

因素。近年来,随着高频浅表探头的使用,高频彩色多普勒超声技术被广泛应用在乳腺癌的临床检查中,其大大提高了乳腺肿块的检出率,尤其是小于 1 cm 的小肿块,对于乳腺癌的临床治疗和预后意义重大^[4-7]。

乳腺癌对于机体有刺激作用,可刺激机体生成一种瘤血管生成因子,使得肿块产生丰富的新的毛细血管,这些血管总体呈网状、形状不规则、数目多、粗细各异,易形成动静脉瘘。所以,彩色多普勒技术的应用,能为鉴别乳腺癌提供更多和更准确的信息,使得乳腺癌的检测出率和诊断正确率在为提高^[8-9]。本组 110 例患者,乳腺癌肿块周围或(和)内部能检测出血流信号的有 99 例,血流信号显示率为 90%;其中较大的乳腺癌肿块周围或(和)内部血流信号丰富,肿块内部大多有动脉穿入。频谱多普勒测量显示:收缩期最高血流速度(PSV)为 15~50 cm/s,平均流速 32.5 cm/s,阻力指数(RI)为 0.6~0.95,其中高阻力指数(RI>0.70)69 例,占 63%。而这样的频谱多普勒检测结果,也符合乳腺癌大多呈现“高速高阻力”型血流频谱的特点。而良性肿瘤与之特征完全相反,不但基本上没有血流信号,而且血流频谱为“低速低阻力”型^[10-11]。

综上所述,高频二维超声结合彩色多普勒技术,在诊断乳腺癌方面有很高的价值,而且其检查费用不高、操作简便、对患者无创伤、无放射性损害、可反复检查、定位准确,目前已逐渐成为检查乳腺癌的主流方法。对于乳腺癌,彩色多普勒超声检查可以有效及时地提供诊断,以便早期治疗,从而使乳腺癌这一“杀手”的病死亡率大大降低,值得在临床中广泛推广。

参考文献

[1] 成映富. 乳腺癌的彩色多普勒超声诊断价值[J]. 基层医

学论坛, 2006, 22(10): 970-972.

- [2] 刘伟峰. 彩超诊断乳腺癌的价值探讨(附 54 例报道)[J]. 中国医师杂志, 2006, 8(9): 1254-1256.
- [3] 马步云, 彭玉兰. 用超声检查技巧分析乳腺癌漏诊原因附 15 例乳腺癌分析[J]. 华西医学, 2007, 22(1): 10-12.
- [4] 申郑堂, 欧惠英, 海健. 乳腺癌腋窝超声检查预测哨兵淋巴结转移状态的研究[J]. 中国医师杂志, 2007, 9(12): 1720-1722
- [5] 陈宏建, 谢义香, 王芳, 等. 乳腺癌彩色多普勒超声的诊断及鉴别诊断[J]. 临床超声医学杂志, 2007, 9(6): 350-352.
- [6] 吴伟.^{99m}Tc-tetrofosmin 显像与超声检查在乳腺癌鉴别诊断中的价值比较[J]. 南方医科大学学报, 2008, 28(1): 140-142.
- [7] 张淑华, 王海英. 小乳腺癌的彩色多普勒超声诊断[J]. 实用医药杂志, 2008, 25(6): 695-697.
- [8] 徐梅. 肿瘤血管生成及其在乳腺肿瘤影像学中的应用研究[J]. 临床超声医学杂志, 2009, 11(11): 761-763.
- [9] 马湛. 乳腺癌的高频超声特点及误漏诊原因分析[J]. 医学信息: 内外科版, 2009, 22(3): 267-269.
- [10] 郑晓芳. 彩色多普勒超声对乳腺肿块鉴别诊断的应用价值[J]. 中国误诊学杂志, 2009, 9(21): 5070-5072.
- [11] 秦海霞, 王金荣, 曹杨, 等. 高频超声及彩色多普勒诊断乳腺癌 80 例分析[J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19(1): 93-95.

