

临床化学 诊断方法 大全

北京大学出版社

临床化学诊断方法大全

主 译 校

林其燧 文庆成

译 校

林其燧	文庆成	高崇玄	范贤骏
寇丽筠	薛 延	赵 霖	杨敏言
孟广政	李述信	刘惠芬	鲁连胜

译者（以姓氏笔划为序）

丁学潮	文庆成	王兆成	冯 玲
孙梅励	江 兵	朱月明	朱立华
刘亚欣	李文菁	何立千	陈煜清
苏 薇	芮 茗	沈惠麒	林其燧
范贤骏	周学瀛	顾小丽	项明燕
寇丽筠	祝 荣	杨敏言	张 霖
拾景达	高崇玄	高金辉	刘惠芬
褚为靖	雷司安	赵 霖	薛 延

北 京 大 学 出 版 社

内 容 简 介

本书由世界范围内的100多位医学专家撰写,中国20余位医学专家翻译,介绍了世界上最先进、最适用、最易在大、中、小医院采用的临床化学实验诊断方法。

书中讨论了肾病、电解质紊乱和酸碱平衡失调病、糖尿病、先天性代谢疾病、癌症、胰腺疾病和吸收不良、内分泌疾病、甲状腺疾病、临床毒理、妊娠和胎儿功能、神经与精神疾病、心脏病和肌病、高血压、骨病和钙磷代谢异常、肝脏疾病、高血脂症、血液病等19类疾病诊断用163项临床化学检验方法,提出了参考或建议采用的方法。此书出版可弥补国内这类专业书匮乏的状况。

本书可供从事临床化学检验、医学临床研究和实验诊断教学等方面人员的学习参考。

31121/12

临床化学诊断方法大全

林其燧 文庆成等 译

*

北京大学出版社出版

(北京大学校内)

北京市昌平环球科技印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

787×1092毫米 16开本 67.5印张 1693千字

1996年1月第一版 1990年1月第一次印刷

印数: 0001—2000册

ISBN 7-301-01034-6/R·004

定价: 40元

译 者 的 话

本书是译自美国1987年出版的《Methods in Clinical Chemistry》，由A.J.Pesce和L.A.Kaplan主编，国际性撰稿人多达101位，他们全面系统、深入地将近年来有关临床化学的基础和应用科学发展成果融汇综合到这本书中，重点介绍至今最先进而又实用性强的分析方法。编者独具匠心，从临床诊断的角度，将163项化验归到19类疾病的实验探讨之中，从而使此书具有实验室与临床相结合的特点，临床医生可从书中找到有关疾病诊断、疗效观察、病程判断和预后等有价值的临床化学指标和化验组合的选择以及化验结果的分析、判断和解释，实验室技术人员对照书中介绍的技术方法，可以了解自己实验室在现代临床化学领域中所处的位置，哪些方法已经落后应当淘汰、应当增加什么和采用什么技术才能达到尽可能完善的地步。所以本书不仅是临床化学工作者必备的工具书，也是理论与实践相结合的临床化学教课书，同时是临床医生难得的参考书，这正是我们一看到此书，便爱不释手，产生将全书翻译出来奉献给国内同行的原因。

本书对每个分析物都按下述统一格式进行介绍：——分析原理和应用现状——参考和建议采用的方法——标本——实验方法——参考值范围——说明。

分析原理和应用现状一段可以说是方法学发展历史的回顾，并以表格顺序列出有代表性的方法的实验原理、优缺点评价和应用现状，从而形成系统、全面而概括的印象，如再参阅书中精心给出的参考文献，则可以逐一追踪深入了解（由于篇幅所限，本书未将参考文献印出，如需要可查原著，请读者谅解。）。在此基础上每位撰稿人根据实验方法评价及不同级别实验室的需要和可能提出了参考和建议采用的方法，比较了方法的精确性和准确性、干扰物质和应用的难易程度等。如已有可供使用的商品试剂盒作者也都予以介绍。标本一段给出了可供分析的体液种类、标本的防腐、稳定的温度和时间。书中推荐了很多在世界范围内应用的优秀方法的实验程序，其中包括一些国家或国际临床化学协会所提出的参考方法。书中给出的资料详细而严谨，包括全部所需试剂的配制、标准曲线的绘制、实验步骤、结果计算和其它实用的注意事项。给出的参考值范围考虑了年龄、性别和种族等因素的影响，并以重量单位和SI单位表示。说明一段，一般都简单复习了有关生理和病理过程以及化学和生物化学资料，这些资料将有助于读者深入理解每个测定项目的临床意义及分析原理。

我们相信本书的出版将弥补国内这类专业书一直匮乏的现状，满足临床化学、医学科研、教学和实验室初、中、高技术人员的需求。

由于译者水平有限，译文中难免有错误和欠妥之处，恳请读者给予批评指正。

林其斌 文庆成 1990年1月

目 录

第一章 肾病..... (1)

1. β_2 -微球蛋白 (β_2M) (4)
2. 肌酐..... (8)
3. 渗透量..... (14)
4. 尿素..... (17)
5. 尿酸..... (22)
6. 总尿蛋白..... (28)

第二章 电解质紊乱及酸碱平衡失调

- (38)
7. 阴离子差..... (41)
8. 血气分析和氧饱和度..... (43)
9. 二氧化碳..... (54)
10. 氯..... (59)
11. 乳酸..... (64)
12. 丙酮酸..... (68)
13. 钠和钾..... (71)

第三章 糖尿病..... (77)

14. 乙酰乙酸..... (79)
15. β -羟丁酸..... (82)
16. 葡萄糖..... (85)
17. 糖化血红蛋白..... (93)
18. 糖化蛋白质 (白蛋白和总蛋白)
..... (97)
19. 胰岛素 C-肽..... (102)
20. 酮类 (107)

第四章 先天性代谢疾病 (112)

21. α_1 -抗胰蛋白酶..... (118)
22. 氨基酸过筛检查 (123)
23. 糖的过筛检查 (130)
24. 铜蓝蛋白 (133)
25. 胆碱酯酶 (136)
26. 亚胺甲基谷氨酸 (143)
27. 半乳糖-1-磷酸尿苷酰转移酶

..... (147)

28. 甲基丙二酸 (156)
29. 粘多糖类 (161)
30. 有机酸的筛检 (172)
31. 苯丙氨酸 (175)

第五章 内分泌功能 (甲状腺除外)

