

• 经验交流 •

不同稀释方法对 α -L-岩藻糖苷酶测定的影响

李 丽¹, 钟日辉², 朱 晔²

(1. 广州中医药大学第一附属医院检验科 510405; 2. 中山大学孙逸仙纪念医院检验科, 广州 510120)

摘要:目的 观察不同稀释方法对 α -L-岩藻糖苷酶(AFU)测定的影响。方法 收集高 AFU 血清标本分别用生理盐水和混合血清稀释 2~5 倍后再进行测定。结果 生理盐水稀释后测定结果低于原倍测定, 与原倍值有统计学差异($P < 0.01$), 且差异随着稀释倍数的增加而增加, 而混合血清稀释后的结果与原倍值无统计学差异($P > 0.05$)。结论 为保证检验结果的准确, 在单试剂 MG-CNPF 法测定 AFU 时建议使用混合血清稀释。

关键词: α -L-岩藻糖苷酶; 生理盐水; 混合血清

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.14.059

文献标识码: B

文章编号: 1673-4130(2011)14-1639-02

α -L-岩藻糖苷酶(AFU)在原发性肝癌的诊断和鉴别诊断中起着重要作用, 在当前临床应用较多, 而目前多使用新一代的 MG-CNPF 法试剂盒检测^[1-3]。实际检测中, 当 AFU 水平接近或超过线性范围时, 通常需要稀释后测定, 虽然试剂盒说明中建议使用生理盐水稀释, 但在实际应用中发现生理盐水稀释后的结果往往低于原倍的浓度。因此, 笔者选择线性范围内较高浓度的 AFU 标本, 分别用生理盐水和低浓度 AFU 混合血清稀释后检测, 结果报道如下。

1 材料与与方法

1.1 仪器 Olympus AU5421 全自动生化分析仪。

1.2 试剂 AFU 检测试剂盒(四川迈克公司, MG-CNPF 法, 批号 0610091); 标准品(四川迈克公司, 批号 1209011); 质控品(四川迈克公司, 批号 1109051)。

1.3 方法

1.3.1 批内 CV 将质控品连续测定 20 次, 计算出均值及批内 CV。

1.3.2 标本收集和混合血清配制 收集高活性 AFU 血清标本 10 份, 其浓度均在试剂线性范围内, 测定其 AFU; 收集 10 份无黄疸、溶血、脂血的新鲜血清标本, 每份血清所含 AFU 均小于 10.0 U/L, 将 10 份标本混合均匀后测定其混合后 AFU 活性(以 C1 表示), C1 用于之后混合稀释血清 AFU 的计算。

1.3.3 生理盐水稀释方案 用生理盐水对标本进行 2、3、4、5 倍系列稀释(即标本与生理盐水分别按 1:1、1:2、1:3、1:4 混合), 配制 4 个不同浓度水平的样本, 结果分别乘以 2、3、4、5 计算出标本中的 AFU 水平, 其结果分别以 B2、B3、B4、B5 表示。

1.3.4 混合血清稀释方案 用混合血清对标本稀释 2、3、4、5 倍系列稀释(即标本与混合血清分别按 1:1、1:2、1:3、1:4 混合), 亦配制 4 个不同浓度水平的样本, 测定混合后 AFU (C2), 按以下公式计算结果: 标本中的 AFU 水平分别为 $(2C2 - C1)(1:1 \text{ 稀释})$ 、 $3C2 - 2C1(1:2 \text{ 稀释})$ 、 $4C2 - 3C1(1:3 \text{ 稀释})$ 、 $5C2 - 4C1(1:4 \text{ 稀释})$, 其结果分别以 C2、C3、C4、C5 表示。

1.4 统计学处理 用 SPSS17.0 软件做配对 t 检验。

2 结 果

2.1 批内 CV 测定 质控品连续测定 20 次均值为 24.8 U/L, CV 为 1.28%, 符合该项目对准确度和精密度的要求。

2.2 混合血清 AFU 活性 为使稀释后结果尽量接近生理盐水(其理论 AFU 活性为 0 U/L, 实际测定为 0.5 U/L)稀释的理论值, 所选混合血清均无黄疸、溶血、脂血, 且混合后 AFU 测定值为 7.2 U/L。

