DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.07.057

生。由于手术后腹膜创面小,术后粘连发生机会相对减少。减少了术后因粘连而致的腹痛、性交痛及残留卵巢综合征(Residual ovary syndrome, ROS)等并发症。全子宫或次全子宫切除患者,文献报道ROS的发生率为0.88%~8.00%,子宫切除术同时切除输卵管,或切除一侧卵巢者发生率更高[5,6]。由于该术式基本保留了子宫及盆底结构的完整性,盆底松驰或子宫切除术后的阴道脱垂的发生率可以降到最低,本组三角形子宫切除患者无1例发生上述并发症。

三角形子宫切除手术前用压脉带套扎子宫峡部应套扎紧,否则术中出血较多。肌瘤大或子宫侧壁肌壁间肌瘤不宜采用该术式。本组研究中12例子宫腺肌症三角形子宫切除术后症状消失、未见复发。子宫腺肌症是否完全适于该术式还有待于进一步临床观察研究。

关键词:三角形子宫切除;子宫次全切除;残留卵巢综合征
中图法分类号:R713.42 文献标识码:B

参考文献:

[1] 孙宝治,蔡文茜.子宫的内分泌功能及作用[J].中国实用妇科与产科杂志,1999,15(5):277-279.
[2] 郎景和.关于妇科手术中"切除"与"保留"问题的探讨[J].现代妇产科进展杂志,1996,5(4):301-303.
[3] 王德智,罗焕炳,石一复 主编.中国妇产科专家经验文集[M].沈阳:沈阳出版社,1994.479-481.
[4] Siddle N, Sarrel P, Whitehead H. The effect of hysterectomy on the age at ovarian failure: identifications of a subgroup of woman with premature loss of ovarian function and literature review[J]. Fertil Steril, 1987, 47(1): 94-100.
[5] 叶之美.残留卵巢综合征[J].中国实用妇科与产科杂志,1999,15(12):712-714.
[6] Laffterry H W, Angioli R, Rudolph J, *et al*. Ovarian remnant syndrome: experience at Jackson Memorial Hospital Uinversity of Miami 1985 through 1993[J]. Am J Obstet Gynecol, 1996, 174(2): 641-644.

(编辑 汪勤俭)

文章编号:1000-5404(2001)07-0871-02

经验交流

影响细胞ELISA结果的主要因素

The major factors influencing the result of cell ELISA

李蓉芬,陈 敏,康运生,钟小林,何凤田 (第三军医大学基础医学部生物化学与分子生物学教研室,重庆 400038)

细胞ELISA(酶联免疫吸附试验)是用细胞代替可溶性抗原包被于96孔酶联板(或细胞培养板)进行免疫学检测的一种有效方法,该方法特别适用于抗原位于细胞膜上而相应抗原的特性又不十分清楚或抗原难于纯化等情况[1~3]。我们在实际操作过程中体会到细胞ELISA的结果理想与否与多种因素有关,概括起来包括以下几方面。

1 细胞状态

应使用对数生长期的细胞。此期细胞的活力最好,抗原表达水平最高。对贴壁细胞来讲,此期细胞贴壁最牢。

2 细胞固定

2.1 悬浮生长细胞的固定

将细胞用PBS洗涤后,重悬于PBS计数。按(4~5)×10^5/孔加于96孔酶标板中,1 200 r/min离心12~15 min,弃上清,充分干燥后,每孔加入50 μl PBS配制的0.25%戊二醛作用10~12 min,弃固定液,PBS洗3次。此处应注意的问题有:①细胞洗涤:目的是去除培养基中的血清,利于后续固定。②最初每孔悬浮细胞用的液体量:至少应在200 μl/孔左右,否则会因液体量少而在后续离心中使细胞不均匀分布,进而影响酶联检测结果。③离心:速度不能过高(为1 200~1 800 r/min),离心时间不能过长(为10~18 min),否则可能破坏细胞。④镜检:离心后的细胞置显微镜下观察,对细胞分布明显不均的孔进行标记,在后续实验中弃用。⑤固定前细胞应充分干燥:否则残液可使细胞固定不牢。⑥固定液的选择:通过比较,在相同时间内(室温),0.25%的戊二醛较4%的多聚甲醛的固定效果好。

