

组织学石蜡切片制作方法的改进*

王凤琴 张 慧

(济宁医学院基础学院, 山东 济宁 272067)

关键词 组织学; 石蜡切片; 改进方法

中图分类号: R329-33

文献标识码: B

文章编号: 1000-9760(2014)02-047-02

近年来我们在制作石蜡切片的过程中, 不断总结经验教训, 分别在组织固定、脱水、透明、浸蜡等关键环节上采取了大量改进措施, 制作了一些优质的石蜡教学切片, 从而提高了切片质量。现将改进方法介绍如下。

1 材料与方法

1.1 材料

固定液、药棉、纱布、组织块、10%乙醇、氯仿、温度计、蜡箱。

1.2 方法

1.2.1 固定方法的改进 在盛有固定液的瓶底上垫上药棉或几层纱布。容易切成小块的新鲜组取材后马上投入固定液, 不易切成小块的柔软组织采用重新固定法处理, 将取下较大的组织或器官先投入固定液, 2~3h 后组织基本硬化, 再修成小块投入新配的固定液中。

1.2.2 脱水过程的改进 在梯度乙醇脱水时, 把常规 30%乙醇改为更低浓度 10%乙醇开始逐步升级, 使组织块中的水分逐渐被乙醇替代; 在放入梯度乙醇时, 要将组织块放到滤纸上来回的反转一下, 以尽量少带水到高浓度乙醇, 放入无水乙醇之前, 用吹风机的弱风将组织块吹干; 组织在无水乙醇的脱水时间不要超过 2h; 将少许硫酸铜放入无水乙醇内若变蓝色, 表明无水乙醇内已有水分, 需及时更换新液, 确保组织彻底脱水。

1.2.3 透明步骤的改进 组织学切片制作常用的透明剂是氯仿。常规方法将在梯度乙醇脱水后的组织直接转入氯仿, 把脱水后组织转入氯仿 3 份、无水乙醇 1 份的混合液中 1h 后, 再转入氯仿 I、II 液中透明; 组织放入氯仿时要用纱布包裹浸入透明剂, 并将载玻片压在其上面, 使组织完全浸入透明剂内。

1.2.4 浸蜡过程的改进 浸蜡在软蜡箱与硬蜡箱中进行, 常规方法在蜡箱上部放 1 个温度计, 我们分别在 2 个蜡箱的中部及底部各放 1 个温度计, 显示其确切温度。先把组织块放在两个软石蜡和氯仿等量混合液浸 1~2h 后, 再移入 1 个硬石蜡内浸 1h, 在软蜡箱内可延长 0.5~1h, 而浸硬蜡的时间不要超过 1h。

2 结果

经以上改进方法制作的蜡块较易切成连续切片且蜡带不散裂, 镜下的组织结构清晰、染色均匀、不收缩, 与应用常规方法制作的石蜡切片相比质量明显提高, 更易于教师教学和学生观察。

3 讨论

在医学院校, 石蜡切片的质量直接影响着教师教学和学生学习的效果。我们在制作石蜡切片的过程中, 主要从以下环节加强了质量控制。

3.1 固定

如果组织未得到及时固定或固定不够充分, 超过 6h 组织就要自溶与腐败, 制作的组织切片因自溶染色时较易脱片, 镜下观察组织结构不清楚, 呈现“发白”或“灰染”^[1]。我们在固定液的瓶底上放上药棉或几层纱布, 使组织不直接与瓶底接触, 此法能使固定液迅速而又均匀地从上、下、左、右、前、后各方渗入组织内, 使组织固定的更均匀、快速、充分。新鲜柔软器官我们先固定, 待基本硬化后再修剪成小块, 然后再投入新配的固定液内, 这样既能获得理想大小的标本, 又能使组织在常规固定时间内完全固定。

3.2 脱水

脱水就是把固定好的组织块用乙醇脱尽其中的水分^[2]。乙醇脱水能力较强, 常使组织过度收缩

和变脆,为了克服这一缺点,除根据组织种类、组织块大小和固定剂的不同严格控制脱水时间外,我们采取从低浓度 10% 乙醇开始逐步升级,组织块中的水分逐渐被脱出,避免因脱水过度引起组织收缩、硬脆^[3]、切片时蜡带散裂、难以切出完整的切片。在脱水时用滤纸吸去组织块多余的水分,并用吹风机将其吹干,确保各级乙醇的浓度尤其是无水乙醇。根据硫酸铜遇水变蓝的原理,检测无水乙醇内是否有水并及时更换,确保组织脱水彻底,否则,放入透明剂时常出现白色混浊现象,包埋后的蜡块易出现凹陷和裂缝,组织较易与蜡块分离^[4]。

