

外科病理诊断
特殊染色五十种



DIAGNOSTIC
SPECIAL STAINS
FOR SURGICAL
PATHOLOGY

ERWIN HAAS

· 中 英 对 照 ·

50 DIAGNOSTIC SPECIAL
STAINS FOR SURGICAL
PATHOLOGY

外科病理诊断
特殊染色 50 种

(内 部 交 流)

浙江省海宁人民医院肿瘤研究室
浙江医科大学病理教研室 协 作

ERWIN HAAS
50 DIAGNOSTIC SPECIAL STAINS
FOR SURGICAL PATHOLOGY

外科病理诊断特殊染色50种
欧文·黑斯 著

译者 卓 裕 德
审校 石秋念 徐英含 郑南

幻灯片制作 杨 春 虎
幻灯片审定 朱 善 济 孙 其 荣

发 行 浙江省海宁人民医院

印 刷 浙江省海宁石前印刷厂
1984年4月第一版第一次印刷

印 数 0,001—2,500

开 本 787×1092毫米 1/32

印 张 16 8/32 字数 211千

前 言

外科病理正在全国普遍开展，为提高病理鉴别诊断常需应用特殊染色方法，但目前针对这一需要的技术参考书甚少。本书密切联系病理鉴别诊断的应用，方法精选，内容简明，并附有彩色图片，对外科病理医师及病理技术人员较为实用，故而加以翻译，以供参考应用。

原书附有彩色插图171幅，由于印刷成本甚大，改制成幻灯片（成套），供集体单位选购，个人借阅应用，以节成本。

该书无章节，按方法名称的英文字母次序编排，为与原文一致，故仍照旧。附录一章为穿刺活检，国内较少应用，特删去。

本书采用英汉对照，目的是提供初具英语基础的中青年同志在学习英语时，学用结合，但对英语本身的提高仍必须坚持系统学习及不断扩大阅读。由于译者水平有限，译文中的缺点错误，请予批评指正。

原 序 摘 译

此书是根据“按步就班”的计划而编写的，这对病理学家和病理技术人员证明是较实用的。本书和其它实验手册相比有三个方面的重要区别：

(1)本书强调使用显微镜以检查染色方法在不同阶段的结果。我们与其严格、定时，还不如做到这一点。因为这常常是适当制作染色标本的关键。

(2)本书有许多彩色图片^(注)以显示染色方法中的不同过程。读者在制作标本时，可将切片标本与图片比较，这在许多情况下常有利于在染色发生不可弥补的缺点前加以纠正，从而取得和本书照片同样优美的良好结果。

(3)对方法中某些操作部份作了特殊的说明，其中包括：对有毒试剂必需仔细操作的警告；对有些制剂的有效期的估计；对某些染色液效能如何延长，等等。这些说明对有经验的技术人员是早已知道，然而对这方面久未工作及初次参加病理技术工作的人来说，将会发现本书的这些特点是特别有益的。

本书尽可能肯定改良法作者的功绩，在参考文献中对此都有记载。然而，有许多例子，改良法先在某一实验室中提出，而传到另外实验室，当时未正式承认谁是作者，以后，当发现产生更好结果时，才广泛应用。对所有改进了方法而又未能得到查证的作者，在此表示歉意和感谢。

(注)原书彩色图片因成本很高，故本书改制为成套彩色幻灯片(171幅，编号照译)，另购供应。

PREFACE

This book has been prepared according to the step-by-step plan that has proved most useful to pathologists and technologists. However, it differs from other laboratory manuals in three important ways:

(1) Stress is placed on use of the microscope to check results at different points of the staining procedures. This, rather than exact timing, is often the key to proper preparation of stains.

(2) The color plates show various stages of the staining processes. By comparing slides during preparation with the illustrations, users of the book should in many instances be able to correct errors before they are irremediable and achieve final results equal to those here identified as excellent.

