

检测结果符合临床使用要求,见表 1。

表 1 ALT 测定试剂比例改变前后测定结果的
临床可接受性评价

医学决定 水平(U/L)	CLIA'88 的 TEa/2(U/L)	预期偏倚 (U/L)	预期偏倚(U/L) 95%置信区间		临床评价
			下限	上限	
20	2.00	0.22	-1.21	1.66	可以接受
60	6.00	0.58	-0.81	1.97	可以接受
300	30.0	2.72	1.36	4.08	可以接受

3 讨 论

目前基层医院的检验科已普遍使用全自动生化仪进行日常的生化检测,考虑经济成本等因素大都采用自建的检测系统。由于使用不配套试剂,常出现与使用仪器不匹配的现象。本科室采用了由日立 HITACHI-7600、迈克公司提供的校准品、迈克试剂组成的自建检测系统,在使用中出现迈克试剂盒 R1 和 R2 试剂不匹配,R1 试剂过剩的现象。这主要是由于日立全自动生化仪加液器加试剂时每次多吸入一些防止试剂被稀释造成的,由于 R1 和 R2 试剂都是由同一试剂针加入,当 R1 与 R2 试剂比例为 1∶1 时,只会出现实际测试量比计算测试量少,而不会出现某一试剂过剩的现象;当 R1 与 R2 试剂的比例为常见的 2∶1、3∶1 和 4∶1 时,就会出现试剂过剩的现象,且试剂比例越大,所剩试剂就越多。为解决出现的问题,本文以 ALT 测定为例,根据日立全自动生化仪加液器的特征,通过实际测定和计算,适当改变 R2 试剂的加入量,使其与 R1 试剂在日立全自动生化仪测定中匹配。参照 NCCLS EP9-A 文件,对参数改变前后所得数据进行统计学处理。ALT 测定 R1 和 R2 试剂比例改变前后测定结果的差值经配对 *t* 检验,*P*>0.05,表明 ALT 测定 R1 和 R2 试剂比例改变前后测定结果的差值所代表的总体均值与 0 之间的差异无统计学意义,即 ALT 测定 R1 和 R2 试剂比例改变前后测定结果的差值无明显差异。以 ALT 测定 R1 和 R2 试剂比例改变前后测定值的

均值得到拟合直线回归方程 $Y=1.009\ 6X+17.078$, $R^2=0.998\ 9$ 。 $R^2>0.950$,且 *b* 在 0.97~1.03,说明 ALT 测定 R1 和 R2 试剂比例改变前后测定结果相关性良好,具有很好的一致性。ALT 测定说明书提供的 R2 加入量为 50 μL,本实验变更 R2 加入量为 37 μL,由于日立全自动生化仪加液器加试剂时每次会多吸入一些,防止试剂被稀释,实际测得的 R2 加入量为 61 μL,说明底物浓度并没有减少,ALT 测定试剂比例改变后测定的线性范围符合要求。经计算 ALT 测定试剂比例改变前后测定结果在各医学决定水平的预期偏倚均可以接受,其检测结果符合临床使用要求。本次试验以 ALT 测定为例,但对于其他项目同样可以用此方法达到不配套试剂盒 R1 和 R2 试剂的匹配,在符合临床使用要求前提下,节约资源,减少不必要的浪费。

参考文献

[1] National Committee Clinical Laboratory Standards. Method comparison and bias estimation using patient samples approved guideline. EP9-A [M]. Wayne, PA, USA: NCCLS,1995.

[2] 马斌荣. 医学统计学[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社, 2005:36-38.

[3] 杨有业,张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:46-48.

[4] Jenny RW, Jackson KY. Evaluation of the rigor and appropriateness of CLIA'88 toxicology proficiency testing standards[J]. Clin Chem,1992,38(4):496-500.

[5] 张艳芳,彭建明,袁斌. 两种全自动生化分析仪部分检测项目的对比分析[J]. 检验医学与临床,2008,5(6):342-343.

[6] 刘斌剑,孙月庭. 临床化学检验结果的误差分析及可比性探讨[J]. 中国医学检验杂志,2005,6(5):406-409.

