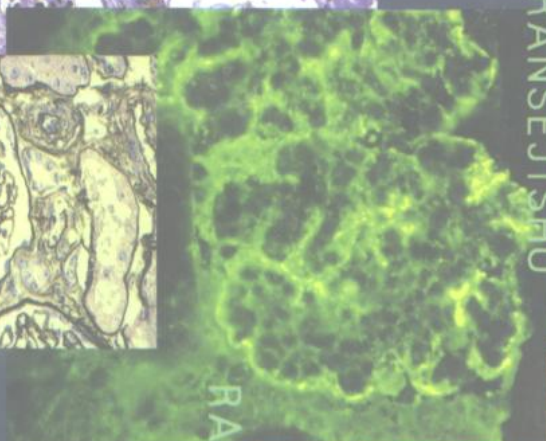
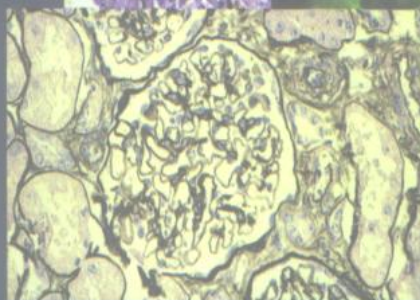
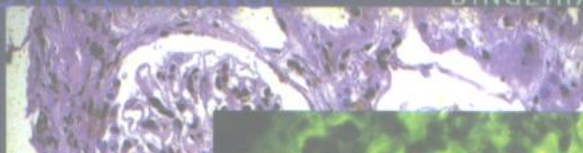


# 病理染色技术

刘增辉 主编

BINGLIRANSE

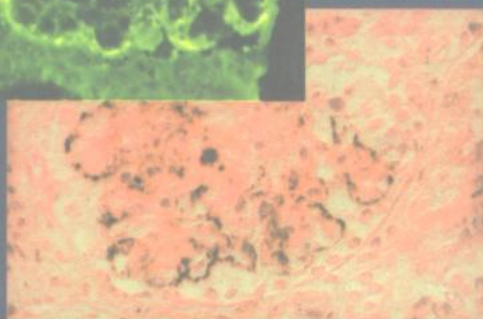
BINGLIRANSE



RANSEJISHU

LIRANSE

RANSEJISHU



211



人民卫生出版社

# 病理染色技术

主 编 刘增辉

编 著 刘增辉 周 斌 李 爽

审 阅 马鸿达

人民卫生出版社

## 图书在版编目(CIP)数据

病理染色技术/刘增辉主编. - 北京:  
人民卫生出版社, 2000

ISBN 7-117-03624-9

I. 病… II. 刘… III. 病理-染色(生物学)-技  
术 IV. R446.8

中国版本图书馆 CIP 数据核字(1999)第 57085 号

## 病 理 染 色 技 术

---

主 编: 刘增辉

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 67616688)

地 址: (100078)北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: <http://www.pmph.com>

E - mail: [pmph@pmph.com](mailto:pmph@pmph.com)

印 刷: 北京人卫印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 850×1168 1/32 印张: 7.5

字 数: 139 千字

版 次: 2000 年 3 月第 1 版 2000 年 3 月第 1 版第 1 次印刷

印 数: 00 001—3 000

标准书号: ISBN 7-117-03624-9/R·3625

定 价: 13.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

# 前    言

病理染色技术是病理学重要组成部分，应用于各种病理诊断、临床教学科研工作。本书以刘增辉1984年编写的天津医科大学“卫生部委办病理医师进修班”讲义为基础，结合我们多年来实际工作经验、体会，以实用为主，主要供各级医院病理科技技术人员及病理医师工作中参考。