(3) Special instructions of several types are included—warnings as to toxic reagents which must be handled with caution; estimates of duration of usefulness for various preparations; suggestions as to how to prolong the effectiveness of different stains; etc. Many of these suggestions will already be known to the experienced technologist; however, those who have not recently worked in this field and those who are entering it for the first time may find this feature of the book particularly helpful.

Where possible, credit has been given to originators of modifications. These acknowledgments appear in the References section. In many cases, however, modifications are developed in one laboratory, passed on to another without formal recognition of the originator, and subsequently widely employed when found to produce better results. A debt of gratitude is acknowledged to all those who could not be identified but whose changes have improved the procedures described.

ERWIN HAAS
Thousand Oaks, CA

目 录

前 言

原序摘译

方 法

1、叮叮橙荧光染色法.....	1
2、阿尔辛兰或阿尔辛兰 PAS 结合染色法.....	5
3、醛品红—阿尔辛兰染色法.....	11
4、醛品红—过碘酸Schiff染色改良法.....	15
5、Auramine O 荧光染色法.....	23
6、天青 A 染色改良法.....	27
7、Bennhold 氏刚果红染色法.....	31
8、心肌梗死及心肌坏死的特殊染色改良法.....	35
9、结晶紫异染色法.....	39
10、Dieterle 氏染色法.....	43
11、Feulgen 氏染色反应法.....	49
12、纤维蛋白染色法.....	55
13、Fouchet 氏胆红素及橙色血质的染色反应法.....	61
14、Gomori—Burtner 氏六亚甲四胺银改良法.....	65
15、Gordan—Sweet 氏网状纤维染色法.....	71
16、Grocott 氏六亚甲胺银染色法.....	79
17、粘多糖 Hale 氏胶体铁氧化染色改良法.....	85
18、Heidenhain 氏铁苏木素染色法.....	91
19、Jones 氏过碘酸—六亚甲四胺银染色的改良法.....	95
20、麻风杆菌染色改良法	101
21、Luxol固兰—Holmes 氏硝酸银染色改良法	105

22、Luxol固兰—过碘酸Schiff氏—苏木素改良法	111
23、Luxol固兰—磷钨酸苏木素改良法	117
24、细菌性传染病的MacCallum—Goodpasture 氏染色法	122
25、Mallory氏磷钨酸苏木素改良法	128
26、Masson 氏三色染色法	132
27、Masson 氏三色染色改良法	140
28、Maximov氏血涂片或骨髓染色改良法	148
29、May—Grünwald—Giemsa氏染色法	152
30、六亚甲四胺银改良染色法	156
31、脂质油红O染色法	162
32、Okamoto氏红氨酸改良染色法	168
33、Olszewski氏焦油紫法	172
34、地衣红染色及乙型肝炎抗原地衣红染色改良法	175
35、脂质的四氧化铁染色法	181
36、脂褐素的Pearse 氏染色反应法	185
37、过碘酸—Schiff氏淀粉酶消化法	189
38、过碘酸—Schiff氏反应法	194
39、过碘酸—Schiff氏反应改良法	200
40、Perl氏染色反应法	204
41、焰红、甲苯胺兰染色法	208
42、Southgate氏粘液卡红染色改良法	214
43、硫黄素T荧光染色法	218
44、甲苯胺兰染色法	222
45、三联染色法	224
46、Unna—Pappenheim氏甲基绿—派浪宁染色改良法	230
47、尿酸盐结晶染色法	236
48、Verhoeff氏弹力组织染色法	242
49、Von Kossa 氏钙盐染色改良法	246
50、Ziehl—Neelsen 氏染色改良法	254

