

2.2 将 405 例孕妇检查结果按照孕期分组,结果显示随妊娠时间增加,各微量元素缺乏程度加重,与对照组相比, $P < 0.05$,有统计学意义。妊娠晚期妇女 5 种微量元素与正常比较均 $P < 0.05$,其中锌从孕早期开始出现明显差异,铁、钙从孕中期开始出现差异。见表 2。

3 讨 论

血清微量元素的含量是评价母婴营养状况的 1 项重要指标。若在孕前或孕早期缺乏某种元素,必然会影响胎儿的生长发育^[1-2]。

妊娠妇女缺铁可引起贫血、早产、低体质量儿^[3],严重者可导致胎儿及新生儿生长发育障碍。铁是本地区妊娠妇女最容易缺乏的微量元素,占 44.7% 孕妇有不同程度缺铁。钙参与机体凝血过程;对肌肉的收缩、心肌的功能以及神经肌肉的应激性都有重要的作用。当在血钙明显下降时,神经肌肉的应激性就会大大增加;血钙含量过高,则将引起心脏和呼吸衰竭^[4]。钙是本地区孕妇第二大易缺微量元素,有 34% 孕妇存在缺钙。镁作为多种酶的激活剂,与钙降低有相关性^[5]。铜在机体代谢中起着生物催化剂作用,妊娠妇女缺铜,可影响胎儿中枢神经发育,胎儿出生后可发生缺铁性贫血^[6]。本调查显示,镁、铜是本地区孕妇缺乏最少的微量元素,在妊娠早中期与正常群体无明显改变,在妊娠晚期由于微量元素需要量增加才出现明显缺乏。锌是 DNA 聚合酶的必需成分,缺锌可导致侏儒症和胎儿发育不良^[7]。在本次调查中,锌是第三大妊娠妇女易缺微量元

素,占 31.11%。从妊娠早期开始出现降低且有统计学差异。

整体上看,本地区妊娠妇女微量元素缺乏随妊娠时间增加不断降低。越到妊娠晚期降低越明显。对微量元素缺乏的妊娠妇女,应合理及时补充和平衡各种微量元素,以避免或减少因微量元素缺乏造成的不良后果,促进母亲胎儿健康发展^[8]。

参考文献

- [1] 胡嫦,孙海丽,郑孝清. 孕妇微量元素铁随孕周变化的规律及其意义[J]. 中国妇幼保健,2008,23(23):3242-3243.
- [2] 农宝安,韦金花. 孕妇体内 5 种微量元素测定结果的分析[J]. 中国实用医药,2012,7(3):100-101.
- [3] 郑怀美. 妇产科[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,1996:394.
- [4] 严永聪,田发安,李国平. 降脂防衰速溶保健茶中几种微量元素的含量及生化意义[J]. 泸州医学院学报,1993,16(4):271.
- [5] 勇霞. 172 例壮族孕妇微量元素含量测定分析[J]. 右江民族医学院学报,2003,25(6):826-827.
- [6] 吕达平,杨任民. 铜代谢障碍性疾病研究进展[J]. 安徽医学,2006,27(1):84-86.
- [7] 滕凯,邱国风,俞斌武,等. 妊娠期血清微量元素的变化[J]. 中国优生与遗传杂志,2007,15(9):32-33.
- [8] 张秀丽. 孕产期优生保健百科[M]. 北京:中国人口出版社,2010:100-105.

