

表 1 水样中 Cd²⁺的测定结果 (n=7)

水样	平均测定值 (μg/ml)	RSD (%)	加标量 (μg/ml)	测定值 (μg/ml)	回收率 (%)
井水	—	—	0.050	0.053	106.0
中游河水	0.029	2.09	0.050	0.076	96.0
污水水样	1.060	1.27	1.000	2.010	95.0

注: 排污口靠近河流中游

表 2 两种方法测定污水水样中 Cd²⁺的比较

样品	本法测定值 (μg/ml)	原子吸收法测定值 (μg/ml)	相对标准偏差 (%)
污水水样 1	0.85	0.88	1.89
污水水样 2	1.06	1.11	1.56
污水水样 3	1.27	1.32	1.25

4 结论

本研究用消化的方法除掉污水样中的有机物, 通过控制巯基棉柱吸附与吸脱的 pH 值, 排除镉污染水样中 Pb²⁺、Hg²⁺等离子的干扰, 同时可富集水样中的镉。该方法检测简便快速、灵敏度高、显色快、生成的有色配合物稳定时间长, 用于环境镉水样分析与原子吸收分光光度法的测定结果基本一致。

参考文献:

[1] 吴双桃. 镉污染土壤治理的研究进展 [J]. 广东化工, 2005 4: 40-41.

[2] 罗育池, 林春. 分光光度法测定环境水样中痕量镉 [J]. 光谱实验室 2003 20 (5): 790.

[3] 叶艳青, 高云涛, 刘晓芳, 等. 火焰原子吸收光谱法测定环境样品中生物可利用镉 [J]. 光谱实验室, 2007 24 (4): 751-753.

[4] Roa G, Ramirez Silva M T, Romero Romo M A et al. Determination of lead and cadmium using a polycyclodextrin modified carbon paste electrode with anodic stripping voltammetry [J]. Anal Bioanal Chem 2003 377 (4): 763-769.

[5] 谢华林, 李爱阳. 电感耦合等离子体质谱测定陶瓷器皿中微晶溶出铅镉的研究 [J]. 中国陶瓷工业, 2004 11 (4): 36.

[6] 滕文锋, 彭茵, 杨波. 巯基棉富集分离火焰原子吸收光谱法测定食盐中痕量镉 [J]. 光谱实验室, 2004 (3): 402-404.

[7] Walter N L S, Jorge L O C, Rennan G O A et al. An online preconcentration system for determination of cadmium in drinking water using FAAS [J]. Journal of Hazardous Materials 2006 137 (3): 1357-1361.

[8] 杨慧仙, 李贵荣, 何爱桃, 等. Cd²⁺-I⁻-CV三元络合物共振瑞利散射法测定镉 [J]. 中国卫生检验杂志, 2007 17 (8): 1366-1367.

外周血淋巴细胞染色体标本制备的质量控制

Quality control on chromosomal specimen preparation of peripheral lymphocytes

王喜爱, 韩林, 王平, 吕玉民

WANG Xi'ai HAN Lin WANG Ping LY Yu-min

(河南省职业病防治研究所, 河南 郑州 450052)

摘要: 为提高染色体畸变的检出率和阅片效率, 应严格按照操作规程进行实验操作, 搞好质量控制, 以确保染色体标本片的制备质量。

关键词: 外周血淋巴细胞; 染色体; 质量控制

中图分类号: R446.11 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2009)03-0228-02

细胞遗传学指标外周血淋巴细胞染色体畸变和微核分析, 是放射工作人员健康监护和评价慢性小剂量受照人员远期医学效应的重要观察指标^[1,2], 是最直接反映辐射损伤的检查项目之一^[3-5]。细胞遗传学工作的特点是, 研究对象为活的细胞, 手工操作多、环节多、时间较长, 易受各种因素的影响而导致结果的偏离^[6]。提高染色体畸变检出率和阅片效率, 及时准确反映辐射损伤情况, 需要优良的染色体片, 这就要求我们必须做好染色体标本制备的质量控制工作。根据本实验室细胞遗传学工作的经验, 简要介绍适合于职业健康检查

