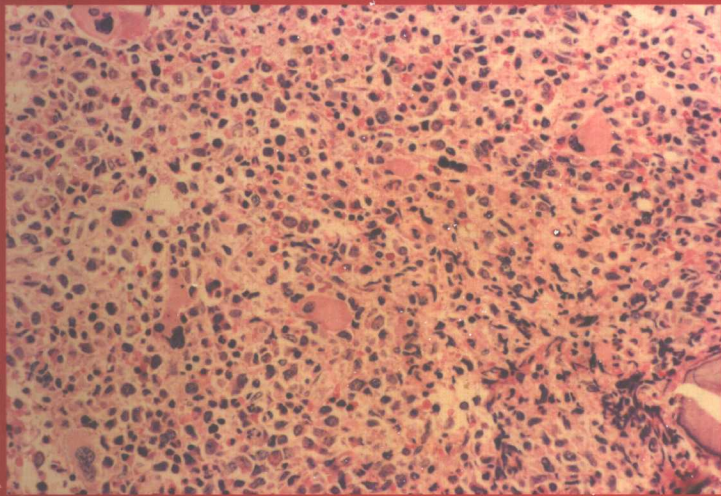


# 血液病骨髓组织病理学 彩色图谱



浦 权 编著  
杨梅如

THE COLOUR ATLAS OF  
HISTOLOGICAL  
PATHOLOGY OF BONE MARROW IN  
HEMATOLOGICAL DISORDERS

上海科学技术文献出版社

# 血液病骨髓组织病理学彩色图谱

The Colour Atlas of Histological Pathology of Bone Marrow  
in Hematological Disorders

浦 权 杨梅如 编著

上海科学技术文献出版社

责任编辑: 沈美新  
装帧设计: 徐 利

血液病骨髓组织病理学彩色图谱  
浦 权 杨梅如 编著

\*

上海科学技术文献出版社出版发行  
(上海市武康路2号 邮政编码 200031)  
全国新华书店经销  
上海界龙印刷装订厂印刷

\*

开本 787x1092 1/16 印张 14.5 字数 361000  
2000年1月第1版 2000年1月第1次印刷  
印数: 1-2100  
ISBN 7-5439-1427-1/R·373  
定价: 220.00 元

## 内 容 简 介

骨髓活检是近十多年来取得了突破性进展的一门技术。本书分上、中、下三篇。上篇为血液病骨髓组织病理学概述，介绍了骨髓活检标本的制作方法，特别是塑料包埋技术和定量组织学方法更具先进性和临床实用价值。中篇为骨髓塑料包埋切片免疫酶标检测新技术，系统阐明了塑料包埋切片内进行免疫组织化学检测的理论、免疫学基础、方法学和具体实践的一些体会，填补了国内这一领域的空白。下篇为图谱部分，每帧彩图组织与细胞形态清晰，切片免疫标记色泽调和鲜艳，具有典型性和代表性。标本均为作者多年临床实践所积累，其中收集的一组“骨髓增生异常综合征”的切片及其文字说明更具有独到之处。

# 前 言

骨髓活组织检查是血液病诊断工作中的一项专门技术。随着80年代初活检标本制作方法的改良，特别是塑料包埋常染色和免疫组织化学染色新技术的应用，外加组织形态测量技术的逐步建立，使骨髓活检取得了飞速的发展。可以这样说，现代血液病的骨髓检验，单凭涂片进行骨髓像的分析是非常不全面的，只有依赖涂片细胞形态与塑料包埋切片组织病理相结合，必要时再外加切片免疫酶标检测间的密切配合，相互补充，才能真正提高临床血液病的诊断水平。为促进此项技术的普及与推广，作者自1987年起，除先后出版了两本骨髓病理学专著，有计划地着手进行这一领域的开拓性系列研究工作外，又于1988年起相继举办了六期全国性“骨髓活组织的检查与诊断”学习班。为了配合教学的需要，以及弥补当时缺乏该专题图谱之不足，遂于1990年1月出版了《血液病骨髓组织病理学彩色图谱》第一版。自该书首版问世以来，骨髓活检塑料包埋，尤其是塑料包埋切片内免疫表型检测新技术均已取得了一定进展，首版内容已不能适应当前形势发展的要求。

