

• 论 著 •

RAL-STAINER 自动染色仪对抗酸染色的性能评估^{*}

徐阳颺,李志夫,赵越薇,李富升,娄加陶[△]
(上海交通大学附属胸科医院检验科,上海 200030)

摘要:目的 评估 RAL-STAINER 自动染色仪对抗酸染色的性能。方法 收集标本,分别进行手工抗酸染色和仪器抗酸染色,评价自动染色仪的染色效果的合格率与手工染色的染色结果的一致率、仪器染色的重复性、与室间质评预期结果的符合率、交叉污染和工作性能等。结果 RAL-STAINER 自动染色仪对各类标本抗酸染色背景基本无杂质,细菌和细胞色泽鲜明、结构清楚,染色效果的合格率为 100%。自动染色仪与手工抗酸染色一致率为 100%。仪器染色的重复性为 100%。使用自动染色仪,两次室间质评结果均 100% 符合预期。自动染色仪批量染色时,无交叉污染。自动染色仪操作简便、通量高、染色效果稳定、生物安全性好。结论 RAL-STAINER 自动染色仪对抗酸染色的性能较好。

关键词: RAL-STAINER; 微生物; 染色仪; 抗酸染色; 性能评估

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.01.014

中图法分类号: R446.5

文章编号: 1673-4130(2020)01-0053-03

文献标识码: A

Evaluation of performance of gram staining for various clinical microbiological specimens using RAL-STAINER automatic staining instrument^{*}

XU Yangyang, LI Zhifu, ZHAO Yuewei, LI Fusheng, LOU Jiatao[△]
(Department of Clinical Laboratory, Shanghai Chest Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200030, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the performance of RAL-STAINER automatic colorimeter in gram staining. **Methods** The samples were collected for manual and instrumental gram staining to evaluate the qualification rate of automatic staining instrument, the consistency rate with the results of manual staining, the repeatability of instrumental staining, the consistency rate with the expected results of external quality assessment, cross contamination and working performance. **Results** The results showed that RAL-STAINER had no impurity in the background of gram staining, bacteria and cells had bright color and clear structure, and the qualified rate of staining effect was 100%. The consistency of automatic staining instrument and manual gram staining instrument was 100%. The repeatability of staining was 100%. Using the automatic staining instrument, the results of the two external quality assessments were 100% in line with the expectation. There was no cross contamination in batch staining with automatic colorimeter. The automatic staining instrument has the advantages of simple operation, high flux, stable staining effect and good biological safety. **Conclusion** The performance of RAL-STAINER is relatively good for gram staining.

Key words: RAL-STAINER; microbiology; staining instrument; gram staining; performance evaluation

抗酸染色镜检是检验分枝杆菌的重要方法^[1-2], 长期以来依靠手工染色。手工染色效果的稳定性欠佳, 建立标准操作规程难以从根本上消除人员之间的差异, 容易造成结果的误判, 且不利于实验室生物安全^[3-4]。近年来, 随着微生物检验技术呈现自动化的趋势, 微生物自动染色仪受到了广泛的关注^[5-7], 声称

具有标准化、自动化、效率高、污染小等特点。本研究拟评估 RAL-STAINER 自动染色仪对微生物标本抗酸染色的性能。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2017 年 1—12 月本院检验科微生物室收到临床样本和质控片。痰和支气管冲洗

^{*} 基金项目: 上海市胸科医院多学科协同临床研究创新项目(YJXT20190201)。

作者简介: 徐阳颺, 女, 技师, 主要从事临床检验方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: loujiatao@126.com。

本文引用格式: 徐阳颺, 李志夫, 赵越薇, 等. RAL-STAINER 自动染色仪对抗酸染色的性能评估[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(1): 53-

液涂片 83 例(其中痰阴性 20 例、阳性 29 例;支气管冲洗液阴性 20 例、阳性 14 例)、分枝杆菌培养物涂片 30 例(其中阴性 20 例、阳性 10 例)、室内质控片 20 张(上海市临检中心抗酸染色室内质控片)、室间质评片 10 张(上海市临检中心 2017 年第一次和第二次结核菌涂片室间质评项目)。

1.2 仪器与试剂 RAL-STAINER 自动染色仪(RAL DIAGNOSTICS)、KIT RAL-STAINER Cold ZN 抗酸染色试剂盒(RAL DIAGNOSTICS)、快速抗酸染色液(冷染法,珠海贝索)、BBL MGIT 分枝杆菌培养管(BD)。

1.3 方法

1.3.1 染色前处理 痰和支气管冲洗液样本经消化、浓缩、集菌处理后,弃去上清,将沉淀涂至玻片,干燥固定,紫外线消毒 30 min 后染色。质控片固定 5 min 后染色。吸取分枝杆菌培养物至玻片并加血清固定,干燥后,紫外线消毒 30 min 后染色。

