DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.03.020

Harris苏木素染色液的最佳pH值

龚茜芬 (第三军医大学预防医学系劳动卫生学教研室) 630038

在HE染色中,苏木素和伊红是两个最关键的染液,特别是苏木素染色的好坏,是HE染色成败的关键[1],而常规染色中,不注重pH值的高低。作者经过多年反复实验,得出适当的pH值直接决定着染色的质量,特别对初学者,用此方法,可取得良好的效果。

1 材料与方法

1.1 取材、固定

本实验取肝、肾、心、脑、肺组织各两块用10%的福尔马林液固定、脱水、石蜡包埋、切片。

1.2 实验方法

1.2.1 配制Harris苏木素染液,由pH计测pH值为2.79。

1.2.2 取配制好Harris苏木素100 ml各6份,分别盛于6只烧杯中,加入适量的1 nmol/L HCl,通过pH计测定,调节苏木素的pH值分别为0.6、0.8、1.0、1.2、1.3、1.4。

1.3 实验配制

100 ml Harris苏木素+30 ml 1 nmol/L的HCl,由pH计测得,其苏木素pH为1.2。

将同一组织切片,经脱蜡、水洗、蒸馏水洗,分别置于上述不同pH值的苏木素染液中,经不同时间染色。本实验设有5、10、20、30 min四个不同时间。

2 结果

2.1 当pH≤0.6时,细胞核不着色;

2.2 当pH≤0.8时,细胞核着浅蓝色,不易看清;

2.3 当pH≤1.0时,细胞核蓝色,较清晰,而且背景无色;

2.4 当pH=1.2时,细胞核蓝色,清晰,背景无色;

2.5 当pH≥1.3时,细胞核深蓝色,背景浅灰色;

2.6 当pH≥1.4时,细胞核深蓝色,背景深灰色;

所以,经反复试验,证明当苏木素的pH值控制在1.0～1.2时,时间在10 min以上,细胞核蓝色,层次清晰,背景无色,而且时间过长,也不发生过染现象。

切片两年后观察,其颜色鲜艳,层次清晰,无褪色现象。

3 讨论

当苏木素染液pH控制在1.0～1.2时,切片染色效果理想,而且有不分化,不过染的优点。组织切片经pH为1.2的苏木素染液后,直接水洗,再行伊红染色,颜色鲜明、对比协调、层次清晰。但实验发现,苏木素染液经一个月后,它的pH值由1.2下降到1.0,即pH值微有下降。所以,每隔一个月调整一次苏木素染液的pH值为1.0～1.2,是非常必要的。

本实验提示,在平时工作中,应防止苏木素染液污染,尽可能保持其适当的pH值。所以,组织切片在进入苏木素染液前,必须经蒸馏水洗干净,否则对苏木素染液的pH值有影响。总之,保持Harris苏木素染液的pH值是染色的关键环节。

据文献记载,苏木素染液是碱性染料[2],而实验测得的pH值偏酸性,所以,此实验原理还不清楚。推测此反应与化学反应和等电点有关。因为加入1 nmol/L的HCl改变了苏木素pH值,阴、阳离子的结合也随之改变,但确切原理需进一步研究。

关键词 染剂和染色法;氢离子浓度

中图法分类号 R361

参考文献

1 张 哲,陈 辉.实用病理组织染色技术.沈阳:辽宁科学技术出版社,1988:30～31

2 刘介眉,严庆汉,路英杰,等.病理组织染色的理论方法和应用.北京:人民卫生出版社,1983:14

(收稿:1993-10-21;修回:1994-05-10)

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