

振荡法在组织石蜡制片中的应用

任成林

(张家口农业高等专科学校, 075131)

摘要 本文成功地把振荡法应用于组织石蜡制片中,采取鸡的各种组织,用常规、加温、振荡三种方法进行固定、脱水、透明和浸蜡,然后常规切片染色试验比较。结果表明,用振荡法从固定到浸蜡仅用2小时20分钟,提高功效10倍以上。具有传统方法所不及的简便、快速、切片薄及质量好等优点,尤其适用于临床病理检验的快速诊断。完全可以代替一般的快速石蜡切片和冰冻切片。

组织石蜡制片是教学、科研、病理检验工作中广泛应用的一种实验技术。传统的常规石蜡制片程序繁多、费时费力、工作效率不高。近年来笔者试用振荡法进行组织的固定、脱水、透明和浸蜡,不仅缩短时间、简化手续、减少了工作量,而且提高了蜡块和切片的质量,蜡块及切片可以重切并永存。取得了简便、快速、效果良好的结果。现将我们于1992年2月20日—3月18日的实验结果汇总如下:

(一)器材准备

- 1、普通恒温箱一台。
- 2、水浴恒温振荡器一台。
- 3、100毫升有盖磨口广口瓶33只。

(二)方法和步骤

1、采用三种方法制片:

(1) 常规石蜡制片法 在室内大约20°C左右的常温下进行。

(2) 加温法 在56°C的恒温箱内进行。

(3) 振荡法 在温度56°C、振荡速度150次/分钟的水浴恒温振荡器内进行。

2、取材 每一种方法采取鸡的心、肝、脾、胰、肺、肾、卵巢、子宫、腺胃、肌胃、小肠、大肠、大脑、小脑、坐骨神经共15种组织。大小以0.8(长)×0.6(宽)×0.3(厚)厘米为宜。放在装有固定液,70%、80%、95%、100%酒精I、I、I,二甲苯I、I、I,石蜡I、I、I共11只的广口瓶中进行固定、脱水、透明和浸蜡。详细程序时间(见表1)。

3. 固定 FAA 固定液(福尔马林5毫升、冰醋酸5毫升、70%酒精90毫升)。

4. 脱水 逐级增浓酒精(70%、80%、95%)和100%酒精(I、I)。

5. 用能溶解石蜡的透明剂二甲苯(I、I)置换出酒精。

6. 浸蜡 用石蜡(I、I、I)。

7. 包埋 用石蜡(熔点54°C)。

8. 常规切片染色。

9. 封片镜检。

(三)结果和讨论

1. 用振荡法制片简便、省时。结果表明,常规石蜡制片从固定、脱水、透明到浸蜡共需25个小时以上才能完成。使用加温法可用5个小时30分钟完成,提高功效5倍。使用振荡法仅用2个小时20分钟便可完成,从而提高功效10倍以上。由此可见,使用振荡法可加速化学试剂分子,均匀地向材料内部扩散和渗透,缩短制片时间,解决了制片的“快速”问题。

2. 用振荡法制片质量良好。染色结果证明固定、脱水、透明、浸蜡很充分,能顺利切出4微米的薄片。组织细胞结构清晰,染色较好,有利于镜检和诊断。由于在短时间内完成组织固定、脱水、透明和浸蜡,所以避免了因长时间处理标本而引起的组织发硬、变脆、扭曲和过度收缩等不良弊病,提高了制片质量。为教学、科研、病理检验的长期保存用片提供方便。

表1 采用三种方法进行组织块固定、脱水、透明、浸蜡的程序时间

程 序	方 法 时 间	常规	加温	振荡
		温度 20°C	温度 56°C	温度 56°C 速度 150 次/分
固定	FAA 固定液	12 小时	40 分钟	20 分钟
脱水	70%酒精	2 小时	40 分钟	15 分钟
	80%酒精	2 小时	40 分钟	15 分钟
	95%酒精	2 小时	40 分钟	15 分钟
	100%酒精	1 小时	30 分钟	10 分钟
	100%酒精	1 小时	30 分钟	10 分钟
	共需	8 小时	3 小时	65 分钟
透明	二甲苯 I	20 分钟	10 分钟	5 分钟
	二甲苯 II	20 分钟	10 分钟	5 分钟
	共需	40 分钟	20 分钟	10 分钟
浸蜡	石蜡 I	1 小时 30 分	30 分钟	15 分钟
	石蜡 II	1 小时 30 分	30 分钟	15 分钟
	石蜡 III	1 小时 30 分	30 分钟	15 分钟
	共需	4 小时 30 分	1 小时 30 分	45 分钟
总共需要		25 小时 10 分	5 小时 30 分	2 小时 20 分

3. 用振荡法可以代替一般的快速石蜡切片和冰冻切片。在临床病理检验工作中,由于需要,必须作出病理检验的快速诊断,帮助临床上及时确诊,明确病变的性质,以便制定治疗方案。由于常规石蜡切片制作过程繁多、时间较长,不能达到快速诊断的目的,因而,临床病理检验的快速诊断主要采用冰冻切片方法来完成。冰冻切片的质量一般不如石蜡切片优良,切片较厚,染色也不及石蜡切片清晰。所以在观察和诊断上带来一定的困难,容易发生误诊。尤其是对于一些碎小的组织或者是要求较高的淋巴结组织,以及一些富于脂肪或胶原纤维较多的组织,采用冰冻切片方法的效果不好,可以利用振荡法石蜡制片来弥补冰冻切片的不足之处。因此振荡法完全可以代替一般的快速石蜡切片和冰冻切片。不但效果良好,方法简便,而且能在短时间内完成制片并作出诊断。

4. 制片的首要问题是固定,宁可“过头”

一些,也要避免固定不够。过去常用 10%福尔马林固定液,但水洗时间较长。本文选用 FAA 固定液较好,具有固定兼脱水的作用,不须水洗可直接投入酒精中脱水。5%福尔马林是因为该浓度有利于渗入组织深部,渗透力强,固定均匀,对组织收缩较少。酒精具有固定、硬化、脱水等多种作用,用 70%的为好,因为高浓度酒精对组织有强烈收缩及脆化的缺点。冰醋酸对组织的穿透速度快,对组织和细胞有膨胀作用,且不能凝固细胞中的蛋白质,因而不会使组织块硬化,所以与酒精、福尔马林混合使用,以达到取长补短相互平衡的目的。

5. 制片时要掌握好温度和时间。温度选定在 56°C 为宜,因固定液沸点 72°C,酒精沸点 78°C,二甲苯沸点 80°C,避免液体沸腾时外溢和燃烧,比较安全。石蜡溶点是 54°C,恰好使石蜡溶化,以免反复调温带来麻烦。另外温度太低组织渗透慢,时间长;温度太高组织收缩快,强度大,易变硬发脆。

用振荡法制片时,从固定、脱水、透明到浸蜡,在时间上酌情掌握,对于较小组织,较脆易碎组织如血凝块、甲状腺胶质等时间宜短。实质组织如肝、脾、肾等次之。柔软组织如脑、脂肪、粘液物质及含纤维多的结缔组织时间宜长。表1中的时间仅供参考。因此,要求多试验操作,积累经验才能获得较满意的结果。

参 考 文 献

1 C. F. A. 卡林著,孔庆雷译 1982 组织病理学与组织化

学技术手册 92 科学出版社。

2 罗积芳 于成银 1991 临床与实验病理学杂志,7(1), 62

3 杜卓民主编 1982 实用组织学技术 20—23 人民卫生出版社。

4 容寿柏 1986 生物学通报(10),36。