

改良骨髓铁染色方法在临床中的应用

李 英, 唐 中[△]

(川北医学院附属医院检验科, 四川南充 637000)

摘要:目的 探讨改良骨髓铁染色方法的临床应用价值。方法 对健康者、缺铁性贫血和溶血性贫血患者骨髓涂片采用常规铁染色方法及改良铁染色方法进行染色, 观察细胞内、外铁。结果 细胞外铁经酸性亚铁氰化钾染色后可直接进行观察; 细胞内铁经甲基绿复染后观察效果优于核固红。结论 改良铁染色方法易于观察细胞内、外铁, 适于临床常规应用。

关键词: 缺铁性贫血; 溶血性贫血; 铁染色

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.05.030

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)05-0576-03

骨髓铁染色是用于诊断的缺铁性贫血(IDA)的重要检查指标之一, 包括细胞外铁及细胞内铁染色。常规铁染色方法是酸性亚铁氰化钾染色和核固红复染, 由于核固红对胞浆着色差, 易导致难以辨认染色细胞类型。有些学者对骨髓铁染色方法进行了改良^[1-7]。张姝^[6]分析了核固红、瑞氏和沙黄复染剂对铁染色效果的影响, 证明复染剂种类直接影响铁染色效果。笔者用以甲基绿作为复染剂, 对常规骨髓铁染色方法进行了改良, 并将改良染色法与常规染色法的染色效果进行了比较, 结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011年6~7月于本院就诊的患者37例[IDA 35例、溶血性贫血(HA)2例]及同期体检健康者5例。

1.2 仪器与试剂 重庆天海医疗设备有限公司 CMIS-2011骨髓细胞分析系统, OLYMPUS CX31RBSFA型电子显微镜。酸性亚铁氰化钾溶液(20%亚铁氰化钾溶液与10%浓盐酸于临用前按体积比5:1配制), 2%核固红溶液, 2%甲基绿溶液。

1.3 方法 采集42例受试者骨髓标本, 分别制备骨髓涂片标本数张, 经常规及改良铁染色法染色后, 低倍镜及油镜下观察细胞外铁及细胞内铁, 计数细胞内铁并记录计数细胞内铁所用时间。诊断标准参考《临床血液学与检验》。常规铁染色法: 将酸性亚铁氰化钾溶液滴加至新鲜干燥骨髓涂片上, 于室温染色20 min后流水冲洗, 核固红溶液复染2 min, 流水冲洗、晾干。改良铁染色方法: 取2张新鲜干燥骨髓涂片, 分别滴加酸性亚铁氰化钾溶液, 于室温染色20 min后流水冲洗, 其中1张晾干后显微镜下观察细胞外铁, 另1张用甲基绿溶液复染1~2 min, 流水冲洗、晾干。

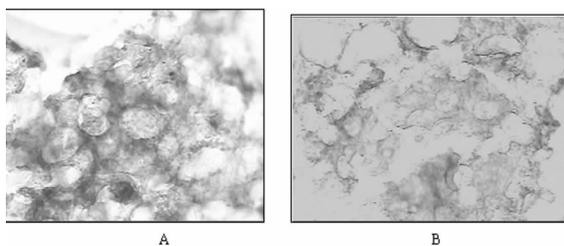
1.4 统计学处理 采用SPSS10.0软件进行独立样本t检验, 检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 细胞外铁染色效果 常规铁染色法和改良铁染色法对细胞外铁的染色结果相同, 健康者和HA患者细胞外铁均为阳性, IDA患者细胞外铁均为阴性。经酸性亚铁氰化钾染色后直接观察细胞外铁, 不受残留染液的影响, 较复染后观察更清楚。见图1~3。

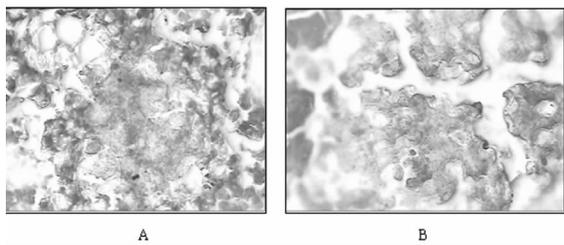
2.2 细胞内铁计数视野的确定 骨髓标本经常规铁染色法和改良铁染色法染色后首先于低倍镜下观察骨髓片体尾交界处, 确定细胞内铁的计数视野。核固红复染后的骨髓片中红细胞和有核细胞均染为淡红色, 难以确定待观察视野(见图4), 甲

