

组织切片常见问题与对策

马恒辉, 周晓军

关键词: 组织切片; 问题; 对策

中图分类号: R 446.8 文献标识码: A

文章编号: 1001-7399(2009)02-0211-04

我们就组织切片常见的问题与对策进行分析与讨论,旨在与技术人员一起学习和交流,以提高组织切片的质量,为病理诊断提供可靠的依据。

1 切片的问题

不论使用何种包埋介质,切片中出现的许多问题都大致相同。如切片出现不规则、跳片、过厚或过薄等情况,这类问题可以通过适当调节切片刀的角度得到改善。切片出现波纹、划痕、污染以及切片不成形等情况,这类问题则有可能是由于切片刀钝,重新磨刀或更换刀片能够解决此类问题。切片上有垂直细长的划痕或裂痕,多数是由于刀刃上有缺口、标本内有污物或硬物等,可能造成这一人为改变。移动刀座,如果划痕仍然在切片的相同位置出现,就能说明是组织内有污物或硬物,如钙化、砂粒体甚至线头、钢针等,而不是刀刃本身有缺口造成的。切片时组织太软,是由于脱水不足或透明不足,把组织退回到透明液或脱水液,再重新处理,可以有所帮助。但是与正常处理的组织切片相比,可能还是会有所差异。总之,切片时出现的问题很多,下面我们就较常见的几种情况作一介绍。

1.1 切片蜡带弯曲 切片蜡带弯曲,是由于蜡块的上下两边与刀片的水平线不平行造成的(图1)。切片时蜡块要放正,保证底缘与刀片的水平线平行,不能一边高一边低(图2)。

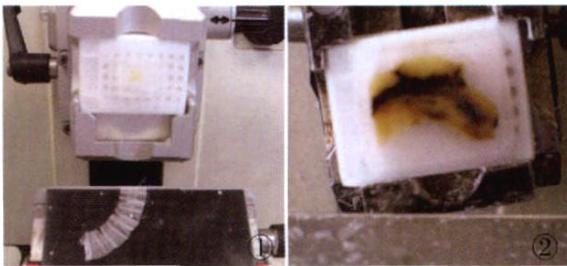


图 1、2 蜡块的上下两边与刀片的水平线不平行

1.2 切片出现空洞(图3~6) 此种情况,不仅影响切片的美观,更主要的是易给病理医生的诊断造成遗漏。如果随着

蜡带连续深切,空洞越变越小,说明切片中的空洞是没有切全而造成的人为改变。当切蜡块用的力太大太猛时,组织中的小斑点、小斑块会从蜡块中脱落,在切片上留下一个个的小空洞。这种情况在脱水、透明或浸蜡处理过度的组织中极易发生,如肝、脾、肾、脑、淋巴结以及子宫等组织标本,若取材太薄,易造成处理过度,蜡块在粗修和切片时经常会出现空洞。所以,取材时标本的厚度要适中,不能太薄。切片时如果遇到此类蜡块,可将蜡块在冰盘冷却片刻或用湿的棉花沾一下,蜡块接触刀刃用力不能太猛太重,以减少这一人为现象的出现。如果发现蜡带上的组织切片出现空洞,只要蜡块中的组织充足,应尽量再缓慢切片,直到空洞消失。另外,空洞也可能是因为组织在浸蜡时,蜡液中有残留的空气存在所致。这种情况在肺组织标本中尤为多见,即使连续切片空洞也不容易消失。

