

20 环保脱蜡液替代二甲苯在肝肾标本病理制片中的应用

马锡慧, 石炳毅, 韩永, 肖漓 (解放军第309医院器官移植中心研究室, 北京 100091)

摘要:目的 探讨环保脱蜡液替代二甲苯作透明脱蜡剂在肝肾标本病理制片过程中的应用。方法 取解放军第309医院器官移植中心肝、肾穿刺标本, 经固定、水洗、脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、染色等步骤制成病理切片, 其中二甲苯均用环保脱蜡液替代, 进行常规 HE 染色、免疫组织化学染色、Masson 三色染色, 观察染色结果, 进行病理诊断。结果 用环保脱蜡液替代二甲苯作透明脱蜡剂, 切片过程顺利, 组织无变脆、变硬现象; 染色后, 背景清晰、颜色鲜明, 易于观察。结论 环保脱蜡液可替代二甲苯在肝肾标本病理制片中发挥作用, 值得在病理诊断科室及基础研究科室推广。

关键词:环保脱蜡液; 二甲苯; 组织化学染色; 病理制片

中图分类号:R446.8 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-7414(2012)04-119-02

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2012.04.046

肝、肾穿刺标本病理学检查是肝硬化检测及肾移植术后排斥反应诊断的“金标准”。因此, 制作优质的石蜡切片尤为重要。在制作病理切片的过程中, 最常用的透明剂是二甲苯, 然而二甲苯是一种毒性较大的试剂, 二甲苯对人体的毒害主要通过呼吸道吸入和皮肤接触进入体内, 损害神经系统和血液系统, 长期接触引起神经衰弱综合征和植物神经紊乱以及皮肤黏膜刺激症状, 还可引起免疫功能低下、贫血、白细胞减少、皮炎、湿疹和皮肤干燥, 尿中也可以出现蛋白管型等^[1]。并且二甲苯对病理组织的收缩性强, 易使组织变硬、变脆^[2], 影响最终的染色效果。因此, 亟需在透明脱蜡过程中用其它物质取代二甲苯。有多位学者曾对二甲苯的替代品做过研究, 并取得一定成果。结合本中心的工作性质及诊断需要, 对肝、肾穿刺标本进行病理制片时, 我科用环保脱蜡液替代二甲苯并对制片的实验步骤进行摸索改良, 制作出了优质的石蜡切片, 现报告如下:

1 材料与方 法

1.1 材料 环保透明脱蜡液(购于江苏无锡江原实业技贸总公司); 生物组织脱水机、包埋机、切片机(购于武汉俊杰电子有限公司); 标本均来源于解

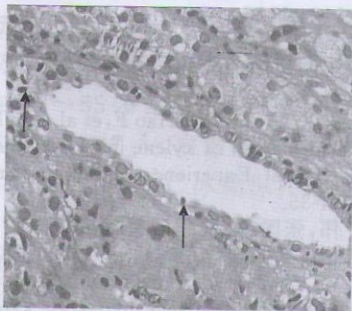
放军第309医院器官移植中心肾穿刺及肝移植标本(其中肾穿刺标本102例, 肝移植标本49例)。

1.2 方法

1.2.1 制片:取材后的组织(肝移植标本修剪成1cm×1cm×0.2cm的小块, 肾穿刺标本勿需处理)经10 ml/dl 福尔马林固定、水洗、梯度乙醇脱水后, 先后进入三道环保透明脱蜡液中各1 h, 温度为60℃, 最后组织进入纯净的石蜡中3 h(其中脱水、透明和浸蜡均在生物组织脱水机中进行), 包埋后, 生物组织切片机连续3 μm切片。

