

有研究显示,PT 检测试剂孵育处理 0.5~8 h 导致的检测结果差异无统计学意义($P>0.05$),说明 PT 检测试剂在 37 °C 条件下至少可稳定 8 h^[3]。然而,受多种因素的影响,部分实验室工作人员未对检测试剂进行孵育处理:一是认为长时间的孵育处理有可能对试剂稳定性产生影响,造成试剂浪费;其次是因孵育处理操作繁琐而未进行试剂处理;三是认为是否对试剂进行孵育处理对检测结果的影响不大。对试剂进行孵育处理,可降低 PT 检测结果,可能与检测原理有关。在试剂加入待测血浆标本后,在试剂中的凝血活酶及其他凝血因子的一系列酶促反应的作用下,血浆发生凝固,而酶促反应的最佳温度是 37 °C。因此,加入温度为 37 °C 的试剂可能更有利于凝血反应的进行,使 PT 检测结果降低。反之,如试剂未经孵育处理,可能影响凝血反应的速度,导致 PT 检测结果升高。

本研究为保证检测结果的可靠性,标本及质控品的检测均在确保室内质控品检测结果在控后进行。此外,标本放置时间对检测结果也有可能产生一定的影响^[2]。因此,为了防止标本两次检测的相隔时间过长,避免标本或试剂本身的变化对检测结果的影响。在本研究过程中,配制并充分溶解、混匀的试剂

• 临床研究 •

血清 Cys-C 与尿 mAlb/Cr 联合检测对 2 型糖尿病早期肾损伤的诊断价值

汪 亮

(武汉市第十一医院检验科,湖北武汉 430000)

摘要:目的 探讨血清胱抑素 C(Cys-C)与尿微量清蛋白/肌酐(mAlb/Cr)联合检测在 2 型糖尿病(T2DM)早期肾损伤中的诊断价值。**方法** 根据尿微量清蛋白排泄率(UAER)水平,将 120 例 T2DM 患者分为正常蛋白尿组(A 组)、早期糖尿病肾病组(B 组)和蛋白尿组(C 组)。以 60 例体检健康者作为对照组。比较各研究组血清 Cys-C、尿 mAlb/Cr 水平,并对 B 组患者进行血清 Cys-C 与尿 mAlb/Cr 相关性分析。**结果** 随着 T2DM 患者 UAER 水平的升高,Cys-C、mAlb/Cr 呈升高趋势($P<0.05$),Cys-C、mAlb/Cr、Cys-C 联合 mAlb/Cr 检测肾损伤的阳性率依次增高($P<0.05$);B 组患者 mAlb/Cr 与 Cys-C 水平呈正相关($P<0.05$)。**结论** 血清 Cys-C 与尿 mAlb/Cr 联合检测对 T2DM 早期肾损伤有较高的诊断价值,对 T2DM 早期肾损伤的筛查具有重要临床意义。

关键词: 2 型糖尿病; 糖尿病肾病; 胱抑素 C; 尿微量清蛋白; 肌酐

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.13.053

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)13-1925-03

糖尿病肾病(DN)是糖尿病常见的严重慢性微血管并发症,是导致肾衰竭的最常见原因之一。DN 发生、发展过程具有隐匿性、渐进性,因此早期常无典型临床症状。早期诊治对 DN 而言十分重要^[1]。目前常用的肾功能监测指标,如肾小球滤过率(GFR)、内生肌酐清除率(CCr)、尿素氮(BUN)等,具有一定的局限性、不准确性和滞后性,临床应用效果欠佳^[2]。尿微量清蛋白/肌酐(mAlb/Cr)、血清胱抑素 C(Cys-C)是反映早期肾小球损伤的敏感指标,已广泛应用于临床^[3]。本研究探讨了 mAlb/Cr 与 Cys-C 联合检测对 2 型糖尿病(T2DM)早期肾损伤的诊断价值。现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 1 月至 2013 年 4 月,在本院内分泌科门诊和住院患者中选取 T2DM 患者为研究对象。纳入标准:(1)符合美国糖尿病协会(ADA)关于糖尿病的诊断及 T2DM 分型标准^[4];(2)尿蛋白定性试验为阴性或弱阳性;(3)年龄不小于 18 岁。排除标准:(1)原发性肝或肾脏病变、泌尿系统感染、高血压病、心力衰竭等原因导致的蛋白尿;(2)合并严重感染、糖尿病酮症酸中毒等急性并发症;(3)合并肿瘤;(4)近期使用肾毒性药物。共纳入 T2DM 患者 120 例(T2DM 组),根据尿清蛋白排泄率(UAER)分为 3 组。A 组(42 例)为正常蛋白尿组;UAER \leq 30 mg/24 h;B 组(48 例)为早期 DN 组;30 mg/