(收稿日期:2012-01-09)

• 经验交流 •

高有核细胞移植植物中白细胞的确定

巩文玉,李 刚,张 雪,李志刚

(首都医科大学附属北京儿童医院血液病中心/省部共建儿科重大疾病研究重点实验室,北京 100045)

摘 要:目的 探讨准确计数外周血干细胞移植植物白细胞的方法。方法 在移液器枪头外表面划一细线,以保证每次移液量的一致,对外周血干细胞移植植物标本进行精确稀释后计数白细胞,之后再乘以稀释倍数还原,算出原标本白细胞数。做两次不同倍数的稀释,进行质量控制。结果 30 例样本有 24 例样本平均值超出血球分析仪线性范围($< 99.9 \times 10^9/L$),占 80%,最高值达到 $434.0 \times 10^9/L$ 。两个稀释度还原值之差最低为 $0.5 \times 10^9/L$,最高为 $9.0 \times 10^9/L$ 。结论 该方法能够准确计数高有核细胞移植植物中白细胞,在控制好各种因素后可以得到令人信服的结果,为下一步工作打下坚实的基础。

关键词:移植;白细胞;干细胞;双平台;计数

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.24.049

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2012)24-3043-03

造血干细胞移植已成为白血病、实体瘤、遗传病、造血功能障碍等疾病重要的治疗方法,输注高剂量 CD34⁺ 细胞可使移植后造血重建加速^[1],而移植植物中 CD34⁺ 细胞计数是此项工作的重要环节之一,其结果的准确是后续工作的基础及保障。CD34⁺ 细胞计数影响因素很多,文献多有述及^[2-4],为技术统一和结果可比性提供了依据,但双平台计数方法中移植植物有核细胞浓度的确定似乎还强调得不够,造成室间结果差异很大。在送到本院检测的外院标本中,本院数值有的与外院相差 7 倍之多,远远超出临床可接受的变异范围^[5]。为了缩小这种差异,达到室间结果可比性的最终目标,研究者将本院连续检测的 30 份移植植物有核细胞浓度的结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材料 2011 年 8 月至 2012 年 4 月在本院行异基因骨髓移植供者动员后外周血 30 份。

1.2 血细胞分析仪 为 Beckman Coulter 公司的 AC·T Diff 2TM 血细胞分析仪,线形范围为小于 $99.9 \times 10^9/L$ 。仪器校

准采用该公司的专用校准品,由公司的专业人员进行,每半年 1 次。室内质控采用该公司的 COULTER 4C -ES Cell Control 质控品,以监测仪器的精密度及状态,一旦失控,立即着手解决。室间质控参加由卫生部组织的“全国医院检验科/血站全血细胞计数室间质评活动”,每次均合格。

1.3 样本稀释 用量程为 5~10 μL 的移液器吸取稀释液 10 μL ,之后在枪头外表面液面处划一极细的线,越细越好,不能有太大宽度,将其打入 500 μL 的 eppendorf 管中。再次吸取 10 μL 稀释液,注意液面是否与细线重合,否则,重新吸取、调整,只有液面完全与细线重合时才将其加入管中。本研究对样本做 2 个不同倍数的稀释,若各方面因素都能控制好,不管样本稀释多少倍,最终还原的结果理论上应该一致。由于各种随机误差的存在,每个稀释度结果不可避免地会出现差异,但相差不可能很大,否则,认为就是技术上的问题,需要重新稀释、计数。本研究自定的标准是 2 个稀释度还原值之差最大不能大于 $10 \times 10^9/L$,合格后再取两者均值作为最终报告结果。

1.4 样本计数及结果还原 将稀释后的样本用血球分析仪按操作规范计数,其数值乘以稀释倍数后作为还原值,按照上述要求报告最终结果。

2 结 果

30 例外周血移植物计数值及计算值见表 1。从表 1 可以

看出,有 24 例样本平均值超出血球分析仪线性范围($<99.9\times 10^9/L$),占 80%,最高值达到 $434.0\times 10^9/L$ 。两个稀释度还原值之差在一定程度上反映了均值的可靠程度,二者呈反比关系,同时也反映稀释各个环节控制得好坏。差值最低为 $0.5\times 10^9/L$,最高为 $9.0\times 10^9/L$ 。

表 1 不同稀释度还原值及其差值、平均值($\times 10^9/L$)

