

生化分析仪,各项目测定均按照实验室 SOP 操作,每天做室内质控均在控。参考值:TBA 0~10 μmol/L; ADA<24 U/L; ALT<40 U/L,超过上限为阳性。

1.4 统计学方法 测定结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组与健康对照组比较采用 *t* 检验,检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组 TBA、ADA 和 ALT 检测结果 见表 1。从表 1 中可以看出,各种肝病患者 TBA、ADA 和 ALT 的含量与健康对照组相比均明显升高:TBA 除慢性肝炎外其他病例都有较高 TBA 含量,差异有统计学意义($P<0.01$);ADA 在各种肝病患者中均有不同程度的升高(均 $P<0.01$),其中以肝硬化升高最为明显;ALT 在急性肝炎组明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 各组肝病患者血清 TBA、ADA、和 ALT 阳性检出率 见表 2。从表 2 可以看出,TBA 在各类肝病中阳性检出率以肝硬化为最高,其次为肝癌、急性肝炎、慢性肝炎;ADA 在各类肝病中阳性检出率由高到低依次为肝硬化、急性肝炎、肝癌、慢性肝炎。其中肝硬化及急性肝炎阳性检出率均超过 80%,急性肝炎时 ALT 阳性检出率达到 100%。

表 1 各组 TBA、ADA 和 ALT 检测结果比较($\bar{x} \pm s$)				
组别	<i>n</i>	TBA(μmol/L)	ADA(U/L)	ALT(U/L)
急性肝炎	32	91.5±29.2*	31.9±25.6*	369.4±138.0**
慢性肝炎	25	25.8±10.8*	28.4±13.8*	63.9±15.9*
肝硬化	29	33.6±16.6*	37.3±12.3*	42.9±16.5*
肝癌	14	55.3±27.6*	30.8±16.2*	82.7±24.6*
健康对照组	98	6.2±1.6	19.8±6.3	23.3±12.2

注:肝病组与健康对照组比较,* $P<0.01$,** $P<0.05$ 。

表 2 各组肝病患者血清 TBA、ADA 和 ALT 阳性检出率(%)				
组别	<i>n</i>	TBA	ADA	ALT
急性肝炎	32	87.5	81.3	100.0
慢性肝炎	25	72.0	52.0	60.0
肝硬化	29	93.1	89.7	37.9
肝癌	14	92.9	71.4	35.7

3 讨 论

血清中 TBA 是唯一可同时反映肝脏分泌状态、肝脏合成和代谢、肝细胞损害情况这 3 个方面的血清指标^[3]。当肝细胞

损伤或胆道阻塞时,都会引起 TBA 的代谢障碍,常表现为患者血清中 TBA 因清除力下降而浓度升高。在肝脏疾病时,升高尤为明显。从本文资料看,作者将肝病患者血清 TBA、ALT 进行比较发现急性肝炎两项指标都较敏感,但肝硬化、肝癌 TBA 阳性率则远高于 ALT,与文献^[4]报道相一致,提示 TBA 对肝硬化的诊断和病情观察是一项有特色的指标。有文献研究认为血清 TBA 是一项灵敏的肝功能检测指标,在肝细胞有较轻微损伤时 TBA 的升高比其他常规肝功能指标更为敏感^[5]。

血清中 ADA 是肝细胞的胞质酶,任何原因的肝细胞损伤其肝细胞膜的通透性就会增强,血清中 ADA 酶的活性升高,故该酶可以作为反映肝实质损伤的指标^[6],其特点是反映肝病残存病变较 ALT 为优,慢性肝病尤其是肝硬化时 ADA 阳性率明显高于 ALT,对肝硬化的辅助诊断价值较为突出。

综上所述,联合测定肝病患者血清中 TBA 和 ADA 活性对于了解肝脏的损害、纤维化程度、治疗效果观察和预后都有一定的临床意义。同时测定 TBA、ADA 与 ALT 活性能更全面地反映肝脏疾病的酶学改变,有助于对肝实质细胞损伤和坏死程度的评估。

