的邻联苯胺变成蓝色的邻甲苯胺物质而呈现色变。它的优点是方便、快捷、经济,但受以下因素影响:如干化学红细胞(+)、镜检(—)。可能是尿液红细胞被破坏,释放出血红蛋白,多见于肾病患者。或某些患者尿液中含有对热不稳定酶、肌红蛋白或菌尿,引起红细胞干化学法检验结果为假阳性。另外清洗剂(如次氯酸盐)和尿道中细菌产生的过氧化氢酶可能引起假阳性结果。此外试纸法可检出微量的血红蛋白和破坏的红细胞,而镜检法可能为“阴性”。干化学分析仪法(—)、镜检(+):一般少见,可发生在尿液中含有大量维生素 C(>100 mg/L)或试带片脱落、失效等原因,浓缩尿或高蛋白尿也可降低反应的敏感性。故干化学法只能作为过筛试验。

3.4 光学显微镜检查 优点是鉴别尿酸结晶、细菌等干扰,能分辨红细胞形态,多形红细胞大于或等于 80%或棘形红细胞大于或等于 5%,即为肾小球性血尿,多形红细胞小于 50%或棘形红细胞小于 5%为均一性红细胞,即为非肾小球性血尿;介于二者之间为混合性血尿。缺点是影红细胞难识别,还有就是耗费大量人力,并且操作人员之间存在差异。如果结合 UF-100 红细胞形态信息和干化学仪的结果,重点选择镜检可大大提高检验效率和血尿的阳性率。

3.5 批量尿液分析可用于干化学尿液分析仪、UF-100 同时作为筛选方法,由表 1 可以看出,有近 40%的尿液两种仪器检验结果均为阴性时可以省去显微镜镜检,既提高了阳性率,又提高了检验效率。显微镜检查方法能真实展现细胞等有形成分形态,判断直观可靠,是金标准。所以三者之间必须有机结合,交叉互检,缺一不可。另外,凡是医生提出镜检或泌尿系统患者、糖尿病患者、应用免疫抑制剂患者等情况应进行显微镜检查。

参考文献

[1] 熊立凡,刘成玉.临床检验基础[M].北京:人民卫生出版社,2008:169-174.
[2] 丛玉隆.检验与临床诊断-质量管理和常规检验分析分册[M].北京:人民军医出版社,2006:213-234.
[3] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3

版. 南京:东南大学出版社,2003;197-201.

[4] 丛玉隆. 当代尿液分析与临床[M]. 北京:中国科学技术出版社,1999;19-20.

[5] 郑慧丽,刘立峰. 实验室诊断速查[M]. 北京:人民军医出版社,2009;297-298.

[6] 李一龙. UF-100 尿沉渣仪红细胞测定质量探讨及对策[J]. 中国现代医生,2009,47(31):89-90.

[7] 陈静. 全自动尿沉渣分析仪进行尿常规检验时显微镜检查的意义[J]. 实用医学杂志,2006,22(2):224.

[8] 邱方城. SysmexUF-100 全自动尿沉渣分析仪检测尿红细胞影响因素分析[J]. 临床检验杂志,2006,24(6):472.

(收稿日期:2011-08-23)

两种抗双链 DNA 抗体检测方法的比较

李淑兰(南京军区福州总医院全军检验医学研究所,福州 350025)

【摘要】 目的 评价两种方法检测抗双链 DNA(ds-DNA)抗体的敏感性和特异性。**方法** 用斑点免疫金渗滤法(DIGFA)和免疫印迹法(IBT)同时检测 100 例健康体检者和 79 例系统性红斑狼疮患者血清,结果采用 χ^2 检验进行统计学分析。**结果** DIGFA 和 IBT 检测所有健康体检者均为阴性,DIGFA 和 IBT 的阳性率分别为 82.28%和 81.01%,二者符合率为 96.2%。**结论** DIGFA 的灵敏性和特异性与 IBT 具有一致性($P=0.56$),但 DIGFA 比 IBT 操作简便,快速,且成本低廉,可作为临床抗 ds-DNA 抗体检测的常规方法。

【关键词】 抗双链 DNA 抗体; 斑点免疫金渗滤法; 免疫印迹法; 系统性红斑狼疮
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.22.054 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2011)22-2789-02