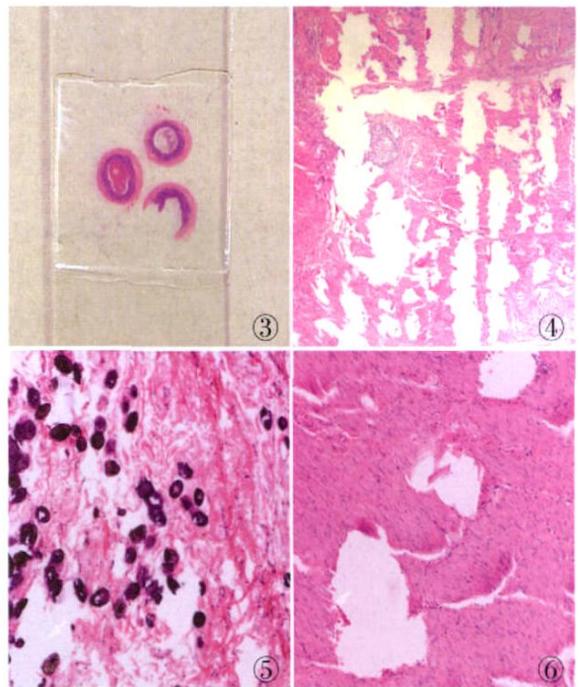


图3 阑尾组织,包埋时3块组织没有同时埋平,不在同一水平线,切片时造成右下角的一块组织没有切全,形成人为穿孔的假象
图4 蜡块粗修时没有完全修全,组织没有充分暴露最大面就急于裱片,切片上形成许多不规则的空洞
图5 组织内含有类似虫卵一类的大量异物,因质地与组织不同,故切片时虫卵从蜡块中蹦出形成空洞
图6 当切蜡块用的力太大太重时,组织中的小斑点、小斑块从蜡块中脱落,在切片上留下一个个小空洞

1.3 切片时蜡带不能形成 这一现象的原因可能是因为刀太钝、刀的角度太倾斜、蜡太硬(即使用的石蜡熔点太高)或室温太低。蜡带的形成是依赖于切片时蜡块产生摩擦致热

收稿日期: 2008-12-20

作者单位: 南京军区南京总医院病理科 210002

作者简介: 马恒辉,男,副主任技师。Tel: (025) 80861292

而导致蜡片相互连接。如果刀冷,切片时不足以产热,蜡片就无法相连。

1.4 切片随着蜡块的运动而运动 这一现象的原因可能是因为室温太高,或蜡太软而产生。如果蜡带不能连续,可以先单张切片,再用镊子或细长的竹签沿蜡块的底端平行牵拉,方可形成蜡带(图7)。

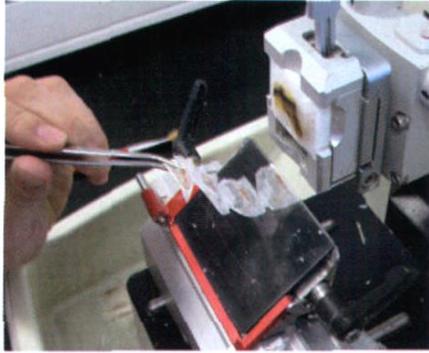


图7 单张切片,用镊子沿蜡块的底端平行牵拉,可形成蜡带

1.5 切片出现搓衣板或波纹样改变 此类情况,大多数是因为蜡块没有被夹紧或刀(刀片)在切片机上没有被拧紧的缘故。除此之外,可能还有其他其它原因,比如切片机老化机械部分松动等。另外,波纹还可能是由于刀的倾斜度过大而造成。波纹现象经常出现在质地坚硬的组织蜡块,如子宫肌瘤等。肉眼可见的波纹状震颤在漂片水槽就能看见。对于坚硬或坚韧的组织蜡块,可采用蜡块表面用5 mol/L盐酸软化处理的办法,改善切片质量。方法如下:(1)将切片中出现裂隙的组织蜡块面朝下,置入带有5 mol/L盐酸的玻璃容器或塑料容器内,浸泡5~10 min,取出后用干纱布擦去蜡块表面的盐酸。(2)蜡块不须冷冻,在室温(25℃)下直接在切片机切片,切片厚度4 μm。(3)裱片时,先将切片光面朝下放入冷水中,然后,再用干净的载玻片将其移入漂片仪的水槽内,温度约45~47℃;略展片刻,待切片充分展平后,迅速裱贴在载玻片上。(4)常规烘烤切片、染色、封固。

震颤或微小振动大多数是缘自于组织处理时过度脱水所致。但是也可能是因为刀钝、角度太大或者切片速度太快。如果组织的确是于脱水过度造成的,可用湿纱布或棉花沾些许温水擦拭蜡块表面,将会有助于缓解这一现象。例如,淋巴结组织本身就缺少水分,如果取材时切的太薄,组织一经脱水处理,就会造成处理过度、质地坚硬,切片时产生震颤或微小振动,破坏淋巴结的完整结构,让病理医生难以做出正确的病理诊断。