参考文献

[1] 彭健新. 8 项生化指标在常见肝病中的诊断意义及相关分析[J]. 中国当代医药,2011,18(13):77-78.
[2] 叶应抚,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.
[3] 陈文旭,何秀琴,王华妮. 肝病患者血清总胆汁酸测定的意义:附 28 例分析[J]. 福建医药杂志,2009,31(2):104-106.
[4] 张海荣. 146 例肝脏疾病临床诊断中血清总胆汁酸的价值[J]. 检验医学与临床,2009,6(21):1853-1854.
[5] 陈洁,何健军,屠士行. 血清总胆汁酸测定在慢性肝炎与肝炎后肝硬化的临床意义[J]. 浙江预防医学,2002,14(3):13-14.
[6] 徐克诚,孟宪镛. 临床肝胆病学[M]. 天津:天津科学技术出版社,1987:282-283.

(收稿日期:2012-08-12 修回日期:2012-12-12)

• 临床研究 •

血清蛋白电泳和免疫固定电泳在多发性骨髓瘤中的应用分析

王育芳,王佳丽,马顺高(云南省大理州人民医院检验科 671000)

【摘要】 目的 探讨血清蛋白电泳和免疫固定电泳技术在多发性骨髓瘤(MM)诊断中的价值。方法 对 49 例 MM 的血清蛋白电泳和免疫固定电泳结果进行分析。结果 49 例 MM 在免疫固定电泳中 47 例均可见与对应抗血清形成单克隆条带;而在血清蛋白电泳中 31 例检出 M 带,其余的 18 例血清蛋白电泳出现不明显条带或不出现条带的标本经免疫固定电泳分析,8 例为重链型,2 例为轻链型,1 例 IgA 型,其余为未分泌型。结论 血清蛋白电泳和免疫固定电泳是 MM 的诊断和鉴别诊断的重要检查方法,后者有较高的敏感性和特异性。

【关键词】 多发性骨髓瘤; 血清蛋白电泳; 免疫固定电泳

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.05.033 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)05-0577-03

多发性骨髓瘤(MM)又名浆细胞骨髓瘤,是以克隆性恶性浆细胞(骨髓瘤细胞)在骨髓中异常增殖,并伴有单克隆免疫球

蛋白(即 M 蛋白)增多为特征的疾病^[1]。M 蛋白的检测及分型对 MM 的早期诊断、鉴别诊断、分类以及判断预后就显得尤为重要。本文对本院自 2007 年以来的 49 例多发性骨髓瘤患者的血清蛋白电泳和免疫固定电泳结果进行分析,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2007 年 1 月至 2012 年 6 月本院共收集符合 MM 诊断标准^[1]的 49 例 MM 患者,其中男 26 例,女 23 例,年龄 30~82 岁,中位年龄 56 岁,进行血清蛋白电泳和免疫固定电泳检测。

1.2 方法 血清蛋白电泳、血清免疫固定电泳、尿本周蛋白电泳:使用法国 Sebia HYDRASYS 全自动电泳仪上进行电泳分离、染色、脱色和干燥等步骤,然后用光密度扫描仪扫描凝胶片,用 Sebia EPSON 公司配套软件分析。

1.3 统计学方法 采用 SPSS12.0 统计软件包, χ^2 检验进行统计分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 血清蛋白电泳结果 49 例 MM 血清蛋白电泳 31 例检出 M 带,8 例 M 蛋白分布在 β 区带,23 例 M 蛋白分布在 γ 区带,其余 18 例出现极不明显的或不出现 M 带,诊断率为 63.3%。见图 1。