- (180)
32. 促肾上腺皮质激素 (185)
33. 皮质醇 (190)
34. 去氢表雄酮及其硫酸盐 (196)
35. 生长激素 (203)
36. 17-酮类固醇..... (209)
37. 孕酮 (213)
38. 催乳素 (217)
39. 睾丸酮 (224)

第六章 甲状腺疾病 (228)

40. 游离甲状腺素和游离三碘
甲状腺原氨酸 (232)
41. T_3 摄取试验 (245)
42. 促甲状腺素 (249)
43. 甲状腺素 (254)

第七章 临床毒理学 (260)

44. 乙酰氨基苯酚 (265)
45. 醇 (273)
46. 铝 (278)
47. 砷 (283)
48. 溴 (288)
49. 镉 (291)
50. 碳氧血红蛋白 (一氧化碳)
..... (305)
51. 药物筛选 (311)
52. 氯乙基戊烯炔醇 (325)
53. 乙二醇 (329)

54. 铅	(334)	第十二章 肿瘤	(574)
55. 汞	(343)	87. 酸性磷酸酯酶、总酶	(576)
56. 鸦片制剂	(347)	88. 本周氏蛋白	(583)
57. 水杨酸类	(354)	89. 降钙素	(588)
第八章 治疗药物监测	(361)	90. 癌胚抗原 (CEA)	(593)
58. 环孢霉素	(362)	91. 5-羟基吡啶乙酸	(602)
59. 庆大霉素和氨基糖甙类抗 生素	(366)	92. 高香草酸	(608)
60. 锂	(374)	93. 免疫电泳	(613)
61. 茶碱和咖啡因	(378)	94. 免疫球蛋白定量	(620)
第九章 妊娠和胎儿功能	(385)	95. 溶菌酶	(626)
62. 甲胎蛋白	(388)	96. 黑素	(630)
63. 羊水中胆红素	(394)	97. 氨甲蝶呤	(633)
64. 羊水中磷脂——L/S比 例和PG	(400)	98. 前列腺酸性磷酸酶	(640)
65. β -人绒毛膜促性腺激素 ..	(411)	99. 类固醇激素受体	(646)
66. 雌三醇	(419)	100. 5-羟色胺	(675)
第十章 营养评价	(431)	101. 血清蛋白电泳	(681)
67. 胡萝卜素的测定	(435)	第十三章 胰腺和吸收不良	(688)
68. 铬的测定	(440)	102. 淀粉酶	(692)
69. 铜	(446)	103. 淀粉酶同工酶	(696)
70. 叶酸	(457)	104. $^{14}\text{CO}_2$ 呼吸试验	(704)
71. 硒的测定方法	(461)	105. 脂肪吸收	(705)
72. 维生素A的测定方法	(467)	106. 粪便电解质与渗透量	(710)
73. 维生素B ₆	(473)	107. 胃液分析	(712)
74. 维生素B ₁₂ 的测定	(484)	108. 脂肪酶	(715)
75. 维生素C的测定	(488)	109. 西林氏试验	(720)
76. 维生素E	(495)	110. 胰蛋白酶	(723)
77. 维生素K的测定	(504)	111. D-木糖	(727)
78. 锌的测定	(508)	第十四章 心脏和肌肉疾病	(733)
第十一章 神经和精神疾病	(514)	112. 醛缩酶	(735)
79. 抗惊厥药	(514)	113. 肌酸	(738)
80. 巴比妥酸盐	(523)	114. 肌酸激酶	(743)
81. 苯二氮草类	(532)	115. 肌酸激酶同工酶	(750)
82. 酰胺咪嗪	(546)	116. 地高辛和毛地黄毒甙	(754)
83. 脑脊髓液蛋白——定量 ..	(554)	117. 乳酸脱氢酶	(759)
84. 脑脊髓液蛋白——分馏 ..	(557)	118. 乳酸脱氢酶同工酶	(763)
85. 氯哌三唑酮	(561)	119. 利多卡因	(766)
86. 三环类抗抑郁药	(565)	120. 肌红蛋白	(771)
		121. 普鲁卡因酰胺和N-乙酰 普鲁卡因酰胺	(775)

122. 奎尼丁..... (779)	144. 游离胆红素和储备胆红素 结合力..... (937)
第十五章 高血压病 (783)	145. γ -谷氨酰转移酶..... (941)
123. 血管紧张素-转换酶..... (785)	146. 5'-核苷酸酶..... (945)
124. 血浆儿茶酚胺..... (793)	147. 血清总蛋白..... (952)
125. 尿儿茶酚胺..... (797)	第十八章 高脂血脂 (957)
126. 变肾上腺素..... (810)	148. 载脂蛋白..... (961)
127. 心得安..... (816)	149. 胆固醇..... (970)
128. 肾素..... (823)	150. 高密度脂蛋白 (HDL) 胆固醇..... (991)
129. 香草扁桃酸..... (828)	151. 脂蛋白电泳..... (1006)
第十六章 骨的疾病与钙镁代谢 ... (840)	152. 环前列腺素和凝血恶烷类 (1020)
130. 钙的测定..... (842)	153. 甘油三酯..... (1026)
131. 离子钙的测定..... (848)	第十九章 血液学疾病 (1038)
132. 镁的测定..... (856)	154. δ -氨基- γ -酮戊酸..... (1039)
133. 甲状旁腺激素的测定..... (861)	155. 铁蛋白..... (1045)
134. 磷的测定..... (869)	156. 血红蛋白 F..... (1048)
135. 维生素D代谢产物的测定 (874)	157. 亲血色蛋白..... (1051)
第十七章 肝病 (887)	158. 血红蛋白的分离和定量 (1053)
136. 丙氨酸氨基转移酶..... (891)	159. 铁和铁结合力..... (1062)
137. 白蛋白..... (895)	160. 卟吩胆色素原..... (1065)
138. 碱性磷酸酶..... (902)	161. 卟吩胆色素原定量..... (1067)
139. 碱性磷酸酶同工酶..... (907)	162. 卟啉组分..... (1071)
140. 氨..... (915)	163. 转铁蛋白..... (1079)
141. 天门冬氨酸氨基转移酶 (918)	
142. 胆酸..... (923)	
143. 胆红素..... (928)	

第一章 肾 病

实 验 室 探 讨

有若干单一的或复合存在的症状使人们想到肾病的可能性，通过对特有的临床症状和实验室检查异常结果的评价，临床医生便能做出肾病的诊断。同样的方法也能用来判断酸碱平衡失调以及水和电解质紊乱。表A1简要列出肾脏严重病理条件下发生的生化与生理学变化。表A2列举的是肾病时尿液一些特异性变化。