组织脱水过度,组织缺少湿度。可以用湿的纱布、棉花或拇指沾些温水在蜡块上轻轻涂抹,以增加组织蜡块的湿度。密度很细的颤痕也可能是因为刀太钝、刀太倾斜,以致于蜡块在刀刃运动切片上不是被切出来,而好象是被刮下来一样,再者就是因为切片的动作太过于猛烈,造成搓衣板样改变(图8)。

有时,切片刀“啃”进了蜡块,会留下一道较深的印痕

(图9)。这类情况多数是由于切片前蜡块没有夹紧,或切片刀没有拧紧。在为了切全切深的过程中将会造成组织无端的浪费。如果蜡块或切片刀松动,切片刀就会“啃”进蜡块里,造成蜡块破坏、组织损伤,切片难以完整。

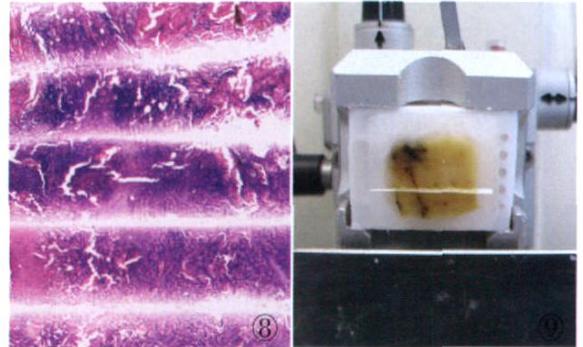


图8 切片出现搓衣板样改变 图9 切片刀“啃”进蜡块,留下一道较深的印痕

1.6 切片出现震动、颤动的痕迹 震颤或微小振动大多数是缘自于组织处理时过度脱水所致,但是也可能是因为刀钝、角度太大或者切片速度太快(图10、11)。

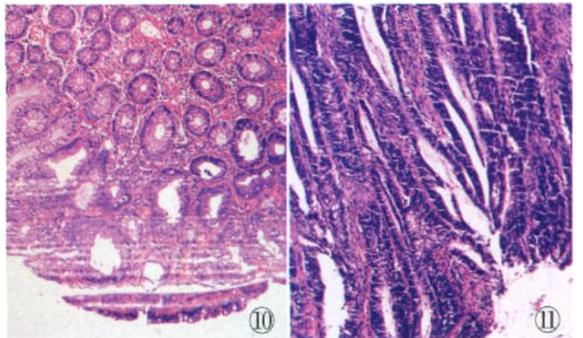


图10、11 切片出现震动、颤动的痕迹

1.7 切片跳片或厚薄不均 厚薄不均可能是由于刀的角度倾斜。比如,切片时是蜡块的底部先接触刀片,而不是蜡块的顶部,导致切片出现挤压。厚薄不均还可能是由于切片机的配件松动或老化造成(图12、13)。

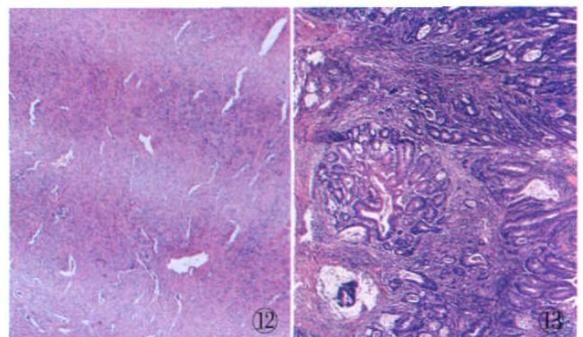


图12、13 切片跳片或厚薄不均

1.8 切片挤压、起皱,堆积在一起(图14) 刀可能太钝,上面粘有蜡屑,刀倾斜度太小,切片动作太快,或者室温太热。切片时刀背要保持清洁光滑,粘有石蜡后可用软布沾少许二