近些年来，由于塑料包埋过程中出现的高温和遮蔽现象已能通过一些有效途径加以克服，使得可在同一活检块切割之切片上同步进行常染色和免疫组织化学染色的联检，显著提高了骨髓活检塑料包埋切片在血液病临床诊断中的应用价值。鉴于广大读者以及各期学习班学员的建议与鼓励，也由于我院主办的“骨髓活检塑料包埋与病理诊断新技术培训班”在1996年9月曾被卫生部继续医学教育委员会正式批准列为“国家级继续医学教育项目”，而本书计划作为该培训班的教材之一。由于图谱首版早已售缺，遂决定增补中篇“血液病骨髓塑料包埋切片免疫组织化学检测新技术”，以及在下篇中增补“骨髓塑料包埋切片免疫组织病理形态学彩图”60余帧后再次出版。期望能为此项技术的发展起到抛砖引玉的作用。

本图谱全部选用著者近些年来所诊断并积累的各种血液病患者塑料包埋半薄切片标本，每幅均由著者亲自在高性能光学显微镜下彩色摄影而成。组织与细胞形态逼真，切片免疫标记色泽调和鲜艳。在本图谱的编写过程中，邓梅英、张子祥、陶英和刘蕙芝等诸位医师曾协助精心制作切片标本，在此致以衷心的感谢。

限于著者才疏学浅，经验不多，内容也欠全面，肯定存在不少缺点与不足，敬希读者批评指正，幸甚！

浦 权

于上海市第六人民医院

上海第二医科大学市六临床医学院

1998年5月

# 目 录

## 上篇 血液病骨髓组织病理学概述

<b>第一章 骨髓针刺活检之施术与取材</b> .....	(3)
一、活检针 .....	(3)
二、取材方法 .....	(3)
三、关于抽吸与活检同时取材问题 .....	(4)
<b>第二章 骨髓活组织标本的制备技术</b> .....	(4)
一、固定 .....	(4)
二、脱水 .....	(5)
三、塑料包埋 .....	(5)
四、切片与制片 .....	(6)
五、骨髓活检标本制备程序举例 .....	(6)
<b>第三章 常用染色技术</b> .....	(7)
一、Giemsa 染色 .....	(7)
二、May-Grünwald Giemsa (MGG)染色 .....	(8)
三、苏木素-Giemsa-酸性品红(HGF)染色 .....	(9)
四、苏木素-伊红(HE)染色 .....	(9)
五、Gomori 网状纤维染色 .....	(10)
六、Masson 胶原纤维三色染色 .....	(11)
七、铁染色 .....	(12)
八、改良刚果红淀粉样物质染色 .....	(13)
<b>第四章 正常骨髓的组织形态学</b> .....	(14)
一、造血组织 .....	(14)
二、骨质 .....	(14)
三、间质 .....	(15)
<b>第五章 骨髓组织形态测量技术</b> .....	(16)
一、活检切片中单位面积的计算方法 .....	(16)
二、Chalkley 计点法 .....	(17)
三、网形测微器计点法 .....	(17)
四、骨髓增生程度判定标准 .....	(18)
<b>第六章 骨髓活检切片中血细胞的形态学特点</b> .....	(18)
一、切片与涂片内血细胞形态的比较 .....	(18)
二、切片内各系列血细胞的形态 .....	(19)
<b>第七章 骨髓活检切片中血细胞的分类计数法</b> .....	(21)

