

影响脑脊液细胞玻片离心沉淀检查法质量的原因分析及其预防策略

粟秀初

【摘要】 脑脊液细胞玻片离心沉淀检查法对多种中枢神经系统疾病的定性诊断具有极其重要的价值,特别是对中枢神经系统感染、白血病和脑膜癌病等的诊断更具其他检查方法无法替代的作用。脑脊液细胞收集和染色技术对脑脊液细胞学检查的质量至关重要,然而实践中,特别是临床经验尚缺的新手常存在影响其质量的多种主观和客观原因。本文主要对影响脑脊液细胞玻片离心沉淀检查法质量的常见原因和预防策略进行简要介绍,供神经科同道参考。

【关键词】 脑脊髓液; 细胞学技术; 离心法; 沉淀; 综述

Analysis of reasons impairing the quality of cerebrospinal fluid cell slide centrifugal sedimentation examination method and its preventive measures

SU Xiu-chu

Department of Neurology; Cerebrospinal Fluid Cytology Research (Examination) Room, Xijing Hospital, Air Force Military Medical University of Chinese PLA, Xi'an 710032, Shaanxi, China (Email: suxiuchu@fmmu.edu.cn)

【Abstract】 It is well known that cerebrospinal fluid (CSF) cell slide centrifugal sedimentation examination method is a very important technique for the etiological diagnosis of many central nervous system (CNS) diseases, especially for infectious diseases, leukemia and meningeal carcinomatosis, etc. The high quality of CSF cell collection and staining technique is the first and most important step of this cytological examination. However, there are a number of subjective and objective impairing factors influencing its quality, especially for younger technicians in practical condition. This article presents mainly the impairing factors and its preventive measures for colleagues and suggestion.

【Key words】 Cerebrospinal fluid; Cytological techniques; Centrifugation; Precipitation; Review

国内普遍开展脑脊液细胞玻片离心沉淀检查法已近 30 余年,一致认为其对中枢神经系统疾病的定性诊断具有极其重要的价值,特别是对中枢神经系统感染、白血病和脑膜癌病等的诊断更具其他检查方法无法替代的作用,业已成为国内各医疗单位的常规临床检查项目。由于多种主观和客观原因,脑脊液细胞的常规收集和迈-格-姬(MGG)染色质量常不能达标(特别是对于临床经验尚缺的新手),常使显微镜检查无法正常进行或影响检查结果,从而延误诊断与治疗。近来常有神经科同道致电或来函咨询其解决办法,本文仅就影响脑脊液细胞玻片

离心沉淀检查法质量的常见原因和预防策略进行简要介绍,供神经科同道参考。

一、脑脊液细胞数目过少

1. 显微镜所见 脑脊液细胞数目较少或很少。

2. 原因 (1)玻片离心沉淀器的滤纸密封装置不严密,使脑脊液细胞在离心过程中被甩掉。(2)不整齐的滤纸边缘把脑脊液细胞粘掉。(3)离心机转速过快、启动或停止力度过猛致脑脊液细胞破裂。(4)脑脊液标本送检过程中过度摇晃,使脑脊液细胞相互碰撞而破裂。(5)脑脊液细胞离体时间过长而破裂或自溶。(6)玻片使用前清洗不够干净或不够干燥,使脑脊液细胞贴片不牢而易在染色过程中自动脱片或冲洗玻片时被水柱冲掉。

3. 解决办法 (1)选择质量较好的玻片离心沉淀器和滤纸。(2)调整好离心机转速并控制好启动

doi: 10.3969/j.issn.1672-6731.2018.07.001

作者单位:710032 西安,空军军医大学西京医院神经内科 脑脊液细胞学研究(检查)室,Email:suxiuchu@fmmu.edu.cn

和停止力度。(3)避免脑脊液标本送检过程中摇晃。(4)尽量缩短脑脊液细胞离体时间。(5)玻片使用前须清洗干净并保持干燥。(6)染色过程中不要用水柱直接冲洗玻片上的细胞沉淀区。

二、脑脊液细胞数目过多

1. 显微镜所见 脑脊液细胞数目过多、成堆或相互重叠。

2. 原因 脑脊液细胞数目过多。

3. 解决办法 根据脑脊液细胞数目,按照 1:1 或 1:10 比例以生理盐水稀释后再重新检查。

三、脑脊液细胞破碎过多

1. 显微镜所见 脑脊液细胞被较多的细胞碎片覆盖或相互重叠。

2. 原因 (1)脑脊液收集瓶不够干燥。(2)脑脊液细胞离体时间过长而破裂或自溶。(3)离心机转速过快、启动或停止力度过猛致脑脊液细胞破裂。(4)脑脊液标本送检过程中过度摇晃,使脑脊液细胞相互碰撞而破裂。

3. 解决办法 (1)保持脑脊液收集瓶的干燥。(2)尽量缩短脑脊液细胞离体时间。(3)调整好离心机转速并控制好启动和停止力度。(4)避免脑脊液标本送检过程中摇晃。

