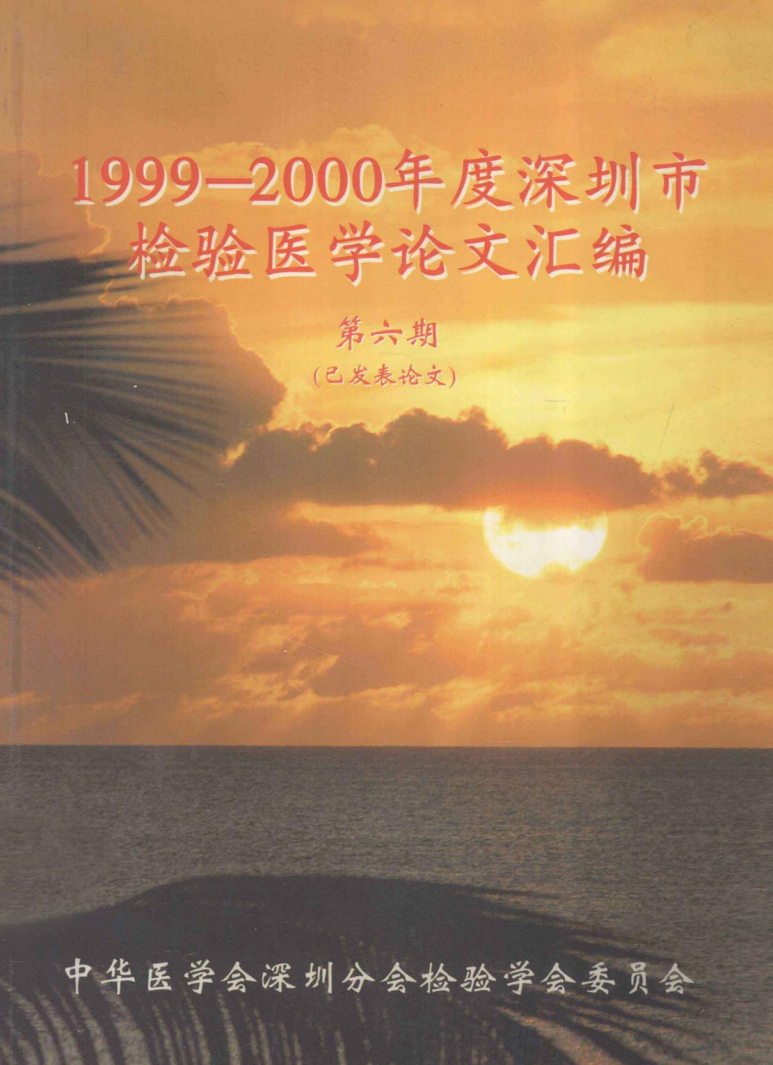




1999—2000年度深圳市 检验医学论文汇编

第六期

(已发表论文)

中华医学会深圳分会检验学会委员会

深圳市检验医学论文汇编
SHENZHEN'S JOURNAL OF MEDICAL
LABORATORY TECHNOLOGY IN 1999'-2000'

本期执行编委: 梁宝铎 赵祥胜 陈士竹 李卓成
黎玉坚 黄文瑶 张 松 何 林
陈汝光 郝建华 黄 华 李伟雄

责 任 编 辑: 赵祥胜

编 委 会: 中华医学会深圳分会检验学会委员会

协 办 单 位: 深圳市人民医院输血科

前 言

本论文汇编收集的是 1999 - 2000 年已发表和未发表的文章。从文章所涉及的范围、数量和质量都比以往有明显的提高,这是我市从事检验医学工作者在坚持繁重的日常工作的同时,在自己从事的专业实践中不断地探索、研究、总结获得的丰硕成果。值得提出的是有三分之一的文章已在国内各类专业杂志上公开发表,文章的作者有相当部分是来自基层医院的年轻人。长江后浪推前浪,世上新人胜旧人,新一代检验医学人才在茁壮成长,是我市检验医学的希望所在。

我市的检验医学只有 20 年的历史,而开创特区的初期检验医学同样面临着“打基础”,“铺摊子”,都在搞创建工作,一时还顾及不到学术水平,更无暇搞研究、探索,我们与内地的检验水平相差甚远。但经济特区毕竟有其特殊的优势,在借助特区大环境改善的同时,检验医学工作也随着医院迅速发展而成长起来。工作环境改善了,仪器设备迅速地及时更新与填充,人员的结构成分发生了明显的变化,这为我们特区检验医学打下了坚实的基础,也是近几年发展较快的根本原因。收集的文章就是耕耘之花,创业之果。以上的成绩只能是我们前进的动力,决不能满足于现状,我们应清醒地看到,我们的历史毕竟很短,我们的队伍也毕竟年轻,我们的资历、阅历毕竟不足。面对这日新月异的技术开发与应用,还不那么得心应手,因此,总体来说,我们还相差甚远,应继续发扬拼搏精神,努力进取,为赶上全国的先进检验水平而奋斗。

本次收集的文章共 192 篇,已发表的文章 64 篇,未发表的 128 篇。为方便起见将已发表和未发表的文章分为二册印刷。每集内容各分为六类,但因有些文章方法与内容专业的交叉,因此这样分类只是大概。

本次汇编未发表的文章部分为节省篇幅,一律不登载摘要与参考文献,望作者见谅。

192 篇文章,从通知、收集、归类、重校、录入、校对、直至印刷其工作量是可想而知,为此我们不能不提到检验学会各位委员的工作,还有市人民医院输血科,检验科,市中医院检验科,红会医院检验科,宝安区血站,宝安区人民医院检验科,罗湖区人民医院检验科等单位为文章的无偿录入所做的工作,谨此表以衷心的感谢。

中华医学会深圳分会

检验学会委员会 主任委员 梁宝铨

2001. 5

目 录

●临床检验学

凝血酶原片段 F1 + 2、凝血酶—抗凝血酶复合物和 D—二聚体定量测定在 DIC 早期诊断中的应用价值分析·····	徐 勇 1
AC—90 血细胞计数仪常见故障及处理·····	黄进明 3
冰冻干燥 G6PD 反应试剂的制备及应用·····	黄进明 4
老年 2 型糖尿病患者血浆凝血因子 VII 检测及临床意义·····	彭运生 6
试剂温度对血液分析仪红细胞检测的影响·····	何进才 8
血小板直方图分布异常对计数结果的影响·····	叶有玩 10
遗传性球形红细胞增多症伴血小板聚集力异常 1 例·····	陈建霞 12

●临床化学

脂多糖诱导大鼠肝脏中两类磷脂酶 A ₂ 激活及基因表达·····	徐 勇 13
Apo E 基因型分型方法的概况与现状·····	李芳芳 16
C 反应蛋白测定在急性胰腺炎诊断的临床应用·····	翟洪顺 18
定量 PCR 与定性 PCR 及分子斑点杂交测定 HBVDNA 的比较·····	李芳芳 20
肝病患者清 CPⅢ、HA、LN 和 PLD 水平的变化及其与肝纤维化的关系·····	李卓成 21
阴道加德纳菌 RFLP 基因分型·····	谢春英 24
两步进样法克服高盐浓度对小分子物质分析的影响·····	程明刚 27
慢性阻塞性肺病患者血浆血栓素 B ₂ 和 6—酮—前列腺素 F _{1a} 含量的变化及其与肺动脉高压的关系·····	李卓成 29
梅毒螺旋体 37000 肉鞭毛蛋白基因的扩增、克隆及鉴定·····	熊礼宽 32
梅毒螺旋体 TPP17 基因的扩增、克隆及表达·····	熊礼宽 34
糖化血红蛋白与血浆蛋白测定对糖尿病临床监控价值·····	董 敏 36
正常妊娠妇女血中活化的蛋白 C 抵抗、狼疮样抗凝物质与血栓前状态分子标志物测定·····	徐 勇 37
尿液中痕量纤维蛋白肽的毛细管电泳法检测·····	程明刚 40
对歧杆菌表面分子对 LPS 在小鼠体内调节胸腺细胞凋亡的观察·····	余振东 42
亚急性重症乙型肝炎患者血浆纤维蛋白原与纤维蛋白单体聚合功能的测定及临床意义·····	彭运生 45
糖尿病患者 β ₂ —m 水平检测研究·····	董 敏 47
阴道加德纳菌 ITS—23SrRNA 部分基因克隆及序列分析·····	黄呈辉 49
应用 PCR—RFLP 方法进行载脂蛋白 E 基因分型的研究·····	李芳芳 52