一、概述 .....	(21)
二、目测分区血细胞分类计数法 .....	(22)
三、测微器分区血细胞分类计数法 .....	(22)
<b>第八章 骨髓活检报告 .....</b>	<b>(22)</b>
中篇 血液病骨髓塑料包埋切片免疫组织化学检测新技术	
<b>第一章 概论 .....</b>	<b>(29)</b>
<b>第二章 白细胞分化抗原的分类 .....</b>	<b>(30)</b>
<b>第三章 正常血细胞的表型发育 .....</b>	<b>(37)</b>
一、正常髓细胞系细胞的表型发育 .....	(38)
二、正常淋巴细胞系细胞的表型发育 .....	(39)
<b>第四章 急性白血病的免疫表型 .....</b>	<b>(41)</b>
一、急性白血病免疫表型的分类 .....	(41)
二、急性白血病骨髓残余病变的检测 .....	(44)
<b>第五章 慢性白血病的免疫表型 .....</b>	<b>(45)</b>
一、慢性髓性白血病及其相关疾病 .....	(45)
二、慢性 B 淋巴细胞白血病及其相关疾病 .....	(46)
三、慢性 T 淋巴细胞白血病及其相关疾病 .....	(48)
<b>第六章 骨髓塑料包埋切片免疫组织形态学 .....</b>	<b>(50)</b>
一、切片免疫标记检测的临床意义 .....	(50)
二、切片免疫标记检测的原理 .....	(52)
三、切片免疫酶标染色注意事项 .....	(53)
<b>第七章 简易 Hemapun 959 塑料包埋切片免疫标记技术 .....</b>	<b>(53)</b>
一、Hemapun 959 配方 .....	(54)
二、固定与包埋 .....	(54)
三、免疫组织化学染色 .....	(54)
<b>第八章 Hemapun 948 冷包埋切片免疫标记技术 .....</b>	<b>(56)</b>
一、Hemapun 948 配方 .....	(57)
二、固定与包埋 .....	(57)
三、免疫组织化学染色 .....	(58)
<b>第九章 骨髓活检切片免疫组织化学检验报告 .....</b>	<b>(59)</b>
<b>第十章 骨髓切片免疫组织形态学的研究及其临床应用 .....</b>	<b>(62)</b>
一、切片上微巨核细胞的识别 .....	(63)
二、切片巨噬细胞免疫组织形态学的研究 .....	(64)
三、切片 $\beta$ -转移生长因子( $\beta$ -TGF)的局部定位 .....	(64)
四、切片增殖细胞核抗原(PCNA)表达的研究 .....	(65)
五、CD34 免疫组织化学染色在 MDS 预后预测中的意义 .....	(65)
六、使用免疫组织化学技术提高骨髓切片癌细胞检出率 .....	(66)
七、AML 骨髓切片 c-myc 基因表达的研究 .....	(66)

## 下篇 血液病骨髓组织病理彩色图谱

一、骨髓组织形态测量法 .....	(71)
二、正常骨髓的组织形态学 .....	(73)
三、骨髓增生异常的组织形态学 .....	(96)
四、骨髓基质、血管及骨小梁改变的组织形态学 .....	(104)
五、骨髓切片内含铁血黄素的形态 .....	(113)
六、贫血的骨髓组织病理形态学 .....	(117)
七、白血病的骨髓组织病理形态学 .....	(127)
八、其它骨髓增生性疾病的骨髓组织病理形态学 .....	(165)
九、淋巴增生性疾病的骨髓组织病理形态学 .....	(182)
十、骨髓转移癌的骨髓组织病理形态学 .....	(193)
十一、骨髓塑料包埋切片免疫组织病理形态学 .....	(197)



