

| 表 1 冠心病组、急性脑梗死组 Hcy、hs-CRP 检测结果比较(±s) |     |              |             |
|---------------------------------------|-----|--------------|-------------|
| 组别                                    | n   | hs-CRP(mg/L) | Hcy(μmol/L) |
| 冠心病组                                  | 150 | 7.15±2.75    | 17.23±5.67  |
| 急性脑梗死组                                | 67  | 11.4±2.54*   | 23.78±5.43* |
| 健康对照组                                 | 50  | 1.59±0.75*   | 9.32±1.27*  |

\*:  $P<0.05$ ,与健康对照组比较。

**2.2 冠心病组各亚组之间 Hcy、hs-CRP 含量比较** 冠心病组各亚组之间 Hcy、hs-CRP 水平比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ),SAP 组与 UAP 组间 Hcy 水平比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 2。

| 表 2 冠心病各亚组 Hcy、hs-CRP 含量比较 |    |              |             |
|----------------------------|----|--------------|-------------|
| 组别                         | n  | hs-CRP(mg/L) | Hcy(μmol/L) |
| SAP 组                      | 57 | 3.13±1.37    | 14.13±4.53  |
| UAP 组                      | 51 | 3.25±1.41    | 18.57±4.78* |
| AMI 组                      | 42 | 7.57±2.87△   | 22.43±5.47△ |

△:  $P<0.05$ ,与 SAP 组、UAP 组比较; \*  $P<0.05$ ,与 SAP 组比较。

**2.3 各组 Hcy、hs-CRP 的阳性率及两项联合检测的阳性率比较** 两项联合检测的阳性率明显高于单项检测( $P<0.05$ ),见表 3。

| 表 3 各组 Hcy、hs-CRP 的阳性率及二项联合检测的阳性率比较[n/n(%)] |             |             |              |
|---------------------------------------------|-------------|-------------|--------------|
| 项目                                          | Hcy 阳性率     | hs-CRP 阳性率  | 二项联合检测阳性率    |
| 冠心病组                                        |             |             |              |
| SAP 组                                       | 16/57(28.1) | 33/57(57.9) | 46/57(80.7)△ |
| UAP 组                                       | 21/51(41.2) | 33/51(64.7) | 46/51(90.2)△ |
| AMI 组                                       | 27/42(64.3) | 36/42(85.7) | 40/42(95.2)△ |
| 急性脑梗死组                                      | 44/67(65.7) | 57/67(85.1) | 64/67(95.5)△ |

△:  $P<0.05$ ,与单一指标检测比较。

**3 讨 论**

高 Hcy 血症一直以来被认为是造成动脉粥样硬化和心脑血管疾病发生的独立危险因素。Hey 水平增高,它产生的超氧化物和过氧化物可直接损伤血管内皮细胞,同时还刺激血管平滑肌细胞增殖,参与动脉粥样硬化形成,它还可能破坏正常凝血机制,增加血栓形成的机会<sup>[7]</sup>。hs-CRP 是一种敏感的急性时相蛋白,由肝脏合成,是一种敏感的炎症标志物,hs-CRP 还是炎症并发动脉粥样硬化的良好指标<sup>[6]</sup>,研究认为 hs-CRP 参

• 经验交流 •

与了炎症反应的发生发展,hs-CRP 可结合于损伤组织,核抗原脂蛋白及凋亡细胞并激活补体进一步引起组织的损害,hs-CRP 的沉积还是诱导内皮细胞分泌多种炎症介质,促使单核细胞向内膜下浸润的重要因素<sup>[8]</sup>,从而 hs-CRP 水平检测可预测动脉粥样硬化的危险性<sup>[9]</sup>。

本研究表明冠心病组和急性脑梗死组 Hcy、hs-CRP 检测水平明显高于对照组( $P<0.05$ );冠心病组各亚组间,SAP 组与 UAP 组 hs-CRP 检测水平比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),SAP 组与 UAP 组 Hcy 检测水平比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),AMI 组与 SAP 组、UAP 组 Hcy、hs-CRP 检测水平比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。各组 Hcy、hs-CRP 的阳性率及两项联合检测的阳性率比较,两项联合检测的阳性率明显高于单项检测( $P<0.05$ )。

综上所述,Hcy、hs-CRP 水平与冠心病、急性脑梗死患者的发生、发展密切相关,二者联合检测有助于判断冠心病、急性脑梗死病变程度,有助于冠心病、急性脑梗死患者诊断的预后提供更好的判断指标。

**参考文献**

[1] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3 版.南京:东南大学出版社,2006:136-137.