●临床免疫学

NG、CT、UU、HPV 四种性传播疾病感染现状分析·····	黎玉坚 53
O 型血孕妇血清免疫抗体与新生儿溶血病的关系探讨·····	杨 波 54
TTV 对孕产妇、胎儿的感染及危害的临床探讨·····	缪小佟 55
TT 病毒的研究近况·····	黄呈辉 57
如何提高性传播疾病实验诊断的准确性·····	熊礼宽 60

生殖泌尿道分泌物 TTV DNA 检测	黎玉坚 62
特区孕产妇、新生儿及儿童红细胞免疫功能探讨	缪小佟 64
微小病毒 B19 对孕产妇、胎儿的感染及危害的临床观察	祝爱霞 66
献血员中 TT 病毒 DNA 检测及部分基因序列分析	黄呈辉 68
血液透析病人中输血传播病毒 (TTV) 感染的检测及序列分析	谢春英 71
一种新的新生儿溶血病实验诊断技术—微柱凝胶技术	赵祥胜 73
微柱凝胶技术鉴别孕妇血清 IgG 抗体水平	赵祥胜 75
386 例病毒性肝炎病人六型肝炎病毒血清免疫学检测	李芳芳 77
斑点杂交法检测 TTV DNA	陈汝光 78
不同方法对 HIV—抗体确认试验的敏感性分析	朱玉兰 79
对无偿献血者进行 HBsAg 快速筛查的效果初评	陈汝光 81
肝病患者中庚型肝炎病毒感染的检测	黄呈辉 82
庚型肝炎病毒 NS5 区部分基因的表达及其在 EIA 中的初步应用	刘香萍 85
艾滋病合并马尔尼菲青霉菌病的实验室特征	盖俊惠 88
国产试剂在 Array360 免疫分析仪上的应用	余振东 90
检测乙肝标志物抗—HBe、抗—HBc 非特异性交叉反应原因分析	赵祥胜 92
IL—4、IL—10 与支气管哮喘相关性的研究	刘 萍 94
哮喘患者血浆可溶性细胞间粘附分子的变化及意义	刘 萍 96
●临床微生物学	
217 例淋病患者合并支原体及沙眼衣原体感染分析	丁芳林 98
22 种抗生素对大肠埃希菌抑菌浓度的研究	何 林 99
22 种抗生素对铜绿假单胞菌抑菌浓度研究	何 林 100
白色念珠菌生化性状的研究	何 林 103
都柏林念珠菌感染的实验室诊断进展	熊礼宽 104
龟分枝杆菌感染的实验室诊断	熊礼宽 106
立明法检测女性生殖道感染及不孕症患者沙眼衣原体	高 玮 109
临床常见病原菌对泰能的耐药统计	朱 奕 111
泌尿生殖道支原体感染与血清抗精子抗体关系的研究	高 玮 113
人类苍白杆菌脑膜炎及菌株的分离鉴定	黄 华 115
一种新型快速检出分枝杆菌变色培养基的评价	熊礼宽 116
阴道加德纳菌致病株的基因诊断方法	陈汝光 118
支气管肺泡灌洗液细菌学检查结果分析	刘小平 119
●管理与质控	
HIV—抗体初筛实验室室内质量控制	朱玉兰 120
●其它	
不同的冻存保护剂对脐造血细胞生物特性的影响	陈汝光 122
染色体平衡易位对生育的影响	高 玮 125

凝血酶原片段 F1 + 2、凝血酶 - 抗凝血酶复合物和 D - 二聚体定量测定在 DIC 早期诊断中的应用价值分析

徐 勇 霍 梅 余 涟 叶素丹

深圳市人民医院检验科 518020

The clinical value of prethrombotic molecular markers in early diagnosis of disseminated intravascular coagulation

XU Yong, HUO Mei, YU Lian, YE SU - DAN (Department of laboratory medicine, Shenzhen people's hospital, Shenzhen, Guangdong, 518020)

[Abstract] Object: To compare the clinical value of routine coagulation tests and three prethrombotic molecular markers in diagnosis of disseminated intravascular coagulation. **Methods:** 62 patients that had been clinically diagnosed as disseminated intravascular coagulation (DIC) were divided into three groups according to the course of DIC: early - , mid - and late - stages. Routine coagulation tests (PT, APTT, TT, FIB, FDP, 3P and platelet counting) and the levels of prothrombin fragment F1 + 2, thrombin - antithrombin (TAT) and D - dimer (D - D) were determined in plasma of 62 DIC patients and 30 normal controls. **Results:** Part of routine coagulation tests showed obvious tendency during the process of DIC and all the three markers were significantly increased in relation to values observed in the control group. In early stage DIC patients, the levels of D - D, F1 + 2 and TAT were $(1.62 \pm 1.46) \text{ mg/L}$, $(4.96 \pm 2.78) \text{ nmol/L}$ and $(33.11 \pm 20.59) \mu\text{g/L}$, respectively (which were $(0.51 \pm 0.12) \text{ mg/L}$, $(0.73 \pm 0.42) \text{ nmol/L}$ and $(1.64 \pm 3.14) \mu\text{g/L}$, respectively in normal controls). In medium - term DIC patients, the levels of D - D, F1 + 2 and TAT were $(6.85 \pm 8.37) \text{ mg/L}$, $(4.36 \pm 2.44) \text{ nmol/L}$ and $(22.53 \pm 20.98) \mu\text{g/L}$, respectively. In late stage DIC patients, the levels of D - D, F1 + 2 and TAT were $(10.32 \pm 5.85) \text{ mg/L}$, $(6.44 \pm 3.51) \text{ nmol/L}$ and $(36.64 \pm 20.09) \mu\text{g/L}$, respectively. Only the D - D levels were significant different among the three stage DIC patients. A significant correlation only between F1 + 2 and TAT ($r = 0.679$, $P < 0.0001$) was found in all DIC patients. **Conclusions:** Combination of routine coagulation tests and qualitative determination of prethrombotic molecular markers D - D, F1 + 2 and TAT (esp. F1 + 2 and TAT) are valuable for early diagnosis of DIC and assessment of the process and severity of DIC, as well as for investigation of the pathophysiology mechanism of this disorder.