2.3 生理盐水稀释方案 生理盐水稀释检测 AFU 的结果见表 1。经配对 t 检验, B2、B3、B4、B5 与 C1 有统计学意义差异($P < 0.01$), 且 $B2 > B3 > B4 > B5$ 。

2.4 混合血清稀释方案 混合血清稀释检测 AFU 的结果见表 2。经配对 t 检验, C2、C3、C4、C5 与 C1 均无统计学意义差异($P > 0.05$)。

表 1 生理盐水稀释对 AFU 测定的影响(U/L)

C1	B2	B3	B4	B5
90.2	74.0	64.8	57.2	55.5
68.3	54.2	47.7	39.2	39.0
84.3	67.0	61.2	51.2	50.0
53.1	39.4	37.2	33.6	32.5
47.9	36.0	31.5	31.2	28.5
55.0	43.6	38.4	38.0	24.5
100.6	81.6	77.7	71.6	67.5
63.1	50.4	44.1	39.2	36.0
113.8	94.2	88.8	80.8	75.0
138.9	116.2	110.1	96.8	90.5

表 2 混合血清稀释对 AFU 测定的影响(U/L)

C1	C2	C3	C4	C5
90.2	88.2	89.1	90.0	91.7
68.3	70.8	63.9	64.8	66.1
84.3	88.6	90.0	89.2	81.7
53.1	59.6	58.3	60.4	59.7
47.9	52.6	53.1	53.6	55.3
55.0	54.8	57.9	53.2	53.8
100.6	115.3	117.1	118.1	115.9
63.1	64.5	64.0	64.5	65.4
113.8	122.9	121.3	122.9	123.1
138.9	137.7	139.0	140.5	142.1

3 讨 论

AFU 是一种溶酶体酶, 其基本的生理功能是参与含岩藻糖基的各种糖脂和糖蛋白的分解代谢, 在原发性肝癌中有较高的阳性率和特异性, 其在临床上的应用日渐广泛^[4-9]。但 AFU 与大多数血清中的其他酶不同, 其稀释血清测定可能存在明显的基质效应, 用生理盐水稀释时, 血清中的基质成分被稀释, 从而对测定结果产生影响。笔者查阅国内外文献, 均无相关报道, 在此推测其可能的机制为: AFU 检测试剂的反应体系是一种酸性体系(pH4.8), 当反应体系的 pH 发生变化, 即影响 AFU 的活性, 同时影响酶解产物的摩尔吸光度; 此外, AFU 检

测试剂与其他酶试剂最大的区别在于其反应体系中样品所占反应体积比例较大,所以样品基质的改变会对测定结果产生影响。使用生理盐水稀释标本时,必然会产生基质上的变化,且随着生理盐水稀释倍数的增加偏差也增大。相对于其他的项目,AFU(单试剂)受基质效应的影响要大些,AFU 活性及其催化特性的改变,这可能是导致结果出现明显偏差的原因。因此,建议试剂公司在设计 AFU 的试剂时,可采用以下 3 种方法减少或消除基质效应:(1)使用缓冲能力好的酸性缓冲液,如 Good's 缓冲液^[10];(2)加大试剂中底物含量,从而间接减少反应中样本的需要量(即加大反应的线性范围上限);(3)建议开发和使用双试剂盒,由单试剂改为双试剂可减少基质效应。同时试验结果还表明,多份标本稀释后浓度与原倍浓度的偏差并不一致,其原因可能是因为该类标本多存在不同程度的黄疸,而不同程度黄疸引起的基质效应偏差也不同。为保证测定结果的准确,建议检验工作者在临床检测时应采用低浓度的 AFU 混合血清进行稀释。

参考文献

[1] 王民玉,陈珠峰,裴忠亚. 血清 α-L-岩藻糖苷酶在原发性肝癌诊断中的价值[J]. 齐鲁医学杂志,2001,16(1):57.
 [2] 梁景云. 血清 AFU 和 AFP 联合测定对原发性肝癌的诊断价值