基绿复染后的骨髓片中红细胞染为淡黄色, 有核细胞核染为深蓝色, 较易判断有核细胞分布以确定待观察视野(见图5)。



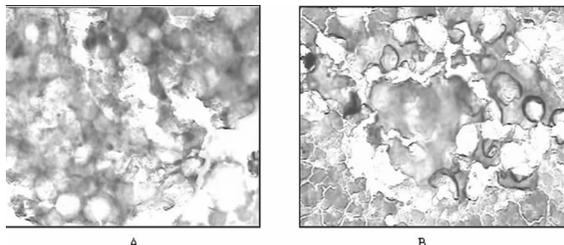
A: 阳性(骨髓小粒内可见蓝绿色颗粒); B: 阴性(骨髓小粒内未见蓝绿色颗粒)。

图1 酸性亚铁氰化钾染色后观察细胞外铁



A: 阳性(骨髓小粒内可见蓝绿色颗粒及残留的淡红色核固红染液); B: 阴性(骨髓小粒内可见残留的淡红色核固红染液, 未见蓝绿色颗粒)。

图2 核固红复染后观察细胞外铁



A: 阳性(残留的绿色甲基绿染液导致骨髓小粒内蓝绿色颗粒难以观察); B: 阴性(残留的绿色甲基绿染液与阳性的蓝绿色颗粒难以区分)。

图3 甲基绿复染后观察细胞外铁

2.3 细胞内铁染色效果 核固红复染标本中, 铁粒幼红细胞核紫红色, 胞浆淡红色, 铁颗粒蓝色; 甲基绿复染标本中, 铁粒幼红细胞核普鲁士蓝色, 胞浆淡黄色, 铁颗粒蓝色。两种

[△] 通讯作者, E-mail: tz5331@163.com。

染色铁粒幼红细胞胞浆中的铁颗粒均清晰可见。见图 6~9。

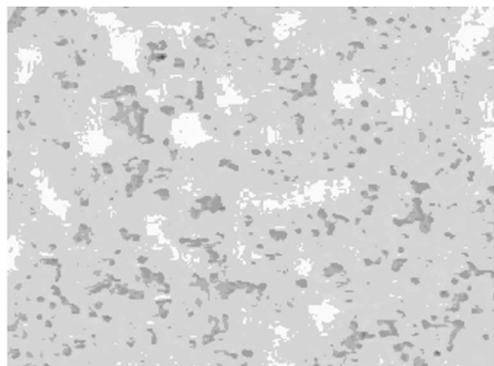


图 4 核固红复染后低倍镜下观察

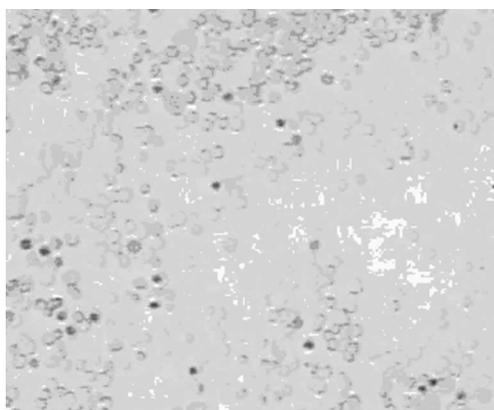


图 5 甲基绿复染后低倍镜下观察



A: 晚幼红细胞, 胞浆内可见蓝色铁颗粒(箭头所示); B: 中幼红细胞, 胞浆内无铁颗粒。

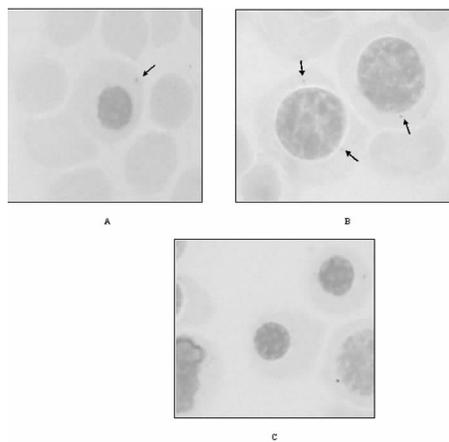
图 6 核固红复染后观察铁粒幼红细胞

2.4 细胞内铁计数结果 42 例骨髓标本两种染色方法细胞内铁计数结果见表 1。

表 1 两种铁染色方法细胞内铁染色结果比较

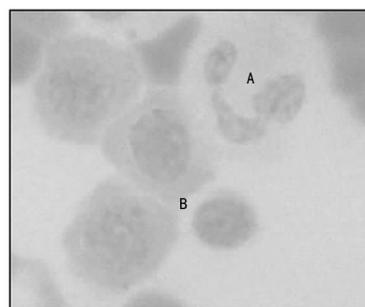
骨髓标本来源	n	染色方法	细胞内铁计数结果($\bar{x} \pm s, \%$)
健康者	5	常规铁染色	0.26 ± 3.5*
		改良铁染色	0.27 ± 2.9
IDA 患者	35	常规铁染色	0.10 ± 11.5*
		改良铁染色	0.11 ± 9.3
HA 患者	2	常规铁染色	0.42 ± 0.5*
		改良铁染色	0.44 ± 0.3

