

• 临床研究 •

应用淋巴细胞分层液提高血液病理细胞阳性检出率的研究

罗俭权,龙振洪,冼少珍,吕镜雄,赵立忠,杨家诚
(四会市人民医院检验科,广东四会 526200)

摘要:目的 探讨应用淋巴细胞分层液提高血液病理细胞阳性检出率的研究价值。方法 选取诊断为骨髓增生异常综合征(MDS)33例、恶性肿瘤17例、红斑狼疮8例、疟原虫病7例为研究对象,其分离细胞涂片作为研究组,相同患者外周血(无分离有核细胞)染片作为对照组。对比两种涂片阳性检出率。结果 分离有核细胞研究组对MDS、肿瘤细胞、狼疮细胞及疟原虫的阳性检出率均高于与相同患者外周血对照组阳性检出率,差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论 应用淋巴细胞分层液富集阳性细胞效果明显,对MDS、病理肿瘤细胞、寄生虫细胞、狼疮细胞的检出率有明显提高。

关键词:淋巴细胞分层液; 有核细胞分离技术; 病理细胞阳性检出率
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.19.055 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2015)19-2897-02

本研究探讨了利用淋巴细胞分层液提高血液病理细胞阳性检出率的新技术,并与直接外周血染片镜检病理细胞阳性检出率进行对比,以探讨该技术对血液疾病检验的实用价值,现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院2013年1~12月诊断骨髓增生异常综合征(MDS)33例、恶性肿瘤17例、红斑狼疮8例、疟原虫病7例,共65例患者为研究对象,其血液分离细胞涂片作为研究组。应用相同患者外周血(无分离有核细胞)染片作对照组。来源病例诊断以我国《血液病学(第6版)》标准为参照。

1.2 仪器与试剂 淋巴细胞分层液由北京北瑞达医药科技有限公司生产;血细胞染色剂由珠海贝索生物技术有限公司提供。

1.3 检测方法

1.3.1 分离细胞涂片 采集静脉血标本,分别按比例抗凝后,2 000 r/min离心10 min,先吸去上层血清,用毛细吸管取血球上层分离的有核细胞浓集液涂片。然后采用瑞氏染液标准方法染色,待干后,在日本Olympus BX53显微镜用1 000倍油镜

观察判断结果。

1.3.2 外周血直接涂片 同一患者,直接外周血染片,都是采用瑞氏染液标准方法染色,待干后,Olympus BX53显微镜用1 000倍油镜观察判断结果。

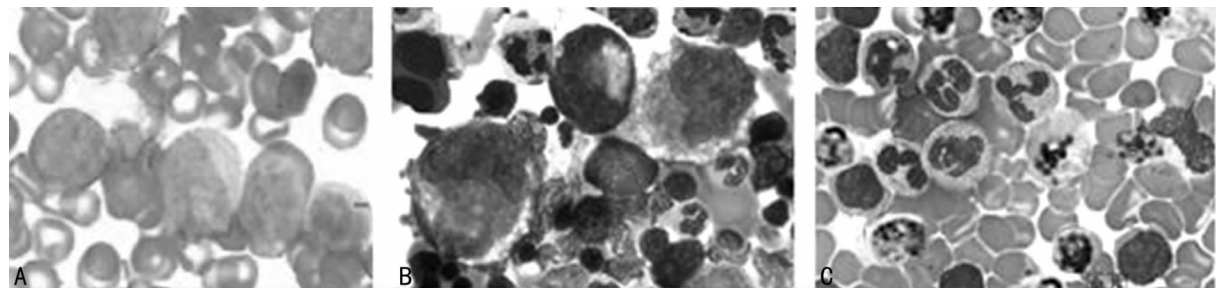
1.4 判断标准 细胞阳性判断标准:观察每张染色涂片,分辨有正常的和病变的细胞,有病变异常的细胞则作出阳性判断。诊断以《血液病学(第6版)》标准为参照。

1.5 统计学处理 采用SPSS17.0软件进行数据处理及统计学分析,计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2种方法检出率比较 2种方法对MDS、肿瘤细胞、狼疮细胞、疟原虫的检出率差异均有统计学意义($P<0.05$),见表1。

