

三种“肝功能試驗法”的比較研究

郭 分、蔣崔嵬、何华兴、譚肇安*

(吉林农业大学)

一、前 言

远在1885年阿法納斯耶夫氏(Афанасьев)曾实验地证明了肝臟是机体的蛋白質和动物性淀粉的仓库,曼(Man)氏也称肝臟是人体的补給站,可見肝臟在机体生命流动过程中具有极其重要的意义。肝臟位于腹腔內,特别是胃腸的血流徑路上,主要地参与中間代謝过程。并制造胆汁,参加消化和吸收。因此,它是机体新陳代謝的樞紐,是动物机体生命中不可缺少的器官,若切除肝臟可使动物因中毒而死亡。足見肝臟又是机体强大的防御装置和保护装置。对于从胃腸侵入体内及在体内重新形成的,特别是在病理条件下形成的各种有毒产物,有解毒作用,并且参与机体的免疫反应。在許多病理过程中(尤其是細菌、病毒、中毒等所引起的病理过程),都能够不同程度地影响着肝臟机能的改变,而由于肝臟机能的改变又必然引起整个机体机能的改变。

在大动物由于其局部解剖特点,为肝臟疾病的临床诊断造成了一定的困难。因此,很早以来人們即以肝臟在病理过程中引起机体物質代謝的改变为依据,提出了很多的实验室诊断法来诊断肝臟病。但因肝臟的机能复杂,而且肝臟本身貯备能量很多,再生机能也强。輕微而局限的肝臟疾患,單純地用一般試驗诊断法,是难于达到目的的,因此而需要合理地采用綜合性的诊断法。

最近在人医方面的有关書籍杂志中,曾先后报导过許多种对肝臟蛋白質代謝功能的試驗法,采取了其中的膠体石蜡反应試驗、孔克尔氏硫酸鋅濁度試驗及蘆戈氏碘液試驗三种。这些方法操作簡單,需用器材不多,可在設備比較簡單的兽医机构施行。我們在兽医系內科教研室的领导下及老师直接领导下,本着学习的精神探討了这三种方法在兽医诊断上的应用价值,但由于我們水平甚低,知識微淺,錯誤之处在所难免,更兼学习較忙,時間短促未获得滿意的結果。但为了从中吸取教訓,特作初步总结,希同志們批評指正。

二、試 驗 方 法

1. 膠体石蜡反应試驗:

甲 試剂:

(1) 膠体石蜡試剂:

精制石蜡100毫克; 无水酒精20毫升; 蒸餾水80毫升。

(2) 0.85%食鹽水。

乙、試驗方法:

(1) 在試驗馬匹空腹时采血、分离血清,如不能立即作,即于冰箱內保存。

(2) 于清浩干燥的試管內加血清0.2ml。

(3) 加生理鹽水2ml稀釋之。

(4) 加膠体石蜡試剂1ml,充分混合。

(5) 用棉花塞好試管口,在黑暗处靜置24小时,观察結果。

* 本文作者系吉林农大軍事兽医系本科第五期学上科学研究內科小組成員

丙、判定：

- (1) 試管內仍保持原來之灰白色半透明、混濁均勻沒有顆粒出現者，為陰性(-)。
- (2) 試管內液體仍混濁、振蕩之見管底有雲霧狀沉淀上升者，為陽性(+)。
- (3) 試管內液體仍混濁或上層部分透明，有明顯較大之顆粒，振蕩試管有明顯之雲霧狀沉淀自管底上升者，為強陽性(++)。

2. 孔克爾氏硫酸鋅濁度試驗：

甲、試劑：

(1) 硫酸巴比妥緩沖液試劑。

巴比妥鈉0.210克； 巴比妥0.280克； 硫酸鋅0.024克； 蒸餾水1,000ml。

(2) 標準比濁液：

① 氯化鋇1.15克、餾水100ml。

② 用餾水配制0.2N 硫酸液100ml。

③ 取1液0.3ml 置于中試管內，加入2液9.7ml 混勻即成硫酸鋇懸液，其濁度為20單位，比濁時再根據被檢液濁度情況酌情稀釋成不同單位。

乙、試驗方法：

- (1) 在馬空腹時采血，分離血清。
- (2) 用8—10ml 小試管1支、加入被檢血清0.1ml。
- (3) 再加硫酸鋅緩沖試劑6ml，混和均勻，待30分鐘後進行比濁。
- (4) 用比濁器進行比濁測定、并折算出被檢血清的單位數。

