

# 关于改革石蜡切片工艺的试验

楼允东 王逸妹 傅予昌\* 李永强\*

(上海水产学院)

众所周知,在石蜡切片的制作过程中,历来是用苯类(尤其是二甲苯)作为透明剂和石蜡的有机溶剂。组织块经酒精脱水后,必须再用二甲苯作为中间媒剂将酒精取代出来,然后才能进行透蜡。否则,虽然水分除尽,但组织内部积蓄酒精,石蜡仍难透入。同样,切片染色前和染色后,也需用二甲苯脱蜡和透明。因此,在整个制片过程中,不但要多次用到二甲苯,手续繁琐,而且组织块在二甲苯中浸渍时间较难掌握,久浸会使材料松脆,影响切片质量;时间不足又会影响透蜡效果。另外,苯类是有毒药品,且有致癌作用,对人体极为有害,国外组织学实验室已很少使用,而为无毒性的 Histoclear 和 Solvent CNP 30 等所取代。但配方保密,国内无法生产;进口又需大量外汇。因此,改革旧的石蜡切片工艺,寻找二甲苯的代用品已成为当务

之急。我们在国内外有关报道的基础上,用兼具脱水作用的透明剂——松油醇(Terpineol)代替无水酒精与二甲苯制作石蜡切片,并配以攸伯拉(Euparal)封片而获得相当满意的结果。现报道如下。

## 材 料 和 方 法

松油醇又名萜品醇、松节油透醇和松脂醇,系不饱和醇之一种,分子式为  $C_{10}H_{18}O$ , 并有很多同分异构体。折光率为 1.483—1.486。它是一种无色粘稠液体,具有丁香味和甜味,能与醇和醚相混溶,也可溶解石蜡。

攸伯拉为无水封片剂之一,国外已普遍用于切片封藏。其优点是: 1) 标本可以直接从

---

\* 系我院淡水渔业七八级毕业生。

95% 酒精取出封片,不必经过无水酒精; 2) 干燥得快,一般 24 小时即可干燥; 3) 折光率为 1.483,较中性树胶(1.578)为低,比较接近动植物细胞的折光系数(1.4 左右)。因此,许多未染色或染色很浅的微细构造,在中性树胶中看不出的,如细胞分裂纺锤体等,而用依伯拉封片就能显示出来。

本试验以鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 的肠道、肝脏、精巢以及团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) 的卵巢为材料,用 Bouin 氏液固定后分两组进行处理:

试验组 组织块经 Bouin 氏液固定与流水冲洗后,用各级浓度酒精(35%、50%、70% 和 85%)上行脱水至 95% 酒精,每级 30 分钟;然后将组织块用松油醇继续脱水并透明,共 2 小时,中间须换松油醇一次。透明后将组织块置于恒温箱内透蜡,分三级进行,即松油醇与石蜡等量混合液、纯蜡(1)及纯蜡(2),每级 1 小时或更长。石蜡包埋。切片,厚度为 8 微米。切片烘干后用松油醇脱蜡。H-E 染色。染色后切片直接从 95% 酒精取出,用依伯拉封片;或切片从 95% 酒精取出后先用松油醇透明 30 分钟,然后再用依伯拉封片。

对照组 组织块经 Bouin 氏液固定与流水冲洗后,按上述各级浓度酒精脱水(各级 30 分钟,其中无水酒精须换一次,每次 15 分钟)、二甲苯透明(30 分钟)和石蜡浸透(也分三级进行,即二甲苯与石蜡等量混合液、纯蜡 1 及纯蜡 2,每级 1 小时)。包埋、切片和染色完全与试验组相同。染色后切片按常规用各级浓度酒精上行脱水、二甲苯透明和中性树胶封片。

## 结果和讨论

根据切片观察,用松油醇透明并以依伯拉封片的标本,染色新鲜,轮廓分明,图象清晰,结构完整,与用二甲苯透明和中性树胶封片的标本没有什么差别(比较图 3.5 和图 4.6)。另外,在团头鲂卵巢切片中,发现用二甲苯透明的标本,卵黄破碎现象比较明显(图 1)。说明无水酒精与二甲苯处理时间过长,卵黄脆化,而用松油