在编写本书过程中，自1986年至今多次承蒙天津医科大学病理教研室马鸿达教授予以修改审阅，在此，表示深切谢意。

由于学识水平和工作经验有限，难免有错误之处，敬请同道批评指正。

编    者

1998年12月

# 目 录

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| <b>第一章 苏木素-伊红染色 (HE 染色)</b> | 1  |
| 第一节 HE 染色的原理                | 1  |
| 第二节 HE 染色的应用                | 2  |
| 第三节 HE 染色结果                 | 3  |
| 第四节 HE 染色的染液配制方法            | 3  |
| 第五节 HE 染色程序                 | 6  |
| 第六节 HE 染色注意事项               | 9  |
| <b>第二章 结缔组织染色</b>           | 11 |
| 第一节 胶原纤维染色法                 | 13 |
| 第二节 网状纤维染色法                 | 20 |
| 第三节 弹性纤维染色法                 | 27 |
| <b>第三章 肌肉组织染色</b>           | 36 |
| <b>第四章 糖原粘液染色法</b>          | 47 |
| 第一节 糖原染色                    | 47 |
| 第二节 粘液染色                    | 55 |
| <b>第五章 神经组织染色</b>           | 65 |
| 第一节 神经尼氏体染色                 | 66 |
| 第二节 神经元及神经纤维染色              | 70 |

|             |                        |            |
|-------------|------------------------|------------|
| 第三节         | 神经髓鞘染色 .....           | 77         |
| 第四节         | 神经胶质细胞染色 .....         | 83         |
| <b>第六章</b>  | <b>脂质染色 .....</b>      | <b>91</b>  |
| 第一节         | 中性脂肪染色 .....           | 92         |
| 第二节         | 磷脂、胆固醇及胆固醇酯染色 .....    | 98         |
| <b>第七章</b>  | <b>病理性沉着物染色 .....</b>  | <b>103</b> |
| 第一节         | 纤维素染色 .....            | 103        |
| 第二节         | 淀粉样物质染色 .....          | 110        |
| 第三节         | 钙质染色 .....             | 116        |
| 第四节         | 尿酸盐染色 .....            | 118        |
| <b>第八章</b>  | <b>色素染色 .....</b>      | <b>122</b> |
| 第一节         | 黑色素染色 .....            | 123        |
| 第二节         | 含铁血黄素染色 .....          | 129        |
| 第三节         | 胆色素染色 .....            | 134        |
| 第四节         | 脂褐素染色 .....            | 137        |
| 第五节         | 福尔马林色素的去除方法 .....      | 141        |
| <b>第九章</b>  | <b>病原微生物染色 .....</b>   | <b>142</b> |
| 第一节         | 细菌染色 .....             | 142        |
| 第二节         | 抗酸杆菌染色 .....           | 146        |
| 第三节         | 霉菌染色 .....             | 149        |
| 第四节         | 胃弯曲菌染色 .....           | 153        |
| 第五节         | 病毒染色 .....             | 156        |
| 第六节         | 乙型肝炎表面抗原染色 .....       | 158        |
| <b>第十章</b>  | <b>核酸的组织化学法 .....</b>  | <b>163</b> |
| <b>第十一章</b> | <b>脱落细胞涂片染色法 .....</b> | <b>168</b> |
| 第一节         | 脱落细胞涂片的取材 .....        | 168        |

|                       |                       |            |
|-----------------------|-----------------------|------------|
| 第二节                   | 脱落细胞涂片的固定 .....       | 170        |
| 第三节                   | 脱落细胞涂片染色方法 .....      | 171        |
| 第四节                   | 脱落细胞涂片结果 (镜检所见) ..... | 175        |
| <b>第十二章</b>           | <b>免疫组织化学染色 .....</b> | <b>180</b> |
| 第一节                   | 免疫组化的优点 .....         | 180        |
| 第二节                   | 免疫组化的预备知识 .....       | 181        |
| 第三节                   | 组织的固定取材与切片 .....      | 184        |
| 第四节                   | 抗原修复 .....            | 188        |
| 第五节                   | 免疫组化染色基本方法 .....      | 192        |
| 第六节                   | 免疫组化染色方法 .....        | 194        |
| 第七节                   | 病理诊断常用的抗体 .....       | 199        |
| 第八节                   | 免疫组化染色注意事项 .....      | 205        |
| <b>附录</b> .....       |                       | <b>208</b> |
| <b>常用名词英汉对照</b> ..... |                       | <b>221</b> |

# 第一章

## 苏木素-伊红染色 (HE 染色)

苏木素-伊红染色即通常所称的常规染色或普通染色，取苏木素 (Hematoxyl<sup>n</sup>) 和伊红 (Eosin) 两个外文单词中第一个字母，而简称之 HE 染色。经苏木素染色后，细胞核，粘液等呈蓝色，胞浆及其它成分不着色或着色较浅，并结合不牢易褪色。一般组织切片经苏木素染色后，用盐酸酒精分化和弱碱性溶液显蓝后，可使细胞核着色为深蓝色，细胞浆等其他成分不着色。再用伊红染胞浆，使胞浆的各种成分呈现深浅不同的粉红色。将各种组织或细胞成分与病变的一般形态结构特点显示出来。

