

• 经验交流 •

EDTA 抗凝剂在实用 McAb-A-E 直接法中的应用研究*

郝爱华¹, 田文斌¹, 姚伯程^{2△}

(1. 甘肃省肿瘤医院, 兰州 730050; 2. 甘肃省医学科学研究院分子生物学研究中心, 兰州 730050)

摘要:目的 研究 EDTA 抗凝剂在实用 McAb-A-E 直接法在检验 T 淋巴细胞亚群中的应用。方法 以原方法所用的肝素抗凝剂作为对照, 用 2 种抗凝剂抗凝的血液标本同时检验 28 例临床标本的 CD3、CD4、CD8、CD4/CD8 4 项指标, 比对试验结果。结果 EDTA 和肝素抗凝后的 2 组标本, 4 项检测结果间均无统计学意义差异, *P* 值均大于 0.05。结论 实用 McAb-A-E 直接法检验 CD3、CD4、CD8、CD4/CD8, 被检血液标本可用 EDTA 抗凝替代肝素抗凝。

关键词: T 淋巴细胞亚群; 抗凝剂; 依地酸; 实用 McAb-A-E 直接法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.03.066 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2011)03-0409-02

研究 EDTA 抗凝剂在实用 McAb-A-E 直接法^[1] T 淋巴细胞亚群检验中的应用, 以替代原方法规定的肝素钠抗凝, 使试验中观察识别细胞形态更加典型和清晰, 也可扩展抗凝剂使用范围。

1 材料与方法

1.1 主要试剂 McAb-A-E 试剂由卫生部武汉生物制品研究所生产, 按说明书配制, 包括: McAb 血球试剂, WuT₃ 0.5 mL (批号: 20060101); McAb 血球试剂, WuT₄ 0.5 mL (批号: 20060101); McAb 血球试剂, WuT₈ 0.5 mL (批号: 20060101)。无钙、镁 Hank's 液 (pH7.0~7.4), 未加酚红指示剂。0.067 mol/L 磷酸盐缓冲液 (PBS) pH7.0~7.4。抗凝管: (1) 5 mL 肝素钠真空抗凝管, 湘药管械(准)字 2003 第 2410003 号; (2) 2 mL EDTA-K₂ 真空抗凝管, 湘药管械(准)字 2003 第 2410003 号。淋巴细胞分离液 250 mL (批号: 050606), 由中国医学科学院血液学研究所提供。改良姬姆萨氏染色液: 向瑞氏粉 0.5 g、姬姆萨氏粉 2 g、碱性美兰粉 0.5 g 中加 10 mL 甘油, 在玻璃研钵中不断研磨并逐渐加入甲醇使之完全溶解, 补加甲醇稀释至 500 mL 备用。20% 新生小牛血清无钙、镁 Hank's 液: 在无钙、镁 Hank's 液 100 mL 中加入新生小牛血清 20 mL, 混匀, 分装在无菌青霉素小瓶或小离心管中, 每管 1~2 mL, 冷冻保存。

1.2 器材 LDZ5-2 低速自动平衡离心机 (离心半径 22 cm), 北京医用离心机厂; 日本 Olympus CH 型显微镜; Eppendorf 离心管。

1.3 方法 以原方法所用的肝素钠抗凝剂作为对照, 用 EDTA-K₂ 真空抗凝管和肝素抗凝管 2 种抗凝血液标本, 同时检验 28 例临床标本的 CD3、CD4、CD8、CD4/CD8 4 项指标, 试验结果进行对照。

1.4 统计学处理 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS13.0 统计软件进行配对 *t* 检验^[2]。

2 结果

EDTA-K₂ 抗凝的标本与肝素钠抗凝的标本在实用 McAb-A-E 直接法检测 CD3、CD4、CD8、CD4/CD8 4 项指标的结果均一致, 差异无统计学意义 (*P* > 0.05), 见表 1。