Contents

Preface

ix

PROCEDURES

1	Acridine Orange Fluorescent Stain — — — — —	3
2	Alcian Blue or Alcian Blue—PAS Combined Stain — — —	3
3	Aldehyde Fuchsin Alcian Blue Stain — — — — —	13
4	Aldehyde Fuchsin—Periodic Acid Schiff Stain, Modified —	19
5	Auramine O Fluorescent Stain — — — — —	25
6	Azure A Staining Method, Modified — — — — —	29
7	Bennhold's Congo Red Stain — — — — —	33
8	Cardiac Necrosis and Myocardial Infarction Special Stain, Modified — — — — —	37
9	Crystal Violet Metachromatic Stain— — — — —	41
10	Dieterle's Stain — — — — —	46
11	Feulgen's Staining Reaction — — — — —	52
12	Fibrin Stain — — — — —	58
13	Fouchet's Staining Reaction for Bilirubin and Hematoidin —	63
14	Gomori—Burtner Methenamine Silver Technique, Modified —	68
15	Gordon—Sweets Reticulum Stain — — — — —	75
16	Grocott's Methenamine—Silver Staining Technique — — —	82
17	Hale's Colloidal Ferric Oxide Stain for Mucopolysaccharides, Modified — — — — —	88
18	Heidenhain's Iron Hematoxylin Stain — — — — —	93
19	Jones' Periodic Acid—Methenamine Silver Staining Technique, Modified — — — — —	98
20	Leprosy Bacillus Stain, Modified — — — — —	103
21	Luxol Fast Blue—Holmes' Silver Nitrate Stain, Modified —	108
22	Luxol Fast Blue—Periodic Acid Schiff—Hematoxylin Method, Modified — — — — —	114
23	Luxol Fast Blue—Phosphotungstic Acid Hematoxylin, Modified	120
24	MacCallum—Goodpasture Stain for Bacterial Infections —	125
25	Mallory's Phosphotungstic Acid Hematoxylin Stain, Modified	130

26	Masson's Trichrome Method	— — — — —	- 136
27	Masson's Trichrome Stain, Modified	— — — — —	- 144
28	Maximov's Blood Smear or Bone Marrow Stain, Modified	— — — — —	- 150
29	May-Grunwald—Giemsa Stain	— — — — —	- 154
30	Methenamine Silver Stain, Modified	— — — — —	- 159
31	Oil Red O Stain for Lipids	— — — — —	- 165
32	Okamoto's Rubanic Acid Staining Method, Modified	— — — — —	- 170
33	Olszewski's Cresyl Echt Violet Method	— — — — —	- 173
34	Orcein Stain or orcein for Hepatitis-B Antigen Modified	— — — — —	- 178
35	Osmium Tetroxide Stain for Lipids	— — — — —	- 183
36	Pearse's Staining Reaction for Lipofuscin	— — — — —	- 187
37	Periodic Acid—Schiff Diastase Method	— — — — —	- 191
38	Periodic Acid—Schiff Reaction	— — — — —	- 197
39	Periodic Acid—Schiff Reaction Modified	— — — — —	- 202
40	Perls' Staining Reaction	— — — — —	- 206
41	Phloxine Toluidine Blue Stain	— — — — —	- 211
42	Southgate's Mucicarmine Staining Method, Modified	— — — — —	- 216
43	Thioflavin T Fluorescent Stain	— — — — —	- 220
44	Toluidine Blue Stain	— — — — —	- 223
45	Triple Staining Method	— — — — —	- 227
46	Unna-Pappenheim Methyl Green—Pyronin Stain, Modified	— — — — —	- 233
47	Urate Crystals Staining Method	— — — — —	- 239
48	Verhoeff's Stain for Elastic Tissue	— — — — —	- 245
49	Vonkossa's Calcium Stain, Modified	— — — — —	- 251
50	Ziehl-Neelsen Stain Modified	— — — — —	- 256