### 第一节 HE 染色的原理

动物或植物细胞内，一般有酸性和碱性部分的区分。含有酸性物质的部分能与溶液中的阳离子结合，含有碱性物质的部分能与溶液中的阴离子结合。例如细胞核，特别是核内的染色质，一般认为是酸性物质

组成的，其中主要是核酸，故它与碱性染料的亲和力很强，易于染色，如氧化苏木素铬盐因为碱性染料中的碱性部分有染色作用的是阳离子，而细胞浆则相反，它含有碱性物质和酸性染料的亲和力很大易于染上它的颜色，如伊红，因为是酸性染料中的酸性部分有染色作用的是阴离子，所以细胞核为碱性染料苏木素所染，细胞浆为酸性染料伊红所染。细胞内核的染色质、粘液和软骨的基质多染碱性染料。但必须注意的是，嗜碱性和嗜酸性是相对的而不是绝对的，若细胞在盐基性染液内置留过久，胞浆也可着上盐基性染料的颜色。相反，若细胞浆在酸性染料染液内置留过久，胞核也能着色。

## 第二节 HE 染色的应用

HE 染色是生物学、组织学、病理学及细胞学等学科必不可少的最基本的染色上方法。在病理诊断、教学与科研中广泛应用，具有重要价值。常用的各种固定、包埋方法所制成的石蜡切片、冰冻切片、火棉胶切片、树脂切片、涂片、印片，均可用 HE 染色方法来观察结果。

HE 染色主要用于显示各种组织正常成分和病变的一般形态结构，进行全面观察。直到目前为止，绝大部分观察结果都是从 HE 染色标本中得来的，各种组织或细胞的一般形态，结构特点和病变的发生、发展及修复的全过程，在质量较佳的 HE 切片中，基本上都可以观察到，从而进行判定或研究。

为了显示、区分与确定组织或细胞的某种正常成分或病理过程中出现的一些异常物质，病变和病原体的特殊形态特征，而采用的特殊染色方法、免疫组织化学方法等，一般都是在观察 HE 染色标本的基础上提出的，即根据 HE 染色所显示的结果，再针对不同的病变，特别是在常规切片染色中不易看清楚或很难判定的病变，再做相应的特殊染色、免疫组织化学染色进行验证。总之，HE 染色是一种最广泛经常应用的基本染色方法，具有重要价值。

### 第三节 HE 染色结果

细胞核被苏木素染成鲜明的蓝色，软骨基质，钙盐颗粒呈深蓝色，粘液呈灰蓝色。细胞浆被伊红染成深浅不同程度粉红色至桃红色，细胞浆内嗜酸性颗粒呈鲜红色，胶原纤维呈淡粉红色，弹性纤维呈亮粉红色，红细胞呈橘红色。

质量上佳的染色切片，细胞核与细胞浆蓝红相映，鲜艳，胞核鲜明，核膜及核染色质颗粒均清晰可见。组织或细胞的一般形态结构特点及很多物质成分均能显示出来。

优质的 HE 染色切片标本，可长期保存，而不褪色。

### 第四节 HE 染色的染液配制方法

一、苏木素染液的配制方法很多，介绍几种最常用的如下：

（一）哈瑞（Harris）苏木素液

A 液：苏木素 1g 无水酒精 10ml

B 液：硫酸铝钾 20g 蒸馏水 200ml

两液分别溶解后混合，加热煮沸后，徐徐加入红色氧化汞 0.5g，此时有大量气泡产生，故容器宜大，以防液体溢出，然后将染液迅速冷却，冷却后过滤即可使用，使用前每 100ml 加入冰醋酸 4ml。

染色时间为 3 ~ 10 分钟，保存时间为一年。存放时间过久染色力减弱，故一次不宜配制过多，应随用随配。当时间过久或染过大量切片之后，溶液呈现暗红色，遇水即变蓝色时，说明染液已经失效不能再用。

