

• 临床研究 •

Afinion AS100 分析仪在糖尿病肾病早期诊断中的应用

戴小勇¹, 张春梅^{2△}, 黄丽丽¹, 王 舜¹

(1. 第二军医大学长征医院南京分院检验科, 江苏南京 210015; 2. 江苏省第二中医院检验科, 江苏南京 210017)

摘要:目的 探讨 Afinion AS100 检测仪在糖尿病早期肾损伤诊断中的应用价值。方法 对临床 118 例糖尿病患者检测的 ACR 标本同时在基恩特定蛋白仪上做尿微量清蛋白检测和在贝克曼 AU680 上稀释做尿肌酐检测, 探讨两组数据的相关性。结果 2 种仪器在尿微量清蛋白和尿肌酐检测中显著相关, Afinion 分析仪能够满足临床要求。结论 在糖尿病肾病早期诊断中, Afinion 分析仪所做的 ACR 与基恩蛋白免疫分析仪所做尿微量清蛋白以及贝克曼 AU680 生化分析仪所做尿肌酐计算出来的 ACR 显著相关, 但 Afinion 分析仪 1 台仪器上能同时出 3 个结果, 方便, 快速, 准确, 在实际应用中更适合实验室操作。

关键词: Afinion; ACR; 糖尿病**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2016.07.050**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2016)07-0984-02

目前随着社会的发展和人们生活方式的变化, 我国糖尿病患病率在过去的 30 年中增长了近 10 倍^[1], 作为常见病和多发病的糖尿病因其长期代谢紊乱, 导致身体多个组织器官的损伤, 特别是心脑血管和肾脏的损伤。肾脏损伤是糖尿病患者常见的并发症^[2], 而早期诊断又特别重要, 对肾损伤预后很重要^[3]。微量清蛋白尿是糖尿病引起肾脏慢性病变的早期指标, 也是反应血管内皮功能异常的早期指标之一, 对于糖尿病早期肾损伤的诊断由以前的尿素、尿肌酐 (UCr) 到目前的微球蛋白、胱抑素 C、同型半胱氨酸、尿微量清蛋白等, 以及目前常用的 UALB/UCr 比值 (ACR)^[4-7]。现对 Afinion AS100 全自动特种蛋白干式免疫散射色谱分析仪进行比对分析, 评价其在实际实验操作过程的应用情况。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 6 月到 2015 年 10 月临床明确诊断糖尿病的患者所送检 ACR 的尿液标本 118 例 (其中 2 例结果特殊, 进行统计分析时未统计在内, 后面分析), 其仪器检测的 3 项结果作为对照组, 用基恩特定蛋白仪测量 UALB, 用贝克曼 AU680 全自动生化分析仪测量 UCr, 并计算 ACR 为参考组。

1.2 仪器与试剂 Afinion AS100 全自动特种蛋白干式免疫散射色谱分析仪, 试剂和校准品为美艾利尔 (中国) 医疗器械有限公司提供; 基恩蛋白免疫分析仪, 透射免疫比浊法试剂及校准品为上海基恩科技有限公司提供; 贝克曼 AU680 全自动生化分析仪, 试剂及校准品为上海复星长征医学科学有限公司提供。

1.3 检测方法 收集临床的送检 ACR 的尿液标本, 在 Afinion AS100 全自动特种蛋白干式免疫散射色谱分析仪检测之后, 对于临床确诊为糖尿病的标本在基恩蛋白免疫分析仪上透射比浊法做 UALB 检测在贝克曼 AU680 生化分析仪上酶法稀释做 UCr 检测, 计算 ACR。具体操作按照操作规程进行。

1.4 统计学处理 应用 SPSS19.0 统计学软件对数据进行相关分析。

2 结果

Afinion 分析仪所检测的 UALB (单位: mg/L)、UCr (单位: mmol/L) 以及计算出的 ACR (单位: mg/mmol) 与基恩蛋白免疫分析仪所检测的 UALB 和贝克曼 AU680 所检测的 UCr

及所计算出的 ACR 保留相同的小数位数, 进行相关性统计分析, ACR 采用欧洲评判标准, 正常尿: ACR < 2.5 mg/mmol; 微量清蛋白尿: ACR 2.5 ~ 25 mg/mmol; 临床清蛋白尿: 26 ~ 300 mg/mmol。上面两种方法所测微量清蛋白数据显著相关, 相关系数 $r = 0.981$, $P < 0.05$; Afinion 分析仪所测尿肌酐与贝克曼 AU680 生化仪所检测的尿肌酐显著相关, 相关系数 $r = 0.993$, $P < 0.05$ 。双方计算出的 ACR 也显著相关, 相关系数 $r = 0.966$, $P < 0.05$ 。在此统计过程中, 有两组数据都为 UALB < 5 mg/L、UCr < 1.5 mmol/L, 因无法计算 ACR, 进行统计时没有计算在内, 其在评判微量清蛋白尿还是正常尿是无法评判, 对于高出检测范围的进行稀释检测。因此, 在检测结果方面 Afinion 特定蛋白仪所检测的结果是可信的, 能够满足临床需求。

