

病理切片制作技术

病理切片製作技術

陳 星 若 著

華東醫藥生活社出版

目 次

第一章 固定及固定液.....(1-16)

固定.....(1)

固定液.....(2)

單純固定液.....(3)

(一)酒精.....(3)

(二)福爾馬林.....(4)

(三)昇汞.....(5)

(四)鉻酸.....(6)

(五)重鉻酸鉀.....(6)

(六)醋酸.....(7)

(七)苦味酸.....(7)

(八)四氧化鎂.....(8)

(九)加熱固定.....(9)

〔附〕組織軟化法.....(9)

混合固定液.....(9)

(一) Carnoy 氏液.....(9)

(二) Bouin 氏液.....(10)

(三) Müller 氏液.....(10)

(四) Orth 氏液.....(10)

(五) Zenker 氏液.....(10)

(六) Helly 氏液.....(11)

(七) Heidenhain 氏 'Susa' 液.....(11)

(八) Altmann 氏液	(12)
(九) Champy 氏液	(13)
(十) Flemming 氏液	(13)
(十一) Mann 氏液	(13)
(十二) Aoyama 氏液 (附 Da Fano 氏液)	(13)
[附] 固定劑性質及用法簡表	(15)

第二章 脫水及透明 (17-24)

脫水 (17)

(一) 乙醇	(17)
(二) 醋酮	(18)
(三) 二氧已環	(18)
(四) 丁醇	(19)
a. 正丁醇	(19)
b. 叔丁醇	(19)
(五) 環己酮	(19)
(六) 2-乙氧基乙醇	(20)

透明劑 (20)

(一) 二甲苯	(20)
(二) 甲苯	(21)
(三) 苯	(21)
(四) 氯仿	(21)
(五) 柏油	(21)
(六) 木鱉油	(21)
(七) 亞尼林油	(21)
(八) 石炭酸	(21)
(九) 俄立干油	(22)
(十) 松節油	(22)

[附] 脫鈣法 (22)

(一)硝酸	(22)
(二)鹽酸	(23)
(三)硫酸	(23)
(四)5% 三氯醋酸水溶液	(23)
(五)Jenkin 氏液	(23)
(六)電解法	(24)

第三章 包埋 (25-34)

石蠟包埋法 (25)

〔附一〕 紙盒摺法	(27)
〔附二〕 金屬包埋框	(27)

急速石蠟包埋法 (28)

(一) Lubarsch 氏法	(28)
(二) Henke-Zeller 氏法	(29)

體液及碎屑組織的石蠟包埋法 (29)

火棉膠包埋法 (30)

(一)普通法	(30)
(二)迅速法	(31)
〔附〕 火棉膠包埋常法簡表	(31)

二重包埋法 (32)

(一) Kultschitzky 氏法	(32)
(二) Brown 氏法	(32)

明膠包埋法 (33)

〔附〕 明膠包埋法簡表	(34)
-------------	------

第四章 切片及附貼 (35-42)

冰凍切片及附貼 (35)

(一)二氧化碳氣法	(36)
-----------	------

(二) 氯乙烷法 (36)

(三) 冰凍切片附貼法 (37)

石蠟切片及附貼 (37)

日本式附貼法 (39)

〔附〕 Mayer氏蛋白甘油的配製法 (40)

火棉膠切片及附貼 (42)

(一) 蛋白甘油附貼法 (42)

(二) Weigert氏火棉膠貼法 (42)

(三) Fol 明膠附貼法 (42)

第五章 封固 (43-47)

甘油 (44)

甘油明膠 (44)

香膠或樹脂 (45)

(一) 加拿大香膠 (45)

(二) 攸伯拉 (46)

(三) 大馬樹脂 (46)

合成樹脂 (46)

(一) Clarite (Nevillite V) (46)

(二) 'Distrene 80' (46)

第六章 染色及染料 (48-81)

染色的歷史 (48)

染色的學理 (49)

媒染劑及促染劑 (51)

(一) 媒染劑 (51)

(二) 促染劑 (52)

分化劑 (52)

(一)酸類	(52)
(二)氧化	(53)
(三)媒染劑	(53)
染料的分類	(53)
天然染料	(54)
(一)胭脂	(55)
(二)蘇木素	(58)
(三)俄西印	(62)
(四)靛	(63)
合成染料	(63)
(甲)鹽基性染料	(63)
(一)美藍	(63)
〔附〕 天青	(65)
(二)硫堇	(66)
〔附〕 硫堇藍	(67)
(三)甲苯胺藍	(67)
(四)沙黃 O	(67)
(五)俾士麥褐	(68)
(六)烷綠	(69)
(七)烷紫	(69)
(八)結晶紫	(70)
(九)鹽基性復紅	(71)
(十)中性紅	(72)
(十一) Janus 綠 B	(72)
(十二)孔雀綠	(73)
酸性染料	(73)
(一)苦味酸	(73)
(二)酸性復紅	(74)

