

编辑推荐

毒性病理学实用方法与技术

主编 金毅

副主编 宋向荣 付新录 杨照新 翁银标 王凤岩

江苏凤凰科学技术出版社

需要全本请访问 www.ertongbook.com

毒性病理学
实用方法与技术

顾　　问：袁伯俊　第二军医大学药物安全性评价中心
鲁　艺　深圳市药品检验研究院（深圳市医疗器械检测中心）
徐　峰　沈阳药科大学

主　　审：秦　川　中国医学科学院医学实验动物研究所

主　　编：金　毅　深圳市药品检验研究院（深圳市医疗器械检测中心）

副 主 编：宋向荣　广东省职业病防治院　付新录　中山大学实验动物中心
杨照新　海南医学院海南省药物安全性评价研究中心　翁银标　广东省食品药品监督管理局
王凤岩　广东省疾病预防控制中心

参编人员：曹穗兰　广东省医疗器械质量监督检验所　蔡婷峰　广东省职业病防治院
郭建荣　广州金域医学检验中心有限公司　甘玉玺　中兴通讯股份有限公司
刘显良　广州金域医学检验中心有限公司　白文霞　江苏省药物研究所有限公司江苏省药物安全性评价中心
刘月姝　广东省医学实验动物中心　孙清萍　广东省药品检验所　高建波　天津市药品检验所
臧德跃　深圳市药品检验研究院（深圳市医疗器械检测中心）　崔宏伟　深圳市领先医疗服务有限公司
王阁齐　深圳市领先医疗服务有限公司　金志虎　深圳市共进电子股份有限公司
钟廷机　广州中医药大学科技产业园有限公司　吴少勇　中兴通讯股份有限公司
吴志勇　清华大学深圳研究生院　姜　昕　南通中科基因医学检验所
杨文祥　湖北省疾病预防控制中心　王彦武　广西壮族自治区疾病预防控制中心
柯　军　广东省医疗器械质量监督检验所　何桂清　广州金域医学检验中心有限公司
黎　锋　广州金域医学检验中心有限公司　郑自明　湖北省疾病预防控制中心

校 审 者：孙景军　美迪西普亚医药科技（上海）有限公司　吴国峰　沈阳化工研究院有限公司安全评价中心
甘玉玺　孙清萍　曹穗兰　臧德跃

江苏凤凰科学技术出版社

图书在版编目（CIP）数据

毒性病理学实用方法与技术 / 金毅等主编. -- 南京：江苏凤凰科学技术出版社，2017.8
ISBN 978-7-5537-8406-9

Ⅰ. ①毒… Ⅱ. ①金… Ⅲ. ①毒性－病理学 Ⅳ. ①R99

中国版本图书馆CIP数据核字（2017）第 111030 号

毒性病理学实用方法与技术

主　　编	金　毅
副 主 编	宋向荣　付新录　杨照新　翁银标　王凤岩
责任编辑	樊　明　祝　萍
责任校对	郝慧华
责任监制	曹叶平　方　晨
出版发行	江苏凤凰科学技术出版社
出版社地址	南京市湖南路 1 号 A 楼　邮编：210009
出版社网址	http://www.pspress.cn
印　　刷	深圳市彩之美实业有限公司
开　　本	787 mm × 1092 mm　1/16
印　　张	25.75
字　　数	200 000
版　　次	2017 年 8 月第 1 版
印　　次	2017 年 8 月第 1 次印刷
标 准 书 号	ISBN 978-7-5537-8406-9
定　　价	180.00 元

图书如有印装质量问题，可随时向我社出版科调换。

序言

Preface

作为一门新兴的学科，毒性病理学是病理学在毒理学研究中的应用，是采用形态学的观察方法研究药品、食品、化学品等对实验动物的组织和细胞造成病理性改变的损伤部位、损害性质及程度、发生过程和转化规律，并以此为依据，推断其对人类的靶器官作用、最低毒性作用剂量等，可以说毒性病理学的数据或结论往往决定药品、食品、化学品、农药等研发项目的进展。

