

低、低渗时间过长会使核膜破裂,染色体提前释放,这不仅会使分裂中期细胞减少,散在的染色体也会在滴片过程中随机分布在载玻片上,影响其他细胞的染色体计数,降低制片质量;低渗时间过短,一部分细胞的细胞膜未破裂,导致染色体释放障碍,同样不利于核型分析。本室采用常规的 0.075 mol/L KCl 溶液 8 mL,低渗(30±5)min,可获得足够数量的分裂中期细胞。

3 固 定

收集细胞过程中加入固定剂的目的是维持染色体的形态。一般实验室使用的都是按甲醇:冰乙酸=3:1 比例配制的混合液。一方面,固定剂可以使细胞脱水、蛋白质变性而使染色体变得粗大并适中;另一方面,有机溶液可以让红细胞破裂,通过离心可以获得比较纯净的淋巴细胞。固定液需新鲜配制,主要是由于固定液所含的水分和固定效果有关。另外,可以适当增加冰乙酸的比例来达到良好的效果^[4]。

4 制片与烤片

4.1 细胞悬液配制 经过低渗、预固定、固定,即获得淋巴细胞。此时的细胞非常脆弱,在配制细胞悬液时要轻轻地吹打混匀,吹打方式或者力量不当,都会使核膜破裂,造成染色体释放。此外,细胞悬液的浊度也要适中,悬液浊度太小,制片后载玻片上细胞数量少;浊度太大也不利于染色体分散,染色体交叉,均不利于分析。

4.2 滴片 滴片质量的好坏也是染色体制作的关键步骤之一。在制片时,载玻片的清洁度将直接影响细胞的贴附能力。因此,在制片前,载玻片要经泡酸处理,以清除载玻片上的阴阳离子与杂质。适当的滴片高度也是获得高质量染色体的必然要求。高度过高,染色体分散范围过大,甚至造成染色体丢失;高度过低,则染色体分散不良。经过探索,本室滴片的高度保持在 8~15 cm,能获得比较好的分裂象。

4.3 烤片 烤片温度的高低和时间的长短会影响显带标本的质量,掌握好适宜的烤片温度和时间,才能制备高质量的显带标本^[5]。烤片温度过高、时间过长,胰酶对标本的消化时间也随之增加,这既影响工作效率,也影响标本的显带质量,使显带达不到最佳效果。烤片温度过低、时间过短,标本的老化程度不够,不能很好地把握胰酶消化的时间,导致消化不足或过度。所以,适当的烤片时间和温度也是获得高质量染色体的必然要求。本室采用 72 ℃烤片 1.5~2 h,可获得质量优良的标本。

5 消化与染色

• 经验交流 •

5.1 消化 G 显带标本是临床上运用最多的显带技术。无论细胞培养、制片、烤片过程做得多么完美,如果没有很好地把握消化与染色过程,也不能获得显带清晰的染色体。消化过程是去除染色体上的蛋白质(包括组蛋白和非组蛋白)而获得良好的显带标本,通常用的消化酶为 0.025% 的胰蛋白酶。然而,消化时间根据胰酶的浓度、质量不同而定,不同的实验室消化时间不一,即使同一实验室不同时间消化所需的时间也不同。这就要求实验人员在每次批量消化之前都要进行条件摸索,以获得最佳的实验条件。

5.2 染色 G 显带用的染液为姬母萨染液,既可以自己配制,也可以购买商品化的试剂。染色体制作本身是一个受多因素的影响过程,染液的质量也会影响染色体的着色。本室购买的湖南湘雅基因技术有限公司的商品化的姬母萨染液,具有方便、质量稳定的优点。由于放置过久的姬母萨染液有效成分会下沉,用之前需摇匀,才能获得质量良好的制片。另外,姬母萨染液对稀释液的 pH 值也有一定的要求,本室采用 pH7.4 的 PBS 作为稀释液,即可获得清晰的染色体图像。