(三)橘黃 G	(75)
(四)剛果紅	(75)
(五)伊紅	(76)
(六)藻紅	(77)
(七)亞尼林藍	(78)
(八)烷藍	(78)
(九)蘇旦 III	(79)
(十)蘇旦 IV	(79)
(十一)硫酸奈耳藍	(79)
(十二)台盼藍	(80)
〔附〕染料溶解度表	(80)

第七章 染色法.....(82-130)

單一染色.....(82)

(一)明礬胭脂法.....	(82)
(二)蘇木素法.....	(82)
(三)Heidenhain 氏鐵蘇木素法.....	(82)
(四)硫堇法.....	(82)

對比染色法.....(83)

(一)蘇木素、伊紅法.....	(83)
(二)胭脂、亞尼林藍法.....	(84)
(三)Neumann 氏苦味酸、胭脂法.....	(85)
(四)Heidenhain 氏蘇木素、偶氮胭脂法.....	(85)

三重染色法.....(85)

(一)Flemming 氏法.....	(85)
(二)Rhamy 氏冰凍切片法.....	(86)
(三)Mallory 氏法.....	(86)

(四) Masson 氏法	(86)
特別染色法	(90)
膠質纖維染色法	(90)
(一) van Gieson 氏苦味酸、酸性復紅法	(91)
(二) Masson 氏 Ponceau 酸性復紅、光綠法	(91)
(三) Mallory 氏結締組織染色法	(91)
(四) Unna 氏沙黃、水藍、鞣酸法	(93)
彈性纖維染色法	(94)
(一) 沙黃染色法	(94)
(二) Taenzer-unna 氏俄西印法	(95)
(三) Weigert 氏來復紅法	(96)
網狀纖維染色法	(97)
(一) Bielschowsky-Maresch 氏銀染法	(97)
(二) Agduhr 氏組織塊銀染法	(98)
(三) Foot 氏銀染法	(99)
〔附〕 銀染法的物理化學	(100)
脂肪及類脂質的證明	(102)
(一) 中性脂肪的證明	(102)
(二) 膽固醇的證明	(104)
(三) 卵磷脂及腦磷脂的證明	(105)
(四) 髓磷脂的證明	(107)
肝糖的證明	(107)
(一) 碘法	(107)
(二) Best 氏胭脂法	(108)
類澱粉物的證明	(109)
(一) 碘反應及碘硫酸反應法	(109)
(二) 龍胆紫(或堝紫)染色法	(109)
(三) 多色性美藍染色法	(110)

(四) Bennhold 氏剛果紅染色法	(111)
〔附〕 澱粉樣顆粒染色	(111)
透明蛋白的染色	(111)
角質素染色	(112)
粘液的染色	(112)
(一) Hoyer 氏硫堇染色法	(113)
(二) Merkel 氏結晶紫染色法	(114)
(三) Unna 氏多色性美藍染色法	(114)
(四) Mayer 氏粘液胭脂染色法	(114)
纖維蛋白染色	(115)
Weigert 氏法	(115)
鈣質的證明	(116)
(一) Grandis-Mainini 氏法(尿紅質法)	(116)
(二) Von Kossa 氏法	(116)
(三) Roehl 氏法	(117)
尿酸的染色	(117)
(一) Best-Fraenkel 氏法	(117)
(二) 美藍苦味酸之尿酸梗塞染色法	(118)
(三) 美藍苦味酸之單鈉尿酸鹽染色法	(119)
色素的證明	(120)
(一) 含鐵血黃素	(120)
普魯士藍反應, 滕氏藍反應, Hueck 氏改良法	(121)
(二) 橙色血質	(123)
(三) 胆色素	(123)
(四) 消耗性色素	(123)
(五) 褐色素	(124)
(六) 類脂色素	(124)
(七) 瘡原蟲色素	(124)

漿細胞染色	(125)
(一) Unna 氏多色性美藍染色法	(125)
(二) Pappenheim-Unna 氏法	(125)
(三) Jadassohn 氏法	(126)
細胞內氧化酶反應	(126)
(一) Schultze 氏法	(127)
(二) Graff 氏法	(127)
細胞內過氧化酶反應	(128)
(一) 聯苯胺法	(128)
(二) Cowdry 氏聯苯胺改良法	(129)
細胞內 Dopa 氧化酶的證明	(129)
Bloch 氏 Dopa 反應	(129)

第八章 中樞神經系統染色 (131-151)

