

四种防脱片剂在不脱钙骨组织切片中的应用研究

王东胜 赵 征 吕 燕

【摘要】目的：不脱钙骨组织切片因组织有机及无机钙较多，其与普通石蜡切片有较大差别。一种良好的防组织脱片剂是制片成功的关键因素之一，本研究的目的是寻找一种效果良好的防组织脱片剂以减少组织的损失，提高制片成功率。方法：选择目前组织病理制片中常用的三种防组织脱片剂对捞取切片的载玻片进行处理，防组织脱片剂分别为：3-氨基丙基-3-乙氧基甲硅烷(APES)、铬明矾-明胶、多聚赖氨酸；另一种直接使用已涂好防组织脱片剂(SUPERFROST® PLUS)的进口玻片。组织切片经 Goldners' 三色法染色，比较分别使用上述四种防组织脱片剂的不脱钙骨组织切片组织保存的效果。结果：载玻片经 3-氨基丙基-3-乙氧基甲硅烷(APES)、铬明矾-明胶、多聚赖氨酸、SUPERFROST® PLUS 等四种防组织脱片剂处理后，镜下观察：防组织脱片效果最好即组织保存最完整的是经铬明矾-明胶处理的玻片，完整贴片率为 75%；多聚赖氨酸与 SUPERFROST® PLUS 玻片两种基本相当，完整贴片率为 30%；四种中效果最差的防组织脱片剂是 3-氨基丙基-3-乙氧基甲硅烷(APES)，完整贴片率为 15%。结论：通过对上述四种防组织脱片剂的应用比较，我们认为铬明矾-明胶作为不脱钙骨组织切片用防脱片剂是最理想的。

关键词：不脱钙切片；防脱片剂；APES；多聚赖氨酸；铬明矾-明胶

[中国图书分类号]R783

[文献标识码]A

[文章编号]1672-2973(2011)06-0329-03

An application study on the four anti-slice escaping agentia using in undecalcification section

WANG Dong-sheng, ZHAO Zheng, LV Yan. (Stomatologic Institute of PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

[Abstract] Objective: Undecalcification sections are quite different from paraffin sections due to the more organic and inorganic calcium. A good anti-slice escaping agentia is one of the key factors for success. The purpose of this study is to find an ideal anti-slice escaping agentia to reduce tissue damage and improve success rate. **Methods:** Three anti-slice escaping agentia including APES, chrome alum - gelatin and Poly-L-Lysine were used to pretreat slides, the other group was imported slides coated with SUPERFROST® PLUS. The tissue sections were dyed with Goldners' staining, and the tissue preservation of the undecalcification sections was studied. **Results:** The slides were processed respectively by APES, chrome alum - gelatin, Poly-L-Lysine and SUPERFROST® PLUS, microscopy showed that the rate of complete adhesion in chrome alum - gelatin group was 75% which was the highest; the rates in Poly-L-Lysine group and SUPERFROST® PLUS group were the same which was about 30%; and the rate in APES was the lowest which was 15%. **Conclusion:** Based on the comparison of four anti-slice escaping agentia, we conclude that chrome alum-gelatin is an ideal anti-slice escaping agentia for undecalcification sections.

Key words: undecalcification section; anti-slice escaping agentia; APES; Poly-L-Lysine; chrome alum-gelatin

不脱钙骨组织切片，因包埋介质为树脂，不同于石蜡切片通过高温烘烤，石蜡熔化而使切片完全

贴合于载玻片上。玻片在捞取切片前均需进行涂布或浸泡防脱片剂的处理。因包埋介质的不同，对于防脱片剂的选择就会有差别，如选择不当，切片与载玻片贴合不牢，易出现大量切片脱片的问题。针对不脱钙骨切片在染色中易脱片的情况，我们对病理实践中常采用的 3-氨基丙基-3-乙氧基甲硅烷(APES)、铬明矾-明胶、多聚赖氨酸、进口玻片胶等四种防脱片剂进行了对比实验，取得了满意的

王东胜 解放军总医院口腔医学研究所 副主任技师
北京 100853

赵 征 解放军总医院口腔医学研究所 副主任医师
北京 100853

吕 燕 解放军总医院口腔医学研究所 技师
北京 100853

实验结果。

1. 材料与方法

1.1 主要试剂 防脱片剂：3-氨基丙基-3-乙氧基甲硅烷(APES)、铬明矾-明胶、多聚赖氨酸、已涂防脱片胶的进口玻片。Goldner's 三色法染色液^[1]。

