全自动免疫组化染色仪与手工免疫染色的比较

余 琦,李 宁,杨江辉,周会芹,刘成龙,罗焕超 (解放军第309医院病理科,北京 100091)

[摘 要] **目的** 观察比较Ventana全自动免疫组化染色仪与手工免疫染色的应用。**方法** 选用常规应用的多种免疫试剂一抗和同种二抗,并采用机器操作与手工操作两种方法进行免疫组化染色,对比实验结果。**结果** 应用全自动染色仪阳性染色着色均匀,定位准确,无边缘效应,背景清晰,各项指标均优于手工操作染色的组织。**结论** 使用全自动免疫组化染色仪不仅标准化程度高,利于规范操作,更减少了手工操作染色带来的人为误差,能为临床病理诊断提供更准确的依据。

[关键词] 全自动免疫组化染色仪;免疫组织化学;病理诊断

[中图分类号] R446.62 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2010)02-0083-03

Comparison of the automatic immunohistochemistry stainer and the manual immunostaining

YU Qi, LI Ning, YANG Jiang-hui, ZHOU Hui-qin, LIU Cheng-long, LUO Huan-chao (Department of Pathology, the 309th Hospital of PLA, Beijing 100091, China)

Abstracts: Objective To observe and compare the application between Ventana automatic immunohistochemistry stainer and the manual immunostaining. **Methods** Several kinds of primary antibodies which were applied to the routine work and the same secondary antibodies were stained by the machine and manual immunohistochemistry operation respectively, and were compared. **Results** The active results stained by automatic immunohistochemistry stainer of which every index was prior to the manual operation were shown to the well-distributed coloration, exact location, non-edge-effect and clear background. **Conclusion** The automatic immunohistochemistry stainer is not only high-degree standardizaion and good to normative operation, but also reduces the personal error in manual staining. It could provide exact evidence for clinical pathological diagnosis.

Keywords: automatic immunohistochemistry stainer; immunohistochemistry; pathological diagnosis

在现代病理诊断中,免疫组化(IHC)技术的应用对肿瘤起源、良恶性肿瘤诊断和鉴别诊断发挥了重要作用,为临床疾病的诊断提供了强有力的证据,因而越来越受到普遍的重视。但免疫组化标准化问题得不到解决,阻碍了临床应用的发展。免疫组化技术是一项技术要求较高的实验室技术,但其本身易受到天气、湿度、温度、时间和人工操作的个体差异等外界因素的影响,也难免会出现实验误差,使得检测结果不够稳定,不能很好地进行结果比对和质量控制[1]。临床上免疫组化染色均为手工染色封片,过程繁琐,随意性强[2]。全自动免疫组化染色仪是通过美国FDA认证的免疫组化染色仪,具有先进的多模式运行体系,可同时由一台微机主机附带多台子机,配有全新的激光条码扫描装置,主机可通过Windows XP电脑操作系统控制软件程序,可同时录入多种免疫组化试剂名称储存,备染色时使用,操作简便安全,可以很好地避免外界因素的影响,在省时省力的基础上,增加了实验的准确度,提高了IHC标准化程度和质量控制水平。

1 材料与方法

1.1 材料及试剂

收集本院2009年上半年病理送检标本中常见肿瘤标本50例进行切片。Ventana全自动免疫组化染色仪,一抗为中杉生物技术有限公司产品,二抗及显色系统均为全自动染色仪自带封闭套盒,衬染液为Gill苏木精液[3]。

1.2 方法

选择我院较为常用的30种诊断用抗体,分别采用免疫组化仪与手工操作两种染色方法。肿瘤组织常规包埋切片,厚度为3 μm,同一组织切片两张,烤片脱蜡,入蒸馏水,3%过氧化氢处理,根据抗原修复要求分别采用酶消化及高压修复法进行前期预处理。将处理好的切片放入染色仪,加一抗试剂,其余实验步骤均由机器操作。为避免内源性生物素对免疫组化结果的影响[4],手工操作采用Elivison两步法进行染色。两组实验前期处理方法一致,均设立阳性、阴性对照。在使用Ventana全自动免疫组化染色仪时,需首先确认上机的一抗试剂名称,在电脑中打印出常用标签贴至专用试剂瓶上后放置在主机试剂盘上,核对医生所开免疫组化菜单无误后在电脑中输入,进行程序编辑,选择本次实验所需程序,将已打印完信息的标签一一对应贴到每张玻片上后放入切片槽,将选择好的抗体按照实验要求排放在机器固定位置上,最后放置机器自带苏木素染

