诊率，让“窗口期”提前，保护医务工作者和患者的密切接触者，防范因职业暴露而感染上乙肝病毒，就成为检验界为之努力的目标。反向间接血凝试验（RPHA），因其敏感度差，全手工操作，人工判读，已被卫生部淘汰；ELSIA 是目前临床检测乙肝标志物普遍采用的方法，虽经多次方法更改，由于各试剂生产厂家制作工艺的差异，致使检测结果的重现性不好[3]；微粒子酶免疫分析是目前国际公认的检测乙肝标志物的金标准，其灵敏度和稳定性均能达到临床和科研要求。但仪器昂贵，试剂成本高，不适合基层医院使用。TR-FIA 是继 EIA、RIA 之后的一种新的高灵敏的检测方法[4]。以其灵敏度高、操作简便、易自动化、标准曲线范围宽、不受样品自然荧光的干扰、标记物制备简便其稳定、无放射性污染、多标记等特点，越来越受到国内检验界的认可。但是，从实际工作中及临床信息反馈中，乙肝标志物的定量检测仍不是很满意：低含量的 HbsAg、HbsAb 的出现；不同实验室使用不同单位、不同 Cut-off 值，而出现检测结果的差异。这都源于操作规程和判断标准的不统一，室内控制不完善。

本实验仅就特定仪器，特定试剂，特定区域作 Cut-off 值的确定，以期待达到操作和判断的统一。试剂盒提供的 Cut-off 值，仅是源自他们的仪器，他们的区域人群得到的。必然导致定量检测值分布差异。从表 2 也可见，当诊断界点为 0.2 ng/mL的尤登指数是 0.329 1，当诊断界点为 0.4 ng/mL 时的尤登指数是 0.946 1，是最接近 1 的。从表 4 可以更进一步看出，当标志物浓度为 0.22 ng/mL 时其批内、批间的变异系数都大于 20%。试剂说明书中没有提供方法检测 HbsAg 的最低检测线和最大检测范围，但按文献[5]定义，精密度小于或等于 20%时（即 $CV \leqslant 20\%$）的分析浓度即为最低检测线。试剂说明书提供的判断值，实为其方法的最低检测浓度。通过本实验室的验证，0.2 ng/mL 是检测的最低检测线，而不是判断阳性的界点，0.4 ng/mL 才是最佳 Cut-off 值。本结论也可以从其他文献报道中得到印证[6]。

参考文献

[1] 田振，郭周义，贾雅丽. 时间分辨荧光免疫分析及其在临床检测中的应用[J]. 激光生物学报，2002，11(4)：290-295.

[2] 罗开中，杨旭，苏先狮，等. 时间分辨免疫荧光法检测乙型肝炎病毒标志物[J]. 中华肝病杂志，2003，11(9)：569.

[3] 魏来，陶其敏. 努力规范肝脏疾病的免疫学诊断[J]. 中华检验医学杂志，2003，26(2)：69-71.

[4] Ophoff RA，Terwindt GM，Vergouwe MN，et al. Involrement of a Ca2+ channel gene in familial hemiplegic migraine and migraine with and without aura[J]. Headache，1997，37(8)：479-485.

[5] 冯仁丰. 分析灵敏度（检测限）[J]. 上海医学检验杂志，2002，17(3)：133-136.

[6] 李欣，王维，李多孚. 时间分辨荧光免疫分析法测定 HBsAg 的方法学评价[J]. 国际检验医学杂志，2010，31(4)：408-409.

（收稿日期：2012-12-28）

·检验技术与方法·

骨髓有核红细胞过碘酸-碱性复红染色对血液病诊断

李　楠，许议丹，汝　昆△

（中国医学科学院北京协和医学院血液学研究所血液病医院病理诊断中心，天津 300020）

摘　要：目的　探讨有核红细胞过碘酸-碱性复红染色（PAS）的变化及临床意义。**方法**　对正常骨髓象及各种血液病共 423 例的骨髓进行有核红细胞 PAS 染色。**结果**　骨髓有核红细胞 PAS 染色除 39 例大致正常骨髓象和 2 例慢性淋巴细胞白血病（CLL）为阴性外，其余病种均可见到阳性。**结论**　有核红细胞过碘酸-碱性复红染色（PAS）阳性更多见于急性髓细胞白血病（AML）和骨髓增生异常综合征（MDS），有助于与巨幼细胞性贫血（MegA）的鉴别。