(收稿日期: 2010-12-11)

全血细胞减少检验方法的研究进展

李小冬 综述, 郭柳薇 审校(广西壮族自治区梧州市工人医院检验科 543001)

【关键词】 全血细胞减少; 流式细胞术; 酶联免疫吸附测定法; 骨髓检查
DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2011. 08. 047 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)08-0983-02

全血细胞减少(pancytopenia, PCP)是指外周血中红细胞、白细胞、血小板均低于正常值,是各种疾病造成的一种外周血象改变。多种疾病外周血可呈全血细胞减少,临床上主要表现为贫血、出血、感染。病因不同,治疗迥异。可由造血系统疾病或非造血系统疾病引起,造血系统引起的全血细胞减少常见于再生障碍性贫血(AA)、低增生性白血病、骨髓增生异常综合征(MDS)、恶性组织细胞病(恶组)、骨髓纤维化、脾功能亢进,非造血系统疾病引起的全血细胞减少常见于骨髓转移癌、阵发性睡眠性血红蛋白尿(PNH)等。现主要介绍用于病因诊断与鉴别诊断的检验方法。

1 流式细胞术

流式细胞术(FCM)是 20 世纪 70 年代发展起来的对单细胞定量分析的一种新技术。它借鉴了荧光标记技术、激光技术、单抗技术和计算机技术,具有极高的检测速度与统计精确性,而且从单一细胞可以测得多个参数,为生物医学与临床检验提供了全新视角和强有力手段^[1]。现主要介绍在全血细胞减少疾病诊断中的应用。

1.1 CD55、CD59 检测 CD55、CD59 是细胞膜上两种糖化肌

醇磷脂(GPI)锚蛋白,PIG-A 基因为上述两种膜蛋白的修复基因,此基因变异将导致 CD55、CD59 的缺乏或结构异常,从而导致红细胞对补体的异常敏感而引起的溶血现象,临床表现为阵发性 PNH。PNH 患者都有特异的体细胞 PIG-A 基因突变。传统诊断 PNH 的方法是用糖水试验、酸溶血等试验作为确诊的主要依据,两者对 PNH 的诊断特异性较高,其阳性率在 80%左右。但此试验是否阳性取决于患者对补体敏感的异常细胞的数量。急性溶血后立即检验,可能由于异常细胞已被破坏无遗而得出阴性结果,大量输血后正常细胞增多,异常细胞相对减少,也会影响检测结果^[2]。而采用流式细胞仪对抗人 CD55、CD59 单克隆抗体直接检测和计数 PNH 患者细胞膜有缺陷的异常细胞,可大大减少上述因素的影响,是目前诊断 PNH 最敏感,特异性最强,而且可以定量的最佳方法^[3]。

1.2 网织血小板(RP)检测 RP 为含有较多核糖核酸(RNA)的骨髓新近释放入外周血的血小板,可反应骨髓对血小板减低的反应能力,其高低可初步判断血小板减少是由血小板破坏增多、生成减少、抑或其他因素引起^[4]。研究表明:RP 的百分比可用来判断造血重建后再次发生血小板减少的原因判断^[5],主

要是区分血小板减少是由免疫因素抑或非免疫因素引起,有助于指导临床是否使用免疫抑制治疗血小板减少。

1.3 网织红细胞计数 反映红细胞造血功能的重要指标,流式细胞术(FCM)通过某些荧光染料(吖啶橙、噻唑橙)与红细胞中 RNA 结合,定量测定网织红细胞中的 RNA,得到网织红细胞占成熟红细胞的百分比。此外 FCM 还可以测量出网织红细胞的成熟度,对红细胞增殖能力的判断很有意义,为贫血的治疗监测提供了依据^[6]。

2 采用酶联免疫法检测血小板相关抗体(PA Ig)