### （二）改良的哈瑞（Harris）苏木素

配法与哈瑞（Harris）苏木素相同，不同之处过滤后每 100ml 加入冰醋酸 6ml，并加入甘油（丙三醇）10ml。改良的哈瑞苏木素液不仅染色能力强，而且能长期保持染液的稳定，延长有效期。哈瑞（Harris）苏木素液是病理技术室最常用的染色液。

### （三）埃利希（Ehrlich）苏木素染液

苏木素 2g，无水酒精 100ml，硫酸铝钾 25g，甘油 100ml，蒸馏水 100ml，冰醋酸 5ml。

将苏木素溶于酒精中，然后加入甘油，另将硫酸铝钾溶于蒸馏水中。再将两液混合，加入冰醋酸，充分混合均匀后置于阳光充足之处，时常振荡，大约二至三个月，自然氧化成熟，溶液为红褐色，过滤后即可使用。

染色时间为 10 ~ 15 分钟。该染液比较稳定，但

需事先配制备用。

#### (四) 迈耶 (Mayer) 苏木素液

苏木素 0.5g, 钾明矾 25g, 碘酸钠 0.1g, 水合氯醛 25g, 柠檬酸 0.5g, 蒸馏水 500ml。

先将苏木素加入煮沸的蒸馏水中, 搅拌充分溶解后, 再依次加入钾明矾和碘酸钠, 全部溶解后, 再加入水合氯醛和柠檬酸, 加热煮沸 5 分钟, 冷却后过滤, 放置 12 小时后即可使用。