[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(2):168,170.
 [3] 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,2006:443-444.
 [4] 熊利华,陈春琴,张春峰,等. 血清 α-L-岩藻糖苷酶与甲胎蛋白和糖类抗原 19-9 在原发性肝癌诊断中的作用[J]. 临床和试验医学杂志,2010,9(4):263-264.
 [5] 韩志钧,卢业成,黄志锋,等. 临床化学常用项目自动分析法[M]. 3 版. 沈阳:辽宁科学技术出版社,2005:871.
 [6] 孙绍军,李军. 血清 CRP 与 AFP 联合检测对肝癌诊断的临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(10):997,999.
 [7] 杜红心,罗海峰,彭必江,等. 3 项肿瘤标志物联合检测对肝癌诊断的临床应用价值[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(3):274-275.
 [8] 张瑞霞,杨义明,赵学峰,等. 血清甲胎蛋白、α-L-岩藻糖苷酶和肿瘤相关物质联合检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(2):111-112.
 [9] 李晓斐,王爱莉,宋鲁. AFU、GGT、AFP、Ferr 及 CEA 联合检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志,2008,29(9):823-824.
 [10] 萨姆布鲁克. 分子克隆实验指南[M]. 黄培堂,译. 3 版. 北京:科学出版社,2002:1564.

(收稿日期:2010-12-28)

• 经验交流 •

平均红细胞体积和红细胞分布宽度对缺铁性贫血与巨幼红细胞性贫血的诊断价值

张宝生

(云南省红河州第二人民医院检验科 654300)

摘要:目的 运用平均红细胞体积(MCV)、红细胞分布宽度(RDW)对缺铁性贫血与巨幼红细胞性贫血进行鉴别诊断。方法 健康对照组 120 例,缺铁性贫血患者 67 例,巨幼红细胞性贫血患者 42 例,运用 SYSMEX KY-21N 血球仪检测 MCV、RDW。结果 缺铁性贫血患者 MCV 低于健康对照组,RDW 高于健康对照组,巨幼红细胞性贫血患者 MCV 增大、RDW 增高。结论 红细胞 MCV、RDW 对缺铁性贫血与巨幼红细胞性贫血有诊断价值,可作为一种快速、简单、方便、准确的筛选方法。

关键词:贫血,缺铁性; 贫血,巨幼细胞性; 平均红细胞体积; 红细胞分布宽度

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.14.060

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2011)14-1640-02

缺铁性贫血是最为常见的贫血,巨幼红细胞性贫血是由于缺乏叶酸、维生素 B₁₂ 所致的贫血,在农村小孩并不少见,当造血物质供应不足或代谢障碍时,红细胞生成不足,就会引起贫血,根据贫血的原因及时防治,疗效明显。过去常用的平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)三项分类法对贫血的鉴别诊断有一定意义,但上述指标不能反映红细胞体积大小的离散度,对贫血鉴别非常笼统^[1]。本文采用国内外现常用的 MCV 和红细胞分布宽度(RDW)对缺铁性贫血与巨幼红细胞性贫血进行分型,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 健康对照组 120 例(男 65 例、女 55 例)为来本院体检,经各种检查排除各类疾病的健康者;患者组 109 例(男 42 例、女 67 例)为临床及实验各项检查确诊贫血患者,男性血红蛋白(Hb) < 120 g/L,女性 Hb < 110 g/L,其中缺铁性贫血 67 例,巨幼红细胞性贫血 42 例。

1.2 本室正常参考值 MCV 80~94 fL, RDW 10.9%~15.4%。

1.3 方法 取 EDTA-K₂ 抗凝末梢血,运用 SYSMEX KY-

21N 血球仪测定 MCV、RDW,测得数据采用 SPSS11.0 软件进行 *t* 检验。

2 结果

健康对照组与缺铁性贫血及巨幼红细胞性贫血患者 MCV、RDW 结果比较见表 1。

表 1 健康对照组与缺铁性贫血及巨幼红细胞性贫血患者 MCV、RDW 结果比较(̄x±s)

组别	n	MCV(fL)	RDW(%)	P
健康对照组	120	88.1±4.9	13.2±1.4	—
缺铁性贫血组	67	78.4±5.6	16.3±1.6	<0.05
巨幼红细胞性贫血组	42	108.2±5.7	16.2±1.5	<0.01

—:无数据。

3 讨论

缺铁性贫血属不均一性小细胞贫血,表现为 MCV 减少, RDW 上升。早期缺铁时 MCV 尚正常,或大小细胞均值在正常范围,而 RDW 增高。

巨幼红细胞性贫血是缺乏维生素 B₁₂ 和叶酸供应不足所致的贫血,其特点是红细胞减少,比 Hb 减少更为明显,MCV、