[2] 郑军.EDTA 依赖性假性血小板减少症的临床相关因素探讨[J].中国医科大学学报,2007,36(4):489-490.

[3] 郑刚.高同型半胱氨酸血症与心血管病发病机制研究进展[J].临床心血管病杂志,2001,17(3):236-238.

[4] Berkman N,Michaeli Y,oO R,et al.EDTA-dependent pseudo-thrombocytopenia:A clinical Study of 18 patientg and a review of the literature[J].Am J Hematol,1991,36:195-201.

[5] 安享仙,景影,甄锡云,等.超敏 C-反应蛋白,血尿酸与无症状腔隙性脑梗死的关系[J].中国实验诊断学,2009,13(7):943-944.

[6] 李亚,李忠,何晓明.超敏 C-反应蛋白检测的临床应用[J].热带医学杂志,2007,7(8):793.

[7] 朴春花,同型半胱氨酸测定的临床意义[J].医学理论与实践,2009,11(22):1307.

[8] 蔡淑红.冠心病患者超敏 C-反应蛋白测定的临床价值[J].吉林医学,2010,31(7):938-939.

[9] 付文全.CRP 在检测动脉硬化类疾病中的应用进展[J].中国医学文摘内科学,2002,23(1):105.

(收稿日期:2013-03-16)

1 798 例羊水细胞培养染色体分析结果的质量分析

代云才,漆晓玲,罗 立,张林琳

(宜宾市第二人民医院检验科,四川宜宾 644000)

**摘 要:**目的 探讨羊水细胞培养胎儿染色体核型分析结果的质量情况。方法 普通培养瓶法对 1 798 例羊水细胞进行细胞培养胎儿染色体核型分析,并对其结果做质量分析。结果 1 798 例羊水标本中,培养成功 1 744 例,成功率为 97%,培养成功的 1 744 例制作为羊水细胞胎儿染色体标本片,并对其进行胎儿染色体核型分析,其分析的成功率为 99.3%。结论 该实验室羊水细胞培养胎儿染色体分析结果的质量符合行业标准。

**关键词:**羊水细胞培养; 胎儿染色体分析; 产前诊断; 质量分析

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.19.058 文献标识码:B 文章编号:1673-4130(2013)19-2611-03

中,存在易污染、细胞生长缓慢导致分裂象较少,染色体形态较差,标本片制备难度大<sup>[1-2]</sup>,对操作人员的素质和技术要求高等问题而难以保证较高的质量。本实验室技术人员两年多来努

力克服上述困难,使本实验室胎儿羊水细胞培养染色体分析质量得到持续提高,现将其质量情况分析如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 共 1 798 例(唐氏筛查高风险 818 例,高龄孕妇 980 例),其中正常羊水标本(孕周 16~22<sup>+</sup><sub>6</sub>,外观淡黄色,清晰)1 658 例;高孕周标本 32 例( 23~25 周 23 例,26 周 5 例,27 周 2 例,28 周 2 例)外观淡黄色,清晰;新鲜血性羊水标本 81 例(离心前或离心后的沉淀物有肉眼可见的红细胞);陈旧性血性(外观浅黑色、浑浊,)羊水标本 27 例。以上标本均为 2010 年 6 月至 2012 年 12 月来我院做产前诊断的孕妇,年龄 17~48 岁。

1.2 试剂 羊水培养基:二代羊水培养基(AmnioMAX™ II Complete Medium 美国,BIO-AMF-2 以色列);25 cm<sup>2</sup> 羊水瓶(美国康宁公司生产);低渗液:0.4%KCl 液、0.4%枸橼酸钠;10 μg/mL 的秋水仙素;固定液:甲醇、冰醋酸;磷酸盐缓冲液、牛胰蛋白酶、吉姆萨染液。

1.3 仪器 SHELLAB 水套式 CO<sub>2</sub> 恒温培养箱,BCM-1000 型生物净化工作台,GENIUS 5K-D 全自动脱帽离心机,HN101 恒温干燥箱,HH 数显恒温水箱,YJTF-2A 型通气柜,Olympus 1X51 倒置显微镜,Olympus BX51 显微成像染色体分析系统(冷光源数字摄像头及染色体分析软件)。

1.3 方法 普通培养瓶法。

1.3.1 羊水细胞培养原理 人的羊水细胞能长成单层并可连续进行传代培养。在羊水中存在着各种不同类型的胎儿细胞,其中一类细胞在培养几天后开始生长,且在传代再培养中一开始就长得很好,并可制备出良好的染色体标本片。利用羊水细胞的这一特性,将采集的羊水离心沉淀,再将其沉淀物转入羊水瓶内,并加入一定量的羊水培养基进行培养。经更换培养液、再培养后,羊水细胞生长良好,此时,向培养瓶内加入一定量的秋水仙素,使羊水细胞的分裂停止在中期。