甲苯擦拭。

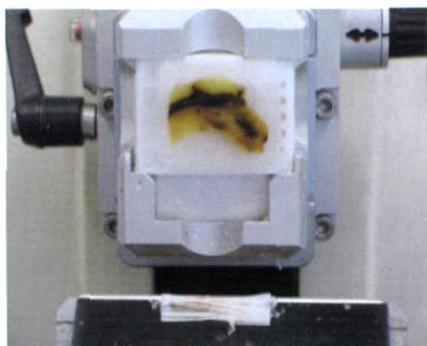


图 14 切片挤压、起皱,堆积在一起

1.9 切片蜡带中出现长的刮痕或裂隙 切片上部沿刀刃有小缺口、划痕,大部分是由于刀刃上有蜡屑的积留。前者会造成切片中组织结构的分裂,而后者则会留下轻微的痕迹。刀刃有缺口或蜡块中有硬物,将会产生刀痕(图 15)。如果刀痕在刀移动后仍然停留在切片相同的区域,那么刀痕是蜡块内存有异物(图 16、17)。如果消失了,那么刀痕是刀刃上的缺口造成。金属异物在蜡块中残留最容易损伤刀口,操作时要格外留意。刀背后面有时留有组织碎屑或石蜡残渣,也会使切片出现垂直于刀刃的条纹或痕迹(图 18)。所以,切片时必须保持刀刃的清洁,随时将废屑残渣用毛刷清除干净,

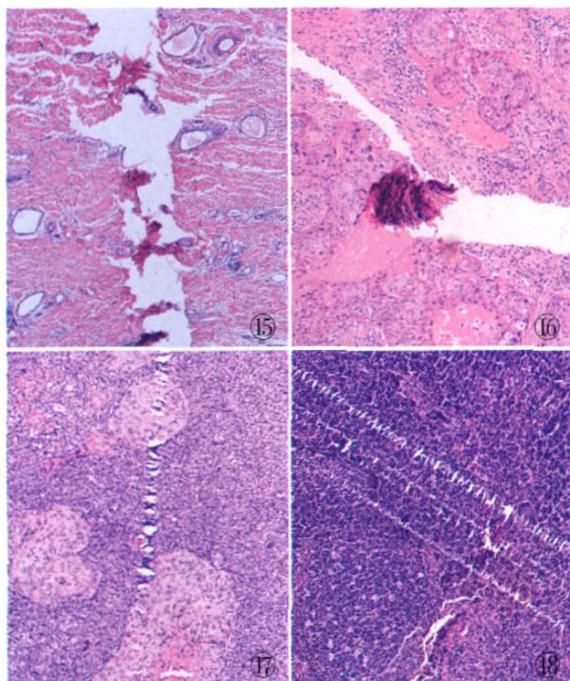


图 15 刀刃有缺口,造成切片有裂隙 图 16、17 组织内有异物,造成切片有粗细不等的划痕 图 18 切片刀上有碎组织废屑或碎蜡屑等异物,造成切片上有轻微的划痕

