

# UniCel DxH 推染片一体机染色条件的设置及效果评价

邢莹, 屈晨雪<sup>△</sup>, 陆遥, 汪润, 李智慧, 王玗玲, 宋一楠, 朱鹰 (北京大学第一医院检验科, 北京 100034)

**【摘要】** 目的 探索 UniCel DxH 推染片一体机的最佳染色条件, 并对染色效果进行评价。方法 通过改变瑞氏-吉姆萨复合染液的染色时间、染液配比等方法获取推染片一体机的最佳染色条件, 在显微镜下观察并评价不同方法制备的血涂片的染色效果。**结果** 延长缓冲液的染色时间可增强血涂片的着色效果, 再在缓冲液中加入 5%~10% 的染液后可进一步提高血涂片的染色效率, 且对于血细胞形态的识别可以达到手工制片染色的效果。**结论** 在适宜的染色条件下, UniCel DxH 制备的血涂片基本可以达到与手工染色相同的效果, 对血细胞异常形态的识别较准确, 各实验室应建立适宜的最佳染色方案。

**【关键词】** 瑞氏-吉姆萨染色; 白细胞分类计数; 血液推染片机

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.05.040 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)05-0676-02

全自动血细胞分析仪的广泛应用大大地提高了检验效率, 但是仪器检查只能作为一种筛查手段, 很多情况下仍需要进行显微镜复检。由于各个实验室执行的复检规则不同, 其血涂片的复检率也不尽相同, 多数在 10%~50%<sup>[1-2]</sup>。对于一些大型综合性医院而言, 往往标本量大且复检率高, 传统的手工制片和染色耗时费力。近年来, 多个血细胞分析仪生产厂家都推出了全自动的推片机和染片机, 与血细胞分析仪组成工作站, 将需要复检的标本直接通过推染片机即可完成推片和染色过程, 可节约大量的人力资源。目前, 我国已有多家实验室陆续实现了上述血细胞分析仪的“流水线”。然而, 推染片机制备的血涂片质量如何, 是临床实验室最为关心的问题, 目前相关研究还比较缺乏。本研究以本实验室的 UniCel DxH 推染片一体机为例, 探讨全自动推染片机使用时最佳染色条件的设置并对染色效果进行评价。

## 1 材料与方法

**1.1 标本来源** 血标本采集自本实验室临床检测剩余标本。

**1.2 仪器与试剂** UniCel DxH 推染片一体机及其配套试剂(美国贝克曼库尔特公司), 瑞氏-吉姆萨复合染液(珠海贝索公司), Olympus CX31 双目显微镜(日本奥林巴斯光学工业株式会社)。

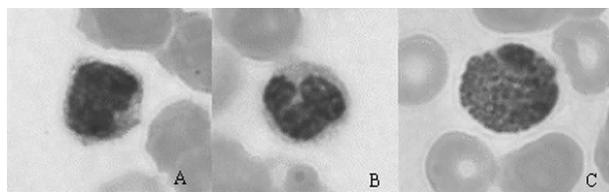
### 1.3 方法

**1.3.1 染色方法** 通过不断改变瑞氏-吉姆萨复合染液的染色时间、染液配比等方法, 寻找最佳的染色方案以达到满意效果。首先参考染液说明书推荐的方法(方法 A)进行染色; 然后通过不断尝试, 延长染缸 2 缓冲液的染色时间(方法 B)。此外, 由于 UniCel DxH 推染片一体机可以改变染缸中染液与缓冲液的比例, 进一步在 2 号染缸即缓冲液中加入 5%~10% 的染液(方法 C)。见表 1。

表 1 不同染色方法染色条件设置

染色方法	染缸 1		染缸 2		染缸 3		染缸 4		染缸 5	
	成分	时间(s)	成分	时间(s)	成分	时间(s)	成分	时间(s)	成分	时间(s)
方法 A	瑞氏-吉姆萨染液	60	缓冲液	140	去离子水	30	去离子水	30	去离子水	30
方法 B	瑞氏-吉姆萨染液	60	缓冲液	200	去离子水	30	去离子水	30	去离子水	30
方法 C	瑞氏-吉姆萨染液	60	90%缓冲液+10%染液	160	去离子水	30	去离子水	30	去离子水	30