1.3.2 羊水细胞培养 将羊水以 1 800 r/min 离心 8 min,无菌操作条件下,用真空泵吸去上清液,保留约 0.5 mL 羊水沉淀物,加入羊水培养液 3.5 mL 混匀,并将其转入到 25 cm<sup>2</sup> 培养瓶内,每一孕妇的羊水标本均为双份,分别置于 5% CO<sub>2</sub>,37℃ 的两个恒温培养箱中半开放培养。第 6 天开始观察,若观察到有细胞贴壁生长时,无菌操作以真空泵吸去培养瓶内的培养液,加入新鲜培养液 3 mL 继续培养。如更换培养液后 3~4 d 细胞贴壁生长较差,应再次更换培养液继续培养,此后,应每天观察细胞生长情况,如 2~3 d 后,细胞生长仍然较差者,应及时将其传代<sup>[3]</sup>。

1.3.3 胎儿染色体标本片制备 收获前 1 天再次更换培养液,向需要收获的羊水瓶内加入 20 μL 浓度为 10 μg/mL 秋水仙素继续培养 4 h。经细胞收集、低渗、固定、制片、显带、染色处理,即可得到可用于染色体核型分析胎儿染色体标本片。

2 结 果

本实验室羊水细胞培养情况见表 1。1 798 例羊水标本培养成功 97%,即有 1 744 例可制作胎儿染色体标本片,并对其进行胎儿染色体分析诊断,结果见表 2。

表 1 1 798 例羊水标本培养情况统计(n)

| 指标        | 总数    | 正常标本  | 高孕周标本 | 新鲜血性标本 | 陈旧血性标本 |
|-----------|-------|-------|-------|--------|--------|
| 标本数(n)    | 1 798 | 1 658 | 32    | 81     | 27     |
| 培养成功例数(n) | 1 744 | 1 648 | 28    | 48     | 20     |
| 培养成功率(%)  | 97.0  | 99.4  | 87.5  | 59.3   | 74.1   |

表 2 1 744 例羊水染色体标本片分析诊断情况统计表

| 指标        | 总数    | 正常标本  | 高孕周标本 | 新鲜血性标本 | 陈旧血性标本 |
|-----------|-------|-------|-------|--------|--------|
| 培养成功例数(n) | 1 744 | 1 648 | 28    | 48     | 20     |
| 诊断成功例数(n) | 1 731 | 1 646 | 27    | 40     | 16     |
| 诊断成功率(%)  | 99.3  | 99.9  | 96.4  | 83.3   | 80.0   |

3 讨 论

本实验室总培养成功率为 97%,其中正常标本培养成功率 99.4%;高孕周标本培养成功率 87.5%;完全达到质量要求。影响胎儿羊水细胞培养的因素很多<sup>[4]</sup>,标本状态是关键因素之一。一般认为孕周在 16~22<sup>+</sup><sub>6</sub> 为最佳时期,但本实验室统计发现,孕周在 16~17 周的正常羊水标本培养成功率低,这是因为此时的羊水标本内细胞总数或有活性的细胞相对较少,使贴壁的羊水细胞克隆相对减少;孕周大于 22<sup>+</sup><sub>6</sub> 即高孕周标本则是因为随着胎儿生长发育,其分泌物和排泄物等有毒物增多,影响羊水细胞分裂繁殖;而新鲜血液污染羊水对其培养结果影响较大,表 1 显示其成功率为仅为 59.3%,原因是羊水 中的红细胞沉积于羊水瓶的底部,使有活性的羊水细胞不能贴壁生长<sup>[5]</sup>;陈旧血性标本培养成功率 74.1%,因该羊水内含有红细胞碎片及纤维蛋白等凝集物,离心后沉淀于试管底部无法与羊水细胞分离,这些凝集物就会沉积于羊水瓶的底部,使有活性的羊水细胞无法贴壁克隆,以上诸多因素是导致培养失败或不满意的主要原因。此外,微生物污染是羊水细胞培养失败的最主要原因之一<sup>[6]</sup>,因此,所用的试管、移液器、培养瓶等应绝对无菌,操作的每一个环节都要严格按无菌操作规程进行,应注意。

