

临床 3 种血涂片常用染色方法的比较分析

兰忠诚

(河南省漯河市第二人民医院检验科 458000)

摘要:目的 探讨 3 种血涂片常用染色方法的优缺点。方法 对 1 555 张血涂片的 3 种常用染色方法的效果进行回顾性比较分析。结果 瑞氏染色法染色时间短,对细胞质和中性颗粒染色效果好,最适于一般临床检验;姬姆萨染色法染色过程易控制,对细胞核和疟原虫染色效果好,着色保存时间久,但染色时间长,价格高,适用于特殊的、需长期保存或用于教学的标本;瑞氏-姬姆萨复合染色效果综合了上述 2 种方法的优点,但染液变性快、易污染。结论 临床 3 种常用血涂片染色方法各有优缺点,应根据实际情况灵活应用,以更好地为临床提供满意的诊断依据。

关键词:血涂片; 瑞氏染色法; 姬姆萨氏染色法; 瑞氏-姬姆萨氏复合染色

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.05.032

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)05-0581-02

血涂片染色的目的在于更好地观察血细胞内部结构,识别其异常变化,及时为临床提供初步的诊断依据。大部分血涂片染色方法源自罗氏(Romanovsky)染色法^[1]。临床实验室常用染色方法有 3 种:瑞氏染色法、姬姆萨染色法和瑞氏-姬姆萨复合染色法。为探讨上述 3 种染色方法的优缺点,更好地为临床提供满意的服务,笔者对 1 555 张血涂片的 3 种染色方法的效果进行了回顾性比较分析,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 一般资料 2005 年 1 月至 2009 年 9 月于本院检验科细胞室采集末梢血或静脉血的患者 485 例,其中血液病 36 例、贫血 214 例、疟疾 2 例,其他 243 例为发热或不明原因白细胞总数低于(或高于)正常参考范围者;患者年龄 3~75 岁,平均 46.5 岁。

1.2 方法 (1)染色液配制:2007 年之前,瑞氏染色液、瑞氏-姬姆萨复合染色液的配制均根据《全国临床检验操作规程(第 2 版)》^[2]配制,2007 年以后根据《全国临床检验操作规程(第 3 版)》^[3]配制。姬姆萨染色液根据《实用医学寄生虫学》^[4]配制。(2)血涂片制备:每例患者采集外周血标本后根据采血量和病情需要制备 3~6 张血涂片(查疟原虫时制备厚血片),制备血涂片共计 1 555 张。(3)染色:分别用 3 种方法对每例患者血涂片标本进行染色。染色操作及注意事项参照具有权威性的教材、规程及染色液使用说明书。瑞氏染色液和 pH6.8 磷酸盐缓冲液按操作规程预先配制,放置 1 个月 after 使用;根据白细胞数量和室温染色 5~10 min,流水冲洗。将姬姆萨染色液原液与 pH7.0 磷酸盐缓冲液按体积比 1:15 混合配制工作液;滴染法染色经固定的血涂片,根据白细胞数量和室温情况染色 30~50 min,流水冲洗。瑞氏-姬姆萨复合染色法参照瑞氏染色法。(4)显微镜观察:显微镜下观察流水冲洗干净的血涂片,包括白细胞分类、胞浆、胞核、颗粒染色情况,详细记录观察结果、染色日期、白细胞总数等资料。每隔 1 年,连续 5 年重新观察每例患者血涂片 3 种染色液的染色情况。

2 结果

2.1 3 种染色方法近期染色效果比较 瑞氏染色法染色时间短,对细胞质和中性颗粒染色效果好,最适于一般临床检验;姬姆萨染色法染色过程易控制,对细胞核和疟原虫染色效果好,着色保存时间久,但染色时间长,价格高,适用于特殊的、需长期保存或用于教学的标本;瑞氏-姬姆萨复合染色法染色效果综合了上述 2 种方法的优点,但染液变性快、易污染。

2.2 3 种染色方法远期染色效果比较 3 种染色标本染色效

果前 3 年变化不明显。从第 4 年起,瑞氏和瑞氏-姬姆萨复合染色法染色标本中,细胞开始褪色,尤其是细胞总数较高的血液病和疟疾患者标本,胞核和疟原虫开始模糊,难以辨认;第 5 年褪色更为明显。但姬姆萨染色标本褪色不明显,基本不影响显微镜观察效果。