弥散性血管内凝血 (disseminated intravascular coagulation, DIC) 是一种获得性全身性出血 - 血栓综合征, 其病因多, 临床变化复杂, 不易判断, 严重时危及患者生命; 由于其病情变化复杂, 实验室早期诊断较为困难。本文试图对比分析近来较为推崇的血栓前状态分子标志物在临床 DIC 的早期诊断、病情发展判断中的价值, 拟为临床寻找更为灵敏、早期、全面并能协助判断病情发展的实验室指标。

材料与方法

1 研究对象

1.1 正常对照组: 30 例, 年龄 18 ~ 51 岁, 平均

31.5 岁, 均来自我院门诊体检科, 无血栓病史和家族史, 采样时无其它疾病。

1.2 DIC 组: DIC 病人 62 例, DIC 诊断参考张之南、王振义、李家增等人^[1, 2, 3] 的论著结合临床病史、病情资料和实验室检测结果, 根据 DIC 病程将其分为: 早期 (初发性高凝血期)、中期 (消耗性凝血障碍期) 和晚期 (继发性纤溶亢进期), 病人年龄平均 38.9 岁; 妊高征和先兆子痫 15 例, 死胎流产 13 例, 胎盘早剥和宫外孕失血性休克各 1 例, 肝硬化 10 例, 急重肝 6 例, 白血病 6 例, 淋巴瘤 1 例, 多发性创伤继发感染 7 例, 感染性休克致多脏器衰竭 2 例, 全部病例均为初发疑为 DIC 病人, 未经抗凝治

疗。

2. 试剂和方法

2.1 标本采集 静脉采血后用 0.109mol/L 枸橼酸钠 1:9 抗凝处理。3000rpm 离心 10 分钟后,取血浆分装于 -80℃ 保存。

2.2 试剂和仪器 常规凝血学试剂购自美国太平洋公司;凝血酶原片段 F1+2 和凝血酶-抗凝血酶复合物(TAT)ELISA 试剂盒购自 Dade-Bering 公司;D-dimer ELISA 试剂盒购自福建太阳公司。常规检测凝血仪为 TECO-IV-PLUS;酶标比色仪为 Bioelisa ELX-800 型。

2.3 测定方法:参见试剂盒及仪器说明书。

2.4 统计学处理:数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用微软公司 Microcal Origin 4.1 统计软件经方差分析检验上机处理。

结果

早期 DIC 病人 D-D 含量为 $(1.62 \pm 1.46) \text{ mg/L}$, NC 组为 $(0.51 \pm 0.12) \text{ mg/L}$; F1+2 含量为 $(4.96 \pm 2.78) \text{ nmol/L}$, NC 组为 $(0.73 \pm 0.42) \text{ nmol/L}$, TAT 含量为 $(33.11 \pm 20.59) \mu\text{g/L}$, NC 组为 $(1.64 \pm 3.14) \mu\text{g/L}$; 中期 DIC 病人 D-D 含量为 $(6.85 \pm 8.37) \text{ mg/L}$, F1+2 含量为 $(4.36 \pm 2.44) \text{ nmol/L}$, TAT 含量为 $(22.53 \pm 20.98) \mu\text{g/L}$; 晚期 DIC 中 D-D 含量为 $(10.32 \pm 5.85) \text{ mg/L}$; F1+2 的含量为 $(6.44 \pm 3.51) \text{ nmol/L}$, TAT 含量为 $(36.64 \pm 20.09) \mu\text{g/L}$ (见表 1)。经相关性分析 F1+2 和 TAT 含量在所有 DIC 病人中有显著性相关($r = 0.679$, $P < 0.0001$)而 F1+2 与 D-D、TAT 与 D-D 无相关性。

讨论

三种分子标志物在各期 DIC 中较 NC 组均有明显升高,而升高幅度及升高阳性率在 DIC 的不同时期均有所不同。F1+2 是由于 X 因子活化后与因子 V、PF3 和 Ca^{2+} 形成凝血酶原激活物水解凝血酶原而产生的片段(其中凝血酶原片段 2 可通过内部剪切形成凝血酶),正常人含量很少,它的升高表示早期凝血酶原激活物和凝血酶前体物质生成增多。我们发现 F1+2 在 DIC 早期的升高的幅度和阳性率极高(较 NC 组有 6 倍多的升高,阳性率达 94.7%),是 DIC 早期诊断的良好标志物,而在 DIC 发展过程中保持平稳的高度(各期间无明显差异)提示凝血激活持

续存在。TAT 是凝血酶与抗凝血酶的结合物,其升高是凝血酶生成和抑制剂消耗的直接证据。本研究中发现,TAT 在 DIC 早期即有极显著性升高(较正常组有 8~10 倍的升高,阳性率为 89.5%),也是 DIC 早期诊断的良好指标,其在 DIC 发展过程中保持较高水平显示凝血酶持续生成并使体内抗凝血酶持续消耗。F1+2 和 TAT 之间良好的相关性提示凝血酶原激活物的生成、凝血酶的生成和抗凝血酶发挥作用是密切联系并相伴进行的过程,这一点与国外的报道有相似之处。

D-dimer 测定是一种新的 DIC 诊断试验,它是由于凝血酶使纤维蛋白原转变为纤维蛋白以及激活 XIII 因子交联纤维蛋白时形成的一种新的抗原,它是纤溶酶降解交联的纤维蛋白的结果;因此它特异性反映纤维蛋白降解产物并可同时反映凝血酶及纤溶酶的生成,D-D 水平增高即表明体内有纤维蛋白血栓形成和纤溶发生^[4,5]。我们的结果发现其在 DIC 早期升高幅度及阳性率不如 F1+2 和 TAT,但在 DIC 发展过程中持续升高(中、晚期组较 NC 组分别有 10、20 倍的升高,阳性率均为 100%),显示继发纤溶伴随凝血存在并明显逐渐加重。本文显示 DIC 晚期 F1+2 和 TAT 的含量依然保持较高水平(与 DIC 早、中期无差异)提示体内凝血反应依然活跃,这与传统的 DIC 晚期“凝血衰竭”观点明显不同,我们认为 DIC 晚期的出血的主要原因可能不是凝血衰竭而是纤溶的不断加重,凝血和纤溶的失衡最终可致出血症状的加重。

在许多 DIC 病例中我们发现,一些常用凝血学指标,如 PT、APTT 在 DIC 早、中期通常是不可靠的(可因低纤维蛋白原血症、FDP 的干扰或纤溶酶诱导的凝血因子降解而表现为正常、缩短或延长);用于检测循环纤维蛋白单体的 3P 试验在 DIC 早、中期阳性率较高,但晚期亦可阴性,因为此时血浆中以 FDP 碎片 Y、E、D 为主,而碎片 X 极少。DIC 早、中期, FDP 阳性率较低,这可能是由于降解产物被迅速清除;此外,在一些急性 DIC 中,如果继发性纤溶较弱或循环中纤溶酶较少,纤维蛋白只降解到 X 级片段或纤维蛋白到 X 级片段之间,可能由凝血酶收集试管中清除而使得无法检测到;相反,在继发性纤溶较强和循环中纤溶酶较多的急性 DIC 中,降解反应可能越过 D、E 片段期而使 FDP 常检测不到。而 F1+2 和 TAT 在 DIC 早期的升高均非常明显,并在 DIC 各

(下转第 5 页)

AC-900 血细胞计数仪常见故障及处理

黄进明

广东省深圳市福田区梅林医院 518049

我科使用瑞士 SWELAB 公司生产的 AC-900 血细胞计数仪已有三年,该仪器准确度和精密度均较理想,性能可靠,易于保养。常见故障是计数管(或称测量变换器)微孔堵塞。现将检修体会作一介绍,供同行参考。

1 故障表现

1.1 计数管微孔完全堵塞 测量过程中发生计数管微孔完全堵塞时,仪器显示“CLOG”报警。

1.2 计数管微孔部分堵塞 多在血样品测定结果与受检者情况明显不相符合时发现。主要表现为 WBC 总数和 PLT 明显增高, WBC 分类图象左移。此时,用同一批号全血质控物多次测定,重复性差,出现忽高忽低现象。用稀释液反复做空白测定,本底明显升高,且数值不稳定,变化较大, RBC1.00~3.00, PLT50~MAX, WBC2.0~20.0, 同时排除溶血剂、稀释液、稀释器、管道污染等原因造成的可能。拆下计数管检查,见微孔壁上附有褐色沉积物。用洗耳球加压,计数管内稀释液不能经微孔射出,或射出不畅。当洗耳球吸气时,可见管外空气因负压作用而经微孔进入管内时,产生的一串串小气泡,说明微孔存在部分堵塞。