本实验室胎儿羊水细胞染色体分析诊断成功率为 99.3%,达到质量标准。其影响因素主要取决于羊水标本片的质量,即染色体形态、分裂象的多少、显带是否较好,染色效果是否较佳。其中染色体形态、分裂象的多少是关键因素,分裂象的多少取决于羊水细胞培养生长情况,在羊水细胞培养、染色体分析过程中,由于活细胞数量少、质量差、羊水标本异常或宫内感染等原因可能导致分裂象少或培养失败<sup>[7-8]</sup>,从而影响分析诊断结果。

胎儿羊水细胞培养染色体分析诊断要获得满意效果,必须进行 全面质量控制。采集羊水标本时,孕周应控制在 18~22<sup>+</sup><sub>6</sub>;尽量避免因穿刺而引起的血性羊水标本;接种、换液时必须严格按无菌操作规程进行;准确把握羊水细胞收获时间,低渗、固定、显带、染色等应严格按操作规程进行;所用的培养基、试剂应符合质量要求;定期校准培养箱内温度、CO<sub>2</sub> 浓度,保持培养箱内湿度以及培养室环境的相对恒定;定期对培养箱内进行消毒处理以防止微生物污染培养物,此外,应对本实验室技术人员进行继续医学教育,不断提高其技术水平,方能保证胎儿羊水细胞培养染色体分析质量得到持续提高。羊水细胞培养过程中,培养箱内温度、CO<sub>2</sub> 浓度、湿度对于本实验室是相对恒定的,因此,本文未做分析讨论。

参考文献

[1] Castro Volio I,Sander Mangel K,Vargas Prado M,et al. Cytogeneti-cal prenatal diagnosis by amniocentesis during the II and III gestationtrimesters in Costa Rica[J]. Rev Biol Trop,2001,49(3/4):1227-1236.

[2] 刘晓翌,肖晓素,樊尚荣,等. 羊水细胞染色体制备方法的研究[J]. 中国妇产科临床杂志,2004(4):296-300.

[3] 郑育红,孙筱放,孙小蔓. 原瓶传代培养应用于羊水产前诊断中的研究[J]. 中国优生与遗传杂志,2002,1(6):58-59.

[4] 许争峰,胡娅莉,朱瑞芳. 高效羊水细胞培养技术在产前诊断中的应用[J]. 中华妇产科杂志,2006,41(4):275.

[5] 剡红民,强荣,陶囡,等. 羊水细胞培养技术在产前诊断的应用[J]. 实用医技杂志,2006(23):35-37.

[6] Turhan NO, Eren U, Seckin NC. Second-trimester genetic amniocentesis: 5-year experience[J]. Arch Gynecol Obstet, 2005, 271(1): 19-

21.

[7] 孙明强,徐继秀. 提高羊水细胞培养成功率的方法[J]. 中国优生与遗传杂志,2007,15(6):45.

[8] 鲁莉萍,陈意振,张莉超. 羊水细胞培养在产前诊断中的应用 619 例染色体核型分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2005,13(5):32.

(收稿日期:2013-05-10)

• 经验交流 •

艾滋病患者脑脊液腺苷脱氨酶活性的应用

方欢英,周 毅,李海聪

(复旦大学附属公共卫生临床中心/上海市公共卫生临床中心医学检验科,上海 201508)

**摘 要:**目的 探讨艾滋病患者脑脊液腺苷脱氨酶的活性、临床意义及与其他生化指标之间的关系。方法 本研究纳入 36 例艾滋病患者[人类免疫缺陷病毒(HIV)阳性]和 36 例感染性疾病患者(HIV 阴性且排除细菌性脑膜炎、结核、白血病),检测其脑脊液中腺苷脱氨酶(ADA)、乳酸脱氢酶(LDH)、葡萄糖(Glu)、氯(Cl)和总蛋白(TP)的水平。结果 艾滋病患者脑脊液 ADA 水平显著高于 HIV 阴性组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );Pearson 相关分析显示 HIV 阳性患者脑脊液 ADA 水平与 LDH、TP 水平呈正相关( $P<0.05$ ),而与 Glu、Cl 无明显相关性( $P>0.05$ )。结论 脑脊液 ADA 水平与其他生化指标联合应用,有助于艾滋病患者的临床诊断。

**关键词:**腺苷脱氨酶; 脑脊液; 艾滋病

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2013.19.059 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2013)19-2613-02