被分成两等分,一份直接用于检测,另一份则在孵育处理后用于检测,而每份标本均在 5 min 内完成两种试剂的检测,因此从理论上尽可能避免了孵育处理以外的因素对研究结果的干扰。

综上所述,在进行 PT 检测时,应严格按照试剂盒说明书的要求进行试剂配制和孵育处理,从而保证检测结果的准确性。

参考文献

[1] 陈同庆,陈长春,王俊先,等. 还原型谷胱甘肽对凝血功能的影响[J]. 中国实验血液学杂志,2013,21(6):1612-1616.
 [2] 陈同庆,李振兴. Sysmex CA7000 血凝仪试剂仓试剂放置时间对血凝四项检测结果的影响[J]. 中国实验血液学杂志,2014,22(6):1633-1637.
 [3] 周海洋. 检测凝血酶原时间所用试剂最佳预热时间及其参考范围[J]. 检验医学与临床,2011,8(8):918-919.

(收稿日期:2015-04-28)

24 h < UAER < 300 mg/24 h; C 组(30 例)为蛋白尿组:UAER \geq 300 mg/24 h。同期于本院体检健康者 60 例纳入对照组。本研究经医院伦理委员会批准,所有受试者均自愿参加本研究,并签署知情同意书。各研究组受试对象性别构成、年龄分布、体质指数(BMI)及 T2DM 各组间糖尿病病程等一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表 1。

表 1 各研究组受试对象一般情况

组别	n	性别 (男/女, n/n)	年龄 ($\bar{x}\pm s$, 岁)	BMI ($\bar{x}\pm s$, kg/m ²)	病程 ($\bar{x}\pm s$, 年)
对照组	60	36/24	65.2 \pm 12.5	20.5 \pm 1.8	—
A 组	42	24/18	64.5 \pm 12.0	20.4 \pm 1.6	6.6 \pm 2.6
B 组	48	28/20	65.3 \pm 11.5	20.2 \pm 1.9	6.7 \pm 2.8
C 组	30	17/13	66.2 \pm 12.3	19.9 \pm 2.0	6.9 \pm 2.7
F		0.23	0.15	0.21	0.16
P		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

—:无数据。

1.2 方法 体检者于体检当日,患者于就诊当日或入院次日采集空腹静脉血 3 mL,3 000 r/min 离心 10 min,分离血清标

本用于 Cys-C 检测。Cys-C 检测采用日立公司 7600-020 型全自动生化分析仪及武汉生之源生物科技有限公司胶乳增强免疫透射比浊法 Cys-C 检测试剂、质控品、校准品。同时采集澄清中段尿液标本 30 mL,混匀后取 10 mL,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液;采用武汉生之源生物科技有限公司免疫比浊法 mAlb 检测试剂及肌氨酸氧化酶法 Cr 检测试剂进行 mAlb、Cr 检测。Cr 检测标本为生理盐水稀释 4 倍的尿液上清液标本。严格按照试剂盒说明进行操作与判断结果。试剂、质控品及校准品均在有效期内使用。将公式:尿 mAlb/Cr($\mu\text{g}/\text{mg Cr}$)=尿 mAlb(mg/L)×8 840/尿 Cr($\mu\text{mmol/L}$),输入 7600-020 型全自动生化分析仪并自动计算尿 mAlb/Cr 水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据处理和统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数的比较采用 *t* 检验,多个样本均数的比较采用方差分析;相关性分析采用 Spearman 等级相关分析;*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 mAlb/Cr、Cys-C 水平比较 T2DM 各组 mAlb/Cr、Cys-C 水平均高于对照组,且随着 UAER 水平的升高,mAlb/Cr、Cys-C 呈升高趋势,组间比较差异均有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