計算式：
$$\frac{\text{標準液濁度單位} \times \text{測定讀數}}{\text{標準讀數}} = \text{被檢液濁度單位。}$$

3. 蘆戈氏碘液試驗：

(一) 試劑：碘2克，碘化鉀4克，蒸餾水加至30.0配成原液。

(二) 將原液用餾水稀釋成：1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 等不同倍數進行試驗。

(三) 試驗方法：

- ① 于載物玻片上滴加被檢血清一滴。
- ② 再在滴加血清的玻片上分別滴加不同稀釋倍數的碘液1滴，搖動使之充分混合。
- ③ 放置5分鐘後觀察結果。

(四) 判定：

- ① 強陽性反應：被檢血清與碘液凝結成不易流動棕褐色塊狀物，記以“卅”號。
- ② 次強陽性反應：血清與碘液成半流動及大小不同的黃褐色塊狀，記以“卅”號。
- ③ 陽性反應：血清與碘液混合成半流動狀，其顆粒如粟粒大，記以“卅”號。
- ④ 弱陽性反應：血清與碘液混合將玻片對光或背面搖動觀察有稍細小的顆粒，記以“+”號。
- ⑤ 陰性反應：血清與碘液混合為透明淡黃色液體，無顆粒，記以“-”號。

三、實驗結果

1. 健康馬實驗：實驗馬為本校牧場的，口齒皆在5—12歲之間，[均系驃馬。每次采血前絕食12小時，臨床檢查，均未發現全身性疾病，系統檢查正常。采血後，于室溫下分離血清，置于冰箱中放一夜翌日作實驗，其結果如表一：

表1

健康馬三種肝機能試驗法試驗結果表

| 馬 | 項目 反應 名 | 膠 石 蠟 反 應 | 孔 克 爾 硫 酸 錳 濁 度 試 (單位) | 蓋 戈 氏 碘 試 驗 | | | | | | | | | | |
|--------------|---------------|-----------------------|---------------------------------------------------|-------------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|
| | | | | 原液 | 1.5 [×] | 2 [×] | 2.5 [×] | 3 [×] | 3.5 [×] | 4 [×] | 4.5 [×] | 5 [×] | 5.5 [×] | 6 [×] |
| 畜 | 年 | — | 2.2 | 冊 | 卅 | 卅 | 士 | — | — | — | — | — | — | — |
| 畜 | 鐵 | — | 1.3 | 冊 | 卅 | 卅 | + | — | — | — | — | — | — | — |
| 畜 | 興 | — | 2.0 | 冊 | 卅 | + | 士 | — | 均 | — | — | — | — | — |
| 畜 | 偉 | — | 1.0 | 冊 | 卅 | 卅 | + | 士 | | — | — | — | — | — |
| 畜 | 喬 | — | 1.25 | 冊 | 卅 | 卅 | + | 士 | 為 | — | — | — | — | — |
| 畜 | 花 | — | 1.23 | 冊 | 卅 | 卅 | + | + | | — | — | — | — | — |
| 畜 | 栗 | — | 1.33 | 冊 | 卅 | 卅 | 卅 | + | — | 陰 | — | — | — | — |
| 牧 | 海 | — | 2.0 | 冊 | 卅 | + | 士 | — | — | | — | — | — | — |
| 畜 | 紅 | — | 1.56 | 冊 | 卅 | 卅 | + | 士 | — | 性 | — | — | — | — |
| 畜 | 林 | — | 3.7 | 卅 | + | 士 | — | — | — | | — | — | — | — |
| 牧 | 畜 | — | 3.8 | 卅 | 卅 | 卅 | + | — | — | 反 | — | — | — | — |
| 偉 | 藍 | — | 3.7 | 冊 | 卅 | + | 士 | — | — | | — | — | — | — |
| 馴 | 毛 | — | 4.0 | 卅 | + | 士 | — | — | — | 應 | — | — | — | — |
| 零 | 号 | — | 2.5 | 冊 | 卅 | 卅 | + | 士 | — | | — | — | — | — |
| 試驗馬數 | | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 |
| 總 計 | — | 14 | | | | 2 | 6 | 12 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 |
| | + | — | | | 2 | 3 | 7 | 2 | | | | | | |
| | 卅 | — | | 2 | 5 | 9 | 1 | | | | | | | |
| | 冊 | — | | 2 | 7 | | | | | | | | | |
| | 冊 | — | | 10 | 0 | | | | | | | | | |
| (%) 阳性反應率 | | 0 | 平均2.25 | 100 | 100 | 86 | 57 | 14.3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

