

左室收缩功能不全的指标。

血浆 BNP 水平是反映心功能受损的重要指标,对心力衰竭的筛查、诊断具有重要意义。在美国已经将 BNP 作为诊断 CHF 的黄金标准之一,且用于检测心力衰竭的治疗效果。在本研究中,部分心功能达到Ⅲ级及Ⅳ级患者,血浆 BNP 水平并无明显升高,可能与心力衰竭类型相关。另外,血浆 BNP 水平对右心力衰竭不够敏感,主要针对左心力衰竭具有重要临床意义。

综上所述,血浆 BNP 水平可特异、独立地对左室功能变化进行反映,是心功能受损的重要敏感指标,与左心室重塑及心功能状态具有明显的相关性。BNP 检测可对不同程度心力衰竭患者进行评估,对指导治疗及评价预后具有重要临床价值。在慢性心力衰竭患者的诊治中,虽然 BNP 水平可对患者病情进行判断,但是临床医师仍需参考患者病史、体征、临床症状及其他辅助检查对患者进行综合判断,对病情进行全面评价。

• 临床研究 •

参考文献

- [1] 张勇,唐海沁,李瑾.老年慢性心力衰竭患者血浆 B 型利钠肽与糖类抗原 125 水平的变化[J].中华老年医学杂志,2013,32(5):473-475.
- [2] 张惠敏.慢性心力衰竭患者的血浆 BNP 及血脂变化意义探究[J].中外医学研究,2014(6):146-147.
- [3] 王建荣.血浆 BNP、CysC 水平与慢性心衰发生发展的关系研究[J].中国医疗前沿,2013(22):15.
- [4] 向科妍.COPD 急性加重期患者血浆 BNP 水平变化及临床意义[J].当代医学,2014(3):3-4.
- [5] 李小斌.血浆脑利钠肽水平在慢性心力衰竭患者中的临床诊断价值探讨[J].医药前沿,2014(18):59-60.

(收稿日期:2015-03-12)

外周血染色体制备方法的探讨

庄建龙,王元白,庄倩梅

(泉州市妇幼保健院·儿童医院产前诊断中心,福建泉州 362000)

摘要:目的 探讨外周血染色体制备过程的改良。方法 利用改良后外周血染色体培养技术对 1 170 例外周血进行染色体制备。结果 改良后所制备的染色体,其分散度、长度和带型都比常规实验室制备有了大幅度的改善。结论 改良方法制备外周血染色体不仅大大节约工作时间和人力资源,而且更有利于发现染色体异常。

关键词:染色体; 改良; 分散度; 带型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.17.045

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)17-2558-03

染色体核型分析对人类遗传病的研究和诊断有着非常重要的意义^[1],而其中染色体 G 显带长度是诊断染色体结构异常的关键^[2]。秋水仙素使处于增殖周期中的分裂细胞停止在中期。秋水仙素的加入量和加入时间成为获得中期有丝分裂细胞的关键^[3]。通过改变秋水仙素处理时间及用量等几个关键步骤,成功地改良了外周血染色体的质量,不仅在染色体长度、分散度及带型上得到了很大程度的改善,而且也大大地缩短了制备时间,节省了人力资源。

1 资料和方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 1 月至 2014 年 7 月于本院进行了产前诊断中染色体检查的 1 170 例患者。

1.2 仪器与试剂 细胞培养箱为美国 SHEL LAB 产品,淋巴细胞培养液 6 mL 为青岛莱佛生物工程研究所产品,秋水仙素 100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$,胰酶为美国 Gibco 公司产品,0.075 mol/L 氯化钾低渗液,新鲜配制的固定液(甲醇:冰醋酸=3:1),pH7.4 和 pH6.8 磷酸盐缓冲液,吉姆萨染液购自青岛莱佛生物工程研究所。

1.3 方法

1.3.1 接种 用肝素湿润注射器无菌操作抽取 2 mL 静脉血,取外周血淋巴细胞培养液溶解,碘伏消毒培养瓶盖后,在酒精灯火焰旁加入 0.5 mL 血标本(与本室常规制备一致)。

