DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.07.057
第24卷第7期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 7
868 2002年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2002

论著

文章编号:1000-5404(2002)07-0868-02

单克隆抗体法检测尿中血红蛋白临床应用初探

岳秀玲,孙越红,王苏平 (首都医科大学附属北京天坛医院检验科,北京 100050)

提 要:目的 应用单克隆抗体法检测尿中血红蛋白,探讨鉴别尿中血红蛋白的准确而简便的方法,为临床提供可靠的实验依据。方法 测定单克隆抗体法及邻联苯胺法检测血红蛋白的灵敏度;应用单克隆抗体法及邻联苯胺法测定30例健康者及105例患者尿液。结果 单克隆抗体法检测尿血红蛋白最低检出浓度为0.21 μg/ml,邻联苯胺法为1.66 μg/ml。30例健康者尿液单克隆抗体法及邻联苯胺法检测结果均为阴性。105例患者尿液单克隆抗体法检测结果97例阳性,8例阴性;邻联苯胺法检测结果49例阳性,56例阴性,二者有显著性差异($P<0.01$)。结论 单克隆抗体法检测尿血红蛋白特异性强,灵敏度高,作为鉴别尿中有无血红蛋白的准确而简便的方法,可弥补干化学法和显微镜检测法的不足。

关键词:尿血红蛋白;单克隆抗体;尿液分析
中图法分类号:R466.12;R446.61 文献标识码:A

Clinical application of a monoclonal antibody method in determining urine hemoglobin

YUE Xiu-ling, SUN Yue-hong, WANG Su-ping (Department of Clinic Laboratory, Beijing Tiantan Hospital, Capital University of Medical Sciences, Beijing 100050, China)

Abstract: Objective To obtain an efficient method for determing hemoglobin in urine for clinical usage. Methods Monoclonal antibody method and benzidine method were employed to measure the urine hemoglobin of 30 normal individuals and 105 patients with erythrocytes > 10/μl. The accuracies of the 2 methods were compared. Results The lowest detectable concentration of monoclonal antibody method was 0.2 μg/ml and that of benzidine method 1.66 μg/ml. The 30 samples of normal volunteers were negative with both methods. Among 105 patients 97 patients had positive result detected by monoclonal antibody method and 8 negative. While benzidine method only found 49 cases were positive and 56 cases negative. Conclusion Monoclonal antibody method is accurate and specific and is suitable for determining urine hemoglobin in clinical work.

Key words: urine analyzes; monoclonal antibodies; hemoglobin in urine

尿中血红蛋白的检测,是诊断溶血性疾病的重要指标之一。临床上,有些肾病或泌尿系统疾病患者,红细胞在肾脏或泌尿道破坏,导致尿沉渣显微镜镜检呈阴性结果,使尿常规检查结果与尿沉渣显微镜镜检结果不符,给临床诊断造成一定困难。此时检测尿血红蛋白更显重要。目前检测尿血红蛋白多采用化学法和干化学法。化学法的灵敏度低,而干化学法存在一些干扰物质,使之出现假阳性结果。采用单克隆抗体法检测尿中血红蛋白,结果较为满意,现报告如下。

1 资料和方法

1.1 研究对象

30例健康者和105例尿液常规检查结果ERY≥10/μl(干化学法)、尿沉渣镜检红细胞为阴性之尿液。

1.2 方法

1.2.1 不同浓度血红蛋白液的制备 取定值血红蛋白液(108 g/L)10 μl加蒸馏水10 ml,并倍比稀释,其浓度分别为108,54,27,13.5,6.65,3.32,1.66,0.83,0.41,0.21,0.11 μg/ml。

1.2.2 单克隆抗体法检测血红蛋白 万华普曼生物有限公司生产的潜血板,其原理是应用单克隆抗人血红蛋白抗体特异性检测人血红蛋白。样本中的血红蛋白和潜血板中的抗体染料形成抗原抗体复合物,再与反应区的抗血红蛋白抗体反应形成紫红色色带。根据此色带的有无判断标本中是否含有血红蛋白。方法:滴3~5滴标本于潜血板之反应孔内,5 min内观察结果。结果判断:在控制线及反应线上同时出现两条紫红色色带者为阳性,只在控制线出现一条紫红色色带者为阴性。在控制线出现紫红色色带表明试验有效。取上述不同浓度血红蛋白液分别滴5滴于潜血板之反应孔内,5 min内观察结果。

1.2.3 邻联苯胺法测定血红蛋白 取上述不同浓度血红蛋白液,用邻联苯胺法[1]测定血红蛋白。

1.2.4 临床尿标本的检测 取上述30例健康人和105例患者随机尿液,分别用单克隆抗体法及邻联苯胺法进行检测,记录结果。

1.3 统计学方法

χ^2检验。

2 结果

单克隆潜血板的灵敏度:上述不同浓度的血红蛋白液,用潜血板检测血红蛋白最低检测浓度为0.21 μg/ml;邻联苯胺氧化法检测血红蛋白最低检测浓度为1.66 μg/ml,见表1。

作者简介:岳秀玲(1962-),女,北京市人,主管检验师,主要从事临床检验方面的研究,发表论文8篇。电话:(010)67016611-2778

收稿日期:2001-09-11;修回日期:2002-04-05

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1　化学法与抗体法检测尿中血红蛋白最低检测浓度比较

Tab 1　Comparison of lowest concentrations of urine hemoglobin measured with benzidine and monoclonal antibody methods