3 讨论

Afinion AS100 全自动特种蛋白干式免疫散射色谱分析仪所检测的数据跟目前临床常用的基恩蛋白免疫分析仪和贝克曼 AU680 生化分析仪所检测的数据呈显著相关 ($P < 0.05$), 结果可信, 两种方法计算出的 ACR 也呈显著相关, 相关系数 $r = 0.966$ 。因现在 ACR 正渐渐取代 UALB 来评判临床微量清蛋白尿^[8-9], 其在评判糖尿病早期肾损伤的过程中排除了尿液浓缩的影响, 作为肾早期损伤的指标越来越被大家接受, 而用以前方法做 ACR, 要先在特定蛋白仪上做 UALB 检测, 再在另一仪器上测 UCr, 然后计算出 ACR, 操作繁琐, 时间又长, 而现在 Afinion 分析仪能够快速检测出 3 个结果 (UALB、UCr、ACR), 操作简单, 方便快捷, 在同一仪器上做, 误差较小, 在实际应用中更适合实验室操作。但其对个别标本无法检测出 ACR 结果, 因其检测范围有限, UALB 范围 5 ~ 200 mg/L, UCr 范围 1.5 ~ 30 mmol/L, 对于高出范围可稀释检测以得出结果, 但对于都低于其下限检测范围的就太不容易检测, 从而无法得出准确 ACR 比值, 也就无法评判是否是微量清蛋白尿。在现实实验中, 因考虑到成本问题, 对于能够得出大于某一结果的 ACR, 可能不会进行微量清蛋白的稀释检测, 只要能够评判其属于有微量清蛋白尿还是正常尿就行, 另外, 该仪器对外界温度和试剂温度要求较高, 都要求为 20 ~ 30 ℃。

在糖尿病早期肾损伤的鉴别诊断中, ACR 越来越被临床接受, Afinion AS100 分析仪在一定环境下能够快速、方便、准

△ 通讯作者, E-mail: 779792261@qq.com。

确的得出 ACR 结果,便于临床诊断。

参考文献

[1] 毕艳. 中国糖尿病慢性并发症的流行病学研究现状[J]. 中华糖尿病杂志, 2015, 7(8): 467-469.

[2] 李娜, 李显文, 李思成. 糖尿病的代谢综合征患者血清抵抗素水平的研究[J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(8): 1249-1252.

[3] 黄佑群, 付平, 刘芳. 糖尿病肾脏疾病预后影响因素研究进展[J]. 中华肾脏病杂志, 2012, 28(2): 159-164.

[4] 李健, 李显文. 血清胱抑素 C、尿微量白蛋白/尿肌酐比值联合测定在老年 2 型糖尿病早期肾病诊断的价值[J]. 中国医学创新, 2015, 26(1): 4-6.

[5] 周肇魁. 血清 HCY、CysC 检测在老年 2 型糖尿病肾病患者中的作

• 临床研究 •

用[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(19): 3828-3829.

[6] 刘颖, 朱海燕, 晏燕. 血清胱抑素 C 及同型半胱氨酸联合检测在糖尿病早期肾损害诊断中的应用价值[J]. 中国临床研究, 2012, 25(2): 140-141.

[7] 林明相, 赵玲敏. 3 项指标联合检测在 2 型糖尿病早期肾损害的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2012, 18(22): 2315-2317.

[8] 王慧. 尿微量白蛋白与肌酐比值对社区糖尿病患者早期肾病的诊断价值[J]. 上海医药, 2015, 2(1): 35-36.

[9] 刘德贝, 曹艳林, 吴建华, 等. 随机尿蛋白与尿肌酐比值测定临床分析[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(4): 293-294.