1.3.2 培养 将接种后标本置 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 68~72 h (与本室常规制备一致)。

1.3.3 收获 收获前 15 min 加入 100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 秋水仙素 50 μL ,将培养的细胞移入 10 mL 刻度离心管中,2 000 r/min 离心 10 min(本室常规操作为收获细胞前 1 h 加入 100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 秋

水仙素 17 μL ,2 000 r/min 离心 10 min。

1.3.4 低渗 离心 10 min 弃上清液后加入 8 mL 0.075 mol/L 的 KCl 低渗液,吹打均匀后置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴箱 15 min,取出离心管加入新鲜配制的固定液(甲醇:乙酸=3:1)0.5 mL^[4] 预固定 10 min,以 2 000 r/min 离心 10 min(本室常规操作为低渗 30 min,加入 2 mL 固定液预固定,2 000 r/min 离心 10 min)。

1.3.5 固定 离心后弃去上清,加入新鲜配制的固定液(甲醇:乙酸=3:1)8 mL,混匀后室温放置 30 min,2 000 r/min 离心 10 min 后,重复以上步骤进行再固定。最后根据沉淀量多少制备出浓度大致一致的混悬液(0.5~1 mL),本室常规操作为 2 000 r/min 离心 10 min。

1.3.6 推片 吸取 2~4 滴细胞悬液滴于洁净载玻片上,每人制 2~3 片,吸取 30 μL 左右悬液吹散,酒精灯过火后将制备的染色体标本片置鼓风干燥箱内 70 $^{\circ}\text{C}$ 3 h 进行老化,取出后自然冷却至室温(本室常规操作为 60 $^{\circ}\text{C}$ 3 h)。染色显带方法参考《人类染色体方法学手册》^[5]。

1.4 分散效果判断 在 20 个计数分裂相中计数:(1)不合格标本判断标准为染色体相互缠绕或重叠小于等于 2 条的核型小于或等于 50%(10/20);(2)合格标本的判断标准为染色体相互缠绕或重叠小于等于 2 条的核型为 50%~75%[(10~15)/20];(3)最佳标本的判断标准为染色体相互缠绕或重叠小于等于 2 条的核型大于或等于 75%(15/20)。