3 讨论

本研究比较了 3 种方法近期和远期染色效果,发现瑞氏染色法染色时间短,对胞质和中性颗粒染色效果好,最适于一般临床检验,甚至有学者认为可用于液基细胞学检查^[5]。姬姆萨染色法最大优势在于染色过程易控制,不易被污染^[6],对胞核和疟原虫染色效果好,染色保存时间久,但染色时间长,价格高,更适于需长期保存的标本。瑞氏-姬姆萨复合染色法染色效果综合了上述 2 种方法的优点。也有研究认为瑞氏染色后再进行姬姆萨复染,染色效果满意,但染液变性快、易污染^[7-10]。

临床检验工作以简单快捷为首要要求,建议一般临床检验血涂片标本首选瑞氏染色法,其次为瑞氏-姬姆萨氏复合染色法。对于特殊标本,如白细胞总数较高的慢性粒细胞白血病和疟疾患者血涂片标本,建议采用姬姆萨氏染色法或瑞氏-姬姆萨氏复合染色法。对于需长期保存或用于教学的标本,应采用姬姆萨染色法。总之,上述 3 种染色法各有优缺点,需根据实际情况灵活应用,以更好地为临床提供满意的诊断依据。

参考文献

- [1] 熊立凡,李树仁.临床检验基础[M].3 版,北京:人民卫生出版社,2006:60.
- [2] 叶应妩.全国临床检验操作规程[M].2 版,南京:东南大学出版社,1997:55.
- [3] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3 版,南京:东南大学出版社,2006:11,123-124.
- [4] 崔晶,许汴利,杨瑞琴.实用医学寄生虫学[M].2 版,天津:天津科技翻译出版公司,1998:262-263.
- [5] 张凤琴.液基细胞学 3 种染色方法比较[J].国际检验医学杂志,2008,29(10):957.
- [6] 张赛霞,张立群,吴绍锋.几种血涂片染色方法的比较[J].实用医技杂志,2007,6(7):124.
- [7] 郭青平,刘艳丽.教学用血涂片复染式制作方法的探讨[J].中华实用医药杂志,2004,2(12):115.
- [8] 朱辛为,李质馨,王晓玉,等.血涂片标本瑞氏-姬姆萨混合染色方法的探讨[J].吉林医药学院学报,2001,23(4):217.

- [9] 徐雷,明忠光,瑞氏-吉姆萨复合染色法在分泌物涂片中的应用价值[J].中国基层医药,2003,10(5):480.
- [10] 孙学青,李志城,韩景银.血涂片细胞形态学检查及其临床应用[J].实用医技杂志,2011,18(5):503-504.
- (收稿日期:2011-12-09)
- 检验技术与方法 •

抗人类免疫缺陷病毒抗体酶联免疫吸附法检测条件的优化

彭 宽,李俊明,鞠北华
(南昌大学第一附属医院检验科,江西南昌 330006)

摘 要:**目的** 探讨抗人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体酶联免疫吸附法检测条件的优化途径。**方法** 比较不同离心和水浴条件下血清标本检测假阳性率。**结果** 3 000 r/min 离心 3 min 和 4 000 r/min 离心 5 min 获得的血清标本假阳性率分别为 7.64%和 1.80%,二者比较差异有统计学意义($P<0.05$)。3 000 r/min 离心 3 min 获得的血清标本,经未水浴、37 ℃水浴 30 min、37 ℃水浴 60 min 处理后,假阳性率依次降低($P<0.05$)。**结论** 适当提高离心速度、延长离心时间或增加水浴时间可降低因标本凝固不全导致的假阳性结果。

关键词:HIV; 酶联免疫吸附测定; 假阳性率
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.05.033 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)05-0582-02

临床通常以酶联免疫吸附法(ELISA)检测抗人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体(HIV 抗体),且均以微孔板条为固相,一般涉及标本收集、保存、试剂准备、加样、温育、洗板、显色、比色和结果判断等步骤,任一步骤操作不当都有可能导致假阳性结果^[1]。为实现不漏检 HIV 抗体阳性者,同时也对每位受检者负责,在检测过程中需严格按照标准程序进行操作,以确保初筛工作的质量^[2]。笔者通过总结临床工作经验,分析了不同离心和水浴条件对 ELISA 检测 HIV 抗体的影响。

