

文章编号 1006-8147(2019)06-0657-02

论著

# 试剂盒法制备细胞块的效果及其技术要点

刘芳<sup>1</sup>,刘增辉<sup>1</sup>,张丹芳<sup>1</sup>,车娜<sup>1</sup>,高玉彤<sup>1</sup>,林贤<sup>1</sup>,孙保存<sup>1,2</sup>

(1.天津医科大学基础医学院病理学教研室,天津 300070;2.天津医科大学肿瘤医院病理科,天津 300060)

**摘要** 目的:探讨应用细胞块制备试剂盒制备细胞块效果以及制块过程中的技术要点。方法:应用细胞块制备试剂盒制备细胞块,常规包埋制片后进行 HE 染色及免疫组化染色,观察其效果。结果:细胞块制备试剂盒制成的细胞块不散,可对微量标本进行处理,具备组织学优点;满足标本连续切片,并可永久保存标本;能满足免疫组化检测需要。结论:细胞块制备试剂盒法操作简单,技术难点不多,质量容易控制,便于基层医院推广。

**关键词** 细胞块;微标本;免疫组化染色

**中图分类号** R36

**文献标志码** A

由于临床送检的胸腹水、细针穿刺组织、宫颈脱落细胞、尿液、痰液、子宫内膜刷取物、肺泡灌洗液等标本的局限性,以往都制成涂片。因其存在标本利用率低而造成的检出率低、涂片中细胞重叠等缺点,严重限制了涂片诊断准确率,同时临床对病理诊断的要求不断提高,由此推动了细胞块技术在病理诊断中的应用及发展。目前细胞块制作方法主要有直接离心法、琼脂包埋法、蛋清包埋法和血浆凝血酶法。其中直接离心法对标本量的要求较大,不适合送检量小的标本如妇科宫腔的刷取标本、细胞量比较小的胸腹水等。蛋清包埋法由于蛋清在 HE 染色时着色形成红色背景,干扰镜下观察。原有琼脂包埋法有操作复杂等缺点。细胞块制备试剂盒是基于琼脂包埋法的试剂盒,解决了操作复杂等问题。本文对试剂盒法制备的蜡块进行检测,并探讨制备过程的技术要点及其解决方法。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 标本来源:天津医科大学总医院病理科接收临床送检的胸腹水、子宫内膜、宫颈脱落细胞、细针穿刺组织等微小标本。

抗体:一抗 ER 为即用型,购自福州迈新生物技术开发有限公司,货号:kit-0012。二抗为鼠兔通用型,购自北京中杉金桥生物技术有限公司,货号:PV-6000。试剂盒:细胞块制备试剂盒,购自北京赛普九州科技发展有限公司。设备:高速离心机、加热式离心机。

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞块制备** 临床送检的标本进行离心富集:3 000 r/min,离心 5 min,将上清液转移至原储存

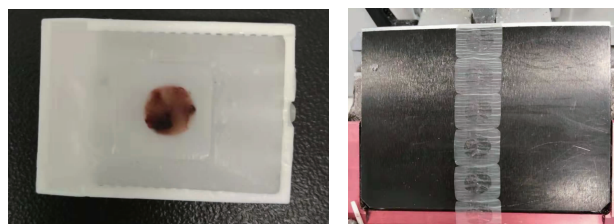
盒内,沉淀转移至包埋盒中,将预热后成液态的凝胶加入包埋盒,将包埋盒放置于加热式离心机吊篮中,40 ℃、2 000 r/min 离心 3 min,离心结束后,于室温冷却待胶体变为固体状态,至此细胞块制备完成。

**1.2.2 蜡块制备** 制成的细胞块按照常规组织制备蜡块的条件进行固定、脱水、包埋,然后制片,随后进行 HE 染色及免疫组化染色。

**1.2.3 HE 染色及免疫组化染色** HE 染色方法:石蜡切片常规脱蜡水化后用苏木素染细胞核,伊红染细胞浆,然后脱水、透明,中性树胶封片。免疫组化染色采用 SP 法,石蜡切片常规脱蜡水化,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 室温封闭 10 min,枸橼酸微波热修复,血清封闭后滴加一抗 4℃过夜,次日恢复室温,滴加二抗,DAB 显色,苏木素复染细胞核,脱水、透明、封片。

## 2 结果

经过上述过程制作而成的细胞块是果冻样的圆柱胶体,若为妇科送检的子宫内膜等标本,肉眼可见胶体内微细组织。细胞块经处理后制备蜡块如图 1A 所示,细胞块与蜡融合良好,两者之间未见裂隙,切片时完整连续如图 1B 所示。



A:细胞块脱水包埋后制成的蜡块

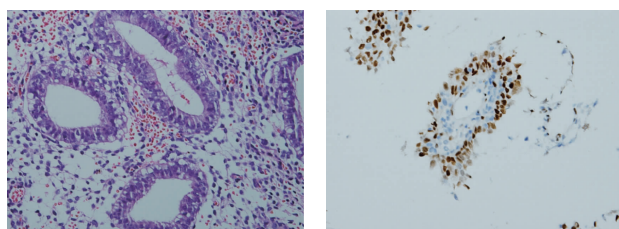
B:制片时切片完整连续

图1 制备的细胞块蜡块及其制片时的效果

细胞块蜡块制成切片后进行常规 HE 染色,效果如图 2A 所示,可见组织形态正常,红蓝对比明显,背景清晰。免疫组织化学染色后,可见组织 ER 阳性,定位准确,背景清晰,如图 2B 所示。