染色时间为 10 ~ 20 分钟。

#### (五) 改良的迈耶 (Mayer) 苏木素染液

A 液: 苏木素 1g, 无水酒精 20ml

B 液: 钾明矾 50g, 蒸馏水 300ml

A、B 液分别溶解后混合, 煮沸 3 ~ 5 分钟加入蒸馏水至 1000ml, 最后再加入 0.2g 碘酸钠。

染色时间为 10 ~ 20 分钟。

## 二、伊红染液

伊红有水溶性和醇溶性, 伊红染液一般浓度为 0.25% ~ 1%。

#### (一) 0.5% 水溶性伊红染液

伊红 Y 0.5g, 蒸馏水 100ml。

先用 20ml 蒸馏水溶解伊红, 全部溶解后加入全部 80ml 蒸馏水。最后加一滴冰醋酸。

染色时间为 1 ~ 5 分钟。

#### (二) 0.5% 醇溶性伊红染液

伊红 B 0.5g, 80% 酒精 100ml

将伊红溶于酒精内搅拌, 全部溶解后即可使用

染色时间为 1 ~ 3 分钟

### (三) 分化液

#### 1. 0.5% 盐酸酒精溶液

盐酸 0.5ml, 70% 酒精 100ml

#### 2. 0.5% 盐酸水溶液

盐酸 0.5ml, 蒸馏水 100ml

### (四) 弱碱性水溶液

#### 0.5% 淡氨水

将 0.5ml 氨水 (氢氧化铵) 溶于 100ml 自来水中即可。

## 第五节 HE 染色程序

### 一、石蜡切片 HE 染色法

1. 将烘干后的石蜡切片浸入二甲苯 I 中脱蜡 5 ~ 15 分钟。

2. 切片浸入二甲苯 II 中 5 ~ 15 分钟, 目的是补充脱蜡。

3. 切片浸入无水酒精 I 中 5 ~ 10 分钟, 目的是脱去二甲苯。

4. 切片浸入无水酒精 II 中 2 ~ 5 分钟。

5. 切片浸入 95% 酒精中 2 ~ 5 分钟。

6. 切片浸入 80% 酒精中 2 ~ 5 分钟。

7. 切片浸入 70% 酒精中 1 ~ 2 分钟。

8. 切片浸入流动的自来水中洗去酒精。

9. 切片浸入蒸馏水中清洗切片防止污染苏木素染液。

10. 切片进入苏木素染液中染色 2~5 分钟（以哈瑞苏木素为例）。

11. 流动自来水洗切片 2~5 分钟。

12. 0.5% 盐酸酒精溶液分化数秒钟。

13. 流动自来水洗切片 1~2 分钟。

14. 0.5% 淡氨水蓝化切片 30 秒~1 分钟。

15. 流动自来水洗切片 5~10 分钟。

16. 镜检着色满意后进入蒸馏水中清洗切片。

17. 切片进入 0.5% 伊红水溶液中 1~5 分钟。

18. 切片进入蒸馏水中速洗一下。

19. 切片进入 80% 酒精 15 秒~30 秒。

20. 切片进入 95% 酒精 15 秒~30 秒。

21. 切片进入无水酒精 I 30 秒~60 秒。

22. 切片进入无水酒精 II 1~5 分钟。

23. 切片进入二甲苯 I 1~2 分钟。

24. 切片进入二甲苯 II 2~5 分钟。

25. 切片进入二甲苯 III 5~10 分钟。

26. 中性树胶封固。

结果：细胞核呈蓝色，细胞浆及其它组织呈粉红色。

## 二、冰冻切片 HE 染色法

一般冰冻切片 HE 染色除不经过脱蜡外，其它与石蜡切片染色方法相同，这里主要介绍手术中冰冻切片快速染色法。

（一）新鲜组织冰冻切片进入 A、A、F 液固定 30 秒钟（A、A、F 液配法如下：95% 酒精 70ml，20% 福

尔马林 29ml, 冰醋酸 1ml 混合即成)。

(二) 自来水洗 30 ~ 60 秒钟。

(三) 哈瑞苏木素室温染 1 ~ 2 分钟 37℃ 染 30 秒钟。

(四) 快速水洗 30 ~ 60 秒钟。

(五) 0.5% 盐酸酒精分化 5 ~ 15 秒钟。

(六) 快速水洗后蒸馏水快洗。

(七) 0.5% 伊红水溶液 30 ~ 45 秒钟。

(八) 速洗蒸馏水。

(九) 梯度酒精迅速脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封固。

### 三、树脂包埋半薄切片 HE 染色法

(一) 将半薄切片进入自来水中洗 1 ~ 2 分钟后, 洗蒸馏水 1 ~ 2 次。

(二) 进入哈瑞苏木素液染色 5 ~ 10 分钟。

(三) 自来水洗 1 ~ 2 分钟。

(四) 0.5% 盐酸酒精分化数秒钟。

(五) 自来水洗 2 ~ 5 分钟。

(六) 0.5% 淡氨水返蓝 1 ~ 2 分钟。

(七) 蒸馏自来水洗 1 ~ 2 分钟后蒸馏水洗一下。

(八) 0.5% 伊红水溶液染色 3 ~ 5 分钟。

(九) 蒸馏水洗一下。

(十) 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封固。

### 四、涂片、印片 HE 染色方法

涂片与印片 HE 染色方法与石蜡切片 HE 染色相

同，只是先用 95% 酒精固定涂片或印片 5 ~ 10 分钟后，从石蜡切片 HE 染色第六步开始即可。

## 第六节 HE 染色注意事项

一张优良的 HE 染色片，并非仅指染色而言，它包括很多方面。染色方面，其中染色剂质量或染色液着色力，以及分化程度，均为重要条件，忽视上述条件，均达不到良好的效果。

优质的 HE 染色切片的制成，首先应重视组织固定，能否及时固定，固定是否完全，直接影响染色的质量。固定充足及时、组织、细胞就能显示生活时的状况，反之，组织自溶，就影响切片的质量。

其次是组织脱水，一般常用酒精脱水，酒精需保持所要求的浓度，还要掌握好脱水时间。根据组织块大小而定，例如尸检组织、外检组织及动物组织脱水时间各不相同。此外，使用的脱水剂要纯，以保证透明、浸蜡的顺利进行。

组织浸蜡要注意：第一，适当的蜡温，包埋用蜡切忌过热，第二要注意浸蜡的时间，外检组织浸蜡不能低于 1 小时。

组织切片也很关键，优质的切片要求切片较薄，平整，无刀痕、皱褶、横裂、折叠、破碎，切片太厚或呈波浪状薄厚不匀等均影响染色质量。

另外脱蜡用二甲苯液应经常过滤或定期换液。透明也非常重要，透明欠佳，组织表面似有一层薄雾样膜，应更换无水酒精后再次透明。

综上所述，染色就是更加强色彩的作用，更加要求结构清晰，色彩鲜艳，以求得对比分明、病变突出，便于对病理变化的观察和诊断；反之，如果是结构模糊，对比不清，色彩失调，就难于达到应有的要求，也影响了观察和诊断。