

• 检验技术与方法 •

宫颈液基细胞两种制片方法比较

张 玲,董爱玲
(山东省淄博市妇幼保健院检验科 255029)

摘 要:**目的** 比较宫颈液基细胞检测系统(TCT)两种制片方法之间的差异。**方法** 对 8 306 例宫颈细胞标本进行分析,其中 3 850 例用膜状液基薄层细胞学制片技术(简称膜式制片法),4 456 例用自然沉降法制片。最后统计两种方法制片阳性率,进行比较。**结果** 自然沉降法制片效果优于膜式制片法,阳性率高于膜式制片法,两者差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 自然沉降法的 TCT 制片对宫颈病变的诊断有较高价值。

关键词:宫颈疾病; 液基细胞学; 膜状液基薄层细胞学制片; 自然沉降法制片
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.12.027 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)12-1468-02

宫颈癌是妇女第二大恶性肿瘤,全世界每年有约 23 万妇女死于该病。巴氏涂片细胞学检查是较早作为筛查宫颈癌的方法,但其存在许多不足之处,例如细胞收集不足和涂片不均匀、片较厚等,影响显微镜下观察和诊断。近年来,液基细胞检测系统(TCT)的出现提高了宫颈癌及宫颈癌前病变的检出率,而 TCT 制片质量控制是准确发现病变的前提^[1-3],本文就两种 TCT 制片方法进行了比较,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 研究对象均为淄博市妇幼保健院妇科门诊就诊的妇女,共 8 306 例,其中有白带异常、性交后出血、绝经后出血、不规则阴道流血、宫颈糜烂及外阴赘生物等症状。选取其中 3 850 例采用膜状液基薄层细胞学制片技术(简称膜式制片法)检查,其余 4 456 例采用自然沉降法制片检查。TCT 取材人员均为经过正规培训的专业人员,两组患者在年龄、孕次、经济、社会地位等方面均有可比性($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 擦去宫颈上的黏液,将宫颈刷插入子宫颈内,直到只有刷子最下面刷毛暴露于子宫颈外为止,沿顺时针方向旋 4~6 圈后取出,放入保存液瓶转动细胞刷,将细胞刷的刷头放入保存液瓶内。

1.2.2 标本固定 将标本固定液瓶盖旋紧,在送检途中不致倒漏,轻轻摇晃固定液瓶,使采集到的细胞与固定液充分接触,确保被检细胞及时固定,不发生坏死及变形。如有特殊情况,在申请单和固定液瓶上标示,以供阅片时参考。

1.2.3 制片 (1)膜式制片法:采用广州三瑞公司生产的膜状液基薄层细胞学制片技术,由经过培训的专人制片,然后巴氏染色。(2)自然沉降制片法:采用福建泰普公司提供专用耗材、玻片、细胞萃取液,巴氏染液,由经公司培训的专门技术人员制

片,染色。

1.2.4 细胞学诊断 采用国际癌症协会推荐的液基超薄细胞检测及 Bethesdas 细胞学分类法(TBS 分类法):鳞状上皮细胞呈良性反应性病变者为阴性;有宫颈鳞状上皮细胞异常者为阳性,其中鳞状上皮细胞异常包括不典型鳞状上皮细胞(ASC-US),即意义不明的鳞状上皮细胞,无明确诊断意义的非典型鳞状上皮细胞(ASC-H),低度鳞状上皮内病变(LSIL),高度鳞状上皮内病变(HSIL)和鳞状细胞癌(SCC)。腺上皮不正常称为意义不明的不典型腺细胞(AGUS)和腺癌。

1.3 统计学处理 采用 SPSS11.0 软件包进行统计学处理,两组阳性率的比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 制片效果比较 优等片标准:制出的片子清爽,层次分明,无气泡,封胶适量,镜下细胞核、细胞质清楚,角化细胞、非角化细胞一目了然,有助于诊断,此为优等片。制片满意标准:全片有 5 000 个以上保存完好、形态清晰的鳞状上皮细胞,且有移行区成分(颈管细胞、化生细胞或增生的储备细胞)。两种制片方法制片满意率比较见表 1。两种制片方法阅片结果比较见表 2,其中 SCC、AGUS、ASC-H 由于阳性例数较少未作统计。

