

3 种体液细胞染色方法的效果比较

杨麦贵¹, 杨 铮², 杨 阳³, 岳 波⁴, 郑善奎¹, 何 娟¹, 樊爱琳¹, 郝晓柯^{1△} (1. 第四军医大学西京医院全军临床检验医学研究所, 西安 710032; 2. 第四军医大学学员旅, 西安 710032; 3. 第四军医大学西京医院全军整形外科研究所, 西安 710032; 4. 第四军医大学西京医院耳鼻咽喉头颈外科, 西安 710032)

【摘要】 目的 选择简单、快速且能反映体液细胞原有结构特征的染色最佳方法。**方法** 比较临床较为常用的苏木精-伊红(HE)染色法、巴氏染色法及瑞-姬(WG)混合染色法对 650 份不同体液标本进行细胞染色效果及阳性检出率。**结果** WG 混合染色法操作简便快速,能使体液细胞结构最大限度地保持原有状态及特征,细胞质、细胞核及核仁之间的色差大,易于区分辨认,阳性诊断符合率为 99.7%、灵敏度为 79.0%、总有效率达 94.0%。**结论** 经对各种体液细胞染色观察分析,WG 混合染色法效果优于 HE 和巴氏染色法,特适用于各级检验单位体液细胞的开展。

【关键词】 体液; 苏木精-伊红染色法; 巴氏染色法; 瑞-姬混合染色法

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.01.022 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)01-0053-02

Comparison of 3 kinds of method for staining body fluid cells YANG Mai-gui¹, YANG Zheng², YANG Yang³, YUE Bo⁴, ZHENG Shan-luan¹, HE Juan¹, FAN Ai-lin¹, HAO Xiao-ke^{1△} (1. Research Institute of Clinical Laboratory Medicine, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032, China; 2. Students Brigade, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032, China; 3. Research Institute of Plastic Surgery, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032, China; 4. Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032, China)

【Abstract】 Objective To select a simple, rapid and best staining method enabling to reflect the original structure characteristics of body fluid cells. **Methods** The effects of cell staining and positive detection rates of 650 different body fluid specimens were compared among the clinically commonly used hematoxylin-eosin (HE) staining, papanicolaou staining and Swiss-Ji (WG) mixed staining. **Results** The WG mixed staining was simple and rapid to operate, enabling the cell structure to maximize the body fluid cells and maintaining the original condition and characteristics brightly and clearly, the color difference was larger among cytoplasm, nucleus and nucleolus, easy to distinguish and identify, the positive accuracy was 99.7%, the sensitivity was 79.0% and the total effective rate reached 94.0%. **Conclusion** After observing and analyzing the staining effect of various body fluid cells, the WG staining method has better effect than the HE staining and the Papanicolaou staining, which is especially suitable to conduct the detection of body fluid cells at various levels of laboratories.

【Key words】 body fluids; hematoxylin-eosin staining; papanicolaou staining; wright-giemsa mixed staining

体液是机体含有大量的水分和溶解于水的各种物质的总称。它包括胸、腹腔液、尿液、脑脊液、关节腔液、痰液、泪液、囊液、透析液及灌洗液等 20 余种。体液分泌量的变化对疾病的诊断有着重要的价值,尤其是其中的细胞学变化的检查有着非常重要的意义。形态学检查是检验最基本的技术,是临床实验室诊断最简单、特异、经济、实用的常规检验方法,也是对某些疾病诊断的金标准,是判断疾病疗效和预后的重要依据^[1-3]。体液直接涂片镜检目前主要采用的苏木精-伊红(HE)染色法和巴氏染色法,较繁琐、耗时,染色效果欠佳,为选择理想的染色方法,作者对 HE、巴氏及瑞-姬(WG)混合染色法这 3 种染色方法进行了比较分析,现将结果报道如下。