1.3.2 染色 手工法抗酸染色按照《临床微生物检验标准化操作(第三版)》^[8]进行,仪器法抗酸染色按照原厂说明书进行。

1.3.3 镜检 在普通光学显微镜下观察各类抗酸染色片的片膜完整程度、全片染色均匀程度、染色色泽、染料沉渣情况、鉴别特征(背景中的细胞和抗酸阴性细菌的颜色、抗酸杆菌的颜色和形态)等。并按照《临床微生物检验标准化操作(第三版)》^[8]进行抗酸杆菌计数。

1.3.4 评估内容和结果判断 (1)染色效果的合格率:片膜完整、全片染色均匀、染色色泽鲜明、染料沉渣很少、鉴别特征明显(背景中的细胞和抗酸阴性细菌呈蓝色,抗酸杆菌呈粉红色并能观察到不同形态)。此为合格标准。(2)染色结果的一致率:手工法与仪器法的染色结果,抗酸杆菌计数可以上下浮动一个加(分枝杆菌培养物涂片不算加号幅度),阴性不能为阳性,阳性不能为阴性。此为一致标准。(3)仪器染色的重复性:分别选取各类标本阴性、阳性各 1 例,重复涂片 10 张并用仪器染色,观察每例标本重复染色的结果。每例标本的 10 张涂片染色结果的一致率≥80%,表示仪器染色的重复性合格。(4)与室间质评预期结果的符合率:两次室间质评结果分别≥80%符

合预期为符合。(5)交叉污染和工作性能。对痰和支气管冲洗液涂片、分枝杆菌培养物涂片评估(1)、(2)、(3)、(5),对室内质控片评估(1),对室间质评片评估(1)、(4)。

2 结 果

2.1 染色效果的合格率 RAL-STAINER 自动染色仪对痰和支气管冲洗液涂片、分枝杆菌培养物涂片、室内质控片、室间质评片进行抗酸染色,所有涂片片膜完整、全片染色均匀、染色色泽鲜明、染料沉渣很少、鉴别特征明显(背景中的细胞和抗酸阴性细菌呈蓝色,抗酸杆菌呈粉红色并能观察到不同形态)。各类涂片染色效果的合格率为 100%。

2.2 染色结果的一致率 RAL-STAINER 自动染色仪对痰和支气管冲洗液涂片、分枝杆菌培养物涂片抗酸染色结果的一致率均为 100%,见表 1、2。

表 1 RAL-STAINER 自动染色仪对痰和支气管冲洗液涂片抗酸染色结果的一致率

项目	痰		支气管冲洗液	
	手工法	仪器法	手工法	仪器法
未找到抗酸杆菌(<i>n</i>)	20	20	20	20
找到抗酸杆菌 1~9 条(<i>n</i>)	3	3	3	4
找到抗酸杆菌+(<i>n</i>)	10	10	6	3
找到抗酸杆菌++(<i>n</i>)	6	6	1	1
找到抗酸杆菌+++(<i>n</i>)	5	5	3	1
找到抗酸杆菌++++(<i>n</i>)	5	5	1	1
染色结果一致率(%)	100		100	

表 2 RAL-STAINER 自动染色仪对分枝杆菌培养物涂片抗酸染色结果的一致率

项目	手工法	仪器法
分枝杆菌未生长(<i>n</i>)	20	20
分枝杆菌生长(<i>n</i>)	10	10
染色结果一致率(%)	100	

2.3 仪器染色的重复性 RAL-STAINER 自动染色仪对痰和支气管冲洗液涂片、分枝杆菌培养物涂片抗酸染色结果的重复性均为 100%,见表 3。

表 3 RAL-STAINER 自动染色仪对痰和支气管冲洗液涂片、分枝杆菌培养物涂片抗酸染色结果的重复性

标本种类	预期结果	结果	一致率(%)
痰涂片	未找到抗酸杆菌	10 份玻片均未找到抗酸杆菌	100
	找到抗酸杆菌(4+)	10 份玻片均找到抗酸杆菌(4+)	100
支气管冲洗液涂片	未找到抗酸杆菌	10 份玻片均未找到抗酸杆菌	100
	找到抗酸杆菌(1+)	10 份玻片均找到抗酸杆菌(1+)	100
分枝杆菌培养物涂片	分枝杆菌未生长	10 份玻片均为分枝杆菌未生长	100
	分枝杆菌生长	10 份玻片均为分枝杆菌生长	100

2.4 与室间质评预期结果的符合率 RAL-STAINER 自动染色仪对两次室间质评片抗酸染色的结果与预期结果的符合率均为 100%，见表 4。

2.5 交叉污染 RAL-STAINER 自动染色仪批量染色时，无交叉污染。

表 4 RAL-STAINER 自动染色仪对室间质评片的抗酸染色结果

样本号	预期结果	仪器法
TB201711	抗酸杆菌阳性(1+)	抗酸杆菌阳性(1+)
TB201712	抗酸杆菌阳性(2+)	抗酸杆菌阳性(2+)
TB201713	抗酸杆菌阳性(3+)	抗酸杆菌阳性(3+)
TB201714	抗酸杆菌阴性	抗酸杆菌阴性
TB201715	抗酸杆菌阴性	抗酸杆菌阴性
TB201721	抗酸杆菌阴性	抗酸杆菌阴性
TB201722	抗酸杆菌阳性(2+)	抗酸杆菌阳性(2+)
TB201723	抗酸杆菌阳性(3+)	抗酸杆菌阳性(3+)
TB201724	抗酸杆菌阳性(4+)	抗酸杆菌阳性(4+)
TB201725	抗酸杆菌阴性	抗酸杆菌阴性
符合率(%)	100	

