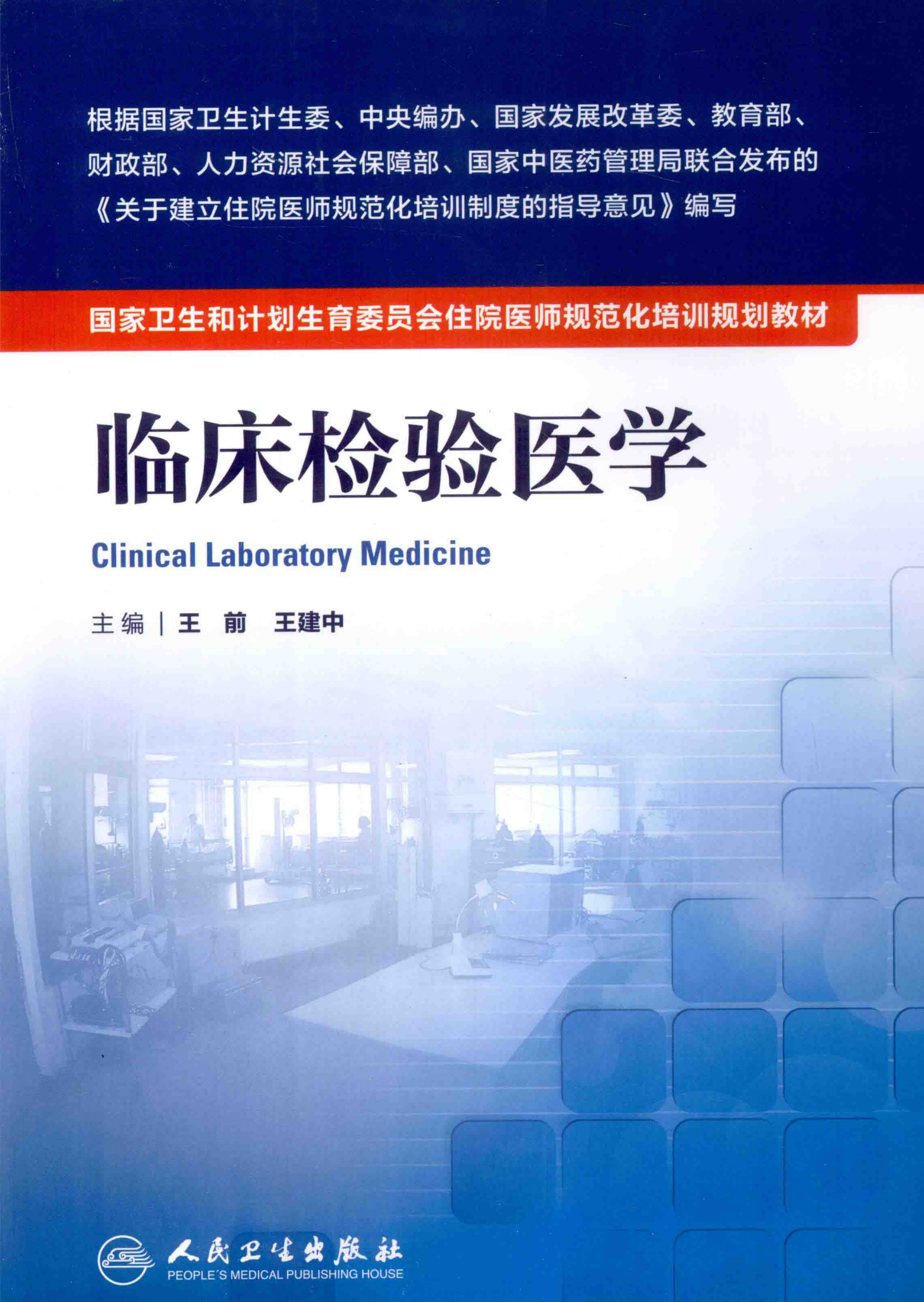
根据国家卫生计生委、中央编办、国家发展改革委、教育部、财政部、人力资源社会保障部、国家中医药管理局联合发布的《关于建立住院医师规范化培训制度的指导意见》编写

国家卫生和计划生育委员会住院医师规范化培训规划教材

临床检验医学

Clinical Laboratory Medicine

主编 | 王 前 王建中



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

根据国家卫生计生委、中央编办、国家发展改革委、教育部、
财政部、人力资源社会保障部、国家中医药管理局联合发布的
《关于建立住院医师规范化培训制度的指导意见》编写

国家卫生和计划生育委员会住院医师规范化培训规划教材

临床检验医学

1. 内科学 心血管内科分册
2. 内科学 呼吸与危重症医学科分册
3. 内科学 消化内科分册
4. 内科学 血液内科分册
5. 内科学 肾脏内科分册
6. 内科学 内分泌科分册
7. 内科学 风湿免疫科分册
8. 内科学 感染科分册
9. 儿科学
10. 急诊医学
11. 皮肤性病学
12. 精神病学
13. 神经病学
14. 全科医学
15. 康复医学
16. 外科学 普通外科分册
17. 外科学 神经外科分册
18. 外科学 胸心外科分册
19. 外科学 泌尿外科分册
20. 外科学 整形外科分册
21. 骨科学
22. 小儿外科学
23. 妇产科学
24. 眼科学
25. 耳鼻咽喉头颈外科学
26. 麻醉学
27. 临床病理学
28. 临床检验医学
29. 放射影像学
30. 超声医学
31. 核医学
32. 肿瘤放射治疗学
33. 医学遗传学
34. 预防医学
35. 口腔医学 口腔全科分册
36. 口腔医学 口腔内科分册
37. 口腔医学 口腔颌面外科分册
38. 口腔医学 口腔修复科分册
39. 口腔医学 口腔正畸科分册
40. 口腔医学 口腔病理科分册
41. 口腔医学 口腔颌面影像科分册
42. 重症医学
43. 循证医学
44. 医学科研方法
45. 医学伦理学实践
46. 医患沟通技能训练
47. 住院医师英语手册

策划编辑 邬 洁 刘 彬
责任编辑 张亚琴 邬 洁
封面设计 李 蹊
版式设计 单 斯

人卫社官网 www.pmph.com 出版物查询，在线购书
人卫医学网 www.ipmph.com 医学考试辅导，医学数据库服务，医学教育资源，大众健康资讯

ISBN 978-7-117-20500-9
9 787117 205009 >
定 价：116.00 元

国家卫生和计划生育委员会住院医师规范化培训规划教材

临床检验医学

Clinical Laboratory Medicine

主　编　王　前　王建中

副主编　府伟灵　李　莉　续　薇　欧启水

人民卫生出版社

图书在版编目（CIP）数据

临床检验医学 / 王前，王建中主编 . —北京：人民卫生出版社，2015

国家卫生和计划生育委员会住院医师规范化培训规划教材

ISBN 978-7-117-20500-9

Ⅰ. ①临… Ⅱ. ①王…②王… Ⅲ. ①临床医学 - 医学检验 - 医师 - 职业培训 - 教材 Ⅳ. ①R446.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2015）第 060294 号

人卫社官网 www.pmph.com 出版物查询，在线购书
人卫医学网 www.ipmph.com 医学考试辅导，医学数据库服务，医学教育资源，大众健康资讯

版权所有，侵权必究！

临床检验医学

主　　编：王　前　王建中
出版发行：人民卫生出版社（中继线 010-59780011）
地　　址：北京市朝阳区潘家园南里 19 号
邮　　编：100021
E - mail：pmph @ pmph.com
购书热线：010-59787592　010-59787584　010-65264830
印　　刷：北京人卫印刷厂
经　　销：新华书店
开　　本：850 × 1168　1/16　　**印张：**41
字　　数：1128 千字
版　　次：2015 年 9 月第 1 版　2015 年 9 月第 1 版第 1 次印刷
标准书号：ISBN 978-7-117-20500-9/R · 20501
定　　价：116.00 元
打击盗版举报电话：010-59787491　E-mail：WQ @ pmph.com
（凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换）

编委名单

编　委(以姓氏笔画为序)

王　前　南方医科大学
王　辉　北京大学人民医院
王成彬　中国人民解放军总医院
王传新　山东大学齐鲁医院
王建中　北京大学第一医院
王培昌　首都医科大学宣武医院
邓安梅　上海长海医院
刘忠民　广州医科大学附属第一医院
孙自镛　华中科技大学同济医学院附属同济医院
李　山　广西医科大学第一附属医院
李　莉　上海市第一人民医院
李　智　同济大学附属杨浦医院
杨红英　昆明医科大学第二附属医院
辛晓敏　哈尔滨医科大学附属第一医院
陈　鸣　第三军医大学大坪医院
陈　瑜　浙江大学附属第一医院
欧启水　福建医科大学附属第一医院
府伟灵　西南医院
郑　磊　南方医科大学南方医院
屈晨雪　北京大学第一医院
胡志东　天津医科大学总医院
胡晓波　上海交通大学医学院附属第三人民医院
段　勇　昆明医科大学第一附属医院
段朝晖　中山大学孙逸仙纪念医院
姜晓峰　哈尔滨医科大学附属第四医院
续　薇　吉林大学白求恩第一医院
鲁辛辛　首都医科大学附属北京同仁医院

编写秘书　张继瑜(南方医科大学南方医院)

出 版 说 明

为深入贯彻国家卫生计生委、中央编办、国家发展改革委、教育部、财政部、人力资源社会保障部、国家中医药管理局联合发布的《关于建立住院医师规范化培训制度的指导意见》文件精神，满足全国各地住院医师规范化培训的要求，在国家卫生和计划生育委员会科教司领导和支持下，全国高等医药教材建设研究会、全国住院医师规范化培养教材评审委员会组织编写了《住院医师规范化培训规划教材》，人民卫生出版社正式出版。

本套教材的编写原则是：①坚持“三个对接”：与5年制的院校教育对接，与执业医师考试对接，与专科医师的准入和培训对接；②强调“三个转化”：在院校教育强调“三基”的基础上，本阶段强调把基本理论转化为临床实践、基本知识转化为临床思维、基本技能转化为临床能力；③强化“三个临床”：早临床、多临床、反复临床；④提高“四种能力”：职业道德、专业能力、人际沟通与团队合作能力、教学与科研的能力；⑤培养“三种素质”：职业素质、人文素质、综合素质；⑥实现“三医目标”：医病、医身、医心。不仅要诊治单个疾病，而且要关注患者整体，更要关爱患者心理。

本套教材强调“规范化”和“普适性”，实现培训过程与内容的统一标准和规范化。其中临床流程、思维与诊治均按照各学科临床诊疗指南、临床路径、专家共识及编写专家组一致认可的诊疗规范进行编写。在编写过程中不断地征集带教老师和学员意见并不断完善，实现“从临床中来，到临床中去”。本套教材的编写模式不同于本科院校教材的传统模式，注重体现PBL和CBL的教学方法，符合毕业后教育特点，并为下一阶段专科医师培训打下坚实的基础。

本套教材共47种。根据新近印发的《住院医师规范化培训内容与标准（试行）》的文件要求，分为临床学科（42种）、医学人文（5种）两类。本套教材充分考虑各学科内亚专科的培训特点，能够满足不同地区、不同层次的培训要求。

本套教材是在全面实施以“5+3”为主体的临床医学人才培养体系，深化医学教育改革，培养和建设一支适应人民群众健康保障需要的临床医师队伍的背景下组织编写的，希望全国广大住院医师培训基地在使用过程中提供宝贵意见。

国家卫生和计划生育委员会住院医师规范化培训规划教材

教 材 目 录

序号	教材名称	主编	副主编
1	内科学 心血管内科分册	张 澍 霍 勇	陈 红 高海青 何 奔 周玉杰
2	内科学 呼吸与危重症医学科分册	王 辰 高占成	康 健 王 虹 李海潮 代华平
3	内科学 消化内科分册	唐承薇 张澍田	陈旻湖 房静远 陈卫昌 王蔚虹
4	内科学 血液内科分册	黄晓军 吴德沛	王健民 邵宗鸿 侯 明 卢振霞
5	内科学 肾脏内科分册	梅长林 余学清	陈江华 陈 楠 付 平 倪兆慧
6	内科学 内分泌科分册	童南伟 邢小平	郭晓蕙 肖海鹏 余学锋 陈 兵
7	内科学 风湿免疫科分册	张奉春 栗占国	鲍春德 刘 毅 毕黎琦 杨念生
8	内科学 感染科分册	魏 来 李太生	范学工 张文宏 党双锁 赵龙凤
9	儿科学	申昆玲 黄国英	母得志 薛辛东 罗小平 黄松明
10	急诊医学	于学忠 黄子通	陆一鸣 陈玉国 陈旭岩 张连阳
11	皮肤性病学	张学军 涂 平	徐金华 高兴华 陆前进 晋红中
12	精神病学	唐宏宇 方贻儒	李占江 刘铁桥 胡 建 贾福军
13	神经病学	贾建平 陈生弟	黄一宁 洪 震 周 东 唐北沙
14	全科医学	于晓松 季国忠	霍洪军 赵 钢 李双庆 王 敏
15	康复医学	励建安 黄晓琳	燕铁斌 何成奇 岳寿伟 吴 毅
16	外科学 普通外科分册	刘玉村 朱正纲	王 杉 胡三元 刘青光 程南生
17	外科学 神经外科分册	李新钢 王任直	赵世光 游 潮 刘建民 康德智
18	外科学 胸心外科分册	胡盛寿 王 俊	孙立忠 高长青 庄 建 肖颖彬
19	外科学 泌尿外科分册	叶章群 周利群	黄翼然 张小东 吴 斌 黄 翔

序号	教材名称	主编	副主编
20	外科学 整形外科分册	祁佐良 李青峰	郭树忠 王晓军 郭 澍 江 华
21	骨科学	裴福兴 陈安民	翁习生 阎作勤 林建华 贺西京
22	小儿外科学	孙 宁 郑 珊	冯杰雄 刘文英 高 亚 董 蒨
23	妇产科学	杨慧霞 狄 文	王建六 赵 霞 薛凤霞 漆洪波
24	眼科学	黎晓新 王宁利	许 迅 刘奕志 刘 平 沈 晔
25	耳鼻咽喉头颈外科学	韩东一 肖水芳	许 庚 唐安洲 张 榕 潘新良
26	麻醉学	刘 进 于布为	王国林 李文志 赵国庆 任家顺
27	临床病理学	陈 杰 步 宏	王连唐 李 挺 吴 强 戚基萍
28	临床检验医学	王 前 王建中	府伟灵 李 莉 续 薇 欧启水
29	放射影像学	郭启勇 王振常	胡道予 龚启勇 滕皋军 刘士远
30	超声医学	姜玉新 张 运	王金锐 田家玮 唐 杰 李建初
31	核医学	黄 钢 李亚明	李 方 王全师 石洪成 王 铁
32	肿瘤放射治疗学	王绿化 朱广迎	郎锦义 郭小毛 马 骏 刘晓冬
33	医学遗传学	邬玲仟 张 学	赵彦艳 张咸宁 余细勇 刘睿智
34	预防医学	朱启星 傅 华	张正东 王 彤 宿 庄
35	口腔医学 口腔全科分册	周学东 白玉兴	宋宇锋 刘洪臣 章锦才 徐 欣
36	口腔医学 口腔内科分册	凌均棨 陈 智	孙 正 牛玉梅 俞立英 潘亚萍
37	口腔医学 口腔颌面外科分册	俞光岩 王慧明	王佐林 周 诺 胡勤刚 董福生
38	口腔医学 口腔修复科分册	周延民 陈吉华	高 平 陈 江 余占海 麻健丰
39	口腔医学 口腔正畸科分册	王 林 沈 刚	周 洪 邓 锋 毛 靖 王建国
40	口腔医学 口腔病理科分册	钟 鸣 王 洁	李铁军 陈 宇 周 峻 肖 晶
41	口腔医学 口腔颌面影像科分册	王铁梅 余 强	郑广宁 傅开元 程 勇 曾东林
42	重症医学	于凯江 杜 斌	管向东 王祥瑞 马晓春 康 焰
43	循证医学	王吉耀 何 耀	徐佩茹 祁艳波 王聪霞 王小钦
44	医学科研方法	陈世耀 刘晓清	张宏家 吕 明 肖志波
45	医学伦理学实践	邹和建 陈晓阳	纪宗正 张 欣 杨 薇 王兆良
46	医患沟通技能训练	李惠君 郭 媛	王 颖 刘惠军 韩新生 曹素艳
47	住院医师英语手册	唐熠达 冉志华	蔡世荣 潘 慧 金泽宁 李 刚

全国住院医师规范化培养教材

评审委员会名单

总 顾 问 赵玉沛 沈晓明 王德炳 刘德培 吴孟超
刘允怡 陈灏珠 钟南山 杨宝峰

顾　　问（按姓氏笔画排序）

冯友梅 武汉大学
吕兆丰 首都医科大学
闫剑群 西安交通大学
步　宏 四川大学
张英泽 河北医科大学
张学军 安徽医科大学
汪建平 中山大学
郑树森 浙江大学医学院
赵　群 中国医科大学
柯　杨 北京大学
桂永浩 复旦大学
陶立坚 中南大学
黄　钢 上海交通大学医学院
雷　寒 重庆医科大学
腾皋军 东南大学医学院
瞿　佳 温州医科大学

主 任 委 员 王　辰 陈贤义

副主任委员（按姓氏笔画排序）

于晓松 中国医科大学第一附属医院
万学红 四川大学华西临床医学院 / 华西医院
王　虹 南京医科大学第一附属医院
刘继红 华中科技大学同济医学院附属同济医院
李　青 国家卫生和计划生育委员会医药卫生科技发展研究中心
杜　贤 人民卫生出版社
邵　洁 上海交通大学医学院附属瑞金医院
陈　红 北京大学人民医院
陈旻湖 中山大学附属第一医院
林建华 福建医科大学附属第一医院
唐安洲 广西医科大学附属一院
郭启勇 中国医科大学附属盛京医院
高海青 山东大学齐鲁医院
阎作勤 复旦大学附属中山医院

委　　员（按姓氏笔画排序）

于凯江　哈尔滨医科大学附属第二医院
毛　颖　复旦大学附属华山医院
王　前　南方医科大学南方医院
王以朋　北京协和医院
王共先　南昌大学第一附属医院
占伊扬　江苏省人民医院
申昆玲　首都医科大学附属北京儿童医院
伍伟锋　广西医科大学第一附属医院
刘　彬　吉林大学第一医院
刘建国　天津医科大学总医院
刘青光　西安交通大学医学院第一附属医院
朱晒红　中南大学湘雅三医院
汤宝鹏　新疆医科大学第一附属医院
许　迅　上海市第一人民医院
吴一龙　广东省人民医院
张东华　哈尔滨医科大学附属第一医院
张成普　中国医科大学附属盛京医院
张学文　吉林大学中日联谊医院
李占江　首都医科大学附属北京安定医院
李海潮　北京大学第一医院
沈　晔　浙江大学医学院附属第一医院
狄　文　上海交通大学医学院附属仁济医院
邱海波　东南大学附属中大医院
陈　椿　福建医科大学附属协和医院
陈卫昌　苏州大学附属第一医院
陈昕煜　国家卫生和计划生育委员会科技教育司
周玉杰　首都医科大学附属北京安贞医院
罗天友　重庆医科大学附属第一医院
胡娅莉　南京大学医学院附属鼓楼医院
费广鹤　安徽医科大学第一附属医院
赵龙凤　山西医科大学第一临床医院
赵增仁　河北医科大学第一医院
唐北沙　中南大学湘雅医院
徐剑铖　第三军医大学第二附属医院（新桥医院）
贾建国　首都医科大学宣武医院
贾明艳　北京医学教育协会
高　亚　西安交通大学医学院第二附属医院（西北医院）
高　炜　北京大学第三医院
高长青　中国人民解放军总医院
诸葛启钏　温州医科大学附属第一医院
龚启勇　四川大学华西临床医学院 / 华西医院
董　蒨　青岛大学医学院附属医院
谢苗荣　首都医科大学附属北京友谊医院

主编简介

王前

南方医科大学副校长，博士、主任医师、教授、博士生导师。现任中华医学会检验医学分会副主任委员，中国医师协会检验医师分会副会长，广东省医师协会检验医师分会主任委员，广东省医学会检验分会前任主任委员，广东省医学检验质量控制中心专家组组长，广东省卫生经济学会副会长，广东省医师协会医疗保险管理委员会副主任委员等学术职务。

王前教授带领南方医科大学医学检验学科获得了国家首批临床重点专科、国家特色专业、原卫生部首批检验医师规范化培训基地等，创建了南方医科大学医学检验系，提出“一个中心，五个环节”的医学检验创新型人才培养模式，创建了“粤桂琼”“粤港澳”检验医学学术会议等知名学术交流平台，为我国医学检验专业人才培养作出了重要贡献。主持国家重点和省部级科研课题 20 余项；主编国家级教材及专著 5 部，发表学术论文百余篇，其中 SCI 收录 30 余篇；获得国家发明专利 2 项；获得省部级医疗成果一等奖 1 项、教学成果一等奖 1 项、科技进步二等奖 1 项等。

王建中

北京大学第一医院/第一临床医学院检验科主任医师、教授、学术主任，美国 Virginia 大学医学院高级访问学者，主要从事临床检验诊断学、临床血液学检验的医教研工作，专长为临床血液学检验诊断与流式细胞分析，尤其是在血液肿瘤、血小板病的检验诊断方面积累了丰富的临床实践经验。

长期从事北京大学临床医学专业八年制的实验诊断学和医学检验专业本科的临床血液学检验教学，最早在中国开展医学检验专业住院医师规范化培训工作，并主编了北京大学《住院医师规范化培训》的临床检验诊断学培训细则，主编教育部国家级规划教材《实验诊断学》第 1、2、3 版，主编卫生部医学检验专业本科教材《临床血液学检验》第 4、5 版，主编《现代血细胞学图谱》《临床流式细胞分析》等多部学术专著，发表论文 50 余篇，获教育部科技进步二等奖 1 项（第一作者），兼任中国医师协会检验分会委员及多个中华临床医学专业学会委员、专家组成员和《中华检验医学杂志》等多个核心期刊编委。

副主编简介

府伟灵

第三军医大学西南医院检验科主任、中国人民解放军检验医学专科中心主任、全军检验医学重点实验室主任，973项目首席科学家，全军检验医学专业委员会主任委员，中国医疗保健国际交流促进会检验专业委员会主任委员，重庆市检验专业委员会主任委员。主、参编教材和专著20余部，发表科研论文400余篇，其中SCI收录论文80余篇，承担国家和省部级科研课题30余项，获得国家科技进步二等奖、军队科技进步一等奖等10余项，申获国家发明专利和实用新型专利30余项。

李莉

医学博士、主任医师、博士生导师。上海交通大学附属第一人民医院检验科、实验诊断教研室主任。上海医学会检验医学分会、上海免疫学会免疫技术分会副主委，中华医学会微免分会、中国医师协会检验分会常委，中华医学会检验医学分会委员。从事教学工作21年。培养研究生30余名、规范化培训医师10名。承担科研课题25项，国内外期刊发表论文120篇，副主编和参编专著10部，授权发明专利1项，获上海市优秀发明奖、华夏医学科技奖二等奖和五洲女子科技奖。

续薇

博士、教授、主任医师、博士生导师，吉林大学白求恩第一医院检验科主任、白求恩医学部实验诊断学系主任。担任中华医学会检验医学分会第九届委员会常委、中国医院管理协会临床检验专业委员会委员、中国医师协会检验分会委员等。长期从事临床检验诊断和实验诊断学教学工作，主要研究方向为血液病与肿瘤分子诊断。多次承担并完成省部级科研、医疗、教学相关研究课题，发表SCI、EI、核心期刊收录论文多篇，多次获科技、医疗及教学成果奖。

欧启水

教授、博士生导师。福建医科大学医学技术与工程学院副院长、医学检验系主任、附属第一医院检验科主任。中华医学会检验分会委员、中国医师协会检验医师分会常委、福建省医学会检验学会主任委员。从事教学工作24年，主持完成国家自然科学基金等国家级、省级课题10余项。在国家级核心期刊上发表论文70余篇，SCI收录15篇。主编、副主编和参编教材、专著10余部。作为第一完成人获得福建省科技进步一等奖1项、福建省科技进步三等奖2项。

前　言

住院医师规范化培训规划教材《临床检验医学》在大家的共同努力下，历时近两年的辛勤劳作，终于面世了。

在我国医药卫生体制改革不断深化，临床医学实用人才培养体系逐步完善的大背景下，我们按照国家卫生和计划生育委员会颁布的“住院医师规范化培训标准总则与细则”的要求，成立了编委会。在整个编写过程中，为什么样的读者群服务？编写出一本什么样的实用教材？一直是萦绕在编者心中和存在于编委会讨论之中的两个不变话题。

毋庸置疑，具备临床医学教育背景，将获得执业医师资格，且在检验科临床实验室工作的准检验医师们是我们服务的主群体；除此之外，我们还想为参加其他临床专业学科，特别是内科各相关专业学科培训的住院医师们，提供一本了解相关疾病实验室诊断、项目的意义与应用及临床诊断或鉴别诊断过程的参考书籍；当然，这本教材也适合医学检验专业本科生和检验技师参考学习。

本教材在内容选择和编排上，完全突破以往传统本科教材的编写思路和模式，立足于住院医师在培训阶段的实际需求，紧密结合临床实际诊疗工作，遵循临床诊疗流程，从临床典型病例出发，着重于临床实验诊断，对临床常用检验项目进行分析介绍，体现临床思维和诊疗决策，以期达到“授人以渔”的教学目的。

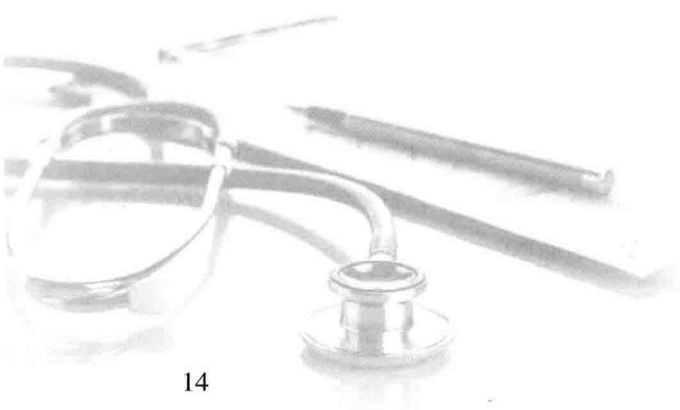
《临床检验医学》共分为三篇，第一篇以“专题＋问题”的模式进行编写，主要介绍医学检验学科新进展和临床实验室质量管理的概况，该篇内容既可以供学生自学参考，也可由老师以讲座形式穿插于不同培训阶段实施；第二篇依托典型临床病例，以疾病的实验室诊断为主线，糅合相关问题和知识点，充分体现临床诊疗思维，强调实验室检验项目的临床意义和应用，以期在培训学生头脑中形成完整病历和真实患者的整体概念，有利于他们在以后与临床沟通工作中明确自己检验医师的身份和职责；第三篇以检验报告单为切入点，着重介绍检验项目的方法和技术，适时形成检验诊断报告，使拥有临床医学背景的培训学生了解检验技术，熟悉临床检验过程，在今后的工作中能够融入检验科大家庭中，具备签发检验报告的能力和资质。常见临床疾病实验诊断项目变化规律及机制分析和常见疾病实验诊断思维流程导图是本教材的两大特色与亮点。

《临床检验医学》的成书出版要衷心感谢全国高等医药教材建设研究会、人民卫生出版社和编者所在单位的大力支持，感谢被引用的各种参考文献的作者，是他们的研究成果为本教材的编写提供了基石，也要感谢各位编者的大力支持与精诚合作，使本教材得以保质保量地如期问世。

本教材的编者来自全国26所高等院校及其附属医院，均是我国医学检验学界的知名专家教授，具有丰富的教学、科研和临床工作经验，他们严谨治学的态度和辛勤敬业的工作是编好教材的重要保证。但由于编写模式完全不同于以往传统教材，难度较大且时间仓促，再加上编者水平有限，疏漏不足之处在所难免，敬请读者和专家不吝赐教，提出宝贵意见，使之不断完善。

王　前　王建中

2015年8月



目　录

第一篇　临床实验室与检验医师

第一章　临床实验室与质量管理……2
第一节　临床实验室……2
第二节　临床实验室全面质量管理与质量认可体系……2
第三节　临床实验室信息系统与质量管理……10
第四节　检验医师与临床实验室……15
第二章　生物参考区间、医学决定水平与危急值……19
第一节　生物参考区间……19
第二节　医学决定水平……26
第三节　危急值及其报告制度……28
第三章　循证检验医学……31
第一节　循证医学与循证检验医学……31
第二节　循证检验医学实践方法……33

第二篇　常见临床疾病的实验诊断

第四章　心血管系统疾病的实验诊断……42
第一节　高血压病……42
第二节　冠心病……46
第三节　心力衰竭……51
第五章　肾脏疾病的实验诊断……57
第一节　肾小球肾炎……57
第二节　肾病综合征……66
第三节　急慢性肾衰竭……76
第四节　糖尿病肾病……84
第六章　呼吸系统疾病的实验诊断……90
第一节　慢性阻塞性肺病……90
第二节　支气管哮喘……94
第三节　胸腔积液……97
第四节　呼吸衰竭……100
第五节　肺癌……104
第六节　肺栓塞……109

第七章　消化系统疾病的实验诊断…… 111
第一节　消化性溃疡…… 111
第二节　病毒性肝炎…… 114
第三节　肝硬化…… 127
第四节　胰腺炎…… 134
第五节　消化系肿瘤…… 139
第八章　内分泌代谢系统疾病的实验诊断…… 145
第一节　糖尿病…… 145
第二节　血脂异常和脂蛋白异常血症…… 152
第三节　肾上腺疾病…… 159
第四节　甲状腺功能亢进症…… 175
第九章　血液系统疾病的实验诊断…… 183
第一节　贫血…… 183
第二节　骨髓增生异常综合征…… 204
第三节　急性白血病…… 209
第四节　慢性白血病…… 221
第五节　浆细胞骨髓瘤…… 228
第六节　出血性疾病…… 234
第七节　血栓性疾病…… 250
第十章　风湿性疾病的实验诊断…… 256
第一节　类风湿关节炎…… 257
第二节　系统性红斑狼疮…… 262
第三节　强直性脊柱炎…… 268
第四节　干燥综合征…… 271
第五节　血管炎病…… 275
第十一章　感染性疾病的实验诊断…… 279
第一节　发热…… 279
第二节　呼吸道感染…… 284
第三节　生殖泌尿道感染…… 297
第四节　感染性腹泻…… 309
第五节　中枢神经系统感染…… 313
第六节　皮肤和软组织感染…… 319
第七节　血流感染…… 322

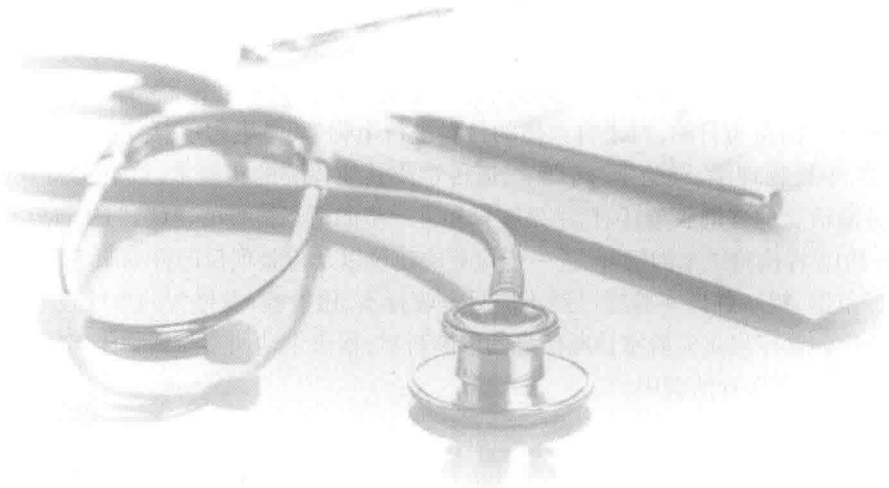
第三篇　临床检验医学技术与应用

第十二章　临床基础检验…… 330
第一节　外周血细胞分析…… 330
第二节　尿液分析…… 349
第三节　粪便检验…… 362

第四节　浆膜腔积液检验…… 368
第五节　脑脊液检验…… 375
第十三章　临床化学检验…… 381
第一节　肾功能试验…… 381
第二节　肝功能试验…… 386
第三节　胰腺功能试验…… 392
第四节　糖代谢试验…… 395
第五节　脂代谢试验…… 401
第六节　心肌损伤检查…… 407
第七节　电解质检查…… 412
第八节　血气与酸碱分析…… 417
第十四章　临床免疫学检验…… 425
第一节　免疫功能试验…… 425
第二节　自身抗体检验…… 438
第三节　肝炎病毒感染标志物检验…… 447
第四节　病原体感染免疫学试验…… 457
第五节　肿瘤标志物检验…… 468
第六节　变态反应试验…… 473
第十五章　临床血液学检验…… 478
第一节　骨髓细胞学检验…… 478
第二节　贫血相关检验…… 501
第三节　初期止血试验…… 509
第四节　凝血因子检验…… 513
第五节　抗凝血功能试验…… 517
第六节　纤溶功能试验…… 522
第十六章　临床微生物与寄生虫学检验…… 526
第一节　常见细菌感染的检验…… 526
第二节　常见病毒感染的检验…… 552
第三节　常见真菌感染的检验…… 561
第四节　常见寄生虫感染的检验…… 571
第十七章　临床细胞遗传学与分子生物学检验…… 584
第一节　外周血细胞染色体分析…… 584
第二节　免疫组化与荧光原位杂交…… 588
第三节　基因诊断…… 591
第十八章　临床输血检验…… 617
第一节　血型鉴定与交叉配血试验…… 617
第二节　新生儿溶血病检查…… 629
参考文献…… 634
中英文名词对照索引…… 635

第一篇

临床实验室与检验医师



第一章 临床实验室与质量管理

随着检验医学日新月异的飞速发展，临床实验室被赋予了新的诠释，其概念的内涵和外延也在不断发展变化，体现了临床实验室在诊断、管理、预防、治疗及健康促进等方面的重要作用。而保证检验质量（检测报告的准确、及时、可靠）是临床实验室建设的核心，保证检测质量需要管理者控制和规范影响检测全过程的各项要素，以系统学的概念建立质量管理体系，充分协调与优化各种质量活动的有效开展，保证检测结果始终保持可靠。

第一节 临床实验室

临床实验室（clinical laboratory）也称为医学实验室（medical laboratory），其含义主要有两个来源。1988年美国国会通过临床实验室改进修正案（clinical laboratory improvement amendment 1988，CLIA 88），给临床实验室定义如下，“临床实验室是指以诊断、预防或者治疗人类任何疾病和损伤，或者以评价人类健康为目的，而对人体的标本进行生物学、微生物学、血清学、化学、血液免疫学、生物物理学、细胞学、病理学检查或其他检查的机构。这些检查也包括确定、测量或者用其他方法来叙述在机体是否存在不同物质或者有机体。仅仅收集和（或）准备标本，或者提供邮寄服务，但不进行检验的机构不能认为是临床实验室”。

2012年国际标准化组织（the international organization for standardization，ISO）在持续改进和不断完善的基础上，发布医学实验室 - 质量和能力的专用要求（medical laboratories-particular requirements for quality and competence），即ISO 15189:2012。中国合格评定国家认可委员会（China national accreditation service for conformity assessment，CNAS）将该文件等同转化为CNAS-CL02:2012，将临床实验室定义如下：“临床实验室是以提供人类疾病诊断、管理、预防和治疗或健康评估的相关信息为目的，对来自人体的材料进行生物学、微生物学、免疫学、化学、血液免疫学、血液学、生物物理学、细胞学、病理学、遗传学或其他检验的实验室，该类实验室也可提供涵盖其各方面活动的咨询服务，包括结果解释和进一步的适当检查的建议。”ISO 15189:2012/CNAS-CL02:2012将检验结果的解释、进一步检查的建议以及检验项目的咨询服务都归为临床实验室的业务范围，提示临床实验室已经不应只是收标本、做检验、发报告的单纯技术工科室，而应该作为为疾病诊疗提供实验室诊断信息的诊断科室，积极主动地参与到临床疾病的预防、诊断、治疗、预后评估等医疗活动中。

第二节 临床实验室全面质量管理与质量认可体系

质量是临床检验的生命线，能否向临床提供高质量的实验室数据，合理分析实验室数据并正确有效运用于临床诊断和治疗，满足临床诊疗需求，最终得到临床和患者的信赖与认可，始终是临床实验室建设的核心问题。影响实验结果的因素很多，必须对影响因素进行全面监控，控制范围应涉及标本检验的全过程，即以体系的概念去分析、研究质量形成中各项要素间互相联系和相互制约的关系，以整体优化的要求处理好各项质量活动的协调和配合，从而保证检测结果的准确可靠。

学习笔记

【问题1】临床实验室每天检测大量标本，如何保证其结果准确可靠？

知识点

全面质量管理体系

全面质量管理（total quality management，TQM）体系是指对临床检验全过程进行标准化管理，按照系统学原理建立起一个质量管理体系，认真分析、研究体系中各要素的相互联系和相互制约关系，以整体优化的要求处理好各项质量活动的协调和配合，使可能影响结果的各种因素和环节都处于受控状态，从而保证检测结果的准确可靠。具体而言就是建立从临床医师开出检验申请开始到实验室完成试验检测，以及审核发出报告和结果的解释咨询等全过程中一系列保证实验质量的方法和措施。

全面质量管理的实质是过程控制，所谓过程控制就是利用系统学原理分析每一试验的全过程，找出影响试验结果的环节和要素，制订相应的措施加以控制。一个完整的临床实验室检验过程一般包含多个横向（直接）过程：医生正确选择项目——开出检验申请——患者准备——护士采取标本——标本运送人员送标本——实验室接收与处理标本——分析测定标本——核实与确认检验结果——发出检验报告——临床反馈信息——正确应用报告诊疗。依据标本横向流程，可以将检验过程划分为分析前、分析中和分析后检验三个阶段，相应地其过程控制也可分为分析前、分析中和分析后质量管理。

【问题2】影响检验质量的因素都有哪些？检验结果出现偏差是否都是实验室的问题？

临床实验室检验过程也会涉及多个纵向（间接）过程，这些纵向过程主要包括：①临床医生应掌握每项检验项目的实验诊断原理和临床意义，不断与实验室工作人员进行信息交流，以便能根据患者的临床表现、体征和病史准确地选择项目用于诊断和治疗，并及时地了解实验诊断项目和方法的最新进展及临床意义；②护士应熟悉每项实验对标本的要求，了解在患者服用哪些药物或处于哪些病理生理状态下采集标本，可能影响标本的检测结果；③标本运送人员应熟悉标本运送时需要什么条件以及如何保证这些条件；④临床实验室工作人员应进行仪器设备校准维护、试验方法选择和评价、试剂质量监控、检验质量控制、结果的审核和解释等实验室检测和质量保证工作。

因此，临床医生、护士、标本运送人员、实验室工作者以及受检者本人对临床实验室全面质量管理都具有重要影响，任何环节的疏漏或不规范都将导致最后检验结果的误差而不能真实反映患者实际状态。

思路1：分析前检验的影响因素

（1）正确选择检验项目或项目组合：近年来，循证医学和循证检验医学在医学领域中迅速兴起，要求临床医师熟悉检验项目的诊断性能和临床价值，正确选择检验项目及其组合，合理地利用实验室资源，避免不必要的检查和浪费。正确选择检验项目的基本原则是熟悉检验项目的有效性、时效性和经济性。

1）有效性：即检验项目的诊断价值。临床医生应熟悉常用诊断性试验的敏感度、特异度、似然比等诊断性能指标，并能较准确估算疾病验后概率。在进行疾病普查时，应选择敏感度较高的检验项目，筛查出的可疑者应进一步检查；当需确诊某疾病时，应选择特异度较高或阳性似然比较高的检验项目。

2）时效性：临床医师应熟悉检验项目随疾病发生发展而相应变化的生物学规律，依据病情发展变化恰当地选择标本采集时机，并结合诊断性试验的性能特点合理选择检验项目或项目组合。

学习笔记

举　例

心肌标志物检验的时机

在诊断急性心肌梗死时，通常采用肌红蛋白（Myo）、心肌肌钙蛋白 I（cTnI）和肌酸激酶同工酶（CK-MB）三项实验。Myo 达到峰值时间多在发病的 6~9 小时，而 cTnI 和 CK-MB 则多在发病的 12~24 小时达到峰值。有的医生在患者胸痛发病 6 小时内申请检验 cTnI 和 CK-MB 项目，不但会给患者增加不必要的负担，还可能造成检验结果与临床症状不符合而导致误诊。

3）经济性：临床医师还应关注检验项目的经济 - 效益关系，合理选择检验项目。在保证及早确诊或向临床提供有效诊断信息的前提下，尽量选择费用较低的检验项目，减轻患者的经济负担。如乙肝病毒感染普查时，可以选择较为经济的乙肝标志物酶联免疫吸附法（ELISA）作为筛查试验；在进行确诊或疗效监测时，可选择成本较高、特异性较好的化学发光法进行乙肝标志物定量检测，或采用荧光定量 PCR 法对乙肝病毒拷贝数进行定量分析。需要指出的是，“经济性”应从成本 / 效益总体分析，综合考虑，不应只考虑单一检验项目收费。如某一检验项目有确诊价值，即使收费较高，但能迅速确诊就减少了其他诊疗费用。

（2）患者准备：患者情况和状态对其生理指标有重要影响，一些非疾病的分析前因素，如生理性变异、生活习性以及临床用药对检验结果均有不同程度的影响。临床医师和护士应了解患者状况对检验结果的可能影响，将相关要求和注意事项告知患者，要求患者配合并正确采集各类检验标本，避免非疾病因素干扰，保证所采标本能真实客观反映患者疾病状况。特别是在检验结果与临床疾病病情不符合的情况下，应注意排查患者生理性变异、生活习性或临床用药等非疾病因素对检验结果的可能影响，正确分析和利用检验信息，为临床诊疗服务。

1）生理性变异：影响检验结果的生理性变异包括情绪、生物钟周期、年龄、性别、种族、月经周期、妊娠、季节、海拔高度等。

2）生活习惯：不同的生活习惯都可对检验结果产生影响，为消除影响，患者必须在采样前做相应的准备。影响检验结果的主要生活习惯包括饮食、饥饿、运动、吸烟、饮酒、喝茶或咖啡、吸毒等。

举　例

尿液标本采集

尿常规检测的分析前影响因素非常多，维生素 C 可引起尿液葡萄糖、尿胆红素、尿亚硝酸盐试带法检测产生假阴性结果，而留尿容器污染氧化剂又可以使尿糖试带法产生假阳性结果。因而对于不同标本的采集必须做好患者采集前的指导工作，避免分析前因素（如服药、饮食、运动等）对结果产生干扰。

3）药物：当某些药物进入人体后，可以药物原型和（或）其代谢产物的形式存在，并可通过化学效应、物理效应以及生物效应引起干扰。无论以哪一种效应导致错误的检验结果，都会造成对临床诊断的干扰，影响医疗质量。

（3）标本采集：检验标本的采集主要由护士进行，其中血标本是临床最常用的检验标本，护士在血标本采集过程中的操作不当是影响分析前检验质量的常见原因。护士在采集血液标本时应注意以下几方面的内容。

1）严格查对制度：在采血前必须核对患者信息如姓名、科室、床号、ID 号等内容，如不符合，严禁采集标本。同时还需在采集容器上标注好患者的各项信息，避免出现张冠李戴或冒用患者信息进行检验的现象。

学习笔记

2）正确选择采血试管：不同类型的采血管，其抗凝剂或其他添加剂可能是患者血中生理物质的类似物或与生理物质发生反应干扰测定，不同的抗凝剂可能影响各种血细胞的形态，或干扰检验的化学反应，从而影响检验结果的准确性，必须严格按照试验要求选择抗凝剂，且不同试管间的血液不能混用。

举　例

血液标本采集

某患者同时检测血钾和血常规，血钾结果 12.9mmol/L，和临床医生联系后确认患者并无高血钾症状，也没有输注含钾液体，标本为 30 分钟前采集，也不存在放置时间过长的问题。经与采血护士沟通后得知由于患者较难抽血，血钾检测标本的抽血量太少，护士体谅患者，不想让患者再扎一针，于是从血常规试管中给血钾检测试管倒入部分血液。结果血常规试管中抗凝剂 EDTA-K_2 中的钾离子严重干扰了血钾检测，造成了假性高钾的现象。重新抽血复查后血钾浓度为 4.0mmol/L。

3）标本采集后混匀：抗凝标本采集后需立即轻轻颠倒混匀 6~8 次，保证血液与抗凝剂充分混匀，但要避免剧烈振荡。常见的混匀方面的错误有：混匀次数不足、未立即混匀、未充分混匀、用力过大导致细胞破坏等。混匀不当容易导致抗凝标本中出现凝块或小的纤维蛋白丝，或引起血小板聚集；剧烈振荡易导致标本溶血或细胞破坏。

举　例

血常规标本采集

患者男，25 岁。血常规检测，Plt 53×10^9/L，推血片镜检发现血小板聚集成小堆。通知临床科室重新抽血，复查 Plt 为 168×10^9/L，结果正常。这种标本混匀不当导致血常规标本出现血小板聚集的情况在临床上比较常见。

4）按规定采血量采血：血液与抗凝剂比例十分重要，过高过低均可影响检验结果。比如血常规检测，采血量不足会导致抗凝剂过量，EDTA 浓度增高导致中性粒细胞肿胀，分叶消失，血小板也会肿胀、崩解，产生正常血小板大小的碎片，这些改变都会使血常规检验和血细胞计数得出不准确结果。抽血过多，抗凝剂比例不足，导致血液凝集。一些轻微的血液凝集可导致部分血小板聚集成群，造成检验结果的偏差，并可引起血液分析仪计数孔的堵塞。对于止血与血栓功能的实验检测，抗凝剂与血浆的比例就更为重要，血浆与抗凝剂应按严格的比例进行混匀（如 9∶1），采血量过多或过少均会直接导致 PT、APTT 结果的延长，严重干扰临床医生对疾病的诊断与治疗。

5）避免输液时采血，严禁在输液同侧采血：输注液体中的某些成分与血液中的某种待检成分相似，会导致某些结果偏高，而其他成分结果偏低（血液稀释），输液的药物也会干扰某些检验项目的检测，导致测定结果出现偏差。

举　例

凝血试验标本采集

某患者做凝血项目检查，结果：PT 13.7 秒，APTT 和 TT 均超出检测范围，Fbg 2.45g/L。与临床医生联系，反映患者并无出血症状，追查发现护士采血时从患者静脉留置针中采血。后改从其他静脉穿刺采血送检，检测结果全部正常，可见留置针内残留肝素对凝血试验的影响很大。

学习笔记

6）注意采血部位：医疗过程中使用的各种留置通道很普遍，如中心静脉插管、肝素帽、血液透析装置、输液管道等。为了避免留置管道中血栓的形成，往往采用肝素进行抗凝。应注意，严禁从留置管道中采血，否则残留的肝素会严重干扰某些试验的检测结果。

7）熟练的采血技术：在采血中出现的常见问题有止血带捆绑时间过长、穿刺不顺利、反复拍打。止血带捆扎时间最好在1分钟内，止血带捆扎时间延长会导致血清中各种成分发生变化，总蛋白、铁、总胆红素、胆固醇、门冬氨酸氨基转移酶可出现不同程度的增高。穿刺不顺利、反复拍打会激活凝血系统、激活血小板，导致血小板检测结果偏低或PT、APTT时间延长，也会导致红细胞破坏，发生溶血。

8）避免标本溶血：采血过程的许多因素均会导致溶血的发生，溶血将导致某些检测指标结果差异或干扰检测方法导致结果误差。常见的引起溶血的不当操作主要有：真空负压采血管压力过大；采血量与规定采血量差异大；在碘伏未干的情况下就进行穿刺；采血后不去针头、试管盖，将血液打入试管；穿刺不顺利造成血肿和溶血；针头与针管连接不紧，采血时空气进入而产生气泡；混匀含添加剂的试管时用力过猛，或运输时振动和摇晃等等。这些因素均可导致溶血的发生，在采血操作中应尽可能避免。

（4）标本运送：在正确采集标本后，应尽量减少运送和保存时间，及时处理，尽快检验，防止标本离体后，各种因素对标本质量的影响，如细胞代谢、蒸发作用、化学反应、微生物降解、渗透作用、化学作用、气体扩散等。因此，标本运送人员应及时正确地运送和保存标本，其工作的质量和效率同样影响检验质量。临床实验室应向标本运送人员宣讲各类标本保存和运送的相关知识，标本运送人员也应树立标本运送是否合格将直接影响检验结果准确性的质量意识，学习并熟悉各类标本运送的具体要求。

1）标本运送的质量：一般要求标本运送过程中应密闭、防震、防漏、防污染，部分检验项目如胆红素、维生素C、叶啉、CK、叶酸检测的标本应注意避光。凝血试验标本的运送应在2~8℃的容器中进行；血氨检测标本应采用冰水混合物送检，如室温放置，检测结果每小时上升20%~30%。温度过高，很多成分发生变化；瞬间低温可能造成细胞破裂，对检验结果都有影响。

2）标本运送的效率：临床患者标本采集完毕后应尽快送检，避免室温下过长时间的放置，否则将对部分检验项目的检测结果造成影响。比如，尿液、粪便标本保存时间过长会导致细胞溶解破坏、pH发生改变、原虫死亡、细菌霉菌滋生，导致检验结果的偏差。血糖检测标本室温放置1小时后，浓度下降7%~10%。同时，对于一些临床危重患者的标本更应加快送检，缩短标本周转时间（turnaround time，TAT），为患者救治赢得宝贵时间，比如血气、血电解质、心肌损伤标志物等重要检验项目要求尽量在30分钟内完成转运。

应建立标本采集、标本运送和标本检测的交接登记制度，记录标本送出临床科室时间、送入临床实验室时间和检验结果报出时间，分段负责，责任到人。近年来，随着医院实验室信息系统和检验条形码技术的普遍应用，标本采集、运送、接收等环节均可实现网络监控，使得标本运送环节质量大大提高。

思路2：分析中检验的影响因素

标本运送到临床实验室并经过前处理后，即可进行标本的分析测定，此过程主要涉及人员素质、仪器校准、量值溯源、方法选择、试剂匹配等多方面影响因素，需要建立稳定可靠的质量管理体系，实施完善的室内质控和室间质评，为此还要做好大量的质量管理层面和技术管理层面的准备工作。

思路3：分析后检验的影响因素

分析后检验的影响因素涉及检验结果的再分析和再确认，在确认检验结果可否发出时，应综合考虑标本质量、干扰因素、检验结果与临床资料的相符性、具有质控意义参数的表现、分析仪器运转情况等，检验结果经过系统地分析和评审，保证合格的检验报告的产生并及时发送给

学习笔记

临床。检验结果应清晰易懂，填写无误，适当时检验结果可增加结果解释和其他评注（例如：可能影响检验结果的原始样品的品质或量）。当关键指标的检验结果处于规定的“警告”或“危急”区间内时，实验室应及时通知临床医生。

举　例

具有质控意义参数的分析

尿液干化学检查中维生素C结果的质控意义要远大于临床诊断价值。因为尿10项化学成分检查中，有5项受尿标本所含维生素C的干扰。因此签发报告前必须查看维生素C的含量，如果超出方法学允许的范围，必须改用其他方法检测。又如尿液酸碱度可干扰尿蛋白、尿相对密度（比重）的检测，只有pH病理变化在一定范围内方可发出报告。

【问题3】临床实验室、医生和护士在加强检验质量管理中应发挥哪些作用？

作为临床诊疗提供实验室诊断信息的诊断科室之一，与超声、影像、病理等诊断科室相比，临床实验室提供的诊断信息约占70%以上。如此巨大的诊断信息量，如何确保其正确可靠就显得至关重要。这一过程需要临床科室各方人员与临床实验室共同参与，协作完成，临床科室在实验室全面质量管理过程中发挥重要作用。

临床实验室与临床科室应不断加强交流沟通，采取多种方法向临床科室宣讲介绍临床各方人员在实验室全面质量管理中的重要作用，临床科室也应重视标本检测的影响因素与标本采集的注意要点，对检测结果有疑虑时应向实验室进行咨询和沟通，便于及时查找影响因素。

以往医院管理层和临床科室缺乏对实验室全面质量管理的正确认识，加上临床实验室在我国医院学科群中的总体学术地位和影响力相对偏低，很多分析前因素造成的检验结果与临床不符甚至检验质量纠纷被习惯地判定为临床实验室单方面的过错，严重影响了检验工作者的积极性和检验质量改善，也制约了检验医学和临床医学的深层次协同发展。

随着检验医学和临床医学各学科的交叉渗透，临床医疗工作中迫切需要既懂临床又熟悉检验的复合型人才，检验医师队伍便应运而生并发展壮大。检验医师队伍的建立极大地推动了临床实验室与临床各学科的深度沟通交流，检验医师正逐渐成为胜任检验与临床有效沟通的重要技术力量。

思路1：分析前质量管理

知识点

分析前质量管理

分析前过程是指从临床医生开出检验申请单到标本送达临床实验室的全过程。分析前检验质量管理是临床实验室全面质量管理的重要组成部分，具有影响因素多、人员涉及面较广、质量缺陷的隐蔽性以及质量责任难以确定等特点。

有研究表明医院临床实验室出现检验错误结果的原因，分析后环节差错占18.5%~47%，分析前环节差错占46%~68.2%，而分析中差错占的比例不足15%。可见分析前环节产生的差错最多，而医护人员在检验分析前质量保证中扮演了重要的角色。

分析前质量管理难度非常大，需要临床实验室与临床各方密切沟通和配合。分析前过程与临床科室的沟通主要围绕检验项目如何设置和选择以及如何获得合格真实的检测标本。主要包括：①临床实验室在开展新项目、建立新方法前，应联合临床进行检验项目的诊断性能评价和成本效益分析，合理设置临床检验项目或项目组合。②临床实验室应建立适合本院的检验项目参考区间，并获得临床的验证和接受。③实验室还应广泛征询临床意见和建议，设立适合本院

的危急项目、危急值、危急检测标本的周转时间、危急报告方式等，并严格执行危急值报告制度。④实验室应与临床医师讨论检验项目的检验周期、报告时间，以满足临床需要，必要时设立“快速通道”，保证特殊患者的特殊检验需要。⑤临床实验室应制订详细的临床标本采集手册，并设法让临床医护人员和标本运送人员掌握，以获得合格的检测标本；同时应加强对送检标本的质量评估和考核，定期向医院管理层和临床各科室反馈，不断提高标本送检合格率。⑥临床实验室还要向临床医师介绍检验项目的临床意义、诊断效能等检验医学信息，帮助临床医师正确选择检验项目或项目组合。

思路 2：分析中质量管理

分析中过程是指从标本合格验收到分析测定完毕的全过程。分析中过程与临床科室的沟通主要围绕如何获得准确可靠的检验结果和检验信息。主要包括：①需要检验医师签发的，如骨髓检查、细胞学检查等，以及需要在结果报告中附加解释性评论和（或）描述性分析的检验报告，临床实验室应主动向临床医生了解患者病史和诊治资料，以便给出正确的实验室诊断信息。②临床实验室还可以通过各种途径让临床医生了解临床实验室检验质量保证的各种措施，增强对临床实验室检验质量的信任。

思路 3：分析后质量管理

知识点

分析后质量管理

分析后过程是指检验结果发出到临床应用的全过程，分析后质量管理是全面质量管理进一步完善和检验工作服务于临床的延伸。这一阶段的质量管理工作主要有 3 个方面：①检验结果的审核和发出；②检验标本的保存和处理；③咨询服务，即检验结果准确的解释及其在临床诊治的合理应用过程。

（1）检验结果的审核和发出：检验结果是临床医生开展诊疗活动的重要信息，而检验报告就是这些信息的传递载体，必须重视这一环节的质量保证，发出的检验报告必须保证“完整、准确、及时”。

1）建立严格的审核签发制度：审核的基本内容包括临床医生所申请的检测项目是否已全部检测、是否漏项；检验结果填写清楚、正确；有无异常的、难以解释的结果；决定是否需要复查等。一份完整的检验报告应包含以下内容：医院名称、实验室名称、报告题目，患者姓名、出生日期（年龄）、性别，科室、病床号、申请医生姓名、标本种类、标本采集时间，实验室接收时间、报告时间，检测项目、检测结果、参考区间及异常提示。检验报告单发出前，除操作人员签字外，还应由另一位具有相应资格的检验人员核查并签名，最好由本专业室负责人核查签名。

2）建立明晰异常结果、危重疑难患者的复核或复查制度：实验室应规定哪些情况下的检测结果应与以前的检测结果进行比较，观察当前检测的结果及其变化是否符合规律，可否解释，必要时可与临床医生取得联系。实验室信息管理系统应有自动对历史结果的回顾与提示功能。

3）建立危急值报告制度：实验室应规定危急值的报告制度，包含结果的复核、结果报告的方式（电话报告、实验室信息系统报告、手机短信报告等）及规定结果报告时间等。实验室必须迅速将结果报告临床，并记录报告时间、报告人及结果接收者等信息。

4）建立检验报告单发送的签收制度：实验室应建立相应规章制度，患者取报告单应有相应的凭据，一方面可以避免拿错报告单，另一方面可以保护患者的隐私。同时加强医护人员的责任心，防止检验报告单的丢失或发错科室。

（2）检验后标本的保存和处理：标本的保存是指对检测完毕的标本进行必要的一定时间的备查性保留。保存时间长短取决于标本种类和检测指标，其原则是保存后的标本检测结果与初

学习笔记

次检测结果仍有可比性。

1）标本保存的目的：临床上对每一个标本的检测项目只作1次测定，所以标本保存的最主要目的就是备查。检测结果也只能代表该次标本的某项指标水平，换言之，每份检测报告仅对送检标本负责。所以，当临床对检测结果提出疑问时，只有对原始标本进行复检，才能说明初次检测是否有误。

2）标本保存的原则：首先应有标本保存的专门规章制度，最好专人专管，敏感或重要标本可加锁保管；其次在标本保存前要进行必要的收集和处理，如分离血清、添加防腐剂等。另外，应做好标记并有规律存放，最好将标本的原始标志一并保存。最后对储存标本要定期清理，以减少不必要的资源消耗。

3）保存标本的种类及条件：临床检验标本虽有多种多样，但最常见的仍以血液、尿液、粪便为主。尿液及粪便除特别必要外，很少保存。血液的保存又由于检验内容的不同，其保存条件、保存时间会各不相同。

（3）咨询服务和抱怨处理：实验室检测报告只是标本检测全过程中实验室阶段的终结，还要将有限的检验信息转化为高效的诊治信息，尽可能满足临床需要。因此，咨询服务和抱怨处理是实验室工作的延伸。实验室与临床科室的沟通主要围绕如何利用好检验结果，临床医生能合理分析检验报告，正确有效运用检验结果于临床诊断和治疗中。

临床实验室应向临床医师提供检验结果的解释和诊断价值的咨询服务，当检验结果与临床表现不符合时，应积极协助临床查找原因，排除分析前影响因素，检查实验室质量控制程序，必要时重新采集标本检测。临床实验室可以指定检验医师，参与临床各项诊疗活动，协助临床医师充分利用实验室检验结果，为疾病诊治服务。

临床检验的抱怨通常是指临床医师或患者对实验室的服务不满意时所做出的各种形式表述，包括投诉等，其主要内容不外两个方面，一是服务态度，二是服务质量。在医学检验的质量管理体系中，抱怨的处理应是一个重要的组成部分。通过正确的抱怨处理可以帮助检验人员查找导致质量问题的原因或影响因素，在整改的过程中不断积累经验，从而改进和提高检验质量。

【问题4】临床实验室全面质量管理是自愿行为还是国家强制要求？

质量是临床检验的生命，全面质量管理体系的建立和实施是临床实验室管理的本质要求和核心内容，国际和国内的有关临床实验室管理的法律法规和推荐标准，对实施临床实验室的全面质量管理提供了规范的指导。

针对临床实验室质量管理，一些发达国家和国际组织已经出台了一些法律和标准供我们借鉴。我国卫生部也制定了一系列临床实验室质量和安全管理的相关法律法规，并于2006年颁布了《医疗机构临床实验室管理办法》，对我国境内的临床实验室业务开展提出了强制性的基本要求。

思路1：国际上临床实验室管理的有关法律法规和行业标准

（1）临床实验室改进法案：美国国会于1967年就通过了临床实验室改进法案（clinical laboratory improvement act 1967，CLIA 67），在实施20年后，1988年美国国会又通过了对CLIA67的修正案《临床实验室改进法案》（clinical laboratory improvement amendment 1988，CLIA 88），并于1992年正式实施。CLIA 88着眼于政府对临床实验室质量的外部监控，是政府对实验室强制执行的资格要求。其他发达国家也制定了相关临床实验室管理法规，如法国政府也于1999年发布了NOR：MESP9923609A《关于正确实施医学生物分析实验的决议》。

（2）ISO 17025与ISO 15189：ISO 17025标准是由国际标准化组织ISO制定的实验室管理标准，该标准的前身是ISO/IEC导则25：1990《校准和检测实验室能力的要求》。国际上对实验室认可进行管理的组织是“国际实验室认可合作组织（ILAC）”，由包括中国合格评定国家认可委员会（CNAS）在内的44个实验室认可机构参加。

学习笔记

ISO 17025 标准主要包括：定义、组织和管理、质量体系、审核和评审、人员、设施和环境、设备和标准物质、量值溯源和校准、校准和检测方法、样品管理、记录、证书和报告、校准或检测的分包、外部协助和供给、抱怨等内容。该标准中核心内容为设备和标准物质、量值溯源和校准、校准和检测方法、样品管理，这些内容重点是评价实验室校准或检测能力是否达到预期要求。

针对医学实验室的特殊性，国际标准化组织 TC-212 临床检验实验室和体外诊断检测系统技术委员会经过 7 年时间的研发，于 2003 年颁布了针对医学实验室的认可方案，即 ISO 15189：2003（E）（medical laboratories-particular requirements for quality and competence），即《医学实验室 - 质量和能力的专用要求》。

ISO 15189 是专门针对医学实验室管理的第一个国际标准。该标准从组织与管理、质量体系、文件控制、持续改进、人员、设施与环境、实验室设备、检验程序、结果报告等方面提出了 23 项（即 23 要素）管理与技术的具体要求。2007 年国际标准化组织又颁布了 ISO 15189：2007（E），增加了对实验室内部沟通程序的要求。2012 年国际标准化组织在持续改进和不断完善的基础上，又发布了 ISO 15189：2012。

（3）美国病理学会（college of American pathologists，CAP）认可标准：CAP 所提供的服务内容包括：临床实验室认可、能力评估试验、检验及试剂的标准化、质量管控计划、质量监控、安全管理。CAP 认可是对医学实验室质量改进计划的一种评价模式，对临床实验室的各个领域都有相关和完善的检查清单，约 3200 多条，且每年都在部分更新，范围涵盖整个临床实验室的所有领域。CAP 所提供临床实验室认可体系除了强调临床实验室质量管理体系外，还非常强调临床实验室安全管理，包括：生物安全、消防安全、化学品安全、员工防护。

思路 2：我国临床实验室管理的有关法律法规和行业标准

我国卫生部于 1981 年 12 月正式批准成立卫生部临床检验中心，负责全国临床检验管理、业务指导和科学研究。卫生部临床检验中心成立后开始在全国范围内组织开展室间质量评价活动，促进了我国检验工作的标准化。为进一步加强检验管理，卫生部临床检验中心于 1991 年组织编写了《全国临床检验操作规程》，并于 2006 年修订至第 3 版，该书是我国第一部检验医学的标准操作规程，是我国规范临床实验室操作的基础。

卫生部临检中心还积极推动临床实验室质量管理有关法律法规和行业标准的建设。于 1991 年发布中华人民共和国卫生部第 18 号令，决定自 1992 年 7 月 1 日起至 1993 年 1 月 1 日，分步淘汰硫酸锌浊度试验等三十五项临床检验项目和方法；1997 年成立了卫生部标准化委员会临床检验标准化专业委员会，组织编写并经卫生部正式发布了 WS/T102—1998《临床检验项目分类与代码》等 20 个行业推荐标准；2002 年卫生部发布了《临床基因扩增检验实验室管理暂行办法》（卫医发（2002）10 号文）及其配套文件《临床基因扩增检验实验室基本设置标准》，这是我国第一个实验室质量保证的法规性文件，也是首次对特殊的检验技术进入临床实行准入。

在这些工作的基础上，卫生部为进一步加强对我国医疗机构临床实验室的管理，提高临床检验水平，保证医疗质量和医疗安全，根据《中华人民共和国执业医师法》《医疗机构管理条例》和《病原微生物实验室生物安全管理条例》等有关法律、法规，经过 6 年多的论证，制定了《临床实验室管理办法》，并于 2006 年正式颁布实施，这是一部指导我国临床实验室工作的法规性文件。

在我国，实验室认可机构是中国合格评定国家认可委员会（CNAS），它也是我国唯一的实验室国家认可机构。2013 年 CNAS 将 ISO 15189：2012 等同转化为 CNAS-CL02：2012 并定于 2014 年在我国实施。

第三节　临床实验室信息系统与质量管理

近年来，得益于计算机和网络技术的迅猛发展，依赖于手工操作的登记、录入、报告、热敏打

印等效率低下的实验室工作流程正逐渐转变为现代化、信息化、网络化的新型工作模式。随着实验数据和工作流程的高度信息化，劳动强度得到大大减低，实验数据的准确性和时效性亦得到有效保证，但与此同时，实验室人员却面临巨量实验室数据收集、传送、储存、处理等新的问题。工作模式的电子化亟待管理方式实现信息化，临床实验室信息系统由此应运而生。

【问题1】现在检验科有许多大型自动化分析仪器，临床实验室信息系统是不是就是管理这些仪器的计算机软件？

临床实验室信息系统（laboratory information system，LIS）的确是伴随计算机普及、实验室仪器自动化、智能化水平日益提高而产生的一种管理系统，但它不是仅简单实现仪器的集中管理。LIS除了处理仪器测量分析的数据、图像甚至影像等，还有许多维持实验室运行的管理功能，尤其在实验室质量控制中发挥重要作用。LIS是医院信息系统的一部分，它是一门现代管理学、临床医学、检验医学、信息学、机械电子学以及通信技术等多学科交叉的综合学科。其构成主要由硬件部分、操作软件、数据库管理软件、应用软件四个部分组成。每个部分又由多个组成部分共同动作，生成了可运行的LIS系统。

知识点

医院信息系统

医院信息系统（hospital information system，HIS）是指利用计算机硬件技术、网络通信技术等现代化手段，对医院及其所属各部门的人流、物流、资金流进行综合管理，对在医疗活动各个阶段产生的数据进行采集、存贮、处理、提取、传输、汇总、加工，生成各种信息，从而为医院的整体运行提供全面的、自动化的管理及各种服务的信息系统。医院信息系统是现代化医院建设中重要的基础设施。

知识点

实验室信息系统

实验室信息系统是指对患者检验申请、标本识别、结果报告、质量控制和样本分析等各个方面相关的数据进行管理的信息系统。它是以临床实验室科学管理理论和方法为基础，借助计算机技术、网络技术、现代通信技术、数字化和智能化技术等现代化手段，对实验室标本处理、实验数据（采集、传输、存储、处理、发布）、人力资源、仪器试剂购置与使用等各种实验室信息进行综合管理，从而从整体上提高实验室综合效能的复杂的人机系统。因此，LIS是现代管理学、临床医学、检验医学、信息学、机械电子学以及通信技术等多学科交叉的综合学科，是医学信息学的分支学科。

【问题2】临床实验室信息系统应具备哪些基本要素？

LIS使临床实验室管理的方法、组织、决策都带来全新的概念，并产生全面、深远的影响。LIS应具备的主要要素如下：

（1）提供实验室信息管理的解决方案：LIS必须能够提供一整套针对临床实验室的系统解决方案，包括对定义功能的设置、实验室改造、实验室管理模式转换与实施、专用软件的配套等。

（2）实验室管理自动化：LIS为实验室的各种操作和管理职能提供了智能化、行之有效的自动化脚本，从而最大限度地提高实验室自动化管理水平。可从样品登录、检测、结果录入、数据计算和判定、结果审核、发布检验报告、“危急值”报警，到向临床科室发送传真或电子邮件、进行统计分析等通过LIS均可自动进行。

（3）LIS与自动化仪器双向通讯自动化：检验仪器与计算机之间的双向通讯是指检验仪器不

学习笔记

仅可以自动发送检验结果到 LIS 系统，而且，还可以接收和处理由计算机发出的各种检测指令，自动完成系统给予的这种指令，从而实现信息从计算机到仪器和从仪器到计算机的双向传输。双向通讯技术的应用彻底改变了实验室传统的工作流程，从根本上解决了标本调错、项目输错等人为差错。

(4) 数据处理自动化：LIS 可根据用户要求进行自动化数据处理，包括对采集数据按照实验室的设定进行系列计算、自动转换计量单位、采用各种数字格式以适应实验室对某些图表及有关数据的要求、处理多谱图、进行图像分析处理等。

(5) 满足实验室质量管理的相关认证 / 认可体系：LIS 系统方案设计必须遵循实验室质量管理相关认可 / 认证体系的有关标准，如术语代码标准（standard code sets，又称数据结构标准）、数据交换标准（transactions，又称信息结构标准）、工作流程标准（系统结构标准）。

(6) 开放式的操作平台及友好的操作界面：LIS 应该可以在各种操作系统平台运行，如 WINDOWS XP、UNIX、LINUX 等，可以使用任何遵守 ODBC 标准的数据库，如 Oracle、SQL server 等。应能和各种第三方设备、软件相连接，使其成为各种信息系统集成，成为各级管理信息系统的一个组成部分。对于用户来说，简便友好的用户界面必不可少，使得没有计算机背景的实验室工作人员也可以进行系统的日常操作、管理等工作。

(7) 可扩充及可修改性：由于每个临床实验室的发展背景差异，信息系统的规模及内容不尽相同。随着实验室工作量、信息量的改变及增加，信息系统的建设要充分考虑其可扩充性及可修改性。另外，随着互联网的普及，LIS 应具备仪器的远程测量和远程控制、虚拟实验室方面的功能潜力。

(8) 可以满足科室行政管理、卫生经济管理的需要：LIS 相当于给临床实验室配备了大脑和神经。LIS 的运用，使管理者可以实时掌握不断变化的信息，沟通各环节、各阶段；参与临床实验室各项管理工作，防止人为因素的干扰；更重要的是管理信息系统通过对大量数据的处理，可产生各级管理所需要决策信息，让决策建立在可靠的数据基础上，减少了决策的失误。同时，它也提供了必要的科学决策及预测的手段。

(9) 使用条形码技术应用于标本分析全过程：LIS 可以利用条形码来代替实验室内涉及手工操作的许多繁杂的标本处理步骤。条形码赋予检测标本标志的唯一性，应用于整个标本的分析过程中，从标本的采集、储存、运输，到患者信息的传递、标本的接收、核对与处理、分析检测、查询结果、报告打印、标本保存等实验室的常规操作，极大地方便了医师和患者获取相关信息，同时也实现了检验流程管理中无纸化。

【问题 3】不同临床实验室信息系统之间的数据可互联吗？

我国的 LIS 经过十几年的发展，极大地提高了实验室的工作效率和管理水平。但它还属于新生的事物，不同的公司厂商的 LIS 产品层次不一、各有特色。一方面存在 LIS 研制开发标准不一、数据名定义不同、理解不同、内涵不同的现象，这就使这些信息之间的交换变得非常困难；另一方面，自定义字典库随意性大，基本字典库的维护，如人员、费用、科室等医院基本项目，各个医院只根据自己的现有应用水平以较简便的方法进行定义，无统一的标准和规则可遵行。这就导致数据难以共享，软件难以推广，难以进行数据汇总，数据利用不充分。

LIS 同其他管理信息系统一样，其建设必须要有一个系统的信息编码标准化体系。通过建立该体系，可以保证系统中各种信息资源符合标准和规范，不论产生于何地、由何部门处理，计算机均可以很容易地对信息进行识别、分类排列、检索和统一分析等；同时各医院之间、医院与行政部门之间也才能够相互交换信息，使信息系统为公共卫生、行政管理、医疗服务提供可靠的支持。LIS 的标准化还有利于规范检验操作流程，提供行业健康发展的环境，保护用户和开发商的利益。但 LIS 的标准制定是一个复杂的系统工程，包括数据集标准（如临床检验项目分类与代码）、数据交换标准（如 LIS 系统间交换的 HL7 标准）、基本功能规范等方面。其中标本检验过

学习笔记

程中的数据管理是 LIS 的核心功能，所以对标本检测过程中的基本功能需求标准化，是目前最迫切需要的标准。

【问题 4】质量是临床实验室工作的核心，临床实验室信息系统在质量控制方面如何发挥重要作用？

如果说现代医院体现的是以患者为中心的服务模式，那么，临床实验室就应该是以患者标本为中心的、以检验结果的准确性和及时性为目标的管理服务模式。近二十年来，全自动检验仪器的广泛使用，为实验室以患者标本为中心的服务模式的流程改造提供了基本条件和物质基础，而实验室服务模式的转变又有赖于 LIS 的应用与完善。现代化的 LIS 已不再是以简单地替代实验室技术人员纷繁复杂的手工劳动、完成标本检验为目的而建立的，而是在不断完善检验前、检验中和检验后流程的基础上，不断分析和优化，最终从本质上提高检验质量。下面分别从检验分析前、中、后三方面举例说明 LIS 如何在临床实验室工作中发挥重要作用。

(1) 检验分析前质量控制：标本质量对于检测的准确性和可靠性至关重要。LIS 在标本分析前的监控流程包括：检验申请、患者信息、患者的唯一标识、标本管的正确选取、标本标识、传递、签收、分类整理、编号、核对标本及医嘱申请、患者信息登录、标本预处理等一系列重要环节。医生通过在医生工作站上开出电子检验申请单，或护士根据医生医嘱录入电脑进行检验申请后，可通过 HIS 系统和患者以及标本采集等信息相关联，生成标本唯一的检验条形码。HIS 系统将电子信息传递至 LIS 后，LIS 系统能及时反馈确认和检测结果，实现有效的数据交换和信息整合。在标本分析前过程中，随着 LIS 系统的完善和普及，检验项目申请和采集运送流程均可以通过 LIS 系统实施全程监控和分析。LIS 系统可实时监测医生何时申请检验项目，护士是否按时采集，标本运送人员是否从临床科室取走并送达实验室等信息，并对每一操作步骤的执行者及实施时间进行准确记录，明确了所有工作人员的责任与义务，可最大限度地监测和分析影响标本质量和时效性的原因。

图 1-3-1 为某医院检验科 LIS 系统标本状态查询界面，通过扫描样本条形码，每个标本的信息包括患者信息（年龄、性别、病区床号）、临床诊断、检测申请时间、采集时间、准备时间、申请时间、样本类型以及操作人员等信息均一目了然，便于实验室人员追溯每个标本的操作环节与时间点等信息，最大限度保证分析前样本质量。在标本到达临床实验室时，标本接收人员仅需扫

图 1-3-1　某临床实验室 LIS 系统标本状态查询界面

描任务清单或标本上的条码，样本数量以及检验项目便一目了然，“无纸化”的工作模式使得接收程序大大简化，最大限度避免手工申请单录入时的出错可能。

(2) 检验分析中质量控制：标本检测是临床实验室最主要的工作任务之一，LIS 在样本分析中质量控制中发挥着重要作用，体现在如各类分析仪器的检测能力、分析检测的特殊情况处理能力、试剂管理、备份能力以及人员的培训等流程。CNAS/CL02：2012《医学实验室质量和能力认可准则》中明确，实验室应具备满足所从事检验要求的必要物力、人力和信息资源，且实验室人员具有应对开展检验遇到问题所必需的技能与经验。LIS 系统可与实验室场地设施、仪器设备、试剂、消耗品供应、技术人员、质量控制等因素建立互联网络，建立室内质控、浮动均数、仪器报警、试剂批号、标本状态、仪器状态、数据备份等影响分析质量的监控系统，确保分析结果的准确、及时、可靠。

图 1-3-2 为某实验室 LIS 中的室内质量控制监控截图，通过设定质控界限和质控规则，LIS 可将每日室内质控结果做记录并与质控界限相比较，提供直观的显示方式。通过设定，LIS 还可及时判断是否失控以及违背的质控规则，及时提醒实验室人员作出失控后分析和处理。此外，LIS 还可对每月的质控数据如均值、标准差、变异系数、累积均值等进行统计分析，便于实验室人员发现有无显著性变异，实施周期性的评价，最大限度保证分析质量。

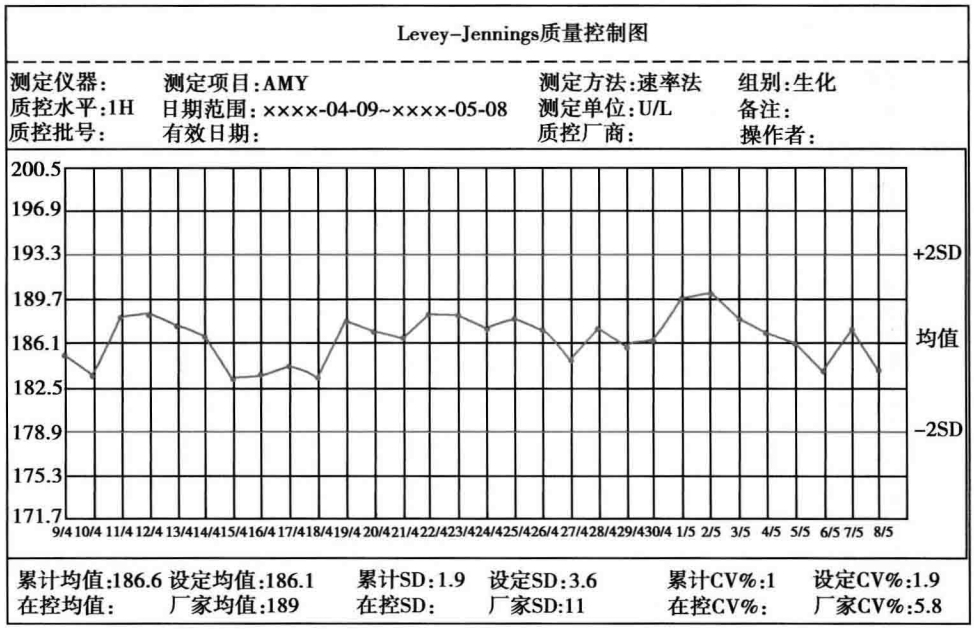


图 1-3-2　某临床实验室 LIS 系统中的室内质量控制图

(3) 检验分析后质量控制：LIS 参与检验分析后质量保证的流程包括：检验结果审核、签名确认、报告分发、报告打印等环节。如在审核检验报告过程中，LIS 可以利用仪器具备的血清指数检测功能，采集并提示标本状态信息(如溶血、黄疸、脂血)，便于判断对结果的干扰。此外，LIS 可储存患者不同时期的检测结果，并提供分析功能，便于审核人员比较，及时发现与历史结果的差异。图 1-3-3 为某医院检验科 LIS 中血细胞分析后审核功能截图，通过与分析仪器的建立互联网络，并设定血细胞分析推片规则，LIS 可实时提供样本异常数据以及血细胞分析图，自动提示样本需要复检以及可能原因，并提供同一患者的历史数据，便于实验室人员进行审核前的综合分析。

LIS 还可通过设置危急值报告系统，及时将危急值信息及时发至临床。图 1-3-4 为某医院 LIS 危急值报告情况一览表，通过实验室人员审核确认后，LIS 可自动将危急值信息发送至护士与医生工作站，提醒临床医护及时确认和处理。LIS 通过与短信平台互联，还可自动将此类结果

学习笔记

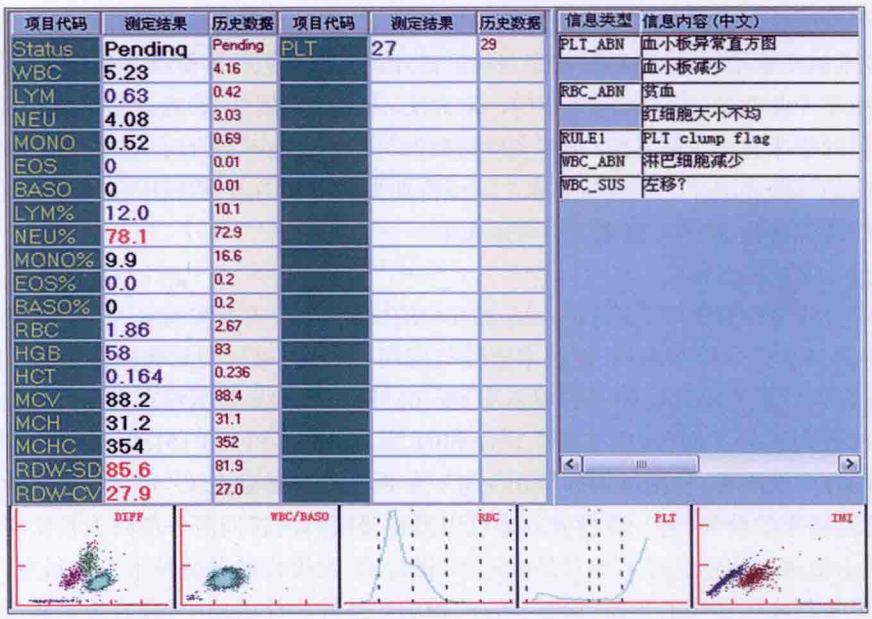


图 1-3-3　某临床实验室 LIS 系统血细胞分析结果审核界面

图 1-3-4　某临床实验室 LIS 系统危急值网络和短信报告及监控界面

以短信方式实时传送至负责医师移动电话，通过与电话告知等人工方式相结合，可进一步保证危急值及时、准确、快速地报告，保障危重患者的医疗安全。通过 LIS 的辅助，临床实验室可最大限度减少检测报告审核的个人随意性，提高临床实验室检测报告的准确性和效率，保证检验结果发送的及时性，为检测质量提供强而有力的保障。

第四节　检验医师与临床实验室

随着临床检验技术的迅猛发展，临床实验室实现了规范化、自动化、多样化，检验项目的快速增加，为临床提供并呈递了大量的数据和信息，使临床科室对于检验信息的依赖程度日益提

高。传统上检验技师多只负责报告的发放和保证结果可靠，不负责结果的解释与咨询。随着新知识、新技术的高速增长，检验科被动充当辅助诊疗的工作角色已不能满足临床诊治的新要求。临床医生由于专业背景的不同，对标本的留取方法、方法学局限性、影响检验结果的因素和部分新开展项目的临床意义了解有限，尤其当检测报告与临床表现不符合时，容易对结果产生疑虑，不利于疾病的诊断和治疗。检验与临床之间亟待加强联系和沟通，检验医师作为一支新生的医疗队伍，在顺应检验医学的发展潮流中应运而生。

【问题1】什么是检验医师？

从医学检验至检验医学（laboratory medicine）的学科发展，要求实验室人员除了提供准确结果外，更需具备结果分析与解释、新技术宣传与应用、临床沟通与交流等综合能力。2006年卫生部颁布的《医疗机构临床实验室管理办法》提出："医疗机构临床实验室应当提供临床检验结果的解释和咨询服务。"而《医学实验室质量和能力认可准则》（ISO 15189:2012）则将"提供检查范围中的咨询性服务，包括结果解释和为进一步适当检查提供建议"列入临床实验室的业务范围，将检验结果的解释、进一步检查的建议以及检验项目的咨询服务都归为临床实验室的业务范围，提示临床实验室已经不应只是收标本、做检验、发报告的单纯技术工作科室，而应该积极主动地参与到临床疾病的预防、诊断、治疗、预后评估等医疗活动中，成为为疾病诊疗提供实验室诊断信息的诊断科室。这些规定进一步明确了检验科在和临床沟通与交流中的发展要求。检验医师是具备检验和临床两方面的知识与实践经验，通过一系列检验与临床沟通和交流工作，负责推进检验与临床的交流与共同提高，并将有限的检验信息更好地被理解、应用和转化为高效的疾病诊治信息，从而更好地服务于患者的一支新生医疗队伍。

知识点

检验医师

检验医师是担负着控制检验质量、保证检验结果的准确、评价检验方法、评估检验能力、应用检验新技术、培养检验人员、解释临床疑难检验问题和分析病历、直接参与疾病的诊断、治疗和预防工作等职责的医学专业人员。

学习笔记

【问题2】检验医师该如何培养？

检验医师的特殊角色决定了他们必须具备检验与临床两方面的扎实理论知识以及综合的临床思维。在国外，不同国家检验医师的培训与准入要求不尽相同，但一般而言，大部分国家要求医学院学生毕业后，申请参加专科医师培训，完成相应培训计划并通过考试后，取得检验医师执业资格。以美国为例，大学生完成4年本科教育后，通过入学考试进入医学院接受医学教育，毕业后获得医学博士（doctor of medicine，M.D.）学位。毕业后进入住院医师培训，并在期间通过美国医师执业考试。取得执业医师资格证书后，医师还需进入国家认可的病理学专科培训基地接受专科培训，通过规范的专科培训并成功通过笔试与实践能力考试后，才可获得临床检验病理专业专科资格证书，从事检验医师的临床工作。

在我国，虽然对检验医师的培训方式以及准入条件还未完全达成共识，但目前普遍认为，医学生毕业后通过参与住院医师规范化培训，在检验专业及相关临床科室以轮转的形式进行理论与临床实践学习，并通过执业医师资格考试，是检验医师主要的培养方式。检验医师通过检验专业轮转后需掌握检验医学基本知识和基本技能、掌握检验质量控制、检验项目的方法学和临床意义、保证检验结果的准确、评价检验方法、评估检验能力、开展与宣传检验新技术、新项目等能力。而在临床科室轮转中，则需掌握常见病、多发病的诊治规律和临床意义，掌握分析病历、参与疾病的预防、诊断工作和解释临床疑难检验问题的能力，能理解和掌握检验医学在临床疾病诊治中的应用规律，并从实验诊断的角度分析和解决临床疾病诊治的问题。通过规范化的培

训，最终培养扎实的医学检验科临床工作能力，同时掌握正确的临床工作方法，能够掌握临床医学检验的常规检验技术及检验报告单的审核应用，熟悉临床知识和临床诊疗技能，熟悉各类自动化仪器的校准、性能、使用、维护、保养及实验室信息与质量的管理，并最终具备良好的职业道德、专业沟通能力和可独立从事临床检验咨询及交流工作能力，能够进一步指导实验室检验与临床诊疗相结合，并为临床疾病的诊断、预防、治疗及康复工作等提供建议和咨询。

【问题 3】检验医师的工作职责有哪些？

目前，国内不少医疗机构已经在临床实验室设立了检验医师岗位。检验医师作为连接临床实验室与临床科室的桥梁，与临床医护及患者沟通的使者，在检验医学服务于患者诊疗，提升检验医学学科水平和地位方面，发挥着越来越重要的作用。目前，检验医师工作的主要职责包括：

(1) 参加临床查房：实验诊断新技术、新项目不断应用于临床，临床医师难免在检查项目的选择、方法学评估、临床意义、结果解释，标本种类、采集方法、重复次数等方面存在疑问，检验医师通过参加临床查房等医疗活动，向临床医师介绍最新的检验项目或诊断技术，以及选择检测项目组合，综合分析、评价各项目的检测结果及其意义，为临床提供鉴别诊断、排除诊断的依据。检验医师可根据专业分工选择性地参与相关临床科室的查房，最好是参加由临床科室主任主持的教学查房。在参加查房前，检验医师应事先了解查房时需讨论的患者疾病及诊疗情况，结合检验医师自己的知识体系，思考患者诊疗过程中存在的各种问题，尤其是从实验诊断角度分析思考，带着问题参加教学查房，不断训练自身的临床思维能力。

(2) 参与临床会诊和病例讨论：检验医师应积极参加临床会诊和疑难病例讨论，检验医师在参与临床疑难病例会诊和病例讨论时，应侧重于从实验诊断角度解读检验结果，阐明实验室检查结果与临床表现的内在联系，提出进一步实验室检查的建议。应重点解决检验结果的合理解释和高效利用、检验结果正确性的客观评价、检验项目的合理选择建议以及指导标本采集和运送等分析前质量保证宣教等工作，为疑难疾病的进一步诊治提出实验诊断建议。

(3) 特殊报告的审核和解读：部分检验报告（如血液形态学、分子诊断、止血与血栓和微生物检验等）需要签发者具备检验、临床的综合知识，对报告审核者的要求较高。一方面，此类报告的审核需要检验医师主动紧密联系临床，对结果评估作出综合分析；另一方面，面对临床医生与患者的疑问需要检验医师作出专业的解读和交流，从而更好地解决临床诊治中的问题。

(4) 参与检验质量临床沟通：检验医师应经常到临床科室，调研和征询临床对实验室检验质量的意见和建议，不断改进临床实验室服务质量。对于临床提出的检验质量疑虑的处理是全面质量管理体系的重要组成部分，临床实验室应建立处理抱怨的政策与程序，由检验医师负责质量抱怨的调查和处理，一旦抱怨的问题被确认为检验不合格时，应抓住造成问题的根本原因，针对性地制订纠正措施，并对纠正措施的效果进行有效性评价。除了有纠正措施，还应针对可能存在不合格的潜在原因，制订所需改进的措施即预防措施。比如出现检验结果与临床表现不符的情况，检验医师应积极组织深入调查分析，从分析前、分析中及分析后三个环节排查原因。分析前环节主要注意分析标本采集与运送、生理性变异或生活习性影响、临床用药的干扰等因素，分析中环节主要注意检查仪器状态、试剂质量、室内质控有无失控、人员操作等问题，分析后环节主要关注检验结果的及时报告、正确解读和利用等问题。检验医师参与检验质量抱怨的处理，可以帮助临床实验室查找质量问题的原因或影响因素，不断积累经验，不断改进和提高检验质量。

(5) 开展检验咨询服务：可以通过设立检验咨询门诊、热线电话或专业网站等多种方式，解答来自临床或患者提出的检验医学相关问题。检验医师可有针对性地接诊有主观诉求的患者，通过综合分析实验诊断以及其他诊断结果对患者进行初步诊断，按照相关专科疾病对患者进行分诊，或建议进一步检验或检查；负责门诊健康查体或患者的检验报告解释和咨询服务；协助沟通门诊患者与临床实验室工作人员，最大可能地增加患者就诊满意度。这种咨询不仅是解答医

学习笔记

师或患者对检测结果的疑问，也可以是解答关于检验医学知识与新进展的相关问题。此外，检验医师应变被动咨询为主动宣传，注意检验专业知识和科普知识的结合，向临床医师、患者和社会公众积极宣传检验医学新知识、新技术和新动向。主要工作一般包括：

1）分析前的咨询服务：分析前的咨询可以来自临床医师、患者或社会公众。其咨询的内容大多是健康查体或疾病诊断时如何选择检验项目及其临床应用价值等。开展分析前的咨询服务非常必要，既可让医师和患者充分了解临床实验室的技术水平，又宣传了实验室检测项目及其临床价值，有利于得到临床医师和患者的积极配合，诸如试验选择、患者准备、标本的采集和送检等，使检验结果的准确性得到充分保证。

2）分析后的咨询服务：检验医师分析后咨询服务主要是检验结果的解释及对临床诊治计划的意见或建议。这是目前检验医师面临最多的问题，这种咨询主要来自患者，也可来自临床医师。分析后咨询服务非常重要，它关系到检验数据能否被临床有效利用。在对检验结果解释时，检验医师对结果的解释跟临床医师的解释不相符的情况时有发生，是医疗纠纷的隐患，然而这也说明检验医师和临床医师对同一检测结果的理解可因角度不同而不同，检验医师必要时应与临床医师进行沟通，并被临床医师和患者理解和接受。

（6）参与临床科研和教学：检验医师还应发挥熟悉临床和检验的知识结构和技术优势，积极参加与检验与临床结合的科学研究，包括诊断性试验新方法与新技术的临床评价、疾病发病机制研究、疾病实验诊断指标的参考区间调查和应用规律研究、药物临床疗效研究等，通过与临床科室合作开展临床研究工作，一方面推动临床实验室新业务开展、检验医师业务水平提升，另一方面也赢得了临床科室的友谊、信任和尊重，为临床沟通奠定坚实基础。

检验医师还应发挥熟悉临床疾病实验室诊断的知识特长，承担部分医学课程的带教，帮助医学生建立检验与临床相结合的思维，注重与临床实验室的沟通，充分利用好实验诊断的信息资源，为疾病诊疗服务。

（王　前）

学习笔记

第二章 生物参考区间、医学决定水平与危急值

在进行医疗诊断、确定治疗方案或其他生理学评估时，通常需要涉及生物参考区间、医学决定水平与危急值等相关概念。生物参考区间主要用于判断某个个体（通常为患者）的实验室检测结果或观测结果是否正常，提供可靠的参考区间，对于临床实验室和诊断试剂制造商来说都是一项十分重要的任务。医学决定水平不同于生物参考区间，临床工作中常用作确定或排除某种疾病。通过观察测定值是否高于或低于这些限值，可在疾病诊断中起排除或确认的作用，或对某些疾病进行分级或分类，或对预后作出估计，或决定采取某种治疗措施等。危急值是指某项或某类检验异常结果，而当这种检验异常结果出现时，表明患者可能正处于有生命危险的边缘状态，临床医生需要及时给予患者有效的干预措施或治疗，否则就有可能出现严重后果，失去最佳抢救机会。

第一节 生物参考区间

生物参考区间是解释检验结果、分析检验信息的一个基本尺度和依据，实验室给临床提供可靠的生物参考区间，才能使临床对患者或健康体检者的诊断治疗有明确的指引。本节从对某些术语定义的解释着手，阐述了生物参考区间建立与验证的操作程序和影响因素，并讨论了我国目前常用检验项目生物参考区间的建立与验证的重要性。

一、法定计量单位

法定计量单位是政府以法令的形式，明确规定在全国范围内采用的计量单位。我国计量法明确规定，国家实行法定计量单位制度，同时要求逐步废除非国家法定计量单位。计量法规定："国家采用国际单位制。国际单位制计量单位和国家选定的其他计量单位，为国家法定计量单位。"国际单位制是我国法定计量单位的主体。国际单位制如有变化，我国法定计量单位也随之变化。

【问题1】法定计量单位的构成和特点有哪些？

我国法定计量单位是以国际单位制为基础并选用少数其他单位制的计量单位来组成的。实行法定计量单位，对国民经济及文化教育事业的发展、推动科学技术的进步和扩大国际交流都有重大意义。

思路1：国际单位制（SI）的形成

计量单位是在人类历史上伴随着生产与交换的发生、发展而产生的。随着社会进步和科学技术的发展，要求计量单位及量值必须稳定和统一，以维护正常的社会经济活动和生产活动秩序。于是逐渐形成了各个国家的古代计量制度。这些制度是根据各自的经验和习惯制订的，自然是千差万别的。往往一个国家内有多种计量制度并存，这种状况阻碍着生产和贸易的发展及社会的进步。

1670年法国科学家通过对地球子午线长度的精密测量确定最初的米原器，创立了一种新的科学的计量制度，随后制定了"米制法"。这一制度逐渐得到其他国家的赞同。1875年17个国家在巴黎签署"米制公约"，成立国际计量委员会（CIPM），设立国际计量局（BIPM）。我国于1977年加入米制公约国际组织。随着科学技术的发展，在初期米制的基础上，先后形成了一种科学

学习笔记

实用的新单位制。1960年第11届国际计量大会(CGPM)将这种新的单位制命名为“国际单位制”，并用符号“SI”表示。

SI遵从一贯性原则，由比例因数为1的基本单位幂的乘积表示的导出计量单位，叫一贯计量单位。而SI的全部导出单位均为一贯计量单位，所以它是一贯计量单位制。这样才能使科学规划的量的方程与数值方程式一致。SI实现了世界范围内计量单位的统一，因而获得国际上广泛承认和接受，是国际计量领域和科技、经济、文教、卫生等组织的共同语言。

思路2：国际单位制(SI)的构成

国际单位制的构成如图2-1-1所示：

国际单位制的单位包括SI单位以及SI单位的倍数单位。SI单位是国际单位制中基本单位和导出单位构成一贯单位制的那些单位。除质量外，均不带SI词头(质量的SI单位为千克)。SI单位的倍数单位包括SI单位的十进倍数和分数单位。

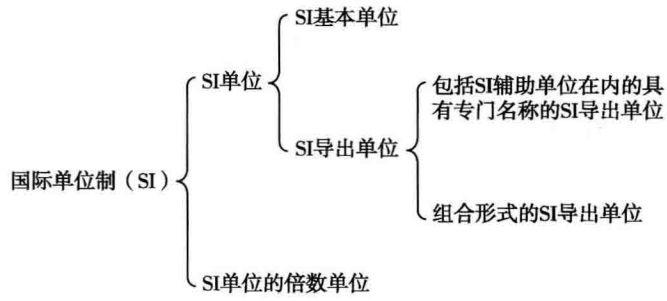


图2-1-1　国际单位制的构成

思路3：SI基本单位和SI导出单位

国际单位制长度(l)、质量(m)、时间(t)、电流(I)、热力学温度(T)、物质的量(n)和发光强度(Iv)共7个量作为基本量的量制。这7个量的SI基本单位的名称和符号见表2-1-1。SI导出单位是SI基本单位以代数形式表示的单位。这种单位符号中的乘和除采用数学符号表示。

表2-1-1　国际单位制的基本单位

量的名称	单位	单位符号
长度(l)	米	m
质量(m)	千克(公斤)	kg
时间(t)	秒	s
电流(I)	安[培]	A
热力学温度(T)	开[尔文]	K
物质的量(n)	摩[尔]	mol
发光强度(Iv)	坎[德拉]	cd

注：1. 表中圆括号中的名称是它前面名称的同义词和表达式；2. 方括号中的字在不致引起混淆、误解的情况下可以省略，去掉方括号中的字即为其名称的简称；3. 名称符号，除特殊指明外，均指我国法定计量单位中所规定的符号以及国际符号

思路4：SI单位的倍数单位及国家选定的非国际单位制单位

基本单位是指具有专门名称的导出单位，以及直接由它们构成的组合形式的单位均称之为SI单位，它们有主单位的含义。在实际使用时，量值的变化范围很宽，仅用SI单位来表示量值很不方便，为此SI单位中规定了20个构成十进倍数和分数单位的词头和所表示的因数，这些词头不能单独使用，也不能重叠使用，它们仅用于与SI单位(kg除外)构成SI单位的十进倍数单位和十进分数单位。SI单位加上SI词头后两者合为一整体，就不再称为SI单位，而称为SI单位的倍数单位，或者叫SI单位的十进倍数或分数单位。

尽管SI单位有很大的优越性，但不是十全十美的，在日常生活和一些特殊领域，还有一些广泛使用的重要非SI单位不能废除，必须继续使用。因此，国家选定了若干非SI单位与SI单

学习笔记

位一起，作为我国的法定计量单位。它们具有同等的地位。国家选定的非 SI 单位包括 10 个由 CGPM 确定的允许与 SI 并用的单位，3 个暂时保留与 SI 并用的单位（海里、节、公顷）。此外，根据我国的实际需要，还选取了“转每分”“分贝”和“特克斯”3 个单位，一共 16 个非 SI 单位，作为我国法定计量单位的组成部分。

【问题 2】国际制单位和传统单位有何区别与联系？

由于近年来普及和推广应用国际单位制（SI），在许多自动化仪器上都有国际单位制的单位和传统单位的选项，用户可直接选择国际单位，仪器内部已经按计算公式进行了自动转换，无须使用者亲自计算。

但是在临床应用方面，由于许多人对检验结果参考范围、诊断标准的传统单位概念较为熟悉，或某些项目未完全应用国际单位，或各医疗单位不同的应用习惯、工作上的需求等情况，因此在临床检验工作中，以及阅读文献或撰写文章时需将国际制单位和传统单位进行换算，以求得双向的换算结果。

思路 1：国际制单位换算方法

国际制单位和传统单位可通过换算系数进行双向换算，具体换算公式如下：

（1）传统单位结果 × 换算系数 = 国际单位结果（加 SI 制单位）

（2）国际单位结果 ÷ 换算系数 = 传统单位结果（加传统单位）

换算实例：

血红蛋白：传统单位 13.5g/dl 换算系数 10

换算为国际单位：13.5g/dl×10=135g/L

血糖：国际单位 9.8mmol/L 换算系数 0.056

换算为传统单位：9.8mmol/L ÷ 0.056=175mg/dl

思路 2：特殊单位的换算

法定计量单位中，大家最生疏的是“物质的量”单位—摩尔（mol）。世界卫生组织（WHO）建议：凡是已知分子量的物质在人体内的浓度，都应用物质的量单位（mol 或其分数）取代所有旧制用以表达质量浓度的 g、mg 等质量单位；统一用升（L）作为表示体积单位的分母，以避免过去用 μl、ml、dl、L 以及 mm^3 作为不同分母时易出现的误解。各种物质的 mol 值，系按各种物质各自的相对分子质量（Mr）或相对原子质量（Ar）算出，因而不能用一个单一不变的系数把各个物质的“物质的量”换算成 mol 值。

有些蛋白质的分子量尚未准确测得，为了便于比较同类浓度的数值，有的蛋白质浓度仍沿用质量浓度表示，仅分母改为 L。比较特殊的是血红蛋白，虽已能用 mmol/L 报告其浓度，国际血液学标准化委员会仍建议最好用质量浓度单位报告检验结果。另一个特殊的是酶活性单位，根据国际单位制导出的酶活性单位为 mol/s 作为酶活性单位，即每秒酶触反应转化的底物的量。原来酶活性单位为国际单位（U 或 IU）者，可按 1U=16.67nmol/s 进行换算，不确定是国际单位者或不是国际单位者，不要按上述换算系数换算。

二、生物参考区间的建立与验证

在进行医疗诊断、确定治疗方案或其他生理学评估时，通常需要将某个个体（通常为患者）的实验室检测结果或观测结果与参考区间进行比较。提供可靠的参考区间，对于临床实验室和诊断试剂制造商来说都是一项十分重要的任务。我们经常使用的参考区间以前并没有进行明确定义，当然也没有通过一致性程序进行验证。因此，我们有必要通过科学系统性的过程来制订参考区间，在此过程中需考虑到对实验室检测结果影响的各种因素。

国际临床化学和检验医学联合会（IFCC）参考区间理论专家组（EPTRV）和国际血液学标准化委员会（ICSH）参考区间执行委员会所制订的参考区间理论中，提供了参考区间的定义、原理

学习笔记

以及确定和使用参考区间的步骤。在美国临床和实验室标准化研究院(CLSI)C28-A3 文件中,建议使用参考区间。依据临床应用目的不同,参考区间可以与健康相关联,以区分个体的健康状况。也可与其他生理或病理状况相关联,以表达人体所处的不同生理或病理过程。

参考区间是指定百分位数的条件下,由参考限所限定的数值区间。也就是说,参考区间是在指定百分位数时(例如中央区域的 95%),参考样本组中所检测到的数值区间或参考人群的预测数值区间。

知识点

参考区间(reference interval)

参考区间就是介于参考上限和参考下限之间的值。依据参考区间的分布特性和临床使用要求,选择合适的统计方法进行归纳分析,确定参考分布中的一部分为参考区间。通常确定的百分范围在 2.5%~97.5% 之间。临床检测结果在确定的参考区间内,临床上视为"正常",超出参考区间则视为"异常"。

【问题 1】生物参考区间是如何建立的?

制订与健康相关的特定分析物的参考区间,需根据明确的方案并遵循科学的操作流程,在图 2-1-2 中展示了建立参考区间的简要步骤和流程。

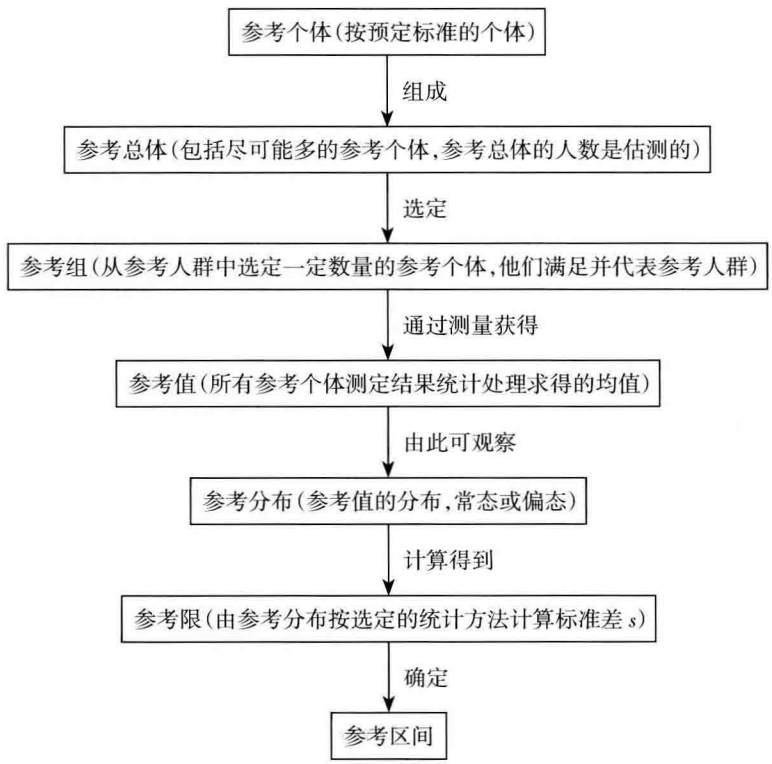


图 2-1-2　建立参考区间的流程

思路 1:参考个体的选择

健康是一种相对性的情况,它缺乏统一的定义。因此如何定义健康是任何研究中所面临的首要问题,制订如何从参考样本中排除非健康个体的标准是选择参考个体的首要步骤。每一个研究所或研究人员都有其自身健康的标准,在进一步实验前,需要对这些标准进行定义。为备选的参考个体确定良好的健康状态需要进行多项检查,例如既往史、物理检查和(或)某些临床

学习笔记

检验测试。任何参考区间研究中，都需要说明并记录下使用的标准，以便于其他人员评估参考样品组的健康状态。至少，需要以调查问卷的方式评估每一个参考个体的健康状况。

思路 2：参考区间分组

在获取与分析对象标本前，需要考虑到为对象中的亚组建立独立区间的可能性。只有具备临床效用和（或）生理学基础时，才需要为性别组或不同年龄组建立独立的参考区间。通常我们假设只要两个亚组观测均值的差值具有统计学显著性差异，那么每个亚组都应具有独立的参考区间。然而，观测到的差值无论临床意义重要与否，只要样本量足够大，都能够检验出统计学显著性。Sinton 等建议，只有均值间的差值至少等于全部样本 95% 参考区间的 25% 大小时，才需要建立独立的参考区间。

然而，亚组间的较小差值会导致每个亚组中超过参考区间上限（未分组）或低于参考区间下限的比例并不是每侧的 2.5%。这表明每个亚组的灵敏度和特异性与人群整体的灵敏度和特异性间具有明显的偏离。因此，参考对象进行实际采样前需要考虑到建立分析物亚组参考区间的可能性。同时，还需要评估每种分析物相关的生理学信息和临床工作中每一个亚组区间的潜在用途。

思路 3：分析前和分析过程中的注意事项

参考人群的分析结果必须充分反映出对于分析前和分析过程产生影响的所有因素。因此，需要确定出全部的分析前因素（包括对象准备、样本采集和处理、分析方法、仪器设备），并在参考个体和患者人群测试过程中使用。

当使用多种方法、仪器或系统对于相同的分析物进行检测时，需要进行相应的检查，从而验证各种方法、仪器或系统能够产生可比性的结果。所产生数据的可靠性非常重要，因为方法的精密度和真实度将会决定其诊断效用。因此，在确定参考区间的过程中，还需要使用与患者标本相同形式的质控材料进行测试，它不仅能够对于研究过程中的分析方法进行监测，而且能够确保结果长期等效。理想情况下，可以收集若干天内分析的标本数据，并产生代表分析间变异程度的数值。此外，需要对于自身来源组分产生的干扰进行分析。

思路 4：分析参考区间并确定参考区间

参考区间在此定义为参考上限和参考下限之间的区间，它用于评估人群（选择参考对象）数值的指定百分位数（通常为 95%）范围。对于绝大多数分析物而言，我们将数值分布的 2.5% 和 97.5% 分别作为参考的下限和上限。在某些情况下，只有 1 个参考限具有医学意义，通常为上限，例如 97.5%。

确定这些参考限的两种常用方法为参数法和非参数法。在 Solberg 编著的 EPTRV 文件中，对于这些步骤进行了详细说明。非参数评估法中，并未对于观测参考区间概念分布的数学形式进行特定的假设。而我们实际工作中使用的参数法，假设观测值或观测值的某些数学转换遵守正态分布曲线。因为很多分析物的参考区间并不符合正态分布的形式，所以使用参数法时，需要将其转换为其他的度量形式，以便于使其符合正态分布。此外，在制订可靠的参考区间时，最为重要的方面是正确选择参考对象、测试充足的参考对象、避免分析前误差，而不是对于观测数据所采用的统计分析方法。因此，我们建议使用非参数法，当然如果实验室具备所需的统计计算能力时，也可以使用参数法。

【问题 2】不同实验室、不同检测方法都应有自身的参考区间吗？

由于确定生物参考区间的可靠性费时费力，因此通过某种确认程序能够将参考区间从一个实验室传递到另一个实验室，既能够降低成本，又非常便捷。越来越多的实验室开始使用新的测试和方法，因此希望每一个实验室都能够制订出其自身的参考区间并不现实。所以临床实验室越来越依赖于其他实验室或诊断试剂制造商能够提供可进行转换的、符合要求的参考区间。

思路 1：参考区间的转换

学习笔记

参考区间的转换过程非常复杂，为了保证其适用性，它需要满足特定的要求。不同的情况下，对于转换过程的要求并不相同。假设已经完成了参考区间的初始研究，那么参考区间的转换过程将会涉及两个不同的主要问题：分析系统的可比性和测试对象人群的可比性。

如果使用临床实验室当前的系统对于对象人群测试后，为目前已有的分析物制订相应的参考区间，那么在为相同实验室中替代性方法 / 仪器进行区间转换时，我们需要考虑到分析系统可比性的问题。CLSI- 文件 EP9-A2 使用患者样本进行方法比对和偏倚评估中，说明了在进行方法比对评估时，实验室需要考虑的操作步骤和影响因素。如果不能按照 CLSI 文件 EP9-A2 进行可比性验证，那么必须进行新参考区间的研究。如果其他实验室或诊断试剂制造商使用相同或具有可比性的分析系统建立参考区间后，临床实验室希望对其进行转换，那么转换过程就成为参考人群可比性的问题。

思路 2：参考区间的验证

对于相同或具有可比性的分析系统来说，有多种方法用于评估参考区间转换过程的可接受性。对实验室自己制订的参考区间也需进行参考区间的验证。

用户或接受实验室希望对于制造商或其他实验室的参考区间转换进行验证，可以通过接受实验室检测其自身检测人群中的少量参考个体（$n=20$），并将这些参考区间与大型的初始研究进行比较。在此，初始参考区间研究的分析及分析前因素必须与接受实验室的操作相一致。进行转换验证研究时，必须按照前述的指南来选择参考个体和取得参考区间。通过收集和分析来自代表参考样本总体的 20 份个体标本执行实验确认，只要不超过 2 个（10%）的试验结果落在声称或可报告的参考限之外，那么接受实验室可以使用制造商或实验室所报告的参考区间，参考区间认为已验证。如果有 3 个或更多测试结果超过了参考限，那么需要采集与第一次相似的 20 例参考标本，并确定没有任何离群值。也可以通过对象人群中更多数量的参考个体（$n=60$）进行测试，并与大规模的初始研究参考区间进行比较，来评估和确定转换的可接受性。

【问题 3】参考区间主要临床应用是什么？

参考区间的应用范围非常广泛，不同的目标总体确定的参考区间具有相应的代表性和应用范围。

思路 1：研究疾病与影响因素的关系

某些疾病的发病与年龄、性别、地区、种族等密切相关，将基于这些因素的测定数据进行综合分析，根据这些改变提出防治疾病和保护机体健康的策略和办法。

思路 2：确定诊断试验的阈值

诊断试验的阈值通常用以决定检查者是否有病，某些时候健康人的结果也会在已经确定的参考区间以外。因此临床医师和检验医师可以根据样本中的某些物质的测定值、有关疾病和无关疾病、不同病程的患者相应物质的测定值以及其他辅助检查结果，共同制订出临床确认的某些疾病的诊断标准，根据某物质的含量浓度水平决定临床医师处理患者的阈值水平。

思路 3：评价检验方法和试剂盒的质量

选择与测定参考区间时的参考个体条件基本相同的参考个体，按照同样的操作程序，用被评价的检验方法和试剂盒的测定后，将这些数据与参考区间用相同的统计学方法进行处理，分析检验方法和试剂盒测定值存在的误差能否被接受。但是这只是一种粗略的评价方法，不能作为评价检验方法和试剂盒质量的依据。

三、我国常用检验项目参考区间的建立与验证

每一个临床定量检测结果都伴随有相应的参考区间。在临床实际中，临床检验已成为疾病诊断、预后判断、疗效评价及健康监测的重要手段，检验项目的参考区间则是疾病诊断和健康评估最主要的依据。但在临床检验项目中，往往会因种族、性别、年龄、生长发育等因素的差异而

学习笔记

导致参考区间的不同，同时参考区间还会受人群所在地域、经济水平、生活习惯、饮食结构等诸多因素的影响。参考区间的准确性、适用性直接影响着疾病的诊治效率，参考区间的不确定甚至会导致错误的医学判断或医学干预，给患者造成心理和经济负担，同时还会造成医疗卫生资源的浪费。

【问题 1】参考区间的溯源性与可比性。

思路 1：我国常用检验项目参考区间的溯源性

随着我国临床实验室室间质量评价和临床检验标准化工作的不断推进，不少常规检验项目已经达到较高程度的标准化，检测结果具有溯源性和可比性。我国目前常用检验项目参考区间主要引用行业指南（全国临床检验操作规程）、仪器试剂说明书以及专著等提供的资料，另外还有一些参考区间来自我国局部地区人群的研究结果。

思路 2：建立自己实验室的参考区间

尽管严格按照参考区间制订的条件选择参考区间，但是并不能完全排除生物因素和分析中偶然因素的影响，尤其是在某些遗传基因控制的生物变异，并且我国医学实验室众多，采用的检验系统、试剂等逾百种，不同实验室同一项目的检测结果差异较大，所采用的参考区间亦不一致，给医生的诊疗工作带来不便，甚至导致不合理的医学干预，给患者造成额外的心理和经济负担。因此建议最好根据参考区间的制订原则建立本实验室的参考区间。只有这种情况下制订的参考区间才具有相当的代表性。例如某些检验项目的参考区间只能适用于某地区或某医院，并不代表全国通用。某些项目的参考区间适用于居住在平原地区的人群，而不适用于居住在高原地区的人群。

【问题 2】建立基于我国人群的常用检验项目参考区间的适用性。

长期以来，我国国内实验室用的都是国际组织或国外试剂厂商提供的参考区间。其实这些参考区间在地域性、民族性上不见得与我国的实际情况完全吻合。比如近年来，国际上一些权威学术组织（如国际临床化学与检验医学联合会——IFCC 等）陆续开展了临床检验项目参考区间的多中心研究，建立了相应人群检验项目的参考区间，同时发现一些检验项目（胆固醇、尿素、肌酸激酶、γ- 谷氨酰基转移酶等）的参考区间与年龄、性别、地域或种族等因素明显相关，提示在建立检验项目参考区间时，要充分考虑本国地域、种族等因素，使参考区间具有良好的代表性和适用性。

思路 1：良好的技术平台和工作基础

近年来，随着医学科学技术的进步，临床检验学科得到快速发展，检测方法和检验技术不断改进，临床实验室管理逐步规范，为建立适合中国人群的常用检验项目参考区间提供了良好的基础。同时，随着近 20 年来我国临床实验室室间质量评价和临床检验标准化工作不断推进，不少常规检验项目已经达到较高程度的标准化，检测结果具有溯源性和可比性，为建立和应用不受方法学、检验系统限制的参考区间提供了技术保障。

思路 2：多中心、多系统、大样本的研究方式

依据我国国情和新建参考区间的实际应用性，建立适合中国人群的常用检验项目参考区间应采用多中心、多系统、大样本的研究方式。按照中国的地理分区（东北地区、华北地区、华东地区、华南地区、西北地区、西南地区）在全国范围内募集参考个体，并通过问卷调查、体格检查和实验室检查进行严格筛选，组成参考样本组，兼顾城市、农村人群，每地区参考个体还需考虑性别、年龄段分布等因素。同时，进行建立参考区间的实验室需参加全国质量评价计划和检验结果一致性比对，以提供良好的质量保证。

思路 3：特殊人群参考区间

在提高国内实验室检验结果准确性的同时，使用一致的、适用的参考区间，对于促进实验室间结果一致性方面发挥着重要的作用。将更大限度地降低患者转诊后重复检查的费用，节约有

限的医疗卫生资源，使患者和国家受益。但由于我国地域辽阔，人口众多，常用检验项目参考区间还应覆盖少数民族、高海拔地区、具有特殊生活习惯的健康人群。一些项目的参考区间可能会受到人群所在地域、经济水平、生活习惯、饮食结构等诸多因素以及不同实验室的检测水平的影响，因此建议实验室在使用全国通用的参考区间时进行参考区间验证，及时发现并解决影响参考区间适用性的问题。

第二节　医学决定水平

医学决定水平不同于正常参考区间，临床工作中常用作确定或排除某种疾病。通过观察测定值是否高于或低于这些限值，可在疾病诊断中起排除或确认的作用，或对某些疾病进行分级或分类，或对预后作出估计，以提示医师在临床上应采取何种处理方式，如进一步进行某一方面的检查，或决定采取某种治疗措施等。

一、医学决定水平的概念

医学决定水平指在诊断及治疗工作时，对疾病诊断或治疗起关键作用的某一被测成分的浓度，临床上需采取相应措施的检测水平。

【问题 1】参考区间和医学决定水平有哪些区别？

参考区间是不同项目在正常人群中的波动范围，医学决定水平是为了更好地区别不同程度的异常结果所导致的处理差异。参考区间研究的是健康人群的数据，而医学决定水平研究的是其他各种无关疾病患者的参考水平以及有关的疾病患者在不同病情时的数据，见图 2-2-1。

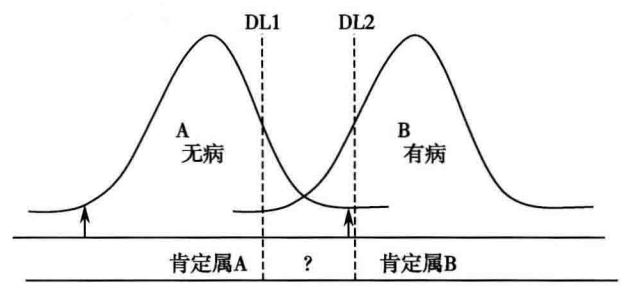


图 2-2-1　参考区间与医学决定水平

曲线 A：在两箭头之间为无某种疾病的无病组参考区间；曲线 B：为患有某种疾病的有病组；DL1：为其中的一个决定水平，在此阈值的左侧可排除有病；DL2：为另一决定水平，在该阈值的右侧可确定有病

由此可见医学决定水平的数值可以与参考区间的数值不同，也不同于一般所谓的临界值（高限或低限）。参考区间来源于大量的健康人群测定数据，并根据健康人群中不同年龄、性别进行统计分析得出的参考范围。而医学决定水平是来源于大量的临床患者数据的观察和积累，用于确定疾病的发生发展和变化情况，并针对这些情况对患者采取相应的措施。

【问题 2】医学决定水平有何意义？

Bernett 首先提出医学决定水平的概念。其目的是在应用各项目结果时，能有比较一致的见解。医学决定水平的应用可以克服只使用参考区间的缺点，包括明确诊断或增做其他试验以确定诊断，决定或改变治疗方案等所制订的不同层次的阈值，亦即用于排除或确定或提出某一种临床情况的限值。

思路 1：参考区间的局限

参考区间用来区分正常和异常，但刚刚高于正常参考区间和高于正常值几倍甚至几百倍都是异常，如何区分不同的异常所导致的不同结果，这就不仅仅是参考区间所能完全解决的问题了。而医学决定水平来源于大量的医学实践，它不仅可以判断某种疾病的是与否，还能对疾病进行分级或分类，在临床治疗过程中指导临床医生采用什么方式对患者进行治疗和判断治疗是否见效等，具有诊断和治疗的决定性使用价值。

学习笔记

思路 2：一个检验项目是否只有一个医学决定水平

同一检验项目，常常可有不止一个医学决定水平。不同的异常结果常常需要不同的处理。医学决定水平可根据不同的疾病诊断要点和标准、不同的治疗要求和治疗方法的选择，有多个设定的上限或下限，临床医生在使用这些指标时能够根据不同的界限采取不同的处理方法和措施。

二、常用检验项目医学决定水平

检测结果如高于或低于某个值，就应该采取一定的措施，一个检测结果所产生的价值在于能对患者的处理提供依据，所以医学决定水平把试验结果分为三种情况：第一种应进一步检查；第二种采取治疗措施；第三种是对预后进行估计。例如 HCO_3^- 的参考区间（23~30）mmol/L。当测定结果≤6.0mmol/L 时，通常伴有严重的代谢性酸中毒，估计血液 pH 小于 7.1，属于临床急症抢救范围，提示必须采取适当的治疗措施；如果 HCO_3^-≥33mmol/L 时，应考虑鉴别是代谢性碱中毒还是呼吸性酸中毒，要求结合临床及测定血液 pH；如果 HCO_3^-≤20mmol/L 也应结合临床寻找原因。因此 HCO_3^- 的医学决定水平为 6.0mmol/L、20mmol/L 及 33mmol/L。

我国目前常用检验项目医学决定水平可参考行业指南，但真正建立各项试验的医学决定水平还十分复杂，目前推广中也存在一些问题。

三、cut off 值

定量测定结果多以浓度的方式表达，而定性测定结果的确定则依据阳性 / 阴性判定值（cut off 值）。cut off 值是被检分析物的量值，用于确定结果高于还是低于临床或分析决断点，cut off 值的确定应尽可能地避免假阳性或假阴性结果的出现。

【问题】如何确定 cut off 值？

在定性测定时，检测标本吸光度（OD 值）≥cut off 值即判为阳性，<cut off 值判为阴性。cut off 值的设置因试剂厂家不同、方法不同而设置不同，试剂说明书上都会有 cut off 值的设置。

思路 1：cut off 值设置标准

大多数定性试验在阴性和阳性之间有一个检测结果的重叠区，说明一个试验不大可能有完全的（100%）敏感性、特异性和预测值。在设置 cut off 值和报告检测结果时应该考虑敏感性、特异性和预测值哪个更重要。下面是 Galen 和 Gambino 推荐的设置 cut off 值标准。

（1）高敏感性：当疾病是严重的，并且是可治疗的，应该不能漏检，需要高敏感性；当假阳性结果不会导致严重的精神创伤或经济损失，或不合适治疗的后果不严重时，需要高敏感性。

（2）高特异性：当疾病是严重的，但是不能治疗，或如果假阳性结果可能引起严重的精神创伤或经济上的损失时（如 HIV），需要高特异性。

（3）高预测值：当不合适的治疗可能导致严重后果时，需要高预测值。

（4）高符合率：当疾病是严重的，但是可以治疗，并且假阴性或假阳性结果同样严重时，需要高符合率。

为确定以上因素的合适平衡点，应该用以下三种人群的样本评估分析的性能：疾病患者、没有疾病的健康人和其他疾病患者。因为不同年龄和不同人群的正常参考区间是不同的，所以需要确定不同人群的 cut off 值。

思路 2：确定 cut off 值的方法

（1）使用一定数量（通常较少）阴性血清样本测定结果均值的 2 或 3 倍作为阳性判断值。如阴性血清样本的吸光度均值为 0.05，则该次测定的阳性判断值为 0.10 或 0.15。这种方法通常可以避免假阳性结果的出现，但假阴性可能比例较高。

（2）首先测定大量（数千）正常人血清样本，然后将得到的吸光度均值加 2 或 3 个 *SD* 作为阳

性判断值。这种方法的局限性是可能出现较多的假阴性。

(3) 测定大量正常人血清样本的同时，测定大量阳性血清样本，如测定值为正态分布，则根据 u 检验特点，以单侧 99.7% 的可信限分别确定阳性和阴性 cut off 值；如为非正态分布，则百分位数法单侧 95% 或 99% 来确定 cut off 值。

(4) 测定大量正常人和大量阳性血清样本的同时，测定转化型血清（从阴性转变为阳性过程中的系列血清）样本，取假阳性和假阴性发生率最低，且能区别抗原转化至抗体出现点的吸光度值作为阳性判断值。

因此，cut off 值的确定可根据临床诊疗的需求选择相应的设置方法，以保障医疗诊断、治疗和预后评估的有序开展。

第三节　危急值及其报告制度

危急值是指检验结果的极度异常，如不及时处理随时会危及患者生命的检验值。在危急值确认后，执行检验的工作人员必须与临床医生进行联系，对临床医生提出警示。危急值报告制度的制订与实施，能有效增强医技工作人员的主动性和责任心，提高医技工作人员的理论水平，增强医技人员主动参与临床诊断的服务意识，促进临床、医技科室之间的有效沟通与合作。

一、危急值的概念

美国临床实验室修正法案（Clinical and Laboratory Improvement Amendment，CLIA' 88）、美国医疗机构认可联合委员会（Joint Commission on Accreditation of Health Care Organizations，JCAHO）、美国病理家协会（College of American Pathologists，CAP）、国际标准化组织 ISO 15189:2012、患者安全目标（National Patients Safety Goals，NPSG）均要求临床实验室建立规范化的危急值报告制度，尽管危急值报告已有 40 年历史，但由于检测系统、方法学、临床认知及临床能力的差异，危急值报告程序及步骤一直未能实现标准化。如何选择危急值项目及其界限、如何处置危急值将直接影响到患者的安全。因此，提高对危急值的认识，并规范其临床应用，对于保障患者生命安全具有非常重要的意义。

知识点

危急值（critical value）

危急值通常指某种检验、检查结果出现时，表明患者可能正处于有生命危险的边缘状态，临床医生需要及时得到相关信息，并迅速给予患者有效的干预措施或治疗，否则就有可能出现严重后果。这种有可能危及患者安全或生命的检查结果数值称为危急值。

【问题 1】危急值的定义是什么？

1972 年危急值由 Lundberg 首次提出，现已被世界各地所采用。目前将其定义为：

(1) 危及生命的极度异常的检验结果，说明患者可能正处于有生命危险的边缘状态，如果不给予及时有效治疗，病人将处于危险的状态，或者立即给予治疗可明显改善预后。一旦出现这样的检验结果，应立刻报告给临床医师，提醒其立刻采取相应的治疗措施，否则将会因为错过最佳的治疗时机而使患者的生命安全受到威胁。

(2) 国家重大传染病，反映那些需要引起我们足够重视的患者的检验结果，如 H7N9 等。

【问题 2】危急值和参考区间、医学决定水平的区别有哪些？

界定检验结果是否正常，常用参考区间表示。当测定值落在参考区间范围内时，通常意味着该检验结果正常。低于或高于参考区间，并且提示患者可能存在健康问题，而需作进一步检

学习笔记

查和治疗，该量值称医学决定水平。当一种提示患者可能处于生命危急边缘状态检验结果出现时，此时如能给予及时、有效的治疗，患者生命可能得以挽救，否则可能产生严重后果。这种提示生命危险状态的检验结果才称作危急值。

【问题 3】危急值适用范围有哪些？

危急值可包含检验科、放射科、病理科、心电图等部门的危急值报告，危急值的应用还可根据临床需求制订个性化的危急值。以血红蛋白检测（Hb）为例，不同科室可根据临床需求制订不同的危急值（比如普通的科室可定为≤50g/L，但新生儿室≤100g/L、急诊外科≤70g/L），同一病例也可以根据临床表现动态观测，制订相应危急值。

二、危急值项目及报告制度

并非所有的检验项目都需要设立危急值，在制订这个项目表时应把确实有意义的试验包括进来，而不能把没有危急值意义的试验包括进来。项目太多反而容易降低临床对这些数值意义的认识和警惕性，同时也增加了实验室的工作量。不同性质的医院，应根据其工作特点选择相应的检验危急值。

【问题 1】危急值项目的选择及危急值界限该如何确定？

思路 1：危急值项目的选择

不同的实验室间纳入的危急值项目差异很大，危急值项目的确定应该由医院行政管理部门组织相关科室协商确定，一般情况下，危急值项目的选择可由临床实验室列出“可能危急值项目目录”，然后由临床科室、检验科、护理部、医院行政管理部门等人员共同论证确定，“可能危急值项目目录”制订时，应首先考虑“其结果严重偏离可提示患者生命处于危险状态”的检验项目，这些检验项目多是“结果异常是疾病发生发展的直接原因”，如钾离子、钠离子、钙离子、血小板、白细胞、血培养、脑脊液微生物检查、血药浓度等。有些检验结果的异常偏离是疾病转归的结果或表现而非原因，如淀粉酶、糖、肌酸激酶同工酶、肌钙蛋白 I、肌红蛋白、尿素氮、肌酐、血气等，其亦能提示患者的生命处于危险状态，这些检验项目亦应列入危急值项目。和疾病的治疗转归有紧密联系的检验项目以及国家重大传染病，那些需要引起我们足够重视的检验结果，如 H7N9 等也可列入危急值项目。

思路 2：危急值界限的确定

（1）根据年龄、种族、性别等人口统计学特点来设置不同亚组的界限值。

（2）基于医学决定水平，提出可能危急值界限。

（3）基于医疗机构、不同专业科室的临床救治能力提出可能危急值界限。

（4）危急值界限确认时应考虑基于本单位检测系统的生物参考区间。

（5）以卫生部临床检验中心组织的全国性的现况调查为基础，建立危急值界限数据库，并按照统计结果制订界限值。

（6）可参考公开发表的文献及循证医学的依据。

（7）由医院行政管理部门组织相关科室协商确定，尤其是急诊科、重症医学科、麻醉科、心内科、呼吸科、肾内科、血液科和消化科等科室的医师，与检验科就不同部门具体危急项目的界限的设置讨论并达成共识，并经医院行政管理部门签字认可并发布。

（8）周期性地评估危急值界限，根据危急值发生频率及临床救治效果来调整界限值。

【问题 2】危急值如何识别？

危急值的识别是危急值报告的前提。正确、及时识别危急值，首先要建立危急值的一整套的管理流程、做好危急值相关培训、提高检验人员的责任意识；其次要严格把关检验和结果审核这两个危急值识别节点，争取在检验环节识别和确认危急值，保证在结果审核节点不漏过危急值；再次，通过自动化检测系统、LIS、中间插件等自动识别危急值，并通过若干特殊信号（如颜色

变化、闪烁显示、警示声音、对话框）主动提示或通知检验人员处理，这样可以极大地提高危急值的识别效率、识别的准确性和及时性，缩短危急值报告时间，降低潜在错误的发生率。

【问题 3】危急值如何报告？

快速、准确是危急值报告的基本原则，由检验人员及时报告既可缩短危急值报告时间、提高报告的准确性，又方便检验人员与临床人员就危急值与患者临床指征的符合性进行沟通。

思路 1：由谁报告、向谁报告以及接受时间长度

美国患者安全目标规定：实验室程序必须包含危急值“由谁报告”“向谁报告”及“接受时间长度”（从报告到主治医生确认接受）。常规情况下检验人员应向住院 / 急诊患者的主管医护人员、门诊患者的主诊医生报告危急值，但多数情况下检验人员缺少门诊患者主诊医生的联系方式，此时应向门诊办公室报告。对于院外送检标本，如有诊所或诊所医生、委托送检方或标本送检人联系方式，检验人员应首先向其报告危急值；如没有，则应向客户中心报告并请其传递危急值信息。

思路 2：报告的方式

随着信息技术的进步，危急值报告方式逐步多样化。除传统电话报告以外，大多采用通过信息系统网络发送到终端计算机报警提示以及短信发送到医务人员并需要确认回复的方式。危急值网络系统的使用，不仅缩短信息传递时间，也有效避免了错报、错记，提高了报告的准确性。网络或短信发出后须经主管医生回复确认。调查发现，危急值电子报告信息发出 1 小时后约有 10.9% 未得到回复确认，其主要原因在于被报告的临床医生或其他人员不能及时发现和读取信息。因此，临床实验室通常在电子信息发送后，需要有反馈机制，如在设定的时间内没有回复确认，需再次电话报告。夜间危急值报告采用电话的方式可能更为迅速可靠。电话报告危急值时，不仅要求接收人“回读”危急值，以减少错报或错记的发生率，还应询问检验结果与患者临床指征的一致性。

思路 3：危急值报告的记录

CAP 要求：危急值报告的任何信息均须文件化，包括“可识别的患者信息及危急值信息、报告日期及具体报告时间、实验室信息、报告人与接收人”。

【问题 4】危急值报告如何监控、评估与调整？

危急值报告的监控、评估与调整十分重要。临床实验室应定期评估危急值报告体系及其执行情况，通过数据挖掘，评估危急值项目发生数、危急值项目结果和高低限范围的分布频率、危急值数量和患者人次的关系、危急值的实验室周转时间以及危急值记录率及完整性、危急值“回读”率等数据，来完整地评估项目、危急值界限、危急值报告路径的适宜性和执行效果，并通过召开由临床科室、检验科、护理部、医院行政管理部门人员参加的危急值报告体系评审会，或通过发放调查问卷，决定是否增加或删减危急值项目，是否修改及如何修改危急值界限，危急值报告路径是否需要优化及如何优化，报告时间长度是否适宜等，最后完成“危急值回顾分析与评估报告”。

（陈　鸣）

学习笔记

第三章 循证检验医学

循证医学是20世纪90年代发展起来的一门新兴交叉学科，也是一种指导临床医学实践的新模式和制订医疗决策的新思维。它与传统医学最重要的区别在于其所应用的临床研究证据是经过严格评价、被确认为真实可靠、适用于临床实践的、最佳的科学证据。检验医学是一门以试验为基础、为临床决策提供直接证据的实验室学科，临床检验证据的质量和水平的高低直接影响着临床决策的正确和患者的健康，因此，提供适宜、有效的检验项目和准确、可靠的检验结果是循证检验医学的目标和任务。

第一节 循证医学与循证检验医学

循证医学（evidence based medicine，EBM）是遵循最佳科学证据的临床医学。将循证医学理论应用于检验医学即为循证检验医学（evidence-based laboratory medicine，EBLM）。根据循证医学定义，最佳的临床研究证据、熟练的专业技能和临床经验、满足患者的临床需求是循证医学的三大要素，将它们有机地结合起来综合考虑，临床医师和患者在诊断和治疗上获得共识，使患者达到最佳的治疗效果和生活质量是循证医学的基本内容。其中，最佳的临床研究证据是循证医学的核心。

【问题1】如何检索最佳的临床研究证据？

最佳的临床研究证据是指应用临床流行病学的原则和方法，以及有关质量评价的标准，对临床研究证据或文献进行认真分析与评价，获得的最新、最真实可靠，且有临床应用价值的研究成果。临床研究证据的检索途径除互联网在线数据库（如PubMed、EMbase、Cochrance中心数据库和图书馆、公开发行的CD等）外，还包括杂志、指南、学术专著，以及论文集等，其中最佳的临床研究证据的检索途径主要包括：

（1）Annals of Internal Medicine发表的ACPJC附刊（ACP期刊俱乐部）：主要提供临床科研最佳研究成果的二次摘要和专家简评。网址：http://www.acpjc.org

（2）Evidence Based Medicine（循证医学杂志）：主要提供临床医学研究的最佳证据，为二次发表的摘要文献加专家评述。网址：http://www.cebm.jrzox.ac.uk

（3）Cochrance Library（循证医学图书馆）：主要提供有关临床随机对照治疗性研究证据。网址：http://www.Cochrance.org

（4）Clinical Evidence（临床循证）：由美国内科学会和英国医学杂志（BMJ）联合主编的最佳研究证据集，对指导循证医学的临床实践有重要应用价值。网址：http://www.bmjpg.com

知识点

临床研究证据类型与分级

临床研究证据指通过临床人体研究获得的证据（或文献），包括疾病的病因、诊断、预防、治疗、康复和预后等各方面的研究成果。临床研究证据从方法学角度可分为两类：①原始研究证据：指直接通过患者试验研究所获得的第一手数据，经过统计学分析后得出的结论，包括观察性研究（如队列研究、病例对照研究）和试验性研究（如随机对照试验）等

学习笔记

文献资料；②二次研究证据：指收集某一临床问题的原始研究证据，经过严格评价、整合处理后得出的综合结论，包括系统分析或 meta 分析、临床实践指南、临床决策分析等文献资料。

为方便临床医师在临床实践中合理应用证据，通常根据证据的来源、科学性、可靠程度，将临床研究证据进行分级。老 5 级分级法将证据分为 Ⅰ～Ⅴ级，证据强度依次减弱。新 9 级分级法将证据分为 9 级。1 级是基于 RCT 的系统评价或 meta 分析，是最高级别证据；2 级是随机双盲对照试验；3 级是队列研究；4 级是病例对照研究；5 级是病例系列报告；6 级是个案报告；7 级是专家的观点、评述、意见；8 级是动物实验；9 级是体外 / 试管内研究。

【问题 2】如何开展循证医学实践？

循证医学实践（evidence based medicine practice，EBMP）是发现、评价和应用科学证据制定临床决策和进行保健系统管理的整个过程。要正确实践循证医学，必须了解所进行的循证实践活动属于哪种类型，并按照循证医学实践的基本步骤实施。

思路 1：根据循证医学的思维模式，循证医学实践包括正式研究和临床应用两个类型：①正式研究：属证据提供者（doer），不论是证据的原始研究还是系统评价，只有当证据被证实真实、可靠及实用后，此研究成果才可应用于临床实践；②临床应用：属证据使用者（user），主要是科学地应用临床研究成果，指导临床实践，并进行应用后的效果评价。

思路 2：循证医学实践是结合最佳证据和临床经验，以及患者的意愿与对患者进行诊疗处理的过程，包括提出问题、检索证据、评价证据、临床决策、实践效果评价和分析等五个步骤。其中，寻找证据、评价证据，并将其应用于具体的临床医学问题中是循证医学实践的关键步骤。

知识点

循证医学实践的基本条件

在循证医学的实践过程中，高素质的临床医师是实践循证医学的主体，获得最佳的研究证据是核心，患者参与是成功实践循证医学的关键之一，流行病学的基本理论和临床研究的方法学是学术基础，临床需求实践循证医学的动力。这些基本因素的有机结合构成了实践循证医学的整体框架。

【问题 3】循证检验医学实践的内容有哪些？

循证检验医学实践是按照循证医学的基本原理和方法，发现、评价和应用检验医学证据，为临床决策制订等提供最佳研究证据的过程。循证检验医学实践的类型和过程与循证医学实践相同，其实践内容包括：①科学地设计实验研究，科学地阅读、应用和评估他人的实验研究成果，包括诊断性试验的原始研究和系统评价；②评估诊断试验临床应用带来的效果和效益，包括患者功能恢复及生活质量改善情况的研究，以证明检验医学的发展和进步能够改善患者的最终结局；③开展诊断性试验的卫生技术评估（heath technology assessment，HTA），为决策者提供科学信息和决策依据。HTA 包括技术性能评估、诊断性能评估、临床效应评估和经济效益评估等四个方面；④建立循证检验医学指南，提高检验医学质量。

思路 1：循证检验医学是应用新近的最佳证据指导临床实践的科学。要获得最佳的检验医学研究结果，首先必须科学地设计研究方案、判读研究成果，应用正确的评价方法和标准来评估研究结果。

思路 2：诊断性试验的系统评价方法与其他系统评价方法相似，是按照循证医学的原则和方

学习笔记

法，对文献资料进行分析和汇总的方法。通过严格的科学研究和文献评价，从中获得真实、可靠并有临床应用价值的最佳证据。

知识点

系统评价

系统评价（systematic review，SR）是一种严格的文献综合评价方法。它是针对某一具体临床问题，系统、全面地收集全世界已发表或未发表的临床研究结果，采用临床流行病学或循证医学的原则和方法，对文献进行严格评价，筛选出符合质量标准的文献，进行定性或定量合成，得出综合可靠的结论，并随着新的临床研究成果的出现及时更新。系统评价的本质是有效的信息合成，通常采用荟萃分析或 cochrance 系统评价方法。高质量的系统评价是循证医学实践的最佳证据来源。

思路 3：将最佳证据用于诊断性试验的选择和临床意义的解读，以及临床实践指南制订，指导临床决策，同时，不断评估、改进和完善证据。例如：肾功能试验 Meta 分析结果显示，对肾功能不全的诊断和治疗监测，测定肌酐清除率比测血肌酐好；cTnT 和 cTnI 对于不稳定心绞痛的诊断有同样的敏感度和特异度。

知识点

临床实践指南

临床实践指南（clinical practice guideline，CPG）指以循证医学为基础，针对特定的临床情况，系统制订出的帮助临床医生和患者作出恰当处理的指导意见。临床实践指南是连接证据和临床实践的桥梁，也反映了当时最佳临床证据的现状，是具有权威型的医疗文件。曾使用过的同义词有：方案（protocols）、标准（standards）、实践选择（practice options）、推荐（recommendations）、共识性声明（consensus statements）等。

第二节　循证检验医学实践方法

诊断性试验（diagnostic test）是临床医生为了对人体生理或精神疾病及其病理原因作出判断，而采取的从就诊者获取有关疾病的更多信息的方法。它不仅包括各种实验室检查、影像诊断、仪器诊断，也包括一些病史及临床检查提供的资料。采用循证检验医学的方法，科学地研究和评价诊断性试验是正确认识其临床应用价值、合理选用各种诊断性试验、科学解释各种诊断性试验结果的基础。

【问题 1】诊断性试验诊断性能评价的基本方法？

诊断性试验通常采用国际通用的四格表盲法比较法，即将待评价的诊断性试验与标准诊断方法进行盲法比较的方法进行评估，基本过程为将有关数据填入四格表、计算诊断性试验性能评价指标和结果分析。

实例：血清铁蛋白水平诊断缺铁性贫血（IDA）的诊断性能评价。经诊断金标准诊断，患 IDA 者 809 人，非 IDA 者 1770 人；血清铁蛋白水平 <20μg/L 者共 1001 人，其中 731 人为 IDA 患者；>20μg/L 者 1578 人，其中 1500 人为非 IDA 患者。

思路 1：将上述有关数据填入四格表（表 3-2-1）。

学习笔记

表 3-2-1　血清铁蛋白水平诊断缺铁性贫血检测结果

血清铁蛋白水平	金标准诊断(缺铁性贫血)		
	有病	无病	合计
阳性(<20μg/L)	a(731)	b(270)	$a+b$(1001)
阴性(>20μg/L)	c(78)	d(1500)	$c+d$(1578)
合计	$a+c$(809)	$b+d$(1770)	$a+b+c+d$(2579)

知识点

四格表盲法比较法

在“盲法”的条件下,运用标准诊断方法将研究对象区分为有病和无病两组,再用待评价的诊断试验将相同研究对象划分为阳性结果和阴性结果组,并列出四格表,得出真假阳性和真假阴性的结果,最后计算灵敏度、特异度、预测值等诊断性能评估指标。由于“患者”与“非患者”诊断性试验结果的分布在通常情况下存在部分重叠,试验结果与患某病情况之间有四种关系:真阳性(true positive,TP)、假阳性(false positive,FP)、真阴性(true negative,TN)、假阴性(false negative,FN)。

标准诊断方法或称金标准(gold standard)或参考标准(reference standard)是指目前公认的、可靠的诊断方法,它能正确地区分有病和无病。临床上常用的标准诊断方法包括病理学检查、外科手术所见、尸检、特殊检查以及长期随访病例所获得的肯定结论等。

思路 2:计算诊断性试验性能评价指标

(1) 敏感性(SEN)=a/($a+c$)=731/809=90%

(2) 特异性(SPE)=d/($b+d$)=1500/1770=85%

(3) 诊断准确度(AC)=($a+d$)/($a+b+c+d$)=2231/2579=87%

(4) 患病率(P)=($a+c$)/($a+b+c+d$)=809/2579=31%

(5) 阳性预测值(PPV)=a/($a+b$)=731/1001=73%

(6) 阴性预测值(PPV)=d/($c+d$)=1500/1578=95%

(7) 阳性似然比(+LR)=SEN/(1−SPE)=90%/(1−85%)=6

(8) 阴性似然比(−LR)=(1−SEN)/SPE=10%/85%=0.12

知识点

诊断性试验的评价指标

1. 真实性评价指标　真实性(validity)又称准确性(accuracy,AC),是诊断性试验测量值与实际值的符合程度,即判断受试者有病与无病的能力。主要指标包括:灵敏度(sensitivity,Sen)、特异度(specificity,Spe)、诊断准确度(accuracy,AC)、阳性预测值(positive predictive value,PPV 或 +PV)、阴性预测值(negative predictive value,NPV 或 −PV)、阳性似然比[positive likelihood ratio,+LR 或 LR(+)]、阴性似然比[negative likelihood ratio,−LR 或 LR(−)],以及验后概率(post test probability)等。

2. 可靠性评价指标　可靠性(reliability),又称重复性(repeatability)、精密度(precision),是诊断性试验在完全相同的条件下进行重复试验得到相同结果的稳定程度。诊断性试验或方法的可靠性可以用变异系数或符合率来表示。

学习笔记

思路 3：结果判断

以 20μg/L 为临界点进行判断：①应用该诊断性试验检查，在患病者中得到阳性结果的百分比为 90%，在非病例者中得到阴性结果的百分比为 85%，诊断准确度为 87%，患病率为 31%。②试验结果阳性者属于真病例的概率为 73%，试验结果阴性者属于非病例的概率为 95%。③+LR 为 6，指试验阳性时，患病与不患病的机会比为 6；-LR 为 0.12，指试验阴性时，患病与不患病的机会比为 0.12。

知识点

诊断性试验诊断性能评估的内容

一项诊断性试验的结果能否合理解释，临床意义有无以及大小，取决于该诊断性试验的结果在某种疾病患者和非疾病患者之间是否存在差异性，有无判断的标准，以及诊断的可信度等因素，因此，诊断性试验诊断性能评估的内容包括临床意义解释的依据（如参考值、分界值等）和对疾病诊断效率（如敏感性、特异性等）的评估。

【问题 2】如何开展诊断性试验诊断性能评价的原始研究？

依据诊断性试验诊断性能评价的基本原则，采用 ROC 曲线分析方法设计原始评估方案。设计方案应包括评价试验方法和结果分析两个部分，必要时给出提高诊断性能的方法。

实例：心肌型脂肪酸结合蛋白（heart type fatty acid binding protein，H-FABP）诊断急性心肌梗死（acute myocardial infarction，AMI）的诊断性能评价研究。

思路 1：依据诊断性试验诊断性能评价的基本原则设计评价试验方案

（1）确定研究对象的纳入和排除标准：纳入以急性胸痛症状主诉就诊于医院急诊科与心内科门诊的患者，包括重型、轻型病例以及未治疗的患者。排除外伤、肌肉病变、内分泌疾病及肾功能不全者。

（2）确定金标准：采用 1979 年 WHO 发布的 AMI 诊断标准作为金标准将上述纳入的急性胸痛症状患者区分为 AMI 确诊患者与疑似患者。以下三者具备其二可确诊为 AMI：①急性胸痛症状；②心电图示坏死性 Q 波或 ST 段的抬高或压低；③心肌酶谱的先升高或降低的典型过程。

（3）确定抽样方法：采用简单随机抽样。以患者确诊后开始溶栓治疗或者直接经皮冠状动脉腔内成形术（PTCA）为结局指标。

（4）样本含量的确定：估计检测指标的敏感度为 0.9、特异度为 0.8，检验水准 α 取双侧 0.05，允许误差取 0.1。根据公式计算所需要的阳性样本为 35，阴性样本为 61。根据实际情况我们共纳入急性胸痛患者 133 名，最后经金标准确诊 AMI 确诊患者有 46 名，疑似患者有 87 名。

（5）标本的采集与定量：患者均于接诊即刻抽血，采血 5ml，置于促凝剂试管中，1620g 离心 5 分钟分离血清，即刻测量血清 cTnI 与 Myo，剩余血清分装 2 份冻存在 -20℃冰箱中备用以检测 H-FABP。测量采用单盲原则，检测技师在未知被测标本所代表患者的确诊诊断的前提下完成所有的定量检测工作。

（6）数据处理：用 SPSS10.0 软件进行 ROC 曲线的绘制及曲线下面积的计算和分析。各指标 AUC 的比较采用单一变量的 Z 检验，$P<0.05$ 被视为差异有统计学意义。

各指标的截断值（cutoff value）确立采用函数法，“敏感度（Se）+ 特异度（Sp）”取最大值时所代表的诊断界值被定义为 cutoff 值。各试验组合的综合敏感度、特异度、诊断准确度的比较采用两样本率比较的正态近似法，$P<0.05$ 被视为差异有统计学意义。

（7）与已有的心肌标志物比较：将 H-FABP 的诊断准确性指标与 cTnI、Myo 进行比较。

学习笔记

知识点

诊断性试验诊断性能评价的基本原则

诊断性试验诊断性能评价的基本原则包括：①采用盲目法将诊断性试验与标准诊断法（金标准）进行对比。诊断性试验必须与金标准比较，才能确定是否可靠。盲法指试验结果判断者在不知道研究对象是否有病的条件下，按照诊断标准判断研究对象是否有病，保证试验结果的客观性；②被检查的病例和对照要具备代表性。病例应包括各型临床病例及易于混淆的病例。诊断性试验所选择的研究对象应与临床实践的情况相似，病例的代表性愈好，其试验结果才具有推广意义。此外，对照组应在性别、年龄、某些生理状态等方面与病例保持均衡；③应叙述病例和对照的来源。由于不同人群某病患病率（验前概率）存在差异，对诊断性试验的临床价值有一定的影响；④诊断性试验所确定的分界值合理、可靠。建议采用 ROC 曲线确定分界值；⑤诊断性试验的样本例数合适；⑥诊断性试验的重复性好；⑦诊断性试验应经过另一研究确认；⑧诊断性试验的设计方案最好采用前瞻性队列研究。

思路 2：采用 ROC 曲线方法分析研究结果

（1）确定临界点，并计算诊断性能指标：根据 ROC 曲线以及“Se+Sp”取最大值的原则确立的 H-FABP 用于诊断 AMI 的 cutoff 值为：5.7ng/ml。在此 cut off 值下的诊断敏感度与特异度分别为 0.783 和 0.854。诊断性能指标计算参见本节中的相关内容。

（2）不同标志物间的性能比较：依 ROC 曲线（图 3-2-1）计算出的曲线下面积分别为 AUC_{cTn-I}：0.938，AUC_{Myo}：0.743，AUC_{H-FABP}：0.919。与 H-FABP 的 ROC 曲线下面积相比，cTnI 与之的大小差异无统统计学意义（$Z=0.614$，$P=0.542$），而 Myo 小于 H-FABP（$Z=4.067$，$P<0.001$）。因此，H-FABP 在诊断性能上优于 Myo，而与 cTnI 差别不大。

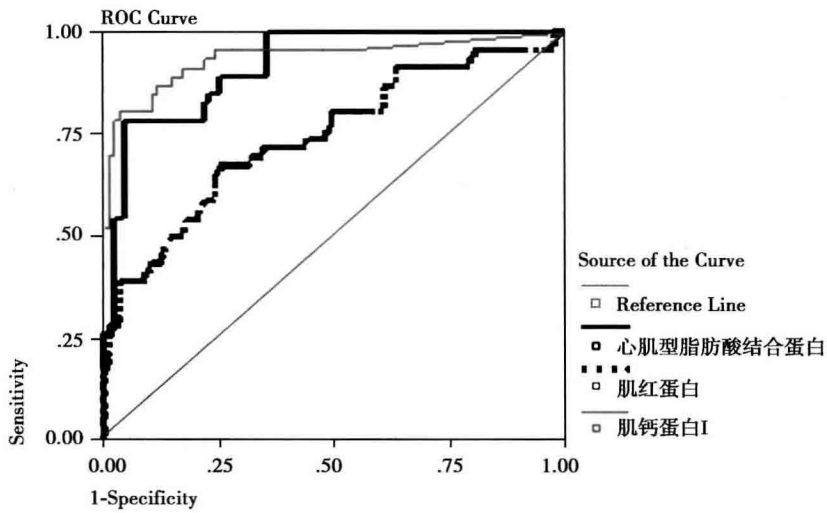


图 3-2-1　三种心肌损伤标志物诊断 AMI 的 ROC 曲线

知识点

受试者工作特性曲线

ROC 曲线（receiver operating characteristic curve，ROC 曲线）是根据一系列不同的二分类方式（分界值或决定阈），以真阳性率（灵敏度）为纵坐标，假阳性率（1- 特异度）为横坐标

学习笔记

绘制的曲线。与传统的评价方法不同，ROC 曲线的评价方法允许有中间状态，把试验结果划分为多个有序分类（如正常、大致正常、可疑、大致异常和异常等）再进行统计分析。ROC 曲线分析是临床科研文献中应用最广泛的统计方法，是国际公认的比较、评价两种或两种以上诊断方法的效能差异性的客观标准。

ROC 曲线的主要作用包括：①查出任意界限值时的对疾病的识别能力：ROC 曲线图上的每一点代表某一分界值的一对敏感性和特异性，ROC 曲线包含着选择任意界限值时的敏感度和特异性；②选择最佳的诊断界限值：ROC 曲线是表示灵敏度与特异度之间互相关系的一种方法，曲线左上角的转弯处即为敏感度与特异度均较高的分界值；③比较两种或两种以上不同诊断试验对疾病识别能力：可将各试验的 ROC 曲线绘制到同一坐标中，以直观地鉴别优劣，靠近左上角的 ROC 曲线所代表的试验最准确，亦可通过分别计算各个试验的 ROC 曲线下的面积（AUC）进行比较，AUC 最大者的试验的诊断价值最佳。

思路 3：依据 H-FABP、Myo 和 cTnI 等诊断试验的特点，通过联合试验来提高诊断敏感性或诊断特异性

知识点

提高诊断性试验的诊断效率的途径和方法

1. 选择高患病率的人群，提高阳性预告值　从 Bayes 公式可知，当诊断方法的敏感度与特异度不变时，阳性预告值随患病率（验前概率）的升高而变大。因此，临床上可通过询问病史、体格检查或高危人群的筛选等手段，减少假阳性病例数来提高患病率，进而提高阳性预告值，使病人得到及时确诊。

2. 利用联合试验来提高诊断敏感性或诊断特异性　通常联合使用两种或更多种的试验来提高诊断敏感性或诊断特异性。A 和 B 两种试验的两种联合方法：

（1）平行试验（并列法）：A、B 两试验同时做，有一项为阳性者就判断为阳性。可见平行试验可提高诊断敏感性，但降低了特异性。

（2）系列试验（序列法）：A、B 两试验中，先做 A，A 为阳性者再做 B，A、B 都为阳性就判断为阳性。可见系列试验可提高特异性，但降低了敏感性。系列试验中，应先做特异性高的试验。

【问题 3】如何开展诊断性试验诊断性能评价的系统评价？

依据系统评价的基本原则，按照系统评价方法的基本步骤进行系统评价。根据循证检验医学的观点，新的定量诊断性试验的诊断性能评价包括 meta 分析和原始研究两个步骤。

思路 1：诊断性试验诊断性能评价的 meta 分析

实例：H-FABP 诊断急性心肌梗死（AMI）的诊断性能的 meta 分析

主要是检索相关的文献资料，纳入所有可以提供四格表资料的研究，进行 meta 分析，绘制综合受试者工作曲线（systematic receiver operator characteristic curve，SROC），判断新指标有无诊断价值。该 meta 分析与一般的 meta 分析有一些区别，获得的研究原始数据必须能够得到四格表资料。

知识点

系统评价的基本步骤

系统评价的基本步骤包括提出拟解决的问题、制订系统评价计划书，系统、全面地检索、选择和评价相关研究文献，提取、分析数据和报告结果，解释系统评价的结果等。评价

学习笔记

过程中要特别注意研究问题、检索策略、纳入和排除标准、数据提取、统计分析等。如果检索到多篇原始研究，结果是临床和统计学上同质性很好的计量资料可采用 Meta 分析方法进行汇总，计算总敏感度、总特异度、总诊断优势比（diagnostic odds ratio），绘制 SROC 曲线，计算曲线下面积。

（1）确定纳入标准：①纳入研究类型：H-FABP 诊断急性心肌梗死且与金标准对照的诊断性研究试验；②纳入患者为胸痛发作后 48 小时以内到医院就诊的病人，含 AMI 患者及 AMI 疑似患者；③AMI 诊断标准为世界卫生组织 1979 年发布的 AMI 诊断标准或者美国心脏病学院与欧洲心脏病学会 2004 年发布的 AMI 新诊断标准；④纳入文献的结果中含有经计算可获得四格表数据，且可获取全文，发表语言限于英文和中文。

（2）确定检索策略：计算机检索 MEDLINE、EMBASE、OVID、中国生物医学文献数据库（CBMDISC）、中国生物医学期刊文献数据库、中文科技期刊全文数据库（CNKI）、维普中文科技期刊数据库（VIP）、中国学术会议论文库（CACP）。数据库检索时间设定为 1970—2006 年 11 月。

检索策略为：①研究指标（HFABP）（主题词 OR 自由词）；②诊断性试验临床试验（准确性指标）（主题词 OR 自由词）；③目标疾病（主题词 OR 自由词）；④为① + ② + ③。

经① + ②检索后发现 H-FABP 临床诊断性试验研究文献不多，且目标疾病自由词较多，为避免漏检文献，未作目标疾病限定，直接采用阅读标题和摘要方式筛选文献。

英文检索词为：①“fatty acid binding protein”［MeSH］，“fatty acid binding proteins”，“fatty acid-binding proteins”，“fatty acid-binding protein”，“fatty acid binding protein”；②“Sensitivity and Specificity”［MeSH］，sensitivity，specificity，Sensitivity-and-Specificity，“sen*”“spe*”，NPV，PPV，LR，AUC，ROC，“false-negative rate”“false negative rate”“false positive rate”“false-positive rate”。

中文检索词为：脂肪酸结合蛋白、FABP、诊断、准确性、敏感度、特异度、敏感性、特异性、似然比、预测值、ROC 曲线。

此外，还手工检索时间为 1980—2006.10 的中文期刊，如《心血管康复医学》《心血管病学进展》《心脏杂志》《临床心血管杂志》《中国循环杂志》《中国心血管杂志》《中华心血管病杂志》《临床急诊杂志》《中国急诊医学杂志》《中国实验诊断学》《中华老年医学杂志》《中华老年心脑血管病杂志》《临床检验杂志》《中华医学检验杂志》《临床检验杂志》《上海医学检验杂志》。

（3）文献质量的评价：采用 QUADAS 工具评价文献质量以及发生偏倚的可能性，每个项目按“是”“否”“不清楚”三个判断标准进行评价，两名评价员独立进行文献评价，并通过讨论解决分歧。

知识点

文献选择和质量评价

根据提出的问题设计详细的选择标准和选择程序。纳入标准和排除标准主要依据研究问题及其构成要素制定，并应用此标准对文献进行筛选，提高原始研究的研究方法的均质性。为了避免选择和评价者的主观偏倚，可以考虑一篇文章由多人或者盲法选择和评价，也可采用专业和非专业人员相结合的共同选择和评价的方法。对有疑问或有分歧的文献可联系作者获得更多信息，也可通过共同讨论或者请第三方审核的方法解决分歧。

文献质量指单个临床试验在设计、实施及分析过程中防止或减少系统误差和随机误差的程度。文献评价主要包括三个方面内容：①内在真实性（internal validity），即单个研究结果接近真值的程度；②外在真实性（external validity），即研究结果的实用价值和推广应用的条件；③影响结果解释的因素。

学习笔记

(4) 确定测量指标：确立采用哪些准确性和有效性指标。测量指标采用敏感度、特异度、准确度、阳性与阴性预测值、阳性与阴性似然比。

(5) 原始数据的提取与处理：从原始文献直接获得、计算得到或者直接向作者索取诊断性试验研究四格表中的相关数据[真阳性结果数(a)、假阳性结果数(b)、假阴性结果数(c)和真阴性结果数(d)]。

(6) 确定统计方法：根据预先设定的研究时间分组，利用 metadisc 软件进行各预定研究组综合比数比(OR)分析及异质性检验，然后分别计算综合敏感度、特异度、准确度、阳性预测值、阴性预测值、阳性似然比和阴性似然比。并进行 SROC 拟合分析，并获得 ROC 曲线下面积。

(7) 研究结果：0~12 小时组纳入 11 篇文献(n=1352)，各研究间有异质性 P=0.56，I2=59%，合并敏感度 0.88(95%CI：0.84-0.89)，合并特异度 0.75(95%CI：0.71~0.78)，SROC 曲线下面积 0.91，SE=0.0164。

知识点

文献数据的统计分析和结果解释

1. 提取数据　根据计划书收录的有关数据资料，包括：①一般内容，如文献的题目、调查者的姓名、原始文献编号和来源等；②研究特征，如文献的设计方案和质量、研究措施的具体内容及实施方法、防止偏倚的措施、主要的试验结果等；③研究对象的特征和数量、干预的内容和实施情况等；④结果测量，如随访时间、失访和退出情况，计数资料收集每组人数及事件发生率，连续性资料收集每组人数、均数和标准差或标准误等。然后将数据输入系统评价管理软件(review manager，RevMan)，进行结果的定量分析和报告。

2. 分析数据和报告结果　对收集的数据进行定性或者定量的统计分析，以获得相应的结果。在定量分析时，应该根据评价的目的以及资料的变量类型确定统计分析的内容和方法并对不同原始研究进行异质性检验。评价结果稳定性和强度时，对影响结果的重要因素进行敏感性分析，以观察干预措施的效应值和同质性是否发生改变。

3. 解释系统评价的结果　为了帮助医务工作者和决策者对文献进行正确的选择和应用，评价者应对系统评价的结果进行解释。解释系统评价的结果应该包括系统评价的论证强度、推广应用性、干预措施对患者的利弊和费用、实用价值，以及对今后研究的指导意义等。

思路 2：诊断性试验诊断性能评价的原始研究

若已有的证据不能证实新指标具备任何诊断价值，则不需要进行下一步的研究；若 meta 分析的结果证实 SROC 曲线下面积超过 0.5，或者诊断指标的综合准确性指标和有效性指标优于目前的类似试验，则有必要进行进一步的原始研究。纳入代表本地区的人群进行分析，获得适合自己受试人群和实验室的 cut off 值，获得相应的诊断准确度指标与诊断有效性指标等。根据以上 meta 分析的结果，H-FABP 在胸痛发作 0~12 小时内均具有较好的诊断效能，可以作为 AMI 的筛检及辅助确诊新指标。因此，需进一步设计进行原始研究，具体评价方法参见诊断性能评价原始研究实例部分。

【问题 4】如何应用循证检验医学的原理指导临床检验工作？

依据临床实践指南制订的原理和方法，以诊断试验和试验结果为基础，制订检验医学的临床实践指南，并根据临床实践指南的质量选择性使用，指导临床检验工作。

思路 1：根据疾病发生和演变特征的优化组合

例如：心肌标志物应用价值的循证研究结果指出：①对诊断急性心肌梗死(AMI)，心肌肌钙蛋白已成为最佳的心肌损伤标志物；②LD 和 AST 的诊断灵敏度和特异度均低，Mb 在骨骼肌十分丰富，对 AMI 缺乏特异性，已不再作为临床常规使用的心肌标志物；③对诊断复发性心肌梗死，检测

学习笔记

CK-MB 更为有效。Mb 测定，仅用于心电图检查结果阴性，cTnT、cTnI 和（或）CK-MB 检测结果阴性，发病 2~6 小时内可疑心肌梗死患者的排除诊断。因此，“Mb-CK-cTn”组合对诊断 AMI 的临床价值，代表 AMI 发病后不同时间阶段的临床意义。

思路 2：根据疾病的筛检、监测过程需要的优化组合

例如：糖尿病的诊断和治疗的循证检验医学指南建议：①血糖血浆葡萄糖的测定仍然是糖尿病诊断的金标准。通常情况下，在质量合格的实验室进行的血糖测定可以用于糖尿病的诊断和高危人群的筛选。不建议将实验室的血糖分析用于常规监测或疗效评价。而血糖仪测定的血糖结果由于不精确且易变，因此不应该用于糖尿病的诊断，在筛选患者方面也有局限性。鉴于 OGTT 重复性差，也不推荐将 OGTT 作为 1 型或 2 型糖尿病的常规诊断；②糖尿病患者至少每半年应检测一次糖化血红蛋白水平，以反映其血糖控制的状况，因为糖化血红蛋白水平与糖尿病慢性并发症的发生、发展相关；③糖尿病是晚期肾病的首要诱因，因此建议没有临床蛋白尿的患者应一年作一次尿微量清蛋白的检测；④酮体血、尿酮体的检测可以辅助诊断糖尿病患者的酮症酸中毒，但不宜用于对酮症酸中毒患者的治疗监测；⑤所有的患者一年都应作一次脂质的测定，胰岛素、C 肽或胰岛素原的测定对大多数糖尿病患者没有意义，对于研究有用。同样，瘦素的测定对于糖尿病患者的治疗也没有价值；⑥不推荐将遗传标志物、自身抗体作为糖尿病患者诊断和治疗的常规测定指标。

思路 3：根据组织器官功能特点的优化组合

例如：肝功能的一般筛检项目最常用的只有 8 项：门冬氨酸氨基转移酶（AST）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）、碱性磷酸酶（ALP）、γ- 谷氨酰转肽酶（γ-GT）、胆红素（BIL）、白蛋白（A）、凝血酶原时间（PT）、5’- 核苷酸酶（5’-NT）。

知识点

编制临床实践指南的主要步骤

编制临床实践指南的主要步骤包括：①确定指南拟解决问题的重要性（发病率、结局的严重性、费用）及制订指南的必要性、目的和适用范围；②成立一个多成员组成的指南制订小组，确立制订指南的规范程序；③收集文献和系统评价，循证过程中最重要的步骤就是对所收集的证据进行质量评价；④征求专家意见；⑤指南文件的正式发布；⑥定期更新指南。

思路 4：在临床检验项目方面，临床实践指南制订涉及的常见内容见表 3-2-2。

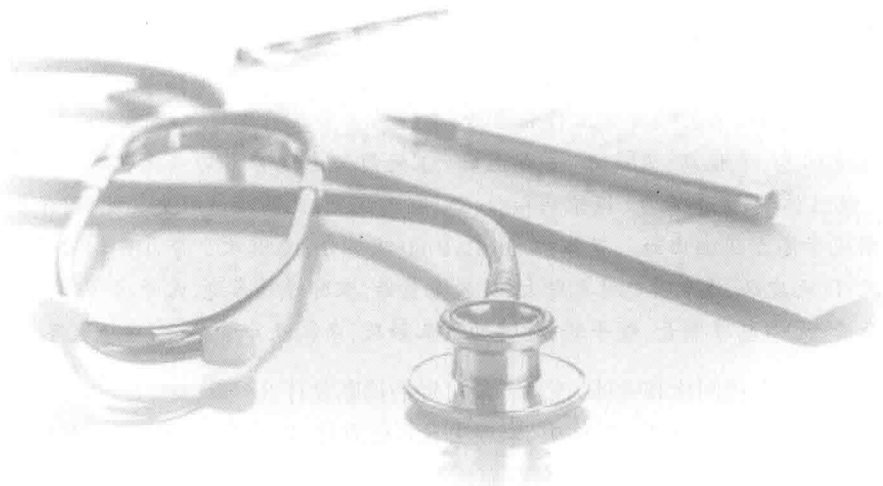
表 3-2-2　临床检验项目实践指南的常见内容

环节	内容	环节	内容
分析前	流行病情况	分析后	生物参考区间
	诊断流程		医学决定限
	患者准备		诊断灵敏度、特异度、预测值、似然比
	检验时间和检验频率		ROC 曲线应用
	标本类型和标本处理		检验项目解释
	样本生物性、变异性		检验信息管理
	检验流程		
分析中	试验方法选择和性能验证	其他	检验周转时间
	检测限、灵敏度、特异性		检验部门权威性（认可实验室）
	不精密度、偏差、质量目标		实验室资质和能力
	标准化		成本影响
	室内质控和室间质评		进一步研究领域
	干扰因素		

（刘忠民）

第二篇

常见临床疾病的实验诊断



第四章 心血管系统疾病的实验诊断

心血管系统疾病是危害人体健康和影响社会劳动力的重要疾病。20世纪初期全球心血管病死亡率仅占总死亡率的10%以下，21世纪初期心血管病死亡率已经占发达国家总死亡率的50%，发展中国家的25%。在我国，每年约有300万人死于心血管病，是影响国人健康的重大疾病。

心血管系统疾病主要有心律失常、心力衰竭、先天性心血管病、心脏瓣膜病、感染性心内膜炎、心肌病与心肌炎、心包疾病、高血压、冠状动脉粥样硬化性心脏病、周围血管疾病等。心血管系统疾病的诊断方式很多，包括体格检查、心电图、影像学检查以及实验室检查等。并非所有心血管疾病的诊断均依赖于实验室检查，但实验室检查在特定心血管疾病诊断中的地位仍然是非常重要并一直未被撼动的。

本章挑选实验室诊断起重要作用的三类心血管疾病做一简要介绍。

第一节 高血压病

高血压病是心内科的常见病与多发病。对于高血压的诊断，实验室诊断并非金标准，但是，实验室指标在高血压的病因分析、高血压确诊后的评估、预后以及高血压药物治疗的监测等方面仍然起着关键的作用。

学习笔记

病历摘要：

患者男，56岁，干部。因“间断头晕、头痛1年余，再发1天”来诊。患者于1年多前发现劳累或情绪波动后常有头晕、头痛，头晕非旋转性，无晕厥，无意识障碍，头痛为轻中度，偶有搏动性头痛，不伴恶心和呕吐，无发热、心悸，无气短、心前区痛，无出汗、抽搐等，休息后症状可缓解，不影响日常工作和生活，未就医。半年前单位体检时测血压140/90mmHg，嘱注意休息，未服药，未就诊，一直上班。1天前又出现劳累后头晕头痛的症状，遂今日就诊。既往体健，无高血压、糖尿病和心、肾、脑疾病史，无药物过敏史。吸烟30余年，不嗜酒，父亲死于高血压脑出血。查体：T 36℃，P 80次/分，R 18次/分，BP 145/95mmHg。一般状况可，无皮疹，浅表淋巴结无肿大，巩膜无黄染，双肺呼吸音清，无干湿啰音，心率80次/分，无杂音，无心包摩擦音，腹平软，肝脾肋下未触及，未闻及血管杂音，双下肢不肿。

【问题1】通过上述问诊和查体，该患者最可疑的诊断是什么？

根据患者的主诉、症状、既往史、家族史及入院查体，应高度怀疑原发性高血压可能。

思路1：中年男性，慢性病程，有高血压家族史

知识点

原发性高血压特点

原发性高血压有明显的家族聚集性，约60%的高血压患者可询问到有高血压家族史。在我国，高血压发病的重要危险因素有：高钠低钾膳食、超重和肥胖、饮酒、精神紧张、年龄、高血压家族史、缺乏体力活动等。除了高血压外，心血管病危险因素还包括吸烟、血脂异常、糖尿病和肥胖等。

思路 2：在劳累或情绪波动等诱因后，有头晕、头痛的症状出现，且头痛时有搏动性

半年前查体及 1 天前测血压分别为 140/90mmHg、145/95mmHg。问诊时要注意有无并发症的一些症状，如烦躁、眩晕、恶心、呕吐、心悸、气短、意识障碍、抽搐、呼吸困难、剧烈胸痛等。并仔细查体，听诊注意有无心音亢进及血管杂音等。

知识点

高血压的症状

高血压患者起病缓慢，一般缺乏特殊的临床表现及体征，头晕、头痛、心悸等较为常见。有约 1/5 患者无症状，在查血压及出现心、脑、肾等并发症时才发现。并发症有高血压危象、高血压脑病、脑血管病、心力衰竭、慢性肾衰、主动脉夹层等。

【问题 2】为进一步明确诊断，需要进行哪些检查？

思路 1：高血压的确诊

高血压诊断主要根据测量的血压值，采用经核准的水银柱或电子血压计，测量安静休息坐位时上臂肱动脉部位血压。该患者在半年前体检时及入院前查血压为 140/90mmHg、145/95mmHg，均在平静状态下，且未服用药物。入院后继续监测患者血压情况，若仍然大于或等于 140/90mmHg，即可确诊高血压。

知识点

血压的定义和分类

高血压定义为在未使用降压药物的情况下，非同日 3 次测量血压，收缩压≥140mmHg 和（或）舒张压≥90mmHg。收缩压≥140mmHg 和舒张压 <90mmHg 为单纯收缩期高血压。患者既往有高血压史，目前正在使用降压药物，血压虽然低于 140mmHg，也诊断为高血压。根据血压升高水平，又进一步将高血压分为 1 级、2 级和 3 级。

血压水平分类和定义（mmHg）

分类	收缩压		舒张压
正常血压	<120	和	<80
正常高值血压	120~139	和（或）	80~89
高血压	≥140	和（或）	≥90
1 级高血压（轻度）	140~159	和（或）	90~99
2 级高血压（中度）	160~179	和（或）	100~109
3 级高血压（重度）	≥180	和（或）	≥110
单纯收缩高血压	≥140	和	<90

注：当收缩压和舒张压分别属于不同级别时，以较高的分级为准

思路 2：高血压明确后，必须鉴别是原发性还是继发性

继发性高血压是由某些确定的疾病或病因引起的血压升高，约占所有高血压的 5%。不少继发性高血压可通过手术得到根治或改善，因此，及早明确诊断能明显提高治愈率或阻止病情发展。而询问病史以及仔细的体格检查往往是获得继发性高血压病因线索的重要步骤，可进一步做相关检查确诊。

结合此病例，患者无慢性肾病史，无恶性高血压史，有家族史，体格检查无明显异常，血压轻度增高，考虑原发性高血压 1 级，可在后续的检查后，作进一步评估。

学习笔记

知识点

高血压病因检查的总体指南

诊断	诊断步骤	
	常规检查	进一步检查
慢性肾病	尿液分析，血清肌酐，肾脏超声检查	同位素肾图，肾活检
肾血管疾病	卡托普利增强的同位素肾图，复式超声	MRI 或 CT 血管造影，肾动脉造影
主动脉缩窄	检查下肢血压	超声心动图，主动脉造影
原发性醛固酮增多症	血钾，尿钾，血浆肾素与醛固酮	盐负荷后血、尿醛固酮，肾上腺 CT 扫描和闪烁扫描
库欣综合征	夜间服用 1mg 地塞米松清晨起床后的血浆皮质醇	不同剂量地塞米松后的尿皮质醇，肾上腺 CT 扫描和闪烁扫描
嗜铬细胞瘤	血浆肾上腺素类，随机尿的肾上腺素类检查	尿儿茶酚胺，血浆儿茶酚胺（基础和 0.3mg 可乐定后），肾上腺 CT 扫描和闪烁扫描

【问题 3】患者高血压确诊后，应做哪些方面的病情评估？如何选择相关实验室检查？

原发性高血压患者需做相关实验室检查，评估是否有靶器官损害及损害程度，评估是否存在其他心血管病危险因素，评估是否有其他合并症尤其是糖尿病。并结合各方面评估结果做心血管风险水平分层。

思路 1：常规检查

对大多数患者来说，常规实验室检查包括血常规（全血细胞计数、血红蛋白、血细胞比容）、尿常规（蛋白、糖、尿沉渣镜检）、血生化（空腹血糖、肌酐、尿酸、电解质、甘油三酯、总胆固醇、高低密度脂蛋白胆固醇）以及心电图。在原发性高血压的早期和无并发症时，这些检查结果一般是正常的，但仍应作为基础检查来进行。

知识点

高血压患者实验室常规检查的表现

1. 血常规　红细胞增多可导致血压升高，这种情况见于红细胞增多症引起的继发性高血压或过量使用促红细胞生成素。此外，血常规可反映患者总体健康状况，如发生慢性肾功能不全时常有贫血。

2. 尿常规　对于肾实质性疾病，尿常规检查是一项很重要的筛选试验。体现在尿蛋白、尿糖、尿相对密度（比重）、尿红白细胞、尿结晶和尿管型等方面。

3. 血生化　①血糖：高血压病易合并糖尿病，二者又是冠心病的易患因素，且糖尿病与动脉硬化、肾血管疾病及糖尿病肾病有密切关系；②血脂：研究显示，不论男女，不论年龄层次，总胆固醇的水平与舒张压呈正比关系；③电解质：当高血压、低血钾、高血钠，并有乏力甚至周期性瘫痪时，应考虑是不是原发性醛固酮增多症；肾衰竭时血钾升高；④肌酐、尿酸：均可反映肾功能，而高血压患者如有血尿酸增高，可能并发高血压性肾动脉硬化；高血压妊娠妇女出现高尿酸血症是先兆子痫的一个重要征候。

学习笔记

思路 2：推荐检查

24 小时动态血压监测、超声心动图、颈动脉超声、餐后 2 小时血糖（当空腹血糖≥6.1mmol/L 时）、糖化血红蛋白、血同型半胱氨酸、尿白蛋白定量（糖尿病患者必查项目）、尿蛋白定量（用于尿常规检查蛋白阳性者）、CRP、血液流变学检查、眼底、胸部 X 线检查、脉搏波传导速度（PWV）以及踝臂血压指数（ABI）等。

知识点

高血压患者实验室进一步检查的表现

1. 同型半胱氨酸　血清中同型半胱氨酸水平与卒中和冠心病有明显的相关性。需要通过膳食提供充足的叶酸以减少同型半胱氨酸水平，这对预防心血管疾病是有益的。

2. CRP　CRP 是炎症的标志，是卒中、冠心病以及外周动脉疾病的另一个候选危险因子。有人认为动脉粥样硬化过程包括轻度炎症反应，因此，CRP 水平升高应被视为靶器官损伤的反映，而不是候选危险因素。但是，CRP 水平的测量能否为筛查提供足够有用的信息还存在争论。

3. 血液流变学检查　多数高血压患者有血流变的异常改变，全血黏度升高，红细胞电泳时间延长，血细胞比容升高。当合并高脂血症时，血液黏度更增高，最容易形成血栓。因此，中晚期高血压病患者应注意血流变异常。

思路 3：特殊检查

血浆肾素、血管紧张素活性，血尿醛固酮和儿茶酚胺，血浆皮质类固醇等。参考高血压病因检查的总体指南，根据病情需要选择这些项目以明确继发性高血压的病因。

【问题 4】本例患者入院后做常规检查，血尿常规正常，血总胆固醇 6.15mmol/L，LDL-C 3.82mmol/L，甘油三酯正常，其余生化检查正常。如何评估该患者的预后？治疗原则如何？

高血压的预后不仅与血压升高水平有关，而且与其他心血管危险因素存在以及靶器官损害程度有关，因此对高血压患者做心血管危险分层，将高血压患者分为低危、中危、高危和极高危，分别表示 10 年内将发生心、脑血管事件的概率为 <15%、15%~20%、20%~30% 和 >30%。

结合患者的病史、实验室检查等，在危险因素上有高血压 1 级、年龄 >55 岁、吸烟、血脂异常（总胆固醇 >5.7mmol/L 及 LDL-C>3.3mmol/L）等 4 个其他危险因素，无明显靶器官损害，无伴其余临床疾患，根据高血压患者心血管风险水平分层，属于高危组，应改善生活行为，并立即开始药物治疗，需长期监测血压水平。

知识点

高血压患者心血管风险水平分层

分类	分级		
	1 级	2 级	3 级
无	低危	中危	高危
1~2 个其他危险因素	中危	中危	很高危
≥3 个其他危险因素或靶器官损害	高危	高危	很高危
临床并发症状或合并糖尿病	很高危	很高危	很高危

注：1 级高血压：收缩压 140~159mmHg 和（或）舒张压 90~99mmHg；2 级高血压：收缩压 160~179mmHg 和（或）舒张压 100~109mmHg；3 级高血压：收缩压≥180mmHg 和（或）舒张压≥110mmHg

学习笔记

【问题5】在高血压的药物治疗上，需监测哪些实验室检查指标？

在熟悉各类降压药物特点的同时，也应该了解它们的一些不利作用，可通过长期的病情随访以及相关实验室检查，来评估个体化用药是否合理有效。

(1) 血清钾：使用袢利尿药或噻嗪类利尿药等需监测有无低血钾，长期应用血管紧张素转化酶抑制药(ACEI)者应警惕发生高血钾。

(2) 空腹血糖：糖尿病患者选用降压药时，应避免使用可能影响糖耐量的药物，如大剂量噻嗪类利尿药。此外β阻滞剂能减轻低血糖时儿茶酚胺释放引起的心跳加快，增加胰岛素抵抗，对低血糖起到不良的症状掩盖作用。

(3) 血脂：糖尿病患者及应用噻嗪类利尿药治疗时，甘油三酯水平可能升高，而且近年来对于高甘油三酯血症在动脉粥样硬化中作用的认识加深，因此也应列为常规观察指标之一。

(4) 尿酸：大剂量利尿药的使用也会影响血尿酸的代谢，因此多推荐使用小剂量。

对于高血压，实验室指标广泛用于病因分析、高血压确诊后的评估、预后以及高血压药物治疗的监测。如何在这些方面充分发挥实验室指标的作用，是检验医师应该关注的重点。

第二节　冠　心　病

冠心病是心内科的常见病、多发病，也是临床重要的急症。冠心病的早期诊断与治疗与其预后密切相关。而实验室指标在冠心病的诊断中始终处于“金标准”的地位，其重要性可见一斑。

病历摘要：

患者男，55岁。主因“胸骨后压榨性痛，伴恶心、呕吐2小时”来我院就诊。患者于2小时前搬重物时突然感到胸骨后疼痛，压榨性，有濒死感，休息与口含硝酸甘油均不能缓解，伴大汗，恶心，呕吐过两次，为胃内容物，大小便正常。既往无高血压和心绞痛病史，无药物过敏史，吸烟20余年，每天1包。查体：T 36.8℃，P 100次/分，R 20次/分，BP 100/60mmHg，急性痛苦病容，平卧位，无皮疹和发绀，浅表淋巴结未触及，巩膜不黄，颈软，颈静脉无怒张，心界不大，心率100次/分，腹平软，肝脾未触及，下肢不肿。

【问题1】通过上述问诊与查体，该患者可疑的诊断是什么？需与哪些疾病鉴别诊断？

根据患者主诉、症状、个人史，高度怀疑急性冠脉综合征(acute coronary syndrome，ACS)。鉴别诊断：①夹层动脉瘤；②稳定型心绞痛；③急性心包炎。

思路：患者中年男性，有典型心绞痛并持续2小时不缓解，休息与口含硝酸甘油均无效，有吸烟史(危险因素)。

知识点

冠心病的概念

冠心病(coronary heart disease，CHD)是冠状动脉粥样硬化性心脏病的简称。是指由于粥样硬化发生在冠状动脉导致心肌缺血缺氧或坏死而引起的心脏病。CHD可分为两类：慢性心肌缺血综合征(chronic ischemic syndrome)与急性冠脉综合征(acute coronary syndrome，ACS)。

学习笔记

ACS是指冠状动脉硬化、粥样斑块出现裂纹、表面破损或破裂，继而出血和血栓形成，引起冠状动脉不完全或完全堵塞、缺血缺氧而导致的一类疾病。在临床上ACS包括不稳定型心绞痛（unstable angina pectoris，UAP）、急性心肌梗死（acute myocardial infarction，AMI）以及心源性猝死（ischemic cardiac death）。

【问题2】为明确诊断，应进行哪些检查？

为排除ACS或确诊AMI与UAP，必须判定心肌缺血与坏死与否。因此应行心电图与心肌损伤标志物检查。

思路：AMI如果在早期得到确诊，并进行有效的冠状动脉再灌注治疗（溶栓或PTCA），则患者预后很好，心功能基本可以不受损伤。但如果AMI未能早期确诊，错过了最佳的再灌注时机，则患者在急性期很容易因为恶性心律失常及并发泵衰竭导致死亡。即使通过保守治疗渡过急性期，因为心梗，残存的心肌细胞大量减少，患者的心功能往往会受到不可逆的损伤。因此，AMI的早期诊断与治疗显得尤为重要。

知识点

急性心肌梗死诊断标准

2012年在德国慕尼黑召开的ESC大会上公布了第三版更新的心肌梗死全球统一定义：血清心肌标志物（主要是肌钙蛋白）升高（至少超过99%参考值上限），并至少伴有以下一项临床指标：①缺血症状；②新发生的缺血性ECG改变（新发ST-T改变或左束支传导阻滞）；③ECG病理性Q波形成；④影像学证据显示有新的心肌细胞坏死或新发的局部室壁运动异常；⑤冠脉造影或尸检证实冠状动脉内有血栓。

患者急诊心电图示：ST段$V_{1\text{-}5}$升高，QRS $V_{1\text{-}5}$呈Qr型，T波倒置和室性期前收缩。心肌损伤标志物结果：肌钙蛋白I（cardiac troponin I，cTnI）：1.0ng/ml，肌酸激酶同工酶质量法（CK-MBmass）：4.5ng/ml，肌红蛋白（myoglobin，Myo）：520ng/ml。

【问题3】根据心电图与心肌损伤标志物的检查结果，应作出怎样的诊断？依据是什么？

该患者可做以下诊断：冠心病、急性前壁广泛ST段抬高型心肌梗死。

诊断依据为：①典型心绞痛而持续2小时不缓解，休息与口含硝酸甘油均无效，有吸烟史（危险因素）；②心电图示急性前壁心肌梗死，室性期前收缩。

思路：对于疑为AMI的患者，应立即检查ECG。根据ECG上有无ST段抬高将患者分为两类：一类为ST段抬高，其中大部分发展为Q波心梗（QMI），这类患者不必等待心肌损伤标志物的检测结果，可直接按临床表现及ECG进行冠脉再灌注治疗；另一类患者无ST段抬高，则有可能是UAP或非ST段抬高心肌梗死（non-ST segment elevation myocardial infarction，NSTEMI），应立即检测cTn，若升高，基本可确诊NSTEMI。

若cTn不升高，则根据患者的胸痛时间区别对待：①若胸痛等症状出现>6小时，则可除外AMI；②若胸痛等症状出现<6小时，立即检测早期诊断指标（如Myo），如不升高，一般可除外AMI；如明显升高，应等待4小时后加做cTn；若cTn升高，基本可确诊NSTEMI，若不升高，可基本排除AMI。如图4-2-1所示。

学习笔记

知识点

临床诊断与排除诊断 AMI 的具体流程

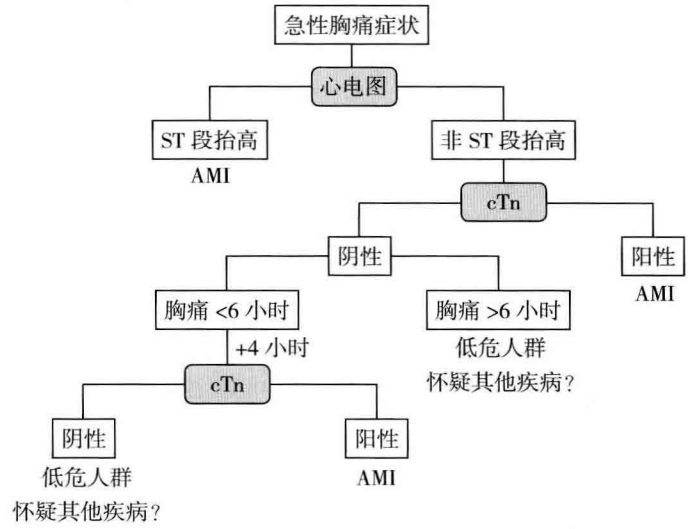


图 4-2-1　临床诊断与排除诊断 AMI 的具体流程

【问题 4】为何心肌标志物检测在心梗诊断中如此重要？目前常用的心肌标志物有哪些？如何选择心肌损伤标志物？

心梗的诊断标准提示：确诊必须有两方面证据，冠状动脉的梗阻以及心肌细胞的坏死。而后者最直接与最确切的表现就是血清心肌标志物升高。因此，心肌标志物检测在心梗诊断中非常重要。

从不同时期的 AMI 诊断标准以及诊断流程可见，血清心肌标志物（特别是 cTn）在心肌梗死诊断中的地位越来越高。cTn、Myo、CK-MB 质量（CK-MBmass）已经取代了传统的心肌酶活性检测，成为新的、更有效的、可靠的心肌损伤标志物。

思路 1：cTn 在 AMI 实验诊断中的特点与注意事项

在心肌细胞中有大量的肌原纤维，后者又由许多蛋白微丝组成，包括粗丝和细丝。粗丝由肌球蛋白（myosin）分子组成，细丝由肌动蛋白（actin）、原肌球蛋白（tropomyosin）和肌钙蛋白（troponin，Tn）三种分子组成。心肌肌钙蛋白（cTn）是心肌特异性的肌钙蛋白，生理状况下存在于心肌纤维内。心肌肌钙蛋白复合体包括 cTnI、cTnT 和心肌肌钙蛋白 C（cardiac troponin C，cTnC）三个亚单位（图 4-2-2）。当各种原因引起心肌纤维受损时，cTnI 和 cTnT 可释放到外周血并被检测到。cTn 是目前特异性最强、预后价值最好、诊断价值最高、临床应用最广泛的心肌损伤标志物。

cTn 是 2012 年最新的 AMI 诊断标准中推荐的心肌损伤标志物。其心肌损伤的“金标准”地位目前仍然比较确定。随着检测技术的发展，可以检测出更低浓度的超敏肌钙蛋白检测方法将

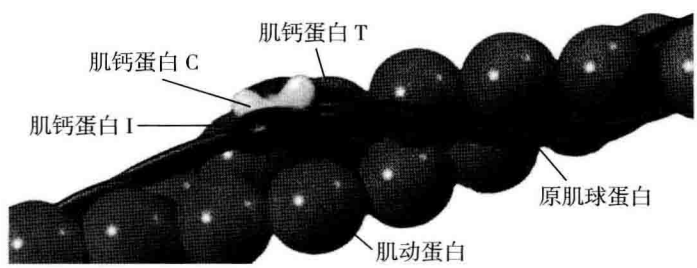


图 4-2-2　心肌肌钙蛋白复合体结构示意图

学习笔记

cTn 诊断 AMI 的窗口期大大提前，并且使得 cTn 在 AMI 患者的预后与危险分层中的应用价值越来越确定。

值得一提的是，cTnI 由于试剂生产厂家不同，检测性能差异较大，检测结果也缺乏可比性。临床选择 cTnI 试剂时，应考虑试剂的检测性能满足 AMI 诊断的基本要求：即参考范围上限值（cTn 应是第 99 百分位值）的 CV 应≤10%。另外，依据大规模的临床试验，cTnT 与 cTnI 的临床诊断价值相同，同一个医疗机构开展一项 cTn 检测即可。

思路 2：CK-MB 在 AMI 实验诊断中的特点与注意事项

肌酸激酶（creatine kinase，CK）主要存在于骨骼肌、心肌和脑组织的胞质和线粒体中。CK 催化肌酸与 ATP 之间高能磷酸键转换生成磷酸肌酸和 ADP 的可逆反应，为肌肉收缩和运输系统提供能量来源。CK 是由 B 和 M 两个亚单位组成的二聚体，两个亚单位可组合成三种 CK 同工酶，即 CK-BB（CK1）、CK-MB（CK2）、CK-MM（CK3）。CK-BB 主要存在于脑、前列腺、肠、肺、膀胱、子宫、胎盘及甲状腺中，骨骼肌和心肌中以 CK-MM 占优势，而 CK-MB 则主要分布于心肌中。健康人血液中 CK 含量甚低，且大部分为 CK-MM，也含有少量 CK-MB（不超过总活性的 5%），CK-BB 含量极微。当上述组织受损时，CK 进入血液中，使其 CK 活性明显升高。而心肌受损时，则主要表现为 CK-MB 的升高。

CK-MB 在 cTn 出现之前一直是心肌损伤诊断的“金标准”，但目前其地位已被 cTn 取代。因此 CK-MB 目前在临床使用时主要用作没有条件使用 cTn 时的替代标志物。基于酶活力检测的 CK-MB 活力因为受到 CK-BB、线粒体 CK（CK-Mt）及巨 CK 的干扰，在临床上有可能会出现假性升高的情况，因此，建议临床使用基于蛋白检测的 CK-MB 质量法（CK-MBmass）。

思路 3：Myo 在 AMI 实验诊断中的特点与注意事项

肌红蛋白（Myo）是一种含有亚铁的血红素低分子量氧结合蛋白，有贮存氧和运输氧的功能，广泛分布于心肌和骨骼肌中。健康人血中含量低，很少与白蛋白结合，主要在肾脏代谢并排出，部分由单核 - 巨噬细胞系统代谢，体内分解过程类似于血红蛋白。当心肌和骨骼肌损伤时，血中 Myo 含量明显升高。

Myo 作为心肌损伤标志物，具有分子量较小（相对分子质量 17 000~18 000）、诊断窗口期较早、敏感性强等特点，在发病 6 小时以内的心肌损伤标志物中，肌红蛋白是目前较好的早期标志物。

需要注意的是，Myo 特异性较差，在骨骼肌损伤以及肾衰时均有可能升高，在 AMI 诊断时其阳性预测值较低。因此，在临床使用时，Myo 主要用于早期阴性情况下 AMI 的排除诊断。

知识点

心肌损伤标志物项目的选择与联合应用

虽然 cTn 是目前最优秀的心肌损伤标志物，但仍然存在诊断窗口期长的缺点，因此目前临床使用的心肌损伤标志物中，尚缺乏诊断特异度与敏感度均优秀的完美标志物。为了弥补单一心肌损伤标志物的不足，临床采用心肌损伤标志物联合应用的方式提高诊断敏感度与特异度。

心肌损伤标志物联合应用的原则一般是“确诊标志物”+“早期标志物”，确诊标志物的典型代表是 cTn 与 CK-MB 质量法，而早期标志物的典型代表是肌红蛋白（Myo）与心肌型脂肪酸结合蛋白（H-FABP）。

患者急诊转入心内科行 PTCA 术，术中见冠状动脉前降支闭塞，行球囊扩张术后，置入支架。术后患者一般情况好，复查心肌损伤标志物结果：cTnI 6.0ng/ml，CK-MBmass 15.5ng/ml，Myo 960ng/ml。

学习笔记

【问题 5】患者术后为何还要检测心肌损伤标志物？心肌损伤标志物不降反升的原因是什么？

PTCA 术后，一般还要进行心肌损伤标志物的监测，从而了解心肌再灌注的效果，并监测是否发生再梗。

心肌损伤再灌注后，由于“冲刷效应”使坏死部分的心肌组织加快释放到外周血中，因此心肌损伤标志物会有一过性的升高过程，但随后会回落。

思路：由于临床目前心肌损伤标志物的检测多采用化学发光方法，而此法检测时间相对较长，为争取诊断时间，一般对于急性胸痛症状入院的患者，建议入院即刻就进行采血检测心肌损伤标志物，而不应等到 ECG 上无 ST 段抬高再进行采血。另外，由于心肌损伤标志物在心肌损伤之后到出现在外周血中一般需要一定时间的窗口期，所以，一般应多点采集血液标本，包括胸痛发作后入院即刻、2~4 小时、6~9 小时、12~24 小时，至少应有其中 3 个采集点。

知识点

疑为 AMI 病人检测心肌损伤标志物标本采集时间建议

标志物	入院即刻	2~4 小时	6~9 小时	12~24 小时
早期标志物（<6 小时）	√	√	√	(√)*
确定标志物（<9 小时）	√	√	√	(√)*

*：可选择使用

如果要除外 AMI，仅靠一点检查的数据不可靠；若要诊断 AMI，只要有一点 cTn 超过参考区间即可。

学习笔记

患者术后第二天一般情况好，转出重症监护病房。复查心肌损伤标志物结果示：cTnI4.0ng/ml，CK-MBmass 6.5ng/ml，Myo 96ng/ml。

【问题 6】Myo 结果已经降至正常，但 cTnI 结果仍然较高，原因是什么？

心肌损伤标志物在心梗后的变化与其本身的代谢动力学特点有关，其中 cTn 在心梗后 7~14 天可维持较高水平，不适用于心梗恢复期的病情判断与再梗的评价。

思路：常用心肌损伤标志物的代谢动力学特点

目前常用的心肌损伤标志物代谢动力学特点见表 4-2-1。

表 4-2-1　常用的心肌损伤标志物代谢动力学特点

蛋白种类	分子量	出现时间	峰值时间	维持时间	升高倍数
cTnI	22.5kD	3~6 小时	12~24 小时	7~10 日	50
cTnT	37kD	3~6 小时	12~96 小时	7~14 日	100
CK-MBmass	86kD	3~8 小时	12~24 小时	7~14 日	20
Myo	17.8kD	0.5~2 小时	6~9 小时	12~24 日	
H-FABP	15kD	0.5~2 小时	6~9 小时	12~24 日	

知识点

心肌损伤标志物在心肌再灌注后监测再梗时的应用

心肌再灌注后，一般需要监测患者是否发生再梗。由于 cTn 与 CK-MBmass 半衰期相对较长，不能敏感地反映心肌再次损伤的情况，因此临床一般选用 Myo 或更加经济的心脏酶学标志物（CK、CK-MB、LDH、HBDH、AST）来监测再梗。

患者继续进行抗凝、营养心肌及降脂治疗，一周后恢复良好，遂办理出院。出院时复查心肌损伤标志物结果：cTnI 0.5ng/ml，CK-MBmass 2.5ng/ml，Myo 42ng/ml。加做心功能标志物结果：NT-ProBNP 280pg/ml；血脂指标结果：TCHO 4.5mmol/L，LDL-C 4.55mmol/L，HDL 1.03mmol/L。

【问题 7】患者心梗恢复如何？怎样评价其再梗风险？

心肌损伤标志物已经降至正常，证明患者恢复良好。

对于心梗患者的预后，cTn 可直接反映心肌细胞坏死的数量与程度，心衰指标 NT-ProBNP 则可以反映心梗后心脏功能的情况，是比较确定的病情评价与预后判断指标。对于血脂指标，则可以反映患者远期发生动脉粥样硬化的概率，是比较有效的冠脉事件预测指标。因此 cTn、NT-ProBNP 以及血脂指标联合检测，可以对患者的心脏损伤情况、心脏功能以及冠脉事件的危险程度进行全面的评估，是出院时建议的实验室检测。

思路 1：NT-proBNP 在冠心病中的应用建议

N 末端 B 型利钠肽原（N-terminal pro-B-type natriuretic peptide，NT-pro-BNP）是 BNP 在合成过程中释放出的产物。BNP/NT-proBNP 是心力衰竭的有效生物标志物。检测血中 BNP/NT-proBNP 含量，对心力衰竭的诊断、预后和疗效评估具有重要意义。

近期的临床证据提示，ACS 患者 NT-proBNP 的水平与患者的长期预后密切相关。因此，建议对 ACS 患者在就诊及出院时检测 NT-proBNP，作为患者预后判断和治疗决策的依据，并建议在 24~72 小时后和 3 个月后复查。

对稳定型冠心病患者，建议间隔 6~8 个月测定一次 NT-proBNP，作为预后判断的参考。当临床考虑病情有进展时，建议复查。

思路 2：血脂指标在冠脉事件危险因素预测中的价值与建议

血脂的异常程度往往与 ACS 患者的预后以及远期再次心血管事件的发生概率密切相关，因此建议在心梗症状发生后及时检测血脂作为基线值用于以后用药与干预的参考。

知识点

2007 年《中国成人血脂异常防治指南》关于血脂合适水平的新标准

项目	合适范围	边缘升高	升高	降低
TG（mmol/L）	≤1.70	1.7~2.25	≥2.26	
TCHO（mmol/L）	≤5.18	5.18~6.19	≥6.22	
HDL（mmol/L）	≥1.04		≥1.55	≤1.04

对于冠心病患者，心脏标志物在疾病的诊断、鉴别诊断、疗效监测以及预后评价方面均起着重要作用。不同的标志物特点不同，因此在临床应用时的侧重点也不同。如何在合适的时机使用合适的心脏标志物应用于冠心病的实验诊断，是检验医师应该掌握的内容，也是与临床医师沟通的重点。

第三节　心力衰竭

心力衰竭是临床常见的病症，可继发于多种疾病。诊断心力衰竭的金标准为超声心动图以及基于超声心动图计算出的左室射血分数。实验室指标在心力衰竭诊断中虽然不是金标准，但是其在辅助诊断、鉴别诊断、疗效监测以及预后评价方面的价值正得到越来越广泛的认可。

学习笔记

病历摘要：

患者女，82岁。主因“咳喘、胸闷、端坐呼吸3日”来我院就诊。患者3天前感冒后出现胸闷、气短，经当地医院治疗，药物不详，效果不显著，今日症状加重，前来我院就诊。既往慢性支气管炎十余年。无手术及输血史，无其他疾病及传染病史。有晕车史。个人史：生于本地，无外地居住史，居住环境优良，生活条件一般，无特殊嗜好，平素性情温和。婚育史：适龄结婚，育有一子。家族史：父亲去世多年，余无其他疾病及传染病史。体格检查：T 36.1℃，P 80次/分，R 20次/分，BP 160/110mmHg，发育正常，营养一般，头颅正常，未触及肿大淋巴结，气管居中，甲状腺无肿大，胸廓对称，两肺可闻及干啰音，心律整齐，心率80次/分，未及杂音，肝脾肋缘下未触及，腹软无压痛，肠鸣音可，4次/分，脊柱生理曲度正常，四肢关节无畸形，无肿胀。

【问题1】通过上述问诊与查体，该患者可疑的诊断是什么？需与哪些疾病鉴别诊断？

根据患者主诉、症状、个人史，高度怀疑心力衰竭（heart failure，HF）、高血压病、慢性支气管炎。

鉴别诊断：①急性上呼吸道感染；②肺水肿；③急性冠脉综合征。

知识点

心力衰竭的概念

心力衰竭（HF）是一个复杂的临床综合征，患者应具有以下特征：心力衰竭症状，静息或运动时呼吸困难、疲乏；液体潴留体征，肺充血或踝部水肿；静息状态心脏结构和功能异常的客观证据。心衰可以分为新发心衰、短暂性心衰以及慢性心衰。

【问题2】为明确诊断，应进行哪些检查？

为确诊HF与排除肺源性呼吸困难，应行胸片、心电图、超声心动图与心脏功能标志物检查。

思路：患者由感冒诱发呼吸困难，必须判定呼吸困难是心源性还是肺源性。最好的办法是进行心脏功能标志物的检测。同时，通过胸片观察心脏形态的变化，有助于对心力衰竭进行诊断。通过心电图检查，有助于排除心肌缺血及其他心源性疾病。

知识点

心力衰竭的诊断

HF的诊断应结合患者的症状、心电图的表现、胸片的表现以及实验室指标的改变综合判断。欧洲心脏病学会（European Society of Cardiology，ESC）发布的心衰指南规定，进行HF的诊断，需进行以下的评估以获得证据支持。

评估手段	心衰的诊断	
	出现时支持诊断	正常或缺席时不支持诊断
一致性的症状	++	++
一致性的表现	++	+
超声心动图提示心脏功能不全	+++	+++
治疗后症状或表现好转	+++	++
心电图		
正常		++
不正常	++	+

学习笔记

续表

评估手段	心衰的诊断	
	出现时支持诊断	正常或缺席时不支持诊断
心律失常	+++	+
实验室指标		
BNP/NT-proBNP 升高	+++	+
BNP/NT-proBNP 低 / 正常	+	+++
低钠血症	+	+
肾功能不全	+	+
肌钙蛋白轻度升高	+	+
胸片		
肺淤血	+++	+
运动能力降低	+++	++
肺功能试验异常	+	+
血流动力学试验异常	+++	++

+：有重要性；++：中等重要性；+++：重要性强

患者胸片提示：慢性肺气肿。心电图示：窦性心律，无明显异常。超声心动图示：左室射血分数：35% 心脏功能标志物结果：NT-proBNP 2200pg/ml。

【问题 3】根据胸片、心电图、超声心动图、血压监测以及心脏功能标志物结果，应作出怎样的诊断？依据是什么？

该患者可做以下诊断：慢性心力衰竭、原发性高血压病Ⅲ期。

诊断依据：①患者老年女性，感冒后出现咳喘、胸闷、端坐呼吸 3 日；②BP 160/110mmHg；③胸片提示肺气肿；④超声心动图示：左室射血分数 35%；⑤心电图未提示心肌缺血表现；⑥NT-proBNP：2200pg/ml。

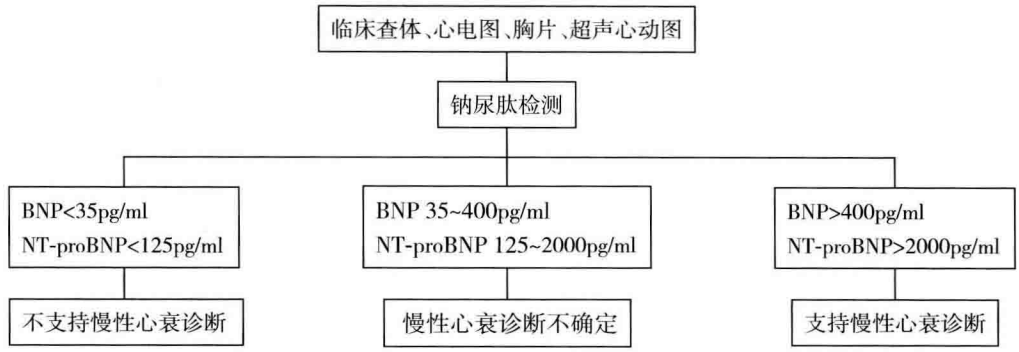
思路：对于疑为心力衰竭的患者，应在查体、胸片、心电图、超声心动图的基础上进行心脏功能标志物的检测。查体发现端坐性呼吸困难或下肢水肿、胸片提示肺气肿或心脏形状改变均提示心力衰竭。而基于左室射血分数（LVEF）的超声心动图检查是目前诊断心力衰竭的金标准。在上述检查的基础上进行心脏功能标志物的检测有助于对心衰进行确证，并帮助判断预后及评价治疗效果。

对于有症状提示心力衰竭的未进行治疗的患者。应行临床查体、心电图、胸片以及超声心动图的检查。并在此基础上进行 BNP 或 NT-proBNP 的检测，根据 2014 中国心力衰竭诊断和治疗指南以及 2007 美国临床化学学会（NACB）急性冠脉综合征与心衰标志物的临床应用指南，使用以下诊断切点：若 BNP<35pg/ml 或 NT-proBNP<125pg/ml，则认为不支持慢性心衰诊断；若 BNP35~400pg/ml 或 NT-proBNP 125~2000pg/ml，则认为不确定慢性心衰诊断；若 BNP>400pg/ml 或 NT-proBNP>2000pg/ml，则认为提示慢性心衰诊断。

学习笔记

知识点

有症状提示心力衰竭的未进行治疗的患者中诊断慢性心衰的具体流程



【问题 4】目前常用的心衰标志物有哪些？其诊断心衰的原理是什么？目前心衰标志物在心衰诊断中的地位如何？

目前常用的心衰标志物有 BNP 与 NT-proBNP。

BNP 与 NT-proBNP 诊断心衰的原理如下：BNP 属于利钠肽家族的一员，生理条件下起着调控水钠平衡的作用。当心衰时，BNP 分泌的负反馈平衡被打破，因此 BNP 升高到可检测的浓度，从而协助诊断心衰。而 NT-proBNP 是 BNP 生成过程中释放出的 N 端的一段肽，因此其临床意义与 BNP 相同。

目前心衰标志物在心衰诊断中并非金标准地位，但其可以协助进行慢性心衰的诊断，并且可以协助判断急性呼吸困难是心源性还是呼吸源性。

思路：NT-proBNP 与 BNP 在心衰诊断中的特点与注意事项。

利钠肽（natriuretic peptide，NP）是由心血管组织分泌的活性多肽，具有扩张血管、促进利钠、利尿作用，以调节体内水、电解质平衡和血压，从而维持内环境的稳定。NP 是一个家族，成员有 ANP、BNP、CNP、DNP、UNP 和 VNP。ANP 主要由心房分泌，BNP 主要由心室分泌，CNP 主要由中枢神经系统和血管内皮分泌，UNP 由肾脏分泌，DNP 和 VNP 目前研究较少。BNP 的生物合成首先编码出含有 134 个氨基酸的前 BNP 原（pre-proBNP），其 N 端为 26 个氨基酸的信号肽，Pre-proBNP 切去信号肽后成为 108 个氨基酸的 BNP 原（proBNP），内切酶将 proBNP 进一步加工成无活性的含 N 端 76 个氨基酸的 NT-proBNP 和具有生物学活性的含 C 端 32 个氨基酸的 BNP。BNP/NT-proBNP 经合成、加工成熟后释放入血循环中。如图 4-3-1 所示。

当血容量增加、心室负荷过多及室壁张力改变时，BNP/NT-proBNP 反应性合成与释放增加，通过肾素 - 血管紧张素 - 醛固酮系统（RAAS）相互作用，调节水与电解质平衡。正常情况下，BNP 的分泌受到心室壁压力的负反馈影响，保持在低浓度的状态。在心衰时，负反馈被打破，血 BNP/NT-proBNP 增高，升高程度与心衰程度呈正比。因此 BNP/NT-proBNP 是心力衰竭的有效生物标志物，检测血中 BNP/NT-proBNP 含量，对心力衰竭的诊断、预后和疗效评估具有重要意义。

当使用 BNP 或 NT-proBNP 诊断心衰时，需注意其并非心衰诊断的金标准。2009 年美国心脏病学会（AHA）与美国休克学会（ASA）联合发布 I 类 A 级循证医学证据指出：在原因未明的呼吸困难症状患者中，应该检测 BNP 或 NT-proBNP 以帮助诊断呼吸困难是否是心源性。但最终诊断应该将此结果与尽可能多的临床资料相结合，而不能作为确诊的独立证据。

BNP 或 NT-proBNP 对心脏疾病诊治的临床应用价值相似，没有必要同时检测。要注意的是，血清 BNP 与 NT-proBNP 水平会随着年龄的增大显著上升，因此，不同年龄段患者人群诊断心力衰竭时 NT-proBNP 的临界值有所不同。根据 2014 中国心力衰竭诊断和治疗指南以及 2007 美

学习笔记

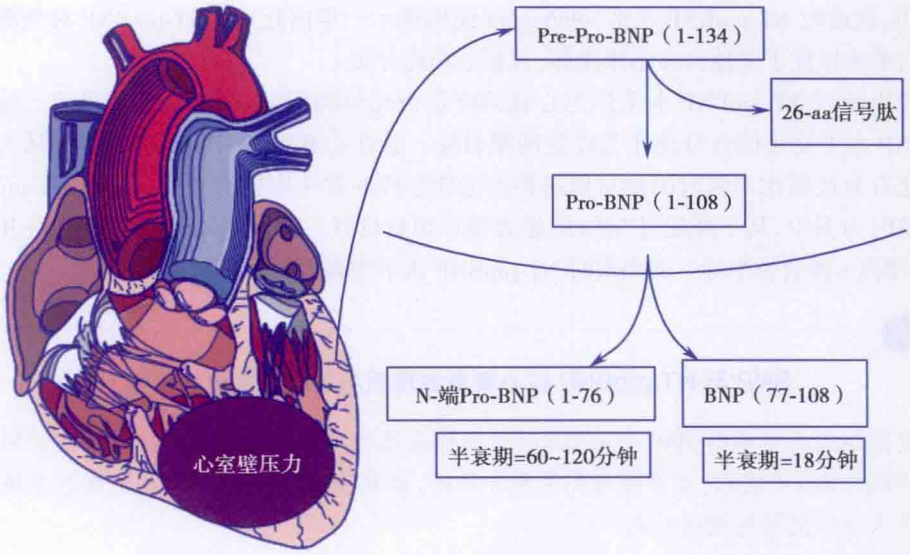


图 4-3-1　BNP 的合成与释放示意图

国临床化学学会（NACB）急性冠脉综合征与心衰标志物的临床应用指南，NT-proBNP 在急慢性心衰诊断中的应用建议分别为：

在慢性心衰的诊断中，对于临床症状疑似心衰的患者，依据 NT-proBNP 的浓度变化，可将其划分为三类：①不支持慢性心衰诊断：NT-proBNP<125pg/ml；②不确定慢性心衰诊断：NT-proBNP 125~2000pg/ml；③可能慢性心衰诊断：NT-proBNP>2000pg/ml。

在急性心衰的诊断中，不同年龄段急性呼吸困难患者人群诊断心力衰竭时 NT-proBNP 的临界值有所不同：①<50 岁，450pg/ml；②50~75 岁，900pg/ml；③>75 岁，1800pg/ml。肾功能不全（肾小球滤过率 <60ml/min）时应 >1200pg/ml。但排除诊断急性心力衰竭时为非年龄依赖性，选用同一标准：300pg/ml。

患者确诊后给予强心、利尿、扩血管及对症治疗，三天后复查 NT-proBNP 结果：800pg/ml。继续治疗两天后复查 NT-proBNP 结果：400pg/ml。准予出院。

【问题 5】患者治疗后复查心脏功能标志物的原因是什么？ NT-proBNP 下降说明什么？

心脏功能标志物除了在诊断心衰时有辅助诊断的价值，监测其变化也可以有效评价心衰治疗的疗效。

NT-proBNP 下降反映心衰治疗有效，一般认为，NT-proBNP 下降达 30% 是治疗有效的目标。

知识点

NT-proBNP 反映心衰治疗效果的评价标准

一般认为，NT-proBNP 下降达 30% 是治疗有效的目标；如果没有测基线值，急性期治疗的目标应为 NT-ProBNP<4000pg/ml。

【问题 6】患者出院时复查 NT-proBNP 的目的是什么？

出院时复查 NT-proBNP 的目的主要是判断心衰患者的预后。NT-proBNP 浓度越低，预示着心衰患者的预后越好。

思路：NT-proBNP 有助于判断心力衰竭的急性期和远期预后。急性不稳定性心衰患者中，NT-proBNP 预测 76 天死亡的敏感性 68%，特异性 72%；阴性预测值 96%。对远期（一年）预后的

学习笔记

预测作用，就诊时 NT-proBNP 水平 >986pg/ml 强烈提示一年内死亡。NT-proBNP 对判断急性心衰预后的准确性优于其他许多临床指标，包括心功能分级。

患者出院时 NT-proBNP 水平作为心衰治疗是否充分的指标，以衡量远期风险。治疗前后 NT-proBNP 水平变化的百分比作为疗效的靶目标。急性心衰患者 NT-proBNP 水平从入院到出院的变化百分比要比出院时的绝对值对预测远期事件的发生率更为有效。不论 NT-proBNP 水平在出院时为多少，其下降超过 30% 的患者预示预后良好。而 NT-proBNP 下降不到 30% 的患者（但未增高），预后为中等。而出院时 NT-proBNP 水平增高者的预后较差。

知识点

BNP 与 NT-proBNP 在心衰患者预后与危险分层中的价值

美国临床化学学会 2007 年在《急性冠脉综合征和心力衰竭中应用生物标志物的检验医学实践指南》中提到：当需要额外风险分级时，血 BNP 或 NT-proBNP 检测在特定情况下能对临床评估提供有效的补充。

【问题 7】BNP 与 NT-proBNP 在临床使用时还有什么注意事项？

在解释治疗后 BNP 或 NT-proBNP 测定值的变化时应考虑生物变异因素。循环血液中的 NT-proBNP 水平受年龄、性别、肥胖和肾功能影响。随着年龄的增长，NT-proBNP 有升高的趋势，故根据年龄分成不同的参考区间。健康女性的 NT-proBNP 水平明显高于健康男性，其机制尚不清楚。NT-proBNP 水平在肥胖人群中比非肥胖人群中低，其差别程度尚不足以影响正常参考区间的界定。随着肾功能的减退，血中 NT-proBNP 水平逐渐升高。伴随增龄而产生的肾小球滤过率下降，其对 NT-proBNP 参考区间的作用已经在年龄校正的参考区间得到体现。除非偶尔有年轻患者存在显著的慢性肾脏疾病。这些生理学的影响因素在 NT-proBNP 用于心力衰竭的临床诊断、预后判断，以及指导治疗时也应该加以考虑。

BNP 在体外保存稳定性较差，加入精氨酸蛋白水解酶抑制剂或缓激肽抑制剂可减少降解，延长稳定保存时间。NT-proBNP 在体外较稳定。

对于心衰患者，心脏功能标志物 BNP 或 NT-proBNP 在疾病的辅助诊断、鉴别诊断、疗效监测以及预后评价方面均起着重要作用。如何正确使用心脏功能标志物、正确评价心脏标志物在心衰诊断中的地位，是检验医师应该掌握的内容，也是与临床医师沟通的重点。

（王　前）

学习笔记

第五章 肾脏疾病的实验诊断

肾脏的生理功能主要是排泄代谢产物及调节水、电解质和酸碱平衡，维持机体内环境稳定。肾脏系统疾病主要涉及原发性和继发性肾小球病、间质性肾病、肾小管疾病、肾衰竭和尿路系统感染、结石等。肾脏疾病的诊断应尽可能作出病因诊断、病理诊断及并发症诊断，以确切反映疾病的性质和程度。因此，通过实验室尿液常规试验、尿液特殊试验、早期肾损伤试验、肾功能试验等检验，有助于肾脏疾病的诊断与鉴别诊断、疗效观察等。

第一节 肾小球肾炎

肾小球疾病经常会同时出现一组临床症状和体征，临床上称为综合征。以血尿、蛋白尿、水肿和高血压为特点的综合征称为肾炎综合征。可分为原发性、继发性和遗传性；按起病急缓和转归，可分为急性肾炎综合征、急进性肾炎综合征和慢性肾炎综合征。

一、急性肾小球肾炎

病历摘要：

患儿男，9岁。主诉：反复肉眼血尿近10天，加重2天。患儿1个月前出现“嗓子痛”、腹泻，伴有低热，峰值<38.5℃。起病即至一社区医院就诊，诊断为“上呼吸道感染”，予青霉素类抗生素静滴治疗1天（具体不详），患儿体温恢复正常；约2周后出现肉眼血尿，洗肉水样，无血丝和血凝块，有泡沫，前来我院就诊。患儿肉眼血尿，无血凝块，无尿频、尿急、尿痛，无水肿。

查体：患儿血压8.5/11kPa，精神胃纳尚可，咽部红，双侧扁桃体Ⅱ度肿大，无渗出。肾区无叩击痛，输尿管无压痛，移动性浊音（-），双下肢无水肿，四肢活动可。

查尿常规：尿蛋白阳性（++），红细胞32个/HP；尿有形成分分析：红细胞95个/μl，红细胞直方图明显左移（小红细胞表现），红细胞信息为不均一性红细胞；红细胞相差显微镜结果：红细胞畸形率83%。血清补体CH50（脂质体法）：18IU/ml，C3 0.5g/L。抗链球菌溶血素“O”（ASO）516IU/ml。血清肌酐、尿素正常。血清自身抗体阴性。乙型肝炎病毒抗原、抗体检测阴性。左肾静脉B超提示符合左肾静脉压迫综合征阳性（left renal vein entrapment syndrome），也称胡桃夹综合征（nut cracker phenomenon，NCP）。

【问题1】通过上述问诊与查体，该患者可能的诊断是什么？需与哪些疾病鉴别诊断？

患儿9岁，男性，肉眼血尿、蛋白尿出现前2周有明显感染症状，出现“嗓子痛”（诱发因素）、腹泻等症状。根据患者主诉、年龄、性别、症状和病史特点，高度怀疑急性肾小球肾炎（acute glomerulonephritis）。

鉴别诊断：①其他病原体感染后的急性肾炎；②以急性肾炎综合征为表现的多种原发性肾小球疾病；③继发性肾小球肾炎。

学习笔记

知识点

急性肾小球肾炎及其发病机制

急性肾小球肾炎(acute glomerulonephritis)简称急性肾炎(AGN),是以急性肾炎综合征为临床表现,并可伴有一过性肾功能不全的一组疾病。儿童发病率较高,男性多于女性。

AGN以链球菌感染后肾炎最为常见,偶可见于其他细菌或病原微生物感染之后,如细菌、病毒、立克次体、螺旋体、支原体、真菌、原虫寄生虫等。故也称为急性感染后肾小球肾炎(acute post-infectious glomerulonephritis)。此类病原体感染后可出现急性肾炎综合征,也可能出现急进性肾炎肾病综合征等。而急性链球菌感染后肾炎,被认为是由于免疫复合物沉积所致肾小球肾炎的典型代表。

【问题2】为明确诊断,应进行哪些检查?

肾小球肾炎往往缺乏典型的症状和体征,要排除其他病原体感染后的急性肾炎;以急性肾炎综合征为表现的多种原发性肾小球疾病和继发性肾小球肾炎等,此时实验室检查对明确诊断至关重要。

思路1:AGN常因β-溶血性链球菌"致肾炎菌株"感染所致,常见于上呼吸道感染,多为扁桃体炎、皮肤感染如脓疱疮、猩红热等链球菌感染后。任何年龄段都可发病,但多发于儿童,2~12岁儿童最常见,40岁以上较少见。男性发病多于女性,其比率约为2∶1。通常于前驱感染后1~3周(平均10天左右)起病,潜伏期相当于致病抗原初次免疫后诱导机体产生免疫复合物所需的时间。

思路2:可根据患者典型的实验诊断特点帮助判断

(1) 尿液异常:发病初期肾小球滤过功能受损,钠水潴留,尿量减少(常在400~700ml/d),少数患者甚至出现少尿(<400ml/d),多数发病1~2周后尿量可逐渐恢复。血尿为急性肾炎重要所见,患者几乎均伴有血尿,30%患者可有肉眼血尿,常为患者首发症状和就诊原因。尿中红细胞多为严重变形红细胞,即肾源性红细胞,但使用袢利尿药时可暂为非肾源性红细胞。此外还可见红细胞管型,提示肾小球有出血渗出性炎症,是急性肾炎的重要特点。24小时尿蛋白定量通常为1~3g。白细胞和上皮细胞轻度增多,也可见大量透明和颗粒管型等。尿蛋白通常为(+)~(++),尿蛋白多属非选择性,尿中纤维蛋白降解产物(FDP)增多。尿常规一般在4~8周内大致恢复正常。残余镜下血尿(或爱迪计数异常)或少量蛋白尿(可表现为体位性蛋白尿)可持续半年或更长。

(2) 肾功能异常:肾功能可一过性受损,表现为轻度氮质血症,利尿后数日可逐渐恢复正常。肌酐清除率减低,肾浓缩功能变化不大,尿渗量大于350mOsm/(kg·H_2O)。

(3) 免疫学检验异常:链球菌感染后肾小球肾炎患者血清抗链球菌溶血素"O"(ASO)滴度常升高,提示近期内曾有过链球菌感染。发病初期血清总补体和C3水平降至参考区间的50%左右,一般可在2个月内恢复,这一点对诊断AGN意义很大。部分患者发病早期循环免疫复合物和血清冷球蛋白可呈阳性。

(4) 其他改变:血清蛋白浓度常因水、钠潴留,血液稀释减低。由于白蛋白从尿中丢失较多,血清中白蛋白减低,γ球蛋白增高;脂蛋白代谢异常,极低密度脂蛋白(VLDL)和低密度脂蛋白(LDL)升高。

知识点

急性肾小球肾炎症状特征

根据患者链球菌感染1~3周后急性起病,出现肾小球源性血尿、蛋白尿、高血压、水肿、少尿等急性肾炎综合征的临床表现,伴血清ASO升高,补体下降,2个月内恢复正常的

学习笔记

实验室检查基本可以诊断 AGN。

肾小球疾病特别是肾小球肾炎，其血尿常为无痛性、全程血尿，可呈持续性或间发性。血尿可分为单纯性血尿，也可伴有蛋白尿、管型尿，特别是红细胞管型有助于诊断。

【问题 3】根据实验室及其他检查结果，应作出怎样的诊断？依据是什么？

患者可以诊断为：①原发性急性肾小球肾炎；②胡桃夹综合征。

诊断依据：①患儿病前有明显链球菌感染史，起病急，病程中有反复肾小球源性肉眼血尿、蛋白尿等急性肾炎综合征，伴持续镜下血尿，不伴水肿、少尿及高血压，肾功能正常，ASO 升高，补体 C3 下降。故考虑该诊断；②患儿近期无相关肾毒性药物使用情况，自身抗体检测阴性，且无皮疹、关节肿胀及不明原因发热等可排除相关继发性因素，故考虑为原发性；③左肾静脉 B 超提示符合左肾静脉压迫综合征阳性，也称胡桃夹综合征。

思路 1：针对患者咽部或皮肤脓痂分泌物行细菌培养及血清学检查十分必要。细菌培养结果如为 A 组 β- 溶血性链球菌“致肾炎菌株”常见 A 组 12 型或 49 型阳性，对本病诊断意义颇大。β 溶血性链球菌培养阳性率约 30% 左右，特别在起病早期使用抗生素治疗者更不易检出。但链球菌感染后可产生相应抗体，常可于链球菌感染后 2~3 周时检测其抗体证实前驱的链球菌感染。如抗链球菌溶血素 O 抗体，其阳性率达 60%~80%，3~5 周滴度达高峰，大多数患者半年内恢复正常。通过判断血清补体下降，血清 ASO 增高，即可确诊本病。

思路 2：对临床表现不典型者，需根据尿液检查及血清补体动态改变作出诊断。除个别病例外，绝大多数急性链球菌感染后肾小球肾炎均有低补体血症，肾炎病程早期血清总补体及 C3 均明显下降，6~8 周后恢复正常。这种规律性变化为本病的典型表现。血补体下降程度与急性肾炎病情严重程度无明显相关，但低补体血症持续 8 周以上者，应考虑有其他类型肾炎的可能，如膜增生性肾炎、冷球蛋白血症或狼疮肾炎等。因此，血清补体动态测定可作为评价急性肾炎重要的检测指标。

思路 3：根据尿有形成分分析仪结果：红细胞信息为不均一性红细胞；红细胞相差显微镜结果：红细胞畸形率 83%。基本确定该患儿尿红细胞为肾小球源性红细胞。

思路 4：左肾静脉（LRV）在腹主动脉（AO）和肠系膜上动脉（SMA）间受机械性挤压后肾静脉血流回流受阻引起的左肾静脉高压现象，临床主要表现为血尿和（或）蛋白尿。

知识点

急性肾小球肾炎病理机制

急性肾小球肾炎由感染所诱发的免疫反应引起，目前认为 β 溶血性链球菌的致病抗原系胞质成分或分泌蛋白，诱发免疫反应后可通过循环免疫复合物（CIC）沉积于肾小球基底膜致病，或已植入于肾小球的抗原与循环中的特异抗体相结合形成原位 CIC 致病。其证据是：①前驱链球菌感染后的潜伏期相当于感染后机体产生免疫的时间；②疾病早期 CIC 阳性，血清补体下降；③免疫荧光 IgG、C3 呈颗粒样在肾小球系膜区及毛细血管襻沉积。CIC 激活补体系统，补体在炎性细胞介导下，参与并引起肾小球基底膜损伤和通透性的改变。

肾源性红细胞的产生，由于红细胞通过肾小球基底膜时受损和经肾小球毛细血管壁漏出时受挤压而变形，同时还与尿渗透压、pH 等因素有关。因此，来自肾脏的红细胞除形态发生变化外，其体积也显著变小。畸形红细胞形态多样：有酵母菌样红细胞，即红细胞外膜有小泡突出或细胞呈霉菌孢子样改变；面包圈样红细胞，红细胞膜呈明显内外两圈，形似炸面包圈；膜缺损红细胞，红细胞膜不完整，部分血红蛋白丢失；小红细胞，胞体小，外膜增厚，折光增强；棘红细胞等。

一般认为，畸形红细胞占80%以上为肾小球源性血尿；畸形红细胞<20%，均一型红细胞>80%以上为非肾小球源性血尿；畸形红细胞>20%、<80%，为混合型血尿。

左肾静脉压迫综合征的诊断标准尚不一致。临床主要表现为血尿和(或)蛋白尿，但尿中红细胞形态正常(>90%)，肾活检呈轻微变化，无血清补体下降和ASO升高的变化，其诊断应以超声诊断为基础。

患儿入院后查：凝血功能正常；生化：血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)14U/L、门冬氨酸氨基转移酶(AST)26U/L、总蛋白(TP)66.9g/L、白蛋白(ALB)44.4g/L和血清电解质水平均未见明显异常。免疫球蛋白(Ig)基本正常，补体16IU/ml；24小时尿蛋白1.95g/L，尿常规：蛋白阳性(+)~(++)，镜检红细胞65~105个/HP，ASO 581IU/ml；因患儿存在反复肉眼血尿及蛋白尿，持续镜下血尿，遂进行肾穿刺协助明确病理诊断。

【问题4】根据上述检查，急性肾炎患者可能会发生哪些并发症？还需要做什么实验室检查确证？

AGN急性期的主要并发症有严重的循环充血和心力衰竭、高血压脑病和急性肾衰竭，近年来其发生率及病死率已明显下降。

思路1：严重的循环充血和心力衰竭：主要发生在急性肾炎综合征期，严重的水、钠潴留和高血压为重要的诱发因素，临床上可出现水负荷过度征象，患者可有颈静脉怒张、奔马律和肺水肿，需要紧急处理。一般成年患者发生率较高，儿童患者发生率少见。除了要关注临床症状的变化外，必须注重相关的实验室检查，如电解质、凝血指标、肝肾功能状态，必要时检测心肌损伤指标等。

思路2：高血压脑病：国内报道发生率5%~10%，一般血压超过18.7/12kPa，同时伴有视力障碍惊厥、昏迷三项症状之一者即可诊断。多发生于急性肾炎病程早期，起病一般较急，常表现为剧烈头昏、呕吐、嗜睡、神志不清，严重者有阵发性惊厥及昏迷。眼底检查常见视网膜小动脉痉挛出血渗出等。

思路3：急性肾衰竭：发生率为1%~2%，表现为少尿或无尿，血尿素氮增高，不同程度的高钾血症及代谢性酸中毒等尿毒症改变。相当一部分急性肾炎患儿在急性期有不同程度氮质血症，但发展为急性肾衰竭者极少，而且尚缺乏有效预防措施，成为急性肾炎死亡的主要原因。

知识点

急性肾小球肾炎病理特征

急性肾小球肾炎病变主要累及肾小球。病变类型为毛细血管内增生性肾小球肾炎。通常为弥漫性肾小球病变，以内皮细胞和系膜细胞增生为主要表现，病变严重时增生和浸润的炎性细胞可压迫毛细血管袢使其管腔变窄或闭塞。免疫病理检查可见IgG、C3呈粗颗粒状沿肾小球毛细血管壁和系膜区沉淀，致使肾小球滤过率下降，对水和各种溶质(包括含氮代谢产物、无机盐)排泄减少，发生水、钠潴留，临床表现为水肿、少尿、全身循环充血状态如呼吸困难、肝大、静脉压增高等，甚或导致严重并发症发生。

【问题5】急性肾小球肾炎需与哪些疾病相鉴别？实验室有哪些检查可协助诊断？

本病例根据患儿病前有明显链球菌感染史，起病急，反复肾小球源性肉眼血尿、蛋白尿等急性肾炎综合征，并伴有持续镜下血尿，ASO升高，补体C3下降。考虑该诊断为肾小球肾炎。尚需与以下疾病鉴别：

学习笔记

思路 1：IgA 肾病，本病以反复发作性肉眼血尿和持续性镜下血尿和（或）蛋白尿为主要临床表现，发病前可有呼吸道或胃肠道感染，肾性血尿，可伴有轻度或中度蛋白尿。感染后发作较多，本病可有家族史。部分患者血 IgA 常升高，需肾活检免疫组化检查明确：系膜区或毛细血管袢区 IgA 大量沉积为特点。

思路 2：其他病原体感染后的急性肾炎，许多细菌、病毒、寄生虫感染后也可引起本病。目前较多见于病毒如：水痘 - 带状疱疹病毒、腮腺炎病毒、EB 病毒等，在感染早期或感染后 3~5 天发病，临床表现轻，不伴有血清补体降低，少有水肿和高血压，肾功能正常，能自愈。

思路 3：膜增殖性肾小球肾炎（membrano-proliferativeglomerulonephritis，MPGN），是肾小球肾炎中最少见的类型之一，一般分为原发性和继发性。亦称系膜毛细血管性肾小球肾炎，本病是一种具有特定病理形态及免疫学表现的综合征。以系膜细胞增生、系膜基质扩张、基底膜增厚及由于系膜细胞及基质向各面扩张至邻近的毛细血管壁内，导致光镜下毛细血管壁增厚和呈双轨状为病理特征的肾小球疾病。根据电镜下电子致密物沉积的部位可将 MPGN 分为 3 型：Ⅰ型为内皮下致密物沉积；Ⅱ型为特征性基膜内致密物沉积；Ⅲ型是上皮下和内皮下致密物同时出现。大多认为Ⅱ型是一种独特的肾小球疾病，Ⅲ型可能是Ⅰ型膜增生性肾炎的一种变异。临床上除有肾炎综合征外常伴有肾病综合征，病变持续无自愈倾向，部分患者持续性低补体血症为其特点，8 周内不恢复，预后差。

思路 4：急进性肾小球肾炎，起病与急性肾炎相似，但症状更重，除急性肾炎综合征外，多早期出现少尿、无尿，病情急骤发展，肾功能急剧恶化为特点。重症急性肾炎呈现急性肾衰竭者与该病鉴别困难时，应及时做肾活检用于明确诊断。

急进性肾炎最主要的病理类型是大量新月体充填于肾小囊，受累肾小球占 50% 以上。肾小球基底膜受损导致纤维素渗出，因此，在新月体细胞成分之间有较多纤维素。纤维素渗出是刺激新月体形成的主要因素。早期新月体以细胞成分为主，为细胞性新月体，纤维成分逐渐增多，形成纤维 - 细胞性新月体，最终新月体纤维化，成为纤维性新月体。新月体形成使肾小球囊腔变窄，并压迫毛细血管丛，肾小球功能丧失。

实验室诊断除急性肾小球肾炎的部分实验室检查外，明确分型和病因是重要的诊断目的。根据免疫病理可将其分为：Ⅰ型抗肾小球基底膜型（GBM），表现为 IgG 和补体 C3，沿肾小球毛细血管壁呈线条样沉积，约 5% 的急进型肾小球肾炎（rapidly progressive glomerulonephritis，RPGN）由抗 GBM 抗体引发；Ⅱ型为免疫复合物介导型，表现为 IgG 和 C3 沿系膜及毛细血管壁呈颗粒样沉积；Ⅲ型为寡免疫复合物型，主要由于血清抗中性粒细胞胞浆抗体（ANCA）所致的原发性小血管炎引起。肾脏可为首发，甚至是唯一受累器官，或与其他系统损害并存，患者血清 ANCA 检查阳性。与前两者不同，本病预后差，病死率较高，5 年存活率约 25%。

思路 5：继发性肾小球肾炎，系统性红斑狼疮、过敏性紫癜、乙型病毒性肝炎等累及肾脏也常以血尿、蛋白尿、镜下血尿的形式发病。应需鉴别，但患儿既无上述病史，也无皮疹、关节肿痛等，并自身抗体检查阴性，故暂不考虑系统性红斑狼疮及过敏性紫癜性肾炎。乙型肝炎病毒抗原、抗体检测阴性，乙肝相关性肾炎亦可排除。

知识点

肾活检指征

当临床诊断困难时，急性肾炎综合征患者需考虑进行肾活检以明确诊断，指导治疗。

肾活检指征为：①少尿 1 周以上或进行性尿量减少伴肾功能恶化者；②病程超过 2 个月而无好转趋势者；③急性肾炎综合征伴肾病综合征者。

学习笔记

二、慢性肾小球肾炎

病历摘要：

患者男，57岁。主诉：发现血压升高6年，双下肢水肿10余天。患者幼年时曾患“急性肾炎”，6年前发现血压升高，最高时达160/96mmHg，服降压药治疗，血压控制尚可。近日时常有双下肢水肿，但未在意。否认眼睑水肿、口干、多饮、消瘦症状，时有腰酸等，但未随访尿常规。10余天前出现双膝关节肿痛，活动受限，伴有双下肢水肿。查：血糖6mmol/L，血肌酐86mmol/L，尿素7.4mmol/L，CRP 55.4mg/L，ASO 3354IU/ml（<250IU/ml）。今查尿常规：蛋白阳性（++），红细胞（++++），白细胞5~6个/HP。查体：T 36.9℃，P 72次/分，R 18次/分，BP 150/90mmHg。患者精神、胃纳尚可，发育好，营养中等，查体合作。

【问题1】通过上述病例描述，考虑患者可能的诊断是什么？应与哪些疾病鉴别？

患者双下肢水肿，幼年时曾患“急性肾炎”，血压升高6年，尿蛋白阳性（++），红细胞（++++）。根据患者主诉、症状、个人史，考虑患者为慢性肾小球肾炎。

鉴别诊断：继发性肾小球肾炎；Alport综合征；其他原发性肾小球肾炎；原发性高血压肾损害；慢性肾盂肾炎。

知识点

慢性肾炎临床特征

慢性肾小球肾炎（chronic glomerulonephritis，CGN）简称慢性肾炎，是一组以蛋白尿、血尿、高血压和水肿为基本临床表现的疾病。是由多种病因引起，多种病理类型组成的原发性肾小球疾病的总称，也是临床上最常见的一种肾病。起病方式各有不同，病情迁延，病变缓慢进展，可以不同程度肾功能减退，最终将发展为慢性肾衰竭。由于本组疾病的病理类型及病期不同，主要临床表现各不相同，疾病表现呈多样化。故临床上根据其表现不同分为普通型、肾病型、高血压型和急性发作型。

【问题2】为明确诊断，应进行哪些检查？

思路1：慢性肾炎可发生在任何年龄，以中青年为主，男性多见。临床起病隐匿，表现呈多样性，可有一段时间无症状期。但尿常规检查有不同程度的蛋白尿、红细胞及管型尿。病程长，进展缓慢，多数患者有不同程度的腰酸、疲乏、水肿、高血压及肾功能损害。该病较为顽固，反复发作，迁延不愈，最终可导致肾衰竭，预后差。因此，早期实验室检查对本病的诊断非常重要。

思路2：可根据以下实验室检查特点帮助诊断。

（1）尿

1）尿量：无水肿者尿量可正常，水肿期间尿量减少，常<1000ml/d。随病情发展，尿量可由多尿、夜尿多到少尿，甚至尿闭，此时肾功能往往已极度衰竭。

2）尿相对密度（比重）：偏低，多在1.020以下，在疾病晚期常固定在1.010左右。

3）尿蛋白：实验室检查多为轻度异常，尿蛋白量一般在1~3g/d之间，大量蛋白尿（>3.5g/d）少见。慢性肾炎蛋白尿主要是肾小球对蛋白质通透性增高和肾小管对蛋白质重吸收能力降低所引起。

4）尿红细胞：尿有形成分中常见红细胞增多，通常为镜下血尿。但在急性发作期可有明显的血尿，甚至肉眼血尿。尿中红细胞增多反映疾病处于活动期。亦可见白细胞、颗粒管型和透明管型。尿红细胞位相以畸形为主，比例一般占80%左右。

5）尿C3测定：以膜增殖性肾炎及新月体肾炎阳性率最高，其次为局灶节段性肾小球硬化、

学习笔记

膜性肾病，系膜增殖性肾炎。微小病变型及局灶节段性肾炎阳性率较低。

6）尿蛋白电泳呈现高分子蛋白尿者多见于膜增殖性肾炎、系膜增殖性肾炎及局灶节段性肾小球硬化。

7）其他：尿纤维蛋白降解产物（FDP）可增高；尿 β_2- 微球蛋白可正常或升高。

（2）血

1）血常规检查：可出现轻度至中度贫血。

2）β_2- 微球蛋白含量测定正常或升高。

3）免疫功能检查：部分患者可见 IgA 或 IgM 升高，IgG 及补体 C3、CH50 降低。

4）肾功能检查：根据患者不同病情可为正常，部分患者血尿素氮、肌酐可升高，二氮化碳结合力有所下降。

5）肝功能检查：大量蛋白尿持续较久的患者，可见白蛋白下降，白蛋白 / 球蛋白比例倒置。

知识点

慢性肾炎病理类型与转归

慢性肾炎多样性的临床表现和实验室检查特点取决于该病多种肾脏病理类型：主要为系膜增生性肾小球肾炎（包括 IgA 和非 IgA 系膜肾小球肾炎）、系膜毛细血管性肾小球肾炎、膜性肾病及局灶性节段性肾小球硬化，其中非 IgA 系膜增生性肾小球肾炎可由毛细血管性肾小球肾炎（急性肾炎）转化而来。

病情进一步发展至后期，各种类型病理改变均可进展到肾小球硬化，正常肾单位不断减少，肾间质纤维组织增生，疾病晚期肾皮质变薄，肾脏萎缩变小，最后发展成硬化性肾小球肾炎。

患者入院检查：血常规：WBC 5.0×10^9/L，RBC 3.97×10^9/L，Hb 115g/L，Hct 38%；尿常规：WBC 阴性，尿隐血阳性（++++），尿蛋白阳性（++），镜检：RBC 25~35 个 /HP；尿流式细胞分析：RBC 177.9，提示为非均一性红细胞；24 小时尿蛋白定量 1.98g；尿微量白蛋白（mAlb）472.7mg/L，尿 α_1- 微球蛋白（Uα_1MG）23.7，尿 IgG 45.7mg/L，尿转铁蛋白（uTfR）23.4mg/L，Uα_1MG/UCr 比值 5.39g/mmol，mAlb/UCr 比值 107.55g/mmol；生化检测：血清白蛋白 36g/L，球蛋白 38g/L；白 / 球比值 0.95，Urea 9.1mmol/L，SCr 97μmol/L，血清胱抑素 C 1.49mg/L，空腹血糖 5.3mmol/L，ASO 2323IU/ml。

肾活检病例报告：荧光显微镜报告 IgA（-），IgG（-），IgM（-），C3（-），C4（-），C1q（-），Fg（-）。

光镜下：全片共见 8 个肾小球，大部分呈分叶状，有明显系膜细胞增生和基质增多并致毛细血管腔开放欠佳，部分毛细血管中有炎性细胞滞留，少部分毛细血管有增厚分层，间质中纤维组织增生，各肾小球未见新月体形成，肾小管上皮细胞变性坏死不明显。

【问题 3】根据实验室及其他检查结果，应作出怎样的诊断？依据是什么？

患者可以诊断为：①原发性慢性肾小球肾炎（系膜毛细血管性肾炎）；②慢性肾炎急性发作。

诊断依据：①患者中年、男性（危险因素），幼年时曾患“急性肾炎”，血压升高 6 年，起病缓慢；②血常规提示患者贫血；③血尿、蛋白尿，血尿性质为非均一性红细胞（肾小球源性），24 小时尿蛋白定量 1.98g（<0.15g/24h）；④肾脏功能有一定受损：血清胱抑素 C、尿微量蛋白系列结果均升高，轻度低蛋白血症；⑤病程中链球菌感染诱发肾炎急性发作证据：血清 ASO 高于参考区间 10 倍以上；⑥肾活检结果证实。

思路 1：尿液检查，尿异常是慢性肾炎的基本标志。蛋白尿是诊断慢性肾炎的主要依据，尿蛋白一般在 1~3g/d，多数患者可有镜下血尿、少数患者可有间发性肉眼血尿，血尿为肾小球源性。

学习笔记

思路 2：肾功能检查，肾脏有强大的代偿能力，传统肾功能指标 SCr、Urea 不能用作早期肾功能不全的筛查和诊断，当 GFR 降低至 50% 以下时，Urea 才开始升高，且常受肾外因素影响，Scr 较少受肾外因素影响，因此，Scr 和 Urea 应同时检测。

思路 3：血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C，胱抑素 C（Cystatin C，Cys C）是一种低分子量（13kD）非糖基化碱性蛋白质，由于其相对分子质量小，能自由通过肾小球滤过膜，并在近曲小管几乎完全被重吸收和降解，不再重新回到循环中，肾小管也不分泌，因此，是一种理想的反映肾小球滤过率（glomerular filtration rate，GFR）的内源性标志物。其血清中浓度与肾小球滤过率的相关性良好，可以更准确地反映肾小球的滤过率，尤其是评价肾功能损伤早期。血清 Cys-C 的敏感性和特异性均优于血清肌酐清除率、肌酐和尿素氮。因此，推荐血清 Cys-C 作为判断肾小球滤过功能的首选指标。

思路 4：肾穿刺活体组织检查，可以获得各种不同时期和不同严重程度肾脏疾病的标本，能对肾脏疾病进行精确的病理学分类，从而探索肾脏病的病因、发病机制并能与临床密切配合，应用于肾脏病诊断和鉴别诊断，帮助临床医师制订治疗计划。

知识点

肾脏穿刺病理活检适应证

肾脏病理类型是决定肾功能进展快慢和指导正确治疗的重要因素。许多肾脏疾病的临床表现与肾脏的组织学改变并不完全一致，为了明确其病因病理，确定肾脏疾病类型，就需要做肾活检穿刺术行组织病理学诊断。其适应证如下：①当肾病综合征病因不明；②肾小球肾炎肾功能减退较快者；③病情发展迅速，疑为急进性肾炎综合征时行肾脏病理检查有助于早期诊断和治疗；④临床表现不典型的原发性急性肾炎或急性肾炎数月后不愈或肾功能下降；⑤血尿患者经多种检查排除了非肾小球性血尿后，仍不能确诊时，特别是持续性血尿无临床表现，或血尿伴蛋白尿，24 小时尿蛋白定量大于 1g；⑥单纯蛋白尿持续时间较长而无任何症状者；⑦狼疮性肾炎、肾性高血压，急、慢性肾衰竭原因不明者均可行肾活检协助诊断。

【问题 4】慢性肾小球肾炎需与哪些疾病相鉴别？需要通过何种手段进行鉴别？

慢性肾小球肾炎的临床表现、病理类型及疾病种类的多样化，给诊断和鉴别诊断带来一定困难。根据患者以下情况诊断慢性肾炎并不困难：①起病缓慢，病情迁延，时轻时重，肾功能逐步减退，后期可出现贫血、电解质紊乱，血尿素氮、血肌酐升高等情况；②出现不同程度蛋白尿、血尿、管型尿、水肿及高血压等表现；③病程中可因感染等原因诱发急性发作，出现类似急性肾炎表现。但需与以下疾病相鉴别。

思路 1：继发性肾小球疾病：常见继发性慢性肾炎较多，依据相应的系统表现及特异性实验室检查，临床不难鉴别。如狼疮肾炎，好发于女性，多为系统性疾病，可伴有发热、皮疹、关节炎等多系统受损表现，抗核抗体阳性，血清补体水平下降，肾脏病理可见免疫复合物广泛沉着于肾小球的各部位；过敏性紫癜肾炎，患者多有过敏史，临床出现特征性皮肤紫癜，肾脏病变多在紫癜发生后数周内出现；病毒相关性肾炎，患者应有慢性乙型或丙型肝炎病毒感染史，有病毒抗原、抗体或病毒核酸检测阳性；糖尿病肾病，患者伴有糖代谢异常病史，并常合并视网膜等糖尿病微血管病变，实验室检查空腹血糖和糖化血红蛋白超出正常值范围等；如为淀粉样变，患者血清和（或）尿液可检测到异常的轻链，肾脏病理上的特异性改变及刚果红染色阳性，便可确诊。

思路 2：遗传性肾炎（Alport 综合征）：本病常起病于青少年，患者常有肾炎家族史，临床出现眼（球形晶状体）、耳（神经性耳聋）、肾异常等常可确诊。

思路 3：其他原发性肾小球病：①无症状性血尿和（或）蛋白尿：临床上轻型慢性肾炎应与无

学习笔记

症状性血尿和(或)蛋白尿相鉴别,后者主要表现为无症状性血尿和(或)蛋白尿,无水肿、高血压和肾功能减退;②感染后急性肾炎:有前驱感染并以急性发作起病的慢性肾炎需与该病相鉴别。二者的潜伏期不同,血清补体 C3 的动态变化有助鉴别;此外,二者疾病转归不同,慢性肾炎无自愈倾向,呈慢性进展。

思路 4:原发性高血压肾损害,高血压继发肾损害发生较晚,病史对鉴别有一定意义。原发性高血压肾损害患者先有较长期高血压,其后再出现肾损害,临床上远端肾小管功能损伤较肾小球功能损伤早,尿改变轻微,仅少量蛋白,罕见有持续性血尿和红细胞管型,常有高血压其他靶器官的并发症。

思路 5:慢性肾盂肾炎,慢性肾盂肾炎晚期,可有较大量的蛋白尿和高血压,有时与慢性肾炎难以鉴别。前者多见于女性,有反复发作的泌尿系统感染史。尿有形成分分析和尿细菌培养有助于确诊。慢性肾盂肾炎患者有形成分均多见白细胞增多,细菌培养常为阳性,肾功能损害多以肾小管损害为主可以鉴别。

思路 6:慢性肾炎急性发作应与急性肾炎相鉴别。前者急性发作多见于成人,常见于感染后 2~3 日内出现临床症状,常有肾炎史或曾有过血尿、水肿、高血压等症状,病情多迁延,且常伴有程度不同贫血、肾功能不全等表现。而急性肾炎常有前驱感染,1~3 周后才出现血尿、蛋白尿、水肿、高血压等症状,血中补体 C3 降低(8 周内可恢复),肾穿刺活体组织检查可作鉴别。

知识点

慢性肾炎诊断与鉴别诊断的实验室检查

由于慢性肾炎临床表现、病理类型及疾病种类的多样性,给疾病诊断及鉴别诊断带来一定困难,要特别注意根据各自特点加以鉴别,防范误诊。

肾脏具有强大的储备能力,早期肾脏病变往往缺少明显的症状和体征,诊断很大程度上依赖实验室检测,由于多数检测项目特异性不强,因此,结合临床选择相应检查项目和项目组合很有必要。

尿常规检查是早期发现慢性肾炎的重要检测手段,根据其检测结果可初步判断有无肾脏疾患;根据尿蛋白检测结果,可以判断其是肾小球性、肾小管性,还是混合性蛋白尿;尿红细胞形态分析,对血尿患者可以用来判断血尿的来源,帮助鉴别肾小球疾病和非肾小球疾病;尿液的微量蛋白系列的检测,对早期发现糖尿病、高血压病、老年人肾小球及肾小管的损害,及时采取必要的干预治疗非常必要;实验室免疫学和分子生物学检测,特别是肾活检的病理检验可以协助我们明确诊断各种继发性肾脏疾病,制订合理的治疗方案。

【问题 5】慢性肾炎进行临床处置过程中实验室能提供哪些帮助?

慢性肾炎的治疗应以防止或延缓肾功能进行性恶化,改善或缓解临床症状以及防治心脑血管合并症为主要目的,而不以消除尿红细胞或轻度蛋白尿为目标,应采用综合治疗措施。

思路 1:积极控制高血压并减少尿蛋白

高血压和蛋白尿是加速肾功能恶化,促进肾小球硬化的主要因素,因此积极控制高血压、降低蛋白尿是治疗的重要环节。其目标是血压应该控制在 130/80mmHg 理想范围、尿蛋白最好降低在 <1g/d 水平。在使用具有肾保护作用、能延缓肾功能恶化的降压药物时,要随时监测尿蛋白控制情况,并将血压控制满意。

思路 2:慢性肾炎常有钠、水潴留引起的血容量依赖性高血压,因此,患者应限制钠摄入量;降压药物也应该在限制钠饮食的基础上进行,可选择噻嗪类利尿药,噻嗪类无效时可改用袢利尿药,但不宜大量或长期使用。常用降压药物有血管紧张素转换酶抑制药(ACEI),除具有降低血压作用外,还有减少尿蛋白和延缓肾功能恶化的肾保护作用,应先优选。肾功能不全患者应

学习笔记

用 ACEI 或血管紧张素Ⅱ受体拮抗药(ARB)要防止高血钾和血肌酐升高,血肌酐大于 264μmol/L(3mg/dl)时务必在严密观察下谨慎使用。此外,慢性肾炎临床处置过程中也要动态检查尿蛋白、血电解质、CO_2 结合力以及肝脏功能等,以及时发现药物对肾脏和肝脏功能的损害和影响。

知识点

慢性肾炎治疗中的实验室检查

慢性肾炎患者服用保钾利尿药(螺内酯、氨苯蝶啶)或呋塞米,可单独或联合应用,要逐渐消肿,实验室应监测血电解质水平,以防止水、电解质紊乱。

慢性肾炎使用单一药物治疗,疗效常不满意,联合疗法常采用抗凝药物(肝素、双嘧达莫)、抗氧化剂(大剂量维生素 E、SOD)、中药(活血化瘀、清热解毒、利尿消肿),在治疗过程中应进行实验室凝血功能指标检测,以防凝血功能紊乱的发生。

第二节　肾病综合征

肾病综合征(nephrotic syndrome,NS)是指:尿蛋白超过 3.5g/d;血浆白蛋白低于 30g/L;水肿;血脂升高。其中前两项为诊断所必需。肾病综合征可分为原发性和继发性两大类,可由多种不同病理类型的肾小球疾病所引起。

病历摘要:

患者男,42 岁。主因"双下肢水肿 3 个月,加重 3 天伴颜面部水肿"来诊。患者 3 个月前无明显诱因下自觉双下肢水肿,伴麻木沉重感,未予重视,3 天前下肢水肿症状加重,伴有颜面部水肿,时有腰酸不适,小便量约每日 1200ml,颜色正常,泡沫较多,无发热畏寒,无头晕乏力,无肉眼血尿、乳糜尿。大便正常。有高血压病史 1 年,平素血压控制不良。否认糖尿病、冠心病、慢性肾病等病史。否认传染病史、手术外伤史、过敏史。父母及其他直系亲属身体健康,无肾脏相关疾病。查体:T 36.8℃,P 85 次 / 分,R 18 次 / 分,BP 165/105mmHg,颜面部水肿,无皮疹和发绀,浅表淋巴结未触及,巩膜不黄,颈软,颈静脉无怒张,心界不大,心率 85 次 / 分,腹平软,肝脾未触及,移动性浊音(-),双肾及肝区叩痛(-),肠鸣音存在,无亢进,双肾动脉区未闻及血管杂音。脊柱正常生理弯曲存在。双下肢水肿(++)。

【问题 1】通过上述问诊与查体,该患者可疑的诊断是什么?需与哪些疾病鉴别诊断?

患者中年男性,双下肢水肿伴颜面部水肿,小便泡沫增多,有高血压病史,平素血压控制不良。根据患者主诉、症状、个人史,高度怀疑肾病综合征(nephrotic syndrome,NS),其诊断标准是:①24 小时尿蛋白超过 3.5g;②血浆白蛋白低于 30g/L;③水肿;④血脂升高。其中①②两项为诊断所必需。

鉴别诊断:①过敏性紫癜肾炎;②系统性红斑狼疮肾炎;③乙型肝炎病毒相关性肾炎;④糖尿病肾病;⑤肾淀粉样变性;⑥骨髓瘤性肾病。

知识点

肾病综合征主要生物化学表现

1. 大量蛋白尿　由于肾小球滤过屏障发生异常所致。
2. 低蛋白血症　主要是血白蛋白浓度降低(<30g/L)。

学习笔记

3. 血浆中，相对分子质量较小的IgG含量下降，分子量较大的IgM相对增高。血浆中其他大分子物质如纤维蛋白原，α_2巨球蛋白等血浆浓度增高。

4. 高脂血症　几乎各种脂蛋白成分均增加。

5. 高凝状态　血浆中一些凝血因子相对分子质量较大，不能从肾小球滤过，而体内合成又相对增加。分子量较小的抗凝蛋白，如抗凝血酶等却从肾小球滤过丢失过多。

6. 水肿　水肿的出现，其严重程度一般与低蛋白血症的程度呈正相关。

知识点

肾病综合征主要病理生理改变

1. 大量蛋白尿　正常生理情况下，肾小球滤过膜具有分子屏障作用，这些屏障作用受损致使原尿中蛋白含量增多，当其增多明显超过近曲小管重吸收量时，形成大量蛋白尿。在此基础上，凡是增加肾小球内压力及导致高灌注、高滤过的因素（如高血压、高蛋白饮食或大量输注血浆蛋白）均可加重尿蛋白的排出。

2. 血浆蛋白变化　肾病综合征时大量白蛋白从尿中丢失，促进肝脏代偿性合成蛋白质增加，同时由于近端肾小管摄取滤过蛋白增多，也使肾小管分解蛋白增加。当肝脏白蛋白合成增加不足以克服丢失和分解时，则出现低白蛋白血症。此外，肾病综合征患者因胃肠道黏膜水肿导致食欲减退、蛋白质摄入不足、吸收不良或丢失，也是加重低白蛋白血症的原因。除血浆白蛋白减少外，血浆的某些免疫球蛋白如IgG和补体成分、抗凝及纤溶因子、金属结合蛋白及内分泌激素结合蛋白也可减少，尤其是肾小球病理损伤严重，大量蛋白尿和非选择性蛋白尿时更为显著。患者易产生感染、高凝状态、微量元素缺乏、内分泌紊乱和免疫功能低下等并发症。

3. 水肿　肾病综合征时低白蛋白血症、血浆胶体渗透压下降，使水分从血管腔内进入组织间隙，是造成肾病综合征水肿的基本原因。后由于肾灌注不足，激活肾素-血管紧张素-醛固酮系统，促进水钠潴留。而在静水压正常、渗透压减低的末梢毛细血管，发生跨毛细血管性液体渗漏和水肿。近年研究表明，约50%患者血容量正常或增加，血浆肾素水平正常或下降，提示某些原发于肾内钠、水潴留因素在肾病综合征水肿发生机制中起一定作用。

4. 高脂血症　流行病学研究表明肾病综合征患者发生动脉硬化风险增加。高胆固醇和（或）高甘油三酯血症，血清中LDL、VLDL浓度增加，常与低蛋白血症并存。脂蛋白a也会增高，病情缓解时恢复正常。其发生机制与肝脏合成脂蛋白增加和脂蛋白分解减少相关，目前认为后者可能是高脂血症更为重要的原因。

【问题2】为明确诊断，应进行哪些检查？

为明确诊断肾病综合征，还应进行肾功能、血脂、血浆总蛋白及白蛋白、尿蛋白的检查。鉴别诊断方面，通过询问皮肤紫癜病史，可与过敏性紫癜肾炎相鉴别。自身抗体检查可作为与系统性红斑狼疮肾炎鉴别依据。通过血清乙型肝炎病毒抗原或核酸检测可排除乙型肝炎病毒相关性肾炎；若乙肝抗原阳性，可根据有无肾小球肾炎临床表现、并除外狼疮肾等继发肾小球肾炎后，结合肾活检切片中乙肝病毒抗原的检测作出鉴别诊断。糖尿病肾病多有10年以上糖尿病病史，早期可出现尿微量蛋白增加，以后逐渐发展成大量蛋白尿，如既往有相关实验室检测结果则鉴别较易。肾淀粉样变性需肾活检确诊，该病少见且为全身多器官受累的一部分，可作为排他诊断。多发性骨髓瘤性肾病好发于中老年，男性多见，血清及尿蛋白电泳可助诊断，骨髓细胞学检查可确诊。

思路：首先明确肾病综合征的诊断。诊断包括三个方面：首先明确是否为肾病综合征；然后确认病因，必须首先除外继发性病因和遗传性疾病，才能诊断为原发性肾病综合征，最好能同时

学习笔记

进行肾活检作出病理诊断；此外，需要判断有否并发症。如诊断为继发性，还应明确原发病是什么。多种不同病理类型的肾小球疾病均可引起肾病综合征。

知识点

肾病综合征的主要并发症

原发性肾病综合征常见并发症：好发于儿童的微小病变型肾病；好发于青少年的系膜增生性肾小球肾炎、微小病变型肾病、局灶节段性肾小球硬化、系膜毛细血管性肾小球肾炎；好发于中老年的膜性肾病。

常见的继发性肾病综合征：①结缔组织病，如SLE、结节性多动脉炎等；②心血管疾病，如恶性高血压、缩窄性心包炎、肾静脉血栓形成等；③血液病，如过敏性紫癜、溶血尿毒综合征、多发性骨髓瘤等；④代谢性疾病，如糖尿病、原发性高尿酸血症、肾淀粉样变性等；⑤感染性疾病，如乙肝相关性肾炎、三日疟、血吸虫病等；⑥中毒，如汞、植物毒素中毒等；⑦先天遗传性疾病，如家族遗传性肾炎、先天性肾病综合征等。

患者检验结果：总蛋白53g/L，白蛋白29g/L，肌酐57μmol/L，葡萄糖5.74mmol/L，甘油三酯6.32mmol/L，胆固醇10.09mmol/L；血沉56mm/h；自身抗体指标均阴性；乙肝表面抗原阴性；尿白蛋白5060mg/L，尿转铁蛋白371mg/L，尿免疫球蛋白267mg/L，尿α_1-微球蛋白50.8mg/L，尿β_2-微球蛋白0.6mg/L；24小时尿蛋白定量4.23g；血尿免疫固定电泳未见异常条带。肾活检病理诊断：膜性肾病Ⅱ期，伴硬化(3/7)。

【问题3】根据实验室检查结果，应作出怎样的诊断？依据是什么？

根据以上检验结果，该患者可做以下诊断：①肾病综合征(膜性肾病Ⅱ期，伴硬化)；②高血压病2级。

诊断依据：①尿蛋白>3.5g/L，血浆白蛋白<30g/L，双下肢及颜面部水肿，血胆固醇及甘油三酯均升高；②排除紫癜肾、狼疮肾、乙肝相关性肾炎、糖尿病肾病、肾淀粉样变性、骨髓瘤性肾病及遗传等继发因素；③肾活检病理提示膜性肾病。

知识点

原发性肾病综合征的肾小球疾病主要病理类型

引起原发性肾病综合征的肾小球疾病主要病理类型有：微小病变型肾病、局灶阶段性肾小球硬化、膜性肾病、系膜增生性肾小球肾炎及系膜毛细血管性肾小球肾炎。不同的病理类型具有不同的病例和临床特征(图5-2-1)。

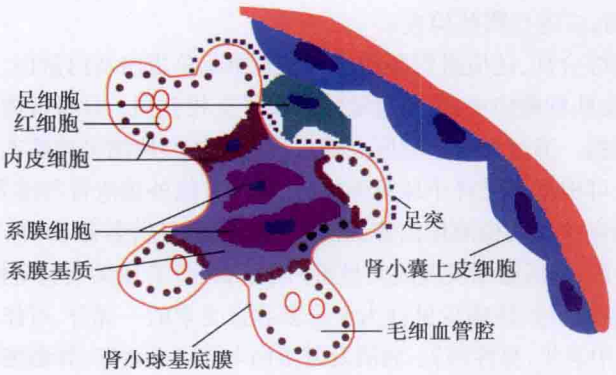


图5-2-1　正常毛细血管模式图

学习笔记

思路 1：微小病变型肾病

微小病变型肾病（minimal change nephrosis，MCN），光镜下肾小球基本正常，近曲小管上皮细胞可见脂肪变性。免疫病理检查阴性。特征性改变和本病的主要诊断依据为电镜下有广泛的肾小球脏层上皮细胞足突融合。

微小病变型肾病占儿童原发性肾病综合征的 80%~90%，成人原发性肾病综合征 10%~20%。本病男性多于女性，儿童高发，成人发病率降低，但 60 岁后发病率又呈现小高峰。典型的临床表现为肾病综合征，仅 15% 左右患者伴有镜下血尿。

本病 30%~40% 病例可能在发病后数月内自发缓解。90% 病例对糖皮质激素治疗敏感，治疗两周左右开始利尿，尿蛋白可在数周内迅速减少至阴性，血清白蛋白逐渐恢复正常水平，最终可达临床完全缓解。

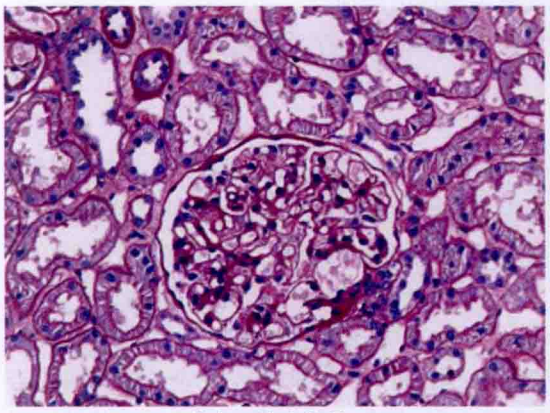
思路 2：局灶阶段性肾小球硬化

局灶阶段性肾小球硬化（focal glomerulosclerosis）光镜下可见病变呈局灶、节段分布，表现为受累节段的硬化（系膜基质增多、毛细血管闭塞、球囊粘连等），相应的肾小管萎缩、肾间质纤维化。免疫荧光显示 IgM 和 C3 在肾小球受累节段呈团块状沉积。电镜下可见肾小球上皮细胞足突广泛融合、基底膜塌陷，系膜基质增多，电子致密物沉积。

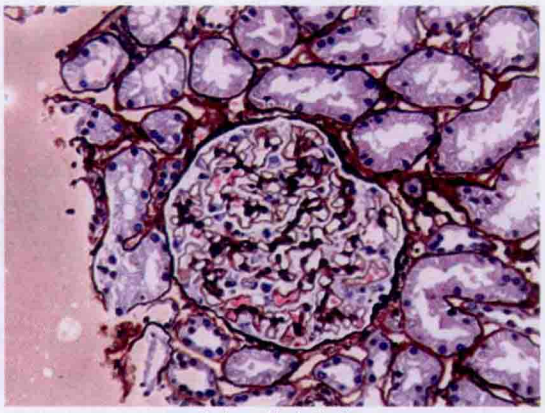
该病理类型占我国原发性肾病综合征的 5%~10%。本病好发于青少年男性，多为隐匿起病，部分病例可由微小病变型肾病转变而来。大量蛋白尿及肾病综合征为其主要临床特点，约 3/4 患者伴有血尿，部分可见肉眼血尿。本病确诊时约半数患者有高血压，约 30% 有肾功能减退。

思路 3：膜性肾病

膜性肾病（membranous nephropathy，MN）光镜下可见肾小球弥漫性病变，早期仅于肾小球基底膜上皮侧见少量散在分布的嗜复红小颗粒，进而有钉突形成（嗜银染色），基底膜逐渐增厚（图 5-2-2）。免疫病理显示 IgG 和 C3 细颗粒状沿肾小球毛细血管壁沉积。



PAS 染色　放大倍数 400×



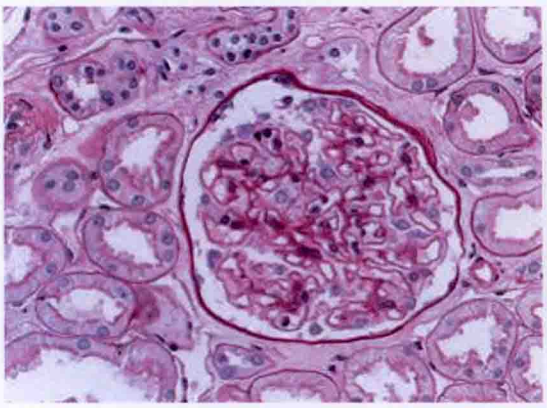
PASM 染色　放大倍数 400×

图 5-2-2　光镜下膜性肾病（Ⅰ期）

本病男性多于女性，好发于中老年。通常起病隐匿，约 80% 表现为肾病综合征，约 30% 可伴有镜下血尿，一般无肉眼血尿。常在发病 5~10 年后逐渐出现肾功能损害。本病极易发生血栓栓塞并发症，肾静脉血栓发生率可高达 40%~50%。

膜性肾病约占我国原发性肾病综合征（图 5-2-3）的 20%，20%~35% 患者的临床表现可自发缓解，60%~70% 的早期膜性肾病患者（尚未出现钉突）经糖皮质激素和细胞毒药物治疗后可达临床缓解。但随疾病逐渐进展，病理变化加重，疗效则较差。本病多呈缓慢进展，我国、日本和我国香港特区的研究显示，10 年肾脏存活率为 80%~90%，明显较西方国家

学习笔记



PAS 染色　放大倍数 400×

PASM 染色　放大倍数 400×

图 5-2-3　光镜下肾病综合征（Ⅱ期）

预后好。

思路 4：系膜增生性肾小球肾炎

系膜增生性肾小球肾炎（mesangial proliferative glomerulonephritis，MsPGN）光镜下可见肾小球系膜细胞和系膜基质弥漫增生，依其增生程度可分为轻、中、重度。免疫病理检查可将本组疾病分为 IgA 肾病及非 IgA 系膜增生性肾小球肾炎。前者以 IgA 沉积为主，后者以 IgG 或 IgM 沉积为主，均常伴有 C3 于肾小球系膜区或系膜区及毛细血管壁呈颗粒状沉积。电镜下显示系膜增生，在系膜区可见到电子致密物。

本组疾病在我国发病率高，约占原发性肾病综合征的 30%，显著高于西方国家。本病男性多于女性，好发于青少年。约 50% 患者有前驱感染，可于上呼吸道感染后急性起病，甚至表现为急性肾炎综合征，约 70% 伴有血尿。而 IgA 肾病患者几乎均有血尿，约 15% 出现肾病综合征。随肾脏病变程度由轻至重，肾功能不全及高血压的发生率逐渐增加。

本组疾病呈肾病综合征者，对糖皮质激素及细胞毒药物的治疗反应与其病理改变轻重相关，轻者疗效好，重者疗效差。

思路 5：系膜毛细血管性肾小球肾炎

系膜毛细血管性肾小球肾炎（membrano-proliferative glomerulonephritis，MPGN）光镜下较常见的病理改变为系膜细胞和系膜基质弥漫重度增生，可插入到肾小球基底膜和内皮细胞之间，使毛细血管袢呈“双轨征”。免疫病理检查常见 IgG 和 C3 呈颗粒状系膜区及毛细血管壁沉积。电镜下系膜区和内皮下可见电子致密物沉积。

该病理类型占我国原发性肾病综合征的 10%~20%。本病男性多于女性，好发于青壮年。约 1/4~1/3 患者常在上呼吸道感染后，表现为急性肾炎综合征；50%~60% 患者表现为肾病综合征，几乎所有患者均伴有血尿，其中少数为发作性肉眼血尿；其余少数患者表现为无症状性血尿和蛋白尿。肾功能损害、高血压及贫血出现早，病情多持续进展。50%~70% 病理的血清补体 C3 持续降低，对提示本病有重要意义。

本病所致肾病综合征治疗困难，糖皮质激素及细胞毒药物治疗可能仅对部分儿童病例有效，成人疗效差。病变进展较快，发病 10 年后约有 50% 的病例进展至慢性肾衰。

思路 6：IgA 肾病

IgA 肾病（IgA nephropathy，IgAN），又称 Berger 病。当肾病综合征患者伴有血尿症状时，除了系膜增生性肾小球肾炎，还应考虑到 IgA 肾病可能。

学习笔记

知识点

IgA 肾病的流行病学特点

IgA 肾病是指肾小球系膜区以 IgA 或 IgA 沉积为主的原发性肾小球疾病，是肾小球源性血尿最常见的病因，是目前世界上常见的原发性肾小球疾病，占全部肾活检病例的 10%~40%，占原发性肾小球疾病的 20%~50%。亚洲地区最高，占肾活检病例的 30%~40%，欧洲地区占 20%；北美为 10%。白人、黄种人明显高于黑人的发病率。中国 IgA 肾病发病率占原发性肾小球疾病的 26%~34%，男女之比大约是 2∶1。是我国最常见的肾小球疾病，已成为终末期肾病（ESRD）的重要病因之一。

IgA 肾病病理变化多种多样，病变程度轻重不一，可涉及肾小球肾炎几乎所有的病理类型：轻微病变性肾小球肾炎、新月体性肾小球肾炎、局灶增生性肾小球肾炎、毛细血管内增生性肾小球肾炎、系膜毛细血管性肾小球肾炎、新月体性肾小球肾炎、局灶性节段性肾小球硬化和增生硬化性肾小球肾炎等。

知识点

IgA 肾病牛津分型和病理特点

目前广泛采用 IgA 肾病牛津分型，具体内容涵盖：系膜细胞增生（M0/1）、内皮细胞增生（E0/1）、节段性硬化或粘连（S0/1）及肾小管萎缩或肾间质纤维化（T0/1/2）等 4 项主要病理指标。

免疫荧光以 IgA 为主呈颗粒样或团块样在肾小球系膜区分布，伴或不伴毛细血管袢分布，常伴有 C3 沉积，一般无 C1q、C4 沉积。亦可有 IgG、IgM 沉积，与 IgA 的分布相似，但强度较弱。

电镜下可见电子致密物主要沉积于系膜区，有时呈巨大团块样，具有重要辅助诊断价值。

IgA 肾病可包含原发性肾小球疾病的各种临床表现，血尿最常见。好发于青少年，男性多见。起病前多有感染，常为上呼吸道感染，其次为消化道、肺部和泌尿道感染，伴或不伴轻度蛋白尿，无水肿、高血压和肾功能减退，临床称之为无症状性血尿和（或）蛋白尿，占 IgA 肾病的 60%~70%。

反复发作肉眼血尿患者发作间期可有持续尿检异常，但尿蛋白一般 <1.5g/24h，最多不超过 2.0g/24h。无明显低蛋白血症，肾功能正常或轻度异常。

少数肉眼血尿发作的 IgA 肾病患者（<5%）可合并急性肾衰竭（ARF），肾活检呈弥漫性新月体形成或伴肾小球毛细血管袢坏死，或肾小管腔内有大量红细胞管型，肾功能进行性恶化，可合并高血压，血肌酐升高。

国内报道 IgA 肾病表现肾病综合征者显著高于国外报道，为 10%~20%，大量蛋白尿和水肿为主要表现。治疗反应及预后与病理改变程度有关。

IgA 肾病早期高血压并不常见（<5%~10%），随着病程延长，高血压发生率增高，部分 IgA 肾病患者可呈恶性高血压，为继发性肾实质性高血压的最常见病因之一。

【问题 4】罹患该病患者的典型实验室检查特点是什么？

肾病综合征有 4 个主要特征，即大量蛋白尿、低蛋白血症、高脂血症和全身显著水肿，其实验室诊断有以下特点。

（1）尿液异常，即大量蛋白尿：一般定义为 24 小时尿蛋白超过 3.5g，多以白蛋白为主，球蛋

学习笔记

白也可明显增加。主要由于肾小球毛细血管壁电荷屏障和分子屏障破坏，血浆蛋白大量流入尿中丢失，产生大量蛋白尿。尿有形成分中几乎无细胞成分和管型，有时可发现椭圆形脂肪小体，这是由于高脂蛋白血症导致脂肪沉积在脱落的肾小管上皮细胞所致，显微镜下形态类似成串的葡萄。

(2) 低蛋白血症，是肾病综合征必备的第二特征。由于尿中蛋白大量丢失，当肝脏合成白蛋白的代偿作用不足以弥补尿蛋白的丢失量时，就会出现低蛋白血症，血清总蛋白和白蛋白均显著减低，分别低于 60g/L 和 30g/L。而且多种血浆蛋白成分可发生变化，一些低分子量的蛋白，如转铁蛋白、α_1- 微球蛋白等大量丢失，IgG 水平明显下降，导致低蛋白血症。但是，分子量较大的一些蛋白质，尤其是一些急性相蛋白，如凝血因子纤维蛋白原、FⅤ、FⅦ、FⅧ、FⅩ可升高、α_2 球蛋白、β 球蛋白和巨球蛋白(IgM、IgA、IgE)合成增加，血浆中浓度升高可能与肝脏合成增加有关，导致患者红细胞沉降率(血沉)加快。同时伴有红细胞聚集性增高；血小板数目增加、功能亢进；抗凝血酶减少、活性降低；蛋白 C 和蛋白 S 浓度正常或增高，但活性下降，均有助于产生高凝状态。尿中纤维蛋白降解产物(FDP)和 D- 二聚体增高增加，反映了肾小球通透性改变。总之，血中促凝血因子增加，而抗凝及纤溶作用受损，加之高胆固醇血症的联合影响，致使血浆黏滞度增加，当血管内皮受损时，易产生自发性血栓，约 10%~40% 的患者发生肾静脉血栓。

(3) 高脂血症：由于血浆蛋白丢失、脂代谢异常，血浆极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein，VLDL)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein，LDL)和脂蛋白(α)[lipoprotein(α)，Lp(α)]升高，高密度脂蛋白(high density lipoprotein，HDL)降低或变化不大；血浆总胆固醇(total cholesterol，TC)、胆固醇酯(cholesterol ester，CE)和磷脂(phospholipid，PL)增高，甘油三酯(triacylglycerol，TG)可增高，LDL/HDL 比率升高，使发生动脉硬化性合并症危险增大。脂蛋白异常与蛋白尿或低蛋白血症的程度相关。有研究认为高脂血症和血栓形成与进行性肾小球硬化有关。

(4) 其他：转运蛋白也减少，如携带重要金属离子(铜、铁、锌)的蛋白下降引起微量元素降低；内分泌激素结合蛋白减少引起内分泌紊乱，如有活性的 25-(OH)维生素 D_3 结合的蛋白下降，可导致继发性甲状旁腺功能亢进，甲状腺功能低下，钙磷代谢紊乱，引发肾性骨病。转铁蛋白减少可致小细胞低色素性贫血发生；持续性转铁蛋白减少，使糖皮质激素在受治患者体内游离和结合的激素比率改变，导致药物代谢和疗效发生改变。

【问题 5】何种实验室检查对该疾病有较好诊断意义？其实验室检查有何局限性？

血清白蛋白及血脂实验室检查对肾病综合征诊断很重要，但缺乏疾病特异性。尿蛋白检查对诊断、治疗及其观察预后均具有重要意义。尿蛋白不同检查方法各具不同临床价值和局限性。如：

(1) 尿多联试带干化学法：该方法具备简便、快速，可定性或半定量等优点，目前应用广泛，可初步筛查有无蛋白尿。但其仅为筛查试验，干扰因素多，如 pH、尿蛋白质种类、细菌污染以及其他一些干扰物质(如药物等的影响)等。试带法主要对白蛋白敏感，球蛋白的敏感度仅为白蛋白的 1/100~1/50，当 5.5g/L 球蛋白时仅为弱阳性反应，因而对肾病晚期出现高球蛋白尿(非选择性蛋白尿)时可呈假阴性。此外，当使用大剂量青霉素时，可出现假阴性，应特别注意。

(2) 24 小时尿蛋白定量：随机尿蛋白检验受尿量、标本留取时间及生物节律的影响，因此对临床已出现蛋白尿的患者应尽量排除上述影响因素，观察 24 小时内尿蛋白量的变化，对了解病情、观察疗效意义更大。成人 <0.15g/24h 或者 <0.1g/L，青少年 <0.3g/24h。

1) 大于参考区间上限称为蛋白尿，比定性试验结果更具有诊断意义。

2) 蛋白尿轻重程度分级：①轻度蛋白尿：成人尿蛋白 >0.15~1.0g/24h；②中度蛋白尿：成人尿蛋白 >1.0~3.5g/24h；③重度蛋白尿：成人尿蛋白 >3.5g/24h，对诊断肾病综合征有重要意义。

3) 肾脏疾病疗效监测：在肾病综合征治疗过程中，对尿蛋白总量变化的监测优于随机尿蛋

学习笔记

白定性试验，尤其是对住院患者更为重要。治疗有效者，蛋白尿程度减轻或消失，复发时出现蛋白尿或蛋白排量增多。连续观察对疗效监测更有意义。该方法局限性在于：定量结果准确与否主要取决于尿标本的正确收集，若尿液收集不完全、混匀不充分、防腐剂添加不当或未加防腐剂导致细菌生长等，都可致定量误差。

(3) 尿蛋白电泳：蛋白尿可缘于多种病因，尿蛋白定性或定量检验只能判断蛋白的排出量及估计病情的轻重。尿蛋白电泳(electrophoresis)可通过对尿蛋白组分的分析，确定尿蛋白的类型，并有助于病因的确定和预后判断，包括醋酸纤维膜电泳、琼脂糖电泳、SDS- 聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)。

1) 醋酸纤维膜电泳：采用浓缩尿液，从阴极至阳极各种蛋白及其比例分别约为白蛋白(37.9%)、α_1 球蛋白(27.3%)、α_2 球蛋白(19.5%)、β 球蛋白(8.8%)、γ 球蛋白(3.3%)、Tamm-Horsfall 黏蛋白(1%~2%)。

2) 聚丙烯酰胺电泳(SDS)：可以用来鉴别肾小球与肾小管蛋白尿，能按分子量大小分离尿中蛋白，以区分生理性、肾小球性、肾小管性或混合性蛋白尿。可采用非浓缩尿液，从阳极至阴极分别为低分子量蛋白(α_1- 微球蛋白、溶菌酶等)、中分子量蛋白(主要是白蛋白)、大分子量蛋白(主要是 γ 球蛋白)。

尿蛋白电泳可将尿中蛋白质分类为：

1) 肾小球性蛋白尿(glomerular proteinuria)：常以白蛋白为主。多为电荷屏障损伤所致，通常称为选择性蛋白尿；当分子屏障被破坏时，尿中可以出现除白蛋白以外更大分子的血浆蛋白，如 IgG 等无选择性地滤出，称为非选择性蛋白尿。常见于肾病综合征、急性肾小球肾炎、慢性肾小球肾炎早期、狼疮性肾炎、糖尿病肾病、肾小球动脉硬化等。肾小球性蛋白尿 24 小时尿蛋白定量常≥2g。

2) 肾小管性蛋白尿(tubular proteinuria)：此系肾小球滤膜正常，由于肾小管受损或功能紊乱时，抑制了近端肾小管对正常滤过的蛋白质的重吸收，导致小分子蛋白从尿中排出，包括 α_1- 微球蛋白、溶菌酶等。其特点是尿中蛋白含量较少，约 1~2g/24h，常见于肾小管疾病，如急性肾盂肾炎、肾移植、肾小管酸中毒、肾间质病变、溢出性蛋白尿，以及重金属与某些药物中毒等。

3) 混合性蛋白尿(mixed proteinuria)：肾脏病变同时累及肾小球和肾小管，大小分子量的蛋白质均大量增加，为混合性蛋白尿。可见白蛋白、α_1 球蛋白、α_2 球蛋白、β 球蛋白、γ 球蛋白均显著增加，常见于慢性肾炎晚期、尿毒症、急性肾衰竭、严重间质性肾炎等。

知识点

蛋白尿概念及来源

正常肾小球滤过膜只允许分子量 <70kD 蛋白质顺利通过，因此肾小球滤过的原尿中主要为小分子蛋白(如溶菌酶、β_2- 微球蛋白、轻链蛋白等)，而中分子白蛋白(69kD)和大分子(>90kD)的球蛋白不能通过。近曲肾小管能将原尿中 95% 的小分子蛋白重吸收，故正常尿液中蛋白含量极微(<150mg/24h)，其中 1/2 蛋白来自远端肾小管和髓袢升支上皮细胞分泌的 Tamm-Horsfall 蛋白以及其他尿道组织蛋白，另一半蛋白成分为白蛋白、免疫球蛋白、轻链、β_2- 微球蛋白和多种酶等血浆蛋白。正常人尿液中蛋白质定性试验不能测出，定量 <0.1g/L。当定性试验阳性或定量超过 0.1g/L 称为蛋白尿(proteinuria)。干化学法测定蛋白尿的半定量结果分别报告为阴性(negative，Neg.)、+(0.3g/L)、++(1.0g/L)、+++(5g/L)。根据蛋白尿产生的机制可分为肾前性、肾性、肾后性蛋白尿和生理性蛋白尿。

思路 1：肾前性蛋白尿

肾前性蛋白尿(prerenal proteinuria)多属于溢出性蛋白尿(overflow proteinuria)，是由于血

学习笔记

液流经肾脏前的疾病所致。因血浆中出现的异常增多的蛋白质超出肾小管重吸收能力所致的蛋白尿，如多发性骨髓瘤时大量的低分子量的异常轻链形成的本 - 周蛋白尿（Bence-Jone proteinuria）；由于组织细胞严重损伤后，组织细胞中蛋白质进入血液形成的肌红蛋白尿和溶血性贫血及挤压综合征导致的血红蛋白尿都属此类。

思路 2：肾性蛋白尿

主要由于肾脏疾病所致的蛋白尿称为肾性蛋白尿（renal proteinuria）。肾小球滤过膜由肾小球毛细血管内皮细胞、基底膜和脏层上皮细胞（足细胞）三部分组成。形成的滤过膜的屏障作用包括：①分子屏障：仅允许一定大小的蛋白分子通过；②电荷屏障：内皮及上皮细胞膜含涎蛋白，基底膜含硫酸类肝素共同组成了带负性电荷的屏障，从而阻止含负电荷的血浆白蛋白通过。其中任何一屏障损伤都可引起蛋白尿，肾小球性蛋白尿常以白蛋白为主。当分子屏障破坏时，尿中还可以出现除白蛋白以外更大分子血浆蛋白，如免疫球蛋白、补体（C3）等，形成所谓肾小球性蛋白尿（glomerular proteinuria）。如果肾小管的重吸收功能受损，则尿中小分子蛋白增多，形成所谓肾小管性蛋白尿。若病变同时累及肾小球和肾小管而导致的蛋白尿，则出现混合性蛋白尿（mixed proteinuria），可见于肾小球肾炎或肾盂肾炎的晚期，以及可同时累及肾小球和肾小管的全身性疾病，如糖尿病、系统性红斑狼疮等。

思路 3：肾后性蛋白尿

肾后性蛋白尿多为偶然性蛋白尿，尿中混有脓血及黏液等成分而出现尿蛋白阳性，常见于急性膀胱炎、尿道炎或有阴道分泌物或精液混入尿中，一般肾脏无病变，故亦称为假性蛋白尿（false proteinuria）。

思路 4：生理性蛋白尿

生理性蛋白尿可分为功能性蛋白尿（functional proteinuria）和直立性蛋白尿（orthostatic proteinuria）等。功能性蛋白尿为一过性、微量的尿蛋白，常与剧烈运动、寒冷刺激、交感神经兴奋等有关，上述原因去除后，尿蛋白可以恢复正常。此外，直立性（或称体位性）蛋白尿与长期站立、脊柱对肾脏的挤压有关，卧位后可以消失。生理性蛋白尿的蛋白定性试验多为阳性，<0.5g/24h，多见于青少年。患者发现有蛋白尿之后，应首先排除生理性蛋白尿，如果蛋白尿为持续性或阳性程度明显增加，则为病理性蛋白尿。

思路 5：本 - 周蛋白尿

本 - 周蛋白（Bence-Jonces protein，BJP）是免疫球蛋白的轻链或其聚集体，故又称轻链尿，分子量小且能自由通过肾小球滤过膜，当浓度超过近端肾小管重吸收能力时，就可从尿中排出。此种蛋白在一定的 pH 条件下加热至 40~60℃时有沉淀发生，温度升高至 100℃时，沉淀消失，再冷却时又可重现沉淀。基于 BJP 的此特性检验方法为加热凝固法，但不够敏感，目前用免疫固定电泳法，其敏感度和特异性有较大提高。

尿中游离轻链（BJP）的检测对诊断轻链病是不可缺少的步骤，对多发性骨髓瘤等单克隆免疫球蛋白病的诊断和预后判断有一定意义。

患者入院后经保肾、降压、利尿治疗 5 天后，双下肢及颜面部水肿明显减轻，血压稳定在 140/95mmHg 左右。3 小时前患者无明显诱因下出现右侧腰肋部剧痛，小便量少色深，伴右下肢轻度水肿，改变体位水肿不消失。

【问题 6】出现上述症状应考虑发生什么情况？还可能发生何种并发症？应做哪些实验室检测辅助诊断？

诊断依据：根据患者为中年男性，有高血压、高血脂、大量蛋白尿、低白蛋白血症，结合病理诊断报告，肾病综合征（膜性肾病）诊断明确，经保肾、降压、利尿治疗后症状好转，血压控制尚可，无诱因下出现剧烈腰肋部疼痛，伴尿色加深、尿量减少，不对称下肢水肿，应考虑肾血管栓塞可

学习笔记

能。为明确诊断，需急行肾功能、尿常规、肾血管造影检查。

思路 1：患者确诊是膜性肾病，其肾静脉血栓并发症发生率可高达 40%~50%，出现腰肋部剧痛应首先考虑该情况。

产生的原因可能由于血液浓缩（有效血容量减少）及高脂血症造成血液黏稠度增加。此外，因某些蛋白质从尿中丢失，肝代偿性合成蛋白增加，引起机体凝血、抗凝和纤溶系统失衡，加之肾病综合征时血小板过度激活、应用利尿药和糖皮质激素等进一步加重高凝状态。因此，肾病综合征容易发生血栓、栓塞并发症，其中肾静脉血栓最为常见，发生率约 10%~50%，其中 3/4 病例慢性形成，临床并无症状；此外，肺血管血栓、栓塞，下肢静脉、下腔静脉、冠状血管血栓和脑血管血栓也不少见。血栓、栓塞并发症是直接影响肾病综合征治疗效果和预后的重要原因。实验室可通过检测凝血指标诊断及预防，如凝血酶原时间（PT）、部分凝血活酶时间（APTT）、纤维蛋白原、抗凝血酶（AT）、D-D 二聚体、PC 及 PS 等。

思路 2：感染

患者除发生静脉血栓外，由于蛋白质大量丢失、免疫功能紊乱及应用糖皮质激素治疗等，亦常见感染发生。其发生部位顺序为呼吸道、泌尿道及皮肤等。感染是肾病综合征的常见并发症，由于使用了糖皮质激素，感染的临床征象往往不明显，尽管目前有多种抗生素可供选择，但若治疗不及时或不彻底，感染仍是导致肾病综合征复发、疗效不佳、甚至造成死亡的主要原因之一。实验室可通过血培养及相应感染部位细菌培养，以及其他感染指标协助诊断。如血 CRP、白介素 -6（IL-6）及血清降钙素原（serum procalcitonin PCT）等。

思路 3：急性肾损伤

2012 年改善肾脏病整体预后工作组（KDIG0）推荐的急性肾损伤（acute kidney injury AKI）临床实践指南将 AKI 定义为：48 小时内血 SCr 上升 26.5≥μmol/L，或 7 日内 SCr 升至≥1.5 倍基线值，或连续 6 小时尿量 <0.5ml/（kg·h）经扩容、利尿后可得到恢复。肾病综合征患者可因有效血容量不足而致肾血流量下降，诱发肾前性氮质血症，少数病例可出现急性肾损伤，尤以微小病变型肾病者居多，发生多无明显诱因，表现为少尿甚或无尿，扩容利尿无效。实验室可检测 SC 或近年发现中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白（neutrophil gelatinase-associated lipocalin，NGAL）有研究表明 NAGL 在血肌酐升高前就可被检测到，其增高较其他指标更早，可用作 AKI 的早期诊断指标。

思路 4：蛋白质及脂肪代谢紊乱

长期低蛋白血症可导致营养不良、小儿生长发育迟缓；免疫球蛋白减少造成机体免疫力低下，易致感染；金属结合蛋白丢失可使微量元素缺乏；内分泌激素结合蛋白不足可诱发内分泌紊乱；药物结合蛋白减少可能影响某些药物的药代动力学（使血浆游离药物浓度增加、排泄加速），影响药物疗效。高脂血症增加血液黏稠度，促进血栓、栓塞并发症的发生，还将增加心血管系统并发症，并可促进肾小球硬化和肾小管 - 间质病变的发生，促进肾脏病变的慢性进展。

知识点

肾病综合征患者尿纤溶标志物检测的价值

纤维蛋白降解产物（fibrin degradation products，FDP）是纤维蛋白原或纤维蛋白在纤溶酶作用下的产物，属于肽类碎片。

健康人血浆中 FDP<10mg/L，尿中无 FDP。当血浆中 FDP 增高或泌尿系局部炎症时，渗出少量纤维蛋白（原），继而在局部纤溶酶作用后，尿中可出现 FDP；抑或肾小球病变时，滤过膜通透性增加，使血中 FDP 碎片从尿中排出。

原发性肾小球疾病肾小球局部凝血，微血栓形成和继发纤溶亢进，尿中 FDP 出现并进

学习笔记

行性升高，提示可能发生新月体肾炎，是抗凝治疗的指征，也常作为判断肾脏受损的有用指标。近年来，血浆 D- 二聚体测定广泛用作活动性血栓形成的分子标志物，尿 D- 二聚体也开始成为肾脏血栓形成的检验指标，FDP 与 D- 二聚体同时测定可能对判断肾脏病变及其原发性还是继发性纤溶有一定意义。

肾脏具有强大储备能力，早期肾脏病变往往很少有症状和体征，血清肌酐、尿素、尿酸在肾衰竭或肾脏严重损伤时才明显升高，在结果分析时尤应注意。对于肾病综合征患者，尿液蛋白质的检测在疾病的诊断、鉴别诊断、疗效监测以及预后评价方面均有重要作用。不同被检测物特点不同，在临床应用时的侧重点也不同。诊疗过程中必须密切观察肾功能的变化，如何在合适的时机选择合适的检测指标应用于肾病综合征的实验诊断，是检验医师应该掌握的内容，也是与临床医师沟通的重点。

第三节　急慢性肾衰竭

各种原因引起血肌酐在 48 小时内绝对值升高≥26.4μmol/L 或较基础值≥50% 或尿量 <0.5ml/(kg·h) 持续超过 6 小时，称为急性肾损伤(acute kidney injury，AKI)。急性肾衰竭时 AKI 严重阶段，主要表现为少尿、无尿、含氮代谢物在血中潴留，水、电解质及酸碱平衡紊乱。慢性肾衰竭(chronic kidney failure，CRF)是慢性肾脏病持续进展的共同结局，以代谢产物潴留，水、电解质及酸碱代谢失衡和全身各系统症状为表现的一种临床综合征。

学习笔记

病历摘要：

患者男，20 岁。因“突发腰痛 3 天，恶心、呕吐伴尿少 2 天”收住入院。患者 3 天前剧烈运动(长跑 4000m，继而打篮球 2 小时，未饮水)后感双侧腰部酸痛伴低热，2 天前出现恶心、呕吐胃内容物，尿量渐减少至 300ml/d，尿色黄，无血尿、酱油色尿等，无皮疹、关节痛。平素体健，无家族肾脏病史，无药物服用史，无特殊物质接触史。查体：T 37.5℃，BP 140/80mmHg，神志清，颜面部、眼睑、双下肢无水肿，心、肺、腹及神经系统检查未见异常。

【问题 1】通过上述问诊与查体，该患者可疑的诊断是什么？需与哪些疾病鉴别诊断？

根据患者病史特点，高度怀疑肾性急性肾损伤(acute kidney injury，AKI)、急性肾小管坏死(acute tubular necrosis，ATN)

鉴别诊断：①肾小球肾炎；②肾前性 AKI；③肾后性 AKI；④其他肾性 AKI。

思路 1：患者为年轻男性，既往无基础肾脏病史。本次起病急，2 天内突发少尿并有消化系统症状，无水肿，发病前存在可能引起肾缺血的诱因(剧烈运动和脱水)，符合肾性 AKI、ATN 的临床表现。

知识点

急性肾损伤的概念

急性肾损伤(acute kidney injury，AKI)以往称为急性肾衰竭(acute renal failure，ARF)，是指由多种病因引起的肾功能快速下降而出现的临床综合征。约 5% 住院患者可发生 AKI，在重症监护室(ICU)其发生率高达 30%，目前仍无特异治疗，死亡率高，AKI 是肾脏病中的急危重症，重在早期诊断、早期治疗。若 AKI 引起的肾灌注量减少持续 >6 小时，可损伤肾小管上皮细胞，引起急性肾小管坏死(acute tubular necrosis，ATN)。

思路 2：肾小球肾炎重症者、其他肾性 AKI 也有少尿等临床表现，但治疗和转归不同，因此必须作出鉴别诊断。

知识点

AKI 诊断标准

肾功能在 48 小时内突然减退，血清肌酐（serum creatinine，Scr）绝对值升高≥0.3mg/dl（26.5μmol/L），或 7 天内 Scr 增至≥1.5 倍基础值，或尿量 <0.5ml/（kg·h），持续时间 >6 小时。

思路 3：AKI 按病因可分为肾前性、肾性和肾后性三大类，病因不同，其治疗方法不同，因此需对 AKI 的病因进行鉴别诊断。

知识点

AKI 分类和病因

肾前性 AKI：血容量减少（体液丢失和失血）、有效动脉血容量减少、肾内血流动力学改变等；肾后性 AKI：急性尿路梗阻；肾性 AKI：肾实质损伤，包括肾小管、肾间质、肾血管和肾小球性疾病导致的损伤。其中，肾小管性 AKI 的常见病因是肾缺血或肾毒性物质损伤肾小管上皮细胞，可引起 ATN。

【问题 2】为明确诊断，应进行哪些检查？

为确诊肾性 AKI、ATN，并排除肾小球肾炎、肾前性 AKI、肾后性 AKI 及其他肾性 AKI，必须判断肾脏结构与功能障碍状态，并排除泌尿系统其他病理状况。因此须进行血常规、血生化、尿液分析及血清免疫学检查，以及肾脏超声检查，必要时应进行肾活检。

思路：AKI 预后与病因及并发症严重程度有关，早期诊断、及时干预能降低死亡率，最大限度地减轻肾损伤，促进肾功能恢复。

知识点

AKI 的分期标准

分期	血清肌酐	尿量
1 期	增至基础值 1.5~1.9 倍 或升高≥0.3mg/dl（26.5μmol/L）	<0.5ml/（kg·h），持续 6~12 小时
2 期	增至基础值 2.0~2.9 倍	<0.5ml/（kg·h），时间≥12 小时
3 期	增至基础值 3 倍 或升高≥4.0mg/dl（353.6μmol/L） 或开始肾脏替代治疗 或 <18 岁患者 eGFR<35ml/（min·1.73m^2）	<0.3ml/（kg·h），时间≥24 小时 或无尿≥12 小时

患者实验室检查结果：血常规：WBC 8.6×10^9/L，N 78.1%，Hb 119g/L。尿液检查：隐血（+++），蛋白（+++），白细胞 10~15 个 /HP，红细胞 30~40 个 /HP。尿红细胞位相：红细胞 12~15 个 /HP，100% 均一型。血生化：血 K^+、Na^+、Cl^-、Ca^{2+}、P 正常，总二氧化碳 19.7mmol/L，SCr 739μmol/L，BUN 24.6mmol/L，UA 434μmol/L。免疫学检查：免疫球蛋白及 C3、C4、类风湿因子、ASO 正常，抗核抗体（ANA）、抗 ds-DNA 抗体、自身抗体阴性，抗中性粒细胞

学习笔记

胞浆抗体(ANCA)、抗肾小球基底膜(GBM)抗体均阴性。

肾脏超声检查：右肾 114mm×55mm，实质厚 25.8mm，左肾 107mm×60mm，实质厚 27.6mm，双肾形态饱满，实质回声增强，皮髓界限尚清楚，集合系统回声未见分离，考虑急性肾病。

肾活检结果：免疫荧光：5 个肾小球，IgG、IgA、IgM、C3、C1q、FRA、Alb 均阴性。光镜：肾穿刺组织可见 32 个肾小球，肾小球无明显病变，肾小管上皮多灶状刷状缘脱落，细胞扁平，管腔扩张伴少数细胞碎片，肾间质轻度水肿，小动脉管壁增厚。病理诊断：重度肾小管损伤。

【问题 3】根据实验室检查结果，可否明确诊断？依据是什么？

根据实验室检查结果，该患者可明确诊断为：肾性 AKI、ATN。

诊断依据：①肾功能在 48 小时内突然减退，出现少尿，血肌酐、尿素氮显著升高，血总二氧化碳含量降低；②血肌酐 >200μmol/L，且血尿素氮 / 血肌酐比值 <10；③血液检查血色素正常，无贫血表现，无钙磷代谢紊乱；④肾脏超声检查显示双肾体积偏大，无缩小；⑤肾活检病理诊断为重度肾小管损伤。

思路 1：迄今为止血清肌酐检测仍然是 AKI 实验诊断及鉴别诊断的重要指标。血中肌酐(serum creatinine，Scr)由外源性和内源性两类组成，在控制外源性(食物)来源，没有进行剧烈运动时，每天肌酐生成量相当恒定。血中肌酐主要由肾小球滤过排出体外，其浓度取决于肾小球的滤过能力。一般成人男性 Scr 大约 53~106μmol/L；女性：44~97μmol/L(不同测定方法有差异)。

(1) Scr 浓度增高：见于各种原因引起的肾小球滤过功能减退，但对其早期诊断并不敏感，当肾小球清除率降低到正常的 50% 时，仍可正常，当减低到正常的 1/3 时，Scr 才明显上升。AKI，血肌酐明显的进行性升高为器质性损害的指标，可伴有少尿。

(2) 评估肾功能损害的程度：由于 Scr 比内生肌酐清除率(creatinine clearance，Ccr)测定简便，临床更为常用，尤其适合于门诊患者。根据 Scr 的水平，可初步判断肾功能损害的程度：①肾功能代偿期 133~177μmol/L；②肾功能失代偿期 186~442μmol/L；③肾衰竭期 451~701μmol/L；④尿毒症期 >707μmol/L。

(3) 鉴别肾前性和肾实质性少尿：①器质性肾衰竭 Scr 常 >200μmol/L，而肾前性少尿(如心衰、脱水、肝肾综合征、肾病综合征等)一般 <200μmol/L；②器质性肾衰竭时，Scr 与血清尿素(serum urea，Sur)同时增高，而肾前蛋白分解代谢旺盛或蛋白摄入过多时，Sur 升高，而 Scr 不增高。

(4) 老年人，身体消瘦者 Scr 可能偏低，一旦其浓度升高，应警惕肾功能减退。

此外，Scr 在应用时要特别注意下列事项：① Scr 日内生理波动为 10% 以内，与个体肌肉量有关，肌肉发达者与消瘦者相比生理水平有明显差异。剧烈运动时，Scr 有一过性增高；②妊娠时由于血浆稀释而比正常人偏低，多在 35.2~52.8μmol/L，如果孕妇 Scr>70.4μmol/L 则被认为有升高倾向；③高蛋白饮食可使 Scr 升高。

知识点

鉴别肾前性 AKI 及 ATN 的实验室诊断指标

诊断指标	肾前性 AKI	ATN
尿沉渣	透明管型	棕色颗粒管型
尿相对密度(比重)	>1.020	<1.010
尿渗透压[mOsm/(kg·H_2O)]	>500	<350
血尿素氮 / 血肌酐	>20	<10~15
尿肌酐 / 血肌酐	>40	<20

学习笔记

续表

诊断指标	肾前性 AKI	ATN
尿钠浓度(mmol/L)	<20	>40
肾衰指数	<1	>1
钠排泄分数(%)	<1	>1

注：肾衰指数 $=\frac{\text{尿钠}}{\text{尿肌酐}/\text{血肌酐}}$

钠排泄分数 $=\frac{\text{尿钠}/\text{血钠}}{\text{尿肌酐}/\text{血肌酐}}\times 100\%$

思路 2：尿液红细胞形态分析在 AKI 实验诊断及鉴别诊断中的应用

血尿中红细胞的形态变化与血尿发生的解剖部位有关，因此临床上用相差显微镜或普通显微镜观察红细胞的形态特点可以鉴别血尿的来源。

(1) 变形红细胞尿(metamorphosis erythrocyte hematuria)：血尿中 80% 以上的红细胞形态异常，其特点是红细胞体积减小，形态各异如面包圈样、出芽样、头盔样，皱缩红细胞、影形红细胞、裂片样红细胞等，提示为肾小球源性血尿，主要见于各种类型的急、慢性肾小球肾炎(包括继发性肾损害，如红斑狼疮肾炎、糖尿病肾病)和肾小球肾病等。一般认为是红细胞通过受损的肾小球基底膜受到血管内挤压及通过肾小管时又受到不同渗透压和 pH 的作用，而导致缩小、变形。

(2) 均一性红细胞尿(homogeneous erythrocyte hematuria)：血尿中 80% 以上的红细胞形态正常，为圆盘双凹状，称为非肾小球源性血尿，常见于肾盂肾炎、泌尿系结石、肾结核、肾或膀胱肿瘤以及肾外伤等。

(3) 混合性血尿(mixed hematuria)：尿中形态异常与正常的红细胞各占一半左右，判断血尿来源应结合其他检验综合分析。

该患者给予卧床休息、限蛋白饮食，补液、利尿、纠正酸中毒、抗炎对症治疗后，患者入院第三天尿量明显增加至 4000~5000ml/d，但恶心、呕吐加重，Scr 进行性升高。

【问题 4】患者尿量增加后 Scr 为何还会进行性升高？ AKI 患者 Scr 进行性升高应进行何种治疗？

AKI 患者在利尿药治疗的作用下，虽然尿量增加，但 Scr 仍可能进行性升高，这是因为肾小球滤过率(glomerular filtration rate，GFR)并未恢复，此时提示 AKI 重症，应早期进行血液透析肾脏替代治疗。

思路：重症 AKI 患者倾向于早期进行透析，目的在于：①对容量负荷过重者可清除体内过多的水分；②清除尿毒症毒素；③纠正高钾血症和代谢性酸中毒，以稳定机体内环境；④有助于液体、热量、蛋白质及其他营养物质的补充。

知识点

AKI 透析治疗指征

严重高血钾症(>6.5mmol/L)、代谢性酸中毒(pH<7.15)、容量负荷过重对利尿药治疗无效、心包炎和严重脑病等都是透析治疗指征。重症患者倾向于早期进行透析。

给予血液透析肾脏替代治疗 3 次，患者症状逐渐缓解，肾功能逐渐恢复，2 周后复查 Scr 113μmol/L，BUN 5.76mmol/L，UA 40μmol/L，遂予出院。

学习笔记

【问题5】AKI患者出院后应进行什么治疗？

AKI患者恢复期应定期随访肾功能，一般无须特殊处理，避免使用肾毒性药物。

患者出院2周后随访，肾功能恢复正常，1个月及3个月后复查肾功能及尿常规均正常。随访1年未复发。

病历摘要：

患者女，37岁。因“发现血肌酐升高半年，胸闷、气促1天”收住入院。患者半年前发现血肌酐升高，当时血肌酐400μmol/L左右。昨夜无明显诱因下出现胸闷气促，不能平卧，伴咳嗽，干咳为主，曾在外院就诊，查血肌酐1094μmol/L，血糖6.76mmol/L，血钾6.3mmol/L，予（聚磺苯乙烯钠）降钾树脂降血钾，呋塞米利尿，左氧氟沙星抗感染等治疗。病程中，患者胃纳、夜眠一般，二便如常，体重变化不详。既往有糖尿病史6年，平时胰岛素控制，具体不详；有高血压病史6年，最高>190/100mmHg，平时服用CCB类降压药物，血压控制在150/80mmHg左右，具体不详；12年前行剖宫产手术。查体：T 37.1℃，P 100次/分，R 32次/分，BP 160/95mmHg，SaO_2 80%，神志清楚，端坐体位，查体合作，精神萎，面色苍白，双肺呼吸音粗，两肺底可闻及湿啰音及少量干性啰音。心前区未见异常隆起，心前区未触及震颤，心尖搏动位于锁骨中线与第5肋间交界处。心率100次/分，律齐，腹软，无压痛及反跳痛，肝脾肋下未及。双下肢无明显水肿。

【问题1】通过上述入院情况，该患者初步考虑最可能的诊断是什么？需与哪些疾病鉴别诊断？

患者中年女性，发现血肌酐升高半年，出现胸闷、气促等心功能不全症状1天，贫血貌，血压高，有肺底湿啰音及干啰音，血清肌酐、血钾、血糖高。既往有糖尿病、高血压。根据病史、肾功能检查及相关临床表现，初步诊断：①慢性肾脏病5期，慢性肾衰竭急性加重，心功能不全，心功能Ⅳ级；②肺部感染；③2型糖尿病；④高血压病3级，极高危组。

鉴别诊断：①肾前性氮质血症；②急性肾损伤；③慢性肾衰竭基础上的急性肾损伤。

思路：患者发现肾功能障碍≥3个月，有急性左心功能衰竭和肺部感染的症状和体征，贫血、血钾高、血清肌酐升高、血糖高、血压高，既往有糖尿病、高血压史，符合慢性肾脏病5期、慢性肾衰竭急性加重、心功能不全（心功能Ⅳ级）及肺部感染、糖尿病、高血压的临床表现。

知识点

CKD与CRF定义

慢性肾脏病（chronic kidney disease，CKD）是各种原因引起的肾脏结构和功能障碍≥3个月，包括肾小球滤过率（glomerular filtration rate，GFR）正常和不正常的病理损伤、血液或尿液成分异常，以及影像学检查异常；或不明原因的GFR下降（<60ml/min）超过3个月。CKD分为1~5期，部分CKD在疾病进展过程中GFR可逐渐下降，进展至慢性肾衰竭（chronic renal failure，CRF）。CRF是指CKD引起的GFR下降及与此相关的代谢紊乱和临床症状组成的临床综合征，为各种CKD持续进展的共同结局，代表CKD中GFR下降至失代偿期的那一部分群体，主要为CKD4~5期。

【问题2】为明确诊断CKD与CRF，应进行哪些检查？CKD分期的主要根据是什么？

为明确诊断CKD与CRF，须判断肾功能状况。因此应进行血液生化、血气分析、血常规、血甲状旁腺素（parathyroid hormone，PTH）、尿液检查。如有条件，为尽量明确导致CRF的基础肾病，可进一步行肾活检。

目前国际公认的CKD分期依据美国肾脏基金会制订的指南，分为1~5期，该分期的主要根

学习笔记

据是肾小球滤过率(glomerular filtration rate,GFR)。

思路:CRF 临床表现复杂,各系统表现均可成为首发症状,诊断主要依据病史、肾功能检查及相关临床表现。因此应重视肾功能的检查,以尽早明确诊断,防止误诊。同时,CKD 的病因分类和白蛋白尿分级对肾脏预后和死亡率也有密切关系,需加以重视。

知识点

慢性肾脏病分期及建议

分期	特征	GFR[ml/(min·1.73m²)]	防治目标 - 措施
1	GFR 正常或升高	≥90	CKD 诊治;缓解症状;保护肾功能
2	GFR 轻度降低	60~89	评估、延缓 CKD 进展;降低 CVD(心血管病)风险
3a	GFR 轻到中度降低	45~59	
3b	GFR 中到重度降低	30~44	延缓 CKD 进展;评估、治疗并发症
4	GFR 重度降低	15~29	综合治疗;透析前准备
5	ESRD	<15 或透析	如出现尿毒症,需及时替代治疗

【问题 3】如何测定 GFR? 目前常用于判断 GFR 的实验有哪些?

