



凌启波 编著

实用病理 特殊染色和组化技术

PRACTICAL SPECIAL STAINING AND
HISTOCHEMICAL TECHNIQUE IN PATHOLOGY

广东高等教育出版社

实用病理特殊染色和组化技术

凌 启 波 编 著

武 忠 弼 审 阅
董 郡

内 容 提 要

本书介绍病理组织学常用的百多种特殊染色和组织化学技术。每节先简述某一组织或成份的基本结构，再分别介绍各种染色试剂的配制、染色操作方法、结果、注意事项、染色原理及应用范围。全书理论与实践并重，经典方法与个人经验结合；内容丰富，实用性强。适合从事病理学、组织学、生物学、法医学、兽医学的科研、教学和临床工作的技术人员、教师、医师和研究生使用。

实用病理特殊染色和组化技术

凌启波 编著

*

广东高等教育出版社出版发行

广州中医学院印刷厂印刷

787×1093毫米 32开本 10.7印张 4插页 231千字

1989年7月第1版 1989年7月第一次印刷

印数：1—3,000册

ISBN 7-5361-0348-4/R·26 定价 5.90元

前 言

病理学是医学基础中的重要学科，主要从形态上探讨和阐述疾病的发生发展过程及其机制。在病理形态学研究中，病理组织学的观察对象是各种经过染色的组织切片。切片的制片、染色质量可以相当程度地影响观察和研究的效果。因此，病理制片技术是病理学的一项基本技术，其重要性不言而喻。病理制片包括切片的基本染色(H-E)、特殊染色、组化技术、免疫荧光、免疫组化(免疫酶细胞化学)、放射自显影以及超薄切片等，而特殊染色和组化技术又是科学研究中和病理检验中最常应用的方法。

近年，随着我国病理学的发展，对制片技术开展的项目和质量提出更高的要求。在此形势下，我们为国内一些兄弟单位举办了四期“特殊染色和组化技术学习班”，并在学员要求下，以学习班的教材为蓝本编著成本书。全书共十章，各章较全面地从理论到实践对各种特殊染色和组化技术作了详尽而实用的叙述。各章节除扼要作了有关理论论述外，还说明了染液配制、操作过程、染色质量好坏的注意事项。此外，对每种染色的原理和应用也尽可能作了解释和说明。在内容上既有常用的方法，更有近年国内外所采用的新方法，其中不少方法是由本人创新和改进的。

虽然，每项特殊染色的方法有多种(如结缔组织中网状纤维染色就有10多种)，但本书仅介绍其中的二、三种，这些方法是经多年采用，效果可靠，易于操作，易于掌握而且

较为实用。其他方法不作介绍。

在本书的编写过程中，武忠弼教授和董郡教授对书稿作了审阅，也得到我校化学教研室姚铭深教授的支持和指教，本教研室邓榜发、孔伟贞两位主管技师对某些章节提供了宝贵的意见，梁英杰技师为本书的抄写和核对做了不少工作。在此谨致以衷心的感谢。

由于本人的水平有限，而且目前病理制片技术不断地发展，因此，缺点和错误在所难免，恳请广大读者批评指正，本人将不胜感激。

凌 启 波

1988年12月

序

特殊染色和组化技术是近代病理学研究工作和临床病理检验工作不可忽缺的重要手段。其技术水平在很大程度上决定研究工作和病理检验工作的质量和成败。

中山医科大学凌启波副主任技师积数十年从事病理技术工作的丰富经验，撰写了这本《实用病理特殊染色和组化技术》，对各种特殊染色方法和组织化学技术作了详尽而实用的论述，为我国病理学工作者做了一件很有益的工作。

本书理论与实践并重，非常适合病理学、组织学、生物学、法医学等领域实验室工作的需要，是病理技术工作者以及从事病理检验工作、研究工作的教师、医师和研究生等很好的参考资料和技术工作指南。

与现有的病理技术参考书相比，本书的特点是在各章之始阐述了有关理论知识，具体说明了各种染色方法的适用范围，内容新颖，并在论述各种染色方法、染液配制、操作步骤和操作技术时，特别介绍了作者长期以来在技术工作中所积累的经验，指出了染色成败和质量高低的关键所在，这是尤为难得的。深信本书的问世必将受到广大读者的特别欢迎。