表A1 造成肾临床和生化异常的有关病理情况

	AGN	NS	TD	UTI	HT	RVT	DM	UTO	RC	ARF	CRF*
高血压	++	+	○	○	++	±	±	○	○	+	+
浮 肿	+	++	○	○	○	+	+	○	○	+	+
少尿/无尿	+	±	○	○	○	±	○	+	○	+	+
多 尿	○	○	+	○	○	○	+	○	○	○	○
夜 尿	○	±	+	±	○	○	+	±	○	○	+
尿 频	○	○	○	+	○	○	○	±	±	○	○
腰 痛	○	○	○	+	○	+	○	+	+	○	○
贫 血	+	○	○	○	○	○	○	○	○	○	+
↑BUN	+	○	○	○	±	±	±	±	○	+	+
↑肌酐	+	○	○	○	±	±	±	±	○	+	+
↓肾小球滤过率	+	○	○	○	±	±	±	±	○	+	+
↑血钾	±	○	±	○	○	○	○	○	○	+	+
↑血磷	±	○	○	○	○	○	○	○	○	+	+
↓血钙	○	+	○	○	○	○	○	○	○	+	+
↑血尿酸	○	○	+	○	±	○	±	○	±	+	+
酸中毒	○	○	+	○	○	○	○	○	○	+	+
蛋白尿	+	++++	+	±	±	++	+	○	○	±	±
血 尿	++	+	±	+	○	+	○	○	++	+	±
红细胞管型	+	○	○	○	○	○	○	○	○	±	○
脓 尿	±	○	○	++	○	○	○	±	±	○	○
白细胞管型	○	○	○	+	○	○	○	+	○	○	○
尿 糖	○	○	+	○	○	○	++	○	○	○	○

AGN 急性肾小球肾炎；ARF 急性肾功能衰竭；CRF 慢性肾功能衰竭；DM 糖尿病；HT 高血压；NS 肾病综合征；RC 肾结石；RVT 肾静脉血栓；TD 肾小管病；UTI 泌尿系感染；UTO泌尿系梗阻。

○=缺乏；±=不定；+=存在；↑=增加；↓=下降；

BUN 血尿素氮；GFR 肾小球滤过率；RBC 红细胞；WBC 白细胞。

下面病例说明的是临床实验室诊断对肾病、酸碱平衡失调以及水和电解质紊乱的价值，

表A2 肾脏疾病时尿蛋白和显微镜下发现的特点

情 况	蛋 白	红细胞 (每高倍镜视野)	白细胞 (每高倍镜视野)	细菌	管 型 (每低倍镜视野)
正 常	0—痕量	0—3	0—5	0	偶有透明管型
肾小球肾炎	1—++	>20	0—10	0	颗粒管型, 红细胞管型
肾病综合征	++++	0—10	0—5	0	卵圆脂肪管型
					透明管型
肾盂肾炎	0—+	0—10	>30	++	颗粒管型, 白细胞管型

+ 阳性

实验室数据反应的生物化学变化与诊断的一致性是很重要的。

【病例一】 患者男性、72岁,因充血性心力衰竭伴浮肿入院。有十年高血压病史,近四年常常有心绞痛发作。两个月前入院时,患者双下肢浮肿、双侧胸腔积液、肝大;立位与卧位的血压均是180/110mmHg;尿素氮(BUN)为240mg/L,肌酐15mg/L。对病人采取卧床休息、使用地高辛、增加降压药的剂量、静脉注射利尿剂(速尿)及限制每天钠盐的摄入量为1g。

按上述原则治疗两个月后,病人体重减轻了六磅,肝充血和胸水消失,踝部轻度浮肿,卧位血压140/70mmHg,立位90/40mmHg;入院14天后实验室检查:BUN增加至960mg/L,肌酐为62mg/L,第14天尿排出量为300ml。很明显,病人患的是急性肾衰伴氮质血症和少尿。急性肾衰可分为:肾前型、肾型和肾后型。肾后型损害超声波检查不敏感。收集第14天的尿,钠浓度是5mEq/L,肌酐为1300mg/L,尿沉渣未见异常。从尿成分的分析中可以获得重要的信息,这种信息能用于鉴别肾前型氮质血症和急性肾衰^[1]。表A3列出的是肾前型氮质血症和急性肾衰的尿中变化。

表A3 肾前型氮质血症和急性肾衰的尿中变化

实验室检查	肾前型氮质血症	急性肾衰
尿钠浓度(mEq/L)	<10	>20
尿/血浆肌酐比率	>14:1	<14:1
尿沉渣	正常	管型, 细胞碎片

肾前型氮质血症,由于血容量减少,肾脏缺血,肾功能代偿,使肾小管液体和钠的重吸收增加,尿中含氮的废物因尿浓缩而升高,而钠浓度却下降,可低于10mEq/L,尿/血肌酐之比可>14:1;急性肾衰却因肾小管功能受损,钠重吸收减少,而使含氮废物不能浓缩,尿钠浓度通常>20mEq/L,尿/

血肌酐之比<14:1。

本例病人的尿钠浓度是5mEq/L,尿/血肌酐之比为21:1。由于患者应用利尿剂大量排尿,使有效循环血容量不足,导致肾灌流量减少和急性肾前型肾衰。强效利尿药“太有效”产生过度利尿,也使肾血流动力学发生变化。停用利尿药治疗数天,并将钠盐摄入量增加到每天2g,7天之后,病人体重增加了六磅,浮肿稍有加重,但尿量增加,BUN降到300mg/L,肌酐降到16mg/L。

这一病例证明了在临床医学中实验室检查的价值。刚入院时,实验室曾给予急性肾衰的诊断;随后,经过对尿检查结果的仔细分析,才确诊为肾前型氮质血症。

【病例二】 患者女性、45岁,有六年蛋白尿病史。本次入院前12个月发现有肾脏损害,但未返回就诊,此次主诉厌食、恶心、呕吐和浮肿入院。入院后实验室检查:BUN1500

mg/L, 肌酐89mg/L, 血钠135mEq/L, 血氯95mEq/L, 血钾6.7mEq/L, 动脉血pH7.20, 二氧化碳分压 (pCO₂) 19mmHg, 碳酸氢盐12mEq/L; 尿常规检查: 蛋白+++ , 红细胞和颗粒管型大量。本病例的病史提示有慢性肾衰可能, 由慢性肾小球肾炎引起。血肌酐和BUN升高、肾小球滤过率 (GFR) 反射性减少、蛋白尿病史和显微镜检查 (参见表A1和A2) 均支持这一诊断。为本病例所作的临床诊断是根据以下四个方面实验室的结果建立的:

