



中华人民共和国国家标准

GB 15193.24—2014

食品安全国家标准

食品安全性毒理学评价中病理学检查 技术要求

2014-12-01 发布

2015-05-01 实施

中华人民共和国
国家卫生和计划生育委员会 发布

食品安全国家标准

食品安全性毒理学评价中病理学检查 技术要求

1 范围

本标准规定了食品安全性毒理学评价中常规病理学检查技术要求。

本标准适用于食品安全性毒理学评价中常规病理学检查。

2 目的

通过对病理学检查技术要求的规定,规范检查者的操作、减少检查结果的偏差,使组织病理学检查结果更为科学、有效,有利于实验室间的比较和科学数据的积累,为食品毒理学安全性评价提供形态学评价证据。

3 术语和定义

3.1 大体观察

运用肉眼或辅以放大镜、量尺和天平等工具对大体标本及其病变性状进行观察并记录检查所见的过程。

3.2 取样

对受试动物剖检时摘取器官组织的全部或切取其代表性部位与病变部位以用做病理学检查的标本。

3.3 固定

将取样标本浸入固定液中,使组织细胞内的物质尽量接近其活体状态时的形态结构和位置的过程。

3.4 取材

从已固定取样的标本上按照病理检查的目的和要求切取适当大小的组织块的过程。

3.5 脱水

将固定修切后的组织块经过一系列脱水剂浸透置换组织内水分,使包埋介质可以浸透入组织的过程。

3.6 透明

组织块脱水后,浸入一种既能与脱水剂又能与包埋剂互溶的溶剂中,使包埋剂浸入组织块的过程。

3.7 浸蜡

组织块经透明后,在融化的不同熔点、梯度浓度的石蜡内浸渍的过程。

3.8 包埋

组织块经过渗透剂渗透,用包埋剂(通常为石蜡)包被的过程。

3.9 切片

包埋后的组织块在切片机上切成薄片,粘附在载玻片上的过程。

3.10 染色

为确定组织或细胞中的正常结构或病变结构,选用相应的显示这些成分的染料,经过一系列特殊处理,使染料与组织或细胞成分结合,提高标本的可观察性。

4 病理学检查的一般要求

4.1 人员要求

4.1.1 病理工作人员由病理负责人及病理技术人员组成,病理工作人员应具有良好的职业道德、科学严谨的工作态度,能够运用专业知识完成本职工作。

4.1.2 病理负责人应具有医学病理学或兽医病理学背景,具备病理学理论知识与病理学诊断经验,可以准确的进行阅片,熟悉病理报告流程并对组织切片的组织病理学评价负责,包括对组织异常改变的鉴定和解释。

4.1.3 病理技术人员应具有医学、兽医学或生物学背景,或有相关检验经验,经过病理检验培训,熟练掌握病理学基本技术。在工作中应严格执行规范的技术操作规程。

4.2 设施和环境条件要求

4.2.1 病理实验室常规工作区按质量控制要求应设有独立的房间或功能区,包括标本存放室、取材室、冰冻切片室(区),常規制片预处理(组织脱水、透明、浸蜡、包埋)室(区),常規制片(切片、染色、封片)室(区),组织病理学诊断室,病理资料档案室。

4.2.2 实验室应有良好的通风及照明设备,备有应急电源和个人消毒防护设施、紧急救护设施等。

4.2.3 对病理检测相关设备应有相应的检测、维护保养、报废等操作管理规程。

4.3 技术要求

4.3.1 由病理负责人验收送检组织标本,核对相关信息并记录。

4.3.2 在病理标本制作和检查过程中,应严格按相应的标准操作程序(SOPs)进行操作。

4.3.3 由病理负责人进行显微镜观察,在出具病理报告前了解试验相关的各项资料,包括试验设计,受试物的理化特性和生物活性特点,给予受试物的方式、剂量和期限,实验动物的物种、品系、周龄、临床表现、生化和生理学指标等。

4.3.4 为获得可靠的病理检查结果,同一项动物试验所有被评价的组织切片需由同一位病理负责人按照统一的标准,对组织病理变化进行诊断和分级。必要时可由机构内或机构外病理专家进行复核。