武忠弼

1988年10月18日

目 录

第一章 结缔组织和肌纤维	(1)
第一节 胶原纤维	(1)
一、苦味酸-酸性品红法	(2)
二、Masson 三色法	(4)
第二节 网状纤维	(9)
一、氢氧化银氨液浸染法 (一)	(11)
二、氢氧化银氨液浸染法 (二)	(13)
第三节 弹力纤维	(19)
一、间苯二酚品红法	(20)
二、醛品红法	(22)
三、地衣红法	(25)
第四节 肌纤维	(26)
一、磷钨酸苏木素法	(27)
二、偶氮桃红-鞣酸法	(30)
第二章 细菌、霉菌和病毒	(33)
第一节 细菌	(33)
一、苯胺结晶紫法	(34)
二、结晶紫-中性红法	(36)
第二节 抗酸菌	(39)
苯酚碱性品红法	(40)
第三节 胃弯曲菌	(42)

硝酸银法·····	(43)
第四节 霉菌·····	(45)
一、高碘酸 - 无色品红法·····	(48)
二、无色品红 - 醛品红法·····	(51)
三、六胺银法·····	(52)
四、爱先蓝法·····	(56)
五、粘液胭脂红法·····	(57)
第五节 有关病毒感染·····	(59)
一、荧光桃红 - 酒石黄法·····	(61)
二、甲基蓝曙红法·····	(63)
三、地衣红法·····	(64)
四、醛品红法·····	(67)
五、维多利亚蓝法·····	(68)
第三章 病理性沉着物·····	(71)
第一节 纤维素·····	(71)
一、马休黄 - 酸性品红 - 苯胺蓝法·····	(72)
二、苯酚结晶紫法·····	(76)
三、磷钨酸苏木素法·····	(78)
第二节 淀粉样蛋白·····	(78)
一、甲基紫法·····	(80)
二、甲醇刚果红法·····	(81)
三、高锰酸钾前孵育 - 甲醇刚果红法·····	(83)
四、硫酸钠爱先蓝法·····	(84)
第三节 尿素结晶·····	(87)
黄醇冰醋酸法·····	(88)

第四章 色素和钙盐	(30)
第一节 黑色素	(91)
一、硫酸亚铁法	(91)
二、银氨液浸染法	(93)
三、脱黑色素法	(95)
第二节 含铁血黄素	(97)
一、亚铁氰化钾法	(98)
二、改良的腾氏蓝法	(100)
第三节 脂褐素	(102)
一、高碘酸 - 无色品红法	(103)
二、三氯化铁铁氰化钾法	(105)
三、醛品红法	(107)
第四节 胆色素	(109)
一、三氯醋酸三氯化铁法	(110)
二、苦味酸 - 酸性品红法	(111)
第五节 福马林色素	(112)
除福马林色素法	(113)
第六节 钙盐	(114)
一、硝酸银法	(115)
二、茜素红 S 法	(117)
第五章 内分泌腺和胞质颗粒	120)
第一节 脑垂体细胞	(120)
一、高碘酸 - 无色品红 - 橙黄G法	(121)
二、三色合染法	(125)

第二节 胰岛细胞	(127)
一、硝酸银法	(128)
二、醛品红-亮绿橙黄G法	(130)
三、醛品红-橙黄G法	(132)
第三节 肾上腺嗜铬细胞	(133)
一、甲苯胺蓝法	(134)
二、姬姆萨 (Giemsa) 法	(135)
第四节 类癌	(137)
一、嗜银反应	(138)
二、亲银反应	(140)
第五节 肥大细胞	(142)
一、甲苯胺蓝法	(143)
二、醛品红-橙黄G法	(144)
三、爱先蓝沙红法	(145)
第六章 神经组织	(148)
第一节 尼氏体	(148)
一、缓冲亚甲蓝法	(149)
二、混合染色法	(150)
第二节 神经轴突	(152)
一、银浸镀法	(152)
二、甘氨酸银浸镀法	(155)
第三节 神经髓鞘	(157)
一、碳酸锂苏木素法	(158)
二、砂罗铬花青法	(161)
三、四氧化铁法	(163)

