

海、宁夏、四川、陕西、内蒙古、新疆和山西等地的丘陵山地。近几年来黑热病非典型病例增多^[1],加之人口流动频繁,许多省份首报病例多为输入性病例^[2],该病有向非流行区扩散趋势。

黑热病与荚膜组织胞浆菌病、马尔尼菲青霉菌病的临床表现及病原体形态极易混淆。临床上 3 者均可表现为长期不规则高热、消瘦、肝脾进行性肿大,全血细胞减少,临床不易鉴别。对 3 种疾病的病原体加以鉴别是避免误诊的关键。未经体外培养查找不到利什曼原虫前鞭毛体,又由于制片、染色及缺乏形态学实践经验等诸多因素,3 者不易鉴别,在非流行区常有误诊报道^[3]。诊断该病的关键是准确无误地查到病原体。本文 EDTA-K₂ 离心管培养法培养的前鞭毛体,细长的鞭毛清晰可见,动基体明显、着色较深,绝大多数检验人员特别是缺乏形态学实践经验者易于辨认。

利杜体胞核占胞体 1/3~1/2,核旁可见 1 个小而深染的动基体;荚膜组织胞浆菌胞核占胞体 1/3~1/2,部分孢子的胞壁较厚,使其周围形成不着色的薄的空晕,形似荚膜;马尔尼菲青霉菌大小不一,类圆形、长圆形或腊肠状,中间可见一浅染的横隔^[4]。利杜体形态典型、数量多,经形态学经验丰富的检验人员细致辨认,3 者亦可鉴别。但数量少、形态不典型者,利杜体与后两者不易鉴别。三 N 培养基由于温度的作用和试管内较长时间的液体浸泡,使培养基变得脆而软,制片时出现许多琼脂碎片,涂片前因反复洗涤、离心的作用均影响制片效果^[5],加之培养时间较长(一般大于 10 d)、培养基制备繁琐,应用效果欠佳,改良法虽然对三 N 培养基进行了改进,但与本文介绍的 EDTA-K₂ 离心管培养法相比仍达不到简便、快速和实用的效果。本研究建立的 EDTA-K₂ 离心管培养法前鞭毛体形态典型,易于辨认,该培养法简便、快速(72 h)、技术要领易掌握,成本低廉,易于推广,实用性强,具有较高的应用价值。

简便快速培养出前鞭毛体对快速诊治黑热病及鉴别诊断具有重要意义。

本文介绍的 EDTA-K₂ 离心管培养法,分别经 24、48、72 h 培养后,涂片染色镜检发现前鞭毛体的发育过程与其在雌白蛉胃内发育过程相一致^[6], EDTA-K₂ 离心管培养法杜氏利什曼原虫前鞭毛体能快速生长发育可能与骨髓液在体外作为天然培养基和/或 EDTA-K₂ 的作用有关,是 EDTA 的螯合作用或是 K 离子的作用,还是抗凝剂促进了虫体的生化代谢反应,其机制值得探讨。

参考文献

[1] 卢兴国,现代血液形态学理论与实践[M],上海:上海科学技术出版社,2003:313-314.
[2] 蒋翎翎,邓碧兰,逯军,等.海南省首例输入性内脏利什曼病例报告[J].中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2008,26(3):封二.
[3] 祁子斌,董昌麟.黑热病误诊一例[J].中华传染病杂志,2008,26(6):366.
[4] 丛玉隆,李顺义.疑难病细胞学诊断[M],北京:人民卫生出版社,2008:85-87.
[5] 王克信,宋葆华,尹美珍,等.杜氏利什曼原虫前鞭毛体的培养和染色方法的改进[J].寄生虫与医学虫学报,2000,7(2):127-128.
[6] 沈继龙主编,临床寄生虫学和寄生虫检验[M],北京:人民卫生出版社,2004,126-129.