1 材料与与方法

1.1 标本来源 选择 2014 年 2 月至 2015 年 1 月第四军医大学西京医院收治的住院和门诊患者各种体液标本 650 份,其中

同时采用 HE、巴氏和 WG 混合染色法对胸腔积液、腹腔积液、脑脊液、肺泡灌洗液、透析液、尿液、痰液、关节腔积液每种各 10 份进行染色。

1.2 仪器与试剂 HE 和巴氏染液由西京医院病理科提供, WG 混合染液参照文献[4]配制有所改良。TD5M 台式离心机(长沙科威实业有限公司),CX21 双目显微镜(日本奥林巴斯)。

1.3 方法

1.3.1 标本处理 所有标本在完成常规检验后于 TD5M 台式离心机,1 500 r/min 离心 5 min,取沉淀物推片 6 张,自然干燥备染。

1.3.2 HE 染色 取制好的推片于 95%乙醇和乙醚混合液(1:1)中固定 15 min,流水洗涤 2 min,蒸馏水洗 1 min;苏木紫液染 5~7 min(视着色情况增减),水洗 2 min;1%盐酸分化至细胞核染色清晰(显微镜下控制),流水浸洗至少 15 min,至细

胞核变蓝,在显微镜下观察,若核染色过深或不足,应再次分化或重染;伊红液染色 3 min,水洗 30 s 至 1 min;80%乙醇浸洗 7 s,90%乙醇、无水乙醇 I、无水乙醇 II 分别浸洗 1 min;苯酚和二甲苯(1:3)5 min;二甲苯浸洗 2 次,每次 3~5 min^[4]。

1.3.3 巴氏染色 将推片置 95%乙醇和乙醚混合液(1:1)中固定 15 min,流水洗涤 2 min,蒸馏水洗 1 min;苏木紫液染 3~5 min,水洗 1 min;0.5%盐酸分化至细胞核染色清晰,水洗,并浸于水中至核变蓝;50%、80%、96%的乙醇各浸洗 30 s 至 1 min;橘黄 G 染色 4 min;95%乙醇浸洗 2 次,每次各 30 s 至 1 min;EA36 染色 8~10 min;95%乙醇浸洗 2 次,每次 30 s 至 1 min;无水乙醇浸洗 2 次,每次各 1 min;苯酚和二甲苯(1:3)浸洗 2~3 min;二甲苯浸洗 2~3 min^[4-5]。

1.3.4 WG 混合染色 取推片滴加 WG 混合染液 3~5 滴,约 1 min,滴加等量或稍多的 pH6.8 磷酸盐缓冲液,轻轻晃动玻片,将染液与缓冲液充分混合,染色 5~10 min 后,用流动自来水冲洗^[3-4]。

2 结果

2.1 3 种染色方法的比较 从制片、固定、染色时间、膜脱落情况、细胞染色质量及阳性检出率等的比较,WG 混合染色法下膜薄厚均匀,不需固定,膜不易脱落,染色时间短,效果佳,能确保体液细胞原有结构状态及特征最大限度的鲜艳清晰,使细胞质、细胞核及核仁之间的色差大,易于区分辨认,检出阳性率高,出报告时间短,优于其他方法。见表 1。

表 1 3 种染色方法比较

染色方法	制作方法	推片固定时间(min)	染色时间(min)	推片脱落情况	染色效果	阳性检出率(%)	报告天数(d)
HE 染色	涂片	15	40~46	较易	清晰	60~80	4
巴氏染色	涂片	15	24~32	较易	清晰	60~80	4
WG 混合染色	推片	不固定	5~10	不易	鲜艳、清晰	>80	1

2.2 对体液常规检验进行优化 将同 1 份标本,既完成常规检查,同时进行细胞形态学染色检查,建立体液常规形态学快速检验体系。先做体液常规后离心,取沉淀推薄、厚、无尾片各两张自然干燥后 WG 混合染色做细胞形态学分析,凝固的标本可作细胞形态学检查。改进优化的方法阳性率检出较高,经对 650 份体液标本检查,恶性细胞等阳性结果检出 580 例,与临床最终诊断符合 578 例,诊断符合率为 99.7%,灵敏度为 79.0%,总有效率为 94.0%。不仅查见恶性肿瘤细胞,还发现噬菌细胞、浆细胞、真菌、寄生虫、郎汉格斯细胞。

