

非福尔马林醇性固定液在组织标本固定中的应用

沈海燕 谢敏浩 赵 菁 戴 军

中性福尔马林是常规病理制片中最常用的组织固定液,因其具有较强刺激性、毒性、腐蚀性且易挥发,危害着病理工作者的身体健康,并造成环境污染,这是长期困扰病理工作者的一大难题^[1]。本文采用的新型固定液,完全不含福尔马林,是一种商品化的醇性复方固定液。我们就新型非福尔马林醇性固定液应用于临床病理以来,对组织固定和抗原保存进行了多方面的研究,结果表明,效果甚佳,现将实验结果做一总结。

1 材料与方 法

1.1 材 料 我院 2005~ 2007 年的 4 825 例手术标本;新型组织固定液(意大利 Milestone 公司产品,应用液配制:原液与 95% 酒精按 25: 75 稀释);免疫组织化学染色的抗体及配套试剂(福州迈新生物技术开发有限公司);全自动组织脱水机。

1.2 方 法 新鲜组织直接固定于稀释好的固定液中(固定液的量约是标本的 5 倍以上),大块组织预先切开固定,放置 24 小时后取材,全自动组织脱水机中进行脱水、透明、浸蜡,处理过程如下:

- (1) 新型组织固定液 2 小时(新鲜标本 4 小时)
- (2) 95% 乙醇 1 小时
- (3) 无水乙醇 1 小时
- (4) 无水乙醇 1 小时
- (5) 无水乙醇 1 小时 30 分
- (6) 二甲苯 20 分
- (7) 二甲苯 20 分
- (8) 二甲苯 20 分
- (9) 石蜡 1 小时 20 分
- (10) 石蜡 1 小时 20 分
- (11) 石蜡 1 小时 20 分

次日上午 8: 00 进行包埋,切片,经 HE 染色后镜检。在 4 825 例送检标本中,我们对其中的 420 例进行了免疫组织化学染色,方法步骤如下: 1) 石蜡切片脱蜡和水化后,每张切片

加 50 μ l 3% 过氧化氢,室温下孵育 10 分钟,用 PBS (PH7. 4) 冲洗三次,每次 3 分钟; 2) 每张切片加 50 μ l 的第一抗体,室温下孵育 60 分钟; 3) PBS 冲洗三次,每次 3 分钟,每张切片加 50 μ l 即用型试剂,室温下孵育 10 分钟, PBS 冲洗三次,每次 3 分钟; 4) 除去 PBS 液,每张切片加 50 μ l 新鲜配制的 DAB 溶液,镜下观察 3~ 5 分钟; 5) 自来水冲洗,苏木素复染,自来水冲洗返蓝,经过梯度酒精脱水干燥,二甲苯透明,中性树脂胶封固,送镜检观察。

2 结 果

2.1 新型组织固定液固定的标本与用中性福尔马林固定的标本相比,更接近新鲜组织标本的自然状态,固定后色泽变化轻微,也不出现福尔马林固定后的明显硬化现象,为显著特点。但因标本较软,取材时刀具需锋利,如初次使用不太适应,可以在该固定液中加入 2% 浓度的冰醋酸,适当提高标本固定后的硬度,并能够缩短标本固定时间。

2.2 新型组织固定液固定的标本与用中性福尔马林固定的标本制片相比,组织切片染色鲜艳,细胞结构清晰,同时因为标本收缩率较小,组织细胞间隙裂开等人工现象比福尔马林固定的标本大为减少。由于长期以来习惯中性福尔马林固定,使用初期可能需要有个适应过程。

2.3 对中性福尔马林固定的标本需要抗原预修复程序才能使用的抗体,而直接用新型组织固定液固定的标本,无需抗原预修复程序,免疫组化结果背景清晰,阳性、阴性细胞对比明显。见图 1、图 2。

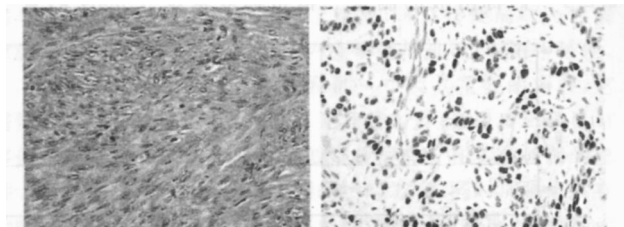


图 1 HE

图 2 P53(未经抗原修复)

3 讨论与体会

3.1 甲醛溶液易挥发,具有高刺激性、毒性和腐蚀性 国内

进行了方法学考察。实验结果表明本方法分离度高,方法可行,结果准确,可有效地控制角鲨烯软胶囊的质量。

3.2 本实验方法也为含角鲨烯成分的药品及保健品质量标准建立提供参 考。

参 考 文 献

- [1] 顾觉奋,牛佳.角鲨烯合成酶抑制剂降血脂作用及机制的研究进展[J].药学进展,2007,37(1): 15- 20
- [2] 许瑞波,刘玮玮.角鲨烯的制备及应用进展[J].山东医药,2005,45(35): 69- 70

作者单位:江苏省原子医学研究所附属医院病理科(无锡)
邮 编 214063 收稿日期 2008- 03- 03

胶囊内容物 6 份,每份约 12. 5 mg,加对照品贮备液 2 ml,各加内标溶液稀释置刻度,摇匀。按上述 2. 1 项色谱条件定含量,计算回收率,平均回收率为 99. 8%, RSD= 1. 22%。