GFR 可通过肾小球滤过功能试验来测定。目前公认并常用来反映肾小球滤过功能的实验有内生肌酐清除率(creatinine clearance,Ccr)、血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(胱抑素 C,cystatin C,Cys-C)。

思路 1:肾小球滤过率是判断肾脏的重要指标,其 GFR 测定方法如下:

肾小球滤过率(GFR)指肾在单位时间内(通常以分钟为单位)清除血浆中某一物质的能力。通常以清除率(clearance rate,Cr)测定肾小球滤过率,推算出每分钟(min)能清除多少毫升(ml)血浆中的该物质,并以体表面积校正。结果以毫升 / 分(ml/min)或升 /24 小时(L/24h)表示,计算式为:Cr=(U×V)/P。

计算公式中 U 为尿中某种物质的浓度,P 为血浆中某种物质的浓度,V 为每分钟的尿量(ml/min)。利用清除率可分别测定肾小球滤过率、肾血流量、肾小管对各种物质的重吸收和分泌作用。

用于检测肾小管清除率的物质应具有以下特点:①全部经肾小球滤过,不被肾小管分泌或重吸收,如肌酐等,可基本代表 GFR;②静脉注射对人体无害,全部经肾小球滤过,肾小管不吸收、不排泌,如菊粉,能完全反映肾小球滤过率;③全部由肾小球滤过后又经肾小管全部吸收,如葡萄糖,可作为肾小管最大吸收率测定。

思路 2:Ccr 在 CKD 实验诊断中的应用与注意事项

肌酐(creatinine)是肌肉中磷酸肌酸的代谢产物,人体血液中的肌酐分内、外源性两种。健康人如在严格控制饮食和肌肉活动相对稳定时,血肌酐的生成量、尿排出量基本恒定,其含量的变化主要受内源性肌酐的影响,而且所产生的肌酐大部分从肾小球滤过后,不被肾小管重吸收,排泌量很少。所以,肾单位时间内把若干毫升血液中的内生肌酐全部清除出去,称为内生肌酐清除率(Ccr),可较好地反映肾小球的滤过功能,在临床上最为常用。其结果受到各种影响因素的干扰。因此,实验前要做好充分准备。

(1) 患者准备:受试者连续三天无肌酐饮食,即禁食肉类,低蛋白饮食(<40g/d)。避免剧烈运动,试验前 24 小时禁服利尿药。

(2) 标本采集:标准 24 小时留尿法,同 24 小时尿蛋白定量的标本采集;取血 2ml,同时测定

血、尿肌酐浓度。

(3) 计算公式

$$Ccr=\frac{\text{尿中肌酐含量}(\mu mol/L)}{\text{血清肌酐含量}(\mu mol/L)}\times \text{每分钟尿量}(ml/min)$$

由于肾脏大小的个体差异，每分钟排尿能力也有差异，可进行体表面积的矫正。

$$\text{矫正 Ccr}=\text{实际清除率 Ccr}\times\frac{1.73m^2(\text{欧美成人体表面积})}{\text{受试者体表面积}(m^2)}$$

健康成人 Ccr 一般为 80~120ml/min；40 岁后随年龄增加逐渐降低，70 岁时仅为青壮年的 60%；2 岁以内小儿偏低，新生儿：25~70ml/min。肾小球滤过率能够：

(1) 早判断肾小球损伤：当 GFR 降低至参考区间的 50%，Ccr 测定低至 50ml/min 时，血肌酐和尿素氮测定仍可在参考区间。

(2) 估肾功能受损程度：临床常以 Ccr 代替肾小球滤过率(GFR)，根据 Ccr 将 CKD 分为 5 期。

(3) 指导治疗：①慢性肾衰竭 Ccr 20~50ml/min 时，应限制患者的蛋白摄入量(<30g/d)；②当 Ccr<30ml/min 时，噻嗪类利尿药常治疗无效，不宜应用；③当 Ccr < 10ml/min 时，袢利尿药也多无效，应结合临床进行透析治疗。

(4) 评估肾移植是否成功的一项参考指标，如移植成功，Ccr 会逐渐回升或达参考区间，否则提示移植失败；若恢复后又再度下降，提示发生排异反应。

GFR 在应用时要特别注意下列事项：

(1) 尿液收集不全和尿液总量计量不准是影响 Ccr 准确性的常见原因，应向受试者说明试验注意事项和具体要求。

(2) 为方便门诊患者，也可采取短时间留尿法，如 4 小时留尿改良法。这种方法所得 Ccr 值可能较 24 小时留尿法结果偏高。

(3) Ccr 替代 GFR 存在一定的缺陷：在 GFR 下降时，肾小管可以少量分泌肌酐；肾衰竭时，肠道细菌可以分解肌酐；不同个体的肉食摄入量和肌肉总量的差异影响血浆肌酐浓度，一些药物可以减少肾小管排泌肌酐，使血浆肌酐升高，从而出现肾功能不全的假象。因此，Ccr 在评价急性肾衰竭和恢复阶段有一定偏差，应加以注意。

思路 3：慢性肾衰竭时，肾小球滤过率受损严重，GFR 受损程度与肾脏病分级、预后和死亡率密切相关。慢性肾脏病在疾病进展过程中 GFR 逐渐下降进展至慢性肾衰竭。因此，在疾病过程中对肾脏功能的检测非常重要。胱抑素 C(Cys-C)是监测肾小球滤过率的敏感指标。

Cys-C 是一种小分子蛋白质(13kD)，胱氨酸蛋白酶抑制剂家族的成员，几乎机体各种有核细胞均产生，而且产生率恒定。血循环中的胱抑素 C 几乎全部经肾小球滤过，并被近曲小管细胞全部摄取后分解，尿中排出极微量。因此 Cys-C 被认为是一种敏感、特异地反映肾小球滤过率的内源性物质，其血清中浓度与肾小球滤过率的相关性良好，可以更准确地反映肾小球的滤过率，是目前认为反映肾小球滤过率较理想的标志物，血清 Cys-C 的敏感性和特异性均优于血清肌酐清除率、肌酐和尿素氮，可以作为判断肾小球滤过功能的首选指标。健康成年人血清浓度大约 0.59~1.03mg/L。肾小球滤过率下降，Cys C 在血液中浓度可增加 10 多倍；若肾小球滤过率正常，而肾小管功能失常时，会阻碍 Cys C 在肾小管吸收并迅速分解，使尿中的浓度增加 100 多倍。

患者入院后实验室检查结果：血常规：CRP 41mg/L，RBC 1.97×10^{12}/L，Hb 56g/L，Plt 96×10^{9}/L。血沉 110mm/h。血液生化：P 2.58mmol/L，K^+ 5.42mmol/L，Ca^{2+} 1.98mmol/L，Na^+ 129.0mmol/L，Cl^- 86.0mmol/L，总二氧化碳 26.3mmol/L，BUN 34.80mmol/L，SCr 1132μmol/L，胱抑素 C 5.94mg/L，UA 533μmol/L，总蛋白 54g/L，白蛋白 25g/L，白 / 球比值 0.9，B 型钠尿肽前体 T-pro-BNP 35 000ng/L，葡萄糖 4.55mmol/L。血 PTH 276.22pg/ml。

学习笔记

尿液检查：蛋白(++)，隐血(+)。血气分析：O_2Sat 71.3%，BE-B 0.8mmol/L，BE-ECF 0.1mmol/L，PCO_2 6.22KPa，Cl^- 90mmol/L，pH 7.348，PO_2 7.5KPa，FIO_2 20.9%，SBC 24.8mmol/L，Hb 81g/L，HCO_3^- 25.9mmol/L，T 37.1℃，HCT 25.0%，K^+ 4.5mmol/L，Na^+ 128mmol/L。

免疫学检查：乙肝表面抗体、乙肝e抗体、乙肝核心抗体阴性，甲肝抗体阴性，丙肝抗体阴性。HIV、RPR均阴性。ENA七项阴性。血培养：无菌生长。痰培养：鲍曼不动杆菌30%，未检出嗜血杆菌，正常咽部细菌70%。

胸片：两肺纹理增多、模糊，左侧胸膜反应，主动脉硬化，心影增大，请结合临床。心电图：窦性心律，ST-T变化。

【问题4】根据临床表现结合实验室检查结果，应作出怎样的诊断？依据是什么？

该患者可作以下诊断：

①CKD 5期，CRF急性加重，心功能不全，心功能Ⅳ级；②肺部感染；③2型糖尿病；④高血压病3级，极高危组。

诊断依据：患者有慢性肾衰竭急性加重、心功能不全(心功能Ⅳ级)及肺部感染、糖尿病、高血压的临床表现。既往有糖尿病、高血压史。肾功能检查结果为尿毒症。实验室检查结果符合CKD特征。

思路：对既往病史不明，或存在近期急性加重诱因的CRF患者，需与急性肾损伤(AKI)鉴别，是否存在贫血、低钙血症、高磷血症、血PTH升高、肾脏缩小等有助于与AKI鉴别。

知识点

CKD急性加重或伴发AKI特点

CKD急性加重时CKD本身已相对较重，或其病程加重过程未能反映AKI的演变特点。CKD急性伴发AKI则CKD较轻，而AKI相对突出，且其病程发展符合AKI演变过程，处理原则与AKI相同。

透析前肾功能：肌酐1013μmol/L，尿素22.7mmol/L，胱抑素C 6.81mg/L。透析后肾功能：肌酐726μmol/L，尿素20.3mmol/L。

患者入院后完善相关检查并定期复查，插管行血透治疗，并予抗感染、扩血管、平喘、化痰、降压、调节钙磷代谢、改善心功能、护胃、补充白蛋白对症支持等治疗。透析后肾功能得到改善。

【问题5】如何进行CKD筛查？CKD患者为何要定期进行血生化、尿液检查？

(1) 早期诊断、有效治疗原发病和去除导致肾功能恶化的因素，是CRF防治的基础，也是保护肾功能和延缓CKD进展的关键。因此要提高对CKD的警觉，重视询问病史、查体和肾功能的检查，努力做到早期诊断。

(2) 对已有肾脏疾患或可能引起肾损害的疾患(糖尿病、高血压等)要进行及时有效的治疗，并需每年定期检查尿常规、肾功能等≥2次。为了延缓、停止或逆转CRF的发生，对CKD患者必须定期进行血生化、尿液检查，以便采取各种治疗措施，将血压、血糖、尿蛋白定量、Scr上升幅度、GFR下降幅度等指标控制在一定的理想范围。当GFR<10ml/min并有明显尿毒症表现，则应进行透析、肾脏移植等肾脏替代治疗。对糖尿病肾病患者，替代治疗指征提前至GFR 10~15ml/min。

(3) 虽然血清尿素氮和肌酐水平被用于评价肾小球滤过功能，但这两种分子本身与尿毒症症状和体征无关。其机体内各器官系统受损主要是：肾脏排泄和代谢功能下降，导致水、电解质

学习笔记

和酸碱平衡失调。因此，病程中要不断检测水、电解质和机体酸碱情况，如血钾、钠、钙、磷、镁、pH 等，以防钠、水潴留加重水肿、高血压和代谢性酸中毒发生。

(4) 还需检测肾脏的内分泌功能情况，如促红细胞生成素(EPO)减少可引起肾性贫血，1,25-$(OH)_2D_3$ 产生减少，PTH 增高可导致肾性骨病。

(5) 慢性肾衰竭患者亦常表现为蛋白质、糖、脂类和维生素代谢紊乱：蛋白质代谢产物蓄积可导致氮质血症；糖代谢异常表现为糖耐量减低和低血糖症，故需进行血糖或糖化血红蛋白检测，以防高糖对肾脏进一步损害；脂代谢异常主要表现为中度高甘油三酯或高胆固醇血症，而高密度脂蛋白水平下降。肾衰竭时维生素代谢异常也很常见，如维生素 A 增高、维生素 B_6 和叶酸缺乏导致胃肠症状等。

知识点

CKD-CRF 患者血压、蛋白尿、血糖、HbA1C、GFR 或 Scr 变化的治疗目标

项目	目标
血压	
CKD1~4 期(GFR≥15ml/min)	<130/80mmHg
CKD5 期(GFR<15ml/min)	<140/90mmHg
血糖(糖尿病患者，mmol/L)	空腹 5.0~7.2，睡前 6.1~8.3
HbA1C(糖尿病患者)	<7%
蛋白尿	<0.5g/24h
GFR 下降速度	<4ml/(min·year)
Scr 升高速度	<50μmol/(L·year)

学习笔记

第四节　糖尿病肾病

糖尿病肾病(diabetic nephropathy，DN)是糖尿病最常见和危害性最大的微血管并发症之一。临床特征为蛋白尿，渐进性肾功能损害，高血压，水肿，晚期出现严重肾衰竭，是糖尿病患者的主要死亡原因之一。

病历摘要：

患者女，39 岁。以主诉双下肢水肿半年，尿检异常半月入院。半年前开始无明显诱因下出现双下肢凹陷性水肿，双侧对称，晨轻暮重，未重视，未就诊。半月前因咳嗽、高热伴胸闷、气促至我院急诊，查 24 小时尿蛋白定量 6548.15mg/24h，血压 170/90mmHg。考虑：急性左心衰；肺部感染；高血压病 3 级，极高危；糖尿病；肾病综合征？患者有泡沫尿，无尿频、尿急、尿痛，无小便减少，无血尿、酱油色尿，无腹痛、腹泻，无头晕、头痛。

既往史：有糖尿病史 3 年，近半月服用二甲双胍控制血糖；有高血压病史半月，最高超过 200/90mmHg，服苯磺酸氨氯地平控制。查体：血压 130/80mmHg。其余无异常。

【问题 1】通过上述问诊与查体，该患者可疑的诊断是什么？需与哪些疾病鉴别诊断？

患者中老年女性，双下肢水肿半年，24 小时尿蛋白定量 6548.15mg/24h，有糖尿病史 3 年，查体双下肢水肿。根据患者主诉、症状、既往史，高度怀疑糖尿病肾病。

鉴别诊断：①肾病综合征；②高血压肾病；③狼疮性肾炎。

知识点

糖尿病肾病诊断依据

糖尿病肾病属于继发性肾病综合征之一，其他还包括过敏性紫癜肾炎、狼疮肾炎、乙型肝炎病毒相关性肾炎、肾淀粉样变性和骨髓瘤性肾病等。

无论是1型还是2型糖尿病，30%~40%的患者出现肾脏损害，有些2型糖尿病患者在被诊断为糖尿病的同时就已存在糖尿病的肾脏损害。

有较长期糖尿病病史，1型糖尿病患者发病后5年，2型糖尿病患者确诊同时临床上持续出现微量白蛋白尿，就应怀疑糖尿病肾病的存在。如果病程更长，临床上出现大量蛋白尿甚至肾病综合征，同时具备糖尿病眼底改变的患者，在除外高血压及其他肾病时应考虑为糖尿病肾病。

【问题2】为明确诊断，应进行哪些检查？

患者还需进行下列实验室检测以明确诊断：肝功能、肾功能、血脂、血糖、尿蛋白检测，止凝血功能；肾脏影像学；糖尿病视网膜病变检查；必要时肾活检，病理活检仍是糖尿病肾病诊断的金标准。

思路1：糖尿病肾病主要表现为不同程度的蛋白尿和进行性肾功能减退。早期无肾病表现，仅有一过性微量蛋白尿或持续性微量蛋白尿，随病情发展出现持续性微量蛋白尿，晚期已有明显临床表现，蛋白尿/白蛋白尿明显增加（尿白蛋白排泄率>200mg/24h，蛋白尿>500mg/24h）。部分患者出现轻度血压升高，GFR开始下降，但血肌酐尚在正常范围。发展到肾病综合征时大量白蛋白从尿中丢失，肾功能持续减退直至终末期肾衰竭。当肝脏白蛋白合成增加不足以代偿丢失时，则出现低白蛋白血症。

知识点

糖尿病肾病临床分期及实验室特点

糖尿病肾病是指由糖尿病直接引起的肾小球硬化症，临床上以糖尿病患者出现持续性蛋白尿和肾功能持续性减退为主要特征。目前仍以1型糖尿病临床过程予以分期。Ⅰ期：临床无肾病表现，可有一过性微量蛋白尿，活动或血糖控制不好时加重；Ⅱ期：出现持续性微量蛋白尿，临床无明显自觉症状；Ⅲ：出现明显临床症状，蛋白尿/白蛋白尿明显增加。24小时尿蛋白可>500mg，GFR开始下降，SCr尚在正常范围；Ⅳ期：出现大量蛋白尿，达到肾病综合征水平，肾功能持续减退至终末期肾衰竭。

思路2：肾病综合征患者因胃肠道黏膜水肿导致食欲减退、蛋白质摄入不足、吸收不良或丢失，也是加重低白蛋白血症的原因。除血浆白蛋白减少外，血浆的某些免疫球蛋白（如IgG）和补体成分、抗凝及纤溶因子、金属结合蛋白及内分泌激素结合蛋白也可减少，而凝血因子在体内合成增加，患者易产生感染、高凝、微量元素缺乏、内分泌紊乱和免疫功能低下等并发症。脂代谢异常的特点是高胆固醇和（或）高甘油三酯血症，血清中LDL、VLDL浓度增加，常与低蛋白血症并存。脂蛋白(a)[Lp(a)]也会增高，病情缓解时恢复正常。

该患者经进一步检查，肝功能：白蛋白22g/L；肾功能：尿素氮9.30mmol/L，肌酐84μmol/L；空腹血糖6.45mmol/L，2小时血糖14.96mmol/L，糖化血红蛋白7.80%；血脂：总胆固醇11.06mmol/L，低密度脂蛋白7.34mmol/L，脂蛋白a 816mg/L；尿系列蛋白：尿α_1-微球蛋白15.20mg/L，尿IgG 223.00mg/L，尿白蛋白1100.00mg/L，尿转铁蛋白82.10mg/L，尿β_2-微球蛋白1.28mg/L。凝血功能D-二聚体阳性，部分凝血活酶时间48.1秒；尿常规：管型计数1.53个/μl，上皮细胞计数10个/μl，尿隐血+++，尿蛋白++。

学习笔记

【问题 3】根据上述检查结果，应作出怎样的诊断？依据是什么？

该患者可诊断为：①糖尿病肾病（Ⅲ期）；②肾小管酸中毒；③高血压病 3 级，极高危；④ 2 型糖尿病；⑤高脂血症。

诊断依据为：2 型糖尿病 3 年，水肿，白蛋白低，尿蛋白 >500mg/24h，高血脂，肾功能减退，该患者已达肾病综合征程度。

知识点

糖尿病肾病的鉴别诊断

以下情况应考虑其慢性肾病是由其他原因引起的：无糖尿病视网膜病变；肾小球滤过率在短期内迅速下降；短期内蛋白尿急剧增加或表现为肾病综合征；顽固性高血压；尿沉渣镜检可见红细胞（畸形红细胞、多形性细胞管型）；存在其他系统性疾病的症状或体征；ACEI 或 ARB 类药物开始治疗后 2~3 个月内肾小球滤过率下降超过 30%。肾穿刺病理检查有助明确诊断。

【问题 4】糖尿病肾病筛查的指标有哪些？

思路 1：24 小时尿蛋白定量检测

随机尿液蛋白检验受尿量、标本留取时间及生物节律的影响，因此对临床已出现蛋白尿的患者应排除上述因素的影响，观察其 24 小时内尿蛋白量的变化，对了解病情、观察疗效意义更大（详见本章第三节）（图 5-4-1）。

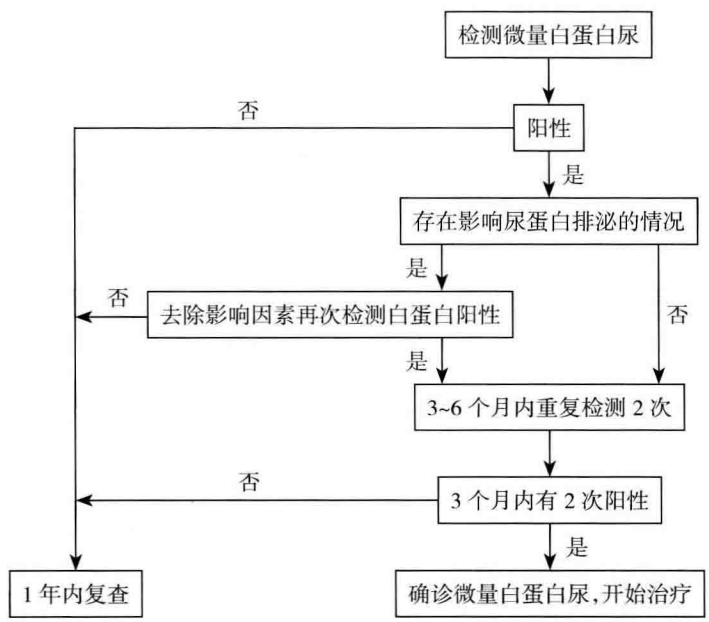


图 5-4-1　微量白蛋白尿诊断流程图

思路 2：估算肾小球滤过率（eGFR）的价值

（1）成人糖尿病可以无白蛋白排泄率升高，但此时 GFR 可能已明显降低。

（2）相当比例的成人糖尿病尿白蛋白排泄率不升高，而 GFR<60ml/min。

知识点

美国糖尿病协会对糖尿病肾病实验室筛查的建议

对于病程 5 年以上的 1 型糖尿病患者及所有 2 型糖尿病患者确诊后应该立即开始筛

学习笔记

查，筛查内容包括检测随机尿白蛋白/肌酐（ACR）和血清肌酐，对于所有成人糖尿病患者，不管其尿白蛋白排泄率为多少，至少每年检测血清肌酐，并估算肾小球滤过率（eGFR）。

指南强调了糖尿病肾病筛查的重要性，要求每年都应做肾脏病变的筛检，虽然尿常规检测有助于发现明显的蛋白尿，但会遗漏微量白蛋白尿，所以建议测定单次尿白蛋白与肌酐比值，如果尿白蛋白/肌酐结果异常者，3个月内重复检测以明确诊断。肾功能的判断则依靠血清肌酐浓度的测定。

指南同时建议持续监测尿微量白蛋白排泄率以评估对治疗的反应和肾病的进展。

ACR检测增高时应排除尿路感染，并在接下来3~6个月收集2次晨尿标本重复检测。微量白蛋白尿ACR为30~300mg/(g·Cr)，大量白蛋白尿ACR>300mg/(g·Cr)，3次标本检测结果有2次达到标准则可确诊。

（3）单独血肌酐测定本身并不能评估肾功能，计算eGFR从而对慢性肾脏病变进行肾功能分期；

（4）成人糖尿病每年至少测定一次血肌酐，并计算eGFR，eGFR的计算公式：

MDRD公式 GFR=186×[血清肌酐(μmol/L)/88.4]-1.154×年龄-0.203×0.742(女性)×1.21

Cockcroft-Gault公式 GFR=[140-年龄(岁)×体重(kg)]/72×Scr(mg/dl)×0.85(女性)

【问题5】除上述筛查指标外，糖尿病肾病早期诊断的指标还有哪些？

早期肾损伤（early renal injury）是指由于多种原因导致的肾实质改变或功能异常，但尿液常规检验及常用肾功能试验无明显异常，而且缺乏有关的症状与体征。早期发现和诊断早期肾损伤，及时采取预防和干预治疗，对避免肾损伤发展至不可逆的肾衰竭有重要的临床意义。目前，已经建立了不少用于早期肾损伤检测方法，例如，尿微量白蛋白、转铁蛋白定量可以诊断早期肾小球损伤；尿中部分低分子量蛋白（如β_2-微球蛋白、α_1-微球蛋白、视黄醇结合蛋白）和尿酶定量对早期肾小管损伤诊断有重要价值。

思路1：尿微量白蛋白

生理状况下，带负电荷、分子量为69kD的白蛋白几乎不能通过肾小球滤过屏障，即使少量地滤入原尿，也可被肾小管重吸收。当肾小球受损，即使早期的轻微受损，白蛋白在尿中的漏出量也可增加，出现微量白蛋白尿（albuminuria）。1982年，Viberti等在研究糖尿病性肾病时提出微量白蛋白尿（microalbuminuria，MAU）的概念，开始了对糖尿病早期肾损伤的研究。微量白蛋白尿是指在无尿路感染和心衰竭的情况下，尿中有少量白蛋白存在，浓度通常为常规半定量试验不易测出（<100mg/L），或定量在20~200μg/min或30~300mg/24h的亚临床范围，称为微量白蛋白尿，提示患者已经有早期肾损害存在。

糖尿病肾病早期可间歇性出现微量白蛋白尿，此时肾小球毛细血管基底膜仅出现增厚改变，及时治疗并控制血糖水平可使病变逆转；当尿白蛋白排泄量持续>300mg/24h后，患者发展为临床糖尿病肾病。

思路2：尿转铁蛋白

转铁蛋白（transferrin，Tf）是由679个氨基酸构成的糖蛋白，分子量为76.5kD，分子量接近白蛋白，属于中分子蛋白。在生理情况下不容易通过肾小球滤过膜，但由于转铁蛋白所带负电荷比白蛋白少，当肾小球滤过膜上电荷屏障发生轻度损伤时，转铁蛋白比白蛋白更容易漏出。采用定时尿或随机尿都可以。不同原理的检测方法其结果会有差异要特别注意，如透射比浊法：<0.173mg/mmol Ucr或<1.53mg/g Ucr，而免疫散射比浊法则<2.0mg/L。

思路3：β_2-微球蛋白

β_2-微球蛋白（β_2-microglobulin，β_2-MG）是一种分子量仅为11.8kD的小分子蛋白质。主要由

学习笔记

淋巴细胞产生，肿瘤细胞也具有较强的合成能力，广泛存在于有核细胞表面，健康人每天合成约150~200mg。β_2-MG 在生理情况下可自由通过肾小球滤过屏障，但约 99.9% 被近曲小管重吸收，故尿中含量很低。当尿中含量增加时反映肾小管重吸收功能减低，是诊断肾小管损伤的指标之一。最好是血清和随机尿一并及时送检。正常成人血清水平大约 1~2mg/L，尿液 <0.2mg/g Ucr。

(1) 血清 β_2-MG 升高：肾小球滤过功能受损使 β_2-MG 潴留于血液中而升高，内生肌酐清除率低于 80ml/min 时即可出现，而此时血清肌酐浓度仍处于参考区间内，故在评价肾小球滤过功能方面，β_2-MG 比血清肌酐浓度变化的灵敏度更高。

(2) 尿液 Uβ_2-MG 升高：肾小管重吸收 β_2-MG 的阈值为 5mg/L，当血中浓度超过阈值时，可出现肾小管非重吸收功能受损的 β_2-MG 尿。而当血液 β_2-MG<5mg/L，Uβ_2-MG 增高时，则表明肾小管重吸收功能受损，多见于肾小管炎症、肾小管 - 间质性肾病、烧伤诱发的急性肾小管坏死、先天性肾小管疾病。特别在使用了肾毒性抗生素或重金属导致肾中毒，药物主要集中在近端小管，Uβ_2-MG 升高往往早于血肌酐。对糖尿病肾损害有很好的监测作用。

思路 4：α_1- 微球蛋白

α_1- 微球蛋白（α_1-microglobulin，α_1-MG）为肝细胞和淋巴细胞产生的一种糖蛋白，分子量仅为 30kD，由 167 个氨基酸组成，属于小分子蛋白。α_1-MG 在血浆中有游离或与白蛋白、IgA 结合。游离的 α_1-MG 可以自由通过肾小球滤过膜，99% 被近曲小管重吸收，尿中排量较低。在酸性尿液中比较稳定，尿中浓度也远高于其他小分子蛋白。正常成人血清浓度 10~30mg/L；尿液 <15mg/24h，或 <10mg/g Ucr。

(1) 尿液 Uα_1-MG：肾小管重吸收功能损伤时，Uα_1-MG 升高；不论是否同时存在微量白蛋白尿，若 α_1-MG 明显增加，可诊断为肾小管损伤。由于在尿中 α_1-MG 含量相对较高，在酸性尿液中稳定，且不受恶性肿瘤的影响，测定的重复性较好，因此，与 β_2-MG 相比，α_1-MG 在早期和鉴别肾功能方面更具有临床价值。Uα_1-MG 可用来替代 Uβ_2-MG 作为肾小管功能不全的指标。

(2) 血清 α_1-MG：当肾小球滤过功能减低时，血清中 α_1-MG 可因潴留而升高。在内生肌酐清除率（Ccr）减低时，α_1-MG 先于 β_2-MG 和 Scr 升高。若血清和尿液 α_1-MG 均升高，则提示肾小球和肾小管双重受损，对糖尿病肾病早期诊断颇有益处。

思路 5：视黄醇结合蛋白质的检测

视黄醇结合蛋白质（retinol-binding protein，RBP）是存在于血液中的一种低分子蛋白，分子量约 21kD。RBP 可经肾小球滤过，但在近曲小管几乎全部被重吸收。因此，正常人尿中 RBP 含量甚微。当肾近曲小管损伤时，近曲小管重吸收 RBP 减少，尿 RBP 排泄量明显增加。

血清及尿中 RBP 浓度升高，较少受肾外因素的影响，因而尿中 RBP 浓度测定对肾脏疾病，尤其是肾小管功能损伤诊断的特异性较尿 β_2-MG 测定高。一般健康人群血清水平 10~30mg/L；尿液 <15mg/24h，或 <10mg/g Ucr。尿 RBP 排量与小管间质损害程度有明显相关，可作为监测病程、指导临床治疗和判断预后的一项灵敏的生物化学指标，特别对糖尿病肾病早期动态观察具有较高临床价值。

思路 6：尿 N- 乙酰 β-D- 氨基葡萄糖苷酶

N- 乙酰 β-D- 氨基葡萄糖苷酶（N-acetyl-β-D-glucosaminidase，NAG）广泛分布于各种组织的溶酶体中，是一种高分子量（140kD）的溶酶体酶。在近端肾小管的上皮细胞中含量最为丰富，远远高于输尿管和下尿道。由于溶酶体对各种毒素、化学物质、自由基和免疫反应敏感，即使在肾小管轻微损伤时，尿 NAG 活性也会增高。因此，尿中 NAG 活性是肾小管功能损害最敏感的指标之一。健康成人 NAG 水平采用速率法 <2.37U/mmol Ucr 或 <21U/g Ucr（尿肌酐），而采用终点法则 <1.81U/mmol Ucr 或 <16U/g Ucr。

近年来研究发现糖尿病患者并发肾病早期即可有肾小管损伤，尿 NAG、α_1-MG 等肾小管损伤标志物的变化甚至早于微量白蛋白尿的出现，三者的联合检验对早期发现糖尿病、原发性高

学习笔记

血压、妊娠诱发高血压并发肾病有意义。

糖尿病肾病及其引发的肾衰竭已成为危害患者健康的严重疾患，早期进行实验室筛查，优化生活方式，积极降压、调脂以及平稳降糖是糖尿病肾病防治的有效途径（图 5-4-2）。

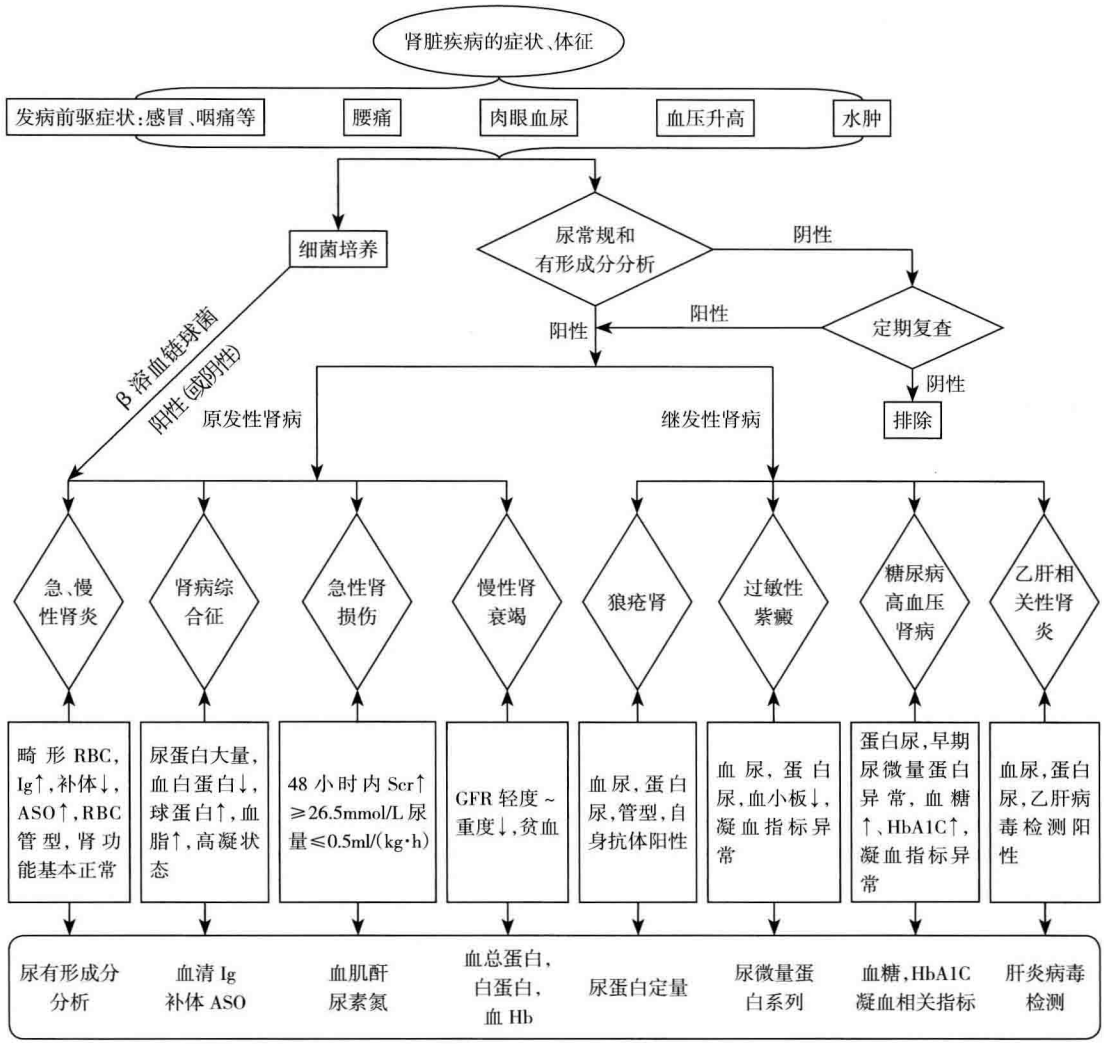


图 5-4-2　肾脏疾病实验诊断流程图

（李　智）

学习笔记

第六章 呼吸系统疾病的实验诊断

近年来，由于大气污染、吸烟、工业经济发展导致的理化因子、生物因子吸入以及人口老龄化等因素，呼吸系统疾病如肺癌、支气管哮喘的发病率明显增加，慢性阻塞性肺疾病居高不下，肺结核发病率又有增高趋势，肺血栓栓塞症已经成为重要的医疗保健问题，肺部弥漫性间质纤维化及免疫低下造成的肺部感染等疾病发病率明显增多。对这些疾病的准确诊断和有效治疗任务艰巨。

第一节 慢性阻塞性肺病

慢性阻塞性肺疾病（chronic obstructive pulmonary disease，COPD）简称慢阻肺，是一组以持续气流受限为特征的可以预防和治疗的疾病，其气流受限多呈进行性发展，与气道和肺组织对有害气体或颗粒的异常慢性炎症反应有关。

病历摘要：

患者男，65岁。因咳嗽、咳痰15年，加重伴发热1周入院。患者于15年前，无明显诱因常于秋冬季节出现咳嗽，咳痰，晨起及夜间入睡时为重。痰量不多，为白色泡沫状，不伴发热，胸痛、咯血等。7年前，上述症状较前加重，患者上3层楼有明显气促，喘憋。肺功能检查：FEV_1/FVC 为50%；FEV_1 占预计值40%。诊断COPD，给予抗感染、解痉、平喘治疗后症状好转出院。1周前，受凉后出现发热，体温38℃，痰量增多，为黄色脓痰，口唇发绀，气短、喘憋加重，休息时也感呼吸困难，为进一步诊治入院。既往否认高血压、冠心病等病史。吸烟20年，每日10支。无毒物、粉尘接触史。无特殊家族史。查体：T 38℃，P 100次/分，R 25次/分，BP 110/70mmHg。慢性病容，神志清楚，端坐呼吸，喘息。口唇发绀，浅表淋巴结未触及肿大，巩膜无黄染。心界不大，心音低，心率100次/分，律齐，无杂音。桶状胸，双肺叩诊过清音，呼吸音低，散在哮鸣音，右肺可闻少量湿啰音。腹平软，肝脾未触及。双下肢轻度可凹性水肿。

【问题1】该患者的初步诊断是什么？诊断依据？

根据患者的主诉、症状及病史诊断为慢性阻塞性肺疾病合并肺感染。

诊断依据：

（1）老年男性，慢性病程，间断发作。既往吸烟20年，10支/日。

（2）慢性咳嗽、咳痰十余年，加重咳黄脓痰伴发热，发绀，气促1周。

（3）查体：T 38℃，P 100次/分，R 25次/分，慢性病容，端坐呼吸，喘息。口唇发绀，桶状胸，双肺叩诊过清音，呼吸音低，散在哮鸣音，右肺可闻少量湿啰音。

（4）COPD病史7年。

知识点

慢阻肺诊断标准

肺功能的测定是诊断慢阻肺的一个金标准，是判断持续气流受限的主要客观指标。使用支气管扩张剂后一秒钟通气率（FEV_1）/用力肺活量（FVC）<70%为确定存在持续气流受限的界限。

学习笔记

思路：慢阻肺的早期诊断很关键，这一时期是疾病进展最快的时期，也是治疗效果最好的时期，这个时期的治疗，可达到事半功倍的效果。如到晚期，肺组织损伤成为不可逆性的，不仅治疗难度大，花费高，而且效果不好。

【问题 2】患者入院后为了治疗应进一步做哪些检查，有何意义？

应进一步检查

(1) 肺功能：尤其是通气功能检查对 COPD 诊断及病情严重程度分级评估具有重要意义。

(2) 胸部 X 线：发病早期可无异常，以后出现肺纹理增多、紊乱等非特异性改变；发生肺气肿时可见相关表现；对确定是否存在肺部并发症及与其他疾病（如气胸、肺大疱、肺炎、肺结核、肺间质纤维化等）鉴别有重要意义。

(3) 胸部 CT：高分辨 CT（HRCT）对辨别小叶中心型或全小叶型肺气肿及确定肺大疱的大小和数量，有很高的敏感性和特异性，有助于 COPD 的表型分析，对判断肺大疱切除或外科减容手术的指征有重要价值，对 COPD 与其他疾病的鉴别诊断有较大帮助。

(4) 血气分析：可帮助诊断低氧血症、高碳酸血症、酸碱平衡失调及判断呼吸衰竭类型。

(5) 痰涂片、痰培养：痰涂片及痰培养可帮助诊断细菌、真菌等病原微生物感染；血液病原微生物核酸及抗体检查，血培养可有阳性发现；病原培养阳性进行药物敏感试验有助于合理选择抗感染药物；查找痰液肿瘤细胞有助于与肺癌鉴别。

知识点

痰液标本留取注意事项

1. 一般留取清晨第一口痰。

2. 患者晨起用清水漱口后，用力将气管内深部的痰液咳出。

3. 用于细菌培养的痰标本，应使用检验科提供的无菌痰杯。注意在留痰之前不要打开，标本留取后立即将容器盖好并及时送检。

(6) 血常规：低氧血症时血红蛋白、红细胞计数和血细胞比容可增高。合并细菌感染时外周血白细胞可升高，中性粒细胞百分比增加。

该患者肺功能检查结果：FVC（占预测值 %）48.5，FEV_1（占预测值 %）36.0，FEV_1/FVC（%）65，表明患者处于急性加重期。

该患者血常规结果显示 WBC 10×10^9/L（↑），中性粒细胞（N）85%（↑），Plt 180×10^9/L，Hb 180g/L（↑），RBC 6.5×10^{12}/L（↑），HCT 52%（↑）。

由于患者存在低氧血症出现红细胞、血红蛋白、血细胞比容增加。肺部存在细菌感染，血常规白细胞可升高，中性粒细胞百分比增加。

【问题 3】该疾病应与哪些疾病鉴别？

鉴别诊断：

(1) 支气管哮喘。

(2) 其他引起慢性咳嗽、咳痰症状的疾病，如支气管扩张、肺癌等。

(3) 其他引起劳力性气促的疾病，如冠心病。

(4) 其他原因所致的呼吸气腔扩大，如肺气肿。

知识点

功能性呼吸困难分级

采用英国医学研究委员会的呼吸困难量表评价

学习笔记

0：无明显呼吸困难（剧烈活动除外）。

1：快走或上缓坡时有气短。

2：由于呼吸困难，比同龄人走得慢或者以自己的速度在平地上走时需要停下来呼吸。

3：在平地上步行 100m 或数分钟需要停下来呼吸。

4：明显呼吸困难而不能离开房屋或者当换衣服时气短。

知识点

COPD 临床严重度分级

根据 FEV_1/FVC、$FEV_1\%$ 预计值和临床表现，可对 COPD 的严重程度作出临床严重度分级

分级	临床特征
Ⅰ级（轻度）	$FEV_1/FVC<70\%$，$FEV_1\geq80\%$ 预计值，伴或不伴有慢性症状（咳嗽，咳痰）
Ⅱ级（中度）	$FEV_1/FVC<70\%$，$50\%\leq FEV_1<80\%$ 预计值，常伴有慢性症状（咳嗽，咳痰，活动后呼吸困难）
Ⅲ级（重度）	$FEV_1/FVC<70\%$，$30\%\leq FEV_1<50\%$ 预计值，多伴有慢性症状（咳嗽，咳痰，呼吸困难），反复出现急性加重
Ⅳ级（极重度）	$FEV_1/FVC<70\%$，$FEV_1<30\%$ 预计值或 $FEV_1<50\%$ 预计值，伴慢性呼吸衰竭，可合并肺心病及右心功能不全或衰竭

思路：《慢性阻塞性肺疾病诊治指南（2013 年修订版）》（中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组）认为 FEV_1 并不能反映 COPD 复杂的临床后果，但肺功能分级对于预测健康状态和病死率很有用，强调了体质指数（BMI）和呼吸困难分级对于预后的作用，推荐所有患者均评价这两项指标。

患者血气分析：PaO_2 50mmHg，$PaCO_2$ 65mmHg，pH 7.3。

【问题 4】该患者存在哪种酸碱平衡紊乱？为何出现这些变化？

患者 $PaCO_2\uparrow$，$PaO_2\downarrow$，血液 pH↓，存在呼吸性酸中毒。

由于阻塞性通气障碍以及气血屏障破坏使气体交换面积减少，进而影响肺换气，导致肺泡 PaO_2 降低，$PaCO_2$ 升高。$PaCO_2$ 和 H^+ 浓度升高，O_2 不易与 Hb 结合，且气流受限使 O_2 吸入减少，CO_2 排出减少，所以血液中 PaO_2 降低，$PaCO_2$ 升高，患者出现低氧血症和高碳酸血症，发生呼吸性酸中毒。

知识点

血 气 分 析

血气分析（analysis of blood gas）与酸碱指标测定是临床急救和监护患者的一组重要生化指标，尤其对呼吸衰竭和酸碱平衡紊乱患者的诊断和治疗起着关键作用，利用血气分析仪可测定血液氧分压（PO_2）、二氧化碳分压（PCO_2）和 pH 三个主要项目，并由这三个指标计算出其他酸碱平衡相关的诊断指标，从而对患者体内酸碱平衡、气体交换及氧合作用作出全面的判断和认识。

患者痰培养结果为革兰阳性球菌感染，进一步做药物敏感试验。

学习笔记

知识点

引起肺感染的常见病原体特点及实验室诊断

病原体名称	痰涂片革兰染色	病原体及抗体检查
肺炎球菌	革兰阳性双球菌	痰、胸水、血培养
流感嗜血杆菌	革兰阴性杆菌	痰、胸水、血培养
金黄色葡萄球菌	革兰阳性球菌	痰、胸水、血培养
肺炎克雷白菌	粗大、有荚膜的革兰阴性杆菌	痰、胸水、血培养
大肠杆菌	革兰阴性杆菌	痰、胸水、血培养
铜绿假单胞菌	革兰阴性杆菌	痰、血培养
厌氧菌	混杂菌	胸水培养、胸腔引流物培养
肺炎支原体	痰涂片中有巨噬细胞、白细胞、无细菌	血清肺炎支原体抗体测定，补体结合试验
肺炎链球菌	革兰阳性球菌	痰、脓汁、血液、脑脊液

【问题 5】如何通过细菌培养结果及药敏结果选择合理的治疗方案？

细菌培养及药敏结果如表 6-1-1。

表 6-1-1　细菌培养及药敏结果

鉴定结果：金黄色葡萄球菌　+++					
抗生素		敏感度	MIC（μg/ml）	参考值	
				耐药	敏感
1	头孢西丁筛选	+	Pos		
2	青霉素	耐药	≥0.5	≥0.25	≤0.12
3	苯唑西林	耐药	≥4	≥4	≤2
4	庆大霉素	耐药	≥16	≥16	≤4
5	环丙沙星	耐药	≥8	≥4	≤1
6	左氧氟沙星	耐药	≥8	≥4	≤1
7	莫西沙星	耐药	≥8	≥8	≤2
8	诱导型克林霉素耐药	−	Neg		
9	红霉素	耐药	≥8	≥8	≤0.5
10	克林霉素	耐药	≥8	≥4	≤0.5
11	喹努普汀 / 达福普汀	敏感	0.5	≥4	≤1
12	利奈唑胺	敏感	2	≥8	≤4
13	万古霉素	敏感	1	≥16	≤2
14	四环素	耐药	≥16	≥16	≤4
15	利福平	耐药	≥32	≥4	≤1
16	复方新诺明	敏感	≤10	≥80	≤40
17	头孢克罗	耐药			
18	头孢唑啉	耐药			
19	头孢曲松	耐药			
20	替考拉宁	敏感			

学习笔记

给予患者持续低流量吸氧、休息、抗感染治疗(药敏结果显示该患者应用糖肽类抗生素敏感，选择使用万古霉素静脉注射 1g/250ml 盐水，一日两次)、化痰、平喘(支气管舒张剂)、雾化吸入激素治疗 1 周，患者咳喘症状缓解，复检血常规、血气分析结果显示：

血常规结果：WBC 5.7×10^9/L，N 60%，Plt 180×10^9/L，Hb 120g/L，RBC 5.5×10^{12}/L，HCT 46%。

血气分析结果：PCO_2 35mmHg，PO_2 75mmHg，pH 7.4。

肺功能检查结果：FVC(占预测值 %)102，FEV_1(占预测值 %)96，FEV_1/FVC(%)95。

痰培养结果阴性。

经治疗后患者血象改善，PO_2 升高，PCO_2 下降，FEV_1/FVC 达到 95%，肺通气功能改善。

思路：90% 以上的金黄色葡萄球菌可产生 β- 内酰胺酶，使青霉素水解失活，表现为耐药。1959 年耐酶半合成青霉素甲氧西林应用于临床，有效地控制了耐酶金黄色葡萄球菌感染的流行。但两年后即出现了耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)，它不仅对甲氧西林耐药，而且对其他多种抗生素亦耐药。MRSA 对所有的 β- 内酰胺抗生素均耐药，并对氯霉素、林可霉素类、氨基糖苷类、大环内酯类抗生素及喹诺酮亦不敏感。这使 MRSA 感染临床选择抗生素的范围仅限于唯一敏感的万古霉素，所以不管其严重的毒副作用，万古霉素仍成为治疗 MRSA 的首选药物而广泛应用于临床。

患者经上述治疗 1 周后症状明显好转，痰培养结果转为阴性，停用万古霉素及糖皮质激素治疗，仅给予低流量吸氧、化痰、平喘巩固治疗，住院 14 天后病情稳定出院。

从以上病案我们可以看出，在充分的临床证据的指导下给予合理的治疗，可以使治疗过程相对规范、简单，患者症状也很快得到缓解，住院日数较短，避免了一些不必要的检查和治疗给患者带来生理、心理和经济上的负担。

学习笔记

第二节　支气管哮喘

哮喘(asthma)是由多种细胞包括气道的炎性细胞和结构细胞(如嗜酸性粒细胞、肥大细胞、T 淋巴细胞、中性粒细胞、平滑肌细胞、气道上皮细胞等)和细胞组份参与的气道慢性炎症性疾病，这种慢性炎症导致气道高反应性。哮喘发病的危险因素包括遗传因素和环境因素两个方面。

病历摘要：

患者男，35 岁。咳嗽、发热 2 周，喘息 5 天。两周前受凉后出现咽痛、咳嗽、发热，以干咳为主，最高体温 37.8℃。口服“感冒药”后发热症状明显改善，但咳嗽症状改善不明显。5 天前出现喘息，夜间明显，常常于夜间憋醒。接触冷空气或烟味后症状可加重。其父患支气管哮喘多年。查体：T 36.2℃，P 80 次 / 分，R 24 次 / 分，BP 120/80mmHg，意识清楚，口唇无发绀，颈静脉无充盈。双肺可闻及散在哮鸣音。心界不大，HR 80 次 / 分，律齐，未闻及杂音。腹软，肝脾肋下未触及，双下肢无水肿，未见杵状指。辅助检查：血常规 WBC 7.6×10^9/L，N 75%，L 12%，E 10%(↑)，Hb 135g/L，Plt 234×10^9/L。胸片未见明显异常。

【问题 1】根据本病例的发病特点，最可能的诊断是什么，应与哪些疾病进行鉴别？

根据患者主诉及查体，最可疑的诊断是支气管哮喘。

鉴别诊断：①左心衰竭引起的喘息样呼吸困难；②慢性阻塞性肺疾病；③上气道阻塞；④变态反应性肺浸润；⑤支气管炎。

思路：患者有喘息症状，夜间明显，接触冷空气或烟味后症状可加重；患者双肺可闻及散在哮鸣音。符合支气管哮喘的诊断标准，同时有支气管哮喘疾病的遗传史(其父亲患有支气管哮

喘),但仍不能确定诊断,需做进一步检查,并排除其他疾病引起的喘息气急、胸闷和咳嗽。

知识点

支气管哮喘的诊断标准

根据我国2008年版《支气管哮喘防治指南》(中华医学会呼吸病学分会哮喘学组),支气管哮喘的诊断标准:

1. 反复发作喘息、气急、胸闷或咳嗽,多与接触变应原、冷空气,物理、化学性刺激以及病毒性上呼吸道感染、运动等有关。

2. 发作时在双肺可闻及散在或弥漫性,以呼气为主的哮鸣音,呼气相延长。

3. 上述症状和体征可经治疗缓解或自行缓解。

4. 除外其他疾病所引起的喘息、气急、胸闷和咳嗽。

5. 临床表现不典型者(如无明显喘息或体征),应至少具备以下1项试验阳性:①支气管激发试验或运动激发试验阳性;②支气管舒张试验阳性,FEV_1增加≥12%,且FEV_1增加绝对值≥200ml;③呼气流量峰值(PEF)日内(或2周)变异率≥20%。

符合1~4条或4、5条者,可以诊断为哮喘。

【问题2】为了明确诊断,应进一步做哪些检查?

应进一步做的检查包括:①肺功能(支气管激发试验或舒张试验);②痰液嗜酸性粒细胞计数;③胸部正位片;④血清IgE检测。

本患者支气管激发试验阳性,支气管舒张试验FEV_1≥20%;痰液涂片在显微镜下可见较多嗜酸性粒细胞;胸部X线检查可见两肺透亮度增加,呈过度通气状态,心界正常。血清IgE 2.3mg/L(↑)。

知识点

嗜酸性粒细胞检查在哮喘诊断中的作用

哮喘患者痰中出现嗜酸性粒细胞增高并不是哮喘的特异指标,过敏因素引起的疾病均可能出现增高,因此不可以作为哮喘确诊的指标,只作为辅助检查项目,临床诊断仍需参考其他检测指标综合判断。

思路:哮喘的常规实验室检查项目及其意义

(1) 痰液检查:涂片在显微镜下可见较多的嗜酸性粒细胞、尖棱结晶和黏液栓。如合并呼吸道细菌感染,痰涂片革兰染色、细菌培养及药物敏感试验有助于病原菌诊断及指导治疗。

(2) 血液常规检查:发作时可有嗜酸性粒细胞增高。如并发感染可有白细胞总数增高,分类中性粒细胞比例增高。

(3) 血气分析:哮喘发作时如有缺氧,可有PaO_2降低,由于过度通气可使$PaCO_2$下降,pH值上升,表现为呼吸性碱中毒。如重症哮喘,气道阻塞加重,可使CO_2潴留,$PaCO_2$上升,表现呼吸性酸中毒。如缺氧明显,可合并代谢性酸中毒。

(4) 特异过敏原的补体试验:可用放射性过敏原吸附试验(RAST)测定特异性IgE,过敏性哮喘患者血清IgE可较正常人高2~6倍。在缓解期检查可判断过敏原,但应防止发生过敏反应,或用嗜碱性粒细胞组胺释放试验计算组胺释放率,>15%为阳性,也可测定血液及呼吸道分泌物中IgE、IgA、IgM等免疫球蛋白。

【问题3】该疾病应与哪些疾病鉴别?

鉴别诊断:

(1) 左心衰竭引起的喘息样呼吸困难:本患者心率正常,心律齐,X线检查可见两肺透亮度

学习笔记

增加，呈过度通气状态，无肺瘀血，心界正常，因此排除左心衰竭引起的喘息样呼吸困难。

(2) 慢性阻塞性肺疾病：该患无肺气肿体征，双肺未闻及湿啰音，因此排除慢性阻塞性肺疾病。

(3) 上气道阻塞：该患为呼气性哮鸣音，未见吸气性呼吸困难；X线检查未见病灶或异物，因此排除上气道阻塞疾病。

(4) 变态反应性肺浸润：该患虽然外周血嗜酸性粒细胞增高，痰液中可见大量嗜酸性粒细胞，但胸部X线检查未见淡薄斑片浸润阴影，因此排除变态反应性肺浸润。

知识点

支气管哮喘的鉴别诊断

根据《内科学》(第八版)(人民卫生出版社)，支气管哮喘的鉴别诊断见于以下几个方面：

1. 排除左心衰竭引起的喘息样呼吸困难　患者常有阵发性咳嗽，常咳出粉红色泡沫痰，双肺可闻及广泛的湿啰音和哮鸣音，左心界扩大，心率增快，心尖部可闻及奔马律。X线检查可见心脏扩大，肺瘀血征，有助于鉴别。若一时难以鉴别，可雾化吸入肾上腺受体激动剂或静脉注射氨茶碱缓解症状后，进一步检查，忌用肾上腺素或吗啡，以免造成危险。

2. 慢性阻塞性肺疾病　多见于中老年人，有慢性咳嗽史，哮喘长年存在，有加重期。有肺气肿体征，两肺或可闻及湿啰音，可与哮喘合并同时存在。

3. 上气道阻塞　中央型支气管肺癌、结核、复发性多软骨炎等气道疾病或异物吸入，导致支气管狭窄或伴发感染时，可出现喘鸣或类似哮喘样呼吸困难，肺部可闻及哮鸣音，出现吸气性呼吸困难，影像学或支气管镜检查可见病灶或异物。

4. 变态反应性肺浸润　见于热带嗜酸性粒细胞增多症、肺嗜酸性粒细胞增多性浸润、多源性变态反应性肺泡炎等。致病原为寄生虫、原虫、花粉、化学药品、职业粉尘等，多有接触史，症状较轻。患者常见发热，胸部X线检查可见多发性、此起彼伏的淡薄斑片浸润阴影，可自行消失或再发。肺组织活检也有助于鉴别。

【问题4】根据支气管哮喘临床路径要求，患者入院1~3天内必须做的检查项目有哪些？

根据支气管哮喘临床路径(2009版，卫生部)入院后第1~3天必需的检查项目：①血常规、尿常规、大便常规；②肝肾功能、电解质、血糖、血沉、C-反应蛋白(CRP)、血气分析、D-二聚体(D-dimer)、感染性疾病筛查(乙肝、丙肝、梅毒、艾滋病等)；③胸部正侧位片、心电图、肺功能(病情允许时)。另外可根据患者病情选择血清过敏原测定、胸部CT、超声心动图、血茶碱浓度、痰病原学检查等。

【问题5】支气管哮喘临床路径要求做血沉和CRP检查的目的是什么？

支气管哮喘患者一般血沉较慢，CRP正常，如果合并感染，可出现血沉增快，CRP增高。因此这两个项目可以有助于鉴别诊断及了解患者是否有并发细菌感染的存在。

知识点

红细胞沉降率

红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate，ESR，即血沉)，是指红细胞在一定条件下沉降的速率，它受多种因素影响：①血浆中各种蛋白的比例改变，如血浆中纤维蛋白原或球蛋白增加或清蛋白减少；②红细胞数量和形状：红细胞减少时血沉加快，球形红细胞增多则血沉减慢。

学习笔记

【问题6】支气管哮喘患者动脉血气分析结果可能存在的变化？

哮喘发作时由于气道阻塞且通气分布不均，通气/血流比值失衡，可致肺泡-动脉血氧分压差（A-aDO_2）增大；严重发作时可有缺氧，PaO_2降低，由于过度通气可使$PaCO_2$下降，pH上升，表现为呼吸性碱中毒。若重症哮喘，病情进一步发展，气道阻塞严重，可有缺氧及CO_2滞留，$PaCO_2$上升，表现为呼吸性酸中毒。若缺氧明显，可合并代谢性酸中毒。

【问题7】如果怀疑该患为过敏引起的哮喘，如何寻找过敏原？

（1）首先询问过敏原接触史。

（2）总IgE检测。

（3）特异性IgE。

思路：哮喘患者大多有过敏体质，对众多的变应原和刺激物敏感。测定变应原指标结合病史有助于对患者的病因诊断，能够尽快脱离与致敏因素的接触。

过敏原的检测方法主要有：

（1）在体检测

1）皮肤过敏原测试：临床常用。需根据病史和当地生活环境选择可疑的过敏原进行检查，可通过皮肤点刺等方法进行，皮肤阳性提示患者对该过敏原过敏。

2）吸入过敏原测试：验证过敏原吸入引起的哮喘发作，因过敏原制作较为困难，且该测试有一定的危险性，目前临床应用较少。

（2）体外检测：检测患者的特异性IgE可较正常人明显增高。IgE是血清中含量最少的一类免疫球蛋白，占血清总量的0.001%。IgE是介导Ⅰ型变态反应的抗体，血清IgE水平升高提示机体可能患有变态反应性疾病。但是，总IgE增高不一定是过敏性哮喘，哮喘患者总IgE也不一定增高，过敏与否主要取决于sIgE的存在。致敏阶段，过敏原作用于机体产生过敏原特异性IgE；当机体再次接触到过敏原时，过敏原特异性IgE抗体与过敏原结合，并且与肥大细胞、嗜碱性粒细胞等结合，使其释放组胺等生物活性物质，进而产生哮喘症状。

第三节　胸腔积液

胸膜的脏层和壁层之间存有一个潜在性腔隙，称为胸膜腔。正常情况下，胸膜腔两层胸膜表面有一层很薄的液体，起润滑胸膜作用，它的渗出和再吸收处于平衡状态。任何因素造成其渗出增加和（或）再吸收减少，即出现胸膜腔内液体积聚，形成胸腔积液。

病历摘要：

患者男，17岁。主因“胸痛1周，发热2天”来我院就诊。患者于1周前出现胸痛、低热，口服头孢类消炎药未见好转。查体：一般情况尚可，体温38.6℃，全身皮肤未见皮疹，心律不齐，心音有力，右侧胸廓饱满，右侧肋间隙较左侧肋间隙宽，右下肺呼吸音稍低。辅助检查：血常规：WBC 12.4×10^9/L（↑），单核细胞（MO）1.4×10^9/L（↑），MO%11.2%（↑）。血沉（ESR）60mm/h（↑），肝肾功能正常。

【问题1】该患的初步诊断是什么？确诊还应做哪些检查？

根据主诉、症状，初步诊断为右侧胸腔积液。

确定诊断应进行胸部CT检查及诊断性胸腔穿刺。

思路：CT检查可以显示少量的胸腔积液、肺内病变、胸膜间皮瘤、胸内和胸膜转移性肿瘤、纵隔和气管旁淋巴结等病变。诊断性胸腔穿刺可做胸水涂片、培养、细胞学和生物化学检查以明确病因，并可检查肺部情况。

学习笔记

知识点

浆膜腔积液标本采集和处理

1. 标本采集　由临床医师行浆膜腔穿刺术采集，采集中段液体于无菌试管内，并根据需要加入适当的抗凝剂。

2. 标本运输　为防止标本出现凝块、细胞变形、细菌溶解等，标本采集后及时送检，否则应置于4℃冰箱保存。

3. 保存和接收　标本接收后应及时检查，浆膜腔积液常规及化学检查必须在采集2小时内完成，否则应将标本冷藏保存。进行细胞学计数和分类的标本可保存24小时。

【问题2】该患发生胸腔积液的机制是什么？

胸膜炎症（结核、肺炎）时由于病原微生物的毒素、组织缺氧以及炎症介质作用使血管内皮细胞受损，导致血管通透性增加以致血液中大分子物质如白蛋白、球蛋白、纤维蛋白原等及各种细胞成分都能渗出血管壁产生渗出液，超过胸膜的吸收能力，出现胸腔积液。

【问题3】该胸腔积液的性质是什么，确定该胸腔积液的性质需进行哪些检查？

采取诊断性胸腔穿刺进行胸腔积液常规检查区分积液性质。

知识点

不同性状渗出液的特点

性状	特点
脓性渗出液	黄色浑浊，含大量脓细胞和细菌。常见致病菌为葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌等。葡萄球菌性渗出液稠厚呈黄色；链球菌性渗出液呈淡黄色，量多而稀薄；铜绿假单胞菌性渗出液呈绿色
血性渗出液	呈红色、暗红色或果酱色，常见于恶性肿瘤、结核性积液、创伤及肺梗死等。肿瘤性血性积液抽取后很快凝固，LDH增高，肿瘤标志物阳性，铁蛋白、纤维蛋白降解产物增高，涂片可找到肿瘤细胞；结核性血性积液凝固较慢，腺苷脱氨酶和溶菌酶明显增高；创伤所致积液呈不均匀血性或混有小凝块
浆液性渗出液	呈黄色微浑半透明黏稠液体，有核细胞多在(200~500)×10^6/L，蛋白为30~50g/L，常见于结核性积液及化脓性积液早期和浆膜转移癌
乳糜性渗出液	呈乳白色浑浊，以脂肪为主，常因丝虫感染、纵隔肿瘤、淋巴结结核等压迫、阻塞胸导管引起
胆固醇性渗出液	呈黄褐色浑浊，强光下可见许多闪光物，显微镜检查可见胆固醇结晶
胆汁性渗出液	呈黄绿色，胆红素定性检查阳性。多见于胆汁性腹膜炎引起的腹腔积液

患者胸腔积液常规检测结果：外观浑浊，相对密度（比重）1.030，蛋白++，细胞数0.7×10^9/L，单个核占60%。

根据实验室检查结果考虑该胸腔积液为渗出液。

知识点

渗出液与漏出液的鉴别

鉴别要点	漏出液	渗出液
病因	非炎症所致	炎症、肿瘤、化学或物理性刺激
外观	淡黄，浆液性	不定，可为血性、脓性、乳糜性

学习笔记

续表

鉴别要点	漏出液	渗出液
透明度	透明和微混	多混浊
相对密度(比重)	<1.015	>1.015
凝固性	不自凝	能自凝
黏蛋白定性	阴性	阳性
蛋白定量(g/L)	<25	>30
GLU(mmol/L)	与血糖相近	低于血糖
细胞计数	$<100\times10^6$/L	$>500\times10^6$/L
细胞分类	以淋巴细胞、间皮细胞为主	根据不同病因,分别以中性或淋巴细胞为主
细菌学检查	阴性	可找到病原菌
肿瘤细胞	阴性	可有
积液 / 血清 TP	<0.5	>0.5
积液 / 血清 LDH	<0.6	>0.6
LDH(U/L)	<200	>200

传统检测中,积液的相对密度(比重)和蛋白量测定被认为是最有价值的分类标准,但近年来研究表明,应用积液 / 血清总蛋白的比值,积液 / 血清 LDH 的比值和 LDH 三项检测,可作出 100% 正确的积液分类

思路 1:青年患者,体检除胸腔积液体征外无重要发现,胸腔积液实验室检查显示为草黄色,淋巴细胞为主,胸膜活检无异常,抗感染治疗无效,常疑为结核性胸膜炎引起的胸腔积液。

为了确定积液的病因,进一步行结核杆菌涂片及相关酶学检查。

知识点

结核性与癌性胸腔积液的鉴别

鉴别点	结核性	癌性
外观	黄色、血性	血性多见
腺苷脱氨酶(U/L)	>40	<25
积液 / 血清腺苷脱氨酶	>1.0	<1.0
溶菌酶(mg/L)	>27	<15
积液 / 血清溶菌酶	>1.0	<1.0
癌胚抗原(μg/L)	<5	>15
积液 / 血清癌胚抗原	<1.0	>1.0
铁蛋白(μg/L)	<500	>1000
乳酸脱氢酶(U/L)	>200	>500
细菌	结核杆菌	无
细胞	淋巴细胞	淋巴细胞,可见肿瘤细胞

思路 2:腺苷脱氨酶在结核性胸膜炎诊断中的意义

腺苷脱氨酶(ADA)检测是一种新型的酶学检查方法。国内外研究证明,ADA 作为一种代谢分解酶,在核酸代谢中催化腺苷转化为肌苷(次黄嘌呤)和氨,结核性胸膜炎时因细胞受刺激,胸液中淋巴细胞明显增多,而 ADA 在淋巴细胞内含量最多,故 ADA 值升高在除外淋巴瘤后可基本确认为结核感染。因结核性与癌性胸水的测定值差异大、不重叠,所以有助于结核性胸膜

学习笔记

炎的诊断和鉴别诊断，对早期发现和及时治疗具有一定意义。

思路 3：乳酸脱氢酶在癌性胸腔积液的意义

乳酸脱氢酶（LDH）是糖酵解途径中的一种重要酶，广泛存在于人体各组织中，以肝、心肌、肾、肌肉、红细胞含量较多，临床上多用 LDH 诊断心、肝和骨骼肌等疾病。随着临床的发展，大量资料证明，LDH 的测定对恶性肿瘤的诊断有越来越重要的作用。LDH 是糖代谢中的主要酶，催化乳酸变成丙酮酸的氧化反应，广泛分布于各种细胞中，一旦细胞受到肿瘤侵袭，LDH 就从细胞中释放出来，血中 LDH 水平随之增高。LDH 增高的患者均见于胃癌、肝癌、胰腺癌、结肠癌等消化道恶性肿瘤及原发性卵巢癌、乳腺癌等，特别是 LDH>500U/L 以上者大部分为多发性肝转移患者。恶性肿瘤患者血清 LDH 总活力变化与肿瘤的种类、大小、有无转移等因素有关。测定血清 LDH 活力，再结合其胸腹水 LDH 活力，对恶性肿瘤的诊断有一定的实用价值。

该患者结核杆菌涂片为阴性，进一步做积液的结核杆菌荧光定量 PCR 检测。

知识点

结核杆菌荧光定量 PCR 检测的优势

对结核杆菌检测最有价值的是细菌学检查，但抗酸染色阳性率低，灵敏度和特异性也很差，并受送检标本质量影响较大；结核菌快速培养所需时间较长，阳性率也较低，给肺结核的早期诊断带来困难。荧光定量 PCR 检测技术较结核菌快速培养报告结果所需时间短，较抗酸染色阳性率高。因此，荧光定量 PCR 技术可作为检测结核分枝杆菌的首选检查之一，尤其是对因菌量少或细菌发生 L 型变异而不易分离培养成功的标本更有实用价值，应成为临床结核分枝杆菌实验诊断的常规技术。

学习笔记

结核杆菌荧光定量 PCR 检测结果为阳性，腺苷脱氨酶 50U/L，乳酸脱氢酶 230U/L，并且出现胸痛、低热等症状。考虑该胸腔积液为结核性渗出液。

临床给予抗结核治疗后，患者体温下降，胸痛症状缓解，复检血常规：WBC 8.2×10^9/L，MO 0.4×10^9/L，MO% 6.2%。

患者症状好转，血象恢复正常，抗结核治疗有效。

第四节　呼吸衰竭

呼吸衰竭（respiratory failure）是指各种原因引起的肺通气和（或）换气功能严重障碍，以致在静息状态下亦不能维持足够的气体交换，导致低氧血症伴（或不伴）高碳酸血症，进而引起一系列病理生理改变和相应临床表现的综合征。

病历摘要：

患者男，63 岁。因“呼吸困难 1 日”入院。体检：体温 37.0℃，心率 104 次 / 分，呼吸 30 次 / 分，血压 178/95mmHg。呼吸急促，口唇发绀，半卧位，两肺底闻及湿啰音，心音正常，腹软，无压痛，下肢不肿。肺活量 1000ml（正常成年男性 3500ml）。心电图：ST-T 段压低。血气分析：PaO_2 47mmHg，$PaCO_2$ 32.5mmHg，HCO_3^- 21.5mmol/L，pH 7.30。电解质：血清 K^+ 5.8mmol/L，Na^+132mmol/L，Cl^-105mmol/L，既往肺炎 1 周，冠心病 8 年，有吸烟史 30 年。

【问题 1】该患的初步诊断是什么？应与哪些疾病鉴别？诊断依据？

根据主诉、症状，初步诊断为呼吸衰竭。

呼吸衰竭的诊断主要依据血气分析。该患者血气分析结果显示：PaO_2 47mmHg，$PaCO_2$

32.5mmHg，pH 7.30。

鉴别诊断：①心源性呼吸衰竭；②中毒（代谢）性呼吸衰竭；③神经精神性呼吸衰竭。

知识点

呼吸衰竭的诊断

呼吸衰竭的临床表现缺乏特异性，明确诊断有赖于动脉血气分析，在海平面、静息状态、呼吸空气条件下，动脉血氧分压（PaO_2）<60mmHg，伴或不伴二氧化碳分压（$PaCO_2$）>50mmHg，并排除心内解剖分流和原发于心排出量降低等因素，可诊断为呼吸衰竭。

知识点

血气分析标本的采集及送检

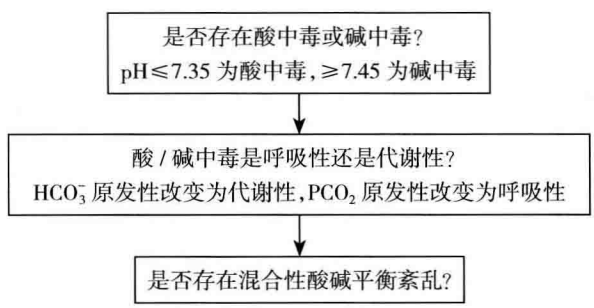
1. 血气分析标本为动脉全血，采血部位可选用桡动脉、肱动脉、股动脉和足背动脉，以桡动脉最常用。

2. 血气标本收集采用无菌的、含肝素（每毫升血 0.05mg 肝素）的 1~5ml 注射器，推荐使用玻璃注射器。收集标本时应避免血液与大气接触。

3. 全血采集后，因血细胞继续进行代谢，O_2 不断被消耗，CO_2 不断产生，故应尽量在短时间内测定，如 30 分钟内不能检测，应在 0~4℃保存，最多不超过 2 小时。

知识点

动脉血气分析具体过程



知识点

呼吸衰竭常用的血气分析指标

检测指标	临床意义
酸碱度（pH）	为 H^+ 浓度的负对数值。动脉血 pH 参考区间 7.35~7.45。血液 pH 处于参考区间可能有 3 种情况：①正常人（酸碱平衡正常）；②处于代偿期的酸碱平衡失调；③混合型酸碱平衡失调
二氧化碳分压（$PaCO_2$）	为物理溶解在血液中的 CO_2 所产生的张力，正常动脉血为 35~45mmHg，它是衡量肺泡通气情况和酸碱平衡中反映呼吸因素的重要指标，受代谢因素影响继发改变
氧分压（PaO_2）	为物理溶解在血液中的 O_2 所产生的张力，正常动脉血为 75~100mmHg，它是判断缺氧程度和呼吸功能的敏感指标，通气和换气功能障碍可造成 PaO_2 下降

学习笔记

续表

检测指标	临床意义
实际碳酸氢盐（AB）	指血浆中 HCO_3^- 的实际浓度，是代谢性酸碱中毒的重要指标，受呼吸因素影响继发改变
标准碳酸氢盐（SB）	指标准条件（37℃时全血标本与 $PaCO_2$ 为 40mmHg 的气体平衡后）下所测得的血浆 HCO_3^- 的浓度，反映代谢性酸碱中毒的重要指标。参考区间为 22~27mmol/L
缓冲碱（BB）	指血液中起缓冲作用的阴离子总和，包括 HCO_3^-、Hb、血浆蛋白及少量的磷酸盐。是反映代谢性酸碱平衡的又一个指标
碱剩余（BE）	指在 37 ℃和 $PaCO_2$ 为 40mmHg 时，将 1L 全血 pH 调整到 7.4 所需强酸或强碱的量（mmol 数），是代谢性酸碱中毒的客观指标。参考区间为 −3~+3mmol/L。负值为碱中毒，正值为酸中毒
阴离子隙（AG）	常用可测定的阳离子减去可测定的阴离子表示。 阴离子隙 $=Na^+-(HCO_3^-+CL^-)$，参考区间 8~16mmol/L

【问题 2】该患者发生了哪型呼吸衰竭，机制如何？

该患者发生了Ⅰ型呼吸衰竭（因呼吸加快导致换气障碍），主要机制是部分肺泡限制性通气不足，弥散障碍和通气 / 血流比例失调。

知识点

呼吸衰竭的分型

根据血气改变，将呼吸衰竭分为两型：Ⅰ型呼吸衰竭即缺氧性呼吸衰竭，PaO_2<7.89kPa（60mmHg），$PaCO_2$ 正常或轻度下降，主要见于换气障碍。可给予高浓度氧疗，以纠正缺氧。Ⅱ型呼吸衰竭即高碳酸性呼吸衰竭，既有缺氧，又有二氧化碳潴留，PaO_2<7.89kPa（60mmHg），伴 $PaCO_2$>6.65kPa（50mmHg），主要系肺泡通气不足所致。

【问题 3】该患者为什么发生呼吸困难？

肺顺应性降低，牵张感受器或肺泡毛细血管旁感受器受刺激而反射性引起呼吸运动变浅变快。

【问题 4】该患者发生了哪种类型的酸碱平衡和离子紊乱？

该患者为急性代偿性呼吸性碱中毒伴高钾血症。

患者既往有肺炎病史突发呼吸困难，可能为急性呼吸性酸碱平衡紊乱。

根据代偿计算公式：$[HCO_3^-]=24-(40-PaCO_2)\times0.2\pm2.5=20\sim25mmol/L$，

该患者 $[HCO_3^-]$ 21.5mmol/L 处于代偿范围内。

呼吸衰竭引起机体细胞能量不足，钠泵功能障碍，Na-K 交换减少，出现高钾血症。

思路 1：见表 6-4-1。

表 6-4-1　代偿预计值计算公式

紊乱类型	预计公式	代偿时间	代偿极限
代谢性酸中毒	$PaCO_2=40-(24-[HCO_3^-])\times1.2\pm2$	12~24 小时	10mg
代谢性碱中毒	$PaCO_2=40+([HCO_3^-]-24)\times0.9\pm5$	3~5 日	55mg
急性呼吸性酸中毒	$[HCO_3^-]=24+(PaCO_2-40)\times0.07\pm1.5$	几分钟	30mg
慢性呼吸性酸中毒	$[HCO_3^-]=24+(PaCO_2-40)\times0.4\pm3$	5~7 日	42~45mg
急性呼吸性碱中毒	$[HCO_3^-]=24-(40-PaCO_2)\times0.2\pm2.5$	几分钟	18mg
慢性呼吸性碱中毒	$[HCO_3^-]=24-(40-PaCO_2)\times0.5\pm2.5$	2~3 日	12~15mg

学习笔记

思路 2：单纯性酸碱平衡紊乱分为四种：代谢性酸中毒、代谢性碱中毒、呼吸性酸中毒及呼吸性碱中毒。

动脉血气变化：

代谢性酸中毒：原发性[HCO_3^-]降低，[HCO_3^-]/[H_2CO_3]比值降低，血液 pH 降低。

代谢性碱中毒：原发性[HCO_3^-]升高，[HCO_3^-]/[H_2CO_3]比值升高，血液 pH 升高。

呼吸性酸中毒：原发性 CO_2 潴留增多，使 H_2CO_3 水平增高，[HCO_3^-]/[H_2CO_3]比值降低，血液 pH 降低。

呼吸性碱中毒：原发性 CO_2 排出增多，使 H_2CO_3 水平降低，[HCO_3^-]/[H_2CO_3]比值增高，血液 pH 增高。

思路 3：混合性酸碱平衡紊乱动脉血气变化

(1) 呼吸性酸中毒合并代谢性酸中毒：由于代谢性酸中毒为原发性[HCO_3^-]降低，$PaCO_2$ 代偿减少；呼吸性酸中毒为 $PaCO_2$ 原发性增高，[HCO_3^-]代偿性升高，二者相互抵消增减不明显。血浆 K^+ 增高。

(2) 呼吸性碱中毒合并代谢性碱中毒：代谢性碱中毒为原发性[HCO_3^-]升高，经代偿出现 $PaCO_2$ 增高；呼吸性碱中毒为原发性 $PaCO_2$ 降低，代偿使[HCO_3^-]减少。$PaCO_2$ 多为下降或正常，[HCO_3^-]多为升高或正常。血浆 K^+ 下降。

(3) 代谢性酸中毒合并呼吸性碱中毒：血液 pH 可高、可低或正常，[HCO_3^-]与 $PaCO_2$ 都明显降低，血浆 CL^- 常增高。

(4) 呼吸性酸中毒合并代谢性碱中毒：血液 pH 变化不明显，[HCO_3^-]与 $PaCO_2$ 都明显增高。

(5) 代谢性酸中毒合并代谢性碱中毒：血液 pH 变化不明显，[HCO_3^-]与 $PaCO_2$ 变化相反。

思路 4：血气分析对于判断呼吸功能的意义

(1) 通气功能障碍：气道阻塞或呼吸肌衰竭等原因引起通气功能障碍，$PaCO_2$ 升高，PaO_2 降低，二者升降数值大致相等。

(2) 换气功能障碍：肺弥散功能障碍或通气 / 血流比值失调等所致肺换气功能障碍时，PaO_2 降低，$PaCO_2$ 正常或降低。

(3) 通气与换气功能障碍并存：PaO_2 明显降低超过 $PaCO_2$ 升高的数值。

呼吸衰竭诊断明确，但该患者既往有冠心病史，入院时血压升高，首先需排除心源性呼吸衰竭，多见为急性左心衰。

【问题 5】如何鉴别心源性呼吸衰竭还是肺源性呼吸衰竭？

该患者 NT-proBNP 正常考虑为肺源性呼吸衰竭。

思路：血液中的 proBNP（B 型利钠肽原）在肽酶的作用下水解，生成 BNP 和 NT-proBNP，NT-proBNP 的半衰期较 BNP 长，在心力衰竭患者血中浓度较 BNP 高 1~10 倍，更利于心力衰竭的诊断和实验室测定。NT-proBNP 有很高的阴性预测价值，正常时可排除心力衰竭的存在。

患者入院第二天出现嗜睡，复查血气：pH 7.2(↓)，PaO_2 45mmHg(↓)，$PaCO_2$ 65mmHg(↑)，[HCO_3^-] 27.5mmol/L(↑)；离子：血清钾离子 6.0mmol/L，钠离子 135mmol/L，氯离子 85mmol/L。

【问题 6】该患者目前病情发生了哪些变化？

(1) 该患者发生了Ⅱ型呼吸衰竭：即高碳酸性呼吸衰竭，既有缺氧，又出现二氧化碳潴留，PaO_2<60mmHg，$PaCO_2$>50mmHg。现患者血气分析符合Ⅱ型呼吸衰竭。

(2) 出现呼吸性酸中毒合并代谢性碱中毒。

(3) 机体乏氧严重，仍处于高钾血症状态。

建议无创呼吸机辅助治疗，患者不能耐受，不能配合，二氧化碳分压进一步升高，$PaCO_2$

学习笔记

105mmHg，患者昏迷，转入监护室，给予气管插管有创呼吸机辅助通气。

呼吸机辅助通气第一天：

血气：pH 7.31（↓），PaO_2 78mmHg，$PaCO_2$ 60mmHg（↑）；电解质检测：血清钾离子 5.3mmol/L，钠离子 133mmol/L（↓），氯离子 95mmol/L（↓），患者神志转清。

呼吸机辅助通气第二天：

复查血气：pH 7.35，PaO_2 80mmHg，$PaCO_2$ 48mmHg。

电解质检测：血清钾离子 4.5mmol/L，钠离子 140mmol/L，氯离子 103mmol/L，患者神志清楚。

患者低氧血症得到改善，血清钾、钠、氯离子恢复到正常范围。

呼吸机辅助通气第三天：

血气：pH 7.4，PaO_2 95mmHg，$PaCO_2$ 35mmHg。拔管脱机观察。

第四天，患者神志清晰，呼吸平稳，转出监护室。

复查血气：pH 7.42，PaO_2 84mmHg，$PaCO_2$ 37mmHg。

患者病情逐渐好转，去除酸、碱中毒因素，纠正电解质紊乱，都要有血气监护，不断地根据血气和同步电解质的测定结果，逐步实行调整。

第五节　肺　　癌

原发性支气管癌（primary bronchogenic carcinoma），简称肺癌（lung cancer），为起源于支气管黏膜或腺体的恶性肿瘤。肺癌发病率为男性肿瘤的首位，并由于早期诊断不足致使预后差。目前随着诊断方法进步、新药以及靶向治疗药物出现，规范有序的诊断、分期以及根据临床行为进行多学科治疗的进步，生存期有所延长。然而，要想大幅度地延长生存期，仍有赖于早期诊断和早期规范治疗。

学习笔记

病历摘要：

患者男，62岁。因咳嗽、咳痰2个月，痰中带血1周入院。患者于2个月前无明显诱因出现刺激性咳嗽，咳少量灰白色黏痰，伴右胸背部胀痛，无发热、盗汗、心悸等症状。曾按呼吸道感染服用抗生素和止咳药，疗效欠佳。1周以来间断痰中带血，即来我院就诊。既往无结核等传染病病史，无药物过敏史，吸烟20余年，每日约10支烟。发病以来无明显消瘦，食欲尚可，大小便正常，近日偶感疲乏。查体：T 37℃，P 82次/分，R 20次/分，BP124/84mmHg。患者神志清楚，查体合作，皮肤、巩膜无黄染。双侧锁骨上未触及肿大淋巴结，气管中位，无声嘶。双胸廓对称，叩诊呈清音，右上肺可闻及干啰音，无湿啰音，左肺呼吸音正常，心率82次/分，律齐，无杂音。腹平软、未触及肝脾或肿物。未见杵状指，膝反射正常。未引出病理征。辅助检查：Hb 120g/L，WBC 8.1×10^9/L，胸部X线片示，右上肺前段有一约3cm×4cm大小椭圆形块状阴影，边缘模糊毛糙，可见细短的毛刺影。

【问题1】通过上述问诊和查体，该患者可疑诊断是什么？需要与哪些疾病相鉴别？

患者老年男性，有刺激性咳嗽、咳痰，痰中带血1周，给予止咳、抗炎药无效，有吸烟史。胸部X线片示，右上肺前段有一约3cm×4cm大小椭圆形块状阴影，边缘不光滑。

根据患者主诉、症状、个人史，高度怀疑原发性支气管肺癌。

鉴别诊断：①肺结核；②肺炎；③肺脓肿；④纵隔淋巴瘤；⑤肺部良性肿瘤；⑥结核性渗出性胸膜炎。

知识点

原发性肺癌的诊断依据

根据卫生部《原发性肺癌诊疗规范(2011 年版)》,卫生部《原发性肺癌诊断标准》(2010 年版)。

1. 高危因素　吸烟指数 >400 支 / 年,年龄 >45 岁,肺癌家族史等。
2. 临床症状　刺激性咳嗽、血痰或咯血、胸痛、气促、发热等。
3. 辅助检查　胸部影像学检查,血肿瘤标志物,痰细胞学检查,纤维支气管镜等。
4. 细胞、组织学等病理学诊断阳性为确诊标准。

知识点

肺癌的组织病理学分类

1. 非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer,NSCLC)　包括鳞状上皮细胞癌、腺癌和大细胞癌等。

2. 小细胞肺癌(small cell lung cancer,SCLC)　包括燕麦细胞型、中间细胞型、复合燕麦细胞型。

【问题 2】为明确诊断,应进一步做哪些检查?

为了确诊原发性肺癌并进行病理学分类应行痰脱落细胞学检查、纤维支气管镜活检及肿瘤标志物检查。

思路:美国胸科医师学会公布的第 3 版 2013ACCP 肺癌诊疗指南指出肺癌的确诊依赖于对原发病变和转移性病灶的细胞学和组织学检查。肺癌的病理诊断、临床以及影像学改变为疾病提供正确分期、治疗和预后判断的信息。恰当的诊断技术亦可提高诊断准确性。

知识点

痰脱落细胞学检查

痰脱落细胞学检查是肺癌早期诊断的重要方法之一。方法简便易行,患者无痛苦,适用于肺癌高危人群的普查。

采集痰液的质量和方法直接影响痰检查阳性率。

采集痰液的基本要求是:①痰液必须新鲜;②痰液必须是肺部咳出。

知识点

理想肿瘤标志物的特性

1. 灵敏度高,使肿瘤能早期发现,早期诊断。
2. 特异性好,能对良恶性肿瘤进行鉴别。
3. 能对肿瘤进行定位,即具有器官特异性。
4. 与病情严重程度、肿瘤大小或分期相关,即肿瘤越大或越晚期,肿瘤标志物浓度越高。
5. 检测肿瘤治疗效果及复发情况。
6. 预测肿瘤的预后,即肿瘤标志物浓度越高,预后越差。

【问题 3】肺癌相关的肿瘤标志物都有哪些?

神经元特异性烯醇化酶(neuron specific enolase,NSE)、癌胚抗原(Carcinoembryonic antigen,CEA)、细胞角蛋白 19 片段(cytokeratin-19 fragments,CYFRA21-1)、胃泌素释放肽前体(progastrin-releasing peptide,ProGRP)、鳞状上皮细胞癌抗原(squamous cell carcinoma antigen,SCCA)。

知识点

常用肺癌相关肿瘤标志物

美国临床生化学会(National Academy of Clinical Biochemistry,NACB)推荐神经元特异性烯醇化酶(NSE)、癌胚抗原(CEA)、细胞角蛋白 19 片段(CYFRA21-1)、胃泌素释放前体肽(ProGRP)、鳞状上皮细胞癌抗原(SCCA)为肺癌肿瘤标志物。并对这些肿瘤标志物在肺癌中的应用给予建议。

思路 1:当前常用的肿瘤标志物及其意义

美国临床生化学会(National Academy of Clinical Biochemistry,NACB)推荐:

(1) 神经元特异性烯醇化酶(NSE):诊断的敏感性和特异性都较低,在其他肿瘤,如肝癌、淋巴细胞瘤患者中均升高,有时在良性肿瘤中也增高。主要用于小细胞肺癌的诊断、治疗后监测和复发监测。

(2) 癌胚抗原(CEA):在腺癌和大细胞肺癌患者血清中含量高,在良性肿瘤和其他肿瘤中也会增高,主要用于监测肺腺癌和大细胞癌的治疗效果、监测复发。

(3) 细胞角蛋白 19 片段(CYFRA21-1):是非小细胞肺癌的最敏感的诊断标记,其特异性也较高。

(4) 胃泌素释放前体肽(ProGRP):是小细胞肺癌的可靠标志物,有很好的敏感性和特异性。ProGRP 对小细胞肺癌的特异性是 100%。良性肿瘤未见增高;可用于区分小细胞肺癌和其他类型肺癌;可作为早期诊断指标,但不能预测扩散。

(5) 鳞状上皮细胞癌抗原(SCCA):敏感性低,不适用于筛查;特异性低,所有腺癌均增高;需要与其他标记联合。

思路 2:肺癌相关肿瘤标志物在肺癌诊断中的应用

(1) 筛查:目前肺癌尚无好的早期诊断标记。针对高危人群(吸烟人群)及出现疑似肺癌症状(咯血,胸痛,肺部肿物)的患者进行多标志物联合筛查。如怀疑非小细胞肺癌(NSCLC):CEA+SCC+ CYFRA21-1;怀疑小细胞肺癌(SCLC):ProGRP+NSE+CEA。

(2) 诊断:肿瘤标志物被考虑用于肺部肿瘤的病理分型,腺癌—CEA,鳞癌—CYFRA21-1 和 SCC;大细胞癌—CYFRA21-1 和 NSE;小细胞癌—NSE 和 ProGRP。见表 6-5-1。

表 6-5-1　根据肺癌组织学及应用形式标志物使用的推荐

组织学	治疗前	治疗后随访
未知	CYFRA21-1、CEA、NSE、ProGRP	在进展性疾病中根据组织学使用首选标志物
腺癌	CYFRA21-1 和 CEA	CYFRA21-1 和(或)CEA
鳞状细胞癌	CYFRA21-1 和 CE(和 SCCA)	CYFRA21-1 和(或)CEA(和 / 或 SCCA)
大细胞癌	CYFRA21-1 和 CEA	CYFRA21-1 和(或)CEA
小细胞癌	NSE 和 ProGRP	NSE 和(或)ProGRP

学习笔记

知识点

肿瘤标志物的选择

对于不同组织学类型的肺癌在治疗各个阶段对肿瘤标志物的选择，NACB 指南建议，对于缺少组织学检测结果的非手术患者，当 NSE 和 proGRP 水平升高，提示 SCLC；在治疗后和随访阶段使用 NSE 和（或）proGRP，从而实现对 SCLC 更好的管理。

思路 3：肿瘤标志物在肺癌治疗监测中的应用

术后随访：术后肿瘤标志物迅速下降可以预测患者的预后。在治疗性干预后肿瘤标志物会有短暂的升高，这是由损伤的正常和肿瘤组织释放出来的；下降取决于生物标志物的半衰期和残存的肿瘤细胞，治疗切除术后，CYFRA21-1、TRA 和 SCC 应在 1~2 天内快速下降至健康人水平，然而 CEA 下降稍有延迟，取决于最初的标志物水平（半衰期 1~4 天），如果肾脏或肝脏功能障碍，可能会延长肿瘤标志物的半衰期。标志物的缓慢清除和（或）升高预示着残存肿瘤细胞的存在和预测疾病的早期复发。

全身治疗的监测：当通过肿瘤标志物来监测放化疗效果时，如果下降明显，则证明对治疗有反应。当升高或下降不明显时通常提示进展性疾病。在 NSCLC 患者，CYFRA21-1 与肿瘤应答具有良好的一致性。在进展性疾病的检测中，特异性为 100%，敏感性为 52%，然而与疾病缓解的一致性较低。

在 SCLC 中，NSE 和 ProGRP 反映临床病程和对治疗有效果。化疗期间，由于肿瘤细胞溶解，它们的水平可在治疗后 24~72 小时短暂性升高，而后快速降至个体基线水平。相反，治疗失败与肿瘤标志物浓度持续升高或下降不明显相关。如果 NSE 和 ProGRP 同时升高，联合检测会提示更多的信息。

复发监测：肿瘤标志物是疾病复发很敏感的指标，常常比影像学方法领先数月，对于 NSCLC 患者，CYFRA21-1 诊断的敏感性为 79%；对于术前患者，当 CYFRA21-1 水平 >3.3mg/L，其诊断敏感性可上升至 100%。有报道 CYFRA21-1、TPS 和 SCCA 对鳞癌细胞亚型复发的监测有潜在的作用，而 TPS 和 CEA 是监测腺癌复发最好的生物标志物。

在 SCLC，NSE、ProGRP 和 CEA 是检测复发疾病的相关标志物，它们之中，ProGRP 显示了最高的检测率，敏感性为 67%（cfNSE 为 20% 和 CEA 为 38%），但当 ProGRP 和 NSE 联合检测时，会显示明显的叠加作用，敏感性达到 79%。ProGRP 的中位领先时间为 35 天。在 NSE 中未发现。

思路 4：这些肿瘤标志物应用时的注意事项

（1）目前，单个肿瘤标志物，比如 CYFRA21-1、CEA、NSE 及 ProGRP 不能作为无症状人群和高危肺癌人群的筛查指标。

（2）CYFRA21-1、NSE 和（或）ProGRP 的检测对于首次治疗前的肺癌的组织学分类是有帮助的，在术前无组织学证据时，四种标志物的检测都是有必要的首选标志物。

（3）无组织学证据且怀疑为不宜手术的肺癌，血清 NSE 升高，尤其是 ProGRP 则高度提示小细胞肺癌，血清 SCCA 升高则提示鳞状细胞癌。

（4）对首次治疗后无症状肺癌患者的随机观察一直存有争议，然而，合适的肿瘤标志物的组合测定可能帮助评估肿瘤切除的完整性以及提示复发的早期指征。

（5）在非小细胞肺癌全身治疗过程中可检测 CEA 和 CYFRA21-1。在小细胞肺癌全身治疗过程中，NSE 和 ProGRP 对治疗有反应，并能为进展性疾病提供证据，将来“生物学进展”的可靠标准仍需引用以肿瘤标志物为基础的干预试验。

（6）关注分析前因素是非常必要的。用于 NSE 检测的标本应在标本采集 60 分钟内从凝块中分离出来，溶血标本不能检测。溶解后血清样本的充分混合不适于细胞角蛋白的检测。受表

学习笔记

皮和唾液污染的标本不适于 SCCA 检测。样本应在 +4℃（短期）和 −70℃（长期）保存。

(7) 同一类肿瘤标志物检测应执行组合检测，这应体现在实验室报告中并记录在患者的病历中。

知识点

肿瘤标志物标本采集的注意事项

血液标本的正确采集和保存是肿瘤标志物测定结果准确的重要保证。血液标本采集后应及时离心，保存于 4℃冰箱中；如在 2~3 个月内测定，应 −20℃保存。酶类和激素类肿瘤标志物不稳定，易降解，应及时测定或低温保存。由于红细胞和血小板中也存在神经元特异性烯醇化酶（NSE），因此，样本溶血可使血液中 NSE 浓度增高。

【问题 4】一年以后，患者来医院检查，发现已经出现远处转移，NCCN 推荐的一线治疗流程如何？

推荐使用酪氨酸激酶抑制剂（TKIs）治疗，具体流程如图 6-5-1。

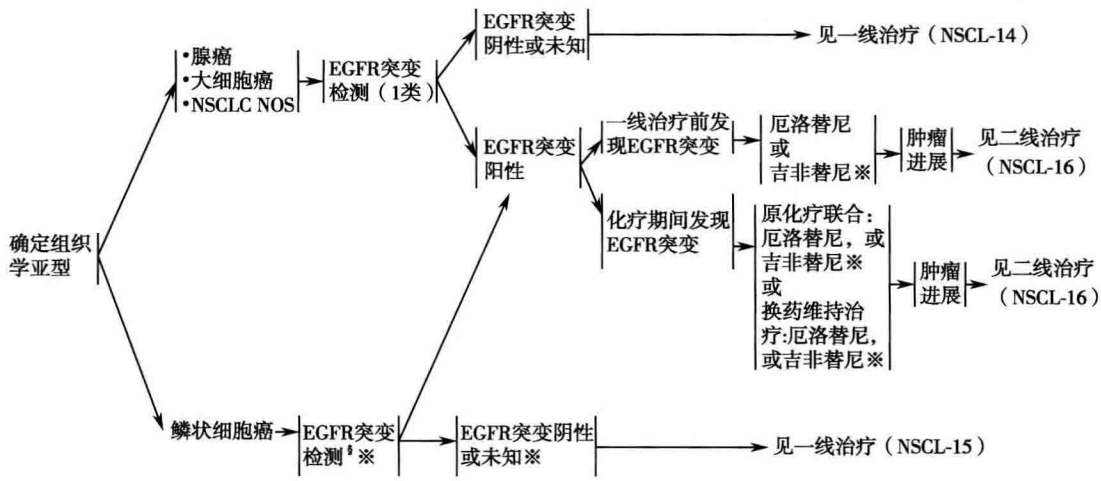


图 6-5-1　肺癌复发和转移的一线治疗流程

【问题 5】欲给该患用酪氨酸激酶抑制剂（TKIs）治疗，应做哪些分子诊断检测？

应检测表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor，EGFR）基因和 *KRAS* 基因突变情况

思路 1：在《非小细胞肺癌临床实践指南》（中国版）中明确指出，*EGFR* 和 *K-ras* 突变的检测，有助于进行进一步病理评估，为患者接受酪氨酸激酶抑制剂（tyrosine kinase inhibitors，TKIs）治疗提供有力依据。

(1) 表皮生长因子受体（EGFR）正常情况下表达于上皮细胞表面，而在一些人类恶性肿瘤中常常过度表达，选择患者时，活化的 EGFR 突变是重要生物学指标。

(2) EGFR 突变，尤其是外显子 19 缺失、外显子 21 突变（L861Q）及外显子 18 突变（GT19X），与肿瘤对酪氨酸激酶抑制剂（TKIs）的敏感度有重要关系，是患者选择 TKI 治疗的最好的指标。

(3) 腺癌 EGFR 突变的发生率在西方国家为 10%，亚洲人群达到 50%，在不吸烟者、女性以及非黏液性肿瘤中发生率更高。

(4) EGFR 和 K-ras 突变在肺癌中互相排斥。

(5) K-ras 突变和 TKI 内源性耐药有关，对 K-ras 无突变患者，可选择接受 TKI 治疗。

(6) K-ras 突变在非亚洲人群、吸烟者以及黏液性腺癌中最常见。

思路 2：EGFR 突变检测在肺癌治疗与预后预测中的意义

最常见的 EGFR 突变为外显子 19 缺失(45% 患者)和外显子 21 的 L858R 突变(见于 40% 的患者),两者都可以导致酪氨酸激酶结构域活化,且都与肿瘤对小分子 TKIs(厄洛替尼、吉非替尼)的敏感度有关。其他的药物敏感性突变类型还包括外显子 21(L861Q)和外显子 18(G719X),这些药物敏感性突变在白种 NSCL 患者为 10%,而在亚洲患者高达 50%。外显子 20 的 T790M 突变可导致 TKI 类药物耐药,有关报道显示该突变类型见于约 50% 的肿瘤进展患者。

第六节　肺　栓　塞

肺栓塞(pulmonary embolism,PE)是由于内源性或外源性的栓子堵塞肺动脉主干或分支,引起肺循环障碍的临床和病理生理综合征。包括肺血栓栓塞症(pulmonary thromboembolism,PTE)、脂肪栓塞综合征、羊水栓塞、空气栓塞等。PTE 为 PE 的最常见类型,占 PE 中的绝大多数。引起 PTE 的血栓主要来源于深静脉血栓形成(DVT)。PTE 常为 DVT 的并发症。

病历摘要:

患者女,80 岁。2 周前因咽痛后出现胸闷、气短,无夜间憋醒,无胸痛及呼吸困难,在当地医院行抗感染治疗效果不理想。近 1 周患者出现胸闷、气短加重,有夜间憋醒,夜间不能平卧,坐起后症状缓解。发作时无出汗、心悸、咳嗽、咳痰、恶心、呕吐、晕厥等症状。1 天前患者小便后突发胸闷、憋气,胸痛明显,表现烦躁,当时心率 120 次 / 分,血压 160/110mmHg,急查血气分析:pH 7.48,PCO_2 32mmHg,PO_2 49mmHg,BE 2.8mmol/L;D- 二聚体 852ng/ml;生化:肌酸激酶 MB<1.0ng/ml,肌红蛋白 85.8ng/ml,肌钙蛋白 I<0.05ng/ml,乳酸脱氢酶 260U/L。既往史:患者 30 年前体检发现血压升高,当时为 170/105mmHg,服用药物(具体不详)控制血压,血压控制不理想。入院查体:体温 36.0℃,脉率 120 次 / 分,呼吸 22 次 / 分,血压 150/100mmHg。一般状况尚可,颈静脉无充盈,双肺呼吸音清。

【问题 1】通过上述问诊和查体,该患者可疑的诊断是什么?与哪些疾病鉴别?

根据患者的主诉、症状高度怀疑肺动脉栓塞。

鉴别诊断:①冠心病;②肺炎;③主动脉夹层;④与各种原因引起的晕厥、胸腔积液、休克等鉴别。

【问题 2】为明确诊断并帮助鉴别诊断应进一步做哪些辅助检查?

辅助检查:血常规:WBC 10.9×10^9 /L(↑),N 87.91%(↑),RBC 4.48×10^{12}/L,Hb 122g/L,Plt 293×10^9/L;血气分析:pH 7.48,PCO_2 35mmHg,PO_2 49mmHg(↓),BE 2.6。心电图报告心房颤动及左室高电压。肺部 CT 显示右下肺动脉及其分支、左上肺动脉内血栓,合并右中下肺及左下肺感染。

【问题 3】根据辅助检查结果,应作出怎样的诊断?依据是什么?

诊断:①肺栓塞;②高血压病(3 级),心房颤动;③肺炎。

诊断依据:①老年女性患者,30 年高血压病史,血压控制不佳,持续房颤。胸闷气短 2 周,加重 1 周。突发胸痛、烦躁 1 天,氧分压下降,D- 二聚体升高。肺部 CT 显示右下肺动脉及其分支、左上肺动脉内血栓,结合该患者症状、低氧血症、D- 二聚体,特别是 CT 检查,肺栓塞诊断明确;②血常规:WBC 10.9×10^9 /L(↑),N 87.91%(↑),肺部 CT 显示右中下肺及左下肺感染,确诊肺炎;③心电图报告心房颤动及左室高电压,该患既往有高血压病史,诊断为高血压病(3 级),心房颤动。

思路 1：D- 二聚体是交联纤维蛋白在纤溶系统作用下产生的可溶性降解产物,为一个特异性的纤溶过程标志物。在血栓栓塞时因血栓纤维蛋白溶解使其血中浓度升高。D- 二聚体对 PTE 诊断的敏感性达 92%~100%,但其特异性较低,仅为 40%~43% 左右。手术、肿瘤、炎症、感染、组织坏死等情况均可使 D- 二聚体升高。在临床应用中,D- 二聚体对急性 PTE 有较大的排除诊

学习笔记

断价值，若其含量低于500μg/L，可基本除外急性PTE。动脉血气分析：常表现为低氧血症、低碳酸血症、肺泡-动脉血氧分压差[$P_{(A-a)}O_2$]增大。部分患者的结果可以正常。

知识点

D-二聚体

D-二聚体是纤维蛋白单体经活化因子XIII交联后，再经纤溶酶水解所产生的一种特异性降解产物，是一个特异性的纤溶过程标志物。来源于纤溶酶溶解的交联纤维蛋白凝块。主要反映纤维蛋白溶解功能。D-二聚体增高或阳性见于继发性纤维蛋白溶解功能亢进，如高凝状态、弥散性血管内凝血、肾脏疾病、器官移植排斥反应、溶栓治疗等。

思路2：对于大块肺栓塞和血流动力学不稳定者，应当考虑溶栓治疗。该患者CT未发现大块栓塞，也未造成血流动力学紊乱，因此无溶栓治疗的指征，但是必须抗凝治疗。华法林是最佳药物，但是个体敏感性差异很大，剂量不易掌握，老年人应该从2.5~3.0mg/d开始用，注意监测INR，将其稳定在2.0~3.0。由于华法林需要数天才能发挥全部作用，因此需与肝素至少重叠应用5天，当INR达到2.5(2.0~3.0)时，或PT延长至正常值的1.5~2.5倍时，持续至少24小时，方可停用肝素。

应用肝素前，应测定基础APTT、PT及血常规(含血小板计数、血红蛋白)，注意是否存在抗凝的禁忌证，如活动性出血、凝血功能障碍、血小板减少、未予控制的严重高血压等。

入院后治疗：口服地尔硫䓬90mg/d、美托洛尔67.5mg/d、福辛普利10mg/d，静脉点滴硝酸盐控制血压。皮下注射那曲肝素0.6ml每日两次，口服华法林，根据INR调整剂量。治疗过程中实验室监测结果见表6-6-1。

表6-6-1　治疗过程中实验室监测结果

日期	PT(秒)	APTT(秒)	INR	D-二聚体(ng/ml)	华法林(mg)
2014-4-10	30.9	1.33	834	52	
2014-4-11	25.3	39.6	2.64	800	2.5
2014-4-12	35	46.8	4.05	366	2.5
2014-4-13	28.7	48.5	3.38	435.8	0
2014-4-14	32.8	49.8	3.79	1360	0
2014-4-16	24.9	42.8	2.59	468.5	1.25
2014-4-17	24.8	40.5	2.54	516.5	1.25

思路3：美国胸科医师学会推荐不同血栓性疾病患者(欧美国家人群)在服用华法林过程中应维持INR在一定范围，使其能达到降低凝血功能，但又不会引起出血。

预防深静脉血栓形成(DVT)INR为1.5~2.5；治疗DVT、肺梗死(PE)、一过性脑缺血发作(TIA)INR为2.0~2.8；治疗心梗、动脉血栓INR为2.5~3.0。

思路4：临床抗凝治疗的时间因人而异，根据监测APTT调整肝素用量，尽快使APTT达到并维持在正常值的1.5~2.5倍。

治疗1周后血常规：WBC 5.56×10^9/L，N 68.76%，RBC 3.88×10^{12}/L，Hb 112.3g/L，Plt 287.2×10^9/L。血气分析：pH 7.56，PCO_2 32.8mmHg，PO_2 70.6mmHg，BE 7.1；生化：尿素4.7mmol/L，钠离子140.6mmol/L，钾离子3.44mmol/L，血糖8.59mmol/L，肌酐77μmol/L，血钙1.89mmol/L，氯离子107mmol/L，二氧化碳29mmol/L。患者症状改善，根据APTT、PT、D-二聚体结果继续调整用药，巩固治疗。

(姜晓峰)

学习笔记

第七章 消化系统疾病的实验诊断

消化系统的基本生理功能是摄取、转运、消化食物，吸收营养和排泄废物。消化系统疾病包括食管、胃、肠、肝、胆、胰等脏器的器质性和功能性疾病，是临床常见病和多发病。该系统疾病有两个较为突出的特点：第一，临床表现除消化系统本身症状及体征外，常伴有其他系统或全身性症状，有些患者的其他系统症状甚至比消化系统症状还要突出。第二，消化系统疾病危重症较多，中国疾病预防控制中心发布的2012年中国卫生统计提要数据显示，2004~2005年我国前十位恶性肿瘤死亡率顺位中，肝癌、胃癌、食管癌和结直肠癌分别列恶性肿瘤患者死亡的第二、第三、第四和第五位。因此，及时准确的诊断和防治十分重要。本章将以病例分析的形式介绍实验室检查在消化系统疾病诊断和鉴别诊断中的应用。

第一节 消化性溃疡

消化性溃疡（peptic ulcer，PU）是指胃肠道黏膜被胃酸和胃蛋白酶消化而发生的溃疡，可发生于食管下段、胃、十二指肠、胃肠吻合口以及肠道的Meckel憩室，是全球性多发病、常见病。其中以十二指肠溃疡（duodenal ulcer，DU）和胃溃疡（gastric ulcer，GU）最为常见，两者的发生率之比约为3∶1。流行病学资料显示，在我国，男性发病率高于女性，南方高于北方，城市高于农村，秋冬和冬春之交高发。其病因和发病机制尚未完全阐明。本节以十二指肠溃疡为例介绍消化性溃疡的实验诊断。

病历摘要：

患者男，35岁。主诉“反复腹痛2年，近半月加重伴黑便”来我院就诊。患者2年前无明显诱因出现上腹部阵发性隐痛，以饥饿时明显，进食后稍有缓解，伴恶心、反酸、嗳气，无心悸、头晕、呕吐、呕血、便血，无阵发性呼吸困难等症状，自服“胃药”后好转。半月前，患者上述症状加重，伴解黑色成形便。体格检查：T 36.4℃，P 100次/分，R 22次/分，BP 109/59mmHg。结膜苍白，贫血貌，皮肤巩膜无黄染；腹平软，未见腹壁静脉曲张及脐周压痛，无反跳痛，肝脾未触及，Murphy征阴性，肠鸣音3次/分；双肾区无叩击痛。

【问题1】根据病史及临床表现，该患者可能的诊断是什么？

该患者的主要临床表现为反复上腹疼痛，饥饿时明显，进食后稍有缓解，伴黑便。查体可见结膜苍白，贫血貌，脐周压痛，Murphy征阴性。该患者可能的诊断是十二指肠溃疡。

思路1：腹痛是胃肠道疾病常见症状，要深入了解腹痛的诱因、发作规律、部位、性质和程度、持续性或阵发性、是否放射至其他部位等。

思路2：青年男性患者，贫血貌，反复上腹疼痛为主要临床表现，饥饿时明显，进食后缓解，病史和体征符合十二指肠溃疡的临床特点。

知识点

消化性溃疡的发病特点

十二指肠溃疡多见于青壮年，胃溃疡多见于中老年，二者均以男性患者居多。在疼痛节律上，十二指肠溃疡疼痛多位于两餐之间，甚至发生半夜痛，进食或服制酸药后缓解，胃溃疡多为餐后痛，后逐步缓解；在疼痛周期性上，十二指肠溃疡更为突出。

学习笔记

患者入院实验室检查结果示：红细胞计数 3.94×10^{12}/L，血红蛋白 73.0g/L(↓)，血细胞比容 26.5%，红细胞平均体积 67.3fL，平均红细胞血红蛋白量 18.5pg，平均红细胞血红蛋白浓度 275g/L，红细胞体积分布宽度 13.5%。粪便隐血阳性，前白蛋白 133.4mg/L(↓)，总胆红素 8.5μmol/L，直接胆红素 2.5μmol/L，丙氨酸氨基转移酶 29.0IU/L，门冬氨酸氨基转移酶 32.5IU/L，碱性磷酸酶 84.6IU/L，γ- 谷氨酰转移酶 42.0IU/L，血清淀粉酶 39U/L，脂肪酶 130IU/L，肌钙蛋白 0.001ng/ml，血清癌胚抗原 0.6ng/ml，基础胃酸排出量 4.5mmol/h(↑)，^{13}C 呼气试验：阳性，HP 血清抗体检测阳性。心电图未见异常。胃镜检查示：十二指肠球部多发溃疡(活动期)。

【问题 2】为进一步鉴别诊断，应做哪些实验室检查？

为进一步明确诊断，进行肝功能生化、血清淀粉酶、脂肪酶、心肌损伤标志物、粪便常规及隐血检查、癌胚抗原、胃酸分泌量及胃泌素检查。实验室结果结合临床表现可与胆囊炎、胰腺炎、急性心肌梗死、胃癌、胃泌素瘤等疾病进行鉴别诊断。

思路 1：胆囊炎患者 Murphy 征阳性，血清学检查项目如血清胆红素、转氨酶、碱性磷酸酶、γ- 谷氨酰转移酶升高，在急性胆囊炎时这些指标升高更为明显。

思路 2：胰腺炎疼痛可向腰背部放射，血清淀粉酶和脂肪酶为诊断急性胰腺炎最常用指标，二者分别高于各自参考区间上限 3 倍以上具有诊断意义。

思路 3：心肌梗死可向左肩、左臂放射，肌酸激酶同工酶及肌钙蛋白是诊断急性心肌梗死的重要指标，心电图检查可见特征性改变。

思路 4：胃癌患者早期多无明显症状，随病情发展可出现上腹疼痛加重、食欲下降、乏力，晚期可出现贫血、消瘦、营养不良甚至恶病质等表现，胃液外观可见混有血液或呈咖啡色样沉渣，胃酸降低或缺乏，乳酸浓度大多增高；粪便隐血试验多持续性阳性；癌胚抗原升高，内镜检查结合活组织及细胞学检查，是术前确诊胃癌最可靠的方法。

思路 5：胃泌素瘤患者基础胃酸分泌量 >15mmol/h；血清胃泌素水平 >500pg/ml；促胃液素刺激试验，增高 >200pg/ml。

【问题 3】根据实验室检查结果，结合病史及临床表现，该患者最可能的诊断是什么？

从病史和体征看，患者青年男性，反复上腹疼痛，饥饿时明显，进食后缓解，符合十二指肠溃疡的临床特点。结合以上实验室检查和其他检查，可作出诊断：十二指肠溃疡。

思路 1：消化性溃疡的诊断标准：慢性病程、周期性发作的、节律性上腹疼痛是疑诊消化性溃疡的重要病史，胃镜可以确诊。不能接受胃镜检查者，X 线钡餐发现龛影，可诊断溃疡。

思路 2：实验室检查结果示 ^{13}C 呼气试验阳性，该方法被公认为幽门螺杆菌感染诊断的金标准；幽门螺杆菌血清抗体阳性，该试验敏感性大于 90%，也支持幽门螺杆菌感染诊断。在基础情况，正常人胃酸排出量为 2mmol/h，胃泌素瘤患者胃酸排出量 >10mmol/h，十二指肠溃疡患者平均分泌为 4mmol/h。

思路 3：胃镜是食管、胃、十二指肠疾病最常用和最准确的检查方法，不仅能直视黏膜病变，还能做活检。该患者胃镜检查示：十二指肠球部多发溃疡(活动期)。

知识点

消化性溃疡的病因和发病机制

消化性溃疡的病因与发病机制尚未完全阐明。近年来的实验与临床研究表明，胃酸分泌过多、幽门螺杆菌感染和胃黏膜保护作用减弱等因素是引起消化性溃疡的主要环节，大量研究表明幽门螺杆菌感染是消化性溃疡的重要病因，十二指肠溃疡患者检出率可达 95% 以上。

学习笔记

【问题 4】幽门螺杆菌感染的检查方法有哪些？检测性能如何？

幽门螺杆菌感染的实验室检查方法有多种，从标本采集角度看，可分为侵入性和非侵入性方法两类。各种方法的检查性能和特点不同。

思路 1：侵袭性方法主要指通过胃镜取活检标本检查的方法，它包括快速尿素酶试验、胃黏膜直接涂片染色镜检、胃黏膜组织切片染色镜检、细菌培养、基因方法检测。各种方法的检查性能和特点不同，分述如下：

(1) 快速尿素酶试验：结果受试剂 pH 值、取材部位、组织大小、细菌量、观察时间、环境温度等因素影响。为提高检测灵敏度，可同时从胃窦和胃体分别取组织，同时进行检测。本方法检测快速、方便、准确性高。患者接受胃镜检查时，建议行快速尿素酶试验。

(2) 组织学检测：不同染色方法的检测结果存在一定差异。免疫组化染色特异性高，但费用亦较高；苏木精 - 伊红染色法染色可同时做病理诊断；荧光原位杂交检测幽门螺杆菌感染具有较高敏感性，也用于幽门螺杆菌对克拉霉素耐药的检测。

(3) 细菌培养：实验室条件要求较高，过程较复杂、耗时，标本转送培养还需专门的转送液，培养检测特异性高，可进行药敏试验和细菌学研究。

(4) 分子生物学检测：可对粪便或胃黏膜组织等标本进行检测。适用于标本中幽门螺杆菌含量过少或因含大量其他细菌干扰幽门螺杆菌检测的情况，还可用于幽门螺杆菌分型和耐药基因突变的检测。目前国际上已有用于检测幽门螺杆菌对克拉霉素和喹诺酮类耐药基因突变的商品化试剂盒。

思路 2：非侵入性检测方法不依赖胃镜检查，包括 ^{13}C 或 ^{14}C 尿素呼气试验、粪便幽门螺杆菌抗原检测和血清幽门螺杆菌抗体检测等。分述如下：

(1) ^{13}C 或 ^{14}C 尿素呼气试验：准确性高，易于操作，可反映全胃幽门螺杆菌感染情况，克服因细菌呈“灶性”分布而造成的快速尿素酶试验假阴性。但呼气试验检测值处于临界值附近时，结果不可靠，可间隔一段时间后复检或用其他方法检测。

(2) 粪便幽门螺杆菌抗原检测：经过验证的单克隆抗体法检测具有较好的灵敏度和特异性，可用于 Hp 诊断和疗效观察。操作安全、简便；不需要口服任何试剂，适用于所有年龄和类型的患者。国际共识认为该方法的准确性可与呼气试验媲美，但国内目前尚缺乏相应的试剂。

(3) 血清抗体检测：检测的抗体 IgG 可反映一段时间内幽门螺杆菌感染情况，部分试剂盒可同时检测 cagA 和 vaeA 抗体，但不同试剂盒检测的准确性差异较大，且与其他细菌抗原可有交叉反应。幽门螺杆菌根除后，血清抗体尤其是 CagA 抗体可以维持数月至数年不等，因此不能用于疗效判断。本方法主要适用于流行病学调查。

【问题 5】既然幽门螺杆菌检查的方法各有利弊，那么在实际工作中应如何选择呢？

思路 1：尽管利用侵入性方法取活检病理切片仍是临床上诊断消化性溃疡的重要标准，但某些患者，如高血压、心脏病患者不宜做胃镜，有些则对胃镜过敏或有不适感，因此在临床工作中应严格按照诊断流程执行，详细了解病史、症状体征、发作规律后再行相关检查，且需考虑患者身体状况，针对不同类型的患者选择不同检查方法。在保证准确率的前提下尽可能选择创伤小的检查，减轻患者的痛苦和负担。

思路 2：需要避免干扰和不必要的误差，如：细菌数量少时检出率降低；胃 pH 升高引起幽门螺杆菌检测的假阳性率增高；上消化道出血时，患者不规律使用抗生素、铋剂、质子泵抑制剂等均可导致幽门螺杆菌受抑制产生假阴性。

【问题 6】患者就诊时结膜苍白，为了解患者身体的基本情况，应做什么检查？

患者结膜苍白，贫血貌，应判断是否有贫血，如果贫血，是什么类型，应做血细胞常规检查。

思路 1：患者血红蛋白和血细胞比容低于参考区间下限，且红细胞平均体积、平均红细胞血红蛋白量和平均红细胞血红蛋白浓度符合小细胞低色素贫血，缘于消化性溃疡慢性失血性

学习笔记

贫血。

思路 2：上消化道出血是消化性溃疡最常见并发症，其中又以十二指肠溃疡并发出血较为多见。出血量 <500ml，由于循环代偿，可有轻度头晕、面色略苍白、脉搏多正常或稍快，血压多无变化；出血量不断增多则可导致患者晕厥或休克。红细胞、血红蛋白、血细胞容积等在出血后数小时内常无变化，约 6~12 小时后血液稀释而下降。密切监视血常规指标，如达到输血指征时，应及时补充血容量，防止休克。

【问题 7】为了解消化性溃疡有无合并出血，应做什么检查？

应做粪便隐血试验，不仅对于消化道出血的诊断有重要价值，还常作为消化道恶性肿瘤早期诊断的筛选指标。

思路 1：当消化道出血时，血液中的红细胞被消化、分解、破坏，粪便中含有肉眼和显微镜下不能证明的出血，称为粪便隐血。消化性溃疡、药物致胃黏膜损伤（如服用吲哚美辛、糖皮质激素等）、肠结核、克罗恩病、溃疡性结肠炎、结肠息肉、钩虫病及胃癌、结肠癌等消化道肿瘤时，粪便隐血试验常为阳性。本病例患者粪便隐血阳性缘于消化道出血。

思路 2：粪便隐血血试验按反应原理可分为化学法和免疫法。其中，免疫学方法不受饮食影响，已被世界卫生组织（WHO）和世界胃肠镜检查协会推荐作为粪便隐血试验的一种确认方法。而在日常工作中也不能仅仅根据单一的化学法或免疫法结果来判断粪便隐血试验的结果。应同时使用两种方法，将两种试验的结果分析比较后再出具报告。这样能有效提高检出率，并能降低粪便隐血试验的假阳性和假阴性率。

【问题 8】为监测患者的营养状态，应做什么检查？

应做前白蛋白检验，测定其在血浆中的浓度对于了解蛋白质的营养不良、肝功能不全，较之白蛋白和转铁蛋白具有更高的敏感性。

思路 1：消化性溃疡、肝硬化和慢性胃炎等消化道疾病可导致营养吸收障碍；失血时可致蛋白质丢失，机体持久性应激状态无法纠正时，各器官蛋白质下降，最终导致功能障碍，故前白蛋白、白蛋白、总蛋白和血红蛋白等均为上消化道出血患者营养状况的评价指标，并与上消化道患者蛋白代谢有关。血清前白蛋白半衰期仅 1~2 天，在判断蛋白质急性改变上较白蛋白更为敏感。

思路 2：前白蛋白的检测还可用于判断患者的营养状况，除了作为一种灵敏的营养蛋白质指标，前白蛋白在急性炎症、恶性肿瘤、肝硬化或肾炎时其血浓度下降。

经保护胃黏膜、抑酸、抗幽门螺杆菌及对症支持治疗后，患者腹痛、呕吐等临床症状缓解，无活动性出血，大便隐血阴性，血红蛋白恢复正常，遂办理出院。

消化性溃疡是临床常见病、多发病，有些患者只有慢性疼痛，有些患者甚至没有症状，但 50% 以上的患者可以没有任何临床症状而直接出血，故必须引起足够的重视。如出现食欲下降、打嗝、体重下降、黑便和呕血等现象，或在空腹或餐后腹痛，最好做全面的检查，做到早诊断、早治疗。

（段　勇）

第二节　病毒性肝炎

病毒性肝炎（viral hepatitis）是由肝炎病毒引起，以肝脏炎症和坏死性病变为主的一组全身性传染病，具有传染性较强、传播途径复杂、流行面广泛、发病率高等特点。按病原学分类目前有甲型肝炎（hepatitis A）、乙型肝炎（hepatitis B）、丙型肝炎（hepatitis C）、丁型肝炎（hepatitis D）、戊型肝炎（hepatitis E）和庚型肝炎（hepatitis G）。各型病毒性肝炎临床表现相似，以疲乏、食欲

学习笔记

减退、肝大、肝功能试验异常为主要表现，部分病例出现黄疸，但无症状感染亦常见。甲型肝炎和戊型肝炎多经消化道途径传播，主要表现为急性肝炎；乙型肝炎、丙型肝炎、丁型肝炎和庚型肝炎主要经血液、体液等胃肠外途径传播，临床上少数为急性感染，大部分患者呈慢性感染，表现为慢性肝炎，部分病例可发展为肝硬化、重型肝炎（肝衰竭）或肝细胞癌。临床上多采用酶联免疫、分子生物学等方法对各种肝炎病毒抗原、抗体和核酸分子进行检测，为临床诊断提供实验依据。

一、甲型病毒性肝炎

病历摘要：

患儿女，5岁。因发热、乏力、食欲不振，面色发黄2周入院。2周前因食用未煮熟的海产品后出现发热症状，体温最高39℃，食量较平时减少约1/3，恶心、呕吐，面色发黄，尿黄如浓茶色。以“感冒”症状治疗后体温逐渐恢复正常，但其余症状逐渐加重，肝功能检查结果异常，为进一步诊治入院。体格检查体温、呼吸、脉搏、血压等大致正常，腹部无压痛、反跳痛和肌紧张，Murphy征阴性，肝于肋下3cm可触及，质地中等，边缘锐利，轻触痛，肝区轻叩痛，皮肤、巩膜重度黄染。

【问题1】通过上述问诊与查体，该患者可疑的诊断是什么？需要与哪些疾病鉴别诊断？

患者为儿童，女性，急性起病，有进食未煮熟的海产品史，全身无力、食欲减退，恶心、呕吐，小便呈茶色，肝脏肿大，有触痛及轻叩痛，皮肤、巩膜重度黄染，肝功能检查结果异常。根据患者主诉、症状、个人史，高度怀疑急性甲型病毒性肝炎（acute viral hepatitis A，AHA）。需要与相关肝病进行鉴别诊断：①急性戊型肝炎；②感染中毒性肝炎；③药物性肝炎；④溶血性黄疸；⑤肝外梗阻性黄疸等。

知识点

甲型肝炎病毒及甲型病毒性肝炎

甲型肝炎病毒（hepatitis A virus，HAV），为小RNA病毒科中的嗜肝RNA病毒属，机体在感染后可产生IgM型和IgG型抗体，成年人多因早年隐性感染而获得免疫力，血清抗-HAV IgG的阳性率达80%以上。HAV对外界抵抗力较强，人群中普遍易感，甲型肝炎病后免疫力持久。

甲型病毒性肝炎（hepatitis A）是由HAV感染所致的急性传染病，主要因污染食物或水源进而引起感染，经粪-口途径传播，有乏力、食欲降低、厌油等消化道症状和尿色加深，巩膜及皮肤黄染，肝脾大，肝功能损害等临床特征，初接触HAV的儿童和青少年易感性强，学龄前儿童发病率最高。病程呈自限性，常无慢性感染。

【问题2】为明确诊断急性甲型肝炎，应进行哪些检查？

为排除其他因素引起的急性肝炎样表现，明确急性甲型病毒性肝炎的诊断，与其他类型肝炎相鉴别时，应根据肝功能等检测的结果，在确定肝功能损伤的基础上，结合肝炎病毒血清学检查结果对疾病加以分析与诊断。

思路：甲型病毒性肝炎临床类型多表现为急性肝炎，但疾病若未能及时诊治并控制，可与其他型肝炎病毒混合或重叠感染，发展为急性重型肝炎。患者一般表现为极度乏力、高度腹胀、频繁呕吐；暴发性甲型肝炎黄疸上升迅速，可出现肝性脑病、腹水、出血倾向等并发症，当凝血酶原活动度（PTA）<40%，病死率很高，因此急性甲型病毒性肝炎的早期诊断与治疗具有重要意义。

学习笔记

知识点

急性甲型病毒性肝炎的诊断标准

患者起病急，有发热、乏力和食欲降低、恶心、呕吐或者腹胀、便秘等消化道症状，肝脏肿大，伴有触痛或叩痛，有巩膜皮肤黄染并排除其他疾病所致黄疸者。

血清丙氨酸氨基转移酶(alanine amino transferase，ALT)明显升高；血清总胆红素(TBIL)大于参考区间范围上限值一倍以上和(或)尿胆红素阳性；血清学检测抗 -HAV IgM 阳性或抗 -HAV IgG 双份血清呈 4 倍升高。

本患者实验室及辅助检查结果显示：血常规未见异常；肝炎病毒血清学：抗 -HAV IgM(+)，HBsAg(−)，抗 -HBs(−)，HBeAg(−)，抗 -HBe(−)，抗 -HBc(−)，HCV cAg(−)，抗 -HCV(−)，抗 -HDV(−)，抗 -HEV(−)；肝功能：ALT 954U/L，AST 733U/L，总胆红素 224μmol/L，直接胆红素 190μmol/L。

【问题 3】根据肝炎病毒血清学及肝功能的检查结果，应作出怎样的诊断？依据是什么？

综合以上实验室检查结果，该患者可诊断为急性甲型病毒性肝炎。诊断依据为：①两周前曾食用未煮熟的海产品；②出现发热、乏力、食欲不振、呕吐症状，皮肤、巩膜重度黄染，浓茶水色尿等临床症状；③肝炎病毒血清学抗 -HAV IgM(+)；④肝功能检查有 ALT、AST、胆红素升高等肝功能受损的表现。

思路：对于疑似急性病毒性肝炎的患者，应首选病毒血清学检测，确定病毒性肝炎感染类型，主要肝炎病毒标志物及其诊断临床意义见表 7-2-1。

表 7-2-1　肝炎病毒标志物的临床意义

肝炎型别	血清标志物	临床意义
甲肝	抗 -HAV IgM	现症感染
	抗 -HAV IgG	既往感染，疫苗接种(保护性抗体)
乙肝	HBsAg	现症感染(急性 / 慢性)
	抗 -HBs	既往感染，疫苗接种(保护性抗体)
	抗 -HBc IgM	活动性复制(有传染性)，高滴度时为急性或近期感染指标，慢性肝炎活动期也可呈阳性，但一般滴度低
	抗 -HBc IgG	低滴度提示既往感染，高滴度提示病毒复制
	HBeAg	活动性复制(传染性大)
	抗 -HBe	复制能力降低(持续阳性提示“整合”可能)
	HBV DNA	活动性复制(有 Dane 颗粒，传染性大)
丙肝	抗 -HCV	现症感染 / 既往感染
	HCV cAg	活动性复制(传染性标志)
	HCV RNA	活动性复制(传染性标志)
丁肝	抗 -HDV IgM/IgG	似抗 -HBc IgM/IgG 的临床意义
戊肝	抗 -HEV IgM	现症感染
	抗 -HEV IgG	现症感染、近期感染

【问题 4】常见的甲型病毒性肝炎应如何诊断？应选择哪些检验项目？

急性甲型病毒性肝炎主要为经粪 - 口传播的急性传染病，应与急性戊型病毒性肝炎进行鉴别。患者可见明显的肝功能等生化指标异常，诊断中应结合多种血清生化检测指标，并根据病

学习笔记

毒血清学检测对病毒类型加以确定，因此病毒血清学检测在病毒性肝炎疾病的确诊中有十分重要的作用。

甲型病毒性肝炎的病毒血清学检测主要选择 HAV Ag、抗 -HAV IgM、IgG、HAV 总抗体等项目进行检测，可同时对血清及粪便中的病毒标志物进行检测。

常见的急性病毒性肝炎主要有甲型肝炎、乙型肝炎、丙型肝炎、丁型肝炎和戊型肝炎，临床应该对肝炎病毒标志物进行检测，确定病毒性肝炎感染病毒类型，可按图 7-2-1 流程进行。

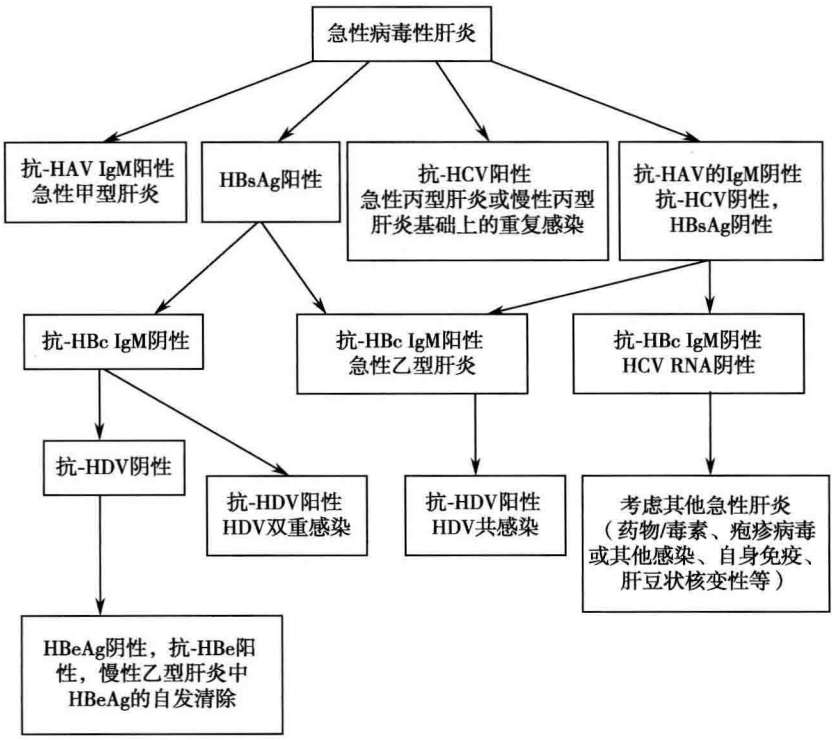


图 7-2-1　临床诊断与排除诊断急性病毒性肝炎的具体流程图

思路 1：生化检测在急性甲型病毒性肝炎实验诊断中的特点与注意事项

急性甲型病毒性肝炎的生化检测异常一般包括 ALT、AST、ALP、GGT 和胆红素。酶活性的改变先于症状的出现，上升迅速，通常于症状发作后 3~10 天达到高峰；ALT 和 AST 的峰值通常为 200~5000U/L，但能高达 20 000U/L；重叠于 HBV 既往感染的患者转氨酶水平较高。在急性甲型病毒性肝炎中，ALT 和 AST 急速上升，ALT 结合于微粒体膜上，而 AST 主要位于线粒体内，因为急性病毒性肝炎的炎症反应主要损伤微粒体膜，ALT 的水平通常比 AST 高，ALT≈1.5×AST；ALP 和 5'- 核苷酶的活性仅轻度升高，很少超过参考区间范围上限（URL）的 2~3 倍。ALT 达峰值前可出现黄疸，常伴 ALP 和 GGT 同时升高。转氨酶达峰值后缓慢下降，每天约降当天的 10%，3~5 周时降到正常。如果胆红素升高，通常于疾病发作后 2~3 周达到高峰；血清胆红素水平通常低于 171.1μmol/L，但合并胆汁淤积时可更高。

思路 2：免疫学血清标志物在急性甲型病毒性肝炎实验诊断中的特点与注意事项

HAV 的病毒血症维持时间短暂（通常仅持续 7~10 天，于黄疸出现和特异性抗体产生时消退），临床难以检测到。在潜伏期和疾病早期，高滴度的 HAV 排泄至粪便中，在疾病发作后的 1~2 天，患者样本病毒检出率分别为 45% 和 11%，新生儿排毒长达 6 个月左右。

抗 -HAV IgM 是 HAV 感染的标志，常用酶联免疫吸附试验（ELISA）进行检测，血清中抗 -HAV IgM 出现于甲肝病毒感染的早期（发病后数天），滴度很快升至峰值，高滴度持续 2~4 周，在短期内降至较低水平，通常在 3~6 个月转为阴性，个别患者可持续 1 年，无症状感染者抗 -HAV IgM

学习笔记

存在时间短于有症状患者。抗 -HAV IgM 是甲型肝炎早期诊断最简便而可靠的血清学标志，也是流行病学区分新近感染（包括临床感染和无症状的亚临床感染）与既往感染甲型肝炎病毒的有力证据。

HAV急性感染发作时或其后不久出现抗-HAV IgG，但滴度低。随着肝炎发作几周后抗-HAV IgM 逐渐下降，抗 -HAV IgG 逐渐升高，并成为主要的抗 -HAV 免疫球蛋白。大多数患者在急性感染后终身存在可检测的抗 -HAV IgG，代表着患者预后的免疫状况。

HAV 总抗体包括抗 -HAV IgM 和抗 -HAV IgG，在临床上，使用双份血清检测，抗 -HAV 滴度呈 4 倍以上增长，是诊断为甲型肝炎的依据。若单份抗 -HAV 阳性，表示感染过 HAV，但不能区分是新近还是既往感染，不适用于流行病学调查。

二、乙型病毒性肝炎

病历摘要：

患者男，38 岁。因乏力、纳差 1 年，皮肤、巩膜黄染 1 周入院。3 年前体检发现乙肝病毒感染，但无不适，未诊治，患者 1 年前无明显诱因出现乏力、纳差，无发热，无恶心、呕吐，未作诊治。1 周前出现皮肤、巩膜黄染，伴小便颜色加深，浓茶水样。查体：皮肤轻度黄染，巩膜轻度黄染；腹部平坦，未见腹壁静脉曲张，Murphy 征阴性，肝脏于剑突下 4cm，右肋下 2cm 可触及，质韧，表面光滑，无压痛，肝区轻叩痛。

【问题 1】通过上述问诊与查体，该患者可疑的诊断是什么？需要与哪些疾病鉴别诊断？

患者中年男性，有典型的乏力、纳差 1 年，皮肤、巩膜黄染，小便颜色加深，浓茶水样，体格检查见肝脏增大，肝区轻叩痛，既往体检曾发现“乙肝病毒感染”。根据患者主诉、症状、个人史，高度怀疑慢性乙型病毒性肝炎（chronic viral hepatitis B）。需要与相关肝病进行鉴别诊断：①甲型病毒性肝炎；②丙型病毒性肝炎；③酒精性肝病；④自身免疫性肝病；⑤药物性肝病；⑥肝硬化；等等。

学习笔记

知识点

乙型肝炎病毒及乙型病毒性肝炎

乙型肝炎病毒（hepatitis B virus，HBV）属于嗜肝 DNA 病毒科（hepadnaviridae），是一种不完全双链 DNA 病毒，呈球状或杆状，有包膜，具有明显的嗜肝性，主要感染肝细胞，也可感染食管上皮细胞、肝脏内皮细胞等。HBV 本身不是构成肝细胞损伤的主要因素，其损伤主要通过免疫病理机制诱导，可引起急性肝炎、慢性肝炎、肝纤维化、肝硬化，甚至诱发肝癌。

乙型病毒性肝炎（viral hepatitis B）是由 HBV 感染后引起，以肝脏炎症性病变为主，并可引起多器官损害的一种疾病，呈世界范围性流行，以儿童及青壮年患病为多数，少数患者可转化为肝硬化或肝癌，是严重威胁人类健康的世界性疾病，无一定的流行期，一年四季均可发病，多数散发。

乙型病毒性肝炎多数为慢性乙型病毒性肝炎（chronic viral hepatitis B，CHB），由乙型肝炎病毒感染超过半年时间，或既往有乙型、丙型、丁型肝炎，病情反复，并再次证明有乙型肝炎病毒感染后出现肝炎症状、体征及肝功能异常。

【问题 2】为明确诊断乙型病毒性肝炎，应进行哪些检查？

为排除其他原因引起的肝炎或确诊为乙型病毒性感染引起的肝炎，必须判断肝脏损伤情况，并确定感染的原因及病毒类型，因此应结合肝炎病毒学检查及肝功能检测的结果对疾病加以分析与诊断。

思路：乙型病毒性肝炎如未能及时治疗控制，可演变为肝纤维化或原发性肝癌，病情的发展取决于病毒和宿主等多方面的因素，正确的、及时的治疗及良好的生活习惯可改变其发展过程。轻度病变者经过治疗后可延缓病情进展；重度患者治疗效果差、预后差，因此应尽可能在疾病早期及时诊断和治疗，控制疾病的发展，降低死亡率。

知识点

慢性乙型病毒性肝炎的诊断标准

1. HBV 感染超过 6 个月仍然 HBsAg 阳性，或发现 HBsAg 阳性超过 6 个月，肝炎病程超过半年未愈者。

2. 有肝炎症状、体征　肝病面容、肝掌、蜘蛛痣、脾大或黄疸等（排除其他致病原因）。

3. 肝功能检查　ALT 反复和（或）持续升高，可有血清白蛋白降低和（或）球蛋白升高，A/G 蛋白比例失常，γ- 球蛋白升高和（或）胆红素长期或反复升高。

4. HBV 标志物检测　符合慢性乙肝的病原学指标，血清 HBsAg 阳性或可检出 HBV DNA，并排除其他导致 ALT 升高的原因。

5. 肝脏病理组织学特点　符合慢性病毒性肝炎的病理学改变。

诊断疑似病例条件：1+2+3；确诊病例条件：疑似病例 +4 或 3+4。

该患者实验室及辅助检查结果显示：肝炎病毒血清学：抗 -HAV（-），HBsAg（+），抗 -HBs（-），HBeAg（+），抗 -HBe（-），抗 -HBc（+），抗 -HCV（-），抗 -HDV（-），抗 -HEV（-）。HBV DNA（3.7×10^8IU/ml）；肝功能：总蛋白 79g/L，白蛋白 48g/L，球蛋白 31g/L，A/G 1.52，ALT 215U/L，AST 348U/L，总胆红素 78μmol/L，直接胆红素 57μmol/L，间接胆红素 21μmol/L。

【问题 3】根据肝炎病毒血清学及肝功能的检查结果，应作出怎样的诊断？依据是什么？

根据肝炎病毒血清学及肝功能的检查结果分析，该患者可以诊断为慢性乙型病毒性肝炎。诊断依据为：①乙型病毒性肝炎病史 3 年，出现皮肤、巩膜黄染，伴乏力、纳差，小便颜色加深，浓茶水样等临床表现；②肝炎病毒血清学 HBsAg（+），HBeAg（+），抗 -HBc（+），HBV DNA 3.7×10^8IU/ml，乙肝病毒血清学阳性；③肝功能检查有转氨酶、胆红素升高等肝功受损的改变，综合分析以上结果，符合慢性乙型病毒性肝炎的诊断标准，可诊断为慢性乙型病毒性肝炎。

思路 1：对于疑为乙型病毒性肝炎的患者，应在肝功能检测的基础上结合肝炎病毒血清学检查进行诊断。HBV 的血清学标志物包括 HBsAg、抗 -HBs、HBeAg、抗 -HBe、抗 -HBc，病毒生物学标志物的变化模式见图 7-2-2。HBsAg 阳性表示 HBV 感染；抗 -HBs 为保护性抗体，抗 -HBs 阳性表示对 HBV 有免疫力，见于乙肝康复及接种乙肝疫苗者，HBsAg 转阴而抗 -HBs 转阳，称为 HBsAg 血清转化。HBeAg 阳性可作为 HBV 复制和传染性高低的指标。抗 -HBe 阳性表示 HBV 复制水平低（但有前 C 区突变者例外）。HBeAg 转阴而抗 -HBe 转阳，称为 HBeAg 血清转化。抗 -HBc IgM 阳性表示 HBV 复制，多见于乙肝急性期。抗 -HBc 总抗体主要是抗 -HBc IgG，只要感染过 HBV，无论病毒是否被清除，此抗体均为阳性。

HBV-DNA 定量检测，用于判断病毒复制程度、指导制订抗病毒治疗方案及检测抗病毒疗效。HBV DNA>10^5IU/ml 为阳性，HBV DNA<10^4IU/ml 为阴性，HBV DNA 介于 10^4~10^5IU/ml 之间为可疑，须结合临床分析；HBV DNA 半衰期短，血清中检出 HBV DNA，即提示病毒复制。

当临床上出现疑似慢性病毒性肝炎患者时，首先应根据病毒血清学检测对各类型肝炎的血清标志物加以检测，以确定具体病毒类型，如图 7-2-3 所示。

思路 2：HBV DNA 在乙型病毒性肝炎实验诊断中的特点与注意事项

学习笔记

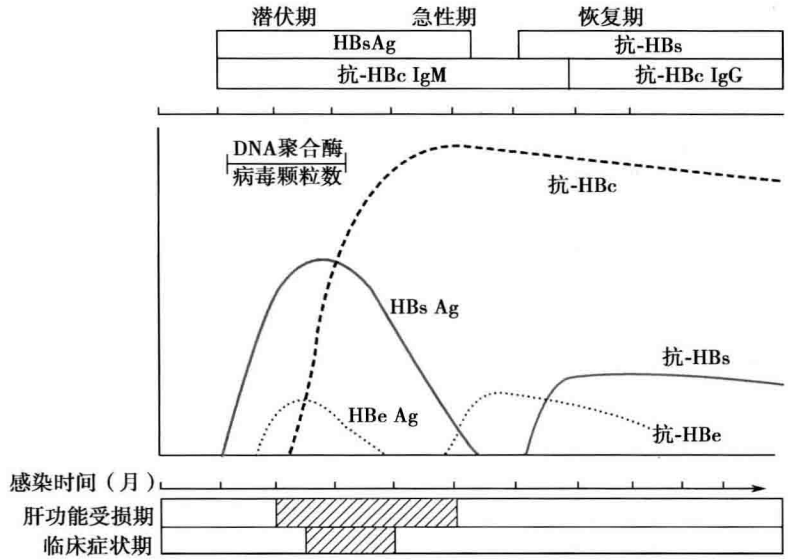


图 7-2-2　乙肝病毒生物学标志物的变化模式图

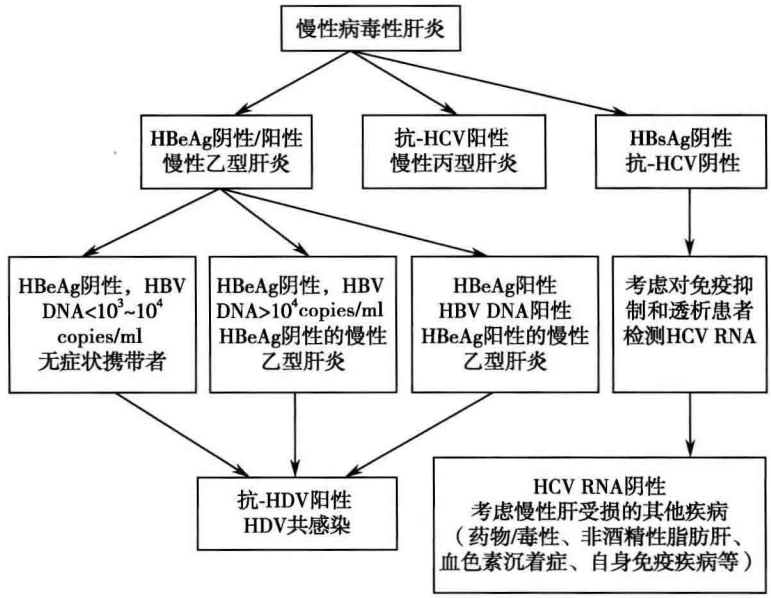


图 7-2-3　临床诊断与排除诊断各型慢性病毒性肝炎的具体流程图

HBV 的基因组 HBV DNA 是一种十分重要的 HBV 感染标志，其自身就具有传染性。它直接反映 HBV 的存在，是病毒活动性复制以及具有传染性的标志，对于确诊 HBV 感染具有重要价值。可采用实时荧光聚合酶链反应（RT-PCR）等技术从标本中检出极为微量的 HBV DNA。低水平的 HBV 感染时，在血清中 HBsAg 阴性情况下，HBV DNA 对于确定 HBV 的感染有重要意义。尤其是在 HBeAg 阴性的 HBV 突变株感染的情况下，其检测意义尤为重要。同时 HBV DNA 也可用于 HBV 感染的抗病毒药物治疗效果的评估。

思路 3：HBsAg 在乙型病毒性肝炎实验诊断中的特点与注意事项

HBsAg 是一种最重要的 HBV 感染标志，是 HBV 感染过程中最常检出的血清学标志物。血清中的 HBsAg 的颗粒浓度可高达 5000~500 000ng/ml，颗粒数可高达 10^{14}copies/ml。HBsAg 阳性可反映 HBV 的现存感染，但不能单纯据此作出乙型肝炎的诊断，HBsAg 阳性也可为 HBsAg 慢性携带者重叠其他病因所致的肝炎；同时，HBsAg 阴性也不能够完全排除 HBV 的感染，或否定

乙型肝炎的诊断，许多 HBV 亚临床感染，HBV 迅速清除，即使多次检查，也不一定能获得阳性结果。因此 HBsAg 是 HBV 感染的重要标志，但绝对不是唯一的标志，应结合其他 HBV 感染标志及相应临床症状，作出准确、合理的诊断。血清 HBsAg 的检测可作为供血者及各种组织器官移植的提供者的筛查项目，有效降低输血后乙型肝炎。

思路 4：抗 -HBs 在乙型病毒性肝炎实验诊断中的特点与注意事项

抗 -HBs 是针对 HBsAg 的特异性抗体，是一种中和抗体，具有保护性作用。血清中抗 -HBs 阳性一般反映的是 HBV 的既往感染或乙肝疫苗接种后，是一种对 HBV 感染具有免疫力的标志。在 HBV 感染趋向恢复时，HBsAg 逐渐减少，抗 -HBs 开始产生并逐渐增多，常出现 HBsAg 和抗 -HBs 均为阴性的所谓“窗口期”。抗 -HBs 被检测出后，才较明确提示 HBsAg 的清除。在自然感染情况下，HBsAg 消失后，抗 -HBs 阳性常伴随有抗 -HBc 阳性。乙型肝炎疫苗接种后，一般只能诱导产生相对应的抗 -HBs 抗体，血清中就可能出现单项抗 -HBs 阳性的情况。

思路 5：HBeAg 在慢性乙型病毒性肝炎实验诊断中的特点与注意事项

HBeAg 是一种可溶性蛋白质抗原，由前 C 区编码，是临床判断 HBV 复制使用的血清标志物。HBeAg 一般只出现在 HBsAg 阳性的血清中，是反映 HBV 活跃复制的指标，提示具有较强的传染性。HBeAg 可半定量，与 HBV DNA 血清水平相关，但改变的时间可能落后，二者均是目前应用最广泛、最可靠的评估 HBV 复制与传染性的指标。

(1) 血清 HBeAg 与 ALT 的关系：乙肝病毒无症状携带者(asymptomatic HBV carrier，AsC)肝组织多无显著炎症，在 ALT 正常的漫长“无症状”期间自然转阴；而 HBeAg 阳性并结合 ALT 反复波动，则近 70% 肝组织病变累积加重，约 1/4 可向肝硬化发展，因此 HBeAg 阳性需结合 ALT 长期观察才能确定其临床意义。

(2) 血清 HBeAg 与 HBV 复制的关系：在 HBV 感染的过程中，HBeAg 随 HBV 复制增加，活跃的复制继发免疫应答，肝细胞被破坏，ALT 升高，而后 HBV DNA 水平降低，HBeAg 被清除。HBeAg 的清除一般先于 HBsAg，有些 HBV 感染者，在 HBeAg 清除前，可有血清转氨酶上升，慢性肝炎表现短暂加剧的现象。HBeAg 的转阴，或随后转换为抗 -HBe 阳性，一般反映 HBV 复制趋向于静止。在 HBe 血清转换时大多数有病变活动的激化。

思路 6：抗 -HBe 在乙型病毒性肝炎实验诊断中的特点与注意事项

抗 -HBe 是 HBeAg 的特异性抗体，通常在 HBeAg 消失后出现。在 HBeAg 转阴，出现抗 -HBe 之间，亦可出现“窗口”期，一般为 1 年左右。从 HBeAg 阳性转换为抗 -HBe 阳性后，通常反映 HBV 感染进入低复制或非复制期，不能确定传染性已消失或病情已康复。相当一部分抗 -HBe 阳性者，血清中仍可检出 HBV DNA，一段时间后才逐渐消失。

知识点

血清 HBe 转换和逆转

血清 HBe 转换：HBeAg(+)的患者 HBeAg 消失，继而检出抗 -HBe，伴随血清 HBV DNA 降至 $<10^4$IU/ml。

血清 HBe 逆转：HBe 血清逆转界定为 HBeAg(−)的患者 HBeAg 再现，在 CHB 中发生约 3%。可能因为血清抗 -HBe 转换后前 C 和基本核心启动子(Bcp)变异消失，可伴随肝炎急性加剧。

思路 7：HBcAg 在乙型病毒性肝炎实验诊断中的特点与注意事项

HBcAg 是 HBV 的内部组成部分，通常由核壳蛋白包裹在病毒外膜中，血液循环中没有游离状态的 HBcAg，并不能直接在血中检出，仅在个别感染者体内可检测到 HBcAg 暴露在病毒颗

学习笔记

粒的表面；但把血清中的完整乙型肝炎病毒颗粒用去垢剂裂解处理后，可以检出 HbcAg，而对于肝细胞大量坏死的个别重症患者，细胞内的 HBcAg 可释放进入血流。血清中 HBcAg 阳性反映病毒复制及存在传染性。HBcAg 的临床应用意义与 HBeAg 及 HBV DNA 相似，但血清中检测 HBcAg 在技术上仍不十分稳定，临床使用价值受一定影响。

思路 8：抗 -HBc 在乙型病毒性肝炎实验诊断中的特点与注意事项

抗 -HBc 是针对 HBcAg 的特异性抗体，HBcAg 是病毒的内部成分，难以直接检测，但是抗 -HBc 却存在于绝大多数 HBV 感染者的血清中，HBV 感染早期便出现，效价迅速达到较高水平，随后逐渐下降，一般持续 3~12 个月左右。HBcAg 较 HBsAg 免疫原性更强，因而抗 -HBc 较抗 -HBs 产生时间早、血清水平高、存在时间更长。

抗 -HBc 的临床意义：高滴度的抗 -HBc（主要是 IgM）表示现行感染，常与 HBsAg 并存；低滴度的抗 -HBc（主要是 IgG）表示既往感染，常与抗 -HBs 并存。抗 -HBc 应答是 HBV 感染的印证，在急性期几乎所有感染个例都可检出抗 -HBc，有时是唯一的血清标志物。无论肝病是否存在或病毒已否清除，抗 -HBc 可持续存在数十年，在我国有大量抗 -HBc（+）的既往感染者，因此不宜作为筛检的标志物。高滴度的抗 -HBc 常伴有肝损害，同时肝酶异常，抗 -HBc 降低与肝酶逐渐恢复一致；低滴度的抗 -HBc 无肝损害或损害早已静息。

知识点

乙型肝炎血清病毒标志及其临床意义

HBsAg	抗 -HBs	HBeAg	抗 -HBe	抗 -HBc	HBV DNA	临床意义
+	−	+	−	−	+	急性 HBV 感染早期，HBV 复制活跃
+	−	+	−	+	+	急慢性 HBV 感染，HBV 复制活跃
+	−	−	−	+	+	急慢性 HBV 感染，HBeAg/ 抗 -HBe 空白期
+	−	−	+	+	+	HBeAg 阴性 CHB（慢性乙型肝炎）
+	−	−	+	+	−	急慢性 HBV 感染，HBV 复制极低或停止
−	−	−	-	+	−	HBV 既往感染，未产生抗 -HBs，或 HBV 复制极低
−	−	−	+	+	−	抗 -HBs 出现前阶段，HBV 复制低
−	+	−	+	+	−	HBV 感染恢复阶段，已获得免疫力
−	+	−	−	+	−	HBV 感染恢复阶段，已获得免疫力
+	+	+	−	+	+	不同亚型 HBV 感染
+	−	−	−	−	−	HBV DNA 整合
−	+	−	−	−	−	病后或接种疫苗后获得免疫力

思路 9：其他检测项目在慢性乙型病毒性肝炎实验诊断中的特点与注意事项

（1）HBsAg/ 抗 -HBs 免疫复合物检测：用聚乙二醇（PEG）沉淀血清中的循环免疫复合物，然后用抗 -HBs McAb 检出其中的 HBsAg。在 HBsAg（+）/ 抗 -HBs（−）/ 抗 -HBc（+）的个例中，近半数可检出复合物中的 HBsAg；偶尔 HBsAg（−）/ 抗 -HBs（+）/ 抗 -HBc（+）个例的复合物中，也可检出 HBsAg，且多有慢性病变。

急性期持续存在 HBsAg/ 抗 -HBs IgM 复合物的病例大多发展呈慢性感染；慢性期不断产生并释放 HBsAg，就可能不断形成复合物。只有 HBsAg 过剩的复合物才可能不被单核吞噬系统

学习笔记

所清除。

(2) 前 S 蛋白 / 抗前 S 蛋白检测

1) 前 S 蛋白：前 S_1 和前 S_2 病毒蛋白出现在急性 HBV 感染的最早期，在 HBsAg 消失之前消失，是病毒清除的最早迹象。前 S_1 蛋白持续存在者将发展至慢性乙肝，慢性乙肝患者在 HBeAg (+) AsC 中前 S_1 的检出率最高，随病变发展而检出率降低。肝硬化病人中均可检出前 S_2，较少数可检出前 S_1 可能，前 S_1 蛋白直接相关的是 HBsAg 的滴度，在病毒血症时 HBsAg 滴度高，因而前 S_1 蛋白与病毒复制的关系密切。

2) 抗前 S 蛋白：前 S 蛋白与 HBsAg 相比具有更强的免疫原性，因为出现前 S 蛋白后随即出现其抗体。抗前 S 是 HBV 感染过程中最早出现的抗体，在血清抗 -HBe 转换后达到滴度高峰，但其存在短暂，在急性感染的恢复期仅持续 6~12 个月。

前 S 抗体同时也反映乙肝病变的活动和机体对病毒的清除，在与抗 -HBs 对比中，可清楚显示这一双重作用的内在联系：① HBsAg 消失后才转换为抗 -HBs，而前 S 抗体常与其抗原同时存在；②前 S 抗体存在短暂，很少在 HBV 自然免疫人群中检出。抗 -HBs 可通过中和作用预防病毒再感染，前 S 抗体则参与病毒清除机制。早期出现的前 S 抗体，可能是病毒将清除、感染将结束的最早标志物。

(3) ALT 检测：慢性 HBV 感染中，ALT 一般以超过 2.5×URL、持续异常半个月以上作为诊断乙型病毒性肝炎的标准。这对大多数病例的诊断是合适且较严谨的临界值，但可能使不少慢性肝炎漏诊。ALT 未达到此值，如长期迁延不降，也可能是肝炎，甚至可以是较严重的肝炎。血清转氨酶持续升高 >0.5×URL，约半数病例肝组织学活检证明是慢性活动性肝炎。

【问题 4】急性乙型病毒性肝炎 (acute viral hepatitis B，AHB) 有何临床特征？如何进行检测？

思路：急性乙型病毒性肝炎的病程通常分为潜伏期、黄疸前期、黄疸期和恢复期，HBV 急性感染的潜伏期为 40~150 天，平均 75 天，病毒处于复制状态，HBV DNA 和 HBsAg 出现于血清中，继之 1~3 周内出现 HBeAg，这些标志物的滴度通常在症状出现的同时或其后达到高峰，血清 ALT 和 AST 明显升高，可有血清胆红素升高。HBV DNA 可应用实时荧光定量 PCR(RT-PCR) 进行检测，可在疾病的潜伏期检出 HBV DNA；HBsAg 和 HBeAg 可应用 ELISA 方法检测。

知识点

急性乙型病毒性肝炎诊断标准

近期出现无其他原因可以解释的乏力和消化道症状，可有尿黄、巩膜和皮肤黄染、消化道症状和肝区疼痛等症状，有肝大、压痛等体征。肝脏生化检查异常，血清 ALT 和 AST 明显升高，可有血清胆红素升高；有明确的证据表明 6 个月内曾检测血清 HBsAg 阴性，有 HBV 接触史；HBV DNA 和 HBsAg 阳性，抗 -HBV IgM 阳性 1 ∶ 1000 以上，肝脏病理学符合急性病毒性肝炎改变；恢复期血清 HBsAg 阴转，抗 -HBs 出现阳性。

三、丙型病毒性肝炎

病历摘要：

患者男，32 岁。因“反复肝功能异常 1 年”入院。患者 1 年前体检时发现肝功能异常，ALT 及 AST 水平升高，肝炎病毒血清学检查：抗 -HCV(+)，诊断为“慢性丙型病毒性肝炎”，予以保肝治疗，转氨酶未完全恢复正常。患者 5 年前有吸毒史，目前已戒断，无烟酒嗜好，之后多次复查，转氨酶值均高于正常水平，病程中患者无自觉症状，无皮肤、巩膜黄染，一直自服保肝药物，但未予正规抗病毒治疗，入院后体格检查结果正常。

学习笔记

【问题1】通过上述问诊与查体，该患者可疑的诊断是什么？需要与哪些疾病鉴别诊断？

患者青年男性，存在“反复肝功能异常”，ALT、AST水平升高，既往诊断为“慢性丙型病毒性肝炎”，5年前有吸毒史(危险因素)。根据患者主诉、症状、个人史，疑慢性丙型病毒性肝炎(chronic viral hepatitis C)。需要与相关肝病进行鉴别诊断：①慢性乙型病毒性肝炎；②酒精性肝病；③自身免疫性肝病；④药物性肝病；⑤肝硬化；等等。

知识点

丙型肝炎病毒及丙型病毒性肝炎

丙型肝炎病毒(HCV)属于黄病毒科(flaviviridae)丙型肝炎病毒属，基因组为单股正链RNA，全长约9500bp。HCV颗粒具有胞膜和刺突结构，病毒体呈球形，在外界环境中的生存能力低，干燥、室温下72小时病毒失去感染活性。HCV感染呈世界性分布，各年龄段均易感，一般儿童和青少年感染率低，中年人次之，老年人最高。男性感染率高于女性，主要经肠道外途径传播，但家庭聚集现象不如HBV感染明显。

丙型病毒性肝炎(viral hepatitis C)是由HCV感染引起的病毒性肝炎，临床主要为慢性丙型病毒性肝炎，主要经输血、针刺、吸毒等传播。丙型肝炎病毒慢性感染可导致肝脏慢性炎症坏死和纤维化，部分患者可发展为肝硬化甚至肝细胞癌(HCC)。HCV感染面较广，既有急性肝炎，慢性肝炎，甚至急性重型肝炎，更有大量无症状感染者；感染后易慢性化是丙型病毒性肝炎的重要特点。现缺乏特异性治疗药物，也无特异性免疫预防疫苗。

【问题2】为明确诊断慢性丙型病毒性肝炎，应进行哪些检查？

为排除其他原因引起的慢性肝炎，确诊慢性丙型肝炎病毒的感染，必须确定感染的原因及病毒类型，结合肝炎病毒学检查及肝功能检测的结果对疾病加以分析与诊断。

思路：HCV感染后易慢性化，可发生肝硬化，但进展缓慢。其原因可能是：①HCV复制过程中因依赖RNA的RNA聚合酶缺乏校正功能而易出错；因机体的免疫压力，导致HCV不断发生变异以逃避机体的免疫监视，导致慢性化；②HCV对肝外细胞的泛嗜性，特别是外周血单核细胞(PBMC)中的HCV，是反复感染的细胞来源；③HCV在血中滴度低，免疫原性弱，机体易对它产生免疫耐受，造成病毒持续感染。

知识点

慢性丙型病毒性肝炎的诊断标准

HCV感染超过6个月，有肝炎症状、体征：全身乏力、食欲减退、恶心和右季肋部疼痛或不适等；部分患者可有肝病面容、肝掌、蜘蛛痣及轻度肝(脾)大或黄疸等(排除其他原因)。

部分慢性丙型病毒性肝炎和丙型病毒性肝炎肝硬化患者可有ALT、AST反复和(或)持续性升高。血浆白蛋白降低，A/G蛋白比例失常、γ-球蛋白升高和(或)胆红素长期或反复异常。血清HCV标志物检测，抗-HCV阳性，HCV cAg阳性，HCV RNA阳性；肝脏组织病理学检查符合慢性肝炎。

实验室及辅助检查：血常规：白细胞5.1×10^9/L，中性粒细胞0.62，血红蛋白137g/L，血小板287×10^9/L。肝炎病毒血清学：抗-HAV(−)，抗-HBV(−)，抗-HCV(+)，抗-HDV(−)，抗-HEV(−)。肝功能：总蛋白79g/L，白蛋白45g/L，球蛋白28g/L，A/G 1.61，ALT 127U/L，AST 164U/L，总胆红素21μmol/L，直接胆红素14μmol/L，间接胆红素7μmol/L。B超：肝、胆、胰、脾未见异常。

学习笔记

【问题3】根据肝炎病毒血清学及肝功能的检查结果，应作出怎样的诊断？诊断依据是什么？

根据肝炎病毒血清学及肝功能的检查结果，该患者可以做以下诊断：慢性丙型病毒性肝炎。

诊断依据为：①反复“肝功能异常”1年，ALT、AST水平升高，提示肝脏炎症活动，既往有“慢性丙型病毒性肝炎”诊断；②肝炎病毒血清学抗-HCV(+)；③患者5年前有吸毒史，考虑为经静脉注射毒品感染丙型肝炎病毒。综合以上，符合慢性丙型病毒性肝炎的诊断标准，故诊断为慢性丙型病毒性肝炎。

思路：对于疑似为慢性丙型病毒性肝炎的患者，应优先选择病毒血清学检测，通过基础实验室检查，结合肝功能生化检测项目、病毒血清学免疫检测来对疾病加以分析。HCV及病毒抗原在宿主外周血中的含量非常低，常规方法很难直接检测。

【问题4】常用的丙型病毒性肝炎诊断项目有哪些？应如何作出适当的选择？

慢性丙型病毒性肝炎与乙型病毒性肝炎临床表现相似，其诊断首先对肝功能进行检测，以一定程度的肝损伤为基础，确定“肝炎”诊断。然后进一步通过肝炎病毒血清学分析，与慢性乙型病毒性肝炎加以区分，确定肝炎病毒感染的类型。因此肝功能检测以及各型肝炎病毒血清学检测对于病毒性肝炎的确诊发挥着重要作用。

目前应用最为广泛、最有价值的HCV感染标志主要有：HCV RNA和抗-HCV，通常分别采用PCR法和免疫学方法进行检测。

知识点

HCV感染与HBV感染的临床特征比较

特性	HCV感染	HBV感染
潜伏期	15~180天	45~160天
病毒血症水平	低，10^2~10^4CID/L	高，10^5~10^8CID/L
发病机制	病毒直接致病与免疫损伤	免疫损伤
肝脏病理	损害较轻，以脂肪变性多见	损害较重，炎细胞浸润和坏死显著
活动期血清ALT水平	低，常<300IU/L	高，常>400IU/L
黄疸	发生率低，且多<50.5μmol/L	发生率高，且常>50.5μmol/L
重型肝炎发生率	极为少见，且多合并其他肝炎病毒感染	常见
成人感染慢性化	发生率>60%	发生率约10%
合并自身免疫现象	常见	少见
肝硬化发生率	高，可达20%以上	较低，2%~7%
肝癌发生率	高，约3%	低，约0.5%~2%
重复感染	治愈后能再感染	治愈后可获得较持久免疫
对IFN-α及RBV应答	约30%	约70%(我国高达90%以上)

思路1：ALT和AST在慢性丙型病毒性肝炎实验诊断中的特点与注意事项

(1) ALT在慢性肝炎和肝硬化时可持续或反复升高，有时成为肝脏损害的唯一表现。肝衰竭患者可出现ALT快速下降、胆红素不断升高的“胆酶分离”现象，提示肝细胞大量坏死。肝组织只要有轻微的反应性炎症，就可有ALT升高，但在肝炎恢复期，尚存在较明显的肝脏病变，ALT常表现为正常。在慢性病毒型肝炎，ALT一般<10×URL，在病变活动的间歇期ALT也可正常，ALT检测慢性病变不如急性病变灵敏。在慢性肝病时，ALT水平反映了疾病的活动性，如ALT>10×URL，伴γ-球蛋白升高1倍，且持续8周以上，基本确定为慢性活动性肝病。

学习笔记

(2) AST 存在于线粒体中，其意义与 ALT 相同，但其在心肌含量最高，然后依次为肝、骨骼肌、肾、胰，因此特异性较 ALT 为低。急性肝炎时如果 AST 持续高水平，有转为慢性的可能。

(3) AST/ALT 比值

1) AST/ALT 比值可用于估计肝损害程度：AST/ALT 正常参考值约为 0.87，ALT 增高反映肝脏病变活动度，AST 增高反映肝细胞损害的严重程度。当肝细胞轻度病变，细胞膜通透性增加时，从细胞内逸出的主要是 ALT，而当肝细胞严重病变、坏死时，线粒体内 AST 便释放出来，故肝炎病变轻时 AST/ALT 比例下降，病变加重时比值上升。如果 ALT 及 AST 上升明显，特别是 AST 持续显著上升，如 AST/ALT>1 时，应该考虑存在肝细胞的广泛坏死，预后不良。

2) 血清 AST/ALT 比值有助于鉴别诊断：急性肝炎时 AST/ALT 多 <1，慢性肝炎多 >1，酒精肝炎时常 >2，若能排除原发性肝癌则有助于酒精肝病的诊断。严重肝细胞坏死时 AST/ALT 比值升高，比值为 0.31~0.63 者预后佳，1.20~2.26 者往往进展为暴发型肝衰竭而死亡，比值越大肝病愈严重。

思路 2：血清其他酶类在丙型病毒性肝炎实验诊断中的特点与注意事项

(1) 碱性磷酸酶(ALP，或 AKP)是在碱性 pH 中催化有机磷酸酯释放无机磷酸的一组同工酶，包括肝、胆管、肠壁、骨骼、胎盘和白细胞等许多组织中存在此类功能相同而结构有异的血清酶，血清 ALP 活性主要反映 3 个来源的同工酶：肝 / 骨骼型、胎盘型和肠型。其显著升高有助于肝外梗阻性黄疸的诊断，从而有助于肝细胞性黄疸的鉴别，另外淤胆型肝炎患者血清 ALP 也可明显升高；儿童期 ALP 可明显高于成人，与骨骼发育生长有关。

(2) 谷氨酰转氨酶(GGT)的诊断价值基本同 ALP，但不受骨骼系统疾病的影响；肝炎活动期时可升高，肝癌患者或胆管阻塞、药物性肝炎等患者中可显著升高。

(3) 胆碱酯酶(cholinesterase，或 choline esterase，ChE)根据对底物特异性的差别分为两类：乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase，AChE)，酰基胆碱酰基水解酶(pseudocholinesterase，PChE)。AChE 分布于红细胞、肺、脾、神经末梢和大脑灰质，主要生理功能是迅速水解神经末梢所释放的乙酰胆碱；ChE 明显下降提示预后不良，ChE 提示肝的储备能力，可以作为一项肝功能指标，肝实质性损害时 PChE 活性降低。

思路 3：血清蛋白测定在丙型病毒性肝炎实验诊断中的特点与注意事项

慢性肝炎重度以上、肝硬化、肝衰竭时肝合成血清白蛋白的功能下降，导致其浓度下降。慢性肝病时肝脏过滤能力下降，来自门静脉的各种有抗原性物质进入体循环刺激免疫系统，后者产生大量免疫球蛋白而导致血清球蛋白浓度上升。通过对白、球蛋白进行定量分析，若白 / 球(A/G)比值下降，甚至倒置，反映肝功能的显著下降，有助于慢性肝炎和肝硬化的诊断。血清蛋白电泳分析可从另一角度来检测白、球蛋白各成分的相对比值，起到相同的诊断作用。

思路 4：凝血酶原时间测定在丙型病毒性肝炎实验诊断中的特点与注意事项

凝血酶原主要由肝脏合成，肝病时凝血酶原时间长短与肝损伤程度呈正比。血浆凝血酶原时间(PT)延长是对肝细胞坏死程度和预后判断的最灵敏指标。可反映肝细胞合成凝血因子Ⅱ、Ⅴ、Ⅶ和Ⅹ的量及活性。肝病早期即可出现 PT、凝血酶原活动度(PTA)的异常。凝血酶原活动度 <40% 或凝血酶原时间比正常对照延长 1 倍以上时提示肝损害严重，凝血酶原活动度也是判断肝衰竭预后的敏感指标。

思路 5：肝纤维化指标在慢性丙型病毒性肝炎实验诊断中的特点与注意事项

肝纤维化的血清学指标主要有透明质酸(HA)、Ⅲ型前胶原(Pc-Ⅲ)、Ⅳ型胶原(Ⅳ-C)、层黏蛋白(LN)等。HA 在判定肝纤维化或肝硬化病变活动中较为敏感。LN 可反映肝纤维化的进展与严重程度，在慢性肝炎、肝硬化及原发性肝癌时明显增高。Pc-Ⅲ和Ⅳ-C 与肝纤维化形成的活动程度密切相关，但无特异性。慢性肝炎患者若 Pc-Ⅲ持续升高，提示病情可能会恶化并向肝硬化发展，而 Pc-Ⅲ降至正常可预示病情缓解。

学习笔记

思路 6:肝活体组织检查在丙型病毒性肝炎实验诊断中的特点与注意事项

对肝穿刺标本须做连续切片,急性肝炎以炎症、变性、坏死为主,慢性肝炎除了炎症、坏死外,有不同程度的纤维化,甚至发展为肝硬化。肝活检能准确判断慢性肝炎患者所处的病变阶段及预后,同时可进行原位杂交和原位 PCR 确定病原及病毒复制状态。

【问题 5】如何进行急性丙型病毒性肝炎检测?

思路:急性丙型病毒性肝炎与慢性丙型病毒性肝炎相比,起病急,症状明显,病程发展快,但其检测项目与慢性丙型病毒性肝炎相同,为排除其他因素引起的急性肝炎样表现,明确急性丙型病毒性肝炎感染的诊断,与其他类型肝炎相鉴别,应根据肝功能等检测的结果结合肝炎病毒血清学检查结果对疾病加以分析与鉴别诊断。

知识点

急性丙型肝炎的诊断标准

有输血史、应用血液制品史或明确的 HCV 暴露史,病程在 6 个月以内,全身乏力、食欲减退、恶心和右季肋部疼痛或不适等;少数伴低热,可有轻度肝脏肿大,部分患者可出现脾脏肿大;少数患者可伴低热或出现黄疸;部分患者可有关节疼痛等肝外表现。

血清 ALT、AST 升高,部分病例可有血清胆红素升高,血清抗 -HCV 阳性、HCV cAg 阳性、HCV RNA 阳性。

(段朝晖)

第三节　肝　硬　化

肝硬化(hepatic cirrhosis)是由一种或多种原因引起的、以肝组织弥漫性纤维化、假小叶和再生结节为组织学特征的进行性慢性肝病。早期无明显症状,后期因肝脏变形硬化、肝小叶结构和血液循环途径显著改变,临床以门静脉高压和肝功能减退为特征,常并发上消化道出血、肝性脑病、继发感染等而死亡。引起肝硬化的病因很多,如病毒、细菌及血吸虫感染、慢性酒精中毒、药物与毒物损伤、胆汁淤积、肝淤血、遗传代谢缺陷、自身免疫性损伤等。

病历摘要:

患者男,58 岁。主诉“反复腹胀半年,加重伴双下肢水肿 1 周”。半年前无诱因出现腹胀,进食后加重,伴乏力、纳差。1 周前上述症状加重,伴双下肢水肿。既往有 10 年“乙型肝炎”病史。体格检查:T 36.0℃,P 80 次 / 分,R 20 次 / 分,BP 126/88mmHg。皮肤、巩膜无黄染,胸腹壁可见散在蜘蛛痣,压之褪色,未见肝掌;颈静脉未见怒张。腹膨隆明显,腹肌稍紧,全腹无压痛及反跳痛,未触及肝脏,Murphy 征阴性,左肋下 2cm 处可触及脾脏,质软,无压痛,移动性浊音阳性,肠鸣音 5 次 / 分;双肾区无叩击痛;双下肢膝关节以下凹陷性水肿。

【问题 1】通过上述问诊与体格检查,该患者可能的诊断是什么?

由于该男性患者反复腹胀半年,伴乏力、纳差、双下肢水肿,有 10 年的“乙型肝炎”病史,体格检查可见散在蜘蛛痣,左肋下 2cm 处可触及脾脏,该患者可能的诊断是肝硬化。

思路:在我国,乙型肝炎病毒感染是引起肝硬化最常见的病因,从病毒性肝炎发展为肝硬化短则数月,长者可达数十年。该患者有长达 10 年的乙型肝炎病史,近期有肝硬化相关的临床表现,故初步诊断为肝硬化,需做进一步实验室检查明确诊断。

学习笔记

知识点

肝硬化的临床表现

肝硬化通常起病隐匿，病情发展缓慢，临床上将肝硬化大致分为肝功能代偿期和失代偿期。

1. 代偿期的大部分患者无症状或症状较轻，可有腹部不适、乏力、食欲减退、消化不良和腹泻等症状，多呈间歇性。肝脏是否肿大取决于不同类型的肝硬化，脾脏因门静脉高压常有轻、中度肿大。肝功能实验检查正常或轻度异常。

2. 失代偿期症状较明显，主要有肝功能减退和门静脉高压两类临床表现。肝功能减退主要表现为消化吸收不良、厌食、腹胀、营养不良、乏力、消瘦、黄疸、出血和贫血、内分泌失调、不规则低热、低白蛋白血症等。门静脉高压常导致食管胃底静脉曲张出血、腹水、脾大、脾功能亢进、肝肾综合征、肝肺综合征等，是肝硬化的主要死因之一。

【问题 2】为进一步诊断，应行哪些实验室检查？

对疑为肝硬化的患者，入院后首先应进行血常规、肝炎病毒学及肝功能实验室检查。

思路 1：目前临床上对肝硬化的确诊仍依靠穿刺肝组织活检，但由于该方法具有一定的创伤性以及受穿刺部位的影响，应用受限。临床诊断肝硬化通常依据肝功能减退和门静脉高压同时存在的证据，肝功能实验室检查有助于诊断。

思路 2：临床上常将用于评估肝脏功能状态和肝脏损伤程度的试验称为肝功能试验，这些试验在临床检验中涉及较为广泛：如蛋白质代谢、胆红素代谢、胆汁酸代谢、血清酶学检查、肝纤维化标志物检查以及肝脏摄取与排泄功能检查等。但是目前尚无一项实验结果可以反映肝脏功能的全貌，所以临床上常同时做几项肝功能检查。某些肝功能试验并非特异性反映肝脏功能的，如转氨酶、乳酸脱氢酶在心脏和骨骼肌病变时，亦可以发生变化，所以在解释肝功能试验结果时，要注意排除肝外疾病或因素的影响。

知识点

目前临床常用的肝功能指标

1. 反映肝脏合成功能的指标　血清白蛋白（ALB）、血浆凝血因子、胆固醇。肝硬化时，血清白蛋白降低，球蛋白增高，A/G 降低或倒置，血浆凝血因子及血胆固醇水平降低。

2. 反映肝细胞受损的指标　丙氨酸氨基转移酶（ALT）、门冬氨酸氨基转移酶（AST）。肝硬化时，肝脏病理以肝纤维化、肝细胞萎缩为主，患者 ALT 及 AST 值多正常或轻微升高。

3. 反映肝胆排泄、分泌及解毒功能的指标　总胆红素（STB）、总胆汁酸（TBA）、血氨（NH_3）。肝硬化患者多有高胆红素血症存在，初级胆汁酸 / 次级胆汁酸比值下降，血氨水平升高。

患者入院后进行实验室检查，血液分析：白细胞计数 3.25×10^9/L（↓），红细胞计数 3.77×10^{12}/L（↓），血红蛋白 110.0g/L（↓），血小板 115×10^9/L；肝功能实验室检测：总蛋白 64.2g/L，白蛋白 24.1g/L（↓），球蛋白 40.1g/L（↑），丙氨酸氨基转移酶 58.0U/L（↑），门冬氨酸氨基转移酶 64.4U/L（↑），总胆红素 30.2μmol/L（↑），总胆汁酸 63.3μmol/L（↑），碱性磷酸酶 295.5U/L（↑），γ- 谷氨酰转移酶 157.7U/L（↑），胆碱酯酶 2.5KU/L（↓）；凝血结果示：PT 18.6 秒（↑）；乙型肝炎病毒标志物检查：HBsAg（+），HBsAb（−），HBeAg（+），HBeAb（−），HBcAb（+）；HBV-DNA 2.8×10^7IU/ml（↑）。

学习笔记

【问题3】根据实验室检查，结合病史及临床表现，患者最可能的诊断及依据是什么？

该患者最可能的诊断：肝硬化失代偿期；慢性乙型肝炎活动期。

诊断依据为：①有腹胀、乏力、纳差、双下肢水肿等临床症状，体格检查可见散在蜘蛛痣，压之褪色，有“乙型肝炎”病史（危险因素）；②肝功能实验室检查：白蛋白明显降低，球蛋白升高，总胆红素升高，转氨酶轻度升高，碱性磷酸酶及γ-谷氨酰转移酶明显升高提示肝脏蛋白合成功能降低、胆红素代谢障碍、胆汁淤积；③血液分析可见白细胞、红细胞、血小板计数减少、血红蛋白降低提示可能与肝硬化门静脉高压致脾功能亢进有关；④乙型肝炎病毒标志物检测及HBV-DNA含量升高提示慢性乙型肝炎活动期。

思路1：蛋白质代谢检测在肝硬化诊断中的临床意义

肝脏是合成和分解蛋白质的重要器官，血浆中除免疫球蛋白外几乎所有蛋白质都由肝脏合成。因此，通过检测血液中血清总蛋白、白蛋白等蛋白水平，就可以反映肝脏合成及贮备能力。当肝组织广泛坏死时，合成血浆蛋白质功能降低，白蛋白合成减少，导致低白蛋白血症。而在肝硬化患者中，门脉高压导致氨基酸输入肝脏减少是蛋白质合成减少的另一个原因。球蛋白增高多以γ球蛋白增高为主，γ球蛋白是免疫球蛋白，由B淋巴细胞及浆细胞产生，当肝脏受损，尤其是慢性炎症时，刺激单核-吞噬细胞系统，γ球蛋白生成增加。该患者出现白蛋白减低、球蛋白增高、A/G倒置，提示其肝功能严重损伤。

思路2：ALT与AST检测在肝硬化诊断中的临床意义

丙氨酸氨基转移酶（ALT）和门冬氨酸氨基转移酶（AST）均为非特异性细胞内功能酶，能敏感地反映肝细胞损伤与否及损伤程度。正常人血清中含量很低，肝脏细胞中的浓度比血中高1000~5000倍。当肝细胞受损时，肝细胞膜通透性增加，胞质内的ALT与AST释放入血，致使血清ALT与AST的酶活性升高。肝硬化时，肝脏病理以肝纤维化、肝细胞萎缩为主，很多患者ALT及AST值正常。AST/ALT比值对于急、慢性肝炎的诊断、鉴别诊断有一定价值，急性肝炎时比值<1，肝硬化时比值≥2，肝癌时比值≥3。

思路3：血清酶学检查是用来分析肝细胞是否受到损害最经济实用的检测方法。因为肝脏是人体含酶最丰富的脏器，酶蛋白含量约占肝脏总蛋白量的2/3。肝损伤后肝细胞内的酶可释放到血液中，导致血清或血浆中酶活性的异常升高。在肝硬化实验诊断中，除ALT和AST外，常用的血清酶主要还有：

（1）碱性磷酸酶（ALP）：血清中ALP主要来源于肝脏和骨骼，常用于肝胆疾病和骨骼疾病的临床诊断和鉴别诊断，肝硬化时，ALP轻度升高。

（2）γ-谷氨酰转移酶（GGT）：血清中GGT主要来自肝胆系统，肝脏中广泛分布于肝细胞毛细胆管一侧和整个胆管系统，因此当肝内合成亢进或胆汁排出受阻时，血清中GGT增高，原发性胆汁性肝硬化及肝硬化活动期，GGT明显升高。

（3）谷氨酸脱氢酶（GDH）：是反映肝实质损害的敏感指标，可反映肝小叶中央区的坏死。慢性肝炎时GDH升高可达参考区间上限的4~5倍，肝硬化时升高2倍以上；急性肝炎弥漫性炎症期无并发症时，GDH升高不明显。

（4）胆碱酯酶（ChE）：反映肝实质合成蛋白质的能力，与血清白蛋白的减低大致平行，但比白蛋白更能敏感地反映病情变化，随着病情好转ChE迅速上升。肝硬化和重型肝炎患者血清胆碱酯酶明显降低，肝功能衰竭时显著降低，病情越重，血清胆碱酯酶活性越低。如果胆碱酯酶活性持续降低且无回升迹象，多提示预后不良。

（5）单胺氧化酶（MAO）：血清MAO活性与体内结缔组织增生呈正相关，反映肝脏纤维化指标，与纤维化程度相关，但对早期肝硬化反应不敏感。

思路4：血液分析在肝硬化诊断中的临床意义

肝硬化时，由于肝内纤维组织增生和肝细胞结节再生，压迫门静脉分支，使门静脉压升高，

学习笔记

脾大、脾功能亢进是肝硬化门静脉高压较早出现的体征。当脾大伴脾功能亢进时患者血常规结果提示白细胞计数减少、增生性贫血和血小板降低，可能原因是门静脉高压时血小板及红细胞在脾内滞留，导致外周血中血小板及红细胞减少；另外脾功能亢进时，脾内单核-巨噬细胞系统过度活跃，脾索内血细胞为巨噬细胞所清除，导致外周血中血细胞明显减少。肝硬化门静脉高压导致脾功能亢进的患者外周血中红细胞、白细胞或血小板可以单独或同时减少，一般早期病例，只有血小板减少，晚期病例发生全血细胞减少。

【问题4】除了肝功能实验室检查外，还需要做哪些与肝硬化诊断相关的检查？

除肝功能实验室检查外，与肝硬化诊断相关的检查主要有血清蛋白电泳、凝血功能检测、肝纤维化检查等。

思路1：血清蛋白电泳在肝硬化实验诊断中的特点

在碱性环境中通过电泳可将血清蛋白分为白蛋白、α_1球蛋白、α_2球蛋白、β球蛋白和γ球蛋白5个区带，各区带的蛋白含量所占百分比在正常人、不同严重程度的肝病中有很大的不同。通常，在急性肝炎早期或病变较轻时，电泳结果没有明显改变；当病情加重时，白蛋白、α_1球蛋白、α_2球蛋白、β球蛋白百分比减少，γ球蛋白百分比增高，增高的程度可评价慢性肝病的演变和预后。当病情发展为肝硬化时，白蛋白减少，α_1、α_2球蛋白百分比减低，而γ球蛋白百分比明显增高，γ区带与β区带连成一片，在电泳图上形成特异的β-γ桥。

思路2：凝血功能检测可作为诊断肝硬化的早期诊断指标

肝脏是合成凝血因子的主要场所，除组织因子及由内皮细胞合成的von Willebrand因子外，其他凝血因子几乎都在肝脏合成。凝血因子尤其是维生素K依赖因子（Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ）的半衰期比白蛋白短得多，例如因子Ⅶ的半衰期只有1.5~6小时，因此在肝功能受损的早期，当白蛋白检测还完全正常时，维生素K依赖的凝血因子就可显著降低，故凝血因子检测可作为肝脏疾病的早期诊断指标。凝血酶原时间（PT）是反映肝脏储备功能的重要预后指标，肝硬化晚期及肝细胞损害时明显延长，如用维生素K不能纠正，则更说明有功能的肝细胞明显减少。利用PT、肌酐、胆红素及INR四种检测指标还可对肝病终末期患者进行终末期肝病模型（model for end-stage liver disease，MELD）评分，以决定患者进行肝移植的优先权。

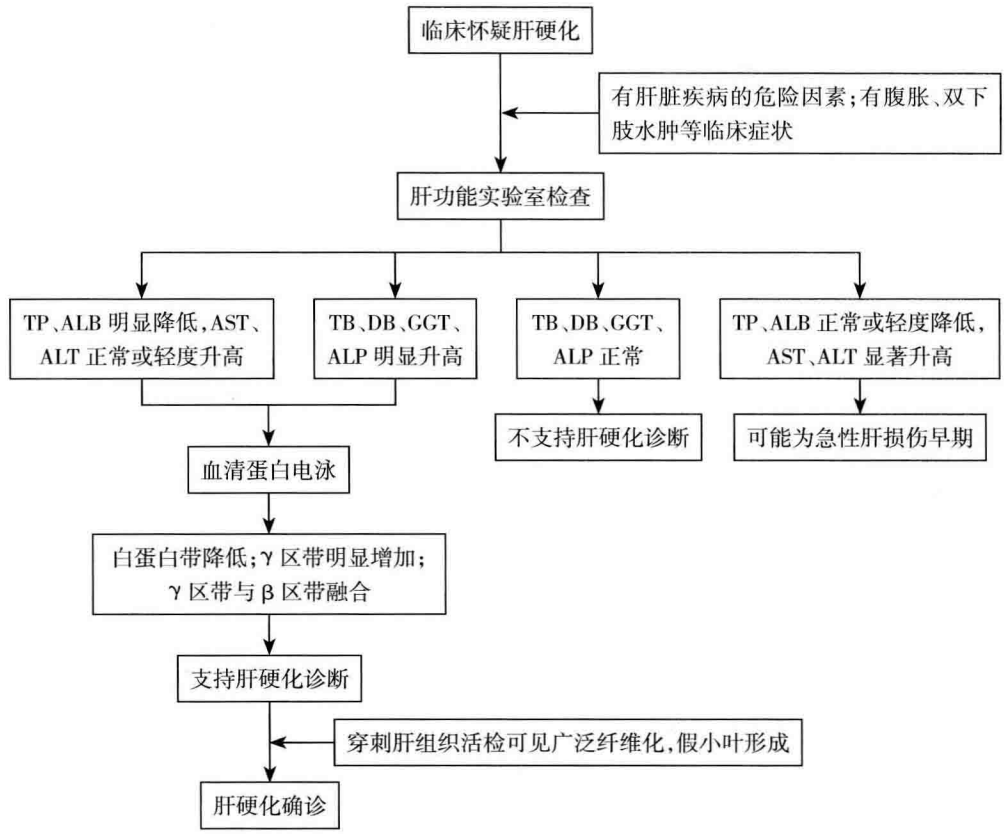
思路3：肝纤维化检查对肝硬化早期诊断的临床意义及常见的实验室检查指标

不同病因导致的慢性肝病，如诊断、治疗不及时，可逐渐发展为肝纤维化，进而发展为肝硬化，因此，肝纤维化是慢性肝病发展到肝硬化的中间阶段。为了更好地防治肝硬化，肝纤维化指标的检测十分重要。目前用于评价肝纤维化的实验诊断指标主要有两类：一类是反映胶原产生及降解的血清标志物，包括血清Ⅲ型前胶原氨基端肽（PⅢP）、血清层粘连蛋白（LN）、血清透明质酸（HA）、血清Ⅳ胶原（CⅣ）、基质金属蛋白酶（MMP）、单胺氧化酶（MAO）等；另一类是通过测定血清多种非胶原相关成分，然后计算得到的肝纤维化分数，如Fibrotest（测定Apo A1、结合珠蛋白、α_2-微球蛋白、γ-谷氨酰转肽酶和总胆红素）、ELF-test（测定组织金属蛋白酶抑制剂-1、PⅢP、透明质酸）、Hepascore（测定胆红素、γ-GT、α_2-微球蛋白、透明质酸、性别及年龄）、Wai-score（测定ALT、AST、Plt）。

学习笔记

知识点

肝硬化实验室诊断流程图



患者入院后予利尿、护肝、抗病毒等对症支持治疗，完善相关检查后行腹腔穿刺引流术，引流出淡黄色清亮腹水 1500ml，并行腹水常规、生化检查，腹水常规：相对密度（比重）1.012，李凡他试验（-），白细胞数 35×10^6/L；腹水生化：乳酸脱氢酶 127U/L，腺苷脱氨酶 4.8U/L，总蛋白 6.7g/L，葡萄糖 7.5mol/L，氯离子 113.5mmol/L。

【问题 5】腹水实验室检查对肝硬化诊断和疗效监测有何临床意义？

腹水是肝功能减退和门静脉高压的共同结果，是肝硬化失代偿期最突出的临床表现，产生原因主要包括门静脉高压，腹腔内脏血管床静水压增高，组织液回吸收减少而漏入腹腔。根据腹水常规和生化检查可判断腹水是漏出液还是渗出液，血清 - 腹水白蛋白梯度可判断腹水是否为门脉高压所致，腹水细菌培养及药物敏感试验可作为抗生素选择的参考，从而为肝硬化的诊断和治疗提供依据。

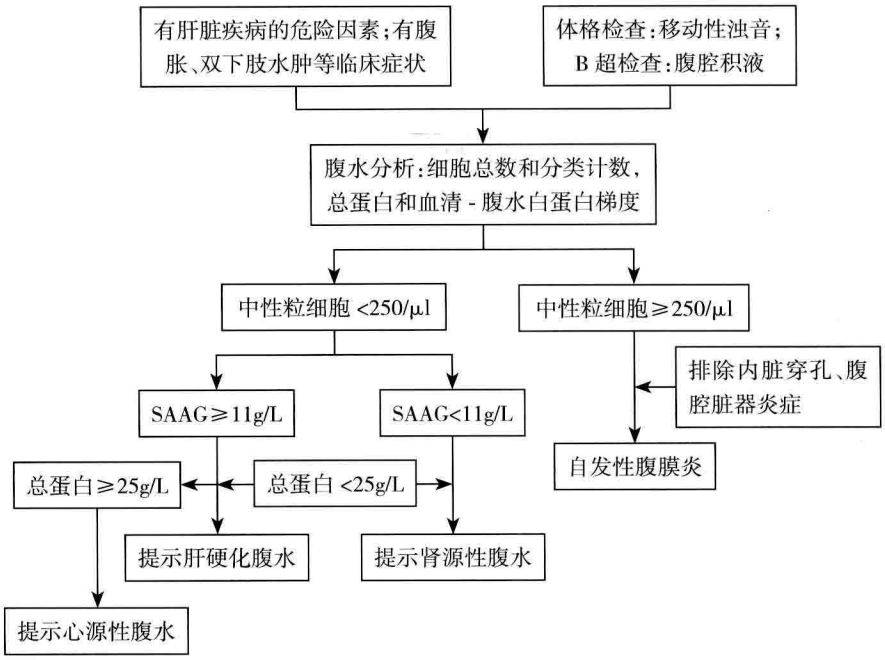
思路 1：该患者腹水为淡黄色透明液体，相对密度（比重）<1.018，李凡他试验（-），白细胞数 $<100\times10^6$/L，蛋白定量 <25g/L，乳酸脱氢酶 <200IU，可初步判断为漏出液。漏出液多见于各种肾病、严重营养不良、晚期肝硬化、肿瘤及静脉阻塞等疾病。

思路 2：血清 - 腹水白蛋白梯度（serum-ascites albumin gradient，SAAG）是血清白蛋白与同日内测得的腹水白蛋白之间的差值（SAAG= 血清白蛋白 - 腹水白蛋白），反映了胶体渗透压 - 腹水流体静水压在腹水状态下达到的新平衡点。当 SAAG≥11g/L 提示腹水为门脉高压所致，SAAG<11g/L 提示非门脉高压性腹水。该患者 SAAG=17.4，结合腹水常规及生化检查提示该患者为肝硬化性腹水，进一步明确上述肝硬化失代偿期的诊断。

学习笔记

知识点

肝硬化腹水实验室诊断流程图



患者继续进行利尿、护肝、抗病毒及营养支持治疗 1 周后恢复良好，遂办理出院。建议 3 个月后复查肝功、HBV-DNA 等实验室相关检查。

【问题 6】如何评估肝硬化患者的预后？

目前，临床诊治通常采用 Child-Pugh 评分对肝硬化患者进行分级评估，评分值越高，病死率越高，死亡原因常为肝性脑病、肝肾综合征、食管、胃底静脉曲张破裂出血等并发症。

思路：由于肝功能指标与肝脏的健康与否并不完全平行，应该结合患者的症状、体征、影像学及病理资料对肝功能进行综合判断，肝硬化患者 Child-Pugh 分级标准的评估指标主要有胆红素、白蛋白、凝血酶原时间以及是否有肝性脑病和腹水。目前肝移植的开展已明显改善了肝硬化患者的预后。

知识点

肝硬化患者 Child-Pugh 分级标准

临床和实验室指标	分数		
	1	2	3
肝性脑病（级）	无	1~2	3~4
腹水	无	轻度	中重度
总胆红素（μmol/L）*	<34	34~51	>51
白蛋白（g/L）	>35	28~35	<28
凝血酶原时间（INR）	<1.3	1.3~1.5	>1.5
或凝血酶原时间较正常延长（秒）	1~3	4~6	>6

注：* 原发性胆汁性肝硬化：总胆红素（μmol/L）：17~68 为 1 分，68~170 为 2 分，>170 为 3 分

A 级：≤6 分预后最好，1~2 年存活率 100%~85%；B 级：7~9 分 1~2 年存活率 80%~60%；C 级：≥10 分预后最差，1~2 年存活率 45%~35%

学习笔记

【问题 7】与肝硬化患者预后评估相关的其他实验室指标有哪些?

由于肝硬化患者预后极差,早期诊断及时治疗显得尤为重要,除上述肝功能实验室检查外,HBV-DNA 定量、血氨测定、甲胎蛋白等相关实验室检查对肝硬化患者的预后评估也有重要意义。

思路 1:HBV-DNA 对肝硬化患者预后评估的重要意义

在我国,目前引起肝硬化的病因以病毒性肝炎为主,其中乙型肝炎病毒感染最常见。常用 HBV 的 5 项血清免疫标志(HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb)筛查患者是否感染 HBV,HBV-DNA 定量检测反映病毒复制水平。这两项检测常用于决定是否抗病毒治疗及疗效评价。复制活跃的 HBV 是肝硬化进展最重要的危险因素之一,对于 HBV 肝硬化失代偿,不论 ALT 水平如何,当 HBV-DNA 阳性时,均应给予抗 HBV 治疗。因此建议肝硬化的患者定期检测 HBV-DNA,以便为用药及干预提供参考依据。

思路 2:血氨测定对肝硬化患者预后评估的重要意义

肠道中未被吸收的氨基酸及未被消化的蛋白质在肠道菌作用下生成氨经肠道吸收入血,经门静脉进入肝脏,大部分氨在肝脏内通过鸟氨酸循环合成尿素,经肾脏排出体外。肝脏是唯一能解除氨毒性的器官,在肝硬化及暴发性肝衰竭等严重肝损害时,如果 80% 以上肝组织破坏,氨就不能被分解,从而在中枢神经系统积聚,引起肝性脑病,临床表现轻者可仅表现出轻微的智力减退,严重者出现意识障碍、行为失常和昏迷。大部分肝性脑病由肝硬化引起,血氨检测对肝硬化患者的治疗、病情监测及预后有重要意义。

思路 3:甲胎蛋白检测在肝硬化预后及早期肝肿瘤诊断中的意义

目前最常用于诊断原发性肝癌的生化检验指标是甲胎蛋白(AFP)。正常人血清 AFP<25ng/ml,肝病特别是原发性肝癌时,血清 AFP 值即升高。肝癌患者血清 AFP 含量变化的速率和程度与肿瘤组织分化程度高低有一定相关性,分化程度较高的肿瘤 AFP 含量也较高。甲胎蛋白是一种单链糖蛋白,大量研究证实,AFP 分子的糖链异质性与其组织器官来源有关,不同生理病理状况可产生不同糖链结构,并且具有肿瘤特异性。依据这个糖链结构差异,AFP 可以分为 AFP-L1、AFP-L2、AFP-L3。其中 AFP-L1 主要存在于良性肝病中,AFP-L2 来自孕妇,AFP-L3 为肝癌细胞所特有,AFP-L3>15% 即可诊断为原发性肝癌。AFP-L3 值与总 AFP 值无相关性,是独立于总 AFP 值的肝癌诊断因子,是目前公认的肝癌鉴别诊断和早期诊断的指标。由于甲胎蛋白异质体 AFP-L3 是特异的癌组织产生,所以对于手术治疗后癌组织残留监测、手术是否彻底的效果监测和肿瘤复发检测具有重要意义。

知识点

AFP 异质体测定用于肝癌定性诊断的优势

1. 不受 AFP>400ng/ml 作为肝癌诊断标准的限制。
2. 不受影像学检查结果为阴性的束缚。
3. 有助于鉴别影像学检查难以确诊的肝占位性病变。
4. 无须动态观察 AFP 含量变化,从而缩短从 AFP 含量升高至肝癌确诊的时间。

【问题 8】肝肾综合征是肝硬化最严重的并发症之一,预后差,致死率高,常见实验室检查有哪些?

肝肾综合征常见实验室检查主要有:①尿液检查:尿蛋白阴性或微量,尿沉渣正常或可有少量红细胞、白细胞,尿相对密度(比重)常 >1.020,尿渗透压 >450mmol/L,尿 / 血渗透压 >1.5,尿钠通常 <10mmol/L;②血生化检查:低钠,低氯,尿素和肌酐升高;③肝功能:ALT 升高,白蛋白降低,胆红素升高,胆固醇降低,血氨升高。

学习笔记

思路：肝肾综合征的患者肾脏无实质性改变，由于严重门静脉高压，内脏高动力循环使体循环血流量明显减少；多种扩血管物质不能被肝脏灭活，引起体循环血管床扩张，肾脏血流尤其是肾皮质灌注不足，因此出现肾衰竭。临床多表现为少尿、无尿及氮质血症。80% 的急进型患者于 2 周内死亡；缓进型较多见，常表现为难治性腹水，肾衰竭病程缓慢，可在数月内保持稳定状态，常在各种诱因作用下转为急进型而死亡，平均存活期约为 1 年。所以早期诊断及时治疗显得尤为重要。

知识点

肝肾综合征诊断标准

①肝硬化合并腹水；②急进型血清肌酐浓度在 2 周内升至 2 倍基线值，或 >226μmol/L，缓进型血清肌酐 >133μmol/L；③停利尿药至少 2 天以上并经白蛋白扩容后，血清肌酐值没有改善；④排除休克；⑤目前或近期没有应用肾毒性药物或扩血管药物治疗；⑥排除肾实质性疾病，如尿蛋白 >500mg/L，血尿显微镜下观察 >50 个红细胞 /HP 或超声探及肾实质性病变。

对于肝硬化患者，实验室肝功能检查在疾病的诊断、鉴别诊断、疗效监测以及预后评价方面均起着重要作用。由于肝脏功能复杂，再生和代偿能力很强，因此根据某一代谢功能所设计的检查方法，只能反映肝功能的一个侧面，目前尚无一种理想的肝功能检查方法能够完整和特异地反映肝功能全貌。在临床工作中，临床医师必须具有科学的思维，合理选择肝脏功能检查项目，特别是血清蛋白电泳、凝血功能及血清肝炎病毒标志物等检测技术，并结合临床的症状和体征，从而对肝硬化患者的病情作出正确而全面的判断和评价。

（段　勇）

学习笔记

第四节　胰　腺　炎

急性胰腺炎（acute pancreatitis，AP）是多种原因导致胰酶在胰腺内被激活后引起胰腺组织自身消化、水肿、出血甚至坏死的急性炎症过程，可不同程度地波及邻近组织和其他脏器系统，临床以急性上腹部疼痛、发热、恶心、呕吐、白细胞升高和血、尿淀粉酶升高等为特点，可分为轻度、中度和重度急性胰腺炎，发病机制尚未完全明确。急性胰腺炎是较为凶险的急腹症之一，尤其是重症胰腺炎，病死率达 20%~50%，急性胰腺炎可导致急性肺损伤甚至引发急性呼吸窘迫综合征（ARDS）、酸碱失衡、电解质紊乱等。

病历摘要：

患者男，57 岁。主诉“持续性上腹部痛 6 小时”住院就诊。患者晚间参加宴会，于饮酒和高脂餐后出现中上腹部持续性绞痛，以剑突下为甚，呈阵发性加重，向双侧腰背部放射，伴恶心、呕吐、乏力，间断呕吐 2 次，为胃内容物，无咖啡渣样物。无糖尿病史。体格检查：T 36.5℃，P 100 次 / 分，R 26 次 / 分，BP 104/67mmHg。急性痛苦病容，皮肤、巩膜未见黄染，皮肤弹性减退。体格检查合作，浅表淋巴结未触及；双下肺呼吸音低，未闻及干、湿性啰音；心界无扩大；腹部膨隆，腹肌紧张，上腹部有压痛，无反跳痛，肝、脾触诊不满意，Murphy 征阴性，双肾区无叩痛，肠鸣音消失。

【问题 1】根据病史及临床表现，该患者可能的诊断是什么？

根据患者于饮酒及高脂餐后出现持续性上腹部痛并呈阵发性加重、疼痛向腰背部放射，腹部膨隆、腹肌紧张、上腹部压痛等症状和体征，该患者可能的诊断是急性胰腺炎。

思路：男性患者，发病前有饮酒及高脂餐史，有疼痛向腰背部放射的症状，上腹部压痛等病史、症状、体征符合急性胰腺炎的临床特点。

知识点

急性胰腺炎的发病特点

急性胰腺炎发作特点常常是严重的腹部疼痛从上腹部辐射到背部。胰腺炎的发生，男性发病率较女性高，酗酒及胆囊疾病（由胆管和胰管入十二指肠处阻塞形成的胆石症引起）的加剧是诱发胰腺炎主要原因，约占急性胰腺炎诱因的80%。

【问题2】为进一步诊断，首选的实验室检查是什么？

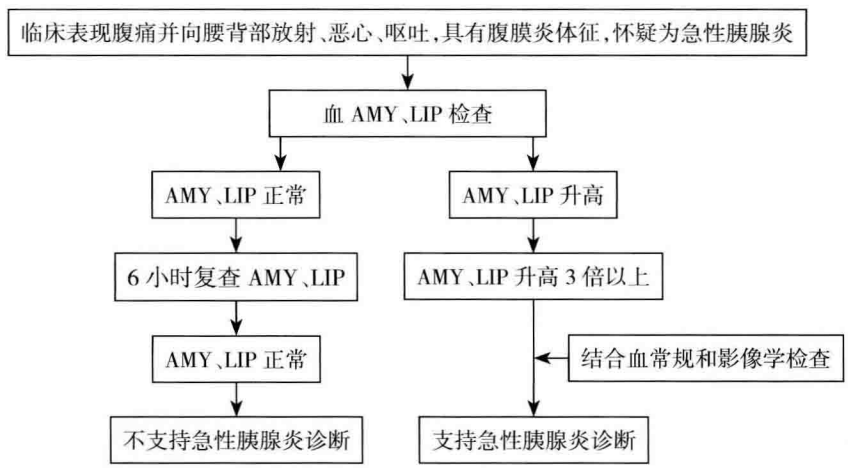
为进一步诊断急性胰腺炎，应行的首选实验室检查是血清淀粉酶（AMY）和血清脂肪酶（LIP）测定，二者是诊断急性胰腺炎的重要标志物。

思路1：急性胰腺炎临床以急性上腹痛、恶心、呕吐、发热及血淀粉酶/脂肪酶升高等为特点。病变程度轻重不等，轻者以胰腺水肿为主，病情常呈自限性，预后良好，临床多见。病变严重者胰腺可出现出血坏死，可伴发胰腺局部并发症甚至多器官功能障碍。

思路2：急性胰腺炎是急腹症，及时准确的诊断至关重要，其实验室检查流程如流程图所示。

知识点

急性胰腺炎实验室诊断流程图



思路3：要诊断急性胰腺炎，须排除胆石症、消化性溃疡和心肌梗死。胆石症、胆囊炎、消化性溃疡等急腹症时，血清淀粉酶和脂肪酶亦可升高，但通常低于参考区间上限的2倍，故两种酶的值应超过参考区间上限3倍以上才可诊断急性胰腺炎。必要时还需结合B超、CT和内镜等检查加以鉴 别诊断。为排除急性心肌梗死，可检测血清心肌坏死标志物以及心电图检查。

患者入院实验室检查结果示：白细胞总数 12.2×10^9/L（↑），血红蛋白 124g/L，血清淀粉酶 1280U/L（↑），血清脂肪酶 3545U/L（↑），血尿素氮 6.9mmol/L，血清钾 2.9mmol/L（↓），血糖 8.6mmol/L（↑）。腹部B超示：①胰体部形态饱满声像；②肝、胆囊、胆管显示段、脾脏、双肾未见明显异常。腹部CT示：急性胰腺炎并胰周较多积液形成。

【问题3】根据实验室检查结果，结合病史及临床表现，该患者最可能的诊断是什么？

对该患者可作出以下诊断：重症急性胰腺炎。

思路：诊断依据：①男性，发病前有饮酒及高脂餐史，急性持续性上腹痛，并向双侧腰背部放

学习笔记

射；②血清淀粉酶 1280U/L(↑)、脂肪酶 3545U/L↑，均分别高于参考区间上限 3 倍以上；③急性胰腺炎典型影像学改变。

知识点

急性胰腺炎的诊断标准

临床上符合以下 3 项特征中的 2 项，即可诊断为 AP：①与急性胰腺炎符合的腹痛(急性、突发、持续、剧烈的上腹部疼痛，或常向背部放射)；②血清淀粉酶和(或)脂肪酶活性至少 >3 倍参考区间上限值；③增强 CT/MRI 或腹部超声呈急性胰腺炎影像学改变。

【问题 4】患者入院 12 小时后，腹痛轻微减轻，但病情恶化，仍然脱水，呼吸加快，血红蛋白尿。实验室检查结果示：血红蛋白 101g/L、白细胞总数 20.8×10^9/L(↑)、血尿素氮 11.9mmol/L(↑)、血清钾 5.0mmol/L(↑)、血钙 1.74mmol/L(↓)、血糖 11.9mmol/L(↑)、超敏 C- 反应蛋白 165mg/L(↑)。如何分析这些指标的变化？

在胰腺炎发病过程中，许多因素可使患者炎症逐级放大，此时应特别注意动态观察患者的各项检查指标，弄清楚这些指标变化背后的根本原因，才能有效地对患者的病情进行监测以及采取针对性的治疗措施。下面分别对每一个指标的变化进行分析。

1) 血红蛋白：患者入院时血红蛋白 124g/L，12 小时后 101g/L。人磷脂酶 A2 在体内分布很广，如巨噬细胞、中性粒细胞、单核细胞的粗面内质网和溶酶体内均富含水溶性磷脂酶 A2，在病理状态下如休克、急性胰腺炎时，这些细胞被活化而向细胞外释放磷脂酶 A2，成为体液磷脂酶 A2 重要来源；胰腺外分泌腺泡中含有以酶原形式存在的磷脂酶 A2，活化后参与卵磷脂消化，产物为溶血卵磷脂，后者使红细胞膜被破坏，引起血管内溶血，血红蛋白降低。另外，胰腺的出血坏死也会造成血红蛋白降低。

2) 血尿素氮：入院时血尿素氮 6.9mmol/L，12 小时后 11.9mmol/L。血尿素氮升高的原因主要有：①包括胰蛋白酶在内的多数胰酶在分泌时以未激活的状态(即酶原)形式存在，此时的胰酶无自身消化作用。在胰管阻塞等病理情况下，正常防御功能遭到破坏，胰管内压增加、腺泡破裂，剧烈地释放出脂肪酶、蛋白酶和淀粉酶等胰酶，造成了胰腺及周围组织的自身消化；②患者大量呕吐导致消化液的急性丧失，造成循环血量在内的细胞外液量迅速减少，导致肾前性少尿，肾血流量减少，灌注不足，此时血尿素氮升高；③内源性溶血造成血浆游离血红蛋白大幅增加，引起肾脏器质性损伤。

3) 血清钾：入院时 2.9mmol/L，12 小时后 5.0mmol/L。入院时患者剧烈的呕吐导致钾从肾外途径丧失；呕吐引起的代谢性碱中毒可使肾排钾增多；此外，呕吐引起血容量减少也可通过继发性醛固酮增多而促进肾脏排钾。上述 3 个因素共同造成了入院时患者的低钾。入院后，机体由于发生血管内溶血，细胞内钾离子大量转移细胞外，加之合并肾损害，尿量减少，导致血清钾浓度升高。

4) 血钙：入院时 2.05mmol/L，12 小时后 1.74mmol/L。低血钙的发生与下列因素有关：①由于胰蛋白酶原激活胰蛋白酶，胰蛋白酶激活包括脂肪酶在内的多种酶，脂肪酶促进脂肪分解形成脂肪酸，脂肪酸与钙离子结合形成脂肪酸钙(皂化斑)导致低血钙；②患者降钙素分泌增加；③钙 - 甲状旁腺轴失平衡，后者对低血钙的反应性减弱；④钙被转移至脂肪、肌肉和肝组织中。另外，急性胰腺炎患者低氧血症会促使大量钙离子流入细胞内，钙离子内流一方面激活磷脂细胞系统，导致溶酶体膜破坏和酶的释放，进一步促使胰腺、肺、肾、心、脑等组织细胞磷脂结构分解，加重多脏器功能损害。血钙既是病情评价指标，也是疗效观察指标。暂时性低钙血症(<2mmol/L)在 AP 中较为常见，若血钙 <1.5mmol/L 提示病情严重，预后不良。

5) 血糖：入院时血糖 8.6mmol/L，12 小时后 11.6mmol/L。胰腺炎时胰腺自体消化使胰腺细

学习笔记

胞大量破坏包括 B 细胞，使胰岛素分泌减少；胰腺炎可引起休克、化脓性感染、多脏器功能衰竭等全身性应激状态，促进肾上腺皮质激素等各种应激激素大量分泌，而这些激素都具有升高血糖作用。这些因素共同作用导致血糖升高。血糖是反映急性胰腺炎严重程度的标准之一，若血糖持续增高 >11.2mmol/L，提示预后不良。

知识点

反映 AP 病理生理变化的实验室指标

检测指标	病理生理变化
白细胞↑	炎症或感染
C- 反应蛋白 >150mg/L	炎症
血糖（无糖尿病史）>11.2mmol/L	胰岛素释放减少、胰高血糖素释放增加、胰腺坏死
ALP、GGT↑	胆道梗阻
AST、ALT↑	肝损伤、全身组织器官血流量灌注不足
白蛋白↓	大量炎性渗出、肝损伤
血尿素氮、肌酐↑	休克、肾功能不全
血氧分压↓	成人呼吸窘迫综合征
血钙 <2mmol/L	与脂肪酸结合；Ca^{2+} 内流入胰腺细胞、胰腺坏死
血甘油三酯↑	既是急性胰腺炎病因，也可能是其后果
血钠、钾、pH 异常	肾功能受损、内环境紊乱

【问题 5】急性胰腺炎的治疗方案根据其严重程度而定，那么怎样对其进行严重程度分级？

急性胰腺炎的诊断应包括确定诊断、临床分型和判断预后三个部分。本案患者的症状、体征、实验室检查以及影像学检查均支持急性胰腺炎的诊断，可确诊为急性胰腺炎。接下来需对急性胰腺炎病情严重程度进行评估。

思路：急性胰腺炎严重程度的判定有包括实验室检查的 Ranson 标准、APACHE-Ⅱ（acute physiology and chronic health evaluation）计分以及 CT 影像学分级标准。根据 Ranson 标准，该患者年龄 57 岁（>55 岁），入院 12 小时血钙 1.75mmol/L（<2.2mmol/L），血尿素氮升高了 5mmol/L（>1.8mmol/L），可判定为病重（≥3 个指标）。CT 示急性胰腺炎伴胰周较多积液形成，CT 评分 >4，且有胰腺局部并发症，因此诊断为重症急性胰腺炎，与 Ranson 标准判定结果相符。

知识点

胰腺炎严重程度判定的 Ranson 标准

1. 标准　入院时：年龄 >55 岁；血糖 >11.2mmol/L；白细胞 >16.0×10^9/L；ALT>250U/L；LDH>350U/L。入院后 48 小时内：血细胞比容下降 >10%；血钙 <2.2mmol/L；碱缺失 >4mmol；BUN 上升 >1.8mmol/L；估计失液量 >6L；PaO_2<8kPa（60mmHg）。

2. 判定　<3 个指标阳性为轻症；≥3 个为病重；≥5 个为预后较差。

【问题 6】为什么血清淀粉酶、脂肪酶和 CRP 在急性胰腺炎的诊断中如此重要？在临床应用中应注意哪些问题？

2013 年中国急性胰腺炎诊治指南中，再次强调了血清淀粉酶和（或）脂肪酶活性测定在急性胰腺炎诊断中的价值。尿淀粉酶变化仅作参考。

思路 1：淀粉酶在急性胰腺炎诊断中的应用与评价

学习笔记

血清淀粉酶升高多见于急性胰腺炎，是急性胰腺炎的重要诊断指标之一，起病后 8~12 小时活性开始升高，24 小时达到峰值，48 小时开始下降，持续 3~5 天，之后逐渐恢复正常。淀粉酶活性升高的程度虽然并不一定和胰腺损伤程度相关，但其升高的程度越大，患急性胰腺炎的可能性也越大，目前仍然将淀粉酶作为急性胰腺炎诊断的首选指标，但特异性还不够理想，因为其还可来源于唾液腺。尿淀粉酶于急性胰腺炎起病后 12~24 小时始增高，较血清淀粉酶增高较迟，可持续 3~10 天，应用价值不及血清淀粉酶。当怀疑急性胰腺炎时，应对患者血清和尿淀粉酶活性连续作动态观察，还可结合临床情况及其他试验，如脂肪酶等测定共同分析，从而作出诊断。

淀粉酶测定是临床上急腹症必测的检验项目，但是也有局限性：①当极重型胰腺炎、酒精性胰腺炎和急性胰腺炎伴高甘油三酯血症时，淀粉酶水平常可正常；②高淀粉酶血症也可见于非胰腺疾病如唾液腺、肺、胆囊等部位病变及急腹症者；③淀粉酶升高程度与急性胰腺炎病情并不呈正相关；④一般情况下血清淀粉酶的升高不会超过 1 周，且其值的高低与疾病严重程度和预后关系不大。另外，在样本采集前应注意：禁止剧烈运动、重体力劳动，停止服用利尿药、两性霉素 B 等药物。

思路 2：脂肪酶在急性胰腺炎诊断中的应用与评价

当胰腺细胞受到损伤（胰腺炎）或胰管梗阻（胆结石或罕见的胰脏肿瘤）时，渗入血液循环中的脂肪酶量增加。胰腺炎发病后 4~8 小时血清脂肪酶活性开始升高，24 小时达峰值，持续时间 10~15 天。血清脂肪酶活性测定在急性胰腺炎诊断中同样具有重要意义，特别是当血清淀粉酶活性已经下降至正常，或其他原因引起血清淀粉酶活性增高时。和血清淀粉酶相同的是，血清脂肪酶活性与疾病严重程度不呈正相关。

血清脂肪酶的组织来源较淀粉酶少，所以急性胰腺炎时其特异性较淀粉酶高，同时测定脂肪酶和淀粉酶可提高诊断敏感性和特异度。

思路 3：CRP 在急性胰腺炎诊断中的应用与评价

正常情况下，血液中仅存在微量的 CRP，当急性创伤或感染时，其在血清中的浓度可急剧升高，每升可达数十至数百毫克。

作为胰腺炎的诊断指标之一，CRP 的浓度高低与胰腺炎的严重程度、并发症及其预后相关。在发病早期，血清 CRP 水平可以反映胰腺细胞损伤坏死的轻重程度。在胰腺炎早期，胰腺仅有间质水肿时，依靠 CT 作出诊断具有一定困难，CRP 可以预测胰腺的坏死程度，对在疾病早期指导临床医生选择合理的治疗方案及预后判断有重要参考价值。

【问题 7】急性胰腺炎的实验室检查中，应重点关注哪些反映肾功能的指标？

资料显示，约 23% 的重症急性胰腺炎引发肾衰竭，相关的死亡率可达 80%，因此，在治疗过程中应注意动态监测尿液、血尿素氮和血肌酐。其中，血尿素氮还是病情评价的指标之一。

思路 1：首先要了解急性胰腺炎时导致肾功能损害的原因：①急性胰腺炎时异常激活的胰酶除造成胰腺本身损害外，也能激活机体炎症细胞释放大量炎症介质，引起体内一系列炎症免疫反应，使全身毛细血管通透性增加。大量炎性渗液和组织液进入第三间隙，可导致有效循环血量不足和肾血流量减少，肾皮质血流灌注不足可致肾血管收缩、肾小球滤过率下降，从而影响肾脏功能；②活性胰蛋白酶还可激活肾素 - 血管紧张素系统，作用于肾血管系统，导致肾血管阻力增高，肾功能受损；③急性胰腺炎时腹腔内渗出的各种酶、坏死组织、蛋白分解产物、细菌毒液和渗出液等可通过腹膜进入血液循环，对肾脏有较大毒性；④重症急性胰腺炎时的高凝状态，出现血栓形成和局部循环障碍也会使肾缺血缺氧，加重肾损害。

思路 2：有效血循环量的减少除了对肾脏有损害，还会引起胰腺微循环灌注减少，从而加重胰腺组织的坏死，因此在治疗过程中应及时补足血液循环量，纠正水、电解质及酸碱平衡紊乱。

【问题 8】患者入院 12 小时后血气分析检验报告结果如下，该如何分析？

急性胰腺炎行动脉血气分析并对其进行连续监测，对病情严重度的判断及预后判断具有重要

学习笔记

意义。该血气分析结果示：pH 7.46，$PaCO_2$ 31mmHg，PaO_2 66mmHg，HCO_3^- 20.7mmol/L，BE 0.4mmol/L。

思路 1：评价 pH

通常 pH 为 7.35~7.45，该患者 pH 7.46，提示碱中毒。

思路 2：看 $PaCO_2$ 和 pH 改变的方向

通常 $PaCO_2$ 为 35~45mmHg，该患者 $PaCO_2$ 31mmHg，$PaCO_2$ 降低，而 pH 升高，二者异向变化，提示为呼吸性。

思路 3：观察是否有混合型酸碱平衡紊乱

阴离子间隙 AG= 血浆中未测定阴离子（UA）- 未测定阳离子（UC）=$Na^+-(HCO_3^-+Cl^-)$=127-(20.7+95)=11.3，可排除混合型酸碱平衡紊乱，可确定为呼吸性碱中毒。

呼吸性碱中毒主要是由于肺通气过度所引起的以血浆中 H_2CO_3 浓度原发性减少为特征的酸碱平衡紊乱。急性胰腺炎时由于全身炎症反应或急性肺损伤，往往引起肺过度换气，CO_2 排出过多，发生呼吸性碱中毒，这是急性胰腺炎酸碱平衡失调最多见的一种类型，其次为代谢性酸中毒、呼吸性酸中毒合并代谢性酸中毒、代谢性碱中毒。呼吸功能不全或衰竭是急性重症胰腺炎最严重的全身并发症，气急可能是呼吸功能不全的唯一症状。

急性胰腺炎是临床常见病和多发病，近年来人们对急性胰腺炎的病理生理及发病机理有了较深入的认识，使其治疗效果以及预后有了较大的改善，但其仍是较为凶险的疾病。实验室指标在胰腺炎的诊断、鉴别诊断、疗效监测以及预后评价方面发挥了重要作用，但由于各自的特点而各有应用上的利弊，因此在临床应用上我们应根据患者的病情特点，选择最合适的指标，扬长避短，尽可能提高诊断的灵敏度和特异度，进而指导临床治疗，减少胰腺炎的并发症，降低死亡率。

（段　勇）

第五节　消化系肿瘤

消化系肿瘤发病率高、起病隐蔽、病情进展迅速，给临床诊疗带来困难，是严重危害人类健康的疾病之一。血清肿瘤标志物检测对协助肿瘤的早期诊断、病情评估、疗效观察及预后判断具有重要价值。本节以原发性肝癌为例，介绍相关的实验诊断以及多种肿瘤标志物在消化系肿瘤中的应用。

原发性肝癌（primary carcinoma of the liver）简称肝癌，是指由肝细胞或肝内胆管上皮细胞发生的恶性肿瘤。多见于中年男性，男女之比为 2：1~5：1。原发性肝癌按病理学分型可分为肝细胞型肝癌、胆管细胞型肝癌及混合型肝癌。在中国，以肝细胞肝癌为主，占原发性肝癌的90%以上。

病历摘要：

患者男，48 岁。主诉“右上腹疼痛 1 月余”来我院就诊。患者 1 个月前无明显诱因出现右上腹部持续性钝痛，以夜间为甚，且逐渐加重，疼痛伴乏力、腹胀、食欲减退，体重减轻，无黄疸、呕血及黑便。既往乙肝病史 30 余年。体格检查：T 36.7℃，P 75 次 / 分，R 20 次 / 分，BP 135/80mmHg。体格检查合作，皮肤、巩膜无黄染。腹部平坦，未见腹壁静脉曲张，肝脏、脾脏未触及。实验室检查结果：白细胞计数 7.18×10^9/L，血红蛋白 121g/L，AST 208.4U/L（↑），ALT 184U/L（↑），总蛋白 60.2g/L，白蛋白 22.1g/L（↓），球蛋白 38.1g/L（↑）。乙型肝炎病毒标志物检测：HBsAg（+），HBsAb（-），HBeAg（-），HBeAb（+），HBcAb（+）。

【问题 1】通过上述问诊与体格检查，该患者可能的诊断是什么？

患者男性，48 岁，1 个月前无明显诱因出现右上腹持续性钝痛，体重减轻。既往乙型肝炎病史 30 余年。根据患者主诉、症状及既往病史，该患者可能的诊断是原发性肝癌。

思路：在我国，乙型肝炎病毒感染是引起肝癌最主要的病因，从病毒性肝炎发展为肝癌短则

学习笔记

数年，长者达数十年。该患者有长达30余年的乙型肝炎病史，结合患者主诉及症状，该患者可能的诊断为肝癌。

知识点

原发性肝癌的病因及发病机制

流行病学及病理学资料均表明乙型肝炎病毒（HBV）与肝癌关系密切，其次为丙型肝炎病毒（HCV）。西方国家以HCV感染常见，部分患者在慢性肝炎阶段即发展为肝癌。在我国，肝癌患者中约90%有HBV感染史。HBV感染→慢性肝炎→肝硬化→肝癌是最主要的发病机制。

另外，食物及饮水，如长期大量饮酒导致酒精性肝病，进而可发展为肝纤维化及肝硬化，最终发生肝癌；毒物与寄生虫，如亚硝胺类、偶氮芥类、有机氯农药等化学物质是可疑的致肝癌物质，血吸虫及华支睾吸虫感染等也易引发肝癌；再者，遗传因素也与肝癌的发生发展相关。

【问题2】为进一步明确诊断，应行哪些检查？

对疑为肝癌的患者，临床上除症状和体征外，需进行相关的实验室检查，其中最重要的项目是甲胎蛋白测定，还需进行影像学检查，甚至肝脏活检。

知识点

原发性肝癌的诊断标准

满足下列三项中的一项，即可诊断肝癌。

1. 具有两种典型影像学（超声、增强CT、MRI或选择性肝动脉造影）表现，病灶>2cm。
2. 一项典型的影像学表现，病灶>2cm，AFP>400ng/ml。
3. 肝脏活检阳性。

思路1：AFP是肝癌特异的肿瘤标志物

近来，有欧美学者认为AFP的敏感性和特异度不高，2010版美国肝病研究学会（AASLD）指南已不再将AFP作为筛查指标。但与西方国家不同的是，中国的肝癌主要与HBV感染相关，少数与HCV、酒精和代谢性因素相关，结合国内实际情况，继续选择AFP作为肝癌的筛查指标。针对高危人群，肝癌的早期筛查具有重要的意义。对具有HBV和（或）HCV感染、嗜酒以及肝癌家族史，年龄≥40岁的男性或≥50岁女性的高危人群，建议每6个月进行一次筛查。

知识点

甲胎蛋白

甲胎蛋白（α-fetoprotein，αFP或AFP）是在胎儿早期由肝脏和卵黄囊合成的一种血清糖蛋白。当肝细胞或生殖腺胚胎组织发生恶性病变时，有关基因重新被激活，使原来已丧失合成AFP能力的细胞又重新开始合成AFP，以致血中AFP含量明显升高。AFP诊断肝细胞癌阳性率约为70%，被广泛用于肝癌的筛查、辅助诊断、判断疗效及预测复发。在排除妊娠和生殖腺胚胎瘤的基础上，AFP>400ng/ml为诊断肝癌的指标之一。对AFP逐渐升高不降或>200ng/ml持续8周，应结合影像学及肝功能变化作综合分析或动态观察。

思路2：还应利用影像学检查确定占位病变及并发症情况。B超、CT、MRI和选择性肝动脉造影是常用的影像学检查手段，可为肝癌的诊断提供重要依据。

学习笔记

思路 3：B 超或 CT 引导下经皮肝穿刺活体组织检查（简称肝活检）是肝癌的确诊方法，主要用于各种肝脏疾病的诊断及鉴别，但属于创伤性检查，偶有出血或针道转移的风险，故不作为常规方法应用，仅在非侵入性检查仍不能诊断者才视情况考虑应用。

患者入院实验室检查结果：AFP 600.5ng/ml；腹部 B 超结果显示：肝右前叶下段实性占位病灶，大小 2.5cm×2.8cm；CT 结果示：肝右前叶下段结节灶，大小 2.6cm×2.9cm，小肝癌可能性大，腹膜后及肠系膜根部多发小淋巴结。

【问题 3】根据 AFP 和影像学检查结果，结合病史及临床表现，该患者最可能的诊断是什么？

该患者最可能的诊断是原发性肝癌。

诊断依据：①患者男性，48 岁，右上腹持续性疼痛 1 月余，伴体重减轻；②既往有 30 余年的乙型肝炎病史；③甲胎蛋白 600.5ng/ml；④B 超、CT 提示肝脏占位的典型影像学改变。

思路 1：该患者属原发性肝癌的高危人群，具备典型的原发性肝癌的临床表现，既往 30 年的乙型肝炎病史，AFP>400ng/ml，两项典型的肝脏占位影像学表现，病灶 >2cm；即患者的症状、体征，实验室检查以及影像学检查均支持原发性肝癌。

思路 2：临床诊断肝癌通常依靠影像学和实验室检查。若通过影像学和实验室检查，结合病史及临床表现仍不能确立原发性肝癌诊断的患者，可行肝活检确诊。

【问题 4】除 AFP 外，还可选择哪些实验室检查项目用于原发性肝癌的诊断？

除 AFP 外，实验室还可选择肝癌较特异的肿瘤标志物如 AFu、APT、GGT_2、AAT、ALP-Ⅰ等。本例患者的检测结果中，AAT 明显降低，AFu、GGT_2、APT、ALP2 显著升高，高度提示肝脏恶性肿瘤，进一步支持原发性肝癌的诊断。

思路：肝癌的诊断与鉴别可分为 AFP 阳性与 AFP 阴性两种情况。AFP 阴性的肝癌在临床上鉴别较困难。可选择特异性较好的 AFu、APT、GGT_2、AAT、ALP-Ⅰ等肿瘤标志物进一步检测，且尽量联合检测。

知识点

诊断肝癌较特异的肿瘤标志物

血清 α-L- 岩藻糖苷酶（AFu）是原发性肝癌的标志物之一。对小于 3cm 的小肝癌，AFu 的敏感性高于 AFP，但特异性不如 AFP。对 AFP 阴性的肝癌和小肝癌患者，AFu 的阳性率分别为 76.1% 和 70.8%，而对转移性肝癌和肝良性肿瘤均为阴性，与 AFP 联合检测可提高肝癌诊断阳性率达 93.1%。

γ- 谷氨酰转肽酶同工酶Ⅱ（GGT_2）对原发性和转移性肝癌诊断的阳性率可达 90%，非癌性肝病和肝外疾病患者的阳性率小于 5%。GGT_2 与 AFP 浓度无关，在 AFP 低浓度和假阴性肝癌患者中，GGT_2 的阳性率也较高。

异常凝血酶原（APT），也称 γ- 羧基凝血酶原。肝癌患者血清 APT 阳性率为 69.4%。APT 对原发性肝癌有较高的特异性，而良性肝病、转移性肝癌仅少数呈阳性，故对亚临床肝癌有早期诊断价值。

α_1- 抗胰蛋白酶（AAT）主要在肝脏中合成，肺巨噬细胞和支气管上皮细胞亦分泌少量 AAT。血清中 AAT 明显降低可提示肝脏疾病（如慢性肝炎、肝硬化、肝癌）和肺部疾病。

碱性磷酸酶同工酶（ALP-Ⅰ）有 6 种同工酶，其中仅 ALP2 来自肝脏。肝炎或肝硬化时，ALP 轻度增高，但很少超过正常上限 3 倍。原发或继发肝癌时，ALP 明显升高。ALP-Ⅰ升高可见于肝外胆管梗阻，如转移性肝癌、肝脓肿、肝淤血等并可伴有 ALP2 的升高。而肝内胆管梗阻所致胆汁淤积，如原发性肝癌及急性黄疸性肝炎则以 ALP2 的增高为主。

学习笔记

该患者入院后，肿瘤标志物检测结果为：AFu 83U/L(↑)；GGT 135U/L(↑)；GGT 分型电泳出现增宽的 GGT_2 型带；APT 483μg/L(↑；AAT 0.55g/L(↓)；ALP 426U/L(↑)，ALP 分型电泳显示 ALP2 增高。

【问题 5】该患者入院后，对于病情的评估，应关注哪些实验室检查项目？

原发性肝癌患者入院后需进行全面的实验室检查，主要通过血常规、肝功能、凝血功能及相关肿瘤标志物等检查来评估病情。若有机会手术治疗，做好充分的术前评估。

思路 1：血常规检查应关注血红蛋白水平，有无贫血，贫血的原因是否与肝功能下降有关，如贫血程度重(<90g/L)，可考虑输血以改善贫血。出现血小板计数减少，提示肝功能受损明显。若血常规中白细胞、红细胞及血小板均降低，应考虑肝癌骨髓转移，抑制骨髓造血可能。

思路 2：通过肝功能检查了解患者的肝脏功能的状况。反映肝细胞受损的指标 ALT、AST 在肝癌时可正常或轻度升高，且 AST 升高较 ALT 明显，AST/ALT>1。肝癌时，由于肿瘤压迫导致肝内阻塞，ALP 和 GGT 均显著升高，以 GGT 的升高更为明显。30%~50% 的原发性肝癌患者的总胆红素正常而结合胆红素升高，并与病情严重程度平行。

思路 3：大部分凝血因子都在肝脏中合成。肝功能受损的早期，维生素 K 依赖的凝血因子(Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ)可显著降低。故可通过凝血功能检查评估肝功能状态。若凝血功能出现障碍，必要时可考虑输注凝血因子。

思路 4：还可行 CEA、CA199、CA724、CA242、CA50 等肿瘤标志物检查，针对消化道及其他组织器官的肿瘤标志物检查往往对肝癌的病情分期、并发症、远处脏器的转移情况有提示价值，有利于病情评估及预后判断。

【问题 6】诊断原发性肝癌需与哪些疾病进行鉴别？

原发性肝癌需与继发性肝癌、肝硬化和肝脓肿相鉴别，AFP、血常规、肝功能等实验室指标可提供辅助诊断和鉴别价值，避免误诊或漏诊。本例 AFP 明显升高，AFu、GGT_2、APT、ALP2、AAT 检测结果均提示肝癌，排除继发性肝癌、肝硬化。白细胞计数 7.18×10^9/L，初步排除肝脓肿。

思路 1：AFP 对于原发性与继发性肝癌的鉴别较有意义。前者 AFP 多呈阳性，且升高显著，阳性率 70% 左右。而 90% 以上的继发性肝癌 AFP 都呈阴性。此外，原发性肝癌病情发展快，患者肝功能损害明显，血清白蛋白进行性降低，A/G 比例倒置，胆红素代谢障碍，肝细胞受损致 ALT、AST 轻至中度升高；肝脏合成功能下降，患者凝血功能可出现障碍。继发性肝癌病情发展相对缓慢，肝脏病变症状轻，甚至在肝脏明显肿大时仍然能够代偿，肝功能仍可能正常，AFP 即便升高也仅为轻度。

思路 2：肝硬化时 AFP 多不升高，除非合并肝癌。肝硬化一般经历慢性化发展，失代偿期肝脏萎缩，肝功能损害明显。而肝癌病情进展较快，患者在短时间内即可出现肝功能受损表现。本例实验室结果不足以鉴别二者，但可通过监测上述指标一段时间(如 1~3 个月)内的变化情况提供重要的鉴别信息。

思路 3：肝脓肿有感染、外周血白细胞和中性粒细胞升高等炎性反应表现，无慢性肝病史，HBV 或 HCV 多阴性。肝功能受损不明显或程度较轻，且肝功能异常随病情好转可恢复正常。而肝癌时，病情变化快，肝功能急剧恶化，呈不可逆升高且程度加重。

【问题 7】患者手术后，为何首选 AFP 为实验室随访指标？该患者手术治疗后实验室随访指标还有哪些？

该患者术后 AFP 50.3ng/ml，较术前明显降低，提示手术效果良好。手术后，可通过定期检测 AFP、血常规、肝功能、凝血功能等实验室指标来评估预后，监测复发。

思路 1：AFP 可用于手术疗效的评估。

若肝癌肿块局限，经手术完整切除后，大部分患者 AFP 水平明显回落，少数患者甚至降至正

学习笔记

常水平。若 AFP 浓度下降但仍持续在参考区间以上，常提示有肿瘤残留和(或)肿瘤转移；浓度下降到参考区间内一段时间后又重新升高，提示肿瘤复发或转移。微小的复发转移灶通过影像学检查常不容易被发现，此时定期监测 AFP 价值较大。当出现 AFP 缓慢升高，提示癌细胞增殖，首先考虑肝癌是否复发转移。术后 AFP 水平受很多因素影响，需通过动态观察 AFP 和结合肝功能变化进行综合判断。

思路 2：一般认为，肝癌术后患者随访频率在手术 3 年内应该每 3~4 个月一次；3~5 年期间，每 4~6 个月一次；5 年后依然正常，可延长至 6~12 个月一次。对于 AFP 阴性的肝癌，随访指标应增加 AFu、APT、GGT_2、AAT、ALP-Ⅰ等，医疗水平和经济条件允许还可联合 CEA、CA199、CA724、CA242、CA50 等，对于病变部位及其他脏器的转移情况也可获取有效信息。

【问题 8】目前临床上还可选择的用于鉴别原发性肝癌与其他消化道肿瘤的标志物有哪些？

对于消化道肿瘤，目前常用的标志物还有 CEA、CA199、CA724、CA242、CA50、PGⅠ和 PGⅡ等。

思路 1：消化道肿瘤常用的标志物较多，限于灵敏度和特异性的差异，单项检测往往难以诊断疾病、评估病情和判断预后，故提倡联合检测，可获取更多有价值的信息。常选择的组合如表 7-5-1 所示。

表 7-5-1　消化系肿瘤标志物组合

肿瘤	肿瘤标志物组合
原发性肝癌	AFP、CA199
胃癌	PGⅠ和 PGⅡ、CA724、CA199、CEA
胰腺癌、胆囊癌	CA199、CA242、CA50、CEA
结直肠癌	CEA、CA724、CA242、CA199、CA50

知识点

消化系肿瘤常用标志物

癌胚抗原(CEA)正常血清中可有微量。70%~90% 的结肠腺癌患者 CEA 阳性，在其他恶性肿瘤中的阳性率顺序为胃癌、胰腺癌、小肠腺癌、肺癌、肝癌、乳腺癌、泌尿系癌肿。CEA 主要用于消化道肿瘤的诊断和治疗，浓度越高，预后越差，并与肿瘤转移和复发相关。

CA199 是胰腺癌、胃癌、结直肠癌、胆囊癌相关标志物，对胰腺癌诊断敏感性最高，达 80% 以上。同时有助于胰腺癌的鉴别和病情监测。肿瘤切除后 CA199 如再上升，预示复发。对胰腺癌转移也有较高的阳性率，CA199 水平高于 10 000U/ml 时，几乎均存在胰腺外转移。

CA724 是目前诊断胃癌的最佳肿瘤标志物之一，对胃癌具有较高的特异性，若与 CA199、CEA 联合可检测 70% 以上的胃癌。CA724 水平与胃癌的分期明显相关，对伴有转移的胃癌病人，阳性率远高于非转移者。与其他标志物相比，CA724 最主要的优势是其阴性预测值较高，在良性胃病患者中检出率仅 0.7%。

CA242 对胰腺癌、结直肠癌有较高的敏感性。与单独检测 CEA 相比，CEA 与 CA242 联合检测可提高敏感性，对结肠癌可提高至 40%~70%，对直肠癌提高至 47%~62%。

CA50 对胰腺癌的阳性检出率居首位，可用于胰腺癌的早期诊断。对结直肠癌、肝癌、胃癌等亦有较高价值。胰腺炎、结肠炎和肺炎时也会升高，但随炎症消除而下降。

胃蛋白酶原分为 2 个亚群 PGⅠ和 PGⅡ，可作为胃癌诊断的一个辅助指标，胃癌患者 PGⅠ含量及 PGⅠ/PGⅡ比值均明显降低。

思路 2：上述标志物应用于消化系肿瘤诊断和治疗中应注意的几个问题

(1) 局限性：血清肿瘤标志物(tumor marker，TM)的特异性与敏感性存在一定局限性，它既存

学习笔记

在于肿瘤患者中，也可能以一定量存在于非肿瘤患者及正常人群中。其浓度受瘤细胞数多少，合成与分泌的速度、血供、坏死、分化、分期以及个体基础数值等影响，且各期肿瘤的浓度变化范围较宽，存在相互重叠的现象，因此不能根据其浓度高低作为诊断的唯一依据。

(2) 合理组合：一种肿瘤可含有一种或多种 TM，不同肿瘤组织类型既可有共同的 TM，也可有不同的 TM。应选择对待测肿瘤有较强的特异性与敏感性，同时能够对良、恶性肿瘤及正常人群有明显区分的标志物进行组合。最佳的 TM 及组合不是一成不变的，在肿瘤的不同时期以及不同的转移程度，TM 都有可能重新组合。

(3) 参考区间的确立与动态观察：由于存在地区、种族和个体等差异，统一参考区间往往欠妥。生活条件改善，饮食状况变化，参考区间应随之重新确立并验证。TM 测定的临床价值在于动态观察，某些患者自身就是最佳的对照，定期监测比对，可减少假阳性和假阴性。

原发性肝癌是消化系肿瘤中恶性程度高、病情发展快、病死率较高的一种恶性肿瘤，就诊时多数已到中晚期，故早期诊断和治疗对改善患者存活率具有重要意义。随着外科治疗技术的不断提高，原发性肝癌的治愈率和生存率有明显的改善。实验室指标在原发性肝癌的诊断、鉴别诊断、疗效监测以及预后判断方面发挥了重要的价值，但由于指标间各自的特点而存在应用上的优势和不足，因此在实际应用中应根据患者的病情特点，选择最合适的指标，扬长避短，尽可能提高诊断的灵敏度和特异性，进而指导临床治疗，以有效降低患者死亡率，延长生命。

（段　勇）

学习笔记

第八章 内分泌代谢系统疾病的实验诊断

内分泌系统(endocrine system)由内分泌细胞形成的内分泌腺(如垂体、甲状腺、甲状旁腺、胰岛、肾上腺、性腺等)和散在于某些器官组织(如胃肠道、心脏、肺、肾、血管等)中的内分泌细胞组成。内分泌系统通过分泌各种激素(hormone)并在神经系统的参与下对维持机体基本生命活动以及各种功能活动发挥调节作用。在内分泌疾病状态下,一般会发生激素水平的改变,同时产生相应的生理生化效应的变化。因此,对于内分泌疾病的实验诊断主要依赖于激素及其代谢物的直接测定、激素生物效应及其生化标志物的检测等。

三大代谢物质(糖、蛋白质、脂肪)在机体存在一系列与合成和分解有关的代谢过程,如果代谢过程某一环节出现障碍,则引起代谢性疾病。代谢性疾病的实验诊断主要包括:代谢物质直接测定、代谢中间产物及终产物测定、代谢物与其他机体成分反应物测定、相关代谢试验等。

由于内分泌及代谢性疾病病种较多,本章主要讲述对实验室诊断依赖性较大的几种疾病:糖尿病、脂代谢紊乱及高脂血症、肾上腺疾病及甲状腺功能亢进症。

第一节 糖 尿 病

葡萄糖作为机体中重要的能源和结构物质,在体内多种因素的调节下,维持着相对稳定的状态。血中葡萄糖(血糖)水平是反映体内糖含量的一个重要指标。糖代谢紊乱主要表现为血糖浓度过高(高血糖症)和血糖浓度过低(低血糖症),一些糖代谢过程中的酶先天性缺陷导致的单糖或糖原在体内的累积,也属于糖代谢紊乱的范畴。引起高血糖症的最常见和最主要原因是糖尿病(diabetes mellitus,DM)。糖尿病是一组由多病因引起的以慢性高血糖为特征的代谢性疾病,是由于胰岛素分泌和(或)作用缺陷所引起。长期碳水化合物以及脂肪、蛋白质代谢紊乱可引起多系统损害,导致眼、肾、神经、心脏、血管等组织器官慢性进行性病变、功能减退及衰竭;病情严重或应激时可发生急性严重代谢紊乱,如糖尿病酮症酸中毒(DKA)、高渗高血糖综合征。临床实验室检测血糖以及血糖调节物、糖化蛋白以及并发症相关的其他代谢产物等,有利于糖尿病及其并发症的早期诊断、鉴别诊断、指导治疗和评估预后。

病历摘要:

患者男,50岁。因"烦渴、多饮、多尿、多食1个月,加重1周"入院治疗。每日饮水量可达3000ml左右,伴明显乏力。患者神清、精神可,口中无烂苹果味;体温36.5℃;心率78次/分,律齐;呼吸18次/分,无深大呼吸,双肺呼吸音清,未闻及干湿啰音;血压130/82mmHg;身高175cm,体重113kg,BMI 36.9kg/m^2。双下肢无水肿,双侧足背动脉搏动良好。无高血压、心脏病史,无肝炎、结核病史。患者姐姐患糖尿病。

【问题1】根据患者的临床表现及查体情况,高度怀疑的临床诊断是什么?

根据患者的发病年龄、临床典型表现、身体质量指数(body mass index,BMI)、家族史,高度怀疑的临床诊断为2型糖尿病。

思路:"三多:多饮、多食、多尿"为糖尿病的典型临床症状,患者肥胖,身体质量指数BMI远高于健康人,且发病年龄较大,姐姐患有糖尿病(家族聚集倾向)等均提示患者可能为2型糖尿病。

学习笔记

知识点

糖尿病概念

糖尿病是一组复杂的代谢紊乱疾病，主要是由于葡萄糖的利用减少导致血糖水平升高而引起，其发病率呈逐年上升的趋势，并随年龄而增长。糖尿病的典型症状为多食、多饮、多尿和体重减轻。

知识点

糖尿病分型

根据病因糖尿病可分为四大类型，即1型糖尿病（type 1 diabetes mellitus，T1DM）、2型糖尿病（type 2 diabetes mellitus，T2DM）、其他特殊类型糖尿病（other specific types of diabetes）和妊娠糖尿病（gestational diabetes mellitus，GDM）。

知识点

糖尿病发病机制

1型糖尿病是指因胰岛β细胞破坏导致胰岛素绝对缺乏所引起的糖尿病，按病因和发病机制又分为免疫介导性糖尿病和特发性糖尿病；2型糖尿病是一组以空腹及餐后高血糖为主要特征的代谢异常综合征，主要表现为胰岛素抵抗和胰岛β细胞功能减退（β-cell dysfunction）；特殊类型糖尿病往往继发于其他疾病，主要包括：β细胞功能缺陷性糖尿病、胰岛素作用遗传性缺陷糖尿病、胰腺外分泌性疾病所致糖尿病、内分泌疾病所致糖尿病等；妊娠糖尿病是指在妊娠期间发现的糖尿病，包括任何程度的糖耐量减低或糖尿病发作，妊娠糖尿病的发生与很多因素有关，多数患者在分娩后血糖将恢复至正常水平。

学习笔记

【问题2】为确定诊断，应进一步做哪些实验室检查？

为确定糖尿病诊断及进行病因诊断，应进行以下实验室检查：①空腹血糖、糖化血红蛋白、餐后2小时血糖、尿糖；②空腹胰岛素及C肽水平；③肾功能及总尿蛋白、微量白蛋白检查；④胰岛素抗体、胰岛细胞抗体、谷氨酸脱羧酶抗体、酪氨酸磷酸酶抗体检测。

思路：在高度怀疑患者患糖尿病后，首先应进行空腹血糖、餐后2小时检测及尿糖检测，以确定糖尿病诊断；检测空腹胰岛素、C肽及自身抗体检测主要进行病因诊断，区分1型及2型糖尿病；肾功能检测及尿总蛋白、白蛋白检测主要用于判断患者是否发生糖尿病肾损害及糖尿病肾病；对于妊娠妇女主要采用口服葡萄糖耐量试验进行妊娠糖尿病的筛查及诊断。

患者实验室检测结果为：空腹血糖12.5mmol/L，餐后2小时血糖17.8mmol/L，HbA1c 8.7%；尿常规：尿糖（++）、酮体（−）；空腹血清C肽901.2pmol/L，空腹血清胰岛素289.2pmol/L；胰岛素抗体、胰岛细胞抗体、谷氨酸脱羧酶抗体、酪氨酸磷酸酶抗体均为阴性；尿24小时总蛋白、尿24小时白蛋白、白蛋白/肌酐正常。

【问题3】根据实验室检查，可确诊为2型糖尿病吗？确诊依据有哪些？

根据患者的实验室检查结果，可确诊为2型糖尿病。依据为：空腹血糖及餐后2小时血糖、糖化血红蛋白水平均远远高于糖尿病诊断水平；空腹胰岛素水平及C肽浓度正常；相关自身抗体为阴性。

思路1：空腹血糖水平是诊断糖尿病最主要的依据。若空腹全血血糖不止一次超过6.7mmol/L，

血浆血糖等于或超过 7.0mmol/L，即可确诊为糖尿病。一般应两次重复测定，以防误差。同时还要注意到精神、饮食及药物等因素的影响。凡空腹全血血糖在 6.1mmol/L（110mg/dl）以上，血浆血糖在 6.9mmol/L（125mg/dl）以上，而又低于上述诊断标准时，应做葡萄糖耐量试验。若有明确的糖尿病症状，应先做餐后两小时血糖测定。

知识点

糖尿病的诊断标准 *

1. HbA1c≥6.5% 或

2. 空腹血浆葡萄糖浓度（FPG）≥7.0mmol/L（126mg/dl）或

3. 口服葡萄糖耐量试验（OGTT）中 2 小时血浆葡萄糖浓度（2h-PG）≥11.1mmol/L（200mg/dl）或

4. 糖尿病的典型症状（如多尿、多饮和无原因体重减轻等），同时随机血糖浓度≥11.1mmol/L（200mg/dl）未发现有明确的高血糖时，应重复检测以确证。

*：美国糖尿病学会 2014 标准

知识点

妊娠糖尿病的筛查与诊断标准 *

筛选：

对所有孕 24~28 周的、具中高危妊娠糖尿病倾向的妊娠妇女进行筛查。

空腹条件下，口服 50g 葡萄糖，测定 1 小时血浆葡萄糖浓度，若血糖≥7.8mmol/L（140mg/dl），则需进行葡萄糖耐量试验。

诊断：

1. 空腹早晨测定；

2. 测定空腹血浆葡萄糖浓度；

3. 口服 100g 或 75g 葡萄糖；

4. 测定 3 小时或 2 小时内的血浆葡萄糖浓度；

5. 至少有两项检测结果与下述结果相符或超过，即可诊断。

时间	100g 葡萄糖负荷试验	75g 葡萄糖负荷试验
	血浆葡萄糖浓度	血浆葡萄糖浓度
空腹	5.3mmol/L（95mg/dl）	5.3mmol/L（95mg/dl）
1 小时	10.0mmol/L（180mg/dl）	10.0mmol/L（180mg/dl）
2 小时	8.6mmol/L（155mg/dl）	8.6mmol/L（155mg/dl）
3 小时	7.8mmol/L（140mg/dl）	——

6. 如果结果正常，而临床疑似妊娠糖尿病，则需在妊娠第三个月重复上述测定。

*：美国糖尿病学会 2014 标准

知识点

口服糖耐量试验结果分析

1. FPG 正常（<6.1mmol/L），并且 2 小时 PG<7.8 mmol/L 为正常糖耐量。

学习笔记

2. FPG 介于 6.1~7.0mmol/L 之间，2 小时 PG<7.8 mmol/L 为 IFG（impaired fasting glucose）。
3. FPG<7.0mmol/L，2 小时 PG 介于 7.8~11.1mmol/L 为 IGT（impaired glucose tolerance）。
4. 血浆 FPG≥7.0mmol/L，2 小时 PG≥11.1mmol/L 为糖尿病性糖耐量。

知识点

糖尿病前期（prediabetes）诊断标准 *

1. FPG 5.6~6.9mmol/L 或
2. 2 小时 PG 7.8~11.0mmol/L 或
3. HbA1c 5.7%~6.4%

*：美国糖尿病学会 2014 标准

思路 2：为保证对空腹血糖结果进行正确解释，应考虑以下因素：①标本的类型：血糖测定一般可以测血浆、血清和全血葡萄糖。推荐以血浆葡萄糖浓度为诊断糖尿病的指标。由于葡萄糖溶于自由水，而红细胞中所含的自由水较少，所以全血葡萄糖浓度比血浆或血清低 12%~15%，且受红细胞比容影响。一般来说用血浆或血清测定结果更为可靠。除与标本的性质有关外，血糖测定还受饮食、取血部位和测定方法影响。餐后血糖升高，静脉血糖 < 毛细血管血糖 < 动脉血糖。所以如果不是特殊试验，血糖测定必须为清晨空腹静脉取血；②标本的转运及储存条件：取血后如全血在室温下放置，由于血细胞中的糖酵解会使血糖浓度每小时可下降 5%~7%（0.4mmol/L 或 10mg/dl）左右，当有白细胞增多或细菌污染时，葡萄糖的损失会增加，若标本采集后立即分离血浆或血清，则可使血糖在室温下稳定 24 小时。如不能立即检测而又不能立即分离血浆或血清，就必须将血液加入含氟化钠的抗凝管，以抑制糖酵解途径中的酶，可使血糖在室温下稳定 3 天。

思路 3：血糖的测定方法主要分为三大类：氧化还原法、缩合法及酶法

前两类已被淘汰，国际推荐的参考方法是己糖激酶法，目前国内多采用卫生部临检中心推荐的葡萄糖氧化酶法，另外还可以采用葡萄糖脱氢酶法。利用分光光度法测定酶促反应中生成的产物，或检测酶促反应中产生的电流，产物的生成量与电流强度与葡萄糖浓度呈正比。己糖激酶（HK）法准确度和精密度高，特异性高于葡萄糖氧化酶法，适用于自动化分析，为葡萄糖测定的参考方法。葡萄糖脱氢酶（GDH）法高度特异，不受各种抗凝剂和血浆中其他物质的干扰。

思路 4：餐后 2 小时血糖测定是诊断糖尿病的另一种重要方法

临床上有不少患者，空腹血糖不高，但餐后 2 小时血糖明显增高，当餐后 2 小时血糖≥11.1mmol/L（200mg/dl）时，诊断糖尿病敏感性更高、漏诊率更低。餐后 2 小时血糖实际上是一种简化的葡萄糖耐量试验。由于这种方法较口服葡萄糖耐量实验抽血次数少，简单易行，易为患者接受，所以是临床上用于筛选和发现空腹血糖正常的糖尿病患者的最常用方法。

思路 5：HbA1c 是血红蛋白与血糖进行非酶促反应结合的产物，它们的糖基化位点是血红蛋白 β 链 N 末端的缬氨酸残基，其生成是一个缓慢的、不可逆的过程，生成量与血糖的浓度和高血糖存在的时间相关，不受每天葡萄糖波动的影响，也不受运动或食物的影响，所以 HbA1c 反映的是过去 6~8 周的平均血糖浓度，故以往仅把 HbA1c 作为评估血糖控制情况的实验室检测指标。但 2010 年美国糖尿病学会（ADA）在最新修订的《糖尿病治疗指南》中首次将 HbA1c 作为新的糖尿病诊断指标，诊断标准定为 6.5%。根据该指南，HbA1c 水平在 5% 左右表示未患糖尿病，HbA1c 水平 5.7%~6.4% 预示进展至糖尿病前期阶段，HbA1c≥6.5% 则表明已患糖尿病。

学习笔记

思路 6：为达到理想的糖尿病控制，ADA 推荐大多糖尿病患者的目标为 HbA1c 水平≤7%（一些组织建议降为 <6.5%），希望这一目标可以有效预防糖尿病相关严重并发症，如肾病、神经病变、视网膜病变和牙龈病变。对经治疗后血糖控制稳定的糖尿病患者，应将糖化血红蛋白作为常规检测指标，至少每 6 个月一次。在某些临床状态下（如糖尿病妊娠、未接受治疗或调整治疗时），应增加检测的次数（每 3 个月一次），及时提供有价值的信息。一些研究提示 HbA1c 为糖尿病患者心血管事件的独立预测危险因素，HbA1c 水平每增高 1%，对 T1DM 患者而言发生冠心病的相对危险增加 32%，对 T2DM 患者危险性增加 18%。

思路 7：目前主要采用离子交换柱高效液相色谱法对静脉全血直接测定 HbA1c，用 EDTA、草酸盐和氟化物抗凝，患者无须空腹。全血标本可于 4℃储存 1 周以上，-70℃则可保存 18 周以上，一般不推荐 -20℃保存。其批内和批间变异系数 CV 均可以小于 1%，结果精确，HbA1c 检测结果不受存在的变异型血红蛋白及其衍生物的影响。

思路 8：胰岛素（insulin）是胰岛 β 细胞所产生的多肽激素，主要作用是促进肝、骨骼肌和脂肪组织对葡萄糖的摄取，促进葡萄糖转换成糖原或脂肪储存，抑制肝脏的糖异生，刺激蛋白质合成并抑制蛋白质分解，总的效应是降低血糖。胰岛 β 细胞粗面内质网的核糖核蛋白体首先合成前胰岛素原（preproinsulin），很快被酶切去信号肽后，生成胰岛素原（proinsulin），贮存在高尔基体的分泌小泡内，最后被蛋白水解酶水解成活性胰岛素（51 个氨基酸残基）和含 31 个氨基酸残基的无活性的 C 肽（C-peptide）。测定患者血清空腹胰岛素及 C 肽水平主要目的是评价患者胰岛素分泌是相对缺乏还是绝对缺乏，即评价患者是否存在胰岛素抵抗状态，用于 1 或 2 型糖尿病的鉴别实验诊断。1 型糖尿病患者空腹胰岛素及 C 肽水平远低于健康人水平；2 型糖尿病患者早期空腹胰岛素及 C 肽水平与健康人无显著差异，但在 2 型糖尿病晚期也可出现胰岛素绝对缺乏状态。

思路 9：利用胰岛素和 C 肽的抗原性，采用免疫学方法进行检测。目前有放射免疫分析法（RIA）、酶联免疫吸附法（ELISA）、化学发光免疫分析法（CLIA）、电化学发光免疫分析法（ECLIA）等。测定 C 肽比测定胰岛素有更多优点：①由于肝脏的代谢可以忽略，所以与外周血胰岛素浓度相比，C 肽浓度可更好地反映 β 细胞功能；②C 肽不受外源性胰岛素干扰且不与胰岛素抗体反应。

思路 10：免疫介导性 1 型糖尿病主要是由于胰岛 β 细胞的自身免疫性损害导致胰岛素分泌绝对不足引起，大多数损害是由 T 细胞介导的，多数患者体内存在自身抗体，在高血糖症出现的数年前，患者血清中存在的自身抗体就可检出。胰岛细胞抗体在 70%~90% 新诊断的 T1DM 患者中可检出，胰岛素自身抗体 T1DM 患者阳性率为 50%~70%，抗谷氨酸脱羧酶抗体在 T1DM 病人中检出率达 90%。

【问题 4】糖尿病肾损害及糖尿病肾病早期诊断指标是什么？该患者可初步排除糖尿病肾病吗？

糖尿病肾损害及糖尿病肾病早期诊断指标是尿液微量白蛋白检测及其他微量蛋白质检测（视黄醇结合蛋白、β_2- 微球蛋白、α_1- 微球蛋白），该患者 24 小时尿总蛋白及白蛋白排泄量正常可基本排除糖尿病肾病。

思路：糖尿病可引起肾脏病变，如糖尿病性肾小球硬化症、肾小动脉硬化症、肾盂肾炎和肾乳头坏死等，从而在糖尿病病程中出现蛋白尿、高血压、水肿、肾功能不全等临床表现。糖尿病性肾病（diabetic nephropathy，DN）仅指糖尿病所特有的与糖代谢异常有关的糖尿病性肾小球硬化症，临床上以糖尿病患者出现持续性蛋白尿为主要标志。它是糖尿病全身性微血管病变的一部分，发病与遗传因素及糖代谢异常有关。尿微量白蛋白测定既是早期糖尿病肾病的重要诊断指标，也是判断糖尿病肾病预后的重要指标，糖尿病患者血和尿的 β_2- 微球蛋白检测有参考价值。

知识点

糖尿病肾病的实验诊断

早期糖尿病性肾病诊断：6个月内连续2次尿微量白蛋白检查，其尿白蛋白排出率（urinary albumin excretion rate，UAER）>20μg/min，但<200μg/min，或在30~300mg/24h之间。

临床期糖尿病肾病诊断：间歇性或持续性临床蛋白尿（尿蛋白阳性），UAER>200μg/min或常规尿蛋白定量>500mg/24h；可伴有肾功能不全，或伴发视网膜病变。

患者入院后进行口服降血糖药物治疗，1周后实验检查结果：空腹血糖6.0mmol/L，餐后2小时血糖9.5mmol/L，HbA1c 8.0%；尿常规：尿糖（-）、酮体（-），随后出院。

【问题5】为何患者HbA1c水平还未恢复正常，患者出院后应该定期回医院进行哪些实验室检查？

HbA1c反映的是过去6~8周的平均血糖水平，因患者才治疗1周，故HbA1c水平尚未恢复正常。患者出院后除需要在家定时监测血糖水平外，还需定期回医院主要检测空腹血糖、糖化血红蛋白、血脂、定时尿总蛋白、白蛋白排泄量或随机尿白蛋白/肌酐比值。

思路1：糖尿病是一个长期存在的疾病，因此必须对其进行监控，以观察疗效和疾病进程。HbA1c、糖化白蛋白（GA）等可反映不同时间段内血糖的控制情况。GA反映的是糖尿病患者测定前2~3周的血糖平均水平，HbA1c反映的是过去6~8周的平均血糖浓度。当人处于应急状态时，如外伤、感染及急性心血管事件等病变发生时，非糖尿病患者出现的高血糖，很难与糖尿病鉴别，而GA和HbA1c的联合测定，有助于了解高血糖的持续事件，从而鉴别高血糖是糖尿病还是单纯的应激状态。

思路2：长期的高血糖会使蛋白质发生非酶促糖基化反应，糖基化蛋白质分子与未被糖基化的分子互相结合交联，使分子不断加大，进一步形成大分子的糖化产物。这种反应多发生在那些半衰期较长的蛋白质分子上，如胶原蛋白、晶状体蛋白、髓鞘蛋白和弹性硬蛋白等，引起血管基膜增厚、晶状体混浊变性和神经病变等病理变化。由此引起的大血管、微血管和神经病变，是导致眼、肾、神经、心脏和血管等多器官损害的基础。糖尿病肾病是糖尿病常见的慢性并发症，定期检测尿液白蛋白排泄量有利于早期诊断糖尿病肾病。

知识点

糖尿病血糖控制目标及定期监测指标

控制目标：

HbA1c：<7.0%

餐前毛细血管血浆葡萄糖3.9~7.2mmol/L

餐后毛细血管血浆葡萄糖峰值：<10mmol/L

定期监测：

HbA1c：病情不稳定：每季度一次；病情稳定：每半年一次

尿微量白蛋白：每年一次

血脂：每年1次

学习笔记

知识点

白蛋白尿分级

	白蛋白排泄量		白蛋白 / 肌酐比值
	μg/min	mg/24h	mg/g
正常	<20	<30	<20
微量白蛋白尿	20~200	30~300	20~30
临床白蛋白尿	>200	>300	>30

该患者一年后到医院随访，检测糖化血红蛋白（HbA1c）水平为 8.5%，且发现患者自我监测毛细血管血糖浓度多在 10.0~15.0mmol/L 之间。

【问题 6】患者血糖长期控制良好吗？还有哪些指标可反映血糖控制状况？

患者 HbA1c 水平为 8.5%，反映患者过去 6~8 周的平均血糖水平为 11.5mol/L 左右，表明患者长期血糖水平控制不良。除 HbA1c 外，糖化血清蛋白与糖化白蛋白也可反映不同时间段的平均血糖水平，即血糖控制状况。

思路 1：HbA1c 的形成是不可逆的，其浓度与红细胞寿命（平均 120 天）和该时期内血糖的平均浓度有关，不受每天葡萄糖波动的影响，也不受运动或食物的影响，所以 HbA1c 反映的是过去 6~8 周的平均血糖浓度，这可为评估血糖的控制情况提供可靠的实验室指标。而血糖浓度急剧变化后，在起初两个月 HbA1c 的变化速度很快，在 3 个月之后则进入一个动态的稳定状态。

知识点

HbA1c 与平均血糖水平的关系

HbA1c	6~8 周平均血糖水平		HbA1c	6~8 周平均血糖水平	
%	mg/dl	mmol/L	%	mg/dl	mmol/L
6	126	7.0	10	240	13.4
7	154	8.6	11	269	14.9
8	183	10.2	12	298	16.5
9	212	11.8			

思路 2：除了血红蛋白，血液中的葡萄糖也可与血清蛋白的 N 末端发生非酶促的糖基化反应，形成高分子酮胺（ketoamine）化合物，其结构类似果糖胺（fructosamine），总称为糖化血清蛋白。由于 90% 以上糖化血清蛋白是糖化白蛋白（glycated albumin，GA），葡萄糖与血清白蛋白链内第 189 位赖氨酸结合，因此 GA 可以反映糖化血清蛋白的总体水平。由于白蛋白的半寿期比血红蛋白短，转换率快，约 17~19 天，故可通过测定血清糖基化蛋白水平来反映 2~3 周前的血糖控制情况，在反映血糖控制效果上比 HbA1c 更敏感、更及时。在一些特殊情况下，如透析性的贫血、急性全身性疾病期、肝病、糖尿病合并妊娠、降糖药物调整期等，糖化白蛋白更准确反映短期内的平均血糖变化。由于测定糖化白蛋白监测的是短期血糖的改变，因此它应与 HbA1c 结合应用而不是替代。

此患者在两年后再到医院检查，发现 HbA1c 水平为 11.2%，血清总胆固醇浓度为 7.0mmol/L，甘油三酯为 6.8mmol/L。

【问题 7】患者为何出现脂质代谢紊乱？

患者由于长期血糖控制不良，导致脂质代谢紊乱，2 型糖尿病主要导致血甘油三酯升高。

学习笔记

思路 1：糖尿病患者常常伴有脂质代谢紊乱，1 型糖尿病常见的血脂异常为血甘油三酯升高和高密度脂蛋白胆固醇下降，而 2 型糖尿病往往出现血清甘油三酯增高、高乳糜微粒血症、高密度脂蛋白胆固醇下降、低密度脂蛋白胆固醇可升高或正常，但小而密低密度脂蛋白胆固醇常明显增多。脂质代谢紊乱，尤其是 HDL-C 降低以及 LDL-C 质和量的改变，是糖尿病患者发生心脑血管并发症如冠心病、卒中和外周血管疾病等病变的重要原因。因此，我们应该对糖尿病合并血脂异常的患者给予关注。糖尿病患者发生脂质代谢紊乱的机制是多方面的。1 型糖尿病患者胰岛素绝对缺乏，胰岛素发挥的抗脂解作用减弱，导致脂肪分解加速，游离脂肪酸进入肝脏生成甘油三酯和酮体；而且毛细血管壁脂蛋白脂肪酶活性减低，乳糜微粒及极低密度脂蛋白分解减弱而在血中浓度增高。2 型糖尿病患者由于发生胰岛素抵抗，脂肪细胞膜上胰岛素受体不敏感，对脂肪分解作用的抑制减弱，游离脂肪酸生成增多，进入肝脏，导致甘油三酯生成增多。

思路 2：血脂代谢异常是糖尿病发生冠心病的重要独立危险因素，2 型糖尿病患者是心血管病危险因素高聚人群。美国胆固醇教育计划——成人治疗组指南中已经明确将糖尿病视为冠心病的高危因素，积极纠正血脂代谢紊乱是降低 2 型糖尿病心血管事件的重要措施。

知识点

糖尿病患者控制血压及血脂推荐值 *

血压	血脂（LDL-C）
<140/80mmHg	<2.6mmol/L

*：美国糖尿病学会 2014 标准

（府伟灵）

学习笔记

第二节　血脂异常和脂蛋白异常血症

血脂异常（dyslipidemia）指血浆中脂质量和质的异常，通常指血浆中胆固醇和（或）甘油三酯（TG）升高，也包括高密度脂蛋白胆固醇降低。由于脂质不溶或微溶于水，在血浆中与蛋白质结合以脂蛋白的形式存在，因此，血脂异常实际上表现为脂蛋白异常血症（dyslipoproteinemia）。血脂异常以及其他心血管风险因素相互作用导致动脉粥样硬化，增加心脑血管病的发病率和死亡率。防治血脂异常对提高生活质量、延长寿命具有重要意义。血脂异常往往是通过实验室检查而发现、诊断及分型的，目前临床常规检测的有血清（浆）TC、TG、HDL-C、LDL-C、Lp（a）、ApoA Ⅰ、ApoB。近年来研究和临床应用发现 FFA、LCAT、ox-LDL、sd-LDL、过氧化脂质等项目具有越来越重要的参考价值，以 ApoE 基因型分析为代表的血脂的基因分析也具有重要的协助诊断价值。

病历摘要 1：

患者男，45 岁。出国访问前进行例行体检，血脂结果为：总胆固醇（TC）7.0mmol/L，低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）5.5mmol/L，高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）0.9mmol/L，甘油三酯（TG）1.4mmol/L。此男性无任何临床表现。

【问题 1】该患者血脂异常吗？如果异常，属于哪一型？

根据该男性例行血脂检查结果，TC、LDL-C 升高显著，HDL-C 降低，TG 在正常参考范围之内，存在明显的血脂异常，属于Ⅱa 型血脂异常，即高胆固醇血症。

思路 1：血脂异常可见于不同年龄、性别的人群，患病率随年龄而增高，高胆固醇血症高峰在 50~69 岁，50 岁以前男性高于女性，50 岁以后女性高于男性。某些家族性血脂异常可发生于婴

幼儿。多数血脂异常患者无任何临床和异常体征，常在常规血液生化检查时被发现。

思路 2：对于血脂异常的诊断标准仍然采用中华心血管病学会于 2007 年制订的《中国成人血脂异常防治指南》。

思路 3：对于血脂异常的分型主要依据表型分型，即通过脂蛋白电泳分析各种脂蛋白升高的程度将异常脂蛋白血症分为 6 型。其中Ⅱa、Ⅱb 较常见。

思路 4：临床上也可简单地将血脂异常分为高胆固醇血症、高甘油三酯血症、混合性高脂血症和低高密度脂蛋白胆固醇血症。

思路 5：血脂检查的重点人群包括：①已有冠心病、脑血管病或周围动脉粥样硬化病者；②有高血压、糖尿病、肥胖、吸烟者；③有冠心病或动脉粥样硬化病家族史者，尤其是直系亲属中有早发冠心病或其他动脉粥样硬化性疾病者；④有皮肤黄色瘤者；⑤有家族性高脂血症者。

思路 6：从预防的角度出发，建议 20 岁以上的成年人至少每 5 年测定一次血脂，40 岁以上的男性和绝经期后女性每年进行血脂检查；对于缺血性心血管疾病及高危人群，则应每 3~6 个月测量一次。首次发现血脂异常时应在 2~4 周内复查，若仍属异常，则可确立诊断。

知识点

脂蛋白血症异常表型分析（1970，WHO）

表型	血浆 4℃过夜外观	TC	TG	CM	VLDL	LDL	备注
Ⅰ	奶油上层，下层混浊	↑→	↑↑	↑↑	↑↑	↑→	易发胰腺炎
Ⅱa	透明	↑↑	→	→	→	↑↑	易发冠心病
Ⅱb	透明	↑↑	↑↑	→	↑	↑	易发冠心病
Ⅲ	奶油上层，下层混浊	↑↑	↑↑	↑	↑	↓	易发冠心病
Ⅳ	混浊	↑→	↑↑	→	↑↑	→	易发冠心病
Ⅴ	奶油上层，下层混浊	↑	↑↑	↑↑	↑	↑→	易发胰腺炎

注：↑表示浓度升高；→表示浓度正常；↓表示浓度降低

知识点

血脂异常的临床简易分型

分型	TC	TG	相当的 WHO 表型 *
高胆固醇血症	↑↑		Ⅱa
高甘油三酯血症		↑↑	Ⅳ（Ⅰ）
混合性高脂血症	↑↑	↑↑	Ⅱb（Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ）

注：* 括号内为少见类型

知识点

血脂危险水平划分标准（mmol/L，1997）

	TC	TG	LDL-C	HDL-C
合适范围	<5.20	≤1.70	<3.1	≥1.03
临界值边缘	5.2~5.66		3.13~3.60	
危险阈值	≥5.70	>1.70	≥3.62	≤0.9

学习笔记

【问题 2】接下来应向患者进行哪些内容的问诊和体格检查？

详细询问病史，包括个人饮食和生活习惯、有无引起继发性血脂异常的相关疾病、引起血脂异常的药物应用史以及家族史。体格检查要全面、系统，并注意有无黄色瘤、角膜环和脂血症眼底改变。

思路：对患者详细的病史询问及体格检查，主要为血脂异常原因分析提供线索，并为降血脂治疗提供思路，同时探寻患者是否存在其他导致心血管疾病的危险因素。

患者主诉：每天吸烟 10 只，其父亲 55 岁死于心肌梗死，很少体育运动，常饮酒过量；体重 89kg，BMI 为 27，血压 169/90mmHg。

【问题 3】除患者血脂异常外，还存在哪些导致心血管疾病发生的危险因素？

该患者还存在以下导致心血管疾病的危险因素：具有心血管疾病的家族史、吸烟、活动量小、高血压、过量饮酒，是心血管疾病发生的高危人群。

思路 1：根据个体血脂水平及相关危险因素全面评价心血管病的综合危险度是预防和治疗血脂异常的必要前提。我国人群流行病学长期队列随访资料表明，高血压对我国人群的致病作用明显强于其他心血管病危险因素。我国按照有无冠心病及其等危症、有无高血压、其他心血管危险因素的多少，结合血脂水平来综合评估心血管病的发病危险，将人群进行危险性高低分类，即低危、中危、高危及极高危：低危患者指 10 年内发生缺血性心血管病危险性 <5%；中危患者指 10 年内发生缺血性心血管病危险性为 5%~10%；高危患者为冠心病或冠心病等危症，10 年内发生冠心病的危险性为 10%~15%；极高危患者指急性冠脉综合征，或缺血性心血管病合并糖尿病。此种分类也可用于指导临床开展血脂异常的干预。根据血脂异常的类型和危险程度决定治疗目标和措施，同时加大对健康人群体检的普及范围，倡导健康的生活方式，调整饮食结构，纠正不良的饮食习惯，加强体育锻炼，严格控制血脂水平，以提高生活质量，降低发生心脑血管疾病的风险。

学习笔记

知识点

血脂异常危险分层方案

危险分层	TC 5.18~6.19mmol/L 或 LDL-C 3.37~4.12mmol/L	TC≥6.22mmol/L 或 LDL-C≥4.14mmol/L
无高血压且其他危险因素数 <3	低危	低危
高血压或其他危险因素≥3	低危	中危
高血压且其他危险因素数≥1	中危	高危
冠心病及其等危症	高危	高危

注：其他危险因素包括年龄（男≥45 岁，女≥55 岁）、吸烟、低 HDL-C、肥胖和早发缺血性心血管病家族史

思路 2：国外心血管疾病发生危险性评估方法：①Framingham 评分：Framingham 评分用于评价健康个体 10 年内发生心血管疾病的危险性，此评分系统源于 Framingham 心脏研究计划。最初通过危险性评估公式计算 8 年内心血管疾病的发生概率，该公式包括的主要变量为性别、年龄、总胆固醇、收缩压、是否存在葡萄糖不耐受、是否吸烟、是否存在左心室肥大。目前应用的是改良 Framingham 评分表，分别对年龄、总胆固醇（或 LDL-C）、HDL-C、收缩压或舒张压、是否存在糖尿病、是否吸烟分别进行危险性评分，再进行各项分数累加得出总危险分数，最后转换为 10 年内心血管疾病发生的危险概率。<10% 为低危，>10% 且 <20% 为中危，>20% 为高危。近年来，通过 Framingham 评分还可计算出心脏年龄 / 血管年龄。Framingham 评分对北美

及大洋洲人的心血管危险性评估有较高的准确性，而对于其他人种存在高估心血管疾病危险性的情况；②Reynolds 评分：Reynolds 评分包括的变量有：年龄、收缩压、总胆固醇、HDL-C、是否吸烟、hsCRP、父母是否在 60 岁前存在心肌梗死等。男性 10 年内发生心血管疾病的危险性（%）为 $\{1-0.8990^{[\exp(B-33.097)]}\}\times 100\%$，而 $B=4.385\times\ln(\text{年龄})+2.607\times\ln(\text{收缩压})+0.963\times\ln(\text{TC})-0.772\times\ln(\text{HDL-C})+0.405(\text{如果现在吸烟})+0.102\times\ln(\text{hsCRP})+0.541(\text{如果双亲有 MI 病史})$。女性 10 年内发生心血管疾病的危险性（%）为 $\{1-0.98634^{[\exp(B-22.325)]}\}\times 100\%$，而 $B=0.0799\times$ 年龄 $+3.137\times\ln(\text{收缩压})+0.180\times\ln(\text{hsCRP})+1.382\times\ln(\text{TC})-1.172\ln(\text{HDL-C})+0.134\times\text{HbA1c}(\text{如果存在糖尿病})+0.818(\text{如果吸烟})+0.438(\text{如果双亲有 MI 病史})$；③PROCAM 评分：PROCAM 评分源于德国 Münster 心血管疾病前瞻性研究（prospective cardiovascular münster study），包括的危险性因素有：年龄、LDL-C、HDL-C、是否吸烟、是否患糖尿病、是否有心肌梗死家族史、收缩压。分别对上述变量进行评分，在累积总分数后即可获得 10 年内心血管疾病发生的危险概率。

【问题 4】当前，尚需做哪些实验室检查？

尚需做糖尿病相关实验室检查、甲状腺功能实验、肾功能及尿液化学检查。

思路 1：进一步的检查主要目的是评估患者是否存在导致继发性血脂异常的原发病，即判断患者是原发性血脂异常，还是继发性血脂异常？

思路 2：某些疾病和药物等致继发性高脂血症，原发性疾病治疗取得一定效果后，约有 40% 的高脂血症者血脂水平可以恢复正常。继发性高脂血症主要有以下几种原因。

（1）糖尿病：在肝脏，由于游离脂肪酸合成 VLDL 亢进，胰岛素缺乏的状态下，LPL 活性降低，CM、VLDL 的分解量减少，出现以高 TG 血症和低 HDL 血症为特征的继发性高脂血症。另外，胰岛素依赖性糖尿病因为胰岛素的严重缺乏，导致糖利用障碍从而引起脂肪组织分解加剧引起显著的高 TG 血症。

（2）肥胖：游离脂肪酸增加与抗胰岛素作用促使胰岛素分泌亢进，出现 VLDL 增加。肥胖指标为体重指数（body mass index，BMI），单位为体重 kg/（身高，m）^{2}。BMI 20~24kg/m^2 为正常，24~25kg/m^2 属超体重，25kg/m^2 以上为肥胖。

（3）甲状腺功能低下症：肝脏 LDL 受体减少，出现高胆固醇血症为特征，脂蛋白脂肪酶（lipoprotein lipase，LPL ）和肝脂肪酶（hepatic triglycerides lipase，HTGL）活性降低，使 LDL 升高。

（4）Cushing 综合征：糖皮质促进脂肪分解，使肝脏合成 VLDL 增加，血中 VLDL、LDL 浓度升高，多以Ⅱa、Ⅱb、Ⅳ型高脂血症出现。

（5）肾病及肾病综合征：因低白蛋白血症的原因，使白蛋白、ApoB 合成亢进，从而使 VLDL 合成也增加，血中 VLDL 及其代谢物 LDL 产生增加，多以Ⅱ型高脂血症出现。另外，慢性肾功能不全，因 LPL 活性降低，出现以 VLDL 升高为主的高脂血症，呈现Ⅳ型高脂血症。

（6）药物性高脂血症：多见于肾上腺皮质激素用药不当所致。

知识点

继发性高脂血症的主要原因

胆固醇升高	甘油三酯升高
甲状腺功能减退	库欣综合征
肾病综合征	慢性肾衰
药物（利尿药、甾体激素）	药物（异维 A 酸、甾体激素、β- 受体阻滞药）
妊娠	妊娠
淤积性肝脏疾病	糖尿病及胰岛素抵抗

患者检验结果为：空腹血糖 5.1mmol/L，FT4 16.7pmol/L，TSH 1.9mmol/L，肝功、肾功及尿液相关指标均正常。

【问题 5】患者可初步排除继发性血脂异常的主要疾病吗？患者应采取哪些主要治疗措施以降低胆固醇？

根据检验结果，患者基本上排除了导致血脂异常的原发疾病，如：糖尿病、甲状腺功能减退、肝脏疾病、肾脏疾病。患者具有导致心血管疾病的多种危险因素，属高危人群，应立即积极地进行降脂治疗，主要措施包括：①生活方式干预：A. 医学营养治疗：为治疗血脂异常的基础。可根据血脂异常的程度、分型以及性别、年龄和劳动强度等制订食谱。饮食中减少饱和脂肪酸摄入和胆固醇摄入，增加新鲜水果及蔬菜，补充植物固醇和可溶性纤维。B. 增加有规律的体育活动，控制体重，保持合适的 BMI。C. 戒烟，控制饮酒；②药物治疗：该患者主要采用他汀类（statins）联合依折麦布（Ezetimibe）治疗。

思路 1：患者的相关检查基本上排除了引起胆固醇升高的原发性疾病，因此，治疗的根本策略是降低患者的血浆胆固醇、降压及控制其他心血管疾病的危险因素。他汀类药物属 HMG-CoA 还原酶抑制剂，可竞争性抑制胆固醇合成过程中的限速酶（HMG-CoA 还原酶）活性，从而阻断胆固醇生成，而上调细胞表面的 LDL 受体，加速 LDL 的分解代谢。主要降低血浆 TC 和 LDL-C，也在一定程度上降低 TG 和 VLDL，轻度升高 HDL-C 水平。适应证为高胆固醇血症和以胆固醇升高为主的混合性高脂血症。依折麦布属肠道胆固醇吸收抑制剂，口服后迅速被吸收，结合成依折麦布 - 葡萄醛苷酸，作用于小肠细胞刷状缘，抑制胆固醇和植物固醇吸收；促进肝脏 LDL 受体合成，加速 LDL 的清除，降低血清 LDL-C 水平。适应证为高胆固醇血症和以胆固醇升高为主的混合性高脂血症，单药或与他汀类联合治疗。

思路 2：我国按照《血脂异常防治指南》，应根据血脂异常患者心血管病危险等级指导临床治疗措施及决定 TC 和 LDL-C 的目标水平。此外，血浆 TG 的理想水平是 <1.70mmol/L，HDL-C 的理想水平为≥1.04mmol/L。

知识点

高脂血症患者开始治疗标准和治疗目标值（mmol/L）

		饮食疗法开始标准	药物治疗开始标准	治疗目标值
低危	TC	≥6.21	≥6.99	<6.21
	LDL-C	≥4.14	>4.92	<4.14
中危	TC	≥5.20	≥6.21	<5.20
	LDL-C	≥3.41	≥4.14	<3.41
高危	TC	≥4.14	≥4.14	<4.14
	LDL-C	≥2.60	≥2.60	<2.60
极高危	TC	≥4.14	≥4.14	<3.10
	LDL-C	≥2.07	≥2.07	<2.07

思路 3：国际治疗目标值

为了预防动脉粥样硬化心脑血管疾病的发生，减少发病率，提高健康水平。1989 年美国制订了“国家胆固醇教育计划”（NCEP），其目的是提高全社会对高胆固醇血症是冠心病的主要危险因素的认识，从降低人群血清 TC 水平入手，达到降低冠心病发病率与死亡率的目的。1988 年发表了第一个成人治疗计划（ATPI），经过五年的临床实践，对新出现的问题进行了修正和补充，

学习笔记

分别于1993年和2001年发布了ATPⅡ及ATPⅢ。结果表明:LDL-C值的升高是引起CHD的一个主要原因,降低血液LDL的治疗,可减少CHD的危险性。为此,2001年继续将高LDL-C作为降低胆固醇治疗的首选目标。1993年实施的ATPⅡ计划中,LDL-C最适值为3.36mmol/L以下,HDL-C为0.9mmol/L以上,经历8年之后,2001年实施的ATPⅢ计划,LDL-C最适值降至2.6mmol/L以下,HDL-C升至1.0mmol/L以上,加大对LDL-C的降低力度,预防和减少动脉粥样硬化疾病的发生。现在多数学者主张冠心病患者LDL-C水平降至2.6mmol/L作为治疗的目标值。临床研究表明,LDL-C降得更低,临床患者会获得更大受益,减少急性冠状动脉事件(急性心肌梗死、冠状动脉猝死和不稳定型心绞痛)发生。

知识点

血浆LDL-C、HDL-C、TC的评估值(mmol/L)

	LDL-C	TC	HDL-C
最适值	<2.6	<5.17	
接近最适值	2.6~3.3		
边缘临床界高值	3.36~4.11	5.17~6.18	
高值	4.13~4.89	≥6.20	≥1.55
极高值	>4.9		
低值			<1.0

病历摘要2:

患者男,33岁,因发现有高胆固醇血症入院。自幼即发现身体有多种瘤状结节,无高血压及糖尿病病史。其父在31岁时查有高胆固醇血症,48岁卒于急性心肌梗死;其母健在,体检血脂正常;有一哥哥36岁,有"高胆固醇血症"病史。体检发现其右肘关节伸侧、右手掌和双侧跟腱处有黄色瘤。实验室检查:血浆TC 13.4mmol/L,TG 1.6mmol/L,HDL-C 1.26mmol/L,LDL-C 12.3mmol/L;肝肾功能正常;血糖正常。

【问题】患者的初步诊断是什么?有哪些诊断依据?患者还需作哪些实验以确定诊断?