# 上 篇

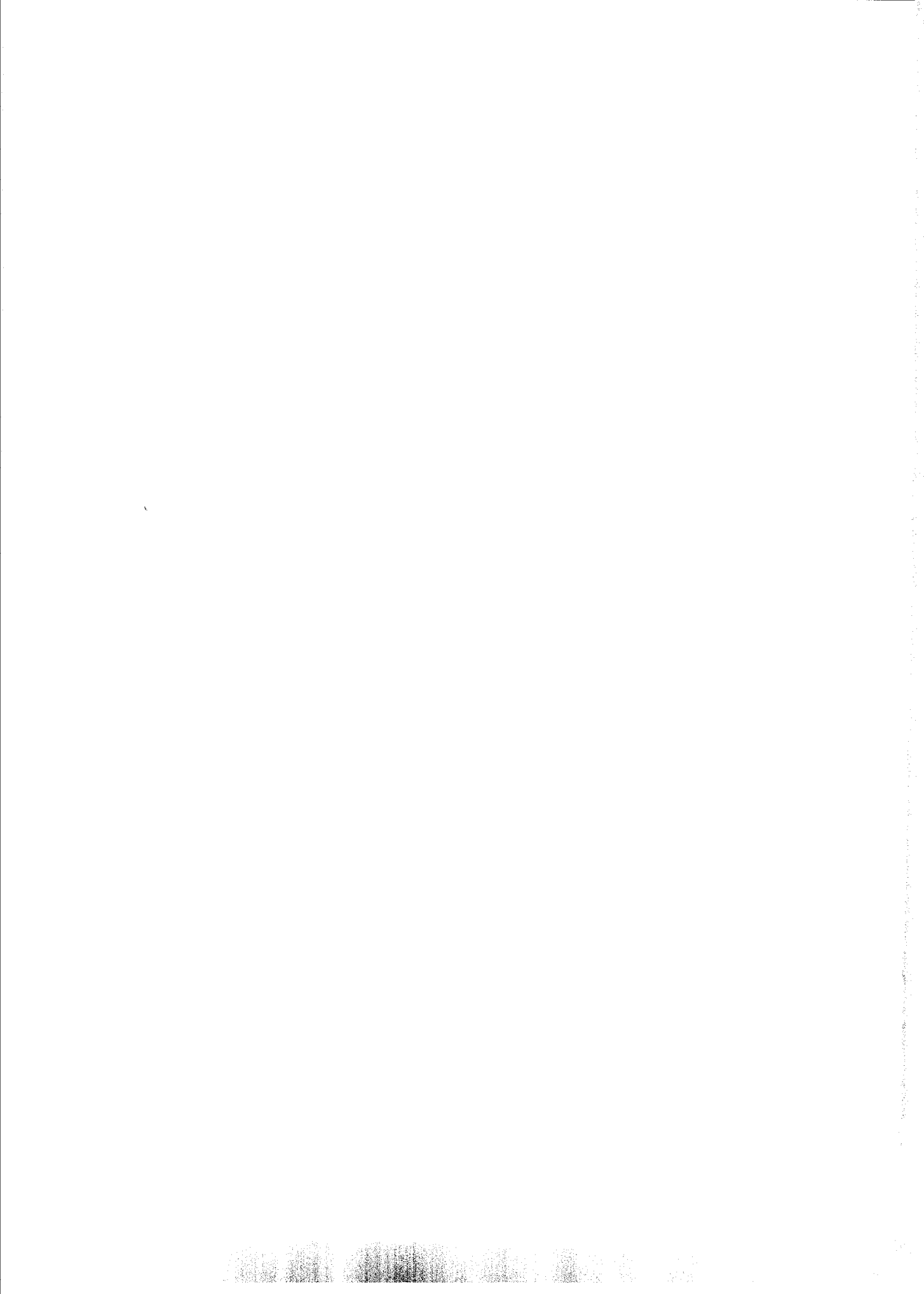
---

## 血液病骨髓组织

---

### 病理学概述

---



# 第一章 骨髓针刺活检之施术与取材

## 一、活 检 针

1971年, Jamshidi 设计了一种易于操作且又适用于各年龄组不同型号的骨髓活检针, 使取得的活组织块不仅更为完整, 且骨髓组织结构也保持良好, 从而使该操作得到了飞速的发展。该针用不锈钢制成为针长 10cm, 直径为 3mm 之圆锥形套管, 针芯插入后稍突出于针口 1mm~2mm, 以利于穿刺并保持针口锐利, 附有取出活检组织之探针。成人使用 11 号, 如果患者骨质疏松, 则以 8 号为宜, 年幼者选用 13 号活检针。

国产的 B65-01 骨髓活检穿刺针也用不锈钢制成, 圆锥形套管之长度为 6cm, 直径约 3mm, 带有 7cm 手柄之针芯插入后突出于管口约 4mm, 以使针切面锐利, 每个活检针附带有 1# (7mm) 和 2# (15mm) 长的活动套管两个。

我们参照 Jamshidi 骨髓活检针加以改良设计的 GMH88-01, 02 型骨髓活检针效果也很好。

## 二、取材方法

### (一) 术前准备

1. 先准备一小玻瓶, 内装入 Bouin 液或 2.5(3.8)% 戊二醛固定液 3ml~4ml。
2. 写好姓名、床号贴于小玻瓶上。
3. 准备洁净载玻片 8~12 块。
4. 填好骨髓活组织检验申请单。