(收稿日期:2012-09-01 修回日期:2012-12-26)

整体胎鼠骨骼标本染色透明制作的效果探讨

农林琳,孙 莉,任亚萍(桂林医学院组织学与胚胎学教研室,广西桂林 541004)

【摘要】 目的 探讨整体胎鼠骨骼标本在不同乙醇、氢氧化钾浓度及不同固定时间和透明时间的染色效果。方法 随机抽取孕期为 20 d 的胎鼠分别采用茜素红 S 在不同乙醇浓度和固定时间,以及不同氢氧化钾溶液浓度和透明时间对整体骨骼标本进行脱水、净化、再脱水、氢氧化钾处理、染色、透明。结果 以 95%乙醇固定 5 d、85%乙醇固定 15 d 较理想;以 1%氢氧化钾溶液透明 48 h 和 2%氢氧化钾溶液透明 24 h 较理想。结论 该试验为整体呈现胚胎骨骼系统形态和制作教学、科研陈列用标本及研究胚胎正常骨骼形态发育提供了更好的实验染色技术。茜素红 S 整体骨骼染色透明标本制作的效果与乙醇浓度、固定时间和氢氧化钾浓度、透明时间均密切相关。

【关键词】 胎鼠; 骨骼; 标本; 茜素红; 染色

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.07.056 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2013)07-0869-02

随着科学技术的不断发展,关于透明标本的制作方法也层出不穷,在国内外的致畸实验中,胎鼠骨骼的畸形学检查是必需的重点检查项目^[1]。近几年,骨骼透明标本由于真实、直观,故应用于基础医学教学和科研均收到了良好的效果,为后续的临床医学应用打下了良好基础,也为医学科研提供了有效的形态观察方法^[2]。作者在试验研究中探讨茜素红 S 染色法在不

同乙醇浓度和不同固定时间及不同氢氧化钾(KOH)溶液浓度和不同透明时间对整体胎鼠骨骼标本的染色效果,现介绍如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 取材 制作透明标本的材料必须新鲜,本实验研究的

12 只昆明大白鼠由桂林医学院实验动物中心提供。孕期的胎鼠均为 20 d。

1.1.2 试剂 85%乙醇、95%乙醇、1% KOH 溶液、2% KOH 溶液、茜素红 S 粉末、冰乙酸、纯甘油、水合氯醛、氯仿、麝香草酚。

1.1.3 器材 烧杯、带盖玻璃器皿、棕色玻璃瓶、吸管、中速滤纸、小镊子、烤箱。

1.2 试剂配制方法

1.2.1 茜素红 S 原液 取冰乙酸 5 mL、纯甘油 10 mL、1% 水合氯醛 60 mL,混合后加茜素红 S 粉末适量,边加边搅拌直至饱和为止,室温避光保存。

1.2.2 茜素红 S 应用液 取茜素红 S 原液 1 mL 加入 1% 氢氧化钾溶液定容至 1 000 mL。

1.2.3 透明液 (1)透明液 I:甘油 20 份、蒸馏水 77 份、2% KOH 溶液 3 份混合而成;(2)透明液 II:甘油 75 份、蒸馏水 25 份;(3)保存液:纯甘油中加入麝香草酚数小粒。

1.3 固定 将胎鼠分别置于盛有 85%乙醇和 95%乙醇的带盖玻璃器皿内固定,从固定的第 2 天开始,每天小心翻动胎鼠一次并观察整体骨骼标本固定情况。

1.4 透明 从玻璃器皿取出固定过的整体胎鼠标本,分别置入 1% KOH 溶液和 2% KOH 溶液中进行透明,观察肌肉等

软组织完全透明且能看清从肋骨到脊椎骨为止。透明期间的每天上、下午各更换氢氧化钾溶液 1 次,并清除已被软化的外皮组织和脂肪等。

1.5 染色 将软化后的整体胎鼠置于茜素红 S 应用液中,每 2~3 h 轻轻振摇一次。染色 48 h 后再放入 1% KOH 溶液中,待软组织脱色(约 20 h),弃去 1% KOH 溶液,加入透明液 I。在透明液 I 中透明 48 h,移入透明液 II。在透明液 II 中脱水透明 24 h 后,将染色好的整体胎鼠置于盛有纯甘油(内加麝香草酚数小粒)的玻璃盒内,然后盖上玻盖并用氯仿封存。