根据家族史以及血脂异常情况,可初步诊断为家族性高胆固醇血症。主要诊断依据有:患者血浆TC和LDL-C显著升高,四肢关节发现结节性的黄色瘤,有冠心病和高胆固醇血症的家族史。为确定诊断,尚需排除导致继发性高胆固醇血症的其他原发性疾病,同时进行相关基因检测。

思路1:家族性高胆固醇血症(familial hypercholesterolemia,FH,OMIM # 143890)是一种严重的常染色体显性单基因遗传性疾病。世界范围内FH杂合患者的发病率为1/500,成为最常见的代谢性疾病之一。纯合子患者症状严重,发病率为1/1 000 000,血浆低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholestero1,LDL-C)水平大幅度增高,多部位肌腱黄色瘤和早发动脉粥样硬化(atherosclerosis,As),严重者青少年时期可发生冠心病甚至心梗死亡。

思路2:目前已报道6种致病基因可引起FH,如:低密度脂蛋白受体(low-density lipoprotein receptor,*LDLR*),载脂蛋白B100(Apolipoprotein B-100,*ApoB100*),枯草溶菌转化酶9(proprotein convertase subtilin/kexin type 9,*PCSK9*)等。*LDLR*基因突变是FH的主要病理基础,在临床确诊的FH患者中约50%可检测到*LDLR*基因突变。

思路3:LDLR为跨膜蛋白,广泛分布于肝脏、动脉壁平滑肌、血管内皮细胞和白细胞,特异结合含ApoB100和载脂蛋白E(apolipoprotein E,ApoE)的脂蛋白进入细胞内进行代谢,可清除血中2/3的LDL。人类成熟的LDLR由839个氨基酸残基组成,分子量为93 102D,可分为5个

学习笔记

不同的功能区：①半胱氨酸富集区（cysteine-rich region）：主要功能是结合配体，亦称为配体结合结构域（ligand binding structure domain）；②表皮生长因子前体结构域（EGF precursor structure domain）：大约由 400 个氨基酸残基组成，其结构与 EGF 前体有 33% 的同源，有 5 个重复序列；③含 O- 连接糖链结构域（O-linked sugars structure domain）：位于膜外，由 58 个氨基酸残基组成；④跨膜结构域（membrane spanning structure domain）：由 22 个氨基酸残基组成；⑤胞浆结构域（cytoplasmic structure domain）：位于受体的 C 末端，深埋于胞浆中。*LDLR* 基因位于第 19 号染色体短臂（Ch19p13.1-13.3），全长 45kb，由 18 个外显子和 17 个内含子组成，编码含有 839 个氨基酸的前体蛋白。*LDLR* 基因外显子区域可与 LDLR 蛋白 7 个结构域相对应：①启动子翻译信号区域；②外显子 1 编码的 5' 端序列及信号肽；③外显子 2~6 编码 LDLR 配体结合域；④外显子 7~14 编码 EGF 前体结构域；⑤外显子 15 编码 LDLR O- 连接糖链结构域；⑥外显子 16、17 编码跨膜结构域；⑦外显子 17、18 编码的胞浆区。

由于 LDLR 对于胆固醇代谢至关重要，以致该基因任何部位出现突变均可致病。目前已从 FH 患者中发现 *LDLR* 基因突变 1741 种，其中大部分是单个或几个碱基发生异常。以 LDLR 蛋白合成与功能为基础突变可划分为 5 型：①1 型突变为不表达等位基因，包括启动子序列突变、无义突变、移码突变、剪接突变，这类突变导致细胞不表达 LDLR；②2 型突变为转运缺陷型等位基因，主要发生在配体结合域和表皮生长因子前体结构域，虽然能合成受体，但从内质网向高尔基体的转运障碍，堆积在内质网中最终被降解；③3 型突变为结合缺陷型等位基因，本型较常见，特点为突变基因编码的异常受体蛋白可以到达细胞表面，但丧失了结合 LDL 的功能，这类突变同样发生在配体结合域和表皮生长因子前体结构域；④4 型突变为内移缺陷型等位基因，本型罕见，发生在胞浆区域或是跨膜域，由于编码 NPVY 序列的密码子发生突变而致，特点为受体能与 LDL 结合，但不能将其转运至细胞表面并聚集于被覆陷窝；⑤5 型突变为再循环缺陷型等位基因，受体能够结合 LDL，也能内移进入细胞，但在溶酶体内不能与 LDL 分离，受体与配体被同时降解，导致 LDLR 不能够再循环到细胞表面，这类突变多发生在表皮生长因子前体结构域。

思路 4：中国 FH 患者 *LDLR* 基因突变均发生在 1~17 外显子，第 18 外显子突变尚未见报道。此外，内含子 3、5、11 以及启动序列的 -152 位和 -44 位的 *LDLR* 基因突变也有报道。其中 E4 发生突变类型最多，其次为 E13。人类基因组计划（human genome project，HGP）测序工作完成后，基因芯片（gene chip）技术已成为基因功能分析研究的最重要技术，可在更短的时间内完成 *LDLR* 基因突变检测和 DNA 测序，有望将来成为 FH 基因诊断的有效工具。另外，随着 MLPA 技术的广泛使用，将有更多的大片段基因插入与缺失将被我们发现，为我国 *LDLR* 基因突变增添更多突变数据，从而为 FH 的基因诊断提供更多的依据。

病历摘要 3：

患儿女，8 岁，因反复发作性腹痛入院。患者入院前 5 个月无诱因出现腹痛且反复发作。2 个月前发现双足跟腱处有大小不一的黄色结节。查体：神志清，精神可，双足跟腱处有黄色瘤。腹软，肝脾未见肿大。实验室检查：血浆 TC 4.6mmol/L；TG 17.3mmol/L；HDL-C 1.28mmol/L；LDL-C 2.7mmol/L；血浆静置实验发现顶层呈奶油状，下层颜色清澈。肝肾功能正常。

【问题】患者的初步诊断是什么？诊断依据是什么？

患者的初步临床诊断是家族性高乳糜微粒血症，即Ⅰ型高脂蛋白血症。诊断依据：患者主要临床特征包括发病年龄小、腹痛、多发黄色瘤、高 TG 血症、血浆静置试验上层奶油状而下层清澈。

思路：本病的主要原因为脂蛋白脂肪酶（lipoprotein lipase，LPL）或 Apo CⅡ缺陷所致。ApoCⅡ缺陷导致 LPL 活性降低。因为 ApoCⅡ是 LPL 发挥催化作用不可缺少的辅因子。

ApoC Ⅱ异常会出现高TG血症，即高CM血症和高VLDL血症，发病率约1/10万，现已发现ApoC Ⅱ有多种变异体的报道。进一步可检测患者LPL酶活性及Apo C Ⅱ以确认。

（府伟灵）

第三节　肾上腺疾病

肾上腺是人体重要的内分泌器官，位于两侧肾脏上方，由肾上腺皮质和髓质组成，分泌多种激素，对维持机体正常的生理功能起重要的调节作用。肾上腺皮质或髓质可由于增生或肿瘤而分泌过多的激素；也可由于肿瘤或其他疾病导致激素分泌下降，出现相应的肾上腺功能亢进或减退。临床上常见相关疾病如库欣综合征、原发性醛固酮增多症、Addison病、嗜铬细胞瘤和先天肾上腺皮质增生症等。

一、库欣综合征（皮质醇增多症）

病历摘要：

患者女，28岁。1年前无明显诱因出现颜面、腹部肥胖，且有腹部紫纹。2个月前出现多饮、多尿、乏力、纳差，偶有头晕、头痛，无视力、视野改变，无肢体软瘫、抽搐，因此未予重视，1个月后出现咳嗽、腰痛，为求进一步诊治入院检查。查体：体温37℃，脉搏102次/分，呼吸20次/分，血压150/95mmHg，满月脸，色红；鬓角、口周毳毛增多；水牛背；全身皮肤淤斑，色素沉着；双肺呼吸音粗，未闻及干、湿啰音；心率102次/分，心音有力，律齐；腹部肥胖；腹内侧紫色条纹增多；双下肢皮肤菲薄，无水肿。

【问题1】通过上述问诊与查体，该患者可疑的诊断是什么？需要与哪些疾病鉴别诊断？

患者青年女性，有典型的向心性肥胖、满月脸、水牛背、腹部紫纹、皮肤菲薄等表现，且多毛、全身皮肤淤血斑、色素沉着加深。根据患者主诉、症状、个人史，高度怀疑库欣综合征（Cushing syndrome）。需与下列疾病鉴别诊断：①单纯性肥胖；②慢性酒精中毒；③抑郁症；④医源性库欣综合征。

【问题2】为明确诊断库欣综合征，应进行哪些检查？

为明确库欣综合征的诊断，首先应确认库欣综合征的存在，对皮质醇分泌情况进行检测，并通过大小地塞米松抑制试验帮助诊断，通过病因诊断进一步确诊，检测皮质醇大量分泌部位，对疾病进行定位。

知识点

库欣病（cushing's disease）

即垂体性库欣综合征（cushing syndrome，CS），也称皮质醇增多症（hypercortisolism），是一组因下丘脑-垂体-肾上腺（HPA）轴调控失常，垂体分泌肾上腺皮质激素（ACTH）使得肾上腺分泌过多糖皮质激素，引起双侧肾上腺皮质弥漫性和（或）结节性增生，束状带和网状带明显增宽，皮质醇分泌显著增加而导致的临床综合征。多种病因可造成肾上腺长期分泌过多皮质醇激素，引起蛋白质、脂肪、糖、电解质代谢的严重紊乱，并干扰多种其他激素的分泌；临床上表现为满月脸、多血质外貌、痤疮、向心性肥胖、继发性高血压、糖尿病和骨质疏松等，可见自发性库欣综合征、医源性库欣综合征、假性库欣综合征等；按其病因可分为肾上腺皮质激素（ACTH）依赖性和非ACTH依赖性库欣综合征。

学习笔记

库欣综合征的常见原因是库欣病，男女性别之比为1∶(3~8)，男女差别显著，原因尚未明确，可发生在任何年龄，以25~45岁为多见。垂体过量分泌ACTH大致可归纳为以下几种原因：①垂体ACTH腺瘤(85%~90%)；②垂体ACTH腺癌(罕见)；③垂体ACTH细胞增生。

思路：库欣综合征极少能自发缓解，如果患者得不到恰当的治疗，高皮质醇血症引起的症候群将持续存在，可能会有起伏波动。如果治疗不够及时，即使后来经治疗皮质醇分泌降至正常，但有些临床表现已不能逆转。长期过量分泌的皮质醇引起蛋白质、脂肪、糖、电解质代谢的严重紊乱，干扰多种其他激素的分泌，引起多器官系统损伤，严重的低血钾、感染和心脑血管并发症常常是库欣综合征死亡的直接原因。生长发育期儿童患库欣综合征，会严重影响身高和导致骨骼畸形，严重影响性腺发育和心理健康，因此，库欣综合征的早期诊断、早期治疗至关重要。

知识点

库欣综合征诊断标准

国际内分泌学会2008年库欣综合征诊断指南、中华内分泌学会2011年库欣综合征专家共识要求首先询问病史，排除外源性糖皮质激素引起的医源性库欣综合征，然后进行筛查试验，筛查试验共3项，选1项进行：24小时尿游离皮质醇(UFC)≥参考区间高限；午夜唾液皮质醇测定血皮质醇(cortisol，F)昼夜节律检测如果筛查试验阳性，要进行确诊试验，确诊试验选用筛查试验的另一项或做LDDST-CRH联合试验，或0∶00am检测血F；LDDST-CRH联合试验对鉴别库欣综合征和假性库欣综合征有重要价值。

注：(CRH：corticotropin-relesing hormone，促肾上腺皮质激素释放激素)

学习笔记

该患者实验室检查结果：血Ca^{2+} 1.19mmol/L，血K^{+} 1.7mmol/L，血Na^{+} 155mmol/L，24小时尿Ca^{2+} 442.96mg，尿K^{+} 181.79mmol/L。大、小剂量地塞米松抑制试验：空白(基础值)3412.3μg/24h；小剂量2541.5μg/24h；大剂量1623.5μg/24h。过夜地塞米松抑制试验：上午8∶00，促肾上腺皮质激素157pg/ml，皮质醇>50μg/dl；下午4∶00，促肾上腺皮质激素102pg/ml，皮质醇44.5μg/dl；午夜0∶00，促肾上腺皮质激素73.7pg/ml，皮质醇42.7μg/dl；过夜，上午8∶00，促肾上腺皮质激素138pg/ml，皮质醇>50μg/dl。垂体MRI增强检查结果：结合临床考虑垂体微腺瘤；PET-CT：垂体代谢增高，提示功能异常；胸CT：右中叶外侧及左肺上叶舌段炎症，双侧肺底考虑慢性病变，两侧胸膜增厚；胸腰椎X线片显示腰椎骨质增生。

【问题3】根据血离子浓度测定、地塞米松抑制试验结果及MRI、CT、PET-CT影像学检查结果，应作出怎样的诊断？依据是什么？

根据血离子浓度测定、地塞米松抑制试验结果及MRI、CT、PET-CT影像学检查结果，该患者可以诊断为垂体性库欣病。

诊断依据为：①患者有高血压、高血糖及肺部感染；②大、小剂量地塞米松试验结果为：小剂量地塞米松抑制实验轻微抑制，大剂量皮质醇抑制>50%；③垂体MRI增强示：垂体微腺瘤；PET-CT示：垂体代谢增高；④低血钾，低血钙，尿钙，高血钠，尿钾升高，糖耐量异常。综上考虑为垂体性库欣病。

思路：肾上腺皮质肿瘤可为肾上腺皮质腺瘤和肾上腺皮质癌，临床可有向心性肥胖、满月脸、多血质、宽大紫纹、色素沉着及低钾血症等症状，大小剂量地塞米松不能抑制，血浆促肾上腺皮质激素正常或低于参考区间。恶性肿瘤所致异位促肾上腺皮质激素综合征临床可有或无典型的库欣综合征表现，但多有比较严重的水肿、肌无力和明显的色素沉着，可出现明显的低血钾

性碱中毒，血尿皮质醇升高，昼夜节律消失，大剂量地塞米松抑制试验不能抑制，血浆促肾上腺皮质激素明显高于参考区间。

对于疑为库欣综合征的患者，首先应进行 24 小时游离皮质醇检测、血皮质醇昼夜节律检测等筛查试验，同时可选用胰岛素低血糖试验协助排除假性库欣综合征。在此基础上，进一步对血 ACTH 进行检测，通过小剂量地塞米松抑制试验和 CRH 兴奋试验明确 CS 的诊断。根据 HDDST、CRH 等情况，结合 CT、MRI，对库欣综合征的病因加以诊断，具体诊断流程见图 8-3-1。

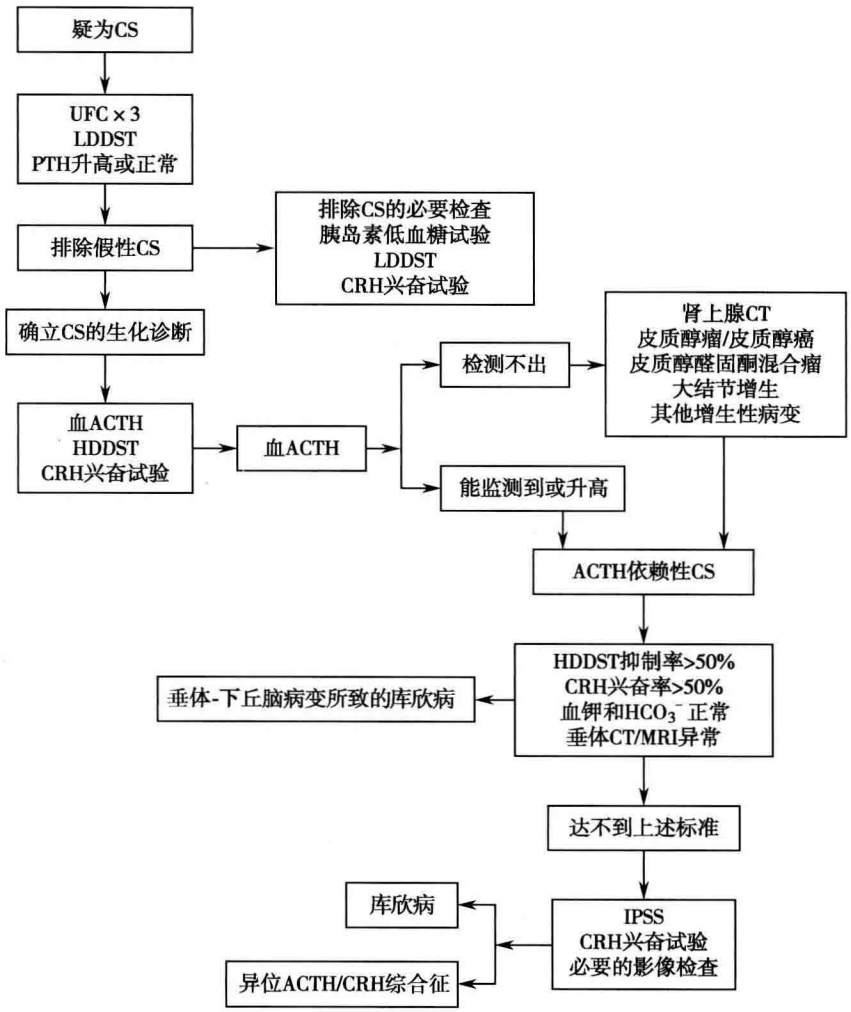


图 8-3-1　库欣综合征的病因诊断和鉴别诊断流程

CS：库欣综合征；LDDST：low-dose DXM suppression test，小剂量地塞米松抑制试验；HDDST：high-dose DXM suppression text，大剂量地塞米松抑制试验；CRH：corticotropin-releasing hormone，促肾上腺皮质激素释放激素

【问题 4】目前常用的库欣综合征诊断方法有哪些？如何进行选择？

目前关于库欣综合征的诊断方法主要可分为定性诊断（筛查诊断）和病因诊断。对于临床症状疑似库欣综合征的患者首先需要明确是否存在库欣综合征，选择 3 项筛查试验：24 小时尿游离皮质醇（UFC），过夜地塞米松试验（过夜 DST），血皮质醇（F）/ 唾液皮质醇中的一项进行检测。

当明确库欣综合征的诊断后，选择病因诊断试验对疾病进一步确诊，找出库欣综合征的病因。此时可选择大剂量地塞米松抑制试验（HDDST）、血 ACTH 测定、CRH 兴奋试验等诊断方法，

学习笔记

具有重要诊断价值，对各项检验结果综合分析并作出最后诊断。

思路 1：库欣综合征的实验室定性诊断的 24 小时尿游离皮质醇（UFC）测定在库欣综合征实验诊断中的特点与注意事项。

正常状态下游离皮质醇主要通过肾小球滤过，排泄量较恒定。当血中皮质醇水平过高，促使循环中的皮质醇水平过高，循环中的皮质醇与蛋白结合处于饱和时，尿中游离皮质醇排泄量即增加。24 小时尿游离皮质醇可反映 24 小时内皮质醇的整体分泌水平，不受情绪、应激等对瞬间血皮质醇水平的影响，优于尿 17-OHCS。UFC 检测的是不与皮质醇结合球蛋白（CBG）结合的游离皮质醇，而血清皮质醇检测的是总皮质醇（CBG 结合的皮质醇和游离皮质醇），故 UFC 不受引起 CBG 波动的状态或药物（口服雌激素）的影响。推荐至少进行 2 次尿液检测以提高测定结果的可信度。UFC 的敏感性和特异性取决于临界值的选择，为了获得较高的敏感性常推荐 UFC 的参考区间上限作为阳性标准（参考区间 20~200μg/24h）。过量的液体摄入（≥5L/d）会明显增加 UFC 水平。中、重度肾功能不全的患者在肌酐清除率低于 60ml/min 时，UFC 水平往往呈假阴性，并随着肾功能的下降呈线性关系。周期性库欣综合征患者在病情静止期 UFC 往往正常，轻度库欣综合征患者的 UFC 水平可正常。

思路 2：过夜地塞米松试验（过夜 DST）在库欣综合征实验诊断中的特点与注意事项

过夜地塞米松抑制试验一般认为是门诊患者的有效筛查试验。地塞米松 1.0mg 午夜 0:00 时摄入，取次日 8:00 血测皮质醇。血 F 被抑制到 1.8μg/dl 为正常。若单纯性肥胖者，其水平较基线减少 50% 以上，而库欣综合征常不能抑制到 50% 以下。多种药物都能影响地塞米松的吸收和代谢率，如苯妥英钠、苯巴比妥、卡马西平、利福平和乙醇通过 CYP3A4 诱导肝酶清除地塞米松，降低其血浓度。肝功能衰竭时，地塞米松清除率降低，建议在进行 DST 的同时进行血皮质醇和地塞米松浓度的检测，以保证血地塞米松浓度 >5.6nmol/L，但受限于成本和条件而缺乏可行性。

思路 3：血皮质醇（F）在库欣综合征实验诊断中的特点与注意事项

皮质醇（cortisol/compound，F）是肾上腺皮质分泌的主要激素之一，也是最主要的糖皮质激素，其含量代表了血中 80% 的 17 羟类固醇。F 分泌入血后，绝大部分与血循环中的皮质激素结合蛋白结合，真正具有生物活性的只占总皮质醇的 1%~3%。正常人血浆皮质醇水平在早上 6:00~8:00 最高，下午 4:00 为最高值的一半，午夜 0:00 最低，具有明显的昼夜节律。库欣病皮质醇多高于正常，但由于存在 24 小时生理节律变化，单独测定血浆皮质醇（在某种程度上）意义不大，而血浆皮质醇在午夜时没有正常回落，说明昼夜分泌节律消失，往往与库欣病是一致的。睡眠状态下的午夜血清皮质醇 >1.8μg/dl 时诊断库欣综合征的敏感性为 100%，特异性为 20.2%，临界值提高到 7.5μg/dl 时，特异性可增至 87%。清醒状态下的午夜血清皮质醇 >7.5μg/dl 时，其诊断库欣综合征的敏感性与特异性 >96%，但在肥胖患者特异性仅为 83%。

思路 4：小剂量地塞米松抑制试验（LDDST）在库欣综合征实验诊断中的特点与注意事项

LDDST 一般用于定性诊断，是库欣综合征诊断必需的筛选试验。给予患者地塞米松 0.5mg，每 6 小时一次，共 48 小时，留对照日及服药第 2 天的 24 小时尿测定 UFC 或血皮质醇（cortisol，F）。UFC 被抑制到本实验室参考区间高限以下或血 F 被抑制到 1.8μg/dl 以下为正常。LDDST 尿皮质醇水平无法降至 <25nmol/d（10μg/d）或血浆皮质醇水平无法降至 50nmol/L（1.8μg/dl）则诊断明确。

二、原发性醛固酮增多症

病历摘要：

患者女，56 岁。患者于 25 年前无明显诱因出现头晕，伴有昏睡，血压波动在 160/110mmHg 左右，为持续性升高；口服非洛地平早 5mg，晚 2.5mg，血压可降至正常。4 年前因脑出血住院期间，发现顽固性、持续性低钾血症，血钾最低至 1.7mmol/L，伴肢体无

学习笔记

力，无肌肉酸痛、肢体麻木、发作性软瘫；此后长期服用钾剂，每日 9g 氯化钾，血钾波动在 1.9~3.1mmol/L。1 个月前医院就诊，肾上腺 CT 示“左侧肾上腺低密度结节”。血醛固酮 15.97ng/dl，血管紧张素 Ⅱ（AT Ⅱ）33.19pg/ml，血浆肾素活性（plasma renin activity，PRA）0.09mg/ml。发病以来，出现口干，夜尿频，每夜 2~3 次；有高血压病家族史。查体：呼吸 18 次 / 分，血压 125/85mmHg，脉搏 70 次 / 分，体温 36.5℃；周身浅表淋巴结未触及肿大；颈软，无抵抗，甲状腺未触及肿大；双肺呼吸音清，未闻及干、湿性啰音；心率 70/ 分，律齐，于各瓣膜听诊区未闻及病理性杂音；腹平软，肝、脾肋下未触及，Murphy 征阴性，肝肾区叩痛阴性，肠鸣音 5 次 / 分。双下肢无水肿；左上肢肌力 0 级，左下肢肌力 Ⅱ 级。左巴氏征阳性。

【问题 1】通过上述问诊与查体，该患者可疑的诊断是什么？需要与哪些疾病鉴别诊断？

思路：患者老年女性，存在持续性高血压、头晕，低血钾、肢体无力，且口干、夜尿频等典型表现。根据患者主诉、症状、个人史，高度怀疑原发性醛固酮增多症（primary aldosteronism，PA）。需与下列疾病进行鉴别诊断：①原发性高血压；②继发性醛固酮增多症；③ Liddle 综合征；④先天肾上腺皮质增生症；⑤肾素瘤；等等。

知识点

原发性醛固酮增多症

原发性醛固酮增多症（primary aldosteronism）是由于肾上腺皮质原发病变，使体内醛固酮分泌增多和肾素分泌受抑制的综合征，属于低肾素活性高血压中的一种。醛固酮分泌为自主性或部分自主性；肾素分泌受抑制是继发于醛固酮的分泌增多，临床以高血压、低血钾、肌无力、夜尿增多为主要特征。原发性醛固酮增多症作为一种继发性高血压，在高血压人群中的患病率为 0.5%~2%。

其病因主要分为：①肾上腺皮质醛固酮分泌瘤（aldosterone-producing adenoma，APA）；②醛固酮癌（APC）；③原发性肾上腺皮质增生（PAH）；④糖皮质类固醇可抑制性醛固酮增多症（glucocorticoid- suppressible hyperaldosteronism，GSH）；⑤家族性醛固酮增多症；⑥肾上腺皮质球状带增生，即特发性醛固酮增多症（idiopathic hyperaldosteronism，IHA）；⑦混合性肾上腺皮质瘤（MAA）。其中 APA 是原发性醛固酮增多症的主要病因。

其临床表现主要有三组特征：①高血压症候群；②低血钾症候群；③失钾性肾病。

【问题 2】为明确原发性醛固酮增生症的诊断，应进行哪些检查？

为明确原发性醛固酮增生症的诊断，应对血浆肾素、醛固酮分泌情况加以检测，结合血、尿生化试验结果对疾病加以诊断。

知识点

原发性醛固酮增多症的诊断标准

美国内分泌学会于 2008 年组织国际知名专家讨论并发表了原发性醛固酮增多症病例检出、诊断、治疗的指南。该指南将原发性醛固酮增多症的诊断分为三个步骤：检出（习惯称为筛查）试验（detecting tests）、确诊试验（confirmatory tests）和分型试验（subtype evaluation tests）。

①舒张期高血压，不伴水肿；②肾素分泌减少，而且在容量减少时不能适当增高；③醛固酮分泌增多，在容量扩张时不能适当抑制。根据高血压、低血钾、周期性下肢麻痹及典型的血尿生化改变、螺内酯能纠正代谢紊乱和纠正高血压等，初步诊断可成立。再证实有血尿高醛固酮而不受抑制和血浆肾素活性降低且不兴奋，则可确诊为原发性醛固酮增多症。

患者实验室检查结果如下：血常规：血红蛋白 128g/L，红细胞 4.5×10^{12}/L，白细胞 5.3×10^{9}/L，中性粒细胞 0.665，淋巴细胞 0.244，中间细胞 9.1%；血电解质：Na^+ 141mmol/L，K^+2.9mmol/L，Cl^-102mmol/L；肝功能：总蛋白 72g/L，清蛋白 43g/L，ALT 25U/L，AST 25U/L，TBIL 10.6μmol/L，DBIL 2.0μmol/L，ALP 99U/L，BUN 3.6mmol/L，Cr 56μmol/L，葡萄糖 4.6mmol/L，Ca^{2+} 2.52mmol/L，促肾上腺皮质激素 45.5pg/ml，皮质醇 20.3μg/dl，24 小时 UFC 57μg/24h；PRA 0.87ng/(ml·h)，ALD 21.21ng/dl，24 小时尿 ALD3.54μg/24h；24 小时尿 VMA 40μmol/24h；甲状腺功能：FT_3 4.63pmol/L，FT_4 20.15pmol/L，TSH 4.78uU/ml。肾上腺 CT 平扫加强化：左肾上腺外侧低密度结节，考虑腺瘤。

【问题 3】根据血尿生化、醛固酮分泌、血浆肾素 - 血管紧张素检查结果，应作出怎样的诊断？依据是什么？

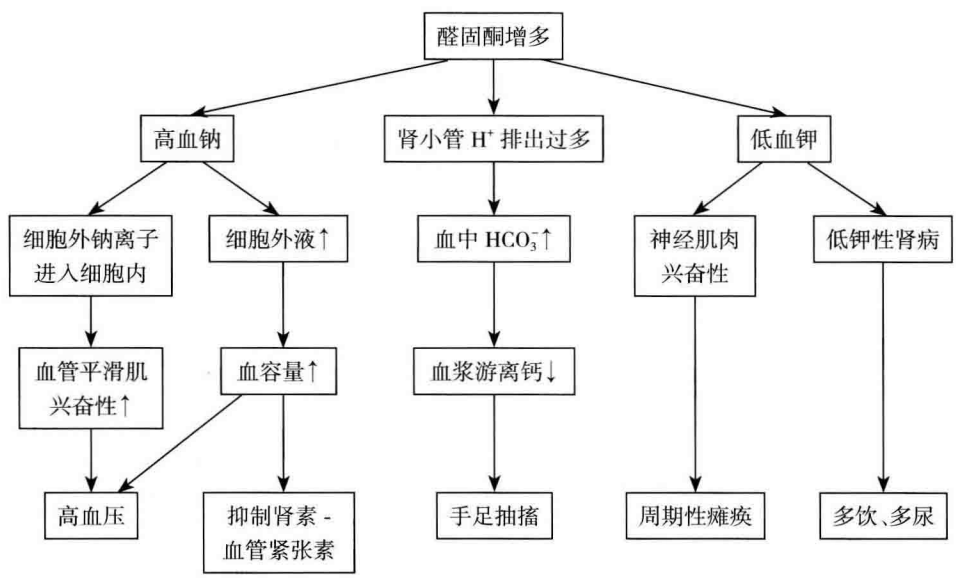
该患者根据血尿生化、醛固酮分泌、血浆肾素 - 血管紧张素检查结果，可以诊断为原发性醛固酮增多症。诊断依据为：患者存在明显的低钾血症，血浆醛固酮促肾上腺皮质激素水平、皮质醇、UFC 均较参考区间有所上升。肾素水平较参考区间有所下降，醛固酮 / 肾素 >20 : 1。CT 结果显示左肾上腺外侧低密度结节，考虑腺瘤。

思路：原发性醛固酮增多症的主要症状及其判断

大部分患者有低钾血症的发生，典型的可出现肌无力和腹部绞痛、头痛、心悸、多饮、多尿、夜尿或者出现上述多个症状。钾离子减少可引起肌肉无力和疲劳，是由于肌细胞膜钾离子清除所致。患者也可出现周期性瘫痪，另一少见的临床表现是明显低血钾碱中毒相关的离子钙减少而导致手足抽搐。多尿和夜尿是由于低血钾引起肾浓缩功能缺陷引起的。舒张期高血压，可非常严重，并伴有头痛，可能是钠重吸收增加和细胞外液容量扩张所致。但是有些病情较轻的患者，尤其是双侧增生性的患者，钾离子水平可正常，因此可不出现低钾血症的相关症状。

知识点

醛固酮增多对机体的影响



非水肿的患者如钠摄入量正常、未服用排钾利尿药（呋塞米、依他尼酸、噻嗪类），却持续存在低钾血症提示这一诊断。如服用排钾利尿药的高血压患者出现低钾血症应停用利尿药，患者应补钾。1~2 周后再次测定钾离子水平，如果低钾血症持续存在，应评估患者是否存在盐皮质激素

学习笔记

分泌亢进综合征。原发性醛固酮增多症的患者的一个特征是不会出现水肿，因为他们表现出对盐皮质激素储钠方面的“逃逸”现象。但是极少的情况，患者可因肾病和氮质血症而出现胫前水肿。

对于疑为原发性醛固酮增多症的患者，应首先对血、尿钾水平加以测定。尿钾高者继续检查血浆醛固酮、肾素的分泌情况，根据二者比值初步作出原发性醛固酮增多症诊断。当醛固酮/肾素 <20∶1 时，基本上可排除原发性醛固酮增多症；若两者比值 >50∶1，可确诊原发性醛固酮增多症。而考虑为原发性醛固酮增多症的患者可进一步进行盐抑制试验，结合影像学检查（CT、MRI）对疾病进行进一步诊断，具体诊断流程如图 8-3-2 所示。

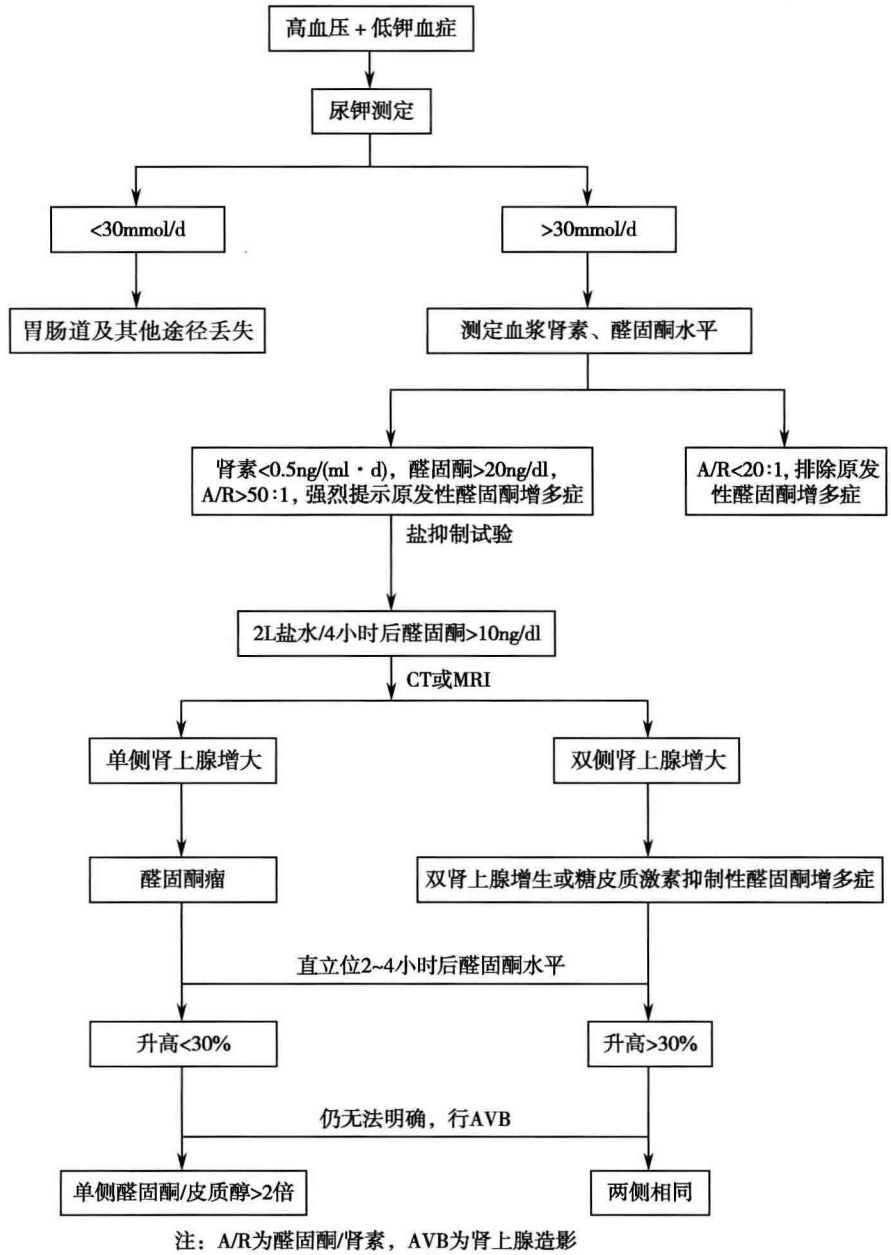


图 8-3-2　临床诊断与排除诊断原发性醛固酮增多症的具体流程图

【问题 4】目前常用的原发性醛固酮增多症诊断方法有哪些？如何进行正确的选择？

原发性醛固酮增多症主要是定位于肾上腺皮质的病变，伴有激素分泌异常。对于原发性醛

学习笔记

固酮增多症，选择筛查试验和确诊试验对疾病作出诊断。目前主要用血钾测定、基础血浆醛固酮浓度(plasma aldosterone concentration，PAC)/血浆肾素活性(plasma renin activity，PRA)比值(PAC/PRA ratio)从高血压(尤其是低肾素性高血压)患者中筛选原发性醛固酮增多症。醛固酮及肾素分泌情况对于疾病的诊断至关重要，在二者分泌异常的基础上，可选取盐抑制试验进一步对疾病加以确证。

思路 1：血尿生化及一般检查在原发性醛固酮增多症实验诊断中的特点与注意事项(筛查试验)

(1) 血钾与尿钾：患者多数呈持续性低血钾，也可为波动性，大多数原发性醛固酮增多症患者的血钾低于 3.5mmol/L，一般在 2~3mmol/L 之间，严重病例则更低，可达 1.4mmol/L，少数患者血钾正常。12% 醛固酮瘤和 50% 双侧肾上腺皮质增生患者的血钾可高于 3.5mmol/L。如无明显低血钾，可选择高钠试验；如有明显低血钾则选用低钠试验、钾负荷试验或螺内酯试验。常有高尿钾，即使在低血钾状态下(<3.5mmol/L)，每日尿钾仍在 25mmol/L 以上，提示尿路失钾。在低血钾状态下应同时测定尿钾，若血钾 <3.5mmol/L，同日尿钾 >25mmol/L 或血钾 <3.0mmol/L，尿钾 >20mmol/L，具有诊断意义。

测定血钾、尿钾时应保证患者钾的摄入量正常，并停止排钾利尿药 3 周以上，且未使用其他影响钾代谢的药物。

(2) 血钠、血氯化物和尿钠：血钠一般在参考区间高限或略高于参考区间，多在 140~160mmol/L 之间；血氯多正常，低于正常约占 1/4；尿钠每日排出量较摄入量为少或接近平衡。

(3) 碱血症：血 pH 一般在参考区间高限或高于参考区间，CO_2 结合力除伴有肾功能损害者可正常外，一般均增高，平均在 30mmol/L，最高可达 38.9mmol/L，同时尿 pH 可呈中性或碱性。

(4) 血钙和血镁：有手足抽搐时游离钙偏低而总钙正常，血镁一般轻度降低。

(5) 尿常规：尿 pH 呈中性或偏碱，尿相对密度(比重)偏低且较固定，常在 1.010~1.018 之间，少数患者呈低渗尿，可有间断性或持续性蛋白尿。

(6) 24 小时尿 17- 羟皮质类固醇及 17- 酮类固醇：一般正常，有混合性皮质功能亢进者可升高，提示癌肿可能。

知识点

醛固酮增多症的筛查试验

在临床上，遇到以下情况，推荐做醛固酮增多症的筛查试验。

1. 高血压 2 期(>160~179/100~109mmHg)和 3 期(>180/110mmHg)。

2. 难治性高血压，即三药联合治疗未能控制血压者(收缩压 >140mmHg，舒张压 >90mmHg)。

3. 自发性或利尿药诱导出现低血钾的高血压患者。

4. 存在肾上腺意外瘤的高血压患者。

5. 有早发高血压(<20 岁)或年轻(<40 岁)脑血管病变家族史的高血压患者。

6. 所有原发性醛固酮增多症患者的患有高血压的一级亲属。高血压患者如用一般降压药物效果不好，尤其伴自发性低血钾及周期性瘫痪，或用利尿药等药物易发生低血钾者，应怀疑原发性醛固酮增多症可能，需作进一步检查以确诊或排除。

思路 2：RAAS 系统测定在原发性醛固酮增多症实验诊断中的特点与注意事项(筛查试验)

(1) 醛固酮测定

1) 血浆醛固酮测定：因为低血钾对醛固酮的分泌有抑制作用，所以醛固酮分泌的多少与低血钾程度有关，血钾越低，醛固酮增加越不明显。故检测时应固定钠、钾摄入量，在普食条件(含

学习笔记

钠 160mmol/d、钾 60mmol/d）平衡一周后，上午 8:00 卧床检测血浆醛固酮。

2）尿醛固酮排出量：原发性醛固酮增多症患者尿醛固酮排出量多数高于参考区间（21.32mmol/24h）。因严重低血钾对醛固酮的分泌有抑制作用，故需补钾后测定才对诊断有意义。尿醛固酮排出量易受诸多因素影响，需反复多次检测。

（2）血浆肾素 - 血管紧张素测定：在高醛固酮所致高血钠和高血容量状态下，由于肾脏入球小动脉壁中的球旁细胞压力增高，致肾素 - 血管紧张素分泌减少。故患者肾素活性、血管紧张素Ⅱ一般低于正常人，即使以直立位、利尿药或低盐饮食等刺激也不升高，是原发性醛固酮增多症与继发性醛固酮增多症的特征性区别。而腺瘤患者一般比特发性醛固酮增多症患者低肾素活性的表现更为明显。

血浆肾素活性（plasma renin activity，PRA）测定仅能检测其酶活性，而不是直接测肾素的分泌量。肾素使血浆中血管紧张素原裂解产生血管紧张素Ⅰ（AT-Ⅰ），将待测血浆置于 37℃，1 小时后用放射免疫法测定 AT-Ⅰ含量。血浆 PRA 以单位时间内产生的 AT-Ⅰ量来表示。正常为每小时 0.77~4.6nmol/L（参考区间依赖于体位、钠盐摄入量及血容量变化）。PRA 测定的误差较大，重复性较差。测定血浆肾素活性在鉴别原发性醛固酮增多症和其他原因引起的高血压方面价值不高。

思路 3：高钠试验（口服钠负荷试验）在原发性醛固酮增多症实验诊断中的特点与注意事项

用于检测血钾降低不明显的疑似本症的患者，在高血压和低血钾得到控制后，患者应该接受高钠饮食 7 日（如果需要则补充氯化钠片剂），需达到 5000mg 的钠摄入目标值（相当于 218mmol 的钠或 12.8g 氯化钠），钾仍为 60mmol。每日测量血压，第 5、6、7 日抽血检测血钠、血钾、CO_2 结合力，并留 24 小时尿检测尿钠、钾、pH，第 7 日同时测血及 24 小时尿醛固酮。为了证实足够的钠浓度，24 小时的尿钠排泄量应超过 200mmol。原发性醛固酮增多症患者尿钾排量增多，血钾下降，血压升高，症状及生化变化显著，血及 24 小时尿醛固酮不受抑制。在这个试验中，排泄超过 12μg/24h 则提示有醛固酮的自主分泌。正常人尿醛固酮 <10μg/d（28nmol/d），血醛固酮 <10ng/dl（276.7pmol/L），血钾无明显变化；原发性醛固酮增多症患者血、尿醛固酮增高，且不受高钠抑制，尿钾增多，低血钾加重，常低于 3.5mmol/L。如尿钠排泄 >250mmol/d，而血钾仍为正常水平，且无肾功能不全，则基本可排除原发性醛固酮增多症。

原发性醛固酮增多症患者由于相对自主分泌大量醛固酮，故在摄入高钠时，其醛固酮分泌不受明显抑制，血、尿醛固酮仍维持高水平。高钠饮食时，肾远曲小管钠离子浓度增高，对钠的重吸收随之增多，钠 - 钾交换进一步加强，尿钠排泄增多，血钾进一步降低。因此高钠试验可使原发性醛固酮增多症的症状和生化改变加重，对轻型原发性醛固酮增多症而言，这是一种有效的激发实验。但应注意对血钾已明显降低者不宜做此试验，因血钾太低会抑制醛固酮分泌。

口服钠负荷试验的敏感性和特异性分别为 96% 和 93%，对于每一例重症高血压患者，增加膳食钠时必须进行相应的风险评估，由于高盐饮食可使尿钾增多和加重低血钾，因此可能需要进行大量的氯化钾补充治疗，血清钾水平应每日检测。恶性高血压、充血性心力衰竭患者以及临床及生化表现明显的疑似原发性醛固酮增多症患者，则不做此试验，以免加重病情。

思路 4：低钠试验在原发性醛固酮增多症实验诊断中的特点与注意事项

原发性醛固酮增多症患者醛固酮分泌增多，PRA 受抑制并对低钠饮食无兴奋反应。给予原发性醛固酮增多症疑似患者低钠饮食或呋塞米 40mg/d 可造成低钠和血容量不足。在这种情况下，正常人血浆肾素活性增加，而原发性醛固酮增多症患者因近球细胞受抑制，血浆肾素活性不增加。

在低钠饮食时，肾远曲小管中钠离子浓度减少，钠钾交换随之减少，钠排出减少，因而尿钠、钾降低，血钾上升，如：①低血钾由肾小管疾病引起，则限钠后，尿钾无明显减少，血钾亦不上升；

②正常人低钠饮食后血浆PRA增加，血钾不上升；③原发性醛固酮增多症患者血浆PRA受抑制，低钠饮食刺激亦无增加，而尿钠、钾排泄明显下降，血钾上升；④失盐性肾病患者尿钠、钾排泄不降低，血钾无回升。

低钠试验具体方法：每日钠摄入量限制在10~20mmol，钾摄入量为60mmol，连续7日，每日监测血压，第5、6、7日各检测血钠、血钾、CO_2结合力，并留24小时尿检测尿钠、钾、pH。第7日同时检测血醛固酮及24小时尿醛固酮排出量。在此期间，原发性醛固酮增多症患者尿钾排出量明显减少，血钾有所升高，尿钠数日内迅速减少，降至10~20mmol/24h，达到平衡。对严重高血压患者不宜做此试验，以免加重病情。

思路5：静脉输注生理盐水实验在原发性醛固酮增多症实验诊断中的特点与注意事项

该试验广泛应用于诊断原发性醛固酮增多症，正常人经等渗生理盐水扩容后，血浆醛固酮/肾素（PAC）受到抑制；原发性醛固酮增多症患者则不被抑制。此试验在过夜空腹后进行。患者取卧位，用一个输液泵给患者输注2L的0.9%氯化钠溶液，时间需>4小时，在输液时进行血压和心率监测。在完成输液时抽血测量PAC，在正常组，PAC值降至5ng/dl，许多原发性醛固酮增多症的患者则不会被抑制到10ng/dl以下。盐水输注后，PAC在5~10ng/dl不等者，可见于IHA患者。

思路6：螺内酯（安体舒通）实验在原发性醛固酮增多症实验诊断中的特点与注意事项

螺内酯具有拮抗醛固酮对肾小管的作用，每日320~400mg（微粒型）分3~4次口服，1~2周后血钾升高，血钠降低，尿钾减少，血CO_2结合力下降。2~3周后，多数醛固酮增多症患者血压下降，症状改善。不同类型患者血压对其反应不一，醛固酮腺瘤患者的典型反应是血压下降或达到正常，但特发性增生患者用此后血压略下降或不下降。

思路7：氟氢可的松抑制实验在原发性醛固酮增多症实验诊断中的特点与注意事项

在氟氢可的松抑制试验中，给予患者口服氟氢可的松4天（每6小时口服0.1mg），同时给予氯化钠片剂（每次2g，每天3次，进食时服用）。每天都需要监测血压和血清钾。低PRA值在试验的第4天上午10:00不能将PAC抑制到6ng/dl以下，则诊断为PA。氟氢可的松抑制试验可能延长QT间期和导致左心室功能恶化，大多数研究中心已不再使用氟氢可的松抑制试验。

思路8：漏诊血钾正常和血压正常的原发性醛固酮增多症的处理

非复杂性高血压患者较少见到自发性低血钾，当该症状出现时，则说明极有可能与盐皮质激素过量有关。相当数量的原发性醛固酮增多症患者基础血清钾在参考区间内，其原因可能与肾功能障碍有关，因此，不能单纯将血钾降低作为诊断原发性醛固酮增多症的标准。高血压和低血钾（不论什么原因引起），顽固性高血压（3种抗高血压药物均控制不良），重度高血压（收缩压≥160mmHg或者舒张压≥100mmHg），则应进行原发性醛固酮增多症的筛查。如儿童或青年患者的高血压为难治性，即使血钾正常仍要考虑原发性醛固酮增多症。

另一方面，极少数的原发性醛固酮增多症可仅有严重低钾血症，而血压可在参考区间内，可能与患者以前的基础血压较低或合并升压机制障碍有关。血压正常的原发性醛固酮增多症往往伴有程度不等的低钾血症，因而对原因不明的低钾血症仍要考虑原发性醛固酮增多症可能。此外，当考虑继发性高血压时，应该进行原发性醛固酮增多症的筛查。

三、Addison病

病历摘要：

患者女，23岁。全身皮肤色素沉着2个月。患者于入院前两个多月出现咳嗽、发热，按“感冒”治疗，约3天后体温正常，后开始出现全身皮肤颜色逐渐加深，以双手明显。口唇、齿龈、双足及皮肤摩擦部位皮肤出现明显的色素沉着，伴全身乏力、胸闷、愁气、食欲差；间

学习笔记

断恶心、呕吐，以晨起为重；无口干、多饮、多尿；无颜面及下肢水肿。查血皮质醇 8μg/dl，促肾上腺皮质激素 999pg/ml，K^+ 4.0mmol/L，Na^+141mmol/L，Ca^{2+} 2.48mmol/L，考虑为“肾上腺皮质功能低下”而入院。患者自发病以来，双足底出现癣样皮疹，不伴瘙痒及脱屑；体重下降约 15kg。查体：全身皮肤明显色素沉着，以双手背、双足背、掌纹、乳晕明显，四肢及躯干可见散在点片状湿疹和瘢痕，足底可见癣样皮疹。

【问题 1】通过上述问诊与查体，该患者可能的诊断是什么？需要与哪些疾病鉴别诊断？

患者青年女性，存在明显的皮肤色素沉着，以暴露部位和易摩擦部位明显，足底癣样皮疹，胸闷、全身乏力、消化不良、体重明显下降等表现。根据患者主诉、症状、个人史，高度怀疑原发性肾上腺皮质功能减退症（primary adrenocortical insufficiency，PAI），又称为 Addison 病。需要和以下疾病进行鉴别诊断：①血色病；②焦煤黑变病；③黏膜黑斑 - 肠息肉症；④慢性肝病、慢性肾病；⑤黄褐斑。

知识点

Addison 病

肾上腺皮质功能减退症（adrenocortical insufficiency，ACI）分为原发性（primary）和继发性（secondary）两类，原发性慢性 ACI 又称为 Addison 病，由于自身免疫、结核、感染、肿瘤等病因破坏双侧绝大部分肾上腺组织（>80%），大量破坏的肾上腺皮质无法分泌足够的皮质醇，引起肾上腺糖皮质激素和盐皮质激素分泌不足，低血皮质醇浓度通过负反馈的作用使促肾上腺皮质激素（ACTH）分泌上升。

Addison 病与继发性慢性肾上腺皮质功能减退，均常合并盐皮质激素水平的下降，但 Addison 病中 ACTH 水平明显增高。慢性 ACI 多见于中老年人，幼年少见；结核性 ACI 男性多于女性，自身免疫所致“特发性”者以女性多见；急性 ACI 多继发于希恩综合征（sheehan syndrome）或在原有慢性 ACI 基础上，遇应激、手术、创伤、感染等情况而诱发。

另外有一种继发于下丘脑 CRH 和其他促 ACTH 释放因子不足的肾上腺皮质功能减退症称为三发性（tertiary）ACI。

Addison 病共同的病理机制包括肾上腺皮质激素分泌不足和 ACTH 分泌增多，在典型的 Addison 病中，肾上腺破坏一般都在 90% 以上，通常同时累及束状带、网状带和球状带，导致糖皮质激素和盐皮质激素同时缺乏，在女性，雄激素分泌减少。皮质醇分泌减少导致对 ACTH 反馈抑制程度减弱，血浆 ACTH 水平明显升高。糖皮质激素缺乏表现为乏力、纳差、恶心和体重下降；糖异生减少，肝糖原消耗，对胰岛素敏感性增加，易出现低血糖；免疫力低下易患各种感染；ACTH 增多引起皮肤、黏膜色素沉着，近年来发现个别患者因内在黑色素细胞缺陷，不出现色素沉着。盐皮质激素缺乏，失钠增多，出现低钠血症和轻度代谢性酸中毒，加之糖皮质激素对儿茶酚胺的作用减弱，心排血量和外周阻力下降，进一步加重直立性低血压。

常表现为软弱无力和疲劳，因此早期肾上腺皮质功能减退症的诊断困难。如合并轻度胃肠道不适、体重减轻、食欲不振，以及皮肤色素沉着加重，选择 ACTH 刺激试验可协助诊断，尤其是在开始甾体激素治疗之前。面部色素沉着可能是疾病的表现，进行性肾上腺损毁的患者可出现新发、进行性加重的色素沉着，但当肾上腺快速损坏，例如双侧肾上腺出血情况下通常不会出现过度色素沉着。过度色素沉着合并其他疾病也可能有提示意义，但肾上腺皮质功能减退症引起的色素沉着其外观和分布具有特征性，如不明确，则可测定 ACTH 水平，或输注 ACTH 进行肾上腺储备功能试验可明确鉴别。

学习笔记

知识点

肾上腺皮质功能减退症症状和体征出现的频率

症状或体征	患者出现的百分比(%)	症状和体征	患者出现的百分比(%)
软弱无力	99	腹痛	34
皮肤色素沉着	98	嗜盐	22
体重减轻	97	腹泻	20
食欲不振、恶心和呕吐	90	便秘	19
低血压(<110/70mmHg)	87	晕厥	16
黏膜色素沉着	82	白癜风	9

【问题 2】为明确诊断 Addison 病,应进行哪些检查?

为确诊 Addison 病诊断,排除其他原因引起的肾上腺皮质功能减退症,应对血浆 ACTH、皮质醇的基础值进行多次重复检测,结合激素分泌指标情况及血糖水平进行诊断。对于 Addison 病的病因诊断,查血清抗结核抗体、抗肾上腺抗体可区分是由自身免疫性因素还是由感染引起,同时还应依靠影像学检查 CT、MRI 等协助诊断。

思路:在人工合成糖皮质激素应用以前,肾上腺皮质功能减退症的病死率很高,80% 患者在确诊后 2 年内死亡。目前,自身免疫性肾上腺皮质功能减退症患者经激素替代可维持正常或基本正常的生活,其他病因引起的肾上腺皮质功能减退患者的预后很大程度上取决于原发疾病,未能及时发现的肾上腺危象及原发疾病,如脑白质肾上腺萎缩症等原发性肾上腺皮质功能减退症是预期寿命缩短的主要原因。

肾上腺危象的临床治疗并不困难,关键问题是早发现、早治疗,特别对那些尚未确诊的肾上腺皮质功能减退症的患者更应警惕危象的发生,否则,肾上腺危象将成为最易致死的主要原因。因此,为了防止 Addison 病引起机体不可逆损伤,延长生存时间,降低疾病死亡率,Addison 病的早期诊断、早期治疗具有重要意义。

知识点

肾上腺皮质功能减退症的诊断标准

当患者存在以下几种情况时,应考虑 Addison 病的可能性。

1. 软弱无力、体重减轻、厌食、恶心、呕吐以及脱水、直立性低血压、皮肤和口腔黏膜色素沉着等典型的临床症状;

2. 检测尿 17- 酮类固醇 <5mg/24h,尿 17- 羟类固醇 <2mg/24h,尿 17- 酮原类固醇 <5mg/24h。

该患者实验室检查:血常规:血红蛋白 126g/L,白细胞 4.83×10^9/L,中性粒细胞 0.52,淋巴细胞 0.376;血电解质:Na^+ 141mmol/L,K^+ 4.0mmol/L,Cl^- 108mmol/L;肝功能:总蛋白 86g/L,清蛋白 49g/L,ALT 24U/L,AST 24U/L,TBIL 7μmol/L,DBIL 1.4μmol/L,BUN 4.3mmol/L,Cr 56μmol/L,葡萄糖 4.8mmol/L,Ca^{2+} 2.48mmol/L,P 1.44mmol/L,ALP 64U/L;性激素:FSH 4.55U/L,LH 9.51U/L,E_2 158.78pg/ml,PRL 9.39ng/ml,P(黄体酮)0.6ng/ml,T(睾酮)31ng/dl;肿瘤系列均正常:AFP 5.84ng/ml,CEA 2.55ng/ml,Fer 120ng/ml,HCG 1.8mU/ml;肝炎项目均为阴性;风湿免疫项目未见异常;血清抗结核抗体阳性,PPD 试验(+++);血清梅毒甲苯胺红

学习笔记

不加热试验、梅毒抗体、梅毒螺旋体明胶凝集试验均阴性；ICA，GAD 阴性。促肾上腺皮质激素和血皮质醇复查 4 次，分别为 999pg/ml，>1250pg/ml，770pg/ml，>1250pg/ml，血皮质醇 8.0μg/dl，11.3μg/dl，9.1μg/dl，15.1μg/dl，24 小时尿游离皮质醇 UFC 18.0μg，30.6μg；血浆肾素活性（plasma renin activity，PRA）2.69ng/（ml·h），ALD 9.23ng/dl，24 小时尿 ALD 1.47pg；ESR 5mm/h；抗肾上腺抗体阴性，血清胰岛细胞抗体（ICA）阴性，谷氨酸脱羧酶（GAD）抗体阴性，甲状腺功能：FT_3 4.66pmol/L，FT_4 16.99pmol/L，TSH 7.78U/ml，TRAb（+），TSI（+），TGAb（−），TMAb（−）。双侧肾上腺 CT 平扫：双侧肾上腺弥漫性增大，实质内可见多发点状钙化影。双侧肾上腺增大伴点状钙化，垂体 MRI：未见确切异常。

【问题 3】根据皮质醇、ACTH、性激素和影像学等检查结果，应作出怎样的诊断？依据是什么？

根据皮质醇、ACTH、性激素和影像学等检查结果，该患者可做以下诊断：Addison 病（原发性肾上腺皮质功能减退症）。诊断依据为：①患者皮质醇水平出现明显降低，促肾上腺皮质激素水平显著上升；②患者血清抗结核抗体阳性，PPD（+++）；③ CT 结果可见双侧肾上腺弥漫性增大，实质内可见多发点状钙化影。

思路：对于疑为 Addison 病的患者，先检测各种激素分泌水平，以血皮质醇、ACTH 为首选。Addison 病患者由于双侧肾上腺大面积损伤，影响多种激素分泌，血皮质醇水平明显降低，进而反馈性地引起 ACTH 的分泌上升。若血 ACTH 正常，可直接排除肾上腺皮质功能减退症诊断。

若 ACTH 高于参考区间，初步考虑为 Addison 病，可进一步通过连续性 ACTH 兴奋试验，对垂体性或下丘脑性肾上腺皮质功能减退症和原发性肾上腺皮质功能减退症进行区分。当连续性 ACTH 兴奋试验无皮质醇反应时，基本上可作出原发性肾上腺皮质功能减退症诊断，Addison 病具体诊断流程见图 8-3-3。

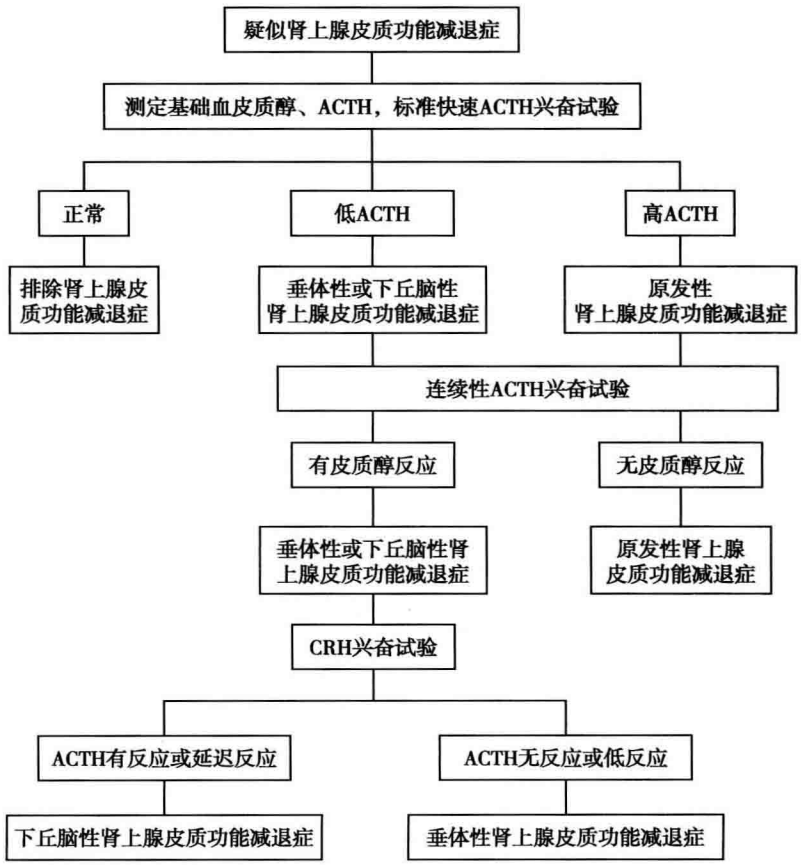


图 8-3-3　肾上腺皮质功能减退症诊断流程图

学习笔记

在进行性肾上腺损伤的早期阶段，常规实验室检查难以发现异常，当肾上腺储备功能出现下降时，基础的甾体激素产生可正常，但应激后激素升高反应低于正常。在疾病的这一阶段，ACTH 刺激试验可揭示肾上腺异常，可发现皮质醇水平升高低于正常或根本未升高。肾上腺损伤的晚期阶段，血清钠、氯和碳酸氢盐浓度降低，血清钾浓度升高。血管外钠丢失可使得细胞外液容量减少，加重低血压。血浆内血管加压素和血管紧张素Ⅰ水平升高可通过减少自由水清除而加重低钠血症。高钾血症是醛固酮不足、肾小球滤过降低以及酸中毒共同所致。皮质醇和醛固酮的基础水平低于参考区间，在 ACTH 给药后无法升高。10%~20% 的患者可出现原因不明的轻到中度高钙血症。心电图可见到非特异性改变，脑电图检查可见到普遍性降低和减慢。患者还可出现正常细胞性贫血，淋巴细胞相对增多，以及中度嗜酸性粒细胞增多症。

只有进行 ACTH 刺激试验（见前述 ACTH 试验方案）评估肾上腺产生甾体激素的储备功能之后才能确定肾上腺皮质功能减退症的诊断。常用的筛选试验是 250μg 促皮质素肌注或静脉推注 60 分钟后测定皮质醇应答水平，皮质醇水平应超过 495nmol/L（18μg/dl）。如果应答异常，那么应通过测定同一血样标本的醛固酮水平来鉴别原发性和继发性肾上腺皮质功能减退症。继发性肾上腺皮质腺功能减退症情况下醛固酮升高反应正常［≥150pmol/L（5ng/dl）］，而原发性肾上腺皮质功能减退症则不升高。而且，原发性肾上腺皮质功能减退症情况下由于正常的皮质醇 - 下丘脑 - 垂体反馈关系丧失，血浆 ACTH 和相关肽类（β-LPT）水平可升高，而继发性肾上腺皮质功能减退症时血浆 ACTH 水平低于或“假性”正常。

【问题 4】ACTH 在 Addison 病的诊断中重要性如何？目前 Addsion 病的诊断项目有哪些？如何进行选择？

Addison 病的诊断要点在于确定是否存在大面积的肾上腺组织损伤，损伤情况可通过测定肾上腺分泌的多种激素的改变来反映。最有诊断意义的项目为血浆 ACTH 及其兴奋试验，结合皮质醇情况基本上可对 Addison 病进行诊断。

Addison 病重要的检查项目有肾上腺皮质功能检查，血 ACTH 明显升高，而 24 小时尿皮质醇明显低于参考区间；或肾上腺 CT 显示双侧肾上腺病变，符合肾上腺皮质功能减退；肌肉活检及免疫学检查，发现肌细胞表面有大量免疫球蛋白沉积，为机体的免疫损伤提供了间接证据。同时结合患者的病史和体格检查结果，可进一步支持原发性肾上腺皮质功能减退的诊断。另外可选择血浆 ACTH、皮质醇的基础值测定及 ACTH 兴奋试验，部分肾上腺皮质功能减退患者皮质醇水平可正常，通过 ACTH 兴奋试验可提示肾上腺皮质储备功能不足，血浆 ACTH、皮质醇的基础值以及 ACTH 兴奋试验均正常者可排除肾上腺皮质功能减退。

思路 1：血浆皮质醇测定在 Addison 病实验诊断中的特点与注意事项

不论原发性还是继发性肾上腺皮质功能减退症患者，皮质醇的分泌均出现明显降低。正常人的血皮质醇以上午最高，午夜最低，男女无显著性差异。Addison 病的皮质醇水平不但出现明显降低，而且昼夜节律消失。检查时一般于早晨 8:00 和下午 4:00 采血测定，必要时午夜加测一次。血皮质醇（F）水平受很多因素影响，本身的波动很大，一般认为血浆皮质醇水平基础值 <82.8mmol/L（3μg/dl）可确诊为肾上腺皮质功能减退症，而血 F>552mmol/L（20μg/dl）可排除此病。但是对于急性危重病人，基础血浆皮质醇在参考区间之内也不能排除肾上腺皮质功能减退的可能。脓毒血症和创伤患者基础血浆皮质醇水平 >25μg/dl 时才可排除肾上腺皮质功能不全。

检测 24 小时尿游离皮质醇（UFC）或 17- 羟皮质类固醇（17-OHCS）可避免血 F 的昼夜节律及上下波动的影响，更能反映肾上腺皮质功能的实际情况。严重的肾上腺皮质醇功能减退症患者由于血皮质醇基础值明显降低，尿游离皮质醇及 17-OHCS 亦低于正常。尽管部分肾上腺皮质醇功能减退症患者清晨血皮质醇基础值正常，但是快速 ACTH 兴奋试验及胰岛素低血糖兴奋试验提示肾上腺皮质储备功能下降。

思路 2：血浆 ACTH 基础值测定在 Addison 病实验诊断中的特点和注意事项

学习笔记

原发性肾上腺皮质功能减退症患者血 ACTH 水平应明显高于参考区间，多数超过 55pmol/L，常达 88~440pmol/L（参考区间为 1.1~11pmol/L），而继发性肾上腺皮质功能减退者血浆 ACTH 浓度极低，因此血浆 ACTH 正常能排除慢性原发性肾上腺皮质功能减退症，但不能排除轻度的继发性肾上腺功能减退。

思路 3：ACTH 兴奋试验在 Addison 病实验诊断中的特点和注意事项

可用于检测肾上腺皮质的贮备功能，有助于发现轻型慢性肾上腺皮质功能减退症患者及鉴别原发性与继发性慢性肾上腺皮质功能减退症。

（1）快速 $ACTH_{1\sim24}$：所有怀疑存在肾上腺皮质功能减退者都应进行快速 ACTH 兴奋试验以确诊。简化方法：静脉注射 ACTH 250μg，分别于 0、30 和 60 分钟后复查血浆皮质醇浓度。结果判断：①正常反应：基础或兴奋后血 F≥552nmol/L（20μg/dl）；②原发性肾上腺皮质功能减退症：由于内源性 ACTH 已经最大限度地兴奋肾上腺分泌皮质醇，因此，外源性 ACTH 不能进一步刺激皮质醇分泌，血 F 基础值低于参考区间或在参考区间低限，刺激后血 F 很少上升或上升不明显；③继发性肾上腺皮质功能减退症：血 F 呈低反应或无反应。如连续注射 ACTH 3~5 天，则血 F 能逐渐上升改善，为迟发反应。

（2）延长 ACTH 兴奋试验（经典 ACTH 兴奋试验）：采用 $ACTH_{1\sim39}$ 静脉滴注法：第 1~2 天连续 2 次测定 24 小时尿 UFC 或 17- 羟皮质类固醇含量作为基础值，第 3~4 天或 3~7 天每日静滴 $ACTH_{1\sim39}$25U 加入 5% 的葡萄糖液 500ml，均匀维持 8 小时，共 3~5 天，如连续几次后 UFC 或 17-OHCS 反应低下，分别 <0.552μmol/24h（200μg/24h）或 27.6μmol/24h（10mg/24h），则支持原发性慢性肾上腺皮质功能减退症；而继发性肾上腺皮质功能减退症 UFC 或 17-OHC 呈低反应或延迟反应。由于 $ACTH_{1\sim39}$ 是从动物垂体中提取而得，含杂蛋白较多，易有过敏反应；加之本试验方法烦琐，灵敏度较差，近年来已基本上被快速 $ACTH_{1\sim24}$ 兴奋试验代替。

思路 4：血浆肾素活性、血管紧张素Ⅱ和醛固酮在 Addison 病实验诊断中的特点和注意事项

原发性肾上腺皮质功能减退症患者因球状带受累，因而血醛固酮水平低下，可为低值或参考区间低限值；血浆肾素活性（plasma renin activity，PRA）在参考区间内或轻微升高；血管紧张素Ⅱ显著升高。继发性肾上腺皮质功能减退症患者无此改变，其血或尿醛固酮水平依据病变范围而异，如肾上腺球状带破坏严重，则低于参考区间，如以束状带破坏为主则可正常或接近正常。尿 17-OHCS 和 17-KS 多低于参考区间或在参考区间内。血 TSH、T_3 和 T_4 可降低，血 TSH 持续性升高提示合并有自身免疫性甲状腺功能减退。

思路 5：其他检测项目在 Addison 病实验诊断中的特点和注意事项

（1）胰岛素低血糖试验（ITT）：主要用于垂体功能的评价，也可了解 ACTH 的储备功能。胰岛素引起低血糖性应激，诱发中枢交感神经兴奋，促使 ACTH 分泌，血皮质醇增高。具体方法：上午 10:00，静脉注射常规胰岛素 0.1~0.15U/kg；分别于 0、15、30、45、60、90 和 120 分钟后抽取血标本，同时测定 ACTH 和血皮质醇。正常人血糖降低时（50mg/dl）刺激皮质醇分泌，兴奋后血皮质醇≥550nmol/L（20μg/dl），而继发性肾上腺皮质减退症者血 ACTH 和皮质醇不上升。该试验有较高风险，不建议做常规使用，并且不能用于缺血性心脏病（试验前通常检查 ECG）、癫痫或严重的垂体功能减退患者。

（2）简化美替拉酮（甲吡酮）试验：对于某些疑难的病例可进行本实验，于午夜口服美替拉酮（甲吡酮）30mg/kg，次日上午 8:00 测定血 11- 去氧皮质醇和 ACTH，正常反应为兴奋后血 11- 去氧皮质醇上升≥232nmol/L（7μg/dl），ACTH 一般 >33pmol/L（150pg/ml）；而继发性肾上腺皮质功能减退症，血 11- 去氧皮质醇和 ACTH 不上升。

（3）促肾上腺皮质激素释放激素（corticotropin-relesing hormone，CRH）兴奋试验：CRH 刺激实验可用于诊断肾上腺皮质功能减退，与甲吡酮实验不同的是，它能鉴别原发性还是继发性肾上腺皮质功能减退。原发性患者 ACTH 水平很高，CRH 刺激后还会进一步增高。相反，继发性患

者 ACTH 水平很低，不会对 CRH 有反应；下丘脑疾病的患者在 CRH 刺激后 ACTH 水平会稳步增高。具体方法：静脉注射 1U/kg 或 100μg CRH 后，分别于 0、15、30、45、60、90 和 120 分钟抽取血标本，同时测定 ACTH 和皮质醇。正常反应为刺激后 ACTH 和皮质醇峰值≥原基础值 100%，原发性肾上腺皮质功能减退 ACTH 水平上升，而皮质醇不上升；继发性肾上腺皮质功能减退患者刺激后 ACTH 和皮质醇均上升不明显。

(4) 21- 羟化酶抗原测定：有助于原发性肾上腺皮质功能减退的病因鉴别，测定自身抗体最经典的方法是用人肾上腺切片做间接免疫荧光染色。用放射标记的重组人 21- 羟化酶结合分析法测定肾上腺自身抗体，其敏感性和特异性均高于间接免疫荧光方法，但是前者因为放射标记，影响了在临床的使用。结核病患者的肾上腺区摄片及 CT 检查可示肾上腺增大及钙化阴影，通常伴有活动性结核表现，胸片、尿结核分枝杆菌培养和皮肤结核菌素试验有助于结核病的确诊；但无肾上腺增大或钙化点不能排除结核。其他感染、出血、转移性病变在 CT 扫描时可见肾上腺增大，而自身免疫病因所致者肾上腺不增大。原发性自身免疫性 ACI 的其他内分泌腺功能障碍的诊断应依据血钙、血磷、血糖、FT_3、TSH 和甲状腺抗体确定。例如，伴 1 型糖尿病者应明确是否为 1 型自身免疫性糖尿病，伴甲状腺功能减退者应测定甲状腺自身抗体。如果发现血钙降低，应进一步检测血 PTH。若有月经稀少或闭经，应测定血 FSH 和 LH。对增大的肾上腺行 B 超或 CT 引导下经皮细针穿刺抽吸术可明确病因。怀疑肾上腺髓质神经病（Adrenomyeloneuropathy，AMN）时应检测血清极长链脂肪酸，一般会出现升高。

患者入院后诊断为原发性肾上腺皮质功能减退症、肾上腺结核，给予抗结核治疗和激素替代治疗。2 个月后随访，患者厌食、恶心、呕吐、头晕、乏力、皮肤变黑等症状较前明显好转。

【问题 5】如何判断患者恢复情况？应选择哪些检测指标？

患者恶心、呕吐、乏力等症状明显改善，皮肤变黑情况较前有所好转，初步判断患者恢复情况良好，但仍需结合相应的检测项目进一步确定。

对于原发性肾上腺皮质功能减退症的预后的判断，尚无特异性指标，可通过临床症状的改善检测皮质醇及 ACTH 分泌情况加以判断。

知识点

肾上腺皮质危象

肾上腺皮质危象常具有以下临床表现和实验室检查结果：①出现与当前疾病的严重程度不匹配的脱水、低血压或休克；②体重下降和厌食的基础上出现恶心、呕吐、腹痛或急腹症；③不明原因的低血糖；④不明原因发热；⑤低钠血症、高钾血症、氮质血症、高钙血症或嗜酸性粒细胞增高；⑥色素过度沉着或白癜风；⑦其他自身免疫性内分泌腺功能减退，如甲状腺功能减退或性腺功能减退。

急性肾上腺皮质功能减退或 Addison 危象是一种临床急症，表现为低血压和急性循环衰竭。患者往往是未明确诊断的慢性肾上腺皮质功能不全者，因遭受各种生理性或病理性应激后诱发，常见的诱因有严重感染、创伤、外科手术、分娩、过度劳累、大量出汗、呕吐、腹泻、精神因素等，也可因肾上腺急性广泛破坏所致。此外，长期较大剂量补充肾上腺皮质激素的患者突然停药可诱发肾上腺危象。在 Addison 病基础上发生的危象尚可见到皮肤黏膜色素沉着。

肾上腺危象常见于已有慢性肾上腺皮质功能减退症患者，在应激时未及时增加糖皮质激素剂量而发生，尤其是原发性肾上腺皮质功能减退症患者常有肾素 - 血管紧张素 - 醛固酮系统异常，更易发生。原发性肾上腺皮质功能减退症患者出现危象时，病情多危重。大多数患者存在感染，出现发热，体温可达 40℃以上。同时出现直立性低血压（卧位的血压通常是正常的，但是

学习笔记

几乎毫无例外的是站立位血压会下降),低血容量休克,心动过速、四肢厥冷,可极度虚弱无力、萎靡淡漠和嗜睡,甚至昏迷,也可表现为烦躁不安和谵妄惊厥。部分伴有消化功能障碍,厌食、恶心、呕吐和腹泻,伴腹痛者易被误诊为急腹症,尽管可有肌紧张和深部压痛,但多缺乏特异性定位体征。两侧肾上腺梗死或广泛出血引起的急性肾上腺危象可表现为突然发生的低血压或休克,腹部两侧或背部、下胸部疼痛,发热或低血糖以及精神神经症状。

思路:由于慢性肾上腺皮质功能减退症的临床症状多为非特异性,病程进展缓慢,早期多不被患者察觉,直到皮肤变黑后才就医,约 50% 有临床症状的 Addison 病患者在症状出现 1 年后才被确诊。皮肤、黏膜色素沉着是诊断原发性肾上腺皮质功能减退症的特征性症状,少数原发性肾上腺皮质功能减退症无明显色素沉着,可能的原因是基础血皮质醇水平还足以对下丘脑 - 垂体起负反馈作用,或病情进展较快,患者容易出现死亡。少数患者症状、体征不突出,其诊断需要配合有关实验室检查及鉴别诊断后方能明确。

对临床表现疑似肾上腺皮质功能减退症的患者应该进一步行基础血皮质醇和 ACTH 水平检测,再结合功能试验进一步鉴别其为原发性或是继发性。

由于目前尚无检测针对肾上腺的特异抗体,也无法开展肾上腺组织活检,所以肌肉活检就成为间接了解自身免疫因素导致肾上腺病变的一个重要手段。开展肌肉活检和免疫学检查可提供机体免疫损伤的间接证据。有关体液免疫损伤的疾病,应该把患者作为一个完整的机体去思考疾病,多器官受累更符合思维逻辑,更贴近临床实际,更有助于解决临床实际问题。Addison 病早期发现,早期应用免疫抑制剂治疗,不仅可有效缓解肾上腺破坏的进程,而且对全身其他器官可能存在的免疫损伤也有治疗作用。

(段朝晖)

第四节　甲状腺功能亢进症

甲状腺功能亢进症(hyperthyroidism)是十分常见的内分泌疾病。它是由于甲状腺激素(thyroid hormone,TH)合成或分泌过多,导致血液循环中甲状腺激素过多,引起以神经、循环、消化等系统兴奋性增高和代谢亢进为主要表现的一组临床情况的总称。甲状腺功能亢进症按病因不同可以分为多种类型,主要分为三类:毒性弥漫性甲状腺肿(diffuse toxic goiter)又称 Graves 病、毒性结节性甲状腺肿(结节性甲状腺肿伴甲亢)、功能自主性甲状腺腺瘤(甲状腺自主性高功能腺瘤),以 Graves 病最为常见,约占所有甲亢患者的 85%。

病历摘要:

患者女,40 岁。因怕热、多汗、易怒、心悸,胫前水肿 6 个月,3 个月后病情加重入院。患者 6 个月前无明显诱因出现怕热、多汗、多食易饥,体重下降,活动后心悸、气促,间断胸闷、气短,左肩胛区疼痛,口服速效救心丸后缓解。同时发现自足背部和踝关节处开始出现对称性皮肤破坏,皮肤增粗、变厚,呈暗红色,伴有瘙痒、脱屑,逐渐向上延伸累及双侧小腿胫前下端,有广泛大小不等的暗红色结节,边界清楚,局部皮温高,无压痛。1 个月前外院胫前皮肤活检示黏液性水肿,为进一步诊治入院。患者自发病以来食欲差、睡眠可,大便每天 2 次,不成形,体重减轻 5kg 多。患者既往无食物、药物过敏史,平素吸烟每天 5~6 支,否认家族遗传病史。

查体:体温 37.1℃,脉搏 120 次 / 分,呼吸 25 次 / 分,血压 120/60mmHg,身高 175cm,体重 63kg。发育正常,营养中等,神清合作,自主体位。皮肤湿润多汗,黏膜无黄染、出血点,浅表淋巴结未触及肿大。头颅五官无畸形,突眼,眼睑水肿,巩膜无黄染,双侧瞳孔等大等圆,对光反射存在,口唇无发绀,伸舌细震颤,手颤(+)。颈软,气管居中,甲状腺Ⅲ度肿大,质韧,

学习笔记

未触及结节，可闻及血管杂音。胸廓对称，双肺呼吸音粗，可闻干性啰音。心界不大，心率120次/分，律齐，各瓣膜听诊区未闻杂音。腹平软，无压痛、反跳痛，肝、脾未及，双肾区无叩痛，肠鸣音活跃。双下肢胫前皮肤皮温升高、水肿、色素沉着。生理反射存在，病理反射未引出。

【问题1】通过上述问诊与查体，该患者可疑的诊断是什么？需要与哪些疾病鉴别诊断？

患者中年女性，有典型的心悸、怕热、多汗、手抖、多食易饥、体重减轻及胫前水肿表现。根据患者主诉、症状、个人史，高度怀疑甲状腺功能亢进症，Graves病并胫前黏液性水肿。需要与如下疾病进行鉴别诊断：①单纯性甲状腺肿；②亚急性甲状腺炎；③神经官能症；④高功能腺瘤；⑤多结节性毒性甲状腺肿；⑥嗜铬细胞瘤。

知识点

Graves病

Graves病以甲状腺肿大、高代谢症候群及突眼为主要特征，在遗传基础上，因感染、精神创伤等应激因素而诱发。具体发病机制未明，一般认为与机体免疫系统功能紊乱，免疫耐受、识别和调节功能减退和抗原特异或非特异性抑制性T细胞(Ts)功能缺陷有关。机体不能控制针对自身组织的免疫反映，Ts细胞减弱了对辅助T细胞(Th)的抑制，特异B淋巴细胞在特异Th细胞辅助下产生异质性免疫球蛋白(自身抗体)。病人血清中可检出甲状腺特异性抗体，即TSH受体抗体(TRAb)，属于器官特异性自身免疫疾病。

【问题2】为明确诊断Graves病，应进行哪些检查？

为明确Graves病诊断，排除其他甲状腺功能亢进病因，首先应对患者进行甲状腺功能检测(TSH、T_3、T_4、FT_3、FT_4、TRAb等)，测定血清离子浓度，并结合甲状腺B超、心电图等检查。

思路：Graves病的发生与自身免疫有关，长期发病可造成机体各个系统器官的损害，临床上以心脏损伤最为常见。长期过量的TH可造成机体对儿茶酚胺的敏感性增强，引起机体损伤，如心动过速、心律失常和甲亢性心脏病。同时应避免感染、应激等引起甲状腺危象，争取在疾病早期予以确诊，及时治疗。

知识点

Graves病诊断标准

甲状腺功能亢进：①临床高代谢的症状和体征；②甲状腺体征：甲状腺肿和(或)甲状腺结节，少数病例无甲状腺特征；③血清激素：TT_4、FT_4、TT_3、FT_3增高，TSH降低，一般<0.1mU/L。T_3型甲亢时仅有TT_3、FT_3升高；T_4型甲亢仅有FT_4或TT_4增高而FT_3，TT_3正常；血TSH降低，FT_3、FT_4正常，为亚临床甲亢。

Graves病：①临床甲亢症状和体征；②甲状腺弥漫性肿大(触诊和B超证实)，少数病例可无甲状腺肿大；③血清TSH浓度降低，TH浓度升高；④眼球突出和其他浸润性眼征；⑤胫前黏液性水肿；⑥甲状腺TSH受体抗体(抗甲状腺过氧化物酶抗体或TSAb)阳性。

以上标准中，①、②、③项为诊断必备条件，④、⑤、⑥项为诊断辅助条件。

患者实验室检查：血常规：血红蛋白103g/L，红细胞4.04×10^{12}/L，白细胞4.46×10^{9}/L，中性粒细胞0.379，淋巴细胞0.489，血小板205×10^{9}/L，尿常规、便常规无异常。甲状腺功能：游离三碘甲状腺原氨酸(FT_3)>30.8pmol/L，游离四碘甲状腺原氨酸(FT_4)167.7pmol/L，促甲状腺激素(TSH)<0.01μU/ml，抗甲状腺球蛋白抗体[TGAb 3.8%(-)]，抗甲状腺微粒体抗体[TMAb(-)]，抗促甲状腺受体抗体[TRAb(-)]，甲状腺刺激抗体[TSI(+)]；血Ca^{2+}

2.7mmol/L，血 K^+ 3.3mmol/L，空腹血糖 5.2mmol/L，总胆固醇（TC）2.4mmol/L，血沉 8mm/h；肝、肾功能无异常。胸部 X 线片：主动脉迂曲。心电图：窦性心动过速。腹部 B 超：未见异常；胫前皮肤活检示：黏液性水肿。

【问题 3】根据甲状腺功能检查、血清离子浓度检测及胫前皮肤活检结果，应作出怎样的诊断？依据是什么？

该患者可诊断为甲状腺功能亢进，Graves 病并胫前黏液性水肿。诊断依据为：①甲状腺Ⅲ度肿大伴血管杂音、突眼和胫前黏液水肿高代谢症候群；②甲状腺功能异常，甲状腺刺激抗体（TSI）阳性。

思路：疑似甲状腺功能亢进的患者，首先应该进行甲状腺功能亢进检查。

实验室检查首选 T_3、T_4、TSH，其诊断价值为 sTSH 或 uTSH>FT_3>FT_4>TT_3>TT_4，如果一般实验室检查仍不能明确诊断，可在 ^{131}I 试验的基础上加做甲状腺激素抑制试验及 TRH 兴奋试验等特殊检查，抑制试验表现为不受抑制或 TRH 兴奋试验表现无反应，都有助于 Graves 病的诊断。对妊娠妇女及有心脏病的老人当血清 T_3、T_4 水平增高不明显时，TRH 兴奋试验对诊断有很重要价值。

Graves 病早期及治疗后复发时，血清 T_3 水平升高显著，随着病情进展，T_3 和 T_4 水平均升高，甲状腺摄 ^{131}I 率增高，游离 T_4 指数（FT_4I）高于参考区间，TSH 浓度低于参考区间。抗甲状腺抗体多为阳性，TGAb、TMAb 滴度增高。

常规疑似甲亢的患者，首先检测 TSH 和 FT_4，两者均正常可排除甲状腺功能亢进诊断。单纯低 TSH 水平考虑分泌 TSH 的垂体腺瘤或甲状腺素抵抗综合征。低 TSH 水平且 FT_4 正常的患者进一步检查血清 FT_3 水平。而血清 TSH 降低、FT_4 升高不伴甲状腺功能亢进症状者，考虑结节性甲状腺肿或毒性结节，可通过放射性核素摄取率进行鉴别。而对于低 TSH、高 FT_3 伴有甲状腺功能亢进症状者，给予 Graves 病诊断，如图 8-4-1 所示。

甲状腺功能亢进的临床症状多为甲状腺激素功能异常增强所致，包括：①高代谢症候群：由于三大营养物质及能量代谢亢进，出现食多但消瘦、怕热、多汗、基础代谢率升高、血浆胆固醇降低，严重者可因肌蛋白大量分解发生肌萎缩以及血和尿尿素、肌酐升高等；②神经系统兴奋性增高，烦躁，易激动，肌颤；③心血管系统症状：心率加快，心输出量增加，收缩压升高和脉压加大，严重时出现心律失常；④突眼症、甲状腺肿大。

根据甲状腺功能亢进的临床症状、体征和检测结果，可将甲状腺功能亢进分为轻、中、重三型：①轻型：症状、体征较轻，心率 <100 次 / 分；T_4<258nmol/L；甲状腺摄取率 4 小时 >35%，24 小时 >54%；BMR+20%~+30%；②中型：症状、体征明显，精神兴奋，心率 100~120 次 / 分；T_4 258~323nmol/L；^{131}I 摄取率 4 小时 >50%，24 小时 >65%，可有高峰前移；BMR+30%~+60%；③重型：症状、体征非常明显，患者表现异常兴奋激动，心率 >120 次 / 分，有心律失常，重者有肝功能损害、黄疸。T_4>323nmol/L；^{131}I 摄取率 4 小时 >68%，24 小时 >85%，多伴有高峰提前；BMR+60% 以上。

Graves 病作为一种自身免疫性疾病，甲状腺功能亢进、甲状腺肿大、突眼和胫前黏液水肿及甲状腺皮肤病均是其自身免疫表现之一。

【问题 4】为何甲状腺功能检测在 Graves 病诊断中如此重要？目前常用的甲状腺功能检测项目有哪些？如何选择甲状腺功能检测项目？

Graves 病的诊断标准提示：疾病的确诊建立在甲状腺功能亢进临床症状和体征的基础上，伴有或不伴有甲状腺肿大，进一步通过血清 TSH 和 T_4、T_3 等甲状腺激素的检测，协助疾病诊断，尤其是敏感 TSH（sTSH），被认为是甲状腺功能亢进诊断的重要指标。

思路 1：TSH 在 Graves 病实验诊断中的特点与注意事项

促甲状腺激素（thyroid stimulating hormone，TSH）是腺垂体分泌的促进甲状腺生长和功能的激素。TSH 可反映下丘脑 - 垂体 - 甲状腺轴功能，腺垂体分泌 TSH，一方面受下丘脑分泌的促甲

学习笔记

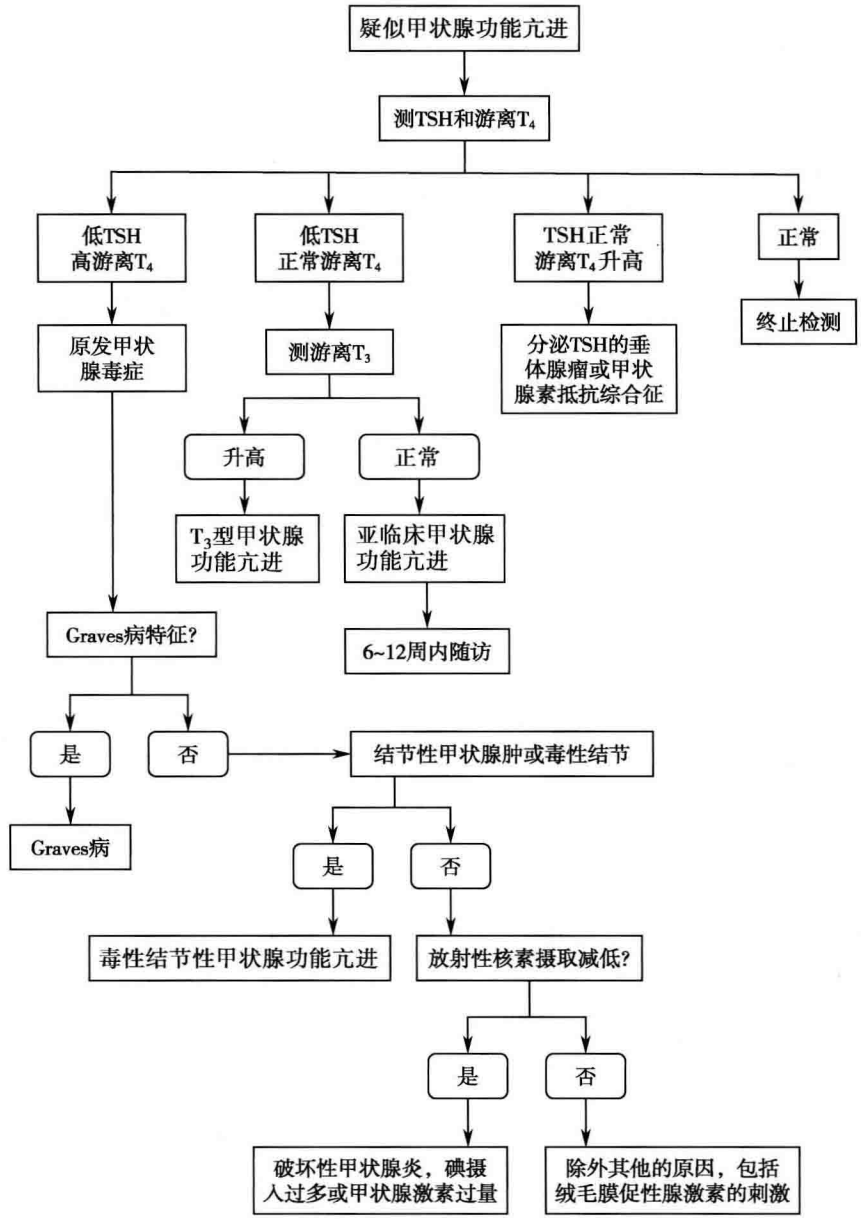


图 8-4-1　临床诊断与排除诊断 Graves 病的具体流程图

状腺激素释放激素(TRH)的促进性影响,另一方面又受到 T_3、T_4 反馈性的抑制性影响,两者相互拮抗,它们共同组成下丘脑 - 腺垂体 - 甲状腺轴。TSH 的改变发生在 T_3、T_4 水平改变之前,尤其是 sTSH 是目前国际上公认的诊断甲状腺功能亢进的首选指标,可作为单一指标进行甲状腺功能亢进筛查,尤其对亚临床型甲状腺功能亢进和亚临床型甲状腺功能减低的诊断有重要意义。一般 90% 甲状腺功能亢进患者 TSH 低于参考区间下限,而垂体性甲状腺功能亢进 TSH 水平处于参考区间上限或超过参考区间上限。TSH 测定必须结合临床和其他甲状腺功能检查才能作出正确诊断、判断预后或做治疗决策。

思路 2:T_4、T_3 在 Graves 病实验诊断中的特点与注意事项

血清甲状腺素(thyroxine,T_4)是甲状腺滤泡细胞合成并分泌的激素,在甲状腺内酶系统作用下由两个双碘酪氨酸耦合成 T_4,是反映甲状腺功能状态的较好指标。T_4 以游离形式释放入血,99.95% 以上的 T_4 以共价键形式与甲状腺结合球蛋白(TBG)、清蛋白(AIB)和甲状腺结合前清蛋白(TBPA)结合,其中 80%~90% 与 TBG 结合,TT_4 是指 T_4 与蛋白质结合的总量,受 TBG 等结合

蛋白量和结合力变化的影响，是判定甲状腺功能最基本的筛选指标，可用 ^{125}I-T_3 吸收试验（T_3U）计算游离甲状腺指数（FT_4I）予以校正。

知识点

T_4 型甲状腺功能亢进

T_4 型甲状腺功能亢进血清 TT_4、FT_4 增高，而 TT_3、FT_3 正常，其临床表现与典型的甲状腺功能亢进相同，可发生于碘致甲状腺功能亢进、Graves 病、毒性结节性甲状腺肿或亚急性甲状腺炎，多见于一般情况较差的中老年患者，如严重感染、手术、营养不良等患者，甲状腺摄 ^{131}I 率明显增高。本病需要和假 T_4 型甲状腺功能亢进相鉴别，即患者有各种急性或慢性全身性疾病，而血清 TT_4、FT_4 增高而 TT_3、FT_3 正常或降低。除少数患者伴有甲状腺肿大外，其他方面无甲状腺功能亢进的证据，当原发疾病治愈后，上述实验室指标于短期内恢复正常。

三碘甲状腺原氨酸（3,5,3′-Triiodothyronine，T_3）与 T_4 一样，也是由甲状腺滤泡细胞合成和分泌的激素，但仅 15%~20% 由甲状腺直接分泌而来，80% 以上的 T_3 是在外周组织中通过 T_4 脱碘而成。T_3 在血清中与结合蛋白的亲和力比 T_4 弱，血循环中 T_3 的浓度很低，仅为 T_4 的 1%~2%，但它的生理作用却比 T_4 强数倍。血清中 T_3 与蛋白质结合达 99.5% 以上，故 TT_3 亦受甲状腺结合球蛋白的影响。TT_3 水平的变化常与 TT_4 的改变平行，但在甲状腺功能亢进初期与复发早期，TT_3 上升往往很快，大约是参考区间的 4 倍；TT_4 上升较缓，仅为参考区间的 2.5 倍。故 TT_3 为早期 Graves 病、治疗中疗效观察及停药后复发的敏感指标，亦是诊断 T_3 型甲状腺功能亢进的特异指标。但在老年人淡漠型甲状腺功能亢进或久病者 TT_3 也可能无明显升高。

知识点

T_3 型甲状腺功能亢进

T_3 型甲状腺功能亢进见于弥漫性、结节或混合型甲状腺肿患者的早期、治疗中或治疗后复发期。临床表现与普通型相同，但一般较轻，甲状腺外 T_4 转变为 T_3 明显增加或在病程发展中 T_3 升高较多、较快，而治疗过程中 T_4 下降较多、较快。特征为血 TT_3 与 FT_3 均增高，而 TT_4、FT_4 正常甚而偏低。甲状腺摄 ^{131}I 率正常或偏高，但不受外源性 T_3 抑制，有时需排除外源性 T_3 摄入导致的 T_3 型甲状腺功能亢进。

思路 3：FT_3、FT_4 在 Graves 病实验诊断中的特点与注意事项

正常情况下，血浆甲状腺激素结合型和游离型之间存在着动态平衡，但只有游离型才具有生理活性，所以血清游离 T_3（FT_3）、游离 T_4（FT_4）的水平更能真实反映甲状腺功能状况，具有更重要的临床参考价值。FT_3、FT_4 水平因不受甲状腺结合球蛋白影响而较总 T_3（TT_3）、总 T_4（TT_4）更能准确地反映甲状腺的功能状态，免疫测定中的化学发光法是目前 FT_3 和 FT_4 自动化测定中应用最多的方法。但是因为 TT_3、TT_4 指标稳定，可重复性好，故当不存在临床有影响甲状腺结合球蛋白的因素（如妊娠、雌激素治疗、肝肾疾病、低蛋白血症、使用糖皮质激素等）时，仍推荐测定 TT_3、TT_4。

知识点

高敏感 TSH

血清高敏感 TSH（sTSH）因与正常人的参考区间界限清楚且交叉极少，是反映甲状腺功能最敏感、国际上公认的诊断甲亢的首选指标。sTSH 可作为观察甲亢疗效的指标之一，或作为抗甲状腺药物治疗后病情是否缓解及甲状腺功能亢进是否复发的指标。

学习笔记

sTSH 以其高敏感性和高特异性极大地改善了对甲状腺功能的实验室评估。因为 TSH 随着 T_4 和 T_3 的变化而发生动态改变，对甲状腺功能的合理判定首先是确定 TSH 是否被抑制、TSH 是否正常或升高，常用免疫化学发光法测定 sTSH 值可以达到 0.004mU/L。发现 TSH 异常时，需进一步测定循环中甲状腺激素水平，以明确甲状腺功能亢进（TSH 被抑制）或甲状腺功能减退（TSH 升高）的诊断。

在一些临床情况中，测定 TSH 作为筛选试验有可能导致误诊，尤其是未能同时测定 FT_4 时。任何严重的非甲状腺病症可引起 TSH 水平异常，引起 TSH 升高的原因还包括分泌 TSH 的垂体瘤、甲状腺激素抵抗等。当 TSH 受到抑制，TSH<0.1mU/L 时，通常提示甲状腺毒症；另外也存在妊娠早期（由于 hCG 分泌）、甲状腺功能亢进治疗后（因为 TSH 的抑制状态持续数周）、某些药物应用（如大剂量糖皮质激素或多巴胺）时，也可出现 TSH 被抑制的情况。临床上要引起注意的情况，当下丘脑 - 垂体疾病所致的继发性甲减时，TSH 水平出现较大波动，可能降低，也可能是参考区间高值，其值与低 T_4 水平不一致，所以 TSH 不能用于评价已有垂体疾病的患者的甲状腺功能。

测定基础代谢率、腱反射弛豫率、血清胆固醇等，可反映甲状腺激素过多或缺乏时靶器官的变化，但在临床上不能作为判断甲状腺功能的指标。

思路 4：自身抗体测定在 Graves 病实验诊断中的特点与注意事项

（1）TSH 受体抗体（thyrotropin-receptor antibody，TRAb）为一组抗甲状腺细胞膜上 TSH 受体的自身抗体，包括可产生 TSH 样作用的长效甲状腺刺激素（long-acting thyroid stimulator，LATS）、甲状腺刺激免疫球蛋白（thyroid-stimulating immunoglobulin，TSI），亦包括拮抗 TSH 作用或破坏 TSH 受体的 TRAb。它们可与 TSH 受体结合，通过刺激作用，诱发 Graves 病，在 95% 的 Graves 病人中可检出，有助于 Graves 病诊断及预后评价。

TRAb 测定的应用指征：①甲状腺功能正常，但伴有突眼者；②单侧突眼者；③怀疑为新生儿 Graves 病者；④抗甲状腺药物治疗后的预后判断。

Graves 的发病与 TRAb 的关系十分密切。患者血液中存在着长效甲状腺刺激物 TRAb，可与甲状腺细胞膜上的 TSH 受体结合，通过 AMP 级联反应途径增加碘离子的主动运输，从而调节甲状腺细胞生长、分化及激素合成和分泌。当早期甲亢 TSH 轻度偏低，而甲状腺激素在参考区间时，此时 TRAb 升高有助于甲亢的诊断。

TRAb 是一组多克隆抗体，作用在 TSH 受体的不同结合位点，可分为兴奋型和封闭型两类。兴奋型中有一类与 TSH 受体结合后，刺激甲状腺组织增生及 TH 的合成和分泌增多，称为甲状腺刺激抗体（thyroid-stimulating antibody，TSAb），为 Graves 病的主要自身抗体。未经治疗的 Graves 病患者，血抗甲状腺过氧化物酶抗体阳性检出率可达 80%~100%，尤其是 TSAb 为阳性，其具有早期诊断意义，对判断病情活动、是否复发亦有价值，还可作为治疗后停药的重要指标；TSAb 可通过胎盘导致新生儿甲状腺功能亢进，所以对新生儿甲状腺功能亢进有预测所用。TSAb 的升高与突眼相关，而与眼外肌受累无关；血清中可溶性 FAS（sFAS）升高与眼外肌受累相关而与突眼无关，所以测定血清中 sFAS 与 TSAb 可预测 Graves 眼病的病变发展进程。但由于 TSAb 测定条件复杂，临床上以抗甲状腺过氧化物酶抗体阳性视为 TSAb 阳性。另外，在 Graves 病患者中有 50%~90% 的患者甲状腺球蛋白抗体和（或）甲状腺过氧化物酶抗体阳性，但其滴度不如慢性淋巴细胞性甲状腺炎（桥本甲状腺炎）高。

（2）抗甲状腺微粒体抗体（thyroid microsomal antibody，TmAb）是甲状腺细胞质中微粒体的自身抗体，抗甲状腺过氧化酶抗体（thyroid peroxidase antibody，TPOAb）是甲状腺激素合成所必需的过氧化酶的自身抗体，而抗甲状腺球蛋白抗体（thyroglobulin antibody，TGAb）则是甲状腺滤泡胶质中甲状腺球蛋白的自身抗体。

学习笔记

在甲状腺功能完全正常的健康人(尤其是老年人)体内可检测出这3种抗体。在自身免疫型甲状腺病,如绝大多数慢性淋巴细胞性甲状腺炎(桥本甲状腺炎)、部分原发性甲状腺功能亢进患者体内,可出现显著升高。但非甲状腺自身免疫性病变,如1型糖尿病、Addison病、恶性贫血等,亦可见轻、中度升高。因此,在甲状腺功能紊乱诊断上,这些抗体检测无特殊价值。动态观察这些抗体特别是TPOAb水平,可了解自身免疫性甲状腺炎的病变进程,并辅助自身免疫性甲状腺炎的诊断。

(3) 甲状腺激素自身抗体(thyroid hormone autoantibody,THAA)可结合循环中的T_3、T_4,干扰其发挥作用,并对以类似物法检测FT_3和FT_4造成干扰。血液中存在THAA者,临床往往表现为甲减,但血清TSH及甲状腺激素水平(TT_3、TT_4)却升高。

思路5:rT3在Graves病试验诊断中的特点与注意事项

逆-三碘甲状腺原氨酸,即反T_3(reverse triiodothyronine,rT_3),无生物活性,是T_4在外周组织的降解产物,其血浓度的变化与T_3、T_4维持一定比例,尤其与T_4变化一致,可作为了解甲状腺功能的指标,反映甲状腺激素在体内代谢情况。Graves病初期或复发早期可仅有rT_3升高。在重症营养不良或某些全身性疾病时,rT_3明显升高,而TT_3明显降低,为诊断低T_3综合征的重要指标。另外在非甲状腺疾病,如心肌梗死、肝硬化、糖尿病、尿毒症、脑血管意外和一些癌症患者,血清中rT_3增加,T_3/rT_3比值降低,这一指标对上述疾病严重程度的判断、疗效观察及预后估计均有重要意义。

思路6:TRH兴奋试验在Graves病实验诊断中的特点与注意事项

促甲状腺激素释放激素(thyrotropin-releasing hormone,TRH)为下丘脑促垂体激素的一种,广泛分布于下丘脑以外的脑脊髓部分,可迅速促进腺垂体合成和释放贮存的促甲状腺激素(TSH)。甲亢时血清中T_3、T_4增高,反馈抑制TSH释放,故TSH的产生不受TRH兴奋。如静脉注射TRH 200~400μg(儿童按4~7μg/kg体重),分别测定注射前及注射后0.5小时(必要时可加测1小时和1.5小时)的血清TSH水平。正常阳性反应判断标准为:注射TRH后0.5小时,男性血清TSH较基础水平(注射前)升高3~9mU/L,女性升高4~12mU/L。升高值<2mU/L为阴性反应,表明垂体无足够合成和贮存TSH能力。若升高值远远超过正常阳性反应的上限,通常>25mU/L,称强阳性反应,提示垂体合成和贮存TSH能力异常活跃。阳性反应不在0.5小时出现,而在1小时和1.5小时才出现,则称延迟反应,表明垂体本身无病变,但因长期缺乏足够TRH刺激,TSH贮存减少。甲状腺病变所致的甲状腺功能亢进患者不仅TSH基础值低,而且垂体TSH贮存减少,注射TRH后血清TSH无明显升高。

应注意TSH无反应还可见于甲状腺功能"正常"的Graves眼病、垂体疾病伴TSH分泌不足等。本试验不良反应少,对冠心病或甲状腺功能亢进心脏病患者较T_3抑制试验更为安全。由于TSH测定的广泛应用,目前已很少用TRH兴奋试验来诊断Graves病,只在原因未明的单侧突眼或估计抗甲状腺药物治疗疗效并判断停药复发时偶尔采用。

思路7:甲状腺摄^{131}I率在Graves病实验诊断中的特点与注意事项

^{131}I摄取试验是利用甲状腺主动摄取浓集碘的功能,给受试者一定剂量^{131}I后,定时连续观察甲状腺区的放射性强度,以甲状腺摄取碘的速度(峰时间)和量(摄取率)间接反映其合成、分泌甲状腺激素的功能。^{131}I摄取试验诊断甲亢的符合率达90%,缺碘性甲状腺肿也可升高,但一般无高峰前移,必要时可做T_3抑制试验鉴别。由于TSH检测敏感度提高,甲状腺摄^{131}I率已不作为甲状腺功能亢进诊断的常规指标,但可用于鉴别不同病因的甲状腺毒症,如摄^{131}I率降低可能为破坏性甲状腺毒症(如亚急性甲状腺炎、无痛性甲状腺炎、产后甲状腺炎等);而Graves病、多结节性甲状腺肿伴甲状腺功能亢进等则表现为摄^{131}I率增高,摄取高峰提前。采取^{131}I治疗甲亢时,计算^{131}I放射剂量需要本试验。^{131}I摄取试验受多种食物及含碘药物(包括中药)的影响,如ATD、ACTH、可的松、溴剂、利血平、保泰松、对氨基水杨酸、甲苯磺丁脲等均使之降低;长期使

学习笔记

用避孕药使之升高，故测定前应停用上述药物 1~2 个月。甲状腺摄 ^{131}I 率还受许多疾病的影响，如肾病综合征时增高；应激状态、吸收不良综合征、腹泻时降低，孕妇和哺乳期患者禁行此项检查。正常人不同时间摄 ^{131}I 率如下：

(1) 2 小时吸 ^{131}I 率 10%~30%。

(2) 4 小时吸 ^{131}I 率 15%~40%。

(3) 24 小时吸 ^{131}I 率 25%~60%。

思路 8：T_3 抑制试验在 Graves 病实验诊断中的特点与注意事项

T_3 抑制试验是利用 T_3 对下丘脑 - 垂体 - 甲状腺调节轴的负反馈抑制作用，主要用于鉴别甲状腺肿伴摄 ^{131}I 率增高系由甲亢或非毒性甲状腺肿所致，亦可用于长期抗甲状腺药物治疗后，预测停药后复发可能性。方法：先测基础摄 ^{131}I 率后，口服 T_3 20μg，每天 3 次，连续 6 天（或甲状腺片 60mg，每天 3 次，连服 8 天），然后再测摄 ^{131}I 率。对比两次结果，正常人及单纯甲状腺肿患者摄 ^{131}I 率下降 50% 以上；甲状腺功能亢进患者不能被抑制，故摄 ^{131}I 率下降 <50%。但伴有冠心病、甲状腺功能亢进心脏病或严重甲状腺功能亢进患者应慎重选择应用本项试验，以免诱发心律失常、心绞痛或甲状腺功能亢进危象。

思路 9：TBG 测定在 Graves 病实验诊断中的特点与注意事项

血清甲状腺素结合球蛋白（TBG）为肝细胞合成的一种 α- 球蛋白，是血液中甲状腺激素的主要结合蛋白，约 70% 的 T_4 和 T_3 与其结合。TBG 浓度改变对 TT_3、TT_4 的影响十分显著。

为排除 TBG 浓度改变对 TT_4、TT_3 水平的影响，可用 TT_4（μg/L）/TBG（mg/L）的比值进行判断。若此比值在 3.1~4.5，提示甲状腺功能正常；比值在 0.2~2.0，应考虑存在甲减；而比值在 7.6~14.8 时，则应考虑为甲状腺功能亢进。

思路 10：Graves 病其他检测方法的应用

其他检测方法有游离甲状腺指数，包括甲状腺激素摄取率或 T- 摄取率（T-uptake rate，T-U）、T_3 摄取率及摄取比值（T_3 uptake rate & ratio，T_3- U）和 T_4 摄取率及摄取比值（T_4 uptake rate & ratio，T_4U）。

测定游离甲状腺指数不是直接测定 T_3 或 T_4，而是测定 TBG 未与甲状腺激素结合的部分，即未结合容量或剩余结合容量，间接评估甲状腺激素（TH）水平。如与 TT_3 和 TT_4 同时测定，主要用于消除 TBG 改变对血清 TH 水平的影响，用于评估 FT_3、FT_4 和 TBG 水平，甲状腺功能亢进症 T-U（摄取率）减少，摄取比值 <0.8。

【问题 5】Graves 病患者恢复情况如何进行判断？

Graves 病患者恢复情况一般显示血清 FT_4、FT_3 水平与治疗前相比已下降到参考区间内。TSH 水平稍有上升，但仍明显低于参考区间水平。在 Graves 病的药物治疗过程中，一般可观察到血 TSH 的以下 4 种变化：①血 TSH 逐渐升至正常：约占治疗 Graves 病患者的 50%；血 TSH 恢复至正常的时间不定，一般为 3~6 个月；血 TSH 迅速恢复正常说明药物治愈的可能性大；②血 TSH 持续降低：部分患者的 T_3 和 T_4 在药物治疗后数个月内达到正常，但血 TSH 长期≤0.1mU/L，这种情况提示药物治疗的疗效不满意，停药后复发的可能性大；③血 TSH 波动过大：有些 Graves 病患者的血 TSH 波动在 0.1~10mU/L 范围内，而临床不伴有甲状腺功能亢进或甲状腺功能减低表现，提示患者对抗甲状腺药物敏感，用药物治愈的可能性大，但需及时调整药物剂量；必要时可加用 TH 制剂（尤其是儿童患者）；④血 TSH 正常伴 TGAb 和（或）TPOAb 抗体明显升高：这种情况往往提示并发自身免疫性甲状腺功能减低的可能性大，不主张采用 ^{131}I 或手术治疗。

（段朝晖）

学习笔记

第九章 血液系统疾病的实验诊断

第一节 贫 血

当各种生理或病理原因导致单位容积血液中红细胞、血红蛋白量、血细胞比容低于参考区间低限时称为贫血(anemia),贫血是继发于多种疾病的一种临床表现。根据贫血患者的病史、症状、体征,选择必要的临床检验项目,观察检验结果的动态变化,可明确病因、判断疗效。在病理性贫血的病因中,以缺铁性贫血、巨幼细胞性贫血、溶血性贫血和再生障碍性贫血较为常见。

一、贫 血

病历摘要:

患者男,78岁。主因"咳嗽、痰中带血1个月,呼吸困难逐渐加重半个月"来院就诊。查体:贫血貌,甲床、黏膜苍白,胸部CT检查回报左肺门占位。收入住院并于1周内手术,术后病理回报考虑肺鳞状细胞癌。于术后第10天查血常规:RBC 3.89×10^{12}/L,Hb 121g/L,RDW 12.8%,Hct 0.38,MCV 96.7fl,MCH 31.1pg,MCHC 322g/L,WBC 11.43×10^{9}/L,Plt 414×10^{9}/L。微生物学检查:痰培养后鉴定为肺炎克雷白菌,给予抗生素治疗,病情未见明显好转。住院治疗期间不间断查血常规,动态观察检验结果:红细胞、血红蛋白进行性下降,白细胞由持续增高急转为降低,出现中性粒细胞核左移、中毒性颗粒。继之出现血小板减少。最后一次查血常规结果RBC 2.88×10^{12}/L,Hb 75g/L,RDW 20.8%,Hct 0.21,MCV 71.9fl,MCH 26.1pg,MCHC 338g/L,WBC 2.01×10^{9}/L,Plt 62×10^{9}/L;Ret 0.38%;真菌涂片与培养阳性,血培养阳性,患者因术后感染、多器官功能衰竭,抢救无效死亡。

【问题1】患者哪些实验室指标可判断贫血?导致该患贫血可能的原因是什么?

患者肺癌术后出现肺内感染,由局部感染转变成全身感染,感染持续未能控制,红细胞数、血红蛋白量、血细胞比容均低于参考区间低限,该患者出现了贫血。从检验结果的动态观察看到:红细胞、血红蛋白进行性减少,白细胞数由明显增高降至粒细胞缺乏。依据患者病史,术后肺内感染、微生物培养鉴定结果,该患主要考虑为感染因素导致的贫血为主。同时,患者为老年人,骨髓造血功能减弱,加之手术会有不同程度的失血,共同构成了贫血的原因。

思路:血液常规检查包括白细胞计数及白细胞分类,红细胞计数及红细胞相关参数,血红蛋白量测定,血小板计数及血小板相关参数。血细胞直方图及散点图是反映血细胞及血小板体积大小的频率分布图,分为WBC散点图、RBC直方图和Plt直方图。临床表现或血液常规检查,包括对RBC、WBC、Plt质量和数量的检查可确定有无贫血。

知识点

贫血的定义

贫血(anemia)是指单位容积血液中红细胞数或血红蛋白量或血细胞比容低于参考范围的低限,即成年男性红细胞 $<4.0\times10^{12}$/L、血红蛋白 <120g/L、血细胞比容 <0.42,成年女性红细胞 $<3.5\times10^{12}$/L,血红蛋白 <110g/L,血细胞比容 <0.37。

学习笔记

【问题 2】该患者血红蛋白 75g/L，属于哪种程度的贫血？贫血的程度分几级？

依据血红蛋白的水平判断贫血的程度，临床一般分为四级：血红蛋白 90~120g/L 为轻度贫血，60~90g/L 为中度贫血，30~60g/L 为重度贫血，<30g/L 为极重度贫血。根据患者检验报告单中 Hb 为 75g/L，判定为中度贫血，评价贫血严重程度有利于分析病情、指导治疗。在分析常规检查报告的结果时，应注意红细胞与血红蛋白的相关性，通常健康成人红细胞计数与血红蛋白含量约为 1∶3，二者大致呈平行关系，即 Hb 是 30g/L 时的红细胞一般约为 1.00×10^{12}/L，二者关系有利于贫血病因的分析。如再生障碍性贫血时，红细胞数与血红蛋白量多为平行减少；巨幼细胞性贫血时红细胞数的减少程度明显大于血红蛋白量减少；缺铁性贫血时血红蛋白量的减少程度明显大于红细胞数减少。

【问题 3】该患者 MCV 71.9fl，MCH 26.1pg，MCHC 338g/L，RDW 20.8%，如何进行贫血的形态学分类？该患者形态学分类属于哪种类型的贫血？

依据 MCV、MCH、MCHC 结果，判断该患者为单纯小细胞性贫血，依据 MCV 和 RDW 对贫血的形态学六分类判断该患者同时为小细胞非均一性贫血。

思路：贫血的形态学分类有两种，一种是依据平均红细胞体积（MCV）、平均红细胞血红蛋白量（MCH）、平均红细胞血红蛋白浓度（MCHC）进行贫血形态学的四分类，另一种是依据平均红细胞体积（MCV）和红细胞分布宽度（RDW）进行贫血形态学的六分类。该患者小细胞低色素性贫血，小细胞非均一性贫血，说明患者的红细胞有明显的大小不等。

知识点

贫血的形态学分类 -1

形态学分类	MCV（80~100fl）	MCH（27~32pg）	MCHC（320~360g/L）	常见病因
正细胞正色素性贫血	正常	正常	正常	再生障碍性贫血、急性失血性贫血、多数溶血性贫血
小细胞低色素性贫血	<80	<27	<320	缺铁性贫血、珠蛋白生成障碍性贫血、铁粒幼细胞贫血
单纯小细胞性贫血	<80	<27	正常	慢性感染、恶性肿瘤等
大细胞性贫血	>100	>32	正常	巨幼细胞贫血、恶性贫血、造血物质缺乏或利用不良

知识点

贫血的形态学分类 -2

RDW	MCV	贫血类型	常见病因
正常	正常	正细胞均一性贫血	再生障碍性贫血、急性失血性贫血
正常	>100	大细胞均一性贫血	肝病性贫血
正常	<80	小细胞均一性贫血	珠蛋白生成障碍性贫血
升高	正常	正细胞非均一性贫血	铁缺乏早期
升高	升高	大细胞非均一性贫血	巨幼细胞性贫血
升高	<80	小细胞非均一性贫血	缺铁性贫血

学习笔记

知识点

红细胞分布宽度(RDW)

RDW是红细胞大小变异的CV值,反映RBC体积大小变化的差别,参考范围为<14.9%,RDW越大则RBC的异质性越大,RBC体积大小不等。

【问题4】为什么检测网织红细胞,网织红细胞检查有何临床意义?

检测网织红细胞(reticulocyte,Ret)可判断骨髓红系造血功能盛衰,增生减低性贫血时网织红细胞减低,骨髓造血不良。贫血时要判断骨髓的增生情况,应检测网织红细胞。该患者网织红细胞降低(0.38%),说明骨髓红细胞系增生减低。

思路: Ret是反映骨髓造血功能的便捷指标,可间接反映骨髓增生情况。但Ret不能提供骨髓的形态学信息,直接判断骨髓的增生与否要做骨髓穿刺或骨髓细胞计数或骨髓病理。确定增生性贫血还是增生减低性贫血,有助于查找贫血的病因、监测治疗、判断骨髓移植后的骨髓造血功能。

知识点

判断增生性贫血的检验项目

1. 网织红细胞　Ret增多提示骨髓红细胞系增生活跃,见于溶血性贫血、急性失血等,出血停止后网织红细胞逐渐恢复正常;Ret减少:提示骨髓红细胞系的增生减低,见于再生障碍性贫血、溶血性贫血再生障碍危象、急性白血病、某些化学药物引起骨髓造血功能减退。

2. 骨髓细胞学检查　增生性贫血的骨髓象共同点表现为:①骨髓增生明显活跃;②粒系相对减少;③红系增多,以中幼红细胞和晚幼红细胞增多为主;④粒红比值减低;⑤巨核细胞及血小板无明显改变。

【问题5】如何进行贫血的病因分类?

贫血的病因大致分为红细胞生成减少、红细胞破坏过多和失血三大类。

思路:贫血的分类主要有三种,一是依据血细胞形态学分类,二是依据骨髓增生程度进行分类,三是依据贫血发生的病理生理学分类即病因分类。

知识点

贫血的病因分类

1. 骨髓生成障碍　由于骨髓病变导致的贫血,如再生障碍性贫血、范科尼(Fanconi)贫血。

2. 造血原料缺乏　由于生成红细胞的原料(铁、叶酸、维生素B_{12})缺乏导致的贫血,如缺铁性贫血、巨幼细胞性贫血。

3. 红细胞破坏　由于红细胞寿命缩短、骨髓造血失代偿而导致的贫血,如溶血性贫血、脾功能亢进。

4. 红细胞丢失　由于急性或慢性失血导致的贫血,如外伤出血、慢性胃溃疡出血。

【问题6】感染出现贫血,其病理原因有哪些?

该患者在术后数天内出现急性感染,感染时的致病因子抑制骨髓造血、机体产生IFN-α、IL-1、TNF等细胞因子诱发单核巨噬细胞系统活化,病原菌对红细胞的直接破坏可导致贫血。此外,老年人骨髓造血功能减弱、手术创伤等也是患者贫血的因素。

贫血的诊断并不困难,重要的是查找贫血的病因,临床医生应仔细询问病史,有无原发疾

学习笔记

病，检查必要的实验室项目来确定贫血的病因，依据病因选择不同的治疗方案。同时，在治疗过程中要监测血常规、网织红细胞等相关指标的变化，进行疗效观察及预后判定。

二、缺铁性贫血

缺铁性贫血（iron deficiency anemia，IDA）是体内铁摄入减少、铁丢失过多、铁需求增加引起体内铁储备耗竭，导致血红蛋白合成减少的贫血。临床表现由原发病和贫血两方面组成。IDA发病隐匿，其渐进的过程分三个阶段：铁耗竭期或称隐性缺铁前期、隐性缺铁期或称缺铁性红细胞生成期、缺铁性贫血期。通过临床检验诊断进行贫血的一般检查及铁代谢相关检查，可早期发现和诊断缺铁性贫血。

病历摘要：

患者男，58岁。主诉“心慌、活动后气短2个月，加重伴面色苍白、乏力1周”。患者于2个月前无明显诱因出现心慌、活动后气短，不影响日常活动，未在意。近1周来上述症状加重，伴有乏力，不能正常活动，家人诉其面色苍白。我院血常规报告：RBC 3.91×10^{12}/L，Hb 63g/L，RDW 18.7%，Hct 0.25，MCV 63.2fl，MCH 16.1pg，MCHC 255g/L。病程无发热，无黄疸，无咳嗽、咳痰，大小便正常，无黑便，体重无明显变化。既往因胃溃疡行胃大部切除术10年，无药物过敏史。查体：T 36.5℃，P 82次/分，R 20次/分，BP 136/80mmHg，贫血貌，皮肤黏膜无瘀点瘀斑，甲床、黏膜苍白。浅表淋巴结未触及，巩膜不黄。胸骨压痛阴性，双肺呼吸音粗，未闻及干湿啰音，心界不大，心率82次/分，律齐，无杂音及额外心音。腹平软，肝脾肋下未触及，双下肢无水肿。

【问题1】依据患者症状、体征及血液常规检查，最可能的诊断是什么？

患者初步诊断为中度贫血，形态学分类属于小细胞低色素性贫血，最可能的是缺铁性贫血。

思路：中年男性患者，胃大部切除术后10年，近2个月出现面色苍白、心慌、乏力，贫血貌，甲床、黏膜苍白。血常规报告RBC 3.91×10^{12}/L、Hb 63g/L、Hct 0.25、MCV 63.2fl、MCH 16.1pg、MCHC 255g/L，提示中度贫血，依据MCV、MCH、MCHC确定为小细胞低色素性贫血。小细胞低色素性贫血中常见的是缺铁性贫血，对于该患者诊断最可能为缺铁性贫血。

知识点

缺铁性贫血的常见病因

铁摄入减少：饮食不足、吸收障碍、胃手术后、胃肠道疾病。

铁丢失过多：胃肠道出血、消化性溃疡、痔疮、恶性肿瘤、口服非甾体类激素抗炎药、月经过多、出血性疾病等。

铁需求增加：妊娠及哺乳期妇女、婴幼儿。

【问题2】缺铁性贫血的诊断时应做哪些铁代谢检查？为什么？

为明确IDA，应判断机体是否缺铁及铁储备是否充足，需要进行铁代谢和铁储备的检查，包括血清铁（serum iron，SI）、血清铁蛋白（serum ferritin，SF）、血清转铁蛋白（serum transferrin，STF）、转铁蛋白饱和度（transferrin saturation，TS）、血清总铁结合力（total iron binding capacity，TIBC）、可溶性转铁蛋白受体（soluble transferrin receptor，sTfR）。

思路：正常情况下铁的消耗和补充处于动态平衡，机体铁含量保持稳定。铁补充主要来源于饮食。铁分布主要有四种方式即血清铁、血红蛋白铁、肌红蛋白铁和储存铁。血清中的铁一部分与血清转铁蛋白（STF）结合，成为血清铁蛋白（SF），另一部分呈游离状态，即为血清铁（SI）。

学习笔记

血清铁蛋白(SF)是反映机体储铁最敏感的指标。一般来说,在隐性缺铁前期或称铁耗竭期,Hb在正常范围内,因骨髓铁储备减少而最先检测到的常是血清铁蛋白减低,血清铁蛋白水平降低表明缺铁。血清铁(SI)由血清转铁蛋白(STF)运载,血清转铁蛋白(STF)与绝大部分的血清铁结合后将铁转运至需铁组织再将其释放,转铁蛋白自身结构不变。临床血清转铁蛋白常以血清转铁蛋白饱和度(TS)表示,即血清铁/血清总铁结合力 ×100%。凡能与100ml血清中全部转铁蛋白结合的最大铁量(饱和铁)称为总铁结合力(TIBC);可溶性转铁蛋白受体(sTfR)存在于血清或血浆当中,是组织受体的分离形式,在细胞表面上的转铁蛋白受体的数目反映了与之相关的细胞对铁的需求量。血清中的sTfR大约80%来源于早期的红细胞。

可见,铁代谢的实验室指标即血清铁(SI)、血清铁蛋白(SF)、血清转铁蛋白(STF)、转铁蛋白饱和度(TS)、总铁结合力(TIBC)、可溶性转铁蛋白受体(sTfR),可以帮助判断和评价铁在机体的含量,反映是否缺铁。

患者铁代谢检查:血清铁2.6μmol/L(↓),铁蛋白水平8.7ng/ml(↓),转铁蛋白饱和度21%(↓),总铁结合力84.4μmol/L(↑)。

【问题3】SI、SF、TS降低,TIBC升高,是否符合IDA的铁代谢变化? IDA时应选择哪些细胞化学染色?

铁代谢符合IDA实验室特点。

诊断IDA的可靠指标是通过铁染色,检查细胞内铁和细胞外铁,观察有无减少或缺如。因此需要通过骨髓穿刺行铁染色检查。

知识点

细胞内铁与细胞外铁

细胞内铁:观察100个中幼红细胞和晚幼红细胞计算出铁粒幼细胞的百分比。正常19%~44%。铁染色时幼红细胞内的铁蛋白呈蓝色颗粒状,这种幼红细胞称铁粒幼红细胞。正常约占幼红细胞的50%。若铁粒幼红细胞中铁粒在6个以上或围绕核周1/2以上,称为环形铁粒幼红细胞。

细胞外铁:铁染色时骨髓小粒中蓝绿色、实体感、有折光性的铁粒称为细胞外铁。正常人细胞外铁为(+)~(++),大多为(++)。

【问题4】IDA患者是否需要做骨髓细胞学检查?其骨髓象特点有哪些?

为了解缺铁性贫血时的骨髓代偿性造血情况,与其他贫血相鉴别,同时也为了获取骨髓细胞涂片标本做细胞内、外铁检查,有必要做骨髓穿刺显微镜下骨髓象分析。

知识点

缺铁性贫血的骨髓象特点

1. 骨髓增生明显活跃。

2. 红系增生,以中、晚幼红细胞增多为主。幼红细胞体积小、核染色质致密、胞浆少、偏蓝色、边缘不整齐,呈"核老浆幼"现象,成熟红细胞体积小、中央淡染区扩大。

3. 粒系相对减少,形态大致正常。

4. 粒红比值减低。

5. 巨核细胞、血小板可无明显异常。

学习笔记

患者骨髓象及血象形态学检查结果：①骨髓有核细胞增生活跃；②粒细胞系：增生活跃，占62%，分叶细胞比例增高，中、晚幼粒细胞增多；③红细胞系：增生活跃，占16.5%，以中晚幼红为主，形态：有核红细胞体积小，胞浆量少，成熟红细胞中心淡染区明显扩大；④淋巴细胞比例、形态正常；⑤全片找到巨核细胞10个，血小板成堆易见；⑥骨髓小粒造血面积正常，未见异常细胞（图9-1-1）。外周血细胞形态学示：成熟红细胞体积小，中心淡染区扩大，血小板成堆易见（图9-1-2）。骨髓细胞涂片铁染色结果：外铁阴性，内铁9%。

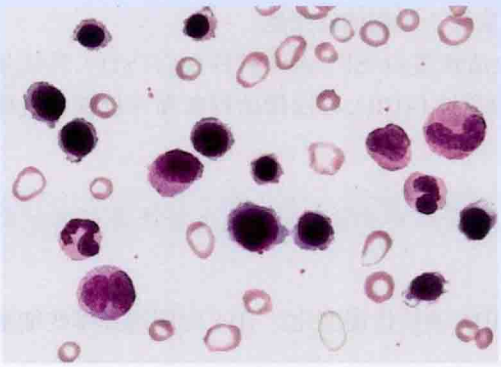


图9-1-1　缺铁性贫血骨髓象

图9-1-2　缺铁性贫血血象

【问题5】IDA需要与哪些疾病相鉴别？

需要与其他的小细胞低色素性贫血如骨髓增生异常综合征（MDS）中的铁粒幼细胞增多的难治性贫血（MDS-RAS）、珠蛋白生成障碍性贫血、慢性疾病导致的贫血相鉴别。

思路：通过铁代谢、骨髓细胞学检查、铁染色可以实现该患者的诊断及鉴别诊断。骨髓中环形铁粒幼细胞数＞幼红细胞的15%，并且细胞外铁增多，则是诊断铁粒幼细胞性贫血的重要依据。珠蛋白生成障碍性贫血属于遗传性疾病，常有家族史，体检可有脾大。血清铁、铁蛋白和转铁蛋白饱和度不降低。慢性病性贫血，由慢性感染、炎症、恶性肿瘤等疾病，由于铁利用障碍、骨髓造血功能受抑制、促红细胞生成素（EPO）生成减少、红细胞寿命缩短，继发贫血，病史较长、具有原发病的临床表现。在采集病史时要注意患者饮食、体重、大小便等方面，还应留意其他系统如呼吸、消化、泌尿生殖系统的症状和体征，必要时辅助相应影像学或肿瘤标志物检查。铁代谢变化表现为血清铁降低、总铁结合力不增加；铁蛋白和转铁蛋白受体升高，骨髓铁粒幼细胞减少。

知识点

缺铁与非缺铁性贫血的鉴别诊断

	SF	Tf	TIBC	SI	FEP	TS
缺铁性贫血	↓	↑	↑	↓	↑↑	↓
慢性病性贫血	↑	N/↓	↓	N/↓	↑	N/↓
地中海贫血	N/↑	N/↑	↑	N/↑	↑	N/↑
铁粒幼细胞性贫血	↑	↓	N	↑	↑	↑

注：N：表示正常；FEP：游离红细胞原卟啉

【问题6】根据上述检查，应作出怎样的诊断？诊断依据？

根据病史、临床表现和辅助检查结果，患者诊断为缺铁性贫血的依据是：

（1）心慌、活动后气短，面色苍白、乏力，胃大部切除术后。

学习笔记

(2) 血常规:RBC 3.91×10^{12}/L,Hb 63g/L,Hct 0.25,MCV 63.2fl,MCH 16.1pg,MCHC 255g/L;Ret 正常。

(3) 铁代谢:血清铁 2.6μmol/L(↓),转铁蛋白饱和度 <15%(↓),铁蛋白 8.7ng/ml(↓),总铁结合力 84.4μmol/L(↑),可溶性转铁蛋白受体 >8.5mg/L(↑),细胞外铁阴性,铁粒幼红细胞 9%(↓)。

(4) 符合缺铁性贫血骨髓象。

患者接受铁剂治疗,口服富马酸亚铁。8 天后,检查网织红细胞计数:Ret 0.5×10^{12}/L(↑),Ret% 6.89%(↑)。血常规:RBC 3.95×10^{12}/L,Hb 62g/L,RDW 17.9%,Hct 0.24,MCV 61.0fl,MCH 15.7pg,MCHC 257g/L。

【问题 7】患者治疗过程中如何监测网织红细胞计数和血常规? Hb 没有升高的原因是什么?

服用铁剂后,要监测铁剂治疗是否促进血红蛋白的合成。患者服药后网织红细胞上升,说明铁剂治疗有效。

Hb 多在治疗 2 周后开始升高,1~2 个月后恢复正常,此次检测血常规与铁剂治疗初始时间间隔较短,因此血红蛋白无明显上升。

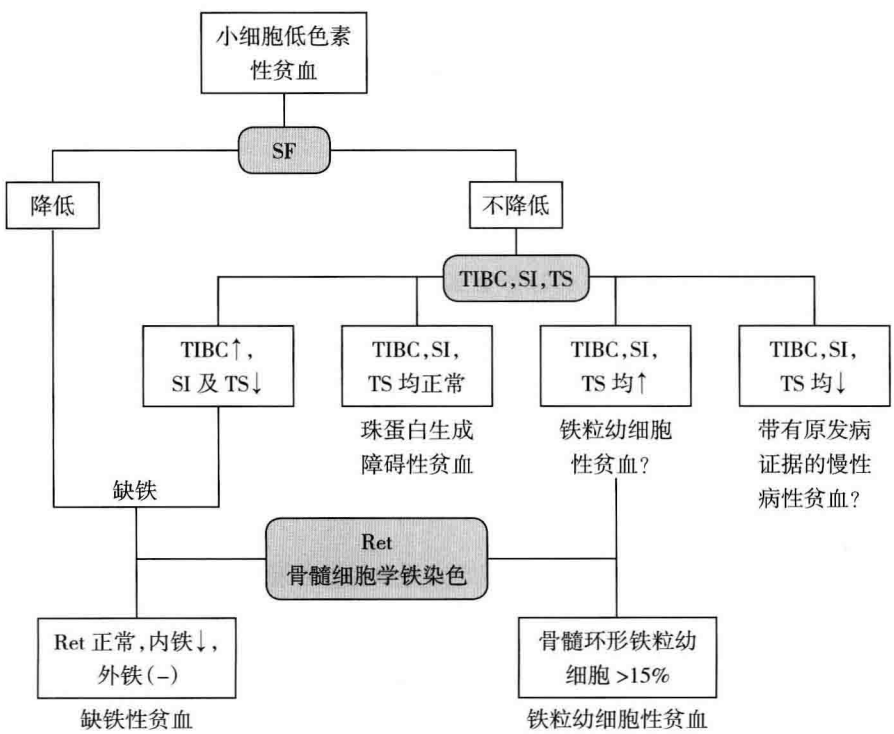
思路:血常规和网织红细胞检测成本低,损伤性较小,是目前临床上监测骨髓红细胞系造血功能的敏感指标,也用作疗效监测。补充铁剂后,机体首先增加铁储备,然后增加血红蛋白合成。因此,应在治疗后 8 天、16 天采血,动态监测网织红细胞计数和 Hb 结果。

知识点

缺铁性贫血的疗效观察

服用铁剂后,患者网织红细胞开始上升,7~10 天达高峰,可用于早期疗效判断。Hb 多在治疗 2 周后开始升高,1~2 个月后恢复正常。

【问题 8】IDA 的实验诊断思路



学习笔记

三、巨幼细胞贫血

巨幼细胞贫血(megaloblastic anemia,MA)是由于各种原因导致体内叶酸和(或)维生素 B_{12} 缺乏引起核酸代谢异常导致的贫血。实验室检查血清叶酸和(或)维生素 B_{12} 缺乏、细胞形态学表现为细胞不同程度的"巨幼变"是本病的特点。明确诊断并及时给予叶酸及维生素 B_{12} 治疗后,细胞形态和临床症状会得到明显改善。

病历摘要:

患者女,75 岁。主诉"面色苍白 4 个月,加重伴进食减少、乏力 1 个月余"。患者于 4 个月前自觉面色略苍白,未予诊治,1 个月前上述症状加重,并出现食欲不振及乏力,不能行走。我院血常规报告:RBC 1.05×10^{12}/L,Hb 42g/L,RDW 20.0%,Hct 12.8%,MCV 121.9fl,MCH 40.0pg,MCHC 328g/L,WBC 5.84×10^{9}/L,Plt 321×10^{9}/L。病程中无发热,无咳嗽、咳痰,无鼻出血、齿龈出血,无尿频、尿急、尿痛,饮食、睡眠欠佳,进食少,大便正常,体重无明显改变。既往高血压病史 15 年,糖尿病病史 10 余年,血压、血糖控制尚可,无药物过敏史。查体:T 36.8℃,P 100 次 / 分,R 20 次 / 分,BP 130/80mmHg,重度贫血貌,皮肤、黏膜无黄染,舌质绛红,似牛肉舌,舌乳头萎缩,甲床、黏膜苍白。浅表淋巴结未触及。胸骨无压痛,双肺呼吸音清,未闻及干湿啰音,心界不大,心率 100 次 / 分,律齐,无杂音及额外心音。腹软,无压痛、反跳痛及肌紧张,肝、脾肋下未触及,双下肢无水肿。神经系统检查四肢远端麻木、振动觉和位置觉减退。

【问题 1】该患者可能患有哪种疾病,需要与哪些情况相鉴别?

依据患者老年女性,有面色苍白、乏力,进食少。体格检查发现贫血貌,牛肉舌,伴神经系统表现,血常规检查 Hb 42g/L,MCV>100fl,MCH>32pg,MCHC 正常,WBC 及 Plt 正常,属于大细胞正色素性贫血。临床上大细胞正色素性贫血最常见于叶酸和(或)维生素 B_{12} 缺乏所引起的巨幼细胞贫血。应与溶血性贫血、红白血病、骨髓增生异常综合征相鉴别。

思路:实验室通过血常规检测得出的红细胞及相关参数(MCV、MCH、MCHC)、Hct 可判断出患者贫血属于大细胞正色素性贫血。结合患者年龄大、进食少、营养状态差以及神经系统异常,应首先考虑巨幼细胞贫血。巨幼细胞贫血属于叶酸和(或)维生素 B_{12} 缺乏所致,如果早期诊断,及时补充叶酸和(或)维生素 B_{12} 后贫血可逐渐恢复。

知识点

巨幼细胞贫血

巨幼细胞贫血是由于叶酸和(或)维生素 B_{12} 摄入减少、需求增多或利用障碍,引起血细胞脱氧核糖核酸(DNA)合成障碍,所导致的一种大细胞性贫血。幼红细胞巨幼变、巨晚幼及杆状核粒细胞、巨核细胞多分叶是本病的骨髓象特点。

【问题 2】形态学明确大细胞贫血中的巨幼细胞贫血后,应选择哪些检查?为什么?

形态学明确巨幼细胞贫血后,应选择叶酸 / 维生素 B_{12} 测定,这也是进一步明确诊断及治疗用药的需要。

思路:叶酸和(或)维生素 B_{12} 造血原料缺乏是导致巨幼细胞贫血的根本原因,在巨幼细胞性贫血的诊断中要有叶酸和(或)维生素 B_{12} 缺乏的证据。

该患者血清维生素 B_{12} 8.10pmol/L(↓),叶酸 12.72nmol/L。

学习笔记

【问题 3】叶酸和维生素 B_{12} 代谢的临床特点？

叶酸缺乏 3 周后，可发生血清叶酸水平降低，继而出现中性粒细胞分叶过多、大椭圆形红细胞增多、骨髓细胞呈巨幼改变，4~5 个月后可出现贫血。

体内维生素 B_{12} 储备时间较长，缺乏多需数月或数年后才会导致贫血。

思路：对于素食、胃肠道疾患、婴幼儿不能及时增添辅食、老年人食欲减退、各种原因引起的营养不良人群出现红细胞数、血红蛋白量、红细胞比容低于参考区间低限时，应考虑到发生叶酸/维生素 B_{12} 缺乏的可能性，为避免巨幼细胞贫血的发生，要检测体内的叶酸/维生素 B_{12} 含量，及时给予补充。

知识点

叶酸和维生素 B_{12} 的检测意义

叶酸的机体储备有限，并且机体本身不能合成叶酸，所需叶酸主要依靠外源性摄入。血清叶酸水平降低提示近期叶酸缺乏，而检测出贫血和细胞形态巨幼改变则提示叶酸缺乏已有 4 个月以上。血清叶酸测定容易受到机体摄入富含叶酸饮食的影响，红细胞叶酸能够比较稳定地反映体内叶酸的储备量。

维生素 B_{12} 又称氰钴胺，由于体内储备时间较长，检测出降低常提示维生素 B_{12} 缺乏已有多年。素食者及胃肠道疾病的患者易出现维生素 B_{12} 缺乏。

【问题 4】在初步诊断巨幼细胞贫血后，是否有必要做骨髓细胞学检查？巨幼细胞贫血的骨髓象有何特点？

通过骨髓穿刺获取骨髓标本，瑞氏染色后显微镜下骨髓细胞学检查，可以明确巨幼细胞贫血的诊断，了解粒、红二系巨幼变程度，排除其他原因的增生性贫血。

思路：巨幼细胞贫血是由于机体对叶酸和维生素 B_{12} 摄入不足、吸收不良、需求量增加或排泄量过多，导致叶酸缺乏引起脱氧胸腺嘧啶核苷酸合成减少；导致维生素 B_{12} 缺乏引起四氢叶酸生产障碍，影响脱氧胸腺嘧啶核苷酸的形成。因此叶酸和维生素 B_{12} 缺乏时，核酸代谢障碍，幼红细胞 DNA 合成受影响，细胞增殖速度明显减慢，S 期和 G1 期明显延长，幼红细胞因分裂障碍而胞体明显增大，核染色质疏松，形成巨幼细胞，出现巨幼细胞贫血；累及粒细胞和巨核细胞也呈巨幼变。

知识点

巨幼细胞贫血的骨髓象特点

1. 骨髓增生明显活跃。

2. 红系增生，以中、晚幼红细胞增多为主，可见巨早幼红、巨中幼红及巨晚幼红细胞，成熟红细胞大小不等，可见巨红细胞、大红细胞、浓染红细胞及嗜多色性红细胞。

3. 粒系相对减少，可见巨晚幼和巨杆状核粒细胞，可见核分叶增多的中性粒细胞。

4. 粒红比值减低。

5. 巨核细胞多分叶，可见巨大血小板。

该患者骨髓细胞学检查：①骨髓有核细胞增生活跃；②粒细胞系：增生活跃，占 62%，分叶过多的中性粒细胞比例增高，中、晚幼粒细胞增多；③红细胞系：增生活跃，占 32%，有核红细胞巨幼变，巨幼红细胞占 6%，形态：幼红细胞胞体大，核染色质疏松，可见花瓣核、双核幼红细胞，成熟红细胞大小不等；④铁染色：外铁 ++，内铁 44%；骨髓活检：骨髓小粒造

学习笔记

血面积80%，骨髓有核细胞增生明显活跃，粒系比例大致正常，部分细胞可见巨幼变。红系比例增高，以中晚阶段细胞为主，各阶段细胞均可见明显的巨幼变（图9-1-3）。

外周血细胞形态学报告：淋巴细胞比例增高，中性粒细胞核分叶过多，成熟红细胞大小不等，以大细胞为主，血小板散在少见（图9-1-4）。

图9-1-3　巨幼细胞贫血骨髓象

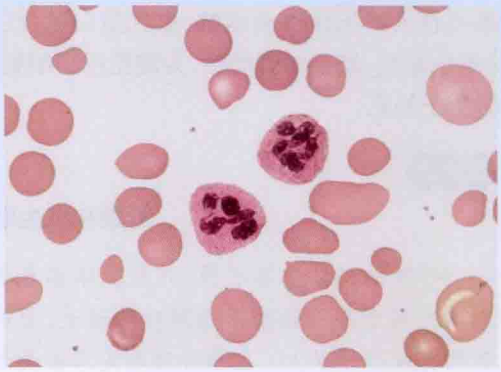


图9-1-4　巨幼细胞贫血血象

【问题5】伴有胆红素增高的巨幼细胞贫血患者，应选择哪些实验诊断项目来排除其他原因的贫血？

有的巨幼细胞贫血因无效造血致患者胆红素升高，尿胆原排出增加，需要行尿常规和胆红素检测。同时，还需排除胆红素增加的溶血性贫血，血浆游离血红蛋白（FHb）和血清结合珠蛋白（Hp）有助于初步检查是否存在溶血。

思路：若患者贫血同时伴轻度胆红素升高及尿胆原（+），应注意与溶血性贫血的鉴别：若血清酸化甘油溶解试验、抗人球蛋白试验（Coombs' test）均为阴性，骨髓检查见红系巨幼变，基本可诊断MA。有的巨幼细胞贫血患者RBC、Hb降低同时伴WBC和Plt减低，应与再生障碍性贫血、骨髓增生异常综合征（MDS）相鉴别，此时应根据骨髓活检或骨髓细胞学检查结果来判别：若骨髓活检见骨髓增生低下或重度低下，非造血细胞增多，骨髓象显示红、粒、巨核三系细胞增生低下，则再生障碍性贫血可能性大；若见到细胞病态造血、红系"巨幼样变"，并能除外其他原因的贫血，则MDS可能性大。

该患者总胆红素74.7μmol/L，间接胆红素53.3μmol/L，直接胆红素21.4μmol/L。血浆游离血红蛋白（FHb）和血清结合珠蛋白（Hp）均正常。溶血试验：血清酸化甘油溶解试验可排除遗传性球形细胞增多症，抗人球蛋白试验直接反应、抗人球蛋白试验间接反应阴性可以排除自身免疫性溶血性贫血。

【问题6】哪些情况下进行叶酸或维生素B_{12}试验性治疗？

对临床怀疑巨幼细胞贫血但没有条件测定叶酸或维生素B_{12}时，可用叶酸或维生素B_{12}试验性治疗，4~6天后网织红细胞上升，考虑为叶酸或维生素B_{12}缺乏。

思路：叶酸或维生素B_{12}试验性治疗的方法与判断

（1）叶酸试验性治疗：每日口服小剂量叶酸200~500μg，监测网织红细胞计数和Hb含量，如在10天内网织红细胞上升，血象好转，可考虑叶酸缺乏。

（2）维生素B_{12}试验性治疗：1~2μg/d连续肌注7日，然后加用小剂量叶酸连续7日。在此期间隔日复查红细胞计数、血红蛋白量、网织红细胞计数。若维生素B_{12}用药期间红细胞计数、网织红细胞计数增加，应用叶酸后再次增加，说明叶酸和维生素B_{12}均缺乏，称为试验性治疗

学习笔记

阳性。叶酸或维生素 B_{12} 试验性治疗可帮助区分叶酸或维生素 B_{12} 缺乏的 MA，是诊断 MA 的重要依据。

知识点

叶酸和维生素 B_{12} 试验性治疗的临床意义

试验性治疗后，红细胞计数、血红蛋白量、网织红细胞计数增加：提示叶酸、维生素 B_{12} 均缺乏。

试验性治疗后，红细胞计数、血红蛋白量、网织红细胞计数不增加：提示贫血不是因叶酸、维生素 B_{12} 缺乏引起。

维生素 B_{12} 用药期间红细胞计数、网织红细胞计数增加显著，服用叶酸后不再明显增加：提示单纯维生素 B_{12} 缺乏。

该患者接受补充维生素 B_{12} 和叶酸治疗，5 天后，复查血常规：RBC 3.25×10^{12}/L，Hb 53g/L，RDW 18.1%，Hct 24.1%，MCV 74.2fl，MCH 16.3pg，MCHC 220g/L。网织红细胞计数：Ret 0.3×10^{12}/L（↑），Ret% 8.89%（↑）。

【问题 7】Ret 和 Hb 检查在巨幼细胞贫血治疗中的意义？

Ret 和 Hb 是监测维生素 B_{12} 和叶酸治疗是否有效的实验室指标。治疗开始后，患者 Ret 在 4~6 天可见上升，10 天左右达高峰，骨髓细胞巨幼变也迅速改善，伴 Hb 的升高。治疗有效的患者在 1~2 个月内恢复正常。若病情恢复不满意，应注意查找原因并给予纠正，如伴有缺铁，应补充铁剂。

【问题 8】巨幼细胞贫血患者是否有必要检查铁代谢指标？

如前所述，当素食者、胃肠道疾患、婴幼儿不能及时增添辅食、老年人、各种原因引起的营养不良人群出现红细胞数、血红蛋白量、红细胞比容低于参考区间低限时，应考虑到发生叶酸 / 维生素 B_{12} 缺乏的可能性，同时也应高度重视患者是否同时合并有铁剂的缺乏。当巨幼细胞贫血患者合并铁缺乏导致缺铁性贫血时，称为双相贫血。此时，患者体内红细胞会出现除正常体积大小外的小细胞群红细胞和大细胞群红细胞，在血常规检测时，会出现红细胞直方图的变化即出现“双峰”（图 9-1-5），如果早期发现双相贫血，补充叶酸 / 维生素 B_{12} 的同时，给予补充铁剂，贫血会及时、有效地得以纠正。

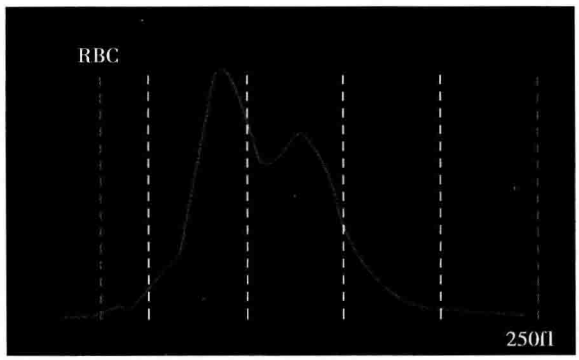
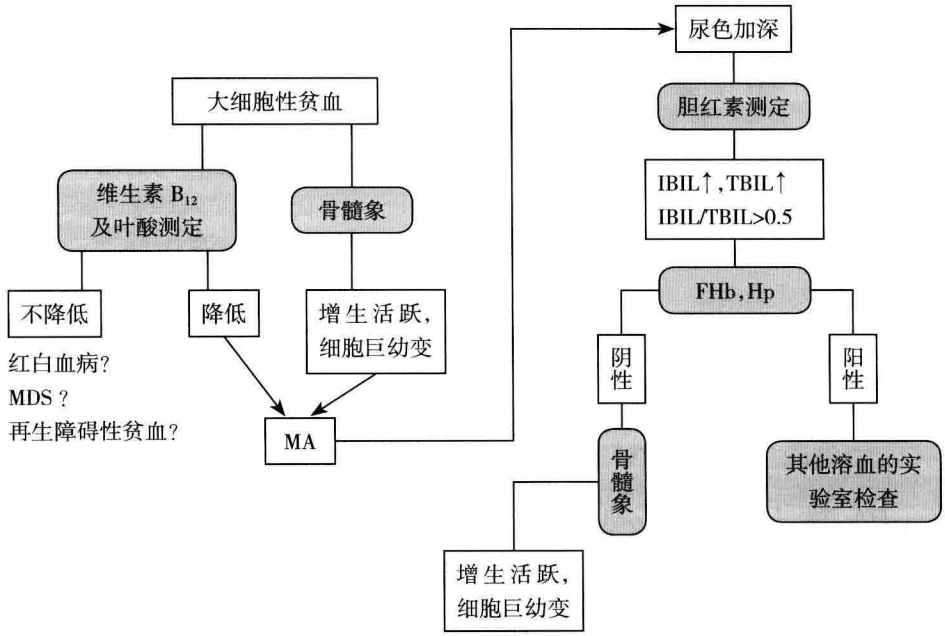


图 9-1-5　巨幼细胞贫血合并缺铁性贫血的红细胞直方图

学习笔记

【问题 9】巨幼细胞贫血的实验诊断思路。



MA 伴发的无效造血

叶酸和(或)维生素 B_{12} 测定、骨髓细胞学检查是明确诊断巨幼细胞贫血的重要依据。国外对该病的诊断，还需要叶酸或维生素 B_{12} 的试验性治疗。

四、溶血性贫血

溶血性贫血(hemolytic anemia，HA)是由于红细胞内在缺陷(膜缺陷、酶缺陷、珠蛋白异常)及红细胞外在因素异常导致红细胞生成减少及破坏增加，超过骨髓造血的代偿能力而发生的贫血。通过临床检验诊断进行溶血性贫血的一般检查、筛查试验和病因确证试验的结果分析，可以判断贫血患者是否为溶血性贫血，血管外溶血或是血管内溶血，哪种病因所致的溶血性贫血，从而为临床的诊断、鉴别诊断和病因治疗提供客观依据。

病历摘要：

患儿女，5 岁。皮肤、巩膜黄染 20 天就诊。20 天前其父母发现其皮肤、巩膜黄染，间断性腹胀、腹痛。病程中无发热，无恶心、呕吐，无腹泻，伴乏力、盗汗，平时不喜油腻食物，尿色为透明淡红色，大便正常。既往无肝炎家族史，无药物过敏史。查体：T 36.7℃，P 90 次/分，R 20 次/分，BP 90/60mmHg，全身皮肤、巩膜轻度黄染，无皮疹及出血点。浅表淋巴结未触及。腹软，无压痛，肝肋下未触及，脾肋下 3.5cm，质地中等。

【问题 1】患儿以皮肤、巩膜黄染发病，初步诊断是什么？应考虑哪些原因？

通过上述问诊与查体，可初步诊断为黄疸。

患儿年幼、黄疸伴脾大，考虑先天性疾病的可能性较大。应考虑的原因可能有溶血性黄疸、肝细胞性黄疸和梗阻性黄疸。

知识点

黄疸定义

黄疸(jaundice)是由于血清中胆红素升高导致皮肤、巩膜、黏膜发黄的症状和体征。正

常人胆红素最高为17.1μmol/L；胆红素在17.1~34.2μmol/L时临床不易察觉，称为隐性黄疸；超过34.2μmol/L时出现黄疸。根据胆红素增高的性质，黄疸可分为溶血性黄疸、肝细胞性黄疸、梗阻性黄疸。

知识点

溶血性黄疸、肝细胞性黄疸、梗阻性黄疸

溶血性黄疸：由于红细胞自身的内在缺陷或红细胞外在因素的原因，使体内红细胞急性或慢性破坏，释放大量的血红蛋白，致使血浆中非结合胆红素（UCB，IBIL）含量增多，超过肝细胞的处理能力的黄疸称为溶血性黄疸。

肝细胞性黄疸：由于肝细胞的损伤，对胆红素摄取、结合和排泄功能降低，导致血中IBIL增加，未受损的肝细胞仍能将IBIL转变为结合胆红素（CB，DBIL），因肝细胞肿胀和肝小叶结构破坏，致使DBIL不能正常地排入胆管而反流入血，导致血中DBIL也同时增加的黄疸称为肝细胞性黄疸。

梗阻性黄疸：由于各种原因造成胆道阻塞，阻塞上方压力升高，胆管扩张，导致小胆管与毛细胆管破裂，胆汁中的结合胆红素（DBIL）反流入血的黄疸称为梗阻性黄疸。

【问题2】为确定黄疸的原因，应进行哪些实验室检查？

为明确黄疸是由溶血引起，排除肝细胞性黄疸、梗阻性黄疸，首先应进行血常规、网织红细胞、肝脏功能、血红素代谢和尿常规检查。

思路：由于引起黄疸的原因大致有以下三类：红细胞破坏、肝细胞损伤和胆道阻塞胆汁淤积。因此，实验室检查应围绕以上三方面来选择检验项目，达到诊断和鉴别诊断的目的。溶血方面的项目首先可选择血常规判断是否有贫血；检查网织红细胞判断骨髓的增生情况，因为溶血性贫血是增生性贫血的骨髓象；选择肝脏功能可了解黄疸是否为肝脏损伤的原因；肝脏功能检查中的碱性磷酸酶、总胆汁酸、r-转肽酶有助于判断有无胆道阻塞；血清胆红素代谢检查结合尿常规中的尿胆原和尿胆素可判断黄疸时的胆红素代谢情况。

知识点

三种黄疸类型的检测项目及结果

项目	溶血性黄疸	肝细胞性黄疸	梗阻性黄疸
TBIL	增加	增加	增加
DBIL	正常	增加	明显增加
DBIL/TBIL	<0.2	0.2~0.5	>0.5
BIL	−	+	++
UBG	+	+−	−
ALT、AST	正常	明显增高	增高
GGT	正常	增高	明显增高
ALP	正常	增高	明显增高
ALB	正常	降低	正常

患儿血常规结果：RBC 3.16×10^{12}/L，Hb 96g/L，RDW 20.7%，Hct 28.2%，MCV 89fl，MCH 30pg，MCHC 340g/L。尿常规结果：尿胆原+。肝功结果：TBIL 72.0μmol/L，IBIL 58.7μmol/L，AST、ALT、GGT、ALP、白蛋白水平正常。

学习笔记

【问题 3】根据实验室检测结果，该患黄疸的类型是什么？可疑何种诊断？

患儿为溶血性黄疸。高度怀疑溶血性贫血。

思路：HA 是由于 RBC 破坏速率增加或寿命缩短，超过骨髓代偿能力而发生的贫血。血循环中衰老的红细胞经单核巨噬细胞系统的破坏和分解，成为胆红素、铁和珠蛋白。此种胆红素称为游离胆红素或非结合胆红素，占总胆红素的 80%~85%，与血清白蛋白结合而输送，不溶于水，不能从肾小球滤出，故尿液中不出现游离胆红素。UCB 通过血循环运输至肝内，在血窦与白蛋白分离并被肝细胞摄取，经过一系列过程后转化成 CB，CB 为水溶性，可通过肾小球滤过从尿排出。

溶血情况下，由于大量红细胞的破坏，形成大量的 UCB，超过了肝细胞的摄取、结合和排泌功能，另外，由于溶血造成的贫血、缺氧和红细胞破坏产物的毒性作用，削弱了肝细胞对胆红素的代谢功能，使 UCB 在血中潴留，超过正常的水平而出现黄疸。

知识点

溶血性贫血的诊断要点

溶血性贫血是指由于某种原因导致红细胞病理性破坏增加，寿命缩短，超过了骨髓代偿造血能力所引起的一类贫血。

诊断要点：

1. 个人史　有 HA 家族史，或感染、药物、输血史，以及既往发作史。

2. 临床表现　有程度不等的贫血、黄疸和脾肿大等。黄疸一般为轻度，伴有贫血。急性溶血时可有发热、寒战、头痛、腰痛，血红蛋白尿（尿色呈酱油色或茶色）；慢性溶血多为先天性，脾肿大。

3. 判断是否溶血的一般性试验　外周血 RBC 和 Hb 有不同程度降低，网织红细胞增加、骨髓红细胞系增生旺盛。胆红素检查 TB 升高，以 UCB 为主。尿液中尿胆原增加，但无胆红素。急性溶血时尿中有 Hb 排出，隐血试验阳性。

4. 判断溶血部位和原因的试验　血浆游离血红蛋白增加、血清结合珠蛋白减少，尿血红蛋白或尿含铁血黄素试验阳性、尿胆原阳性等一般筛查项目和针对不同病因的溶血试验可出现阳性结果。

【问题 4】溶血性贫血的一般性检查项目及意义是什么？

为判定贫血是否为溶血所致，首先需要做溶血性贫血的一般检查，目的是筛选溶血性贫血，找到红细胞破坏增加和红细胞生成时间缩短的依据，常用的实验有：血浆游离血红蛋白测定、血浆结合珠蛋白测定、血浆高铁血红素白蛋白测定、尿含铁血黄素试验（Rous 试验）、红细胞寿命测定，其他的实验有 LDH 活性测定、血清胆红素测定、尿胆原测定。

通过溶血的一般实验室检查项目，还可判断溶血的部位，判断属于血管外溶血还是血管内溶血。

思路：HA 的诊断主要依据实验室检查。实验室检查在溶血性贫血的诊断过程中有三个目的：确定溶血的证据、确定溶血的部位及确定溶血的病因。

如果怀疑患者为 HA，应收集确定溶血的证据，包括：①有关红细胞破坏增加的检查：血浆游离血红蛋白增加，间接胆红素及尿胆原增加，血清结合珠蛋白减少，血红蛋白尿或含铁血黄素尿，红细胞畸形或破碎红细胞，乳酸脱氢酶升高；②红细胞寿命缩短的检查：^{51}Cr 标记红细胞，其半衰期缩短，但由于此项检查用到放射性核素并且结果报告周期长，在临床上并不常用；③有关红细胞代偿性增生的检查：网织红细胞增多，外周血出现幼红细胞，骨髓幼红细胞明显增多。

学习笔记

知识点

溶血性贫血的筛查试验

红细胞生成 → 1. ^{51}Cr 标记红细胞寿命↓

红细胞破坏 → 2. 乳酸脱氢酶活性↑

→ Hb
- → Hb 游离在血浆中 → 3. 血浆游离 Hb↑
- → Hb 浓度 > 肾阈值 → 4. 血红蛋白尿(+)
- → 与珠蛋白结合后被运输到肝脏分解 → 5. 血清结合珠蛋白↓
- → 一部分 Hb 转变为高铁 Hb + 白蛋白 → 6. 高铁血红素白蛋白(+)
- → Hb 被肾小管上皮细胞重吸收，在细胞内代谢成含铁血黄素，随细胞脱落至尿中，铁染色(+) → 7. 铁染色(+)

→ 8. 血清胆红素↑

→ 9. 尿胆原↑

知识点

溶血性贫血的骨髓象特点

1. 骨髓增生明显活跃。

2. 红系明显增多，以中、晚幼红细胞增多为主，可见嗜多色性红细胞、豪焦小体、卡波环、双核红细胞，成熟红细胞大小不等，可见浓染红细胞。

3. 粒细胞相对减少，各阶段细胞形态大致正常。

4. 粒红比值减低。

5. 巨核细胞及血小板可无明显变化。

该患者实验室结果：

血浆游离血红蛋白及血清结合珠蛋白正常，含铁血黄素尿试验阴性。

网织红细胞计数：Ret 0.4×10^{12}/L(↑)，Ret% 12.57 %(↑)。乳酸脱氢酶 227U/L。

骨髓细胞学：①骨髓有核细胞增生活跃；②粒系减少，占 28%，各阶段粒细胞比例减低，形态无明显改变；③红系增多，占 69%，易见球形红细胞及多染红细胞；④淋巴细胞比例及形态正常；⑤全片共见巨核细胞 134 个，血小板成堆易见；⑥骨髓活检见骨髓小粒造血面积正常；⑦铁染色外铁 ++，内铁 80%，未见环形铁粒幼红细胞(图 9-1-6)。

外周血细胞形态学检查报告：成熟红细胞大小不等，以小红细胞为主，可见球形红细胞，中心淡染区消失，比例约 21%(图 9-1-7)。

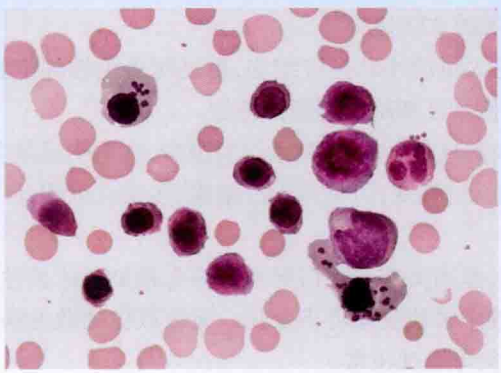


图 9-1-6　溶血性贫血骨髓象

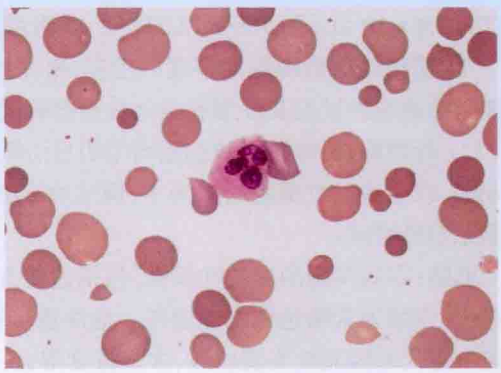


图 9-1-7　溶血性贫血血象

学习笔记

【问题 5】该患属于血管内溶血还是血管外溶血？

根据患者血常规、胆红素、网织红细胞、骨髓细胞学以及溶血的一般性检查，可以确定为溶血性贫血。血浆游离血红蛋白及血清结合珠蛋白正常，含铁血黄素尿试验阴性，脾大、无血红蛋白尿，提示为血管外溶血。

知识点

血管内溶血和血管外溶血

按照溶血发生的部位，RBC 在血循环中被破坏，称为血管内溶血，临床表现较为明显，出现血红蛋白血症（hemoglobinemia）、血红蛋白尿（hemoglobinuria）和含铁血黄素尿（hemosiderinuria）；RBC 在单核 - 巨噬细胞系统中被破坏，称为血管外溶血，主要发生在脾脏，临床表现较轻，不出现血红蛋白尿。

【问题 6】患者属血管外溶血中的哪种疾病，选择哪些试验来帮助诊断？

该患者幼年起病，血涂片发现球形红细胞约占 21%，骨髓检查见到大量球形红细胞，最可能的疾病是遗传性球形细胞增多症。可选择红细胞渗透脆性试验来筛查，选择红细胞酸化溶解试验来确证。

知识点

遗传性球形细胞增多症

遗传性球形细胞增多症（hereditary spherocytosis，HS）是一种红细胞膜先天性缺陷所致的溶血性贫血。红细胞膜骨架蛋白异常不能维持正常细胞形态，出现的球形红细胞其细胞柔韧性和变形性降低，导致易在脾脏破坏出现溶血。骨髓及外周血中的小球形红细胞（正常人 <5%）是本病的诊断依据，红细胞渗透脆性试验是 HS 最重要的筛查试验，红细胞酸化溶解试验是确证试验。

学习笔记

患者红细胞渗透脆性试验：开始溶血 6.4g/L（↑），完全溶血 4.0g/L（↑），提示红细胞渗透脆性增加。红细胞酸化甘油溶解试验阳性，血浆游离血红蛋白 21.0mg/L。抗人球蛋白直接反应和抗人球蛋白间接反应均为阴性。患者父母红细胞渗透脆性试验均正常。

【问题 7】临床诊断为遗传性球形红细胞增多症的依据有哪些？

（1）临床表现：贫血、黄疸、脾大。

（2）贫血的依据：血常规 Hb 96g/L，RDW 20.7%，MCV 89fl，MCH 30pg，MCHC 340g/L。

（3）溶血的依据：胆红素结果：TBIL 72.0μmol/L，IBIL 58.7μmol/L。尿胆原 +。网织红细胞计数：Ret 0.4×10^{12}/L（↑），Ret% 12.57%（↑）。乳酸脱氢酶 227U/L（↑）。

（4）遗传性球形细胞增多症的依据：血涂片见大量的小球形红细胞，易见嗜多色性红细胞。红细胞渗透脆性试验及红细胞酸化甘油溶解试验提示红细胞渗透脆性增加。

（5）骨髓检查：骨髓有核细胞增生明显活跃，粒红比值 0.3 : 1。粒系相对减少，红系明显增多，占 69%，以中晚幼红细胞增多为主，偶见幼红细胞巨幼样变，可见球形红细胞，多染红细胞，巨核细胞无明显增减。

思路：本病发病的异质性极强，包括遗传方式、基因突变和蛋白异常。多为常染色体显性方式遗传，少数为常染色体隐性遗传。显性遗传家族中多代受累者不少见。无家族史的散发病例可能由当代基因显性突变所致，多呈重度溶血，而父母表现正常。

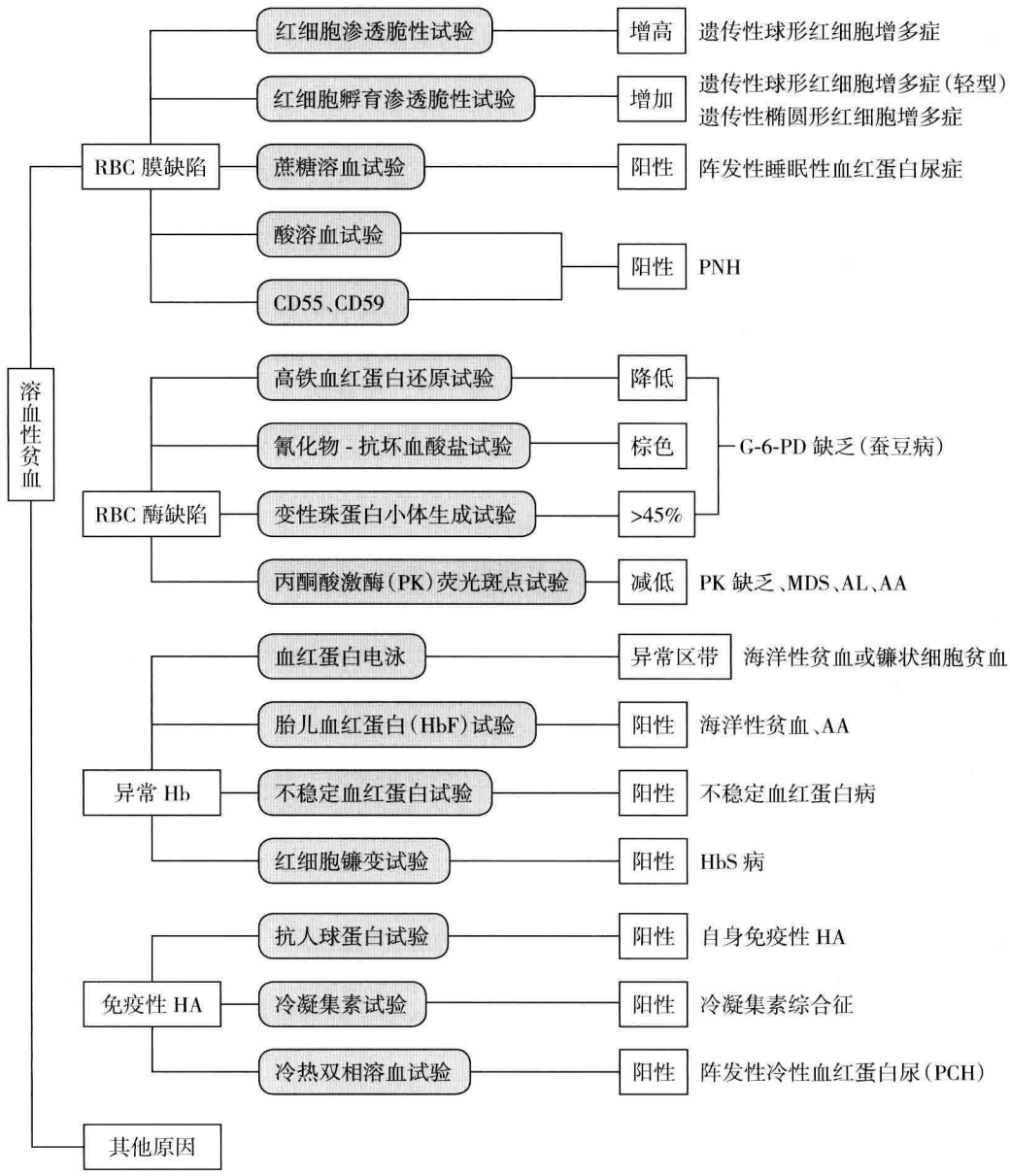
【问题 8】溶血性贫血的病因有哪些？鉴别诊断应做哪些实验室检查？

溶血性贫血按病因大体分为红细胞膜缺陷、红细胞酶缺陷、珠蛋白结构异常和合成障碍、免疫性、微血管病性溶血性贫血、物理或机械因素、感染因素、获得性膜缺陷及脾功能亢进。诊断时应选择相应的筛查试验或确证试验。

思路：HA 是由不同病因导致的一组疾病，分析溶血原因，因病而异制订治疗方案，可及时纠正贫血和黄疸。如果 HA 病因没有及时发现，贫血未能及时得到纠正，则患者黄疸和贫血会进一步加重，长期的高胆红素血症可并发胆石症和肝功能损害，并且全身的贫血症状会逐渐加重。即使通过对症治疗暂时缓解黄疸，也无法完全消除黄疸和贫血的影响。因此，探查 HA 病因对于诊断 HA 和后续治疗尤为重要。

知识点

溶血性贫血病因实验室检查的选择与主要临床意义



对于黄疸患者，首先选择检验项目来鉴别是什么原因引起的黄疸：是溶血性黄疸？肝细胞性黄疸？还是梗阻性黄疸？当考虑为溶血性黄疸，应首先选择溶血一般检验项目确定有无溶血？是血管内溶血，还是血管外溶血？应做血常规检查确定是单纯的溶血性疾病，还是溶血性贫血？进一步的检查是选择实验项目来判断溶血的原因：是红细胞内在原因，还是红细胞外在原因？内在原因中是红细胞膜异常？酶异常？还是血红蛋白异常？外界原因是免疫因素、理化因素？还是药物因素或感染因素？可见，实验室检查在明确黄疸病因、明确溶血部位、明确溶血性贫血病因中具有不可缺少的临床意义。

五、再生障碍性贫血

再生障碍性贫血（aplastic anemia，AA）是由于物理、化学及生物等原因导致造血干细胞缺陷、造血微环境异常、机体免疫功能紊乱及遗传学因素，引起获得性骨髓造血功能衰竭。临床以全血细胞减少、贫血、感染和出血为特征。实验室进行血液一般检查、骨髓细胞形态学检查可发现本病，骨髓活检可明确诊断。值得指出的是，本病应与全血细胞减少的其他疾病相鉴别，尤其要与阵发性睡眠性血红蛋白尿相鉴别。

病历摘要：

患者女，17岁。主诉“咽痛伴间断发热5天，牙龈出血2天”。患者于5天前着凉后出现咽痛，伴发热，体温最高达38.4℃，在家自行服用“感冒药”后咽痛缓解，一度热退。2天前出现牙龈出血，并再度发热，体温最高达38.7℃，到我院化验血常规报告：RBC 1.66×10^{12}/L，Hb 61g/L，WBC 0.32×10^{9}/L，NE 0.01×10^{9}/L，Plt 2×10^{9}/L。既往身体健康。病程中有咳嗽、咳痰，无鼻出血，无黑便，无腹痛、腹胀，饮食睡眠尚可，大小便如常。查体：T 39.8℃，BP 120/75mmHg，P 84次/分，R 19次/分。贫血貌，全身皮肤散在瘀点、瘀斑，口腔内可见散在出血点，浅表淋巴结未触及肿大。咽部充血，肺部呼吸音粗，未闻及干湿啰音。心脏、腹部及神经系统查体未见异常。

【问题1】引起全血细胞减少的常见疾病有哪些？

再生障碍性贫血（AA）、阵发性睡眠性血红蛋白尿（PNH）、骨髓增生异常综合征（MDS）、非白血性白血病、恶性组织细胞病、脾功能亢进等。

思路：再生障碍性贫血（aplastic anemia，AA）多由造血干细胞缺陷、造血微环境异常、自身免疫功能紊乱而导致，遗传学因素也可导致。再障按病因分为原发性再障和继发性再障，血常规特点为全血细胞减少。

阵发性睡眠性血红蛋白尿是一种后天获得性红细胞膜缺陷引起的溶血病。临床上以间歇发作的睡眠后血红蛋白尿为特征，可伴有全血细胞减少或血栓形成倾向。本病与AA关系密切，可相互转化，均称为AA-PNH综合征。

MDS是一种造血干细胞克隆性疾病。外周血以全血细胞减少为主，也可为一系或二系减少，骨髓出现病态造血为特点。部分类型的MDS可转化为急性白血病。

非白血性白血病是指外周血白细胞不增高反而减少的白血病。

恶性组织细胞病是骨髓中出现异常的组织细胞的高度恶性增生性疾病，临床表现为高热，肝、脾、淋巴结肿大，多为全血细胞减少。

脾功能亢进可由慢性肝硬化合并脾功能亢进引起，也可由先天性疾病引起。临床表现脾大、白细胞或全血细胞减少。

学习笔记

知识点

再生障碍性贫血

1. 再生障碍性贫血是指由于骨髓功能障碍，造成全血细胞减少的一种疾病。以红细胞、粒细胞和血小板减少所致的贫血、感染和出血为特征。

2. 再障血象特点　全血细胞减少，少数表现为两系减少，网织红细胞计数减低，贫血为正细胞正色素性贫血，红细胞形态大致正常。

【问题 2】结合患者临床症状，在上述疾病中高度怀疑哪种疾病，还需申请哪些实验室检查？

患者牙龈出血伴发热，贫血貌，全身皮肤散在瘀点、瘀斑，口腔内可见散在出血点，血常规提示中度贫血，三系减低。对于贫血、出血、感染伴全血细胞减少的患者，高度怀疑再障。需要行 Ret 检测、骨髓细胞学检查和骨髓活检。

知识点

再生障碍性贫血的骨髓象特点

骨髓象	急性再障（AAA）	慢性再障（CAA）
增生程度	重度减低	减低 / 活跃 / 明显活跃
红系	明显减少，形态正常	减少 / 正常 / 增多
粒系	明显减少，形态正常	减少
粒红比值	正常	减低 / 正常
淋巴细胞	明显增多	增多
巨核细胞	明显减少	减少
骨髓小粒	非造血细胞为主	造血细胞减少
	组织嗜碱细胞易见	组织嗜碱细胞易见

患者网织红细胞百分比 0.04%，Ret 绝对值 1.2×10^9/L。

骨髓细胞学检查：①骨髓有核细胞增生减低；②粒系增生减低，占 2%；③红系增生重度减低，成熟红细胞无明显形态异常；④淋巴细胞比例增高、形态正常；⑤全片未找到巨核细胞，Plt 少见；⑥骨髓小粒造血面积减少，未见异常细胞（图 9-1-8）；⑦血片分类：淋巴细胞比例增高，成熟红细胞形态正常，Plt 少见（图 9-1-9）。

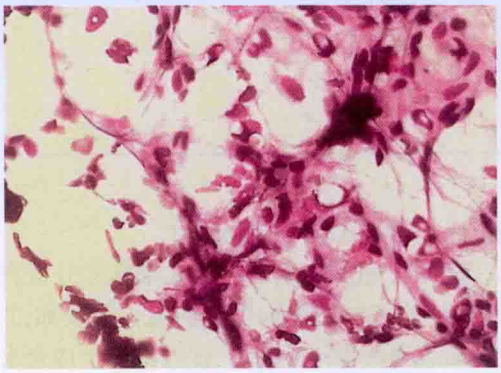


图 9-1-8　再生障碍性贫血骨髓象

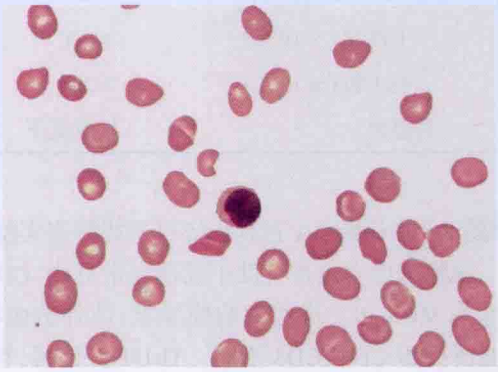


图 9-1-9　再生障碍性贫血血象

学习笔记

【问题 3】根据以上检查结果可作出何种诊断？诊断依据是什么？

诊断：再生障碍性贫血。

再生障碍性贫血的诊断依据：

(1) 病史：咽痛伴间断发热 5 天，牙龈出血 2 天。贫血貌，全身皮肤散在瘀点、瘀斑，口腔内可见散在出血点。

(2) 血常规：WBC 0.32×10^9/L，NE 0.01×10^9/L，RBC 1.66×10^{12}/L，Hb 61g/L，Plt 2×10^9/L。网织红细胞百分比 0.04%，Ret 绝对值 1.2×10^9/L。

(3) 骨髓象：骨髓有核细胞增生减低，粒系增生减低，占 2%，红系增生重度减低，成熟红细胞无明显形态异常，淋巴细胞比例增高、形态正常，全片未找到巨核细胞，Plt 少见。

(4) 骨髓活检：骨髓小粒造血面积减少，未见异常细胞。

知识点

AA 的诊断

1. 红细胞、粒细胞、血小板减少，淋巴细胞相对增多，网织红细胞绝对值减少。

2. 骨髓至少一个部位增生减低或重度减低，骨髓小粒非造血细胞增多。慢性再生障碍性贫血增生程度为增生活跃时，须有巨核细胞明显减少。必要时行骨髓活检，显示骨髓增生减低，造血组织减少，非造血细胞及脂肪组织增多。

3. 能排除引起全血细胞减少的其他疾病。

【问题 4】如何依据血象、骨髓象及临床表现进行再生障碍性贫血的分型？

再生障碍性贫血按病程分为急性再障和慢性再障，按病因分为原发性再障和继发性再障，该患者发病时间短，属急性再障；以感染起病，属于继发性再障（获得性再障）。诊断再障后应根据病情进行分型，可分为非重型再障、重型再障和极重型再障。该患属于重型再障。不同类型的再障治疗原则及预后不同。

知识点

获得性再障的临床分型

特征	非重型再障	重型再障	极重型再障
临床症状	较轻	重	重
血象			
Ret（$\times10^9$/L）	≥15	<15	<15
中性粒（$\times10^9$/L）	≥0.5	<0.5	<0.2
血小板（$\times10^9$/L）	≥20	<20	<20
骨髓象	增生低下	重度低下	重度低下

【问题 5】在诊断 AA 过程中还可选择哪些实验室指标？再障时有何指标变化？

细胞遗传学检查有助于发现异常克隆，$CD34^+$ 造血干 / 祖细胞培养经流式细胞术分析有助于区别 MDS 和发现红细胞膜异常，体外造血祖细胞培养可判断细胞集落的减少或缺如，T 细胞亚群分析 $CD4^+/CD8^+$ 倒置、Th1/Th2 倒置，粒细胞碱性磷酸酶活性增高，促红细胞生成素水平增高。

学习笔记

该患者检验报告流式细胞术检测：红细胞 CD59(－)=0.02%，CD55(－)=0.91%，比例正常；粒细胞 CD59(－)=1.73%，CD55(－)=3.16%，比例正常。

【问题 6】再障诊治过程中为何进行流式细胞术检测？

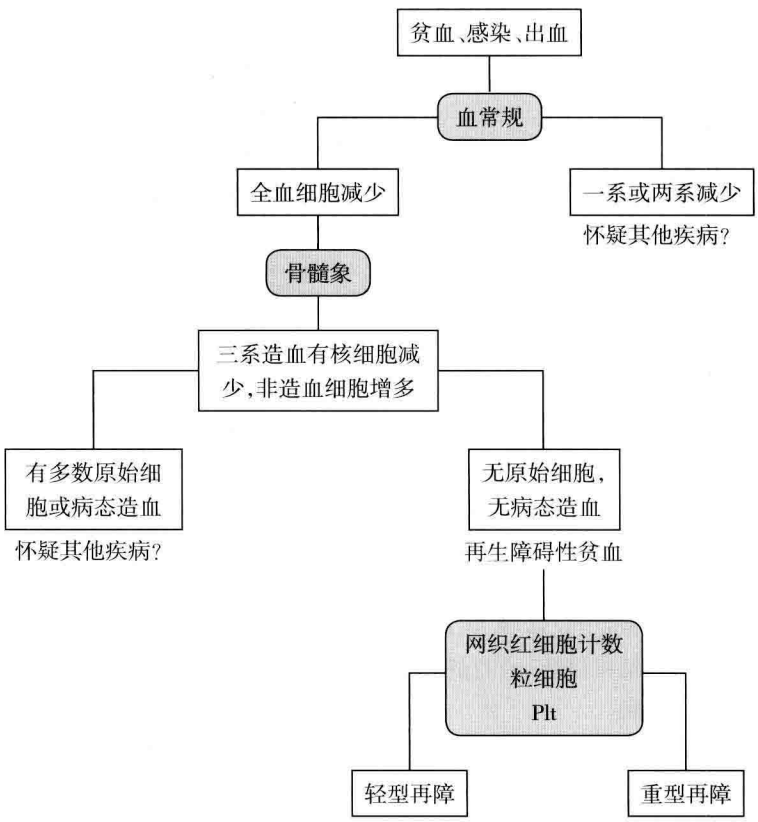
思路：如上所述，与本病相鉴别的疾病有 PNH、MDS、非白血性白血病、恶性组织细胞病、脾功能亢进，尤其要注意 PNH 与再障，临床上二者关系密切，可相互转变。若 AA 的患者出现血红蛋白尿（酱油色尿）发作，需要检查酸溶血试验，以及一些补体调节蛋白如 CD55 和 CD59。用带有荧光素的 CD55、CD59 单克隆抗体标记红细胞和中性粒细胞 CD55 阴性和 CD59 阴性的红细胞和中性粒细胞，经流式细胞术进行检测和计数，计算阴性细胞的百分率，也有助于鉴别阵发性睡眠性血红细胞尿（PNH）。

知识点

CD55 和 CD59 在 PNH 诊断和鉴别诊断中的应用

CD55 和 CD59 检测是目前诊断 PNH 最直接、最敏感、最特异的方法。正常人外周血中 CD55 阴性和 CD59 阴性的红细胞和中性粒细胞均 <5%，而 PNH 患者通常 >10%。

【问题 7】再障的实验诊断思路。



再障若得到及时诊断，可有效控制全血细胞减少，防范颅内出血和严重感染，则患者预后能有一定改善。但重型再障在有效治疗出现前，常因出血和严重感染而致患者死亡，预后很差。

（续　薇）

学习笔记

第二节　骨髓增生异常综合征

骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome,MDS)是起源于造血干细胞的一组高度异质性的克隆性疾病,其特征为一系或多系血细胞减少伴病态造血(dysplasia)、无效造血(ineffective haematopoiesis)和凋亡(apoptosis)增强而导致MDS患者血细胞减少。MDS风险分层的血细胞减少阈值:Hb<100g/L、中性粒细胞绝对计数(absolute neutrophil count,ANC)<1.8×10^9/L、Plt<100×10^9/L;然而,在这些阈值之上时,如果有形态异常和(或)细胞遗传学异常存在,则不能除外MDS的诊断。病态造血可能伴外周血和骨髓原粒细胞增多,但原粒细胞数量<20%。当部分MDS患者原始细胞≥20%时,则已转化为急性白血病。部分MDS病例可有细胞或分子遗传学异常,虽其中多数未被证实具有特异性,但具有一定的临床意义,特别是5q-对MDS有诊断价值,并提示其预后较好;7q-者较易转化为白血病。

病历摘要:

患者男,39岁。因全身乏力、头昏、疲倦、胸闷,活动后心悸不适约半年多就诊。患者在当地医院的全血细胞计数:WBC 12.4×10^9/L,Hb 51g/L,Plt 109×10^9/L,但在以后的两个月内呈进行性下降,为进一步诊治入院治疗。患者自述抵抗力差,经常反复感冒、发热。入院后查体:体温37.8℃,面色苍白,中度贫血貌,下肢皮肤可见散在瘀点;全身浅表淋巴结无肿大,肝脏未扪及,脾脏肋下约2cm,其他未见异常;全血细胞计数:WBC 0.81×10^9/L、Hb 50g/L、Plt 15×10^9/L;血涂片形态学检验:白细胞显著减少,原始细胞占6%,中性中幼、晚幼粒细胞各占1%,成熟红细胞轻度大小不均、易见大红细胞、偶见幼红细胞,血小板难见(图9-2-1)。

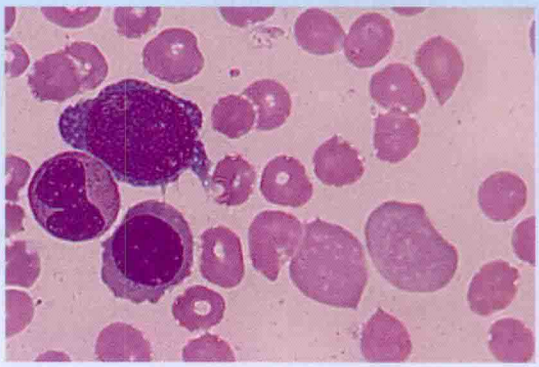


图9-2-1　血涂片,瑞氏染色,×1000
原始细胞、晚幼粒细胞、中幼红细胞各一个,两个大红细胞

【问题1】根据病史及临床表现,该患者可能的诊断是什么?

患者为中年男性,经常低热,伴脾大、出血;全血细胞显著减少,尤其是白细胞和血小板重度减低,外周血出现原始和幼稚细胞,而且原始细胞>5%,对该患者首先考虑的诊断是骨髓增生异常综合征或急、慢性白血病。

思路1:老年患者,外周血中三系细胞进行性减少,应首先考虑原发血液病或恶性肿瘤。再生障碍性贫血、MDS、白血病等血液系统病,恶性肿瘤骨髓转移所致骨髓造血功能受损,均可出现外周血中一系或三系细胞减少。

思路2:患者外周血出现原始及幼稚细胞,特别是原始细胞高达6%并伴中度贫血、白细胞和血小板重度减低,造血系统肿瘤的可能性较大,但需要进一步检查确诊。

学习笔记

患者骨髓象：骨髓有核细胞增生明显活跃，粒系占有核细胞73.5%，各阶段可见，原粒细胞占18%（图9-2-2），早幼粒细胞占5%，中性中幼粒细胞以下阶段细胞比例大致正常（计数1000个有核细胞）；部分粒细胞巨幼变、核浆发育失衡，中性粒细胞核分叶不良（图9-2-3），少部分细胞胞质中出现空泡。红系细胞占有核细胞10.5%，各阶段可见，中、晚幼红细胞比例减低，成熟红细胞轻度大小不均。M:E=7.0：1。巨核细胞见到21个（2cm×2cm），其中颗粒型巨核细胞20个，裸核1个，可见多圆形核巨核细胞（图9-2-4）及小巨核细胞（图9-2-5），血小板少。细胞核分裂象易见（图9-2-6）。

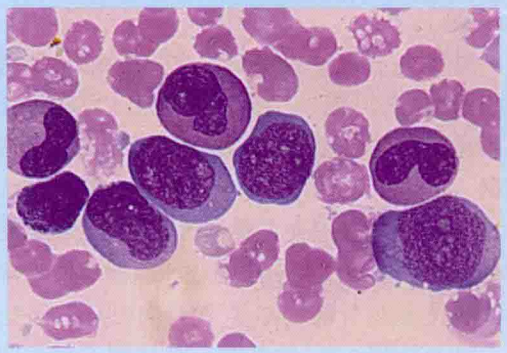


图9-2-2　骨髓涂片，瑞氏染色，×1000
原始细胞增多，中性粒细胞核分叶不良

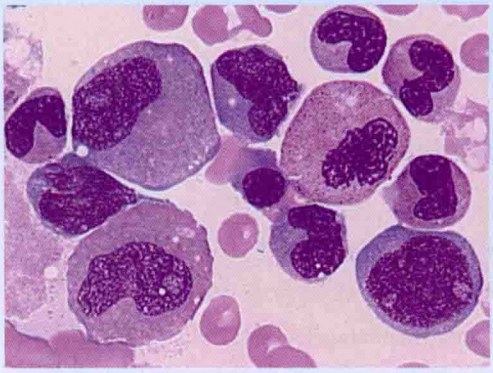


图9-2-3　骨髓涂片，瑞氏染色，×1000
原始细胞增多，部分粒细胞巨幼样变、核浆发育失衡，中性粒细胞核分叶不良

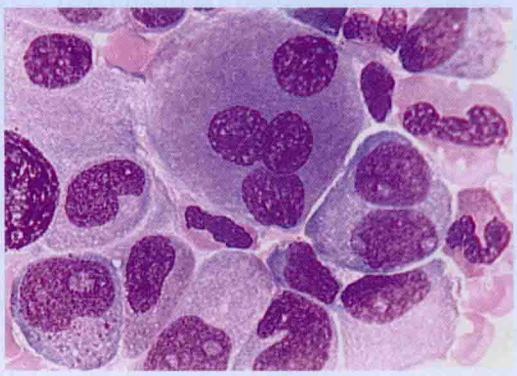


图9-2-4　骨髓涂片，瑞氏染色，×1000
髓系细胞发育异常，可见双核原始细胞和多圆形核巨核细胞。中性粒细胞核分叶不良明显

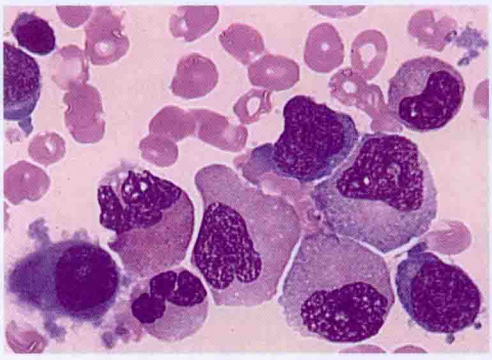


图9-2-5　骨髓涂片，瑞氏染色，×1000
髓系细胞发育异常，可见小巨核细胞。部分粒细胞巨幼样变、核浆发育失衡，中性粒细胞核明显分叶不良

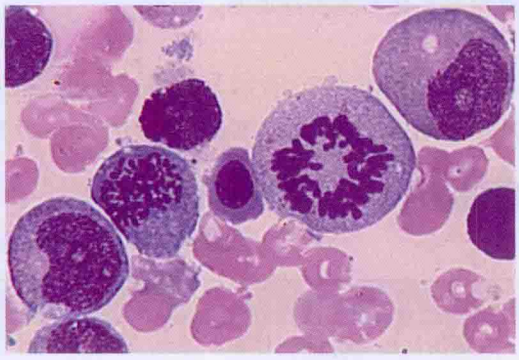


图9-2-6　骨髓涂片，瑞氏染色，×1000
髓系细胞增生活跃，易见核分裂细胞

学习笔记

【问题 2】为了明确诊断，首选的实验室检查是什么？

对于疑为造血系统肿瘤的患者，骨髓涂片形态学检验，又称骨髓象检查，是临床首选的实验诊断项目。

思路 1：骨髓是成年人的主要造血器官，造血系统疾病时，各种骨髓造血与非造血细胞的形态、比例都可能发生显著的变化，尤其是造血系统肿瘤患者可出现病态造血、无效造血，造血细胞的分化、发育或成熟停滞或障碍等异常，骨髓细胞形态学异常是诊断血液肿瘤的重要依据。

思路 2：骨髓检查主要包括骨髓涂片细胞形态学检验、骨髓组织活检（又称骨髓病理学检查），两者各具优势，互为补充，但临床以前者最为常用。

【问题 3】根据骨髓象特点，结合病史及临床表现，该患者最可能的诊断是什么？

患者骨髓红系、粒系和巨核细胞系出现明显的病态造血形态学表现，原粒细胞高达 18%，而且外周血三系细胞显著降低达半数以上，如果排除其他可能导致血细胞减少或病态造血的造血及非造血系统疾病，可诊断为 MDS 的亚型 - 难治性贫血伴原始细胞增多 -2（refractory anemia with excess blasts-2，RAEB-2）。

思路 1：外周血和骨髓出现病态造血或无效造血，最常见于 MDS；其中红系、粒系和巨核系细胞任一系的病态造血细胞达 10% 以上。

知识点

MDS 病态造血的形态学特征

红系细胞病态造血：①细胞核改变：核出芽、核内桥接、核碎裂、双核或多核和类巨幼样改变（megaloblastoid changes）；②细胞质改变：环形铁粒幼细胞、空泡变性和 PAS 染色阳性。

粒系细胞病态造血：①细胞大小：胞体小或异常增大；②细胞核：核分叶不良（假性 Pelger-Huët 畸形）或不规则分叶过多（irregular hypersegmentation）；③细胞质：胞质中颗粒减少甚至缺乏，或出现粗大颗粒（假性 Chediak-Higashi 颗粒）。原始或幼稚细胞质中出现棒状小体（Auer rods）。

巨核细胞病态造血：核分叶减少的微小巨核细胞（micro megakaryocytes），各种大小的巨核细胞中出现一个或多个分离的无分叶细胞核（圆形核）。骨髓活检切片比涂片中更容易观察到巨核细胞病态造血。

思路 2：根据血象、骨髓象的病态造血特征和原始细胞比例增高程度，对 MDS 进行分类诊断，临床常用的是 2008 年 WHO 提出的 MDS 分型诊断标准。

知识点

2008 年 WHO 提出的 MDS 分型诊断标准

MDS 分型	血象	骨髓象
1. 难治性血细胞减少伴单一系列细胞增生异常（refractory cytopenia with unilineage dysplasia，RCUD）：①难治性贫血（refractory anemia，RA）；②难治性中性粒细胞减少；③难治性血小板减少	单一系列血细胞减少或两系细胞减少[1] 无或很少原始细胞（<1%）	≥10% 单一系列髓系细胞病态造血 原始细胞 <5% 环形铁粒幼细胞 <15%
2. 难治性贫血伴环形铁粒幼细胞增多	贫血 无原始细胞	环形铁粒幼细胞≥15% 仅有红系细胞病态造血

学习笔记

续表

MDS 分型	血象	骨髓象
3. 难治性血细胞减少伴多系细胞增生异常(refractory cytopenia with multi-lineage dysplasia,RCMD)	血细胞减少 无或很少原始细胞[2](<1%) 无棒状小体(Auer rods) 单核细胞 $<1\times10^9$/L	≥10% 两系或以上髓系细胞病态造血[中性粒细胞和(或)红系细胞和(或)巨核细胞] 原始细胞 <5% 无棒状小体(Auer rods) 部分病例≥15% 环形铁粒幼细胞
4. 难治性贫血伴原始细胞增多 -1(refractory anemia with excess blasts-1,RAEB-1)	血细胞减少 原始细胞 <5% 无棒状小体 单核细胞 $<1\times10^9$/L	单一系列或多系细胞病态造血 原始细胞[2] 5%~9% 无棒状小体
5. 难治性贫血伴原始细胞增多 -2(refractory anemia with excess blasts-2,RAEB-2)	血细胞减少 原始细胞 5%~19% 棒状小体 ±[3] 单核细胞 $<1\times10^9$/L	单一系列或多系细胞病态造血 原始细胞 10%~19% 棒状小体 ±[3]
6. 骨髓增生异常综合征伴孤立的 5q- 染色体异常[del(5q)]	贫血 血小板计数一般正常或增多 无或很少原始细胞(<1%)	巨核细胞正常或低分叶核巨核细胞增多 原始细胞 <5% 5q- 染色体异常[del(5q)] 无棒状小体
7. 骨髓增生异常综合征,未分类(MDS-U)	血细胞减少 原始细胞[2]≤1%	当伴随细胞遗传学异常并作为 MDS 诊断证据时,<10% 一系或多系髓系细胞有明确的病态造血 原始细胞 <5%

注:1. 两系细胞减少偶见。全血细胞减少的病例应分类诊断为 MDS-U。

2. 如果骨髓原粒细胞 <5%,但血液原粒细胞 2%~4%,分类诊断为 RAEB-1;RCUD 和 RCMD 病例的血液中原始细胞为 1% 时,应该分类诊断为 MDS-U。

3. 有棒状小体,血液中原粒细胞 <5%,骨髓原粒细胞 <10% 的病例应分类诊断为 RAEB-2。

思路 3:MDS 诊断与分类的关键因素之一是血液或骨髓涂片中原始细胞的比例计算。计算 MDS 原始细胞的比例主要有两种方法:外周血中原始细胞小于全部白细胞的 20%(WBC);骨髓中原始细胞应小于骨髓全部有核细胞(all nucleated BM cells,ANC)的 20% 或小于骨髓非红系细胞(non-erythroid cells,NEC)的 20%。至于应该用 ANC 还是 NEC 计数原始细胞,目前还没有达成一致意见,WHO 分类委员会大多数成员推荐 MDS 分类计数原始细胞百分率使用 ANC。

【问题 4】除了血象和骨髓象外,还需要做哪些与 MDS 诊断或预后相关的检查?

思路 1:骨髓活检可以更客观地反映骨髓造血组织中各种细胞的增生状况。MDS 骨髓通常呈高度增生或增生正常,血细胞减少是由于无效造血所致,出现未成熟早期细胞异常定位(abnormal localization of immature precursor,ALIP)可能是其进展期 MDS 特征。

知识点

未成熟早期细胞异常定位

在远离血管结构和骨小梁内膜表面的骨髓中央区出现原始细胞聚集(3~5 个原始细胞)或 >5 个的原始细胞群(clusters of blasts),又称为 ALIP,免疫组织化学染色可见簇集的原始细胞表达 CD34。ALIP 常见于 MDS-RAEB,预示高风险向急性白血病转变。

学习笔记

思路 2：染色体或分子遗传学检验主要用于评价 MDS 患者的预后、测定其克隆性，观察细胞遗传学与形态学和临床相关性。约有 50% 的 MDS 患者有克隆性细胞遗传学异常。例如，MDS 伴 5q- 的患者，主要发生在妇女，巨核细胞核不分叶或分叶减少。出现 17p- 与 MDS 或急性髓细胞白血病伴有假性 Pelger-Huët 畸形、中性粒细胞小空泡、TP53 突变相关，有一个较差的临床病程。

患者骨髓细胞免疫表型分析：①多色流式细胞分析散点图（图 9-2-7）；②流式细胞免疫表型特征：在 CD45/SSC 散点图中，R3（红色细胞群）占骨髓有核细胞的 13.28%，此类细胞表达的免疫标志包括：CD34、CD13、CD117、CD33、HLA-DR，部分表达 CD123 和 MPO，符合髓系原始细胞的免疫表型特征。R4（淡蓝色细胞群）占骨髓有核细胞 35.62%，此类细胞表达的免疫标志包括：CD15、CD33、CD13、CD64、MPO，部分表达 CD16、CD11b，为各发育阶段中性粒细胞，SSC 减低，$CD16^+$ 成熟阶段、$CD16^-CD11b^+$ 中间阶段比例减少，存在发育异常，CD15 表达强度减弱。

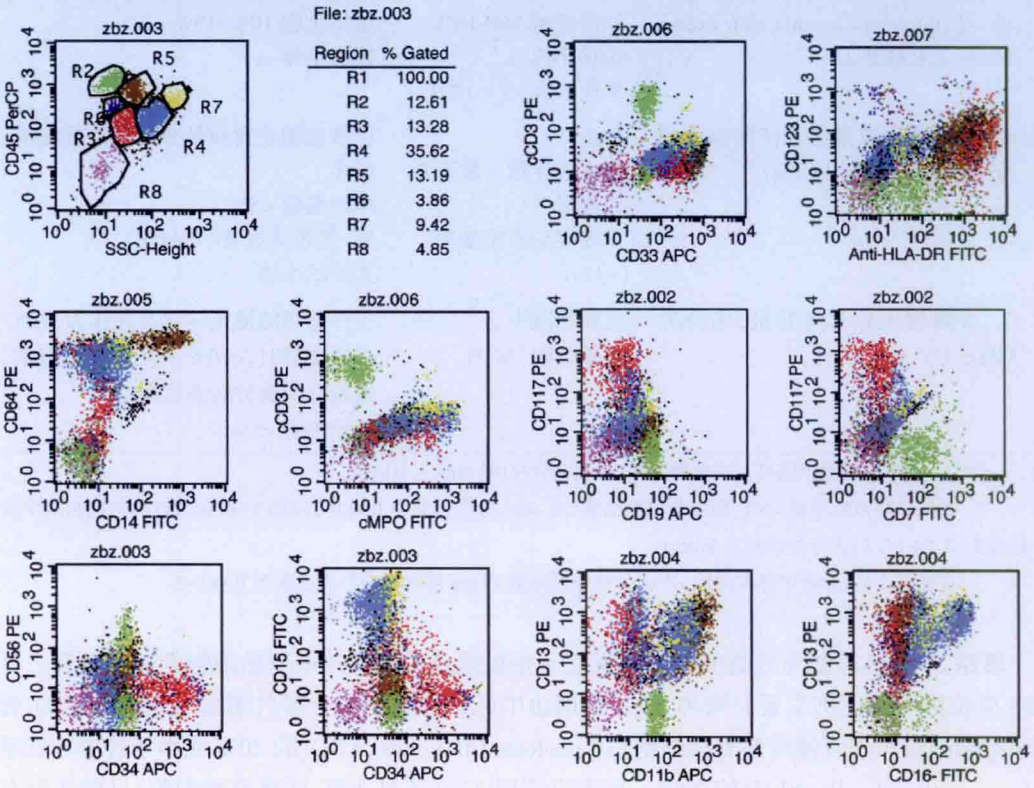


图 9-2-7　流式细胞分析散点图

4 色免疫荧光光染色，CD45/SSC（side scatter）设门；在各荧光散点图中，可观察到各类主要细胞群（不同颜色）的抗原表达水平

【问题 5】骨髓或外周血免疫表型分析对 MDS 诊断有何临床意义？

思路 1：多色流式细胞分析有助于计数 MDS 骨髓的原始细胞比例、发现有无免疫表型异常或单克隆细胞群（例如原始细胞不同步表达 CD15、CD11b、CD65，不规则表达 CD7 或 CD56 等）。流式细胞计数 CD34 阳性原始细胞数量与常规涂片形态学或免疫组织化学染色计数的原始细胞百分率有良好的相关性。然而，由于骨髓纤维化或骨髓标本稀释，流式细胞计数 CD34 阳性原始细胞还不能替代涂片形态学或免疫组织化学染色。

思路 2：骨髓组织切片的免疫组织化学染色可观察到 MDS-RAEB 原始细胞的分布特征（例如表达 CD34 的 ALIP 等），确定有无微小巨核细胞（表达 CD41、CD42 等巨核细胞免疫标志）增生等。

学习笔记

【问题 6】诊断 MDS 需要与哪些疾病进行鉴别诊断？虽然 MDS 诊断尚无“金标准”，但国际上也提出了一些“必要条件、相关条件和辅助条件”，并且需要与急、慢性白血病，一些贫血和血细胞减少症鉴别，避免误诊或漏诊。

知识点

MDS 诊断最低国际标准（2007 维也纳）

1. 必要条件　①持续（≥6 个月）一系或多系血细胞减少：Hb<100g/L、ANC<1.8×10^9/L、Plt<100×10^9/L；②排除其他可导致血细胞减少或病态造血的造血及非造血系统疾患。两个条件必备。

2. 相关条件　①病态造血：红系、中性粒和巨核细胞任一系达 10%；环形铁粒幼细胞 > 15%；②骨髓原始细胞：5%~19%；③典型染色体异常。符合两个必要条件和至少一个相关条件，可诊断为 MDS；若缺乏相关条件，但临床呈典型 MDS 表现，为高度疑似 MDS。

思路 1：MDS 与急慢性白血病鉴别诊断的要点是骨髓原始细胞的比例。MDS-RAEB 易与 AML 混淆，骨髓涂片原始细胞 <20% 为 MDS，≥20% 为 AML。若遇到 20% 左右原始细胞的病例，在骨髓涂片不同区域计数或计数的有核细胞总数不同时可有明显差异，通过在细胞分布均匀的部位和扩大计数量（例如 1000~2000 个有核细胞），可以提高原始细胞计数的准确度。

思路 2：MDS 与非血液肿瘤鉴别诊断的要点是骨髓病态造血特征。在不典型巨幼细胞性贫血、非重型再生障碍性贫血和阵发性睡眠性血红蛋白尿症的病例，易出现与 MDS 病态造血混淆的形态学表现，但通过相关的检查可与其鉴别。

（王建中）

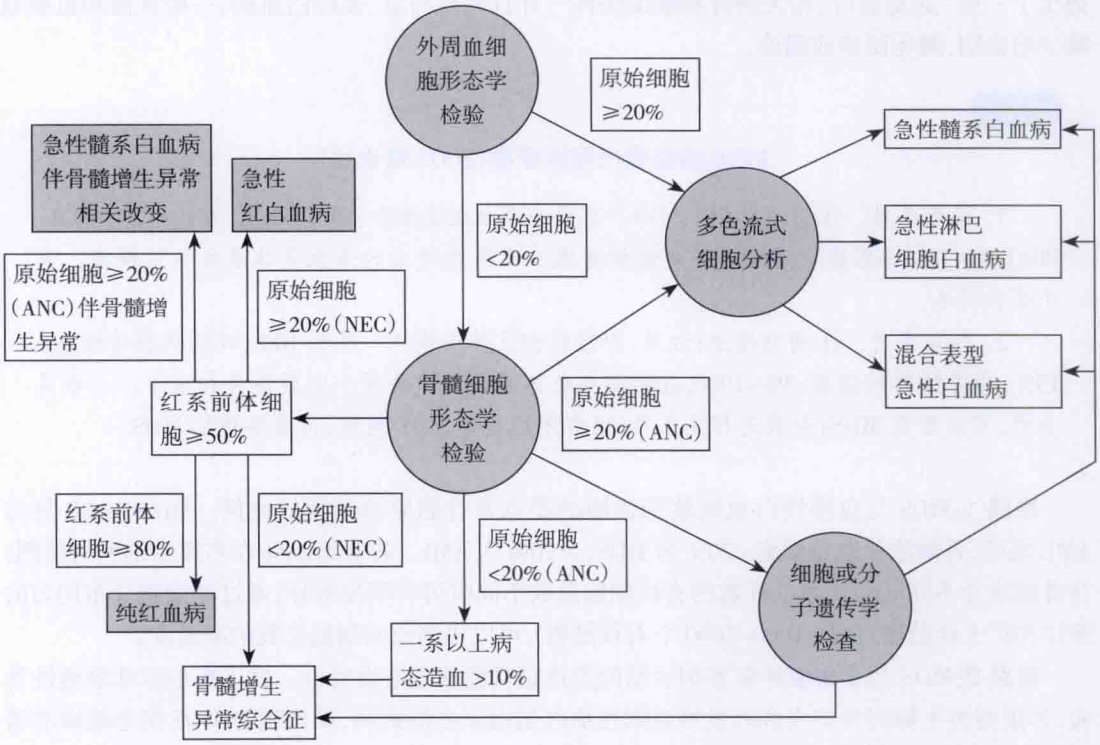
第三节　急性白血病

急性白血病（acute leukemia，AL）是一组起源于造血干细胞的恶性克隆性疾病，以原始或幼稚的不成熟白血病细胞在骨髓和（或）外周血大量、无控制地增生为其主要特征，使正常造血受到不同程度抑制，并可浸润肝、脾、淋巴结等组织器官。患者常出现发热、出血、贫血、肝脾及淋巴结肿大和骨痛等并发症。AL 病情发展迅速，若不及时治疗，通常因感染、出血等于数月内死亡。

根据急性白血病细胞的类型主要可分为急性髓系白血病（acute myeloid leukaemia，AML）、急性淋巴细胞白血病（acute lymphoblastic leukaemia，ALL）和不明系列急性白血病（acute leukaemia of ambiguous lineage，ALAL）。AL 细胞的分化停滞于早期阶段，多为原始细胞或早期幼稚细胞。AL 的分类较为复杂，早期应用 FAB 方案较多；近年来，世界卫生组织（WHO）在 2008 年发布的“WHO 造血与淋巴组织肿瘤的分类”（WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues）方案已得到广泛应用。在 AL 的实验诊断与分类中，形态学（morphology），包括外周血细胞形态学（临床简称血象）、骨髓细胞形态学（临床简称骨髓象）检验和骨髓活检（bone marrow biopsy）是基础，细胞化学染色（cytochemistry stain）是补充，免疫表型（immunophenotype）分析必不可少，细胞遗传学（cytogenetics）和分子遗传学（molecular genetics）指标应尽可能检查。通过实验诊断可以确定 AL 的细胞系列及其分化成熟程度，AL 细胞的形态学特征、克隆性免疫表型异常、染色体畸变和（或）基因突变类型，为 AL 的临床诊断、治疗决策、用药指导、疗效监测等提供非常重要的依据。临床实验室通常应用血液和（或）骨髓细胞形态学、多色流式细胞免疫表型分析、细胞或分子遗传学检测技术按下图的路径对 AL 进行实验诊断。

学习笔记

急性白血病实验诊断路径



注：ANC：全部骨髓有核细胞；NEC：非红系细胞

一、急性髓系白血病

急性髓系白血病（AML）的定义：AML是由于外周血、骨髓或其他组织中的髓系原始细胞克隆性增生所致的髓系肿瘤；AML是一种临床异质性肿瘤，在形态学和遗传学上涉及一系或所有髓系细胞。诊断AML要求外周血或骨髓中原始细胞百分率≥20%，原始细胞可包括：原粒细胞、原单核细胞、原巨核细胞，异常早幼粒细胞、幼单核细胞视为原始细胞的等同体进行计数。AML占所有急性白血病的15%~20%，发病年龄的中位数为：成年人65岁，男性略多于女性；儿童小于15岁。

病历摘要：

患者女，68岁。半个多月以来自觉乏力、精神差，发热、体温最高达38℃，关节酸痛近1周，咳嗽、痰中带血3日入院。全血细胞计数：WBC 17×10^9/L、Hb 104g/L、Plt 26×10^9/L。血涂片白细胞分类计数：早幼粒细胞73%（图9-3-1）、中性分叶核粒细胞7%、淋巴细胞20%。血栓与止血试验：PT 17秒（对照12秒）、APTT 41秒（对照30秒）、TT 21秒（对照16秒）、FIB 1.4g/L、D-二聚体1.85mg/L。查体：无明显贫血貌，皮肤及黏膜散在淤斑、出血点。全身浅表淋巴结未及肿大，肝、脾肋下未及，胸骨压痛明显。

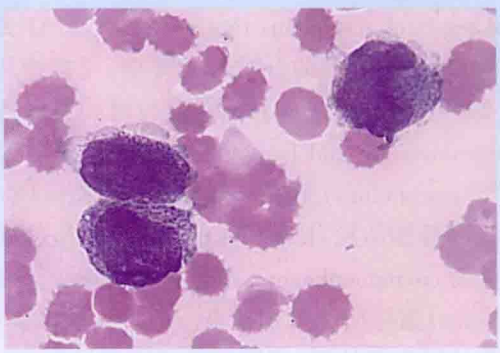


图9-3-1　血涂片，瑞氏染色，×1000
三个异常早幼粒细胞

学习笔记

【问题 1】根据病史及临床表现，对该患者可能的诊断是什么？

患者发病时间短，伴发热、咯血、黏膜及皮下出血，骨痛；血象明显异常：白细胞增高，血小板减少，早幼粒细胞高达 73%；血栓与止血试验结果提示并发弥散性血管内凝血（disseminated intravascular coagulation，DIC）。对该患者最可能的诊断为急性早幼粒细胞白血病（acute promyelocytic leukemia，APL）。

思路 1：外周血涂片原粒或早幼粒细胞≥20%，首先考虑 AML。患者外周血原粒或早幼粒细胞增高，主要见于 AML、MDS、骨髓纤维化、慢性髓系白血病或少数类白血病反应等，但除 AML 外，很少≥20%。

思路 2：早幼粒细胞≥20%，APL 可能性最大，而且 APL 最常见的并发症是 DIC。由于 APL 细胞内含有大量具有促凝血活性的颗粒，特别易诱发 DIC。患者也常因皮肤黏膜、消化道、泌尿道、呼吸道出血，甚至颅内出血为首发症状于急诊科就诊，此类患者的血象检查是发现 APL 的重要线索。

知识点

DIC 的实验诊断标准

同时有下列三项以上实验诊断指标异常，结合临床表现，可以诊断 DIC。

1. 血小板计数（Plt）　Plt 常 $<100\times10^9$/L 或进行性下降。
2. 血浆纤维蛋白原（FIB）　FIB<1.5g/L 或呈进行性降低。
3. 纤维蛋白降解产物阳性　血浆纤维蛋白（原）降解产物（FDP）>20mg/L，或血浆 D- 二聚体（DD）水平升高或阳性，或 3P 试验阳性。
4. 凝血酶原时间（PT）缩短或延长 3 秒以上；或者活化部分凝血活酶时间（APTT）缩短或延长 10 秒以上。

【问题 2】仅根据血象就可诊断 AML 吗？

思路 1：典型 AML 病例，依据血象特征并结合患者病史和临床表现，可以作出临床诊断。大多数 AML 病例，血象有不同程度的原粒或早幼粒细胞增高，但不一定≥20%。当原粒或早幼粒细胞≥20%，并有白血病性形态学异常改变（例如有 Auer 小体、颗粒异常增多等）时，结合临床可以作出诊断，有助于及时采取治疗措施，特别是对 APL 已并发 DIC 的患者尤为重要。

思路 2：骨髓象是诊断大多数 AML 必须的，尤其是不典型病例。血象是骨髓象的继续，正常情况下两者一致；在 AML 时，两者的变化可不一致。一些 AML 患者，早期时血象变化不大，但骨髓中有大量白血病细胞增生。因此，对疑为 AL 的患者，骨髓象检查具有明确诊断的价值。

患者骨髓象：骨髓增生明显活跃；异常早幼粒细胞占 82%，其胞体呈圆形或椭圆形，部分细胞呈不规则形，核呈圆形或椭圆形，部分细胞核可见扭曲或折叠，染色质较细致，核仁不清楚 0~2 个；胞质量略丰富，呈灰蓝色，可见内外浆，大部分细胞内浆中可见较多大小不等的紫红色嗜苯胺蓝颗粒并盖在细胞核上，Auer 小体可见（图 9-3-2）。红系细胞增生受抑。M：E=20.3：1。巨核细胞仅见 3 个颗粒型巨核细胞（2cm×2cm），血小板少见。

细胞化学染色：髓过氧化物酶（MPO）：

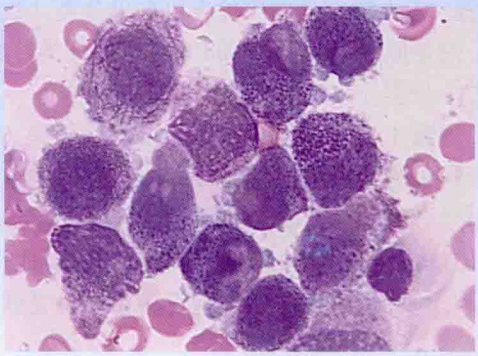


图 9-3-2　骨髓涂片，瑞氏染色，×1000
大量异常早幼粒细胞增生，其外形不规则、易见伪足样突起、胞质中充满粗大紫红色嗜苯胺蓝颗粒，部分细胞质中有较多 Auer 小体

学习笔记

强阳性(图 9-3-3);萘酚 AS-D 氯醋酸酯酶(CAE):阳性(图 9-3-4)。

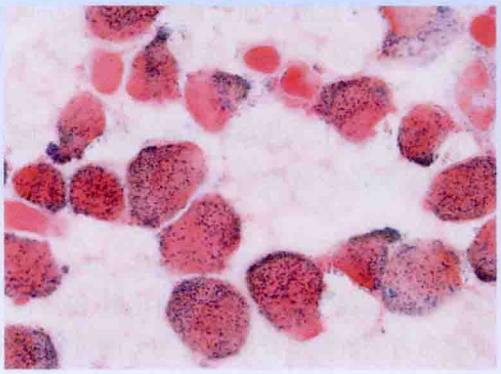


图 9-3-3　骨髓涂片,髓过氧化物酶(MPO)染色,×1000
异常早幼粒细胞胞质中大量 MPO 阳性颗粒

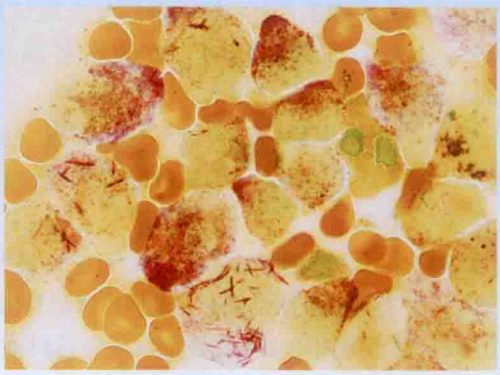


图 9-3-4　骨髓涂片,特异性酯酶(SE)染色,×1000
异常早幼粒细胞胞质中大量紫红色 SE 阳性颗粒,Auer 小体也呈阳性

【问题 3】根据骨髓细胞形态学特点,可否确诊患者为 APL?

患者骨髓中早幼粒细胞占 82%,而且有明显的白血病形态学异常,结合临床可明确诊断为 APL。

思路 1:本例患者骨髓异常早幼粒细胞形态特征典型,可诊断为 APL。APL 细胞的形态特征是确诊 APL 的重要依据,根据形态学特点可将 APL 分为多颗粒(hypergranular)型或又称粗颗粒型 APL 和细颗粒或少颗粒(hypogranular)型 APL。多颗粒型是最常见的类型,约占 APL 的 80%;细颗粒型的 APL 细胞颗粒较小,有时瑞氏染色甚至看不见颗粒,常与急性单核细胞白血病(acute monoblastic and monocytic leukaemia,AMoL)混淆。

思路 2:细胞化学染色可辅助诊断 APL。本例患者髓过氧化物酶(myeloperoxidase,MPO)强阳性、萘酚 AS-D 氯醋酸酯酶(naphthol AS-D chloroacetate esterase,CAE)阳性,符合典型 APL 特点。当遇到疑为细颗粒型 APL 或 AMoL 病例时,MPO、CAE 和非特异性酯酶(nonspecific esterase,NSE)染色具有鉴别价值;APL 的 MPO 强阳性、CAE 阳性;NSE 阴性或弱阳性,但不被氟化钠抑制;AMoL 的 MPO 弱阳性或阴性,CAE 阴性,NSE 强阳性或阳性,但可被氟化钠抑制。

【问题 4】血象或骨髓象检查可准确分类计数 AML 的原始细胞比例吗?

髓系原始细胞(myeloid blasts)的分类计数有多种方法,一般以显微镜下血涂片或骨髓涂片形态学分类计数为准,其他仅起辅助作用。

思路 1:原始细胞的形态学分类计数是 AML 诊断与分类的基础。AML 的髓系原始细胞(包括原粒细胞、原单核细胞和原巨核细胞)的识别与分类计数,一般以显微镜下血涂片或骨髓涂片形态学分类计数为准;细胞化学染色并非特异,例如 MPO 染色阴性几乎见于所有的髓系原始细胞;CD34 免疫组化染色虽然有助于识别,但一些髓系肿瘤的原始细胞可不表达 CD34;流式细胞术(FCM)计数骨髓原始细胞百分率容易受到血液稀释(haemodilution)的影响,也不能替代形态学观察。

思路 2:根据 AML 的形态学特点,可提供进一步实验诊断的线索或途径。由于 AML 是一种临床异质性肿瘤,在形态学、免疫学和遗传学上可能涉及一系或所有髓系细胞,为了正确诊断、制订合适的治疗方案、判断预后和疗效监测,常需要进一步的后续检查。例如,形态学

学习笔记

诊断为 APL，特别是当 APL 细胞 <20% 或形态不典型时，细胞或分子遗传学查到 APL 的特异性 t(15;17)（q22;q12）和（或）PML-RARA 融合基因（本例患者两项检测均为阳性），即可确诊 APL，同时也表明患者用全反式维 A 酸诱导分化治疗将可获得缓解（见于大约 85% 的 APL 病例）。

【问题 5】血象与骨髓象检验对 AML 疗效监测有何意义？

血象与骨髓象检验对 AML 治疗后是否完全缓解或部分缓解、缓解后是否复发的监测是临床判断的主要标准。

思路 1：血象与骨髓象是判断 AML 治疗缓解与否的依据。AML 治疗后缓解或部分缓解分为国内标准和国外标准：国内标准包括临床表现、血象和骨髓象；国外标准包括形态学、细胞遗传学和分子遗传学缓解三个水平。

知识点

国内急性白血病治疗缓解标准

1. 完全缓解（complete remission，CR）　①临床无白血病细胞浸润所致的症状和体征，生活正常或接近正常；②血象：Hb≥100g/L（男），或≥90g/L（女或儿童），中性粒细胞绝对计数（ANC）≥1.5×10^9/L，Plt≥100×10^9/L，外周血白细胞分类无白血病细胞。③骨髓象：原粒细胞（原单核＋幼单核细胞或原淋巴＋幼淋巴细胞）≤5%（APL：原粒＋早幼粒细胞≤5%），红细胞及巨核细胞系正常。

2. 部分缓解（partial remission，PR）　骨髓原始细胞 >5%~≤20%，或临床、血象中有一项未达 CR 标准者。

思路 2：血象与骨髓象是判断 AML 治疗缓解后复发与否的重要指标。在国外标准中，白血病复发分为形态学、分子和（或）细胞遗传学复发两种。①形态学复发：CR 患者外周血中又出现白血病细胞，骨髓中白血病细胞≥5% 或出现新的病态造血；髓外出现形态学可证实的白血病细胞亦称为复发；②分子和（或）细胞遗传学复发：已达分子和（或）细胞遗传学水平 CR 的患者又出现分子和（或）细胞遗传学异常。

知识点

国内急性白血病复发标准

经治疗完全缓解后出现下列情况之一，即称为复发。①骨髓原始细胞 >5%~≤20% 经过有效抗白血病治疗一个疗程仍未达到骨髓象 CR 标准者；②骨髓原始细胞 >20% 者；③骨髓外白血病细胞浸润。

患者骨髓细胞免疫表型分析：①多色流式细胞分析散点图（图 9-3-5）；②流式细胞免疫表型特征：在 CD45/SSC 散点图中，R3（粉红色细胞群）占骨髓有核细胞的 89.31%，此类细胞表达的免疫标志包括：CD64、CD33、CD117、CD13、MPO，不表达 CD34、CD15、CD11b、HLA-DR，符合异常早幼粒细胞的免疫表型特征。

学习笔记

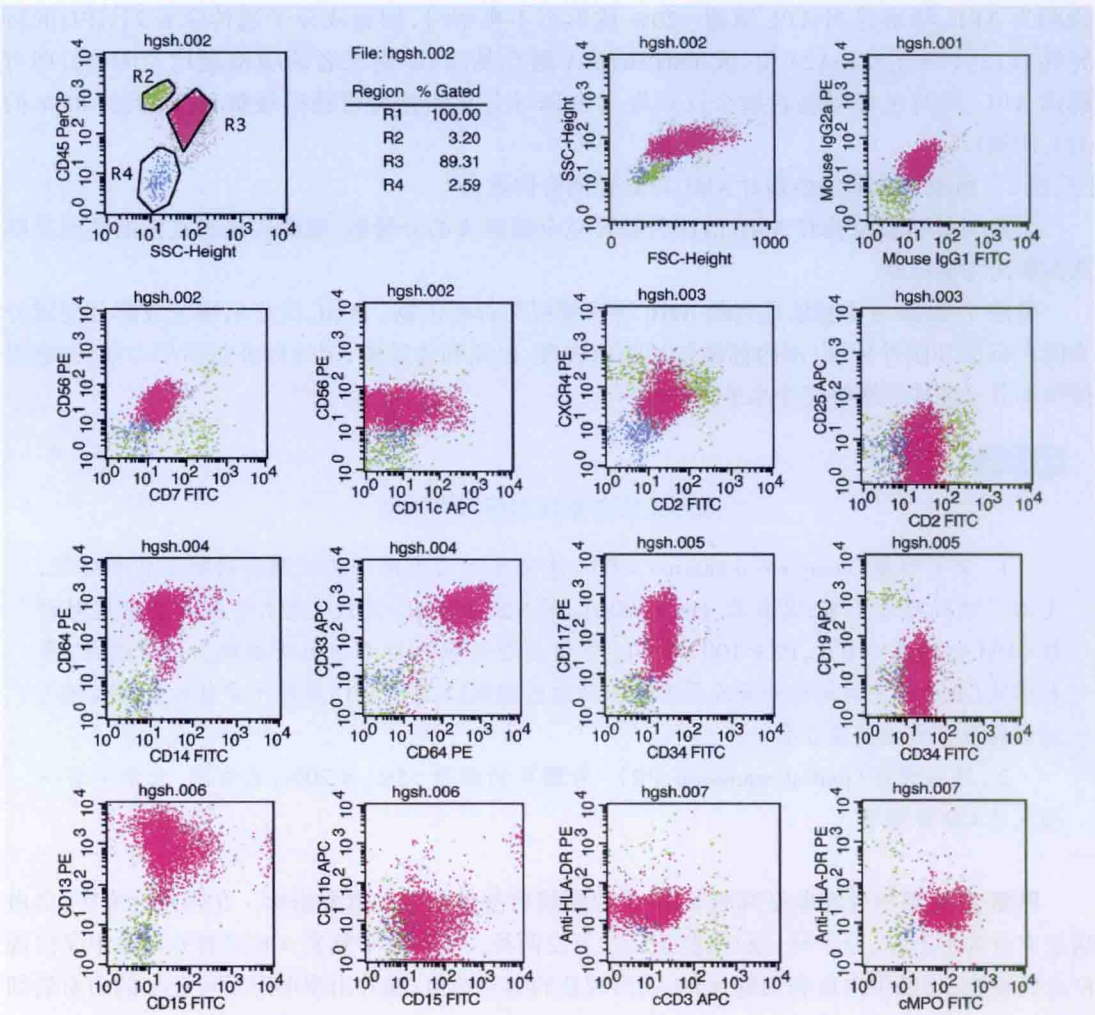


图 9-3-5　流式细胞分析散点图

4 色免疫荧光光染色，CD45/SSC（side scatter）设门；在各荧光散点图中，可观察到各类主要细胞群（不同颜色）的抗原表达水平

【问题 6】免疫表型分析在 AML 诊断与鉴别诊断中有何意义？

AML 的免疫表型（immunophenotypes）分析主要有四方面的意义：①原始细胞表型确定；②鉴别白血病细胞的分化阶段、评价抗原表达谱、不规则表型和微小残留病（minimal residual disease，MRD）监测时克隆性免疫表型的确定；③免疫表型分析的中心作用：鉴别微分化型 AML 和急性淋巴细胞白血病（ALL）、慢性髓系白血病原始细胞期、混合表型急性白血病类型；④预后价值：一些研究表明 AML 细胞表达 CD7、CD9、CD11b、CD14、CD56 和 CD34 可能与 AML 预后差相关，但其独立预后价值仍有待阐明。

思路 1：免疫表型分析是 AML 诊断与鉴别诊断必不可少的工具，每一例 AML 都有必要检测，多色流式细胞分析（multicolor flow cytometry，MFCM）在临床最常用，免疫组织化学染色（immunohistochemistry，IHC）次之。本例患者的免疫表型符合典型的 APL 特征，但在 APL 的细颗粒型或 PML-RARA 融合基因 *bcr3* 转录本患者，常见表达 CD34 和 CD2；大约 20% 的 APL 表达 CD56，与预后不良相关。

思路 2：免疫表型是 AML 诊断与分类重要特征，特别是对形态学特点不明显的 AML 病例更有意义。大约有 75% 的 AML 出现不规则或不常见的免疫表型，例如交叉系列抗原表达、抗原不同步表达、抗原过表达、抗原缺失或低表达。CD34 有助于原始细胞识别，幼红细胞可通过血型

学习笔记

糖蛋白或血红蛋白标志物与其他原始细胞鉴别，CD41、CD42 和 CD61 可特异性鉴别急性巨核细胞白血病。当形态学不典型，例如细颗粒型 APL 与急性单核细胞白血病，AML 微分化型与未成熟型混淆时，免疫表型分析十分有助于鉴别诊断；当 AML 或与 ALL 混淆时，髓系特异性免疫标志阳性是确认 AML 的依据。

知识点

髓系特异性免疫标志

髓过氧化物酶（MPO）：通过流式细胞术、免疫组化染色或细胞化学染色确认，CD13、CD33 和 CD117 不特异；或者单核系分化抗原：非特异性酯酶、CD11c、CD14、CD64 和溶菌酶，至少两项阳性。

【问题 7】每一例 AML 都需要细胞或分子遗传学检验吗？在所有的 AML 病例中，有部分属于伴重现性遗传学异常的 AML，这一组 AML 具有预后意义，每一种 AML 结构染色体重排后产生一种融合基因，编码一种融合蛋白，并可能对白血病发病产生影响。因此，在可能的条件下，每一例 AML 都有必要检测有无细胞或分子遗传学异常。

知识点

伴重现性遗传学异常的 AML

①AML with t(8;21)(q22;q22);RUNX-RUNX1T1;②AML with inv(16)(p13.1q22);or t(16;16)(p13.1;q22);CBFB-MYH11;③APL with t(15;17)(q22;q12);PML-RARA;④AML with t(9;11)(p22;q23);MLLT3-MLL;⑤AML with t(6;9)(p23;q34);DEK-NUP214;⑥AML with inv(3)(q21q26.2);or t(3;3)(q21;q26.2);RPN1-EVI1;⑦AML(megakaryoblastic) with t(1;22)(p13;q13);RBM15-MKL1。

思路 1：细胞遗传学异常是 AML 的重要标志，当检出有重现性染色体畸变时，对部分病例有确诊价值（知识点中的①②③属于 WHO 已确认具特异性细胞或分子遗传学异常），本例患者（见图 9-3-6）检出 t(15;17)(q22;q12)，可特异性诊断为伴 t(15;17)(q22;q12) 的 APL。当检出 t(8;21)(q22;q22);inv(16)(p13.1q22) 或 t(16;16)(p13.1;q22) 和 t(15;17)(q22;q12) 时，诊断 AML 的原始细胞的数量可 <20%。但是，当出现其他染色体畸变（知识点中的④～⑦）时，若原始细胞 <20%，目前尚无足够证据可以诊断为 AML。

思路 2：融合基因是部分 AML 诊断和微小残留病（MRD）监测的特异性生物标志物。由于染色体易位所产生的融合基因或一些特异性基因突变是肿瘤细胞最重要的标志之一，检测这些基因比染色体分析的速度快，敏感度也提高 1000 倍以上（RT-PCR 的敏感度 1×10^{-5}）；一些患者未能检出特异的染色体异常，但却可检出相应的融合基因（例如，APL 检出 PML-RARA，但 t(15;17)(q22;q12) 阴性）。在一些临床病例，实时聚合酶链反应（RT-PCR）技术和（或）荧光原位杂交（FISH）可以检测一些低频率、最初的染色体分析中不能观察到的基因异常。伴随 AML 的融合基因或基因突变，可作为监测 MRD 的灵敏、特异性生物标志物，当其在治疗缓解的 AML 患者消失，表明在分子遗传学水平缓解，重新出现提示分子遗传学水平复发，对 MRD 监测、复发的早期诊断具有重要临床意义。

【问题 8】AML 的最新分类方案是什么？

根据血液、骨髓和淋巴组织中增生的髓系细胞种类、恶变程度和患者的病程及临床表现等可进行分类或分型。自从认识到 AML 病以来，已经有多种分类或分型方案，最经典的是 1976 年法、美、英（FAB）三国的 7 名血液学家组成的协作组在传统形态学的基础上结合细胞化学染色，

学习笔记

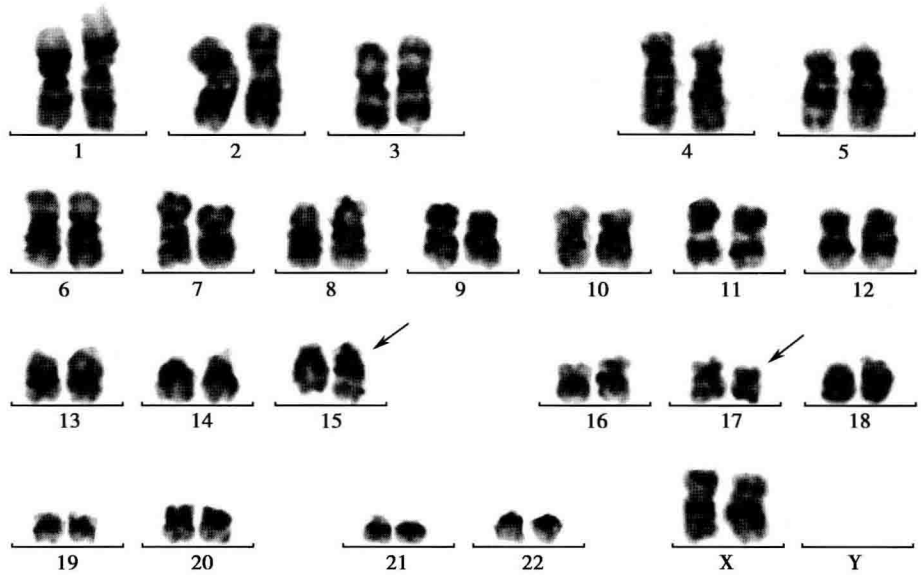


图 9-3-6　染色体核型分析：t(15;17)

制订的 FAB 分类方案；最新的是 2008 年世界卫生组织（WHO）修订的造血与淋巴组织肿瘤的分类方案，简称 WHO 方案（Swerdlow SH，et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues，IARC：Lyon 2008）。

思路 1：根据是否伴重现性遗传学异常分类 AML

伴重现性细胞或分子遗传学异常的分类方案代表了当前 AML 分类的发展趋势，有助于对 AML 的诊断、治疗、监测和发病机制、靶向药物等的研究。

思路 2：对无重现性遗传学异常的 AML，按“未另作特殊分类”（not otherwise specified，NOS）处理。由于一部分 AML 尚未发现伴重现性细胞或分子遗传学异常，在 WHO 分类方案将其另分为一组（AML，NOS），但没有统一标准，一些亚型的临床意义也有待阐明，各亚型分类主要依赖于白血病细胞的形态学、细胞化学和免疫表型特征，确定白血病细胞的主要系列和分化成熟程度。由于白血病细胞源于造血干细胞异常，CD34 阳性是其标志之一。骨髓或血液涂片原始细胞≥20% 是诊断的主要标准，当骨髓纤维化导致骨髓穿刺涂片有核细胞减少时，骨髓活检切片免疫组织化学染色 CD34 细胞数量≥20%，也可作出 AML 诊断。

思路 3：AML，NOS 分类的 WHO 方案与传统 FAB 方案（AML-M1~M7）既不相同，但又有联系。这一组 AML 各亚型的流行病学调查数据主要来源于先前的 FAB 分类方案，但并非可以直接用于 WHO 的分类系统。在 WHO 分类方案中，这一组 AML 病例大多数可被分类为更特异的类型，但其流行病学资料还有待积累。

知识点

未另作特殊分类的急性髓系白血病（AML，NOS）

①AML 微分化型（AML with minimal differentiation）；②AML 未成熟型（AML without maturation）；③AML 成熟型（AML with maturation）；④急性粒单细胞白血病（acute myelomonocytic leukaemia）；⑤急性原单核细胞和单核细胞白血病（acute monoblastic and monocytic leukaemia）；⑥急性红白血病（acute erythroid leukemia）；⑦急性巨核细胞白血病（acute megakaryoblastic leukemia）；⑧急性嗜碱细胞白血病（acute basophilic leukemia）；⑨急性全髓增生伴骨髓纤维化（acute panmyelosis with myelofibrosis）。

学习笔记

二、急性淋巴细胞白血病

在淋巴系肿瘤(lymphoid neoplasms)中,B 细胞、T 细胞或自然杀伤细胞(natural killer cells, NK cells)肿瘤是成熟和未成熟 B 细胞、T 细胞或 NK 细胞在不同分化阶段的克隆性肿瘤。前体淋巴系肿瘤(precursor lymphoid neoplasms)包括 B 原淋巴细胞白血病 / 淋巴瘤(B lymphoblastic leukemia/lymphoma,B-ALL/LBL)和 T 原淋巴细胞白血病 / 淋巴瘤(T lymphoblastic leukemia / lymphoma,T-ALL/LBL)。当淋巴组织(淋巴结或节外组织)出现实质性病变,而骨髓或外周血没有或有极少的淋巴系肿瘤细胞时,应诊断为淋巴瘤。当肿瘤性原淋巴细胞浸润骨髓或外周血时,原淋巴细胞 >25% 可诊断为急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia,ALL),当原淋巴细胞 <20%,一般不应诊断为 ALL。ALL 主要见于儿童患者,约 75% 的患者在 6 岁前发病。B-ALL 占 ALL 的 85% 以上。

病历摘要:

患者男,20 岁。患者因发现全身浅表淋巴结肿大 2 周入院。查体:多处浅表淋巴结肿大,颈部、腋窝及腹股沟均可扪及数个大小不等的淋巴结。肝肋下 6cm,脾脏肋下 4.5cm。胸骨无压痛,腹平软,全身未见出血点,未见其他异常。全血细胞计数:WBC 44×10^9/L,Hb 120g/L,Plt 51×10^9/L。血涂片形态学检查(图 9-3-7):白细胞显著增多,原淋巴细胞占 65%,淋巴细胞 12%、中性粒细胞 20%、单核细胞 3%,易见篮状细胞,成熟红细胞形态未见明显异常,血小板少见。骨髓象:骨髓增生极度活跃。原淋巴细胞占有核细胞 93.5%(图 9-3-8),细胞大小不均,胞体呈圆形或椭圆形,部分细胞外形不规则;细胞核呈圆形或椭圆形,部分细胞核不规则,染色质结构紧密呈颗粒状,核仁清晰 0~2 个或不清;细胞胞质量少,灰蓝色。成熟淋巴细胞 3%。其他细胞显著减少,粒系细胞 3%;红系细胞 0.5%,成熟红细胞形态未见明显异常。巨核细胞见 13 个(2cm × 2cm),其中颗粒型巨核细胞 8 个,成熟型巨核细胞 1 个,裸核 4 个,血小板散在、少见。

图 9-3-7　血涂片,瑞氏染色,×1000
一个原淋巴细胞外形不规则;胞质量少、灰蓝色;细胞核形不规则,核染色质较粗、核仁明显。一个篮状细胞,一个淋巴细胞。

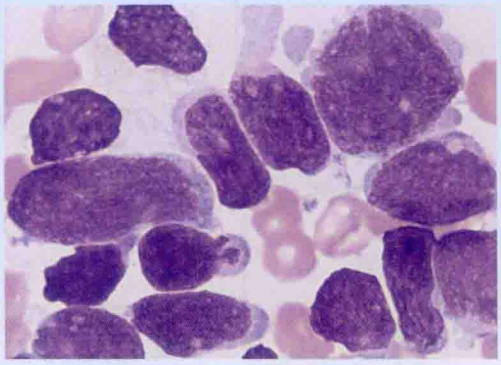


图 9-3-8　骨髓涂片,瑞氏染色,×1000
大量原淋巴细胞,形态与血涂片中类似,但显著大小不均、形态不一。篮状细胞较多

【问题 1】根据病史、临床表现和血象、骨髓象特征,该患者最可能的诊断是什么?

患者青年男性,以全身淋巴结、肝脾大为主要临床表现,发病时间短,血液、骨髓原淋巴细胞显著增高,最可能的诊断为 ALL。

思路 1:骨髓中原淋巴细胞高达 93.5%,可以确诊为 ALL。患者血液和骨髓中原淋巴细胞均 >25%,属于典型的 ALL 病例。与 AML 相比,ALL 的原始细胞阈值略高,<20% 一般不诊断为 ALL。

思路 2:ALL 可能与部分 AML 或其他 AL 的原始细胞形态混淆,应注意鉴别,常用细胞化学

学习笔记

染色是较为简便、快捷的辅助手段。

知识点

常见急性白血病的细胞化学染色鉴别要点

细胞化学染色	急性淋巴细胞白血病	急性粒细胞白血病	急性单核细胞性白血病
髓过氧化物酶(MPO)	阴性	阳性 / 强阳性	弱阳性
特异性酯酶(SE)	阴性	阳性	阴性
非特异性酯酶(NSE)	阴性 / 点状阳性	弱阳性 / 阴性	阳性 / 强阳性
NSE+NaF 抑制试验	阴性	阴性	阳性
糖原染色(PAS 反应)	阳性 / 阴性	阴性 / 弱阳性	阴性

患者骨髓细胞免疫表型分析：①多色流式细胞分析散点图(图 9-3-9)；②流式细胞免疫表型特征：在 CD45/SSC 散点图中，R2(粉红色细胞群)占骨髓有核细胞的 89.2%，此类细胞表达的免疫标志包括：cCD3、CD45RO、CD7、CD5、CD2、CD4、CD8，部分表达 CD1a、TCRαβ，不表达 CD45RA、CD34、CD117、TdT、CD19、CD64、MPO、TCRγδ、CD3、CD56，符合恶性 T 淋巴系原始或幼稚细胞的免疫表型特征。

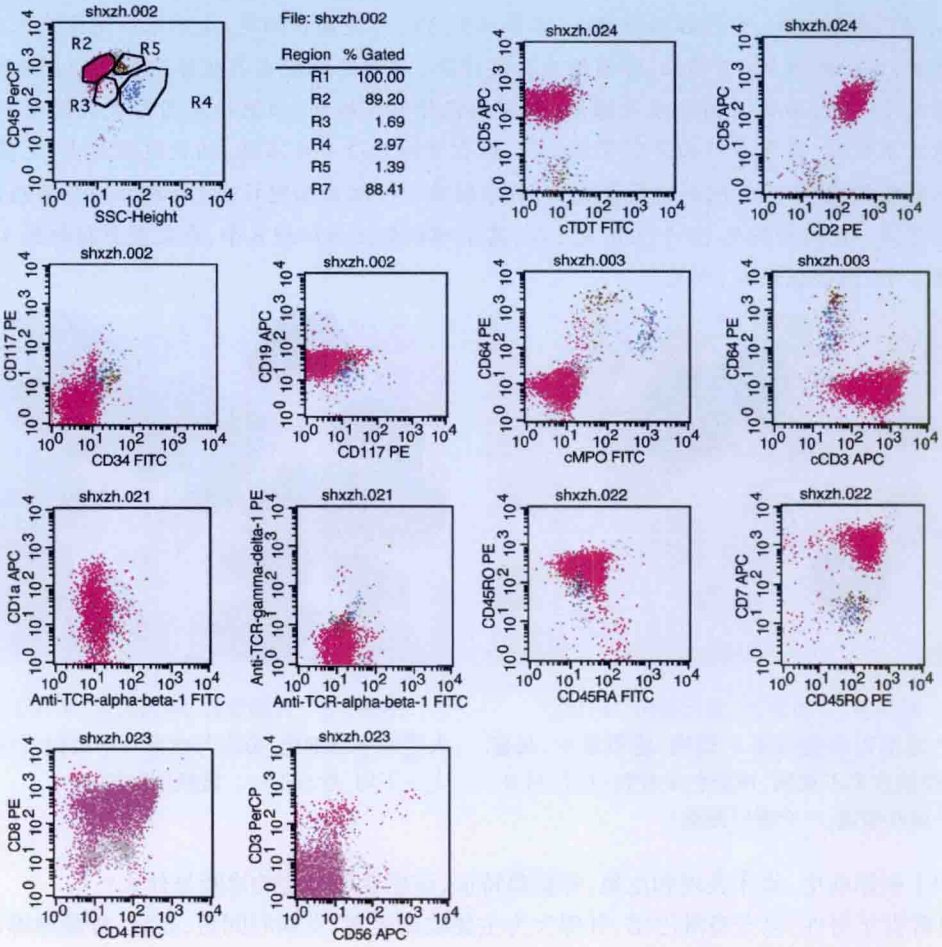


图 9-3-9　流式细胞分析散点图

4 色免疫荧光光染色，CD45/SSC(side scatter)设门；在各荧光散点图中，可观察到各类主要细胞群(不同颜色)的抗原表达水平

【问题 2】免疫表型分析对 ALL 诊断与分型有何意义？

流式细胞分析或免疫组织化学检测血液、骨髓或淋巴组织的细胞免疫表型，结合形态学，足以诊断大多数 ALL/LBL；虽然目前还没有一种免疫标志物对 ALL/LBL 是特异的，但通过多种免疫标志物组合分析，可以正确诊断与分类大多数 ALL/LBL。本例患者符合典型的 T-ALL 免疫表型。

思路 1：免疫表型是确定 ALL 系列的“金标准”。由于 ALL 的形态学特点不明确，很难确定淋巴系细胞的系列。免疫表型是 T、B 或 NK 细胞的最重要免疫标志，并逐渐被认为是淋巴系列确定的“金标准”。虽然 ALL 的免疫表型异常，但在很多方面具有与正常 T/B/NK 细胞分化阶段的免疫表型特征，因此，在一定程度上可以根据相应的正常淋巴细胞的发育特征进行系列及其分化阶段的诊断，通过特异性免疫标志确定 B 或 T 细胞系列具有重要意义。

知识点

淋巴系列特异性免疫标志

B 细胞系：需要多种抗原确认，分为两种情况：① CD19 高表达伴至少 CD79a、cCD22 和 CD10 一项高表达；② CD19 低表达伴至少 CD79a、cCD22 和 CD10 两项高表达。

T 细胞系：胞浆 CD3（cCD3），①CD3 epsilon 链单克隆抗体结合 FCM 检测，免疫组化染色结合 CD3 多克隆抗体（可能检测到 CD3 zeta 链，但并非 T 细胞特异）；②或者表面膜 CD3（smCD3）。

思路 2：免疫表型分析是 ALL 诊断与鉴别诊断的主要手段

无论是 B 细胞型 ALL（B-ALL），还是 T 细胞型 ALL（T-ALL），免疫表型分析均起到中心作用。本例患者的免疫表型符合 T-ALL 的典型特征。当应用多色流式细胞术（常用 4~8 色分析）分析 ALL 的免疫表型时，抗原标志物的不规则表达、交叉表达、过表达或表达缺乏在 ALL 中比较常见，从而有助于良性与恶性淋巴系肿瘤的诊断与鉴别。例如，T-ALL/LBL 19%~32% 的可表达 CD13、CD33，10% 可表达 CD79a。

【问题 3】ALL 如何与混合表型急性白血病（mixed phenotype acute leukaemia with，MPAL）鉴别？

通过多色流式细胞术，尤其是 8~10 色分析，可以准确分析 T 或 B 细胞系和髓系细胞的特异性免疫标志。只要能够确认淋巴系（T/B 系）和髓系抗原共表达，即可诊断 MPAL；若只是 ALL 表达部分非特异髓系免疫标志（例如 CD13、CD33 等），或 AML 表达部分非特异淋巴系免疫标志（例如 CD4、CD7 等），只能视为不规则表达或交叉表达。

知识点

混合表型急性白血病（MPAL）的概念

MPAL 是指骨髓或外周血原始细胞（≥20%，ANC）表达一系以上抗原的急性白血病，通常是白血病性原始细胞表达淋巴系（T/B 细胞系）和髓系（MY）特异性抗原，包括 B 系和髓系（B/MY）、T 系和髓系（T/MY）MPAL。流式细胞分析（FCM）是证实在同一原始细胞上共表达淋巴系和髓系分化抗原（双表型）或两群原始细胞分别表达淋巴系和髓系分化抗原（双系列型）所必需，免疫组化或细胞化学染色也有辅助诊断价值。

思路 1：特异性免疫标志是确定 T 淋巴系、B 淋巴系和髓系的标准。在 2008 年，WHO 的造血与淋巴组织肿瘤分类方案中，对于不明系列急性白血病（acute leukemia of ambiguous lineage，ALAL）的诊断，已经明确提出了一系以上单个原始细胞群确认的特异性免疫标志，被作为国际标准，不再使用过去的多个免疫标志积分标准。

思路 2：混合表型急性白血病属于免疫表型诊断。只有通过多色流式细胞术确定系列特异性免疫标志，才能明确诊断 MPAL。

学习笔记

【问题 4】ALL 的最新分类方案是什么？

WHO 的 2008 年“造血与淋巴组织肿瘤分类”方案将 ALL 分类在前体淋巴细胞肿瘤(precursor lymphoid neoplasms)大类中，并未单独对 ALL 分类，而是将 ALL 或淋巴瘤(lymphoma)分为一类，ALL 或淋巴母细胞淋巴瘤是同一疾病的不同阶段。

思路 1：根据有无重现性遗传学异常将 B-ALL 分为两类：① B 原淋巴细胞白血病 / 淋巴瘤，未另作特殊分类(B lymphoblastic leukemia/lymphoma，NOS)；② B 原淋巴细胞白血病 / 淋巴瘤伴重现性遗传学异常(B lymphoblastic leukemia/lymphoma with recurrent genetic abnormalities)。B-ALL/LBL 伴重现性细胞或分子遗传学异常已达 7 种。

思路 2：T-ALL 仅分为一类，即 T 原淋巴细胞白血病 / 淋巴瘤(T lymphoblastic leukemia / lymphoma)，目前还没有 T-ALL/LBL 伴重现性细胞或分子遗传学异常的报道。

【问题 5】若 ALL 患者治疗后完全缓解，如何监测微小残留病(MRD)？

思路 1：多色流式细胞分析(MFCM)可通过免疫表型异常诊断 MRD。通过荧光素标记的多种单克隆抗体组合，尤其是 8~10 色分析，可以检测到较低含量的 ALL-MRD 细胞，灵敏度可达 1×10^{-5}，有助于监测 ALL 疗效和早期复发。

思路 2：对于有重现性遗传学异常的 ALL，可通过细胞或分子遗传学技术确认 MRD。例如，B-ALL 伴 t(9;22)(q34;q11)；*BCR-ABL1* 可通过监测 t(9;22)(q34;q11)或 *BCR-ABL1* 融合基因确认 MRD；融合基因检测的灵敏度可达 1×10^{-6}，而 t(9;22)(q34;q11)检测的灵敏度较低，一般为 1×10^{-2}，但特异性更高。

知识点

微小残留病(MRD)

白血病 MRD 是指在白血病经诱导化疗获完全缓解后或是骨髓移植治疗后，体内仍残留有少量白血病细胞的状态。初治时，患者体内白血病细胞总数为 10^{10}~10^{12}。经化疗诱导至完全缓解后，白血病细胞可降至 10^{8}~10^{9} 以下。此时，用一般形态学的方法已难以检出白血病细胞的存在，MRD 细胞为白血病复发的根源。定期检测 MRD 十分重要：①有利于更早地预测白血病的复发；指导临床治疗，并根据体内 MRD 细胞多少以决定是继续化疗或停止化疗；②有利于较早发现白血病细胞是否耐药，并依此指导临床用药或改变治疗措施；③有助于评价自体造血干细胞移植的净化效果。

【问题 6】患者疑为中枢神经系统白血病(central nervous system leukemia，CNSL)时应如何诊断？

CNSL 是白血病细胞髓外浸润至蛛网膜或蛛网膜邻近神经组织而产生的临床症状和体征，是白血病的一种常见并发症，对预后有重要影响。对 AL 患者在治疗过程中出现中枢神经系统异常表现，考虑并发 CNSL 时，通过各种手段在脑脊液中查到白血病细胞，即可诊断 CNSL。

知识点

中枢神经系统白血病(CNSL)国内诊断标准

1. 有中枢神经系统症状和体征(尤其是颅内压增高的症状和体征)。

2. 有脑脊液改变　①压力增高(>0.02kPa 或 200mmH_2O)，或滴速大于 60 滴 / 分；②白细胞数 $>0.01\times10^{9}$/L；③涂片见到白血病细胞；④蛋白 >450mg/L，或潘氏试验阳性。

3. 排除其他原因造成的中枢神经系统或脑脊液的相似改变。

注：符合 3 加 2 中③或其他任两项者可诊断为 CNSL；无症状，但有脑脊液改变，可诊断为 CNSL；有症状而无脑脊液改变，经抗 CNSL 治疗后症状有明显改善者可诊断为 CNSL。

学习笔记

思路 1：脑脊液涂片查白血病细胞。ALL 易并发 CNSL，尤其见于儿童患者。脑脊液离心、浓缩涂片检查诊断 CNSL 在临床常规应用，但 CNSL 细胞形态不如血液或骨髓中典型，形态学识别易受检验者主观因素影响，灵敏度较低，但如果确认，诊断 CNSL 的特异性高。

思路 2：多色流式细胞术分析脑脊液细胞免疫表型。通过免疫表型检测脑脊液中的 CNS-L 细胞，近年来临床应用较多，能较为客观、快速诊断 CNSL，比脑脊液涂片灵敏度高。

（王建中）

第四节　慢性白血病

一、慢性髓系白血病伴 *BCR-ABL1* 阳性

慢性髓系白血病（chronic myelogenous leukemia，CML）伴 *BCR-ABL1* 阳性是一种原发于骨髓异常多能骨髓造血干细胞的骨髓增殖性肿瘤，并与定位于 Ph 染色体上 *BCR-ABL1* 融合基因密切相关，虽然最初主要为中性粒细胞增多，但 *BCR-ABL1* 融合基因阳性可见于所有髓系细胞。

CML 伴 *BCR-ABL1* 阳性可发生于任何年龄，但以青壮年多见。全世界的发病率每年 1/10 万～2/10 万。CML 起病隐袭，进展较慢。按自然病程可分为两期或三期，早期为慢性期（chronic phase，CP），晚期可急性变，转化为急性白血病，称为原始细胞期（blast phase，BP）或急变期，从 CP 向 BP 转化的过程称为加速期（accelerated phase，AP）。慢性期者早期多无症状，20%~40% 的患者常在体检时发现白细胞增高被偶然发现，随病情进展可出现低热、乏力、腹胀，脾脏肿大是其突出的体征，其次为肝脏肿大。此期如及时治疗大部分患者可获得缓解，但部分患者可转为急性白血病。

病历摘要：

患者男，47 岁。患者因近 1 个月无明显诱因出现全身乏力，体力下降，多汗、食欲减退，体重下降，腹胀，自觉有腹部肿块就诊。查体：肝脏肋下未及，脾脏肋下 5cm；胸骨中下段压痛；皮肤苍白，未见皮疹、瘀点、瘀斑，全身浅表淋巴结不大。全血细胞计数：WBC 34×10^9/L、Hb 128g/L，Plt 789×10^9/L。血涂片形态学检查：白细胞显著增多，中性中幼粒细胞 3%、中性晚幼粒细胞 7%、中性杆状核粒细胞 13%、中性分叶核粒细胞 50%、嗜酸性粒细胞 3%、嗜碱性粒细胞 17%（图 9-4-1）、淋巴细胞 4%、单核细胞 3%；血小板增多，成堆分布。骨髓象：骨髓增生极度活跃（图 9-4-2），粒系异常增生，占骨髓有核细胞 91.5%，原粒细胞 3.5%，中性中、

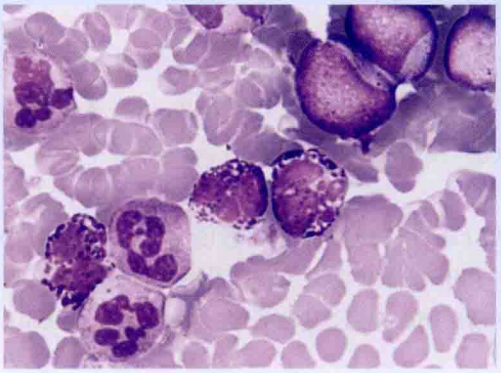


图 9-4-1　血涂片，瑞氏染色，×1000
幼稚与成熟粒细胞增多，嗜碱性粒细胞显著增加

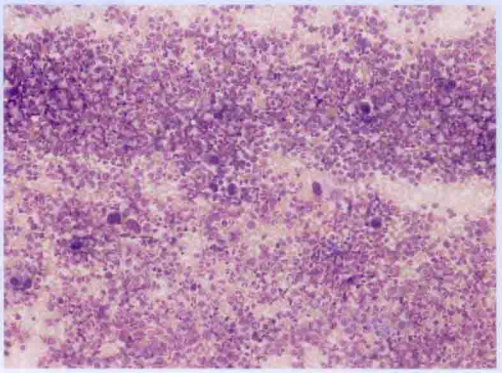


图 9-4-2　骨髓涂片，瑞氏染色，×1000
骨髓增生极度活跃，以粒细胞增生为主，巨核细胞明显增多

学习笔记

晚幼粒细胞35%；中性杆状核和分叶核粒细胞43.5%，嗜酸性粒细胞7.5%、嗜碱性粒细胞2%（图9-4-3）；红系细胞6%，以中、晚幼红细胞为主，成熟红细胞形态未见明显异常；淋巴细胞2.5%。巨核细胞显著增多（图9-4-2，图9-4-4），在0.5cm×0.5cm片膜中共计数462个，其中颗粒型330个，产血小板型120个，裸核12个，血小板成堆、多见（图9-4-4）。

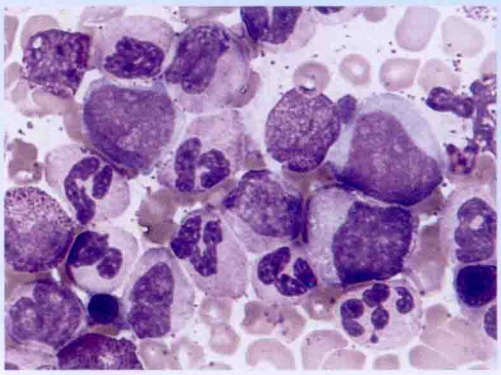


图9-4-3　骨髓涂片，瑞氏染色，×1000
粒系细胞极度增生，原粒细胞可见，以幼稚与成熟粒细胞增多为主，嗜酸性、嗜碱性粒细胞显著增多

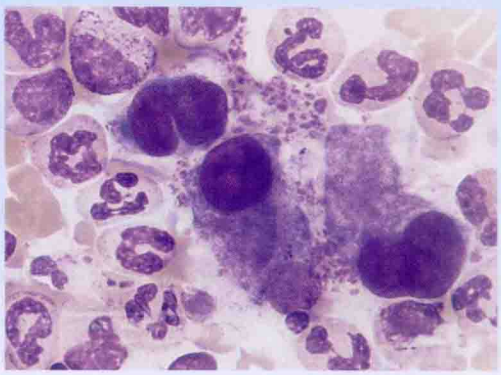


图9-4-4　骨髓涂片，瑞氏染色，×1000
巨核细胞增多，血小板生成增多，并可见幼巨核细胞产生血小板

【问题1】根据病史、临床表现及血象、骨髓象特点，该患者最可能的诊断是什么？

思路1：血象提示CML：以中性幼稚和成熟粒细胞显著增高为主，伴嗜碱性粒细胞异常增多，原粒细胞<2%，符合CML典型特征。

思路2：骨髓象可以明确CML的诊断：以髓系幼稚和成熟粒细胞极度增生为特征，伴巨核细胞显著增多，原粒细胞<5%，可诊断为CML慢性期。

【问题2】确诊CML伴*BCR-ABL1*阳性必须细胞或分子遗传学检验吗？

思路1：Ph染色体是CML的标志染色体（图9-4-5）。90%~95%的CML病例在诊断时可检出Ph染色体，即t(9;22)(q34;q11.2)。当临床表现和细胞形态学支持CML诊断时，染色体核型分析发现Ph染色体是诊断CML最重要的证据。本例患者Ph染色体检查阳性，染色体核型分析：46，XY，t(9;22)(q34;q11)。Ph染色体并非CML特有，少数AML、部分ALL也可查到。

知识点

Ph染色体（费城染色体）

Ph染色体首先由诺维尔（Nowell）1973年在美国费城（Philadelphia）从慢性髓系白血病（CML）患者的外周血细胞中发现，故命名为Ph染色体。后来的研究证实Ph染色体是9号与22号染色体长臂远端相互易位，即t(9;22)(q34;q11.2)，形成的CML标志性染色体。

思路2：*BCR-ABL1*融合基因是CML伴*BCR-ABL1*阳性的特异性分子遗传学标志。有5%~10%的CML病例，由于变异易位，无Ph染色体，但能通过FISH（图9-4-6）、RT-PCR或印迹杂交（southern blot）查到*BCR-ABL1*融合基因。本例患者检测*BCR-ABL1*融合基因阳性，最终诊断为CML伴*BCR-ABL1*阳性。

学习笔记

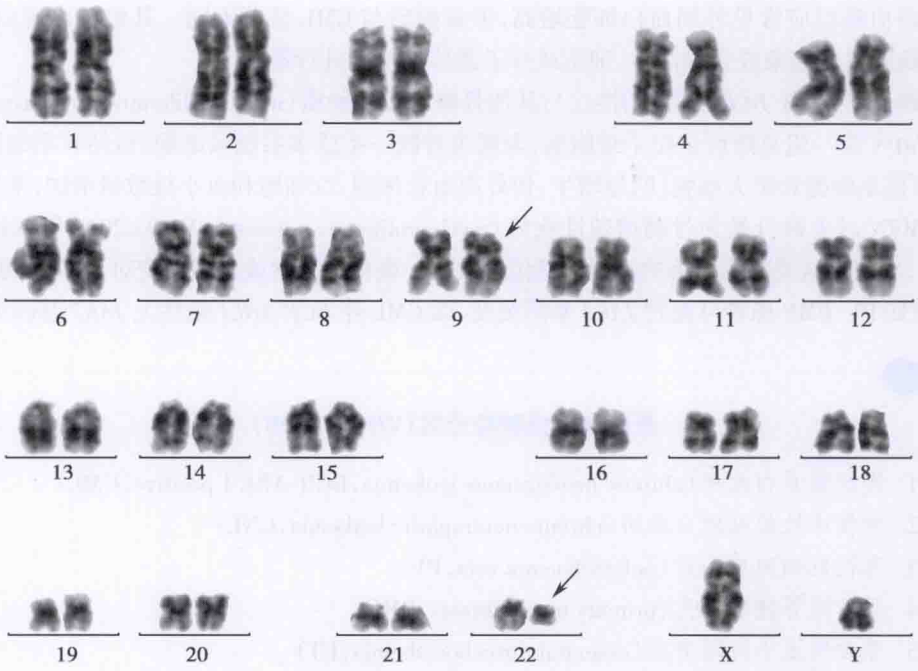


图 9-4-5　染色体核型分析：t(9;22)

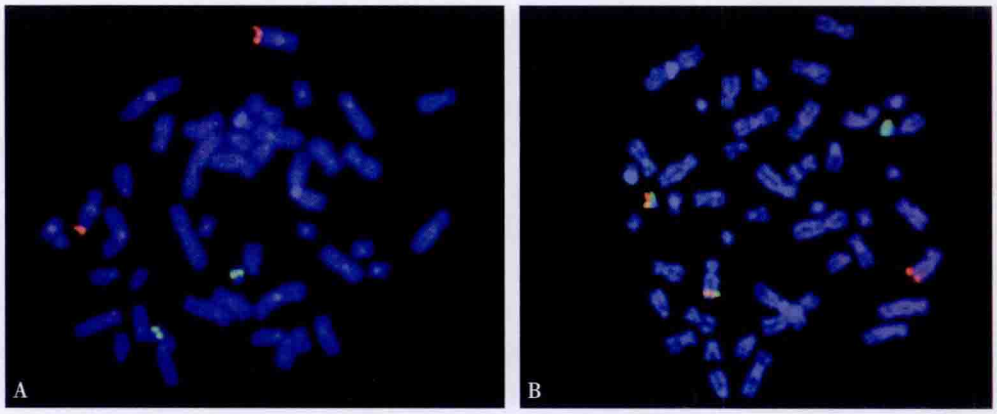


图 9-4-6　染色体荧光原位杂交

双色融合基因探针，橙红色 -*ABL1* 基因，绿色 -*BCR* 基因。A. 正常人细胞，两个橙红色信号指示 9q34 上的 *ABL1* 基因；两个绿色信号指示 22q11.2 上的 *BCR* 基因；B. CML 患者细胞，一个橙红色信号和一个绿色信号，两个黄色（橙红色 / 绿色）信号指示 t(9;22)(9q34;22q11.2) 形成的 *BCR-ABL1* 融合基因

知识点

BCR-ABL1 融合基因

经分子生物学技术证实 Ph 染色体是由于正常定位在 9 号染色体长臂上的 *ABL1* 基因发生断裂并易位于 22 号染色体 *BCR* 基因，在断点处形成 *BCR-ABL1* 融合基因，并编码一种分子量约为 210kD 的异常的融合蛋白（p210），p210 具有较强的酪氨酸激酶活性，导致正常骨髓细胞转化为 CML 细胞。

【问题 3】诊断 CML 伴 *BCR-ABL1* 阳性时，需要与哪些疾病鉴别诊断？

思路 1：CML 应与类白血病反应鉴别

学习笔记

类白血病反应常见外周血白细胞增高，但骨髓象与 CML 显著不同。其他可出现白细胞增多的疾病通过骨髓象或骨髓活检、细胞或分子遗传学检验进行鉴别。

思路 2：CML 伴 *BCR-ABL1* 阳性应与其他骨髓增殖性肿瘤（myeloproliferative neoplasms，MPN）鉴别。MPN 是一组克隆性造血干细胞病，表现为骨髓一系或多系髓系细胞（包括粒系细胞、红系细胞、巨核系细胞和肥大细胞）明显增生，使外周血粒细胞、红细胞和血小板数量增加，常见肝、脾肿大。MPN 过去被分类为骨髓增殖性疾病（myeloproliferative diseases，MPD），2008 年 WHO 分类为 MPN，反映了这类疾病显著的克隆性遗传学改变。染色体异常或基因突变对 MPN 诊断有重要意义，例如 PV、PMF 患者可查到 *JAK2* 基因突变，而 CML 伴 *BCR-ABL1* 阳性无 *JAK2* 基因突变。

知识点

骨髓增殖性肿瘤分类（WHO，2008）

1. 慢性髓系白血病（chronic myelogenous leukemia，BCR-ABL 1 positive，CML）
2. 慢性中性粒细胞白血病（chronic neutrophilic leukemia，CNL）
3. 真性红细胞增多症（polycythaemia vera，PV）
4. 原发性骨髓纤维化（primary myelofibrosis，PMF）
5. 原发性血小板增多症（essential thrombocythemia，ET）
6. 慢性嗜酸性粒细胞白血病，不另做特殊分类（chronic eosinophilic leukaemia，NOS）
7. 肥大细胞增生症（mastocytosis）
8. 骨髓增殖性肿瘤，未分类（myeloproliferative neoplasms，unclassifiable）

【问题 4】CML 伴 *BCR-ABL1* 阳性的临床分期有何意义？

CML 伴 *BCR-ABL1* 阳性可分为慢性期（CP）、加速期（AP）和原始细胞期（BP）三期，三期的血液学特点完全不同，并伴有一定的临床表现，临床治疗着重于 CP。

思路 1：CML 伴 *BCR-ABL1* 阳性可以根据临床表现和实验诊断特点分为三期，其中 CP 诊断最为重要，CP 的诊断标准：①临床表现：无症状，或有低热、乏力、多汗、体重减轻等症状；②血象：WBC 显著增高，以中性中幼粒细胞以下各阶段细胞为主，原粒细胞通常 <2%，伴嗜碱性粒细胞和（或）嗜酸性粒细胞持续增多；RBC、Hb 多不减低。Plt 可明显增高；③骨髓象：骨髓增生极度活跃，粒系细胞明显增生，以中性中幼粒细胞以下各阶段细胞为主，原粒细胞及早幼粒细胞轻度增多，原粒细胞通常 <5%。嗜碱性粒细胞和（或）嗜酸性粒细胞常明显增多，嗜碱性粒细胞有时可高达 15% 以上。当患者处于 AP 后，部分患者病情可逐渐恶化，进展至 BP，最终转化为急性白血病。

知识点

CML 伴 *BCR-ABL1* 阳性加速期（AP）的诊断标准（WHO 2008）

①持续性或白细胞增高（$>10\times10^9$/L）或持续性治疗无反应性脾大；②治疗无法控制的持续性血小板增高（$>1000\times10^9$/L）；③与治疗无关的持续性血小板减少（$<100\times10^9$/L）；④出现与初始诊断时核型不同克隆性细胞遗传学异常；⑤外周血嗜碱性粒细胞≥20%；⑥外周血或骨髓原粒细胞 10%~19%；标准①～④更有可能与从 CP 转化为 AP 相关，而标准⑤和⑥表明 AP 向 BP 转化。

思路 2：在 CML 伴 *BCR-ABL1* 阳性的不同病期，治疗方案有明显不同。CP 治疗的初始目标是控制异常增高的 WBC，缓解相关症状及体征，使患者达到血液学、细胞或分子遗传学三个层次的缓解，避免疾病进展。

学习笔记

知识点

CML 治疗缓解的判断标准

1. 血液学缓解　①完全缓解(CR):WBC<10×10^9/L,Plt<450×10^9/L;外周血无髓系不成熟细胞,;无症状及阳性体征,脾不可触及;②部分缓解(PR):基本同 CR,除外周血有不成熟粒细胞;Plt 较治疗前下降 50% 以上,但仍 >450×10^9/L;脾持续肿大,但较治疗前缩小 50% 以上。

2. 细胞遗传学缓解　① CR:Ph 染色体阴性;② PR:Ph 染色体 1%~35%。

3. 分子遗传学缓解　① CR:*BCR-ABL1* 转录子阴性;②主要缓解:较治疗前下降≥3log。

【问题 5】CML 伴 *BCR-ABL1* 阳性应与哪些疾病鉴别诊断?

类白血病反应(leukemoid reaction,LR)常见与 CML 混淆,但多因原发疾病治愈后,与 CML 类似的临床表现、血象、骨髓象恢复正常。原发性骨髓纤维化(primary myelofibrosis,PMF)和慢性粒单细胞白血病(chronic myelomonocytic leukemia,CMML)无 Ph 染色体和 *BCR-ABL1* 融合基因,可与 CML 鉴别。

思路 1:LR 常并发于严重感染、恶性肿瘤和创伤等,可出现 WBC 增高,甚至外周血出现幼稚粒细胞,也可有脾大等临床表现,但嗜酸性和嗜碱性粒细胞一般不增多(除嗜酸性粒细胞 LR 外),中性粒细胞碱性磷酸酶(neutrophil alkaline phosphatase,NAP)染色强阳性。

思路 2:MF 虽有显著脾肿大,外周血 WBC 增高,或出现原始或幼稚粒细胞增多,但 WBC 增多常≤30×10^9/L,外周血出现幼红细胞、泪滴形红细胞增多,NAP 染色阳性。CMML 的血象与骨髓象可与 CML 类似,但单核细胞增多,且外周血持续性单核细胞计数 >1×10^9/L;嗜酸性和嗜碱性粒细胞不增多。

二、慢性淋巴细胞白血病

慢性淋巴细胞白血病 / 小淋巴细胞淋巴瘤(chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma,CLL/SLL)是一种由单一形态小、圆形或轻度不规则 B 淋巴细胞在外周血、骨髓、脾脏和淋巴结增生所致的一种成熟淋巴细胞肿瘤。CLL/SLL 发病绝大多数是 50 岁以上老年人,在西欧和北美各国发病率较高,亚洲较少见。患者起病隐匿,进展缓慢,早期多无症状,随疾病进展可有消瘦、皮肤损害、感染、贫血及出血等表现,全身淋巴结肿大为其突出体征,肝、脾轻度肿大。

病历摘要:

患者女,66 岁。患者半年前无明显诱因自觉乏力,未予重视。几天前无意中发现颈部肿物就诊。查体:颈部和锁骨上淋巴结肿大,肿大的淋巴结较硬、有压痛、无粘连、可移动。CT 扫描见腹膜后和肠系膜淋巴结肿大。B 超显示肝脏正常、脾脏轻度肿大。无骨痛、出血、发热表现。全血细胞计数:WBC 15×10^9/L,Hb 149g/L,Plt 238×10^9/L。血涂片形态学检验:淋巴细胞显著增多,占 92%(图 9-4-7),中性粒细胞 7%,单核细胞 1%,易见涂抹细胞(图 9-4-7);成熟红细胞形态未见明显异常;血小板散在、易见。

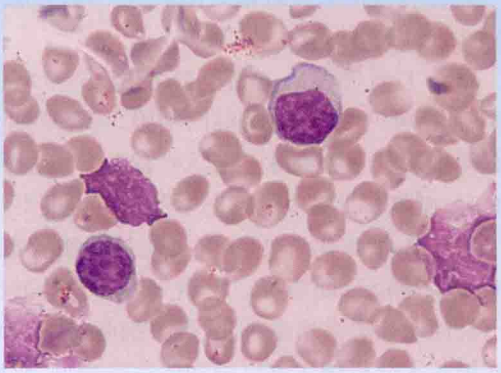


图 9-4-7　血涂片,瑞氏染色,×1000
两个成熟样淋巴细胞。两个篮状细胞

学习笔记

【问题1】根据病史、临床表现及血象特点，该患者可能的诊断是什么？

老年患者，慢性全身淋巴结肿大，血液淋巴细胞显著升高，易见涂抹细胞，该患者最可能的诊断为慢性淋巴系肿瘤，尤其是CLL的可能性大。

思路1：老年患者，慢性全身淋巴结肿大，首先考虑慢性淋巴系肿瘤。早期患者临床表现缺乏特异性，但全身淋巴结肿大、轻度脾大，符合成熟淋巴系肿瘤的临床特点。

思路2：血液淋巴细胞持续升高≥5×10^9/L，提示CLL。患者WBC轻度升高，但分类计数成熟淋巴细胞比例高达92%，计算淋巴细胞的绝对数为13.8×10^9/L，符合血象CLL的特点，但患者骨髓象如何？增高的淋巴细胞性质均有待确定。

患者骨髓象：骨髓有核细胞增生极度活跃，淋巴系细胞占93.5%，其中幼淋巴细胞2.5%，成熟样淋巴细胞91%，大部分细胞核染色质不均匀，聚集呈块状（图9-4-8）。粒系细胞占有核细胞4.5%，中性中幼粒及以下阶段细胞可见，比例减低。红系细胞占有核细胞2%，成熟红细胞形态未见明显异常。巨核细胞见3个（2cm×1cm），其中颗粒型巨核细胞2个，裸核1个，血小板易见，呈小簇状分布。

细胞化学染色：过碘酸-希夫反应（PAS染色）阳性，部分淋巴细胞颗粒状阳性（见图9-4-9）。

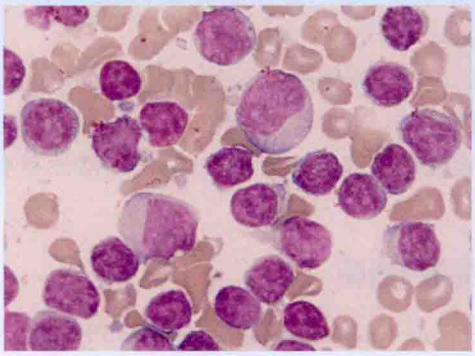


图9-4-8　骨髓涂片，瑞氏染色，×1000
大量成熟样淋巴细胞，两个幼淋巴细胞

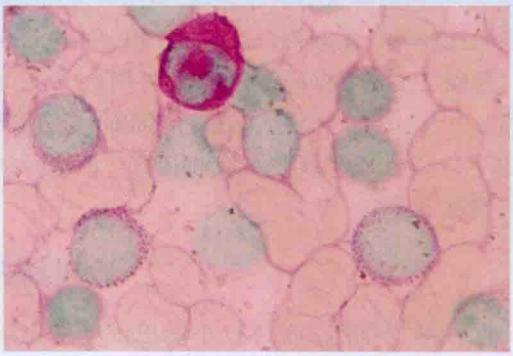


图9-4-9　骨髓涂片，PAS染色，×1000
三个淋巴细胞胞质中有粗颗粒状PAS阳性反应物质

【问题2】结合骨髓象，该患者最可能的诊断是什么？

患者的骨髓象与血象变化基本一致，骨髓成熟样淋巴细胞极度增生，而且部分细胞PAS染色阳性，最可能的诊断为CLL。

思路1：骨髓淋巴细胞极度增生，占93.5%，首先考虑CLL。患者骨髓成熟样淋巴细胞高达91%，而且可见2.5%的幼淋巴细胞，符合早期CLL的形态学特点，但对于增生淋巴细胞的性质仍有待确认。骨髓或淋巴结活检有助于SLL的诊断，但当淋巴瘤细胞浸润骨髓或外周血转化为CLL时，血象和骨髓象的形态学检查更为重要。

思路2：细胞化学染色，尤其是过碘酸-希夫反应（periodic acid-Schiff，PAS），又称PAS染色，对CLL有辅助诊断意义。患者骨髓增生的淋巴细胞经PAS染色可见部分细胞呈颗粒状阳性，提示其性质为恶性增生，但大部分细胞PAS染色阴性，难以判断其增生的性质。因此，采用多色流式细胞术分析增生淋巴细胞的免疫表型，对确认其淋巴细胞系列及其分化阶段，良、恶性增生性质，尤其是对CLL的确诊十分必要。

学习笔记

患者骨髓细胞免疫表型分析：①多色流式细胞分析散点图（图 9-4-10）；②流式细胞免疫表型特征：CD45/SSC 散点图中，R2（绿色细胞群）占骨髓有核细胞的 89.07%，细胞表达 CD19、CD5、CD23、CD20、免疫球蛋白（Ig）λ 轻链，不表达 κ 轻链、CD56、CD38、CD138、CD4、CD8、CD3、FMC7、CD34、CD10，FSC、SSC 小，符合恶性成熟小 B 细胞的免疫表型特征。

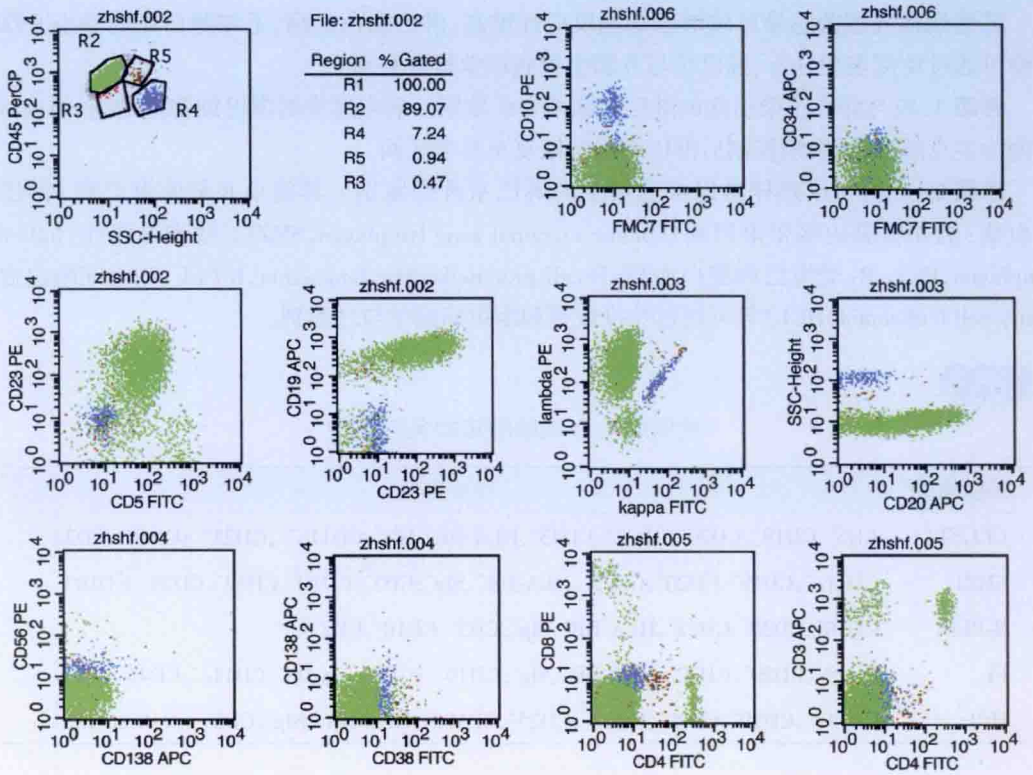


图 9-4-10　流式细胞分析散点图

4 色免疫荧光光染色，CD45/SSC（side scatter）设门；在各荧光散点图中，可观察到各类主要细胞群（不同颜色）的抗原表达水平

【问题 3】多色流式细胞术（MFCM）可以确诊 CLL 吗？

CLL 是一种慢性小 B 淋巴细胞肿瘤，属于成熟 B 淋巴细胞的恶性增殖性疾病。当形态学符合 CLL 特点时，MFCM 则成为其最重要的确诊手段。

思路 1：血液或骨髓细胞免疫表型分析是 CLL 诊断的必须检查项目之一。早期 CLL 患者 RBC 和 Hb 多为正常，晚期可见减低。WBC 增高，淋巴细胞计数持续增高；骨髓增生极度或明显活跃，淋巴系细胞显著增生，以分化较好的白血病性淋巴细胞为主，>40% 甚至高达 90% 以上。该患者骨髓免疫表型分析为成熟 B 细胞免疫表型，符合 B-CLL 特征。

思路 2：免疫表型分析可确定 B 淋巴细胞是否属于克隆性增生。CLL 的最终确诊是外周血 CLL 表型的单克隆性淋巴细胞必须 $\geq 5 \times 10^9$/L。CLL 表型的单克隆淋巴细胞主要为成熟 B 细胞抗原 CD19、CD20、CD23 等与非 B 细胞抗原 CD5 的共表达，不表达 CD10 等早期 B 细胞抗原。本例患者还检测了 CLL 表型的细胞表面 Igκ 和 Igλ 轻链，结果呈限制性 λ 轻链表达（正常 B 细胞表面 Igκ 和 λ 轻链的比例约为 3∶2），表明为恶性增殖 B 细胞，可以确诊为 B-CLL。

【问题 4】细胞或分子遗传学检查对 CLL 有何意义？

CLL 伴细胞或分子遗传学异常的患者，对疗效及预后判断有一定意义。

学习笔记

思路 1：染色体核型异常可见于大部分 CLL 病例。约 80% 的病例可检出（FISH）细胞遗传学异常；大约 50% 的 B-CLL 患者有 del13q14.3（13q-），单纯 13q- 的患者预后较好；伴复杂染色体异常的病例预后较差。

思路 2：免疫球蛋白重链可变区基因（IgH_V）突变与否和 CLL 的生存期相关。CLL 伴 IgH_V 突变的患者有较长生存期；无突变者生存期短。

【问题 5】诊断 CLL 时，需要与哪些疾病鉴别诊断？

某些病毒或细菌感染可致淋巴细胞反应性增高，淋巴瘤白血病、毛细胞白血病等小 B 细胞肿瘤可通过免疫表型分析、淋巴结与骨髓组织病理学检查鉴别。

思路 1：应与病毒感染引起的淋巴细胞增多症鉴别。病毒感染时淋巴细胞常增高，但 MFCM 检测为多克隆性，原发病控制后淋巴细胞常恢复至参考区间。

思路 2：必须与成熟样淋巴细胞增生的淋巴系肿瘤鉴别。其他小 B 细胞淋巴瘤 / 淋巴瘤白血病：例如脾脏边缘带淋巴瘤（splenic marginal zone lymphoma，SMZL）、滤泡淋巴瘤（follicular lymphoma，FL）、B- 幼淋巴细胞白血病（B-cell prolymphocytic leukaemia，B-PLL）和毛细胞白血病（hairy cell leukaemia，HCL）等可通过免疫表型和组织病理学与之鉴别。

知识点

常见成熟 B 细胞肿瘤的免疫表型

疾病类型	免疫表型
CLL/SLL	$CD5^+$、$CD19^+$、$CD20^+$、$CD23^+$、$CD43^+$、$HLA\text{-}DR^+$、SIg^+；$CD11c^{+/-}$、$CD25^{+/-}$；$CD10^-$、$CD22^-$
SMZL	$CD11c^+$、$CD19^+$、$CD20^+$、$CD22^+$、$HLA\text{-}DR^+$、SIg^+；$CD5^-$、$CD10^-$、$CD23^-$、$CD25^-$、$CD103^-$
B-PLL	$CD19^+$、$CD20^+$、$CD22^+$、$HLA\text{-}DR^+$、SIg^+；$CD5^-$、$CD10^-$、$CD23^-$
FL	$CD19^+$、$CD20^+$、$CD22^+$、$HLA\text{-}DR^+$、SIg^+；$CD10^+$、；$CD23^{+/-}$；$CD5^-$、$CD11c^-$、$CD43^-$
HCL	$CD11c^+$、$CD19^+$、$CD20^+$、$CD22^+$、$CD25^+$、$CD103^+$、$HLA\text{-}DR^+$、SIg^+；$CD5^-$、$CD10^-$、$CD23^-$

【问题 6】CLL 可出现哪些并发症或转化为其他哪些疾病？

大部分 CLL 呈慢性、惰性病程，早期不需要化疗。部分患者可并发其他疾病或转化为其他白血病，此时应及时诊断并采取适当的治疗措施。

思路 1：部分病例可并发自身免疫性溶血性贫血。4%~25% 的晚期或化疗后 CLL 患者并发自身免疫性溶血性贫血，患者血液网织红细胞可增高、血清总胆红素增高、抗人球蛋白试验阳性，骨髓幼红细胞增多等。

思路 2：少部分病例可转化为其他类型的淋巴系肿瘤等。CLL 患者在转化病程中，可逐渐出现幼淋巴细胞比例增加；当幼淋巴细胞大于 55% 时，可诊断为 B-PLL。此外，晚期患者还可能转化为其他造血与淋巴组织肿瘤。

（王建中）

第五节　浆细胞骨髓瘤

浆细胞骨髓瘤（plasma cell myeloma，PCM）是源于骨髓并与血清和（或）尿液 M- 蛋白相关的多灶性浆细胞肿瘤，又称为多发性骨髓瘤（multiple myeloma，MM），是恶性浆细胞病中最常见的一种，占造血系统肿瘤的 10%~15%，主要见于中老年患者。由于骨髓克隆性浆细胞恶性增殖和广泛浸润，并分泌大量单克隆免疫球蛋白，简称 M- 蛋白（monoclonal proteins，M-protein），从而引起广泛性溶骨性骨质破坏、出现骨痛甚至病理性骨折和高钙血症。患者可因正常免疫球蛋白

含量减少、免疫功能缺陷等常并发反复感染。在大多数情况下，患者有弥漫性骨髓受累，瘤细胞浸润骨髓，抑制正常造血细胞增殖而出现不同程度贫血、血小板减少等。由于异常免疫球蛋白与血浆某些凝血因子（纤维蛋白原、凝血酶原，Ⅴ、Ⅷ因子等）形成复合物或附着在血小板表面而阻碍了正常的止血和凝血过程，患者常可见皮肤黏膜甚至组织器官出血。高异常免疫球蛋白导致高黏滞综合征和肾脏损害等临床表现。

病历摘要：

患者女，59岁。因乏力、骨痛、面色苍白于骨科就诊。查体贫血貌，肝脾不大，浅表淋巴结未触及，X线显示左侧颅骨溶骨性改变。全血细胞计数：WBC 7.48×10^9/L、Hb 69g/L、Plt 288×10^9/L。血涂片形态学检验：中性杆状核粒细胞7%、中性分叶核粒细胞67%、嗜酸性粒细胞3%、嗜碱性粒细胞1%、淋巴细胞18%、单核细胞4%；成熟红细胞可见缗钱状排列（图9-5-1）；血小板易见，呈小簇状分布。尿液常规检验：尿蛋白（+）、白细胞（+~++）、红细胞（−）。红细胞沉降率：75mm/h。肾功能试验：血清尿素39.4mmol/L，血清肌酐211μmol/L、尿酸538μmol/L、β_2-微球蛋白3.3mg/L。肝功能试验：血清转氨酶（ALT）51U/L、碱性磷酸酶（ALP）382U/L；总蛋白（TP）83g/L、白蛋白（Alb）34g/L、球蛋白（Glo）48g/L。

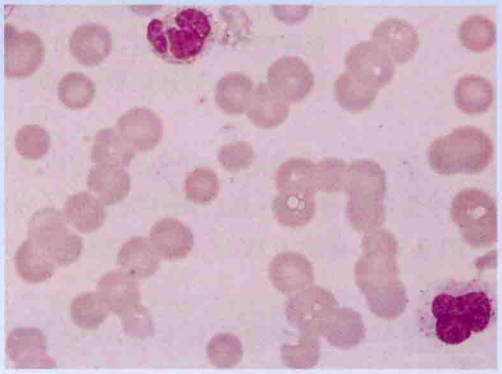


图9-5-1　血涂片，瑞氏染色，×1000
大部分红细胞呈缗钱状排列

【问题1】根据病史、临床表现、血象及各项实验诊断指标的异常特征，该患者可能的诊断是什么？

最可能的诊断是PCM。

思路1：中老年患者、贫血、溶骨性改变、血涂片红细胞呈缗钱状排列，提示PCM可能。大部分PCM患者发病呈慢性过程，早期可无症状。随着病情进展，PCM细胞大量增生并分泌M-蛋白，患者开始出现各种症状和体征。本例患者以骨痛明显在骨科就诊，临床也常见以急、慢性肾衰在肾内科就诊的患者，也有因神经系统为首发症状就诊的。对有PCM相关临床表现的中老年患者，应注意选择实验诊断筛查项目，血涂片检查特别应注意红细胞有无缗钱状排列，对PCM的筛查有重要价值。

思路2：肝肾功能异常，白/球蛋白比值倒置，支持PCM。患者血清肌酐、尿素、尿酸、β_2-微球蛋白显著升高，血清碱性磷酸酶显著升高，白/球蛋白比例倒置，表明肝肾功能严重受损。要确诊PCM，应该通过进一步检查更特异的指标，尤其是M-蛋白、克隆性免疫球蛋白（immunoglobulin，Ig）及其轻链等。

【问题2】为了查明患者血清蛋白异常的原因，首选的实验诊断项目是什么？

对于血清蛋白定量异常，白/球蛋白比例倒置的病例，血清蛋白电泳是首选，可以进一步明确球蛋白升高的性质。

思路1：首选血清蛋白电泳，观察有无M-蛋白带。>90%的PCM患者可在血清蛋白电泳（serum protein electrophoresis，SPE）的γ-球蛋白区或β或α_2-球蛋白区出现一高含量的异常单克隆蛋白区带，即M-蛋白或称为M成分（图9-5-2）。血清或尿液M-蛋白阳性是诊断PCM的重要依据之一，但也有约2%的患者血清和尿液无M-蛋白，属于“不分泌型PCM”。

学习笔记

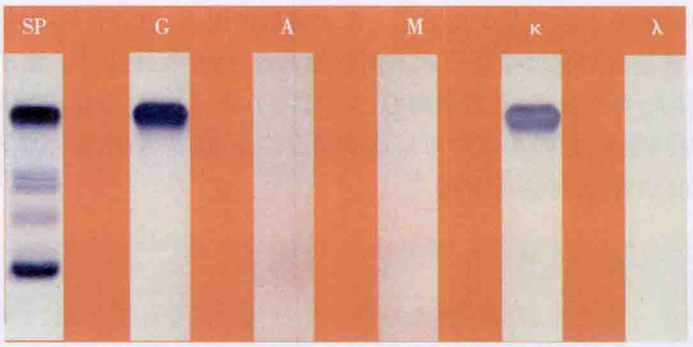


图 9-5-2　血清蛋白电泳和免疫固定电泳图

SP- 血清蛋白电泳泳道：γ 球蛋白区域出现 M- 蛋白区带。其余为免疫固定电泳泳道：IgG 和 κ 轻链呈单克隆性显著增高，其他免疫球蛋白和 λ 轻链几乎完全缺乏

思路 2：若 M- 蛋白阳性，用免疫固定电泳（immunofixation electrophoresis，IFE）明确何种单克隆免疫球蛋白异常。M- 蛋白阳性的血清或尿液经 IFE，可以确认 M- 蛋白属于何种 Ig 和（或）Ig 轻链（图 9-5-2），有助于 PCM 的明确诊断和分类（例如 IgG、IgA 型 PCM）。

患者骨髓象：骨髓增生活跃，以异常浆细胞增生为主，骨髓瘤细胞（异常浆细胞）63.5%，其胞体和细胞核呈圆或椭圆形，核偏位存在，染色质较疏松，核仁 0~3 个；胞质量较丰富，呈灰蓝色，有泡沫感，近核处可见淡染区，可见双核及多核瘤细胞（图 9-5-3）。粒系细胞占有核细胞 24%，早幼粒细胞以下阶段可见，中、晚幼粒及杆状核粒细胞比例均减低，嗜酸性粒细胞可见。红系细胞占有核细胞 2%，大部分成熟红细胞可见缗钱状排列。

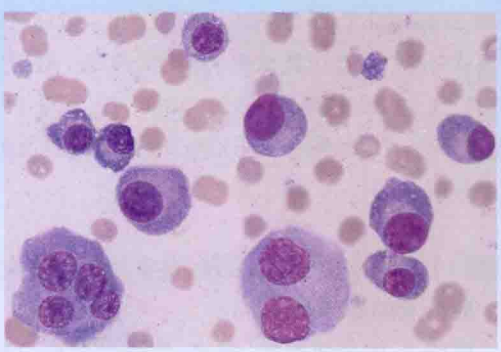


图 9-5-3　骨髓涂片，瑞氏染色，×1000

骨髓瘤细胞大小不等，可见单个核、双核及四核瘤细胞。红细胞呈单个分布或轻度缗钱状排列

【问题 3】当临床初步诊断疑为 PCM 时，首选的实验诊断项目是什么？

由于 PCM 是骨髓浆细胞恶性增殖所致的肿瘤，骨髓象检查异常浆细胞应是首选。

思路 1：骨髓象检查可以明确是否有浆细胞异常增生。PCM 患者最显著的特征是浆细胞显著增多，而且形态有明显异常：原始或幼稚的异常浆细胞增多，瘤细胞大小悬殊，常成群簇集；胞核常呈不规则形，可见双核或多核（图 9-5-3）瘤细胞；核染色质呈粗网状或不规则排列，易见核仁，核旁初浆区多消失；胞浆嗜碱性增强呈深蓝色，或呈砖红色似火焰（火焰细胞），或含有樱桃红色的球形包涵体（russell bodies）、葡萄状排列的蓝色空泡（mott cells）等。

思路 2：骨髓出现≥10% 的异常浆细胞（又称骨髓瘤细胞）是诊断 PCM 的重要依据之一。PCM 患者骨髓增生活跃或明显活跃，骨髓瘤细胞的数目不等，一般 >10%，高者可达 70%~90% 或更高。本例患者骨髓瘤细胞占 63.5%，结合临床可诊断为 PCM。

学习笔记

知识点

浆细胞骨髓瘤的诊断标准(WHO,2008)

分类	诊断标准	相关条件
有症状 PCM	血清或尿中有 M- 蛋白	大多数病例 IgG>30g/L,IgA>25g/L 或尿轻链 >1g/L(24hr),但一些患者可能低于此值
	骨髓克隆性浆细胞增多	通常大于骨髓有核细胞的 10%,但并未设置低限,因为约有 5% 的有症状骨髓瘤患者骨髓浆细胞小于 10%
	有相关器官或组织受损	对于有症状骨髓瘤最重要的标准是终末器官损伤表现:包括贫血、高钙血症、溶骨性病变、肾功能不全、高黏滞血症、淀粉样变性和反复感染
无症状 PCM	血清 M- 蛋白 >30g/L 和(或)骨髓克隆性浆细胞≥10%	
	无相关的器官或组织受损;或无骨髓瘤相关症状	

患者骨髓细胞免疫表型分析:①多色流式细胞分析散点图(图 9-5-4);②流式细胞免疫表型特征:CD45/SSC 散点图中,R3(红色细胞群)占骨髓有核细胞的 27.69%,此类细胞表达的免疫标志包括:cykappa(Igκ)、CD38、CD56、CD138、CD117,部分表达 CD19dim、HLA-DR,不表达 CD9、CD20、cylambda(Igλ)、CD10、CD34、CD13、CD45,细胞 FSC、SSC 均大,符合恶性浆细胞免疫表型特征。

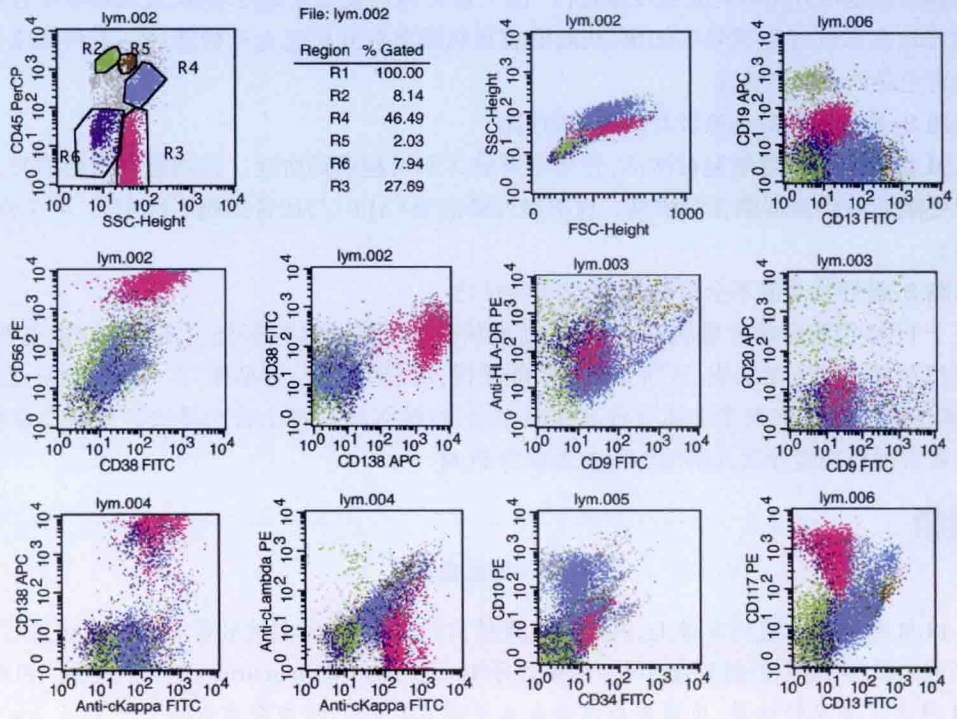


图 9-5-4　流式细胞分析散点图

4 色免疫荧光光染色,CD45/SSC(side scatter)设门;在各荧光散点图中,可观察到各类主要细胞群(不同颜色)的抗原表达水平

学习笔记

【问题 4】流式细胞分析(FCM)对 PCM 的诊治有何意义?

典型 PCM 细胞的免疫表型与正常 B 淋巴细胞、浆细胞有显著不同,有助于诊断 PCM、监测疗效和检测 MRD。

思路 1:辅助诊断肿瘤性浆细胞克隆

典型 PCM 细胞通常表面 Ig(SIg)阴性、胞质 Ig(CIg)阳性,并且胞质限制性表达某一类 κ 或 λ 轻链;瘤细胞通常表达 CD79a、CD138,高表达 CD38,67%~79% 的病例 CD56 阳性。PCM 的异常免疫表型十分有助于鉴别诊断,特别是对反应性浆细胞增多症和瘤细胞百分率较低的 PCM 病例更有意义。本例患者 FCM 计数的骨髓瘤细胞比例为 27.69%,明显低于骨髓涂片的 63.5%,可能与标本稀释有关,但符合典型的 PCM 免疫表型。

思路 2:用于判断预后或监测 PCM 的 MRD

FCM 检测骨髓处于 S 期的单克隆浆细胞占所有单克隆浆细胞的百分比(称为浆细胞标记指数),可作为判断 PCM 的一个独立预后指标,当其≥3% 时,提示预后差。形态典型的 PCM 细胞容易识别,但治疗后的 PCM 细胞形态多不典型,尤其是残留的较低含量的 PCM 细胞;用 CD19+CD38+CD45+CD56+CD138 组合的多色 FCM,可区分正常 B 淋巴细胞、正常浆细胞和 PCM 细胞,检出低含量的 MRD 细胞。

【问题 5】PCM 患者可出现哪些生化指标异常?

由于骨髓瘤细胞大量恶性增殖并分泌大量 M- 蛋白,导致患者出现一系列的生化代谢异常,并引起多器官的功能障碍或受损,使患者出现较为复杂的临床表现,易导致 PCM 的误诊或漏诊。

思路 1:血清蛋白异常最常见

白蛋白、球蛋白比例失调,球蛋白比例明显升高,其他蛋白成分显著减少,Ig 及其轻链定量可反映分泌型 PCM 的类型,可将 PCM 分为 IgG 型、IgA 型、IgD 型、IgE 型、轻链型及不分泌型等;其中 IgG 型最常见约占 70%,IgA 型约占 25%,IgD 型及轻链型也较易见到,其他型罕见,个别病例的骨髓瘤细胞可分泌双克隆免疫球蛋白。因大量 M 蛋白使血浆黏度增高,红细胞聚集性增大,全血黏度增高和红细胞沉降率加快,从而形成高黏滞血症并引起血栓栓塞的一系列临床表现,部分患者也是因此而被查出。

思路 2:骨代谢异常是患者骨质破坏的指征

PCM 常可由于破骨细胞被激活,骨质溶解破坏而引起高钙血症。肾功能严重受损时,常由于排出受阻而导致血清磷含量增高。血清碱性磷酸酶(ALP)与成骨细胞活性相关,可正常或轻度升高。

思路 3:慢性肾功能不全为 PCM 的显著特征之一

由于 PCM 细胞合成大量的 Ig 轻链,经血液从肾小球滤过的 Ig 轻链可在肾小管被重吸收而大量沉积在肾小管上皮细胞,从而导致肾功能受损,出现蛋白尿、管型尿、本 - 周蛋白尿,血清肌酐、尿素增高。瘤细胞大量破坏导致高尿酸血症,尿酸沉积在肾小管而导致高尿酸血症肾病。部分患者常因肾功能异常入院治疗而被发现为 PCM。

知识点

本 - 周蛋白尿

PCM 细胞所合成的异常 Ig,其轻链与重链的比例失衡,过剩的轻链可自肾小球滤过而从尿液中排出,即为轻链尿或称本 - 周蛋白尿(Bence-Jones protein urine,B-J 蛋白尿)。因此,PCM 患者可查见轻链尿,尿液蛋白电泳也可见到 B-J 蛋白,尿液免疫电泳分析可区分 κ 链或 λ 链。约 80% 的 PCM 可查到轻链尿。

思路 4:血清白蛋白降低和 β_2- 微球蛋白(β_2-microglobulin,β_2-MG)可作为 PCM 临床分期的

学习笔记

依据。PCM 的临床分期有助于对治疗和预后判断，2008 年 WHO 提出的 PCM 国际分期系统较为客观、简单、易用。

知识点

浆细胞骨髓瘤的国际分期系统

分期	标准	中位生存期（月）
Ⅰ	血清 β_2-MG<3.5mg/L 和血清白蛋白 >35g/L	62
Ⅱ	血清 β_2-MG<3.5mg/L 和血清白蛋白 <35g/L；或血清 β_2-MG 3.5mg/L~5.5mg/L	44
Ⅲ	血清 β_2-MG>5.5mg/L	29

【问题 6】在 PCM 诊治过程中，有必要做细胞遗传学检验吗？

对 PCM 诊断，并非一定需要细胞遗传学检验，若患者被检出伴有染色体或基因异常，对其预后评估有重要意义。染色体畸变可辅助诊断和提示预后（图 9-5-5）。通过染色体分析（包括 FISH 或光谱核型分析等技术）可发现约有 90% 以上的 PCM 患者存在细胞遗传学异常，例如伴有 t(4;14)、t(14;16)、-13、17q- 和亚二倍体的 PCM 患者预后差。

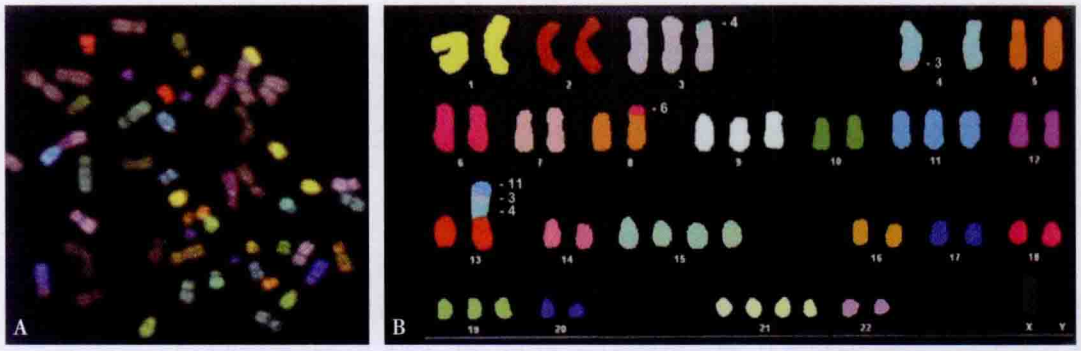


图 9-5-5　光谱染色体核型分析（Spectral Karyotypic analysis）

A. 为彩色显示的随机分布的中期染色体；B. 染色体分类，超二倍体 PCM 有 53 条染色体，包括涉及两条以上不同染色体的 4 个重排的染色体

【问题 7】PCM 应与哪些疾病鉴别诊断？

凡是可出现骨髓浆细胞增多、血清或尿液出现 M- 蛋白并伴有与 PCM 相关临床表现的疾病，都应与 PCM 鉴别诊断，避免误诊或漏诊。

思路 1：首先应与反应性浆细胞增多症（reactive plasmacytosis，RP）鉴别

由于慢性感染或炎症、风湿免疫性疾病例如系统性红斑狼疮、慢性肝脏疾病、转移性实体肿瘤等引起骨髓浆细胞反应性增多，有时甚至出现一些浆细胞形态异常，但通过对增生浆细胞的克隆性鉴定，例如 FCM 检测到克隆性浆细胞群（例如限制性表达某一类 κ 或 λ 轻链，免疫表型异常克隆等），可以与 PCM 鉴别。

思路 2：特别应注意与其他浆细胞肿瘤鉴别，主要应与淋巴样浆细胞淋巴瘤 / 华氏巨球蛋白血症（Lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenströn macroglobulinemia）、意义未明单克隆免疫球蛋白病（monoclonal gammopathy of undetermined significance，MGUS）和浆细胞白血病（plasma cell leukemia，PCL）鉴别。PCM 与其他浆细胞增生相关肿瘤的临床和实验诊断特点既有相似，又有明显不同。其中最重要的鉴别要点是克隆性浆细胞的数量和血清 M- 蛋白的鉴定，通过各自的诊断标准可与之鉴别。

学习笔记

知识点

三种浆细胞增生相关肿瘤的诊断标准

分类	诊断标准
淋巴样浆细胞淋巴瘤（LPL）	符合3条标准：①血清中存在单克隆IgM蛋白（M蛋白量不限）；②骨髓克隆性淋巴样浆细胞≥10%；③瘤细胞具有典型的免疫表型
意义未明单克隆免疫球蛋白病（MGUS）	符合3条标准：①骨髓克隆性浆细胞<10%；②血清M蛋白（IgG<35g/L；IgA<20g/L）；③无任何浆细胞疾病相关的终末器官损伤
浆细胞白血病（PCL）	符合两条标准：①符合PCM的诊断标准；②外周血克隆性浆细胞>20%或绝对计数$>2\times10^9$/L

（王建中）

第六节　出血性疾病

出血性疾病是由于止血机制异常引起的自发性出血或创伤后出血不止的一类疾病，发病环节主要涉及血管因素、血小板数量和功能、凝血因子及纤溶机制的异常。不同原因的出血性疾病可具有相似的临床表现，但又有不同的出血特点。实验室检测项目的正确选择是出血性疾病诊断和病因分析的重要手段，检验项目按照诊断灵敏度和特异度分为筛查试验和确诊试验，按照凝血机制分为一期止血、二期止血、纤溶功能检查。出血性疾病的诊治中，合理选择检验项目、正确评价检验结果对疾病诊断、鉴别诊断、治疗监测有重要意义。

学习笔记

一、血管性血友病

血管性血友病（von Willebrand disease，vWD）是一种由于常染色体不完全显性或常染色体隐性遗传导致血浆vWF（von Willebrand factor，简称vWF）缺陷所致的出血性疾病。临床表现为自发性或创伤后皮肤、黏膜出血，通过出血时间、APTT、PT、vWF相关抗原（vWF:Ag）浓度、血小板聚集率等实验室检查结果，可诊断和鉴别本病。

病历摘要：

患儿女，4岁。主诉“间断鼻出血3个月，擦伤后皮肤出血不止2小时”。近3个月内无明显诱因间断出现鼻出血，每次持续0.5~1小时不等，不易停止。2小时前在家玩耍时手臂不慎擦伤后出血不止。病程中有头晕、心悸、乏力，无发热、无黄疸、无腹痛腹胀，尿、便正常。既往否认肝炎、结核病史。家族史：父亲无出血史，母亲平时月经量大，时有鼻出血且出血不止。父母非近亲结婚，患儿为第一胎。

查体：T 36.4℃，P 119次/分，R 26次/分，BP 120/70mmHg。神清，发育正常，营养中等，贫血貌。甲床、眼睑结膜苍白，未见出血点、瘀斑或黄染，浅表淋巴结不大，巩膜无黄染。左侧前臂外侧表皮擦伤，纱布按压止血，可见创面渗血不止。胸廓无畸形，胸骨无压痛，双肺呼吸音清，未闻及干湿性啰音，心率119次/分，心律齐，未闻及杂音及额外心音。腹平软，肝脾肋下未触及，双下肢无水肿。

实验室检查：WBC 4.42×10^9/L，中性粒细胞百分比0.45，淋巴细胞百分比0.46，RBC 2.26×10^{12}/L，Hb 72g/L，Plt 195×10^9/L。PT 12.2秒，APTT 67.6秒（↑），TT 12.9秒，FBG 2.75g/L。

【问题 1】鼻出血及皮肤出血不易止血，可能是哪种机制异常所致？

患儿女性，幼年起病，表现为皮肤、黏膜出血。考虑是出血与凝血障碍性疾病。可能的原因包括血管壁异常、血小板数量或功能异常、凝血机制障碍。患儿出血特点为浅表皮肤破损后出血不止伴有黏膜出血，考虑为出血机制中的血管壁与血小板异常所致的出血。但患儿 APTT 明显延长，暂时不能排除凝血机制障碍所致的出血。

思路：正确地鉴别出血的发病原因，有助于查找原发性疾病。因此根据详细的病史、家族史、既往出血史的采集，全面的体格检查及出、凝血的实验室检查，鉴别出血性疾病的发病机制，进而确定原发性疾病。该患首先从临床角度应鉴别血管壁及血小板性因素的出血，还是凝血因子缺乏所致出血。血管 / 血小板性因素所致出血常表现为瘀点、皮肤浅表瘀斑，通常范围较小，表皮出血常由浅表切口和划痕导致，不易止血；除 vWD 外阳性家族史少见。凝血因子缺乏所致出血常表现为深部血肿、大范围的瘀斑、关节血肿，以男性多见，有阳性家族史。之后应做实验室检查来证实是上述哪种因素所致的出血。

【问题 2】明确出血性疾病的发病机制，应申请哪些初筛检验项目？

针对血管及血小板异常，初筛试验应检测的临床实验诊断项目是血小板计数、出血时间(BT)检查；针对凝血因子缺乏，初筛试验应检测的临床实验诊断项目是 PT、APTT 和 TT。

思路：从该患儿的出血特点初步考虑为血管 / 血小板数量或功能异常引起的出血，但应与凝血因子异常导致的出血鉴别。首先应考虑要选择的初筛试验有哪些，这些试验的临床意义是什么，以此来分析出血的原因。

知识点

初筛试验项目及临床意义

1. Plt　减少见于免疫性血小板减少性紫癜、再障。

2. BT　时间延长见于血小板 / 血管异常，如阿司匹林应用、血小板减少症、vWD。

3. PT　时间延长见于因子Ⅶ依赖性途径异常，如维生素 K 缺乏、华法林应用、肝病、因子Ⅱ、Ⅴ、Ⅶ、Ⅹ缺乏。

4. APTT　时间延长见于因子Ⅷ、Ⅺ、Ⅸ依赖性途径异常，如血友病 A 或 B、肝素应用、DIC、狼疮抗凝物、凝血因子抑制物存在。

5. TT　时间延长见于纤维蛋白原异常，如肝素应用、DIC、低纤维蛋白原血症等。

患儿检查结果：Plt 195×10^9/L，BT 12 分 10 秒(↑)，PT 12.2 秒，APTT 67.6 秒(↑)，TT 12.9 秒。

【问题 3】当 Plt 数量正常、BT 及 APTT 延长时，进一步应选择哪些检查？

患儿 Plt 计数正常而 BT 延长，怀疑血小板功能存在异常，应进行血小板聚集试验；另外 APTT 延长，不能排除凝血因子缺乏，还应进行凝血因子Ⅷ、Ⅺ、Ⅸ检测。

思路 1：当初筛试验结果显示血小板计数正常，而出血时间延长，常常提示存在血小板功能异常。确定血小板功能的实验室检查包括：①血小板聚集功能测定：可分别用 ADP、胶原、肾上腺素、花生四烯酸、瑞斯托霉素作诱导剂；②特殊的血小板膜糖蛋白分析：可用流式细胞术或免疫印迹技术检测。

思路 2：初筛 APTT 延长，PT 正常时，应重点排除有无因子Ⅷ、Ⅺ、Ⅸ缺乏。确定该类因子缺乏可选择凝血因子定量检测。

学习笔记

知识点

血小板聚集试验(platelet aggregation test,PAgT)

本试验是一种功能性检测,是血小板活化及其释放反应、膜糖蛋白受体等综合因素的共同表现。

PAgT 增高说明血小板聚集功能增强,见于血栓前状态和血栓性疾病,如心肌梗死、心绞痛、糖尿病、脑血管病变、妊娠高血压、深静脉血栓形成(DVT)、肺梗死、人工心脏和瓣膜移植术等;

PAgT 减低说明血小板聚集功能减低,见于血小板无力症、尿毒症、肝硬化、骨髓增生性疾病、原发性血小板减少性紫癜(ITP)、急性白血病、服用抗血小板药物、低(无)纤维蛋白原血症等。

PagT 对 ADP、胶原、肾上腺素、瑞斯托霉素诱导的聚集率在不同疾病中、应用不同的药物期间而有所不同。

患者检验结果:血小板对瑞斯托霉素聚集率 18%,对 ADP、胶原、肾上腺素聚集率正常。血浆 FⅧ:C 68%(↓),其他凝血因子活性正常;患儿父亲血小板聚集率均正常,母亲对瑞斯托霉素聚集率降低,其余正常。

【问题 4】检测血小板聚集试验对瑞斯托霉素诱导的聚集率降低,最可能的诊断是什么?选择什么试验来明确诊断?

