

1 资料与方法

1.1 一般资料 分三组:(1)结核性胸腔积液、腹水组(结核性组),40 例,男 20 例,女 20 例,年龄 17~81 岁,平均 51 岁,来自自贡市第三人民医院 2009 年 7 月至 2010 年 6 月感染科住院患者,根据相关诊断标准确诊为结核性胸、腹膜炎病例。(2)细菌性胸腔积液、腹水组(细菌性组),40 例,男 24 例,女 16 例;年龄 27~62 岁,平均 44.5 岁,来自自贡市第三人民医院 2009 年 7 月至 2010 年 6 月呼吸内科住院患者,通过涂片和细菌培养发现细菌。(3)无菌性胸腔积液、腹水组(无菌性组),40 例,男 26 例,女 14 例;年龄 35~81 岁,平均 48.6 岁,选自自贡市第三人民医院同期内科患者,通过涂片和细菌培养未发现细菌。

1.2 试剂与仪器 试剂盒由中德合资北京利德曼生物有限公司提供;仪器为贝克曼库尔特公司的 DXC800 全自动生化分析仪。冻干质控品由中德合资北京利德曼生物有限公司提供。

1.3 测定原理 腺苷在 ADA 作用下脱氨基形成黄苷,黄苷在 PNP 作用下生成次黄嘌呤,次黄嘌呤在 XOD 作用下转化为尿酸和过氧化氢(H₂O₂),H₂O₂ 与 EHSPT 和 4-AA 在 POD 作用下生成醌色物,560 nm 处测定其吸光度,吸光度变化率与 ADA 活性成正比。ADA 活性用 U/L 表示,即在最佳实验条件下,ADA 每分钟催化 1 μmol 底物(腺苷)发生转变所需的酶量为 1 个单位。用速率法监测吸光度升高的速率从而计算出标本中 ADA 的含量(U/L)。

1.4 统计学处理 统计学处理采用样本均数 t 检验,采用 SPSS10.0 统计软件,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

3 组患者胸腔积液、腹水 ADA 水平分别为:细菌性组 ADA 值为(49.63±36.54)U/L,细菌性组为(7.85±5.66)U/L,无菌性组为(6.95±4.53)U/L。细菌性组与无菌性组 ADA 值差异无统计学意义(P>0.05),结核性胸、腹膜炎组 ADA 值明显高于细菌性组与无菌性组(P<0.01)。

合并细菌性组和无菌性组为对照组,对照组 ADA 值为(7.40±5.68)U/L,取总体 $\bar{x}+1.96s$ 作参考值,结果为

(7.40±11.13)U/L,以 ADA 活性大于 18.5 U/L 为界值,本研究测定胸腔积液、腹水 ADA 诊断结核的敏感性 80%,特异性 90%。

3 讨论

ADA 主要分布于人体淋巴组织,急性肝炎、酒精性肝病、慢性肝炎、肝硬化、肝细胞癌患者血清或血浆中 ADA 活性会增高^[3]。有文献报道结核性胸腔积液中 ADA 明显增高可辅助诊断结核性胸膜炎^[4],结核性腹膜炎患者腹水 ADA 活性常常增高^[5]。本研究显示细菌性组与无菌性组 ADA 值差异无统计学意义(P>0.05),结核性组 ADA 值明显高于细菌性组与无菌性组,差异有统计学意义(P<0.01)。因此胸腔积液、腹水 ADA 含量测定可作为结核性胸腔积液、腹水和非结核性胸腔积液、腹水鉴别诊断的一个重要指标。本研究测定胸、腹水 ADA 诊断结核的敏感性 80%,特异性 90%,因此要注意测定胸、腹水 ADA 活性鉴别诊断结核有一定的假阴性、假阳性结果,临床医生诊断结核性胸、腹膜炎还需结合临床表现、影像学检查等以准确诊断。

参考文献

[1] 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,2006:429-430.
 [2] 美霞,管茶英,陈肖燕.全自动酶联法测定腺苷脱氨酶[J].临床检验杂志,2004,22(5):338-340.
 [3] Kobayashi F, Ikeda T, Marumo F, et al. Adenosine deaminase isoenzymes in liver disease[J]. Am J Gastroenterol, 1993, 88: 266-271.
 [4] Burgess LJ, Maritz FJ, Le Roux I, et al. Use of adenosine deaminase as a diagnostic tool for tuberculous pleurisy [J]. Thorax, 1995, 50: 672-374.
 [5] 陆再英,钟南山,谢毅,等.内科学[M].7 版.北京:人民卫生出版社,2007:406-407.

