

模拟标本在尿液有形成分检验实践教学中的应用

赵翠红, 段如春(楚雄医药高等专科学校, 云南 675005)

【摘要】 目的 探索模拟标本在尿液有形成分检验实践教学中的应用效果, 解决病理性标本存在生物安全隐患且不易保存的不足。**方法** 在正常尿液标本中按比例加入事先处理好的红、白细胞悬液, 作为仿真病理性标本的模拟标本。**结果** 模拟标本中的红、白细胞形态, 与病理性标本中的红、白细胞形态极其相似, 不改变尿液中其他有形成分的形态。**结论** 模拟标本成本低廉、生物安全性好、制备简单、重现性好、仿真度高, 适用于尿液中红、白细胞的形态学实践教学。

【关键词】 模拟标本; 尿液; 红细胞; 白细胞; 实践教学

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.16.039 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2012)16-2045-02

尿液有形成分检验是尿常规检查的重要项目之一, 是泌尿系统疾病诊断和疗效观察的必做项目。尿液有形成分检验在肾脏和尿路疾病的定位诊断、鉴别诊断、疾病严重程度和预后判断中均有重要意义^[1]。高职高专学校中的医学检验技术专业属于医学技术类专业, 培养的是技能型专业技术人才, 对实践教学要求较高。实践教学效果的好坏对学生的感性认知十分重要, 要达到理想的实践效果, 教学标本是否典型是关键。日常教学工作中, 典型的病理性标本不多, 有形成分中的红、白细胞不易保存, 给实践教学带来诸多不便。为解决上述难题, 作者在长期的实践教学摸索出一种尿液模拟标本的制作方法, 用来替代病理性标本, 用于观察尿液中红、白细胞等有形成分, 其检测效果较好。现就尿液有形成分检验中的模拟标本制作方法报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 试剂 0.9% NaCl 溶液(生理盐水)、许汝和稀释液^[2]均按《全国临床检验操作规程》配制, 40% 甲醛, 健康体检者的抗凝血。

1.1.2 器材 离心机、显微镜、康氏试管、吸管、滴管。

1.2 方 法

1.2.1 白细胞悬液制备 取许汝和稀释液 2 mL, 加 40% 甲醛 1 滴混匀, 加 3~4 滴抗凝血混匀。在相对离心力(RCF)395~405 g 条件下离心 5~10 min, 弃去上清液, 留取白细胞沉淀物。加入生理盐水充分混匀, 离心洗涤 1~2 次, 弃去上清液, 取试管底部的白细胞, 加入 1 mL 的生理盐水, 制备成白细胞悬液。

1.2.2 红细胞悬液制备 取 0.9% NaCl 溶液 2 mL, 加 40% 甲醛 1 滴混匀, 加 10 μL 抗凝血充分混匀, 制备成红细胞悬液。

1.2.3 尿液模拟标本制备 留取健康人尿液(最好有上皮细胞), 按红细胞悬液: 白细胞悬液: 尿液为 1: 2: 2 的比例加样混合, 制得模拟标本。

1.2.4 对照实验 将同一份血液标本分别加入生理盐水、乙酸、许汝和稀释液 3 种不同溶剂, 进行对照试验。

2 结 果

在实践教学工作中采用上述方法模拟尿液的病理性标本, 用于尿液检验教学, 显微镜下观察到的红、白细胞形态与病理标本中的形态非常相近, 差异极小。本法操作简单、形态典型、重现性好。本法制备的模拟标本仅限于观察尿液中的红、白细胞形态, 不适用于管型等其余有形成分检查。模拟标本与病理

标本在显微镜下观察到的红、白细胞形态分别见图 1~2。生理盐水作溶剂时只能观察到红细胞, 显微镜下红细胞呈双凹圆盘型, 有弱折光性; 乙酸作溶剂时只能观察到白细胞, 显微镜下白细胞胞质清晰透明, 核明显; 许汝和稀释液作溶剂时既可观察到红细胞, 也可观察到白细胞, 显微镜下红、白细胞形态典型, 偶见少量皱缩红细胞, 见表 1。

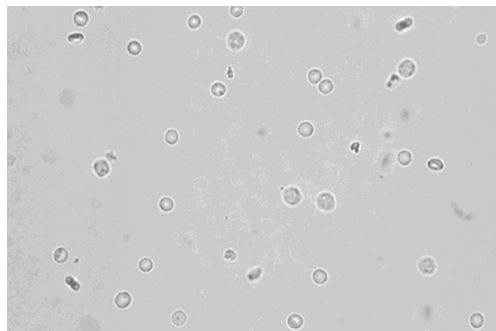


图 1 模拟标本细胞形态

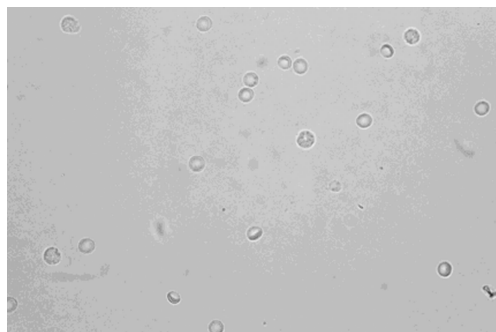


图 2 病理标本细胞形态

表 1 3 种溶剂制备的模拟尿液标本的结果对照

项目	生理盐水	乙酸	许汝和稀释液
试剂加量(mL)	2	2	2
血液用量(滴)	3	3	3
可检测到的血细胞类型	红细胞	白细胞	红细胞、白细胞

3 讨 论

从对照试验可以看出白细胞在不同的溶剂稀释液中, 有不同的形态, 采用本法制备的白细胞悬液制作的模拟标本和尿液

中白细胞形态(圆球形,不见核)相近。

有研究报道许汝和稀释液中的尿素无破坏红细胞作用^[3],溶解红细胞主要是溶液的低渗性^[4]。本法制备的白细胞悬液中,有极少呈球形、颜色较深、皱缩的红细胞,成为隐形红细胞,可以和正常红细胞相鉴别。

