

ICS

点击此处添加中国标准文献分类号

团 体 标 准

T/CVMA XXXXX—XXXX

细胞学样本采集及涂片制备技术规范

Technical specification for acquisition and preparation of cytology
specimen

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

中国兽医协会 发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 术语和定义、缩略词	1
3 样本采集和涂片制备	1
4 涂片染色	3
5 注意事项	3
附 录 A（规范性附录）瑞氏-姬姆萨染色	4
附 录 B（规范性附录）迪夫快速染色	5
附 录 C（规范性附录）Diff-Quik 染色	7

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由北京中农大动物医院有限公司提出。

本标准由中国兽医协会归口。

本标准起草单位：北京中农大动物医院有限公司、启晟（天津）宠物医院管理有限公司、中国农业大学、北京小动物诊疗行业协会。

本标准主要起草人：刘洋、李浩运、陈艳云、夏兆飞、吕艳丽、黄薇。

中国兽医协会
CVMA

细胞学样本采集及涂片制备技术规范

1 范围

本标准规定了兽医细胞学样本采集、涂片制备、染色的操作方法及注意事项。

本标准适用于兽医诊疗机构及其兽医工作人员对动物或活检组织进行细胞学样本的采集和处理。

2 术语和定义、缩略词

下列术语和定义、缩略词适用于本文件。

2.1

细胞学

细胞学是研究所获样本中细胞类型、数量和形态，并为临床兽医提供诊断信息的学科。

2.2 FNA

Fine needle aspiration, 细针抽吸

2.3 FNB

Fine needle biopsy, 细针活检

3 样本采集和涂片制备

3.1 操作前准备

3.1.1 材料准备

晾片板、载玻片、盖玻片、6~12mL注射器、20~23G针头、无菌拭子、酒精棉、干棉球、纱布、铅笔、钝手术刀片、电推剪。

3.1.2 操作人员准备

操作人员应：

- a) 核对病例及病变信息。
- b) 将6~10张表面洁净、干燥、无油脂或杂质的载玻片平摊在晾片板上备用。
- c) 将注射器和针头拆开包装，连接针头与注射器，松弛针帽后备用。

3.1.3 动物准备

若从动物采集细胞学样本，则操作人员应为动物做好下述准备：

- a) 操作人员确认病例及病变信息。

- b) 根据采样部位选择保定姿势对动物进行保定；若动物不配合或待采样的部位操作受限，可对动物镇静或麻醉后进行采样
- c) 采样部位剃毛，酒精棉消毒
- d) 若病变处破溃或有大量渗出，用纱布清理多余分泌物。

3.1.4 活检样本准备

可对活检样本进行细胞学采样，准备事项如下：

- a) 操作人员核对活检样本信息。
- b) 最大直径 $\leq 1\text{cm}$ 的样本，可用纱布沾取表面多余组织液后采样；最大直径 $> 1\text{cm}$ 的活检样本，应切开但不切断组织，切成 1cm 厚的“吐司”样组织片，用纱布沾取表面多余液体后采样。

3.2 样本采集和涂片制备

3.2.1 FNA

以下操作方法以右利手操作人员为例，其他人员可根据个人习惯调整：

- a) 左手固定病变或进针位置。
- b) 右手持连接针头的注射器，移除针帽后，中指或无名指控制注射器针栓。
- c) 将针头刺入目标位置后，保持针头位置，右手中指或无名指向外拉针栓，使注射器形成 $1\sim 2\text{mL}$ 负压。
- d) 在保持负压且针头不离开病变的情况下，将针头朝不同方向来回移动 $8\sim 10$ 次，或在针头中观察到样本即可停止。
- e) 保持针头在病变内，释放负压后，拔出针头和注射器，用干棉球按压进针位置。
- f) 分离针头和注射器，将注射器抽入空气后，再次连接针头和注射器，推动针栓，将注射器内样本转移至载玻片上。若针头内样本较多，可转移至多张洁净的载玻片上。
- g) 若载玻片上的样本较多，可另取一张载玻片，十字交叉置于前一载玻片和样本之上，待样本完全散开之前，水平移动第二张载玻片，细胞学样本即可均匀而分散地分布于载玻片表面。
- h) 若载玻片上的样本较少，可用注射器针尖将样本沿多个方向划拨。
- i) 若样本为液体，可另取一张盖玻片，与载玻片保持 $30\sim 45^\circ$ 夹角，其边缘从远离样本的位置靠近并接触样本，此时，样本会沿盖玻片边缘散开，然后迅速而平稳地向远端推动盖玻片，直至样本完全在载玻片表面散开，亦可在载玻片全长 $1/2\sim 2/3$ 处将盖玻片抬起。