1.2 方法

1.2.1 防脱片剂配制 (1)APES：配制方法为 1 份 APES，50 份丙酮，试剂最好现配现用。取洁净玻片于 APES 丙酮液中浸泡 20s，取出后入丙酮液漂洗一下后取出，于空气中自然干燥，取出放置于载玻片盒中以防灰尘。处理好的玻片最好于 3 个月内用完。(2)多聚赖氨酸：取多聚赖氨酸原液 1 份，加 10 份去离子水，混匀后使用。将洁净玻片浸泡 5min，取出空气中自然干燥，放置于载玻片盒中。(3)铬明矾-明胶：将 2.5g 明胶加热溶于 500 mL 蒸馏水中，完全溶解后加入 0.25 g 硫酸铬钾搅拌充分溶解后，将玻片浸泡溶液中 2 min，取出空气中自然干燥，放置于载玻片盒中。在实际应用中，采用浸泡法处理的玻片经 HE 染色后，玻片上易出现明胶干燥后留下的水印，影响切片的观察。经采用临检科推血片的方法，使明胶液均匀布满玻片上，切片染色后颜色均匀一致，取得满意效果。

1.2.2 不脱钙切片 采用 Leica 2500E 重型切片机制作不脱钙骨切片，切片厚度 5 μm。切片分别采用经 APES、铬明矾-明胶、多聚赖氨酸处理过的玻片，以及已涂防脱片胶的进口玻片捞取。每种防脱片剂处理的玻片捞取 20 张，用自制夹具夹紧，于 50℃ 烤箱中过夜。

1.2.3 染色 切片经 3 次脱塑剂处理，每次浸泡 20min，由 100% 乙醇下行入水，切片均用 Goldner's 三色法染色^[1]。

1.2.4 脱片统计 脱片统计分四个等级：(1)贴片完整(见图 1)；(2)轻度脱片：脱片面积小于 10%(见图 2)；(3)中度脱片：脱片面积为 10%—50%(见图 3)；(4)重度脱片：脱片面积大于 50%，或组织全部脱落(见图 4)。

2. 结果

经使用四种防脱片剂处理后的玻片捞取不脱钙



图 1 贴片完整

图 2 轻度脱片

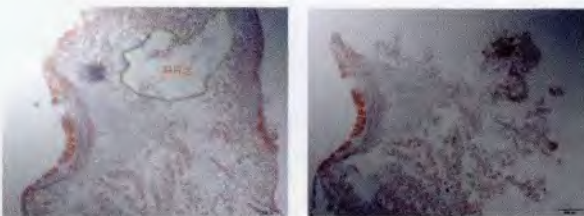


图 3 中度脱片

图 4 重度脱片

骨切片，染色后比较，从附表中可以看出，脱片率最低的是经铬明矾-明胶处理的玻片，完整贴片率为 75%；效果最差的是 APES 处理组，完整贴片率仅为 15%；多聚赖氨酸处理组和进口防脱片胶处理组完整贴片率均为 30%。

采用经铬明矾-明胶处理的玻片所做的不脱钙骨切片、带支架血管切片均取得满意的效果。

附表 四种防脱片剂贴片效果比较

防脱片剂处理分组	切片数	脱片情况				完整贴片率 (%)
		完好无脱片	轻度脱片	中度脱片	重度脱片	
铬明矾-明胶处理组	20	15	5	0	0	75
APES 处理组	20	3	10	5	2	15
多聚赖氨酸处理组	20	6	8	4	2	30
进口防脱片胶处理组	20	6	5	6	3	30

3. 讨论

在日常病理制片，特别是对切片进行免疫组化染色时，对玻片进行防脱片处理是保证制片成功至为关键的一步。以往文献对于 APES、多聚赖氨酸和铬明矾-明胶等多种防脱片剂的比较均有报道^[2-5]。有些研究者还通过对玻片表面进行多次处理，确保其表面清洁；或对多聚赖氨酸进行改良，以提高其防脱片的效果^[6,7]，进行了多角度的研究。通过复习文献，我们发现以上研究多针对石蜡切片或脱钙骨、牙齿切片防脱片剂的选择^[8]，对不脱