2 故障分析与排除 计数管微孔完全堵塞时,仪器显示报警信号,容易识别。当发生部分堵塞时,仪器没有任何报警信号,但却给出错误的测量结果,稍有不慎,就会给患者发出错误的报告。微孔部分堵塞而导致测量结果发生错误是由于受污染而变狭窄的小孔通道对通过的细胞产生了挤压而致其变形,从而

使仪器采集到了异常的脉冲和振幅,出现了错误的结果。排除微孔堵塞的步骤及方法可按先易后难的顺序进行。①进入服务程序中“TEST CAPILLARY CLEANING”,按“START”键几次,利用“电烧”功能排除堵塞。进入服务程序中的“SINGLE-COUNT AND TIMING”,按“START”键以检查堵塞是否排除。②进入服务程序中的“TEST MAGNET VALVES”。按“SELECT”键选择“FLUSH PUMP”。按“ON”键,当计数杯中的稀释液排空后,用手指捏紧计数杯下方的废液排泄胶管,以阻止计数杯中的稀释液排出。当稀释液将充满计数杯时再放松废液排泄胶管,使计数杯中稀释液排出,利用稀释液的冲擦清除堵塞物。重复冲洗几次后进入“SINGLE-COUNT AND TIMING”,按“START”键,检查堵塞是否排除。一般微孔堵塞经上述方法处理后可以消除。如仍不能消除,可按以下方法处理。③拆下计数管,浸入 15% 次氯酸钠或去蛋白液中,用洗耳球吹吸数次,或浸泡过夜后,再用洗耳球吹吸。检查堵塞是否已排除,可用洗耳球加压,如见计数管内液体能经微孔顺畅地向外喷出,说明堵塞已经消除。笔者在使用该仪器期间,遇到过各种不同程度的微孔堵塞,按照上述方法处理,均得以排除。故障消除后,装上计数管,用稀释液做空白测定几次,可见本底已明显下降。在本底降至 RBC <0.02, PLT <10, WBC <0.1, 仪器经用全血质控物校正后即可投入正常使用。

原文已发表于“陕西医学检验杂志”2000 年第 15 卷增刊

冰冻干燥 G6PD 反应试剂的制备及应用

黄进明

广东省深圳市福田区梅林医院检验科 518049

[摘要] 根据葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)荧光斑点试验方法,制备冰冻干燥 G6PD 反应试剂,观察冰冻干燥试剂在保存中的稳定性,用该试剂定性测定正常人和 G6PD 缺乏者酶活性,并与 G6PD 活性定量测定结果比较。结果冻干 G6PD 反应试剂在 4℃ 至少能稳定 6mo。与 G6PD 活性定量测定结果比较,检测 G6PD 活性正常者标本,符合率为 92%~96%,男性 G6PD 缺乏者,符合率为 100%。G6PD 反应试剂经冰冻干燥后有利于贮存,且不影响试剂的检测效果。有条件的实验室可以批量生产,并可提供给基层医疗单位开展 G6PD 缺乏症的筛选。

Preparation of Freeze-dried Mixed Reagent for G6PD Fluorescent Spot Test and Its Clinical Application

HUANG Jin - Ming (Department of Clinical Laboratory, Meilin Hospital Shenzhen 518049)

[Abstract] Mixed reagent for the glucose-6-phosphate(G6PD) fluorescent spot test were freeze-dried in plastic tubes and stored at 4℃. The stability of the freeze-dried mixed reagents was studied. The activity of G6PD from normal and G6PD deficient blood samples was tested according to the method of fluorescent spot test with the reagent, and the results were compared with those of spectrophotometric assay. The results indicated that freeze-dried mixed reagents remained stable for at least 6 months at 4℃. The coincidence rate of the results of simultaneous determination of normal blood samples of both sexes, or G6PD deficient blood samples from males by means of both methods was 92%~96% and 100% respectively. Freeze-dried mixed reagents can be kept at 4℃ and don't required to be stored at meov20. A major laboratory with freeze-drying facilities is able to prepare these reagent tubes in bulk and supply small laboratories for screening purposes.

[Key words] Glucose-6-phosphate dehydrogenase Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)缺乏症是人类最常见的红细胞酶病之一。对人群进行 G6PD 活性的普查和对临床溶血病人的过筛,对 G6PD 缺乏症诊断、防治和优生优育都有重要意义。现已有多种 G6PD 缺乏的筛选方法,而公认最可靠的并经国际血液学标准化委员(ICSH)推荐的方法是荧光斑点试验[1]。本文根据荧光斑点试验方法,通过制备冰冻干燥的 G6PD 反应混合剂,用于筛选 G6PD 缺乏者,并与酶活性定量测定进行比较。现报告如下。

材料与方法

1.1 材料 血液标本来源于本院门诊体检者,年龄为 1~45y。6-磷酸葡萄糖(G6P)、氧化型辅酶Ⅱ(NADP⁺)为 Sigma 公司产品,氧化型谷胱甘肽(GSSG)和三羟甲基氨基甲烷(Tris)为进口分装试剂,皂素为国产生化试剂

1.2 方法

1.2.1 冰冻干燥 G6PD 反应试剂的制备: 反应试剂由下列各试剂组成 [2]: 10mmol/L G6P 2 份, 7.5mmol/L NADP⁺ 1 份, 8mmol/L GSSG 1 份, 1% 皂素 2 份, 750mmol/L Ph7.8Tris-HCl 3 份。蒸馏水 1 份。将反应试剂混匀,分装于 1.5ml 的塑料离心管,每管 100ul,冰冻干燥后置于 4℃ 保存。

1.2.2 G6PD 活性定性测定(荧光斑点法): ①将 100ul 蒸馏水加入含冻干反应试剂的离心管中,混匀备用。②取新鲜全血 1~2 滴滴于定性新华滤纸上,室温下自然干燥。将直径 10mm 血斑纸片剪碎,放入含 100ul 反应试剂的离心管中,37℃ 温育 20min。然后取此浸渍液 10ul 滴于滤纸上,任其充分干燥。在长波紫外光下检查结果,产生明亮荧光者为正常,弱荧光者为中间值,无荧光者为显著缺乏。

1.2.3 G6PD 活性定量测定: 按 Zinkham 改良法测定 [3],测定温度 37℃,参考值为 $12.1 \pm 2.09U/g$ Hb。

结果与讨论

2.1 冻干反应试剂在保存中的稳定性 冻干 G6PD 反应试剂保存在 4℃, 并于 15, 30, 60, 180d 分别抽检。将复溶的反应试剂滴在滤纸上, 晾干, 或将复溶的反应试剂滴于黑色的反应板凹孔中, 在长波紫外光下照射, 均无荧光产生, 说明 NADP⁺ 没有被还原为 NADPH。以 G6PD 活性定量测定法为标准, 检测 G6PD 活性正常者血液标本, 符合率为 92~96%, 见附表。

附表 冻干 G6PD 反应试剂在 4℃ 保存中的稳定性

d	n	酶活性定量测定	酶活性定性测定(例数)		符合率 (%)
		(U/gHb)($\bar{x} \pm s$)	正常	缺乏	
15	25	11.9 $\pm$ 1.7	24	1	96
30	19	12.3 $\pm$ 1.5	18	1	95
60	20	11.4 $\pm$ 1.9	19	1	95
90	18	11.0 $\pm$ 1.4	17	1	94
180	25	10.8 $\pm$ 1.6	23	2	92

2.2 从体检者中筛选出 11 例男性 G6PD 缺乏者, 经 G6PD 活性定量测定酶活性在 0.09~2.07U/gHb

范围, 符合率为 100%。

2.3 荧光斑点试验的反应混合液在温室和冰箱中均不易保存, 所以, 最好在使用前根据用量临进混合, 而反应试剂经冰冻干燥后, 在 4℃ 保存至少能稳定 6mo, 有利于试剂的贮存, 且不影响试剂的检测效果。因此, 有条件的实验室可以批量生产, 并可以提供给基层医疗单位开展 G6PD 缺乏症的筛选。