4.4 文件和记录控制要求

病理学检查应设有相应的表格对试验过程及结果做完整的记录,并及时录入实验室计算机电子化数据记录系统,确保数据的完整性、准确性和可溯源性。

5 病理学检查具体技术要求

- 5.1 病理剖检前应了解实验动物的一般临床表现，并有相应的记录。
- 5.2 需要进行病理解剖检查的实验动物的编号、组别、性别等个体信息要有清晰明确的记录。
- 5.3 剖检前对实验动物的体表应仔细检查，包括动物的被毛（密或疏、光泽、脱毛或污染）和动物体表黏膜状况，观察皮肤及黏膜是否有肉眼可见的色素、角化、贫血、黄疸、水肿、结节、出血、淤血、创伤、糜烂及溃疡等异常改变。在剖检中对组织器官位置、外观、形态、色泽、质地进行仔细观察，判断受试物是否引起动物的组织、器官出现形状、大小、颜色、质地等方面的病理改变，是否出现病理性移位，受试动物的胸腔、腹腔及心包是否有体液残留及其性状（包括颜色及透明度等）改变。
- 5.4 器官组织摘取时，应按规范的剖检顺序：腹腔剖检、胸腔剖检、盆腔剖检、颈部剖检、体腔器官取出、体腔器官分离和肉眼观察、脑和脊髓剖检、椎体和骨髓剖检进行。剖检中见到的所有病理性改变应做详细记录，必要时需有图片、影像记录。胃摘除后沿胃大弯剪开，将胃内容物用生理盐水漂洗干净，将胃浆膜层粘附于硬纸板上后投入到固定液中，肠道可采用中性福尔马林溶液灌注的方式固定。肺叶取样时需在肺表面覆盖浸含固定液的薄层脱脂棉，以防肺组织漂浮于固定液表面而导致固定不充分，必要时可从支气管注入适量中性福尔马林溶液。肾组织取样时沿肾外缘中线朝肾门方向做一水平切面再行固定。肝组织取样时由肝脏背面沿其长轴每间隔1.5 cm~2.0 cm纵向平行剖开后固定。心脏取样时沿冠状沟切开后清除掉血块后固定。骨组织在中性福尔马林溶液中固定24 h后再进行脱钙。对需做病理检查的取样标本尽量避免外力和器械对组织造成的人工损伤，取样标本大小应适宜，以固定液可以充分渗透中心为宜。
- 5.5 对试验期间死亡及濒死动物应及时剖检，迅速摘取器官组织后切取适宜的标本固定。
- 5.6 需要称重的器官组织，在称重前应尽量将周围脂肪组织和结缔组织剔除，并用滤纸吸去器官组织表面血液及体液，特别是肾上腺、甲状腺、前列腺等较小的器官，摘除后要立即称重，防止器官干燥失水而重量减轻。管腔器官组织称重前，应清除其腔内液体，如心脏应除去血块，胃肠道需冲洗出内容物。成对器官组织要一同称量，根据器官组织重量选择适宜的天平，迅速称重并按照组织清单表对剖检动物需摘取的器官组织进行核对后及时固定。
- 5.7 病理取样标本的固定应根据试验目的和组织标本的特点选择适宜的固定液和固定方式，固定应及时充分，并尽早取材制片。常规固定液为中性福尔马林溶液，根据特殊病理解剖（特殊染色和组织化学染色、免疫组织化学染色和原位核酸分子杂交染色，电镜观察等）的需要，应选用其他适宜的固定液。固定液与取样标本体积比至少为4:1，固定时间为48 h~72 h。
- 5.8 对试验设计方案中要求检查的器官或组织取材的位置、方向（切面）要保持一致，切取的组织块大小适宜，结构完整；非要求器官或部位出现异常时，应保留额外的标本，选择病变中心及正常与病变交界处组织取材；取材记录要完整。
- 5.9 进行病理解剖的标本根据染色需要进行必要的前处理，对组织进行必要的修切，修切后组织一般厚度应在3 mm~5 mm，修切后的组织需经脱水、透明、浸蜡及包埋等处理。
- 5.10 包埋的组织标本应表面平整，切片应包括组织器官的全部结构，石蜡切片厚度一般为3 μm~5 μm，同时作多种染色时要采取连续切片。包埋时组织块的最大面或被特别指定部分的组织面应向下，包埋于同一蜡块内的多块细小组织应彼此靠近并位于同一平面上，腔壁、皮肤和粘膜组织必须垂直包埋（立埋）。制片时避免人工损伤。
- 5.11 常规病理解剖一般为石蜡切片和苏木素-伊红（H&E）染色，必要时可增加组织化学染色（包括特殊染色）、免疫组织化学染色等相关诊断技术进行病理解剖。
- 5.12 组织制片过程中，应确保切片号与蜡块号一致。良好的组织切片应包括受检组织的完整切面，无褶无刀痕，核浆染色分明，分色适度，洁净透明，封裱美观。制片完成后，病理技术人员应将切片与其相