(收稿日期: 2015-11-15)

非小细胞肺癌患者胸水与外周血检测 EGFR 基因突变的比较

刘根贤¹, 慕进勇², 张守翠³

(1. 山东省日照市妇幼保健院检验科, 山东日照 276826; 2. 山东省荣成市石岛人民医院检验科, 山东荣成 264309; 3. 山东省日照市中医院骨科, 山东日照 276800)

摘要:目的 比较外周血和胸水两种样本检测 EGFR 基因突变的情况, 为临床选取合适的送检标本提供参考。方法 选取非小细胞肺癌(NSCLC)合并恶性胸腔积液病例 65 例, 收集血液和胸水标本, 分别抽取 DNA, 使用巢式 PCR 扩增检测。采用 SPSS19.0 软件进行数据处理。结果 65 例 NSCLC 患者中有吸烟史的患者占 44.6%。病理类型为腺癌的有 53 例, 占 81.5%; 非腺癌 12 例, 占 18.5%。NSCLC 分期为Ⅲb 者有 34 例, 占 52.3%; Ⅳ31 例, 占 47.7%。胸水总检出率(36.9%)高于血清总检出率(18.5%), 两种样本中 19 号外显子突变检出率均高于 21 号外显子的。19 号外显子的突变类型为删除突变, 即 DelE746-A750、DelE746-T751, 胸水中多出一种 DelL747-P753 insS。21 号外显子的突变类型为点突变, 即 L858R 和 L861Q。结论 虽然外周血中的 EGFR 基因突变的检出率低于胸水中的, 但是 19 和 21 外显子的突变情况在外周血和胸水标本中基本一致, 循环 DNA 可以反映组织中 DNA 的变化。

关键词:非小细胞肺癌; 胸水; 外周血; EGFR 基因突变

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.07.051

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)07-0985-03

非小细胞肺癌(NSCLC)约占肺癌的 80%, 恶性程度高, 发现时多数已经处于晚期。传统的治疗办法, 如化疗、放疗和手术的疗效不尽如人意。随着对肺癌生物标志物的深入研究和致病机理的逐步阐明, 分子靶向治疗已经成为肺癌综合治疗中的最新模式, 受到广泛关注。目前 NSCLC 治疗的重要方向之一即以肿瘤细胞分化增殖相关的酶为靶点, 其中以表皮生长因子受体(EGFR)为靶点的分子靶向治疗取得了较广泛的临床应用。EGFR 基因突变主要发生在 18~21 外显子, 其中 19 和 21 外显子突变占据约 90%。大量临床研究显示检测 EGFR 基因突变可以筛查对靶向药敏感的患者, 从而实现靶向个体化治疗^[1-3]。但是 EGFR 基因突变样本往往由组织取样获得, 创伤大, 操作繁琐。近年来, NSCLC 患者的外周血循环 DNA 分析可一定程度反映肿瘤情况, 其检测得到了广泛关注^[4]。胸水中可直接收集肿瘤脱落细胞, 也是 EGFR 基因突变检测的常见样本来源^[5]。本文比较了外周血和胸水两种样本检测 EGFR 基因突变的情况, 为临床选取合适的送检标本提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 NSCLC 合并恶性胸腔积液病例 65 例, 其中男 35 例, 女 30 例, 年龄 37~79 岁, 平均年龄 62 岁。所有血液样本均使用 EDTA-K₂ 真空采血管收集。采血后及时离心(3 500 r/min, 10 min)分离血浆, 取上清, 获得无血细胞成分的血浆, 用 1.5 mL 离心管分装。每例抽取胸水 250~500 mL。

1.2 DNA 抽提及巢式 PCR 扩增检测

1.2.1 外周血样本使用 QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen) 试剂盒抽提。胸水脱落细胞经石蜡包埋后, 使用 QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (Qiagen) 试剂盒抽提。抽提步骤按照试剂盒说明书进行。

1.2.2 巢式 PCR 扩增目的片段为 EGFR 基因 19 和 21 号外显子。引物参考文献设计^[6], 引物合成及测序由上海生工生物工程公司完成。反应条件为: 94 ℃, 5 min; 94 ℃, 40 s, 58 ℃, 45 s, 72 ℃, 1 min; 35 个循环; 72 ℃延伸 7 min。琼脂糖凝胶纯化回收试剂盒 DR01(北京艾德莱生物科技有限公司)。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据处理, 计量资料采用 *t* 检验, 计数资料采用 χ^2 检验, 以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 入选患者临床资料 选取 NSCLC 合并恶性胸腔积液病例 65 例, 男 35 例(阳性率 71.4%), 女 30 例(阳性率 28.6%); 年龄 37~79 岁, 平均年龄 62 岁。有吸烟史的患者占 44.6%。病理类型为腺癌的有 53 例, 占 81.5%; 非腺癌 12 例, 占 18.5%。NSCLC 分期为Ⅲb 期有 34 例, 占 52.3%; Ⅳ期 31 例, 占 47.7%。

2.2 19 和 21 外显子突变检出情况 65 例 NSCLC 患者同时检测血清样本和胸水样本中的 EGFR 基因突变情况, 胸水总