四、脑脊液细胞染色过浅

1. 显微镜所见 脑脊液细胞胞质、胞核和胞质内颗粒均未着色或染色过浅。

2. 原因 (1)MGG 染色液过少或者缓冲液过多。(2)染色时间过短。(3)MGG 染色液或者缓冲液偏酸性。

3. 解决办法 (1)染色时适量增加 MGG 染色液或减少缓冲液。(2)延长染色时间(特别是在冬季和室温较低的情况下)。(3)如果染色效果仍不理想,应检测 MGG 染色液或缓冲液的酸碱度,并根据实际情况予以适当调整。

五、脑脊液细胞染色过深

1. 显微镜所见 脑脊液细胞着色普遍较蓝或呈深蓝色,外形和内部结构不清,细胞胞核和胞质均呈深蓝色或黑色(图 1)。

2. 原因 (1)MGG 染色液过多或缓冲液过少。(2)染色时间过长。(3)MGG 染色液或缓冲液偏碱性。(4)夏季或室温较高的情况下高温染色,甲醇挥发过快。

3. 解决办法 (1)染色时适量减少 MGG 染色液或增加缓冲液。(2)缩短染色时间(特别是在夏季或

室温较高的情况下)。(3)加入数滴甲醇脱色(脱色时间根据具体情况而定)后重新染色。(4)如果染色效果仍不理想,应检测 MGG 染色液或缓冲液的酸碱度,并根据实际情况适当调整。

六、脑脊液细胞染色偏碱性

脑脊液细胞染色偏碱性较为常见。

1. 显微镜所见 脑脊液细胞着色普遍较蓝或呈深蓝色,外形和内部结构不清,细胞胞质、胞核和胞质内颗粒甚至胞质内嗜酸性颗粒均呈深蓝色或黑色(图 1)。

2. 原因 (1)与脑脊液细胞染色过深基本相同。(2)亦可能是由于玻片偏碱性或冲洗时间过短所致。

3. 解决办法 (1)与脑脊液细胞染色过深基本相同。(2)亦可将玻片置于 95%乙醇溶液中数秒后再冲洗。(3)如果染色效果仍不理想,应检测 MGG 染色液或缓冲液的酸碱度,如果 MGG 染色液过碱,则应适量加入 1%醋酸溶液,并根据实际情况适当调整其酸碱度。

七、脑脊液细胞染色偏酸性

脑脊液细胞染色偏酸性较为少见。

1. 显微镜所见 脑脊液细胞着色普遍较红或呈深红色,细胞及其胞质、胞核和胞质内嗜碱性颗粒均呈较红或深红色(图 2)。

2. 原因 (1)MGG 染色液放置时间过长或与空气接触时间过长,使甲醇氧化为甲酸,从而增加 MGG 染色液的酸度。(2)玻片或缓冲液偏酸性。

3. 解决办法 (1)新旧 MGG 染色液混合后使用。(2)根据 MGG 染色液的酸碱度适量加入 1%碳酸氢钠溶液,并根据实际情况适当调整其酸碱度。

八、染色液沉渣过多

1. 显微镜所见 玻片上存在大量深染的颗粒状或成堆的 MGG 染色液沉渣(图 3)。

2. 原因 (1)新 MGG 染色液内的染料溶解不完全。(2)MGG 染色液使用前未仔细过滤。(3)MGG 染色液与缓冲液混合不均匀。(4)脑脊液标本干燥且未及时冲洗。(5)温度过高使 MGG 染色液中的甲醇挥发过度。

