

乳胶增强散射免疫比浊法测定血清 cystatin-C

朱雪明 单卫民 张国平

Cystatin-C(Cys-C)为巯基蛋白酶抑制肽C,又称血清 γ -微球蛋白或 γ -痕迹蛋白,它在有核细胞中稳定生成,不受炎症影响,属低分子蛋白,能够通过肾小球滤过膜,由于其分子量大于肌酐,且带正电荷,这一特点使它更易反映肾小球滤过膜通透性的早期变化,是比肌酐更灵敏的标志物^[1]。Grubb等认为血中Cys-C水平不受肌肉体积影响,能更准确反映肾小球滤过率(GFR)^[2]。目前,我国在血

清Cys-C的测定和临床应用方面尚未见报道,本文采用乳胶增强散射免疫比浊法测定血清Cys-C浓度,旨在为临床早期诊断肾脏疾病提供一个新的指标。

材料与方 法

1 仪器和试剂 Cys-C测定使用BN-100全自动微量蛋白分析仪(美国德灵公司)和其配套的试剂、标准品、质控品。肌酐测定使用RXL全自动生化分析仪(美国德灵公司)和其配套试剂。

2 标本 静脉采血2 ml,当天测定或置-80℃保

作者单位:215004 江苏省苏州大学附属第二人民医院(朱雪明,单卫民);镇江医学院实习生(张国平)

表3 特异性测定结果比较

	随 机 标 本										强阳性	弱阳性	阴性	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
本法	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
Capture	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
标本	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20				
本法	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Capture	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
标本	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30				
本法	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-				
Capture	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-				

讨 论

本包被方法测定结果同进口试剂测定结果相吻合,可以替代进口试剂进行血小板抗体及相容性测定,国内一般以聚甲醛固定15分钟后进行操作,而本方法可以立即进行测定,节省时间。因我院使用ABS2000全自动血库系统进行红细胞相容性检测,常规备有低离子液、PBS及指示细胞试剂,解决包被条件后,可以不用另行购买MCP试剂即可开展血小板抗体及相容性配型测定。该方法结果清晰、稳定。在包被血小板时,须有足够的血小板,如包被的血小板量太少,可影响测定结果,产生假阳性。另外在操作过程中,实验所用试剂和用品被细菌或化学物质污染、孵育时间不当、离心不当、洗涤不当等因素也可引起结果不准确。在洗板时最好用

pH 6.5~7.5 PBS,如在加入指示细胞前的洗板时未使用PBS,则可能使抗原抗体结合物受到破坏。包被用的血小板,用EDTA、ACP、CPD等抗凝,凝固血标本不能使用。采集富血小板血浆需立即分离,但采集48小时内血小板包被效果最好。

参 考 文 献

- 1 聂咏梅. 血小板血型血清学研究进展. 国外医学输血及血液学分册, 1998, 21(6): 400.
- 2 Rachel JM, Sinor LT, Tawfik OW, et al. A solid-phase red cell adherence test for platelet crossmatching. Med Lab Sci, 1985, 42: 194.
- 3 吴国光. 固相血小板免疫血清学试验的研究和应用. 中华血液学杂志, 1988, 9(5): 258.
- 4 刘达庄. 简易致敏红细胞血小板血清学技术的研究和应用. 中华血液学杂志, 1993, 14(12): 642.

存待测。

3 方法 血清 Cys-C、肌酐均在封闭通道上测定，方法分别为乳胶增强散射免疫比浊法和 Jaffe 法。

结 果

1 精密度 取低、中、高 3 种 Cys-C 混合血清测定批内、批间精密度。结果见表 1。由表 1 可见，本方法测定血清 Cys-C，其批内平均 CV 为 1.09%，批间平均 CV 为 2.13%，符合临床需要。

表 1 散射免疫比浊法测定 Cys-C 的批内、批间变异 (n=20)

组别	Cys-C(mg/L)	CV%
批内	0.85	1.76
	1.40	1.07
	4.23	0.43
批间	0.85	2.24
	1.40	2.93
	4.23	1.21