*: 与同组改良染色法细胞内铁计数结果比较, $P > 0.05$ 。



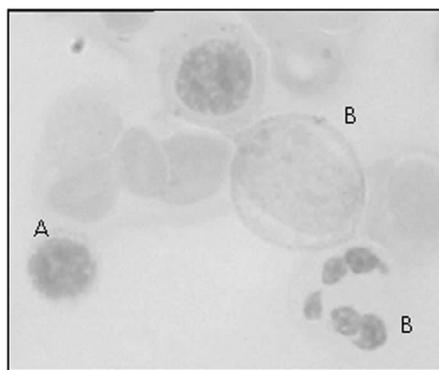
A: 晚幼红细胞, 胞浆内可见蓝色铁颗粒(箭头所示); B: 中幼红细胞, 胞浆内可见蓝色铁颗粒(箭头所示); C: 晚幼红细胞, 胞浆内无铁颗粒。

图 7 甲基绿复染后观察铁粒幼红细胞



A: 粒细胞; B: 淋巴细胞。

图 8 核固红复染后观察粒细胞、淋巴细胞



A: 淋巴细胞; B: 粒细胞。

图 9 甲基绿复染后的粒细胞、淋巴细胞

2.5 计数细胞内铁所用时间比较 常规铁染色法和改良铁染色法染色标本计数细胞内铁所用时间分别为(10 ± 9.5)和(7 ± 7.4) min, 比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

健康人骨髓中的贮存铁主要存在于幼红细胞中, 分为细胞外铁和细胞内铁。细胞外铁主要存在于骨髓小粒及巨噬细胞中, 细胞内铁则主要是指分布于中、晚幼红细胞胞浆及成熟红细胞中的铁^[8]。对于血红蛋白异常降低的贫血患者而言, 通过骨髓涂片铁染色检查判断细胞内、外铁有助于判断患者是否存在铁代谢异常, 也有助于 IDA 的辅助诊断。缺铁可分为 3 个阶段: 贮铁缺乏(ID)、缺铁性红细胞生成(IDE)及 IDA, 三者总称为铁缺乏症^[9]。IDA 患者细胞外铁阴性, 细胞内铁明显下

降,甚至为零。以常规铁染色法判断细胞外铁水平极为准确,较少受检验人员水平及染液的影响,但在对细胞内铁水平的判断受方法学和检验人员水平影响较大,常有偏差,与核固红复染液主要对胞核着色,胞浆着色能力差有关。细胞内铁的报告方式是计算铁粒幼红细胞在 100 个中幼红细胞和晚幼红细胞中所占百分比,即细胞内铁阳性率^[9]。正确鉴别中、晚幼红细胞和其他有核细胞,是保证细胞内铁阳性率计算结果准确性的关键。IDA 患者骨髓中的幼红细胞存在“核老浆幼”的现象,尤其是中、重度患者,幼红细胞胞浆减少更为明显,难以与淋巴细胞相区别。传统铁染色法易将有核细胞胞浆染为淡红色,易导致将淋巴细胞误认为晚幼红细胞,也易导致将体积变小、胞浆减少的晚幼红细胞误认为淋巴细胞,两者分别造成细胞内铁阳性率检测结果假性降低或假性增高。经甲基绿复染后,幼红细胞胞浆呈淡黄色,而其他系统的有核细胞,如粒系和淋巴系细胞胞浆均为淡蓝色,且胞核与胞浆较易分辨,因此,在正确鉴别幼红细胞与淋巴细胞方面优于常规的核固红复染。因此,本研究以甲基绿复染代替常规染色法中的核固红复染。试验证明,骨髓涂片经甲基绿或核固红复染后,所计算获得的细胞内铁结果差异没有统计学意义($P>0.05$),且改良染色法可缩短计数时间,提高了工作效率。本研究中的染色结果显示,骨髓涂片经复染后,在骨髓小粒处有不同程度的残留复染液,尤其是甲基绿,因其本身是蓝绿色,复染后残留在骨髓小粒中的残渣颜色与铁染色阳性蓝绿色颗粒颜色接近,严重干扰细胞外铁阳性及阳性程度的判断。因此,笔者对细胞外铁染色方法进行了简化,只用酸性亚铁氰化钾对骨髓片进行染色,经冲洗、干燥后立即进行观察,结果显示该方法即可达到常规染色方法的染色效果,又节约了时间,且不受残余染液的干扰。