3.2.2 FNB

以下操作方法以右利手操作人员为例，其他人员可根据个人习惯调整：

- a) 左手固定病变或进针位置。
- b) 右手持连接针头的注射器，不向注射器施加负压。
- c) 保持针头在病变内，将针头朝不同方向来回移动 $8\sim 10$ 次，或在针头中观察到样本即可停止。
- d) 拔出针头和注射器，用干棉球按压进针位置。
- e) 分离针头和注射器，将注射器抽入空气后，再次连接针头和注射器，推动针栓，将注射器内样本转移至载玻片上。
- f) 同 3.2.1g)、h)、i)。

3.2.3 棉拭子采样

将无菌棉拭子在病变表面旋转涂抹,之后将拭子上的样本通过在载玻片表面滚动的方式转移到载玻片上。

3.2.4 刮片采样

用纱布沾取表面多余组织液或渗出液后,用钝手术刀片垂直于组织表面刮取3~5次,将刀片上获得的样本涂抹至载玻片上,若样本较多,可按照3.2.1g)进行操作。

3.2.5 压印采样

用纱布沾取组织或病变表面多余的液体,直至其近乎干燥。将洁净的载玻片按压于组织或病变表面,即可有部分样本粘附于载玻片上。

4 涂片染色

可采用罗曼诺夫斯基方法对细胞学涂片进行染色,具体操作见附录A、B和C。

5 注意事项

5.1 采样方法的选择

通常可对同一组织或病变采用多种采样方式,应根据采样部位、动物配合程度、病变大小和性质确定采样方法。优先选用FNA或FNB,其中,对于易出血或细胞易破碎的组织或病变优先选用FNB;窦道、阴道等腔隙优先选择棉拭子采样。

5.2 采样及制片数量

眼观明显不同的病变应分别采样和制片。同一病变从不同位置进行2~3样本采集。每处病变至少获得2~4张涂片。

5.3 获取具有代表性的样本

采样时应避开病变表面破溃处和中央区域。若FNA或FNB采样过程中观察到针头中出现血液,则立即停止采样并尽快制备涂片。某些病变难以获得细胞样本,不建议进行细胞学诊断。

5.4 保持细胞完整性

避免样本采集时力度过大或反复采样;避免涂片制备时施力过大。

附录 A
(规范性附录)
瑞氏-姬姆萨染色

A.1 准备材料

涂片样本、瑞氏-姬姆萨染液、磷酸盐缓冲液、洗耳球、染色架、计时器、吸水纸、去离子水或蒸馏水。

A.2 操作步骤

瑞氏-姬姆萨染色的操作步骤如下：

- a) 将风干涂片水平置于染色架上，有样本的一面朝上。
- b) 滴加瑞氏-姬姆萨染液，使其完全覆盖涂片，染色 1min。
- c) 滴加磷酸盐缓冲液，其体积约为瑞氏-姬姆萨染液的 2~3 倍，用洗耳球将二者充分混匀，染色 3~10min。
- d) 用去离子水或蒸馏水冲洗涂片，直至冲净染液。
- e) 将涂片倾斜放置于吸水纸上，自然晾干；或用吹风机冷风吹干。