**1.3.2 评价标准** 红细胞染成淡粉红色, 白细胞的内部结构(细胞核、细胞质)着色清晰, 能明显鉴别不同种类的血细胞, 包括原始细胞、不成熟粒细胞、有核红细胞等。



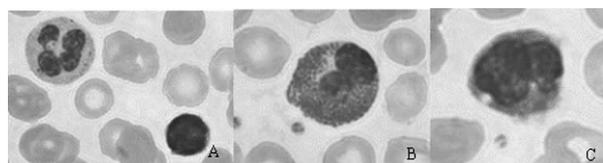
注: A 为单核细胞, B 为中性粒细胞, C 为嗜酸性粒细胞。

图 1 方法 A 染色效果图(瑞氏-吉姆萨染色, ×1 000)

## 2 结果

将 UniCel DxH 推染片一体机制备的血涂片置于显微镜

下确认, 结果显示: 采用方法 A 染色后的血涂片中白细胞的细胞核着色偏浅, 以单核细胞最为明显, 见图 1; 采用方法 B 染色后着色效果增强, 见图 2; 采用方法 C 染色后可以在较短时间内加强染色效果。研究发现, 方法 B 和方法 C 均能得到很好的染色效果, 对于异常细胞的识别(如异型淋巴细胞、不成熟粒细胞、原始细胞等)也比较准确, 可以满足临床工作的需要。



注: A 为中性粒细胞, B 为淋巴细胞, C 为嗜酸性粒细胞和单核细胞。

图 2 方法 B 染色效果图(瑞氏-吉姆萨染色, ×1 000)

<sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: qucx2012@163.com。

### 3 讨 论

自动化的染片机在使用时需要自定义染色步骤,其方法与手工染色存在较大的差异。一般情况下,染片机中放置数个染缸,血涂片分别在盛有染液、缓冲液及去离子水的染缸中浸泡后完成染色。本实验室的 UniCel DxH 推染片一体机内部共有 5 个染缸,可以设置每个染缸中加入的成分(如染液、缓冲液或去离子水),并且可以对其中的成分配比进行调整。由于不同实验室的温度、湿度等环境条件不同,可能同一型号的染片机也无法使用相同的条件设置,需要各实验室摸索出适合本实验室的染色条件。

本研究在不断尝试的过程中总结出以下几点经验:(1)白细胞的细胞核是否清晰是判断血涂片染色效果的重点,而细胞核着色以单核细胞最为困难,其次为粒细胞、淋巴细胞,所以观察时应着重以单核细胞为参照。(2)增加细胞的着色效果可以通过两种方法来实现。第一是延长在染液或缓冲液中的浸泡时间,第二是在缓冲液中加入一些染液。但是有的染片机无法改变染缸中成分的配比(如美国贝克曼库尔特公司 LH755 染片机),因此只能采取第一种方法。在调整过程中要循序渐进,尽量不要同时改变多个设置,否则不易发现影响染色效果的因素。(3)染色的过程中,血涂片在 1 号染缸即染液中浸泡的目的是固定和附着染液,这个过程不需要太长的时间,必须在 2 号染缸即缓冲液中浸泡才能完成着色。如果染色偏酸可以减少在缓冲液中的浸泡时间或去离子水的冲洗时间,反之亦然。因为染色时 1 号缸中的染液会被不断带入 2 号缸中,染色效果也会随之加强。(4)仪器与手工方法的染色效果有时存在差异,如嗜酸性颗粒通常比手工染色更红,单核和淋巴细胞的胞质偏蓝。(5)需要考虑实验室的湿度,湿度太大时需要适当延长血涂片的干燥时间和染色时间。(6)染缸中的染液、缓冲液或去离子水要根据标本量定期更换,染缸也需要定期清洗,每 1~2 周要从仪器中取出彻底清洁 1 次。

