

的砂粒状、簇状钙化相鉴别,但由于早期结核常无明显钙化,因此钼靶摄片对之缺乏特异性。B 超检查可明确肿块的大小、数目、物理性质等,但由于结核病期不同,声像图表现多样,加之乳腺多源性疾病的存在,有时仅从声像图上难以准确诊断^[5]。乳腺结核针吸细胞学检查,显微镜下常有特征性的图像:(1)穿刺物外观呈乳白色干酪样、脓样坏死物。(2)镜下可见大量坏死组织及破碎细胞。(3)镜下可见较多类上皮细胞及结核结节。(4)镜下可见乳腺腺上皮细胞和组织细胞。(5)如继发感染,镜下会有大量的中性粒细胞。典型乳腺结核可因发现干酪样坏死和类上皮细胞及结核结节而得出诊断。但是部分乳腺结核只表现为检测到坏死组织、破碎细胞,易与乳腺癌混淆,乳腺癌镜下见细胞数量多,核增大,圆或不规则圆形核占绝大多数,核边缘不整齐,核质比明显增大或减小,可见大核仁,核大小差异明显,细胞排列紊乱、松散^[6]。另部分表现为只检测到炎细胞,易与乳腺炎性反应混淆,这也许是细针穿刺细胞学对乳腺结核诊断的特异性低的一个原因。本组 16 例细针穿刺细胞学诊断为乳腺结核而最后确诊为乳腺结核的只有 10 例,细胞学阳性率为 62.5%(10/16),误诊率为 37.5%(6/16),阳性率较任美英等^[7]报道的 100%低。应用抗酸染色,乳腺结核的特异性可提高至 100%,但抗酸杆菌相对检出率偏低,本组实验结果显示阳性率只有 25%(4/16),与 Gupta 等^[8]检出率为 22.7%相近,较 Kakkar 等^[9]报道的 38.6%偏低,这可能与细针穿刺取材是否取到合适部位以及不同结核活动期有关,具体原因还不是很清楚,有待进一步深入研究和探讨。针吸细胞学检查联合抗酸染色大大提高了乳腺结核的检出率,降低误诊率,另外还可以结合红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、结核菌素试验(purified protein derivative, PPD 试验)和聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)等有诊断乳腺结核价值的检查,将大大提高诊断乳腺结核的阳性率。

• 检验技术与方法 •

56℃热放散不同时间下对红细胞 A、B 及 RhD 抗原反应性的影响

李德来¹,徐传国²,杨立顺¹

(1. 天津市北辰区中医医院 300400; 2. 天津市滨海新区塘沽中心血站 300456)

摘要:目的 了解红细胞 A、B 及 RhD 抗原反应性在 56℃水浴中随时间增加而发生的变化,观察为提高放散效果是否可适当延长孵育时间。**方法** 选取红细胞 A、B、RhD 抗原阳性的标本各 3 份,利用溶血试验、凝集强度试验、抗体效价试验观察 56℃热放散时在不同时间下红细胞 A、B、RhD 抗原反应性减弱的程度。**结果** A、B、RhD 抗原阳性的红细胞随孵育时间的延长溶血逐渐加重,20 min 时约有 50%溶血,至 40 min 已近 100%溶血;A、B 抗原随时间的增加,前 15 min 抗原反应性减弱不明显,而 RhD 抗原随时间的延长,抗原反应性明显减弱。**结论** ABO 血型系统可适当延长热放散时间,以 10~15 min 为宜,而热放散不适于 RhD 血型。

关键词: 56℃热放散; 红细胞抗原; 反应性; 影响

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.16.038

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)16-1997-03

热放散主要用于 ABO 亚型的鉴定、新生儿溶血病的诊断和自身免疫性溶血性贫血患者红细胞的抗体特异性的鉴定等,国内常用的热放散方法为 56℃水浴中放置 10 min^[1,2],放散时应严格注意温度和时间,温度过高或时间过长,红细胞易溶血,并使红细胞抗原减弱,温度过低或时间过短,抗体从红细胞上放散不完全,进而影响血型鉴定、抗体筛选及交叉配血等试验^[3]。在日常实验中虽严格掌握热放散温度和时间(56℃10 min),但偶尔会出现因抗体从红细胞上放散不完全而影响常规 ABO 及 RhD 血型鉴定。为此,笔者通过对 56℃热放散在

