

HE 染色原理和试剂配制及染色过程中的若干问题的探讨

李红芬, 郑肇巽, 马品耀, 平国强

(江苏省人民医院病理科, 江苏 南京 210029)

摘要: 目的 探讨 HE 染色原理和试剂配制及染色过程中的若干问题的临床基础性意义, 推广优良、简捷、经济的试剂配制方法, 研究染色过程中的若干问题, 完美 HE 染色, 明确病理诊断, 利于临床治疗。方法 采用本科室自己配制试剂所染 HE 切片 30 张和 30 张(对照组)某试剂公司配制试剂所染 HE 切片进行显微镜下对比, 分析两者的优缺点及染色过程中的若干问题。结果 本科室自家配制试剂所染 HE 切片明显优于对照组, 尤其体现在细胞核着色上, 注重染色过程中的若干问题的切片比未注重染色过程中的若干问题的切片质量高。结论 HE 染色原理和试剂配制及染色过程中的若干问题的探讨, 从基础理论出发, 不断实践, 为更完美、清晰地呈现显微镜下正常或异常的组织细胞结构, 明确病理诊断, 从而更好更快地指导临床治疗而努力。

关键词: HE 染色; 病理

在病理组织切片染色中, 苏木素-伊红(HE)染色是其最基本、最常用的一种染色方法, 目前各种试剂公司 HE 染液层出不穷, 购买方便, 但价格昂贵、染色效果并不太理想。本科室二十多年来应用自己所配 HE 染色液, 效果较好, 近年偶然用了某试剂公司 HE 染液, 结果效果次于前者, 后也有其它试剂公司 HE 染液要求试用, 结果效果也不好, 尤其在细胞核的显色上更明显, 现将结果报道如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2010 年 1 月~2010 年 7 月在江苏省人民医院病理科同一台染色机所做的本科室所配 HE 染色液所染病理切片 30 张; 对照组 30 张为某试剂公司 HE 染液所染病理切片。这两组 30 张病理切片要求每组都含有皮肤、眼球、扁桃体、唇腺、食道、胃、十二指肠、阑尾、乙状结肠、直肠、肝、胆囊、胰腺、脾、肾、膀胱、前列腺、睾丸、子宫、乳腺、甲状腺、肾上腺、鼻息肉粘膜、支气管粘膜、肺、骨髓、淋巴结、大网膜、二尖瓣、主动脉瓣的组织。同一组织选同一蜡块切两张相同厚度(4 μ m)片分别用本科室所配 HE 染色液、某试剂公司 HE 染液进行染色, 然后显微镜下一一对应观察对比, 以筛选出优质染液, 推广优良、简捷、经济的试剂配制方法, 研究染色过程中的若干问题, 完美 HE 染色, 明确病理诊断, 利于临床治疗。

1.2 本科室 HE 染色液的配制方法

1.2.1 苏木素染液的配制 备 5000ml 玻璃瓶(要求质量要厚实不易炸裂的)或大容量的瓷缸一个至若干个(根据需要而定); 取 5000ml 玻璃瓶一个洗净, 在 5000ml 水位处用标签贴上标记线。取 500g 钾明矾(硫酸铝钾)投入此瓶内, 并将瓶拎到开水间 100 $^{\circ}$ C 水龙头下, 瓶底下垫木板或木制脚凳; 接 100 $^{\circ}$ C 水入瓶并用竹棒或木棒不断搅拌, 这样边加水边搅拌至钾明矾完全溶解。然后, 向瓶内加入事先配好的 250ml 苏木素酒精溶液(将 25g 苏木精粉末投入量杯, 并加入 250ml 无水酒精, 用玻璃棒调匀即可), 迅速用棒搅匀, 液体呈暗深蓝色, 然后再继续加 100 $^{\circ}$ C 开水至 5000ml 水位标记线, 用竹棒搅匀瓶内液体; 待液体冷却后将瓶放置阳台, 瓶口不加盖, 也可在瓶口上蒙上薄薄一层纱布(纱布下缘用带子或皮筋扎紧), 防过多灰尘入瓶, 这样进行自然氧化约半年至一年左右, 经自然氧化充分的苏木素染液液面可见荧光色结晶层; 使用前, 用滤纸或多层纱布过滤以滤除荧光色结晶层、灰尘、细菌虫卵等, 过滤后还可加适量冰醋酸或每 100ml 加冰醋酸 5ml(媒染以促进染色, 使所染片子更好看)即可用。

1.2.2 伊红染液的配制 首先用蒸馏水清洗量杯等器皿, 称水溶性伊红 12.5g 投入量杯加入量好的 125ml 蒸馏水搅拌均匀, 并加适量的冰醋酸, 用玻璃棒搅拌使液调成糊状, 然后糊状液沿内附滤纸的漏斗过滤, 待滤液滴净, 将内附滤纸的漏斗放入烘箱内烘干滤纸上析出物(可过夜烘干干, 次晨取出), 将烤干的滤纸上析出物投入 95%