2.2 分离有核细胞的染片效果 通过淋巴细胞分层液技术,取得相同密度的有核细胞涂片,明显增加了幼稚细胞、肿瘤细胞、疟原虫体的聚集,提高了检出率。见图1。



A:淋巴细胞分层液富集阳性细胞——幼稚细胞;B:肿瘤细胞;C:疟原虫。

图1 分离有核细胞的染片镜下效果(瑞氏染色,1 000倍油镜)

表1 2种方法对不同 类型疾病的阳性检出率[n(%)]				
检测方法	MDS (n=33)	肿瘤细胞 (n=17)	狼疮细胞 (n=8)	疟原虫 (n=7)
分离细胞涂片	25(76.0)	9(53.0)	7(88.0)	5(71.0)
外周血直接涂片	9(27.0)	2(11.0)	3(37.0)	1(14.0)
χ^2	15.53	6.58	4.27	4.67
P	0.001	0.010	0.039	0.031

3 讨论

本研究结果显示分离有核细胞进行检测,MDS检出率76.0%,肿瘤细胞检出率53.0%,狼疮细胞88.0%,疟原虫71.0%。相同患者外周血阳性检出率MDS检出率27.0%,肿瘤细胞11.0%,狼疮细胞37.0%,疟原虫14.0%。2种方法阳性检出率比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

图1中分离有核细胞的染片效果显示,淋巴细胞分离液富集阳性细胞,有核细胞聚集明显增加,更容易观察到幼稚细胞、肿瘤细胞、疟原虫、丝虫等。

国内学者向洪敏等^[1-5]的研究结果均显示应用淋巴细胞分层液能够提高同一种类的病理细胞鉴别。孙芾^[6]报道一些活动性红斑狼疮患者中外周血和骨髓中应用分离有核细胞技术能明显提高阳性检出率。因为淋巴细胞分层液分离出的细胞不是全部都是核细胞,主要表现为未成熟幼稚细胞,在健康人外周血中,粒细胞包括杆状核和分叶核,前者是单个核细胞,在白血病患者(粒系)外周血中,粒细胞基本都是幼稚的,即单个核的细胞,所以血液科白血病患者分离外周血肿瘤细胞基本就是指絮状层了,即对 MDS 检出率有明显提高。肿瘤细胞在血液循环中传播或定植时,通过分离单核细胞群,汇聚更多,可提高较难发现的肿瘤细胞检出率。

血液中的寄生虫主要感染红细胞,疟原虫感染的红细胞形态普遍增大而密度下降,包括微丝蚴、螺旋体、黑热病、弓形虫感染等,通过密度梯度离心,各种血液成分将按密度梯度重新分布聚集,收集分离层的浓集液,可明显提高血液寄生虫的阳性检出率。国外学者也有相关技术的研究,认为可通过淋巴细胞分层液,几个由高到低稀释度的叠加,形成与混合细胞的各组分细胞相应比重的梯度,从而可将不同密度的细胞区分开来,重点提取同一种类的病理细胞层,有效提高阳性细胞的识别率^[7]。国内学者孙芾等^[6,8]在血细胞复检标准的制定及应用上提出了自己的观点,认为血液中的病理细胞在发病初期只有少量出现在外周血中,相同患者外周血(无分离有核细胞)染片作对照组的检出率低,原因是未能收集足够多的同一类病理细胞层,极易造成漏诊、误诊。有些学者认为,各种浆膜腔液、脑脊液、体液的浓集细胞学检查,同样可以提高阳性细胞检出率,淋巴细胞分层液对瑞氏染液方法的着色影响较小,可增加油镜观察的辨别率和分析满意度^[9-10]。