2 结 果

2.1 不同乙醇浓度和不同固定时间,整体骨骼标本固定效果不同,见表 1。

表 1 不同乙醇浓度和不同固定时间,骨骼标本固定情况			
乙醇浓度	固定 5 d	固定 15 d	固定 25 d
95%乙醇	骨骼稍硬,可翻动	骨骼较硬,随意翻动	骨骼硬且较脆
85%乙醇	骨骼较软,不敢翻动	骨骼稍硬,可翻动	骨骼较硬,随意翻动

2.2 不同 KOH 溶液浓度和不同透明时间,整体骨骼标本透明效果不同,见表 2。

表 2 不同 KOH 溶液浓度和不同透明时间的整体骨骼标本透明情况

KOH 浓度	透明 24 h	透明 48 h	透明 72 h
1%KOH 溶液	肌肉等软组织尚未透明	肌肉等软组织完全透明且能看清骨骼	骨骼少量融化
2%KOH 溶液	肌肉等软组织基本透明且可看清骨骼	能看清骨骼且少量骨骼融化	骨骼融化

3 讨 论

近年来尽管透明标本的制作方法层出不穷,并有报道骨骼双染标本的制作方法,但作者认为:(1)一直公认胎鼠骨骼标本的茜素红 S 染色效果好,可清楚地观察到骨骼的发育形态,可为动物学、解剖学的骨骼研究和实验教学提供真实的形态学素材,在实验教学中能激发学生的学习兴趣,使学生对骨骼的发育过程和各骨的位置关系有更直观的认识^[3],因此,茜素红 S 染色法仍具有极大的应用价值。(2)整体胎鼠骨骼标本茜素红 S 染色的效果是否理想与乙醇、KOH 浓度大小、固定和透明时间长短密切相关^[4-7]。即不同的乙醇、氢氧化钾浓度和不同的固定时间和透明时间,骨骼标本制作的效果不同。本研究显示,以 95%乙醇固定 5 d、85%乙醇固定 15 d 较理想,骨骼稍硬,可翻动,便于进行后续操作过程;以 1% KOH 溶液透明 48 h 和 2% KOH 溶液透明 24 h 较理想,肌肉等软组织完全透明且能看清整体骨骼状况。(3)不同的季节、温度、湿度等环境条件下的试验染色效果稍有不同,作者本次实验研究系在南方的春天季节、温度偏高、湿度较大的环境条件中进行。(4)用固定液固定整体胎鼠骨骼标本的量一定要没过胎鼠的整体,且整体胎鼠背部朝下更有利于后续工作的开展和骨骼的检查。(5)染色好的整体胎鼠骨骼必需置于盛有足够量纯甘油的玻璃瓶

内,并用氯仿封住方能长久保存。

参考文献

[1] 李勇,王维林,袁正伟,等.一种简捷可靠的胎鼠骨和软骨双重染色技术[J].中国医科大学学报,2004,33(2):189-190.

[2] 赵荧,张栩胤.整体显示大鼠骨骼和软骨的复合染色法[J].解剖学报,2006,37(1):117-119.

[3] 刘万祥,蔡滢,王长月.骨骼透明标本制作及应用[J].天津医科大学学报,2012,8(3):377-378.

[4] 李文,黄飞,王利民.大鼠骨骼染色透明标本的研究[J].滨州医学院学报,2008,31(1):17-18.

[5] 张宏,李啸红.大鼠骨骼双染标本制作方法及要点[J].解剖学杂志,2011,34(4):558-560.

[6] 张宏,李啸红.大鼠骨骼双染标本的制作方法[J].重庆医学,2012,41(2):153-154.

[7] 陈彬,王跃招.介绍一种透明骨骼标本染色法[J].生物学通报,2002,37(4):57.

(收稿日期:2012-07-11 修回日期:2012-12-26)