1. 酸碱平衡失调属于什么型? 在不并发慢性肾衰时早期代谢性酸中毒的存在是根据动脉血pH、pCO₂和碳酸氢盐的水平确立诊断; 2. 本例高钾血症的原因是什么? 在慢性肾衰时钾排出减少, 同时体内总钾量升高。酸中毒期间, 机体缓冲机理之一是氢离子从细胞外液转移到细胞内, 氢、钾离子交换, 致使钾离子从细胞内移至细胞外; 3. 病人的阴离子差是多少? 血浆中带正电荷的主要阳离子是钠,

钠离子能中和血中的氯离子和碳酸氢根。阴离子差就是钠离子与氯离子和碳酸氢根之差。正常阴离子差(AG)是8—16mEq/L, 即: AG = 钠142 - (氯103 + 碳酸氢根27)。

在代谢性酸中毒时, 或阴离子差正常伴有血氯明显增加 (高氯型代谢性酸中毒), 或

阴离子差增大。如右表所示, 本例病人阴离子差为28mEq/L, 是伴有阴离子差增大的代谢性酸中毒; 4. 阴离子差增大的原因是什么? 慢性肾衰和游离酸分泌减少, 血浆硫酸、磷酸、肌酐和非蛋白氮离子浓度增加, 这些阴离子使阴离子差增大。本病例说明慢性肾衰时, 实验室检查的异常结果是如何用疾病进程所发生的病理生理学变化加以解释和如何把它们用于确定诊断的。

【病例三】 患者男性、36岁, 患胰岛素依赖性糖尿病20多年, 目前伴有头痛、虚弱、乏力、高血压、浮肿和腹水。实验室检查: BUN 190mg/L, 肌酐14mg/L, 血清白蛋白21g/L, 24小时尿蛋白排出12g/天。血钠126mEq/L, 尿钠排出量4mEq/L, 尿量500ml/天。临床和实验室检查显示病人患有肾病综合征 (表A1和表A2) 和明显的低钠血症。Schziez Bezl[2]概括了低钠血症的诊断与治疗方法, 表A4列出的是以上方法的修改意见。低钠血症常发生在体内总钠量增加伴体液总量过多的时候, 此时细胞外液量急剧增加, 由于体液总量过多, 导

代谢性酸中毒的原因

阴离子差正常	阴离子差增大
碳酸氢盐由胃肠道丢失	肾衰
碳酸氢盐由肾脏丢失	酸性产物增加
营养过度	酸性化合物摄入过量
血容量增加(稀释性酸中毒)	

表A4 低钠血症诊断与治疗方法

类 型	病 因	尿钠浓度 (mEq/L)	治 疗
总体钠和总体液过多 伴浮肿和细胞外液大量增加	肝硬变 心 衰 肾病综合征	<10	限制钠和水 利尿剂
总体液增加伴细胞外液中度 增加, 无浮肿	药物, 甲状腺机能减退 抗利尿激素分泌紊乱	>20	限制水
总体液减少伴总体钠大量缺 失及细胞外液减少	从肾丢失 从胃肠道丢失	>20 <10	盐正常摄入 盐正常摄入

致血钠浓度下降。换言之, 低钠血症是由于体液总量大量滞留血钠被稀释所致, 也就是所谓的稀释性低钠血症。体内总钠量丢失大于体液总量的丢失时, 也会发生低钠血症。然而, 这阶段细胞外液量也缺少, 所以这种类型的低钠血症被称之为体液减少型低钠血症。

以上列举的肾病综合征病例是一种水排泄障碍和进行性低钠血症。这种类型的浮肿患者,肾脏的保钠力加强,尿钠分泌量很低(低于10mEq/L)。给病人增加钠盐摄入,限制入水量及使用温和的利尿药,病人体重逐渐减少,浮肿改善;血钠浓度增加到136mEq/L后,头痛、乏力、厌食等各种低钠血症的症状都随之消失。这一病例再次证明,在疾病的各个病理生理阶段中,临床与实验室检查的密切关系。

1. β_2 -微球蛋白(β_2 M)

分析原理和应用现状 β_2 -微球蛋白(β_2 M)是一种分子量相对较低的蛋白,除了红细胞和胎盘的滋养层,广泛存在于所有的细胞表面,是人体白细胞抗原较小的亚基(HLA'S)[1,2]。 β_2 M已经通过免疫荧光方法在T细胞和B细胞膜表面得到证实[3]。因此 β_2 M也是组织相容性的Y染色体抗原和肿瘤相关转移抗原的亚基[4,5]。肿瘤相关性转移抗原包括与肝细胞瘤、黑色素瘤以及卵巢、结肠和乳腺腺瘤相关的抗原[6,7]。 β_2 M可以控制细胞表面抗原的表达并可能控制其生物合成[8]。

目前 β_2 M微球蛋白的测定均采用免疫学方法。虽然 β_2 M的氨基酸排列顺序同免疫球蛋白G的稳定区(CH₃)有较高的相似程度(图1-1),在免疫学上与免疫球蛋白却不相关,制备的 β_2 M的抗血清与免疫球蛋白不发生交叉反应。

早先人尿或血清中的 β_2 M的测定是用单向免疫扩散(RID,表1-1,方法1)[9]或免疫沉淀方法[10,11],用聚乙二醇,手工或自动化免疫比浊计测定,但这些方法由于没有预先浓缩步骤,故测定健康人尿中的 β_2 M缺少敏感性。而放射免疫方法不用预先浓缩,即可测定正常尿和血清中的 β_2 M,精确度可到ng水平,因而此法发展相当迅速。

适用 β_2 M测定的两种放射免疫法是Evrin等人[12]的固相放免(法表1-1,方法2)及Shuster等人[13]的双抗体法(表1-1,方法3)。在固相放免法中,抗体共价结合在琼脂糖胶粒上,且已有商品试剂盒出售。(Phadebas, β_2 M Test, Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala, Sweden)。

另一种相对敏感和特异的测定 β_2 M的放免法是用市售的单克隆抗体(Becton Dickison FACS System, Sunnyvale, CA94086)[14](表1-1,方法4)。用聚乙二醇沉淀法分离与抗体结合的和未结合的 β_2 M。