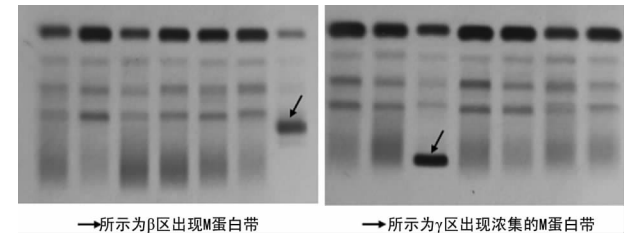


图 1 MM 血清蛋白电泳图谱

2.2 49 例 MM 血清免疫固定电泳分析结果 49 例 MM 经免疫固定后,有 47 例均可见与对应抗血清形成单克隆条带,各型均呈现明显浓集的浓染带,见图 2。其中有 18 例经 SPE 电泳后出现不明显条带或不出现条带的标本经血清免疫固定电泳分析,8 例为重链型,2 例为轻链型,1 例 IgA 型,其余为未分泌型。进一步分析结果显示,49 例 MM 中,IgG 型 29 例(59%),为最多。在 IgG 型中, κ 型 13 例, λ 型 16 例;IgA 型 8 例次之,在 IgA 型中, κ 型 3 例, λ 型 5 例;IgM 型较少,仅 1 例,为 λ 型,见表 1。同时在 49 例 MM 中,有 21 例 MM 经本周蛋白免疫固定电泳后呈现明显浓集的浓染带。尿本周蛋白检出阳性率为 42.8%。

表 1 49 例 MM 血清免疫固定电泳分析结果

分型	n(%)	血清免疫固定电泳(n)	
		κ 型	λ 型
IgG	29(59)	13	16
IgA	8(16)	3	5
IgM	1(2)	0	1
轻链型	7(14)	1	6
未分泌型	4(8)	1	3

2.3 血清蛋白、血清免疫固定以及尿本周蛋白电泳 3 种方法比较 对 2007 年以来的 49 例 MM 患者血清或尿液标本分别用血清蛋白、血清免疫固定以及尿本周蛋白电泳 3 种方法进行

检测,结果显示,3 种方法检测结果具有统计学意义($\chi^2 = 33.85, P<0.01$)。见表 2。

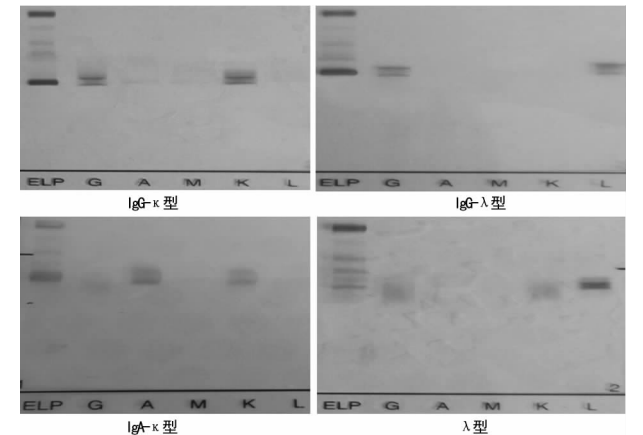


图 2 MM 血清免疫固定电泳图谱

表 2 49 例 MM 血清蛋白电泳、血清免疫固定以及尿本周蛋白电泳分析结果

方法	MM 阳性病例数	MM 阴性病例数	阳性率(%)
血清蛋白电泳	31	18	63.30
血清免疫固定电泳	47	2	95.91
尿本周蛋白电泳	21	28	42.8

3 讨 论

MM 是一种单克隆浆细胞异常增殖的恶性肿瘤,异常浆细胞浸润骨髓和软组织产生 M 蛋白^[1],并以单克隆免疫球蛋白增高为特征,由于恶性增生的浆细胞浸润骨髓,导致溶骨性病变,剧烈骨痛,病理性骨折,又因瘤细胞侵犯多个脏器,临床表现形式多样化,临床易发生误诊和漏诊,误诊率高^[2]。本文许多病例未有骨痛、病理性骨折,绝大多数病例临床症状不典型。MM 患者有明显的年龄指征,多见于中老年人,青壮年少见或罕见,该病近年来有逐渐增加趋势。以往 MM 患者只有做骨髓细胞学检查才能诊断,但因骨髓常出现干抽,稀释,灶性分布或骨髓纤维化而致漏诊^[3]。本文对 2007 年以来的 49 例 MM 患者血清或尿液标本分别用血清蛋白、血清免疫固定以及尿本周蛋白 3 种电泳方法进行检测,血清免疫固定电泳和血清蛋白电泳检测出阳性率较高,检出阳性率分别为 95.91% 和 63.30%,表明血清蛋白电泳和免疫固定电泳是 MM 的诊断和鉴别诊断的重要检查方法,为 MM 疾病的早期诊断提供及时、准确的实验室依据。