(收稿日期:2012-03-26)

• 临床研究 •

尿微量清蛋白与 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶的联合检测对高血压早期肾损伤的临床意义

沈一芳(浙江大学附属妇产科医院,杭州 310000)

【摘要】目的 研究高血压早期肾损伤患者尿中的微量清蛋白(mAlb)水平和 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶(NAG)水平,探讨两者与高血压早期肾损伤的关系以及对高血压早期肾损伤治疗的临床意义。方法 选择 2008 年 7 月到 2011 年 12 月收入宁波市第二医院的高血压患者 180 例;体检正常者 100 例,并测定尿液 mAlb、NAG 含量,结果以尿 mAlb/Cr 和尿 NAG/Cr 表示,分析两者对高血压早期肾损伤的临床意义。结果 高血压组各项指标均高于健康对照组各项指标,尿 NAG/Cr 阳性率高于尿 mAlb/Cr 阳性率,尿 mAlb/Cr、NAG/Cr 的联合检测阳性率高于尿 mAlb/Cr、NAG/Cr 单一检测的阳性率。结论 尿 mAlb 含量和 NAG 含量与高血压早期肾损伤有重要相关性,两者简便易测,为高血压早期肾损伤的重要临床检测指标。

【关键词】 高血压; 肾损伤; 尿微量白蛋白; N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶; 尿肌酐

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.20.043 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)16-2609-03

原发性高血压(essential hypertension, EH)可造成良性小动脉性肾硬化症^[1]。如果错过早期阶段,肾损伤发展到不可逆状态,终将发展为肾衰竭^[2]。近年来尿微量清蛋白(mAlb)和

尿酶的检测已逐渐成为诊断肾脏早期损害的灵敏指标^[3]。测定尿 mAlb/肌酐(Cr)和尿 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶(NAG)/肌酐(Cr)可以代替 24 h 的尿标本,解决 24 h 尿标本

收集和保存的困难,同时也克服随时尿测定时由于尿量多少造成结果波动的影响。本文通过分析宁波第二医院收入并确诊为原发性高血压的180例患者和100例健康者的尿 mAlb/Cr 和尿 NAG/Cr 的变化,统计两值在高血压早期肾损伤中的阳性率,从而找出与高血压早期肾损伤的关联度较高,并能鉴别诊断高血压早期肾损伤的临床检测指标。

1 资料与方法

1.1 一般资料 (1)高血压组:选择2008年7月至2011年12月收入宁波市第二医院的按WHO高血压病诊断标准明确诊断为原发性高血压的患者共180例,其中男108例,女72例,年龄41~70岁。根据患者尿常规检测有无蛋白尿将患者分为有蛋白尿组和无蛋白尿组;又根据高血压的病程分为:EHA组(<10年)、EHB组(10~20年)、EHC组(>20年)。所有患者在检查前2周末接受药物治疗,且排除并发原发性肾脏疾病、糖尿病、肿瘤及结缔组织疾病者。(2)随机选择本院体检正常的成年人,共100例作为健康对照组,其中男68例,女32例,年龄40~60岁。

1.2 试剂 尿蛋白测定试剂条:由深圳优利特生物技术有限公司出品。Cr测定试剂:由宁波赛克生物科技有限公司出品;其主要成分:肌酸(脱氢)酶、肌氨酸氧化酶、肌酐酶、过氧化物酶、抗坏血酸氧化酶、TOPS。NAG测定试剂:由新昌夸克生物科技有限公司出品;其主要成分:NAGOD、POD、HK、ATP·2Na、PNP-NAG、2-吗啉乙烷磺酸(MES)、BCMA。mAlb测定试剂:由北京利德曼生化技术有限公司出品;其主要成分包括试剂一:磷酸盐缓冲液、聚乙二醇6000、NaCl、表面活性剂,试剂二:Tris缓冲液、羊抗人清蛋白多抗、稳定剂。