基金项目 天津市高等学校科技发展基金(20050108),天津市教委科研计划项目(自然科学)(2016YD14)

作者简介 刘芳(1984-),女,助理实验师,硕士,研究方向:病理学;通信作者:孙保存,E-mail:sunbaocun@aliyun.com。



A: 细胞块中子宫内膜组织(200×)

B: 组织 ER 阳性(200×)

图 2 HE 染色及免疫组化染色的效果

### 3 讨论

从 1896 年“细胞块”这个词出现至今, 历经 120 多年的发展, 细胞块技术发展已比较成熟, 高质量的细胞块蜡块首先要有样本细胞结构完整、易于保存的优点, 其次能满足免疫组化检测等特殊染色需求<sup>[1]</sup>。

用试剂盒制备方法制备的细胞块蜡块有如下优点: 试剂盒操作简单, 制成的细胞块不散, 可对微量标本进行处理; 具备组织学优点, 标本能制备连续切片, 并可永久保存; 满足免疫组化检测需要。

虽然试剂盒法制备的组织块具有上述优点, 但是试剂盒法细胞块制备过程中仍有几点需要注意。首先在标本富集的过程中需要注意以下几点: 离心次数可根据标本量进行调整, 对于细胞含量较低的标本, 提高离心机转数或可多次离心富集。对于宫颈(或宫腔)刷取标本, 样本细胞含量低, 存在小组织块, 小组织块在低速离心时不能紧密贴在离心管底部, 弃上清液时会随上清液倒掉, 所以试剂盒中配备的离心管的滤网在离心时不能去除, 离心结束后小组织收集在滤网上, 待弃上清后可夹取至离心管内, 同时由于宫颈(或宫腔)刷取标本中组织块在浮力的作用下容易漂浮, 所以在加入琼脂时动作要轻柔, 以免造成标本不集中。何燕等<sup>[2]</sup>介绍了一种细胞块制备管, 用来离心液基细胞保存液处理过的细胞量少的样本, 离心后得到的细胞块常规用石蜡包埋。其次, 在微量标本转移时可用适量细胞保存液重悬, 方便标本转移, 此时请注意细胞重悬液的量要控制

好, 重悬液加入过多会使得标本分散, 降低阳性检出率, 同时相对增加了琼脂的含量, 容易造成细胞块与蜡不能融合。最后, 凝胶加入要适量。试剂盒说明指出凝胶加入量应小于 10%, 同时有文献报道琼脂含量以 2% 为宜<sup>[3]</sup>, 在本实验条件下琼脂含量在 2%~5% 之间均可。琼脂含量过低不能凝结, 无法对细胞进行包埋; 琼脂含量过高细胞块会脆, 凝胶和包埋蜡不能很好地融合, 造成切片困难。若出现切片困难的问题, 可先将蜡块修块至细胞块暴露出, 放在冰箱里冷冻直至蜡块冻透, 之后切片即可连续完整。

细胞块技术方法较多, 对于方法的运用可以灵活选择, 如细胞含量较少的胸腹水可以选择本文所述方法, 若是胸腹水内细胞量大也可以用直接离心法制作细胞块, 所得细胞沉渣做成蜡块, 可以很好地满足诊断的需求, 同时也能节省成本。一种方法不能用于所有的情况, 应该提倡根据送检样本的特性选择合适方法, 即能达到良好的效果, 又可避免浪费。最近几年, 细胞块技术广泛地应用于各种研究中<sup>[1,4-6]</sup>。综上所述, 鉴于试剂盒法制备细胞块技术的优点, 如操作相对简单、技术难点不多、条件要求低、质量容易控制, 可在基层医院推广。

### 参考文献:

- [1] 陈泳, 陈昌星, 杨清海. 细胞块制备技术及在实验室病理诊断应用的研究进展[J]. 福建医药杂志, 2018, 40(2): 133
- [2] 何燕, 王璇, 程凯, 等. 薄层液基细胞保存液内细胞制作成细胞蜡块的应用体会[J]. 诊断病理学杂志, 2018, 25(3): 226
- [3] 钱坤, 杨洋, 张小容. 宫颈液基标本细胞块的制作及 c-myc 蛋白在高级别病变中的表达及意义[J]. 九江学院学报: 自然科学版, 2017, 32(4): 99
- [4] 亓崇东, 徐建平, 朱礼阳, 等. EGFR 基因突变在非小细胞肺癌胸水细胞块中的检测分析[J]. 贵州医药, 2017, 41(1): 3
- [5] 王超, 周小鸽, 余小蒙. 细胞块免疫细胞化学和原位杂交在针吸细胞学中应用[J]. 临床与实验病理学杂志, 2006, 22(1): 96
- [6] 吴倩, 易韦, 谢青梅, 等. 16/18 型 HPV 和 IMP3 在宫颈脱落细胞中的表达和意义[J]. 华中科技大学学报: 医学版, 2018, 47(3): 321

(2018-12-12 收稿)