参考文献

1. Beutler E, Blume KG, Kaplan JC et al. International committee for standardization in haematology: Recommended screening test for glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PD) deficiency. Br J Haematol, 1979; 43: 465-467
2. Dow PA, Petteway MB, Alperin JB. Simplified method for G6PD screening using blood collected on filter paper. Am J Pathol, 1974; 61: 333-336
3. WHO Scientific Group. Standardization of procedures for the study of glucose-6-phosphate dehydrogenase. WHO Tech Rep Ser, 1967; 366: 30-32

原文已发表于: 陕西医学检验杂志 1999 年 14 卷第 2 期

(上接第 2 页)

期均保持较高水平, 这对于 DIC 的早期诊断有重要意义; 对于一些特殊的、不易判断的 DIC 病例, 通过 F1+2、TAT 和 D-D 测定配合其它血凝学指标, 也都能起到较好的协助诊断作用, 这一点通过我们的回顾性分析得到了初步肯定。而 D-D 含量在 DIC 早期也有明显的增高而且随 DIC 的发展有更大幅度的增加, 因而不但有助于早期诊断 DIC, 并且可用于判断 DIC 的发展情况。

由于 DIC 可由多种疾病情况引起, 而其变化发展可能因病因不同而出现多种变化; 本文中的病例中产科疾病较多, 因此可能不能完全代表其它病因引发的 DIC 的规律。

参考文献

1. 张之南主编 血液病诊断及疗效标准 第二版 科学出版社 1998。
2. 王振义、李家增、阮长耿主编 血栓与止血基础与临床 第二版 上海科学技术出版社 1995。
3. 李家增、贺石林、王鸿利主编 血栓病学 科学出版社 1998。
4. Bredbacka S, Blomback M, Wiman B, et al. Laboratory methods for detecting disseminated intravascular coagulation (DIC): new aspects. Acta Anaesthesiol Scand 1993; 37(2): 125.
5. Carr JM, McKinney M and McDonagh J. Diagnosis of disseminated intravascular coagulation: role of D-Dimer Am J Clin Pathol 1989; 91: 280.

原文发表于“中华血液学杂志”2000 年第 21 卷第 9 期

老年 2 型糖尿病患者血浆凝血因子 VII 检测及临床意义

彭运生¹ 董临江¹ 刘敏娟² 刘泽霖²

1 深圳市宝安人民医院检验科, 518101; 2 广州医学院附二院血研所

[摘要] 目的 对 36 例老年 2 型糖尿病(2 型 DM)患者进行血浆凝血因子 VII 水平检测,探讨临床意义。方法: FVIIa 测定采用重组可溶性组织因子法; FVII:C 采用一阶段凝固法; FVII:Ag 采用 ELISA 法。并计算 FVIIa/FVII:Ag 与 FVII:C/FVII:Ag 的比值。结果: FVIIa 为 $2.9 \pm 0.9 \text{ ng/ml}$, FVII:C 为 $107 \pm 25\%$, FVII:Ag 为 $76 \pm 19\%$, FVIIa/FVII:Ag 为 3.28, FVII:C/FVII:Ag 为 1.41, 与对照组相比除 FVII:Ag 外,其余数据均有增高,呈显著性差异。结论:老年 2 型糖尿病患者血液具高凝状态,有血栓形成可能,应采取防止血栓形成的措施。

[关键词] 老年糖尿病; 血浆; 凝血因子 VII 中图分类号: R 587.1 文献标识码: A

Detection of plasma coagulation factor VII in old patients with type 2 diabetes mellitus and its clinical significance

PENG Yun-sheng, DONG Lin-jiang, LIU Min-juan, et al. Bao an district hospital of Shenzhen, ShenZhen 518101

[Abstract] **Objective** To detect plasma level of coagulation factor VII in 36 old patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus and to discuss its clinical significance. Method FVII was detected with recombinant soluble tissue factor method. FVII:Ag was detected with ELISA. And FVII:C was detected with phase coagulation method. Then relative value of FVIIa/FVII:Ag and FVII:C/FVII:Ag was calculated. Results FVIIa $2.9 \pm 0.9 \text{ ng/ml}$, FVII:C $107 \pm 25\%$; FVII:Ag $76 \pm 19\%$; FVIIa/FVII:Ag value was 3.28 and FVII:C/FVII:Ag was 1.41. Besides FVII:Ag, the others were significantly higher than those of control group. Conclusion The results of this study showed that the old patients with diabetes mellitus were in hypercoagulation state and perhaps there is possibility to form thrombosis. Therefore, we should take measure to combat thrombosis.

[Key words] The old diabetes; mellitus; plasma coagulation FVII (Chin J Lab Diagn, 2000, 5: 222)

血浆因子 VII (FVII) 已被认为是冠心病的危险因子^[1]。同时发现在糖尿病(DM)、尿毒症等疾病亦有 FVII 水平上调的现象。为进一步了解 DM 患者血浆 FVII 的水平并探讨其临床意义,我们对 36 例老年 2 型 DM 患者进行了 FVIIa, FVII:Ag 与 FVII:C 检测,现报道如下。

材料

1.1 研究对象

健康老年组为体检证实的健康老年 40 例,男女各 20 例,年龄 60—75 岁,平均 62.7 岁。老年 2 型 DM 患者男 20 名,女 16 名,年龄 61—79 岁,平均 63.5 岁。诊断按 1982 年 2 月北京全国糖尿病研究协作组扩大会议制定标准,排除并发症及有血栓形成史的病例。

空腹下采取静脉血 3.6ml,立即与 109mmol/L 枸橼酸钠的 0.4ml 混合后制备血浆(3000rpm, 10min),分装后储存于 -40℃ 待测,检测前取出标本立即于 37℃ 解冻 15 分钟,以避免 FVII 的冷激活。

2 方法

FVIIa 测定 采用重组可溶性组织因子法,试剂盒为法国 Diagnostica STAGO 公司产品。步骤:①用 PH 7.35 咪唑缓冲液将标化因子 VIIa 血浆作 1:10, 1:20, 1:50, 1:100 稀释;②因子 VII 血浆(活动度 1%) 0.1ml 0.025mol/L 氯化钠,记录凝固时间;③用受检正常与异常 1:10 稀释血浆代替以上标化血浆,重复步骤②;④用半对数回归曲线,计算受检标本血浆的凝血时间,并转换为 VIIa 含量(ng/ml)。

FVII:Ag 的测定采用 ELISA 法。试剂盒为法国 Diagnostica STAGO 产品。步骤:①取 1:21 稀释的受检血浆 200ml 加入已包被抗人 FVII 抗体的酶标孔中;②室温(18 至 25℃)下温育 2 小时后,用洗涤液洗涤 5 次;③每孔加入 200ml 辣根过氧化物标记的抗人 FVII 抗体;④室温下温育 2 小时后洗涤 5 次;⑤加入 OPD/H₂O₂200ml 后在室温精确温育 3 分钟,立即加入 3 H₂SO₄ 50μL 中止反应;⑥ 10 分钟后,于 492nm 下进行比色,并从标准曲线上换算结果。

表 1 老年 2 型糖尿病患者与健康老年人 FVII 测定值比较

	N	VIa(ng/ml)	VIIc(%)	VII:Ag(%)	VIa/VII:Ag	VIIc/VII:Ag
健康老年组	40	2.0 ± 0.7	86 ± 22	81 ± 17	2.47	1.06
患者组	36	2.9 ± 0.9	107 ± 25	76 ± 19	3.82	1.41
P 值		<0.05	<0.05	> 0.05	<0.05	<0.05