根据实验室检查结果结合病史及家族史,最可能是血友病或 vWD。确诊 vWD 的临床诊断,一是应选择 vWF 抗原检测,要除外血友病导致的凝血因子Ⅷ(F Ⅷ)活性减低,在选择 vWF 抗原检测的基础上,还应选择 F Ⅷ抑制物检测。

思路:只要 vWF 抗原水平减低可考虑 vWD 的临床诊断。血友病时 FⅧ活性降低,但是 FⅧ活性降低不一定都是血友病。FⅧ活性降低有三种可能:①vWD 时由于 FⅧ的载体蛋白 vWF 缺陷继发 FⅧ活性降低;②血友病 A 是因性染色体隐性遗传性疾病造成 FⅧ出生缺陷;③血液中存在 FⅧ抑制物也可引起 FⅧ减少。因此对于 FⅧ活性降低的情况时应做鉴别诊断。

知识点

vWF:Ag 与凝血因子Ⅷ抑制物测定的临床应用

1. 血管性血友病因子抗原(vWF:Ag)测定　vWF 是一种由内皮细胞和巨核细胞合成和释放的大分子糖蛋白,由十几个到几十个 vWF 单体多聚物所组成,构成血小板黏附在内皮下的桥梁,诱导血小板聚集,促进因子Ⅷ合成和分泌。减低见于血管性血友病(vWD),增高见于血栓病如心肌梗死、心绞痛、脑血管病变、糖尿病及妊娠期高血压疾病等。

2. 凝血因子Ⅷ抑制物测定　若受检血浆中存在Ⅷ因子抑制物,则与正常人血浆混合并温育一定时间后,该混合血浆Ⅷ因子活性会降低。以 Bethesda 单位来计算抑制物的含量,能灭活正常人 FⅧ活性 50% 定义为 1 个 Bethesda 单位。正常人剩余Ⅷ因子活性(Ⅷ:C)为 100%。增多常见于反复输血或接受因子Ⅷ浓缩制剂的血友病患者、某些自身免疫病患者及妊娠妇女。

实验室检测患儿 vWF 抗原浓度减低为 45.6%,凝血因子Ⅷ抑制物结果正常。

【问题 5】诊断血管性血友病的实验室诊断依据是什么?

该患儿 vWF 抗原浓度减低,FⅧ抑制物正常,FⅧ:C 活性减低(是由于 vWF 缺乏所致),血小板数量正常,对瑞斯托霉素诱导的聚集率降低,结合病史患者有皮肤、黏膜出血,有家族史,可明

学习笔记

确为血管性血友病。

【问题 6】该患儿还可选择哪些出血与凝血障碍的相关试验?

止血与凝血机制障碍的试验有:针对血管异常因素的束臂试验,针对血小板异常的血小板数量及功能检查相关试验,针对凝血因子异常的内源性与外源性筛查试验及因子活性测定,针对纤溶功能异常检测的 DD、FDP 等相关试验。以上试验分别检测不同机制的出血原因。目前,临床可以选择血栓弹力图试验来初筛以上各机制的正常与异常,即该试验可在体外观察凝血过程,并能通过这一过程分辨凝血因子异常、纤维蛋白原异常、血小板数量与功能异常、纤溶活性异常,用以指导临床合理应用血液制品来治疗出血性疾病。根据 2010 年和 2013 年《严重创伤出血处理的欧洲指南》建议,监测创伤后出血的常规指标包括 PT、APTT、纤维蛋白原和血小板计数,推荐应用血栓弹力图评估出血性疾病的特征和指导治疗。

知识点

血栓弹力图的参数及其临床意义

TEG 数值	临床意义
R 值	反映凝血因子活性
	<4 分提示高凝状态
	>11 分提示凝血因子活性减低或缺乏
MA	反映正在形成的血凝块的最大强度及血凝块形成的稳定性
	≥71mm 提示血小板功能亢进
	<49mm 血小板功能减低
α 角(Angle)	反映血块形成速率和纤维蛋白水平 <45° 提示低纤维蛋白原水平
Ly30 和 CI	Ly30 值反映 MA 确定后 30 分内血凝块消融或减少的速率(%),CI 值反映总体凝血状态
	Ly30≥7.5%,CI<1.0 原发性纤维蛋白溶解亢进;Ly30≥7.5%,CI>3.0 继发性纤维蛋白溶解亢进

血管性血友病是一种由于血浆 vWF 生成减少或生成缺陷所致的遗传性出血性疾病,可继发凝血因子Ⅷ活性减低。其实验指标变化有 BT 延长、APTT 延长、vWF 相关抗原(vWF:Ag)浓度减低、瑞斯托霉素诱导的血小板聚集率降低,该病应与血友病相鉴别。

二、过敏性紫癜

紫癜分为血管性紫癜和血小板性紫癜,血管性紫癜中包括过敏性紫癜。过敏性紫癜(allergic purpura)是由于多种原因引起的、以中性粒细胞淤积性无菌性血管炎为特征的,以皮肤紫癜、腹痛、关节炎或肾炎为临床表现的变态反应性疾病。该病血小板计数、凝血机制正常,缺乏特异性实验室检查。部分病例毛细血管脆性阳性、血沉加快,白细胞数增高,C- 反应蛋白增高,累及肾脏时可出现尿液异常改变。该病的诊断主要依靠临床症状及组织病理。

病历摘要:

患儿女,30 个月。患儿家长主诉“双下肢皮疹 5 天,脐周痛 1 天”。入院前 5 天,患儿感冒之后出现双下肢皮疹,门诊给予静点“复方甘草酸苷 + 维生素 C+ 葡萄糖酸钙 4 天”(具体剂量不详),仍有新出“皮疹”,入院前 1 天,患儿出现脐周痛,遂收入院进一步诊治。无发热,无咳嗽、无关节疼痛,饮食欠佳,睡眠良好,尿正常,大便略黑。否认肝炎、结核病史及接触史,否认外伤手术史,否认药物过敏史。

学习笔记

查体：一般状态可，呼吸 24 次 / 分，血压 90/65mmHg，双下肢可见弥漫针尖状大小红点，不高出皮肤，压之不褪色，疹间皮肤正常，不伴有瘙痒，颈部未触及肿大淋巴结，咽充血，扁桃体无肿大，双肺呼吸音粗，未闻及干湿啰音，心率 112 次 / 分，律整，心音有力，未闻及杂音，脐周轻压痛，无肌紧张，肝、脾肋下未触及，无关节肿痛，神经系统查体未见异常。

实验室检查：白细胞 10×10^9/L，中性粒细胞百分比 0.64，淋巴细胞百分比 0.30，单核细胞百分比 0.05，Hb 136g/L，Plt 290×10^9/L，BT 8 分钟，PT 10.7 秒，APTT 24.1 秒，FBG 1.15g/L（↓），TT 20.8 秒（↑）。尿潜血（+），红细胞计数 20.18/μl。粪便潜血阳性，色黑，稀便。

【问题 1】该患儿家长主诉和查体可见双下肢弥漫针尖状大小红点，按压不褪色，初步考虑为什么诊断？

初步考虑为出血性疾病。

思路：患儿双下肢弥漫针尖大小红点，可能为红色皮疹、皮下出血或小红痣。因为该症状是从 5 天前开始出现，且为弥漫性，所以排除小红痣，需要在皮疹和皮下出血间鉴别。皮疹一般是由于皮下充血所致，按压后可褪色或消失，而皮下出血受压后不褪色。查体后，见红点压之不褪色，因此患儿双下肢为皮下出血，故不考虑皮疹。

知识点

红色皮疹和皮下出血的鉴别

红色皮疹按压后一般可褪色，不一定高于皮肤表面，常见于传染病、皮肤病、药物及其他物质所致的过敏反应。皮下出血按压后不褪色，一般不高于皮肤表面，常见于造血系统疾病、重症感染、某些血管损害性疾病以及毒物或药物中毒等。

思路：该患儿双下肢弥漫性皮下出血，根据辅助检查，尿潜血和便潜血均为阳性，提示多部位广泛出血，因此考虑为出血性疾病的可能性大。

知识点

出血性疾病的定义及分类

出血性疾病是由于止血机制（包括血管、血小板、凝血因子）异常引起的自发性出血或创伤后出血不止的一类疾病。出血性疾病按病因可分为遗传性和获得性两大类；按止血机制可分为血管异常、血小板异常、凝血因子异常及纤溶障碍；按临床分类可分为紫癜性疾病和凝血因子缺乏引起的出血性疾病。

紫癜性疾病与凝血因子缺乏引起的出血性疾病的临床鉴别：①紫癜性疾病常出现皮肤、黏膜瘀点及小范围多发浅表瘀斑，鲜有家族史；②凝血因子缺乏引起的出血性疾病常出现特征性深部血肿、关节血肿及大范围单发浅表瘀斑，常伴阳性家族史。

根据出血的面积和损伤大小，临床将皮下出血分为瘀点（petechia，皮下出血直径小于 2mm）、紫癜（purpura，皮下出血直径为 3~5mm）、瘀斑（ecchymosis，皮下出血直径大于 5mm）、血肿（hematoma，片状出血并伴有皮肤显著隆起）。

【问题 2】该患儿考虑为哪类出血性疾病？

该患儿主要为皮肤黏膜的出血，没有深部血肿的临床表现，依据出血性疾病的临床分类，考虑为血管性 / 血小板性出血性疾病，也称为紫癜性疾病。

【问题 3】该患儿是属于血管性紫癜还是血小板性紫癜？

从临床特点看属于血管性紫癜。

学习笔记

思路：紫癜性疾病分为血管性紫癜和血小板性紫癜。血管性紫癜由血管壁结构和功能异常引起，血小板性紫癜由血小板减少或血小板功能异常引起。该患儿以双下肢广泛皮下出血为主要临床特点，不伴有鼻出血、牙龈出血及划伤后出血不止的症状，故考虑为血管性紫癜，排除血小板性紫癜。

知识点

血管性紫癜和血小板性紫癜的特点

1. 血管性紫癜　由血管壁结构或功能异常所致，多见于内皮细胞或内皮下基底膜及胶原纤维等内皮下组织的病变，包括获得性过敏性紫癜、遗传性出血性毛细血管扩张症、单纯性紫癜、老年性紫癜、感染性紫癜及坏血病等。血管性紫癜的出血特点为皮肤黏膜的瘀点、瘀斑。

2. 血小板性紫癜　由血小板减少或血小板功能异常所致，如原发免疫性血小板减少性紫癜、血栓性血小板减少性紫癜、血小板无力症及巨大血小板综合征等。血小板数量减少的出血特点为紫癜和瘀斑、鼻出血、牙龈出血、月经过多、血尿及黑便等同时存在，严重者可致脑出血；血小板功能异常的出血特点为出血轻微，以皮下、鼻出血及月经过多为主，但术中可出现出血不止。

【问题 4】血管性紫癜属于几期止血缺陷？应选择哪种筛查试验？

属于一期止血缺陷，应选择一期止血缺陷的筛查实验，即出血时间检测和血小板计数。

思路：无论是血管性紫癜还是血小板性紫癜，都属于一期止血缺陷的范畴，临床实验室常采用出血时间检测和血小板计数作为其筛查试验。血管性紫癜患者的血小板计数和出血时间均在参考区间之内。

知识点

一期止血缺陷的相关试验及应用

1. 定义　一期止血缺陷是指血管壁和血小板缺陷所致出血病。

2. 筛查试验

(1) 血小板计数(platelet count，Plt)：参考区间(125~350)$\times 10^9$/L。血小板减少见于血小板生成障碍如再生障碍性贫血，血小板破坏增多如原发免疫性血小板减少症，血小板消耗增多如 DIC，血小板分布异常如脾大、肝硬化、脾功能亢进。增多见于原发性增多及反应性增多。

(2) 出血时间(bleeding time，BT)：出血时间是指皮肤刺破后血液自然流出到血液自然停止所需的时间。长短反映血小板的数量、功能以及血管壁的通透性、脆性的变化。参考区间(6.9±2.1)分钟，超过 9 分钟为异常。BT 延长见于 ITP、vWD、DIC、HHT、血小板无力症、巨大血小板综合征以及药物影响如阿司匹林。

3. 临床应用

BT 正常、Plt 正常：除正常人外，多见于血管性紫癜如过敏性紫癜及单纯性紫癜等。

BT 延长、Plt 减少：多见于血小板数量减少引起的血小板性紫癜 ITP。

BT 延长、Plt 增多：多见于血小板增多症。

BT 延长、Plt 正常：多见于血小板功能异常如血小板无力症和 vWD。

根据一期止血缺陷筛查试验分析，该患儿 Plt 计数正常，BT 正常，符合血管性紫癜的临床实验室筛查结果。

学习笔记

【问题5】该患儿发病前曾患感冒，考虑是血管性紫癜中的过敏性紫癜还是单纯性紫癜等其他类型的血管性紫癜？依据是什么？

血管性紫癜包括多种不同的疾病，以过敏性紫癜最为多见。依据患儿感冒后出现双下肢广泛出血点、Plt计数正常、BT时间正常，该患儿考虑为过敏性紫癜。

思路：该患儿双下肢弥漫性针尖大小皮下出血点，年龄较小，为30个月，伴有脐周腹痛症状。按照疾病诊断，先常见病、后少见病及罕见病、先易后难、先常规后特殊的原则，过敏性紫癜是一种常见的血管变态反应性疾病，且没有支持其他血管性紫癜的证据，也没有血液病的家族史，同时该患者的病因、临床表现及实验室检查均符合过敏性紫癜的诊断。因此临床诊断为过敏性紫癜。

知识点

过敏性紫癜的诊断要点

1. 过敏性紫癜是由机体接触细菌、药物、花粉及食物等致敏因素后产生变态反应，进而引起血管壁炎症反应，以非血小板减少性皮肤紫癜、腹痛、肾炎、关节炎为临床特征。

2. 过敏性紫癜的诊断标准　1990年美国风湿学会制定的过敏性紫癜诊断标准为：①可触性紫癜；②发病年龄≤20岁；③急性腹痛；④组织切片显示小动脉和小静脉壁有中性粒细胞浸润。符合以上2条或以上者可诊断为过敏性紫癜，该标准的诊断敏感性和特异性约87%。若仅具备诊断标准中的②+③者，诊断过敏性紫癜需慎重，因容易引起误诊。

【问题6】患儿腹痛需与哪些疾病鉴别？需检查哪些项目？

与急腹症如急性胰腺炎、阑尾炎、肠套叠等相鉴别。可检查腹部彩超及血、尿淀粉酶。

该患儿上述检查结果均为阴性，可暂排除急腹症。

【问题7】患儿入院第5天后出现眼睑水肿，查尿常规显示尿潜血(+)，尿蛋白(+++)，红细胞计数33.6/μl，补充诊断是什么？

补充临床诊断：过敏性紫癜-紫癜性肾炎。

思路：入院后出现眼睑水肿，再次查尿常规显示尿潜血、尿蛋白，考虑有肾脏损害的可能性，尤其是过敏性紫癜引起的紫癜性肾炎，应选择尿蛋白定量检测，病理性如肾小球性蛋白尿及肾小管性蛋白尿，常为中重度；抗核抗体检测，阳性见于风湿性疾病如系统性红斑狼疮、类风湿关节炎及干燥综合征等；抗中性粒细胞抗体检测，阳性见于原发性小血管炎如韦格纳肉芽肿、原发性局灶性坏死性肾小球肾炎、新月形肾小球肾炎及结节性多动脉炎等。患儿尿蛋白定量为1540mg/24h尿，属于中度蛋白尿，ANA系列、pANCA及cANCA检测正常，可排除自身免疫机制异常导致的蛋白尿。因此，补充诊断是紫癜型肾炎。

三、原发免疫性血小板减少症(ITP)

原发免疫性血小板减少症(idiopathic thrombocytopenic purpura，ITP)是由于自身血小板抗体与血小板结合引起血小板破坏增加所导致的一种临床最常见的血小板减少性疾病。临床表现多为皮肤黏膜瘀点、瘀斑，实验室检查通常血小板数量减少、出血时间延长、血块收缩不良、抗血小板抗体阳性，骨髓细胞形态学以巨核细胞数目增多或正常、伴成熟障碍为特点。

病历摘要：

患儿男，9月。因“皮肤、黏膜出血点伴呕吐2天，发热1天”入院。1个月前有过疫苗接种史。否认肝炎、结核病史及接触史，否认外伤手术史，否认药物过敏史。

查体：一般状态良好，头面部及四肢皮肤散在针尖样出血点，口唇内侧黏膜可见一黄豆

学习笔记

大小瘀斑，无贫血貌，无咽充血，浅表淋巴结无肿大，肺部听诊音清，心音规整，律齐，未闻及杂音，腹软，肝、脾肋下未触及肿大，神经系统检查无明显异常。

实验室检查：入院前1天在当地医院查Plt 24×10^9/L，其余项目大致正常。入院后查WBC 5.67×10^9/L，N 1.37×10^9/L，L 3.25×10^9/L，RBC 4.33×10^{12}/L，Hb 107g/L，Plt 2×10^9/L。凝血常规正常，血小板抗体检测为阳性。骨髓穿刺细胞学检查提示巨核细胞数目正常伴成熟障碍，血小板减少，粒系和红系正常（图9-6-1、图9-6-2）。

入院后给予丙种球蛋白治疗，血小板恢复正常出院。

图9-6-1　ITP骨髓象

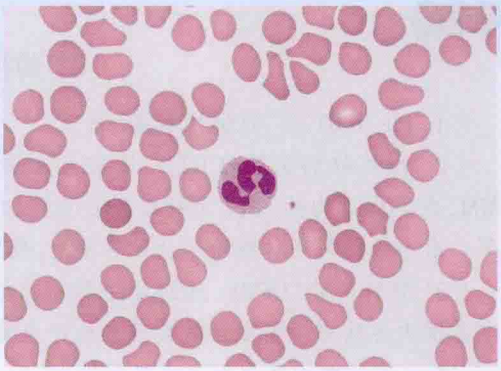


图9-6-2　ITP血象

【问题1】该患儿Plt 2×10^9/L，1个月前接种过疫苗，应首先考虑何种疾病？诊断依据？

该患为婴儿，起病急，病程短。接种疫苗后出现自发性皮肤黏膜出血伴发热。骨髓象提示巨核细胞数目正常伴成熟障碍，粒系和红系正常。首先考虑为特发免疫性血小板减少症的可能性大。

思路：出血性疾病从临床分类分为两类，一类为由血管壁和血小板异常引起的紫癜性疾病，另一类为凝血因子减少引起的出血性疾病。

从临床出血特点来看，该患儿主要为皮肤黏膜的瘀点、瘀斑，无深部血肿。

从实验室检查看，该患儿凝血常规正常，两次检测Plt均$<100\times10^9$/L，骨髓涂片提示巨核细胞数目正常伴成熟障碍，粒系和红系正常，该患儿为血小板减少引起的紫癜性疾病，结合病史，考虑为原发性血小板减少性紫癜的可能性大。

知识点

原发免疫性血小板减少症的诊断要点

主要由于抗自身血小板抗体与血小板结合，引起血小板破坏增加。本病的诊断标准（2009）包括：①至少两次检测，Plt$<100\times10^9$/L，但血细胞形态无异常；②脾一般不大；③骨髓象中巨核细胞增生或正常，伴成熟障碍；④排除继发性血小板减少症，如假性血小板减少、先天性血小板减少、脾功能亢进、甲状腺疾病、炎症性肠病、肝炎、药物性血小板减少症、淋巴瘤、妊娠期血小板减少症、妊娠高血压病合并血小板减少、CML、SLE、MDS、HIV感染等。

依据诊断标准，该患儿可初步诊断为ITP。

【问题2】ITP的实验室检查常用的项目有哪些？可发生什么改变？

常用项目有：①血象：外周血Plt数目明显减少，贫血常为正细胞性，并与血液丢失程度平行；②止血和血液凝固试验：出血时间延长、血块收缩不良、束臂实验阳性；③骨髓：巨核细胞数

学习笔记

目增多或正常，形态上可呈成熟障碍改变。红系和粒系通常正常；④抗血小板抗体：大部分 ITP 患者的 Plt 或血清，可检测出抗血小板膜糖蛋白（GP）复合物的抗体，包括抗 GPⅡb/Ⅲa、Ⅰb/Ⅸ、Ⅰa/Ⅱa、Ⅴ、Ⅳ抗体等。

思路：怀疑 ITP 的患者可检测血象、出血时间、血块收缩试验、束臂实验、骨髓细胞学检查、抗血小板抗体检测等。其中，抗血小板抗体检测虽具较高特异性，但由于存在假阴性和假阳性结果，仍不能完全鉴别免疫性和非免疫性血小板减少，加之现行抗体分析技术复杂、烦琐，临床应用不广泛，故 ITP 的诊断目前仍应以临床排除诊断为主。

知识点

ITP 的实验室检查

1. Plt 及 BT 见“过敏性紫癜”章节。

2. 血块收缩试验（CRT）　正常人血块收缩率 >40%。血块收缩率减低常见于 ITP、MM、血小板无力症、低 / 无纤维蛋白血症、巨球蛋白血症、红细胞增多症和血小板增多症等。血小板阿司匹林样缺陷及贮存池病、巨血小板综合征的血块收缩率正常。

3. 束臂实验（CFT）　通过给手臂局部加压使静脉血流受阻，致毛细血管负荷，检查一定范围内皮肤出现出血点的数目来估计血管壁的通透性和脆性。

5cm 直径圈内新出血点成年男性 <5 个，儿童和成年女性 <10 个。

试验阳性指新出血点数超过参考区间高限，见于血管性紫癜、原发性或继发性血小板减少症、遗传性或获得性血小板功能缺陷、血管性血友病、高血压、糖尿病、败血症、维生素 C 缺乏、肝硬化等。

4. 抗血小板抗体　血小板自身抗体可分为血小板相关免疫球蛋白（PAIg）和血小板蛋白自身抗体。前者用血小板免疫荧光试验（PIFT）检测，后者用单克隆抗体血小板抗原固定试验（MAIPA）和改进抗原捕获酶联免疫吸附试验（MACE）检测。

参考区间：PAIg 可为定性或定量测定，MAIPA 或 MACE 为诊断试验，健康人均阴性。阳性见于 ITP、SLE、服药或同种免疫反应等。

【问题 3】病理性血小板减少的常见原因有哪些？

常见原因：血小板生成障碍、破坏过多、消耗增多、分布异常及假性 Plt 减少。

思路：生理情况下，女性 Plt 计数呈周期性轻度下降，新生儿 Plt 计数略有降低，2 周后显著增加，半年内达到成人水平。

病理情况下，减少见于生成障碍、破坏过多、消耗增多、分布异常及假性 Plt 减少。病理原因引起的 Plt 减少，会伴有相应指标的异常改变。生成障碍时常会有骨髓象的改变，破坏过多时血清中常有相应血小板抗体或体外循环后，消耗过多时常有 DIC 和 TTP 等疾病相应的临床症状，分布异常时常有肝病史及脾大症状等，假性 Plt 减少时常在外周血涂片中见较多聚集的 Plt。故鉴别 Plt 减少原因可做如下检查：外周血涂片、骨髓细胞学检查、血小板抗体检测及其他，同时结合病史。

知识点

病理性血小板减少的原因

1. 生成障碍　AA、AL、MA 及骨髓纤维化等。
2. 破坏过多　ITP、脾亢、体外循环、药物过敏、输血后血小板减少症等。
3. 消耗增多　DIC、TTP 等。
4. 分布异常　脾大及肝硬化等。

学习笔记

5. 假性减少　见于EDTA诱导血小板聚集使仪器不能计数聚集的Plt，出现Plt计数减少，但在血涂片中可见较多聚集的Plt。

【问题4】该患儿血小板抗体检测为阳性，考虑其Plt减少的原因是什么？

该患儿Plt减少，分析其原因：一方面，血小板抗体检测为阳性，表明因血清中存在大量血小板抗体而导致Plt减少，介导Plt在脾脏中的破坏。另一方面，骨髓中巨核细胞成熟障碍，不足以补充Plt破坏的量，引起Plt减少。

思路：该患儿骨髓细胞学检查提示巨核细胞数目正常伴成熟障碍，粒系和红系正常，因此可排除原发血液系统疾病引起Plt生成减少。

该患儿肝、脾大小正常，可排除因分布异常引起的Plt减少。

该患儿无DIC的临床表现，无TTP的典型三联征表现，即微血管病性溶血性贫血、Plt减少和神经系统症状，因此可排除消耗过多引起的Plt减少。

故考虑该患儿的Plt减少主要是破坏过多引起。其血液中存在大量的血小板抗体，致使Plt破坏增多，同时骨髓中巨核细胞成熟障碍，不能够代偿。Plt破坏过多主要见于ITP、脾亢、体外循环、药物过敏、输血后血小板减少症等。

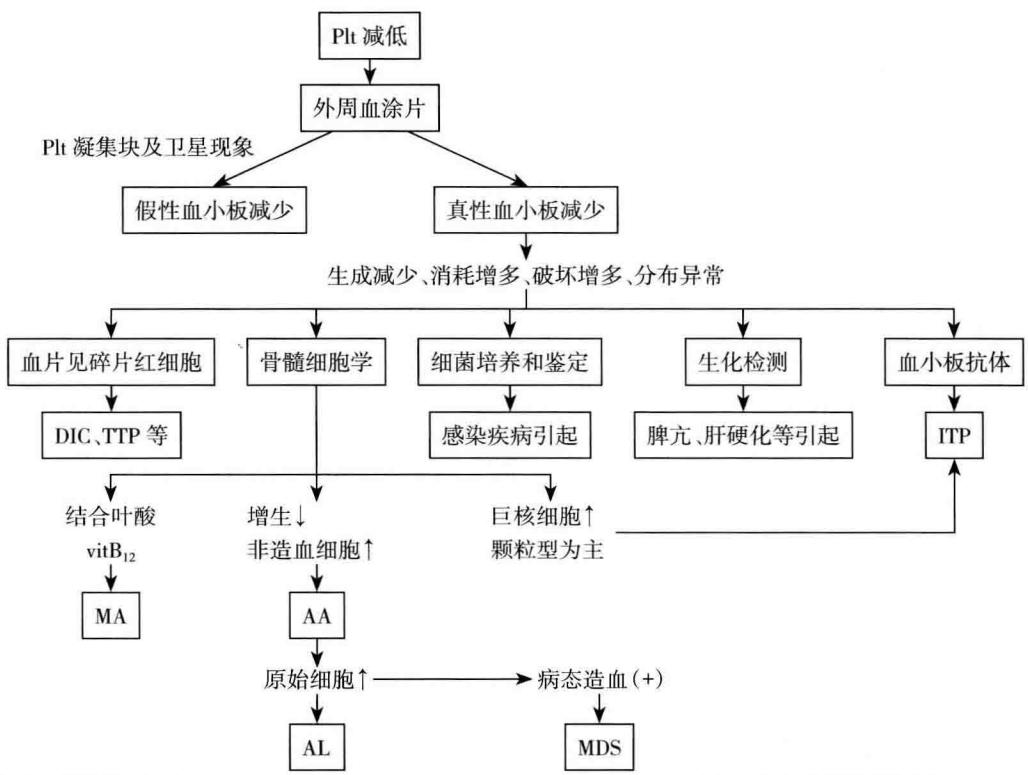
【问题5】血小板减少性疾病的诊断思路？

思路：首先区别是真性血小板减少还是假性血小板减少。当血细胞分析仪测出Plt减少，应做外周血涂片镜检，若观察到Plt凝集块或卫星现象，说明该患为假性血小板减少，出现这种情况主要因为使用EDTA抗凝剂，促使Plt聚集，引起血细胞分析仪不能计数聚集的Plt。

涂片观察若确有Plt减少，应进一步分析其减少原因。可结合骨髓细胞学检查、血小板抗体检测、肝肾功能检测及其他检测，分析病因并确诊疾病。

知识点

血小板减少性疾病的诊断思路



学习笔记

ITP是机体产生的抗自身血小板抗体与血小板结合后由巨噬细胞介导在髓外破坏增加的疾病。ITP临床上分急性型和慢性型。急性型多见于儿童，起病急，多有感染史或见于接种疫苗后，口服糖皮质激素、切脾、免疫抑制治疗、静注丙种球蛋白等方法治疗有效。实验室检测表现为Plt数减少，BT延长，血块收缩不良，束臂试验阳性，骨髓巨核细胞数目明显增多但成熟障碍，血清中可检测到血小板抗体，凝血机制及纤溶机制检查常无变化。

四、血 友 病

血友病是由于先天性凝血因子生成缺陷导致的性联隐性遗传性出血性疾病。常见的是凝血因子Ⅷ缺乏的血友病A和Ⅸ因子缺乏的血友病B。临床表现为关节、肌肉及深部组织的出血，实验室检查表现为APTT时间延长，血浆FⅧ:C或FⅨ:C水平减低。

病历摘要：

患儿男，32个月。家长诉“撞击伤后颜面头皮淤青肿胀3天”，入院前3天撞伤前额部，无出血及肿胀，家长未予重视。入院前2天，患儿前额出现肿胀，无淤青，并出现头部肿胀、颜面部及双眼睑肿胀，在门诊就诊时患儿又磕伤右侧耳后，无出血及肿胀。入院前1天，患儿前额部及双眼睑、右侧耳后乳突周围出现淤青，头部、颜面部肿胀加重，双眼不能睁开，遂入院诊治。病程中，无发热，无吐泻，尿便正常。否认肝炎、结核病史及接触史，否认外伤手术史，否认药物过敏史。

查体：一般状态差，嗜睡状态，时有烦躁，表情痛苦，头部弥漫性肿胀，非凹陷性，触之软，头围为52.5cm，前额部及双眼眶周淤青明显，右侧颜面部肿胀，右耳廓肿胀淤青，右耳后乳突周围可见7cm×7cm淤青，躯干部及四肢皮肤无黄染、无出血点及瘀斑，贫血貌，呼吸尚平稳，双眼睑重度肿胀，有黄色液体渗出，睁眼困难，咽充血，双肺呼吸音粗，心率快，心音低钝。

实验室检查：白细胞14.42×10^9/L，中性粒细胞0.55，淋巴细胞0.36，血红蛋白30g/L，红细胞1.26×10^{12}/L，血小板295×10^9/L。PT 12.2秒，APTT 125.6秒(↑)，FBG 1.75g/L(↓)。

【问题1】患儿轻微创伤后出现深部血肿，考虑为出血性疾病，最可能的原因是什么？

根据患者症状、体征以及实验室检查结果，可能的原因是凝血因子缺乏导致的出血性疾病。

思路：出血性疾病分为紫癜性疾病和凝血因子缺乏引起的出血性疾病。该患儿前额及耳后轻微创伤后出现大片肿胀和淤青，为深部血肿，皮肤无出血点，根据典型的出血特点及部位，考虑为凝血因子缺乏引起的出血性疾病。正常凝血机制见图9-6-3。

知识点

二期止血缺陷与凝血机制

二期止血缺陷　是指凝血因子缺陷或病理性抗凝物质存在所致的出血性疾病。

【问题2】如何判断是内源性凝血因子缺乏还是外源性凝血因子缺乏？

患者的化验结果是APTT延长，PT正常，故考虑该患儿的凝血异常为内源性凝血因子缺乏。

思路：APTT反映内源性凝血途径，PT反映外源性凝血途径。若为内源性凝血因子缺乏，则APTT延长且PT正常；若为外源性凝血因子缺乏，则PT延长且APTT正常；若共同途径中的凝血因子缺乏，则APTT和PT均延长；若为FⅩⅢ缺乏，则APTT和PT均正常。临床筛查APTT和PT，根据结果不同可初步判断该患儿是内源性凝血因子缺乏还是外源性凝血因子缺乏。

学习笔记

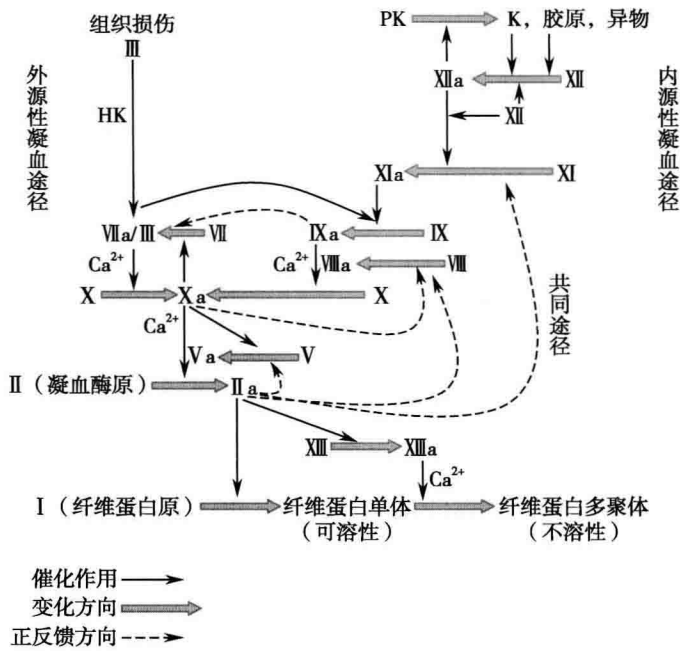


图 9-6-3　正常的凝血机制模式图

知识点

二期止血缺陷的常用检测

1. 因子Ⅷ、Ⅸ、Ⅺ、Ⅻ称为内源性凝血因子，将FⅢ、FⅦ称为外源性凝血因子。

2. 二期止血缺陷常用 APTT 和 PT 筛查

(1) 活化的部分凝血活酶时间测定(APTT)：是体外筛查内源性凝血系统较灵敏和最常用的实验。延长见于因子Ⅻ、Ⅺ、Ⅸ、Ⅷ、X、Ⅴ、Ⅱ、PK(激肽释放酶原)、HMWK(高分子量激肽原)和纤维蛋白原(Fg)缺乏，缩短见于血栓性疾病和血栓前状态，但灵敏度和特异度差。

(2) 血浆凝血酶原时间测定(PT)：是外源性凝血系统较灵敏和最常用的筛选试验。PT 延长见于先天性凝血因子Ⅰ、Ⅱ、Ⅴ、Ⅶ、X缺乏，获得性凝血因子缺乏如严重肝病、维生素K缺乏、纤溶亢进、DIC、口服抗凝剂和病理性抗凝物质增多等，缩短见于血液高凝状态如 DIC 早期、心肌梗死、脑血栓形成、深静脉血栓形成、多发性骨髓瘤等，但敏感性和特异性差。

【问题 3】为明确哪种内源性凝血因子缺乏，应做哪些检测？

考虑为FⅧ缺乏，应做凝血因子Ⅷ、Ⅸ、Ⅺ活性及 vWF 抗原检测。

思路：该患儿为内源性凝血因子缺乏，包括因子Ⅷ、Ⅸ、Ⅺ、Ⅻ。因单纯因子Ⅻ的缺陷少见且因子Ⅻ:C 的减低不会有临床出血表现，故无须检测Ⅻ。进行血浆凝血因子Ⅷ、Ⅸ和Ⅺ促凝活性检测，根据结果判断具体哪种因子减少。

知识点

血浆凝血因子Ⅷ、Ⅸ、Ⅺ和Ⅻ促凝活性测定

血浆凝血因子Ⅷ、Ⅸ、Ⅺ和Ⅻ增高见于血栓前状态和血栓性疾病，如静脉血栓形成、肺梗死、妊娠期高血压疾病、晚期妊娠、口服避孕药、肾病综合征及恶性肿瘤等。

学习笔记

FⅧ:C 减低见于血友病 A、血管性血友病(vWD)、血中存在因子Ⅷ抗体、DIC 等;F Ⅸ:C 减低见于血友病 B、肝脏病、维生素 K 缺乏症、DIC、口服抗凝药物等;FⅪ:C 减低见于因子Ⅺ缺乏症、肝脏疾病、DIC 等,F Ⅻ:C 减低见于先天性因子Ⅻ缺乏症、肝脏疾病、DIC 和某些血栓性疾病等。

患儿的化验结果为凝血因子Ⅷ:C 1.40%(↓),凝血因子Ⅸ、Ⅺ均在参考区间内。故该患儿为凝血因子Ⅷ减少。

【问题 4】凝血因子Ⅷ降低时初步的临床诊断是什么?哪些情况可导致凝血因子Ⅷ降低,可选择哪些试验来鉴别?

该患者凝血因子Ⅷ减少,考虑为血友病 A 的可能性大,但必须排除凝血因子Ⅷ抑制物的存在和 vWF 缺陷的可能。为鉴别诊断需进行凝血因子Ⅷ抑制物测定及 vWF 抗原含量测定。

思路:凝血因子Ⅷ减少有三种原因:一是性染色体隐性遗传性疾病血友病 A;二是 FⅧ的载体蛋白 vWF 缺陷会继发 FⅧ活性降低;三是由于血液中存在凝血因子Ⅷ抑制物引起因子Ⅷ减少的非血友病。若凝血因子Ⅷ抑制物阴性,则可排除凝血因子Ⅷ抑制物导致的因子Ⅷ减少,该患者可诊断血友病 A;因为血友病 A 的患者长期反复输入凝血因子Ⅷ,一部分人也会产生凝血因子Ⅷ抑制物,若凝血因子Ⅷ抑制物阳性,还需进一步进行分子生物学检测以确定其病因及发病机制。同时,在一般凝血试验异常,怀疑血友病时,必须排除 vWF 的缺陷;在怀疑相关凝血因子抑制物存在时,也必须排除 vWF 的缺陷。

知识点

三种原因致凝血因子Ⅷ减少的实验室鉴别

1. 凝血因子Ⅷ抑制物测定　见血管性血友病中问题 4 的知识点 2。

2. 血管性血友病因子抗原(vWF:Ag)测定　vWF:Ag是诊断血管性血友病的确证试验。减低见于血管性血友病(vWD),增高见于血栓病如心肌梗死、心绞痛、脑血管病变、糖尿病及妊娠期高血压疾病等。

3. 血友病 A　是由于凝血因子Ⅷ生成缺陷导致的先天性出血性疾病,为性联隐性遗传性疾病。以自幼发病、反复严重的关节出血或深部血肿及男性发病为临床特点,常伴性联隐性遗传家族史,实验室检测凝血因子Ⅷ促凝活性减低,除外其他疾病。

该患者凝血因子Ⅷ抑制物阴性,vWF 抗原在正常范围内,故可排除 vWD 及凝血因子Ⅷ抑制物引起的 FⅧ减少,该患儿血友病 A 的诊断成立。

【问题 5】依据患儿 APTT 明显延长、凝血因子Ⅷ降低、凝血因子Ⅷ抑制物及 vWF 抗原水平正常,可作出哪种临床诊断?依据是什么?

临床诊断:血友病 A;贫血(重度)。

诊断依据:①男性患儿、皮下大面积肿胀淤青、贫血貌;②实验室检查:PT 12.2 秒,APTT 125.6 秒,FBG 1.75g/L;FⅧ:C 1.40%,vWF 抗原正常,FⅧ抑制物阴性。血红蛋白 30g/L,红细胞 1.26×10^{12}/L,血小板 295×10^{9}/L。

血友病是性联隐性遗传性疾病,由于先天内源性凝血因子生成缺陷导致自发出血或出血不止的出血性疾病。血友病 A 为凝血因子Ⅷ生成缺陷导致,血友病 B 为凝血因子Ⅸ生成缺陷导致。两者均可通过凝血因子活性测定得出初步结论。但应注意,诊断血友病时需排除血浆凝血因子

学习笔记

抑制物存在所致的凝血因子减少的非血友病以及血管性假血友病(vWD),通过检测相应的凝血因子抑制物和 vWF:Ag 来鉴别诊断。

五、维生素 K 缺乏症

维生素 K 是一种脂溶性维生素,饮食是其主要来源,吸收主要在胆道。当营养不良、吸收障碍、胆道疾患以及药物影响时,可发生获得性维生素 K 缺乏。维生素 K 在凝血因子Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ翻译后的修饰中具有重要作用,是这些凝血因子氨基末端谷氨酸残基转化成 γ- 羧基谷氨酸残基的辅基,γ- 羧基谷氨酸残基使这些凝血因子与 Ca^{2+} 结合,促进血液凝固的前提。因此,维生素 K 缺乏将导致凝血因子Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ合成障碍,减弱或损害血液凝固过程,临床上出现出血症状。

病历摘要:

患者女,83 岁。因寒战、高热、腹痛、手足发绀急诊入院。入院后诊断“胆总管结石伴急性梗阻性化脓性胆管炎、胆囊结石伴急性胆囊炎、感染性休克”,普外科行超声引导下胆囊穿刺引流术进行引流,对症、支持治疗 47 天后,行胆道探查、胆囊切除、T 管引流术。术后 20 余天出现双侧手臂皮下青紫。自超声引导下胆囊穿刺引流术进行引流开始,患者每日 T 管胆汁外引流流出胆汁 400~600ml 黄绿色,自行胆道探查、胆囊切除、T 管引流术后每日经 T 管胆汁流出 200~300ml。实验室检查结果:血常规:RBC 3.0×10^{12}/L,Plt 215×10^{9}/L,尿常规大致正常,BUN、CRE 轻度升高,肝功:白蛋白 30g/L,胆碱酯酶(CHE)3724U/L,住院期间间断检查凝血常规大致正常,但于入院约 60 天后突然出现凝血常规异常改变:TT 15.6 秒,APTT 64.9 秒,PT 210.1 秒,INR 10.76,PTA 3%,FBG 3.24g/L。急请血液科会诊,考虑维生素 K 缺乏所致,静脉输入凝血酶原复合物、维生素 K 后,于次日复查凝血常规转为正常。

【问题 1】患者为老年女性,长期胆汁外引流后出现双侧手臂皮下青紫,APTT 和 PT 时间延长,新出现的问题是什么?可能的病因是什么?

患者双侧手臂皮下青紫,APTT 和 PT 时间延长,出现出血倾向。

该患老年女性,因急性阻塞性化脓性胆管炎入院,行胆道探查、胆囊切除,T 管引流术后每日胆汁流失约 350ml。患者近期有胆汁淤积,长期胆汁外流,营养状态较差,高度怀疑出血倾向是由维生素 K 缺乏或肝脏合成功能障碍引起。

思路:正常成人每日分泌胆汁约 800~1000ml,其中约 75% 由肝细胞生成,25% 由胆管细胞生成。胆汁是一种消化液,主要成分包括胆色素、胆盐、胆固醇、卵磷脂、脂肪酸、无机盐等成分。胆汁中不含消化酶,但是对脂肪的消化和吸收具有重要作用。

胆汁的生理功能主要体现在促进脂肪吸收、促进脂溶性维生素的吸收以及刺激肠道蠕动三方面。胆汁中的胆盐、胆固醇和卵磷脂可使脂肪乳化成脂肪微滴,利于脂肪的消化;胆盐还可与脂肪酸等其他脂类结合,形成水溶性复合物,从而促进脂肪消化产物的吸收,以及促进脂溶性维生素 A、D、E、K 的吸收。源于蛋黄、牛肝和蔬菜等食物中的维生素 K_1 构成维生素 K 的主要来源,通过肠道细菌合成的维生素 K_2 也是人体维生素 K 的来源之一。维生素 K 的吸收依赖胆汁酸盐的辅助。

体内贮存的维生素 K 在缺乏食物补充的情况下,一周内可被耗尽。当机体维生素 K 缺乏时,维生素 K 依赖的凝血因子Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ的合成障碍,这些凝血因子缺乏或减少,导致轻重不一的出血症状,如鼻出血、牙龈出血、呕血、血尿等,严重者可因颅内出血而危及生命。

该患者长期胆汁外引流,加上营养摄入不足,机体对脂肪及脂溶性维生素吸收减少。

学习笔记

【问题 2】患者 PT、APTT 均延长，属于哪种凝血途径异常所致的出血？

患者凝血常规报告 PT、APTT 均延长，属于内源和外源途径缺陷所致的出血。

知识点

凝血常规在评价凝血途径异常中的应用

1. 内源性凝血途径包括一系列的蛋白辅因子和酶，由Ⅻ因子活化而启动，终产物是纤维蛋白凝块。在凝血机制的实验室评价中，APTT 可反映该途径的异常与否。

2. 外源性凝血途径通过细胞表面组织因子(TF)和因子Ⅶa 形成的复合物而启动，此后经过一系列反应，最终形成纤维蛋白凝块。在凝血机制的实验室评价中，PT 可反映该途径的异常与否。

3. 凝血常规对于出血性病例的病因初筛十分重要，在排除血管和血小板异常的前提下，通过检测 PT 和 APTT 的延长情况，可初步判断是单一凝血因子缺乏还是多因子缺乏所引起的出血，有助于接下来进行凝血因子的检测。

【问题 3】对于 PT、APTT 均延长的患者，需进行哪些检查明确病因？

为了鉴别维生素 K 依赖性凝血因子缺乏或肝脏合成障碍所致的凝血因子缺乏，应进行凝血因子检测。

思路：维生素 K 缺乏引起的获得性凝血因子缺乏常在饮食摄入不足、胆道梗阻、大量抗生素使用等情况下并发。程度较轻者无自觉症状，或出血较轻、症状隐匿，重者可因内脏、颅脑等深部出血而死亡。出血的直接原因是依赖维生素 K 的凝血因子Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ活性明显降低。一旦发现，通过补充维生素 K、输注新鲜冷冻血浆等治疗可以很快恢复正常。否则，凝血因子Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ继续减少，出血倾向会进一步加重，因此，临床上对长期营养摄入不足、胆道梗阻、大量抗生素使用等情况的患者，及时发现维生素 K 缺乏在治疗过程中十分重要。

学习笔记

知识点

维生素 K 缺乏时实验室指标变化

维生素 K 缺乏病是由维生素 K 缺乏引起的凝血障碍性疾病。因维生素 K 是参与凝血因子Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ合成的重要辅酶，体内维生素 K 缺乏将导致这几种凝血因子缺乏或减少。实验室特点主要为 PT 和 APTT 延长，因子Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ活性明显降低。

该患者凝血因子结果回报：凝血因子Ⅱ 13.9%、Ⅶ 2.7%、Ⅸ 9.3%、Ⅹ 13.5%，其余正常。

【问题 4】患者胆道手术后长期胆汁丢失，APTT 及 PT 延长，凝血因子Ⅱ 13.9%(↓)、Ⅶ 2.7%(↓)、Ⅸ 9.3%(↓)、Ⅹ 13.5%(↓)，可作出怎样的判断？

根据以上检查，结合患者病史，可以判断患者存在维生素 K 缺乏引起的凝血因子减少。

知识点

引起维生素 K 缺乏的因素

1. 饮食中摄入不足，同时使用肠道抗生素。

2. 胆道疾病干扰了肠 - 肝循环，导致维生素 K 吸收减少。

3. 维生素 K 拮抗剂的使用　如香豆素类药物的使用、误服灭鼠剂等。

患者静脉给予维生素 K_1 12.5mg/d，用药后第二天复查凝血常规，结果回报正常。

【问题 5】为何凝血常规检测对于维生素 K 缺乏症的患者十分重要？

从维生素 K 缺乏症的病因来看，维生素 K 吸收减少到缺乏是一个渐进的过程，所引起的凝血因子Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ减少能够导致凝血机制障碍而引发出血。监测维生素 K 缺乏导致的出血倾向最简单快捷的指标是 PT，因此对于高危人群，应注意监测凝血常规。

知识点

止凝血机制初筛试验在维生素 K 缺乏症中的应用

1. PT　对维生素 K 依赖性凝血因子缺乏十分敏感，维生素 K 治疗后，PT 很快恢复正常。
2. APTT　可反映凝血因子Ⅷ、Ⅸ、Ⅺ缺乏。
3. TT　可反映纤维蛋白原的水平和功能活性。
4. 维生素 K 缺乏症患者由于凝血因子Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ缺乏，凝血常规表现为 PT 和 APTT 均延长，TT 正常。

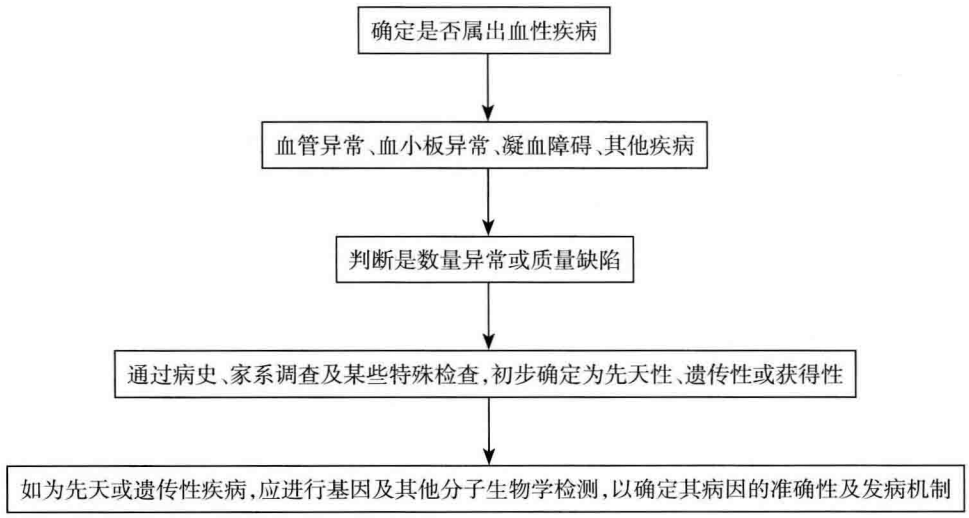
【问题 6】临床上如何防治维生素 K 缺乏症？

患者 T 管留置时间较长，每日胆汁丢失，为了防止脂溶性维生素尤其是维生素 K 的缺乏引起的出血，应监测凝血常规，及时补充维生素 K。一旦发现凝血常规异常，凝血因子Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ缺乏，应给予维生素 K 治疗，治疗后凝血常规 PT 可很快恢复正常，出血症状消失。患者接受支持治疗、维生素 K 治疗后，凝血常规一般很快恢复正常。

【问题 7】如何应用实验室检验项目筛查、诊断和鉴别出血性疾病？

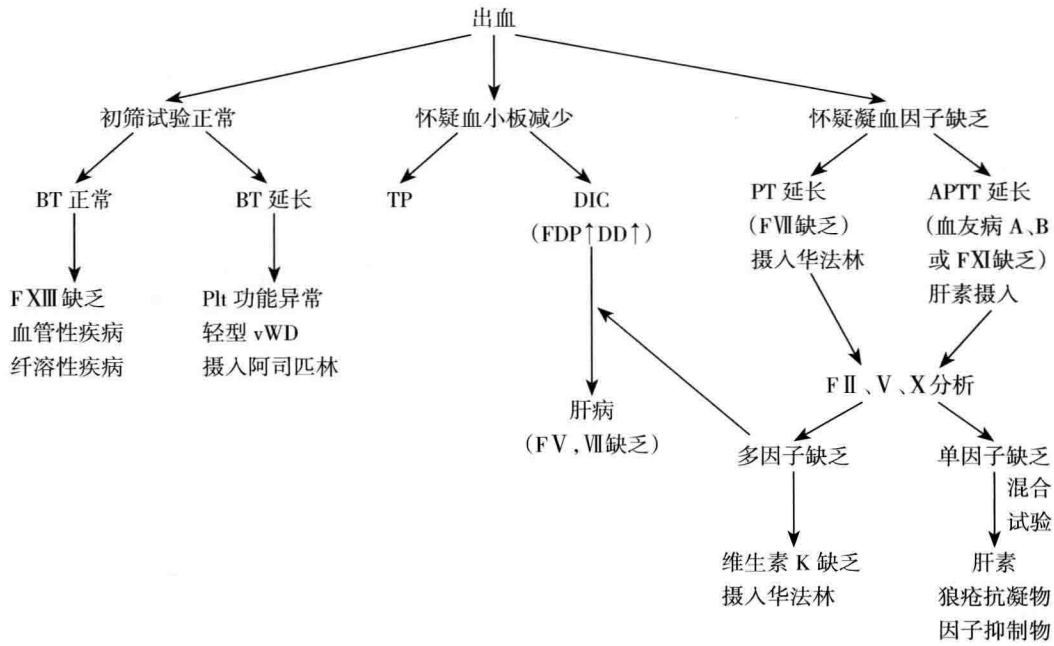
出血性疾病的实验诊断思路

按照先常见病、后少见病及罕见病，先易后难、先普通后特殊的原则，逐层深入进行程序性诊断。



学习笔记

出血性疾病诊断和鉴别诊断流程



(续　薇)

第七节　血栓性疾病

血管内皮细胞损伤、血小板活化、白细胞激活、凝血因子活性增强、纤溶活性减低及血液高黏状态等因素，会导致机体处于高凝状态，包括原发性高凝状态和继发性高凝状态，高凝状态是血栓形成的基础，实验室检查是发现和诊断高凝状态的疾病如动脉血栓、静脉血栓及弥漫性血管内凝血(DIC)，也可以发现易栓症人群。

一、深静脉血栓(DVT)

病历摘要：

患者男，52 岁。主诉“右下肢肿胀 3 天”。5 个月前行走时突发呼吸困难，休息数分钟后可缓解，未予诊治，之后上述症状反复出现，每次持续约 10 分钟，休息后可缓解，1 天前患者呼吸困难再次发作，并出现右下肢肿胀。否认高血压、糖尿病病史，否认药物过敏史。

查体：体温 36.5℃，脉搏 75 次 / 分，血压 120/70mmHg，呼吸 19 次 / 分，患者一般状态尚可，神志清楚，颈静脉无怒张，听诊双肺呼吸音粗，双肺可闻及散在湿啰音。听诊心率 79 次 / 分，律整，无肺动脉第二心音亢进，余瓣膜听诊区未闻及杂音。腹软，全腹无压痛、反跳痛及肌紧张，肝脾肋下未触及，右侧下肢重度肿胀。

术前实验室检查：白细胞 5.21×10^9/L，中性粒细胞百分比 0.80，RBC 5.30×10^{12}/L，Hb 154g/L，Plt 120×10^9/L。抗凝血酶测定 106%，DD 5700.00μg/L(↑)，FDPs 8.6μg/ml(↑)。血浆蛋白 S 46.8%(↓)，血浆蛋白 C 39%(↓)。双下肢静脉彩超提示右侧股静脉血栓形成。患者行手术治疗，好转出院。

患者术后 20 天突发胸闷、气短，伴咯血。再次急诊入院。实验室检查 DD 8010.00μg/L(↑)，FDPs 18.6μg/ml(↑)。肌钙蛋白 I 0.02ng/ml。B 型钠尿肽前体测定 34.2pg/ml。心脏彩超提示左室舒张功能减低。心电图正常。增强肺 CT 提示“双肺下叶多发肺动脉栓塞”。

学习笔记

【问题1】根据患者症状、体征及实验室及影像学结果，患者初次入院时右下肢肿胀、DD 5700.00μg/L(↑)、FDPs 8.6μg/ml(↑)、血浆蛋白S 46.8%(↓)、血浆蛋白C 39%(↓)、双下肢静脉彩超提示右侧股静脉血栓形成，可诊断为何种疾病？

下肢深静脉血栓诊断明确。

知识点

下肢深静脉血栓形(DVT)的诊断依据

诊断主要依据突发性的单下肢肿胀。体格检查可见患肢肿胀，组织张力增高，腹股沟下方股三角区或腓肠肌部位常有压痛；Homans征阳性；发病1~2周后可发生浅静脉怒张或者曲张；若下肢肿胀的患者突然出现呼吸困难、胸痛、发绀、休克、晕厥等症状，应警惕并发肺栓塞。彩超有助于确诊。

【问题2】患者术后20天出现胸闷等症状，应考虑什么疾病？

DVT患者，术后突然出现胸闷、气短，应注意肺栓塞的并发症。

知识点

肺血栓栓塞症(PTE)的诊断要点

PTE是DVT最为严重的并发症，其诊断程序一般包括疑诊、确诊、求因三个步骤。

疑诊是指根据临床情况疑诊PTE，如出现不明原因的呼吸困难、胸痛、晕厥、休克，或伴有单侧或双侧不对称型下肢肿胀，疼痛等，应进行如下检查：①血浆D-二聚体；②动脉血气分析；③心电图；④X线胸片；⑤超声心动图；⑥下肢深静脉超声检查。

确诊是指对疑诊病例进一步明确诊断，在临床表现和初步检查提示PTE的情况下，应安排PTE的确诊检查，包括以下4项，其中1项阳性即可明确诊断：①螺旋CT；②放射性核素肺通气/血流灌注扫描；③磁共振显像；④肺动脉造影。

求因是指寻找PTE的成因和危险因素：①明确有无DVT；②寻找发生DVT和PTE的诱发因素。

【问题3】DD、FDP在深静脉血栓中的意义？

血栓形成常伴纤维蛋白降解，因此选用FDPs和DD检测有助于评估是否存在血栓形成。

该患者实验室检查结果：FDPs 8.6μg/ml，DD 6700.00μg/L，二者均升高。

知识点

FDPs和D-二聚体测定的临床应用

1. 血浆纤维蛋白(原)降解产物(FDPs)测定　FDPs是来自于纤溶酶降解纤维蛋白原和纤维蛋白的一组片段，纤溶酶作用的底物不同，产生FDPs也略有不同。FDPs的量不仅反映了体内纤溶酶活性，也可通过FDPs其中成分测定了解其源自纤维蛋白原还是源自纤维蛋白，进而分析是否存在大量的凝血酶生成。常与D-二聚体同时检测。阳性或增高见于原发性纤溶症以及继发性纤溶症如DIC、恶性肿瘤、急性早幼粒细胞白血病、肺梗死、深静脉血栓形成、肾脏疾病、肝脏疾病、器官移植的排斥反应和溶血栓治疗等。

2. 血浆D-二聚体(DD)测定　DD是交联纤维蛋白在纤溶酶降解下产生的FDP中的一个片段。继发性纤溶症如DIC时阳性或增高，原发性纤溶症的早期为DD阴性或不升高。某些非纤溶或非栓塞性疾病也可导致DD升高，因此，DD于对栓塞性疾病的诊断并不特

学习笔记

异性。但是，DD 检测的重要意义在于：当 DD 阴性或 <500μg/L 时，可以排除深静脉血栓和肺栓塞疾病。

【问题 4】怀疑深静脉血栓时，还应检测哪些实验室检查项目？

患者还应检测血浆蛋白 S 及血浆蛋白 C。蛋白质 C 系统属于生理性抗凝物质，其活性减低提示血栓性疾病的发生。

思路：血浆蛋白 S 及蛋白 C 均属于蛋白质 C 系统，参与抗凝过程，其活性的减低反映抗凝作用减低，此时易引起血栓性疾病，故检测蛋白 C 系统有助于诊断血栓性疾病。

知识点

血浆蛋白 C 活性和血浆蛋白 S 活性检测的临床意义

1. 血浆蛋白 C 活性（PC:A）测定　减低见于先天性或获得性 PC 缺陷症如 DIC、肝病、手术后、口服抗凝剂、急性呼吸窘迫综合征等。

2. 血浆蛋白 S 活性（protein S activity，PS:A）测定　减低见于先天性和获得性 PS 缺陷症如肝病、口服抗凝剂等。蛋白 S 的水平减低往往伴随着血栓形成，口服抗凝剂使用和肝功能障碍。

【问题 5】是否可以进行血栓弹力图检查，有何意义？

由于血栓弹力图是通过体外血液凝固的全过程来反映体内凝血机制的不同方面，因此，可以检查该项目，图型和参数表现为高凝状态。

学习笔记

二、弥散性血管内凝血

弥散性血管内凝血（DIC）是一种临床综合征。以血液中过量凝血酶生成、可溶性纤维蛋白形成和纤维蛋白溶解为特征。临床主要表现为严重出血、血栓栓塞、微血管病性溶血性贫血、单个或多个器官功能不全。往往存在诱发 DIC 的基础疾病如感染、恶性肿瘤、病理产科、大型手术和创伤、严重肝病等。本病凝血和纤溶机制异常的基本实验包括血浆纤维蛋白原浓度降低，PT、APTT、TT 延长，FDPs 和 D- 二聚体浓度增高，血小板计数减低。

病历摘要：

患者男，45 岁。主诉“血尿、黑便 10 天，加重 3 天伴呕血 1 天”。患者因 10 天前治疗“腰间盘脱出”，自行口服中药后出现鲜红色肉眼血尿、黑便，就诊于当地医院，诊断考虑“急性前列腺炎”，3 天前头晕，查血常规提示血红蛋白及血小板下降，凝血功能明显异常，骨髓穿刺检查提示“粒系、红系和巨核细胞三系数量大致正常，但成熟红细胞大小不等、形态不整，易见盔形、泪滴状、畸形红细胞”。治疗上给予输血、止血等对症治疗，无明显好转，1 天前呕血，门诊以“DIC”收治入院。病程中患者存在鼻出血、咯血、低热，尿量正常。否认肝炎、结核、外伤手术史，否认药物过敏史。

查体：体温 36.5℃，血压 130/80mmHg，脉搏 115 次 / 分，呼吸 20 次 / 分，意识淡漠，重度贫血貌，四肢散在瘀斑，双侧瞳孔等大同圆，直径约 3.0mm，直接及间接对光反射灵敏，听诊双肺呼吸音清，未闻及干、湿啰音。心率 115 次 / 分，律整，心音弱，各瓣膜听诊区未闻及病理性杂音。腹软，无压痛、反跳痛及肌紧张，肝、脾肋下未触及。双下肢无水肿，未引出双侧病理反射。

实验室检查：白细胞 27.20×10^9/L，淋巴细胞百分比 0.50，红细胞 1.23×10^{12}/L，血红蛋白 40g/L，血小板 12×10^9/L。TT 20.7 秒，PT 17.1 秒，APTT 49.8 秒，PTA 42%，FBG 1.71g/L，DD 25250μg/L，FDPs 131μg/L。血氧饱和度 99%（鼻导管吸氧，3L/min）。

【问题 1】该患门诊以“DIC”收治入院，DIC 诊断依据是什么？

诊断依据为该患出血症状明显，血小板计数减低，FDPs 和 DD 浓度显著增高，PT、APTT、TT 延长。用 DIC 诊断的积分诊断系统评价其病情程度，积分结果为 6 分，符合典型的 DIC。

思路：该患的症状、体征及实验室检查均提示 DIC 的可能，若确诊 DIC 则需要用 DIC 诊断的积分诊断系统为患者的病情程度打分，根据得出的积分结果，按照规定诊断是否属于 DIC，或者是否高度怀疑 DIC 需要密切监测。

知识点

DIC 诊断标准（2001 年国际血栓止血学会）

1. 评估　患者是否存在与典型 DIC 发病有关的潜在疾病？若回答“是”，则进入的下述程序，若回答“否”则不进入下述程序。

2. 进行全面的凝血参数监测，包括血小板计数、凝血酶原时间、纤维蛋白原、D- 二聚体或纤维蛋白降解产物。

3. 积分凝血实验结果

（1）血小板计数（$>100\times10^9$/L=0，$<100\times10^9$/L=1，$<50\times10^9$/L=2）

（2）D- 二聚体（无增加 =0，中度增加 =2，显著增加 =3）

（3）凝血酶原时间延长（<3”=0，>3”但 <6”=1，>6”=2）

（4）纤维蛋白原浓度（>1.0g/L=0，<1.0g/L=1）

4. 将“3”项中的各分数相加。

5. 结果判定　如积分≥5，符合典型 DIC；每天重复积分。如积分 <5，提示非典型 DIC，其后 1~2 天重复积分。

【问题 2】DIC 患者可出现哪些检验结果的异常？

在临床出现多发性出血征象、怀疑 DIC 时可检测的项目及可能出现的异常是：血小板计数减少，APTT、PT、TT 延长，纤维蛋白原定量减少，D- 二聚体、FDPs 增高，出现大小不等、形状不整的成熟红细胞。

【问题 3】该患者全身多部位广泛出血，血小板减少，FDPs 和 D- 二聚体增高，PT、APTT、TT 延长，请分析出血原因。

该患属于纤维蛋白溶解活性亢进性出血，即纤维蛋白（原）和某些凝血因子被纤溶酶降解所引起的出血。无论何种原因导致的 DIC，其发病的关键环节是循环中凝血酶生成过量和失去抑制的纤溶酶形成。凝血酶生成不仅大量消耗凝血因子Ⅰ、Ⅴ、Ⅷ，而且诱导血小板活化聚集和 t-PA 的释放。新形成的纤维蛋白单体促进纤溶酶形成。在急性未经代偿的 DIC，凝血因子的消耗的速率超过了肝脏合成的速率，血小板的消耗超出了骨髓巨核细胞生成和释放血小板的代偿能力，实验室检查表现为 PT 延长、APTT 延长，血小板计数减低。DIC 形成的过量纤维蛋白刺激继发性纤溶的代偿过程，导致纤维蛋白（原）降解产物增多，可加重 DIC 的出血症状。

思路：该患 DIC 诊断明确，在分析其出血原因时主要从 DIC 的发生机制着手，分析其凝血及纤溶过程，同时多种实验室检查项目对明确患者的凝血及纤溶机制的正常与否，具有重要的提示作用。

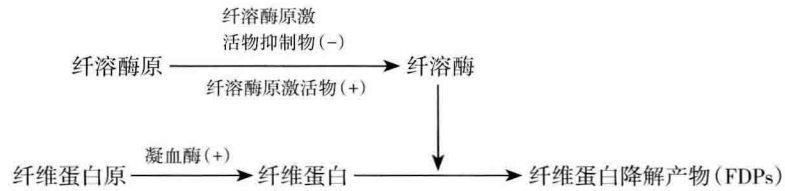
知识点

纤溶过程

1. 纤溶是纤维蛋白溶解的简称，是指在血液凝固过程中所形成的纤维蛋白或血栓在一定条件下重新溶解，使凝固的血块液化的过程。

2. 纤溶亢进是指纤溶活性的异常增强，分为原发性和继发性。原发性纤溶亢进是指纤溶酶原激活物增多所致，继发性纤溶亢进是指前期凝血机制增强，纤维蛋白大量生成，继而引起的纤溶亢进。

3. 纤溶机制



纤溶酶原激活物包括组织型纤溶酶原激活物(t-PA)和尿激酶型纤溶酶原激活物(u-PA)，能激活纤溶酶原使其转化为纤溶酶，而纤溶酶原激活物抑制物包括PAI-1和PAI-2，能够抑制这一过程。纤溶酶将不溶的纤维蛋白降解为可溶的纤维蛋白降解产物。

【问题4】该患者FDPs和D-二聚体浓度显著增高，属于原发性纤溶亢进还是属于继发性纤溶亢进？

属于继发性纤溶亢进。

思路：纤溶活性亢进性出血可选用FDPs和DD检测筛查。依据结果不同大致有四种情况

如两者均正常，表示纤溶活性正常，临床的出血症状可能与纤溶症无关。

如FDPs升高但DD正常，理论上只见于纤维蛋白原被降解而纤维蛋白未被降解的原发性纤溶，实际上这种情况多见于肝病、手术出血、重型DIC、纤溶初期、剧烈运动后、类风湿关节炎及抗Rh(D)抗体存在等。

如FDPs正常但DD升高，理论上只见于纤维蛋白被降解而纤维蛋白原未被降解的继发性纤溶，实际上这种情况可能是FDPs的假阴性，见于DIC、静脉血栓、动脉血栓和溶血栓治疗等。

如两者均升高，表示纤维蛋白原和纤维蛋白同时被降解，见于继发性纤溶如DIC和溶血栓治疗后等。故临床上可根据上述两种筛查试验结果判断属于何种纤溶亢进。

知识点

原发性纤溶和继发性纤溶的常用检测项目及意义

1. 血浆纤维蛋白(原)降解产物(FDPs)测定　见本章第七节 血栓性疾病。

2. 血浆D-二聚体(DD)测定　见本章第七节 血栓性疾病。

3. 血浆凝血酶时间(TT)　延长见于低(无)纤维蛋白原血症和异常纤维蛋白原血症、血中纤维蛋白(原)降解产物(FDPs)增高、肝素治疗中、SLE和肝脏疾病等。血浆凝血酶时间缩短无临床意义。

【问题5】DIC与严重肝硬化如何鉴别？

主要从病史及症状体征鉴别，1∶1血浆混合纠正试验也可鉴别两者。

思路：DIC与严重肝硬化都是由于存在血小板减少，多种凝血因子浓度降低，以及肝脏对

学习笔记

FDP 清除率降低，血常规，凝血常规及其他多种临床实验室检测很难将二者区分开，但严重肝硬化者多有肝病病史，黄疸和肝损害症状较为突出，血小板减少程度轻或易变，广泛性出血或血栓栓塞少见，1∶1 血浆混合纠正试验可纠正延长的 APTT，而 DIC 则否，可作为鉴别诊断参考。但需注意严重肝病合并 DIC 的情况。

（续　薇）

学习笔记

第十章 风湿性疾病的实验诊断

风湿性疾病(rheumatic dieseases)泛指累及骨、关节及其周围软组织的一组疾病,病因和发病机制复杂多样。病因有感染、免疫、代谢、内分泌、退行性、地理、环境、遗传和肿瘤等,病理改变有炎症性和非炎症性病变,临床症状与病变累及的靶组织有关。风湿病的病理改变有炎症性反应和非炎症性反应,炎症性反应大多是由免疫反应引起,局部组织出现大量淋巴细胞、巨噬细胞、浆细胞浸润和聚集。而血管病变是风湿病的另一常见的共同病理改变,以血管壁炎症为主,逐步引致血管壁增厚、管腔狭窄,导致局部组织、器官缺血和弥漫性结缔组织病的广泛损害。根据发病机制、病理和临床特点,1993 年美国风湿病协会(American College of Rheumatology,ACR)将风湿性疾病分为弥漫性结缔组织病、脊柱关节病、退行性变、与代谢和内分泌相关的风湿病、感染相关的风湿病、肿瘤相关的风湿病、神经血管疾病、骨与软骨疾病、非关节性风湿病和其他有关节症状的风湿病等 10 大类。临床诊断、鉴别诊断和疗效与病变监测应结合病史、症状和体格检查以及影像学检查,可获得的病理检查也是很必要的。

实验室检查是诊断和鉴别诊断、病情活动性判断和预后与复发监测的重要依据。实验室基本检查有血、尿、便检测,肝、肾功能,其中白细胞、血红蛋白、血小板变化,尿蛋白和血与尿尿酸以及氨基转移酶可能都与风湿病相关,碱性磷酸酶(alkaline phosphatase,ALP)与骨质破坏相关。血沉(erythrocyte sedimentation rate,ESR)、C- 反应蛋白(C-reactive protein,CRP)、免疫球蛋白和补体定量测定有辅助诊断、病情活动性判断价值。类风湿因子(rheumatoid factor,RF)和自身抗体如抗核抗体谱(antinuclear antibody,ANAs)、抗可提取性核抗原抗体谱(extractable nuclear antigen antibodies,ENAs)、抗中性粒细胞胞浆抗体谱(antineutrophil cytoplasmic antibodies,ANCAs)、抗磷脂抗体(anti-phospholipid antibodies,APL)和抗角蛋白抗体等自身抗体的检查有助于疾病的诊断,滴度测定可用于病情判断和疗效监测(图 10-0-1)。还应注意与感染、肿瘤相关的炎症损伤的或

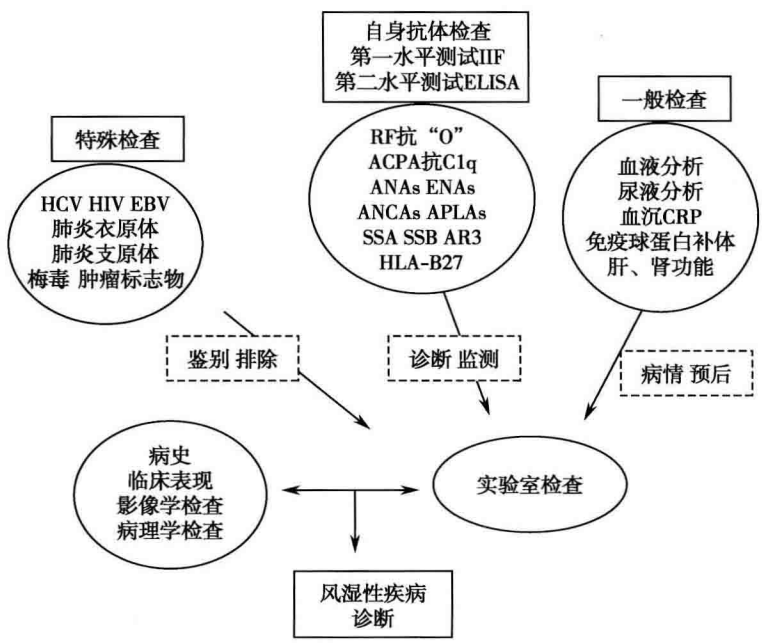


图 10-0-1 风湿性疾病实验室检查步骤示意图

由感染、肿瘤等疾病继发的组织损伤相鉴别，HCV、HIV、EBV 和梅毒等的血清学和核酸检查，肿瘤标志物的检查有助于排除诊断。

本章重点介绍最常见的风湿病，如类风湿关节炎（rheumatoid arthritis，RA）、系统性红斑狼疮（systemic lupus erythematosus，SLE）、干燥综合征（sicca syndrome or Sjögren syndrome，SS）、强直性脊柱炎（ankylosing spondylitis，AS）和血管炎等疾病以实验室检查为主的诊治思路。

第一节　类风湿关节炎

RA 是一种病因未明的、常见的，以侵蚀性、对称性、慢性进行性多关节炎为主要临床表现的自身免疫性疾病。主要累及外周关节，以慢性、对称性、多关节滑膜炎和关节外病变为主要临床表现，好发于手、腕、足等小关节，常反复发作，心、肺、神经系统、血液、眼等器官或组织也可受累。由于发病机制不同，临床上有不同的亚型；由于可累及多组织、多器官、多系统。病理变化主要表现为滑膜炎、血管翳形成，侵蚀软骨及骨组织，最终可能导致关节结构破坏、畸形、致残、功能和劳动力丧失。因此，早期诊断和早期治疗十分重要。

病历摘要：

患者女，49 岁。主诉“全身多关节反复肿痛 3 年余，加重 3 个月”，双腕、掌指关节、近端指间关节、膝关节持续性肿痛，无自发缓解，伴晨僵 1 小时，逐渐加重，受凉易诱发。无脱发、口腔溃疡、皮疹、光敏、手指遇冷变色，无发热、泡沫尿等。3 个月前关节肿痛加重，逐渐出现双膝、肩、肘关节肿痛，下蹲不能，晨僵持续时间延长，2~3 小时。并出现双肘关节伸侧结节，质硬、无疼痛、不活动。

入院查体：双手掌指关节 2~5，近端指间关节 2~5 及双腕关节肿胀、压痛（+），双髋关节压痛（+）；双膝关节肿胀，压痛（+），可扪及摩擦感；双膝关节、双肘关节伸直活动受限。双肘关节伸侧可及多个皮下结节 0.5~1.0cm、质硬、不活动、无明显压痛。

入院后主要检查结果：血沉 75mm/h；CRP 90mg/L。骨密度：左股骨近端局部骨矿密度测量均值减低，T 值 −1.8，提示骨量减少。X 线：左右手骨质密度减低，双膝关节退行性变。胸部 CT：双肺间质性改变伴双侧胸膜增厚。心脏彩超：未见异常。

【问题 1】通过上述问诊与查体，可能的诊断是什么？需与哪些疾病鉴别？

患者中年女性，有典型的对称性多关节炎临床表现，X 线有左右手骨质密度减低的骨质侵蚀性改变，血沉明显升高，CRP 也升高。根据患者主诉、临床症状、体征、X 线检查，初步诊断为类风湿关节炎。

鉴别诊断：①骨关节炎；②强直性脊柱炎；③银屑病关节炎；④系统性红斑狼疮；⑤反应性关节炎。

知识点

RA 的临床表现与实验室检查在诊断中的意义

RA 患病率 0.5%~1.0%，中、老年女性多发。手、腕、肘、膝、踝和足等外周小关节受累为主，表现为慢性、对称性、多关节滑膜炎和关节外病变，反复发作为特征。病变可累及眼、心、肺、神经和血液系统。本病的特点是异质性和系统性，给诊断带来一定困难。异质性是指由于遗传背景、病因和发病机制不同而导致临床表现、严重程度、预后和结局的差异；而系统性是指本病的多器官、系统受累，引起发热、血管炎、心肌和（或）心包炎、胸膜炎、间质性肺炎、皮下结节、贫血、肾淀粉样变和虹膜炎等。血常规中白细胞和血红蛋白、ESR、CRP

为病情活动和严重程度提供初步判断依据，RF 和抗环瓜氨酸肽抗体（anti-cyclic citrullinated peptide antibody，CCP）联合检测能够提高阳性检出率，但 RF 和抗 CCP 抗体阴性时抗环瓜氨酸蛋白 / 肽相关自身抗体（anti-citrullinated protein/peptide-antibodies，ACPA）、抗 Sa 抗体、抗类风湿关节炎相关核抗原抗体（anti-rheumatoid arthritis associated nuclear antigen antibody，anti-RANA）、抗人异质型核糖核蛋白复合物 / 抗 RA33 抗体（anti-heterogeneous nuclear ribonucleoprotein compies/anti-RA33 antibody，hnRNP/RA33）等自身抗体的检测对于提高诊断率和鉴别诊断有重要帮助。

【问题 2】为明确诊断，还应进行哪些检查？

思路：临床上 RA 的早期诊断和早期治疗是决定预后的关键，延误诊断和治疗将导致病变不可逆转，预后不良。结合该患者的症状、体征、X 线检查结果以及血沉、CRP 升高等实验室检测结果，高度提示 RA 的可能。为此，需进一步进行确诊 RA 或排除 SLE、银屑病关节炎、AS、骨关节炎、反应性关节炎等疾病的相关实验室检查。

为确诊类风湿关节炎，入院后进行了一系列实验室检查。异常结果的项目包括：①RF 60.0kIU/L（↑）；②抗 CCP 抗体 297.3U/L（↑）；③抗链球菌溶血素 O（抗“O”）抗体 >250kIU/L；④抗核周因子抗体阳性；⑤抗角蛋白抗体阳性；⑥抗类风湿关节炎相关核抗原抗体阳性；⑦抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体 >20kU/L；⑧抗异质性胞核核糖核蛋白抗体阳性。

以下项目检测结果均为阴性：①ANA；②抗聚角蛋白微丝蛋白抗体；③抗 Sm 抗体；④抗核核糖蛋白抗体；⑤抗 P68 抗体；⑥抗双链 DNA 抗体；⑦抗 SS-A 抗体；⑧抗 SS-B 抗体；⑨抗 Sa（anti Savoic antibody，Sa）抗体；⑩血清补体 C3、C4；⑪免疫球蛋白。

知识点

RA 诊断标准

RA 诊断需结合患者临床表现、影像学和血清学特点综合考虑。2010 年 ACR 和欧洲抗风湿联盟（the european league against rheumatism，EULAR）共同制定了新的 RA 分类标准，将血清学指标列为评分标准，使诊断更客观。

2010 年 ACR/EULAR 修订的 RA 分类标准

（1）至少有 1 个关节有明确的临床滑膜炎表现（肿胀）。

（2）不能用其他疾病更好地解释该滑膜炎。

RA 分类标准的评分（A~D 评分总和≥6 分，可以将患者诊断为 RA）

A. 关节受累情况评分

1 个大关节：0 分。

2~10 个大关节：1 分。

1~3 个小关节（有或无大关节受累）：2 分。

4~10 个小关节（有或无大关节受累）：3 分。

>10 个关节（至少有 1 个小关节受累）：5 分。

B. 血清学试验

RF 和抗 CCP 抗体均阴性：0 分。

RF 低水平阳性或抗 CCP 低水平阳性：2 分。

RF 高水平阳性或抗 CCP 抗体高水平阳性：3 分。

C. 急性期反应标志物（确诊至少需要 1 条）

CRP 和 ESR 结果均正常：0 分。

学习笔记

续表

CRP 结果升高或 ESR 结果升高：1 分。

D. 症状持续时间（患者自述受累关节滑膜炎体征或症状如疼痛、肿胀，触痛持续时间）

<6 周：0 分。

≥6 周：1 分。

注：RF 及抗 CCP 抗体阴性指结果 IU 值≤本实验室正常参考区间上限（upper limit of normal，ULN），低水平阳性指结果 >ULN 但≤3 倍 ULN，高水平阳性指结果 >3 倍 ULN。当 RF 只报告阳性或阴性时，阳性结果按低水平阳性评分。CRP、ESR 结果正常或升高，依本实验室标准判定

【问题 3】根据上述检查，应作出怎样的诊断？诊断依据是什么？

经上述检查，可以明确诊断为类风湿关节炎。诊断依据：①慢性发病，多关节、对称性受累，晨僵，近 3 个月出现多关节活动受限，根据临床和 X 线检查有大于 10 个关节受累（小关节大于 1 个）；②RF 低水平阳性，抗 CCP 抗体高水平阳性；③CRP 及 ESR 均升高；④病程持续 6 周以上。根据 2010 年修订的 RA 的 ACR/EULAR 分类标准，总分大于 6 分，可以诊断为类风湿关节炎。

思路：该患者入院时有比较典型的 RA 临床和影像学检查表现，根据 2010 年修订的 RA 的 ACR/EULAR 分类标准，如需作出确诊必需满足“C”“D”项中各至少 1 条。当总分 <6 分和不能满足“C”“D”项条件时，不能确诊。但应密切随访，可能在以后的病程中满足此标准，从而达到早期诊断的目的。对于 RF 和（或）抗 CCP 抗体阴性患者，检测抗环瓜氨酸肽相关自身抗体、抗 Sa 抗体、抗 RANA 抗体、抗 hnRNP/RA33 抗体是十分必要的，这些检查虽然没有列入分类标准，但这些抗体的联合检测对 RF 和（或）抗 CCP 抗体阴性 RA 的早期诊断和与其他风湿性疾病鉴别诊断有重要价值。抗 ENA 谱检查阴性，可以排除 RA 合并 SLE、SS 等病变。

【问题 4】目前常用的诊断 RA 的相关实验室指标有哪些？诊断价值如何？

2010 年 ACR/EULAR 的分类标准提示：RA 确诊需满足评分标准“A~D”（总和大于 6 分）。相关实验室检查除需检查“C”“D”项外，还需检查其他一些与 RA 相关或与其他自身免疫病相关的自身抗体，以提高诊断的效率，并与其他自身免疫病鉴别。

思路 1：类风湿因子的特点以及在 RA 诊断中的应用与评价

RF 是针对变性 IgG 的 Fc 段决定簇的自身抗体，1948 年由 Rose 在 RA 患者血清中发现，有 RF-IgM、RF-IgA、RF-IgG 和 RF-IgE 共 4 种亚型。目前主要检测 IgM 型 RF，故有漏检 IgA、IgG 和 IgE 型 RF 的可能，采用更加灵敏的方法进行总 RF 及其亚型测定可以弥补方法学的不足。RF 除存在于 RA 患者血液，关节滑液中也可检出，但滑液中 RF 的阳性率低于血清。

临床上 RA 患者的 RF-IgM 阳性率在 70%~80%，但特异性较差，1%~5% 的正常人 RF-IgM 阳性，蛋白代谢异常、其他自身免疫病如 SLE、SS、混合型结缔组织病（mixed connective-tissue disease，MCTD）、Grave 病以及肝炎、肺结核、高球蛋白血症等 RF-IgM 也可阳性。虽然，目前 RF 为 RA 分类标准中的血清学指标之一，但 RF 不能作为 RA 诊断的唯一或特异性指标或标准，RF 阳性时必须结合临床及其他免疫学、急性时相蛋白检查才能作出诊断。同时，RF 阴性患者并不能排除 RA，也应结合临床或做进一步检查。

高滴度或高浓度的 RF-IgM 的临床价值：首先，RF 滴度或浓度与 RA 病情、骨破坏和关节外表现正相关，随症状加重 RF 滴度或浓度明显升高，且往往预后不良；其次，RF 滴度或浓度下降可作为病情好转的指标之一。

通常在 RA 发病 3 年内出现 RF-IgM，如果发病 3 年内未出现 RF-IgM，以后也不会出现。在某些情况下，尤其是幼年 RA（juvenile rheumatoid arthritis，JRA）其 RF 和血清中非特异 IgG 亲和力高，形成的免疫复合物封闭了抗原结合位点，在检测时需吸附自身 IgG，在部分 RF 阴性的 RA 可检测出 RF-IgM，此 RF-IgM 称为“隐匿性类风湿因子（hidden rheumatoid factor，HRF）”。

思路 2：抗 CCP 抗体的特点及其在 RA 诊断中的应用与评价

瓜氨酸是 RA 患者血清中出现的抗聚角蛋白微丝蛋白（filaggrin）相关抗体识别的主要抗原决定簇。1998 年 Schellekens 根据 filaggrin 的 cDNA 序列合成了针对主要瓜氨酸的环化肽即 CCP。CCP 是一条由 21 个氨基酸残基组成的、含瓜氨酸的肽链，能与患者血清中的抗 CCP 抗体结合，目前采用 ELISA 方法检测。抗 CCP 抗体在 RA 早期即可出现，对 RA 的诊断敏感度约 77.3%（95% CI 63.1%~89.2%），特异性为 93.85（95% CI 85.5%~98.1%）。CCP 不仅对于 RA 的早期诊断，也是侵蚀性、非侵蚀性 RA 鉴别的灵敏指标，CCP 抗体阳性者通常出现或易发展成较抗体阴性者更严重的关节骨质破坏。抗体含量（或滴度）与 RA 严重程度、骨关节破坏程度以及病情进展速度正相关，高抗 CCP 抗体含量（或滴度）往往提示预后不良。在其他风湿性疾病、病毒感染中阳性率较低，因此，2010 年修订的 RA 的 ACR/EULAR 分类标准将其列为标志性抗体之一，与 RF 联合检测可提高 RA 诊断的特异性。

注意，虽然抗 CCP 抗体诊断 RA 敏感性、特异性都较高，但仅凭抗 CCP 抗体阳性不能作出临床诊断，必须结合临床表现和其他实验室检查。

思路 3：其他瓜氨酸相关蛋白抗体的特点以及在 RA 诊断中的应用与评价

抗 CCP 抗体与抗核周因子抗体（anti-perinuclearfactorautoantibody，APF）、抗角蛋白抗体（anti-keratin antibody，AKA）、抗聚丝蛋白抗体（anti-filaggrin antibody，AFA）、抗波形瓜氨酸蛋白抗体（anti-citrullinated protein waveform antibodies，Sa）和抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体（anti-mutated citrullinated vimentin antibody，MCV）等同属于抗瓜氨酸化蛋白抗体（anti-citrullinated protein antibody，ACPA）家族成员之一，以环瓜氨酸蛋白或肽为共同的靶抗原。

虽然这些抗体可同时出现于同一 RA 患者血清中，具有一定的相关性，但不能互相替代，同时检测在 RA 诊断中可起到互为补充的作用。

APF 抗体是抗人颊黏膜细胞浆内角质蛋白颗粒的抗体，间接免疫荧光检测时集中分布在细胞核周围，故名。在 RA 患者中 APF 抗体阳性率 50%~80%，特异性 90% 左右，可在 RA 早期出现，可作为 RA 特别是早期 RA 的血清特异性抗体。APF 检出率与病程长短无关，APF 阳性与病情严重程度相关，尤其是 RF 阴性的 RA 患者 APF 抗体阳性，往往提示预后不佳。APF 抗体有 IgG、IgA、IgM 三种亚型，其中以 IgG 型最常见。应该注意的是间接免疫荧光检测受到抗原基质人颊黏膜细胞和检测时人工判读显微镜结果的影响，APF 在敏感度、特异性方面还存在一些差异；再者，该抗体阳性还可见于 SLE、硬皮病、传染性单核细胞增多症等。

AKA 抗体的靶抗原角蛋白是一组不溶性的纤维蛋白，属于细胞骨架成分。一般认为诊断 RA 的敏感度为 40%~60%，特异性可达 95% 以上。在非类风湿关节炎的自身免疫病患者 AKA 抗体检出率极低，且 AKA 抗体可见于早期 RA 患者，因此，AKA 对于 RA 早期诊断有重要价值，与 RF 同时检测可提高 RA 的诊断正确率，弥补 RF 的不足。AKA 抗体也与 RA 病情严重程度相关，高含量抗体预示病情严重、预后不良。

Filaggrin 是存在于人表皮细胞胞质内的一种易溶于水的酸性或中性蛋白，AFA 是以含瓜氨酸的 filaggrin 片段或 filaggrin 相关蛋白为靶抗原的自身抗体。由于检测方法和 filaggrin 抗原纯化的方法不尽相同，报道的 AFA 诊断敏感度差异较大，从 12.2%~70% 不等，但特异性均可达 90% 以上。AFA 对 RF 有很好的补充诊断价值，二者联合，有利于 RA 的早期诊断，降低漏诊，但它们与病情严重程度的相关性和在预后判断中的价值，尚有待揭示。虽然 AFA、AKA、APF 和抗 CCP 抗体同属一族，但检测结果并不完全重叠，不能互相涵盖，却能互补。

抗 MCV 抗体的靶抗原是关节滑液中的波形蛋白，经由酞酰精氨酸脱亚氨酶的瓜氨酸化使该蛋白决定簇的瓜氨酸结构发生了变化，成为抗 MCV 抗体的抗原。该抗体与抗 CCP 抗体在化学结构上具有相关性，分子量 410kD 是 CCP 的 20 倍，MCV 上有 45 个可被瓜氨酸酸化的抗原决定簇（CCP 仅有 1~2 个）。因此，推论其抗体具有较高的敏感度和特异性。目前的研究显示抗 CMV 抗体对 RA 诊断的敏感度高于抗 CCP 抗体，特异性稍高于抗 CCP 抗体，有助于弥补 RF 的低特异性和抗 CCP 抗

学习笔记

体的敏感度不足，可作为早期 RA 诊断的辅助指标，对于 RF 和抗 CCP 抗体阴性 RA 患者尤为重要。

思路 4：抗 RA33 抗体在 RA 诊断中的应用与评价

抗 RA33 抗体是以 IgG 型为主的多克隆抗体。1989 年由 Hassfeld 用免疫印迹法（IBT）在 RA 患者血清中发现，因与分子量 33kD 的核酸蛋白发生反应故名。单独检测抗 RA33 抗体对 RA 的敏感性并不高，一般在 20%~40% 之间，但特异性在 90% 以上。由于抗 RA33 抗体与 RF、APF、AKA 无交叉反应，且可出现于早期不典型 RA，因此有利于早期和不典型 RA 的诊断。并可用于 RA 与其他关节炎的鉴别诊断，联合 RF 筛查效果更佳。与抗 CCP 抗体联合检测可提高灵敏度及特异性，定量检测具有治疗指导和监测价值。

思路 5：抗 RANA 抗体在 RA 诊断中的应用与评价

抗 RANA 抗体是针对 EB 病毒（EB virus，EBV）诱导的与 RA 发病有关的一种以酸性可溶性蛋白为抗原的自身抗体。但生物学特性与 EBV 核抗原 A、膜抗原（membrane antigen，MA）、壳抗原（virus capsid antigen，VCA）及早期抗原（early antigen，EA）等不同，抗 RANA 抗体常用的检测方法是胶乳凝集试验、双抗原夹心 ELISA 法、间接 ELISA 法和间接免疫荧光。抗 RANA 抗体与 RA 密切相关，因此，称为抗类风湿关节炎相关核抗原抗体（RANA），在 RA 患者中的阳性率为 62%~95%，明显高于其他各种类型关节炎患者（约 19%）和健康人（约 16%）。在 SLE、硬皮病、退行性骨关节病、AS、皮肌炎及 SS 等结缔组织病和正常人则检出率很低，与 EBV 有明确关系的鼻咽癌和 Burkitt 淋巴瘤患者的 RANA 检出率也明显低于 RA 患者。抗 RANA 在 RF 阴性患者中阳性率也可达 38.5%，因此，对诊断 RA 有一定的参考价值。同时，抗 RANA 抗体的测定对 RA 的诊断以及与血清阴性关节炎的鉴别可能更有意义。

思路 6：其他自身抗体检测的意义

ANAs 是一组将自身细胞的各种成分作为靶抗原的自身抗体的总称，有许多亚型。在 RA 中 ANAs 检出率为 20%~40%，其他自身免疫病如 SLE、MCTD、SS 和系统性硬皮病又称系统性硬化（systemic sclerosis，SSc）都可出现阳性。因此，ANA 对风湿病的诊断敏感性较好，特异性不高。特定细胞核成分的特定抗体类型，对某一特定风湿性疾病的特异性较高，可成为该类疾病的血清标志性抗体，但不是确诊标准。

抗双链 DNA（anti-double strain DNA，dsDNA）抗体有高亲和力和低亲和力两种抗体，均可出现于 SLE 中，而低亲和力抗体还存在于其他风湿性疾病中，因此，可用于风湿类疾病的鉴别诊断。

抗 ENA 是核物质中一类蛋白的总称。临床上包括十几种抗 ENA，对诊断 RA 特异性不高，多种抗 ENA 联合检测可用于风湿病的鉴别诊断。

RA 患者可出现免疫球蛋白、补体升高或低补体血症，但没有特异性。

思路 7：血沉及 C- 反应蛋白在诊断 RA 中的作用

作为一项操作简便和重复性好的急性时相反应指标，ESR 在 80% 左右的 RA 患者病情活动期增快，病情缓解时，大多恢复正常，但不能仅仅依据 ESR 升高与否来判定 RA 患者病情的活动情况。由于影响 ESR 的因素很多，约 5% 的 RA 患者病情活动期 ESR 并不增快，而另一部分 RA 患者，病情缓解时 ESR 也不降低，甚至保持较高水平。

CRP 是在机体受到感染、炎症或组织损伤时血浆浓度升高的一类急性时相反应蛋白。对于 RA 是反映病情活动和治疗效果的较好指标。CRP 与病情活动指数、晨僵时间、握力、关节疼痛及肿胀指数等密切相关。病情自然缓解或经治疗后缓解时 CRP 下降。因此，CRP 可用于观察 RA 的疗效。

患者入院后经检查确诊，予以甲氨蝶呤、羟氯喹、泼尼松等免疫制剂以及补钙等治疗，关节肿痛好转，双手掌指关节、近端指间关节、双腕关节未见肿胀、无压痛。主要实验室检查指标如 ESR、CRP、RF、抗 CCP 抗体、APF、AKA、抗 RANA、抗 MCV 抗体等均有所下降或恢复正常，予以出院。

学习笔记

思路：2011年ACR/EULAR公布了RA缓解定义：在任何时候必须满足如下条件：①压痛关节数≤1；②肿胀关节数≤1，总体评分≤1（0~10）。基于指数的定义如下：在任何时候SDAI评分≤3.3［注：SDAI=SJC+TJC+PtGA+CRP（mg/dl），SJC为肿胀关节数，TJC为压痛关节数，PtGA为患者对疾病总体评分］。该标准严格强调了临床症状和体征以及急性时相反应蛋白CRP，但临床上即使经过积极的治疗，要完全达到此标准也是比较困难的。上述相关主要实验室检查的结果有助于判定RA是否活动、治疗效果的趋势以及预后的判定。

ESR、CRP、RF、白细胞计数等为RA诊断提供了非特异性实验室参考指标，抗CCP抗体已经作为RA分类诊断的生物标志物，越来越多的与RA有关的自身抗体如dsDNA、与瓜氨酸环化肽相关的ACPA（AKA、APF、RA33、AFA）、ENA以及RANA等为RA早期诊断、病情判断、疗效和复发监测提供了有用的工具。实验室检查是诊断的重要辅助手段，有时可以作为诊断的关键，但是这些生物学指标在疾病诊断的特异性、敏感度、与疾病严重程度、疗效和病程阶段的相关性都各有特点，检测方法也各有不同。用于诊断时一定要结合临床病史、症状和体格检查、影像学检查和生物标志物的特点，不能一概而论，盲目选择，过于依赖。监测时不仅要考虑到阳性标志物的意义，还要考虑到病情进展或者新的标志物的产生，应扩展思路，针对性强又不遗漏必要检查。

第二节　系统性红斑狼疮

系统性红斑狼疮（systemic lupus erythematosus，SLE）是一种自身免疫异常引发的慢性、多系统损害的结缔组织病。SLE致病因素复杂多样，包括遗传、激素、环境、感染、药物等相关的、自身免疫介导的。患者体内可产生针对自身细胞核、胞质及胞膜等抗原的多种自身抗体和全身多系统受累是其两个主要临床特征，病情缓解和急性发作交替为特点。好发于15~45岁的育龄女性，男女发病之比为1∶7~1∶9。病情复杂多变，病初病情隐匿，随着病程的进展，逐渐表现出皮肤和黏膜损害，骨、关节、肌肉受累，肾脏、心血管、呼吸、神经、消化、造血、网状内皮和内分泌等多系统损害。临床常表现为发热、面部红斑、多形性皮疹、光过敏、多发性口腔溃疡、关节炎、多发性浆膜炎、血管炎、肾炎及中枢神经系统症状等。早期诊断和综合性治疗，可改善预后。

病历摘要：

患者女，37岁。主诉：四肢关节酸痛1个月，发热、皮疹1周。现病史：患者于1个月前无明显诱因出现双膝、双肩关节酸痛不适，无明显晨僵，无面部红斑、光敏、口腔溃疡、脱发，无口、眼干，无皮肤异常，无手指肿胀。××××年10月25日：血常规：正常；CRP 43.8mg/dl；免疫球蛋白：IgG 40.7g/L，IgA 5.75g/L，IgM 4.35g/L；补体：C3 0.34g/L，C4 0.07g/L；RF 115KIU/L；抗CCP<2.3U/ml。2013年10月31日：抗ENA谱：抗SSA弱阳性，抗Ro-52弱阳性。诊断“类风湿关节炎”。予以抗炎镇痛治疗后四肢关节酸痛缓解。1周前无明显诱因出现发热，T 40.0℃，颈、前胸壁、腹、腰背部散在淡红色皮疹，无瘙痒，下嘴唇、鼻壁皮肤结痂。2013年11月9日：血常规：WBC 0.3×10^9/L，NE 0.1×10^9/L，HB 60g/L，Plt 27×10^9/L；PCT 1.92ng/ml；尿常规：蛋白质+++，潜血+++；肝、肾功能：ALT 58.3U/L，AST 83.3U/L，TBIL 19mmol/L，DBIL 3mmol/L，ALB 23g/L，尿素15.4mmol/L，肌酐204.3μmol/L；电解质正常；CRP 52.63mg/L；ESR 150mm/h；RF 41.5KIU/L；铁蛋白887.8ng/ml，叶酸11.33ng/ml。B超示双肾增大、回声增强，左肾上极片状低回声区。本次拟“结缔组织病”收入院。查体：嘴唇、鼻壁皮肤有结痂，上腭部2处白斑，颈、前胸、腹、腰背部皮肤散在淡红色皮疹。入院初步诊断：①结缔组织病？②肾功能异常；③肝功能异常。

学习笔记

主要检查结果：血常规：WBC 9.4×10^9/L；CRP 24mg/L；ESR 136mm/h；抗人球蛋白直接和间接试验、酸溶血和热溶血试验均正常；尿蛋白定量 0.68g/24h；尿沉渣检查：病理管型 2.58/μl；免疫球蛋白：IgG 23.5g/L，IgA 4.13g/L，IgM 3.29g/L；补体：C3 0.207g/L，C4 0.0435g/L；CH50 20U/L；ANA 阳性。

腹部超声：双肾弥漫性病变。

心彩超：左房增大，左室收缩功能正常，心包少量积液。

胸部 CT：①右肺中叶局限性炎症；②双侧胸腔少量积液，心包中等量积液；③双腋窝及纵隔多发小淋巴结。

【问题 1】通过上述问诊与查体，该患者可能的诊断是什么？需与哪些疾病鉴别诊断？

患者，37 岁，青年女性，有发热、四肢酸痛等全身表现，无明显晨僵。尿蛋白定量 >0.5g/24h，潜血强阳性，治疗前血常规三系明显下降，ALT、AST、UREA、CRE 均升高，白蛋白小于 30g/L，免疫球蛋白升高，补体下降，抗 ANA 阳性。B 超示：双肾弥漫性病变。胸部 CT 示双侧胸腔少量积液、心包中等量积液。

根据患者主诉、临床症状、体征、实验室检查、B 超及 CT 检查，初步诊断为：①系统性红斑狼疮；②肾功能异常；③肝功能异常。

鉴别诊断：①四肢酸痛应与类风湿关节炎鉴别；②尿蛋白升高、血清白蛋白小于 30g/L、UREA 及 CRE 升高，应与其他原因的肾病综合征鉴别；③血常规三系减少应与再生障碍性贫血鉴别；④贫血应与自身免疫性溶血性贫血鉴别；⑤血尿应与阵发性睡眠性血红蛋白尿症鉴别。

知识点

红斑狼疮的临床和实验室检查特点

SLE 是由自身免疫异常引发的系统性结缔组织病，累及骨、关节、肌肉和肾脏、心血管、呼吸、神经、内分泌、消化、造血系统以及网状淋巴组织等多器官系统。青、中年育龄女性多发，病因复杂多样，病情复杂多变，起病多隐匿，逐渐表现出组织、器官受累，可伴发热，以缓解和活动交替为特点。反复发作，病程延续，特别是累及心血管、肾脏和血液系统者预后不良。对于初诊、临床不典型和治疗后 SLE 患者的诊断与监测，临床表现和影像学检查结合实验室检查是有效和简便易行的方法。

实验室检查主要包括非特异性炎症反应的实验室指标，如 ESR、CRP 增高，非特异性免疫反应指标如免疫球蛋白升高、补体因消耗而降低，自身抗体如 RF、ANA 谱等具有辅助诊断、疗效与病情判断和复发监测的作用。肝功能、血细胞分析、尿蛋白和尿红细胞及其管型等的检测用于器官、系统受累的诊断和监测。特别是尿蛋白、尿红细胞及其管型是狼疮肾炎（lupus nephritis，LN）分层诊断的指标。

【问题 2】为明确诊断，还应进行哪些实验室检查？

思路：由于 SLE 起病隐袭，病情复杂，早期诊断多较困难。因为 50%~70% 的 SLE 患者在病程中会出现肾脏受累，导致肾炎或肾病综合征，称为狼疮肾炎。LN 对 SLE 预后影响极大，LN 所致肾衰竭是 SLE 的主要死亡原因之一。因此，早期明确诊断、早期治疗十分重要。CRP、ESR 升高，免疫球蛋白升高，补体下降，抗 ANA 阳性等均提示自身免疫性结缔组织疾病可能，尤其应该考虑 SLE 的可能。为明确 SLE 诊断或排除 RA、其他原因的肾病综合征、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、阵发性睡眠性血红蛋白尿症等，应进一步完善 SLE 相关自身抗体以及具有排除诊断意义的自身抗体检查。

学习笔记

为明确系统性红斑狼疮诊断，患者入院后进行了下列自身抗体检查。包括：

(1) 抗核抗体谱：①抗 ds-DNA 抗体 1∶20 阳性(IFA-TE 法)；②抗组蛋白抗体(ELISA 法)阳性；③抗核小体抗体(免疫印迹法)阳性；④抗 ENA 谱：抗 Sm 抗体(ELISA 法)阳性，抗 U_1RNP 抗体(ELISA 法)阳性，抗核糖体 P 蛋白抗体(ELISA 法)阳性，抗 SSA/Ro 抗体(ELISA 法)阳性，抗 SSB/La 抗体弱阳性，抗 C1q 抗体阳性。

(2) 其他自身抗体：抗 ACL 抗体(ELISA 法)阳性；抗 Ku 抗体阳性；抗增殖细胞核抗原抗体(免疫印迹法)阳性；抗 β_2-GP_1 抗体(ELISA 法)阴性；抗 Scl-70 和 Jo-1(ELISA 法)阴性。

(3) 梅毒血清学试验：假阳性。

肾活组织检查病理诊断：狼疮性肾炎(LN)Ⅳ-G(B)，抗 ANA 抗体阳性。

知识点

SLE 诊断标准

2009 年 SLE 国际合作组(systemic lupus international collaborating clinic，SLICC)的 SLE 分类标准包括临床标准十条和免疫标准六条。

2009 年 SLICC 修订的 ACR 的 SLE 分类标准

1. 临床标准　①急性或亚急性皮肤狼疮表现；②慢性皮肤狼疮表现；③口腔或鼻咽部溃疡；④脱发；⑤炎性滑膜炎；⑥浆膜炎；⑦肾脏病变(尿蛋白 >0.5g/24h 或有红细胞管型)；⑧神经系统病变(癫痫发作或精神异常，多发性神经炎，脊髓炎，外周神经或脑神经病变，脑炎)；⑨溶血性贫血；⑩ WBC<4.0×10^9/L 至少 1 次，或淋巴细胞 <1.0×10^9/L 至少 1 次；⑪血小板 <100×10^9/L 至少 1 次。

2. 免疫学标准　①抗核抗体(ANA)效价高于本实验室参考值；②抗 dsDNA 抗体效价高于本实验室参考值(ELISA 法须连续 2 次升高，或结果高于正常参考值上限的 2 倍)；③抗 Sm 抗体阳性；④抗磷脂抗体阳性(抗心磷脂抗体水平升高，狼疮抗凝物阳性，梅毒血清学试验假阳性)；⑤补体水平降低，包括 C3、C4、CH50；⑥直接抗人球蛋白试验(Coomb'stest)阳性(不伴有溶血性贫血)。

3. 确诊条件　①肾活组织检查证实为狼疮性肾炎且 ANA 或抗 dsDNA 抗体阳性；②满足以上标准中至少 4 条(包括至少 1 条临床标准和至少 1 条免疫学标准)。

修订后标准分类 SLE 的敏感度为 94%，特异性升至 92%。

【问题 3】根据上述检查，应作出怎样的诊断？诊断依据是什么？

经上述检查，可以明确诊断为系统性红斑狼疮。

诊断依据：

(1) 37 岁，女性。

(2) “发热、四肢酸痛”入院。

(3) 24 小时尿蛋白大于 0.5g。

(4) 血常规三系下降。

(5) 肝肾功能异常。

(6) 免疫学检查：免疫球蛋白升高，补体下降，抗 ANA 抗体、抗 ds-DNA 抗体、抗 AHA 抗体、抗核小体、抗 Sm 抗体、抗 U_1RNP 抗体、抗 rRNP 抗体、抗 ACL 抗体等均阳性，梅毒血清学试验假阳性。

(7) 肾活组织检查病理诊断：狼疮性肾炎(LN)Ⅳ-G(B)，抗 ANA 抗体阳性。

根据 2009 年 SLICC 修订的 ACR 的 SLE 分类标准该患者可以确诊为 SLE。

思路：患者入院时有比较典型的 SLE 临床表现，抗人球蛋白直接试验(Coomb's test)和间接

学习笔记

试验、酸溶血和热溶血试验均正常，可排除血常规三系下降由再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血所致。肾功能异常提示有肾脏损害。相关免疫学检查高度提示SLE。肾活组织病理检查为：LN Ⅳ-G(B)，ANA 阳性。以上均符合 2009 年 SLICC 修订的 ACR 的 SLE 分类标准，因此，可以确诊SLE。值得注意的是，患者发病初期可能不能满足分类标准的要求，随着病情的进展或加重，逐渐出现分类标准的各种项目的表现。对这部分患者密切随访是十分重要的，以便早期诊断、早期治疗。随着免疫学技术的不断发展，除了分类标准中的 6 条免疫学指标外，医学工作者还发现了其他一些对 SLE 诊断有重要意义的自身抗体，这些抗体的阳性，即使达不到分类标准的要求，临床医生也应高度怀疑 SLE 的可能。

【问题 4】目前常用的诊断 SLE 的相关实验室指标有哪些？诊断价值如何？

2009 年 SLICC 修订的 ACR 的 SLE 分类三项标准中，第一项临床表现中相关实验室检查有 24 小时尿蛋白大于 0.5g 和血常规三系减少，这是 SLE 诊断常规检查。除此之外，分类标准将免疫学标准列为第二项，可见自身抗体检测在 SLE 诊断中的重要性。需要强调的是，某些自身抗体检测虽然不能直接诊断 SLE，也未纳入 SLICC 分类标准，但在 SLE 辅助诊断及鉴别诊断中具有重要意义。

思路 1：ANA 的特点以及在 SLE 诊断中的作用和应用原则

ANAs 是一组将自身细胞的各种细胞核成分作为靶抗原的自身抗体的总称，其主要亚型是 IgG，也有 IgM、IgA、IgD 等。随着免疫学诊断技术的发展，对 ANA 的理解不再局限于核成分，而是针对细胞内所有抗原成分的自身抗体的总称，抗原分布于整个真核细胞，包括细胞核、胞浆、细胞骨架、细胞分裂周期蛋白，如组蛋白、非组蛋白、磷脂及各种酶等，根据靶抗原的不同将 ANA 分为抗 DNA 抗体、抗组蛋白抗体、抗非组蛋白抗体、抗核仁抗体、抗细胞其他成分抗体 5 类。

ANA 主要存在于血清，也可存在胸水、关节液和尿液中。SLE 免疫学的显著特点为 ANA 的出现，目前已发现有几十种抗核内不同成分的 ANA，其中以抗 dsDNA 抗体和抗 Sm 抗体对诊断 SLE 最为特异，抗核小体抗体(anti nucleosome antibody，AnuA)、抗核糖体核糖核蛋白(anti-ribosome RNP，rRNP)、抗增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen，anti-PCNA)抗体、抗 Ku、抗 SSA/RO 和抗 SSB/La 抗体等也有重要意义。ANA 在 SLE 活动期阳性率可达到 95%~100%，非活动期为 80%~100%，通常作为 SLE 的筛选实验。一般认为 ANA 的产生在症状出现之前，因此，早期检测 ANA 对早期发现 SLE 有重要帮助，但是 ANA 阴性不能除外 SLE。

应引起注意的是 ANA 在结缔组织疾病的诊断灵敏度较高，但特异性较低。对 ANA 阳性者进一步检查各亚类 ANA 抗体对于明确诊断、判断病情、预后评估有重要意义。

思路 2：抗 dsDNA 和抗 Sm 抗体的特点以及在 SLE 诊断中的作用和应用原则

抗 DNA 抗体有抗单链和抗双链两种，后者又称为天然 DNA 抗体，靶抗原为双螺旋 DNA，是 SLICC 修改的 SLE 分类标准中免疫学六项指标中的一项，为 SLE 标志性抗体，对诊断 SLE 的特异性较高。在未治疗的 SLE 患者中，抗 dsDNA 抗体的诊断特异性为 70%~90%，敏感度 60%~90%。滴度与疾病活动呈正相关，高滴度抗体者中 90% 以上为活动期，可作为判断 SLE 病情变化及预后评估的参考指标。抗 dsDNA 抗体有 IgG、IgA 和 IgM 等亚型，IgG 型抗 dsDNA 抗体阳性患者 LN 的发生率较高，可能与 LN 的发病有关，是 LN 独立的危险因素。应当注意，dsDNA 阴性并不能排除 SLE 的诊断。

目前常用的测定方法有 IIF、ELISA 和 LIA，绿蝇短膜虫为标准基质的 IIF 为其测定的金标准，LIA 与 ELISA 测定抗 dsDNA 抗体会出现假阳性或假阴性，其阳性结果应通过 IIF 法确认(详见第十四章)。

抗 Sm 抗体是以患者 Smith 名字命名，属于 ANAs 中抗非组蛋白抗体亚类的一种，靶抗原是 U 族小分子细胞核核糖核蛋白，是 SLE 诊断的标志性抗体之一，也是 SLICC 修改的 SLE 分类标准的免疫指标之一。对 SLE 的诊断特异性很强，几乎达 100%，但敏感度较低，30%~40%。注意，

学习笔记

抗 Sm 抗体与 SLE 病情变化不相关，即使治疗后病情缓解的 SLE 患者其血清中仍可存在抗 Sm 抗体。

思路 3：其他抗 ANA 的特点以及在 SLE 诊断中的作用和应用注意

抗组蛋白抗体（anti-histone antibody，AHA）：组蛋白是真核细胞核内最丰富的蛋白质，它以 H1、H2A、H2B、H3 和 H4 五种成分以四聚体形式存在，五种组蛋白都有各自对应的自身抗体。目前，由于检测方法不同，技术标准及质控标准不统一，AHA 对 SLE 诊断的敏感性变化范围较大，30%~80%。在 RA 及关节炎性病变中阳性率都比较高，特异性很低。注意，抗 DNA 抗体的自身免疫反应与 AHA 的自身免疫反应之间具有连锁效应，抗 DNA 抗体阳性往往能同时检出 AHA，但 AHA 阳性并不一定能检测出抗 DNA 抗体。

抗核糖体 P 蛋白抗体（anti-ribosomal P protein antibody，ARPA）：又称抗核糖体抗体（anti-ribosomal antibody，ARA）、rRNP 抗体。其靶抗原为核糖体大亚基上的 3 种磷酸蛋白。抗体阳性几乎仅见于 SLE 患者，被视为 SLE 的特异性抗体，但 SLE 的诊断敏感性仅为 10%~20%。抗 rRNP 抗体阳性常见于 SLE 活动期，但与病情变化无明显相关性，病情缓解，抗 rRNP 抗体仍可阳性。该抗体可能与中枢神经系统、肝脏或肾脏受累有一定的相关性，尤其在中枢神经系统受累的患者阳性率较高。

AnuA：核小体是染色体的基本单位，由 DNA 和组蛋白共同构成。核小体是 SLE 发病过程中一种主要的自身抗原，同时也是多种抗核抗体出现的根源。AnuA 主要识别核小体上 H2A-H2B-DNA 及 H3-H4-DNA 复合物等表位，AnuA 的形成先于抗 dsDNA 抗体和 AHA。对 SLE 的敏感度为 72%~85%，明显高于抗 dsDNA 抗体和抗 Sm 抗体，其特异性 94%~97.9%，高滴度的 AnuA 几乎见于 SLE，是 SLE 诊断的又一新的标志性抗体。AnuA 在抗 dsDNA 抗体阴性的 SLE 患者中有 60%~65% 的阳性率，因此，AnuA 对抗 dsDNA 抗体阴性的 SLE 是重要的诊断参考。AnuA 与 SLE 疾病活动、LN 和中枢神经系统损害密切相关，对评估肾功能情况、判断预后、评价疗效有帮助。药物诱导的狼疮（DIL）中可检测到 AnuA，其阳性率依次为普鲁卡因胺 > 奎尼丁 > 肼屈嗪，抗核小体抗体也出现在硬皮病和 MCTD。

思路 4：自身抗体检测方法与临床应用关注点

自身抗体检测方法一般分为两个水平。间接免疫荧光法（indirect immunofluorescence assay，IIF）作为第一水平测试，针对非器官特异性抗体测定而言其基质抗原谱较完整，可检测 100~150 种抗体，可作为自身免疫病的“筛查”试验，也是 ANA 检测的金标准。特异性抗体确认实验（印迹法）作为第二水平测定可对部分自身抗体进行抗原特异性区分。

以 HEp-2 细胞为基质的 IIF 是 ANA 检测的首选方法，报告中应包括特异的荧光核型和抗体滴度。根据荧光染色模式 ANA 可分为核均质型、斑点型、核膜型、核仁型、着丝点型、胞浆型、抗核点抗体型和混合型（详见第十四章）。不同的荧光核型又对应不同的靶抗原，因此，核型的确定对进一步的临床诊断有参考价值，核均质型、斑点型、抗核点抗体型与 SLE 具有相关性。

临床医师可根据需要选择合适的 ANA 检测方法。ANA-IIF 基质抗原谱广泛，可避免第二水平测试漏检，但仅选择 ANA-IIF 筛查亦会由于基质本身及制备过程等原因出现漏检，以抗高度水溶性 SS-A、含量极少的 Jo-1 漏检最为常见。由于多种抗体在 IIF 中表现为相同或相似的荧光核型，ANA-IIF 阳性无法确定特异性抗体，可通过第二水平测试进行确认或补充，临床初诊时宜两水平同时采用。又由于自身抗体的滴度甚至抗原种类均可发生改变，特别是存在多核型时，因此，复诊时阳性抗体不能仅选用第二水平测试，以同时选择第一水平测试为佳。

思路 5：抗磷脂抗体的特点以及在 SLE 诊断中的作用及应用注意

抗磷脂抗体（anti-phospholipid antibodies，APLAs）是一组能将多种磷脂作为靶抗原的非均一性自身抗体，是 SLICC 修改的 SLE 分类标准的免疫指标之一。包括抗心磷脂抗体（anti-phospholipid antibody，ACA）、狼疮抗凝物质（lupus anti-coagulant，LAC）、抗磷脂酸抗体（anti-phosphatidic acid

学习笔记

antibody，APAA）、抗磷脂酰丝氨酸抗体（anti-phosphatidyl serine antibody，APSA）和抗 β_2- 糖蛋白 1（抗 β_2GP_1）抗体等。其中 ACA 和抗 β_2GP_1 与 SLE 及抗磷脂综合征（antiphospholipid antibody syndrome，APS）的关系最为密切。ACA 有 IgG、IgM、和 IgA 型，目前常用的检测方法为 ELISA 法。ACA 诊断 SLE 的敏感度为 20%~50%，其阳性也可见于 RA、血栓形成、习惯性流产、神经系统疾病、急慢性白血病、肾脏和消化系统疾病等，因此，特异性不高。中高滴度抗 β_2GP_1 抗体是诊断 SLE 的指标之一，但特异性也不高。值得注意的是应提高对梅毒假阳性试验的认识，在某些自身免疫性疾病，梅毒筛选试验和梅毒确证试验都可以呈现假阳性，梅毒血清试验在 SLE 中的阳性率为 5%~19%。

思路 6：抗 SSA/RO 抗体及抗 SSB/La 抗体的特点以及在 SLE 诊断中的作用

抗 SSA 抗体又称为抗 RO 抗体或抗干燥综合征抗原 A（anti-Sjögren syndrome A，SSA）抗体，其靶抗原是一种小核糖蛋白，正常人血清中为阴性。抗 SSA 抗体虽然是诊断 SS 的重要抗体，但约 30% 的 SLE 患者其 60kD 的抗 SSA 抗体阳性。在临床上 ANA 阴性的患者，大部分有抗 SSA 抗体。

抗 SSB 抗体又称为抗干燥综合征抗原 B（anti-Sjögren syndrome B，SSB）抗体或抗 La 抗体。仅在少数 SLE 患者中增高，60kD 及 52kD 的抗 SSA 及 SSB 三者同时升高有助于 LN 的诊断。

思路 7：抗 C1q 抗体在 SEL 诊断中的价值

有学说认为 SLE 是由于机体对死亡和凋亡细胞及其小体的清理功能障碍所致。补体系统在凋亡细胞的清理中起着至关重要的作用，而补体激活的经典途径中早期因子如 C1q 或 C4 的功能缺陷与 SLE 的发生和发展密切相关。抗 C1q 为 IgG 型抗体，其抗原决定簇是 C1q 分子的胶原样区，识别结合状态的 C1q。在活检确诊的活动性 LN 中阳性率高，抗 C1q 抗体阴性几乎可以排除活动性肾炎，对严重的 LN 的阴性预测值较高。对于已经诊断 SLE 并开始治疗的患者，密切监测抗 C1q 抗体滴度有助于早期识别疾病的复发，通常在 LN 复发前的数周至半年抗 C1q 抗体滴度开始升高，如果抗体阴性则随后的 6 个月 LN 活动的可能性很低。

抗 C1q 抗体也存在于多种系统性自身免疫病中，它是低补体血症性血管炎症性荨麻疹（HUV）的主要诊断依据之一，MCTD、血管炎、类风湿性血管炎、混合性冷球蛋白血症、Felty（关节炎 - 粒细胞减少 - 脾大）综合征 C1q 抗体阳性率也较高。IgA 肾病、膜增生性肾小球肾炎、膜性肾病等也可出现抗 C1q 阳性，但阳性率较低。抗 C1q 自身抗体与器官特异性自身免疫疾病的典型代表甲状腺疾病相关，在 Graves 病和桥本甲状腺炎患者中抗 C1q 的水平明显高于健康人群。

另外在病毒感染性疾病如 HIV 患者中的抗 C1q 自身抗体阳性率为 13%，丙肝患者中阳性率约 26%。但是抗 C1q 自身抗体的存在与肝病的严重程度及 HCV 的基因型都无关联。

思路 8：ESR、补体及 CRP 在诊断 SLE 中的价值

ESR 升高对判断 SLE 活动有一定参考价值，应注意的是部分经治疗病情得到控制的 SLE 患者 ESR 仍处于较高水平。SLE 在疾病活动期血清补体水平也会降低，一般情况下，在 SLE 患者中，CRP 仅轻度升高，对评估病情活动、判断预后及评价治疗效果意义不大。

患者入院确诊后，予以沙利度胺、羟氯喹、甲强龙、环磷酰胺等免疫调节以及补钙、抗感染、纠正贫血等治疗，病情缓解。出院时，患者诉无明显不适，一般情况可。查体：口唇稍苍白，全身皮肤未见皮疹，心肺腹无明显异常。四肢关节未见肿胀、无压痛。血液分析三系正常，尿蛋白正常，肝肾功能正常。

思路：目前尚无 SLE 病情缓解的诊断标准。一般来讲，24 小时尿蛋白、血肌酐和尿细胞管型是较为公认衡量治疗效果的指标。同时，应检测 SLE 活动指标 C3、C4、免疫球蛋白、ESR 和抗 dsDNA 抗体等。

SLE 是系统性疾病，起病隐匿、病情变化复杂、发作和间歇交替且易于累及心、肺、肾等重要脏器，因此，早期诊断非常重要。诊断中应将实验室检查与病史、临床表现和影像学检查密切结

学习笔记

合，还应重视与其他器官特异性或系统性自身免疫病以及其他血液系统疾病的鉴别诊断。血、尿常规检查必不可少，密切关注尿蛋白和尿液红细胞及其管型。ESR、CRP、补体和白细胞作为疾病活动的判断依据，ANA 谱特别是 dsDNA 抗体和抗 Sm 抗体对于诊断有重要意义，APLA、抗 C1q、抗 SSA 和抗 SSB 抗体阳性时应高度警惕 LN。自身抗体和非特异性炎症指标使用中应掌握它们对 SLE 诊断的特异性、敏感度和与疾病进程、严重程度以及抗体浓度相关性的特点，科学、合理地选择。病程监测和疗效判断中可以更有针对性地选用，但是也应注意全面和动态，及时学习和掌握新的实验室指标也是一项重要的任务。

第三节　强直性脊柱炎

强直性脊柱炎（ankylosing spondylitis，AS）是一种主要侵犯脊柱，并累及骶髂关节和周围关节的慢性进行性炎性疾病，临床上主要侵犯骶髂关节、脊柱骨突、脊柱旁软组织及外周关节，并可伴有不同程度的眼、肺、心血管和肾等多系统损害。AS 有明显的家族聚集发病现象，与 HLA-B27 密切相关。该病好发于青少年男性，好发年龄一般为 15~30 岁，40 岁以后很少发病。本病发病缓慢隐匿，临床症状不明显，少数可以急性关节炎发病，其发病率约为 0.34%。AS 常见症状为腰背僵硬或疼痛，维持一个姿势过久可加重腰痛和僵硬感，活动后可以缓解，晚期可发生脊柱强直、畸形以致功能严重受损。

AS 是血清阴性脊柱关节病（seronegative spondyloarthropathies，SpA）的一种。SpA 包括 AS、分类未定的脊柱关节病、反应性关节炎、银屑病关节炎以及炎性肠病相关的关节炎。这里所指的血清阴性是指 RF 阴性，其真正含义是指 RF 阳性率与正常人群一样，一般不超过 5%。

学习笔记

病历摘要：

患者男，26 岁。主诉“反复腰背痛 6 年”。6 年前无明显诱因出现腰部酸痛不适伴髋关节疼痛，弯腰及翻身困难，弯腰及久站后腰痛加剧，活动后疼痛减轻，卧床休息后无明显缓解，傍晚腰痛较白天明显，偶夜间痛醒，伴髋关节酸痛，有晨僵，无双下肢放射痛和足跟痛。无午后低热、盗汗等。曾诊断为 AS，治疗后症状改善不明显。既往无风湿病家族史。入院查体：脊柱腰 3~5 椎体后凸，压痛明显，枕墙距 0cm，扩胸度 2cm，腰椎僵，活动受限，指地距 20cm，Schober 试验 2cm。双“4”字征阳性。其叔父患有“关节炎”。

主要辅助检查：血常规，肝、肾功能，凝血功能，甲状腺功能均正常；血沉 34mm/h；CRP 5.85mg/L；抗“O”阴性；RF 阴性；ANA 谱阴性。

胸部 CT：平扫未见明显异常。心电图、B 超：正常。骨密度：“T”值 −2.90SD，左股骨近端局部骨矿密度测量均值减低，提示骨质疏松。腰椎 MRI：多个腰椎附件信号增高，腰背部皮下软组织肿胀。骨盆 MRI：①双侧骶髂关节 MR 平扫：强直性脊柱炎改变影像；②左侧股骨粗隆及周围软组织异常信号；③盆腔少量积液。

【问题 1】通过上述问诊、体检及辅助检查，该患者可能的诊断是什么？需与哪些疾病鉴别？

患者年轻男性，腰部酸痛不适伴髋关节疼痛 6 年。起病缓慢，弯腰及久站后腰部疼痛加剧，活动后疼痛减轻，卧床休息后无明显缓解，有晨僵有髋关节疼痛，但疼痛不向双下肢放射，无足跟痛，无午后低热，无盗汗等其他伴随症状。特殊临床体检：脊柱腰 3~5 椎体后凸，压痛明显；腰椎僵，活动受限，指地距 20cm，Schober 试验 2cm；扩胸度 2cm；双“4”字征阳性；辅助检查：RF 阴性；ESR 增快、CRP 升高；腰椎 MRI 及骨盆 CT 提示“强直性脊柱炎”。根据患者主诉、临床症状、体征和叔父关节炎病史，腰椎 CT 及盆腔 MRI 检查结果，初步诊断为强直性脊柱炎。

鉴别诊断：①类风湿关节炎；②风湿性多肌痛；③椎间盘突出；④腰椎结核；⑤髂骨致密性骨

炎;⑥弥漫型特发性骨肥厚;⑦非特异性腰背痛;⑧痛风性关节炎;⑨代谢性骨病。

知识点

强直性脊柱炎的临床与实验室检查特点

AS是主要累及骨、关节的慢性炎症性疾病,以中轴骨骼主要是骶髂关节受损为标志,累及滑膜关节和软骨关节以及肌腱和韧带的骨附着部位,表现为纤维性和骨性强直。AS有明显的家族聚集现象,与*HLA-B27*基因密切相关,是迄今为止发现的与疾病相关系数最高的基因位点。这种*HLA-B27*位点的高度相关与AS的家族聚集性可能存在关联,也可能与*HLA-B27*的致病性相关,后者尚在探讨之中。

临床上AS诊断较为困难,特别是早期、非活动期。除依赖于病史、临床症状、体格检查和骶髂关节炎的影像学表现,实验室检查多为非特异性炎症的表现,如ESR、CRP的升高,免疫球蛋白和补体也可升高,骨破坏时可检测到ALP升高。*HLA-B27*与Reiter病、沙门菌感染后关节炎、耶尔森菌感染后关节炎、前葡萄膜炎等疾病的相关风险也比较高,在诊断时需注意相关疾病的并发和鉴别诊断。

【问题2】为明确诊断,还应进行哪些检查?

思路:AS常起病于年轻男性,诊断主要依靠临床症状、体征、家族史、脊柱关节、髂关节及关节外特殊临床体检以及脊柱关节、髂关节的X线、MRI、CT检查。目前,实验室检查对AS早期诊断或早期发现有较大价值的检查是HLA-B27检查。迄今,AS还没有特异性的实验室检查指标。ESR增快、CRP升高、免疫球蛋白尤其是IgA升高对AS诊断有参考价值。AS与RF、抗ANAs抗体谱没有任何相关性,因此,RF、抗ANAs谱检查可用于鉴别诊断。

为确诊AS,患者入院后进行了下列相关检查。包括:①HLA-B27阳性;②免疫球蛋白:IgG 26.3g/L、IgA 9.6g/L、IgM 4.1g/L;③血清补体C3裂解产物(C3SP)阳性,C4 0.53g/L;④血清碱性磷酸酶210U/L(↑),γ-谷氨酰转肽酶45U/L,尿酸380μmol/L。

知识点

AS分类诊断标准

AS是血清阴性脊柱关节病(SpA)的一种。AS的诊断标准很多,2009年国际脊柱关节病研究协会(the assessment of spondylo arthritis international society,ASAS)制定了新的AS分类标准。

2009年AS的ASAS新分类标准

腰背痛持续至少3个月,发病年龄小于45岁的患者,若符合以下任何1项标准,即可诊断为AS

1. 经影像学(X线、CT、MRI)证实的骶髂关节炎+至少1项脊柱关节炎特征。
2. HLA-B27阳性、至少另外2项脊柱关节炎特征。

备注

3. 经影像学证实的骶髂关节炎的定义是(符合任意1条)
(1) 相关的骶髂关节炎。
(2) 根据修订后的纽约标准,骶髂关节炎影像学改变确切。
4. 脊柱关节炎的特征
(1) 炎性腰背痛(符合2009年ASAS的IBP新标准)。
(2) MRI检查提示骶髂关节活动性急性炎症,高度提示脊柱关节炎。
(3) 附着点炎。

学习笔记

续表

(4) 葡萄膜炎。
(5) 指(趾)炎。
(6) 银屑病。
(7) 克罗恩/溃疡性结肠炎。
(8) 对 NSAID 治疗反应好。
(9) 有脊柱关节炎家族史。
(10) HLA-B27 阳性。
(11) C-反应蛋白升高(适用于慢性腰背痛患者)。

【问题 3】根据上述检查,应作出怎样的诊断?诊断依据是什么?

经上述检查,可以明确诊断为强直性脊柱炎。

诊断依据:年轻男性,腰部疼痛 6 年,起病隐袭,有夜间痛,晨僵,活动后疼痛减轻,卧床休息后无明显缓解,有髋关节疼痛;指地距 20cm,Schober 试验 2cm;扩胸度 2cm;双"4"字征阳性;HLA-B27 阳性;腰椎 MRI 及骨盆 CT 提示:强直性脊柱炎。根据 2009 年 AS 的 ASAS 新分类标准,可以明确诊断为强直性脊柱炎。

思路:AS 起病隐袭,临床表现常不典型,缺乏特征性临床表现,实验诊断无特异性标志物,虽然 HLA-B27 在 AS 患者人群中的阳性率为 90%~95%,但 HLA-B27 不能作为确诊的独立诊断依据。临床上必须依据 2009 年 AS 的 ASAS 新分类标准作出诊断,同时应与类风湿关节炎、椎间盘突出、机械性腰痛、弥漫型特发性骨肥厚综合征、脊柱骨关节炎等疾病相鉴别。

【问题 4】目前常用的与 AS 诊断有关的实验室检查有哪些?诊断价值如何?

AS 实验室检查无特异性或标志性指标,根据 2009 年的 ASAS 新分类标准,临床症状和影像学关节炎表现是诊断的关键。实验室检查仅可作为诊断参考项目,包括 HLA-B27、ALP、ESR、CRP、PLA、补体 C3 裂解产物、C4、免疫球蛋白等检查。从鉴别诊断角度考虑,临床实验室检查还应进行 RF、抗 ANAs 谱、抗 ENA 谱检测。

思路 1:HLA-B27 的特点以及在 AS 诊断中的作用及应用原则

HLA-B27 是人类白细胞抗原(human leucocyte antigen,HLA) Ⅰ类分子中 B 类 27 位点。研究表明,HLA-B27 等位基因与 SpA 有高度的相关性,特别与 AS 密切相关,相关系数(relative risk,RR)为 101.5。AS 患者中 HLA-B27 阳性率为 90%~95%,如患者有 AS 的症状和体征,HLA-B27 阳性会显著增加诊断正确的概率甚至确诊。患炎性关节病的儿童,HLA-B27 阳性往往提示发生 AS 的可能性大,HLA-B27 阳性可预测其家庭成员患 AS 的风险。与 HLA-B27 阴性的 AS 相比,HLA-B27 阳性 AS 患者发病较早、病情重、全身症状及外周关节炎的发生率高。

在使用 HLA-B27 诊断时需关注,AS 患者 HLA-B27 的阳性率在 90%~95%,这意味着有 5%~10% AS 患者 HLA-B27 阴性,对于这些病人的诊断单纯依赖于 HLA-B27 有致漏诊和误诊的风险,对于随机选择的患者不能仅根据 HLA-B27 来确诊 AS。虽然,2009 年 AS 的 ASAS 新分类标准将 HLA-B27 作为 AS 的诊断标准之一,其诊断价值有很大提高,但 HLA-B27 仍不能作为特异性或标示性诊断指标。HLA-B27 阳性还可见于反应性关节炎、幼年脊柱关节病、炎性肠病伴有外周关节炎或伴有脊柱炎、寻常型银屑病伴有外周关节炎或伴有脊柱炎,应注意鉴别诊断。

思路 2:血清碱性磷酸酶在 AS 诊断中的作用

当 AS 炎症侵蚀骨骼或关节炎病变较广泛时,约 50% 的患者血清 ALP 可升高,反映骨质的破坏。当 ALP 增高时,γ-谷氨酰转肽酶(γ-glutamyltransferase,γ-T,GGT)的联合检测可帮助鉴别增高的 ALP 是来源于肝还是骨,肝脏损伤时 ALP 和 GGT 均升高。ALP 升高的程度与病变活

学习笔记

动性并无明显相关，不能以此判断病情的发展及预后。

思路 3：ESR、CRP 在 AS 诊断中的作用

ESR 和 CRP 是反映疾病活动的急性时相指标，在 AS 发病或活动期均可升高，并随病情稳定而下降。检测 ESR、CRP 有助于监测病情的活动性及治疗效果。值得注意的是，在反映炎性发生、发展及转归方面，CRP 比 ESR 敏感，受贫血、高球蛋白血症等其他因素影响小。

思路 4：补体 C3 裂解产物、C4 在 AS 诊断中的作用

血清补体 C3 裂解产物（C3 cleavage products of complement，C3SP）是 C3 激活后形成的具有不同分子结构和生物学活性的片段。只有在补体激活时才出现阳性，是补体激活的直接证据。当 AS 患者外周关节受累时，C3SP 和 C4 会有不同程度的升高。

思路 5：AS 患者可出现免疫球蛋白升高，一般以 IgA 升高为主，升高水平与 AS 病情活动有关。当 AS 伴有外周关节受累时，IgG 和 IgM 也可升高。

思路 6：RF、抗 ANAs 抗体谱、抗 ENA 抗体谱检测在 AS 诊断中的作用

RF、抗 ANAs 和抗 ENA 谱检测有助于鉴别诊断。RF 阴性为 SpA 的直接证据，抗 ANAs 抗体谱、抗 ENA 谱阳性可提示 RA、SLE、MCTD 病等风湿性疾病。

患者入院确诊强直性脊柱炎后，予以甲氨蝶呤、柳氮磺吡啶、注射用重组人Ⅱ型肿瘤坏死因子受体 - 抗体融合蛋白（益赛普）等治疗，病情缓解。出院时，腰背痛明显改善。查体脊柱腰 3~5 椎体后凸，压痛明显，枕墙距 0cm，扩胸度 3cm，腰椎僵，活动受限，指地距 10cm，Schober 试验 4cm。双“4”字征阴性。

AS 是骶髂关节受损的器官特异性自身免疫病，迄今为止没有特异性自身抗体可供诊断。影像学检查的特征性表现出现较晚，因此，早期诊断比较困难。临床上对于骨关节特别是骶髂关节症状的患者应警惕 AS，ESR、CRP、RF、白细胞、补体和免疫球蛋白检查有助于判断炎症损伤的程度和疾病的活动性。抗 ANAs 和抗 ENA 谱等自身抗体检测在排除 RA、SLE、MCTD 和其他骨关节疾病后应重点考虑 AS。HLA-B27 是 AS 诊断的重要参考，但它不是 AS 诊断的依据，正常人存在着 5%~10% 的表达，还有约 5% 的 AS 患者 HLA-B27 阴性，应用中应高度关注。

学习笔记

第四节　干燥综合征

干燥综合征（Sjögren syndrome，SS）是主要累及泪腺、唾液腺等外分泌腺，以高淋巴细胞浸润和特异性抗体（如抗 SSA/SSB）为特征的慢性、弥漫性炎症性自身免疫病。起病隐匿，临床表现多样，除由唾液腺和泪腺受累而出现的口腔干燥症和干燥性角膜炎，还有其他外分泌腺及腺体外器官如皮肤黏膜、关节肌肉、呼吸系统、肾脏、消化系统、神经系统、甲状腺、淋巴结等受累而出现多系统损害，可出现高球蛋白血症性紫癜、多发性肌炎和皮肌炎、间质性纤维化及限制性或阻塞性通气障碍、肾小管酸中毒、胆汁性肝硬化、认知障碍及视神经炎、轻中度弥漫性甲状腺肿大、局部或全身淋巴结肿大等。患者血清中有高球蛋白血症（均为多克隆性）和多种自身抗体。血液学、影像学、泪腺和涎腺功能检查以及下唇黏膜活检有助诊断。不合并其他诊断明确的结缔组织病（connective tissue disease，CTD）的干燥综合征为原发性干燥综合征（primary Sjögren syndrome，pSS），继发于另一诊断明确的 CTD 或特殊病毒感染等的为继发性干燥综合征（secondary Sjögren syndrome，sSS）。pSS 好发于女性，男女比为 1∶9~1∶10，任何年龄均可发病，好发年龄 30~60 岁。

病历摘要：

患者女，43 岁。因“口干、眼干伴反复咳嗽 6 年余，气喘加重、发热 2 周”入院。6 年多前无明显诱因出现口干、眼干伴间歇性反复干咳。4 个月前咳嗽，咳少许黄色黏痰，伴畏寒、

间歇性发热，体温波动于37~38℃，并稍感气喘，活动后明显，伴周身乏力。外院胸部CT示“双肺间质性纤维化伴感染；肺功能：重度限制性通气功能障碍”。考虑“两肺弥漫性病变性质待查”，予以“抗纤维化、抗感染、化痰”等治疗，症状无改善。胸部高分辨率CT提示“双肺间质性纤维化伴感染”。2周前因受凉出现咳嗽，咳少量白色泡沫痰，咳嗽时即感气喘、气短，口干、眼干症状逐渐加重。拟诊“①原发性干燥综合征；②弥漫性肺间质性病变伴肺部感染”。查体：T 38.2℃，口唇较干燥，口腔内未见唾液池，眼红、结膜充血、角膜混浊，双肺呼吸音低，双下肺闻及少许细湿啰音。

主要检查结果：

血常规：RBC 4.16×10^{12}/L、Hb 114g/L、WBC 12.0×10^{9}/L、Plt 306×10^{9}/L。

凝血功能：正常；ESR 123mm/h；CRP 26mg/dl；免疫球蛋白：IgG 26.5g/L、IgA 3.13g/L、IgM 1.29g/L；补体：C3 1.2g/L、C4 0.23g/L、CH50 19U/L；RF 336IU/ml（散射比浊法）；ANA（ELISA法）阳性。

胸部多层螺旋CT示：①双肺弥漫性间质性病变伴肺间质性炎症；②纵隔及腋窝多发淋巴结肿。ECT报告：双侧腮腺摄取及排泌功能重度受损。双眼泪液试验（Schirmer试验）：左眼0.5mm/5min，右眼1.5mm/5min（正常：10~30mm/5min）；泪膜破碎试验（BUN试验）：左眼3秒，右眼5秒（<10秒为异常）。

【问题1】通过上述问诊与查体，该患者可能的诊断是什么？需与哪些疾病鉴别？

患者中年女性，发病缓慢，病程6年。主要临床表现为逐渐加重的口干、眼干，并伴反复咳嗽、气喘、气短、发热，周身乏力等。查体：口唇较干燥，口腔内未见唾液池，眼红、结膜充血、角膜混浊，双肺呼吸音低，双下肺闻及少许细湿性啰音，其余无明显异常。辅助检查：WBC 12.0×10^{9}/L；ESR 123mm/h；CRP 26mg/dl；IgG 26.5g/L；RF 336IU/mL（散射比浊法）；ANA（ELISA法）阳性；双眼泪液试验（Schirmer试验）：左眼0.5mm/5min，右眼1.5mm/5min；泪膜破碎试验（BUN试验）：左眼3秒，右眼5秒。胸部多层螺旋CT示：双肺弥漫性间质性病变伴肺肺间质性炎症。

根据患者主诉、临床症状、体征及相关辅助检查，可以初步诊断为原发性干燥综合征。

鉴别诊断：① SLE；②RA；③丙型肝炎病毒感染；④原发性胆汁性肝硬化；⑤非自身免疫病的口干、眼干，如老年性腺体功能减退。

知识点

SS的临床和实验室检查特点

SS为系统性自身免疫病，累及外分泌腺和腺外其他器官，主要表现是口干、眼干，可与多关节炎相关联。从1882年描述至今，对该病的命名就有近10种，反映了人类对SS的认识历程。任何年龄均可发病，主要影响40~60岁女性，女性与男性发病率之比为9∶1，有调查报道SS的患病率高于RA，居弥漫性结缔组织病之首。病因不明，可能与巨细胞病毒、EB病毒和腺病毒感染以及遗传因素如HLA-B8、DR3、DW52等有关。病理改变是以高淋巴细胞浸润和特异性抗体（如抗SSA/SSB）为特征的慢性弥漫性炎症。诊断在早期相对困难，除口干、眼干症状，血清抗SSA和（或）抗SSB抗体阳性，或者RF阳性同时伴ANA高水平阳性可辅助诊断。抗α-胞衬蛋白抗体、抗毒蕈碱受体3抗体是新的实验室检测指标，表现出对pSS较高的特异性。为排除诊断，临床还需要检测抗线粒体抗体M2型、抗CCP、抗dsDNA等抗体，IgG4以及HCV、HIV、肺炎衣原体和肺炎支原体的血清学检查。

【问题2】为明确诊断，还应进行哪些检查？

思路：pSS起病隐匿，临床表现多样，有时缺乏特异性临床表现。该患者发病6年，起病缓慢，

学习笔记

口干、眼干，并伴反复咳嗽、气喘、气短、发热和周身乏力等症状，体格检查以及相关辅助检查符合 pSS 的临床特点。患者肝肾功能、电解质正常，可辅助鉴别有无糖尿病及 SS 的伴发病如原发性胆汁性肝硬化、肾小管酸中毒等；丙型肝炎相关免疫指标阴性以及抗肺炎衣原体 IgM 抗体、抗肺炎支原体 IgM 抗体可辅助鉴别并发丙型肝炎病毒感染、衣原体和支原体肺炎。为确诊 pSS 或排除其他结缔组织病（如 SLE、RA 等），还需进行 pSS 特异的或其他结缔组织疾病特异的相关免疫学检查。若能进行唇腺活检病理学检查，病理可见灶性浸润的淋巴细胞，则可进一步确诊。

为确诊原发性干燥综合征，患者入院后进行了一系列免疫学检查。主要包括：RF（复查）353IU/mL；ANA 1∶640 阳性；抗 SSA 抗体（免疫印迹法）1∶64（52kD）阳性；抗 SSB 抗体（免疫印迹法）1∶8（47、48kD）阳性；抗 α- 胞衬蛋白抗体阳性；抗毒蕈碱受体 3 抗体阳性；抗 dsDNA 抗体阴性；抗 CCP 抗体 <25U/L；抗 Sa 抗体阴性；抗 Sm 抗体阴性；抗线粒体抗体（anti-mitochondria antibody，AMA）阴性；抗线粒体 2 型抗体（anti-mitochondrial type 2 antibody，AMA-M_2）阴性；HIV 抗体阴性，HCV 抗体阴性，IgG4 10.6g/L（正常：7~16.6g/L），HCV RNA<10^3copy/ml。为进一步确诊，进行了唇腺活检，病理组织学诊断：（唾液腺）小涎腺组织，以黏液腺为主，部分区腺泡形态结构紊乱伴黏液外溢，少量淋巴细胞弥漫 / 灶性浸润，4mm^2 范围内见淋巴细胞聚集灶 1 个，淋巴细胞数大于 50 个 /4mm^2。

知识点

SS 的分类标准

国际上有多个分类标准用于 pSS 的诊断。目前应用较为广泛的是 2002 年国际分类（诊断）标准和 2012 年 ACR 新修订的分类标准。

2012 年 ACR 新修订的 SS 分类标准

具有 SS 相关症状或体征的患者，下述 3 项客观检查指标满足两项或以上，可诊断为 SS。

1. 血清抗 SSA 和（或）抗 SSB 抗体阳性，或者 RF 阳性同时伴 ANA≥1∶320。

2. 唇腺病理活检示淋巴细胞灶≥1 个 /4mm^2 组织（4mm^2 组织内至少有 50 个淋巴细胞聚集）。

3. 干燥性角结膜炎 OSS 染色评分≥3 分（患者当前未因青光眼而日常使用滴眼液，且近 5 年内无角膜手术及眼睑整形手术史）。

必须除外：头颈面部放疗史、丙型肝炎病毒感染、AIDS、结节病、淀粉样变性、移植物抗宿主病（GVH）、IgG4 相关病。

我国 SS 发病人数较多，但鉴于目前普及唇腺活检尚有一定难度，国内医疗机构尚未能普遍按照美欧合议标准要求检查，有学者建议从我国的实际情况及现实需要出发，可参考圣地亚哥的临床诊断标准，即不强求行唇活检，只要口、眼客观检查有干燥表现，另有自身抗体如 ANA、RF、抗 SSA 抗体或抗 SSB 抗体阳性，并排除其他可以引起口、眼干燥的情况，也可作出临床诊断。

【问题 3】根据上述检查，应作出怎样的诊断？诊断依据是什么？

经上述检查，可以明确诊断为 pSS。

思路：诊断依据：①患者隐袭起病，口干、眼干等症状大于 3 个月，符合原发性干燥综合征相关症状；②眼部体检：Schirmer 试验（+）；③涎腺受损：唾液流率（+）；④唇腺活检病理学符合 pSS 病理学改变；⑤根据病史及相关辅助检查可排除头、颈、面部放疗史，丙型肝炎病毒感染、AIDS、结节病、淀粉样变性、GVH、IgG4 等相关疾病。根据 2002 年美国欧洲小组对欧洲标准修订的 SS 分类标准或 2012 年 ACR 新修订的 SS 分类标准，该患者可以确诊为原发性干燥综合征。

【问题 4】目前常用的诊断 pSS 的相关实验室指标有哪些？诊断价值如何？

学习笔记

思路 1:抗 SSA、抗 SSB 抗体的特点以及在诊断 pSS 中的作用

抗 SSA 和抗 SSB 抗体是诊断 pSS 的重要免疫学指标。也是 2002 年美国欧洲小组对欧洲标准修订的 SS 分类标准和 2012 年 ACR 新修订的 SS 分类标准中需满足的条件之一。

抗 SSA 和抗 SSB 抗体是相应于 SS 患者体内 SSA 和 SSB 抗原而命名的,由 Alspaugh 等于 1975 年在 pSS 患者血清中发现,并将其分别命名为 SSA(Sjögren's syndrometype A,SSA)和 SSB(Sjögren's syndrometype B,SSB)抗原。抗 SSA 抗体又称为抗干燥综合征抗原 A 抗体或抗 Ro 抗体,其靶抗原为细胞质内的小 RNA 和 60kD 或 52kD 的蛋白成分。抗 SSA 抗体在 pSS 的阳性率为 40%~95% 或 60%~75% 不等。产生如此大差异的原因主要是:①各研究所采用的分类标准不同、病例选择不同;②处于疾病发展过程中的 SS 难与其他自身免疫病鉴别,入选病例有差异;③检测试剂和检测方法的不同。针对蛋白抗原的不同,抗 SSA 抗体又分为抗 52kD 蛋白的抗体与抗 60kD 蛋白的抗体,抗 52kD 蛋白的抗 SSA 抗体主要与 SS 有关,而抗 60kD 蛋白的抗体与 SLE 相关。抗 SSA 抗体特异性较差,阳性除见于 SS 外,还可见于亚急性皮肤性红斑狼疮、抗核抗体阴性狼疮、新生儿狼疮、RA、光过敏、肾炎以及伴有干燥综合征的 SLE 和 RA。

抗 SSB 抗体对应的抗原为 RNA 多聚酶转录中的小 RNA 磷酸化蛋白。根据蛋白质分子量不同,可分为抗 45kD、47kD、48kD 蛋白的抗 SSB 抗体。其中抗 48kD 蛋白的抗 SSB 抗体对 SS 的特异性很高。因此,对于 SS 诊断,抗 SSB 抗体较抗 SSA 抗体更特异也更为重要。

抗 SSA 和抗 SSB 抗体与 pSS 关系紧密,二者在 SS 患者中常相伴出现,值得注意的是,多数情况下,抗 SSA 抗体可单独出现,而单独 SSB 阳性却较为少见。另外,如果在其他自身免疫病中这两种抗体同时出现,常常预示 sSS 而非 pSS。目前检测这两个抗体的常用方法为 IIF 法和 ELISA 法。

思路 2:抗 α- 胞衬蛋白抗体的特点以及在诊断 pSS 中的作用

抗 α- 胞衬蛋白(α-fodrin)抗体的靶抗原是细胞骨架蛋白成分,尤其在腺体细胞内含量丰富。是细胞骨架蛋白在某种环境、酶、细胞因子及病毒作用下的裂解产物,在细胞凋亡过程中被剪切成小片段,其中至少有 2 个片段是新抗原,可引起细胞和体液免疫反应。有文献报道抗 α- 胞衬蛋白抗体在诊断 SS 中的敏感度为 67%,特异性为 93%。抗 α- 胞衬蛋白抗体有 IgA、IgG、IgM 三种亚型,其中 IgA 型比 IgG、IgM 型更具有诊断意义,是 SS 的标志性抗体,IgA 和 IgG 型抗体的浓度与 SS 的炎症活动程度相关,也和眼干、口干症状有关。

需要注意的是抗 SSA 抗体和 ANA 均阴性的 SS 患者抗 α- 胞衬蛋白抗体也阴性,因此,抗 α- 胞衬蛋白抗体对于抗 SSA 抗体阴性的 SS 诊断意义不大。另外,在继发于 SLE 和 RA 的 sSS 患者抗 α- 胞衬蛋白抗体也有 47% 和 86% 的阳性。当存在中枢神经系统炎症时,抗 α- 胞衬蛋白抗体的检测有助于 SS 与多发性硬化的鉴别。

思路 3:RF 和 ANA 在诊断 pSS 中的作用

在抗 SSA 及抗 SSB 抗体阴性的患者中,RF 和 ANA 可作为 SS 诊断的替代免疫指标。SS 患者血清中 RF 和 ANA 的阳性率分别为 55%~75% 和 90% 以上,但它们的特异性一般较差,临床上可联合其他指标诊断。

思路 4:抗毒蕈碱受体 3 抗体的特点以及在诊断 pSS 中的作用。

抗毒蕈碱受体 3(Antimuscarinic receptor3,AR3)抗体是新的与 SS 相关的诊断指标,对 SS 诊断的敏感度和特异性分别为 80%~90% 和 90%,且与抗 SSA 和抗 SSB 抗体无交叉反应,尤其对抗 SSA、抗 SSB、抗 α- 胞衬蛋白抗体阴性的 SS 患者的诊断有重要意义。该抗体可能参与 pSS 眼干的发生,在 SS 诊断中的作用和价值还需进一步研究。

思路 5:免疫球蛋白检测在诊断 pSS 中的作用

90% 以上的 SS 患者有高免疫球蛋白血症,免疫球蛋白大多为多克隆,以 IgG 为主,与疾病活动有关。同时应注意与淋巴瘤相鉴别。IgG4 升高时应与 IgG4 胰腺炎鉴别。

学习笔记

患者入院完善相关检查后，给予激素、羟氯喹等免疫抑制剂、抗感染以及改善循环、补钙、抑酸等对症处理，病情逐渐好转。出院时气喘较前明显好转，无胸闷、胸痛，无双下肢水肿，无咳嗽咳痰，无发热，无盗汗，无明显口干、眼干等不适。查体：神清，口唇稍干燥，口腔内未见唾液池，双肺呼吸音粗，双肺未闻及啰音，心律齐，未及杂音，腹无压痛、反跳痛，肝脾肋下未及。

SS是累及唾液腺和泪腺的自身免疫病，发病缓慢，可以是pSS，也可继发于SLE、RA等MCTD，因此，仅凭临床表现诊断较难，而组织病理活检在国内也有难度。故诊断时需结合病史、其他相关临床表现和对sSS原发病有诊断价值的影像学和实验室检查以及抗SSA、SSB抗体和抗α-胞衬蛋白抗体、抗AR3抗体、ANA以及RF和免疫球蛋白特别是IgG的检查结果综合分析判断。抗SSA和SSB抗体对pSS的特异性高，阳性时是pSS辅助诊断的最佳依据，抗体阴性不能除外诊断，抗体阳性时也需考虑排除其他MCTD。

第五节　血管炎病

血管炎病又称为血管炎，可分为原发性和继发于其他疾病的继发性两类。原发性血管炎（primary vasculitis，PV）是一类以血管壁炎症和坏死为基本特征的疾病。临床表现与血管病变导致的组织、器官供血不足有关，而组织器官的供血情况取决于受累血管的类型、大小、部位和病理变化。病因未明，可能由于各种因素所致免疫复合物沉积于血管壁，或细胞介导的免疫异常，引起血管壁的炎症性损伤。各类血管炎临床表现缺乏特异性，实验室检查能够为血管炎提供参考的指标很少，血清ANCA检测有助于ANCA相关血管炎的诊断，病变部位的IgA免疫复合物对于IgA相关性血管炎有提示意义。临床上遇发热、关节炎、皮损和年轻患者心血管病、肾炎、多发性单神经炎等多系统病变应高度警惕血管炎。诊断时应结合病史、临床表现和影像学的血管造影并尽可能获得受累组织的病理学检查。

病历摘要：

患者男，49岁。因反复咳嗽、咳痰半年伴反复发热、进行性气喘3个月，以“肺间质纤维化伴肺部感染”入院。半年前出现咳嗽、咳痰、气喘，呈单声非刺激性，痰黄、量多、质黏、可咳出，无臭味，伴活动后气喘，乏力、纳差，无发热。3个月前气喘进行性加重，平路步行10m即出现气喘，偶自觉喘鸣音，仍咳嗽、咳痰，痰黄、量多、质黏、可咳出，伴间歇性发热，体温37.6~38.5℃之间，并逐渐出现双下肢水肿伴肌肉疼痛、双侧胸痛。入院查体：慢性病容，呼吸稍促。双肺呼吸音粗，双下肺可闻及大量Velcro啰音，以右下肺为甚。双下肢轻度对称性可凹性水肿，左下肢可见色素沉着、静脉曲张，双下肢肌肉压痛阳性。

主要辅助检查：

血常规：正常；尿WBC 55 /μl、RBC 160/μl、畸形红细胞>90%；24小时尿蛋白1.3 g；肝、肾功能：BUN 16.3mmol/L，Cr 123μmol/L；血气分析：PO_2 79mmHg，TCO_2 23.2mmol/L，$SatO_2$ 89.6%；ESR 132mm/h；CRP 29mg/L；CA19-9 255.6U/ml；免疫球蛋白：正常；补体：C3、C4正常；RF<20IU/ml（散射比浊法）；抗心磷脂抗体（anti-cardiolipin，ACL）阳性；ANKA阳性；MPO-ANCA阳性；PR3-ANCA阴性。

胸部CT：双肺间质性肺炎；左侧胸膜反应。

肺功能：轻度混合性通气功能障碍，FEV_1占预计值61%，肺弥散功能下降，TLCO占预计值31%，气道及肺阻力正常。支气管舒张试验阳性。

【问题1】通过上述问诊、体检及辅助检查，该患者可能的诊断是什么？需与哪些疾病鉴别？

患者中年男性，起病较急进行加重，反复咳嗽、咳痰半年伴反复发热、进行性气喘3个月。

学习笔记

同时伴全身乏力，纳差。体检双肺呼吸音粗，双下肺可闻及大量 Velcro 啰音；双下肢肌肉压痛阳性，轻度对称性可凹性水肿，左下肢可见色素沉着、静脉曲张。血尿、尿红细胞畸变率、蛋白尿、肾功能检查均提示急性肾小球损害。ESR、CRP 升高，抗 ACL 抗体、ANCA、MPO-ANCA 均阳性。

根据以上临床表现特点，可以考虑诊断为：显微镜下多血管炎，Ⅰ型呼吸衰竭，慢性阻塞性肺气肿。

鉴别诊断：①结节性多动脉炎；②变应性肉芽肿性血管炎；③韦格纳肉芽肿；④狼疮肾炎；⑤肺出血 - 肾炎综合征；⑥冷球蛋白血症性血管炎。

知识点

血管炎的分类和临床特点

显微镜下多血管炎（microscopic polyangiitis，MPA）是原发性血管炎（primary vasculitis）的一种。原发性血管炎又称系统性血管炎（systemic vasculitis）或血管炎综合征（vasculitic syndromes），是一类原因未明的以血管壁和血管周围的炎症与破坏为主要病理改变的血管炎症性疾病。因累及血管的类型、大小、部位及病理特点不同，其临床表现多种多样，无特异性。目前，血管炎大多病因未明，各种感染（尤其是病毒感染）、肿瘤、药物、慢性炎症以及环境、遗传等因素均可导致血管炎发生。而继发于其他诊断明确的疾病如 RA、SLE 等的血管炎则称为继发性血管炎。由于原发性血管炎的病因和发病机制尚不清楚，因此分类方法、诊断标准众多，迄今尚无统一的共识，我国各教科书及专著也有各自不同的描述。这给临床诊断及统一诊断标准带来了一定困难。目前，学术界相对比较认可而且比较实用的原发性血管炎分类标准是 2012 年 Chapel Hill 共识会议（Chapel Hill consensus conference，CHCC）的新血管炎分类标准。该标准中不仅根据受累血管大小将其分为大血管炎（large vessel vasculitis，LVV）、中血管炎（medium vessel vasculitis，MVV）和小血管炎（small vessel vasculitis，SVV），还根据血管炎不同的病因、发病机制、受累血管部位及对临床诊断有帮助的标记等，增加了变异性血管炎（variable vessel vasculitis，VVV）、单器官性血管炎（single organ vasculitis，SOV）、与系统性疾病相关的血管炎及与可能的病因相关的血管炎 4 个亚类。

2012 年 CHCC 血管炎新分类标准

累及大血管的血管炎	巨细胞动脉炎（giant cell arteritis，GCA）
	多发性大动脉炎（takayasu arteritis，TA）
累及中等血管的血管炎	结节性多动脉炎（polyarteritis nodosa，PAN）
	川崎病（Kawasaki disease，KD）
累及小血管的血管炎	
ANCA 相关性血管炎（ANCA associated vasculitis，AAV）	显微镜下多血管炎（microscopic polyangiitis，MPA） 肉芽肿性多血管炎（granulomatosis with polyangiitis，GPA；原 Wegener 肉芽肿）嗜酸性肉芽肿性多血管炎（Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis，EGPA ，Churg-Strauss syndrome，CSS）
免疫复合物相关性血管炎（immune complexes Associated vasculitis）	抗肾小球基底膜抗体病（anti-glomerular basement membrane disease，anti-GBM disease）IgA 相关性血管炎（IgA vasculitis，IgAV，原称过敏性紫癜 Henoch-Schonlein purpura，HSP）
变异性血管炎（variable vessel vasculitis，VVV）	冷球蛋白血症性血管炎（cryoglobulinemic vasculitis，CV）
单器官受累的血管炎（single organ vasculitis，SOV）	低补体荨麻疹性血管炎（hypocomplementemic urticarial vasculitis，HUV，又称 anti-C1q vasculitis） 如白塞病（Behcet's disease，BD），科根综合征（Cogan's syndrome，CS） 皮肤白细胞破碎性血管炎（cutaneous leukocytoclastic vasculitis，CLV）或称皮肤斯特奇 - 韦伯综合征（cutaneous Sturge-Weber syndrome）

学习笔记

续表

系统性疾病相关血管（vasculitis associated with systemic disease）	皮肤动脉炎（skin arteritis，SA），原发性中枢神经系统性血管炎（primary angitis of the central nervous system，PACNS）
可能病因相关血管炎（vasculitisassociated with probable etiology）	孤立性主动脉炎（isolated aortitis，IA） 如与狼疮性血管炎、类风湿性血管炎、结节病性血管炎及其他风湿性疾病相关的血管炎 如丙肝病毒相关性冷球蛋白血症性血管炎、乙肝病毒相关性血管炎、梅毒相关性主动脉炎、血清病相关性免疫复合物性血管炎、药物相关性免疫复合物性血管炎、药物相关性 AAV、肿瘤相关性血管炎

【问题 2】为明确诊断，还应进行哪些检查？

思路：实验室检查在血管炎临床诊断中的应用

血管炎是一种主要累及小血管的系统性坏死性血管炎，很少或无免疫复合物沉积，可侵犯多器官和多系统如肾脏、皮肤和肺等脏器的小动脉、微动脉、毛细血管和小静脉，坏死性肾小球肾炎和肺毛细血管炎常见。因此，临床表现复杂多变，目前尚无统一的诊断标准，给诊断带来了一定困难。一般认为，如患者出现全身系统性损害，同时肾脏、肺部功能受累，特别是实验室检查发现 MPO-ANCA 或 PR3-ANCA 阳性，可考虑诊断 MPA。肾活检发现坏死性肾小球肾炎，并伴有特征性的节段性坏死及新月体形成或皮肤、其他内脏活检有利于 MPA 诊断。

【问题 3】原发性血管炎的相关实验室检查有哪些？意义如何？

思路 1：血管炎相关的非特异性实验室检查

由于原发性血管炎分类繁多，表现复杂，目前临床上缺乏特异性的实验室检查方法，ESR、CRP、免疫球蛋白以及某些自身抗体的检查有助于原发性血管炎的诊断。

常规实验室检查对绝大多数原发性血管炎的诊断不具特异性，ESR 和 CRP 等急性时相反应指标升高可见于绝大多数原发性血管炎，且常与疾病的活动性相关，但 ESR 和 CRP 正常不能排除原发性血管炎的诊断。尿液、肝肾功能检查有助于判定肝肾功能是否受损，从而对原发性血管炎提供辅助诊断。

免疫球蛋白在某些原发性血管炎有一定的诊断价值，如肉芽肿性多血管炎、冷球蛋白血症性血管炎、变异性血管炎等可出现各型免疫球蛋白不同程度的升高；而多发性大动脉炎则表现为以 IgG 和 IgA 为主；CSS 多以 IgE 升高为主；以 IgA 升高为特征的免疫球蛋白升高见于 50% 的 IgA 相关性血管炎（过敏性紫癜）。但以上检查对原发性血管炎的诊断均无特异性。

在某些原发性血管炎如多发性大动脉炎、结节性多动脉炎、IgA 相关性血管炎 ANA 常为阴性；绝大多数冷球蛋白血症性血管炎 ANA 为阳性。RF 阳性可见于多发性大动脉炎、GPA、CSS、显微镜下血管炎、冷球蛋白血症性血管炎等；某些原发性血管炎如结节性多动脉炎、IgA 相关性血管炎 RF 常为阴性。ANA 及 RF 检查对原发性血管炎的诊断仅具参考价值。

思路 2：抗中性粒细胞胞浆抗体在血管炎诊断中的意义和应用注意

抗中性粒细胞胞浆抗体（antineutrophil cytoplasmic antibodies，ANCA）是一组以人中性粒细胞胞浆成分为靶抗原的自身抗体，与原发性血管炎中的 ANCA 相关性血管炎有密切关系。目前已知的 ANCA 靶抗原谱包括髓过氧化物酶（myeloperoxidase，MPO）、丝氨酸蛋白酶 3（proteinase3，PR3）、人白细胞弹性蛋白酶（human leukocyte elastase，HLE）、乳铁蛋白（lactoferrin，LF）和组织蛋白酶 G（cathepsin G，Cath G）等。其中抗 PR3 和抗 MPO 抗体在 ANCA 相关性血管炎的发病中起重要作用。ANCA 可有 IgG、IgM、IgA 三种亚型，目前临床上常用的 ANCA 检测方法有 IIF、ELISA、免疫印迹法（immunoblotting，IB）、免疫沉淀法（Immunoprecipitation，IP）和放射免疫法（radio-immunity，RI）等。ANCA 一般分为三型，根据间接免疫荧光检测 ANCA 时的荧光染色结果，

学习笔记

ANCA可分为细胞浆型ANCA(cytoplasmic ANCA,cANCA)、核周型ANCA(perinuclear ANCA,pANCA)和介于两者之间的非典型性ANCA(atypical ANCA,aANCA)。pANCA其抗原主要为MPO,因此又称为MPO-ANCA。cANCA其主要靶抗原为PR3,因此也称为PR3-ANCA。

90%以上病情活动的GPA病人血清中cANCA(PR3-ANCA)阳性,而pANCA只有10%左右阳性,且cANCA滴度与肉芽肿性多血管炎病情活动高度相关。在CSS中70%的患者可有ANCA阳性,其中,MPO-ANCA和PR3-ANCA阳性率几乎各占一半,但ANCA阴性不能排除CSS的诊断。有约80%的显微镜下血管炎(MPA)患者ANCA阳性,其中MPO-ANCA阳性率约占60%,PR3-ANCA阳性率约占40%,ANCA阳性可作为MPA诊断的重要依据,对MPA活动的判定有一定的参考价值。临床开展ANCA检测时除了采用IIF方法筛查外,为了提高ANCA检测的临床价值及临床检出率(5%左右的ANCA荧光法检测阴性,而ELISA方法为阳性),还应考虑通过ELISA方法进行靶抗原抗体的确认试验。与IIF相比,ELISA方法具有结果准确、定量和客观的特点。

pANCA是血管炎的非特异性指标,还可见于硬化性胆管炎,也可见于炎症性肠病、自身免疫性肝病、MCTD、药物性和感染性疾病。

思路3:其他实验室检查在血管炎诊断中的作用

冷球蛋白(cryoglobulin,CG)也称冷免疫球蛋白(cryo immunoglobulin)是指血清中的一种病理性蛋白质,该蛋白质在血浆温度低于37℃时发生沉淀或呈胶冻状,温度回升至37℃时又溶解。根据冷球蛋白的免疫化学特性将其分为三种类型:Ⅰ型为单克隆型;Ⅱ型为混合冷球蛋白;Ⅲ型为混合多克隆冷球蛋白。根据1994年Chapel Hill血管炎会议上对原发性冷球蛋白血症性血管炎的分类标准定义,在患者出现皮肤、肾脏受累以及其他血管炎证据时,冷球蛋白的检出有利于冷球蛋白血症性血管炎的诊断。但应注意,冷球蛋白阳性也常见于骨髓瘤、淋巴瘤、SLE、RA、SS、急性病毒感染等,因此,冷球蛋白诊断特异性较差。

思路4:抗主动脉抗体对血管炎诊断的意义

抗主动脉抗体(anti-aortic antibody,AAA)是针对主要病变区域的主动脉外膜和中膜成分的自身抗体,该抗体阳性对多发性大动脉炎的诊断具有一定的价值。一般以血清抗主动脉抗体滴度≥1∶32为阳性,≤1∶16为阴性。94%左右的患者血清抗主动脉抗体阳性,其中滴度≥1∶64者占65%,假阴性占8.5%。抗主动脉抗体阳性,对多发性大动脉炎具有一定的诊断价值。

思路5:抗内皮细胞抗体对血管炎诊断的意义

抗内皮细胞抗体(anti-endothelial cell antibody,ACEA)是一种自身抗体,抗原为表达于血管内皮细胞表面或吸附于其上的一组异质性抗原。AECA在肉芽肿性多血管炎的阳性率为55%~80%,并且与疾病的活动性、严重程度以及预后相关,但特异性差。AECA阳性也常见于SLE、LN、MCTD、皮肌炎/多发性肌炎、白塞病、系统性硬化症等,临床应用时应予注意。

患者入院完善相关检查、诊断明确后,予甲强龙、环磷酰胺免疫调节制剂、抗感染及制酸护胃等对症处理后,咳嗽、气喘明显改善,双下肢水肿及肌肉疼痛缓解,肾功能有所好转,予以出院。

由于血管分布的特殊性,发生于血管的炎症性损伤涉及血管分布的组织、器官,导致相应组织器官因血供不足而发生病变。临床上多以受损组织器官为首发表现,且病变分布广泛,临床表现复杂、特异性差,且常有重叠,故容易导致误诊或漏诊。临床上凡遇不明原因发热、关节痛、皮损、腹痛和年轻患者的心血管疾病、肾脏受损、多发性肌炎以及孕妇不明原因的腹痛,实验室检查ESR增快,CRP、白细胞和免疫球蛋白升高应想到血管炎的可能。诊断时应结合自身抗体、特别是ANCA(pANCA、cANCA)AAA和ACEA辅助诊断,并注意排除其他结缔组织病、感染、肿瘤等引起的继发性血管炎。治疗过程中阳性抗体的监测有助于判断疗效。

(李　莉)

学习笔记

第十一章 感染性疾病的实验诊断

感染性疾病的诊断有实验室诊断和临床诊断。实验诊断就是检验者运用实验室各种检测技术、方法配合各种实验室检测设备，判断、鉴定出何种致病病原体的过程。而临床诊断是通过患者各种临床症状、体征、流行病学特征并结合实验室检查而作出的诊断，因此对于感染性疾病来说，实验室诊断常常是临床诊断必备的条件之一。目前主张微生物检验医师应发挥病原学、流行病学及耐药研究优势，成为指导临床感染性疾病诊疗的重要力量。

第一节 发 热

发热可作为临床许多疾病的共同表现，是机体对致热因子作用的一种调节性体温升高，基本机制是下丘脑体温调节中枢功能紊乱，导致机体产热过多、散热减少，致使体温升高超过正常范围的情形。发热分为感染性发热和非感染性发热，前者由病原微生物引起，后者多见于风湿免疫性疾病、严重过敏性疾病和恶性肿瘤等。按照发热持续时间分为急性发热和慢性发热，还有一类为不明原因发热，对此类患者需要尽快明确诊断，以便治疗。

病历摘要：

患者男，62岁。因“腰背痛、活动受限伴间断发热4个月”入院，体温最高达39.5℃，偶有咳嗽，无痰。同时感乏力、纳差，体重减轻5kg。初始曾自行服用抗生素（不详），体温可降至正常。1个月后体温再次升高，外院考虑“腰椎间盘突出症、感染”，给予头孢类抗生素、激素静脉治疗10天效果不佳。查ESR 70mm/h，CRP 75.90mg/L，HL-B27阴性，结核菌素试验（+++），胸片提示“双肺纹理粗”。予正规抗结核治疗3个月无效，体温仍波动在38℃上下。入院查体：心、肺、腹无阳性体征。

入院时血常规：WBC 9.7×10^9/L，中性粒细胞数78%，ESR 78mm/h，CRP 84mg/L，生化、免疫、自身抗体常规检测阴性，3次痰TB-DNA检测阴性，多次痰细菌培养无病原菌生长，军团菌抗体、肺炎支原体和肺炎衣原体抗体阴性。

【问题1】通过上述问诊与查体及实验室检查，该患者可疑的诊断及依据是什么？需要进一步补充什么检验？

老年男性，慢性病程，不明原因发热持续4个月，经询问病史、体格检查和常规实验室检查仍不能明确诊断，基本可除外某些病因明确的短期发热，如自限性病毒感染、泌尿系感染、肺炎等。目前诊断不明，考虑为不明原因发热：①感染性疾病？②自身免疫性疾病？

建议行骨穿除外血液系统疾病，同时完善铁蛋白、LDH、β-微球蛋白、PCT及传染病学等检查。

知识点

不明原因发热（fever of unknown origin，FUO）

1961年，Petersdorf和Beeson提出了不明原因发热的概念，定义为肛温>38.3℃至少3周，并且经过>3天住院或至少3次门诊就诊的详细检查评估均未找到发热原因。

1999年，“全国发热性疾病学术研讨会”将FUO定义为：发热持续3周以上，体温38.5℃以上，经详细询问病史、体格检查和常规实验室检查仍不能明确诊断者。

学习笔记

定义初步排除以下几种发热：①可确诊的某些病毒感染；②病因较明确，诊断较容易的短期发热，如肺炎、泌尿系统感染等；③短期内可自愈的原因不明发热，多为病毒性感染；④表现为低热的功能性发热。

思路 1：发热的分类

(1) 按发热程度分为低热（≤38℃）、中热（38.1~39℃）、高热（39.1~41℃）和超高热（>41℃）。

(2) 按发热时间分为短程热（1 个月内）、中程热（1~3 个月）和长程热（超过 3 个月）。

思路 2：不明原因发热的常见病因

不明原因发热的常见病因包括感染性疾病（40%）、肿瘤（20%）、风湿免疫相关性疾病 - 血管性疾病（30%）和最终诊断不明者（10%）。

思路 3：发热的主要热型

(1) 稽留热：体温恒定地维持在 39.0~40.0℃以上的高水平，24 小时之内体温波动范围不超过 1℃。见于大叶肺炎、斑疹伤寒及伤寒（图 11-1-1）。

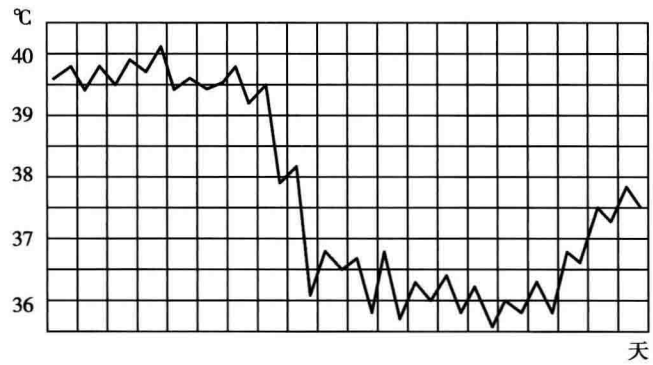


图 11-1-1　稽留热

(2) 弛张热：24 小时体温相差超过 1℃，但最低点未达正常。见于风湿热、脓毒血症、重症肺结核及化脓性炎症（图 11-1-2）。

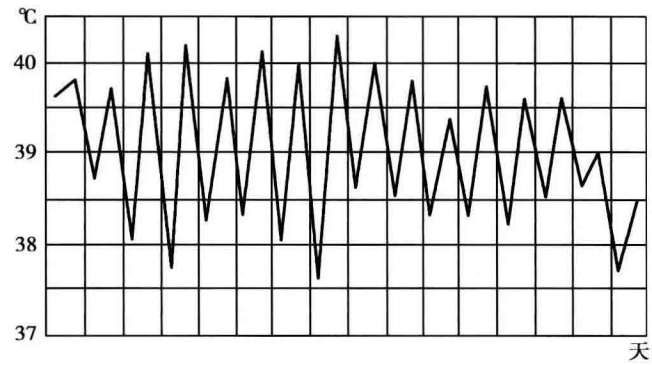


图 11-1-2　弛张热

(3) 间歇热：24 小时体温波动于高热于常温之间。见于疟疾、急性肾盂肾炎等疾病（图 11-1-3）。

(4) 波状热：体温逐渐上升达 39℃或以上，数天后又逐渐下降至正常水平，持续数天后又逐渐升高，如此反复出现。见于布鲁菌病（图 11-1-4）。

(5) 回归热：是指高热持续数日后自行消退，但数日后又再出现的体温曲线类型。可见于回归热、霍奇金病等（图 11-1-5）。

学习笔记

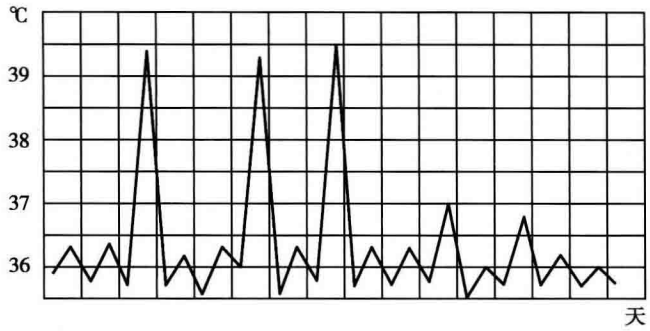


图 11-1-3　间歇热

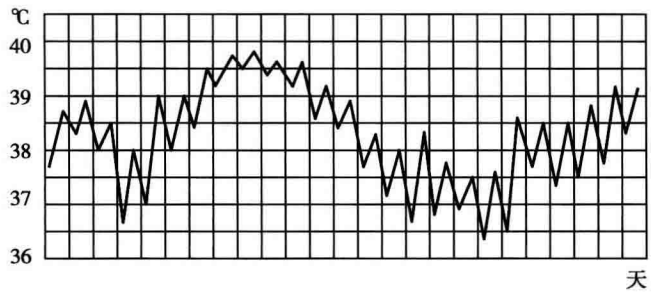


图 11-1-4　波状热

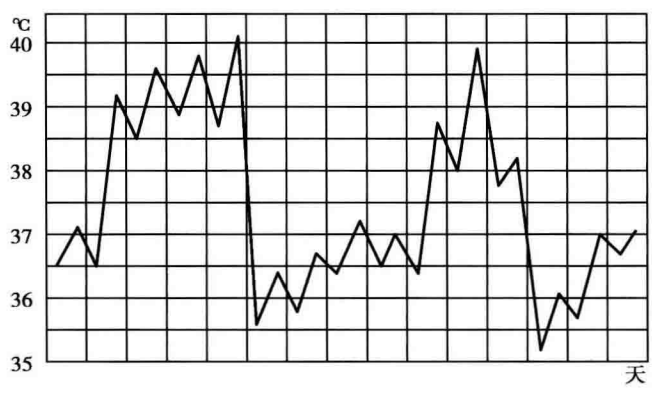


图 11-1-5　回归热

(6) 不规则热：发热无规律。见于结核病、风湿热、支气管肺炎、渗出性胸膜炎等疾病(图 11-1-6)。

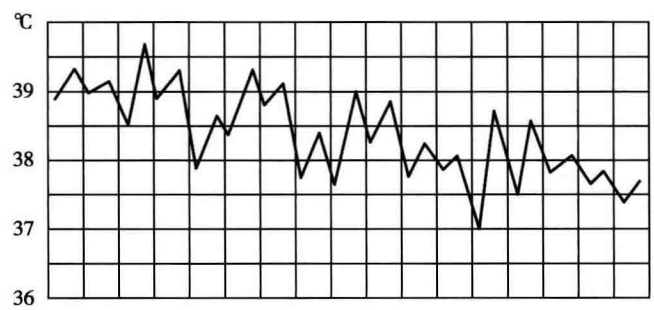


图 11-1-6　不规则热

学习笔记

思路 4：引起发热的常见疾病分类

表 11-1-1　引起发热的常见疾病分类

发热性质	病因	疾病
感染性发热	各种病原体（细菌、病毒、支原体、衣原体、螺旋体、立克次体和寄生虫）	急性、慢性感染；全身或局灶感染
非感染性发热	血液病	淋巴瘤、恶性组织细胞病、噬血细胞综合征、白血病等
	自身免疫性疾病	风湿热、药物热、SLE、皮肌炎、结节性多动脉炎、成人 Still 病等
	实体肿瘤	肾癌、肾上腺癌、肺癌、肝癌等
	理化损伤	热射病、大手术、创伤及烧伤等
	神经源性发热	脑出血、脑干损伤、自主神经功能紊乱等
	其他	甲亢、痛风、组织坏死等

注：感染、肿瘤、自身免疫性疾病最常见

追问病史，患者爱好旅游，经常去牧区，高度怀疑布鲁菌感染。立即行布鲁菌凝集试验（+），滴度 1∶400，2 次血培养结果回报马耳他布鲁菌，支持诊断。腰椎 MRI 示：腰 3、4 椎体骨质破坏，考虑腰椎布鲁菌病、腰椎结核可疑。予左氧氟沙星、利福平、多西环素、链霉素联合治疗，热退，炎性指标下降。随访 3 个月患者发热、腰痛症状完全改善。

【问题 2】何种人群易患布鲁菌病？

布鲁菌病（Brucellosis，简称布病）是由布鲁菌属（Brucella）（简称布鲁菌）侵入机体，从而引起人兽共患的传染 - 变态反应性疾病，是《中华人民共和国传染病防治法》规定报告的乙类传染病。在国内，羊为主要传染源，牧民接羔为主要传染途径，兽医为病畜接生也极易感染。病菌从接触处的破损皮肤进入人体。进食染菌的生乳、乳制品和未煮沸病畜肉类时，病菌可自消化道进入体内。此外，病菌也可通过呼吸道黏膜、眼结膜和性器官黏膜而发生感染。该患者有可能旅游途中在牧区进食过程中感染，人类对布鲁菌普遍易感。

知识点

布鲁菌病的诊断标准（乙类传染病）

1. 流行病学　发病前患者与家畜或畜产品，布鲁菌培养物有密切接触史，或生活在疫区的居民，或与菌苗生产、使用和研究密切联系者。

2. 临床表现　出现数日乃至数周发热，多汗，肌肉和关节酸痛，乏力或肝、脾、淋巴结和睾丸肿大等可疑症状及体征。

3. 实验室检查　布病玻片或虎红平板凝集反应阳性或可疑，或皮肤过敏试验后 24、48 小时分别观察一次，皮肤红肿浸润范围有一次在 2.0cm×2.0cm 及以上（或 4.0cm^2 以上）

4. 分离细菌　从病人血液、骨髓、其他体液及排泄物中分离到布鲁菌。

5. 血清学检查　阳性。

诊断疑似病例：具备 1、2、3 者。

诊断确诊病例：疑似病例加 4 或 5 中任何一项者。

思路 1：诊断布鲁菌病的血清学检查

标准试管凝集试验（SAT）滴度为 1∶100 及以上，对半年内有布鲁菌苗接触史者，SAT 滴度

虽达 1∶100 及以上，过 2~4 周后应再检查，滴度升高 4 倍及以上，或用补体结合试验(CFT)检查，CFT 滴度 1∶10 及以上；抗人免疫球蛋白试验(Coomb's)滴度 1∶400 及以上。

思路 2：布鲁菌病原学特点

(1) 布鲁菌的形态和染色特点：布鲁菌是一组微小的球状、球杆状、短杆状细菌。包括猪种、牛种、羊种、犬种、绵羊附睾种和沙林鼠种 6 个种。普通显微镜下，常呈单个排列，极少数呈两个相连或短链状、串状排列。布鲁菌革兰染色阴性，可被所有的碱性染料所着色，吉姆萨染色呈紫红色。

(2) 布鲁菌的培养特性：最大特点是生长缓慢。适宜的 pH 为 6.6~7.4，适宜温度 20~40℃，最适温度 37℃，超过 42℃不生长。

(3) 布鲁菌的抵抗力：布鲁菌对干燥、低温有较强的抵抗力，对湿热、紫外线、常用的消毒剂、抗生素等比较敏感。

(4) 布鲁菌毒力和致病性：一般说来，羊、牛、猪种布鲁菌各生物型的某些菌株多为强毒株。

【问题 3】需要与该病例做鉴别诊断的有哪些疾病？

(1) 脓毒血症：常有原发感染灶，感染中毒症状重，病程持续，皮肤有瘀点，血、骨髓培养有病原菌，抗生素有效。而成人 Still 病(adult onset still disease，AOSD)无上述特征，且糖皮质激素有效。

(2) 系统性红斑狼疮：蝶形红斑，盘状红斑，常合并肾炎，周围血象降低，抗核抗体、抗 Sm 抗体、抗 dsDNA 抗体及狼疮细胞阳性有利鉴别。

(3) 风湿热：风湿热皮疹主要为环形红斑、皮下小结，且心脏受累多，特别是心肌炎、心内膜炎，常遗留瓣膜病变，儿童有特征性的舞蹈症可鉴别。

(4) 淋巴瘤：皮疹为浸润性斑丘疹、结节、斑块和溃疡，进行性淋巴结肿大，皮肤、淋巴结活检可区分。

(5) 腰椎结核：根据症状(腰痛是腰椎结核最常见的症状，疼痛的性质多为钝痛或酸痛，伴有压痛及叩击痛，在劳累、咳嗽、睡前疼痛加重)、体征与影像学(骨质破坏、椎间隙狭窄)表现，可诊断典型病例。

知识点

鉴别发热总体上要把握的要点

1. 即使是疑难患者，非特征性表现的常见病仍较罕见病常见。注意把握一些常见病的非特征表现，如心内膜炎——心脏杂音；肝脓肿——肝区肿痛、叩痛；胆道感染——黄疸、Murphy 征；粟粒性结核——PPD(结核菌素)试验等。

2. 无论是感染或非感染性疾病，往往具有其常见的受累部位，即具有一定特征性的"定位"表现，发现"定位"线索，对可疑诊断初步分类。

3. 疾病的发展有其自身的时间规律，有些症状、体征是逐步显现出来的，采集病史、体格检查需要"重复"，实验室检查需要反复送检提高阳性率。

4. 应用新技术、新设备，重视创伤性检查的价值。

5. 实验室检查与其他一些特殊检查可以补充病史与体检的不足，尤其对一些仅以发热为主要表现而缺乏明确的反映脏器损害的症状和体征的患者，往往有重要的诊断与鉴别诊断的意义，有时具有决定性诊断意义。

6. 观察疾病自身变化和经验性治疗效果，结合临床分析判断发热原因。发热诊断流程见图 11-1-7。

学习笔记

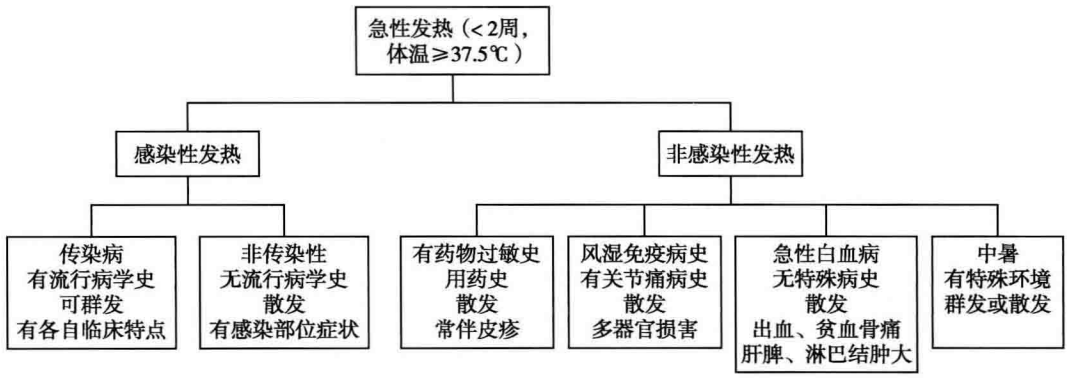


图 11-1-7　急性发热诊断流程图

知识点

不明原因发热诊断

检查项目	相关检查
病史	现病史、既往史、流行病史、旅行史、性病史、宠物接触史
体格检查	系统查体（生命体征、一般情况、心肺腹、淋巴结、关节、皮肤、肛门直肠指诊等检查） 不同部位血压测定、大动脉杂音、颞动脉检查
血液检查	血常规白细胞总数及分类、末梢血细胞涂片、C 反应蛋白、血沉、降钙素原
尿便检查	尿便常规、尿沉渣镜检（有无白细胞、数量）及培养
细菌学检查	反复外周血培养、尿培养及可疑感染部位标本的病原学培养或抗原抗体检查，如伤口分泌物培养、无菌体液培养、鼻咽拭子培养、下呼吸道标本培养等；痰找抗酸杆菌（至少 3 次）
风湿免疫相关检查	抗核抗体、ENA 多肽谱、可提取性核抗原、类风湿因子、抗中性粒细胞胞浆抗体等
感染病原血清抗体检查	抗 HIV、CMV、EB、军团菌等抗体检测，根据当地流行病学进行的血清学检查
影像学检查	胸部正侧位片、CT、腹部（包括盆腔）B 超、超声心动检查（如果发现心脏杂音）
疑似肿瘤	支气管镜、胃镜、肠镜等内镜检查；骨髓、淋巴结及相应组织穿刺活检或手术探查，肿瘤
其他检查	结核菌素试验、诊断结核的 T 淋巴细胞培养 /γ 干扰素测定、真菌培养、半乳甘露聚糖抗原和 1,3-β-D 葡聚糖、布鲁菌培养及其血清学检查

（鲁辛辛）

第二节　呼吸道感染

呼吸道感染分上呼吸道感染和下呼吸道感染。上呼吸道感染是指自鼻腔至喉部之间的急性炎症的总称，是最常见的感染性疾病。下呼吸道感染包括急性气管 - 支气管炎、慢性支气管炎、肺炎、支气管扩张等，是由病毒、细菌、支原体、衣原体、军团菌等微生物感染引起。下呼吸道感染常引起严重的临床症状，尤以肺炎多见，肺结核病依然是我国重大传染病之一。本节重点介

绍肺炎，包括社区获得性肺炎和医院获得性肺炎以及肺结核的实验诊断。

一、社区获得性肺炎的实验诊断

病历摘要：

患者男，39岁。主因“反复高热（最高达39.5℃），伴乏力，咳嗽”就诊。患者于7天前（1月29日）无明显诱因下出现发热（12月6日在家中洗过冻鸡），当时体温38℃，伴乏力，偶尔咳嗽无咳痰，无头痛、咽痛及肌肉酸痛，无恶心、呕吐等不适，周围无感冒病人，于3天前（2月2日）至当地社区医院就诊，体温39℃，X线检查显示右肺下叶片状阴影，血常规提示白细胞不高（4.3×10^9/L），淋巴细胞偏低（0.75×10^9/L），C-反应蛋白正常，予以抗感染退热等治疗，效果不明显，医生建议去上级医院就诊。患者既往无心脏病史，无肺结核和吸烟史等。查体：T 39.5℃，P 90次/分，R 15次/分，BP 120/80mmHg，面容正常，无皮疹和发绀，颈软，浅表淋巴结未触及，呼吸平稳，双肺呼吸音粗，全肺未闻及哮鸣音，心率90次/分，腹平软，双下肢无水肿，全身四肢关节无压痛，神经系统病理反射阴性。

【问题1】通过上述问诊和查体，该患者可疑的诊断是什么？需要与哪些疾病鉴别诊断？

患者青年男性，持续发热，伴乏力、咳嗽和双肺呼吸音粗，抗感染退热均无明显缓解，有禽类接触史（危险因素）。根据患者主诉、症状、个人史，流行病学史，高度怀疑流感病毒引起的社区获得性肺炎（community-acquired pneumonia，CAP），特别考虑人感染高致病性H7N9禽流感病毒。

鉴别诊断：①人感染高致病性H7N9禽流感及其他禽流感；②季节性流感（甲型H1N1-2009和H3N2等流感病毒）；③支原体/衣原体肺炎；④细菌性肺炎等。

思路：患者，青年男性，不明原因引起的持续高热伴乏力，偶尔咳嗽，无咳痰，X线检查显示右肺下叶片状阴影，淋巴细胞偏低，抗感染退热等治疗效果不明显，且疾病发生于冬季，首先考虑为流感病毒引起的社区获得性肺炎（CAP）；此外考虑到有禽类接触史，不排除禽类病毒引起的CAP。

知识点

社区获得性肺炎（community-acquired pneumonia，CAP）

CAP是指在医院外罹患的感染性肺实质（含肺泡壁，即广义上的肺间质）炎症，包括具有明确潜伏期的病原体感染而在入院后潜伏期内发病的肺炎。CAP严重威胁人类健康，不断出现的新病原特别是新型的病毒（H1N1-2009、MERS-CoV和H7N9等），导致诊断不断面临新的挑战。CAP根据病因学主要分为：细菌性肺炎（bacterial pneumonia）、病毒性肺炎（viral pneumonia）和支原体肺炎（mycoplasma pneumonia）等类型。

细菌性肺炎（bacterial pneumonia）主要致病菌包括：革兰阳性菌（如肺炎链球菌和金黄色葡萄球菌等）、革兰阴性菌（如肺炎克雷伯杆菌和铜绿假单胞菌等）及厌氧杆菌（如棒状杆菌和梭形杆菌等）。

病毒性肺炎（viral pneumonia）是由病毒感染引起的肺炎，主要致病原包括：人流感病毒（如甲型H1N1-2009和H3N2等）、高致病性禽流感病毒（如H5N1和H7N9等）、呼吸道合胞病毒和腺病毒等。

支原体肺炎（mycoplasma pneumonia）是由肺炎支原体引起，突出表现为阵发性刺激性咳嗽，病理改变以间质性肺炎为主。

学习笔记

【问题 2】为明确诊断及判断病情进展的严重程度，应进行哪些检查？

为确诊流感病毒感染，特病是高致病性 H7N9 等禽流感病毒感染，应进行病毒的核酸（或抗原）检测、病毒血清学检测和或病毒分离。为判断病情进展的严重程度，应进行 X 线（或 CT）等检查。

思路：流感病毒特别是高致病性 H7N9 等禽流感病毒感染的患者，如果在早期得到确诊，并进行有效的抗病毒治疗，则可减缓病情加重且预后良好，同时可及时隔离，避免传染他人。但如果未能在早期确诊，不能进行及时有效的抗病毒治疗，特别是高致病性 H7N9 等禽流感病毒易导致重症肺炎，加重病情，患者预后差。因此流感病毒特别是人感染高致病性 H7N9 等禽流感病毒的早期诊断并结合 X 线（或 CT）检查对于患者治疗显得尤为重要。

知识点

人感染高致病性 H7N9 禽流感诊断标准

2014 年 1 月 26 日，国家卫生计生委公布了最新的“人感染 H7N9 禽流感诊疗方案（2014 年版）”的诊断标准：根据流行病学接触史、临床表现及实验室检查结果，可作出人感染 H7N9 禽流感的诊断。从患者呼吸道分泌物标本中分离出 H7N9 禽流感病毒，或 H7N9 禽流感病毒核酸检测阳性，或动态检测双份血清 H7N9 禽流感病毒特异性抗体水平呈 4 倍或以上升高，可作出人感染 H7N9 禽流感的诊断。符合下列任一条标准，即诊断为重症病例：①X 线胸片显示为多叶病变或 48 小时内病灶进展 >50%；②呼吸困难，呼吸频率 >24 次 / 分；③严重低氧血症，吸氧流量在 3~5 升 / 分条件下，患者 SpO_2 ≤92%；④出现休克、ARDS 或 MODS（多器官功能障碍综合征）。易发展为重症的危险因素包括：①年龄 >60 岁；②合并严重基础病或特殊临床情况，如心脏或肺部基础疾病、高血压、糖尿病、肥胖、肿瘤、免疫抑制状态、孕妇等；③发病后持续高热（T>39℃）3 天及 3 天以上；④淋巴细胞计数持续降低；⑤CRP、LDH 及 CK 持续增高；⑥胸部影像学提示肺炎。出现以上任一条情况的患者，可能进展为重症病例或出现死亡，应当高度重视。

患者病毒核酸检测：流感病毒 A 阳性，H7N9 禽流感病毒核酸阳性；肺部 CT 平扫结果：两肺感染性病变，以右肺感染为主。其他检查结果：白细胞降低（1.7×10^9/L），淋巴细胞偏低（0.5×10^9/L），C- 反应蛋白正常，LDH 升高（565U/L），D- 二聚体升高（1670μg/L），血氧饱和度正常。

【问题 3】根据病原学与 CT 的检查结果，应作出怎样的诊断？依据是什么？

该患者可做以下诊断：重症肺炎（人感染 H7N9 禽流感）。

诊断依据为：①流感病毒 A 和 H7N9 禽流感病毒核酸检测为阳性，有禽类接触史（危险因素）；②肺部感染加重，波及双肺，以右肺感染为主。

思路：对于疑似人感染 H7N9 禽流感病毒的患者，应立即采集咽拭子和（或）痰液等呼吸道分泌物样本及血清标本，进行通用流感 A 型和 H7N9 禽流感病毒核酸（或抗原）检测和（或）病毒培养（P3 实验室），以及动态双份血清 H7N9 禽流感病毒特异性抗体检测，推荐采用通用流感 A 型和 H7N9 禽流感病毒核酸同时检测。

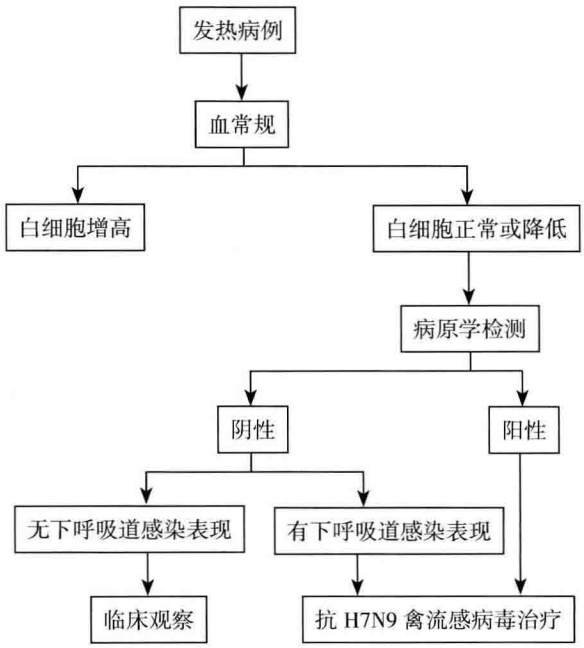
根据核酸检测结果，若通用流感 A 型和 H7N9 禽流感病毒核酸均阳性，不管症状轻重，应立即住院隔离并进行抗病毒（如达菲）和抗感染治疗；若通用流感 A 型核酸阳性，H7N9 禽流感病毒核酸为阴性，应立即隔离并进行抗病毒（如达菲）和抗感染治疗，并进行其他流感病毒的亚型检测（如 H3N2、H1N1-2009 和 H5N1 等）；若临床症状加重或 CT/X 线胸片显示为多叶病变或 48 小时内病灶进展 >50%，应考虑重症，不必等待病原检测结果，应立即住院隔离并可直接进行抗

学习笔记

病毒和抗感染治疗及其他对症治疗。

知识点

有疫情地区人感染 H7N9 禽流感早检早治流程图



注：对于血常规检查白细胞不高或者降低的病例，应当行甲型流感或 H7N9 禽流感病原学检测。①具备 PCR 检测条件的，应行 H7N9 或 H7 核酸检测；②不具备 PCR 检测条件的，可先行甲型流感病毒抗原检测；③甲型流感或 H7N9 禽流感病原学检测阳性，抗病毒治疗；病原学检测虽为阴性，但临床高度怀疑的病例，仍应当行抗病毒治疗

【问题 4】为何病原学诊断在社区获得性肺炎诊断中如此重要？如何优先选择病原种类？目前常见的病原诊断方法有哪些？

社区获得性肺炎的定义提示 CAP 是由不同病原体感染引起的肺部炎症。不同病原体造成肺部炎症的严重程度不同，药物选择不同，治愈率和病死率不同，因此病原学诊断在社区获得性肺炎诊断中非常重要。

CAP 的致病原种类繁多，应充分结合流行病学史和临床症状等情况，优先选择病原的种类进行实验室检测。目前常见的病原诊断方法有：显微镜检查（如：革兰染色、吉姆萨染色及姜 - 尼染色法等）、培养（个别病原培养条件要求较高，如高致病性 H7N9、H5N1 及 SARS 病毒）、血清学（如 ELISA、EIA、IFA 及颗粒凝集等）及其他方法（如 PCR、组织病理及免疫层析法等）。

思路：由于 CAP 的致病原在不同国家和地区、不同人群、不同时间之间存在明显差异，并随着时间的推移而不断发生变异变迁，而且其病原学的早期诊断特别是特定病原（如 H7N9、H5N1 及 H1N1-2009）的确诊，直接决定治疗后的效果，尽量避免不恰当的经验性治疗，减少抗生素选择的压力，减少重症患者数量，是有效防控、提高治愈率、降低病死率的关键，从而节约医药卫生资源。CAP 不同的致病原引起的临床症状和流行特征存在一定差异，如流感病毒引起的 CAP，主要好发于冬春季节，临床症状以高热、乏力、畏寒等为多见，禽流感病毒（如 H7N9）常导致高热不退，实验室检查白细胞正常或偏低，淋巴细胞常偏低，CRP 正常或升高，对于有潜在心脏疾病者或免疫力低下患者容易引起肺炎，特别是禽流感病毒（H7N9）引起的肺炎，进程很快，肺炎症

学习笔记

状比较严重。CAP 致病原的检测方法中，如病毒常采用 PCR、培养及血清学方法等；细菌通常采用显微镜和培养的方法等。

知识点

人感染 H7N9 禽流感病毒的临床特征

人感染 H7N9 禽流感是由 H7N9 禽流感病毒引起的急性呼吸道感染性疾病。患者一般表现为流感样症状，如发热、咳嗽、少痰，可伴有头痛、肌肉酸痛等症状。潜伏期一般为 3~4 天，多数患者病情发展迅速，多在发病 3~7 天出现重症肺炎，体温大多持续在 39℃以上，常快速进展为急性呼吸窘迫综合征、脓毒症、感染性休克等表现。传染源可能为人呼吸道传播或密切接触携带 H7N9 禽流感病毒的禽类及其分泌物或排泄物而获得感染，或通过接触病毒污染的环境传播至人，不排除有限的非持续的人传人。

知识点

PCR 技术在病毒性肺炎诊断中的应用与注意事项

病毒性肺炎是 CAP 中一种比较常见的类型，而最常见的病毒为流感病毒。随着时间和环境的改变，病毒特别是流感病毒较易发生变异变迁，传染性较强，易造成大流行。流感病毒的亚型多种多样（如 H1N1、H3N2、H1N1-2009、H5N1 及 H7N9 等），给实验室诊断带来极大困难。病毒诊断的传统的方法（如培养、免疫荧光、血清学等）存在一些缺点，无法满足临床快速准确诊断的需要。PCR 技术特别是实时荧光定量 RT-PCR 技术是近年发展起来的新技术，其操作简便、快速高效，敏感性和特异性均较高，此外污染较少，被广泛应用于分子生物学研究，特别是在病毒性疾病诊断中的应用得到迅猛发展，为临床疾病的早期的快速准确的诊断提供了比较可靠的方法。

但值得一提的是，由于 PCR 检测对实验条件（设备和人员等）要求较高，检测费用昂贵等原因，导致其普及不易。此外，PCR 的污染问题也有待完善解决。

【问题 5】住院治疗后为何还要检测病原学？病情突然加重的原因是什么？

住院治疗后，病原学的监测有助于治疗药物的选择、治疗方案的完善及疗效的评价，同时有助于判断继发其他病原感染引起的医院获得性感染。

患者经初始治疗 72 小时后症状无改善或一度改善又突然恶化，通常视为治疗无效或疗效不明显，常见的原因如下：①药物未能有效覆盖病原体或病原体耐药；②特殊病原体感染未检出，如分枝杆菌、真菌、SARS、MERS 和人禽流感病毒等病原体；③并发症，如脓胸、迁徙性病灶、宿主免疫损伤等；④CAP 诊断有误，应重新核实 CAP 的诊断，明确是否为非感染性疾病。

思路：住院治疗后，病原学的检测有助于治疗效果的评价。不同病原对药物的敏感性不同，不同剂量药物浓度、不同给药时间影响病原的清除；此外，临床上 CAP 的呼吸道样本主要来源于痰液和咽拭子，不同的取样时间、取样方式、样本量的多少等都影响病原的检测结果，继发性感染容易加重病情，因此要间断地进行病原学的检测，防止病情的进一步恶化，同时减少医疗费用，节约医疗资源。

知识点

禽流感 H7N9 病毒相关检测

抗病毒治疗之前必须采集呼吸道标本送检（如鼻咽分泌物、口腔含漱液、呼吸道分泌物、气管吸出物），气管深部咳痰或气管吸出物检测阳性率高于上呼吸道标本。有病原学检

学习笔记

测条件的医疗机构应尽快检测，无病原学检测条件的医疗机构应留取标本尽快送指定机构检测。

(1) 核酸检测：对可疑患者呼吸道标本采用 real-time PCR（或普通 RT-PCR）检测 H7N9 禽流感病毒核酸，在人感染 H7N9 禽流感病毒病例早期识别中宜首选核酸检测。对重症病例应定期行呼吸道分泌物核酸检测，直至阴转。有人工气道者优先采集气道内吸取物（ETA）。

(2) 甲型流感病毒抗原检测：呼吸道标本甲型流感病毒抗原快速检测阳性。仅适用于没有核酸检测条件的医疗机构作为初筛实验。

(3) 病毒分离：从患者呼吸道标本中分离 H7N9 禽流感病毒。

(4) 动态检测急性期和恢复期双份血清 H7N9 禽流感病毒特异性抗体水平呈 4 倍或以上升高。

【问题 6】患者肺炎恢复如何？出院标准是什么？如何预防感染？

患者经初始有效治疗后（48~72 小时）表现为体温下降，呼吸道症状可以有所改善，白细胞恢复和 X 线或 CT 显示病灶吸收（一般出现迟缓）。

出院标准：经有效治疗后，患者病情明显好转，同时满足以下 7 项标准时，可以出院（原有基础疾病影响到以下标准判断者除外）：①体温正常超过 24 小时；②平静时心率≤100 次 / 分；③平静时呼吸≤24 次 / 分；④收缩压≥90mmHg；⑤不吸氧情况下，动脉血氧饱和度正常；⑥可以接受口服药物治疗，无精神障碍等情况；⑦特殊 CAP，如人感染 SARS、MERS、H7N9 及 H5N1 禽流感等病原体，需要临床症状基本消失，呼吸道分泌物标本人感染 SARS、MERS、H7N9 及 H5N1 禽流感等病毒核酸检测连续 2 次阴性，可以出院。

预防措施：①预防接种疫苗，减少 CAP 发生的机会；②戒烟、避免酗酒有助于预防 CAP 的发生；③养成良好的卫生习惯和健康的生活方式，如：勤洗手、注意营养、保持充足睡眠和良好体质；出现打喷嚏、咳嗽等呼吸道感染症状时，要用纸巾、手帕等掩盖口鼻，以防感染他人；④尽量减少或避免到特定病原体好发的疫情区和直接接触病死的禽、畜等动物。

思路：根据患者的临床症状（如体温下降、呼吸道症状改善等）和实验室检查（病原连续多次检测均为阴性、白细胞数量恢复正常、X 线或 CT 显示病灶逐步吸收）等情况来判断患者的恢复良好。

知识点

禽流感 H7N9 患者转科或出院标准

1. 因基础疾病或合并症较重，需较长时间住院治疗的患者，待人感染 H7N9 禽流感病毒核酸检测连续 2 次阴性后，可转出隔离病房进一步治疗。

2. 体温正常，临床症状基本消失，呼吸道标本人感染 H7N9 禽流感病毒核酸检测连续 2 次阴性，可以出院。

二、医院获得性肺炎实验室诊断

知识点

医院获得性肺炎的概念

医院获得性肺炎（hospital acquired pneumonia，HAP）是指患者入院时未患有、也不处于

学习笔记

感染潜伏期，而是入院48小时后罹患的肺实质性炎症。HAP是最常见的医院内感染，在我国HAP发病率为1.3%~3.4%，占所有院内感染的29.5%~45.2%。感染HAP可使患者的住院时间显著延长，医疗费用增加，病死率也明显高于社区获得性肺炎（CAP）。HAP在病原学、流行病学和临床诊治上与CAP有显著不同，病原学诊断对HAP处理尤为重要。检验医师应当掌握HAP病原学诊断方法，熟悉当地医院、主要科室耐药菌流行情况，能结合临床表现、炎症指标等，正确解读呼吸道标本培养结果。

病历摘要：

患者男，60岁，农民。因“体检发现肺占位性病变2天”于××××年9月2日入住某医院呼吸科。患者既往体健，吸烟40年，20支/天，未戒。入院后经气管镜活检明确诊断为右下肺鳞癌，临床分期（T2aN0M0，Ⅰb期）。于9月16日行全麻下右下肺癌根治术，术中顺利，术后第二天患者出现发热、体温38℃。术后第三天夜间突发胸闷、气急，伴有大汗淋漓，鼻导管吸氧下指氧饱和度下降至80%~85%，体温38.2℃，心率130次/分，呼吸30次/分，血压90/50mmHg，两肺大量干湿性啰音。

【问题1】根据病史及检查，患者可能的诊断是什么？应与哪些疾病鉴别诊断？

患者男性，有吸烟史，肺部术后第3天（入院17天）发热，两肺大量干湿性啰音，血压、氧饱和度下降。根据患者有肺部手术病史，有发热、肺部啰音，首先考虑医院获得性肺炎。但需与以下疾病鉴别诊断：

（1）肺动脉栓塞：患者术后3天，卧床，有突发氧合下降、血压下降，肺栓塞需要重点排查，但患者无双下肢肿胀、无胸痛咯血。可以检查D-二聚体、肺动脉CTA以进一步明确。

（2）心功能衰竭：患者血压下降，氧饱和度下降，有术后较多液体输注，需要考虑心衰，但患者既往无心血管疾病史，可行心脏超声、脑钠肽（BNP）等检查。

学习笔记

知识点

呼吸机相关肺炎与医疗机构相关性肺炎

2005年美国胸科协会（American Thoracic Society，ATS）和美国感染病协会（Infectious Diseases Society of America，IDSA）指南中明确提出呼吸机相关肺炎（ventilator-associated pneumoniae，VAP）和医疗机构相关性肺炎（health care associated pneumonia，HCAP）也归属于HAP。VAP指经气管插管或切开进行机械通气48~72小时后发生的肺炎，HCAP指的是具有以下特点的肺炎患者：本次感染前90天内因急性病住院治疗，且住院时间超过2天者；住在养老院和康复机构中者；本次感染前30天内接受过静脉抗生素治疗、化疗或伤口护理者；到医院或透析门诊定期接受血液透析者。从未插管的HAP患者获取细菌学资料既困难又不准确，因此现有资料大多来自对VAP的研究，VAP的诊断和治疗原则同样适用于HAP和HCAP。

【问题2】为明确诊断，还需进行哪些辅助检查？

为明确诊断，需要确定患者是否存在肺炎以及肺炎的病原学。因此患者还需进一步进行肺部CT或X线、血常规、血气分析、C反应蛋白（CRP）、血清降钙素原（PCT）、微生物学检测等。

思路：HAP的早期诊断直接影响抗生素的治疗效果，其诊断依据主要为临床表现、实验室炎症指标、影像学改变和病原菌诊断，但都缺乏特异性。HAP临床表现主要有咳嗽（咳脓痰或呼吸道有脓性分泌物）、发热、肺部出现实体和（或）可闻及湿性啰音，白细胞总数及中性粒细胞比例明显升高提示患者为细菌感染。CRP和PCT是近年来临床上常用的判断感染的生物学指标，

CRP 和 PCT 明显增加时也可提示细菌感染，但 CRP 水平在非感染性疾病中也常升高，因此对感染性疾病的诊断特异性较低。PCT 与肺部感染密切相关，其水平升高常提示机体存在细菌感染，且随着病原微生物被清除，PCT 的水平下降，但不是所有的细菌性肺炎患者 PCT 水平都增高，目前还无证据支持 PCT 有助于 HAP 的诊断。胸部 X 线或 CT 影像可见新发生的或进展性的浸润阴影是 HAP 常见表现。临床肺部感染评分（CPIS）综合了临床、影像学和微生物学的情况，超过 6 分即可诊断 HAP，可行性好，但特异性和灵敏度还不满意，研究显示其可用于评估感染的严重程度，指导抗菌药物的调整时机，及时停用抗菌药物，减少不必要的暴露。

患者血气分析：pH 7.42、PO_2 47.4mmHg、PCO_2 38.3mmHg；血常规：白细胞 10.2×10^9/L、中性粒细胞 88.8%、血红蛋白 129g/L、血小板 113×10^9/L；CRP 200mg/L；PCT 1.2ng/ml；D- 二聚体 510μg/L；急诊肺动脉 CTA，见两肺广泛渗出影，未见明显肺动脉栓塞表现；心脏超声未见异常。

【问题 3】根据检查结果应作出怎样诊断？

根据临床表现和实验室检查，患者诊断为：

右下肺癌根治术后，医院获得性肺炎，Ⅰ型呼吸衰竭，感染性休克。

诊断依据：

（1）入院超过 48 小时，有肺部手术史（危险因素）。

（2）影像学提示新的肺部浸润性阴影，发热，炎症指标升高。

（3）氧分压、血压下降。

思路：目前临床上关于 HAP/VAP 的诊断尚无统一标准，目前认为影像学检测发现新的或进展性浸润影加上 3 项临床表现（发热 T>38℃、白细胞增高 $>10\times10^9$/L 或减少 $<4\times10^9$/L、气管脓性分泌物）中至少 2 项，是 HAP 最准确的临床诊断标准。当患者有发热、白细胞增高、脓性痰以及痰或支气管分泌物培养阳性，但影像学没有新出现的浸润影，只能诊断医院获得性气管支气管炎，而不能诊断 HAP。影像学见肺部浸润影加 1 项临床表现，诊断敏感性高，但特异性低（特别对于 VAP），会导致抗生素的过度使用；但如果所有临床表现均满足，敏感性会下降，可能会漏诊很多的 HAP。当上述临床表现 1 项都不存在时，发生 HAP 的可能性很小。对于 ICU 患者出现发热，怀疑有感染存在，但下呼吸道分泌物培养阴性（近期未更换过抗生素），通常提示 VAP 不存在。但如果并发急性呼吸窘迫综合征（ARDS）、出现了难以解释的血流动力学不稳定、在机械通气过程中动脉血氧分压的下降，要警惕发生 HAP 的可能。

患者予以紧急气管插管并转 ICU 治疗，机械通气、呼吸机 PC 模式：PIP/PEEP 28/8cmH_2O、FiO_2 70%，SPO_2 90% 左右；去甲肾上腺素维持血压 120/60mmHg。立即送检痰培养和血培养，同时给予抗感染、对症支持治疗。

【问题 4】该患者如何进行病原学检查？

HAP 的临床表现缺乏特异性，早期获得病原学检查结果对 HAP 的诊断和治疗具有重要意义。HAP 通常由细菌感染引起，真菌和病毒感染少见，可以通过血常规、CRP、PCT 等来判断是否为细菌性感染。所有疑似 HAP 患者均应尽可能在经验性抗感染治疗前采集合格的下呼吸道标本进行病原菌检查，也可进行血培养或胸水培养。

思路：理论上，HAP 的病原学诊断应基于肺活检组织标本细菌培养，或血培养及呼吸道分泌物检出一致的病原菌。然而 HAP 患者病情常较危重，很难耐受经支气管镜肺活检或针吸肺活检，而血培养的阳性率较低。因此痰和气管分泌物仍是目前实验室最常见的送检标本，采集标本时应注意：①留取痰标本以晨痰为佳，嘱患者先清水漱口，深部咳嗽后留脓性痰送检；机械通

学习笔记

气患者可经气管导管内吸引分泌物，但应避免在插管处抽吸气管分泌物；②标本采集后应 2 小时内送至实验室；③应重视显微镜检查，评估痰标本是否合格，每个低倍视野发现 <10 个鳞状上皮细胞，多形核白细胞 >25（↑），存在肺泡巨噬细胞或纤毛柱状上皮细胞，说明标本来自下呼吸道，较少受上呼吸道或口腔污染，标本质量符合培养要求。同时还需注意观察有无白细胞吞噬或伴行现象以及细菌的染色和形态，特别是一些难培养的病原菌。结合痰涂片和培养结果可以提高痰培养结果的准确性；④有条件应送检气管镜采集标本做定量培养，包括支气管肺泡灌洗液标本（bronchoalveolar lavage fluid，BALF）、保护性毛刷（protected specimen brush samples，PSB）、支气管穿刺活检标本。采集顺序为先取支气管灌洗液标本和支气管肺泡灌洗液（BAL），再取毛刷标本和活检标本，避免将血带入收集液中。为防止标本污染，应尽可能避免注射局麻剂，避免从工作腔中吸取标本。

怀疑 HAP 的所有患者应当进行血培养，双瓶双侧。血培养是诊断菌血症的金标准，但对 HAP 诊断的敏感性一般不超过 25%，而且血培养分离到的病原菌也可来自肺外感染。胸腔积液的培养在 HAP 诊断中的研究尚少，若患者有胸腔感染的征象，则要进行诊断性胸腔穿刺，以排除是否并发脓胸或肺炎旁胸腔积液。

嗜肺军团菌在 HAP 患者中并不少见，特别是免疫缺陷患者，如器官移植、HIV 感染、糖尿病、肺病、终末期肺病等。如果医院供水系统中存在嗜肺军团菌，或该院正在进行基础设施建设，则发生嗜肺军团菌 HAP 的机会增加。考虑嗜肺军团菌肺炎可以进行血清学试验检测相应的抗体，双份血清抗体呈 4 倍或 4 倍以上增高可确诊，单份血清抗体滴度≥1∶320 也有诊断意义，还可以检测尿抗原。

在免疫损害宿主还应重视特殊病原体（真菌、卡氏肺孢子虫、分枝杆菌、病毒）的检查。1，3-β-D 葡聚糖（BG）和半乳甘露聚糖（GM）是目前协助临床诊断侵袭性真菌感染常用的生物标志物。

【问题 5】如何选择初始经验性抗菌药物？

该患者为晚发的重症 HAP，当地细菌耐药监测数据显示痰标本中分离菌以铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、肺炎克雷伯菌为主，对碳青霉烯类耐药率 <30%，经验性用药选择亚胺培南联合环丙沙星。

思路：对临床上所有怀疑 HAP 患者，都应迅速给予恰当的抗菌药物治疗，延缓或不恰当的抗菌药物治疗，可能导致患者病死率升高，但不必要的过度应用广谱抗菌药物会导致耐药菌的增加，治疗策略需要在这两者之间平衡。

选择经验性抗菌药物时，要重点考虑：患者的病情严重程度、HAP 发生时间、本地区（甚至本病区）细菌流行病学监测资料（如病原菌谱及耐药谱等）、多重耐药菌（MDR）感染危险因素，力求覆盖可能的病原菌。早发 HAP（入院≤4 天）的病原菌与 CAP 相似，主要为肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、MSSA 及非耐药肠杆菌科细菌（如肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌），而晚发 HAP 病原体以 MDR 菌株为主，如铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、产 ESBLs 肺炎克雷伯菌、MRSA 和嗜肺军团菌。国内的流调数据显示早发性和迟发性 HAP 分离菌的构成并没有显著差别，以鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌和肺炎克雷伯菌为主。

MDR 所致 HAP 感染危险因素包括：HAP 发病前 90 天内使用过抗生素治疗；住院时间超过 5 天；当地 MDR 分离率高；存在 HCAP 危险因素（本次感染前 90 天内在医院住院 >2 天、住在养老院或康复医院、本次感染前 30 天接受过静脉抗生素、化疗或伤口护理、定期到医院接受血液透析）、免疫缺陷或接受免疫抑制剂治疗。

临床上要获得最佳的治疗效果，不但要选择合适的抗菌药物，而且还要根据药物的 PK/PD 特点，选择合适的给药剂量和给药方法，通常优先选用杀菌的抗菌药物而不选用抑菌的抗菌药物。

学习笔记

知识点

HAP 可能的致病菌和推荐的抗菌药物

HAP 分类	可能致病菌	推荐的抗菌药物方案
无 MDR 感染危险因素、早发、任何严重程度	流感嗜血杆菌、MSSA、肺炎链球菌、敏感的肠杆菌科细菌如大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、变形杆菌属、肠杆菌属、粘质沙雷菌	头孢曲松，或左氧氟沙星、莫西沙星、环丙沙星，或氨苄西林 / 舒巴坦，或厄他培南
有 MDR 感染危险因素、晚发、重症	上述病原菌和 MDR 如铜绿假单胞菌、产 ESBLs 肺炎克雷伯菌、不动杆菌、MRSA 和军团菌	抗假单胞菌的头孢类（头孢他啶、头孢吡肟）或碳青霉烯类（亚胺培南、美洛培南）或 β- 内酰胺类 / 酶抑制剂（哌拉西林 / 他唑巴坦）联合氟喹诺酮类（左氧氟沙星、环丙沙星）或氨基糖苷类（阿米卡星、庆大霉素、妥布霉素）；如有 MRSA 还需联合万古霉素或利奈唑胺

注：如果怀疑嗜肺军团菌感染，抗生素的联合治疗应包括一种大环内酯类（如阿奇霉素）或氟喹诺酮类（如环丙沙星或左氧氟沙星）药物

入 ICU 第 3 天后，患者体温 39.0℃，血常规：白细胞 5.9×10^9/L、中性粒细胞 91.5%、血红蛋白 93g/L、血小板 122×10^9/L；CRP 231.2mg/L；PCT 1.0ng/ml；痰涂片结果：低倍镜下白细胞 >25，上皮细胞 <10，可见中量阴性杆菌；培养结果：铜绿假单胞菌大量生长，亚胺培南、哌拉西林 / 他唑巴坦、头孢吡肟、头孢哌酮 / 舒巴坦、环丙沙星敏感。

【问题 6】如何解读呼吸道标本培养结果？

该患者合格痰标本中分离到大量优势生长的铜绿假单胞菌，且与涂片结果所见吻合，应考虑铜绿假单胞菌为可能的病原菌。

思路 1：患者自行咳出的痰标本易受上呼吸道定植菌的污染，机械通气患者通过人工气道直接气管分泌物可以避免上呼吸道定植菌的污染，但留置人工气道超过 4~5 天，下呼吸道即可发生细菌定植。如何区分呼吸道标本分离菌是定植菌还是感染菌，是呼吸道感染临床诊断所面临的最大困惑，也是迄今尚未解决的难题。通常需要从标本采集方法、标本质量、细菌浓度（定量或半定量培养）、涂片所见等，结合患者的基础疾病、临床表现、影像学特征、炎症指标等，综合评价阳性培养结果的临床意义。呼吸道标本病原学检查结果主要是假阳性，阴性结果可以排除 HAP 或某些病原菌。

呼吸道标本半定量和定量培养结果能为临床提供重要参考价值。合格痰标本半定量培养，在第二区以上大量生长的细菌（中量以上），或生长少量但见于革兰染色与炎症细胞相关的病原菌判定为有临床意义。下呼吸道分泌物定量培养对 HAP 诊断更有价值，特别是那些低度怀疑 HAP 患者。支气管抽吸物诊断阈值为 10^6 CFU/ml，支气管肺泡灌洗液诊断阈值为 10^4CFU/ml；保护性毛刷诊断阈值为 10^3 CFU/ml。阈值浓度以上的生长对肺炎有诊断价值，而低于阈值浓度的生长则考虑定植，但仍需结合宿主因素、细菌种属和抗菌药物使用情况综合评估。呼吸道分泌物分离到的表皮葡萄球菌、除奴卡菌外的其他革兰阳性杆菌、除流感嗜血杆菌外的嗜血杆菌属细菌、微球菌、肠球菌和厌氧菌临床意义不明确。

真菌感染引起的 HAP 较为少见，主要见于免疫功能受损及长期应用广谱抗生素的宿主。曲霉菌、念珠菌属、新型隐球菌等是常见病原菌，但是气管分泌物念珠菌等培养阳性意义尚不确

学习笔记

定，培养阳性不能确定真菌性肺炎，必须结合临床及病理组织学来判断。

思路 2：在经验性用药 48~72 小时后，应及时评估患者对治疗的反应，一旦获得血或呼吸道分泌物培养结果，或患者对治疗无反应，就应该对经验性抗生素治疗进行调整。这种调整包括初始治疗未覆盖的致病菌（主要是耐药菌），又包括初始治疗有效、需要降阶梯换用窄谱抗生素。初始治疗无效可能有三方面原因：诊断错误、宿主因素（高龄、长时间机械通气、呼衰等）、细菌因素（未覆盖耐药菌或少见致病菌），需扩大鉴别诊断范围，重新送检标本培养。

HAP 患者开始抗生素治疗后，还应连续进行下呼吸道标本的病原菌和耐药性监测。由铜绿假单胞菌感染所致的 HAP，在接受单药治疗时有 30%~50% 可产生耐药性的变化，每隔 3~4 天应重复药敏试验。

三、肺结核的实验室诊断

病历摘要：

患者男，65 岁。1 个月前出现咳嗽、咳黄白色黏痰，痰中偶尔有血丝，10 天前自觉咳嗽、咳痰加重，乏力且出现低热，体温 38℃左右，午后或夜间为主，今来我院就诊。患者胃纳正常，大小便如常，体重未见明显减轻。既往无高血压、糖尿病病史，无食物、药物过敏史，无长期用药史，吸烟 30 余年。查体：T 38.2℃，P 90 次 / 分，R 20 次 / 分，BP 110/70mmHg，精神尚可，颈软，皮肤、巩膜无黄染，浅表淋巴结未及肿大，心脏听诊无异常，两肺呼吸音清，未闻及明显干湿啰音，腹平软，未及压痛、反跳痛，肝脾肋下未触及，移动性浊音阴性，双下肢无水肿。

学习笔记

【问题 1】通过上述问诊与查体，该患者可疑的诊断是什么？需与哪些疾病鉴别诊断？

根据患者的主诉、症状，怀疑肺结核（pulmonary tuberculosis，PTB）。

鉴别诊断：①其他细菌、真菌或病毒感染性肺炎；②慢性阻塞性肺疾病；③肺癌；④支气管扩张。

知识点

传染性肺结核病

肺结核是结核分枝杆菌引起的慢性肺部感染性疾病，占各器官结核病总数的 80%~90%，其中痰中排菌者称为传染性肺结核病。

【问题 2】为明确诊断，应进行哪些检查？

为明确诊断，排除其他疾病，应行以下检查：肺部影像学（胸部 X 线或 CT）、痰涂片找抗酸杆菌、分枝杆菌培养及鉴定、γ- 干扰素释放试验、结核抗体检查、血常规、红细胞沉降率和 C- 反应蛋白。

思路：肺部影像学检查是诊断肺结核的必备条件，对确定病变部位、范围、性质，了解其演变及选择治疗具有重要价值。痰结核菌检查是确诊肺结核最特异的方法，对于菌阴肺结核需要进行 γ- 干扰素释放试验、结核抗体检查、血常规、红细胞沉降率等试验以辅助诊断。

知识点

肺结核的诊断标准

痰液或肺泡灌洗液中培养分离到结核分枝杆菌是诊断肺结核的金标准。菌阴肺结核是指三次痰涂片及一次培养阴性的肺结核，其诊断标准为：①典型肺结核临床症状和胸片

影像学表现；②抗结核治疗有效；③临床可排除其他非结核性肺部疾病；④PPD（5TU）强阳性，血清抗结核抗体阳性；⑤痰结核菌 PCR+ 探针检测阳性；⑥肺外组织病理证实结核病变；⑦支气管肺泡灌洗液（bronchoalveolar lavage fluid，BALF）检出抗酸分枝杆菌；⑧气管镜或肺部组织病理证实结核病变。具备 1~6 中 3 项或 7~8 条中任何 1 项可确诊。

患者胸部 CT 扫描结果：病变累及多叶，呈多形态性，且右上肺多发空洞，双肺多发结节，结节密度不均，有的多枚融合，少量胸腔积液。痰液涂片找到抗酸杆菌，痰液培养结核分枝杆菌阳性。T-SPOTTB 试验阳性；血常规：白细胞计数 5.0×10^9/L，中性粒细胞 60.8%，淋巴细胞 23.8%，血红蛋白 132g/L，血小板计数 288×10^9/L；超敏 C- 反应蛋白 8.00mg/L；红细胞沉降率 76mm/h。

【问题 3】根据检查结果，应作出怎样的诊断？依据是什么？

该患者诊断为：肺结核。

诊断依据为：①患者咳嗽、咳痰且痰中有血丝，低热并以午后或夜间为多；②痰液中分离到结核分枝杆菌；③肺部影像学提示肺结核特征性形态。

思路：对疑为肺结核的患者，应立即开展痰结核菌检查，包括痰涂片找抗酸杆菌和痰分枝杆菌培养。涂片抗酸染色镜检快速简便，为提高检出率，需留取三份痰（清晨痰、夜间痰和随机痰）进行涂片。分枝杆菌培养虽费时，但敏感性和特异性均高于涂片检查。痰液中分离到结核分枝杆菌可明确诊断，若菌阴性，需开展 γ- 干扰素释放试验、结核抗体、红细胞沉降率、痰结核菌 PCR、气管镜或肺部组织病理等辅助性检查。

【问题 4】涂片找到抗酸杆菌，是否需要进行分枝杆菌培养？

涂片抗酸染色和分枝杆菌培养均应进行，不能偏废，培养有助于菌种的鉴定和药物敏感性测定。

思路：结核分枝杆菌、非结核分枝杆菌、麻风分枝杆菌和奴卡菌均可表现为抗酸染色阳性。近年来，非结核分枝杆菌感染日益严重，其临床表现和影像学特征难以同结核分枝杆菌感染鉴别，但它对抗结核药物往往无效，其抗菌药物的选择与菌种类型密切相关。因此，分枝杆菌菌种鉴定对分枝杆菌感染的诊断和治疗至关重要。分枝杆菌菌种鉴定的方法主要有 PCR- 限制酶分析、16sRNA、热休克蛋白 hsp65 等通用靶标基因测序、基因芯片技术、PCR-SSCP 技术、色谱分析。此外，通过培养可以获得分枝杆菌菌株，以便开展敏感性试验。目前，分枝杆菌药敏试验包括直接法和间接法，间接法最常用的方法有：绝对浓度法、比例法、E-test 法和快速药敏法。

知识点

非结核分枝杆菌肺病的诊断标准

非结核分枝杆菌（nontuberculous mycobacteria，NTM）是指结核分枝杆菌和麻风分枝杆菌以外的所有分枝杆菌。

NTM 肺病：具有呼吸系统和（或）全身性症状，经放射影像学检出有肺内病变，已排除其他疾病，在确保标本无外源性污染的前提下，符合以下条件之一者，结合放射影像学和临床作出 NTM 肺病的诊断：①痰 NTM 培养 3 次均为同一致病菌；②痰 NTM 培养 2 次均为同一致病菌，1 次抗酸涂片阳性；③气管镜灌洗液 NTM 培养 1 次阳性，阳性 ++ 以上；④支气管肺组织活检物 NTM 培养阳性；⑤肺活检见与 NTM 改变相似的肉芽肿，痰或气管镜灌洗液 NTM 培养阳性。

学习笔记

【问题 5】除涂片找抗酸杆菌、分枝杆菌培养，目前还存在哪些实验室项目有助于肺结核诊断，相应的临床意义是什么？

根据肺结核诊断标准，除痰结核菌检查，结核分枝杆菌核酸检测、免疫学检测和红细胞沉降率等有助于疾病的诊断。

思路 1：结核分枝杆菌核酸检测在肺结核诊断中的意义及注意事项

PCR 法能快速检测结核分枝杆菌，其特异性和敏感性均大于 95%，高于涂片和培养方法，但亦有假阳性的可能，因此仅结核分枝杆菌 DNA 试验阳性不能确诊为结核病，需结合其他项目综合评价。此外，DNA 检测不能区分死菌或活菌，因而该项目不能用于抗结核治疗疗效的评价。

思路 2：免疫学检测在肺结核诊断中的意义及注意事项

结核菌进入人体，可诱导细胞免疫和体液免疫，活动期细胞免疫功能低下，抗体效价升高；恢复期或稳定期，细胞免疫功能增强，而抗体效价下降。目前，主要有结核菌素试验、全血干扰素测定、结核菌抗原和抗体检测。

(1) 结核菌素试验：阳性反应表示感染，在 3 岁以下婴幼儿按活动性结核病论；成人强阳性反应提示活动性结核病可能，应进一步检查；阴性反应特别是较高浓度三期试验仍阴性则可排除结核病。尚有少数患者已证明活动性结核病，不存在免疫抑制疾病或药物、急性病毒感染、营养不良、肿瘤、结节病等影响因素，但结核菌反应阴性。

(2) 全血干扰素释放试验：单个核细胞与纯蛋白衍生物和对照抗原共同孵育后，致敏的淋巴细胞可分泌 γ 干扰素，通过检测 γ 干扰素的含量来鉴定菌种。该试验的结果与结核菌素试验相当，但敏感性显著高于结核菌素试验，受卡介苗接种的影响小，同时可避免结核菌素试验在操作和结果判断上存在的主观因素的影响。该试验的阳性预测值并不高，在一定程度上限制了其在结核病患者预测诊断中的应用，但其阴性预测值较高，可用于排除活动性结核病的诊断。该试验对肺内、肺外结核的灵敏度和特异性均大于 90%。目前已有两种较为成熟的方法，即 Quanti FERON-TB GOLD 和 T-SPOTTB 试验，应用结核分枝杆菌早期分泌抗原靶和培养滤液蛋白特异抗原刺激细胞检测。

(3) 结核抗体检测：阳性提示曾感染结核分枝杆菌，阴性表明未感染过结核分枝杆菌。抗体检测方法简便、快速，其特异性有赖于所用抗原。脂质阿拉伯聚糖，相对分子质量为 38kD、30kD 和 16kD 的蛋白质为靶抗原，其抗体在活动性肺结核患者中检测敏感性为 82%~89.7%，特异性为 95.7%~97.5%。

思路 3：红细胞沉降率和血常规检查在肺结核诊断中的意义及注意事项

红细胞沉降率：肺结核患者红细胞沉降率大多增快，它对肺结核的鉴别诊断无特殊意义，仅能作为判断病情活动性的指标。

血象：肺结核患者的血白细胞计数一般正常。在急性进展期血白细胞可略高，并有核左移现象。急性粟粒型肺结核白细胞计数可偏低，重症肺结核时可发生类白血病样血象。

【问题 6】该患者确诊为肺结核，应如何治疗？

针对初治涂阳肺结核患者，采取 HRZE 方案治疗，注意观察抗结核过程中出现的副反应，如胃肠道反应、皮疹、肝肾损害等，注意定期复查血常规、肝肾功能、C 反应蛋白、血沉、痰菌状况和肺部影像。

思路：肺结核的化学药物治疗是治疗和控制疾病的主要手段，必须遵守早期、联合、规则、适量和全程的原则，选择不同治疗方案。对于强化治疗 9~12 个月，痰菌仍阳性的干酪病灶、厚壁空洞等，一侧毁损肺、支气管结核管腔狭窄伴远端不张或肺化脓症，不能控制的大咯血，并发肺癌的可能，结核性脓胸或伴支气管胸膜瘘的患者可以选择手术治疗。

学习笔记

知识点

结核病标准化疗方案和 WHO 推荐 MDR-TB 化疗方案

中国结核病标准化疗方案

结核病	强化期	巩固期
初治涂阳肺结核	2HRZE(S)	4HR
(包括Ⅱ型、Ⅲ型肺结核)	2HRZE(S)	$4H_3R_3$
	$2H_3R_3Z_3E_3$(S)	$4H_3R_3$
	2RIFATER	4RIFINAH
初治涂阴肺结核	2HRZ	4HR
	2HRZ	$4H_3R_3$
	$2H_3R_3Z_3$	$4H_3R_3$
复治涂阳肺结核	2HRZES/1HRZE	5HRE
(含复发涂阳肺结核)	2HRZES/1HRZE	$5H_3R_3E_3$
	$2H_3R_3Z_3E_3S_3/1H_3R_3Z_3E_3$	$5H_3R_3E_3$

注:H:异烟肼,R:利福平,Z:吡嗪酰胺,S:链霉素,E:乙酰丁胺,RIFATER:卫非特,RIFINAH:卫非宁

WHO 推荐 MDR-TB 化疗方案

	强化期	巩固期
耐 HR(同时耐或不耐 S)	KM(AMK、CPM)+PTH+PZA+OFL+EMB 至少 3 个月	PTH+OFL+EMB 18 个月
耐 HRE(同时耐或不耐 S)	KM(AMK、CPM)+PTH+PZA+OFL+CS 至少 3 个月	PTH+OFL+CS 18 个月

注:KM:卡那霉素,AMK:阿米卡星,CPM:卷曲霉素,PTH:丙硫异烟肼,PZA:吡嗪酰胺,OFL:氧氟沙星,EMB:乙胺丁醇,CS:环丝氨酸

(陈　瑜)

第三节　生殖泌尿道感染

生殖泌尿系统感染(infections of the genitourinary system)是仅次于呼吸系统感染的常见社区感染,而泌尿道感染(urinary tract infections, UTIs)和性传播性疾病(sexually transmitted diseases, STDs)是年轻人,尤其是年轻女性就诊最常见的两种疾病。

泌尿道分为上、下两部分。上泌尿道感染包括肾脓肿、肾盂肾炎、输尿管炎,下泌尿道感染包括膀胱炎、尿道炎。女性生殖道亦分上、下两部分,上生殖道感染包括盆腔炎、输卵管炎、子宫内膜炎,下生殖道感染包括宫颈炎、阴道炎、外阴炎。男性生殖系统常见感染有急性细菌性前列腺炎、附睾炎。性传播疾病属于生殖道感染。

病历摘要 1:

患者女,20 岁。无心脏病、糖尿病和结核病史,有 3 个月尿道感染史,口服氨苄西林进行治疗,未出现并发症。入院前 5 天,患者出现恶心但无呕吐。1 天后出现左腹痛、发热、寒战、小便频繁。患者自述入院前 1 天出现尿液发臭。查体:T 38.8℃,P 85 次 / 分,左肋脊角压痛,肝、脾未触及。

学习笔记

【问题1】通过上述问诊、查体，该患者的可疑诊断是什么？需与哪些疾病鉴别诊断？

根据患者病史、问诊、查体及实验室检查结果，该患者高度怀疑病原菌引起的尿路感染。

鉴别诊断：尿道综合征、泌尿系结核、慢性肾小球肾炎、全身感染性疾病。

知识点

UTI流行特点

在成人患者中，90%非复杂型UTI发生于女性。尿路感染是年轻人，尤其是年轻女性就诊最常见的原因之一。

许多因素导致尿路感染女性比男性多见。女性尿道短且直，尿道口定植的微生物易上行至膀胱发生感染。性生活可使定植在尿道口的细菌进入泌尿道，因此，性生活频繁的女性尿路感染更为常见。然而，男性尿道解剖结构与女性不同，且前列腺液具有抗菌作用，不易发生尿路感染。

值得注意的是，由于插管是医院获得性尿路感染的主要原因，医院尿路感染发病率无性别差异。

【问题2】为明确诊断，应进行哪些检查？

为确诊尿路感染，需进行血液常规检查、尿液常规检查、细菌学检查。而为确诊单纯性尿路感染或排除复杂性尿路感染，需进行影像学检查以了解有无尿路结石、梗阻、畸形、反流等导致尿路感染反复发作的因素。

思路：尿路感染如能及时治疗，并发症很少，但伴有糖尿病和(或)存在复杂因素的尿路感染，未及时治疗或治疗不当时，可出现多种并发症。急性肾盂肾炎全身症状明显时易被误诊为流行性感冒、疟疾、脓毒症、伤寒等。但这些疾病同时有各自特异的临床特征及实验室检查异常，通过病史询问，注意有无尿路刺激症状、肾区叩压痛，结合尿沉渣及尿细菌学检查可鉴别。

知识点

复杂性尿路感染的危险因素

尿路感染根据患者是否存在基础疾病、尿路解剖与功能异常，分为单纯性尿路感染和复杂性尿路感染。复杂性尿路感染患者常伴有免疫功能低下的基础疾病(如糖尿病、肝硬化等)、使用免疫抑制剂、泌尿道解剖或功能异常出现尿路梗阻和泌尿系统畸形等。单纯尿路感染则无上述危险因素。

复杂性尿路感染患者若不及时治疗或治疗不当时，可出现多种并发症。急性肾盂肾炎全身症状明显时易被误诊为流行性感冒、疟疾、脓毒症、伤寒等，应通过病史询问，注意有无尿路刺激症状、肾区叩痛，结合尿沉渣及尿液细菌学检查进行诊断，并根据以上疾病特异的临床症状和体征以及实验室检查排除诊断。

检查结果：B超显示无尿路结石。血常规WBC 1.2×10^9/L，N 80%；尿常规WBC ++++，RBC++，亚硝酸盐阳性，尿蛋白+，细菌+++。尿液显微镜检查WBC>50个/HPF，RBC 3~10个/HPF。中段尿定量培养为大肠埃希菌 $>10^5$CFU/ml。

【问题3】依据B超和实验室检查结果，应作出怎样的诊断？依据是什么？

该患者可诊断为急性肾盂肾炎。

诊断依据：①实验室检查支持尿路感染；②患者有尿路刺激征、发热、肾区压痛等急性肾盂肾炎典型临床症状；③B超检查无尿路结石等尿路梗阻征象，患者无糖尿病等免疫功能低下病

学习笔记

史，可排除复杂性尿路感染。

思路 1：对怀疑急性肾盂肾炎患者，可结合临床症状、实验室检查、影像学检查进行诊断。该患者有尿路刺激征、感染中毒症状、腰部不适等，结合尿液常规 WBC、RBC、亚硝酸盐等和尿液细菌性检查，符合尿路感染。真性菌尿的存在进一步表明有尿路感染，但不能判定是上尿路感染或下尿路感染。B 超检查排除合并尿路梗阻、积脓、结石等。

思路 2：膀胱炎和肾盂肾炎的鉴别，需要临床信息、体检发现、实验室信息

从实验室角度看，二者的病原谱相似，中段尿细菌培养无助于两种疾病的鉴别诊断。急性肾盂肾炎以血白细胞总数和中性粒细胞升高为显著特征，而急性膀胱炎血常规无明显异常。从临床信息角度看，急性肾盂肾炎往往有较为明显的全身症状，以体温升高为显著特征，并常伴发热、畏寒、头痛、恶心呕吐、食欲不振等；而急性膀胱炎除有严重的尿路刺激征（即尿频、尿急等）和排尿时有尿道烧灼感外，并无明显全身症状。必要时，可采取 X 线或膀胱镜检查鉴别两种类型的感染，通常情况下根据临床症状即可诊断。

知识点

尿路感染诊断步骤

1. 确定尿路感染　典型尿路感染表现为尿路刺激征、感染中毒症状、腰部不适等，结合尿液常规检查和细菌学检查。符合下列指标之一者，可诊断尿路感染：新鲜中段尿沉渣革兰染色显微镜检查（油镜）细菌数 >1 个 /HP；新鲜中段尿细菌培养菌落计数 $\geq 10^5$CFU/ml；膀胱穿刺尿培养阳性。凡是真性细菌尿者，均可诊断为尿路感染。

2. 尿路感染定位诊断　真性菌尿只能诊断尿路感染，无法鉴别上尿路感染抑或下尿路感染，定位诊断需考虑以下因素。

（1）根据临床表现定位：上尿路感染常出现发热、寒战甚至毒血症状，伴明显腰痛，输尿管点和（或）肋脊点压痛、肾区叩击痛等。下尿路感染常以膀胱刺激征为突出表现，少有发热、腰痛等表现。

（2）根据实验室检查定位：以下实验室检查结果提示上尿路感染，即膀胱冲洗后尿细菌培养阳性；尿沉渣镜检有白细胞管型，排除间质性肾炎、狼疮性肾炎等疾病；尿 NAG 升高、尿 β_2-MG 升高；尿渗透压降低。

3. 确定病原体　细菌学检查可明确病原体。

4. 排除潜在致病因素　对于反复发作的尿路感染，应积极寻找危险因素，如泌尿系统畸形、梗阻，糖尿病，肝硬化或其他免疫功能低下的病因。

5. 慢性肾盂肾炎的诊断标准　判断急性还是慢性肾盂肾炎，除反复发作尿路感染病史外，尚需结合影像学及肾脏功能检查：①肾外形凸凹不平，双肾大小不等；②静脉造影可见肾盂肾盏变性、狭窄；③持续性肾小管功能损害。具备上述①②任何一项再加③可诊断慢性肾盂肾炎。

【问题 4】尿液常规检查和细菌学定量培养对于急性肾盂肾炎诊断的意义。

根据尿路感染诊断思路，尿液常规检查和细菌学定量培养可帮助确诊尿路感染及感染病原体。

思路 1：尿液常规检查在尿路感染中的意义和注意事项

正常人尿液白细胞数 0~5 个 /HP。尿液白细胞数 >10 个 /HP、硝酸盐阳性，可预测菌尿（10^5CFU/ml），其敏感性和特异性分别为 63%~69% 和 90%。值得注意的是，尿液白细胞数 <10 个 /HP，不能排除上尿路感染，此外，非感染性肾脏疾病时，尿液白细胞数可超出正常范围。

尿液红细胞数 >3 个 /HP 为镜下血尿，见于急性肾小球肾炎、急性肾盂肾炎、肾结核、泌尿系

学习笔记

统结石、肿瘤或出血性疾病等。40%~60% 膀胱炎患者出现镜下血尿。尿液红细胞计数诊断尿路感染敏感性高，特异性差。

清洁尿液中存在细菌称为菌尿。清洁尿液是指患者清洁外阴部，弃除前段尿后所留取的中段尿。由于尿道口定植了正常菌群，操作不当时易污染中段尿，若不能在 1 小时内进行检测，室温下污染细菌将在尿液中繁殖，导致假阳性结果。虽然菌尿有助于明确尿道感染诊断，但应正确评价尿常规检查报告的菌尿结果。

思路 2：尿液细菌学检查在尿路感染中的意义和注意事项

正常情况下，尿液是无菌的。然而，由于尿道口定植了正常菌群，即使规范化操作留取中段尿，亦常发生污染，若及时处理标本，细菌浓度常低于 10^3CFU/ml。尿标本定量培养有助于鉴别尿道定植和尿路感染。

尿路感染患者尿液中通常含有高浓度、单一菌种，多种细菌混合感染病例少见。自 1960 年起，尿培养细菌菌落计数≥10^5CFU/ml 确定为尿路感染的诊断指标，此标准对尿路感染诊断的特异性较高，但 1/3 有下尿路症状的急性膀胱炎患者尿培养菌落计数小于 10^5CFU/ml，因此，如果以菌落计数≥10^2CFU/ml 作为尿路感染诊断标准，其敏感性较高、特异性较低，分别为 95%、85%。对于有尿路感染症状的女性患者，若尿培养分离到大肠埃希菌、肺炎克雷白菌、肠杆菌属细菌、变形菌属细菌、腐生葡萄球菌等时，即使菌落计数为 10^2CFU/ml，仍提示尿路感染；使用抗菌药物治疗者以≥10^3CFU/ml 作为尿路感染诊断标准，其敏感性为 80%，特异性为 90%。

知识点

尿液细菌培养结果解释

尿液常规检查可提示尿路感染。中段尿培养菌落计数≥10^4CFU/ml，排除假阳性因素，可诊断尿路感染。然而，目前尚无固定标准的菌落计数用于所有类型的尿路感染诊断，应结合临床表现分析。

美国感染疾病学会（IDSA）、欧洲临床微生物学和感染疾病学会（ESCMID）制定的尿路感染细菌培养诊断标准为：急性非复杂性膀胱炎中段尿培养≥10^3CFU/ml；急性非复杂性肾盂肾炎中段尿培养≥10^4CFU/ml；女性中段尿培养≥10^5CFU/ml、男性中段尿培养或女性复杂性尿路感染导尿标本培养≥10^4CFU/ml。

患者进行一般治疗和经验性抗菌药物治疗 3 天仍无效。

【问题 5】为何抗菌药物治疗无效？原因是什么？

经验性抗菌药物治疗无效的重要原因是细菌对该抗菌药物耐药，应根据药敏试验结果及时更换治疗药物。

某种程度上，UTI 病原体的耐药性与肠道菌群相关。在抗菌药物选择性压力下，肠道细菌中编码耐药性的质粒转移至敏感菌，导致对某种抗菌药物耐药。由于质粒可能还携带对其他抗菌药物耐药的基因，最终可能导致多重耐药菌的产生。

知识点

尿路感染经验性治疗选药原则

尿路感染经验性治疗的目标是以最少的不良反应、最小的细菌耐药性、不贵的药物获得最佳的治疗效果。选药原则如下：①对病原菌敏感的抗菌药物。未获得病原学检验结果

学习笔记

以前，一般首选对革兰阴性杆菌有效的药物，尤其是首发的尿路感染。若治疗3天症状无改善，应根据药敏试验结果调整用药；②抗菌药物在尿液和肾脏内浓度高；③肾毒性小，毒副作用少；④单一药物治疗失败、严重感染、混合感染或出现耐药菌株时，应联合用药；⑤不同类型的尿路感染疗程不同。常用抗菌药物包括磺胺类、β-内酰胺类（青霉素类、头孢菌素类）、氨基糖苷类（如庆大霉素、阿米卡星、妥布霉素等）以及喹诺酮类（如诺氟沙星、氧氟沙星等）。

病历摘要2：

患者女，27岁。主诉下腹痛，发热、畏寒2日，阴道分泌物增多及排尿困难1周。近1年有性伴侣4名，偶尔采取避孕措施（避孕套）。未进行性传播疾病检查和治疗。查体：T 38.4℃，P 104次/分，R 16次/分，BP 112/68mmHg。妇科检查发现阴道充血肿胀，宫颈口脓性分泌物外溢，下腹部压痛，附件压痛，宫颈举痛。子宫、输卵管和卵巢软，未肿大。

【问题1】通过上述病史、查体，该患者的可疑诊断是什么？需与哪些疾病鉴别？

根据病史和查体，高度怀疑急性盆腔炎（pelvic inflammatory disease，PID）。需与子宫内膜异位症、盆腔淤血综合征、卵巢肿瘤、急性阑尾炎、卵巢囊肿蒂扭转或破裂鉴别诊断。

知识点

急性盆腔炎主要病原体

PID是由女性上生殖道炎症引起的一组疾病，包括子宫内膜炎、输卵管炎、输卵管卵巢囊肿和盆腔腹膜炎。性传播疾病主要病原体为淋病奈瑟菌和沙眼衣原体，存在于阴道的细菌，如厌氧菌、流感嗜血杆菌、阴道加特纳菌、肠道革兰阴性杆菌及无乳链球菌等，巨细胞病毒、人型支原体、生殖支原体、解脲脲原体等均可能与PID的发生有关。

【问题2】为明确诊断，应进行哪些检查？

为明确诊断，需检测淋病奈瑟菌和沙眼衣原体，如淋球菌涂片、培养、PCR，衣原体抗原检查等。

思路：急性PID的症状及体征差异较大，临床诊断较困难。许多PID患者症状轻微或不典型，延误诊治可能导致上生殖道感染后遗症，如输卵管不孕。输卵管卵巢脓肿是急性盆腔炎的主要并发症之一，在盆腔炎住院治疗的妇女中发生率达15%~30%。

知识点

盆腔炎诊断

最低标准：宫颈举痛或子宫压痛或附件区压痛。根据患者STD危险因素决定是否开始经验治疗。最低标准诊断敏感性高，特异性差，可能导致发病率假性升高。附加标准可提高诊断的特异性，支持PID的诊断。

附加标准：体温>38.3℃；宫颈或阴道异常黏液脓性分泌物；阴道分泌物湿片见大量白细胞；红细胞沉降率升高；血C-反应蛋白升高；实验室检测宫颈淋病奈瑟菌或衣原体阳性。多数患者有宫颈黏液脓性分泌物或阴道分泌物湿片见大量白细胞。若宫颈分泌物镜下正常且无白细胞，需慎重诊断PID。阴道分泌物湿片检测可提示合并阴道感染（细菌性阴道病或滴虫性阴道炎）。

学习笔记

特异标准：子宫内膜活检组织学证实子宫内膜炎；阴道B超或核磁共振检查显示输卵管增粗，输卵管积液，伴或不伴盆腔积液、输卵管卵巢肿块；或腹腔镜检查发现PID征象。特异标准仅适用于有选择的病例。若腹腔镜未发现输卵管炎症，则需行子宫内膜活检，因一些PID患者可能仅有子宫内膜炎体征。

实验室检查结果：血沉 31mm/h；血细胞比容正常；血常规：WBC 1.34×10^9/L，分类：多形核白细胞68%，杆状核细胞8%，淋巴细胞15%；阴道分泌物涂片发现革兰染色阴性双球菌，培养鉴定为淋病奈瑟菌；衣原体抗原阴性。

【问题3】根据实验室检查结果，应作出怎样的诊断？依据是什么？

诊断为淋菌性盆腔炎。

诊断依据：①下腹痛，妇科检查发现宫颈举痛、附件区压痛、宫颈脓性分泌物，多个性伴侣且仅偶尔采取避孕措施（STD危险因素）；②实验室检查发现淋病奈瑟菌。

思路：对于怀疑STD盆腔炎，应立即检查淋病奈瑟菌、沙眼衣原体、HIV。衣原体无症状携带率高（超过25%），主要与男性有关，所致盆腔炎常为亚临床或隐匿性感染，病情迁延反复发作。淋球菌感染临床表现与机体健康状况、细菌毒力、感染部位等因素有关。

知识点

淋病的临床特点

淋病可发生于任何年龄，以性活跃的中青年多发。潜伏期2~10天，平均3~5天，潜伏期患者具有传染性。淋病可分为：①单纯性淋病，如淋菌性尿道炎、淋菌性宫颈炎、淋菌性肛门直肠炎、淋菌性咽炎和淋菌性结膜炎；②淋病并发症，如淋菌性前列腺炎、淋菌性精囊炎、淋菌性附睾炎，女性淋病的主要并发症为淋菌性盆腔炎（包括急性输卵管炎、子宫内膜炎、继发性输卵管卵巢脓肿及破裂后所致的盆腔脓肿、腹膜炎等），反复发作可造成输卵管狭窄或闭塞，导致异位妊娠、不孕或慢性下腹痛等；③播散性淋球菌感染，占淋病患者1%~3%，常见于月经期或妊娠妇女。淋球菌通过血管、淋巴管播散全身，不及时治疗可危及生命。

病历摘要3：

患者女，26岁，已婚。体检发现梅毒血清学试验抗体阳性（EIA法）。否认高血压、糖尿病史；否认食物药物过敏史；否认手术、外伤史。查体：T 36.2℃，P 80次/分，R 19次/分，BP 124/85mmHg，神清，全身皮肤黏膜无黄染，未见红斑、丘疹、斑块等皮疹，浅表淋巴结未及肿大，咽部无红肿、扁桃体无肿大，心肺腹部无异常，生理反射存在，病理反射未引出；外阴未见溃疡。

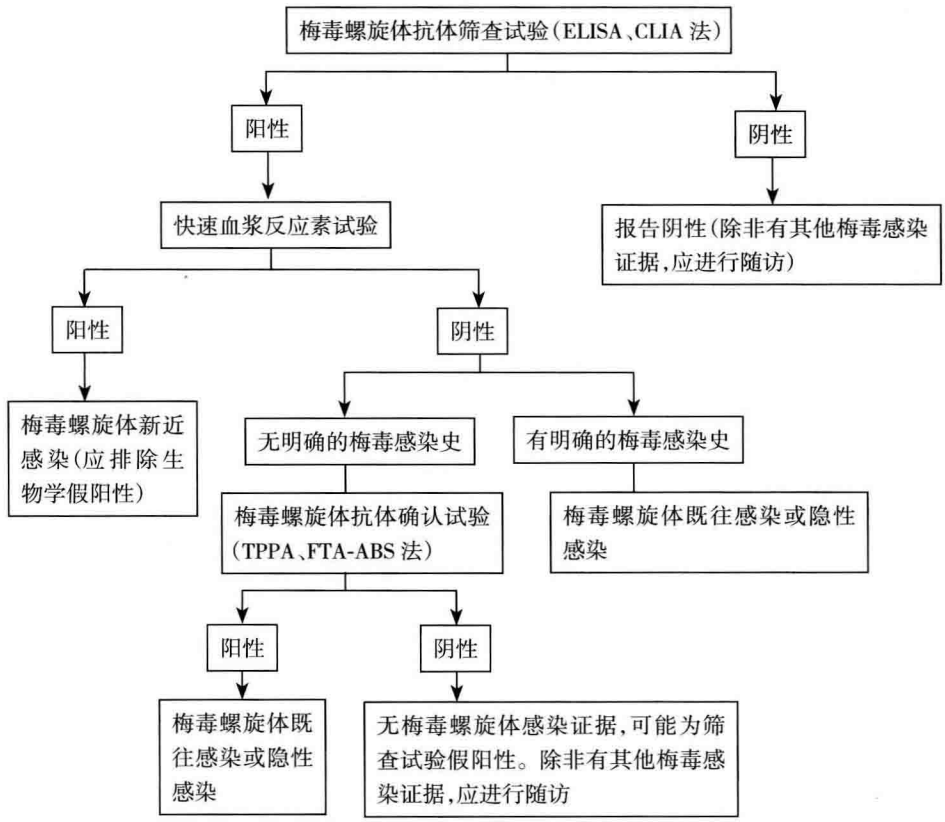
【问题1】通过上述问诊与查体，该患者可疑的诊断是什么？还需进行哪些检查以明确诊断？

根据患者梅毒血清学试验抗体阳性，考虑诊断梅毒。然而，酶免方法（EIA）梅毒血清学试验存在一定比例的假阳性，在低流行率人群中假阳性率为17.0%~31.6%。该患者无梅毒临床症状和体征，需详细询问高风险接触史以及配偶情况，为明确诊断，应进行梅毒特异性抗体明胶颗粒凝集试验（TPPA）以及快速血浆反应素试验（RPR）或甲苯胺红不加热血清试验（TRUST）或者性病研究所试验（VDRL）等非梅毒螺旋体抗原血清试验。

学习笔记

知识点

梅毒实验室检测流程



患者配偶于6个月前确诊为梅毒,正进行驱梅治疗(具体治疗不详)。本例患者TPPA检测结果为阳性,RPR阳性(滴度1∶32)。

【问题2】根据进一步检测结果和个人史,应如何诊断?依据是什么?

根据患者病史和检测结果,拟诊断为:隐性梅毒。

诊断依据:①病史:患者配偶有梅毒感染史,而患者既往无梅毒诊断和治疗史;②临床症状和体征:未发现患者出现梅毒临床症状及体征;③实验室检测:TPPA阳性,RPR阳性(滴度1∶32)。

思路:根据卫生行业标准《梅毒诊断标准》(WS273—2007),该患者的病史、临床特点以及实验室检测结果符合隐性梅毒的诊断。实验室检测结果具有重要的辅助诊断价值,但有一定的局限性。

知识点

梅毒诊断标准

分期/类	病例分类	病史	临床表现	实验室检查
一期梅毒	疑似病例	性接触史,或性伴感染史	硬下疳	非梅毒螺旋体抗原血清试验阳性
	确诊病例(实验室诊断病例)	同上	同上	暗视野检查阳性或梅毒螺旋体抗原血清试验阳性;非梅毒螺旋体抗原血清试验阳性

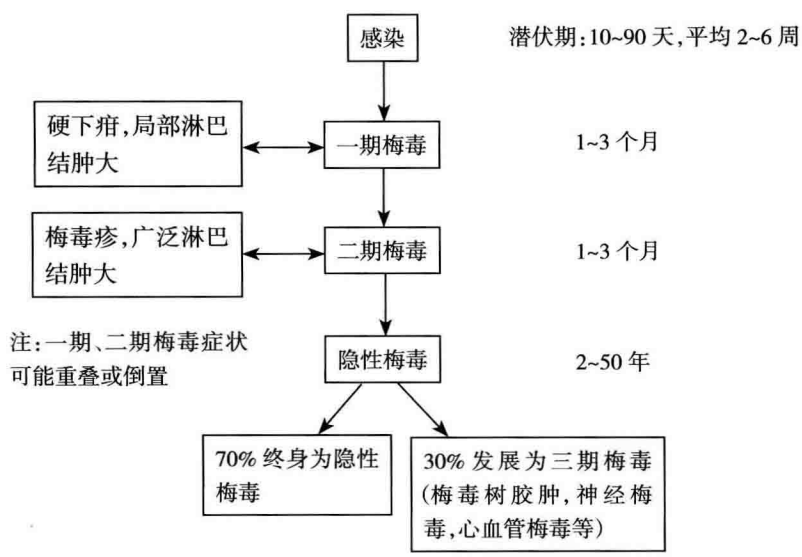
学习笔记

续表

分期 / 类	病例分类	病史	临床表现	实验室检查
二期梅毒	疑似病例	性接触史，或性伴感染史	二期梅毒皮疹	非梅毒螺旋体抗原血清试验阳性
	确诊病例（实验室诊断病例）	同上	同上	暗视野检查阳性或梅毒螺旋体抗原血清试验阳性；非梅毒螺旋体抗原血清试验阳性
三期梅毒	疑似病例	性接触史，或性伴感染史	三期梅毒表现，病期在2年以上	非梅毒螺旋体抗原血清试验阳性
	确诊病例（实验室诊断病例）	同上	同上	梅毒螺旋体抗原血清试验阳性，非梅毒螺旋体抗原血清试验阳性；或三期梅毒组织病理改变
隐性梅毒	疑似病例	性接触史，或性伴感染史；既往无梅毒诊断与治疗史	无任何临床症状与体征	非梅毒螺旋体抗原血清试验阳性
	确诊病例（实验室诊断病例）	同上	无任何临床症状与体征	梅毒螺旋体抗原血清试验阳性，非梅毒螺旋体抗原血清试验阳性

知识点

梅毒感染进程



【问题 3】常用的梅毒实验室检测有哪些？临床意义分别是什么？

常用的梅毒实验室检测包括病原学检测和血清学检测。

（1）病原学检测：暗视野显微镜直接观察皮肤、黏膜或淋巴结标本中的梅毒螺旋体。阳性即

可诊断梅毒，但阴性不能排除梅毒诊断。

（2）血清学检测：主要有两类试验：①非梅毒螺旋体抗原血清试验，包括 VDRL 玻片试验、RPR 试验、TRUST 试验，适用于各期梅毒的诊断。早期梅毒经治疗后血清滴度可下降或转阴，故可用于疗效观察、判定复发或再感染。VDRL 试验适用于神经梅毒的脑脊液检查，特异性高，但敏感性低；②梅毒螺旋体抗原血清试验，包括 TPPA 试验、荧光螺旋体抗体吸收试验（FTA-ABS）、酶联免疫吸附试验（ELISA）、化学发光试验（CLIA）等。这些试验主要用于确证试验，不用于疗效观察。

知识点

梅毒实验诊断结果评价

正确解释梅毒实验诊断结果，熟悉各种试验的局限性，对梅毒诊断极为重要。必要时，通过重复检测或随访检测等方式确诊或排除诊断。

1. 梅毒螺旋体暗视野检查试验的局限性　阴性结果不能排除梅毒诊断，可能原因：①螺旋体数量不足（单次暗视野显微镜检查阳性率小于 50%）；②患者已接受抗生素或杀灭梅毒螺旋体的药物治疗；③损害接近自然消退；④标本采集不当：组织损害并非由梅毒螺旋体所致。此外，需要配备暗视野显微镜，技术人员具备较高的形态学识别经验。由于菌体的活动性对于区别梅毒螺旋体和其他螺旋体极为重要，标本应及时送检。

2. 非梅毒螺旋体抗原血清试验的局限性　该试验因检测类脂抗原抗体，故存在生物学假阳性。类脂抗原抗体即反应素，是人体迅速对被梅毒螺旋体损害的宿主细胞以及梅毒螺旋体细胞表面所释放的类脂物质产生的抗体，可存在于某些传染病、胶原病或自身免疫性疾病患者，以及近期接种疫苗者、老年人、孕妇或吸毒者体内，因此，非梅毒螺旋体抗原血清试验阳性反应应结合临床表现，或进行梅毒螺旋体抗原血清试验以进一步证实。

非梅毒螺旋体抗原血清试验诊断敏感性分别为：一期梅毒 74%~87%，二期梅毒 100%，三期梅毒 34%~94%。梅毒感染的早期和晚期可能表现为无反应，当抗体浓度较高时，可能产生“前带效应”导致假阴性反应。

3. 梅毒螺旋体抗原血清试验的局限性　该试验不能区分活动性感染和既往感染，不能用于观察疗效、判断复发及再感染。

TPPA 试验可能产生“前带效应”导致假阴性反应。FTA-ABS 试验需要较高的形态学识别经验，操作较为烦琐。EIA 或 CLIA 试验特异性较前两者差，可能出现假阳性结果，尤其在低流行率人群中检测假阳性率较高。

患者入院后进行大剂量青霉素驱梅治疗：苄星青霉素G 240 万 U，分两侧臀部肌注，1 次 / 周，共 3 次。完成治疗后出院。

【问题 4】为观察治疗效果应进行何种检测？何时检测？

由于该患者无相应的梅毒症状或体征，故应进行 RPR 或 TRUST 定量（滴度）试验。在完成治疗 3 个月后检测。

思路：非梅毒螺旋体抗原血清试验（RPR 或 TRUST 等）检测的是抗心磷脂 - 卵磷脂 - 胆固醇等类脂类抗原的抗体，是机体迅速对被梅毒螺旋体损害的宿主细胞以及梅毒螺旋体细胞表面所释放的类脂物质产生的免疫应答。驱梅治疗有效时，抗体滴度下降或转阴。因此可用于疗效观察。

患者于 3 个月、6 个月、9 个月及 12 个月按时复诊，查体：全身皮肤黏膜均未见红斑、丘疹、斑块等皮疹，浅表淋巴结未及肿大，外阴未见溃疡。实验室检查结果为：TPPA+/RPR+（1∶8）、TPPA+/RPR+（1∶4）、TPPA+/RPR+（1∶2）、TPPA+/RPR+（1∶2）。

学习笔记

【问题 5】如何解释随访结果？

随访结果显示，患者驱梅治疗有效。继续随访 2~3 年。

思路 1：该患者四次随访，均未见梅毒临床症状或体征。非梅毒螺旋体抗原血清试验结果滴度逐渐降低，治疗结束后呈 4 倍下降，表明治疗有效。因其 RPR 结果仍为阳性，应继续随访以发现复发或再感染。当 RPR 结果转阴时，判定为临床治愈。少数患者 RPR 试验持续甚至终身为低滴度的阳性反应，呈血清固定现象。

思路 2：由于机体免疫系统的记忆功能，梅毒螺旋体特异性抗体 IgG 在充分治疗后仍可持续甚至终身存在，因此不作为疗效观察指标。TPPA 试验阳性而 RPR 试验阴性结果提示，患者为已治愈的梅毒既往感染者或长期的隐性感染者。

知识点

梅毒随访及疗效判断

梅毒经充分治疗后，应随访 2~3 年。第 1 年每 3 个月，以后每半年复诊，包括临床和血清学（非螺旋体抗原试验）检查。若治疗后 6 个月内血清滴度未呈 4 倍下降，提示治疗失败或再感染，除需增加剂量重新治疗外，还应行脑脊液检查，以排除神经系统梅毒感染。

神经梅毒患者每半年复查脑脊液，直至脑脊液检查结果完全正常。脑脊液检查包括 VDRL 试验、细胞计数以及蛋白质检测等。

多数一期梅毒患者 1 年以内、二期梅毒 2 年以内血清抗体转为阴性。

少数晚期梅毒患者血清呈持续低滴度阳性，判为血清固定（随访 3 年以上）。

学习笔记

患者 3 年后再次就诊。发现梅毒血清学试验阳性 3 年，妊娠 9 周。患者于 3 年前发现梅毒血清学试验阳性 TPPA+、RPR+（1∶32），经规范驱梅治疗后 RPR 滴度降至 1∶2，多次随访持续阳性（1∶2）。患者自发病以来，全身未见红斑、丘疹、斑块等，外阴未见溃疡，全身浅表淋巴结未及肿大。查体：T 36.4℃，P 80 次 / 分，R19 次 / 分，BP 132/90mmHg，神清，全身皮肤黏膜无黄染，未见红斑、丘疹、斑块等皮疹，浅表淋巴结未及肿大，咽部无红肿、扁桃体无肿大，心肺腹部无异常，生理反射存在，病理反射未引出；外阴未见溃疡。辅助检查：TPPA+、RPR+（1∶2）。现患者妊娠 9 周，为进一步诊治就诊。

【问题 6】患者再次就诊，根据其病史和检测应如何诊断及处理？

根据患者病史和检测结果，拟诊断为：妊娠梅毒。

诊断依据：①29 岁年轻女性患者；②梅毒血清学试验多次阳性，本次检查：TPPA 阳性，RPR 阳性（滴度 1∶2）；③妊娠 9 周。

处理：患者梅毒血清学阳性，不能排除梅毒。为了保护胎儿不受感染或在分娩前治愈受感染的胎儿，应进行抗梅毒治疗。

知识点

妊娠梅毒

妊娠梅毒是孕期发生的显性或隐性梅毒。梅毒螺旋体可通过胎盘或脐静脉感染胎儿，影响胎儿发育，导致流产、早产、死胎等，或者罹患先天梅毒。因此，妊娠妇女均应在第一次产前检查时进行梅毒血清学筛查，梅毒高发地区或梅毒高危孕妇，妊娠第 28~32 周及临产前应再次筛查。妊娠 20 周后死胎史的孕妇均需要做梅毒血清学筛查。

对于梅毒血清学试验阳性、不能排除梅毒，且接受过抗梅毒治疗的孕妇应再抗梅毒治疗，以保护胎儿。方案为：妊娠初3个月内，完成一个疗程，妊娠末3个月再完成一个疗程。妊娠时已接受正规治疗并且随诊未发现梅毒活动征象的梅毒患者，可不再治疗。上次治疗和随诊有疑问或本次检查发现梅毒活动征象者，应再治疗一个疗程。

患者经规范驱梅治疗后，梅毒血清学试验结果为TPPA+、RPR+(1∶2)。自然分娩一男婴，查体无异常。

【问题7】该新生儿是否罹患先天梅毒？

该新生儿查体未发现先天梅毒的临床症状或体征，如发育不良，水疱-大疱、红斑、丘疹、扁平湿疣等皮肤损伤；梅毒性鼻炎及喉炎；骨髓炎、骨软骨炎及骨膜炎；全身淋巴结肿大、肝(脾)大、贫血等，还需进行实验室检查，如梅毒血清学试验、脑脊液检测，尽可能取胎盘组织进行梅毒病原学检测。

思路1：先天梅毒的诊断因非梅毒螺旋体抗原或梅毒螺旋体抗原的IgG抗体可通过胎盘途径传递给胎儿，使婴儿梅毒血清学试验阳性结果难以解释。婴儿是否需要进一步检查和治疗主要依据以下因素：①母亲梅毒；②母亲梅毒治疗情况；③婴儿出现梅毒的临床、实验室和影像学表现；④母亲和婴儿血非梅毒螺旋体抗体滴度同一实验室检测结果有差别。

思路2：诊断或高度怀疑先天梅毒的依据：①先天梅毒的临床症状和体征；②病变部位、胎盘或脐带组织找到梅毒螺旋体或体液抗梅毒螺旋体IgM抗体(+)；③婴儿血非梅毒螺旋体抗体滴度较母血增高4倍以上。对诊断或高度怀疑先天梅毒患儿的检查项目：①脑脊液检查；②血常规检查；③根据临床需要做其他检查，如长骨X线、胸片、肝功能检查、颅脑超声、眼底检查和脑干视觉反应。诊断或高度怀疑先天梅毒患儿按先天梅毒进行治疗。

知识点

先天梅毒诊断标准

分期/类	病例分类	病史	临床表现	实验室检查
早期先天梅毒	疑似病例	母亲为梅毒患者或隐性梅毒者	胎传梅毒的临床表现；类似于获得性二期梅毒	非梅毒螺旋体抗原血清试验阳性，其抗体滴度高于母亲4倍及以上，但低于该值并不排除胎传梅毒；或出生后3个月随访滴度升高 应取婴儿静脉血进行检测，而非脐带血
	确诊病例(实验室诊断病例)	同上	同上	暗视野检查阳性 梅毒螺旋体抗原血清试验阳性，非梅毒螺旋体抗原血清试验阳性，其抗体滴度高于母亲4倍及以上，但低于该值并不排除胎传梅毒，或出生后3个月随访滴度升高 应取婴儿静脉血进行检测，而非脐带血
晚期先天梅毒	疑似病例	母亲为梅毒患者或隐性梅毒者	胎传梅毒的临床表现；类似于获得性三期梅毒	非梅毒螺旋体抗原血清试验阳性，其抗体滴度高于母亲4倍及以上，但低于该值并不排除胎传梅毒；或出生后3个月随访滴度升高 应取婴儿静脉血进行检测，而非脐带血

学习笔记

续表

分期 / 类	病例分类	病史	临床表现	实验室检查
	确诊病例（实验室诊断病例）	同上	同上	暗视野检查阳性 梅毒螺旋体抗原血清试验阳性，非梅毒螺旋体抗原血清试验阳性，其抗体滴度高于母亲 4 倍及以上，但低于该值并不排除胎传梅毒，或出生后 3 个月随访滴度升高 应取婴儿静脉血进行检测，而非脐带血
隐性先天梅毒	疑似病例	母亲为梅毒患者或隐性梅毒者	无相应临床症状与体征	非梅毒螺旋体抗原血清试验阳性，其抗体滴度高于母亲 4 倍及以上，但低于该值并不排除胎传梅毒；或出生后 3 个月随访滴度升高 应取婴儿静脉血进行检测，而非脐带血
	确诊病例（实验室诊断病例）	同上	同上	暗视野检查阳性 梅毒螺旋体抗原血清试验阳性，非梅毒螺旋体抗原血清试验阳性，其抗体滴度高于母亲 4 倍及以上，但低于该值并不排除胎传梅毒，或出生后 3 个月随访滴度升高 应取婴儿静脉血进行检测，而非脐带血

学习笔记

该新生儿梅毒血清学试验结果：TPPA+、RPR+（1 ∶ 2）；脑脊液 VRDL 试验阴性、有核细胞数 <5 个。

【问题 8】根据该检测结果及病史，是否怀疑先天感染？如何处理？

该新生儿脑脊液检测无异常，亦无临床症状或体征；其母亲妊娠期间进行了规范驱梅治疗，且治疗有效；患儿 RPR 滴度与其母亲一致。因此，不符合先天梅毒的诊断标准。但其血清学试验为阳性（TPPA+、RPR+1 ∶ 2），不能完全排除先天梅毒，应于 3 个月内每月随访检查、至 6 个月时随访临床表现及复查实验室指标，必要时进行影像学检查。若未出现相应临床症状，且血清学试验结果转阴，可排除先天梅毒；若血清学试验结果持续阳性，则应随访至 18 个月。若梅毒螺旋体血清学试验持续阳性，应按照先天梅毒进行治疗。

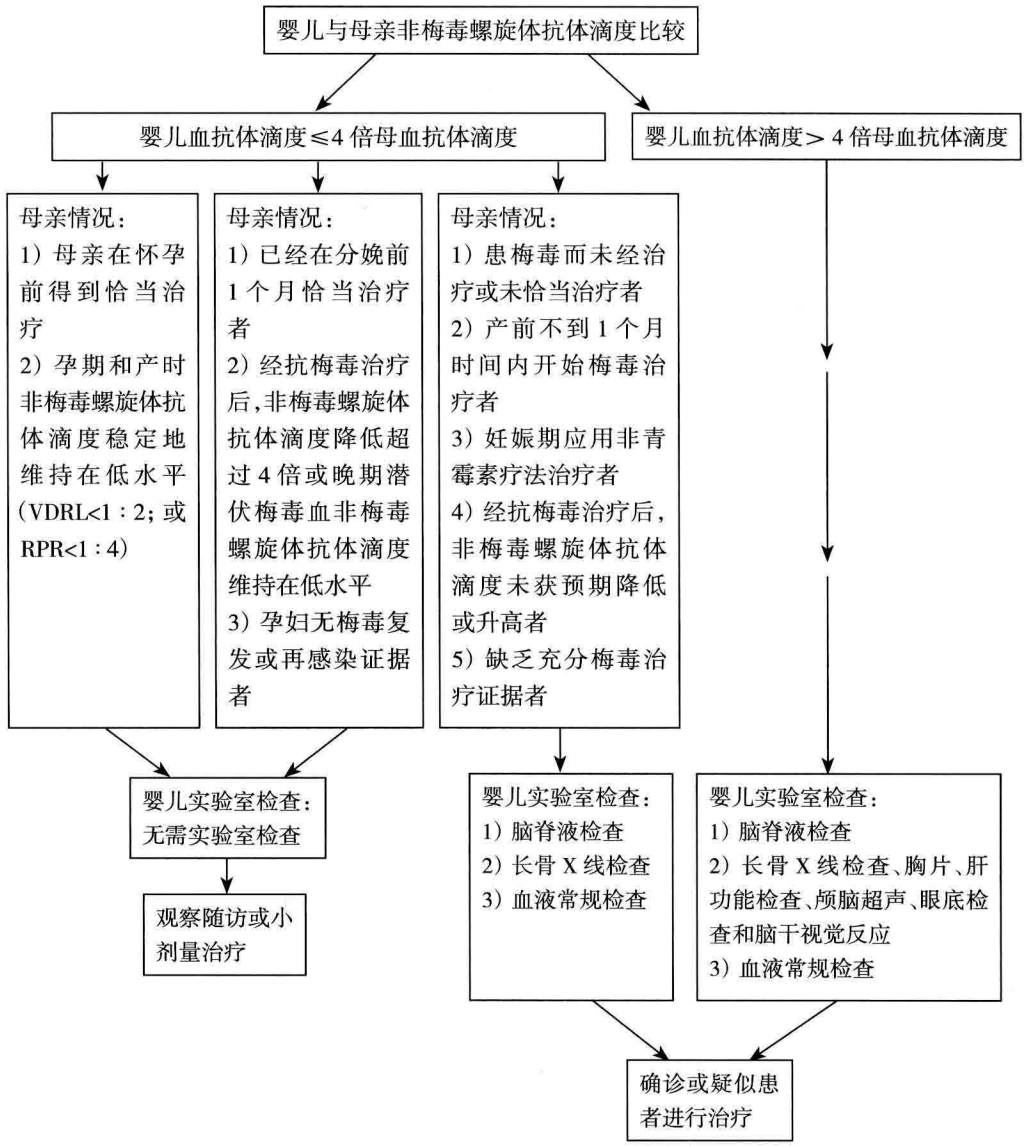
知识点

随访和疗效评价

非梅毒螺旋体血清抗体阳性的新生儿，出生 2~3 个月内每月随访。未感染者，非梅毒螺旋体抗体滴度从 3 个月起应逐渐下降，至 6 月龄时消失。若发现 6~12 月龄以后滴度保持稳定或增高，应重新检测评估（包括脑脊液检查），并规范治疗（青霉素 5 万 U/kg，每 4~6 小时，静脉滴注，连续 10 天）。未感染者，梅毒螺旋体抗体阳性可持续 1 年以上，若 18 个月以后仍为阳性，则应按先天梅毒治疗。脑脊液细胞数增高的婴儿，应每 6 个月复查 1 次，直至脑脊液细胞计数正常。

知识点

无临床症状或体征妊娠梅毒孕妇分娩婴儿的处理流程



（孙自镛）

第四节　感染性腹泻

感染性腹泻是指由病原微生物及其产物或寄生虫所引起的、以腹泻为主要临床特征的一组肠道传染病。血常规、粪便常规、粪便涂片查找优势菌和血清CRP可为临床诊断提供参考依据，病原学诊断主要包括对患者的粪便或呕吐物进行细菌学培养鉴定，基于肠道感染微生物的血清免疫学诊断，以及基于核酸扩增的分子诊断等。

病历摘要：

患者男，25岁。主因“呕吐、腹泻、血便2天”就诊。患者于2天前进食雪菜面2小时后出现发热（体温未测），继而出现呕吐2次，不呈喷射状，呕吐物为胃内容物，量同进食量，伴

头痛、腹痛，痛时难以入睡，继而出现腹泻，当天解大便 20 余次，量少，性状呈黄色水样伴血丝，有时呈淡血性，大便解过后腹痛可稍有缓解，无呕血。查体显示体温 38.8℃，左下腹轻度压痛，无反跳痛，未见肠型及蠕动波，听诊肠鸣音 10 次 / 分，移动性浊音阴性。

【问题 1】通过问诊和查体，该患者可疑的诊断是什么？需要与那些疾病鉴别诊断？

患者进食雪菜面后发热、呕吐、腹痛、腹泻，粪便呈血性，肠鸣音亢进。根据患者主诉、流行病学史、体征，高度怀疑感染性腹泻，但需要与以下疾病鉴别诊断：

(1) 炎症性肠病（inflammatory bowel disease，IBD）：可有长期腹泻病史，患者自述前期没有腹泻症状，因此可暂不考虑，必要时可进行肠镜等检查加以明确。

(2) 功能胃肠病（irritable bowel syndrome，IBS）：患者各项检查无异常，肠镜检查亦缺少可以解释患者症状的异常发现。临床表现可为稀便、水样便或黏液便，但无血性便或脓血便。目前暂不首先考虑。

知识点

感染性腹泻的定义

腹泻（diarrhea）定义为日排便 3 次或 3 次以上，且粪便性状异常，如稀便、水样便，黏液便、脓血便或血便等。腹泻除粪便次数和性状异常外，还常伴有恶心、呕吐、腹痛、发热、食欲不振和全身不适等，病情严重者，常并发脱水、酸中毒、电解质紊乱、休克等，甚至危及生命。感染性腹泻（infectious diarrhea）是指由病原微生物及其产物或寄生虫所引起的、以腹泻为主要临床特征的一组肠道传染病。《中华人民共和国传染病防治法》规定，霍乱为甲类传染病；细菌性和阿米巴痢疾、伤寒和副伤寒为乙类传染病；除霍乱、细菌性和阿米巴痢疾、伤寒和副伤寒以外的感染性腹泻，称为其他感染性腹泻，为丙类传染病。

【问题 2】为明确诊断，常应进行哪些检查？

常需进行血常规、粪便常规、血清 CRP、微生物学检测（细菌培养、血清免疫学或 PCR 基因检测）。

思路：患者血常规、粪便常规检测简便易行，临床实用价值大。细菌感染腹泻如细菌性痢疾、霍乱等血常规结果中白细胞总数和中性粒细胞可以升高，伤寒、副伤寒患者一般嗜酸性粒细胞减少或消失、白细胞总数正常或低下；病毒性腹泻白细胞无明显变化；寄生虫感染者嗜酸性粒细胞升高。粪便常规检测可肉眼观腹泻物性状，如是否为水样便、有否脓血和黏液便等，即可大致判断腹泻的病因；光学显微镜高倍视野下见多个 RBC 和大量脓细胞，或 WBC≥15 个 / 高倍视野者，有助于确定急性细菌性腹泻。粪便光学显微镜检查可发现虫卵、滋养体、包囊和卵囊，是确诊肠阿米巴病、贾第虫感染和隐孢子虫病的重要方法。粪便常规检查有时需反复几次才有意义。CRP 是近年来临床上常用的判断感染的生物学指标，CRP 增加时也可提示细菌感染，但 CRP 水平在非感染性疾病中也常升高。

根据流行病学、临床表现、腹泻物性状、病情轻重和粪便常规检查结果，初步判断后再决定是否做细菌培养或其他病原学诊断。对疑似霍乱的患者，必须采集腹泻标本检测霍乱弧菌；对发热和（或）脓血便的患者，应采集腹泻标本分离病原体并做药物敏感试验，有助于经验治疗后调整治疗方案。但目前细菌培养和药敏试验过程较长，一般需要 3 天。基于肠道感染微生物的血清免疫学诊断试验，有助于协助部分感染性腹泻病的病原学诊断，如肥达反应（伤寒杆菌凝集试验）。基于 PCR 基因诊断技术，具有快速、特异和敏感的特点。粪便提取物检测轮状病毒、诺如病毒等特异性基因，不仅有助于诊断，也是病毒性腹泻分子流行病学调查的主要手段。细菌性腹泻也可采用该技术，该技术还可用于病原体特异性毒力基因检测。

此外，为鉴别诊断，如炎症性肠病、功能性胃肠病或者其他肠道疾病（药物不良反应、憩室炎、

学习笔记

缺血性肠炎、消化不良、肠道肿瘤等),除通过询问病史、用药史、病程、腹泻特征外,还可增加其他检查加以鉴别,如影像学检查(如胃肠钡剂造影)、肠镜检查和黏膜组织学检查。

患者血常规:白细胞 15.8×10^9/L、中性粒细胞90.1%、血红蛋白 123g/L、血小板 117×10^9/L;CRP 126mg/L;粪便常规:褐色水样便,白细胞 ++/HP,红细胞 ++/HP,隐血试验 +++。

【问题 3】根据检查结果可作出何种诊断?

患者可进一步临床诊断为细菌性痢疾。

诊断依据:①进食可疑食物史;②起病急,发热、头痛、呕吐、腹痛、腹泻,粪便呈水样血性,左下腹压痛;③粪便中有大量的红细胞和白细胞,血中白细胞总数和中性粒细胞升高。

思路 1:感染性腹泻病的诊断包括临床诊断和病原学诊断,患者的流行病学史、临床表现、粪便常规和血常规等实验室检查结果可为临床诊断提供参考依据。本患者具有细菌性痢疾的典型表现,为进一步明确诊断,可进行采集患者粪便进行细菌学培养鉴定。

思路 2:如何开展感染性腹泻患者粪便或呕吐物标本的采集、运送和培养鉴定?

对于需要进行细菌培养的粪便标本要求应在急性期、用药前采集,一般采集 2~5g 或 2~5ml,挑取有脓血、黏液部分,置无菌容器,所采集的标本应尽快检测。运送时间超过 2 小时者,标本应放入 Cary-Blair 运送培养基中,在冷藏条件下送检;或将粪便标本直接接种增菌培养基,室温条件下运送。呕吐物标本的相关要求也同粪便标本。

标本运送至实验室后,应根据检测不同细菌而选择不同的增菌培养基和选择性培养基。目前多数临床实验室一般仅开展霍乱弧菌、沙门氏菌和志贺氏菌的培养鉴定,实验室在收到标本后直接接种 3 块平板(SS 琼脂平板、麦康凯平板和血平板)和 1 管碱性蛋白胨水,3 块平板置 35~37℃孵育箱培养 18~24 小时;碱性蛋白胨水置 35~37℃孵育箱增菌 6~8 小时后接种至四号琼脂或庆大霉素琼脂平板 35~37℃孵育箱培养 18~24 小时。然后从分离培养平板上挑取可疑菌落进行相关初步生化鉴定,如氧化酶试验、双糖铁琼脂(KIA)、动力 - 靛基质 - 尿素半固体(MIU)等,最后对疑似菌落开展血清型鉴定或系统生化鉴定。

知识点

细菌性痢疾的诊断标准

1. 流行病学史　患者有不洁饮食和(或)菌痢患者接触史。

2. 临床表现

(1) 潜伏期:数小时至 7 天,一般 1~3 天。

(2) 临床症状和体征:起病急骤,胃寒、寒战伴高热,继以腹痛、腹泻和里急后重,每天排便 10~20 次,但量不多,呈脓血便,并有中度全身中毒症状。重症患者伴有惊厥、头痛、全身肌肉酸痛,也可引起脱水和电解质紊乱,可左下腹压痛伴肠鸣音亢进。

3. 实验室检测

(1) 粪便常规检查,白细胞或脓细胞≥15 个 /HPF(400 倍),可见红细胞、吞噬细胞。

(2) 病原学检查,粪便培养志贺菌阳性。

4. 诊断

(1) 疑似病例:腹泻,有脓血或黏液便或水样便或稀便,伴有里急后重症状,尚未确定其他原因引起的腹泻者。

(2) 临床诊断病例:同时具备 1、2 和 3(1),并排除其他原因引起之腹泻。

(3) 临床诊断病例并具备 3(2)。

【问题 4】感染性腹泻患者如何进行抗感染治疗?

