

文章编号: 1000-7423(2008)-03-0239-02

长期保存姜片虫标本固定及染色方法的改进

邱莎莎¹, 邓晓^{2*}

【提要】 经中性甲醛溶液固定, 明矾卡红溶液染色和 2% 钾明矾分色的布氏姜片虫 (*Fasciolopsis buski*) 标本, 虫体内部结构清晰、颜色鲜艳、可长期保存。与常规制片方法相比, 染色效果好, 制片步骤简化。

【关键词】 姜片虫; 标本; 染色

中图分类号: R446.69 文献标识码: B

Improved Staining Method for Permanent Specimen of *Fasciolopsis buski*

QIU Sha-sha¹, DENG Xiao^{2*}

(1 Department of Micro-laboratory, Gannan Medical University, Ganzhou 341000, China; 2 Department of Pathology, Gannan Medical University, Ganzhou 341000, China)

【Abstract】 *Fasciolopsis buski* specimens were collected, fixed with neutral formalin fixative solution, stained with alum-carmin staining solution, discolored with 2% kalium alum. The fixed and stained specimen shows clear internal structure with bright color, and can be stored for long time.

【Key words】 *Fasciolopsis buski*; Specimen; Staining

* Corresponding Author, E-mail: denxiaoss@sina.com

布氏姜片虫 (*Fasciolopsis buski*, 简称姜片虫) 是雌雄同体的大型吸虫, 内部结构复杂, 需染色制片才能显示其内部结构特征。寄生虫实验教学标本需结构清晰、着色适度。然而常规方法制作姜片虫标本时, 常发生虫体皱缩变形、着色深和内部结构模糊等情况, 给教学和科研实验造成不便。作者在制作教学标本过程中改进固定液和染色液, 简化制片步骤, 染色效果很好, 报道如下。

1 材料与方 法

1.1 固定液 10% 中性甲醛溶液按照文献[1]方法配制: 900 ml 蒸馏水, 100 ml 甲醛, 磷酸二氢钠 4 g, 无水磷酸氢二钠 0.5 g, 混匀。5% 甲醛溶液: 900 ml 0.85% 氯化钠溶液混合 50 ml 甲醛溶液。

1.2 染色液 明矾卡红 (alum-carmin): 将 4 g 硫酸铝钾加热溶于 100 ml 蒸馏水中, 再加入 1 g 卡红, 煮沸 20~30 min, 使之溶解, 冷却后过滤, 再加苯酚数滴, 棕色瓶中避光保存^[2]。

1.3 分色液 2% 硫酸铝钾。

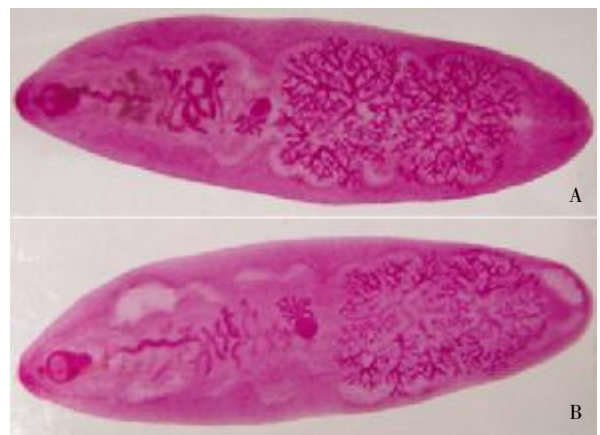
1.4 固定方法 用生理盐水或自来水清洗新鲜布氏姜片虫 3~4 次, 每次 1~2 min, 放入 4℃ 冰箱 2~3 d, 收缩成虫。将处理好的标本置于载玻片上, 盖上另一张载玻片挤压, 用线将载玻片两边缚紧, 将其固定于载玻片之间 (透过载玻片, 能看清虫体内部器官结构即可), 放置 10% 中性甲醛溶液固定 2~3 d (至虫体呈灰白色), 取出解开线后, 流水清洗 2 次共 4 min。再放入 5% 甲醛溶液固定 24 h, 流水清洗 2 次共 4 min, 蒸馏水清洗 2 min。

1.5 染色与分色 将标本放入明矾卡红染色液中染色 24 h (至虫体呈深红色), 取出, 流水清洗 2~3 次共 4 min, 转入 2% 硫酸铝钾分色液中分色 30 min (至虫体内部结构清晰为止)。

1.6 脱水、透明与封片 将分色后的标本依次放入 30% 和 50% 乙醇中脱水各 30 min, 70%、80% 和 90% 乙醇中脱水各 1.5 h, 95% 乙醇 1 h 2 次, 100% 乙醇 10 min, 100% 乙醇与二甲苯 (比例 1:1) 混合液中透明至虫体下沉为止, 二甲苯 2 min。中性树脂封片, 室温平置阴干 2 个月后, 整理贴上标签。

2 结果

光学显微镜下观察, 发现本方法制作的标本虫体内部结构清晰, 颜色鲜艳, 分色均匀。而传统染色法制作的标本虫体轻度皱缩, 内部结构模糊, 染色深浅不一 (图 1)。