1997年《新药临床前安全性评价与实践》一书出版时，虽有一个章节介绍毒性病理学检查的内容，但缺乏规范而系统的解剖、取材、固定、染色和制片等操作技术，相当程度上影响了毒性病理诊断的可靠性。近20年来，国内的毒性病理学正在以飞快的速度健康发展，专业性学术委员会陆续成立，各地的中青年业务骨干逐步崭露头角，专业学术书籍不断出版发表……金毅博士主编的这本《毒性病理学实用方法与技术》，广泛吸收了我国毒性病理学科目前发展的常用技术和实用方法，系统总结了各个领域内毒性病理操作技术的成功经验，具有较强的可操作性和参考价值，是一部专业性较高，科学性、实用性较强的毒性病理技术类学术专著。作为一名从事安全性评价工作的老同志，我感到由衷的高兴，并热烈祝贺本书的出版。

毒性病理操作技术是病理诊断的基础和质量保证，而规范系统的操作技术是保证质量的关键。本书对规范病理技术人员的工作有重要指导作用，也是新形势下不同领域毒性病理从业人员发扬“工匠”精神，紧密合作的成果。相信随着该书的出版发行，必将推进我国毒性病理操作技术的规范化进程，对提高我国毒性病理诊断水平发挥很好作用。



2017年1月

前言

Foreword

毒性病理学是评价药品、食品（保健食品）、农药、医疗器械、化学物质以及生物的毒性和安全风险的学科，是安全性评价检验和研究、保健食品的一些功能评价检验、涉及实验动物的诸多专业科学研究所需的关键环节。随着时代的发展，技术日新月异，但是，传统的形态病理学仍是安全性评价的基石和重要的评价方法。

制片质量差，干扰镜下的观察和诊断；研究人员发明了拟应用于医疗器械的新材料，想通过动物实验，评价局部刺激性时，不知道该如何操作；花费几个月之久，辛辛苦苦建立了动物的疾病模型，却因为解剖后没有及时固定，组织脏器严重自溶，无可验证……这些都是非常痛心的失败，造成的损失和浪费也是巨大的，甚至不可挽回的。为科学、顺利地完成病理检查和诊断，必须熟悉实验流程，掌握动物解剖，大体观察，组织脏器的固定、取材、修块，组织制片，HE常规染色，特殊染色，免疫组织化学等每一个步骤的病理操作技术，遇到问题能够分析并找到解决方案，建立符合病理学原则的操作规程非常重要。

由于我国安全性评价事业起步较晚，国内一直缺乏一部详实、形象地讲解毒性病理学实用技术和方法的专著。在我国毒性病理学、药物毒理学和实验动物学界专家们的大力支持鼓励下，在几十家机构的毒性病理学专业人员充分交流、研讨成果的基础上，我们组织骨干力量，融入了切身宝贵的国内外实践经验和体会，集各家工作经验之大成并创新，编写了《毒性病理学实用方法与技术》。本书注重科学性、实用性相结合，既可作为大专院校相关专业的教材、参考书，也可作为从事药理、毒理和病理工作和研究人员的参考书。

本书有以下主要特点：

第一，首部由具有多年一线工作经验的病理学专业人员精诚合作，详实讲解病理学方法和技术的专著，包含规范，流程，技巧，关键点及常见问题的解决方案等。

需要全本请访问 www.ertongbook.com

第二，首部对每个实验细节都配以彩色图片的专著。全书共20万余字，约900张彩图，图文并茂，形象直观，这也是本书最大的亮点和可贵之处，便于读者直观、快速、准确地掌握技术和方法。