综上所述临床上经久不愈的慢性炎性反应,应想到乳腺结核的可能,应在针吸细胞学检查的基础上做抗酸染色,并增加 ESR、PCR、PPD 等检测,以进一步提高乳腺结核诊断的阳性率和准确率以减少误诊和漏诊,造福患者。

参考文献

- [1] Jalali U, Rasul S, Khan A, et al. Tuberculous mastitis[J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2005, 15(4): 234-237.
- [2] Akcakaya A, Eryilmaz R, Sahin M, et al. Tuberculosis of the Breast[J]. Breast J, 2005, 11(1): 85-86.
- [3] Tewari M, Shukla HS. Breast tuberculosis: diagnosis, clinical features and management[J]. Indian J Med Res, 2005, 122(2): 103-110.
- [4] Meral S, Canan G, Mikdat B. Isolated primary breast tuberculosis Report of three cases and review of the literature[J]. CL INICS, 2009, 64(6): 607-610.
- [5] 黄渊金, 肖莹, 廖锦堂, 等. 乳腺结核的超声诊断与分型[J]. 中国超声医学杂志, 2000, 16(10): 784.
- [6] 付春林, 夏波, 任红兵, 等. 乳腺癌细针吸取细胞病理学诊断探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(9): 947-950.
- [7] 任美英, 王翠峰, 徐军. 细针穿刺细胞学在乳腺肿块诊断中的应用[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(7): 849-850.
- [8] Gupta D, Rajwanshi A, Gupta SK. Fine needle aspiration cytology in the diagnosis of tuberculous mastitis[J]. Acta Cytol, 1999, 43(2): 191-194.
- [9] Kakkar S, Kapila K, Singh MK, et al. Tuberculosis of the breast. A cytomorphologic study[J]. Acta Cytol, 2000, 44(3): 292-296.

(收稿日期: 2012-01-13)

不同时间下对红细胞 A、B 及 RhD 抗原反应性的影响进行观察,以观察为提高放散效果是否可适当延长孵育时间,从而更加科学合理的利用热放散试验,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 样本来源 在塘沽中心血站无偿献血者的血液检测合格标本(EDTA-K₂ 抗凝试管留取)中随机筛选出红细胞 A、B、RhD 抗原阳性的标本作为试验的观察对象。

1.2 仪器与试剂 (1)抗 A、抗 B、抗 D(IgM)血型定型试剂(单克隆抗体),人 ABO 血型反定型用红细胞试剂(均由上海血液生物医

药有限责任公司提供,在有效期内使用);0.9%生理盐水(山东齐都药业有限公司);(2)KA-2200 型血型专用离心机(日本久保田公司)、722S 可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)、DK-600 型电热恒温水浴箱(上海精宏实验设备有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 从标本中用抗血清筛选出 A、B、RhD 抗原阳性的标本各 3 份,分别标记为 A1、A2、A3;B1、B2、B3;D1、D2、D3。

1.3.2 取各管红细胞 2~3 mL,用生理盐水洗涤 3 次,各取压积红细胞一滴,配成 2%~5%红细胞悬液。

1.3.3 用试管法复查相应抗原,无误后进行下列试验,若有误,重新筛选符合要求的红细胞。

1.3.4 将各管洗涤后的红细胞压积以 1:1 比例加入生理盐水,混匀后,置于 56℃水浴中,同时开始计时,先轻轻振摇 1 min,继续置于水浴中。

1.3.5 溶血试验 当放入水浴箱 0、5、10、15、20、30、40 min 时,从各管中分别取出混匀的红细胞 250 μL 放入标记好相应分钟数的试管中,3 400 r/min 离心 1 min,取上清液 100 μL 加入生理盐水 1.9 mL 混匀。在 540 nm 波长下比色,以生理盐水为空白管调零,以各管洗涤后的红细胞压积 50 μL 加 50 μL 蒸馏水完全溶血后再加入 1.9 mL 生理盐水作为各自 100%溶血管,按下式计算各管溶血百分率,溶血%=各管吸光度/100%溶血吸光度×100%^[4]。