目前,染色体制作过程没有统一的质量控制,试剂生产厂家多,且质量也参差不齐,各实验室制作的染色体质量与实验环境、试剂质量、人员素质均有很大的关系。为了尽可能的获得稳定的染色体标本,各实验室应该参考其他实验室的成功经验,根据自己实验室条件进行摸索,以获得质量尽可能高的染色体标本。

参考文献

[1] 朱丽萍,施东华. 出生缺陷与产前诊断[J]. 中国优生与遗传杂志, 2002,10(1):12-15.
[2] 曹海涛. 染色体外周血淋巴细胞培养中的几点体会[J]. 现代中西医结合杂志,2007,16(30):4485.
[3] 董烁,谢振兴. 浅谈人体外周血淋巴细胞染色体的制备[J]. 食品工程,2008(2):25-27.
[4] 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):3-4.
[5] 赵小平,余红,黄燕,等. 烤片对染色体 G 显带标本质量的影响分析[J]. 现代医药卫生,2009,25(3):393.

(收稿日期:2011-01-27)

白细胞计数正常的脑脊液中检出肿瘤细胞病例回顾性分析

万均成,文 芳,肖 玲

(武汉大学人民医院神经精神病研究所 430060)

摘 要:目的 回顾并探讨白细胞计数正常的脑脊液(CSF)在分类计数中检出肿瘤细胞及其对脑膜癌的诊断价值。方法 用血球计数板计数 CSF 中的白细胞数,再用玻片离心法收集细胞,瑞-姬染色,镜检。结果 9 例患者 CSF 白细胞计数均小于 10 个/微升。分类计数单核细胞比例超过 70% 者有 6 例;淋巴细胞比例低于 30% 者有 6 例;中性粒细胞 0%~8%;可见转化型淋巴细胞,所有病例均可见肿瘤细胞。发现肿瘤细胞的 9 例患者中有 8 例找到了原发灶。结论 检验者对白细胞计数小于 10 个/微升的 CSF 要足够重视,不能免去分类环节,通过观察全片,部分患者可找到具有诊断价值的细胞,特别是具有确诊价值的肿瘤细胞。

关键词:脑脊髓液; 细胞系,肿瘤; 细胞计数; 脑膜癌病; 脑脊液细胞学

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.14.062 文献标识码:B 文章编号:1673-4130(2011)14-1642-02

随着脑脊液(CSF)细胞玻片离心法的不断推广应用,CSF 细胞学检查对神经系统疾病诊断的帮助越来越大,特别是对中

枢神经系统感染性疾病和脑膜癌的诊断具有其他检查不可取代的优势^[1-3]。在临床检验学教材中把白细胞计数小于 10 个/

微升视为细胞数正常的 CSF,一般不提倡分类。而恰恰是这种看似正常的 CSF 在分类计数时可能检出特殊细胞,为临床提供诊断帮助或确诊依据。为了对白细胞计数正常的 CSF 引起足够的重视,笔者把自 2005 年来在白细胞数小于 10 个/微升的 CSF 中检出肿瘤细胞的病例进行回顾,报道如下。

1 资料与方法

- 1.1 一般资料 本院神经内科住院患者 9 例(男 5 例、女 4 例),平均年龄 57 岁(42~73 岁)。所有患者均以头痛待查或疑似中枢神经系统感染收治入院,仅 1 例伴轻度发热。
- 1.2 仪器与试剂 双目电光源微生物显微镜(日本 Olympus),血球计数板(上海求精生化试剂仪器厂),FMU-5 型 CSF 细胞离心沉淀器(第四军医大学生产),瑞氏染液,姬姆萨染液, pH6.8 磷酸盐缓冲液。

1.3 方法 常规腰穿取 CSF 2~4 mL,分 2 瓶按次序编 1、2 号送检。第 1 瓶做生化及相关检查,第 2 瓶先混匀滴入血球计数板行白细胞计数。再取 CSF 0.5~1 mL 加入 CSF 细胞沉淀器 1 000 r/min 离心 10 min 左右,待液体离干后取出晾干行瑞-姬染色。先用低倍镜观察全片,再用高倍镜或油镜镜检,按侯氏法分类^[1]。