FVII: C 的测定 采用一阶段凝固法。试剂盒为福建太阳公司产品。步骤:①用咪唑缓冲液将乏因子 VII (活动度(1%) 血浆 0.1ml 作 1:10, 1:20, 1:50, 1:100 的稀释, 测定其凝血酶原时间, 并绘制凝固时间活动度曲线; ②以受检或正常、异常质控 1:10 稀释血浆 0.1ml 代替以上血浆进行凝血酶原时间测定; ③用回归曲线查出受检者血浆中 FVII: C 的活动度。

统计学方法除测定 FVIIa, FVII: Ag 与 FVII: C 值外, 并计算 FVIIa/FVII: Ag(血浆原有活化 FVII 占 FVII 总量的相对值) 与 FVIIc/FVII: Ag(FVII 活化能力比值)。其测定数值均用均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$) 表示, 并进行 t 检验。

结 果

见表 1。

讨 论

血浆中 FVII 99% 以酶原形式存在, 活化的 FVII (FVIIa) 的含量不足 1%。FVIIa/FVII: Ag 示血浆中已存在的 FVIIa 在整个 FVII 含量中所占的比例, 比值高低与凝血活性呈正相关, 既往由于方法上的限制, 对于 FVII 的测定多以测定 FVII: C 为主, 并视其增高为高凝状态。对 FVII: Ag 的测定较少, 对其增减的联系离不开先天遗传, 肝脏制造功能与单核-巨噬细胞系统的清除作用, 而对血浆中原已存在的活化 FVII (FVIIa) 因无法进行测定而对其临床意义也认识不足, 直到 1993 年 Morrissey 在建立了重组可溶性组织因子 (rs-TF) 法测定 FVIIa, 才使 FVIIa 测定达到完善。

老年 DM 患者常因肥胖, 高脂血症等因素导致血液呈高凝状态, 而血浆中凝血因子为血浆高凝状态危险因子之一, 临床资料可见 DM 血浆中 FVII: C 常

增高。血浆中 FVII 的水平常受到诸多因素的影响, 如季节, 年龄, 吸烟, 口服避孕药等, 尤其以 FVII: C 的波动最大, 而 FVIIa 相对较为稳定。既往的研究工作认为, 以 FVII: C 作为 FVII 的状况来判断结果, 现在认为是不够全面的, 因为 FVII: C 的升高, 可能是 FVIIa 的上调或是 FVII: Ag 的上调, 或两者同时上调, 故应将三者同时进行测定。目前有的研究资料认为: 用 FVIIa 含量与 FVIIa/FVII: Ag 的相对比值来用作判断凝血活性的强弱比观察 FVII: C 更有意义^[2]。DM 患者常并发血管损伤, 其损伤主要是动脉粥样硬化, 有一漫长的发展过程。组织因子(TF)过度表达, 可形成 TF/FVII 和(或)TF/FVIIa 复合物, 从而具有很强的促凝活性, 激活因子 X 和 IX, 故老年 DM 患者常并发冠心病与心肌梗死、脑缺血与缺血性脑卒中。本研究显示, 老年 DM 患者血浆中存在的 FVIIa 与 FVII: C 均明显升高; FVIIa/FVII: Ag 与 FVII: C/FVII: Ag 均明显上升, 并具有统计学意义, 表明老年糖尿病患者血液具高凝状态, 有血栓形成的可能, 应采取相应治疗措施。同时提示 FVIIa、FVII: C、FVIIa/FVII: Ag、FVII: C/FVII: Ag 等参数测定有可能成为老年 2 型 DM 辅助诊断有价值的指标。

参考文献

- [1] Ruddock V, meade TW. Factor VII activity and ischaemic hear disease: Fatal and nonfatal event[J]. Q J Med, 1994. 87: 4032
- [2] Morrissey JH, Macic BG, Neuenschwander PF, et al: Quantitation of activated factor VII Levels in Plasma using a tissue factor mutant selectively deficient in promoting factor VII activation [J]. Blood 1993; 81: 734

原文已发表于“中国实验诊断学杂志”2000 年第 4 卷第 5 期

试剂温度对血液分析仪红细胞检测的影响

何进才 原建武 杨小红 李慧贞 梁广佳

深圳市中医院检验科 518001

[摘要] 目的 探讨试剂温度对血液分析仪红细胞检测的影响。方法 将稀释液和溶血剂分别放置于 8(C、20(C 和 32(C 不同温度条件下,用 Hemalaser 3 血液分析仪平行检测 42 份抗凝静脉血。结果 两种试剂在 8(C、20(C 和 32(C 时,红细胞(RBC)、血红蛋白(HGB)和平均红细胞血红蛋白量(MCH)测定值基本一致($P > 0.05$),红细胞比积(HCT)和平均红细胞体积(MCV)随温度升高而增大($P < 0.01$),HCT 结果($\bar{x}(s, 下同)$ 分别为 0.400 ± 0.0455 、 0.428 ± 0.0508 和 0.443 ± 0.0528 L/L; MCV 分别为 83.8 ± 7.6 、 88.6 ± 8.0 和 91.3 ± 7.9 fl。平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)和红细胞体积分布宽度(RDW)随温度升高而降低($P < 0.01$)。MCHC 分别为 372.0 ± 9.8 、 346.9 ± 7.2 和 334.6 ± 8.2 g/L; RDW 分别为 14.7 ± 2.3 、 12.8 ± 2.4 和 11.4 ± 2.1 %。结论 血液分析仪使用和质控中应控制试剂温度在适当范围内。

[关键词] 温度 红细胞 自动血液分析仪 质量控制

The effect of temperature of reagents on red blood cell determination by automatic hematology analyzer

He Jincai, Yuan Jianwu, Yang Xiaohong, et al. (Department of Laboratory Medicine, Shenzhen Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen 518001)

[Abstract] **Objective** TO explore the affect of different temperature of reagents on red blood cell(RBC) determination by automatic hematology analyzer for quality control. **Method** Forty two samples of anticoagulative venous blood were determined by automated hematology analyzer (Hemalaser 3) with the dilute solution and hemolysin at different temperatures 8(C, 20(C and 32(C respectively. **Results** It was shown what RBC, hemoglobin(HGB) and mean corpuscular hemoglobin(MCH) were nearly identical when the two reagents was 8(C, 20(C and 32(C ($P > 0.05$). Hematocrit(HCT) and mean corpuscular volume(MCV) increased with increase temperature($P < 0.01$). The HCT were 0.400 ± 0.0455 , 0.428 ± 0.0508 and 0.443 ± 0.0528 L/L($\bar{x}(s)$ respectively, MCV were 83.8 ± 7.6 , 88.6 ± 8.0 and 91.3 ± 7.9 fl($\bar{x}(s)$. Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and red blood cells volume distribution width (RDW) decreased as the temperature increased($P < 0.01$). MCHC were 372.0 ± 9.8 , 346.9 ± 7.2 and 334.6 ± 8.2 g/L($\bar{x}(s)$ and RDW were 14.7 ± 2.3 , 12.8 ± 2.4 and 11.4 ± 2.1 % ($\bar{x}(s)$ respectively. **Conclusion** The temperature of reagents must be controlled within appropriate range during application of automated hematology analyzer and quality control.

[Key words] Temperature Red blood cells Automated hematology analyzer Quality control.