表 2 各研究组 mAlb/Cr 和 Cys-C 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	mAlb/Cr($\mu\text{g}/\text{mg Cr}$)	Cys-C(mg/L)
对照组	60	11.26±4.11	0.85±0.16
A 组	42	20.11±6.57*#	1.13±0.27*#
B 组	48	68.06±10.27*	2.25±0.58*
C 组	30	612.21±57.20*#	5.16±0.72*#

*:*P*<0.05,与对照组比较;#:*P*<0.05,与 B 组比较。

2.2 各指标阳性率比较 各患者组内,Cys-C、mAlb/Cr、Cys-C 联合 mAlb/Cr 阳性率依次升高,阳性率比较差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 3。

表 3 各患者组各指标阳性率比较[*n*(%)]

组别	<i>n</i>	Cys-C	mAlb/Cr	Cys-C 联合 mAlb/Cr
A 组	42	3(7.14)*	2(4.76)	5(11.90)*
B 组	48	21(43.75)*#	25(52.08)	39(81.25)*
C 组	30	26(86.67)#	27(90.00)	30(100.00)*

*:*P*<0.05,与同组内 mAlb/Cr 阳性率比较;#:*P*<0.05,与同组内 Cys-C 联合 mAlb/Cr 阳性率比较。

2.3 mAlb/Cr 与 Cys-C 的相关性 对 B 组患者进行 mAlb/Cr 与 Cys-C 水平 Spearman 相关性分析,结果显示二者呈正相关,相关系数为 0.84(*P*<0.05)。

3 讨 论

糖尿病患者因长期代谢紊乱,易出现肾小球微血管病变、肾动脉硬化等一系列病理改变。肾脏病理改变分为 5 期:Ⅰ期为肾小球高滤过、肾肥大期;Ⅱ期为基底膜增厚期,或称运动后微量清蛋白尿期,mAlb 正常或运动后增高;Ⅲ期为持续性微量清蛋白尿期;Ⅳ期为显性蛋白尿期;Ⅴ期为终末期(肾衰竭期)。肾脏病理改变一旦进展至Ⅳ期,即不可逆转。尽管肾组织再生能力差,但具有较强的代偿能力,因此 DN 早期可无任何临床症状,血尿素氮、血 Cr 仍维持在正常水平,无法准确反映 DN 病变严重程度。肾脏穿刺活检是诊断 DN 的“金标准”,但由于其为有创性操作,风险性高,无法作为临床常规检查^[5-6]。外源性菊粉清除率试验操作繁琐,放射性同位素具有

放射性污染,而内源性标志物检测如 CCr,容易受肌肉含量、炎症反应、感染、肿瘤等因素的影响,不能真实反映肾小球的滤过功能。UAER 仍是目前国内公认的诊断早期 DN 的最重要指标和分期依据^[7],但泌尿系统感染、酮症状态、月经周期等因素均影响 UAER 检测结果。因此,探索对 DN 具有较高诊断灵敏度、特异度且检测操作简便、快速的诊断标志物,对疾病的诊疗具有重要的临床意义。

Cys-C 是一种小分子量的胱氨酸蛋白酶抑制剂,机体以较为恒定的速率合成 Cys-C,且 Cys-C 的浓度不受年龄、性别、饮食、炎症、血脂、肝脏疾病等因素的干扰^[8]。肾脏是 Cys-C 唯一的滤过和代谢器官。几乎所有经肾小球自由滤过的 Cys-C 均由近曲小管细胞重吸收,并迅速分解代谢。因此 Cys-C 是反映 GFR 的理想的内源性指标,可以很好地反映肾脏的滤过功能。

正常情况下,清蛋白基本不能通过肾小球滤过膜,因此尿液中清蛋白浓度很低。在炎症反应、代谢异常和免疫损伤等因素的影响下,滤过膜上的负电荷减少,静电排斥力降低,清蛋白经肾小球滤过增多。因此,尿 mAlb 被认为是早期糖尿病肾损伤的敏感指标^[9]。目前临床主要依赖 mAlb 水平判断 T2DM 肾损伤程度,并以此作为 DN 分期依据。

生理状态下,Cr 主要通过肾小球滤过,且几乎不经过肾小管重吸收而被排出体外。因此,正常情况下或肾脏轻度受损时,尿 Cr 水平基本保持恒定。由于尿 mAlb、Cr 水平受多种因素的影响,因此二者单独检测有可能存在一定的片面性^[10]。在肾损伤早期,肾小球微血管发生病变,尿 mAlb 水平迅速升高,但 Cr 早期升高并不明显。因此尿 mAlb/Cr 水平升高,并随着肾损伤程度的加重,升高更加明显。