2.2 贴壁细胞的固定

将细胞接种于96孔新细胞培养板中,培养36 h左右,使细胞达80%~90%满孔密度,弃培养基,温PBS洗2次,充分干燥后,同上固定8 min,PBS洗3次。此处应注意的问题有:①细胞接种前应计数:旨在尽量使每孔中的细胞数一致。②细胞洗涤:应用温PBS洗涤,否则会因骤冷而使细胞脱落。这一点在冬天操作时尤为重要。③其它注意事项:同悬浮细胞固定中应注意的问题"④~⑥"。

3 封闭液的选择

我们使用PBS配制的10%小牛血清、2%牛血清白蛋白、5%绵羊血清、5%市售脱脂奶粉等几种不同试剂进行封闭,结果以5%脱脂奶粉的封闭效果最好。

4 细胞内源性过氧化物酶的检测和去除

对固定过的细胞,直接加入邻苯二胺(OPD)底物显色,观察内源性过氧化物酶的情况。对内源性过氧化物酶水平很低的细胞无需进行内源性过氧化物酶的处理,而对内源性过氧化物酶水平较高的细胞则需用甲醇配制的0.3%双氧水于室温下作用30 min予以去除。

5 反应后洗涤

为了避免细胞非特异性吸附抗体,每步反应后应进行充分洗涤。洗涤次数和时间均应较常规ELISA(常规ELISA指包被物为可溶性物质)增加。①洗涤次数和时间:每步反应后至少应洗5次,每次洗涤时间不少于5 min。②振荡洗涤:在洗涤过程中,使酶联板处于温和振荡状态,以保证洗涤充分。③在洗

作者简介:李蓉芬(1963-),女,安徽省宿州市人,硕士,实验师,主要从事蛋白酶体的结构与功能方面的研究,发表论文8篇。电话:(023)68752261

收稿日期:2000-12-05;修回日期:2001-02-18

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

涤液中加入终浓度为1.0%~1.5%的吐温-20,以降低反应的非特异性。

6 应设多孔重复

尽管采取了上述措施,但有时无法确保每孔的细胞数完全一致,也不能保证细胞100%均匀铺于孔底,故无论是对照孔,还是实验孔,都应设4~5个复孔,取其结果平均值,从而最大限度消除系统误差。

综上所述,细胞ELISA与常规ELISA相比,影响因素较多,操作过程中应多加注意。

关键词:细胞;酶联免疫吸附试验;影响因素
中图法分类号:R446.61 文献标识码:B

参考文献:

[1] Salih A M, Nixon N B, Dawes P T, *et al*. Antibodies to neuroblastoma cells in rheumatoid arthritis: a potential marker for neuropathy[J]. Clin Exp Rheumatol, 2000, 18(1): 23-30.
[2] Liu Z, Gurlo T, von-Grafenstein H. Cell-ELISA using beta-galactosidase conjugated antibodies[J]. J Immunol Methods, 2000, 234(1-2): 153-167.
[3] Lee J C, Cevallos A M, Naeem A, *et al*. Detection of anti-colon antibodies in inflammatory bowel disease using human cultured colonic cells[J]. Gut, 1999, 44(2): 196-202.