A.3 注意事项

染色时须注意：

- a) 涂片样本应完全风干。
- b) 根据涂片厚薄、有核细胞数量多少及环境温度调整染色时间，涂片厚、有核细胞数量多及环境温度低时，可适当延长染色时间。
- c) 滴加的染液量应充足，避免染液蒸发导致染料沉淀物附着于涂片上。
- d) 染液应新鲜或定期过滤，避免形成染料沉淀物妨碍涂片观察。
- e) 不可用吸水纸覆盖在涂片上吸取水分。
- f) 不同厂家生产的染色时间稍有不同，以产品说明为准。

附 录 B
(规范性附录)
迪夫快速染色

B.1 滴染法

B.1.1 准备材料

涂片样本、迪夫A液、迪夫B液、磷酸盐缓冲液、洗耳球、染色架、计时器、吸水纸、去离子水或蒸馏水。

B.1.2 操作步骤

迪夫染色滴染法操作步骤如下：

- a) 将风干涂片水平置于染色架上，有样本的一面朝上。
- b) 滴加迪夫 A 液，使其完全覆盖涂片，染色 20~30s。
- c) 用磷酸盐缓冲液将涂片上的 A 液冲净，并将涂片上多余的液体倾倒掉。
- d) 滴加迪夫 B 液，使其完全覆盖涂片，染色 20~30s。
- e) 用去离子水或蒸馏水冲洗涂片，直至冲净染液。
- f) 将涂片倾斜放置于吸水纸上，自然晾干；或用吹风机冷风吹干。

B.1.3 注意事项

采用滴染法进行迪夫染色时的注意事项同附录A.3。

B.2 浸染法

B.2.1 准备材料

涂片样本、迪夫A液、迪夫B液、磷酸盐缓冲液、洗耳球、染色缸、计时器、吸水纸、去离子水或蒸馏水。

B.2.2 操作步骤

迪夫染色浸染法操作步骤如下：

- a) 将迪夫 A 液、B 液和磷酸盐缓冲液分别置于染色缸内。
- b) 将风干涂片的样本部分完全浸入迪夫 A 液中，小幅度上下移动玻片，浸染 20~30s。
- c) 将涂片从 A 液中取出，在染缸边缘拭去多余染液。
- d) 将涂片样本部分完全浸入磷酸盐缓冲液中，小幅度上下移动玻片 8~10 次。
- e) 将涂片从磷酸盐缓冲液中取出，在染缸边缘拭去多余液体。
- f) 将涂片样本部分完全浸入迪夫 B 液中，小幅度上下移动玻片，浸染 20~30s。
- g) 将涂片从 B 液中取出，在染缸边缘拭去多余染液，并用流动的去离子水或蒸馏水冲洗干净。
- h) 将涂片倾斜放置于吸水纸上，自然晾干；或用吹风机冷风吹干。

B.2.3 注意事项

采用浸染法进行迪夫染色时，应注意：

- a) 涂片内有易脱落的成分时，应避免采用浸染法染色。
- b) 染缸内的染液可重复利用，但易造成涂片样本污染，应定期更换。
- c) 同附录 A.3 的 a)、b)、e) 和 f)。

中国兽医协会
CVMA

附 录 C
(规范性附录)
Diff-Quik 染色

C.1 准备材料

涂片样本、Diff-Quik染液套组、洗耳球、染色缸、计时器、吸水纸、去离子水或蒸馏水。

C.2 操作步骤

Diff-Quik染色的操作步骤如下：

- a) 将 Diff-Quik 染液套组中的 A、B、C 液分别置于染色缸内。
- b) 将风干涂片的样本部分浸入 A 液，小幅度上下移动玻片，固定 10~20s。
- c) 将固定后的涂片依次浸入 B 液和 C 液，各染色 5~10s，染色时可小幅度上下移动玻片。
- d) 用流动的去离子水或蒸馏水将染液冲洗干净；或将玻片置于含去离子水或蒸馏水的容器中，轻柔晃动玻片，以洗去染液。
- e) 将涂片倾斜放置于吸水纸上，自然晾干；或用吹风机冷风吹干。

C.3 注意事项

采用Diff-Quik染色时的注意事项同附录B.2.3。