1.3.6 凝集强度试验 将上述各管放入水浴箱中不同时间的溶血试验后剩余的红细胞用生理盐水洗涤 2~3 次,直至上层液清澈为止,分别配制成 5%的红细胞悬液,将相应的标准抗血清 50 μL 与对应抗原的各管红细胞悬液等体积混合,3 400 r/min 离心 15 s,观察各管凝集强度。

1.3.7 抗体效价试验 取 1.3.6 中配制的 5%的各管红细胞悬液与相应的标准抗血清(抗 A、抗 B 效价均为 256,抗 D 效价为 128)等体积(各 100 μL)混合,在 4℃过夜,让其充分吸收,然后 3 400 r/min 离心 1 min,取上清液并将其倍比稀释后加相应抗原的试剂红细胞测定上清液的抗体效价(即凝集强度为 1 十的稀释倍数的倒数),观察充分吸收后上清液剩余的抗体效价,从而确定抗原反应性减弱的程度。剩余抗体效价越高,则抗原反应性减弱程度越高。

2 结果

A、B、RhD 抗原阳性的红细胞随孵育时间的延长溶血逐渐加重,20 min 时约有 50%溶血,至 40 min 已近 100%溶血;A、B 抗原随孵育时间的增加,前 15 min 与相应抗血清的凝集强度无明显减弱、吸收抗体能力无明显降低,抗原反应性减弱不明显,此后与相应抗血清的凝集强度明显减弱、吸收抗体能力明显降低,抗原反应性明显减弱;RhD 抗原随孵育时间的逐渐延长,与相应抗血清的凝集强度明显减弱、吸收抗体能力明显降低,抗原反应性明显减弱,见表 1~3。

表 1 红细胞不同抗原不同时间(分钟)下吸光度(A)及溶血率(R)

抗原类别	100%溶血管 A	0		5		10		15		20		30		40	
		A	R(%)	A	R(%)	A	R(%)	A	R(%)	A	R(%)	A	R(%)	A	R(%)
A1	2.10	0.03	1.43	0.23	10.7	0.46	22.0	0.78	36.8	1.00	47.6	1.64	78.1	2.08	99.0
A2	2.11	0.02	0.95	0.22	10.4	0.44	20.9	0.73	34.6	1.02	48.3	1.61	76.3	2.08	98.6
A3	2.10	0.03	1.43	0.26	12.4	0.50	23.8	0.75	35.7	1.05	50.0	1.68	80.0	2.09	99.5
B1	2.11	0.03	1.42	0.28	13.4	0.53	25.1	0.73	34.6	1.11	52.6	1.70	80.1	2.11	100.0
B2	2.13	0.04	1.88	0.32	15.0	0.59	27.7	0.80	37.6	1.22	57.3	1.75	82.2	2.13	100.0
B3	2.10	0.03	1.43	0.20	9.52	0.50	23.8	0.68	32.4	1.10	52.4	1.68	80.0	2.10	100.0
D1	2.12	0.04	1.89	0.25	11.8	0.43	20.3	0.66	31.1	1.03	48.6	1.66	78.3	2.12	100.0
D2	2.08	0.02	0.96	0.18	8.65	0.40	19.2	0.64	30.8	0.96	46.2	1.57	75.5	2.07	99.5
D3	2.11	0.03	1.42	0.20	9.48	0.44	20.9	0.64	32.6	1.12	53.1	1.63	77.3	2.10	99.5