Bernard等人[15]在 β_2 M乳胶颗粒直接凝集作用的基础上,发表了测定血清中 β_2 M的高灵敏度方法(在乳胶颗粒上吸附 β_2 M抗体)(表1-1,方法5)。以双极限系统的自动计数仪(Technicon Instruments Corp., Tarrytown, New York)或浊度计进行未凝集颗粒的计数或比浊,凝集反应即可定量。

Ferrua等人[16]的竞争酶免疫法(EIA)(表1-1,方法6)允许样品中的 β_2 M和 β -半乳糖苷酶- β_2 M,竞争共价结合葡聚糖颗粒上一定数量的抗 β_2 M抗体。温育后,将颗粒离心并洗掉游离的酶- β_2 M试剂。测定结合酶示踪物,其活性与样品中的 β_2 M浓度成反比。这个反应以邻硝基苯酚-对 β -1,4-吡喃半乳糖作为底物,在420nm处进行监测。EIA方法(Phedezym, β_2 M Test)适用于“Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala, Sweden”。对于EIA和RIA, β_2 M抗血清是用加入福氏完全佐剂的 β_2 M给兔子皮内注射免疫制得的,抗血清被人红细胞的基质和乙基氯仿聚合入 γ -球蛋白所吸收。抗体也可以免疫羊获取。

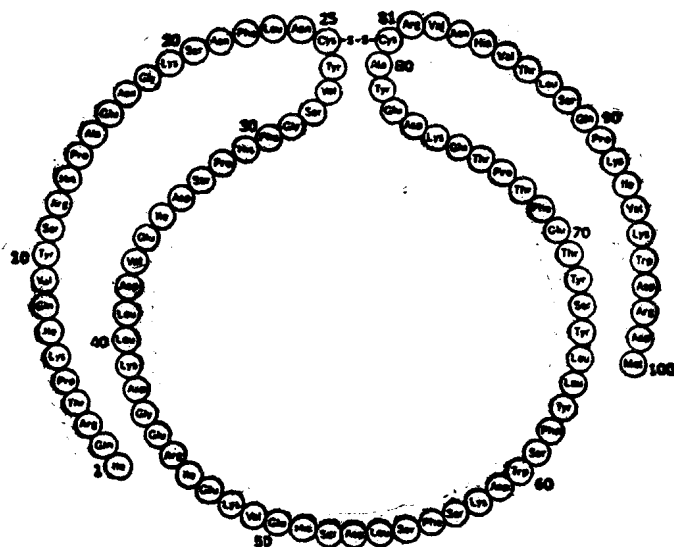


图1-1 β_2M 的分子结构及化学性质

分子半径: $16\text{\AA}$
 沉降系数: $S_{20W}=1.6$
 分子量: 11,800道尔顿
 氨基酸残基: 100
 碳水化合物: 0
 等电点 (PI): 5.7

表1-1 血清和尿液中 β_2M 的测定方法

方 法	分析类型	原 理	用 法	浓度范围 (mg/L)	附 注
1. 单向免疫扩散 (RID)	定 量	蛋白质通过含有特异抗体的介质扩散	血清或尿液 手动	5—75	需要将样品预浓缩温育时间很长
2. 放射免疫法 (RIA) 固 相	定 量	抗 β_2M 抗体共价结合到固相载体的Sephadex上, β_2M 与定量标化的 β_2M 竞争测定结合物放射性活性,其强度与未标记的 β_2M 量成反比	血清或尿液 半自动 有临床应用的 商品供应 (表1-2)	0.4—19.2	足够的准确性及灵敏度,温育时间为90min,分离步骤非常方便,在1个工作日内即可完成
3. RIA双 抗体法	定 量	β_2M 和标记 β_2M 竞争抗体,抗原-抗体复合物用第二抗体测定和计数;放射性强度与血清或尿中 β_2M 浓度成反比	血清或尿液 半自动	0.4—20	足够的准确性及灵敏度,温育时间短,在1个工作日内即可完成
4. 单克隆抗体的RIA	定 量	β_2M 和标记 β_2M 竞争单克隆抗体,抗体-抗原复合物用聚乙二醇沉淀和计数,放射性强度与 β_2M 浓度成反比	血清或尿液 手动	0.15—5.6	灵敏度高,准确性好,温育时间长 (3h),但分离简便,与多克隆抗体方法相关性较好
5. 乳胶免疫法	定 量	用吸附了 β_2M 的乳胶颗粒直接凝集	血清或尿液 自动	0.25—16	需要颗粒计数仪或比浊计,需最适条件,费劳力
6. 酶免疫法 (EIA)固相	定 量	竞争酶免疫方法, β_2M 和定量酶标 β_2M 竞争抗 β_2M 抗体,结合酶通过特殊底物的水解测定产物的吸收与 β_2M 浓度成反比	血清或尿液 半自动 有临床应用的 商品供应 (表1-2)	0.2—10.5	重现性和灵敏度好,及与RIA相关,试剂稳定,温育和分离简便,可在4h内完成
7. 淋巴细胞毒性抑制	半定量	特异灵敏的淋巴细胞与抗原间的反应,侵入靶细胞的溶解性用形态学方法或放射标记法测定	血清或尿液 手动	1—50	准确性和灵敏度比RIA差,需要最适的细胞株和最小的本底,实验时间长

测定 β_2 M的生物学方法是用 β_2 M特别敏感的淋巴细胞进行的(表1-1, 方法7)[17,18]。这些细胞与样品和 β_2 M的抗血清混合, 样品中的 β_2 M和淋巴细胞表面上的 β_2 M竞争抗体结合位点。样品中若不含 β_2 M, 则抗体将与淋巴细胞结合, 导致细胞的溶解, 病人样品中竞争性 β_2 M的存在, 将抑制这个溶解过程。淋巴细胞溶解可以通过直接观察(显微镜)或者对细胞上放射性物质的衰减进行半定量的测定。