神經節細胞、尼氏小體染色	(132)
(一) 尼氏原法	(132)
(二) 硫堇染色法	(132)
神經原纖維染色	(134)
(一) Ramón Y Cajal 氏法	(134)
(二) Golgi 氏急速法	(134)
(三) Bielschowsky 氏法	(135)
(四) Donaggio 氏法	(135)
神經軸染色	(136)
(一) 胭脂染色法	(136)
(二) Schmaus-Chilesotti 氏鈷胭脂染色法	(136)
(三) Bielschowsky 氏銀染色法	(137)
髓鞘染色	(138)

(一) Weigert 氏原法	(138)
(二) Weigert 氏鐵蘇木素法	(139)
(三) Kultschitzky-Pal 氏法	(140)
(四) Weigert-Pal 氏法	(141)
(五) Spielmeyer 氏冰凍切片法	(142)
(六) 上條氏簡易法	(142)
Marchi 氏變性髓鞘染色	(143)
神經膠質染色	(144)
(一) Weigert 氏法	(144)
(二) Mallory 氏磷鉬酸蘇木素法	(145)
(三) Holzer 氏神經膠質染色法	(146)
(四) Anderson 氏神經膠質纖維染色法	(147)
(五) Rio Hortega 氏碳酸銀法	(148)
Globus 氏改良法, Kanzler 氏改良法	(148)
(六) Ramón y Cajal 氏氯化金昇汞法	(150)

第九章 組織內微生物及原蟲的

染色法 (152-170)

染色液配製法	(152)
(一) Löffler 氏美藍	(152)
(二) 龍胆紫亞尼林水溶液	(152)
(三) 龍胆紫石炭酸水溶液	(153)
(四) 石炭酸復紅溶液	(153)
(五) 石炭酸美藍溶液	(153)
(六) 石炭酸硫堇溶液	(153)
(七) 多色性美藍	(153)

a. Unna 氏配方	(153)
b. Goodpasture 氏配方	(153)
一般染色法	(154)
(一) Löffler 氏美藍染色法	(154)
(二) 龍胆紫染色法	(155)
(三) 多色性美藍染色	(155)
a. Zieler 氏法	(155)
b. Frankel 氏法	(156)
c. 單一多色性美藍染色法	(156)
(四) Gram 氏染色	(156)
a. Weigert 氏改良法	(156)
b. Brown 氏法	(157)
(五) 石炭酸硫堇染色	(157)
Nicolle 氏法	(157)
切片內各種細菌之分別染色	(158)
(一) 霍亂弧菌、大腸桿菌、白喉桿菌	(158)
(二) 魏氏產氣莢膜桿菌、破傷風桿菌	(158)
(三) 流行性感胃桿菌、百日咳桿菌	(158)
(四) Koch-Week 氏桿菌	(158)
(五) 麻瘋桿菌	(158)
(六) 脾脫疽桿菌	(158)
(七) 鼠疫桿菌	(159)
(八) 肺炎桿菌	(159)
(九) 鼻硬結桿菌	(160)
(十) 馬鼻疽桿菌	(160)
(十一) 結核桿菌	(161)
(十二) 傷寒及副傷寒桿菌	(162)

(十三)Ducrey 氏桿菌	(162)
(十四)淋病雙球菌	(162)
(十五)腦膜炎雙球菌	(162)
(十六)肺炎雙球菌;鏈球菌	(162)
(十七)放線狀菌	(162)
(十八)梅毒螺旋體及雅司病螺旋體	(163)
(十九)回歸熱螺旋體	(164)
(二十)瘧疾原蟲	(165)
(廿一)黑熱病原蟲	(165)
(廿二)赤痢原蟲	(166)
病毒包涵體	(166)
(一)沙眼病毒	(167)
(二)天花病毒	(167)
(三)狂犬病毒	(167)
〔附〕 巨體標本之色澤保存法	(169)
(一)Kaiserling 氏法	(169)
(二)Pick-Jores 氏法	(170)
附錄:中英名詞對照	(171)

第一章

固定及固定液

固 定

爲什麼要固定？固定的目的，即保持細胞與生活時的形態相似。新鮮組織若任意放置，則細菌繁殖，而致腐敗，細胞內的酵素把蛋白質分解爲氨基酸，滲出細胞，形成自溶現象。這時，細胞壞死，組織消失，再要觀察細胞的構造殆不可能。但組織經固定，不但可防止自溶與細菌性腐敗，且能沉澱或凝固細胞內的物質如蛋白質、脂肪、醣等，使其保留原有成份與生活時情形相仿。又因沉澱及凝固的關係，使細胞內各種物質，產生不同折光率，於染色後才易識別細胞的構造。此外有些固定劑兼有硬化作用，使組織受處理時（如刀切等）不致變形。