### (二) 穿刺部位

可选择髂前, 但多数于髂后上棘取材。

### (三) 操作方法

#### 1. 一步法

- (1) 皮肤经碘酒、酒精严密消毒。
- (2) 盖无菌孔巾。
- (3) 2% 普鲁卡因 2ml 局部麻醉。
- (4) 不必切开皮肤, 直接将套上针芯的活检针加压刺穿皮肤, 进入骨皮质, 感阻力减弱时, 平稳地推进约 1cm, 抽出针芯, 即作骨髓抽吸, 推片。

(5) 套上 1# 或 2# 活动套管, 插回针芯, 再把活检针旋转推进 2cm~3cm, 并以针管沿顺时针及逆时针方向各旋转 3~5 圈, 以保证插入活检针套管内之骨髓活组织与周围组织脱离。

(6) 拔出活检针, 取出活动套管, 再插入针芯以使骨髓组织块推出针外。该法一般可取得 2mm~2.5mm×8mm~15mm 之骨髓活组织块。

(7) 然后用 2% 碘酒再消毒针口部, 用胶布将纱布敷料牢牢贴紧, 手术即告完毕。

(8) 推出的组织块立刻放入固定液瓶内,随同骨髓活组织检验申请单一并送检。

## 2. 二步法

(1)至(4)与一步法同。

(5)然后接上活动套管,插回针芯,把活检针退出至皮下,偏离原刺入点约1cm处,继续缓缓旋转推进约2cm~3cm。

其余步骤同一步法。

### 三、关于抽吸与活检同时取材问题

国外许多实验室及作者所在的上海市第六人民医院血液病科骨髓病理实验室(以下简称本室)已将骨髓抽取物涂片与活检切片同时检查诊断血液病列为工作常规,两者结合对提高诊断准确率起着肯定的协同作用。

Wolff等(1983)采用简易一步法抽吸-活检技术,在同一穿刺点先作抽吸物涂片再作活检,证明先抽吸不会影响随后活检结果的正确。但据Douglas等(1984)的观察,认为一步法存在下列两个潜在问题:一是先作针刺活检,再于同一位置作抽取物涂片,则前一操作易致局部组织凝血活酶的释放,助长抽取物的凝固;其二,如果先作抽取物涂片,于该点再作活检,则活检标本中有可能出现人为的增生减退以及活组织块内部出血。

临床上,在成功的骨髓抽吸后,于同一部位进行活检所造成的人为现象,一般受累面积小(约 $1\text{mm}^2\sim 2\text{mm}^2$ ),剩余的完整骨髓仍可作出满意的诊断。但若取得的活组织块短小,或人为受累面积较大时,就能影响骨髓增生程度,造血细胞组分以及间质形态结构的正确判断。为此,我们作了适当改进,即在同一皮肤进针点,于最初抽吸处旁开1cm~2cm的另一方向再进针作活检,即可避免人为现象的发生,也易为患者所接受。

## 第二章 骨髓活组织标本的制备技术

80年代初,国外许多实验室开始在骨髓活检时改用塑料包埋半薄切片技术以替代传统的石蜡包埋法,这样处理的标本,不仅细胞收缩很少,切片薄( $2\mu\text{m}\sim 3\mu\text{m}$ ),有利于细胞内部结构的观察,又由于未经脱钙处理,故保证了贮铁的存在。

现将标本制作顺序介绍如下。

### 一、固 定

固定的目的,可使骨髓活组织块尽可能地保持在活体内原有之形态,使细胞内的各种化学成分得以定位,又能使造血细胞自正常的半液体溶胶状态,转变为不可逆的半固体凝胶状态。

骨髓活组织块推出针外后,如作塑料包埋,应立刻置入以下任何一种固定液中固定。

#### (一) Bouin 固定液

饱和苦味酸水溶液                      75ml

40% 甲醛	20ml
冰醋酸	5ml

该固定液穿透力迅速而均匀,引起组织与细胞的收缩较轻,固定后之组织着色鲜艳,采用本液时标本一般仅需固定 30~60min。如果组织块大,尤其是慢性粒细胞白血病等增生极度活跃之标本,可适当延长固定时间,但不宜超过 3h,否则易致血细胞收缩,影响染色效果。