1 资料与方法

- 1.1 一般资料 于本院进行 HIV 抗体检测的患者。
- 1.2 仪器与试剂 HIV 抗体 ELISA 双抗原夹心法检测试剂购自珠海丽珠生物有限公司(批号:I20090420);ELX-800 酶标仪购自美国 Bio Tek 公司,DEM-3 型全自动酶标洗板机购自北京拓普分析仪器有限公司,SH-2(A)酶标板脱水仪购自早稻田(北京)生物科技发展有限公司;KJ-201A 振荡器购自江苏康健医疗用品有限公司,HFsafe-900 生物安全柜购自利康生物医疗科技控股有限公司。
- 1.3 方法 以干燥真空采血管采集患者外周静脉血标本,分别统计 3 000 r/min 离心 3 min 和 4 000 r/min 离心 5 min 条件下获得的血清标本检测结果,以及 3 000 r/min 离心 3 min 条件下获得的血清标本未经水浴或不同条件下水浴后的检测结果。其他操作步骤参考《全国艾滋病检测技术规范》。假阳性的判断标准为初筛阳性,但复核试验阴性,或初筛及复核试验均为阳性,但确认试验为阴性。
- 1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行完全随机设计两样本率的 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

不同试验条件下血清标本检测结果见表 1~2。

表 1 离心条件对血清标本检测结果的影响			
离心条件	<i>n</i>	假阳性(<i>n</i>)	假阳性率(%)
3 000 r/min 离心 3 min	2 760	21	7.64*
4 000 r/min 离心 5 min	2 775	5	1.80

*:与 4 000 r/min 离心 5 min 条件下获得的血清标本假阳性率比较, $P<0.05$ 。

表 2 水浴条件对血清标本检测结果的影响 [△]			
水浴条件	<i>n</i>	假阳性(<i>n</i>)	假阳性率(%)
未置水浴	2 760	21	7.64
37 ℃水浴 30 min	2 024	10	4.99*
37 ℃水浴 60 min	1 840	4	2.38*#

[△]:血清标本均经 3 000 r/min 离心 3 min 后获得;*:与未置水浴组比较, $P<0.05$;#:与 37 ℃水浴 30 min 组比较, $P<0.05$ 。

3 讨 论

造成 ELISA 检测 HIV 抗体假阳结果的因素很多,比如操作不当^[3-4]、标本因素^[5-6]等。一般而言,如检验科工作人员严格按照《全国艾滋病检测技术规范》进行操作,可避免因操作不当造成的假阳性结果。标本因素则包括内源性(类风湿因子、补体、异嗜性抗体、自身抗体、溶菌酶等)和外源性(标本溶血、标本被细菌污染、标本凝固不全、反复冻融等)干扰因素^[7-9]。厂商在研发试剂时,已考虑内源性因素对检测结果的影响,基本可避免内源性干扰因素对检测结果的影响^[6]。就外源性干扰因素而言,本研究中检出的假阳性标本均无溶血、细菌污染和反复冻融等情况。由于全血标本需 18~24 h 才能完全凝固,而本院从标本采集到分离血清开始检测所耗时间较短,全血标本基本上均为完全凝固,因此,笔者认为本研究中的假阳性结果极有可能与标本凝固不全有关。标本凝固不全时,离心获得的血清标本中易残留纤维蛋白原成分,导致 ELISA 测定过程中在微孔中形成纤维蛋白凝块,进而导致假阳性结果。因此,本科室结合实际情况,考虑通过适当改变离心条件(离心速度和时间)和水浴条件以避免假阳性结果的出现。

本研究显示,4 000 r/min 离心 5 min 和增加水浴时间均可有效降低假阳性率。适当增加水浴时间和改变离心条件^[10]可促进全血标本充分凝固,有助于避免血清中残留纤维蛋白原,从而避免纤维蛋白原对检测结果的影响。考虑到全血标本凝固程度影响检测结果,笔者建议进行 HIV 抗体检测时,使用含有分离胶或促凝剂的试管采集全血标本,因为分离胶能有效分离血清和纤维蛋白原成分,促凝剂则可加速血液凝固,而促凝剂作为惰性材料,对标本检测几乎没有影响。因此使用含分离胶或促凝剂的试管也是有效降低因标本凝固不全导致假阳性