1.10 切片漂浮或吸附在切片机上 这可能是因为有静电的缘故,向蜡块上吹热气,或在切片机旁边放盆热水,可以减

少静电的产生,避免切片吸附。

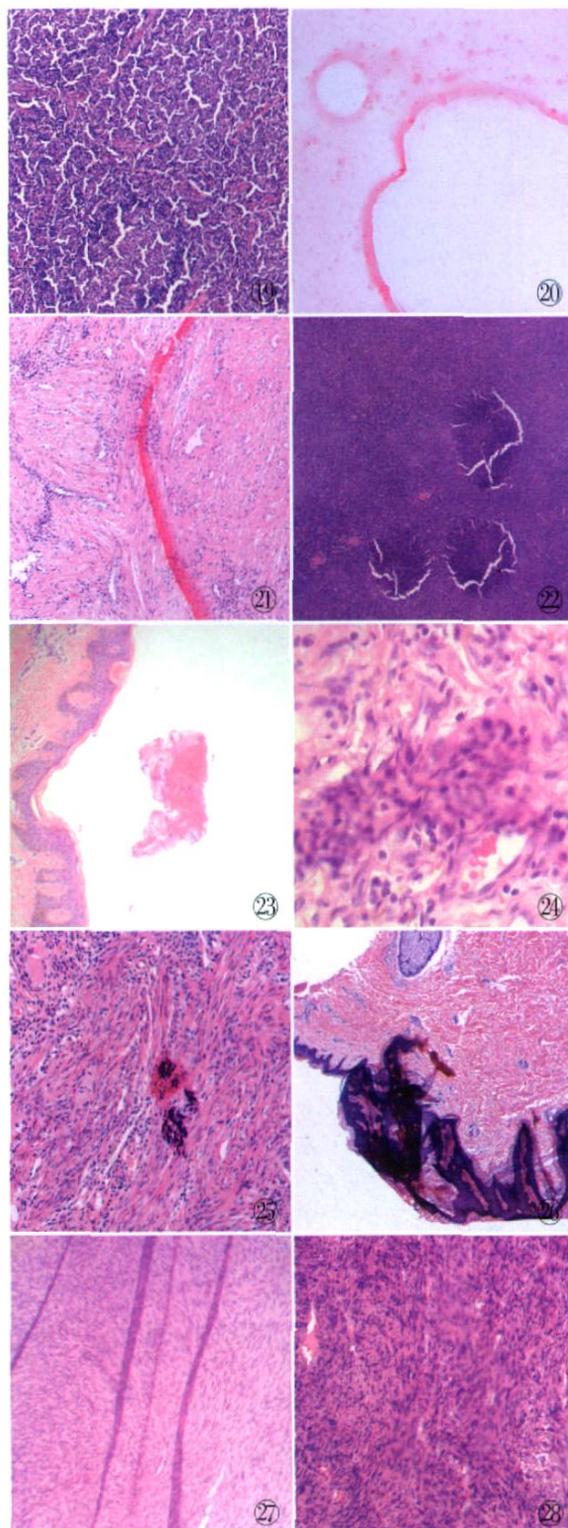


图 19 切片出现“地图纹” 图 20、21 涂胶液残留在载玻片上,切片的边缘或组织背景上经染色后留有红色深染物质 图 22 组织切片在漂烘仪展片时形成的气泡,经烘、烤片后染色时气泡破裂,造成破裂区域染色深染 图 23~25 前面切过的组织碎屑遗留在漂烘仪的水面上,继而污染在后面的组织切片上 图 26 皮肤切片边缘折叠 图 27 子宫肌瘤组织切片在漂烘仪水面没有完全展开形成皱折 图 28 切片在漂烘仪水面没有完全展平,与载玻片帖附不牢固,形成波浪状起伏,显微镜下难以聚焦

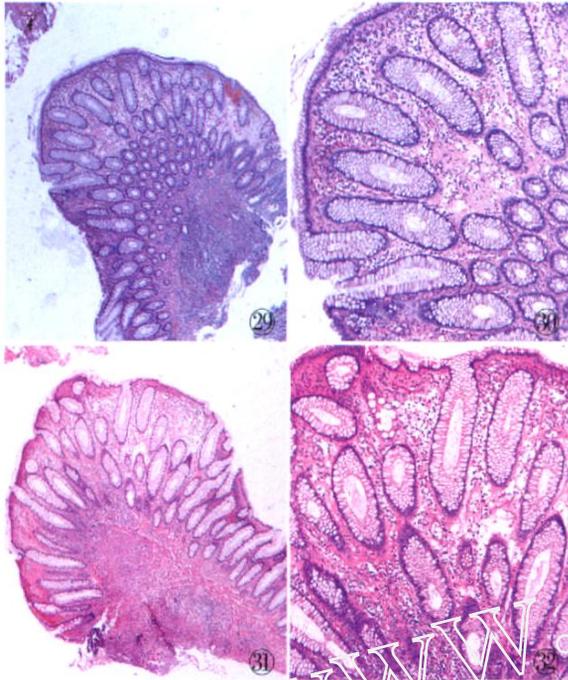


图 29 小肠切片在从漂片仪水中裱片后立即受热,在 80 °C 强热烤干 1 h,出现明显的细胞收缩、细胞核深染等人为改变 图 30 为图 29 的高倍镜观 图 31 小肠切片,室温空气烤干过夜后染色,无明显的细胞收缩,细胞核染色正常,与细胞质鲜艳的红色对比明显 图 32 为图 31 的高倍镜观