参考和建议采用的方法 单向RID法测定 β_2 M的敏感度最差, 而且需要较长时间。由于有其他更敏感和特异的方法, 故这种方法未被推荐应用。乳胶凝集免疫反应同RIA一样, 具有同样的准确性、特异性和敏感度, 但需要自动读数或计数装置。目前可买到的商品试剂盒, 用竞争性放射免疫法或竞争性酶免疫法可对血清和尿中的 β_2 M做定量分析。这种试剂盒用一个工作日可完成 β_2 M分析, 而且不需要特殊的技术和仪器。对RIA和EIA试剂盒的评价已有文章发表[18,19]。RIA和EIA试剂盒的特异性由不同稀释度的尿和血清样品的测定方法所决定。得到的曲线与参考曲线相符, 表示样品中抗原与标准吻合。人IgG和血清白蛋白与诊断实验用的Pharmacia Diagnostics RIA和EIA试验不出现任何交叉反应。J·Woo等人[20]认为抗血清实际不与白蛋白, 免疫球蛋白G、A、M及Kappa长链片段反应; 但能与0.62%

表1-2 β_2 M测定商品试剂盒及其某些特性

制 造 商	分析类型	载 体	灵敏度 (μ g/L)	精确性CV(%)		样品大小 (μ l)
				批内范围	批间范围	
Pharmacia Diagnostics	EIA	葡聚糖颗粒	<4.0	5.5—10.8	5.2—12.2	50
Pharmacia Diagnostics	RIA	葡聚糖颗粒	<4.0	4.2—11.9	7.4—13.0	50
Unileve Research	EIA	尼龙球	5.0	—	—	25

的视黄醇结合蛋白交叉反应。表1-2列出了商品EIA和RIA试剂盒的一些重要特性。在进行了逻辑-对数转换和加权回归分析后, RIA的典型剂量反应曲线表明, 在每试管含4—80mg β_2 M的绝对范围内呈线性关系, 相当于每升含0.8—16mg的血清稀释了二十一倍。这种方法的灵敏度定义是当 B/B_0 为85%时, 值为0.6mg/L血清。这一线性部分的上限确定在 $B/B_0 =$

表1-3 EIA和RIA方法测定 β_2 M的精密密度*

方 法	批 内		批 间	
	$\bar{x}$ (mg/L)	cv(%)	$\bar{x}$ (mg/L)	cv(%)
RIA	1.44	6.8	1.31	8.1
	5.48	9.7	5.80	6.7
EIA	1.61	8.4	1.52	7.3
	6.57	8.8	6.06	9.4

* 精密密度以二个混合血清样品连续做10批, 每批样品做10次分析结果计算的。

$\bar{x}$: 平均值; cv: 变异系数

15%, 值为12.5mg/L血清。当 $B/B_0 =$ 50%时, 值接近1.68mg/L血清。然而这种放射性同位素方法的缺点是试剂的半衰期短, 而且操作耗时长。RIA试剂盒厂家规定的血清变异系数从4.2%到11.9%; 而EIA方法, 血清 β_2 M的变异系数为5.5%—10.8%(表1-2)。表1-3为用Pharmacia RIA和EIA试剂盒在作者实验室中所获得的精密密度数据。EIA已有商品试剂盒(Phadezym, β_2 M Test, Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala, Sweden)。在RIA方法中用单克

隆抗体与多克隆抗体比较, 其相关系数为0.997。无论RIA还是EIA都是适于临床应用的方

法。

标本 用于 $\beta_2\text{M}$ 分析的血清通常采集静脉全血，凝固后，分离得到。肝素抗凝血浆作 $\beta_2\text{M}$ 分析，结果与血清样品相关很好，因此可用血浆[14]。样品可在2—8℃储存一周或在-20℃储存一年。定时尿样品应该在尿量充足时采集，为避免 $\beta_2\text{M}$ 分解，每10ml尿中加入1ml 0.4M的磷酸钾缓冲液(pH7.6)，碱化尿液。样品在2—8℃能储存二天或在-20℃为二个月。

正常人尿pH小于5.5时 $\beta_2\text{M}$ 不稳定，在体温下比在室温更不稳定[21]。 $\beta_2\text{M}$ 处于pH 6.0的尿中，在体温下极不稳定；在室温下，尿液pH 5.5时放置7 h后， $\beta_2\text{M}$ 的浓度大约下降50%。因此从病人身上采集隔夜样品是不可靠的，最好每隔2至3 h，从采尿袋中收集尿样品并使其碱化，或给病人服用碱性物质以确保较高的尿液pH值[22]。现已证实pH偏酸可改变 $\beta_2\text{M}$ 的结构使其不再与抗体反应[23]。尿中 $\beta_2\text{M}$ 的不稳定程度是不同的，而且病理情况下变化比正常大。研究接受庆大霉素治疗病人 $\beta_2\text{M}$ 排泄的结果表明，在某些类型病理性尿中[22,24]， $\beta_2\text{M}$ 可能比其他的类型更加不稳定。由于所推荐的尿 $\beta_2\text{M}$ 分析法条件变化范围很宽，所以实验室应在病人身上进行 $\beta_2\text{M}$ 稳定度的实验，并在实验前规定可靠安全的采样条件。总的来说，尿液在体温下停留的时间应尽可能短并及时使尿碱化。

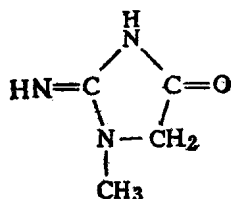
参考值范围 有报道指出血清 $\beta_2\text{M}$ 的水平与体重和性别无关，但老年人其值略有增加[27]。健康人血清中的正常值范围：EIA法是0.91—2.2mg/L (77—186n mol/L)，RIA法是0.97—2.64mg/L (82—224n mol/L)；健康人尿中得到的 $\beta_2\text{M}$ 平均浓度为98 $\mu\text{g/L}$ (8.3n mol/L)，正常值的上限为320 $\mu\text{g/L}$ (27n mol/L)。

说明 血清 $\beta_2\text{M}$ 和尿中 $\beta_2\text{M}$ 值的增加可以用合成的增加或尿排泄及肾的代谢作用减弱来解释。人们可用血清肌酐廓清率的研究来估价肾功能，以便认识肾脏的作用。在没有什么恶性或免疫性疾病的病人中，血清 $\beta_2\text{M}$ 和血清肌酐之间的相关系数为0.985[28]（以mg/L表示），监测血清中 $\beta_2\text{M}$ 作为血清肌酐的标准，其有效性已经在肾移植及患多种炎症和恶性疾病的病人中进行过研究[19,28]。结果表明，不论血清肌酐浓度多少，若 $\beta_2\text{M}$ 和肌酐的比值不能降到2.5 (mg/L/mg/dL) 以下，即是不良后果的预示。另一方面， $\beta_2\text{M}$ 与肌酐的比值小于2.5，同时血清 $\beta_2\text{M}$ 浓度小于4mg/L，表示肾功能正常也表明移植后的肾功已经恢复。在795个非肿瘤和肾疾病的病人中， $\beta_2\text{M}$ /肌酐的比值在0.25—2.5范围内[28]。