第三，包括的技术领域广泛，是我国首部涵盖药物临床前安全性评价，农药毒理学试验，食品（保健食品）毒理学及功能评价检验，以及医疗器械生物学安全性评价、局部刺激性试验、植入试验等详细技术要点和环节的专著，克服了以往各专业相互割裂，缺乏横向交流和比较的缺憾，便于工作于不同行业的病理技术人员更全面掌握和选择适合自身的技术和方法。

感谢对本书给予厚望并倾注心血的参编人员、校审者，感谢广州金域医学检验中心有限公司对南部地区毒性病理学术交流的大力支持和协助。感谢各机构协助书稿相关工作的同仁，如海南医学院海南省药物安全性评价研究中心主任符键教授；广州医药研究总院有限公司易华；中山大学实验动物中心梁十，江国健；广东省职业病防治院高洪彬，梁旻炜，黄曼琪；广东省医疗器械质量监督检验所杨文润，陶攀；深圳市领先医疗服务有限公司张贵，施小立；天津市药品检验研究院贾文婷，杨天骄，李晓菲，徐琳；广东省疾病预防控制中心周轶琳，茅莉娜；广东省医学实验动物中心朱颖欣，刘骥德；广州医药研究总院有限公司吴淑仪；湖北省疾病预防控制中心郑艳华等！

感谢被誉为我国从事药物安全性评价工作第一人的袁伯俊教授为本书作序，并提出宝贵的指导意见。感谢中国实验动物学会理事长秦川教授担任本书主审；感谢袁伯俊教授，深圳市药品检验研究院（深圳市医疗器械检测中心）鲁艺院长及沈阳药科大学徐峰教授担任顾问；感谢江苏凤凰科学技术出版社有关编辑及所有为本书编辑出版给予帮助的人员！

由于本书着眼于实际工作中常用的病理学技术和方法，未能面面俱到；不同机构的实验技术和方法也会存在一定的差异，加之笔者知识有限，可能存在一些不足乃至错误，恳请广大专家、同仁、读者给予批评指正，不胜感激！

编 者

2017年5月

目录

CHAPTER 01 概　述

第一节　毒性病理学方法与技术的重要性　2
第二节　当前我国毒性病理学方法与技术的常见问题　3
第三节　提高我国毒性病理学方法与技术的对策　4
第四节　毒性病理学操作方法与技术的基本原则　4

CHAPTER 02 药物临床前安全性评价——大鼠系统解剖要求及方法（一）

第一节　药物临床前安全性评价的大鼠系统解剖要求　8
第二节　药物临床前安全性评价的大鼠解剖前准备事项　10
第三节　药物临床前安全性评价的大鼠麻醉、体表观察及采血　10
第四节　药物临床前安全性评价的大鼠解剖顺序　13
第五节　药物临床前安全性评价的大鼠解剖注意事项和技术要点　32
第六节　药物临床前安全性评价的大鼠组织脏器的取材方法　33

CHAPTER 03 药物临床前安全性评价——大鼠系统解剖要求及方法（二）

第一节　药物临床前安全性评价的大鼠系统解剖要求　40
第二节　药物临床前安全性评价的大鼠解剖前准备事项　41

第三节　药物临床前安全性评价的大鼠组织脏器解剖顺序　41
第四节　药物临床前安全性评价的大鼠解剖注意事项和技术要点　42

CHAPTER 04

药物临床前安全性评价——Beagle 犬系统解剖要求及方法

第一节　药物临床前安全性评价的 Beagle 犬系统解剖要求　70
第二节　药物临床前安全性评价的 Beagle 犬解剖前准备事项　71
第三节　药物临床前安全性评价的 Beagle 犬组织脏器解剖顺序　71
第四节　药物临床前安全性评价的 Beagle 犬解剖注意事项和技术要点　72

CHAPTER 05

药物临床前安全性评价——食蟹猴系统解剖要求及方法

第一节　药物临床前安全性评价的食蟹猴系统解剖要求　102
第二节　药物临床前安全性评价的食蟹猴解剖前准备事项　103
第三节　药物临床前安全性评价的食蟹猴组织脏器解剖顺序　103
第四节　药物临床前安全性评价的食蟹猴解剖注意事项和技术要点　104