酶联免疫吸附测定法(ELISA)现在已成为目前分析化学领域中的前沿课题,它是一种特殊的试剂分析方法,是在免疫酶技术的基础上发展起来的一种免疫测定技术。

PA Ig 是病理性免疫反应所产生的针对血小板膜糖蛋白 II b/III a、I b/IX、I a/II a 等抗原的自身抗体,这些抗体在血小板膜上与其相应的抗原结合后,使血小板易被单核吞噬细胞系统大量破坏^[7],从而使血小板的寿命缩短,数量减少,引起出血。采用 ELISA 法检测 PA Ig,资料显示 PA Ig 升高并非特发性血小板减少性紫癜所特有,还可见急性白血病、脾功能亢进、骨髓纤维化、AA、MDS 等^[8-9]。

3 骨髓抗人球蛋白试验

骨髓抗人球蛋白试验是近年和虹^[10]根据经典的直接抗人球蛋白试验(抗人球蛋白试验)的原理与方法,以骨髓单个核细胞悬液取代红细胞悬液作抗人球蛋白分型试验,主要适用于全血细胞减少症患者。这些患者可有一些溶血表现,如血细胞减少、血清间接胆红素偏高、骨髓增生活跃,尤以红系比值增高明显,试用肾上腺皮质激素有快速的明显疗效等,但外周血抗人球蛋白试验及相关溶血检查均阴性,而骨髓抗人球蛋白试验阳性。研究发现骨髓抗人球蛋白试验阳性的患者与异常免疫介导的造血细胞破坏有关,暂称为免疫相关性全血细胞减少症(IRP)。

4 小巨核细胞

小巨核细胞是一种病理性的巨核细胞,可存在于多种血液病的骨髓中^[11]。碱性磷酸酶抗碱性磷酸酶染色(APAAP)对巨核细胞有特异性,尤其是淋巴样小巨核细胞,在 MDS 与其他全血细胞减少症鉴别诊断中有着重要意义。MDS 骨髓常出现较多的小巨核细胞,用瑞氏染色常常易造成巨核细胞漏检,尤其是小巨核细胞,形态上与其他血液细胞较难辨认。而 APAAP 染色易发现阳性小巨核细胞。研究表明,APAAP 染色计数小巨核细胞明显优于瑞氏染色^[12],究其原因与一抗 CD4 I a 是血小板膜糖蛋白 II b/III a 的单克隆抗体有关,其特异性和灵敏度远高于瑞氏染色,可避免细胞内源性过氧化物酶干扰所造成的背景反应和假阳性等缺点,且可见细胞形态特征。一般血液病实验室都可开展,普通光学显微镜即可观察。因此可作为全血细胞减少症的常规检查手段。

5 骨髓穿刺检查

骨髓穿刺涂片所显示的细胞结构清晰,观察血细胞形态较理想,对巨幼细胞、恶组、MDS 细胞的形态辨识及白细胞分型更为有利,还可以找到疟原虫、黑热病小体等,但其显示的细胞增生程度常受细胞间吸附力、细胞与间质黏着力、有无纤维化及其程度等因素的影响。另外,由于穿刺所得标本少,或由于负压或血窦破坏而发生混血,使造血细胞稀释;也可因骨髓穿

刺至局灶性造血增生灶时,骨髓基质水肿、出血而混血,其涂片均不能准确反映造血系统的全貌^[13]。骨髓检查是全血细胞减少症鉴别诊断最重要的手段之一,技术的熟练程度和取材的好坏,直接影响疾病的诊断。

6 骨髓活检

骨髓活检通过穿刺针取一小块完整骨髓组织,使血细胞处于自身局部解剖的自然状态下,可弥补涂片检查之不足,能正确地反应骨髓造血组织的真实情况^[14]。骨髓活检在鉴别 AA 和 MDS 时有独到的诊断价值^[15]。临床上 AA 和 MDS 骨髓象均可以是增生活跃或增生低下,很难区分。骨髓活检则可以解决这一难题,它不仅能精确地反映巨核细胞计数,还能通过格莫瑞染色对骨髓纤维化程度进行判断,并能发现幼稚细胞的异常定位(ALIP 现象)。AA 的活检切片 Gomori 染色往往是阴性或弱阳性,亦无 ALIP 现象和小巨核细胞出现,而常有巨核细胞数量的减少。MDS 患者 Gomori 染色往往阳性,甚至是强阳性,并有 ALIP 现象和小巨核细胞,而巨核细胞数量不减。