(收稿日期:2010-06-05)

临床研究

LTS-3000 全自动液基薄层细胞制片染片系统在
宫颈病变筛查中应用

李荣敏,韦现阁,莫福志,韦平宣(广西河池市第一人民医院检验科,宜州 546300)

【摘要】 目的 评价全自动液基薄层细胞(TCT)制片染片系统在宫颈病变筛查中的临床应用价值。**方法** 采用 LTS-3000 液基薄层细胞制片染片系统对本院收集到 2 523 例进行宫颈病变筛查,细胞学诊断未明确意义的不典型鳞状上皮病变细胞(ASCUS)和非典型腺细胞(AGC)及以上者行阴道镜下宫颈活检,并进行病理组织学诊断。**结果** 共检出阳性涂片 181 例,占 7.17%,其中 ASCUS 有 93 例,占 3.68%,低度磷状上皮内病变(LSIL)有 75 例,占 2.97%,高度磷状上皮内病变(HSIL)有 8 例,占 0.32%,鳞状细胞癌(SCC)有 4 例,占 0.16%,AGC 有 1 例,占 0.04%。**结论** 全自动液基薄层细胞制片染片技术应用于宫颈病变筛查有较高阳性检出率,诊断迅速,准确率高。

【关键词】 全自动液基细胞; 宫颈病变; 筛查

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.22.039

中图分类号:R711.74

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2010)22-2505-03

宫颈癌是最常见的恶性肿瘤之一,发病率仅次于乳腺癌,位于女性肿瘤的第 2 位,全世界每年大约有 20 万妇女死于这种疾病。在发展中国家宫颈癌则属常见多发的妇科肿瘤。我国每年新发现的病例为 13.15 万,占女性生殖系统恶性肿瘤发病率的 73%~93%,而在发达国家,其发生率明显下降,很大程度上归因于宫颈癌前病变的早期诊断和治疗。因此,要降低宫颈癌的发病率,宫颈癌前病变检查是关键,选择细胞涂片阳

性检出率高、准确性好的技术至关重要,现有最新研发应用于临床的全自动液基薄层细胞制片染片系统,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2009 年 8 月至 2010 年 2 月,就诊于本院妇科门诊及到本院体检科进行防癌普查的单位体检妇女 2 523 例,年龄 20~72 岁,平均 43.5 岁。对其中 181 例宫颈上皮轻度非典型增生(ASC)以上者进行阴道镜下活检,并将全自动液基薄

层细胞(TCT)检测结果与宫颈活检结果进行比较。

1.2 方法

1.2.1 液基制片流程 (1)标本采集 采用专用宫颈刷取样(由临床医师执行);(2)样本保存:标本中 100%细胞被保存在细胞收集液中,利用特有去除血液、黏液等无意义诊断成分的清洁技术,最大限度保留有用诊断成分;(3) 将标本装入 LTS-3 000 制片染片系统离心装置中,1 100 *r* 离心 3 min,排液臂去除部分上清液;(4)密度梯度离心 II 2 100 *r* 离心 10 min,排液臂去除全部上清液;(5) 细胞分散:细胞转移臂加入细胞稀释液,混匀使细胞呈均匀的混悬液;(6) 细胞沉降:细胞转移臂吸取 0.8 mL 细胞混悬液加入带有沉降桶的玻璃架中,自然沉降 5 min;(7) 滴染:染色臂分别对已经沉降的标本进行固定、入水、苏木素染色、脱水、改良 EA50 染色、第 2 次脱水等快速巴氏染色全过程,经透明封片后镜检。

1.2.2 阴道镜下宫颈活检 阴道镜下观察宫颈移行上皮及血管的微细变化,在醋酸白试验、碘试验阳性部位取宫颈组织活检,所取标本要有一定深度,包括宫颈上皮的基底层,用 1%甲醛溶液固定后送检(由妇科医生执行)。