序号	首次稀释数值	二次稀释数值	两次差值	平均值	序号	首次稀释数值	二次稀释数值	两次差值	平均值
1	219.0	217.5	1.5	218.25	16	128.0	121.0	7.0	124.50
2	29.0	31.5	2.5	30.25	17	388.5	388.0	0.5	388.25
3	398.0	395.2	2.8	396.6	18	166.0	160.5	5.5	163.25
4	24.0	23.5	0.5	23.75	19	173.0	178.5	5.5	175.75
5	264.0	261.0	3.0	262.5	20	113.0	110.0	3.0	111.50
6	273	275.5	2.5	274.25	21	95.0	97.0	2.0	96.0
7	63.0	60.0	3.0	61.5	22	144.5	140.0	4.5	142.25
8	72.0	73.5	1.5	72.75	23	223.0	223.5	0.5	223.25
9	209.0	206.0	3.0	207.5	24	436.5	431.5	5.0	434.0
10	297.0	288.0	9.0	292.5	25	293.0	292.5	0.5	292.75
11	353.0	359.0	6.0	356.0	26	350.0	341.0	9.0	345.50
12	324.0	321.0	3.0	322.5	27	118.0	120.5	2.5	119.25
13	109.0	103.0	6.0	106.0	28	340.0	340.5	0.5	340.25
14	177.0	179.0	2.0	178.0	29	24.0	23.0	1.0	23.50
15	146.0	142.5	3.5	144.25	30	360.0	364.5	4.5	362.25

3 讨 论

外周血移植物的有核细胞数极高,远远超出血球计数仪线性范围,必须稀释,血球计数仪才能计数准确,之后,再乘以稀释倍数还原,才能作为最后的报告结果,为单抗与适当浓度的细胞反应及获得准确的 CD34⁺ 细胞绝对值打下基础。即使用单平台法,避开血球计数仪,也无法回避稀释问题。因此,稀释倍数的准确直接关系到 CD34⁺ 细胞最终结果的准确,必须重视各个环节的操作。

首先,枪头外表面的细线越细越好,不能有太大宽度,这对吸取样本来说更加重要。因为样本有核细胞浓度非常高,稀释后总体积又很小,样本量的极小变化都会大大影响最后结果,细线容易控制样本液面与每次的稀释液量相一致,从而保证稀释倍数的精准。吸取稀释液时只有液面完全与细线重合时才将其加入管中,因为枪头管径较细,侧面观液面呈一直线,而不是向下凹陷。需要强调的是,先吸取稀释液,再吸取样本。一则避免稀释液受到污染,二则稀释液液面观察得清楚,细线位置容易确定。再有就是在做同一稀释倍数时,稀释液吸完后不要换枪头,用同一枪头吸取样本。枪头外沾染的标本一定要擦净,这样,不仅能保证稀释液与样本的比例精确,更重要的是保证结果的准确。

其次,移液器大小应适中,最好是 10 μL 左右。用太大的移液器吸取 10 μL 液体误差会加大,往往会偏离细线,不易调整。移植物样本很宝贵,临床往往只送 200~300 μL 样本,所以,不允许消耗太多,本研究者认为移液量控制在 10 μL 比较适合,再少就不能满足血液分析仪的要求。

最后,容器容量要适中。因稀释后的样本量不多,容器大混匀时会使样本粘壁太多,造成损失,也不利于样本的混匀。

在控制好上述因素后,研究者认为得出的有核细胞浓度更加接近样本的真值。至于样本中 CD34⁺ 细胞百分比的测定影响因素更多、也更复杂,文献多有讨论^[6-8],本文不再赘述。

参考文献

[1] 周征,王玫,何祎,等. 移植物中 CD34⁺ 细胞及 T 细胞亚型对 HLA 相合同胞异基因外周血造血干细胞移植预后的影响[J]. 中华血液学杂志,2008,29(12):819-823.