关键词：有核红细胞过碘酸-碱性复红染色；　急性髓细胞性白血病；　骨髓增生异常综合征；　巨幼细胞性贫血

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2013.10.036　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2013)10-1278-02

有核红细胞过碘酸-碱性复红染色（PAS）变化及临床意义早有报道[1]，近年的观察中作者发现了一些新的有意义的结果。本文总结正常骨髓象及各种血液病共 423 例的骨髓有核红细胞 PAS 染色，现将结果报道如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　423 例中正常骨髓象 39 例；其余均为本院住院和门诊初诊患者 384 例。包括慢性再生障碍性贫血（CAA）41 例、重症再生障碍性贫血（SAA）35 例、血小板减少 67 例、Evan′s 综合征 8 例、缺铁性贫血（IDA）84 例、巨幼细胞性贫血（MegA）15 例、阵发性睡眠性血红蛋白尿症（PNH）18 例、自身免疫性溶血性贫血（AIHA）12 例、真性红细胞增多症（PV）5 例、骨髓增生异常综合征（MDS）20 例（RA 10 例、RAEBⅠ 6 例、RAEBⅡ 4 例）、急性粒细胞白血病（M2）28 例、急性粒-单细胞白血病（M4）7 例、急性单核细胞白血病（M5）13 例、红白血病（M6）25 例、急性淋巴细胞白血病（ALL）[2] 4 例和慢性淋巴细胞白血病（CLL）2 例。

1.2　仪器与试剂

1.2.1　1%过碘酸

1.2.2　雪夫试剂　碱性品红（北京化工厂）、偏重亚硫酸钠、1N NCL（现用现配）和优质活性炭。试剂配制按本室常规[3]。

1.3　方法　骨髓标本在制片后迅速风干，用 95%乙醇固定 10 min，晾干。室温放置 3 d 内染色。染色方法按本室常规方法[3-7]。计数 100 个涂片细胞分布均匀体尾相交处的中、晚幼红细胞。阳性及积分按《血液学实验诊断》要求来计数。

1.4　统计学处理　对血液病患者骨髓有核红 PAS 阳性者例数、阳性率及阳性指数采用 SPSS 软件进行统计学分析。

△　通讯作者，E-mail：jolienanan@gmail.com。

2　结　　果

2.1　379 例血液病患者骨髓有核红 PAS 阳性者比例、阳性率及阳性指数特征　骨髓有核红细胞 PAS 染色除 39 例大致正常骨髓象和 2 例 CLL 为阴性外,其余病种均可见到阳性。阳性例数所占比例 M5 最高占 84.6%,其后依次为 M6、RAEB Ⅰ、RAEB Ⅱ、IDA、RA、M4(M2)、ALL、MegA、PNH、AIHA、PV、ITP、CAA、Evan′s 综合征、SAA。前 10 类病种 50%以上病例均可见阳性,急性白血病(AL)和 MDS 阳性例数均在 50%以上,明显高于各种贫血,有核红细胞细胞 PAS 阳性易见。SAA 最少,35 例中仅 1 例可见阳性。各病种平均阳性率高低依次为 M2、M6 、M5、AIHA、RA、RAEB Ⅱ、IDA、RAEB Ⅰ、M4、PNH、ITP、CAA、MegA、ALL、Evan′s 综合征、SAA、PV。M2 阳性率和阳性指数最高分别为 90%和 228,有 4 例阳性率超过 50%(占 18%),其次 M6 阳性率最高 70%,阳性指数 162,有 3 例阳性率超过 50%(占 12%),IDA 有 1 例阳性率超过 50%,M5 和 RAEB Ⅰ各有 1 例阳性率超过 30%,急性髓系白血病(AML)和 MDS 分别有 66%和 50%阳性病例的阳性率大于 10%,PV、CAA、MegA、Evan′s 综合征、SAA 和 ALL 均小于 10%。

表 1　各类血液病患者骨髓有核红 PAS 阳性者比例及阳性率

病种	n	阳性例数(n)	阳性百分比(%)	阳性率%(均值)	阳性指数(均值)
PNH	18	6	33.3	7.5	8.2
Evan′s 综合征	8	1	12.5	2.0	2.0
AIHA	12	3	25.0	11.3	18.7
MegA	15	6	40.0	3.3	4.2
IDA	84	52	61.9	12.3	15.4
ITP	67	9	13.4	4.0	4.9
SAA	35	1	2.8	2.0	3.0
CAA	41	5	12.2	3.6	4.4
PV	5	1	20.0	2.0	2.0
RA	10	6	60.0	16.0	20.0
RAEB Ⅰ	6	5	83.3	12.0	23.4
RAEB Ⅱ	4	3	75.0	13.0	15.7
M2	28	16	57.1	27.0	46.5
M4	7	4	57.1	11.0	16.5
M5	13	11	84.6	17.5	28.8
M6	25	20	84.0	21.6	35.0
ALL	4	2	50.0	2.5	3.0