综上所述,应用淋巴细胞分层液富集阳性细胞效果明显,· 临床研究 ·

对 MDS、病理肿瘤细胞、寄生虫细胞、狼疮细胞的检出率有明显提高,是诊断血液性感染疾病较可靠的实用性血细胞检验新技术。

参考文献

[1] 何洪敏,张丽,张亚,等. 介绍一种制作细胞块的专用离心管[J]. 中华病理学杂志,2013,42(12):833-834.
[2] 丛玉隆. 与时俱进不断提高血细胞学诊断水平[J]. 中华检验医学杂志,2013,36(5):385-388.
[3] 刘艳辉,庄恒国,林汉良. 结节性淋巴细胞为主型霍奇金淋巴瘤和富于 T 细胞和/或组织细胞的 B 细胞淋巴瘤的鉴别诊断 [J]. 中华肿瘤杂志 2006,28(8):594-598.
[4] 宁铁林. 2 种 CD+4T 淋巴细胞流式测定方法结果比较[J]. 中华检验医学杂志,2011(6):554-556.
[5] 郭振英. GP73 在肿瘤诊断中的研究进展[J]. 中华检验医学杂志, 2010(5):1033-1034.
[6] 孙芾. 关于提高血液涂片查红斑狼疮细胞检出率的体会[J]. 中国实用医技杂志,2013,10(2):111-1115.
[7] Thike AA, Cheok PY, Jara AR. Triple-negative breast cancer: clinicopathological characteristics and relationship with basal-like breast cancer[J]. Mod Pathol,2010,23(1):123-133.
[8] 孙芾,王厚芳,于俊峰,等. 血细胞显微镜复检标准的制定及临床应用[J]. 中华医学检验杂志,2005,28(2):155-157.
[9] 邓洪. 全血染色法和分离外周血单个核细胞染色的比较[J]. 热带医学杂志,2006,29(5):778-779.
[10] 王晓银. 一次染色清染色法的细胞染色效果的研究[J]. 中华检验医学杂志,2010,33(9):1041-1042.

(收稿日期:2015-07-08)

定西地区男性不育症患者精子形态分布特征及治疗趋势分析

李文刚

(定西市人民医院检验中心,甘肃定西 743000)

摘要:目的 研究男性不育症精子形态变化特征与病原体体感染的关系。方法 对确诊为男性不育症的 1 351 例患者的病原体、治疗转归、年龄等方面进行统计分析。**结果** 1 351 例患者的临床感染类型及治疗时间均不同,以病毒感染为主,其次是复合感染。不同感染类型患者的精子存活率、活动率均较低;精子缺陷率高;病毒、衣原体、支原体感染头部畸形率较高;细菌感染以体、尾畸形率较高;复合感染头、体、尾畸形率差异不大;原因不明型以头、体及混合性畸形率较高。采取中西医结合方式进行治疗后,不同感染类型的患者治疗效果存在一定差异,但总体效果不佳。**结论** 男性不育患者所感染的病原体与精子形态变化特征密切相关,其治疗应依据病因学与精子形态变化规律对症治疗。

关键词:定西地区; 男性不育; 精子形态; 治疗趋势
DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 19. 056

文献标识码:A **文章编号:**1673-4130(2015)19-2898-03

男性不育症广泛存在,精子形态畸形是导致不育的重要原因。多重致病菌所致精子形态改变发生率逐年上升^[1],爆发流行也时有发生,给临床治疗带来了很多的困难。为了解本地区男性不育症精子形态分布特征及治疗趋势,本研究将本院确诊的 1 351 例不育症患者进行了分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2009 年 5 月至 2012 年 5 月本院就诊的男性不育症患者 1 351 例,年龄 25~48 岁,平均(37.2±6.3)岁,均为汉族人,甘肃中部常住居民,已婚。均经 B 超、电子计算机断层扫描、细菌学检测、病毒扩增、沙眼衣原体(CT)和解脲支

原体(UU)培养,排除女性不孕等因素干扰,确诊为男性不育者。

1.2 检测方法

1.2.1 标本采集 在采集精液标本前,禁欲 48 h 以上,以患者本人手淫方式采集,有困难者用取精器采集。因精液中细胞的种类和数目变化范围较大,尤其在疑为无精子症或少精子症时,一般应间隔 2~3 周,复查 2~3 次。

1.2.2 标本处理 将采集到的标本放入 35 ℃ 的电热培养板上 10~30 min 使其液化。吸取新鲜混匀的精液 10 μL,如推血涂片一样制成薄的精液涂片。