2.4 样品含量测定 取供试品溶液和对照品溶液各 3 μ l,注入气相色谱仪,按照上述色谱条件进行测定,内标法计算样品含量,结果供试品中角鲨烯平均含量 99. 8%。通过检测供试品装量,计算出每粒供试品中角鲨烯平均含量为 0. 1404 g。

3 讨 论

3.1 本实验采用气相色谱内标法对角鲨烯含量进行测定,并

外医学研究表明,人体皮肤直接接触甲醛时,会引发过敏反应、皮肤炎症或湿疹,长期吸入有害气体可引起慢性呼吸道疾病和肿瘤的发生^[1],2004年6月15日世界卫生组织正式宣布甲醛为致癌物质。意大利 Milestone 公司生产的新型组织固定液,产品已通过欧洲 2001 年/59/CE 无毒产品标准论证管理条例,是一种不含福尔马林,无毒、无味、无色的新型组织固定液。

3.2 组织标本固定效果甚佳 在组织切片过程中(厚度一般在 3~5 μm),未发现组织标本有变脆、变硬现象。我们对制片难度较大的标本,如子宫、乳腺、皮肤等也进行了观察对比,结果经新型固定液固定的组织,做出的片子较为完好,其观察效果较中性福尔马林固定的标本更为清晰(图 1),有助于临床病理诊断,也为病理科脱离甲醛污染,保护医务人员的健康提供了一条新的途径。

3.3 对抗原的保存较好 用中性福尔马林固定的标本做免疫组化染色时,有些抗原需进行修复处理,处理过程中如掌握不当会导致过染及假阳性的出现^[2-3],我们经反复多次实验证实,使用新型固定液固定的标本无需进行组织抗原的修复处理,且染色结果背景清晰(图 2),结果明确,有助于提高诊断率,防止医疗差错的发生;并缩短了免疫组化操作时间,且

避免了因微波或高温高压修复处理过程中易出现的脱片现象。

综上所述,应用已通过欧洲 2001 年/59/CE 无毒产品标准论证管理条例的无毒、无味、无色不含福尔马林的新型组织固定液,解决了长期以来甲醛的刺激性、毒性和腐蚀性危害病理工作者人体健康的难题,减少了甲醛对环境的污染,净化了医院环境;研究结果表明,新型组织固定液固定的标本与用中性福尔马林固定的标本相比,HE 染色组织形态无明显差异,而且对提高免疫组化染色质量具有现实意义。众所周知,不同固定液的固定结果都略有差异,换用固定液可能有一个适应过程,但是从保护环境和改善医务人员工作环境的角度考虑,改用新型组织固定液是大势所趋。

参 考 文 献

- [1] 张瑾. 甲醛毒性的研究进展[J]. 职业与健康, 2006, 22(23): 2041-2044
- [2] 周小鸽,王鹏,陆鸣,等. 加热抗原修复对内源性生物素蛋白结合物的影响及其对策[J]. 中华病理学杂志, 2002, 31(6): 491-496
- [3] 骆新兰,蔡秀玲,刘艳辉. 不同的抗原修复条件对免疫组织化学染色结果的影响[J]. 中华病理学杂志, 2005, 34(1): 52-54

• 短篇报道 •

卵巢妊娠 1 例报告

周秀宇

1 病例资料

患者,孙某,26岁,已婚,GP 因月经期伴严重的腹痛和腰痛于 2007 年 12 月 31 日入院。患者既往身体分健康,月经规律,本次月经周期和月经量均正常但伴有腹痛和腰痛,两天前腹痛突然加重。

入院查体:T 37.6 度,P 106 次/分,R 20 次/分,Bp:100/60 mmHg 无贫血外观,神志清楚,查体合作,腹软肝脾未触及,右下腹压痛(++)反跳痛(+)妇科检查:外阴经产式阴道有血液流,宫颈 I 度糜烂,有抬举痛,子宫前位常大,右附件区压痛(++)未触及包块,左侧附件区正常,后穹窿饱满,穿刺抽出不凝血。

辅助检查:B 超报告:右附件区有一 1.3 cm 无回声光团,节育环下移,盆腔后方见 3.3 cm × 2.6 cm 不规则无回声暗区。尿 HCG(+)血常规:HB 135 g/L,RBC 4.3 × 10⁹/L,WBC 1.17 × 10⁹/L。

入院诊断:右侧输卵管妊娠破裂。

入院后在连续硬膜外麻醉下行剖腹探查术,术中见盆腔

有血性液体,探查见左附件正常,右侧输卵管正常,伞端无活动性出血,右侧卵巢略增大,表面呈淡红色,边缘有一直径约一厘米的破口,有活动性出血,未见完整孕囊,行卵巢部分切除术保留 1/3 皮质。病理诊断:出血,坏死并见少许滋养细胞。

术后诊断:右卵巢妊娠。

2 讨论

卵巢妊娠是一种比较罕见的异位妊娠,占异位妊娠的 0.36%~2.76% 其误诊率极高,仅仅依据急性腹痛盆腔包块、早孕征象及阴道流血等卵巢妊娠的临床表现诊断卵巢妊娠几乎不可能,这因为卵巢妊娠破裂时间早于输卵管妊娠且停经史不明显,但与输卵管妊娠相比无明显的特异性,只有术后仔细病理检查才难诊断卵巢妊娠。

近年来卵巢妊娠发病率呈上升趋势,目前普遍认为卵巢妊娠发病原因可能于育龄妇女广泛使用宫内节育器有关,本例患者也是使用了宫内节育器。

参 考 文 献

- [1] 沙玉成,丛林. 卵巢妊娠的诊断进展[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2006, 16(4): 207

作者单位:黑龙江省拜泉县拜泉卫生院

邮 编 161700 收稿日期 2008-04-30