自动血液分析仪在医学检验领域中的普及应用,为传统血常规分析增添了许多有用的参数。与此同时,如何做好仪器检测的质量控制,已受到检验界的广泛关注。许多作者^[1]对其质控方法和影响因素进行了研究,其中普遍采用的方法之一就是利用病人样本中红细胞三个指数为质控指标的浮动均值法即 Bull 法。为了探讨该法应用中的有关问题,本文观察了稀释液和溶血剂在 8(C、20(C 和 32(C 不同温度条件下对 Hemalaser 3 血液分析仪红细胞七项参数检测的影响。现报道如下。

材料与方

1. **仪器和试剂** 法国 Sebia 公司产 Hemalaser 3 全自动激光血液分析仪及其配套稀释液、溶血剂和清洗液,上海沪西仪器厂之 H-1 微型混合器。

2. **标本来源** 随机收集 42 份门诊一般成年病人静脉血各 1ml,按 K2EDTA 1.8mg/ml 全血抗凝,混匀待检。

3. **实验方法** 将充分混匀的同一箱稀释液或溶血剂各分成 3 份,分别在 8(C、20(C 和 32(C 不同温度条件下放置数小时。在其它条件相同的情况下,用

附表 二种试剂在不同温度下红细胞各参数测定值($\bar{x} \pm s, n=42$)

项目	8℃	20℃	32℃	P
RBC(T/L)	4.79 ± 0.54	4.84 ± 0.54	4.87 ± 0.54	> 0.05
HGB(g/L)	148.4 ± 16.0	148.3 ± 16.2	148.2 ± 16.1	> 0.05
HCT(L/L)	0.400 ± 0.0455	0.428 ± 0.0508	0.443 ± 0.0528	< 0.01
MCV(fl)	83.8 ± 7.6	88.6 ± 8.0	91.3 ± 7.9	< 0.01
MCH(pg)	31.2 ± 3.0	30.8 ± 2.7	30.6 ± 2.7	> 0.05
MCHC(g/L)	372.0 ± 9.8	346.9 ± 7.2	334.6 ± 8.2	< 0.01
RDW(%)	14.7 ± 2.3	12.8 ± 2.4	11.4 ± 2.1	< 0.01

注:红细胞(RBC),血红蛋白(HGB),红细胞比积(HCT),平均红细胞体积(MCV),平均红细胞血红蛋白量(MCH),平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)和红细胞体积分布宽度(RDW)。

上述三种温度的试剂,Hemalaser 3 平行检测 42 份样本(采血后 30min 至 4h 内测毕),在每一温度测试样本前做 5 次试剂空白计数。

4. 统计方法 数据统计学分析采用 PEMS2.1 统计软件完成。多组间均数比较用完全随机设计的方差分析(F 检验),均数间两两比较使用 q 检验法。

结 果

稀释液和溶血剂在三种不同温度条件下,用 Hemalaser 3 血液分析仪平行检测 42 份抗凝静脉血结果见附表。结果表明:两种试剂在 8(℃、20(℃、32(℃时,RBC、HGB 和 MCH 测定值均无明显差异 ($P>0.05$)。HCT、MCV、MCHC 和 RDW 则差异显著 ($P<0.01$),其中前二者随温度升高而增大,后者随温度升高而降低,尤以 MCHC 受影响最大。分别对 HCT、MCV、MCHC 和 RDW 四项参数在 8(℃、20(℃和 32(℃时测定值进行两两比较,结果显示:除 HCT 和 MCV 在 20(℃与 32(℃间无显著性差异($P>0.05$)外,其余各组均数间均有明显差异($P<0.01$)。所有参数检测结果显示在 8(℃与 20(℃间差异均明显大于 20(℃与 32(℃间差异。(见附表)

讨 论

选择合适的实验条件是使用血液分析仪和做好质量控制工作的重要内容。本研究表明,试剂温度变化可使红细胞体积大小及其均一性发生改变,从而导致 HCT、MCV、MCHC 和 RDW 等测定值产生明显改变。从仪器检测原理和样本测定过程分析,这种影响系由稀释液温度变化所致,与溶血剂温度无关。是由于温度变化使稀释液某些性质(如渗透压)发生改

变或体外红细胞对温度变化的反应,还是激光照射不同温度血细胞悬液时,红细胞所产生的衍射光不尽一致,因而测得的红细胞体积也有差别所致,或者多种因素共同作用的结果,有待进一步研究。在预试验中,我们发现三种试剂温度下测得前 4 份样本结果无明显规律性变化,可能是仪器水路系统预温不足所致,为此本文在每一温度测定样本前进行 5 次试剂空白计数。此外我们也观察到试剂温度不同会使 MPV 和 PDW 等测定产生一定实验误差。根据本文结果,结合实际情况,笔者认为血液分析仪应用温度以 20(℃左右为宜,温度过高或过低都将使检测结果产生误差。

许多自动血液分析仪均设有病人样本检测数据对仪器进行质控的程序,大多采用 MCV、MCH 和 MCHC 三个指标即 Bull 法,Hemalaser 3 也不例外。该法于 1974 年由 Brain Bull 根据 Dorsey 的基本原理改进和倡用,认为在医院的一般病人(除外血液病、肿瘤化疗病人和婴幼儿)中,MCV、MCH 和 MCHC 的均数是非常恒定的,以 MCV89.5fl、MCH30.5pg、MCHC340.0g/L 为靶值,与每批连续 20 份病人样本测定均值比较,如果出现明显偏差(大于 3%),即表示仪器有问题,需要维修或校准。国内外屡有文献报道^[4]该法在自动血液分析仪室内质控中的实用价值,但均未涉及温度这一重要影响因素。本文结果显示稀释液温度增加 12(℃即可使 MCV、MCHC 增加或降低 3%以上,其中以 MCHC 变化最大,这与“MCHC 是最灵敏的质控指标”相符,而 MCH 则不受影响。因此当上述二个指标均值偏离靶值超过 3%时,仪器因素并非唯一的失控原因,尚需考虑试剂温度(环境温

(下转第 11 页)

血小板直方图分布异常对计数结果的影响

叶有玩 何春辉

深圳龙岗中心医院检验科,广东深圳 518116

[关键词]血小板;直方图;血液细胞分析仪

本文探讨血液细胞分析仪血小板直方图分布异常对计数准确性的影响,并与传统的手工法相比较。结果表明,血小板直方图分布正常者,两法计数值无显著性差别;直方图异常者,两法计数值则有极显著性差别。可见,仪器计数时,对于异常标本,应注重手工法进行复核。现报告如下。

材料与方法

1.1 仪器 Sysmex SF-3000 血液细胞分析仪。

1.2 试剂 Sysmex SF-3000 原装全套试剂。

1.3 血小板计数手工法 采用草酸铵稀释液按《全国临床检验操作规程》第2版操作,血小板聚集样品,三次重复计数取均值。

1.4 检测方法 传统手工法检测住院和门诊 91 例静脉血血小板计数直方图异常标本的血小板数量。随机检测 100 例静脉血血小板直方图正常者作对照。同时涂片瑞氏染色后油镜检查。

1.5 统计方法 采用配对资料的比较 t 检验法。

结果

2.1 血小板直方图正常组 仪器分析结果未提示有血小板群集,巨大血小板,小红细胞等。平均红细胞体积(MCV) $> 70\text{fl}$ 。文献报道,MCV $< 70\text{fl}$ 时,血小板计数才受红细胞干扰^[1]。涂片瑞氏染色油镜检查支持仪器分析结果。传统手工法血小板计数值与仪器数值比较, $t = 0.752$, $p > 0.05$, 两组差别无显著性意义。此结果支持 SF-3000 假阴性 0% 的报道^[2]。表明血小板直方图正常者,手工法计数与 SF-3000 仪器计数结果一致。

2.2.1 91 例血小板直方图异常组计数值与传统手工法计数值比较 $t = 6.083$, $p < 0.01$, 差别有极显著性意义。说明血小板直方图异常者,仪器对血小板识别能力不足,造成仪器计数不准确。