本研究结果显示,肾脏轻微受损,尤其是尿蛋白定性试验为阴性、肾功能表现正常的 T2DM 患者,血清 Cys-C、尿 mAlb/Cr 水平已有所增高;随着 T2DM 患者 UAER 水平的升高,血清 Cys-C、尿 mAlb/Cr 水平呈升高趋势;Cys-C、mAlb/Cr、Cys-C 联合 mAlb/Cr 检测肾损伤的阳性率依次增高,且早期 DN 患者尿 mAlb/Cr 水平与血清 Cys-C 水平呈正相关。这与类似研究报道结果基本一致^[11-12]。

综上所述,尽管 Cys-C、mAlb/Cr 均为诊断糖尿病早期肾脏损伤的灵敏指标,但部分 DN 患者有可能存在其他的肾损伤途径,导致部分肾功能异常的患者尿 mAlb 水平仍在正常范围内。因此,血清 Cys-C 与尿 mAlb/Cr 联合检测对于 T2DM 早期肾损伤具有较高的诊断价值,能有效降低临床漏诊率,对于 T2DM 早期肾损伤的筛查具有重要意义。

参考文献

- [1] Kim JW,Chae JY,Kim JW, et al. Survey on the perception of urogenital complications in diabetic patients [J]. World J Mens Health,2012,30(3):172-176.
- [2] 韩玲. 糖尿病肾病患者肾脏早期损害指标的探讨 [J]. 现代中西医结合杂志,2009,18(4):103-104.
- [3] 赵霞. 联合检测糖化血红蛋白、尿微量白蛋白、半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 在糖尿病肾病早期诊断中临床价值 [J]. 实用医技杂志,2011,18(3):278-279.
- [4] Dyck PJ,Clark VM,Overland CJ, et al. Impaired glycemia and diabetic polyneuropathy: the OCIG survey [J]. Diabetes Care,2012,35(3):584-591.
- [5] Dai GL,He JK,Xie Y, et al. Therapeutic potential of Naja naja atra venom in a rat model of diabetic nephropathy [J]. Biomed Environ Sci,2012,25(6):630-638.
- [6] 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,2006:358.

[7] 张丽琴, 张俊英. 2 型糖尿病患者血清胱抑素 C、尿微量蛋白检测得临床应用[J]. 国际医学检验杂志, 2011, 32(13): 1514-1515.
 [8] 孙世荣, 董强. 肾病综合征患者血清胱抑素 C 检测的临床意义[J]. 中华老年学杂志, 2009, 29(14): 1830-1831.
 [9] 王华平, 田红. 尿微量蛋白在糖尿病肾病早期检测中的临床意义[J]. 临床和实验医学杂志, 2011, 10(16): 1273-1374.
 [10] 张关亭, 李志毅. 血清胱抑素、视黄醇结合蛋白、尿微量蛋白检测对原发性高血压肾病的早期诊断价值[J]. 慢性病杂志, 2012, 12

(12): 1656-1662.
 [11] 李晓琳. 血清胱抑素 C 测定在糖尿病肾病早期肾损伤中的检测价值[J]. 天津医科大学学报, 2011, 17(4): 536-538.
 [12] 谈韵, 李军民, 曾宪飞, 等. 血清胱抑素 C 与 β_2 微球蛋白、尿微量蛋白检测在 2 型糖尿病肾病早期诊断中的相关研究[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(2): 107-111.

(收稿日期: 2015-03-17)

• 临床研究 •

3 381 例女性生殖道人乳头瘤病毒检测结果分析

姚 丰, 陈海玲, 牛多山, 杨 杰

(安徽省宣城市人民医院病理科, 安徽宣城 242000)

摘要:目的 了解宣城地区女性生殖道人乳头瘤病毒(HPV)感染及亚型分布特征。方法 采用斑点杂交法, 对 3 381 例女性宫颈脱落细胞进行 HPV 分型检测。结果 3 381 例受检女性中, 共检出 HPV 阳性者 634 例, 阳性率为 18.75%; 单一感染 479 例(75.55%), 多重感染 155 例(24.45%); 感染型别包括 19 种 HPV 亚型, 感染率排在前 4 位的依次为 52、16、58、33 型。结论 宣城地区女性 HPV 感染亚型分布存在一定的区域性特征; 斑点杂交法可用于 HPV 分型检测, 对宫颈癌的筛查及预防具有重要意义。