[作者简介] 余 琦(1973-),女,北京市人,实验师,主要从事肿瘤临床病理方面的研究。电话:(010)66775260

[通讯作者] 李 宁,并列第一作者,E-mail:davidlee65@sina.com.cn

[收稿日期] 2009-10-12 [修回日期] 2009-11-28

液。全部准备就绪后，启动电脑进行程序运行。染色完成后，无水酒精系列脱水，二甲苯透明，中性树胶封片。

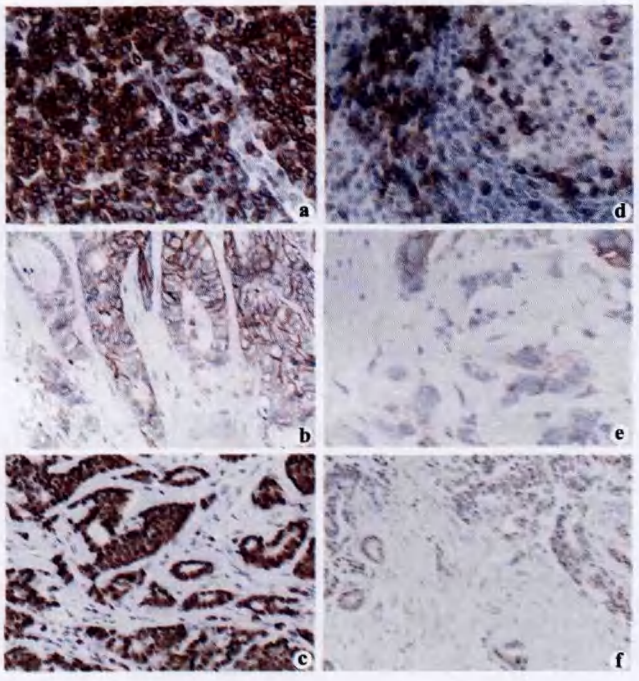
2 结果

30种诊断抗体两种免疫组织化学染色方法的结果见表1。

表1 自动免疫组化染色仪与手工染色结果比较

抗体	组织	例数	染色仪操作/手工操作			
			背景	边缘效应	阳性定位	特异性
CD20	淋巴瘤	10	无/浅	无/有	胞膜/胞膜	强/中
CD45RO	淋巴瘤	10	无/浅	无/有	胞膜/胞膜	强/强
CD30	淋巴瘤	10	无弱	无/有	胞膜/间质共染	强/中
KI67	乳腺癌	20	无/浅	无/有	胞核/胞核	强/强
Bcl-2	乳腺癌	20	无/浅	无/有	胞膜胞浆/间质共染	强/中
HMB45	黑色素瘤	10	弱/浅	无/有	胞浆/间质共染	中/弱
Hepatocyte	肝组织	11	弱/浅	无/有	胞浆/间质共染	强/弱
Desmin	肌组织	22	无/弱	无/有	胞浆/间质共染	强/中
CD34	乳腺癌	20	无/浅	无/有	胞膜胞浆/胞膜胞浆	强/中
CK	胰腺癌	30	无/无	无/有	胞浆/胞浆	强/强
ACT	子宫肌瘤	30	浅/弱	无/有	胞浆/间质共染	强/中
SMA	血管平滑肌瘤	30	无/浅	无/有	胞浆/胞浆	强/强
CD4	淋巴瘤	10	无/浅	无/有	胞膜/胞膜	强/强
AFP	肝癌	15	浅/有	无/有	胞浆/间质共染	强/弱
HBsAG	肝移植受肝	40	无/弱	无/有	胞浆/间质共染	强/中
HBcAG	肝移植受肝	40	无/浅	无/有	胞膜胞浆/间质共染	强/中
S-100	黑色素瘤	10	弱/浅	无/有	胞浆/胞浆	强/强
NSE	小细胞癌	30	弱/浅	无/有	胞浆/间质共染	强/中
P504S	乳腺癌	25	无/浅	无/有	胞浆/间质共染	强/中
PSA	前列腺癌	25	弱/浅	无/有	胞浆/间质共染	强/强
Syn	类癌	30	无/浅	无/有	胞浆/间质共染	强/强
GFAP	胶质瘤	15	弱/浅	无/有	胞浆/间质共染	强/中
VIM	平滑肌瘤	35	无/弱	无/有	胞浆/胞浆	强/强
CEA	结肠癌	25	无/浅	无/有	胞浆/胞浆	强/强
CD56	淋巴结	20	无/弱	无/有	胞膜/胞膜	强/中
CgA	胰腺癌	30	无/浅	无/有	胞膜/胞膜	强/强
C-erb-2	乳腺癌-	40	无/浅	无/有	胞膜胞浆/间质共染	强/强
CEA	结肠癌	25	无/浅	无/有	胞膜胞浆/胞膜胞浆	强/强
ER	乳腺癌	40	无/浅	无/有	胞核/胞核	强/强
PR	乳腺癌	40	无/浅	无/有	胞核/胞核	强/强