$\beta_2\text{M}$ 具有分子量低(11,800道尔顿)和体积小(1.6nm)的特点，经肾小球过滤后，几乎全部被重吸收，随之被临近的管状细胞分解代谢。因而血清 $\beta_2\text{M}$ 水平的增加可能是合成的增加或者由于肾小球过滤功能降低或是两种原因都存在所致[29]，尿排出增加主要反应肾小管重吸收作用的不断下降（如肾病综合征）而使蛋白质过滤负荷增加。职业性钙中毒也可引起肾小管细胞的机能障碍，可以在其钙中毒表现之前通过监测尿液中 $\beta_2\text{M}$ 的浓度增加而被发现[30]。血清和尿中 $\beta_2\text{M}$ 水平不仅可以反映肾功能的状况而且还可以用于肾移植排斥反应、免疫缺损症、肿瘤以及慢性炎症等病的诊断和治疗的监测[31]。恶性细胞株组织培养的长期研究也已经证明淋巴细胞周围有较高的 $\beta_2\text{M}$ 分泌率。后来发现，某些B细胞型恶性肿瘤如：（骨髓瘤、非何杰金氏淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病，Waldenstrom病）血清中 $\beta_2\text{M}$ 水平也都增加，这也证明了在恶性肿瘤的监测中，测定 $\beta_2\text{M}$ 可能是很有用的[27]。

2. 肌 酐

肌酐 Cr 分子式 $C_4H_7N_3O$ 分子量 113.12道尔顿 Merck Index: 2552 化学分类: 肌酐, 代谢最终产物



分析原理和应用现状 1886年首次报道了Jaffé肌酐分析法(表2-1, 方法1)[1], 这个

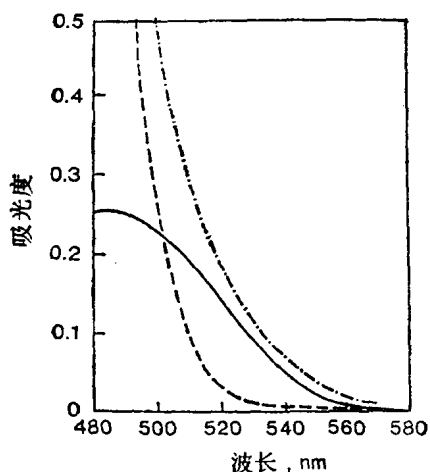


图1-2 肌酐与味苦酸(Jaffé)氏反应的吸光度变化范围

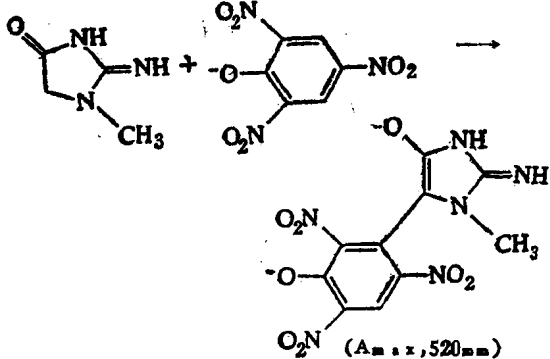
点划曲线是待查物与水对照, 虚曲线是试剂与水对照, 实曲线是待查物与试剂对照

最古老的临床化学方法原理延用至今。这个方法的反应原理是肌酐(I)与苦味酸钠碱性溶液(II)形成一种红色的Janovski复合物(III), 在510和520nm间测定(III)的吸光度, 但据报道这种复合物的最大吸光度在485nm(图2-1)[2]。苦味酸离子(II), 过量存在于反应液中, 在波长低于500nm时有明显吸收。用终点法分析血清和血浆肌酐应用无蛋白滤液作样品, 因蛋白质与碱性苦味酸反应生成 α -甲基酮或 α -亚甲基酮类, 使复合物的颜色加深。反应适合于在低于30℃恒温中进行, 高于30℃, 葡萄糖、尿酸、抗坏血酸与苦味酸能产生一种干扰性很强的还原反应, 形成苦味酸盐, 在482nm产生最大吸收峰, 而影响肌酐测定。温度稳定也是重要的, 因为苦味酸离子的吸光度和酞

肌酐-苦味酸的反应产物, 这二者都随温度的增加而增加。这个反应通常不需缓冲液, 而是在约0.1mol/L的氢氧化钠中进行。

Fuller's土(Floridin)用于增加Jaffé反应的特异性, 吸收无蛋白质滤液里的肌酐, 从潜在的干扰中将其分离(表2-1, 方法2)。Lloyd's试剂和膨润土与Fuller's土有类似的特性, 这些物质都是多孔的铅镁硅土, 形成胶质悬液有很强的自然吸收。室温下在无蛋白滤液中加小量的这种吸附剂, 1min以后, 吸附基本完成。肌酐吸收率约92%, 离心分离以后, 小心地弃去含有干扰物的上清液, 把碱性苦味酸直接加到肌酐吸收池中。多数会引起干扰的物质不被吸收, 只有超过0.9mmol/L的丙酮酸和超过0.5mmol/L的 α -酮戊二酸, 能被吸收而产生干扰[3]。一种相似的纯化方法是用阳离子交换树脂, 能从酸性溶液中吸附肌酐在树脂上形成肌酐钠盐。阳离子交换树脂报告的结果与Fuller's土吸附所获得的结果具有可比性, 稍做修改, 这些分离技术能用于Jaffé反应。后文将详细介绍。