关键词:人乳头瘤病毒; 宫颈癌; 宣城地区

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.13.054

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)13-1927-02

宫颈癌是导致女性死亡的常见恶性肿瘤之一, 而人乳头瘤病毒(HPV)是导致宫颈上皮内瘤变及宫颈癌的最主要的病原体, 几乎所有的宫颈癌标本中都能检出 HPV^[1]。目前已发现的 HPV 亚型有 100 多种, 其中约 30 余种与生殖道感染相关, 并可引起宫颈病变。HPV 可分为高危型和低危型, 其中高危型 HPV 感染与宫颈癌的发生密切相关。因此, HPV 检测是诊断宫颈病变的重要依据。然而, HPV 感染具有地域性特征, 不同地区 HPV 感染率及感染亚型存在差异^[2]。为了解本地区 HPV 感染及亚型分布特征, 本研究分析了本地 3 381 例女性生殖道 HPV 检测结果。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 11 月至 2014 年 3 月于本院诊断为疑似 HPV 感染的女性患者 3 381 例, 年龄 18~73 岁。

1.2 仪器与试剂 Hema 3200 型聚合酶链反应(PCR)扩增仪(珠海黑马医学仪器有限公司), DA800 型全自动核酸分子杂交仪、HPV 基因分型检测试剂盒(达安医疗设备有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 以窥器暴露宫颈, 用棉拭子擦拭宫颈分泌物, 再将专用宫颈刷置于宫颈口, 旋转宫颈刷 4~5 圈以获得足量的宫颈上皮细胞标本; 取出宫颈刷, 放入装有细胞保存液的专用管中, 沿刷柄折痕处折断刷柄, 旋紧管盖后及时送检。

1.3.2 检测方法 常规方法提取 DNA; 按试剂盒说明书的要求加入 DNA 及试剂后, 按 93 °C 3 min, 93 °C 40 s, 55 °C 40 s, 72 °C 40 s, 循环 40 次; 72 °C 7 min 扩增; 扩增产物经 98 °C 8 min 变性处理后立即置冰水中; 在全自动核酸分子杂交仪上进行杂交。结果判读参照试剂盒说明书。检出 2 种及其以上 HPV 判为多重感染, 多重感染各亚型感染率重复计算。

2 结 果

2.1 HPV 感染率及亚型分布特征 3 381 例受检女性中, 检出 HPV 阳性者 634 例, 阳性率为 18.75%; 共检出 19 种 HPV 亚型, 多重感染各亚型感染率重复计算, 各亚型分布见表 1。

2.2 HPV 感染类型分布特征 634 例 HPV 感染者中, 单一感染 479 例, 占 75.55%, 多重感染 155 例, 占 24.45%, 见表 2。

2.3 HPV 感染年龄分布特征 不同年龄段女性 HPV 感染

分布特征见表 3。

表 1 HPV 感染者亚型分布 (n=738)

型别	例数 (n)	百分率 (%)	型别	例数 (n)	百分率 (%)
HPV52	124	16.80	HPVCP8304	26	3.52
HPV16	107	14.50	HPV51	23	3.12
HPV58	89	12.06	HPV56	23	3.12
HPV33	62	8.40	HPV18	22	2.98
HPV31	38	5.15	HPV35	20	2.71
HPV53	37	5.01	HPV66	19	2.57
HPV11	33	4.47	HPV45	9	1.22
HPV6	32	4.34	HPV59	9	1.22
HPV39	29	3.93	HPV43	8	1.08
HPV68	28	3.79			

表 2 HPV 感染类型分布 (n=634)

感染类型	例数(n)	百分率(%)
单一感染	479	75.55
二重感染	127	20.03
三重感染	24	3.79
四重感染	3	0.47
五重及以上感染	1	0.16

表 3 不同年龄女性 HPV 感染特征

年龄(岁)	检测例数(n)	HPV 感染例数(n)	HPV 感染率(%)
<21	32	4	12.5
21~<31	559	138	24.7
31~<41	935	186	19.9
41~<51	1469	246	17.4
≥51	368	60	16.3
合计	3 381	634	18.8