(编辑 汪勤俭)

经验交流

文章编号:1000-5404(2001)07-0872-02

输注去白细胞红细胞悬液预防非溶血性发热性输血反应的临床应用分析

Clinical assessment of preventing febrile nonhemolytic transfusion reaction by RBC concentrates with leucocyte filtration

向国春[1],张佳思[1],成晓玲[2],黎儒清[2],赵树铭[2] (第三军医大学附属西南医院:[1]消化内科;[2]输血科;重庆 400038)

临床上常见的输血不良反应为非溶血性发热性输血反应(Febrile nonhemolytic transfusion reaction, FNHTR),多是由白细胞及其产生的抗体、炎症性细胞因子以及其它生物活性物质所引起的[1~3]。目前国内外普遍采用过滤除去血液制剂中白细胞的方法来预防这类不良反应的发生[1~5]。我们观察了100例病人输注去白细胞红细胞悬液的临床应用情况,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

去白细胞红细胞悬液由我院输血科提供,常规制各的红细胞悬液输注前经白细胞专用滤器(南京赛尔金生物研究所;批号000412)过滤。

1.2 临床资料

100例患者(试验组)接受去白细胞红细胞悬液(200~800 ml),男68例,女32例,年龄24~56岁。诊断分别为肝硬化、胃溃疡、胃癌等;其中首次输血26例,第二次输血38例,反复多次输血(3次以上)36例。50例患者(对照组)接受普通红细胞悬液(200~800 ml),男32例,女18例,年龄22~60岁。诊断分别为肝硬化、胃溃疡、胃癌等;其中首次输血35例,第二次或多次输血15例,输血前不做任何预防处理。FNHTR的判定[2],对输血的患者在输血前均不使用激素类及其它抗过敏类药物,输血期间或输血后14 h内如体温升高超过1 ℃(>38 ℃)以上,或者有寒颤伴无原因的发热[1]。

2 结果与讨论

在100例接受去白细胞红细胞悬液的受血者中,未发生FNHTR;而50例接受未去除白细胞的普通红细胞悬液的受血者,有8例发生FNHTR,发生率为16%。据报道,临床上FNHTR的发生率约为20%~30%,多次受血者为30%~40%。在我们常规的输血过程中,普遍采用输血前使用激素或其它抗过敏类药物预防输出血反应的发生,但这些预防性治疗手段会掩盖输血所带来的副反应,特别是白细胞抗体等所造成的长期危害。通过去除血液制剂中的白细胞,则可从根本上消除输血所引起的白细胞活性物质的危害。目前,应用国产白细胞滤器可滤除血液制剂(如红细胞悬液、浓缩血小板等)中的白细胞达99%,从而达到防止输血反应的要求,符合AABB质控标准(防止FNHTR需要白细胞数$<5\times10^8$/袋,防止HLA同种免疫或CV感染需$<5\times10^6$/袋[2]。我们的观察表明,使用去白细胞红细胞悬液可有效防止输血反应的发生。白细胞作为血液制剂中的一种"污染物",可引起多种不良反应[1~3],最常见的是FNHTR,主要原因为供受者之间的HLA不相合而引起同种免疫反应,造成白细胞破坏后释放内源性致热源。输血、妊娠、器官移植等均可产生白细胞抗体,抗体的产生与抗原强度、输注次数和数量、间隔时间、以及受血者的免疫反应敏感性有关。目前临床输血一般不做HLA配型,因此绝大多数供受者之间HLA不合,产生HLA抗体的机率较大。输注去白细胞血液成分可以有效地防止HLA-1类抗原的同种免疫。值得注意的是,去除白细胞可在采血后立即进行,或在血液输注前进行,目前国内多采用在血液输注前去除白细胞的方式[4,5],虽然也可预防白细胞抗体引起的反应,但无法预防血液制剂在保存期间所产生的细胞因子和其它活性物质所引起的反应,因此,预防血液保存期间细胞因子和其它活性物质的产生或在输注前去除这引起成分是防止输出血反应的有效途径。

关键词:去白细胞红细胞悬液;输血反应
中图法分类号:R457.1 文献标识码:B

参考文献:

[1] Nielsen H J, Skov F, Dybkjaer E, *et al*. Leucocyte and platelet-derived bioactive substances in stored blood: effect of prestorage leucocyte filtration

作者简介:向国春(1964-),女,四川省西充县人,主管护师,主要从事消化护理专业方面的研究。电话:(023)68754000-73055
收稿日期:2001-03-15;修回日期:2001-05-29

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net