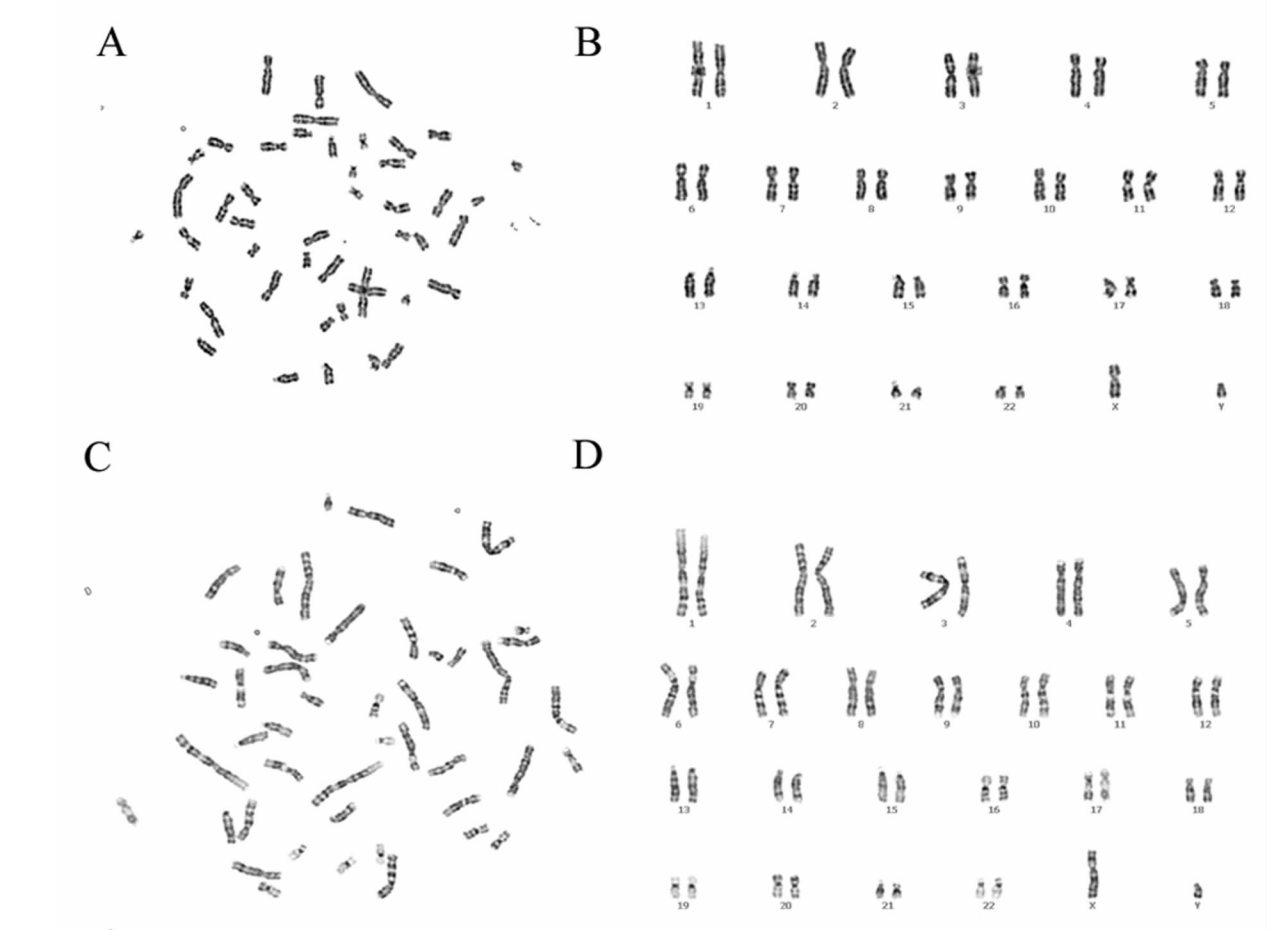
1.5 带型效果判断 在 20 个计数分裂相中,不合格标本:染色体长度较短,染色体带纹不清,但可以辨认出 2 号、4 号、6 号、13 号、17 号、20 号及 22 号染色体特征性带型;合格标本:可以清楚地辨认 2 号、4 号、6 号、13 号、17 号、20 号及 22 号染

染色体特征性带纹,其中染色体可分析且长度较理想的核型 5%~25%[(1~5)/20];最佳标本:在合格标本上,染色体可分析且长度理想的核型大于或等于 25%(5/20)。

1.6 统计学处理 随机抽取改良前和改良后标本各 200 份,进行分散效果和带型效果判断,用 SPSS18.0 软件进行统计分析,组间比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

与本室常规处理(图 1A、1B)相比,改良后的外周血染色体分散度好,分裂相多,长度更长,带型清晰,染色稳定易于控制,非常适合批量处理(见图 1C、1D)。改良后染色体长度更长,分散度更好,显示带型增多,更有利发现异常染色体,减少了漏诊率,值得推广应用。经过统计学分析,改良后与改良前的分散度及带型的合格率与最佳率差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 1、2。



A、B:2013 年本室常规处理制备的染色体标本;C、D:2014 年改良后的染色体标本。

图 1 改良前后的染色体带型图

表 1 改良前后染色体分散效果比较

组别	分散效果(n)			合格率 (%)	最佳率 (%)
	最佳	合格	不合格		
改良前	74	106	20	90	37
改良后	152	47	1	99.5	74
χ^2	18.143	61.886	—	—	—
P	<0.05	<0.05	—	—	—

—:无数据。

表 2 改良前后染色体显带效果比较

组别	带型效果(n)			合格率 (%)	最佳率 (%)
	最佳	合格	不合格		
改良前	20	124	56	72	10
改良后	148	50	2	99	74
χ^2	58.802	168.144	—	—	—
P	<0.05	<0.05	—	—	—