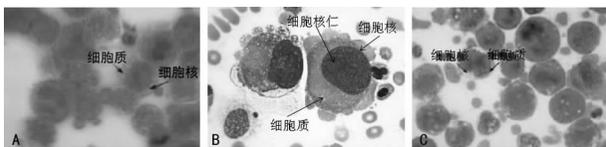
2.3 3 种染色法染色效果的比较 WG 混合染色将细胞染为蓝色或淡蓝色,核染成不均匀的深紫色,核膜清晰,核仁为深蓝色。HE 染色将细胞染为淡红色,核膜较清晰,核仁深红色,核仁与染色质色泽相近,不易区别。巴氏染色将细胞染为粉红色,核膜较清晰,核呈红色与细胞质粉红色反差较小,核仁呈蓝色与染色质颜色相近,不易准确识别,见图 1。

巴氏染色方法繁琐、费时,将细胞染成粉红色,胞质局部有许多直径相近的空泡,空泡多靠近核膜,核膜较清晰,细胞核呈红色,与细胞质的粉红色反差较小,染色质与核仁呈极淡蓝色,染色质数量较少,呈条状、块状,散在或聚集分布于核中部,部分细胞染色质数量极少,核仁与染色质染色相近似,不易区别。WG 混合染色质量明显高于巴氏和 HE 染色,可能是由于巴氏和 HE 染色法对细胞蛋白质的水解作用,而导致细胞核染色质中组蛋白脱落,使裸露的 DNA 不能着色,所致细胞质数量减少^[7-8]。WG 混合染色下的细胞蛋白未被水解,所以染色质数量丰富。

综上所述,WG 混合染色法分色性能好,颜色鲜艳,色差大,能清晰地显示细胞结构特征,明显的优于巴氏和 HE 染色法,适用于各级检验单位开展。

参考文献

[1] 丛玉隆.既要发展现代化也要继承经典方法[J].中华检验医学杂志,2005,28(2):129-131.
 [2] 杨斌,薛得斌.甲状腺细胞病理学 Bethesda 报告系统:定义、标准和注释[M].4 版.北京:科学技术出版社,2010:288-290.
 [3] 尚红,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].4 版.北京:人民卫生出版社,2015:160-197.
 [4] 冯文莉,樊绮诗.医学检验实验教程[M].北京:人民卫生出版社,2012:104-111.
 [5] 刘成玉,罗春丽.临床检验基础[M].5 版.北京:人民卫生出版社,2012:16-18.
 [6] 兰忠诚.临床 3 种血涂片常用染色方法的比较分析[J].国际检验医学杂志,2012,33(5):581.
 [7] 成领忠,钟翠平,蔡文琴.现代组织学[M].上海:上海科学技术文献出版社,2003:119-121.
 [8] 卢兴国.体液脱落细胞学图谱[M].北京:人民卫生出版社,2011:16-25.



注:A 为 HE 染色;B 为 WG 混合染色;C 为巴氏染色。

图 1 3 种染色法染色效果的比较(×1 000)

3 讨论

理想的染色方法对体液细胞的辨认和为临床提供准确的诊断依据有着非常重要的意义。选择 1 种染色方法的优劣主要是看它能否最大限度地保存细胞原有的结构特征,使细胞质、核、仁、膜色差大,清晰,易辨认。WG 混合染色能将细胞质染成蓝色或淡蓝色,细胞核呈不均匀的深紫色,核膜清晰鲜艳,核中部染色质密集均匀,靠核膜处,染色质呈直条状,间隔较为均匀,呈向外辐射状排列,核仁呈深蓝色,多分布于染色质中部密集区与边缘辐射区交界处^[6]。HE 染色将细胞染成淡红色,核膜较为清晰,细胞核呈深红色,染色质呈淡粉红色,部分细胞染色质数量较多,呈条状、块状,散在或聚集分布于核中部,有部分细胞染色质数量较少;核仁与染色质染色相近,不易区分。