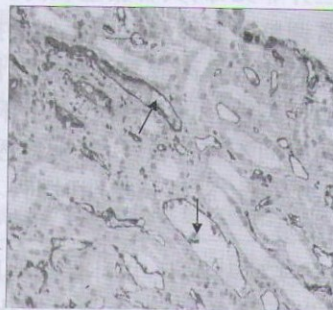
1.2.2 染色:石蜡切片脱蜡至水, 按要求进行各种染色后, 脱水、透明、封固。过程如下: 脱蜡液 I → 脱蜡液 II → 无水乙醇 → 95 ml/dl 乙醇 → 75 ml/dl 乙醇 → 水洗 → 染色 10 min, 10 min, 10 min, 5 min, 5 min → 95 ml/dl 乙醇、无水乙醇脱水, 脱蜡液透明, 中性树脂封固。

2 结果 组织经脱蜡液处理后透明效果与二甲苯相同, 肝移植标本与肾穿刺标本使用效果并无差异, 均浸蜡充分, 组织软、硬度适中, 有利于切片, 分别进行常规 HE 染色、免疫组织化学染色、Masson 三色染色, 显微镜下观察, 组织背景清晰, 染色效果良好, 并且无变脆、收缩等现象, 见图 1~4。



可见肾组织间质内轻度水肿, 大量淋巴细胞浸润, 多数肾小管呈明显肾小管上皮炎表现

图1 肾脏急性T细胞介导性排斥反应, H-E染色(×400)

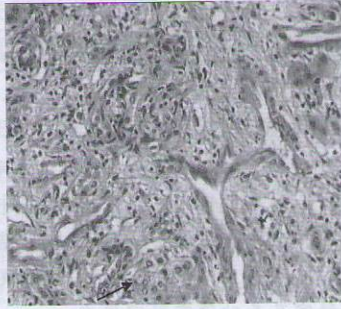


可见弥漫性肾小管间毛细血管内皮(PTC)免疫组织化学C4d染色阳性沉积, 呈棕黄色, 肾组织间质轻度水肿, 肾小管间毛细血管内可见中性粒细胞浸润

图2 肾脏急性抗体介导性排斥反应, C4d染色(++)(×100)

作者简介:马锡慧(1985-), 女, 技师, 本科, 研究方向: 干细胞基础研究, Tel: 15120029462, E-mail: maxihui@sina.com.

通讯作者:石炳毅, 男, 教授, 主任医师, E-mail: shibingyi@medmail.com.cn.



可见肝细胞癌生长结构为小梁状,出现肿瘤细胞岛,正常肝小叶结构消失,炎症细胞浸润。

图3 肝细胞癌, H-E染色(×100)

3 讨论 二甲苯是病理制片过程中传统的组织透明剂,透明效果良好,但易使组织收缩变脆、变硬。使含纤维丰富的组织如前列腺增生组织等坚硬难切,使含胶质较多的组织变脆后切成粉条状,使含脂肪较多的组织脱脂不净影响组织浸蜡,进而使切片困难^[3]。另外,二甲苯是一种高毒挥发性溶液,长期吸入后,会损害人的中枢神经和植物神经,引起一系列临床症状,严重者可导致癌变,因此,寻找二甲苯的替代品成为必然。有学者曾尝试用脱色汽油、硬脂酸、异丙醇、松节油等替代二甲苯在病理制片中作透明剂,并取得一定成果,但又各有其不足。

张穗等^[4]用脱色汽油替代二甲苯,虽然毒性降低,但汽油的挥发更快,并且汽油中含有一定的添加剂和杂质,肉眼无法观察无水乙醇是否被脱色汽油取代置换。用硬脂酸和石蜡混合液替代二甲苯作透明剂是研究最广泛的方法,周导等^[3,5,6]均用硬脂酸石蜡混合液替代二甲苯并取得了良好的效果,比如硬脂酸可以软化组织,有利于切片;其价格低廉、挥发度低,可以节约成本;透明时条件“温和”,不受时间严格控制,不使组织变硬变脆;简化操作程序,透明浸蜡同时进行;染色良好,不封闭抗原,可以进行免疫组化染色。但其也有不足,硬脂酸毒性虽低,但并非无毒;其含脂量较高,可能会出现脱片现象,需调整硬脂酸和石蜡比例或操作过程中加温以增强黏附^[7];异丙醇是一种挥发性醇类试剂,对人体无明显毒性,可用于替代二甲苯,但其收缩性较强,透明时间不宜过长^[8],需摸索透明时间;松节油透明能力较弱,需延长透明时间,不利于临床与科研工作需要。