5000ml 酒精中搅拌均匀混合, 因酒精易挥发, 配好后加盖封存, 且用塑料薄膜扎紧瓶口。

1.2.3 醇溶性伊红(即乙醇伊红)染液的配制 先将醇溶性伊红 Y 25g 溶于 95%酒精 5000ml 中, 用玻璃棒研碎溶解后, 每 100ml 加冰醋酸(促染剂)1 滴。用乙醇性伊红液染细胞浆后可不经水洗, 直接用 85%酒精脱水。

1.2.4 分化液的配制

1.2.4.1 0.5%~1%盐酸酒精分化液的配制 见表 1。0.5%、0.1%的盐酸酒精分化液是常用的浓度。此液用一段时间后需要延长或更换液体, 新液分化时间要短。

表 1 0.5%~1%盐酸酒精分化液的配制

	基数剂量	本科室常规剂量
纯盐酸	0.5~1ml	2.5~5ml
75%酒精	99.5~99ml	497.5~495ml

1.2.4.2 1%~0.5%~0.25%盐酸水分化液的配制 见表 2。1%、0.5%、0.25%这三个浓度的分化液为常用的浓度剂量。可根据苏木素染液的深浅浓淡酌情灵活配制使用。

表 2 1%~0.5%~0.25%盐酸水分化液的配制

	基数剂量	本科室常规剂量
纯盐酸	0.25~0.5~1ml	1.25~2.5~5ml
水(自来水或蒸馏水)	99.75~99.5~99ml	498.75~497.5~495ml

1.3 HE 染色步骤

1.3.1 脱蜡 ①二甲苯 I 脱蜡 10min 左右(自动染色机染 10min); ②二甲苯 II 脱蜡 5min 左右(自动染色机染 10min); ③无水酒精(乙醇) I 洗去二甲苯 1min(机染 1min); ④无水酒精(乙醇) II 洗去二甲苯 1min(机染 1min); ⑤95%酒精 1min(机染 1min); ⑥85%酒精 1min(机染 1min); ⑦自来水洗片刻(机染 1min)。

1.3.2 染色 ①苏木素染色 1~5min 左右(机染 1~5min); ②自来水洗片刻(机染 1min); ③1%或 0.5%或 0.25%盐酸水分化 3~5s(机分化 30s); ④自来水洗, 温水蓝化片刻(机洗 5min); ⑤伊红酒精染液浸染 20s~2min(机染 30s~5min)。

1.3.3 脱水、透明、封固 ①85%的酒精脱水 20s(机染 20s); ②95%的酒精 1min(机染 1min); ③无水酒精 I 染 1~2min(机染 2min); ④无水酒精 II 染 2min(机染 2min); ⑤二甲苯 I 浸 2min(机染 2min); ⑥二甲苯 II 浸 2min(机染 2min); ⑦中性树胶或加拿大树胶封片。

2 结果

2.1 染色结果 细胞核被苏木精染成鲜明的蓝色, 钙盐和各种微生物也可染成蓝色和紫蓝色。细胞核蓝色, 软骨基质、钙盐颗粒呈深蓝色, 粘液呈灰蓝色。细胞浆、肌肉、结缔组织、红细胞和嗜伊红颗粒被伊

红染成深浅不同程度的粉红色至桃红色,胞浆内嗜酸性颗粒呈反光强的鲜红色。胶原纤维呈淡粉红色,弹力纤维呈亮粉红色,红血球呈橘红色,蛋白性液体呈粉红色。

2.2 两组不同 HE 染色液染色结果比较

2.2.1 用本科室所配 HE 染色液所染病理切片(30 张) ①镜下细胞核/细胞浆:细胞核被苏木精染成鲜明的蓝色(蓝而有光泽),被伊红染成深浅不同的粉红色至桃红色(胞浆内嗜酸性颗粒呈反光强的鲜红色)。整个片子有透明感,结构纹理细、清晰分明,有层次感。②试剂优、缺点:经济、优良、染色效果理想。配方简捷,有二十几年积累,趋于完善。只需自然氧化的染液较稳定,配好后可长期保存。见图 1。

2.2.2 某试剂公司 HE 染色液所染病理切片(30 张) ①镜下细胞核/细胞浆:被苏木精染成鲜明的蓝色(蓝而无光泽),被伊红染与前者差别不明显,基本显色同上。整个片子层次感与前者。②试剂优、缺点:购买方便,但价格昂贵、染色效果并不太理想。配方积累情况不详。现配现用,加黄色氧化汞氧化安全性较差,染液不稳定。见图 2。