CHAPTER 06

农药毒理学试验——大鼠系统解剖要求及方法

第一节　农药毒理学试验的大鼠系统解剖要求　136
第二节　农药毒理学试验的毒性病理学实施基本原则　140

第三节　农药毒理学试验的大鼠解剖前准备及注意事项　142
第四节　农药毒理学试验的大鼠解剖方法与技术　145

CHAPTER 07

食品（保健食品）安全性毒理学评价——大鼠解剖要求及方法

第一节　食品（保健食品）安全性毒理学评价的大鼠解剖要求　161
第二节　食品（保健食品）安全性毒理学评价的大鼠解剖前准备　164
第三节　食品（保健食品）安全性毒理学评价的大鼠麻醉及采血　165
第四节　食品（保健食品）安全性毒理学评价的大鼠组织脏器解剖顺序　167
第五节　食品（保健食品）安全性毒理学评价的大鼠解剖注意事项和技术要点　176

CHAPTER 08

医疗器械生物学安全性评价——大鼠系统解剖要求及方法

第一节　医疗器械生物学安全性评价的大鼠系统解剖要求　180
第二节　医疗器械生物学安全性评价的大鼠解剖前准备事项　182
第三节　医疗器械生物学安全性评价的大鼠组织脏器解剖方法与技术　183
第四节　医疗器械生物学安全性评价的大鼠解剖注意事项和技术要点　186

CHAPTER 09

药物常用局部刺激性试验方法与技术

第一节　CFDA 局部刺激性试验的指导原则（2014 版）解读　192

第二节　肌肉刺激性试验　196
第三节　血管刺激性试验　203
第四节　阴道刺激性试验　210
第五节　皮肤刺激性试验　216
第六节　直肠刺激性试验　220
第七节　口腔黏膜刺激性试验　221
第八节　眼刺激性试验　225
第九节　耳刺激性试验　230
第十节　鼻黏膜刺激性试验　234

CHAPTER 10

医疗器械局部刺激性试验方法与技术

第一节　皮肤刺激性试验　242
第二节　皮内反应试验　247
第三节　阴道刺激性试验　252
第四节　直肠刺激性试验　257
第五节　口腔刺激性试验　259
第六节　眼刺激性试验　261
第七节　阴茎刺激性试验　264

CHAPTER 11

医疗器械植入试验方法与技术

第一节　植入试验的指导原则　268
第二节　皮下组织植入试验　273
第三节　肌肉组织植入试验　277
第四节　骨埋植试验　280
第五节　猪冠状动脉支架植入试验　283

CHAPTER 12 保健食品功能评价检验规范中的病理学问题

第一节 四氯化碳急性肝损伤的病理学诊断方法的探讨及建议 294
第二节 对胃黏膜损伤有辅助保护功能评价的病理学方法探讨及建议 298

CHAPTER 13 组织脏器固定方法及常见问题

第一节 常用的固定液 306
第二节 组织脏器的常用固定方法 308
第三节 组织固定的注意事项 310

CHAPTER 14 组织脏器取材方法及常见问题

第一节 组织脏器取材的基本原则 314
第二节 组织脏器取材的注意事项 314

CHAPTER 15 苏木精－伊红（HE）染色制片方法与技术

第一节 脱水 318
第二节 透明 319
第三节 浸透 321
第四节 包埋 323
第五节 切片方法（一）：石蜡包埋切片技术 327
第六节 展片和贴片 333
第七节 烤片 334

需要全本请访问 www.ertongbook.com

第八节　苏木精 - 伊红染色（HE）染色　335
第九节　封片　341
第十节　保管　343
第十一节　组织病理切片标本的质量控制评价　344
第十二节　切片方法（二）：树脂包埋切片技术　347