应的病理学检查记录和取材工作记录认真进行核对,确认无误后,将制备好的切片及相应的记录等一并移交给病理负责人,交接双方经核对无误后,办理移交签字手续。

5.13 病理负责人阅片时对切片要进行全面观察,阅片应按动物编号或按组织顺序进行,所有切片标本都要按顺序逐一观察,描述并做记录。病理结果描述应客观、细致、全面、形象,应使用标准的病理学专业术语,对有意义的典型病变应有图片记录。需鉴别诊断时应进行特殊染色以确定其性质。

5.14 对非肿瘤性病变性质和范围可采用半定量的方法来区别形态变化的差异。

5.15 肿瘤病理学检查,必须明确区别增生、发育异常、瘤样增生和肿瘤类型。试验观察的结果分为:

- a) 良性和恶性;
- b) 原发性和继发性;
- c) 肿瘤发生率。

6 病理学检查的质量控制

6.1 为减少操作带来的影响,在剖检和制片过程中应采用对照组与试验组组间交叉方式进行。

6.2 应确保组织取材适当,如无肉眼可见病变,器官和组织的取材部位应统一。组织切片应包含器官和组织的全部结构,制成的切片需进行质量检查,如切片不合格时,保留原切片并重新制片,再制片要有详细的取材、制片记录等信息。

6.3 病理报告观察结果应使用专业术语进行详细的描述。

6.4 实验室应制定各试验环节相应的标准操作程序(SOPs)。

6.5 所用试剂标签应清晰明确,购买试剂应包括试剂名称、浓度和(或)纯度、贮存条件、购买人、购买日期、产品批号、开封使用日期等信息,配制试剂应包括所配试剂浓度、配制人、配制日期、有效期等信息,所有试剂应有详细的使用记录。

6.6 为避免动物组织标本的混淆,取样标本、蜡块、切片的编号采用同一标识系统分级进行编号。

6.7 取样标本、蜡块、切片应有独立的临时保存和归档保存空间,试验结束后按照病理档案管理的标准操作程序进行归档保存。

7 病理学检查中应注意的问题

7.1 大体病理剖检的描述。对大体解剖发现的病变应做详细的记录,必要时应用图片或示意图来标注病变所在位置、颜色、大小、性状等特征。应使用描述性语言,勿用诊断术语。

7.2 组织病理学变化的描述。对组织病理学变化的描述应包括病变在器官、组织内的定位,病变的分布和范围,病变的性质及病变程度等。

7.3 诊断术语的使用。术语应统一、清晰、准确,为专业同行认可,不应生造术语。

7.4 病理学检查应充分考虑以下因素:

- a) 病变产生的部位、性质、程度、分布特点;
- b) 在各剂量组出现频度规律性及与对照组比较的特异性;
- c) 病变与受试物的剂量-效应关系;
- d) 病变特点与处理因素构效关系;
- e) 病程进度与处理因素时相关系;
- f) 镜检结果与剖检病变、器官组织重量、动物临床表现、血液生化检验、尿检验以及特殊检验间的关联;
- g) 人为因素和非试验因素引起的病变;
- h) 历史背景和本次试验背景(历史对照和本次对照)及相关知识等作为鉴别诊断的依据。

8 病理学检查报告的基本内容

8.1 标题

按“受试动物+给予受试物方式+受试物名称+毒理学试验项目”等相关信息命名。

8.2 受试物及送检信息

应包括毒理学试验项目、受试物名称、受试物编号、送检单位或送检人、标本固定时间、送检时间、动物来源、动物品系、动物级别、病理编号、染色方法、报告时间等信息。

8.3 目的

简述本次试验观察指标的组织病理学改变及意义。

8.4 材料和方法

应包括实验动物品种、数量、分组，器官组织名称、数量，试剂，仪器，制片和染色方法。

8.5 结果

应用病理结论性语言总结描述剖检及组织病理学检查结果。

8.5.1 剖检结果：使用病理结论性语言描述总结观察到的外观、体表及器官组织由受试物所引起的有意义的病变。

8.5.2 组织病理学检查结果：使用病理结论性语言描述总结观察到的由受试物引起的病变，列表说明病变例数。

8.5.3 对试验期间死亡或濒死动物的剖检和组织病理学检查结果进行总结描述，并分析死因。

8.6 讨论

必要时进行讨论。

8.7 结论

所有检查项目均应给出是否与受试物有相关性的意见。

8.8 签名

包括病理检验人、校核人签名，并注明日期。

8.9 参考文献

必要时列出参考文献。

9 同行评审

9.1 病理学检查一般由一位病理负责人完成阅片及报告，在特殊情况下如果由多位病理人员参与组织病理学观察，结果存在分歧时，应组织非本单位同行评审。

9.2 同行评审意见作为参考，最后结论由病理负责人确定。

9.3 必要时同行评审意见作为附件附在报告后。