### (二) 2.5% 戊二醛固定液

25% 戊二醛	10ml
0.1M 磷酸盐缓冲液(pH7.2)	90ml

该固定剂作用较缓慢,所需固定时间 2~3h。

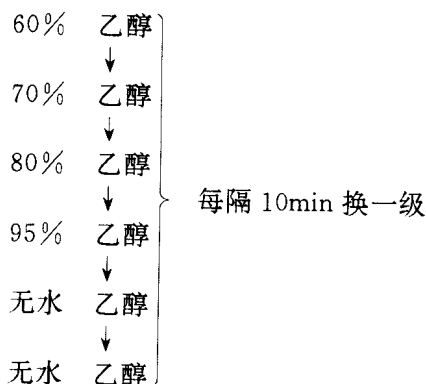
### (三) 其它固定剂

适用于塑料包埋的固定液尚有 10% 中性福尔马林和 3.8% 戊二醛溶液,效果也很满意,且使用方便,价格低廉,对骨髓标本内组织的收缩程度也较小。一般塑料包埋时,小块活组织以戊二醛为好;如果组织块较大,可选用 Bouin 液或 10% 中性福尔马林固定液。

## 二、脱 水

为将骨髓活组织块包埋于塑料内,必需除去水分,可经浸渍于浓度逐级递增之乙醇来解决,这就是脱水。

首瓶乙醇浓度按所用固定剂与骨髓活组织块大小而定,一般以 60% 浓度开始。手工操作时可用螺旋口无色玻瓶,既可防止酒精蒸发,又可窥见标本。乙醇容量以标本大小的 50~100 倍为宜。



在各级乙醇内均应每隔 2~3min 用手振摇玻瓶一次,根据作者经验,如将玻瓶置于 45℃~55℃ 水浴箱内,以促进溶液对流而加速脱水,效果将更佳。经末步无水乙醇处理后,取出组织块用吸水纸将其吸干,或将组织块置于 56℃ 温箱内 2min,使组织块进一步干燥,再作下一步包埋处理。

## 三、塑料包埋

### (一) 包埋剂

作者采用本室配制的 Hemapun 865 塑料包埋剂,效果非常好。可与壳牌石油公司出品

的进口试剂 Epon 812 相媲美,且价格低廉,适于推广应用。

## (二) 包埋方法

1. 把经脱水处理后的活组织块用针头挑入本室设计的特制聚乙烯模具中。
2. 用滴管吸取 Hemapun 865 甲液注入模具中,使充满(约需 2ml),在冰箱中浸泡 1~2h。
3. 用带 8 号针头的 1ml 注射器吸取 Hemapun 865 乙液,滴 3 滴入模具中。
4. 用细玻棒迅速将甲、乙两液搅匀,并将组织块摆正在模具底部中央。
5. 于室温下静置 20min,待其自聚。
6. 趁包埋块顶部尚湿润时,贴上编号标签,即成。

## 四、切片与制片

### (一) 所需器材

普通轮转式切片机、摊片与烤片两用器(也可用自制三角铁片架、弯盆和酒精灯替代)、单面钢刀、镊钳、毛笔和载玻片等。

### (二) 切片规格

每份标本常规制作切片 5~7 张。 $2\mu\text{m}$  厚者供 HGF, MGG 和 HE 染色用; $5\mu\text{m}$  厚者可供 Gomori 网硬蛋白纤维染色、Masson 胶原蛋白三色染色和铁染色用。

### (三) 切片与制片方法

铸成之包埋块呈扁方形,底面较小,先用钢锉修整聚合块底部两侧,使之尽量锉至靠近组织块,随即装入轮转式切片机上,调节好所需之厚薄度。一般先切  $5\mu\text{m}$  规格,再切  $2\mu\text{m}$  或  $3\mu\text{m}$  规格。均匀摇动切片机,以右手用弯头镊子轻轻钳牢已切割下来之组织片,左手用干燥毛笔协助将片取下,立即移入常温水浴中裱片,用镊子轻轻使每张切片充分平摊于水面上,选择最完整且又无皱折的组织片,捞至洁净载玻片上,一般以右手将载玻片投向水面去附贴切片,左手以镊子帮助推动,待组织片被附贴于载玻片上后,再用镊子使各条组织片摆正方向。一般每张载玻片上贴附不同切面的组织片 3~4 条,各条切片相互靠拢,不必涂任何粘附剂。然后放在  $60^{\circ}\text{C}$ ~ $80^{\circ}\text{C}$  的电热板或自制烤片架上充分烤干。