[2] Barnett D,Janossy G,Lubenko A ,et al. Guideline for the flow cytometric enumeration of CD34⁺ haematopoietic stem cells. Prepared by the CD34⁺ haematopoietic stem cell working party. General Haematology Task Force of the British Committee for Standards in Haematology[J]. Clin Lab Haematol,1999,21(5):301-308.

[3] 刘艳荣,陈姗姗,于弘. 流式细胞术计数 CD34⁺ 阳性细胞的标准化与质量控制[J]. 中国实验血液学杂志,2000,8(4):302-306.

[4] Menéndez P,Redondo O,Rodriguez A,et al. Comparison between a lyse-and-then-wash method and a lyse-non-wash technique for the enumeration of CD34⁺ hematopoietic progenitor cells[J]. Cytometry,1998,34(6):264-271.

[5] 杨振华,王治国. 临床实验室质量管理允许总误差[M]. 北京:人民卫生出版社,2003:45-51.

[6] Stewart JC,Villasmil ML,Frampton MW. Changes in fluorescence intensity of selected leukocyte surface markers following fixation[J]. Cytometry A,2007,71(6):379-385.

[7] Levering WH,Preijers FW,van Wieringen WN,et al. Flow cytometric CD34⁺ stem cell enumeration:lessons from nine years' external quality assessment within the Benelux countries [J]. Cy-

tometry B Clin Cytom, 2007, 72(3):178-188.

Cytometry. 1999, 38(4):153-160.

[8] Macey MG, McCarthy DA, Milne T, et al. Comparative study of five commercial reagents for preparing normal and leukaemic lymphocytes for immunophenotypic analysis by flow cytometry [J].

(收稿日期:2012-01-09)

• 经验交流 •

B 型脑钠肽、高敏 C 反应蛋白与心力衰竭的相关性探讨

霍美凤

(江苏省徐州市第一人民医院检验科, 江苏徐州 221002)

摘要:目的 探讨血浆 B 型脑钠肽(BNP)和高敏 C 反应蛋白(Hs-CRP) 水平在心力衰竭诊断及预后的临床意义。方法 选择 48 例心力衰竭患者(观察组)和 40 例健康人群(对照组)。所选患者在入院当天和治疗第 3 天、治疗第 20 天收集血浆样本测定 BNP、Hs-CRP 含量。结果 患者发病当天血浆 BNP、Hs-CRP 水平均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),发病第 3 天达高峰,与入院当天比较差异有统计学意义($P<0.01$),后逐渐下降,第 20 天已明显下降,与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 动态观察血浆 BNP 和 Hs-CRP 含量是诊断心力衰竭的重要指标和判断病情变化的有效指标。

关键词:心力衰竭; 利钠肽; 脑; C 反应蛋白质

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.24.050

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2012)24-3045-02

心力衰竭是极为严重的临床常见综合征,是各种心血管疾病的危重阶段。及时判断病情并及时给予临床处理,有助于提高抢救成功率,改善患者预后,提高生存质量。本研究动态的观察了血浆高敏 C 反应蛋白(Hs-CRP) 和 B 型脑钠肽(BNP)水平的变化,验证了其浓度的变化在心力衰竭诊断及预后的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2010 年 1 月至 2011 年 10 月在本院治疗的心力衰竭患者 48 例作为观察组,其中男 28 例,女 20 例;年龄 34~79 岁,平均(53.9±10.2)岁。同时排除慢性肾功能不全、急性心肌梗死、心脏瓣膜病、肺梗死、肝硬化、原发性醛固酮增多症、甲状腺功能亢进、脑血管意外、肿瘤等可引起 BNP 轻度升高的患者。所选 48 例患者根据纽约心脏协会指定的心功能分级标准进行心功能评定^[1]: I 级患者 9 例, II 级患者 13 例, III 级患者 14 例, IV 级别患者 12 例。另选择 40 例同期体检健康者作为对照组,其中男 25 例,女 15 例;年龄 22~76 岁,平均(52.3±9.6)岁。