1.2.3 细胞学诊断 根据 TBS2001 分级系统^[1],将鳞状上皮细胞的异常分为:非典型鳞状细胞(ASC),低度鳞状上皮病变(LSIL),高度鳞状上皮内病变(HSIL)以及鳞状细胞癌(SCC)。为统一细胞学和组织学的诊断术语,将 LSIL 等同于 CIN I、HPV 感染引起的变化;HSIL 等同于 CIN II、CIN III 及原位癌(CIS)。腺上皮细胞的异常分为:非典型腺细胞(AGC),子宫颈管原位腺癌(AIS)及腺癌。

1.3 分析方法 以阴道镜下取材活检的病理结果为金标准,细胞学结果与之对照比较分析。

2 结 果

2.1 全自动液基薄层细胞技术制片染片的阳性检出率 见表 1。

2.2 根据病变分级准确性按照细胞学与组织学可以相差一级原则^[2],液基薄层细胞涂片技术筛查宫颈病变结果与宫颈活检病理结果符合程度较高 见表 2。

表 1 2 523 例宫颈 TCT 涂片结果

TBS 分类	WNL	ASCUS	LSIL	HSIL	SCC	AGC
例数(<i>n</i>)	2 342	93	75	8	4	1
百分比(%)	92.8	3.68	2.97	0.32	0.16	0.04

表 2 TCT 阳性结果与病理结果比较(*n*)

TCT 结果	宫颈病理结果					合计
	炎性反应	CIN I	CIN II	CIN III	SCC	
ASCUS	75	15	2	—	1	93
LSIL	14	59	1	1	0	75
HSIL	1	0	5	1	1	8
SCC	—	—	—	—	4	4
AGC	1	—	—	—	—	1
合计	91	74	8	2	6	181

注:—表示无数据。

3 讨 论

定期进行宫颈检查是发现宫颈癌早期信息的有效手段,宫颈癌的产生绝大多数情况下是在宫颈内部慢性炎症的基础上,

经过大约 6~8 年的时间逐渐发展变化而来的。50 年来,运用巴氏涂片细胞学作为宫颈癌的筛查方法,明显降低了宫颈癌的病死率^[3],但由于巴氏涂片的准确性受许多的因素影响,存在细胞随取材器丢失,非细胞成分黏液、血液等干扰和细胞重叠现象等,严重影响异常细胞的检出率,假阴性率约为 15%~40%,影响结果的准确性^[4]。

近年来,液基细胞学技术(TCT)的应用对宫颈涂片制作技术的重大突破,改变了常规巴氏操作方法,其特制毛刷,具有同时取得宫颈及宫颈管细胞的优点,取材全面满意:标本取出后立即洗入细胞保存液中,避免了常规巴氏涂片过程中遗留在取材器上的细胞随取材器一起被丢弃和细胞过度干燥;进入保存液后经过滤杂质,吸附细胞转移细胞等程序化处理,随即取样制成均匀的薄层涂片,可靠收集并保留标本中诊断性成分。制好的薄层中,细胞均匀分布,一目了然,结构和背景清晰利于鉴别诊断,显著改变病理细胞学制片质量,明显降低了假阴性率。目前此项技术已逐步取代传统巴氏涂片法,结合内容直观、易懂、具体的 TBS 诊断所出报告,更贴近临床,具有重要临床价值。