3.3 透明

完全脱水的组织放入氯仿透明时,组织漂浮在氯仿的上面,我们用纱布包裹组织并在其上面压上载玻片,使组织完全浸入氯仿内,这样透明剂氯仿能均匀的渗入组织内。我们将氯仿和酒精按 3:1 的比例组成混合透明剂,既能使组织进一步脱水而不引起收缩,又能使组织透明。

3.4 浸蜡

由于蜡箱上部与底部温差是 8℃ 左右,在蜡箱上部放 1 个温度计,只能显示蜡箱上部的确切温度。为避免温差对组织浸蜡带来不利,我们通常在蜡箱的中部与底部各放 1 个温度计显示各部的真实温度,把组织放在蜡箱相适宜的部位内浸蜡。较大的组织在软蜡和硬蜡内的时间要把握好,组织在

浸软蜡时可以适当延长时间,在硬蜡内时间不可过长,因为硬蜡内的温度较高;浸蜡总体时间不可太长,否则会引起组织过度收缩,变硬、变脆、切片易碎裂、降低切片质量甚至失败^[5];浸蜡时间也不可过短,否则蜡不能完全浸入组织中,切不出完整的切片。我们的经验是此过程应根据组织块大小、种类和结构的不同严格控制浸蜡温度及浸蜡时间。

综上所述,要提高每一张石蜡切片的质量,必须处理好每一个实验细节并能及时有效地解决实验出现的问题。希望我们改进后的组织学石蜡切片制作方法能够对从事科研、教学和临床诊断等工作有所帮助。

参考文献:

- [1] 侯春春,徐水. 浅析影响石蜡切片质量的关键因素[J]. 中国农学通报,2009,25(23):94-98.
- [2] 邹仲之,李继承. 组织学与胚胎学[M]. 8 版. 北京:人民卫生出版社,2013:3-4.
- [3] 江虹. 制作石蜡切片的常见问题及处理[J]. 健康研究,2010,30(5):380-382.
- [4] 武智明. 病理组织制片及染色的几点体会[J]. 内蒙古医学杂志,2011,43(15):11.
- [5] 杨捷频. 常规石蜡切片方法的改良[J]. 生物学杂志,2006,23(1):45-46.

(收稿日期 2013-11-23)

(上接第 46 页)

非可以短期内能达到的,这将是一项长期、持续、细致的工作^[9-10]。提示 20~50 岁黄金期居民慢性病防治过程中,应该循序渐进,知识、态度、行为三手都要抓,都要硬。建议政府相关部门通过开展慢性病的宣教和相关实践,提高这部分居民对慢性病的认知水平,并促使其建立积极的态度和信念,以知识指导实践,养成良好的生活习惯,促进健康。

参考文献:

- [1] 卫生部. 2002 年中国居民营养与健康状况调查的质量控制[R]. 北京:国家卫生部,2004:6-8.
- [2] 中国高血压防治指南修订委员会. 中国高血压防治指南[EB/OL]. (2011-08-12)[2013-11-05]. <http://www.360doc.com/content/11/0812/13/0-139848216.shtml>
- [3] 朴建华,强坚,赵文华,等. 2002 年中国居民营养与健康状况调查的质量控制[J]. 中华流行病学杂志,2005,26(7):474-

477.

- [4] 谢席胜,冯胜刚,李光明. 慢性非传染性疾病防治现代及略思考[J]. 西部医学,2012,24(12):2250-2252.
- [5] Yang W, Lu J, Wang J, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China[J]. New England J Med, 2010, 362(12):1090-1101.
- [6] 傅华,李洋,彭伟霞,等. 转变思维模式,积极应对我国慢性病“井喷”的挑战[J]. 复旦学报(医学版),2012,39(4):1-5.
- [7] 孔灵芝. 关于当前我国慢性病防治工作的思考[J]. 中国卫生政策研究,2012,5(1):2-5.
- [8] 马晓. 健康教育学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2012:58-64.
- [9] 吕姿之. 健康教育学[M]. 北京:北京医科大学出版社,2002:40-44.
- [10] 刘冬英,王林静,王秀霞,等. 广州市孕妇营养知识、态度及饮食行为调查[J]. 现代预防医学,2007,34(14):2683-2685.

(收稿日期 2013-11-05)