仪器制备的血涂片细胞形态都清晰可辨,对于异常细胞的识别尚未发现漏检情况。由于目前国内、外相关的研究和报道较少<sup>[4-9]</sup>,还有待于更多的研究来评价和验证。仪器制片的优点在于节约劳动力且效果比较稳定,只要找到最佳的染色条件并做好仪器的维护保养,就可以明显地提高工作效率。而且,仪器制备的血涂片分布均匀、细胞形态规整,染色后血涂片上的染液沉渣也很少。但是,仪器染色的流程与手工不同,染色效果也略有差异。因此,在使用初期需要与手工方法进行比较,尤其对于一些异常细胞,如原始细胞、异型淋巴细胞等要重点观察。因为原始细胞染色质细致不易着色,当数量较多时采用仪器的固有设置或许无法达到满意的效果。所以,手工制片和染色不能完全摒弃,必要时需要用传统方法进行验证。

综上所述,实验室在应用全自动推染片机时,应根据实际情况建立适合本实验室的染色方案。在染色条件设置合理的情况下,仪器制备的血涂片基本可以达到与手工染色相同的效

果。而且,仪器操作可以实现自动化、批量化,染色的效果也较固定,非常适合应用于复检率高的大型医院,可大大节约人力消耗,提高工作效率。

### 参考文献

- [1] Novis DA, Walsh M, Wilkinson D, et al. Laboratory productivity and the rate of manual peripheral blood smear review-a College of American Pathologists Q-Probes study of 95,141 complete blood count determinations performed in 263 institutions[J]. Arch of Pathol and Lab Med, 2006, 130(5):596-601.
- [2] Barnes PW, McFadden SL, Machin SJ, et al. The International consensus group for hematology review; suggested criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis[J]. Lab Hematol, 2005, 11(12):83-90.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI). Reference leukocyte (WBC) differential count (proportional) and evaluation of instrumental methods; Approved Standard Second Edition. H20-A2 [M]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2007.
- [4] Simson E, Gascon-Lema MG, Brown DL. Performance of automated slidemakers and stainers in a working laboratory environment-routine operation and quality control[J]. Int J Lab Hematol, 2009, 32(1):e64-e76.
- [5] Bron JW, Jellema G, Noordervliet R, et al. Improved performance of the automated slide preparation unit, Sysmex SP-100[J]. Sysmex J Inter, 2000, 10:71-76.
- [6] Pawlick G, Relopez J. Kaiser permanente interlaboratory abnormal cell study comparing slide quality of the Sysmex SP-100 automated slide preparation unit to manual technique[J]. Sysmex J Inter, 2000, 10:26-29.
- [7] Benattar L, Flandrin G. Comparison of the classical manual pushed wedged films, with an improved automated method for making blood smears[J]. Hematol Cell Ther, 1999, 41(5):211-215.
- [8] Brown W, Keeney M, Hedley BD. Initial performance evaluation of the UniCel? DxH slide maker/stainer Coulter? cellular analysis system[J]. Int J Lab Hematol, 2014, 36(2):172-183.
- [9] De Bitencourt ED, Voegeli CF, Onzi Gdos S, et al. Validation of the Sysmex sp-1000i automated slide preparer-stainer in a clinical laboratory[J]. Rev Bras Hematol Hemoter, 2013, 35(6):404-408.

(收稿日期:2014-08-02 修回日期:2014-10-14)

(上接第 675 页)

- [7] 丁玲,马景丽,周琴,等.叶酸对人宫颈癌细胞增殖抑制的作用及其与 HPV16 相互关系的研究[J]. 卫生研究, 2013, 42(5):748-753.
- [8] 陈芳,王金桃,丁玲,等.叶酸及其代谢相关的还原型叶酸载体、甲硫氨酸合成酶还原酶基因多态性与子宫颈癌关系的研究[J]. 肿瘤研究与临床, 2013, 25(7):437-440.

- [9] 聂小凤,许榕仙,李健,等.叶酸与相关因素的交互作用对宫颈癌的影响[J]. 中国妇幼保健, 2014, 29(1):106-109.
- [10] 何芳,杨慧娟.生活方式、膳食习惯、血清叶酸水平与宫颈癌的相关性调查[J]. 中国现代医生, 2014, 52(12):142-144.

(收稿日期:2014-08-16 修回日期:2014-10-16)