

用血球计数板测定核多角体病毒数量的误差分析

张友清

(中国科学院武汉病毒研究所, 武昌)

用血球计数板测定核多角体病毒的数目比较方便, 但误差较大。我们曾分析了影响计数结果的一些因素, 加以统计分析, 希望找出减少误差的途径。现将结果报告如下。

统计分析主要是对待测样品在计数室内静置时间, 放置盖玻片不同方式, 不同操作者及抽样之间的差异进行变量分析和 t 值测验, 比较单次计数的变异系数和浓度。

变量分析指出, 待测液在显微镜台上静置时间不同, 计数差异非常显著 (1% 水平), 如静置 10 分钟所得结果为静置 0.5 分钟时的 2.47 倍, 但 10 分钟后差异不显著, 静置 15 分钟的计数与 10 分钟时的仅相差 0.11%。因此, 10 分钟静置时间是一个界线。15 分钟时的变异系数只有 0.5 分钟时的 50.4%, 使结果的可重复性大为提高。

变量分析同时指出, 反复抽样之间的差异显著 (5% 水平)。这属于随机误差, 需要统一操作规程, 熟练技术才能克服。

值测验表明, 计数时放置盖玻片方式不同, 计数差异显著。先滴悬液于计数室内后加盖玻片, 较之先放盖玻片, 再用吸管沿小槽注入悬液计数, 其变异系数大 60.5—76.5%。这可能由于加盖玻片方式直接影响到计数室内液体实际体积。

为此, 我们将测定程序作如下统一规定:

1. 取样时, 原液彻底搅动 20 次。
2. 用 10ml 量筒、1ml 吸量管依次稀释, 稀释倍数以每个中格有 30—50 个多角体为宜。
3. 先加盖玻片, 悬液由小槽注入。
4. 悬液静置 15 分钟以上。
5. 每次计数, 重复 2 次以上, 所得数目相同时才作记载。
6. 操作尽可能迅速。

按以上规程操作, 不熟练操作者计数的变异系数为 19.55%, 而熟练者二人分别为 10.46% 和 10.10%。