固定組織，愈新鮮愈好。所以從動物或人體取下的檢材，應立刻投入固定液。或謂檢材先平攤於木片或紙片上再投入固定液，則可減少組織的扭轉。在某些固定劑內，不可留置太久，以免過硬。但時間不夠，固定又不完全。所以視固定物的大小，固定液的性質，確定應固定的時間。固定不好，絕不能得到好的切片及好的染色。

在固定之先，切取組織的部位也很重要；如製染色體標本時，切取睪丸；製高爾基器以切取脊神經節較易成功。病理檢材更須切取病變顯著部位（如闌尾炎應切取闌尾的遠端部），否則可影響診

斷。切取組織時宜用鋒利刀片及輕輕使用鑷子，切勿加諸暴力，以免挫傷或壓擠，致組織構造有所改變，難為顯微鏡觀察。普通組織切塊大小為 $1.5 \times 1.5 \times 0.5$ 厘米，Baker 氏以 0.3 厘米厚度為標準，行急速包埋時則切塊最好不超過 0.2 厘米厚度。病理組織切塊，如需要者，最大面積亦不能超過 4×2 厘米。

固定後的細胞，切片在 2 微米以下者，無論於細胞漿或細胞核均能看到網狀構造。這是不是生活時應有的情形？固定前的細胞有沒有這種網狀構造？據 Tellyesniczky (1902) 稱，未經固定的細胞，無論在核或細胞漿內，都是均質無構造。這種網狀構造，無疑的，是因蛋白質被固定劑沉澱及凝固所形成的。此等蛋白質的變化也解釋了固定後組織硬變的道理。

固 定 液

固定液概分二大類：（1）使蛋白質沉澱者如酒精、苦味酸、昇汞及氯化鋇等；（2）不能使蛋白質沉澱者如蟻醛液、重鉻酸鉀及鉬酸等。此外，冰醋酸比較特殊，它雖不能沉澱球蛋白與白蛋白，但能沉澱核蛋白。

單純固定劑各有優點及缺點。細胞內含有衆多的物質如球蛋白、白蛋白、核蛋白、脂肪、類脂體及碳水化合物等。有時且在組織內沉着病理性色素如含脂色素及含鐵血黃素，或產生病變物質如脂肪、肝醣、尿酸結晶及類澱粉體等。爲了要證明一定成份，必需選擇適當固定液。因爲單純固定液無法同時固定各種物質，所以必須選用二種以上固定劑的配合，以收協同作用。

配製混合固定液時，首要明瞭每種固定劑的理化性質。最重要的如氧化劑勿與還元劑配合，以免引起化學反應，失去固定作用。但若 Helly 氏混合液，內含氧化劑與還元劑，而固定結果甚佳；則需知此等混合液必須臨時配製，置久後即無效。

固定液要適合固定的目的，必先明白各種固定液對下列諸點的性能：

- (1) 能否沉澱或凝固蛋白質、脂肪、類脂體或碳水化合物？
- (2) 穿透組織的速度。
- (3) 能使組織膨脹或收縮？
- (4) 硬化組織的程度。
- (5) 對染色的影響。

茲將各種固定劑及各種混合液的性能詳述於下：

單純固定液

(一) 酒精(用於組織學的常規工作)

酒精學名乙醇，為無色液體，還原劑，所以不可與醋酸、重醋酸鉀、鎳酸等氧化劑配成混合固定液。普通市售者，其濃度約為95%。酒精與水在任何比例下均可混和。有些酒精內含雜質，加蒸餾水稀釋，即成乳白色混濁。此種酒精須經蒸餾後再用。欲製純酒精，可加生石灰於95%酒精內吸去其中水份，加溫至78.5°C蒸餾即得。

酒精可沉澱白蛋白、球蛋白及核蛋白。前二者所生之沉澱不溶於水，後者所生之沉澱則溶於水。所以經酒精固定的標本，對核的着色不良。酒精濃度在50%以上，可溶解脂肪及類脂體。所以要證明細胞內含的脂肪及類脂體，則不能用酒精固定。因為酒精可溶解血色素及損害多數其他色素。故欲證明組織內色素的存在，亦不用以作固定劑。酒精雖可沉澱肝醣，但其沉澱物仍溶解於水（包括低於50%酒精）。故行肝醣證明法的標本不可投入低於50%酒精。反之，要證明尿酸結晶，則必須用酒精固定。

酒精的穿透速度很快。尋常固定用95%或純酒精為宜。Baker氏謂在零度下被酒精沉澱的蛋白質，易溶於水。故不宜在低溫下固定。酒精固定的組織，硬化著明，收縮厲害，比原來組織約縮小20%。