中染色体标本制备操作过程的质量控制体会, 供参考。

1 材料与与方法

1.1 材料

外周全血。

1.2 方法

1.2.1 实验前质量控制 对受到意外照射者或怀疑受意外照射者, 应尽早抽血培养。自制的培养液或购买的培养液, 首次使用前都必须做预试验, 与已经过实验验证的培养液作对比, 确定能使用。所用仪器性能正常, 所用试剂能正常使用。

1.2.2 实验中质量控制

1.2.2.1 接种 抽静脉血接种于含混合培养液 (每瓶培养液内含 RPM1640 新生小牛血清, 庆大霉素、肝素钠、PHA 谷氨酰胺适量, 5% NaHCO₃ 溶液调 pH 值为 7.2~7.4) 的培养瓶内, 注意无菌操作, 摇匀, 浓度适当。培养液的量、接种血液量、低渗液用量要相互匹配。正常情况下, 5 ml 培养液接种 20~25 滴外周全血。如已知是受到大剂量照射的事故病人要多接种 4~6 瓶。瓶上写清楚受检者姓名或编号及接种或培养时间。

1.2.2.2 培养 接种后将培养瓶放于 (37±0.5)℃ 恒温培

收稿日期: 2008-10-15 修回日期: 2009-02-05

作者简介: 王喜爱 (1963-), 女, 主治医师, 主要从事健康监护工作

养箱内,切勿放在加热板上或紧贴加热板。培养 24~28 h 加入终浓度为 $0.05 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的秋水仙素,摇匀后继续培养至 48~52 h 秋水仙素的浓度及时间要准确控制,以确保中期染色体相的长度适中,否则秋水仙素浓度大、作用时间长,染色体短,而浓度小、作用时间短,分裂相少且染色体细长,均不能得到便于分析的中期相。

1.2.2.3 收获 (1) 收集细胞:去上清液,加低渗液 (0.075 mol/L KCl) 8 mL 用滴管轻打混匀,将培养物全部转入洗净离心管中。离心管上编号同培养瓶。(2) 低渗处理:将装有培养物的离心管置 37°C 恒温水浴箱中低渗 30 min 。(3) 预固定:低渗后加入 0.5 mL 固定液(甲醇:冰乙酸 = 3:1),轻轻混匀后, $1200 \text{ r}/\text{min}$ 离心 8 min 。固定液应在使用前临时配制。(4) 一次固定:弃上清液,加入 8 mL 固定液,轻轻混匀,室温下固定 20 min 。 $1200 \text{ r}/\text{min}$ 离心 8 min 弃上清液。(5) 二次固定:同一次固定。(6) 制细胞悬液:离心弃上清液后,离心管底部若为一薄层细胞,加 4 滴固定液;若为一厚层细胞,加 6~8 滴固定液,用滴管轻轻混匀。

1.2.2.4 滴片 吸取细胞悬液以一定高度 ($10\sim 20 \text{ cm}$) 滴在一张经酸浸泡过洁净的、 37°C 预温的湿载玻片上,轻轻吹散,气干。及时正确编号(或作其它标记)。

1.2.2.5 染色 $1:10 \text{ Giemsa}$ 染色 $8\sim 10 \text{ min}$ 细小流水洗去多余染液,气干。

1.2.3 染色体畸变分析中的质量控制

1.2.3.1 畸变分析方法 在低倍光学镜下 ($100\times$) 寻找适宜分析的中期分裂相,然后在油镜下 ($1000\times$) 分析。只分析记录 (46 ± 1) 个着丝粒的分裂相,每例标本至少分析 100 个中期分裂相。

1.2.3.2 计数标准 记录观察到的非稳定性畸变,如无着丝粒断片 (ace)、环状染色体 (r)、双着丝粒体 (dic) 和微小体 (min),以及较明显的稳定性畸变,如易位 (t) 和倒位 (inv);对伴随 t 和 dic 产生的 ace 仅作为 t 或 dic 伴随断片计数为一个畸变。观察到的畸变由 2 人复验确认。观察结果以染色体畸变细胞率 (%) 和染色体畸变率 (%) 表示。