CHAPTER 16

常用特殊染色方法与技术

第一节　网状纤维染色　352
第二节　胶原纤维染色　355
第三节　弹性纤维染色　361
第四节　多糖类物质染色　363
第五节　胃幽门螺杆菌染色　369
第六节　中性脂肪染色　370
第七节　淀粉样蛋白染色　372

CHAPTER 17

免疫组织化学染色方法与技术

第一节　实验前准备　376
第二节　实验方法与技术　377

CHAPTER 18

毒性病理学信息化建设

第一节　毒性病理数据信息化的目的　382
第二节　构建毒性病理数据的信息化方案　383
第三节　身份认证和溯源的技术方案　385

CHAPTER 19

从独立医学实验室看毒性病理

第一节　我国病理学发展状况　390

第二节　第三方检验国内外发展概况　391

第三节　医改大背景下催生的行业快速发展　393

第四节　行业未来发展趋势　395

第五节　发展过程中的挑战　396

CHAPTER

01

概　述

实验技术方法在科学研究中非常重要，正确的实验方法是探索未知世界和获得正确实验结果不可或缺的手段。科学可靠的技术方法决定研究的质量，如何保障技术方法科学可靠是每一门专业研究中的重要课题。同时，技术方法与科学发展相辅相成，随着时代的发展、科技的进步，不断形成新的技术方法，而新的技术方法又可以促进和提高研究水平，发现新的问题。新技术、新方法的实践和推广要靠掌握新方法新技术的人才，因此，技术人员的培养，科学素养的提升显得尤为重要。

第一节 毒性病理学方法与技术的重要性

国际著名病理学家Karl Lennert教授说过“病理技术是病理学之母”，强调病理学技术是病理学诊断的重要基础。毒性病理学的技术和方法不仅应用于药物安全性评价，而且广泛应用于食品（保健食品）、医疗器械、农药等的安全性评价，食品（保健食品）的功能评价检验，以及所有利用各种实验动物的科学研究中。为保证上述研究、检验和评价的科学、可行、客观、公正，建立系统、规范的毒性病理学研究和评价体系，病理学技术和方法是关键之一。

例如，国家将药物安全性评价平台建设列为“重大新药创制”重大科技专项中的重要支持平台之一，提出要进一步完善和加强良好实验室管理规范（Good Laboratory Practice，GLP）管理体系建设，特别强调要完善GLP规范的药物安全性评价中毒性病理评价系统，着重提高毒性病理诊断水平，规范毒性病理学诊断术语，开展病理新技术新方法研究，获得国际同行认可，使我国的新药GLP非临床研究逐步与国际接轨。由此可见，毒性病理学在药物的安全性评价中有极其重要的地位和作用。

科学的管理和规范化操作是确保病理学方法与技术精准实施的关键。所谓规范化，是指在操作过程中对使用试剂种类、浓度、温度、时间以及操作的手法等都有详细的规定，减少人为因素的影响，减少变量，减少影响制片质量的因素。病理学方法与技术的规范化，即标准操作规程（Standard Operating Procedure，SOP）是实验过程最大限度优化的体现；可以最大限度减少不同技术人员、不同机构实施的差异，使实验结果具有可比性和可重复性；可以作为技术人员培训的教材；同时，也是形成实验数据的重要基础。

第二节 当前我国毒性病理学方法与技术的常见问题

病理学技术很大程度上依靠实践经验积累形成，各实验室根据自己的实验条件和经验总结归纳的操作规范，可能存在某些环节和细节上的差异，而且，随着科技进步、仪器设备的更新换代，以及经验的不断积累，技术方法不断改进和完善。由于经验的随意性较大，可能导致质量的不稳定性。特别是对于缺乏经验的技术人员和机构而言，制定科学、合理的操作规程更是困难的事情。