模拟标本制备过程中应注意以下几个问题:(1)血液样品要采用健康体检者的抗凝血,确保生物安全性;(2)抗凝血要新鲜,以免抗凝血中的红、白细胞被破坏;(3)制备白细胞悬液时,混匀应充分,尽可能让血小板在外力作用下被破坏,有利于结果观察;(4)可根据所需的阳性程度,适当调整模拟标本中红、白细胞悬液的加入量。

实践教学采用模拟标本,不仅能解决标本来源问题,更重要的是能避免师生直接接触患者体液,对预防实验室感染,保障师生健康至关重要。

模拟标本具有成本低廉、生物安全性好、制备简单、重现性

好、仿真度高的特点,是尿液中红、白细胞形态学实践教学的理想方法。

参考文献

[1] 赵桂之. 临床检验基础[M]. 北京:人民卫生出版社, 2002.

[2] 叶应妩,王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 南京:东南大学出版社,1997:22.

[3] 罗春丽. 临床检验基础[M]. 北京:人民卫生出版社, 2010.

[4] 邵平阳,郑优真. 两种血小板稀释液溶解红细胞的机制探讨[J]. 江西医学检验,2005,23(2):135.

(收稿日期:2012-02-01)

乙型肝炎病毒表面抗原阳性判断值的探讨*

王良梅(南京医科大学第二附属医院检验科 210011)

【摘要】 目的 探讨乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)定性试验中 cut off 值再确定的必要性及其可行方法。

方法 应用定值血清法,阴性对照均值法及 ROC 曲线法对乙型肝炎表面抗原 cut off 值进行了探讨。**结果** ROC 曲线法计算的 cut off 值为 0.109,灵敏度与特异度分别为 98.1%、96.0%,曲线下面积(AUC)为 0.992;定值血清法计算的 cut off 值为 0.169;阴性对照均值法计算的 cut off 值为 0.101。**结论** 重新认识和确定 HBsAg 定性试验的 cut off 值有利于提高其检验质量。

【关键词】 HBsAg; cut off 值; ROC 曲线

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.16.040 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2012)16-2046-02

乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)是临床诊断乙型肝炎最常用的指标,目前,国内检测 HBsAg 较为普遍的方法仍是酶联免疫吸附试验(ELISA),ELISA 定性试验测定结果需要报告“有反应性”与“无反应性”,报告的依据是 cut off 值(阳性判断值)。在中国,人群乙型肝炎病毒(HBV)的感染率高,确定合适的 cut off 值,对于检测结果的判断,减少假阳性、假阴性的发生,使检测结果更准确地反映被检测者的实际情况具有重要的意义^[1-4]。本研究分别应用定值血清法、阴性对照均值法及 ROC 曲线法对 HBsAg cut off 值进行了探讨,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集日常检测 HBsAg 的标本,按试剂盒说明书将结果分类,200 阳性结果作为乙型肝炎阳性对照组,400 例阴性结果作为阴性对照组。

1.2 仪器与试剂 奥斯邦全自动酶免分析系统 Micro Lab Star(Hamihon 公司,德国);HBsAg 检测试剂盒(上海荣盛生物技术有限公司),国家批检合格试剂;江苏省临床检验中心 HBsAg 质控物 1 ng/mL。

1.3 方法 对收集的 HBsAg 的标本,将 A 值及实际阴阳结果填入 EXCEL 文件,导入到 SPSS 程序作图得到 ROC 曲线。将 1 ng/mL 的质控血清用 pH7.2 的 PBS 稀释液稀释得到 0.5 ng/mL 浓度血清 30 份用 ELISA 法检测,步骤严格按说明书进行,操作由奥斯邦全自动酶免分析系统 Micro Lab Star 进行,做阴阳性对照 4 份,计算吸光度 A 均值(\bar{x})及标准差(s),以 \bar{x}

-2s 得 cut off 值。计算 400 例阴性对照组 Am \bar{x} 及 s ,以 $\bar{x}+3s$ 求得 cut off 值。

2 结果

由 ROC 曲线图得出最佳 cut off 值、灵敏度、特异性及曲线下面积分别为 0.109、98.1%、96.0%、0.992,见图 1。定值血清法得出 \bar{x} 为 0.201, s 为 0.016, $\bar{x}-2s$ 得出 cut off 值为 0.169。400 例阴性对照组 \bar{x} 为 0.046, s 为 0.018,由均值 $\bar{x}+3s$ 得出 cut off 值为 0.101。

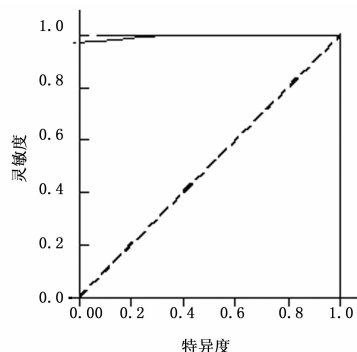


图 1 ROC 曲线

3 讨论

HBsAg 的检测已经出现诸如微粒子酶免发光法、电化学发光法等,但 ELISA 法定性检测 HBsAg 由于快速、简便、成本

* 基金项目:南京医科大学校基金面上项目课题(NO.09NMUM033)。