血清蛋白电泳是分离蛋白质最简单的方法之一,可以获得有关血浆蛋白质全貌的图谱,并对血清中异常蛋白质进行筛选^[4]。本文采用 sebia 全自动电泳系统对 49 例 MM 患者进行血清蛋白电泳,在 β 或 γ 区发现一单克隆带,经扫描显示基底窄、波峰高而尖的典型 M 蛋白特征。结果出现蛋白带的阳性率为 63.3%,血清蛋白电泳不是确诊试验,但是它具有结果准确、重复性好、分辨率高的优点,可清晰地各蛋白区带显示出来,观察电泳特征性图谱及测定值较全面,直观地反映蛋白质的分离程度和各种变化,可为多种疾病如 MM、肝硬化和恶性肿瘤等疾病提供准确、可靠的诊断依据及其治疗都有一定的意义。

免疫固定电泳技术是目前最广泛地用于鉴别 M 蛋白的方法之一,有文献报道 90% 以上的 MM 患者血清及尿中可检测

到 M 蛋白,是 MM 的重要诊断指标之一^[5-6]。本文中血清蛋白电泳的检出率 63.3%,免疫固定电泳检出率达 95.91%,免疫固定电泳检出率明显高于血清蛋白电泳,而且通过免疫固定电泳还可以直接判断 M 蛋白类型。不同的免疫球蛋白类型会出现不尽相同的临床结果,如 IgG 型极易诱发感染;IgA 型 MM 易聚集成多聚体而引起高黏滞血症,易引起高钙血症和高胆固醇症;IgM 型 MM 发病年龄相对较年轻,易见髓外浸润,骨质硬化等;轻链型 MM 由于瘤细胞合成的异常免疫球蛋白重链比例失衡,过多的轻链分泌,而轻链分泌又很小,可通过肾小球,沉积于肾小管上皮细胞,使之变性,造成肾功能损害,其中又以 μ 链引起的肾功能损害最为多见。有文献报道 IgA 型和轻链型预后较差^[6],所以免疫固定电泳通过对 M 蛋白的分型,对 MM 的预后治疗具有一定意义,而且简便切实可行,适用于临床常规应用。作者认为近年来本病的发病率确有增加趋势,发病率的增高应与先进医疗技术在临床的应用有很大关系,也是检出病例增多的重要因素。

在临床实践中,凡遇中老年患者血清总蛋白和球蛋白明显增高,清蛋白降低,清蛋白/球蛋白比率严重倒置,尿蛋白阳性或慢性肾炎,肾衰竭,贫血患者,均应考虑 MM 的可能,应建议临床做骨髓检查、血清蛋白电泳、免疫固定电泳等相关检查以求确诊。

参考文献

- [1] Ronald Hoffman, Edward Benz, Sanford Shattil, et al. Hematology-basic principles and practice[M]. 4th ed. New York:Churchill Livingstone, 2005:501-1505.
- [2] 张伯龙,徐君东.血液病误诊误治与防范[M].北京:科学技术文献出版社,2002:111-121.
- [3] 詹其林,许小平.多发性骨髓瘤 102 例临床分析[J].中华新医学,2002,3(7):591-592.
- [4] 王彩云,杨敬芳,田亚平. SEBIA 电泳仪及其配套试剂测定血清蛋白电泳的方法学评价[J].现代检验医学杂志,2003,18(2):6-7.
- [5] 刘金英,翟玉华,孙卫红.免疫固定电泳技术在 M 蛋白免疫分型中的应用[J].现代检验医学杂志,2006,21(5):57.
- [6] 刘汐盈,孙淑艳,宋媛媛.血清免疫固定电泳、蛋白电泳、免疫球蛋白及轻链定量对多发性骨髓瘤临床诊断价值探讨[J].中国实验诊断学,2010,14(5):680-681.