醇透明的标本则没有这种现象(图 2),这与 1964 年我们在鱼类胚胎切片上所获得的结果是一致的。说明松油醇对克服多卵黄胚胎与组织的收缩和硬脆特别有效。因此,我们认为用松油醇代替二甲苯作透明剂是可行的。从效果上看,用松油醇代替二甲苯,除可避免因二甲苯处理不当而引起的组织脆化以外,还可简化程序,组织块脱水至 95% 酒精后,即可移入松油醇透明,不必再用无水酒精脱水。据文献报道,无水酒精对组织也有脆化作用,同时还能引起组织收缩;从经济上看,松油醇的价格与二甲苯差不多,且国内可以生产,因此容易推广;从环境保护的角度上看,二甲苯是有毒药品,且极易挥发,它主要通过呼吸道侵入人体,损害淋巴细胞,使免疫机能受到抑制,降低机体对感染的抵抗力。为了防止苯类污染,保障人民健康,在经常接触苯类的车间、实验室和化验室等采取了一系列防护措施,如改善通风条件,备戴供氧面具、压缩空气面罩或防毒口罩,对操作人员进行定期的体格检查以及给予必要的营养补贴等。但改革生产工艺,用无毒或低毒的物质来代替苯是防止苯污染的根本措施。如在涂料(油漆)工业中,近年来甲苯和二甲苯的用量越来越少,并开始向无苯类涂料和无苯稀释剂方向发展;在皮鞋、橡胶和塑料工业中,用汽油代替苯作为粘合剂的稀释剂;在生产避孕药的过程中,用酒精代替苯作为提取剂以及在彩色印刷中,用汽油墨或水墨代替苯墨等。因此,用松油醇代替二甲苯制作石蜡切片也有一定的实用意义。松油醇是无毒药品,具有紫丁香一般的芳香,用于制药工业,还可作为肥皂和化妆品的香料。用松油醇代替二甲苯制作石蜡切片,可以减少环境污染,改善工作条件,有利于操作人员的身体健康。

不过,用松油醇代替二甲苯作为透明剂,根据我们的试验,应该注意以下几点:

1. 松油醇穿透力较低,因此透明和透蜡的时间应适当延长;

2. 松油醇溶解石蜡的速度较慢(表 1),但提高温度可以加快溶解的速度。因此,如果用

表 1 几种透明剂脱蜡时间之比较

透明剂	温度	44°C	23°C	18°C
	二甲苯	15 分钟	半小时	1 小时
松油醇	半小时	2 小时	24 小时	
叔丁醇	1 小时	6 小时	48 小时	