表 1 2 种抗凝剂在实用 McAb-A-E 直接法中的对比研究统计结果

指标	EDTA-K ₂	肝素钠	<i>t</i>	<i>P</i>
CD3(%)	57.96±19.49	58.39±15.44	-0.266	0.792
CD4(%)	42.29±14.55	40.21±13.78	1.488	0.148
CD8(%)	33.86±9.61	33.21±8.51	0.627	0.536
CD4/CD8	1.34±0.64	1.27±0.49	1.036	0.310

3 讨论

本组结果说明, 在实用 McAb-A-E 直接法检验 T 淋巴细胞亚群 (CD3、CD4、CD8、CD4/CD8) 试验中, 血液标本抗凝可以用 EDTA-K₂ 替代肝素钠, 而且在细胞形态的保全方面效果优于肝素钠。肝素作为抗凝剂用于临床已有 60 多年的历史, 目前它仍然是最有效, 最常用的抗凝剂。在 McAb-A-E 原方法中, 肝素的配制是用无钙、镁 Hank's 液直接稀释注射用肝素钠 (12 500 U/2 mL), 血液与抗凝剂之比为 9 : 1。EDTA-K₂ 可与血液中的 Ca²⁺ 形成络合物, 从而阻止血液凝固, 一般 1.4~1.6 mg 可抗凝 1 mL 血液, 常用 2.7% EDTA-K₂, 抗凝时每毫升静脉血加 2.7% EDTA-K₂ 0.05 mL, 全血细胞分析常用 EDTA 抗凝, 因其对细胞形态和血小板计数影响很小, 且不影响细胞数目及体积大小, 对红细胞形态影响最小, 而且还可以抑制血小板聚集^[3-5]。

在实用 McAb-A-E 直接法中, 细胞识别方式是用细胞涂片, 经改良姬姆萨氏染色法染色, 细胞的自然形态保存越好, 染色效果越好, 细胞的形态鉴别才能更加客观准确无误。因此, 本组利用 EDTA 对血细胞体积形态保存较好的优点, 将其应用于实用 McAb-A-E 直接法 T 淋巴细胞亚群 (CD3、CD4、CD8、CD4/CD8) 的检验, 有利于试验方法、细胞鉴别和检验结果的准确性; EDTA 作为血细胞分析的抗凝剂, 已被国际血液学标准化委员会认定^[6], 在医学试验中 EDTA 抗凝剂 (管) 的广泛应用可使临床更加便利; 实用 McAb-A-E 直接法的血标本用量比原方法减少一半以上, 仅 1~2 mL, 所以应用血常规分析 EDTA 抗凝剂 (管) 在容积方面更加适合; 由于肝素久置易失效, 且价格昂贵, 所以建议在实际工作中用 EDTA 代替肝

* 基金项目: 甘肃省科学事业费资助项目 (QS041-C33-30)。△ 通讯作者, E-mail: ybc915@yahoo.com.cn。

素抗凝,可降低实验室成本^[7]。

参考文献

[1] 姚伯程. 单克隆抗体 SPA 红细胞花环法检验淋巴细胞亚群的方法[P]. 中国:CN 200710018523,2007.

[2] 马斌荣. 医学统计学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2001.

[3] 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,2005:1-2.

[4] 聂献真. 静脉血样置放时间对血细胞分析结果探讨[J]. 中国疗养院医学,2005,14(1):69-70.

• 经验交流 •

[5] 周云仙,杨大千,李雪芬,等. 全血标本冰箱长时间保存对血细胞计数及白细胞分类结果的影响[J]. 检验医学,2005,20(3):195-197.

[6] 谢秀萍,张志,胡春梅. 6 例血小板计数假性减少结果分析[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(6):565-566.

[7] 刘又姣,李官慧,王冬秀,等. 肝素钠抗凝血与 EDTA 抗凝血锌原卟啉测定值的对比分析[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(9):843,845.

