DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.16.037

技术方法

文章编号:1000-5404(2003)16-1488-02

石蜡包埋标本用于制作树脂半薄大切片的方法

Technique for preparing large semi-thin sections of resin-embedded specimen using paraffin-embedded one

孙 榆[1],应 希[2],马千里[1],于 彬[1],周德山[1] (第三军医大学:[1]基础医学部组织学与胚胎学教研室;[2]附属西南医院眼科,重庆 400038)

提 要:目的 介绍利用石蜡包埋标本制作树脂半薄大切片用于光镜研究的方法。方法 将石蜡包埋标本方法与树脂包埋方法结合并进行改良,利用超薄切片机和玻璃刀制作树脂半薄大切片。结果 光镜观察见切片平整,结构显示清晰。结论 该方法制作的切片与电镜树脂包埋方法制作的连续半薄大切片结果相似,具有推广应用的价值。

电镜半薄切片通常用于电镜超薄切片前的定位观察。由于这种切片薄(1 μm),在光镜下,结构显示清晰,具有石蜡切片难以达到的分辨率,用于光镜研究,其观察结果优于石蜡切片[1,2]。采用石蜡包埋的标本,经脱蜡后再制作树脂半薄大切片的方法尚未见报道。人的视神经标本长约1 cm、直径0.5 cm,远比常规电镜标本(1 mm^3)大。而且石蜡包埋的眼球标本,需融蜡后再做视神经树脂包埋,不仅包埋难度大,还因标本横断面积过大,需要较高技术制出高质量切片。本研究对石蜡包埋标本用于制作电镜半薄大切片方法进行改良,取得较好结果,介绍如下。

1 材料与方法

①从石蜡包埋的眼球标本上小心将视神经切下;②把切下的视神经标本放入60 ℃烤箱中融蜡;③二甲苯脱蜡两次,每次1.5 h;④经100%乙醇下行至0.1 mol/L蔗糖漂洗液(0.1 mol/LPB配制)漂洗;⑤1%锇酸(0.2 mol/L PB配制)于4 ℃后固定2.5 h;⑥梯度丙酮、环氧丙烷脱水,环氧树脂618浸透。包埋步骤与常规电镜样本制作基本相同。⑦修块后LKB Ⅴ型超薄切片机做连续切片,每间隔4张切片取1张;切片厚1 μm;⑧KOH液(无水乙醇配制)脱树脂,苏木精—伊红染色,封片。

2 结果

本方法制作的连续视神经树脂半薄大切片经H.E染色后在光镜下可见组织结构清晰,切片平整,无皱褶和震颤痕迹,与常规电镜树脂包埋方法制作的视神经连续半薄大切片相似,见图1,具有良好的应用前景。

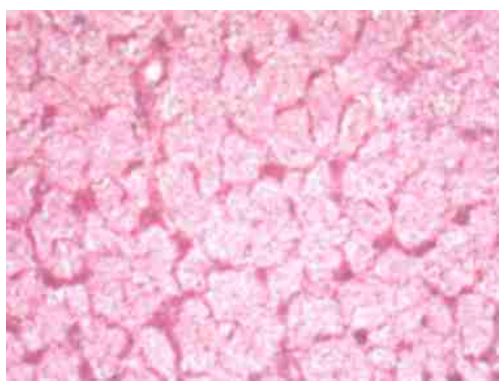


图1 石蜡包埋的人的视神经标本制成的树脂半薄大切片 (HE×10)

3 讨论

以青光眼标本为例,青光眼患者的眼压长期升高,可导致视神经受损,而病理组织学检查是研究其改变的最直接的方法[3]。比较正常成人与青光眼患者视神经的组织学结构改变时,需做人的视神经连续树脂半薄大切片。当标本来源困难时,我们可采取先做石蜡包埋切片,光镜观察后再行树脂包埋[4]。

用石蜡包埋的标本制作电镜切片时,首先应掌握好融蜡和二甲苯脱蜡的温度和时间。若温度过低,时间过短,脱蜡不彻底,可直接影响树脂浸透;但温度过高,时间过长,组织容易变脆,包埋难免失败。因组织块较大,在锇酸后固定、脱水、浸透、环氧树脂618包埋时应适当延长时间。

人的视神经横断面积是常规电镜标本横断面积的数倍,针对切片面积过大,切片不易展平的情况,在制作半薄切片过程中应常更换新玻璃刀,以保证刀刃锋利。随切片数量增加,呈梯形的标本块底部面积逐渐

作者简介:孙 榆(1952—),女,吉林省延吉市人,高级实验师,主要从事组织学技术及透射电镜技术研究方面的研究,发表论文20余篇。电话:(023)68752229