注：以上各法为便于中英对照，均分别编印在该法中文翻译之后。
未另加编号，请按页码查阅。

① 叮叮橙 萤光染色法

目 的

显示真菌、霉菌，如孢子菌病及隐球菌病等致病菌，这用常规H.E染色是难以区别的。

固 定

10%福马林缓冲液，pH 7

试 剂

1、1% Weigert酒精铁苏木素

苏 木 素	1 克
95%酒精	100毫升

2、29%三氯化铁

三氯化铁	29克
蒸 溜 水	100毫升

将三氯化铁溶解需长达一小时，建议用磁搅拌器

3、Weigert苏木素工作液

29%三氯化铁	11毫升
蒸 溜 水	95毫升
浓 盐 酸	1 毫升
1% Weigert酒精苏木素	100毫升

此液应在临用前配制

4、1%叮叮橙原液

叮 叮 橙	1 克
蒸 溜 水	100毫升

5、叮叮橙工作液

叮叮橙原液	1 毫升
-------	------

蒸 溜 水

100毫升

此液应每次新配

操作步骤

1、切片至水

2、自来水洗

5 分钟

3、入苏木素工作液染色

2 分钟

(如组织切片为造血系统象脾、淋巴结, 1分钟即可。)

4、自来水洗

15分钟

如组织染色过深, 苏木素颜色将掩盖真菌, 因此检查切片, 以核呈兰色、基底无色为准; 如切片已经过染, 应脱色及重染 7 分半钟。

5、入叮叮橙工作液染色

7~10分钟

如果真菌壁的粘多糖含量不多, 需延长染色时间。

6、蒸馏水迅速洗

10下

7、脱 水

8、透 明

9、用无荧光封固剂进行封固(如甘油)

结 果

真菌壁呈亮橙色

(幻灯片1~1)隐球菌病, 脑切片 (叮叮橙×40)

(幻灯片1~2)胰腺RNA及DNA (叮叮橙×40)

(幻灯片1~3)小肠活检标本中肥大细胞 (叮叮橙×40)

(幻灯片1~4)肌肉活检标本中肥大细胞 (叮叮橙×40)

注 此法需用荧光显微镜, 重要的是要正确使用此贵重仪器, 仔细按照该仪器说明书使用。

Acridine Orange Fluorescent Stain

PURPOSE

To demonstrate fungi that are difficult to distinguish with the customary H&E stain—e.g., the causative agents of coccidioidomycosis and cryptococcosis

FIXATIVE

10% buffered formalin, pH 7

REAGENTS

1. 1% ALCOHOLIC WEIGERT IRON HEMATOXYLIN

Hematoxylin	1g
95% Ethyl alcohol	100ml

2. 29% FERRIC CHLORIDE

Ferric chloride	29g
Distilled water	100ml

It may take as long as an hour to dissolve the ferric chloride. Use of a magnetic stirrer is suggested.

3. WEIGERT WORKING HEMATOXYLIN SOLUTION

29% Ferric chloride	11ml
Distilled water	95ml
Concentrated hydrochloric acid	1ml
1% Alcoholic weigert hematoxylin	100ml

This solution should be made up just before use.

4. 1% ACRIDINE ORANGE STOCK SOLUTION

Acridine orange	1g
Distilled water	100ml

5. ACRIDINE ORANGE WORKING SOLUTION

Acridine orange stock solution	1ml
Distilled water	100ml

Prepare this solution fresh each time.

PROCEDURE

1. Bing section to water
2. Rinse in tap water 5minutes
3. Stain in hematoxylin working solution 2minutes
(or, if slides are from the hematopoietic system,
e.g., spleen or lymph node, 1 minute)
4. Wash in tap water 15minutes
If the slide is overstained, the hematoxylin will mask the
fungi. Therefore, check to see that the nuclei are blue and
the background is colorless. If the slide is overstained,
decolorize and restain for 7 1/2 minutes only.
5. Stain in acridine orange working solution 7—10minutes
If the fungus rings do not contain sufficient mucopolysaccharides, a
longer staining time is necessary.
6. Rinse quickly in distilled water 10dips
7. Dehydrate
8. Clear
9. Mount with nonfluorescent mounting medium (such as glycerol)

RESULTS

Fungus rings—bright orange

(Fig. 1-1) Cryptococcus brain section (Acridine orange; X40).

(Fig. 1-2) Pancreas RNA and DNA (Acridine orange; X40).

(Fig. 1-3) Mast cells in intestinal biopsy specimen (Acridine orange; X40).