虽然多数情况下骨髓细胞内、外铁的改变是一致的,如 IDA 患者骨髓细胞外铁消失,细胞内铁减少,而铁粒幼细胞贫

血患者细胞外铁增加,细胞内铁也明显增加。但在某些情况下,如骨髓网状内皮系统清除铁功能过强时,可见细胞外铁消失而细胞内铁正常或减少^[10],故骨髓铁染色能较准确地反映骨髓铁的储备、利用、清除状况。本研究提出的改良铁染色方法即保证了细胞内、外铁检测结果的准确性,对铁代谢性疾病的辅助诊断有重要意义,又可缩短检测耗时,提高工作效率,适合临床实验室常规应用。

参考文献

[1] 杨晴英,方立环.不同固定剂对铁染色效果的影响[J].诊断病理学杂志,2002,9(5):313-314.
 [2] 周建中.快速铁染色法的有效性研究[J].实用临床医学,2006,7(9):20.
 [3] 王宏梅,李福德,姜永芳.骨髓铁染色简化操作步骤的研究[J].临床血液学杂志,2008,21(7):377-378.
 [4] 田露,郑文宏,汤萌,等.两种骨髓铁染色方法的比较[J].实验与检验医学,2010,24(4):422.
 [5] 周建中.骨髓铁染色沉渣形成原因[J].中国误诊学杂志,2011,11(1):247.
 [6] 张姝.骨髓铁染色三种复染剂的方法学比较[J].护士进修杂志,2010,25(2):164-165.
 [7] 余晓红.骨髓铁染色方法的改进[J].临床军医杂志,2000,28(4):77.
 [8] 许文荣,王建中.临床血液学与检验[M].4版.北京:人民卫生出版社,2007:75.
 [9] 张之南.血液病诊断及疗效标准[M].2版.北京:科学出版社,1998:10-16.
 [10] 叶任高.内科学[M].北京:人民卫生出版社,2005:593-594.

(收稿日期:2011-12-11)

• 检验技术与方法 •

HBV 血清标志物不同方法检测结果分析

郑卫东[△],方伟,王 熾,周 晖,李 明,肖云珍,石艳杰

(广东省医学科学院/广东省人民医院病理医学部检验科,广州 510080)

摘要:目的 探讨酶联免疫吸附法(ELISA)和电化学发光法(ECLIA)检测乙型肝炎病毒血清标志物(HBsAg、抗 HBs、HBeAg、抗 HBe、抗 HBc)的模式特征及差异。**方法** 回顾性分析 2010 年 3~5 月以 ELISA 检测的 11 923 例标本及 2011 年同期以 ECLIA 检测的 8 786 例标本的乙型肝炎血清标志物结果。应用 SPSS17.0 软件对上述检测数据进行统计分析。**结果** 在 ELISA 检测的 11 923 例患者及 ECLIA 检测的 8 786 例患者中,男性患者 HBsAg 阳性率分别为 10.75%和 13.60%,女性患者分别为 9.36%和 10.81%,男性阳性率均高于女性。与 ELISA 相比,ECLIA 可检出 4 种新模式,即 345、1235、1345、12345 阳性模式,5 种 ELISA 模式 ECLIA 未能检出。不同月份间,ECLIA 检测 2、25 及 245 模式阳性率差异无统计学意义($P>0.05$)。ECLIA 及 ELISA 对 HBsAg 与抗 HBs 双阳性标本的检出率分别为 0.88%和 0.09%,差异有统计学意义($P<0.05$)。2、25、245 阳性模式组抗 HBs 定量中位数分别为 167.9、136.8、245.3 IU/L,组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** ECLIA 与 ELISA 可检出 HBV 血清标志物不同模式结果,在审核和解释检测结果时需加以注意。抗 HBs 浓度水平可能与是否存在抗 HBe 和(或)抗 HBc 有一定关系。

关键词: 肝炎病毒,乙型; 血清学标志物; 酶联免疫吸附测定; 电化学发光法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.05.031

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2012)05-0578-03

乙型肝炎病毒(HBV)血清标志物(HBsAg、抗 HBs、HBeAg、抗 HBe、抗 HBc)检测是诊断 HBV 感染和判断病毒复

制的重要指标^[1]。酶联免疫吸附法(ELISA)是 HBV 血清标志物检测的主要方法,但电化学发光法(ECLIA)的应用日益广

[△] 通讯作者,E-mail:zwdin@126.com。