註：士反應統計在阴性反應內。

2. 可疑肝臟病馬試驗：實驗用馬均系本市生物制品研究所的免疫馬，口齒5—10歲，大部分系驢馬。臨床檢查：體溫、呼吸、脈搏無大異常，結膜多數有不同程度的黃色，頰下淋巴結均腫脹有鷄卵大、可移動，不具熱痛。肝臟觸診及打診多不認為有顯著異常。根據該所兽医同志歷年的診斷經驗，認為這些實驗馬具有不同程度的肝臟病。經實驗結果如表二：

表2

可疑肝脏病馬三种肝机能試驗法試驗結果表

| 項目 馬匹号数 | 反应 | 膠体 石蜡 反应 | 孔克尔 酸鋅 濁度 試驗 (單位) | 盧 戈 氏 碘 試 驗 | | | | | | | | | | |
|------------|-------------|----------------|-------------------------------|-------------|------|-----|------|----|------|----|------|----|------|----|
| | | | | 原液 | 1.5× | 2× | 2.5× | 3× | 3.5× | 4× | 4.5× | 5× | 5.5× | 6× |
| 644 | + | + | 5.66 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | - | ± | - | - | - | - | - |
| 630 | + | + | 5.5 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | + | + | ± | - | - | - | - |
| 737 | + | + | 6.0 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | + | + | - | - | - | - | - |
| 765 | - | - | 3.6 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | + | ± | - | - | - |
| 698 | + | + | 4.3 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | + | - | - | - | - | - | - |
| 742 | 冊 | 冊 | 3.3 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | + | ± | - | - | - | - | - |
| 756 | + | + | 2.6 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | + | - | - | - | - |
| 626 | + | + | 3.0 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | + | - | - | - | - |
| 731 | + | + | 5.0 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | + | - | - | - | - |
| 746 | + | + | 2.5 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | + | + | - | - | - |
| 748 | - | - | 5.3 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | + | + | - | - | - |
| 739 | - | - | 4.0 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | + | + | - | - | - |
| 735 | - | - | 4.0 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | + | - | - | - | - |
| 748 | + | + | 4.0 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | + | + | - | - | - |
| 792 | - | - | 2.2 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | + | + | - | - | - |
| 606 | + | + | 4.0 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | + | + | - | - | - |
| 811 | - | - | 5.0 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | + | - | - | - | - |
| 747 | - | - | 3.7 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | + | - | - | - | - |
| 7:3 | + | + | | | | | | | | | | | | |
| 總 計 | 試驗 馬數 | 19 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 |
| | 反 應 數 | 7 | | | | | | 2 | 4 | 10 | 17 | 18 | 18 | 18 |
| | + | 11 | | | | | 1 | 5 | 10 | 8 | 1 | | | |
| | 冊 | 1 | | | | | 9 | 11 | 4 | | | | | |
| | 冊 | | | | 3 | 9 | 8 | | | | | | | |
| 陽性率 (%) | 63 | 平均 單位 | 4.0 | 100 | 100 | 100 | 100 | 88 | 80 | 44 | 5.5 | 0 | 0 | 0 |