### (四) 注意事项

1. 刀片要锋利,刀口无缺损,否则切片会自行卷起、皱缩、断裂或破碎。
2. 切片机各零件与螺丝应旋紧,否则会产生震动而致切片厚薄不均。
3. 切割塑料包埋块刀的角度以  $24^{\circ}$  ( $20^{\circ}$ ~ $30^{\circ}$ ) 为宜。
4. 所谓每张载玻片贴附不同切面的组织片 3~4 条,是指第一轮连续切割的 5 条组织片,分别贴在 5 张载玻片的 1 号位置上,第 2 轮和第 3 轮连续切割的各 5 条组织切片分别贴在 5 张载玻片的 2 号与 3 号位置上。
5. 切片完毕后,塑料包埋块剩余组织块之切面以融熔石蜡封固后保存。

## 五、骨髓活检标本制备程序举例

1. 将骨髓活组织块置于 Bouin 液内固定 1h。

2. 组织块用小纱布包裹后,置于铝制有孔网篮中,移入平底烧杯内,通入流水冲洗 10~15min。
3. 蒸馏水中漂洗 5min,取出甩干。
4. 置于 60%乙醇内 10min(各级脱水乙醇瓶均应置于 45℃~55℃水浴箱内),每隔 2~3min 用手振摇玻瓶一次。
5. 移入 70%乙醇内 10min。
6. 移入 80%乙醇内 10min。
7. 移入 95%乙醇内 10min。
8. 移入无水乙醇内 10min。
9. 再次换入无水乙醇内 10min。
10. 打开纱布包,轻轻夹出组织块,用吸水纸将其吸干,必要时置于 56℃温箱内 2min,使组织块进一步干燥。
11. 组织块用针头挑入本室特制的聚乙烯模具中。
12. 吸取 Hemapun 865 甲液约 2ml 置入模具中,使充满,置冰箱内,浸泡约 1h。
13. 用带 8 号针头的 1ml 注射器吸取 Hemapun 865 乙液,滴入 3 滴于模具中。
14. 用细玻棒搅匀,把组织块拨正在模具底部中央。
15. 4℃冰箱内静置约 40min 待其自聚,顶部贴上编号标签,即成。
16. 直接进行切片与贴片。
17. 染色与封固。

## 第三章 常用染色技术

### 一、Giemsa 染色

骨髓活组织切片的 Giemsa 染色可用以对各系列血细胞作出鉴别,与涂片中的血细胞形态较为接近。但 Giemsa 液对塑料的亲合力很强,使背景色调很深,又由于切片较薄(2 $\mu$ m),故染色后细胞着色较浅,核与胞浆对比度不明显等为其缺点。如果在 Giemsa 染色后,辅以冰醋酸水(pH2.5)处理,上述缺点可获部分纠正。

#### (一) 试剂

1. Jenner 贮存液 取 Jenner 染料 1g,加甲醇 400ml。
2. Jenner 工作液(可持续应用数星期) 取 Jenner 贮存液 25ml,加蒸馏水 25ml。
3. Giemsa 贮存液 Giemsa 染粉 1g,甲醇 66ml,甘油 66ml。

配法:先将甘油与 Giemsa 染粉置于乳钵内,于 50℃下留置约 45min,用乳钵槌搅拌,当粉剂充分混合后,加少量甲醇,每加少量即充分搅拌,至甲醇加完为止,过滤后使用滤液。

4. Giemsa 工作液 取 Giemsa 贮存液约 50 滴(2.5ml),加蒸馏水 50ml 配成。
5. 醋酸水 冰醋酸 1ml,蒸馏水加至 100ml。

## (二) 染色步骤

1. 切片置甲醇中 3min。
2. 在 Jenner 工作液内染 5~6min。
3. 直接移入 Giemsa 工作液内至少染 45min。
4. 蒸馏水快洗。
5. 在醋酸水中浸渍 5~6 次。
6. 在 95%乙醇中浸渍 5~6 次。
7. 二次交换纯乙醇快过脱水。
8. 二次交换快过二甲苯透明。
9. 晾干,中性树胶封固。