表2-1 肌酐分析方法

方 法	分析类型	原 理	应用情况	评 注
1. Jaffé	定量, 终点, 分光光度		血 清 血 浆 稀 释 尿	1986年, 由 Jaffé 发表
2. Jaffé 漂白土吸附	同1. 分析前肌酐被分离	同 上	同 上	参考方法; 也可以阳离子交换树脂作为吸附剂
3. Jaffé, 动力学	呈色初始阶段动力学分析, 定量, 分光光度	同 上	同 上	需自动分析仪, 准确、精密测定吸光度
4. Jaffé; 双pH法	同1 pH9.65 (缓冲了的) 作为空白反应	同 上	同 上	没有广泛应用或自动化
5. HPLC	阳离子交换或逆向层析分离肌酐, 去除干扰	同上或测A _{200nm}	同 上	高特异, 不适于常规分析, 可能的参考方法
6. 肌酐酰氨水解酶法	酶促水解生成肌酸, 在指示反应中监测A _{340nm}	creatinine $\text{CRTN} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{amidohydrolase}} \text{CR}$ $\text{CR} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{CK}} \text{CP} + \text{ADP}$ $\text{ADP} + \text{PEP} \xrightarrow{\text{PK}} \text{ATP} + \text{Pyr}$ $\text{Pyr} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{NAD}^+ + \text{Lac}$	血 清	没有广泛应用或自动化
7. 肌酐亚氨水解酶法	酶促水解产生氨, 再以分光光度法或电化学法测氨生成量	$\text{CRTN} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow[\text{iminohydrolase}]{\text{creatinine}} \text{N-甲基-乙内酰胺} + \text{NH}_3$ NH₃通过GLDH反应, 氨电极或比色法定量	血 清	需高纯酶, 易用, 可能的参考方法

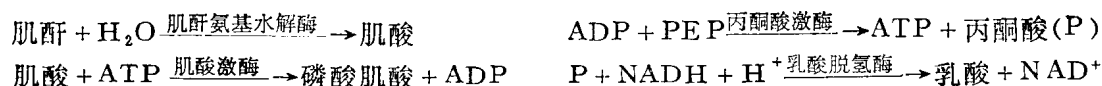
连续监测法测定肌酐(表2-1, 方法3)引起重视是由于仪器能精确地反应吸光度变化数值和具有良好的重复性^[5,7]。连续精确地读取反应结果, 同时与标准比较, 除一些离心式分析仪外, du Pont aca和Beckman肌酐分析仪也用这种技术。

连续监测法改良之一是反应物混合后, 在苦味酸-肌酐复合物形成开始监测前, 有10到60s的延迟, 这就使快反应干扰物, 如: 乙酰乙酸, 在开始测定前引起吸光度变化的干扰被排除。另外, 测定是在16—120s之间或到达终点时进行, 这样在肌酐反应尚未达到完全和慢反应性干扰物尚未发生明显之反应之前测定便已结束。所以就不再需要除蛋白质, 因为碱性苦味酸与蛋白质反应慢, 在通常的连续监测中不会发生明显干扰。据报道在pH9.65用血清做“空白”(表2-1, 方法4)可排除蛋白质和其他非肌酐干扰物^[8]。磷酸盐缓冲液(136—173

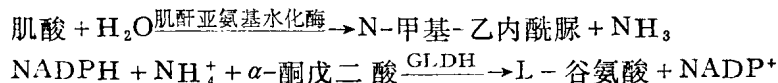
mmol/L) 用来启动pH9.65和11.50的反应,其他反应条件与手工的Jaffé法相同。在37℃,反应间隔45s。据报道在上述条件下,与最常见的拟肌酐类色素不发生反应;同时在pH11.50蛋白质反应产生的干扰,因采用pH9.65血清空白而被减到最小。

使用高效液相色谱分离和测定肌酐方法业已建立(表2-1,方法5)。用阳离子交换树脂为固定相,以柠檬酸缓冲液(pH4.25)为流动相^[9];或用反相柱和磷酸-月桂酰硫酸钠-甲醇(pH5.1)为流动相均可^[10]。已有报道使用流动式Jaffé反应方法^[9]和测定200nm肌酐本身吸光度的方法^[10]。它们具有快速、特异和精确的特点。

肌酐分析的其他方法包括肌酐与3,5-二硝基苯甲酸(DNBA)^[11,12]或其衍生物^[13,14]。1,4-萘醌-2-硫酸盐的反应^[15]和邻硝基苯甲醛反应^[16]。DNBA反应最初由Benedict和Behre报道,反应在碱性溶液中进行,形成淡紫红色的产物。它的灵敏度达2mg/L,被推荐临床应用。DNBA方法很适于干试纸技术,原理是肝酐通过试纸表面,与DNBA反应形成浅红色产物,用反射光度计在560nm监测反射光强度。另外,质谱仪(Mass fragmetography)已被建议作为一种参考方法^[17]。两种降解肌酐的酶在肌酐分析中已经使用。早在1937年被提出^[18],仅在近年酶法才开始有用于临床常规的商品化试剂。纯酶获得之困难,时至今酶法才获得成功。肌酐氨基水解酶(EC 3,5,3,10),也称“肌酸酶”或“肌酐水解酶”可催化肌酐转变成肌酸的反应,如下所示(表2-1,方法6)用此酶与其他酶和指示剂偶联在反应中连续监测NADH的减少^[19]。



测定肌酐的第二种酶法是肌酐亚氨基酶(EC 3, 5, 4, 21)又称“肌酐亚氨基水解酶”(表2-1,方法7),这种酶能使肌酐转变成N-甲基-乙内酰脲和氨。生成的氨可通过谷氨酸脱氢酶(GLDH)催化NH₃、NADPH和α-酮戊二酸的呈色反应或用氨电极测定,根据氨的含量计算肌酐的浓度。在所有的方中,反应混合物必须既无氨存在又无氨降解的物质存在。在生理条件下虽然血中的氨含量很低,但若把标本置于室温,蛋白的分解将会产生大量的氨,因此对内源性氨进行校正是必要的。



Kodak Ektachem临床化学胶片技术使用了肌酐亚氨基水解酶反应。这种技术是将酶先固定在胶片的一个夹层里,血清在胶片的上层滤过后肌酐渗入下层,与预先固定在上面的亚氨基水解酶反应生成氨和N-甲基乙内酰脲。氨通过屏障层,替换有机碱,与溴酚蓝染料复合物反应,在670nm(A_m,593nm)测定反射光的变化。这种技术既可测定血清的肌酐又可测定氨,因此需要除去血清中内源性氨的影响。测定血氨浓度,是用不含亚氨基水解酶的胶片,试验方法相似。

据CAP一项综合性化学实验项目调查报道,6000多个进行肌酐测定的实验室中,用碱性苦味酸加Lloyd's试剂反应仅占2.5%;用碱性苦味酸不加Lloyd's试剂占19%;使用碱性苦味酸连续监测法占75%;剩下3.5%用酶法,主要是Kodak Ektachem胶片技术。一份定值为11.1mg/L的样品,各种方法测定的变异系数是10.3%。Kodak Ektachem测定结果的变异系数是11.6%,在49.3和21.0mg/L较高浓度时,变异系数分别降到5.2和6.0%。