7 骨髓涂片采用单抗 CD41 免疫酶染色

单抗 CD41 免疫酶染色是以酶标记抗体与抗原特异结合,借助酶与底物反应、显色,识别抗原定位的技术。李秀芳^[16]采用单抗 CD41 免疫酶染色的方法提高了淋巴样小巨核的检出率,发现淋巴样小巨核细胞在 MDS 与其他全血细胞减少症中有重要的鉴别诊断价值。MDS 的小巨核细胞检出率高而 AA 的小巨核细胞检出率为零,巨幼细胞贫血(MegA)的小巨核细胞类型为双或多元核小巨核细胞,PNH 和低增生性急性白血病的小巨核细胞少见。因此,小巨核细胞免疫酶染色对鉴别再生障碍性贫血和发现 MDS 患者有重要的实用价值。

全血细胞减少不是一个独立疾病,它是一组高度异质性疾病在某一侧面的共同表现。非造血系统疾病引起的全血细胞减少多有其原发病的临床表现,诊断并不困难,但遇到原因不明的全血细胞减少症,不仅要想到常见病、多发病,结合其骨髓象,抓住各疾病骨髓象的特点,还应注意较少见的疾病,同时还应注意是否为多种疾病合并引起。总之对于全血细胞减少的患者,诊断时一定要紧密联系症状、病史、体征、辅助检查等,先考虑造血系统疾病,再考虑非造血系统疾病,方能得出正确诊断。

参考文献

- [1] 闫虹. 流式细胞术的临床应用[J]. 现代检验医学杂志, 2007,22(5):93-95.
- [2] Alfinito F, del Vecchio I, Rocco S, et al. Blood cell flow cytometry in paroxysm nocturnal hemoglobinuria: a tool for measuring the extent of the PNH clone[J]. Leukemia, 1996,10(8):1326-1330.
- [3] 刘艳丽,王缚镔. 陈发性睡眠性血红蛋白尿症的实验室诊断[J]. 实用医技杂志, 2006,3(13):890-891.
- [4] Wang C, Smith BR, Auil KA, et al. Reticulated platelets predict count recovery following chemotherapy[J]. Transfusion, 2002,42:368-374.
- [5] 李力,肖扬. 网织血小板检测对血小板减少病因鉴别的价值探讨[J]. 临床血液学杂志, 2008,10(10):524-525.
- [6] 孙芾. 再谈流式细胞术广泛应用[J]. 中(下转第 1005 页)

检测时机对轮状病毒测定结果的影响

杨 涛,黄迎峰(湖北省荆州市中医医院 434000)

【摘要】 目的 轮状病毒(rotaviru,RV)是造成婴幼儿秋冬季季节性腹泻的主要原因,RV-Ag 的检测对病因的确定有直接的作用。本文旨在探讨如何提高 RV-Ag 的检测率。**方法** 发病后 0~2 d 取大便用金标法检测,同时抽取静脉血标本用酶联免疫吸附(ELISA)法检测,3 d 后再取标本分别用金标法检测大便和 ELISA 法检测血清中病毒阳性率。**结果** 3 d 后的检测阳性率明显高于前者。**结论** 发病后 3 d 的标本检测率明显提高。

【关键词】 轮状病毒; 腹泻; 酶联免疫吸附法; 金标法检测

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.08.065 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2011)08-1005-01

RV-Ag 是造成婴幼儿秋冬季季节性腹泻的主要原因,轮状病毒(RV)感染小肠黏膜后,使小肠绒毛细胞脱落、细胞结构破坏,肠道内水电解质转运失调,葡萄糖吸收功能障碍,引起渗透性的腹泻,肠绒毛大量的破坏,肠蠕动加快,又加重腹泻。因此,严重威胁婴幼儿生命健康。实验室诊断是确诊本病的重要手段。作者通过探讨 RV-Ag 的检测时机,来提高 RV-Ag 的检测阳性率。