2.2.2 91 例血小板直方图异常者中,33 例 MCV $< 60\text{fl}$ 样品,打印报告示有血小板聚集,小红细胞等,

涂片检查血小板均匀散布。血小板直方图向右(向大血小板)呈逐渐升高趋势。其中数值差别最大 1 例为仪器计数 $714 \times 10^9/\text{L}$, 手工法计数值 $203 \times 10^9/\text{L}$ 。最小 1 例为仪器计数值 $209 \times 10^9/\text{L}$, 手工法计数值 $147 \times 10^9/\text{L}$ 。两组计数值比较, $t = 8.145$, $p < 0.01$, 差别有极显著性意义。说明,仪器计数血小板时,不能识别小红细胞。小红细胞的干扰,导致仪器计数值明显高于样品的血小板实际值。2.2.3 91 例血小板直方图异常者中,21 例 $60\text{fl} < \text{MCV} < 70\text{fl}$ 样品,打印报告示血小板聚集,小红细胞等干扰。涂片检查血小板均匀散布。血小板直方图曲线达峰后,稍微降低,又向上升起,呈“骆驼峰”样改变。仪器计数值与手工法计数值比较, $t = 5.245$, $p < 0.01$ 。也因小红细胞的影响,使仪器计数值高于样品的血小板实际数量。

2.2.4 直方图异常者中,27 例 $\text{MCV} > 70\text{fl}$, 打印报告和涂片检查均表明血小板聚集。血小板直方图曲线达峰后,下降不明显,没有往右边界下降到最低值。两法计数值比较, $t = 4.418$, $p < 0.01$ 。表明,血小板聚集样品,仪器无法计得样品的准确值,其计数值小于手工法计数值,有极显著性差异。

2.2.5 另 6 例样品存在小红细胞、红细胞碎片、血小板聚集等多种因素的共同作用,2 例血小板数量太少,2 例血小板异常。血小板直方图呈不规则变化,完全有别于正态分布曲线。仪器计数与手工法计数值比较无趋势性升高或降低,但仪器计数值不准确,两组数值比较, $t = 3.726$, $p < 0.01$, 差别有极显著性意义。

讨论

3.1 使用 SF-3000 血液细胞分析仪^[2]检测,血小板直方图正常者同手工法计数值无显著性差异。但仪器计数血小板快速,简便,精度高,重复性好。

3.2 SF-3000 血液细胞分析仪检测血小板时采用电阻法,与显微镜目测观察不同,它不能识别小红

细胞,红细胞碎片,血小板聚集等。存在小红细胞时,仪器计数值高于样品的实际值,血小板直方图呈异常的特征性改变。因此,当 $MCV < 70$ fl 时,必须采用传统手工法复检,修正仪器计数结果后再发报告。血小板聚集时,仪器计数值又小于样品实际值,血小板直方图又呈另一特征性改变。血小板聚集,是由于采血不顺利抗凝效果不佳等原因造成。所以,抗凝剂的使用及标本的采集,是结果准确的前提,需严格规范。当打印提示或直方图示有血小板聚集时,原则上应重新采集标本复检。

3.3 血小板数量太少,血小板疾患或多种干扰因素共同作用样品,血小板直方图呈无规律变化,但有别于正常者的正态分布曲线,能从输出直方图上反映出来。可见仪器对异常血小板识别能力不足,血小板数量太低时噪音信号比率升高,仪器计数发生偏

差。此类样品,定要采用手工法纠正。

3.4 仪器计数法飞速发展的今天,传统的手工法正逐渐被临床检验工作者淡忘。本文结果说明,仪器计数只是一种过筛手段,而手工法能去除小红细胞,红细胞碎片,血小板群集等干扰,并能识别异常血小板。对于异常标本,临床检验工作者时刻不容忽视传统的手工法进行复核。

参考文献

- 肖景珠,赵慧斌,李峰等.血细胞分析仪计数血小板的影响因素分析[J].临床检验杂志,1998,16(5):309.
- 潘柏中,王玉亭,林镇海等.Sysmex SF-3000 血液细胞分析仪应用评价[J].中华医学检验杂志,1998,21(5):319
- 原文已发表于“临床检验杂志”2000 年第 18 卷第 1 期

(上接第 9 页)

度)变化的影响。

我国早已开展对 RBC 和 HGB 检测的室内质量评价工作,并且血液分析仪已经广泛应用于各临床实验室,因此,对仪器检测的其它参数特别是用于鉴别贫血类型的上述三个参数进行质评是完全必要的。这就需要考虑各实验室检测温度统一问题(最好要求配备室内控温设施),以保证不同地区和实验室检测结果具有可比性,并有利于检测方法标准化。

参考文献

- 1 Bull BS, Elashoff RM, Heilbron DC, et al. A study of various estimators for the derivation of quality control procedures from patient erythrocyte indices. Am J Clin Pathol, 1974, 61:

473.

- 2 Koepke JA, Protextor TJ. Quality assurance for multichannel hematology instruments: four years' experience with patient mean erythrocyte indices. Am J Clin Pathol, 1981, 75: 28.
- 3 王仲倩,张代民.浮动均值法用于血细胞分析仪室内质量控制的探讨.中华医学检验杂志,1994,17: 370.
- 4 韩家莲,陈 蕃.红细胞指数在血液分析仪质控管理中的应用.上海医学检验杂志,1996,11:52.
- 5 秦晓玲,钱 超,丛玉隆.抗凝剂对血液分析仪白细胞检测影响.中华医学检验杂志,1994,17:329.
- 6 顾可梁.血液细胞分析仪的临床应用.临床检验杂志,1995,13: 266.
- 原文已发表于“江西医学检验”2000 年第 18 卷第 2 期

遗传性球形红细胞增多症伴血小板聚集力异常 1 例

陈建霞 付 彬

深圳市龙岗中心医院 518116

患儿,男,7岁。出生后出现黄疸,3个月后发现脾肿大。发育正常,贫血貌,皮肤黄染,肝肋下3cm,脾大平脐,质硬。家族史:父母均健康。血象:WBC $8.0 \times 10^9/L$, RBC $1.40 \times 10^{12}/L$, Hb $52g/L$, BPC $95 \times 10^9/L$, MCV $80fl$, MCH $35.2pg$, MCHC $270g/L$, Ret 0.045 , 球形红细胞 >0.21 , 成熟红细胞轻度大小不一, 易见点彩红细胞。血总红素 $65.2umol/L$, 直接胆红素 $10.2umol/L$, 红细胞盐水渗透脆性试验开始溶血 0.50% (对照 0.42%), 完全溶血 0.40% (对照 0.32%), 血块24小时部分收缩, 血小板聚集力ADP 10.8% , AA 4.2% , Rst 17.6% , 聚集力均降低, 血小板丙二醛(MDA)为0, 血小板3因子有效成性减低。骨髓象:骨髓增生极度活跃, 粒:红 $=0.2:1$ 。球形红细胞占 $0.18 \sim 0.21$ 。其父母血小板聚集力及MDA均正常。患儿行脾切除术, 术后5天复查 WBC $10.6 \times 10^9/L$, RBC $3.76 \times 10^{12}/L$, Hb $110g/L$,

BPC $380 \times 10^9/L$, 血小板聚集力ADP 28.4% , AA 34.3% , Rst 40.1% , MDA $3.72umol/L$, 血小板 $120 \times 10^9/L$, 表明血小板聚集功能及血小板MDA恢复至正常。

讨 论

近期一些研究证实,如果遗传性球形红细胞增多症患儿血小板脂类亦受累,酯酶活性升高,累及血小板甘油二酯酶活性,有可能导致聚集力异常,本例血小板聚集力减弱,MDA减低提示血小板花生四烯酸代谢异常,可能是血小板膜甘油酯酶受累影响了花生四烯酸代谢。如果甘油二酯酶活性增高,则二磷酸甘油酯磷酸化作用加强,而与Ca²⁺共同激活蛋白C的作用就会减弱,影响血小板释放,聚集。

原文已发表于“深圳医学”2000年第13卷第4期