

文章编号:1000-7423(2004)02-0127-01

【论著摘要】

猪蛔虫卵生物染色观察

李根茂¹ 许文忠¹ 丰平² 司银楚¹

中图分类号:R383.19

文献标识码:D

猪蛔虫卵是人体寄生虫学教学实验不可缺少的标本材料,其组织结构也是人体寄生虫学教学实验的重要内容。猪蛔虫卵的生物染色研究,对人体寄生虫学教学和科研有着重要意义。有关猪蛔虫卵生物染色特点至今仍未见报道。本文利用蛋清甘油涂片技术^[1]对猪蛔虫卵发育生长之各期组织结构进行生物染色研究,报告如下。

1 材料与方法

于北京顺义肉联厂取数十条活雌猪蛔虫,立刻放入生理盐水中,2 h 后带至实验室解剖。取出新鲜猪蛔虫子宫,纵向剖开,置于有生理盐水的培养皿中,放入 37 ℃温箱中促使虫卵发育。于每天取出一只含卵子宫放入烧杯中,加入少许 Carnoy 固定液使之恰好没入子宫,并于该液中将子宫剪成碎末,虫卵散于固定液中,将虫卵倒入小瓶中,Carnoy 固定液固定 12 h。

蛋清甘油液制备:由新鲜鸡卵中取出蛋清,放入碗中同向打匀,静置 30 min,去掉蛋清液面上的白色泡沫,在刻度烧杯中将蛋清与甘油按 1:1 混合搅匀成蛋清甘油液,4 ℃保存待用。

涂片技术和染色方法:虫卵在 Carnoy 固定液固定以后,自然沉淀,用 70% 乙醇置换固定液,至瓶中液体全部为乙醇止。自然沉淀,用蒸馏水置换 70% 乙醇,至瓶中液体全部为蒸馏水止。自然沉淀,用蛋清甘油液置换蒸馏水,至瓶中为纯蛋清甘油液止。4 ℃保存。用蛋清甘油涂片。涂片入 95% 乙醇固定 5 min,经梯度乙醇下行至蒸馏水中待染。涂片 HE 染色时,用水溶性伊红复染,分色后入蒸馏水中待封。以 10% 氢氧化铵水溶液为溶剂,配制 1% 茜素红氨水染液,涂片染色 30 min,蒸馏水和 70% 乙醇清洗,入蒸馏水中待封。涂片用 1% 茜素红水溶液染色 30 min,蒸馏水和 70% 乙醇清洗,入蒸馏水中待封。凡士林封片。

2 结果

选各期虫卵光学显微镜观察:HE 染色,蛔虫卵椭圆形,壳质层较厚呈浅粉红色且透明,壳质层内外两薄层着色都较深;卵细胞位于虫卵一侧,卵细胞中的卵黄颗粒被染成蓝色,卵细胞的边界为一层呈蓝色的很薄的膜;卵细胞与卵壳之间有空隙,卵内空隙中物质着色极淡(图 1)。茜素红氨水染色,双卵细胞期蛔虫卵椭圆形,卵壳外面有一薄层蛋白质膜呈红色,壳质层较厚呈浅红色且透明;双卵细胞体位于虫卵中部且占据较大空间,细胞体中的颗粒物质染成红色,细胞体一侧的边界膜呈红色,另侧着色不明显;卵内空隙中物质着色极淡(图 2)。茜素红染色,四卵细胞期蛔虫卵椭圆形,卵壳外面有一层蛋白

质膜呈红色,壳质层呈浅红色且透明;四卵细胞体位于虫卵中偏于一侧,是双卵细胞体从其两侧分化出两个新卵细胞所致,四卵细胞体中的颗粒物质被染成红色,边界膜呈红色;卵内空隙中物质着色较淡(图 3)。卵蚴期蛔虫卵椭圆形,卵壳外面的蛋白质膜呈红色且较薄,壳质层呈浅红色且透明;卵细胞发育成一幼虫,体内物质被染成红色;卵内空隙中物质,各区域着色浓淡不匀;由于染色时间加长,背景颜色加深(图 4)。苏木精染色,蛔虫卵椭圆形,卵壳外表面有蛋白质膜平铺,厚薄不匀;厚处为环形被染成蓝色,薄处无色,卵四周边缘蛋白质膜呈蓝色;虫卵一侧的卵壁上有一破损处,由于卵细胞也已破损,一些卵黄颗粒从此溢出呈蓝色(图 5)。以下为同一子宫中蛔虫卵 HE 染色,椭圆形,壳外蛋白质膜薄呈紫蓝色,壳质层较厚呈浅粉红色且透明;卵细胞整体膨大,胞中少量卵黄颗粒呈蓝紫色,有大量较小的卵黄颗粒泡遍布胞中不着色且透明;卵内空隙较小(图 6)。茜素红氨水染色,蛔虫卵椭圆形,蛋白质膜较薄呈红色,壳质层呈浅红色且透明;卵细胞较大,卵黄颗粒呈红色,卵细胞边缘处部分卵黄颗粒开始分解,卵细胞一端的卵黄颗粒它移或分解,圆形卵核由此露出呈红色;卵内空隙较小(图 7)。HE 染色,蛔虫卵略长椭圆形,壳外蛋白质膜薄呈紫蓝色,壳质层薄呈浅粉红色且透明;卵细胞膨大充满卵内,胞内卵黄颗粒稀疏呈蓝紫色,胞边缘处有一些卵黄颗粒泡,胞中有一圆形卵核呈蓝紫色,卵核中有一核仁呈蓝色,卵核附近有一呈蓝色的小体,卵细胞边界膜明显;卵内空隙极小(图 8)。茜素红染色,未受精卵长椭圆形,壳质层较薄呈红色,着色较深且不透明,卵长端两头卵壳各有一缺损区;卵内有许多大小不等的颗粒泡,泡圆形,各自独立存在且边界较清楚,着色有深有浅;卵内无空隙(图 9)。