最近,全自动液基薄层细胞制片染片系统的临床应用,使标本处理、制片、染片一次完成,标本前处理(离心、转移)由传统的手工操作实现全自动智能化操作的跨越,减轻劳动强度,防止人为的差错。该系统可一次性进行 1~16 个标本的随机操作,使得标本处理更加方便、及时,且同一标本可重复制片;离心系统和染色系统可独立操作,极大地提高制片的方便性和制片速度;根据妇科标本和非妇科标本的特点,设置不同的离心次数和转速,并同机实现巴氏和 HE 两种染色模式;系统全面采用管路防堵、清洁技术,真正实现染色针不发生堵塞现象,同时拥有独特的废液排空技术,每批制片后自动排除废液,无需人工倒废液;系统采用自动冲洗的滴染技术,杜绝了传统染色可能造成的交叉污染;更为突出技术特点是特殊的玻片硅化技术,其电荷涂层稳、持久、无需临时上胶。密度梯度离心、自然沉降分离及电荷捕获技术,极大地提高了对病变细胞的捕获能力和阳性检出率。由于该系统采用目前最先进细胞制片技术,阳性检出率明显提高,TCT 阳性结果与病理活检结果符合率:ASCUS 为 80.6%(75/93),LSIL 为 78.7%(59/75),HSIL 为 87.5%(7/8),SCC 为 100%(4/4),比罗思红等^[5]报道的符合率略有提高。根据 TBS 报告要求诊断 ASCUS,ASCUS 可能是炎症反应改变、HPV 感染角化不良细胞、有癌前病变但收集的细胞不够诊断标准等诸多原因引起,其出现比例在 3%~8%^[6],本次统计 ASCUS 检出率为 3.68%,与其相一致。对于宫颈病变筛查为 ASCUS,建议在阴道镜下取材进行病理活检诊断,为炎症反应性引起,最好在 3~6 个月进行随访,直至连续 3 次检测结果阴性为止。总之,LTS-3000 全自动液基薄层细胞制片涂片系统在宫颈病变筛查中有较高阳性检出率,应大力推广应用。检查结果异常的病例配合阴道镜病理检查进行最后诊断,能及早发现宫内早期病变,是防止宫颈癌发生的最有效手段。

参考文献

- [1] 曹跃华,杨敏,陈隆文,等.细胞病理学诊断图谱及实验技术[M].北京:科学技术出版社 2009:33-39.
- [2] 潘秦镜,李凌,乔友林,等.液基细胞学筛查宫颈癌的研究[J].中华肿瘤杂志,2001,23(4):309-311.
- [3] Clarke EA, Anderson TW. Dose screening by “Pap”

Smears help prelent cervial cancer? A case-control study [J]. Lancet, 1997, 7(1):1-4.

[4] 崔艳萍, 王文. Thinprep 液基细胞学在宫颈癌筛查中的临床应用[J]. 赣南医学院学报, 2006, 26(2):315-317.

[5] 罗思红, 罗晓红, 段朝辉, 等. 薄层液基细胞学在宫颈癌筛查中的应用价值[J], 中国卫生检验杂志, 2007, 17(8): 1466-1467.

[6] 卑陈芳, 刘爱玲. 液基薄层细胞学检测在宫颈病变筛查中的应用[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(3):211-212.

(收稿日期:2010-06-29)

临床研究

微柱凝胶卡对血型亚型检测的分析

代 芳, 周金安(华中科技大学同济医学院附属同济医院输血科, 湖北武汉 430030)

【摘要】 目的 分析微柱凝胶卡对血型亚型检测的效果, 与试管法进行对比, 评价其在亚型鉴定中实用性和优缺点。**方法** 提取试管法正反定型确定亚型和 D 变异型的标本, 同等条件下用微柱凝胶卡进行检测, 比较两者的符合率。**结果** 78 例试管法确定弱凝集或者亚型的标本, 微柱凝胶卡检测符合率为 82.1%。**结论** 微柱凝胶卡相对试管法更敏感, 对 A2、D 变异型的检测易于漏检。

【关键词】 微柱凝胶; 亚型; 弱凝集; D 变异型
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.22.040
中图分类号:R446.1 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2010)22-2507-02