—:无数据。

3 讨 论

通过对秋水仙素,低渗,预固定和固定等步骤的改良,制备出的染色体标本相比本室常规制备的染色体标本不仅有更好分散度,染色体长度更长,带型显示更多,而且制备更稳定。

首先,秋水仙素为细胞培养中使用的纺锤体阻断剂,它使正在分裂的细胞停留在分裂中期,以获得大量中期分裂相供分析研究所用。在血细胞培养时,秋水仙素加入的剂量、浓度及处理时间与中期分裂相的多少和染色体长短有密切的关系^[6-7]。秋水仙素加入量过多,染色体太短,加入量太少,染色体瘦长或很少中期分裂相。因此,加入较高浓度短时间的处理,将本室常规制备时秋水仙素的终浓度由 0.28 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$,调整至 0.83 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$,处理时间由 1 h 缩短至 15 min,不仅提高了效率,而且获得了较多的分裂相,更长的染色体,显示更多带型,有利于异常染色体的检出。有文献报道加入 100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 秋水仙素 100 μL ^[6],笔者认为其染色体长度及带型未达到最佳,可能是秋水仙素用量过多导致染色体收缩。改良后的染色体制备方法,加入 50 μL 秋水仙素,能够得到满意的染色体长度及

带型。

其次,低渗技术是染色体培养中的关键环环节,低渗时间长短关系到分散的好坏。处理时间多长,将导致细胞膜过早破裂,造成分裂中期细胞丢失;处理时间过短,细胞膨胀不足,则染色体分散不佳。低渗处理适当,所得染色体分散度好,轮廓清楚,可染色强,在显带染色时能很好地显示带型特征^[8]。因此,笔者将本室常规制备低渗时间 30 min 改良为 15 min,获得染色体的分散度好,可染色性强,带型显示稳定,同时也提高了工作效率。

再次,预固定也是染色体制备的一个重要影响因素,桂俊豪等^[9]的研究表明,当预固定液剂量占总体积的 1.25%、2.50%或 3.75%时,染色体分散质量较好,可用核型多;预固定液比例大于或等于 6.25%可导致细胞间相互粘连,且染色体间相互积聚的倾向更为明显。因此,笔者将原来的预固定液剂量由 2 mL 改良为 500 μ L,约占总体积的 3.75%,处理后发现较少的预固定液能够获得更加干净的沉淀和良好的分散度,经过统计学分析表明,改良后染色体的分散度与改良前有明显差异。

固定应彻底,吹打不要太用力,以免细胞破裂,染色体丢失。若固定不彻底,染色体分散不佳,可重复固定或延长固定时间。

最后,经过大量的实践证明,改良后的方法在各个方面都优于常规操作方法。该法不仅在染色体的质量上有了大大的

• 临床研究 •

提升,而且提高了工作效率,值得广泛的推广。

参考文献

- [1] 周焕庚,夏家辉,张思仲. 人类染色体[M]. 北京:科学出版社,1987:48-63.
- [2] 张凤芹,丁红炜,石庆芳,等. 关于外周血染色体制备方法的改进[J]. 中国误诊学杂志,2008,8(5):1198.
- [3] 陈秀云. 外周血染色体制作方法改进[J]. 现代预防医学,2006,33(5):796-799.
- [4] 斯佩克特,戈德曼,莱因万德. 生物学指南[M]. 黄培堂,译. 北京:科学出版社,2002:1067-1068.
- [5] 高锦声,郑斯英,陈嘉政,等. 人类染色体方法学手册:修订本[M]. 南京:江苏省医学情报研究所,1981.
- [6] 谢志威,张晶,李卫凯. 外周血染色体制备改良方法的应用[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(1):82-83.
- [7] 张颖珍. 人体外周血染色体 G 显带制备时的影响因素及补救措施[J]. 中国优生优育,2010,16(5):265-267.
- [8] 慕明涛,霍满鹏,蒲力群,等. 人外周血染色体标本制备失败的影响因素分析[J]. 延安大学学报:医学科学版,2007,5(4):3.
- [9] 桂俊豪,黄国香,王铮,等. Carnoy's 预固定剂量对中期染色体分散度的影响[J]. 国际遗传学杂志,2006,29(6):416-419.