(收稿日期:2012-08-09 修回日期:2012-11-05)

• 临床研究 •

40 例慢性乙型肝炎患者血清 HBV P 基因变异及突变频率检测

赵建华,吴月平(江苏省南通市第三人民医院 226006)

【摘要】 目的 观察核苷(酸)类药物不同时间段慢性 HBV 感染患者血清乙型肝炎病毒聚合酶(HBV P)基因序列变异特点及突变频率。**方法** 运用焦磷酸测序仪器配套的软件 Assay Design SW 在目的区域两端保守区域设计 PCR 引物及测序引物,采用套式 PCR 方法检测血清中 HBV-DNA,按照 PyroMark ID 遗传分析系统用 SNP 模式进行 PCR 产物 HBV 相关位点的焦磷酸测序;40 例慢性 HBV 感染患者进行 P 基因变异、突变频率检测的同时测定 HBV-DNA、HBV M、ALT。**结果** 40 例患者中 18 例发生变异,变异模式以经典突变 L180M、M204V/I、A181V/T、N236T 突变为主,加少量 V173L、S202G 突变;发生变异者耐药突变型在样本中所占比例由 20%到 100%;HBV P 基因变异可以在 HBV-DNA、ALT 发生突破前、中、后检出;HBeAg、HBeAb 阳性者 P 基因变异率分别为 46.2%(12/26)、41.7%(5/12)($P>0.05$),两例 HBeAg、HBeAb 均阴性者中 1 例 P 基因区变异。**结论** 焦磷酸测序可以快速、准确的检测出 HBV P 基因变异;HBV P 基因变异模式、突变频率与核苷类药物敏感性密切相关。

【关键词】 乙型肝炎病毒; P 基因; 准种; 变异

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.05.034 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)05-0579-03

拉米夫定(LAM)在临床应用过程中耐药发生率较高,治疗 1 年,其基因型耐药率为 14%~32%,治疗 5 年后,此耐药率达到 60%~70%。阿德福韦酯(ADV)对 HBV 野生株和 LAM 耐药株均有明显抑制作用。恩替卡韦(ETV)对 HBV 复制有较强的抑制能力,其治疗 5 年的基因型耐药率为 1.2%,临床耐药率为 0.8%。多个核苷类抗病毒药物联合或序贯治疗可导致对多个核苷类似物耐药的 HBV 毒株产生。HBV 以称为“准种(quasispecies)”的遗传学上紧密联系而又互不相同的变异群体的形式存在于任一宿主体内,在环境压力和自身适应力的共同选择下不断进化。本试验对接受核苷(酸)类药物治疗的慢性乙型肝炎患者的血清、病毒学标志物及体内 HBV 准种的演变进行了初步研究,以探讨乙型肝炎病毒聚合酶(HBV P)基因变异特点、突变频率及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 对 2008 年 12 月至 2011 年 6 月南通市第三人民医院感染科送检的 40 例慢性乙型肝炎患者血清标本进行 HBV P 基因分析,其中男性患者 34 例,女性患者 6 例。年龄 22~63 岁。患者分别处于接受核苷(酸)类药物治疗前、中、后,有完整的核苷(酸)类治疗病史记录,单用拉米夫定(LAM)3 例、阿德福韦酯(ADV)3 例、恩替卡韦(ETV)3 例、替比夫定(L-dT)3 例,28 例序贯治疗或联合治疗均在临床治疗欠佳或出现病毒学甚至生物化学突破时使用。

1.2 方法

1.2.1 HBV 血清标志物检测 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 采用微粒酶免疫法检测(MEIA 法,Abbott 试剂),血清中 HBV-DNA 含量检测采用荧光 PCR 法(上海科华