收稿日期:2003-03-06;修回日期:2003-05-05

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

增大，应及时修去组织周围多余树脂，缩小切片面积。制作半薄切片时，如果切片面积增大、切片速度过快，容易产生震颤，故标本块通过玻璃刀时的速度应尽量放慢，以减少震颤的产生。

用镊子轻轻将切片重叠部分展平，将其移至载玻片水滴上，在水滴的表面张力作用下，切片自然展开铺平，然后烤干。

环氧树脂包埋的切片在进行 HE 染色前，采用饱和 KOH-乙醇溶液脱树脂后，伊红不易着色，如采用复制伊红染色，可获较佳效果。切片制成后，应尽早观察、照相以防褪色。

关键词：环氧树脂包埋；树脂半薄大切片；视神经
中图法分类号：R446.8 文献标识码：B

参考文献：

[1] 徐 敏. 半薄切片制作技术的几点改进[J]. 中国煤炭工业医学杂志，2001，4(5)：390.
[2] 蒋海鹰，沈 明，冯德云. 环氧树脂包埋半薄切片脱树脂新方法[J]. 湖南医科大学学报，2000，25(1)：85－86.
[3] 傅 培，李美玉. 青光眼视神经损害的研究进展[J]. 国外医学眼科学分册，1994，18(3)：155－162.
[4] 肖 莎，肖 军，余 力. 福尔马林固定及石蜡包埋组织透射电镜样品制备[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志，1999，8(4)：475.

（编辑 王 红）

文章编号：1000-5404(2003)16-1489-01

技术方法

叔丁醇在临床标本微波快速石蜡切片中的应用

Application of tertiary butyl alcohol in quick paraffin-embedded section using microwave irradiation

辛 榕，孙慧勤，于冬梅，章 容 （第三军医大学附属西南医院病理学研究所，重庆 400038）

提 要：目的 建立一种应用于临床诊断标本快速制样方法。方法 将叔丁醇与微波结合应用于胃镜、鼻咽癌等临床标本的制样中，使其在 1 h 内即可出报告。结果 此方法既克服了以往快速石蜡制样组织易碎的缺点，又可制出高质量的切片，为准确的临床诊断提供保障并带来一定的经济效益。结论 本方法为临床标本快速出报告提供了良好方法，值得推广应用。

虽然目前国内外均有利用微波进行病理制片的报道[1~3]，但在快速石蜡切片中均存在组织易碎、过分收缩等问题，从而造成快速石蜡切片难以诊断的问题，这也是目前快速石蜡切片未能常规用于临床诊断的重要原因之一。本方法在脱水试剂中采用了叔丁醇，克服了一般快速石蜡切片中乙醇脱水所造成的上述问题，显著提高了制片质量，缩短了出片时间。

1 材料与方法

材料来源于本院送检的病理标本，其中胃镜标本 43 例、鼻咽部标本 22 例、淋巴结标本 17 例。标本经 20％甲醛 2 min(微波炉的解冻档)→80％乙醇 2 min(微波炉的解冻档)→95％乙醇 2 min(微波炉的解冻档)→无水乙醇 2 min(微波炉的解冻档)→叔丁醇 2 min(微波炉的解冻档)→二甲苯 3～5 min(室温)→浸蜡 15～20 min(65 ℃烤箱)→包埋、切片、染色。

作者简介：辛 榕(1966－)，女，重庆市人，实验师，主要从事病理技术方面的研究，发表论文 8 篇。电话：(023)68754431

收稿日期：2002-09-15；修回日期：2002-12-20

2 结果

经此方法处理的胃、鼻咽部和淋巴结组织切片染色后，细胞核呈蓝色，核染色质颗粒清晰，细胞质红色，蓝红对比鲜明，细胞挤压变形极小，比以往快速石蜡切片质量提高一个档次。在鼻咽部 22 例、淋巴结 17 例标本中，一次性切片诊断准确率达 95％，胃镜标本 43 例，诊断准确率达 97％。

3 讨论

微波是一种高频率的电磁波，具有反射、穿透、吸收等特性。微波炉的磁控管产生的每秒 24.5×10^8 次的超高频率快速震荡物质分子，使分子之间相互碰撞、挤压、摩擦重新排列组合。微波的热辐射原理，使热迅速、均匀地渗透到组织中，试剂溶液与组织细胞间渗透弥散和交换效率显著提高，且电场和磁场通过某种途径使分子活化，也发生效应，从而在短时间内完成组织的脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、染色等步骤。

叔丁醇是异丁醇的一种，无毒，熔点为 25 ℃，可与水、乙醇、二甲苯等混合，可单用也可混合使用，是一种

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net