1.3 仪器 深圳优利特生物技术有限公司生产的Uritrse-200B自动尿液分析仪,美国Beckman公司生产的Beckman Coulter DXC800型全自动生化分析仪。

1.4 方法

1.4.1 标本的收集 采集受检者晨尿约5 mL,3 500 r/min离心5 min保留上清液待检。

1.4.2 尿常规检测 利用pH指示剂蛋白质误差法严格按照仪器的标准操作程序对患病组和健康对照组的尿蛋白定性进行测定。尿常规检测常用尿干化学分析仪,即试带法。尿蛋白定性的测定采用pH指示剂蛋白质误差原理。在pH3.2的条件下,酸碱指示剂(溴酚蓝)产生阴离子与带阳离子的蛋白质结合生成复合物,引起指示剂进一步电离,当超越缓冲范围时,指示剂发生颜色改变。颜色的深浅与蛋白质含量呈正比。酸碱指示剂同时也是灵敏的蛋白显色剂,试带法可用于尿蛋白定性或半定量。

1.4.3 尿 mAlb 的检测 利用免疫比浊法严格按照仪器的标准操作程序对患病组和对照组的尿 mAlb 含量进行测定。原理:用纯化的抗人清蛋白抗体和人尿液中的清蛋白发生免疫反应,引起抗原抗体复合物凝聚,致使浊度增加,在340 nm波长下进行透射比浊,浊度变化和所反映的清蛋白浓度于一定区间内呈比例关系。

1.4.4 尿 NAG 的检测 利用酶比色法严格按照仪器的标准操作程序对高血压组和健康对照组的尿 NAG 含量进行测定。原理:在第一反应中用己糖激酶(HK)消去血清中内源性葡萄糖的影响,在第二反应中 NAG 作用于基质 P-硝基苯酚-N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷(PNP-NAG),生成 N-乙酰氨基葡萄糖。此 N-乙酰氨基葡萄糖在 N-乙酰氨基葡萄糖氧化酶(NAGOD)的作用下生成 H₂O₂。此 H₂O₂ 在过氧化物酶(POD)的作用下

与高灵敏的发色剂双[3-双(4-氯酚)甲基-4-二甲氨基苯基]胺(BCMA)]反应,生成绿色色素。通过测定此色素可求得 NAG 的活力。

1.4.5 尿 Cr 的检测 利用酶法严格按照仪器的标准操作程序对患病组和对照组的尿 Cr 含量进行测定。原理:在第一步反应中,用肌酸(脱氢)酶和肌氨酸氧化酶消除样品中的内源性肌酸和肌氨酸的影响。在第二步反应中,样品中的 Cr 在酞酶的作用下生成肌酸,再在肌酸(脱氢)酶和肌氨酸氧化酶的作用下生成过氧化氢,过氧化氢在过氧化物酶的作用下生成醌系色素,由此可测得 Cr 的含量。

1.5 统计学处理 运用统计学软件 SPSS 16.0,所有参数均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,并运用 t 检验进行各组数值显著性比较,χ² 检验进行百分率差异性比较。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组中尿 mAlb 水平和尿 NAG 水平的比较 对高血压各组尿 mAlb、尿 NAG 检测结果见表1。

2.1.1 高血压组与健康对照组的比较 高血压组尿 mAlb、尿 NAG 水平均明显高于健康对照组(P<0.01)。

2.1.2 有蛋白尿组与无蛋白尿组的比较 高血压有蛋白尿组尿 mAlb、尿 NAG 水平均明显高于无蛋白尿组(P<0.01),提示:尿 mAlb、尿 NAG 水平与高血压病情呈正相关。

2.1.3 EHA 组、EHB 组、EHC 组与健康对照组的比较 EHA 组、EHB 组、EHC 组尿 mAlb、尿 NAG 水平均明显高于健康对照组,差异均有统计学意义(P<0.01);且 EHA 组、EHB 组、EHC 组患者两项指标水平依次呈上升趋势。提示:尿 mAlb、尿 NAG 水平与高血压病情呈正相关。