学习笔记

腹泻患者一般采取针对性的治疗，如饮食治疗、口服补液疗法或静脉补液治疗，使用肠黏膜保护剂和吸附剂、益生菌或者抑制肠道分泌的药物或肠动力抑制剂，中医药治疗等。若考虑使用感染药物，应注意以下应用原则：急性水样泻患者，排除霍乱后，多为病毒性或产肠毒素性细菌感染，不应常规使用抗菌药物；轻、中度腹泻患者一般不用抗菌药物。以下情况考虑使用抗感染药物：①发热伴有黏液脓血便的急性腹泻；②持续的志贺菌、沙门菌、弯曲菌感染或原虫感染；③感染发生在老年人、免疫功能低下者、败血症或有假体患者；④中、重度的旅行者腹泻患者，可先根据患者病情及当地药物敏感情况经验性地选用抗感染药物。研究表明，有适应证的重度细菌感染性腹泻患者，在培养结果和药物敏感试验结果明确之前采取经验性抗菌治疗，可缩短 1~2 天的病程。但应结合药物不良反应、正常肠道菌群是否被抑制、是否诱导志贺毒素产生，以及是否增加抗菌药物耐药性等情况来权衡利弊。应用抗菌药物前应首先行粪便标本的细菌培养，以便依据分离出的病原体及药物敏感试验结果选用和调整抗菌药物。若暂无培养和药物敏感试验结果的情况下应根据流行病学史和临床表现，经验性地推断可能的感染菌，同时参照所在区域公布的细菌药物敏感数据选择抗菌药物。对有适应证的社区获得性细菌感染性腹泻病，经验性抗菌治疗可以缩短 1~2 天的病程。喹诺酮类药物为首选抗菌药物，复方磺胺甲噁唑为次选。用药过程中，应监测病情的发展，若无好转应及时考虑更换抗菌药物。病毒性腹泻为自限性疾病，一般不用抗病毒药物和抗菌药物。急性寄生虫感染性腹泻可使用替硝唑或甲硝唑等。

采用左氧氟沙星对患者进行抗感染治疗，每支 200mg/ml，每日 1 支，静脉注射，同时进行护胃及补液、营养等治疗，3 日后，患者症状明显改善，无发热、乏力，无腹痛、腹泻，无恶心、呕吐等不适，每日解大便两次，褐色成形，量中等，白细胞阴性，红细胞阴性，隐血阴性，血常规显示白细胞 4.5×10^9/L、中性粒细胞 39.9%。

入院时采集的粪便标本培养显示痢疾志贺菌阳性，药敏试验显示该菌对左氧氟沙星敏感。

【问题 5】引起感染性腹泻的主要病原有哪些，各有什么特点？

(1) 细菌感染

1) 霍乱：由 O1 血清群和 O139 血清群霍乱弧菌感染所致。患者粪便悬滴镜检可发现活动极活泼的弧菌，可采集患者的粪便、呕吐物标本分离培养霍乱弧菌，并进行血清群筛查，或者采用 PCR 方法检测霍乱毒素基因，或者增菌后采用霍乱弧菌胶体金法快速检测。

2) 伤寒与副伤寒：由伤寒沙门菌以及甲、乙、丙型副伤寒沙门菌感染所致。患者血常规检测一般嗜酸性粒细胞减少或消失、白细胞总数正常或低下；血液肥达反应“O”抗体凝集效价≥1∶80，“H”抗体凝集效价≥1∶160，恢复期血清中特异性抗体效价较急性期血清中特异性抗体效价增高 4 倍以上有助于伤寒诊断；血、骨髓、胆汁、粪便或尿液等标本中培养出伤寒或副伤寒沙门菌即可确诊。

3) 细菌性痢疾：由志贺菌感染引起，志贺菌可分为 4 个血清群，A 群（痢疾志贺菌）、B 群（福氏志贺菌）、C 群（鲍氏志贺菌）和 D 群（宋内志贺菌）。患者常里急后重，粪便呈脓血便或黏液便，常见白细胞和脓细胞，可见红细胞和巨噬细胞。

4) 致泻大肠埃希菌：根据致病机制和细菌毒力可分为肠产毒素性大肠埃希菌（ETEC），肠侵袭性大肠埃希菌（EIEC），肠出血性大肠埃希菌（EHEC），又名产志贺样毒素大肠埃希菌（STEC），肠致病性大肠埃希菌（EPEC）和肠黏附性大肠埃希菌（EAEC）。我国浙江省腹泻病原谱研究结果显示，门诊腹泻患者中占第一位的细菌性病原是致泻大肠埃希菌，分离率在 14.1%。阳性率最高的是 EAEC，其他依次排序为 ETEC、EPEC、EHEC 和 EIEC。可通过 PCR 方法检测致泻大肠埃希菌的毒力基因进行鉴定和分类。

5) 沙门菌：沙门菌肠炎包括除伤寒及甲、乙、丙型副伤寒以外的所有沙门菌感染。多以鼠伤

学习笔记

寒和肠炎沙门菌常见，自患者分离的菌株常有多重耐药性。沙门菌感染患者的粪便多为黄色或绿色稀水便，亦可带有黏液和血。粪便镜检可见较多的白细胞及红细胞，并可见巨噬细胞。

6）副溶血弧菌：副溶血弧菌肠炎在我国沿海地区夏秋季散发病例和暴发事件中较为常见。患者粪便呈水样便或类似痢疾样脓血便，个别重症患者大便可有清水样或洗肉水样，可见白细胞和脓细胞，常伴有红细胞，亦可见巨噬细胞。我国浙江省门诊腹泻患者中副溶血弧菌检出率高达 9.8%，位于常见细菌性病原的第二位，副溶血弧菌对多数抗菌药物保持着较高的敏感性。此外，河弧菌、拟态弧菌、创伤弧菌等弧菌也能引起感染性腹泻。

其他相关细菌还有弯曲菌、小肠结肠炎耶尔森菌、气单胞菌、类志贺邻单胞菌、蜡样芽胞杆菌、产气荚膜梭菌等。

（2）病毒感染：病毒感染导致急性腹泻病的比例远超过其他病原体，在急性感染性腹泻病中，自限性的病毒感染超过 50%，主要是轮状病毒和诺如病毒，此外还有札如病毒、星状病毒和肠腺病毒等。目前主要采用 PCR 技术进行检测。

1）诺如病毒：现有数据表明全球急性腹泻暴发一半以上由诺如病毒引起。根据我国北京市调查，秋冬季门诊成年散发腹泻患者粪便的诺如病毒阳性率超过 50%。患者粪便为黄色稀水样便，无脓血和黏液；镜检可见白细胞或脂肪滴。

2）轮状病毒：根据内层衣壳多肽构成的组特异性抗原，可分为 A~G 七组，其中 A、B、C 组合人类疾病有关。A 和 C 组主要感染儿童，粪便多为水样便或黄绿色稀便，无黏液、无脓血。B 组主要感染成人，粪便多为黄色水样便，无黏液及脓血。镜检多无异常，少数可见少量白细胞。

（3）寄生虫感染性腹泻：主要包括溶组织内阿米巴、蓝贾第鞭毛虫、隐孢子虫、环孢子虫。其中溶组织内阿米巴较常见，溶组织内阿米巴的生活史包括感染性包囊和增殖性滋养体两个阶段。阿米巴痢疾患者粪便为暗红色果酱样血便，有腥臭味，镜检白细胞少，红细胞多，有夏科 - 莱登结晶，可找到溶组织内阿米巴滋养体和(或)包囊。阿米巴痢疾的粪便检查除直接涂片镜检外，还可采用碘液玻片法（用于包囊检测）、汞碘醛离心沉淀法（用于包囊检测）或铁苏木素染色法。此外，也可进行培养后镜检或血清学诊断。

（4）特殊的感染性腹泻病：主要包括抗菌药物相关性腹泻、医院获得性腹泻和免疫缺陷相关腹泻。

【问题 6】对于临床怀疑肠道菌群紊乱的患者，常需要进行粪便涂片查找优势菌，该方法的原理是什么？有何注意事项？

肠道正常菌群在一般情况下，数量及各菌种间的比例都处于一种相对的动态平衡中。一旦由于某种原因破坏了正常菌群内各种微生物之间的相互制约的关系，如抗菌药物的不合理使用，使菌群的量和种类的比例发生变化时，肠道微生态环境被破坏，即出现暂时或持久的菌群失调，肠道功能发生紊乱，可表现为腹泻。而粪便菌群变化是肠道微生态失调的敏感标志。因此，将患者的新鲜粪便涂片并进行革兰染色，根据细菌形态和染色将细菌分为革兰阳性杆菌、革兰阴性杆菌、革兰阳性球菌、革兰阴性球菌 4 类，通过评估细菌总数和 4 类菌的比例可判断菌群失调情况。

注意事项主要包括：粪便标本必须新鲜，标本采集后应尽快送检并检测；粪便涂片厚薄适宜；革兰染色技术较关键，染色后阳性菌和阴性菌对比要鲜明；镜检时应将涂片视野全面观览，切不可看几个视野就计数或报告，同时检验者必须有一定的经验，否则易判断错误。

（陈　瑜）

第五节　中枢神经系统感染

各种生物性病原体（病毒、细菌、螺旋体、寄生虫、立克次体和朊蛋白）侵犯中枢神经系统实

学习笔记

质、被膜等引起的急性或慢性炎症疾病，即脑炎或脑膜炎，为中枢神经系统感染（central nervous system infection）。感染途径为血行感染、直接感染、神经干逆行感染。脑脊液检查是确诊的重要依据。

病历摘要：

患者男，18岁。主因“高热、头痛伴嗜睡3天”就诊。患者1周前于高考结束后去南方游玩，返京后3天突发高热，体温波动在39~40℃之间，伴头痛、嗜睡、全身酸痛无力，有恶心、呕吐，为喷射样呕出胃内容物。无视物旋转、抽搐及昏迷，无腹痛、腹泻。既往史：体健，否认慢性病史及遗传疾病史，无疫水、疫地接触史，无药物过敏史。查体：T 39.6℃，P 114次/分，R 30次/分，BP 100/60mmHg。急性病容，神志模糊，浅表淋巴结未及。口周有2个疱疹，咽部充血，双侧扁桃体不大。双肺呼吸音粗，未闻及干湿啰音。心界不大，心率120次/分，腹平软，肝脾未触及，双下肢不肿。专科查体：颈项强直，克氏征阳性，肌力、肌张力正常。

【问题1】通过上述问诊与查体，该患者可疑的诊断是什么？需与哪些疾病鉴别诊断？

患者年轻男性，夏季急性起病，临床表现为高热、头痛、意识障碍，神经系统检查脑膜刺激征阳性。根据患者主诉、神经系统症状，提示有颅压高表现，高度怀疑中枢神经系统感染，病原学诊断考虑病毒性脑膜炎可能性大，最终确诊需要结合脑脊液实验室检查。

思路1：患者年轻男性，夏季急性起病，临床表现为高热、头痛、意识障碍，神经系统检查脑膜刺激征阳性

知识点

意识障碍（disturbance of consciousness）

是指人对周围环境及自身状态的识别和觉察能力出现障碍。多由于高级神经中枢功能活动（意识、感觉和运动）受损所引起，可表现为嗜睡、意识模糊和昏睡，严重意识障碍表现为昏迷。

思路2：高度怀疑中枢神经系统感染后，从3个方面考虑病原学诊断

（1）是细菌性、病毒性、结核性还是真菌性脑炎、脑膜炎或其他病原体所致？

（2）该临床病例有夏季流行季节发病的特点，疑似病毒性脑膜炎，尽快完成脑脊液和血清学检查。

（3）感染部位是脑炎、脑膜炎还是脑脊髓炎，应尽快行影像学检查。

知识点

中枢神经系统感染分类

1. 根据发病病程分为急性、亚急性和慢性。

2. 根据感染部位分为脑炎\脊髓炎\脑脊髓炎、脑膜炎\脊髓炎\脑脊髓炎和脑膜脑炎。

3. 根据致病因子分为病毒性、细菌性（结核性和化脓性）、真菌性、寄生虫性以及其他病原（立克次体和朊蛋白等）的感染。

【问题2】为明确诊断，抽取脑脊液后应进行哪些实验室检查？

实验室检查里最重要的就是脑脊液（cerebro-spinal fluid，CSF）常规、生化及病原学、细胞学检查，是神经系统感染性疾病病因诊断不可缺少的辅助诊断技术。如果疑似流行性乙型脑炎，尽快行血清特异性IgM抗体检查及血凝抑制实验，双份血清效价呈4倍增高具有诊断意义。

学习笔记

知识点

感染与脑脊液的关系

正常 CSF 总量为 110~200ml，生成速度为 21~22ml/h，每天约生成 500ml，每天完全更新 4~5 次。炎症、脑水肿时 CSF 分泌增多，可达 5000~6000ml/d。CSF 是中枢神经系统物质交换过程的重要一环，其成分的变化反映中枢神经一些代谢、生理的异常，对中枢神经系统感染性疾病的诊断、治疗、并发症的确定及判断预后有十分重要的意义。抽取 CSF 最常用的是腰椎穿刺术，还有侧脑室穿刺术、小脑延髓池穿刺术等。

思路：如何根据 CSF 检查结果判断中枢神经系统感染是病毒性、细菌性、真菌性还是其他病原感染

区分上述几种病原，最根本的方式还是微生物学检查。其他检查项目如脑脊液外观、压力、细胞学、生化等结果起到辅助诊断的作用。首先 CSF 外观清亮，为无色透明的水样液体，感染时出现混浊甚至呈脓性；CSF 压力正常为 60~180mmH_2O，60 滴 / 分以下。感染时颅内压力可异常升高；细胞学检查：正常 CSF 一般不含有红细胞，别的感染时可有红细胞。在细菌、结核及病毒感染的早期以中性粒细胞增高为主，结核及病毒感染的中后期、隐球菌、梅毒感染以淋巴细胞增高为主，寄生虫感染以嗜酸性粒细胞增高为主；生化检查：感染时 CSF 蛋白含量增高，糖类在细菌、隐球菌感染时含量降低，病毒感染时正常或增高。氯化物感染时含量降低，结核感染时降低更为明显，可出现呼吸抑制，必须及时纠正；病原学检查：CSF 离心后沉渣涂片进行革兰染色、抗酸染色、墨汁染色，用以初步判断是细菌、结核或隐球菌感染。结合细菌培养、病毒分离、病原体的基因诊断最终确诊；蛋白电泳：中枢神经系统感染时前清蛋白降低，α 球蛋白增高；免疫学检查：免疫球蛋白 IgM 在感染时可升高。淋巴细胞亚群检测有助于进一步了解 CSF 的细胞免疫功能；酶学检查：细菌性脑膜炎 CSF 中的乳酸、乳酸脱氢酶及同工酶升高，在非化脓性或病毒性脑膜炎时不升高。

知识点

神经系统感染的脑脊液变化

疾病	外观	蛋白质	葡萄糖	氯化物	细胞	细胞分类	病原学
化脓性脑膜炎	混浊、脓性、有凝块	显著增加	显著降低	稍低	显著增加	N 为主	可见致病菌
结核性脑膜炎	雾状微混、薄膜形成	增加	减少	显著减少	增加	早期 N 为主，后期 L 为主	抗酸染色或结核培养阳性
病毒性脑膜炎	清晰或微混	增加	正常或稍高	正常	增加	L 为主	无
流行性乙型脑炎	清晰或微混	轻度增加	正常	正常	增加	早期 N 为主，后期 L 为主	无
新型隐球菌脑膜炎	清晰或微混	轻度增加	减少	减少	增加	L 为主	新型隐球菌
脑室及蛛网膜下腔出血	红色混浊	增加	轻度增加	正常	增加	N 为主	无
脑肿瘤	清晰	轻度增加	正常	正常	增加	L 为主	无
脑脊髓梅毒	清晰	轻度增加	正常	正常	增加	L 为主	无

注：N：中性粒细胞；L：淋巴细胞

学习笔记

患者转入急诊监护病房，此时出现昏迷、抽搐，体温仍为40℃，急查血常规提示WBC 7.2×10^9/L，中性粒细胞48%，淋巴细胞50%，单核细胞2%；降钙素原<0.05ng/ml；立即行腰穿测颅内压力为190mmH_2O，送检脑脊液做各项检查，CSF检查结果如下：外观清亮，细胞数增多，可见少量红细胞，蛋白质和糖、氯含量基本正常，CSF涂片革兰染色未见细菌，抗酸染色及墨汁染色均为阴性。脑脊液PCR检测单纯疱疹病毒（herpes simplex virus，HSV）核酸阳性，脑脊液特异性抗体阳性，且脑脊液/血清抗体滴度之比大于1∶20。

【问题3】根据该患者临床特点和脑脊液分析结果，应作出怎样的诊断？

该患者可做如下判断：单纯疱疹病毒性脑炎（herpes simplex encephalitis，HSE）。

诊断依据为：①口唇疱疹史；②起病急，病情重，有发热、咽痛等上呼吸道感染的前驱症状；③明显精神行为异常，如意识障碍及早期出现的神经系统损害体征；④CSF：出现红、白细胞数增多，糖及氯化物含量正常；⑤实验室检查：分子诊断及抗体检测阳性，基本可以确诊。同时完善脑电图（EEG）、头颅CT或MRI并积极抗病毒治疗，如果治疗有效，可间接支持诊断。

思路1：该病例发病为夏季，又有中神经系统感染的共同征象（发热、意识障碍、病理反射），临床最先要与流行性乙型脑炎鉴别

知识点

流行性乙型脑炎（简称乙脑）

由乙脑病毒引起的急性中枢神经系统传染病。我国《传染病防治法》将其定为乙类传染病，主要通过蚊虫叮咬而传播。人群普遍易感。流行有严格季节性，90%病例发生在7~9月份。临床以高热、意识障碍、抽搐、脑膜刺激征及病理反射为特征。重者表现为中枢性呼吸衰竭，病死率高，易有神经系统后遗症。

实验室血清学诊断：①乙脑特异性IgM抗体检查：最早在病程第4日即出现阳性，3周内阳性率达70%~90%，可作为早期诊断之用；②血凝抑制实验：病程第5日抗体可阳性，效价与第2周达高峰，可用于临床诊断及流行病学调查。临床诊断需双份血清效价呈4倍增高可确诊。

思路2：几种常见脑膜炎和脑炎脑脊液检查鉴别要点（表11-5-1、表11-5-2）

表11-5-1　化脓性脑膜炎和非化脓性脑膜炎实验室鉴别要点

	化脓性脑膜炎	非化脓性脑膜炎
病原体	脑膜炎奈瑟菌、肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、金黄色葡萄球菌及其他革兰阴性菌等	病毒（如肠道病毒、腮腺炎病毒、单纯疱疹病毒）、结核杆菌及新型隐球菌等
脑脊液	外观混浊	外观清亮
	压力异常升高（>200mmH_2O）	压力正常或轻度升高
	细胞数$>1\times10^9$/L，以中性粒细胞为主	细胞数$(0.05\sim0.5)\times10^9$/L，以淋巴细胞为主
	蛋白质明显升高，LDH升高	蛋白质正常或轻度升高（除外结脑和真菌性脑膜炎）
	糖显著降低	糖正常或轻度降低（除外结脑和真菌性脑膜炎）
病原学	脑脊液涂片及培养或PCR检测	病毒分子诊断、抗原及抗体检测

学习笔记

表 11-5-2　新型隐球菌性脑膜炎与结核性脑膜炎鉴别诊断

	新型隐球菌脑膜炎	结核性脑膜炎
起病	亚急性、慢性	多为亚急性
发热	不规则，38℃左右	午后低热
脑神经	侵犯视神经	侵犯展神经
脑脊液	外观无色透明	外观毛玻璃样，浅黄色，静置后形成薄膜
	压力显著升高，>500mmH_2O	压力升高，>400mmH_2O
	细胞数增多，多数 <200/L，有中性粒细胞和淋巴细胞	细胞数 200~500/L，淋巴细胞为主；急性期可有中性粒细胞中度增加
	蛋白质轻中度升高，LDH 升高	蛋白质显著升高，0.8~4g/L
	糖显著降低为 0	糖减低，很少低于 1.12mmol/L
	氯≥85mmol/L	氯 <85mmol/L
	ADA 正常	ADA 水平升高
病原学	脑脊液涂片墨汁染色（+）	脑脊液涂片抗酸染色（+）
脑外改变	肝、肾、肺、皮肤黏膜	肺、淋巴结、骨骼、关节
治疗	抗真菌治疗	抗结核治疗
预后	及时治疗预后较好	及时治疗预后良好

注：A. 检查隐球菌所用的墨汁必须新鲜配制，不宜存放时间过久，如有渣则必须使用前过滤；B. 若涂片检查未发现隐球菌，要求多次反复检查，不要轻易放弃。脑脊液培养可以检测出隐球菌；C 抗酸染色查结核杆菌的检出率，一般为 15%~30%，结核杆菌培养可提高阳性率，PCR 检测 CSF 中结核杆菌是更灵敏、快速的方法

【问题 4】如何抽取脑脊液进行实验室检查？

抽取脑脊液方法最常用的是腰椎穿刺术，还有侧脑室穿刺术、小脑延髓池穿刺术等。

思路 1：抽取脑脊液指征

（1）诊断性穿刺：怀疑中枢神经系统感染、吉兰 - 巴雷综合征、占位性病变、脊髓病变、蛛网膜下腔出血、脑外伤和椎管造影等。

（2）治疗性穿刺：颅内炎症、出血、外伤引流出有刺激性的脑脊液，鞘内注射药物等。

思路 2：抽取脑脊液禁忌证

（1）颅内压明显增高。

（2）穿刺部位有感染或脊柱骨折。

（3）血液病有出血倾向者。

（4）开放性颅脑外伤或有脑脊液漏者。

知识点

腰椎穿刺术并发症

1. 腰穿后头痛，由低颅内压引起，常在腰穿后 24 小时出现。平卧休息可减轻，多饮水，必要时静脉滴注生理盐水。

2. 腰背酸痛　由软组织或神经根损伤引起。

3. 出血　可引起蛛网膜下腔出血、硬脑膜下出血。

4. 感染。

5. 脑疝。

6. 鞘内注药可引起慢性粘连性蛛网膜炎、化学性脊膜炎。

附图：中枢神经系统感染不同病原体脑脊液涂片（图 11-5-1~ 图 11-5-5）

学习笔记

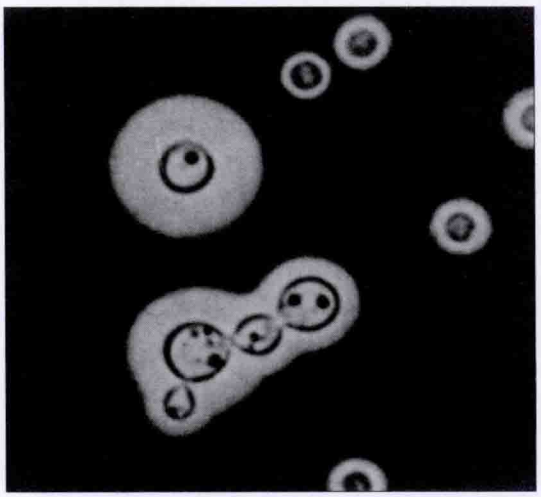


图 11-5-1　新型隐球菌性脑膜炎(墨汁染色，×400)
(北京医院检验科陈东科提供)

图 11-5-2　结核性脑膜炎(革兰染色，×400)

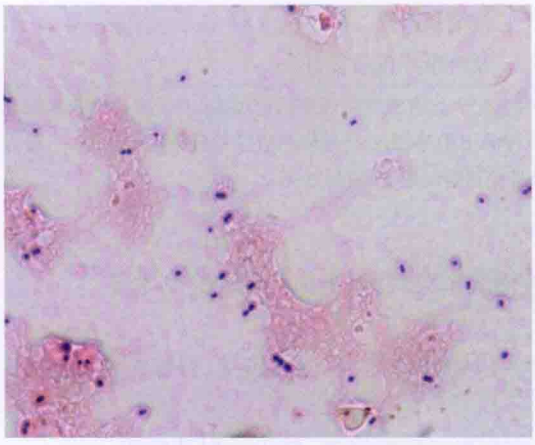


图 11-5-3　化脓性脑膜炎(肺炎链球菌)(革兰染色，×400)

图 11-5-4　化脓性脑膜炎(鲍曼不动杆菌)(革兰染色，×400)

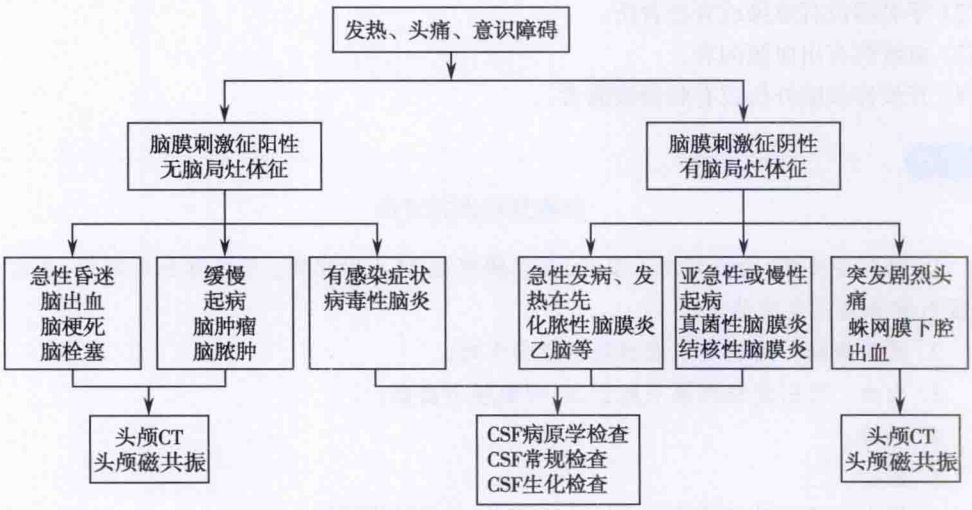


图 11-5-5　中枢神经系统感染临床实验室诊断流程图

(鲁辛辛)

第六节　皮肤和软组织感染

皮肤及软组织感染(skin and soft tissue infection,SSTI),是致病微生物侵犯表皮、真皮和皮下组织引起的炎症性疾病。皮肤及软组织感染包括毛囊炎、疖、痈、淋巴管炎、急性蜂窝织炎、烧伤创面感染、手术后切口感染及压疮感染、皮肤癣菌感染等。

病历摘要1:

患者,年轻女性。1周前左前臂手腕处皮肤划伤后出现破溃,感染伴低热,体温波动在38℃上下。无畏寒寒战,无咳嗽咳痰等其他临床表现。查体:左前臂手腕内侧可见一约2cm×4cm大小破溃,周围红肿,有少量分泌物渗出,分泌物呈淡黄色,干酪样。心、肺、腹查体未见异常。实验室检查:WBC 10.2×10^9/L,中性粒细胞78%,淋巴细胞20%,单核细胞2%。其他常规实验室检查未见异常,分泌物培养为巴西奴卡菌。

病历摘要2:

患者,青年男性。主诉左小腿前侧红肿疼痛半天。患者5天前工作时小腿划伤后出现发热、头痛,左小腿前侧红肿、疼痛无法缓解。查体:T 38.7℃,P 100次/分,R 20次/分,BP 120/80mmHg,急性病容,无皮疹和发绀,浅表淋巴结未触及,巩膜不黄,颈软,心界不大,腹软无压痛,肝脾未触及,左前小腿前侧一边界清晰水肿红斑,表面紧张发亮,触之疼痛,周围有脓性分泌物渗出。实验室检查:WBC 18.7×10^9/L,中性粒细胞92%,淋巴细胞6%,单核细胞2%,降钙素原1.75ng/ml,血培养无细菌生长。C-反应蛋白41mg/L,血沉65mm/H,抗链球菌溶血素"O"560IU/ml,伤口分泌物培养为化脓性链球菌,青霉素敏感。

【问题1】通过问诊和查体,上述两例患者可能的诊断是什么?需要进行哪些病原体鉴别?

患者外伤后出现局部红肿疼痛伴发热,伤口有脓性分泌物渗出,应考虑皮肤软组织感染。患者临床表现不同,是不同病原菌感染所致。

鉴别诊断:患者外伤后出现感染,主要应鉴别的病原菌有化脓性链球菌、金黄色葡萄球菌、奴卡菌、放线菌、分枝杆菌、真菌等多种病原菌。

【问题2】为明确诊断,应进行哪些检查?

思路:感染性疾病要明确致病菌,重点应进行病原微生物检查

直接涂片镜检:①病例一的分泌物涂片可见革兰阳性分支状无隔菌丝,抗酸染色呈弱抗酸性,应鉴别分枝杆菌、奴卡菌、放线菌及真菌;②病例二的分泌物涂片可见革兰阳性链状排列球菌,应除外葡萄球菌感染,并进一步鉴定链球菌种类。

分离培养及药敏试验:脓液拭子分别接种于血平板、麦康凯及沙保罗平皿上,放置普通生化培养箱及CO_2培养箱中。①病例一:培养时间较长,经28℃ 5天培养后,在沙保罗培养皿上可见表面干燥、有皱褶或呈颗粒状,表面有绒毛状白色菌丝的菌落。如果在沙保罗液体培养基中,可在液体表面生长菌膜,下部培养基澄清;②病例二:经35℃过夜培养后,可见灰白、半透明小而湿润的菌落,菌落周围有β-溶血环。将菌落经生化鉴定或链球菌凝集试验可明确病原菌;③在鉴定病原微生物的同时应根据CLSI或其他国际认可标准选择体外抗生素敏感试验,推荐抗生素选择。

根据脓性分泌物的涂片和培养鉴定结果,病例一诊断为奴卡菌病(Nocardiosis),致病菌为巴西奴卡菌(*N.braziliensis*);病例二诊断为丹毒(Erysipelas),致病菌为化脓性链球菌(*Pyogenic streptococcus*)。

学习笔记

知识点

微生物学检查基本流程

1. 直接镜检　无菌拭子蘸取伤口脓性分泌物，涂片进行革兰染色。如镜下见到大量白细胞，在细胞内外见到葡萄串状排列的革兰阳性细菌可能是葡萄球菌，如成双或短链状排列可能是链球菌，结合临床可进行初步诊断。抗酸染色和真菌压片多数在临床有特殊要求的情况下进行。

2. 分离培养　按常规进行细菌培养，此外，根据标本来源以及直接镜检的结果可添加选择性、厌氧和真菌培养基。大部分细菌可于24~48小时生长良好，真菌、奴卡菌和放线菌等生长缓慢，需延长培养时间。

3. 鉴定　常用的主要是自动化生化反应鉴定仪以及质谱仪，其鉴定快速、简便。

4. 药物敏感性试验　主要有检测最小抑菌浓度（inhibitory concentration，MIC）和抑菌圈直径。

5. 报告　直接镜检要求2小时报告，说明标本是否合格，发现微生物情况和特点；最后鉴定和细菌药敏结果一般不超过3天。真菌等微生物生长缓慢，报告时间也相应要延长。

【问题3】除病原学检验外，其他实验室指标对诊断有何帮助？

思路1：化脓性链球菌感染时，白细胞总数升高，以中性粒细胞为主，可出现核左移和中毒颗粒、血沉加快、C-反应蛋白升高、抗链球菌溶血素“O”升高、降钙素原升高等全身中毒性表现。巴西奴卡菌感染时上述变化不明显。

学习笔记

知识点

丹毒和奴卡菌病的临床特点

1. 丹毒的临床特点　丹毒发病前常有活动期足癣，鼻、口腔内感染病灶及皮肤外伤史，皮损出现前常有恶寒、发热、头痛、恶心、呕吐等全身症状，潜伏期一般为2~5天。好发于足背、小腿和面部。多为单侧起病。皮损初为边界清晰、表面紧张灼热有光泽的水肿性红斑，迅速扩大而成稍高起的猩红色斑片，边缘较韧。以后皮损向外扩延，中央红色消退为棕黄色并有轻微脱屑，触痛明显。自觉疼痛灼热，有触痛。在红色斑片上偶可发生水疱和大疱，局部淋巴结肿大，全身及皮损表现多在发病4~5天达高峰。皮损消退后遗有暂时性色素沉着和轻度脱屑。

根据临床的不同表现又有不同名称，例如发生水疱者称为水疱性丹毒，引起皮下组织坏疽者称为坏疽性丹毒。

2. 皮肤奴卡菌病临床特点　致病的奴卡菌主要有巴西奴卡菌和星形奴卡菌，以外源性感染为主。巴西诺卡菌可因外伤侵入皮下组织，引起慢性化脓性肉芽肿组织，表现为脓肿及多发性瘘管。奴卡菌皮肤感染常由创伤性接种而引起，一般为单侧性，常见于四肢，但躯干亦偶可累及。开始为皮下硬结，逐渐增大成坚硬的肿块，肤色呈暗红色，穿破形成窦道，排出物中有黄色的颗粒，愈合后瘢痕形成，但新的结节又发生，病程可达10~20余年，可同时累及深部组织，引起肌肉萎缩、关节强直、骨质破损或坏死。

思路2：引起皮肤感染的微生物除了链球菌和奴卡菌外，还有葡萄球菌、红斑丹毒丝菌、放线菌和分枝杆菌等。其实验室检查分述如下。

（1）金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）

1）直接涂片：在白细胞内外可见革兰染色阳性球菌，葡萄串状排列，无芽胞，有时能形成荚膜。

2）分离培养：在血琼脂平板上经 35℃ 24~48 小时培养，可形成圆形、凸起、表面光滑湿润、边缘整齐的黄色或金黄色菌落，菌落周围有明显的 β- 溶血环，凝固酶试验阳性，新生霉素敏感，并注意对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（methicillin-resistant *S. aureus*，MRSA）的确定。

（2）丹毒丝菌（Erysipelothrix）

1）直接涂片：在白细胞内外可见革兰染色阳性小杆状细菌，呈链状排列，长短不一，似放线菌，易脱成阴性，无芽胞。

2）分离培养：在血琼脂平板上经 35℃ 24~48 小时培养，可形成针尖状、圆形、边缘整齐的菌落，分大小两种，周围有一狭窄的 α- 溶血环，对磺胺及万古霉素耐药，常用青霉素治疗。

（3）放线菌（Actinomyces）

1）直接涂片：在病灶的脓样物质中可找到肉眼可见的黄色硫黄样颗粒，是放线菌在组织中形成的菌落。硫黄样颗粒制成压片或组织切片，显微镜下可见颗粒呈菊花状，核心由分枝菌丝交织组成，周围部分长丝排列成放线状，菌丝末端膨大呈棒状。革兰染色镜检，颗粒的中心部菌丝体染色为阳性，分枝状菌丝排列不规则，四周放射状的肥大菌鞘可呈阴性。抗酸染色阴性。

2）分离培养：将标本接种在液体培养基中在 5%CO_2 的厌氧环境中 37℃ 3~6 天，观察生长特点。经过生化反应可鉴定。对羧苄西林、阿奇霉素氯霉素敏感，首选羧苄西林。

（4）分枝杆菌（Mycobacterium）

1）直接涂片：标本涂抹进行抗酸染色。油镜下可见樱红色、分枝状排列、有异染颗粒的细长杆菌。

2）分离培养：可接种于罗氏培养基，37℃ 5%~10%CO_2 培养，定时观察，至 4~8 周，呈灰黄色、菜花样、边缘不齐、表面不平的较大菌落，可用放大镜观察。需鉴别结核分枝杆菌与非典型分枝杆菌时可根据生长时间和菌落特征，也可选择 PCR 方法。目前快速分枝杆菌培养方法应用逐渐普及。按结核专业治疗。

3）基因快速诊断：PCR、DNA 探针及 16S rRNA 基因序列测定等。简便快速、灵敏度高、特异性强。但需注意污染问题，以免出现假阳性。

图 11-6-1　病例——初发病未经治疗病变部位

（5）真菌（Fungus）

1）直接涂片：将少量标本置于载玻片上，加 10%~20% 氢氧化钾或乳酸酚棉兰染色，盖上盖玻片，分别用低倍镜和高倍镜检查。涂片固定后可用革兰染色镜检，观察有无孢子和菌丝，有经验的检验医生可根据孢子和菌丝形态直接鉴定酵母样真菌和丝状真菌。

2）分离培养

试管培养：是真菌分离培养、传代和保存菌种最常用的方法。将标本接种在琼脂斜面上，每个标本接种两支琼脂斜面，一支放 37℃，另一支放于 22~28℃，需氧培养。

平皿培养：表面积大，可点种标本，有利于菌落观察。但水分易蒸发，适合培养生长繁殖较快的真菌。

3）皮肤感染的真菌主要为丝状真菌，目前其鉴定主要依赖于形态学特点，包括菌落和显微镜下特点，菌落的特点要观察其生长速度、颜色和质地，显微镜下要观察其菌丝、分生孢子和产孢结构的特点。

学习笔记

图 11-6-2　病例——原始标本所见奴卡菌形态（革兰染色，×400）

图 11-6-3　巴西奴卡菌在血平板上菌落形态

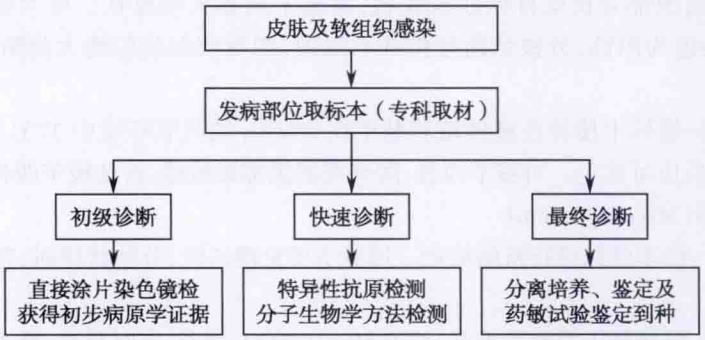


图 11-6-4　皮肤及软组织感染的实验室诊断流程

（鲁辛辛）

第七节　血流感染

病原体经各种途径进入血流，通过血液造成全身播散，引起各种临床表现称为血流感染（bloodstream infection）。由细菌或真菌引起的血流感染主要是菌血症（bacteremia）和脓毒血症（pyemia）。近年来，随着创伤性诊疗技术的大量开展以及广谱抗菌药物、激素的广泛应用，血流感染的发病率呈逐年上升的趋势。血流感染病死率高，严重威胁患者生命。

根据病原体在血流中存在的时间，血流感染分为一过性、间歇性、持续性三类。一过性血流感染可由感染组织或黏膜表面定植的微生物入血引起，常见于钻牙、导尿、挤压毛囊、植入、手术后。间歇性血流感染常见于未引流的腹腔脓肿、肺炎链球菌肺炎等细菌性炎症、肺炎。持续性血流感染，以感染性心内膜炎最常见，此外，化脓性血栓性脉管炎、免疫功能低下患者的严重感染也常引起持续性血流感染。

细菌、真菌、病毒、寄生虫等各类病原体侵入血流均可导致血流感染。近年来随着各种操作技术的开展及抗感染药物的应用，肠杆菌科细菌、非发酵菌、凝固酶阴性葡萄球菌和真菌引起的血流感染发病率呈上升趋势。真菌血症通常是医源性的，常继发于大剂量抗菌药物使用、静脉留置导管、肿瘤、肾上腺皮质激素使用，以及器官移植、心脏和胃肠道等复杂手术后静脉高营养患者。HBV、HCV 等持续感染的病毒通常在急性期、潜伏感染的活动期出现病毒血症。

学习笔记

病历摘要1：

患者男，62岁。因“低热、盗汗、乏力3周”就诊。患者有心脏杂音史，但未进行详细的检查治疗，平时体健，有正常的运动耐量，约6周前做简单的拔第三磨牙手术，术前未服用抗菌药物。

查体：体温38℃，心率104次/分，呼吸14次/分，血压130/82mmHg，患者意识清楚，左胸骨上缘可闻及明显的菱形收缩期杂音，右手食指指甲可见裂片状出血，见结膜出血点，脾脏可触及。血沉80mm/h，血细胞比容36%，WBC 12×10^9/L，N 80%，L 18%，血清生化正常。凝血功能正常。尿液WBC 5~10个/μl，RBC 10~20个/μl，无细菌。胸部X线显示正常。

【问题1】该患者可疑的诊断是什么？

结合患者病史、临床症状体征及血液常规检查，高度怀疑为感染性心内膜炎（infective endocarditis，IE）。

鉴别诊断：IE的鉴别诊断比较复杂和广泛。急性起病者应与金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、革兰阴性杆菌等引起的败血症相鉴别；亚急性起病者应与风湿热、结核、左心房黏液瘤、淋巴瘤、SLE等鉴别。

知识点

感染性心内膜炎概念

感染性心内膜炎（infective endocarditis，IE）是指由病原微生物循血行途径引起的心内膜、心瓣膜或邻近大动脉内膜的感染并伴赘生物的形成。根据受累瓣膜类型，感染性心内膜炎可分为自体瓣膜IE和人工瓣膜IE。

思路：患者有心脏杂音史，拔牙术后出现不适，心脏听诊闻及明显的菱形收缩期杂音，体检发现皮肤、黏膜出血点，应引起重视。

知识点

感染性心内膜炎发病机制

自体瓣膜心内膜炎常由草绿色链球菌、肠球菌或HACEK（嗜血杆菌、放线杆菌、心杆菌属、艾肯氏菌属、金氏菌属）等病原菌所致。人工瓣膜心内膜炎常由表皮葡萄球菌引起，患者有瓣膜置换手术史，如由于严重的主动脉瓣狭窄而更换主动脉瓣。

自体瓣膜心内膜炎常发生于异常瓣膜（如早期风湿性心脏瓣膜病、反复发作的化脓性链球菌感染）或者非细菌性血栓性心内膜炎（NBTE）。非细菌性血栓性心内膜炎由于心脏内膜的内皮细胞受损暴露了其下结缔组织的胶原纤维，导致纤维蛋白和血小板沉积为结节样无菌性赘生物，成为细菌定植瓣膜表面的重要因素。无菌性赘生物最常见于湍流区、瘢痕处（如感染性心内膜炎后）和心外因素所致的内膜受损区，偶可见于正常瓣膜。剧烈的牙科灌注、拔牙等操作使病原体进入血流导致一过性血流感染。草绿色链球菌等致病性弱的病原体感染时，纤维蛋白有助于其黏附至血栓表面，而金黄色葡萄球菌等致病性强的病原体感染时，凝集因子有助于其黏附至完整的内皮细胞或暴露的皮下组织，细菌滞留于逐渐形成的血小板-纤维蛋白赘生物，并在其中繁殖，形成菌落。

【问题2】为明确诊断，应进行哪些检查？

为明确IE的诊断及病因，应进行血培养和超声心动图检查等。

思路1：IE患者无特异性临床表现，最常见的症状是发热，其次为乏力、盗汗、疲劳、体重下

学习笔记

降和关节痛，体征包括：詹韦病变（手掌或脚掌处小红斑病变）、奥斯勒节点（手指和趾垫出现痛性红色斑丘，常为暂时性）、Roth 斑（视网膜病变）和甲床裂片形出血。

血沉增加和贫血是亚急性感染性心内膜炎的常见体征。静脉药瘾者心内膜炎除具有与亚急性心内膜炎相似的临床表现外，常发生金黄色葡萄球菌血流感染，病变累及三尖瓣，导致右心感染性心内膜炎，并可能导致肺脓毒性血栓。除菌血症或血培养阳性外，IE 没有高度特异的临床表现。血培养是最有价值的诊断、治疗依据。

知识点

血培养标本采集

血培养是血流感染，包括 IE 最重要、最有价值的实验诊断技术。阳性结果不仅可以明确病因，而且可以获得抗菌药物敏感性结果，从而优化抗感染治疗，对预后具有十分重要的意义。常见菌培养 18~24 小时获得初步药敏结果。正确的采样时间、合格的标本量对提高血培养阳性率至关重要。

1. 采样时间　应在血液中细菌含量最高时，通常是在寒战或发热初期采集。

2. 采样数量　24 小时内从不同的静脉穿刺点采集 2~3 套血培养，2~5 天内不必重复采集。持续性菌血症如感染性心内膜炎，应间隔 30~60 分钟，连续采集 3 套。

3. 采血量　采血量是影响血培养阳性率最重要的因素。推荐成人每套 20~30ml 血液（即每个血培养瓶 10~15ml 血液），每个脓毒血症病程 2~4 套血培养。儿童应根据年龄、体重计算采血量，推荐 5~10ml，新生儿 1~5ml。

4. 避免污染　血培养标本采集首选经皮静脉穿刺技术。静脉穿刺前若皮肤消毒技术不规范，极易导致血培养标本污染皮肤正常定植细菌，导致假阳性结果。血培养标本被污染不仅使医疗成本增加，而且误导临床诊治。因此，无论选用何种消毒剂均应规范进行皮肤消毒，避免污染血培养标本。

思路 2：超声心动图对 IE 的早期诊断、明确并发症、判断预后和指导临床治疗均有重要价值，其中，经胸超声心动图（trans-thoracic echocardiography，TTE）检查为非侵入性，费用低，应为首选。经食管超声心动图（trans-esophageal echocardiography，TEE）对赘生物、脓肿及人工瓣膜 IE 监测的敏感性显著高于 TTE。

超声心动图检查的目的在于：①了解心内赘生物的形成、部位、大小和数目；②了解瓣膜损害征象，如瓣膜穿孔、破裂或脱垂，以及腱索断裂等；③了解脓肿形成；④了解心脏血流动力学改变及其程度；⑤了解心脏功能。

患者住院治疗。连续采集 3 套血培养，其中，3 瓶血培养有细菌生长，直接涂片均为成对或链状排列的革兰阳性球菌，血琼脂平板上菌落周围呈绿色的不完全溶血或浅灰色不溶血菌落，对奥普托欣耐药。超声心动图检查显示在二尖瓣前尖端有 8mm 的可移动性赘生物。

【问题 3】该患者可能的病因学诊断是什么？该细菌的流行病学意义有哪些？对于血培养阴性的 IE 可进行哪些检查？

病因学诊断：可能为草绿色链球菌（自体瓣膜心内膜炎）。

思路 1：草绿色链球菌是成对或链状排列的革兰阳性球菌。重要的生物学特性是 α 溶血（血琼脂板上菌落周围呈绿色的不完全溶血）或不溶血（浅灰色），对奥普托欣耐药。虽然，肺炎链球菌也是 α 溶血，但对奥普托欣敏感，且菌落因细菌自溶而呈脐窝状，菌体多为毛尖状成对排列。

草绿色链球菌重要的菌种包括缓症链球菌、口腔链球菌、高登链球菌、血链球菌、咽峡炎链球菌、唾液链球菌、变形链球菌和营养变异性种群（维生素 B_6 依赖型）。草绿色链球菌目前仍是感染

学习笔记

性心内膜炎的主要病原菌，亦可致脑膜炎、肺炎、心包炎、腹膜炎、中耳炎、鼻窦炎、口面部感染等。

知识点

感染性心内膜炎流行病学

链球菌是心内膜炎的常见病原体。其中，草绿色链球菌是口腔和胃肠道的正常菌群，可通过多种途径进入血流（如拔牙或剧烈刷牙）引起黏膜下感染，是亚急性感染性心内膜炎的常见病原体。

草绿色链球菌实验室鉴别困难，只有严重感染特别是心内膜炎患者，才被鉴定到种。

人工瓣膜心内膜炎以葡萄球菌感染占主导地位，常在瓣膜置换手术后数月出现，由术中假体污染引起。凝固酶阴性葡萄球菌（表皮葡萄球菌）较凝固酶阳性金黄色葡萄球菌更为常见。金黄色葡萄球菌常见于静脉吸毒者的急性心内膜炎。

IE 需要进行多次血培养证明持续性菌血症。

思路 2：感染性心内膜炎常见病原体可以通过传统的血培养方法进行诊断，少见病原体则不然。巴通体和伯氏考克斯体等难培养病原体感染的心内膜炎，血培养呈阴性，可以采用间接免疫荧光或 ELISA 等血清学方法检测，其他罕见病原体，采用瓣膜组织 16SrRNA PCR 和 DNA 测序技术有助于诊断。

瓣膜组织和栓子碎片除用于细菌培养及其他病原学诊断技术以外，可进行病理学检查，表现为炎性改变，尤其在赘生物边缘或基底部。

患者给予青霉素 G 钠盐 300 万 U，每 4 小时一次肌内注射，持续 1 周后仍有发热，且二尖瓣赘生物有随时栓塞的危险性，考虑行手术治疗。

【问题 4】该患者的治疗是否规范？手术治疗是否有指征？

思路：IE 抗菌药物治疗原则为早期、足量、足疗程、选用杀菌剂、联合用药。早期经验性治疗应参考当地或本医院的细菌耐药性监测资料。

知识点

感染性心内膜炎治疗原则

采集血培养后即可开始 IE 经验性抗感染治疗，再根据血培养及抗菌药物敏感性试验结果调整治疗。应选择杀菌药物，成功治愈通常需要静脉注射 4~6 周。治疗周期取决于感染病原体种类和瓣膜类型，人工瓣膜心内膜炎需要更长的疗程。抗感染治疗失败、心功能衰竭、心内脓肿，或多系统动脉栓塞时考虑手术。

下列情况常需急诊手术治疗：①瓣膜破损造成血流动力学异常；②合理应用抗菌药物后发热持续不退；③瓣周感染扩散造成脓肿和窦道；④赘生物大且栓塞的危险性大。

患者术后继续使用抗菌药物治疗，体温正常，自觉症状消失，复查血沉和血常规检查均正常。

【问题 5】如何判断患者是否治愈？还需进行哪些检查？

思路 1：应规范、足疗程使用抗菌药物 4~6 周，停用抗菌药物后第 1、2、6 周分别进行血培养，若均为阴性，可认为已治愈。

思路 2：对于一般的菌血症或真菌血症患者应根据临床症状、体征或其他血液常规及生化检查评估治疗效果，不需要通过血培养明确病原体是否清除。

学习笔记

病历摘要 2：

患者女，71 岁。因宫颈鳞癌（低分化）复发入院。入院后行广泛的妇科切除手术。手术当天行中心静脉置管。术后静脉给予广谱抗生素，第 3 天出现发热，体温 38~38.5℃，持续发热；第 8 天体温升至 39.2℃。查体：体温 39℃，心率 120 次 / 分，呼吸 20 次 / 分，血压 135/85mmHg，神清，心肺听诊无明显异常，腹软，肝脾触诊无异常。手术切口愈合可，无渗出，引流管已拔除。实验室检查：WBC 14.3×10^9/L，N 89%；血清生化正常；尿液检查：WBC（+），RBC（++），亚硝酸盐（−）；凝血功能正常；CRP 148mg/L，PCT 2.09ng/ml。影像学胸部 X 线显示正常。

【问题 1】根据以上病史及实验室检查，考虑的诊断是什么？

结合患者病史、临床表现及实验室相关检查，高度怀疑为导管相关性血流感染（catheter related blood stream infection，CRBSI）。

知识点

导管相关性血流感染概念

导管相关性血流感染（catheter-related blood stream infection）是指留置血管内导管或者拔除血管内导管 48 小时内的患者出现菌血症或真菌血症，同时伴有感染症状（例如发热、寒战或低血压等），除血管内导管外，无其他明确感染灶。

思路 1：CRBSI 的危险因素

导致 CRBSI 的危险因素包括：①导管类型：大多数 CRBSI 与非隧道式长期留置的中心静脉导管相关，约占 90%；隧道式短期留置的中心静脉导管引起血流感染的概率比较低；外周静脉导管很少引起血流感染；②导管留置时间：导管留置超过 72 小时发生感染的危险性明显增加；③导管留置部位：感染发生率由高至低依次为股静脉、颈内静脉、锁骨下静脉；④定植病原菌特性：与病原菌表面电荷、疏水性、分泌黏液及生物被膜形成有关；⑤患者生理情况及免疫状况：年龄≤1 岁或≥60 岁、使用免疫抑制剂、有远处感染灶等为高危因素。

思路 2：发热是血流感染最主要的临床表现之一，白细胞总数及中性粒细胞比例升高，CRP 和 PCT 明显增加均提示存在细菌感染。但这些生物学指标均缺乏诊断特异性。

【问题 2】为明确诊断，应进一步进行什么检查？

为明确血流感染及是否与中心静脉置管相关，应进行血培养及导管尖培养。

思路：CRBSI 的实验诊断

（1）中心静脉导管（不能拔管时）：采集至少两套血培养，其中至少一套采集自外周血静脉穿刺，另一套从导管口无菌采集，采集时间间隔应小于 5 分钟。

表 11-7-1　中心静脉导管（不能拔管时）血培养结果分析

培养结果		结果解释
外周血	导管血	
+	−	如为金黄色葡萄球菌或白色念珠菌，可能为 CRBSI；其他病原体，不能确定是否为 CRBSI
+	+	导管血较外周血报阳早 120 分钟或导管血细菌数量比外周血多 5 倍及以上，诊断为 CRBSI
−	+	可能为定植或污染
−	−	非 CRBSI

（2）中心静脉导管（可以拔除时）：从两个外周静脉穿刺点各采集一套血培养；拔出可疑导管，

无菌操作剪下 5cm 导管尖，以 Maki 半定量滚碟法培养，也可振荡或超声后进行定量培养。半定量培养≥15CFU，或定量培养≥1000CFU 为阳性结果。

表 11-7-2　中心静脉导管（可以拔除时）血培养结果分析

培养结果			结果解释
外周血 1	外周血 2	导管尖	
+	+	+	鉴定结果和药敏谱提示为同一种细菌，可能为 CRBSI
+	−	+	
−	−	+	导管定植
+	−	−	金黄色葡萄球菌或白色念珠菌，可能为 CRBSI；其他病原体，不能确定是否为 CRBSI
+	+	−	
−	−	−	非 CRBSI

知识点

CRBSI 诊断

CRBSI 通常是排除性诊断，缺乏金标准的微生物学诊断。CRBSI 诊断基于两方面，即明确诊断菌血症及血流感染来自于导管。血培养阴性、导管尖培养阳性结果的临床意义难以评价；确立感染由导管所致，通常需要排除其他原发性感染源。

根据中华医学会重症医学分会制定的《血管内导管相关感染的预防和治疗指南（2007年）》，CRBSI 诊断如下：

1. 确诊　具备下述任 1 项，可证明导管为感染来源：①有 1 次半定量导管培养阳性或定量导管培养阳性，同时外周静脉血也培养阳性并与导管尖为同一微生物；②从导管和外周静脉同时抽血做定量血培养，两者菌落计数比（导管血：外周血）≥5：1；③从中心静脉导管和外周静脉同时抽血做定性血培养，中心静脉导管血培养阳性出现时间比外周血培养阳性至少早 2 小时；④外周血和导管出口部位脓液培养均阳性，并为同一株微生物。

2. 临床诊断　具备下述任 1 项，提示导管极有可能为感染来源：①具有严重感染的临床表现，并导管头或导管尖的定量或半定量培养阳性，但血培养阴性。除了导管无其他感染来源可寻，并在拔除导管 48 小时内未用新的抗生素治疗，症状好转；②菌血症或真菌血症患者，有发热、寒战和（或）低血压等临床表现且至少两个血培养阳性（其中一个来源于外周血）其结果为同一株皮肤共生菌（例如：类白喉菌、芽胞杆菌、丙酸菌、凝固酶阴性的葡萄球菌、微小球菌和念珠菌等），但导管尖培养阴性，且没有其他可引起血行感染的来源可寻。

3. 拟诊　具备下述任一项，不能除外导管为感染的来源：①具有导管相关的严重感染表现，在拔除导管和适当抗生素治疗后症状消退；②菌血症或真菌血症患者，有发热、寒战和（或）低血压等临床表现且至少有一个血培养阳性（导管血或外周血均可），其结果为皮肤共生菌（例如：类白喉菌、芽胞杆菌、丙酸菌、凝固酶阴性的葡萄球菌、微小球菌和念珠菌等），但导管尖培养阴性，且没有其他可引起血行感染的来源可寻。

患者两套外周静脉血培养及导管尖培养均为阳性。经鉴定为白色念珠菌，且体外药敏谱一致。根据药敏结果，该患者停用广谱抗生素，给予氟康唑首剂 800mg 静脉注射，然后 400mg 每天一次静脉注射，疗程 2 周。

【问题 3】患者 CRBSI 的诊断能否确立？CRBSI 的治疗和预防原则？

患者同时抽取 2 套外周血培养和导管尖端培养，鉴定结果均为白色念珠菌，且药敏谱相同。

学习笔记

因此可诊断为 CRBSI。

知识点

CRBSI 病原体及其来源

CRBSI 常见的病原体包括金黄色葡萄球菌、凝固酶阴性葡萄球菌、白色念珠菌及革兰阴性杆菌，其他病原菌还有微球菌、无色杆菌科细菌、快速生长的分枝杆菌（偶发分枝杆菌、龟分枝杆菌）及其他真菌（如糠秕马拉色菌、红酵母菌属、镰刀菌属、毛孢子菌属、汉森酵母菌属）。其中，表皮葡萄球菌感染约占 15.6%，金黄色葡萄球菌约占 13.8%，肠杆菌科细菌、念珠菌属、非发酵菌日益增多。

CRBSI 感染源来自于：①置管部位皮肤正常菌群侵入皮下，沿导管表面定植于导管尖端，这是短期置管最常见的感染途径；②导管或导管接口被不洁的手、液体、设备污染；③少数情况下，其他部位的感染经血流播散至导管；④输入污染的液体。

思路 1：念珠菌是皮肤、胃肠道、口咽部和阴道的正常菌群。广谱抗生素治疗导致正常菌群减少，念珠菌过度生长。当宿主免疫功能低下时，引起念珠菌血症。宿主通过皮肤、黏膜的完整性，以及细胞、体液免疫系统抵御病原体入侵。血管导管穿刺术破坏了皮肤、黏膜的完整性，接受化疗、免疫抑制剂治疗的患者，以及恶性肿瘤等免疫功能低下患者，成为 CRBSI 易感人群。

知识点

CRBSI 治疗及预防原则

CRBSI 处理：一旦怀疑 CRBSI，无论是否拔除导管，除单纯静脉炎外均应采集血标本，并立即进行抗生素治疗。治疗方案的制订除了参照临床表现、可能导致感染的病原微生物流行病学资料以外，还应考虑导管类型。治疗分为经验性抗生素应用、目标性抗生素应用以及 CRBSI 严重并发症的处理。

CRBSI 预防：①持续对医护人员进行导管相关操作的培训和质量控制；②根据病情与治疗需要、操作熟练程度、相关导管并发症的发生确定置管部位；③不需要定期更换周围静脉导管、中心静脉导管，应尽早拔除血管内导管；④紧急导管置管，若无严格无菌操作，导管留置不宜超过 48 小时；尽量选择导管接头和管腔最少的中心静脉导管；⑤不常规推荐抗生素涂层导管；⑥局部抗生素软膏预防。

思路 2：由凝固酶阴性葡萄球菌等低毒力病原菌引起的无并发症的 CRBSI 常不引起深部感染，对抗菌药物有效者可暂不拔管；对抗菌药物治疗有效的长期稳定的隧道导管，若无隧道感染者可不拔除导管，可用抗菌药物溶液封管治疗。金黄色葡萄球菌导致的 CRBSI，拔除导管后使用敏感抗生素治疗 14 天。一旦诊断为念珠菌 CRBSI，应立即进行抗真菌治疗，疗程至临床症状消失和血培养最后一次阳性后两周。目前缺乏关于评估革兰阴性杆菌感染后抗生素选择和疗程的研究。根据患者感染严重程度，选择敏感的抗生素，必要时联合治疗，一般拔除导管后抗感染治疗 10~14 天。

思路 3：CRBSI 严重并发症的处理。

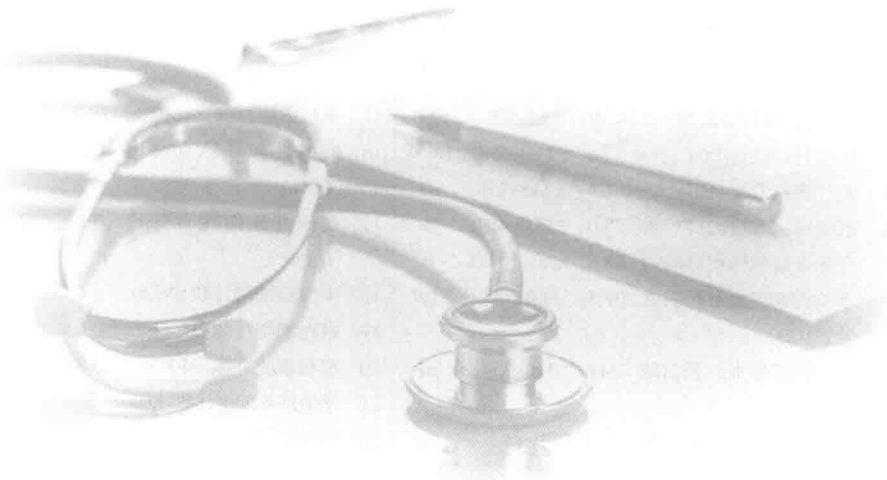
导管内定植细菌是导致院内发生感染性心内膜炎的主要原因，葡萄球菌是最主要的病原菌，近年来真菌性心内膜炎有增加的趋势。当发生持续的细菌血症或真菌血症时，应去除导管或植入装置，抗生素治疗应大于 4 周。如为真菌性心内膜炎，抗生素疗程不低于 6 周，必要时需外科手术治疗。

（孙自镛）

学习笔记

第三篇

临床检验医学技术与应用



第十二章 临床基础检验

临床基础检验是指以人体血液、尿液、粪便及其他各种体液和分泌物为标本，利用自动化仪器和传统手工方法的两大检测手段，进行一般性状观察及物理学、化学和形态学方面的检查，以获得有关病原体、体内病理改变和脏器功能状态等方面的信息，为疾病诊断、疗效观察及预后判断提供依据。

第一节 外周血细胞分析

外周血细胞分析是血液检验项目中最基础和最常用的检验，主要包括仪器法或手工法血细胞常规检验、网织红细胞分析和血细胞形态学检验等。

一、血细胞常规检验

病历摘要：

患者男，49岁。因头晕、乏力、发热两周在门诊就诊。查体：体温38.4℃，贫血貌，脾大，浅表淋巴结未及肿大，皮肤及黏膜无出血、瘀斑。外周血细胞常规检验结果如下：

×× 医院检验报告单

姓名：某某　　病历号：××××××　　临床诊断：急性白血病?　　标本种类：EDTA抗凝全血
性别：男　　科别：内科　　申请医生：　　标本编号：××××××
年龄：49　　病房：×病房　　备注：空腹采血　　采集时间：××××-03-18-08：45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位	No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	白细胞计数(WBC)	4.80	3.5~9.5	10^9/L	15	单核细胞百分比(MO%)	79.3	↑3.0~10.0	%
2	红细胞计数(RBC)	2.86	↓3.80~5.10	10^{12}/L	16	嗜酸性粒细胞百分比(EO%)	0.2	↓0.4~8.0	%
3	血红蛋白浓度(HB)	77	↓115~150	g/L	17	嗜碱性粒细胞百分比(BA%)	0.1	0~1.0	%
4	红细胞比容(HCT)	25.0	↓35.0~45.0	%	18	中性粒细胞计数(NE#)	0.4	↓1.8~6.3	10^9/L
5	平均红细胞体积(MCV)	93.5	82.0~100.0	fl	19	淋巴细胞计数(LY#)	0.6	1.1~3.2	10^9/L
6	平均红细胞血红蛋白含量(MCH)	31.1	27.0~34.0	pg	20	单核细胞计数(MO#)	3.8	↑0.1~0.6	10^9/L
7	平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)	344	316~354	g/L	21	嗜酸性粒细胞计数(EO#)	0	↓0.02~0.52	10^9/L
8	红细胞体积分布宽度(RDW)	22.4	↑<14.9	%	22	嗜碱性粒细胞计数(BA#)	0	0~0.06	10^9/L
						显微镜白细胞分类计数			
9	血小板计数(Plt)	69	↓125~350	10^9/L	23	中性杆状核粒细胞(NEU-b)	1	1~5	%
10	平均血小板体积(MPV)	8.2	7.7~13.0	fl	24	中性分叶核粒细胞(NEU-s)	6	↓50~70	%
11	血小板比容(PCT)	0.11	↓0.18~0.22	%	25	淋巴细胞(LYM)	11	20~40	%
12	血小板体积分布宽度(PDW)	19.1	↑<17.2	%	26	单核细胞(MON)	2	↓3~8	%
13	中性粒细胞百分比(NE%)	8.5	↓40.0~75.0	%	27	原始细胞(Blast)	80	↑0	%
14	淋巴细胞百分比(LY%)	11.9	20.0~50.0	%					

接收者：　　接收时间：××××-03-18-08：50　　审核者：　　审核时间：××××-03-18-09：10
检验者：　　检验时间：××××-03-18-08：55　　检测实验室：　　×× 医院检验科血液室

学习笔记

【问题1】从血细胞常规检验报告结果分析并结合患者的临床表现，该患者初步考虑最可能的诊断是什么？

血细胞常规检验（临床简称为“血常规”）一般包括常用的22项全血细胞计数（complete blood count，CBC）结果。本例患者CBC显著异常，依据复检规则，进行了显微镜血涂片白细胞分类计数。根据本例患者有中度贫血、原始细胞高达80%，血小板明显减少，伴头晕、乏力、发热及脾大，最可能的诊断为急性白血病（acute leukemia，AL）。

思路1：患者的临床表现符合典型的急性白血病：急性起病、贫血、发热、出血和肝大。此外，部分急性白血病患者还可表现为肝大、浅表淋巴结大、骨及关节疼痛及皮肤黏膜出血，本例患者无出血表现，可能与血小板降低（Plt为69×10^9/L）不特别显著有关。

知识点

急性白血病的临床表现

起病急缓不一，主要与正常造血受抑制和白血病细胞浸润有关。常表现为发热、出血和贫血等。白血病细胞增殖、浸润可导致淋巴结和肝（脾）大、骨骼与关节疼痛等。

思路2：急性白血病的诊断

根据临床表现、血象（外周血细胞常规检验）和骨髓象（骨髓涂片细胞形态学检验）特点，急性白血病的诊断一般不难。本例患者外周血白细胞不增多，WBC处于参考区间内，但白细胞分类显著异常。当临床疑为AL且CBC的白细胞分类异常时，应以显微镜血涂片白细胞分类计数为准。本例患者原始细胞高达80%，且伴有中度贫血和血小板减少，首先考虑AL的诊断，而类白血病反应一般外周血可见较多的幼稚白细胞但原始细胞比例不高。

知识点

急性白血病的血象特点

大部分患者WBC增高，可达100×10^9/L以上，少数正常或减少，但血涂片显微镜分类计数常见原始细胞和（或）幼稚细胞，典型病例原始细胞≥20%。常伴有不同程度的正细胞正色素性贫血，但少数病例红细胞大小不等，可见幼红细胞。约50%患者血小板减少。

思路3：急性白血病的贫血特点

患者HB、RBC和HCT显著降低，达到中度贫血程度，但红细胞指数MCV、MCH和MCHC三项指数在参考区间内，符合急性白血病的正细胞正色素性贫血。由于不同患者的基础状况、病程差异等，贫血程度可有差别。

知识点

红细胞指数的应用

红细胞指数通常指经HB、RBC和HCT计算得到的MCV、MCH和MCHC，临床主要用于贫血的形态学分类（表12-1-1）。

表12-1-1　贫血的形态学分类及常见贫血的特点

贫血类型	MCV	MCH	MCHC	常见贫血
大细胞性贫血	↑	↑	N	巨幼细胞性贫血及恶性贫血等
正细胞性贫血	N	N	N	急性失血性贫血、急性溶血性贫血、骨髓病性贫血如白血病等

学习笔记

续表

贫血类型	MCV	MCH	MCHC	常见贫血
单纯小细胞性贫血	↓	↓	N	慢性感染性贫血、慢性肾疾病所致贫血等
小细胞低色素贫血	↓	↓	↓	缺铁性贫血、珠蛋白生成障碍性贫血、铁粒幼细胞性贫血等

注：↑高于参考区间上限，N 在参考区间内，↓低于参考区间下限

【问题 2】为何检验报告中 7 项红细胞参数的变化不一致，有必要查这么多吗？

在血常规检验中，红细胞检测参数一般为 7 项，每项参数均从不同侧面反映红细胞的变化，对贫血的筛查、诊断、分类及疗效观察均有临床意义。近年来，随着血细胞分析技术的进展又出现了一些新红细胞参数，例如血红蛋白分布宽度、低色素小细胞百分率等，对临床及科研有一定价值，但还未作为常规参数报告。

思路 1：血细胞分析仪检测红细胞的原理

一般以电阻抗原理应用最多，即血液经一定比例稀释后通过仪器的计数微孔管，不同体积的红细胞相对于电解质稀释液为非导电颗粒，可引起小孔内外形成电流或电压脉冲相应变化；脉冲数与红细胞的数量正相关，脉冲幅度与红细胞的体积大小正相关，由此计算红细胞的数量和体积。红细胞被溶血剂破坏后释放出血红蛋白，并与稀释液中的试剂反应，最后形成氰化高铁血红蛋白，通过分光光度法测定。仪器分析可同时得到 7 项或更多的红细胞参数。

思路 2：红细胞直方图与 RDW 的同时分析更有价值

红细胞体积分布直方图（图 12-1-1A）直接反映红细胞体积大小的分布状况，其峰宽的大小反映红细胞体积大小的变异程度，可通过 RDW 定量描述。此患者的红细胞直方图（图 12-1-1B）底部显著增宽，直方图提示有小红细胞、正常红细胞两群和部分大红细胞，表明红细胞有明显大

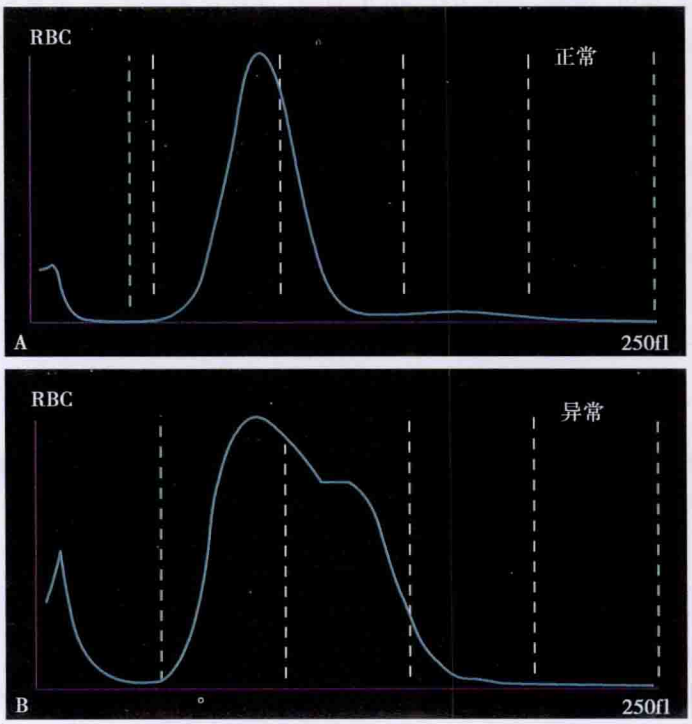
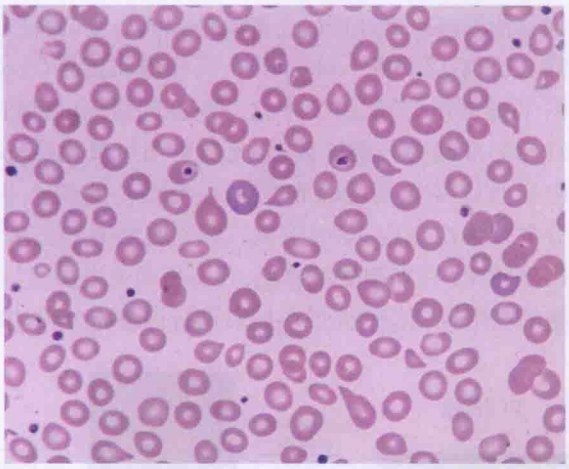


图 12-1-1　红细胞体积分布直方图

学习笔记

小不均，RDW 也显著增高(28.4%)。此患者 MCV、MCH、MCHC 正常，RDW 增高，属于不均一性正细胞正色素贫血，可见三项指数与 RDW 联合应用能更准确地分析患者贫血的性质。大多数 AL 患者属于均一性(RDW 不增高)正细胞正色素贫血，此患者年龄 49 岁，出现红细胞大小不均可能与发病前的基础疾病有关，特别是从骨髓增生异常综合征转化为 AL 的患者易见此表现。显微镜检查血涂片中红细胞确实存在大小不均，还可见部分泪滴形红细胞(图 12-1-2)，提示患者骨髓可能存在一定程度纤维化。



瑞氏染色，×1000

图 12-1-2　血涂片红细胞形态

思路 3：7 项参数从不同侧面反映了红细胞的生理病理变化，联合应用更有价值

RBC、HB、HCT 主要用于判断贫血(不同程度降低)或红细胞增多症(不同程度升高)。MCV、MCH 和 MCHC 三项参数多用于贫血的红细胞形态学分类，但由于是经 RBC、HB、HCT 计算得到，有时因标本原因会产生一定偏差，故有的血细胞分析仪直接测定 MCV 和 MCH，由此计算出 MCHC(MCH/MCV)，可减少误差。RDW 则可定量反映红细胞体积大小不均的程度，一些不均一性贫血，例如缺铁性贫血、巨幼细胞性贫血，治疗前 RDW 增加，治疗有效后 RDW 进一步增大，随着疾病治愈 RDW 逐渐恢复至正常。MCV 和 RDW 也可联合用于贫血的形态学分类，可分为均一性和非均一性两大类，每一类又分为大、正、小细胞三类，此例患者属于不均一性正细胞性贫血。

【问题 3】为何检验报告中出现两种白细胞分类计数结果？应以谁为准？

检验报告中的前 22 项参数均为全自动血细胞分析仪的检测结果，23~27 项为显微镜观察血涂片后的形态学分类计数白细胞的结果。由于全自动血细胞分析仪对正常成熟白细胞的分类计数准确，但对异常细胞，例如原始细胞、幼稚细胞等不能正确分类，只能提示异常或报警，在此种情况下需要通过显微镜检查瑞氏或瑞 - 姬染色血涂片，进行人工显微镜分类计数。因此，当检验报告中出现全自动血细胞分析仪和显微镜白细胞分类计数两种结果时，应以显微镜分类计数为准。

目前，绝大多数临床实验室都建立了血细胞分析仪的复检规则，根据此规则约 20%~30% 的血常规标本需要显微镜复检。近年来出现的全自动血细胞形态数字图像分析仪也可用于血涂片白细胞分类计数，而且自动化程度高，数字化血细胞图像更方便结果审核、网络传输和质量控制，是未来血细胞分类计数和形态识别的发展方向。

知识点

血细胞分析的复检规则

血细胞分析仪检测血细胞主要用于全血细胞计数，对血细胞形态异常(质量变化)只能用于筛查。对于筛查阳性的标本需要进行复检，包括重复、重新采集标本、去除干扰因素后再测定和显微镜形态学复检等，统称为血液学复检(hematology review)。2005 年，国际血液学检验学会(ISLH)首次提出了 41 条复检规则供临床实验室参考应用。中华医学会检验分会也组织了全国部分专家，建立了不同系列血细胞分析仪的复检规则，在保证假阴性率低于 5% 的前提下，各实验室可依据检测系统和医院就诊患者人群特点制定复检规则。

学习笔记

思路 1：不同血细胞分析仪检测白细胞的原理不同，分类计数结果可有显著差异

目前血细胞分析仪多采用以下原理分类计数白细胞。①电阻抗原理：电阻抗型血细胞分析仪可依据溶血剂处理后白细胞体积大小不同将白细胞分成大、中间、小细胞三群，仅具有一定的筛选价值；②体积（volume，V）、高频电流传导（conductivity，C）和光散射（scatter，S）原理：仪器依据 VCS 测量信号，在 X、Y、Z 三维空间对接近自然状态下的白细胞进行分类，可对成熟白细胞进行较为准确的分类计数；③光散射与过氧化酶（peroxidase，POX）染色原理：根据不同种类白细胞经 POX 染色后的吸光度（absorbance）的差异，并结合不同的前向光散射特点（forward scatter）分类计数白细胞；④电阻抗、射频、光散射和核酸染色原理：白细胞经核酸荧光染料染色后，使 DNA、RNA 和细胞器等着色，其染色的荧光强度与不同种类及发育阶段的白细胞相关，并结合细胞的电阻抗、射频、光散射特点进行白细胞分类计数（图 12-1-3）。

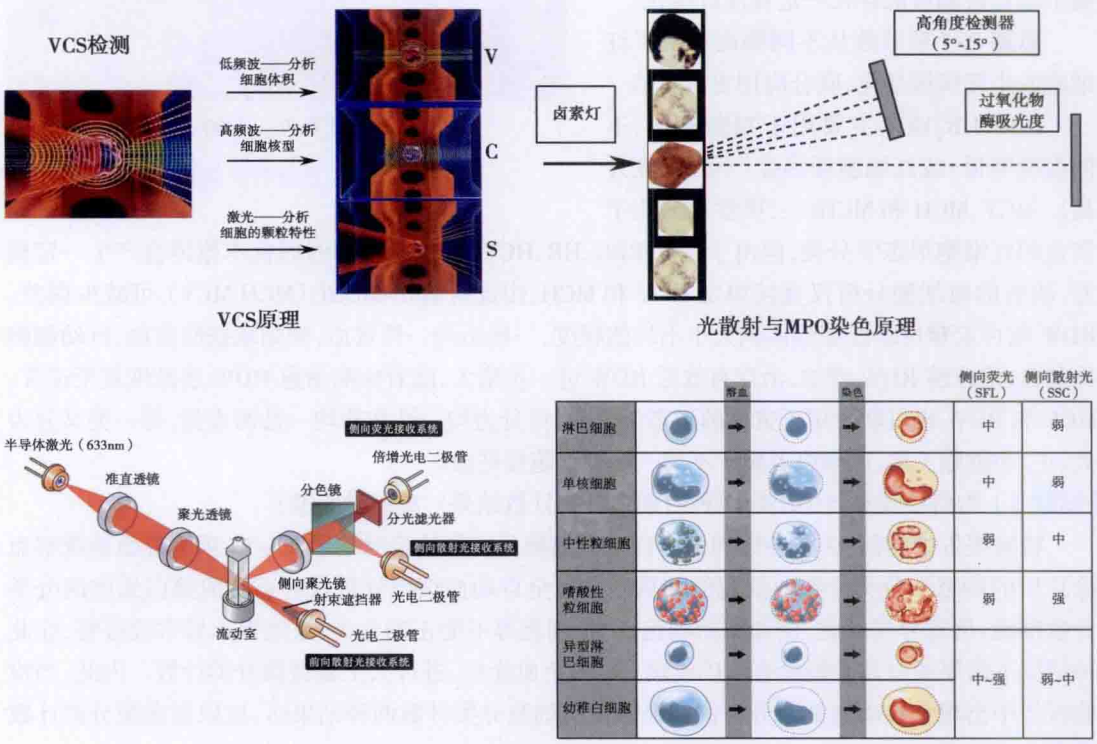


图 12-1-3　白细胞计数原理

采用②③④原理的血细胞分析仪多为 5 分类（群）计数白细胞，部分仪器对造血祖细胞、未成熟粒细胞、有核红细胞等也可以计数；少数仪器还增加了荧光素标记单克隆抗体，通过免疫荧光法结合光散射对淋巴细胞亚群等进行计数。虽然血细胞分析仪分类计数白细胞仅对正常成熟白细胞具有较高的准确度和精密度，但对异常白细胞也具有筛查或提示功能，不同仪器的差别主要是检测速度、筛查或提示功能灵敏度、特异性、假阳性或假阴性率等的差别。

思路 2：白细胞分析直方图或散点图的应用

不同血细胞分析仪的直方图或散点图有显著差别，应熟悉本实验室所用仪器的图形，并结合 CBC 数据和直方图或散点图的变化特征，以及仪器的异常提示（警报）进行综合分析，并依据血液学复检规则采取相应的复检措施，才能保证 CBC 结果的准确、可靠。①白细胞体积分布直方图（图 12-1-4A）：三分群白细胞，对于正常标本的三群细胞主要指淋巴、单核和粒细胞，图形异常时相应细胞群称为小细胞、中间细胞和大细胞，当直方图异常或某群细胞超出参考区间时均

学习笔记

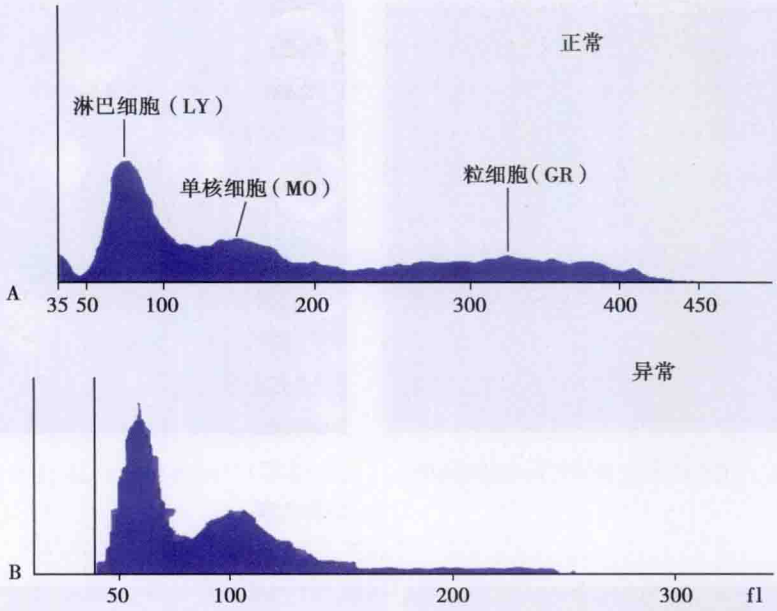


图 12-1-4　白细胞体积分布直方图

提示可能存在白细胞异常。本例患者白细胞直方图（图 12-1-4B）主要见到小细胞和中间细胞两群，中间细胞显著增多（约 50.3%），大细胞显著减少，血涂片复检原始细胞 49%。现在白细胞三分群仪器一般多在基层医院使用；②白细胞 VCS 散点图（图 12-1-5）：通过 VCS 三参数观察两幅散点图中个群细胞的分布变化，可以了解何种白细胞异常。本例患者的 VCS 散点图（图 12-1-6）明显异常，单核细胞群（MO）显著增多，中性粒细胞群明显减少（NE），血涂片复检原始细胞 80%，中性粒细胞仅 7%；③光散射与过氧化酶（POX）染色白细胞散点图：白细胞染色后，POX 活性由强到弱的顺序是嗜酸性粒细胞 > 中性粒细胞 > 单核细胞，嗜碱性粒细胞和淋巴细胞无活性。根据前向光散射和 POX 染色强度分类计数白细胞具有较高的特异性，还可以测定白细胞的 POX 活性，散点图对白细胞种类有无异常的判断更客观（图 12-1-7）。由于嗜碱性粒细胞和淋巴细胞无 POX 活性，另用单独的通道区分两者，并根据白细胞核的光散射特性不同，分析核象变化（核分叶指数）、原始细胞和有核红细胞（图 12-1-8）；④电阻抗、射频、光散射和核酸染色白细胞散点图（图 12-1-9）：根据光散射和荧光染色强度在白细胞分类通道（DIFF 通道）将白细胞分成四群，如果有原始或幼稚细胞将出现在高核酸含量的区域。嗜碱性粒细胞计数经单独的通道检测，在溶解其他白细胞后的嗜碱性粒细胞光散射最强。

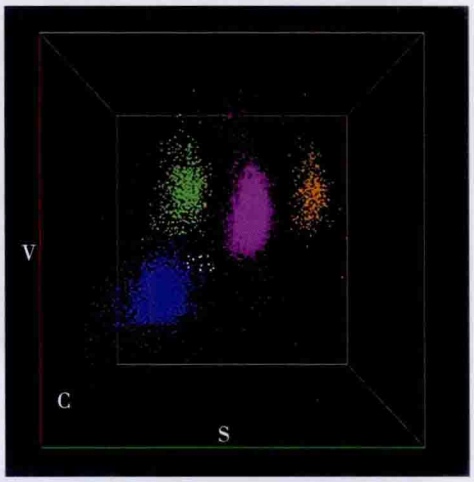


图 12-1-5　VCS 技术检测正常白细胞散射图

思路 3：血细胞分析仪与显微镜法分类计数白细胞的异同：全自动血细胞分析仪分类计数白细胞具有简便、快捷、定量（包括绝对计数）的优势，对正常成熟白细胞分类计数的高精密度和准确度较高；但由于主要是根据白细胞的物理或化学性质检测，目前对异常细胞还达不到显微镜法分类计数的准确度，临床主要用于白细胞分类计数的筛查，但筛查的灵敏度还达不到 100%，存在一定的假阴性和假阳性率。目前显微镜法是分类计数白细胞的“金标准”，但由于血涂片的

学习笔记

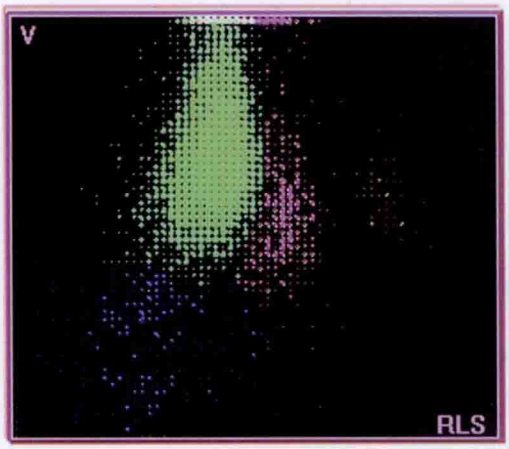


图 12-1-6　VCS 技术检测异常白细胞散射图

图 12-1-7　光散射和 POX 技术检测白细胞散射图

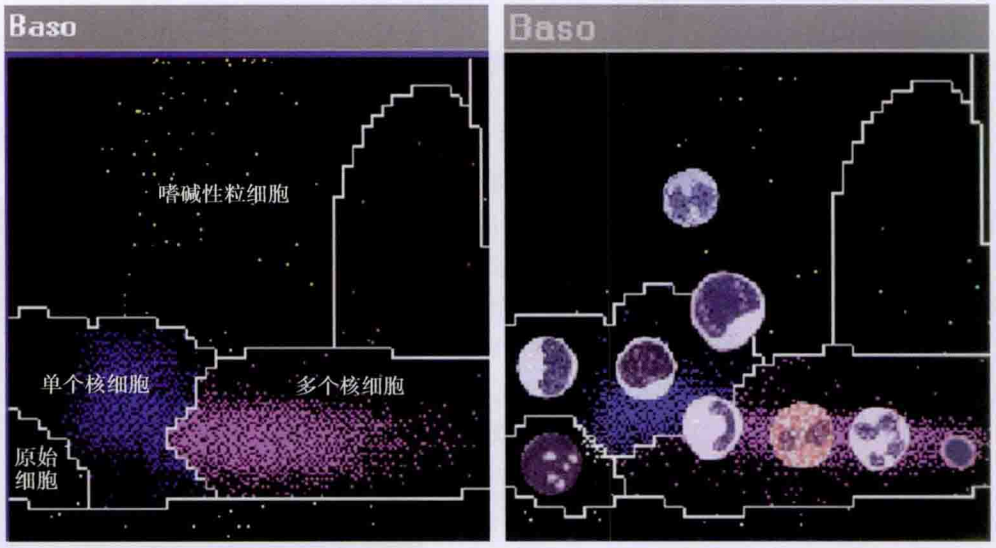


图 12-1-8　电阻抗、射频、光散射和核酸染色白细胞散点图

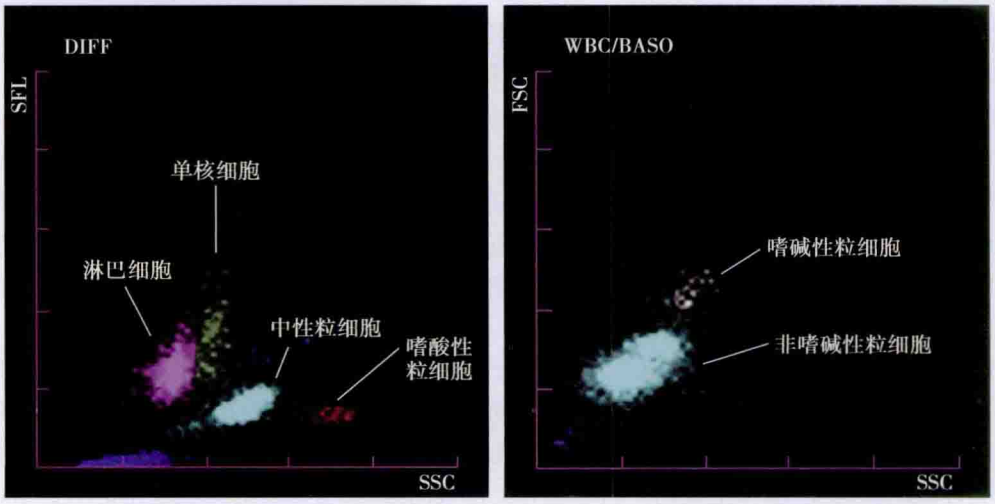


图 12-1-9　电阻抗、射频、光散射和核酸染色技术检测白细胞散射图

学习笔记

推片、染色和人工显微镜检查等因素，耗时长、速度慢、主观性强等，检验结果存在较大的变异。即使根据血细胞分析仪的复检规则筛出的临床标本约 20%~30% 进行显微镜检查，但仍不能满足临床的需要。近年来出现的全自动血细胞形态学数字图像分析系统，由于速度快、精密度高、自动获取图像、计算机辅助人工识别、图像数字化传输与储存方便，未来将可能逐渐替代显微镜分类计数白细胞。

因此，当 CBC 结果异常、怀疑血液系统疾病、感染性疾病等可能出现白细胞分类计数异常时，实验室必须进行显微镜白细胞分类计数，可以避免仅仅是仪器计数的假阴性结果。

【问题 4】检验报告中血小板计数（Plt）显著减少，其结果可靠吗？其他三项参数包括 MPV、PCT 和 PDW 有临床意义吗？

本例患者最可能是急性白血病，伴血小板明显减少符合临床，但结果是否可靠所涉及的因素较多。如果血细胞分析仪定期经过校准、性能可靠，参加室间质评结果合格，每天的室内 2~3 个水平的质量控制结果在控，标本采集得当，检测及时，一般血小板计数结果是可靠的。由于本例患者 CBC 结果有多项异常，在显微镜复检时应注意观察血涂片中血小板有无巨血小板、小血小板或聚集等；若无，报告可发出。临床常遇到急性白血病患者血小板重度减少的病例，尤其是 Plt<20×10^9/L 时，不同原理的血细胞分析仪计数血小板的结果可能有显著差异。当 Plt 异常时，与 MPV、PCT 和 PDW 三项参数联合分析更有意义。

思路 1：不同血细胞分析仪检测血小板的原理不同，同一标本用不同仪器检测的结果可有显著差别

目前，血细胞分析仪计数血小板的原理主要是电阻抗法和光学法两种。电阻抗法原理（图 12-1-10）主要是根据血小板体积大小进行计数，易受多种因素干扰，例如小红细胞、巨血小板、细胞碎片等。当仪器计数血小板有干扰报警时，可采用光学法原理（图 12-1-11）的仪器计数。光学法原理主要是根据细胞的光散射特点的差异区别血小板、红细胞和细胞碎片等，受干扰因素少，特别是加入了某些特殊荧光染料染色后更增强了对血小

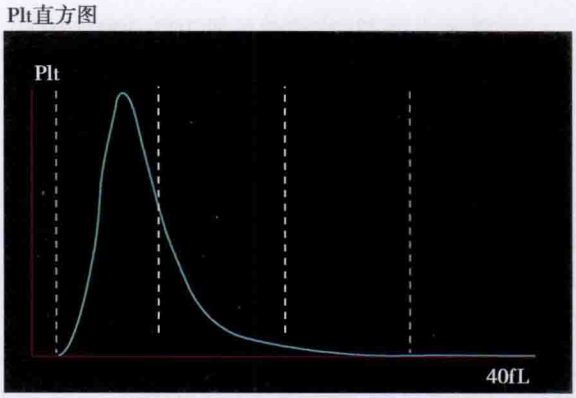


图 12-1-10　电阻法检测血小板直方图

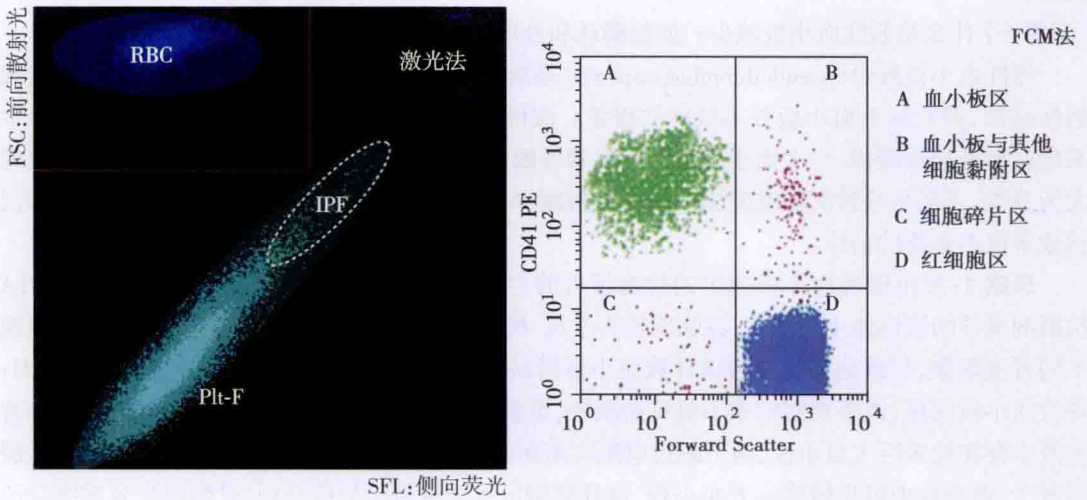


图 12-1-11　激光法和 FCM 法检测血小板直方图

板计数的特异性，而且还可以计数核酸含量高的未成熟血小板比率（immature platelet fraction，IPF），对判断血小板造血有一定意义。由于血小板体积小（一般在 2~20fl 范围），受干扰因素多，即使光学法也不是特异性计数血小板。应用血小板特异性单克隆抗体结合流式细胞术（flow cytometry，FCM）可以特异性计数血小板，FCM 结合血小板膜糖蛋白（例如 CD41、CD61）和前向角光散射（forward scatter）可以特异性区分血小板、红细胞、细胞碎片等，对干扰因素多、血小板数极低、巨血小板等标本计数更准确，还可以用于校准血细胞分析仪。当仪器计数血小板异常时，配合血小板直方图或散点图观察，有助于判断 Plt 结果的可靠性或发现异常病例的线索。

临床常用电阻抗法和光学法仪器计数血小板，一般是前者有异常时加用后者验证，FCM 作为参考方法较少用。必要时，显微镜法计数也可以作为补充。

思路 2：在 Plt 异常时，同时分析 MPV、PCT 和 PDW 是血小板分析的补充

MPV 和 PDW 可衡量血小板体积及其变异程度，PCT 则是 Plt 与 MPV 的乘积，其数值与两者呈正相关。例如，当骨髓造血功能抑制时，Plt、MPV 均减低；恢复时，MPV 常先于 Plt 回升。血小板减少症鉴别：生成减少时，Plt、MPV、PCT 均减低；破坏增多时，MPV 增大，Plt 降低，PDW 增大。

知识点

Plt 与 MPV 的相关性

健康人群 Plt 的参考区间(100~300)×10^9/L，在此范围内 Plt 与 MPV 呈非线性负相关，即血小板低时，MPV 相应增高；反之亦同。

思路 3：Plt 减少时，如何确定结果的可靠性？

当 Plt<100×10^9/L、>50×10^9/L（轻度减少）时称为血小板减少症（thrombocytopenia）；当 Plt<50×10^9/L、>20×10^9/L（中度减少）时，患者可有皮肤或黏膜轻度出血；Plt≤20×10^9/L（重度减少）时，患者可有皮肤或黏膜严重出血，甚至内脏出血。因此，当血小板中度或重度减少时，应仔细观察血小板直方图或散点图有无异常，仪器有无报警提示，然后通过显微镜血涂片复检，观察是否有血小板聚集导致的假性减少；若血涂片中血小板真性减少，且仪器质控通过、计数无报警、直方图或散点图符合，标本采集无误，可以发出 Plt 减少的报告。本例患者标本血小板直方图正常、仪器报警血小板减少，显微镜复检血涂片血小板无聚集、数量显著减少。

【问题 5】什么是假性血小板减少？如何确认和处理？

假性血小板减少（pseudothrombocytopenia）是指某些因素可致血细胞分析仪计数血小板出现假性减低，但实际上血小板并不减少的现象。假性血小板减少可由于 EDTA 抗凝剂诱导、标本采集时血液轻度凝固，巨大血小板和冷凝集素等因素所致。假性血小板减少的确认和正确处理尤为重要，否则易导致实验室发出一份血小板减少的错误检验报告，引起患者误解，甚至临床误诊或采取不必要的治疗。

思路 1：发出假性血小板减少的检验报告的主要原因，主要是由于下述因素所致：①EDTA 抗凝剂诱导的假性血小板减少：在临床较为常见，约占 0.1%；标本采集后引起血小板在体外出现不同程度聚集，导致血细胞分析仪计数血小板错误，Plt 假性减低；②标本采集时血液轻度凝固：导致血小板聚集，肉眼观察标本不易见血凝块，重新采血检测 Plt 正常；③巨血小板增多症：患者血液中存在较多巨大血小板，由于超过电阻抗型血细胞分析仪的阈值，也不能将其计数，Plt 呈假性减少，血涂片中可见较多巨大血小板，这种病例可见于巨血小板综合征、骨髓增生异常综合征等；④冷凝集素：可导致血小板聚集，引起血细胞分析仪计数血小板假性减低，血涂片中血小板

学习笔记

多呈大片状聚集，临床可见于浆细胞骨髓瘤等。⑤全聚集：极少数患者血小板在多数抗凝剂条件下均发生聚集，导致假性血小板减少。

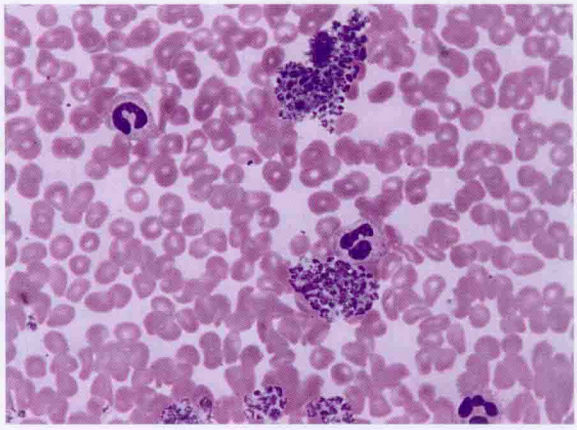
知识点

EDTA 抗凝剂诱导的血小板凝集机制

EDTA-K_2 或 EDTA-K_3 抗凝血导致血小板糖蛋白复合物（GPⅡb-Ⅲa）中 GPⅡb 的钙离子结合部位的钙离子被 EDTA 螯合，导致 GPⅡb-Ⅲa 复合物空间构象破坏，暴露出其隐蔽抗原，与待测标本血浆中相应的自身抗体结合，引起血小板不同程度聚集。

思路 2：EDTA 诱导假性血小板减少的确认

EDTA 抗凝剂可诱导其血小板发生聚集，导致血细胞分析仪无法计数血小板，Plt 显著减低，但血涂片中，尤其是边缘或尾部可见成堆的聚集血小板，聚集块的大小因人而异，可 3~5 个或大片状血小板凝集；若聚集块与白细胞大小相近时（图 12-1-12），也可导致 WBC 假性增高。若改用 106mmol/L 枸橼酸钠或其他做抗凝剂计数，血小板则不会发生聚集。若换用抗凝剂仍出现血小板聚集，则不一定是 EDTA 诱导的假性血小板减少。



瑞氏染色，×1000

图 12-1-12　EDTA 诱导的假性血小板减少

思路 3：假性血小板减少标本的处理方法与结果报告：①对 EDTA 诱导的假性血小板减少标本最简便的处理方法是采集毛细血管血直接加入无 EDTA 抗凝剂的稀释液中用显微镜法计数血小板并直接报告结果。若换用枸橼酸钠或肝素等抗凝剂，也可用血细胞分析仪计数，但除 Plt 外，CBC 的其他参数不可靠，一般不报告；②巨血小板增多标本可采用具有光学法、特殊荧光染色法或单克隆抗体免疫法原理的血细胞分析仪检测，而且不影响 CBC 其他参数；③其他原因所致假性血小板减少，如不明原因、血液凝固的标本重新采血检测。全凝集或冷凝集标本可采用加温采血和显微镜计数法器具，直接采集毛细血管血，用显微镜法计数血小板并直接报告结果。

【问题 6】全血细胞计数结果有质量保证吗？临床如何了解结果的可靠性？

临床实验室的全血细胞计数（CBC）受多种因素影响，但只要落实检测前、检测中和检测后的质量保证措施，结果质量完全可以保证。特别是目前国内较多三级医院检验科已通过 ISO15189 医学实验室质量和能力的认可，没有认可的实验室如果参照 ISO15189 的标准执行，CBC 的质量可以信赖。实验室一般可以通过质量保证措施控制检测过程中的质量，但检测前后的质量需要临床的配合，特别是患者的准备、标本采集、运输和送检等过程应按照标准化操作规程进行。临床可以通过与实验室沟通，了解标本分析环节和质量保证措施，结果与患者病情的相关性等判断其可靠性。

思路 1：检测前因素可显著影响结果

多种检测前因素可影响血常规结果，包括患者的准备、标本的采集、合适的检测环境、合格的血细胞分析仪和与之配套的试剂等。是否采集到合格的标本是临床医护人员最易忽略的，也是最常见的因素。

学习笔记

知识点

血常规检验合格检测标本的要求

标本：尽可能采静脉血，无凝血、溶血。采血容器：尽可能用真空采血。抗凝剂：ICSH推荐使用EDTA-K_2(1.5~2.0mg/ml血)。标本保存：18~22℃时WBC、RBC、Plt可稳定24小时；白细胞分类可稳定6~8小时；HB可稳定24~48小时。4℃可延长储存时间，但Plt例外。

思路2：评价血细胞分析仪性能和定期校准

新安装或经过大修的仪器均应进行性能评价，包括分析测量区间、携带污染、精密度、相关性、准确度、对异常标本或干扰物的评价、临床可报告区间、参考区间制订或验证等，特别是应用有可溯源的校准品（一般由仪器厂商提供）对仪器的主要测量参数，包括WBC、RBC、HB、MCV、HCT、Plt进行校准，并达到国际标准或行业标准后，仪器才能检测临床标本。

思路3：血细胞分析仪的有效质量控制措施是保证结果可靠的前提条件

质量控制措施包括室间质量评价（external quality assessment，EQA），简称室间质评，室内质量控制（internal quality control，IQC），简称室内质控两部分。CBC室间质评一般由原国家卫生部或省、市临床检验中心或质量评价中心，或权威机构（如美国病理家协会）等每季度发放一次全血质控品，检测后回报结果；如果合格，表明血细胞分析仪检测系统的准确度达标。室内质控主要是应用高、中、低三个水平的全血质控品（一般由仪器厂商提供），每日按常规标本操作规程检测CBC 1~3次，结果达到本实验室制订的室内质量控制目标后才能检测临床标本。室内质控合格主要反映实验室的检测精密度达标。只有室间质评和室内质控达标后，才能保证检测结果的准确度和精密度。

二、血细胞形态学检验

病历摘要：

患者男，17岁。2天前突然发热，体温39℃，伴轻微头痛，无恶心、呕吐、腹泻。血WBC 35.4×10^9/L，红细胞4.55×10^{12}/L，血红蛋白120g/L，血小板156×10^9/L。静脉滴注氨苄西林，口服退热药等，体温仍不退。急诊入院，体温38.6℃，心率143次/分，血压70/46mmHg。今日开始出现腹痛、腹泻，大便量少，脓血便，感觉里急后重，恶心，呕吐，此间仍高热不退，达39.8℃，并出现畏寒、四肢冰冷、口唇青紫、轻度抽搐，神志不清等。外周血细胞常规检验结果如下：

××医院检验报告单

姓名：某某　　病历号：××××××　　临床诊断：白细胞增高待查　　标本种类：EDTA抗凝全血
性别：男　　科别：内科　　申请医生：某某　　标本编号：××××××
年龄：17岁　　病房：×病房　　备注：空腹采血　　采集时间：××××-09-11-09：40

No.	检验项目	结果	参考区间	单位	No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	白细胞计数(WBC)	35.40	↑3.5~9.5	10^9/L	8	红细胞体积分布宽度(RDW)	12.4	<14.9	%
2	红细胞计数(RBC)	4.55	3.80~5.10	10^{12}/L	9	血小板计数(Plt)	156	125~350	10^9/L
3	血红蛋白浓度(HB)	120	115~150	g/L	10	平均血小板体积(MPV)	8.9	7.7~13.0	fl
4	红细胞比容(HCT)	36.0	35.0~45.0	%	11	血小板比容(PCT)	0.20	0.18~0.22	%
5	平均红细胞体积(MCV)	95.5	82.0~100.0	fl	12	血小板体积分布宽度(PDW)	11.1	<17.2	%
6	平均红细胞血红蛋白含量(MCH)	32.1	27.0~34.0	pg	13	中性粒细胞百分比(N%)	86.5	↑40.0~75.0	%
7	平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)	324	316~354	g/L					

学习笔记

续表

No.	检验项目	结果	参考区间	单位	No.	检验项目	结果	参考区间	单位
14	淋巴细胞百分比(L%)	10.5	↓20.0~50.0	%	显微镜白细胞分类计数				
15	单核细胞百分比(MO%)	0.3	↓3.0~10.0	%	23	中性杆状核粒细胞(NEU-b)	50	↑1~5	%
16	嗜酸性粒细胞百分比(EO%)	2.0	0.4~8.0	%	24	中性分叶核粒细胞(NEU-s)	26	50~70	%
17	嗜碱性粒细胞百分比(BA%)	0.7	0~1.0	%	25	淋巴细胞(LYM)	12	↓20~40	%
18	中性粒细胞计数(NE#)	3.8	↑1.8~6.3	10^9/L	26	单核细胞(MON)	3	↓3~8	%
19	淋巴细胞计数(LY#)	0.5	↓1.1~3.2	10^9/L	27	原始细胞(Blast)	0	↑0	%
20	单核细胞计数(MO#)	0	↓0.1~0.6	10^9/L	28	中幼粒细胞	4	↑0	%
21	嗜酸性粒细胞计数(EO#)	0.25	0.02~0.52	10^9/L	29	晚幼粒细胞	5	↑0	%
22	嗜碱性粒细胞计数(BA#)	0	0~0.06	10^9/L					

接收者:某某　　接收时间:××××-09-11-09:50　　审核者:某某　　审核时间:××××-09-11-10:30
检验者:某某　　检验时间:××××-09-11-10:00　　检测实验室:　　某医院检验科血液室

【问题1】从血细胞常规检验报告结果分析并结合患者的临床表现,该患者初步考虑最可能的诊断是什么?

由于CBC显著异常,实验室依据复检规则进行了显微镜血涂片白细胞分类计数。根据本例患者外周血涂片中出现幼稚粒细胞(中幼粒细胞10%,晚幼粒细胞10%)、红细胞与血红蛋白测定值正常,血小板计数正常,结合临床症状和体征:突发高热,2天后腹痛、腹泻,大便量少,脓血便,感觉里急后重,恶心,呕吐,最可能的诊断为感染性类白血病反应。

知识点

类白血病反应的概念

类白血病反应(leukemoid reaction),是指机体受某些疾病或因素如严重的感染、中毒、恶性肿瘤等刺激后,其血象出现类似白血病的变化,当病因去除后血象恢复正常。临床表现因原发病不同而不同。

思路1:患者的临床表现符合典型的类白血病反应,突发高热,伴腹痛、腹泻,大便量少,脓血便,感觉里急后重,恶心,呕吐等感染表现。外周血中,WBC 35.4×10^9/L,出现幼稚粒细胞(中幼粒细胞为10%,晚幼粒细胞为10%,未见原始细胞),红系、血小板正常。

知识点

类白血病反应的血象特点

白细胞计数一般<100×10^9/L,粒细胞以成熟为主,杆状核粒细胞<10%,幼稚粒细胞可见,形态无异常,红细胞正常,无有核红细胞,血小板通常较小,聚集性正常,无血小板减少。类白血病反应应注意与慢性粒细胞白血病区别,类白血现反应绝大部分仅有血象的变化,很少有骨髓象的明显异常,且血象变只限于白细胞系列(除失血、溶血所致者外),一般不波及红细胞系列与巨核细胞系列,红细胞与血红蛋白测定值一般正常,血小板计数正常。

思路2:类白血病反应的血细胞形态变化类型,类白血病反应一般外周血原始细胞不易见,相应类型的细胞形态会呈反应性改变。主要通过人工显微镜镜检可较好地判别类白血病

学习笔记

的细胞类型。

知识点

类白血病反应的类型

根据细胞类型最常见于五类：中性粒细胞型，最常见于各种感染等；嗜酸性粒细胞型，常见于寄生虫病、过敏性疾病等；淋巴细胞型，常见于某些病毒性感染如传染性单核细胞增多症等；单核细胞型，见于粟粒性结核、感染性心内膜炎等；白细胞不增多性类白血病反应，此型白细胞总数不增高，但周围血出现较多幼稚细胞。

思路 3：患者外周血中性粒细胞毒性改变，是考虑类白血病反应细胞类型的血细胞形态指标。

知识点

类白血病反应细胞形态学特点

1. 大小不均　中性粒细胞的体积大小相差悬殊，不均一性增大。常见于严重化脓性感染、败血症、恶性肿瘤、急性中毒等，与内毒素等因素作用于骨髓早期中性粒细胞，使其发生不规则分裂、增殖有关。

2. 中毒颗粒　中性粒细胞受到外来刺激引起颗粒变性，使胞浆中颗粒变粗大、大小不一、分布不均匀、着色深染而呈紫黑色、紫红色，可能与特殊颗粒生成过程受阻或颗粒变性，造成 3~5 个嗜天青颗粒融合有关。

3. 空泡形成　中性粒细胞的胞质或胞核出现 1 个或数个空泡，空泡是细胞发生脂肪变性或颗粒缺失的结果。

4. 杜勒小体　杜勒小体是中性粒细胞胞质中蓝色或灰色的包涵体，常单个或成群位于细胞边缘，大小为 1~2μm，甚至达 5μm，呈圆形、梨形或云雾状，它是胞质局部不成熟，核质发育不平衡的表现，实际上是一小块含 RNA 的胞质，也称 RNA 包涵体。

5. 退行性变　退行性变是细胞发生胞体肿大、结构模糊、边缘不清晰、核固缩、核肿胀和核溶解等。

思路 4：临床上对怀疑类白血病患者，为了查找病因和正确诊断与鉴别，实验室检查应该做哪些检查？

知识点

类白血病反应患者必须做以下检查

①外周血涂片；②骨髓涂片细胞形态和骨髓切片病理组织学检查；③中性粒细胞碱性磷酸酶积分测定；④细胞遗传学检查（尤其 Ph 染色体）；⑤分子遗传学（BCR-ABL 融合基因）检查；⑥与基础疾病相关的各种检查。

【问题 2】血细胞形态学检验目前主要采用的技术，其发展趋势如何？

血细胞形态学检验目前主要采用全自动形态数字图像分析（automated digital image analysis，ADIA）和人工显微镜法。前者简便、快捷、客观，自动化程度高，可显著降低检验人员的工作强度、提高工作效率，但是该技术目前性能还不完善，只起筛选作用，对于异常图像或不能识别的图像，还需要人工复片。

思路 1：近年来，全自动形态数字图像分析技术为外周血细胞形态学检验诊断带来了突破性

学习笔记

进展，并可能逐渐替代大部分人工显微镜形态学检查，将是未来外周血细胞形态学检验诊断的主要发展趋势。

知识点

全自动形态数字图像分析技术工作原理

该系统由显微成像和分析软件组成。外周血涂片装载到该系统后，仪器开始扫描涂片，先在10×物镜下以城垛跟踪方式找到白细胞的单细胞层并锁定，再于100×物镜下通过自动对焦进行细胞分割和提取，拍摄数码照片，用基于人工神经网络系统（artifical neutral networks，ANN）的软件进行分析，识别各种白细胞，得到白细胞分类结果。

思路2：目前外周血细胞形态学检验诊断存在较多制约其发展的问题：①标本采集、推片、染色不规范：目前大多数实验室血涂片的推片、染色多用手工法，操作者或实验室间的差别较大；②手工操作为主：人工显微镜观察血涂片耗时长、工作强度大、重复性差，标本不易保存，血细胞图像不能以资料或数据形式储存、不方便检索或回顾等；③缺乏有效、实用的质量保证方法与措施：血细胞形态学检验属于高度复杂的试验，受检验者主观因素影响大，不同人员之间的检验结果变异较大且难以比对，有丰富临床经验和愿意从事形态学检验的技师或医师明显缺乏，而且目前尚无类似血细胞分析仪那样成熟的室内质控及室间质评方法。因此，全自动形态数字图像分析系统问世将极大拓展血细胞分析的项目，标本处理速度更快捷，质量保证措施更有效，不再需要所谓“血细胞分析仪复检规则”，每个标本按照临床需求，自动选择项目和分析流程，网络化、智能化、自动化的管理将极大促进血细胞分析水平的提高和临床应用，检验人员将不再忙于手工操作，而是集中精力获取数据、分析数据，讨论病例并结合临床得出检验诊断结论。

思路3：国内外的全自动形态数字图像分析系统的性能都还不完善，主要体现在如下几方面：①血细胞形态分析属预分类或预识别，需要形态学专业检验人员的再分类，即人工确认；②仪器所采集的血细胞图像质量与显微镜下直接观察到的细胞形态有一定差别，可能是造成预分类符合率不一致的原因之一；③获取白细胞的图像是单个细胞，图像的获取与分类识别的时间偏长（2~6分钟/片）、缺乏整张血涂片的信息，对血细胞形态的异常变化，并非所有的仪器都能达到镜下人工观察效果，尤其是对血涂片推片和染色差的标本；④对于常见正常血液细胞的分类计数较为准确，但对幼稚细胞、原始细胞及其他异常细胞的识别率仍需要提高；⑤应增加其他血液细胞形态学检验的项目，例如血液网织红细胞和寄生虫检验等。在不断改进、提高仪器的性能后，全自动血细胞形态数字图像分析系统将在医学实验室普及应用。

三、网织红细胞分析

病历摘要：

患者女，40岁。因面色苍白、头晕、乏力1年余，加重伴心慌1个月来诊。1年前无明显诱因头晕、乏力，近1个月来加重伴活动后心慌，曾到医院检查说血红蛋白低（具体不详），病后进食正常，不挑食，二便正常，无便血、黑便、尿色异常、鼻出血和齿龈出血。睡眠好，体重无明显变化。既往体健，无胃病史，无药物过敏史。查体：T 36℃，P 104次/分，R18次/分，BP 120/70mmHg，一般状态好，贫血貌，皮肤黏膜无出血点，浅表淋巴结不大，巩膜不黄，口唇苍白，舌乳头正常，心肺无异常，肝脾不大。化验：血清铁蛋白6μg/L，血清铁50μg/dl，总铁结合力450μg/dl。

学习笔记

××医院检验报告单

姓名：某某　　病历号：××××××　　临床诊断：缺铁性贫血？　　标本种类：EDTA抗凝全血
性别：女　　科别：内科　　申请医生：某某　　标本编号：××××××
年龄：40　　病房：×病房　　备注：空腹采血　　采集时间：××××-07-20-08：46

No.	检验项目	结果	参考区间	单位	No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	白细胞计数(WBC)	6.50	3.5~9.5	10^9/L	17	嗜碱性粒细胞百分比(BA%)	0.4	0~1.0	%
2	红细胞计数(RBC)	3.00	↓3.80~5.10	10^{12}/L	18	中性粒细胞计数(NE#)	1.8	1.8~6.3	10^9/L
3	血红蛋白浓度(HB)	60	↓115~150	g/L	19	淋巴细胞计数(LY#)	1.6	1.1~3.2	10^9/L
4	红细胞比容(HCT)	25.0	↓35.0~45.0	%	20	单核细胞计数(MO#)	0.5	0.1~0.6	10^9/L
5	平均红细胞体积(MCV)	70.0	↓82.0~100.0	fl	21	嗜酸性粒细胞计数(EO#)	0.02	0.02~0.52	10^9/L
6	平均红细胞血红蛋白含量(MCH)	25.0	↓27.0~34.0	Pg	22	嗜碱性粒细胞计数(BA#)	0	0~0.06	10^9/L
7	平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)	200	↓316~354	g/L	23	网织红细胞百分率	1.5	0.4~2.1	%
8	红细胞体积分布宽度(RDW)	18.4	↑<14.9	%	24	低荧光网织红细胞	0.854	0.768~0.984	%
9	血小板计数(Plt)	260	125~350	10^9/L	25	中荧光网织红细胞	0.125	0.032~0.194	%
10	平均血小板体积(MPV)	8.2	7.7~13.0	fl	26	高荧光网织红细胞	0.021	0~0.048	%
11	血小板比容(PCT)	0.11	↓0.18~0.22	%	显微镜白细胞分类计数				
12	血小板体积分布宽度(PDW)	16.1	<17.2	%	27	中性杆状核粒细胞(NEU-b)	4	1~5	%
13	中性粒细胞百分比(N%)	55.1	40.0~75.0	%	28	中性分叶核粒细胞(NEU-s)	59	50~70	%
14	淋巴细胞百分比(L%)	34.5	20.0~50.0	%	29	淋巴细胞(LYM)	29	20~40	%
15	单核细胞百分比(MO%)	9.6	3.0~10.0	%	30	单核细胞(MON)	8	3~8	%
16	嗜酸性粒细胞百分比(EO%)	0.4	0.4~8.0	%					

接收者：某某　　接收时间：××××-07-20-08：59　　审核者：某某　　审核时间：××××-07-20-09：40
检验者：某某　　检验时间：××××-07-20-09：10　　检测实验室：　　×××× 医院检验科血液室

【问题1】从血细胞常规检验报告结果分析并结合患者的临床表现，该患者初步考虑最可能的诊断是什么？

根据血细胞检查结果，血红蛋白、红细胞数量均减低，可以考虑为贫血，另外血清铁减少、铁结合力增加、红细胞计算参数值均减低，结合临床症状和体征，可初步考虑为缺铁性贫血。

思路1：患者的临床表现符合典型的营养性贫血，病程长，头晕、乏力，加重时伴心悸且皮肤黏膜苍白。

知识点

缺铁性贫血临床表现

贫血的发生是隐性的。症状进展缓慢，轻症患者常能很好地适应，贫血的常见症状是头晕、头痛、乏力、易倦、心悸、活动后气短、眼花、耳鸣等。另外，出现异食现象是缺铁的特殊表现，可能是缺铁的原因，其发生机制不清楚。患者可出现口角炎、舌乳突萎缩、舌炎，食欲减退、恶心及便秘。体征表现为皮肤黏膜苍白、毛发干枯、口唇角化、指甲扁平、少光泽、易碎裂、反甲。

思路2：患者的血象变化符合典型的缺铁性贫血。根据复检规则，进行了显微镜血涂片分类计数，可见红细胞大小不一，中心淡染区扩大。

学习笔记

知识点

缺铁性贫血血常规特点

呈现典型的小细胞低色素性贫血，其 MCV<80fl、MCH<27pg、MCHC<30%。红细胞指数改变的程度与贫血的时间和程度相关。血片中可见红细胞染色浅染，中心淡染区扩大，大小不一，网织红细胞可正常或轻度增加。白细胞计数正常或轻度减少，分类正常，血小板计数在有出血者常偏高，在婴儿及儿童中多偏低。

【问题 2】网织红细胞主要检测技术有哪些？

目前网织红细胞主要检测技术有二类：一类是普通显微镜人工法；一类是血细胞分析仪法。

思路 1：不同血细胞分析仪检测网织红细胞的原理不同，同一标本用不同仪器检测的结果可有差别。目前，血细胞分析仪计数网织红细胞的原理主要有：①VCS 技术：细胞经新亚甲蓝染色和漂洗后，在流式通道中运用 VCS 技术：体积代表细胞体积，网织红细胞比成熟红细胞稍大；传导性或射频电磁波检测细胞的内部成分，可剔除非红细胞；激光散射将网织红细胞与成熟红细胞区分开来。因为网织红细胞含较多 RNA，结合染料后会产生散射较多的激光，在散射图上会出现在成熟红细胞的右侧，而且网织红细胞成熟度越差，在散射图上的分布越靠右侧；②双鞘流技术：运用专利改良噻唑橙荧光染料，使试剂中的荧光染料与网织红细胞内的 RNA 特异性结合，这是作为快速全自动网织红细胞分析的前提条件。采用鞘流阻抗法测定细胞体积；双鞘流技术激光流式细胞仪测定 RNA 含量，能够有效区分成熟红细胞和网织红细胞；③激光散射结合荧光染色多维分析技术：使用专利的球形化试剂将红细胞和血小板球形化，采用前向散射光和荧光强度分别从细胞体积大小和细胞内 RNA 含量来区分血小板、红细胞、网织红细胞和白细胞（图 12-1-13）；④激光细胞化学与激光荧光染色技术：采用了独立的检测通道和特殊的 RNA/DNA 荧光染料嗪和聚次甲基，利用激光激发荧光染色后的网织红细胞所产生的信号，以前向散射光信号为纵轴，以侧向荧光信号为横轴得出网织红细胞的散点图；⑤多角度偏振光散射分析技术（MAPSS）：0° 散射光强度可反映细胞体积大小；10° 散射光强度可表明细胞结构以及核质的复杂性；90° 散射光强度可反映细胞内部颗粒及核分叶情况；90° 消偏振光散射强度主要用于对嗜酸性粒细胞特征性检测目的。使用染色剂对网织红细胞染色后，利用 MAPSS 技术对各种特征进行分析；⑥细胞化学染色和激光散射技术：利用网织红细胞试剂将红细胞和血小板等体积球形化；基于网织红细胞内含有残存的核糖核酸（RNA），通过染色将其与成熟红细胞区分开来。染色试剂包含两性离子洗涤剂（表面活性剂），能将红细胞等体积球形化，还包含阳离子染剂氧氮杂苎，可对细胞内 RNA 进行染色。来自网织红细胞反应池的定容细胞悬液经鞘流包裹着通过流通池时，系统会测量每个细胞的低角度光散射（2°~3°）信号、高角度光散射（5°~15°）信号以及吸收光信号。低角度光散射信号和高角度光散射信号分别与细胞大小和血红蛋白浓度呈正比。吸收光信号则与 RNA 含量呈正比。染色后网织红细胞将比成熟

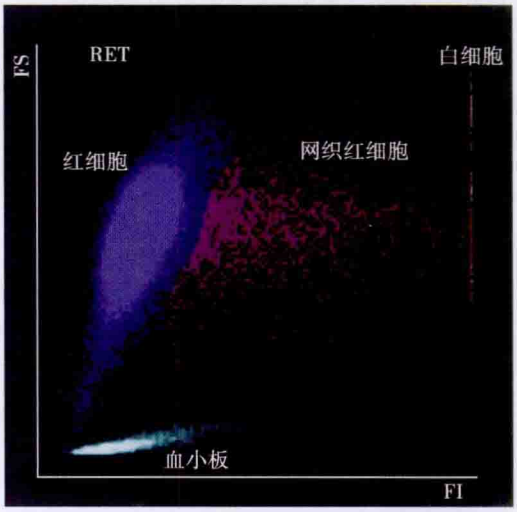


图 12-1-13　激光散射结合荧光染色多维分析技术检测网织红细胞

学习笔记

红细胞吸收更多的光信号。

知识点

血细胞分析仪检测网织红细胞共同参数

网织红细胞百分率(reticulocyte percent,RET%)、网织红细胞绝对值(absolute reticulocyte count,RET#)、未成熟网织红细胞比率(immature reticulocyte fraction,IRF)、低荧光强度网织红细胞百分率(low fluorescent reticulocyte percent,LFR%)、中荧光强度网织红细胞百分率(middle fluorescent reticulocyte percent,MFR%)、高荧光强度网织红细胞百分率(high fluorescent reticulocyte percent,HFR%)等。

知识点

细胞化学染色和激光散射技术检测网织红细胞特殊参数

平均网织红细胞体积(reticulocyte volume,MCVr)和平均网织红细胞血红蛋白浓度(reticulocyte hemoglobin concentration,CHCMr),可得到平均网织红细胞分布宽度(reticulocyte distribution widths,RDWr)、网织红细胞血红蛋白浓度分布宽度、平均网织红细胞血红蛋白浓度(mean hemoglobin content of reticulocytes,CHr)、平均网织红细胞血红蛋白浓度分布宽度(mean hemoglobin content of reticulocytes distribution width,CHDWr)等。

思路 2:普通显微镜法具有简便、成本低等特点,可直观细胞形态,但影响因素多,重复性差,适用于基层实验室;血细胞分析仪法具有检测细胞多,精密度高,与手工法相关性好,易标准化,成本高,适用于大医院实验室,但也存在不足:①所有仪器分析的基本原理都是检测网织红细胞内 RNA 含量,当某些患者血液中有核细胞或淋巴细胞异常增加时,可导致网织红细胞计数结果的假性增加;②冷凝集素存在、红细胞的聚集、某些病理因素或药物都能使红细胞产生自身荧光;③自动化分析仪结果的准确性除了依赖于仪器本身的良好性能外,还应有良好的质控物随时检测仪器的状态。

【问题 3】网织红细胞对贫血诊断有何意义?

网织红细胞(reticulocyte,Ret)是介于晚幼红细胞和成熟红细胞之间的过渡细胞,略大于成熟红细胞,其胞质中残存的嗜碱性物质 RNA 经碱性染料(如煌焦油蓝、新亚甲蓝)等活体染色后,形成蓝色或紫色的点状或丝网状沉淀物。网状红细胞自骨髓释放到外周血液后仍具有合成血红蛋白的能力,约 1~2 天后,过渡为成熟红细胞。因此,检测网织红细胞可以更早期、更灵敏地反映骨髓造血功能的变化。

知识点

网织红细胞检测的临床意义

鉴别贫血的类型;检查骨髓的功能;检测贫血的治疗效果;评估骨髓移植后、再障血细胞药物诱导治疗后或 EPO 治疗后的红细胞造血情况。

思路 1:网织红细胞在铁缺乏和缺铁性贫血诊断方面的应用

早期诊断儿童铁缺乏,尤其是在发生缺铁性贫血之前,对于阻止铁缺乏的并发症极为重要,研究表明,当 CHr 的临界值为 26pg 时,诊断儿童铁缺乏的灵敏度和特异性分别为 70% 和 78%,诊断儿童缺铁性贫血的灵敏度和特异性分别为 83% 和 75%。

由于铁缺乏所致的妊娠贫血,其发生率在发达国家为 6%~28%,在发展中国家达 75%。

学习笔记

因此，早期诊断孕妇有无缺铁对胎儿的正常发育、生长及孕妇的身体健康有重要意义。研究表明，孕妇的 CHr 与血红蛋白具有较好的相关性，不易受分娩、炎症等急性时相反应的影响，与转铁蛋白、转铁蛋白饱和度、可溶性转铁蛋白受体相比，CHr 可以提供更有价值的铁缺乏信息。

成年人的铁代谢较稳定，但易受各种病理因素影响，使铁缺乏的实验诊断更为复杂。通过研究缺铁性贫血病人与健康人网织红细胞参数，结果显示，缺铁性贫血病人的 CHr 显著降低，当临界值为 28.5pg 时，CHr 诊断铁缺乏的灵敏度和特异性分别为 85.7% 和 91.3%。CHr 优于传统的血液学指标，可准确地诊断铁缺乏和缺铁性贫血。CHr 对 IDA 的诊断有很高的灵敏度(93.3%)，大大高于 MCV(平均红细胞体积)的灵敏度(85%)，也高于 CH(单个红细胞血红蛋白含量)的灵敏度(83.3%)及 SI(血清铁)的灵敏度(83.3%)，CHr 和 CH 在 IDA 诊断中的特异性最高，为 86.7%，显著高于 MCV(70%)和 SI(51.7%)。

从循证医学观点出发，CHr 比传统的铁代谢生化指标检测更简便、快速，仅 1 分钟即可得检验结果，且费用更低廉。因此 CHr 可作为婴儿、儿童、孕妇及成年人筛查铁缺乏的首选指标，必要时可结合铁代谢检查或骨髓铁染色，以便更有效、快捷地早期诊治铁缺乏(包括伴或不伴 IDA 的患者)。

思路 2：CHr 诊断铁缺乏应注意的问题

通过受试者工作特性曲线(ROC)研究表明，网织红细胞体积的增大可能导致 CHr 假性升高，因此只有去除大细胞(MCV≥100fl)的影响后，CHr 诊断铁缺乏的总灵敏度和特异度才优于血清铁(SF)、转铁蛋白饱和度(TfS)、平均红细胞体积(MCV)。此外，CHr 诊断铁缺乏可能受其他红细胞疾病影响，产生假阳性或假阴性试验结果。在应用 CHr 诊断铁缺乏时，需密切结合患者的临床情况进行分析，如有无近期输血、铁剂治疗、叶酸和维生素 B_{12} 缺乏、地中海贫血等均是影响结果评价的因素。

四、血细胞检验诊断报告

外周血细胞分析主要包括 CBC、血涂片细胞形态学检验、网织红细胞分析，未来可能还将引入多色流式细胞术分类计数白细胞等新的内容，对临床血液病及其相关疾病、感染性疾病等的诊断、治疗决策、疗效观察、预后判断有重要的临床意义。由于血细胞分析仪器及其自动化的发展，新方法、新技术快速应用，检测的内容和参数逐渐增多，临床医生在阅读检验报告时几乎没有时间去逐项分析各项检测参数及其图形改变，特别是血细胞形态的异常变化。因此，对于部分有明显或有潜在异常的标本，检验医师应对血细胞分析各项参数及其图形、血细胞形态改变或相关指标异常，并结合患者临床表现和诊断，综合分析后书写检验诊断报告，将有助于血细胞分析的多种数据、图像转化为临床有用的信息、依据，促进检验医师在临床医疗中发挥作用、提高临床检验诊断的质量与水平。

××医院检验报告单

外周血细胞检验诊断报告

姓名：某某	病历号：××××××	标本种类：EDTA 抗凝全血	标本编号：××××××
性别：女	年龄：61 岁	临床诊断：急性白血病?	申请医生：某某
科室：血液门诊	采集时间：××××-05-24-08：15	备注：空腹采血	

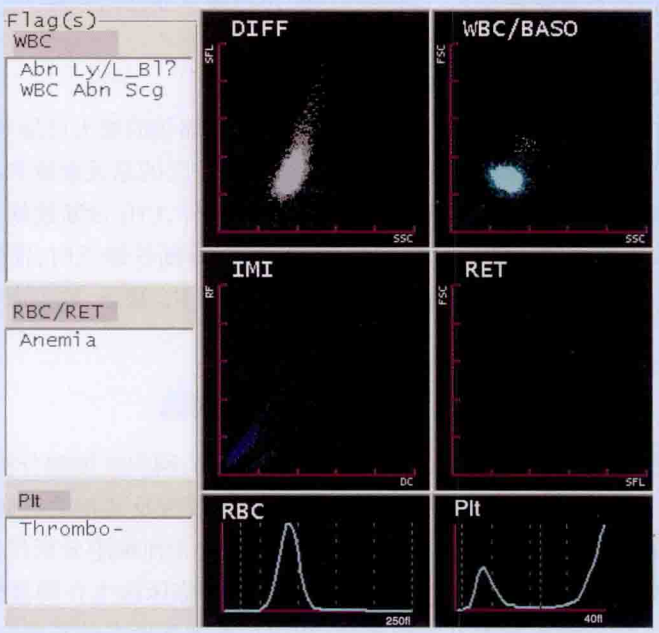
一、病历摘要

患者女，61 岁。因乏力、发热、左侧颈部包块，双下肢散在出血点门诊就诊，体温 37.4℃，轻度贫血貌，双侧颌下、颈前、颈后、锁骨上可及 10 余个肿大淋巴结，肝、脾未触及。

学习笔记

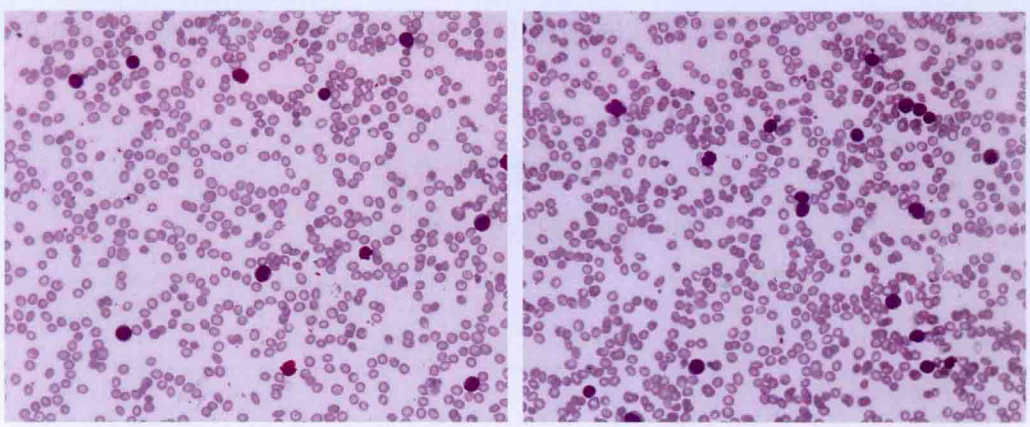
二、全血细胞计数(血细胞分析仪)

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	白细胞计数(WBC)	17.71	↑3.5~9.5	10^9/L
2	红细胞计数(RBC)	2.54	↓3.80~5.10	10^{12}/L
3	血红蛋白浓度(HB)	75	↓115~150	g/L
4	红细胞比容(HCT)	22.5.0	↓35.0~45.0	%
5	平均红细胞体积(MCV)	88.6	82.0~100.0	fl
6	平均红细胞血红蛋白含量(MCH)	29.5	27.0~34.0	pg
7	平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)	333	316~354	g/L
8	红细胞体积分布宽度(RDW)	14.7	<14.9	%
9	血小板计数(Plt)	69	↓125~350	10^9/L
10	中性粒细胞百分比(N%)	—	40.0~75.0	%
11	淋巴细胞百分比(L%)	—	20.0~50.0	%
12	单核细胞百分比(MO%)	—	3.0~10.0	%
13	嗜酸性粒细胞百分比(EO%)	—	0.4~8.0	%
14	嗜碱性粒细胞百分比(BA%)	—	0~1.0	%



三、血细胞形态学检验

1. 红细胞、血小板形态学检验

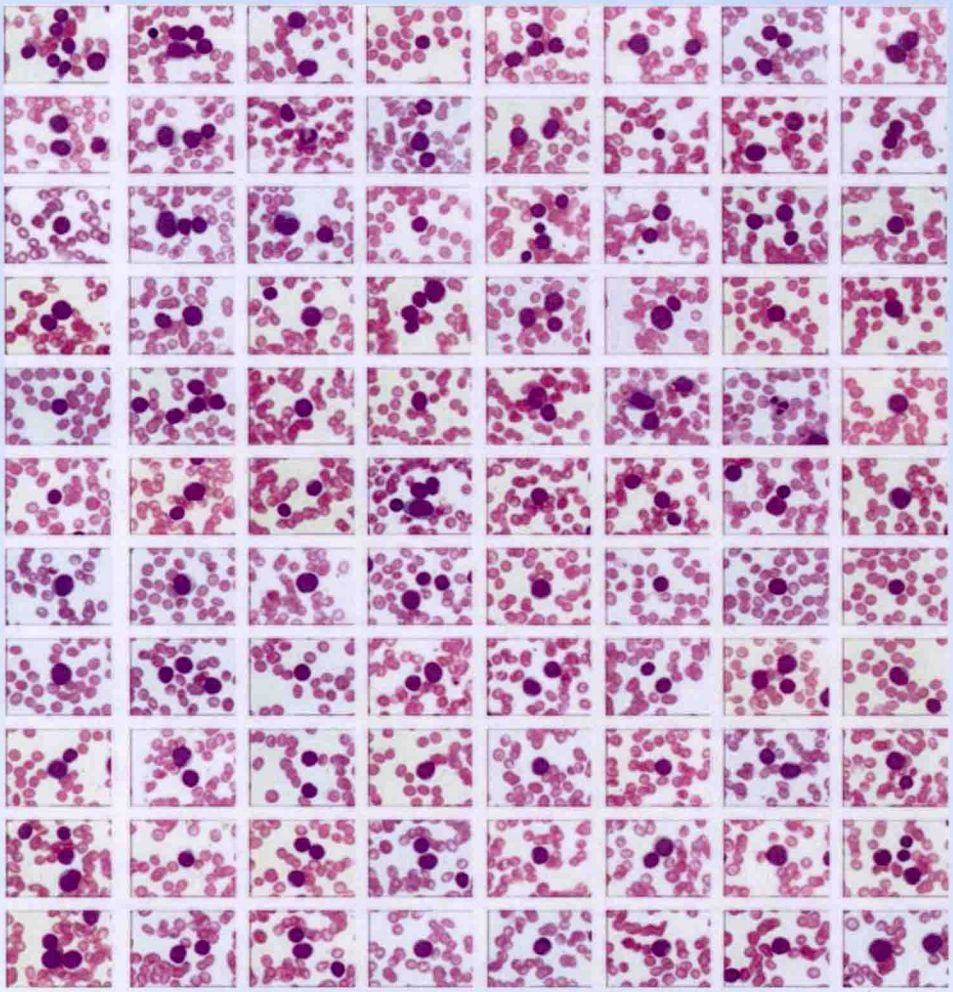


红细胞形态特点:形态基本正常,成熟红细胞个别偏大。

血小板形态特点:数量减少,轻度大小不均,未见血小板聚集。

学习笔记

2. 白细胞分类计数与形态学检验



白细胞形态特征：原始、幼稚淋巴细胞占 93%；单个或成簇分布，细胞大小不一，胞体圆形、椭圆形，核圆或椭圆形，可见凹陷、切迹；染色质细致，核仁 1~3 个，胞浆量少，染蓝色或淡蓝色。成熟中性粒细胞（1%）及成熟淋巴细胞（6%）比例明显降低。

四、外周血细胞检验诊断意见

1. 血细胞分析特点　①外周血白细胞数量显著增高，白细胞分类计数原始、幼稚淋巴细胞比例明显增高，占 93%，符合急性淋巴细胞白血病特点，成熟中性粒细胞（1%）及成熟淋巴细胞（6%）比例明显降低；②中度贫血，红细胞呈均一性正细胞正色素表现，血小板减少，形态未见明显异常。

2. 检验诊断及建议　初步诊断急性淋巴细胞白血病，伴轻度贫血及血小板减少，建议行骨髓穿刺涂片细胞学检查及流式细胞分析，进一步明确分型，有条件可行相关基因及染色体等相关检查。

检验者：　　审核者：

2013 年 5 月 24 日

（王成彬）

第二节　尿液分析

本节着重从尿液分析在临床诊断的应用、检测原理、技术、方法学比较和质量控制等方面进行阐释。尿液分析主要由三部分组成：尿液干化学分析仪检查、尿液有形成分分析仪检查和尿液有形成分显微镜检查。讨论了尿液分析技术方法及影响因素；阐述了尿液常见管型的组成成分及鉴别要点，尿蛋白的不同检查方法、特点及其适用时机，血尿检查的技术要点和临床应用，

学习笔记

不同方法学白细胞相关检验结果的综合分析；并从分析前检验、性能验证、复检规则等方面介绍了尿液分析的质量控制方法。

病历摘要：

患者男，13岁。2周前曾患上呼吸道感染，1周来尿少色红，眼睑、下肢水肿，血压150/90mmHg，血红蛋白120g/L，白蛋白40g/L，球蛋白22g/L，肌酐104μmol/L，尿液常规检验结果及有形成分照片见图12-2-1。

××医院检验报告单

姓名：某某　　病历号：××××××　　临床诊断：肾炎？　　标本种类：尿
性别：男　　科别：肾内科　　申请医生：某某　　标本编号：××××××
年龄：13岁　　病房：　　备注：晨尿　　采集时间：××××-11-28-08：08

No.	检验项目	结果	参考区间	单位	No.	检验项目	结果	参考区间	单位
尿干化学分析					尿有形成分分析				
1	相对密度（比重）	1.010	1.003~1.030		12	尿沉渣红细胞	256.08	↑<5	/μl
2	酸碱度	7.0	5.0~9.0		13	尿沉渣白细胞	21.12	↑<9	/μl
3	白细胞	25	↑阴性	/μl	14	结晶	0	<6	/μl
4	亚硝酸盐	阴性	阴性		15	透明管型	1.98	<2	/μl
5	蛋白质	1.0	↑阴性	g/L	16	病理管型	13.86	↑<1.5	/μl
6	葡萄糖	阴性	阴性	mmol/L	17	鳞状上皮细胞	0	<5	/μl
7	酮体	阴性	阴性	mmol/L	18	非鳞状上皮细胞	0	<2	/μl
8	尿胆原	阴性	阴性/弱阳性	μmol/L	19	蛋白（手工）	++	阴性	
9	胆红素	阴性	阴性	μmol/L					
10	红细胞血红蛋白	300.0	↑阴性	/μl					
11	维生素C	阴性		g/L					

接收者：某某　　接收时间：××××-11-28-08：10　　审核者：某某　　审核时间：××××-11-28-08：38
检验者：某某　　检验时间：××××-11-28-08：18　　检测实验室：××××医院检验科门诊

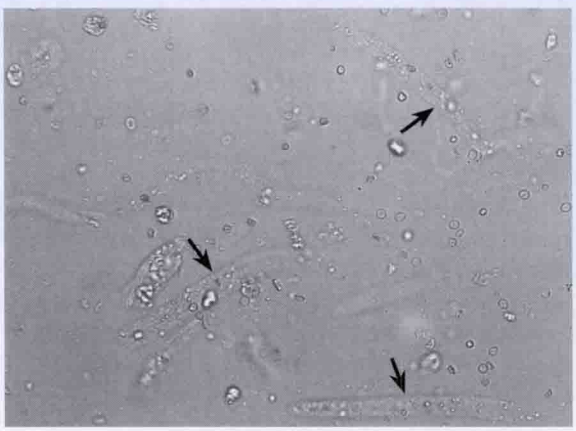


图12-2-1　影像式尿液有形成分分析仪拍摄照片（×400）

【问题1】从尿常规检验结果分析并结合患者的临床表现，该患者最可能的诊断是什么？

根据该患者发病前有上呼吸道感染史，且具有血压升高、下肢水肿等典型症状和体征。结合尿常规检查：尿蛋白++，尿沉渣红细胞256.08/μl，可见红细胞及颗粒管型。该患者最可能的诊断是急性肾小球肾炎。

思路1：急性肾小球肾炎（acute glomerulonephritis，AGN）简称急性肾炎，是以急性肾炎综合征为主要临床表现的一组疾病。本病多见于儿童，通常于前驱感染后1~3周起病，常见于链球

学习笔记

菌感染后，而其他细菌、病毒及寄生虫感染亦可致病。特点为急性起病，患者出现血尿、蛋白尿、水肿和高血压，并可伴有一过性氮质血症。

思路 2：急性肾小球肾炎的实验室检查：患者几乎均有镜下血尿或肉眼血尿，尿液有形成分检查可见红细胞（多为畸形红细胞）、白细胞、肾小管上皮细胞以及红细胞管型、颗粒管型等。患者常出现蛋白尿，半数患者 24 小时尿蛋白少于 500mg。此外，患者抗链球菌溶血素 O 抗体常呈阳性，且伴血清 C3、总补体（CH50）的典型动态变化，疾病早期，血清 C3、CH50 降低，8 周内逐渐恢复至正常水平。

知识点

急性肾小球肾炎的诊断要点

链球菌感染后 1~3 周出现血尿、蛋白尿、水肿和高血压等典型临床表现，伴血清 C3、CH50 的典型动态变化，临床上即可诊断为急性肾小球肾炎。

【问题 2】该患者尿液有形成分照片（图 12-2-1）中箭头所指为何物？

该尿液有形成分照片中可见红细胞、白细胞及管型，箭头所指为颗粒管型。

思路 1：管型（cast）是蛋白质、细胞及其崩解产物在肾小管、集合管内凝固而成的圆柱形蛋白凝集体，尿液中白蛋白和 Tamm-Horsfall 蛋白（T-H 蛋白）是构成管型的基质和首要条件。

知识点

管型的形成应具备 4 个条件

①原尿中有白蛋白、T-H 蛋白；②肾小管有浓缩和酸化尿液的能力；③尿流缓慢，有局部性尿液淤积；④具有可供交替使用的肾单位。

思路 2：管型的出现往往对一些疾病的诊断具有提示意义，例如：红细胞管型是由于肾小球或肾小管出血所致，可见于急性肾小球肾炎、慢性肾炎急性发作、肾出血、急性肾小管坏死、肾移植排斥反应、肾静脉血栓形成等，亦可见于狼疮性肾炎、亚急性心内膜炎及 IgA 肾病等。健康人尿中偶见透明管型，肾实质性病变时可增多。颗粒管型常见于肾实质性病变伴有肾单位淤滞。白细胞管型常见于肾脏感染性病变或免疫性反应。上皮细胞管型常见于肾小管坏死。蜡样管型提示肾单位长期阻塞，肾小管有严重病变，预后差。肾衰管型由颗粒管型和蜡样管型演变而来，常见于急性肾衰多尿期，慢性肾衰出现提示预后不良。混合管型提示肾炎反复发作、出血、血管坏死、肾移植排异反应。尿液常见管型的组成成分及鉴别要点见表 12-2-1 及图 12-2-2。

表 12-2-1　尿液常见管型的组成成分及鉴别要点

管型	组成成分	鉴别要点
透明管型	T-H 蛋白、白蛋白、少量氯化物	无色透明、呈规则的圆柱体
颗粒管型	管型基质 + 变性细胞分解产物	颗粒含量占管型面积 1/3 以上
红细胞管型	管型基质 + 红细胞	形态完整的红细胞占管型面积 1/3 以上
白细胞管型	管型基质 + 白细胞	白细胞或脓细胞占管型面积 1/3 以上
上皮细胞管型	管型基质 + 上皮细胞	上皮细胞占管型面积 1/3 以上
蜡样管型	由细颗粒管型演化而来	外观呈腊肠样，有切迹或泡沫状
脂肪管型	管型基质 + 脂肪滴	管型内可见折光性很强的脂肪滴
混合管型	管型基质 + 不同细胞及其他有形成分	含有红细胞、白细胞、肾上皮细胞及颗粒等多种成分

学习笔记

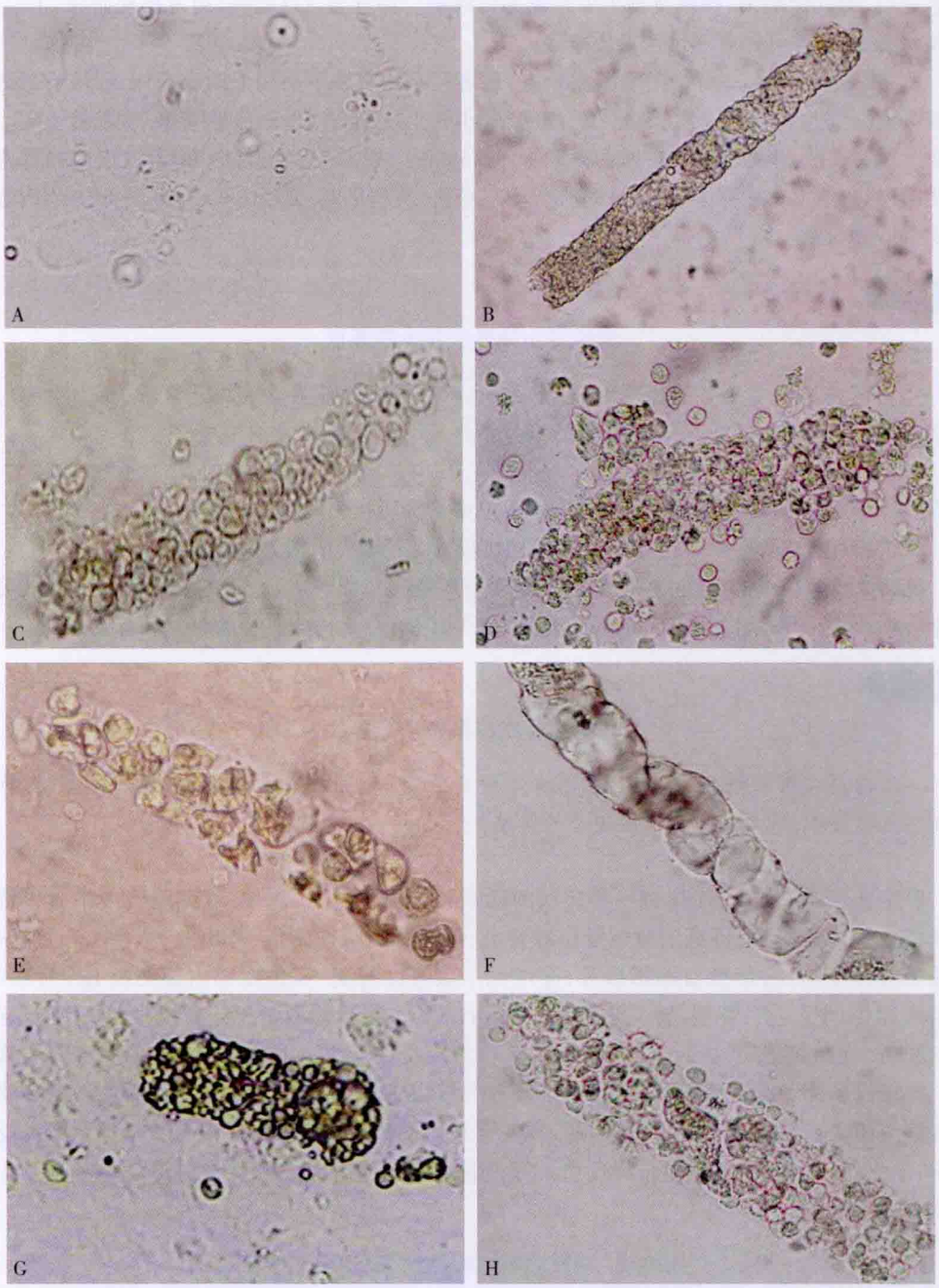


图 12-2-2　尿液中常见的管型图片　光学显微镜 ×400

A. 透明管型；B. 颗粒管型；C. 红细胞管型；D. 白细胞管型；E. 肾小管上皮细胞管型；F. 蜡样管型；G. 脂肪管型；H. 混合管型

【问题 3】何谓蛋白尿？急性肾小球肾炎患者为什么会产生蛋白尿？

尿蛋白超过 150mg/24h 或超过 100mg/L 时，蛋白定性试验呈阳性，称为蛋白尿（proteinuria）。正常情况下，肾小球滤过膜对血浆蛋白有选择性滤过作用，绝大多数血浆蛋白不能从肾小球滤过，原尿中的一些小分子蛋白，如溶菌酶、β_2- 微球蛋白等在肾小管几乎全部被重吸收。急性肾小球肾炎患者由于肾小球机械屏障和电荷屏障的破坏，肾小球滤过膜通透性增高，大量蛋白质

滤过到原尿中，超过了肾小管的重吸收能力，形成蛋白尿。

思路 1：蛋白尿常作为肾脏损伤的一个重要标志。产生蛋白尿的原因很多，生理性蛋白尿是由于机体内、外环境因素的变化所导致，泌尿系统无器质性病变，当影响因素消除，尿蛋白自然消失。病理性蛋白尿可分为肾小球性蛋白尿、肾小管性蛋白尿、混合性蛋白尿、溢出性蛋白尿和组织性蛋白尿，急性肾小球肾炎产生的蛋白尿属肾小球性蛋白尿。病理性蛋白尿的产生原因及特点见表 12-2-2。此外，根据蛋白尿发生的部位又可将病理性蛋白尿分为肾前性、肾性和肾后性蛋白尿。肾前性蛋白尿常见疾病如多发性骨髓瘤、阵发性睡眠性血红蛋白尿、挤压伤综合征、急性单核细胞白血病等；肾性蛋白尿主要是肾小球性、肾小管性和混合性蛋白尿，如原发性和继发性肾小球疾病、肾盂肾炎、重金属中毒等；肾后性蛋白尿最主要见于膀胱以下泌尿道的炎症、结石、结核、肿瘤以及泌尿系统邻近器官炎症或肿瘤刺激、生殖系统炎症等。

表 12-2-2　病理性蛋白尿的产生原因及特点

类型	产生原因	特点
肾小球性蛋白尿	肾小球滤过膜机械和电荷屏障损伤	选择性蛋白尿：肾小球滤过膜损伤较轻，以相对分子质量中等（4 万 ~9 万）的白蛋白为主
		非选择性蛋白尿：肾小球滤过膜损伤较重，大分子和中分子蛋白质同时存在，如 IgG、IgA、IgM 和补体 C3 等
肾小管性蛋白尿	感染、中毒等所致肾小管重吸收能力受损	以相对分子质量小的蛋白质为主，如 β_2- 微球蛋白、α_2- 微球蛋白、溶菌酶等
混合性蛋白尿	病变同时或相继累及肾小球和肾小管	兼具肾小球性和肾小管性蛋白尿的特点，但有时因损伤部位和程度不同组分有所差异
溢出性蛋白尿	血浆中低分子量的蛋白质异常增多，超出了肾小管的重吸收能力	相对分子质量较小的异常蛋白质如本周蛋白、血红蛋白、肌红蛋白、溶菌酶等
组织性蛋白尿	炎症、肿瘤或药物刺激泌尿系统分泌	以 T-H 糖蛋白为主

思路 2：临床上常用的尿蛋白检测方法

（1）试带法：主要用于尿液分析仪的尿液化学检查，操作简便、快速、易于标准化，适于健康普查或临床筛检。灵敏度一般为 70~100mg/L，试带对白蛋白灵敏，对球蛋白的灵敏度仅为白蛋白的 1/100~1/50，可漏检本周蛋白、球蛋白等。

（2）磺基水杨酸法：操作简便、反应灵敏、结果显示快，与白蛋白、球蛋白、糖蛋白和本周蛋白均能发生反应，灵敏度达 50mg/L，但有一定的假阳性。美国临床实验室标准研究所（CLSI）将其作为干化学法检查尿蛋白的参考方法，并推荐为检查尿蛋白的确证试验。

（3）加热乙酸法：该法经典而准确，操作略繁，检测尿蛋白特异性强、干扰因素少，与白蛋白和球蛋白均能反应，灵敏度为 150mg/L。如加酸过少、过多，可使阳性程度减弱。

（4）尿蛋白定量测定：尿中总蛋白（白蛋白和球蛋白）的定量测定，常见方法有双缩脲比色法、苄索氯铵比浊法。双缩脲比色法显色稳定、重复性好，对白、球蛋白的反应灵敏度较一致，其主要缺点为灵敏度低。苄索氯铵比浊法与双缩脲法相比具有较高的灵敏度，但线性范围窄，对于蛋白浓度较高的尿标本需做适当的稀释后定量。24 小时尿蛋白定量比随机尿受干扰因素影响小，对肾脏疾病的诊断及疗效观察更有意义。

（5）特定蛋白质分析：利用单克隆抗体技术，具有高灵敏度和特异性，可测定某种特定的蛋白质，如：微量白蛋白、β_2- 微球蛋白等。因而可从蛋白质的性质协助判断肾小球或肾小管的损

学习笔记

害，也可用于肾病的早期诊断，肾移植术后排异反应的监测。

尿微量白蛋白是临床常用的早期发现肾损害的指标，主要用于存在少量白蛋白，但常规定性试验阴性的尿液。国内常用免疫散射比浊法及免疫透射比浊法。由于标本留取方法不同，报告方式也不同。①定时留尿法：计算出单位时间内的排出率（μg/min 或 mg/24h）；②随机留尿法：用白蛋白 / 肌酐报告排出率（mg/mmolCr 或 mg/gCr）；③晨尿法：报告每升尿排出量（mg/L）。应根据标本留取方法选择报告方式，推荐以 24 小时尿白蛋白排泄总量，即尿白蛋白排泄率（urine albumin excretion rate，UAE）表示。参考区间（成人）：(1.27±0.78) mg/mmolCr 或 (11.21±6.93) mg/gCr。

知识点

尿蛋白检测方法的选择

初次就诊患者、现场快速检测、健康体检、疾病筛查等可采用化学试带法或磺基水杨酸法；当疾病已确诊进行疗效观察或预后判断时，常需配合加热乙酸法，必要时还需进行尿蛋白定量和特定蛋白质的分析。

【问题 4】何谓血尿？如何通过实验室检查判断血尿的性质？

健康人尿液中一般少有红细胞，24 小时尿中排出红细胞数不超过 100 万；尿液中，成人每 4~7 个高倍镜视野可偶见 1 个红细胞；离心后尿沉渣红细胞参考区间为 0~3/HPF。尿中含有一定量的红细胞时称为血尿，平均红细胞数 >3 个 /HPF 称为镜下血尿，每升尿中含血量 >1ml 称为肉眼血尿。通过相差显微镜观察血尿中正常形态红细胞和畸形红细胞的比例，对于肾小球性或非肾小球性血尿的鉴别有重要价值。尿三杯试验可以为判定血尿的病变部位提供实验室依据。

思路 1：根据尿中红细胞的形态可将血尿分为 3 种：①均一性红细胞血尿；②非均一性红细胞血尿；③混合性血尿。急性肾小球肾炎产生的血尿属非均一性红细胞血尿。

均一性红细胞血尿：多为非肾小球源性血尿，尿中红细胞计数 >8000/ml，70% 以上红细胞为正常红细胞。红细胞形态及大小正常，少数可见影红细胞或棘红细胞，但形态不超过两种。均一性红细胞血尿主要见于肾小球以下部位和泌尿道毛细血管破裂的出血，红细胞未受肾小球基底膜挤压，因而其形态正常。来自肾小管的红细胞虽可受 pH 及渗透压变化的作用，但因时间短暂，变化轻微，故呈均一性血尿。

非均一性红细胞血尿：多为肾小球源性血尿，即畸形红细胞性血尿，尿中红细胞计数 >8000/ml，大部分红细胞（>70%）为两种以上类型畸变。红细胞大小不等、形态异常，尿畸形红细胞常见有大红细胞、小红细胞、棘红细胞（出芽样红细胞）、锯齿形红细胞、影红细胞（面包圈样红细胞）、半月形红细胞、颗粒形红细胞、碎片状红细胞等，见表 12-2-3。出芽样红细胞形态上有时与真菌相

表 12-2-3　尿畸形红细胞形态特点

畸形红细胞	特点
大红细胞	红细胞直径 >10μm
小红细胞	红细胞直径 <6μm，且常大小不等
棘红细胞	胞质常向一侧或多侧伸出，胞膜突起，如出芽样
锯齿形红细胞	因高渗而皱缩，红细胞表面突起数量多、排列整齐、长短大小相似
影红细胞	因血红蛋白从细胞内流失或胞质凝聚于细胞膜周围，形似面包形的空心环
半月形红细胞	红细胞形状如半月形
颗粒形红细胞	胞质内有颗粒状的沉积，血红蛋白丢失
碎片状红细胞	红细胞破碎、不完整

学习笔记

似，应注意鉴别。非均一性红细胞血尿的红细胞形态变化与肾小球基底膜病理性改变对红细胞的挤压损伤、各段肾小管内不断变化的 pH、渗透压、介质张力及代谢产物（如脂肪酸、溶血磷脂酰胆碱、胆酸等）对红细胞的作用有关。

混合性血尿：尿中含均一性和非均一性两类红细胞。

思路 2：使用相差显微镜可对尿液中有形成分（红细胞、管型、结晶等）形态进行细微观察，同时可用于尿液中各类有形成分的定量计数。尿红细胞位相检查是利用相差显微镜观察尿液中红细胞形态的一种方法，其在鉴别肾小球源性血尿和非肾小球源性血尿中的临床实用价值尤为显著。

尿红细胞位相检查：收集新鲜晨尿，混匀后取 10ml 于刻度离心管内，400g 离心 5 分钟，离心后取上清液用磺基水杨酸法进行蛋白定性试验，留 1ml 混匀，取 1 滴充入牛鲍计数板内，通过相差显微镜进行红细胞计数和形态分类。每毫升尿液中红细胞数 =N×100，N 为 10 个大方格内的红细胞总数。数 100~200 个红细胞，以百分率表示正常形态红细胞与畸形红细胞的比例。在血尿的鉴别诊断中，胞质常向一侧或多侧伸出如出芽样的棘红细胞具有特殊诊断价值，该类细胞比率 >5% 可判断为肾小球性血尿，光学显微镜及相差显微镜下的棘红细胞见图 12-2-3。

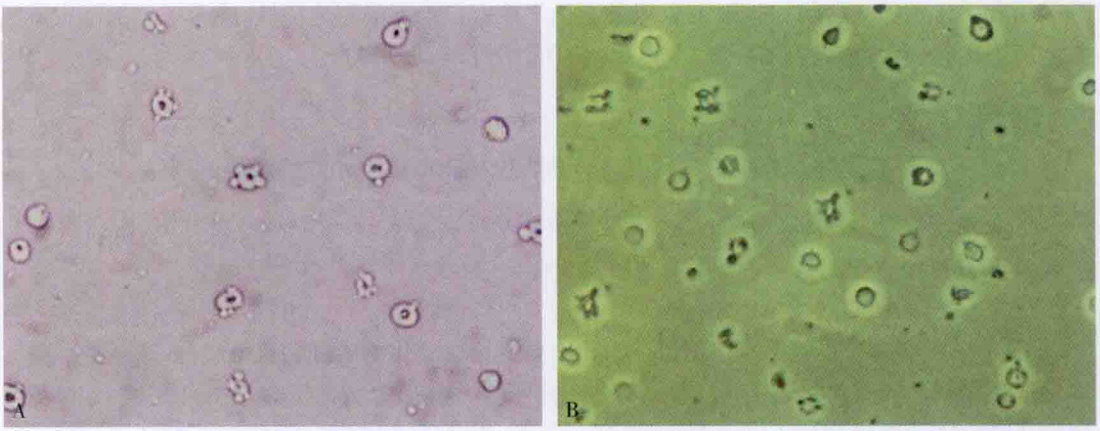


图 12-2-3　棘红细胞

A. 光学显微镜 ×400；B. 相差显微镜 ×400

知识点

棘红细胞在肾小球性血尿诊断中的价值

棘红细胞 >5% 是肾小球性血尿的特征。

思路 3：尿三杯试验

患者一次连续排尿，以最初的 10ml 尿为第一杯，以最后 10ml 为第三杯，中间部分为第二杯，分别进行尿液常规检验，观察尿液中红细胞、白细胞等参数变化，以判断泌尿系统出血或炎症部位。根据三杯尿液中红细胞量或肉眼血尿程度，可分为：①全程血尿（三杯尿液均为血尿）：提示病变部位在膀胱或膀胱以上部位；②终末血尿（即第三杯为血尿）：提示病变在膀胱三角区、颈部或后尿道；③初期血尿（即仅第一杯为血尿）：提示病变多在前尿道。总之，如三杯尿呈均匀血性，多见于肾结核、肾结石、肾炎等；仅为前段血尿时，常见于尿道损伤、前尿道肿瘤等；仅为后段血尿者，常见于急性膀胱炎、膀胱结石或膀胱肿瘤等。如三杯尿均呈脓性混浊，镜下三杯均有大量白细胞，多见于输尿管炎、肾盂肾炎、肾脓肿、肾积脓等；仅第一杯大量白细胞者，见于急、慢性前

学习笔记

尿道炎；仅终末尿中大量白细胞者，见于前列腺炎、后尿道炎等。

【问题 5】如何正确理解尿化验单中的两项白细胞检测结果？

两项白细胞检测结果分别来自干化学和有形成分分析，尿液有形成分分析仪可对尿液中所有的白细胞进行检测，弥补了尿液干化学法只对粒细胞反应，而与淋巴细胞和单核细胞不反应的不足。

思路 1：尿液干化学中的白细胞主要检测的是中性粒细胞，中性粒细胞中含有特异性的酯酶，能水解吲哚酚酯生成吲哚酚，进而与重氮盐形成紫红色的缩合物，其颜色深浅与酯酶含量呈正比，根据尿液干化学试纸条的颜色改变可以判断酯酶的含量，其结果常以阴性、+、++、+++ 来表示。由于淋巴细胞和单核细胞内所含的中性粒细胞酯酶极少，所以该法主要检测的是中性粒细胞，并不包括淋巴细胞和单核细胞。因此尿液干化学白细胞检查为阴性的结果，并不能表示患者尿液中无中性粒细胞以外的其他白细胞。需要注意的是，由于尿液中的中性粒细胞易遭破坏，所以检测结果可能与镜下检查不一致。此外，尿液中若含有大量细菌可引起检测结果出现假阳性，因此尿液标本要及时送检。

思路 2：尿液有形成分中的白细胞计数主要针对的是形态完整的白细胞，包括中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞。对白细胞结果的临床分析应综合考虑这两种检测手段，着重看有形成分分析，特别是手工镜检的结果。若有形成分分析（全自动有形成分分析和手工镜检）提示白细胞增高，但是干化学检查白细胞酯酶为阴性，应考虑白细胞中淋巴细胞所占比例较大，或者有还原剂（如维生素 C）干扰了干化学检查。

知识点

尿液干化学分析仪和有形成分分析仪检测白细胞和红细胞的差别

尿液干化学检查中的白细胞主要检测的是中性粒细胞，红细胞是指血红蛋白，而有形成分检查中的白细胞检测的是形态完整的白细胞，红细胞主要是有形红细胞。

学习笔记

【问题 6】尿液常规检查包括哪些项目？为什么要进行尿液化学成分和有形成分的联合检测？

尿液常规检查主要由三部分组成：尿液化学检查、尿液有形成分检查和尿沉渣手工镜检。尿液化学检查主要检测尿中的重要化学成分，包括：蛋白质、葡萄糖、酮体、亚硝酸盐、尿胆原、胆红素、红细胞血红蛋白、白细胞酯酶、pH 和维生素 C 等。尿液有形成分检查主要测定尿液中的红细胞、白细胞、上皮细胞、结晶、管型、霉菌等有形成分。两种检查的对象、原理和意义各不同，在某些项目上互为补充，如干化学白细胞和尿沉渣白细胞、干化学红细胞血红蛋白与尿沉渣红细胞。尿液干化学分析仪和尿液有形成分分析仪具有检验快速、重复性好、准确性较高、适用于大批量标本筛检等特点，但检测时均存在假阳性、假阴性，所以对于异常样本需进行尿沉渣手工镜检。然而，我国医院实验室面对大量标本，所有标本全部手工镜检工作量太大，无法满足需求。因此，可通过建立尿液常规检查复检规则进行筛查，对符合复检规则的标本进行手工镜检，结果应以显微镜检查为准。

思路 1：尿液干化学分析仪检查

尿液干化学检查的基本原理是化学反应：首先将化学反应试剂固定在干化学试纸条上的特定的模块内，这些试剂与尿液中相应的成分（比如蛋白质、葡萄糖）结合时可发生化学反应，导致模块颜色发生变化，根据颜色变化的程度可以大致判断尿液中待检物质的浓度，其结果以等级资料（阴性、+、++、+++）表示。虽然干化学检查也给出红细胞和白细胞的信息，但其检测的对象实质是指血红蛋白和白细胞酯酶，并不是严格意义上的红细胞和白细胞。尿液干化学分析仪检测参数及原理见表 12-2-4。

表 12-2-4　尿液干化学分析仪检测参数及原理

参数	英文缩写	反应原理	参考区间
pH	pH	酸碱指示剂法	随机尿：pH4.5~8.0
相对密度（比重）	SG	多聚电解质离子解离法	1.015~1.025
蛋白质	PRO	pH 指示剂蛋白质误差法	阴性
葡萄糖	GLU	葡萄糖氧化酶 - 过氧化物酶法	阴性
胆红素	BIL	偶氮反应法	阴性
尿胆原	URO	醛反应、重氮反应法	阴性或弱阳性
酮体	KET	亚硝基铁氰化钠法	阴性
亚硝酸盐	NIT	亚硝酸盐还原法	阴性
血红蛋白或隐血	BLD	血红蛋白亚铁血红素类过氧化物酶法	阴性
白细胞	LEU	酯酶法	阴性
维生素 C	Vit C	吲哚酚法	阴性

知识点

尿干化学检测各项目的干扰因素

尿干化学检测	干扰因素
白细胞	干化学试剂只与尿液中的中性粒细胞反应，当尿中出现以淋巴细胞或单核细胞为主的白细胞时，可呈假阴性。
血红蛋白或隐血	高浓度的维生素 C 对试验有抑制作用可呈假阴性，浓缩尿或高蛋白尿对结果也有影响，此外试纸法可检出微量的血红蛋白和破坏的红细胞，而镜检法则可能为“阴性”。
葡萄糖	只适用于检测尿中的葡萄糖，而对乳糖、果糖等的检测不起作用，此外高浓度的维生素 C 可能造成结果的假阴性。
尿胆原	因尿胆原排出后很容易氧化成尿胆素，应尽快测定。此外，大量抗生素的应用、维生素 C 以及甲醛易使结果出现假阴性。
尿蛋白	该法对白蛋白的测定敏感度显著高于球蛋白、血红蛋白、本周蛋白以及黏蛋白，因此蛋白测定“阴性”并不能排除蛋白的存在。
亚硝酸盐	阳性结果说明尿液中的细菌数量在 10^5/ml 以上；阴性结果不能排除尿液中没有细菌，其可能是由非硝酸盐还原性细菌引起的尿路感染。
维生素 C	维生素 C 是一种很强的还原性物质，可以干扰“氧化还原”反应的进程，造成葡萄糖、胆红素、潜血、白细胞酯酶和亚硝酸盐检测结果假阴性。

思路 2：尿液有形成分分析仪检查

尿液的有形成分主要指来自泌尿道，并以可见形式渗出、排出、脱落和浓缩结晶所形成的有形物质，即“尿沉渣”。常见尿液中的有形成分主要包括：细胞类（红细胞、白细胞、上皮细胞、病毒包涵体细胞及肿瘤细胞等）、管型类（透明管型、颗粒管型、蜡样管型等）、结晶类（草酸盐结晶、尿酸盐结晶、胆红素结晶、胆固醇结晶等）、寄生虫及其他（细菌、真菌、黏液丝、精子、前列腺液混入物等）主要有尿沉渣人工镜检法和尿液有形成分分析仪检查。目前，全自动尿液有形成分分析仪主要有两大类。

（1）流式细胞技术和电阻抗检测相结合的尿液有形成分分析仪：主要工作原理是使用流式细胞计数法（FCM）技术将捕捉到的荧光强度（F1）、前向荧光脉冲宽度（Flw）、前向散射光强度

学习笔记

(Fsc)、前向散射光脉冲宽度(Fscw)、电阻抗等转变成电信号并对各种信号进行分析、综合识别和计算得到相应细胞的大小、长度、体积和染色质长度等信息，形成红细胞(RBC)、白细胞(WBC)、上皮细胞(EC)、管型(CAST)、细菌(BACT)等有形成分的定量结果，并显示出散点图和直方图(图 12-2-4)。F1：指从染色细胞发出的荧光，主要反映细胞染色质的强度；Flw：主要反映细胞染色质的长度；Fsc：主要指前向散射光强度，反映细胞大小；Fscw：主要反映细胞长度，电阻抗大小，主要与细胞体积呈正比。

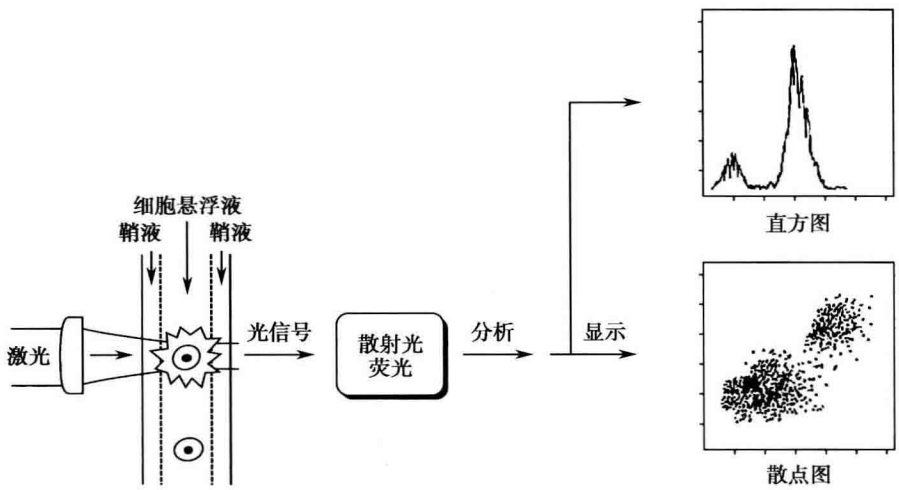


图 12-2-4　流式细胞技术和电阻抗检测相结合的全自动尿液有形成分分析仪工作原理图

学习笔记

流式细胞技术和电阻抗检测相结合的全自动尿液有形成分分析仪还可提供红细胞形态相关信息，对鉴别血尿的来源具有重要价值。70% 红细胞前向散射强度(RBC-P70Fsc)≤70ch，且红细胞前向散射光强度分布宽度(RBC-Fsc-DW)>50ch，提示为肾小球性血尿；RBC-P70Fsc≥100ch，且 RBC-Fsc-DW≤50ch 提示为非肾小球性血尿；70ch≤RBC-P70Fsc≤100ch，且 RBC-Fsc-DW≥50ch，为混合性红细胞，仪器提示均一性(非肾小球性)血尿、非均一性(肾小球性)血尿以及混合性血尿，其红细胞直方图分别显示为图 12-2-5A~C。

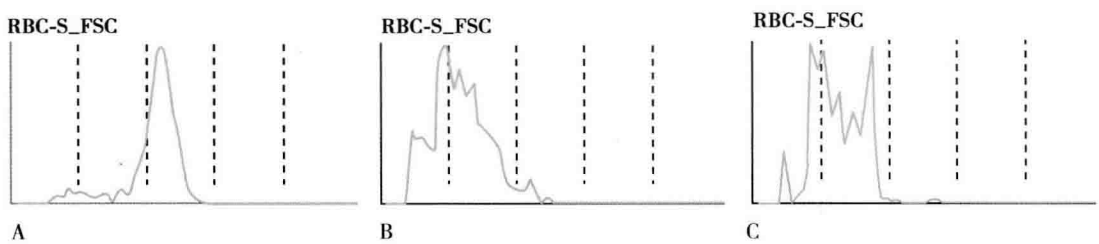


图 12-2-5　均一性、非均一性及混合性血尿红细胞直方图

A. 均一性红细胞；B. 非均一性红细胞；C. 混合性红细胞

(2) 影像式尿液有形成分分析仪：与人工显微镜检查原理相似，可直观地观察有形成分的形态。一般通过数字显微摄像拍摄有形成分照片，计算机进行图像分析，提取尿液有形成分的大小、对比度、形状、质地等特征性信息(图 12-2-6)。将所拍摄尿液中的粒子根据其各自的特征信息与数据库中的信息进行比对、分类和计数。目前的仪器可以识别出红细胞、白细胞、鳞状上皮细胞、非鳞状上皮细胞、酵母菌、透明管型、病理管型、草酸钙结晶、三联磷酸盐结晶、尿酸结晶、精子和黏液丝等。

上述两类全自动尿液有形成分分析仪工作原理及技术应用等方面的差异见表 12-2-5。

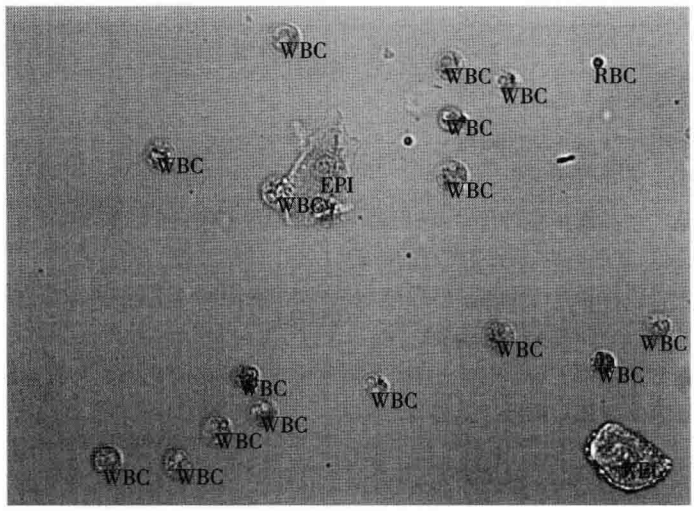


图 12-2-6　影像式尿液有形成分分析仪拍摄的尿液有形成分照片（×400）
WBC、RBC、EPI、NEC 分别指白细胞、红细胞、鳞状上皮细胞、非鳞状上皮细胞

表 12-2-5　两种类型全自动尿液有形成分分析仪比较

仪器分类	流式细胞术	数字成像
工作原理	激光分散荧光和电阻抗法区分细胞	使用智能化显微镜图像分析技术，通过形态识别软件自动识别和分类尿液有形成分
基于显微镜	否	是
是否需要染色	是（自动）	否
检测速度	100 标本 / 小时	60~100 标本 / 小时
结果呈现	散点图、红白细胞直方图	粒子数字图像
批内精密度	红细胞≤10%、白细胞≤10%	红细胞≤15%、白细胞≤25%

虽然尿液有形成分分析仪与手工显微镜检查相比具有快速、人为偏差小、精密度高、安全等优点，但也存在明显不足，例如：影像式尿液有形成分分析仪的缺点是：①含杂质多的标本可导致图像模糊，难以准确辨认，假阳性率高；②有些结晶和真菌容易被误认为红细胞；③非鳞状上皮细胞、结晶、管型等仍要依靠显微镜检查确认。流式细胞技术和电阻抗检测相结合的尿液有形成分分析仪的缺点是：①结晶、真菌、细菌等增多时可误计为红细胞，容易漏检影红细胞；②白细胞计数易受上皮细胞、真菌、滴虫、脂肪滴等影响；③黏液丝、棉毛、麻纤维等类管型异物可引起管型计数的假阳性，且不能明确病理管型的分类。因此，目前这两类全自动尿液有形成分分析仪还不能完全取代显微镜镜检。

思路 3：正常男性尿液中白细胞 0~2/HPF，女性 0~4/HPF，主要以中性粒细胞为主，也可见淋巴细胞和单核细胞。脓细胞是由于中性粒细胞的衰竭死亡或在炎症过程中外形发生不规则改变，镜下结构不清，浆内充满粗大颗粒，细胞成团聚集，细胞界限不清。尿沉渣中若有大量白细胞或出现脓细胞多见于泌尿系化脓性炎症如泌尿系感染、膀胱炎、尿道炎等。女性患者常有阴道分泌物混入尿中并伴有大量上皮细胞易混淆为白细胞，此外诸多疾病影响到肾脏功能时，也易使尿液中的白细胞数量增高。正常男性尿液中几乎无红细胞，正常女性尿液中可见 0~3/HPF。尿中出现鳞状上皮细胞一般无临床意义，但是若大量出现或成片脱落或同时伴有白细胞、脓细胞时，多见于尿道炎症。若尿中有过多上皮细胞并黏附有白细胞时，对泌尿道感染有较高的诊断价值。尿液有形成分检查各项目的意义见表 12-2-6。

学习笔记

表 12-2-6　尿液有形成分检查各项目的意义

尿液有形成分	临床意义
白细胞增加	提示泌尿系统炎症
红细胞增加	提示肾性或非肾性血尿
管型	提示肾实质性病变
结晶	某些结晶属于生理性改变，可能与饮食习惯有关；而有些结晶则是有病理诊断和治疗价值，其还有助于尿路结石的诊断
细菌	正常人尿液中无细菌，当尿液中细菌数目≥10^5 个 /ml 表示有尿路感染，而细菌数目≤10^4 个 /ml 则无诊断意义
上皮细胞	正常尿液中无肾小管上皮细胞，当尿中出现较多时则可能与急性肾小管坏死，肾移植排斥反应和间质性肾炎有关

【问题 7】如何进行尿液常规检查的质量控制？

影响尿液分析结果的因素很多，如标本的采集、处理、贮存和检测。要求检验人员和医护人员规范标本的采集和运送，同时要求检验人员规范手工法或自动法细胞计数和分类等检验项目，使影响尿液分析的各个环节质量都能够得到保证。

思路 1：尿液的分析前质量控制

正确留取尿液标本是尿液分析程序中最基本的要求也是保证试验质量的先决条件。晨尿为浓缩尿，最适合尿常规检查，因其在膀胱中停留的时间较长，标本浓缩，有形成分比较完整。因此尿中的细胞、管型、细菌等有形成分的检出率较高。随机尿比较新鲜，对尿中有形成分的形态干扰较少，适用于对尿红细胞形态的观察。同时，尿液标本放置过久会影响检查的准确性，如尿素分解使 pH 增高，尿液有形成分破坏，葡萄糖被细菌利用而减少等。因此尿标本必须尽快送检或妥善保存。

知识点

分析前尿标本保存防腐剂的选择

甲苯通常用于尿酮体、尿糖、尿蛋白等测定前的标本保存；甲醛可抑制细菌生长并固定尿中有形成分，适用于尿液中细胞与管型的测定标本的保存；浓盐酸能使尿液的 pH 维持在 2.0 左右，适用于尿皮质激素，如尿 17- 羟皮质类固醇等测定标本的保存。

思路 2：尿液仪器检测的性能验证以及质控原则

性能验证：仪器法大大减少了人工镜检的劳动强度和工作量，提高了工作效率。在使用自动化仪器进行临床标本检测前，应进行性能评价。尿液有形成分分析仪需要检测其精密度、线性、携带污染率、敏感度和特异性等。有学者对应用流式原理和影像原理的尿液有形成分分析仪进行的研究显示：影像法仪器的批内精密度为 3.4%~22.3%；流式法仪器的批内精密度为 1.6%~24.2%。自动化仪器对红细胞、白细胞的识别率较高，而目前对管型的识别仍然不能令人满意。

质控原则：目前常用的尿沉渣质控品为仪器配套的质控品或第三方质控品。在质控规则的制定上，应至少选择 1_3S 和 2_2S 失控规则。但目前国内外没有适当的尿液有形成分检查的室间质量控制和评价方式，这也是导致尿液有形成分检查的进展受到影响和制约的因素之一。

思路 3：尿液常规检查复检规则的制定

尿液常规检测中，单纯依靠仪器的检测，存在漏检或误报的可能。因此，针对不同仪器，应

学习笔记

制定相应的复检标准。首先，根据各自的标本来源特点，制定一个或几个筛选标准；然后，在仪器检测的同时，由经验丰富的检验师严格按照操作规程进行人工镜检；最后，以人工镜检为标准，分析不同复检规则的真阳性率、假阳性率、真阴性率和假阴性率（漏检率）及复检率，综合评估选择合适的标准，并用临床标本对所选规则进行验证。一般应满足国际血液学复审协作组提出的保证患者检测结果安全性的最大可接受假阴性率 <5%。

附：尿液分析诊断报告

×× 医院检验报告单

尿液分析诊断报告

姓名：某某	病历号：××××××	临床诊断：肾炎？	标本种类：尿
性别：男	科别：肾内科	申请医生：某某	标本编号：××××××
年龄：13 岁	病房：	备注：晨尿	采集时间：××××-11-28-07：23

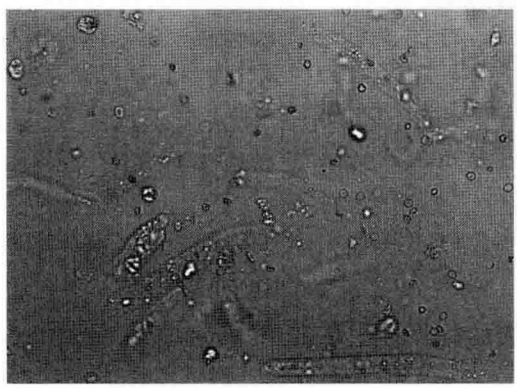
一、病历摘要

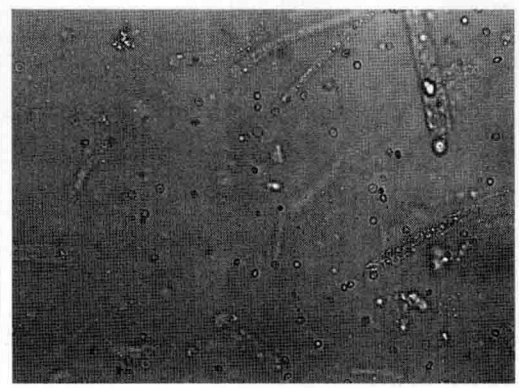
患者男，13 岁。两周前曾患上呼吸道感染，1 周来尿少色红，眼睑、下肢水肿来门诊就诊，血压 150/90mmHg，血红蛋白 120g/L，白蛋白 40g/L，球蛋白 22g/L，肌酐 104μmol/L。

二、尿液分析（全自动尿液分析仪）

No.	检验项目	结果	参考区间	单位	No.	检验项目	结果	参考区间	单位
尿干化学分析					尿有形成分分析				
1	相对密度（比重）	1.010	1.003~1.030		12	尿沉渣红细胞	256.08	↑<5	/μl
2	酸碱度	7.0	5.0~9.0		13	尿沉渣白细胞	21.12	↑<9	/μl
3	白细胞	25.0	↑阴性	/μl	14	结晶	0	<6	/μl
4	亚硝酸盐	阴性	阴性		15	透明管型	1.98	<2	/μl
5	蛋白质	1.0	↑阴性	g/L	16	病理管型	13.86	↑<1.5	/μl
6	葡萄糖	阴性	阴性	mmol/L	17	鳞状上皮细胞	0	<5	/μl
7	酮体	阴性	阴性	mmol/L	18	非鳞状上皮细胞	0	<2	/μl
8	尿胆原	阴性	阴性 / 弱阳性	μmol/L	19	蛋白（手工）	++	阴性	
9	胆红素	阴性	阴性	μmol/L					
10	红细胞血红蛋白	300.0	↑阴性	/μl					
11	维生素 C	阴性		g/L					

三、尿液有形成分照片





红细胞：显著增多，且大多为畸形红细胞。

白细胞：3~5/HPF。

管型：易见，且以颗粒管型为主，红细胞管型亦可见。

学习笔记

四、尿液分析诊断意见

1. 尿液常规分析特点　①尿蛋白显著增高，干化学法检测结果为 1.0g/L，手工法（磺基水杨酸法）定性结果为“++”；②红细胞显著增多，且大多为畸形红细胞；③管型易见，且多为颗粒管型，红细胞管型亦可见。

2. 检验诊断及建议　初步诊断急性肾小球肾炎，建议检查血清抗链球菌溶血素“O”滴度、血清总补体和 C3 水平，进一步明确诊断。

检验者：　　审核者：

××××年11月28日

（邓安梅）

第三节　粪便检验

粪便检查是临床检验三大常规项目之一，通过此项检查可直接了解胃肠道病理现象，间接判断消化道、胰腺及肝胆系统功能状态。粪便检查主要包括理学检查、显微镜检查和化学分析。

粪便是食物在体内被消化吸收营养成分后剩余的产物，主要由固体物和水分组成，固体物占粪便总重量的 1/4，主要成分包括：①食物残渣：未被消化的如淀粉颗粒、肉类和植物纤维、植物细胞等；已被消化但未被吸收的食糜；②消化道分泌物：如胆色素、酶、黏液和无机盐等；③分解产物：如靛基质、粪臭素、脂肪酸等；④肠道脱落的上皮细胞；⑤细菌：如大肠埃希菌、肠球菌等组成。

一、粪便常规检查

粪便常规检查主要包括理学和显微镜检查两个部分。

病历摘要：

患者男，72岁。间断黑便6个月，脓血便伴大便变细1个月。患者于6个月前出现黑便，偶有便秘、里急后重，无恶心、呕吐、呕血，无明显腹痛、腹泻，未诊治。近1个月来出现脓血便，伴大便变细，每日排便次数减少，常有腹胀、乏力。近期体重下降8kg。患者父亲患结肠癌。来医院就诊，便潜血阳性，血 WBC 10.2×10^9/L，Hb 90g/L。现为进一步诊治入院。

××医院检验报告单

姓名：某某	病历号：××××××	临床诊断：消化道肿瘤？	标本种类：粪便
性别：男	科别：内科	申请医生：某某	标本编号：××××××
年龄：72岁	病房：内科×病区	备注：	采集时间：××××-12-11 07:45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位	No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	粪便颜色	红色	黄色		4	粪便白细胞	20~30	阴性	
2	粪便性状	黏液便	软便		5	粪便隐血试验	阳性	阴性	
3	粪便红细胞	满视野	阴性		6	粪便虫卵	未见	阴性	

接收者：某某	接收时间：××××-12-11 08:11	审核者：某某	审核时间：××××-12-11 08:40
检验者：某某	检验时间：××××-12-11 08:20	检测实验室：	×××× 医院检验科

【问题1】从便常规检验报告结果分析并结合患者的临床表现，该患者初步考虑最可能的诊断是什么？

根据患者主诉、症状、个人和家族史，脓血便，高度怀疑直肠癌（colorectal cancer，CRC），应与肛门疾病、下消化道肿瘤、细菌性痢疾和阿米巴痢疾等疾病鉴别诊断。

思路1：本病例的病史特点为：①老年男性；②以脓血便、大便变细为主要症状；③伴有乏力、

学习笔记

消瘦等全身症状；④有胃肠道恶性肿瘤家族史。

知识点

直肠癌的临床特点

直肠癌是一种病因未明的大肠黏膜上皮恶性肿瘤。发病原因可能与环境和遗传等因素有关。本病可发生在任何年龄，但以20~40岁者多见。主要侵犯大肠的黏膜及黏膜下层。该病呈慢性或亚急性腹泻，多数患者表示腹痛、腹泻，黏液脓血便是本病活动的重要表现。腹泻次数和便血情况与病变轻重程度有关，轻者每日排便2~4次，便血轻或无；重者每日可达10次以上，脓血显见。

思路2：脓血便是肠道有器质性病变的一种特殊临床症状，主要表现为结肠、直肠和肛门等部位的肿瘤和炎性反应。

知识点

脓血便时应考虑的疾病

1. 感染性疾病　如肛周炎，急性细菌性痢疾，阿米巴痢疾，空肠弯曲菌肠炎，肠伤寒，急性坏死性肠炎，结核性直肠溃疡。

2. 非感染性疾病　如痔疮，肛裂，肛管、直肠损伤，非特异性直肠炎，放射性肠炎，消化道的血管扩张症、血管瘤或息肉，结肠憩室炎，结肠性溃疡，恶性肿瘤，肠易激综合征，克罗恩病，血液病等。

【问题2】单从实验室检查出发，发现脓血便时，是否可以帮助临床对疾病的诊断？

实验室检查发现脓血便时，单从实验室本身出发并不能完全对疾病作出诊断，但对疾病辅助诊断有所帮助，但是从脓血便粪便标本中发现如致病菌、阿米巴及寄生虫成虫和虫卵时，会对疾病的诊断起十分重要的鉴别意义。

知识点

脓血便时，常见疾病的粪便特点

1. 肛门疾病　痔疮、肛裂引起的便血都是便后滴血，覆盖于粪便的表面，严重的可以喷血，血色鲜红，血液与粪便不混合，一般无黏液便。

2. 下消化道肿瘤　脓血便是下消化道肿瘤的典型症状，早期可有少量血附于粪便表面，随病情发展便血量增多，常混有脓液或黏液，晚期可出现鲜红色血便或伴有黏液、脓液。

3. 细菌性痢疾　典型痢疾粪便中无粪质，量少，呈鲜红黏冻状，无臭味。镜检可见大量白细胞或脓细胞及红细胞，并有巨噬细胞。粪便培养可见志贺菌属细菌。

4. 阿米巴痢疾　典型者粪便呈果酱样，有腐臭。镜检仅见少许白细胞、红细胞凝集成团，常有夏科-莱登结晶体，可找到阿米巴滋养体和（或）包囊。

【问题3】粪便常规检查时，实验室目前采用哪些主要技术？

在国内大多数实验室粪便常规检查主要采用手工法（性状检查和显微镜检查）和粪便分析工作站。

思路1：粪便分析工作站（feces analysis workstation）是继尿液有形成分分析工作站应用后的又一新工作站系统。粪便分析工作站代替了传统的湿片显微镜法来检验粪便中的有形成分。

学习笔记

知识点

粪便分析工作站原理

根据动力管道产生吸力的原理，分析仪在电脑控制下自动吸样、染色、混匀、重悬浮，在相差或平场光显微镜视场下，来观察粪便有形成分立体结构和平面结构。计算机数据处理系统通过成像系统进行文字、图像传输，再经打印包括患者资料、检查结果（包含图像）的粪便检验报告单。

思路 2：粪便分析工作站与手工法粪便常规检查的优劣

粪便分析工作站粪便常规检查具有简便、快捷、安全、对正常标本筛选的优势，但对于异常成分的识别目前还没有达到人工镜检的准确度，临床主要用于正常标本的筛查，但筛查的灵敏度还达不到 100%，存在一定的假阴性和假阳性率。目前手工法是粪便常规检查的“金标准”，但存在制片、镜检耗时长，速度慢，主观性强，检验结果存在较大的变异及粪便检测的生物安全等问题。

近年来出现的直接涂片、过滤回收、过滤染色等类型粪便分析工作站，由于速度快、重复性强、自动获取图像、计算机辅助人工识别、图像数字化传输与储存方便，生物安全，未来将可能逐渐替代显微镜粪便常规检查。目前，由于该技术正在探索中，当粪便常规检查结果异常时，实验室必须进行人工复检。

二、隐血试验

粪便隐血（occult blood，OB）指粪便外观无显著变化，肉眼和显微镜下都不能证实有出血，而且少量红细胞又被消化分解，以至显微镜下也无从发现的出血。

病历摘要：

患者男，33 岁。间断性上腹痛 6 年，复发 1 月余。6 年前开始，反复于劳累后出现上腹痛，以空腹痛为主，疼痛时向腰背部放散，并伴反酸、嗳气，进食后症状可以暂时缓解，食欲差，无明显恶心、呕吐，无呕血及黑便。1 个月前，受凉后，上述症状再次出现，症状加重，疲乏无力，大便发黑。来医院就诊，未诊治。查血常规 WBC 8.2×10^9/L，Hb 105g/L。粪便常规及隐血试验结果如下：

×× 医院检验报告单

姓名：某某	病历号：××××××	临床诊断：腹痛？	标本种类：粪便
性别：男	科别：内科	申请医生：某某	标本编号：××××××
年龄：33 岁	病房：内科 × 病区	备注：	采集时间：××××-11-12 07：15

No.	检验项目	结果	参考区间	单位	No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	粪便颜色	黑色	黄色		4	粪便白细胞	阴性	阴性	
2	粪便性状	软便	软便		5	粪便隐血试验	阳性	阴性	
3	粪便红细胞	阴性	阴性		6	粪便虫卵	未见	阴性	

接收者：某某	接收时间：××××-11-12 07：50	审核者：某某	审核时间：××××-11-12 08：40
检验者：某某	检验时间：××××-11-12 08：15	检测实验室：	×××× 医院检验科

【问题 1】从便常规和隐血检验报告结果分析并结合临床表现，该患者初步考虑最可能的诊断是什么？需与哪些疾病鉴别诊断？

根据患者主诉、症状、个人史，便隐血阳性，高度怀疑十二指肠球部溃疡（duodenal ulcer，DU）。鉴别诊断：①糜烂出血性胃炎；②胃癌合并出血；③食管胃底静脉曲张破裂出血。

学习笔记

知识点

十二指肠球部溃疡特点

主要发生在十二指肠的慢性溃疡，主要表现为上腹痛，典型特点：①慢性过程，病史可达数年至数十年；②周期性和季节性发作；③发作时上腹痛呈节律性，腹痛多可为进食或服用抗酸药有所缓解。

思路 1：从粪便隐血试验阳性，应先确立是真性出血还是假性干扰。对慢性隐性出血，要排除虚假的出血，如病人主诉黑便，只是粪色深褐而已。如真为黑色，还要排除食用大量动物血类食品和一些药物引起的黑便。如果是真性出血，根据出血方式、粪便颜色和性状、伴随症状和病因病史可初步确立出血部位。

知识点

上、下消化道出血概念

上、下消化道以屈氏（Treitz）韧带为界，上消化道出血（upper gastrointestinal hemorrhage）系指 Treitz 韧带以上的消化道，包括食管、胃、十二指肠或胆胰等病变引起的出血，下消化道出血（lower gastrointestinal hemorrhage）是指十二指肠空肠移行部、Treiz 韧带以下的小肠、结肠和直肠疾病所引起的肠道出血。

思路 2：本患者 FOBT 阳性，结合：①明确的诱因：季节变化、劳累、受凉；②典型的临床表现：慢性、周期性发病，规律性疼痛（饥饿痛为主），进食后症状可缓解；③体格检查：上腹压痛，肠鸣音活跃；④实验室检查：血红蛋白降低；⑤多年节律性溃疡疼痛病史有助于消化道溃疡特别是十二指肠溃疡的诊断。但需与糜烂出血性胃炎、胃癌合并出血和食管胃底静脉曲张破裂出血进行鉴别诊断，应进一步检查，首选胃镜检查，必要时可行 X 线钡餐和腹腔血管造影，动态观察血红蛋白和便潜血的变化。

【问题 2】粪便隐血试验阳性是否能诊断消化道出血，怎样鉴别上消化道出血和下消化道出血，还需做哪些检查？

消化道出血是消化道疾病（无论肿瘤或非肿瘤）的常见和主要症状之一，粪便隐血试验（fecal occult blood test，FOBT）是检测消化道出血最有效和实用的方法之一，适合于对健康人群普查、高危人群长期随访、反复检测，出现化学法阳性时建议加做免疫法粪便隐血试验以排除消化道假性出血。单从隐血试验阳性无法区分消化道出血的类型，必须结合临床表现、病史和实验室检查才能鉴别上消化道出血和下消化道出血，主要通过胃镜、肠镜等检查才能作出正确诊断。

知识点

粪便隐血试验概念

是指消化道少量出血，粪便中无可见的血液，且红细胞被破坏，显微镜检查未见到红细胞，需用化学法、免疫法才能证实出血，称为粪便隐血试验（FOBT）。

思路 1：根据美国癌症学会 2011 年发布的最新全球癌症统计报告：食管、胃、结直肠等消化系统脏器的癌症发生率和死亡率在发展中国家均占前十位。国内资料提示我国发病率前 10 位恶性肿瘤中，消化系统肿瘤占了 4~5 位。消化系统肿瘤常会伴随消化道出血症状，粪便隐血试验具有灵敏度高、特异性好的优点，在消化道出血性疾病的诊断中得到良好的应用。临床实验室的粪便隐血试验主要采用基于过氧化物酶反应的化学法和单克隆或多克隆抗原 - 抗体反

学习笔记

应的免疫法两种检测方法，目前美国临床化学学会和中华医学会检验分会均推荐粪便隐血试验作为结直肠癌的筛查指标，但由于粪便隐血试验并非消化系统肿瘤伴消化道出血所特有，因此单凭隐血试验阳性要鉴别是上、下消化道出血或是肿瘤出血还是消化道其他出血，还是十分困难的。

知识点

粪便隐血检测原理

化学法是基于血红蛋白中的亚铁血红素具有类过氧化物酶的活性，将供氢体（色源）中的氢转移给过氧化氢生成水，供氢体脱氢（氧化）后形成发色基团而显色，显色的深浅可反映血红蛋白的含量。该法操作简单，价格便宜，但容易受外源性食物和药物的影响，结果易出现假阳性，其检测敏感度为 0.2~10mg/L。

免疫法是基于单克隆和多克隆抗体，特异性地针对粪便样品中的人血红蛋白（Hb），是一种高灵敏度的双抗体夹心免疫检验方法，具有简单、快速，较高的灵敏度（0.2mg/L）和特异性，抗干扰能力强，不受外源性食物和药物的影响等特点，但由于血红蛋白容易受肠内细菌和消化酶的作用发生降解或构象改变，抗原性降低，易产生假阴性；当出血量过大时，也会因为产生后带现象而造成假阴性。

思路 2：粪便隐血试验阳性，结合呕血，伴随症状和病因病史及实验室检查可作出上、下消化道出血的判断，但要排除口腔、鼻、咽喉部出血。

知识点

上、下消化道出血鉴别要点

特性	上消化道出血	下消化道出血
出血方式	呕血伴便血	单纯便血
粪便颜色	黑色、柏油样便及隐血便	暗红色（鲜红血便）
粪便性状	血量多、粪质少、血与粪便均匀混合	血液附在粪便表面或大便时滴血者
伴随症状	便血伴有急性或节律性上腹痛、烧心、反酸	便血伴有急性下腹痛、脐周痛或里急后重
病因病史	溃疡、胃炎及肝病史	一般无病史

思路 3：根据粪便隐血试验阳性，如果怀疑是上消化道出血，首先查找出血的部位和病因，以决定进一步的治疗方针和判断预后。上消化道出血的原因很多，大多数是上消化道本身病变所致，少数是全身疾病的局部表现。据国内资料，最常见的病因依次是：溃疡病，肝硬化所致的食管、胃底静脉曲张破裂和急性胃黏膜损害，胃癌。其他少见的病因有食管裂孔疝、食管炎、贲门黏膜撕裂症、十二指肠球炎、胃平滑肌瘤、胃黏膜脱垂、胆道或憩室出血等。上消化道出血的诊断主要依靠胃镜，在胃镜检查前，病史、临床症状、体征对诊断很有帮助。在诊断时主要应考虑以下几个方面：出血部位、出血量、出血病因，是否为活动性出血，再出血的可能性，有无手术的指征。必要的化验检查包括胃液或呕吐物隐血试验、外周血红细胞计数、血红蛋白、血细胞比容等。

如果怀疑是下消化道出血，国内以恶性肿瘤（多数是大肠癌）、肠息肉、炎症性肠病最为多见，其次是痔、肛裂、肠血管畸形、小肠平滑肌瘤、缺血性肠炎、肠憩室、肠套叠及贝赫切特（behcet）病等。下消化道出血诊断要与上消化道出血进行鉴别，通过病患的病史与体征，再辅以内镜检查，观察其出血量、出血部位，探究其病因和定位，最终形成诊断结果。

学习笔记

【问题 3】在常规检测过程中，怎样看待粪便隐血对消化道出血的诊断价值，如何做好质量控制，保证检测结果的准确？

粪便隐血试验对各种消化道出血、消化道肿瘤的筛选和鉴别以及原因不明的贫血患者疑有消化道出血者均有重要的筛选意义。但目前检测粪便隐血试验主要有检测血红蛋白中的类过氧化氢酶活性的化学法和检测抗人血红蛋白的抗原 - 抗体免疫法，任何一种方法都会出现假性结果，粪便隐血试验结果只能作为临床诊断的筛选，不能只凭一次阳性或阴性结果就进行诊断，因此做好粪便检查质量控制尤其重要。

思路 1：在粪便常规检查质量控制过程中，应尽可能避免粪便隐血干扰因素的影响，使检测结果更加准确。粪便隐血试验化学法和免疫法影响因素见表 12-3-1。

表 12-3-1　粪便隐血试验化学法和免疫法影响因素

因素	化学法	免疫法
标本	假阳性：粪便隐血来源非消化道如口腔、鼻出血； 假阴性：因标本在肠道停留过久，Hb 被细菌降解	假阴性：消化道大量出血，粪便 Hb 浓度，即抗原过剩（后带现象）；Hb 经消化酶降解变性，丧失抗原性
干扰物	假阳性：含 Hb 的动物血、肉及含过氧化物酶的叶绿素新鲜蔬菜；铁剂、秋水仙素、氧化性药物等； 假阴性：大量维生素 C 或还原性作用的药物	假阳性：部分服用阿司匹林引起的少量出血
试剂	假阴性：试剂失效或过期	假阴性：试剂失效或过期
操作	假阴性：操作不当	假阴性：操作不当

知识点

粪便隐血试验推荐方法

粪便隐血试验到目前为止，国内外还尚无统一的标准化方法，美国胃肠学学会推荐愈创木酯法或免疫学法，1983 年中华医学会全国临床检验方法学学术会推荐邻联苯胺法。为减少试验假阳性和假阴性，建议有疑问的标本采用双法检测以弥补方法学不足。

思路 2：粪便隐血试验主要的临床价值表现在两个方面：①消化道出血的判断；②消化性溃疡与消化道肿瘤出血的鉴别。研究表明，化学法和免疫法检测粪便隐血阳性率与疾病部位有关，上消化道肿瘤的阳性率低于下消化道肿瘤阳性率，而在上消化道肿瘤出血疾病中化学法的阳性率又高于免疫法，这应该与上消化道出血后血红蛋白经过胃、十二指肠、小肠时已部分降解相关。目前对消化道肿瘤早期诊断仍缺乏较好的手段时，其消化道肿瘤粪便隐血试验阳性率可达 80% 左右，因此我国最新的肿瘤标志物应用指南仍将粪便隐血试验列为结直肠癌的筛查指标。由于消化道出血是肿瘤的报警症状，及早发现消化道出血有利于消化道肿瘤的早期诊断。单独一项粪便隐血试验仅能判断患者是否存在消化道出血，无法对出血严重程度及性质进行评估，在实际工作中，美国癌症协会建议对 50 岁以上人群进行粪便隐血检查，至少每年 1 次用化学法进行普查，如出现化学法阳性则加做免疫法帮助对消化道出血的鉴别，决定进一步需进行何种内镜检查，以便及早发现肿瘤，及时治疗。

思路 3：影响粪便隐血检查的因素较多，要保证粪便隐血试验结果的准确性，必须严格粪便检查分析前、分析中和分析后的质量保证。①检测前应事先告诉患者试验前三天停止服用的药物和食物、多点取材及注意事项，留取标本后应立即送检等；②检测中应严格按操作指导书进行操作，同时做阴性、阳性质控对照试验，不能使用过期、失效的试剂，单克隆抗体免疫法要避免后带现象引起的假阴性，对明显柏油样标本出现阴性时应稀释后再检查；③严格做好检验报告的

学习笔记

审核，必须时做好与患者、临床的沟通，核实检验结果与疾病的符合率，如有不符，应分析检测前和检测中可能存在的影响因素。为了减低粪便隐血试验误诊率，理想的方式是连续 3 次送检，因为有些肠道病变的出血呈间断性。

（王成彬）

第四节　浆膜腔积液检验

本节着重从浆膜腔积液检验在临床诊断中的应用、技术要点和质量控制等方面进行阐释。重点介绍了如何通过物理性状、细胞学、生化等检查判断浆膜腔积液的性质；描述了浆膜腔积液细胞计数及分类计数的原理及技术方法；阐述了浆膜腔积液检验中蛋白检查与生化检验中总蛋白检查的不同原理和意义；提出了浆膜腔积液检验质量控制策略和要点等。

病历摘要：

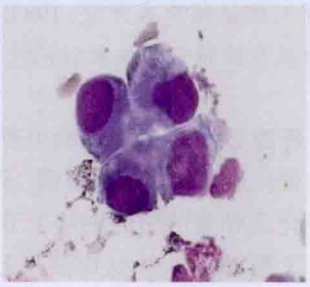
患者女，70 岁。因排便困难 2 个月，腹胀，伴呕吐、乏力 1 周入院。查体：腹部膨隆、腹软，上腹部压痛，无反跳痛，移动性浊音阳性。于当地医院行肠镜检查，结果示：直肠增生性病变伴梗阻，病理结果示：直肠黏膜慢性炎症伴肉芽组织增生。入院后血清 CEA（癌胚抗原）220ng/L，血清总蛋白 60g/L，血清乳酸脱氢酶 143U/L。腹水生化检查结果示：腺苷脱氨酶 10.0U/L，乳酸脱氢酶 198.0U/L，腹水葡萄糖 5.1mmol/L，总蛋白 36.0g/L，腹水氯化物 104.0mmol/L。腹水常规结果如下：

×× 医院检验报告单

姓名：某某	病历号：××××××	临床诊断：腹水待查	标本种类：腹水
性别：女	科别：消化内科	申请医生：某某	标本编号：××××××
年龄：70 岁	病房：× 病房	备注：	采集时间：××××-11-15-14：45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	细胞学检查	查见恶性细胞		
2	颜色	黄色		
3	透明度	微浊		
4	蛋白	++		
5	细胞总数	4000		10^6/L
6	白细胞数	150		10^6/L
7	中性粒细胞	2		%
8	淋巴细胞	50		%
9	巨噬细胞	48		%

该类细胞体积 20~30μm，形态呈圆、类圆形。胞质呈灰蓝色，着色不均，有的可见空泡。胞核 15~20μm，形态圆、椭圆或不规则形，核染色质较细致，分布不均；核仁清晰可见。可见恶性细胞聚集成团



恶性细胞
瑞吉染色 ×1000

接收者：某某	接收时间：××××-11-15-15：50	审核者：某某	审核时间：××××-11-15-17：10
检验者：某某	检验时间：××××-11-15-17：05	检测实验室：	×× 医院检验科体液室

【问题 1】腹水检查结果结合患者临床表现，考虑该患者初步诊断是什么？

患者腹水常规检查发现细胞及蛋白明显增多，细胞分类以淋巴细胞及巨噬细胞为主，且查见恶性细胞，结合患者临床症状、体征及肠镜检查结果，初步考虑诊断为直肠癌伴腹膜转移。

思路 1：老年患者，有排便困难、腹胀、呕吐等肠梗阻症状，肠镜检查：直肠增生性病变伴梗阻。虽然病理结果提示炎性病变，但并不排除取样等误差，且腹水细胞学检查发现恶性细胞。据上述表现，最有可能的诊断为直肠癌。腹水体征明显，提示可能已发生腹膜转移。

思路 2：直肠癌的诊断

老年高危人群，典型的临床症状和体征，结合相关的检查可得出直肠癌的诊断。直肠指检

学习笔记

和纤维结肠镜检查是诊断直肠癌最主要的检查方法，内镜检查取病理活检可以明确病变性质。此外，影像学检查如 X 线钡剂灌肠、CT、B 超以及血清 CEA，大便隐血均可辅助诊断。

思路 3：鉴别诊断

该患者无发热、盗汗等结核典型症状，活检非干酪样病变可排除肠结核；腹水征明显，血清 CEA 显著升高，腹水找到恶性细胞可排除溃疡性结肠炎、肠息肉等良性病变；原发于肠道的淋巴瘤多通过发现淋巴瘤细胞明确诊断，该患者细胞学检查和病理检查结果均非淋巴瘤细胞亦可排除。

【问题 2】如何通过浆膜腔积液检查结果判断其性质？

首先应确定浆膜腔积液是渗出液还是漏出液（渗出液与漏出液的鉴别要点参见第二篇第七章第三节）。该患者腹水黄色，微浊，细胞数明显增多，分类以淋巴细胞和巨噬细胞为主。Rivalta 试验阳性。腹水总蛋白为 36g/L，蛋白总量 / 血清总蛋白 =0.6，腹水 LDH（乳酸脱氢酶）/ 血清 LDH=1.38，腹水葡萄糖 5.1mmol/L，且在腹水中查见恶性细胞，以上指标说明该患者腹水为渗出液。其次应判断腹水产生的原因，渗出性浆膜腔积液的原因有很多，因患者腹水中查见恶性细胞，所以可判断为癌性腹水，即肿瘤腹膜转移产生的腹水。

思路 1：人体的胸腔、腹腔、心包腔统称为浆膜腔，正常情况，浆膜腔内有少量起润滑作用的液体，病理情况下会在腔隙里大量潴留形成积液。检查病人这些部位积液的理化性质对于判断所患疾病的种类具有重要意义。浆膜腔积液的相对密度（比重）取决于积液所含溶质的多少，多采用比密计法和折射仪法测定，漏出液相对密度（比重）多小于 1.015，渗出液的相对密度（比重）常大于 1.018。在病理情况下，由于感染或细胞渗出等原因，导致积液的颜色和透明程度发生改变，典型的颜色改变常具有重要的临床意义。

知识点

浆膜腔积液颜色及其所代表的临床意义

颜色	临床意义
绿色	铜绿假单胞菌感染
红色	常因含不同量红细胞造成，可见于恶性肿瘤、结核病急性期、内脏损伤、出血性疾病等
乳白色	化脓性感染、乳糜积液等
咖啡色	恶性肿瘤、内脏出血、阿米巴脓肿破溃等
黑色	曲霉菌感染等
草黄色	可见于尿毒症性心包积液

思路 2：红细胞计数对于鉴别渗出液和漏出液意义不大，但红细胞计数 >100 000×10^6/L 时常提示创伤、穿刺损伤、恶性肿瘤、肺栓塞，以恶性肿瘤最常见。有核细胞计数常能对鉴别渗出液和漏出液提供依据。大多数漏出液中有核细胞数 <100×10^6/L，反之多考虑为渗出液。该患者有核细胞数为 150×10^6/L，考虑渗出液的可能性较大。漏出液细胞较少，以淋巴细胞和间皮细胞为主。渗出液细胞种类较多：中性粒细胞增高最多见于化脓性渗出液以及结核性浆膜炎早期的渗出液中；淋巴细胞增多为主，提示慢性炎症，可见于结核性渗出液、病毒感染、系统性红斑狼疮的多发性浆膜炎等；嗜酸性粒细胞增多，多见于变态反应和寄生虫感染所致渗出液，也可见于多次穿刺刺激、人工气胸等。此外，在结核性渗出液的吸收期可见嗜酸性粒细胞增多；间皮细胞增多提示浆膜上皮脱落旺盛，表示浆膜受刺激或受损；肿瘤细胞多见于各类肿瘤。本病例中，分类计数显示淋巴细胞的增高最为明显，找到恶性细胞，结合患者的临床症状，应主要考虑直肠癌腹膜转移产生腹水的可能性。

思路 3：漏出液和渗出液的判断应根据临床症状与多项检查结果综合判断。葡萄糖、乳酸脱氢酶（LDH）等多项生化指标可以帮助判断积液性质。

浆膜腔积液的生化检查主要包括蛋白质、葡萄糖、脂类、氯化物以及酶学。葡萄糖的测定

学习笔记

常采用葡萄糖氧化酶法。胆固醇、甘油三酯的测定多采用酶法，脂类的测定除可以帮助判断积液的性质外，还对鉴别真性与假性乳糜积液具有重要价值。细菌和白细胞可利用氯化物及葡萄糖，使其在浆膜腔积液中的水平低于血清水平，此患者腹水葡萄糖及氯分别为 5.1mmol/L 和 104mmol/L，故可排除化脓性感染。酶学检测主要包括乳酸脱氢酶（LDH）、腺苷酸脱氨酶（ADA）、淀粉酶（AMY）以及溶菌酶（LZM）和碱性磷酸酶（ALP）。其中 LDH 多用于鉴别渗出液、漏出液，LDH 活性降低提示炎症消退，而活性增高则提示病情恶化。ADA 多用于鉴别结核性与恶性积液，当抗结核药物治疗有效时，积液内的 ADA 常随之下降，故可以作为一种观察抗结核药物治疗有效性的指标。AMY 的价值主要在于早期诊断胰源性腹腔积液或食管穿孔导致的腹腔积液，在少数恶性肿瘤中 AMY 也常增高。LZM 和 ALP 都对鉴别良性与恶性积液有一定的价值。临床医生应该根据患者的症状和具体情况选择合适检验项目，从而得出合理正确的结论。

【问题 3】浆膜腔积液细胞计数及分类计数的原理及操作步骤。

细胞计数可采用仪器法或显微镜法。目前应用于临床的浆膜腔积液自动分析仪的原理包括阻抗法、数字成像流式细胞术、流式细胞术、光散射法、染色、荧光、荧光标记核酸等。以 sysmex XN 系列的体液分析模式为例，浆膜腔积液检测项目包括：RBC-BF：红细胞数（体液），WBC-BF：白细胞数（体液），MN%：单个核细胞百分比（体液），MN#：单个核细胞数（体液），PMN%：多形核白细胞百分比（体液），PMN#：多形核细胞数（体液），TC-BF：有核细胞总数（体液），HF-BF%：高荧光强度的有核细胞百分比（体液），HF-BF#：高荧光强度的有核细胞绝对值（体液），EO-BF%：嗜酸性粒细胞百分比（体液），EO-BF#：嗜酸性粒细胞绝对值（体液）。红细胞和白细胞的检测原理同血细胞分析仪：RBC-BF：RBC 通道，鞘液电阻抗法；TC-BF#=WBC-BF+HF-BF#，WBC-BF=MN#+PMN#，MN#、PMN#：WDF 通道，核酸荧光染色流式细胞法。（MN 包括单核细胞和淋巴细胞；PMN 主要指中性粒细胞；HF 主要包括肿瘤细胞和一些组织细胞，因此 HF 可以用来筛查肿瘤细胞），见图 12-4-1。

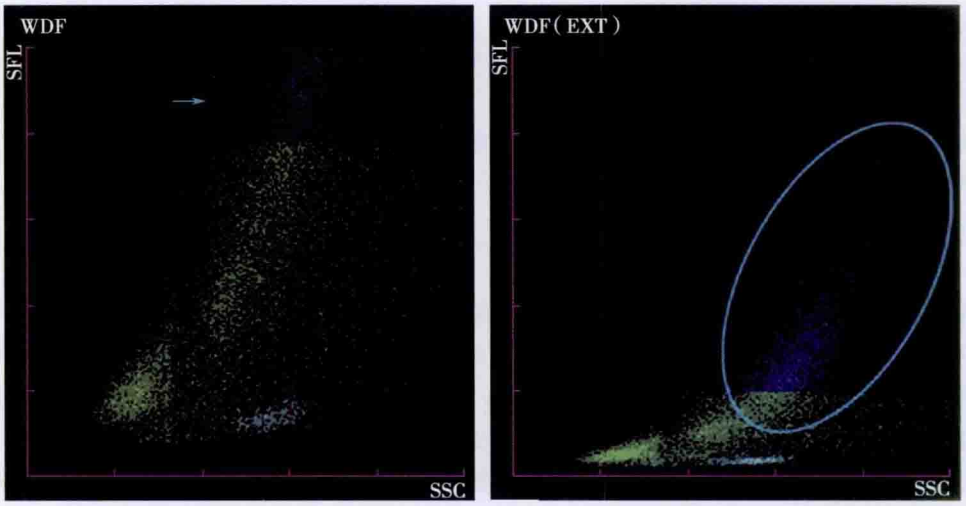


图 12-4-1　浆膜腔积液自动分析仪散点图

WDF 散点图上箭头所指区域及 WDF（EXT）散点图圈中区域为荧光强度较强的区域（HF-BF 区域）

显微镜法多用改良牛鲍氏计数板进行人工细胞计数。直接计数法：清晰或微浊的浆膜腔积液标本，可直接计数细胞总数和有核细胞数 *。稀释计数法：浑浊的浆膜腔积液标本，需用生理盐水或白细胞稀释液稀释后再做细胞总数计数或有核细胞计数，结果乘以稀释倍数。

（* 注：卫生部《全国临床检验操作规程》规范称“白细胞计数”为“有核细胞计数”，包括白细胞、间皮细胞、肿瘤细胞。比“白细胞计数”客观、标准）

学习笔记

(1) 总细胞计数

细胞数量 /μl=(细胞计数 × 稀释倍数)/ [面积 × 池的深度(0.1mm)]

1) 如果预估 9 个大方格(1~9)(图 12-4-2A)细胞数小于 200,那么应计数这 9 个大方格的细胞总数。这一块区域总的面积为 9mm^2。

2) 如果预估有超过 200 个细胞,那么只需计数四角的四个大方格(1、3、7、9)(图 12-4-2A),面积为 4mm^2。

3) 如果预估一个大方格有超过 200 个细胞,那么计数红细胞计数区域,即中央大方格(5)中的五个中方格[图 12-4-2-B 中的(■)],面积为 0.2mm^2。

细胞数量 /μl=(细胞计数 × 稀释倍数)/ [面积 × 池的深度(0.1mm)]

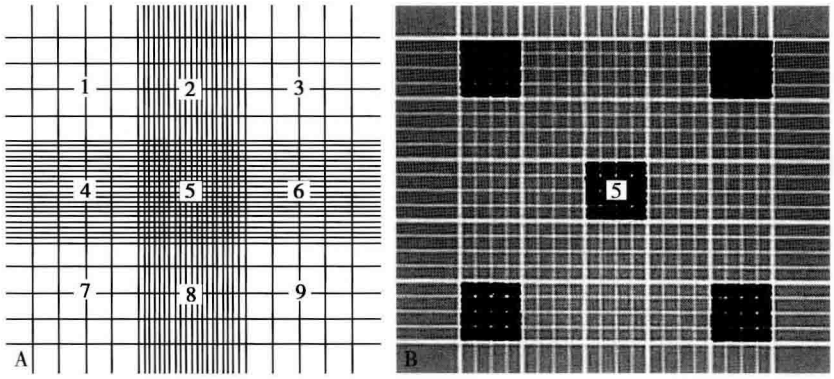


图 12-4-2　总细胞计数

A. 细胞计数区域(1~9);B. 红细胞计数区域(■),即中央大方格(5)中的五个中方格

(2) 有核细胞与红细胞计数

1) 如果样本未经稀释,计数总的九个大方格。

2) 如果是 1 : 10 稀释,计数九个大方格。

3) 如果是 1 : 20 稀释,计数四角的四个中方格。

4) 如果是 1 : 100 稀释,只计数中央大方格。

5) 1 : 200 稀释的情况下,只计数红细胞计数区域。

细胞分类计数:积液离心浓集细胞制片,自然干燥后瑞吉染色镜检。一份标本一般应制 6~8 份涂片,先染色 2~3 份,以扩大视野范围,增加发现恶性细胞及其他有意义细胞的机会。浆膜腔积液中的中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、小淋巴细胞与血液或骨髓中的细胞类似(图 12-4-3~ 图 12-4-5)。反应性淋巴细胞通常出现在浆膜腔积液中,可能有许多不同的形态变异。核圆或稍有凹陷,胞浆丰富。巨噬细胞大,核染色质聚集明显,细胞核圆,常偏于细胞一侧。胞浆丰富,常有空泡。偶成“印戒样细胞”(图 12-4-3~ 图 12-4-5)。间皮细胞圆形或椭圆形,浆多,核居中或偏位,多为一个核,有的可见小而圆的核仁,通常 <2μm(图 12-4-4、图 12-4-6)。

【问题 4】浆膜腔积液常规检查中的蛋白与生化检查中的总蛋白有何不同?

常规检查中的蛋白是采用 Rivalta 试验进行黏蛋白定性检查,而生化检查中的总蛋白采用双缩脲法进行蛋白定量测定。两种蛋白质检测结果均有助于鉴别渗出液和漏出液。本病例中,积液蛋白定性结果为 ++,腹水总蛋白为 36g/L,腹水蛋白总量 / 血清总蛋白 =0.6,考虑该患者的积液为渗出液。

思路 1:黏蛋白定性试验,即 Rivalta 反应,是一种简易的黏蛋白筛检实验。浆膜黏蛋白是间皮细胞受刺激时产生的一种酸性糖蛋白,等电点为 pH 3~5,在稀醋酸中产生白色沉淀。漏出液中浆膜黏蛋白含量很少,呈阴性反应。渗出液中含浆膜黏蛋白较多,呈阳性反应。若标本中球

学习笔记

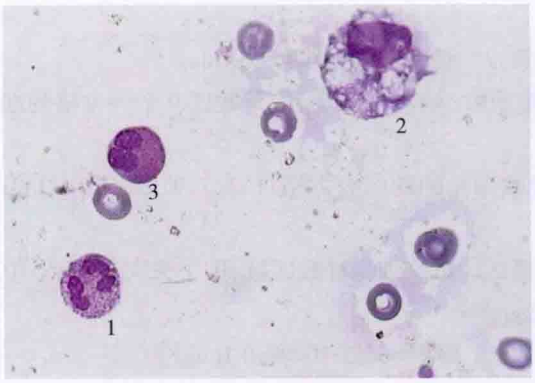


图 12-4-3　中性粒细胞(1)、巨噬细胞(2)、嗜酸性粒细胞(3)
腹腔积液涂片，瑞吉染色，×1000

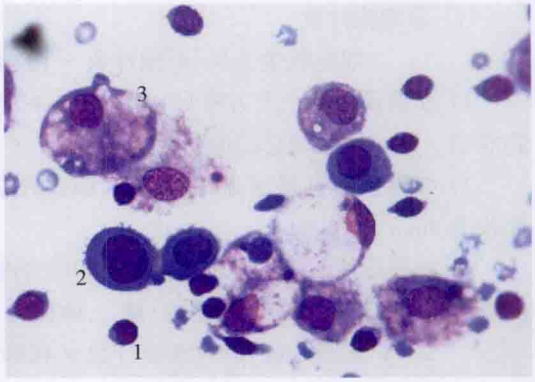


图 12-4-4　淋巴细胞(1)、间皮细胞(2)、巨噬细胞(3)
腹腔积液涂片，瑞吉染色，×1000

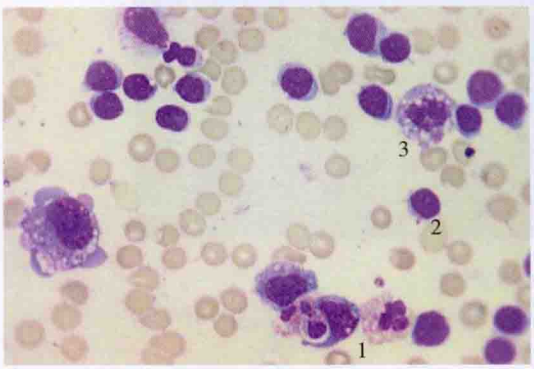


图 12-4-5　中性粒细胞(1)、淋巴细胞(2)、巨噬细胞(3)
胸腔积液涂片，瑞吉染色，×1000

图 12-4-6　间皮细胞
胸腔积液涂片，瑞吉染色，×1000

蛋白含量过高如肝硬化腹水，Rivalta 试验可呈假阳性，可用下述方法进行鉴别：将标本滴入未加冰醋酸的蒸馏水中，可出现白色雾状沉淀（球蛋白不溶于水）。

思路 2：总蛋白定量试验

对浆膜腔积液中总蛋白进行定量检测，采用与血清蛋白定量相同的双缩脲法测定，主要用以鉴别漏出液和渗出液。此外，积液蛋白电泳可对积液的蛋白组分进行分析。渗出液蛋白电泳的结果与血浆相近，漏出液蛋白电泳的结果常提示 α、γ 球蛋白低于血浆，白蛋白相对较高。

【问题 5】如何鉴别良恶性浆膜腔积液？

癌性浆膜腔积液的鉴别对临床上肿瘤的诊断和分型分期起着重要的作用，细胞学检查、积液铁蛋白及积液肿瘤标志物等免疫学指标、积液端粒酶活性检查以及积液染色体检查等方法均可以帮助鉴别。

知识点

良恶性浆膜腔积液的鉴别

分析项目	良性	恶性	分析项目	良性	恶性
外观	血性少见	多为血性	积液 CEA/ 血清 CEA	<1.0	>1.0
总蛋白	多 >40g/L	20~40g/L	积液 ADA/ 血清 ADA	>1.0	<1.0
铁蛋白	<500μg/L	>500μg/L	细胞学检查	仅见炎症细胞	可查见恶性肿瘤细胞
腺苷酸脱氨酶（ADA）	>40U/L	<25U/L			

学习笔记

思路 1：细胞学检查

恶性肿瘤细胞与正常细胞相比，具有超正常的增生能力并具有浸润性和转移性。一般来说，确定癌细胞主要是根据细胞核的改变。浆膜腔积液脱落细胞学检查的报告方法可用四级分类法：阴性、核异质、可疑、恶性。核异质：涂片中发现少量核异质细胞，核异质细胞是介于良性和恶性之间的过渡型细胞，多由炎症变性所致。可疑：涂片中有可疑恶性细胞，其形态基本符合癌细胞标准，但由于数量过少，或形态不典型，不能排除癌前病变的可能性。恶性：涂片中可见典型的恶性细胞。恶性细胞分化异常，形态异形，典型特征为“三大三千”：体积大、核大、核仁大；形态千姿百态、胞浆千变万化、胞核千奇百怪（图 12-4-7、图 12-4-8）。此外间皮细胞在渗出液中可因各种原因而致异形变或退行性变，使形态很不规则，应注意与肿瘤细胞区别。

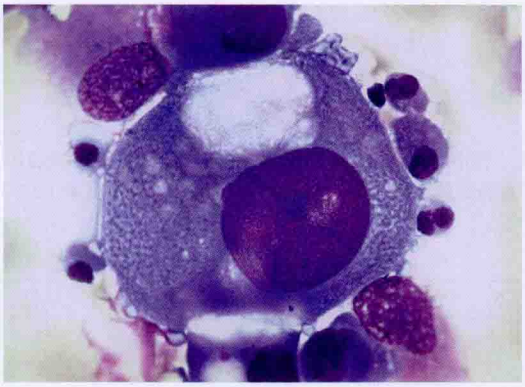


图 12-4-7　恶性细胞
腹腔积液涂片，瑞吉染色，×1000

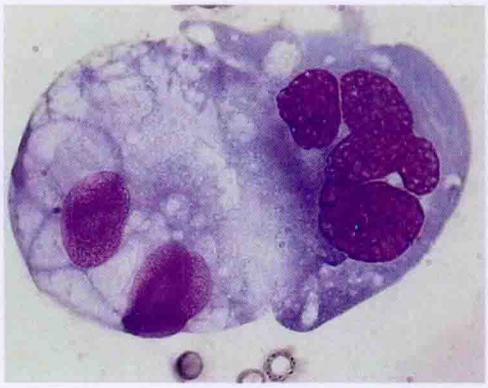


图 12-4-8　恶性细胞
心包积液涂片，瑞吉染色，×1000

思路 2：免疫学检查

CEA 常用于恶性积液的诊断，对于腺癌导致的恶性积液诊断价值最高；AFP 主要用于诊断原发性肝癌；糖链抗原 125（CA125）用于诊断卵巢癌；铁蛋白也可用于鉴别恶性积液。浆膜腔积液的其他免疫学检查主要包括 C- 反应蛋白（CRP）、γ- 干扰素（γ-IFN）、肿瘤坏死因子（TNF）、类风湿因子（RF）和铁蛋白等。IFN 对于诊断结核有一定意义，RF 用于诊断风湿等。免疫学检查项目繁多，但特异性通常不是很高，在诊断过程中只能作为参考，不能仅仅通过这些指标下结论。此外，这些免疫学指标对病情的监测也具有一定参考价值。

【问题 6】如何进行浆膜腔积液检查的质量控制？

浆膜腔积液内所含物质较复杂，易受多种因素的影响。不仅要求实验室人员操作时应严格按照 SOP 文件执行，也需要临床科室与实验室配合，采集合格的标本，保证检测结果的可靠性。

知识点

细胞计数的质量控制

标本应及时送检，防止标本损坏或细胞损坏影响计数，若穿刺引起了血性浆膜腔积液，其有核细胞计数后应进行校正计算，校正公式为：

WBC（校正）=WBC（未校正）-［RBC（浆膜腔积液）×WBC（血液）］/RBC（血液）

思路 1：浆膜腔积液检测前质量控制

由于积液极易出现凝块、细胞变性等，所以留取标本后应及时送检。理学检查和细胞学检查宜采用 EDTA-Na_2 抗凝，化学检查宜采用肝素抗凝。另外，还应留取 1 份，不加任何抗凝剂，用于观察积液的凝固性。

学习笔记

思路 2：浆膜腔积液检验特别是常规检验项目，必须严格遵守操作规程以保证检验结果的准确性。应该统一操作规程，采用规范化的检验方法，统一报告方式。定性试验应做阴性、阳性对照，防止假阴性和假阳性结果，保证结果的准确性和可靠性。定量试验应随常规工作做室内质控，以提高结果的准确性和可比性。

附：浆膜腔积液检验诊断报告

×× 医院检验报告单

浆膜腔积液检验诊断报告

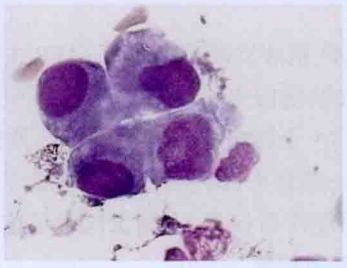
姓名：某某	病历号：××××××	标本种类：腹水	标本编号：××××××
性别：女	年龄：70 岁	临床诊断：腹水待查	申请医生：某某
科室：消化内科	采集时间：××××-11-15-14：45	备注：	

一、病历摘要

患者因排便困难 2 个月，腹胀、呕吐、乏力 1 周入院。腹部膨隆，上腹部压痛，移动性浊音阳性。于当地医院行肠镜检查示：直肠增生性病变伴梗阻，病理结果示：直肠黏膜慢性炎症伴肉芽组织增生。入院后血清 CEA：220ng/L，血清总蛋白：60g/L，血清乳酸脱氢酶：143U/L。

二、浆膜腔积液常规检查

No.	检验项目	结果	参考区间	单位	No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	颜色	黄色			6	中性粒细胞	2		%
2	透明度	微浊			7	淋巴细胞	50		%
3	蛋白	++			8	巨噬细胞	48		%
4	细胞总数	4000		10^6/L	9	细胞学检查	查见恶性细胞		
5	有核细胞数	150		10^6/L					



查见恶性细胞。该类细胞体积 20~30μm，形态呈圆、类圆形。胞质呈灰蓝色，着色不均，有的可见空泡。胞核 15~20μm，形态圆、椭圆或不规则形，核染色质较细致，分布不均；核仁清晰可见。可见恶性细胞聚集成团，呈腺腔样排列，提示腺癌

三、浆膜腔积液生化检查

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	腺苷脱氨酶	10.0		U/L
2	乳酸脱氢酶	198		U/L
3	腹水葡萄糖	5.1		mmol/L
4	总蛋白	36.0		g/L
5	腹水氯化物	104		g/L

四、浆膜腔积液检验诊断意见

1. 患者腹水检查特点　①细胞总数 4000×10^6/L 及有核细胞数 150×10^6/L 升高明显，细胞分类以淋巴细胞及巨噬细胞为主。②腹水蛋白显著增多：定性：++；定量：36.0g/L。③腹水 LD（乳酸脱氢酶）/ 血清 LD=1.38。表明患者腹水为渗出液。

细胞学检查发现腺癌细胞，提示为癌性腹水。

2. 检验诊断及建议　初步诊断直肠癌伴腹膜转移，建议行 X 线钡剂灌肠、CT 及病理活检，进一步明确诊断。

检验者：　　审核者：

×××× 年 11 月 15 日

（邓安梅）

学习笔记

第五节　脑脊液检验

本节着重从脑脊液检验在临床诊断中的应用、检验技术要点和质量控制等方面进行阐释。分析了脑脊液理学检验要点，包括颜色、透明度和凝固性等及其临床意义；介绍了脑脊液细胞计数的手工法和仪器法检查技术、校正方法；列举了脑脊液红细胞、淋巴细胞与新型隐球菌的鉴别要点；阐述了脑脊液生化检查的临床意义；提出了脑脊液检验前、中、后的质量控制策略和要点。

病历摘要：

患儿男，1岁。因反复发热伴呕吐3天就诊。患儿于3天前无明显诱因出现发热，体温达39℃，伴咳嗽，为黄痰，曾呕吐数次，非喷射性，无惊厥，有哭闹。查体：T 38.4℃，P 140次/分，R 22次/分，BP 80/65mmHg，神志清，精神差，易激惹，前囟张力稍高，颈强直(+)，心肺及腹部无异常，Kernig征(+)，Brudzinski征(−)。急诊血常规：白细胞总数29.6×10^9/L，中性粒细胞77.92%，淋巴细胞18.08%，单核细胞4.0%，红细胞3.89×10^{12}/L，血红蛋白122g/L，Plt 150×10^9/L。为进一步明确诊断，主诊医生为患儿进行了腰椎穿刺，收集脑脊液送实验室检查。

××医院脑脊液检验报告

姓名：某某　　病历号：××××××　　标本种类：脑脊液　　标本编号：××××××
性别：男　　年龄：1岁　　临床诊断：化脓性脑膜炎？　　申请医生：某某
科室：儿科　　采集时间：××××-11-15-9:07　　收到时间：××××-11-15-9:17　　备注：

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	颜色	血性	无色	
2	透明度	混浊	透明	
3	蛋白(潘氏试验)	阳性	阴性	
4	细胞总数	5760	<8	10^6/L
5	白细胞数	360	<8	10^6/L
6	中性粒细胞	86		%
7	淋巴细胞	8		%
8	巨噬细胞	6		%
9	标本备注：离心脑脊液后观察其上层液体，颜色为浅灰白色，考虑为穿刺损伤出血混入脑脊液。白细胞矫正值为：319×10^6/L			

接收者：某某　　接收时间：××××-11-15-9:20　　审核者：某某　　审核时间：××××-11-15-9:40
检验者：某某　　检验时间：××××-11-15-9:30　　检测实验室：　　××医院检验科体液室

【问题1】结合患儿症状体征，初步考虑最可能的诊断是什么？

初步考虑为化脓性脑膜炎。为尽快明确患儿诊断，建议进行脑脊液相关检查。

思路1：定位诊断：根据患儿神志清，精神差，易激惹，前囟张力稍高，颈强直(+)、Kernig征(+)，Brudzinski征(−)，定位于脑膜；定性诊断：根据患儿急性起病，有发热伴咳嗽等前驱感染症状，结合血常规检查，提示感染，定性为感染性。结合WBC计数和中性粒细胞比例显著增高，初步考虑为化脓性脑膜炎。

思路2：化脓性脑膜炎外周血及脑脊液呈现以中性粒细胞为主的白细胞极度增多的特征。脑脊液压力增高，浑浊或呈脓性。脑脊液蛋白质含量显著增高，糖与氯化物含量明显降低。约50%病例可在脑脊液中找到致病菌。脑脊液pH降低，乳酸、乳酸脱氢酶、溶菌酶的含量以及免疫球蛋白IgG和IgM明显增高。

【问题2】为什么该患儿脑脊液为血性而离心后上层液体为浅灰白色？

化脓性脑膜炎常为白色或灰白色。此例化脓性脑膜炎患儿脑脊液为血性即红色而非典型

学习笔记

的白色，且收集在三个试管中的脑脊液颜色依次由深变浅，考虑为患儿不太配合，穿刺过程不顺利引起出血所致。

知识点

蛛网膜下腔或脑室出血与穿刺损伤出血所致的红色脑脊液的鉴别要点

1. 损伤性出血多由于腰穿不顺利，损伤了局部血管所致；腰穿顺利，无损伤时为脑出血或蛛网膜下腔出血。

2. 将脑脊液依次收集在三个试管中，如果红色由深变浅即为损伤性出血；如果三管呈均匀红色，则为脑出血或蛛网膜下腔出血。

3. 大量损伤性出血时，抽出的血性液体可自行凝固；而脑出血和蛛网膜下腔出血无凝血现象。

4. 经离心或静置后，损伤性出血脑脊液的上层液体无色，且隐血试验阴性；若是黄色，且隐血试验阳性提示为脑出血或蛛网膜下腔出血。

5. 穿刺损伤引起出血时，显微镜下红细胞新鲜而完整；若红细胞皱缩、边缘不整或破碎，提示陈旧性出血。

思路 1：脑脊液颜色的改变，有助于对疾病的初步判断

正常脑脊液为无色透明液体。红色脑脊液：见于蛛网膜下腔或脑室出血或穿刺损伤所致的出血。白色或灰白色：常见于化脓性脑膜炎，多由于白细胞大量增加所致。黄色：常见于陈旧性蛛网膜下腔或脑室出血、椎管梗阻、化脓性脑膜炎、结核性脑膜炎、重症黄疸。陈旧性蛛网膜下腔出血时，由于红细胞在脑脊液中缺乏蛋白质和脂类对红细胞膜稳定性的保护，出血 48 小时即可溶血，使脑脊液呈黄色，出血停止后，黄色可持续 3 周左右。由髓外肿瘤、吉兰 - 巴雷综合征等引起的椎管梗阻性疾病，脑脊液蛋白含量显著增高，当蛋白质含量高于 1.5g/L 时，脑脊液颜色变黄，且黄色程度与脑脊液中的蛋白质含量呈正比。褐色或黑色：见于脑膜黑色素瘤产生的黑色素所致。绿色：见于铜绿假单胞菌感染所致。当颜色改变不明显时，可在黑色背景下参照蒸馏水颜色仔细观察。

思路 2：除颜色外，脑脊液理学检查还包括透明度和凝固性等。

正常脑脊液清晰透明。病毒性脑炎、神经梅毒等疾病的脑脊液也可呈透明外观。脑脊液中白细胞超过 300×10^6/L、蛋白质含量增加或含有大量细菌、真菌等可使其混浊。结核性脑膜炎常呈毛玻璃样微浊，而化脓性脑膜炎常呈明显混浊。

收集脑脊液于试管内，静置 12~24 小时，正常脑脊液不形成薄膜、凝块和沉淀物。若脑脊液内蛋白质包括纤维蛋白质含量大于 10g/L 或细胞及细菌非常多时即可出现凝块或沉淀物。化脓性脑膜炎的脑脊液一般在 1~2 小时内形成薄膜或凝块，结核性脑膜炎的脑脊液一般在 12~24 小时于表面形成纤维网膜，取此膜涂片检查结核杆菌，阳性率较高。蛛网膜下隙梗死时，脑脊液呈黄色胶冻状。

【问题 3】穿刺损伤出血混入脑脊液，影响脑脊液细胞计数时如何矫正？

正常脑脊液中无红细胞。因穿刺损伤血管，引起血性脑脊液时，白细胞计数结果须进行矫正，以消除因出血混入的白细胞。该患者脑脊液细胞总数：5760×10^6/L，白细胞数：360×10^6/L。该患者存在感染，按照血常规红、白细胞比例，计算伴随出血混入脑脊液的白细胞数约为 41×10^6/L，白细胞矫正数为：319×10^6/L。尽管该患者矫正后的结果并不影响原先的诊断，但当脑脊液中白细胞数量正常或轻度增高时，混入的白细胞会造成临床对患者病情的误判。因此，临床医生在采集脑脊液时和检验人员对脑脊液标本进行检测时应该对损伤性出血作出判断，并注明矫正前后结果。

学习笔记

知识点

脑脊液白细胞数校正办法

估计值：按红细胞与白细胞数之比为 700∶1 的关系估计外周血混入脑脊液的白细胞数。即：白细胞校正数 = 脑脊液白细胞数 – 脑脊液红细胞数 /700。

当患者存在感染、血液系统疾病等导致外周血红、白细胞数目明显增高或降低时，推荐通过计算外周血红白细胞比例，计算出从血液中混入脑脊液的白细胞数。

思路 1：在计数过程中还要注意红细胞、淋巴细胞与新型隐球菌的鉴别。新型隐球菌具有出芽现象，不溶于乙酸，滴加 0.35mol/L 的乙酸后，显微镜下仍保持原形（图 12-5-1A），而红细胞会被乙酸溶解消失，淋巴细胞的胞核和胞质则更加明显。滴加印度墨汁一滴，加盖玻片，高倍镜下见新型隐球菌有荚膜，不着色（图 12-5-1B），而红细胞或淋巴细胞无此现象。红细胞的皱缩或肿胀等异常现象需如实报告，以协助鉴别陈旧性出血或新鲜出血。脑脊液涂片中发现虫卵、幼虫等对寄生虫病的诊断具有重要意义。

图 12-5-1　新生隐球菌

A. 脑脊液，未染色，光学显微镜，×400；B. 脑脊液，墨汁染色，光学显微镜，×400

思路 2：脑脊液有形成分检查

（1）手工法：①细胞总数及白细胞计数：将脑脊液充分混匀后滴入牛鲍计数板中计数细胞总数及白细胞数；②细胞分类：显微镜下直接分类单个核细胞和分叶核细胞比例。当细胞较多时，可用生理盐水或红细胞稀释液稀释后人工计数、分类。直接分类法简单、快速，但准确性差，尤其是在细胞变形、形态异常（脑膜白血病或肿瘤）（图 12-5-2）或存在嗜酸性粒细胞等时，容易漏诊。因此对于矫正后白细胞增高的脑脊液，推荐涂片染色分类法。

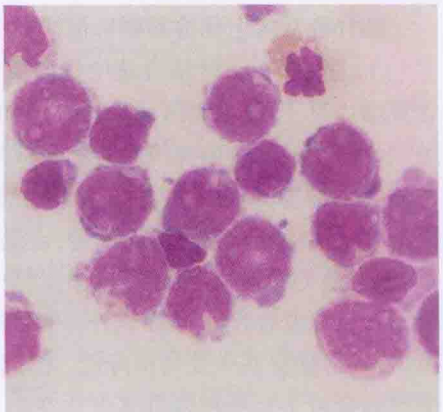


图 12-5-2　脑膜白血病（急性淋巴细胞性白血病）脑脊液　瑞吉染色 ×1000

（2）仪器法：脑脊液检测分析也从传统的手工法逐渐向全自动仪器检测发展，目前新型全自动模块式血液体液分析装置搭载了检测体液的 BF 模式。脑积液检测项目包括：RBC-BF：红细胞数（体液）；WBC-BF：白细胞数（体液）；MN%：单个核细胞百分比（体液）；MN#：单个核细胞数（体液）；PMN%：多形核白细胞百分比（体液）；PMN#：多形核细胞数（体液）；TC-BF：有核细胞总数（体液）；HF-BF%：高荧光强度的有核细胞百分比（体液）；HF-BF#：高荧光强度的有核细胞绝对值（体液）；

学习笔记

EO-BF%：嗜酸性粒细胞百分比（体液）；EO-BF#：嗜酸性粒细胞绝对值（体液）（MN 包括单核细胞和淋巴细胞；PMN 主要指中性粒细胞；HF 主要包括肿瘤细胞和一些组织细胞，因此 HF 可以用来筛查肿瘤细胞）。其中 RBC 通道检测原理：是采用鞘流直流阻抗技术计数红细胞，将稀释后的血样从喷头的前端喷出，被鞘液包着的血细胞从小孔中央，沿着一定的轨道通过。因为血细胞一个一个地通过小孔中央，所以可正确地反映血细胞的容积信息。另外，通过独创的数字波形处理技术的革新，可以灵敏地捕捉细胞的信号。在 BF 模式，可计数全血模式的约 3 倍的细胞数。

WDF 通道检测原理是使用了半导体激光的流式细胞术，用波长 633nm 激光照射细胞，得到前向散射光（FSC）、侧向散射光（SSC）、侧向荧光（SFL）等数据进行分析，将细胞进行计数和分类。其中两种散射光（FSC、SSC）主要反映细胞大小、表面构造、粒子形状、核形态、折射率和反射率等。正常情况下，细胞越大，FSC 的信号就越强，细胞内部构造越复杂，SSC 的信号也越强。而侧向荧光主要反映核酸和细胞器的种类和多少。基于这 3 种信号，采用特殊表面活性剂使红细胞溶血、溶解，同时透过白细胞的细胞膜。之后，用荧光染料进入细胞内，对核酸及其他细胞器染色。血细胞以外的细胞（间皮细胞和上皮由来的肿瘤细胞等异常细胞）也同样被染色。通过独特的演算方法解析各细胞所具有的散射光和荧光的差异，计数白细胞数，将白细胞分类为单个核细胞、多形核白细胞，以及异常细胞的检出。

WDF 通道计数脑脊液中的白细胞数，并将白细胞分类为单个核细胞（MN）、多形核细胞（PMN），可得到如图 12-5-3 所示的 WDF 散点图。通过对 WDF 散点图的分析，实现对脑脊液中有核细胞的计数和分类。

例如本病例患者的脑脊液检测分析，由于患者为化脓性脑膜炎，WDF 分类有核细胞主要集中在 PMN 区，多核计数百分比为 86.1%，单个核 13.9%，对比手工技术分类结果，具有快速、方便、精确等优势。

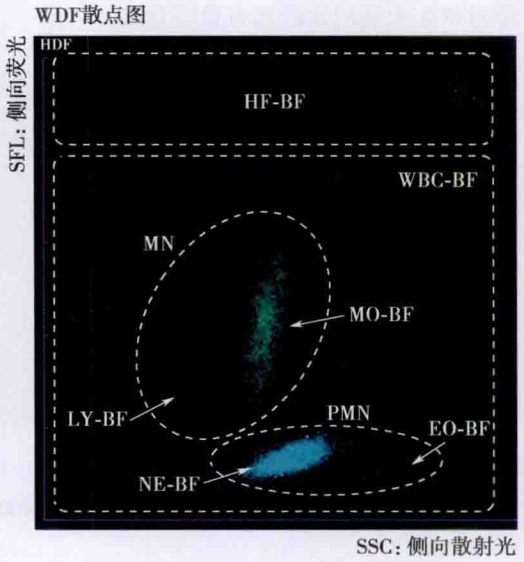


图 12-5-3　WDF 散点图

MN=LY-BF+MO-BF，PMN=NE-BF+EO-BF，WBC-BF#=MN#+PMN#，TC-BF#=WBC-BF#+HF-BF#

【问题 4】脑脊液生化检查对脑膜炎诊断有何意义？

脑脊液常规生化检测项目包括蛋白质、葡萄糖和氯化物水平。

（1）蛋白质：正常脑脊液中蛋白质含量不到血浆蛋白的 1%，主要为清蛋白。脑脊液蛋白质含量增加见于：①血脑屏障通透性增加，如脑（膜）炎、出血和中毒；②脑脊液循环障碍，如脑脊髓肿瘤、粘连等；③鞘内免疫球蛋白合成增加，如神经性梅毒和多发性硬化症。血性脑脊液可使蛋白质含量增加，应注意鉴别。化脓性脑膜炎时脑脊液蛋白定性试验多为强阳性，定量常在 1g/L 以上。定性检测常通过潘氏试验，定量常用磺基水杨酸 - 硫酸钠比浊法。

（2）葡萄糖：脑脊液葡萄糖含量是中枢神经系统细菌性、真菌性感染的重要指标。脑脊液葡萄糖含量除受血糖水平影响外，还反映细胞对葡萄糖的消耗情况，当中枢神经系统受细菌或真菌感染时，脑脊液中葡萄糖降低，尤以化脓性脑膜炎早期降低最为明显。结核性、隐球菌性脑膜炎的脑脊液中葡萄糖降低多发生在中、晚期，且葡萄糖含量越低预后越差。病毒性脑炎时脑脊液中葡萄糖多为正常。目前多用己糖激酶定量测定法。

（3）氯化物：正常脑脊液氯化物比血浆高，当脑脊液中蛋白质增多时，为维持脑脊液渗透压

平衡，氯化物减少，如化脓性脑膜炎，尤其以结核性脑膜炎时下降最为明显。而病毒性脑炎无显著变化。目前多采用电极分析法对脑脊液氯化物水平进行检测。

【问题5】脑脊液实验室检查对临床疾病诊断的应用价值有哪些？

正常脑脊液外观无色透明，无红细胞，有核细胞数少，主要是单个核细胞。脑脊液检查可用于：①诊断与鉴别诊断中枢神经系统感染性疾病；②诊断与鉴别诊断脑血管病变，脑脊液检查有助于鉴别脑出血或腰穿损伤性出血与缺血性脑病；③辅助诊断脑肿瘤，原发肿瘤阳性率较低，脑转移性肿瘤和脑膜癌阳性率较高。脑脊液中找到白血病细胞是白血病脑膜转移的重要证据；④诊断脑寄生虫病等，脑脊液白细胞或嗜酸性粒细胞增多，并在脑脊液离心沉淀物中镜检发现血吸虫卵、阿米巴原虫、弓形体、旋毛虫的幼虫等，可为脑寄生虫病提供诊断依据；⑤脑脊液其他特定检查项目：蛋白电泳，免疫球蛋白分析，色氨酸试验，乳酸脱氢酶、溶菌酶、谷氨酰胺及髓鞘碱性蛋白检测，梅毒螺旋体试验，细菌和真菌抗原检测，结核杆菌和病毒的PCR检测等。对待不同疾病时可灵活选择相关检查项目协助诊断。

【问题6】如何控制脑脊液检查的质量？

检验前：脑脊液标本的收集脑脊液由临床医师通过腰椎穿刺采集，将脑脊液分别收集于3个无菌容器中，第一管做病原生物学检查，第二管做生化分析和免疫学检查，第三管做常规检查。如疑为恶性肿瘤，再采集1管进行脱落细胞学检查。

知识点

化脓性脑膜炎脑脊液常规检查标本采集

脑脊液分别收集于3个无菌容器中，第一管做病原生物学检查，第二管做生化分析和免疫学检查，第三管做常规检查。

采集标本需立即送检，标本放置过久可因细胞变性破坏导致细胞数降低；脑脊液标本中的葡萄糖分解，使葡萄糖的检测结果偏低；细菌自溶或死亡，影响细菌的检出率。因此，脑脊液标本采集后需立即送检，常规检查应在4小时内完成。

检验中：脑脊液检测中很多项目涉及人工操作，应该提高操作人员水平，设置相应的操作规程，并定时进行人员间比对。涉及仪器检测的则应保证仪器性能及整个检测系统的稳定并定期校准，同时做好质控。

检验后：需及时与临床沟通，特别是涉及危急值的应当及时报告临床，脑脊液病原学检查时还要注意分级报告制度。最后要妥善保存标本以备复查。

附：脑脊液检验诊断报告

××医院检验报告单

脑脊液检验诊断报告

姓名：某某	病历号：××××××	标本种类：脑脊液	标本编号：××××××
性别：男	年龄：1岁	临床诊断：化脓性脑膜炎？	申请医生：某某
科室：儿科	采集时间：××××-11-15-9：07	收到时间：××××-11-15-9：17	备注：

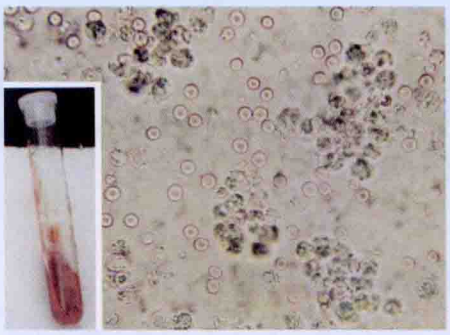
一、病史摘要：

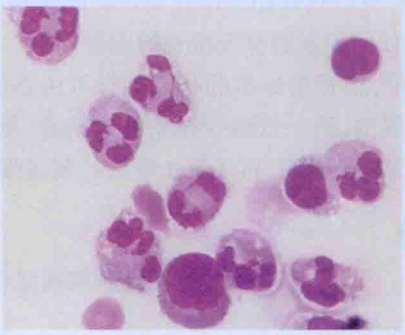
患儿男，1岁。因反复发热伴呕吐3天就诊。患儿于3天前无明显诱因出现发热，体温达39℃，伴咳嗽，为黄痰，曾呕吐数次，非喷射性。查体：T 38.4℃，P 140次/分，R 22次/分，BP 80/65mmHg，神志清，精神差，前囟张力稍高，颈强直(+)，心肺及腹部无异常，Kernig征(+)，Brudzinski征(−)。急诊血常规：白细胞总数29.6×10^9/L，中性粒细胞77.92%。

学习笔记

二、脑脊液常规检查

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	颜色	血性	无色	
2	透明度	混浊	透明	
3	蛋白(潘氏试验)	阳性	阴性	
4	细胞总数	5760	<8	10^6/L
5	白细胞数	360	<8	10^6/L
6	中性粒细胞	86		%
7	淋巴细胞	8		%
8	巨噬细胞	6		%
9	标本备注:离心脑脊液后观察其上层液体,颜色为浅灰白色,考虑为穿刺损伤出血混入脑脊液。白细胞矫正值为:319×10^6/L			





三、脑脊液生化检查

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	葡萄糖	2.3	2.5~4.5	mmol/L
2	蛋白(化学定量法)	1.3	0.15~0.45	g/L
3	氯化物	110	120~132	mmol/L

四、脑脊液检验诊断意见

1. 患者脑脊液检查特点　①脑脊液细胞总数及白细胞数显著增高,细胞分类以中性粒细胞为主(86%);②脑脊液离心后上层液体为浅灰白色,考虑为穿刺损伤出血混入脑脊液;③脑脊液蛋白显著增多,脑脊液葡萄糖及氯化物降低。

2. 检验诊断及建议　结合患者症状、体征及脑脊液实验室检测结果初步诊断为化脓性脑膜炎。建议进行脑脊液细菌培养,进一步明确诊断。

检验者:某某　　审核者:某某

××××年11月15日

(邓安梅)

学习笔记

第十三章 临床化学检验

临床化学检验是由生物化学、分析化学、临床医学等学科交叉渗透逐渐形成的一门独立学科。其主要任务是利用物理学、化学、生物学、遗传学、病理学、免疫学、生物化学和分子生物学的理论与技术，探讨疾病的发病机制，研究其病理过程中出现的特异性化学标志物或体内特定成分的改变，为临床对疾病的诊断、治疗、预防提供实验室依据。

第一节 肾功能试验

肾脏（kidney）不仅是机体内重要的排泄器官，而且是重要的内分泌器官，在维持机体内环境稳定方面起着极为重要的作用。肾脏疾病是临床常见病、多发病，各种肾脏疾病均可造成机体的物质代谢紊乱，以及体液生物化学的改变。因此，肾功能试验在指导肾脏疾病诊断和治疗方面有着重要的价值。本节以急性肾小球肾炎为例，介绍肾功能相关临床化学检验技术和方法。

病历摘要：

患儿，男，9岁。1个月前受凉后出现咽痛、发热，12天前出现颜面、眼睑水肿，10天前出现尿少，尿色深，酱油色。实验室检查：尿红细胞20~30/HP，白细胞3~5/HP，蛋白+++，潜血+++；尿变形红细胞90%；ESR 36mm/h；BUN 12.73mmol/L；ASO 3030IU/ml；补体C3 0.20g/L；UA 441.5μmol/L，尿 β_2-微球蛋白、微量白蛋白、NAG、IgG、RBP均升高；24小时尿蛋白定量：0.877g/24h。检验报告如下：

×× 医院检验报告单

姓名：某某	病历号：××××××	临床诊断：急性肾小球肾炎	标本种类：尿液
性别：男	科别：肾内科	申请医师：某某	标本标号：××××××
年龄：9岁	病房：肾内科	备注：无	采集时间：××××-01-29-08：30

NO	检验项目	结果	参考区间	单位
1	正常红细胞比例	10		%
2	异常红细胞比例	90	<80	%
3	β_2-微球蛋白（β_2-MG）	417.81	<300.0	μg/L
4	视黄醇结合蛋白（RBP）	507.8	<300.0	μg/L
5	N-乙酰-β-氨基葡萄糖苷酶（NAG）	19.20	<18.50	U/L
6	免疫球蛋白G（IgG）	27.08	<4.80	mg/L
7	微量白蛋白	16.30	<15.20	mg/L
8	24小时尿蛋白定量	877	≤150	mg/24h

接收者：某某	接收时间：××××-01-29-08：40	审核者：某某	审核时间：××××-01-29-09：15
检验者：某某	检验时间：××××-01-29-08：45	检测实验室：	×××× 医院检验科生化室

【问题1】根据上述实验室检查结果分析并结合患者的临床表现，该患者初步考虑最可能的诊断是什么？

基于上述实验室检验结果和患者临床表现，该患者最可能的诊断是急性肾小球肾炎。

思路1：急性肾小球肾炎的临床实验室检查常见的表现为：尿液常规检查可见红细胞、白细胞、尿蛋白和尿潜血阳性；肾功能检测指标，血肌酐、血清尿素氮、血清尿酸、血清胱抑素C等升

学习笔记

高，肾小球滤过率下降；肾损伤标志物，如尿蛋白、尿微量白蛋白、尿转铁蛋白、β_2-微球蛋白等升高；链球菌感染的实验室指标，如抗链O抗体滴度升高；补体C3降低；另外，一些炎症指标如CRP、血沉等可见升高。本例患儿的实验室检查结果符合急性肾小球肾炎的临床实验室检查特征性变化，所以不能排除急性肾小球肾炎的诊断。

思路2：本例患儿的临床表现符合经典的急性肾小球肾炎的临床表现：上呼吸道感染史、颜面水肿，少尿，肉眼血尿。结合实验室检查，应首先考虑急性肾小球肾炎的诊断。

【问题2】上述检验报告单中，肾损伤标志物检验的常用技术和方法有哪些？影响检验结果的影响因素有哪些？

肾损伤标志物检验主要为尿蛋白和尿酶检验，对其检验常用的技术和方法包括：干化学试带法、湿化学法、免疫浊度法、免疫化学发光法等。

思路1：尿蛋白的常用检测方法为干化学试带法和湿化学法

(1) 干化学试带法：①反应原理为蛋白误差法：某种特定的pH指示剂阴离子受蛋白质阳离子吸引，进一步电离，使指示剂的变色点发生改变，这种方法称为蛋白误差法。尿试纸中含有四溴酚蓝(TBPH)指示剂和pH为3的缓冲体系，TBPH的变色点在pH 3~4之间，它在尿中解离成阴离子，与蛋白质阳离子结合后呈黄色。蛋白尿主要反映肾小球(管)损害及肾小球滤过率的增加；②影响因素：试带法对尿中白蛋白敏感，对其他蛋白，如球蛋白、肌红蛋白、血红蛋白、本周蛋白和黏蛋白不敏感，通常检测结果为阴性。强碱性尿液可导致假阳性结果。试带法仅适用于正常人及肾病筛查，不适用于肾病患者疗效观察、预后判断及病情轻重的估计。

(2) 湿化学法-双缩脲速率法：①反应原理：在碱性介质中，蛋白质样品中的肽键与铜离子结合，生成有色的碱性铜蛋白螯合物。在波长545nm处监测光吸收率变化值，螯合物形成速率与样品中的总蛋白浓度呈正比；②性能参数：线性范围：10~120g/L；灵敏度：10g/L；精确度：批内CV≤2.0%，批间CV≤3.0%；准确度：靶值±10%。

学习笔记

知识点

24小时尿蛋白定量尿液标本收集方法

首先弃去计时点(如早晨7时)尿液，将7时以后的尿留置在容器内，一直留到次日晨7时尿为止(包括末次尿液)。留尿期间不宜剧烈运动，第一次留尿后应加入防腐剂并混匀，记录24小时尿总量后，将尿液混匀，留取50~100ml尿样本送检。

思路2：微量白蛋白尿是指在尿中出现微量白蛋白，可反映肾脏异常渗漏。常用的检测方法为透射比浊法和散射比浊法。

(1) 透射比浊法的原理：尿液中的白蛋白与抗人白蛋白特异抗体在缓冲液中反应生成抗原-抗体复合物，产生浊度，与尿中微量白蛋白的浓度呈正比例，用透射比浊法测定吸光度，与相同处理的标准品制备的标准曲线比较，求得尿液中蛋白的浓度。

(2) 散射比浊法的原理：尿液中的白蛋白与抗人白蛋白特异抗体在缓冲液中反应生成抗原-抗体复合物，产生浊度，根据待验样品在凝固过程中散射光的变化确定检测终点。

(3) 影响因素：剧烈运动后尿中白蛋白排量可增加，故标本采集应在清晨、安静状态为宜。

知识点

24小时尿微量白蛋白/24小时尿肌酐比值意义

随机尿受尿量变化影响较大，随着饮水量的增加，尿蛋白的浓度降低，而每日的肌酐排泄量相对恒定，所以通过计算尿微量白蛋白/肌酐比值，可以排除因尿量变化而造成的影响。

思路 3：β_2- 微球蛋白（β_2-microglobulin，β_2-MG）的检测

（1）检测原理：待测抗原、荧光素标记抗原竞争性结合抗 β_2- 微球蛋白单克隆抗体。当反应平衡后，形成抗原抗体复合物。加入包被另一株抗 β_2- 微球蛋白单抗的磁性微粒，捕获此抗原抗体复合物，在磁场作用下此磁性微粒自行沉淀。加入触发剂（如 H_2O_2 等），即迅速发出稳定的光量子，光量子产出量与待测血清中的 β_2- 微球蛋白量呈反比。

（2）注意事项：①由于肾小管重吸收 β_2-MG 阈值为 5mg/L，因此在测定尿 β_2-MG 的同时应该测定血 β_2-MG，只有当血中 β_2-MG<5mg/L 时，尿 β_2-MG 升高才有意义；②β_2-MG 在酸性尿液中不稳定，极易分解，多数患者尿液呈弱酸性，尿液中的细菌也可使其降解，因此尿液收集后应及时测定。

思路 4：N- 乙酰 -β- 氨基葡萄糖苷酶（N-acetyl-β-glucosaminidase，NAG）的检测方法有速率法和对硝基酚比色法

（1）速率法：①检测原理：在样品中的 NAG 催化下，底物 2- 氯 -4- 硝基苯 N- 乙酰 -β-D- 氨基葡萄糖苷（CNP-NAG），水解释放出有色化合物基团（氯硝基酚，CNP），CNP 在 405nm 波长处具有吸收峰。在 405nm 波长处监测吸光度增加速率（ΔA/min），计算 NAG 活性；②方法学评价：NAG 最适 pH 在 5.0 附近，CNP 在 pH7.0 以上时，离子化可达 97%，在 pH 5.0 时，离子化只有 25% 左右。由于其离子化程度受 pH 影响较大，建议各实验室能在具体实验条件下，实测摩尔吸光度，计算分析仪的 K 值，提高测定结果的准确性。

（2）对硝基酚比色法：①检测原理：底物 - 硝基苯 N- 乙酰 -β-D- 氨基葡萄糖苷，在 NAG 作用下水解，释放出游离的对硝基酚（PNP），加入碱性溶液，使游离对硝基酚呈黄色，终止酶促反应。在波长 401nm 进行比色测定，计算酶活性；②方法学评价：尿酶活性以肌酐比值“NAG（U/g Cr）”计算酶排出率，这样既不因尿浓缩或稀释的影响而变动，又可不需留 24 小时尿。

思路 5：视黄醇结合蛋白（retinal-binding protein，RBP）的检测

（1）检测原理：采用免疫透射比浊法测定，即采用抗原（RBP）和特异性抗体相结合，形成不溶性免疫复合物，使反应液产生混浊，其浊度高低反映尿液样品中 RBP 的浓度，可由校准品所做的剂量 - 相应曲线算出。

（2）方法学评价：RBP 具有较高的特异性，灵敏度高于肌酐，其灵敏度、特异性与 β_2-MG 相近，但 RBP 不易受 pH、温度的影响，具有很好的稳定性。

思路 6：尿免疫球蛋白检测

采用免疫透射比浊法测定，即采用抗原（IgG）和特异性抗体相结合，形成不溶性免疫复合物，使反应液产生混浊，其浊度高低反映尿液样品中 IgG 的浓度，可由校准品所做的剂量 - 相应曲线算出。

【问题 3】肾小球滤过功能检查的常用项目和技术方法有哪些？

肾小球滤过功能（或滤过液生成能力）检测方法主要有肾小球滤过率、血液中小分子代谢终产物（如血肌酐、血尿素等）和血液中小分子蛋白（如血胱抑素 C 等）等检测。其中，肾小球滤过率尚不能直接测定，临床常应用肾清除试验原理，通过检测肌酐清除率的方法间接反映 GFR，或以血肌酐为基础估算 GFR。

思路 1：血清尿素（blood urea，BUREA）测定最常用的方法为酶偶联速率法

（1）酶偶联速率法：①检测原理：酶反应速率法。在此反应中，脲被脲酶水解为氨和二氧化碳。谷氨酸脱氢酶（GLDH）催化氨和 α- 酮戊二酸缩合反应，生成谷氨酸，同时将还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（NADH）生成氧化型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（NAD），监测 340nm 处光吸收变化；②实验影响因素：A. 采用酶偶联速率法应注意：在测定过程中，各种器材和蒸馏水应无氨离子污染，否则结果偏高。B. 采用酶偶联速率法检测尿素，如遇到血氨升高时，可使尿素测定结果偏高，溶血标本对测定有干扰。

学习笔记

(2) 患者实验前准备:采血前应该避免高蛋白饮食。

知识点

尿素氮测定注意事项

尿素是机体蛋白质的代谢终末产物,受蛋白质摄入量影响较大,测定前应根据要求严格控制摄食。尿素只有在 GFR 下降至 50% 正常值以下时才有明显升高,与 GFR 的相关性不如 Ccr,只能作为初筛指标。溶血标本可使尿素氮检测值升高,因此标本采集和处理过程中尽量避免溶血。另外,肝素可使测定结果偏高,所以如使用血浆样本应避免使用肝素抗凝。

思路 2:血清肌酐(creatinine,Cr)常用检测方法有苦味酸法和肌氨酸氧化酶法

(1) 苦味酸比色法:血清中的肌酐(Cr),在 37℃、碱性条件下,可与苦味酸生成红色化合物,在 520nm 处吸光度与肌酐浓度呈正比。

(2) 肌氨酸氧化酶法:样品中的肌酐在肌酐酶的催化下水解生成肌酸。在肌酸酶的催化下肌酸水解生成肌氨酸和尿素,肌氨酸在肌氨酸氧化酶的作用下氧化成甘氨酸、甲醛和过氧化氢,后者通过 Trinder 反应,比色检测。

(3) 实验评价:①血肌酐作为肾功能筛查的一个基本指标,其测定简单,取材方便,但是血 Cr 浓度除受可控制的外源性肌酐的影响之外,还受到机体肌肉含量、年龄等不可控生理因素的影响。内源性肌酐来源于肌肉,因此,老年人、肌肉消瘦者血肌酐可能偏低,一旦血 Cr 轻微上升,就应该警惕肾功能减退的可能,应该进一步做内生肌酐清除率来进一步诊断;②肾小球滤过功能有强大的储备功能,部分肾小球受损时,剩余的肾小球能够有效代偿,仍可有效地清除肌酐,此时血肌酐的浓度并无明显的变化。只有当肾小球滤过率降低至正常的 30% 以下时,血肌酐浓度才有明显的改变。血肌酐浓度与肾小球滤过率并不具有很好的相关性,血肌酐浓度升高提示肾小球的滤过功能受损。因此,虽然此指标检测方便,但特异性和敏感性均不高,应与其他肾功能检查联合使用。

知识点

苦味酸法检测条件的优化

干扰苦味酸法的非肌酐色原性物质有两类:一类为快速反应假肌酐物质,在样品与碱性苦味酸混合后迅速出现反应并在 20 秒内完成,生成非肌酐的有色化合物。测定时设置 20 秒延迟期,可以排除此类干扰。另一类为慢速反应假肌酐物质,一般在样品和碱性苦味酸混合后 80~100 秒才开始反应。在 20~80 秒,出现“窗口期”。在窗口期内以肌酐与苦味酸的呈色反应占主导地位。有研究发现,“窗口期”的上限为 60 秒。为了提高苦味酸法测定的特异性,速率测定时间选择在 25~60 秒。有学者对苦味酸法进行严格评价后发现,此“窗口期”速率法仍受 α- 酮酸的正干扰和胆红素的负干扰。

思路 3:内生肌酐清除率测定(endogenous creatinine clearance,Ccr)

肌酐是肌酸的代谢产物,在成人体内约为 100g,其中 98% 存在于肌肉,每天约更新 2%,人体血液中的肌酐有内、外源性两种,如在严格控制饮食条件和肌肉活动相对稳定的情况下,血浆肌酐的生成量和尿排出量较恒定,其含量的变化主要受内源性肌酐的影响,且肌酐大部分从肾小球滤过,不被肾小管重吸收,排泌量很少。单位时间内,机体清除血液中内生肌酐的体积(ml)数,称为内生肌酐清除率(Ccr)。

(1) 检测原理:通过测定血液和尿液中肌酐的含量来计算 24 小时或每分钟血液中肌酐被肾

学习笔记

脏清除量(清除值)。

(2) 生物参考区间:健康成年人肌酐清除值

男　(105±20) ml/min

女　(95±20) ml/min

1) 内生肌酐清除率低于参考值的 80% 以下者,则表示肾小球滤过功能减退。

2) 内生肌酐清除率低至 50~70ml/min,为肾功能轻微损害。

3) 内生肌酐清除率 31~50ml/min,为肾功能中度损害。

4) 内生肌酐清除率 30ml/min 以下,为肾功能重度损害。

5) 内生肌酐清除率低至 11~20ml/min,为早期肾功能不全。

6) 内生肌酐清除率低至 6~10ml/min,为晚期肾功能不全。

7) 内生肌酐清除率低于 5ml/min,为肾功能不全终末期。

(3) 实验评价:Ccr 比 Cr 和 BUN 能更好地反映肾小球滤过功能。测定前患者应严格控制饮食。该试验检测方便,无副作用,临床较为常用。

思路 4:血清尿酸(uric acid,UA)测定方法有磷钨酸(PTA)法、尿酸酶法和 HPLC 法等

(1) 尿酸酶 - 过氧化物酶偶联法:①检测原理:尿酸在尿酸酶催化下,氧化生成尿囊素和过氧化氢。后者与 4- 氨基安替比林(4-AAP)和 3,5 二氯 -2- 羟苯磺酸(DHBS)在过氧化物酶的催化下,生成有色物质(醌亚胺化合物),其颜色深浅与样品中尿酸浓度呈正比;②注意事项:酶法测定尿酸的特异性高;高浓度维生素 C 可使测定结果偏低。

(2) 磷钨酸还原法:①检测原理:去蛋白血滤液中的尿酸,在碱性溶液中被磷钨酸氧化成尿囊素及二氧化碳;磷钨酸则被还原成钨蓝。钨蓝生成量与反应液中尿酸含量呈正比;②注意事项:磷钨酸还原法测定尿酸时,因草酸钾与磷钨酸容易形成不溶性的磷钨酸钾,造成显色液混浊。因此,不能用草酸钾作抗凝剂。

【问题 4】除了上述检验项目之外,与急性肾小球肾炎相关的检验项目还有哪些?