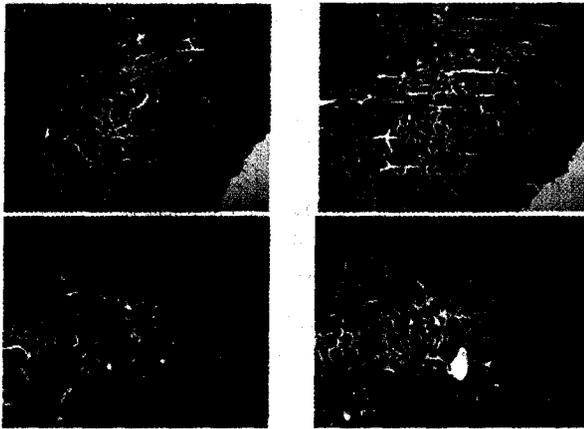


图 1

(上图正常光拍摄/
下图调光后拍摄)

图 2

(上图正常光拍摄/
下图调光后拍摄)

由此可见,本科室自家配制试剂所染 HE 切片明显优于对照组,尤其体现在细胞核着色上。因此,推广优良、简捷、经济的本科室自

家试剂,以完美 HE 染色,明确病理诊断,利于临床治疗。另外,值得注意的是,注重染色过程中的若干问题的切片比未注重染色过程中的若干问题的切片质量高。

3 讨论

要完美 HE 染色除选择优良试剂,在 HE 染色中还应注意以下事项:

3.1 脱蜡 石蜡切片必须经过脱蜡后才能染色,脱蜡前切片要经烘烤,这种使组织和玻片粘贴牢固。组织切片脱蜡应彻底,脱蜡好坏主要取决于二甲苯的温度和时间,所有的时间都是指新的二甲苯在室温 25℃以下时,如果二甲苯是用过一段时间,切片又比较厚,室温低应增加脱蜡时间,脱蜡不净是影响染色不良的重要原因之一。

3.2 染色 石蜡切片经水洗后放入苏木素染色液中,一般情况下新配的苏木素染液中只需染 1~3min 左右,应根据染片的多少,逐步把染色时间延长。苏木素染色后,不易在分化液中停留时间过长,切片分化应在镜下观察,分化过度,应水洗后重新在苏木素染液中染色,在水洗分化和使切片在自来水或稀的氨水中充分变蓝(蓝化)。新配的伊红染色块,切片染色不易过长,应根据染切片的多少逐步延长染色时间,切片使伊红染色后,分化时间要短。

3.3 脱水 切片经过染色后,通过各级酒精脱水,首先从低浓度到高浓度。低浓度酒精对伊红有分化作用,切片经过低浓度时要短,向高浓度逐渐延长脱水时间,脱水不彻底,使切片发雾,在显微镜下组织结构模糊不清。

3.4 透明与封片 石蜡组织切片染色经过脱水后必须经二甲苯处理,使切片透明,才能用树胶封片。应引起注意的是,二甲苯纯度不纯使切片透明不够,会影响切片质量(工作中曾发现新进货的二甲苯试剂中散发出浓厚的汽油味,严重影响切片质量)。

总之,HE 染色在基础医学研究和临床医学研究中都是不可缺少的。随着江苏省人民医院病理科工作量的不断加大,每天数百例,一年数万例的病理标本经固定、脱水、包埋、切片,HE 染色制片后发出显微镜下病理报告,指导临床;HE 染色在临床工作中显得尤为重要,且在现今不断增加的临床手术中快速冰冻切片(10~30 例/d)中,完好的 HE 染色依然散发出其独有的魅力,体现其快的节奏。

参考文献:

[1]王环增.卫生专业技术资格考试指南(病理学专业(病理技术专业)) [M].北京:知识出版社,2001:255-275.

编辑/杨倩

临床尿常规检验方法对比分析

张春兰¹,鲁春霞²

(1.深圳市龙华人民医院检验科,广东 深圳 518000;2.江西省黎川县人民医院检验科,江西 黎川 344600)

摘要:目的 分析尿液干化学分析仪和传统手工法在尿液分析中的应用,探讨适用于尿液临床检验的最佳方法。方法 对 1000 份尿液同时用尿液干化学分析仪和传统手工方法进行检测,比较尿蛋白、白细胞和红细胞的检验结果。结果 两种方法蛋白质符合率 98.4%,红细胞符合率 97.0%,白细胞符合率 96.7%。结论 尿干化学分析仪的检测结果只能作为一般尿液的初步筛查试验,二者必须相互结合,才能得出更好的检测结果。

关键词:尿常规;干化学法;传统手工法;对比分析

随着越来越多先进仪器的应用以及检验方法的改进,临床对检验结果提出了更高的要求,要求检验结果能更加准确、灵敏、快速、及时地为诊断治疗提供可靠依据。而尿液干化学分析仪使用改变了传统的测定方法,极大地提高了检验的工作效率。但干化学分析仪使用能否完全取代传统的测定方法一直是关注的焦点。为了进

一步探讨尿液干化学分析仪和传统手工法在尿液分析各自的优缺点,并探讨出适用于尿液临床检验的最佳方法,我们对我院 2010 年 1 月~2010 年 12 月 1000 份门诊和住院患者晨尿,同时采用干化学分析仪和传统手工法进行检测。本文就尿液干化学分析仪和传统方法检测结果归纳后进行分析对比。现报告如下:

1 材料和方法