抗双链 DNA(ds-DNA)抗体是系统性红斑狼疮(SLE)的标志性抗体之一,对诊断 SLE 具有较高的特异性,且抗 ds-DNA 抗体滴度与 SLE 病情的进展相关。本实验室以纯化的细菌质粒 ds-DNA 为抗原,以长臂光敏生物素为标记建立的检测抗 ds-DNA 抗体的斑点免疫金渗滤法(DIGFA)进行检测^[1]。本实验将 DIGFA 法与目前临床常用的免疫印迹法(IBT)进行对比分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 按照 1982 年美国风湿病学会的诊断标准^[2],收集 2009 年 1 月至 2010 年 1 月本院住院确诊为 SLE 患者 79 例,男 31 例,女 48 例,平均年龄(39 ± 9)岁;健康体检者 100 例,男 49 例,女 51 例,平均年龄(33 ± 8)岁。

1.2 试剂与方法 DIGFA 试剂为本实验自行研究开发的^[1],IBT 试剂为德国欧蒙公司抗核抗体谱(IgG)检测试剂盒,所有操作均严格按操作说明书进行。

1.3 结果判读 均采用目测法。DIGFA:在反应板孔中央无红色圆斑只出现红线为阴性,出现红色圆斑与红线为阳性。IBT:将已操作完成的膜条自然晾干,置于结果判定模板中,并与标志对齐,当检测膜条包被 ds-DNA 抗原的位置呈现一条着深色的条带判为阳性,反之则为阴性。

1.4 统计学方法 结果用 χ^2 检验进行统计学分析。

2 结果

2.1 DIGFA 和 IBT 检测所有健康体检者均为阴性。

2.2 DIGFA 的阳性率为 82.28%,IBT 的阳性率为 81.01%,二者差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 DIGFA 和 IBT 检测结果

DIGFA	IBT		合计
	阳性	阴性	
阳性	63	2	65
阴性	1	13	14
总计	64	15	79

2.3 DIGFA 的灵敏性和特异性与 IBT 具有一致性,二者的符

合率为 96.2%。

3 讨论

1967 年 Arana 在 SLE 患者血清中发现了一种能与天然 DNA 结合的自身抗体,称为抗天然 DNA 抗体或 ds-DNA 抗体。随着研究深入,人们发现抗 ds-DNA 抗体几乎只存在于 SLE 患者血清中,是 SLE 的特异性抗体,且抗体滴度的升降与 SLE 的活动存在相关性。抗 ds-DNA 抗体与细胞核的反应位点在于 DNA(外围区)脱氧核糖磷酸框架上,被认为是 SLE 的重要诊断依据。抗 ds-DNA 抗体不仅在自身免疫性疾病中发挥重要作用,也可能在免疫应答的调节、肿瘤的发生和发展中扮演一定角色^[3]。

目前检测抗 ds-DNA 抗体的方法有多种,常用的如:放射免疫分析、间接免疫荧光法、DIGFA、IBT、酶联免疫吸附试验(ELISA)等。放射免疫分析因有放射污染而趋于淘汰;间接免疫荧光法是目前应用比较广泛的检测方法,但其结果判读需要荧光显微镜,并且需要操作者具有一定的形态学基础;DIGFA 为本实验室自行研发,抗原是经过质粒提取纯化不含单链的、纯双链 DNA 抗原,大大消除了假阳性,而且本法具有简便、快速、结果可靠、不需特殊设备的特点,整个检测过程仅需数分钟,成本低等特点;IBT 中虽是天然双链 DNA 抗原,但在转印过程有可能变性,所以并非所有抗体均能与之反应,故 IBT 的敏感性有限,此外,IBT 条带不显色或不清晰,导致结果不易观察或非特异性的条带出现导致假阳性结果的出现,易造成临床的误诊和漏诊^[4];ELISA 可用于定量检测,但由于 ds-DNA 难于包被在固相载体上,影响了检测的灵敏度和特异性^[5],而且目前该试剂主要依靠进口,检测成本较高。

本实验结果表明,DIGFA 的灵敏性和特异性与 IBT 具有一致性,二者的符合率达 96.2%,但 DIGFA 比 IBT 操作简便,快速,且成本低廉,可作为临床抗 ds-DNA 抗体检测的常规方法。

参考文献

[1] 兰小鹏,涂向东,黄俏佳,等. 一种可同时检测抗双链和单链 DNA 抗体的快速斑点免疫金渗滤试验[J]. 中国免疫