註：“±”反应統計于阴性反应中。

四、討 論

这三种試驗方法基本上都是以肝臟在病理过程时，表现在血清蛋白質成分的关系方面的改变（白蛋白和球蛋白比例的改变）为基础的。关于血清中白蛋白产生的地点，虽然学者們有着意見上的分歧，然而肝臟是白蛋白产生的主要地点，已經得到了一致的結論。因此，由于肝臟实質的病理过程而致的本身机能的减低，以致使白蛋白产生减少。球蛋白产生的地点，虽亦有不同的意見，但大多数人証实主要由網狀內皮系統所产生。肝臟的庫弗氏（Kuffer）細胞，在肝臟的病理过程中，可能因該細胞的增生及其机能的加强而使球蛋白产生增多。在正常情况下，白蛋白有抑制球蛋白使不发生絮狀沉淀的膠体保护作用，当二者的正常比例发生改变时（在正常时二者是处于相对稳定状态的），在适当的因素参与下，势必呈現肉眼可見的反应，从而作为一些肝臟机能試驗的根据。球蛋白与免疫有关（抗体实际上是改变了的球蛋白）。很多的傳染病，可見到γ球蛋白增多，且延續到病癒。因此，并非單純性肝臟本身疾病才可发生上述三种試驗的阳性反应。然而肝臟是白蛋白产生的主要地点，虽然球蛋白产生增多，但白蛋白的膠体保护作用丧失了的事实，并无理由来否認，所以这三种試驗法虽非專为检查肝臟疾患的特異診斷方法，但并不失其为輔助的肝臟疾病診斷法的价值。根据本市生物制品所兽医同志的实际經驗，免疫用馬随着免疫時間的增長而有肝臟疾病的发生的发展，并最后常因肝臟破裂而死亡。这次的試驗馬，被人認為是一些不同程度的實質性肝臟病患者。

以上三种方法的实际結果对照观察，其反应基本上近似。膠体石蜡反应健馬全部呈阴性反应，可疑肝臟病馬的阳性率为60%；孔克尔氏硫酸鋅濁度試驗，健馬不足4單位者占試驗馬数的93.5%（仅一例为4單位）；碘液試驗健馬在2.5倍呈阳性反应者8例，占試驗馬数的57%，3.0倍呈阳性者2例，占試驗馬数的14.28%；3.5倍以上均为阴性反应，而可疑肝臟病馬，在2.5倍全为阳性反应；3倍者阳性率为88%，.5倍阳性率为80%。这个数字指出，健病馬二組之間，在蘆戈氏碘液試驗反应上其差別是比較显著的。但由于試驗馬数較少，其所得百分率难以全面地反应出这三种方法的实践应用价值，有待今后繼續进行試驗研究。

根据我們的体会，在实际操作时需要注意下面几点：在孔克尔硫酸鋅濁度試驗方面：①我們曾經反复比較試驗，在比濁时由于采用标准液的濁度不同，或因固定在比濁計上的刻度不同，同一被檢血清所得的結果也不同，故在比濁前最好先用肉眼观察，选出与其濁度近似的标准液进行比濁所得出的結果較为滿意；②被檢血清不能混有血球或溶血，否則在比濁时即帶有紅褐色，影响結果判定；③被檢血液最好采取后不超过三天进行試驗，我們曾用同一批的血清样，經不同時間作了兩次測定，所得結果亦不同，如表三，共做八匹其中只有一匹前后兩次相符合，其余七匹均有所增高，最大的差別数达2.4單位。

表 3 新鮮血清与陈旧血清的孔克尔比濁度对照試驗結果表

| 馬 号 | 644 | 630 | 737 | 765 | 698 | 742 | 756 | 626 | 平 均 |
|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| 新 鮮 血 清 | 5.6 | 5.5 | 6.0 | 3.6 | 4.3 | 3.3 | 2.6 | 3.0 | 4.24 |
| 陈 旧 血 清* | 7.6 | 7.3 | 6.6 | 6.0 | 6.3 | 3.3 | 3.6 | 4.6 | 5.66 |
| 相 差 | 2.0 | 1.8 | 0.6 | 2.4 | 2.0 | 0 | 1.0 | 1.6 | 1.42 |

* 在冰箱內放置約20天后的血清。

在蘆戈氏碘液試驗时应注意：①器材应事先准备齐全，且要清浩；②要求液滴的大小相等，液滴太大时濃块亦增大；③滴加试剂后5分鐘观察結果，超过時間，就会发生誤差。

五、結 論

① 我們以蘆戈氏碘液試驗、孔克尔硫酸鋅濁度試驗、膠体石蜡試驗等三种“肝机能試驗法”，分別