思路 1:胱抑素 C(cystatin C,Cys-C)测定

胱抑素 C 是一种小分子蛋白质(13kD),是半胱氨酸蛋白酶的一种抑制剂,由机体细胞产生,产生率恒定。循环血液中胱抑素 C 主要经肾小球过滤而被清除,是反映肾小球滤过率变化的理想内源性标志物。作为肾小球滤过率 GFR 的标志物,Cys-C 的敏感性和特异性均优于血清肌酐。

(1) 检测原理:血清中胱抑素 C 与超敏化的抗体胶乳颗粒反应,产生凝集,使反应溶液浊度增加。其浊度的增加值与血清中胱抑素 C 的浓度呈正比,通过监测 570nm 波长处吸光度变化,计算胱抑素 C 的浓度。

(2) 方法学评价:本法线性范围可达 8mg/L;当样品浓度在 0.53~2.02mg/L 时,批内 CV 为 1.19%~1.41%,批间 CV 为 1.38%~2.10%;干扰血红蛋白 <460mg/dl,抗坏血酸 <2.8mmol/L,三酯酰甘油 <10mmol/L,胆红素 <311μmol/L,类风湿因子(RF)<240U/ml 时,对测定不产生干扰。

知识点

Cyc C 与肾小球滤过率的关系

当肾功能受损时,Cys C 在血液中的浓度随肾小球滤过率变化而变化。肾衰时,肾小球滤过率下降,Cys C 在血液中浓度可增加 10 余倍;若肾小球滤过率正常,而肾小管功能失常时,Cys C 在肾小管重吸收异常,使尿中浓度增加 100 多倍。

思路 2:α_1- 微球蛋白(α_1-microglobulin,α_1-MG)

(1) 检测原理:应用双抗体夹心法测定标本中人 α_1- 微球蛋白(α_1-MG)水平。用纯化的人

学习笔记

α_1- 微球蛋白(α_1-MG)抗体包被微孔板，制成固相抗体，往包被单抗的微孔中依次加入 α_1- 微球蛋白(α_1-MG)，再与 HRP 标记的 α_1- 微球蛋白(α_1-MG)抗体结合，形成抗体 - 抗原 - 酶标抗体复合物，经洗涤后加底物 TMB 显色。颜色深浅和样品中的 α_1- 微球蛋白(α_1-MG)呈正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度(OD 值)，通过标准曲线计算样品中人 α_1- 微球蛋白(α_1-MG)浓度。

(2) 实验影响因素

1) α_1-MG 与 β_2-MG 相比测定影响因素少，不受恶性肿瘤及尿液酸碱度的影响，酸性尿中不会分解而出现假阴性结果，是比较灵敏、特异的指标。

2) 运动和发热可以使尿液中的 α_1-MG 升高。

思路 3：尿转铁蛋白(transferrin uria，TRU)

(1) 检测方法：免疫散射比浊法，利用抗人转铁蛋白血清与待检测的转铁蛋白结合形成抗原抗体复合物，其光吸收和散射浊度增加，与标准曲线比较，可计算出转铁蛋白含量。

(2) 方法学评价：虽然 TRU 比微量白蛋白诊断早期肾损伤更加敏感，但也有其不足之处，主要是尿中含量比白蛋白更低，在 pH≤4 时易降解，使检测难度增大，精密度不如尿白蛋白测定。

(王培昌)

第二节　肝功能试验

本节以一例肝硬化病例为切入点，系统介绍相关肝功能实验的检测方法、原理及结果影响因素等，重点对方法学进行评价，同时对质量控制及部分肝功能实验结果方法间的可比性做概括性说明。本节介绍的肝功能试验包括血清总蛋白、清蛋白、免疫球蛋白、丙氨酸氨基转移酶、门冬氨酸氨基转移酶、碱性磷酸酶、γ- 谷氨酰转肽酶、胆碱酯酶、腺苷脱氨酶、胆红素、胆汁酸、血氨等。

学习笔记

病历摘要：

患者男，55 岁，务工人员。因食欲减退、乏力、腹胀、腹泻半个月在门诊就诊。生化检查结果：ALT 155IU/L；AST 195IU/L；TBIL 38.5μmol/L；DBIL 11.5μmol/L。查体：面色偏黑，体温 38℃，体重减轻，轻度黄疸，肝(脾)大，可见蜘蛛痣，叩诊提示腹腔有积液，未见明显的皮肤及黏膜出血。

×× 医院检验报告单

姓名：某某	病历号：×××	临床诊断：肝硬化?	标本种类：血清
性别：男	科别：消化科	申请医师：某某	标本标号：××××××
年龄：55 岁	病房：消化科	备注：无	采集时间：××××-01-29-08：30

NO	检验项目	结果	参考区间	单位
1	丙氨酸氨基转移酶(ALT)	155↑	5~40	U/L
2	门冬氨酸氨基转移酶(AST)	195↑	13~40	U/L
3	总胆红素(TBIL)	38.5↑	3.4~17.1	μmmol/L
4	直接胆红素(DBIL)	11.5↑	0~3.4	μmmol/L
5	总蛋白(TP)	55↓	60~78	g/L
6	白蛋白(ALB)	29↓	34~48	g/L
7	碱性磷酸酶(ALP)	210↑	40~150	U/L
8	γ- 谷氨酰基转移酶(γ-GT)	93↑	3~17	U/L

接收者：某某	接收时间：××××-01-29-08：40	审核者：某某	审核时间：××××-01-29-09：45
检验者：某某	检验时间：××××-01-29-09：20	检测实验室：	×× 医院检验科生化室

【问题 1】根据以上检验结果并结合患者临床表现，该患者初步诊断最可能是什么？

基于上述检验结果并结合患者临床表现，该患者最可能的诊断是肝硬化。

思路 1：肝硬化患者实验室检查多表现为白蛋白降低，丙氨酸氨基转移酶升高，胆红素升高等，结合临床查体（肝脾肿大、腹腔积液等）和临床表现（蜘蛛痣），初步怀疑肝脏疾病，倾向于肝硬化，但不排除肝炎、脂肪肝等诊断。

思路 2：肝硬化的临床表现根据疾病的进展和分期有所不同

代偿期：由于肝脏具有强大的代偿能力，故在肝硬化的代偿期，患者的临床表现并不明显，常被忽视。失代偿期：食欲减退（为最常见的症状）；乏力（早期症状之一）；腹胀（为常见症状）；腹痛（常为肝区隐痛）；腹泻（较普遍）；体重减轻（较为多见）；出血倾向（多见于重度患者）；内分泌系统失调（男性可有性功能减退，男性乳房发育；女性常见有闭经，不孕等）；常呈慢性病容，面色黝黑；常见蜘蛛痣，肝掌；可有胸腔、腹腔积液，下肢水肿则常见于晚期患者；肝脏在早、中期肿大，晚期反而坚硬缩小，可伴有脾肿大。需要注意的是，肝硬化可在长期无症状活动后，只经历一次急性、短促的发作，随之便出现中晚期临床表现。基于该患者的临床表现和肝功能实验室检查结果，应首先考虑中晚期肝硬化的诊断。

知识点

肝功能试验

肝脏具有独特的形态结构、丰富的血液供应和重要的生理、生化及免疫功能。肝细胞构成肝脏的大部分结构，在肝脏的代谢功能中具有重要作用。当肝脏发生病变时，肝脏的各种功能均可能随之发生相应的变化。通过对肝脏物质代谢功能、生物转化和解毒功能以及分泌与排泄功能等的实验室检查，有助于帮助了解患者是否有肝脏病变、肝脏病变的严重程度以及肝脏的功能状态。临床上常将有助于评估肝脏功能状态和肝脏损伤程度的试验称为肝功能试验。这些试验在临床检验中的涉及较为广泛：如蛋白质、胆红素代谢、胆汁酸代谢、酶学检查、肝纤维化标志物检查以及肝脏摄取与排泄功能检查等。这些检查的合理利用和组合对肝脏以及肝脏相关疾病的预防性检查、诊断、治疗、疗效监测和预后判断有着重要的作用（表 13-2-1）。

表 13-2-1　常用的肝功能试验

检测内容 / 对应的肝脏功能	实验室检查项目举例
蛋白质的合成	白蛋白、清蛋白、纤维蛋白原、凝血酶原
脂类：脂蛋白与胆固醇合成、脂肪酸代谢	胆固醇、载脂蛋白
排泄：胆汁酸与胆红素	胆汁酸、胆红素
解毒：药物，有毒物质	血药浓度
铁、维生素的贮存	血清铁、转铁蛋白、铁蛋白、维生素
蛋白质的摄取 / 清除功能	免疫球蛋白、凝血 / 纤溶酶
肝细胞损伤	转氨酶、γ- 谷氨酰基转移酶、碱性磷酸酶、胆碱酯酶、单胺氧化酶
糖原贮存与合成 糖原分解与糖异生	葡萄糖及相关检查（详见第四节）

【问题 2】上述检验报告单中，与肝功能检查相关的检验项目常用技术方法如何？影响检验结果的因素有哪些？

思路：掌握疾病相关实验室检查项目的原理、方法和可能对检查结果造成影响的因素等对

学习笔记

正确解读检验报告单和减少误诊有重要意义。

(1) 血清总蛋白(total protein,TP)

1) 常用检测方法:TP 测定应用较多的有双缩脲法、染料结合法、凯氏定氮法等。双缩脲法是根据在碱性环境下肽键与铜离子结合生成蓝紫色化合物,其在 540nm 处的吸光度与肽键的数量呈正比,可以此反映蛋白的含量,该方法性能较为稳定,是目前临床中较为常用的方法。染料结合法是根据蛋白质与考马斯亮蓝等染液相互作用后的显色反应对蛋白进行定量。凯氏定氮法原理是根据蛋白质分子中的含氮量恒定为 16%,经对样本中氮的测定后计算其中蛋白的含量。正常人混合血清经凯氏定氮法准确定值后可作为常规血清总蛋白测定的标准液。

目前双缩脲法 TP 检测主要有单试剂和双试剂两类,单试剂相对简便、价格低廉但对黄疸和脂浊等比较敏感。国际临床化学协会建议对于使用单试剂的实验室使用手工测定双缩脲试剂空白来减少黄疸和脂浊的干扰。相对而言,双试剂法更好地减少黄疸和脂浊等带来的干扰,具有更好的应用前景。

2) 实验影响因素:标本溶血时,血红蛋白中的珠蛋白与双缩脲试剂起反应,其中的血红素在碱性条件下形成的碱化血红素也产生高吸光度,共同干扰 TP 测定结果,故溶血对总蛋白测定的干扰尤为明显,采血和分离血清时应尽量避免溶血。

(2) 清蛋白(albumin,ALB)

1) 常用检测方法:目前检测 ALB 应用较多的是染料结合法,主要包括溴甲酚绿和溴甲酚紫法。有研究表明溴甲酚绿法检测结果较溴甲酚紫法略低,但两者具有较好的相关性。

2) 实验影响因素:①溶血、脂浊和黄疸可导致 ALB 检测结果偏低,故采血和分离血清时应尽量避免溶血;②枸橼酸盐、草酸盐和氟化物可导致检测结果偏低,而肝素可导致检测结果偏高,故在检测抗凝血时需注意。

(3) 血清免疫球蛋白(immune globulin,Ig)

1) 常用检测方法:免疫球蛋白检测方法主要包括比浊法、电泳法、ELISA 法、荧光法等。对于肝脏疾病检测而言,可利用电泳法检测标本中发生改变的 Ig 的种类,如是否存在单克隆 Ig 等;比浊法、ELISA 法主要用于检测标本中 Ig 的含量,由于比浊法具有测定结果相对可靠、可上机操作等优势,目前应用较多。比浊法检测 Ig 可分为透射比浊和散射比浊两大类,透射比浊操作简便,适用于普通的自动生化分析仪和普通的分光光度计,几乎所有的实验室均能开展。不足的是灵敏度和精密度均不够理想,且检测耗时较长。散射比浊的优点是灵敏度、精密度均较高,检测快速;其缺点是需特定的分析仪器,试剂价格高。由于散射比浊采用的是专用的散射比浊仪,无论是速率散射比浊还是定时散射比浊,仪器均设置了抗原过量检测后的自动稀释功能,确保检测的准确性。

2) 实验影响因素:需要注意的是,无论是散射比浊还是透射比浊均采用的是抗原抗体反应的原理,因而两者均可能存在抗原量过大引起的钩状效应。

(4) 丙氨酸氨基转移酶(alanine transaminase,ALT)

1) 常用检测方法:目前 ALT 检测方法主要是速率法,包括单试剂速率法和双试剂速率法。双试剂速率法可有效地消除干扰反应,提高准确性,是 ALT 检测的首选方法。但使用双试剂的实验室需注意鉴别真假双试剂,真双试剂在试剂 2 中仅含 α-酮戊二酸,假双试剂在试剂 2 中含有 α-酮戊二酸和 NADH,而在配套的试剂 1 中却不含 NADH,使用这类双试剂时,在孵育期中因为没有 NADH 的参与,不能消除游离 α-酮酸的干扰,故这类所谓的双试剂其检测性能较单试剂并无提高。

ALT 测定使用的缓冲液主要有 Tris 缓冲液和磷酸盐缓冲液,Tris 缓冲液的成本更高。有研究认为 NADH 在 Tris 缓冲液中的稳定性更好,且磷酸吡哆醛在 Tris 缓冲液中显示出更好的激活

学习笔记

作用，而磷酸缓冲液能延缓磷酸吡哆醛与脱辅基酶蛋白的结合作用，故使用以 Tris 为缓冲液的试剂更为理想。

2）生物参考区间：5~40U/L。

3）实验影响因素：ALT 受分析前因素影响较多：①草酸盐和氟化物能使检测结果偏低，而肝素可导致检测结果偏高，这在检测抗凝血标本时需注意；②间接胆红素可使结果偏低；③由于红细胞内 ALT 浓度为血清的 3~5 倍，故溶血可导致 ALT 假性升高；④脂浊也可导致 ALT 检测结果偏高；⑤ALT 检测也受体内其他物质的影响，如乙醇、松油二醇、可待因、海洛因、苦味酸、色氨酸等可导致检测结果偏高。

（5）门冬氨酸氨基转移酶（aspartate transaminase）

1）常用检测方法：目前 AST 检测方法主要是速率法，包括单试剂速率法和双试剂速率法。双试剂速率法可有效地消除干扰反应，提高测定准确性，是 AST 检测的首选方法。磷酸吡哆醛是 AST 的辅基，只有结合此辅基的全酶才能完成转氨基作用。目前一些 AST 检测试剂盒中不含磷酸吡哆醛，而 IFCC 推荐的方法中含有磷酸吡哆醛。人血清中存在磷酸吡哆醛，但其会因某些疾病（如肝硬化）而发生不同程度的缺乏，故最好选用底物中含有磷酸吡哆醛的试剂盒。同时，选择 AST 检测试剂盒也应关注真假双试剂以及缓冲液选择的问题。

2）生物参考区间：男性：13~40U/L；女性：10~28U/L。

3）实验影响因素：AST 受分析前因素影响较多：①草酸盐和氟化物能使检测结果偏低，而肝素可导致检测结果偏高；②间接胆红素可使结果偏低；③AST 检测也受体内其他物质和生活习惯的影响，如吸烟、不含麸质的饮食、胰岛素生长因子 -Ⅰ可使检测结果偏低；④乙酰乙酸盐、脂质去除剂（如 Liposol 等）、丙酮酸、乙醇、粒细胞 - 单核细胞集落刺激因子、海洛因等可导致检测结果偏高，应予以注意。

（6）碱性磷酸酶（alkaline phosphatase，ALP）

1）常用检测方法：ALP 活性测定主要有速率法和终点比色法两种，目前其检测方法学发展的主要方向是选择更容易水解的底物和使用磷酸酰基受体缓冲液并采用以自身指示底物（色原性底物）结合连续监测（速率法）等手段来提高检测的速度和灵敏度。

由于 ALP 能水解多种天然存在或合成的有机磷酸酯，故已建立的检测体系较多，但 ALP 在体内究竟水解何种底物尚不明确，究竟哪种检测体系更能反映体内的实际情况并不清楚。目前常用于 ALP 测定的缓冲液主要有 3 种：①惰性型，如碳酸盐缓冲液和巴比妥缓冲液；②抑制型，如甘氨酸缓冲液；③激活型，如 2- 氨基 -2- 甲基 -1- 丙醇、Tris、二乙醇胺等。激活型缓冲液的缓冲物质可作为酶的底物来参与磷酸酰基的转移反应，因此能促进每次反应的进程。使用最适浓度的激活型缓冲液测得的 ALP 活性可为抑制型和惰性型测定结果的 2~7 倍。因此，使用不同缓冲液的检测系统其参考区间不同。

ALP 变化与年龄密切相关，新生儿 ALP 略高于成年人，以后逐渐增高，在 1~5 岁有一次高峰，可达成年人上限 2.5~5 倍，以后下降。第二高峰在 10~15 岁之间，可达成人上限 4~5 倍。20 岁后降至成年人值，到老年期又轻度升高，可能与生理性的激素变化有关，实验室最好依照年龄分别制订参考区间。

2）生物参考区间：女性：1~12 岁：<500U/L；15 岁以上：40~150U/L。

男性：1~12 岁：<500U/L；12~15 岁：<750U/L；25 岁以上：40~150U/L。

3）实验影响因素：①一些物质可影响 ALP 的活性，如白蛋白、胆汁酸、枸橼酸盐、氯化物、半胱氨酸、海洛因、胱氨酸、EDTA、甘氨酸和血红蛋白等可使检测结果降低；②生活习惯如不含麸质的饮食、减肥等可导致检测结果偏高；③一些药物和治疗手段如粒细胞 - 单核细胞集落刺激因子、胰岛素样生长因子 -Ⅰ、普罗比妥钠及血液透析等可导致结果升高。

（7）γ- 谷氨酰转肽酶（gamma-glutamyl transferase，γ-GT）

学习笔记

1）常用检测方法：目前常用的方法为 L-γ- 谷氨酰 -3- 对硝基苯胺速率法和重氮比色法两种。目前市售的多数试剂盒采用了 L-γ- 谷氨酰 -3- 羧基 - 对硝基苯胺为底物，其溶解度较高，可更好地满足 γ-GT 测定的需要。一些 γ-GT 的检测试剂盒使用 L-γ- 谷氨酰 - 对硝基苯胺为底物，由于 L-γ- 谷氨酰 - 对硝基苯胺的溶解度限制，很难达到酶底物饱和浓度，不能显示酶反应的最大活性，应予以注意。用含羧基的底物（如 L-γ- 谷氨酰 -3- 羧基 - 对硝基苯胺）试剂所测得 γ-GT 的参考区间高于使用不含羧基底物的试剂，其原因是含羧基底物的溶解度更大，能配制较高浓度的底物溶液。

2）生物参考区间：男性：3~17U/L；女性：2~13U/L。

3）实验影响因素：γ-GT 测定中使用的 405nm 波长正好处于对硝基苯胺吸光曲线上，波长稍有变化就会引起测定吸光度的误差，故分光光度计波长的准确性在本实验中尤为关键。

知识点

L-γ- 谷氨酰 -3- 羧基 - 对硝基苯胺由于分子中有羧基，因此它的溶解度比 L-γ- 谷氨酰 - 对硝基苯胺大得多，其更容易配置成较高浓度的底物溶液。同时，L-γ- 谷氨酰 -3- 羧基 - 对硝基苯胺没有明显的自然水解，利于储存，已在临床检验中推广应用。经研究，在下列范围内的测定条件能得到较理想的 γ-GT 测定结果：pH7.8~8.5、双甘肽 100~250mmol/L、L-γ- 谷氨酰 -3- 羧基 - 对硝基苯胺 6.6~10.2mmol/L、Tris 缓冲液 100mmol/L。

（8）胆碱酯酶（cholinesterase，CHE）

1）常用检测方法：目前测定胆碱酯酶活性的方法大多采用酰基（如丙酰基、丁酰基等）硫代胆碱的碘盐作为底物，在酶水解反应中生成硫代胆碱，后者用色原性二硫化合物试剂如 DTNB（Ellman）或 4，4'- 二硫双吡啶显色，进行比色法或速率法检测，其中速率法应用较多。胆碱酯酶根据对底物特异性的差别可分为二大类：一类为乙酰胆碱乙酰基水解酶，即乙酰胆碱酯酶或真胆碱酯酶；另一类为酰基胆碱酰基水解酶，通常称为拟胆碱酯酶。两类胆碱酯酶均可催化酰基胆碱水解，但对各种底物的特异性及亲和力有差异。真胆碱酯酶对乙酰胆碱的亲和力较大，对丁酰胆碱的亲和力较小，拟胆碱酯酶则相反，目前常用的底物为酰基硫代胆碱。应注意的是血清经稀释后拟胆碱酯酶的活性降低较快，稀释后应尽快检测。

2）生物参考区间：130~310U/L。

3）实验影响因素：①一些物质会影响 CHE 的检测，如枸橼酸盐、EDTA、氟化物和草酸钾会使检测结果偏低，在对抗凝血检测时应予以注意；②低热量膳食、运动、饥饿等生理因素也会使检测结果降低；③肥胖和一些遗传因素可使检测结果偏高；④CHE 的性别差异较明显，最好根据性别分别建立参考区间。

（9）腺苷脱氨酶（adenosine deaminase，ADA）

1）常用检测方法：ADA 的检测方法主要有速率法和比色法两种，目前应用较多的是速率法。速率法的原理是催化腺嘌呤核苷酸水解脱氨，产生次黄嘌呤核苷和氨。在谷氨酸脱氢酶的催化下，氨与 α- 酮戊二酸及 NADH 反应生成谷氨酸及 NAD^+。氨的生成和 NADH 的消耗呈等摩尔关系，即与 ADA 的活性呈正比。在 340nm 处监测 NADH 吸光度的下降速率来计算 ADA 活性。

2）生物参考区间：<30U/L。

3）实验影响因素：①由于红细胞中存在较高浓度的 ADA，故溶血可导致 ADA 测定结果假性升高；②ADA 的生理变异主要见于妊娠：妊娠前三个月时 ADA 的水平即可有显著升高。

（10）胆红素（bilirubin）

1）常用检测方法：胆红素的检测方法主要有重氮法、钒酸氧化法和胆红素氧化酶法三种。

学习笔记

血清中胆红素与重氮试剂接触时，能够直接而迅速反应的胆红素称为直接胆红素，需要加速剂才能使之迅速反应的为间接胆红素，加速剂在其中的作用是增加胆红素的溶解度，提高其反应性能。胆红素最初的检测方法即根据上述原理建立：血清与重氮试剂反应所生成的红色偶氮胆红素为直接胆红素，在同样的条件下，有加速剂存在时，血清与重氮试剂反应所生成的红色重氮胆红素为总胆红素。最后加入碱性酒石酸溶液时红色偶氮胆红素转变成蓝绿色偶氮胆红素进行比色测定。该方法现在仍有较多应用，但由于溶血、脂血等对重氮法胆红素测定的影响较大；同时，以叠氮钠作为防腐剂时能破坏偶氮试剂，使重氮反应不完全，甚至不成色。故重氮法已开始被其他方法所取代。

钒酸盐法弥补了重氮法的不足：当 TG<6mmol/L，Hb<4g/L 时对钒酸盐无干扰，这明显优于重氮法。钒酸氧化法的原理是在 pH=3、有表面活性剂的条件下，样本中的总胆红素被矾酸钠氧化为胆绿素，胆红素的黄色特异性吸光度下降，通过测定钒酸盐氧化前后吸光度的变化，计算样本中胆红素的含量。该方法与重氮法具有较好的相关性，线性范围和特异性也较理想，加之具有更强的抗干扰能力，故应用前景较好。

胆红素氧化酶法利用不同的抑制剂和 pH 调节手段抑制胆红素氧化酶对游离胆红素的氧化，从而选择性地测定结合胆红素的浓度。其反应速度快、操作简便，国内已有相应的试剂盒供应。但从特异性和稳定性等方面来看，该方法仍不及重氮法和钒酸氧化法，临床应用较少。

2）生物参考区间：TBIL：3.4~17.1μmmol/L；DBIL：0~3.4μmmol/L。

3）实验影响因素：①标本溶血和脂浊能显著降低胆红素的测定值，使用重氮法时应尤其注意；②高强度的运动可导致胆红素水平显著升高，光照能降低体内胆红素水平；③常用的抗凝剂对胆红素检测无显著影响。

（11）胆汁酸（bile acids）

1）常用检测方法：胆汁酸测定主要有层析法、免疫法和酶法等。酶法中又可分为荧光酶法、酶比色法和循环酶法等。循环酶法具有灵敏度高、特异性好、反应迅速等特点，目前应用较多。循环酶法的原理是利用胆汁酸与硫代 NAD 和 NADH 在一定时间内，3α-羟基类固醇脱氢酶催化的循环反应所生成的硫代 NADH 与样本中胆汁酸浓度呈正比而计算样本中胆汁酸的浓度。

2）生物参考区间：空腹 TBA：0.14~9.66μmmol/L；餐后 TBA：2.4~14.0μmmol/L。

3）实验影响因素：有研究表明血浆胆汁酸测定水平低于血清，使用血浆作为胆汁酸检测标本时应建立相应的参考区间。进食后血中胆汁酸浓度显著增加，应避免餐后检测胆汁酸。

【问题 3】除上述检验项目外，与肝硬化相关的检验项目还有哪些？

思路：除进行必要的诊断性检查用于疾病的诊断和分期外，为防止患者出现一系列并发症如肝性脑病，可进行血氨的检测。

（1）血氨（NH_3）常用检测方法：包括扩散法、离子交换法、氨离子选择电极法和酶法四类。目前较常用的方法是谷氨酸脱氢酶的酶学方法。血氨的 POCT 检测具有方便快捷等特点，且其准确性和特异性能满足临床的一般要求，目前应用也较多。

（2）生物参考区间：0~100μg/dl。

（3）实验影响因素：标本采集是血氨检测的关键环节。①吸烟对血氨检测有较大影响，应在采血前一天戒烟；②可使用草酸钾、EDTA 或肝素钠抗凝管，但不能使用以肝素作为抗凝剂的采血管；③氟化物作为抗凝剂时会导致结果偏高；④标本采集后应立即置于冰浴中尽快送检，以防结果升高，一般认为，即使将标本保存于 0℃，也应在采血后 15 分钟内检测。

【问题 4】上述肝功能的检测数据可靠吗？如何看待其他实验室的肝功能检测结果？

思路：临床实验室进行相应项目的检测时，是否进行了应有的质量控制？是否具有与其他

学习笔记

实验室检测结果的可比性？

知识点

实验室使用的仪器、试剂、校准品和质控品等均应得到国家食品药品监督管理局的批准。在开展一个检测项目前要对该项目的准确度、精密度、线性范围、携带污染等一系列指标进行性能验证，在使用中严格按照标准操作程序操作，同时进行定期保养和性能验证，开展实验室内质量控制，并参加全国和省级的实验室间质量评价。临床实验室的检测质量和其所能提供检测服务内容的丰富程度已成为反映医院管理水平和临床服务质量的重要指标之一。同时，我国目前已有多家实验室通过了ISO15189认可或CAP认可，这些与国际标准一致的、严格的认可和认证程序和国家相关规定能保证患者不管在哪一家受控实验室，其检测结果均可靠、有效。

肝功能检查项目实验室间可比性需注意的几个问题：对于ALT、AST、ALP等常用的酶类项目，目前我国已建立起完善的实验室间质量评价体系，且相应的仪器、试剂和检测方法均较成熟，实验室间的可比性相对较好。有些项目如胆红素检测的方法学较多，不同实验室所选的方法可能并不一致，虽然各实验室也分别严格执行室内质量控制并通过实验室间评价，但这种情况下，实验室间的检测结果的可比性较ALT等项目稍差。对于免疫球蛋白类的检测项目，由于各个检测系统针对的抗原位点等的差异，不同检测系统推荐的生物参考区间大都不同。故对于使用相同检测系统的实验室，其实验室间结果的可比性较好，但在使用不同检测系统的实验室，其实验室间结果可比性较差。对于一些新近发展的项目，如Ⅳ型胶原、层黏蛋白、透明质酸等，其检测方法多样，无经广泛认可的质控品和校准品，也无官方开展的实验室间质量评价，故其结果往往仅能由该实验室的检验医师或所在医院的临床医生解释，不具实验室间可比性。

（王培昌）

第三节　胰腺功能试验

血、尿淀粉酶和脂肪酶是胰腺功能评价及急性胰腺炎诊断的重要依据。本节介绍了淀粉酶、脂肪酶、胰蛋白酶原-2常用检测方法、原理、实验影响因素等，重点对淀粉酶、脂肪酶检测方法学进行评价。同时，对上述三种试验的临床应用作了概括性说明。

病历摘要：

患者男，46岁。因饮酒后腹痛向腰背部放射，伴呕吐24小时在急诊就诊。查体：T 38.0℃，上腹部偏左压痛、反跳痛、肌紧张，Murphy征阴性，移动性浊音阴性。辅助检查结果如下：

××医院检验报告单

姓名：某某	病历号：××××××	临床诊断：急性胰腺炎	标本种类：血清
性别：男	科别：急诊科	申请医师：某某	标本标号：××××××
年龄：49	急诊×病区	备注：空腹采血	采集时间：××××-01-29-08：30

No	检验项目	检验结果	参考区间	单位
1	淀粉酶（AMY）	1856	0-220	IU/L
2	脂肪酶（LPS）	452	5.6-51.3	U/L

接收者：某某	接收时间：××××-01-29-08：40	审核者：某某	审核时间：××××-01-29-09：15
检验者：某某	检验时间：××××-01-29-08：45	检测实验室：	×××× 医院检验科生化室

学习笔记

【问题1】根据以上检查结果并结合患者临床表现，该患者初步诊断最可能是什么？

基于上述检验结果并结合患者临床表现，该患者最可能诊断是急性胰腺炎。

思路1：急性胰腺炎临床实验室检查多表现为血清淀粉酶和血清脂肪酶升高，该患者血清淀粉酶为1856IU/L，脂肪酶为452U/L，基于以上，不排除急性胰腺炎诊断。

思路2：急性胰腺炎临床特征多表现为急性上腹部持续性腹痛，常向背部放射，可伴有恶心、呕吐。体征上，轻症者仅为压痛，重症者可出现腹膜刺激征，腹水，Grey-Turner征，Cullen征。本例患者有持续性腹痛，且向腰背部放射，伴呕吐，上腹部偏左有压痛、反跳痛和肌紧张。结合实验室检查，应首先考虑急性胰腺炎。

【问题2】上述检验报告单中，与急性胰腺炎相关检验项目的常用技术方法如何？影响检验结果的影响因素有哪些？

（1）血清淀粉酶（amylase，AMS）

1）常用检测方法：碘-淀粉比色法、对硝基酚麦芽庚苷法和亚乙基-4-NP-麦芽糖苷法（EPS法）

碘-淀粉比色法：

A. 原理：血清（或血浆）中α-淀粉酶催化淀粉分子中α-1，4糖苷键水解，产生葡萄糖、麦芽糖及含有α-1，6糖苷键支链的糊精。在底物充分（已知浓度）的条件下，反应后加入碘液与未被水解的淀粉结合，生成蓝色产物。其蓝色深浅，与未经酶促反应的空白管比较，可以计算出淀粉酶的活力单位。

B. 参考区间（参照《全国临床检验操作规程》第3版）

健康成年人：血清淀粉酶活性80~180U/dl；尿液淀粉酶活性100~1200U/dl。

亚乙基-4-NP-麦芽糖苷法（EPS法）：

A. 原理：用两种不同的单克隆抗体抑制唾液淀粉酶，然后用EPS法测定血清中胰淀粉酶。该测定不需要α或β-葡萄糖苷酶，又被称为“直接测定法”。唾液淀粉酶和胰淀粉酶最适pH稍有差别，但在pH6.0的测定系统中，两种同工酶活性的95%以上均能测定。

B. 参考区间（参照《全国临床检验操作规程》第3版）

健康成年人：血清淀粉酶（37℃）≤220U/L；尿液淀粉酶（37℃）≤1200U/L。

对硝基酚麦芽庚苷法：以对硝基酚麦芽庚苷（4-NP-G7）为底物，经α-淀粉酶催化水解为游离寡糖及葡萄糖残基减少的对硝基酚寡糖苷，后者在α-葡萄糖苷酶催化下，进一步水解为葡萄糖和对硝基酚，对硝基酚生成量在一定范围内与经α-淀粉酶活性呈正比。

2）方法学评价：以天然淀粉为底物，依据碘遇淀粉变蓝色而设计的淀粉酶测定方法包括样品稀释法、时间滴定法、碘淀粉比色法等。碘淀粉比色法由于操作简单、快速，试剂成本低、不需特殊设备，曾一度被广泛使用，但天然淀粉分子因葡萄糖组成不确定而难于标准化，且准确性、重复性差，线性范围窄，底物不稳定，而逐渐被弃用。α-葡萄糖苷酶-己糖激酶-葡萄糖-6-磷酸脱氢酶偶联法是最早使用的连续监测法，目前多采用以人工合成的各种麦芽寡糖苷为底物，其中以对硝基酚麦芽庚苷法最为常用。

α-葡萄糖苷酶对底物有缓慢水解作用，若将PNP-G7的非还原端葡萄糖残基接上保护基团封闭，即可以阻止α-葡萄糖苷酶对底物的水解作用，提高底物的稳定性。另外，多功能α-葡萄糖苷酶对EPS所有降解产物具有相同转换率，从而使底物中的所有PNP被回收，可以直接用PNP摩尔吸收系数计算酶活性。

学习笔记

知识点

淀粉酶应用时注意事项

淀粉酶主要由胰腺和腮腺产生，来自胰腺的为淀粉酶P型同工酶(P-AMS)，来自腮腺的为淀粉酶S型同工酶(S-AMS)。流行性腮腺炎，特别是急性胰腺炎时，血和尿中的淀粉酶活性显著增高。急性胰腺炎发病后8~12小时血清淀粉酶活性开始升高，12~14小时达最高峰，2~5天下降至正常。如超过500U，即有诊断意义；达350U应怀疑此病。急性阑尾炎、胆囊炎、胆石症、胃穿孔、肠梗阻等血淀粉酶也可升高，但一般不超过500U。

淀粉酶相对分子质量约50 000，可通过肾小球滤出。在急性胰腺炎时，尿淀粉酶约于起病12~24小时开始增高，下降也比血清淀粉酶慢，所以在急性胰腺炎后期测定尿淀粉酶对评定病情转归更有价值。肾功能障碍时降低。

3）影响因素：除肝素外，各种常见抗凝剂均能抑制淀粉酶活性。这些抗凝剂螯合钙离子，柠檬酸盐、EDTA和草酸盐抑制淀粉酶活性可高达15%。尿液呈酸性时，淀粉酶稳定性较差，因此尿液保存前，须将pH调节至7.0或略高。

此外，葡萄糖≥55mmol/L，甘油三酯≥25mmol/L，胆红素≥500μmol/L，抗坏血酸≥1mmol/L，血红蛋白≥2.5g/L均可影响实验结果。

(2) 血清脂肪酶(lipase，LPS)

1）常用检测方法：酶偶联比色法、色原底物法、比浊法。

酶偶联比色法：

A. 原理：以1，2-二酰甘油为底物，在LPS和单酸甘油酯脂肪酶的催化下，水解成甘油和脂肪酸，甘油经甘油激酶作用生成3-磷酸甘油，后者再被甘油磷酸氧化酶/过氧化物酶和4-氨基安替比林色素原体系产生紫红色，于550nm波长连续监测吸光度变化。

B. 参考区间(参照《全国临床检验操作规程》第3版)

健康成人血清脂肪酶活力参考区间：13~63U/L。

C. 影响因素：胆红素<50μmol/L，无干扰，但当其浓度在51~307μmol/L时，可使检测结果降低10%~15%；游离甘油浓度>0.4mmol/L时，有明显干扰。

色原底物法：

A. 原理：底物在碱性环境并有胆酸和脂肪酶参与下，被脂肪酶水解，产生戊二酸和甲基试卤灵，后者显示红色，显色强度和脂肪酶活力成正比。

B. 参考区间：1~54U/L。

C. 影响因素：甘油三酯和胆固醇(包括HDL-C和LDL-C)测定试剂中，均含有脂肪酶，可引起携带污染，使用仪器的“Special”或“Smart”功能可降低携带污染。胆红素≥1000μmol/L，血红蛋白>5g/L和甘油三酯>22mmol/L可有干扰。

比浊法：

A. 原理：甘油三酯与水制成的乳胶液，因其胶束对入射光的吸收及散射而具有乳浊性状。胶束中的甘油三酯在脂肪酶的作用下水解，使胶束分裂，浊度或光散射因而减低。减低的速率与脂肪酶活力有关。

B. 参考区间：酶活性呈正偏态分布，单侧95%上限为7.9U。

2）方法学评价：LPS测定方法主要有：①测定产物游离脂肪酸的增加量，包括滴定法、比色法、荧光法和pH电极法等，滴定法因需高精度的pH计以及无法实现自动化而逐渐被弃用；②测定底物的减少量，如比浊法、扩散法等，最常用的是比浊法，因LPS只作用于脂-水界面，故比浊法测定LPS时，其活性大小与酶与底物接触的界面浓度以及不溶性基质与水相之间界面大

学习笔记

小有关，因此，该法虽具有操作简单、不需特殊设备等优点，但由于稳定、可重复的底物不易制备，不同批号、不同厂家试剂浊度难以一致而逐步被淘汰；③测定 LPS 的实际质量，如双抗体夹心免疫分析法、乳胶凝集法，因 LPS 质量测定需时较长，其不能用于急诊检验，使用价值大打折扣。

目前国内大多数实验室以比浊法和比色法为主，后者以酶偶联比色法和采用人工合成底物两类方法较常用。国外多采用基于底物 1,2- 二月桂基 -rac- 丙三氧基 -3- 戊二酸试灵酯设计连续监测法，该法具有简便、快速、灵敏、稳定、抗干扰能力强、易标准化等特点，但因试剂昂贵而在我国较少使用。酶偶联比色法因其特异性高，且通过双试剂可解决内源性甘油干扰等，而在我国得到较广泛使用，但标本溶血、高胆红素患者结果偏低。

【问题 3】除上述检验项目外，与急性胰腺炎相关的检验项目还有哪些？

胰蛋白酶原 -2 的常用检测方法为免疫层析法（试纸法）。

（1）原理：检测试纸条含两种人胰蛋白酶原 -2 单克隆抗体，一种结合在蓝色乳胶颗粒上，第二种固定在膜上。接触标本后，尿液中的胰蛋白酶原 -2 与抗体标记的乳胶颗粒结合并继续移动，被第二抗体捕获。若标本中的胰蛋白酶原 -2 超过限定值，则显示为蓝线，为阳性结果。

（2）参考区间：健康成年人尿液淀粉酶：阴性。

知识点

胰 蛋 白 酶

胰蛋白酶是一种只存在胰腺的特异性的酶蛋白，主要由胰蛋白酶原 1 和胰蛋白酶原 2 组成。胰蛋白酶原是胰蛋白酶的前体，其激活是 AP 发病机制中的重要环节。正常情况下，仅有一小部分出现在外周血中，并且血胰蛋白酶 -1 的浓度高于胰蛋白酶原 -2。但在急性胰腺炎发作时，血清胰蛋白酶原 -2 浓度明显升高，易于从肾小球滤出，而肾小管对胰蛋白酶原 -2 的重吸收率较胰蛋白酶 -1 低，因此尿液中胰蛋白酶原 -2 浓度升高。急性胰腺炎时，胰蛋白酶原 2 在发病后 4 小时显著升高，6 小时即可出现阳性结果，其特异性和敏感性均超过尿淀粉酶，可用免疫层析法快速检测尿胰蛋白酶原 -2 作为诊断急性胰腺炎的快速筛选试验。

【问题 4】为什么血淀粉酶、脂肪酶和尿胰蛋白酶原 -2 常同时测定，有必要查这么多吗？

胰蛋白酶是一种只存在胰腺的特异性的酶蛋白，在急性胰腺炎时，血清胰蛋白酶会急剧上升，其中的胰蛋白酶原 -2 的检测特异度达 95%，灵敏度为 94%，因此，免疫层析法快速检测尿胰蛋白酶原 -2 可作为急性胰腺炎的快速筛选试验，可明显减少胰腺炎的漏诊率，但对检测阳性者需做进一步检查。

血清淀粉酶的水平对胰腺疾病相当敏感但并不特异，在急性胰腺炎时升高快、下降快、持续时间短，对就诊早的病人有重要诊断价值。而脂肪酶通常在胰腺疾病时升高，特异性比淀粉酶高，并且持续时间长，对就诊晚的病人有重要的诊断价值，其测定与淀粉酶有互补作用。

因此，临床上常选择胰蛋白酶原 -2 作为快速筛选试验，对试验阳性者再进行血清淀粉酶和血清脂肪酶的测定，以减少漏诊和误诊。

（王培昌）

第四节　糖代谢试验

本节重点介绍了血清葡萄糖、尿糖、糖耐量试验、糖化血红蛋白、糖化血清蛋白、胰岛素试验的检测方法、检测原理、试验干扰，并对其方法学进行评价。同时，叙述了 POCT 血糖测定的影响因素和质控瓶颈，并对 C 肽释放试验、酮体、β- 羟基丁酸、乳酸的检测方法、原理进行了概括性介绍。

学习笔记

病历摘要：

患者男，57岁。因“口干、多饮、多食1个月，加重1周”入院。患者1个月前无诱因出现口干，多饮、多尿，多食、易饥，未予重视。近1周上述症状加重，烦渴、多饮，每日饮水量达3000ml左右，伴明显乏力；查空腹葡萄糖16.48mmol/L，餐后2小时血糖28.16mmol/L；尿常规：尿糖(++)，酮体(−)；糖化血红蛋白9.0%。家族史：其姐姐有糖尿病。

××医院检验报告单

姓名：某某	病历号：××××××	临床诊断：2型糖尿病	标本种类：血清
性别：男	科别：内分泌科	申请医生：某某	标本编号：××××××
年龄：51岁	病房：×病房	备注：空腹采血	采集时间：××××-01-12-06：45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1.	空腹葡萄糖	16.48	3.9~6.1	mmol/L

接收者：某某	接收时间：××××-01-12-7：00	审核者：某某	审核时间：××××-01-12-7：30
检验者：某某	检验时间：××××-01-12-7：05	检测实验室：	×××× 医院检验科生化室

××医院检验报告单

姓名：某某	病历号：××××××	临床诊断：2型糖尿病	标本种类：血清
性别：男	科别：内分泌科	申请医生：某某	标本编号：××××××
年龄：51岁	病房：×病房	备注：餐后2小时采血	采集时间：××××-01-12-06：45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1.	餐后2小时血糖	28.16	3.9~7.8	mmol/L

接收者：某某	接收时间：××××-01-12-9：00	审核者：某某	审核时间：××××-01-12-9：30
检验者：某某	检验时间：××××-01-12-9：05	检测实验室：	×××× 医院检验科生化室

××医院检验报告单

姓名：某某	病历号：××××××	临床诊断：2型糖尿病	标本种类：全血
性别：男	科别：内分泌科	申请医生：某某	标本编号：××××××
年龄：51岁	病房：×病房	备注：空腹采血	采集时间：××××-01-12-06：45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1.	糖化血红蛋白	9.0%	4%~6%	%

接收者：某某	接收时间：××××-01-12-9：00	审核者：某某	审核时间：××××-01-12-9：45
检验者：某某	检验时间：××××-01-12-9：05	检测实验室：	×××× 医院检验科生化室

【问题1】根据以上检验结果并结合患者临床表现，该患者初步诊断最可能是什么？

基于上述检验结果并结合患者临床表现，该患者最可能诊断是2型糖尿病。

思路1：2型糖尿病临床上多表现为多饮、多尿、多食和消瘦，严重高血糖时出现典型的“三多一少”症状，该患者临床症状与此相符。

思路2：2型糖尿病实验室检查多表现为空腹血糖>7.0mmol/L、餐后2小时血糖>11.1mmol/L、糖化血红蛋白>6.5%。该患者实验室检查结果与此相符，结合患者临床症状，应首先考虑2型糖尿病的诊断。

【问题2】上述检验报告单中，与2型糖尿病相关的检验项目常用的技术方法如何？影响检验结果的影响因素有哪些？

(1) 血清葡萄糖(glucose，GLU)

1) 常用检测方法

氧化还原法(folin-Wu法)：葡萄糖可使二价铜离子还原为一价铜离子，后者与特定化合物显色反应。葡萄糖与碱性铜试剂共热使磷钼酸还原成蓝色钼兰。该法易受血中其他还原糖的干扰，

学习笔记

现已淘汰。

缩合法：邻甲苯胺法（0-TB 法）：利用邻甲苯胺类在酸性环境中可与葡萄糖醛基缩合成葡萄糖基胺，后者脱水生成 Schiff 氏碱，再经结构重排，生成有色物质。

$$\text{邻甲苯胺} + \text{葡萄糖} \xrightarrow[\text{缩合}]{\text{热醋酸溶液}} \text{葡萄糖基胺} \xrightleftharpoons{\text{脱水}} \text{希夫氏碱} \xrightarrow{\text{重排}} \text{蓝绿色化合物}$$

该法操作简便，灵敏度高，主要缺点是试剂腐蚀性大，邻甲苯胺被怀疑有致癌性，既有碍于健康又易损坏仪器。

以上非酶法均为非特异性方法，由于非糖还原物质，如谷胱甘肽、维生素 C、肌酸、肌酐、尿酸等也都能参与反应，可使结果比酶法偏高 0.3~0.6mmol/L。

酶法：包括葡萄糖氧化酶 - 过氧化物酶（GOD-POD）偶联法、己糖激酶（HK）法和葡萄糖氧化酶 - 氧速率（GOD-OR）法。酶法具有特异性高等特点。

A. 葡萄糖氧化酶 - 过氧化物酶偶联法（GOD-POD 法）：是目前应用最广泛的常规方法，其检测原理如下。

$$\text{葡萄糖} + H_2O + O_2 \xrightarrow{\text{GOD}} \text{葡萄糖酸内酯} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{4- 氨基安替比林} + \text{酚} \xrightarrow{\text{POD}} \text{红色醌类化合物（Trinder 反应）}$$

POD：过氧化物酶　GOD：葡萄糖氧化酶

505nm 比色，其色泽深浅与葡萄糖浓度呈正比。

评价：准确度、精密度、灵敏度和稳定性良好，是目前血糖测定的首选方法。

GOD 催化的反应特异，只有葡萄糖反应，POD 受干扰因素较多，如血中有还原性物质，如尿酸、维生素 C、胆红素和谷胱甘肽等可使 H_2O_2 还原为 H_2O，可致结果偏低。

B. 葡萄糖氧化酶 - 氧速率法（GOD-OR 法）：葡萄糖氧化酶每氧化标本中的一分子葡萄糖便消耗一分子氧，用氧敏感电极测定氧消耗速率，便可知葡萄糖含量。此法准确性和精密度都很好，但只能用于特殊的分析仪。

C. 己糖激酶法（HK 法）：是目前公认的参考方法。

$$\text{葡萄糖} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{HK}} \text{葡萄糖 -6- 磷酸} + \text{ADP}$$

$$\text{葡萄糖 -6- 磷酸} + NADP^+ \xrightarrow{\text{葡萄糖 -6- 磷酸脱氢酶}} \text{6- 磷酸葡萄糖酸内酯} + \text{NADPH}$$

NADPH 在 340nm 有吸收峰，其吸光度增加与葡萄糖浓度呈正比。

该反应第一步不特异，其他己糖均可参与，第二步特异，只有 G-6-P 才参与反应。

评价：本法准确度和精密度高，特异性高于葡萄糖氧化酶法。干扰因素少，轻度溶血、脂血、黄疸、肝素、EDTA 等不干扰测定。试剂较贵。

2）生物参考区间：3.61~6.11mmol/L（65~110mg/dl）。

3）实验影响因素

A. 抽血前的准备工作：患者需空腹抽血，抽血前避免激烈运动，如可能，需在抽血前三天停用相关药物。

B. 检测时间：由于红细胞内葡萄糖糖酵解活跃，样本采集后应立即送检、离心分离血清，并于 2 小时内完成检测。如不能立即检测，须将分离后的血清置于低温保存。

C. 其他影响：血糖测定亦受取血部位影响，静脉血糖 < 毛细血管血糖 < 动脉血糖。对于己糖激酶法，其他非还原糖可使检测结果偏高。

D. POCT 血糖测定：全血葡萄糖浓度比血浆或血清低 10%~15%，且受红细胞比容影响。POCT 血糖仪品牌较多，各品牌仪测定结果间是否可比尚待验证。POCT 血糖仪的校准、质控及操作标准化是保证其质量的前提。

学习笔记

知识点

血糖 POCT 标本采集注意事项

①建议在一段时间内相对固定在一个手指指端采血，避免由于不同手指指端采血造成血糖值差异；②根据进食及用药时间合理安排血糖测定时间；③严格按照采血笔的使用方法操作；④血量要控制在规定范围内，太少会影响检测的准确性，太多容易污染测试座；⑤注意取血方法，建议以采血笔刺入 3~5mm 深度采血，让血样自然留出为佳，有挤压和按摩动作将会影响血糖值的准确性。

4）方法学评价：葡萄糖检测方法较多，可归纳为氧化还原法、缩合法和酶法三类。氧化还原法是最早用于血糖测定的方法，但该法操作复杂，灵敏度低，且常需制备无蛋白滤液，部分试剂具有毒性，现已淘汰。缩合法是利用芳香胺类在酸性环境中与葡萄糖醛基缩合为葡萄糖基胺，后者经脱水形成 schiff 碱，经重排生成有色物质，该法采用单一试剂显色，操作简便，灵敏度、特异度均较高，但试剂腐蚀性大，常用邻甲苯胺试剂有致癌性，现使用较少。酶法包括葡萄糖氧化酶法、己糖激酶法、葡萄糖脱氢酶法和葡萄糖氧化酶 - 氧速率法，其中，后两种方法测定准确性及精密性均较好，但葡萄糖脱氢酶来源较困难，葡萄糖氧化酶 - 氧速率法需专门仪器，限制其推广使用。

【问题 3】除上述检验项目外，与糖尿病相关的检验项目还有哪些？

（1）尿糖：正常人尿糖定性为（-），24 小时尿中排出的葡萄糖少于 0.5g。当血糖浓度超过肾糖阈时，可在尿中测出糖。

1）常用检测方法

班氏定性试验：利用葡萄糖或其他还原性物质在碱性高温环境中，将反应液中 Cu^{2+} 还原为亚铜离子 Cu^{+}，形成黄色的氢氧化亚铜或红色的氧化亚铜。

葡萄糖氧化酶试纸法（干化学法）：反应原理同血糖葡萄糖氧化酶法。尿中的葡萄糖被试条中所含的葡萄糖氧化酶氧化生成葡萄糖醛酸和 H_2O_2，后者在过氧化物酶的催化下释放出氧，并使试条中的色素原物质氧化显色。根据显色的程度，可对尿葡萄糖做定性及半定量检测。

2）生物参考区间：尿糖试纸半定量法（-）；24 小时尿糖定量（葡萄糖氧化酶法）：<0.5g/24h。

3）实验影响因素：①妊娠、哺乳期可出现乳糖尿；进食大量水果，出现果糖尿；②尿糖定性受尿量影响；③葡萄糖氧化酶法受尿中其他还原剂影响，造成结果假阴性；④尿液存放时间影响尿糖定性结果，由于尿液存放时间过长会使尿糖发生氧化及细菌分解，从而使尿糖浓度下降；⑤尿液取量影响尿糖定性结果，尿液的取量需要适中，过少则导致酶反应不全，过多则导致测定结果不准确；⑥尿液污染影响尿糖定性结果，留取尿标本时，若将粪便混于尿液中，粪便中的微生物使尿液变质；妇女月经期尿中的血细胞也会导致测定结果不准确；干化学法测定尿糖定性时出现假阳性的结果很少见，但强氧化性清洁剂、次氯酸、过氧化氢、或低密度尿，会使尿液分析检测产生很高的敏感性，造成分析结果与实际不符，可使结果出现假阳性。

知识点

干化学法测定尿糖质量控制措施

分析前质控措施：尿液标本留取前至少 1 天，须停服维生素 C、左旋多巴、柳酸盐、青霉素等药物；尿液标本须新鲜，并须避免粪便、酸碱试剂等污染；尿液取量一般 10ml；干化学试带应密封、避光，严防受潮。

分析中质控措施：将尿干化学试纸条浸入尿中 3 秒后取出，浸湿后的试带不宜甩动，以避免相邻模块间颜色干扰；在验证的基础上，制订尿液干化学结果镜检复检规则，条件许

学习笔记

可时，应结合尿液干化学结果、尿液全自动沉渣分析结果制定镜检复检规则（详见尿液常规部分）。

分析后质控措施：结果审核时，应结合临床诊断审核结果。

（2）葡萄糖耐量实验（OGTT）：糖耐量检测是人体对摄入葡萄糖耐受能力优选试验。口服葡萄糖后，每间隔一定时间测定血糖水平。利用该试验可了解胰岛 β 细胞功能和机体对糖的调节能力。

1）常用检测方法：WHO 推荐标准化 OGTT 检测方法：成人 75g 葡萄糖，孕妇 100g，儿童每公斤体重 1.75g（总量≤75g，用 250ml 水溶解，5 分钟内口服）。服糖前空腹抽血，服糖后每隔 30 分钟取血，共四次。采血同时每隔 1 小时留尿测尿糖。根据各次血糖水平绘制糖耐量曲线。

试验前三天每日食物中糖含量应不低于 150g，维持正常活动，影响试验的药物应在样本采集前 3 天停用。

2）生物参考区间：正常糖耐量：空腹血糖 <6.1mmol/L（110mg/dl），口服葡萄糖 30~60 分钟达高峰，峰值 <11.1mmol/L（200mg/dl）；2 小时恢复到正常水平，即 <7.8mmol/L（140mg/dl），尿糖（-）。

3）实验影响因素：①OGTT 受多种因素影响，如年龄、饮食、健康状况、胃肠道功能、某些药物和精神因素等。假阳性可见于营养不良、长期卧床、精神紧张、急慢性疾病；口服避孕药、糖皮质激素、甲状腺激素、烟酸、苯妥英钠、利尿药及单胺氧化酶抑制剂者；②对于胃肠道手术或胃肠功能紊乱影响糖吸收的患者，糖耐量试验不宜口服进行，而需采用静脉葡萄糖耐量试验（IGTT）。对 OGTT 正常但有糖尿病家族史者，可进行可的松 OGTT，但 50 岁以上者对葡萄糖耐受力有下降趋势，所以不宜做此类试验。

（3）糖化血红蛋白

1）常用检测方法：①高压液相色谱（HPLC）法（参考方法）：可精确分离 HbA1 各组分，并分别得出 HbA1a、HbA1b、HbA1c、HbA1d 的百分比；②阳离子交换柱层析法（CV 2%~16%），测定血红蛋白类 HbA1 型。

2）生物参考区间：HbA1c 4%~6%（HPLC 法）。

3）方法学评价：目前检测糖化血红蛋白方法有 5 种，包括离子交换高效液相色谱分析法、微柱法、电泳法、亲和层析法、免疫法。部分糖化血红蛋白分析仪采用离子交换层析法原理，使用中发现此方法的影响因素有：低温操作对结果会造成一定的影响；用肝素抗凝血检测结果有增高现象；当血红蛋白偏低或增高，均可使结果产生偏差；仪器管道污染也会造成结果不稳定。建议室温下操作，抗凝剂首选乙二胺四乙酸二钾。

（4）糖化血清蛋白测定：血清白蛋白和其他蛋白质也可与葡萄糖发生糖基化反应，白蛋白的半寿期比血红蛋白短，转换率快，17~19 天，可通过测定血清糖基化蛋白水平来反映近 2~3 周的血糖控制情况，制订控制糖尿病人血糖浓度的短期方案。

1）常用检测方法

硝基四氮唑蓝法：四氮唑蓝（NBT）$\xrightarrow{\text{果糖胺}}$ 甲臜　550nm 有吸收峰

糖化白蛋白 $\xrightarrow{\text{蛋白酶 K}}$ 糖化蛋白片段

糖化蛋白片段 $\xrightarrow{\text{酮胺氧化酶}}$ 氨基酸 + 葡萄糖 $+H_2O_2$

酮胺氧化酶（KAO）法：色素原 $+H_2O_2 \xrightarrow{\text{过氧化物酶}}$ 显色物 $+H_2O$

2）生物参考区间：①NBT 法：<285μmol/L（以 ^{14}C 标化的糖化白蛋白为标准参照物）；②酮胺氧化酶法：122~236μmol/L。

3）方法学评价：与硝基四氮唑蓝法相比，KAO 法稳定，精密性与准确度更高。样本在 4℃可

学习笔记

保存 3 周，-20℃可保存 5 周，当血浆蛋白低于 35g/L 时，结果偏低。

(5) 葡萄糖 - 胰岛素释放试验：通过观察在高血糖刺激下胰岛素的释放可帮助了解胰岛 β 细胞功能。糖尿病人往往可出现胰岛素空腹水平低下，或服糖后胰岛素释放与血糖不同步，高峰后移或胰岛素升高水平不够等现象。

1) 常用检测方法：胰岛素测定过去一般采用放射免疫竞争双抗体 -PEG 法。用 ^{125}I 标记的胰岛素与标本中胰岛素一起竞争结合抗胰岛素抗体上的结合位点，再用第二抗体结合抗胰岛素抗体，以 PEG 沉淀胰岛素与双抗体的复合物，并测定沉淀物的放射性计数，计数的高低与标本中胰岛素的含量呈反比。现在多采用化学发光法。即标本中的胰岛素和包被于固相磁珠或固相上的单克隆抗体及标记有酶或电化学发光物质的单克隆抗体形成双抗体夹心复合物，通过磁场或冲洗除去未反应的标记单克隆抗体，加入酶底物使之显色或通电使电化学发光物质形成激发态并在衰减时发射光子，底物显色强度或发光强度与胰岛素含量呈正比。此外还可采用双位点的时间分辨荧光计测定法。

2) 生物参考区间：①空腹胰岛素 35~145pmol/L（化学发光法）；②5~25μU/ml（RIA 法）。

胰岛素峰时在 30~60 分钟，峰值达基础值的 5~10 倍，180 分钟时降至空腹水平。胰岛素曲线一般与糖耐量曲线的趋势平行。

(6) 葡萄糖 -C 肽释放试验：C 肽的测定可以更好地反映 β 细胞生成和分泌胰岛素的能力。

1) 常用检测方法

放射免疫分析法：^{125}I-C 肽和样品中的 C 肽与有限量的抗 C 肽抗体竞争结合位点，经 4℃孵育 24 小时反应达到平衡后加入分离试剂，与抗体结合的 C 肽形成沉淀，离心分离未结合的 C 肽，将沉淀物进行放射计数，数值的大小与 C 肽含量成反比。

化学发光法：标本中的 C 肽和包被于固相磁珠上的单克隆抗体及标记 HRP 的单克隆抗体形成双抗体夹心复合物，在磁场中除去未反应的标记单克隆抗体，加入酶底物使之显色，底物显色强度与 C 肽含量成正比。

2) 生物参考区间：1.1~4.9ng/ml（化学发光法），峰时在 30~60 分钟，峰值达基础值的 5~6 倍以上。

(7) 酮体

1) 常用检测方法：最常用的是硝普盐半定量试验。乙酰乙酸和丙酮与硝普盐（亚硝基铁氰化钠）在碱性条件下可生成紫色化合物，生成量与酮体的含量成正比。

$$Na[Fe(CN)_5NO]+CH_3-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-R \xrightarrow{OH^-} Na_2[Fe(CN)_5NOCH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-R]+H_2O$$

R 为 CH_3 或 $CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-H$

2) 生物参考区间：血酮体（-）（<5mmol/L）；尿酮体（-）。

(8) β- 羟基丁酸：在酮体中 β- 羟基丁酸占 78%，且在糖尿病酮症发生早期，β- 羟基丁酸就可有明显升高，此时乙酰乙酸尚无明显变化。所以测定乙酰乙酸的硝普盐试验常引起临床对总酮量和酮症程度的低估；在酮症恢复期，β- 羟基丁酸迅速下降时，乙酰乙酸在一定时间内仍然保持升高或下降缓慢，这时用硝普盐法又会引起临床对病情的高估。因此，β- 羟基丁酸的测定在糖尿病酮症的诊断、治疗监测中比乙酰乙酸测定更灵敏，更可靠。

1) 常用检测方法

酶动力学连续监测法，其反应式为：

$$BHB+NAD^+ \underset{(pH7.0)}{\overset{\beta\text{-HBDH(pH8.5)}}{\longleftrightarrow}} AcAc+NADH\ H^+$$

BHB：β- 羟基丁酸；β-HBDH：β- 羟基丁酸脱氢酶

学习笔记

在 pH8.5 时测定 340nm 波长下 NADH 吸光度上升的速率，与 BHB 的浓度成正比。

2）生物参考区间：血 β- 羟基丁酸 <0.27mmol/L。

(9) 乳酸（LA）

1）常用检测方法：血乳酸分析采用酶动力学连续监测法。反应式如下：

$$\text{L-Lactic Acid} + \text{NAD}^+ \xleftrightarrow{\text{LD(pH9.8)}} \text{Pyruvate} + \text{NADH} + \text{H}^+$$

$$\text{Pyruvate} + \text{L- 谷氨酸} \xleftrightarrow{\text{ALT}} \text{L- 丙氨酸} + \alpha\text{- 酮戊二酸}$$

L-Lactic Acid：乳酸；LD：乳酸脱氢酶；Pyruvate：丙酮酸。

在 pH 9.8 时，反应平衡趋向乳酸盐氧化为丙酮酸盐方向，若加入 L- 谷氨酸，使之与丙酮酸反应随时除去反应产物，则使反应进一步向右移动。在 340nm 测定生成的 NADH 吸光度上升速率与样品中乳酸浓度成正比。

2）生物参考区间：<2mmol/L。

（王培昌）

第五节　脂代谢试验

脂代谢检查通常包括甘油三酯（TG）、总胆固醇（TC）、高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）、低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）、载脂蛋白 A1（Apo A1）、载脂蛋白 B1（Apo B1）、脂蛋白（a）等七项，有些临床实验室还包括同型半胱氨酸（Hcy）、磷脂（PL）等。血脂代谢异常是心血管疾病和中风、糖尿病等疾病的风险因素，临床上较为关注 TG、TC、HDL-C、LDL-C 水平与疾病的关系。随着现代生活水平提高，饮食结构不合理，健康人群在体检中发现脂代谢异常极为普遍。

病历摘要：

患者男，62 岁。因体检发现血糖增高 3 个月到医院门诊就诊。既往史、个人史及家族史无特殊。查体：生命体征正常。身高 1.55m，体重 65kg，心、肺、肝、脾检查未见异常。经相关检查后确诊为 2 型糖尿病。其血脂检验结果如下：

×× 医院检验报告单

姓名：某某	病历号：××××××	临床诊断：2 型糖尿病	标本种类：血清
性别：男	科别：内分泌代谢病科	申请医生：某某	标本编号：××××××
年龄：62 岁	病房：× 病房	备注：空腹采血	采集时间：××××-01-12-08：45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位	No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	总胆固醇（TC）	6.50↑	3.10~5.20	mmol/L	5	载脂蛋白 A1（Apo A1）	1.55	1.20~1.60	g/L
2	甘油三酯（TG）	1.77↑	0.56~1.70	mmol/L	6	载脂蛋白 B1（Apo B1）	1.19↑	0.80~1.05	g/L
3	高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）	1.33	1.16~1.42	mmol/L	7	脂蛋白（a）[LP（a）]	0.181	0.0~0.300	g/L
4	低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）	3.77↑	2.70~3.13	mmol/L					
						备注：LDL-C 在心血管疾病危险人群控制在 <2.6mmol/L			

接收者：某某	接收时间：××××-01-12-08：50	审核者：某某	审核时间：××××-01-12-10：10
检验者：某某	检验时间：××××-01-12-09：30	检测实验室：	×××× 医院检验科生化室

【问题 1】如何评价该患者的血脂检验结果，应如何继续监测控制？

该患者确诊 2 型糖尿病，依据检验报告及相关临床表现，考虑为 2 型糖尿病继发的血脂异常，应定期检查血脂项目。

思路 1：患者 TC、LDL-C、TG 及 Apo B1 增高，HDL-C 在参考区间内，存在脂代谢异常。2 型

学习笔记

糖尿病患者血脂异常发生率明显高于非糖尿病患者，血脂异常是2型糖尿病患者心血管并发症发生率增加的危险因素。该患者的脂代谢检查结果符合2型糖尿病常见的脂代谢紊乱。由于血脂异常通常没有明显的早期症状，往往通过体检或发生心脑血管事件后才发现，因而及早发现2型糖尿病患者存在的血脂异常并给予早期干预，可防治动脉粥样硬化，减少心脑血管事件，降低死亡率，其治疗意义与血糖控制相当。

知识点

2型糖尿病患者血脂变化特点

2型糖尿病患者的血脂谱以混合型血脂紊乱多见，其特征性的血脂谱包括：高TG血症，HDL-C水平降低，TC和LDL-C水平正常或轻度升高，且LDL-C发生质变，小而致密的LDL-C水平升高。富含甘油三酯脂蛋白（triglyceride-rich lipoprotein）的载脂蛋白水平升高。

知识点

血脂异常的分类

血脂异常分为原发性和继发性两大类。原发性属遗传性脂代谢紊乱疾病，此类罕见；继发性常见于酒精中毒、肝脏疾病、甲状腺功能减退症、肾病综合征、肾透析、肾移植、糖尿病、系统性红斑狼疮、胆道阻塞、噻嗪类利尿药、口服避孕药等。绝经后女性因为雌激素水平分泌下降，容易导致脂肪代谢异常。脂肪代谢异常的发生、发展又可导致全身各脏器的动脉硬化，并引发心脑血管疾病、肾功能不全等。

学习笔记

思路2：2型糖尿病患者在确诊同时均应检测其血脂、脂蛋白和载脂蛋白水平，根据基线水平以制订相应的干预策略。如果患者血脂位于参考区间且无其他心血管风险，在糖尿病治疗过程中每年至少要进行一次血脂水平的检测；如果患者血脂异常且有多重心血管风险因素（男性≥45岁或女性≥55岁、吸烟、肥胖和早发缺血性心血管病家族史等）。在诊断糖尿病后应当每3个月监测血脂水平一次。

对于血脂异常的2型糖尿病患者，若仅仅是给予生活方式的干预，则建议6~8周后监测血脂水平，以决定是否需要调整治疗方案；若给予调血脂药治疗，初始干预4周后应监测血脂水平，若仍未达标，则调整治疗方案，再经4周后复查；对于血脂水平控制达标的糖尿病患者（LDL-C<2.6mmol/L，HDL-C>1.25mmol/L，TG<1.7mmol/L），建议每半年监测一次血脂水平。

思路3：血脂异常是糖尿病患者发生致死性和非致死性心肌梗死的首要危险因素

该患者无心血管疾病（CVD）病史，但年龄>40岁并有肥胖危险因素，因此属于高危人群。

2型糖尿病患者是否需要使用调脂药或干预的强度取决于其血脂水平、所具有的危险因素的严重程度、同时具有的危险因素的数目，因此全面评估心血管综合危险度是防治2型糖尿病患者血脂异常的前提。

知识点

高危人群与极高危人群

高危人群指：①无心血管疾病（CVD），但年龄>40岁并有1个以上心血管疾病危险因素者，包括高血压、吸烟、肥胖、微量白蛋白尿、早发缺血性心血管病家族史、年龄（男性>45

岁，女性 >55 岁）、女性绝经期后等；②无心血管疾病，年龄 <40 岁，但 LDL-C≥2.6mmol/L 或合并多个危险因素。

极高危人群指：糖尿病合并心脑血管疾病、糖尿病合并颈动脉斑块或狭窄、糖尿病合并周围动脉病变患者，无论其基线 LDL-C 水平如何均属于极高危人群。

思路 4：哪些人群应该定期进行血脂检查

血脂代谢异常导致心脑血管疾病是一个相当缓慢的过程，常常从青壮年就开始影响血管系统，目前，冠心病、高血压等心脑血管疾病的发病年龄日趋年轻化，而且早期几乎没有任何症状，所以定期检查血脂非常重要。特别建议下列人群应定期进行血脂检查：已有冠心病、脑血管病或周围动脉粥样硬化病者；有高血压、糖尿病、肥胖、吸烟病史者；有冠心病或动脉粥样硬化病家族史者，尤其是直系亲属中有早发病或早病死者；有家族性高脂血症者；40 岁以上男性、绝经后女性。

【问题 2】血脂生化检验的常规项目、检验技术和方法有哪些？

血脂生化检验的常规项目有 TC、TG、HDL-c、LDL-c、Apo A1、Apo B100、apo(a) 等，检测方法涉及多种分析技术。

思路 1：血浆脂质中总胆固醇和甘油三酯测定

(1) 总胆固醇测定：血清总胆固醇测定方法分为化学法和酶法两类。

1) 化学法：化学法一般包括：①抽提；②皂化；③洋地黄皂苷沉淀纯化；④显色比色。代表性的方法有 Sperry-Webb 法（包括①到④步骤操作过程）、Abell-Kendall 法（省去③步骤），后者为标准参考方法。

2) 酶法：酶法测定原理是 CE 在胆固醇酯酶（cholesterol esterase，CHE）作用下水解成 FC 和 FFA，FC 再经胆固醇氧化酶（cholesterol oxidase，COD）氧化成△4 胆固烯酮和 H_2O_2，再分别定量 O_2 的消耗或者 H_2O_2 的生成量，或者△4 固烯酮生成量，以作为 FC 的定量依据。该法是目前常规应用方法，快速准确，标本用量少，便于自动生物化学分析器作批量测定。

(2) 甘油三酯测定：血清 TG 测定方法一般分为化学法及酶法两类。

1) 化学法：化学测定法包括：①TG 的抽提分离；②皂化；③甘油糖的氧化；④氧化生成甲撑显色定量。共四个阶段，操作较为繁杂，影响测定因素太多，其法准确性差，一般很少用。

2) 酶法：酶法测定包括：①TG 的抽提与皂化；②加水分解生成甘油糖定量。目前常规检测应用的方法有甘油激酶（glycerol kinase，GK）法和甘油氧化酶（glycerol oxidase，glyod，GOD）法。操作简便，快速准确，并能在自动化生物化学分析仪上进行批量测定。

思路 2：血浆脂蛋白测定方法有超速离心分离纯化法、电泳分离法、血浆静置实验、血浆脂蛋白胆固醇测定等

(1) 超速离心分离纯化法：超速离心法是根据血浆中各种脂蛋白的相对密度（比重）的差异，在强大离心力作用下进行分离纯化的一种方法。一般操作方法是将血浆置于已准备好的不同密度梯度的盐溶媒介质中，在强大离心作用下，各脂蛋白依其自身的 Sf 不同，分散于离心管中的密度梯度溶媒层，达到分离纯化的目的。超速离心法是分离纯化脂蛋白的有效技术，目前广泛应用于脂蛋白、载脂蛋白代谢的研究中。

(2) 电泳分离法：不同脂蛋白因蛋白质含量不同、其电荷量不同，故可用电泳方法进行分离，并根据血浆脂蛋白电泳迁移率不同予以判断确认。电泳支持物一般常用醋酸纤维薄膜、琼脂糖凝胶或聚丙烯酰胺凝胶。临床检验中主要采用琼脂糖凝胶自动化电泳并进行自动化扫描、计算各电位区带的百分比含量，报告结果，快速准确，被临床广泛采用。电泳分离法不论用何种支持物，血浆脂蛋白需用亲脂染料如苏丹黑 B 等进行预染再电泳，电泳完毕，脂蛋白根据电荷量不同，移动在不同的位置，再置于光密度计内进行扫描，计算出各种脂蛋白的百分比，该数值乘以

学习笔记

血浆总脂量，即可求出 α- 脂蛋白、β- 脂蛋白和前 β- 脂蛋白含量，乳糜微粒停留在原点，无法测出其含量，因为正常空腹 12 小时后，血浆中无 CM 存在。

(3) 血浆静置实验：血浆 4℃ 16~24 小时静置，观察血浆混浊程度，称为血浆静置实验(standing plasma test)。若出现奶油样上层，即 CM 增加，若下层为混浊者即 VLDL 增加。如果 LDL 增加，血浆仍呈现透明状态。这一试验是粗略判断血中脂蛋白是否异常增加的简易方法。健康人，该实验阴性(无奶油样上层)。

(4) 血浆脂蛋白胆固醇测定：脂蛋白是一种既有蛋白质又有胆固醇，还有磷脂的复合体，如何定量，尚无一种较为理想的方法。由于脂蛋白中胆固醇含量较为稳定，因此目前以测定脂蛋白中胆固醇总量的方法作为脂蛋白的定量依据，即测定 HDL、LDL 或 VLDL 中的胆固醇，并分别称为高密度脂蛋白 - 胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白 - 胆固醇(LDL-C)或极低密度脂蛋白 - 胆固醇(VLDL-C)。这类测定方法是目前临床广泛使用的方法，快速并较为准确。

1) 血浆高密度脂蛋白胆固醇测定：目前测定血浆 HDL-C 的方法大致分三大类，包括①化学沉淀法：常用沉淀剂有多聚阴离子与 2 价阳离子结合沉淀的方法；②均相测定法：应用 2 种不同的表面活性剂、多聚阴离子，根据脂蛋白酶促反应的选择性，即一种试剂与 CM、VLDL、LDL 在多聚阴离子存在下发生凝集形成遮避圈，抑制其表面的游离胆固醇反应。与此同时，试剂中另一成分与 HDL 形成可溶性复合体，使 HDL-C 胆固醇直接与酶试剂反应，测定出 HDL-C 含量；③免疫抗体法：包括 PEG 修饰法、免疫分离法等。

2) 低密度脂蛋白胆固醇测定

① 间接法：该法为计算法。利用血清中 TC、TG 和 HDL-C 含量按公式推算出 LDL-C 的量。这一方法是 Eriedewald 于 1972 年发明的一个经验式：

$$\text{LDL-C}=\text{TC}-\left[\text{HDL-C}+\left(\text{TG}\times\frac{1}{5}\right)\right]$$

运用这一公式是有条件的：①空腹血清不含 CM；②TG 浓度在 4.60mmol/L 以下；③Ⅲ型高脂血症除外。

② 直接测定法：主要利用胆固醇酶与表面活性剂进行反应达到测定的目的。

血浆 LDL-C 测定法分为三大类：①化学沉淀法；②免疫分离法；③均相测定法。其中免疫比浊法主要采用免疫比浊试剂进行自动化检测，被临床广泛使用，结果准确快速。

3) Lp(a) 测定的常用方法

① 免疫法：早期检测血浆 Lp(a) 多采用电泳法，由于方法灵敏度差，主要用于定性检测。Lp(a) 定性和定量方法很多，目前主要采用免疫透射比浊法(ITA)、免疫散射比浊法(INA)、酶联免疫吸附试验(ELISA)、发射免疫测定法(RIA)和免疫扩散法(RID)。免疫透射比浊法使用最为广泛，其原理是利用 Apo(a) 的单克隆抗体，采用多点定标(5~7 点)，用 log-logit 多元回归方程进行曲线拟合运算，该法灵敏度高，便于自动化批量检测。免疫检测法被临床广泛应用。

② Lp(a)-C 测定法：设法测定血浆 Lp(a) 中胆固醇[Lp(a)-C]的方法，可避免或减少因为抗原 Apo(a) 多态性不同所造成的 Lp(a) 定量的准确性。测定方法有超速离心法、麦胚血凝素法和琼脂糖凝胶电泳法，后两种方法在临床应用较广。

人群中血浆 Lp(a) 水平呈偏态分布，个体差异很大，其健康人群血浆含量可达 0~1000mg/L 范围。

思路 3：血清载脂蛋白(Apo)包括 ApoA1、B100、E 和(a)等已属常规检测项目。血清中载脂蛋白均结合于脂蛋白中，测定时要加用解链剂，使脂蛋白中 Apo 暴露再进行测定。

目前测定血清中载脂蛋白的含量的方法是利用相应特异抗体试剂进行测定。现有羊抗人 ApoA1、B100、E 和(a)等抗体试剂。测定原理是将某一特异抗体加到待测人血清中，即与血清中相应抗原形成抗原抗体复合物，根据复合物的量，即可测出血清中某一 Apo 含量。例如在人血

学习笔记

清中加入抗人 ApoA1 抗体，即与血清中 ApoA1（抗原）结合形成复合物，再定量即可测出血清中 ApoA1 含量。

免疫比浊法分为免疫透射比浊法和免疫散射比浊法。

载脂蛋白的特异抗体与血清中相应的抗原结合形成抗原抗体免疫复合物，并形成微细颗粒，混悬于溶液介质中，光线通过这种浑浊介质溶液时被吸收一部分，吸收的多少与混浊颗粒的量呈正比。在抗体量一定的条件下，抗原越多，抗原抗体复合物越多，溶液越浑浊，吸收光越多，以此对抗原进行定量，这种通过测定光吸收量的方法称为透射比浊法。该法是目前使用最为广泛的方法，快速准确，可在自动生物化学分析仪上做批量检测。

免疫比浊时，由于抗原与抗体结合的过程中，吸光度与浓度之间不呈线性关系，一般是三次方程曲线关系。若要将抗原与抗体两个变量之间的变动特征恰当地反映出来，需要经过三次方程拟合成近似直线化的曲线方程，再进行运算。免疫比浊的实际操作过程中，可采用终点法或速率法，用五点或七点不同浓度进行定标，经三次曲线方程拟合求出一条能反映真实情况的浓度与吸光度的关系曲线方程，作为定量的工作曲线。如果以单一标准浓度定标，以一次方程直线回归运算，所测结果仅在标准浓度上下波动，真正的过低和过高值无法测准。

免疫比浊法所用抗体应是单价、特异并且高效价的，尤其是抗体若非单一而混有少量其他蛋白抗体，在血清中形成的复合物将是一种大混合蛋白，非单一蛋白的复合物，测出结果偏高而不准确。

【问题 3】此血脂检验报告，其结果是否能反映患者脂类代谢的真实水平？

患者采血前的状态是保证血脂检验报告反映患者脂类代谢的真实水平的基础。

思路 1：采血前患者的饮食状况

血脂检测受饮食习惯影响较大，正常情况下餐后 10 小时血清中仍有乳糜微粒。临床医生查阅此报告单时，应了解病人采血前是否禁食 12 小时以上，常规生化项目采血要求多为禁食 8 小时以后，但在脂代谢检测中，因为体内血清甘油三酯代谢稳定约需 13~14 小时，采血过早会引起血清甘油三酯结果升高；检测前 12 小时高脂饮食，或伴饮酒，造成血脂水平明显波动，特别是血清甘油三酯升高明显，形成脂血标本，影响血脂各项指标的检测，还干扰其他各项实验室检查。进行血脂检测，受试者还应采血前两周保持平时饮食习惯，不提倡刻意控制饮食或素食一段时期后检查，这样才能客观反映受检者平时生活状态体内的脂类代谢真实水平。为以后控制血脂水平提供一个控制前的基础数据。

思路 2：临床医生还应结合患者临床用药、诊断和检测历史结果，判断血脂结果是否符合治疗和控制水平，以调整诊疗方案。如出现临床情况不符，应及时和实验室沟通，共同分析可能原因，进行复查或重新采血送检。如果实验室报告单上注明“脂血标本，未进行预处理”，则不仅此血脂报告的结果仅能作为参考，其他生化项目、凝血、放射免疫、PCR 等检测结果将会受到影响，造成对临床诊疗的误判。

知识点

影响血脂准确测定的因素

1. 生物学因素　如个体间、性别、年龄和种族等。研究发现，TC、TG、HDL-C、LDL-C、Apo AI、Apo B 和 Lp(a) 的平均生物学变异分别为 6.1%~11%，23%~40%，7%~12%，9.5%，7%~8%，6.5%~10% 和 8.6%。

2. 行为因素　如饮食、肥胖、吸烟、紧张、饮酒、饮咖啡和锻炼等。

3. 临床因素　①疾病继发（内分泌或代谢性疾病、肾脏疾病、肝胆疾病及其他）；②药物诱导（抗高血压药，免疫抑制剂及雌激素等）。

学习笔记

4. 标本收集与处理　如禁食状态、血液浓缩、抗凝剂与防腐剂、毛细血管与静脉血、标本贮存等。

【问题 4】实验室如何正确分析和审核血脂检验报告?

除按要求实施全面质量管理(total quality management,TQM),了解分析样本的相关信息外,应了解血脂代谢特点、测定方法等情况,进行综合分析。

思路 1:根据脂类检测各项目的体内分布规律,结合测定方法,综合分析各项结果的符合性。

(1) TC 在血浆脂蛋白中的分布:胆固醇主要存在形式包括 HDL-C(占 60%~70%)、LDL-C(占 20%~30%)。Apo A1 主要由肝脏合成,小肠亦可合成,它是 HDL-C 主要结构蛋白,Apo A1 的测定可直接反映 HDL-C 的水平。Apo B 也由肝脏合成,是 LDL-C 的主要结构蛋白,Apo B 的测定可直接反映 LDL-C 的水平。

(2) 在测定方法上,TC 用胆固醇氧化酶测定胆固醇含量;LDL-C 和 HDL-C 常用"遮蔽法"测定,即通过胆固醇脂酶、胆固醇氧化酶及过氧化氢酶"遮蔽"标本中的 CM、VLDL 和 HDL-C 或 LDL-C,最终用胆固醇氧化酶测定样本中 LDL-C 或 HDL-C 的含量。

(3) 影响 HDL-C 含量的重要因素是血清中富含甘油三酯的脂蛋白量。胆固醇酯从 HDL-C 转运给富含甘油三酯的脂蛋白,这种胆固醇酯的交换,使得 HDL-C 水平和 TG 的水平呈反对数关系。例如,通常情况 TG 正常,HDL-C 为 1.17mmol/L;但 TG 升至 2.3mmol/L 时,HDL-C 降至 0.96mmol/L;TG 升至 5.7mmol/L 时,HDL-C 降至 0.78mmol/L。

因此,脂类代谢检测结果中,存在逻辑上的关系。其一,HDL-C 与 LDL-C 的总和不应高于 TC,血清中的 LDL-C=TC-(TG/5+HDL),但此关系在 TG>4.0mmol/L 时不成立;其二,HDL-C 与 Apo A1 结果存在平行关系、LDL-C 与 Apo B 也存在平行关系。

知识点

生化分析的复检规则

当检测结果不符合待测物的构成逻辑关系时,应进行复检,例如:DBIL 高于 TBIL;HDL 与 LDL 之和高于 CHOL;ALB 高于 TP。出现违反逻辑关系的结果,应复检和检查测定体系,并应在 LIS 系统限制此类结果发出。

思路 2:血清 TG 水平升高,常是富含 TG、VLDL 和 CM 单独或混合升高。TG 的水平超过 2.3mmol/L 时,血清可以开始出现极轻度的雾状模糊,并随 TG 升高加深,最终出现脂血标本。

因此,通过观察血清外观可以获得许多有价值的信息,并判断与检测结果是否符合。脂血标本离心后或 4℃冷藏过夜前后对比,乳糜微粒可在血清表面形成一乳白色层。血中 TG、CM、VLDL 很高时,可以引发急性胰腺炎,提高冠心病发病风险,此时患者的血清常为重度脂血;肾病综合征的 TC、TG 水平明显升高,但此时患者的血清透亮无明显混浊,不出现脂血情况,原因不明;有时还可以提示一些罕见疾病,如免疫球蛋白 - 脂蛋白复合病,血清冷藏过夜后,免疫球蛋白和脂蛋白结合形成凝乳状或雪花状沉淀,怀疑有这些疾病时,血液形成凝块和分离血清的操作应在 37℃进行。

知识点

脂 血 标 本

由于光通过大的富含甘油三酯(TG)的脂蛋白散射形成的乳白色混浊,对生化多数项目,仪器的多个检测波长有明显影响。对血红蛋白、凝血、放射免疫、PCR 等检测结果均有不同程度影响。

学习笔记

思路 3：分层效应

脂蛋白中有很多相对密度（比重）不同的蛋白质和脂质，经超速离心后，相对密度（比重）从低到高分为 CM、VLDL、LDL-C、HDL-C。因而在待测脂类标本处理过程中，离心过快、过久，放置时间过长（过夜），均可能造成脂类血清在试管中的分层现象，自动化生化分析仪器吸样时，仅血清液面上层 2mm 左右处，因而造成脂类检测各项指标出现偏差。

【问题 5】脂血标本对临床结果的影响是什么？如何消除？

脂血标本是临床检验工作中常见的干扰因素，有必要在分析前采取措施筛选出这类脂血标本，进行检测前的预处理，消除干扰。测量方法有目测法和自动化仪器筛选。目测法成本低廉、简便易行，但无法区分细微差别、耗时、主观、不规范。自动化仪器筛选标本精度高、客观、快速，是将来的发展方向。

思路 1：脂血对生化检验项目的干扰机制主要由 CM 和 VLDL 不溶性悬浮微粒造成。主要原因包括：①光散射：目前大多数生化项目的检测采用比色或比浊等分析方法，乳糜微粒对光线有散射作用；②吸样量：血清中的溶液被不溶性的脂肪微粒代替，使吸样量减少，对大部分测试吸样量产生负误差；③增加标本内物质的极性和非极性，脂浊标本黏度增大及乳糜微粒的屏蔽作用，影响抗原抗体结合，对免疫比浊法产生干扰；④分层效应：使分析标本分布呈现非均一性，造成随机误差增大。

思路 2：消除脂血标本对检测项目的干扰

这要求处理方法简便易行且对大多数项目有效果。主要的消除方法有：①乙醚提取法：乙醚是不溶于水的有机溶剂，与血清混合后，可将血脂提取出来，但是处理后对部分项目不能排除干扰（表 13-5-1）；②沉淀法：磷钨酸 - 镁沉淀 CM 和 LDL 成分；③聚乙二醇（PEG）法：原理未明，结果发现除脂效果良好；④高速离心法：分离出 CM 层，吸下层血清，干扰明显减少，但测定 TC 和 TG 必定减少，TG 降低明显，此法不宜对这两项指标测定；⑤生理盐水稀释法：混浊程度不高时效果不理想；⑥干化学法：其基本原理是将肝素化全血加在干化学分析仪试剂有血浆分离层区上，当全血通过玻璃纤维层时，脂浊微粒可以被阻挡，因此可有效去除脂浊对生化测定的影响。对于这些方法，各有优缺点，应根据实际情况应用。

表 13-5-1　外观正常血清组与脂血混浊血清组经乙醚处理前后结果比较

脂血混浊	外观正常	检测项目	解释
有显著差异	无显著差异	T-BIL、D-BIL、ALT、TP、AST、HBDH、CK-MB、Cr	乙醚处理后更可靠
无显著差异	无显著差异	UA、AMY、ALP、TBA、CK、Mg	原血清检测可靠
有显著差异	有显著差异	ALB、Urea、P	不能用乙醚处理
无显著差异	有显著差异	ALB、GGT、LDH、Glu、Ca	不能用乙醚处理

此外，需加强实验室和临床相互沟通，了解是否存在引起脂血标本的药物治疗，例如，在静滴脂肪乳时采血送检，就可以造成脂血标本。应告之临床医生脂血标本对检测有很大影响，避免静滴脂肪乳时抽血送检。

（李　山）

第六节　心肌损伤检查

心血管系统疾病是现今发达国家的主要疾病和死亡的主要原因之一。心肌细胞可因急、慢性损伤而发生坏死，组织中的蛋白及心肌酶则释放进入血循环，临床将此类物质称为“心肌标志物”。检测患者心肌标志物有助于急慢性心血管系统疾病的诊断、危险度评估、疗效及预后判断。

学习笔记

病历摘要：

患者男，66岁，退休干部。因“上腹部疼痛2日”急诊入院。自述2日前无明显诱因出现上腹部疼痛，疼痛持续性，无反酸、嗳气，无恶心、呕吐，无明显胸闷及胸痛，到私人诊所就诊，诊断“消化性溃疡”，给予制酸药物等处理后上述症状无缓解，伴活动后气促，自觉呼吸困难，休息后症状稍改善，遂到医院门诊就诊。既往3年高血压病史，规律服药，未监测血压；半年前体检心电图正常。体格检查：体温36.3℃，脉搏90次/分，呼吸23次/分，血压177/89mmHg；神志清楚，急性病容，颈静脉正常，双肺未闻干、湿啰音，心界不大，心率90次/分，律齐，腹部查体未见异常，双下肢无水肿；心电图检查提示：窦性心律，V_1~V_3 ST段抬高0.05~0.3mv。心肌酶及肌钙蛋白结果如下：

××医院检验报告单

姓名：某某	病历号：××××××	临床诊断：冠心病？	标本种类：血清
性别：男	科别：心血管内科	申请医生：某某	标本编号：××××××
年龄：66岁	病房：×病房	备注：空腹采血	采集时间：××××-01-14-14：00

No.	检验项目	结果	参考区间	单位	No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	肌酸激酶(CK)	427↑	26~140	U/L	5	α-羟丁酸脱氢酶(α-HBDH)	303↑	78~182	U/L
2	肌酸激酶同工酶MB(CK-MB)	99↑	0~25	U/L	6	门冬氨酸氨基转移酶(AST)	176↑	0~40	U/L
3	乳酸脱氢酶(LDH)	397↑	109~245	U/L	7	血清肌钙蛋白I(cTnI)	12.95↑	0~0.03	ng/ml
4	乳酸脱氢酶同工酶(LDH1)	178↑	0~90	U/L	8	肌红蛋白(MB)	320↑	0~80	μg/L

接收者：某某	接收时间：××××-01-14-14：30	审核者：某某	审核时间：××××-01-14-0-16：00
检验者：某某	检验时间：××××-01-14-14：45	检测实验室：	×××× 医院检验科生化室

【问题1】从患者的临床症状、体征及相关检查结果看，该患者可能的诊断是什么？

根据患者临床表现、实验室及心电图检查结果提示，对该患者的诊断首先考虑为：冠状动脉粥样硬化性心脏病，急性前间壁心肌梗死。

思路1：老年男性患者，经按消化系统疾病处理后病情缓解欠佳，合并出现气促和呼吸困难。既往高血压病史，就诊时血压高，急性病容，心电图示胸导联ST段抬高，心肌酶六项结果均明显增高，心肌肌钙蛋白I(cTnI)12.95ng/ml和肌红蛋白(MB)320μg/L亦明显增高。支持冠状动脉粥样硬化性心脏病、急性前间壁心肌梗死诊断。

知识点

急性冠脉动脉综合征

急性心肌梗死(AMI)是急性冠脉动脉综合征(acute coronary syndrome，ACS)的表现之一，ACS主要是由于冠状动脉粥样硬化斑块破裂或血栓形成等，导致冠状动脉血流受阻并可急性加重，根据阻塞的部位、程度和持续时间不同，临床上ACS可表现为不稳定型心绞痛、猝死和AMI。多数ACS患者在发病早期会出现急性胸前区疼痛，或以胃部不适作为主要临床表现，多数ACS患者有典型的心电图改变，约有1/3的ACS患者无明显疼痛症状，约有40%的患者心电图无明显缺血异常表现，此时实验室检查对于ACS患者的诊断和治疗效果监测有着重要意义。

思路2：该患者高龄，有高血压病史，出现腹痛，应注意与相关疾病的鉴别，如消化性溃疡病、主动脉夹层、心绞痛等。该患者表现为仅为上腹部，临床表现不典型，应注意与消化道系统疾病进行鉴别诊断。

学习笔记

知识点

AMI 的鉴别诊断

典型的 AMI 临床表现为胸痛，疼痛的部位和性质与心绞痛相同，胸痛常为压迫、发闷或紧缩性。消化性溃疡可有剑突下或上腹部疼痛，有时向后背放射，可伴晕厥、呕血或黑便。急性胆囊炎可有类似 STEMI 症状，但有右上腹触痛。主动脉夹层表现为向背部放射的严重撕裂样疼痛伴有呼吸困难或晕厥，但无 AMI 心电图变化。心绞痛发作常有诱因，持续时间较短，1~5 分钟或 15 分钟以内，心肌坏死标志物如心肌酶不高，心电图无变化或暂时性 ST 段和 T 波改变。

【问题 2】心肌梗死实验室诊断时，如何正确使用血清心肌标志物指标？

心肌梗死诊断时常用的实验室检测指标是心肌酶和肌钙蛋白、肌红蛋白等，不同的指标，其生物学特性不同，应合理选择使用。

思路 1：心肌酶和肌钙蛋白等血清心肌标志物检测，可为心肌梗死和其他心肌损害有关疾病的诊断提供依据。AMI 诊断时常规采用的血清心肌标志物及其检测时间见表 13-6-1。

表 13-6-1　AMI 的血清心肌酶学和心肌蛋白变化

指标	开始增高时间（小时）	峰值时间（小时）	恢复正常时间（小时）	灵敏度 %	特异性 %
CK	3~8	10~36	72~96	—	—
CK-MB	3~8	9~30	48~72	17~62	92~100
LDH	8~18	24~72	144~240	—	—
LDH1	8~18	24~72	144~240	—	—
cTnI	3~6	14~20	120~148	6~44	93~99
MB	1~4	6~12	18~30	50~59	77~95

思路 2：心肌酶的特点

CK-MB 是肌酸激酶 MB 型同工酶，该同工酶在心肌细胞含量高，对判断心肌损伤的临床特异性较高，AMI 时其测定值超过参考区间上限并有动态变化（表 13-6-1）。虽然 AST 在心肌细胞活性最高，但其在肝细胞、骨骼肌和肾脏组织等活性也很高，心肌特异性差。LDH 及其同工酶广泛存在于机体的各组织中，其中以心肌、骨骼肌和肾脏含量最丰富，其次为肝脏、脾脏、胰腺、肺脏和肿瘤组织，红细胞中 LDH 含量也较为丰富。因此 LDH 及其同工酶对诊断具有较高的灵敏度，但特异性不高，而其 LDH1 心肌活性较高，具有一定特异性。

思路 3：肌钙蛋白是诊断心肌损伤最特异和敏感的首选标志物，AMI 发生后 3~6 小时开始升高，14~20 小时达到峰值，肌钙蛋白超过参考区间上限结合心肌缺血证据即可诊断 AMI。对于一些不能通过心电图改变判断，无临床典型症状的微小心肌损伤患者，cTnI/cTnT 的检测是目前最佳的辅助诊断指标。

知识点

心肌肌钙蛋白

心肌肌钙蛋白是肌肉收缩的调节蛋白。cTnT 及 cTnI 以复合物和游离的形式存在于心肌细胞胞质中，当心肌损伤时，cTnT 及 cTnI 便可释放入血液中。因此，检测 cTnT 及 cTnI 浓度变化可以反映心肌细胞损伤的程度，对诊断心肌缺血损伤的严重程度有重要价值。cTnI 对诊断 AMI 与 cTnT 无显著性差异，相对 cTnT 来说，cTnI 具有较低的初始敏感度和较高的特异性。

思路 4：肌红蛋白（MB）存在于心肌和骨骼肌中，血中 MB 含量增高提示有横纹肌损伤。MB 分子量小，在心肌损伤 1~4 小时开始升高，6~12 小时达峰值，是敏感的心肌损伤早期标志物，亦可用于心肌再梗死的诊断，胸闷、压榨性疼痛发生后 6 小时内 MB 浓度不增高可排除 AMI 诊断。由于其窗口期短，不适用于心肌损伤的回顾性诊断。鉴于其特异性不高，当挤压综合征、甲状腺功能减退和肾衰竭 MB 无法经由肾脏代谢时，亦见 MB 浓度升高。

知识点

心肌标志物的动态检测

部分心肌梗死患者心电图不表现 ST 段抬高，而表现为其他非诊断性心电图改变，常见于老年人及有心肌梗死病史的患者，因此血清心肌标志物浓度的测定对诊断心肌梗死有重要价值，临床上更强调对心肌损伤血清标志物浓度的动态监测。如果心电图无决定性诊断表现，但临床高度可疑，则应以血清心肌标志物动态监测 AMI。推荐于入院即刻、2~4 小时、6~9 小时、12~24 小时采血，要求尽早报告结果。如临床疑有再发心肌梗死，则应连续监测半衰期短的血清心肌标志物，如 MB、CK-MB 及其他心肌标志物等，以确定再梗死的诊断及发生时间。

【问题 3】如何合理使用 POCT，缩短心肌损伤标志物 TAT？

在 AMI 诊治中，缩短 TAT 尤其重要，早期发现心肌损伤有利于患者得到及时诊断和治疗，挽救患者生命。

思路 1：制定相应的急诊流程，加强对 TAT 关键节点（如接收、检测、审核、报告等）的监控，缩短 TAT，使患者得到及时、有效的治疗。实验室应根据随到随测的原则对心肌标志物进行检验，TAT 应小于 1 小时。为达到此标准，实验室从接受标本到检测报告发出一般不超过 40 分钟。

思路 2：使用 POCT 检验心肌损伤标志物是发展趋势，能明显缩短 TAT。POCT 仪器虽然可在患者床旁应用，但应注意 POCT 的管理或使用，建立 POCT 检测质量保证体系，完善室内质控和室间质评体系、仪器校准、方法学和结果的比对、操作人员培训和统一的报告形式。

知识点

美国 NCCLS 对 POCT 的规定

任何地方开设 POCT 必须接受政府部门审批，有规章制度、人员培训认可证书；每个 POCT 必须有书面标准操作手册，质量保证，质量控制措施，具体记录和检验科的协调等，认证后方可开展；必须参加政府指定的室间评价和质量评估，不合格者将取消其资格。

思路 3：大型自动免疫分析仪测定 cTn 多采用化学发光法，POCT 则采用生物传感器、电化学检测等多种方法，两者间存在较大差异。大型自动免疫分析仪化学发光法灵敏度高、准确性好，适于急性心肌梗死临床诊断和监测；POCT 法快速简便，但目前其灵敏度和准确性不够理想，只适于急诊检测和初步筛查。对于 POCT 应定期进行仪器间对比和评估，比较同一分析物不同测定方法间结果相关性是保证 POCT 的重点。

思路 4：全血适用于 POCT 仪器，对大多数生化或免疫分析仪则不合适。使用全血标本应注意其结果随血细胞比容的变化而变化，且各种抗凝剂对不同的检测方法影响程度不一。在使用 EDTA 时，cTn 的三元复合物（cTnT-I-C）或二元复合物（cTnI-C）会因钙离子被螯合而出现降解，出现游离体形式。肝素因携带正电荷，因此可与 cTn 游离体形成复合物而影响抗原 - 抗体的识别和结合，影响测定结果。实验室应注意按照仪器、试剂生产厂商的要求进行操作。要注意到血浆与血清的分析结果是不同的，尤其是 cTnI，用血浆或抗凝全血标本检测时，要评估抗凝剂对

学习笔记

测定结果有无影响。

思路 5：制定合理的心肌标志物“危急值”的报告限

报告限太低，加大工作量，浪费资源，降低效率，更重要的是降低了对“危急”的警惕性；报告限太高，则易漏诊，错过抢救时机，增加医疗风险。

【问题 4】实验室检测 cTn 和“心肌酶谱”时常见的方法学问题有哪些？

虽然各种检查心脏标志物的方法和技术不断提高，但仍存在各种问题，影响结果的准确性和一致性。

思路 1：cTn 检测方法及标准化

目前有多种检测 cTn 方法，例如：酶联免疫吸附法（ELISA）、化学发光法、酶联荧光分析法、金标银染法、质谱分析法、生物传感器等。由于 cTn 复杂的生物学特性，检测方法尚未完全标准化，质控体系不完善，校准品种类繁多，没有完整的参考系统为之溯源等原因，造成不同检测系统结果有较大的差异；同时，为缩短 TAT 时间，许多检测系统采用血浆或全血标本；抗凝剂的使用是否得当在一定程度上引起检测结果的差异。因此，不同测定方法的参考区间、分析变异、诊断和预后的临界值存在不同程度的差异，给临床应用和评价带来困扰。为保证实验室间测定结果的可比性，cTn 测定的标准化亟待解决，在抗体的制备、标准品和试剂等许多方面均需建立统一标准。

思路 2：POCT 仪器使用

虽然 POCT 设计时考虑到可在患者床旁应用，但在管理和使用上存在较大问题。cTn 受溶血和黄疸的干扰与其程度有关，可致假性降低；患者体内的异嗜性抗体则可引起肌钙蛋白假性增高。因此，应加强对 POCT 规范使用的管理。

思路 3：“心肌酶谱”自动生化分析

由于酶大量释放，使血中浓度急剧升高，酶活性可超过正常水平的几百倍甚至几千倍，超出仪器和试剂的检测线性范围。此时容易出现检测过程中的反应底物不足或耗尽，导致检测的血清酶活性远低于实际水平，检测结果出现负数或明显偏低，CK、CK-MB、AST 检测可出现这种情况。因此，自动生化分析仪应设置底物不足结果的提示或报警；结果审核时应对照历史结果，查看仪器的反应曲线，加强临床沟通，分析原因，手工稀释或仪器自动稀释进行复检。

思路 4：血清 CK-MB 活力假性增高，CK-MB 活性高于 CK 的现象也较为常见

CK 是由 B、M 两种不同亚基组成的二聚体，所以 CK 有三种同工酶即 CK-MM、CK-MB、CK-BB。CK-BB 主要存在于脑组织、胃肠道及子宫平滑肌中，脑组织中几乎全为 CK-BB，CK-MB 主要存在于心肌组织中，CK-MM 主要存在于骨骼肌组织中。正常人血清中几乎无 CK-BB 或极微量。理论上 CK-MB 的活性不可能大于 CK 活性。目前常用检测 CK-MB 的方法是免疫抑制法，出现 CK-MB>CK 的情况就是由这种方法的检测原理造成的。免疫抑制法是建立在忽略 CK-BB 基础上的，即用抗体将 M 亚基完全抑制，所以 CK-MM 会失去活性，测出的 CK-MB 活性，但如果存在 CK-BB 就会使结果偏高。因而，建议采用 CK-MB 质量法（CK-MB mass）测定 CK-MB，避免活性检测中可能遇到的干扰。

知识点

免疫抑制法检测 CK-MB 与 CK 不符的原因

1. 样本 CK-BB 的干扰因素　CK-BB 是 CK 中唯一随年龄变化的 CK 亚型，且在 1 周岁以内的幼儿水平最高。对于儿童来说，其 B 亚基在总 CK 中的比例较成人高（表现为 MB 亚型或 BB 亚型），因此采用免疫抑制法测定儿童 CK-MB 的绝对活性在总 CK 活性中可能出现倒置现象，出现此种情况需结合临床具体分析。当组织极度损伤等原因时，血清中含

学习笔记

有大量的 CK-BB 可致 CK-MB>CK。而人的脑组织中含有大量的 CK-BB，所以当 CK-MB>CK 时，有可能已经引起脑部损伤，这种情况尤其多见于新生儿窒息。

2. CK 偏高　当 CK 极度升高时，M 亚基无法完全封闭，此种情况亦会出现 CK-MB>CK。

3. 试剂盒应用的干扰因素　CK 校准品和质控品在大多数的复合校准品或质控品血清中均提供有其参考值，而 CK-MB 则由于其本身的不稳定性，市面上 CK-MB 的校准品或质控品较少见，且其价格昂贵，一般医院未使用 CK-MB 校准品和质控品，而是采用厂家试剂盒使用说明书提供的理论计算因子。在理论计算因子设置时，不同机型或相同机型不同维护状态的仪器间均存在差异，在没有较好的校准和质控系统来保证结果的有效性和可靠性的前提下，产生 CK-MB>CK 的现象也是存在的。

思路 5：CK-MB 质量法（CK-MB mass），以（ng/ml）为检测单位，是目前推荐的 CK-MB 检测方法，其测定原理是采用 CK-MB 的特异性单克隆抗体，高度特异地与 CK-MB 结合，这样避免了 CK-BB 或 CK-MM 等同工酶的干扰。在 ELISA 夹心法的放大作用下，用酶、荧光发光或电化学发光免疫学方法测定，较好的灵敏度和特异性均高于酶法测定 CK-MB。

（李　山）

第七节　电解质检查

体液中存在的离子称为电解质，它们都具有维持体液渗透压的作用，保持着体内液体的正常分布。其中主要阳离子有钠（Na^+）、钾（K^+）、钙（Ca^{2+}）和镁（Mg^{2+}），主要阴离子包括氯离子（Cl^-）、碳酸氢根（HCO_3^-）、磷酸根（HPO_4^{2-}，$H_2PO_4^-$）、硫酸根（SO_4^{2-}）以及有机阴离子如乳酸和蛋白质。钠是细胞外液的主要阳离子，维持细胞内外水平衡，钾是细胞内主要阳离子，正常钾离子浓度对维持神经肌肉兴奋性、心脏收缩性及节律性、血液酸碱平衡有重要作用。低钠血症（hyponatremia）、高钠血症（hypernatremia）、低钾血症（hypokalemia）和高钾血症（hyperkalemia）是临床常见电解质紊乱类型。

病历摘要：

患者男，28 岁，农民。因“乏力、多汗、体重下降 4 个月，双下肢无力 1 小时”急诊入院。自述 4 个月前无明显诱因出现四肢疲乏无力，伴怕热、多汗，严重时有软瘫，曾到外院就诊，查血钾 2.3mmol/L，予补钾后症状改善，未进一步诊治。上述症状常反复，体重下降约 7kg。1 小时前因进食较多甘蔗后出现双下肢乏力加重，不能行走，遂到医院急诊就诊。查体：体温 36.9℃，脉搏 110 次 / 分，呼吸 20 次 / 分，血压 120/70mmHg。神志清楚，消瘦，甲状腺Ⅱ度肿大，闻及血管杂音。双肺未闻干、湿性啰音，心界不大，心率 110 次 / 分，律齐，心音亢进。腹部查体未见异常。双下肢肌力 0 级，腱反射消失，病理征未引出。电解质检查结果如下：

×× 医院检验报告单

姓名：某某　　病历号：××××××　　临床诊断：甲亢并周期性瘫痪　　标本种类：血清
性别：男　　科别：急诊科　　申请医生：某某　　标本编号：××××××
年龄：28 岁　　病房：　　备注：空腹采血　　采集时间：××××-12-05-08：30

No.	检验项目	结果	参考区间	单位	No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	钾（K^+）	2.41↓	3.50~5.30	mmol/L	3	氯（Cl^-）	102.1	99.0~110.0	mmol/L
2	钠（Na^+）	138.2	137.0~147.0	mmol/L	4	总钙（Ca^{2+}）	2.30	2.08~2.60	mmol/L

接收者：某某　　接收时间：××××-12-05-08：10　　审核者：某某　　审核时间：××××-12-05-09：00
检验者：某某　　检验时间：××××-12-05-08：20　　检测实验室：　　×××× 医院检验科生化室

学习笔记

【问题1】该患者的初步诊断是什么？

根据患者临床症状、体征及实验室检查结果，该患者的诊断首先考虑甲状腺功能亢进症合并周期性瘫痪。

思路1：患者为青年男性，多汗、体重下降，高代谢综合征，体格检查甲状腺肿大、心率快。临床表现支持甲状腺功能亢进症诊断。为进一步确诊，可测定甲状腺激素等。

思路2：患者反复出现乏力，严重时双下肢软瘫，不能行走；发作时血钾降低，补钾后症状明显改善，考虑为低钾血症引起的周期性瘫痪。根据患者病情，周期性瘫痪为甲状腺功能亢进症引起，周期性瘫痪可反复发作。

知识点

甲状腺功能亢进症患者伴低钾性周期性瘫痪的原因

1. 甲状腺激素分泌增多，促使 Na^+/K^+-ATP 酶活性增加，导致细胞外 K^+ 经细胞膜转移至细胞内；同时甲状腺激素增加肾上腺能 β 受体对儿茶酚胺的敏感性，促进细胞摄钾，加速钾的利用。

2. 甲亢患者糖负荷或饱餐后血糖水平增高，以及甲状腺素导致的高糖血症倾向均可刺激胰岛 β 细胞分泌，血中胰岛素水平增高，致使糖氧化、分解、利用过程加速，细胞外钾迅速向细胞内转移，血清钾浓度降低。

3. 下丘脑自主神经中枢功能失调所致，故在情绪紧张、交感神经兴奋时易发作，此时甲状腺激素和肾上腺素大量释放。

4. 甲亢患者甲状腺激素升高可影响垂体 - 肾上腺轴，使得血中促肾上腺皮质激素和皮质醇水平升高，肾素、血管紧张素、醛固酮的分泌亦有升高，这些因素均可导致低血钾。

5. 甲亢性低钾性麻痹的发病与遗传免疫因素有关，且有明显的种族差异。

【问题2】临床上低钾血症常见病因有哪些？低钾血症与肌肉麻痹的关系是什么？

思路1：健康人血清钾浓度3.5~5.5mmol/L，人体总钾约50mmol/kg，其中98%在细胞内，仅2%在细胞外，血清钾通常指细胞外钾浓度。正常饮食可以满足机体对钾的需求，吸收的钾只有少部分被细胞利用，80%很快被肾脏排除。肾脏对钾离子的排泄，缺乏肾阈的限制，即使机体缺钾，肾脏仍继续排钾，即“多吃多排，少吃少排，不吃也排”。

思路2：低钾血症的原因主要有摄入不足、排出过多和钾从胞外向胞内转移

(1) 摄入不足：①禁食或厌食：肾脏的保 K^+ 功能较差，禁食或厌食超过1周可以发生低钾血症；②偏食：少数患者偏食，如仅食面包，其食物中含 K^+ 量极少；③营养不良，慢性酒精中毒，Crhon 病等。

(2) 排出过多：①消化道丢失过多：呕吐、胃肠引流，腹泻、通便过度；②肾脏失钾过多：渗透性利尿，高血糖、静脉滴注甘露醇等；噻嗪类、速尿等利尿药的使用；盐皮质、糖皮质激素过多；Bartter 综合征、Gitelmen 综合征；遗传性低血钾、高血压、先天性肾上腺皮质增生、Liddle 综合征等；③皮肤失钾过多：大量出汗，烧伤等。

(3) 钾向细胞内转移：①胰岛素和(或)葡萄糖的应用；②碱中毒；③家族性低钾性周期性瘫痪；④甲状腺功能亢进症；⑤使用钡剂；⑥细胞摄钾过多；⑦急性应激状态；⑧反复输入冷存红细胞；⑨某些药物如肾上腺素、麻黄碱类药物、支气管扩张剂等均促使 K^+ 向胞内转移而发生低钾血症。

思路3：血清钾 <3.5mmol/L 为低钾血症，低钾血症分为轻、中、重度，即血清钾 3.0~3.5mmol/L 为轻度低钾血症，2.5~3.0mmol/L 为中度低钾血症，<2.5mmol/L 为重度低钾血症。

学习笔记

思路 4：低血钾可引起神经肌肉系统的改变，血清钾 <3.0mmol/L 时，出现软弱无力，血清钾 <2.5mmol/L 时出现软瘫。若呼吸肌麻痹，则可引起呼吸困难。

思路 5：低钾血症的临床表现与细胞内外钾缺乏的严重程度相关，主要取决于低钾血症发生的速度、时限以及病因。血清钾 <2.5mmol/L 时症状较严重。应用利尿药、糖皮质激素发生的低钾血症多系逐渐形成，故临床表现一般不严重。若短时期内发生缺钾，则症状出现迅速，甚至引起猝死。

【问题 3】临床上测定电解质（K^+、Na^+、Cl^-）的基本原理是什么？

目前临床上普遍采用离子选择电极（ISE）分析法测定电解质浓度，如 K^+、Na^+、Cl^-、Ca^{2+}（离子钙）等。电解质分析仪、血气分析仪、自动生化分析仪（带 ISE 测定）、干式电解质分析仪等均采用电极法检测电解质浓度。此法最为突出的特点是选择性强，测定快速和简便，结果准确可靠，临床上已广泛采用。

ISE 是一类电化学传感器，它可以将溶液中的待测离子活度转换成电极电位，其关系符合能斯特（nernst）方程，即溶液中离子浓度的对数和电极的电位呈线性关系。

（1）所谓“选择”是指特定传感器只对特定离子敏感，如：钠电极只对溶液中的 Na^+ 敏感，而对 K^+ 和其他离子不敏感。电极的关键部分是敏感膜，敏感膜隔离开样品和电极内充液。当被测样品通过时，敏感膜“选择”特定离子的交换和扩散，产生电位和电流的变化，此变化被引出、放大，经仪器分析计算出样品中的离子浓度值。参比电极用于提供参考电位，通过参比液，提供一个测量电位差的参考值。测定电极与参比电极构成的电化学测量回路，选择性地测定溶液中特定离子的活度。

（2）电解质离子浓度测定采用标准液比较法进行分析：厂家通常配套两种标准液进行定标，计算斜率和确定基点，通过测量样品的电位得出相应电解质的浓度。

（3）ISE 法有直接电极法和间接电极法两种：直接法是标本不经稀释直接由电极测量；间接法是标本经一定离子强度缓冲溶液稀释后由电极测量。间接法比直接法电极干扰少，稳定，寿命长，但相对价格较高。

知识点

钾钠氯电极的特点

钾电极的离子选择性材料是含缬氨霉素的 PVC 膜，膜中配位点的直径与 K^+ 直径相同，配位发生的时候，膜的内部发生电压改变；钠电极是二氧化硅基质中氧化钠和氧化铝分子构成的玻璃膜，Na^+ 与玻璃钠电极水化外层经过离子交换；氯电极是 Ag/AgCl 的两相电极，电极表面银和氯离子有着平衡，当 Cl^- 接触电极，平衡遭到破坏，银离子的浓度发生变化，导致电极表面的电压发生变化。

【问题 4】如何对电解质分析仪维护保养？

按照厂家保养程序进行定期保养工作，主要是针对电极和管路保养。

（1）管路方面：血液中的蛋白、脂类、纤维蛋白及血凝块在吸样针、管路中积聚，造成阻塞，特别是吸样针的表面和内壁的污染，造成交叉污染，平时工作中极易忽视，应定期清洁和去蛋白，保持管路的通畅。

（2）电极方面：地线未接好；大功率电器开动或漏电（如离心机、电冰箱），造成电压波动；电磁干扰；电极内充液不足；管路和电极有气泡、漏气；电极膜板上吸附蛋白过多；电极老化。造成定标失败、电极漂移与失控。

（3）标本因素：在检测尿液标本（或其他高浓度电解质样品）时，尿液钾浓度高，会造成电极不稳定，应清洗后重新定标，方可检测血清标本。质量不好的分离胶试管，会使吸样针和电极表

学习笔记

面粘上分离胶，造成交叉污染，损伤电极。

知识点

电解质分析仪与血气分析仪检测结果的差异

许多血气分析仪也检测电解质，但与常规生化电解质分析仪检测的结果有差异。通常血气分析仪检测钾、离子钙浓度结果偏低，而钠、氯偏高，主要原因是：血气分析仪使用肝素钠抗凝全血，且从采集到检测的时间较短。故临床上应以常规电解质分析仪检测的结果为准，其参考区间也不应用于血气分析仪检测结果的判断。

【问题 5】血清总钙测定的原理和影响因素有哪些？

血清总钙和离子钙测定方法不同，其特点也不同。

思路 1：离子钙多采用钙离子选择性电极进行测定，而血清总钙主要采用甲基麝香草酚蓝比色法测定。血清总钙测定的基本原理：血清中的钙离子在碱性溶液中与麝香草酚蓝（MTB）结合，生成一种蓝色的络合物，与同样处理的钙标准液进行比较，可求出血清总钙的含量。加入适当的 8- 羟基喹啉，可消除镁离子对测定的干扰。

思路 2：影响总钙测定结果的外在因素

化学法测定总钙时，标本溶血会造成结果偏高；佩戴用碳酸钙粉制造的防护手套会在样品处理过程中造成污染，使测试结果偏高；实验水质要求高，仪器管道和反应杯如有微量钙污染即会影响测定；采样管含 EDTA、氟化物、草酸或枸橼酸的样品，这些物质会与钙螯合而使结果产生极为明显的负偏差，此外，接受 EDTA 治疗的患者血样也不能测试。

知识点

离子钙与总钙

血总钙分为游离钙和结合钙，三种存在形式：①离子钙占总钙的 45%~50%；②与蛋白质结合的钙占总钙的 40%~50%；③可扩散结合钙，是与柠檬酸、乳酸、草酸等有机酸根结合的钙，占总钙的 5%~10%。离子钙是钙的生理活性形式，许多重要的生理过程都与离子钙的浓度有关。离子钙比总钙更能反映病人的临床症状与钙代谢的关系，因此离子钙的测定比总钙更有意义。据大量实验研究证明离子钙与总钙之间没有相关性，严格来说，只有离子钙浓度和总钙浓度的摩尔比恒定时，才能根据离子钙浓度计算出总钙浓度。许多病例其离子钙比总钙浓度的变化并不平行，所以不能通过公式和简单的系数来相互换算。有些厂家的电解质分析仪器通过离子选择性电极测定离子钙自动换算成总钙，这样的结果是不科学的。

思路 3：蛋白质对总钙的影响

离子钙浓度与血浆蛋白质含量无关，而总钙直接受白蛋白的含量影响。白蛋白浓度大于正常时，总钙值随着白蛋白浓度增加而增加，结合钙增多，离子钙比例下降，总钙偏高；白蛋白浓度小于正常时，结果随白蛋白浓度下降，结合钙减少，离子钙在总钙中的比值增加，总钙偏低；血浆白蛋白明显下降，以致血清总钙量下降，但因游离钙不减少，所以临床上不出现缺钙症状，在一些白蛋白下降的肾病、肝病患者中总钙低于参考区间，在临床调查中并未发现有低钙的临床表现。临床上多采用总钙结果的报告形式，总钙测定在临床意义上有一定的局限性，为了准确对患者标本中钙作出有意义的评价，应将总钙测定量根据蛋白质情况予以校正得出实际钙，以克服蛋白质影响干扰临床的正确判断，在临床上应大力普及钙离子测定来替代目前以总钙评价患者体内钙。

思路 4：pH 值对检测结果的影响。

标本的 pH 对 K^+、Na^+、Cl^- 无明显影响，但对 Ca^{2+} 检测有较明显的影响。血液采集后，溶解于标本中的 CO_2 气体会释放到空气中，使血液 pH 变碱性，Ca^{2+} 与 pH 呈负相关关系：即 pH↑，Ca^{2+}↓。通常 pH 每改变 0.1 个单位，Ca^{2+} 变化 4%~5%。在一定范围内（pH 7.0~8.0）这种变化是呈线性的，所以可以通过公式来校正。新型的离子钙分析仪或血气分析仪多是在测定血清离子钙浓度的同时，测量血清 pH，再计算出 pH 7.4 时的标准化离子钙浓度。离子钙分析仪血清 pH 测定无临床意义，只是用来校正离子钙浓度。

【问题 6】假性高钾血症的分析前因素有哪些？

日常工作中，对血钾增高报告的审核常十分谨慎，因为高钾结果对临床诊疗行为有重大影响。因此，应排除各种非病理性增高的原因，保证检测结果和临床相符。

由于红细胞内 K^+ 是细胞外的 30 倍，标本溶血是假性高血钾主要原因。若血红素小于 300mg/L 时属非显性溶血，虽肉眼观察不到的溶血，但红细胞内 K^+ 已大量转移到细胞外液。分析前溶血因素涉及患者，样本采集、运送、处理、储存等。

思路 1：患者自身原因，包括情绪、血细胞（RBC、WBC、Plt）增多性疾病等

（1）患者情绪：患者对静脉采血恐惧，反应过激，过度换气 3~6 分钟可使 K^+ 迅速转移至血浆中，导致急性增高，约平均增高 1.2mmol/L。但过度换气持续 30 分钟后，机体通过 H^+ 和 K^+ 的交换来应对呼吸性碱中毒，K^+ 从细胞外转移到细胞内，K^+ 浓度降低。因此，护士采血前应消除患者恐惧和紧张心情，说明该项检验的目的及注意事项，平静状态下采血，患者紧张情绪对其他的检测项目也有不同程度影响。

（2）血细胞（RBC、WBC、Plt）增多性疾病：血液中的 WBC 和 Plt 也含有一定浓度的 K^+。血凝块形成时，WBC 和 Plt 脱颗粒释放 K^+ 入血清，WBC 和 Plt 明显增高时，可影响 K^+ 浓度。在审核 K^+ 报告前，应确认 WBC 和 Plt 的结果。在 RBC 增多性疾病中，血 K^+ 浓度与 HCT 呈负相关，也就是说，压积越大，细胞外液相对少，血 K^+ 浓度相对高。其中，Plt 的增高对血 K^+ 浓度的影响最大。但 RBC、WBC、Plt 的增多与血 K^+ 浓度不呈比例，无换算规律。使用肝素锂抗凝血进行测定，可以避免此类因素影响。

（3）遗传性疾病：家族性假性高钾血症，血液离体后，K^+ 极易被动从 RBC 漏出，检测结果不能反映体内水平，但该病极为罕见。

思路 2：标本采集因素是实际工作中最常见因素，造成的偏差也较大

（1）不规范采血：例如，值夜班护士提前采集第二天的标本；或采集后放置过久未及时送检；输液补钾时采血，甚至在输液端直接放血进试管送检；用 EDTA-K_2 抗凝管送检（表 13-7-1）等，均可造成血 K^+ 浓度明显增高，标本性状明显改变，还影响其他生化项目，出现荒诞结果。

表 13-7-1　某一抗凝血（EDTA-K_2）标本电解质检测结果

检测项目	结果	参考区间	单位	检测项目	结果	参考区间	单位
Na^+	135	135~145	mmol/L	Cl^-	86	98~108	mmol/L
K^+	23.7	3.5~5.5	mmol/L	Ca^{2+}	0.30	2.10~2.60	mmol/L

（2）采血技术因素：例如，在水肿、炎症部位采血；采血部位消毒剂干燥不完全；压脉带使用时间过长（超过 1 分钟）；采血时长时间紧握拳头；用力抽吸、反复穿刺和抽血时间过长；血液注入试管时力度过大、产生泡沫；注射器不密闭，针头过大过小和注射器不匹配等，以上因素均可造成不同程度的溶血。

（3）试管因素也可造成溶血：例如，试管内有水、清洗液等其他杂质污染；血液分装到不同添加剂（如 EDTA-K_2）试管时，未采用正确的分装顺序，造成交叉污染。

学习笔记

思路 3：标本的运送、处理和贮存因素

(1) 标本运送：收集标本超过 2 小时，K^+ 浓度增高。标本不能及时运送或送达后不能及时检测时，应在 1 小时内分离血清，并分装入另一试管；与尿液标本混送，造成血尿标本相互污染，不仅血 K^+ 浓度明显偏高，血和尿液的其他结果检验也出现极大偏差；运送过程的激烈振动、过冷（温度低于 15℃可人为使血 K^+ 浓度检测偏高）等。因此，标本运送应遵循及时、直立、密闭、避光、平稳、防冻等原则，此原则也适用其他临床化学检验血液标本的运送。

(2) 标本处理：不正确的标本离心时间、速度，离心速度过高，离心力过强，时间过久，离心时产热，造成 RBC 破裂而溶血。应按规范流程处理标本，减少在处理过程中改变标本的自身状态。

(3) 标本贮存：大多数医院将标本贮存于 2~8℃冷藏冰箱中，如不分离血清，会造成 K^+ 浓度增高；对于需要复查电解质的标本，应重新抽血及时送检重测。此外，血清与全血（或血浆）K^+ 浓度不同，因为血液凝固时 Plt 释放部分 K^+，所以血清的 K^+ 浓度稍高，因而采用全血测血气分析时（同时有电解质测定），应注意到两者的差别。

思路 4：样本溶血几乎影响所有生化检验结果的准确性。表现为以下几个方面：①细胞内外成分浓度差的干扰。细胞内含量高的血红蛋白、酶类、离子、有机物等，溶血后细胞内的物质顺浓度差溢出，使检测值明显高于非溶血标本；相反，红细胞内浓度极低的物质，如脂蛋白、胆固醇酯、钠等，溶血后细胞内液对血清的稀释作用，使测定值降低；②细胞内、外液成分之间反应的干扰；③血红蛋白对分光光度法测定中吸光度的干扰，在光谱的短波长段（300~500nm）吸光度明显增加；④某些细胞成分对化学反应的干扰，例如，溶血标本中血红素中的亚铁离子，可被试剂中的氧化剂氧化成为黄色的高铁血红素，对两点比色法造成干扰；⑤在磷的测定中，溶血标本中红细胞内磷酸酯被水解，使无机磷增加。

因而在审核判断高钾结果时，应注意结果与历史记录、与临床诊断和表现是否相符，加强与临床的联系沟通，排除各种非病理因素引起的假性升高，发出准确的报告。

知识点

病理性高钾常见的原因

1. 钾排除减少　如各种原因引起的少尿症、闭尿症、肾上腺皮质功能减退症、急性或慢性肾衰竭、肾小管排钾减少。

2. 细胞内钾外移　广泛软组织挤压伤、大面积烧伤，细胞膜损伤、细胞内钾外移；组织缺氧及酸中毒、休克时，氢离子从细胞外移入细胞内，同时钾由细胞内移入细胞外；口服或注射钾盐过多等。

3. 溶血性　新生儿溶血。

（李　山）

第八节　血气与酸碱分析

血气与酸碱分析在临床上简称“血气分析”。通常指用血气分析仪同时检测人体血液中的酸碱度（pH）、二氧化碳分压（PCO_2）和氧分压（PO_2）三项指标，并由此计算出实际碳酸氢盐浓度（AB）、标准碳酸氢盐浓度（SB）、二氧化碳总量（TCO_2）、氧饱和度（SO_2）、缓冲碱（BB）、剩余碱（BE）等诊断指标，以判断机体气体代谢和酸碱平衡状态的方法或过程。现有血气分析仪除了检测 pH、PCO_2、PO_2 等指标外，还可同时检测钾、钠、钙、血细胞比容、血红蛋白、葡萄糖、乳酸等项目。血气及酸碱分析已广泛应用于昏迷、休克、严重外伤等危急重症患者的临床抢救、手术监控、疗效的观察。

学习笔记

病历摘要：

患者男，24岁。因全身多处刀伤行“断臂再植术”后2天，出现呼吸困难、心率加快（146次/分），血压下降（90/61mmHg），RBC 1.85×10^{12}/L，Hb 54g/L，WBC 16.1×10^{9}/L，中性分叶粒细胞百分比0.88，K^+ 3.48mmol/L，Na^+ 142mmol/L，Cl^- 100mmol/L，HCO_3^- 15.7mmol/L，AG 23.3mmol/L。其血气与酸碱分析结果如下：

×× 医院检验报告单

姓名：某某　　病历号：××××××　　临床诊断：断臂再植术后　　标本种类：动脉血
性别：男　　科别：创伤骨科　　申请医生：刘某某　　标本编号：××××××
年龄：26岁　　病房：×病房　　备注：　　采集时间：××××-01-12-08:45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位	No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	pH	7.10↓	7.35~7.45		7	二氧化碳总量(TCO_2)	19.8↓	24~32	mmol/L
2	二氧化碳分压(PCO_2)	59↑	35~45	mmHg	8	标准剩余碱(BEecf)	−10.5↓	0.80~1.05	mmol/L
3	氧分压(PO_2)	20↓	80~100	mmHg	9	剩余碱(BEb)	−11.7↓	−3~+3	mmol/L
4	血细胞比容(Hct)	16↓	38~50	%	10	血氧饱和度(SO_2C)	16↓	92~99	%
5	实际碳酸氢根(HCO_3^-)	18↓	21.4~27.3	mmol/L	11	血红蛋白(Hbc)	5↓	12~16	g/dl
6	标准碳酸氢根(HCO_3Std)	16↓	21.3~24.8	mmol/L					
						备注：			

接收者：某某　　接收时间：××××-01-12-08:55　　审核者：某某　　审核时间：××××-01-12-09:05
检验者：某某　　检验时间：××××-01-12-09:00　　检测实验室：　　×××× 医院检验科生化室

【问题1】结合患者的临床资料，如何评价该血气分析报告单？

综合患者实验室检查结果，其血气及酸碱平衡分析结论为：急性失代偿呼吸性酸中毒伴高AG代谢性酸中毒伴代谢性碱中毒，Ⅱ型呼吸衰竭。

思路1：评价血液酸碱平衡状态的主要指标是pH、PCO_2、[HCO_3^-]。pH是判断酸碱度的指标，PCO_2是呼吸性酸碱失衡的指标，[HCO_3^-]是代谢性酸碱失衡的指标。血气分析常用指标、参考区间及临床意义见表13-8-1。

表13-8-1　血气分析常用指标及其参考范围、临床意义

血气分析指标		参考区间	临床意义
检测参数	酸碱度 pH	7.35~7.45	pH正常：①酸碱平衡；②存在酸碱平衡紊乱，可代偿；③存在强度相等的酸中毒和碱中毒。 pH<7.35提示酸中毒；pH>7.45提示碱中毒
	氧分压 PO_2	80~100mmHg	指血浆中物理溶解的O_2所产生的压力，为判断缺氧的敏感指标
	二氧化碳 PCO_2	35~45mmHg	指血浆中物理溶解的CO_2气体所产生的压力，为判断呼吸性酸、碱中毒的指标之一 ①<35mmHg，为低碳酸血症；②>45mmHg，为高碳酸血症
计算参数	二氧化碳总量 TCO_2	24~32mmol/L	指血浆中各种形式存在的CO_2总量，大部分(95%)是以HCO_3^-结合形式，为判断代谢性酸、碱中毒的指标之一 降低：见于代谢性酸中毒或呼吸性碱中毒； 增高：见于代谢性碱中毒时或呼吸性酸中毒
	实际碳酸氢盐 AB	22~27mmol/L，平均24mmol/L，健康人AB=SB	血浆实际[HCO_3^-]，即指“真正”血浆（未接触空气的血液在37℃分离的血浆）所含[HCO_3^-]
	标准碳酸氢盐 SB	22~27mmol/L，平均24mmol/L	标准条件下，37℃，PCO_2 5.32kPa(40mmHg)，Hb充分氧合测得的血浆[HCO_3^-]

学习笔记

续表

血气分析指标		参考区间	临床意义
计算参数	缓冲碱 BB	全血缓冲碱:45~54mmol/L，平均48mmol/L	指血液中所有具有缓冲作用的阴离子总和，包括 HCO_3^-、HPO_4^{2-}、血浆蛋白及 Hb 阴离子等，为判断代谢性酸、碱中毒的指标之一
	碱剩余 BE	-3~+3mmol/L，平均为 0mmol/L	指在标准条件下，即温度为 37℃、1 个标准大气压、PCO_2 40mmHg、Hb 完全氧合，用酸或碱将 1L 全血 pH 调至 7.4 所需加入之酸或碱量就是BE，为判断代谢性酸、碱中毒的重要指标。负值，提示代谢性碱中毒；正值，提示代谢性酸中毒
	阴离子间隙 AG	8~16mmol/L，平均12mmol/L	指血清中阳离子总数与测定出的阴离子总数的差值。AG 减低，提示代谢性碱中毒；AG 增高，提示代谢性酸中毒
	血氧饱和度 SO_2	92%~99%	与 O_2 结合的 Hb 占 Hb 总量的百分比

思路 2：血气分析结果的判断必须了解病史、原发病、给氧和通气、用药情况，结合电解质、氨基酸、糖、酮体、血红蛋白等其他指标，以及肺、肾功能状况进行综合分析，动态观察，才能作出正确判断。血气分析步骤如下：

(1) 首先核查所测结果：根据 Henderseon-Hasselbach (H-H) 公式评估，血气数值是否可靠。血液 pH 是判断酸碱平衡紊乱最直接的指标，pH 主要取决于碳酸氢盐缓冲系统。HCO_3^- 与 H_2CO_3 两者任何一方改变均能影响 pH 值，而且相互间可进行代偿性增高或减低，如二者同时按比例增高或减低，血液 pH 可维持不变。此患者的 PCO_2 59mmol/L、HCO_3^- 17.7mmol/L，根据 H-H 公式 $[H^+]$=80nmol/L，对应的 pH 约为 7.10，与血气检查结果一致。

知识点

Henderseon-Hasselbach 公式

pH=pKa+lg $[HCO_3^-]/[H_2CO_3]$，37℃，pKa（碳酸解离常数的负对数）为 6.1，正常人此缓冲系统比值为 24/1.2（即 20/1），因此 pH=6.1+lg24/1.2=6.1+lg20=7.4。另外，血浆中 H_2CO_3 可通过 PCO_2 进行运算，即：pH=pKa+lg $[HCO_3^-]/[aPCO_2]$ 式中 a 为 CO_2 溶解常数，37℃时 a 为 0.03mmol/L。

Kassier 将此方程式简化为：$[H^+]=24\times PCO_2/[HCO_3^-]$

(2) pH 判定酸中毒还是碱中毒：该患者 pH 7.1，为酸中毒。

(3) 原发因素判定呼吸性还是代谢性酸碱失衡：在 H-H 公式中，HCO_3^- 和 PCO_2 的比值较量决定着 pH 偏向。该患者 PCO_2 59mmHg，>45mmHg，提示呼吸性酸中毒；SB 16mmol/L，<24mmol/L，BE -11.7mmol/L，提示代谢性酸中毒。

(4) 继发变化判定单发性还是混合性酸碱失衡：PCO_2 和 HCO_3^- 两者中一旦某一项确定为原发因素，另一项则为继发变化。若二者变化方向相反，必为混合性酸碱失衡。若二者变化方向相同，可以使用预计代偿公式（表 13-8-2）计算。该患者 PCO_2 增高，HCO_3^- 降低，两者变化方向相反，提示为混合性酸碱失衡，呼吸性酸中毒合并代谢性酸中毒。

表 13-8-2　酸碱平衡紊乱代偿预计值

酸碱紊乱类型	代偿预期计算公式	代偿时间	代偿极限
代谢性酸中毒	$PCO_2=1.5\times[HCO_3^-]+8\pm2$	12~24 小时	10mmHg
代谢性碱中毒	$PCO_2=0.9\times(\Delta HCO_3^-)\pm5$	3~5 天	55mmHg
急性呼吸性酸中毒	$[HCO_3^-]=24+0.1\times(\Delta PCO_2)\pm1.5$	几分钟	30mmol/L
慢性呼吸性酸中毒	$[HCO_3^-]=24+0.35\times(\Delta PCO_2)\pm5.58$	5~7 天	42~45mmol/L

学习笔记

续表

酸碱紊乱类型	代偿预期计算公式	代偿时间	代偿极限
急性呼吸性碱中毒	$[HCO_3^-]=24-0.2\times(\Delta PCO_2)\pm2.5$	几分钟	18mmol/L
慢性呼吸性碱中毒	$[HCO_3^-]=24-0.5\times(\Delta PCO_2)\pm2.5$	2~3 天	12~15mmol/L

知识点

酸碱平衡与紊乱 pH、PCO_2 改变的方向及 HCO_3^-、BE 关系

酸碱紊乱类型	pH	PCO_2	HCO_3^-	BE	酸碱紊乱类型	pH	PCO_2	HCO_3^-	BE
呼吸性酸中毒	↓	↑	↑		呼吸性碱中毒	↑	↓	↓	
代谢性酸中毒	↓	↓	↓	↓	代谢性碱中毒	↑	↑	↑	↑

(5) PO_2 判定是否存在呼吸衰竭：PO_2<60mmHg 且 PCO_2 正常或下降，则判断为Ⅰ型呼吸衰竭；若 PO_2<60mmHg 且 PCO_2>50mmHg 则判断为Ⅱ型呼吸衰竭。该患者 PO_2 20mmHg，<60mmHg，PCO_2 59mmHg，>50mmHg，为Ⅱ型呼吸衰竭。

(6) AG 判断有无高 AG 代谢性酸中毒：如果 AG 升高，计算潜在 HCO_3^- 判断有无其他代谢性酸中毒或代谢性碱中毒。潜在[HCO_3^-]= 实测[HCO_3^-]+(实测 AG- 正常 AG 的均值)。如潜在 HCO_3^- 超过呼吸性酸中毒或呼吸性碱中毒的代偿值上限，表示体内 HCO_3^- 异常增高，高 AG 代谢性酸中毒合并有代谢性碱中毒。该患者 Na^+ 142mmol/L，Cl^- 100mmol/L，HCO_3^- 15.7mmol/L，AG=26.3mmol/L，>16mmol/L，为高 AG 代谢性酸中毒。潜在[HCO_3^-]=16+(26.3-12)=30.3，超过呼吸性酸中毒的代偿值上限，可判定为代谢性酸中毒合并代谢性碱中毒。

【问题 2】血气分析仪的基本组成和指标检测的基本原理？

血气分析仪虽然种类、型号很多，但其基本结构主要是由电极系统、管路系统及电路系统组成。血液在管路系统的抽吸下，进入样品室内的测量毛细管中。毛细管管壁上开有 4 个孔，分别插有 pH、pH 参比、PO_2 和 PCO_2 4 支电极，电极同时感测血液中 pH、PCO_2 和 PO_2，并将它们转换为电信号，电信号经过放大、模数转换后被送至计算机，计算机处理后将测量值和计算值显示并打印出来。电极对温度非常敏感，温度不同，电极的转换效率就不同。为保证转换精度，测量室的温度变化一般控制在(37±0.1)℃之间。

【问题 3】进行血气分析时，为何要输入温度、吸氧浓度等参数？

37℃和标准大气压是进行血气及酸碱分析的基本条件，温度和环境氧分压的变化将影响测定结果，造成读数变化，影响血气分析结果的正确判断。

思路 1：pH、PCO_2 及 PO_2 的温度校正

由于血液气体容积随患者的体温而有相当大的变动，而测定仪器的温度一般为 37℃，常与患者的体温不完全一致，因此必须将实测值根据患者的实际体温进行校正。

(1) 温度对 pH 的影响：温度升高，水的电离程度增大，[H^+]增大；而且已被其他物质缓冲的[H^+]也可能要重新游离出来，因此血液的 pH 值下降。温度每升高 1℃，全血的 pH 下降 0.0147。校正 pH= 血样 pH(37℃)+α，α 为 pH 校正系数，α=0.0147(37-T)。

(2) 温度对 PCO_2、PO_2 的影响：气体的溶解度随温度的上升而下降，分压上升。温度对 PCO_2 的影响为密闭标本中的温度每升高 1℃，PCO_2 上升 4.3%。校正 PCO_2= 血样 PCO_2(37℃)+β，β 为 PCO_2 校正系数，β=100.019(T-37)；温度对 PO_2 的影响为密闭的标本血红蛋白氧饱和度保持不变时，温度每升高 1℃，PO_2 上升 7.4%。校正 PO_2= 血样 PO_2(37℃)+γ，γ 为 PO_2 校正系数，γ=100.031(T-37)。

(3) 温度对氧解离曲线的影响：氧在血液中的运输有化学结合和溶解两种方式，以与 Hb 化

学习笔记

学结合的方式为主，占血液中总氧量的98.5%；物理溶解的氧量极少，只占1.5%。但在肺泡和组织进行气体交换时，均需首先溶解在血液中，再与Hb结合或释放。

知识点

Hb结构与载O_2能力

Hb分子由1个珠蛋白和4个血红素组成，珠蛋白有4条多肽链，每条多肽链与1个血红素连接构成Hb的单体，血红素上的Fe^{2+}能与1个O_2结合，故每个Hb分子可结合4个O_2分子。Hb的单体内部及之间以盐键链接，Hb与O_2的结合或解离将影响盐键的形成或断裂，使Hb四级结构的构型发生改变，Hb与O_2的亲和力也随之而变，此即为Hb的变构效应，它是Hb氧解离曲线呈S形的基础。

血氧饱和度是指血液中实际与Hb结合的O_2量与血红蛋白总量的比值。若以PO_2为横坐标，血氧饱和度为纵坐标，所绘制的曲线即为氧解离曲线。该曲线表示不同PO_2时，O_2与Hb的结合情况。通常用P50来表示Hb对O_2的亲和力，P50是使Hb氧饱和度达50%时的PO_2，正常为26.5mmHg。P50增大，表示Hb对O_2的亲和力降低，需更高的PO_2才能使Hb氧饱和度达到50%，曲线发生右移；P50降低，则表示Hb对O_2的亲和力增加，达50%Hb氧饱和度所需PO_2降低，曲线发生左移。

影响氧解离曲线主要因素：pH、PCO_2、温度及2,3-DPG。当温度升高时，Hb与O_2亲和力变低，氧解离曲线右移，释放出O_2；当温度降低时，Hb与O_2结合更牢固，氧解离曲线左移。

知识点

氧解离曲线特点

氧解离曲线近似“S”形，分为上、中、下段，与Hb的变构效应有关。

1. 氧解离曲线上段，曲线较平坦，相当于PO_2 60~100mmHg，说明在这段期间PO_2的变化对Hb氧饱和度影响不大。

2. 氧解离曲线中段，曲线较陡，是HbO_2释放O_2的部分。表示PO_2在40~60mmHg范围内，PO_2稍有下降，Hb氧饱和度下降较大，进而释放大量的O_2，满足机体对O_2的需要。

3. 氧解离曲线下段，相当于PO_2在40~60mmHg之间，曲线最陡，表示PO_2稍有下降，Hb氧饱和度就可以明显下降，使O_2大量释放出来，以满足组织活动增强时的需要。因此，该段曲线代表O_2的贮备。

思路2：吸氧浓度可直接影响PO_2值，临床判断时应考虑到吸氧对PO_2的影响。吸氧浓度的计算可用经验公式换算：吸氧浓度(%)=21+4× 氧流量(L/min)。

输入吸氧浓度，可计算出肺泡-动脉氧分压差、肺泡氧分压、动脉肺泡气(肺动脉)血氧分压比率、呼吸指数等参数。

【问题4】可以用静脉血进行血气分析检测吗？

血气及酸碱分析标本为全血，一般情况下采用动脉血，不建议采用静脉血，只有在动脉采血困难时才采用静脉血。静脉血受外周循环状态和细胞代谢的影响，不可用于评估呼吸功能，但可反映酸碱状态(pH、PCO_2、HCO_3^-)。

思路1：溶解在动脉里的氧和二氧化碳的浓度最接近肺泡中的氧和二氧化碳浓度，这样才能准确、间接地反映肺脏的功能，同时也可以间接地反映心脏的功能。动脉血液的气体含量几乎无部位差异，从主动脉到末梢循环都是均一的。静脉血里面的影响因素太多，无法准确地估计心肺功能的变化。所以血气分析需采集动脉血。

学习笔记

当循环功能不好时，动脉和中心静脉之间的 pH、PCO_2、HCO_3^- 差值会增大，提示预后不好。常压环境下，无论吸氧条件如何，PO_2>48mmHg 提示为动脉血。自然状态下 PO_2+PCO_2 应 <140mmHg。数小时内 HCO_3^- 变化 >5mmol/L，又缺乏原发的代谢失衡的证据，则提示 PCO_2 或 pH 的测量有误，见表 13-8-3。

表 13-8-3　动脉血气与静脉血气的区别

参数	动脉血气	静脉血气
PH	7.35~7.45	7.32~7.40
PO_2	>48mmHg	各处不一，25~45mmHg
PCO_2	35~45mmHg	40~52mmHg
HCO_3^-	22~27mmol/L	23~29mmol/L

思路 2：血气分析的样本类型有动脉血样本、静脉血样本、毛细血管血样本

(1) 动脉血样本：动脉血是血气分析中最常使用的样本类型，理论上全身任何动脉采集的动脉血都能用于血气分析，因其可提供氧吸收和运输的最佳信息，所得信息稳定，不因采样点不同而不同。任何易接近部位的动脉血管均可采用，如桡动脉、股动脉及肱动脉。桡动脉因其位置表浅，易于触及，周围无重要组织，又有非常良好的尺动脉侧支循环，深面为桡骨，易于压迫止血，在穿刺过程中如不触及骨膜，一般痛觉不敏感，临床最常用。肱动脉因其位置较深，周围结构复杂，损伤风险大，临床较少用。股动脉因其较粗且侧支循环不良，容易刺到股静脉，应避免在新生儿及老年患者身上采用。

(2) 静脉血样本：肱静脉便于采样。采血前，须先将手及前臂浸入 45℃水中 20 分钟，使该部位静脉血动脉化，然后从手臂（或手背）静脉抽血。一般不使用压脉带，只能缓缓吸取，以免产生气泡。如使用压脉带，则须在最初几秒钟抽血，不能屈曲手指或握拳。延长压脉带时间或活动肌肉，可使静脉 PO_2 降低，增加酸性产物的含量。

(3) 毛细血管血样本：指动脉化的毛细血管血，局部组织末梢经 45℃温水热敷 5~15 分钟，使循环加速、皮肤发红、血管扩张，局部毛细血管血液中 PO_2 和 PCO_2 值与毛细血管动脉端血液中的数值相近，此过程称为毛细血管动脉化。采血部位以手指、耳垂或婴儿的手、足跟及跗趾为宜。采血时穿刺要深，使血液快速自动流出，弃去第一滴血。不能挤压，以免混有组织液，还有可能导致红细胞破坏，血钾增高。

(4) 混合静脉血样本：可以通过肺动脉导管采集。采样前，应先放出一部分血，注入液体清洗导管死腔。采样时，血必须非常缓慢地由导管抽出，防止含氧充足的肺毛细血管血与静脉血回流混合。

【问题 5】如何做好分析前的质量控制，保证血气分析结果的准确性？

影响血气分析结果准确性的分析前因素包括患者状态、样本采集、抗凝剂、采血过程、标本运送等。

思路 1：患者状态

除紧急情况外，采血时应尽可能让患者处于安静、呼吸稳定状态，否则如果患者紧张、激动等均可导致换气过度，使肺泡通气量增加，造成 PCO_2 降低、pH 增加、PO_2 增加；另患者瞬间憋气，引起 pH 和 PO_2 降低，PCO_2 增加。采血前应停止吸氧 30 分钟。如果病情不允许，采血时要记录给氧浓度。当改变吸氧浓度时，要经过 15 分钟以上的稳定时间再采血。同样，机械通气患者取血前 30 分钟呼吸机设置应保持不变。

思路 2：样本采集

用来采样、肝素化的注射器或毛细管必须最大限度地接近容量，防止样品中存在过高浓度的肝素。目前，用于血气的采血器主要有：普通的塑料注射器、普通的玻璃注射器、专用的

学习笔记

血气采血器。

普通的塑料注射器，可通透氧分子，针筒与活塞之间摩擦力较大，采血时血液不能自行进入针筒，必须后拉活塞才能吸取血样，不推荐使用这样的注射器，应选用高压灭菌玻璃注射器或专用血气采血管；普通玻璃注射器内壁摩擦力小，易于抽取血气标本，但易破损且需消毒，而且在操作中易发生注射器乳头与针头衔接不紧密，如果在回抽注射器活塞时会带进些许气泡；推荐使用专用动脉血气采血器，可预设采血量，有自动排气功能，抗凝剂为经过处理的固态或喷雾态电解质平衡肝素锂，采用特殊改造聚丙烯材质有效减少通过塑料的氧气扩散，但因其价格因素影响了在临床上的普及使用。

思路 3：抗凝剂

肝素是一种含硫酸基团的黏多糖，带强大负电荷，对血液成分干扰少，不引起溶血，适合于血气分析标本的抗凝。国际临床化学和实验室医学联盟推荐血气标本中肝素的最终浓度为50IU/ml。

用于血气分析的肝素抗凝剂按形态分为：液态、固态、喷雾态，液态肝素主要是用于自制血气采血管，成分为肝素钠，虽可快速与标本融合，但会造成样本稀释，也会影响钠的检测。现已逐步用肝素锂取代肝素钠，对肝素的处理包括滴定钙、低肝素或者是电解质平衡肝素锂。

不管怎样，临床采集标本时要注意标本的量与抗凝剂是否符合，抗凝剂少了会使血液凝集，堵塞血气分析仪的流路系统，抗凝剂多了会影响血气和离子的检测结果，高浓度的肝素钠和锂会使离子钙的检测值稍偏低，误导临床。

思路 4：采血过程

血气标本必须隔绝空气，大气中的 PO_2 159mmHg，比动脉高 60mmHg，比静脉高 120mmHg。血液如暴露于空气中，会使 PO_2、pH 增高，PCO_2 降低。而当患者进行吸氧治疗时，可能会使 PO_2 降低。抽血中出现的气泡，抽血后需立即排出，再将针头插入橡皮塞中。理想的血气标本，气泡应 <5%。采样后立即将样本同肝素混合，混合样本时需颠倒注射器，并将其在手心中转动至少 30 秒。混合毛细管血时可使用磁铁。混合时避免过于用力，以免引起溶血。

思路 5：标本运送

血液离体后，还在不停地进行新陈代谢，这会使 pH、PO_2 降低，PCO_2 增高。pH 下降是因为血细胞糖酵解，产生乳酸所致。新采的血标本，pH 的下降速率为 37℃时 0.04~0.08/ 小时，25℃时 0.03/ 小时，4℃时 0.008/ 小时；PCO_2 增加为 37℃时 0~5/mmHg，2~4℃时，仅为 37℃时的 1/10；正常压力下，新抽出的血液，在隔绝空气状态下，细胞呼吸导致 PO_2 下降，速率为 37℃时 4~12/mmHg，25℃时 2~6mmHg。若不能立即测定，应将血气注射器保存在冰水混合物容器内，用以减缓代谢过程，但即使这样待测时间也不宜超过 1 小时。

【问题 6】血气检测过程中，如何保证检验质量？

积极开展血气分析室内质量控制。

思路 1：制订标准化操作程序：①排除注射器内所有的空气；②混匀样本：注射器反复颠倒至少 5 次，在手掌间来回滚动至少 5 次。血细胞有自然沉降的趋势，如不完全混匀会影响所有的参数，其中血细胞比容以及血红蛋白是最先受到影响的参数；③检查血凝块的存在：去掉注射器针头，滴出 1 或 2 滴血样在纱布垫上，如果疑有血凝块，再采集一份标本；④立即分析样本：放置好样本使进样器既接近又不会碰到注射器活塞底部，对于毛细管样本，放置毛细管使其适合进样器采样。

思路 2：仪器的质量控制

血气分析仪可按样式分为手持式和台式，按自动方式分为半自动和全自动，按原理分为干式和湿式。不同仪器、不同型号，各有不同设计原理及程序，对仪器的保养及维护需严格按照说明书执行。现有仪器将所有电极、定标液、废液包包含设计在一个可抛弃的分析包内，使用完毕

学习笔记

即可抛弃。中间无须更换元件，无须特殊保养，减轻了操作者的工作。

目前使用的血气分析质控物主要有水溶性控制物、全血、人造氟碳化合物乳剂等。目前使用最多的是水剂缓冲液，该质控物具有稳定、使用方便等优点。

知识点

血气分析质控物

人造血氟碳化合物乳剂与人血相似且较稳定，易于贮存。振摇、开启后，质控液表面含一层泡沫样的氟碳化合物可使质控液与空气隔绝，至少 3 分钟内不至于造成气体组分的改变。人造血氟碳化合物乳剂气体含量受温度影响小，但表面张力和密度与血液不完全一样，可能会受到一定类型的 pH、血气和电子传感器的功能性干扰，导致其产生错误的结果。人造血氟碳化合物乳剂有三种浓度：全部正常、碱血症 + 低 PCO_2+ 高 PO_2、酸血症 + 高 PCO_2+ 低 PO_2。

水溶性质控物，含有缓冲介质和混合气体，密封在安瓿中。缓冲液的类型和浓度以及溶液的 pH 决定了缓冲能力。水溶性质控物受温度影响较大，pH 随温度上升而上升。水溶性质控物因为黏度、表面张力和电传导性与血液有差异，因此液体质控不能诊断出发生在血气分析仪中的特定问题。例如，在某些情况下，这些溶液的温度系数很低，而且可能检测不出来样品池中的温度问题。水溶性质控物有三种浓度：正常、碱血症 + 高氧血症、酸血症 + 低氧血症。

使用血气质控物时应注意：①按照规定条件贮存质控物，使用时应室温平衡，因为质控液中的气体分压会随着温度变化而改变；②按规定时间振摇质控物，使气相与液相重新平衡；③开启安瓿后应立即检测，再观察结果是否失控，如在质控范围内，表明该仪器处在正常运转状态，可以用于标本检测；如果偏离参考范围，查明原因并排除后再测；④过期及无参考范围说明书的质控物不能使用，因为每个批号质控物的参考范围存在一定的差异。

学习笔记

知识点

质控和校准频率

对于 pH 和血气分析，美国临床实验室改进修正法案最终规则规定实验室应根据厂家说明书和推荐的最少次数进行校准，每隔 8 小时检测一个质控品，每天应检测低、高值质控品；电解质和代谢物每 24 小时需要 2 次质控；血细胞比容每 8 小时需进行 2 次质控。实验室负责人有责任制订一个可接受的质量控制程序，这个程序应该达到审查机构和实验室用户的要求。

针对传统的质量控制，有仪器公司推出了智能质量控制管理系统，是一个基于统计学原理设计的程序，血气分析仪能实时、自动查出系统错误，自动纠正，自动记录，并自动生成质控报告，通过软件、过程控制液和校准确认品的组合作用，达到取代常规外部质控。

思路 3：审核血气分析检验报告前，应分析各数据的内在关联性，注意临床诊断与检验结果的符合性，如有明显矛盾，应及时复查，联系临床医生共同探讨可能的原因。

（李　山）

第十四章 临床免疫学检验

免疫(immunity)是机体接触“抗原性异物”或“异己成分”的一种特异性反应,是机体识别和排除抗原性异物,维持内环境稳定的重要功能。机体受抗原刺激后,免疫系统对抗原分子的识别、活化、增殖、分化、免疫分子形成和失去活化潜能,表现出生物学效应的过程,即为免疫应答(immune response)。健康个体的免疫系统能对各种外来抗原产生免疫应答,保护机体免受病原微生物的侵袭,同时,正常成熟的免疫系统能辨别“自我”(self)与“非我”(non-self),不对自身组织产生免疫应答,或仅产生微弱的不造成机体组织受损的免疫应答,即自身免疫耐受(autoimmune tolerance)。但当机体的自身抗原结构改变或微生物感染引入交叉抗原和(或)具有一定的遗传背景等情况下,机体自身耐受的机制和调控被破坏,产生针对自身成分的自身抗体(autoantibody)和(或)自身反应性T淋巴细胞(autoreactive T lymphocyte),对自身组织产生免疫应答,造成组织和器官的病理损伤,即自身免疫性疾病(autoimmune disease)。通过对人体免疫功能的了解可评估机体的免疫状况及对疾病如感染性疾病等的抵抗能力,通过检测人体血清中的自身抗体和与自身免疫相关的成分,可为临床提供自身免疫性疾病诊断的实验室依据。

人体遭受病原体侵袭而发生感染性疾病时,机体会针对致病微生物产生免疫应答,血清和(或)体液中出现相应抗体和病原微生物的相应抗原成分,通过临床免疫学检查,可了解机体对病原体的免疫状况;患者血清中的病原体抗原或抗体等成分检测,是临床诊断感染性疾病和治疗效果观察的重要依据。

本章主要以案例分析的形式介绍检验技术在免疫功能评估、病原体感染、病毒性肝炎、自身免疫性疾病实验室诊断中的应用,以及肿瘤标志物检测技术的应用。

学习笔记

第一节 免疫功能试验

免疫功能是维持人体健康的重要功能。当免疫系统因各种因素导致功能紊乱或功能不全而发生对外来抗原不应答,或过度应答,或对自身组织应答,都可能导致相应的病理过程而发生疾病。目前临床常规的免疫功能试验主要是体液免疫功能检查(包括免疫球蛋白和补体的检查)和细胞免疫功能检查,后者主要为淋巴细胞免疫表型检查,常用检测项目有T细胞亚群如CD3、CD4、CD8,NK细胞检查和B细胞功能的检查。

病历摘要1:

患儿男,7岁。因流涕、发热、咳嗽就诊。家人述患儿出生后6个月内很少出现感冒发热等症状,但1岁左右开始反复发生呼吸道感染,已多次入院治疗,前1个月还因支气管炎住院治疗。体液免疫功能检查如下:

某医院免疫检验报告单

姓名：某某　　病历号：××××××　　临床诊断：　　标本种类：血清
性别：男　　科别：儿科　　申请医生：某某　　标本编号：××××××
年龄：7岁　　病床号：　　备注：空腹采血　　采集时间：××××-05-22-08：35

No.	检验项目	测试结果	参考区间	单位	No.	检验项目	测试结果	参考区间	单位
	免疫球蛋白 G	3.30	5.0~10.6	g/L		补体 C3	0.86	0. 85~1.93	g/L
	免疫球蛋白 A	0.21	0.34~1.38	g/L		补体 C4	0.14	0. 12~0.36	g/L
	免疫球蛋白 M	0.41	0.44~1.44	g/L					

接收者：某某　　接收时间：××××-05-22-08：50　　审核者：某某　　审核时间：××××-05-22-12：02
检验者：某某　　检验时间：××××-05-22-11：01　　检测实验室：　　某医院检验科免疫室

【问题】依据该患儿的实验室免疫功能检查结果结合临床表现，倾向于何种实验室诊断？

提示免疫功能发育迟缓或不全，导致反复发生呼吸道感染。

思路 1：免疫球蛋白 IgG 可通过胎盘从母体进入胎儿体内，故新生儿及至 6 个月内的婴儿都不容易发生感染性疾病，随着从母体获得的免疫球蛋白逐渐衰减至消失，半岁后的小儿容易发生呼吸道的感染。婴儿出生后 3 个月开始合成 IgG，3~5 岁接近成人水平，因此随着婴儿的免疫系统功能逐渐发育完善，抵抗力增强，呼吸道感染的概率降低。

思路 2：该患儿已 7 岁，免疫球蛋白应为：IgG 5.0~10.6g/L，IgA 0.34~1.38g/L，IgM 0.44~1.44g/L，该患儿补体含量尚正常但免疫球蛋白三项指标都低于同龄儿童水平。

病历摘要 2：

患儿男，12 岁。因发热、咳嗽、气促就诊。母亲主诉患儿自半岁始几乎每月感冒一次，还发生过细菌性痢疾等感染性疾病，已多次入院治疗，既往有荨麻疹病史。体格检查：呼吸 67 次 / 分，右肺下部可听到细湿啰音。免疫功能检查如下：

某医院免疫检验报告单

姓名：某某　　病历号：××××××　　临床诊断：　　标本种类：血清
性别：男　　科别：儿科　　申请医生：某某　　标本编号：××××××
年龄：12 岁　　病床号：　　备注：空腹采血　　采集时间：××××-05-22-08：35

No.	检验项目	测试结果	参考区间	单位	No.	检验项目	测试结果	参考区间	单位
	免疫球蛋白 G	2.13	6.36~14.04	g/L		补体 C3	0.35	0.85~1.93	g/L
	免疫球蛋白 A	0.10	0.63~1.79	g/L		补体 C4	0.11	0.12~0.36	g/L
	免疫球蛋白 M	0.21	1.22~2.56	g/L					

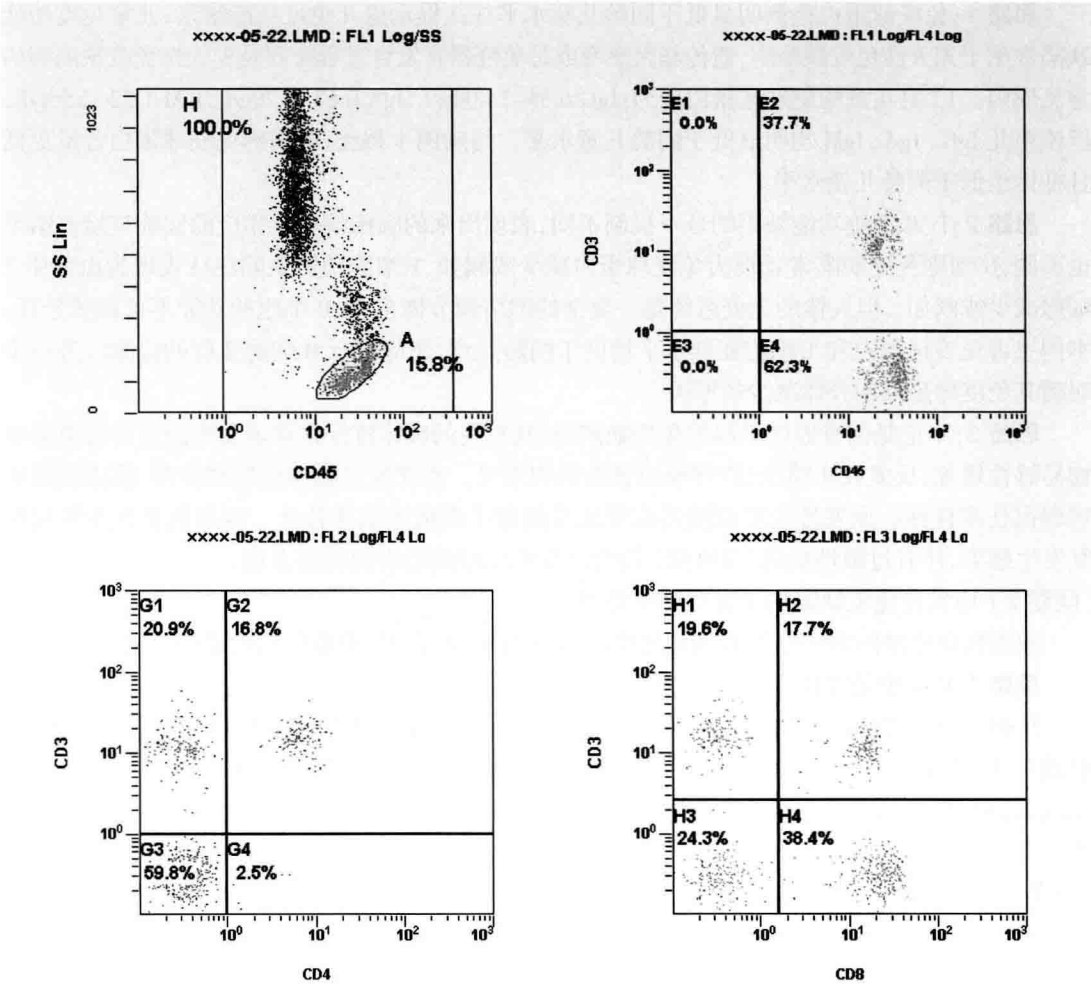
接收者：某某　　接收时间：××××-05-22-08：50　　审核者：某某　　审核时间：××××-05-22-12：02
检验者：某某　　检验时间：××××-05-22-11：01　　检测实验室：　　某医院检验科免疫室

某医院流式细胞仪检测报告单

姓名：某某　　病历号：××××××　　临床诊断：　　标本种类：EDTA 抗凝全血
性别：男　　科别：儿科　　申请医生：某某　　标本编号：××××××
年龄：12 岁　　病床：　　备注：空腹采血　　采集时间：××××-5-22-08：35

No.	检验项目	检验结果	参考区间	单位	No.	检验项目	检验结果	参考区间	单位
	$CD3^+$(%)	37.7	61.1~77.0	%		$CD3^+CD8^+$(%)	17.1	18.1~29.6	%
	$CD3^+CD4^+$(%)	16.8	25.8~41.6	%		$CD4^+/CD8^+$(比率)	0.95	1.57~2.93	%

学习笔记



接收者：某某	接收时间：××××-5-22-08：50	审核者：某某	审核时间：××××-5-22-14：10
检验者：某某	检验时间：××××-5-22-09：00	检测实验室：	某医院检验科血液室

【问题1】依据该患儿的实验室免疫功能检查结果并结合临床表现，综合分析倾向于何种实验室诊断？

患者各种免疫球蛋白、补体和T淋巴细胞亚群均低于参考区间下限，无明确的引发后天免疫缺陷的因素，提示免疫功能发育严重迟缓或可能为原发性免疫缺陷病。

知识点

免疫缺陷病

机体对病原微生物感染侵袭的有效防御依赖于免疫系统的功能正常，免疫器官及免疫细胞的发育不良或重要免疫分子基因的突变、表达障碍等均可导致T、B淋巴细胞，吞噬细胞及补体等免疫系统重要成分的功能缺陷，使得机体免疫功能低下，所导致的疾病统称为免疫缺陷病（immunodeficiency disease，IDD）。遗传因素或先天性免疫系统发育不全引起的免疫缺陷称为原发性免疫缺陷（congenital or primary immunodeficiency），后天因素所造成的免疫缺陷称为获得性或继发性免疫缺陷（acquired or secondary immunodeficiency），应用免疫抑制剂、糖尿病、癌症放射治疗和化疗等是继发免疫缺陷的常见原因，HIV感染是最重要的继发性免疫缺陷病。

学习笔记

思路 1：免疫球蛋白检测明显低于同龄儿童水平往往提示患儿免疫功能缺陷，儿童免疫功能缺陷常见于先天性免疫缺陷病，遗传基因突变或是免疫器官发育过程障碍是先天性免疫缺陷病的常见原因。12 岁儿童的免疫球蛋白应为：IgG 6.36~14.04g/L，IgA 0.63~1.79g/L，IgM 1.22~2.56g/L，但该患儿 IgG、IgA、IgM 均明显低于同龄儿童水平。与病例 1 相比，该病例免疫球蛋白含量更低且补体也低于同龄儿童水平。

思路 2：T、B 细胞功能缺陷的分子机制不同，表现出来的临床特征及相应的实验室检查结果也不同，B 细胞免疫缺陷常表现为免疫球蛋白减少或阙如，T 细胞功能缺陷往往表现为血液中 T 细胞减少或阙如。但人体的免疫系统是一复杂的网络调节体系，T、B 细胞的功能不可截然分开。本例患者免疫球蛋白和 T 细胞亚群水平均低于同龄儿童，还应进行 B 细胞亚群的检测以进一步明确其免疫球蛋白和补体减少的原因。

思路 3：不论是何种原因引起的免疫缺陷病，其重要的临床特征常常表现为患者对病原微生物易感性增加，反复发生感染，以呼吸道感染最为常见。常伴发过敏性疾病和肿瘤，临床表现和病理损伤多样性。原发性免疫缺陷多在婴幼儿期即出现前述临床特征。本案例患儿半岁起反复发生感染，伴有过敏性疾病（荨麻疹），符合原发性免疫缺陷病的临床表现。

【问题 2】原发性免疫缺陷病主要有哪些类型？

原发性免疫缺陷病可分为 B 细胞免疫缺陷、T 细胞免疫缺陷和联合免疫缺陷。

思路 1：B 细胞免疫缺陷

是由于先天性或遗传性的原因造成 B 细胞发育缺陷或对 T 细胞传递的信号不能产生有效应答而致抗体生成障碍。B 细胞免疫缺陷主要有 X 连锁无丙种球蛋白血症（X-linked agammaglobulinemia，XLA）及选择性免疫球蛋白缺陷病等；X 连锁无丙种球蛋白血症是常见的 B 细胞免疫缺陷病，是 X- 连锁隐性遗传病，患者骨髓中前 B 细胞数量正常，外周血和淋巴组织中 B 细胞减少和阙如，淋巴器官缺乏生发中心，表面 Ig 阳性 B 细胞（SIg^+B）显著下降，几乎检测不到浆细胞，血清中各型免疫球蛋白均处于极低水平或检测不到。T 细胞数量和功能可正常。

思路 2：选择性免疫球蛋白缺陷病

通常指一类或几类 Ig 减少或阙如，其他类免疫球蛋白正常或增多。常见的有选择性 IgA 缺陷、IgG 亚型缺陷及伴 IgM 增多的 Ig 缺陷：①选择性 IgA 缺陷是最常见的原发性免疫缺陷。选择性 IgA 缺陷可伴有 IgM 和（或）IgG 升高，IgG_2 和 IgG_4 缺乏，IgG_1 和 IgG_3 升高，因 IgG_2 和 IgG_4 两个亚类在总 IgG 中只占很小的比例，故 IgG 总量可无明显异常，IgG_1 和 IgG_3 升高可致 IgG 总量升高。约半数患者伴 IgE 缺乏。该病半数以上患者可无症状且临床表现多样化，患者 IgA 水平通常低于 0.05g/L，T 细胞数量和功能正常。血清 IgA 缺陷几乎总伴有分泌性 IgA 缺陷；②IgG 亚型缺陷常伴有选择性 IgA 缺陷，如为 IgG_2 和 IgG_4 缺陷，因这两个亚类在总 IgG 中所占比例较小，常规检测不容易发现。当有抗体缺陷综合征的临床表现而血清 Ig 水平正常时，应注意是否存在 IgG 亚型缺陷。中国儿童 IgG 亚类缺陷以 IgG_3 为主，可无症状或表现为反复呼吸道感染。③伴 IgM 增多的 Ig 缺陷绝大多数为男性患者，发病机制可能为 IgM/IgD^+B 细胞转换过程受阻，B 细胞分化停留在表达 IgM 水平。该病的特征是血清中无或仅有少量 IgG、IgA 和 IgE，同时伴有多克隆 IgM 增高。外周血 T、B 细胞数正常，无生发中心，细胞免疫功能可正常。病人反复发生化脓性感染如扁桃体炎、中耳炎、副鼻窦炎等。对细菌和多种条件致病菌易感。用免疫球蛋白替代治疗是其主要治疗方法。

思路 3：T 细胞免疫缺陷

真正单一的 T 细胞免疫缺陷病少见，T 细胞免疫缺陷主要影响细胞介导的免疫应答功能，因 $CD4^+$ 的减少，体液免疫应答功能缺陷，免疫球蛋白可正常，但对外来抗原不能产生特异性抗体。T 淋巴细胞总数减少，尤其当其缺陷是由于 T 淋巴细胞在胸腺发育阶段异常或发育不全所致时，血液中 T 细胞减少或阙如是其特征。临床表现有易发生移植物抗宿主病（GVHD）和其他免疫

学习笔记

缺陷的共同临床特征。DiGeorge 综合征或先天性胸腺发育不全是这类免疫缺陷病的典型例子。

思路 4：联合免疫缺陷病（combined immunodeficiency disease，CID）：同时涉及 T 和 B 细胞的免疫功能异常，是对人体免疫系统影响最大的免疫缺陷病，患者对细菌、病毒和真菌都易感。常在婴幼儿期因反复感染而致命，也可因接种某些减毒活疫苗引起全身严重感染而死亡。免疫功能检查可出现多项指标异常。

【问题 3】常用于免疫球蛋白和补体测定的技术有哪些？各有何优势和缺陷？

免疫球蛋白的检查方法主要有免疫透射比浊法、免疫胶乳比浊法和免疫散射比浊法，各有优势和不足。

思路 1：免疫透射比浊法

原理：抗原抗体反应形成免疫复合物，使介质浊度发生改变，光线通过该溶液时，被其中的免疫复合物微粒吸收，在保持抗体过量的情况下，吸光度（A 值）与免疫复合物量呈正相关，由此确定标本中抗原的含量。

优势：透射比浊法比传统的免疫扩散法灵敏度有所提高，重复性好，结果准确，操作简便，且能用全自动或半自动生化分析仪进行检测。

缺陷：抗体需用量大，需要足够大的抗原 - 抗体复合物分子和足够的数量以阻挡光线的通过，才能使浊度的变化影响到透光率改变，否则检查结果将出现较大误差；透射比浊在抗原 - 抗体反应的第二阶段即抗原抗体反应达到平衡后进行测定，耗时较长。

思路 2：免疫胶乳比浊法

原理：当抗体致敏的胶乳颗粒遇到相应抗原时，抗体与抗原特异结合，胶乳颗粒凝聚。分散的单个胶乳颗粒直径位于入射光波长之内，不阻碍光线通过，当两个或两个以上胶乳颗粒凝聚时，透射光和散射光即出现明显变化。采用透射比浊法或散射比浊法测定抗原抗体反应后溶液吸光度或散射光强度，光强度与待测抗原浓度呈正相关，由此确定标本中抗原的含量。

优势：将胶乳颗粒作为载体，提高了免疫浊度测定的灵敏度，增加了反应浊度。敏感度可达 ng/L 水平，明显高于普通比浊法，且操作简便，易自动化，目前已有自动化检测的仪器。

缺陷：血清中的类风湿因子（RF）与 IgG Fc 段结合出现非特异性凝集现象和致敏胶乳自凝以及抗体活性降低等都会影响结果的准确性。

思路 3：免疫散射比浊法

原理：一定波长的光沿水平轴照射，通过溶液时，其中的免疫复合物微粒对光线产生反射和折射而形成散射光，散射光强度与微粒（免疫复合物）的大小、数量密切相关，测量散射光的强度即可计算出待测抗原的浓度。

由于可溶性抗原与相应抗体反应生成的免疫复合物颗粒可由小变大，且颗粒大小随抗原抗体的比例、浓度等变化，散射光强度也会随之变化，因此，很难用固定的公式来计算散射光的强度，通常取适当的角度测量散射光强度。基于该原理的主要有以下两种方法。

（1）定时散射比浊法：定时散射比浊法是在保证抗体过量的情况下，加入样本（含待测抗原），抗原抗体结合反应开始，因抗原抗体反应的第一阶段不稳定，所产生的散射光信号波动较大，可由于信号的忽高忽低而产生误差。定时散射比浊法的优点是避开抗原抗体反应的不稳定阶段，在抗原抗体反应的稳定时段进行读数，最大限度地减少检测误差。

该技术采用了以下两项措施以保证结果的准确性：①抗体过量：设置足够大的预测量，反应中抗体结合抗原的能力可达到待测样本正常血清浓度的 50 倍以上，从而保证当被测样本含有高浓度的待测抗原时，抗原抗体也能以合适的比例形成特异性的复合物；②设置抗原过量阈值限定：在预反应时间段中加入 1/10 的血清样本与抗体反应，如预反应时间段抗原 - 抗体复合物的光散射信号超过预设阈值，提示待测标本浓度过高，反应将不会进行，当进一步稀释待测样本后重做，如散射光信号未超过预设阈值，提示样本浓度符合抗原 - 抗体反应设计要求，仪器进行

学习笔记

第二时间段的全量样本测定。以此保证不会因抗原过量导致结果的不准确。

(2) 速率散射比浊法：速率即指抗原抗体反应在单位时间内形成免疫复合物的量，连续测定各单位时间内复合物形成的速率与其对应的散射光信号即形成动态的速率散射比浊法，故该技术为抗原抗体结合反应的动力学测定，每项检测仅 1~2 分钟即可完成。其原理为：抗原与抗体混合后的瞬间便引发反应，在抗体过量的前提下，抗原抗体反应速度由慢到快，单位时间内形成的免疫复合物不断增多，随后逐渐减慢，在此动态过程中抗原抗体反应速率最快，单位时间内免疫复合物形成最多，散射光强度变化最大的那一时刻即所谓的速率峰。速率峰值的大小与抗原浓度呈正相关。取速率最大，且与被测物浓度变化呈线性关系的速率峰值，制作剂量-反应曲线，经计算获得被测物的量。

抗原过量检测：在整个测定过程中，抗原抗体快速反应，在规定的时间内反应介质中的抗体应与待测抗原全部结合，无游离抗原存在。此时，再次加入已知的相同抗原，该抗原与剩余游离抗体结合形成复合物，可出现第二个速率峰值信号，由此证明第一次速率峰值信号是全部由待测抗原产生的。若加入已知相同抗原后不出现第二速率峰，表明反应介质中已无游离抗体存在，说明待测标本中抗原浓度过高，第一速率峰值信号可能仅由部分的待测抗原产生，其测定结果不准确，提示应将待测标本进一步稀释，重新进行测定，以保证检测结果的准确性。这对于免疫球蛋白含量明显增高的检测十分重要，如多发性骨髓瘤，免疫球蛋白某一成分过度增生，可高达参考区间的几倍甚至十几倍，用透射比浊等方法可能会因为抗原过量，不能形成合适的抗原抗体比例而出现假性正常甚或降低的不准确结果。

此外，由于是在抗原抗体反应速率最快，单位时间内免疫复合物形成最多，散射光强度变化最大的那一时刻进行测定，微弱的反应信号也能够捕捉到，高度的灵敏性保证了如免疫缺陷病等患者仅有极低的免疫球蛋白和补体含量时都能够检测到。

学习笔记

思路 4：三种免疫球蛋白定量方法学比较，见表 14-1-1

表 14-1-1　免疫球蛋白各检查方法比较

检查方法	原理	优势	缺陷
免疫透射比浊法	抗原抗体复合物使介质浊度发生改变，光线通过时被其中的免疫复合物微粒吸收，吸光度与免疫复合物量呈正相关	较之传统的免疫扩散法重复性好，结果准确，操作简便，易自动化	抗体需用量大；灵敏度不高；耗时较长
免疫胶乳比浊法	抗体致敏的胶乳颗粒与相应抗原结合，胶乳颗粒凝聚，透射光和散射光发生改变。测定抗原抗体反应后溶液吸光度或散射光强度，其与待测抗原浓度呈正相关	敏感度较高，操作简便，易自动化	血清中的类风湿因子(RF)易与 IgG Fc 段结合出现非特异性凝集现象
免疫散射比浊法	一定波长的光沿水平轴照射，免疫复合物对光线产生反射和折射而形成散射光，散射光强度与免疫复合物的大小、数量密切相关，测量散射光的强度即可计算出待测抗原的浓度	快速、敏感性高，特异性强，重复性好；采用抗原过量校正技术，结果准确，精密。自动化程度高	仪器及试剂价格较贵，抗体质量要求高

思路 5：不同标本采用不同方法检测免疫球蛋白，结果可能有差异

临床上可能会遇到同一患者在不同的医院检测血清免疫球蛋白结果不一致，尤其是多发性骨髓瘤患者，免疫球蛋白某一成分过度增生导致免疫球蛋白含量过高，或免疫缺陷病患者的低含量标本都容易出现此现象。病例 2 患者曾在一家医院检测 IgA 为零，所采用的是免疫透射比浊法，由于该方法线性范围较窄，含量过低时因超过了其线性范围以及微小的浊度变化不易改变检测透光率，小数点后两位的数值难以准确，因而该患者极低的 IgA 含量未能检测到。当采用速率散射比浊法测定时，该技术将单位时间内复合物形成的速率与其产生的散射光信号联

系在一起，形成动态的速率散射比浊法，即在速率峰——某一时间段内抗原抗体反应速率最快，单位时间内免疫复合物形成的量最多，散射光强度变化最大时检测，能敏感地捕捉到很微量的IgA，虽然病例2患者的IgA含量极低，仅为0.10g/L也能被检测出来。

【问题4】补体在人体免疫功能中有何作用？哪些实验室技术可用于补体检测？

知识点

补体的定义

补体是存在于人或动物血清中具有酶活性的一组蛋白质，是抗体溶菌作用的必需补充条件，故为补体。补体的生物学效应对于维持机体的正常生理功能十分重要。

思路1：补体是体液免疫的重要组成部分，在人体免疫功能中发挥重要作用。例如，自身免疫性疾病时C1、C2、C3、C4和Hf等成分缺陷；C3缺陷可导致严重感染。补体含量降低主要见于SLE、冷球蛋白血症、自身免疫性溶血性贫血、类风湿关节炎等。大面积烧伤、大出血等大量丧失及急慢性肝炎、肝硬化等导致补体合成不足也会出现补体含量降低。补体增高较为少见，主要见于感染恢复期和某些恶性肿瘤患者，常为C4、C2、C3和C9的升高。

思路2：补体系统及其单个成分的活性与含量检测的意义

检测补体的单个成分及补体的活性测定对于机体免疫系统的功能评价、疾病的诊断与治疗、流行病学调查等均有重要作用。同时，根据补体具有溶解细胞和级联反应的性质，还可利用补体作为一种试剂，参与很多实验反应，用以鉴定抗原、抗体和各种病原体。补体的检测技术已成为免疫实验技术中的重要组成部分。补体检测对于机体免疫系统的功能评价以及疾病的诊断与治疗均有重要作用。两个案例患儿反复发生感染可能都与补体含量低，补体参与的抗体溶菌抗感染功能减弱相关。

思路3：前述用于检测免疫球蛋白的方法如透射比浊法和散射比浊法都可用于补体单个成分的检测，并且具有敏感性高、特异性强、重复性好、操作简便的优势，是临床常用于检测补体的方法。

病历摘要3：

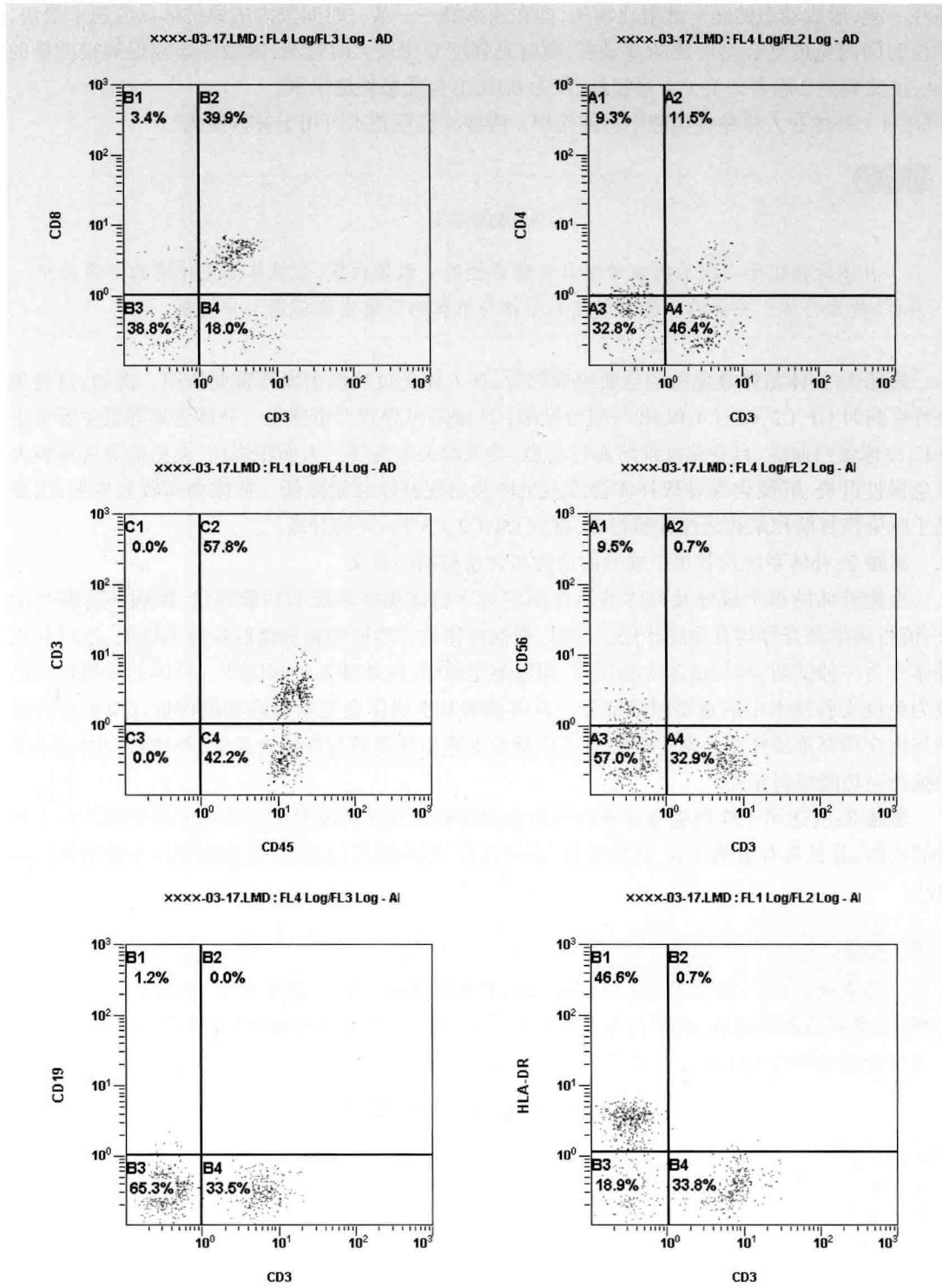
患者女，21岁，职业不详。近半年来反复出现头痛、咽痛、全身不适、疲乏无力、腹泻、低烧，夜间盗汗等症状，半年内体重减轻了5kg。体检：全身淋巴结肿大，肺部闻湿啰音。3天前诊断为肺炎入院治疗。实验室检查结果如下：

某医院流式细胞仪检测报告单

姓名：某某	病历号：××××××	临床诊断：	标本种类：EDTA抗凝全血
性别：女	科别：皮肤	申请医生：某某	标本编号：××××××
年龄：21岁	病床：	备注：空腹采血	采集时间：××××-3-17-08：15

No.	检验项目	检验结果	参考区间	单位
	$CD3^+$(%)	57.8	61.1~77.0	%
	$CD3^+CD4^+$(%)	11.5	25.8~41.6	%
	$CD3^+CD8^+$(%)	39.9	18.1~29.6	%
	$CD3^+CD4^+$(%)/$CD3^+CD8^+$(%)	0.29	1.57~2.93：1	
	$CD3^+$/HLA-DR+(%)	0.7	1.2~5.8	%
	$CD3^-$/$CD19^+$(%)	1.2	7.3~18.2	%
	$CD3^-$/$CD56^+$(%)	9.5	8.1~25.6	%

学习笔记



接收者：某某　　接收时间：××××-3-17-8：35　　审核者：某某　　审核时间：××××-3-17-15：10

检验者：某某　　检验时间：××××-3-17-09：00　　检测实验室：　　某医院检验科血液室

学习笔记

×× 医院检验报告单

姓名：某某　　病历号：××××××　　临床诊断：　　标本种类：EDTA 抗凝全血
性别：女　　科别：皮肤科　　申请医生：　　标本编号：××××××
年龄：21 岁　　病房：　　备注：空腹采血　　采集时间：××××-03-04-08：45

No.	检验项目	检验结果	OD 值	Cut off/ 参考值	
	甲型肝炎病毒抗体（抗 HAV-IgM）	阴性（-）	0.038	0.105	
	乙型肝炎病毒表面抗原（HBsAg）	阴性（-）	0.019	0.138	
	乙型肝炎病毒表面抗体（抗 HBS）	阳性（+）	2.261	0.118	
	乙型肝炎病毒 E 抗原（HBeAg）	阴性（-）	0.016	0.105	
	乙型肝炎病毒 E 抗体（抗 HBe）	阴性（-）	1.122	1.121	
	乙型肝炎病毒核心抗体（抗 HBC）	阴性（-）	1.114	1.088	
	丙型肝炎病毒抗体（抗 HCV）	阳性（+）	3.406	0.169	
	人类免疫缺陷病毒抗体（抗 HIV）	有反应	3.293	0.250	胶体金标记法　阳性
	戊型肝炎病毒抗体（抗 HEV-IgM）	阴性（-）	0.016	0.251	
	梅毒螺旋体抗体（TP 抗体）	阴性（-）	0.048	0.192	
	不加热血清反应素试验（TRUST）	阴性（-）	0		
	人类免疫缺陷病毒抗体	阳性（+）		免疫印迹法	

接收者：　　接收时间：××××-03-04-08：50　　审核者：　　审核时间：××××-03-04-14：10
检验者：　　检验时间：××××-03-04--09：00　　检测实验室：　　×××× 医院检验科免疫室

【问题 1】依据该患者的实验室免疫功能检查结果结合临床表现，综合分析倾向于何种实验室诊断？

患者常规感染免疫筛查试验抗 HCV 和抗 HIV 阳性，经抗 HIV 确认试验 - 免疫印迹法检测，抗 HIV 仍为阳性，结合 $CD3^+CD4^+$ 细胞显著降低，可初步诊断为 HIV 感染，且可能已由无症状期进入到 AIDS 期。抗 HCV 阳性需进一步确认是否合并 HCV 感染。

思路 1：人类免疫缺陷病毒（HIV）感染是继发性免疫缺陷最重要的原因，HIV 感染导致的免疫缺陷即获得性免疫缺陷综合征（AIDS），又称为艾滋病，是由 HIV 感染引起的一组综合征，患者以 $CD4^+$T 细胞减少为主要特征，同时伴反复机会性感染、恶性肿瘤及中枢神经系统退行性病变。

知识点

继发性免疫缺陷病的病因

继发性免疫缺陷病的病因多为严重感染，尤其是直接侵犯免疫系统的感染如人类免疫缺陷病毒（HIV）感染、恶性肿瘤或应用免疫抑制剂等。其中，HIV 感染是导致免疫缺陷最重要的原因。免疫缺陷者还容易发生机会性感染，正常情况下在体内寄生的正常菌群以及空气、土壤和水中无致病力或致病力很弱的微生物，如大肠杆菌、铜绿假单胞菌、变形杆菌等都容易使其遭受感染。

思路 2：该病例 $CD4^+$T 细胞数量明显减少，$CD4^+/CD8^+$（比率）仅为 0.29，正常应为 1.4~2.1。人类免疫缺陷病毒（HIV）抗体初筛 ELISA 和胶体金两种方法均显示阳性，免疫印迹法 HIV 抗体确认实验也为阳性，证实患者感染了 HIV。反复出现腹泻、低热，夜间盗汗、体重减轻，常感头痛、咽痛、全身不适、疲乏无力等提示由于 HIV 感染，病毒对免疫系统的破坏已由无症状期进入 AIDS 期，即发病期。

【问题 2】通过哪些方法可以了解患者细胞免疫功能的缺陷？

细胞免疫功能检测主要包括淋巴细胞亚群和与之相关的指标。

思路 1：T 细胞缺陷：主要表现为 T 细胞的数量减少和功能缺陷，导致细胞免疫功能缺陷并

学习笔记

伴有体液免疫功能的缺陷。因此，对T细胞缺陷的检验主要包括T细胞功能和数量的检测。临床常用T细胞数量及其亚群检测T细胞缺陷，通常应用CD系统单克隆抗体，采用荧光抗体技术或流式细胞术对T细胞总数和亚群进行检测。最常检测的CD标志为CD3、CD4、CD8、CD25等。

知识点

$CD4^+T$细胞计数的临床意义

HIV感染对免疫系统的损伤主要表现为$CD4^+T$细胞数量减少以及$CD4^+T$细胞/$CD8^+T$细胞比例失调。因此$CD4^+T$细胞计数是反映HIV感染患者免疫系统损害状态的最明确指标。美国疾病控制中心将$CD4^+T$细胞计数作为艾滋病临床分期和判断预后的重要依据。当$CD4^+T$细胞低于500/μl时，易发生机会性感染；低于200/μl则发生AIDS。

通过T细胞体内和体外功能试验也可了解是否存在T细胞缺陷，主要有检测T细胞的迟发型超敏反应能力的皮肤试验（体内试验）和用PHA刺激淋巴细胞的增殖、转化试验以判断T细胞功能的体外试验。

思路2：B细胞缺陷：主要表现为B细胞数量减少或功能障碍以及功能缺陷，其检查主要包括B细胞数量和功能检测，以及B细胞产物Ig检测等。临床一般通过检测血清IgG、IgM和IgA含量、分泌型IgA含量以及检测IgG亚类了解B细胞产物Ig含量并评价B细胞功能。必要时检测B细胞数量，B细胞缺陷时表现为体内Ig水平降低或阙如。Ig检测技术如前所述一般用自动化仪器采用免疫比浊技术进行测定，IgG亚类多采用ELISA和免疫电泳法进行测定。

在应用中还应注意：免疫缺陷患者多为婴幼儿，应注意其Ig生理水平及变化规律；Ig总量的生理范围宽，各种检测方法测得的数值差异较大。因此，对于Ig水平低于参考区间下限者，应在一段时间内反复测定，才能判断其有无因B细胞缺陷而导致的体液免疫缺陷。

B细胞缺陷还可通过同种血型凝集素的测定、特异性抗体产生能力测定、噬菌体试验、B细胞表面膜免疫球蛋白（SmIg）的检测以及CD抗原检测等实验进行B细胞功能的检查，但这些方法在临床上不常用。

病历摘要4：

患者女，62岁。近半年无明显诱因出现面色苍白、全身乏力，伴恶心、呕吐，骨痛，无头晕及无搏动性头痛等症状，夜尿2~10次，有泡沫，体重下降6kg，贫血貌。实验室检查结果如下：

××医院检验报告单

姓名：某某	病历号：××××××	临床诊断：	标本种类：尿液
性别：女	科别：血液科	申请医生：	标本编号：××××××
年龄：62岁	病房：×病房	备注：	采集时间：××××-12-26-08：45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	亚硝酸盐	—	阴性（-）	/μl
2	酮体	—	阴性（0~1）	mmol/L
3	隐血	—	阴性（-）	mg/L
4	酸碱度	6.0	5.5~8.5	
5	白细胞	阴性	阴性（0~24）	leu/L
6	尿糖	NORMAL	正常（0~2.8）	mmol/L
7	尿蛋白	++	阴性（0~0.2）	g/L
8	相对密度（比重）	1.017	1.003~1.030	
9	胆红素	—	阴性（0~17）	μmol/L
10	尿胆原	NORMAL	正常（0~50）	μmol/L
11	本周蛋白定性试验	阳性（++）	阴性（-）	g/24h

接收者：	接收时间：××××-12-26-08：50	审核者：	审核时间：××××-12-26-14：10
检验者：	检验时间：××××-12-26-09：00	检测实验室：	××医院检验科临检室

学习笔记

×× 医院检验报告单

姓名：　　病历号：××××××　　临床诊断：　　标本种类：EDTA 抗凝全血
性别：女　　科别：血液科　　申请医生：　　标本编号：××××××
年龄：62 岁　　病房：× 病房　　备注：空腹采血　　采集时间：××××-12-26-08：45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位	No.	检验项目	测试结果	参考区间	单位
1	肌酐	80	44~133	μmol/L	4	球蛋白	42.7	22~33	g/L
2	总蛋白	79.8	34~48	g/L	5	白 / 球比值	0.87	1.5~2.5	
3	白蛋白	37.1	34.0~48.0	g/L	6	总胆红素	8.9	5.0~25.0	μmol/L

接收者：　　接收时间：××××-12-26-08：50　　审核者：　　审核时间：××××-12-26-14：10
检验者：　　检验时间：××××-12-26-09：00　　检测实验室：　　×× 医院检验科生化室

×× 医院检验报告单

姓名：　　病历号：××××××　　临床诊断：　　标本种类：EDTA 抗凝全血
性别：女　　科别：血液科　　申请医生：　　标本编号：××××××
年龄：62 岁　　病房：× 病房　　备注：空腹采血　　采集时间：××××-12-26-08：45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位	No.	检验项目	测试结果	参考区间	单位
	IgG	63.89	7.2~16.8	g/L		Kappa	16	0.598~1.329	g/L
	IgA	0.42	0.69~3.82	g/L		Lambda	0.13	0.280~0.665	g/L
	IgM	0.52	0.63~2.77	g/L		Kappa/Lambda	123.07	1.47~2.95	

接收者：　　接收时间：××××-12-26-08：50　　审核者：　　审核时间：××××-12-26-14：10
检验者：　　检验时间：××××-12-26-09：00　　检测实验室：　　×× 医院检验科免疫室

×× 医院血清蛋白电泳报告单

姓名：　　病历号：××××××　　临床诊断：　　标本种类：EDTA 抗凝全血
性别：女　　科别：血液科　　申请医生：　　标本编号：××××××
年龄：62 岁　　病房：× 病房　　备注：空腹采血　　采集时间：××××-12-26-08：45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位	No.	检验项目	测试结果	参考区间	单位
	Albumin	46.3	60.0~71.0	%		Beta	3.5	8.0~13.0	%
	Alpha1	2.4	1.4~2.9	%		Gamma	43.5	9.0~16.0	%
	Alpha2	4.3	7.0~11.0	%					

接收者：　　接收时间：××××-12-26-08：50　　审核者：　　审核时间：××××-12-26-14：10
检验者：　　检验时间：××××-12-26-09：00　　检测实验室：　　×× 医院检验科生化室

骨髓细胞学检查结果：异常浆细胞增多，占 66%，可见双核及多核幼稚浆细胞。

【问题 1】结合临床表现和实验室检查，该患者最可能的诊断是什么？

该患者最可能的实验室诊断为多发性骨髓瘤。

思路 1：患者为老年女性，病程较长，贫血，骨痛，夜尿增多，有泡沫；实验室检查总蛋白和球蛋白均升高，本周蛋白阳性，进一步的检查显示免疫球蛋白 IgM 明显升高，IgG 和 IgA 均降低；骨髓细胞学检查浆细胞 66% 伴形态异常；以上均支持多发性骨髓瘤（multiple myeloma，MM）的诊断。MM 患者骨髓异常浆细胞常 >10%，可见浆细胞呈多核、核畸形、胞质有异常包涵体等瘤样形态学改变，故又把异常浆细胞称为骨髓瘤细胞。骨髓中 >10% 的骨髓瘤细胞是诊断 MM 最重要的条件之一。

学习笔记

知识点

多发性骨髓瘤(MM)

多发性骨髓瘤是一种浆细胞样肿瘤细胞异常增生,导致骨质受到损伤从而引起代谢及免疫功能异常的一种恶性疾病,多发性骨髓瘤被WHO归为B细胞淋巴瘤的一种,称为浆细胞骨髓瘤(PCM)。多发性骨髓瘤的特征为骨髓中浆细胞及单克隆免疫球蛋白或轻链异常,过度增生,可有极少数的未分泌型MM患者。多发性骨髓瘤多伴有溶骨性损害及肾脏损害,多发生高钙血症、贫血、细菌性感染。欧美发病率约2~4/10万,我国偏低,约0.5~0.8/10万,男女比例为1.6∶1,多数患者年龄在40岁以上。

思路2:异常浆细胞的识别

骨髓中浆细胞增多可见于多种疾病,MM异常浆细胞除具有形态学改变之外,免疫表型分析是更客观的指标之一:可见异常浆细胞$CD19^-$,$CD38^+$、$CD56^+$、$CD138^+$,因此该病例还应该增加免疫表型分析。

思路3:多发性骨髓瘤是骨髓浆细胞异常增生伴有单克隆免疫球蛋白或轻链(M蛋白)过度生成。该病例血清总蛋白、γ球蛋白、IgG和κ轻链显著升高,在血清蛋白电泳区带可见明显的M蛋白带,见图14-1-1。

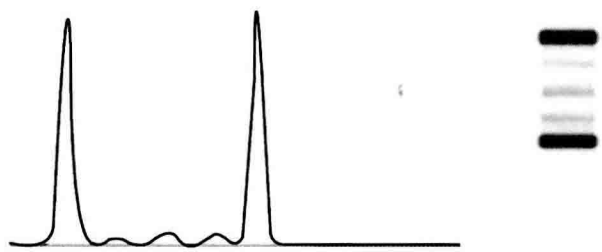


图14-1-1　患者血清蛋白电泳

左图为电泳区带定量扫描图,右图为电泳区带图,可见M蛋白峰或区带

【问题2】多发性骨髓瘤的实验室检查方法有哪些?

思路1:多发性骨髓瘤的实验室检查方法主要有:①尿液检查本周蛋白;②免疫球蛋白定量:采用的技术如前所述,包括免疫透射比浊法、免疫胶乳比浊法和免疫散射比浊法等;③流式细胞仪进行免疫表型分析;④血清蛋白电泳观察有无M蛋白峰或区带;⑤骨髓细胞学检查有无骨髓浆细胞的异常增生;⑥克隆性免疫球蛋白的分类与鉴定,此项检查也是多发性骨髓瘤的重要诊断依据,多采用免疫固定电泳。血清或者尿液的蛋白分类与鉴定都可用此技术。免疫球蛋白不同检测方法的原理及应用特点见表14-1-2。

表14-1-2　两种免疫球蛋白检测方法的原理及应用比较

方法名称	原理	应用
免疫比浊法	可溶性抗原与相应的抗体合时,在特定缓冲系统中快速形成复合物,出现浊度的变化,根据浊度的变化检测免疫球蛋白的含量	各种免疫球蛋白定量
免疫固定电泳	含有抗IgG、IgA、IgM和抗κ、λ轻链的抗血清分别作用在经琼脂糖凝胶电泳分离的蛋白质泳道上,参考泳道(SP)加蛋白固定剂,区带对照,经过孵育在泳道上相应的位置形成抗原抗体复合物沉淀,显示出三种Ig和κ、λ轻链区带	克隆性免疫球蛋白的分类与鉴定

学习笔记

思路 2：免疫固定电泳是鉴别克隆性免疫球蛋白最有价值的方法。除非分泌型外，MM 患者几乎都可经免疫固定电泳检测出是何种单克隆免疫球蛋白，若有轻链异常合成，也常见 κ 或 λ 轻链区带。如图 14-1-2~ 图 14-1-4。

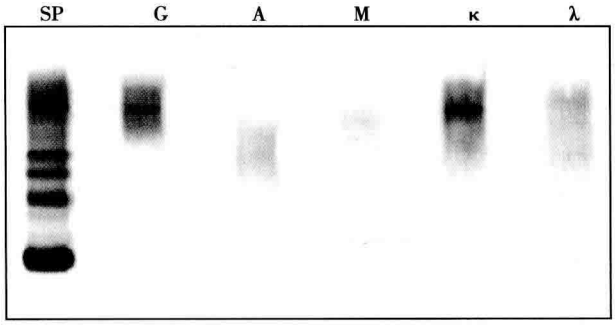


图 14-1-2　血清蛋白免疫固定电泳，IgG、κ 单克隆性增高，在弥散的多克隆 Ig 沉淀带中出现染色深、狭窄、致密区带，患者为多发性骨髓瘤

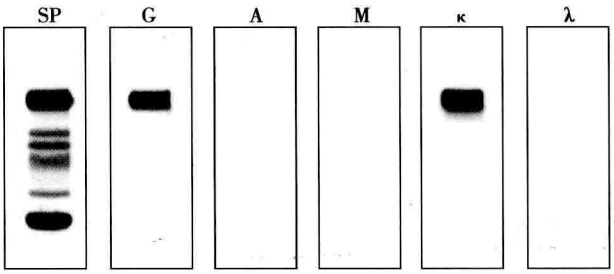


图 14-1-3　血清蛋白免疫固定电泳，IgG、κ 单克隆性显著增高，其他 γ 球蛋白几乎完全缺乏。患者为多发性骨髓瘤

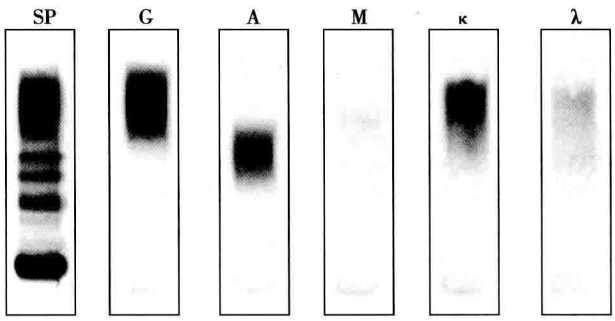


图 14-1-4　血清蛋白免疫固定电泳，γ 球蛋白呈多克隆性增高，IgG、IgA 和 κ 轻链呈多克隆性。患者为慢性感染

思路 3：克隆性免疫球蛋白检测的临床评价：①特点：分辨率高，特异性强，检测时间短，敏感性高，区带的分辨清晰，结果易于分析；②适用项目：多种体液标本均可用于检测，尤其适合于检测本周蛋白尿，当尿液检查本周蛋白阳性时，可利用免疫固定电泳技术进行分类和鉴定。

需要注意的是：当非分泌性骨髓瘤血清蛋白电泳无 M 蛋白带时，免疫固定电泳也不能检出单克隆免疫球蛋白区带，称低丙种球蛋白血症，而临床表现为多发性骨髓瘤。当少数多发性骨髓瘤病例常规检查无阳性单克隆区带时，可增加 IgD 或 IgE 的抗血清检查，出现单克隆阳性区带可诊断为 IgD 或 IgE 型骨髓瘤。

（杨红英）

学习笔记

第二节　自身抗体检验

自身抗体的产生是自身免疫性疾病的基本特征，其作为某些自身免疫性疾病的标志性抗体，可以辅助自身免疫病的诊断与鉴别诊断、病情判断、疗效监测及预后评估，并用于免疫病理机制研究及流行病学调研。近年来，自身免疫血清学检测指标和技术方法都取得了很大发展，但如何选择合适的检测方法，运用恰当的检测策略，科学合理地解读检测指标并服务于临床也越来越成为检验人员与临床医生的一种挑战。

病历摘要 1：

患者女，56 岁。因“颊部红斑、低热伴脱发半年”在门诊就诊。查体：体温 38℃，头发稀疏，颊部蝶形红斑，心肺无明显异常，关节无红肿压痛；化验检查血清补体 C3、C4 水平下降，尿常规检测蛋白阳性，其自身抗体检测报告单如下：

×× 医院检验报告单

姓名：	病历号：	临床诊断：系统性红斑狼疮？	标本种类：自凝血（分离胶管）
性别：女	科别：	申请医生：	标本编号：
年龄：56 岁	病房：	备注：空腹采血	采集时间：××××-01-12-07：45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	抗 U1-nRNP 抗体（U1-nRNP）	阳性（+）	阴性	
2	抗 Sm 抗体（Sm）	阳性（+）	阴性	
3	抗 SS-A（Ro）抗体（SS-A）	阴性（-）	阴性	
4	抗 SS-B（La）抗体（SS-B）	阴性（-）	阴性	
5	抗 Scl-70 抗体（Scl-70）	阴性（-）	阴性	
6	抗 Jo-1 抗体（Jo-1）	阴性（-）	阴性	
7	抗核糖体 P 蛋白抗体	阳性（+）	阴性	
8	抗核抗体测定（ANA）	1∶1000 核均质型 / 胞浆型阳性（+）	<1∶100	
9	抗双链 DNA 测定（dsDNA）	957 阳性（+）	0~100	IU/ml

接收者：	接收时间：××××-01-12-08：00	审核者：	审核时间：××××-01-12-13：10
检验者：	检验时间：××××-01-12-10：00	检测实验室：	×××× 医院检验科

【问题 1】从检验报告单结果分析并结合患者的临床表现，该患者初步考虑最可能的诊断是什么？

系统性红斑狼疮（SLE）免疫学的显著特点为抗核抗体（ANA）的出现，以抗双链 DNA（dsDNA）抗体及抗 Sm 抗体最为特异。除 ANA 外，还可出现抗其他细胞或细胞成分的自身抗体。本例患者 ANA 滴度偏高、抗 dsDNA 高于参考值、抗 Sm 抗体阳性、补体降低，根据患者自身抗体检测结果，结合其临床表现和其他实验室检查，首先考虑 SLE 的可能，其他结缔组织病除相应的临床表现外，一般有其标志性抗体存在。

【问题 2】检验报告单中所含自身抗体检测项目如何理解？

自身抗体有多种类型，其中针对某一特定疾病的特异抗体，只在该疾病中出现，为该病的血清标志性抗体。慢性炎症性结缔组织病相关自身抗体大多以特征性抗体谱的形式出现，相关自身抗体检测一般包括 ANA、抗可提取核抗原（ENA）抗体和抗 dsDNA 抗体，可增加针对细胞质、细胞骨架、细胞分裂周期蛋白等抗体的检测。

抗核抗体（ANA）是一组以自身真核细胞的各种细胞核成分为靶抗原的自身抗体的总称，

学习笔记

主要是 IgG。ANA 无器官 / 组织特异性，主要存在血清，也可存在于胸水、关节液和尿液中。对 ANA 的理解现已不再局限于核成分，而泛指针对细胞内所有抗原成分的自身抗体的总称，其抗原分布于整个真核细胞，包括细胞核、细胞质、细胞骨架、细胞分裂周期蛋白等。

可提取核抗原（ENA）是采用盐析法从细胞核中提取的不含 DNA 的一类抗原总称，主要包括 nRNP、Sm、SS-A、SS-B、Scl-70 抗原等，还包括某些胞浆抗原如 Jo-1。不同的自身免疫病可出现不同的抗 ENA 抗体，不同的抗 ENA 抗体也可出现于同一种自身免疫病中。

【问题 3】检验报告单中所含自身抗体检测报告为何出现多种方式？

检验报告单中所含自身抗体检测报告出现多种方式，是由于采用了不同检测方法。

自身抗体检测方法众多，主要有间接免疫荧光法（indirect immunofluorescence assay，IIF）、酶联免疫吸附试验（enzyme-linked immunosorbant assay，ELISA）、线性免疫印迹法（line immunoblot assay，LIA）、对流免疫电泳（counter immunoelectrophoresis，CIE）、免疫扩散（immunodiffusion，ID）及化学发光法（chemiluminescence immunoassay，CIA）等，其中 IIF、ELISA 和 LIA 国内使用较为广泛。报告单中 ANA 采用 IIF，抗 dsDNA 抗体采用 ELISA，其他自身抗体采用 LIA，针对各自方法采用不同报告方式。

思路 1：间接免疫荧光法（IIF）是将一定浓度稀释的待检血清与实验基质进行温育，若待检标本血清存在与实验基质中相应抗原对应的特异性抗体，会发生抗原抗体反应，形成免疫复合物，用适当缓冲液冲洗去除未结合物，根据需要检测的自身抗体 Ig 类型选择荧光素标记的相应抗人 Ig 抗体进行第二次温育。已与实验基质中抗原结合的自身抗体再与荧光素标记的抗人 Ig 抗体结合，在荧光显微镜下观察特异性荧光，可检测自身抗体的有无并对其核型或滴度进行初步判断（图 14-2-1）。

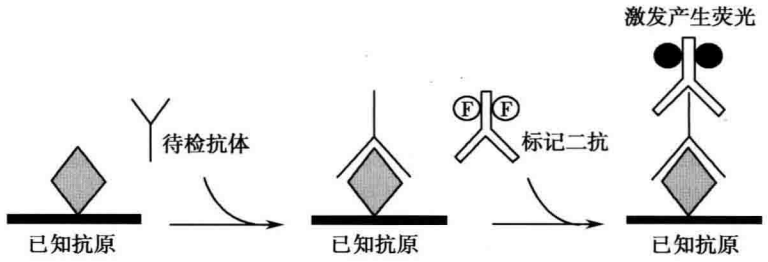


图 14-2-1　间接免疫荧光法原理图

间接免疫荧光法试验手工操作，过程烦琐，人为因素多，但除荧光显微镜外不需其他特殊设备，仍广为使用。自动化的间接免疫荧光设备均较为昂贵，部分或大部分取代人工操作，节省了人力，使试验操作更为标准化，尤其自动阅片能较好地排除阴性样本，并对大部分的阳性样本进行荧光核型的初步判读，但仍需要人工对阳性样本的核型进行复核，并确定高浓度样本以进行稀释，通过二次试验来判断样本的最终滴度与核型。

间接免疫荧光法试验无论手工还是自动化操作，其步骤基本一致，主要包含试剂与样本的准备、加样温育、冲洗、加荧光二抗后二次温育、二次冲洗、封片及结果判读。其中结果判读时应首先观察阴阳对照及质控以建立判读标准，阴性对照实验基质（如 HEp-2 细胞）没有明显的荧光染色；阳性对照实验基质（如 HEp-2 细胞）均有明显的荧光染色和可以辨认的荧光模式，并且基质片中央与四周荧光强度和核型一致；质控品实验基质荧光强度和核型符合要求。在整个检测系统（包括各种质控）正常情况下，如果血清待检标本在合适的起始稀释度实验基质没有明显的荧光染色（与阴性对照在同一水平）或没有可以辨认的荧光模式，则此待检血清标本的某待检抗体阴性；血清待检标本在合适的起始稀释度产生明显强于阴性对照的特异荧光且有明显可以辨认的荧光模式，则此待检血清标本的某待检抗体阳性。

荧光显微镜是间接免疫荧光法试验的主要设备，提供激发光以激发荧光染料（如异硫氰酸荧光素）发射荧光，并进行观察。由于自身抗体检测滴度和核型判断要求，应对其定期校准，确保激发荧光的光强相对稳定。激发光强度目前尚无统一标准，过强容易导致荧光猝灭，太低影响核型与滴度的判断，使用时还要注意不要长时间观察同一视野，避免荧光猝灭导致的荧光减弱或假阴性。

思路 2：国内常用自身抗体检测方法除 IIF 与 ELISA 外，还有免疫印迹法，其中 LIA 应用较为广泛。作为固相免疫检测，LIA 同 ELISA 一样以纯化或重组抗原为包被物，可以确认特异性抗核抗体，试验条件低，判读简单；与单抗体检测的 ELISA 相比，LIA 可以进行多抗体联合检测，较有利于表现为抗体谱的自身免疫病的诊断与鉴别诊断。

线性免疫印迹法（LIA）是将纯化的天然或重组抗原包被在膜条上成为膜固相特异性抗原，将膜条固定在载片反应区，稀释血清与膜条孵育后血清中的特异性抗体与膜条上的抗原结合，洗涤后加入酶标二抗与已结合的抗体反应，形成抗原 - 抗体 - 酶标二抗免疫复合物，洗涤后加入底物，若标本中含有特异性抗体，相应的抗原线将呈现深色条带，对待测抗体进行定性或相对定量测定。

线性免疫印迹法试验步骤主要包含试剂与样本的准备、膜条预处理、加样温育、冲洗、加酶标二抗后二次温育、二次冲洗、加入底物并再次温育、终止显色反应及结果判读。结果判读时应待膜条完全干透后进行，首先观察每条膜条质控条带，初步判断试验膜条的有效性。在阴阳对照和质控结果符合质量前提下，按试剂盒要求，根据膜条上各抗原带着色深浅来判断结果。与非抗原包被区域相比，阳性反应将在相应抗原线处出现明显蓝色条带，抗原条带颜色的深浅与相应抗体的滴度相关。部分试剂盒膜条质控条带呈强阳性，判断结果时，抗原带无着色，该抗原带对应特异抗体阴性；着色弱，对应特异抗体临界阳性；着色中到较强，对应特异抗体阳性；着色与质控带强度相同，对应特异抗体强阳性。但有的试剂盒，抗原条带着色需比质控带着色强，对应特异抗体才能判为阳性。

【问题 4】自身抗体检测方法较多，如何选择合适的试验方法？

自身抗体的检测应尽可能选用国际推荐（或公认）的检测方法，对疑诊患者进行自身抗体检测时，临床实验室应根据本实验室具体条件选择合适方法。

自身抗体检测方法一般分为两个水平。IIF 是 ANA 检测的金标准，作为第一水平测试，针对非器官特异性抗体测定而言其常用基质细胞抗原较完整，能检测 100~150 种抗体，可作为自身免疫病的“筛查”试验。由于多种抗体在 IIF 中表现为相同或相似的荧光核型，ANA-IIF 阳性无法确定特异性抗体，作为第二水平测试的其余测定方法（如 ELISA、LIA）可对自身抗体进行抗原特异性区分，以满足临床诊疗需要。但由于明确的抗原种类有限（约 20 余种）会导致漏检。针对 ANA 的检测，虽然 ANA-IIF 基质抗原广泛，但仅选择 ANA-IIF 筛查亦会由于基质本身及制备过程等原因出现漏检，以抗高度水溶性 SS-A、含量极少的 Jo-1 漏检最为常见。在自身免疫性疾病病程中，自身抗体的滴度甚至抗原种类均可发生改变，特别是多核型存在的情况，第二水平测试阳性抗体不能作为复检唯一项目。

总 ANA 检测也可用 ELISA 方法，其对设备与人员等实验室条件要求不高，易于进行，主要用于核有关抗原抗体的检测，虽可用于大样本量的初检，但试剂由于敲除了胞浆抗原成分，可导致胞浆有关抗体的漏检，同时也无法避免 ELISA 方法本身的某些问题。

为尽可能地满足临床和减少漏检，ANA 的检测应至少或同时选择第一水平测试。

【问题 5】报告中抗核抗体（IIF）既有核型又有滴度值，如何认识？

以 HEp-2 细胞为基质的 IIF 是 ANA 检测的首选方法，报告中应包括特异的荧光核型和抗体滴度值，如报告中抗核抗体测定为 1∶1000 核均质 / 胞浆颗粒阳性（+）。

思路 1：ANA-IIF 主要核型与某些抗原具有对应关系，根据初筛的荧光核型可以初步判断需

学习笔记

进一步明确的抗原，为进一步检测提供方向，但也应注意到多种抗体在 IIF 中表现为相同或相似的荧光核型。

知识点

1. ANA-IIF 主要核型及其对应的主要抗原

针对细胞核

核均质型：DNA、组蛋白、核小体等。

核膜型：板层素、核孔复合体、核内膜。

核颗粒型：核糖核蛋白(Sm、nRNP、SS-A、SS-B、Ku 等)、细胞周期蛋白(PCNA) Ⅰ型和Ⅱ型。

核仁型：Scl-70、RNA 多聚酶Ⅰ型、PM-Scl 和原纤维蛋白等。

核浆点型：着丝点、核点等。

针对细胞浆

胞浆颗粒型：线粒体、Jo-1、核糖体 P、高尔基、溶酶体等。

胞浆纤维型：波形蛋白、原肌球蛋白和肌动蛋白等。

针对其他细胞成分

分裂期细胞阳性：纺锤体、中间体、中心粒、染色体抗原等。

2. 主要慢性炎症性结缔组织病主要相关自身抗体对应的抗原

SLE：dsDNA、核小体、组蛋白；SM、U1-nRNP、SS-A、SS-B、Ku、PCNA、核糖体 P 蛋白。

SS：SS-A、SS-B。

Scl(PSS)：Scl-70、PM-Scl、抗原纤维蛋白、RNA-pol-1、CENP-B。

PM/DM：PM-Scl、ssDNA、Jo-1、Ku。

MCTD：高滴度 U1-nRNP。

备注：SS(干燥综合征)、SCL(硬皮病)、PSS(进行性系统性硬化症)、PM(多发性肌炎)、DM(皮肌炎)、MCTD(混合结缔组织病)。

思路 2：自身抗体的检测结果推荐以定量、半定量或滴度方式表达，检测结果越高，临床意义往往越大，还有利于前后对比，对疾病的检测有重要价值。

IIF 法检测 ANA 应报告其滴度，若以起始稀释度作为临界值，部分健康人、感染性疾病、肝病及肿瘤等非风湿性疾病患者可出现阳性(5%~10%)，大于 60 岁的老年人阳性率更高，但滴度较低。

目前有两种血清稀释系统：① 2 倍滴度系统，初始稀释度为 1∶40，进而稀释为 1∶80、1∶160、1∶320、1∶640 等，1∶40 以下为阴性，1∶80 为弱阳性，1∶160 为阳性；② 3.2 倍滴度系统，初始稀释度为 1∶100，进而稀释为 1∶320、1∶1000、1∶3200、1∶10 000 等，1∶100 以下为阴性，1∶100 可疑阳性，1∶320 弱阳性，1∶1000 中等阳性。两种体系都有 1∶320 存在，2 倍滴度系统的浓度高于 3.2 倍滴度系统，两者的阳性意义不同。

不同的基质和荧光抗体均会影响起始稀释度的选择，不同的实验室应根据本室采用的测定自身抗体的方法，结合临床统计数据确定本实验室待测标本合适起始稀释度。一方面如果该稀释度的检测结果为阴性，则认为该抗体或多种抗体不显著存在(无临床意义)，一般无须稀释标本做进一步检测，但为避免前带现象的发生，有时对可疑的阴性样本，需进一步稀释后进行测定；如果该稀释度的检测结果为阳性，则认为该抗体明显存在(可能有临床意义)，可将标本进一步稀释，以获得该抗体的滴度，对于 ANA-IIF，通过标本进一步稀释还可避免低稀释倍数时主次核型间的掩盖，有利于核型的正确判读；另一方面，选择的这一起始稀释度仅使用一次分析过程，就可以排除多种自身抗体的存在。许多试剂厂商基于其免疫实验室的检测系统，会推荐血

学习笔记

清稀释度。

思路 3：采用 IIF 进行 ANA 测定，核型的判读十分重要

判读荧光核型需充分认识到以下问题：①细胞结构及抗原的分布：如高尔基体近核分布（核侧呈现网格状颗粒荧光），Scl-70 分布在核浆（核浆呈现均质性荧光）和核仁（核仁中浓度高，呈现增强的均质性荧光）；②细胞周期：一个细胞周期约 40 小时，间期约 36 小时，因此基质片中 90% 的 HEp-2 细胞处于分裂间期。某些抗原如细胞周期蛋白 I 型出现于 S 初期，在 G_2 中期分解，间期细胞处于 S 期呈阳性、G_1 期呈阴性，分裂期细胞阴性；③荧光抗体种类：不同试剂中针对同一抗原的标记抗体可为单价荧光抗体（ANA 主要是 IgG）或 IgG/A/M 多价荧光抗体。

判读正确的荧光核型需通览全片，便于核型的区分，如细胞膜接触面的荧光在核膜型增强呈连续的线状，核均质型不增强，胞浆颗粒型增强呈连续颗粒状。

对于双基质片（Hep-2 与灵长类肝组织）的间接免疫荧光测定，仅阅读 Hep-2 基质片可能无法对某些核型正确判断，如核颗粒型的粗颗粒型、细颗粒型及抗 Ku 型在 Hep-2 基质片上荧光核型相似，但在灵长类肝组织基质片中区别明显。

采用 IIF 进行 ANA 测定时，主要核型及其临床意义如图 14-2-2~ 图 14-2-7。

【问题 6】如何认识抗 dsDNA 抗体测定？

抗 dsDNA 抗体是 SLE 的诊断标准之一，是治疗监测和预后评价的有效依据，其滴度与 SLE 活动度相关，尤其与狼疮肾炎之间关联密切。抗 dsDNA 抗体水平升高可在疾病复发几周前出现，应定期进行检测。

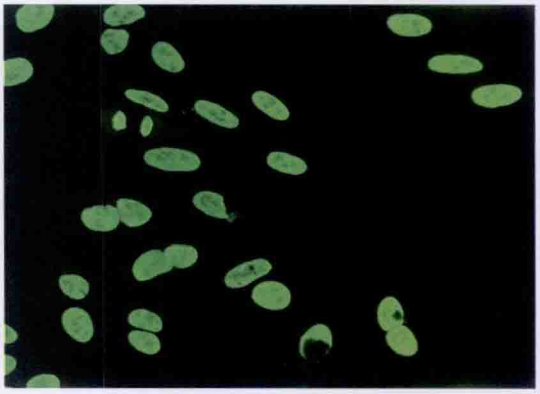


图 14-2-2　核均质型

HEp-2：间期细胞核呈均匀荧光；分裂期细胞浓缩染色体荧光增强。主要见于 SLE，也见于 RA（类风湿关节炎）等

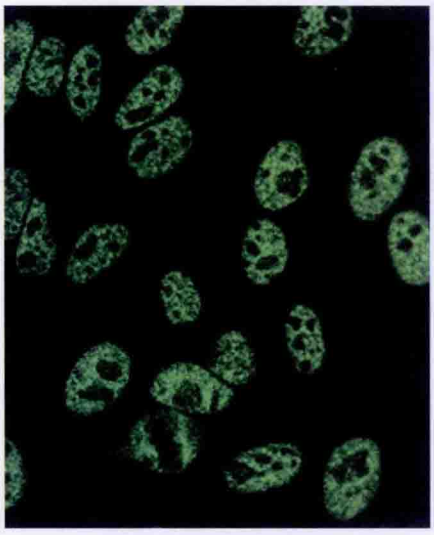


图 14-2-3　核颗粒型

HEp-2：间期细胞核呈颗粒样荧光，核仁阴性；分裂期细胞浓缩染色体阴性，染色体周围呈颗粒样荧光。主要见于 MCTD 与 SS，也见于 SLE 等

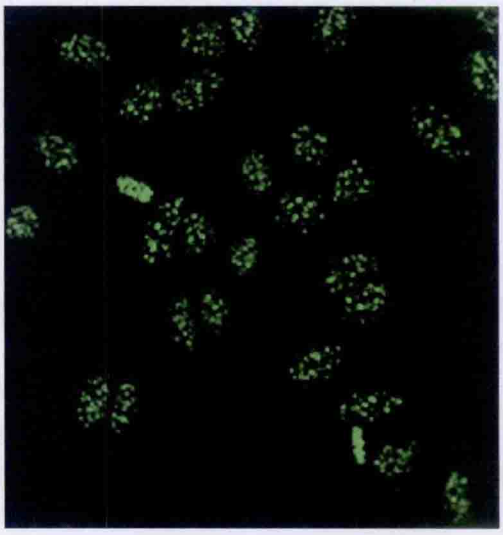


图 14-2-4　着丝点型

HEp-2：间期细胞核内出现大小数目相同、均匀分布的点状荧光；分裂期细胞浓缩染色体处出现浓缩点状荧光。主要见于局限性 PSS、硬皮病 -PBC 重叠综合征等

学习笔记

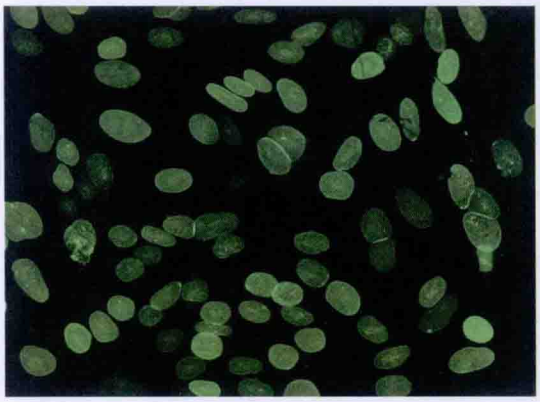


图 14-2-5　核膜型

HEp-2：间期细胞核呈现均匀荧光，核周增强；分裂期细胞浓缩染色体阴性。主要见于原发性胆汁性肝硬化（PBC）

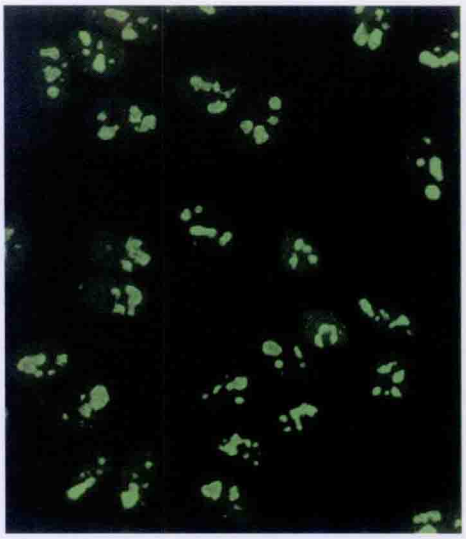


图 14-2-6　核仁型

HEp-2：间期细胞核仁阳性；分裂期细胞浓缩染色体阴性。主要见于 Scl、PM 及 DM 中

常用的测定方法有 IIF、ELISA 和 LIA，绿蝇短膜虫为标准基质的 IIF 为其测定的金标准，其动基体除 dsDNA 外通常不含其他抗原，与动基体起反应的自身抗体为抗 dsDNA 抗体，在推荐血清稀释度下抗 dsDNA 抗体表现为动基体均质或边缘增强的荧光，具有高特异性，但敏感度稍低，其主要用于检测中高等亲和力抗 dsDNA 抗体，不能提供抗体定量信息。阅片时应注意区分动基体和细胞核，要看到视野中大多数虫体的动基体呈现荧光才可判断阳性。

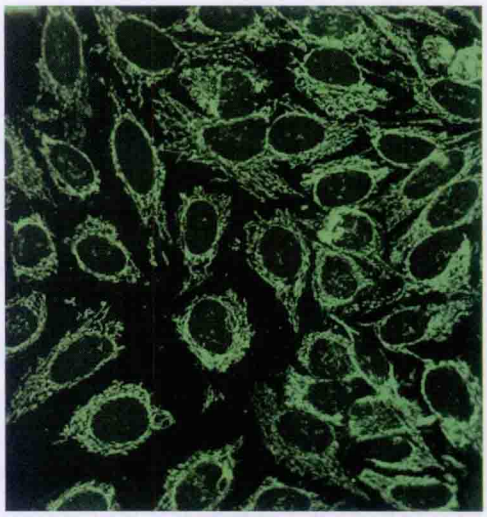


图 14-2-7　胞浆颗粒型

HEp-2：细胞质内粗颗粒样荧光。主要见于 PBC（M2）等

LIA 与 ELISA 测定抗 dsDNA 抗体会出现假阳性或假阴性，不同厂家结果不同，即使同一厂家的两种产品，对抗 dsDNA 抗体测定也会存在差异。ELISA 比 LIA 敏感度高，但不同包被技术的 ELISA 试剂产品特异性不同，甚至差异明显。ELISA 与 LIA 可能检测到没有临床意义的低亲和力抗体，其检测阳性结果应通过 IIF 法确认。

由于质评品无干扰样本，多种抗 dsDNA 抗体测定方法室间质评结果均较为理想，应辩证看待。

【问题 7】当自身抗体结果与临床不符，如何处理？

自身抗体检测由于个体差异、试验方法学和试剂等因素，可出现结果差异，与临床不符时检验医师需加强与临床沟通，对结果作出适当解释并给予建议。临床疑似自身免疫性疾病患者，若自身抗体检测结果与临床表现不符，需进一步检测特异性抗体。某些自身抗体（如抗线粒体抗体）可出现在临床症状之前，需结合患者临床资料（年龄、性别等）及其他实验室指标综合评价。首次自身抗体阳性时建议定期复检，连续多次自身抗体阳性应高度怀疑自身免疫性疾病。临床

学习笔记

意义和靶抗原不明确的荧光核型实验室也应报告，以引起临床医师的重视。

病历摘要 2：

患者女，56 岁。因“皮肤、巩膜黄染近半年，伴食欲缺乏、乏力 1 个月”在门诊就诊。查体：除全身皮肤、巩膜中度黄染外，其他体征未见明显异常；否认肝炎等传染病史，无饮酒、长期服药、毒物接触、遗传病及手术史；影像学检查肝内外胆管未见异常；肝组织学发现界面炎，胆小管明显减少甚至消失，胆管上皮变性坏死，周围有淋巴滤泡形成。实验室检查：肝功能 ALT 110U/L，AST 196U/L，ALP 400U/L，GGT 410U/L，TBIL 126μmol/L；肝炎病毒标志物均阴性；免疫学检查 IgG 26g/L，其自身免疫性肝病相关自身抗体检测报告单如下：

×× 医院检验报告单

姓名：	病历号：×××	临床诊断：AIH？	标本种类：自凝血（分离胶管）
性别：女	科别：×××	申请医生：	标本编号：×××
年龄：56	病房：×××	备注：空腹采血	采集时间：××××-01-12-07：45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	抗核抗体测定（ANA）	1∶1000 核膜型 / 核点型 / 胞浆颗粒型阳性（+）	<1∶100	
2	抗平滑肌抗体（ASMA）	阳性（+）	阴性	
3	抗线粒体抗体（AMA-M2）	阳性（+）	阴性	
4	抗 gp210 抗体（gp210）	阳性（+）	阴性	
5	抗核点 SP100 抗体	阳性（+）	阴性	
6	抗肝肾微粒体 1 型抗体（LKM-1）	阴性（-）	阴性	
7	抗肝细胞溶质抗原 1 型抗体（LC-1）	阴性（-）	阴性	
8	抗可溶性肝抗原 / 肝胰抗原抗体（SLA/LP）	阴性（-）	阴性	

接收者：	接收时间：××××-01-12-08：00	审核者：	审核时间：××××-01-12-13：10
检验者：	检验时间：××××-01-12-10：00	检测实验室：	×××× 医院检验科

【问题 1】从检验报告单结果分析并结合患者的其他检测和临床表现，该患者初步考虑最可能的诊断是什么？

自身免疫性肝病是由自身免疫反应引起的以高 γ 球蛋白血症为特征的原因不明的肝脏疾病，包括自身免疫性肝炎（autoimmune hepatitis，AIH）、原发性胆汁性肝硬化（primary biliary cirrhosis，PBC）、原发性硬化性胆管炎（primary sclerosing cholangitis，PSC）及三种疾病的重叠综合征，常伴有其他自身免疫性疾病。根据本例患者自身抗体检测结果，结合其临床表现和其他实验室检查，最可能诊断为 AIH-PBC 重叠综合征。

AIH 是一种不明原因的慢性炎性肝病，多见于女性，其诊断需结合患者临床特征、自身抗体、免疫球蛋白水平和组织学特点综合考虑。临床建议先使用简化标准打分，简化标准具有较满意的敏感性（90%）和特异性（95%），但对自身抗体滴度和（或）IgG 水平低的患者易漏检，对不典型患者应联合使用复杂和简化标准进行诊断。自身抗体若为 3.2 倍滴度系统，按 1∶100 加 1 分，1∶320 加 2 分计入总积分。

PBC 是一种慢性的胆汁淤积性肝病，好发于女性。其诊断基于三个标准：胆汁阻塞的生化指标、组织学特征和疾病特异性自身抗体（尤其是抗线粒体抗体 AMA），三项中有二项阳性可诊断为 PBC。欧洲肝病学会（EASL）2009 年关于 PBC 指南认为肝功异常（肝源性 ALP 升高超过 6 个月）且血清 AMA（+）（滴度≥1∶40）即可确诊，肝活检对诊断非必需，组织学上特征性胆管损害可协助诊断，随访 ALP 正常但 AMA（+）者很有可能发展为 PBC。

【问题 2】检验报告单中自身免疫性肝病相关自身抗体项目如何理解？

自身抗体在自身免疫性肝病诊断治疗中起重要作用，与自身免疫性肝病相关的自身抗体主

学习笔记

要包括 ANA、抗平滑肌抗体(ASMA)、抗线粒体抗体(AMA)、抗肝抗原谱和核周型抗中性粒细胞胞浆抗体(pANCA)。AMA 主要有 M2、M4 和 M9 等,其中 M2 最为常见;抗肝抗原主要包括抗肝肾微粒体 1 型(LKM-1)抗体、抗可溶性肝抗原 / 肝胰抗原(SLA/LP)抗体和抗肝细胞溶质抗原 1 型(LC-1)抗体。

知识点

自身免疫性肝病相关自身抗体及其临床意义

抗核抗体(ANA):ANA 为 AIH 最常见的自身免疫性抗体,对 AIH 不具有诊断特异性,可见于多种自身免疫性疾病。

抗平滑肌抗体(ASMA):ASMA 主要出现在Ⅰ型 AIH 中,表现为高滴度(>1∶320),以 IgG 型为主,常伴有 ANA 阳性,特异性靶抗原为 F- 肌动蛋白。ASMA 在其他肝病(如病毒性肝炎)和非肝脏疾病中也可检出,但通常表现为低滴度,以 IgM 型为主,特异性靶抗原为非肌动蛋白。

抗可溶性肝抗原 / 肝胰抗原(SLA/LP)抗体:抗 SLA/LP 抗体是 AIH 最特异的诊断指标,阳性率约 10%~30%,特异性几乎为 100%。如出现相应临床症状且抗体阳性基本上可诊断为 AIH。

抗肝肾微粒体 1 型(LKM-1)抗体:抗 LKM-1 抗体为Ⅱ型 AIH 的标志性抗体。

抗肝细胞溶质抗原 1 型(LC-1)抗体:抗 LC-1 抗体为Ⅱ型 AIH 的另一个特异性标志,可单独或与抗 LKM-1 抗体等其他自身抗体同时出现,抗 LC-1 抗体对 AIH 的特异性高于抗 LKM-1 抗体。

抗线粒体抗体(AMA):AMA 是 PBC 的诊断标志,在 PBC 患者阳性率可达 90%~95%,可于 PBC 发病前数年出现。自身免疫性疾病如 SLE、RA、PSS、SS 也可见阳性。

抗 gp210 抗体:抗 gp210 抗体对 PBC 高度特异,可出现于 AMA 阴性的 PBC 患者中,可用于病情判断、疗效监测和预后评估。

抗 SP100 抗体:抗 SP100 抗体对 PBC 高度特异,几乎不存在于 AIH 和 PSC,能提高 AMA 阴性患者诊断率。

核周型抗中性粒细胞胞浆抗体(pANCA):pANCA 是 PSC 的非特异性指标,主要见于原发性系统性小血管炎,也可见于炎症性肠病、自身免疫性肝病、混合结缔组织病、药物性和感染性疾病。

自身免疫性肝炎的临床表现和病理特征与普通肝炎相似,自身抗体检测对 AIH 的诊断和鉴别诊断具有重要作用。AIH 患者血清中可出现多种自身抗体,根据自身抗体可将 AIH 分为三种类型,其中 ANA 和 ASMA 阳性者为Ⅰ型,最为常见;抗 LKM-1 抗体和抗 LC-1 抗体阳性者为Ⅱ型,少见,多发于儿童;抗 SLA/LP 抗体阳性者为Ⅲ型,偶见。

在 PBC 患者血清中可检出多种自身抗体,以 AMA 最常见,如患者有明显的 PBC 临床表现,其血清检测 AMA 阳性,临床医生倾向于避免肝组织活检。

【问题 3】检验报告单中所含自身免疫性肝病相关自身抗体检测项目方法学有哪些?

报告单中所含自身免疫性肝病相关自身抗体检测方法根据项目不同主要有 IIF、ELISA 和 LIA。

ANA 采用 IIF,常用 Hep-2 单基质或联合灵长类动物肝组织形成双基质测定。ASMA 采用 IIF 测定,常用啮齿类动物的胃组织作为基质,ASMA 阳性时胃组织切片中腺体间收缩纤维、肌膜层与黏膜肌层均应呈现明显荧光。抗线粒体抗体(AMA)与抗肝抗原可采用 IIF 或 LIA。pANCA 可采用 IIF 与 ELISA。

学习笔记

自身免疫性肝病相关自身抗体检测中，一般 IIF 与 ELISA 和 LIA 多方法联合检测使用，即提供全面的自身抗体检测指标，不同方法学之间又可相互验证，如抗核孔复合体 gp210 抗体在 IIF-ANA 中呈核膜型荧光（靶抗原核板层素、核孔复合体和核内膜在 IIF-ANA 中均呈核膜型荧光），抗核点 SP100 抗体呈核点型荧光（靶抗原早幼粒细胞白血病蛋白 -PML 和 SP100 在 IIF-ANA 中均呈核点型荧光），AMA-M2 呈胞浆颗粒型荧光。

【问题 4】如何看待病毒性肝炎患者自身抗体阳性？

无论急性或慢性感染，机体的免疫反应对病毒性肝炎的转归起着重要作用。急性感染通过免疫反应清除病毒，使炎症迅速消散；慢性感染由于免疫调节紊乱导致免疫耐受、免疫损伤，易引起异常自身免疫反应。乙型和丙型病毒性肝炎中自身抗体的阳性率约为 30%，以 ANA 最多见，其次是 AMA 和 ASMA。自身抗体可提示体内出现由病毒诱发的自身免疫或重叠有自身免疫病（如自身免疫性肝炎），并可加剧干扰素治疗患者的自身免疫反应，使病情恶化。自身抗体检测不仅对自身免疫疾病的早期诊断和治疗方案制订有重要价值，亦有助于病毒性肝炎患者的抗病毒治疗监测。

【问题 5】自身抗体检测应如何做好质量保证？

自身抗体检测因项目多及测定方法不同，其结果受多种因素影响，但只要做好实验室的标准化建设，加强人员培训、设备管理，采用符合标准的自身抗体试剂，做好分析前、中、后的质量控制，结果质量可以保证。

思路 1：试验操作过程的质量控制

自身抗体试验原始样本大多需要稀释，准确稀释样本是获得可靠试验结果的保证；IIF-ANA 测定应保持“湿盒”环境，确保液滴与生物薄片接触良好，避免过度干燥造成细胞形态甚至结构改变，避免样本间相互接触以防交叉污染；印迹法需用摇床充分反应，膜条完全干燥方可进行结果判读；ELISA 尤其需注意温度，每板测定均须进行标准品、阴阳性对照及质控品测定，不能沿用以前的标准曲线。

每一试验步骤所需时间必须严格遵循试验要求，不能随意延长或缩短。试验中所用各种液体（包括酶），需一次性配够当日所需的量，保证一个批次实验的均一性。

思路 2：试验所用设备的定期校准与试验方法的性能评价

自身抗体检测所涉及方法多，每种方法均应至少评估 ISO15189 所要求指标，并对所涉及的仪器（如荧光显微镜、酶标仪、移液器等）定期校准，以保证结果的准确。

思路 3：有效的质量控制是保证结果可靠的前提条件

自身抗体检测的质量控制措施包括室间质评（EQA）和室内质控（IQA），IQA 评价实验室内部结果的精密度，EQA 旨在评估各实验室的准确度，使不同实验室间的结果具有可比性。

不同的自身抗体检测方法室内质控不同：①定性方法（如印迹法）测定每批试验应采用弱阳性、阴性质控品，弱阳性质控品最好包含多种特异性抗原如 U1-nRNP、Sm、SS-A、SS-B、Scl-70、M2 等，以阴阳性结果作为基本质控规则，如质控结果不符，需重做试验或更换新试剂盒；②以滴度或稀释度表示的半定量检测方法（如 ANA-IIF），每批试验应采用弱阳性、阴性质控品，可选择核均质、核颗粒、核仁、核膜、核点和胞浆颗粒等基本核型，轮替测定，并以一个浓度或滴度级别作为均值，上下一个浓度或滴度作为控制线，超出该范围视为失控；③ ELISA 方法测定项目，每板试验为一批次，除试剂盒自带标准品、阴性及阳性对照、空白外（双波长测定可不做空白），需增加阴性、弱阳性质控品。

对于自身抗体检测，无论何种方法，即使室内质控在控，也要对阳性或弱阳性结果甚至阴性结果，根据病人临床资料、既往检验结果、各试验间支持关系对其进行综合推断，如无法推断，应重做，如一致，结果认为可靠；不一致重做该样本（双份），或用另一种更好的方法测定以确定，因此复检显得尤为重要。复查时需稀释样本应重新稀释，不用原稀释样品，排除稀释标本或稀释

学习笔记

度错误。

实验室应尽可能参加权威机构组织的 EQA 计划，室间质量评价标本由实验室进行常规检测的人员使用实验室的常规检测方法测试，其检测操作及条件同常规标本，从而保证其真实反映实验室的检测能力。

（王传新）

第三节　肝炎病毒感染标志物检验

病毒性肝炎（viral hepatitis）特指由嗜肝病毒感染引起的肝炎。对人类有致病作用的嗜肝病毒包括甲、乙、丙、丁及戊型肝炎病毒，而庚型肝炎病毒对人类的病原学意义仍不确定。在近十多年中，由于甲型和乙型肝炎疫苗的应用，病毒性肝炎的发病率已显著下降，但嗜肝病毒感染仍是世界范围内引起肝损伤的最常见原因，其中，慢性乙型肝炎病毒感染迄今仍是肝硬化和肝癌的主要诱因。病毒性肝炎感染率和发病率非常高，已成为全球严重的公共卫生问题，在我国已归为法定的乙类传染病。由于嗜肝病毒感染后的临床表现相似，肝炎病毒感染通常需用血清免疫学及核酸检测技术来确定诊断及监测治疗效果。

肝炎病毒感染的血清标志物检验方法主要有酶联免疫吸附试验（enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA）、化学发光免疫分析（chemiluminescence assay，CLIA）和免疫层析试验（immunochromatography assay，ICA）检测血清特异性抗原抗体；荧光定量 PCR 技术（fluorescence quantitative PCR，FQ-PCR）检测病毒核酸。本节以乙肝病毒感染血清标志物检测技术为例阐述目前临床常用的病毒感染血清标志物的检测。

乙型肝炎病毒（hepatitis B virus，HBV）是引起乙型肝炎的病原体。我国是乙型肝炎病毒的高度流行区，乙型肝炎病毒属嗜肝 DNA 病毒，感染乙型肝炎病毒不仅可引起急性肝炎，部分患者转化为慢性肝炎，更有患者发展为肝硬化甚至肝癌，临床上称其为“乙肝三部曲”。

学习笔记

病历摘要 1：

患者男，51 岁。于 1 周前出现厌食症状，胃口差，厌油腻，伴有乏力和全身不适。病程中患者睡眠差，小便黄，大便无特殊。平素健康良好，预防接种史不详，曾因胃出血输血 200ml。体格检查：体温 36.5℃，巩膜黄，肝肿大有压痛及叩痛。余正常。甲肝抗体、乙肝两对半、丙肝抗体、乙肝抗体定量、乙型肝炎病毒核酸检查结果如下：

×××× 医院检验报告单

姓名：	病历号：××××××	临床诊断：	标本种类：血清
性别：男	科别：内科	申请医生：	标本编号：××××××
年龄：51 岁	病房：× 病房	备注：空腹采血	采集时间：××××-12-10-08：45

No.	检验项目	结果	OD 值	Cutoff	S/C.O.
1	甲型肝炎病毒抗体（抗 HAV-IgM）	阴性（-）	0.005	0.106	0.027
2	乙肝表面抗原（HBsAg）	阳性（+）	3.201	0.118	27.119
3	乙肝表面抗体（HBsAb）	阴性（-）	0.002	0.105	0.019
4	乙肝 e 抗原（HBeAg）	阳性（+）	1.905	0.107	18.143
5	乙肝 e 抗体（HBeAb）	阴性（-）	0.902	0.901	1.001
6	乙肝核心抗体（HBcAb）	阳性（+）	0.026	0.245	13.051
7	丙型肝炎病毒抗体（抗 -HCV）	阴性（-）	0.003	0.110	0.074

接收者：	接收时间：××××-12-10-10：10	审核者：	审核时间：××××-12-10-14：30
检验者：	检验时间：××××-12-10-13：56	检测实验室：	×× 医院检验科免疫室

××××医院检验报告单

姓名：　　病历号：××××××　　临床诊断：　　标本种类：血清
性别：男　　科别：内科　　申请医生：　　标本编号：××××××
年龄：51岁　　病房：×病房　　备注：空腹采血　　采集时间：××××-12-10-1：05

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	乙肝表面抗原(HBsAg)	10.5	0~5	Index/ml
2	乙肝表面抗体(HBsAb)	29.6	0~30	Index/ml
3	乙肝e抗原(HBeAg)	56.3	0~15	Index/ml
4	乙肝e抗体(HBeAb)	93	0~100	Index/ml
5	乙肝核心抗体(HBcAb)	272	0~100	Index/ml

接收者：　　接收时间：××××-12-10-10：06　　审核者：　　审核时间：××××-12-10-15：05
检验者：　　检验时间：××××-12-10-13：15　　检测实验室：　　××医院检验科免疫室

××××医院医院检验报告单

姓名：　　病历号：××××××　　临床诊断：　　标本种类：血清
性别：男　　科别：内科　　申请医生：　　标本编号：××××××
年龄：51岁　　病房：×病房　　备注：空腹采血　　采集时间：××××-12-12-08：06

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	乙型肝炎病毒核酸(HBV-DNA)	3.0×10^7	<500	IU

接收者：　　接收时间：××××-12-12-08：50　　审核者：　　审核时间：××××-12-12-13：10
检验者：　　检验时间：××××-12-12-10：30　　检测实验室：　　××医院检验科分子生物室

【问题1】根据检验报告结果分析并结合患者的临床表现，该患者初步考虑最可能的诊断是什么？

乙肝病毒表面抗原、e抗原和核心抗体同时阳性，俗称“大三阳”，此阶段乙肝病毒在体内复制活跃，传染性强。乙型肝炎病毒核酸检测是判断有无传染性的更为准确的指标，该患者病毒载量高达3×10^7，说明乙肝病毒在体内大量复制。因此该病例最可能的实验室诊断为乙型肝炎病毒感染，且体内病毒复制较为活跃，具有强传染性。

思路1：乙型肝炎病毒感染血清标志物(乙肝两对半)检测是国内医院最常用的乙型肝炎病毒(HBV)感染的血清标志物检测项目。包括：表面抗原(HBsAg)和表面抗体(抗HBs或HBsAb)、e抗原(HBeAg)和e抗体(抗HBe或HBeAb)、核心抗体(抗HBc或HBcAb)。目前肝炎病毒感染血清标志物的检测常用酶联免疫吸附试验、免疫层析试验、化学发光免疫分析和时间分辨荧光免疫测定，病毒核酸载量的检测常用荧光定量PCR技术，各种技术的特点见表14-3-1肝炎病毒感染血清标志物不同检测方法的比较。

思路2：酶联免疫吸附试验检测乙肝两对半的方法主要有：双抗体夹心法检测HBsAg和HBeAg，双抗原夹心法检测HBsAb、竞争抑制法检测HBcAb和HBeAb。

(1) 双抗体夹心法原理：将表面抗体或e抗体包被微孔板，如待检血清中存在HBsAg或HBeAg则抗原抗体结合形成免疫复合物，洗涤后加入酶标记抗体，与免疫复合物中的特异抗原结合形成酶标抗体-待检抗原-固相抗体复合物，加底物显色，显色强弱与待检血清中的HBsAg或HBeAg含量呈正比，以此判断被检血清中是否存在HBsAg或HBeAg。(图14-3-1)。

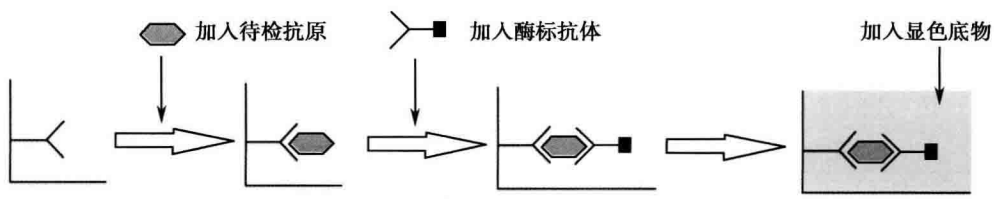


图14-3-1　双抗体夹心法原理示意图

(2) 双抗原夹心法原理:微孔板上包被的单克隆 HBsAg 和待检血清中的 HBsAb 结合形成免疫复合物,洗涤后加入酶标记的抗原,与免疫复合物中抗体结合形成酶标抗原 - 待检抗体 - 固相抗原复合物,加底物显色,显色强弱与待检血清中的 HBsAb 含量呈正比,以此判断被检血清中是否存在 HBsAb。(图 14-3-2)。

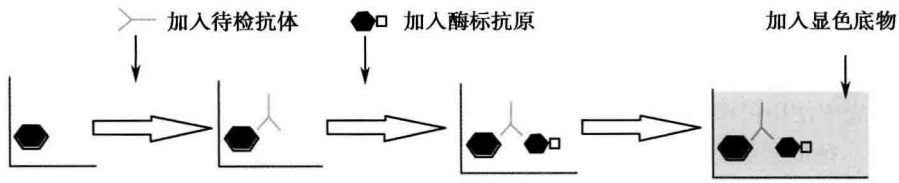


图 14-3-2　双抗原夹心法原理示意图

(3) 竞争抑制法原理:将核心抗原或 e 抗原结合于固相载体上,加入待检血清和酶标记的特异性抗体。待检血清标本中的抗体与酶标记的抗体竞争结合固相载体上的抗原。温育后洗涤,加入底物显色,显色强弱与待检血清中的 HBcAb 或 HBeAb 含量呈反比,以此判断被检血清中是否存在 HBcAb 或 HBeAb。(图 14-3-3)。

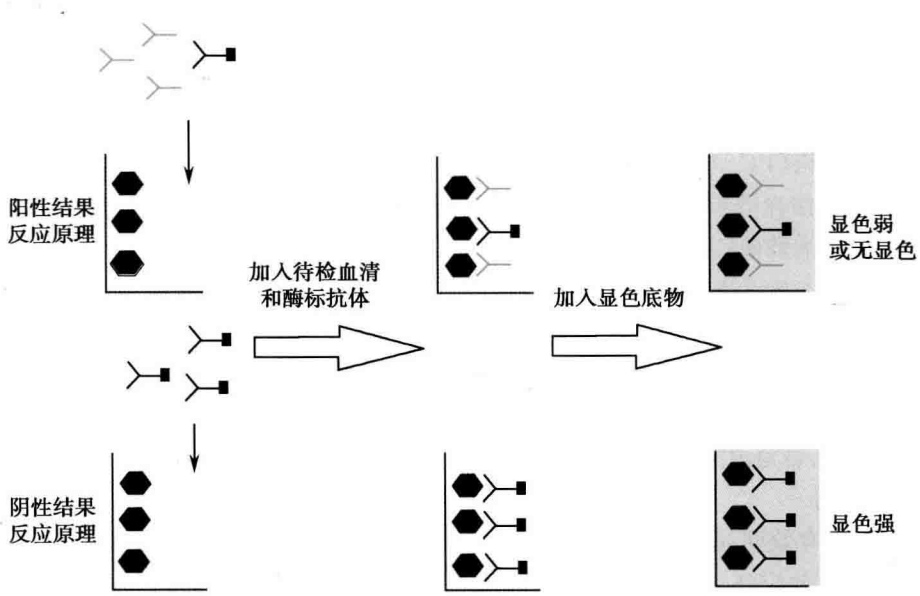


图 14-3-3　竞争抑制法原理示意图

知识点

ELISA 的基本原理

ELISA 的基本原理是把抗原或抗体结合到某种固相载体表面,并保持其免疫活性;将特异性抗原或抗体与某种酶连接,形成既有免疫活性,又有酶活性的抗原或抗体的酶标记物,测定时将受检样品(含待测抗体或抗原)和酶标记抗原或抗体按一定程序与结合在固相载体上的抗原或抗体反应形成抗原抗体复合物;用洗涤的方法将固相载体上形成的抗原抗体复合物与其他物质分开,结合在固相载体上的酶量与标本中受检物质的量呈一定的比例;加入底物后,底物被固相载体上的酶催化变成有色产物,色的深浅与待测物的含量相关。

学习笔记

【问题 2】ELISA 法在进行血清学检测时有哪些影响因素，这些影响因素可导致出现什么样的实验结果？如何减少或避免干扰因素的影响？

ELISA 法检测肝炎病毒感染血清标志物的操作虽然简便易行，但因参与 ELISA 反应的成分和影响因素较多，涉及试验本身以及标本的收集保存、试剂准备、加样、温育、洗板、显色、比色、结果判断和结果报告等方面，其中任一步骤的不当都会影响测定结果。其中最常见的影响因素有以下几个方面。

思路 1：固相载体

ELISA 法中使用可溶性抗原（或抗体）吸附于固相载体而成为不溶形式，这是进行酶标记测定的基本条件。每批微量反应板对抗原或抗体蛋白质的吸附性差别显著。实验证明，吸附效果与塑料的类型及其表面性质有关。特别是塑料制品在加工过程中因工艺不同或受其他因素的影响而造成吸附性能的极大差异，甚至可能完全丧失吸附能力，致使最后的试验结果出现假阴性。

思路 2：抗原 / 抗体

在 ELISA 法中，包被于固相载体表面的抗原（或抗体）的来源和制备方法对试验结果均有影响。包被所用的抗原（或抗体）必须是可溶性的，而且要求是优质和稳定的制剂，纯度和免疫原性要高。如果不纯或受到污染，抗原（或抗体）中所含杂质就会竞争固相载体上的有限位置，降低敏感性和特异性。在制备包被抗原（或抗体）过程中其免疫学活性遭到破坏也会使试验结果出现假阴性。

思路 3：试验样品

患者血清样本要求新鲜采集使用，血清分离彻底不带纤维蛋白等成分。若为了收集批量样本需暂时放置冰箱（4℃）中保存，应将血清分离后再放冰箱，如将采集的全血样本直接放置冰箱保存将会因标本溶血等影响试验结果。此外，存放冰箱的时间不宜过长，否则会使大部分 IgM 和少量 IgG 丧失活性而使试验结果出现假阴性。还需注意从冰箱取出的样本必须复温后才能进行检测。如样本放置冰箱温度为 -20℃或以下，最好只复融一次就检查完毕，如经反复冻融其抗体效价将呈指数降低。

思路 4：试验操作

在 ELISA 试验操作过程中，孵育后的清洗不彻底可能会导致血清非特异性物质残留引起试验结果的假阳性，若是清洗过度，又可能将特异性血清标志物洗脱而导致结果假阴性。

思路 5：试剂

试剂超过保存效期、试剂保存方式不正确或试剂受到污染，都可能会影响实验结果。

思路 6：钩状效应（hook effect）

知识点

钩状效应及其影响

在双位点一步法中，当标本中受检抗原的含量很高时，过量抗原分别和固相抗体及酶标抗体结合，而不再形成“夹心复合物”。类似于沉淀反应中抗原过剩的后带现象，此时反应后显色的吸光值（位于抗原过剩带上）与标准曲线（位于抗体过剩带上）某一抗原浓度的吸光值相同，如按常法测读，所得结果将低于实际的含量，因为标准曲线到达高峰后呈钩状弯落，所以这种现象被称为钩状效应。钩状效应严重时，反应甚至可不显色而出现假阴性结果。

因此在使用一步法试剂测定标本中含量可异常增高的物质（如 HBsAg）时，应注意可测范围的最高值。用高亲和力的单克隆抗体制备此类试剂可削弱钩状效应。此外，如出现可疑结果或已知为高抗原含量的标本，适当稀释标本后再进行检测可排除钩状效应的影响，得到较为准确的结果。

学习笔记

思路 7：质量控制

注意前述影响因素并尽量避免。每块板均设由权威机构出售的定量阳性、阴性对照和弱阳性对照质控品以及试剂盒中的阳性、阴性对照可监控操作过程，减少假阳性和假阴性的发生。规范化培训专业操作人员也是保证质量的重要环节。

【问题 3】ELISA 技术还可用于测定何种肝炎病毒感染血清标志物？

除了 HBV 感染血清标志物，ELISA 在临床上还常被用来检测甲肝病毒（HAV）感染和丙肝病毒（HCV）感染的血清标志物。

思路 1：可用 ELISA 技术的捕获法定性检测甲肝抗体 IgM，其基本原理详见本章第四节。

思路 2：ELISA 检测抗 -HCV 的原理为间接酶联免疫法

以 HCV 抗原包被固相载体，被检血清中的抗 -HCV 与其结合，再与辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG 反应，形成免疫复合物，加入显色剂显色后，根据颜色的变化进行结果判定（详见本章第四节）。值得注意的是，丙型肝炎病毒抗 -HCV 的检测目前国内多采用第三代抗 -HCV ELISA 试剂，其包被的 HCV 抗原为 NS_3、NS_4 和 NS_5 抗原，质量较好的试剂盒特异性可达 90% 以上。但在临床应用中仍然发现存在诸多不足，主要表现在敏感性不够高，丙肝感染的窗口期不能检测出抗体；尽管有较高的特异性，还是存在相当比例的假阳性；不能区分既往感染和现症感染等。因此 ELISA 法检测丙型肝炎病毒感染血清标志物阳性时，需结合化学发光的检测结果以及分子生物学技术检测病毒核酸的结果综合判断，方能得到较为准确的实验室检查信息。

【问题 4】为何需要用化学发光免疫法定量检测肝炎病毒感染血清标志物，该技术有何特点？

化学发光免疫分析（chemiluminescence assay，CLIA）是将化学发光与免疫反应相结合，用于检测微量抗原或抗体的一种新型标记免疫分析技术。CLIA 具有灵敏度高、特异性强、无放射性危害等优点，在用于检测肝炎病毒感染血清标志物方面，与 ELISA 相比，该方法具有可定量、精密度高、重复性更好，能够捕捉到血清标志物微小的变化，利于临床动态观察治疗效果和病程的转归等优势。

根据分析中标志物不同及反应原理的不同，可分为三种类型：①直接化学发光免疫分析；②化学发光酶免疫分析（chemiluminescence enzyme immunoassay，CLEIA）；③电化学发光免疫分析（electrochemiluminescence immunoassay，ECLIA）。

思路 1：以双抗体夹心法为例，各类型化学发光法的原理如下

（1）直接化学发光免疫分析是用化学发光剂直接标记抗体，与待测标本中相应的抗原形成固相包被抗体 - 待测抗原 - 化学发光剂标记抗体复合物，这时只需加入氧化剂（H_2O_2）和 pH 纠正液（NaOH）使之成为碱性环境，不需要催化剂，化学发光剂即可分解、发光。由集光器和光电倍增管接收记录单位时间内所产生的光子能，这部分光的积分与待测抗原的量呈正比，可从标准曲线上计算出待测抗原的含量。

（2）化学发光酶免疫分析是用参与催化某一化学发光反应的酶如辣根过氧化物酶（HRP）或碱性磷酸酶（ALP）来标记抗体，与待测标本中相应的抗原形成固相包被抗体 - 待测抗原 - 酶标记抗体复合物，洗涤后加入发光底物，酶催化和分解底物发光。由光量子阅读系统接收，光电倍增管将光信号转变为电信号并加以放大，再传送至计算机数据处理系统，计算出测定物的浓度。

（3）电化学发光免疫分析是以电化学发光剂三联吡啶钌标记抗体，以三丙胺（TPA）为电子供体，在电场中因电子转移而发生特异性化学发光反应，它包括电化学和化学发光两个过程。在电化学发光免疫分析系统中，磁性微粒为固相载体包被抗体，标记抗体的标志物为三联吡啶钌，与待测血清经过免疫反应后，形成磁性微粒包被抗体 - 待测抗原 - 三联吡啶钌标记抗体复合物，这时将上述复合物吸入流动室，同时引入 TPA 缓冲液。当磁性微粒流经电极表面时，被安装

学习笔记

在电极下面的电磁铁吸引住，而未结合的标记抗体和标本被缓冲液冲走。与此同时电极加压，启动电化学发光反应，三联吡啶钌和 TPA 在电极表面进行电子转移，产生电化学发光。光信号由安装在流动室上方的光信号检测器检测，光的强度与待测抗原的浓度呈正比（图 14-3-4）。

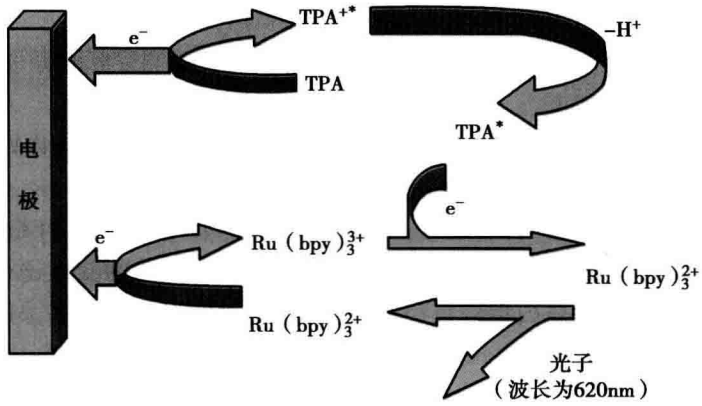


图 14-3-4　电化学发光原理

思路 2：各类型化学发光法的特点

（1）直接化学发光免疫分析的特点：①化学发光剂的氧化反应简单快速，不需要催化剂，只要在碱性环境中即可进行；②反应体系发光迅速，背景噪音低，保证了测定的敏感性；③化学发光剂可直接标记抗原或抗体，结合稳定，不影响标志物的生物学活性和理化特性；④化学发光剂发光为瞬间发光，持续时间短，因此，对信号检测仪的灵敏度要求比较高。

（2）化学发光酶免疫分析的特点：①化学发光酶免疫分析属酶免疫测定范畴，测定过程与 ELISA 相似，仅最后一步酶反应的底物改为发光剂和测定的仪器为光信号检测仪；②酶标记抗原或抗体结合稳定；③酶催化鲁米诺、AMPPD 等发光剂发出的光稳定，持续时间长，便于记录和测定。

（3）电化学发光免疫分析的特点：①三联吡啶钌在电场中因不断得到三丙胺提供的电子，可周而复始地发光，持续时间长，信号强度高，容易对其进行测定和控制；②三联吡啶钌直接标记抗原或抗体，结合稳定，不影响标志物的理化特性；③试剂灵敏度高，稳定性好。

【问题 5】化学发光定量检测可用于检测哪些肝炎病毒感染的血清标志物？

在临床应用中，化学发光法因其敏感度高、特异性好、自动化程度高等优势而成为定量检测临床常见病毒感染的血清标志物的首选方法。除了可以检测 HBV 感染血清标志物外，在检测 HAV、HCV 等肝炎病毒感染血清标志物方面都有较广泛的应用，此外，HIV 病毒感染血清标志物的定量检测也已经应用于临床。

思路 1：化学发光法定量检测 HAV 血清标志物的原理

化学发光微粒子免疫法（CMIA）法以顺磁性微珠包被甲肝病毒抗原（HAV-Ag）后，与标本中的 HAV-IgM 结合为抗原抗体复合物，此时加入吖啶酯标记的抗 HAV-IgM 抗体后形成包被抗原 - 待测抗体 - 吖啶酯标记的抗 HAV-IgM 抗体复合物，在特定的磁场区发生沉积，经反复洗涤使游离抗体与抗原抗体复合物分离，加入预激发液与激发液后，测定其激发光强度即可定量判定标本中的 HAV-IgM 浓度。

思路 2：化学发光法定量检测 HCV 血清标志物的原理

先将样本 HCV 重组抗原包被的顺磁微粒子和稀释液混合，样本中的 HCV 抗体结合到 HCV 重组抗原包被的微粒子上。冲洗后加入啶酯标记的抗 - 人的结合物。再次冲洗后，在反应混合物中加入预激发液和激发液。通过相对发光信号对产生的化学发光反应进行测量。样本中的

学习笔记

HCV 抗体含量与光学系统检测到的光信号成正比。其参考范围为 0~1。当结果小于 1 时判断为阴性。当结果介于等于 1~5 之间时，做确诊实验，结果判定以确诊实验为准。当结果大于等于 5 时，报告为阳性。

【问题 6】定量检测乙肝抗体与 ELISA 法乙肝两对半检测各有何特点？

自动化学发光免疫分析法（CLIA）检测乙型肝炎病毒感染血清标志物具有定量跟踪分析、高灵敏度、高特异性及检测快速的优点，可及时准确地提供实时、动态的检测结果。目前肝炎治疗的药物价格十分昂贵，不同病人对药物的反应也有所不同，动态检测能够为临床提供更及时有效的药物治疗指导，此外，快速的结果报告为一些外地患者减少等待报告时间提供保障，同时也可满足急诊的需求。但与 ELISA 方法比较成本较高，对于进行体检或传染病筛查的病人造成不必要的经济负担。

ELISA 法具有简便、快速的特点，可用于短时间大批量标本的操作。相较于化学发光免疫分析法价格低廉。与化学发光法相比，其缺点是重复性差，特异性较低，影响因素多，如专业人员操作不规范将直接影响到实验结果。在给临床提供诊疗信息时，ELISA 法一般只能对血清标志物进行定性或半定量检测，即使用标准品确定标准曲线的方法用 ELISA 法进行定量，其准确度、灵敏性和操作简便性也较化学发光法差。

【问题 7】乙肝两对半结果和化学发光法已有数据显示患者感染 HBV，为何还要进行乙肝病毒核酸检测？

思路 1：乙肝病毒 DNA（HBV-DNA）检测是判断乙肝病毒复制的最准确和最常用的方法。乙肝两对半和化学发光法均不能准确判断病毒的复制情况，HBV-DNA 出现早于其他乙肝病毒感染血清标志物，其拷贝数高低是反映患者体内病毒复制与传染性的直接证据。HBV-DNA 检测结果结合“两对半”各项定量指标更能客观反映体内 HBV 病毒的状态，正确判断预后及治疗。通常认为，HBV-DNA 阴性而 HBsAg、HBeAg 或 HBeAb 及 HBcAb 浓度均较高，提示并未痊愈，有可能病毒再次出现复制状况，或转为慢性病程，需密切观察。HBV-DNA 阴性而 HBsAg、HBeAg 或 HBeAb 及 HBcAb 浓度均很低或阴性并持续一段时间，提示病情好转或可能痊愈，预后良好。此外，病人抗病毒治疗时，血清 HBV-DNA 定量检测能准确地测定体内病毒数量，有助于动态观察，避免盲目用药。

思路 2：应用 PCR 技术进行血清 HBV-DNA 定量测定可直接反映病毒复制状态，但需注意 HBV-DNA 阴性并不代表体内 HBV 已被清除，因阴性结果也可能由于肝细胞内 HBV 状态处于静息期或病毒量未达到所检测的水平。

知识点

荧光定量 PCR 技术（fluorescence quantitative PCR，FQ-PCR）检测 HBV-DNA 原理

在 PCR 反应体系中加入荧光基团，利用荧光信号累积监控 PCR 进程，最后通过标准曲线对未知模板进行定量分析，根据 Ct 值（即每个反应管内的荧光信号到达设定的阈值时所经历的循环数）判断结果。每个模板的 Ct 值与该模板起始拷贝数的对数存在线性关系。起始拷贝数越多，Ct 值越小。利用标准品作出标准曲线，获取待测样品的 Ct 值，即可从标准曲线上计算出该样品的起始拷贝数。

【问题 8】分子生物学技术还可应用于哪些肝炎病毒感染的检测？

在丙型肝炎感染的窗口期用 ELISA 法难以检出抗体，在丙肝患者病情监控中用 ELISA 法也不能准确反映丙肝病毒在人体内的复制情况。HCV-RNA 检测结果是病毒复制和肝炎进程的确切标志，因此 HCV-RNA 已成为 HCV 病毒感染的较为可靠的指标或“金标准”。在检测抗 -HCV

学习笔记

同时，应检测特异性强、敏感度高的 HCV-RNA，以提高检出率。

思路 1：分子生物学技术检测 HCV-RNA 原理与 HBV-DNA 分子生物学检测原理相似，都是利用检测荧光基团发出的荧光信号累积监控 PCR 进程，最后通过标准曲线对未知模板进行定量分析。区别点在于 HCV-RNA 在提取后首先要经反转录酶的作用在特异性引物存在的条件下生成 c-DNA 才能进行扩增。

思路 2：HCV 感染者的病毒载量通常很低。常规的杂交技术难以检出 HCV-RNA。荧光定量 PCR 技术能够检测较低的 HCV 病毒载量，该方法可作为确诊和准确判断丙型肝炎治疗效果的重要指标，特异性好，敏感性高。直接检测 HCV-RNA 提高了 HCV 感染检测的准确性，有利于疾病的早期诊断。利用分子生物学技术检测 HCV-RNA 的载量和基因型可对用药和预后提供参考，可为临床用药剂量、时间提供依据。但由于敏感性高，操作过程复杂，容易出现污染而致假阳性。

【问题 9】有无检测 HBV 感染的快速方法？

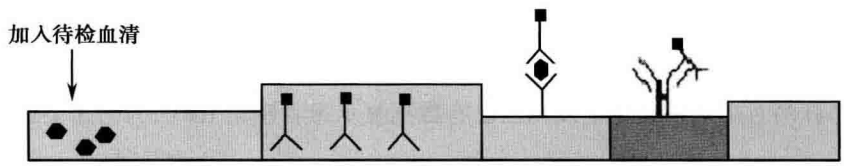


图 14-3-5　用免疫层析实验检测乙肝表面抗体原理

用免疫层析试验（immunochromatography assay，ICA）检测乙型肝炎表面抗原用血量少，操作简便快速，结果便于观察，是一种快捷简便的乙型肝炎病毒感染的初筛方法（图 14-3-5）。

免疫层析实验虽然简便快捷，但因敏感性差、漏检率比较高，会出现部分标本 ELISA 法检测阳性而免疫层析实验检测结果阴性的现象。

学习笔记

知识点

免疫层析试验（ICA）检测乙型肝炎表面抗原的原理

将乙型肝炎表面抗体（HBsAb）固相在硝酸纤维薄膜上，用来捕获血清标本中的 HBsAg，形成的 HBsAb·HBV-Ag 胶体金复合物在膜上形成肉眼可见红色斑点。免疫层析试验主要利用了金颗粒具有高电子密度的特性，在金标蛋白结合处，在显微镜下可见黑褐色颗粒，当这些标志物在相应的配体处大量聚集时，肉眼可见红色斑点，因而可用于定性或半定量的快速免疫检测。

【问题 10】免疫层析试验（ICA）可以检测其他肝炎病毒感染血清标志物吗？

ICA 除了应用于检测乙型肝炎表面抗原，临床上还常用于检测甲肝抗体和丙肝抗体。检测原理和检测乙型肝炎表面抗原时相同，但由于该方法缺陷太多，影响到结果的准确性（详见本章第四节），临床应用时不提倡用该法进行实验室诊断检查。当用于病毒感染的快速筛查时，检测结果需用 ELISA 或其他方法再次检测复核。

病历摘要 2：

患者男，64 岁。于 60 岁体检时乙肝病毒感染血清标志物检查结果为“大三阳”，平素胃口差，伴有乏力和全身不适，近半年来不适感加重。病程中患者睡眠差，小便黄，大便无特殊。预防接种史不详。体格检查：体温 36.5℃，巩膜黄。余正常。乙肝两对半、乙肝抗体定量、乙型肝炎病毒核酸结果如下：

×××× 医院检验报告单

姓名：　　病历号：××××××　　临床诊断：　　标本种类：血清
性别：男　　科别：内科　　申请医生：　　标本编号：××××××
年龄：64 岁　　病房：× 病房　　备注：空腹采血　　采集时间：××××-10-14-08：05

No.	检验项目	结果	OD 值	Cutoff	S/C.O.
1	乙肝表面抗原（HBsAg）	阳性（+）	2.416	0.257	22.0157
2	乙肝表面抗体（HBsAb）	阴性（-）	0.006	0.102	0.021
3	乙肝 e 抗原（HBeAg）	阴性（-）	0.515	0.113	0.051
4	乙肝 e 抗体（HBeAb）	阳性（+）	1.526	0.643	15.402
5	乙肝核心抗体（HBcAb）	阳性（+）	1.124	1.315	10.501

接收者：　　接收时间：××××-10-14-10：06　　审核者：　　审核时间：××××-10-14-15：05
检验者：　　检验时间：××××-10-14-13：15　　检测实验室：　　×××× 检验科免疫室

×××× 医院检验报告单

姓名：　　病历号：××××××　　临床诊断：　　标本种类：血清
性别：男　　科别：内科　　申请医生：　　标本编号：××××××
年龄：64 岁　　病房：× 病房　　备注：空腹采血　　采集时间：××××-10-14-08：05

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	乙肝表面抗原（HBsAg）	8.2	0~5	Index/ml
2	乙肝表面抗体（HBsAb）	15.5	0~30	Index/ml
3	乙肝 e 抗原（HBeAg）	7.4	0~15	Index/ml
4	乙肝 e 抗体（HBeAb）	121	0~100	Index/ml
5	乙肝核心抗体（HBcAb）	148	0~100	Index/ml

接收者：　　接收时间：××××-10-14-10：06　　审核者：　　审核时间：××××-10-14-15：05
检验者：　　检验时间：××××-10-14-13：15　　检测实验室：　　×××× 检验科免疫室

×××× 医院检验报告单

姓名：　　病历号：××××××　　临床诊断：　　标本种类：血清
性别：男　　科别：内科　　申请医生：　　标本编号：××××××
年龄：64 岁　　病房：× 病房　　备注：空腹采血　　采集时间：××××-10-14-08：05

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	乙型肝炎病毒核酸（HBV-DNA）	2.7×10^3	<500	IU

接收者：　　接收时间：××××-10-14-09：10　　审核者：　　审核时间：××××-10-14-13：38
检验者：　　检验时间：××××-10-14-10：48　　检测实验室：　　×××× 检验科分子生物室

生化检查结果：白蛋白（ALB）降低，球蛋白（GLO）升高，白球比（A/G）降低，胆碱酯酶（CHE）降低，血清胆红素（TBIL）升高，总胆汁酸（TBA）升高，丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天门冬氨酸氨基转移酶（AST）增高。

【问题 1】综合实验室检测报告及患者的临床表现，试分析该患者的病情。

患者乙肝病毒感染血清标志物表面抗原和核心抗体、e 抗体阳性，提示已由 e 抗原转归为 e 抗体，由“大三阳”转为“小三阳”，可能进入慢性期或缓解期，但乙型肝炎病毒核酸检测病毒载量高出参考区间，提示乙肝病毒在体内仍有复制。ALB 降低，GLO 升高，A/G 降低，出现白球倒置，CHE 降低，ALT，AST 增高，TBIL 升高，TBA 升高。提示有肝脏细胞的损伤，肝功能受损，合成和代谢功能障碍。乙肝病毒本身无肝细胞毒性，肝脏的炎症和纤维化的进程是 HBV 与患者的免疫状态相互作用的结果。随患者年龄的增长，免疫耐受逐渐被打破，免疫清除逐渐起主导作用，

学习笔记

伴随肝组织损伤加重。

知识点

慢性 HBV 肝损伤的机制

慢性 HBV 感染的过程包括 3 个阶段，即免疫耐受期（HBeAg 阳性阶段）、免疫清除期（HBeAg 消失和 HBeAb 出现）、非活动期（无症状的健康携带状态，即 ALT 正常或接近正常，HBV-DNA 阴性，HBeAb 阳性）。然而在部分人群中，慢性 HBV 感染还包括复发或再激活阶段。在再激活阶段，患者再次出现活跃的病毒复制，伴随肝组织病变进展。在这个阶段不能产生 HBeAg 的 HBV 的变异株占优势，具有免疫调节作用的 HBeAg 的消失和具有免疫活性的 HBeAb 出现成为 HBV 诱导的肝脏炎症坏死的主要因素，复发或再激活可间断发生或持续发生，导致肝损伤。

【问题 2】乙肝患者的血清生物化学检查有何特点？

ALT、AST 与大三阳患者的肝细胞损伤存在一定的相关关系，在慢性乙肝检测中是比较敏感的指标，对评估慢性乙肝患者的肝细胞损伤具有重要意义。AST 在心肌中的含量最高，其次为肝脏。故血清中 AST 升高在排除心肌病变后，要考虑肝脏炎症及坏死。ALB 和 CHE 由肝脏合成，主要反映肝实质合成蛋白质的能力，二者减低趋势大致平行，在反映肝脏合成能力方面，因 CHE 半寿期短，比 ALB 更有意义。

五种主要嗜肝病毒都会引起急性肝炎，但只有 HBV、HCV、HDV 三种病毒会引起慢性肝炎，各种嗜肝病毒引起的临床表现非常相似。因此，肝炎病毒感染血清标志物及病毒核酸的检查结果对临床确定诊断以及评估治疗效果和判断预后等都十分重要，不同的检查方法具有不同的特点，应用时应根据检查目的选择相应的方法，当病人的检查结果与临床表现不吻合时也应结合检查方法的优势、缺陷等特点进行分析（表 14-3-1）。

学习笔记

表 14-3-1　肝炎病毒感染血清标志物不同检测方法的比较

方法	基本原理	常见影响因素	优势	缺陷	特点
酶联免疫吸附试验（enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA）	固相载体上包被抗原或抗体，检测样本中的抗体或抗原。标志物用以判断样本中是否存在目标被检物	1. 固相载体吸附性能的差异。 2. 抗原杂质竞争结合位点。 3. 样本保存不当。 4. 操作试验温度和洗涤步骤错误。 5. 钩状效应（hook effect）	灵敏、特异性、操作成本低，操作简单	抗原抗体特异性反应的基本原理导致其局限性。 影响因素多，不可定量	较经典且是基层医院最为常用的方法
免疫层析试验（immunochromatography assay，ICA）	硝酸纤维膜包被抗原或抗体，捕获目标被检物	后带现象导致假阴性	操作简便、反应快速	敏感度略低，精密度较差，质控困难	主要用于初步的筛查和快速急诊检测
化学发光免疫分析（chemiluminescence assay，CLIA）	标记有发光物质的免疫复合物产生化学发光，测量光量子产额定量检测待检物质	化学发光免疫分析的影响因素较少，其自动化保证了检测结果的准确可靠	高灵敏度、高特异性，检测快速	检测成本昂贵	可定量，结果准确性高，可提供实时、动态的检测结果

续表

方法	基本原理	常见影响因素	优势	缺陷	特点
时间分辨荧光免疫测定(time resolved fluoroimmunoassay，TRFIA)	利用镧系元素标记抗原或抗体，根据镧系元素螯合物的发光特点，用时间分辨技术测量荧光	影响因素较少，特异性荧光与非特异性荧光分离，发射荧光与激发荧光分离提高了试验精确度	高精确度，高特异性，线性范围宽，稳定性好	成本较贵且检测时间较长	可定量，结果准确性高，可提供实时、动态的检测结果
荧光定量PCR技术(fluorescence quantitative PCR，FQ-PCR)	利用荧光信号累积监控PCR进程。用模板的Ct值计算样品的起始拷贝数	1. 微量的污染即可造成实验结果偏差。 2. 样本保存不当	敏感性好，准确度高	操作过程复杂，污染致假阳性。价格较高	直接检测病毒，实时准确监控病毒是否复制及复制的量。是判断有无传染性的确认实验

(杨红英)

第四节　病原体感染免疫学试验

病原体(pathogen)是能引起疾病的微生物和寄生虫的统称，其中微生物占绝大多数，包括病毒、细菌、衣原体、立克次体、支原体、螺旋体和真菌，而寄生虫主要有原虫和蠕虫。人体感染病原体后可产生针对病原体的特异性抗体，且病原的抗原成分也可在血液中检测到，从而为临床诊断提供重要依据。本节主要介绍TORCH感染、梅毒感染、支原体感染等的病原体感染免疫学试验及其应用。

一、TORCH感染实验室诊断

TORCH是指可导致先天性宫内感染引起流产、死胎、早产和先天畸形以及围生期感染等的一组病原体，是最常见、最重要的子宫内感染因素和胎儿宫内感染因素，也是目前世界上公认的具有致病致畸作用的一组病原微生物，因而受到全世界产科和儿科的重视。近年来世界各地已将TORCH作为孕期常规筛查项目。

孕妇由于内分泌系统改变致机体免疫力下降，不仅容易发生原发性感染，而且也容易激活体内潜伏病毒发生复发感染，胎儿及新生儿的先天性感染可发生在妊娠的各个时期，胎儿宫内感染尤其是孕早期感染可造成胎儿畸形等严重后果，因此孕前进行TORCH感染检查十分重要。

此外，应用免疫抑制剂或免疫功能低下的人群也容易发生TORCH中巨细胞病毒等的感染。

知识点

TORCH的含义

TORCH指一组病原体，是美国学者Nahmias等于1971年将数种孕妇患病后可能引起子宫内胚胎(胎儿)感染引发流产、死胎、甚或造成先天缺陷或发育异常的病原体英文名词的第一个字母组合而成。其中TO代表弓形虫(toxoplasma gondii，Tox)，R代表风疹病毒(rubella virus，Rv)，C代表巨细胞病毒(cytomegalovirus，CMV)，H代表单纯疱疹病毒1型和2型(herpes simplex virus 1 and 2，HSV)，也有学者将O解释为其他病毒(others virus)。

学习笔记

病历摘要：

患者女，27岁，孕16周。于××××年6月23日就诊，患者3年前无明显诱因臀部右侧出现水疱伴轻度疼痛、灼热感。无咽痛、疲惫、发热，以“带状疱疹”给予“抗病毒口服、外用1周”后水疱消失。之后3年来相同部位反复发作相同病症，每年3~4次，每次均持续1周水疱就自动消失。既往体健，家族中无免疫性疾病。皮肤科检查：臀部右侧有多量细小水疱，呈带状群集分布，疱液清，部分水疱破溃糜烂，同时有群集性点状色素沉着，也呈带状分布，双侧腹股沟淋巴结无肿大。刮取疱底物染色行细胞学检查见多核巨细胞和核内包涵体。实验室检查结果如下：

××医院检验报告单

姓名：	病历号：××××××	临床诊断：	标本种类：血清
性别：女	科别：产科	申请医生：	标本编号：××××××
年龄：27岁	病房：×病房	备注：空腹采血	采集时间：××××-12-26-08：45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	弓形虫IgM抗体	143.1 阴性	0~450	U/ml
2	弓形虫IgG抗体	7.8 阴性	0~10	IU/ml
3	风疹病毒IgM抗体	<2.0 阴性	0~2.5	U/ml
4	风疹病毒IgG抗体	<5.0 阴性	0~10	IU/ml
5	巨细胞病毒IgM抗体	<5.0 阴性	0~10	U/ml
6	巨细胞病毒IgG抗体	<15.0 阴性	0~25	U/ml
7	单纯疱疹病毒IgM抗体	400.3 阳性	0~20	U/ml
8	单纯疱疹病毒IgG抗体	2000 阳性	0~20	U/ml

接收者：	接收时间：××××-12-26-08：50	审核者：	审核时间：××××-12-26-14：10
检验者：	检验时间：××××-12-26-09：00	检测实验室：	×××× 医院检验科免疫室

学习笔记

【问题1】分析患者的检验报告结果并结合临床表现，初步考虑最可能的诊断是什么？

患者的血清学TORCH检查单纯疱疹病毒-IgM及单纯疱疹病毒-IgG阳性，结合临床表现提示单纯疱疹病毒感染且可能处于复发感染活动期。

【问题2】TORCH检测为什么要同时检测IgM和IgG抗体，各有何临床意义？

IgM抗体是机体受病原体感染后最先产生的抗体，IgM抗体阳性提示被检者近期有这种病原体的活动性感染。IgG抗体阳性提示被检者有过该病原体感染，或接种过疫苗等。IgG抗体阴性提示没有感染过这类病原体，或感染过但没有产生抗体。故同时检测IgM和IgG较之仅检查IgG或IgM对临床的指导意义更大。详见表14-4-1。

表14-4-1　TORCH IgM和IgG检测的临床意义

检查结果	意义	危险性	处理措施
IgM+　IgG+	早期感染过体内有抗体，近期复发感染	高	采用其他检测方法进一步确诊，若近期感染指标仍为阳性同时胎儿情况不佳，应终止妊娠
IgM+　IgG−	急性期初次感染	极高	处理方法同上
IgM−　IgG+	早期感染过，体内有抗体，有一定免疫力；无近期感染	低	监测胎儿情况，暂时无须进一步处理
IgM−　IgG−	无感染史，体内无抗体，无免疫力	暂无	严格监控，有条件应进行人工免疫
IgG抗体4倍升高	近期复发或体内潜伏的病毒被激活	高	同时采用其他检测方法进一步确诊，若近期复发感染指标仍为阳性同时胎儿情况不佳，应终止妊娠

知识点

同时检测 TORCH IgM 和 IgG 抗体的意义

在 TORCH 检查应用于临床的初始阶段大多只测定 TORCH IgM 抗体，用于判断近期感染，后来发现一些孕妇 IgM 抗体持续阳性时间较长，而别的实验证实并非 TORCH 急性感染，且实践中发现一些内源性物质（补体、类风湿因子、自身抗体等）可导致 IgM 抗体假阳性，故 IgG 抗体的检测对于确认是否发生 TORCH 感染及感染处于何阶段就十分重要。可观察 IgG 抗体的动态变化：IgG 抗体由阴性转化为阳性是急性感染的标志；IgG 抗体滴度显著升高是复发感染的标志；IgG 抗体持续阴性而 IgM 抗体持续阳性可能是 IgM 假阳性。

【问题 3】试分析该患者感染的危险性？

思路 1：患者疱疹感染部位在臀部，提示为Ⅱ型疱疹病毒感染，较Ⅰ型疱疹病毒感染危害大。患者疱疹病毒 IgM 及 IgG 均阳性，结合病史提示早期感染过体内有抗体，近期复发感染。

思路 2：应该采用其他检测方法进一步确诊。若近期复发感染指标 IgM 仍为阳性，IgG 抗体滴度也显著升高，同时胎儿情况不佳，应考虑终止妊娠；若胎儿发育情况正常且患者不愿终止妊娠，可密切监测胎儿生长发育情况，出现病理情况可考虑终止妊娠。需要注意的是：是否终止妊娠需特别慎重，应综合临床医师、孕妇本人及家属的意见并结合胎龄、实验室及其他辅助检查结果仔细分析决定。

【问题 4】TORCH 检查常用方法有哪些？

临床上 TORCH 的血清学检查方法较多，有 ELISA、PCR、胶体金、分离培养和全自动化学发光检测等。国内多采用 ELISA 技术，可检测各病原体的抗原及抗体。

思路 1：特异性 IgM 和 IgG 的测定

（1）ELISA 捕获法：IgM 抗体主要运用 ELISA 捕获法进行检测，主要用于检测各种病毒感染早期特异性 IgM 抗体的消长水平，其原理是以抗人 IgM 抗体（抗人 μ 链）作为固相抗体，当加入血清标本时，其中的 IgM 类抗体（特异的和非特异的）即可被固相抗体捕获，再加入特异抗原，它与固相上捕获的特异的 IgM 抗体结合后，加入酶标抗特异抗原的抗体，最后加入底物显色（图 14-4-1）。该法敏感度高、特异性强，但要注意避免同型抗体间对抗原位点的竞争而使敏感性差的问题以及类风湿因子（IgM 类）等引起的非特异性反应。（图 14-4-2）

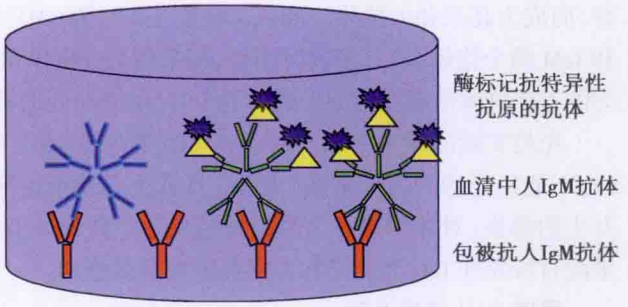


图 14-4-1　ELISA 捕获法检测法检测 IgM 抗体原理示意图

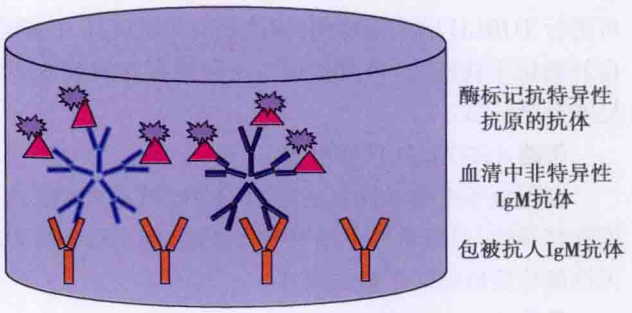


图 14-4-2　ELISA 捕获法检测法检测非特异性 IgM 抗体原理示意图

学习笔记

知识点

ELISA 捕获法应用注意

采用上述模式要注意的是 RF(IgM 类)及其他非特异 IgM 的干扰。RF(IgM 类)由于其能与固相抗人 μ 链抗体结合,并可与随后加入的酶标抗体(动物 IgG)反应,从而导致假阳性反应(图 14-4-2)。而非特异 IgM 由于其在第一步温育中,可与特异 IgM 竞争与固相抗体结合,会影响测定的特异性。非特异 IgM 一般浓度较低,对临床样本进行适当稀释可减少或避免此类干扰。

(2) ELISA 间接法:IgG 抗体主要运用 ELISA 间接法检测,其原理如下图 14-4-3。一般间接法只能用于检测 IgG 类抗体,并且因一种标志物可用于不同抗体的检测,特异性较差。

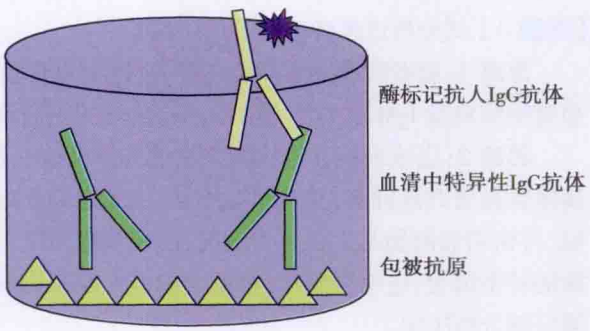


图 14-4-3　ELISA 间接法检测 IgG 抗体原理示意图

思路 2:TORCH 的亲和力(avidity)测定

亲和力测定日益受到关注,单一的 IgM 阳性还不能完全肯定被检者是近期感染,即 IgM 阳性尚不能作为近期感染的确切判断指标。2005 年 Munro 等提出妊娠期 CMV 检测应关注亲和力检测的重要性。机体感染病原体后,初次免疫应答产生的抗体通常亲和力低,经过数周或数月亲和力成熟的过程,其与抗原的互补更好,而成为高亲和力抗体。Munro 等提出妊娠期 CMV 检测程序选择敏感性较高的试剂检查 IgG 和 IgM 两个指标,若二者同时阳性,则采用 IgG 抗体亲和力帮助区分是否为原发感染,因低亲和力的 IgG 抗体出现在感染后的前几个月,随着时间的推移,抗体逐渐成熟为高亲和力的抗体。

免疫实验时样本中加入尿素或其他变性剂,测定可经受及不能经受尿素等变性剂作用的抗体,不能经受的则为低亲和力抗体,反映为急性或近期感染。该测定可排除患者前 4~5 个月内发生的感染,对怀孕第一个月检查结果显示特异性 IgM 和 IgG 抗体均阳性的孕妇尤其有用,如果此时特异性 IgG 为高亲和力则提示为孕前感染。

思路 3:化学发光法

在我国最简便、最常用的TORCH筛查方法多为ELISA,该法因其稳定、灵敏度高、特异性强、成本低等优点而在国内的临床实验室广泛采用,但一般只能定性,不能定量。采用化学发光法可进行 TORCH 的定量检测,该法具有灵敏度高,检测速度快,批内和批间变异小的优点,且具有良好的抗干扰能力,可避免标本中可能存在的其他病毒 IgG 抗体以及类风湿因子等的干扰(详见本章第三节)。

思路 4:TORCH 核酸检测

利用分子生物学技术检测 TORCH DNA(RNA),因是直接检测病原体基因,具有高度的灵敏度和特异性,可定量并且结果更为准确,但实验条件要求高,成本较贵,不易推广普及,且目前尚无性能稳定成熟的市售试剂盒。

思路 5:病原学检查

包括涂片染色(弓形虫滋养体和风疹病毒包涵体)、尿脱落细胞检查(巨细胞病毒)、病毒分离培养和动物接种分离。病毒分离培养是最特异的诊断方法,可作为确诊试验,但实验条件要求高,操作烦琐,不易普及应用。

思路 6:TORCH 感染检测不同方法的临床应用,见表 14-4-2。

学习笔记

表 14-4-2　TORCH 感染检测方法学比较

方法	目的	基本原理	优点	缺点
捕获法(ELISA)	定性检测 IgM	ELISA	敏感度高、特异性强	成本稍高
间接法(ELISA)	定性检测 IgG、IgM	ELISA	成本低	特异性不高，易产生假阳性或假阴性
化学发光法	定量检测 IgG、IgM	见第三节	可定量，灵敏度高	成本高
核酸检测	检测 TORCH DNA(RNA)	PCR	灵敏度和特异性高	需要专业人员及专业设备，成本较贵，不易推广普及
病原学检查	检测病原体	细胞学、分离培养	最具特异性，可作为确诊试验	技术要求高，操作繁琐，不易普及应用

【问题 5】为何有的患者在一家医院检查结果为 IgM 抗体阳性，而到了另一家医院 IgM 抗体结果为阴性？

该结果可因方法学的差异而造成，IgM 抗体一般运用 ELISA 捕获法检测，但由于间接法成本低，有的实验室会选择用 ELISA 间接法检测 IgM 抗体，此测定方法的原理与直接法类似，差别在于直接法将抗原直接固定在固相载体上，加入酶标记的一级抗体，即可测定抗体总量，此一级抗体的特异性非常重要。而间接法一级抗体没有酶标记，改用酶标记的二级抗体去辨识一级抗体测定抗体量(图 14-4-4)。间接法的优点是生产成本相对较低，缺点是特异性较差，检测 IgM 抗体时易受到血清中其他特异性 IgG 和 RF 的干扰，容易出现假阴性或假阳性结果。如血清中特异性 IgG 抗体竞争结合固相抗原，造成假阴性结果(图 14-4-5)。而类风湿因子(RF)血清中针对 IgG FC 片段上抗原表位的一类自身抗体，在类风湿关节炎患者体内有较高滴度表达，能与人或动物的变性 IgG 结合，间接法中 RF 既能与抗 IgM 的酶标抗体结合，也能与特异性 IgG 结合，造成假阳性结果(图 14-4-6)。消除干扰的办法可采用检测前用吸附剂去除血清特异性 IgG 和 RF 因子的干扰。

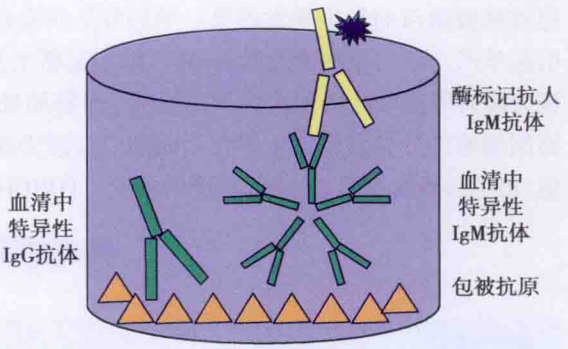


图 14-4-4　间接法检测 IgM 抗体原理示意图

思路 1：间接法检测 IgM 造成假阴性结果，原理为血清中其他特异性 IgG 抗体竞争结合固相抗原，造成假阴性结果(图 14-4-5)

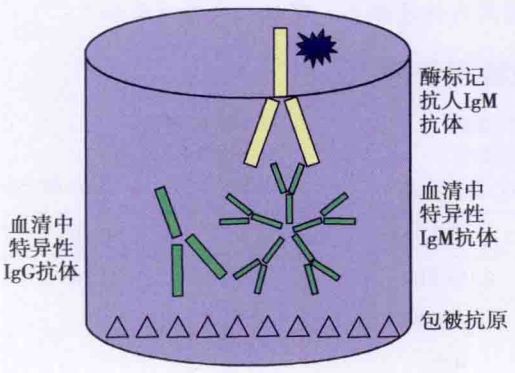


图 14-4-5　间接法检测法检测 IgM 抗体假阴性原理示意图

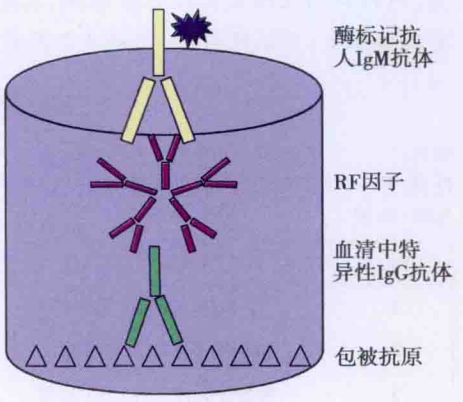


图 14-4-6　间接法检测法检测 IgM 抗体假阳性原理示意图

学习笔记

思路 2：间接法检测 TORCH-IgM 造成假阳性结果的常见原因是标本中某些特异性 IgG 抗体可与 RF 形成“IgG-RF”复合物，该复合物中的 RF 可与抗 IgM 的酶联物结合而 IgG 可与包被的抗原结合，从而造成假阳性结果（图 14-4-6）。

【问题 6】TORCH 病原体感染人体后，特异性抗体出现的时间？持续多长？有何意义？

（1）RV 感染人体后 2 周左右产生 IgM 抗体，3 周达到高峰，6~7 周时 IgM 滴度降低或消失已不能检出，IgG 在感染后 3 周测出，故 IgG 阳性、IgM 阴性时不能排除此前 8 周的 RV 感染。

（2）CMV-IgM 抗体在感染后可持续 4~8 个月阳性，有 10% 复发性 CMV 感染者 IgM 可持续 18 个月，因此难以依据 IgM 阳性结果准确判定是原发感染还是继发感染以及在哪个时期发生感染。

（3）TOX-IgM 抗体产生于弓形虫感染后 7~8 天，窗口期检测不到抗体不能排除弓形虫感染，大多数患者的 IgM 抗体产生后可在体内持续 4~6 个月，但有少部分患者 IgM 可在感染后 3 周内降至阴性水平，还有的患者在初次感染后维持近一年低水平的 IgM 抗体。

（4）HSV-IgM 抗体于感染后 1~2 周可检测到，抗体最高效价出现于第 3 周，然后慢慢下降，6 个月左右消失，再次感染后再升高，故 IgM 抗体阳性提示患者近期有这种病毒的活动性感染。IgG 产生后持续时间较长。动态检测抗体水平可进行 HSV 感染的血清学评价。

【问题 7】孕期感染 TORCH 有什么危害和风险？

孕期感染弓形虫、巨细胞病毒、风疹病毒、单纯疱疹病毒时，可导致流产、死胎、胎儿畸形，或出现婴儿智力低下、视听障碍等远期严重后果。这组微生物感染有着共同的特征，即可造成母婴感染。孕妇由于内分泌改变和免疫力下降易发生原发感染，既往感染的孕妇体内潜在的病毒也容易被激活而发生复发感染。孕妇发生病毒血症时，病毒可通过胎盘或产道传播感染胎儿，引起早产、流产、死胎或畸胎等，还可能引起新生儿多个系统、多个器官的损害，造成不同程度的智力障碍等症状。特别在怀孕初的三个月胚胎处于器官形成期，此时受病毒感染可破坏细胞或抑制细胞的分裂和增殖。器官形成期以后感染病毒，可破坏组织和器官结构，并可形成持续感染，出生后继续排毒，能引起相应的病变。TORCH 感染严重影响人口素质。

学习笔记

二、梅毒感染检验诊断

病历摘要：

患者男，30 岁。脐周红肿、流脓、增生伴疼痛，肛周、阴囊红斑、丘疹、脱屑伴瘙痒 3 个月余。患者 3 个月前无明显诱因出现脐部红肿，伴轻微疼痛，自行涂抹多种药膏，效果不佳，后肚脐有大量脓性分泌物渗出，中央缓慢长出约蚕豆大鲜红色肉芽组织，表面糜烂，疼痛明显，同时肛周及阴囊出现散在红斑、丘疹，伴轻微瘙痒，无明显水疱、渗出。否认手术、外伤史及输血史；否认吸毒史，发病 4 个月前曾与网友有性接触史。实验室检查结果如下：

×× 医院检验报告单

姓名：	病历号：××××××	临床诊断：	标本种类：血清
性别：男	科别：皮肤科	申请医生：	标本编号：××××××
年龄：30 岁	病房：× 病房	备注：空腹采血	采集时间：××××-11-05-07：55

No.	检验项目	OD	Cut off	S/C.O.
1	[TP 抗体]梅毒螺旋体抗体	2.188 阳性	0.186	11.763
2	TRUST 不加热血清试验	1：2 阳性		
3	梅毒螺旋体抗体（TPPA）法	阳性		

接收者：	接收时间：××××-11-05-08：50	审核者：	审核时间：××××-11-05-15：10
检验者：	检验时间：××××-11-05-09：30	检测实验室：	×××× 医院检验科免疫室

【问题 1】根据检验报告并结合患者的临床表现，该患者初步考虑最可能的诊断是什么？

该患者初步考虑梅毒螺旋体感染。

思路 1：该患者出现生殖器红斑、丘疹、脱屑，皮肤红肿，肉芽组织，TP-ELISA 筛检阳性，梅毒螺旋体颗粒凝集试验（TPPA）确认也为阳性，甲苯胺红不加热血清试验（TRUST）阳性，滴度：1∶2。提示该患者梅毒螺旋体感染。

思路 2：梅毒感染可通过病史、临床表现及实验室检查结果进行诊断

感染梅毒后，首先出现 IgM 抗体，随着疾病发展，IgG 抗体随后出现并缓慢上升。经有效治疗后 IgM 抗体消失，IgG 抗体则持续存在。TP-IgM 抗体不能通过胎盘，如果婴儿 TP-IgM 阳性则表示婴儿已被感染，因此，TP-IgM 抗体检测对诊断婴儿的胎传梅毒有重要意义。

【问题 2】临床上梅毒感染的检测方法有哪几种？这些方法各有什么优势和缺陷？

梅毒感染有以下几种检测方法：①梅毒病原体的检测；②梅毒非特异性抗体试验；③梅毒螺旋体特异性抗体试验。临床上主要应用梅毒血清学检查方法即后两种试验来进行梅毒的感染检查。不同方法有其各自的特点（详见表 14-4-3），应用时应根据具体情况选择适合的方法进行梅毒感染的检测。

思路 1：梅毒非特异性抗体试验是临床上较为常用的梅毒检测方法，主要有 4 种

（1）甲苯胺红不加热血清反应素试验（TRUST）：TRUST 试验是梅毒筛查的常用方法，该方法检测患者血清中非特异性抗心磷脂抗体（即反应素），采用凝集法检测（原理见图 14-4-7），TRUST 试验结果清晰易读，简便快速，稳定性好。缺点是影响因素较多，如高脂血症和抗心磷脂抗体阳性以及自身免疫性抗体阳性等的血清均可干扰试验而出现假阳性结果。

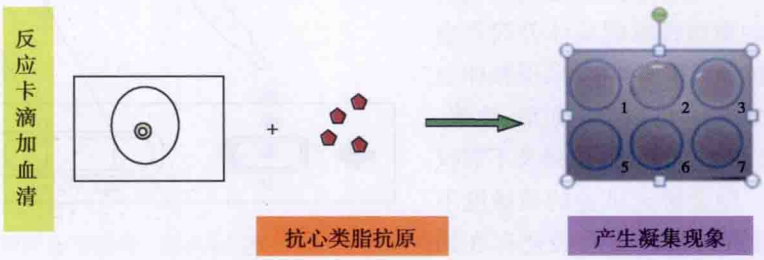


图 14-4-7　TRUST 检测原理

（2）性病研究实验室试验（venereal disease research laboratory test，VDRL）：适量加入胆固醇及卵磷脂至从牛心肌中提取的心磷脂，胆固醇以及卵磷脂主要提高敏感性，通常称这种抗原为心磷脂抗原。该试验属于微量玻片法，对诊断神经梅毒有重要价值，可做定量及定性试验，操作简单，但对一期梅毒敏感性不高。

（3）不加热血清反应素试验（USR）：采用的是改良的 VDRL 抗原，将该抗原用稀释液稀释后离心沉淀，于沉淀中加入 EDTA、氯化胆碱和防腐剂。敏感性及特异性与 VDRL 相似。但由于其主观性强，易出现漏检。

（4）快速血浆反应素环状卡片试验（RPR）：该方法操作简便、迅速，适用于大量标本检测，所用抗原为标准的牛心肌脂抗原，目前许多血站用 RPR 试验对献血者进行梅毒普查。RPR 试验和暗视野显微镜检查梅毒螺旋体（DF）方法对一期梅毒的诊断相互配合，可早期诊断梅毒；同时，RPR 试验也可作为疗效观察或随访是否复发的指标。缺点是当抗体含量过高时，易出现假阴性，即前带现象（prezone phenomenon），还易出现生物学假阳性反应，故对潜伏期梅毒、神经梅毒不敏感。

思路 2：梅毒螺旋体特异性抗体试验主要有以下几种

（1）梅毒螺旋体明胶凝集试验（treponema pallidum particle agglutination，TPPA）：TPPA 作为梅

学习笔记

毒抗体检测的确证方法，有着很高的敏感度和特异性，操作较简便，结果清晰易判断，基本原理是将可溶性抗原（梅毒螺旋体）吸附于一种与免疫无关、大小均匀的载体微粒明胶颗粒表面，使之成为致敏微球，与检测样品中相应的抗体（梅毒螺旋体抗体）结合发生凝集反应，通过观察肉眼可见的颗粒凝聚现象，可以判断样品中有无相应抗体。该方法也是被美国疾病预防控制中心（CDC）定为梅毒感染确认的方法之一。但价格昂贵，且结果判断难以自动化，对疗效观察意义不大。TPPA 是目前梅毒诊断的确诊试验，一旦试验呈阳性反应后，即使经过治疗，也终身不会转阴，也即该抗体一旦出现将终生存在于被感染者体内。

（2）梅毒螺旋体血球凝集试验（treponema pallidum hemagglutination assay，TPHA）：TPHA 的试验原理与 TPPA 基本相同。TPHA 试验用洋红色的梅毒螺旋体致敏明胶颗粒，该致敏颗粒与人血清或血浆中的梅毒螺旋体抗体结合，产生可见的凝集反应，有较高的敏感性。在操作步骤上也较为方便，出结果较快。

（3）梅毒螺旋体酶联免疫吸附试验（treponema pallidum enzyme-linked immunosorbent assay，TP-ELISA）：TP-ELISA 方法对一期梅毒的诊断率较高，检测操作简便，不受样本纤维蛋白和溶血等影响，一次可进行多份样本的检测，是近年来应用 TP 基因工程建立的方法，灵敏度高且具有较好的特异性，是用双抗原夹心法测定梅毒特异性抗体。TP-ELISA 方法主要检测梅毒螺旋体 IgG 和 IgM 抗体。该方法因高度敏感，存在一定的假阳性，用 TP-ELISA 筛检阳性的标本再用 TPPA 方法进行确认不失为一种经济且可靠性有一定保证的方法。

（4）梅毒金标记试验（gold-labeled）：金标记结合了 ELISA 与层析法的优点，以基因工程方法生产的重组梅毒螺旋体外膜蛋白为包被和标记抗原（图 14-4-8），采用胶体金标记和免疫层析技术，可以检测血清、血浆、全血，具有快速、简便、特异性较强及不需仪器设备之特点。但金标记试验的灵敏度不如 TP-ELISA，且进行实验室质控还存在困难，难以实现标准化。

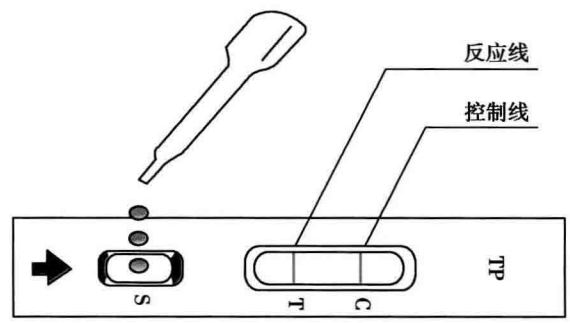


图 14-4-8　金标记检测原理

（5）荧光密螺旋体抗体吸收试验（fluorescent treponemal antibody absorption test，FTA-ABS）：特异性和敏感性都较高，缺点是需荧光显微镜设备，当标本荧光微弱，病情可疑时，试验结果判定常带有主观性。

（6）梅毒螺旋体免疫印迹试验（western immunoblotting technique）：是 20 世纪 80 年代发展起来的一种检测技术，它结合了免疫学和分子生物学的特点，敏感性高，特异性强。是一种较为准确可靠的方法，尤其对二期梅毒或早期潜伏梅毒、神经梅毒都有很高的阳性检出率，对于非螺旋体标本（包括正常标本、生物学假阳性标本以及 γ 球蛋白增高或抗核抗体的标本）的检测也能最大限度地避免假阳性或可疑反应。免疫印迹法操作简便，不要求试验仪器和环境，结果容易判定，但成本较高。

思路 3：临床上常用的检测梅毒方法比较（表 14-4-3）

表 14-4-3　临床上常用的检测梅毒方法比较

方法	类型	优势	缺陷
甲苯胺红不加热血清反应素试验（TRUST）	非特异性抗体试验	结果清晰易读，简便快速，稳定性好	敏感性差，易受多种因素影响
梅毒螺旋体明胶凝集试验（TPPA）	特异性抗体试验	敏感度和特异性好，操作较简便，结果清晰易判断	价格昂贵，且结果判断难以自动化

续表

方法	类型	优势	缺陷
梅毒螺旋体血球凝集试验(TPHA)	特异性抗体试验	敏感性高	试剂成本较高,操作较麻烦
梅毒螺旋体酶联免疫吸附试验(TP-ELISA)	特异性抗体试验	操作简便,灵敏度高,一次可做多个样本	特异性稍差,可有假阳性
梅毒金标记试验	特异性抗体试验	特异性较高	不容易进行实验过程质量控制

【问题3】梅毒感染的检测除以上试验还有其他方法吗?

梅毒感染检测除梅毒非特异性抗体试验和梅毒螺旋体特异性抗体试验,还可进行梅毒病原体的检测,其方法有:①暗视野显微镜检查梅毒螺旋体(DF):用暗视野显微镜可直接观察到病灶分泌物中的梅毒螺旋体,是诊断梅毒感染可靠的客观依据。但由于要求严格的技术和敏感性较低而限制其应用。且并非所有梅毒的病期中都能找到梅毒螺旋体;②活体组织检查梅毒螺旋体:常用银染色法(Warthin-starry)或荧光抗体染色,用病灶组织中的分泌物进行涂片染色,于普通显微镜或荧光显微镜下可查见梅毒螺旋体,呈黑褐色;③多功能显微诊断仪(multifunctional microscopy diagnostic instrument,MDI):直接、方便、快速,特别是在梅毒一期的诊断中有很好的临床价值,但整套仪器价格昂贵,一般实验室难以开展。

【问题4】梅毒非特异性抗体试验和梅毒螺旋体特异性抗体试验有什么不同?

梅毒非特异性抗体试验用心磷脂作抗原,测定血清中抗心磷脂抗体,此类试验为非特异性抗体检测,早期检测梅毒采用的康、瓦氏试验因操作复杂、假阳性太高,这两种试验现已被淘汰。其他非特异性抗体检测试验操作简便,结果较为可靠,目前多数医院列为梅毒的常规筛查试验,这类试验可观察疗效、复发及再感染,适于二期梅毒的诊断,而不适于诊断一、三期梅毒,包括潜伏梅毒、神经梅毒的诊断。该类试验的假阳性多发生在肿瘤、自身免疫性疾病、EB病毒感染、肝炎等患者。

梅毒螺旋体特异性抗体试验用活的或死的梅毒螺旋体或它的某些特异肽段来做抗原测定抗螺旋体抗体。这种试验敏感性和特异性均高,一般用作确认试验。这类试验是检测血清中抗梅毒螺旋体IgG或IgM抗体,该抗体即使患者经过足够治疗,仍能长期存在,甚至终身不消失,血清反应持续存在阳性,因此,不能用于观察疗效。

三、支原体感染检验诊断

病历摘要:

患儿,女,4岁。因咳嗽1周余入院,患儿1周前无明显诱因出现咳嗽,呈阵发性连声咳嗽,伴喉中痰响,痰不易出,无气促,无流涕、鼻阻,无畏寒、寒战等。2天前出现发热,最高体温38.5℃,曾输注"头孢哌酮"2天,病情无明显好转。既往健康,无家族遗传病史。查体:T 38.0℃,双肺呼吸音粗糙,未闻及干湿性啰音。辅助检查:血常规正常;胸部正侧位片未见明显异常。肺炎支原体抗体检测报告单如下:

×××× 医院免疫检验报告单

姓名:某某	病历号:××××××	临床诊断:	标本种类:血清
性别:女	科别:儿科	申请医生:	标本编号:××××××
年龄:4岁	病床号:×	备注:空腹采血	采集时间:××××-03-06-08:35

No.	检验项目	结果	滴度	参考值
	肺炎支原体抗体	阳性(+)	1:160	阴性(-)

接收者:	接收时间:××××-03-06-08:50	审核者:	审核时间:××××-03-06-12:02
检验者:	检验时间:××××-03-06-09:20	检测实验室:	×× 医院检验科免疫室

学习笔记

【问题1】结合患儿病史、体征及实验室检查，该患儿最可能的实验室诊断是什么？有何诊断依据？

思路1：患儿有“发热、咳嗽”，但症状不重、体征不明显，同时广谱抗生素治疗无效，病程长，血常规、胸片未见异常，这些特征与一般细菌和病毒引起的支气管炎及肺炎有所不同，实验室检查结果提示肺炎支原体抗体阳性。故该患儿最可能的实验室诊断为“肺炎支原体感染性支气管炎”。

知识点

肺炎支原体

支原体是一种介于细菌和病毒之间的微生物，它又称为“非典型的细菌”，能够导致肺部感染的支原体为肺炎支原体（mycoplasma pneumoniae），好发于儿童和青少年，临床症状较轻，主要表现为上呼吸道症状，如咽痛、发热、咳嗽、头痛等，其病理改变以肺部的间质性炎症为主，有时并发支气管肺炎，一年中四季均可发生，但多发生于秋冬时节。

思路2：肺炎支原体抗体是人感染肺炎支原体后被机体免疫系统中的B细胞特异性识别后，增殖分化成为浆细胞而合成分泌的一类能与相应抗原特异性结合的、具有免疫功能的球蛋白，肺炎支原体抗体阳性是支原体肺炎的重要诊断依据。

知识点

肺炎支原体抗体类型

肺炎支原体的一端有一种特殊的末端结构（terminal structure），能使支原体黏附于呼吸道黏膜上皮细胞表面而致病。人体感染肺炎支原体后，能产生特异性IgM和IgG类抗体。IgM类抗体出现早，一般在感染后1周出现，3~4周达高峰，以后逐渐降低。由于肺炎支原体感染的潜伏期为2~3周，当患者出现症状而就诊时，IgM抗体已达到相当高的水平，因此IgM抗体阳性可作为急性期感染的诊断指标。但如IgM抗体阴性，也不能以此排除肺炎支原体感染，需检测IgG抗体。IgG较IgM出现晚，需动态观察，如显著升高提示感染，显著降低说明处于感染后期。因此IgM抗体阴性而IgG阳性时需急性期和恢复期双份血清检测才能为临床提供有价值的实验室诊断依据。详见表14-4-4。

【问题2】肺炎支原体感染的实验室检测包括哪些方法，各有什么优势和缺陷？

肺炎支原体感染的实验室检查方法主要有：分离培养、血清学检查、分子生物学检查。

思路1：肺炎支原体的检测可以对病原体本身直接进行分离培养，也可以对病原体感染后机体免疫系统针对其产生的血清学指标进行监测（血清学检查），还可以采用分子生物学的方法将病原体核酸进行体外扩增（PCR技术检测病原体核酸）。

（1）分离培养：将可疑患者的痰或咽拭子接种于含血清或酵母浸膏的琼脂培养基即为培养法，5~10天后可以观察到直径30~100μm的圆形房顶样菌落。经多次传代后可变为典型的“荷包蛋”样菌落。

（2）血清学为应用免疫学的方法测定患者血清中特异性抗体的方法，常用的有补体结合试验（CF）、代谢抑制试验（MI）、间接血凝实验（PHA）和酶联免疫吸附试验（ELISA）等，阳性结果可以辅助诊断，急性期和恢复期双份血清对照试验可以进行回顾性诊断。

（3）分子生物学方法：PCR为聚合酶链式反应，是目前常用的诊断病原体感染的方法，特异性和敏感性均较高。

思路2：由于方法学的差异，因此采用不同的检测方法各有利弊。应根据具体病例选择实验方法。（表14-4-4）

学习笔记

表 14-4-4　不同支原体检测方法比较

方法	优势	缺陷	检测样本
培养法	1. 能够为临床提供病原体分型及药敏测试 2. 阳性结果可以提供 100% 的特异性 3. 有商业试剂盒	1. 所需时间较长 2. 需要专业人员且培养成功的概率较低 3. 存在较高的假阴性率 4. 生长缓慢	咽拭子、痰液等
血清学	1. 有商业试剂盒 2. 是目前临床实验室常用的方法 3. 操作方便，耗时短	1. 特异性差，存在交叉反应 2. IgM 抗体阴性而 IgG 阳性时需急性期和恢复期双份血清检测 3. 需等待机体的反应，测试结果检测到抗体时可能已错过治疗的最佳时机	血清
分子生物学	1. 有商业试剂盒 2. 高敏感性和特异性 3. 快速检测 4. 直接检测病原体核酸，检测及时，可以抓住最佳治疗时机	1. 价格昂贵 2. 需要专业人员及专业设备、操作严格 3. 假阳性率高	血液、鼻炎分泌物、痰液、唾液、脑脊液、组织等

肺炎支原体培养营养需求较高，培养成功的概率较低，如果培养结果为阴性，则意味着用了较长时间来证实是否存在肺炎支原体感染，因此减低了其临床应用价值；DNA 测试快速敏感，但因价格昂贵而且很难鉴别患者体内肺炎支原体 DNA 是否在复制，或者是已经处于缓解期病原体已经不再存活，因此未被广泛采用，一般用作鉴别一些特殊感染如衣原体、百日咳杆菌、军团菌等；血清学检测虽特异性和敏感性目前都尚未达到理想水平，但因其方便快捷，耗时较短，是目前在临床上应用最为广泛的方法。

【问题 3】血清学方法检测肺炎支原体的原理是什么？如何正确判读相应的检验报告？

血清学方法检测肺炎支原体抗体具有方便快捷、敏感性和特异性较好的特点，目前为临床常用，CF、IIF、PHA、ELISA 等检测抗体的方法都可应用于肺炎支原体抗体的检测。各检测方法原理和结果判断及意义见表 14-4-5。

表 14-4-5　几种支原体血清学检测方法的原理、结果判断及意义

方法		原理	结果判断及意义
特异性	补体结合试验（CF）	抗原抗体复合物结合补体后使绵羊红细胞出现溶血的现象。支原体有较强的补体结合反应，一般补体结合抗体在感染 7~9 天开始上升，3~4 周达峰，维持 4~6 个月	阳性（>1∶8） 单份血清效价 >1∶64 或恢复期较急性期血清滴度增加 4 倍以上有诊断价值
	间接免疫荧光试验（IIF）	待检血清（一抗）与包被抗原结合后再与荧光素标记的抗抗体（二抗）反应，使之形成抗原 - 抗体（二抗）复合物，在荧光显微镜下观察结果	阳性 IgM>1∶8，IgG>1∶16 有诊断意义
	明胶颗粒凝集试验（PA）	将肺炎支原体（株）细胞膜成分致敏人工明胶颗粒，致敏粒子再与人血清中存在的肺炎支原体抗体发生凝集反应，感染的急性期即可出现阳性，抗体可存在数年	阳性（>1∶80） 单份血清效价 >1∶160 或恢复期较急性期血清滴度增加 4 倍以上有诊断价值
	酶联免疫吸附试验（ELISA）	间接法检测 IgG 或 IgM 抗体，IgM 抗体出现早，一般在感染后 1 周出现，3~4 周达高峰，IgG- 抗体出现晚，在发病第 5 周后才达到最大浓度	阳性 高滴度的 IgM，或 IgG 双份血清效价升高 4 倍为活动性或新近感染标志，IgG 升高，IgM 不升高，则视为重复感染

学习笔记

续表

方法		原理	结果判断及意义
非特异性	冷凝集试验(CAT)	1/3~3/4 患者的血清可与人 O 型红细胞在 4℃时有非特异性凝集,37℃时消失,称为“冷凝集试验”,感染 1 周时达峰,此方法简便,有助于诊断	阳性 效价在 1∶32 以上,恢复期效价 4 倍升高意义较大
	MG 链球菌凝集试验	40%~50% 支原体肺炎患者恢复期血清中产生 MG 链球菌凝集素,与 MG 链球菌发生凝集反应	阳性:>1∶40 阳性有辅助诊断意义

【问题 4】除了肺炎支原体,与人类感染有关的其他支原体还有哪些分型?主要的检测技术有哪些?

与人类感染有关的支原体除肺炎支原体外,解脲脲原体、人型支原体、生殖道支原体这些病原体均属于支原体属,感染后均会导致相应的疾病。解脲脲原体、人型支原体、生殖道支原体主要引起泌尿生殖系统的感染,性传播为主要传播途径,当泌尿生殖道发生炎症破损时解脲支原体易从破损口侵入,引起泌尿生殖道感染,导致非淋球菌性尿道炎、阴道炎、宫颈炎、绒毛膜羊膜炎、自然流产、早产、前列腺炎、附睾炎和不育症等。常用实验室检查包括培养法、血清学法及分子生物学法,样本为泌尿生殖道拭子或刷片、前列腺液、精液、组织、血清等。

(杨红英)

第五节　肿瘤标志物检验

肿瘤标志物是指在肿瘤发生和增殖过程中,由肿瘤细胞合成、释放或是机体对肿瘤细胞反应而产生的一类物质,可反映肿瘤存在或发展。这些物质可存在于肿瘤细胞和组织中,也可进入血液或其他体液,一般采用生物化学、免疫或分子生物学等技术对肿瘤标志物进行定性或定量地检测,主要应用于高危人群的筛查、肿瘤的辅助诊断和鉴别诊断、疗效评价、复发监测和预后评估等方面。

病历摘要:

患者男,84 岁。反复咳嗽伴胸闷、憋喘半年,4 个月前无明显诱因排便次数增多,3~6 次 / 天,不成形,间断带暗红色血迹,伴中、下腹痛,上腹胀气,全身乏力,食欲不佳,体重下降约 5kg。查体:体温 37.2℃,右下腹可及约 4cm×8cm 质韧包块,无触痛,可推动,边界不清。肿瘤标志物检验结果如下:

×× 医院检验报告单

姓名:某某	病历号:××××××	临床诊断:结直肠肿物	标本种类:血清
性别:男	科别:普外	申请医生:某某	标本编号:××××××
年龄:84	病房:× 病房	备注:空腹采血	采集时间:××××-11-13-08∶16

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	非小细胞肺癌相关抗原(CYFRA21-1)	26.70 ↑	0.1~3.3	ng/ml
2	鳞状细胞癌相关抗原(SCC)	5.600 ↑	0~1.5	ng/ml
3	甲胎蛋白(AFP)	1.80	0~20	ng/ml
4	癌胚抗原(CEA)	1270.76 ↑	0~5	ng/ml
5	铁蛋白(FERR)	589.60 ↑	13~400	ng/ml
6	人绒毛膜促性腺激素 β 亚单位(β-HCG)	2.31	0~10	mIU/ml

学习笔记

续表

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
7	糖类抗原 CA19-9(CA19-9)	75.06↑	0~39	U/ml
8	糖类抗原 CA125(CA125)	40.92↑	0~35	U/ml
9	糖类抗原 CA72-4(CA72-4)	14.77↑	0~6.9	U/ml
10	神经元特异性烯醇化酶(NSE)	36.09↑	0~20	ng/ml
11	总前列腺特异性抗原(TPSA)	1.58	0~5	ng/ml
12	游离前列腺特异性抗原(F-PSA)	0.521	0~1	ng/ml
13	F-PSA/TPSA 比值	0.33	0.11~1	ng/ml
14	血清唾液酸(SA)	95.60↑	45.6~75.4	mg/dl

接收者:某某　　接收时间:××××-11-13-08:45　　审核者:某某　　审核时间:××××-11-13-10:12
检验者:某某　　检验时间:××××-11-13-09:10　　检测实验室:　　×××× 医院检验科免疫室

【问题 1】从肿瘤标志物检验报告结果分析并结合患者的临床表现,该患者初步考虑最可能的诊断是什么?

患者 CEA、FERR、CA19-9、CA72-4、CYFRA21-1、SCC、CA125 和 NSE 等多项肿瘤标志物升高,结合其临床表现,如排便习惯改变、便次增加、暗红色血便、右下腹肿块、腹痛、消瘦乏力、反复咳嗽伴胸闷、憋喘等,高度怀疑结直肠癌伴肺转移。

思路 1:患者有消化系统肿瘤标志物 CEA、FERR、CA19-9 和 CA72-4 及呼吸系统肿瘤标志物 CYFRA21-1、SCC、CEA、CA125 和 NSE 表达升高,提示可能存在消化系统和呼吸系统肿瘤,但由于上述标志物在诊断恶性肿瘤时敏感性和特异性大多不够高,如 CEA 对结肠癌的敏感性仅约 40%~50%,大量吸烟会导致 CEA 假阳性,肺鳞癌时 SCC 阳性率约 60%,其他类型肺癌时阳性率不足 30%。因此,不能仅凭这些标志物超出参考区间进行确诊。同时,由于这些肿瘤标志物的器官特异性不高,不能对肿瘤进行绝对定位,但结合该患者的临床表现和查体体征,高度怀疑结肠癌伴肺转移。

思路 2:肿瘤标志物的临界值(cut-off 值)相对参考区间具有更重要的临床价值,良性疾病患者可能出现肿瘤标志物高于参考区间。在对肿瘤标志物评价时,需按临床流行病学原理和方法来确定肿瘤标志物 cut-off 值,同时与公认的"金标准"诊断方法进行比较,才能确定此标志物的诊断价值。国外实验室通常根据肿瘤诊断的金标准来确诊肿瘤患者和对照两组人群,进而确定诊断肿瘤的最适 cut-off 值,提高诊断的特异性。如血清 AFP 的参考区间为 <20ng/ml,而诊断原发性肝癌的 cut-off 值为 400ng/ml;肺癌标志物 proGRP 的参考区间为 <50pg/ml,其诊断 cut-off 值设定为 100pg/ml;卵巢癌标志物 CA125 的参考区间为 <35U/ml,将 cut-off 值定为 65U/ml 可提高卵巢癌诊断的特异性。因此,根据该患者的报告单结果仅能提示可能存在消化系统和呼吸系统恶性肿瘤,明确诊断需依赖于临床症状和影像学等其他检查。

【问题 2】肿瘤标志物测定常用的检测方法有哪些?