2 回收试验 取低值和高值新鲜血清各 1 份 (0.56 mg/L、5.30 mg/L)，以不同比例混合，结果见表 2。由表 2 可见本法测定血清 Cys-C 的平均回收率为 98%。

表 2 散射免疫比浊法测定 Cys-C 的回收试验

标本号	理论值	测定值	回收率(%)
1	0.99	1.02	103
2	1.85	1.86	101
3	2.71	2.65	97
4	3.15	3.02	96
5	4.01	3.89	97
6	64.87	4.79	98

3 干扰试验 取 4 份高值 Cys-C 混合血清，分别加入干扰物类风湿因子、胆红素、甘油三酯、Hb 等使其终浓度如表 3。由表 3 可见 RF≤1 116 IU/L、BIL≤417.6 μmol/L、TG≤10.47 mmol/L、Hb≤

12 g/L 时对本法无干扰。

表 3 散射免疫比浊法测定 Cys-C 的干扰试验

干扰物	加入量	测定值	理论值	回收率(%)
类风湿因子 (IU/L)	0	6.60	—	—
	72	5.29	5.06	104
	744	3.52	3.47	101
	1 116	1.94	1.88	104
胆红素 (μmol/L)	0	3.11	—	—
	139.25	2.76	2.74	102
	178.40	2.35	2.37	99
	417.60	2.00	2.00	100
甘油三酯 (mmol/L)	0	5.47	—	—
	3.49	4.03	4.18	97
	6.98	2.83	2.88	98
	10.47	1.54	1.58	98
Hb (g/L)	0	9.00	—	—
	4	6.25	6.31	99
	8	3.56	3.60	99
	12	0.91	0.90	101

4 年龄因素 分析 63 例经临床和实验室检查确诊无肾功能异常的患者，年龄为 1~63 岁，男 33 例，女 30 例。血清 Cys-C 浓度与年龄关系见图 1。图 1 显示血清 Cys-C 浓度不受年龄影响。

5 性别因素 统计上述 63 例标本 (男 33 例，女 30 例)，血清 Cys-C 浓度男性为 0.82±0.21 mg/L，女性为 0.70±0.18 mg/L，经 t 检验分析，结果性别差异无显著性 (P>0.05)，表明血清 Cys-C 浓度不受性别影响。

6 与肌酐浓度的关系 见图 2。分析 62 例标本，其中无肾功能异常者 30 例，高血压患者 15 例，糖尿病患者 10 例，慢性肾炎患者 7 例，分别测定血清 Cys-C 浓度和肌酐浓度，经相关分析得出回归方程为：Cys-C = 0.0103 × 肌酐浓度 - 0.159 1, γ = 0.78，表明血清 Cys-C 与肌酐为正相关。