表1 高血压病各组尿 mAlb、NAG 检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	n	mAlb/Cr(mg/mmol)	NAG/Cr(U/mmol)
高血压组	180	49.62±42.18	11.89±7.33
有蛋白尿组	72	108.24±42.26	21.63±6.89
无蛋白尿组	108	9.91±3.78	4.86±1.57
EHA 组	52	6.58±3.92	4.83±0.81
EHB 组	79	55.69±31.36	12.74±4.20
EHC 组	49	82.30±35.21	19.03±6.47
健康对照组	100	3.25±1.27	2.73±0.89

2.2 无尿蛋白组尿 mAlb 和尿 NAG 联合检测阳性结果的比较 阳性判定标准:以尿 mAlb、尿 NAG 定量检测超过正常上限+2s,即尿 mAlb/Cr>5.98 mg/mmol、尿 NAG/Cr>4.61 U/mmol 判为阳性。108 例尿蛋白定性阴性患者中尿 mAlb、NAG 阳性检测结果见表2。高血压患者中尿 NAG 阳性率高于尿 mAlb 阳性率,两项联合检测阳性率高于尿 mAlb/Cr、NAG/Cr 单一检测的阳性率(P<0.01)。

表2 无蛋白尿组尿 mAlb、NAG 阳性检测结果[n(%)]

组别	n	mAlb/Cr 阳性	NAG/Cr 阳性	mAlb/Cr 和(或) NAG/Cr 阳性
无蛋白尿组	108	64(59.3)	70(64.8)	85(78.7)
健康对照组	100	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)

3 讨论

mAlb 正常情况下尿中含量极微,健康人尿中有微量(<

22.5 mg/L)的 Alb 排出^[4]。本文结果健康对照组与高血压各组的尿 mAlb 水平均有明显差异,因此尿 mAlb 测定时肾脏早期损伤的重要标志。尿中 NAG 主要来源于肾,特别是近曲小管上皮细胞含有丰富的 NAG,当自身组织受损,特别是近曲小管上皮细胞受损时,尿中 NAG 活性明显增高,且早于其他尿酶,因此对肾小管损伤的早期诊断有较大价值^[5]。Cr 是一种低分子含氮化合物^[6]。尿 Cr 的排出量昼夜相对恒定,受感染的因素较少,是校正尿量不同及个体差异的一个好方法^[7]。即尿 Cr 比值法,指的是用某一次尿(晨尿、随机尿、空腹尿、夜尿等)测定某种成分,然后除以统一尿样的 Cr 含量,以其比值作为该成分含量的参考指标^[4]。

本研究高血压各组尿 mAlb 和尿 NAG 水平明显高于健康对照组,说明高血压患者伴有肾小球及肾小管的损伤。尿蛋白定性阴性高血压患者的尿 mAlb、尿 NAG 明显高于 NC 组,说明高血压患者此时肾小球及肾小管已发生一些早期损伤。EHA 组、EHB 组、EHC 组尿 mAlb、尿 NAG 水平与健康对照组相比均有明显差异,且三组患者两项指标依次升高,说明尿 mAlb 和尿 NAG 水平与高血压病程呈正相关。108 例尿蛋白定性阴性高血压患者中尿 mAlb 阳性的有 64 例(59.3%),尿 NAG 阳性的有 70 例(64.8%),尿 NAG 阳性率高于尿 mAlb 阳性率,提示尿 NAG 较尿 mAlb 更敏感。尿 NAG 与尿 mAlb 两者呈明显正相关。可能原因是肾小管损伤先于肾小球,但肾小管的损伤较肾小球轻微。由于肾小动脉硬化引起缺血,肾小球出于高灌注状态,肾小管血液供应来源于肾小球,故其对缺血更为敏感易受损害。高血压患者尿 mAlb 和尿 NAG 联合检测的阳性率为 78.7%,明显高于尿 mAlb、尿 NAG 单一阳性率,两者联合检测能提高检出率。因此,不能单以尿蛋白定性作为筛选高血压肾损害的筛查指标,而应同时选做尿 mAlb、尿 NAG 等灵敏的指标联合检测,以减少高血压早期肾损伤的漏诊。

本文研究结果发现,高血压患者的尿 mAlb 和尿 NAG 水平明显高于健康人,说明早期肾功能损伤在高血压患者中发生率很高。随着高血压病程的延长,患者两项指标依次升高,说