钙骨切片防脱片剂选择及比较应用的研究较少。

我们在最初制作不脱钙骨切片的实践中是采用铬明矾-明胶对玻片进行浸泡处理, 尽管防脱片效果较好, 但因防脱片剂干燥后留下的痕迹影响了染色效果, 后改用 APES 进行防脱片处理, 但实际效果并不理想。

虽然 APES 和多聚赖氨酸是目前病理制片中最常用的两种防脱片剂, 但从附表比较结果来看, 其对于不脱钙骨切片并非最佳选择。而已涂防脱片剂的进口玻片防脱片效果一般, 且价格昂贵, 并不适用于日常病理研究。以上四种防脱片剂中, 价格由高至低依次为: 进口玻片、多聚赖氨酸、APES、铬明矾-明胶。通过本实验比较, 防脱片效果由好至差分别为铬明矾-明胶、多聚赖氨酸、进口玻片、APES。可看出铬明矾-明胶价格低, 且对于不脱钙骨切片防脱片效果优良, 为最佳选择。

在以往文献中使用铬明矾-明胶对玻片处理的方法多为浸泡法, 但由于玻片的洁净度、浸泡液的杂质残留量、玻片的平整度等因素, 使处理后的玻片表面易留下处理液的痕迹, 影响最终的染色效果。我们借鉴临检科血液推片法, 使用吸管滴加少量铬明矾-明胶液, 缓慢均匀地将液体推布于玻片上, 再将玻片直立放置于染色架中, 室温自然干燥后收入切片盒防尘保存, 并标明方向。经此方法处理后的切片, 解决了原浸泡法产生的“花片”问题, 提

高了切片的制作质量。在玻片处理中应根据制作切片的数量准备玻片, 处理好的玻片存放时间不宜超过三个月, 尤其是夏天。因明胶主要为蛋白质成份, 放置时间过长易变质, 防脱片效果会减弱。

从对四种病理制片中常用的防脱片剂的比较研究, 我们认为铬明矾-明胶是不脱钙骨切片最理想的防脱片剂, 且使用经改进后的玻片处理方法, 可以得到良好的染色效果。

参 考 文 献

- [1] 王东胜, 刘洪臣. 带种植体骨磨片技术[J]. 中华老年口腔医学杂志, 2009, 7(6): 360-362
- [2] 于德钦, 田余祥, 陈熙, 等. 明胶硫酸铬钾在脑组织冰冻切片中的防脱片作用[J]. 大连医科大学学报, 2009, 31(5): 616-617
- [3] 徐红, 田余祥, 孙艺平, 等. 免疫组化染色防脱片三种方法的比较[J]. 中国误诊学杂志, 2009, 9(30): 7343-7344
- [4] 虞杰, 顾冬梅, 郭临川. 防脱片剂在免疫组织化学染色中的应用[J]. 中国血液流变学杂志, 2008, 18(3): 432-433
- [5] 吴共发, 张彦, 薛小磊, 等. 四种防脱载玻片使用效果的比较[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2011, 20(2): 201-202
- [6] 苏明明, 金澎, 齐兆鹏. 厚树脂切片的防脱片方法比较[J]. 青岛大学医学院学报, 2011, 47(4): 344-345
- [7] 徐婷, 钟声旺, 邱冬梅. 改良多聚-L-赖氨酸法防脱片载玻片的制备[J]. 南通大学学报(医学版), 2011, 31(4): 310-312
- [8] 洪丽华, 马宁, 张泽兵, 等. 牙和骨切片的粘片剂防脱片效果及应用方法探讨[J]. 中华病理学杂志, 2008, 37(1): 61-62

(收稿日期: 2011-09-05)

中华口腔医学会老年口腔医学专业委员会通知

尊敬的各位主委、常委、委员:

2011年9月24日, 在江苏南京召开了老年口腔医学专业委员会常委会, 根据主委、前任主委、候任主委建议, 充分协商, 决定第七次全国老年口腔医学学术年会及首届亚洲老年口腔医学学术年会将于2012年6月7日至6月9日在北京召开, 会议期间, 还将举行老年专业委员会的换届工作。希望大家从现在开始, 广泛宣传、积极发展专科会员、准备学术交流论文, 力争把会议办成一届空前的盛会。

(中华口腔医学会老年口腔医学专业委员会)