肿瘤标志物的主要检测方法包括放射免疫技术、酶标记免疫分析技术、化学发光免疫分析技术、荧光免疫分析技术和液相芯片检测技术等,其中化学发光免疫分析技术正逐渐成为肿瘤标志物检测的主流方法,报告单中的肿瘤标志物检测结果即采用电化学发光技术测定。

(1) 放射免疫技术:包括放射免疫分析法(RIA)和免疫放射分析法(IRMA),该技术以放射性核素 ^{125}I 作为标志物,具有很高的精密度、灵敏度和准确度,但存在放射性污染,试剂存在半衰期、有效期短等问题,已逐渐被发光免疫技术所取代。

(2) 酶标记免疫分析技术:用酶分子代替放射性核素标记抗原或抗体分子,进行竞争性或非竞争性免疫分析的技术,敏感性、特异性较高,无放射性污染,已有商品试剂盒及自动酶标检测仪,成本低,但敏感性低于放射免疫和化学发光免疫技术,操作过程人为影响因素多,抗干扰能

学习笔记

力差，存在“钩状效应”，可能出现假阳性或假阴性结果。

(3) 化学发光免疫分析技术：是将化学发光与免疫反应相结合，用于检测抗原或抗体的一种新型标记免疫分析技术。主要包括直接化学发光免疫分析、电化学发光免疫分析、化学发光酶免疫分析等。该类技术无放射性污染，同时能达到放射免疫测定的灵敏度，可实现 ng 甚至 pg 级微量物质的定量检测，测定线性范围宽，可满足 10^3~10^6 数量级内的定量检测需要，灵敏度和线性范围均优于 RIA、ELISA 等其他标记免疫方法。化学发光免疫技术现已实现自动化和商品化试剂盒，商品化的化学发光免疫试剂盒稳定，有效期长，方便临床应用。

(4) 荧光免疫分析技术：是将抗原抗体反应的特异性与荧光技术的敏感性相结合，对抗原或抗体进行定性、定位或定量检测的技术。该类技术可以检测小分子物质，灵敏度较高，尤其是时间分辨荧光免疫分析方法以镧系元素标记抗原或抗体，发光稳定，荧光寿命长，不受样品自然荧光干扰，但标志物和荧光增强剂制备难度大，且荧光增强剂含一定有毒物质，需严格处理实验废弃物。

(5) 液体芯片检测技术：液态芯片的核心技术是把塑料微球分别染上不同的荧光色，制成具有不同荧光编号的塑料微球，再将针对不同检测物的抗体或核酸探针分别以共价方式交联到具有相同编号的荧光微球上。应用时，把不同编号的微球混合在一起与被检测物反应，再加入荧光素标记二抗，反应结束后，微球单个依次通过液态芯片检测仪或流式细胞仪的测量区时被激光激发而产生荧光，由计算机将记录下来的荧光数量换算成待测物的含量(图 14-5-1)。该技术集合了免疫学、分子生物学、高分子化学、激光检测技术、微流体技术和计算机等先进技术为一体，利用细胞大小的塑料颗粒作为载体，以流式细胞术作检测平台，可在较短时间内对多项标志物同时进行快速检测，反应不需要洗涤，时间短，速度快，但目前该技术阳性结果还需经化学发光(CLIA)、电化学发光等方法进行确证。

图 14-5-1　液相芯片检测技术原理图

【问题 3】肿瘤标志物检测的主要影响因素有哪些？

肿瘤标志物的检测受到多种因素的影响，包括从临床医师开具申请单到样本采集、运送与处理、样本检测、检验报告的审核发送、与临床沟通等流程的各个方面，通常将这个完整的检验流程分为分析前、分析中和分析后三个过程。

学习笔记

思路 1：分析前影响因素

（1）标本采集和保存的影响：①标本采集时避免产生大量气泡和用力振荡试管而造成标本溶血，标本溶血会导致 NSE 等的检测结果升高；②防止边输液边采血，禁止在输液手臂同侧采集血液，以免血液稀释而影响结果准确性；③前列腺按摩、前列腺穿刺、导尿和直肠镜检查后，血液中 PSA 和 PAP 可升高，故采血前不应做此类检查；④标本采集后应及时离心测定，不能立即测定的标本离心后保存于 4℃冰箱中，并在 24 小时内测定，24 小时内不能完成测定的血清应贮存于 -20℃冰箱内，需长期贮存的标本应 -70℃保存，且应防止反复冻融。

（2）某些药物浓度的影响：如应用抗雄激素治疗前列腺癌时可抑制 PSA 产生；丝裂霉素、顺铂等抗肿瘤药可导致 PSA 假性升高；一些细胞毒药物（如氟尿嘧啶）治疗肿瘤时，可使 CEA 暂时升高；检测 β-HCG 时，如有使用激素类药物、怀孕或流产时，应在申请单中注明。

（3）被测者自身状况的影响：肝功能异常、胆道排泄不畅等均可造成 CEA、HE4 等浓度增高；肾功能不良时 CEA、AFP、HE4、CYF21-1 等可升高；风湿病时 CA19-9 浓度可增高。

（4）生物学因素的影响：PSA、HE4 可随年龄的增长而升高；老年人 CA19-9、CA15-3、CEA 等可升高；部分妇女在月经期 CA125 和 CA19-9 可升高；妊娠期 AFP 和 CA125 等明显升高；绝经期妇女 HE4 可明显升高。

思路 2：分析中影响因素

（1）测定方法和试剂的影响：手工方法加样、洗涤、温育、制作标准曲线等操作步骤多，重复性较差，人为误差较大；自动化仪器测定重复性好，人为误差小，但不同厂家、不同试剂盒测定有差异。因此，在工作中要尽量使用同一方法、同一仪器和同一厂家试剂盒进行测定。

（2）“钩状效应”的影响：ELISA 或 RIA 测定时，若待测样本中抗原浓度过高，会出现高浓度后带现象，称为钩状效应（hook effect）。此时免疫反应被明显抑制，测定结果偏低，要消除此干扰需要对样本进行适当稀释后重新测定。

（3）交叉污染的影响：在测定高浓度标本后，交叉污染成为一个导致假阳性的潜在问题，特别是紧随在高浓度标本后的孔，若出现偏高结果，应复查有无交叉污染。

（4）嗜异性抗体的影响：大多数肿瘤标志物测定中常使用一对鼠单克隆抗体与肿瘤抗原反应，如患者因影像学检查或治疗时使用过鼠单克隆抗体，则体内会产生人抗鼠抗体（human antimouse antibody，HAMA），血清中的 HAMA 可在 2 种鼠单克隆抗体间起“桥梁”作用，导致无抗原情况下，出现标志物浓度增高的假象。对有动物密切接触史者要特别注意嗜异性抗体问题，以避免假阳性。

思路 3：分析后影响因素

（1）参考区间：不同标本如血液、尿液、胸腹水等有不同的参考区间，不同地区、人群、方法、试剂和设备应建立自己实验室的参考区间；HE4 在绝经前和绝经后妇女的参考区间不同。

（2）结果报告与解释：不同个体的肿瘤标志物水平波动较大，在监测患者治疗前、中、后各阶段标志物含量时，最好做肿瘤标志物含量变化的曲线图，这对判断疗效和监测复发有很大价值。

【问题 4】报告单中该患者所做的肿瘤标志物项目较多，都有必要吗？

临床医师开具肿瘤标志物申请单时，需结合患者的临床表现和体征，合理选择联合检测的项目。

思路 1：同一肿瘤可有一种或多种肿瘤标志物浓度异常，同一项肿瘤标志物异常可在不同肿瘤中出现。由于大部分单个肿瘤标志物敏感性或特异性较低，不能满足临床需要，选择多项肿瘤标志物联合检测可起到互补作用，以提高敏感性和特异性。该患者有排便习惯改变、便次增加、暗红色血便、右下腹肿块、腹痛、消瘦乏力、反复咳嗽伴胸闷、憋喘等症状，因此可选择消化系统和呼吸系统肿瘤的常用标志物进行联合检测，如报告单中的 TPSA、FPSA 为前列腺肿瘤标志

物，如无相应症状可暂不开具申请。

思路 2：联合检测指标的选择须经过科学分析和严格地筛选。2012 年中华医学会检验分会、卫生部临床检验中心及中华检验医学杂志编委会结合我国肿瘤现状，主要参考美国临床生物化学学会（National Academy of Clinical Biochemistry，NACB）、欧洲肿瘤标志物协作组（European Group on Tumor Markers，EGTM）和美国临床肿瘤学会（American Society of Clinical Oncology，ASCO）等学术组织的肿瘤标志物临床应用指南，并广泛征求了全国临床肿瘤病学专家和检验医学专家的意见，共同发布了肿瘤标志物临床应用建议。目前推荐用于临床各系统肿瘤联合检测肿瘤标志物组合如下：

知识点

各系统肿瘤联合检测肿瘤标志物组合

恶性肿瘤	常用联合检测的肿瘤标志物
前列腺癌	TPSA、FPSA、FPSA/TPSA
乳腺癌	CA153、CEA
肺癌	CYFRA21-1、NSE、ProGRP、SCC、CEA、CA125
胃癌	PG Ⅰ、PG Ⅱ、PG Ⅰ/PG Ⅱ、CA724、CEA、CA199
结直肠癌	CEA、CA242、CA199、FOBT
卵巢癌	HE4、CA125、ROMA

【问题 5】该患者治疗过程中监测上述肿瘤标志物有何价值？

肿瘤标志物可用于评估手术、放疗或化疗等的效果，通常在肿瘤完全切除或有效放化疗一段时间后，肿瘤标志物水平显著降低。同时，肿瘤标志物的动态监测有助于早期发现肿瘤的复发。

思路 1：肿瘤标志物浓度下降到参考区间内或下降 95% 以上，提示肿瘤治疗有效；浓度下降但仍持续在参考区间以上，提示有肿瘤残留和（或）肿瘤转移；浓度下降到参考区间内一段时间后，又重新升高，提示肿瘤复发或转移。恶性肿瘤治疗结束后，应对治疗前升高的肿瘤标志物依照定期随访原则进行随访监测。

知识点

肿瘤标志物定期随访应用原则

一般建议，治疗后第 6 周做第 1 次检测，前 3 年内每 3 个月检测 1 次，3~5 年每半年 1 次，5~7 年每年 1 次。必要时随访监测时间应根据特定的肿瘤类型和肿瘤标志物半衰期作出调整，增加（或降低）随访的频率。随访中如发现明显升高（高出首次随访值 25%），应在 2~4 周内复测 1 次，连续 2 次升高，可预示复发或转移，此预示常早于临床症状和体征的出现。

思路 2：每位患者对于肿瘤标志物都有各自的基础水平，对无法获得肿瘤标志物基础水平的患者，可将其经初次治疗达到疗效后的水平作为其特定的“个体参考值”，这一个体参考值可作为进一步治疗监测时的基础水平。在治疗监测过程中，参考区间上限的意义相对不大，患者肿瘤标志物水平相对于其个体参考值的动态变化才是至关重要的。因此，将标志物在治疗监测期的水平与其个体参考值之间的百分比变化作为诊断依据，比采用已建立的参考区间上限值更敏感。通过对比患者治疗前后血清肿瘤标志物水平，可较早提示恶性肿瘤的复发。此时影像学检

学习笔记

查可能尚未发现肿瘤有所进展，但只要血清中上述肿瘤标志物浓度与其个体参考值之间的百分比变化达到诊断标准，患者即应接受进一步治疗。

【问题 6】肿瘤标志物是否可用于表观健康人群的筛查？

肿瘤标志物是发现无症状肿瘤患者的重要线索，但由于敏感性和特异性的不足，一般只用于高危人群的筛查，不提倡对无症状人群进行肿瘤标志物的普查（目前能用于普查的肿瘤标志物只有 AFP 和 PSA）。

知识点

肿瘤标志物在高危人群筛查中的应用原则

①该标志物对早期肿瘤的发现有较高的敏感性；②检测方法具有敏感、特异和重复性好等优点；③筛查费用经济、合理；④筛查时肿瘤标志物异常升高，但临床无症状和体征者，必须复查和随访。如感染乙肝病毒、丙肝病毒或进展为肝硬化是原发性肝癌的高危因素，应每 6 个月监测 1 次血清 AFP，若 AFP 持续升高，提示应进一步检查，以尽早发现原发性肝癌；PSA 结合直肠指诊已被广泛应用于老年男性前列腺癌的筛查。

【问题 7】应如何看待患者在不同医院的肿瘤标志物检测结果存在差异？

思路 1：免疫测定的干扰因素较多，使用不同方法、不同试剂检测同一项肿瘤标志物时，其结果可能出现差异。在肿瘤患者的长期监测中，患者更换就诊医院或临床实验室，可能由于检测体系改变得到不同的结果，甚至造成肿瘤缓解或进展的假象，影响对患者疗效的评价。因此，患者在治疗前后及随访中，应尽可能采用同一种方法和试剂，实验室在更换检测方法和试剂时应作比对。

思路 2：不同检测体系所得到的检测结果之间可能存在差异，其主要原因是目前肿瘤标志物的国际标准化尚未完善。试剂采用不同的抗体标记（抗体异质性）、不同的定标品、分析仪器特性差异等均将导致检测结果的不可认。因此，中国合格评定国家认可委员会（CNAS）制定了实验室能力验证政策和要求，临床实验室应每年定期参加相关能力验证计划、实验室间比对和测量审核活动，部分项目参加国际实验室间质量评价，进行检验结果可比性评价与正确度验证，以争取实现不同实验室间的结果互认。

（王传新）

第六节　变态反应试验

变态反应（allergy）是指机体接触到某种抗原并且致敏后，再次受到相同抗原刺激时表现出的异常或者病理性的免疫应答。这种免疫应答导致机体功能紊乱或组织损伤，从而引起相应的临床疾病。引起变态反应的抗原称为变应原（allergen）。临床上常用的变态反应检测主要为通过免疫学方法检测变态反应过程中的相关物质，从而确定变态反应的发生，为对症治疗提供依据。

病历摘要：

患者女，35 岁，半年前无明显诱因反复出现咳嗽、咳白痰，接触冷空气后症状加剧，5 日前吃螃蟹后症状突然加重，为求进一步诊治入院。查体：双肺可闻及哮鸣音。变应原检验结果如下：

学习笔记

××医院检验报告单

姓名：　　病历号：××××××　　临床诊断：支气管哮喘　　标本种类：血清
性别：女　　科别：呼吸内科　　申请医生：　　标本编号：××××××
年龄：35岁　　病房：×病房　　备注：空腹采血　　采集时间：××××-01-02-07：45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位	No.	检验项目	结果	参考区间	单位
ts20	树组合2(杨树/柳树/榆树)	阴性(-)	阴性		f2	牛奶	阴性(-)	阴性	
w1	普通豚草	阴性(-)	阴性		f13	花生	阴性(-)	阴性	
w6	艾蒿	阴性(-)	阴性		f14	黄豆	阴性(-)	阴性	
ds1	尘螨组合1(屋尘螨/粉尘螨)	阳性(+)	阴性		f27	牛肉	阴性(-)	阴性	
h1	屋尘	阴性(-)	阴性		f88	羊肉	阴性(-)	阴性	
e1	猫毛	阴性(-)	阴性		fs33	海鱼组合1(鳕鱼/龙虾/扇贝)	阴性(-)	阴性	
e2	狗上皮	阴性(-)	阴性		fs34	淡水鱼组合1(鲑鱼/鲈鱼/鲤鱼)	阴性(-)	阴性	
i6	蟑螂	阴性(-)	阴性		f24	虾	阴性(-)	阴性	
ms1	霉菌组合1(点青霉/分枝孢霉/烟曲霉)	阴性(-)	阴性		f23	蟹	阳性(+)	阴性	
o80	律草	阴性(-)	阴性			免疫球蛋白E	414↑	≤100	IU/ml
f1	鸡蛋白	阳性(+)	阴性						

接收者：　　接收时间：××××-01-02-08：50　　审核者：　　审核时间：××××-01-02-11：10
检验者：　　检验时间：××××-01-02-08：55　　检测实验室：　　×××× 医院检验科免疫室

【问题1】从变应原检验报告结果分析并结合患者临床表现，该患者初步考虑最可能的诊断是什么？

该患者变应原检测结果为血清总IgE 414IU/ml，明显高于该年龄段的参考范围（≤100IU/ml），同时特异性IgE显示屋尘螨/粉尘螨、鸡蛋白、蟹这三类变应原为阳性反应，再结合患者反复发作咳嗽，咳白痰，双肺可闻及哮鸣音，初步考虑该患者为支气管哮喘。

思路：支气管哮喘是由多种细胞和细胞组分参与的气道慢性炎症性疾病。患者个体变应性体质及环境因素的影响是发病的危险因素，发病时多与接触变应原、冷空气、理化因素刺激、病毒感染、运动有关，并以双肺哮鸣音为主要体征，该患者接触冷空气和螃蟹后病情加重，以反复发作咳嗽、咳白痰为主要症状，查体示双肺可闻及哮鸣音，变应原检测结果提示血清总IgE和特异性IgE均呈阳性反应，符合支气管哮喘的临床表现，属于Ⅰ型变态反应。

知识点

Ⅰ型变态反应特点

Ⅰ型变态反应又称速发型变态反应（immediate allergy）或过敏反应（anaphylaxis），主要由特异性IgE介导，因其发病快而命名，是临床上最常见的一种变态反应类型。其特点包括：①主要由特异性IgE介导；②起病急，消退快；③常引起效应器官功能紊乱，较少发生严重的病理损伤；④具有明显的个体差异和遗传趋向。

【问题2】常见变态反应的检测指标及检测方法有哪些？

根据变态反应发生的速度、机制以及所致疾病的临床特征可以将之分为Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ型。

思路1：临床上根据检测手段的不同，Ⅰ型变态反应变应原的检测可以分为体内试验和体外试验。

学习笔记

体内试验主要以皮肤试验为主，包括皮内试验、挑刺实验、划痕实验等。因其直接作用在人体上，所以能直观反映各种因素综合对机体作用的实际免疫状况。临床上皮肤科等科室在进行变态反应的检测时经常应用。

体外试验主要是检测总 IgE 和特异性 IgE，为临床实验室检测Ⅰ型变态反应常用指标。

(1) 特异性 IgE 检测：特异性 IgE 是指能与特定变应原结合的 IgE，用纯化或人工合成的特异性变应原与样本中相对应 IgE 结合，通过相应的检测手段检测特异 IgE 水平。常用方法为免疫印迹法、放射免疫法和酶免法，放免法由于成本较高、有放射性污染且需要特殊检测仪器，其临床应用范围较窄。免疫印迹法则是将多种特异性变应原提取物包被在特制的纤维膜条上，与待测样品反应，当特异性 IgE 与相应变应原结合后再与酶标记的抗 IgE 抗体结合，通过显色反应与标准膜条进行比较，从而定性或定量检测特异性 IgE。该方法简便无污染，可一次检测多种特异性 IgE，在临床实验室使用较广泛。常见膜条见图 14-6-1。酶免法原理同免疫印迹法相类似，只是其特异性变应原提取物包被于固相反应孔上。

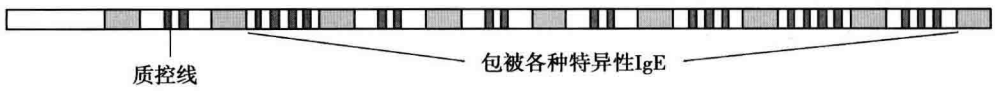


图 14-6-1　免疫印迹法常用膜条示意图

(2) 血清总 IgE 的检测：血清总 IgE 是血清中各种抗原特异性 IgE 的总和。临床实验室常用的检测方法为免疫比浊法、化学发光法和酶联免疫吸附法等。

1) 免疫比浊法：包括散射比浊法和透射比浊法。主要是血清中的 IgE 与试剂中的抗 IgE 抗体结合，形成可溶性的抗原抗体复合物，在抗体量过剩的情况下，浊度的变化和待测血清中 IgE 含量呈正相关，通过已知抗原浓度的标准品拟合形成参考曲线，用该曲线评估样本的浊度变化从而获得相应的 IgE 含量。

知识点

免疫散射比浊法原理

在某种条件下(抗体过量区域)，散射光的强度和样品中抗原 - 抗体复合物的量呈正比。在抗体量恒定的情况下，这种光学信号与抗原含量呈正比。用已知抗原浓度的标准品可以生成一条参考曲线，通过该曲线可以评估样本的散射光信号并计算成相应的抗原浓度。如果将含有抗原的样品和相应的抗血清一起放入反应杯中，就会形成抗原抗体复合物。发光二极管产生一道光束，发射后经过反应杯，在遇到管内的抗原抗体复合物时，光束发生散射。在最初的测量中，抗原和抗体已经混合，但还未生成抗原抗体复合物。在最终测定时已经形成了抗原抗体复合物，将终末测量值减去初始测量值就可以得到结果。散射光的分布由抗原抗体复合物中的颗粒大小与射入光波长之间的比例关系决定。

2) 化学发光法：通过化学发光物质标记抗 IgE 抗体，该抗体与血清中的 IgE 形成可溶性抗原抗体复合物，发光反应产生的光信号强弱与血清中 IgE 含量呈正相关，通过对光信号的检测可以获得相应的 IgE 含量。

3) 酶联免疫吸附法：酶标记的抗 IgE 抗体与血清中的 IgE 结合，通过酶联免疫吸附法检测血清中 IgE 的含量。

前两种方法灵敏度高、特异性强、稳定性好，通过特种蛋白分析仪和化学发光分析仪可以进行自动化批量检测，是临床实验室常用的检测方法，酶联免疫吸附法不需要特殊仪器，适合于中小型实验室。

学习笔记

常见的Ⅰ型变态反应性疾病可见于过敏性休克、皮肤过敏反应、过敏性哮喘和消化道过敏。通过特异性和非特异性 IgE 的检测可以明确病因，对症治疗。

思路 2：Ⅱ型变态反应又称细胞毒型（cytotoxic type）或溶细胞型（cytolytic type）变态反应，主要由 IgG、IgM 介导。其特点包括：①主要由 IgG、IgM 介导；②抗原或抗原抗体复合物存在于细胞表面；③有补体、巨噬细胞和 NK 细胞等参与；④靶细胞损伤。

常见疾病包括输血反应、新生儿溶血症、自身免疫性溶血性贫血等，其检测指标见第十五章临床血液学检验第二节溶血相关试验和第十八章临床输血检验第三节新生儿溶血病检查。

思路 3：Ⅲ型变态反应又称免疫复合型（immune complex type）变态反应，主要由 IgG、IgM 和少量 IgA 形成免疫复合物介导。其特点包括：①主要由 IgG、IgM 介导；②形成中等大小的免疫复合物并沉积于毛细血管基底膜；③有补体参与；④以中性粒细胞浸润型炎症为主要表现。

常见疾病包括血清病、链球菌感染后肾小球肾炎、系统性红斑狼疮、类风湿关节炎等，其发病机制主要是由循环免疫复合物（circulating immune complex，CIC）引起，故可以通过检测 CIC 来判定Ⅲ型变态反应的发生。

CIC 的检测：循环免疫复合物检测技术可分为抗原特异性和非抗原特异性检测技术两类。前者主要检测抗原抗体复合物的性质；后者只检测抗原抗体复合物的总量，而不考虑其性质。

（1）抗原特异性循环免疫复合物：特异性循环免疫复合物是指对组成特异性循环免疫复合物的抗原、抗体成分组合明确的循环免疫复合物，在大多数免疫复合物病中，免疫复合物抗原特异性不太清楚。而且发病机制与抗原特异性尚无明确关系，目前还没有建立常规、实用的特异性循环免疫复合物检测方法。

（2）非抗原特异性循环免疫复合物：非抗原特异性循环免疫复合物的检测不考虑免疫复合物中抗原性质，只检测免疫复合物的总量。在临床上形成 IC 的抗原较多，且不同性质的免疫复合物可引起相同或相似的病理生理改变。检测非抗原特异性 CIC 的检测方法较多。根据检测原理不同，将其检测技术大致归纳为理化检测技术、补体参与技术、抗球蛋白检测技术和细胞技术等。

1）PEG 比浊法：PEG 用于沉淀蛋白质，沉淀具有可选性，对蛋白质生物活性无影响。在 pH、离子强度等条件固定时，蛋白质分子量越大，用以沉淀的 PEG 浓度越小。分离血清免疫复合物一般采用最终浓度为 3%~4%PEG（相对分子质量 6000），对蛋白质沉淀具有良好的选择性。其浊度与血清中免疫复合物含量相关，用分光光度计测定其 A 值，以每批试验热聚合人 IgG（heat agglutination human IgG，HAHG）制备出标准曲线，可得免疫复合物相对含量。本方法快速简单，敏感度强，但不能反映小分子免疫复合物的情况，重复性和特异性较差，一般可用于 CIC 的筛选。

2）C1q 固相法：利用循环免疫复合物具有与 C1q 结合的特性，包被 C1q 于微量反应板，加入待测血清，免疫复合物与 C1q 结合，再用标记抗人 IgG 检测免疫复合物中 IgG，加底物显色，根据颜色深浅判断免疫复合物含量。反应层次为 C1q- 免疫复合物 - 酶标记抗人 IgG- 底物。本法对含 IgA 和 IgM 的 CIC 不敏感，血清被灭活时会干扰此实验，使用肝素抗凝可出现假阳性结果。

3）抗 C3-CIC-ELISA：将抗 C3 抗体包被，循环免疫复合物在体内已结合了 C3，通过 C3 介导 CIC 与固相抗 C3 连接，加酶标记抗人 IgG 检测复合物中 IgG，加底物显色，根据颜色深浅判断免疫复合物含量，反应层次为抗 C3 抗体 - 免疫复合物 - 酶标记抗人 IgG 抗体 - 底物。

4）其他：如 Raji 细胞法，Raji 细胞是由 Burkitt 淋巴瘤患者分离建立的 B 细胞株，可在体外长期传代。其表面有大量 C3b、C1q 和 C3d 受体，无 mIg，利用这些受体与结合补体的循环免疫复合物结合，加入同位素标记的抗人 IgG，反应层次为 Raji 细胞 - 循环免疫复合物 - 同位素标记抗人 IgG 复合物。本方法敏感性较高，实用性强。但需培养 Raji 细胞及同位素标记抗人 IgG，操

作烦琐，不易长期保持实验结果的稳定，同时在SLE患者中易出现假阳性。

思路4：Ⅳ型变态反应又称迟发型（delayed type）变态反应，是由抗原特异性T细胞介导，以单个核细胞浸润和组织细胞损伤为主要特征的变态反应。其特点包括：①反应过程与细胞免疫过程基本一致；②无抗体、补体参与；③T细胞介导炎症反应和组织损伤。

常见疾病包括传染性迟发型变态反应、接触性皮炎等，其检测手段主要是皮内试验，反应观察时间多为试验后24~72小时。

综上所述，变态反应根据其发生的速度、机制以及所致疾病的临床特征可以将之分为Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ型，但由于免疫系统的复杂性，变应原引起的变态反应可以涵盖这四种类型的一种或多种。本节病例为支气管哮喘，主要以Ⅰ型变态反应为主，其实验室检测的指标为总IgE和特异性IgE。其他三种变态反应的实验室检测同样是根据其各自的发生机制进行相应的物质检测，如Ⅱ型变态反应常检测细胞膜表面的相应抗原，Ⅲ型变态反应检测血清中的循环免疫复合物，Ⅳ型变态反应则通过皮肤试验在24~72小时的反应进行判断。在临床诊断过程中，需根据不同疾病的发病机制，判断相应的变态反应类型，从而选取有针对性的诊断指标，以达到快速、准确诊断的目的。

（王传新）

学习笔记

第十五章 临床血液学检验

临床血液学检验(clinical laboratory hematology)是以血液学的理论为基础,以检验学的实验方法为手段,以临床血液病及其相关疾病为工作对象,理论、检验与疾病相互结合、紧密联系的体系,并且在临床实践过程中不断发展、完善和提高。近年来,医学分子生物学的进展全面推动了血液细胞与分子生物学检验的发展,血细胞的分子和细胞学研究及其在发病中的作用原理对血液病及其相关疾病的理论和实践有了更深入的认识;在检验方法学上,聚合酶链反应等分子生物学研究方法在血液学检验和临床诊断中已广泛应用,利用分子标志物对白血病进行免疫分型和对血栓前状态进行精确诊断也取得了极大的进展,使临床血液学检验从原来的细胞水平提高到了崭新的分子血液学检验水平。本章内容主要包括骨髓细胞学检验、贫血相关检验和血栓与止血检验。

第一节 骨髓细胞学检验

骨髓是人类出生后的主要造血器官。因此,骨髓细胞学检验是血液系统及其相关疾病的诊断、鉴别诊断以及疗效观察的重要手段之一。骨髓细胞学可通过多种手段进行检查,如细胞形态学、细胞化学、细胞免疫学、细胞遗传学和分子遗传学等。而细胞形态学也可有多种方法检查,如普通显微镜、相差显微镜、透射电镜、扫描电镜、荧光显微镜等,其中最简单、最实用的是普通光学显微镜检查,它是诊断许多疾病(尤其是血液系统疾病)的重要手段之一。通过骨髓细胞学检查可以了解骨髓中各种血细胞数量、细胞形态、有无异常细胞等,从而协助诊断疾病、观察疗效及判断预后。

一、细胞形态学检验

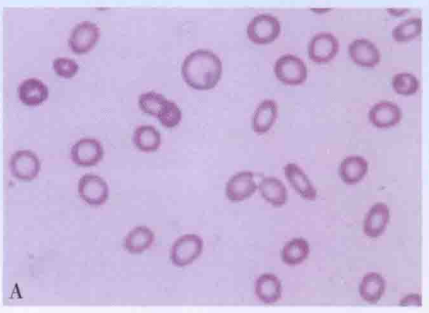
病历摘要:

患者男,53岁。反复中上腹疼痛8年,出现柏油样大便3天,伴头晕、乏力、心悸。查体:P 108次/分,贫血貌,浅表淋巴结未触及。实验室检查:Hb 56g/L,WBC 6.90×10^9/L,Plt 330×10^9/L,外周血红细胞中心淡染区扩大。该患者行骨髓穿刺涂片检查,结果如下:

××医院骨髓细胞形态学检验报告单

姓名:某某	病历号:××××××	标本类型:骨髓	标本编号:××××××
性别:男	科别:	申请医生:某某	采集部位:髂后上棘
年龄:53岁	临床诊断:贫血待查?	涂片号:	采集时间:××××-01-03-08:30

细胞名称			血涂片	骨髓涂片	
			%	%	参考区间(%)
粒细胞系统	原粒细胞			0.5	0~1.1
	早幼粒细胞			1.0	0.2~2.54
	中性粒细胞	中幼		4.5	3.28~13.16
		晚幼		7.0	5.63~20.28
		杆状核	2.0	15	8.24~24.3
		分叶核	50.0	7.0	6.09~24.47


A

学习笔记

续表

细胞名称			血涂片	骨髓涂片		
			%	%	参考区间(%)	
	嗜酸性粒细胞	中幼			0~1.08	B
		晚幼			0~1.95	
		杆状核			0~1.12	
		分叶核	5.0	1.0	0~3.60	
	嗜碱性粒细胞	中幼			0~0.12	
		晚幼			0~0.16	
		杆状核			0~0.07	**骨髓象** 1. 骨髓小粒易见，涂片制备良好，染色良好。 2. 骨髓涂片有核细胞增生明显活跃，粒红比为1∶1.6。 3. 红系明显增生，占53.0%，以中晚幼红细胞为主，其胞体小、边缘不整齐，浆量少、浆偏蓝(图A)。红细胞多数较小，中央淡染区明显扩大，多染性红细胞可见。全片红系分裂象细胞较易见。 4. 粒系相对减少，占36%，各阶段粒细胞比例和形态无明显异常。 5. 淋巴细胞比例相对减少。 6. 单核细胞比例无明显增减。 7. 全片巨核细胞约198个。分类25个，其中幼巨核细胞1个、颗粒巨核细胞14个、产血小板巨核细胞9个、巨核细胞裸核1个。血小板易见，呈小堆、大片状分布，形态正常。 8. 全片未见其他明显异常细胞及寄生虫。
		分叶核			0~2.8	
红细胞系统	原红细胞			1.0	0~0.52	
	早幼红细胞			2.5	0~1.91	
	中幼红细胞			29.5	3.46~12.26	
	晚幼红细胞			20.0	3.75~17.36	
	巨早幼红细胞					
	巨中幼红细胞					
	巨晚幼红细胞					
淋巴细胞系统	原淋巴细胞					
	幼淋巴细胞				0~0.54	
	淋巴细胞		40.0	9.0	8.44~32.2	
	异型淋巴细胞					
单核细胞系统	原始单核细胞					
	幼单核细胞					
	单核细胞		3.0	1.0	0~3.0	**血象** 白细胞数无明显增减，以中性分叶核粒细胞和淋巴细胞为主，形态正常。红细胞大小不一，多数较小，淡染区明显扩大(图B)。血小板易见，呈成堆存在 **细胞化学染色** 铁染色：细胞外铁和细胞内铁均阴性 **诊断意见及建议** 结合临床及其他检查，符合缺铁性贫血骨髓象，建议检查血清转铁蛋白饱和度、铁蛋白等铁代谢项目
浆细胞系统	原浆细胞					
	幼浆细胞					
	浆细胞					
其他	巨噬细胞				0~0.09	
	肥大细胞					
	内皮细胞				0~0.20	
	脂肪细胞					
	分类不明细胞					
共计数有核细胞数			200	500		

接收者：某某　　接收时间：××××-01-03　09∶00　　报告者：某某　　报告时间：××××-01-04　09∶10
检验者：某某　　检验时间：××××-01-03　09∶10　　检测实验室：　　×××× 医院检验科血液室

【问题1】该患者疑诊为贫血待查，必须进行骨髓涂片检查吗？

该患者血常规结果显示为小细胞低色素性贫血，进一步的检查是为了明确贫血病因。小细胞低色素性贫血最常见病因为缺铁。虽然铁缺乏诊断的金标准是骨髓铁染色，临床实际工作中通常首先进行铁代谢等项目的检查后，必要时再进行骨髓涂片检查和铁染色。

学习笔记

思路 1：由于骨髓是成年人的主要造血器官，造血系统疾病时，各种骨髓造血与非造血细胞的形态、比例都可能发生显著的变化，因此，对于疑为造血系统疾病尤其是造血系统肿瘤的患者，骨髓检查是诊断造血与淋巴组织肿瘤的重要依据。

思路 2：骨髓检查主要包括骨髓涂片细胞形态学检验和骨髓组织活检（又称骨髓病理学检查），两者各具优势，互为补充，但临床以前者最为常用。骨髓细胞形态学检验，又称骨髓象检查，是临床首选的实验诊断项目，但应注意检查的适应证和禁忌证。

知识点

骨髓检查的适应证及禁忌证

适应证　临床应用广泛，当临床上出现下列情况时，应考虑做骨髓检查。

1. 出现不明原因的外周血细胞数量及成分异常：如一系、二系或三系减少，一系、二系或三系增多，一系增多伴二系减少、外周血中出现原始细胞等。

2. 出现不明原因发热、肝大、脾大、淋巴结肿大等。

3. 出现不明原因骨痛、骨质破坏、肾功能异常、黄疸、紫癜、血沉明显增加等。

4. 血液系统疾病定期复查，化疗后的疗效观察。

5. 其他：骨髓活检、骨髓细胞表面抗原（CD）测定、造血干 / 祖细胞培养、血细胞染色体核型分析、电镜检查、骨髓移植、微量残留白血病测定、微生物培养（如伤寒、副伤寒、败血症）及寄生虫学检查（如疟疾、黑热病）等。

禁忌证　骨髓穿刺的绝对禁忌证极少，遇到下列这几种情况要注意。

1. 有出血倾向或凝血时间明显延长者不宜做，如为了明确疾病诊断也可做，但完成穿刺后必需局部压迫止血 5~10 分钟。而严重血友病患者禁忌。

2. 晚期妊娠的妇女做骨髓穿刺时应慎重。

学习笔记

【问题 2】骨髓穿刺的标本采集部位为髂后上嵴，是否还有其他采集部位？如何判断骨髓取材是否成功？

骨髓穿刺的采集部位除髂后上嵴外，还有髂前上棘、胸骨、胫骨等部位。

思路 1：选择骨髓穿刺部位一般要从以下几个方面考虑：①骨髓腔中红髓应丰富；②穿刺部位应浅表、易定位；③应避开重要脏器。故临床上成人最为理想的穿刺部位是髂骨上棘（包括髂骨前、髂骨后上棘），其他穿刺部位包括胸骨、胫骨等。

思路 2：骨髓取材满意的标志：①抽吸骨髓液时，患者感到有瞬间的酸痛感（有的患者无这种感觉）；②抽出的骨髓液中有较多的黄色小粒（多为骨髓小粒，有的是脂肪）；③显微镜下涂片中可见较多骨髓特有细胞：幼稚粒细胞、有核红细胞、巨核细胞、浆细胞、成骨细胞、破骨细胞、脂肪细胞、肥大细胞、组织细胞、吞噬细胞等；④中性杆状核粒细胞 / 分叶核粒细胞比值大于外周血中性杆状核粒细胞 / 分叶核粒细胞比值，有核细胞数大于外周血有核细胞数。

思路 3：取材失败（即骨髓稀释）

如抽吸骨髓液时混进血液，称为骨髓部分稀释；如抽出的骨髓液实际上就是血液，称为骨髓完全稀释。具体特征如下：①完全稀释：与血涂片的细胞成分完全一样；②部分稀释：骨髓小粒、油滴少或不见，骨髓特有细胞少，有核细胞少，成熟细胞 / 幼稚细胞 >3/5。

【问题 3】骨髓细胞学检查都包含哪些内容？各类细胞是如何计数的？为何巨核细胞计数与其他细胞计数方式不一样？

骨髓细胞学检查分为低倍镜和油镜检查内容。在油镜下进行各类细胞的形态学识别和计数。而巨核细胞由于胞体大、全片数量少（在血膜尾部等边缘部位较多），故其一般不归入骨髓有

核细胞计数范围，而是单独计数和分类。一般在低倍镜下进行计数，但巨核细胞的分期需在油镜或高倍镜下进行确认。

思路 1：首先选择骨髓小粒多、涂片制备良好的骨髓涂片进行瑞氏染色，然后选择染色好的涂片在显微镜下进行观察。具体如下：

(1) 低倍镜观察

1) 判断骨髓涂片质量：观察涂片厚薄、骨髓小粒多少、油滴、染色等，并可选择满意的区域用于有核细胞分类、计数。

2) 判断骨髓增生程度：骨髓中有核细胞的多少可以反映出骨髓增生程度。

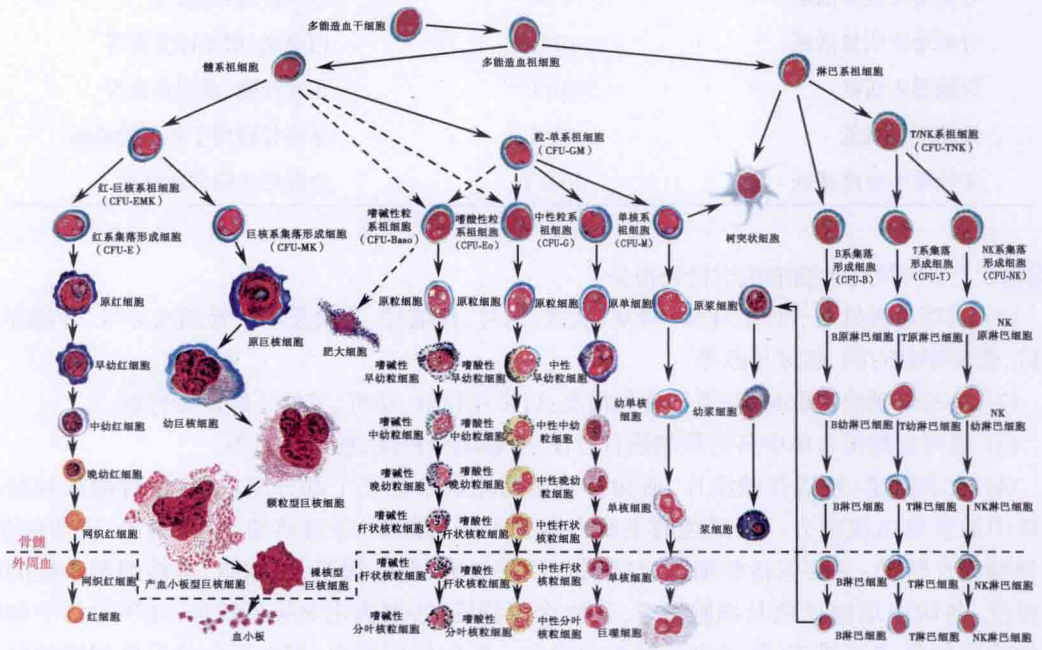
3) 巨核细胞计数并分类。

4) 全片观察有无体积较大或成堆分布的异常细胞（尤其要注意观察血膜尾部等边缘部位），如骨髓转移癌细胞、恶性组织细胞、恶性淋巴瘤细胞、戈谢细胞、尼曼 - 匹克细胞、海蓝组织细胞等。

(2) 油镜观察：在有核细胞计数、分类前，应先观察各系增生程度、形态、大致比例等情况，得出初步诊断意见；然后进行细胞分类、计数及形态观察，必要时细胞分类、计数应在细胞化学染色后再进行。细胞分类、计数时应同时注意观察细胞形态。在各类血细胞的分化、发育过程中，形态学变化具有一定的规律性，一般在原始细胞及其以后的各阶段细胞形态学可识别。

知识点

骨髓细胞的分化、发育规律及形态学变化特点



思路 2：在进行有核细胞计数和分类时应注意的问题

(1) 计数部位：应选择厚薄合适且均匀、细胞结构清楚、红细胞呈淡红色、背景干净的部位进行计数，一般在体尾交界处。

(2) 计数顺序：计数要有一定顺序，以免出现有些视野重复计数的现象。

(3) 计数细胞种类：计数的细胞包括除巨核细胞、破碎细胞、分裂象以外的其他有核细胞。

(4) 计数细胞数量：一般计数 200~500 个有核细胞；对造血与淋巴组织肿瘤的标本至少应计数 500 个以上，但在应注意计数原始细胞百分比时，分母是 ANC 还是 NEC。

知识点

有核细胞百分比和非红系细胞百分比

骨髓全部有核细胞(all nucleate cell,ANC)百分比是指各系统细胞或各阶段细胞占所有有核细胞的百分比。一般情况下,所说的百分比是指有核细胞百分比。

非红系细胞计数(non-erythroid cell,NEC)是指 ANC 去除有核红细胞、淋巴细胞、浆细胞外的全部有核细胞计数。

【问题 4】骨髓报告中的骨髓增生程度是如何判断的? G:E 是如何计算出来的?

骨髓增生程度是根据成熟红细胞和有核细胞的比例粗略判断的。G:E 即粒红比值(granulocyte/erythrocyte,G:E)是指各阶段粒细胞(包括中性、嗜酸性、嗜碱性粒细胞)百分率总和与各阶段有核红细胞百分率总和之比。

思路:骨髓有核细胞增生程度分级尚无统一标准,有三级、五级、七级、八级等分类方法,但临床一般采用五级分类法,即分为增生极度活跃、增生明显活跃、增生活跃、增生减低及增生极度减低。

知识点

骨髓有核细胞增生程度的判断

骨髓增生程度	红细胞:有核细胞之比约为	常见原因
骨髓增生极度活跃	1:1	急、慢性白血病等
骨髓增生明显活跃	10:1	白血病、增生性贫血等
骨髓增生活跃	20:1	正常骨髓、某些贫血等
骨髓增生减低	50:1	某些骨髓增生不良性疾病
骨髓增生极度减低	300:1	急性再生障碍性贫血

【问题 5】如何撰写骨髓细胞学检验报告?

(1) 填写患者姓名、性别、年龄、科室、病区、床号、住院号、上次及本次骨髓涂片号、骨髓穿刺部位、骨髓穿刺时间、临床诊断等。

(2) 填写骨髓涂片取材、制备和染色情况:可采用良好、尚可、欠佳三级评价标准。

(3) 填写骨髓报告单中各阶段细胞百分比、骨髓增生程度、粒红比值等。

(4) 文字描述:包括骨髓涂片、血涂片及细胞化学染色三个部分组成,其中骨髓涂片是报告单中的重要组成部分。所描述的主要内容要求简单扼要、条理清楚、重点突出,主要包括:①骨髓涂片特征:主要包括粒细胞、红细胞、巨核细胞、淋巴细胞、浆细胞、单核细胞系统的增生程度、各阶段细胞比例及细胞形态;②血涂片特征;③细胞化学染色特征:逐项对每个细胞化学染色结果进行描述,每项染色结果的报告一般包括阳性率、阳性积分或阳性细胞的分布情况。

(5) 填写诊断意见及建议:根据骨髓象、血象和细胞化学染色所见,结合临床资料提出临床诊断意见或供临床参考的意见,必要时提出进一步的检查及建议。对于诊断已明确的疾病,要与以前骨髓涂片进行比较,得出疾病完全缓解、部分缓解、改善、退步、复发等意见。

学习笔记

知识点

骨髓检查诊断意见种类及特点

诊断性质	特点
肯定性诊断	骨髓呈特异性变化，临床表现又典型者，如白血病、巨幼细胞性贫血、多发性骨髓瘤、骨髓转移癌、戈谢病、尼曼 - 匹克病等
符合性诊断	骨髓呈非特异性改变，但结合临床及其他检查可解释临床者。如溶血性贫血、特发性血小板减少性紫癜、原发性血小板增多症、脾功能亢进等，同时可建议做进一步检查
排除性诊断	临床怀疑为某种血液病，但骨髓象不支持或骨髓象大致正常，可考虑排除此病，但应注意也可能是疾病早期，骨髓尚未有明显反应。如临床上怀疑为特发性血小板减少性紫癜的患者，其骨髓中血小板和产血小板巨核细胞易见，即可作出排除性诊断
形态学描写	骨髓象有些改变，但提不出上述性质诊断意见，可简述其形态学检查的主要特点，并建议动态观察，同时尽可能提出进一步检查的建议

【问题 6】为何在进行骨髓象检查的同时还要进行血象的检查？

血象是骨髓象的延续，同时检查骨髓象与血象，二者相互参照有利于作出正确的诊断，主要体现在以下几个方面。

(1) 有助于明确诊断：急性白血病时，尽管其血象与骨髓象变化有相当程度的差异，但二者关系密切，此时骨髓内大量低分化的白血病细胞在系列划分有困难时，可根据外周血中某些分化较好的细胞来推测其原始细胞的系列归属。

(2) 有助于鉴别诊断：①某些疾病血象相似而骨髓象变化显著不同：如非白血性白血病与再生障碍性贫血，外周血可均表现为全血细胞减少，淋巴细胞百分率相对增高，而骨髓变化却截然不同，前者呈白血病性细胞增生，后者则可见有核细胞增生低下；②某些疾病骨髓象相似而血象有区别：如溶血性贫血、缺铁性贫血以及急性失血性贫血的骨髓象相似，但血象却差别很大；③某些疾病骨髓象无明显变化而血象变化显著：如传染性单核细胞增多症，外周血中异型淋巴细胞显著增多，而骨髓中异型淋巴细胞少见；④某些疾病血象无明显变化而骨髓象变化显著：如多发性骨髓瘤、戈谢病、尼曼 - 匹克病等。

(3) 有助于判断疗效：白血病疗效须同时观察血象和骨髓方可作出是否缓解的正确判断。具体判断标准参见第九章第三节急性白血病。

【问题 7】骨髓组织活检与骨髓细胞学检验有何不同？

骨髓组织活检是观察骨髓的组织结构和空间定位。而骨髓穿刺检查反映的是血细胞数量、形态和比例的改变，不能有效反映骨髓组织结构及间质成分的变化，因此骨髓活检是补充骨髓涂片检查的一个有效方法。

思路：骨髓活检适应证

(1) 骨髓穿刺多次失败（怀疑骨髓纤维化、骨髓转移癌、多发性骨髓瘤、多毛细胞白血病、某些急、慢性白血病及骨髓硬化症等）。

(2) 血象显示全血细胞减少，反复骨髓穿刺均为骨髓稀释或骨髓增生低下，病态造血，怀疑再生障碍性贫血、骨髓增生异常综合征及低增生性白血病的患者。

(3) 某些贫血、原因不明发热、脾或淋巴结肿大、骨髓涂片检查不能确诊者。

(4) 白血病疗效观察，有时骨髓涂片已达到完全缓解，但骨髓活检切片内仍可检出白血病性原始细胞簇，因此，在白血病的缓解后化疗及长期无病生存期间，应定期做骨髓双标本取材。倘若骨髓涂片未达复发标准，而切片内出现了异常原始细胞簇，提示已进入早期复发，应及时对症

学习笔记

治疗。

知识点

骨髓穿刺和骨髓活检的比较

	骨髓穿刺	骨髓活检
取材方式	用骨髓穿刺针抽骨髓液后涂片瑞氏-吉姆萨染色后备检	用骨髓活检针取得一条骨髓组织，固定包埋切片后行 HE 等染色后备检
优点	1. 操作较简便 2. 涂片中细胞分布均匀，胞体舒展，染色良好，较易分辨各系原、幼细胞及其微细结构 3. 易于识别巨型变、巨幼样变和小巨核细胞 4. 细胞化学染色效果好，结果可量化	1. 保持造血组织的天然结构，便于判断红髓和脂肪组织的比例 2. 全面了解骨髓增生程度，有核细胞密度及其布局 3. 可避免血窦血的稀释 4. 对骨髓纤维化、毛细胞白血病有确诊作用，能提示骨髓增生异常综合征向急性粒细胞白血病的转化，对“干抽”有鉴别作用
缺点	1. 造血组织的天然结构已遭破坏，无法判断红髓、黄髓比例 2. 若抽吸过猛，导致血窦血的稀释 3. 若遇“干抽”不能分析	1. 有核细胞群集，不易区分原、幼细胞的类型 2. 难以观察细胞内的微细结构 3. 细胞化学染色结果难以量化

二、细胞化学染色

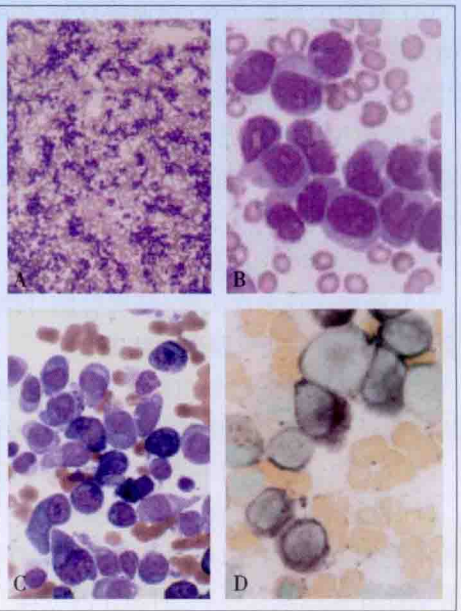
病历摘要：

患者男，45 岁。头晕乏力，牙龈肿胀 1 周。查体：贫血貌，浅表淋巴结未触及。实验室检查：外周血涂片中原始细胞 18%。该患者进行骨髓涂片及细胞化学染色检查，结果如下：

××医院骨髓细胞形态学检验报告单

姓名：某某　　病历号：××××××　　标本类型：骨髓　　标本编号：××××××
性别：男　　科别：　　申请医生：某某　　采集部位：髂后上棘
年龄：45 岁　　临床诊断：白血病？　　涂片号：××××××　　采集时间：××××-04-11-08：45

细胞名称			血涂片	骨髓涂片	
			%	%	参考区间(%)
粒细胞系统	原粒细胞				0~1.1
	早幼粒细胞			0.5	0.2~2.54
	中性粒细胞	中幼		4	3.28~13.16
		晚幼		0.5	5.63~20.28
		杆状核	2		8.24~24.3
		分叶核	56	1	6.09~24.47
	嗜酸性粒细胞	中幼			0~1.08
		晚幼			0~1.95
		杆状核			0~1.12
		分叶核	3	0.5	0~3.60
	嗜碱性粒细胞	中幼			0~0.12
		晚幼			0~0.16



续表

细胞名称			血涂片	骨髓涂片		
			%	%	参考区间(%)	
		杆状核			0~0.07	**骨髓象** 1. 取材、制片，染色良好。 2 骨髓涂片有核细胞增生极度活跃，粒红比为1.08∶1(图 A)。 3. 粒系细胞占 6.5%，红系细胞占 6.0%，成熟红细胞大小不等。 4. 淋巴细胞占 8.5%，形态大致正常。 5. 单核系细胞占 78.5%，此类细胞胞体较大，少数胞核有折叠，核染色质疏松，核仁不明显，1~4个，多为 1 个，胞质灰蓝色，量宽广，多有细小紫红色颗粒，部分呈拖尾状(图 B)。 6. 全片巨核细胞见 1 个。 7. 全片未见其他明显异常细胞及寄生虫。
		分叶核			0~2.8	
红细胞系统	原红细胞				0~0.52	
	早幼红细胞			1	0~1.91	
	中幼红细胞			1.5	3.46~12.26	
	晚幼红细胞			3.5	3.75~17.36	
	巨早幼红细胞					
	巨中幼红细胞					
	巨晚幼红细胞					
淋巴细胞系统	原淋巴细胞					
	幼淋巴细胞				0~0.54	
	淋巴细胞		30	8.5	8.44~32.2	
	异型淋巴细胞					
单核细胞系统	原始单核细胞					**血象** 白细胞数量增多，以中性分叶核粒细胞和淋巴细胞为主。红细胞大小不一。血小板少见。 **细胞化学染色** MPO：阳性(图 C)；NSE 染色：阳性(图 D)，且 NaF 抑制试验阳性。 **诊断意见及建议** 急性单核细胞白血病骨髓象，建议进行流式细胞免疫表型分析，必要时进行染色体或分子遗传学检查
	幼单核细胞			78		
	单核细胞		9	0.5	0~3.0	
浆细胞系统	原浆细胞					
	幼浆细胞					
	浆细胞					
其他	巨噬细胞			0.5	0~0.09	
	肥大细胞					
	内皮细胞				0~0.20	
	脂肪细胞					
	分类不明细胞					
共计数有核细胞数			200	500		

接收者：某某　　接收时间：××××-04-11　09∶00　　报告者：某某　　报告时间：××××-04-12　09∶10
检验者：某某　　检验时间：××××-04-11　09∶20　　检测实验室：　　×××× 医院检验科血液室

【问题 1】为何该患者要做髓过氧化物酶(myeloperoxidase，MPO)染色？

该患者外周血中有大量原始细胞，初步诊断为急性白血病。下一步是需要鉴别出白血病类型。MPO 主要存在于粒系和单核系细胞中，在中性粒细胞系细胞中含量最高，单核细胞系多数细胞呈阴性或弱阳性，其他细胞不含 MPO。故此，MPO 是辅助判断急性白血病细胞类型的最重要、首选的细胞化学染色。目前大多数医院都在使用。

思路 1：MPO 主要存在于粒系细胞胞浆中。无颗粒原粒细胞常呈阴性反应，有颗粒原粒细胞可呈阳性。早幼粒细胞呈强阳性反应，中幼粒细胞细胞及其以下阶段细胞呈阳性反应。嗜酸性粒细胞呈强阳性反应，嗜碱性粒细胞呈阴性反应。原单核细胞呈阴性反应，幼单核细胞和单核细胞呈弱阳性反应。淋巴细胞、巨核细胞及各阶段幼红细胞均呈阴性反应。

思路 2：MPO 的临床应用

(1) 急性淋巴细胞白血病：原始淋巴细胞及幼稚淋巴细胞均呈阴性。但实际上急性淋巴细

胞白血病患者骨髓中可残留少许的原始粒细胞，而出现“原始细胞”呈阳性的现象，故 FAB 分型规定急性淋巴细胞白血病患者 MPO 阳性率 <3%。

（2）急性粒细胞白血病：原始粒细胞阳性或阴性，但常阳性，为（+）~（++）。

（3）急性早幼粒细胞白血病：早幼粒细胞呈强阳性，为（+++）~（++++）。

（4）急性单核细胞白血病：原始单核、幼稚单核细胞多数呈阴性或弱阳性。

（5）急性粒单核细胞白血病：原始单核、幼稚单核细胞呈阴性或弱阳性，原始粒细胞呈阳性或阴性。

（6）急性红白血病：原始粒细胞呈阳性或阴性，原始单核细胞呈阴性或弱阳性，有核红细胞呈阴性。中性成熟粒细胞 MPO 活性下降，见于骨髓增生异常综合征、放射病、退化的中性粒细胞及某些白血病等。

典型病例的 MPO 染色结果见图 15-1-1。

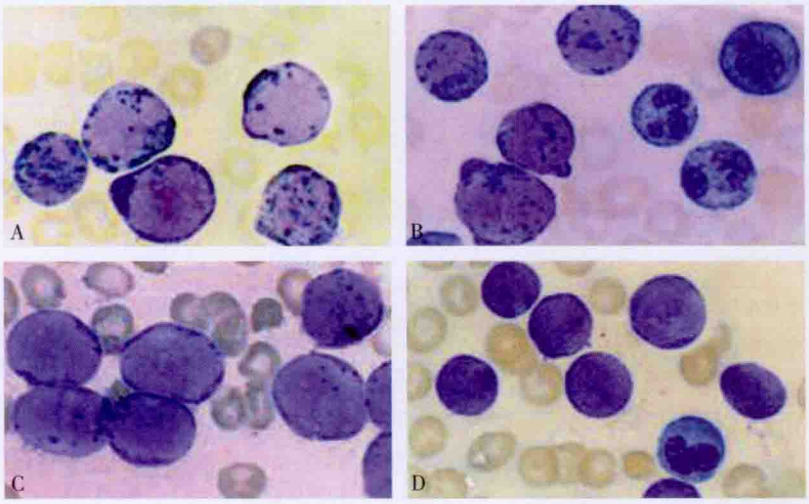


图 15-1-1　骨髓涂片髓过氧化物酶染色（煌焦油蓝法），×1000

A. 急性粒细胞白血病（M1 型）呈阳性反应；B. 急性粒细胞白血病（M2 型）呈阳性反应；C. 急性单核细胞白血病呈弱阳性反应；D. 急性淋巴细胞白血病呈阴性反应

【问题 2】如何进行 MPO 染色？

MPO 通过催化 H_2O_2 释放出新生态氧，使无色的底物在细胞原位生成有色化合物，从而显示 MPO 的活性。MPO 的染色方法有多种，如复方联苯胺法、二氨基联苯胺法、四甲基联苯胺、改良的 Pereira 染色法（煌焦油蓝法）等（图 15-1-1）。以前常用复方联苯胺法（Washburn 法），但由于其试剂具有致癌性，所以目前其临床应用呈逐渐减少趋势。二氨基联苯胺法的原理为：血细胞内的 MPO，在 H_2O_2 存在的情况下，氧化二氨基联苯胺，形成金黄色不溶性沉淀，定位于 MPO 酶所在的活性部位。

【问题 3】MPO 染色后如何判断结果？

ALL 与 AML 的初步鉴别一般以 MPO 染色阳性率 3% 为临界值，前者 <3%，后者常 >3%。但是，急性白血病的血涂片或骨髓涂片 MPO 染色时，若原始细胞 MPO 染色阳性率 <3%，并不能肯定是 ALL，因为分化较差的原粒细胞、原单细胞、原巨核细胞、原淋巴细胞均可呈阴性。此时应结合其他细胞化学染色、细胞免疫表型分析等进行鉴别。

思路：MPO 染色的关键是如何辨认哪种细胞是白血病细胞

由于 MPO 染色片子中的细胞结构不如瑞氏染色下清楚，而且阳性细胞中已有阳性颗粒的覆盖，在一定程度上干扰了白血病细胞的辨认，所以其 MPO 阳性率高低与实际真值之间会有一

学习笔记

定的误差(片中细胞种类越多,误差就越大)。同时,由于存在着杂质的沉淀,可出现假阳性,此时往往其他细胞和背景上也有阳性颗粒;试剂失效,可导致假阴性,如果片中中性成熟粒细胞呈强阳性,即可排除试剂失效。由于 MPO 的敏感性明显低于流式细胞术对 MPO 抗原的测定。所以,MPO 染色阴性的患者并不等于白血病细胞中不存在着此酶,需用流式细胞术进行确认。

【问题 4】过碘酸 - 希夫反应(periodic acid-Schiff reaction,PAS)对于血液系统肿瘤的诊断有何价值?

PAS 主要用于辅助鉴别急性白血病细胞类型的细胞化学染色,尤其对 ALL 的鉴别尤为重要。

思路 1:正常血细胞的 PAS 染色反应

(1) 粒细胞系统:分化差的原始粒细胞阴性,分化好的原始粒细胞至中性分叶核粒细胞均呈阳性反应,并随着细胞的成熟而逐渐增强,阳性呈弥散性、细颗粒状;嗜酸性粒细胞中的嗜酸性颗粒本身不着色,而颗粒之间的胞质呈红色;嗜碱性粒细胞中的嗜碱性颗粒呈阳性,而颗粒之间的胞质不着色。

(2) 红细胞系统:有核红细胞及红细胞均呈阴性。

(3) 单核细胞系统:分化差的原始单核细胞呈阴性,其他阳性,绝大多数阳性呈细颗粒状,有时分布于细胞边缘的阳性颗粒较粗大。

(4) 淋巴细胞系统:大多数呈阴性,少数呈阳性(阳性率常小于 20%),阳性呈粗颗粒状或块状。

(5) 巨核细胞系统:巨核细胞和血小板呈阳性,呈颗粒状或块状。

(6) 其他细胞:少数浆细胞阳性,巨噬细胞可阳性,两者均呈细颗粒状。

思路 2:PAS 在血液系统疾病中的临床意义

(1) 红细胞系统疾病:红血病、红白血病、骨髓增生异常综合征中有核红细胞可呈均匀红色或块状阳性(图 15-1-2A),有时有核红细胞阳性反应强且阳性率高,甚至红细胞也呈阳性。某些红系良性疾病,如缺铁性贫血、地中海贫血中的有核红细胞有时也可呈阳性;巨幼细胞贫血、再生障碍性贫血、其他溶血性贫血中的有核红细胞常呈阴性,个别细胞可呈阳性(图 15-1-2B)。

(2) 白细胞系统疾病:主要用于辅助鉴别急性白血病的细胞类型,因为不同细胞类型急性白血病其阳性反应可不同(指典型患者)。急性淋巴细胞白血病时原始淋巴细胞及幼稚淋巴细胞的阳性率升高,呈粗颗粒状或块状阳性(图 15-1-2D);急性粒细胞白血病时部分原始粒细胞呈阳性,阳性呈细颗粒状或弥散分布;急性单核细胞白血病时原始单核及幼稚单核细胞可呈阳性,阳性

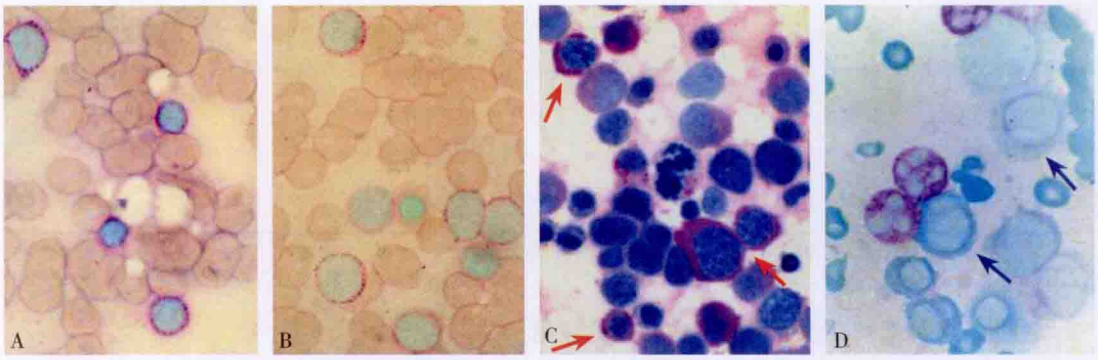


图 15-1-2　骨髓涂片 PAS 染色,×1000

A. 急性红白血病幼红细胞呈红色阳性反应;B. 巨幼细胞性贫血时巨幼红细胞呈阴性反应;C. 慢性淋巴细胞白血病细胞呈红色粗颗粒状阳性反应;D. 急性淋巴细胞白血病细胞呈红色颗粒状阳性反应,幼红细胞呈阴性反应

学习笔记

呈细颗粒状，有时胞质边缘处颗粒较粗大。慢性淋巴细胞白血病时淋巴细胞的阳性率增加，呈粗颗粒状或块状（图 15-1-2C）；恶性淋巴瘤时淋巴瘤细胞阳性率高、阳性强，呈块状或粗颗粒状。

（3）其他细胞：戈谢细胞呈强阳性，尼曼 - 匹克细胞呈阴性或弱阳性；Reed-Sternberg 细胞阴性或弱阳性；骨髓转移性腺癌呈强阳性。

【问题 5】PAS 染色原理是什么？

PAS 反应是利用过碘酸这一氧化剂，使含有乙二醇基（—CHOH—CHOH）的多糖类物质（糖原、黏多糖、黏蛋白、糖蛋白及糖脂等）氧化，形成双醛基（—CHO—CHO）。醛基与希夫试剂中的无色品红结合，使无色的品红变成紫红色化合物，定位于含有多糖类的细胞内。PAS 以前又称为糖原染色。

思路：如果急性白血病的 PAS 染色结果典型，可辅助细胞系列判断，但是实际上 PAS 染色结果常不典型。PAS 染色在恶性红系疾病中常呈阳性（尤其是强阳性，意义更大），但有时也呈阴性，所以阴性不能排除恶性红系疾病的可能性，而在大多数良性红系疾病中常呈阴性，但少数患者也可出现阳性。该染色受试剂等影响，也可出现假阴性或假阳性。

【问题 6】为何该患者要做酯酶染色？

该患者疑诊急性白血病，通过形态学检查急性髓系白血病可能性大，故为进一步鉴别急性髓系白血病类型，进行酯酶染色。

思路 1：不同血细胞中所含酯酶的成分不同。根据酯酶特异性高低分为特异性酯酶（specific esterase，SE）和非特异性酯酶（nonspecific esterase，NSE）。特异性酯酶是指氯乙酸 AS-D 萘酚酯酶染色（naphthol AS-D chloroacetate esterase，NAS-DCE），为粒系细胞所特有，故又称粒细胞酯酶；非特异性酯酶的种类有多种，包括 α- 醋酸萘酚酯酶、α- 丁酸萘酚酯酶和醋酸 AS-D 萘酚酯酶等。α- 醋酸萘酚酯酶（α-naphthyl acetate esterase，α-NAE），可存在于多种细胞中，又称非特异性酯酶。α- 丁酸萘酚酯酶（α-naphthyl butyrate esterase，α-NBE），主要存在于单核系细胞中，故又称单核细胞酯酶。

学习笔记

知识点

各种正常骨髓细胞的酯酶染色反应

细胞类型	萘酚 AS-D 氯乙酸酯酶	α- 醋酸萘酚酯酶	α- 丁酸萘酚酯酶
原粒细胞	-/+	-/±	-
早幼粒细胞	++/+++	-/+	-
中性粒细胞	+/++	-/±	-
原单核细胞	-/±	+/++	+/++
幼单核和单核细胞	-/±	+++	+++
淋巴细胞	-	-/±	-/±
幼红细胞	-	-/±	-
巨核细胞与血小板	-	+++	±

注："-"为阴性，"±"为弱阳性，"+"为阳性，"++"为较强阳性，"+++"为强阳性

思路 2：各种酯酶在急性髓系白血病中的应用

（1）急性粒细胞白血病：原始、幼稚细胞的 NAS-DCE 染色呈阳性，α-NAE 染色呈阴性或弱阳性，α-NBE 染色阴性。

（2）急性早幼粒细胞白血病：异常早幼粒细胞的萘酚 AS-D 氯乙酸酯酶染色呈强阳性；α- 乙酸萘酚酯酶染色呈阴性或阳性，但其阳性反应不被 NaF 抑制（称为 NaF 抑制试验阴性）；α- 丁酸

萘酚酯酶染色阴性。

(3) 急性单核细胞白血病：原始单核细胞、幼稚单核细胞及单核细胞的 α-NAE 和 α-NBE 染色呈阳性或强阳性，但其阳性反应能被 NaF 抑制（称为 NaF 抑制试验阳性）；NAS-DCE 染色呈阴性或弱阳性。

(4) 急性粒单细胞白血病：≥20% 的原、幼细胞呈 NAS-DCE 染色阳性反应，≥20% 的原、幼细胞呈 α-NBE 染色阳性反应。也可见≥20% 的原、幼细胞同时呈现 NAS-DCE 和 α-NAE 或 α-NBE 染色双阳性反应。

思路 3：各种酯酶染色的特点

(1) NAS-DCE 是粒系特异性酯酶，白血病性原、幼细胞呈阳性，可以肯定白血病细胞中有原、幼粒细胞存在，但如果均阴性不能排除有原粒细胞存在的可能性。

(2) α-NAE 在各种细胞中均有不同程度的阳性反应，但在单核系细胞的阳性可被氟化钠抑制，在粒细胞系统的阳性反应不能被氟化钠抑制，借此辅助鉴别急性白血病细胞类型。

(3) α-NBE 对单核系细胞的特异性较 α-NAE 高，分化好的各期单核细胞均呈阳性，而且阳性反应能被氟化钠抑制。

【问题 7】酯酶染色的原理是什么？

目前显示血细胞中酯酶的方法均采用偶氮偶联法。即利用酯酶水解底物产生萘酚的衍生物并与重氮盐偶联，在细胞原位生成不溶性有色沉淀。以 NAS-DCE 染色为例：

血细胞内的氯乙酸 AS-D 萘酚酯酶水解基质液中的氯乙酸 AS-D 萘酚，产生 AS-D 萘酚，进而与基质液中的重氮盐偶联形成不溶性的有色沉淀，定位于细胞质内酶所在的部位。本试验常用的重氮盐为坚牢紫酱 GBC，形成的有色沉淀为红色。NAS-DCE 几乎仅出现在粒细胞，其特异性高，因此又称为“粒细胞酯酶”。

思路：酯酶染色经常同时需要做氟化钠抑制试验。以 NAE 为例：NAE 存在于单核细胞、粒细胞和淋巴细胞中，是一种中性非特异性的酯酶。NAE 在单核细胞系统呈阳性反应，分化差的原始单核细胞呈阴性，分化好的原始单核细胞呈阳性（常较强），幼稚单核及单核细胞也呈阳性，此阳性可被氟化钠抑制。粒细胞系统 NAE 染色为阴性或阳性，但阳性反应不能被氟化钠抑制。故临床实际工作中做 α-NAE 染色时，通常同时做氟化钠抑制试验。

抑制试验是指 NAE 染色时加入氟化钠的染色阳性率低于不加入氟化钠的染色阳性率的 50%，即抑制率大于 50%，抑制率的计算公式为：

氟化钠抑制率 =（未加氟化钠 NAE 染色阳性率或阳性积分 - 加入氟化钠 NAE 染色阳性率或阳性积分）/ 未加氟化钠 NAE 染色阳性率或阳性积分 ×100%

知识点

NAE 染色氟化钠抑制试验

NAE 存在于单核细胞、粒细胞和淋巴细胞中，是一种中性非特异性的酯酶。NAE 在单核细胞系统呈阳性反应，分化差的原始单核细胞呈阴性，分化好的原始单核细胞呈阳性（常较强），幼稚单核及单核细胞也呈阳性，此阳性可被氟化钠抑制。粒细胞系统 NAE 染色为阴性或阳性，但阳性反应不能被氟化钠抑制。故临床实际工作中做 α-NAE 染色时，通常同时做氟化钠抑制试验。

抑制试验是指 NAE 染色时加入氟化钠的染色阳性率，低于不加入氟化钠的染色阳性率的 50%，即抑制率大于 50%，抑制率的计算公式为：

氟化钠抑制率 =（未加氟化钠 NAE 染色阳性率或阳性积分 - 加入氟化钠 NAE 染色阳性率或阳性积分）/ 未加氟化钠 NAE 染色阳性率或阳性积分 ×100%

学习笔记

【问题 8】何谓酯酶双染?

在同一张涂片上进行两种酯酶染色的方法称为酯酶双染色。

思路 1:一般采用一种特异性酯酶加一种非特异性酯酶染色,故常用的有 α- 醋酸萘酚酯酶与氯乙酸 AS-D 萘酚酯酶双染色、α- 丁酸萘酚酯酶与氯乙酸 AS-D 萘酚酯酶双染色等。反应的原理基本上同各自的染色原理,但同一张涂片上的血细胞要分别在两种不同的基质液中作用一定时间,最后复染、显微镜观察。酯酶双染色对诊断急性粒 - 单核细胞白血病的诊断具有独特的价值,即在同一张片中出现两种酯酶染色阳性的细胞或同一种细胞同时出现两种酯酶染色阳性结果。

思路 2:酯酶染色试验存在假阳性、假阴性的现象

假阳性主要是由于试剂质量等原因导致阳性颗粒出现在背景及阴性的细胞上,并可导致氟化钠被抑制的假象;假阴性主要是试剂失效,导致所有细胞(包括中性成熟粒细胞)均阴性。在结果判读时应尽量排除这些因素的影响。抑制率的计算应以阳性指数来计算比较合理。一般来说如果阳性较强且被氟化钠明显抑制,可以确信它的临床意义;对于抑制不明显的标本,结果的判断容易受主观等因素的影响,所以只能作为参考指标。

【问题 9】该患者需要做中性粒细胞碱性磷酸酶(neutrophilic alkaline phosphatase,NAP)染色吗?

该患者通常不需要做 NAP 染色。血细胞的碱性磷酸酶主要存在于成熟的中性粒细胞胞浆中,当细菌感染时,其酶活性增强。一些血液系统疾病,NAP 活性常出现异常变化,故 NAP 染色具有独特的临床应用价值。

思路 1:NAP 主要用于鉴别感染性疾病的类型。细菌感染特别是化脓菌感染时,NAP 活性和积分值显著增高,急性感染比慢性感染增高明显。病毒感染时,NAP 一般不增高。

思路 2:NAP 还用于某些血液病的鉴别诊断

(1) 慢性髓细胞白血病(CML)和中性粒细胞类白血病反应:CML 患者,NAP 活性显著降低或为阴性,病情缓解时可恢复正常,CML 急变后 NAP 活性增高。中性粒细胞型类白血病反应时,NAP 染色阳性率和积分值明显增高。

(2) 再生障碍性贫血(AA)和阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH):AA 患者的 NAP 染色阳性率和积分值增高,病情缓解后可降至正常;PNH 患者的 NAP 活性常减低。

(3) 真性红细胞增多症和继发性红细胞增多症:前者 NAP 活性常增高,而后者常无明显变化。

【问题 10】NAP 染色原理为何? 如何进行结果报告?

NAP 染色方法有 Gomori 钙 - 钴法和 Kaplow 偶氮偶联法,因为钙 - 钴法操作较为烦琐且所需时间长,而偶氮偶联法的试剂盒操作方便,染色时间短,故目前国内常用偶氮偶联法。Kaplow 偶氮偶联法的原理为成熟中性粒细胞碱性磷酸酶在 pH9.6 左右的碱性环境中,能水解基质液中的磷酸萘酚钠底物,释放出萘酚,后者与重氮盐偶联,生成不溶性的有色沉淀,定位于细胞质酶活性所在之处。

NAP 主要存在于中性成熟粒细胞(包括中性杆状核粒细胞和分叶核粒细胞),故中性成熟粒细胞呈阳性,其他细胞基本呈阴性。结果以阳性率和(或)阳性积分值报告。在油镜下计数 100 个成熟中性粒细胞,分别记录其分级情况:(-)、(+)、(++)、(+++)、(++++),100 个细胞中阳性细胞总数即为阳性率,100 个细胞中阳性细胞的积分和即为阳性积分值。

学习笔记

三、流式细胞免疫表型分析

病历摘要：

患者男性，25岁。发热、乏力2周。查体：贫血貌，颌下可触及黄豆大小淋巴结，无压痛。实验室检查：外周血中原始细胞26%。该患者进行骨髓涂片及免疫表型分析（图15-1-3），结果如下：

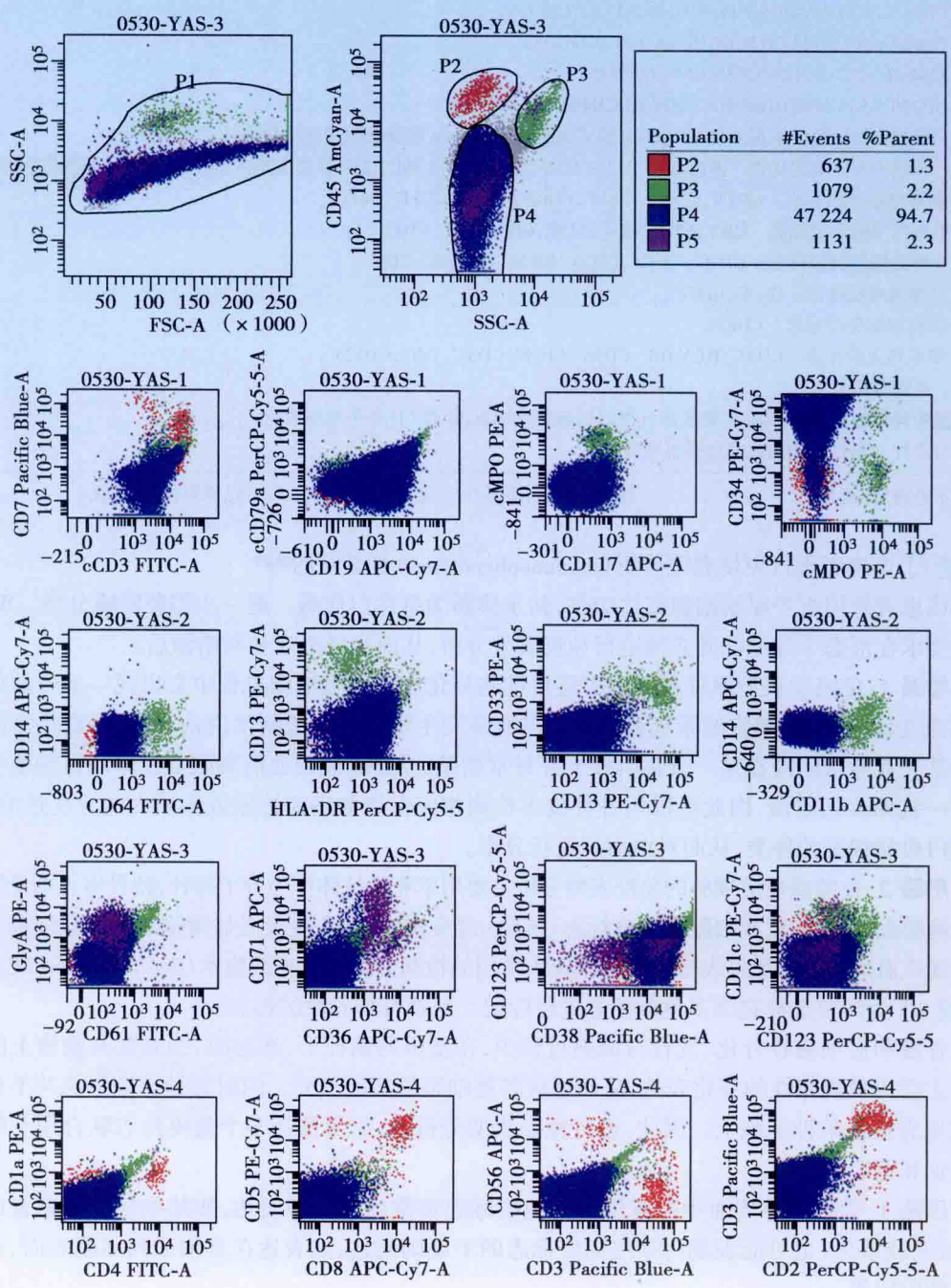


图15-1-3　骨髓免疫表型分析图

P1：有核细胞，P2：淋巴细胞，P3：单核细胞，P4：异常细胞

在CD45/SSC散点图中，P4细胞群占骨髓有核细胞的94.7%，该群细胞表达的免疫标志包括：CD10、CD19、cCD79a、CD34、CD38、CD22、CD9、CD34、CD38、CD58以及TdT，同时伴有髓系标志CD13的不规则表达。符合急性B淋巴细胞的免疫表型特征

××医院流式细胞免疫表型分析报告

姓名:某某　　性别:男　　年龄:25岁　　病历号:

临床诊断:急性白血病　标本采集时间:××××-08-19　　标本类型:骨髓

一、标本制备方法　红细胞溶解法。

二、标本染色法　直接免疫荧光染色法。FITC / PE / Percp-cy5.5/ APC/ APC-cy7 / PE-cy7/ PB/Amcyan

1. CD3/MPO/CD79a/CD117/CD19/CD34/CD7/CD45
2. CD64/CD33/HLA-DR/CD11b/CD14/CD13/CD15/CD45
3. CD61/GlyA/CD123/CD71/CD36/CD11c/CD38/CD45
4. CD4/CD1a/CD2/CD56/CD8/CD5/CD3/CD45
5. CD22/CD58/CD9/CD10/TdT/CD20/CD3/CD45

三、细胞分析信息　采用 BDFASCalibur 流式细胞仪 CellQuest 软件获取并分析结果。

四、骨髓中有核细胞比例　淋巴细胞(R1)占 1.3%,髓系细胞占(R4)2.2%,异常细胞占 94.7%。异常细胞免疫表型:

1. 髓系细胞免疫标志　$CD13^+$,$CD33^-$,$CD14^-$,$CD64^-$,$CD15^-$,$CD117^-$,MPO^-。
2. T 淋巴细胞免疫标志　$CD5^-$,$CD7^-$,$CD4^-$,$CD8^-$,$CD2^-$,$CD3^-$,$CD1a^-$。
3. B 淋巴细胞免疫标志　$CD10^+$,$CD19^+$,$CD20^-$,$CD22^+$,$cCD79a^+$,$CD9^+$。
4. 红细胞免疫标志　$GlyA^-$,$CD71^-$。
5. 巨核细胞免疫标志　$CD61^-$。
6. 非系列免疫标志　$CD34^+$,$HLA\text{-}DR^+$,$CD36^-$,$CD38^+$,$CD58^+$,TdT^+,$CD123^-$。

五、免疫分型意见

骨髓中异常细胞占 94.7%,主要表达 B 淋巴细胞免疫标志,伴有 CD13 不规则表达。

符合急性 B 淋巴细胞白血病免疫表型特点。

标本处理者:某某　　结果分析者:某某　　结果审核者:某某

【问题 1】该患者进行免疫表型分析(immunophenotypes)是必须的吗?

该患者外周血中原始细胞高达 26%,初步诊断为急性白血病。进一步需要明确分型。WHO 分型要求在形态学分型基础必须进行免疫表型分析,从而指导治疗和判断预后。

思路 1:免疫学表型原理是利用了造血细胞分化成为成熟细胞过程中会出现一系列的免疫表型的变化,来识别细胞的系统和阶段。白血病发生学的成熟遏制学说认为,白血病是造血细胞的某一克隆被阻滞在某一分化阶段上并异常增殖的结果,故白血病细胞往往停滞在细胞分化的某一抗原表达阶段,因此可以用各种技术检测相应白细胞表面抗原或胞质内的分化抗原,来识别白血病细胞的种类,从而对白血病进行分型。

思路 2:骨髓或血液细胞的免疫表型分析主要用单克隆抗体作为分子探针,特异地识别骨髓与血细胞膜表面、细胞浆或细胞核免疫标志(抗原),经免疫酶法、免疫荧光显微镜法或流式细胞术分析骨髓或血液细胞的免疫表型。在临床较为常用的检测方法是流式细胞术(flow cytometry,FCM)。

【问题 2】为何要选择这么多免疫标志进行标记?是否有特异性的标志?

骨髓和血细胞在分化、发育与成熟过程中,在基因的调控下,细胞膜、细胞浆及胞核上的免疫标志会出现规律性的变化表达,从而适应各种细胞的功能需要。同时每种免疫标志并不是特异性地表达在某种细胞上。因此,进行免疫表型分析时,需要选择多个免疫标志联合用于细胞的识别和鉴定。

思路 1:骨髓和外周血中异常细胞的免疫标志常常出现异常表达,如某些免疫标志表达过度、减弱或缺失,也可能表现为某些免疫标志的不规则表达,如表达在其他系列细胞表面、表达在其他阶段等。

思路 2:从该患者的免疫分型结果,诊断为急性 B 淋巴细胞白血病,原始细胞表达 B 淋巴细胞标志,同时还伴有髓系免疫标志如 CD13 的不规则表达,说明此类原始细胞为恶性增殖的。

【问题 3】如何进行免疫分型?

免疫分型的基本步骤包括:选择抗体、样本制备、上机检测和数据分析报告。

学习笔记

思路：抗体的选择可以根据文献，也可以实验室自行搭配。

【问题 4】在流式细胞免疫表型分析的散点图中，R 表示什么？

R 即 region 的缩写，表示区域，也即设门（gating）。

思路 1：免疫表型分析中设门很重要。设门即把感兴趣的细胞群体圈起来，对其进行分析的方法，是 FCM 基本的分析方法。

思路 2：不同疾病的设门策略不同

急性白血病常用 CD45/SSC（side scatter，SSC）双参数散点图进行设门，该散点图可以很好地区别出各个阶段的原始细胞、幼稚细胞和成熟细胞。在分析 B 细胞淋巴瘤时，常用 CD19/SSC 散点图设门，观察其他 B 淋巴细胞免疫标志如抗 k 链和抗 λ 链的表达；分析 T 细胞淋巴瘤时用一个全 T 细胞抗体设门使肿瘤细胞的分型更加明确。另外，通过细胞特异的抗原表达确定其光散射区域的“backgate”的方法也很实用，如通过 CD14 与 CD45 的双参数分析区分多个区域的淋巴、单核和粒细胞群体。

【问题 5】免疫表型分析中如何判断阳性和阴性？

设门确定异常细胞群体后要进一步分析其免疫分型。通常是根据与同型对照的荧光强度来判断免疫标志的阴性和阳性。

思路 1：免疫表型分析中定性的描述（阳性或阴性）通常要比阳性百分率的计算更有价值。只有在门内细胞全部是有意义的细胞，而且根据荧光散点图分布的形状可以非常清楚地区分阳性和阴性亚群的情况下，阳性百分率才有意义。在某些抗原异质表达式的群体中可进行定性或定量的分析（例如 X% 幼稚细胞 CDX 阳性），百分率也可用于描述异常和正常细胞的比例。

思路 2：评估抗原表达强度是免疫表型分析的重要组成部分

对于一个特异的抗体而言，荧光强度是抗原密度的反映，同时也与所用的荧光素和独特的荧光素抗体复合物有关，有时确认异常群体是因为没有表达应该表达的抗原，但有时只能从抗原表达的异常强度来判断，如用一些髓系抗原 CD14、CD33、CDw65 的相对表达强度和散射光特征一起来确认单核细胞系和粒细胞系的分化、成熟过程；荧光强度的评估在大多数情况下可以采用定性的资料，但由于试剂和机器的不同，仅仅基于荧光道数的简单标准可能并不足够，最好以其在相同条件下相对于正常细胞的强度来表示，如 CD45、CD8 或 CD38 等在不同细胞上的表达密度相差几个对数范围，CD22 或 CD4 等抗原则在所谓阳性范围内在不同细胞类型上的区别较小。

【问题 6】如何进行数据分析和解释？

免疫表型的数据分析通常分为两步：①数据分析：用一组抗体做多色分析区分开正常和异常的细胞群体，进一步分析异常细胞的表型特点（对不同抗原表达与否、表达强度及其光散射特征）；②数据解释：基于综合的免疫表型分析，提出解释、说明，即对临床病例的诊断，但必须注意，免疫分型结果应结合临床、形态学、细胞遗传资料进行诊断。

思路 1：通过多参数分析，最大限度地区分样本中的正常和异常细胞群体。多参数分析意味着综合细胞的光散射和多色荧光特征。基本的要求应是 4 个参数（2 个光散射和 2 个荧光参数）。采用的参数越多，分析步骤越复杂，流式免疫分型的灵敏度越高。目前 FCM 可以同时检测 10 个以上的荧光参数。该患者的报告中可以看到采用的是八色荧光素标记的抗体组合进行检测盒分析的（图 15-1-3）。

思路 2：在区分出异常细胞群体的基础上，进一步分析所有细胞的抗原表达情况，鉴别出正常细胞和异常细胞群体；正常细胞的表型可以作为整个实验染色过程的内部参照，提供实验一致性与否的证据，异常细胞则通过进一步分析确定表型特点。

思路 3：免疫分型结果的解释应与临床、形态学、细胞遗传等其他结果综合考虑，应尽量解释任何分型结果和其他方法结果上的不一致，并提出意见和建议。免疫分型远远多于对形态学结

果的简单证实，可能帮助形态学确认某些诊断，也可能提出之前没有考虑的诊断，甚至在一些典型表现下流式免疫分型可以在其他方法辅助下诊断疾病。

思路 4：FCM 不仅仅用于免疫表型分析，同时也可用某些细胞所表达的特有免疫标志准确地计数较少的细胞，如造血干 / 祖细胞、残留白血病细胞、血小板（血小板减少时）；此外，血液中淋巴细胞亚群计数也早已成为常规检查。还可用于血小板相关疾病的诊断、阵发性睡眠性血红蛋白尿诊断以及 DNA 倍体的分析。

四、染色体分析

病历摘要：

患者男，47 岁。患者因近 1 个月无明显诱因出现全身乏力，体力下降，多汗、食欲减退，体重下降，腹胀，自觉有腹部肿块就诊。查体：肝脏肋下未及，脾脏肋下 5cm；胸骨中下段压痛；皮肤苍白，未见皮疹、瘀点、瘀斑，全身浅表淋巴结不大。全血细胞计数：34×10^9/L、Hb 128g/L，Plt 789×10^9/L。血涂片形态学检查：白细胞显著增多，中性中幼粒细胞 3%、中性晚幼粒细胞 7%、中性杆状核粒细胞 13%、中性分叶核粒细胞 50%、嗜酸性粒细胞 3%、嗜碱性粒细胞 17%、淋巴细胞 4%、单核细胞 3%；血小板增多，成堆分布。骨髓象检查结果为慢性髓系白血病。进一步进行染色体分析，结果如下（图 15-1-4）：

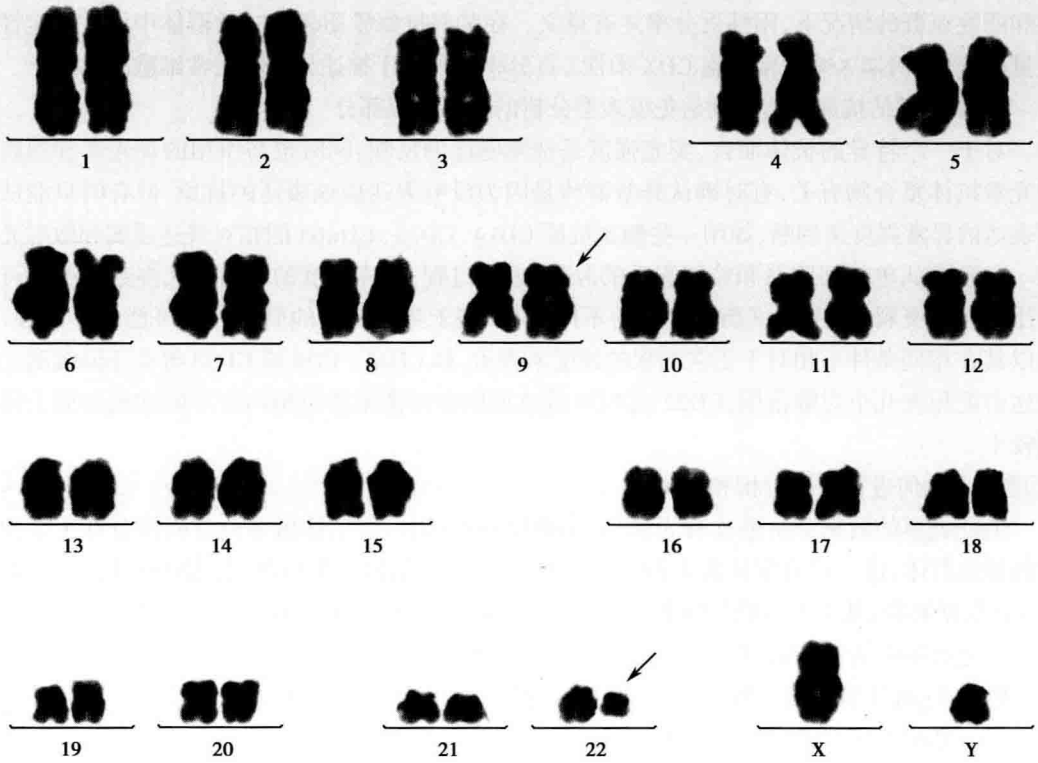


图 15-1-4　染色体核型分析，46,XY,t(9;22)

该患者 22 号染色体长臂与 9 号染色体长臂发生易位，形成 Ph 染色体

【问题 1】血细胞染色体检验的方法都有哪些？

血细胞染色体检验主要包括染色体非显带技术、染色体显带技术、染色体高分辨技术、姐妹染色单体互换技术、染色体脆性部位显示技术和早熟凝集染色体技术等。目前，最常用的是染色体显带技术。

思路 1：显带技术是指经某种特殊的处理或特异的染色后，染色体上可显示出一系列连续的

学习笔记

明暗条纹，称显带染色体（banding chromosome）。1971 年巴黎会议确定的四种显带技术是奎丫染色法、Giemsa 法、逆相 Giemsa 法和着丝粒区异染色质法，即 Q 带、G 带、R 带和 C 带。此外还有一些其他显带技术。显带染色体解决了染色体的识别困难，为深入研究染色体的异常和基因定位奠定了基础。

知识点

显带技术原理

不同的显带方法其显带原理也不完全相同，以下仅简单介绍一下 G 显带与 R 显带法。

1. G 显带方法　标本先经特定处理，再以吉姆萨染色后使染色体显带的方法。G 显带的机理较复杂，一种观点认为 DNA 上富含 A-T 碱基对的 DNA 和组蛋白结合紧密，胰酶处理时不易高度抽提，和染料亲和力较强，呈深带；而富含 G-C 碱基对的区段结合的蛋白质被胰酶抽提，和染料亲和力降低，呈浅带。

2. R 显带（reverse bands）方法　R 带带纹与 Q 带、G 带正好相反，即前者的阳性带相当于后者的阴性带，而前者的阴性带则相当于后者的阳性带。R 带显带机理尚未完全明了，可能由于 DNA 受热变性，使富含 A-T 碱基对的区段单链化，故不易为吉姆萨染色，呈浅带；而富含 G-C 碱基对的区段仍保持正常的双链结构，易于染色，故显深带。

思路 2：显带染色体上的明暗条纹称作带。染色体上明显而恒定的形态特征，如着丝粒和某些特别显著的带，称作界标。两个界标之间的区域称为染色体区。区的划分是以着丝粒开始向短臂（p）或长臂（q）的臂端延伸，依次编为 1 区、2 区、3 区等。用作界标的带就是该区的 1 号带，例如 6p23，即表示第 6 号染色体短臂，2 区，3 带。由上可知，在表示一个指定的带时需要四项内容，即染色体号、臂号、区号和带号。如果一个带需要再分，就称为亚带（subband），亚带的描述就是在带的后面加一小数点，再写出指定的亚带数，如 6p23.1 即指 6 号染色体短臂，2 区 3 带的第 1 亚带。如果亚带又被再划分，则其命名只在亚带后加数字，不再加标点。

知识点

正常染色体核型

染色体的分组和正常核型　①染色体的分组：人类体细胞有 23 对即 46 条染色体。其中 22 对为男性和女性共有，称为常染色体；另一对则与性别有关，称为性染色体，在男性为 XY，女性为 XX。依据以上识别指标，按大小将人类染色体顺序编号 1~22，并分为 A~G 共七个组，A 组为 1~3，B 组为 4~5，C 组为 6~12，D 组为 13~15，E 组为 16~18，F 组为 19~20，G 组为 21~22，性染色体表达为 X 和 Y，分别归入 C 组和 G 组；②正常核型：核型（Karyotype）指个体体细胞的染色体组成。用显微摄影或显微描绘的方法得到单个细胞中所有的染色体，并按照编号顺序系统地排列，可观察核型。正常男性核型记作 46，XY，正常女性核型记作 46，XX。

【问题 2】该患者是何种染色体异常？

t（9；22），是指第 22 号染色体易位到 9 号染色体。

思路 1：染色体异常是指染色体数量异常和（或）结构异常，又称染色体畸变

（1）染色体数目异常：①多倍体（polyploid）：人类生殖细胞染色体为 23 条，体细胞染色体为 46 条，称二倍体（diploid）（2n）。在某些病理情况下，细胞染色体数目成倍增加，称为多倍体，如三倍体（triploid）（3n）、四倍体（tetraploid）（4n）等。在恶性血液病中常见有多倍体细胞；②非整倍体（aneuploid）：染色体数目增加或减少不是成倍的，称为非整倍体。少于 46 条者称亚二倍体

学习笔记

(hypodiploid),少于69条者为亚三倍体(hypotriploid);多于46条者称为超二倍体(hyperdiploid),多于69条者称超三倍体(hypertriploid)。如果染色体数是2n,但不是正常的23对,而是个别染色体增加,其他染色体相应减少,称为假二倍体(pseudodiploid)。在急白血病和恶性淋巴瘤等疾病常可见到多种非整倍体异常;③嵌合体(mosaic):同一个体具有两种或两种以上不同核型的细胞,称为嵌合体,有性染色体嵌合体和常染色体嵌合体,常见于先天性异常的患者。人体恶性肿瘤细胞核型的改变不能算嵌合体。

(2) 染色体结构异常:导致染色体发生结构改变的基础是断裂及断裂后的重排。染色体的断裂可以是自发的,也可以是某种致畸变因素所引起。常见的染色体结构异常有如下几种:①缺失(deletion,Del):是指染色体长臂或短臂部分节段的丢失,包括末端缺失和中间缺失,如可见于急性单核细胞白血病的del(11)(q23),即是在11号染色体长臂2区3带断裂,末端缺失;②倒位(inversion,inv):一条染色体两处断裂后,形成三个断片,中间断片做180°倒转后又重新接合,即倒位。臂内倒位是指染色体的长臂或短臂内发生的倒位;臂间倒位是指两处断裂分别发生于长臂和短臂,中间含着丝粒的断片倒转后再接合。如inv(3)(q21q26)就是发生于3号染色体长臂内的倒位;③易位(translocation,t):是指染色体断裂的断片离开原来位置而接到同一条染色体的另一处或另一条染色体上,从而造成染色体的重排。无着丝粒的断片易位到同一染色体的另一部位又称移位;无着丝粒的断片易位到另一染色体上又称转位;两个染色体发生断裂后相互交换片段称相互易位(reciprocal translocation)。易位是白血病、淋巴瘤中十分常见的染色体结构异常;④环状染色体(ring chromosome):当染色体的长臂和短臂两末端处断裂,两端断面相互连接,即形成环状染色体,环状染色体在辐射损伤时常见;⑤等臂染色体(isochromosome,i):由于染色体的分裂不是纵裂,而是横裂,结果产生的两条新染色体,一条有原来染色体的二条长臂而没有短臂,而另一条则只有原来染色体的二条短臂而没有长臂,这种染色体称为等臂染色体;通过两条同源染色体的着丝粒融合,然后短臂和长臂分开,两条短臂和两条长臂借着丝粒各自连接亦可形成等臂染色体;⑥脆性位点(fragile site):指在接触某种特殊的化学物质或体外培养条件所出现的非随机的染色体裂隙、断裂位点。

思路2:异常核型的描述有简式和繁式两种描述方法,临床多使用简式描述。对肿瘤细胞等异常核型的描述,按照ISCH对肿瘤细胞命名进行。染色体数目异常的描述,是在"+"或"-"号后写上染色体号或性染色体,表示该染色体增加或丢失;如"+"或"-"号写在染色体后,表示该染色体部分获得或部分丢失,如46,XY,-5,即表示少一条5号染色体,46,XY,5-,即表示5号染色体部分缺失。然后描写结构异常,如46,XY,t(5;17)(q32;q12),即表示第5号和第17号染色体出现相互易位,断点在第5号染色体长臂第3区第2带以及第17号染色体长臂第1区第2带。

知识点

染色体核型描述中常用的缩写符号

缩写符号	意义	缩写符号	意义
+,-	在染色体编号和性染色体前代表整个染色体增减,在其后代表染色体长度增减	inv	倒位
→	从…到…	Mos或"/"	嵌合体
:	断裂	p	染色体短臂
::	断裂并连接	q	染色体长臂
=	总数	r	环形染色体
?	不能肯定识别的染色体或染色体结构	rob	罗伯逊易位
A-G	常染色体分组号	t	易位

学习笔记

续表

缩写符号	意义	缩写符号	意义
1~22	常染色体编号	ter	末端
ace	无着丝粒碎片	tri	三着丝粒染色体
cen	着丝粒	X,Y	性染色体
del	缺失	dic	双着丝粒染色体
dup	重复	h	次缢痕
i	等臂染色体	ins	插入
cs	染色体	ct	染色单体
mat	来自母体	pat	来自父体
rcp	相互易位	rec	重组染色体

【问题 3】染色体检查有何意义？在血液系统疾病中有何意义？

血液细胞染色体检验是血液学检验的重要内容，是遗传性疾病、恶性血液病研究不可缺少的方法。染色体异常，特别是染色体易位，常涉及癌基因易位，新产生的融合基因及其产物在肿瘤的发生、发展中起着重要的生物学作用；特异染色体异常同肿瘤细胞的形态学、肿瘤的预后及疗效判断等有密切的联系，临床上已用于疾病的诊断、分型、治疗方案的选择，在预后判断和微小残留病灶的检测等方面，发挥着越来越重要的作用。

思路 1：目前发现 AML 核型异常检出率达 93%，AML 核型异常可分为两类：一类是平衡型畸变，是和一些 AML 相关的特异性染色体结构重排，主要是相互易位或倒位，其结果产生融合基因，约占 60%；另一类是和 FAB 亚型不相关的异常，多数为数目异常的不平衡畸变，表现为染色体整条或部分增加或丢失，最多见是 +8，其次为 -5/del(5q)、-7/del(7q) 和 +21。

大约 90% 以上 ALL 可检出克隆性核型异常，其中 66% 为特异性染色体重排，并和其免疫学亚型相关，数目异常以超二倍体、亚二倍体及假二倍体常见。有 22 号及 14 号染色体异常的男性可有 XXY，少数可出现单倍体。

思路 2：细胞遗传学的改变往往与预后有关。预后较好的有 t(8;21)、inv(6)、t(15;7)；如有特征性的染色体 5q、7q 缺失或单倍体，3 号染色体的易位或倒位，t(6;9)，t(9;22) 及染色体 11q23 异常，均提示 AML 病人化疗后的预后特别差。儿童 AML，t(1;22) 预后很差。白血病细胞对化疗的反应与细胞核型有关，特异性染色体异常可作为监察病情缓解和复发的重要指标。但由于细胞数低，中期分裂象少，原始细胞正常分裂象掩盖等原因易出现染色体分析困难，加之该方法敏感性低，耗时长，使其临床应用受到限制。

【问题 4】染色体检验有何新技术？

20 世纪 80 年代又发展了染色体原位杂交技术（fluorescence in situ hybridization，FISH），这一技术将分子探针与染色体杂交，它不仅用于分裂中期细胞，而且可检测分裂间期细胞，拓展了检测范围，提高了检测的灵敏度。自动化染色体分析技术提供了菜单式操作，故简单易行，在资料存储、染色体图像处理和核型分析方面显示了独特优势，提供了高效、快速和方便的细胞遗传学研究手段。

思路 1：FISH 将分子杂交与组织化学技术相结合，其基本原理是根据核酸碱基互补的原则，用荧光标记已知序列的 DNA 或 RNA 作为探针，在一定条件下使标记的探针与被检染色体或组织细胞中的靶核酸序列以互补的方式特异性结合，形成稳定的杂交体，通过检测系统显示特异性探针结合部位和结合荧光强度，从而对染色体或染色质上的特定核酸序列进行定性、定位和相对定量分析。FISH 技术因其具有敏感、特异、准确、快速、多色等特点，已广泛用于分子遗传学、细胞遗传学、病毒学、病理学、免疫学、肿瘤学和血液学等临床工作和基础研究。

常用的染色体荧光原位杂交方法有单色和多色荧光原位杂交。目前多采用多色荧光原位杂

学习笔记

交，其原理为采用两种以上不同的荧光素标记核酸探针，与靶细胞中期染色体杂交后，通过图像分析系统的组合滤镜装置和分析软件，可同时显示两种以上的探针杂交信号。该方法对复杂染色体异常的检查更有价值。一般程序为：探针准备→染色体制备→核酸杂交→荧光检测、分析。

思路 2：光谱染色体核型分析（spectral karyotyping，SKY）是一种特殊的多色 FISH 技术，其原理是采用 24 条染色体特异的用不同的荧光素或联合荧光素标记的核酸探针与靶细胞染色体特异性结合，使 22 条常染色体、X 和 Y 染色体在荧光显微镜下显示不同的颜色，然后通过分析软件，对染色体进行精确的核型分析。该方法具有特异、高效等特点，特别适合于具有复杂染色体畸变的核型分析。

五、分子遗传学检验

病历摘要：

患者女，15 岁。发热、乏力、面色苍白、皮肤瘀斑 1 周。查体：体温 39℃，心率 102 次 / 分。贫血貌，全身皮下散在出血点，颈部浅表淋巴结肿大，胸骨无压痛，肝脾肿大。血常规：白细胞 32×10^9/L，幼稚细胞 60%。行骨髓检查，骨髓象提示：急性早幼粒细胞白血病（M3 型）。为进一步治疗，进行融合基因检查，结果如下（图 15-1-5）：

××医院

PML/RARα 荧光原位杂交（FISH）检测报告单

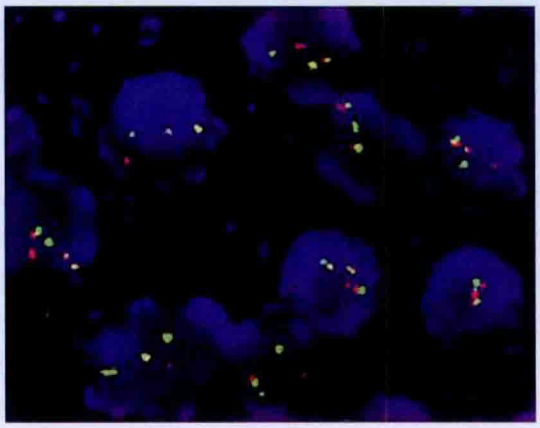
标本号：××××××	姓名：	性别：女　年龄：15	住院号：××××××	
科室：血液科	床号：	送检时间：××××-12-17	标本类型：骨髓	诊断：M3
分析细胞数：每个探针计数 300 个细胞。				

探针名称	检测位点 / 靶基因	异常细胞比值（%）	结果
GLP PML/RARα	t(15;17)(q22;q12)	98.7>2	融合

结果解释：

1. 检测到 *PML/RARA* 融合基因。
2. 信号模式为 1G1R2Y 细胞占 76.1%，信号模式为 1G1R3Y 细胞占 22.6%。
3. *PML/RARα* 融合基因阳性，提示患者为 APL 具体请结合临床及其他实验室检查结果。

FISH 结果附图：



注：此结果只针对本样本，具体请结合临床及其他实验室检查结果。

送检医师：　　主检：　　审核：　　报告时间：××××-12-20

图 15-1-5　PML/RARα 融合基因阳性 FISH 结果

PML/RARα 阳性细胞：含 1 红 1 绿或 2 个红绿融合（或黄色）4 个信号；PML/RARα 阴性细胞：含 2 个红 2 个绿分离的杂交信号

学习笔记

【问题1】融合基因检测都有哪些方法?

核酸分子杂交技术、聚合酶链反应和基因芯片技术等。

思路1:核酸分子杂交技术包括:Southern 印迹杂交、Northern 印迹杂交、Western blot 以及核酸原位杂交。

思路2:核酸原位杂交是以放射性或非放射性标记的 DNA 或 RNA 探针在组织、细胞及染色体上与其相关的核酸序列杂交,简称原位杂交。由于非放射性标记探针具有前述优点以及在原位杂交中具有稳定性好、显色快及易于观察等优点,近年来应用普遍。其中荧光原位杂交技术(FISH)将生物素标记的探针与中期或间期染色体杂交,通过间接免疫荧光法使信号放大,染色体显带后以碘化丙啶(PI)染色,根据 FITC/PT 的激发 - 发射光波长,选择荧光显微镜进行观察,染色体呈红色,染色体上的特异杂交带呈黄绿色。中期染色体的原位杂交可用于基因定位、基因缺失、基因易位及融合基因的检测。在分裂象细胞数量少或质量差时,间期细胞的原位杂交可在短时间内对大量细胞进行分析,对于检测染色体异常、肿瘤致病基因和肿瘤微小残留病灶有广阔的发展前景。

知识点

FISH 的类型和原理

近十年发展了一系列多色 FISH 技术:①多重荧光原位杂交(multiplex fluorescence in situ hybridization,M-FISH):M-FISH 的原理是混合数种荧光原色,形成不同颜色荧光探针,在一次杂交中使每一条染色体都涂上不同的颜色,可同时观察全部染色体。这种技术容易观察多条染色体间的复杂易位情况和确定标识染色体的来源;②多色荧光染色体显带(cross species color banding,Rx-FISH):Rx-FISH 采用多种荧光素混合物标记的染色体特异性 DNA 作为探针,杂交后使人类的 23 条染色体呈现特异的带型,根据彩色的荧光条带可进行核型分析。能精确地显示同一条染色体中的易位、倒位或附加染色体来源,Rx-FISH 弥补了 M-FISH 的缺点;③比较基因组杂交(comparative genomic hybridization,CGH):其原理是分别以不同的荧光标记肿瘤基因组 DNA 和正常参照组 DNA,两种标记 DNA 以 1∶1 比例混合作为探针,与正常人分裂中期染色体进行原位杂交,竞争产生颜色,称为染色体原位抑制(chromosomal in situ suppression,CISS),杂交后的荧光信号用荧光显微镜连接计算机数字式图像分析系统对绿 / 红荧光比值进行定量分析,根据两种荧光探针荧光信号强度差异,找出基因组中 DNA 的增益或缺失区域。正常染色体将呈现黄色(红绿比 1∶1),有缺失的片段将呈现绿色,有重复的片段将出现红色,故此种方法在探测染色体缺失和重复方面特别方便。

【问题2】FISH 检测融合基因有哪些优势和局限?

FAB 形态学分型存在很大的主观性。由于 90%~95% 的 APL 伴有特异性染色体异常,因而以检测到 t(15;17)的染色体异常或 *PML-RARα* 融合基因作为诊断 APL 的必要条件。在众多基因诊断方法中,尽管 RT-PCR 技术敏感度高,但由于影响因素较多,假阳性和假阴性率较高,而 FISH 具有检出率高、灵敏度高、特异性强、操作简单、费时少、取材方便、不受细胞周期限制等优点,在国内外已被广泛应用于 APL 基因分子水平的检测,其检出率高达 90%~95%。此外 FISH 法检测 *PML-RARα* 融合基因,不但能定性,还能定量,阳性样本的阳性细胞率可为 9.5%~80.2%,明显高于异常阈值(3.9%),因而可靠性强。

FISH 还可以用于微小残留病变的检测。在 MRD 检测方面,FISH 技术虽然诊断效率高于骨髓细胞形态学检测,但敏感性低于 RT-PCR 技术。目前 RT-PCR 技术是监测白血病 MRD 的首选方法,巢式 RT-PCR 还可从 APL 患者骨髓标本中检出 50pg 的微量融合基因 mRNA。

学习笔记

对于一些复杂或隐匿的染色体易位，应用常规骨髓染色体检查难以明确，而对于一些罕见的易位、隐性易位，单纯应用普通间期 FISH 技术也难以检出，需要利用间期 FISH 联合多重荧光原位杂交（M-FISH）并结合流式细胞学技术检查以明确。

此外，由于骨髓的异质性，使得恶性增殖的髓系细胞中混有大量正常细胞，从而干扰了检测结果，可导致假阴性结果的产生，因而有必要联合多种检测手段以提高 APL 的诊断效率。

【问题 3】检测融合基因的标本类型有哪些？

《2011 年急性髓系细胞白血病临床实践指南（英文版）》中将检测的标本类型限定为骨髓。尽管也有医生采用外周血细胞 DNA 进行检测，但因缺乏足够的理论依据，目前尚未获得权威机构或组织的认可。

【问题 4】除 *PML-RARα* 融合基因外，常见的白血病融合基因有哪些？

（1）*BCR-ABL* 融合基因：*ABL* 为原癌基因，位于 9 号染色体 q34，基因产物是一种非受体型酪氨酸蛋白激酶；*BCR* 基因位于 22 号染色体 q11，正常的 *BCR* 基因产物为 160kD 的胞质磷酸蛋白。当 t(9;22)（q34;q11）易位时，形成 *BCR/ABL* 融合基因（即 Ph 染色体），基因产物为 210kD 的融合蛋白，它的表达激活了酪氨酸蛋白激酶，改变了细胞的蛋白酪氨酸水平和肌动蛋白结合能力，扰乱了正常的信号传导途径，抑制了凋亡的发生。

BCR 基因断裂点集中在三个区域：主要断裂从区（major bcr，M-bcr）、次要断裂从区（minor bcr，m-bcr）和 μ 断裂从区（μ-bcr）。*BCR/ABL* 融合基因存在于 95% 以上的慢性粒细胞白血病（CML）患者，是 CML 最重要的分子标志。检测 *BCR/ABL* 融合基因可为 CML 白血病的诊断提供分子依据。此外，*BCR/ABL* 阳性患者移植骨髓后复发的可能性要远高于 *BCR/ABL* 阴性的 CML 患者。同时 BCR/ABL 编码产生的酪氨酸激酶是分子靶向药物格列卫的作用靶点，因此携带 *BCR/ABL* 融合基因的患者使用格列卫靶向治疗可提高生存率。

（2）*RUNX1-RUNX1T1* 融合基因：t(8;21)（q22;q22）主要见于急性粒细胞白血病部分分化型（AML-M2），亦可发生于急性粒细胞白血病未分化型（AML-M1）、急性粒 - 单核细胞白血病（AML-M4）及骨髓增生异常综合征（MDS）-RAEB-T 中。这种染色体易位导致 21 号染色体上 *AML1* 基因（acute myeloblastic leukemia 1）与 8 号染色体的 *ETO* 基因（myeloid tumor gene，*MTG8* 基因）的融合形成 *RUNX1-RUNX1T1* 融合基因。RUNX1-RUNX1T1 融合蛋白是一种转录抑制因子，可抑制正常 AML1 蛋白介导的功能，改变造血祖细胞自我更新及成熟过程，同时也产生启动异常造血细胞增殖的信号，引起白血病细胞生长。t(8;21)（q22;q22）阳性患者其完全缓解（CR）率可达 90%，5 年长期无病生存率（event-free survival，EFS）可达 50%~70%，因而 *RUNX1-RUNX1T1* 融合基因的存在是白血病预后良好的标志。

（3）*CBFβ-MYH11* 融合基因：Inv(16) 或 t(16;16) 异常均可导致 *CBFβ/MYH11* 融合基因形成，而 *CBFβ/MYH11* 融合基因促使白血病发生。Inv(16) 或 t(16;16)（p13;q22）为急性髓系白血病的特征性染色体异常，通常见于 M4Eo。M4Eo 是 M4 型白血病中的一种特殊类型，约占急性粒细胞白血病的 10%。患者骨髓中粒系和单核系原始细胞同时恶性增生，嗜酸性粒细胞占 5%~30%。含有 *CBFβ-MYH11* 融合基因的 M4Eo 患者预后较好。

【问题 5】分子生物学检查还有何临床应用？

（1）免疫球蛋白重链（*IgH*）基因和 T 细胞受体（*TCR*）基因重排的检测：约 80% 的 B 淋巴细胞白血病可检测到 *IgH* 基因重排。通过 PCR 方法检测 *IgH* 和 *TCR* 基因重排，有助于急性淋巴细胞白血病的分型以及微小残留病的检测。由于白血病细胞起源于造血干细胞，所以白血病细胞是单克隆性的。用 PCR 方法对重排基因进行扩增，正常白细胞的扩增产物大小不等，呈模糊的阶梯状，而白血病细胞扩增产物经电泳后条带是单一的。

（2）遗传性血液病的诊断：血红蛋白病是常见的遗传性溶血性疾病，血友病是常见的遗传性出血性疾病。这些疾病的基因缺陷包括基因缺失、点突变、插入、倒位等，可通过 RT-PCR、PCR

学习笔记

结合酶切位点分析及 PCR 结合特异寡核苷酸探针（ASO）斑点杂交法进行检测。

（3）*HLA* 基因多态性检测：采用 PCR 扩增产物的反相杂交（斑点杂交）检测 *HLA* 基因多态性，用于骨髓移植的 *HLA* 基因配型及 *HLA* 基因与疾病相关性分析等。

（4）肿瘤细胞多药耐药基因的检测：多药耐药性（multidrug resistance，MDR）的出现常与多药耐药基因（*MDR1*）过度表达有关，目前已建立 Northern 印迹法、斑点和狭缝印迹法、RT-PCR 法及原位杂交法，从 mRNA 水平对患者进行测定，了解肿瘤细胞的耐药特性。有研究表明在 AML 中 *MDR1* 的表达与预后有密切相关，即 *MDR1* 阳性者 CR 率低，生存期短，且易早期复发。

（屈晨雪）

第二节　贫血相关检验

贫血的诊断包括三个重要步骤：①确定有无贫血；②贫血的严重程度及类型；③查明贫血的原因或原发病。因此贫血相关实验室检查有血常规检查、红细胞形态观察、网织红细胞计数、骨髓细胞形态学及病理组织学检查、病因检查等。本节主要介绍贫血病因的相关检验包括铁代谢、叶酸和维生素 B_{12} 以及溶血性贫血的相关检验。

一、铁代谢试验

病历摘要：

患者女，36 岁。因乏力、头晕 2 个月就诊。查体：T 36℃，P 88 次 / 分，R 20 次 / 分，BP 120/70mmHg，贫血貌，肝脾不大，未见皮肤及黏膜出血。实验室检查：红细胞 3.1×10^{12}/L，Hb 61g/L，RDW 15.9%，Hct 21.7%，MCV66.7fl，MCH 20pg，MCHC 281g/L。铁代谢检查结果如下：

×× 医院检验报告单

姓名：某某	病历号：××××××	临床诊断：淋巴瘤？	标本种类：血清
性别：女	科别：内科	申请医生：某某	标本编号：××××××
年龄：36 岁	病房：× 病房	备注：空腹采血	采集时间：××××-01-12-08：45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	血清铁（SI）	5.9	9~29	μmol/L
2	铁蛋白（SF）	8.2	23.9~336.2	ng/mL
3	总铁结合力（TIBC）	77.3	50~77	μmol/L

接收者：某某	接收时间：××××-01-12-08：50	审核者：某某	审核时间：××××-01-12-09：10
检验者：某某	检验时间：××××-01-12-08：55	检测实验室：	×××× 医院检验科血液室

【问题 1】铁代谢指标的检测原理？

思路：血清铁测定的原理

血清铁以 Fe^{3+} 形式与转铁蛋白（transferrin，Tf）结合存在，降低介质的 pH 及加入还原剂（如抗坏血酸、羟胺盐酸盐等）使 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+}，则转铁蛋白对铁离子的亲和力降低而解离，解离出的 Fe^{2+} 与显色剂（如菲咯嗪和 2，2，- 联吡啶等）反应生成有色络合物，同时作标准对照，计算出血清铁的含量。

血清铁蛋白测定一般采用固相放射免疫法。先用兔抗人铁蛋白与人血清铁蛋白相结合，再用 ^{125}I 标记抗人铁蛋白与固相上结合的铁蛋白相结合，洗脱未结合的过多的放免标志物，洗脱结合放免标记的铁蛋白，用计数器与标准曲线比较，计算出铁蛋白值。

学习笔记

血清总铁结合力(total iron binding capacity,TIBC)是指血清中转铁蛋白能与铁结合的总量。通常情况下,仅有 1/3 的转铁蛋白与铁结合。在血清中加入已知过量的铁标准液,使血清中全部的 Tf 与铁结合达到饱和状态,再用吸附剂(轻质碳酸镁)除去多余的铁。再按上述血清铁测定方法,测得的血清铁含量,即为总铁结合力,反映了血清中游离转铁蛋白的含量。血清铁与总铁结合力的百分比值称为转铁蛋白饱和度。总铁结合力减去先测的血清铁,则为未饱和铁结合力(UIBC)。

【问题 2】为何检验报告中铁代谢参数的变化不一致,有必要查这么多吗?

铁代谢指标通常包括血清铁(serum iron,SI)、总铁结合力(total iron binding capacity,TIBC)、转铁蛋白饱和度(transferrin saturation,TS)、血清铁蛋白(serum ferritin,SF)以及可溶性转铁蛋白受体(soluble transferrin receptor,sTfR)。这 5 项指标在不同的小细胞低色素性贫血中的变化并不一致,可以进行鉴别诊断。详见第 9 章第 1 节。

思路 1:血清转铁蛋白饱和度小于 15% 时,结合病史及临床表现可较为准确的诊断铁缺乏。但转铁蛋白饱和度正常时也可能存在贫血:如在一些恶性肿瘤、慢性炎症、肾衰竭时,贮存铁不能被动员,铁释放障碍时,铁蛋白水平可能正常或升高,转铁蛋白饱和度正常,即被临床称为的功能性铁缺乏(functional iron deficiency),此时血清铁和总铁结合力可减低。功能性铁缺乏也可出现在红细胞生成素(erythropoietin)治疗过程中,由于骨髓造血十分旺盛,铁的动员或补给相对不足,血清铁减低,总铁结合力增加,转铁蛋白饱和度减低。

铁负荷过多的诊断:健康人血清铁可出现暂时性升高,但在铁负荷过多时可呈持续性升高。①无效造血(ineffective erythropoiesis)时,如骨髓增生异常综合征(MDS),红细胞在骨髓中破坏过多;②病毒性肝炎导致的严重肝坏死;③特发性血色病(idiopathic hemochromatosis)时,铁负荷过多,血清铁比铁蛋白增高更早,转铁蛋白饱和度常大于 55%。

思路 2:正常人 80% 以上的转铁蛋白受体存在于骨髓红系有核细胞上,随着红系各阶段细胞成熟,所表达的 TfR 分子数逐渐减少,成熟红细胞上无 TfR。血清中转铁蛋白与细胞膜的 TfR 结合并转运铁至细胞内。sTfR 是细胞膜上转铁蛋白受体的一个片段,血清中的 sTfR 浓度与总的转铁蛋白受体浓度有很好的相关性,sTfR 升高与红系造血的贮存铁量呈正比。

(1) 缺铁性贫血与慢性病贫血的鉴别:血清铁蛋白(SF)易受机体急性时相反应的影响而增高。慢性病贫血时,机体可利用铁缺乏,但总铁并不减低或增加,SF 正常或增高、sTfR 增高。缺铁性贫血时,机体可利用铁及贮存铁绝对缺乏,SF 减低,血清 sTfR 增高 2~3 倍。

(2) 红系增生性疾病:珠蛋白生成障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、遗传性球形细胞增多症等,血清 sTfR 增高。

(3) 在骨髓增生低下的疾病,如再生障碍性贫血、慢性病贫血及肾衰竭患者血清 sTfR 水平则降低。

【问题 3】铁代谢的指标中,哪个诊断缺铁的敏感性和准确度较高?

目前临床认为在铁代谢指标中 SF 在早期诊断铁缺乏中的敏感性最高。血清铁蛋白和体内贮存铁的相关性极好,1μg/L 血清铁蛋白相当于 8~21mg 的贮存铁 /Kg 体重。血清铁蛋白诊断缺铁的敏感度和准确度较高,可作为早期单纯性铁缺乏,尤其是贮存铁缺乏的诊断指标。

思路 1:铁代谢试验的主要影响因素

血清铁的影响因素较多,标本易污染,且有昼夜变化,故不适于单独作为铁缺乏的评价指标。另外,因采用检测试剂及方法不统一,参考区间不一致,各实验室需制订自己的参考区间。血清铁测定的干扰因素:①溶血标本可导致血清铁假性增高;②分离血清应在标本采集后 2 小时内;③最好不用玻璃容器采集血液,用塑料容器一般不会有铁污染;④EDTA 抗凝血浆不适于测定血清铁,但原子吸收分光光度计法除外,其他抗凝剂无干扰。

另外,血清铁的变异较大,健康人一天中血清铁浓度变异大于 12.9%,日间变异可达 26.6%。如果每天在同一时间采血,一般峰值在下午两点。此外,血清铁浓度有饮食依赖性,饮食后 10

分钟后即可发生变化。一些病理因素也会影响 SI，如①急性时相反应时，血清铁浓度减低，转铁蛋白合成受抑制；②肝细胞性黄疸时，转铁蛋白从肝细胞中释放入血增加；③妊娠期间，转铁蛋白合成增加。

因此，血清铁浓度不能准确反映体内铁缺乏状况，主要用于计算转铁蛋白饱和度。转铁蛋白饱和度减低对铁缺乏具有诊断意义。血清铁和转铁蛋白饱和度增高对铁负荷过多有诊断意义。

思路 2：SF 的临床应用

（1）铁缺乏症的诊断标准：①当用于普查人群铁缺乏症时，可以小于参考区间的低限作为标准；②当作为临床缺铁的鉴别诊断时，由于患者往往呈非单纯性缺铁，多伴有一些慢性病，如感染、炎症、结缔组织病、肿瘤、肝脏疾病等，此时诊断缺铁的标准可适当提高，有学者认为血清铁蛋白应 <30μg/L 才能诊断缺铁；③对类风湿关节炎是否合并缺铁时，血清铁蛋白应 <60μg/L 才能诊断。

（2）血清铁蛋白降低：①铁缺乏早期及贮存铁缺乏时，血清铁蛋白常低于参考区间下限；②慢性失血，如月经过多、胃肠道出血、出血性疾病、血红蛋白尿症等导致的缺铁性贫血，血清铁蛋白明显减低；③吸收不良综合征常与潜在的胃出血有关，导致慢性贮存铁消耗引起缺铁；④营养性铁缺乏，如素食者，血清铁蛋白降低；⑤妊娠时，体内铁消耗增加导致缺铁。测定血清铁蛋白水平变化，有助于及时发现孕妇是否缺铁并监测补充铁剂的疗效。

（3）铁剂治疗的监测：①口服铁剂治疗有效，血清铁蛋白水平可逐渐上升；当血红蛋白已恢复后，可评价贮存铁水平并确定治疗何时停用铁剂；②非肠道补铁治疗：如静脉或肌肉注射铁剂，血清铁蛋白水平可恢复至参考区间或增高，但此时与贮存铁量并非完全呈比例，只有在治疗 2~4 周后才能恢复这种比例关系；③重组人红细胞生成素（rHu-EPO）治疗，如肾性贫血的 rHu-EPO 治疗，可导致红系造血增加过多，出现铁缺乏性造血，即功能性缺铁，此时血清铁蛋白减低，及时补铁后可恢复正常或增高；④透析治疗相关的贫血：监测血清铁蛋白水平，可及时了解铁平衡，有无铁丢失或负荷过多，并监测补铁治疗的效果。

（4）血清铁蛋白增高：①铁负荷过多：见于原发性血色病、铁粒幼细胞性贫血、反复输血、无效造血等，血清铁蛋白显著增高；②一些非缺铁性贫血，如肿瘤或感染相关的贫血、珠蛋白生成障碍性贫血等，血清铁蛋白可正常或增高；③恶性肿瘤，如白血病、淋巴瘤、肝癌、胰腺癌、肺癌等，血清铁蛋白可增高或正常。

【问题 4】该患者铁代谢指标的变化符合哪种疾病？该疾病的金标准是什么？

该患者血常规结果显示为小细胞低色素性贫血，常见的疾病有缺铁性贫血、地中海性贫血、慢性病性贫血、铁粒幼细胞性贫血。为了进行鉴别诊断，需要进行铁代谢检查。从铁代谢检查结果看，该患者符合缺铁性贫血的铁代谢特点。铁染色是诊断缺铁性贫血的金标准，若临床认为有必要时，对一些患者可进行铁染色。

思路 1：骨髓中的贮存铁分为细胞外铁和细胞内铁。细胞外铁主要存在于骨髓小粒的巨噬细胞中，细胞内铁是指存在于中幼红细胞、晚幼红细胞及红细胞中的铁（包括铁粒幼红细胞、铁粒红细胞）。

思路 2：骨髓中的铁在酸性环境下与亚铁氰化钾作用，形成普鲁士蓝色的亚铁氰化铁沉淀，定位于含铁的部位。

思路 3：铁染色是临床应用最广泛的细胞化学染色之一，主要用于缺铁性贫血和环形铁粒幼红细胞增多性贫血的诊断和鉴别诊断。

（1）缺铁性贫血：其细胞外铁阴性，细胞内铁阳性率明显下降或为零。经铁剂治疗有效后，其细胞内铁、外铁增多。因此铁染色可作为诊断缺铁性贫血及指导铁剂治疗的重要方法。

（2）铁粒幼细胞贫血：铁粒幼红细胞增多，其中的环形铁粒幼红细胞增多，有时可见到铁粒红细胞，细胞外铁也常明显增多。因此铁染色可作为诊断本病的重要方法。

(3) 骨髓增生异常综合征：伴环形铁粒幼红细胞增多的难治性贫血，其环形铁粒幼红细胞大于有核红细胞15%，细胞外铁也常增加。

(4) 非缺铁性贫血：溶血性贫血、巨幼细胞性贫血、再生障碍性贫血、多次输血后和白血病等，细胞外铁和内铁正常或增加；感染、肝硬化、慢性肾炎、尿毒症、血色病等，细胞外铁明显增加而铁粒幼红细胞可减少。

思路4：铁染色是临床上应用最广泛的一种细胞化学染色

铁染色的结果一般情况下是可信的(尤其是细胞外铁)，虽然该指标不如血浆铁蛋白敏感，但不受多种病理因素影响，所以说铁染色是反映机体储存铁的金标准。但有时也存在假阳性和假阴性。例如骨髓涂片受试剂、玻片清洁度及操作过程等因素的影响，涂片易被外界的铁污染，导致细胞外铁、细胞内铁增加或使阴性患者呈“阳性”；临床上导致细胞外铁假阴性的原因较少，通常是由于将标本凝块误认为是骨髓小粒所致。

然而，由于铁染色属于有创性检查，临床应用受限。

知识点

铁染色原理

1. 原理　骨髓中的铁在酸性环境下与亚铁氰化钾作用，形成普鲁士蓝色的亚铁氰化铁沉淀，定位于含铁的部位。铁染色(ferric stain)化学反应过程如下：

$$\underset{\text{(含铁物质)}}{4Fe^{3+}} + \underset{\text{(亚铁氰化钾)}}{3K_4[Fe(CN)_6]} \longrightarrow \underset{\text{(亚铁氰化铁)}}{Fe_4[Fe(CN)_6]_3} + 12K^+$$

2. 染色结果

细胞外铁：观察骨髓小粒中的铁，阳性结果呈弥散性、颗粒状、小珠状或块状蓝色。根据骨髓小粒中铁的存在方式及量将细胞外铁分为(-)、(+)、(++)、(+++)、(++++)。

细胞内铁：观察100个中幼红细胞和晚幼红细胞，计算出铁粒幼红细胞的百分比(即细胞内铁阳性率)。铁粒幼红细胞是指胞质中出现蓝色铁颗粒的幼红细胞，根据蓝色铁颗粒多少、粗细分为：Ⅰ型、Ⅱ型、Ⅲ型、Ⅳ型及环形铁粒幼红细胞。环形铁粒幼红细胞(ringed sideroblast)是指幼红细胞胞质内蓝色颗粒在6颗以上，围绕核周二分之一以上者。红细胞中出现铁颗粒称为铁粒红细胞。

二、叶酸与维生素B_{12}代谢试验

病历摘要：

患者女，30岁。因头晕、乏力就诊。血常规检查结果：RBC 1.5×10^{12}/L，Hb 60g/L，MCV 130fl，WBC 3×10^{9}/L，血涂片白细胞分类可见中性粒细胞分叶过多。为明确诊断进行了如下检查：

××医院检验报告单

姓名：某某	病历号：××××××	临床诊断：贫血？	标本种类：血清
性别：女	科别：内科	申请医生：某某	标本编号：××××××
年龄：30岁	病房：×病房	备注：空腹采血	采集时间：××××-09-12-08：45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	叶酸	5.15	5.5~23.4	nmol/L
2	维生素B_{12}	154.00	133~675	pmol/L

接收者：某某	接收时间：××××-09-12-08：50	审核者：某某	审核时间：××××-09-12-09：10
检验者：某某	检验时间：××××-09-12-08：55	检测实验室：	×××× 医院检验科血液室

学习笔记

【问题 1】如何检测叶酸?

叶酸的检测分为血清叶酸和红细胞内叶酸。目前检测方法为化学发光免疫分析,血清叶酸的生物参考区间为 5.5~23.4nmol/L。

思路 1:全血中 95% 的叶酸存在于红细胞内,其中叶酸的含量约为血清中的 40 倍以上,故测定时应避免标本溶血。血清中叶酸水平受食物摄入的影响,故需空腹采血。而红细胞内叶酸不受摄入的影响,更能反映体内叶酸的实际水平,因此,血清叶酸与红细胞叶酸同时测定更有助于叶酸代谢状态的判断。此外,叶酸缺乏可使同型半胱氨酸转化为蛋氨酸出现障碍,导致高同型半胱氨酸血症。

思路 2:血清叶酸减少除见于巨幼细胞性贫血外,还可见于慢性腹泻、乳糜泻、小肠切除、酗酒。某些药物,如抗癫痫药,乙醇等可抑制叶酸的吸收。在一些细胞代谢加快、生长迅速等状态下,如甲状腺功能亢进、妊娠、婴幼儿、感染、恶性肿瘤等,因叶酸的需要量增加,而导致叶酸不足。在慢性溶血性贫血基础上再发生急性溶血,骨髓数日内呈现巨幼样变,即为叶酸不足所致。

本例患者血清叶酸降低,结合血液常规检查,考虑为巨幼细胞性贫血,但需要骨髓细胞形态学检验,查到巨幼红细胞 >10% 可验证。

【问题 2】如何检测血清维生素 B_{12}?

思路:目前血清维生素 B_{12} 检测方法为化学发光免疫分析,参考区间 172~674pmol/L,但因不同实验室血清维生素 B_{12} 测定方法不同,其参考区间差异较大。血清维生素 B_{12} 缺乏,多见于营养性巨幼细胞性贫血,恶性贫血,长期胃肠功能紊乱及腹泻,长期素食,先天性选择性维生素 B_{12} 吸收不良、内因子缺乏症。大剂量维生素 C(500mg)可影响维生素 B_{12} 的吸收和利用。血清维生素 B_{12} 含量增高见于白血病、真性红细胞增多症、某些恶性肿瘤和肝细胞损伤等。

三、溶血相关试验

病历摘要:

患者男,10 岁。平时体健,每于进食蚕豆时即有面色苍白,尿色深褐色。发作时查巩膜黄染,Hb 50g/L,网织红细胞 8%。为明确诊断进行如下检查。

×× 医院检验报告单

姓名:某某　　病历号:××××××　　临床诊断:贫血待查?　　标本种类:EDTA 抗凝全血
性别:男　　科别:内科　　申请医生:某某　　标本编号:××××××
年龄:10　　病房:× 病房　　备注:空腹采血　　采集时间:××××-10-12-08:45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位	No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	红细胞渗透脆性试验				3	高铁血红蛋白还原试验			
	开始溶血	4.0	3.8~4.6	g/L NaCl		高铁血红蛋白还原率	35	>75	%
	完全溶血	3.0	2.8~3.2	g/L NaCl					
2	血红蛋白电泳			%	4	直接抗人球蛋白试验			
	HbA	96	>95	%		广谱抗 Ig 抗体	阴性	阴性	
	HbA2	2	<2	%		抗 IgG 抗体	阴性	阴性	
	HbF	2	1~3	%		抗 C3 抗体	阴性	阴性	

接收者:某某　　接收时间:××××-10-12-08:50　　审核者:某某　　审核时间:××××-10-12-09:10
检验者:某某　　检验时间:××××-10-12-08:55　　检测实验室:　　×××× 医院检验科血液室

【问题 1】如何判断该患者贫血的病因是溶血?

依据病史,有贫血、黄疸,网织红细胞计数增加,考虑为溶血性贫血的可能。溶血性贫血的

学习笔记

诊断主要应寻找的证据有：①红细胞寿命缩短或破坏过多：红细胞寿命测定明显缩短，血红蛋白浓度降低，异形红细胞较多出现，血中游离血红蛋白浓度增加，血清间接胆红素增加，尿胆原阳性，尿含铁血黄素试验阳性，血清乳酸脱氢酶活性增加等；②骨髓红细胞系统代偿性增生：网织红细胞明显增多，骨髓红系增生明显活跃，粒红比例缩小或倒置。

思路 1：临床上对可疑溶血性贫血的患者，应首先进行溶血筛查实验，以明确有无溶血的存在。此外，还应进行反映红细胞代偿增生的实验检查，包括全血细胞计数、网织红细胞计数、红细胞形态检查，必要时做骨髓细胞学检验等。血浆游离血红蛋白（Hb）<40mg/L；血清结合珠蛋白（haptoglobin，Hp）0.5~1.5g/L；血浆高铁血红素白蛋白（methemalbumin）阴性；血红蛋白尿：阴性；含铁血黄素尿（Rous 试验）：阴性。

红细胞寿命测定是确诊溶血可靠的实验依据，可用 ^{51}Cr 标记测定红细胞的半寿期（T1/2），但限于实验室条件等因素，临床应用极少。无论血管外还是血管内溶血，均可出现网织红细胞计数增高、周围血出现有核红细胞、部分成熟红细胞中出现染色质小体（H-J 小体）及卡博（Cabot）环、骨髓红细胞系统代偿性增生、红细胞寿命缩短等增生性贫血表现。

思路 2：在明确了溶血的基础上，确定主要的溶血部位

血管内溶血多为急性发作，以获得性溶血性贫血多见；血管外溶血为红细胞被单核 - 吞噬细胞系统清除增加，多为慢性经过，常伴脾肿大。严重的溶血二者常同时存在。据临床特征和实验室检查分析可对两者进行鉴别。

知识点

血管内溶血和血管外溶血的鉴别

溶血性贫血的病因和发病机制比较复杂，有多种分类方法。根据溶血的缓急，可以分为急性和慢性两大类；根据溶血发生的部位，又分为血管内溶血和血管外溶血。按引起溶血的病因，将溶血性贫血分为两大类：一类是红细胞内在缺陷所致的溶血性贫血，包括红细胞膜缺陷、血红蛋白中珠蛋白肽链的合成数量或结构异常、红细胞代谢有关的酶缺陷等。另一类是红细胞外在因素包括物理因素、化学因素、感染与免疫因素等所致的溶血性贫血。溶血的实验检查有助于筛查有无溶血、判断溶血的轻重程度、确定溶血的部位、提示溶血的原因等。

血管内溶血和血管外溶血的鉴别

特征	血管内溶血	血管外溶血
病因	获得性多见	遗传性多见
红细胞主要破坏场所	血管内	单核 - 吞噬细胞系统
病程	多为急性	常为慢性，急性加重
贫血、黄疸	常见	常见
肝、脾大	少见	常见
红细胞形态学改变	少见	常见
红细胞脆性改变	变化小	多有改变
血红蛋白血症	常 >100mg /L	轻度增高
血红蛋白尿	常见	无或轻度
尿含铁血黄素	慢性可见	一般阴性
骨髓再障危象	少见	急性溶血加重时可见
LDH	增高	轻度增高

学习笔记

【问题 2】红细胞膜缺陷的检验有哪些?

红细胞膜缺陷的检验常用红细胞渗透脆性试验(osmotic fragility test)。

思路 1:正常红细胞呈双凹圆盘状,表面积较大,可以通过比其直径小的毛细血管而不被破坏。当先天或后天获得性因素影响红细胞膜,导致膜成分中脂质双层结构异常,红细胞表面积与体积比减小,变形能力下降以及脆性增加,而致红细胞病理性破坏,缩短红细胞的生存期。红细胞膜缺陷分原发性和继发性。原发性膜缺陷又分先天性与后天获得性。原发性膜缺陷常见的遗传病有遗传性球形细胞增多症、遗传性椭圆形红细胞增多症、遗传性口形红细胞增多症等,其中以遗传性球形细胞增多症最多见。

思路 2:渗透脆性试验原理

检测红细胞对不同浓度低渗盐溶液的抵抗力。红细胞在低渗盐溶液中,当水渗透至红细胞内部达一定程度时,红细胞发生膨胀破裂。根据不同浓度的低渗盐溶液中红细胞溶血的情况反映红细胞其表面积与容积的比值,反映对低渗盐溶液的抵抗性。比值愈小,红细胞抵抗力愈小,渗透脆性增加;反之抵抗力增大,渗透脆性降低。

参考区间:(简易半定量法)开始溶血:3.8~4.6g/L NaCl 溶液;完全溶血:2.8~3.2g/L NaCl 溶液。

应用评价:①增加:主要见于遗传性球形红细胞增多症、椭圆形红细胞增多症和部分自身免疫性溶血性贫血;②降低:主要见于珠蛋白生成障碍性贫血,血红蛋白 C、D、E 病,低色素性贫血、阻塞性黄胆、脾切除术后等。

【问题 3】红细胞酶缺陷的检验有哪些?

红细胞酶缺陷的检验有高铁血红蛋白(MetHb)还原试验、G-6-PD 荧光斑点试验、G-6-PD 活性定量测定(ICSH 推荐 Glock 与 Mclean 法)、PK 荧光斑点试验、PK 活性定量测定(ICSH 推荐 Blume 法)。

思路 1:红细胞酶缺陷所致溶血性贫血是指参与红细胞代谢(主要是糖代谢)的一些酶,由于基因的缺陷,而导致其表达产物活性下降或缺失,进而引发溶血的一组疾病。根据红细胞代谢特点,可将红细胞的酶分为三类:糖酵解途径的酶,如己糖激酶、葡萄糖磷酸异构酶、丙酮酸激酶、磷酸果糖激酶等;戊糖旁路代谢途径,如葡萄糖 -6- 磷酸脱氢酶、6- 磷酸葡萄糖酸脱氢酶等;核苷酸代谢途径,如嘧啶 5' 核苷酸酶、腺苷酸激酶缺乏等。在所有红细胞酶缺陷病中,以葡萄糖 -6- 磷酸脱氢酶(G-6-PD)和丙酮酸激酶(PK)的缺陷发生率较高,前者导致戊糖旁路代谢障碍,后者引起糖酵解途径异常。

思路 2:高铁血红蛋白还原试验是在血液中加入亚硝酸盐,使红细胞中的亚铁血红蛋白变成高铁血红蛋白,正常红细胞的 G-6-PD 催化戊糖旁路使 NADP(氧化型辅酶Ⅱ)变成 NADPH(还原型辅酶Ⅱ),其脱的氢通过亚甲蓝试剂的递氢作用而使高铁血红蛋白(Fe^{3+})还原成亚铁血红蛋白(Fe^{2+}),通过比色可观察还原的多少。当 G-6-PD 缺乏时,由于 NADPH 生成减少或缺乏,MHb 不被还原或还原速度显著减慢,高铁血红蛋白还原率下降。正常人高铁血红蛋白还原率≥75%(脐带血≥77%)。G-6-PD 缺乏时,高铁血红蛋白还原率下降。中间缺乏(杂合子)为 31%~74%,严重缺乏(半合子或纯合子)<30%。

【问题 4】血红蛋白病的检验有哪些?

血红蛋白异常的检验主要有血红蛋白电泳。

思路 1:血红蛋白病(hemoglobinopathy)是一组由于生成血红蛋白的珠蛋白肽链的结构异常或合成肽链速率的改变,而引起血红蛋白功能异常所致的疾病。血红蛋白病主要包括:①珠蛋白生成障碍性贫血,其是因调节珠蛋白合成速率的遗传基因缺陷所致的珠蛋白合成不足;②异常血红蛋白病,其是因控制遗传的珠蛋白基因发生突变所致的珠蛋白一级氨基酸构成异常。两者均系遗传性疾病,同属血红蛋白异常,可统称为血红蛋白病。另外,也可见获得性血红蛋白病,通常是由接触或误服化学药物所致。全球大约有 1.5 亿人携带有生成异常珠蛋白的基因,已鉴

学习笔记

定出异常血红蛋白600余种，其中绝大多数是因为单个氨基酸被取代，导致肽链的结构变异，也有部分是肽链缺失、延长或融合所致。

血红蛋白(Hb)是由珠蛋白和亚铁血红素分子组成。成人Hb包括HbA、HbA2和HbF三种，分别由一对α链与一对非α链(β、γ、δ)所组成，分别为HbA(α2β2)、HbA2(α2δ2)和HbF(α2γ2)。

思路2：血红蛋白电泳(hemoglobin electrophoresis)是根据不同的血红蛋白带有不同的电荷，等电点不同，在一定的pH缓冲液中，缓冲液的pH大于Hb的等电点时其带负电荷，电泳时在电场中向阳极泳动；反之，Hb带正电荷向阴极泳动。经一定电压和时间的电泳，不同的血红蛋白所带电荷不同、相对分子质量不同，其泳动方向和速度不同，可分离出各自的区带，同时对电泳出的各区带进行电泳扫描，可进行各种血红蛋白的定量分析。

pH 8.6 TEB缓冲液醋酸纤维膜电泳将健康成年人Hb分离出3条正常区带，靠阳极端一条浓重的区带是HbA，相对含量占97%以上；在HbA后有一条浅淡狭窄的区带是HbA2，相对含量约占1.5%~3%；在两者中间，紧靠HbA条带后，为HbF条带，其他的带一般为非Hb成分或异常Hb。pH 8.6 TEB缓冲液适合于检出HbA、HbA2、HbS、HbC，但HbF不易与HbA分开，HbH与Hb Barts不能分开和显示，应再选择其他缓冲液进行电泳分离。

pH 6.5 TEB缓冲液醋酸纤维膜电泳主要用于HbH和Hb Barts的检出。HbH等电点为5.6，在pH 6.5 TEB缓冲液中电泳时泳向阳极，Hb Barts则在点样点不动，而其余的血红蛋白都向阴极移动。

通过与正常人的血红蛋白电泳图谱(图15-2-1)进行比较，可发现异常血红蛋白区带，如HbH、HbE、Hb Barts、HbS、HbD和HbC等异常血红蛋白。HbA2增多，见于β珠蛋白生成障碍性贫血，为杂合子的重要实验室诊断指标。HbE病时也在HbA2区带位置处增加，但含量很大(在10%以上)。HbA2轻度增加亦可见于肝病、肿瘤和某些血液病。

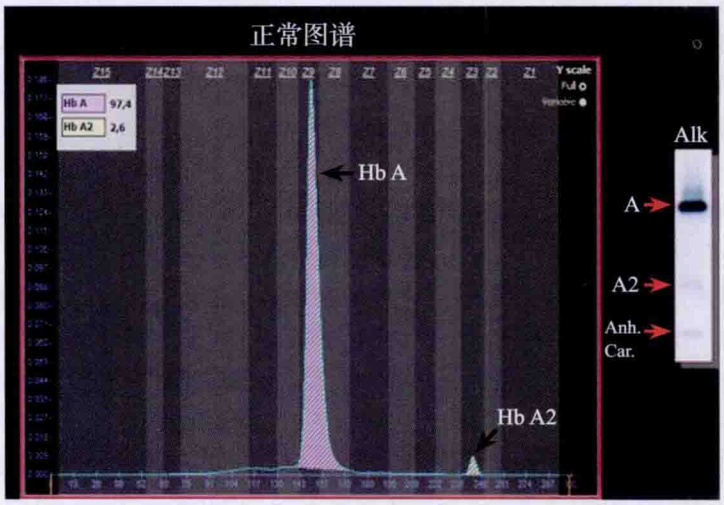


图15-2-1　血红蛋白电泳图

左图为血红蛋白进行琼脂糖电泳的扫描图，HbA含量占97.4%，HbA2含量占2.6%；右图为血红蛋白琼脂糖碱性电泳结果，图中A表示HbA条带，A2表示HbA2条带

【问题5】免疫性溶血的检验有哪些？

免疫性溶血的检验包括抗人球蛋白试验、冷凝集素试验以及冷热溶血试验，其中最常用的是抗人球蛋白试验(Coombs'test)。

思路1：免疫性溶血是指机体免疫功能异常产生的自身抗体和(或)补体吸附于红细胞表面介导的病理性红细胞溶血反应，这种溶血反应多发生在血管外，也可发生在血管内。通过检查

学习笔记

结合在患者红细胞膜上的自身抗体或补体及血清中游离的自身抗体，可以确定溶血是属于免疫性或非免疫性溶血。

自身免疫性溶血性贫血（autoimmune hemolytic anemia，AIHA）大多属于温抗体型（WAIHA），小部分属冷抗体型（主要为 IgM），故必要时应于 4℃条件下进行试验，排除假阴性反应。WAIHA 大多为 IgG 型抗体，部分为 $IgG^{+}C3$ 型、C3 型、极少数为 IgG 亚型、IgA、IgM 型。因此，疑为 AIHA 时，应首先使用广谱的抗人球蛋白血清进行试验，必要时再加用各种单价抗血清确定抗体的类型，以免漏诊。直接 Coombs 试验比间接 Coombs 试验对 AIHA 更有诊断价值，但少数 AIHA 患者，直接 Coombs 试验可呈阴性。

思路 2：抗人球蛋白试验（Coombs 试验）检测自身免疫性溶血性贫血的自身抗体（IgG），分为检测红细胞表面有无不完全抗体的直接抗人球蛋白试验（direct antiglobulin test，DAGT）和检测血清中有无不完全抗体的间接抗人球蛋白试验（indirect antiglobulin test，IAGT）。由于红细胞膜电荷的存在，红细胞彼此之间保持一段距离而不会聚集。不完全抗体 IgG 分子较小，只能和一个红细胞结合而无法连接两个相邻红细胞。而抗人球蛋白抗体为完全抗体，一个完全抗体可与多个不完全抗体的 Fc 段相结合，即一个完全抗体可以通过桥接作用连接多个红细胞而形成红细胞聚集，此种现象为抗球蛋白阳性。这种检测不完全抗体实验称为抗人球蛋白试验，分为直接法和间接法，直接法是应用抗人球蛋白试剂［抗 IgG、IgM、IgA 和（或）抗 C3d］与红细胞表面的 IgG 分子结合，如红细胞表面存在自身抗体，出现凝集反应。而间接法检测血清中是否有不完全抗体。间接试验应用 Rh（D）阳性 O 型红细胞与受检血清混合孵育，如血清中存在不完全抗体，红细胞致敏，再加入抗人球蛋白血清，可出现凝集。直接试验阳性一般见于血型不合性溶血、自身免疫性溶血、系统性红斑狼疮、恶性淋巴瘤、类风湿关节炎，另外，青霉素类和甲基多巴引起的药物过敏性溶血，也可表现 Coombs' 阳性。间接实验主要用于诊断 ABO 或 Rh 妊娠免疫性新生儿溶血病。

（屈晨雪）

学习笔记

第三节　初期止血试验

血管与血小板共同构成止血所需初级血栓，完成机体的初期止血。血小板具有黏附、聚集、释放反应、促凝血等多种生理功能，通过一些体外试验，包括血小板聚集试验、血小板自身抗体等可以部分反映血小板的一些生理、病理变化，并有助于疾病的诊断和治疗等。

病历摘要 1：

患者男，70 岁。1 年前因脑梗死住院，出院后一直口服阿司匹林，遵医嘱每 3 个月来院采血检测血小板聚集功能。血小板聚集功能检测（图 15-3-1）结果如下：

×× 医院检验报告单

姓名：某某	病历号：××××××	临床诊断：脑梗死	标本种类：3.2% 枸橼酸钠抗凝静脉血
性别：男	科别：神经内科诊室	申请医生：某某	标本编号：××××××
年龄：70 岁	病房：× 病房	备注：空腹采血	采集时间：××××-01-26-09：05

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	花生四烯酸最大聚集率（光学法）	3.00↓	44.00~70.00	%
2	二磷酸腺苷最大聚集率（光学法）	49.00	37.06~68.50	%

接收者：某某	接收时间：××××-01-26-09：25	审核者：某某	审核时间：××××-01-26-10：15
检验者：某某	检验时间：××××-01-26-10：00	检测实验室：	×× 医院检验科血液室

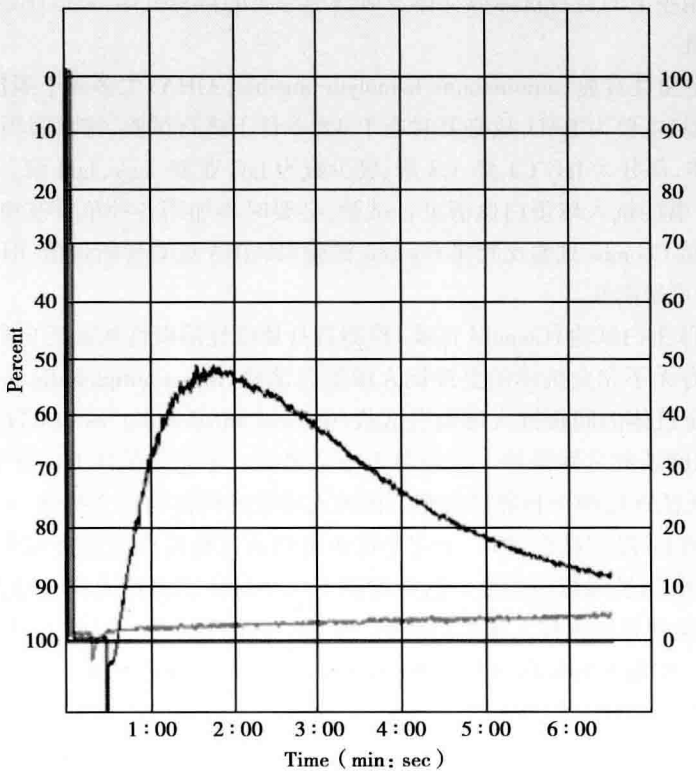


图 15-3-1　血小板聚集功能图

蓝色曲线代表 ADP 诱导的血小板聚集曲线，红色曲线代表 AA 诱导的血小板聚集曲线

学习笔记

【问题 1】常用的血小板聚集诱导剂有哪些？医生为什么为该患者选择花生四烯酸及二磷酸腺苷（ADP）为诱导剂？

血小板聚集试验常用的诱导剂有花生四烯酸、ADP、肾上腺素、胶原、瑞斯托菌素（ristocetin）等。应根据目的不同选择不同种类的诱导剂及其浓度。

知识点

血小板诱导剂的选择

检测血小板聚集功能亢进时，宜选用低浓度（2~3μmol/L）ADP；检测血小板聚集功能缺陷时，应选用高浓度（5~10μmol/L）ADP，同时多种诱导剂均出现聚集减低或不聚集时，才能确定血小板聚集功能缺陷。

思路：该患者于出院后一直口服阿司匹林，阿司匹林通过抑制血小板环氧化酶和 TXA_2，抑制血小板聚集，防治血栓形成。花生四烯酸是膜磷脂代谢产物，其在血小板内代谢生成的血栓烷 A_2（TXA_2）具有强烈收缩血管和促使血小板聚集的作用，因而促进血栓形成。阿司匹林抑制了血小板花生四烯酸代谢途径中的 TXA_2，因此在评价阿司匹林的抗血栓作用时，选择花生四烯酸作为诱导剂，主要是与阿司匹林作用机制有关。服用阿司匹林后，对药物敏感的患者，血小板聚集率较明显下降。有研究表明，对阿司匹林不敏感（称之为阿司匹林抵抗）的患者，其花生四烯酸或 ADP 诱导的血小板聚集率下降不明显。

【问题 2】如何分析该患者的检验报告单中花生四烯酸诱导的血小板最大聚集率降低？

该病例患者口服阿司匹林预防血栓性疾病，根据检验结果，患者花生四烯酸最大聚集率为

6%，较参考区间有明显下降，表明其服用的阿司匹林具有抗血小板聚集的作用，符合应用药物的预期疗效。

知识点

血小板聚集发生的机制

血小板与血小板相互黏附在一起称为血小板聚集。当一定数量的诱导剂存在时，血小板在各种情况下均能发生聚集现象。在富血小板血浆或全血中加入诱导剂，即可检测血小板的聚集功能。血小板受到诱导剂激活后，在钙离子存在下，暴露出的血小板糖蛋白GPⅡb/Ⅲa复合物作为纤维蛋白原受体，可与纤维蛋白原等黏附蛋白结合，使血小板聚集成团。不同的诱导剂、同一诱导剂不同的浓度所引起的血小板聚集率存在差异。血小板的体外聚集可以反映血小板在体内形成血小板血栓的能力。

【问题3】临床检验中常见的血小板聚集测定方法有哪些？

血小板聚集试验的测定方法有光学比浊法、电阻抗法、剪切诱导法、微量反应板法和自发性血小板聚集试验等。光学比浊法最为常用，其不足之处是制备富含血小板的血浆（platelet-rich plasma，PRP）时可因离心作用激活血小板，对小的血小板聚集块不敏感。全血电阻抗法优点是应用全血标本，不需要离心血液，更接近体内生理状态，但不足之处是每次测定需要清洗电极，检测时间长。

知识点

光学法检测血小板聚集原理

枸橼酸钠抗凝的全血标本通过相对较低的离心力离心出PRP，在PRP中加入诱导剂，当血小板对诱导剂产生应答而发生变形时，PRP的浊度降低，透光率增加，血小板聚集仪可以通过连续的光电讯号转换而将血小板的聚集过程记录并以聚集曲线表示，自动计算出血小板最大聚集率等。

【问题4】实验室如何保证检测结果的真实准确性？

实验室制订质量保证措施来控制检验前、检验中和检验后等过程中的质量，但检验前和检验后的质量需要临床的配合。

思路1：检验标本应符合实验室要求：标本收集时为防止血小板激活，应使用塑料试管或硅化的玻璃管；样本采集前，不能做剧烈运动，不能吸烟；标本采集后3小时内完成实验；光学法检测血小板聚集，要求血小板数量在一定范围内（一般在150×10^9/L~380×10^9/L），若血小板数量超出此范围，应首先将血小板数量调整在此范围内，对于血小板数量过低，浓缩后仍无法达到检测要求的，应告知临床医师；样本严重溶血、脂血会影响检验结果的准确性，实验室应拒收。

思路2：因血小板功能受很多药物的干扰，抑制血小板聚集和释放的主要药物为非甾体消炎药，且很多药物中都含有阿司匹林和布洛芬，故患者的用药史很重要，实验人员应了解患者用药史。

思路3：血小板聚集仪根据需要由厂家专业人员进行校准；在日常工作中，由实验室人员根据需要进行定标，也可在必要时进行快速定标试验。

学习笔记

病历摘要 2：

患者女，29 岁。月经量增多半年，皮肤瘀斑 2 个月。查体脾脏不大，外周血常规示 Plt 42×10^9/L，WBC 7.1×10^9/L，Hb 76g/L，骨髓象示巨核细胞增生明显活跃，以幼稚巨核细胞为主。血小板抗体检测结果如下：

××医院检验报告单

姓名：	病历号：××××××	临床诊断：血小板减少	标本种类：空腹静脉血 2ml 普通试管
性别：女	科别：神经内科	申请医生：	标本编号：××××××
年龄：29	病房：××	备注：空腹采血	采集时间：××××-02-07-08：29

No.	检验项目	英文缩写	结果	单位	参考区间
1	血小板抗体 IgG（荧光法）	（anti-Plt-IgG）	阳性（+）		阴性（-）
2	血小板抗体 IgA（荧光法）	（anti-Plt-IgA）	阴性（-）		阴性（-）
3	血小板抗体 IgM（荧光法）	（anti-Plt-IgM）	阳性（+）		阴性（-）

接收者：	接收时间：××××-02-07-08：50	审核者：	审核时间：××××-02-07-09：58
检验者：	检验时间：××××-02-07-09：55	检测实验室：	×××× 医院检验科免疫室

【问题 1】从血小板抗体检验报告结果分析并结合患者的临床表现，该患者初步考虑最可能的诊断是什么？

该例患者血小板数明显减少，血小板抗体阳性，结合临床症状和体征以及骨髓检查，最可能的诊断为原发免疫性血小板减少症。

思路 1：该患者周身皮肤有瘀斑，这与血小板减少（Plt 为 42×10^9/L）有关。血小板减少的原因与体内存在血小板抗体有关。

学习笔记

知识点

血小板自身抗体的概念

血小板自身抗体可分为血小板相关免疫球蛋白（platelet associated immunoglobulin，PAIg），又称为血小板相关抗体，包括 PAIgG、PAIgM、PAIgA 和血小板特异性蛋白自身抗体、药物相关自身抗体、同种血小板自身抗体等。

思路 2：血小板抗体阴性不能排除原发免疫性血小板减少症。PAIgG 在非免疫性血小板减少患者和其他自身免疫性疾病患者中阳性表达率可达 30%~50%，表明其并非特发性血小板减少性紫癜的特异诊断指标。

知识点

原发免疫性血小板减少症血小板减少的机制

50%~70% 的原发免疫性血小板减少症患者血小板表面可检测到血小板膜蛋白特异性自身抗体。自身抗体致敏的血小板被单核巨噬细胞系统过度破坏。自身抗体可损伤巨核细胞或抑制巨核细胞释放血小板，造成原发免疫性血小板减少症患者血小板生成不足。

【问题 2】临床检验中常见的血小板抗体检测方法有哪些？

血小板抗体检测方法有免疫荧光法、酶联免疫法等。

思路 1：免疫荧光法测定血小板抗体试验主要用于筛查 PAIg，可分为直接法和间接法，常用流式细胞仪分析或者荧光显微镜。直接法用荧光素标记的抗人免疫球蛋白的抗体检测待测血

小板上结合的 PAIg。间接免疫荧光法则包被有血小板的生物载片与样本温育，若待测血清中存在的可以与正常血小板结合的抗原，加入的血小板抗体与抗原结合，然后加入荧光素标记的抗人抗体进行第二次温育，最后在荧光显微镜下观察特异性荧光模型。

思路 2：酶联免疫法主要用于检测血小板蛋白特异性自身抗体，如抗 GPⅠb、GPⅡb、GPⅢa、GPⅨ、HLA 等。目前常用的实验有单克隆抗体血小板抗原固定试验（monoclonal antibody immobilization of platelet antigens，MAIPA）和改进抗原捕获酶联免疫吸附试验（modified antigen capture ELISA，MACE）。MAIPA 是目前检测血小板蛋白特异性自身抗体最主要的方法。MAIPA 原理：健康人血小板与待测血清分别和不同抗血小板膜蛋白的小鼠 McAb（如抗 GPⅠb、GPⅡb、GPⅢa、GPⅨ、HLA 等 McAb）一起孵育，经过洗涤后裂解血小板，将血小板裂解液加入到包被有羊抗鼠免疫球蛋白抗体的微孔板中，结合有血小板膜蛋白特异性 McAb 和膜蛋白及其对应的自身抗原抗体复合物被固定在微孔板上，然后与酶标羊抗人免疫球蛋白抗体反应，经酶底物显色，可检出血清中血小板膜蛋白特异的自身抗体。

（辛晓敏）

第四节　凝血因子检验

PT、APTT 和 FIB 是血栓与止血常用的筛检试验，而凝血因子的检测一般是在 PT、APTT 和 FIB 的筛选基础上选择性地进行。

病历摘要 1：

患者男，67 岁。风心病 20 余年，1 个月前行心脏瓣膜置换术，术后口服抗凝药物（华法林），遵医嘱于出院后 1 个月来院采血检测凝血象。

×× 医院检验报告单

姓名：	病历号：××××××	临床诊断：心脏瓣膜置换术后	标本种类：3.2% 枸橼酸钠抗凝静脉血
性别：男	科别：心外科科诊室	申请医生：	标本编号：××××××
年龄：67 岁	病房：	备注：空腹采血	采集时间：××××-01-27-08：45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	凝血酶原时间（PT）	18.45 ↑	9.80~12.10	SEC
2	凝血酶原活动度（PT%）	60.05 ↓	70.00~130.00	%
3	国际标准比值（PTINR）	1.65 ↑	0.70~1.30	INR
4	纤维蛋白原定量（FIB）	4.40 ↑	1.80~3.50	g/L
5	部分凝血活酶时间（APTT）	30.70	21.10~36.50	SEC

接收者：	接收时间：××××-01-27-09：05	审核者：	审核时间：××××-01-27-10：00
检验者：	检验时间：××××-01-27-09：35	检测实验室：	×× 医院检验科血液室

【问题 1】根据该患者病史，其是否需要检测以上各项凝血指标？

凝血检查通常包括 PT、APTT、FIB，其中 PT 不仅反映凝血酶原水平，也是反映因子Ⅴ、Ⅶ、Ⅹ和纤维蛋白原在血浆中的水平，为外源性凝血系统较为灵敏和最常用的筛选试验；APTT 为内源性凝血系统较为灵敏和最常用的筛选试验。该患者为心脏瓣膜置换术后口服抗凝药物，需常规检测 PT 及其换算指标，对于 APTT、FIB 可不予检测，但考虑到患者为出院后第一次检测凝血指标，故选择了较为全面的检测。

【问题 2】通过该检验结果如何评价患者口服抗凝药物的剂量是否合适？

作为口服抗凝剂的首选监测指标，中国人的国际标准化比值（international normalized ratio，

学习笔记

INR)一般维持在2.0~2.5之间，<1.5为抗凝无效，>3.0出血风险将大大增加。该患者PT=18.45秒，INR=1.65，提示抗凝药物疗效未达到预期的抗凝效果，应再加大抗凝药物剂量，调整药量后，再次检测凝血指标。

知识点

华法林用量的监测

华法林是维生素K拮抗剂，对依赖维生素K的凝血因子(因子Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ和Ⅹ)及抗凝因子(蛋白C、蛋白S)的活性均有抑制作用。维生素K受患者食物和合并用药的影响，加之华法林的治疗窗较为狭窄，易导致出血或药物的抵抗，WHO推荐使用INR来监测口服抗凝剂的用量，可以避免不同实验室因使用不同的凝血酶原时间检测试剂所导致的结果差异。

思路1：$INR=PTRI^{SI}$

ISI为国际灵敏度指数，由试剂公司提供。ISI越小，组织凝血活酶的灵敏度越高。PTR=受检血浆的凝血酶原时间/正常参比血浆的凝血酶原时间。正常参比血浆由20份以上正常人血浆混合后制备而成。

思路2：PT测定已普遍使用血液凝固仪

在血液凝固仪上有3种测定PT的方法，包括光学法、电流法、磁珠法。①光学法原理：在待检血浆中加入过量的凝血活酶和Ca^{2+}，使凝血酶原转变为凝血酶，后者使纤维蛋白原转变为纤维蛋白，血浆浊度也随之发生变化，可根据光强度的变化来判断血浆凝固终点，血浆凝固的时间即为PT；②电流法：纤维蛋白具有导电性，将电极插入标本中，利用两电极之间电流的通断来判断纤维蛋白是否形成，以此确定血浆凝固终点；③磁珠法：血浆凝固时，血浆黏度增高，使正在磁场中运动的小磁珠运动强度减弱，以此判断血浆凝固终点。

思路3：血液凝固仪测定PT操作简便、快速、重复性好。目前常用光学法和磁珠法。磁珠法的检测不受黄疸、乳糜、溶血标本的干扰，但反应杯中需要加入磁珠，成本高。

【问题3】对于患者FIB=4.40g/L，高于参考区间上限，如何评价？

FIB增高主要见于糖尿病、急性心肌梗死、急性感染、结缔组织病、急性肾炎、灼伤、多发性骨髓瘤、休克、大手术后、妊高征、恶性肿瘤等以及血栓前状态。

思路：目前常用的FIB检测方法有Clauss法、PT衍生法等

WHO推荐用Clauss法(凝血酶比浊法)。①Clauss法：在待检血浆中加入凝血酶，检测血浆凝固时间，再根据凝固时间同血浆蛋白原含量呈正相关的原理，计算出血浆纤维蛋白原的含量；②PT衍生法：基于PT反应曲线，仪器法完成测定PT时，FIB全部变成纤维蛋白，其浊度与FIB浓度呈正比，可采用终点法或速率法换算出FIB浓度。

【问题4】如何检测APTT？

在待检血浆中加入APTT试剂(接触因子激活剂和部分磷脂)和钙离子后，观察血浆的凝固时间，即为APTT。

思路1：APTT试剂是激活剂和部分凝血活酶的混合物，因其来源及制备方法不同，可影响APTT测定结果。①激活剂：有对凝血因子相对灵敏的白陶土、对肝素相对灵敏的硅藻土、对狼疮抗凝物相对灵敏的鞣花酸等。即使是同一种激活剂，其质量差别也很大，应选用高质量激活剂，因其激活作用迅速，在一定程度上消除了接触激活造成的误差；②部分凝血活酶(磷脂)：磷脂可来源于人、动物或植物，主要来源于兔脑组织。

思路2：由于使用不同APTT试剂，其检测结果存在差异，因此，每个实验室必须建立相应的参考区间。

学习笔记

【问题 5】实验室如何保证该检验结果的准确性?

思路 1:当实验室接收到检验样本后,首先应检查样本的采集是否符合实验室凝血检测的要求:①采血容器是否正确;②采血量是否在要求范围内;③样本是否出现凝块;④样本自采集到运达实验室时间是否合格;⑤样本有无溶血、脂血等。

知识点

凝血标本的采集与保存

凝血检查选择 0.109mol/L 的枸橼酸钠作为抗凝剂,血液与抗凝剂的体积比为 9:1。采血后,立即颠倒 5~10 次使血液与抗凝剂充分混匀,防止血液凝固(避免用力振荡,以防溶血及泡沫产生)。样本采集后应尽快送检,实验室应在采血后 1 小时内分离血浆,并且在 4 小时内完成检测。若不能在规定时间内进行检测,需将血浆分离后的样本分装保存,一般凝血检查的样本,在 4℃冰箱内可保存 4 小时,放置在 -20℃冰箱内可保存 2 周,放置在 -70℃冰箱内可保存 6 个月。做凝血检查复溶后的样本,应在 2 小时内一次性检测完毕,不能再次冷冻保存。

注意,当 Hct>0.55 时应对血液与抗凝剂的体积比进行调整,具体公式为:抗凝剂(ml)=(100%-Hct)× 血液(ml)×0.001 85

思路 2:为保证仪器准确性,由厂家定期校准并出具《仪器校准报告》。新安装或经过大修的仪器均应进行性能评价。

为保证临床检验样本的结果能够及时准确地发放,实验室必须保证质控品检测符合质控规则后方可发送检验报告。如果出现失控现象,需立即查明原因并进行纠正,否则不能向临床发放检验报告。

实验室需定期参加卫生部临检中心及省级临检中心室间质评活动的项目,来考察本实验室结果的准确性。

思路 3:检验科室需验证仪器数据传输系统与医院内传输系统在检验数据传输过程中的稳定性,以确保检验数据的传输无误。

病历摘要 2:

患者男,18 岁。自幼常有出血不止,反复鼻出血,于 1 个月前在外院行拔牙术后出血不止,局部缝扎加压处理无效,入院后查血常规结果为:WBC 6.8×10^9/L;RBC 3.45×10^{12}/L;Hb 102g/L;Plt 129×10^9/L。给予凝血象检查。

×× 医院检验报告单

姓名:	病历号:××××××	临床诊断:	标本种类:3.2% 枸橼酸钠抗凝静脉血
性别:男	科别:内科	申请医生:	标本编号:××××××
年龄:18 岁	病房:× 病房	备注:空腹采血	采集时间:××××-05-27-08:45

No.	检验项目	结果		参考区间	单位
1	凝血酶原时间(PT)	11.40		9.80~12.10	SEC
2	凝血酶原活动度(PT%)	101.00		70.00~130.00	%
3	国际标准比值(PTINR)	0.97		0.70~1.30	INR
4	纤维蛋白原定量(FIB)	3.14		1.80~3.50	g/L
5	部分凝血活酶时间(APTT)	52.60	↑	21.10~36.50	SEC
6	凝血酶时间(TT)	13.80		14.00~21.00	SEC
7	D- 二聚体定量检测	0.10		0.00~0.55	mg/L FEU

接收者:	接收时间:××××-05-27-09:05	审核者:	审核时间:××××-05-27-10:00
检验者:	检验时间:××××-05-27-09:35	检测实验室:	×× 医院检验科血液室

学习笔记

根据凝血象检查结果，进一步检查发现：

××医院检验报告单

姓名：	病历号：××××××	临床诊断：	标本种类：枸橼酸钠抗凝血浆
性别：男	科别：内科	申请医生：	标本编号：××××××
年龄：18	病房：×病房	备注：空腹采血	采集时间：××××-05-28-08：45

No.	检验项目	结果		参考区间	单位
1	Ⅷ因子检测	4	↓	70~150	%
2	Ⅸ因子检测	89		70~150	%
3	Ⅺ因子检测	112		70~150	%

接收者：	接收时间：××××-05-28-08：50	审核者：	审核时间：××××-05-28-09：10
检验者：	检验时间：××××-05-28-08：55	检测实验室：	××医院检验科血液室

【问题1】从凝血象及因子检测报告结果分析并结合患者的临床表现，该患者初步考虑最有可能的诊断是什么？

凝血象一般包括五项凝血指标的检查（PT、APTT、FIB、TT、DD），由于APTT明显延长，说明患者内源性凝血途径出现问题。进一步检查发现Ⅷ因子活性降低，结合临床症状和体征，可以诊断为血友病A。

思路1：患者的临床表现符合典型的血友病A，即男性、自幼常有出血不止，反复鼻出血，于1个月前在外院行拔牙术后出血不止，局部缝扎加压处理无效。

知识点

血友病的简介

血友病A又称FⅧ缺乏症。该病常见于男性，是一种X连锁隐性遗传性疾病，女性患者非常少见。血友病B又称FⅨ缺乏症。血友病以阳性家族史、幼年发病、自发或轻度外伤后出血不止、血肿形成及关节出血为特征。

思路2：血友病A的诊断

根据临床表现、凝血象及因子检测，血友病A的诊断并不难。本患者在凝血缺陷的检测中，APTT的结果为52.60秒，高于正常上限，说明患者内源性凝血途径功能缺陷。进一步进行FⅧ、FⅨ、FⅪ检测，可发现FⅧ的活动度明显降低。可明确诊断为血友病A。

知识点

血友病A的实验室检查

①出血时间、血小板计数及PT正常；②APTT重度延长；③FⅧ的活动度明显降低；④vWF：Ag正常。

【问题2】临床上常测定的凝血因子有哪些？

临床上最常测定的凝血因子有FⅧ和FⅨ。除了FⅠ即血浆纤维蛋白原，其余凝血因子的检测方法包括促凝活性测定和凝血因子抗原的测定，凝血因子抗原含量测定采用火箭电泳法。临床多测定因子的促凝活性。

学习笔记

知识点

凝血因子的命名

凝血因子包括FⅠ、FⅡ、FⅢ、FⅤ、FⅦ、FⅧ、FⅨ、FⅩ、FⅪ、FⅫ、PK、HMWK、FⅩⅢ、vWF。按国际凝血因子命名委员会规定，以罗马数字命名除激肽系统以外的凝血因子。其中Ca^{2+}为因子Ⅳ，因子Ⅵ被证实是因子Ⅴ的活化形式而被废除。在书写和拼读上，因子Ⅳ一般被称为Ca^{2+}，因子Ⅰ一般被称为纤维蛋白原。

思路1：凝血因子Ⅰ的检测原理

FⅠ即血浆纤维蛋白原的检测方法，有快速测定法、半定量法、双缩脲法、免疫扩散法和凝血酶比浊法。目前推荐凝血酶比浊法，其检测原理见本节凝血功能部分。

思路2：血浆FⅧ、FⅨ、FⅪ、FⅫ促凝活性测定（一期法）

受检血浆中分别加入缺乏FⅧ、FⅨ、FⅪ、FⅫ的基质血浆，白陶土磷脂悬液和Ca^{2+}，分别记录开始出现纤维蛋白原丝所需的时间，从各自标准曲线中分别计算出受检血浆中FⅧ、FⅨ、FⅪ、FⅫ促凝活性（FⅧ:C、FⅨ:C、FⅪ:C、FⅫ:C）相当于正常人的百分率（%）。

思路3：血浆FⅡ、FⅤ、FⅦ、FⅩ促凝活性测定（一期法）

受检血浆中分别加入缺乏FⅡ、FⅤ、FⅦ、FⅩ的基质血浆，兔脑粉渗出液和Ca^{2+}，分别记录开始出现纤维蛋白原丝所需的时间，从各自标准曲线中分别计算出受检血浆中FⅡ、FⅤ、FⅦ、FⅩ促凝活性（FⅡ:C、FⅤ:C、FⅦ:C、FⅩ:C）相当于正常人的百分率（%）。

思路4：血浆因子ⅩⅢ活性测定

在Ca^{2+}存在下，经FⅩⅢ作用后能使溶于尿素的纤维蛋白聚合物变为交联纤维蛋白，后者不溶于尿素溶液。如果受检血浆中缺乏ⅩⅢ因子，则聚合物可再溶于尿素溶液。可以通过待测血浆对缺乏FⅩⅢ血浆的纠正程度来测定其FⅩⅢ:C。

【问题3】凝血象检测结果正常或者凝血因子活性检测结果正常时，可以确定患者没有凝血障碍吗？

思路1：凝血象检验一般包括五项凝血指标的检查（PT、APTT、FIB、TT、DD），其中APTT主要检测FⅧ、FⅨ、FⅪ、FⅫ促凝活性，PT主要检测血浆FⅡ、FⅤ、FⅦ、FⅩ促凝活性，FIB主要是凝血因子Ⅰ的促凝活性。但是凝血象检测的凝血因子范围并不包括因子ⅩⅢ，所以在凝血象检测结果正常时，患者也可能患有因子ⅩⅢ缺乏所引发的血友病。

思路2：凝血因子的检测方法包括促凝活性测定和凝血因子抗原含量的测定，即便凝血因子抗原检测结果显示凝血因子的数量在正常范围内，也有可能由于患者自身的免疫排斥反应，产生因子抗体。因子抗体与相应的因子结合后，凝血因子抗原的测定结果仍为正常，而凝血因子已经失去活性，导致患者凝血功能障碍。所以，临床凝血因子检测方法推荐使用凝血因子促凝活性测定。

（辛晓敏）

第五节　抗凝血功能试验

抗凝血功能试验主要包括临床上常用的病理性抗凝物质检测和生理性抗凝因子检测两部分，后者也是凝血系统的调节因子。血浆凝血酶时间测定属于病理性抗凝物质的筛检试验，而抗心磷脂抗体和狼疮抗凝物质测定是病理性抗凝物质的诊断试验。血浆抗凝血酶、血浆蛋白C和血浆蛋白S用于生理性抗凝因子检测。

学习笔记

病历摘要1：

患者女，64岁。因“头晕3天，加重半天”入院，CT检查示“多发性腔梗”，入院检查外周血凝血象分析结果：PT 9.3秒，PT% 144.60%，TT 18.4秒，APTT 24.20秒，血常规无异常，给予溶栓药物治疗。2天后监测抗凝血酶活性及APTT和TT，结果如下所示：

××医院检验报告单

姓名：	病历号：××××××	临床诊断：多发性脑梗死	标本种类：3.2% 枸橼酸钠抗凝血
性别：女	科别：神经内科	申请医生：	标本编号：××××××
年龄：64岁	病房：	备注：空腹采血	采集时间：××××-03-28-07：26

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	部分凝血活酶时间（APTT）	30.00	21.10-36.50	sec
2	凝血酶时间（TT）	38.50 ↑	14.00-21.00	sec

接收者：	接收时间：××××-03-28-08：50	审核者：	审核时间：××××-03-28-13：26
检验者：	检验时间：××××-03-28-13：05	检测实验室：	×××× 医院检验科血液室

【问题1】通过该检验结果如何评价患者溶栓药物的剂量是否合适？

在使用链激酶、尿激酶做溶栓治疗时，可用TT作为监测指标，控制在正常对照值的1.5~2.5倍。该患者TT延长，低于正常对照值的2倍，说明应用溶栓治疗安全有效，该患者不会有出血倾向。

知识点

凝血酶时间的定义

血浆凝血酶时间是指受检血浆中加入“标准化”凝血酶溶液，凝血酶使纤维蛋白原转变为纤维蛋白所需要的时间。它反映了血浆中是否含有足够量的纤维蛋白原以及纤维蛋白原的结构是否符合人体的正常生理凝血要求，还提示血液中是否存在病理性凝血物质。

学习笔记

思路1：TT检测原理

在乏血小板血浆中，加入一定量的“标准化”凝血酶溶液，到开始出现纤维蛋白丝所需的时间。

思路2：TT作为溶栓治疗的监测指标应联合检测纤维蛋白原和FDP。目前大多数学者认为纤维蛋白原维持在1.2~1.5g/L，FDP在300~400mg/L为宜。

【问题2】TT测定易受哪些因素影响？

TT测定时，所加入血浆的凝血酶试剂的浓度对其结果影响很大，必须设定正常对照值。其他的影响因素见本章第四节凝血功能部分。

病历摘要2：

患者女，41岁。停经80天伴阴道流血2天。该患者2天前因劳累后阴道少量流血，色暗红，无腹痛，来门诊求治。有三次流产史。外周血抗心磷脂抗体和狼疮抗凝物检测结果如下：

××医院检验报告单

姓名：	病历号：××××××	临床诊断：APS？	标本种类：空腹静脉血
性别：女	科别：产科	申请医生：	标本编号：××××××
年龄：41岁	病房：	备注：空腹采血	采集时间：××××-09-12-08：45

No.	检验项目	结果	参考区间
1	抗心磷脂抗体IgG（酶免法）	阴性	阴性
2	抗心磷脂抗体IgM（酶免法）	阳性	阴性
3	抗β_2糖蛋白I抗体（酶免法）	阳性	阴性
4	狼疮抗凝物	2.15	<1.2 阴性；1.2~1.5 弱阳性；1.5~2 中阳性；>2 强阳性

接收者：	接收时间：××××-09-12-08：50	审核者：	审核时间：××××-09-12-13：10
检验者：	检验时间：××××-09-12-10：35	检测实验室：	×××× 医院检验科免疫室

【问题1】从抗心磷脂抗体测定报告结果分析并结合患者的临床表现，该患者初步考虑最可能的诊断是什么？

该患者抗心磷脂抗体IgM、抗β_2-糖蛋白I抗体和狼疮抗凝物为阳性，结合其病史及主诉，最可能的诊断是抗磷脂抗体综合征（antiphospholipid antibody syndrome，APS）。

知识点

抗磷脂抗体综合征的概念

抗磷脂抗体综合征是由抗磷脂抗体引起的一组相关的临床综合征。抗磷脂抗体是一种能够在体外引起磷脂依赖性凝血时间延长、而不是特异性地使某一已知凝血因子失活的抗体，包括狼疮抗凝物（lupus anticoagulant，LA）和抗心磷脂抗体（anti-cardiolipin antibody，ACL）。抗磷脂抗体是引起获得性易栓症最常见的原因，常常与复发性流产等综合征相关联，也是在既往没有凝血功能异常的患者中引起APTT时间延长的常见原因。

思路1：该患者有三次未明原因的连续流产，排除了母亲解剖学或激素的异常及父亲或母亲染色体异常的原因，并且实验室检查抗心磷脂抗体检测到高滴度的IgM型抗心磷脂抗体以及抗β_2-糖蛋白I抗体。患者的临床表现及结合实验室检查符合APS的表现。

知识点

APS诊断标准

狼疮抗凝物阳性和（或）抗心磷脂抗体水平升高，伴有以下至少一种情况：①静脉血栓栓塞；②动脉血栓栓塞；③多次流产；④血小板减少。

思路2：APS分为原发性和继发性两种：原发性抗心磷脂综合征是指患者没有明确的自身免疫性疾病，抗磷脂抗体水平升高，有静脉和（或）动脉血栓性疾病或复发性流产；继发性抗磷脂抗体综合征是指上述综合征出现于SLE或有关疾病。

【问题2】临床常用的抗心磷脂抗体检测包括哪些项目？

抗心磷脂抗体包括抗心磷脂抗体IgG、抗心磷脂抗体IgM和抗β_2-糖蛋白I抗体。

思路1：抗心磷脂抗体可有IgA、IgG或IgM亚型，诊断价值最高的是高浓度的IgG抗体。抗β_2-糖蛋白I抗体浓度和静脉血栓密切相关。

思路2：抗心磷脂抗体和抗β_2-糖蛋白I抗体检测均采用酶联免疫吸附试验，检测原理如下：包被有心磷脂抗原的微孔与样本温育，如果样本中存在抗心磷脂抗体，则发生抗原-抗体反应，通过洗涤将微孔上的抗原-抗体复合物与液相中的游离成分分开，加入酶标抗人抗体（二抗），加入酶底物，发生显色反应。

知识点

样本采集以及保存要求

样本类型为人血清或EDTA、肝素或枸橼酸钠抗凝的血浆。盛放样本的容器为洁净的一次性真空采血管（含分离胶或促凝剂）。样本要尽可能新鲜，待测的患者血清样本可于2~8℃储存14天，稀释后的样本需在一个工作日内检测。如果样本在14天内不能测定，需将样本血清与血细胞分离，放置-20℃保存，避免反复冻融。

【问题3】如何测定狼疮抗凝物？

蝰蛇毒素在钙离子存在时，能直接激活血浆中的凝血因子X。在待测血浆中加入钙离子和

学习笔记

低浓度磷脂，观察血浆发生凝固的时间，称为 Russell 蛇毒时间（russel viper venom time，RVVT），作为 LA 的筛查试验。筛选试验比值 = 患者筛选试验结果 / 筛选试验正常均值。如果筛选试验凝血时间在正常范围内，则无须对 LA 进一步确认。如果待测血浆的筛选试验凝血时间比筛选试验正常均值长 20%（即比值 >1.2），则 LA 的存在还应通过确认试验确认。加入高浓度磷脂中和 LA，可使延长的 RVVT 缩短或恢复正常，确证血浆中存在 LA，称为 LA 的确认试验。确认试验比值 = 患者确认试验结果 / 确认试验正常均值。LA 中和比值 = 筛选试验比值 / 确认试验比值。LA 中和比值超过 2.0 表示重度存在；比值在 1.5~2.0 之间表示中度存在；比值在 1.2~1.5 之间表示轻度存在。

知识点

标本采集及处理

标本采用 0.109mol/L 的枸橼酸钠作为抗凝剂，血液与抗凝剂的体积比为 9∶1。若需要冷冻保存时，因冷冻血浆时会释放残留的血小板磷脂，这将缩短筛选试验凝集时间，所以在冷冻之前须进行两次离心或 0.2μm 超滤处理，以去除血小板。

病历摘要 3：

患者男，44 岁。确诊慢性肝病 10 年，反复牙龈出血、鼻出血及皮肤紫癜半年住院。体检：面色灰暗，可见肝掌及蜘蛛痣，皮肤散在瘀点、瘀斑，肝肋下未及，脾肋下 4.5cm，腹水症（-）。血红蛋白 99g/L，白细胞 2.3×10^9/L，血小板 70×10^9/L。凝血功能检测如下：

×× 医院检验报告单

姓名：	病历号：××××××	临床诊断：慢性肝病	标本种类：3.2% 枸橼酸钠抗凝静脉血
性别：男	科别：感染科诊室	申请医生：	标本编号：××××××
年龄：44 岁	病房：	备注：空腹采血	采集时间：××××-03-27-08∶45

No.	检验项目	结果		参考区间	单位
1	凝血酶原时间（PT）	14.80	↑	9.80~12.10	SEC
2	凝血酶原活动度（PT%）	61.60	↓	70.00~130.00	%
3	国际标准比值（PTINR）	0.97		0.70~1.30	INR
4	纤维蛋白原定量（FIB）	1.71	↓	1.80~3.50	g/L
5	部分凝血活酶时间（APTT）	31.80		21.10~36.50	SEC
6	抗凝血酶活性测定（AT）	56.00	↓	75.00~125.00	%
7	蛋白 C 活性测定	49	↓	70.00~140.00	%
8	蛋白 S 活性测定	51	↓	63.00~135.00	%

接收者：	接收时间：××××-03-27-09∶05	审核者：	审核时间：××××-03-27-10∶00
检验者：	检验时间：××××-03-27-09∶35	检测实验室：	×× 医院检验科血液室

【问题 1】从凝血功能检查报告结果分析并结合患者的临床表现，该患者初步考虑最可能的诊断是什么？

本例患者有反映肝功能减退的实验室指标如 AT 降低，表明肝脏受损；PT 延长反映肝脏合成功能降低；也有临床表现如肝掌及蜘蛛痣，出血表现如皮肤散在瘀点、瘀斑。本例患者也有门静脉高压的临床表现如脾大，以及相应的实验室指标变化如血小板降低。结合患者的病史和症状，最可能的诊断是肝硬化。

学习笔记

知识点

肝硬化的临床诊断

临床诊断肝硬化通常依据肝功能减退和门静脉高压同时存在的证据。血小板降低是较早出现的门静脉高压信号，随着脾大、脾功能亢进的加重，红细胞及白细胞也降低。肝细胞受损、肝脏合成功能减退、胆红素代谢障碍则反映了肝功能减退。

思路 1：AT 主要由肝细胞合成，肝实质损伤可致 AT 合成减少；FIB 合成的部位也在肝脏，本例 FIB 降低，表明肝实质损伤，上述指标均反映了肝功能减退。

知识点

抗凝血酶的作用

抗凝血酶（AT）是一种由肝脏合成的单链糖蛋白，它是一种丝氨酸蛋白抑制物，能够灭活凝血酶、纤溶酶及多种凝血因子，是防止血栓形成的重要因子。

思路 2：抗凝血酶检测原理

受检血浆中加入过量凝血酶，使抗凝血酶与凝血酶形成 1∶1 复合物，剩余的凝血酶作用于发色底物，释出显色基团对硝基苯胺。显色的深浅与剩余凝血酶活性呈正相关，而与 AT 呈负相关，根据受检者吸光度从标准曲线中计算出 AT 活性。

【问题 2】临床上常用“凝血四项”（包括 PT、APTT、TT 和 FIB）来进行出血性和血栓性疾病的筛查，有必要加入抗凝血酶吗？

常规“凝血四项”是体内凝血因子水平正常与否的综合体现，仅能用于出血性疾病的筛查，对于高凝状态的患者，“凝血四项”往往是正常的，如果结合 AT 检测，一旦四项正常，而 AT 降低，这样的病人发生血栓的风险性就会加大，尤其是加上手术创伤等其他刺激因素，风险进一步加大，最终可导致血栓的发生，需要医生及早发现并预防处理。

【问题 3】本病例中患者蛋白 C 和蛋白 S 为何减低？

蛋白 C（protein C，PC）和蛋白 S（protein S，PS）是由肝细胞合成的维生素 K 依赖性蛋白质。当患者患有肝脏疾病如急性肝炎、慢性活动性肝炎、肝硬化时，蛋白 C 和蛋白 S 可减低。

知识点

蛋白 C 的作用

PC 是一种依赖维生素 K 的天然抗凝因子。在凝血酶与凝血酶调节蛋白复合物的作用下，PC 转变为活化蛋白 C（activated protein C，APC），APC 在 PS 的辅助下灭活 FⅤa 和 FⅧa，起到抗凝血作用。PC 和 PS 缺乏将导致 PC 抗凝途径障碍，产生血液高凝状态而易形成血栓。

思路 1：PC 检测：①血浆凝固法：用于测定 PC 活性。在待测血浆中加入 PC 激活剂（一种蛇毒制剂）、FⅫ活化剂、磷脂和钙离子，在活化内源凝血途径的同时也激活 PC 系统，测定血浆的凝固时间（APTT），其 APTT 比不加 PC 激活剂的 APTT 延长，而且 APTT 延长的程度与血浆 PC 活性呈正相关，由此可计算出相当于正常血浆 PC 活性的百分率；②发色底物法：用于测定 PC 活性。在待测血浆中加入 PC 激活剂，PC 活化为 APC，后者与特异的发色底物作用而发生显色反应，显色深浅与 PC 活性呈正相关；③PC 抗原测定：免疫火箭电泳法。

知识点

蛋白 C 检测的影响因素

通过血浆凝固法测定 PC 活性，可受 LA、高浓度的 FⅧ(>250%)等的影响。若存在 APC 抵抗，可出现血浆凝固时间假性缩短，将待测血浆用缺乏 PC 的基质血浆进行 1:2、1:4 等适当比例稀释后可以纠正。

思路 2：PS 检测：①游离蛋白 S(free protein S，FPS)活性：在待测血浆中加入组织因子、钙离子、磷脂和 APC，测定其血浆凝固时间(PT)，其 PT 比不加 APC 的 PT 延长，而且 PT 延长的程度与血浆中游离蛋白 S 活性呈正相关，通过标准曲线计算相当于正常血浆游离蛋白 S 活性的百分率；②游离蛋白 S 抗原(胶乳凝集比浊法)：补体 C4b 结合蛋白(C4b binding protein，C4BP)与 FPS 具有高亲和力，将吸附 C4BP 的胶乳颗粒与待测血浆混合，FPS 结合到 C4BP 胶乳颗粒上，再加入包被有抗人 PS 单克隆抗体的胶乳颗粒，两种胶乳颗粒在 FPS 的介导下发生凝集，其凝集的程度直接与血浆中 FPS 的含量呈正相关；③总蛋白 S(total protein S，TPS)抗原和 FPS 抗原(免疫火箭电泳法)：在血浆中加入一定量聚乙二醇 6000 可将 C4BP-PS 沉淀，FPS 游离于上清液中。用火箭电泳法分别测定血浆和聚乙二醇沉淀上清液中的 PS，即可求得 TPS 抗原 FPS 抗原的含量。

知识点

总蛋白 S 的概念

血浆 TPS 包括与 C4BP 结合的 PS(C4BP-PS)和 FPS。血浆中约 60% 为 C4BP-PS，40% 为 FPS，只有 FPS 辅助 APC 发挥灭活 FⅤa 和 FⅧa 功能。

(辛晓敏)

学习笔记

第六节　纤溶功能试验

临床上常见的纤溶活性的筛查试验有血浆 FDPs 和 D- 二聚体定量测定。纤溶活性不能直接检测纤溶酶的活性，但可以通过纤溶酶原、组织型纤溶酶原激活剂、纤溶酶原活化抑制剂 -1、α_2- 抗纤溶酶、纤溶酶 - 抗纤溶酶复合物(plasmin-antiplasmin complex，PAP)的血浆浓度间接反映纤溶水平。

病历摘要：

患者女，32 岁。无明显诱因出现皮肤瘀斑、阴道流血和牙龈出血 2 周，入院后诊断为急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocytic leukemia，APL)。入院时进行凝血系统的检查，结果如下：

×× 医院检验报告单

姓名：	病历号：××××××	临床诊断：APL	标本种类：3.2% 枸橼酸钠抗凝静脉血
性别：女	科别：血液科	申请医生：	标本编号：××××××
年龄：32 岁	病房：	备注：空腹采血	采集时间：××××-06-27-08：45

No.	检验项目	结果		参考区间	单位
1	凝血酶原时间(PT)	15.6	↑	9.80~12.10	SEC
2	凝血酶原活动度(PT%)	50.7	↓	70.00~130.00	%
3	国际标准比值(PTINR)	1.34	↑	0.70~1.30	INR
4	纤维蛋白原定量(FIB)	1.60	↓	1.80~3.50	g/L
5	部分凝血活酶时间(APTT)	50.70	↑	21.10~36.50	SEC
6	凝血酶时间(TT)	19.20		14.00~21.00	SEC
7	D- 二聚体定量	40.54	↑	0.00~0.55	mg/L FEU

接收者：	接收时间：××××-06-27-09：05	审核者：	审核时间：××××-06-27-10：00
检验者：	检验时间：××××-06-27-09：35	检测实验室：	×× 医院检验科血液室

【问题 1】结合临床诊断和该份报告单，分析该患者凝血系统有哪些异常？

APL 患者易并发凝血异常而出现全身广泛性出血，弥散性血管内凝血（DIC）和纤溶亢进是主要原因。该患者出现纤溶亢进，D- 二聚体明显增高，纤维蛋白原降低明显。

思路 1：纤溶系统的作用：将沉积在血管和间质内的纤维蛋白溶解而保持血管及腺体管道畅通、血管新生、防止血栓形成，或使已形成的血栓溶解，血流复通。

知识点

参与纤溶的成分

纤溶是一系列蛋白酶催化的连锁反应，参与纤溶的大多数酶类属于丝氨酸蛋白酶，这些蛋白酶具有其相应的抑制物。参与纤溶的成分有：纤溶酶原（plasminogen，PLG）、组织型纤溶酶原激活物（tissue plasminogen activator，t-PA）、尿激酶型纤溶酶原激活物（urokinase type plasminogen activator，u-PA）、纤溶酶（plasmin，PL）、纤溶酶原激活抑制物 -1（plasminogen activator inhibitor-1，PAI-1）、纤溶酶原激活抑制物 -2（plasminogen activator inhibitor-2，PAI-2）、蛋白 C 抑制物（protein C inhibitor，PCI）、α_2- 抗纤溶酶（α_2-antiplasmin，α_2-AP）、α_2- 巨球蛋白、富含组氨酸糖蛋白（histidine-rich glycoprotein，HRG）、凝血酶激活的纤溶抑制物（thrombin activable fibrinolysis inhibitor，TAFI）。

思路 2：临床上常见的纤溶活性的筛查试验有血浆 FDPs 和 D- 二聚体定量测定。

知识点

FDPs 的定义

纤维蛋白原降解产物（FgDP）和纤维蛋白降解产物（FbDP）统称为纤维蛋白（原）降解产物（FDPs）。FDPs 对血液凝固和血小板的功能均有一定的影响。FDPs 中所有的碎片均可抑制血小板的聚集和释放反应，有的碎片可阻止纤维蛋白单体的交联，有的碎片抑制凝血活酶的生成，有的碎片可延长 APTT 和凝血时间。

思路 3：常用的纤溶系统诊断试验

纤溶系统检查的诊断试验主要有：血浆纤溶酶原活性测定、血浆组织型纤溶酶原激活剂测定、血浆纤溶酶原激活抑制物 -1 活性测定、血浆 α_2- 抗纤溶酶、血浆纤溶酶 - 抗纤溶酶复合物测定。

【问题 2】如何评价 D- 二聚体的变化？

D- 二聚体是继发性纤溶亢进筛查的重要依据。继发性纤溶亢进是指由原发病引起的局部凝血或 DIC 而继发的纤溶亢进。在正常健康人体，纤溶与血液凝固存在一个动态平衡的关系。本例中纤维蛋白原显著降低，其代谢产物 D- 二聚体显著增高，表现为纤溶活性增高；同时 PT 和 APTT 延长，表明血液凝固功能下降，机体的纤溶与血液凝固动态平衡被打破，存在出血倾向。

知识点

D- 二聚体的生成

纤维蛋白原在凝血酶作用下，生成可溶性纤维蛋白单体，可溶性纤维蛋白单体可自行发生聚合，经 FXⅢa 作用下形成交联的纤维蛋白，后者在纤溶酶的作用下，可生成部分碎片和 D- 二聚体。

学习笔记

思路 1：D- 二聚体测定方法有多种，主要是基于胶乳凝集原理的定性或半定量试验以及基于 ELISA 原理的定量测定，也有一些方法采用免疫浊度原理或免疫荧光原理。①胶乳颗粒浊度免疫分析：在经过一定比例稀释的待测血浆中加入包被了 D- 二聚体单克隆抗体胶乳颗粒悬液，后者与血浆中 D- 二聚体结合后发生聚集，凝集的强度与血浆 D- 二聚体的含量呈正比。根据胶乳颗粒检测 D- 二聚体的灵敏度和待测血浆稀释度可进行血浆 D- 二聚体半定量，如果用自动凝血仪动态监测乳胶凝集的强度，结合标准曲线，可准确定量血浆 D- 二聚体含量。②胶体金免疫渗透实验：将待测血浆加在一种包被 D- 二聚体的单克隆抗体滤过膜上，D- 二聚体与单克隆抗体特异结合后滞留在膜上，再加入用胶体金标记的另一种单克隆抗体，形成抗体 - 抗原 - 金标抗体复合物紫红色沉淀，其颜色的深浅与血浆 D- 二聚体含量呈正比。③酶联免疫吸附试验：一般用双抗体夹心 ELAISA 可准确测定血浆 D- 二聚体含量。

知识点

D- 二聚体检测方法的发展

用自动凝血仪进行 D- 二聚体检测已经在临床上广为应用，其原理是胶乳颗粒浊度免疫分析。经典 ELISA 可准确测定血浆 D- 二聚体含量，但操作费时，临床较少应用。现在已经发展了数种快速的、可检测单份标本的高灵敏度检测方法，如定量全自动 ELISA 法即将免疫夹心法与免疫荧光检测结合起来，利用现成的单剂量试剂和分析仪中储存的校准系统，对单份样本进行检测。选用的方法和试剂不同，其检测结果存在差异。因此，每个实验室必须建立相应的参考区间，建议同一个医院选用同一厂家的试剂盒和方法。

思路 2：D- 二聚体和 FDPs 联合检测有利于原发性纤溶亢进的鉴别

原发性纤溶亢进时，FDPs 显著增高，常常 >40mg/L 以上，由于无血栓形成，D- 二聚体一般不增高。继发性纤溶亢进时，尤其是在 DIC 时，D- 二聚体和 FDPs 均显著升高。

思路 3：FDPs 检测方法有手工胶乳凝集试验、免疫浊度分析法和 ELISA 法。

胶乳凝集原理：在经过一定比例稀释的待测血浆中加入 FDPs 单克隆抗体包被的胶乳颗粒悬液，胶乳颗粒与 FDPs 结合后发生凝集，根据待测血浆的稀释度和胶乳颗粒检测 FDPs 的灵敏度可计算出 FDPs 的含量。

知识点

FDPs 检测方法的评价

手工胶乳凝集试验可半定量检测 FDPs，该法较为简便，适用于少量标本测定；免疫浊度分析法可通过全自动凝血分析仪准确、快速地定量测定 FDPs 的含量。

【问题 3】常用的纤溶系统诊断试验有哪些？

常用的纤溶系统诊断试验包括纤溶酶原、组织型纤溶酶原激活物、纤溶酶原激活抑制物 -1、α_2- 抗纤溶酶、纤溶酶 - 抗纤溶酶复合物（plasmin-antiplasmin complex，PAP）的血浆浓度的测定。详见表 15-6-1。

表 15-6-1　常用的纤溶系统诊断试验的检测原理

检测项目	检测原理
血浆纤溶酶原	活性测定：待检血浆中加入链激酶和发色底物，血浆纤溶酶原在链激酶作用下，转变成纤溶酶，后者作用于发色底物，释放出黄色的对硝基苯胺，在 405nm 波长下动态监测对硝基苯胺的吸光度变化率，可计算出血浆 PLG 的活性

学习笔记

续表

检测项目	检测原理
	抗原测定：用两种不同的抗纤溶酶原抗体分别作为包被和酶标抗体，通过双抗体夹心ELISA定量血浆中的PLG：Ag
组织型纤溶酶原激活物	活性测定：在血浆优球蛋白中含有t-PA，加入过量纤溶酶原和纤维蛋白共价物，t-PA可吸附于纤维蛋白上，使纤溶酶原转变为纤溶酶，纤溶酶水解发色底物并释放出黄色的对硝基苯胺，颜色的深浅与t-PA：A呈正相关，在405nm波长下测定对硝基苯胺的吸光度，可计算出血浆t-PA：Ag
	抗原测定：一般用双抗体夹心ELISA定量血浆中的t-PA：Ag
纤溶酶原激活抑制物-1	活性测定：将待测定血浆中加入过量的t-PA和纤溶酶原，t-PA与血浆中的PAI-1形成1∶1的无活性复合物；剩余的t-PA激活PLG，使其转化为纤溶酶，后者作用于发色底物并释放出黄色的对硝基苯胺，颜色的深浅与PAI-1活性呈负相关，在405nm波长下测定对硝基苯胺的吸光度，可计算出血浆PAI-1的活性
	浓度测定：将待测定血浆中加入过量的t-PA与血浆中的PAI-1形成1∶1的无活性t-PA与PAI-1复合物，然后进行聚丙烯酰胺凝胶电泳，同时与已知的PAI-1标准品比较并确定t-PA与PAI复合物的电泳位置区带，经自动凝胶电泳密度扫描仪分析，可求得待测血浆中的PAI-1的浓度
α_2-抗纤溶酶	活性测定：在待测血浆中加入过量的纤溶酶，使其与α_2-AP形成无活性复合物，剩余的PL作用于发色底物释放出黄色的对硝基苯胺，颜色的深浅与α_2-AP活性呈负相关，在405mm波长下监测对硝基苯胺的吸光度变化率，可计算出血浆α_2-AP的活性
	抗原测定：常用双抗体夹心ELISA定量血浆α_2-AP抗原，也可以通过凝胶电泳或免疫比浊法测定
纤溶酶-抗纤溶酶复合物	将待测血浆加入包被纤溶酶原抗体的微孔板中，血浆中的纤溶酶原和PAP被包被抗体捕捉到微孔板固相载体上，加入过氧化物酶标记的α_2-抗纤溶酶的抗体与固相载体上结合的PAP反应，加底物显色，颜色的深浅与血浆中的PAP含量呈正相关

（辛晓敏）

学习笔记

第十六章 临床微生物与寄生虫学检验

临床微生物学综合了临床医学、病原生物学、免疫学、临床抗生素学和医院流行病学等几方面的知识和技能，对感染性疾病进行快速、准确的诊断，密切结合临床提出及时有效的治疗方案，防止微生物产生耐药性和医院内感染的发生。临床微生物检验的主要任务是为临床提供准确可靠的病原学诊断，保证实验结果的及时性，与临床保持密切联系，对于疾病的早期诊疗、控制院内感染、防止耐药菌的传播等具有重要意义。

人体寄生虫学是研究与人体健康有关的寄生虫的形态、生活史、致病、实验诊断方法、流行因素与防治措施的科学，是预防医学和临床医学的一门基础学科。认识寄生虫病的发生与流行，掌握寄生虫检验相关技术，及早作出准确诊断，是降低寄生虫病危害的关键。

第一节 常见细菌感染的检验

细菌检验在临床微生物学检验中占有较大比重，临床分离常见的革兰阳性细菌为金黄色葡萄球菌、凝固酶阴性葡萄球菌、肠球菌、链球菌等，分离率较高的革兰阴性细菌包括大肠埃希菌、肺炎克雷白菌、鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、嗜麦芽窄食单胞菌等。临床检验工作者应熟练掌握常见细菌的生物学特性及临床意义、各类细菌的检验流程、抗菌药物敏感性试验的方法及操作、药敏结果的报告和解释等，灵活运用专业知识，积极参与临床病例讨论。

学习笔记

一、葡萄球菌属

病历摘要1：

患者男，48岁。××××年4月3日因腰痛伴右下肢麻木、疼痛3月余入院，临床诊断为腰椎间盘突出合并腰椎管狭窄症。4月8日全麻下行腰椎后路减压植骨内固定术。患者术后第5天出现发热，腰背部伤口局部压痛，引流管口引出暗红色黏稠液体。送伤口分泌物标本做细菌培养及药敏试验，分离出耐甲氧西林金黄色葡萄球菌。

【问题1】葡萄球菌的分离培养与鉴定流程是什么？

知识点

葡萄球菌属的分类

葡萄球菌属（staphylococcus）细菌广泛分布于自然界，多存在于环境中以及人与动物的皮肤黏膜上，可致多种化脓性感染，还可引起烫伤样皮肤综合征和毒性休克综合征等疾病。临床上常以是否产生凝固酶将葡萄球菌分为凝固酶阳性和凝固酶阴性葡萄球菌（coagulase negative staphylococcus，CONS）。

葡萄球菌属
- 凝固酶阳性大多为：金黄色葡萄球菌
- 凝固酶阴性常见：表皮葡萄球菌、溶血葡萄球菌、人葡萄球菌、中间葡萄球菌、腐生葡萄球菌、猪葡萄球菌、沃氏葡萄球菌、施氏葡萄球菌、里昂葡萄球菌等

思路 1：葡萄球菌的镜下形态与菌落性状鉴别要点（图 16-1-1）

葡萄球菌是临床上常见的细菌，经涂片革兰染色，镜检可见呈单个、成双、短链（液体培养基或脓汁中）或成簇排列呈葡萄串样（固体培养基），无鞭毛和芽胞，某些菌株能形成荚膜。

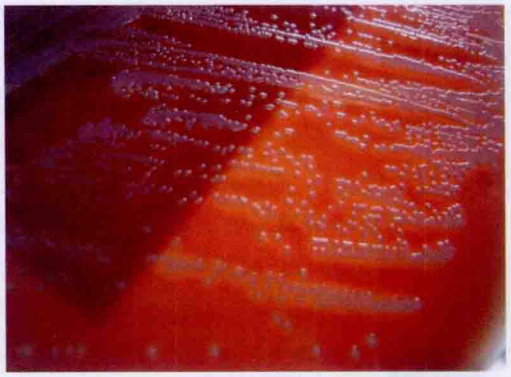


图 16-1-1　金黄色葡萄球菌在血平板上生长菌落形态

思路 2：葡萄球菌的培养特性

葡萄球菌属中大多为需氧或兼性厌氧菌，对营养要求不高，最适温度为 35~37℃，最适 pH 为 7.4~7.6。在普通琼脂平板上，经 35℃培养 24~48 小时后，形成 2~3mm 橙黄色、白色、柠檬色等不透明圆形凸起菌落，所产色素为脂溶性色素。该菌属细菌耐盐性较强，在含 10%~15% 的氯化钠培养基中能生长，故可用高盐培养基分离葡萄球菌。在血琼脂平板上形成的菌落较大，多数致病性葡萄球菌能产生溶血素，使菌落周围红细胞溶解而形成透明溶血环。

思路 3：葡萄球菌的主要鉴别试验及思路（图 16-1-2、图 16-1-3）

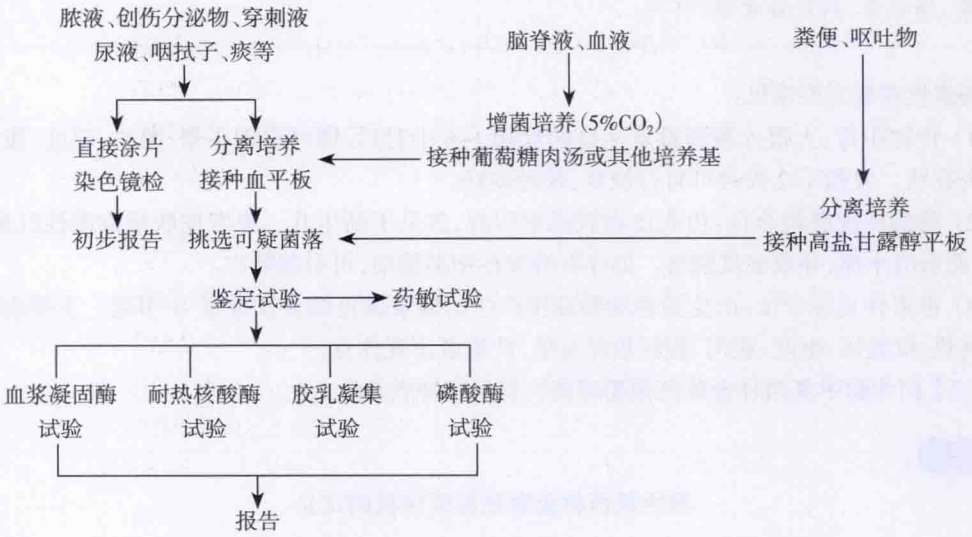


图 16-1-2　葡萄球菌属检验程序

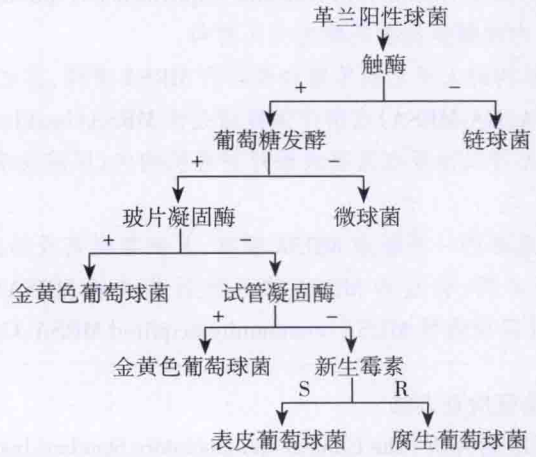


图 16-1-3　葡萄球菌生化鉴定思路

学习笔记

葡萄球菌触酶试验阳性，大多数葡萄球菌能分解葡萄糖、麦芽糖及蔗糖，一部分菌种能分解乳糖和甘露醇，产酸不产气。葡萄球菌不产生吲哚，甲基红试验、V-P 试验一般为阳性，能分解尿素。

思路 4：葡萄球菌属与其他常见革兰阳性球菌的鉴别要点

(1) 葡萄球菌属与微球菌属的鉴别：葡萄球菌属葡萄糖 O/F 试验为发酵型，镜下以葡萄状排列为主，菌体较小；而微球菌属为氧化型或无反应，镜下以四联或八联排列为主，并且菌体较大。

(2) 葡萄球菌属与链球菌属的鉴别：葡萄球菌属葡萄糖 O/F 试验为发酵型，触酶试验阳性；链球菌属葡萄糖 O/F 试验为氧化型，触酶试验阴性。

【问题 2】金黄色葡萄球菌属的临床意义有哪些？感染可引起哪些常见疾病？

知识点

金黄色葡萄球菌的临床意义

金黄色葡萄球菌是革兰阳性球菌中分离率较高的致病菌之一，可引起社区和医院获得性感染。感染常以急性、化脓性为特征，如果未经治疗，感染可扩散至周围或经菌血症转移至其他器官。常见的感染有疖、痈、外科切口、创伤等局部化脓性感染和骨髓炎、化脓性关节炎、肺炎、心内膜炎、脑膜炎等全身性感染。金黄色葡萄球菌的致病性主要与各种侵袭性酶类(如血浆凝固酶、透明质酸酶、磷脂酶、耐热核酸酶等)和多种毒素(溶血毒素、杀白细胞素、肠毒素、剥脱毒素等)有关。

毒素性疾病主要常见：

(1) 食物中毒：人摄入被肠毒素污染的食物 1~6 小时后，即可出现头晕、恶心、呕吐、腹泻等胃肠炎症状。发病 1~2 天后可自行恢复，预后良好。

(2) 烫伤样皮肤综合征：由表皮剥脱毒素引起，多见于新生儿。患者皮肤呈弥漫性红斑，起皱，继而形成水疱，导致表皮脱落。如伴有继发性细菌感染，可引起死亡。

(3) 毒素休克综合征：由金黄色葡萄球菌产生的毒素休克综合征毒素 -1 引起。主要临床表现为高热、低血压、呕吐、腹泻、猩红热样皮疹，严重者出现休克。

【问题 3】何为耐甲氧西林金黄色葡萄球菌？其耐药特点是什么？

知识点

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的定义

对异恶唑青霉素如甲氧西林、苯唑西林和氟氯西林耐药的金黄色葡萄球菌株，称之为耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant staphylococcus aureus，MRSA)，MRSA 对目前已经批准的所有 β- 内酰胺类抗菌药物有交叉耐药。

在接触医疗护理机构的人员之间传播和循环的 MRSA 菌株，称之为医院获得性 MRSA(hospital-acquired MRSA，HA-MRSA)或医疗保健相关性 MRSA(healthcare-associated MRSA，HA-MRSA)。HA-MRSA 可以出现在医院或医疗护理机构内(医院发病)或出院后发生在社区内(社区发病)。

分离自社区感染患者的一种新型 MRSA 菌株，其细菌耐药及临床特点等与以往医院获得性 MRSA 有明显不同，将这种 MRSA 称为社区相关性 MRSA(community-associated MRSA，CA-MRSA)或社区获得性 MRSA(community-acquired MRSA，CA-MRSA)。

思路 1：MRSA 的实验室检查方法

美国临床与实验室标准研究所(The Clinical and laboratory Standard Institute，CLSI)推荐，可使用头孢西丁纸片扩散法和肉汤微量稀释法、含 6μg/ml 苯唑西林的纸片法、PBP2a 乳胶凝集试验来检

学习笔记

测 MRSA。近年来，自动化药敏检测、产色培养基及分子生物学方法检测 *mec A* 基因也得到应用。

思路 2：MRSA 的耐药机制

MRSA 常表现为多重耐药，耐药机制复杂，包括染色体介导的固有耐药、质粒转移的获得性耐药、主动外排泵的作用等，主要通过以药物作用靶位的改变、药物灭活酶的产生、细胞壁通透性改变和主动外排泵的作用等导致耐药。

思路 3：1997 年日本报道了第一例对耐万古霉素敏感性下降的金黄色葡萄球菌，研究学者一般将耐万古霉素的金黄色葡萄球菌分为 3 种：万古霉素耐药金葡菌（vancomycin resistant staphylococcus aureus，VRSA）、万古霉素中度耐药金葡菌（vancomycin-intermediate staphylococcus aureus，VISA）和万古霉素异源性耐药金葡菌（heterogeneous vancomycin resistant staphylococcus aureus，hVRSA）。琼脂稀释法和肉汤稀释法为 CLSI 推荐的检测 VRSA 的参考方法。

【问题 4】葡萄球菌药敏结果报告及注意事项。

如药敏试验筛选出甲氧西林耐药的葡萄球菌，则报告该菌株耐所有青霉素、头孢菌素、碳青霉烯类和 β- 内酰胺类 /β- 内酰胺酶抑制剂类抗生素，同时对氨基糖苷类、大环内酯类和四环素类抗生素也耐药。

【问题 5】上述病例患者术后伤口引流物培养出金黄色葡萄球菌，哪些细菌也可引起皮肤及软组织感染？

思路 1：皮肤及软组织感染（skin and soft tissue infection，SSTI）包括毛囊炎、疖、痈、淋巴管炎、急性蜂窝织炎、烧伤创面感染、手术后切口感染及压疮感染等。常见引起 SSTI 的病原菌有葡萄球菌、链球菌、肠球菌、铜绿假单胞菌、不动杆菌及大肠埃希菌等。毛囊炎、疖、痈及创面感染的最常见病原菌为金黄色葡萄球菌，淋巴管炎及急性蜂窝织炎主要由化脓性链球菌引起，压疮感染常为需氧菌与厌氧菌的混合感染。

思路 2：化脓及创伤标本的细菌培养检验程序（图 16-1-4）

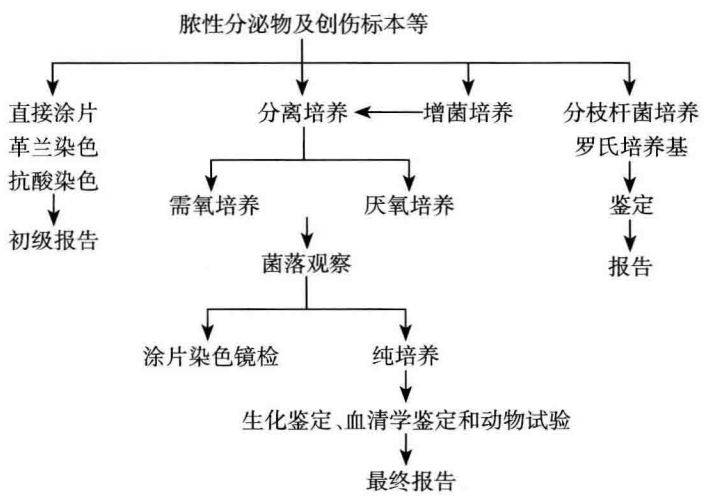


图 16-1-4　化脓和创伤标本培养的检验程序

病历摘要 2：

患者男，72 岁。×××× 年 4 月 9 日因车祸致头外伤、意识不清 5 小时余入院。头部 CT 提示：右侧颧骨、右眶外侧壁及右侧颞骨骨折，少量蛛网膜下腔出血，蝶窦及右侧上颌窦积液，颅内积气。初步诊断为急性重型开放性颅脑损伤。4 月 12 日送检脑脊液培养出表皮葡萄球菌。4 月 13 日行腰穿取脑脊液检查显示：乳酸脱氢酶升高，高敏 CRP 升高；同时送检脑脊液培养，重复分离表皮葡萄球菌。两次均分离出耐甲氧西林的表皮葡萄球菌，且药敏表型一致，分离株克林霉素诱导试验阳性。

学习笔记

【问题1】凝固酶阴性葡萄球菌的临床意义及其生物学特性是什么？

思路1：凝固酶阴性葡萄球菌的临床意义

知识点

凝固酶阴性葡萄球菌的临床意义

凝固酶阴性葡萄球菌（coagulase negative staphylococcus，CNS）是人体皮肤黏膜正常菌群之一，也是医院感染的主要病原菌。表皮葡萄球菌可引起人工瓣膜性心内膜炎、静脉导管感染、腹膜透析性腹膜炎和人工关节感染等；腐生葡萄球菌则是女性尿路感染的致病菌；其他凝固酶阴性葡萄球菌如溶血葡萄球菌、人葡萄球菌等也是临床常见的条件致病菌。由CNS引起的感染逐年增加，免疫力低下患者更易发生感染。

思路2：凝固酶阴性葡萄球菌的菌落性状比较（表16-1-1）

血琼脂平板孵育24小时后，菌落直径1~3mm，培养物继续置室温生长，48小时后不同种凝固酶阴性葡萄球菌菌落性状，见表16-1-1。

表16-1-1　四种凝固酶阴性葡萄球菌菌落性状比较

菌种	菌落直径	形态	产色素
表皮葡萄球菌	5~6mm	扁平	无色素或白色色素
溶血葡萄球菌	5~9mm	光滑奶酪状	无色素或奶油色、黄色色素
里昂葡萄球菌	4~7mm	边缘整齐、稍扁	奶色、黄色色素
腐生葡萄球菌	5~8mm	边缘整齐、光滑	白色、柠檬样色素

思路3：葡萄球菌属是以是否产生凝固酶划分的，凝固酶试验原理及方法是什么？微生物检验中常提及的几个“酶”学试验（表16-1-2），如何应用于菌属间的鉴定？

知识点

凝固酶试验原理

葡萄球菌产生的凝固酶有两种：一种是与细胞壁结合的结合凝固酶，亦称聚集因子，它直接作用于血浆纤维蛋白原而使葡萄球菌凝聚成块，玻片法的阳性结果与此酶有关；另一种是由菌体生成后释放于培养基中的游离凝固酶，能使凝血酶原变成凝血酶类物质，从而使血浆凝固，试管法的阳性结果与其有关。

表16-1-2　细菌检验中常提及的酶学试验

酶学试验		常用检测方法	用途
凝固酶试验	玻片法	取新鲜兔血浆及盐水各1滴，分别置于洁净玻片上；挑取菌落分别与血浆及盐水混合，如血浆中有明显颗粒出现、而盐水中无自凝现象者为阳性	鉴别葡萄球菌：金黄色葡萄球菌凝固酶试验阳性，其他葡萄球菌凝固酶试验阴性
	试管法	挑取试验菌落数个，混悬于0.5ml经生理盐水1∶4稀释的血浆中，充分研磨混匀，置35℃ ±1℃水浴3~4小时取出，血浆凝固者为阳性	
触酶试验		挑取单个菌落，置于洁净玻片上，滴加3%过氧化氢1滴，立即观察结果；半分钟内有大量气泡产生者为阳性，不产生气泡者为阴性	适用于革兰阳性球菌的初步分类：链球菌触酶试验阴性，葡萄球菌及微球菌为阳性

学习笔记

续表

酶学试验	常用检测方法	用途
β - 内酰胺酶试验	β - 内酰胺酶纸片用无菌生理盐水浸湿，取待测菌落置于玻片上，10 分钟内观察纸片颜色；阳性为淡红色至紫黑色，阴性为无色	①青霉素 MICs 值 <0.12μg/ml 或抑菌圈直径≥29mm 金黄色葡萄球菌和路登葡萄球菌，阳性表明菌株对青霉素类、氨基糖苷类、羧基青霉素类和脲基青霉素耐药 ②血液和脑脊液标本中分离到的肠球菌，阳性表明菌株对青霉素类、氨基糖苷类、羧基青霉素类和脲基青霉素耐药 ③嗜血杆菌属细菌，阳性表明菌株对氨苄西林和阿莫西林耐药 ④淋病奈瑟菌，阳性表明菌株对青霉素、氨苄西林和阿莫西林耐药
氧化酶试验	沾取少许试验菌落置于氧化酶纸片上，于 5~10 秒观察颜色变化；立即由粉红色变为紫红色者为阳性	用于奈瑟菌属、非发酵菌的鉴定，两者氧化酶试验阳性

【问题 2】凝固酶阴性葡萄球菌的鉴定思路与特殊药敏结果报告。

思路 1：凝固酶阴性葡萄球菌与其他阳性球菌的鉴别方法

对于凝固酶阴性葡萄球菌，可先用呋喃唑酮纸片（100μg/ 片），杆菌肽纸片（0.04μ/ 片）做药敏试验和氧化酶试验，以此与微球菌属细菌鉴别，微球菌对杆菌肽敏感而对呋喃唑酮耐药、氧化酶试验阳性，与葡萄球菌属正好相反。

思路 2：耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌的检测方法与药敏结果报告

该患者血培养分离出耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌（methicillin-resistant coagulase negative staphylococcus，MRCNS）。CLSI 推荐的 MRCNS 检测方法为头孢西丁纸片扩散法，对头孢西丁耐药的菌株判定为 MRCNS，对头孢西丁敏感的菌株判定为甲氧西林敏感凝固酶阴性葡萄球菌（methicillin-sensitive coagulase negative staphylococcus，MSCNS）。对于 MRCNS 菌株，则报告该菌株耐所有青霉素、头孢菌素、碳青霉烯类和 β- 内酰胺类 /β- 内酰胺抑制剂类抗生素耐药，对氨基糖苷类、大环内酯类和四环素类抗生素也耐药。

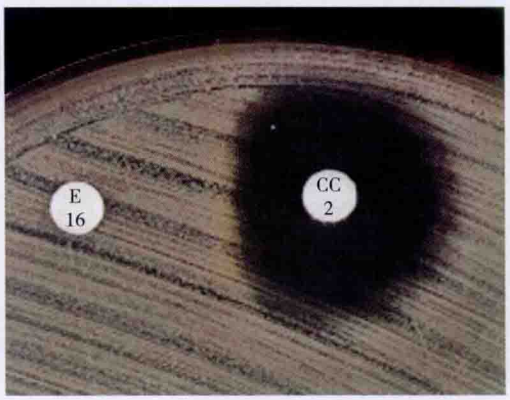


图 16-1-5　克林霉素诱导试验阳性

思路 3：检验报告中提及该菌株为“克林霉素诱导试验”阳性（图 16-1-5），其临床意义及筛选试验方法是什么？

诱导克林霉素耐药的检测采用 CLSI 推荐的 D- 试验，在涂布有待测菌的 MH 培养基上贴红霉素（15μg/ 片）与克林霉素（2μg/ 片）纸片，间距 15~26mm，35℃孵育 16~18 小时，如克林霉素纸片在与红霉素纸片相邻侧抑菌圈边缘出现“截平”现象即为 D- 试验阳性，提示存在可诱导的克林霉素耐药。红霉素耐药和克林霉素敏感或中介的 CNS，D- 试验阳性菌株应报告“克林霉素耐药”。

【问题 3】血液及骨髓标本检验流程是什么？

思路 1：血液及骨髓标本检验流程（图 16-1-6）

学习笔记

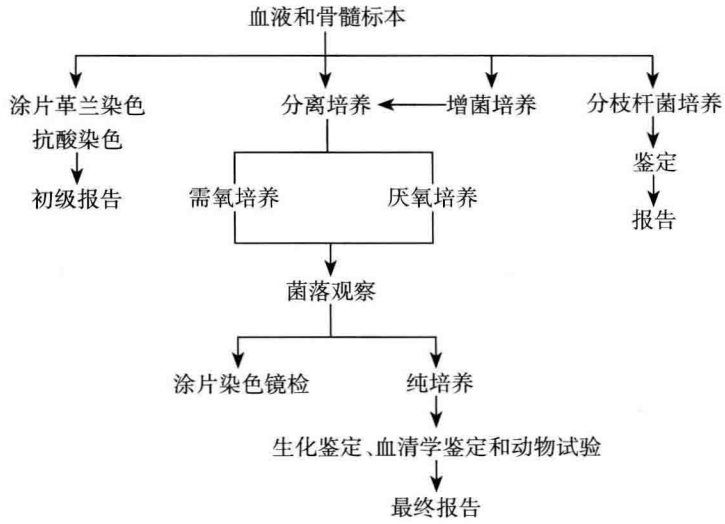


图 16-1-6　血液及骨髓标本检验流程

思路 2：血培养采集指征

知识点

血培养采集指征

当患者出现：发热（体温≥38℃）或低温（≤36℃），寒战，白细胞增多（计数 $>10.0\times10^9$/L，特别有“核左移”时），皮肤黏膜出血，休克，多器官衰竭，血压降低，C- 反应蛋白升高及呼吸加快，血液病患者出现粒细胞减少、血小板减少等。具备上述一种或几种体征时，若临床怀疑菌血症应采集血液标本进行血液培养。对入院危重感染患者应在未进行抗菌药物治疗之前，及时做血培养。

【问题 4】血液及骨髓感染的常见病原菌有哪些？（表 16-1-3）

表 16-1-3　血液及骨髓感染的常见病原菌

疾病	常见病原菌
皮肤软组织感染、痈、疖肿挤压后血液感染	金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌
大面积烧伤后血液感染	铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、A 群链球菌、肠杆菌科细菌、不动杆菌属、真菌
留置导尿、尿路手术后血液感染	肠球菌属、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌
创伤后血液感染	炭疽芽胞杆菌、产气荚膜梭菌
急性心内膜炎	金黄色葡萄球菌
亚急性心内膜炎	草绿色链球菌、肠球菌、流感嗜血杆菌
化脓性骨髓炎	金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌、肺炎链球菌、铜绿假单胞菌
特殊病原菌引起的血液感染	伤寒沙门菌、副伤寒沙门菌、钩端螺旋体、布鲁菌、鼠疫耶尔森菌
气管切开、呼吸器、慢性肺部感染后血流感染	肠杆菌科细菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌
吸入性肺炎后血流感染	口腔厌氧菌、肠杆菌科细菌
妇科手术后、流产、分娩后血液感染	脆弱拟杆菌、B 群链球菌、肠球菌、大肠埃希菌
胆道、肠道手术后血液感染	肠杆菌科细菌、肠球菌属、脆弱拟杆菌
留置静脉补液导管、人工装置	肠杆菌科细菌、葡萄球菌属、铜绿假单胞菌、酵母菌

学习笔记

二、肠球菌属

病历摘要：

患者女，58岁。于××××年4月6日行右输尿管镜碎石术，后间断发热2周入院。查体：体温38.6℃，右肾区有轻度压痛及叩击痛，双输尿管走行区未及压痛点，B超显示右肾区囊性液区。尿培养重复送检分离出粪肠球菌。4月10日行右肾积液穿刺引流，液体量约160ml，送检分离出粪肠球菌。

【问题1】肠球菌属的微生物学特性及鉴定流程是什么？

思路1：肠球菌的形态特点及培养特性（图16-1-7）

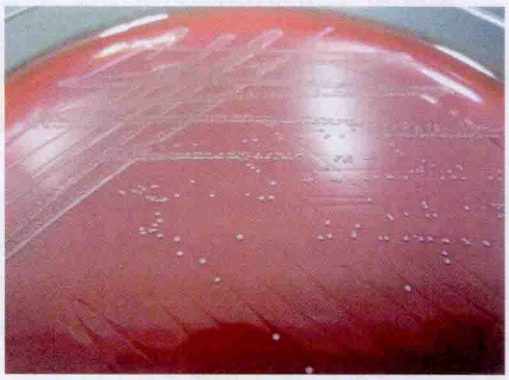


图16-1-7　粪肠球菌在血平板上生长的菌落形态

肠球菌为革兰阳性球菌，呈单个、成对或短链状排列，琼脂平板上生长的细菌呈球杆状，液体培养基中呈卵圆形、链状排列。无芽胞和荚膜，个别菌种有稀疏鞭毛。

兼性厌氧菌，最适生长温度35℃，大多数菌株在10℃和45℃均能生长。所有菌株在含6.5% NaCl肉汤中能生长，在40%胆汁培养基中能分解七叶苷，多数菌种具有吡咯烷酮芳基酰胺酶，能水解吡咯烷酮-β-萘基酰胺（PYR），不含细胞色素氧化酶和触酶，但某些菌株触酶可出现阳性。当粪肠球菌培养于含血的培养基中，可合成细胞色素或触酶或两者皆有。Lancefield血清学鉴定为D群。

思路2：肠球菌的分离培养及鉴定流程（图16-1-8）

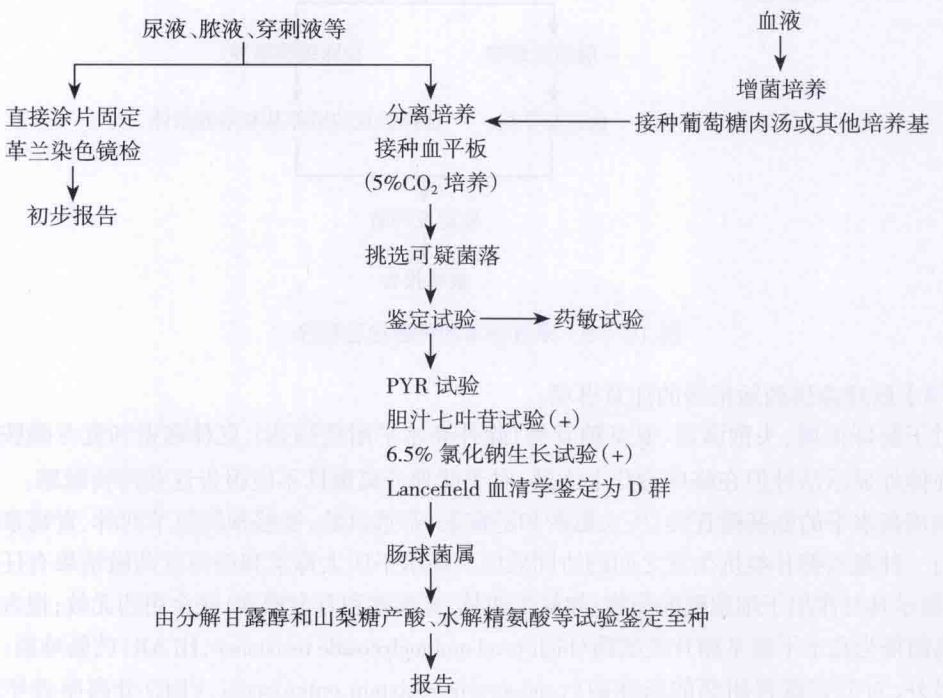


图16-1-8　肠球菌属检验程序

学习笔记

思路 3：肠球菌属与其他常见革兰阳性球菌的鉴别要点

(1) 肠球菌与乳球菌的鉴别：乳球菌 45℃不生长，麦康凯平板不生长，Lancefield 血清抗原为 N 抗原；

(2) 肠球菌与胆汁 - 七叶苷阳性 D 群链球菌（牛链球菌）鉴别：肠球菌在 NaCl 肉汤中生长，10℃生长，D 群链球菌则相反；D 群链球菌对青霉素敏感，肠球菌则耐药；

(3) 肠球菌与无色藻菌、片球菌鉴别：肠球菌发酵葡萄糖产酸不产气，PYR 阳性；无色藻菌发酵葡萄糖产酸产气，PYR 阴性，精氨酸阴性；片球菌发酵葡萄糖产酸不产气，PYR 阴性，精氨酸阳性；无色藻菌和片球菌对万古霉素耐药。

【问题 2】肠球菌所致感染最多见于尿路感染，还可分离自哪些部位？

肠球菌广泛分布在各种环境，从土壤、食品、水、动物和植物中均可分离到，是人类胃肠道和女性泌尿生殖道正常菌群。肠球菌多引起免疫力低下宿主的机会感染，是医院感染的重要病原菌，可引起泌尿道、血液、伤口、心内膜炎、腹腔和胆道等多部位感染。

临床分离最为常见的为粪肠球菌和屎肠球菌，多见于尿路感染，与尿路器械操作、留置导管、尿路生理结构异常有关。

【问题 3】尿液标本分离的常见病原菌有哪些？尿液标本的检验流程是什么？

思路 1：引起泌尿系统感染的常见病原菌有大肠埃希菌、肠球菌、金黄色葡萄球菌、腐生葡萄球菌、表皮葡萄球菌、A 群链球菌、淋病奈瑟菌、变形杆菌、肺炎克雷白菌、普罗威登菌、沙雷菌、摩根菌、沙门菌、铜绿假单胞菌、不动杆菌、阴道加德纳菌、念珠菌、结核分枝杆菌、沙眼衣原体、解脲脲原体和生殖道支原体等。

思路 2：尿液标本的细菌检验流程（图 16-1-9）

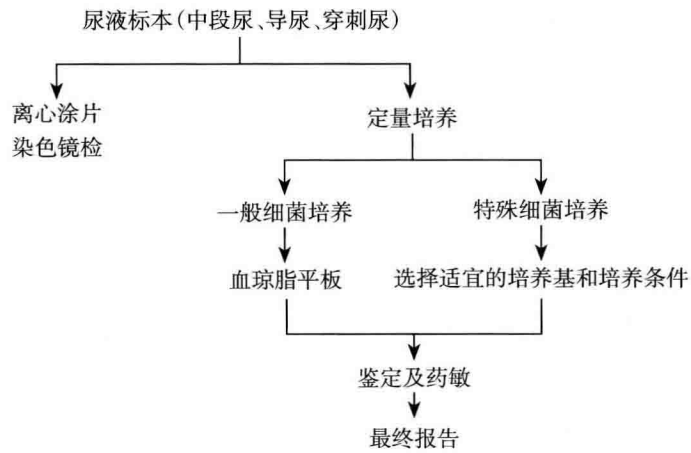


图 16-1-9　尿液标本的细菌检验程序

【问题 4】肠球菌属药敏报告的注意事项。

对于肠球菌属，头孢菌素、氨基糖苷类（除外高水平耐药筛选）、克林霉素和复方磺胺甲噁唑可以在体外显示活性但在临床治疗上无效，对于此种分离菌株不应报告这些药物敏感。

应用高水平的氨基糖苷类（庆大霉素和链霉素）筛选试验，能够预测氨苄西林、青霉素或万古霉素与一种氨基糖苷类抗生素之间的协同效应。高水平庆大霉素和链霉素药敏结果有任一为耐药，则提示其与作用于细胞壁的药物（如氨苄西林、青霉素和万古霉素）联合用药无效；报告中提示该分离菌株为高水平氨基糖苷类耐药（high-level aminoglycoside resistance，HLAR）的肠球菌。

另外，对万古霉素耐药的肠球菌（vancomycin-resistent enterococci，VRE）分离率近年来呈逐渐上升趋势，根据 VRE 对万古霉素和替考拉宁的耐药水平及耐药基因簇的差异，可将其分为 *vanA*、*vanB*、*vanC*、*vanD*、*vanE*、*vanG* 等 6 种基因型。鹑鸡肠球菌和铅黄肠球菌对万古霉素天然耐

学习笔记

药，在药敏报告时应注意。

三、链球菌属

知识点

链球菌属的分类

链球菌属（streptococcus）种类繁多，分布广，是人和某些动物的寄生菌。其中某些菌种为毒力强的致病菌，另一些则是作为正常菌群栖居于宿主的呼吸道、消化道、泌尿生殖道或皮肤及黏膜。

链球菌的分类通常有以下两种：

（1）根据链球菌在血平板上的溶血现象分类

①甲型溶血性链球菌：菌落周围有1~2mm宽的草绿色溶血环，称甲型溶血或α-溶血，该类菌又称草绿色链球菌，为条件致病菌，包括血链球菌、格氏链球菌、口腔链球菌、中间型连球菌等；②乙型溶血性链球菌：菌落周围有2~4mm宽的透明溶血环，称乙型溶血或β-溶血，该类菌又称溶血性链球菌，致病性强；③丙型链球菌：菌落周围无溶血环，又称不溶血性链球菌，一般不致病。

（2）根据抗原结构分类：按链球菌细胞壁中多糖抗原不同，可分成A、B、C、D等20余个群。同群链球菌间，因表面蛋白质抗原不同又分为若干型。临床常分离出的致病菌：如A群的化脓链球菌，B群的无乳链球菌，C、G群β溶血性链球菌等。

临床常见链球菌包括化脓性链球菌、无乳链球菌、肺炎链球菌、草绿色链球菌等，不同菌种的临床意义如下（表16-1-4）：

表16-1-4　常见链球菌临床意义比较

菌种	临床意义
化脓性链球菌	致病力最强的一种链球菌 可引起急性咽炎、呼吸道感染、丹毒、脓疱病、软组织感染、心内膜炎和脑膜炎等，产毒株可引起猩红热 可致感染后的变态反应性疾病，如急性肾小球肾炎、风湿热等
无乳链球菌	定居于妇女生殖道，可导致新生儿感染 早发型新生儿感染多见于肺炎，晚发型新生儿感染多见于脑膜炎和菌血症
肺炎链球菌	可引起肺炎、支气管炎、中耳炎、乳突炎、鼻窦炎、脑膜炎和败血症等
草绿色链球菌	是人体口腔、消化道、女性生殖道的正常菌群 可引起瓣膜异常患者的亚急性细菌性心内膜炎

病历摘要1：

患者男，65岁。鼻咽癌术后6个月，因鼻咽部异味1周、腹泻、咳嗽、发热再次入院。面部颈部皮肤可见片状红斑，鼻窦部有脓性分泌物，口腔上颚可见直径2cm破溃，上有脓苔。血培养分离出化脓链球菌，鼻窦部分泌物连续送检三次均培养出无乳链球菌。

【问题1】链球菌属的形态及培养特性是什么？常见的几种链球菌菌落形态如何区分？

思路1：链球菌镜下形态及菌落性状特点（图16-1-10）

链球菌是直径小于2μm的球形或卵圆形革兰阳性球菌，呈链状排列，链的长短与细菌的种类及生长环境有关。成双排列、无芽胞、无动力，但能形成荚膜和黏液层。肺炎链球菌

学习笔记

呈矛尖状，宽端相对尖端向外。

链球菌对营养要求较高，须在培养基中加入血液、血清。最适生长温度 35~37℃，pH 7.4~7.6，血平板上形成灰白色，透明或半透明，表面光滑的小菌落，环绕菌落形成 α、β、γ 三种特征性溶血现象，液体培养基中表型为絮状和颗粒沉淀。兼性厌氧菌，肺炎链球菌和草绿色链球菌某些菌种需要 CO_2 促进其生长。

图 16-1-10　无乳链球菌在血平板上生长菌落形态

发酵葡萄糖和多种糖，不产气，乳酸为代谢终末产物，触酶阴性。抗原结构复杂，主要有多糖抗原和蛋白抗原，前者位于细胞壁，以此可将链球菌分类为 A、B、C、D、E、F、G 等 13 群，后者主要有 M 蛋白、F 蛋白和 G 蛋白等。

思路 2：链球菌溶血观察注意事项

(1) 培养基血液成分的选择：链球菌的溶血类型必须在添加绵羊血的琼脂平板上才能正确显现。兔血会使 α 溶血不明显，只适应嗜血杆菌和脑膜炎奈瑟菌的培养鉴定。某些在羊血琼脂平板上呈 α 或 γ 溶血的肠球菌和 D 群链球菌会在马血琼脂平板上呈 β 溶血，造成错误判断。

(2) 链球菌的溶血观察主要看是否产生 β 溶血，而 α 和 γ 溶血受培养条件影响较大。培养基的组成、血液的种类、培养环境都能影响 α 溶血，在无氧环境中链球菌无法形成过氧化氢，原先的 α 溶血菌株会表现为不溶血。

(3) 链球菌溶血酶在少氧环境下活性更高，因此在血琼脂平板上进行穿刺接种培养，溶血结果比划线接种更清晰。

【问题 2】链球菌属的检验程序是什么？

思路 1：链球菌属的检验流程（图 16-1-11）

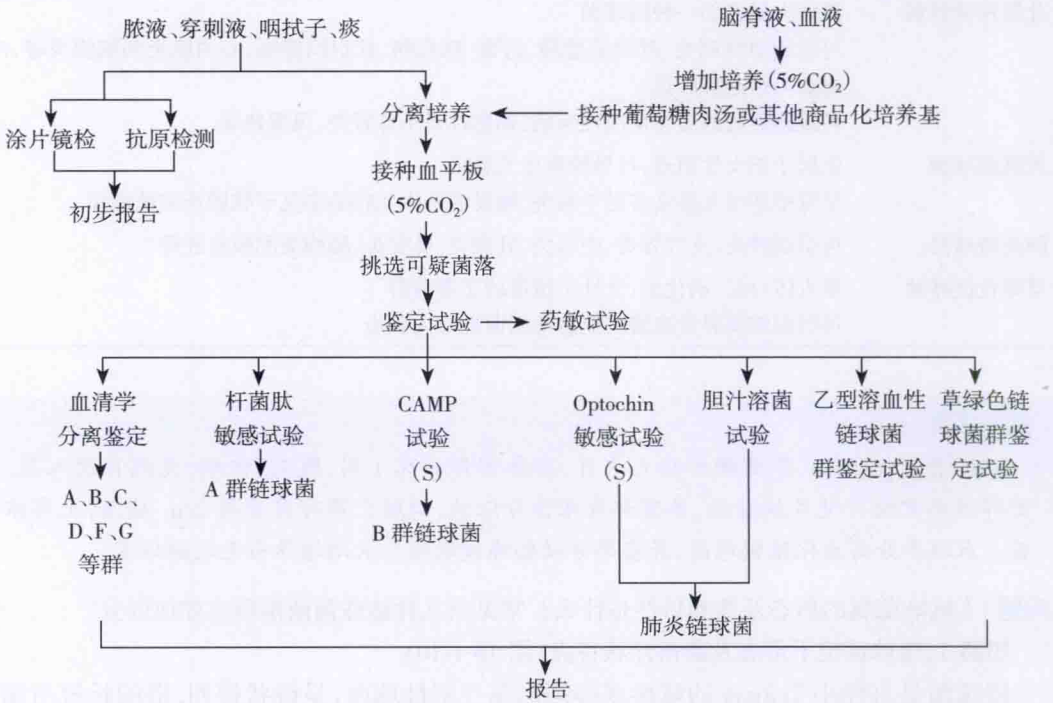


图 16-1-11　链球菌属检验流程图

学习笔记

思路 2：β 溶血链球菌的常用鉴定试验及方法

(1) PYR 试验：化脓性链球菌产生的吡咯烷酮芳基酰胺酶水解吡咯烷酮 β- 萘基酰胺，加入 N,N- 二甲基肉桂醛试剂后产生桃红色。

(2) 杆菌肽敏感试验：0.04U 杆菌肽药敏纸片贴在涂布有待测菌的羊血琼脂平板上，35℃孵育过夜后，观察抑菌环以判断是否为敏感。化脓性链球菌为阳性，可作为筛选试验。

(3) VP 试验：挑取平板上孵育过夜菌落置于 2ml VP 肉汤中，孵育 6 小时后加入 VP 试剂，摇匀 30 秒，出现桃红色者为阳性，该试验可鉴别 A、C、G 群 β 溶血的大、小两种不同菌落。

(4) CAMP 试验：无乳链球菌能产生 CAMP 因子，可促进金黄色葡萄球菌溶血能力，使其产生显著的协同溶血作用。试验先将金黄色葡萄球菌 (ATCC25923)，沿直径划线接种，再沿该线垂直方向接种无乳链球菌，两线间隔约 3~4mm。35℃孵育过夜，两条划线交界处可出现箭头状溶血，即为阳性反应 (图 16-1-12)。该方法可作为无乳链球菌的初步鉴定试验。

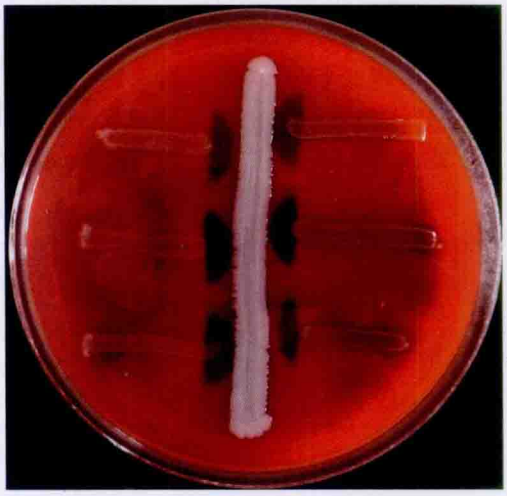


图 16-1-12　无乳链球菌 CAMP 试验阳性

【问题 3】β 溶血性链球菌药敏报告注意事项。

青霉素和氨苄西林可用于治疗 β 溶血性链球菌感染的选择用药，在 β 溶血性链球菌中非敏感株极其罕见，因此 CLSI 提示以上两种药物不需要进行常规敏感性试验。

化脓链球菌和 β 溶血链球菌无论从何种临床标本中分离均应及时报告临床。C、G 群大菌落的 β 溶血性链球菌是咽喉炎病原体，而咽峡炎链球菌尽管是正常菌群之一，但只要是在脓肿或伤口中分离的都应视为致病菌。

病历摘要 2：

患儿男，1 岁。主因间歇发热 24 天，伴咳嗽 3 天入院。体征检查：双肺呼吸音粗，可闻及少许痰鸣；结合胸片诊断为肺炎。入院血常规检查：WBC 6.7×10^9/L，N 46.6%，L 37.3%。第 2 日送检咽拭子培养，分离出肺炎链球菌。予阿奇霉素治疗，体温平稳，临床症状缓和。

【问题 1】肺炎链球菌的菌落形态特点及关键鉴别试验是什么？

思路 1：肺炎链球菌的镜下形态及菌落性状特点 (图 16-1-13)

肺炎链球菌有自溶现象，呈脐窝状菌落，草绿色溶血环宽大，在血平板上也可呈现黏液型菌

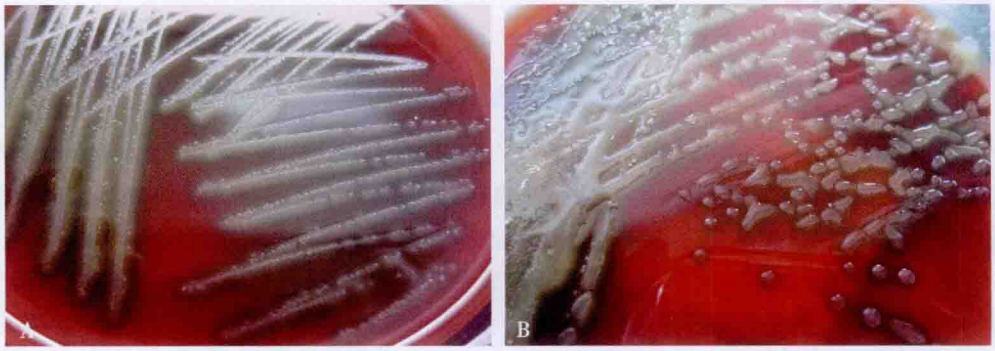


图 16-1-13　肺炎链球菌脐窝状菌落 (A)、黏液型菌落 (B)

学习笔记

落。镜下菌体矛头状、成对排列。

思路 2：肺炎链球菌鉴定试验

(1) Optochin 试验：含 5μg 的 Optochin 直径为 6mm 纸片贴于涂布有待测菌的平板上，35℃孵育过夜，抑菌圈大于 14mm 即为敏感。肺炎链球菌表现为敏感。

(2) 胆汁溶菌试验：将 0.5ml 的 0.5~1 麦氏浓度菌悬液和等量的 2% 去氧胆盐置于试管内，35℃孵育 2 小时后，菌液变清为阳性。或将 10% 去氢胆盐滴于待测菌落上，35℃孵育 15 分钟，菌落消失或变平即为阳性。肺炎链球菌为阳性结果。

(3) 荚膜肿胀试验：可用于肺炎链球菌的分型和快速诊断。

思路 3：肺炎链球菌与其他常见 α 溶血性链球菌的鉴别，见表 16-1-5。

表 16-1-5　肺炎链球菌与常见 α 溶血性链球菌的鉴别

链球菌	Optochin 敏感试验	胆汁溶菌试验	胆汁七叶苷试验
肺炎链球菌	S	+	−
草绿色链球菌	R	−	−
牛链球菌	R	−	+

【问题 2】肺炎链球菌药敏报告注意事项。

(1) 因分离部位不同，肺炎链球菌对青霉素类和头孢类的药敏判定标准有所区别，CLSI 中明确标注出脑膜炎分离株和非脑膜炎分离株的判定标准。

(2) 阿莫西林、氨苄西林、头孢吡肟、头孢噻肟、头孢曲松、头孢呋辛、厄他培南、亚胺培南和美洛培南可用于肺炎链球菌引起感染的治疗。然而，对这些药物的纸片扩散法敏感试验检验结果不可靠，最好使用 MIC 方法测定这些药物的体外活性。

(3) 从脑脊液中分离的肺炎链球菌应当使用可靠的 MIC 方法测试青霉素、头孢噻肟或头孢曲松、美洛培南，并常规报告。同时应当使用 MIC 或纸片法测量其对万古霉素的敏感性。

【问题 3】肺炎链球菌特殊耐药菌。

按照肺炎链球菌对青霉素的耐药程度可将其分为三类：青霉素敏感肺炎链球菌(penicillin-susceptible streptococcus pneumonia，PSSP)，青霉素中介肺炎链球菌(penicillin-intermediate streptococcus pneumonia，PISP) 和青霉素耐药肺炎链球菌(penicillin-resistant streptococcus pneumonia，PRSP)。

PISP 和 PRSP 合称为青霉素不敏感株肺炎链球菌(penicillin-nonsusceptible streptococcus pneumonia，PNSP)。肺炎链球菌对青霉素耐药性的发生与青霉素结合蛋白(PBPs) 的改变有关，PBPs 改变使其与青霉素的亲和力和结合速率发生改变。

四、肠杆菌科

知识点

临床常见的肠杆菌科细菌

肠杆菌科(enterobacteriaceae) 是栖居在人和动物的肠道内的一大群形态、生物学性状相似的革兰阴性杆菌。广泛分布在植物、土壤、水以及人和动物的肠道中，多数是正常人肠道菌群的重要成员，在机体的其他部位相对较少。

肠杆菌科中包括四类常引起人类腹泻和肠道感染的细菌：埃希菌属、志贺菌属、沙门菌属、耶尔森菌属；另包括八种与医院感染有关的条件致病菌：枸橼酸杆菌属、克雷白菌属、

学习笔记

肠杆菌属、沙雷菌属、变形杆菌属、普罗威登菌属、摩根菌属、多源菌属。另有许多细菌既是肠道的正常菌群，也是条件致病菌。在一定的条件下，如机体抵抗力下降、寄居部位的改变或肠道菌群失调时能引起机会感染或二重感染。临床上可分离出40余种肠杆菌科细菌，在临床分离细菌总数中占有较大的比例。

病历摘要1：

患者男，72岁。病史：陈旧性脑梗死，高血压病三级、冠状动脉性心脏病。咳嗽、咳痰7日，加重伴意识欠清2天，抽搐2次入院。查体双肺呼吸音粗，可闻及痰鸣音。血象：中性粒细胞百分比为72.4%，血沉38mm/h，C-反应蛋白为1.72mg/L。连续3天送检痰涂片及培养：痰涂片查见革兰阴性杆菌、革兰阳性球菌，未查见真菌；抗酸染色（-）。3次送检均分离出超广谱β-内酰胺酶（+）的大肠埃希菌（图16-1-14）。

图16-1-14　大肠埃希菌在血平板生长菌落形态

【问题1】呼吸道分离致病菌中，肠杆菌科细菌占有较大比例，其共同特性是什么？

思路1：肠杆菌科细菌形态及培养特性

肠杆菌科细菌常为革兰阴性杆状或球杆状，无芽胞，多数有鞭毛，能运动，有致病性的细菌多数有菌毛。肠杆菌科细菌为兼性厌氧菌，对营养要求不高，在普通培养基和麦康凯及中国蓝培养基上生长良好。大多数菌种在血平板上菌落灰白、湿润、光滑，有些菌种有色素产生，有些菌株可呈黏液型或粗糙型菌落。

主要生化特性为发酵葡萄糖，氧化酶阴性（邻单胞菌属氧化酶阳性），触酶阳性（除外痢疾志贺菌1型和致病杆菌属），可将硝酸盐还原为亚硝酸盐。发酵D-葡萄糖、其他碳水化合物和多羟基醇类常产生酸和气体。

思路2：肠杆菌科细菌检验流程（图16-1-15）

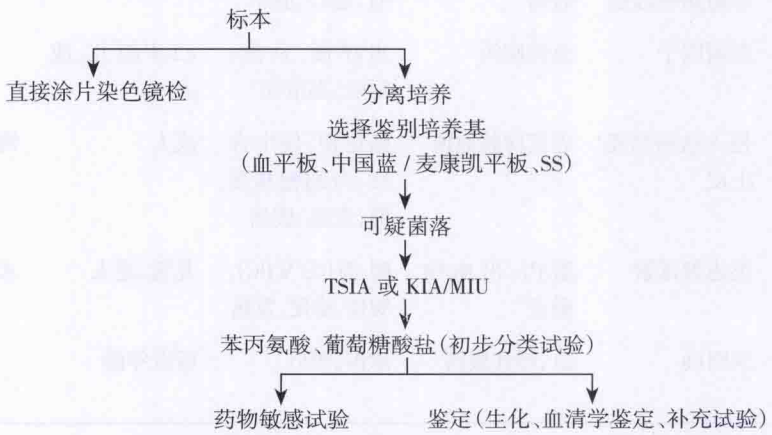


图16-1-15　肠杆菌科细菌检验程序

TSIA为三糖铁琼脂，KIA/MIU为克氏双糖/动力、吲哚、脲酶试验管

学习笔记

【问题 2】肠杆菌科细菌的临床意义是什么？埃希菌属致病性又有何特点？

思路 1：肠杆菌科细菌的临床意义

知识点

肠杆菌科细菌的临床意义

肠杆菌科细菌可致化脓性疾病、肺炎、脑膜炎、菌血症及伤口、泌尿道和肠道的感染。其中有些细菌是引起医院感染的重要病原菌，如大肠埃希菌、肺炎克雷白菌、产酸克雷白菌、奇异变形杆菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、阴沟肠杆菌、嗜麦芽假食单胞菌等。

临床上常按照感染部位将其分为两大类：

(1) 肠道外感染：除志贺菌较少引起肠外感染，许多肠杆菌科细菌均可引起肠外感染，如大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、产酸克雷伯菌、奇异变形杆菌、产气肠杆菌、阴沟肠杆菌、黏质沙雷菌等均可引起呼吸道、泌尿道、伤口、中枢神经系统等的感染，且多为院内感染。耶尔森菌属内的鼠疫耶尔森菌可引起烈性传染病——鼠疫。

(2) 肠道内感染：肠杆菌科细菌也是人和动物肠道感染的重要病原菌。临床常见的病原菌如：埃希菌属、志贺菌属、沙门菌属、耶尔森菌属，可引起各种急、慢性肠道感染、食物中毒、旅行者腹泻及肠热症等。

思路 2：埃希菌属的临床意义

埃希菌属细菌广泛分布于自然界的土壤、水和腐物中。大肠埃希菌为人类肠道内的正常菌群，正常情况下对人体不致病。当宿主免疫力降低或细菌入侵肠外部位时，可成为条件致病菌而引起感染，如尿路感染、菌血症、败血症、伤口感染、肺炎、腹膜炎、阑尾炎、胆囊炎和脑膜炎等。

大肠埃希菌某些血清型可致胃肠炎，与食入污染的食品和饮水有关，为肠外来源致肠内感染。根据其不同的血清型别、毒力和所致临床症状的不同，可将其分为 5 类，如表 16-1-6。

表 16-1-6　引起肠道感染的大肠埃希菌的主要致病特征

大肠埃希菌不同型别	致病机制	感染类型	主要临床表现	发病年龄	危险因素
肠毒素型（ETEC）	耐热肠毒素 不耐热肠毒素	腹泻，旅行者腹泻	大量水样便，腹痛、恶心、脱水	成人、儿童	海外旅行
肠致病性（EPEC）	黏附因子	急性腹泻	水样便、发热、呕吐、黏液便	<2 岁婴儿、成人	
肠侵袭性（EIEC）	侵入结肠黏膜上皮	志贺样脓血便	脓血便，便中含红、白细胞和黏液，发热、腹痛	成人	海外旅行
肠出血型（EHEC）	类志贺毒素	腹泻、出血性肠炎	腹泻（无 WBC）、腹痛、血便、发热	儿童、老人	未熟牛肉、牛奶
肠凝聚型（EAggEC）	未明确	急、慢性腹泻	水泻、呕吐	所有年龄	

【问题 3】该患者连续送检的痰培养中分离出超广谱 β- 内酰胺酶阳性的菌株，其定义及临床意义是什么？

知识点

超广谱 β- 内酰胺酶的定义

超广谱 β- 内酰胺酶（extended spectrum beta-lactamases，ESBLs），属于分子分类 A 组氧亚胺基 β- 内酰胺酶。由质粒介导的广谱酶如 TEM、SHV、CTX-M 和 OXA 酶发生点突变而形成，可水解头孢他啶、头孢吡肟、氨曲南及头孢吡肟，可为 β- 内酰胺酶抑制剂（如克拉维酸）所抑制。

ESBLs 主要在大肠埃希菌和肺炎克雷白菌中发现，此外也在肠杆菌属、柠檬酸杆菌属、变形杆菌属、沙雷菌属等其他肠杆菌科细菌及不动杆菌属和铜绿假单胞菌中发现。产 ESBLs 细菌的发现与临床上广泛应用第三代头孢菌素密切相关，导致细菌对第三代头孢菌素、氨曲南及第四代头孢菌素耐药。

思路 1：ESBLs 的检测方法（表 16-1-7）

表 16-1-7　ESBLs 筛选表型确证试验方法

试验方法	培养基	抗菌药物及浓度	孵育条件	结果判定
纸片扩散法	MHA	头孢他啶 30μg 和头孢他啶 / 克拉维酸 30/10μg 和头孢噻肟 30μg 和头孢噻肟 / 克拉维酸 30/10μg	(35 ± 2)℃；空气环境；16~18 小时	2 个药物中有任何一个，在加克拉维酸后，抑菌环直径与不加克拉维酸的抑菌环相比，增大值≥5mm 时，判定为产 ESBLs（如头孢他啶抑菌环 =16mm，头孢他啶 / 克拉维酸抑菌环 =21mm）
肉汤微量稀释法	CAMHB	头孢他啶 0.25~128μg/ml 和头孢他啶 / 克拉维酸 0.25/4~128/4μg/ml 和头孢噻肟 0.25~64μg/ml 和头孢噻肟 / 克拉维酸 0.25/4~64/4μg/ml	(35 ± 2)℃；空气环境；16~20 小时	与克拉维酸联合的药物 MIC 相对单独药物 MIC 减低≥3 个倍比稀释度，判定为产 ESBLs（例如，头孢他啶 MIC=8μg/ml，头孢他啶 / 克拉维酸 MIC=1μg/ml）

该患者分离大肠埃希菌 ESBLs 纸片扩散法表型确诊实验阳性，见图 16-1-16。

思路 2：需要筛选是否产 ESBLs 的细菌有哪些？产 ESBLs 菌株药敏报告应注意什么？

大肠埃希菌、肺炎克雷白菌、产酸克雷白菌、奇异变形杆菌需要筛选产 ESBLs 菌株，表型确证试验为阳性的菌株，应在报告中提示临床该分离株为产 ESBLs 细菌。对于上述四种确证产 ESBLs 的菌株，应报告对所有青霉素、头孢菌素和氨曲南耐药。某些产 ESBLs 的菌株对三代或四代头孢敏感，在药敏报告中须修正为耐药。

图 16-1-16　大肠埃希菌 ESBLs 表型确证试验阳性

【问题 4】呼吸道标本的检验流程。

思路 1：呼吸道标本的检验流程（图 16-1-17）

临床上最为常见的呼吸道标本主要是痰、咽拭子、肺泡灌洗液、保护性毛刷、气管插管等。

思路 2：合格痰标本涂片要求

一般认为，痰标本涂片后镜检，如白细胞 <10 个 /LP，上皮细胞 >25 个 /LP，为不合格标本。

学习笔记

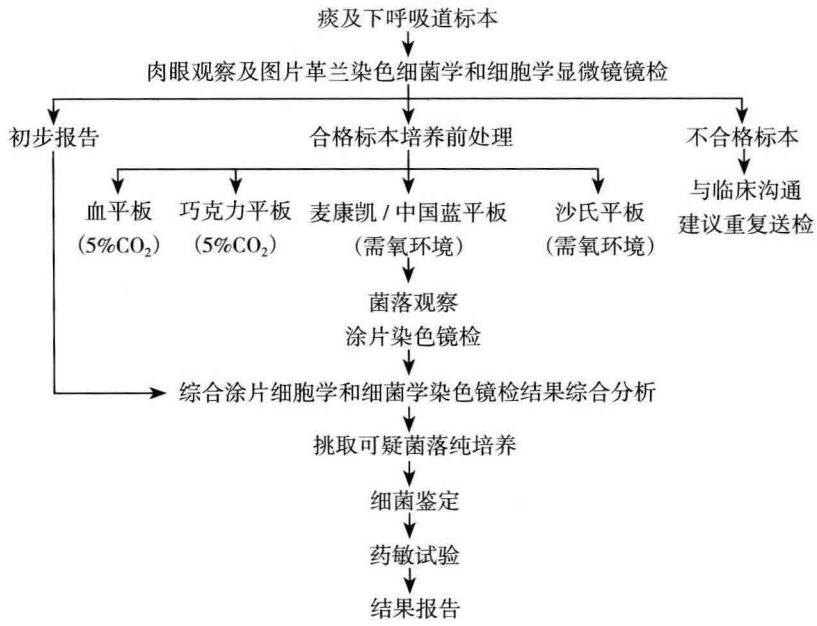


图 16-1-17　痰及下呼吸道标本细菌学检验流程

痰标本培养应尽量选取黏性脓痰，镜检排除不合格标本。

思路 3：呼吸道标本常见的正常菌群和病原菌有哪些

上呼吸道栖居的正常菌群有草绿色链球菌、奈瑟菌、表皮葡萄球菌、微球菌、微球菌、棒状杆菌、拟杆菌、梭杆菌、副流感嗜血杆菌等。

引起呼吸道感染常见的革兰阳性菌如肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌、化脓性链球菌、诺卡氏菌、放线菌、白喉棒状杆菌、炭疽杆菌、结核分枝杆菌和奋森螺旋体等。引起呼吸道感染的常见革兰阴性细菌包括肠杆菌科、假单胞菌属、不动杆菌属细菌，卡他莫拉菌、流感嗜血杆菌、脑膜炎奈瑟菌、肺炎支原体、嗜肺军团菌等。

病历摘要 2：

患者女，30 岁。孕 37 周 +5 天入院，子宫有明显压痛，送检阴道分泌物培养，分离出超广谱 β- 内酰胺酶（+）的肺炎克雷伯菌。新生儿出生后因呼吸窘迫综合征入住新生儿 ICU，后送检血培养，亦分离出肺炎克雷伯菌，超广谱 β- 内酰胺酶（+）。

【问题 1】克雷伯菌属细菌有什么特殊的菌落特性及临床意义？

思路 1：克雷伯菌属微生物特性

克雷伯菌属细菌无鞭毛、无芽胞、患者标本直接涂片或在营养丰富培养基上的菌落涂片可见菌体外有明显的荚膜。兼性厌氧，营养要求不高，在初次分离培养基上可形成较大、凸起灰白色黏液型的菌落。菌落大而厚实、光亮，相邻菌落容易发生融合，用接种针沾取时可挑出长丝状。在麦康凯培养基上发酵乳糖产酸，形成较大的黏液型、红色的菌落，红色可扩散至菌落周围的培养基中（图 16-1-18）。

思路 2：克雷伯菌属主要生化特性

克雷伯菌属氧化酶阴性，葡萄糖产酸产气，动力阴性，吲哚阴性（产酸克雷伯菌和解鸟氨酸克雷伯菌阳性），脲酶阳性。

三糖铁试验（TSI）产酸 / 产酸产气或产酸 / 产酸，枸橼酸盐（CIT）阳性，吲哚（IND）阴性，V-P 阳性，动力（MOT）阴性，鸟氨酸（ORN）阴性，丙二酸盐阳性，DNA 酶阴性。

思路 3：克雷伯菌属临床意义

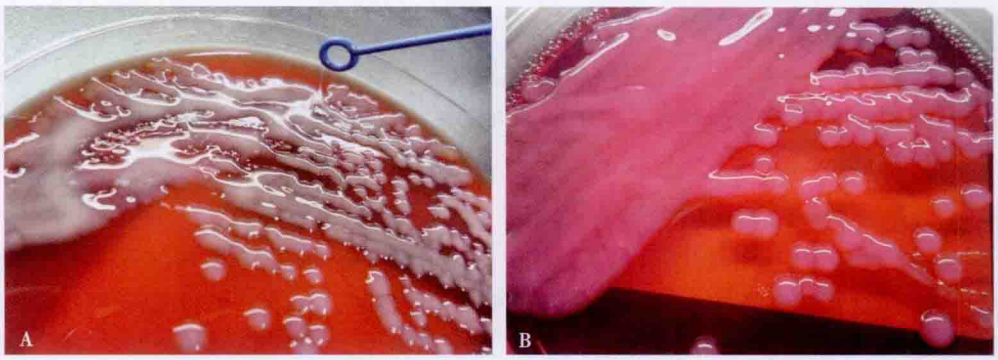


图 16-1-18　肺炎克雷伯菌在血平板及麦康凯平板上生长菌落形态

知识点

克雷伯菌属的临床意义

克雷伯菌是医院感染常见细菌，主要引起免疫力低下患者的各种感染，以肺炎克雷伯菌致病性最强，也是重要的医院感染条件致病菌之一。可引起典型的原发性肺炎，也可引起各种肺外感染，如婴儿的肠炎、脑膜炎等，成人医源性泌尿道感染及外伤感染和菌血症；臭鼻克雷伯菌可引起臭鼻症；鼻硬结克雷伯菌可使人鼻、咽、喉及其他呼吸道器官发生慢性肉芽肿病变和硬结形成，导致组织坏死；产酸克雷伯菌可引起呼吸道和泌尿道感染、创伤、腹泻及菌血症。

【问题 2】近年来，肠杆菌科细菌的耐药率呈上升趋势，除超广谱 β- 内酰胺酶外，AmpC β- 内酰胺酶和碳青霉烯酶的出现也给相关疾病的临床诊断和治疗带来了挑战。AmpC 酶和碳青霉烯酶导致肠杆菌科细菌的耐药性是什么？

思路 1：AmpC 酶属于 Bush 1 型、Ambler C 类酶，能够导致菌株对青霉素类，第一、二、三代头孢菌素，单环类 β- 内酰胺酶类和头孢菌素类耐药，不能被克拉维酸抑制，仅对第四代头孢菌素头孢吡肟和碳青霉烯类敏感。AmpC 酶和 ESBLs 目前已成为介导革兰阴性杆菌对新型广谱 β- 内酰胺类抗菌药物耐药的主要 β- 内酰胺酶。由于编码这两类酶的耐药质粒可在不同菌属细菌之间水平传播，导致医院内感染的暴发，因此这类产酶株的耐药性及流行状况已成为研究热点之一。

思路 2：碳青霉烯酶具有水解几乎所有 β- 内酰胺类包括青霉素、头孢菌素、单环 β- 内酰胺类和碳青霉烯类抗生素的能力。Bush 2f 型、Ambler A 类酶中质粒编码的 KPC 和 GES 酶主要分布于肺炎克雷伯菌。KPC 可水解所有 β- 内酰胺类，对头孢硝噻吩、头孢拉啶、氨苄西林和甲氧西林水解能力最强，对亚胺培南、美罗培南、头孢噻肟和氨曲南的水解能力比青霉素强 10 倍，对头孢西丁和头孢他啶水解能力较弱。

【问题 3】生殖道标本的细菌检验流程。（图 16-1-19）

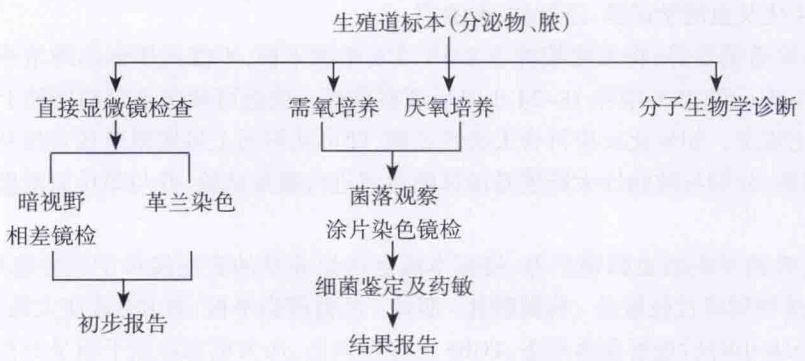


图 16-1-19　生殖道标本的细菌检验流程

学习笔记

病历摘要 3：

患儿，女，7 岁。因急性腹泻来院就诊，大便为水样便带黏液，并伴有发热、腹痛。取大便直接涂片镜检，可见白细胞为 ++++，红细胞为 +。临床诊断为急性肠炎，便培养分离出沙门菌。

【问题 1】粪便标本常见的病原微生物有哪些？

导致原发性肠道感染的病原菌主要为某些革兰阴性杆菌、弯曲菌、结核分枝杆菌以及金黄色葡萄球菌；革兰阳性杆菌中的炭疽芽胞杆菌和蜡样芽胞杆菌；厌氧菌中的梭菌属细菌，其次是轮状病毒及原虫。革兰阴性杆菌主要有：沙门菌属、志贺菌属、弧菌属、小肠结肠炎耶尔森菌、致泻性大肠埃希菌、弗劳地枸橼酸杆菌、迟缓爱德华菌、变形杆菌、类志贺邻单胞菌和嗜水气单胞菌等。

继发性肠道感染多因广谱抗生素广泛应用、血液病患者和癌症患者放疗和化疗、激素类药物的不规范应用以及各种侵入性操作等引起。常见病原菌主要有：艰难梭菌、金黄色葡萄球菌、念珠菌、铜绿假单胞菌、变形杆菌、弗劳地枸橼酸杆菌、致泻性大肠埃希菌、非结核分枝杆菌，偶见轮状病毒、隐孢子虫及新型隐球菌等。

【问题 2】消化道感染细菌学检查流程是什么？（图 16-1-20）

图 16-1-20　粪便及肛拭子细菌检验流程

【问题 3】粪便及肛拭子培养需特别关注细菌的检验方法。

(1) 沙门菌及志贺菌培养：取粪便或肛拭子直接划线接种于强、弱选择性培养基，如 SS 和麦康凯（或中国蓝、伊红亚甲蓝琼脂），同时分别接种于痢疾杆菌、沙门菌增菌液增菌，再分别转种上述平板进行分离培养。如有可疑菌落生长，转种于 UMI 或 KIA 培养基，初步判定细菌的类属。后进一步做生化及血清学试验，进行种、型鉴定。

(2) 大肠埃希菌培养：将粪便接种于 EMB 或麦康凯平板，不能选用强选择培养基以免抑制大肠埃希菌生长。置 35℃培养 18~24 小时后观察菌落。挑选可疑菌落穿刺接种于 KIA 和 UMI 进行初步生化鉴定。如生化反应符合大肠埃希菌，即可从斜面上挑取菌落或直接从上述平板挑取 5~10 个菌落，分别与致病性大肠埃希菌诊断血清进行凝集试验，并与单价血清做玻片凝集试验加以鉴定。

(3) 霍乱弧菌及副溶血弧菌培养：将标本或运送培养基的表层接种于碱性胨水，35℃孵育 6~8 小时后，接种到硫代硫酸盐 - 枸橼酸盐 - 胆盐 - 蔗糖琼脂平板（TCBS）或庆大霉素琼脂平板，35℃孵育 12~18 小时后观察菌落形态，TCBS 上呈橙黄色，庆大霉素琼脂平板呈灰褐色为可疑菌落。应用霍乱弧菌多价和单价血清进行凝集试验，作出初步报告。

学习笔记

五、非发酵革兰阴性杆菌

病历摘要1：

患者女，66岁。患者既往有脑出血病史，吸烟史。4月20日因发热、咳嗽5天入院，神志不清，双肺呼吸音粗，肺底可闻及湿啰音。入院检查：血WBC 12.64×10^9 /L，N 90.4%；PCT 16.85ng/ml；肝功能检查：ALP 199U/L，GGT 370U/L。胸部CT显示：患者右下叶背段及右上叶多发磨玻璃影，考虑感染性病变、双肺间质改变。4月21日送检血培养分离出铜绿假单胞菌，4月22日送检经外周中心静脉置管（PICC）也分离出铜绿假单胞菌。

【问题1】假单胞菌属的微生物特性及临床意义是什么？

思路1：假单胞菌属的微生物特性

假单胞菌属（pseudomonas）为需氧、有鞭毛、无芽胞、无荚膜的革兰阴性杆菌，氧化酶试验阳性，包括200余种菌。多数为腐生菌，少数为植物和动物寄生菌，大多为条件致病菌。生长温度范围广，最适生长温度为35℃，少数菌种能在4℃或42℃生长。营养无特殊要求，普通培养基上均能生长。生长中可产生各种水溶性色素，如绿脓素（图16-1-21）、玉红脓素、脓褐素等。

图16-1-21　铜绿假单胞菌产绿脓素菌落

思路2：假单胞菌属为非发酵革兰阴性杆菌，临床常见的非发酵革兰阴性杆菌有哪些？初步分群鉴定的生化试验是什么？

非发酵革兰阴性杆菌包括菌属较多，主要有：假单胞菌属、产碱杆菌属、无色杆菌属、不动杆菌属、莫拉菌属、金氏杆菌属、黄杆菌属、艾肯菌属、土壤杆菌属、黄单胞菌属、丛毛单胞菌属等。

非发酵革兰阴性杆菌鉴定较为复杂，必须先进行初步分群，然后再进行菌属鉴定。初步分群的常用实验为葡萄糖氧化发酵试验（O/F试验）、氧化酶试验和动力观察（表16-1-8）。

表16-1-8　常见非发酵革兰阴性杆菌的初步分群鉴定

试验	假单胞菌属	无色杆菌属	黄杆菌属	不动杆菌属	产碱杆菌属	丛毛菌属	莫拉菌属
氧化酶	+	+	+/-	-	+	+	+/-
葡萄糖发酵试验（O/F试验）	O/-	O	O	O/-	-	-	-
动力	+/-	+/-	+/-	-	+	+	-

注：+：90%以上阳性；-：10%以下的阳性；+/-：约70%为阳性；O：为氧化

思路3：假单胞菌属的临床意义

知识点

假单胞菌属的临床意义

假单胞菌属在自然环境中分布广泛，可存在于医院各环境中。铜绿假单胞菌是医院内感染的主要病原菌，可引起体弱、长期卧床、各种医疗器械受检、呼吸机使用和各种治疗置管者等的呼吸道感染、尿路感染、切口感染、导管相关感染、皮肤组织感染、脑部感染和血流感染等。铜绿假单胞菌也是烧伤患者创面感染最常分离的病原菌之一。分离自临床无菌部位的假单胞菌属细菌有临床意义；分离自有正常菌群部位的假单胞菌属细菌应结合临床症状来确定其临床意义。

学习笔记

【问题 2】该患者血培养及 PICC 导管均分离出铜绿假单胞菌，何为导管相关的血流感染？

思路 1：导管相关感染的概念

知识点

导管相关感染的概念

导管病原菌定植（catheter colonization）：导管头部、皮下部分或导管接头处定量或半定量培养，确认有微生物生长［>15 菌落形成单位（colony forming unit，CFU）］。

出口部位感染（exit-site infection）：是指出口部位 2cm 内的红斑、硬结和（或）触痛；或导管出口部位的渗出物培养出微生物，可伴有其他感染征象和症状，伴或不伴有血行感染。

隧道感染（tunnel infection）：指导管出口部位，沿导管隧道的触痛、红斑和（或）大于 2cm 的硬结，伴或不伴有血行感染。

皮下囊感染（pocket infection）：指完全植入血管内装置皮下囊内有感染性积液；常有表面皮肤组织触痛、红斑和（或）硬结；自发的破裂或引流，或表面皮肤的坏死。可伴或不伴有血行感染。

导管相关血行感染（catheter related bloodstream infection，CRBSI）：指留置血管内装置的患者出现菌血症，经外周静脉抽取血液培养至少一次结果阳性，同时伴有感染的临床表现，且除导管外无其他明确的血行感染源。

思路 2：在明确血管内导管相关血行感染时应注意区别感染是直接源于导管还是因其他感染部位导致的血行感染，因为有些菌血症导致的导管相关感染是继发于手术切口感染、腹腔内感染、院内获得性肺炎、泌尿系感染等。故导管相关的血行感染仅限于导管感染导致的血行感染，能够排除其他部位感染，且导管尖培养与血培养为同一致病菌。

学习笔记

病历摘要 2：

患者男，47 岁。入急诊前 8 小时从 4 米高空跌落，头面部外伤出血，腹部剧烈疼痛，伴心慌、乏力。查体：全腹压痛，右上腹明显，伴反跳痛，肌紧张。腹部 CT：肝脏破裂，伴周围低密度影，脾周围低密度影。全麻下行开腹探查，肝周纱条填堵止血术。2 日后全麻下行将纱条取出，肝脏第Ⅵ段切除，行腹腔引流术。腹腔引流液送检培养出鲍曼不动杆菌。术后转入 ICU 给予补液、抗感染、止痛、保肝等对症治疗。

【问题 1】不动杆菌属细菌的微生物特性及临床意义是什么？

思路 1：不动杆菌属生物学特性

不动杆菌属（acinetobacter）为革兰阴性球杆菌，菌体大小（0.9~1.6）μm×（1.5~2.5）μm，生长稳定期形态多为球形，镜下可见球状或球杆状，成对排列和可变长度链状。有荚膜，菌毛，无芽胞，无鞭毛。细胞壁受抗菌药物作用后，菌体可呈丝状或不规则形状。

不动杆菌属为兼性厌氧菌，多数菌株生长不需特殊营养，血平板上形成的菌落光滑、灰白色、边缘整齐，也可形成黏液状、粗糙和扩展样菌落。麦康凯琼脂平板上生长良好，菌落呈无色或淡粉红色，大部分菌株生长温度范围为 20~37℃，最适生长温度为 33~35℃，某些菌株 37℃不能生长。

思路 2：不动杆菌属的临床意义

知识点

不动杆菌属的临床意义

不动杆菌属存在于正常人体的皮肤、口腔、呼吸道、胃肠道和泌尿道，在自然环境中分布广泛，大量存在于医院各种环境中，近些年已为院内感染菌之一。虽然不动杆菌毒力较

低，为条件致病菌，但该菌是引起医院获得性肺炎（尤其是呼吸机相关性肺炎）、尿路感染、切口感染、导管相关感染、皮肤组织感染、脑部感染和血流感染等的主要病原菌。

思路 3：不动杆菌属检验程序（图 16-1-22）

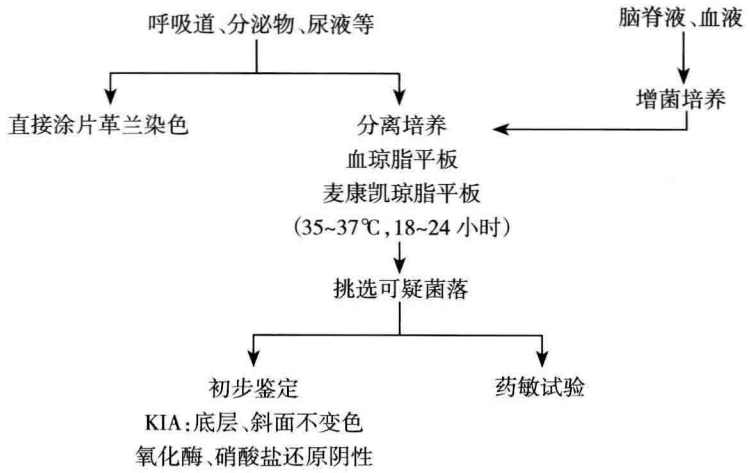


图 16-1-22　不动杆菌属检验程序

【问题 2】鲍曼不动杆菌具有强大的获得耐药性和克隆传播的能力，多重耐药、广泛耐药、全耐药鲍曼不动杆菌呈世界性流行，已成为我国院内感染最重要的病原菌之一。其流行病学特点、耐药状况和主要耐药机制是什么？

思路 1：多重耐药、广泛耐药及全耐药鲍曼不动杆菌的区分

知识点

多重耐药、广泛耐药及全耐药鲍曼不动杆菌的定义

多重耐药鲍曼不动杆菌（multidrug resistant acinetobacter baumannii，MDRAB）是指对下列五类抗菌药物中至少三类抗菌药物耐药的菌株，包括：抗假单胞菌头孢菌素、抗假单胞菌碳青霉烯类抗生素、含有 β- 内酰胺酶抑制剂的复合制剂（包括哌拉西林 / 他唑巴坦、头孢哌酮 / 舒巴坦、氨苄西林 / 舒巴坦）、氟喹诺酮类抗菌药物、氨基糖苷类抗生素。

广泛耐药鲍曼不动杆菌（extensively drug resistant acinetobacter baumannii，XDRAB）是指仅对 1~2 种潜在有抗不动杆菌活性的药物［主要指替加环素和（或）多黏菌素］敏感的菌株。

全耐药鲍曼不动杆菌（pan drug resistant acinetobacter baumannii，PDRAB）则指对目前所能获得的潜在有抗不动杆菌活性的抗菌药物（包括多黏菌素、替加环素）均耐药的菌株。

思路 2：鲍曼不动杆菌的流行病学特点

鲍曼不动杆菌已成为我国院内感染的主要致病菌之一，具有在体外长期存活的能力，易造成克隆播散。鲍曼不动杆菌感染危险因素包括：长时间住院、入住监护室、接受机械通气、侵入性操作、长期使用抗菌药物以及严重基础疾病等。鲍曼不动杆菌感染常见于危重患者，常伴有其他细菌和（或）真菌的感染。

鲍曼不动杆菌可引起医院获得性肺炎、血流感染、腹腔感染、中枢神经系统感染、泌尿系统感染、皮肤软组织感染等。鲍曼不动杆菌院内感染最常见的部位是肺部，是医院获得性肺炎（HAP），尤其是呼吸机相关肺炎（VAP）重要的致病菌。

思路 3：鲍曼不动杆菌对抗菌药物的主要耐药机制

学习笔记

(1) 产生抗菌药物灭活酶:①β- 内酰胺酶:最主要的是 D 组的 OXA-23 酶,部分菌株还携带超广谱 β- 内酰胺酶(ESBLs)、头孢菌素酶(AmpC)和 B 类的金属 β- 内酰胺酶;②氨基糖苷类修饰酶:由于各种修饰酶的底物不同,可导致一种或几种氨基糖苷类抗生素耐药。

(2) 药物作用靶位改变:拓扑异构酶 *gyrA*、*parC* 基因突变导致的喹诺酮类抗菌药物耐药;*annA* 等 16S rRNA 甲基化酶导致几乎所有氨基糖苷类抗生素耐药。

(3) 药物到达作用靶位量的减少:包括外膜孔蛋白通透性的下降及外排泵的过度表达。鲍曼不动杆菌基因组显示,其富含外排泵基因,外排泵高表达在鲍曼不动杆菌多重耐药中发挥重要作用。

六、苛 养 菌

病历摘要:

患儿男,2 岁。两周前不慎摔伤头部形成血肿,未予治疗,其后头部血肿逐渐增大,并伴有发热及感冒症状,经社区医院给予一般消炎治疗,效果不佳。后来院就诊,头部血肿穿刺做细菌培养,分离到流感嗜血杆菌,以头孢噻肟、丁胺卡那局部用药治疗,两周后痊愈出院。

【问题 1】临床常见苛养菌有哪些?其临床意义是什么?

思路 1:临床常见的苛养菌

苛养菌是指对营养要求苛刻,在普通培养基上不生长或难以生长的一类细菌。体外培养需添加特殊因子或其他营养成分,革兰阴性苛养性细菌主要包括“HACEK”细菌群、军团菌属、布鲁菌属、巴斯德菌属、博德特菌属、弗朗西斯菌属、链杆菌属、色杆菌属等。“HACEK”细菌群由五个菌属组成,H 代表嗜血杆菌属,A 代表凝聚杆菌属,C 代表心杆菌属,E 代表艾肯菌属,K 代表金氏杆菌属。此群苛养性细菌是人类口腔、呼吸道、泌尿生殖道的正常菌群,在一定条件下可引起严重感染。其共同特点是生长缓慢且需 CO_2 环境。

思路 2:不同苛养菌的临床意义

(1) 嗜血杆菌属:嗜血杆菌属细菌寄生在人和多种动物的黏膜,在人体主要寄生在咽喉及口腔黏膜。主要引起人类疾病的嗜血杆菌有流感嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌、杜克雷嗜血杆菌、溶血嗜血杆菌等。流感嗜血杆菌主要引起人类急性化脓感染(急性咽炎、喉炎、气管炎、肺炎、中耳炎、鼻窦炎、心内膜炎、败血症、脑膜炎等)及严重的继发感染。杜克雷嗜血杆菌是引起软性下疳的病原菌。

(2) 博德特菌属:人类是百日咳博德特菌和副百日咳博德特菌唯一的宿主。百日咳博德特菌是百日咳的病原菌,百日咳发病率的降低应归功于疫苗的广泛使用。

(3) 艾肯菌属:侵蚀艾肯菌是人类黏膜表面正常菌群的一部分,经常从上呼吸道标本中分离出该菌,也可从胃肠道或泌尿生殖道标本中分离到,通常不致病。当机体免疫力下降或黏膜表面破损时,此菌进入周围组织引起感染,该菌常与其他细菌一起引起混合感染,此类感染常发生在头颈部或腹部。

(4) 金氏杆菌属:金氏杆菌是人呼吸道黏膜正常菌群的一部分,金氏金氏杆菌是引起心内膜炎、骨髓炎和败血症的条件性致病菌,可从血液、体液和脓汁标本中分离出来。

(5) 心杆菌属:人心杆菌是人的鼻腔和咽喉部的正常菌群,也存在于泌尿生殖道。可引起人心内膜炎,也可在牙周炎患者标本中分离到。

【问题 2】嗜血杆菌属的微生物特性有哪些?如何区分流感嗜血杆菌和副流感嗜血杆菌?

思路 1:嗜血杆菌属的生物特性

嗜血杆菌属细菌为革兰阴性短小球杆菌,菌体大小 1.5μm×(0.3~0.4)μm,有时呈双球或短丝状或多形性,无芽胞、无鞭毛、不能运动。其中多数菌属有荚膜,毒力较强,大部分感染均由

学习笔记

荚膜菌株引起。需氧或兼性厌氧，最适生长温度 35℃，pH 以 7.6~7.8 为最佳。对营养有特殊要求，培养时必须供给含有 X、V 因子的新鲜血液。最佳培养基是巧克力琼脂，因为血液中的 V 因子通常处于被抑制状态，经加热 80~90℃，5~15 分钟破坏生物膜上的抑制物，可使 V 因子释放。

思路 2：嗜血杆菌属分离培养的注意事项

该菌生长中需 X、V 因子，营养要求高，某些菌种在 5%~10% CO_2 环境下生长更好，可同时接种于血琼脂培养基和巧克力琼脂培养基。因临床标本中多夹杂大量杂菌，所以在巧克力琼脂中加入抗生素（万古霉素、杆菌肽、克林霉素），可提高该菌的检出率。经 18~24 小时培养出现小、无色透明的菌落。在液体培养基中，有荚膜的菌株均匀混浊生长，而无荚膜菌株呈颗粒状沉淀生长。

思路 3：嗜血杆菌的关键鉴别试验——“卫星试验”（图 16-1-23）

图 16-1-23　流感嗜血杆菌“卫星现象”

知识点

“卫星试验”方法及意义

“卫星试验”是用于鉴别流感嗜血杆菌和副流感嗜血杆菌的关键试验，即当流感嗜血杆菌与金黄色葡萄球菌一起培养时，可见到靠近葡萄球菌菌落的流感嗜血杆菌菌落较大，而远离葡萄球菌的流感嗜血杆菌菌落较小，这种现象称为“卫星现象”。因为葡萄球菌能合成 V 因子释放于培养基中，从而促进流感嗜血杆菌的生长。根据分离培养中对 X、V 因子的需要，菌落形态、糖类试验等可对嗜血杆菌属细菌作出分类。

在不含血红素的琼脂平板（脑心浸液琼脂或哥伦比亚琼脂）上进行的卫星试验，因琼脂中不含有 X 因子和 V 因子，当点种金黄色葡萄球菌后，在其菌落周围只含有 V 因子而没有 X 因子存在，因此那些 X 因子依赖性的嗜血杆菌不能在金黄色葡萄球菌菌落周围生长，通常又称为“琼脂卫星试验”。

应注意在脑心琼脂上贴 X、V 和 X+V 因子纸片时，纸片间距应大于 5cm（因 V 因子分子量小，扩散距离远），否则会出现 X 因子假阳性结果。

【问题 3】流感嗜血杆菌药敏报告注意事项。

流感嗜血杆菌需常规检测 β- 内酰胺酶，如阳性则提示对青霉素、氨苄西林和阿莫西林耐药。流感嗜血杆菌对氨苄西林耐药的主要机制是由质粒介导的 TEM-1 型或其他少见的 ROB-1 型的 β- 内酰胺酶所致，少部分耐药是由于染色体介导的 PBP 的改变。

若患者有危及生命的感染（如脑膜炎、菌血症、会厌炎和面部蜂窝织炎），则应必须对血液和脑脊液的所有流感嗜血杆菌分离株，常规报告氨苄西林、一种三代头孢菌素、氯霉素和美洛培南的药敏测试结果。

七、需氧革兰阳性杆菌

知识点

常见的需氧革兰阳性杆菌

需氧革兰阳性杆菌的毒力差别很大，有些菌株可引起人类的严重感染（如炭疽杆菌、白

学习笔记

喉棒状杆菌),有些菌株可能是机会致病菌。根据菌体形态以及是否产生芽胞可将需氧革兰阳性杆菌分为以下四组:

1. 可形成芽胞的需氧革兰阳性杆菌。

2. 规则的非芽胞杆菌　包括李斯特菌属、丹毒丝菌属、乳杆菌属和库特菌属等。

3. 不规则的或棒状的非芽胞杆菌　包括棒状杆菌属、罗氏菌属、加德纳菌属、隐秘杆菌属、厄氏菌属、苏黎世菌属、皮杆菌属、节杆菌属、短杆菌属、短小杆菌属、微杆菌属、金杆菌属、纤维单胞菌属和微小杆菌属等。

4. 需氧的放线菌　包括诺卡菌属、拟诺卡菌属、放线菌属、分枝杆菌属、冢村菌属、戈登菌属、迪茨菌属、嗜皮菌属、红球菌属、小单胞菌属、马杜拉防线菌属、糖单胞菌属、糖多胞菌属、高温放线菌属、无枝酸菌属、拟无枝酸菌属和链霉菌等。

病历摘要 1:

患者男,56 岁。因发热、咳嗽、咳痰 40 天,加重 2 天入院。既往溶血性贫血、糖尿病。查体双肺呼吸音粗,双侧肋缘压痛。胸部 CT:两肺多发实质性病变,首先考虑感染性病变。入院后 1 周行纤维支气管镜检查,取肺部右下叶背段及右中叶组织送病理,肺泡灌洗液送检微生物培养。病理报告为右下叶背段及右下叶黏膜慢性炎症,刷片未见肿瘤细胞。痰涂片革兰染色查见着色不均的丝状体(图 16-1-24)。痰和肺泡灌洗液培养均分离巴西诺卡菌。

图 16-1-24　该患者痰涂片革兰染色查见着色不均的丝状体

【问题 1】诺卡菌属形态及培养特点。

诺卡菌为革兰阳性杆菌,有细长的分枝菌丝,或同时有杆状或球状存在,丝状体呈粗细不等的串珠状。革兰染色着色不均,若为压碎的颗粒,镜下为菌团,中心部位为革兰阳性,边缘的流苏样棒状体为阴性。

专性需氧菌,在普通培养基或沙氏培养基中室温或 37℃均可缓慢生长,最高生长温度可达 45℃。菌落大小不等,表面有皱褶,颗粒状。不同种类可产生不同色素,如橙红、粉红、黄、黄绿、紫等其他颜色。星形诺卡菌菌落呈黄色或深橙色,表面无白色菌丝;巴西诺卡菌菌落表面有白色菌丝生长(图 16-1-25);豚鼠耳炎诺卡菌类似星形诺卡菌,呈黄或橘色。

图 16-1-25　巴西诺卡菌在血平板上生长菌落形态

【问题 2】常见诺卡菌的种类及临床意义?

思路 1:医学上重要的诺卡菌有星形诺卡菌、巴西诺卡菌、短链诺卡菌、皮诺卡菌、新星诺卡菌、豚鼠耳炎诺卡菌、假巴西诺卡菌和南非诺卡菌。

思路 2:不同诺卡菌的临床意义

星形诺卡菌的致病性:绝大多数严重的非侵入性诺卡菌感染是由星状诺卡菌引起,感染的

学习笔记

主要途径为吸入，肺部诺卡菌病的晚期病菌可经血液传播引起播散性诺卡菌病。

巴西诺卡菌的致病性：在美洲和澳大利亚，巴西诺卡菌是引起放线菌足肿的主要病原体，而在非洲主要是以索马里链霉菌为主要病原。

因诺卡菌属中各菌种间对药物的敏感性差别很大，因此将诺卡菌鉴定到种具有非常现实和重要的临床意义。

思路 3：诺卡菌的鉴别试验

根据产酸和利用糖类以及对腺嘌呤、次黄嘌呤、黄嘌呤和酪蛋白的分解能力，可对诺卡菌属中的各菌种进行鉴别，见表 16-1-9。

表 16-1-9　临床常见诺卡菌的鉴别

细菌	45℃生长	乙酰胺	明胶	硫酸酯酶	腺嘌呤	酪蛋白	次黄嘌呤	酪氨酸	黄嘌呤	葡萄糖	半乳糖	甘露醇	肌醇
星状诺卡菌（Ⅰ型）	V	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−
星状诺卡菌（Ⅱ型）	N	−	−	−	−	−	+	−	−	+	−	−	−
星状诺卡菌（Ⅲ型）	V	V	−	−	−	−	−	−	−	+	V	−	−
巴西诺卡菌	−	−	+	−	−	+	+	+	−	+	+	+	+
短链诺卡菌	V	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
皮诺卡菌	+	+	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−
新星诺卡菌	−	−	−	+	−	−	−	−	−	+	−	−	−
豚鼠耳炎诺卡菌	V	−	−	−	−	−	+	−	+	+	−	V	+
假巴西诺卡菌	−	+	−	−	+	+	+	+	−	+	+	+	+
南非诺卡菌	N	−	−	−	−	−	+	−	−	+	+	V	+

注：+：90% 以上为阳性；−：90% 以上为阴性；V：11%~89% 为阳性；N：未测试

病历摘要 2：

患儿女，36 周，出生体重 2985g。因母亲为中央型前置胎盘伴发热，体温 38.6℃，行急诊剖宫产。婴儿出生后呼吸困难伴发热，20 分钟后转入新生儿重症监护室，给予头孢吡肟，输血浆等对症治疗，患儿症状有减轻，但仍有发热。实验室检查：外周血 WBC 12.68×10^9/L，N 0.43%，M 0.336%；CRP 35mg/L。B 超显示：左侧脑室管膜下出血，右侧脉络丛出血。血培养分离出产单核李斯特菌，脑脊液培养无菌生长。

【问题 1】李斯特菌属的微生物特性是什么？

李斯特菌为兼性厌氧菌，是无芽胞、不分支的革兰阳性短杆菌，约（1~2）μm×（0.4~0.5）μm，菌体细胞单生或呈短链状，培养时间延长或粗糙型培养物可呈丝状菌体。有 1~5 根周鞭毛，在室温中动力活泼，在 35℃时失去动力或动力非常缓慢，此特征可作为初步判定。

产单核李斯特菌对营养要求不高，在普通培养基上能生长，但在含有血液、血清、腹水等培养基上生长更好。最适生长温度为 30~37℃，由于其在 4℃能生长故可进行冷增菌。在血琼脂平板上于 35℃经 18~24 小时培养，能产生狭窄的 β- 溶血环，菌落为灰白色，直径 1~2mm。在肉汤中均匀浑浊生长，表面有菌膜形成。在半固体培养基内，可出现倒伞形生长。

【问题 2】产单核李斯特菌的临床意义是什么？

产单核李斯特菌广泛分布于自然界，水、土壤、人和动物粪便中均可存在，常伴随 EB 病毒引起传染性单核细胞增多症，也可引起脑膜炎、菌血症等。健康带菌者是本病的主要传染源，传播途径是粪 - 口，也可通过胎盘和产道感染新生儿。与病畜接触可致眼和皮肤的局部感染。致病物质主要是溶血素和菌体表面成分。

（胡志东）

学习笔记

第二节　常见病毒感染的检验

在人类感染性疾病中，约 70% 以上由病毒引起。病毒为一类非细胞型微生物，结构简单，只含有一种类型的核酸（DNA 或 RNA），必须在活细胞内寄生。病毒在自然界分布广泛，自 19 世纪末期首次发现病毒，至今已发现 4000 余种动、植物病毒，其中 500 种以上的病毒可感染人类。这其中既包括一些常见病毒，如肝炎病毒、流感病毒、人类免疫缺陷病毒、人乳头瘤病毒、疱疹类病毒等，也包括近年随着人类迁徙频繁以及与动物密切接触等原因导致的新出现的或感染宿主后发生了变化的病毒。病毒感染后，有些传染性强，死亡率高，或者有严重的后遗症，有些病毒感染还与肿瘤发生或者自身免疫性疾病密切相关。目前病毒感染的确诊主要依靠各种实验室检查。

病历摘要：

患者女，36 岁。发热、咽痛、恶心、乏力 1 周。入院后查体：体温 37.8℃，全身浅表淋巴结无明显肿大，肝肋下 1.0cm，脾肋下刚可触及。血常规检查结果：WBC 5.17×10^9/L，Hb 123g/L，Plt 180×10^9/L，其余指标参见化验单；血涂片形态学检验：白细胞未见增加，中性粒细胞所占比例减少，淋巴细胞所占比例增加；CRP 检查结果：未见升高；生化检查结果提示肝功能略有升高，具体指标见化验单。

血常规化验单

姓名：　　病历号：××××××　　临床诊断：发热待查　　标本种类：EDTA 抗凝全血

性别：女　　科别：内科　　申请医生：　　标本编号：××××××

年龄：36 岁　　病房：× 病房　　备注：空腹采血　　采集时间：××××-01-12-08：45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位	No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	白细胞计数（WBC）	5.17	3.5~9.5	10^9/L	16	嗜酸性粒细胞百分比（EO%）	0.6	0.4~8.0	%
2	红细胞计数（RBC）	3.95	3.80~5.10	10^{12}/L	17	嗜碱性粒细胞百分比（BA%）	0	0~1.0	%
3	血红蛋白浓度（HGB）	123	115~150	g/L	18	中性粒细胞计数（NE#）	1.1↓	1.8~6.3	10^9/L
4	红细胞比容（HCT）	36.5	35.0~45.0	%	19	淋巴细胞计数（LY#）	3.4↑	1.1~3.2	10^9/L
5	平均红细胞体积（MCV）	92.4	82.0~100.0	fl	20	单核细胞计数（MO#）	0.7	0.1~0.6	10^9/L
6	平均红细胞血红蛋白含量（MCH）	31.1	27.0~34.0	pg	21	嗜酸性粒细胞计数（EO#）	0.3	0.02~0.52	10^9/L
7	平均红细胞血红蛋白浓度（MCHC）	337	316~354	g/L	22	嗜碱性粒细胞计数（BA#）	0	0~0.06	10^9/L
8	红细胞体积分布宽度（RDW）	12.5	<14.9	%		显微镜白细胞分类计数			
9	血小板计数（Plt）	180	125~350	10^9/L	23	中性杆状核粒细胞（NEU-b）	2	1~5	%
10	平均血小板体积（MPV）	9.9	7.7~13.0	fl	24	中性分叶核粒细胞（NEU-s）	22↓	50~70	%
11	血小板比容（PCT）	0.18	0.18~0.22	%	25	淋巴细胞（LYM）	67↑	20~40	%
12	血小板体积分布宽度（PDW）	11.2	<17.2	%	26	单核细胞（MON）	9↑	3~8	%
13	中性粒细胞百分比（NE%）	20.5	↓40.0~75.0	%	27	原始细胞（Blast）	0	0	%
14	淋巴细胞百分比（LY%）	65.5	↑20.0~50.0	%					
15	单核细胞百分比（MO%）	13.4	↑3.0~10.0	%					

接收者：　　接收时间：××××-01-12-08：50　　审核者：　　审核时间：××××-01-12-09：10

检验者：　　检验时间：××××-01-12-08：55　　检测实验室：　　×××× 医院检验科检验室

学习笔记

生化化验单

姓名：	病历号：××××××	临床诊断：发热待查	标本种类：血清
性别：女	科别：内科	申请医生：	标本编号：××××××
年龄：36 岁	病房：× 病房	备注：空腹采血	采集时间：××××-01-12-08：45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	谷丙转氨酶（ALT）	126↑	7~40	U/L
2	谷草转氨酶（AST）	57↑	13~35	U/L
3	转肽酶（r-GT）	143↑	7~45	U/L
4	碱性磷酸酶（ALP）	133↑	35~100	U/L
5	乳酸脱氢酶（LDH）	210	109~245	U/L
6	α-羟丁酸脱氢酶（HBD）	123	72~182	U/L
7	肌酸激酶（CK）	88	43~165	U/L
8	总胆红素（TBIL）	26.2↑	3.0~21.0	μmol/L
9	直接胆红素（DBIL）	3.9	0.0~7.0	μmol/L

接收者：	接收时间：××××-01-12-08：50	审核者：	审核时间：××××-01-12-09：10
检验者：	检验时间：××××-01-12-08：55	检测实验室：	×××× 医院检验科检验室

【问题 1】从以上化验结果，能否判断患者为病毒感染？其相关的一般实验室检查有哪些？

思路 1：临床基础检验血、尿、便检查有哪些指标可以反映病毒感染

一般实验室检查主要反映病毒感染人体后引起的机体变化，无特异性，非病原学确诊。临检血、尿、便检查：病毒感染后外周血血常规检测可见白细胞数目减少或正常（少数出现白细胞增多），减少一般是由于感染后毒素作用下，使得贴血管壁的粒细胞增加所致。可见淋巴细胞相对或绝对增高，异常淋巴细胞增多等。尿、便常规没有特异性提示，但当病毒感染累及肾脏致肾小球肾炎时可出现尿常规相应改变，或累及胃肠道时可出现腹泻、便血等便的改变。

思路 2：病毒感染后生化检测会有哪些指标发生改变

生化检测如病毒感染累及肝脏时，可出现肝脏损害所致的酶学改变，包括肝功能异常、黄疸变化。如急性病毒性肝炎，血清 ALT 活性高低与临床病情轻重相平行，直接及间接胆红素均会升高。若累及肾脏可出现肾功能下降，例如汉坦病毒引起的急性感染，可引起急性肾衰竭（肾炎）和出血或急性非心源性肺水肿综合征。

思路 3：病毒感染后一般免疫检查项目会有哪些异常

病毒感染后可引起冷球蛋白、类风湿因子（rheumatoid factor，RF）以及抗核抗体（antinuclear antibody，ANA）等一过性阳性，一般滴度不高。EB 病毒感染引起的单核细胞增多症患者，发病早期血清中出现一种非特异 IgM 型抗体，能凝集绵羊红细胞，称为嗜异性凝集试验（heterophil agglutination test）阳性。

目前可通过检测 C-反应蛋白（C reaction protein，CRP）鉴别细菌感染与病毒感染。CRP 是急性时相反应蛋白之一，在细菌感染发生后 6~8 小时开始升高，24~48 小时达到高峰，比正常值高几百倍。而病毒感染一般不会导致 CRP 升高（除了一些严重侵袭导致组织损伤的病毒如腺病毒、疱疹病毒等）。

降钙素原（PCT）为近年发展的新的感染标志物，病毒性疾病时 PCT 不增高，或者仅轻度增高，一般不会超过 1~2ng，PCT 鉴别病毒性疾病的敏感度和特异性均高于 CRP。

病毒抗体检测化验单

姓名：	病历号：××××××	临床诊断：发热待查	标本种类：血清
性别：女	科别：内科	申请医生：	标本编号：××××××
年龄：36 岁	病房：× 病房	备注：空腹采血	采集时间：××××-01-12-08:45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
1	抗弓形虫抗体 Tox IgM	5	阴性 <6 阳性≥8 临界 6~8	AU/ml
2	抗弓形虫抗体 Tox IgG	5	阴性 <6 阳性≥8 临界 6~8	IU/ml
3	抗巨细胞病毒抗体 HCMV IgM	45	阴性 <15 阳性≥30 临界 15~30	AU/ml
4	抗巨细胞病毒抗体 HCMV IgG	<0.4	阴性 <0.4 阳性≥0.6 临界 0.4~0.6	IU/ml
5	抗单纯疱疹病毒抗体 HSV-1/2 IgM	0.6	阴性 <0.9 阳性≥1.1 临界 0.9~1.1	Index
6	抗单纯疱疹病毒抗体 HSV-1/2 IgG	2.3	阴性 <0.9 阳性≥1.1 临界 0.9~1.1	Index
7	抗风疹病毒抗体 RV IgM	9	阴性 <15 阳性≥25 临界 15~25	AU/ml
8	抗风疹病毒抗体 RV IgG	35	阴性 <10 阳性≥15 临界 10~15	IU/ml

接收者：　　接收时间：××××-01-12-08：50　　审核者：

检验者：　　检验时间：××××-01-12-08：55　　检测实验室：

病毒核酸检测化验单

姓名：　病历号：××××××　临床诊断：发热待查　标本种类：血浆

性别：女　科别：内科　申请医生：　标本编号：××××××

年龄：36 岁　病房：× 病房　备注：空腹采血　采集时间：××××-01-12-08:45

No.	检验项目	结果	参考区间	单位
	巨细胞病毒 DNA 检测	1800	<500	copies/ml

接收者：　　接收时间：××××-01-12-08:50　　审核者：

检验者：　　检验时间：××××-01-12-08:55　　检测实验室：

【问题 2】以上化验结果，能确诊为病毒感染吗？都有哪些方面的病毒感染的检测方法？

化验结果提示特异性的抗病毒抗体 IgM 阳性，同时病毒核酸检测阳性，可以诊断此病例为巨细胞病毒感染。

思路 1：病毒的最直接检出方法有哪些

(1) 病毒的分离和培养：病毒无法在体外人工培养基上生长，必须寄生于细胞才能生长，不同病毒所嗜细胞有所不同。如 HCMV 易于在人成纤维细胞（HEL）中生长。从临床标本中分离到一定量的病毒，被认为是检测病毒感染最准确的方法，虽是传统意义上的“金标准”，但日益受到核酸检测等更敏感方法的挑战。总的来说病毒分离培养对技术要求高，分离时间长，易污染，需要在条件设备较高的实验室开展，同时对于潜伏期及经药物治疗后的标本，病毒分离常为阴性结果，不适于作为早期诊断及治疗监测。

(2) 电镜检查：应用电子显微镜技术可直接观察病毒的大小、形态、结构以及病毒在细胞内增殖的过程。直接使用电子显微镜对标本中的病毒颗粒进行观察，但由于技术要求高、设备昂贵，不适于临床常规检验。制作电镜标本的方法主要有超薄切片、磷钨酸负染法等。

学习笔记

(3) 光学显微镜观察细胞病变效应(cytopathy,CPE):大多数病毒属于溶细胞型感染,在敏感细胞内增殖会出现 CPE,通过光学显微镜可观察到细胞内颗粒增多、圆缩、聚集或融合,有时可见包涵体。根据不同病毒包涵体的形态、染色、存在部位的差异,可辅助诊断某些病毒性疾病。

思路 2:检测病毒抗原的方法有哪些

应用单克隆抗体与特异性抗原结合的原理,使用酶联免疫、化学发光和流式细胞等技术检出标本中相应的病毒抗原。目前应用较多的是抗原血症的检测以及应用流式细胞仪检测病毒抗原。

(1) 抗原血症的检测:以人巨细胞病毒(human cytomegalovirus,HCMV)为例,机体在感染 HCMV 后,可在外周血多核白细胞(PBLs)中检测到 HCMV 抗原,称为 CMV 抗原血症。目前主要是针对即刻早期抗原(IEA)、早期抗原(EA)和晚期抗原(LA)进行检测,最常被检测的抗原是 pp65,病毒的被膜蛋白,由位于 CMV 衣壳和包膜之间的磷酸化蛋白构成,占病毒蛋白的 15%,是 HCMV 活动性感染的早期标志性产物。

应用 pp65 进行抗原血症的检测是诊断急性 CMV 感染的直接方法,优点是:可早期诊断,一般在临床症状出现前几天即可观察到阳性结果,具有较高的敏感性和特异性;比细胞培养快速、敏感;可以做到对病毒载量的半定量,阳性细胞数与临床症状的严重程度具正相关性。可用于早期诊断、抗病毒药物治疗监测以及预后评价。缺点是:操作虽比培养法简便,但也相对烦琐,需要有经验的操作人员进行,且结果判定存在一定主观因素;只能做到半定量,实验结果受患者外周血白细胞数量的影响,细胞数量少则影响结果,如在骨髓移植术后早期的患者不适于使用此方法,而对实体器官移植受者影响不大;敏感性比核酸扩增差,对于微量的病毒抗原难以检测。

(2) 流式细胞仪(flow cytometry,FCM):流式细胞技术可进行病毒抗原的检测及定量,检测受感染细胞表面及细胞内的病毒抗原。常用的有直接和间接荧光抗体技术:直接法即用荧光素直接标记特异性单克隆抗体,而间接法是用未标记的一抗与受感染细胞的抗原结合,然后再将荧光标记的二抗与一抗结合。由于不同的抗体可以标记不同的荧光素,所以 FCM 可同时检测到同一种样本中的多种病毒或病毒抗原,同时获得多个分析参数。相比抗原血症检测,FCM 还适用于除血标本之外的,如支气管肺泡灌洗液、尿标本以及经酶消化过的组织细胞等多种标本。与 PCR 方法相比,FCM 可以确定病毒抗原的检出与细胞是否受到感染之间的关联。

思路 3:病毒血清学抗体检测有哪些方法

人体感染病毒后可产生特异性抗体,主要包括抗病毒的 IgG 和 IgM 抗体。以对 HCMV 的免疫反应为例,感染 1~2 周后开始 IgM 类抗体的合成,稍后的一周 IgG 类抗体合成。IgM 的水平通常几周内升高,之后缓慢下降,约 4~6 周。特异性 IgM 型抗体可被作为活动性感染的诊断指标,但有例外。如患者处于免疫抑制状态时,难以产生高效价的抗体,故 IgM 不能作为移植受者、免疫抑制或缺陷等人群 HCMV 活动性感染的检测指标,同时 IgM 抗体无法区分原发感染和再次感染。IgG 型抗体阳性,表示既往感染,是病毒在体内潜伏的标志,潜伏感染状态被激发后 IgG 抗体滴度升高,当双份血清中 IgG 抗体阳转或滴度升高 4 倍或以上者则提示 HCMV 活动性感染。进行 IgG 抗体亲和力检测可以区分原发感染和再次感染。

HCMV 抗体多在病毒抗原血症后两周左右出现,虽无法提供现症感染资料(尤其是免疫低下患者),但由于抗体检测操作简便、快速,目前仍被临床广泛应用,主要进行感染后的确诊、流行病学调查、孕前和孕早期筛查、器官移植的供者和受者术前筛查以及血液制品的检测。常用实验室方法包括以下几种:

(1) 酶联免疫吸附实验(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA):结合抗原抗体的特异性反应与酶对底物的高敏感催化作用,根据酶作用底物后显色,以颜色变化判断结果。可经酶标测定仪做定量分析,敏感度可达 ng 水平。此方法可用于抗体以及抗原检测。实验过程要设立阳性、阴性对照,必要时适当稀释标本,避免假阳性(如类风湿因子的影响)或假阴性的出现。也可用捕获 ELISA 方法:抗人 IgM 链包被固相载体 + 被检血清 + 特异性抗原 + 酶标记特异性单克

隆抗体 + 底物液显色。该方法可以避免类风湿因子等的干扰，使结果更易判定。

(2) 发光免疫分析法：是将发光分析和免疫反应相结合而建立起来的一种检测微量抗原或抗体的新型标记免疫分析技术，具有高灵敏及高特异的优点，可以达到 ng 甚至 pg 级的敏感性，在较宽的线性范围内进行定量，同时具有高效、易于自动化等优点，目前逐渐被广泛应用于临床。

(3) 补体结合试验(complement fixation test，CF)：用于此法的抗原大多数从感染病毒实验株细胞中提取，检查的是抗病毒的 IgG 抗体，由于抗体出现较晚，不适用于感染的早期诊断。利用 CF 实验可以进行病毒的分型检测，但是 CF 法敏感性较低，因而目前应用较少。

(4) 免疫印迹(western blot，WB)：将高分辨的凝胶电泳和高灵敏度的免疫固相检出两种方法相结合，凝胶电泳使混合在一起的成分分开，通过生物分子亲和技术测定，克服了补体结合试验敏感性差，而较 ELISA 法具有更高的特异性。

(5) 间接血凝试验或乳胶凝集法：乳胶凝集法测定病毒抗体是筛选血制品、器官供体的快速检测方法，数分钟内即可出结果。但由于判定结果存在主观性，故存在一定误差，有假阴性和假阳性的可能。

(6) 免疫荧光技术(immunofluorescence assay，IFA)或放射免疫测定试验(RIA)：用荧光素(或放射素)标记抗体或抗原，将血清学的特异性、荧光素(放射素)的敏感性及显微技术的高度精确性结合在一起。既可检测病毒抗原，也可以检测病毒抗体。由于没有放射污染问题，临床应用较多的是 IFA，具有快速、敏感、特异性高的特点。缺点是：需要荧光显微镜，价格昂贵；对标本要求高，要求尽可能地保持抗原形态，并保持在原有位置不溶解、不变性、不扩散、不移位；判断结果具有一定的主观性；标本不易长期保存；会产生假阳性，如与血清中的类风湿因子或嗜异性抗体均可产生假阳性。

思路 4：病毒的分子生物学检测方法有哪些

分子生物学技术自发明后被较早地应用于感染性疾病的诊疗中，主要用于一些不能或不易分离培养、生长缓慢的病原微生物(如病毒、支原体、衣原体、螺旋体以及部分细菌等)，或者血清学方法不能明确的以及存在检测灵敏度低问题的病原体的检测；另外，当血清学方法无法判定是现症感染还是既往感染时，也可利用分子生物学技术来确定。既可以用于病原学确证诊断，也可以用于感染性疾病的病情监测、疗效观察和预后评估，以及病原体的基因分型、耐药基因突变等检测。目前的技术主要是指针对病毒特异的核酸片段进行检测，具有更敏感、更特异的特点，包括有核酸杂交、PCR(polymerases chain reaction，聚合酶链反应)等。具体如下。

(1) 核酸杂交：主要有斑点杂交和原位杂交实验。斑点杂交实验是将从标本中提取的 DNA，变性后点样到醋酸纤维素膜上，与带有放射性或荧光素标记的特异性的探针杂交后进行检测，应用荧光素标记具有较高的敏感性，又避免了放射性污染，但无法观察受感染细胞的状态。而原位杂交可以在保持细胞和组织的原有形态下，在细胞中定位检测特异的病毒核酸的分布、数量、表达形式。核酸杂交技术具有特异性强、形态学定位好、敏感性高等优点。检测病毒 mRNA 可在活动性感染前 2~3 周即为阳性，早于抗原血症的检出，可早期诊断病毒活动性感染。由于杂交实验相对 PCR 还是烦琐、费用高，所以目前在临床上应用并不广泛。

(2) PCR：体外核酸扩增技术 -PCR 方法具有高敏感性、高特异性、操作简便快速的优点，目前已被临床广泛应用，常用的为实时荧光 PCR(real time PCR)。外周血中的白细胞或血浆、血清均可用于病毒核酸的检测，由于可以避免患者白细胞数量对实验的影响以及白细胞阳性可能为潜伏感染造成的假阳性，目前多推荐使用血浆和血清。核酸扩增结果的判读很重要，需要结合病毒感染的时间、不同人群、不同部位等因素综合考虑。由于 PCR 的高敏感性使其阳性预测值(PCR 阳性者发展为有症状的 CMV 感染的患者数)较低，可多次送检以监测 CMV DNA 载量的变化，并结合原发灶的病原学检测结果进行判断。同时由于病毒血症期时间的限制，核酸检测结果阴性也不能完全排除没有病毒感染，需要多次送检并且结合其他检验结果综合判断。

学习笔记

(3) 反转录 PCR(RT-PCR):检测病毒 mRNA 具有更高的特异性以及较高的阳性预测值,是病毒复制的标志,而且比检测 DNA 可以提前 1~4 周获得阳性结果。但是操作上相对 DNA PCR 烦琐,对标本的采集和保存、提取具有更严格的要求,目前临床应用不如 DNA PCR 普及。

(4) 芯片技术:可分为基因芯片技术和蛋白质芯片技术。基因芯片是指将大量已知病毒 DNA 序列的探针固定于某种固相载体表面,形成致密、有序的 DNA 分子点阵。加入一次实验样本就可以一次性获得大量的数据并进行平行分析。但是此新兴技术,其成本高,技术上也存在一定难度,如一个芯片上的多个探针的最适杂交条件难以达到一致、实验中混入杂质使杂交背景增高等,目前难以在临床推广。蛋白质芯片是继基因芯片后发展起来的,基本原理是将大量蛋白质有规则地固定在介质载体上,利用蛋白质、酶与底物、蛋白质与其他小分子之间的相互作用,达到检测蛋白质的目的。此法可适用于抗原血症的检测,但是目前还尚未在临床广泛应用。

(5) 测序技术:目前常用 PCR 产物直接序列测定法(PCR sequencing),直接对目的基因的碱基序列进行测定,结果可靠、直接、准确。DNA 测序技术,从最早的设备昂贵、检测烦琐到目前的自动化程度不断提高,已在临床上逐渐得到越来越广泛的应用。可应用于病毒序列的确定以及病毒基因的变异性、未知基因的性质、基因定位等研究领域。

(6) 生物质谱技术(mass spectrometry,MS):是带电分子或分子碎片按质荷比的大小顺序排列的图谱。质谱仪能使物质粒子在离子源中离子化并通过适当的电场、磁场将它们按空间位置、时间先后等进行质荷比分离,通过测定质荷比来对样品进行分析。质谱技术可应用在病毒核酸、病毒蛋白质组学等领域的研究,具有广阔发展前景。

思路 5:病毒感染后引起的细胞组织病理学改变有哪些

可采用尿液或唾液等,离心沉淀后涂片,也可取材于外科活检或尸检组织,以 Giemsa 或 Papanicolaou 染色后镜检细胞病变,观察有无病毒感染细胞后的特异改变。此方法比较简便、快速,但无病原学的特异性;同时存在假阴性,如查不到细胞病变也不能排除诊断,故需要多次检查。此方法易受药物治疗的影响,不能进行早期诊断。目前把组织病理学和 DNA 探针、荧光标记单抗结合起来,提高了检测的敏感性。

【问题 3】如何评价及选择各种病毒感染相关实验室技术?