3 讨论

实验结果显示,生物染色使虫卵各期的组织形态结构更清晰展示,卵黄颗粒更清晰展示,特别是卵细胞核、卵细胞中小体和卵细胞膜。本实验封片采用凡士林封片法,这是由于经过染色的虫卵,在乙醇中发生收缩和变形,而无法脱水胶封。实验中,采用 95% 乙醇固定涂片,是因为 95% 乙醇能更快沉淀蛋白质,将涂片固着在载玻片上,减少涂片物质在溶液中脱落。总之,本文首次利用蛋清甘油涂片技术对猪蛔虫卵的组织形态进行了生物染色观察,展示了新结构。(图 1 见封三)

参考文献

[1] 丰平,刘珍清. 蛔虫卵生物染色技术研究[J]. 北京针灸骨伤学院学报,1998,5:8-11.

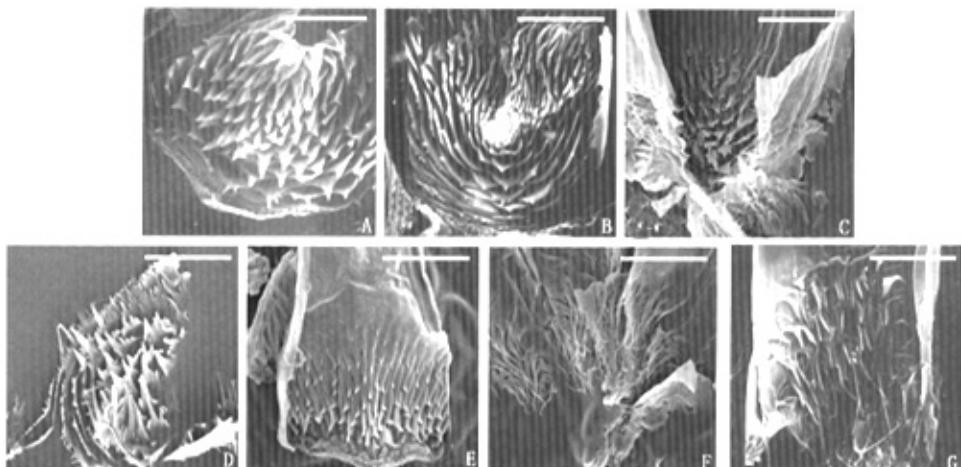
(收稿日期:2003-07-14 编辑:庄兆农)

我国七种白蛉咽甲的超微结构研究

Ultrastructural Study on Pharyngeal Armatures of Seven Species of Sandflies in China by Scanning Electron Microscopy

(正文见第 101 页)

For text, see p. 101



A 中华白蛉 B 长管白蛉 C 蒙古白蛉 D 吴氏白蛉 E 亚历山大白蛉 F 鳞喙司蛉 G 孙氏司蛉
A. *P. chinensis* B. *P. longiductus* C. *P. mongolensis* D. *P. wui* E. *P. alexandri* F. *S. squamipleuris* G. *S. suni*

图 1 白蛉咽甲内侧壁扫描电镜结构 $\times 1500$ Fig. 1 Inside view of pharyngeal armature of female sandflies by scanning electron microscopy $\times 1500$

猪蛔虫卵生物染色观察

(正文见第 127 页)

For text, see p. 127

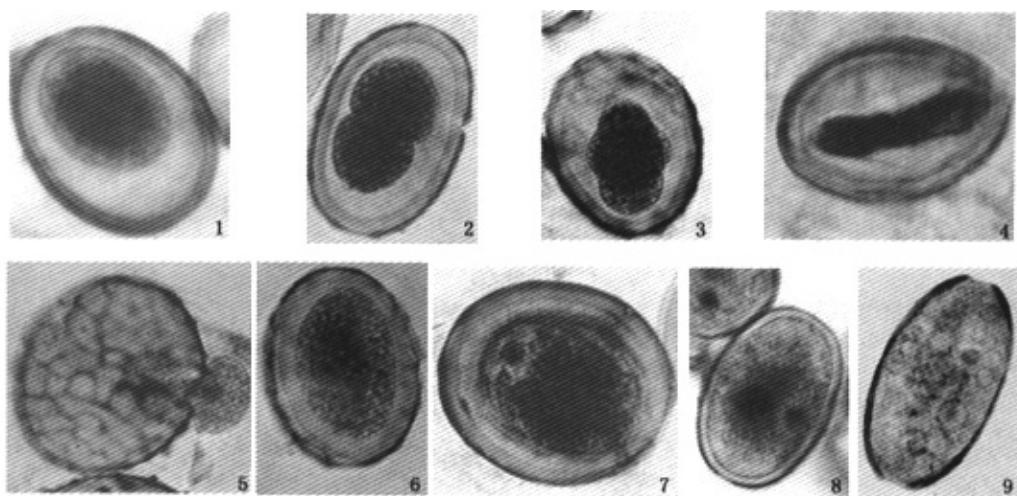


图 1 蛔虫卵 HE 染色 $\times 500$ 图 2 正在发育的受精蛔虫卵 苄素红氯水染色 $\times 500$ 图 3 正在发育的受精蛔虫卵 苄素红染色 $\times 500$ 图 4 感染性蛔虫卵 苄素红染色 $\times 500$ 图 5 蛔虫卵 苏木精染色 $\times 500$ 图 6 蛔虫卵 HE 染色 $\times 500$ 图 7 卵核 苄素红氯水染色 $\times 500$ 图 8 卵核和小体 HE 染色 $\times 500$ 图 9 未受精蛔虫卵 苄素红染色 $\times 500$