2 结 果

2.1 白细胞计数及分类计数 9 例患者 CSF 白细胞计数均小于 10 个/微升。分类计数单核细胞比例超过 70% 者有 6 例,其余 2 例单核细胞比例超过 40%;淋巴细胞比例低于 30% 者有 6 例,其余 3 例淋巴细胞比例在 50% 左右;中性粒细胞 0%~8%;可见转化型淋巴细胞如淋巴样细胞和浆细胞等;所有病例均可见肿瘤细胞。见表 1。

表 1 9 例脑膜癌患者 CSF 细胞计数及分类计数结果

病例	性别	年龄	白细胞计数 (个/微升)	白细胞分类计数(%)					出院诊断
				中性粒细胞	淋巴细胞	转化淋巴细胞	单核细胞	肿瘤细胞	
例 1	男	66	5	0	28	1	71	偶见*	肺癌脑膜转移▲
例 2	女	42	4	偶见*	11	0	88	1	乳腺癌脑膜转移
例 3	男	53	7	2	50	1	47	偶见*	肺癌脑膜转移
例 4	男	49	7	0	25	偶见*	75	偶见*	胸骨癌脑膜转移
例 5	女	55	6	1	54	2	41	2	胃癌脑膜转移▲
例 6	女	64	8	偶见*	7	0	90	3	肺癌脑膜转移▲
例 7	男	73	9	6	22	1	70	1	胃癌脑膜转移
例 8	男	50	5	8	48	1	43	偶见*	肺癌脑膜转移
例 9	女	59	6	偶见*	20	偶见*	78	2	脑膜癌

*:偶见是指细胞分类所占百分比小于 1%;▲:有恶性肿瘤病史。

2.2 肿瘤细胞原发灶 表 1 结果可见,在腰穿前有恶性肿瘤病史的仅 3 例(肺癌 2 例、胃癌 1 例),另 6 例均为在 CSF 检查中发现异型细胞后提示临床查原发灶,经影像学 and 胃镜等检查证实为肺癌 2 例、胃癌 1 例、胸骨癌 1 例、乳腺癌 1 例,仅 1 例未查出原发灶。

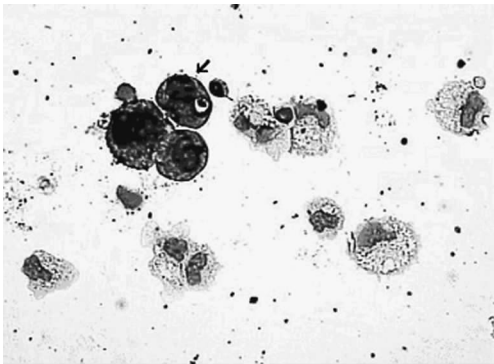


图 1 CSF 中发现肿瘤细胞

2.3 典型病例 CSF 细胞学 见图 1,例 2 郑某,白细胞计数 4 个/微升,分类单核细胞占绝对优势(88%),淋巴细胞仅占 11%,异型细胞 1%,提示临床排查体内占位性病变,出院诊断:乳腺癌脑膜转移。

3 讨 论

在无 CSF 细胞沉淀器(玻片离心法)收集细胞前,对白细胞数少于 10 个/微升的 CSF 一般不提倡分类,即使分类也很

粗糙,仅在计数池中(不染色)分为多核细胞和单核细胞,对多于 10 个/微升的 CSF 用低速离心取沉淀涂片的方法制片,现在检验科多沿用此法^[4]。这样的制片中多数细胞成簇排列甚至堆积,即使是分散排列的细胞也难以看清其内部结构,所以报告质量难以保证,也不能满足临床要求。本研究所自使用玻片离心法后,CSF 细胞学检查的阳性率(有诊断意义的细胞)大为提高^[3]。因为它能将 CSF 中的细胞均匀地沉淀在玻片上,用瑞-姬染色后可将 CSF 中的各种细胞进行很好分类,特别是对肿瘤细胞的观察更为清晰(见图 1)。