艾滋病(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)是由人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)引起的一种严重的传染病,近年来感染率呈逐渐上升趋势,据估计至 2009 年底,我国 HIV/AIDS 人数已达到 74 万<sup>[1]</sup>;全世界罹患 HIV/AIDS 的人数大约在 3 860 万,平均每天新发感染人群达到 11 000 例<sup>[2]</sup>。本研究旨在探讨分析艾滋病患者脑脊液腺苷脱氨酶活性水平及与其他生化指标之间的关系。

1 资料与方法

**1.1 一般资料** 艾滋病患者(HIV 阳性)的脑脊液标本 36 份,平均年龄( $41\pm12$ )岁;HIV 阴性感染者(HIV 阴性且排除细菌性脑膜炎、结核、白血病)的脑脊液标本 36 份,平均年龄( $43\pm18$ )岁,排除细菌性脑膜炎、结核、白血病患者。

**1.2 仪器与方法** (1)所有脑脊液抽取均按标准无菌进行。(2)脑脊液葡萄糖(glucose, Glu)、氯(chlorine, Cl)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、腺苷脱氨酶(adenosine deaminase, ADA)采用罗氏 Roche Modular P800 全自动生化分析仪检测, Glu、Cl 为 Roche 配套试剂盒, ADA 测定试剂盒由烟台澳斯邦生物工程有限公司生产。(3)脑脊液总蛋白(total protein, TP)采用磺基水杨酸-硫酸钠手工比浊法,严格按照《全国临床检验操作规程》(第 3 版)进行操作。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS13.0 统计软件进行分析,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,不同组间脑脊液生化指标活性比较采用 Mann Whitney test,率的比较采用  $\chi^2$  检验。Pearson 用于检验 ADA 与脑脊液 Glu、Cl、LDH 之间的相关性。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

**2.1 HIV 患者和 HIV 阴性组间脑脊液生化指标分析** 艾滋病患者脑脊液 ADA 和 Glu 水平与 HIV 阴性组相比,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),而 LDH、TP、Cl 在 HIV 阳性组与 HIV 阴性组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 1。

**2.2 艾滋病患者脑脊液 ADA 水平与其他生化指标的相关性**

分析 对艾滋病患者脑脊液 ADA 水平与其他生化指标进行 Pearson 相关分析,结果显示艾滋病患者脑脊液 ADA 水平与 LDH、TP 水平呈正相关( $P<0.05$ ),而与 Glu、Cl 没有相关性( $P>0.05$ )。

表 1 HIV 阳性组和 HIV 阴性组间脑脊液生化指标分析( $\bar{x}\pm s, n=36$ )

| 指标          | HIV 阳性        | HIV 阴性        | <i>P</i> |
|-------------|---------------|---------------|----------|
| 年龄(岁)       | 41.00±12.00   | 43.00±18.00   | >0.05    |
| Glu(mmol/L) | 2.69±1.08     | 3.51±1.06     | <0.05    |
| Cl(mmol/L)  | 124.58±8.67   | 127.03±6.10   | >0.05    |
| LDH(U/L)    | 82.50±158.26  | 27.72±27.83   | >0.05    |
| ADA(U/L)    | 2.92±2.63     | 1.25±0.65     | <0.05    |
| TP(mg/L)    | 616.28±874.35 | 296.80±337.61 | >0.05    |

3 讨 论

腺苷脱氨酶(adenosine deaminase, ADA)是一种球状的可溶性的酶,主要存在于淋巴细胞中<sup>[3]</sup>,能催化腺嘌呤核苷降解为次黄嘌呤核苷,后经核苷磷酸化酶催化生成次黄嘌呤,最终氧化成代谢产物尿酸<sup>[4]</sup>。它广泛分布于人体各组织中,是一种与机体细胞免疫活性有重要关系的核酸代谢酶。文献报道测定血液、体液中的 ADA 及其同工酶水平有助于某些疾病的诊断、鉴别诊断、治疗等。继 Piras 等<sup>[5]</sup>提出胸腔积液 ADA 活性可作为胸腔积液鉴别诊断的依据之后,很多文献报道均认为 ADA 增高是 T 淋巴细胞对某些特殊病变局部刺激产生的一种反应。有文献报道肺结核患者机体的细胞免疫功能活跃,会引起 ADA 水平升高<sup>[6]</sup>。重症联合免疫缺陷病(severe combined immune deficiency, SCID)也被认为与先天性的 ADA 缺陷有关<sup>[7]</sup>。HIV 病毒感染时,血清/血浆、红细胞 ADA 水平随着疾病的自然演变增加<sup>[8-9]</sup>。

作者发现艾滋病患者脑脊液中的 ADA 水平比 HIV 阴性患者(排除细菌性脑膜炎、结核、白血病)相对要高,此结论与国