2 结果与分析

中期细胞分裂相多,每个核型染色体分散均匀,长短适中,染色清晰。通过实验前、实验中和畸变分析的质量控制,提高了外周血淋巴细胞染色体畸变的检出率及阅片效率。

染色体标本制备操作过程中应注意:(1) 接种血液量要适当。血液量太少,中期细胞分裂相少或无;血液量太多,染色体核型分散不好或无。(2) 培养温度应严格控制在 (37 ± 0.5) $^\circ\text{C}$ 。(3) 秋水仙素处理时间过长,分裂细胞多,染色体短小;反之,则少而细长,都不宜观察形态及计数。故秋水仙素的浓度及时间要准确控制。(4) 低渗使红细胞膜破裂,淋巴细胞膨胀。低渗过度,淋巴细胞也会破裂;低渗不足则

中期核型胞浆厚、染色体分散不开。低渗液的量、处理时间与与细胞的数量有关。低渗处理浓度及时间要适当,且低渗后预固定和第一次固定混匀细胞时要尽量避免出现气泡,否则会引起淋巴细胞膜破裂,人为造成完整核型中染色体丢失。

(5) 离心速度过高或时间过长,细胞团块不易打散或造成细胞破碎;反之,好的中期细胞易丢失。(6) 固定液应在使用前临时配制。(7) 载玻片一定要洁净,否则影响中期核型染色体的分散和阅片。(8) 制片过程中,如发现低渗不够、细胞膜没有破裂、染色体聚集一团伸展不开或胞浆过厚,可增加固定次数或在第三次进行过夜固定。(9) 在严格按照操作规程(作业指导书)进行实验操作的情况下,夏天制作染色体标本片时容易出现质量不良,可能与夏季温度高、湿度大而影响固定效果有关。出现此问题时可通过控制实验室温湿度条件(如使用空调和除湿器)和增加固定次数解决。

3 讨论

对实验室严格的质量控制,是保证职业健康检查质量的关键,同时也是认证一个机构水平的关键^[7]。染色体标本片制备操作过程质量控制,只是室内质量控制的一部分,室内质控还包括人员、实验室前的质量控制、标本接种前的质量控制、培养基的质量控制、染色液及染色方法质量控制、常用仪器的质量控制、发报告前的质量控制,即从人员到设备、试剂、操作过程各个环节都要有质量保证的工作内容。

为了制备质量优良的染色体片,提高染色体畸变检出率和阅片效率,必须做好染色体标本制备质量控制工作。只有制备出质量优良的染色体标本片,才能准确反映电离辐射对从业人员遗传物质的损伤情况,亦可为正确评价辐射防护效果、放射工作人员健康监护、以及核辐射事故生物剂量的估算提供可靠的方法。

参考文献:

- [1] 李小芳,吕玉民.放射工作人员外周血淋巴细胞染色体畸变和微核分析[J].河南职工医学院学报,2006,18(5):386-388
- [2] 王喜爱,韩林,王平,等.放射工作人员外周血淋巴细胞微核分析[J].医药论坛杂志,2008,29(4):32
- [3] 赵士义.放射工作人员 30 名细胞遗传学的变化[J].职业危害与临床,2007,23(7):499-500
- [4] 王喜爱,韩林,王平,等.268 例放射工作人员外周血淋巴细胞染色体畸变分析[J].中华放射医学与防护杂志,2008,28(4):391
- [5] 贾晓筠,赵小爱,郑丽仙,等.放射人员健康体检的质量控制[J].山西医药杂志,2007,36(12):998
- [6] 侯殿俊,刘伟,乔建维,等.放射工作人员职业健康监护中的质量控制[J].中国辐射卫生,2005,14(3):231-232
- [7] 赵培青,薛素芬,李春素.加强职业健康检查质量管理[J].职业与健康,2007,23(21):1995-1996