白细胞计数小于 10 个/微升的 CSF 细胞制片中有成百上千的细胞,而具有诊断价值的细胞为数并不多,有的全片甚至在 5 个以下,稍有疏忽即可漏诊。单凭全片几个异型细胞也不能轻易定为肿瘤细胞,必须结合临床排查体内占位性病变。从表 1 结果可见,本文 9 例患者在做腰穿前仅 3 例有恶性肿瘤病史,另 6 例都以头痛待查或疑似中枢神经系统感染而行腰穿检查,均在 CSF 中发现异型细胞后提示临床排查体内占位性病变,结果 5 例找到了原发灶。这样 9 例中有 8 例均找到了原发灶。因为脑膜癌通常是恶性肿瘤向脑膜和脊膜转移引起,在 CSF 中找到肿瘤细胞是诊断脑膜癌的金标准^[5-7]。

本文 9 例发现肿瘤细胞的 CSF 白细胞数虽然小于 10 个/微升,并不意味着脑膜癌细胞数在正常范围内。绝大多数脑膜癌患者的 CSF 白细胞计数都大于 10 个/微升(一般在 20~100 个/微升)。另外,9 例患者均有颅高压及脑膜刺激征的临床表现,仅 1 例伴有轻度发热,故有剧烈头(下转第 1647 页)

当前妇产科学教改的关键是改变以教师为中心的授课方式, 换以启发式、问题式、开放式等以学生为中心的教学法。在视听教学设备(多媒体)辅助下, 配备精良的课件, 教师加强病例引用, 引导学生逐步深入认识包括生理现象、疾病病理等重要基础理论知识。

3 在实践中促进妇产科学与医学检验的结合

妇产科学教学包括大课讲授和小课见习 2 部分。由于妇产科学与医学检验的实践性都非常强, 因此见习课显得非常重要, 是提升临床思维, 增进临床与检验相结合的重要途径^[9-10]。

实践中可以提前将讨论的疾病告诉学生, 让学生根据疾病种类, 自行设计、选择检验方法, 进行疾病的鉴别诊断、治疗效果分析、预后判断等。教师组织见习小组再对资料综合分析, 指导学生从数据中凝练对疾病的认识, 培养学生独立分析问题的能力, 使学生掌握临床思维技巧, 提升能力。如课堂上给出 1 组血清镁离子浓度, 由学生分组讨论可能的原因, 对临床工作有什么样的提示, 不仅能够使学生理解妊娠高血压综合征运用硫酸镁治疗的有效性, 同时对风险控制和不良反应产生清晰的认识。类似的妇产科学与检验医学的知识结合点还有: 血红蛋白电泳与珠蛋白生成障碍性贫血、人绒毛膜促性腺激素(HCG)与异位妊娠、糖链抗原 125(CA125)与上皮性卵巢癌等。

循证医学兴起后, 检验医学作为基础医学与临床医学相结合的边缘学科不断发展, 这就要求实验室技术人员要更加密切结合临床。针对新形势下培养检验医师的要求, 妇产科学的教学模式应当作出变更。教改是长期而谨慎的工程, 实践中必修不断总结、完善, 不断根据学生的反馈意见作出调整, 方能探索