明尿 mAlb 和尿 NAG 水平与高血压病程呈正相关。尿蛋白定性阴性高血压患者中尿 NAG 阳性率高于尿 mAlb 阳性率,提示尿 NAG 较尿 mAlb 更敏感,且尿 NAG 与尿 mAlb 两者呈明显正相关。高血压患者尿 mAlb 和尿 NAG 联合检测的阳性率显著高于尿 mAlb、尿 NAG 单一阳性率,说明两者联合检测能提高高血压早期肾损伤的检出率。

综上所述,由于高血压患者尿蛋白定性阴性与血尿素氮、肌酐正常者并不排除肾脏病理损害的存在,并且肾活检是创伤性检查不易被患者接受,所以尿 mAlb 联合 NAG 检测对于高血压肾脏早期损害有重要的临床意义,是早发现、早治疗、防止肾损害进一步发展的指标。他们可为肾脏损伤程度的检测及疗效观察提供可靠依据,减少高血压早期肾损害的漏诊;有利于临床医生正确指导患者进行治疗,早期诊断,阻止高血压肾病的发生、发展,提高高血压患者的生活质量。

参考文献

- [1] 王珏. 血、尿生化指标联合检测对高血压和糖尿病患者早期肾损伤的诊断意义[J]. 医学信息, 2011, 24(1): 350-351.
- [2] 牛九辰. 尿微量清蛋白测定对高血压早期肾损伤诊断探讨[J]. 中国基层医药, 2009, 16(2): 331.
- [3] 林青, 阮诗玮, 许少峰, 等. 尿微量蛋白联合尿酶诊断肾脏早期损伤[J]. 中华医学检验杂志, 1999, 22(5): 312-313.
- [4] 程苏琴, 朱美财. 尿微量蛋白在糖尿病肾损伤早期诊断中的价值[J]. 中华检验医学杂志, 2011, 28(7): 740-747.
- [5] 全国卫生专业技术资格考试专家委员会. 临床医学检验技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 390-404.
- [6] 杨秀静, 程金华, 刘沫然. 两种酶法测定肌酐的结果比较[J]. 检验医学, 2009, 24(11): 852.
- [7] 鲍云非, 王兰, 左力. 24 小时尿肌酐检测样本保存方法的探讨[J]. 医学检验, 2009, 24(12): 866-868.

(收稿日期: 2012-02-15)

• 临床研究 •

乙型肝炎血清学少见模式与核酸定量分析

李冬梅, 公洁(甘肃省张掖市人民医院检验科 734000)

【摘要】目的 通过乙型肝炎(乙肝)血清学少见模式与核酸定量对比分析,了解少见模式中核酸复制情况,为临床判断少见模式的传染性及采取有效的治疗方案提供科学依据。**方法** 分别采用酶联免疫吸附试验(ELISA)和实时荧光定量进行血清学检测和乙肝核酸定量检测。**结果** 模式“1、3”所占比例最高,达 70.19%,核酸载量对数值 7.81 ± 1.22 ,传染性较强;HBsAg、抗 HBs 同时阳性者占少见模式的 18.5%;HBeAg、抗-HBe 同时阳性占 4.65%,核酸载量对数值 8.34 ± 0.44 ,是病毒复制最高的一组。**结论** 临床实验室检测到乙肝少见模式应引起重视,及时与临床沟通,并结合 HBV DNA 检测及临床资料,综合分析 HBV 复制、感染状况及产生少见模式的真正原因,为临床的诊断和治疗提供可靠的依据。

【关键词】 乙型肝炎; 少见模式; 核酸定量

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.20.044 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)20-2611-03

人体感染乙型肝炎(乙肝)病毒后,血清中抗原、抗体的变化有一定的规律性,而有些模式难以用乙肝病毒感染后血清学指标规律性的改变来解释。少见模式的出现是多种因素造成的,如果排除试剂、操作及其他干扰因素,根本原因是病毒变异

或人体免疫状态改变所引起。乙肝病毒的变异是在慢性感染过程中为适应生存环境而自然发生的,特别是近几年抗乙肝药物以及疫苗的广泛应用,使乙肝病毒的突变发生率明显增加,使临床检测血清学指标的模式有所改变。而人体免疫状态的