ABO、Rh 血型系统的亚型是非常常见的, 在血型血清学试验中, 其表现为正反定型凝集强度的减弱、不凝集、特异性抗体的产生等。亚型血型的判断中, 凝集强度和凝集状态是个非常重要的判断标准。因为亚型患者的输血同常规血型有着很大的差别, 所以准确地对血型进行鉴定是至关重要的。在以往的血型鉴定中都采用试管法, 凝集强度的梯度是非常明显的, 但微柱凝胶卡具有操作简便、准确、灵敏度高、标本用量少、结果可长期保存、可标准化等优点^[1], 随着其在血型鉴定中的广泛应用, 弱的凝集在卡中不能得到很好地体现, 为了判断微柱凝胶卡在亚型鉴定中的效果, 作者对 78 例亚型标本分别用微柱凝胶卡和试管法进行了检测, 现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 研究对象 收集 2002 年 10 月至 2010 年 2 月血型鉴定为亚型的标本 78 例, 其中本院 42 例, 武汉血液中心 36 例, 均采用 EDTA-K2 抗凝, 年龄为 3~69 岁。

1.2 材料 瑞士 DiaMed 公司提供 Monoclonal 微柱凝胶血型鉴定卡及血型卡专用离心机, 抗-A、抗-B 血清由长春博德公司生产; 单克隆 IgM 抗-D 由德国 Biotest 公司提供, IgM+IgG 抗 D、抗 H、抗 AB、反定型 A1、B 细胞由上海血液中心提供, 凝聚胺由台湾 BASO 公司提供。

1.3 方 法

1.3.1 试管法血型鉴定 采用《免疫血液学》^[2]提供的方法, 取 6 支试管, 1、2、3 号试管分别加入患者 10% 红细胞悬液 50 μ L, 4、5、6 号试管分别加入患者血清 100 μ L, 1、2、3 号试管再分别加入抗 A、抗 B、IgM 抗 D 血清 100 μ L, 4、5、6 号试管分别加入 A1、B、O 反定型细胞 50 μ L, 3 400 r/min 离心 15 s 观察结果。再用文献^[2]的方法对亚型标本进行定型。

1.3.2 微柱凝胶卡法血型鉴定 正定型孔及 Ctrl 孔中分别加入 0.8% 标本红细胞悬液 50 μ L, 反定型 A1、B 孔中先分别加入 0.8% A1 细胞和 B 细胞 50 μ L, 再加入标本血浆 50 μ L, 将卡放入专用离心机里, 1 000 r/min 离心 10 min 后观察结果。

1.3.3 RhD 血型的检测 IgM 抗 D 检测阴性或者弱凝集的标本, 加入 IgM+IgG 抗 D, 用凝聚胺的方法检测。

2 结 果

试管法和微柱凝胶法鉴定亚型凝集强度比较结果见表 1, 两者符合率 见表 2。

表 1 两种方法对亚型检测凝集强度比较

亚型-检测项目	试管法凝集强度	微柱凝胶卡凝集强度
A2-抗 A1	3+	4+
A3-抗 A1	2+/Dcp	3+/Dcp
Ax-抗 A1	-/+	+
B3-抗 B	+/Dcp	1+/Dcp
Bx-抗 B	-/+	+
A3-A 反定型	-	-
Ax-反定型	+	1+
B3-B 反定型	-	-
Bx-B 反定型	+	1+
D 变异型-抗 D	2+	4+

注: Dcp: 试管法表现为混合视野凝集, 微柱凝胶卡表现为分离的两群细胞, + 表示凝集, - 表示不凝集。

表 2 试管法和微柱凝胶卡法鉴定亚型的符合率

检测血型	试管法例数	微柱凝胶卡例数	符合率(%)
A2	8	4	50
A3、B3	37	37	100
Ax、Bx	6	5	83.3
D 变异型	27	18	66.7
总例数	78	64	82.1

3 讨 论

微柱凝胶卡在常规血型中的检测是非常敏感而高效的, 其敏感度相对试管法有 2~4 倍的提高^[3], 因而在亚型血型的检测中, 对结果判断会有一定差异, 因为传统的对亚型定位靠试