Concentration of Hb (μg/ml)	108	54	27	13.5	6.65	3.32	1.66	0.83	0.41	0.21	0.11
Monodonal antibody method	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−
Benzidine method	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−

30 例健康者单克隆抗体法及邻联苯胺法检测结果均为阴性; 105 例患者尿常规 ERY≥ 10/μl, 但尿沉渣镜检均为偶见红细胞/ 高倍视野或未见红细胞, 属于正常范围[2], 单克隆抗体法检测结果 97 例阳性, 8 例阴性; 邻联苯胺法检测结果 49 例阳性, 56 例阴性。

135 例尿液血红蛋白测定结果的比较见表 2, 经统计学处理[3], $\chi^2 = 48$, $P < 0.01$, 两种方法有显著性差异。

表 2　135 例尿液血红蛋白两法测定结果比较

Tab 2　Comparison on urine hemoglobin concentrations determined by benzidine and monoclonal antibody methods

	n	Positive	Negative	Positive rate(%)
Monodonal antibody method	135	97	38	71.85
Benzidine method	135	49	86	36.30

97 例阳性结果中, 部分患者经临床确诊 17 例为肾小球肾炎, 18 例慢性肾炎, 4 例肾结石, 1 例肾萎缩, 11 例肾透析及 3 例溶血性贫血患者, 其他患者无明确诊断。

3　讨论

检测尿中血红蛋白对疾病的诊断有着十分重要的意义。在尿常规检查时, 应用干化学法既能检测完整的细胞成分, 又能通过与血红蛋白的过氧化物酶样反应检测出血红蛋白含量而报告红细胞的数量, 有些肾病患者, 由于红细胞在肾脏或泌尿道破坏, 虽然干化学法能检测出, 但临床多以显微镜镜检为准, 导致干化学法与显微镜检结果不一致, 给临床诊断带来一定的困难和混乱。同时干化学法检测尿中血红蛋白, 因存在干扰物质, 有时出现假阳性[4], 使临床无法鉴别尿液中是否真正含有血红蛋白。若用化学方法检测尿血红蛋白, 灵敏度较低, 尿中含少量血红蛋白时, 检测不出来, 而且也存在一些干扰物质。单克隆抗体法其实验原理是采用抗人血红蛋白抗体, 与人血红蛋白发生抗原抗体反应, 此抗原抗体复合物再与反应板内反应区中的抗血红蛋白抗体形成紫红色的色带。实验结果显示, 邻联苯胺法的灵敏度为 1.66 μg/ml; 单克隆抗体法灵敏度为 0.21 μg/ml, 含高浓度血红蛋白的标本, 在不到 1 min 就可得到阳性结果, 这样在病理情况下尿中一旦含有少量血红蛋白, 就能检测出来, 不会误诊, 从而弥补了干化学法、化学法和显微镜镜检的不足。105 例干化学法阳性的患者中 97 例经抗体法检测确认为阳性, 8 例为阴性, 这 8 例可能存在干扰物质导致干化学法出现假阳性, 97 例中 54 例经临床确诊为肾病及溶血性疾病。显然, 干化学法检测阳性, 显微镜检查阴性, 虽然有假阳性的可能, 但并不能排除因各种原因导致红细胞破坏致显微镜检查假阴性的可能, 由于单克隆抗体法的特异性可排除干化学法的假阳性结果, 在临床应用时, 由于多种原因导致尿中红细胞破坏, 血红蛋白溢出到尿液中造成红细胞干化学法检出红细胞, 而镜检未见红细胞时, 可应用此方法检测尿中血红蛋白, 鉴别是否是假阳性, 为临床提供有力的诊断依据。此方法是针对人血红蛋白的抗原抗体反应, 特异性强, 无其它干扰物质, 敏感度高, 操作简便, 结果容易判断, 不失为一种好的检测尿液血红蛋的定性方法, 并可作为鉴别尿中有无血红蛋白的简便方法, 具有较高的临床应用价值。

参考文献:

[1] 叶应妩, 王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 第 2 版. 南京: 东南大学出版社, 1997. 124.
[2] 戚仁铎, 王淑娟. 诊断学[M]. 第 2 版, 北京: 人民卫生出版社, 1988. 380.
[3] 郭祖超. 医用数理统计方法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1988. 169－201.
[4] 丛玉隆, 马骏龙. 当代尿液分析技术与临床[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1998. 65.

（编辑　张大春）

消息

欢迎订阅《第三军医大学学报》

《第三军医大学学报》是中国临床医学类、中国特种医学类及综合性医药卫生类核心期刊, 是中国科技论文统计源期刊、中国科学引文数据库统计源期刊、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊, 被美国《化学文摘》(CA)等国内外权威数据库和文摘性刊物收录。本刊主要报道校内外广大医疗教学、科研工作者在医药科研领域中所取得的新理论、新成果、新经验、新技术、新方法。主要栏目设有: 专家论坛、专题报道、论著、基础医学、临床研究、综述、技术和方法、经验交流、个案与短篇、科研简报等。

本刊从 2003 年元月起改为半月刊, 大 16 开, 96 页, 铜版纸印刷。每期定价 10.00 元, 全年 240.00 元。邮发代号: 78－91, 请及时向当地邮局订阅, 漏订读者请直接汇款至本刊编辑部, 免收邮寄费。地址: 重庆市高滩岩正街 30 号《第三军医大学学报》编辑部, 邮编: 400038。电话: 023-68452187, 电子信箱: aammt@mail.tmmu.com.cn

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net