应该针对不同人群、不同诊疗目的选择合适的检测病毒感染的方法。各种检测方法各具优缺点:细胞培养法耗时耗人,条件要求高,但特异性好,一般用于科研或者新病原的确定;血清学抗体筛查无创,操作简单方便,但不同方法之间结果可能存在一定差异,会产生假阳性或者假阴性情况,是间接通过人体对病毒感染后的免疫反应状况来判断,并非直接检查病毒本身,同时存在感染后的窗口期以及免疫抑制人群无法产生有效抗体,所以一般不适用于现症感染或免疫低下人群。

同时针对不同人群,选择适合的方法。例如育龄期以及孕产期妇女:首先育龄期妇女,怀孕前应该进行可能影响胎儿的病毒的血清学抗体(包括 IgM 及 IgG 抗体)的筛查,了解机体免疫状况。如果已经具有相关病毒的 IgG 抗体,说明已经感染过此病毒,那么就不会发生在孕产期的病毒的初次感染,如果是再感染,相对对胎儿的危害会小一些。如果在孕期发生 IgM 抗体检测阳性,首先结合既往结果以及 IgG 亲和力检测判断是初次感染还是再感染,间隔 1~2 周检测抗体是否出现滴度变化,同时选择多种检测抗体的方法综合判断,排除免疫学反应可能导致的假阳性情况。

考虑到免疫学方法有可能存在一定的误差,所以建议进行抗体的复查时最好选择不同的实验方法,如化学发光法结合酶免的方法,必要时做免疫印迹进行确认。一定要同时检测病毒 IgM 及 IgG 抗体,观察抗体滴度有无动态变化。如果 IgM 阳性,IgG 抗体由阴性转阳性,判断为病毒原发感染;如果 IgM 多次复查无变化,IgG 抗体依旧阴性,则考虑 IgM 为假阳性。如果无法判断是否发生了宫内感染,可以在适合羊水穿刺的时期进行相关病毒的分子生物学检测,确定是否

学习笔记

存在宫内感染。

分子生物学检测方法目前应用较多的是PCR方法，敏感、特异，操作简便，可快速出结果，除了检出病毒的有无，还可以检测病毒载量、病毒分型以及耐药基因等。病毒载量与疾病的预后及治疗相关，如EB病毒在鼻咽癌患者复发前，其病毒拷贝数明显增加，病毒拷贝数越高预后越差，如移植后HCMV病毒载量的监测决定患者是否服用抗病毒药物；不同病毒的型别与病情相关，如人乳头瘤病毒的高危型与宫颈癌发病密切相关，而低危型一般只导致皮肤疣；病毒基因发生突变，可能导致药物治疗无效，如乙肝病毒的*YMDD*基因突变可导致拉米夫定治疗失败。

分子生物学检测技术虽近年应用广泛，但是一些问题也值得引起注意。例如，PCR检测病毒感染，选择引物是至关重要的，由于基因的多变性使得引物与靶序列的不匹配造成PCR失败，单用一对PCR引物可引起假阴性，主要原因可能是临床标本中病毒的不同或病毒基因组中极微小变异（及病毒拷贝数太低）所致。用针对不同基因的两对引物进行PCR可避免假阴性，此外用巢式PCR也可提高检测的敏感性和特异性。同时还要避免与其他病原的交叉反应造成的假阳性。由于目前临床实验室多采用国家药监局批准的试剂盒，质量有所保障。另外实验过程中我们需要考虑的问题还包括：注重质量控制，避免由于标本核酸降解、提取不当、抑制物等原因存在造成的假阴性；避免由于标本之间污染、产物对模板的污染等原因造成的假阳性；实验操作的自动化和标准化；完善的室内质控及室间质评流程；实验结果的合理判读等等。

【问题4】进行病毒实验室检测时，其标本采集、保存、运输有无特别要求？

进行病毒感染相关实验室检测时，由于标本采集、运输和保存对于检测结果的准确性及有效性影响极大，所以各环节均要求严格。同时也要防止检验人员的交叉感染，注重实验室生物安全。按照不同的实验方法，具体要求如下。

思路1：血清学抗体检测

进行血清学抗体检测的容器一般采用带有促凝剂及惰性分离胶的真空采血管，无菌操作取患者静脉血，抽血后立即颠倒混匀5次，避免溶血、避免交叉污染。采集后常温或冷藏保存(2~8℃)，4小时内送检。如不能立即实验，则应分离血清，2~8℃保存，如长期保存需要-20℃保存。在感染早期，病毒抗体检测可为阴性。

思路2：供分离病毒、检出核酸及抗原的标本，要求做到

(1) 采用合适的容器：容器要求无菌或无核酸污染，可采用特殊的病毒培养运送介质；抗凝剂选用EDTA或者枸橼酸钠，避免使用肝素抗凝。

(2) 及早采集：特别是对用于病毒分离、抗原或核酸检测的标本，尽量在使用抗生素和抗病毒药物之前采集标本。

(3) 尽快送检：病毒离开活体后在室温下很易死亡，故采得标本后应尽快送检。如果做病毒学培养，要避免组织干燥，48小时内能进行接种的可置于4℃保存，如未能接种应置-70℃或以下保存。冻存的标本忌反复冻融。进行核酸检测也尽量不要将组织放在甲醛里，以免引起核酸降解。

(4) 尽量靠近原发灶取材：用于病毒分离、抗原或核酸检测的标本应尽量取自病变部位或接近病变部位（如脑炎取脑脊液，腹泻取粪便，呼吸道感染取鼻咽分泌物或支气管灌洗液，有病毒血症时考虑采集血液）。由于病毒是细胞内寄生，尽量取到细胞，如HPV DNA检测时，不能仅仅取分泌物或宫颈黏液。羊膜腔穿刺取羊水进行病毒的核酸检测，胎血也可以做病毒核酸检测，但是准确性不如羊水标本。

(5) 多次取材，可以一次取多种标本，同时在病程急性期和恢复期都取标本，并且标本量不能过少。

(6) 避免污染标本：避免其他物质对标本的污染，或者标本之间的交叉污染。对于PCR检

学习笔记

测的标本，要防止 PCR 产物对标本的污染。同时防止泄漏引起的对工作人员以及环境的污染。

知识点

病毒感染的相关检验技术

目前诊断病毒感染主要实验室技术有：病毒的培养及鉴定，病毒特异性的抗原、抗体检测；分子生物学检测病毒及病毒载量、分型、耐药基因等。

【问题 5】一个呼吸道感染患者，如何确定其为病毒感染？

思路 1：常见的呼吸道病毒

呼吸道病毒是指一大类能侵犯呼吸道引起呼吸道局部病变或仅以呼吸道为入侵门户，主要引起呼吸道外组织器官病变的病毒。90% 以上的急性呼吸道感染由该类病毒引起。主要分为：正黏病毒科：流感病毒；副黏病毒科：副流感病毒、呼吸道合胞病毒、麻疹病毒、腮腺炎病毒；其他病毒科：腺病毒、风疹病毒、鼻病毒、冠状病毒、呼肠孤病毒等。

思路 2：以流感病毒属为例，具体包括哪些病毒

流感病毒属于正黏病毒科，根据其核蛋白及基质蛋白的不同分为甲、乙、丙型。甲乙丙三型流感病毒均可使人致病，但甲型流感的致病力最强且容易引起大流行。根据甲型病毒表面的血凝素（HA，16 个亚型）和神经氨酸酶（NA，9 个亚型）蛋白的不同可将甲型流感病毒分为 144 种亚型。所有的甲型流感病毒均对禽致病，如高致病禽流感 H5N1、H7N7 及 H7N9 等。感染人的甲型流感病毒主要亚型的有新型 H1N1、季节性 H1N1、季节性 H3N2、H1N2、人感染禽流感 H5N1、人感染禽流感 H7N9 等。

人感染 H7N9 禽流感病毒为新型重配病毒，其内部基因来自 H9N2 禽流感病毒。2013 年 2 月，全国多个省市先后发生不明原因重症肺炎病例，病原体已经明确为 H7N9 禽流感病毒。目前已经在禽类及其分泌物或排泄物分离出 H7N9 禽流感病毒，与人感染 H7N9 禽流感病毒高度同源。传染源可能为携带 H7N9 禽流感病毒的禽类。现尚无人际传播的确切证据。H7N9 经呼吸道传播，也可通过密切接触感染的禽类分泌物或排泄物，或直接接触病毒感染。禽流感病毒普遍对热敏感，对低温抵抗力较强，65℃加热 30 分钟或煮沸（100℃）2 分钟以上可灭活。病毒在较低温度粪便中可存活 1 周，在 4℃水中可存活 1 个月，对酸性环境有一定抵抗力，在 pH4.0 的条件下也具有一定的存活能力。在有甘油存在的情况下可保持活力 1 年以上。

思路 3：检测流感病毒常用的方法有哪些

流感病毒主要检测方法有：

（1）病毒的快速筛查试验：胶体金法只能区分甲型、乙型流感，不能鉴定亚型。

（2）病毒的核酸检测：（RT-PCR、荧光定量 PCR、LAMP、NASBA、基因芯片等技术）是检测病毒保守特异的核酸序列，可以将病毒鉴定到亚型。分子诊断的方法可以从临床标本中直接检测病毒的核酸，该技术具有简便、快速、灵敏、特异性强等特点，既可快速准确作出实验室诊断，还可以区分病毒的不同亚型，目前被广泛应用于病毒基因的检测和分子流行病学调查等。

（3）病毒培养：呼吸道标本中可分离出流感病毒，合并病毒性肺炎时肺组织中亦可分离出该病毒。培养阳性是病毒感染的最直接的证据。近些年来，诸多改良的细胞培养法分离并鉴定病毒以满足临床诊断要求。将不同种类的细胞混合起来制备成单层细胞，可以提高检测的敏感性，用来检测呼吸道合胞病毒（RSV）、副流感病毒（PIV）、流感病毒及腺病毒（ADV）。R-Mix 是水貂肺细胞（Mv1Lu）和 A549 的混合细胞，与传统的细胞管培养法相比，R-Mix 更适合实验室采用的单一小瓶培养法。含有 MDCK 细胞和 A549 的 R-Mix 系统对呼吸道病毒分离作用良好，且不支持 SARS 冠状病毒的生长。对于大流行期间没有分子技术的实验室，基于小瓶培养的杂交细胞法被广泛使用。研究表明 R-Mix 培养与分子技术或其他非分子方法相比，对检测 H1N1 的特异性

学习笔记

和敏感性均好。

(4) 血清学检查：动态检测血清流感病毒特异性中和抗体水平呈4倍或4倍以上升高为阳性。该方法仅作为一种回顾性诊断，常为病毒诊断的辅助工具。然而，对于有流感样疾病病史但不排出病毒或无症状感染的患者，血清学检测可能是唯一的诊断方法。

另外目前有针对常见呼吸道病毒开发的多联检测试剂，通过免疫荧光的方法直接检测呼吸道标本中的病毒抗原，或者检测血清样本中的病毒抗体。通过联合检测可以快速明确病原。

病历摘要：

患者男，30岁，司机。因发热、乏力、消瘦半年来诊。患者于半年前无明显诱因发热，多呈低热，一般不超过38℃，伴乏力、全身不适和厌食，大便每天2~3次，正常稀便，无脓血，无腹痛和恶心、呕吐，逐渐消瘦，不咳嗽。病初曾到医院看过，胸片及血、尿、粪便常规未见异常，遂服中药治疗，不见好转。半年来体重下降约8kg，睡眠尚可。既往5年前因阑尾炎化脓穿孔手术并输过血，无肝肾疾病和结核病史，无药物过敏史。吸烟10年，每天1盒，不饮酒。有冶游史。查体皮肤未见皮疹和出血点，右颈部和左腋窝各触及1个2cm×2cm大小淋巴结，活动无压痛。实验室检查：Hb 120g/L，WBC 3.5×10^9/L，N 70%，L 30%，Plt 78×10^9g/L；血清抗HIV(+)。

【问题6】该患者初步诊断及诊断依据什么？

思路1：初步印象是：艾滋病。诊断依据：①中年男性，慢性病程；②低热、乏力、厌食、腹泻伴消瘦半年；③5年前曾输过血，有冶游史；④查体见颈部和腋窝淋巴结肿大，无压痛，肝脾肿大；⑤血WBC和Plt偏低，血清抗HIV阳性。

思路2：艾滋病的病原体

艾滋病是一种危害性极大的传染病，由感染艾滋病病毒(HIV病毒)引起。HIV属于反转录病毒科的慢病毒属。HIV是一种能攻击人体免疫系统的病毒。它把人体免疫系统中最重要的T淋巴细胞作为主要攻击目标，大量破坏该细胞，使人体丧失免疫功能，因此，人体易于感染各种疾病，并可发生恶性肿瘤，病死率较高。HIV在人体内的潜伏期平均为8~9年，患艾滋病以前，可以没有任何症状地生活和工作多年。

思路3：HIV感染后的临床表现

HIV感染后，最开始的数年至10余年可无任何临床表现。一旦发展为艾滋病，病人就可以出现各种临床表现。一般初期的症状如同普通感冒、流感样，可有全身疲劳无力、食欲减退、发热等，随着病情的加重，症状日见增多，如皮肤、黏膜出现白色念珠菌感染，出现单纯疱疹、带状疱疹、紫斑、血疱、淤血斑等，以后渐渐侵犯内脏器官，出现原因不明的持续性发热，可长达3~4个月，还可出现咳嗽、气促、呼吸困难、持续性腹泻、便血、肝(脾)大、并发恶性肿瘤等。临床症状复杂多变，但每个患者并非上述所有症状全都出现。侵犯肺部时常出现呼吸困难、胸痛、咳嗽等，侵犯胃肠可引起持续性腹泻、腹痛、消瘦无力等，还可侵犯神经系统和心血管系统。

思路4：HIV感染的实验室检查

(1) 机体免疫功能检查：主要是中度以上细胞免疫缺陷，包括：$CD4^+$T淋巴细胞耗竭，外周血淋巴细胞显著减少，CD4<200/μl，CD4/CD8<1.0，(正常人为1.25~2.1)，迟发型变态反应皮试阴性，有丝分裂原刺激反应低下，NK细胞活性下降。

(2) 各种致病性感染的病原体检查：如用PCR方法检测相关病原体，恶性肿瘤的组织病理学检查等。

(3) HIV抗体检测：采用酶联免疫吸附法、明胶颗粒凝集试验、免疫荧光检测法、免疫印迹检测法、放射免疫沉淀法等，其中前三项常用于筛选试验，后二者用于确证试验。

(4) PCR技术：检测HIV病毒RNA。

学习笔记

思路 5：HIV 感染的筛查实验主要采用具体什么方法

我国目前最常用的抗体筛查试验是酶联免疫吸附试验（ELISA）、明胶颗粒凝集试验（PA）和胶体硒（金）标记法。胶体硒（金）标记法是以胶体硒（金）为标志物，以硝酸纤维素膜为载体，以层析形式进行免疫测定的技术。其特点是比较稳定，操作简单快速，不需仪器设备，适用于基层单份标本。但该方法诊断特异性低于其他方法，假阳性率高。灵敏度也低于其他方法。明胶颗粒凝集试验是使用明胶颗粒吸附 HIV 抗原，检测被筛查标本中 HIV1/2 抗体。该方法也不需仪器设备，其灵敏度高于 ELISA 法。其定量分析 HIV 抗体几何平均滴度高于 ELISA 第 3 代、第 4 代试剂。但实验中需要 U 板，需按要求对标本进行稀释，因此不利于基层卫生单位初筛使用。可用于各实验室初筛阳性后复检时检测抗体滴度。

酶联免疫吸附试验（ELISA），初筛用的 ELISA 试剂经过了第 1 代、第 2 代、第 3 代后已经发展到了第 4 代。第 3 代、第 4 代试剂的敏感性、特异性已达到国际水平。第 3 代 HIV1/2 试剂盒（双抗原夹心法），采用基因工程包被 HIV1gp41 和 HIV2gp 36 特异性抗原，不用酶标二抗，而用酶标特异 HIV 抗原，双重识别，不易出现假阳性，能同时检出 IgM、IgG，防止漏检。ELISA 第 4 代在第 3 代基础上同时包被 HIV 多种抗体和 HIV1p24 抗原，酶结合物中含有相应 HRP 标记的抗原和抗体，可同时检测 HIV 抗体和 HIV1p24 抗原，提高了检测敏感性，缩短了窗口期。ELISA 第 4 代比第 3 代可提前 1 周 ~2 周作出诊断，适用于早期感染者筛查。但由于包被的抗体占据一定抗原位点，尤其是当抗原消失、抗体大量出现时第 4 代试剂的敏感度低于第 3 代。

知识点

病毒感染后的窗口期

人体感染 HIV 后，一般需要 2~4 周，最多 8 周左右血液中才可检测到 HIV 抗体或者 HIV 抗原。因为从感染 HIV 到机体产生抗体的这一段时间检测不到 HIV 抗体或者 HIV 抗原，故称之为窗口期，又叫做空窗期，是英文 window period 的翻译。感染艾滋病病毒的个体在窗口期内同样具有传染性。当人体感染艾滋病病毒达到 14~28 天，大多数检测方法包括酶联法和双抗原夹心法就可以得到相当准确的结果。人体感染艾滋病病毒 42 天，也就是 6 周左右的时候，人体 HIV 抗体的浓度达到峰值，随后缓慢下降。

（王　辉）

第三节　常见真菌感染的检验

随着广谱抗菌药物、抗肿瘤药物、糖皮质激素和免疫抑制剂在临床的广泛应用，器官移植和导管技术的开展，免疫受损患者不断增多，真菌感染，特别是机会性真菌感染的发病率呈上升趋势，已引起医学界的广泛关注。真菌感染的诊断较为困难，很多患者由于病情延误，导致治疗失败。解决这一问题的关键在于提高实验室的真菌诊断水平。

病历摘要：

患者男，57 岁。因乏力、咳嗽、发热 20 余天就诊。4 个月前诊断为慢性粒细胞白血病，行骨髓移植术。查体：精神差，体温 38.3℃，未见皮肤及黏膜出血，浅表淋巴结无肿大；双肺呼吸音清，心律齐，各瓣膜区未闻及杂音；肝脾未触及；双下肢无水肿。血常规：WBC 1.8×10^9/L，RBC 4.6×10^{12}/L，Plt 90×10^9/L；胸部 CT 示：双肺纹理增多，双肺可见多发斑片状密度增高影，部分病变空洞形成，空洞内可见圆形结节状密度增高影。痰培养结果如下：

学习笔记

×× 医院检验报告单

姓名：	病历号：××××××	临床诊断：白血病、感染？	标本种类：痰
性别：男	科别：血液科	申请医生：	标本编号：××××××
年龄：57 岁	病房：	备注：黏液痰	采集时间：××××-09-01-07：40

痰性状：　黏液痰

痰革兰染色涂片：白细胞 >25 个 / 低倍视野，上皮细胞 <10 个 / 低倍视野；
少量革兰阳性球菌呈链状排列
可见大量真菌菌丝

痰培养：　黄曲霉

药敏试验：	MIC 折点范围	MIC 值（μg/L）	敏感度
二性霉素 B		1.5	
伊曲康唑		2	
伏立康唑		0.38	

注明：1. S：敏感；ND：CLSI 无标准；R：耐药。
2. 由于克柔念珠菌对氟康唑天然耐药，实验结果被系统地解释为 R。
3. 对于二性霉素 B，MIC ≥ 2mg/L，建议判断为不敏感。

接收者：	接收时间：××××-09-01-08：10	审核者：	审核时间：××××-09-05-09：40
检验者：	检验时间：××××-09-01-08：21	检测实验室：	×××× 医院检验科微生物室

培养后菌落压片见（图 16-3-1）。

【问题 1】结合该患者既往病史、临床症状以及痰涂片和培养报告，应考虑的诊断是什么？

根据病史此患者白细胞降低，体温升高并存在易感因素；临床上符合下呼吸道感染的主要标准，并有胸部 CT 提示的空洞影像学证据；微生物方面，痰培养结果为黄曲霉。综上可作出黄曲霉肺部感染的临床诊断，如有可能进一步获取深部组织，如肺组织，若找到曲霉菌，即可最终确诊。

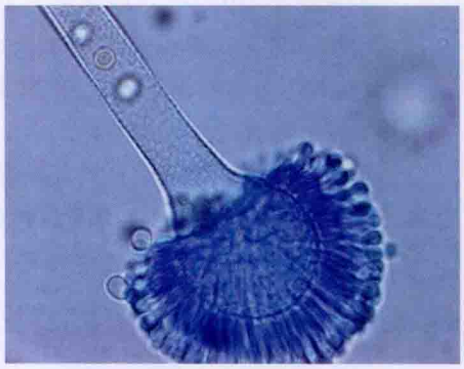


图 16-3-1　黄曲霉培养后菌落压片，乳酚棉兰染色，100 倍油镜下观察

侵袭性真菌感染（invasive fungal infections，IFI）的诊断标准是分层诊断体系，包括确诊（proven）、临床诊断（probable）、拟诊（possible），诊断时需要考虑以下几个因素和标准。

思路 1：侵袭性真菌感染（invasive fungal infection，IFI）的诊断需考虑宿主、临床和微生物三方面因素。

（1）宿主因素

1）中性粒细胞减少：中性粒细胞计数 $<0.5\times10^9$/L，且持续 10 天以上。

2）体温 >38℃或 <36℃，且存在下列任何 1 种易感因素：①之前 60 天内出现过长期中性粒细胞减少（10 天以上）；②之前 30 天内，曾使用过或正在使用强效免疫抑制剂；③侵袭性真菌感染病史；④患者同时患有艾滋病；⑤存在移植物抗宿主病的症状和体征；⑥长期使用类固醇激素（3 周以上）。

（2）IFI 诊断临床标准分为主要标准和次要标准

1）下呼吸道感染：主要标准：肺 CT 检出以下任何 1 种渗出征象：光晕征；新月形空气征；实变区域内出现空腔。次要标准：下呼吸道感染症状（咳嗽、胸痛、咯血、呼吸困难等）。

2）鼻及鼻窦感染：主要标准：影像学检查提示鼻窦部位侵袭性感染（窦壁侵蚀，或感染突入邻近部位，以及颅骨基底部位的广泛破坏）。次要标准：①上呼吸道症状（流涕、鼻塞等）；②鼻溃疡、鼻黏膜结痂、鼻出血；③眶周肿胀；④上颌窦压痛；⑤硬腭黑色坏死性损伤或穿孔。

学习笔记

3）中枢神经系统感染：主要标准：影像学检查提示中枢神经系统感染（从鼻旁窦、耳部或椎突蔓延而致的脑膜炎、颅内脓肿或梗死等）。次要标准（脑脊液培养和镜检均未发现其他病原体及恶性细胞）：①局灶性神经症状和体征（包括局灶性癫痫、偏瘫和脑神经麻痹等）；②精神改变；③脑膜刺激征象；④脑脊液生化学检查和细胞计数异常。

4）持续发热超过 96 小时，合理的广谱抗菌药物治疗无效，为以上各类疾病的临床次要标准。

（3）IFI 微生物学标准包括：①痰或支气管肺泡灌洗液培养呈丝状真菌（包括曲霉菌属、镰刀霉属、接合菌或放线菌属）或新型隐球菌阳性；②鼻窦抽取液直接镜检或细胞学检查，或培养呈霉菌阳性；③痰或支气管肺泡灌洗液经直接镜检或细胞学检查发现丝状真菌隐球菌；④支气管肺泡灌洗液、脑脊液或 2 份以上的血液样品呈曲霉菌抗原（半乳甘露聚糖检测、GM 试验）阳性；⑤血液（1,3）-β-D 葡聚糖检测（G 试验）阳性；⑥血液隐球菌抗原阳性；⑦无菌体液中经直接镜检或细胞学检查发现真菌；⑧未留置尿管的情况下，连续 2 份尿样培养均呈酵母菌阳性或尿检见念珠菌管型；⑨血培养呈酵母菌阳性；⑩肺部异常，与下呼吸道感染相关的标本中（血液、痰液和支气管肺泡灌洗液等）多次培养无任何致病细菌。

思路 2：侵袭性真菌感染（IFI）的确诊标准（proven），分为以下几种情况。

（1）深部组织感染

1）丝状真菌：相关组织存在损害时（镜下可见或影像学证据确凿），在针吸或活检取得的组织中，用组织化学或细胞化学方法检获菌丝或球形体（丝状真菌）；或在通常无菌而临床表现或放射学检查支持存在感染的部位，在无菌术下取得的标本，其培养结果呈阳性。

2）酵母样真菌：从非黏膜组织用针吸或活检取得标本，通过组织化学或细胞化学方法检获酵母菌细胞和（或）假菌丝；或在通常无菌而临床表现或放射学检查支持存在感染的部位（不包括尿道、鼻窦和黏膜组织），在无菌术下取得的标本，其培养结果呈阳性；或脑脊液经镜检（切片以印度墨汁或染色）发现隐球菌或抗原反应呈阳性。

（2）真菌血症

1）丝状真菌：血液真菌培养呈阳性（不包括曲霉菌属和除马尔尼菲青霉的其他青霉属），同时临床症状及体征符合相关致病菌的感染。

2）酵母样真菌菌：血培养呈念珠菌或其他酵母菌阳性，同时临床症状及体征符合相关致病菌的感染。

思路 3：侵袭性真菌感染（IFI）的临床诊断（probable）和拟诊（possible）标准

（1）IFI 临床诊断：至少符合 1 项宿主因素，且可能感染部位符合 1 项主要（或 2 项次要）临床标准，1 项微生物学标准。

（2）IFI 拟诊：至少符合 1 项宿主因素，1 项微生物学标准，或可能感染部位符合 1 项主要（或 2 项次要）临床标准。

知识点

我国侵袭性真菌感染的诊断标准是分层诊断

我国侵袭性真菌感染的诊断标准是分层诊断，包括确诊（proven）、临床诊断（probable）、拟诊（possible），确诊需要获得深部组织或血液中真菌生长的直接证据，临床诊断或拟诊则需考虑宿主因素、临床标准和微生物学标准。

【问题 2】什么是真菌？临床常见致病真菌如何分类？

真菌（fungi）属真核细胞型微生物，隶属真菌域，真菌界，在自然界如土壤、空气等中广泛存在，其中部分可引起人类致病，这一部分也是临床感染学和临床微生物学的重点研究内容。

学习笔记

思路 1：真菌（fungi）属真核细胞型微生物，种类繁多，分类复杂，自然界真菌多达 150 万种，与人类和动物疾病有关的约 500 种，能引起正常个体感染的致病性真菌在 50 种左右。真菌引起人类、动物的疾病，称为真菌病（mycosis）。根据真菌侵犯部位不同，真菌病分为浅部真菌感染和深部真菌感染；根据病原不同，可分为念珠菌病、曲霉病、毛霉病和隐球感染等。医学真菌学是研究人和动物的真菌病及致病菌种的学科。

思路 2：真菌界菌种种类繁多，分类几经变化。现代真菌学仍是以真菌形态、细胞结构、生理生态等特征，以及真菌有性阶段的形态特征为主要依据进行分类，真菌界分三个门，即子囊菌门、结核菌门和担子菌门，还有一种半知菌，学术界虽未承认，但仍予保留。现简述如下：

（1）子囊菌门：50% 已知真菌种都属于此门，包括 80% 的致病菌和条件致病菌。有子囊、菌丝壁双层，致病菌主要有以下 3 个纲：

1）不整囊菌纲：包括曲霉（烟曲、黄曲、土曲），本病例中的患者培养出的黄曲霉即属此类。此外还有马尔尼菲青霉、球孢子菌和组织胞浆菌，均有致病意义。

2）单囊壁核菌纲：包括假性阿什利霉、镰刀菌。

3）囊壁核菌纲：主要包括酵母目，所有的念珠菌属于此目，此外还包括瓶霉。

（2）接合菌门：包括虫霉目和毛霉目，其中毛霉、根霉是临床较为常见的致病菌。

（3）担子菌门：隐球菌属和红酵母菌属于此门。

（4）半知菌：现也称为丝裂孢子真菌，临床不常见。

知识点

真菌如何分类

临床医学中的真菌分类习惯是按致病菌的侵犯部位，将其分为浅部真菌和深部真菌两类。浅部真菌主要侵犯机体皮肤、毛发和指（趾）甲，寄生和腐生于表皮、毛发和甲板的角质组织中，引起浅部真菌病；深部真菌一般是指侵犯皮下组织和内脏，引起全身性感染的致病真菌或条件致病真菌。按菌落形态可分为酵母菌、霉菌和双相真菌。

学习笔记

【问题 3】临床常见的真菌感染有哪些？

根据病原菌种类，临床较常见真菌感染包括念珠菌属、曲霉菌、隐球菌等，简述如下：

思路 1：念珠菌病（candidiasis）是由念珠菌属真菌引起的皮肤、黏膜及内脏器官的急性或慢性感染，是最重要的机会性真菌感染之一，可局限于一个器官或呈播散性感染，严重的侵袭性感染常危及生命。临床常见的念珠菌包括白色念珠菌、热带念珠菌、近平滑念珠菌和光滑念珠菌，根据致病部位和组织学变化，可以分为浅部皮肤念珠菌感染、念珠菌肉芽肿、黏膜念珠菌感染和系统念珠菌病。对皮肤念珠菌病、口腔念珠菌病和外生殖器念珠菌病，根据临床表现，结合涂片镜检发现孢子和假菌丝，即可诊断，且如果涂片有大量假菌丝，则提示念珠菌为致病状态，对诊断有重大意义。必要时做真菌培养，但须注意白色念珠菌是口腔正常菌群，故单纯培养阳性不能确定感染。深部念珠菌感染的诊断困难，临床表现无特异性，且病原学和血清学检查的结果不易解释。因此对疑似病例，应尽量采集各种标本进行组织病理学和微生物学检查。

思路 2：曲霉病（aspergillosis）是曲霉菌属中的一些致病曲霉引起的疾病，近年来曲霉菌条件性感染发病不断上升，已成为仅次于念珠菌感染的深部真菌病。曲霉菌在自然界中分布广泛，存在于土壤、植物和室内环境，为实验室常见污染菌之一。曲霉属中某些种可引起皮肤、鼻窦、眼、耳、支气管、肺、中枢神经系统的感染，也可导致变态反应或毒素中毒症等。在医院中以机会性感染最多见，机会性感染的最主要易感因素是使用免疫抑制剂，常见的曲霉病病原有以下几种。

（1）烟曲霉：可寄生于肺内，发生肺结核样症状，是肺部侵袭性真菌感染的主要病原菌之一，可产生烟曲霉毒素。

(2) 黄曲霉:可引起肺、外耳道、皮肤脓皮病样曲霉菌病,某些菌株产黄曲霉毒素,引起中毒或致癌。

(3) 黑曲霉:除能引起曲霉菌病外,也能产生黑曲霉毒素。

(4) 构巢曲霉:可引起外耳道、咽喉、肺等曲霉病,可产生杂色曲霉毒素。

思路 3:隐球菌感染的病原主要是新型隐球菌,新型隐球菌广泛分布于自然界,在鸽粪中大量存在,也可以存在于人体表、口腔和肠道中。新型隐球菌可经呼吸道侵入人体,由肺经血液播散时可侵犯所有脏器组织,主要侵犯肺、脑及脑膜,引起慢性脑膜炎,也可侵犯皮肤、骨、关节等部位。新型隐球菌好发于细胞免疫功能低下者,如艾滋病、糖尿病、恶性肿瘤、器官移植及大剂量使用糖皮质激素者。

【问题 4】上述化验报告单上关于痰性状(黏液痰)和涂片细胞学(白细胞 >25 个 / 低倍视野,上皮细胞 <10 个 / 低倍视野)的描述有何意义?

以痰标本为代表的呼吸道标本,由于咳出时必须经过口咽部,标本必然混杂口咽部的正常菌群,因此对临床诊疗价值有限,故需对标本合格与否进行判断。报告单中对痰性状和细胞学进行描述,目的有两点:一是确定标本是否来源于下呼吸道,这可以依据低倍镜下观察白细胞和上皮细胞数目来判定:合格的痰标本应在低倍镜下≤10 个鳞状上皮细胞,≥25 个白细胞;二是观察有无真菌孢子或菌丝,可初步断定是否有真菌存在。

思路 1:微生物实验室有责任将标本质量反馈给临床,以便临床医师更好地解读报告结果。对于真菌感染,特别是系统性真菌感染,早期诊断是挽救患者生命的关键,也是实验室的首要目标。而确立真菌感染的最基本要求则是临床医生应向实验室提供合格的标本以供检查。收集的标本和部位应能代表疾病的状态和进程,应考虑到自然状态下标本的污染可能。

思路 2:下呼吸道标本的收集和处理原则

用于真菌培养的理想呼吸道标本应是清晨新鲜的痰,采集在无菌容器中,2 小时内处理。如不能尽快处理,应将其贮存在 4℃。一般推荐 3 次以上痰标本送检。对免疫力低下的患者,最佳的下呼吸道标本采集方式是支气管肺泡或支气管灌洗。此类标本需离心沉淀后检查。本例患者是白血病骨髓移植术后,属免疫力低下的易感人群,可进一步采集支气管肺泡或支气管灌洗送检,以明确诊断。

【问题 5】除呼吸道标本外,其他真菌检查标本的送检和处理原则是什么?

除呼吸道标本外,其他来自机体无菌部位的标本,一旦检出细菌或真菌,结合临床症状,即可确定为致病菌,这一点与痰和下呼吸道标本有所不同,故此类标本临床检验及诊断价值极大,但通常较难获取,故极为珍贵,包括脑脊液、血液、心包积液、胸腹水和关节液等。处理原则是快速送检,优先处理,并根据不同标本进行相应的处理,严格执行无菌操作等。具体处理时应注意以下几点。

(1) 脑脊液:实验室检测脑脊液中感染性病原体的灵敏度取决于脑脊液的采集量,采集 3~5ml 为宜,采集后须立即送达实验室。用于培养的脑脊液须在室温下离心(3000g,15 分钟)浓缩,离心后上清液用于血清学试验,沉淀用于镜检和培养,镜检发现阳性结果须立即向医生报告。

(2) 血液:对所有怀疑深部真菌的病例均应进行血培养,但此法检出率不高,对高度怀疑者,可采集动脉血培养或使用解离离心系统。

(3) 骨髓:有助于诊断一系列深部真菌感染,包括组织胞浆菌病和隐球菌病,采集 3~5ml 置于无菌容器中并立即送检。

(4) 其他体液:包括胸水、腹水和关节液等均应收集至无菌容器中,并快速送达实验室,离心沉淀用于镜检和培养。

(5) 尿液:非插管患者的新鲜中段尿最宜,最好在医护人员监督指导下留取,应在 2 小时内

学习笔记

送达，对于疑似真菌感染的患者，尿液标本应离心，沉淀部分用于培养。

(6) 浅部真菌标本采集部位种类较多，包括皮肤、甲和毛发，采集此类标本前用 75% 酒精清洁，皮肤标本取材时用钝刀从损害边缘向外刮取；如果是鳞屑，可用透明胶带黏附；甲标本应从变色、萎缩的部位采取，尽可能接近甲近端取材；对于毛发，可用镊子将毛发从头皮拔除；对于口腔黏膜和耳道，可用刮片和拭子取材，虽然刮片效果好，但后者更常用，因为拭子更便于标本的运送。

总之，正确的标本采集、运送、保存和处理对于临床微生物室的工作质量至关重要，必须给予高度重视，本病例中对患者痰性状和涂片的描述实际上就是对标本质量的评价。

知识点

真菌标本的采集原则

标本选择、采集和运送，对检验结果有重要影响。不同部位的标本有不同的采集方法和送检处理原则。用于真菌培养的理想标本应包括至少以下三点：

1. 取自恰当的部位。
2. 有足够用于分析的量。
3. 有明显的标识和正确的保存运送方法。

【问题 6】标本直接镜检对临床诊断有何意义？

临床标本的直接显微镜检查是最简单也是最有效的实验室诊断方法，优点在于简便、快速，可在几分钟内完成，阳性结果可确定真菌感染，且直接镜检可观察到真菌形态，区分出念珠菌、隐球菌、曲霉菌、毛霉菌等不同病原，提供有价值的临床信息。

思路 1：标本直接涂片的优缺点

直接镜检对于浅表和皮下真菌感染最有帮助，在皮肤刮屑、毛发或指甲标本中若发现皮肤癣菌、念珠菌和花斑癣菌，即可确诊，简单快速是其最大优点。如果在无菌体液的直接镜检中发现真菌成分也可确诊深部真菌感染，如在脑脊液中检测到带荚膜的新型隐球菌细胞。但一般在有菌部位只有发现大量真菌菌丝才可以作出诊断。缺点是阳性率较低，阴性结果亦不能排除诊断。

思路 2：标本直接涂片的常用方法

(1) KOH 浮载：KOH 可消化蛋白质残余并使角化组织透明，可以更清晰地观察到标本中的真菌，常用 KOH 溶液浓度为 10%~20%，在洁净玻片上滴一滴 KOH，再将标本滴在其上混匀，盖上盖玻片，过火 2~3 次，冷却后于低倍镜下观察。

(2) 生理盐水：可直接观察黏膜或组织碎块，但易于干燥，只能短时间观察。

(3) 墨汁染色：墨汁浮载可使新生隐球菌的荚膜明亮而易于观察，但在非 AIDS 隐球菌感染脑膜炎中，阳性率仅有 50%，诊断价值有限，因此不主张用墨汁染色作为脑脊液中新型隐球菌的常规检测方法，应做培养和乳胶凝集试验。

(4) 乳酸棉蓝染液：是真菌镜检的标准浮载剂，乳酸对真菌有杀灭作用，且利于涂片保存；棉兰是酸性染料，能使真菌着色呈蓝色而便于观察，特别是丝状真菌，可观察到有特征性的产孢结构(图 16-3-2)。

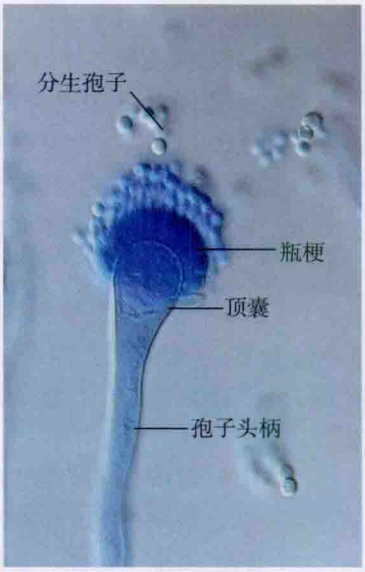


图 16-3-2　丝状真菌镜下的产孢结构，乳酚棉兰染色，40 倍镜观察

学习笔记

知识点

如何评价真菌直接镜检法

直接镜检和培养结果不一致时，应结合临床进行分析。直接镜检有阳性率低的特点，镜检阴性，而培养结果为阳性时，结合患者临床症状及体征支持，应以培养结果为准；若镜检可见真菌，而培养为阴性时，考虑可能是某些较难培养的真菌，应改变培养条件，必要时也可采用分子生物学方法鉴定。

【问题 7】临床大多数真菌的常用培养方法是什么？

根据不同标本，对标本进行处理（如消化、离心等）后，将标本接种于不同培养基，如最常用沙氏葡萄糖蛋白胨琼脂，置于 28℃培养 24~48 小时，这是适用于大多数真菌的常用培养方法。

思路 1：从临床标本中对致病菌真菌进行培养，目的是为进一步提高病原菌检出阳性率，同时确定致病菌种类。一旦发现肯定的致病菌如红色毛癣菌或新型隐球菌，诊断即可确立；但如分离出条件致病菌如白色念珠菌或烟曲霉时（如本例患者），应结合临床情况进行判断。从无菌部位如血液或脑脊液中分离出的条件致病菌常提示肯定诊断，同时强调直接镜检与培养相结合。鉴于目前深部条件致病性真菌感染不断增加，难以排除少见真菌引起感染的可能性。因此未与临床医师沟通前，任何一株培养物都不应被视为污染菌。临床医师与实验室检验人员应加强联系和沟通。

思路 2：真菌培养建议使用几种不同培养基以满足不同目的，如确定感染、鉴定菌种、药敏测试、保存菌种等，分离培养基的使用应根据具体情况选择。对于念珠菌培养，常用培养基是沙氏葡萄糖蛋白胨琼脂（通常称为沙保弱培养基，SDA），目前有商品供应，28℃培养 24~48 小时，适用于大多数真菌，将培养后的单个菌落接种于 CHROMagar 念珠菌显色培养基，35℃培养 24~48 小时后可以观察到颜色变化，根据不同颜色可以鉴定菌种；对于曲霉菌培养，常用沙氏培养基或马铃薯葡萄糖琼脂（由新鲜马铃薯直接制备，经济实用，大多数真菌特别是曲霉和暗色真菌，在此培养基上生长良好，产孢丰富）一点或三点点种培养，培养时间 7~14 天。观察时应注意生长速度、颜色、表面质地及显微镜下特征，并逐项记录。

思路 3：在丝状真菌菌落上分离菌丝，菌丝会脱离原始状态，难以观察，这时通常使用小培养法，也称玻片培养法，简要操作是取一小块方形培养基琼脂放在载玻片上，在其侧面接种真菌，再将另一无菌盖片盖在上面，注意保持湿度，28℃培养 48 小时后可观察。观察时，取下盖片，快速过火固定后显微镜观察。上述操作需在生物安全柜内进行。

思路 4：双相真菌是一类特殊的致病真菌，在不同的温度条件下可产生不同的形态学特征，如在人体内部寄生或在 37℃条件下产生酵母，而在室温条件下则产生霉菌（菌丝相），主要包括几种致病菌：皮炎芽生菌、荚膜组织胞浆菌、巴西副球孢子菌、粗球孢子菌、申克氏孢子丝菌、马尔尼菲青霉等，培养时要注意温度，真菌培养室应具备不同温度的温箱，如 28℃和 35℃。

知识点

真菌培养的适宜温度

真菌培养的最适温度为 30℃，此温度下几乎所有致病性真菌生长较快较好，35℃以上可抑制一些病原性真菌的生长。有些真菌可耐高温，如烟曲霉可在 45℃生长，可区别于其他曲霉。菌种应在 -70℃保存。

【问题 8】临床常见真菌如何鉴定？

临床常见真菌主要包括念珠菌属和丝状真菌，念珠菌的鉴定主要依靠菌落形态和生化反应，丝状真菌则是以形态学判断，鉴定时有相当难度，必要时需要分子生物方法，如 PCR 法鉴定。现简述如下。

学习笔记

思路 1：常见念珠菌属的常规鉴定要点

念珠菌属菌细胞呈圆形或卵圆形，直径3~6μm，发芽繁殖，绝大多数形成假菌丝，不产生囊孢子、冬孢子，不能利用肌醇作为碳源，芽生孢子形态不稳定，从圆、卵圆到伸长。临床常见念珠菌主要有白色念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌、近平滑念珠菌和克柔念珠菌，涂片染色均可见革兰染色阳性的圆形或卵圆形芽生孢子或有假菌丝，故镜下形态难以区分，实验室常用CHROMagar念珠菌显色培养基来区分，不同念珠菌在该培养基上生长的菌落颜色不同（图16-3-3~图16-3-5），生长特性见表16-3-1。

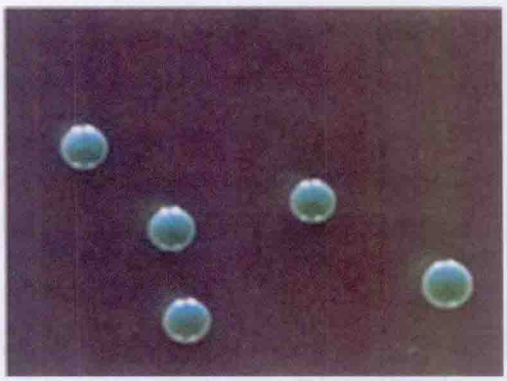


图16-3-3　白色念珠菌在CHROMagar念珠菌显色培养基上生长，菌落呈现绿色

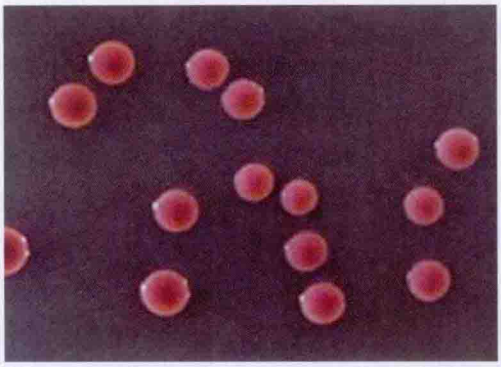


图16-3-4　光滑念珠菌在CHROMagar念珠菌显色培养基上生长，菌落呈现紫色

图16-3-5　克柔念珠菌在CHROMagar念珠菌显色培养基上生长，菌落呈现粉红色

表16-3-1　念珠菌常见菌属在部分培养基上的生长特性

特性	白色念珠菌	热带念珠菌	克柔念珠菌	近平滑念珠菌	光滑念珠菌	季也蒙念珠菌
沙保罗平板	乳酪样	奶油样	扁平、干燥	乳酪样	乳酪样	乳酪样
血琼脂平板	中、暗灰	大、灰白	大、扁平	小、透明	小、灰白	小、灰白
CHROMagar	绿色	蓝灰色	粉红色	白色或淡粉色	紫红色	淡粉或紫色

思路 2：临床常见曲霉菌属的形态鉴定要点，见表16-3-2。

表16-3-2　主要借助菌落形态和产孢结构

特性	烟曲霉	黄曲霉	黑曲霉	土曲霉
SDA菌落形态	白色转绿色到深绿表面粉状	白色到黄色表面粉状	白色很快变黑色	淡褐色小、圆
分生孢子梗	长约300μm 直径5~8μm 壁光滑 近顶端渐粗 淡绿色	长约400~800μm直径20μm壁粗糙近顶端渐粗无色	长约100~3000μm 直径15~20μm壁光滑近顶端渐粗无色	长约100~250μm 直径3~6μm 近顶端渐粗无色
顶囊	烧瓶状	球形	球形	半球形
小梗	单层、长占顶层4//5木栅状	单层、双层基层长占满顶囊放射状	双层、基层长占满顶囊放射状	双层、基层短占满顶囊2/3放射状
分生孢子	有小棘、球形、绿色成链	球形或梨形	有小棘、球形褐色	小而扁平

学习笔记

思路 3：临床常见毛霉菌属的形态鉴定要点，见表 16-3-3。

表 16-3-3　临床常见毛霉菌形态鉴别要点

特性	毛霉属	根霉属	犁头霉属	根毛霉属
匍匐菌丝和假根	无	明显，孢囊梗与假根对生	有，孢囊梗着生于匍匐菌丝中间	有，孢囊梗由匍匐菌丝生长
囊轴	多形态	近球形	近球形常突起	棕色亚球形
囊托	无	有，不明显	有，明显，锥形	无，少数有
孢子囊	球形	球形	犁形	球形
孢囊孢子	卵圆形	近球形	球形、卵形	球形
孢子囊梗	直接由菌丝长出，分支或不分枝，多数无色	单根或成串，常不分枝，多数棕色	分支多呈匍匐串状，几乎无色	总状分支，假单样分支，深棕色
最高生长温度	<37℃	45℃	45℃	54℃

思路 4：真菌感染的诊断以往主要以形态学为依据，近年来分子生物学技术，如 PCR，逐渐应用到真菌鉴定，敏感性和特异性良好，但目前还局限于实验室研究，真正应用于临床还需标准化。真菌属于真核生物，具有由多糖等组成的细胞壁，结构牢固，破壁技术是真菌 DNA 提取过程中的关键环节，常用的有玻璃珠振荡法、液氮研磨法。

确定真菌感染可用常规 PCR，引物设计自真菌的保守序列，若判定感染真菌种类则需应用属种等的特异性引物，得到 PCR 产物后进行测序比对，可鉴定至种或群。

【问题 9】临床常用抗真菌药物有哪些？

临床常用抗真菌药主要有酮康唑、氟康唑、伊曲康唑、氟胞嘧啶和两性霉素等，这些药物根据其化学结构不同，归入下面 3 类之中：

(1) 多烯类：包括两性霉素 B、两性霉素 B 脂质体（较两性霉素肾毒性显著降低）、制霉菌素及曲古霉素。此类药物与真菌细胞膜上的麦角固醇结合，损伤真菌细胞膜的通透性，使胞内重要物质如 K^+、核苷酸和氨基酸等外漏，破坏真菌细胞的正常代谢。两性霉素 B 及其脂质体对念珠菌、新型隐球菌、曲霉、毛霉等具有抗菌活性。制霉菌素主要用于治疗皮肤及黏液感染的念珠菌。

(2) 唑类：包括咪唑类（酮康唑）和三唑类（氟康唑、伊曲康唑），此类药物通过抑制细胞 P450 14α 去甲基化酶，从而抑制麦角固醇的合成，使真菌细胞膜合成障碍，生长受抑制。酮康唑对深部感染真菌如念珠菌、球孢子菌等具有抗菌活性；氟康唑对多数念珠菌、隐球菌具有抗菌活性，然而克柔念珠菌对氟康唑天然耐药，光滑念珠菌表现为剂量依赖性敏感；伊曲康唑对曲霉具有杀菌作用，但对接合菌无效。

(3) 抗代谢类：主要有氟胞嘧啶，通过干扰嘧啶代谢阻断核酸合成，主要用于治疗念珠菌、隐球菌等，单用易产生耐药性，常与两性霉素 B 或氟康唑联合使用。

【问题 10】抗真菌药物体外药敏试验如何进行？

由于系统性真菌感染不断增多，致病真菌的耐药性上升，以及多种抗真菌药的选择，使得抗真菌药物敏感性试验日益重要，并成为指导临床医师用药的手段之一。抗真菌药敏试验分为定性试验和定量试验，在定量试验中，可以观察到最小抑菌浓度（MIC），定性试验即琼脂扩散法，可根据受试菌对药物的敏感性分为敏感、中介和耐药。由于真菌形态多样，生长速度、培养条件都会对结果产生影响，因此抗真菌药敏试验的标准化尤为重要。

思路 1：酵母菌抗真菌药敏试验常用微量液基稀释法，目前有成熟商品化试剂盒。特别注意的是，读取 MIC 时，应在阅读镜辅助下，将每个受试孔中真菌的生长情况与生长对照孔相比较，

学习笔记

氟康唑和氟胞嘧通常采用50%抑制生长对照的MIC判断，伊曲康唑MIC为100%抑制生长，两性霉素B的MIC为抑制测试菌肉眼可见生长的最低药物浓度（具体标准参照不同试剂盒说明书）。

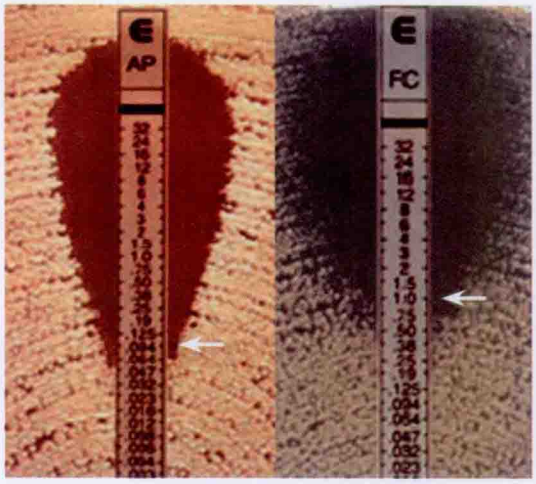


图16-3-6　丝状真菌E-test药敏测试读取方法示意图

思路2：丝状真菌药敏试验临床常采用E-test法，该方法结合了琼脂扩散法和稀释法的优点，以塑料条的形式定量读出MIC值，比传统的纸片扩散法测抑菌圈大小的方法精确。试验方法类同于琼脂扩散法，在含有1.5%RPMI1640琼脂平板上涂布0.5McFarland的菌液，干燥15分钟后放上试剂条，35℃（部分为28℃）培养，一定时间后，从抑菌环与载体交界处读取MIC值（图16-3-6）。目前可测定的药物包括氟康唑、酮康唑、伊曲康唑、5-氟胞嘧啶及两性霉素B，除丝状真菌外，念珠菌和隐球菌也可用此法测定。

【问题11】真菌感染的病原诊断中，还有其他什么检测方法？如何评价这些方法学？

真菌感染，尤其是深部真菌感染，及时准确的诊断对于挽救病人生命意义重大。由于临床上多数深部真菌感染缺乏特异性症状或体征，往往需借助辅助检查，如真菌镜检和培养，但这些方法取材不便，耗时较长，阳性率低，不能完全满足临床需要。而血清学方法简便、快速，同时敏感性和特异性相对较高，可为临床提供更多的选择和参考。

思路1：检测血清或肺泡灌洗液中的1,3-β-D葡聚糖，也称G试验或鲎试验，目前已有商品试剂盒。1,3-β-D葡聚糖是多种不同种类真菌细胞壁的共有成分，此物质可特异性激活鲎的协同凝集酶G因子，发生凝固蛋白原转变的级联反应从而引起吸光度变化，检测该成分可用于对系统性真菌病的筛选，阳性结果较真菌感染的临床和影像征象出现早2~10天，有助于早期诊断，且与症状消长呈正比。缺点是不能区分真菌种属，不能检测结合菌和隐球菌，且存在较多干扰因素：如输注某些静脉制剂（白蛋白、免疫球蛋白、凝血因子）；应用纤维素膜进行血液透析；应用某些药物，如抗肿瘤药物、磺胺类药物以及链球菌败血症患者，可出现假阳性。因此在我国《血液病/恶性肿瘤患者侵袭性真菌感染的诊断标准与治疗原则》指南中指出至少连续2次G试验呈阳性，同时结合患者临床表现，才具诊断意义。

思路2：半乳甘露聚糖是存在于曲霉和青霉细胞壁的一种多糖，随着霉菌生长会释放到外界，检测血清或肺泡灌洗液中的曲霉半乳甘露聚糖，也称GM试验，灵敏度高，目前有商品试剂盒，检测方法是微孔板双抗体夹心法（double-sandwich）。GM试验阳性结果早于临床症状和影像学异常，敏感性和特异性高于G试验，可判断疗效和预后，特别是在粒细胞减少、血液病、骨髓移植后免疫抑制的患者中诊断意义较大；缺点是不能区分曲霉菌种，存在一些干扰因素，如新生儿和幼儿患者、多发性骨髓瘤患者和静脉输注免疫球蛋白等，均可造成假阳性，因此需多次检测且连续2次阳性才具诊断意义。

思路3：新型隐球菌循环荚膜抗原测定已成为诊断新型隐球菌病，尤其是新型隐球菌脑膜炎的重要手段，对于隐球菌病而言，脑脊液和血液是最有价值的标本，但在两种标本中测定的抗原滴度可不平行。乳胶凝集试验10分钟内即可出结果，特异性90%以上，远高于脑脊液墨汁染色镜检（50%）和真菌培养（70%）的阳性率。特别需要注意的是，检测脑脊液标本时可能会因为抗原量过高而出现假阴性，此时应作1∶50或1∶100的稀释。

学习笔记

知识点

诊断侵袭性真菌感染的血清学实验

临床用于诊断侵袭性真菌感染的常用血清学检查包括G试验、GM试验和隐球菌抗原检测，需要注意的是，血清学结果应多方面综合分析，如机体的免疫状况、基础疾病、用药情况、是否为定植菌群、选用的血清学方法等，同时动态观察结果。

【问题12】微生物实验室进行真菌镜检、培养和鉴定时，生物安全的要求是什么？

实验室安全不仅对实验室工作人员，对患者和其他人员都十分重要。如何避免意外感染或职业感染，是每一位参与实验室工作者的责任和义务。真菌实验室的安全制度包括火灾、化学损害、废弃物处理和生物灾害的处理方法，需特别注意以下几点：

(1) 进行真菌相关操作时，应穿工作衣、戴手套、戴口罩，必要时戴防护面具。

(2) 标本收集容器必须防漏。

(3) 不能用带针头的注射器送检，应去掉针头，置于一密封容器中送检。

实验室应设立标本收集和处理区；备有负压超净工作台；切记不能直接去嗅真菌培养物！因为仅仅打开含有真菌的培养皿便足以产生孢子气流，而某些病原真菌（如粗球孢子菌，吸入后可导致肺部感染）可以致命，所以应在超净台内打开，培养分离用的试管液要使用螺口帽。在国内当前情况下，一般缺少防护设备的真菌实验室不宜操作一类和二类菌的某些种，如烟曲霉、马尔尼菲青霉等，因易导致实验室污染。

知识点

我国真菌危险度分级

1类菌：球孢子菌、组织胞浆菌。

2类菌：皮炎芽生菌、副球孢子菌、烟曲霉、着色霉菌、马尔尼菲青霉。

3类菌：新生隐球菌、孢子丝菌、黄曲霉、镰刀菌、放线菌、奴卡菌等。

4类菌：皮肤癣菌等。

（王　辉）

第四节　常见寄生虫感染的检验

寄生虫侵入人体并在体内生长一定的时间称为寄生虫感染；若感染者出现明显的临床表现则为寄生虫病（parasitic disease）。人体的寄生虫病是由寄生于人体的原虫、蠕虫以及节肢动物所致的感染性疾病。由于我国经济状况、环境卫生等诸多方面的改善提高使寄生虫病例不断减少，导致对寄生虫病一定程度上的忽略，对寄生虫的检测也相应减少。近年来发生的一系列严重危害公共安全的寄生虫感染事件使寄生虫病重新受到高度关注，对寄生虫感染以及感染后的实验室检测技术再次提到日程上。目前寄生虫病对人类健康仍存在危害，是全球性的重要公共卫生问题。

知识点

人体寄生虫分类

大多数人体寄生虫为体内寄生虫（endoparasite），主要包括原虫、蠕虫。体外寄生虫（ectoparasite）多为节肢动物（如疥螨、蜱等）。原虫包括孢子虫、叶足虫、鞭毛虫和纤毛虫。蠕虫包括线虫、吸虫和绦虫。据统计，我国寄生在人体的寄生虫种类232种，常见的约90种。带虫状态、隐性感染、慢性感染是寄生虫感染与寄生虫病的主要特点。

学习笔记

一、医学原虫感染：疟疾(malaria)的检验

病历摘要：

患者男，48岁。非洲劳务输出8个月。回国后大约1周出现发热、头痛和全身不适。首次就诊，血标本用自动分析仪检测，未发现异常。患者持续高热，剧烈头痛，故又采集血标本做薄、厚血膜检查。

【问题】据病史推测患者可能有寄生虫感染，考虑哪种寄生虫感染？通过薄、厚血膜涂片镜下形态检查能提供诊断结果吗？自动分析仪检测结果为什么没有显示异常？推测性诊断与患者的病史是否相符？

患者刚从非洲回来这一事实提示可能有寄生虫感染，涂片镜下发现被寄生虫感染的红细胞内有环状体(寄生虫早期滋养体)，其薄血膜镜下形态：纤细，有的含有两个染色质点，形似耳机。这是典型的恶性疟原虫环状体的形态，患者的症状是由恶性疟原虫感染引起，因为患者以前从未接触过疟疾(即没有获得性免疫)，所以虫体含量很低，自动分析仪检测不出时就出现症状。当患者的症状加重时(大约两周)，外周血出现大量的虫体，血涂片可见恶性疟原虫环状体(厚血膜、薄血膜)。

思路1：疟疾是直接威胁人类生命的少数寄生虫感染之一，人体经按蚊传播而感染疟原虫(plasmodium)引起疟疾，疟疾发作时典型的表现为周期性寒战、发热、出汗三个连续的阶段，然后进入间歇期。发作周期与疟原虫在红细胞内期裂体增殖的周期一致。寄生在人体的疟原虫有四种：间日疟原虫(P. vivax)、恶性疟原虫(P.falciparum)、三日疟原虫(P.malariae)和卵形疟原虫(P.ovale)。四种疟原虫感染特征见表16-4-1。

表16-4-1　四种疟原虫感染特征

	间日疟	三日疟	卵形疟	恶性疟
潜伏期	8~17天	18~40天	10~17天	8~11天
起始发热类型	不规则	不规则	规则	持续的弛张热
红内期周期	48小时	72小时	48小时	36~48小时
感染红细胞种类	感染幼稚红细胞	感染衰老红细胞	感染幼稚红细胞	感染各阶段红细胞
受感染红细胞状态	胀大，8~10小时出现薛氏点	大小正常，无点状变化	胀大，边缘呈锯齿状，感染初期出现薛氏点	可大可小，出现茂氏点
成熟滋养体特征	呈阿米巴样	横跨红细胞呈带状	近似阿米巴样	形态多样，一个红细胞内可有多个虫体
其他特点	成熟裂殖体含12~24个裂殖子	成熟裂殖体含6~12个裂殖子	成熟裂殖体含8个裂殖子	配子体呈新月形

思路2：恶性疟原虫是感染人体的四种疟原虫中致病性最强的。发作时，患者表现为发热、剧烈头痛、恶心、呕吐，偶尔伴有上腹剧痛。该患者在疾病早期，发作循环周期还没形成，因此推测性诊断可能考虑不到疟疾感染。大约两周时，患者症状加重，外周血虫体量增加，血涂片见到感染的疟原虫，此时诊断明确。恶性疟原虫感染的特征：发热周期为36~48小时；可感染体内50%以上的任何发育阶段的红细胞；感染的红细胞内没有薛氏点(嗜酸性)，有茂氏点(嗜碱性)；每个红细胞可含多个环状体；可看到新月形配子体。

学习笔记

知识点

恶性疟疾的分布及主要特征

非洲居民疟疾的感染率较高，且以恶性疟疾为主，感染群体主要是青少年和儿童。这和当地的自然、卫生和经济条件等有关系。恶性疟原虫也是造成我国出国人员感染的主要疟原虫，不同工作性质人员间感染率有差异，应依据工作性质开展预防措施，如加强出国前的防蚊和防疟培训及回国后的健康体检。

知识点

血膜染色镜检要点

恰当的检验方法的选用是寄生虫病正确诊断的保证。对于寄生虫检验的方法，一般分为病原学检验、免疫学检验和分子生物学检验。具体的方法又多种多样，对不同的虫种有不同的价值。寄生于血液的寄生虫，厚、薄血膜染色镜检对诊断很重要。血膜的正确检查方法是薄血膜先用低倍镜浏览全片再转换到高倍镜。血膜的羽状末端适宜查疟原虫。厚血膜用高倍镜查找原虫。对于疟疾，应筛查 200 个或 300 个视野，甚至整个涂片以确定结果为阴性。

思路 3：厚、薄血膜染色镜检是诊断疟疾最常用的方法。血涂片查见疟原虫为确诊的依据。取外周血制作厚、薄血膜，经姬氏或瑞氏染液染色后镜检查找疟原虫。薄血膜中疟原虫形态完整、典型，容易识别和鉴别虫种，但原虫密度低时，容易漏检。厚血膜由于原虫比较集中，易检获，但染色过程中红细胞溶解，原虫形态有所改变，虫种鉴别较困难。因此，最好一张玻片上同时制作厚、薄两种血膜，如果在厚血膜查到原虫而鉴别有困难时，可再检查薄血膜。如果错过了最佳检测时机，采用其他手段的检查也是非常必要的。

思路 4：虽然病原学检查可确诊恶性疟原虫感染，但补充免疫学方法检测亦十分必要。如用单克隆抗体检测疟原虫抗原，间接免疫荧光法检测特异性疟原虫抗体。分子生物学方法如 DNA 探针检测疟原虫核酸，或 PCR 法扩增测少量疟原虫的 DNA，均可提高疟疾诊断率。

提示　疟疾、艾滋病、结核病是全球最重要的三大公共卫生问题。我国由于流动人口的增加，国际交往的频繁导致疟疾作为输入性寄生虫感染的发病率呈逐年上升趋势。

二、医学原虫感染：溶组织内阿米巴病的检验

病历摘要：

患者男，30 岁。主诉体重不明原因减轻，连续腹泻数天就诊。经查免疫功能正常，留取三份粪便标本分别做直接湿涂片法、浓集法和永久性染色涂片检查。以下是浓集碘染法和永久性染色涂片法的镜下形态（图 16-4-1、图 16-4-2）。

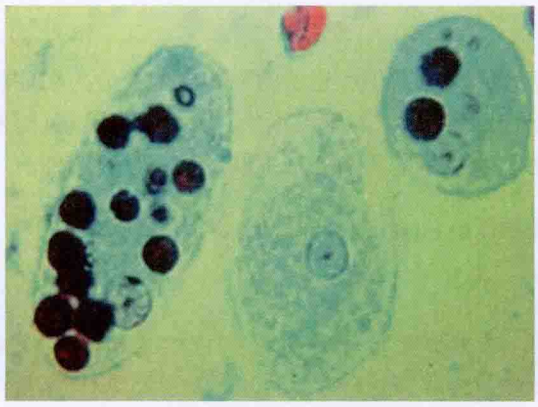


图 16-4-1　溶组织内阿米巴滋养体（三色染色）

图 16-4-2　溶组织内阿米巴包囊（碘染色）

学习笔记

【问题】根据患者腹泻症状和实验室发现，如何鉴别永久性染色涂片上观察到的虫体？该患者应做何诊断？

永久性染色涂片用改良的 Wheatley 三色染色法，图片显示是原虫滋养体，长约 17μm。滋养体的胞浆内含有被吞噬的红细胞。检验结果报告如下：存在溶组织内阿米巴滋养体。该患者疑为阿米巴痢疾。

思路 1：溶组织内阿米巴（entamoeba histolytica）主要寄生于结肠，引起溶组织内阿米巴病，全球分布，多见于热带与亚热带。主要表现为腹痛、腹泻，排脓血黏液便。该患者消瘦、腹泻等症状与该病临床表现吻合。新鲜的粪便标本有利于确定是否存在溶组织内阿米巴。图中可见滋养体的胞浆内含有被吞噬的红细胞，是鉴别致病性与非致病性溶组织内阿米巴的关键。但在许多非急性阿米巴痢疾患者标本中，可能有滋养体却不含红细胞，或者仅能发现包囊而不易作出明确诊断，因而需补充免疫学的检测方法。

知识点

溶组织内阿米巴

溶组织内阿米巴分为致病性与非致病性两个虫株，非致病性的为迪斯帕内阿米巴（E.dispar），致病性的为溶组织内阿米巴（E.histolytica）。非致病性虫体感染不主张采取治疗措施。但必须通过免疫或分子生物学方法鉴别出这两个虫种，而不仅仅是形态学的鉴定。

思路 2：目前免疫学、分子生物学检测方法能鉴别标本中存在溶组织内阿米巴或迪斯帕内阿米巴。经免疫学方法（如酶免疫分析 EIA 或酶联免疫吸附试验 ELISA 等方法）检测，图 16-4-1 中观察到的虫体是致病性的溶组织内阿米巴滋养体。免疫检测方法需要新鲜或冷冻的粪便标本，甲醛固定的标本不能用于此检测方法。

知识点

免疫学检验在寄生虫病诊断中的价值及分类

免疫学检验是通过检出特异性抗体、抗原或免疫复合物来诊断寄生虫病，目的在于能查到早期、轻度、隐性寄生虫感染，或在寄生虫病晚期、局部组织纤维化甚至成虫已死亡，病原学检查很难得到明确结果时应用。①抗体（Ab）检测：特异性抗体阳性表明患者过去或现在的感染，是目前常用的诊断患者及流行区疫情监测的有效方法，但作为评价疗效不够理想。常用方法有 EIA、IFA、Blot、FAST-ELISA、免疫渗滤技术与免疫层析技术（ICT）等；②抗原（Ag）检测：Ag 的出现早于 Ab，检测 Ag 可用于寄生虫病的早期诊断及流行病学调查。分子生物学方法和技术在寄生虫的鉴定和感染的检测中逐步推广，尤其是在寄生虫虫种的鉴定方面发挥着特别重要的作用。

思路 3：溶组织内阿米巴病的临床表现变化较多，按 WHO 建议的临床分型可分为无症状的带虫感染和有症状的侵袭性感染，后者又分肠内阿米巴病（阿米巴痢疾）、肠外阿米巴病（阿米巴肝脓肿多见）。因而此类患者还应与细菌性痢疾、炎性肠病等有相似症状的疾病进行鉴别。

三、医学原虫感染：隐孢子虫病（cryptosporidiosis）的检验

病历摘要：

患者男，54 岁。肝脏移植患者。腹泻、咳嗽和全身不适等症状持续数周。粪便标本经浓集沉淀法和永久性染色涂片法检测 3 次后，镜下观察到玫瑰红色、多种形态的孢子形态物质。

学习笔记

【问题】根据镜下形态，显示的虫体是什么？结合临床症状怀疑是哪种寄生虫感染？

应用改良快速抗酸染色法的标本中观察到虫体长约 4μm，卵囊为玫瑰红色，背景为蓝绿色，对比性很强。因观察的角度不同，囊内子孢子排列似不规则，呈多态状，残留体为暗黑（棕）色颗粒状。从镜下形态判断是隐孢子虫。因为病人是一名肝移植患者，一直接受免疫抑制剂治疗，持续腹泻而粪便虫卵检查阴性，所以选择特殊染色很重要。

思路 1：隐孢子虫病的临床表现

免疫功能正常者表现为自限性腹泻，病程短，数天后可自愈；营养不良者的病程则较长。移植患者、艾滋病及其他免疫功能低下患者，因虫体侵犯胃肠大部分黏膜，症状重，可呈霍乱样水样便，每日数次至数十次不等，导致严重缺水、电解质紊乱和营养不良，甚至可因器官衰竭而致死。

知识点

机会致病寄生虫

隐性感染是寄生虫感染的特征之一。隐孢子虫、弓形虫等寄生虫多呈隐性感染，免疫功能低下患者（如艾滋病患者、器官移植患者、长期应用激素或抗肿瘤药物的患者）在机体抵抗力下降或者免疫功能不全时，这些寄生虫的增殖力和致病力大大增强，出现明显的临床症状和体征，严重者可致死。因此，这类寄生虫又称为机会致病寄生虫（opportunistic parasite）。常见的此类寄生虫有隐孢子虫、溶组织内阿米巴、自生生活阿米巴、蓝氏贾第鞭毛虫、刚地弓形虫、微孢子虫、粪类圆线虫等。机会致病性寄生虫感染在目前寄生虫病中占有相当的比例，是免疫力低下患者死亡的原因之一。

思路 2：隐孢子虫所致腹泻现已被列为世界常见的 6 种腹泻病之一，人们主要是通过进食或饮用了受粪便污染的食物或水，包括游泳时吞下受污染的池水而感染隐孢子虫病。诊断及鉴别诊断依靠粪便中找到卵囊，一般用金胺 - 酚染色法进行筛查，可疑虫体时可用改良抗酸染色法，二者联用效果最理想。必要时可用小肠黏膜活检。若要确诊必须通过改良抗酸染色或免疫检测试验。免疫学诊断目前应用免疫荧光试验（IFA）、酶联免疫吸附试验（ELISA）和单克隆抗体技术测定，敏感性和特异性均达 100%（注：如果用免疫方法检测隐孢子虫抗原时，粪便标本不用浓集）。目前，PCR 技术对隐孢子虫病的诊断作用日益重要，它的敏感性、特异性、检测基因型的能力、操作简便以及能成批测试的特点使其成为未来诊断和分子流行病学研究的一种有力工具。

思路 3：相对于数十年前，寄生虫病的流行趋势已悄然发生了变化，现阶段对人体造成较大危害的寄生虫以原虫感染更为突出。临床仍可见到除上述提及以外其他的原虫感染导致的寄生虫病。

属于鞭毛虫感染导致的寄生虫病主要有：

（1）利什曼病（leishmaniasis）：在我国，人体感染杜氏利什曼原虫（leishmania donovani）引起杜氏利什曼病，也称黑热病。该虫体生活史分为前鞭毛体和无鞭毛体。寄生于人体吞噬细胞内的为无鞭毛体。标本可有多种取材，常用血膜直接涂片、染色（主要用瑞氏染色）、镜下检查病原体可确诊，进一步检查可用动物培养法。免疫学及分子生物学方法亦可用于该病的诊断（图 16-4-3、图 16-4-4）。

（2）阴道毛滴虫病：该病病原体为人阴道毛滴虫（trichomonas vaginalis），其滋养体主要寄居在女性阴道，通过直接或间接接触方式在人群中传播。阴道毛滴虫的发育仅有滋养体期。病原学诊断主要取阴道后穹隆分泌物，用生理盐水涂片法或涂片染色法（瑞氏或 Giemsa 染色）镜检，若查得本虫滋养体即可确诊。免疫学及分子生物学方法亦可用于该病的诊断（图 16-4-5）。

（3）蓝氏贾第鞭毛虫病：病原体为蓝氏贾第鞭毛虫（giardia lamblia），其滋养体为营养繁殖阶段，包囊为传播阶段。人因吞食被包囊污染的水和食物而感染。滋养体呈纵切为半的倒置梨形，包囊呈椭圆形。病原学诊断可用粪便、小肠液或小肠活体组织检查即可。免疫学及分子生物学方法亦

学习笔记

可用于该病的诊断(图 16-4-6、图 16-4-7)。

孢子虫感染导致的寄生虫病除疟疾外,刚地弓形虫病也较常见。病原体为刚地弓形虫(toxoplasma gondii),可寄生在人体除红细胞外的所有有核细胞中。人体仅见速殖子期和包囊期。速殖子是主要致病阶段,包囊内缓殖子是慢性感染的主要形式。病原学诊断查到滋养体即可确诊。常用直接涂片染色法、组织切片检查法、动物接种法和细胞培养法。免疫学及分子生物学方法亦可用于该病的诊断(图 16-4-8)。

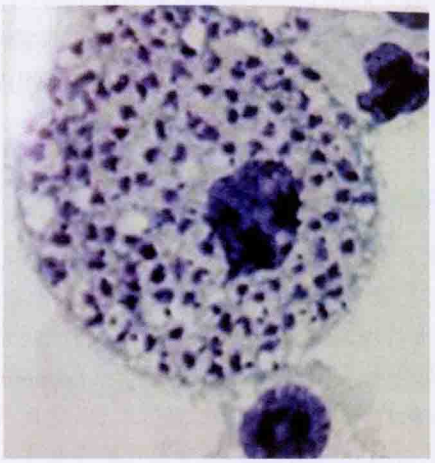


图 16-4-3　杜氏利什曼原虫无鞭毛体

图 16-4-4　杜氏利什曼原虫前鞭毛体

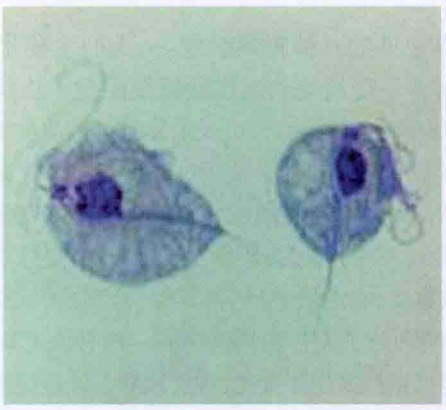


图 16-4-5　阴道毛滴虫

图 16-4-6　蓝氏贾第鞭毛虫滋养体

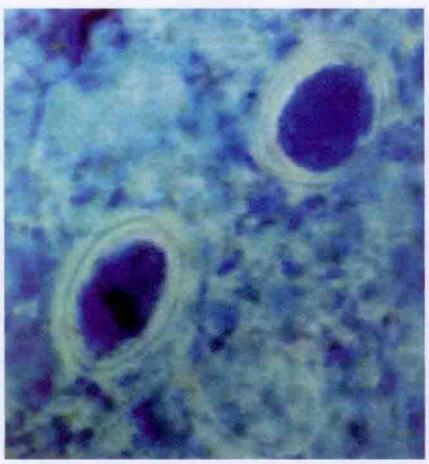


图 16-4-7　蓝氏贾第鞭毛虫包囊(三色染色)

图 16-4-8　弓形虫滋养体(支气管洗出物)

学习笔记

棘阿米巴病是叶足虫(阿米巴)感染导致的寄生虫病之一,病原体棘阿米巴(acanthamoeba spp),生活史只有滋养体和包囊。AIDS 患者并发棘阿米巴感染较多。诊断用组织染色方法进行效果非常好。

常见纤毛虫感染导致的寄生虫病以结肠小袋纤毛虫病为代表,结肠小袋纤毛虫(balantidium coli)是寄生于人体的最大原虫。有滋养体和包囊两种形态。人因感染性包囊污染的食物或水而致病。常规粪便检查可发现滋养体和包囊。

四、医学蠕虫感染:华支睾吸虫病的检验

病历摘要:

患者女,23 岁。数月前与朋友海边烧烤,之后胸部和颈部开始长红斑和风团,感觉瘙痒。疑似荨麻疹,使用激素类和抗过敏类药物未见好转,7 次就诊后右上腹开始阵痛并伴有发烧,其间粪便涂片检查 3 次,第 3 次镜下可见寄生虫虫卵(图 16-4-9)。

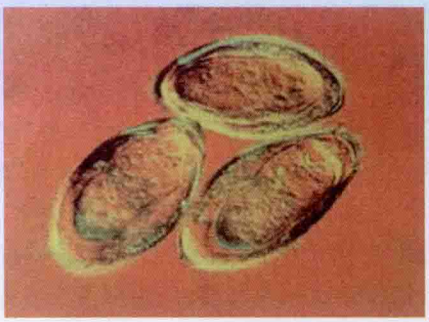


图 16-4-9　华支睾吸虫卵

【问题 1】结合临床症状及粪便检查虫卵形态,推测对该患者的诊断是什么?

如图 16-4-9 所示粪便涂片可见虫卵卵圆形,形似芝麻粒,淡黄褐色卵壳,一端较窄且有卵盖,卵盖周围的卵壳增厚形成肩峰,另一端有疣状突起,经确认为华支睾吸虫(肝吸虫)卵。结合临床症状可确诊为肝吸虫病。

思路 1:华支睾吸虫病又称肝吸虫病,由华支睾吸虫(clonorchis sinensis)寄生于胆道所引起的以肝胆病变为主的一种人畜共患性寄生虫病。我国感染率较高。

思路 2:华支睾吸虫是一种肠道寄生虫。淡水螺为肝吸虫的中间宿主。虫卵被螺类吞噬,在螺体内发育成毛蚴、胞蚴、雷蚴、尾蚴。尾蚴溢出螺体感染淡水鱼形成囊蚴,人摄入未煮熟的淡水鱼中的囊蚴而感染。囊蚴被人摄入到达十二指肠后发育为童虫,经过胆总管,最终到达肝胆管发育为成虫。在患者粪便或十二指肠引流液中查获虫卵即可确诊。粪便直接涂片法最常用,沉淀法的检出率高于直涂法。

知识点

病原学检验在寄生虫病诊断中的重要作用

在寄生虫感染中(尤其是蠕虫感染),检查出寄生虫病原体是确诊的依据。寄生虫在人体的寄生部位很多,主要是肠道及血液,其他部位还有脑、眼、肺、骨髓、肝脾、皮肤、泌尿生殖道、肛门、肌肉等。寄生的部位不同,标本的采集、处理、检验方法、分析等亦不同,为给临床治疗和流行病学调查提供可靠的依据,根据寄生虫的种类、在人体的发育阶段和寄生部位的不同可采集相应的标本(粪便、血液、尿液、痰液、阴道分泌物、组织活检或骨髓穿刺等),同时选取不同的检查方法也非常重要。对于肉眼可见的大部分蠕虫和节肢动物寄生虫感染之后的实验室诊断,根据寄生虫标本来源和形态特征可作出初步判断。

【问题 2】本病例无论是临床症状还是病原学检测均存在漏诊、漏检,此现象应如何避免?

由于患者的非典型临床症状掩盖了真实病因致使其多次就诊,同时病原学检测亦经 3 次才最终确诊为华支睾吸虫,说明在虫卵鉴定上存在一定的难度。虫卵的鉴定不仅要从形态上仔细辨别,还要与粪便标本中近似物加以区分。肝吸虫卵极易与粪便残渣、某些花粉的排泄物相混淆。在鉴别时应关注虫卵内容物,虫卵的特征性结构如疣状突起等加以鉴别。

学习笔记

思路 1：肝吸虫病的临床症状较轻，即使有临床表现往往也为非特异性的，有时在患者做腹部超声检查时才被发现。因此在接诊过程中仔细询问病史就显得尤为重要，寄生虫病具有区域性、季节性、自然疫源性等流行病学特征，对寄生虫病的诊断亦非常重要。

知识点

临床常用寄生虫病原学检查方法

病原学检验是通过适当的方法寻找病原寄生虫或寄生虫生活史中的某个发育阶段，如蠕虫的卵、幼虫、成虫，原虫的包囊、滋养体等。凡有条件获取病原学诊断结果的都采取病原检验这个环节，这是寄生虫感染实验诊断的基本原则。血液、粪便病原学检验是常用的检测方法。具体方法包括直接涂片法（生理盐水直接涂片法、碘液涂片法、厚涂片法）、浓集法（沉淀法、饱和盐水浮聚法）和永久染色涂片法（薄血膜法、厚血膜法、吉氏染色法、瑞氏染色法、铁苏木素染色法等）、幼虫培养法（钩蚴培养法、毛蚴孵化法）以及肛拭法、压片法等。

思路 2：由于在症状较轻或不典型时排出虫卵的量较少，导致粪便检查的低检出率。因此在做粪检需要多次采集粪便，采用多种方法检测；不同的虫种选取的方法、处理不同，如使用沉淀浓集法，因为肝吸虫卵有卵盖不能用硫酸锌漂浮浓集法进行漂浮；染色时在湿片中不要加太多的碘，否则虫卵会被深染而不能从粪便残渣中分辨出来；由于虫卵极小，所以建议使用高倍物镜观察标本；涂片不要太厚，以能透过印刷体字迹为宜。

思路 3：粪便中成分多且复杂，若存在与虫卵形态相似的物质则更易干扰对虫卵的检出率。例如某些肿瘤患者服用灵芝类的保健品，排泄至粪便中的灵芝孢子的形态与肝吸虫卵极其相似。观察的鉴别点：一是观察有无卵盖，二是观察有无疣状突起，同时仔细辨别虫体内容物。最大限度降低漏检及误检率，以保证肝吸虫病的正确诊断。

思路 4：免疫学检测与粪检有着较高的符合率，临床正在逐渐开展普及。尤其是通过对循环抗原的检查可用于早期诊断和疗效考核。

提示　食源性寄生虫感染在我国部分省、区、市明显上升，为我国现阶段寄生虫病的又一特征。改变生吃海鲜或不熟肉类、鱼类的习惯以免感染寄生虫。

五、医学蠕虫感染：似蚓蛔线虫（ascaris lumbricoides）（蛔虫）、毛首鞭形线虫（trichuris trichiura）（鞭虫）混合感染的检验

病历摘要：

患者女，境外旅游者。腹部疼痛就诊，化验检查多项正常，不贫血，但粪便潜血阳性。粪便检查结果中有虫卵。之后做肠镜检查，发现寄生虫，长 4~5cm，细小，取出观察。为确诊，将保存的标本再次涂片查找虫卵，发现两种虫卵（图 16-4-10、图 16-4-11）。

图 16-4-10　蛔虫卵（左上未受精蛔虫卵，右下受精蛔虫卵）

图 16-4-11　毛首鞭形线虫卵

学习笔记

【问题】通过观察确定是何种虫卵与成虫，最后诊断哪种寄生虫感染？

经镜下多个视野观察看到两种虫卵：其一，卵壳厚而透明，卵壳外有一层凹凸不平的蛋白质膜，棕黄色。卵内含有一个圆形的卵细胞，在卵细胞和两端卵壳之间有半月形空隙，虫卵特征为似蚓蛔线虫卵即蛔虫卵（受精卵）。其二，虫卵呈纺锤形，黄褐色，大小为 52μm×25μm，卵壳厚，两端各有一透明的塞状凸起，卵内含一个卵细胞，经确认为毛首鞭形线虫卵即鞭虫卵。镜下蛔虫卵多于鞭虫卵。取出的成虫虫体呈灰白色，外形似马鞭，前 3/5 细如毛发，后 2/5 粗如鞭柄。这是毛首鞭形线虫的特征。结合粪便检查结果和临床症状确诊为蛔虫及鞭虫混合感染。

思路 1：鞭虫寄生于人体盲肠，由于虫体机械性损伤和分泌物的刺激作用，可致肠壁黏膜组织充血、水肿或点状出血而致鞭虫病。本病呈世界性分布，以热带、亚热带地区多见。鞭虫病因食入感染性鞭虫卵而感染，轻度感染患者可无明显症状，重者可出现腹痛、腹泻以及大便潜血等。蛔虫病是一种古老且呈世界分布的寄生虫病。蛔虫寄生于肠道，卵随宿主粪便排出体外，人因食入感染性虫卵而感染。

思路 2：无论鞭虫还是蛔虫感染，从患者粪便中查出虫卵或虫体，即可确诊。检查方法常用生理盐水直接涂片法，一般要求连续检查 3 张涂片，检出率可达 95%。当直接涂片检查为阴性时，可用饱和盐水浮聚法、水洗沉淀法、加藤厚涂片法做进一步检查。因检查虫卵方法简单易行，故免疫诊断较少应用。

思路 3：多种寄生虫同时感染是寄生虫病的特征之一，鞭虫、蛔虫易同时感染，对人体造成严重损伤。蛔虫幼虫、成虫对人体均有致病作用，主要包括机械性损伤、超敏反应、阻塞等。所以对待蛔虫感染除及时治疗驱虫外还应引起高度的重视。

六、医学蠕虫感染：蠕形住肠线虫病的检验

病历摘要：

患儿女，4 岁。外阴瘙痒，尿道口有少量黄色分泌物，伴尿痛。先后在多家医院诊断为外阴炎、泌尿系感染，给予多种抗生素及消毒剂等外用药治疗累计一年，效果欠佳。患儿自发病以来无发热及尿频、尿急症状。血、尿、便常规结果均正常；中段尿细菌培养阴性。再次追问病史，患儿有外阴瘙痒夜间加剧的特点，于是在患儿入睡后将透明胶纸粘压在肛门周围皮肤皱褶处，然后将胶纸揭下，将粘面贴在载玻片上，连续 3 天反复进行。显微镜下发现如图虫卵（图 16-4-12）。

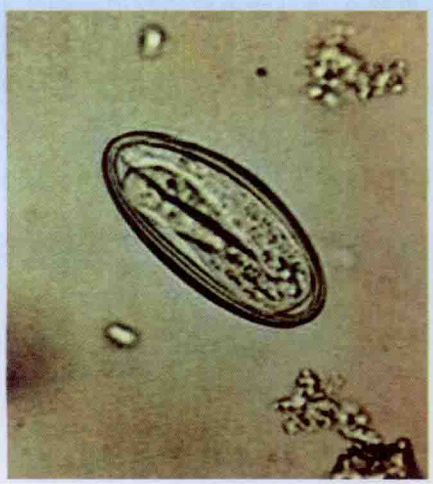


图 16-4-12　蛲虫卵

【问题】显微镜下发现什么虫卵，据此患儿诊断是什么病？误诊的主要原因是什么？

镜下可见虫卵呈长椭圆形，无色透明，两侧不对称，一侧扁平，一侧稍隆起。大小为 55μm×21μm。卵壳内含一虫体胚胎。经辨认此为蛲虫卵，遂确诊蛲虫病。患儿由于蛲虫刺激致使肛门周围瘙痒引起抓伤，出现外阴炎及尿路感染症状从而掩盖了真正的病因。

思路 1：蠕形住肠线虫（enterobius vermicularis）简称蛲虫（pinworm），寄生于人体回盲部，人因食入虫卵而感染，引起蛲虫病（enterobiasis）。我国蛲虫病感染较普遍。感染特征为儿童高于成人，城市高于农村。有聚集发病现象，尤其是在儿童聚集场所如幼儿园等。一般儿童的感染率至少为 20%，大多数蛲虫感染者无任何临床表现。常见临床特征为肛周瘙痒。由于雌虫夜晚

学习笔记

在宿主肛门周围产卵，患者常出现肛门及会阴部瘙痒，有时还可引起烦躁不安、失眠、消瘦、夜间磨牙等现象。如果雌虫产卵后侵入尿道、阴道、子宫、输卵管，可引起相应部位的炎症。有的患者在夜间肛周可发现成虫，蛲虫成虫细小，两头尖细，乳白色。雌虫大小为(8~13) mm×(0.3~0.5) mm，尾部直而尖细。雄虫较小，为(2~5) mm×(0.1~0.2) mm，尾端向腹面卷曲(图16-4-13)。

图 16-4-13　蛲虫成虫(左雌性，右雄性)

思路 2：蛲虫病的诊断以在患者肛周发现成虫或虫卵为依据。蛲虫在肛门周围产卵，粪便检查虫卵检出率较低，一般用透明胶纸法或棉签拭子法查虫卵，前者效果较好。

知识点

蛲虫病的流行病学特征

蛲虫病是一种世界性分布的常见寄生虫病，人是唯一的传染源，虫卵经口感染。由于蛲虫的生活史简单，所以获得再感染的机会较多，因此防治极为重要。目前我国卫生部门采取的措施主要有：定期在集体机构中开展普查普治；加强宣传，注意公共卫生、家庭卫生及个人卫生，以防相互感染；教育儿童养成良好的卫生习惯。

思路 3：常见线虫感染除似蚓蛔线虫病、毛首鞭形线虫病外，钩虫病亦有一定的发病率。十二指肠钩口线虫(Ancylostoma duodenale)和美洲板口线虫(Necator americanus)是寄生于人体的主要钩虫。感染阶段为丝状蚴，曾是我国五大寄生虫病之一。钩虫卵随粪便排出体外，卵椭圆形、无色透明，内含 4~8 个卵细胞，粪便检查查到虫卵或培养出钩蚴是确诊依据。常用检查方法有直接涂片法、饱和盐水浮聚法、改良加藤法和钩蚴培养法(图 16-4-14、图 16-4-15)。

图 16-4-14　钩虫卵

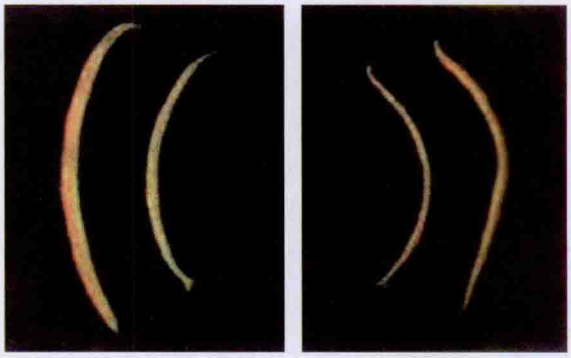


图 16-4-15　十二指肠钩口线虫(左)和美洲板口线虫(右)成虫

丝虫病：我国仅存在班氏吴策线虫(wuchereria bancrofti)和马来布鲁线虫(brugia malayi)，即班氏丝虫和马来丝虫，其成虫均寄生于人体淋巴系统，引起淋巴系统的丝虫病，为我国五大寄生虫病之一。病原学诊断包括从外周血、乳糜尿、体液中查微丝蚴及淋巴结活检查成虫。由于微丝蚴具有夜现周期性，血检微丝蚴采血时间应以夜间 9 时至次晨 2 时为宜。检查方法首推厚血膜法，免疫学方法可辅助诊断该病(图 16-4-16、图 16-4-17)。

学习笔记

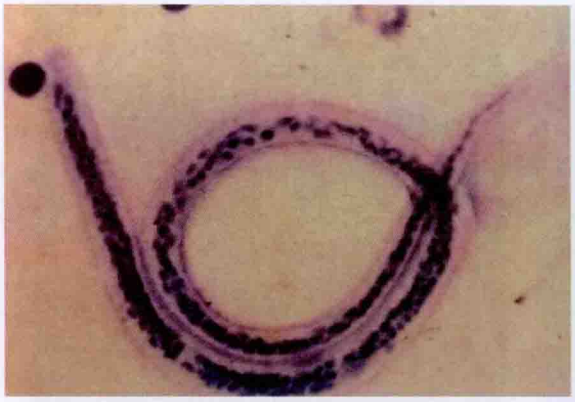


图 16-4-16　班氏微丝蚴

图 16-4-17　马来微丝蚴

旋毛形线虫病：病原体旋毛形线虫（trichinella spiralis）成虫寄生于人和多种哺乳动物小肠上段，幼虫则寄生于同一宿主横纹肌，长约 1mm，卷曲于梭形囊包中，可引起旋毛虫病（trichinelliasis）。本病主要因生食或半生食含有旋毛虫幼虫囊包的猪肉或其他动物肉类而感染，是重要的人兽共患和食源性寄生虫病。病原学诊断首选活组织检查。免疫诊断也具有重要意义（图 16-4-18）。

广州管圆线虫病，是我国较常见的一种蠕虫蚴移行症，病原体为广州管圆线虫幼虫或成虫早期（性未成熟）阶段。其是食源性寄生虫病的一种，又称嗜酸性粒细胞增多性脑膜炎。人因食用生的或加热不彻底的福寿螺而被感染。该寄生虫寄生在人的脑脊液中，可引起头痛、发热、颈部强硬、面神经瘫痪等症状，严重者可致痴呆，甚至死亡。脑脊液中可观察到虫体呈淡黄白色细棉线状，长 1.3~4.5cm。若在脑脊液中查出幼虫或发育期成虫（检出率不高）或检测患者脑脊液及血清中特异性抗原、抗体阳性可确诊。

常见吸虫感染除华支睾吸虫病外，布氏姜片吸虫病即肠吸虫病在我国仍散在发病。人因生食水生植物如茭白等感染。布氏姜片吸虫（fasciolopsis buski）寄生于人体小肠，其卵随粪便排出体外，故确诊依据是在患者粪便中检获虫卵。虫卵个大，椭圆形，淡黄色卵壳薄，一般采用直接涂片法或水洗沉淀法。免疫学检查具有辅助诊断价值（图 16-4-19）。

图 16-4-18　旋毛虫囊包幼虫（肌肉压片）

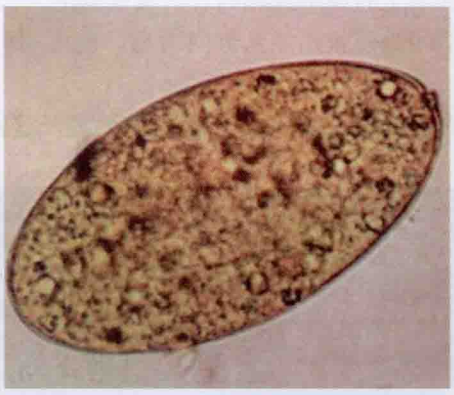


图 16-4-19　布氏姜片吸虫卵

血吸虫病：该病在发展中国家是最为重要的寄生虫病，我国只有日本血吸虫（schistosomajaponicum）一种病原体，人体因接触含有尾蚴的水而致病。虫卵可随粪便排出体外，虫卵呈淡黄色，椭圆、卵壳薄，无卵盖，一侧有一小棘，成熟虫卵内含一毛蚴。粪便标本用生理盐水直接涂片镜检查到虫卵便可确诊。也可用水洗自然沉淀法或毛蚴孵化法（图 16-4-20、图 16-4-21）。

学习笔记

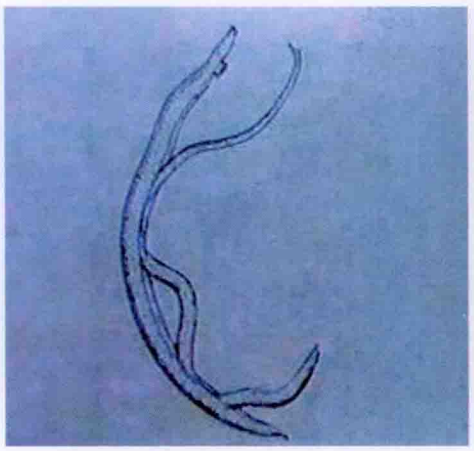


图 16-4-20　日本血吸虫成虫

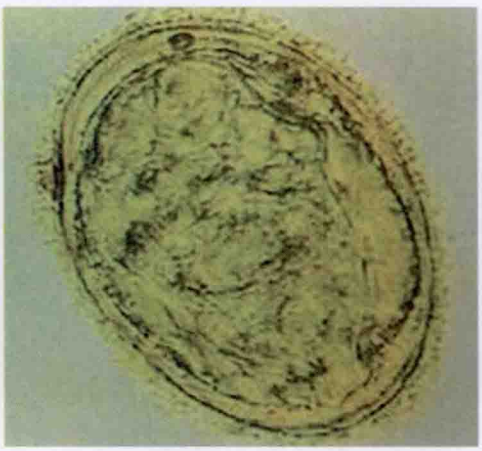


图 16-4-21　日本血吸虫卵

卫氏并殖吸虫病：即肺吸虫病。人因误食含活囊蚴的溪蟹或蝲蛄而感染。卫氏并殖吸虫（paragonimus westermani）是该病病原体。从患者痰或粪便中检出虫卵即可确诊。虫卵金黄色，椭圆形，卵盖明显，内有 1 个卵细胞及 10 余个卵黄细胞，粪检虫卵以沉淀法较好。痰检可用直接涂片法。多次涂片阴性，可改用浓集法检查。免疫学方法亦可用于该病的诊断（图 16-4-22）。

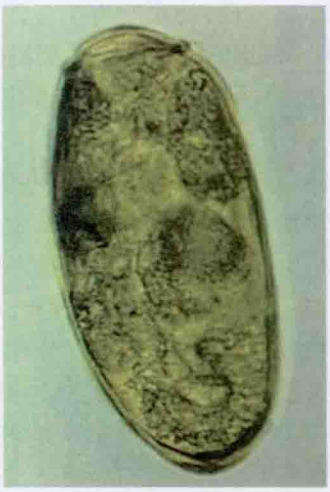


图 16-4-22　卫氏并殖吸虫卵

常见绦虫感染的寄生虫病主要有以下几种：

（1）链状带绦虫病和囊虫病：链状带绦虫（taenia solium）又称猪带绦虫，其成虫寄生于小肠内，引起猪带绦虫病。其幼虫囊尾蚴可引起人囊虫病。虫卵随粪便排出体外，以生理盐水直接涂片法、水洗沉淀法或饱和盐水漂浮法检查虫卵，可诊断带绦虫感染。免疫学检测对囊虫病尤其是无明显体征的脑囊虫病患者具有较高的诊断价值（图 16-4-23~ 图 16-4-25）。

（2）肥胖带绦虫病：又称牛带绦虫病。人体感染牛带绦虫主要由于食入生的或未煮熟的含活囊尾蚴的牛肉而引起。牛带绦虫寄生在小肠，可发现虫体脱落的孕节随粪便排出或从肛门逸出。也可用肛门拭子法检查虫卵或从粪便中检查虫卵而确诊该病。

（3）曼氏迭宫绦虫感染和裂头蚴病：曼氏迭宫绦虫中绦期幼虫裂头蚴常寄生人体，引起裂头

图 16-4-23　猪带绦虫成虫

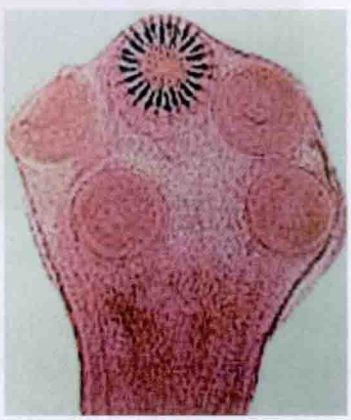


图 16-4-24　猪带绦虫头节

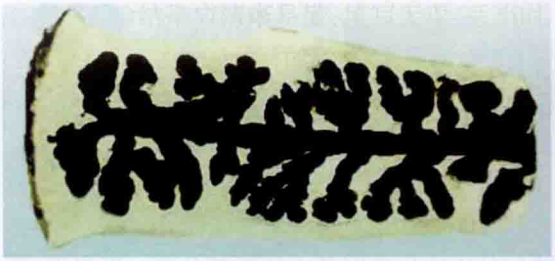


图 16-4-25　猪带绦虫孕节

图 16-4-27　裂头蚴

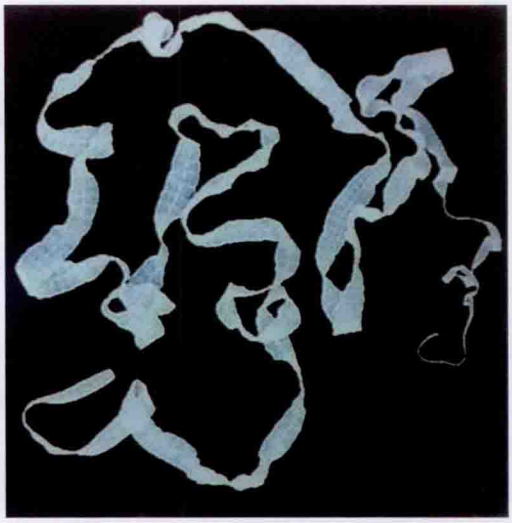


图 16-4-26　曼氏迭宫绦虫成虫

蚴病。成虫寄生于小肠，在粪便中查到虫卵或节片可作出诊断。幼虫裂头蚴寄生在组织内，病原学检查主要靠活检从局部组织内取出虫体。免疫学检查可作为辅助诊断方法（图 16-4-26、图 16-4-27）。

（胡志东）

学习笔记

第十七章 临床细胞遗传学与分子生物学检验

临床细胞遗传学检验和临床分子生物学检验均是临床检验医学中的重要分支。近年来，随着遗传学、免疫学、生物化学、分子生物学等基础学科的迅猛发展，一方面人们对疾病发生的细胞和分子机制有了更深的认识，另一方面细胞遗传学检验和分子生物学检验的手段不断更新，许多新的技术应用于临床，大大促进了临床细胞遗传学检验和临床分子生物学检验的发展。

第一节 外周血细胞染色体分析

外周血细胞染色体分析是临床细胞遗传学检验重要和主要的内容，主要是利用G显带对染色体进行核型分析，对于染色体病的诊断具有重要意义，对于其他遗传性疾病、不孕不育等的诊断亦有帮助。除了外周血细胞外，骨髓细胞染色体分析可以用于白血病的诊断，羊水细胞、绒毛细胞、脐血细胞染色体分析可用于产前诊断。近年来，高分辨率显带技术得到了很好的推广应用。

病历摘要：

患儿男，3月龄。因智能落后、生长发育迟缓于门诊就诊。查体：短头畸形，呈鼻梁低、眼距宽、舌大外伸、耳位低等特殊面容表现，手短而宽，通贯手。无颜面黏液性水肿、皮肤粗糙、头发干燥和喂养困难等症状。外周血染色体核型分析结果如下（图17-1-1）：

【问题1】根据外周血染色体核型分析结果并结合临床表现，该患者可诊断为？

根据患者的临床症状，结合外周血染色体核型分析结果，该患者可诊断为21-三体综合征嵌合体型。

思路：根据患者外周血染色体核型分析结果，确定患者体内存在两种细胞系，一为正常细胞核型（图17-1-1A），另一为21-三体细胞核型（图17-1-1B），形成嵌合体，其核型为47，XY，+21［24］/46，XY［26］，结合其智能发育落后、生长发育迟缓、特殊面容、通贯手等临床表现，患者可诊断为21-三体综合征嵌合体型。

知识点

21-三体综合征

21-三体综合征（21 trisomy syndrome）又称先天愚型或唐氏综合征（down syndrome），是人类最早发现并且最常见的染色体病。其发生主要是由于生殖细胞在减数分裂形成配子时或受精卵在有丝分裂时，21号染色体不分离，使胚胎细胞内多一条额外的染色体。多余的21号染色体产生了剂量效应（dosage effect），破坏了基因组遗传物质间的平衡，从而导致胎儿发育异常，表现出不同的临床特征。典型的临床特征包括：智能落后，绝大部分患儿都有不同程度的智能发育障碍；特殊面容，常有眼裂小、眼距宽、双眼外眦上斜等；生长发育迟缓，生后体格发育、动作发育迟缓，身材矮小；可伴发多种畸形，如先天性心脏病、消化道畸形等。

学习笔记

××医院

外周血细胞染色体核型分析报告

姓名：　　性别：男　　年龄：3月　　标本编号：

条码号：　　病区：儿科　　床号：　　住院号：　　备注：

临床诊断：先天愚型待查

核型结果：

47，XY,+21[24]/46, XY[26]

计数50细胞，分析6个核型，畸变细胞48%，

为嵌合体型21-三体综合征，即先天愚型，请到相关科室咨询，建议母亲下次妊娠时进行羊水产前诊断。

报告依据：

分辨率320-400条带，G显带。

A：正常细胞核型

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 X Y

B：21-三体细胞核型

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 X Y

注：受现有医学水平的限制，染色体细小结构异常无法确定。

阅片者：　　审阅者：　　报告日期：××××-09-11

图 17-1-1　外周血染色体核型分析结果

A. 正常细胞核型；B.21- 三体细胞核型；箭头：额外的 21 号染色

【问题 2】21- 三体综合征核型可分为几种类型？其主要特点是什么？

21- 三体综合征根据核型可分为四种类型：标准型、罗伯逊易位型、嵌合体型和其他型。

标准型最常见，占所有病例的 95%，即患儿体细胞内多一条额外的染色体，其核型为 47，XY 或 XX，+21。易位型占 2.5%~5%，染色体总数 46 条，其中一条是额外的 21 号染色体的长臂与一条近端着丝粒染色体长臂形成的易位染色体，即发生于近着丝粒染色体的相互易位，称罗伯

学习笔记

逊易位，亦称着丝粒融合。嵌合体型占2%~4%，是由于受精卵在早期减数分裂过程中21号染色体不分离，患儿体内存在两种细胞系，一为正常细胞核型，一为21-三体细胞核型，形成了嵌合体。

【问题3】已生育过且患有21-三体综合征的孕妇，为了明确胎儿是否有21-三体综合征的风险，应如何做产前检查？

已生育过且患有21-三体综合征的孕妇进行产前检查的手段主要包括血清学产前筛查和对羊水细胞的产前诊断。

思路1：21-三体综合征再发风险率与孕妇年龄呈正相关，年龄越大，风险越高。标准型21-三体综合征的再发危险为1%。孕妇年龄<30岁时，风险率为1/1000~1/500；35岁时，增加到1/380；45岁时，可高达1/25。

产前筛查是预防21-三体综合征患儿出生的一种有效手段。对高危孕妇应在孕早期筛查相关血清标志物，以评估胎儿21-三体综合征的风险。常用的三联筛查含甲胎蛋白（AFP）、游离雌三醇（uE_3）和绒毛膜促性腺激素（hCG）。通常，胎儿患21-三体综合征时，母体血清AFP和uE_3降低（一般分别低于0.6MoM和0.5MoM），而hCG明显升高（一般为2.0MoM以上），即所谓“两低一高”。目前大多数产前诊断中心都以风险率“1/270”作为临界值（cutoff）来判定筛查结果的“阳性”和“阴性”。如果风险率≥1/270（图17-1-2），称为筛查阳性或高风险，建议患者进行胎儿染色体核型分析。相反，如果风险率<1/270，则不建议抽取羊水或者绒毛细胞进行产前诊断。

样本编号：××××××
条形码号：××××××

××× 产前诊断中心

姓名：	性别：女	标本种类：血液	流水号：	
出生日期：29-Aug-××××	病区：	床号：	末次月经：04-Jul-××××	检验仪器：AUTO DELFIA1235
门诊号：××××××	临床诊断：16周6天		采样日期：30-Oct-××××	检验方法：时间分辨荧光分析

预产年龄：30.6岁	母亲体重：51 公斤	孕周：16周6天	LMP推算

项目名称	结果	单位	MOM值	参考值与备注
uE3	2.11	nmol/L	0.425	MOM:0.5-2.0
hAFP	24.13	U/ml	0.630	MOM:0.7-2.5
Free-hCGβ	20.08	ng/ml	1.283	MOM:0.25-2
21三体风险	1/130（高风险）			<1/270低风险，≥1/270高风险
18三体风险	1/3000（低风险）			<1/350低风险，≥1/350高风险
NTD风险	（低风险）			低风险：AFPMOM（单胎<2.5，双胎<5.0） 高风险：AFPMOM（单胎≥2.5，双胎≥5.0）

说明：低风险（<1/270、<1/350）或阴性的报告，只表明阁下胎儿发生该种先天异常的机会很低，并不能完全排除这种异常或其他异常的可能性。
高风险（≥1/270、≥1/350）或阳性的报告，只表明阁下胎儿发生该种先天异常的机会很大，并不是确诊，我们建议你立即到我院遗传门诊咨询，以便进一步查询确诊。
备注：婴儿出生后，我们将对其健康情况进行电话随访。

送检日期：××××-11-8　报告日期：××××-12-7　检验者：　审核者：　打印者：自助式打印机

图17-1-2　高危孕妇孕早期相关血清标志物筛查结果

知识点

中位值倍数

中位值倍数（multiples of the median，MoM）：即测定的血清值如AFP值与相同年龄正常对照组孕妇血清的AFP中位数之比，并以倍数表示。

学习笔记

思路 2：当血清学生化筛查结果为阴性时不能完全排除胎儿患病的可能性（只是表明患病的可能性低）；当筛查结果阳性时应进一步做诊断性检查（如羊水细胞或绒毛细胞染色体核型分析等），确定胎儿染色体核型，为遗传咨询和优生优育提供依据。羊膜腔穿刺常限于孕中期，以16~19 孕周最佳，而绒毛膜取样通常在孕早期 10~12 孕周进行。

知识点

产前诊断对象

染色体核型分析的产前诊断对象主要包括：①夫妇一方有染色体数目结构异常，或曾生育过染色体病患儿的孕妇；②夫妇一方是染色体平衡易位携带者的孕妇；③夫妇一方具有脆性 X 染色体的孕妇；④夫妇一方是 X 连锁遗传病患者或携带者的孕妇；⑤有原因不明的自然流产史、畸胎史、死产或新生儿死亡史，以及羊水过多的孕妇；⑥曾生育过特异的染色体异常所致的肿瘤患儿的孕妇；⑦曾生育过染色体断裂综合征患儿的孕妇；⑧35 岁以上的高龄孕妇；⑨夫妇一方有明显致畸因素接触史的孕妇。

【问题 4】染色体核型分析的关键步骤是什么？如何获得较高质量的染色体核型分析结果？

染色体核型分析是指通过对组织细胞培养获得细胞分裂中期染色体，借助显带技术，对染色体长度、着丝点位置、臂比、随体等特征进行分析、比较、排序和编号的过程，主要用于遗传性疾病、染色体相关疾病和肿瘤的诊断。由于只能从具有分裂能力的细胞中获得染色体，并非所有的组织标本中都含有足够数量的具有分裂能力的细胞，因而如何通过细胞培养获得足够数量的具有分裂能力的细胞是染色体核型分析的关键。含有分裂能力的组织细胞包括羊水、绒毛、外周血或其他活检组织。骨髓细胞中含有大量的具有自我分裂能力的细胞，可直接用于染色体核型分析；外周血淋巴细胞则需通过分裂素刺激才能获得分裂能力。细胞染色体核型分析实验室流程，见图 17-1-3。

细胞培养的关键步骤在于保持细胞的活性。因此，获得较高质量的染色体核型分析结果除需严格遵守无菌操作原则外，细胞培养前标本的收集和处理过程对维持细胞活性至关重要。

此外在进行染色体核型分析前，应获得患者或监护人的知情同意，同时还应充分保护患者的隐私权。

知识点

细胞染色体核型分析实验室流程

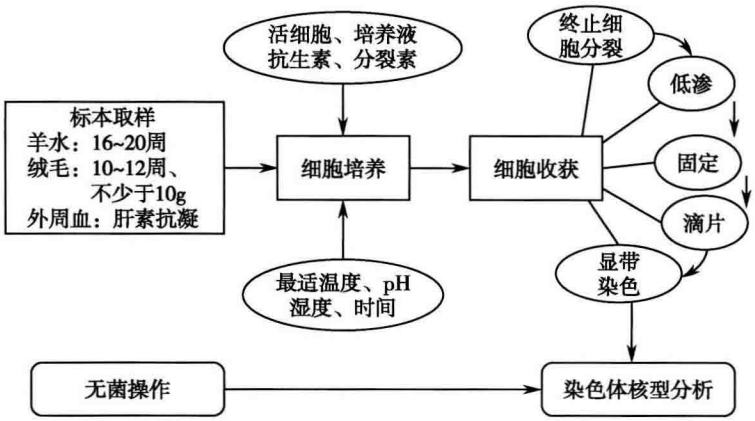


图 17-1-3　染色体核型分析实验流程图

学习笔记

【问题 5】影响染色体核型分析结果准确性的主要因素有哪些?

染色体核型分析的目的是将畸变的染色体辨认出来,作出正确的诊断。在实际临床应用时,有很多因素会影响核型分析的准确性,如制片的质量,染色体显带的质量和分析者的经验或辨认能力。染色体分析所需要的分析带水平应根据诊断目的而选择,一般的产前诊断要求 400 左右的带水平,而微小的结构性染色体畸形分析必须高达 550 以上的带水平。当带水平不够高时,常无法发现一些细微的染色体结构改变,同时由于染色体病发病率低,罕见染色体核型与某些疾病之间的关系较难以确定。

第二节　免疫组化与荧光原位杂交

免疫组化是通过化学反应使标记抗体的显色剂(荧光素、酶、金属离子、同位素)显色来确定组织细胞内抗原(多肽和蛋白质),对其进行定位、定性及定量的研究。荧光原位杂交方法是一种物理图谱绘制方法,使用荧光素标记探针,以检测探针和分裂中期的染色体或分裂间期的染色质的杂交。

病历摘要:

患者女,53 岁。于 ×××× 年 3 月"发现左乳渐大性肿物 1 年余"而住院治疗,此期间行乳腺肿物穿刺活检,病理回报:(左乳腺)浸润性导管癌(Ⅱ级,评分 5 分),局灶见黏液形成。IHC:E-cadherin(+),β-catenin(+),ER(+,约 50%),PR(+,1%),HER-2(+++),Ki-67(+,约 10%)。行胸部纵隔 CT 增强扫描后,考虑为"左乳癌伴肺部及纵隔淋巴结转移"。先后予"紫杉醇 + 卡铂"化疗 1 周期,"紫杉醇 + 卡铂"化疗 7 周期,另配合"赫赛汀"靶向治疗 12 周期,治疗过程顺利,后予以调强放疗 18 次。经化疗、靶向治疗及放疗后左乳肿块较前明显消退,目前未及明显肿物,复查胸部 CT 可见肺部多发转移癌及纵隔淋巴结部分有消退。出院后门诊随访,规律予"阿诺新"内分泌治疗至今。目前一般情况尚可,无乳房疼痛、肿胀,乳头无溢液,表面皮肤无发红、破溃、皱缩,无胸痛、咯血,无畏冷、乏力、多汗,无眼黄、尿黄、皮肤黄,无骨骼疼痛等不适。既往史及家族史无特殊。

病理报告和 FISH 结果如下(图 17-2-1,图 17-2-2):

×× 医院病理检测报告

姓名:	性别:女	年龄:53岁	病人ID:××××××
申请科室:甲状腺乳腺外科		病区/床号:	住院号:××××××
送检医师:		收到日期:××××-12-07	
送检材料:左乳腺肿物			

病理诊断:

(左乳腺)浸润性导管癌(Ⅱ级,评分 5 分),局灶见黏液形成。

IHC:E-cadherin(+),β-catenin 膜(+),ER(+,约 50%),PR(+,1%),HER-2(+++),Ki-67(+,约 10%)。

建议行 FISH 检测以明确 Her-2 基因扩增情况。

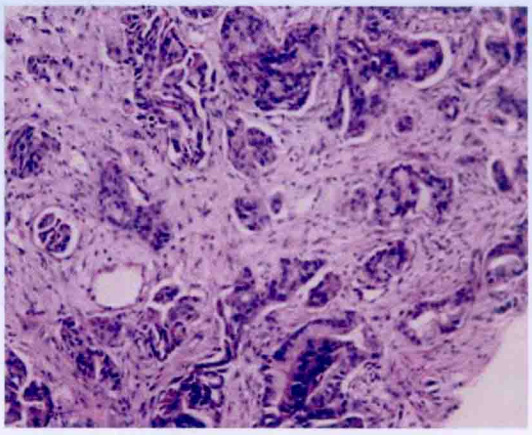


图 17-2-1　Her-2 阳性免疫组化结果

学习笔记

××医院

乳腺癌 Her-2 基因荧光原位杂交(FISH)检测报告

患者姓名：　　性别：女　　年龄：53　　电话：

病理号：××××××　　标本号：××××××　　送检科室：甲状腺乳腺外科　　送检医生：

免疫组化结果：浸润性导管癌。

病理诊断：HER-2(+++)。

FISH 检测结果：

1. 荧光显微镜所见如下：肿瘤异质性　☑明显　□不明显

2. Her-2 信号分布情况：

□簇状分布

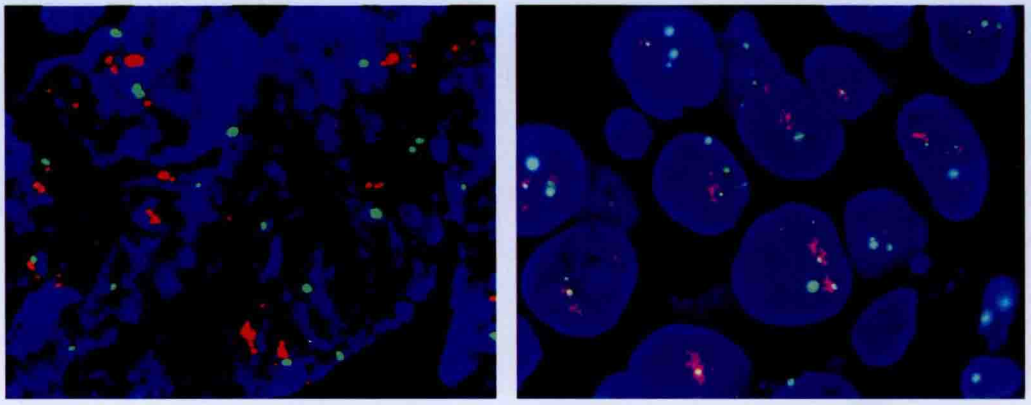
☑点状分布：　计数细胞 30 个　Her-2 信号总数：205

CSP17 染色体信号数：70　Her-2/CSP17 比值：2.928

诊断：　Her-2 扩增情况：　☑阳性(Her-2 扩增)　□可疑

□阴性(Her-2 无扩增)　□无法判读

FISH 结果附图：



样本　　阳性对照

注：此结果只针对本样本，结果为实验数据，仅供临床参考。

复诊医师：　　报告医师：　　技术员：　　报告日期：××××1215

图 17-2-2　Her-2 FISH 点状分布结果

注：绿色荧光：17 号染色体着丝粒；橘红色荧光：*Her-2* 基因扩增

【问题 1】在病理诊断结果中，HER-2 阳性(+++)，为什么建议进行 FISH 检测以明确 *Her-2* 基因拷贝数情况？

目前广泛认可检测 *Her-2* 的方法主要为 FISH 及免疫组化(IHC)。IHC 在蛋白质水平检测 *Her-2* 的表达，但由于蛋白质性质不稳定，在组织固定时抗原活性容易下降或消失，易导致假阴性结果。同时 IHC 受检验人员主观因素的影响，不同人员之间，判读结果差异较大。此外约有 50% 的乳腺浸润性导管癌存在 17 号染色体非整倍性，使 IHC 不可避免地产生假阳性结果。

相比之下，FISH 是在 DNA 水平上检测 *Her-2* 基因拷贝数。由于 DNA 性质稳定，结构不易破坏，同时使用直观、高度灵敏的荧光信号判读结果，实验结果在不同检验人员之间的差异较小。更重要的是，FISH 在技术上使得 17 号染色体着丝粒产生绿色荧光而 *Her-2* 基因

学习笔记

扩增为橘红色荧光，从而避免了 17 号染色体非整倍性对结果判断的干扰，有效避免假阳性结果。

根据 HER2 评分标准，*Her-2* 0 或（+）被认为是 HER2 阴性，（++）为可疑阳性，（+++）为阳性。当 HER2 免疫组化评分为（++）及以上时，需行 FISH 检测，进一步明确有无 *Her-2* 基因拷贝数的增加。*Her-2* 评分为（+）的也有部分 FISH 检测可能阳性，但比例较低，一般小于 10%，此时若患者同意，也可选择 FISH 检测。

FISH 具有特异性、灵敏性高，重复性好的优点，但实验仪器价格昂贵，实验试剂成本较高，且对实验操作要求较高，不适合广泛应用。而 IHC 具有因操作简单、价格低廉、染色片易于保存等优势，已成为最常规的临床病理检查项目。综合利用 FISH 及 IHC 两种方法的优势，能够合理地检测并准确了解乳腺癌患者的 *Her-2* 基因拷贝数情况，为赫赛汀的靶向治疗提供准确的实验室诊断依据。

思路 1：免疫组织化学技术（immunohistochemistry technique，IHC）又称免疫细胞化学技术，是指用标记的特异性抗体在组织细胞原位通过抗原抗体反应和组织化学的呈色反应，对相应抗原进行定性、定位、定量测定的一项免疫检测方法。它把免疫反应的特异性、组织化学的可见性等多种技术的优势结合在一起，借助显微镜（包括荧光显微镜、电子显微镜）的显像和放大作用，在细胞、亚细胞水平检测各种抗原物质（如蛋白质、多肽、酶、激素、病原体以及受体等），使单一的静止的形态学描述，上升到结构、功能和代谢为一体的动态观察，为疾病的诊断、鉴别诊断和发病机制的研究提供了强有力的支持。

思路 2：荧光原位杂交（fluorescence in situ hybridization，FISH）的基本原理（图 17-2-3）是根据 DNA（或 RNA）碱基互补配对的原理，在体外的一定的条件下，使同源的 DNA 链或 DNA-RNA 单链结合成双链。用荧光标记的 DNA（RNA）探针，直接与染色体杂交，从而能够定性、定位、相对定量分析检测中期染色体、间期核、组织切片、裂殖细胞或配子细胞上的靶 DNA 序列。

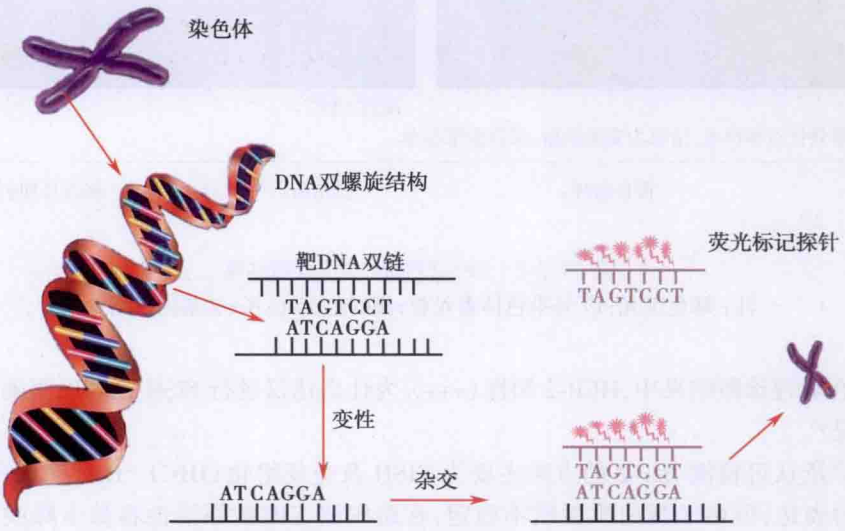


图 17-2-3　荧光原位杂交原理

FISH 优势主要包括：①荧光试剂和探针安全；②探针稳定，一次标记后可在两年内使用；③实验结果准确、特异性好、定位准确；④FISH 可定位长度为 1kb 的 DNA 序列，其灵敏度与放射性探针相当；⑤多色 FISH 通过在同一个核中显示不同的颜色可同时检测多种序列；⑥既可以在玻片上显示中期染色体数量或结构的变化，也可以在悬液中显示间期染色体 DNA 的

学习笔记

结构。

FISH 局限性：不能达到 100% 杂交，特别是应用较短的 cDNA 探针时效率明显下降；操作烦琐。

知识点

荧光原位杂交技术的主要步骤

荧光原位杂交技术(FISH)的主要步骤包括：①探针的制备和标记；②探针及标本变性；③杂交；④洗脱；⑤杂交信号的放大(适用于使用生物素标记的探针)；⑥封片；⑦荧光显微镜观察 FISH 结果。

【问题 2】*Her-2* 基因过度表达患者如何从赫赛汀(herceptin)靶向治疗中受益？

Her-2/neu 基因定位于染色体 17q，编码相对分子质量为 185kD 的跨膜酪氨酸激酶受体，属生长因子受体基因，具有调节细胞生长、生存和分化的重要作用。*Her-2/neu* 基因过度表达，可导致 Her-2/neu 蛋白在 Her-2/neu 阳性乳腺细胞表面高度表达，可达正常乳腺细胞的 10~100 倍，从而导致细胞过度增殖和表型恶性转化。

临床研究发现 25%~30% 的乳腺癌患者 *Her-2/neu* 基因过度表达，这些患者病理类型多为低分化型，具有激素受体阳性、易发生淋巴结转移、预后不良、中位生存期及无病生存期较短等特点，Her-2/neu 过表达或血液可溶性 Her-2/neu 水平升高是乳腺癌预后不良的标志。

赫赛汀(herceptin)是能直接对抗 c-erbB2 生长因子受体的人源单抗，可下调 c-erbB2 引起的细胞内信号从而引起细胞凋亡，属抗体依赖的细胞毒作用。赫赛汀已被 FDA 批准用于 Her-2/neu 过表达的早期乳腺癌的辅助治疗及晚期乳腺癌患者的姑息治疗。*Her-2/neu* 基因过表达患者，对三苯氧胺治疗无效，对 CMF 化疗往往耐药，可能对阿霉素更敏感，对 Herceptin 治疗有效。

Her-2/neu 基因表达水平在乳腺癌内分泌治疗或化疗效果判断、随访监测、转移复发监测等方面中具有重要的预测价值。

【问题 3】在非活检状态下，可对 *Her-2* 基因进行检测吗？

可通过如 ELISA 方法检测血清中可溶性 Her-2/neu 蛋白，实现定量并动态检测 *Her-2* 基因扩增情况，为乳腺癌预后预测、随访过程监测及赫赛汀的疗效评估提供依据。

【问题 4】FISH 的临床应用包括哪些方面？

DNA 的稳定性使得 FISH 在临床上可广泛应用，FISH 技术几乎可应用于所有的有核细胞，但如果细胞中的 DNA 已退化，如自然流产组织和死胎组织，则难以获得满意的结果。

FISH 的临床应用主要包括：①产前诊断：其最大优点是不需要细胞培养而直接利用羊水和绒毛或脐周间期细胞进行检测，全程仅需 1~2 天时间；②植入前诊断：在植入前诊断中，FISH 可检测性染色体数目是否异常，对 X- 连锁遗传性疾病家系(如假肥大型肌营养不良，DMD)的病例进行胚胎性别鉴定，以推测胚胎是否正常；③肿瘤诊断：可以用于肿瘤易感基因定位，亦可通过基因扩增分析，为某些癌症疾病的诊断和预后提供依据，如前述与乳腺癌的诊断和预后评估密切相关的 *Her-2/neu* 基因的扩增测定；④骨髓移植后的追踪观察，可以判断骨髓移植效果、预测或判定治疗后疾病复发与否；⑤白血病融合基因的检测。

第三节　基因诊断

基因诊断(gene diagnosis)是以 DNA、RNA 为原料，通过检查人体基因的存在、缺陷或表达异常，从而对人体的状态和疾病作出诊断。此外，基因诊断还可用于外源病原体基因(DNA、RNA)

学习笔记

以及感染性疾病的检测。基因诊断不仅能对疾病作出早期诊断，确定个体对疾病的易感性，还能进行疾病的分期分型、疗效监测、预后判断等。基因诊断被已广泛应用于遗传性疾病、感染性疾病、肿瘤等方面的诊断。近年来，随着药物基因组学的发展，基因诊断技术在个体化用药中得到了广泛应用。

一、遗传性疾病的基因诊断

病历摘要：

患者女，29岁。孕12周行正常妊娠监测，血HCG 280 000mIU/ml，黄体酮159nmol/L，TORCH检测结果中弓形虫、风疹病毒、巨细胞及单纯疱疹Ⅰ/Ⅱ型IgG/IgM抗体均呈阴性。B超结果提示：宫内妊娠，胎儿发育正常。行地中海贫血基因检测，检测结果如下（图17-3-1）：

××妇幼保健院

××省产前诊断中心

样本编号：××××××
条形码号：××××××
联系电话：

姓名：	性别：女	年龄：29岁	标本种类：血液
门诊号：××××××	科室：妇保科	病区：	床号：
标本状态：	送检日期：××××-11-01		检验日期：××××-11-12
临床诊断：正常妊娠监督：			备注：0

送检项目	β地中海贫血基因检测
检测方法	聚合酶链反应及寡核苷酸探针反相斑点杂交法
检测内容	检测β-地贫突变类型：CD41-42(-TCTT)，IVS-2-654(C→T)，CD17(A→T)，-28(A→G)，CD26(G→A)，CD71-72(+A)，CD43(G→T)，-29(A→G)，起始密码子ATG→AGG，CD14-15(+G)，CD27-28(+C)，-32(C→A)，-30(T→C)，IVS-1-1(G→T)，IVS-1-5(G→C)，CD31(-C)，CAP+40-+43(-AAAC)
检测结果	CD41-42(-TCTT)　检测到突变杂合子 其余的　未检测到

送检者：　　检验者：　　审核者：　　报告日期：××××-12-7　　打印者：自助式打印
注：请结合地贫筛查结果及血象综合分析。

图17-3-1　患者地中海贫血基因检测结果

【问题1】患者基因检测结果提示β地中海贫血类型为CD41-42(-TCTT)杂合突变，该孕妇能否生出一个正常的小孩？

该基因检测结果提示孕妇为β地中海贫携带者，怀孕胎儿基因型是否正常、生出后是否正常还与胎儿父亲地贫基因型相关，有必要进行遗传咨询和产前诊断。

思路1：珠蛋白生成障碍性贫血原名地中海贫血，又称海洋性贫血，属于遗传性溶血性贫血疾病，是遗传基因缺陷致使血红蛋白中一种或一种以上珠蛋白链合成缺失或不足所导致的贫血或病理状态。地中海贫血按病因可分为β地中海贫血和α地中海贫血，根据临床表现的严重程度可分为重型、中间型和轻型三种类型。

思路2：地中海贫血产前诊断指征：①曾生育过重型或中间型α或β地贫患儿的夫妇；②夫妇双方均为α地贫携带者，或者夫妇一方为α地贫携带者，配偶为β地贫或α地贫携带者；③夫妇双方均为β地贫携带者。

思路3：此孕妇为β地中海贫血携带者，由于地贫属于常染色体隐性遗传性疾病，如果父亲基因型正常，则胎儿为携带者的概率为1/2，胎儿基因型正常的概率为1/2；如果父亲为携带者，

则胎儿为携带者的概率为1/2，胎儿基因型正常的概率为1/4，胎儿基因型异常的概率为1/4；如果父亲为患者，则胎儿为携带者的概率为1/2，胎儿基因型异常的概率为1/2。

知识点

地中海贫血基因型和表型

1. β珠蛋白生成障碍性贫血(β地中海贫血)　β珠蛋白生成障碍性贫血(简称β地贫)发生的分子病理机制相当复杂，已知有100种以上的β基因突变，主要为基因的点突变，少数为基因缺失。

中国人常见突变位点有：CD41-42(-TCTT)，IVS-2-654(C→T)，CD17(A→T)，-28(A→G)，CD26(G→A)，CD71-72 (+A)，CD43(G→T)，-29(A→G)，起始密码子ATG→AGG，CD14-15(+G)，CD27-28(+C)，-32(C→A)，-30(T→C)，IVS-1-5(G→C)，CD31(-C)，CAP+40-+43(-AAAC)。

2. α珠蛋白生成障碍性贫血(α地中海贫血)　大多数α珠蛋白生成障碍性贫血(简称α地贫)是由于α珠蛋白基因的缺失所致，少数由基因点突变造成。

α地贫缺失类型：东南亚型α基因缺失($^{-SEA}$)，$\alpha^{3.7}$基因缺失，$\alpha^{4.2}$基因缺失DNA序列。

珠蛋白基因突变类型包括α^{WS}(CD122)，CAC-CAG；α^{QS}(CD125)，CTG-CCG；α^{CS}(CD142)，TAA-CAA。

非缺失型α地贫的突变大多位于功能较强的α_2珠蛋白基因，故非缺失型血红蛋白H病HbH患者的临床表现要比缺失型HbH患者更为严重。

【问题2】地中海贫血在遗传咨询中的注意事项？

α地中海贫血及β地中海贫血属于常染色体隐性遗传病，其临床表现具有明显的异质性，不同的基因型可表现为相似的临床表型，难以依据临床表型确定其基因型，但可以通过基因诊断的方法确定患者的基因型。标准型(轻型)α地贫患者多无明显的临床症状，容易被患者及医生忽视。如夫妇双方同时为杂合子，则生育重型α地贫患者的机会为1/4。在地中海贫血的高发区，应加强普及地中海贫血的有关知识和群体筛查，建立遗传咨询网，从而有效防治地中海贫血。通过遗传咨询，使病人及其家属明白疾病的传递方式和再发风险，通过对阳性家系成员进行筛查，做好产前诊断，有助于优生优育。

【问题3】哪些技术可用于基因诊断？

常见的基因诊断技术主要包括核酸分子杂交技术、PCR及其衍生技术、测序技术、基因芯片技术等。

思路1：核酸分子杂交技术

核酸分子杂交具有高度特异性及灵敏性，已成为分子生物学中最常用的基本技术，被广泛应用于基因克隆的筛选、酶切图谱的制作、基因的定量和定性分析及基因突变的检测等。

其基本原理是具有一定同源性的待测核酸序列和探针在一定的条件下(适宜的温度及离子强度等)可按碱基互补原则形成双链。核酸探针可以用放射性核素、生物素或其他活性物质标记，从而实现对特定的核酸序列检测。根据探针的来源和性质可分为cDNA探针、基因组探针、寡核苷酸探针、RNA探针等。

核酸分子杂交技术主要有Southern杂交、Northern杂交、原位杂交(ISH)、荧光原位杂交(FISH)及反相斑点杂交(图17-3-2)等。

学习笔记

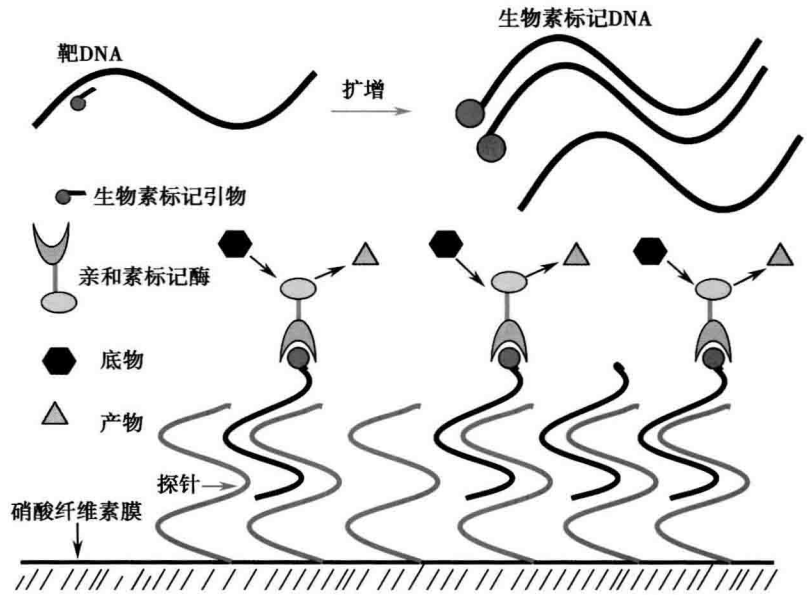


图 17-3-2　反相斑点杂交原理

知识点

反相斑点杂交原理

反向斑点杂交(reverse dot blot,RDB)采用固化的多种特异性探针膜条与扩增后的靶DNA序列结合,一次杂交即可同时筛查靶DNA序列中的多种突变。RDB检测点突变仍遵循等位基因特异性寡核苷酸(ASO)法的基本原理,即通过位于寡核苷酸探针中部的特异性碱基与靶序列DNA的碱基互补配对,在严格条件下进行杂交和洗脱以检测基因中少数碱基变化(甚至单个碱基)。RDB通过膜上固定探针取代固定靶DNA的方式,改变了传统杂交法一次只能检测一种突变的模式,具有快速、简便、高敏感度和特异性强的特点,在基因突变检测、基因分型、病原体的检测等领域有其独特的优势。

RDB的主要特点是将多种不同序列的ASO探针固定在同一膜条上,其技术关键是探针与靶序列位点的碱基的特异性互补,此外杂交条件是试验成败的重要影响因素,优化杂交条件可使杂交信号更强、背景更低,提高实验的灵敏性和特异性。

思路2:PCR及其衍生技术

聚合酶链反应(polymerase chain reaction,PCR)是体外酶促合成特异DNA片段的一种方法,由高温变性、低温退火及适温延伸等几步反应组成一个周期,循环进行,使目的DNA得以迅速扩增,具有特异性强、灵敏度高、操作简便的特点。它不仅可用于基因分离、克隆和核酸序列分析等基础研究,还可用于疾病的诊断。

PCR衍生技术主要包括:

(1) 反转录PCR:反转录PCR(RT-PCR)是将RNA的反转录和cDNA合成相结合的技术。首先经反转录酶将RNA合成cDNA,再以cDNA为模板,扩增合成目的片段。

反转录PCR技术灵敏,可应用于细胞中的基因表达水平的检测、直接克隆特定基因的cDNA序列及RNA病毒的浓度测定。

(2) 原位PCR:原位PCR(in situ PCR)是在组织细胞里进行PCR反应,它结合了具有细胞定位能力的原位杂交技术和高度特异灵敏的PCR技术的特点,是细胞学科研和临床诊断领域里的

学习笔记

一项具有较大潜力的技术。

(3) 实时 PCR：实时 PCR(real time PCR，RT-PCR)又称荧光定量 PCR，是一种对 PCR 产物进行定量分析的技术。由于在 PCR 反应体系中加入荧光基团，利用荧光信号积累实时监测整个 PCR 进程，最后通过标准曲线对未知模板进行定量分析。

根据荧光化学原理不同，常见 RT-PCR 技术可分为 DNA 染料结合技术、Taq Man 技术(图 17-3-7)和分子信标技术。

(4) PCR- 限制性内切酶谱分析：限制性核酸内切酶是一类识别双链 DNA 中特定核苷酸序列的 DNA 水解酶，能够以内切方式水解 DNA，产生 5′-P 和 3′-OH 末端。通过对特定 DNA 序列的 PCR 扩增，将扩增产物经过限制性内切酶酶切后，对酶切产物进行电泳分析，从而实现对 DNA 序列的分析。

思路 3：Sanger 测序技术

利用 DNA 聚合酶来延伸结合在待定序列模板上的引物，直到掺入一种链终止核苷酸为止。每一次序列测定由一套四个单独的反应构成，每个反应含有所有四种脱氧核苷酸三磷酸(dNTP)，并混入限量的一种不同的双脱氧核苷三磷酸(ddNTP)。由于 ddNTP 缺乏延伸所需要的 3′-OH 基团，使延长的寡聚核苷酸随机地选择性终止，最终得到一组长几百至几千个碱基的链终止产物(图 17-3-3)。它们具有共同的起始点，但终止在不同的的核苷酸上，可通过高分辨率变性凝胶电泳分离大小不同的片段，凝胶处理后可用 X- 光胶片放射自显影或非同位素标记进行检测，从而确定 DNA 序列。

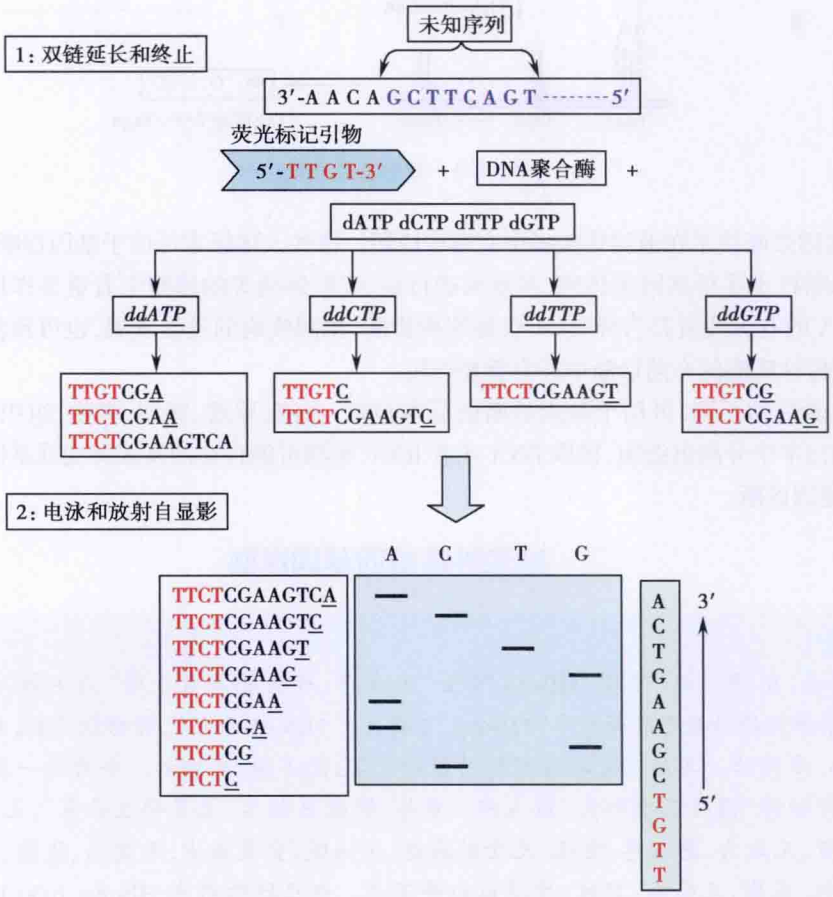


图 17-3-3　Sanger 测序原理

思路 4：基因芯片技术

基因芯片技术是随着基因组计划发展起来的生物技术，其基本原理是核酸杂交，即采用原位合成或合成后点样的方法将许多特定的 DNA 探针有规律地固化于支持物表面，产生二维 DNA 探针阵列，将模板 DNA 或 RNA 通过荧光标记引物进行 PCR 扩增，荧光标记的 PCR 产物与芯片上探针进行杂交，再用激光或 CCD 摄影头扫描仪扫描杂交信号，通过目测或软件分析得到基因表达或突变的信息（图 17-3-4）。由于基因芯片可以一次性对大量序列进行检测分析，因此具有高通量、并行、快速等特点，克服了传统核酸分子杂交技术操作繁杂、自动化程度低、检测序列少、效率低的缺点。

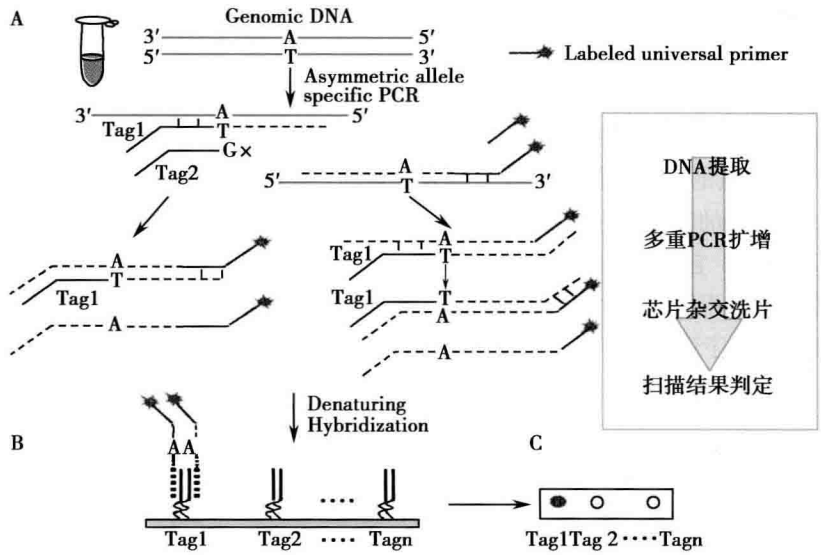


图 17-3-4　基因芯片原理

【问题 4】基因诊断技术在遗传性疾病中有哪些应用？哪些人体标本可用于基因诊断？

基因诊断技术在单基因遗传病、多基因遗传病、线粒体病等的诊断中有重要作用。通过检测 DNA/RNA 的有无或者是否异常，不仅能明确诊断，预测疾病的发生发展，也可预测疗效。基因诊断在遗传性疾病的产前诊断中亦有重要作用。

根据检验目的不同，可用于基因诊断的标本包括：血液、尿液、唾液、粪便、组织、骨和毛发等。从这些标本中分离出细胞，提取 DNA 或者 RNA，检测可能存在的基因突变或基因序列的改变，以实现基因诊断。

二、感染性疾病的基因诊断

病历摘要：

患者女，36 岁。以“发现‘HBsAg 阳性’10 余年，肝功能异常 1 周”为主诉入院。入院前 10 余年体检时查乙肝两对半“HBsAg、HBeAg、HBcAb 阳性”，肝功能正常，无特殊不适，未进一步诊治。其后不定期监测肝功能均正常，无不适，未诊治。今为进一步诊治来我院，门诊拟诊“慢性乙型肝炎”收入院。查体：肝脏 B 超示“未见明显异常”，无眼黄、尿黄、皮肤黄，无乏力、恶心感、呕吐，无食欲减退、厌油腻、食量减少，无腹痛、腹胀、腹泻，无畏冷、发热、寒战，无呕血、黑便、牙龈出血等不适。查乙肝两对半 HBeAg 1030.14S/CO，HBsAg>250.00IU/ml，HBcAb 8.09S/CO，其余阴性；HBV-DNA：3.51E+06IU/ml；肝功能：TBIL 23.3μmol/L，DBIL 7.2μmol/L，ALT 639U/L，AST 225U/L，AFP 9.32ng/ml；肝纤维化

学习笔记

四项示：Ⅲ型前胶原N端肽8.2μg/L，Ⅳ型胶原173.3μg/L，层粘连蛋白37.7μg/L，透明质酸16.4μg/L；行肝穿刺活检术，术后病理示乙型轻度慢性乙肝（G2S1）。入院后拟阿德福韦酯抗病毒、保肝等处理。HBV DNA定量（图17-3-5）、基因分型及核苷类药物耐药基因分析（图17-3-6），结果如下：

【PCR】4.23
NO.

××医院检验报告单

姓名：	门诊号：	申请医生：	申请时间：××××.04.23 08:56
性别：男	条形码号：	采集者：	采集时间：××××.04.23 09:52
年龄：44岁	床号：	科别：肝病门诊	接收时间：××××.04.23 09:56
标本：血清	标本状态：合格	临床诊断：乙肝携带，肝功能异常	备注：

No	项目	结果	参考区间	单位	方法	试剂品牌
1	乙型肝炎病毒核酸（HBV-DNA）	3.51E+06	↑<5.00E+02	IU/ml	荧光定量法	

※结果仅对送检标本负责，有疑问请于3日内咨询　报告时间：××××.04.24 11:32　检验者：　核对者：

图17-3-5　HBV DNA定量检测结果

【PCR】11.27
NO.

××医院检验报告单

姓名：	门诊号：	申请医生：	申请时间：××××.11.27 10:15
性别：男	条形码号：	采集者：	采集时间：××××.11.27 10:40
年龄：44岁	床号：	科别：综合门诊	接收时间：××××.11.27 10:45
标本：血清	标本状态：合格	临床诊断：乙肝表面抗原携带者	

HBV基因分型结果：

B型

HBV核苷类药物耐药基因分析

1. 拉米夫定LAM突变位点检测结果：

rtV173L		rtL180M		rtM204I/V/S		rtV207I/L/G		rtS213T	
V		M		V		V		S	
野生型	突变型	野生型	突变型	野生型	突变型	野生型	突变型	野生型	突变型
+++	–	–	+++	–	+++	+++	–	+++	–

学习笔记

2. 阿德福韦ADV突变位点检测结果：

rtA181V/T/S		rtV214A		rtQ215S		rtN236T		rtP237H		rtN/H238T/D	
A		V		Q		N		P		H	
野生型	突变型	野生型	突变型	野生型	突变型	野生型	突变型	野生型	突变型	野生型	突变型
+++	–	+++	–	+++	–	+++	–	+++	–	+++	–

3. 恩替卡韦ETV突变位点检测结果：

rtT184A/G/I/S		rtS202G/I		rtM204I/V/S		rtM250V/L	
T		G		V		M	
野生型	突变型	野生型	突变型	野生型	突变型	野生型	突变型
+++	–	–	+++	–	+++	+++	–

4. 替比夫定LDT突变位点检测结果：

rtL180M		rtM204I/V/S	
M		V	
野生型	突变型	野生型	突变型
–	+++	–	+++

rtL180M，rtS202G，rtM204V

结果：检测到拉米夫定 LAM、恩替卡韦 ETV（rt204 位氨基酸易被拉米夫定诱导突变，仅作参考）、替比夫定 LDT 的耐药株。

未检测到阿德福韦酯 ADV 的耐药株。

※ 结果仅对送检标本负责，有疑问请于 3 日内咨询　报告时间：××××.12.04 15:42　检验者：　核对者：

※ 使用 3130 遗传分析仪器

备注：

1. 本实验方法为 DNA 测序法，只对核苷类药物常见耐药位点进行检测分析
2. 本方法检测的是病毒耐药基因型，某些情况下病毒耐药基因型和耐药表现型可能会存在差异
3. 本测序方法对杂合基因型的检测灵敏度约为 20%

图 17-3-6　HBV 基因分型及核苷类药物耐药基因分析结果

【问题 1】HBV DNA 定量检测的原理是什么？

目前，荧光 PCR 所使用的荧光化学物质有两种：非特异性的荧光染料（以 SYBR Green Ⅰ为代表）和特异性的荧光探针（TaqMan 水解探针、MGB 探针、分子信标、杂交探针等）；相应地，实时荧光定量 PCR 技术分为非特异性和特异性两类。市售 HBV DNA 定量检测的商品化试剂盒主要采用特异性的 TaqMan 水解探针法。

TaqMan 水解探针法的原理是基于荧光共振能量转移（fluorescence resonance energy transfer，FRET）现象和 Taq 酶 5′-3′核酸外切酶活性。FRET 现象指当一个供体荧光物质（荧光基团）的发射光谱与另一个受体荧光物质（淬灭基团）的吸收光谱相重叠，并且之间的距离接近到一定范围（1~10nm）时，可发生荧光能量转移，供体荧光被受体荧光吸收，没有荧光产生；当供体荧光物质与受体荧光物质分开时，可发出荧光。

如图 17-3-7 所示，TaqMan 水解探针为一 5′端标记荧光基团，3′端标记淬灭基团的寡核苷酸。当探针完整时，两个基团距离很近，发生 FRET，荧光基团淬灭而不能发出荧光。PCR 扩增反应时，Taq 酶利用 5′-3′外切酶活性，将探针酶切降解，使得两个荧光基团分开，破坏 FRET，发出荧光。荧光信号与 PCR 产物数量成正比。通过定量标准品参照和 PCR 反应中的荧光强弱即可推算出样本中 HBV DNA 的含量。

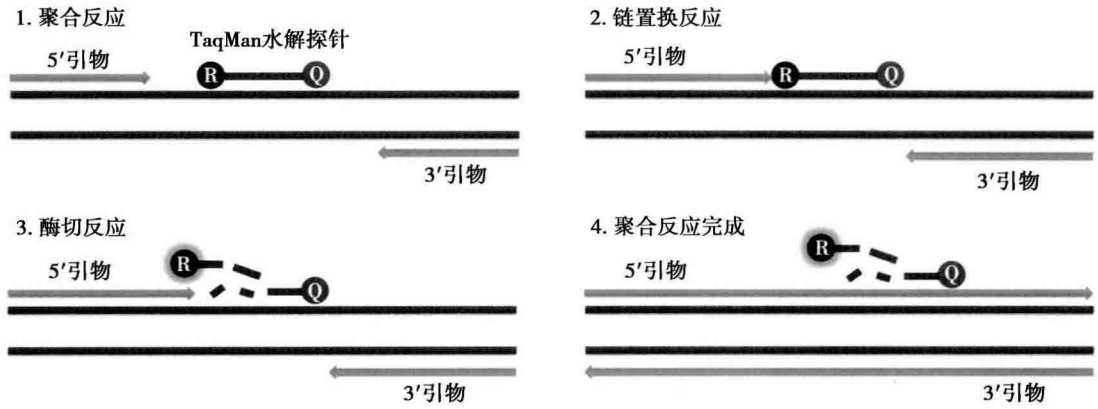


图 17-3-7　TaqMan 水解探针工作原理

知识点

HBV DNA 定量检测的主要步骤

HBV DNA 提取(在样本处理区 -2 区进行)→ PCR 反应液配制(在试剂准备区 -1 区进行)→加样(在样本处理区 -2 区进行)→ PCR 扩增(在扩增与分析区 -3 区进行)→结果分析

【问题 2】HBV DNA 定量结果判读的关键点是什么?

(1) 质量控制:①标准品(一般至少有 4 个浓度的标准品)均为阳性,且标准曲线相关系数 $R^2 \geqslant 0.98$;②阴性对照 Ct 值一般≥40 或无 Ct 值显示;③阳性对照 Ct 值应在试剂盒规定的范围内;④以上要求须在同一次实验中同时满足,否则实验视为无效,需重新评估实验过程及结果,查找并分析原因后才能发送报告,必要时需重新进行实验。

(2) 荧光阈值(threshold)设置:荧光阈值指在荧光扩增信号指数扩增阶段人为设定的一个荧光强度,并以此作为推算初始模板含量的标准。荧光阈值设置:①仪器自动设置,是 3~15 个循环的荧光信号的标准偏差的 10 倍;②大多数情况下应进行手动设置,手动设置的原则为大于样本的荧光背景值和阴性对照的荧光最高值,同时要尽量选择进入指数期的最初阶段。

(3) 定量单位:可用 IU/ml 和 copies/ml 表示,建议将定量结果溯源至 IU/ml。

(4) 结果解释:①检测值在所用试剂检测线性范围内,且扩增曲线呈典型的 S 形,报告相应的结果;②检测值超过检测上限,且扩增曲线呈典型的 S 形,可报告 >××IU/ml,或将样本稀释后使其浓度值落在检测线性范围内重新检测,检测结果乘以稀释倍数进行校正;③检测值低于试剂盒检测下限的样本,检测值仅供参考,报告为 < 最低检测限。(具体的线性范围、检测下限和结果解释参照各试剂盒说明书)

【问题 3】HBV DNA 定量检测在慢性乙型肝炎患者中的意义是什么?

HBV DNA 定量是评价慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B,CHB)患者抗病毒治疗疗效常用的客观指标,其数值高低表示血清中病毒 DNA 数量。HBV DNA 下降程度与 HBeAg 血清学转换及疗效相关。HBV DNA 定量检测在 HBV 感染早期诊断、传染性大小判断、药物疗效评价、优化治疗等方面有重要临床意义。

(1) HBV 感染的早期诊断:通常情况下,在 HBV 感染后 2~4 个月(平均 56 天)才可检测到 HBV 感染的血清学标志物——HBsAg;HBV DNA 的检测有利于早期诊断,可使得检测 HBV 感染的“窗口期”提前 6~15 天。

(2) 判断传染性大小:HBV DNA 能直接反映 HBV 复制状态及传染性大小。HBsAg 阳性时,须辅以 HBV DNA 检测才可确定其传染性大小。当 HBsAg 阳性,HBV DNA 阴性时,病毒复制程

学习笔记

度极低，传染性小。HBV DNA 拷贝数越高，病毒复制越活跃，相应的传染性也较大。病毒拷贝数高低与传染性大小呈正相关。

(3) 评价药物疗效：HBV DNA 拷贝数是监测 HBV 感染、观察抗病毒疗效的可靠指标。HBV DNA 可反映机体的病毒感染及其复制活跃情况，HBV DNA 水平降低或低于检测下限，通常提示干扰素（interferon，IFN）或核苷（酸）类[nucleos（t）ide analogues，NAs]抗病毒药物治疗有效，但这仅提示病毒暂时被抑制，并非代表病毒完全被灭活。因为肝组织中存在难以清除的共价闭合环状 DNA [cccDNA（HBV 复制的原始模板）]，因此，即使血清 HBV DNA 阴转，也不可轻率停用抗病毒药物，否则易出现病毒学反弹。停药需综合考虑各方面因素（如 e 抗原转换等），不然会导致治疗失败，甚至病情加重。

(4) 预测疗效和耐药、优化治疗：2007 年 Keeffe 教授在 AASLD 年会上提出 CHB 的路线图概念（roadmap concept）。其主要内容是：在应用 NAs 治疗 CHB 过程中，可根据患者早期血清 HBV DNA 水平监测和评价治疗应答情况，预测疗效及耐药，及时调整治疗方案，降低耐药发生率，提高疗效。其中治疗 12 周和 24 周是两个十分重要的时间点：12 周时 HBV DNA 下降情况可发现原发性治疗失败患者（治疗 12 周 HBV DNA 下降 $<1\ \log_{10}$）；24 周时 HBV DNA 的变化情况可预测疗效。

【问题 4】如何正确对待 HBV DNA 定量检测结果判读的两个误区？

误区 1：认为 HBV DNA 小于参考区间等同于无 HBV DNA 复制。

定量 HBV DNA 参考区间一般以检测技术性能、试剂和荧光定量 PCR 仪的检测灵敏度、检测下限制订的，常以“<XX IU/ml 或 <XX copies/ml”表示。因此，定量结果小于参考区间，只说明 HBV DNA 含量低于检测下限，并不代表病毒完全没有复制。况且如前所述，肝组织中存在难以清除的 cccDNA，有如“原始发动机”一样持续不断复制，故虽然小于参考区间，HBV DNA 的复制还是存在。

误区 2：认为 HBV DNA 拷贝数越高等同于肝脏损伤越严重。

HBV DNA 拷贝数高低与其传染性大小呈正相关，但与肝脏损害的严重程度无直接关系。评估患者肝脏损伤的严重程度应根据各科室辅助检查情况（如两对半定量、肝功能、B 超、肝组织活检等）、患者临床症状（如肝区疼痛、恶心、纳差等）、体征（如黄疸、肝掌、蜘蛛痣等）等综合分析。

【问题 5】与 NAs 耐药相关的突变位点有哪些？不同 NAs 耐药风险是否一样？

HBV 反转录酶区（reverse transcriptase，RT）的 rtL180M、rtM204V/I 突变与拉米夫定（lamivudine，LAM）耐药有关，rtA181T/V 或 rtN236T 与阿德福韦酯（adefovir dipivoxil，ADV）耐药有关，而且，不同的药物耐药突变的发生率各异，LAM 5 年耐药率可达 70%，而恩替卡韦（entecavir，ETV）只有 1.2%，已在欧美等国家和地区上市的替诺福韦酯（TDF）迄今未发现耐药。

知识点

NAs 耐药突变位点和耐药风险

NAs	原发性突变位点	补偿性突变位点	新发突变位点	基因屏障	耐药风险
LAM	rtM204I/V	rtV173L、tL180M	rtM204K、rtV207M、rtL164V、rtL217P	低	5 年 70%
ADV	rtN236T	rtA181T/V	rtE218G、rtA218S、rtV84M	中等	5 年 29%
ETV	rtI169T* rtT184G* rtS202I* rtM250V*	NA	rtS219A、rtY245H、rtA227T	高	5 年 1.2%
LdT	rtM204I	rtL80I/V、tL180M	NA	中等	1 年 4% 2 年 17%

* 耐药需建立在 LAM 耐药基础上；NA：Not available

学习笔记

【问题 6】HBV 对 NAs 耐药是如何产生的?

HBV 是一长约 3.2kb、结构特殊的部分双链环状 DNA 病毒。HBV 具有很高的复制率和突变率,HBV DNA 聚合酶缺乏校正活性,在 ccc DNA 反转录过程中无法去除错误掺入的碱基,NAs 作用靶点为 HBV DNA 聚合酶和反转录酶,在长期药物选择压力和宿主免疫压力的双重作用下 RT 区易产生耐药突变。HBV 耐药是一个逐步发展的过程,在长期的抗病毒药物选择压力下,处于"准种"状态的 HBV 病毒群可逐步由"野生株"占优势向"耐药株"占优势方向转变,逐步出现了"耐药株"占优势的结果,并最后导致临床耐药的发生。

思路 1:HBV 准种与 NAs 耐药的相互关系

准种(quasispecies)是指在遗传学上高度相关,但个体之间又存在微小差别的群体。目前,NAs 引起 HBV 耐药的机制为:在应用抗病毒药物治疗 CHB 过程中,可使环境压力适应能力强的 HBV 变异毒株优先获得繁殖。如果基因突变发生在 HBV 聚合酶区,会使某些特定部位的氨基酸被置换[如 YMDD → YI(V)DD 等],导致其与 NAs 药物结合能力下降,引起药物的敏感性降低。野生株被抑制,而变异病毒株不断地被选择出来,变异株在准种群中的比例逐渐积累,最终取代原有的野生病毒株成为优势种群,造成 HBV 整个准种群对药物的敏感性下降,出现临床上的耐药,宣告该 NAs 抗病毒治疗的失败。

思路 2:基因屏障

NAs 耐药的基因屏障(genetic barrier)是指发生耐药变异所需突变核苷酸的数目。低耐药基因屏障的药物,仅单个突变位点即可产生耐药,如 rtM204I/V 导致 LAM 耐药;rtM204I 导致 LdT 耐药;rtN236T 导致 ADV 耐药等。高耐药基因屏障的药物,则需要两个或多个突变位点,如 ETV 的耐药发生至少需 3 个位点变异,即在 rtL180M 和 rtM204I 两个位点突变的基础上,再加上 rtI169、rtS184、rtS202 和 rtM250 中的一个点突变,才会发生耐药。

知识点

耐 药 术 语

HBV 耐药发生并非一蹴而就,而是一个慢性动态过程,需经"基因型耐药 - 表型耐药 - 临床耐药"三个发展阶段。

1. 基因型耐药(genotypic resistance)指 HBV 反转录酶区的 DNA 出现某种与病毒耐药密切相关的突变。

2. 表型耐药(phenotypic resistance)指通过体外细胞药敏实验分析证实,HBV 基因组的一个或多个位点改变可引起 HBV 对抗病毒药物敏感性降低(以 EC_{50} 或 IC_{50} 表示)。

3. 临床耐药(clinical resistance)是基因型耐药和表型耐药的结局,指治疗后出现病毒学突破、生物化学突破、肝炎复燃。

4. 交叉耐药(cross resistance)也称多药耐药(multidrug resistance),是指针对一种抗病毒药物的耐药突变赋予 HBV 病毒对另外一种或几种抗病毒药物也耐药。不同药物相互之间可能存在相同的耐药通路。

【问题 7】患者在什么情况下需进行 HBV 耐药基因 / 基因型的检测?

当前我国,在 CHB NAs 抗病毒治疗中存在很多不合理现象,如单药随意序贯、短期内频繁换药、加药以及耐药后不合理换药、加药等,由此引发的 HBV 耐药问题日趋严重。CHB 患者应用 NAs 发现疗效欠佳或者治疗后出现反弹均应考虑是否发生 HBV 耐药突变,进行基因型耐药检测。另外,HBV 耐药是一个慢性发展过程,且表型耐药往往在基因型耐药发生 1~3 个月后出现。为了及时地对药物作出调整,延缓甚至阻止表型耐药的发生,获得较好的抗病毒疗效,建议患者在抗病毒药物使用前或使用一段时间(3 个月 /6 个月)后定期行 HBV 基因型耐

学习笔记

药分析。

HBV 分 A~I 9 种基因型，中国以 B、C 型为主。HBV 基因型与疾病的进展、抗病毒疗效及临床预后有一定的相关性。例如，B 基因型感染者比 C 基因型感染者较早出现 HBeAg 血清学转换，较少进展为肝硬化和肝癌，对干扰素治疗的应答率较高。检测 HBV 基因型对疾病预后判断等具有重要意义。

【问题 8】HBV 基因分型的主要技术及其应用评价？

(1) 直接测序法(direct sequencing)：根据 HBV 核苷酸全序列异质性≥8%(或 S 基因区核苷酸异质性≥4%)进行分型。测序法是基因分型的“金标准”，可区分所有基因型，但操作烦琐，灵敏度只有 20%，对混合型的检出能力较差。

(2) S 基因聚合酶链反应 - 限制性酶长度多态性分析(PCR-RFLP)：根据不同基因型的序列(主要针对 PreS 或 S 区 PCR 扩增产物)分别具有独特的限制性酶切位点的特点，对 HBV 进行基因分型。虽然比测序法方便、费用低，但操作步骤仍较烦琐，酶切图谱分析复杂，参考序列少，代表性略差。

(3) 基因型特异性引物 PCR(PCR-SSP)：该法利用两套 PCR 引物对进行两轮 PCR 扩增反应，首先用共用引物扩增 S 开放读码区，再加入型特异性引物的混合物进行第二轮以扩增，根据扩增片段的长度不同分型。该法操作较简单、结果准确，适合于临床实验室和大范围的调查。

(4) 线性探针反向杂交(INNO-LiPA)：INNO-LiPA HBV 基因分型操作简便、准确、灵敏度高，已获得 FDA 和 SFDA 批准，但价格较昂贵，尚未在国内广泛开展。

其他的方法还有基因芯片、PCR 熔解曲线分析等。

【问题 9】HBV 基因型耐药检测的主要技术及其应用评价？

(1) 直接测序法：是 HBV 基因型耐药检测的金标准，也是临床上最常用的检测方法。直接测序法可检测出所有的(包括已知和可能的)突变位点。但该法灵敏度较低，只有突变株占整个 HBV 病毒群的 20% 时才能检测到。

(2) 限制性片段长度多态性(RFLP)分析：该法灵敏度最高可达 5%，但其仅能检测已知的、单一的耐药位点，一些新的突变可产生或破坏酶切位点，导致假阳性或假阴性的产生；另外，RFLP 分析需对 PCR 产物进行酶切反应，再对消化产物进行电泳，操作复杂。

(3) 实时 PCR(real-time quantitative PCR，RT-F-PCR)：该法简便、快速，一般临床实验室即可开展，灵敏度约 10%。不足之处是仅能检测单一的、已知的位点。目前，已有经 SFDA 批准上市的用于检测 HBV rtM204V/I 的商品化试剂盒。

(4) INNO-LiPA：最新一代的 INNO-LiPA HBV DR v3 可检测包括 LAM、LdT、ADV、ETV 常见的耐药位点。该法操作简单、灵敏度达 5%、结果可靠，且易于自动化、标准化，已在欧洲和北美获准用于临床检测多年，SFDA 也正式批准其在临床使用，但其只能检测目前已知的突变位点且检测成本高昂，目前尚未在国内临床实验室广泛开展。

其他的技术还有基因芯片、质谱技术、肽核酸技术(PNA)、高分辨率熔解曲线(HRM)，二代测序(NGS)等。

病历摘要：

患者女，38 岁。以“抗 -HCV 抗体阳性，肝功能异常 1 周”为主诉入院。入院检查乙肝两对半五个标志物均阴性，复查抗 -HCV 抗体阳性，HCV RNA 2.34E+06copies/ml；肝功能：ALT 102U/L，AST 90U/L。入院后行 *IL28B* 基因多态性(rs12979860)(图 17-3-8)及 HCV 基因分型(图 17-3-9)检测。

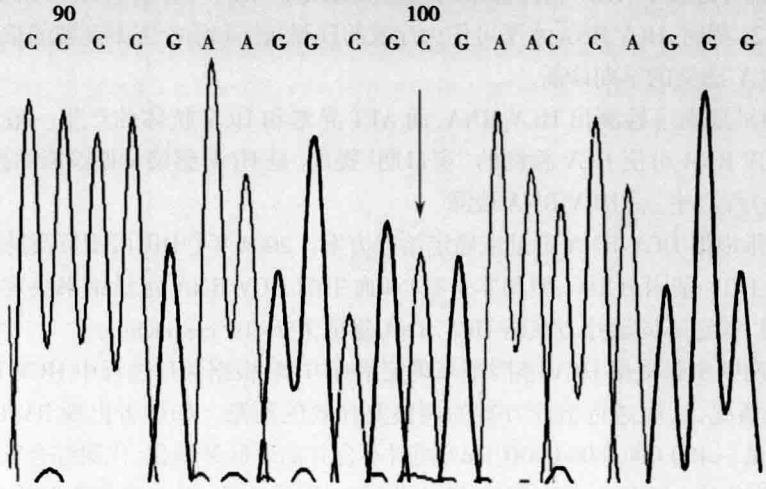
学习笔记

×× 医院检验报告单

【PCR】11.20
NO.

姓名：	门诊号：	申请医生：	申请时间：××××.11.20 10:29
性别：女	条形码号：	采集者：	采集时间：××××.11.20 11:34
年龄：38 岁	床号：	科别：肝病门诊	接收时间：××××.11.20 11:53
标本：血液	标本状态：合格	临床诊断：丙肝感染	

IL-28B 基因多态性（rs12979860）



结果：rs12979860 基因型为 C/C。

※ 结果仅对送检标本负责，有疑问请于 3 日内咨询　报告时间：××××.12.03 15：55　检验者：　核对者：
※ 使用 3130 遗传分析仪器
备注：

1. 本实验方法为 DNA 测序法，只对常见相关基因位点进行检测分析
2. 本测序方法对杂合基因型的检测灵敏度约为 20%

图 17-3-8　*IL28B* 基因多态性（rs12979860）检测结果（CC 型）

×× 医院检验报告单

【PCR】11.27
NO.

姓名：	门诊号：	申请医生：	申请时间：××××.11.27 15:55
性别：女	条形码号：	采集者：	采集时间：××××.11.30 09:28
年龄：38 岁	床号：	科别：肝病门诊	接收时间：××××.11.30 09:54
标本：血清	标本状态：合格	临床诊断：健康查体	备注：

No	项目	结果
	HCV 基因分型结果：	1b
1	1a 型	未检出（-）
2	1b 型	检出（+）
3	2a 型	未检出（-）
4	2b 型	未检出（-）
5	其他型	未检出（-）

※ 结果仅对送检标本负责，有疑问请于 3 日内咨询

※ 使用 3130 遗传分析仪器　报告时间：××××.12.05 10:21　检验者：　核对者：

图 17-3-9　HCV 基因型检测结果

学习笔记

【问题1】血清 HCV RNA 定量检测的意义？

HCV RNA 定量水平是 HCV 复制活跃程度的客观指标，对指导 HCV 感染的治疗具有十分重要意义。无论是聚乙二醇干扰素（Peg-IFN-α）联合利巴韦林（RBV）治疗方案，还是特拉匹韦（TVR）/博赛泼维（BOC）联合聚乙二醇干扰素、利巴韦林三联治疗方案，均需在治疗前检测基线 HCV RNA 水平，以了解患者基线特征，确定最佳治疗方案。

HCV RNA 定量在 HCV 感染的早期诊断、疗效预测和判断、肝脏损害程度的判断等方面均有重要意义。在治疗过程中，HCV 治疗方案的调整以及预后判断，均有赖于 HCV RNA 的定量水平；在终止治疗后 24 周时，HCV RNA 水平可作为疗效的预测指标和治疗方案调整的重要参考依据。

思路 1：HCV 感染的早期诊断

HCV 感染早期即可检测出 HCV RNA，而 ALT 异常和 HCV 抗体的产生一般需要较长一段时间，因此，HCV RNA 可使 HCV 检测的“窗口期”提前，是 HCV 感染早期诊断的指标。

思路 2：治疗前、中、后 HCV RNA 检测

早期曾主张根据 HCV RNA 定量来确定治疗方案。2004 年《中国丙型肝炎防治指南》提出，治疗前应进行 HCV 基因分型（1 型和非 1 型）和血中的 HCV RNA 定量结果决定抗病毒治疗疗程和 RBV 剂量（确定不同治疗方案的 HCV RNA 量值为 2×10^6 copies/ml）。

最新的指南则主张根据 HCV 基因型来确定治疗方案，根据治疗过程中 HCV RNA 水平来评价病毒学应答情况，从而进行治疗方案的调整及疗效的预测。如患者出现 RVR，HCV RNA 为低基线病毒载量（<400 000~800 000IU/ml），同时不合并高度肝纤维化、代谢综合征和胰岛素抵抗等情况时，可考虑对 1 型和 4 型的 CHC 患者进行 24 周的治疗，对 2 型和 3 型的 CHC 患者进行 12~16 周的治疗。

治疗过程中 HCV RNA 的监测，对于及时估计应答情况、及时调整疗程及治疗药物、剂量尤为重要。治疗后仍需监测 HCV RNA，这是因为治疗后 HCV RNA 可能会转为阳性，即复发；治疗终止 24 周后 HCV RNA 也可能仍为阴性，即实现 SVR。

思路 3：判断肝组织损伤程度

HCV RNA 水平往往与肝组织的损伤程度相关，损伤越严重，水平越高。

思路 4：提高血液制品的安全性

献血者传染性血液的漏检往往是由于抗 HCV 抗体检测的“窗口期”造成的，HCV RNA 检测可大幅度缩短 HCV 检测的“窗口期”，降低漏检率，提高血液制品的安全性。

知识点

病毒学应答术语

1. 快速病毒学应答（rapid virological response，RVR）　治疗 4 周 HCV RNA 转阴。对 2 型、3 型或低病毒载量的 1 型 HCV 感染，可考虑缩短疗程。

2. 早期病毒学应答（early virological response，EVR）　治疗 12 周，与基线 HCV RNA 水平相比，HCV RNA 水平下降≥2 log（部分 EVR）或 HCV RNA 阴性（完全 EVR）。在缺乏 SVR 的情况下可作为预测指标。

3. 治疗后应答（end-of-treatment response，ETR）　治疗 24 周或 48 周，HCV RNA 阴性。

4. 持续病毒学应答（sustained virological response，SVR）　在治疗终止后 24 周 HCV RNA 阴性。

5. 病毒学突破（virological breakthrough，VB）　患者仍在治疗阶段，血清中 HCV RNA 重新转为阳性。

6. 复发（relapse）　在治疗终止后，HCV RNA 重新转为阳性。

学习笔记

7. 无应答(no response,NR)　在治疗 24 周后,无法清除血清中 HCV RNA。

8. 无效应答(null responder)　在治疗 24 周后,HCV RNA 下降 <2 个 log。

9. 部分应答(partial responder)　在治疗 24 周后,HCV RNA 下降 >2 个 log,但 HCV RNA 仍为阳性。

10. 慢应答(slow responder)　在治疗 12 周时 HCV RNA 阳性,24 周时 HCV RNA 低于检测水平。

【问题 2】临床基因扩增实验室检测 HCV RNA 应注意哪些事项?

(1) 污染:HCV RNA 极易受交叉污染影响,出现假阳性结果,因此临床实验室应严格按照 PCR 实验室分区要求进行实验操作,且各区耗材、仪器绝不可混用,以防交叉污染。

(2) 降解:HCV RNA 在血液中的浓度较低,且存在于外周血中的 HCV 包膜易受破坏,释放出的 HCV RNA 可被血液中存在的 RNA 酶降解,采血后应尽快分离血清,保证活性。在 HCV RNA 定量测定的整个过程,均要采取有效措施避免 RNA 酶的污染,以免 RNA 降解。

(3) 操作:包括血液采集、血浆(清)分离、RNA 提取、保存、试剂配制、对照设置、反转录、实时扩增等在内的每个环节均应严格把关,做好室内质控和室间质评,以保证 HCV RNA 定量检测的准确性。

【问题 3】HCV 基因分型有何临床意义?

不同 HCV 基因型感染的患者,其临床过程各不相同。治疗前对 HCV 基因分型,可预测 Peg-IFN-α 与 RBV 联合应用的治疗效果;结合分型结果和患者在治疗前、治疗中的 HCV RNA 载量,可帮助选择 Peg-IFN-α 与 RBV 联合治疗的方案及调整用药。HCV 分型对患者病情判断、疗效预测、治疗方案制订等有重要价值。

思路 1:判断病情

不同 HCV 基因型感染的患者,其临床类型、病情的严重程度、抗病毒治疗疗程、用药的剂量各不相同,病毒学应答也各有差异。大多数研究表明,HCV1b 型致病性更强、病程更长、病情更重,抗病毒疗效低于其他型感染者。HCV 3a 型脂肪肝的发生率高于其他型。

思路 2:预测疗效。

(1) HCV 1 型:40%~54% 的 HCV 患者在使用 Peg-IFN-α/RBV 48 周后可获得 SVR。

(2) HCV 2 型或 HCV 3 型:65%~82% 的 HCV 患者在使用 Peg-IFN-α/RBV 24 周后可获得 SVR。HCV 2 型感染者(90%)的 SVR 获得率略高于 HCV 3 型(75%)。

(3) 感染 HCV 1 型的患者不建议在 Peg-IFN-α/RBV 治疗失败后,再次使用相同的药物进行治疗,因为此时的 SVR 获得率较低,仅 4%~6%。其他基因型治疗失败后再次使用相同药物治疗的 SVR 获得率略高,为 9%~15%。

思路 3:制订抗病毒治疗方案

治疗效果在不同 HCV 基因型的 CHC 患者之间也具有较大的差异。与其他 HCV 基因型相比,感染 HCV 1b 基因型患者的 SVR 率较低,对干扰素应答效果较差。

通常,HCV 1 型患者治疗时间要长于 HCV 2 型或 HCV 3 型患者,部分药物的剂量也要高于 HCV 2 型或 HCV 3 型患者。根据 2009 年 AASLD,同样是采用 Peg-IFN-α/RBV 联合治疗,HCV 1 型或 HCV 4 型患者的标准治疗方案为 Peg-IFN-α/RBV 联合治疗 48 周,RBV1000mg(体重≤75kg)或者 1200mg(体重≥75kg);而 HCV 2 型或 HCV 3 型患者的标准治疗方案为 Peg-IFN-α/RBV 联合治疗 24 周,RBV 800mg。此外,根据 2011 年 AASLD,推荐 HCV 1 型患者的最优治疗方案为采用 BOC 或 TVR 结合 Peg-IFN-α/RBV 三联治疗,这与其他型采用 Peg-IFN-α/RBV 联用不一样。

【问题 4】IL28B 单核苷酸多态性检测的意义?

学习笔记

研究证实，编码抗病毒细胞因子 IFN-λ 的 *IL28B* 基因单核苷酸多态性（SNP）与 IFN 的病毒学应答有关。宿主含 *IL28B rs12979860 CC* 或 *rs8099917 TT* 等位基因的患者与含 *rs12979860 CT/TT* 或 *rs8099917 TG/GG* 等位基因的患者相比，前者能获得更高的 SVR，具有较好的干扰素应答效果。IL28B rs12979860、rs8099917 两个 SNP 位点可以作为 HCV 治疗应答的显著独立预测指标。治疗前，对 HCV 患者进行 IL28B SNP 检测对个体化治疗具有重要意义。

病历摘要：

患者女，48 岁。以“接触性出血 1 年，阴道排液 10 天余”为主诉入院。10 天来有不明原因的阴道流液伴有异味。到当地医院妇科就诊检查发现宫颈有菜花样肿物并有接触性出血，活检病理示宫颈中分化鳞癌。为进一步治疗就诊我院。门诊妇科检查见宫颈直径约 4cm 外生型菜花样肿物，表面有溃疡，接触性出血。余未见明显异常。实验室检查结果提示：人乳头瘤病毒基因分型结果：HPV 16 型（17-3-10）；病理诊断提示宫颈中分化鳞癌。

××医院检验报告单

【PCR】12.10

NO.

姓名：	门诊号：	申请医生：	申请时间：××××.12.10 15:43
性别：女	条形码号：	采集者：	采集时间：××××.12.10 15:54
年龄：48 岁	床号：	科别：门诊妇产科	接收时间：××××.12.10 16:00
标本：分泌物	标本状态：合格	临床诊断：人类乳头状瘤病毒感染	备注：

No	项目	结果	参考区间	No	项目	结果	参考区间
	HPV 高危型				HPV 低危型		
1	人乳头瘤病毒 HPV16	阳性（+）↑	阴性	20	人乳头瘤病毒 HPV6	阴性（-）	阴性
2	人乳头瘤病毒 HPV18	阴性（-）	阴性	21	人乳头瘤病毒 HPV11	阴性（-）	阴性
3	人乳头瘤病毒 HPV26	阴性（-）	阴性	22	人乳头瘤病毒 HPV40	阴性（-）	阴性
4	人乳头瘤病毒 HPV31	阴性（-）	阴性	23	人乳头瘤病毒 HPV42	阴性（-）	阴性
5	人乳头瘤病毒 HPV33	阴性（-）	阴性	24	人乳头瘤病毒 HPV44	阴性（-）	阴性
6	人乳头瘤病毒 HPV35	阴性（-）	阴性	25	人乳头瘤病毒 HPV61	阴性（-）	阴性
7	人乳头瘤病毒 HPV39	阴性（-）	阴性	26	人乳头瘤病毒 HPV73	阴性（-）	阴性
8	人乳头瘤病毒 HPV45	阴性（-）	阴性				
9	人乳头瘤病毒 HPV51	阴性（-）	阴性				
10	人乳头瘤病毒 HPV52	阴性（-）	阴性				
11	人乳头瘤病毒 HPV53	阴性（-）	阴性				
12	人乳头瘤病毒 HPV55	阴性（-）	阴性				
13	人乳头瘤病毒 HPV56	阴性（-）	阴性				
14	人乳头瘤病毒 HPV58	阴性（-）	阴性				
15	人乳头瘤病毒 HPV59	阴性（-）	阴性				
16	人乳头瘤病毒 HPV66	阴性（-）	阴性				
17	人乳头瘤病毒 HPV68	阴性（-）	阴性				
18	人乳头瘤病毒 HPV82	阴性（-）	阴性				
19	人乳头瘤病毒 HPV83	阴性（-）	阴性				

※ 结果仅对送检标本负责，有疑问请于 3 日内咨询　报告时间：××××.12.11 16:38　检验者：　核对者：

图 17-3-10　HPV 基因分型结果

【问题 1】HPV 基因分型对 HPV 感染者有何意义？

宫颈癌是常见的妇科恶性肿瘤之一，发病率在女性恶性肿瘤中位居第二位，仅次于乳腺癌。包括口服避孕药、早婚、早产、多产、性生活紊乱、人乳头状瘤病毒（human papillomavirus，HPV）感染等在内的因素均是其发病的相关因素。其中，HPV 感染是其重要病原学原因。不同 HPV 基因型致癌风险不一样。高危型 HPV（high risk human papillomavirus，HR-HPV），如 HPV 16、18 型，

学习笔记

是感染诱发宫颈癌发生的最主要原因。HPV 基因型检测，尤其是高危型 HPV 的检测对于宫颈癌的预防和早期诊断有着十分重要的意义。

知识点

HPV 基因型与宫颈癌

根据同源性分析，至少可将 HPV 分为 100 种基因型，目前确认有 15 种以上致癌型 HPV，包括 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68、73 和 82 型。其中 HPV 16、18 型与宫颈癌的发生高度相关，被称为“高危型”HPV（HR-HPV），HR-HPV 感染使罹患宫颈癌的风险增加 250 倍，99% 以上的宫颈癌患者可出现 HR-HPV；而在一般正常妇女中，HPV 感染者低于 4%。中国人群最常见 HPV 型为 16、18、52、58 和 39 型。

【问题 2】除 HPV 基因分型外，还有无其他方法、检测项目可早期筛查宫颈癌？

宫颈癌的发生是一个由量变到质变的连续过程。从宫颈上皮内瘤样病变（cervical intraepithelial neoplasm，CIN）发展到早期癌再到浸润癌（invasive cervical cancer，ICC）大约需要 10 年时间。换句话说，宫颈癌的发展过程有一个较长的并可逆转的癌前病变阶段。若能早期筛查这些癌前病变，早期干预，对阻断宫颈癌的发生、降低死亡率将有十分重要意义。

除了 HPV 基因分型外，还有一些方法或检测项目可用于早期筛查宫颈癌，这些包括：宫颈细胞形态学检查，如巴氏涂片法、液基薄层细胞学检测（thinprep cytological test，TCT）、阴道镜下宫颈碘实验、醋酸实验、宫颈组织活检等；生物学标志物检测，如鳞状细胞癌抗原（squamous cell carcinoma antigen，SCCA）、CA125 和 CEA 检测等；细胞遗传学检测，如染色体数目的畸变、3 号染色体长臂的扩增等。

【问题 3】常见 HPV 基因型有 26 种，哪些方法可以用于 HPV 的基因分型？

目前，HPV 尚不能在体外培养，也无镜下诊断证据，另外，HPV 血清学检测敏感性低，因此检测 HPV 感染主要依赖于分子诊断。

HPV 基因分型，可采用原位杂交法、斑点杂交、HPV 探针直接捕获法、PCR 酶切分析等。由于 HPV 基因型众多，且上述传统方法存在灵敏度不高或操作烦琐等不足，不适合临床大量样本的筛查和诊断工作。目前，临床上用得最多的是 Luminex 公司的液态生物芯片，该技术平台是唯一被 FDA 批准用于临床诊断的生物芯片，能一次准确地检测 26 种 HPV 基因型。

液态芯片法检测 HPV 基因型有以下优点：

（1）高通量快速检测 HPV 26 种亚型，包括低危亚型（7 种）：6、11、40、42、44、61、73，高危亚型（19 种）：16、18、26、31、33、35、39、45、51、52、53、55、56、58、59、66、68、82、83。

（2）仪器激光分析，数字结果输出，降低实验人员主观性误差。

（3）液相杂交，实验结果敏感性、特异性、重复性好。

（4）无须洗涤，减少实验室污染。

【问题 4】HPV 基因分型取材有哪些注意事项？

HPV 属于乳多空病毒科的乳头瘤空泡病毒 A 属，是球形 DNA 病毒，在人体皮肤黏膜的鳞状上皮内增殖，故 HPV 基因分型取材不是分泌物，而是宫颈的脱落细胞。

由于分泌物也会含有少量的宫颈的脱落细胞，因而分泌物过多时，应先用棉拭子擦去分泌液，用指定的取材刷在宫颈口擦拭 4~5 圈，尽可能收集较多量鳞状脱落细胞，避免 PCR 产生假阴性结果。当取材标本为血性时，应用红细胞裂解液处理，避免血红蛋白对后续 PCR 反应的干扰。

【问题 5】基因诊断技术在其他感染性疾病检测的应用？

除了前面提到的 HBV、HCV 和 HPV，通过检测细菌、病毒等的 DNA/RNA 序列，可对任何病

学习笔记

原体进行快速检测。如：可导致性传播疾病的沙眼衣原体、可引起淋病的淋病奈瑟菌、引起莱姆病的包柔氏螺旋体、引起军团病的嗜肺军团菌、引起肺结核的结核分枝杆菌、引起百日咳的百日咳杆菌等；常见 RNA 病毒，如 HCV、HIV 等；常见的 DNA 病毒，如乙型肝炎病毒、单纯疱疹病毒、巨细胞病毒、EB 病毒、细小病毒和带状疱疹病毒等。

三、恶性肿瘤个体化治疗的基因诊断

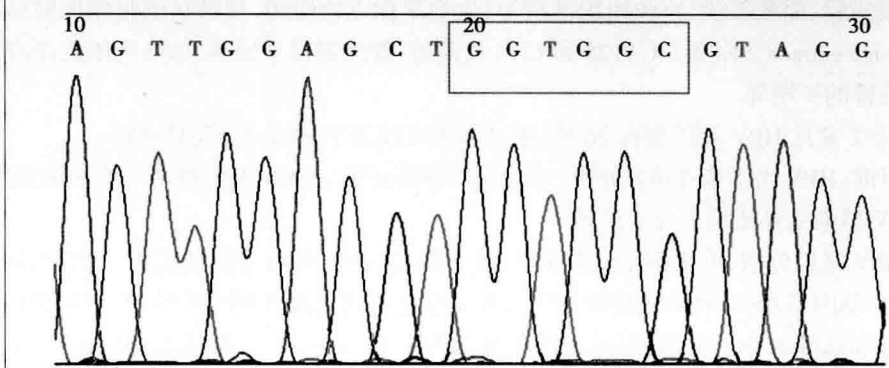
病历摘要 1：

患者男，57 岁。以结直肠癌（colorectal cancer，CRC）住院，行靶向治疗个体化基因 *K-ras* 基因及 *B-RAF* 基因突变检测，结果如下（图 17-3-11，图 17-3-12）：

×× 医院检验科肿瘤化疗及靶向药物敏感试验报告单

姓名：	住院号：	申请医生：	申请时间：××××-8-25
性别：男	条形码号：	采集者：	采集时间：××××-8-25
年龄：57 岁	床号：	科别：肝胆胰外科	接收时间：××××-8-25
标本：石蜡切片	标本状态：良好		

K-ras 基因突变检测

检测项目	K-ras 基因突变检测	绿色：腺嘌呤（A），黑色：鸟嘌呤（G），红色：胸腺嘧啶（T），蓝色：胞嘧啶（C）		
测序峰图				
检测位点	K-ras 基因第 12（GGT）和 13（GGC）位密码子			
基因型	第 12 位密码子		第 13 位密码子	
	野生型（GGT）	突变型（GAT）	野生型（GGC）	突变型（GAC）
检测结果	+	−	+	−
检测结果	K-ras 基因第 12 位与第 13 位密码子均为野生型。			

※ 结果仅对送检标本负责，有疑问请于 3 日内咨询　　报告时间：××××-8-29　　检验者：　　核对者：

※ 使用 3130 遗传分析仪器

备注：

1. 本实验方法为 DNA 测序法，只对常见相关基因位点进行检测分析
2. 本测序方法对杂合基因型的检测灵敏度约为 20%

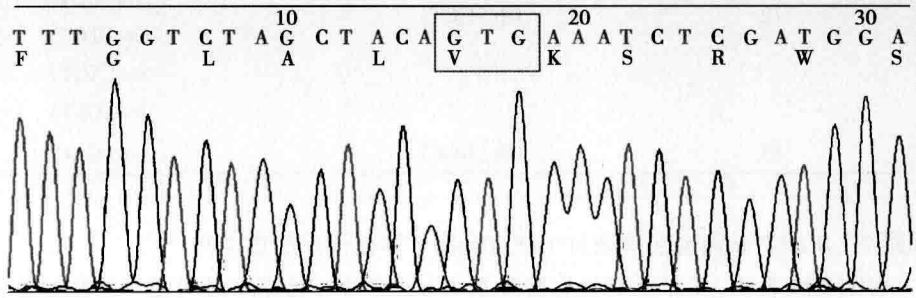
图 17-3-11　*K-ras* 基因测序结果

学习笔记

×× 医院检验科肿瘤化疗及靶向药物敏感试验报告单

姓名：	住院号：	申请医生：	申请时间：××××-8-24
性别：男	条形码号：	采集者：	采集时间：××××-8-24
年龄：57 岁	床号：	科别：肝胆胰外科	接收时间：××××-8-24
标本：石蜡切片	标本状态：良好		

B-raf 基因突变检测

检测项目	*B-raf* 基因突变检测	绿色：腺嘌呤(A)，黑色：鸟嘌呤(G)，红色：胸腺嘧啶(T)，蓝色：胞嘧啶(C)
测序峰图		
检测位点	B-raf 基因 V600E	
基因型	野生型(GTG)	突变型(GAG)
检测结果	+	−
总结	B-raf 基因第 600 位密码子为野生型	

※ 结果仅对送检标本负责，有疑问请于 3 日内咨询　　报告时间：××××-3-15　　检验者：　　核对者：

※ 使用 3130 遗传分析仪器

备注：

1. 本实验方法为 DNA 测序法，只对常见相关基因位点进行检测分析
2. 本测序方法对杂合基因型的检测灵敏度约为 20%

图 17-3-12　*B-RAF* 基因 BRAF V600E 检测结果

【问题 1】*K-ras* 基因突变检测对于结直肠癌个体化治疗的意义？

结直肠癌是一个涉及多因素、多基因的疾病，其治疗原则是以手术切除为主的综合治疗，同时联合化疗、放疗等降低手术后复发率，提高生存率。对于不能切除的结肠癌，可采取新辅助治疗，特别是近年来开发的针对 EGFR 的基因靶位点的酪氨酸激酶抑制剂等，如西妥昔单抗和帕尼单抗的利用可降低肿瘤的分期，使得不能切除的肿瘤转化为能够切除的肿瘤；同时可延长患者的生存期，提高生存质量。

大量研究表明使用酪氨酸激酶抑制剂治疗时，*K-ras* 基因野生型患者获益显著优于突变型患者，因而 *K-ras* 基因是否突变是西妥昔单抗疗效的独立预测指标，并且原发灶和转移灶基因状态之间具有很强的关联性。《2008 年美国国立癌症综合网络(NCCN)结肠癌临床实践指南》和《2011 年美国国立癌症综合网络(NCCN)非小细胞肺癌临床实践指南》中分别将 *K-ras* 基因突变检测作为结肠癌和非小细胞肺癌个体化治疗的分子诊断和预后判断的指标。

在多数情况下，*K-ras* 基因突变是结肠癌发生发展的一种早期事件。90% 的 *K-ras* 基因突变位于 2 号外显子的第 12 和 13 密码子位点，因而在临床靶向治疗评价时，应优先对 2 号外显子的第 12 和 13 密码子位点进行检测。当 *K-ras* 为野生型时，使用西妥昔单抗和帕尼单抗可获得明显疗效，显著提高患者的生存率和改善生活状态；当 *K-ras* 为突变型时，使用西妥昔单抗或帕

学习笔记

尼单抗治疗无效，建议换药。

知识点

K-ras 基因突变热点

K-ras 基因 12 和 13 密码子常见突变类型

外显子数目	野生型	突变型
12	Gly（GGT）	Ala（GCT）
		Asp（GAT）
		Arg（CGT）
		Cys（TGT）
		Ser（AGT）
		Val（GTT）
13	Gly（GGC）	Asp（GAC）

【问题 2】*B-RAF* 基因突变检测对于结直肠癌个体化治疗的意义？

临床实践表明，并非所有具有野生型 *K-ras* 的结直肠癌患者对酪氨酸酶抑制剂有效，其中 10%~20% 的患者对酪氨酸酶抑制剂无效。进一步研究表明这些对酪氨酸酶抑制剂无效的 *K-ras* 野生型患者，可能存在 *B-RAF*、*PI3KCA* 等基因的突变，导致 *K-ras* 野生型患者对酪氨酸酶抑制剂无效。

B-RAF 基因突变主要发生在第 11 外显子和第 15 外显子，其中约 11% 发生在第 11 外显子的 G463、G465、G468 位点，约 89% 发生在第 15 外显子的 T599、V600 位点。第 15 外显子中 92% 突变位点为 V600E，且 V600E 约占所有 *B-RAF* 基因突变的 86%，因而 V600E 检测对于结直肠患者的靶向药物治疗具有重要的意义。

《2011 年美国国立癌症综合网络（NCCN）结肠癌临床实践指南》指出：对于 *K-ras* 基因野生型但同时具有 *B-RAF* 基因 V600E 的患者，抗 EGFR 单克隆抗体靶向药物治疗可能无效。含 *B-RAF* 基因突变的患者可能不能从抗 EGFR 单克隆抗体靶向药物治疗中获益。

【问题 3】对 *K-ras*、*B-RAF* 基因检测是否存在局限性？

由于肿瘤组织的异质性，检测的肿瘤组织中常混有大量正常组织，同时从石蜡组织标本提取的基因组 DNA 的质量较差，因而在检测前，应对组织切片进行 HE 染色镜检，同时要求肿瘤组织占切片的 80% 以上，方可进行 *K-ras*、*EGFR* 等基因突变检测，否则容易导致假阴性结果的产生。

因此在条件允许的情况下，可通过显微切割或选择组织提取，同时采用高灵敏度的检测方法将提高检测的灵敏性，以避免假阴性结果的产生。

病历摘要 2：

患者女，49 岁。以非小细胞肺癌（non-small cell lung cancer，NSCLC）进一步诊疗入院。查体：神志清醒，生命体征平稳。胸廓两侧对称无畸形，气管居中，肋间隙无增宽，双侧胸部呼吸运动度正常，双肺触觉语颤正常，叩诊清音，听诊双肺呼吸音清，未闻及干湿性啰音，无胸膜摩擦音。心律齐，未闻及杂音，腹无膨隆，腹软，肝脾肋下未及，肝区无叩击痛，移动性浊音阴性，肠鸣音 3 次 / 分，未闻及振水音，气过水音及血管杂音。胸部 CT 示：右上肺周围性肺癌，病理示：NSCLC。EGFR 检测结果如下（图 17-3-13）

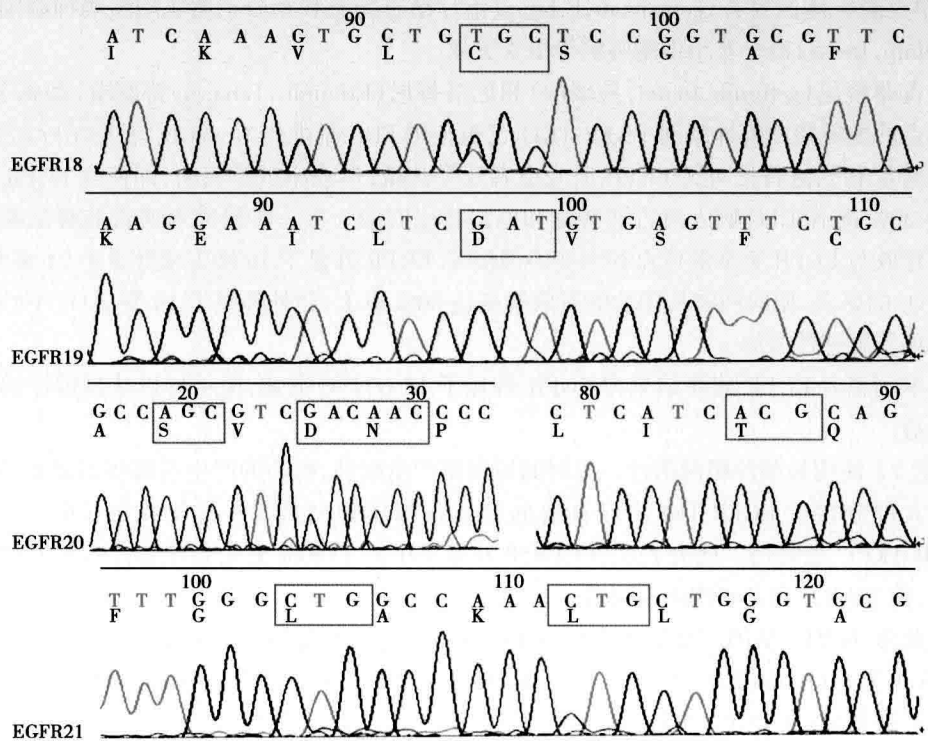
学习笔记

××医院检验报告单

【PCR】4.15
NO.

姓名：	门诊号：	申请医生：	申请时间：××××.04.15 12:08
性别：女	条形码号：	采集者：	采集时间：××××.04.15 14:37
年龄：49岁	床号：	科别：门诊胸外科	接收时间：××××.04.15 14:41
标本：	标本状态：合格	临床诊断：肺术后	

表皮生长因子受体（EGFR）基因突变检测

检测位点	☑18外显子，☑19外显子，☑20外显子，☑21外显子
测序峰图	

结果：EGFR20、21号外显子均为野生型，19号外显子无缺失，18号外显子G719C突变。

※ 结果仅对送检标本负责，有疑问请于3日内咨询　报告时间：××××.04.26 09:46　检验者：　核对者：
※ 使用3130遗传分析仪器
备注：

1. 本实验方法为DNA测序法，只对常见相关基因位点进行检测分析
2. 本测序方法对杂合基因型的检测灵敏度约为20%

图17-3-13　*EGFR*基因测序结果

【问题1】*EGFR*基因突变是否导致非小细胞肺癌的产生？

表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor，EGFR）是属于HER家族的一种跨膜蛋白，由胞外的结合区、跨膜区及主要由酪氨酸激酶组成的胞内区组成。EGFR具有酪氨酸激酶活性，一旦与表皮生长因子（EGF）结合可启动细胞核内的有关基因，使得细胞内的酪氨酸激酶异常活化，促进细胞分裂增殖、血管形成、肿瘤侵袭和转移及细胞凋亡抑制。许多实体瘤如肺癌、结直肠癌、乳腺癌、宫颈癌、膀胱癌和鼻咽癌等肿瘤组织中，往往存在EGFR的高表达或异常表达。

学习笔记

在 NSCLC 的恶性肿瘤组织中，常因 EGFR mRNA 过表达、EGFR 基因扩增或活化突变等导致 EGFR 活性异常增高，最终导致肿瘤细胞的异常增殖。亚洲 30%~40% 的 NSCLC 患者为不吸烟女性。

患者为亚洲中年女性，无吸烟生活史但有长期接触二手烟生活史，同时肿瘤组织检测出 EGFR 突变，因而 EGFR 突变是导致非小细胞肺癌的重要因素。

【问题 2】通过靶向药物抑制 EGFR 活性，已成为治疗 NSCLC 的重要手段，该患者能否从易瑞沙的靶向治疗中获益？

鉴于 EGFR 家族成员不但在多种肿瘤中呈现高表达，还与肿瘤发生发展及预后密切相关，因而近年来针对 EGFR 的靶向药物已成为肿瘤治疗的新热点，其中单克隆抗体赫赛汀治疗乳腺癌，单克隆抗体西妥昔（cetuximab，Erbitux）治疗结直肠癌和小分子酪氨酸激酶抑制剂吉非替尼（gefitinib，Iressa）治疗非小细胞肺癌等倍受关注。

吉非替尼（gefitinib，Iressa，易瑞沙）和厄洛替尼（Erlotinib，Tarceva，特罗凯）都属于以 EGFR 为靶点的酪氨酸激酶抑制剂（EGFR-TKI），已被美国 FDA 批准作为 NSCLC 靶向治疗的主要药物。吉非替尼和厄洛替尼对无 EGFR 突变患者效果甚微，但临床试验表明，即使含 EGFR 突变也仅 10%~30% 的 NSCLC 病人对吉非替尼和厄洛替尼有效。进一步研究表明吉非替尼和厄洛替尼靶向疗效与 EGFR 突变的位点和突变类型相关，EGFR 外显子 19 缺失或外显子 21 突变（L858R、L861Q）的患者，靶向药物易瑞沙的有效率高达 80% 以上，此外外显子 18 突变（G719C/S/A）患者对易瑞沙敏感性增加。

本例患者 EGFR 测序结果为 EGFR 外显子 18 G719C 突变，提示可以从易瑞沙的靶向治疗中获益。

【问题 3】使用易瑞沙靶向治疗一段时间后容易产生耐药，耐药的产生与哪些因素相关？

大部分接受 EGFR-TKI 治疗有效的患者在服用靶向药物 1~2 年或更长时间后，都会对 EGFR-TKI 产生耐药。研究表明，EGFR20 外显子中的 T790M 突变会导致吉非替尼和厄洛替尼抗性，使 NSCLC 患者出现继发耐药。

此外，*B-RAF* 基因突变的患者接受 EGFR-TKI 药物治疗的有效率低。BRAF V600E 突变和 PI3KCA 突变（H1047R/L、E542K、E545K/D）可导致部分 K-ras 野生型患者对 EGFR-TKI（吉非替尼或厄洛替尼）及 EGFR 单抗药物（西妥昔单抗或帕尼单抗）治疗不敏感，患者肿瘤易发生恶化，总生存率低。2011 年 NCCN 指南提出，在 *K-ras* 野生型患者中，如果 *B-RAF* 基因为突变型，则不推荐使用抗 EGFR 靶向治疗。因此检测肿瘤患者 *K-ras*、*B-RAF*、*PI3KCA* 基因突变情况对于指导 EGFR-TKI 和 EGFR 单抗的靶向用药有重要意义。

研究结果表明核苷酸还原酶亚单位 1（RRM1）mRNA 水平低表达 / 阴性的患者（图 17-3-14）对吉西他滨化疗更为敏感，药物疗效较好，中位生存期延长。RRM1 mRNA 水平高表达 / 阳性的患者接受吉西他滨化疗产生耐药的概率较大。RRM1 A37C 和 C524T 证明与吉西他滨的敏感性相关。当病人检测结果为 A37C 和 C524T 时，对吉西他滨高敏感；若为其他突变结果，则对吉西他滨敏感性降低甚至耐药。因而，应用吉西他滨治疗时，当检测结果为 RRM1 A37C 和 C524T，建议优先使用该药进行治疗。

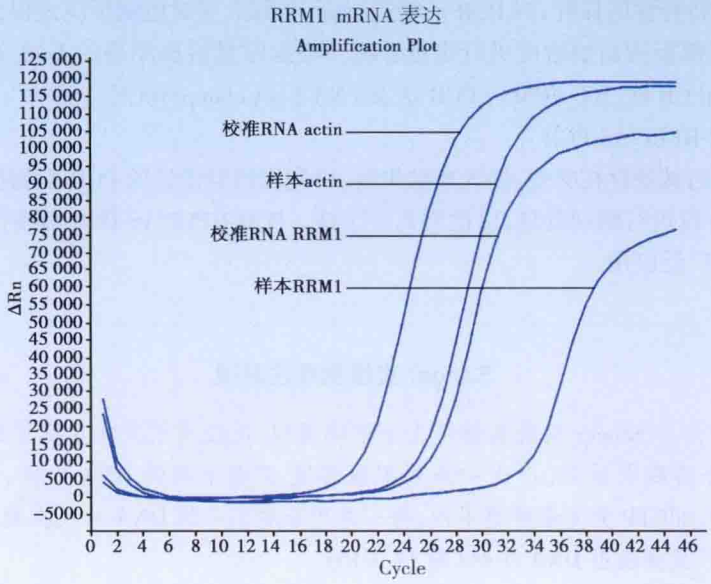
【问题 4】EGFR 突变检测技术主要有哪些？

EGFR 突变检测技术主要有 Sanger 测序、HRM、实时荧光定量法、PCR-RFLP 等。不同方法之间检测的灵敏度有所差异，直接测序法是 EGFR 突变的金标准，但灵敏度最低，约 10%~20%。RT-ARMS-qPCR 法及 RT-PNA-qPCR 法灵敏度可达 1%，但检测成本与其他方法比相对较高。

学习笔记

×× 医院检验科肿瘤化疗及靶向药物敏感试验报告单

姓名：	住院号：	申请医生：	申请时间：××××-9-4
性别：女	条形码号：	采集者：	采集时间：××××-9-4
年龄：52 岁	床号：	科别：呼吸内科	接收时间：××××-9-4
标本：新鲜组织	标本状态：良好		



检测结果	RRM1 mRNA 为低表达

※ 结果仅对送检标本负责，有疑问请于 3 日内咨询　　报告时间：××××-9-12　　检验者：　　核对者：

※ 使用 3130 遗传分析仪器

备注：

1. 本实验方法为 DNA 测序法，只对常见相关基因位点进行检测分析
2. 本测序方法对杂合基因型的检测灵敏度约为 20%

图 17-3-14　RRM1mRNA 表达水平检测结果

思路 1：直接测序法

前已述及，Sanger 测序法是根据核苷酸在某一固定序列开始，随机在某一个特定的碱基处终止，并且在每个碱基后面进行标记，产生以 A、T、C、G 结束的四组不同长度的一系列核苷酸，然后在尿素变性的 PAGE 胶上电泳进行检测，从而获得可见的 DNA 碱基序列。直接测序法基于 Sanger 测序原理，结合荧光标记和毛细管电泳，可在测序仪器上直接读出 DNA 序列（图 17-3-15）。

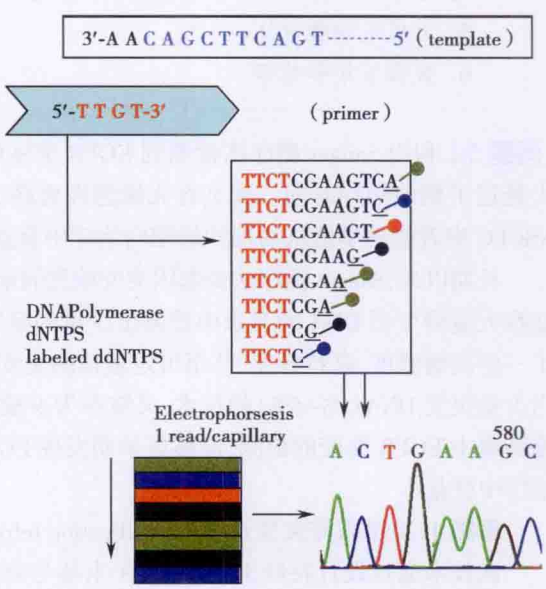


图 17-3-15　Sanger 直接测序原理

思路 2：DHPLC/ HRMA

在部分变性的条件下，通过杂合与纯合双链在柱中保留时间的差异，发现 DNA 突变。异源双链 DNA 与同源双链 DNA 的解

学习笔记

链特性不同，在部分变性条件下，异源双链因有错配碱基的存在而更易变性，在色谱柱中的保留时间短于同源双链，故先被洗脱下来，在色谱图中表现为双峰或多峰的洗脱曲线。DHPLC 具有高通量检测、自动化程度高、灵敏度和特异性较高、检测 DNA 片段和长度变动范围广、相对价廉等优点。

思路 3：实时荧光定量法

实时荧光定量 PCR（realtime quantitative PCR，RT-qPCR）是一种新定量试验技术，通过荧光染料或荧光标记的特异性的探针，对 PCR 产物进行标记跟踪，实时监测反应过程，结合相应的软件可以对待测样品模板的初始浓度进行定量分析。根据定量检测原理的不同，可将 RT-qPCR 方法分为 Taqman-qPCR 法、RT-ARMS-qPCR 法及 PNA-LNA clamp-qPCR。

思路 4：PCR-RFLP/AS-PCR

当特定位点的碱基存在突变、插入或缺失时，可利用特异设计的 PCR 引物扩增目标区域，对相应 PCR 扩增片段进行酶切处理，以检测其多态性。PCR-RFLP/AS-PCR 需使用特定的内切酶，限制了该技术的广泛应用。

知识点

Sanger 直接测序法原理

直接测序法与 Sanger 双脱氧链终止法原理类似，反应利用荧光素标记的 ddNTP 通过 4 个 DNA 聚合酶酶促反应，产生一系列 5′端固定、3′端不同的 DNA 片段。由于 ddATP、ddTTP、ddGTP、ddCTP 荧光素种类不同，将一系列长度不一的 DNA 片段在测序仪上经毛细管电泳后，便可直接读出 DNA 序列（图 17-3-15）。

测序反应过程：

1. 待测序 DNA 模板制备　双链 DNA、单链 DNA、PCR 产物和基因组 DNA 均可作为测序反应的模板。

2. PCR 测序反应　在反应中有 BigDye Mix（内含四色不同荧光标记的 ddNTP、普通 dNTP、Taq DNA 聚合酶和反应缓冲液）、待测序 DNA 模板及测序引物。按照一定反应条件进行 PCR 反应，可得到一系列相差一个碱基的末端带荧光标记的 DNA 单链。

3. 测序 PCR 产物纯化　通过乙酸钠 / 乙醇纯化除去游离的带荧光标记的 ddNTP。

4. 电泳前测序 PCR 产物处理　加特定的上样缓冲液，热变性骤冷，待上样。

5. 上机毛细管电泳。

6. 数据采集和处理。

【问题 5】利用 Sanger 测序法检测到 EGFR 突变时，含 EGFR 突变的肿瘤细胞数已高达 20%，大大延迟了靶向治疗时间。那么有无敏感性更高、准确性更强的检测手段，使得含 EGFR 突变的 NSCLC 患者能更早地从易瑞沙的靶向治疗中获益？

长期以来，Sanger 测序法是基因突变检测的金标准，但由于 Sanger 测序法敏感性低于 20%，不能在大量野生型 DNA 的背景中检测出少量的突变 DNA，已经无法满足临床需求。近年来，出现了一些高敏感度、高特异度、甚至可定量检测突变的技术，这些可在大量野生型 DNA 背景中检测出少量突变 DNA（1%~5%）的技术，又被称为少量突变检测技术。将少量突变技术运用于非小细胞肺癌中 EGFR 突变的检测，能够更早期发现 EGFR 突变，使得患者能够更早地从易瑞沙的靶向治疗中获益。

思路 1：扩增阻滞突变系统（amplification refractory mutation system，ARMS）

该技术通过设计特殊引物，使其 3′末端与突变型 DNA 匹配，而与野生型 DNA 不匹配，由于 Taq 酶缺乏 3′-5′外切酶活性，在优化的 PCR 条件下，阻止了不匹配 DNA 模板与引物 3′端的有效

学习笔记

延伸，从而达到直接区分突变型 DNA 和野生型 DNA 的目的。ARMS 对少量突变的检出率依赖于反应条件的优化和可能发生的引物与靶 DNA 的错配延伸，特别是错配碱基为 G/T 时。此时，可通过调整试验条件，如改变引物、靶 DNA、Taq 酶的浓度来提高反应的特异性，还可在引物 3′端的第二个碱基引入 1 个错配碱基，使之与模板之间形成双重错配，以阻止错误延伸。

将 ARMS 与实时 PCR 结合（real-time amplification refractory mutation system quantitative PCR，RT-ARMS-qPCR）可同时对突变进行检测和定量，并且在低浓度突变检测方面更加敏感，可检出低达 0.5% 的线粒体 DNA 突变。若使用 RT-ARMS-qPCR 联合分子信标（molecular beacon，MB）则可检出 0.25% HBV　M204V 耐药位点突变。简而言之，ARMS 及其衍生技术操作简单、无须额外试剂便可检出 10^{-1}~10^{-3} 的突变，借鉴多重 PCR 原理还可同时检测多种突变，因此可广泛应用于分子诊断的各个领域。其缺点是识别度相对较低，只能对已知突变位点进行检测。

思路 2：焦磷酸解激活的聚合反应（pyrophosphorolysis-activated polymerization，PAP）

PAP 技术是近年发展起来的少量突变检测技术，与普通 PCR 不同的是它同时利用了 Taq 酶的焦磷酸解活性和聚合活性。该技术采用 ddNTP 修饰引物的 3′端使其丧失延伸能力，只有当其与模板互补时，Taq 酶催化引物末端发生焦磷酸解反应使 ddNTP 脱落，引物才能重新恢复延伸能力；而如果封闭引物与模板不互补，焦磷酸解反应便不会发生，即不可能产生扩增产物（图 17-3-16）。焦磷酸解活性的特异性和聚合酶活性本身的特异性相加使得 PAP 具有极高的特异性，而且由于引物均为 3′端封闭引物，因而不会发生错误延伸。

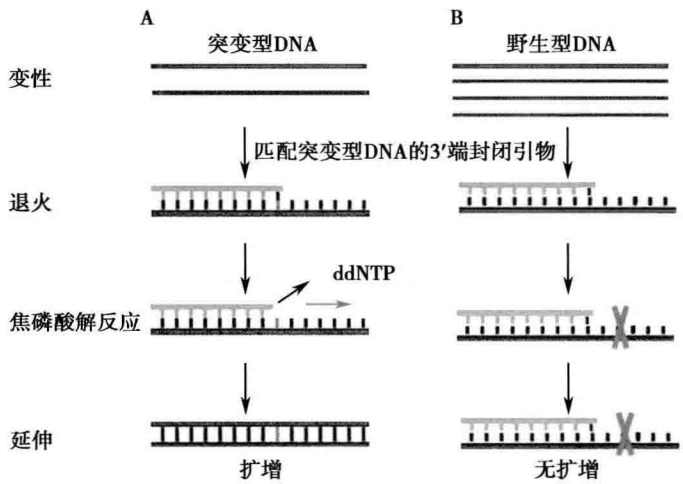


图 17-3-16　PAP 技术检测突变示意图

A 图示 3′端封闭引物与突变型 DNA 互补，发生焦磷酸解反应，引物恢复延伸能力，突变型 DNA 扩增；B 图示 3′端封闭引物与野生型 DNA 错配，不发生焦磷酸解反应，引物不能恢复延伸能力，野生型 DNA 无扩增

PAP 技术被认为是目前等位基因识别特异性最高的技术，可检出 10^{6}~10^{9} 野生背景中的突变，适用于少量突变的检测。但由于其引物 3′端尚不能完全采用化学合成，并且需要精细的后期纯化工作，导致目前仅有少数实验室从事相关研究，限制了该技术的应用。随着核酸化学合成方法的进步，这项具有极高特异性的技术也将得以广泛应用。

思路 3：数字 PCR（digital PCR，dPCR）

数字 PCR 与其他少量突变检测技术不同的是，它并没有抑制野生型 DNA 或者富集突变型 DNA，而是通过将微量样品做大倍数稀释和细分，直至每个反应体系中所含有的待测 DNA 的拷贝数不超过 1 个，再将所有反应体系同时在优化的相同条件下进行 PCR 扩增，从而对野生型 DNA 和突变型 DNA 分别进行单分子检测（图 17-3-17），将传统 PCR 的指数模拟信号转换成线性数字

学习笔记

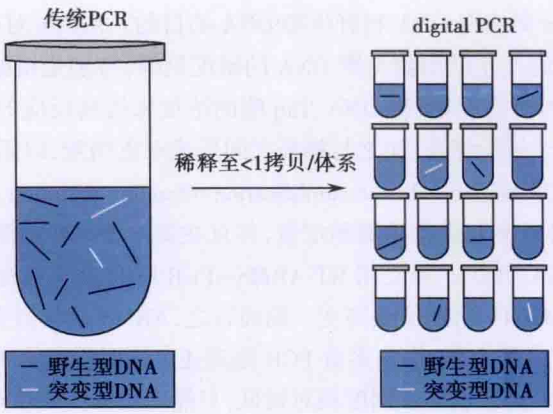


图 17-3-17　digital PCR 技术检测突变示意图

数字 PCR 将微量样品稀释至每个反应体系中所含有的待测 DNA 的拷贝数不超过 1 个，从而对野生型 DNA 和突变型 DNA 分别进行单分子检测，将传统 PCR 的指数模拟信号转换成线性数字信号

信号，随后用统计学方法获得待测 DNA 的绝对或者相对数量信息，从而能快速、高通量检测患者标本中致病基因的许多变化，显著提高了生命科学研究的效率。传统的数字 PCR 使用 96 孔或者 384 孔的 PCR 板，其敏感度可达 10^{-3}，但由于成本高、设备复杂等缺陷，限制了其在临床上的应用。

微流体数字 PCR（microfluidics digital PCR）则是随后发展起来的将成千上万的控制液体流动的阀和液流通道集成到 1 张芯片上，同时进行上千个 PCR 的技术。与传统数字 PCR 相比，该系统扩大了 PCR 的通量，降低了成本，极大地提高了灵敏度（达 10^{-8}），被相继用于癌症监测和产前诊断等方面。

与传统 PCR 相比，数字 PCR 技术提高了机器操作的可行性，减少了人为操作的误差和污染，并且具有快速、准确、灵敏、特异等优点，应用前景十分广阔，是目前很有潜力的生物技术之一，随着该技术的进一步发展和成熟，将被越来越多地应用于临床诊断和科学研究当中。

（欧启水）

学习笔记

第十八章 临床输血检验

输血(blood transfusion)是将供者的血液输入受者的循环系统。当手术中失血或外伤导致大量失血时,输血可挽救生命。临床上经常通过输血治疗多种疾病,各类血液病患者常涉及输血,而现代输血的概念已从原来单纯的补充各种血细胞或血浆,扩大到对各种疾病有明显疗效的细胞治疗,即通过分离制备血液中各种成分,并在必要时进行诱导、培养和扩增等,获得相应细胞成分进行治疗。

第一节 血型鉴定与交叉配血试验

血型鉴定(blood typing)是指用已知抗体型的特异性血清检测红细胞上未知抗原或用已知血型的红细胞检测未知血清中抗体。当循环血量不足、大量失血或严重贫血需进行输血治疗时,在输血前必须先选择血型相同的供血者,再进行交叉配血,完全相同后才能输血。

为了减少输血不良反应的发生,检验人员在输血前都要进行交叉配血试验。交叉配血试验一般指红细胞血型抗原及其抗体之间的配合性试验,该试验主要包括针对IgM类抗体的盐水法,以及主要针对IgG类抗体的其他配血方法。目前,常用的其他配血方法包括抗球蛋白法、酶法、聚凝胺法、微柱凝胶法等。

病历摘要1:

患者女,20岁。主诉发热、下腹绞痛伴恶心、呕吐。急诊入院,查体右下腹痛,麦氏点压痛、反跳痛,初步诊断为急性阑尾炎入院,拟行手术治疗,做输血前检查,血型鉴定结果为B型,Rh(-)。患者主诉数年前村卫生院检查的血型为O型。本院实验室重新采血复查,患者血型鉴定结果仍为B型,Rh(-),临床以本院检测结果为准,判定患者血型为B型。

××医院检验报告单

标本号:

姓名:	病人类型:门诊	床号:	标本种类:全血
性别:女	病历号:	条码:	标本状态:良好
年龄:20岁	科室:外科	诊断:疑似阑尾炎	送检医生:

ABO血型	Rh(D)血型	抗体筛选
B	-	阴性

接收时间:××××-01-29-08:40　检验时间:××××-01-29-08:45　报告时间:××××-01-29-09:30

检验医师:　核对医师:

备注:

* 此报告仅对该标本负责

【问题1】从血型鉴定结果来看,为什么输血前患者只需做红细胞血型?

血型是血液成分遗传多态性的总称,临床上常将红细胞膜上的抗原多态性特指为血型,虽然其他血细胞上也存在特异性血型,但ABO血型和Rh血型是免疫原性最强的,是临床上最重要的血型,因此,对大多数患者来说,在输血前只需做红细胞血型中ABO和Rh血型鉴定。

学习笔记

知识点

红细胞血型

1. ABO 血型系统　是临床输血最重要的血型系统。ABO 血型系统的主要抗原是 A 和 B 两种糖基化结构，都以 H 抗原作为结合物，位于 9 号染色体 ABO 基因座上，所编码的糖基转移酶具有不同的特异性，负责将各自特异的糖基连接到 H 物质所在寡糖支链上。ABO 血型系统有 A、B、A1 等 3 种抗原，而表型可分为 A 型、B 型、AB 型和 O 型。O 型是 ABO 血型系统的无效表型，具有该表型的红细胞上不表达 A 和 B 抗原。

2. Rh 血型系统　是最复杂的血型系统，包括 RH1~RH50 总共 54 个抗原，其中 5 个已被弃用。Rh 抗原位于 1 号染色体短臂的两个同源及紧密连锁的基因所编码。*RHD* 基因编码 D 抗原，*RHCE* 基因编码 Cc 和 Ee 抗原。*RHD* 和 *RHCE* 基因所编码的 RhD 蛋白和 RhCcEe 蛋白是一种具有强疏水性的非糖基化蛋白。临床上最为重要的是 RhD 抗原，D 抗原是免疫性最强的抗原，大多数人不是 D+，就是 D–，中国人和日本人 D+ 率达到 99.7%，白种人约为 85%，在 D– 人群中，有些具有很微弱的 D 抗原，称为 DEL。D 抗原在不同类型红细胞上表达的强度不均一，从很强的 D，到弱 D，最弱的是 DEL。当 C 抗原表达时，D 抗原表达的量就减少。用流式细胞术测得的 D 抗原强度从强到弱依次是 DcE/DcE>DCe/DcE>DCe/DCe >DcE/Dce>DCe/dce。

3. Kell 血型系统　是白种人的重要血型系统，欧美人群 K 抗原鉴定和 ABO、RhD 一样作为输血前必须检测项目，白种人 K 抗原阳性率为 7%，汉族人 K 抗原阳性率为 0.06%。K 抗原具有较强的免疫原性，抗 K 抗体可造成严重的溶血性输血反应和新生儿溶血病。

4. MNS、P 和 Lewis 血型系统　此 3 种血型系统抗体也常在临床中检出，有时在健康献血员血清中也可发现抗 M、抗 P、抗 Leb 等血型抗体，大多数为 IgM 抗体，且不具有临床意义。

5. Duffy、Kidd、Diego 血型系统　此 3 种血型系统抗体常为 IgG 抗体，可引起新生儿溶血病和轻~中度的溶血性输血反应。Duffy 血型糖蛋白是红细胞膜上趋化因子受体，Fy(a-b-)表型认为可阻断疟原虫裂殖子进入红细胞。Kidd 血型糖蛋白是红细胞膜上尿素通道，JK(a-b-)表型的红细胞可在 2M 尿素溶液中保持一定时间的细胞膜完整性。Diego 血型糖蛋白位于带 3 蛋白上，蒙古人种 Dia 抗原阳性率明显高于其他人种。

【问题 2】除了红细胞血型，还包括哪些血型类型？鉴定方法有哪些？

除了红细胞血型，还包括白细胞血型和血小板血型。白细胞血型的检测方法有：血清学分型法、基因分型法；血小板血型的检测方法有：血小板特异性抗原基因分型技术、血小板特异性抗原血清学分型法。

思路 1：人类白细胞抗原(human leukocyte antigen，HLA)是由 6 号染色体上的主要组织相容性复合体基因所编码的具有高度多态性的糖蛋白。

HLA 抗原检测分为蛋白水平和基因水平分型。蛋白水平分型方法，即血清学分型法包括微量细胞毒试验、纯合子分型细胞分型、预处理淋巴细胞分型；基因水平分型方法包括正向和反向聚合酶链反应 - 序列特异性寡聚核苷酸探针、聚合酶链反应 - 序列特异性引物、聚合酶链反应 - 限制性酶切片段长度多态性、聚合酶链反应 - 单链构象多态性和扩增产物直接测序等。

HLA 抗体检测通常有 3 种方法，分别是交叉配型、群体反应性抗体检测和流式细胞仪检测抗体。交叉配型常采用微量淋巴细胞毒实验及抗球蛋白 - 微量淋巴细胞毒实验，先用供者 T、B 淋巴细胞加上受者血浆进行检测，再用受者 T、B 淋巴细胞加上供者血浆进行双向检测，移植前一般都应检测，检测到的抗体不局限于 HLA 抗体，也可能是白细胞其他抗原的抗体。群体反应

学习笔记

性抗体是用一组包含大部分 HLA 抗原的细胞板或抗原板检测是否有对应的抗体存在，计算阳性结果百分比。流式细胞仪检测相应的 HLA 抗体，并不是供者选择的绝对反指征，需排除冷抗体、IgM、药物交叉抗体等，该法常不单独用于 HLA 抗体筛选。主要用于造血干细胞移植、实体器官移植、移植物抗宿主病、亲子鉴定和法医学方面。

思路 2：血小板血型

人类血小板表面携带了多种血型抗原，如 ABO、Li、P、Lewis 血型抗原，HLA Ⅰ类抗原和血小板特异性抗原。血小板抗原的鉴定可通过血清学方法或基因诊断的方法进行。分子生物学方法通过检测点突变而确定受检标本血小板等位基因是当前最常用的技术。血小板抗体检测技术是基于血小板上结合的免疫球蛋白，以血小板免疫荧光试验、酶联免疫吸附分析、混合红细胞黏附分析、单克隆抗体免疫固定血小板抗原分析等 4 种技术的应用较为广泛。是输血前血小板相容性配血试验和输血后血小板输血不良反应检测的主要方法。检测血小板自身抗体时，也可使用免疫荧光技术，但该法灵敏度有限，如需对阳性结果做进一步特异性确认，则需采用更敏感的放射免疫分析测定血小板上所绑定的 Ig 和单克隆抗体免疫固定血小板抗原分析试验来确定血小板放散液中自身抗体的特异性。将致敏在血小板上的抗体解离下来的放散方式有乙醚放散法和酸放散法。适用于新生儿同种免疫性血小板减少性紫癜和临床上血小板输注无效原因的查找。

【问题 3】红细胞血型鉴定试验结果不一致的可能原因是什么？

常见红细胞血型鉴定结果不一致的原因有：①技术原因：如未同时做正反定型、操作不规范等；②生理性原因：如新生儿抗原较弱、老年人抗体减弱等；③病理性原因：如血液病、恶性肿瘤、丙种球蛋白缺乏症等；④其他原因：如细菌污染或遗传因素引起多凝集或全凝集、ABO 亚型等。

知识点

红细胞血型鉴定原理

红细胞血型鉴定原理是采用基于盐水介质血凝试验原理，即在生理盐水中，红细胞间自然距离约为 25nm，IgM 抗体分子上多数相邻两个 Fab 端间最短距离 >35nm，IgG 抗体分子两个 Fab 端间距离常 <25nm，所以，IgG 抗体虽能和红细胞上对应抗原结合，但不能在盐水中使红细胞发生凝集，而 IgM 抗体则能同时与多个红细胞上抗原决定簇结合，交联成肉眼可见的凝块。因此，单纯盐水介质血凝试验能用于 IgG 类血型抗体的检测和鉴定，或使用 IgM 类血型抗体鉴定相应血型抗原，无法直接用于 IgG 类血型抗体的检测和鉴定。

思路 1：因技术原因造成红细胞血型鉴定结果不一致的解决方法

(1) ABO 定型应同时进行正反定型，才能判断结果，是否存在只做正定型的情况。同时，在观察结果时，既要看有无凝集，也要注意凝集强度和状态。

(2) 检查分型血清质量性能，应符合规定要求，若标准血清效价太低，亲和力不强可导致假阴性结果；检查试剂是否冷藏保存，以避免细菌繁殖；检查试管、滴管、玻片是否清洁干燥，以防溶血；检查微柱凝胶管内有无气泡、干涸现象。

(3) 检查试剂红细胞：若是自制试剂红细胞，是否用 3 个健康者同型新鲜红细胞混合，用生理盐水洗涤 3 次，去除存在于血清中抗体和可溶性抗原。自制红细胞应控制好浓度，红细胞悬液过浓或过稀，抗原抗体比例不适当，使反应不明显，导致假阴性结果。若使用试剂红细胞，用前应充分混匀。

(4) 检查操作步骤：试管法应先加血清，然后加红细胞悬液，以核实是否漏加血清。微柱凝

胶法反定型管应先于正定型管加样，以便标准细胞与血清 / 血浆反应，即先加细胞再加血浆，以免先加血清时血清流入凝胶层中和了其中的抗体。

(5) 检查反应温度：IgM 抗 A、抗 B 与相应红细胞的反应温度以 4℃为最强，但为了防止冷凝集干扰，常在室温（20~24℃）下操作，37℃可使反应减弱。

(6) 检查离心时间与速度是否符合要求，定期校验离心机，以防出现假阳性或假阴性结果。

(7) 检查结果判断：观察时应注意红细胞特异性凝集、继发性凝固、缗钱状排列区别。试管法不要混淆沉积细胞和弱阳性结果，必要时应在镜下观察。玻片法不要混淆干燥的边缘和凝集，注意及时判读结果。本例患者在村卫生院的血型鉴定结果有误，可能因操作技术不规范造成，如只做正定型，未做反定型，夏季室温过高等因素均可造成错误。

知识点

ABO 正反定型结果判断

抗 A	抗 B	抗 A,B	A 型红细胞	B 型红细胞	O 型红细胞	结果判读
+	−	+	−	+	−	A
−	+	+	+	−	−	B
−	−	−	+	+	−	O
+	+	−	−	−	−	AB

知识点

红细胞血型鉴定常用方法的优缺点

方法	优点	缺点
玻片法	操作简单、成本较低，凝集结果见图 18-1-1	易污染；反应时间长；抗体效价低时不易引起红细胞凝集；不适用于 ABO 反向定型；逐渐淘汰
试管法	快速、准确、结果可靠、便于观察与判读；最经典方法；适用于 IgM 类不规则抗体筛查、鉴定和盐水交叉配血试验	操作不易标准化、自动化、批量化
微量板法	快速、简便、自动化程度高、适用于大批量检测；节省试剂、缩短反应时间	成本较高
微柱凝胶法	操作简单、结果明确可靠、易于判读；反应灵敏；易于标准化、自动化、重复性好；依据凝胶不同，可用于血型抗体或抗原检测	当红细胞浓度过高或过低、离心不彻底、血清中含纤维蛋白、细菌污染等时，可能导致假阴性或假阳性

思路 2：因非技术原因造成红细胞血型鉴定结果不一致的解决方法

(1) 重复做试验 1 次，待检者细胞用生理盐水洗涤 3 次，以解决与血浆蛋白或自身抗体相关的问题。

(2) 对多次检测的待检者，本次与既往结果不符合或怀疑标本有污染时，应重新采血检测。

(3) 与临床沟通，询问待检者病史，以了解可能影响 ABO 定型的临床情况，如疾病诊断、既往血型、输血史、移植史和用药史等。

(4) 当反定型 O 型红细胞出现凝集时，将待检者血清与自身细胞和 O 型筛选红细胞反应，以检测可能存在的自身抗体或同种抗体。检出是同种抗体的，选择相关抗原阴性的 A 和 B 细胞重

学习笔记

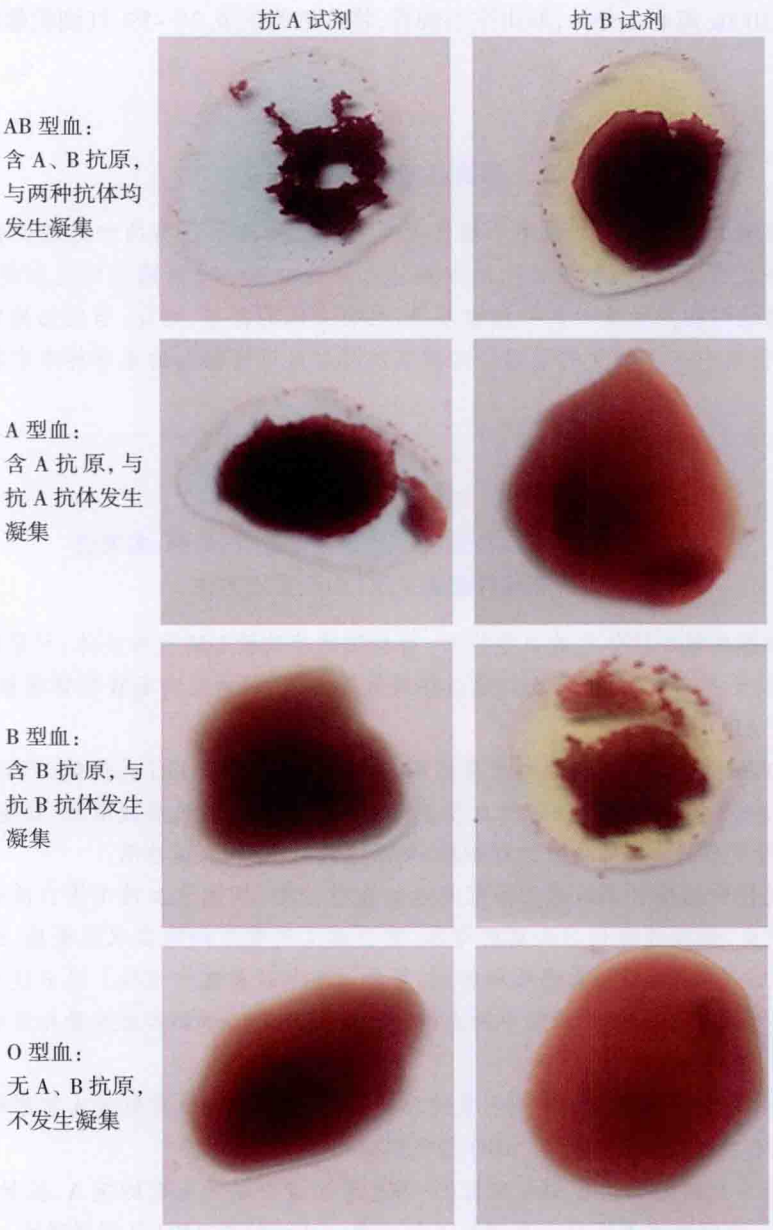


图 18-1-1　玻片法检测 ABO 血型凝集图

做反定型；检出冷抗体抗 I、抗 IH 的，可在 37℃进行操作和反应，并静置 1 小时观察结果，而不离心。如此可得到正反相符的结果。

(5) 当正定型凝集较弱时，可孵育 5~10 分钟后再离心以增强反应。反定型也可通过增加血清来增强反应。若反应仍较弱时，可能为 ABO 亚型或受其他因素影响。对受检红细胞做直接抗球蛋白试验可能有所帮助。

【问题 4】若患者近期有输血史，如何规范操作红细胞血型鉴定试验？

关键步骤是首先需对患者血液标本进行洗涤。方法如下：用生理盐水洗涤标本 3 次，末次洗涤后，以 1000g 离心 5~15 分钟，去除上清液，彻底混匀；将 3 洗混匀的红细胞装入 10 根毛细管中，每管装至 60mm 刻度处；用密封物质封闭毛细管一端；离心 15 分钟；取毛细管顶端和底部各 5mm 的红细胞，顶部红细胞密度最低，因而最年轻，为患者红细胞，底部红细胞密度最高，因而最陈旧，为献血者红细胞；将毛细管分别置于大试管中，加入盐水，充分摇动将毛细管中红细

学习笔记

胞冲出，然后 1000g 离心 1 分钟，取出空毛细管；将红细胞配成 2%~5% 红细胞悬液即可进行血型鉴定。

知识点

自身红细胞获得方法

有近期输血史的患者可能由于输注了与自身红细胞不同型的红细胞而在鉴定血型时出现混合视野，可用毛细管离心的方法从自身红细胞中分离输注的红细胞，新生成的自身红细胞通常相对于输入的红细胞来说，具有更低的比重，因此，当红细胞置于毛细管中离心时，将集中在毛细管的顶端。这种方法可以从近期输血的患者标本中获得自身红细胞。

知识点

冷凝素综合征、自身免疫性溶血性贫血、白血病、多发性骨髓瘤等患者 ABO 血型鉴定方法

1. 红细胞致敏冷抗体时的血型检测　待检细胞若致敏 IgM 类冷抗体，可导致盐水介质下出现自凝，干扰 ABO 血型鉴定。通过热放散的方式，获得没有 IgM 抗体致敏的红细胞，然后再进行 ABO 血型检测。

2. 红细胞致敏 IgG 抗体时的血型检测　待检细胞若致敏 IgG 类抗体，可导致 ABO 正定型或其他使用抗人球蛋白法进行血型鉴定结果假阳性。通过热放散法、氯喹放散法、酸放散法，获得没有 IgG 抗体致敏的红细胞，然后再进行 ABO 血型检测。

3. 多发性骨髓瘤和高球蛋白血症患者的血型检测　因患者血清中蛋白质浓度异常增高或比例改变，病理性球蛋白含量的增加，常引起反定型红细胞盐水假凝集，这种蛋白凝集随温度变化不明显，镜下呈缗钱状排列，可通过添加适量盐水消除。区分这种缗钱状凝集和真凝集也可离心后去除试管中的血清，保留沉淀细胞，添加和血清量相等的生理盐水重悬细胞后，离心观察结果。

4. 白血病患者的血型检测　造血系统恶性病变导致的 ABO 定型时 A 抗原和 B 抗原减弱或出现混合的情况。通过检查 ABO 基因型确定。

5. 丙球蛋白缺乏症患者的血型检测：因患者血清中缺乏应有的抗 A、抗 B 抗体，可导致 A 型、B 型和 O 型患者出现正反定型不符现象。通过检查 ABO 基因型确定。

【问题 5】RhD 阴性的确认和变异型检测方法？

某些 D 变异型红细胞的 D 抗原在盐水介质反应中与 IgM 单克隆抗 D 呈阴性结果，而在和经选择的人源多克隆 IgG 抗 -D 血清或 IgG+IgM 型 Rh 定型试剂进行的抗球蛋白方法试验中呈阳性反应。

知识点

抗球蛋白法实验原理

D 变异型红细胞上的 D 抗原一般较弱，无法在盐水介质中通过 IgM 抗 -D 直接检测。使用不完全抗 -D 致敏红细胞，再加入抗球蛋白试剂，抗球蛋白分子的 Fab 片段与包被在红细胞上的抗 D 抗体 Fc 段结合，从而通过抗球蛋白分子的搭桥造成红细胞凝集，增加检测灵敏度。

学习笔记

知识点

微柱凝胶法实验原理

当 IgG 抗 -D 抗体和变异型红细胞反应，红细胞发生致敏，离心时微柱凝胶中的抗球蛋白凝集致敏的红细胞，使凝集块不能通过凝胶间隙而留在凝胶上层，呈阳性反应。未凝集红细胞则通过凝胶或小玻璃珠的间隙沉积在微柱凝集检测管的底部，呈阴性反应。

病历摘要 2：

患者男，45 岁。出现发热、消瘦、腹痛、便血等症状 1 年余，查体发现腹部有包块，结肠镜检查发现为左侧结肠癌，需行结肠癌手术，患者血型为 B 型，Rh(+)，术中需输注 2 单位红细胞悬液。实验室行红细胞交叉配血试验，结果如下：主侧轻度凝集，次侧不凝集。因交叉配血试验阳性，暂不同意输血，并着手查找解决方法。

【问题 1】对于输血患者来说，实验室为何要做交叉配血实验？

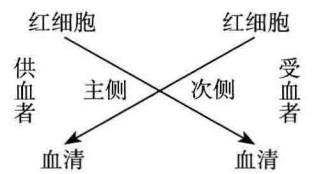
常规交叉配血试验能确保输血后红细胞不发生免疫性溶血反应，避免严重后果。据 SHOT 报道，1996~2004 年期间，因 ABO 血型不合的输血直接导致死亡的案例占所有严重输血不良反应案例的 7%，所以，作为献血者血液与受血者配合性检查的交叉配血试验是几乎所有患者在输血前必须完成的试验。

在特殊情况下，如短时间内患者输注了超过自身血容量的血液时，可不做交叉配血试验而实行同型输血。当献血员和患者的血液标本经过严格的抗体筛选试验，已证明不含不规则抗体时，也可不做交叉配血试验而实行同型输血。

知识点

交叉配血试验原理和操作

交叉配血试验（blood cross-matching test）一般指红细胞血型抗原与抗体之间的配合性试验，常规配血试验仅能确保不发生免疫性溶血反应，不能保证不发生过敏、发热、非免疫性溶血等输血不良反应。广义的交叉配血反应还包括血小板、粒细胞等其他细胞的输血前交叉配血。其操作原理图如图 18-1-2 所示，结果判断时，主侧、次侧管均无凝集、无溶血，表示配血相容，可输血；若出现主侧、次侧试管或单独一侧试管内红细胞凝集和（或）溶血，则表明两者血液不相容，不可输血。



主侧：受血者血清 + 供血者红细胞
次侧：供血者血清 + 受血者红细胞

图 18-1-2　交叉配血操作原理图

【问题 2】交叉配血试验结果阳性的可能原因有哪些？

常见交叉配血试验结果阳性原因有：①生理性或病理性原因，如多发性骨髓瘤、自身免疫性溶血性贫血等；②技术原因，如不同交叉配血试验方法的灵敏度和特异度不同；③献血者血型鉴定有误。其中，献血者血型鉴定有误发生率很低，在排除上述技术、生理、病理原因后，应取其他献血者血制品做交叉配血试验，以尽快满足临床需要，而配血不合的献血员血制品应保留，联系

学习笔记

血站或血液中心来解决。

思路 1：因生理或病理原因造成交叉配血不符合原因分析和解决：①交叉配血试验阳性，但没有临床意义情况，包括标本内含有冷抗体（<25℃才具活性）、无补体致敏能力低效价 IgM 抗体、多发性骨髓瘤者蛋白凝集等；②对自身免疫性溶血性贫血患者来说，血液中可能存在较强自身抗体，造成主 / 次侧配血均不符合。如能确认患者体内仅存在自身抗体，当贫血已危及生命时，即使交叉配血试验阳性，也可为患者输注血液。

思路 2：因交叉配血试验方法局限性造成交叉配血不符合原因分析：①盐水法无法检测 IgG 类抗体造成血液不合，而不能防止由血型抗体造成的输血反应；②抗球蛋白法无法检测 IgA 类抗体或唯酶抗体造成血型不合；③酶法会漏检部分 IgM 类不规则抗体（如抗 M、抗 N）；④聚凝胺法对冷抗体干扰有影响，对 Kell 系统抗体不敏感，但国内影响较小，血中含肝素、酚磺乙胺等药物会导致试验失效；⑤微柱凝胶法试剂可能存在批间、凝胶板间、凝胶孔间差异，有时会出现无临床意义的阳性结果。此时，通过 Coombs 试验和特殊交叉配血，避免同种抗体导致的输血反应，尽量给予患者输注相容性血液，确保输血安全。

知识点

常用交叉配血试验方法的原理和适用范围

1. 盐水法原理　同血型鉴定的盐水介质血凝试验原理。适用于 IgM 抗体检出和鉴定、盐水交叉配血试验、IgM 抗体鉴定血型，如 ABO、RhD、MN、P 等抗原鉴定。

2. 抗球蛋白法原理　①经典抗球蛋白法：利用大部分 IgG 抗体与具有相应抗原的红细胞在盐水介质中能特异性结合，但不发生肉眼可见的凝集反应，再加入相应的抗球蛋白试剂后，后者 Fab 段识别相邻的两个 IgG 类抗体的 Fc 段，经过搭桥使已结合了不完全抗体的红细胞发生聚集的原理。分为直接和间接法：直接法检测体内红细胞是否已被不完全抗体或补体致敏；间接法检测红细胞和不完全抗体反应；②改良抗球蛋白法：是在经典抗球蛋白法的基础上，增加了一些可提高抗原抗体反应活性的技术，主要包括低离子溶液（low-ionic strength solution，LISS）、聚乙二醇（polyethylene glycol，PEG）等增强介质。LISS 可有效提高检测体系的灵敏度，将 37℃孵育时间缩短至 10~15 分钟；PEG 可提高反应体系内局部抗原抗体浓度，增强反应活性。直接抗球蛋白试验适用于新生儿溶血病诊断、免疫性溶血性贫血诊断、药物致敏的红细胞、溶血性输血反应的研究。间接抗球蛋白试验适用于交叉配血试验、IgG 类不规则抗体的检出和鉴定、其他方法不能查明的红细胞抗原、用于特殊研究，如混合凝集反应、白细胞抗体和血小板抗体检测。

3. 微柱凝胶法原理　是一种改良抗球蛋白方法，利用分子筛技术、离心技术和特异免疫反应技术，可非常灵敏地检测出临床有意义的血型抗体。将微柱凝胶与抗球蛋白技术整合在一起。通过调整凝胶的浓度来控制凝胶间隙大小，使其间隙只能允许游离的红细胞通过，从而使游离的红细胞与发生凝集的红细胞分离，达到鉴别反应结果的目的。待检标本红细胞和血浆经过稀释、加样、孵育、离心后，红细胞沉淀在微柱底部，则表明红细胞未发生凝集，为阴性反应，若红细胞聚集在凝胶带上部，则表明红细胞发生凝集，为阳性反应。

4. 酶法原理　红细胞表面有丰富唾液酸，在中性环境中能带负电荷，使红细胞之间互相排斥。利用蛋白水解酶消化、破坏唾液酸，减少红细胞表面的负电荷，更好暴露红细胞抗原，促进红细胞抗原抗体反应，在不完全抗体作用下，红细胞可发生凝集。该法分为一步酶法和二步酶法。一步酶法适用于交叉配血试验。二步酶法适用于抗体筛查和鉴定试验，特别是一些特殊抗体如唯酶抗体检测等。

学习笔记

5. 聚凝胺法原理　利用低离子介质减少红细胞周围的阳离子云，促进红细胞与血清或血浆中抗体结合。聚凝胺是一种高价阳离子季铵盐多聚物，溶解产生的正电荷能中和红细胞膜表面带有负电荷的唾液酸，使红细胞的 Zete 电位降低，红细胞之间距离缩短，使红细胞发生非特异性凝集，此凝集是可逆的。当再加入复悬液后，其中枸橼酸根离子的负电荷能与凝聚胺上的正电荷中和，使非免疫性的可逆凝集现象消失，结果为阴性，而真正抗原抗体反应产生的凝集则无法散开，为阳性结果，以此来判断受检者血清中是否存在相应抗体或供、受者间血液的相容性。适用于交叉配血试验，不规则抗体筛查和鉴定试验。

6. 固相捕获法原理　红细胞或血小板（抗原成分）先包被到聚苯乙烯微量板表面，红细胞或血小板的膜抗原可捕获患者或供者血清（或血浆）中特异性抗体。短暂孵育后洗去游离抗体并加入抗 IgG 包被的指示红细胞，通过离心，促使包被了指示红细胞的抗 IgG 与结合于红细胞或血小板膜表面的抗体发生反应。检测结果为阳性时，由于包被红细胞层表面有抗 IgG-IgG 复合物的形成，这就阻碍了指示红细胞向微量孔底部流动。由于抗体的桥联作用，黏附于包被红细胞或血小板表面的指示红细成为第二个细胞层。在无抗原抗体反应时（即阴性试验）中，指示红细胞在流动过程中不会受到阻碍，从而在微量孔板底部聚集成纽扣状。适用于红细胞交叉配血试验、IgG 类不规则抗体筛查、血小板交叉配血试验和血小板抗体检测。

知识点

常用交叉配血试验方法的优缺点

方法	检测抗体种类	优点	缺点
盐水法	IgM	简便、经济，能检测不规则抗体，是保证 ABO 同型输注的重要试验	灵敏度低，只能查 IgM 抗体
抗球蛋白法	IgM、IgG	检测 IgG 抗体最敏感可靠	操作繁琐、费时
微柱凝胶法	IgM、IgG	灵敏度和准确性高，重复性好，试验结果易判读和保存，易自动化、标准化	成本较高
酶法	IgM、IgG	简便、经济，可作为批量配血的方法	准确性和稳定性较差，不能检测 MNS、Duffy 等系统
聚凝胺法	IgM、IgG	简便、价格低廉、耗时较短，适于输血科、血库作为常规配血方法	对检测 Kell 血型系统抗体不理想，不能用肝素抗凝。试验易出现偏差，需设置合理对照
固相捕获法	IgG	能检测 IgG 类抗体所致的不相容性	无法全部检出 IgM 类抗体引起的不相容性

【问题 3】若患者红细胞存在同种抗体或自身抗体，如何规范进行输血？

规范输血的方法：①首先需搞清患者出现配血不相合的原因及明确其血型；②对直抗 C3 阳性的患者，应给予洗涤红细胞输注；③对检出同种抗体的患者，应使用相应抗血清筛选相应表型阴性的献血者红细胞输注；④对检出未确定特异性自身抗体，又需反复输血的患者，应使用 Rh 抗血清鉴定患者的 Rh 表型，并筛选献血者，尽量给予 Rh 同型红细胞，由于交叉配血呈阳性反应，作为抢救用血，一次输注量不超过 400ml；⑤对检出类同抗体特异性自身抗体的患者，应使用抗血清筛选相应表型阴性的献血者红细胞输注，虽交叉配血此类红细胞反应最弱，但仍呈阳性反

学习笔记

应，作为抢救用血，一次输注量不超过400ml。

知识点

献血者表型筛选

在搞清患者出现配血不相合的原因及明确血型的基础上，必要时，对献血者红细胞特定表型进行筛选，以排除可能由于同种抗体导致的输血反应，最大限度保证安全输血。而红细胞特殊交叉配血综合了血型检测和血型抗体相关检测的诸多方法，在实际工作中，操作技术要求较高，步骤复杂，耗时耗力，常由血站或血液中心完成。

【问题4】该患者输血后，可能会出现哪些输血不良反应？预防措施有哪些？

输血不良反应指输血过程中或输血后发生的不良反应，发生率约为10%。临床上按输血反应发生时间，分为急性和迟发性输血反应。发生于输血24小时内的称为急性反应，发生于输血24小时后的称为迟发性反应。按输血反应有无免疫因素的参与，可分为免疫性反应和非免疫性反应。常见输血不良反应包括输血感染、溶血性输血反应、发热非溶血性输血反应、输血相关急性肺损伤、细菌感染、输血相关移植物抗宿主病、输血后紫癜和过敏反应等。

思路1：输血感染（transfusion infection）是指患者在医疗过程中，输入带病毒或细菌（如艾滋病病毒、肝炎病毒、痢疾、结核和梅毒螺旋体等传染性病毒或细菌）的血液或血制品，给身体带来巨大损害。通常可采取的预防措施：①严格筛选献血者；②严格进行血液病毒标志物的筛选检测；③严格按无菌操作；④加强对血液制品病毒灭活；⑤合理用血，提倡成分输血和自身输血。

思路2：溶血性输血反应是由于供受者之间血液免疫不相容导致的输注红细胞在受血者体内溶血或被清除。通常按输血后发生的时间分为急性溶血性输血反应（acute hemolytic transfusion reaction，AHTR）和迟缓性输血反应（delayed hemolytic transfusion reaction，DHTR）。大多数严重AHTR由ABO血型系统不相容输血引起，人为差错是主要原因，小部分不相容输血与Kidd、Kell、Duffy等血型抗体有关。引起AHTR的抗体大多为IgM，少数为补体结合性IgG。DHTR多由Rh（如E、c、D）、Kidd、Kell、Duffy、Diego等血型系统抗体引起，有些抗体，如抗E下降很快，致敏患者输血前检查常为阴性。引起DHTR的抗体多为IgG。通常可采取预防措施：①必须在输血前进行血型血清学检查，包括ABO正反定型、RhD血型、抗体筛查、交叉配血试验；②建立严格的管理制度，加强教育和技术培训，避免在整个输血过程中因疏忽而发生差错。

思路3：发热非溶血性输血反应（fever non-hemolytic transfusion reaction，FNHTR）是在输血中或输血后体温升高≥1℃，并以发热、寒战等为主要临床表现，且能排除溶血、细菌污染、严重过敏等引起发热的一类输血反应。主要由2个机制产生，分别是：①抗体介导：由白细胞、血小板、红细胞等抗体结合到相应细胞上诱导；②由血制品在储存期产生的生物活性物质诱导，主要是IL-1β、IL-6、TNF-α和PF4。通常可采取的预防措施为：①保证采、输血器具和制剂无致热源；②对反复出现发热反应者应选用少白细胞的红细胞、洗涤红细胞或安装床边白细胞过滤器，必要时可提前服用抗致热源药物。

思路4：输血相关急性肺损伤（transfusion-related acute lung injury，TRALI）是一种输血后急性呼吸窘迫综合征。一般发生在输血后6小时内，患者立即发生呼吸困难和呼吸急促。有肺裂纹，但无充血性心力衰竭和循环过负载迹象，胸片示双侧肺水肿，但无心力衰竭。发病机制主要由于供血者血浆中HLA抗体、人类粒细胞抗原（human neutrophil antigen，HNA）抗体引起中性粒细胞在受血者肺血管中聚集，激活补体，损伤触发肺内皮细胞损伤和微血管通透性增加导致水肿。通常可采取的预防措施为：①严格掌握输血适应证，避免不必要输血；②尽可能选择输注少血浆成分或不含血浆成分的血液制品，如浓缩红细胞，需输注血浆含量多的血制品（如血小板、血浆、

学习笔记

冷沉淀等)时,最好选择无输血史的男性和(或)初产妇作为供血者;③对妊娠3次以上的女性不宜作全血献血者,但可用洗涤红细胞。

思路5:血液采集过程中带入或献血者本身带有细菌而造成血制品细菌污染的情况在红细胞制品中较少,其频率约为0.3/10 000,在血小板制品中频率高达1/5000。因为血小板制品通常保存在22℃条件下,细菌较易生长。实验室检查主要包括直接涂片镜检和细菌培养。通常可采取的预防措施为:①选择正规厂家生产合格的一次性采血、输血器材;②在采血和输血时严格无菌操作;③对可疑细菌污染的血制品不得发出、不能输注;④存在感染病灶的献血员应暂缓献血。

思路6:输血相关移植物抗宿主病(transfusion-associated graft-versus-host disease,TA-GVHD)是指免疫缺陷或免疫受抑的患者不能清除输入血液中具有免疫活性的淋巴细胞,使其在体内植活增殖,将患者组织器官识别为非己物质,作为靶标进行免疫攻击和破坏引起一种致命的输血并发症。预防措施:①严格掌握输血适应证,加强成分输血;②血液辐射通过控制射线剂量可选择性杀灭血中有关免疫活性的淋巴细胞,防止输血相关性移植物抗宿主病的发生。

思路7:输血后紫癜(post-transfusion purpura,PTP)多发生于有妊娠史的妇女或有输血史的患者。主要病因是体内含血小板特异性抗体。血小板抗原阴性者因多次妊娠或输血产生血小板特异性抗体,再次输入血小板抗原阳性血液时,抗原与抗体形成免疫复合物,此复合物吸附在血小板表面被单核-巨噬细胞系统破坏。一般在输血后5~10天发病。本病难以预防,对输血后紫癜病史患者,能不输血尽量不输血。

思路8:输血性过敏反应是常见输血后不良反应,包括荨麻疹、血管神经性水肿、关节痛、胸闷、气短、呼吸困难和低血压休克,获得其中1项以上者即确诊为过敏反应。引起输血性过敏反应的抗体多为IgA类抗体。常用预防措施为:①输血前应询问有无过敏史,有血浆过敏史者,输血前可用抗组胺药或糖皮质激素进行预防,必要时输注洗涤红细胞;②对缺乏IgA,且血中存在IgA抗体者,输注不含IgA的血液成分,即输注IgA缺乏献血员的血液或经生理盐水充分洗涤的红细胞。

知识点

输血不良反应的分类

分类	急性反应	迟发性反应
免疫反应	发热反应、过敏反应、急性溶血反应、输血相关性急性肺损伤	迟发性溶血反应、输血相关性移植物抗宿主病、输血后紫癜、输血致免疫抑制作用、白细胞输注无效、血小板输注无效
非免疫反应	细菌污染、非免疫性溶血、枸橼酸中毒、循环负荷过重、空气栓塞、低体温、出血倾向、电解质紊乱、肺微血管栓塞	血管性静脉炎、输血相关感染性疾病(如各种病毒性肝炎、HIV、巨细胞病毒、细菌、梅毒、多种寄生虫等)、含铁血黄素沉着症或血色病

【问题5】在临床上发生输血不良反应时应如何处理?

临床上当怀疑病人可能发生溶血反应或细菌污染输血反应时:①立即停止输血,同时观察剩余血外观;②采集患者血液及供者血袋中剩余血送检分析;③留取患者反应后第一次尿液(急性溶血性输血反应者因血管内溶血会引起血红蛋白尿);④抢救;⑤指导检验人员设计检测分析程序。

当检验人员收到输血后反应的样本后,应当立即分析:①复核用血申请单、血袋标签、交叉

学习笔记

配血记录；②复核患者 ABO 血型（输血前留置样本与反应后采集样本都应进行）；③复核输血前留置的供者血样本及血袋中剩余血的 ABO 血型；④将患者输血前、后样本与血袋中剩余血进行交叉配血试验；⑤检测患者输血前样本 Rh 血型（尤其 D、E）；⑥抗体筛选，抗体检测；⑦患者输血后血标本和剩余血涂片检查和细菌培养（分别做需氧菌和厌氧菌培养）；⑧检测血清中游离血红蛋白、胆红素、尿素、肌酐、尿血红蛋白及尿含铁血黄素，进行外周血涂片检查、全血细胞计数和凝血试验等。

【问题 6】为了避免输血传播性疾病的发生，应对血源做哪些相关检测？

（1）丙氨酸氨基转移酶（ALT）：是从侧面反映整个肝细胞的损伤程度，排除甲型至戊型肝炎病毒感染。但 ALT 特异性较差，造成 ALT 变化因素较多，随 HBsAg 和抗 -HCV 检测试剂灵敏度的提高，ALT 对提高血液安全性的价值越来越小，因而许多国家已将 ALT 列为非必检项目。

（2）乙型肝炎病毒（HBV）：①肝功能检查：出现血清胆红素、ALT、AST 及血清蛋白等改变；②血清学方法检测：HBsAg、抗 -HBs、HBeAg、抗 -HBe 及抗 -HBc；③基因扩增法检测 HBV DNA：HBV 早期感染的最直接证据；④其他检测：包括凝血酶原检测、尿常规及血氨检测等对诊断肝炎均有一定指导意义。

（3）丙型肝炎病毒（HCV）：HCV 是经血液传播的主要病源之一，HCV 检测是预防丙肝传播的关键试验。①HCV 抗原检测：感染 HCV 40 天左右即可检出 HCV 抗原，使 HCV 感染窗口期进一步缩短。②抗 -HCV 检测：ELISA 检测抗 -HCV 的窗口期平均为 70 天。化学发光法也是常用检测方法。抗 -HCV 的确认试验一般采用重组免疫印迹法。抗 -HCV 中 C22、C33-c 抗体出现最早，抗 -C 次之，NS1 及 NS4 抗体阳性率低。因此，利用重组免疫印迹法检测抗 -HCV 时，将各段抗体组合，可提高抗 -HCV 检测的敏感度。③HCV-RNA 检测：HCV 感染后，血清 HCV-RNA 要比抗 -HCV 早出现数周，血清 HCV-RNA 检测已成为早期 HCV 病毒血症筛查的“金指标”。

（4）梅毒：目前常用的梅毒血清学试验包括：①不加热反应素试验（USR）；②梅毒螺旋体血凝试验（TPHA）；③荧光螺旋体抗体吸收试验（FTA-ABS）；④明胶凝集试验（TPPA）；⑤蛋白印迹试验（WB）；⑥ELISA 法；⑦PCR 技术；⑧金标法。血液在 2~6℃保存 72 小时后，可有效避免阳性梅毒的感染，确保临床用血安全。

（5）HIV 病毒：主要包括 HIV 病原学检查和血清学检查即 HIV 抗体检测。①病原学检查：包括病毒分离、原位杂交、P24 抗原检测及 HIV 核酸检测四种方法。病毒分离方法一般用于科研，原位杂交可显示病毒感染的原始部位，P24 抗原和 HIV 核酸检测能早期发现 HIV 感染。② HIV 抗体检测：包括初筛试验和确认实验，初筛试验包括 ELISA 法、胶体金快速试验及颗粒凝集法等；确认实验如免疫印迹法等。HIV-RNA、P24 抗原和 HIV 抗体分别在 HIV 感染后第 11 天、第 16 天和第 22 天可检测到。

（6）巨细胞病毒（CMV）：包括：①血清学检查：CMV 抗体是检测 CMV 感染比较常用的检测方法，常用乳胶凝集法、ELISA 法、间接血凝法和补体结合法；②PCR 检测 CMV-DNA；③病毒分离和抗原检测：CMV 分离可借助人胚成纤维细胞进行，但这种 CMV 分离方法需时较长，不宜用于临床。CMV 抗原的检测有利于 CMV 感染的早期诊断。

（7）疟疾：目前常用检测方法包括血涂片检查和间接荧光抗体试验（IFA），分别是：①血液厚、薄涂片经瑞氏吉姆萨染色后镜检是诊断疟疾的简单方法，在寒战早期采取血标本常可发现环状体，发作数日后可发现配子体；②IFA 敏感性较高，但试验耗时太长，不适于疟疾流行地区大规模献血员的筛查；③其他检测方法还包括疟原虫 DNA 检测，疟原虫特异性抗原和特异性抗体的 ELISA 法和放免法检测等。

其中，病毒核酸检测技术正逐步用于献血者血液常规筛查，使我国血液筛查体系在技术层面上有了飞跃，在减少血液“窗口期”输血感染疾病方面迈出了坚实的一步。

学习笔记

知识点

窗　口　期

窗口期是指病毒感染后直到出现可检出病毒标志物前的时期。处于窗口期的感染者已存在病毒血症，血液具有传染性，但常规血液病毒标志物检测阴性，这样的血液输给患者可能导致相关病毒感染。

第二节　新生儿溶血病检查

新生儿溶血病（hemolytic disease of newborn，HDN）是指因母、婴血型不合而引起的同族免疫性溶血。我国以ABO血型不合者占多数，Rh血型不合者较少，其他如MN、Kell血型系统等少见。有很多原因可引起新生儿溶血。目前人类已发现20个血型系统，发生新生儿溶血病以ABO系统最多，其次为Rh系统。据统计，所有分娩中大概有20%~30%概率会出现母婴血型不合。患新生儿溶血症婴儿会出现各种症状，主要表现为黄疸、肝（脾）大、贫血等。症状轻的进展缓慢，全身状况影响小；严重的病情进展快，出现嗜睡、厌食，甚至发生胆红素脑病或死亡。

病历摘要：

患儿，男性，<1岁，苗族。在县医院出生后当日皮肤出现黄染，治疗8天未见好转，至省医院就诊，因患儿严重贫血，需输血，行交叉配血试验，发现聚凝胺法同型血液主/次侧有凝集，患儿母亲无输血史，有4次妊娠史，第1胎人工流产，第2胎和第3胎产后因不明原因黄疸而死亡，疑似该患儿黄疸是由母婴血型不合造成，做新生儿溶血病筛查。本例查出抗E-IgG和抗c-IgG抗体，临床经对症治疗，输注ABO同型和红细胞上无E抗原的洗涤红细胞后，症状好转，两周后出院。

【问题1】临床上常见的新生儿溶血病的发病机制为何？该患者属于哪一种类型？

新生儿溶血病发病机制：由父亲遗传而母亲不具有的显性胎儿红细胞血型抗原，导致母婴血型不合，若分娩时胎儿红细胞进入母血，则母亲产生相应的抗体，在怀孕下一胎（胎儿血型与上一胎相同）时，母体不完全抗体（IgG）进入胎儿血循环，与红细胞表面抗原结合，形成致敏红细胞，在单核巨噬细胞系统被破坏而引起溶血。其中，ABO溶血病约占新生儿溶血病的85%，主要发生于母亲为O型，胎儿为A型或B型者。40%~50%的ABO溶血病发生在第一胎，临床表型较轻。Rh溶血病约占新生儿溶血病的15%，Rh血型系统在红细胞膜上有6种抗原C、D、E、c、d、e，抗原性强弱依次为D>E>C>c>e，以RhD溶血病最常见，约占90%。我国各民族Rh阴性发生率各异，汉族<1%，苗族13.2%，布依族9.3%，维吾尔族4.46%。当母亲产生的抗D-IgG抗体进入胎儿体内即发生Rh溶血，常发生在第二胎，第一次怀孕前已致敏者第一胎即可发病，如图18-2-1所示，临床表现较重，且随胎次增加而加重。本例患儿最可能的诊断为Rh血型不合所致的新生儿溶血病。

知识点

新生儿溶血病

新生儿溶血病亦称为新生儿同种免疫溶血病，是母婴血型不合引起的新生儿同种免疫性溶血，是新生儿黄疸的主要原因。因母体产生与胎儿红细胞血型抗原相对应的抗体，经胎盘进入胎儿血循环作用于胎儿或新生儿红细胞引起溶血病。以ABO血型不合所致多见，其次为Rh血型不合，其他血型系统如MN、Kidd、Kell、Duffy血型不合所致者罕见。

学习笔记

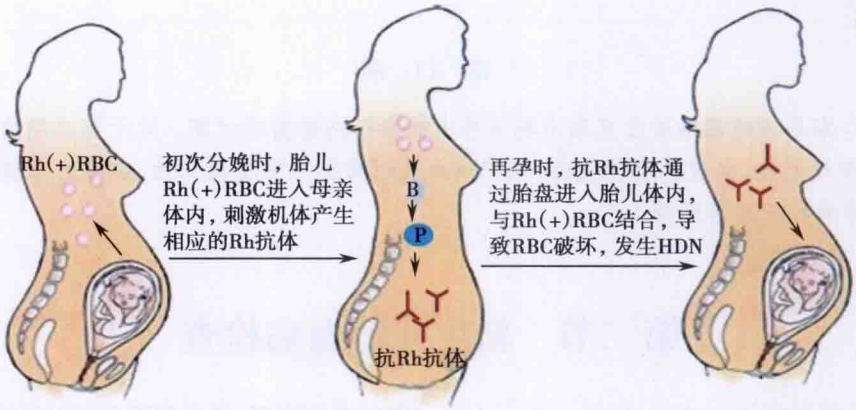


图 18-2-1　Rh 新生儿溶血发病机制图

知识点

新生儿黄疸

新生儿黄疸是指新生儿时期，由于胆红素代谢异常，引起血中胆红素水平升高，而出现以皮肤、黏膜及巩膜黄疸为特征的病症，本病有生理性和病理性之分。

知识点

临床新生儿溶血病的鉴别诊断

	ABO 溶血病	Rh 溶血病
血型		
– 母亲	O	Rh 阴性
– 胎儿	A 型或 B 型	Rh 阳性
抗体类型	IgG_2，通过胎盘能力较 IgG_1 和 IgG_3 弱	首次激发的为 IgM，不通过胎盘，以后妊娠激发为 IgG_1/IgG_3，可通过胎盘
溶血方式	非补体介导的吞噬致敏红细胞	非补体介导的吞噬致敏红细胞
临床特点		
– 首次分娩发生率	40%~50%	5%
– 再次分娩发生率	无	明显
– 严重贫血	少	常见
– 肝(脾)大	+	+++
– 黄疸程度	+	+++，可致胆红素脑病
– 死胎和胎儿水肿	少	常见
– 迟发溶血(出生后 4~8 周)	少	常见
实验室特点		
– 母亲抗体	抗 A、抗 B 抗体	抗 Rh 抗体，一直存在
– 球形红细胞	多	少或无
– 胎儿直接抗球蛋白试验	+/–	+
– 胎儿间接抗球蛋白试验	+	+

学习笔记

【问题 2】患儿和母亲红细胞血型鉴定结果如下。若考虑胎儿存在血型抗体，检测方法有哪些？

患儿和母亲红细胞血型鉴定结果表

	A抗	B抗	D抗	C抗	c抗	E抗	e抗
患儿	0	++++	++++	++++	++++	++++	0
母亲	0	++++	++++	++++	0	0	++++

（1）胎儿存在血型抗体的检测方法

1）改良直接抗球蛋白试验：是测定患儿红细胞上结合的血型抗体。用最适稀释度的抗球蛋白血清与充分洗涤后的受检红细胞盐水悬液混合，若有红细胞凝集为阳性，表明红细胞已致敏。

2）抗体释放试验：是测定致敏红细胞的敏感试验。通过加热使患儿血中致敏红细胞的血型抗体释放于放散液中，将其与和患儿血型相同的成人 O 型标准红细胞混合后，若有红细胞凝集则为阳性。

3）游离抗体试验：是测定患儿血清中来自母体的血型抗体。患儿血清中加入与其血型相同的 O 型标准红细胞，再加入抗球蛋白血清，若有红细胞凝集则为阳性，表明血清中存在游离的 Rh 血型抗体并可能与红细胞结合引起溶血。

（2）母亲血清中血型抗体的检测方法

1）IgG 抗 A 或 B 效价：检测母亲血清中有无 ABO 血型 IgG 抗体及其滴度。母亲血清用巯基乙醇破坏 IgM 后，等倍稀释，分别与 A 型或 B 型红细胞混合，有凝集的记录为盐水滴度 / 积分，未凝集的红细胞洗涤后，加入最适稀释度的抗球蛋白血清，以红细胞凝集的最高稀释度倒数记为 IgG 抗 A 或 B 效价。

2）Rh 血型抗体及其效价：用盐水法、酶法或抗球蛋白试验检测母亲血清中 Rh 抗体，当检出某种 Rh 抗体时，应选择适当的对象红细胞和适当的方法滴定效价。Rh 效价≥1 ∶ 64 时，血型不合胎儿的死胎率较高。

本例患者母亲血清与患儿细胞放散试验结果如下表，根据反应格局结果确定为抗 E-IgG 抗体。选取 O 型 DCCEE 红细胞检测抗 E-IgG 效价为 16，选取 O 型血 Dccee 红细胞检测抗 c-IgG 效价为 4。

知识点

新生儿溶血病的实验室检查试验

包括：①母婴血型检查，证实存在血型不合；②血常规；③致敏红细胞和血型抗体测定，证实婴儿血液中有致敏红细胞或血型抗体，以及母亲血液中有血型抗体；④血生化测定，患儿血清总胆红素和非结合胆红素增高；⑤葡萄糖 -6- 磷酸脱氢酶活性测定：与 G-6-PD 缺乏症鉴别诊断。

知识点

新生儿 ABO 溶血病的诊断标准

①出生后 2~3 天出现黄疸，血清胆红素以非结合胆红素增高为主；②血红蛋白 <145g/L，网织红细胞 >6%，有核红细胞 >10/100 个白细胞；③血型：母亲为 O 型，婴儿为 A 型或 B 型，母亲血抗 A 或 B 抗体滴度≥1 ∶ 64；④改良直接抗球蛋白试验阳性和抗体释放试验阳性。游离抗体试验阳性可判断是否继续溶血。

学习笔记

母亲血清与患儿细胞放散和谱细胞试验结果

序号	D	C	E	c	e	M	N	S	s	K	k	Lea	Leb	P	母亲血清	患儿红细胞放散液	DCCEE 红细胞吸收后血清	DCCEE 红细胞放散液
1	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	0	0
2	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+
3	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0
4	+	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+
6	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0
7	0	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0
8	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	/	0	/	+	+	+	0	+
9	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0
10	+	0	+	+	0	+	+	+	+	+	+	/	+	0	+	+	+	+

知识点

新生儿 Rh 溶血病的诊断标准

①胎儿全身水肿、苍白、胸水、腹水、肝(脾)大、心力衰竭;②出生 24 小时出现黄疸,迅速加重,血清胆红素以非结合胆红素增高为主;③血红蛋白 <145g/L,网织红细胞 >6%,有核红细胞 >10/100 个白细胞;④母亲为 Rh 阴性,婴儿为 Rh 阳性,母亲血抗 Rh 抗体滴度≥1∶32 或动态增高;⑤改良直接抗球蛋白试验阳性和抗体释放试验阳性。游离抗体试验阳性可判断是否继续溶血。

知识点

新生儿溶血病的产前诊断标准

1. 常规检查孕妇和丈夫的血型(ABO 和 Rh 血型),如孕妇为 O 型或 Rh 阴性,丈夫为 A 型或 B 型或 Rh 阳性,胎儿才有可能发生同种免疫性溶血病。还要详细了解既往输血史、妊娠史和流产史。

2. 孕妇为 Rh 阴性,丈夫为 Rh 阳性,应做直接抗球蛋白试验,以确定孕妇血清内有无抗 Rh 抗体及其滴度。如首次为阴性应于妊娠 12~16 周、28~32 周、36 周各复查 1 次。如首次为阴性,第 2 次阳性,应每隔 1~2 周复查,以监测其效价有无增加。如首次即阳性,复查时抗体效价达≥1∶64 可能有 Rh 溶血病,应监测胎儿。如以往妊娠史中有死胎、流产或新生儿溶血病者更应监测胎儿。超声检查发现胎儿器官肿大(如肝、脾、心、胃壁水肿)和胎盘增厚,提示有早期胎儿水肿,如发现皮肤、头皮水肿,胸水、心包积液和腹水提示严重胎儿水肿。

3. 孕妇为 O 型,丈夫为 A 型或 B 型,母体血液中天然免疫性抗 A 或抗 B 抗体效价≥1∶64,提示胎儿可能发生 ABO 溶血病,但发生胎儿水肿极少。

【问题 3】如何预防新生儿溶血的发生?

新生儿溶血病的原因主要分为两种:ABO 血型系统不合,Rh 血型系统不合。在我国,最常见的是 ABO 血型系统不合。ABO 血型不合溶血病 99% 以上常发生在母亲血型为 O 型,父亲血型为 A 型、B 型和 AB 型的胎儿。夫妻双方有上述血型的情况,可以通过孕前和孕期检查并及时干预,减少新生儿溶血病的发生。如在孕前被查出血型抗体效价高者可在孕前先进行治疗来降低抗体,预防怀孕后患 ABO 溶血病。即使孕前没有做过抗体检测,也可以通过定期查孕后抗体效价来预防,第一次孕 16 周开始查抗体,第二次孕 28~30 周,以后 2~4 周查一次,自抗体效价增高时开始给予孕妇治疗。但所用药物不能对胎儿造成伤害,同时又能有效降低母体抗体的产生,避免重度溶血的产生。

凡 RhD 阴性的孕妇在流产或分娩第 1 个 RhD 阳性婴儿后的 72 小时内肌注抗 -D 免疫球蛋白,下次妊娠的 29 周时再肌注 300μg,再分娩时发生溶血的可能性和严重性大为下降。

妊娠妇女在做常规产前检查外,还要进行一些免疫血液学咨询和实验室检查,如妊娠史、HDN 史、ABO 血型检查、RhD 血型检查、不规则抗体筛查等。产前血型血清学检查可为诊断和预防 HDN 提供依据,并指导临床采取相应措施,防止 HDN 发生,对优生优育、提高人口素质具有重要意义。

(胡晓波)

学习笔记

参考文献

[1] 丛玉隆,王前.临床实验室管理.第2版.北京:中国医药科技出版社,2010.

[2] 丛玉隆,尹一兵,陈瑜.检验医学高级教程.北京:人民军医出版社,2010.

[3] Genzen JR,Tormey CA. Pathology consultation on reporting of critical values.Am J Clin Pathol,2011,135(4):505-513.

[4] Kost GJ,Hale KN. Global trends in critical values practices and their harmonization. Clin Chem Lab Med,2011,49(2):167-176.

[5] The Joint commission. Accreditation Program:Laboratory,National Patient Safety Goals(NPSG.02.03.01). http://www.jointcommission.org/Accessed,2010-07-12.

[6] 张秀明,黄宪章,曾方银,等.临床生化检验诊断学.北京:人民卫生出版社,2012.

[7] 陈灏珠,林果为,王吉耀.实用内科学.第14版.北京:人民卫生出版社,2013.

[8] 栗占国,张春贤,曾小峰.风湿免疫学高级教程.北京:人民军医出版社,2013.

[9] Houssiau FA,Lauwerys BR. Current management of lupus nephritis. Best Pract Res Clin Rheumatol,2013,27(3):319-328.

[10] Mjaavatten MD,Bykerk VP. Early rheumatoid arthritis:the performance of the 2010 ACR/EULAR criteria for diagnosing RA. Best Pract Res Clin Rheumatol,2013,27(4):451-466.

[11] 武建国.SLE和类风湿关节炎的新分类标准.临床检验杂志,2013,31(7):481-483.

[12] 缪晓辉,冉陆,张文宏,等.成人急性感染性腹泻诊疗专家共识.中华传染病杂志,2013,31(12):705-714.

[13] Chen Y,Chen X,Zheng S,et al,Serotypes,genotypes and antimicrobial resistance patterns of human diarrhoeagenic Escherichia coli isolates circulating in southeastern China. Clin Microbiol Infect,2014,20(1):52-58.

[14] 刘成玉,罗春丽.临床检验基础.第5版.北京:人民卫生出版社,2012.

[15] 叶辉铭,陈佳美,张清渊,等.免疫法粪便隐血试验用于消化系统疾病的消化道出血评估研究.中国全科医学,2013,16(4):1128-1131.

[16] 陈雨,程闽,李薇,等.自动化尿液干化学和有形成分分析复检规则的制定和应用.中华检验医学杂志,2011,34(6):501-506.

[17] Alatoom A,Ansari MQ,Cuthbert J,et al. Multiple Factors Contribute to Positive Results for Hepatitis A Virus Immunoglobulin M Antibody.Archives of Pathology & Laboratory Medicine,2013,137(1):90-95.

[18] 王玲玲,廖远泉.丙型肝炎病毒及丙型肝炎流行病学概述.现代临床医学,2013,39(5):326-329.

[19] 吴超良.胶体金法与酶联免疫法检测丙型肝炎病毒抗体的比较.临床医学工程,2011,18(5):701-702.

[20] Ning TZ,Kin WW,Mustafa S,et al. Detection of Entamoeba histolytica in experimentally induced amoebic liver abscess:comparison of three staining methods. Asian Pac J Trop Biomed,2012,2(1):61-65.

[21] Snow RW,Punam Amratia,Kabaria CW,et al. The Changing Limits and Incidence of Malaria in Africa:1939-2009. Adv Parasitol,2012,78:169-262.

[22] 陈东科,孙长贵.实用临床微生物学检验与图谱.北京:人民卫生出版社,2011.

[23] 李艳,李金明.个体化医疗中的临床分子诊断.北京:人民卫生出版社,2013.

[24] 汪德清,于洋.输血相容性检测实验室质量控制与管理.北京:人民军医出版社,2011.

中英文名词对照索引

21- 三体综合征(21 trisomy syndrome) …… 584
α_1- 微球蛋白(α_1-microglobulin,α_1-MG) …… 385
β_2- 微球蛋白(β_2-microglobulin,β_2-MG) …… 383
γ- 谷氨酰转肽酶(gamma-glutamyl transferase,γ-GT) …… 389

A

APACHE-Ⅱ(acute physiology and chronic health evaluation) …… 137

B

表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR) …… 611
表型耐药(phenotypic resistance) …… 601
丙氨酸氨基转移酶(alanine transaminase,ALT) …… 388
病毒性肺炎(viral pneumonia) …… 285
病毒性肝炎(viral hepatitis) …… 447
病原体(pathogen) …… 457

D

单纯疱疹病毒 1 型和 2 型(herpes simplex virus 1 and 2,HSV) …… 457
胆红素(bilirubin) …… 390
胆碱酯酶(cholinesterase,CHE) …… 390
胆汁酸(bile acids) …… 391
低钾血症(hypokalemia) …… 412
低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C) …… 401
低钠血症(hyponatremia) …… 412
电化学发光免疫分析(electrochemiluminescence immunoassay,ECLIA) …… 451
对流免疫电泳(counter immunoelectrophoresis,CIE) …… 439
多功能显微诊断仪(multifunctional microscopy diagnostic instrument,MDI) …… 465

F

反向斑点杂交(reverse dot blot,RDB) …… 594
肺炎支原体(mycoplasma pneumoniae) …… 466
风疹病毒(rubella virus,Rv) …… 457

G

甘油三酯(TG) …… 401
高钾血症(hyperkalemia) …… 412
高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C) …… 401
高钠血症(hypernatremia) …… 412
弓形虫(toxoplasma gondii,Tox) …… 457
钩状效应(hook effect) …… 450
胱抑素 C(cystatin C,Cys-C) …… 385
国际标准化组织(the international organization for standardization,ISO) …… 2

H

化学发光法(chemiluminescence immunoassay,CIA) …… 439
化学发光酶免疫分析(chemiluminescence enzyme immunoassay,CLEIA) …… 451
化学发光免疫分析(chemiluminescence assay,CLIA) …… 447,451

J

基因型耐药(genotypic resistance) …… 601
基因诊断(gene diagnosis) …… 591
急性冠脉动脉综合征(acute coronary syndrome,ACS) …… 408
急性胰腺炎(acute pancreatitis,AP) …… 134
继发性免疫缺陷(acquired or secondary immunodeficiency) …… 427
假阳性(false positive,FP) …… 34
假阴性(false negative,FN) …… 34
间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence assay,IIF) …… 439
碱性磷酸酶(alkaline phosphatase,ALP) …… 389
金标准(gold standard) …… 34
巨细胞病毒(cytomegalovirus,CMV) …… 457
聚合酶链反应(polymerase chain reaction,PCR) …… 594

K

可靠性(reliability)…… 34
扩增阻滞突变系统(amplification refractory mutation system ,ARMS) …… 614

L

联合免疫缺陷病(combined immunodeficiency disease, CID)…… 429
临床耐药(clinical resistance)…… 601
临床实践指南(clinical practice guideline,CPG) …… 33
临床实验室(clinical laboratory)…… 2
临床实验室改进修正案(clinical laboratory improvement amendment)…… 2
淋巴样浆细胞淋巴瘤 / 华氏巨球蛋白血症(lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenströn macroglobulinemia)…… 233
灵敏度(sensitivity,Sen)…… 34

M

慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B,CHB)…… 599
梅毒螺旋体酶联免疫吸附试验(treponema pallidum enzyme-linked immunosorbent assay,TP-ELISA)…… 464
梅毒螺旋体免疫印迹试验(western immunoblotting technique) …… 464
梅毒螺旋体明胶凝集试验(treponema pallidum particle agglutination,TPPA) …… 463
梅毒螺旋体血球凝集试验(treponema pallidum hemagglutination assay,TPHA) …… 464
酶联免疫吸附法(ELISA) …… 411
酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbant assay, ELISA)…… 439,447
美国临床生物化学学会(National Academy of Clinical Biochemistry,NACB) …… 472
美国临床肿瘤学会(American Society of Clinical Oncology, ASCO)…… 472
门冬氨酸氨基转移酶(aspartate transaminase)…… 389
免疫(immunity) …… 425
免疫层析试验(immunochromatography assay,ICA) …… 447,454
免疫扩散(immunodiffusion,ID)…… 439
免疫缺陷病(immunodeficiency disease,IDD) …… 427
免疫应答(immune response)…… 425
免疫组织化学技术(immunohistochemistry technique,IHC) …… 590
末端结构(terminal structure)…… 466

N

N- 乙酰 -β- 氨基葡萄糖苷酶(N-acetyl-β-glucosaminidase, NAG) …… 383
内生肌酐清除率测定(endogenous creatinine clearance, Ccr)…… 384
难治性血细胞减少伴多系细胞增生异常(refractory cytopenia with multi-lineage dysplasia,RCMD) …… 207
尿转铁蛋白(transferrin uria,TRU) …… 386

O

欧洲肿瘤标志物协作组(European Group on Tumor Markers,EGTM) …… 472

P

葡萄糖耐量实验(OGTT) …… 399

Q

前带现象(prezone phenomenon) …… 463
亲和力(avidity) …… 460
清蛋白(albumin,ALB) …… 388
全面质量管理(total quality management,TQM) …… 406

R

ROC 曲线(receiver operating characteristic curve) …… 36
人抗鼠抗体(human antimouse antibody,HAMA)…… 471

S

十二指肠溃疡(duodenal ulcer,DU) …… 111
实时 PCR(real time PCR,RT-PCR) …… 595
视黄醇结合蛋白(retinal-binding protein,RBP) …… 383

T

唐氏综合征(down syndrome)…… 584
特异度(specificity,Spe)…… 34

W

卫生技术评估(heath technology assessment,HTA) … 32
胃溃疡(gastric ulcer,GU) …… 111

X

X 连锁无丙种球蛋白血症(X-linked agammaglobulinemia, XLA) …… 428
系统评价(systematic review,SR) …… 33

细菌性肺炎(bacterial pneumonia)…… 285
线性免疫印迹法(line immunoblot assay,LIA)…… 439
腺苷脱氨酶(adenosine deaminase,ADA)…… 390
消化性溃疡(peptic ulcer,PU) …… 111
性病研究实验室试验(venereal disease research laboratory test,VDRL)…… 463
血清淀粉酶(amylase,AMS) …… 393
血清-腹水白蛋白梯度(serum-ascites albumin gradient,SAAG)…… 131
血清免疫球蛋白(immune globulin,Ig)…… 388
血清尿素(blood urea,BUREA)…… 383
血清尿酸(uric acid,UA) …… 385
血清葡萄糖(glucose,GLU) …… 396
血清脂肪酶(lipase,LPS) …… 394
血清总蛋白(total protein,TP) …… 388
循证检验医学(evidence-based laboratory medicine,EBLM)…… 31
循证医学(evidence based medicine,EBM) …… 31
循证医学实践(evidence based medicine practice,EBMP)…… 32

Y

阳性似然比[positive likelihood ratio,+LR 或 LR(+)]…… 34
阳性预测值(positive predictive value,PPV 或 +PV)…… 34
医学实验室(medical laboratory) …… 2
医学实验室-质量和能力的专用要求(medical laboratories-particular requirements for quality and competence)…… 2
乙型肝炎病毒(hepatitis B virus,HBV)…… 447
阴性似然比[negative likelihood ratio,-LR 或 LR(-)]…… 34
阴性预测值(negative predictive value,NPV 或 -PV)…… 34
荧光定量 PCR 技术(fluorescence quantitative PCR,FQ-PCR)…… 447,453
荧光密螺旋体抗体吸收试验(fluorescent treponemal antibody absorption test,FTA-ABS)…… 464
荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization,FISH)…… 590
原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis,PBC)…… 444
原发性免疫缺陷(congenital or primary immunodeficiency)…… 427
原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis,PSC)…… 444

Z

真阳性(true positive,TP) …… 34
真阴性(true negative,TN)…… 34
诊断性试验(diagnostic test) …… 33
支原体肺炎(mycoplasma pneumonia) …… 285
直接测序法(direct sequencing)…… 602
中国合格评定国家认可委员会(China national accreditation service for conformity assessment,CNAS)…… 2
中位值倍数(multiples of the median,MoM) …… 586
准确性(accuracy,AC) …… 34
自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis,AIH) …… 444
自身免疫性疾病(autoimmune disease)…… 425
综合受试者工作曲线(systematic receiver operator characteristic curve,SROC)…… 37
总胆固醇(TC) …… 401