1 材料与方 法

- 1.1 试剂与仪器** RV-Ag 金标法试剂由北京万泰生物科技有限公司生产。RV-Ag ELISA 试剂由上海研吉生物有限公司提供。ELX800 酶标仪为美国 BIO-TEK 公司产。
- 1.2 标本来源** 收集本院 2009 年 9 月至 2010 年 3 月门诊患儿 52 例。男 31 例,女 21 例。平均年龄小于 3 岁。
- 1.3 方法** 患儿发病后 0~2 d 立即取大便检测,同时抽静脉血检测^[1]。对第 1 次检测阴性,而有高度怀疑 RV 感染者,3 d 后再取标本检测。大使用金标法检测,血标本用酶联免疫吸附(ELISA)法检测。

1.4 统计学方法 数据分析采用 χ^2 检验。

2 结 果

发病 0~48 h 的标本检出阳性率明显低于 48~96 h 后的阳性率。见表 1、2。

表 1 金标法检测大便中 RV-Ag 的阳性率		
发病时间(h)	阳性数(n)	阳性率(%)
0~48	11	21.2
48~96	18	34.6*

注:与 0~48 h 检测组比较,* $P<0.05$ 。

表 2 ELISA 法检测血清中 RV-Ag 的阳性率		
发病时间(h)	阳性数(n)	阳性率(%)
0~48	12	23
48~96	19	36.5*

注:与 0~48 h 检测组比较,* $P<0.05$ 。

3 讨 论

通过表 1、2 比较发现:(1)0~2 d 的标本检测阳性率明显低于 3~7 d 的标本检测阳性率,而与检测方法没有明显相关。(2)造成两组检出率如此差别的原因,可能与个体差异及病毒在体内潜伏期以及繁殖速度有关^[2]。(3)因此,如果腹泻患者,怀疑是 RV-Ag 感染,前两天未能检出阳性,可以在下一次再留标本送检,提高检出率。(4)由于 RV 是通过粪便口腔途径传播,家长,尤其是幼儿园应加强对小孩的健康教育,勤洗手,以切断传播途径。

参考文献

[1] 胡亚美,江载芳.实用儿科学[M].北京:人民卫生出版社,2002:821-825.

[2] 彭文伟.传染病学[M].5 版.北京:人民卫生出版社,2001.

[12] 张华,朱晨光.小巨核细胞 APAAP 染色在 MDS 与其他全血细胞减少症鉴别诊断中的意义[J].江西医学院学报,2002,42(2):47-49.

[13] 陈辉树,钱林生.骨髓增生不均对骨髓活检与临床的影响[J].临床血液学杂志,1995,8(1):27-29.

[14] 刘咏梅,杨芳,等.骨髓涂片和骨髓活检在全血细胞减少症鉴别诊断中的价值[J].贵阳医学院学报,2008,8(4):19-21.

[15] 刘军,胡间石.骨髓活检在全血细胞减少症中的诊断意义[J].华中医学杂志,2005,29(6):479-480.

[16] 李秀芳.单抗 CD41 免疫酶标染色在全血细胞减少症中的诊断意义[J].中国医药导刊,2008,10(5):738-739.

[7] McFarland J. Pathophysiology of platelet destruction in immune(idiopathic) thrombocytopenic purpura[J]. Blood Rev,2002,16(1):1-2.

[8] Greer JP,Foerster J,Lukens JN,et al. Wintrobe's Clinical Hematolog[M]. Philadelphia,2004:578-580.

[9] 顿晓熠,哈力达·亚森,马艳,等.血小板相关抗体检测在血小板减少症中的临床意义[J].新疆医科大学学报,2007,30(1):64-65.

[10] 和虹.与异常免疫相关的全血细胞减少症[J].中华血液学杂志,2001,22(2):79-82.

[11] 王曦,程爽.小巨核细胞免疫酶标染色在急性白血病诊断及分型中的意义[J].中华血液学杂志,1995,15(1):37-39.

(收稿日期:2010-12-04)