

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、

RDW 均增大,属不均一性大细胞贫血,红细胞巨幼样变。红细胞指标 MCV、MCH、HCHC 的测定是进行形态学分类的依据,过去把贫血分为大细胞、正细胞正色素、小细胞低色素、单纯小细胞 4 个类型,此法忽视了红细胞体积的异质性对指标准确性的影响,不能全面反映红细胞的病理变化。

笔者认为,MCV 及 RDW 测定结合了红细胞形态学分类,可得到较可靠的初步诊断意见,进而做特殊检查可明确诊断。

• 经验交流 •

外周血淋巴细胞培养及染色体制备的几点体会

马 强,刘青松,蔡 燕,邢 艳,张国元[△]

(川北医学院附属医院检验科,四川南充 637000)

摘要:目的 总结该室外周血淋巴细胞培养及染色体制备的成功经验,供同行参考与借鉴。方法 采用外周血淋巴细胞培养基接种外周全血,按照常规方法制作染色体标本,进行镜检。结果 该室培养的淋巴细胞数量稳定,染色体核型质量佳。结论 该室制作的染色体标本质量能满足临床染色体核型分析需要。

关键词:染色体; 外周血; 淋巴细胞

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.14.061

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2011)14-1641-02

染色体检查作为干预出生缺陷、提高人口素质的一个重要内容和措施,对优生优育工作有着重大意义^[1]。然而,染色体制备过程缺乏有效的质量控制,经验在染色体标本制备过程中占有重要的地位。为了获得良好的制片,在笔者及同事的摸索下,本室制作的染色体标本质量稳定,基本满足临床分析需要。笔者就这一过程中的要点与大家分享,以供同行参考。

1 淋巴细胞培养

1.1 外周血采集 一般情况下,在采集外周血时,采用 5 mL 空针吸取 0.5 mL 左右无菌肝素作为抗凝剂,再采集患者外周静脉血。然而,在当今复杂的医疗环境下,这样的操作可能会给患者带来不符合操作规范的感觉。为了避免不必要的医疗纠纷,本室采用动脉血气针(BD 公司生产)抽取 2~3 mL 外周静脉血,备用。在操作过程中要始终保持无菌观念,用碘酒和乙醇消毒皮肤,自肘静脉采血,然后要把注射器内的血液充分轻轻混匀,以防止血液凝固,影响细胞培养质量^[2]。

1.2 接种 培养基的质量在影响染色体质量方面最为关键,从营养不良的培养基中获得的细胞所制备的染色体质量差,不利于染色体核型分析。本室采用湖南湘雅基因技术有限公司生产的成品外周血淋巴细胞培养基(5 mL),只需将采集的外周血接种适量在培养基中,摇匀后置入 CO₂ 孵箱中培养即可。接种时,若血液过少,获得的淋巴细胞少;而接种过多,淋巴细胞增殖不良,染色体稀少。经过摸索,发现成年人接种血气针采集的血液 20~25 滴为宜,4 岁以下儿童接种 15~20 滴为宜,新生儿则只需 8~10 滴。

1.3 细胞培养 细胞培养阶段也是极为关键的一步,细胞的旺盛生长与培养时间、温度、CO₂ 浓度等条件。

1.3.1 培养时间 经过试验,分别取培养 24、(48±2)、(72±2)、(96±2)h 的培养物分离淋巴细胞,制片,核型分析后发现:培养 24 h 者几乎见不到分裂象;培养(48±2)h 者,每张制片上可见中期分裂象小于 10 个,且染色体质量差;培养(72±2)h 者,每张制片上分裂象大于 200 个,染色体质量佳;而培养 96 h 者,其质量与培养(48±2)h 者相差无几。因此,本室培养细胞的时间控制在 72 h 左右,制作出的染色体核型佳,有利于

MCV、RDW 对缺铁性贫血与巨幼红细胞性贫血有较好的诊断价值,可作为一种快速、简单、方便、准确的筛选方法。

参考文献

[1] 丛玉隆.今日临床检验学[M].北京:中国科学技术出版社,1997:9.

(收稿日期:2010-12-16)

分析。

1.3.2 培养温度与气体 淋巴细胞培养的适宜温度为(36.5±0.5)℃,偏离这一温度范围,细胞的正常代谢会受到影响,甚至死亡。如果温度高于 37℃,细胞的生长速度减慢;如果温度高于 40℃,细胞受损,超过 43℃,则导致细胞死亡。气体是人体细胞培养生存必需条件之一,所需气体主要有 O₂、CO₂。CO₂ 既是细胞代谢产物,也是细胞生长繁殖所需成分,它在细胞培养中的主要作用在于维持培养基的 pH 值。大多数细胞的适宜 pH 为 7.2~7.4,培养基的 pH 值也应调整到 7.2~7.4,偏离这一范围对细胞培养将产生有害的影响。偏酸性时细胞发育不良,偏碱性时细胞会出现轻度固缩^[3]。培养箱的温度和 CO₂ 浓度应严格控制在(37±0.5)℃、5%以获得良好的中期分裂象。

2 细胞收获

2.1 秋水仙素与作用时间 秋水仙素作为细胞培养中的纺锤体阻断剂,可使分裂象细胞停留在分裂中期而获得大量分裂中期染色体以便于核型分析。加入秋水仙素的剂量、作用时间与处于分裂中期细胞数量、染色体长短密切相关。加入的秋水仙素过量、作用时间过长,染色体浓缩,不利于分析;若加入的秋水仙素量不足、作用时间过短,则染色体细长或无染色体,同样不利于核型分析。只有适量的秋水仙素与适量的作用时间,才能获得较好的分裂象。本室加入秋水仙素使最终浓度为 0.025%,作用 1~1.5 h 可获得数量多、浓缩程度适中的染色体。

2.2 离心力 将培养物收集到 15 mL 的离心管中,通过离心获得需要的细胞。整个过程中,离心力的大小很关键。离心力过大会导致细胞之间粘连过紧,低渗时细胞不能被充分混匀,影响低渗效果。这一步本室选择 1 900 r/min 离心 10 min。而低渗过后预固定与固定过程中,去除固定液时由于细胞少,过小的离心力不能将细胞充分沉淀。为了尽可能的获得多的细胞,本室采用 2 500~3 000 r/min 离心 10 min。此外,在去除上清液的时候不要将上清液吸尽,以免造成细胞丢失。

2.3 低渗 低渗的目的是让水分进入细胞,使细胞肿胀、破裂,是染色体制备过程中的关键环节之一。低渗液渗透压过

[△] 通讯作者,E-mail:zhangguoyuan9826@sina.com。