自动免疫组化染色仪染色切片着色均匀，阳性结果定位准确，背景清晰无边缘效应，非特异性着色少（图1a、b、c）；手工染色的切片阳性信号相对较弱，有泛染现象，背景不够清晰（图1d、e、f）。



a、b、c：全自动免疫组化仪染色；d、e、f：手工染色

图1 全自动免疫组化仪与手工染色比较

3 讨论

Ventana全自动免疫组化染色仪操作简便安全，在电脑的操控下，可精确地定量泵出及严格控制滴加的试剂量，避免了染色过程中手工操作的误差，确保了结果的稳定性。以人为本的智能化设计理念，周到而完善的处理程序，不但极大地保证了切片染色质量的高效性、稳定性，还可以减轻工作强度和改善工作环境[5]。与手工免疫染色相比较，全自动免疫组化染色仪具有较多的优点。全自动免疫组化染色仪为自动开放式，在激光条码扫描功能的作用下，可自动识别滴加抗体，避免了手工操作带来的实验误差。切片组织在染色过程中滴加试剂后切片干燥将会出现非特异性背景着色[6]，而全自动免疫组化染色仪内部为37 ℃恒温系统，组织切片不会受到外界温差的影响，减少了非特异性着色的可能。机器内部冲洗过程完善，在冲洗液PBS中加入了Tween20，增加了抗原抗体的亲合力[7]，提高了免疫组化制片的质量，增加了实验的准确性和可靠性。

免疫组化常规操作中，由于实验人员操作手法的不同，切片滴加试剂后的量不定，与切片残存洗脱液混合造成了抗体的浓度不同，抗体浓度被动稀释，染色效果出现差异，造成实验误差的可能[8]。而免疫组化染色仪是通过机器恒定吹气，玻片上的试剂量始终保持

不变,从而避免切片出现假阳性及假阴性。全自免疫组化染色仪可以不必拘泥于时间自由操作,以往实验人员手工操作每天每人操作30~60张切片已属满负荷运转。而全自免疫组化染色仪则可随开随做,整体运转时间为3 h左右,既提高了工作效率,又减少了实验人员的重复工作量,做到了省时、省力,使病理报告更加迅速。全自动免疫组化染色仪备有废液回收系统,可将染色废液集中回收,与传统的手工染色废液直接排放污染相比较更加环保,使环境保护也达到了标准化的要求。

近年来,病理学界大力倡导标准化和质量控制。随着国际免疫组化标准化的要求,2000年国际标准化组织已提出了ER和PR免疫组织化学染色的质量体系(QA)[9],提高了免疫组化技术在临床病理检查中的标准化水平,确保检查结果的可靠性。要达到这一目的就必须解决好免疫实验中的质量、可靠性、速度等诸多问题。全自动免疫组化染色仪则为病理科实现标准化和质量控制提供了便捷而可靠的工具。