1.2 检测方法 所选患者及对照组均抽取肘静脉血 5 mL,其中 2 mL 左右放入 EDTA 抗凝管中,用于检测 BNP;3 mL 左右放入促凝管中,室温下放置 30 min,离心取血清,用于检测 Hs-CRP。观察组采血时间分别入院当天、治疗第 3 天、治疗第 20 天。BNP 的测定采用化学发光法, Hs-CRP 的检测采用免疫散射比浊法。所用仪器和试剂均为 SIEMEND 公司,严格按照操作要求和说明进行。本院 BNP 正常值为 0~100 pg/mL, Hs-CRP 为 0~5 mg/L。

1.3 统计学处理 采用 SPSS14.0 统计学软件进行统计学分析,均数比较采用 t 检验或者单因素方差分析, $P<0.05$, 显示差异有统计学意义。

2 结果

48 例观察组发病当天 BNP、Hs-CRP [BNP: (118.01±31.12)pg/mL; Hs-CRP: (5.12±1.21)mg/dL] 与 40 例对照组 [BNP: (59.14±21.37)pg/mL; Hs-CRP: (2.39±0.63)mg/dL] 比较差异有统计学意义($P<0.05$);发病第 3 天 BNP、Hs-CRP 水平达到高峰 [BNP: (189.34±34.47)pg/mL; Hs-CRP:

(7.23±2.53)mg/dL], 与入院当天比较差异有统计学意义($P<0.01$);第 20 天 BNP、Hs-CRP 水平已明显下降, $P>0.05$ 。同时随着心功能分级增加, BNP、Hs-CRP 检测水平也不断增加($P<0.05$)。

3 讨论

心力衰竭是 1 种重要的临床综合征,当心脏不能以一定速率泵血来满足组织新陈代谢的需要时,引发心力衰竭。其最常见的病因为冠心病、高血压、心脏瓣膜病和心肌病。准确和早期诊断可以改善心力衰竭的发病率和死亡率。按照纽约心脏病协会分级(I~IV),根据临床体征和症状,心力衰竭可以分为 4 级,疾病严重程度逐级增加^[1]。

BNP 又称 B 型利钠肽。在心室负荷增加或心室增大时, BNP 合成分泌并释放入血,它可以促进排钠、排尿,具有较强的舒张血管作用。通过与肾素-血管紧张素-醛固酮系统的拮抗作用,来控制体液和电解质的动态平衡^[2]。

C-反应蛋白(CRP)是目前最具价值的急性时相反应蛋白,在炎症性过程产生的一般非特异性反中,血中浓度会升高。hs-CRP 是许多炎症事件的灵敏指标,其水平的变化对于心力衰竭的病情程度、发展及预后有一定的预测作用^[3-4]。有研究表明,分析测量 hs-CRP 是预测未来患心血管疾病和周围血管疾病的有力的预测指标^[5]。hs-CRP 测量能够提高用于评定患心血管疾病和周围血管疾病危险的其他标记物的预测价值^[6-7]。但是 hs-CRP 的升高不是特异性的,而是许多炎症反应的通用指标。因此,在没有完整的临床病史或者结合其他检查指标的情况下,不能据此作出结论。本实验结果显示心力衰竭患者 BNP 水平于入院当天较正常对照组增高($P<0.05$),入院第 3 天达到高峰($P<0.01$),后逐渐下降,第 20 天接近正常水平($P>0.05$)。

且 Hs-CRP、BNP 水平的变化与心衰的高峰期及病程的发展一致,这与 Emile 等^[8]研究发现的一致。另外,患者的心功能分级级别越高,其 BNP、Hs-CRP 的检测水平也就越高。据报道, Hs-CRP 值大于 10 mg/L 表示短期(30 d 至 1 年)内复发心脏疾病的危险增加^[5]。

研究者也跟踪了一部分患者出院后的预后情况,发现发病