表 2 红细胞不同抗原不同时间(分钟)下与相应抗体的凝集强度

抗原类别	0	5	10	15	20	30	40
A1	4 ⁺	4 ⁺	4 ⁺	4 ⁺	3 ⁺	2 ⁺	±
A2	4 ⁺	4 ⁺	4 ⁺	4 ⁺	3 ⁺	2 ⁺	±
A3	4 ⁺	4 ⁺	4 ⁺	4 ⁺	2 ⁺ S	1 ⁺	—
B1	4 ⁺	4 ⁺	4 ⁺	4 ⁺	2 ⁺ S	2 ⁺ W	—
B2	4 ⁺	4 ⁺	4 ⁺	4 ⁺	2 ⁺	1 ⁺	—
B3	4 ⁺	4 ⁺	4 ⁺	4 ⁺	3 ⁺ W	2 ⁺	—
D1	4 ⁺	1 ⁺	1 ⁺	±	—	—	—
D2	4 ⁺	1 ⁺ S	1 ⁺	±	—	—	—
D3	4 ⁺	1 ⁺	1 ⁺ W	—	—	—	—

表 3 红细胞不同抗原不同时间(分钟)下吸收抗血清后上清液抗体效价

抗原类别	0	5	10	15	20	30	40
A1	16	16	32	32	64	128	256
A2	8	8	16	16	64	128	256
A3	16	32	32	32	128	128	256
B1	16	16	32	32	64	128	256
B2	16	32	32	32	128	256	256
B3	8	8	16	16	64	128	256
D1	16	64	64	128	128	128	128
D2	8	32	64	128	128	128	128
D3	16	64	64	128	128	128	128

3 讨 论

直接抗球蛋白试验阳性的红细胞表面存在致敏 IgG 自身抗体和(或)同种抗体,而有自身凝集的红细胞表面存在 IgM 类自身抗体^[5-6],这种红细胞在胶体介质中,有时会发生非特异性凝集,干扰血型鉴定、抗体筛选及交叉配血等试验。因而需将致敏在红细胞上的抗体放散下来,并保留完整的红细胞进行各项试验。56℃水浴热放散常用于 ABO 血型系统新生儿溶血病及从红细胞上放散掉 IgM 及 IgG 抗体。在日常工作中,对个别直抗强阳性或存在自身强凝集等标本的红细胞经 56℃10 min 热放散后,由于吸附在红细胞上的抗体未能完全解离下来,对常规 ABO、RhD 血型鉴定仍有干扰,对这类标本,适当延长热放散时间,放散效果明显提高,但热放散试验应严格掌握放散温度和时间,否则易发生溶血和红细胞抗原反应性减弱,进而影响后续试验的准确性。而红细胞抗原减弱程度取决于抗原种类、温度高低和孵育时间长短^[7-8],由于延长放散时间只是凭经验,无试验性证明,为此,笔者进行了一系列试验,以观察红细胞 A、B 及 RhD 抗原反应性 56℃热放散时不同时间下受影响的程度,从而科学的指导我们在试验中根据具体情况进行相应的放散时间的调整。红细胞的 A、B 抗原为糖类抗原,D 抗原为蛋白多肽类抗原。从试验结果看,A、B 糖类抗原随着孵育时间的增加前 15 min 抗原反应性减弱不明显,而后抗原反应性明显减弱。因此,对于 A、B 糖类抗原在放散效果不佳时可适当延长热放散时间,以 10~15 min 为宜,不可过长,否则发生明显的溶血且红细胞抗原反应性减弱,进而影响抗原的检出或降低吸收抗体的能力。D 蛋白多肽类抗原随着孵育时间的逐渐延长,红细胞与相应抗体的反应性刚开始便呈明显的递减趋势,可见热放散不适于 D 蛋白多肽类抗原的抗体放散,应选择其他的放散方法^[9-10]。此外,由于本次试验均选取正常人的标本且观察的抗原种类及数量有限,只观察了常