2 与切片有关的附件问题

2.1 漂烘仪 漂烘仪的温度通常控制在低于所使用包埋石蜡熔的 5~10 °C 左右。如果切片过薄、水温过高或切片漂片时间过长,会导致组织切片产生类似“地图纹”样的裂隙(图 19)。涂胶液残留在载玻片上,切片的边缘或组织背景上经染色后留有红色深染物质(图 20、21)。组织切片在漂烘仪展片时形成的气泡,经烘 烤片后染色时气泡破裂,造成破裂区域染色深染(图 22)。前面切过的组织碎屑遗留在漂烘仪的水面上,继而污染在后面的组织切片上,这种情况在某些病例甚至可能造成错诊或误诊(图 23~25)。所以漂片时必须

时刻保持清洁,防止污染。每个蜡块切完后都要养成用干净的纸巾清洁水面的好习惯。皮肤切片边缘折叠:切片烘 / 烤片时没有完全黏附在载玻片上,尤其是边缘部分在染色时卷曲,形成折叠(图 26)。这种情况以皮肤、胃肠活检等小标本多见。遇此类情况,组织切片在漂烘仪水面上应该多伸展片刻,会有所改变。切片在漂烘仪水面没有完全展开形成皱折:如图 27 所示,是子宫肌瘤组织切片,蜡带或蜡片在水面上如有皱折应尽快用镊子轻轻撑开。切片在漂烘仪水面没有完全展平,与载玻片帖附不牢固,形成波浪状起伏,显微镜下难以聚焦(图 28)。此类现象以皮肤与质地硬的组织多见,切片在水面上多展一会,能防止此种现象产生。

2.2 烘 烤片仪(图 29~32) 脱蜡前因为水和二甲苯混合不相容造成脱蜡不尽,为了使切片上的水分干燥,一般使用热台或烤箱。若切片上有蜡斑残留,将会影响切片的染色。如果发生这种情况,必须先用无水乙醇吸去水分,把切片放回二甲苯处理脱去残蜡。切片再经过无水乙醇、95%乙醇到水,进行所需要的染色。烤 烘不完全的会造成切片从玻片上的脱落,则无法按上述的方法补救。但是,在烤 烘时切片受热过度也会导致严重的人为改变,甚至影响染色结果。

常规制片使用的切片石蜡,通常选用其熔点为 56~58 °C 的石蜡。热台或烤箱对玻片而言通常保持温度在石蜡熔点即 60 °C 左右。切片在强热 56~60 °C 恒温箱里烤片至少 1 h 才不至于脱片,推荐 58~60 °C 恒温箱里烤片 2 h,也可以在 58~60 °C 恒温箱里过夜烤片,但不能进行高温烤片,原因是在干燥的条件下加热切片可以加速组织中抗原的氧化而破坏组织中抗原。

如果并非急诊病理诊断需要,可以放在空气中受热过夜,这对有照相需要的切片尤为有利。强热空气中烤片玻片与热台直接接触,一般只需要 7~10 min,但是在温箱或烤箱一类的地方玻片不与热台直接接触,大约需要 1 h,才能保证切片被烤干。切片需要做免疫组化染色的可以放在温箱过夜,温度必须低于 60 °C,否则抗体会受到破坏。如前所述,切片过度受热会产生人为改变,特别是切片没有被很好的烤干。有人把细胞核空洞样改变归属于切片从水中裱起后就立即受热过度,温度高于 60 °C 以上。

· 简 讯 ·

南京金域医学检测中心现招聘启事

1. 病理学科主任:职责:(1)负责病理学科管理,在满足客户需求的同时,满足企业长期目标的要求。(2)人员管理,负责对科室人员的培训与考评。(3)质量管理,组织疑难病例的会诊。要求:(1)本科以上学历以上学历,副主任医师以上职称,在二级以上级别医院从事病理诊断 10 年工作经验,可注册到我公司,曾在三级医院工作的优先。(2)硕士以上学历,主治医师以上职称,在二级以上级别医院从事病理诊断 10 年工作经验,可注册到我公司,曾在三级医院工作的优先。

2. 病理医生:职责:负责病理诊断工作,认真作出病理诊断并签发报告,遇到疑难及风险较大的病例及时请示上级医师。要求:(1)本科以上学历,主治医师以上职称。(2)有二级医院病理科 5 年以上工作经验,曾在三级医院工作的优先。(3)具有执业医师资格,可转职业注册到本中心。

联系电话:(025) 85489099-303,联系人:潘小姐,地址:南京市玄武区板仓街 9 号江苏文化产业园 B 区 3 号楼。