表 1 两种制片方法制片满意率比较				
方法	<i>n</i>	满意标本例数(<i>n</i>)	不满意标本例数(<i>n</i>)	
			细胞量小于 5 000 个 无移行区成分	
膜式制片法	3 850	3 641	60	149
自然沉降法	4 456	4 403*	8*	45*

*: $P<0.05$,与膜式制片法比较。

表 2 两种制片方法阅片结果比较[*n*(%)]

方法	<i>n</i>	ASC-US	LSIL	HSIL	SCC	AGUS	ASC-H
膜式制片法	3 850	26(0.68)	13(0.34)	7(0.18)	0(0.00)	2(0.05)	2(0.05)
自然沉降法	4 456	46(1.03)*	29(1.83)*	10(0.22)	1(0.02)	6(0.13)	2(0.04)

*: $P<0.05$,与膜式制片法比较。

3 讨 论

标本取材的质量决定了诊断的准确性^[4-6]。细胞学涂片质量与诊断质量密切相关,这包括两个方面的质量要求:一是取材的要求,二是制片及染色的要求。为取得足够诊断的细胞数

量及达到定点取样的合格率,就必须要求取样的规范化。标本的细胞数量是诊断质量的决定性因素,在 TBS 分类法中明确规定了评估标本质量的分级,即满意与不满意两级。后者是指不能对上皮细胞异常作出满意的评估,而前者则是对所取的细

胞是否达到在细胞数量及固定部位的细胞类型的出现等方面的评价。TBS 分类法要求采用 TCT 技术检查时,标本的细胞数量必须在一定范围内以上:液基制片约为 5 000 个细胞以上保存完好和形态清晰的鳞状细胞。通常在中央区的涂片范围内用 40 倍视野观察最少应有 10 个视野,估算出每个视野平均细胞数量,而且在遇到空白区时,应估计出这些缺少细胞区的百分数^[7-8]。液基制片又被称作液基薄层细胞制片技术,在二十世纪末被引进。根据制片原理不同,一般分为自然沉降法、膜式法、垂直离心法和水平离心法等四种。它们的共同点是都可以将液基里的细胞标本转移到载玻片上,然后加以染色,制成涂片标本。无论哪一种方法,在进行制片时都强调取材及取材方法的改进。不管是手工还是机器,只要最大限度保持细胞量多和显示细胞结构,阳性率就会提高^[9-10]。就本院情况来看,由于国产膜式制片法的耗材、玻片、仪器对保养液中细胞的影响不同,使得制片效果欠佳,细胞重叠、炎性细胞覆盖现象多见,或者是制片中央细胞稀疏,周围则密集成片,给阅片带来困难。自本院改用自然沉降法制片以来,制片效果得到明显改善,所得涂片细胞平铺均匀,染色蓝绿分明,检测阳性率也得到了提高。

参考文献

[1] 马博文,郭云泉,马丽骊.液基薄层细胞技术对宫颈上皮细胞异常
• 检验技术与方法 •

筛查作用的研究[J].中华病理学杂志,2004,33(3):287-290.
[2] 潘秦镜,李凌,张询,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] 周桂华,陈翠兰.液基薄层细胞学(ThinPrep)方法在宫颈癌筛查中的应用[J].中国医学杂志,2004,6(11):1566-1567.
[4] 刘英文,张春梅,张茜.8 266 例宫颈液基细胞学筛查结果分析[J].中外医疗,2010,29(12):169.
[5] 陈湘莲,吴志川.TCT 检查对宫颈上皮内瘤变早期筛查的临床分析[J].实用预防医学,2009,16(3):806-807.
[6] 孔瑛.TCT 取材质量控制对宫颈病变诊断的影响[J].安徽医药,2010,14(9):1047-1048.
[7] 江俐.TCT 联合 HPV 检测在诊断宫颈疾病中的应用[J].中国实用医药,2009,4(4):124-125.
[8] 吕智敏,刘红梅,刘维琴,等.国产膜状薄层液基细胞学技术筛查 4 530 例宫颈病变分析[J].现代妇产科进展,2008,17(2):130-131.
[9] 温寿青,邱立,钟美莲.TCT 制片质量控制和宫颈癌诊断[J].现代肿瘤医学,2009,17(8):1430-1431.
[10] 任玉嫒,周琦.TCT 在宫颈病变筛查中的应用[J].航空航天医药,2009,20(1):36-37.