(Fig. 1-4) Mast cells in muscle biopsy specimen (Acridine orange; X40).

REMARKS

For this method, a fluorescent microscope must be used; and it is important to use this valuable instrument properly. (Follow carefully the directions given in the manufacturer's instruction manual).

② 阿尔辛兰或阿尔辛兰PAS结合染色法

目 的

此法有助于鉴别粘液腺癌(图2~1)及未分化鳞癌,建议用阿尔辛兰法染各种肺部肿瘤。阿尔辛兰PAS反应是用来证明组织中正常存在的碳水化合物,例如,结缔组织基质只能用阿尔辛兰染色,因为它缺乏足够的多糖能和PAS试剂进行反应;相反,上皮粘液或糖元用PAS呈强烈深染,而阿尔辛兰则不染色。但复合碳水化合物如上皮细胞的粘液分泌物,则阿尔辛兰及PAS试剂均能染色,在这一反应上,紫与淡兰两种染色都很强。

对照切片:正常小肠

固 定

各种固定剂均可使用

试 剂

1、阿尔辛兰 8 GX

阿尔辛兰 8 GX 1 克

浓冰醋酸 3 毫升

蒸馏水 97毫升

pH应为2.5

2、3 % 冰醋酸

浓冰醋酸 3 毫升

蒸 溜 水 97毫升

3、核固红复染液

核 固 红 0.1克

硫 酸 铝 5 克

麝香草酚 1 小片

蒸 溜 水 100毫升

将水加热到60℃加硫酸铝，搅拌直至全部溶解，然后加核固红，冷却到50℃过滤，加麝香草酚，将此液保存于冰箱。

4、PAS染色液（见过碘酸—Schiff反应）

注意：此法所用过碘酸溶液为0.5%而不是0.1%

阿尔辛兰染色法

操作步骤

- 1、切片至水
- 2、自来水洗 2 分钟
- 3、将切片入3%冰醋酸 30分钟
- 4、入阿尔辛兰染色 30分钟
- 5、自来水洗 3 分钟
- 6、入核固红复染 3 ~ 5 分钟
- 7、自来水洗 15下
- 8、脱 水
- 9、透 明
- 10、封 固

结 果

粘蛋白类物—兰色

其它组织成份—红色

（幻灯片2~1）粘液腺癌，H.E染色（X25）

（幻灯片2~2）小肠，H.E染色，供阿尔辛兰复染作对照
（X40）

（幻灯片2~3）小肠切片，染色过度（阿尔辛兰X40）

（幻灯片2~4）小肠切片，染色良好（阿尔辛兰X40）

（幻灯片2~5）小肠切片，阿尔辛兰及核固红复染，染色良好（X40）

（幻灯片2~6）肝，粘液腺癌，阿尔辛兰染色阳性（X40）

注 此染色有助于病理学者观察胞浆内出现的包含物。

阿尔辛兰—PAS染色法

操作步骤

- | | |
|--------------|----------|
| 1、切片至水 | |
| 2、自来水洗 | 2分钟 |
| 3、切片入3%冰醋酸 | 30分钟 |
| 4、入阿尔辛兰染色 | 30分钟 |
| 5、蒸馏水洗 | 15下 |
| 6、入0.5%过碘酸氧化 | 10分钟 |
| 7、自来水洗 | 10分钟 |
| 8、入Schiff液 | 10分钟 |
| 9、偏亚硫酸钠洗 | 三次 每次2分钟 |
| 10、自来水洗 | 10分钟 |
| 11、入苏木素复染 | |

此染色可任意选用，如果使用，按常规H.E染色法，进行分化及兰化。

- | | |
|------|---|
| 12、脱 | 水 |
| 13、透 | 明 |
| 14、封 | 固 |

结 果

酸性粘多糖—兰色

硫酸粘多糖—洋红色

复合碳水化合物—淡紫到紫红色

(幻灯片2~7) 主动脉切片，基质呈阿尔辛兰色，弹力纤维呈PAS—阳性(X40)