2.2　有核红细胞 PAS 阳性反应物的表现　中、晚幼红细胞为细颗粒弥散状分布,少部分看不清颗粒呈淡粉色;早幼红和原始红细胞为中粗颗粒、大粗颗粒或珠状散在分布细胞质中。

表 2　AML、MDS 和贫血有核红 PAS 比较

组别	n	阳性率(均值,%)	阳性指数(均值)
AML	73	19.3	31.7
MDS	20	13.7	14.8
贫血	285	5.3	7.0

2.3　统计学结果　将 379 例分成 AML 组、MDS 组和贫血组 3 个组,AML 组和 MDS 组的阳性率比较,MDS 组和贫血组的阳性率比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),AML 组和贫血组阳性率比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。综上所述,有核红细胞 PAS 阳性高(大于 10%),支持 AML 和 MDS,结合形态有助于与 MegA 的鉴别。

3　讨　　论

3.1　有核红细胞 PAS 染色有助于诊断和鉴别各种贫血和白血病。从实验结果看,除正常骨髓象和 CLL 为阴性外,大多数病种均可见阳性。白血病所占阳性病例较高,均在 50%以上,AML 明显强于 ALL。通常用有核红细胞 PAS 是否阳性并结合形态学来确定 M6,但是 M2 患者的有核红 PAS 阳性率也很高,因此 PAS 阳性并不是 M6 所特有。因此 M6 的诊断还应结合临床骨髓形态及免疫分型等来确诊。有核红细胞 PAS 阳性有助于诊断 M6 和 MegA。MegA 曾有文献报道 PAS 为阴性,本文总结 15 例 MegA 有 40%可见阳性,但阳性率均小于 10%;而 M6 中有 57%为阳性病例,且阳性率大于 10%,因此 PAS 阳性率 10%有助于鉴别 M6 和 MegA。

3.2　MDS 涂片中有核红细胞 PAS 所占阳性例数均大于 60%,比部分白血病高,MDS 三种阳性率无明显差别,有半数以上病例阳性率大于 10%,但也有相当一部分 MDS 阳性较低。RAEB 阳性强度略强,MDS 有核红 PAS 染色阳性与文献[8]报道相同,与文献[9]报道阴性不相符。总之,除 AML 和 IDA 外,MDS 较其他血液病明显增高。

3.3　在一般贫血和血小板减少病种中,IDA 中 50%以上病例有核红细胞 PAS 阳性,48%阳性率大于 10%,最高可达 54%,是贫血中反应最强的。AIHA 阳性率明显增高,溶血性贫血中等强度,与文献相一致[9]。从实验结果可见,红系增生骨髓象的有核红细胞 PAS 除 MegA 外均表现较高的阳性率。AA 通常报道阴性[9],本文 SAA 35 例有 1 例阳性,CAA 41 例中有 5 例阳性,占 12.19%,阳性率最高 6%。

参考文献

[1]　Zakout YM,Salih MM,Ahmed HG. The effect of fixatives and temperature on the quality of glycogen demonstration[J]. Biotech Histochem,2010,85(2):93-98.

[2]　吕占武,胡朝晖,陈南风,等. 糖原染色在急性淋巴细胞白血病亚型诊断中的应用[J]. 检验医学与临床,2011,8(2):218.

[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,2006:159-160.

[4]　叶应妩,王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 2 版. 南京:东南大学出版社,1997:79-80.

[5]　王颖,薛世泉,张泽兵,等. 改良 Schiff 液的配制及应用[J]. 临床与实验病理学杂志,2009,25(6):672.

[6]　王庸晋. 现代临床检验学[M]. 北京:人民军医出版社,2001:93-95.

[7]　李家增,王鸿利,韩忠朝. 血液实验学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1997:68-70.

[8]　王永才,刘洪民,张学斌. 骨髓增生异常综合征 100 例分析[J]. 中华血液学杂志,1989,10(8):421-422.

[9]　彭淼,王鸿利,向为民. 关于白血病诊断标准的探讨[J]. 中华血液学杂志,1989,10(8): 435-436.

(收稿日期:2012-12-28)