(收稿日期:2015-03-20)

Sysmex XE-5000 检测浆膜腔积液的可比性研究

贺端明,蓝惠森,江雁琼

(广州医科大学附属第五医院,广东广州 510700)

摘要:目的 比较 Sysmex XE-5000 血液分析仪体液模式及手工法使用改良牛鲍计数板对浆膜腔积液细胞进行检测的差异,分析这两种方法的可比性。方法 随机取患者送检的浆膜腔积液液标本 58 份,在 XE-5000 的体液模式下检测白细胞、红细胞及白细胞分类,对仪器法与手工法所得的结果进行比较分析,用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,组间比较采用配对 t 检验,并进行相关性分析。结果 XE-5000 在总体标本检测中,白细胞、红细胞计数及白细胞分类与手工法结果经比较,差异无统计学意义($P>0.05$),相关性分析显示:白细胞计数 $r=0.98$,红细胞计数 $r=0.52$,单个核细胞 $r=0.42$,多个核细胞 $r=0.58$ 。白细胞数大于或等于 $20\times 10^6/L$ 的标本检测中,各项目两种方法的检测结果比较差异均无统计学意义($P>0.05$),白细胞计数 $r=0.98$,红细胞计数 $r=0.62$,单个核细胞 $r=0.73$,多个核细胞 $r=0.73$ 。白细胞数小于 $20\times 10^6/L$ 的标本检测中,各项目的两种方法检测结果比较差异均无统计学差异($P>0.05$),相关性分析:白细胞计数 $r=0.31$,红细胞计数 $r=0.99$,单个核细胞 $r=0.18$,多个核细胞 $r=0.50$ 。在红细胞细胞数大于或等于 $1\ 000\times 10^6/L$ 的标本检测中,各项目两种方法检测结果比较差异均无统计学差异($P>0.05$),相关性分析:白细胞计数 $r=0.99$,红细胞计数 $r=0.46$,单个核细胞 $r=0.80$,多个核细胞 $r=0.80$ 。在红细胞数小于 $1\ 000\times 10^6/L$ 的标本经检测中,各项目两种方法检测结果比较差异均无统计学意义($P>0.05$),相关性分析:白细胞计数 $r=0.97$,红细胞计数 $r=0.00$,单个核细胞 $r=0.07$,多个核细胞 $r=0.30$ 。结论 XE-5000 血液分析仪体液模式有较高的临床应用价值,特别是对于白细胞数较多的体液标本,可以部分代替人工镜检进行白细胞计数及分类。

关键词:浆膜腔积液; XE-5000 血液分析仪; 手工法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.17.046

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)17-2560-03

Sysmex XE-5000 血细胞分析仪采用电阻抗和流式激光原理,根据电阻脉冲、前向散射光强度和宽度、荧光强度和宽度对标本中所有有形成分进行检测,可定量测定标本中的白细胞、红细胞及白细胞分类。除此之外,XE-5000 还提供了一些研究参数,如高荧光细胞比率及其散点图,对肿瘤细胞的筛查有很大的意义^[1-2]。浆膜腔积液常规检测对各类胸腹水的诊断、治疗及预后有着重要的价值,但一直以来都采用手工法进行红细

胞计数及白细胞计数和分类,操作繁琐,不同检测者测定结果不一,重复性较差,使实验室之间的可比性差,不利于建立实验室间质量评价,影响临床医师对患者资料的分析^[3]。而 Sysmex XE-5000 血液分析仪带有体液模式,若运用于临床检测,则可方便、快速、准确地向临床医生报告结果,更好、更快地服务于患者。为此,本研究通过 58 份体液标本建立实验,对手工法与仪器法进行对比,为 Sysmex XE-5000 血液分析仪应用于