第四节 神经胶质细胞	(165)
氯化金升汞法	(166)
第七章 脂质	(169)
第一节 中性脂肪	(170)
一、苏丹Ⅳ或苏丹Ⅲ或苏丹Ⅱ法	(171)
附一、甘油明胶配制法	(174)
附二、阿拉伯糖胶配制法	(175)
二、油红O法	(175)
三、苏丹黑B法	(176)
第二节 胆固醇及胆固醇酯	(178)
一、硫酸铁铵法	(179)
二、高氯酸萘酚法	(180)
第三节 中性脂肪和酸性脂	(182)
硫酸耐尔蓝法	(183)
第四节 磷脂	(184)
一、酸性苏木红法	(185)
二、吡啶提取法	(186)
第八章 核酸	(189)
一、酸水解 - 无色品红法	(190)
二、改良的酸水解 - 无色品红法	(193)
三、甲基绿派洛宁法	(194)
第九章 糖类	(198)
第一节 多糖类	(201)

高碘酸 - 无色品红 - 橙黄G法	(201)
第二节 糖原	(207)
一、高碘酸 - 无色品红法	(209)
二、胭脂红法	(211)
第三节 中性粘液物质和酸性粘液物质	(214)
爱先蓝 - 高碘酸 - 无色品红法	(214)
第四节 酸性粘液物质	(217)
一、粘液胭脂红法	(220)
二、爱先蓝 (pH2.5) 法	(222)
三、爱先蓝 (pH1.0) 法	(223)
四、胶体铁法	(225)
五、醛品红 - 爱先蓝法	(228)
六、爱先蓝 - 爱先黄法	(229)
七、高铁二胺 - 爱先蓝法	(230)
八、高碘酸 - 硼氢化钠 - 氢氧化钾 - PAS法 ..	(232)
九、藻红 - 爱先绿法	(235)
第五节 基底膜	(237)
一、高碘酸 - 无色品红 - 橙黄G法	(238)
二、六胺银法	(238)
第十章 酶类	(242)
第一节 碱性磷酸酶	(246)
一、钙钴法	(247)
二、 α - 萘基磷酸法	(250)
第二节 酸性磷酸酶	(253)
一、硝酸铅法	(254)

二、萘酚 AS-TR 磷酸酯法	(256)
第三节 三磷酸腺苷酶	(258)
一、镁激活法	(260)
二、钙激活法	(262)
第四节 葡萄糖-6-磷酸酶	(266)
硝酸铅法	(266)
第五节 5'-核苷酸酶	(269)
硝酸铅法	(270)
第六节 非特异性酯酶	(272)
一、乙酸- α -萘酯-固蓝B 盐法	(273)
二、溴吲哚酚法	(276)
三、酸性乙酸- α -萘酯-六偶氮对品红法	(278)
第七节 脂酶	(283)
一、吐温法	(284)
二、吐温-茜素红 S 法	(286)
第八节 胆碱酯酶	(288)
一、亚铁氰化铜法	(289)
二、胆碱铜法	(292)
第九节 过氧化物酶	(294)
二氨基联苯胺法	(295)
第十节 多巴氧化酶	(297)
二羟基苯丙氨酸法	(298)
第十一节 琥珀酸脱氢酶	(299)
一、硝基蓝四唑法 (一)	(300)
二、硝基蓝四唑法 (二)	(302)
第十二节 细胞色素氧化酶	(305)

一、苯基 - 对 - 苯二胺法	(306)
二、二氨基联苯胺法	(309)
第十三节 γ - 谷氨酰转肽酶	(311)
萘酰胺法	(311)
附录	(316)
一、玻璃器皿的清洁	(316)
二、各种常用固定液的配制	(318)
三、溶液的浓度及计算	(321)
四、各种浓度酒精的配制	(325)
五、常用缓冲液的配制	(325)
六、常用计量单位	(333)
七、本书有关缩写英文及中文名称	(333)
主要参考文献	(337)
附图说明、彩图	(339)