## 二、May-Grünwald Giemsa(MGG)染色

骨髓涂片一般均以 Romanowsky 型染色,常用的如 Wright 染色,Giemsa 染色或 May-Grünwald 染色等;而活检切片既往习用的是 HE 染色,两种标本难以进行细胞形态之比较。故现代骨髓活检切片中 HE 染色已渐摒弃不用。

MGG 染色是一种较好的骨髓切片染色法,可进行比较精确的血细胞分类计数。肥大细胞在 HE 和 HGF 染色之切片上难以识别,而用本法就较易辨认。

醋酸分化是 MGG 染色操作之关键。如果分化时间过长,则醋酸可将组织内的染料除去过多,切片均被“漂白”;反之,分化时间不足,切片内细胞着色就会过深。

标本的骨髓增生度,对染色时间也将产生直接的影响,在增生极度活跃的切片中(如急、慢性白血病),则在 MGG 染料中的作用时间约须延长 50%,才能取得满意的效果。

### (一) 试剂

1. May-Grünwald 溶液 (冷藏)
2. Giemsa 原液 (冷藏)

    Giemsa 工作液:

- (1) Giemsa 原液 1ml
- (2) 去离子水 50ml

充分混和,使用前临时配制。

3. 乙烯乙二醇一丁基醚
4. 1%醋酸水

- (1) 冰醋酸 1ml
- (2) 去离子水 100ml

每批切片染色时新鲜配制。

### (二) 染色步骤

1. 在染瓶内注入 May-Grünwald 原液 25ml,将切片放入,置 60℃恒温箱内 40~60min。
2. 恒温箱内取出染瓶,加入 25ml 去离子水,混合后室温下留置 1min。
3. 取出切片,立即移入新鲜配制的 Giemsa 工作液内,置 60℃恒温箱内 60min。取出,置室温下 1min。



4. 切片自 Giemsa 工作液内取出,将过剩染料全部擦去,在新鲜配制的 1%醋酸分化液内快过浸渍 30~35 下,晾干。

5. 为使背景清澈明亮,切片在新鲜的乙烯乙二醇-丁基醚中快过 5 次。

4、5 两步必须快速连续操作,不可停顿。

6. 切片充分干燥后置于显微镜下观察,背景应染粉红色或石竹红色,细胞清晰可辨。如未达此标准,4、5 两步可重复操作一次。

7. 切片干燥后,用二甲苯透明一次,中性树胶封固。

### 三、苏木素-Giemsa-酸性品红(HGF)染色

HGF 染色是一种骨髓活组织塑料半薄切片的良好染色法,各系列血细胞的轮廓、胞核及胞浆结构清晰,色调对比鲜明,介绍如下。

#### (一) 试剂

##### 1. Harris 明矾苏木素液

苏木素	2.5g
无水乙醇	50ml
铵明矾(或钾明矾)	50g
蒸馏水	500ml
氧化汞	1.5g
冰醋酸	20ml

先将苏木素溶于乙醇,明矾溶于蒸馏水,然后两液混合,加热至沸点放入氧化汞,染液立即可“成熟”,装入长颈瓶置于冷水内迅速冷却,冷却后立即可供染色用。临用前加入冰醋酸可使染色更加细致,胞核也可选择性着色。由于本液配后 2~3 个月染色速度与选择性均降低,故宜少量配用。

2. Giemsa 工作液 取 Giemsa 贮存液 50 滴(2.5ml)加蒸馏水 50ml 配成。

3. 1%酸性品红水溶液 取酸性品红粉 1g 溶于 100ml 蒸馏水内。

4. 0.5%氨水。

#### (二) 染色步骤

1. 切片于加热板上充分干燥。

2. Harris 明矾苏木素染液染色 1~3min,水洗。

3. Giemsa 工作液染色 20~30s,水洗。

4. 95%乙醇内片刻,水洗。

5. 0.5%氨水中分化片刻,水洗。

6. 烤干切片。

7. 1%酸性品红水溶液染色 3~5min,水洗;留置 20~30s 后再水洗一次。

8. 烤干,封固。

### 四、苏木素-伊红(HE)染色

由于 HE 染色不能显示骨髓活组织切片中的一些特殊细胞成分,且难以对粒细胞系、