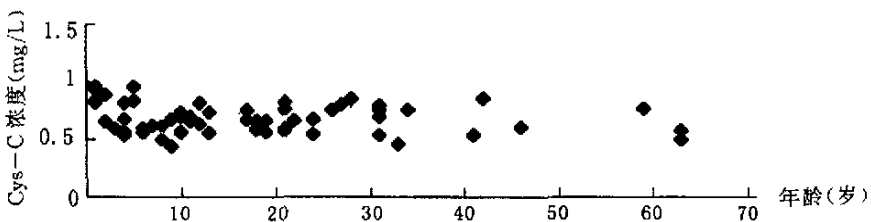


图 1 Cys-C 浓度与年龄的关系

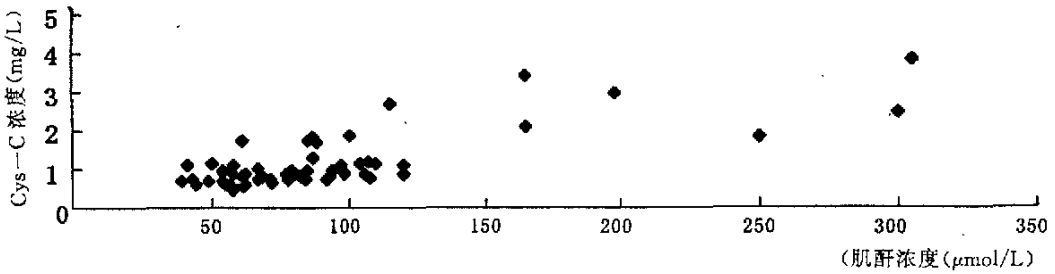


图2 Cys-C浓度与肌酐浓度的关系

讨论

Cys-C 作为肾小球损伤的标志物,近年来得到广泛的关注,有研究表明血清 Cys-C 浓度与 GFR 相关系数 $\gamma=0.83$,肌酐浓度与 GFR 相关系数 $\gamma=0.67$,血清 Cys-C 浓度与肌酐浓度相关系数 $\gamma=0.58^{[3]}$ 。我们的研究显示血清 Cys-C 浓度与肌酐浓度相关系数 $\gamma=0.78$,与文献基本相符^[3]。肌酐是目前临床上评价肾小球功能最常用的指标之一,但肌酐的产生很大程度上与肌肉活动有关,年龄和性别对其也有一定的影响,并且传统的 Jaffe 测定法受溶血、胆红素、葡萄糖、尿酸等因素影响,偏差较大。而我们的研究发现血清 Cys-C 浓度与年龄不相关($\gamma=-0.1504$),这与 HELIN 等^[4]报道的结果相一致。Cys-C 浓度在男女之间的差异无显著性 ($P>0.05$)。干扰试验显示在 RF ≤ 1116 IU/L、BIL ≤ 417.6 $\mu\text{mol/L}$ 、TG ≤ 10.47 mmol/L、Hb ≤ 12 g/L 时对 Cys-C 的测定无明显干扰,与 Jan Kyhse-Andersen^[5]的研究基本一致。由此可见,乳胶增强散射免疫比浊法测定 Cys-C 在评价肾功能方面优于肌酐。

采用乳胶增强散射免疫比浊法测定血清 Cys-C,其精密度为批内平均 CV=1.09%,批间平均 CV=2.13%,平均回收率为 98%,整个分析过程

只需要 6 分钟。因此,我们认为乳胶增强散射免疫比浊法测定血清 Cys-C 是评价肾小球损伤的快速、精确、简单的方法,适用于临床实验室检测。

参考文献

- 1 Newan DJ, Thakkar H,Idwards RG,et al. Serum Cystation C meared by automated immunoassay: A more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine, *Kidney Int*, 1995,47:312-318.
- 2 Grubb A, Nielsoon Ehle P. New markers for the determination of GFR: Iohexol clearance and Cystatin C serum concetration . *Kidney Int* ,1994, 46 (47): S17-S19.
- 3 Helin M Axenram. A Grubb Serum Cystatin C as a determinant of glomerular filtration rate in children. *Clin Nephrology* ,1998,49(4):221-225.
- 4 L Norlund,G Fex ,J Lanke ,et al. Reference intervals for the glomerular filtration rate and cell-proliferation markers ;serum cystatin C and serum β_2 -microglobulin/ cystatin C-ratio. *Scand J Clin Lab Invest* ,1997, 57: 463-470.
- 5 Jan Kyhse-Andersen ,Camilla Schmidt. Serum cystatin C, determined by a rapid. atuomated particle-enhanced turbidmetric method, is a better\ marker than serum creatinine for glomerular filtratiojn rate . *Clin Chem* , 1994,40:1921-1926.

(上接第 67 页)

度高、特异度好的试剂及先进的仪器设备和最好的人员技术,也不可避免对血源病毒包括 HIV 感染“窗口期”的漏检。所谓“窗口期”是自感染开始至抗原或抗体可被检测的间隔期,所以安全输血也只能是相对而言,只有加强临床用血科学管理,严格用

血审批制度,从严掌握 600 ml 以下失血的输血指征,减少不必要的输血,推广成分输血和自身输血技术,控制全血使用量,科学合理应用血液成分,才能做到安全、合理、有效地用血,可相对减少 HIV 及其它血源性疾病传播的机会。