2.6 工作性能 RAL-STAINER 自动染色仪抗酸染色与手工抗酸染色相比，操作更简便、通量更高、染色效果更稳定、人员效率更高、生物安全性更好。另外，该染色仪还具有程序可优化、无交叉污染、占空间小、质量可溯源等特点。

3 讨 论

传统的抗酸染色采用手工方法，影响因素较多，人员间容易存在差异。尤其是染液量、染色时间、冲洗水量与速度、脱色液脱色程度的判断等细节存在人为的不稳定因素，偶尔甚至会漏加、错加试剂，造成不必要的麻烦。手工染色需要连续操作，在大样本量的情况下，需要占用人员连续的工作时间，人员活动度小，整体工作效率不高。另外，染色过程中试剂挥发或形成气溶胶对人体和环境伤害较大，不利于实验室生物安全。

RAL-STAINER 自动染色仪采用原装配套抗酸染色试剂盒，具有质量溯源性。采用自动化浸泡式染色程序，抗酸染色试剂第一液位固定液，可防止片膜脱落和交叉污染。共 2 个样本装卸区，一次最多可供 20 张玻片批量染色。其高通量、快速染色的特点对于大样本量的情况尤其具有优越性。仪器内部集成了风扇，染色后自动烘干玻片。系统全封闭，除更换试剂外无需再接触试剂。配有废液容器和活性炭过滤器，减少了试剂挥发和气溶胶形成对人体和环境的伤害。染色过程全自动，节约了人员，提高了工作效率。体积小巧，不占空间。

本研究评估了 RAL-STAINER 自动染色仪对微生物标本抗酸染色的性能。痰和支气管冲洗液是抗

酸染色送检的主要标本类型。结果表明，该仪器对痰和支气管冲洗液涂片、分枝杆菌培养物涂片、室内质控片、室间质评片进行抗酸染色，各类涂片染色效果的合格率高。仪器法和手工法对痰和支气管冲洗液涂片、分枝杆菌培养物涂片抗酸染色结果的一致率高。仪器染色重复性好，有助于减少人为误差。采用该仪器对室间质评片进行抗酸染色，结果与预期结果完全符合。痰和支气管冲洗液为浓缩集菌后的涂片、分枝杆菌培养物为从液体培养基中吸取的物质进行涂片、室内质控片和室间质评片为直接痰涂片，染色仪对于几种涂片方式都具有良好而稳定染色效果。

当然，RAL-STAINER 自动染色仪也具有一定的局限性。由于其系统开放性小，需要采用配套原装试剂，成本相对较高。耗材的定期和按需更换(如过滤器、蠕动泵皮条等)有助于维持仪器正常的生物安全和排废功能。感应器功能的稳定有赖于定期的清洁和维护保养。配套玻片架夹取的玻片厚度应适宜，以防架齿松动使玻片掉落。排水管出口或废液桶高度最好低于仪器，以便形成高度差后顺利排水，对空间有一定要求。偶见机械臂故障，需要复位后，根据实际染色进程设置新的染色程序，完成后续染色工序。至于本研究的局限，在今后的研究中增加标本来源和标本量可能有助于提高统计学意义。

4 结 论

RAL-STAINER 自动染色仪操作简便、染色程序标准化、通量高、染色效果稳定、无交叉污染，对微生物标本抗酸染色有良好的工作性能，有利于提高工作效率和保护生物安全。

参考文献

[1] 张登才,刘斌,张丽华,等. 抗酸染色在结核病病理诊断中的价值[J]. 中国防痨杂志, 2014, 36(4): 274-278.

[2] 杨松,张耀亭,林素梅. 抗酸染色对肺结核的诊断价值[J]. 临床肺科杂志, 2007, 12(4): 328-329.

[3] 陈华根,陈宇宁,刘冰,等. 抗酸染色技术在结核病诊断中的应用[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(21): 2782-2783.

[4] 金浩龙,陈志谨,熊昆,等. 萘-尼染色导致的总挥发性有机物污染及其控制方法[J]. 第三军医大学学报, 2017, 39(14): 1481-1482.

[5] 李颖,陈欣欣,赵颖,等. 全自动智能染色机对临床微生物标本染色性能的评估[J]. 中国防痨杂志, 2017, 39(3): 260-264.

[6] 戴芸,张珏,乔昀. 手工法和全自动机器发查找结核杆菌效果比较[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(23): 3558-3559.

[7] 黎敏,张峰领,王浚霖,等. 全自动革兰染色仪应用效果评价[J]. 重庆医学, 2013, 42(36): 4445-4446.

[8] 周庭银,倪语星,胡继红,等. 临床微生物检验标准化操作(ISO15189 认可指导书)[M]. 3 版. 上海: 科学技术出版社, 2015: 501-502.