3. 解决办法 向 MGG 染色液中加入适量甲醇,使其沉淀物溶解后再重新染色。

九、染片过脏

1. 显微镜所见 玻片上存在较多滑石粉、纤维等多种杂物碎片(图 4)。

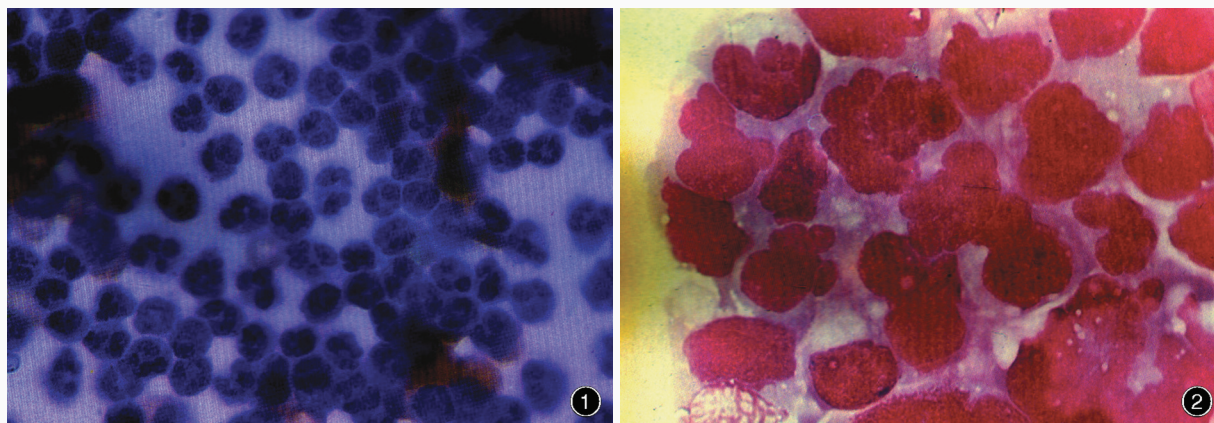


图 1 光学显微镜观察显示,嗜中性粒细胞着色均较蓝或呈深蓝色,外形和内部结构不清,胞核呈黑色,胞质呈深蓝色 MGG 染色 ×1000 图 2 光学显微镜观察显示,脑脊液细胞着色普遍偏红或呈深红色,胞核、核仁和胞质内嗜碱性颗粒均呈较红或深红色 MGG 染色 ×1000

Figure 1 Optical microscopy showed the neutrophilic granulocytes were stained blue or deep blue, and their outline and inner structures were not clear. Nuclei were stained black, and cytoplasm were stained deep blue. MGG staining ×1000 Figure 2 Optical microscopy showed all cells were stained red or deep red. Their nuclei, nucleoli and basophilic granules in cytoplasm were stained red or deep red. MGG staining ×1000

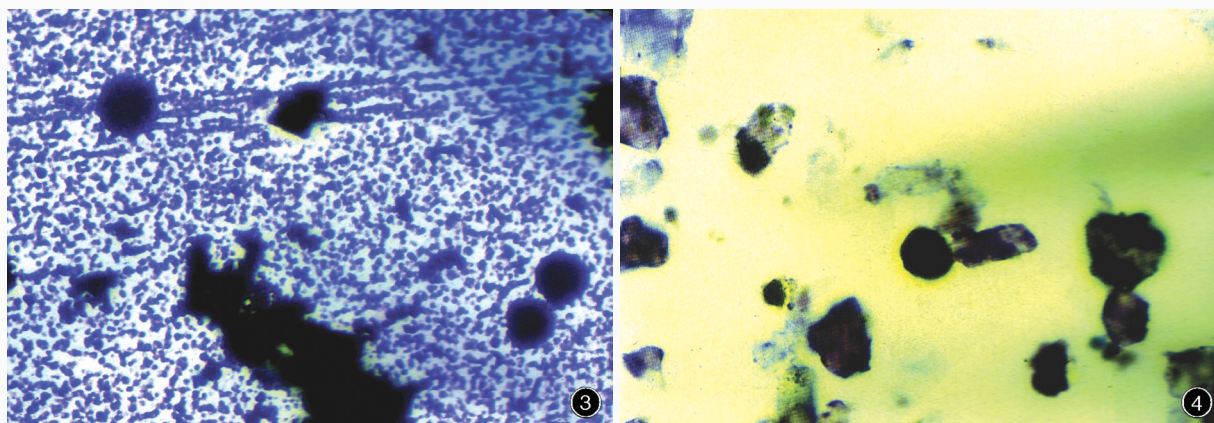


图 3 光学显微镜观察可见大量大小不一的片状深染的染色液沉渣 MGG 染色 ×1000 图 4 光学显微镜观察可见较多滑石粉等污染物 MGG 染色 ×1000

Figure 3 Optical microscopy showed too much patchy-form stain-sediments of various sizes on the cell slide. MGG staining ×1000 Figure 4 Optical microscopy showed much pollutants, such as talcum powders, on the cell slide. MGG staining ×1000

2. 原因 (1)行腰椎穿刺术时无菌手套上的滑石粉、纱布或棉球纤维等混入脑脊液。(2)脑脊液收集瓶清洗不干净,使瓶内杂物等混入脑脊液。

3. 解决办法 (1)医师戴无菌手套后务必拍打双手,或以 75%乙醇溶液擦洗手套以去除滑石粉等

杂物。(2)彻底清洗脑脊液收集瓶。(3)选用第 2 瓶或最后 1 瓶脑脊液送细胞学检查。

志谢 感谢空军军医大学西京医院神经内科石亚军医师制作本文图片

(收稿日期:2018-06-19)

下期内容预告 本刊 2018 年第 8 期报告专题为神经肌肉病,重点内容包括:应重视可治性神经肌肉病的早期诊断与治疗;糖原贮积病 II 型发展史;婴儿松弛综合征;线粒体脑肌病伴高乳酸血症和卒中样发作患者头皮不同区域毛囊 m.3243A >G 突变率分析;MTMR13/SBF2 基因复合杂合突变致腓骨肌萎缩症 4B2 型一家系临床表型及基因突变分析;短链脂酰辅酶 A 脱氢酶缺陷综合征一家系临床表型及基因突变分析;GNE 基因新发突变致 GNE 肌病一例临床表型及生物信息学分析