松油醇代替二甲苯作为透明剂,切片脱蜡最好在恒温箱内进行,温度宜控制在 40°C 左右,以加快脱蜡速度,特别是在冬季室温较低的情况下,更应如此。

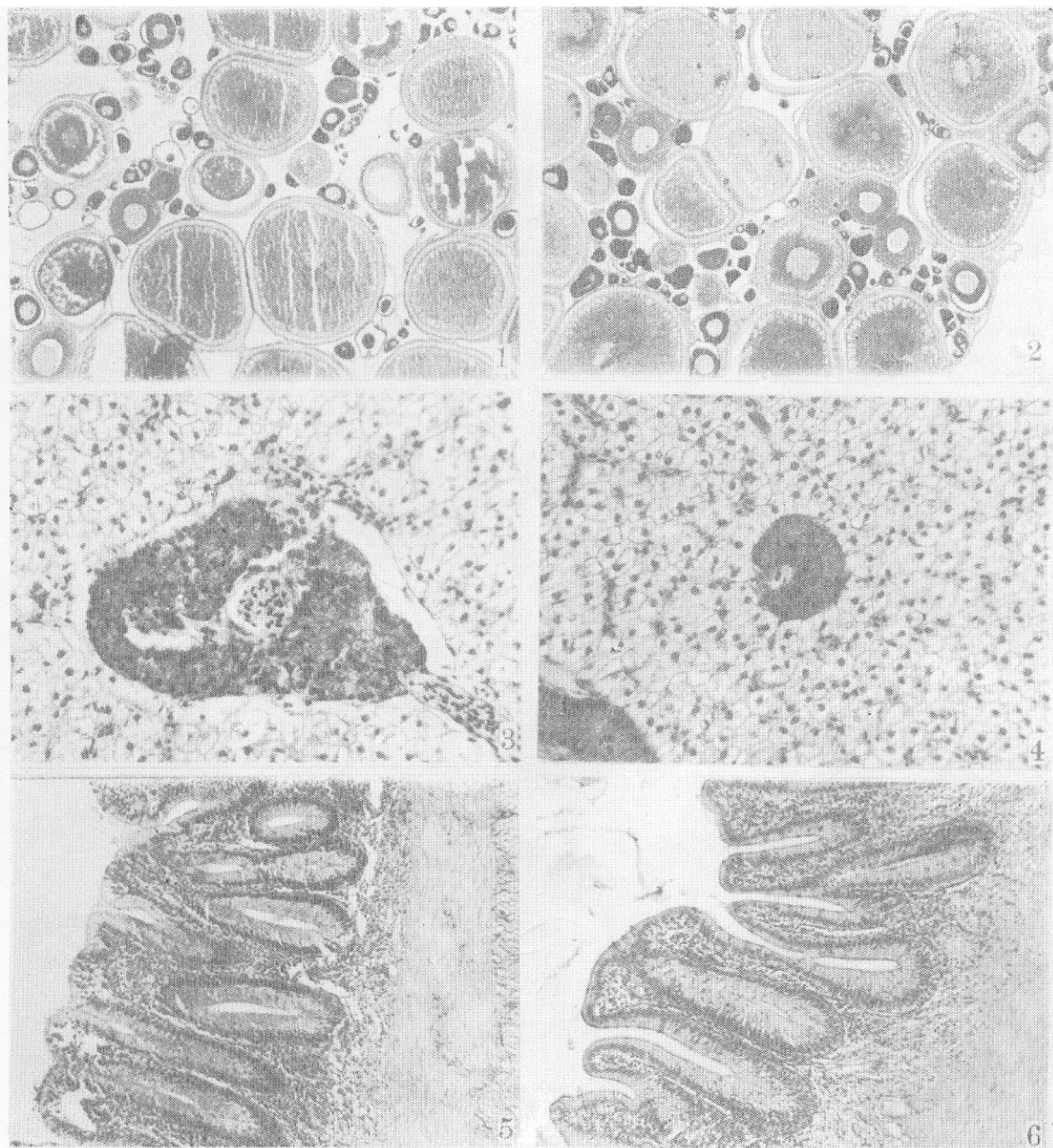
另外,在有关生物学制片的书刊中,除松油醇外,还提到过其它几种兼具脱水作用的透明剂,如正丁醇 (n-Butanol)、叔丁醇 (tert-Butanol)、二氧六圆 (Dioxane) 和环己酮 (Cyclohexanone) 等。我们也对其中的几种进行了试验,发现它们与松油醇一样也可以得到较好的结果。但我们认为,若将它们作为一种新的脱水剂和透明剂完全取代无水酒精和二甲苯并不可取,理由是: 1) 这些药品大都具有毒性,特别是二氧六圆毒性颇大,用之不当,容易发生危险;

2) 价格昂贵,如二氧六圆竟高出二甲苯十几倍,经济上不合算; 3) 脱蜡速度太慢(表 1)。

### 参 考 文 献

- [1] 田中克己 1961 显微镜标本制作法。科学出版社 314 页。
- [2] 史志澄 1977 防止苯中毒。环境保护 2: 37—38。
- [3] 朱文华等 1981 空气中苯、甲苯、二甲苯的快速测定法(紫外分光光度法)。中华预防医学杂志 4: 251—252。
- [4] 刘少民、章志瑄 1982 油漆污染环境怎么办(上)。环境保护 3: 25。
- [5] 李正理 1978 植物制片技术。科学出版社 140 页。
- [6] 张宗炳 1951 生物学制片学。商务印书馆 184 页。
- [7] 陈祖辉 1979 环境介质中的化学致癌物。环境保护 4: 45—47。
- [8] 郑国镛 1978 生物显微技术。人民教育出版社 300 页。
- [9] 郑若玄 1980 实用细胞学技术。科学出版社。356 页。
- [10] 楼允东、王逸妹 1964 关于鱼类胚胎的切片问题。动物学杂志 6(4): 180—181。
- [11] 戴占勋 1977 印刷油墨与环境保护。环境保护 2: 26—27。
- [12] Combs, J. W. 1983 A Comparison of xylene with histoclear—A new non-toxic clearing agent. National Diagnostics, Inc., UK.
- [13] Guyer, G. 1952 Animal micrology. Univ. of Chicago, 415p.

## 《关于改革石蜡切片工艺的试验》一文之附图 (正文见第 33 页)



- 图 1 团头鲂卵巢切片,二甲苯透明,中性树脂封片;
- 图 2 团头鲂卵巢切片,松油醇透明,攸伯拉封片;
- 图 3 鲤鱼肝脏切片,二甲苯透明,中性树脂封片;
- 图 4 鲤鱼肝脏切片,松油醇透明,攸伯拉封片;
- 图 5 鲤鱼肠道切片,二甲苯透明,中性树脂封片;
- 图 6 鲤鱼肠道切片,松油醇透明,攸伯拉封片。