综上所述,按照国际免疫组织化学标准化的要求,在病理实验室中成功开展免疫组织化学技术的关键是标准化[10]。要提高免疫组化技术的标准化和质量控制,为临床病理诊断提供有力依据和可靠保证,全自动免疫组化染色仪具有省时、省力、操作简便等特点,能为病理实验室与国际标准化发展接轨起到重要作用。

[参考文献]

[1] Wester K, Andersson AC, Ranefall P, et al. Cultured human fibroblasts in agarose gel as a multi-functional control for immunohistochemistry. Standardization of ki67(MIB1) assessment in routinely processed urinary bladder carcinoma tissue[J]. J Pathol, 2000,190(4):503-511.

[2] 杨 军,姜 冰,彭长缨. 全自动染色工作站的临床应用体会[J]. 华中医学杂志,2008,32(3):195-196.

[3] 张 哲,陈 辉. 实用病理组织染色技术[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,1988. 32-42.

[4] 田 野,张 伟,周永梅,等. 影响免疫组化染色结果的几点体会[J]. 诊断病理学杂志,2003,10(3):185.

[5] 董 芳,姜卫国,赵晓东. HE自动染片机应用体会[J]. 中华病理学杂志,2004,33(2):179-180.

[6] 马俊兵,李海华,居红格,等. 免疫组织化学染色质量的影响因素分析[J]. 包头医学院学报,2007,23(3):241-242.

[7] 李玉松,杨守京. 病理学技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2000. 454.

[8] 杨会钗,刘世正. 使用新型全自动免疫组织化学染色仪与手工操作比较的体会[J]. 中华实用中西医杂志, 2005,18(17):922-924.

[9] Layfield LJ, Gupta D, Mooney EE. Assessment of tissue estrogen and progesterone receptor levels: a survey of current practice, techniques, and quantitation methods[J]. Breast J, 2000,6(3):189-196.

[10] 郑 杰,邹万忠,吴秉铨. 成功开展免疫组织化学的关键是标准化[J]. 中华病理学杂志,1996,25(6):323-325.

(编辑:文 灿)

·个案与短篇·

曲安奈德和利多卡因混合液致过敏性哮喘2例

马成龙 (解放军第1医院中医皮肤科, 甘肃 兰州 730020)

[关键词] 过敏性哮喘;曲安奈德;利多卡因
[中图分类号] R751.05;R562.25 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2010)02-0085-01

曲安奈德注射液(triamcinolone acetonde injection),是一种长效糖皮质激素类药物,具有强而持久的抗炎、抗过敏作用,主要用于治疗各种风湿性、类风湿性关节炎、过敏性鼻炎、荨麻疹、急性扭伤、肩周炎、腱鞘炎、滑囊炎、慢性腰腿痛、各种皮肤病(如神经性皮炎、温疹、牛皮癣、疤痕疙瘩、肥厚性疤痕等)。利多卡因是局麻药品,两者合用常用于神经性皮炎、疤痕、过敏性鼻炎、慢性腰腿痛等疾病的局部注射疗法。我院皮肤科近期治疗神经性皮炎、疤痕过程中使用曲安奈德和利多卡因混合液出现过敏性哮喘病例2例。现报告如下。

1 临床资料

病例1,患者男性,27岁,因双肘部神经性皮炎2年来就诊。无药物过敏史,有"支气管哮喘"病史。1年前给予曲安奈德40 mg加2%利多卡因注射液2 mL,患处局部皮内注射,经治疗患者症状完全消失,无不良反应发生。6个月前患者双肘部神经性皮炎再次复发,同样给予曲安奈德40 mg加2%利多卡因注射液2 mL,患处局部皮内注射,在注射另一手肘部时,患者诉注射部位周围及远处皮肤瘙痒,很快患者出现心慌、胸闷、气急、面色青紫、口唇紫绀,大汗淋漓,听诊患者双肺满布哮鸣音,立即停止注射,给予吸氧、取端坐位,吸入万托宁,并静脉推

(下转第91页)

[收稿日期] 2010-01-19 [修回日期] 2010-01-25