第一章 结缔组织和肌纤维

结缔组织含有三种纤维，即胶原纤维、网状纤维和弹力纤维。这三种纤维广泛分布于身体各处，常见于器官与器官之间，组织与组织之间以及细胞和细胞之间。这些纤维具有支持连接、营养、防御保护和创伤修复等功能。这三种纤维在苏木素—曙红染色中有时难以区别，特别是在某些病理改变时。因此在病理诊断上常常要借助于特殊染色进行鉴别。

第一节 胶原纤维

胶原纤维 (collagen fiber) 是三种纤维中分布最广泛，含量最多的一种纤维。广泛分布于各脏器内。在皮肤、巩膜和肌腱最为丰富。胶原纤维具有韧性大，抗拉力强的特点。在弱酸或沸水中可慢慢溶化成胶水，称为白明胶，所以这种纤维称为胶原纤维。胶原纤维在新鲜时无色，粗细不等，直径在 $1 \sim 12 \mu\text{m}$ 之间，并有分支，互相交织成网。在电镜下胶原纤维是由更细的，直径为 $200 \sim 1000 \text{ \AA}$ 的胶原原纤维集成束而成，每距 $640 \sim 700 \text{ \AA}$ 有一横带，形成有规律的周期性（磷钨酸苏木素染色的标本光镜检查，也可见到此周期性横带，相距为 $640 \text{ \AA}$ ）。一条胶原原纤维是由许多很

长的原胶原(tropocollagen)分子互相连接和束集而成的。

胶原纤维染色在病理诊断上主要用于和肌纤维的鉴别。常用以显示胶原纤维的染色方法有 Van Gieson 氏苦味酸-酸性品红染色法(简称 V.G. 法), Masson 氏三色染色法和 Mallory 氏三色染色法等。所谓三色染色通常是指染胞核和能选择性地显示胶原纤维和肌纤维。其实 Van Gieson 氏苦味酸-酸性品红染色法也是一种三色染色法, 不过习惯上不称三色法。从实用方面, 介绍下面两种方法。

一、苦味酸-酸性品红法

(根据 Van Gieson, 1889)

试剂配制:

(一) Weigert 氏铁苏木素液

甲液: 苏木素(hematoxylin) 1g

无水酒精(absolute alcohol) 100ml

乙液: 30% 三氯化铁液(ferric chloride) 4ml

蒸馏水 100ml

纯盐酸(hydrochloric acid) 1ml

甲、乙两液需分瓶盛放, 甲液配制后数天即可用, 不宜配制过多, 如保存时间过长则染色不良。平时应密封保存; 乙液配制后立即可用。临用前将甲、乙两液等量混合。

(二) Van Gieson 氏染液

甲液: 1% 酸性品红(acid fuchsin) 水溶液

乙液: 苦味酸(picric acid) 饱和水溶液(约 1.2%)

甲、乙两液分瓶盛放。临用前取甲液 1 份, 乙液 9 份混合后使用。

(三) 1%盐酸酒精液

70%酒精液

99ml

纯盐酸 (hydrochloric acid)

1ml

操作方法:

1. 组织固定于10%甲醛液, 常规脱水包埋。
2. 切片脱蜡至水。
3. 用Weigert氏铁苏木素液染5~10分钟。
4. 流水稍洗。
5. 1%盐酸酒精迅速分化。
6. 流水冲洗数分钟。
7. 用Van Gieson氏液染1~2分钟。
8. 倾去染液, 直接用95%酒精分化和脱水。
9. 无水酒精脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封固。

结果:

胶原纤维呈鲜红色, 肌纤维, 胞质及红细胞黄色, 胞核蓝褐色。

注意事项:

1. Weigert氏铁苏木素分甲、乙两液, 应于临用前将两液等份混合使用, 而不宜预先混合, 否则易氧化沉淀而逐渐失去其染色力。如需混合以备随时使用, 则要用砂塞瓶盛装并放于4°C冰箱内, 这样可使用数周。也可用天青石蓝-Mayer氏苏木素代替Weigert氏铁苏木素。

2. Van Gieson氏染液也分甲、乙两液, 应于临用前按1:9混合配成。如组织含胶原纤维较少, 则以1:7的比例混合为宜。如把两液预先混合, 放置一段时间后, 酸性品红则不易着色。