• 检验技术与方法 •

规 ABO、RhD 血型鉴定的 A、B 及 RhD 抗原,具有一定的局限性,为更确切地了解抗原反应性的变化,可观察更多不同的抗原并积累一定数量的患者标本(如自身红细胞脆性增高等患者),从而进一步观察患者标本热放散时红细胞不同抗原反应性受影响情况。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部. 中国输血技术操作规程(血站部分)[M]. 天津:天津科学技术出版社,1997:84-86.
[2] 彭进,张建耕,那荷香,等. 吸收放散法在 ABO 疑难血型鉴定中的应用[J]. 齐齐哈尔医学院学报,2007,28(9):1077-1079.
[3] 孙爱农,鲍自谦,查勇. 解离红细胞致敏抗体的 3 种方法比较[J]. 中国输血杂志,2004,17(1):17-19.
[4] 中华人民共和国卫生部医政司. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:168-169.
[5] 廖清奎. 免疫性溶血性贫血//邓家栋. 临床血液学[M]. 上海:上海科学技术出版社,2001:628-641.
[6] 聂锋. 微柱凝胶法配血不合的原因分析与处理[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(10):1108-1109.
[7] 汪传喜,田兆嵩. 自身免疫性溶血性贫血患者的输血前检查和成分输血. 临床输血进展[M]. 四川:四川科学技术出版社,2010:74-79.
[8] 张慧莲,杨婷,于洋. ABO 血型正反定型不一致原因分析[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(9):1005-1006.
[9] 华敏玉,郭永芳,姜健. 3 种方法检测 3 种放散液中红细胞抗体的结果分析[J]. 中国输血杂志,2010,23(5):389-390.
[10] 杨秀丽. 红细胞直接抗球蛋白试验阳性 Rh 血型鉴定方法[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(14):1609-1610.

(收稿日期:2012-01-10)

两种方法分析脑脊液中白细胞的对比

邵春红,王 勇,沈亚娟,张炳昌

(山东省立医院检验科,济南 250021)

摘 要:目的 探讨 Sysmex XT-4000i 在脑脊液白细胞检测中的临床应用。**方法** 收集山东省立医院 2011 年 9~11 月住院患者的脑脊液标本,利用 Sysmex XT-4000i 分析仪和计数盘进行白细胞计数,将两者计数结果进行配对 *t* 检验及相关性分析。**结果** 两种方法检测脑脊液白细胞的方法中,对于白细胞数大于 $100 \times 10^6/L$ 的标本,计数结果比较差异无统计学意义($P > 0.05$);而白细胞数小于或等于 $100 \times 10^6/L$ 的标本,差异有统计学意义($P < 0.05$)。相关性分析显示两种方法呈高度相关性。**结论** 在一定条件下(白细胞高于 $100 \times 10^6/L$),Sysmex XT-4000i 分析仪可用于脑脊液的白细胞计数,但是对于细胞数较少的标本应进行手工法复核。

关键词:脑脊液; 血液分析仪; 显微镜检查; 白细胞计数

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.16.039

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)16-1999-02

脑脊液常规检验是基础检验学的四大常规检测项目之一,是鉴别渗出液和漏出液的重要方法,脑脊液的检查对及时、准确地诊断和鉴别中枢神经系统感染性、出血性疾病具有重要的临床意义^[1]。但目前多数医院仍在显微镜下用计数盘对白细胞进行计数分类,这种方法不仅需要操作者有丰富的实践经验,而且费时费力,计数误差大、重复性差,影响实验结果准确性因素比较多,难以满足急诊的需要^[2]。因此,寻找一个切实可行的替代方法一直是基础检验人员探索的问题。本文为探讨能否用分析仪检测脑脊液中的细胞数,采用 Sysmex XT-

4000i 分析仪对 385 例住院患者的脑脊液标本进行白细胞计数检测,并与显微镜下计数结果进行对比分析,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器与试剂 日本希森美康公司生产的 Sysmex XT-4000i 分析仪及配套试剂,试剂均在有效期内使用;牛鲍计数板;Olympus 显微镜。

1.1.2 标本来源 所有标本均为本院 2011 年 9~11 月期间