(收稿日期:2010-08-25)

泌尿生殖道分泌物支原体培养及药敏分析

周铁明,刘 佩

(湖南中医药大学第二附属医院,长沙 410005)

摘 要:**目的** 了解该院泌尿生殖道分泌物支原体感染及耐药情况。**方法** 对 821 例就诊患者的泌尿生殖道分泌物进行解脲脲原体(UU)与人型支原体(MH)检查。**结果** 总阳性率为 63.3%(520/821);感染者以性活跃年龄组(20~50 岁)的人群为主;对该地区支原体致病株耐药率最高的是环丙沙星(UU 84.8%,MH 88.3%)。**结论** 支原体的培养和药敏结果对指导医生选则治疗药物提供了有力依据。

关键词:支原体,生殖器; 泌尿道感染; 微生物敏感性试验; 抗药性; 敏感率

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.03.067 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2011)03-0410-02

近年来,泌尿生殖道支原体感染在我国呈逐年上升趋势,成为非淋球菌性泌尿生殖道炎的主要病原体^[1]。泌尿生殖道支原体主要包括解脲脲原体(*ureaplasma urealyticum*,UU)与人型支原体(*mycoplasma hominis*,MH)。为了解本院就诊患者泌尿生殖道支原体感染情况,指导临床用药,本文对 821 例就诊患者进行了支原体培养及药敏分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2008 年 4~10 月在本院就诊的泌尿或生殖道感染患者 821 例,年龄 18~60 岁,其中男 43 例,女 778 例。

1.2 标本采集 用消毒棉签擦去尿道口及宫颈口多余分泌物,男性用无菌棉拭子取尿道内口 1~2 cm 处分泌物、前列腺液、中段尿沉渣;女性取宫颈、阴道或阴道后穹隆分泌物,置无菌管立即送检。

1.3 试剂及仪器 采用珠海浪峰生物科技有限公司所生产的支原体培养、鉴定、药敏一体化试剂盒和上海跃进医疗器械厂 HH-B11 型电热恒温培养箱。

1.4 方法 标本的处理、培养、鉴定和药敏试验的操作步骤和结果判读严格按照试剂说明书进行。

2 结 果

2.1 821 例泌尿生殖系患者支原体检出率情况 见表 1。

表 1 821 例泌尿生殖系患者支原体检出率情况[n(%)]			
项目	合计(n=821)	男性(n=43)	女性(n=778)
支原体阳性	520(63.3)	14(32.6)	506(65.0)
UU 阳性	297(36.2)	9(20.9)	288(37.0)
MH 阳性	223(27.2)	5(11.6)	218(28.0)
UU+MH 阳性	158(19.2)	3(7.0)	155(19.9)

2.2 520 例支原体阳性患者的年龄分布 18~19 岁占 0.6%;20~30 岁占 52.7%;31~40 岁占 33.6%;41~50 岁占 9.4%;51~60 岁占 3.7%。

2.3 520 例支原体阳性患者药敏结果 见表 2。

表 2 520 例支原体阳性患者药敏结果[n(%)]		
抗生素	UU 阳性(n=297)	MH 阳性(n=223)
强力霉素	8(2.7)	15(6.7)
红霉素	180(60.6)	209(93.7)
罗红霉素	165(55.6)	216(96.9)
交沙霉素	31(10.4)	45(20.2)
阿歧霉素	79(26.6)	135(60.5)
克拉霉素	29(9.8)	74(33.2)
甲砒霉素	95(32.0)	144(64.6)
环丙沙星	252(84.8)	197(88.3)
可乐必妥	187(63.0)	180(80.7)
加替沙星	103(34.7)	126(56.5)

3 讨 论

UU 引起人体泌尿生殖系统的感染,其致病机制可能是其吸附宿主细胞后,可产生磷脂酶、尿素酶、IgA 蛋白酶等侵袭性酶和毒性产物有关。UU 还有粘附精子的作用,阻碍精子的运动,产生神经氨酸酶样物质干扰精子和卵子的结合,且与人精子膜有共同抗原,对精子可造成免疫损伤而致不育。MH 可引起盆腔炎、输卵管炎、产后热、阴道炎、宫颈炎、肾盂肾炎等。此外 MH 也能引起新生儿感染,如脑膜炎、脑脓肿、硬脑膜下脓肿^[2]。本组从 821 例受检标本本中共检出 520 例阳性,总阳性率为 63.3%,高于杨剑虹和曹季军^[3]报道的 53.5%。可能的