(收稿日期:2011-03-08)

两种核酸提取方法在 HCV RNA 荧光定量检测中的比较

柴凤霞

(甘肃省酒泉市人民医院检验科 735000)

摘要:目的 比较氯仿-异丙醇法和核酸提取柱法在丙型肝炎病毒(HCV)RNA 荧光定量检测中的灵敏度、重复性和抗干扰性。方法 分别用两种方法提取核酸后,采用荧光定量 PCR 技术检测 HCV RNA 含量,比较两种方法对检测灵敏度、重复性和抗干扰性的影响。结果 两种核酸提取方法的灵敏度相近,但核酸提取柱法的重复性和抗干扰能力明显优于氯仿-异丙醇法。结论 两种核酸提取方法的灵敏度差别不大,基本都能满足临床需要,核酸提取柱法更具优势。

关键词:肝炎病毒,丙型; 核酸提取; 荧光定量聚合酶链反应

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.12.028

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)12-1469-02

目前临床上常选用的丙型肝炎病毒(HCV)RNA 荧光定量检测试剂盒中,核酸的提取基本采用了氯仿-异丙醇法和核酸提取柱法。本研究比较了这两种提取方法在 HCV RNA 荧光定量检测中的灵敏度、重复性和抗干扰性,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 HCV RNA 强阳性血清来自本院住院部丙型肝炎患者;HCV RNA 阴性血清来自无肝病史且 HCV RNA 阴性的健康体检者。

1.2 仪器与试剂 Roche 公司 LightCycler 荧光定量 PCR 分析仪。氯仿-异丙醇法和核酸提取柱法提取试剂及扩增试剂均购自凯杰生物工程(深圳)有限公司,试剂盒最低检测限为 5.0×10² IU/mL。

1.3 方法

1.3.1 灵敏度比较 HCV RNA 强阳性血清及用阴性血清 10 倍倍比稀释的系列稀释血清标本 7 份,分别用上述两种方法提取核酸,进行荧光定量 PCR 检测,定量结果计算对数值比较两种方法提取的灵敏度。

1.3.2 重复性比较 取上述中等含量的 HCV RNA 标本 1 份,分别用上述两种方法各提取核酸 10 次,进行荧光定量 PCR 检测,定量结果计算对数值比较两种方法提取的重复性。

1.3.3 干扰试验 用 HCV RNA 强阳性血清对非丙型肝炎患者的高浓度黄疸血清和溶血标本进行 10 倍稀释,并同样处理 1 份正常血清(血红蛋白 0.0 g/L,总胆红素 6.0 μmol/L)作为对照,分别用上述两种方法各提取核酸 2 次,进行 HCV RNA 荧光定量 PCR 检测,比较两种提取方法的抗干扰能力。

1.4 统计学处理 应用 SPSS15.0 软件进行统计学分析,组间比较采用 *t* 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 灵敏度比较 两种核酸提取方法的灵敏度差别不大,基本都能满足临床需要,但核酸提取柱法检测限更低,对临界值附近的低浓度标本提取效果更好,见表 1。

2.2 重复性比较 取中等含量的 HCV RNA 标本 1 份,分别两种方法各提取核酸 10 次,进行定量 PCR 检测,定量结果的对数值分别为:氯仿-异丙醇法为 4.16,变异系数(CV)为 36.12%;核酸提取柱法为 4.48,CV 为 12.86%。