由于我国安全性评价事业起步较晚，地区间、实验室间发展不均衡，存在以下几个常见问题：

（1）总体上，对毒性病理专业的了解和重视度不够，一些机构的领导、同事，甚至毒性病理专业人员本身，都不够重视病理学技术和方法。

（2）虽然我国有少数实验室的实验数据已经实现了药物安全性评价数据的国际互认，但是，合格的、规模化的、能与国际接轨的实验室还太少。例如，通过我国认证的五十多家GLP实验室中，真正在国际上获得认可的实验室仅有少数几家。更多的实验室尚在发展完善中，随着各实验机构对毒性病理学的重视，还有很多新建的病理实验室，均有待提高。

（3）缺乏专业人才，相当一部分毒性病理学技术人员的专业背景不是病理学，也不是医学、兽医学等，而是因为工作需要转向从事病理技术，专业基础薄弱，从毒性病理诊断人员，制片技术人员，到解剖人员，较大比例的从业人员缺乏系统、长期的专业培训背景。

（4）缺乏定期的、系统的、正规的训练毒性病理技术人员的专业技术培训教育体系，很多技术人员的培训是通过在其他毒性病理实验室或者医院病理室的短期学习，少则一、两周，多则半年的进修，就上岗操作。

（5）缺乏符合我国大多数实验室情况的、详细阐述常用毒性病理学方法与技术的专业书籍。

（6）由于较多机构出于对自身经验的保护，部分专业人员的个人保守，操作技巧、试剂配方、解剖、取材等操作规程等，缺乏交流沟通平台、途径不够通畅。

（7）不够重视操作技术和方法，加之工作任务较重，技术人员自身也缺乏对不同操作的优劣进行深入细致的研究和探讨。

（8）缺乏先进仪器设备，很多机构停留在常规、传统实验技术，不重视新技术新方法，缺乏对新技术新方法的探讨和应用。

第三节 提高我国毒性病理学方法与技术的对策

为加快提高我国毒性病理专业整体技术水准，需要我国相应的实验机构和从事毒性病理实践工作的人员能有无私奉献、经验共享的理念和胸怀，在借他山之石攻玉之外，还要有善于抛砖引玉，勇于交流和探讨，共同提高，互利共赢的精神。笔者认为主要有以下几方面的方法与对策：

1. 各实验机构加强重视毒性病理专业技术，对技术操作规程严格把关，保证其科学、合理性。

2. 促进同行之间、不同行业之间的病理专业人员的交流，尤其是通过专题研讨会开诚布公地分享各自的经验和教训，友好地共同探讨难点及困惑。

3. 在广泛的学习交流的基础上，组织骨干力量对探讨成果做进一步的总结归纳和提高，形成文字，辅以照片及示意图等，以深入浅出、直观精准的方式将优化的技术方法提供给专业人员。

4. 毒性病理学学术团体加快建立健全毒性病理学方法与技术的系统、规范、长期的培训体系，提高对病理学技术的重视程度。

5. 病理学技术人员提高专业精神，具有职业自豪感，能在日常工作中注重加强对病理技术的学习和研究，细心发现问题，主动想办法解决问题。

6. 加快建立较严格的专业技术资格考核、认证机制，要求病理技术人员持证方可上岗。

7. 积极引进和推广新技术新方法，加强国际交流，到国外先进机构进修学习，加快与国际接轨的步伐。

只有保证病理技术和方法的正确实施，才能保障顺利开展病理学诊断工作，从而实现各个不同领域的安全性评价。

第四节 毒性病理学操作方法与技术的基本原则

为保证毒性病理学的方法与技术的顺利实施，不仅操作人员要了解技术要点，操作规范且熟练，做好详实、完整的实验记录，对新技术新方法要经过认证后使用，而且还需要在实施前做好相应的辅助和配合的工作。本节主要概述在本书各论中未提及的基本原则。

需要全本请访问 www.ertongbook.com