

• 经验交流 •

底物浓度对特异性酯酶染色积分的影响

周建中

(江西省赣州市人民医院血液科 341000)

摘要:目的 探讨底物浓度对特异性酯酶(SE)染色积分的影响。方法 1例患者中,取每例患者骨髓片3张,分别浸入3种底物浓度孵育液中进行SE染色。结果 底物浓度0.25、1.0、2.5 mg/10 mL的SE染色积分均数分别为(88.6±51.1)、(113.1±59.3)、(125.2±62.8)分。结论 适当提高底物浓度,可提高SE染色灵敏度。

关键词:特异性酯酶; 染色; 积分; 底物; 固蓝BB盐; 白血病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.01.057

文献标识码:B

文章编号:1671-8348(2011)01-0114-02

氯醋酸AS-D萘酚酯酶(SE)染色对确诊急性粒细胞白血病具有重要价值。但SE染色灵敏度不如过氧化物酶染色。故影响SE染色的多种因素值得细致研究。本结果显示3种底物浓度SE染色积分确实存在差异,与文献[1]不相符,先将有关情况报道如下。

1 材料与方法

1.1 一般资料 慢粒急变期(CML-BP)、特发性血小板减少性紫癜(ITP)、急性粒细胞白血病未分化型(M₁)及部分分化型(M₂)、急性粒-单核细胞白血病(M₄)等患者31例。

1.2 方法 孵育液配制:取0.067 mol/L磷酸盐缓冲液(pH7.4)9.5 mL,共3份;每份均加入10 mg固蓝BB盐,但分别加入0.25 mg氯醋酸AS-D萘酚(溶于0.5 mL二甲基甲酰胺)、1.0 mg氯醋酸AS-D萘酚(溶于0.5 mL二甲基甲酰胺)及2.5 mg氯醋酸AS-D萘酚(溶于0.5 mL二甲基甲酰胺)^[2-4]。取每例患者骨髓片3张,经4℃甲醛-丙酮缓冲液(pH6.6)固定1 min后,水洗晾干^[5];分别浸入氯醋酸AS-D萘酚浓度为0.25 mg/10 mL(1组)、1.0 mg/10 mL(2组)、2.5 mg/10 mL(3组)孵育液中反应30 min;水洗后,用苏木素液复染。白血病(包括未缓解及复发)均以原粒细胞或原始细胞计算积分;M₂CR及ITP均以中性杆状核粒细胞、中性分叶核粒细胞计算积分。阳性程度判断按文献[3]进行。

1.3 统计学处理 对积分结果进行双因素方差分析及LSD-t检验。用PEMS3.1统计软件分析。

2 结 果

1~3组SE染色积分均数依次升高,见表1。F处理=37.788 2,P=0.000 0;F配伍=33.454 4,P=0.000 0。即不同底物浓度之间及不同患者之间比较,差异有统计学意义。LSD-t检验示1、3组比较,t=8.531 4,P=0.000 0;2、3组比较,t=2.818 7,P=0.006 5。

表1 3组底物浓度SE积分

诊断	1组	2组	3组
CML-BP	32	85	61
CML-BP	61	61	65
CML-BP	136	234	247
CML-BP	154	206	209
ITP	189	195	222
M ₁	22	34	26
M ₁	33	37	32

续表1 3组底物浓度SE积分

诊断	1组	2组	3组
M ₁ NR	26	48	83
M ₁ NR	55	100	93
M ₁ NR	101	123	143
M ₂	25	52	52
M ₂	72	99	117
M ₂	77	78	102
M ₂	83	103	108
M ₂	81	116	136
M ₂	98	161	147
M ₂	113	188	190
M ₂	183	183	188
M ₂ CR	100	100	190
M ₂ NR	17	22	22
M ₂ NR	66	99	102
M ₂ NR	82	87	113
M ₂ NR	89	95	102
M ₂ NR	134	148	138
M ₂ NR	157	183	194
M ₂ NR	166	205	219
M ₂ 复发	27	39	38
M ₂ 复发	52	82	112
M ₂ 复发	68	75	109
M ₂ 复发	170	180	196
M ₄	79	88	124

3 讨 论

1~3组SE染色积分均数依次升高,10 mL孵育液里氯醋酸AS-D萘酚的含量0.25~2 mg,染色结果(灵敏度)与文献[1]不相符。结果说明氯醋酸AS-D萘酚浓度增加,与固蓝BB盐耦联更充分,积分(灵敏度)增加。1组的氯醋酸AS-D萘酚浓度为0.25 mg/10 mL,为固蓝BB盐浓度10 mg/10 mL的1/40,耦联反应不充分,灵敏度最低;3组的氯醋酸AS-D萘酚浓度为2.5 mg/10 mL,为固蓝BB盐浓度10 mg/10 mL的1/4,耦联反应较充分,灵敏度最高。1组的底物浓度为3组的1/

10,但积分均数相差不是太大,说明底物浓度较低时利用充分,仍可取得较好的 SE 染色结果。常规使用的底物浓度(0.25~1.00 mg/10 mL)可适当增加,以提高 SE 染色灵敏度。总之,实际中应注意底物及耦联剂的适当浓度与两者比例,努力提高细胞化学染色灵敏度。

参考文献

- [1] 陈则清. 血细胞酯酶双染法的改良[J]. 中华血液学杂志, 1990, 11(1): 44.
- [2] 李家增, 王鸿利, 韩忠朝. 血液实验学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997: 63.
- [3] 郭永炼, 张萍容, 陈志哲. 萘酚酯酶染色法的改良[J]. 福建医学院学报, 1992, 26(3): 264-265.
- [4] 郭永炼, 吴统健, 余莲, 等. 酯酶双染色一步法及其在急性白血病分型诊断中的临床应用[J]. 白血病·淋巴瘤, 2003, 12(5): 295-296.
- [5] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 156.
- [6] 郑德先, 吴克复, 褚建新. 现代实验血液学研究方法与技术[M]. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1999: 118.

(收稿日期: 2010-05-10)