我科在上述实验基础上,用环保透明脱蜡液替代二甲苯具有以下优点:①不含芳香族化合物,安全无毒、无异味;②透明效果与二甲苯相同;③透明时条件“温和”,长时间浸泡也不会使组织变脆,还能增强浸蜡效果,有利于切片;④不与水汽混合,不挥发,对仪器没有腐蚀性,且无需改变原有程序;⑤不封闭抗原,可以进行免疫组化染色。经实践证



可见多小叶性溶解性肝细胞坏死,不见肝小叶结构,汇管区可见大量胶原纤维浸润。

图4 慢性乙型肝炎后肝硬化, Masson三色染色(×100)

明,环保透明脱蜡液是一种非常好的二甲苯替代试剂,到目前为止,并未发现使用的不足之处,并且总体计算价格与使用二甲苯相似,值得各病理科室推广使用。

参考文献:

- [1] 姜红飞. 环保透明脱蜡液替代二甲苯在病理制片中的应用[J]. 实用临床医学, 2011, 12(3): 9, 46.
Jiang HF. Application for Green transparent dewaxing solution instead of xylene in pathological section [J]. Practical Clinical Medicine, 2011, 12(3): 9, 46.
- [2] 王伯云. 病理学技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 78-79.
Wang BY. Pathologic Technology[M]. Beijing: People Hygiene Press, 2000: 78-79.
- [3] 周导, 顾萍, 严军宁. 硬脂酸石蜡混合液替代二甲苯透明剂制片的探讨[J]. 诊断病理学杂志, 2002, 13(1): 75, 19.
Zhou D, Gu P, Yan JN. The discussion for mixed liquid of stearic acid and paraffin wax instead of xylene in section [J]. Journal of Diagnostic Pathology, 2002, 13(1): 75, 19.
- [4] 张穗, 程云方, 张颜春. 脱色汽油代替二甲苯在组织浸蜡前的应用[J]. 人民军医, 1997, 40(12): 736-737.
Zhang H, Cheng YF, Zhang YC. Application for before tissue paraffin using decolorization of gasoline instead of xylene [J]. People's Military Medical, 1997, 40(12): 736-737.
- [5] 郭以河, 张闽峰, 孟加榕, 等. 硬脂酸替代二甲苯在组织透明浸蜡过程中的应用[J]. 实用医技杂志, 2008, 15(9): 1124-1126.
Guo YH, Zhang MF, Meng JR, et al. Application for stearic acid in replace of xylene in deal with tissue [J]. Journal of Practical Medical Techniques, 2008, 15(9): 1124-1126.
- [6] 钟白玉, 唐书谦, 郝飞, 等. 硬脂酸替代二甲苯在皮肤病理制片中的应用[J]. 临床经验及治疗, 2002, 30(4): 34-35.
Zhong BY, Tang SQ, Hao F, et al. Application for stearic acid instead of xylene in Skin pathological section [J]. Clinical Experience and Trea Tment, 2002, 30(4): 34-35.
- [7] 古伟, 张国宾. 硬脂酸替代二甲苯后组织脱片的预防[J]. 诊断病理学杂志, 1995, 2(4): 240.
Gu W, Zhang GB. Prevention of tissue dehydration tablets after stearic acid instead of xylene [J]. Journal of Diagnostic Pathology, 1995, 2(4): 240.
- [8] 龙建洲. 异丙醇替代二甲苯在组织透明中的应用[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(2): 161-162.
Long JZ. Application for isopropyl alcohol instead of xylene in transparency [J]. Laboratory Medicine and Clinical, 2010, 7(2): 161-162.

收稿日期: 2012-03-07

修回日期: 2012-04-18