出更完美、更可行的妇产科学教学模式。

参考文献

- [1] 刘华欣, 傅桂莲. 检验医学教育现状与改革[J]. 第四军医大学吉林军医学院学报, 2002, 24(20): 122-123.
- [2] 冯文莉, 涂植光, 康格非, 等. 对目前高等医学教研教育培养目标思考[J]. 中国高等医学教育, 2002(1): 5-6, 15.
- [3] 郭晓薇, 王云贵, 王振维. 医学检验专业本科生的课程设置[J]. 重庆医学, 2008, 37(3): 273-274.
- [4] 石建国, 翁彩琼, 孙燕冰, 等. 医学检验专业本科教学计划及课程体系设置的思考[J]. 医学教育, 2002(3): 47-48.
- [5] 糜祖煌, 赵季文. 重视支原体研究提高支原体检测水平[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(7): 677-678.
- [6] 曹燕飞, 沈建梅. 315 例围生期孕妇凝血 3 项检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(8): 873-874.
- [7] 钟航海. N 端脑钠肽前体与肌钙蛋白 I 联合检测在围生期心脏病早期诊断及鉴别诊断中的作用[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(8): 783-785.
- [8] 谷存国. 泌尿生殖道解脲脲原体感染及耐药现状分析[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2010, 24(7): 725-726.
- [9] 李玉艳, 何畏. 传统教学法和问题教学法在妇产科教学中的利弊探讨[J]. 重庆医学, 2011, 40(11): 1132-1133.
- [10] 贺昕红. 妇产科教学模式浅析[J]. 临床和实验医学杂志, 2009, 8(1): 156.

(收稿日期: 2011-03-02)

(上接第 1643 页)

痛而无发热的患者要仔细观察细胞学改变。本文 9 例中有 6 例(67%)单核细胞比例高于 70%(正常 30%左右), 这与文献报道相一致^[8-10]。所以单核细胞比例过高要特别警惕肿瘤细胞的存在。

好的细胞制片对检出具有诊断价值的细胞很有帮助。首先盛 CSF 的容器要干净、干燥, 其次是 CSF 从离体到制片成功要求在 1 h 内。对白细胞计数正常的 CSF 一定要注重观察全片后再行分类, 绝对不能免去分类细节。找到了有诊断价值的细胞, 特别是肿瘤细胞, 对以中枢神经系统为首发症状的脑膜癌患者具有确诊价值。

参考文献

- [1] 侯熙德, 周善仁. 临床脑脊液细胞学[M]. 南京: 江苏科技出版社, 1986: 39, 81, 152.
- [2] 李玉华. 180 例患者脑脊液细胞学检查结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(2): 190-191.
- [3] 万均成, 林琼, 文芳, 等. 脑脊液淋巴细胞检出对结核性脑膜炎

早期诊断价值[J]. 卒中与神经疾病, 1999, 6(4): 228-230.

- [4] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 南京: 东南大学出版社, 2006: 313.
- [5] 刘凯, 张本卓, 李国忠, 等. 脑脊液细胞学检查在脑膜癌诊断中的应用[J]. 中国伤残医学, 2008, 16(3): 1-2.
- [6] Shenoy VV, Tarvade SM, Nagar VS, et al. Meningeal carcinoma: an unusual cause of multiple cranial nerve palsies and sensory neuropathy[J]. Indian J Med Sci, 2004, 58(12): 530-532.
- [7] Ano S, Satch H, Nakazawa K, et al. Malignant meningitis secondary to a lung adenocarcinoma: an unusual relapse[J]. Int Med, 2007, 46(20): 1749-1751.
- [8] 杨思俊, 高冬花, 李斌. 脑膜癌病的脑脊液细胞学诊断[J]. 检验医学, 2008, 23(6): 686.
- [9] 方燕南, 林健雯, 周玉倩, 等. 脑脊液细胞学检查对脑实质外肿瘤的诊断作用[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2001, 27(3): 213-214.
- [10] 栗秀初, 孔繁元. 神经病学(第 4 卷): 神经系统临床脑脊液细胞学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2001: 69-71.

(收稿日期: 2011-01-13)

误差

误差指测量值与真值之差, 也指样本指标与总体指标之差。包括系统误差、随机测量误差和抽样误差。系统误差指数据收集和测量过程中由于仪器不准确、标准不规范等原因, 造成观察(检测)结果呈倾向性的偏大或偏小, 是可避免或可通过研究设计解决的。随机测量误差指由于一些非人为的偶然因素使观察(检测)结果或大或小, 是不可避免的。抽样误差指由于抽样原因造成样本指标与总体指标的差异, 是不可避免但可减少的。