

文章编号: 1000-7423(2000)-04-0251-01

溶血所保存的陈旧微丝蚴血片染色的研究

(广东医学院寄生虫学教研室, 湛江 524023) 王唯唯 朱家秀 戴世志

中图分类号: R383.16

文献标识码: D

目前, 丝虫病的诊断仍以查血中的微丝蚴为确诊的方法。理想的微丝蚴血片对医学生与防治丝虫病工作者认识和掌握微丝蚴的形态很有帮助。为解决目前教学中标本来源的困难, 作者对本室溶血后未染色保存达22年之久的微丝蚴血片做了染色实验。

1 材料与方法

1.1 血片制备 微丝蚴血片来源于1977年我室在湛江丝虫病流行区采集的班氏微丝蚴血片, 经溶血后固定, 垂直保存于玻璃干燥器内。染色前在镜下选取背景较清晰血膜完整的血片, 用10% KOH溶液浸泡数分钟, 然后以自来水冲洗, 晾干备用。

1.2 染色液的配制 埃利希苏木素液按文献[1]方法配制, 使用前用蒸馏水稀释为10%溶液备用; 姬姆萨液按文献[2]方法配制, 使用前用pH7.2蒸馏水配制为2%溶液备用。

1.3 预染色试验 将上述处理后的备用血片随机分为两组, 即①实验组96片, 再随机分为30、40、50和60℃染液温度各4组, 每组分为染色10、20、30和40 min组, 每组6片; ②22℃染色组作为对照组, 其染色时间增设4及6 h组, 每组6片, 共36片。

1.4 正式染色 以预试验结果为据, 取备用的血片60片, 随机分为3组, 即60℃染色40 min、60℃染色60 min和22℃染色6 h为对照组, 每组20片。按预试验染色和正式染色试验设置的温度与时间在染色缸内进行染色。血片晾干后, 用中性树脂封片后镜检。

1.5 染色效果的判断 ①优片: 虫体着色均匀, 体核清晰可数; 可见体壁之横纹、鞘膜、头隙及神经环位置清晰, 个别虫体尚可见G细胞(图1); ②良片: 基本同“优”组, 但不见体壁之横纹。③差片: 体核着色浅、不均匀, 体壁与鞘膜呈透明状, 难分辨(图2)。

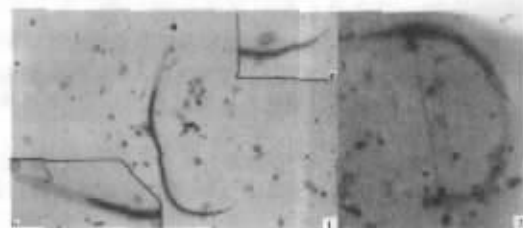


图1 班氏微丝蚴 200× a 示尾部 400× b 示鞘膜 400×
图2 班氏微丝蚴 400×

2 结果

2.1 埃利希苏木素染色结果

2.1.1 预染色试验结果 在22℃染色10~40 min, 染色结果全部为差片; 染色时间增至4 h, 甚至增到6 h仍未见优片。但在染色时间不变的情况下, 逐渐提高染液的温度, 结果出现优片和良片, 其数量随温度增加而增多; 当染液温度增加到60℃染色40 min时, 结果全部为优片(表1)。

2.1.2 正式染色试验结果 不同染色时间与染色温度微丝蚴的染色结果见表2。由表2可见60℃染色40 min为最佳, 60℃染色40 min和60℃染色60 min分别与22℃染6 h的染片比较, 其差异均具有显著性意义(P值均<0.05)。

2.2 姬姆萨液染色结果 22℃染色30 min全部为差片, 片中的微丝蚴甚至不着色, 体核难分辨, 且呈弥漫状。

2.3 埃利希苏木素复染结果 将10%的埃利希苏木素22℃染色6 h后的血片褪色, 再置于60℃的染液中染色40 min, 染片结果均达良以上, 并有优片出现。

表1 预试验不同时间及温度染色效果的比较*

染色时间	不同时间不同等级片数				
	30℃	40℃	50℃	60℃	22℃
	优良差	优良差	优良差	优良差	优良差
10 min	0 0 6	0 3 3	0 6 0	0 6 0	0 0 6
20 min	0 0 6	0 4 2	0 6 0	2 4 0	0 0 6
30 min	0 0 6	0 6 0	2 4 0	2 4 0	0 0 6
40 min	0 0 6	0 6 0	2 4 0	6 0 0	0 0 6
4 h	- - -	- - -	- - -	- - -	0 4 2
6 h	- - -	- - -	- - -	- - -	0 6 0

* 不同温度均染6片“-”未染

表2 不同染色时间与染色温度微丝蚴的染色结果

染色温度(时间)	染色片数	不同等级片数		
		优	良	差
22℃(6 h)*	20	0	16	4
60℃(60 min)**	20	8	12	0
60℃(40 min)***	20	18	2	0

与*相比较, P<0.005; *与*相比较, P<0.005

3 讨论

Mayer^[2]于1953年用梅氏明矾苏木素染料染色制作微丝蚴永久标本, 取得满意结果。本文对久置未染的班氏微丝蚴片用埃利希苏木素染色, 着色均匀, 能达到教学用片的要求。这可能与染液中甘油能使染色进行缓慢而均匀地进行, 防止染液蒸发, 染液中的醋酸可防止色淀(Lake)及加以适当的温度有关。苏木素是染细胞核的优良染料, 亦稍染胞浆。随着染料温度的增高(但勿高于65℃), 适当延长染色时间, 可使微丝蚴的体核、体壁与鞘膜着色, 增加了标本着色的分辨率。微丝蚴的鞘膜是保留下来的鞘壳, 其体壁为多膜层角皮等物质, 若不加温或延长染色时间一般是难以着色的。

微丝蚴抗硷能力强, 若先用弱硷溶液处理背景欠清晰的血片, 可溶解纤维蛋白, 破碎的红细胞及血红蛋白, 使标本染色后背景更为清晰, 而不影响着色效果。有学者用姬姆萨液对干燥保存的血片进行染色, 效果满意^[1]。本实验姬姆萨液的染色结果, 不论加温或延长其染色时间, 其染片均未能达优的结果。此外, 我们将姬姆萨液染色不佳的血片, 褪色后用埃利希苏木素重复染色, 其效果也比用姬姆萨液染色效果好。值得注意的是, 苏木素染液配制后要待其成熟后才能使用。苏木素染色后的标本需投入弱硷性溶液染片方能变成蓝色, 有学者称之为“显色”^[3]。

参 考 文 献

- [1] 郑若玄. 实用细胞学技术, 第1版. 北京: 科学出版社, 1980: 58.
- [2] 祝如海, 李芳. 人体寄生虫学实验手册, 第1版. 北京: 人民出版社, 1957: 3-23.
- [3] 田中克己. 显微镜标本的制作方法. 北京: 科学出版社, 1961: 166-176.

收稿日期: 1999-04-06
(编辑: 李雅卿)