A: 改进染色法标本, B: 传统染色法标本

图 1 改进法和传统染色法制作的姜片虫标本

作者单位: 1 江西省赣南医学院显微实验室, 赣州 341000

2 江西省赣南医学院病理教研室, 赣州 341000

* 通讯作者, E-mail: denxiaoss@sina.com

3 讨论

制作姜片虫标本, 需选取新鲜完整的虫体。本法所用固定液不是传统的肖氏 (Schaudinn) 固定液, 而是中性甲醛固定液, 因此在固定过程中无需反复脱汞, 减少了对环境的污染, 中性甲醛固定液既保持了甲醛穿透力强、固定均匀、能增加组织韧性及组织收缩小的特性, 又避免了因固定时间长标本产生色素沉淀的缺点。改进的染色法使用的染色液也不是传统的醋酸卡红染色液, 而是水溶性的明矾卡红溶液, 因此无需使用盐酸乙醇和乙醇反复分色, 减少了分色步骤, 还避免了因虫体大小不一难以掌握分色时间, 所致的分色不均和内部结构欠清晰的情况。本方法使用 2% 硫酸铝钾分色, 大大缩短了分色时间, 且分色后的标本染色均匀, 内部结构清晰。还摒弃了传统的注射染色法, 减少了新鲜标本的损坏率。使用本方法制作的姜片虫标本, 除压片时用力不均导致个别标本损坏外, 其余标本色泽鲜艳, 内部结构清晰, 并能长期保存, 反复使用十余年无褪色。

制片过程中还需注意以下几点: ①压片时需用力均匀, 否

则易破坏虫体内部结构; ②甲醛固定后, 需充分水洗, 去除标本上的甲醛, 否则会影响染色效果; ③染色时间与虫体大小、温度有关, 可放入温箱中染色 (15~40 °C)^[2]; ④脱水时, 放入 100% 乙醇的时间不宜太长, 否则虫体边缘会干缩卷曲, 不利于封片。

参 考 文 献

- [1] Xu BK, Zhao WX, Chen PH, *et al*. Human Parasitology[M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991. 284-285. (in Chinese)
(徐秉锷, 赵慰先, 陈佩惠, 等. 人体寄生虫学[M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 1991. 284-285.)
- [2] Zhong RC, Shen HX, Zhang L. Practical Morphology Technology [M]. Beijing: China Medicine Technology Publishing House, 2007. 71, 385-386. (in Chinese)
(钟睿冲, 沈浩贤, 张莉. 形态学实用技术[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2007. 71, 385-386.)

(收稿日期: 2008-03-05 编辑: 杨频)

文章编号: 1000-7423(2008)-03-0240-02

【病例报告】

在乌干达务工及回国人员疟疾病例报告

高 明

中图分类号: R531.3 文献标识码: D

目前我国非疟区医务人员, 偶尔诊治疟疾病例有时容易误诊或漏诊而延误治疗, 甚至危及患者生命。作者于 2005-2007 年参加援助乌干达医疗队, 现将诊治和收集的 5 例华人疟疾病例进行回顾性分析, 报告如下。

1 临床资料

病例 1, 女性, 33 岁, 北京市海淀区人。1995 年 5 月 9 日到乌干达务工, 1996 年 6 月 25 日回国。1996 年 6 月 18 日出现头痛、寒战、高热而就诊。查体: 体温 39.5 °C, 血压 105/60 mm Hg, 心率 120 次/min, 急性热面容, 心、肺、腹无异常。血涂片镜检确诊为恶性疟。自服氯喹 3 d, 第 1 天为 1 g, 第 2、3 天各 0.5 g。发热及头疼有所缓解。1 周后出现少尿, 身体浮肿、头晕乏力等症状。肾功能检查提示恶性疟引起急性肾衰。1996 年 6 月 25 日入住北京中日友好医院诊治。血涂片镜检未查见疟原虫, 未进行抗疟治疗, 血液透析治疗 10 次, 1 周后病情逐渐好转。血涂片镜检疟原虫阴性, 痊愈出院。两周后镜检复查血片阴性, 无后遗症。返回乌干达工作。

病例 2, 男性, 45 岁, 四川省成都市人。2002 年 7 月 6 日到乌干达务工, 2003 年 7 月 28 日回国。2003 年 10 月 22 日出现腰酸、头疼、寒战, 隔天发热, 原因不明。自服抗感冒药无效, 27 日以“发热待查”收入成都市华西附属医院。血常规、X 线胸片和心电图等检查无异常, 抗生素治疗 1 周无明显

好转, 仍隔天发热 1 次, 发热时表现乏力畏寒、头痛及关节酸痛等。再次发热时血涂片镜检, 确诊为间日疟 (入院 9 d)。肌肉注射蒿甲醚治疗, 第 1 天 160 mg, 第 2~5 天各 80 mg, 血涂片镜检疟原虫阴性, 出院。追踪 1 个月未查见疟原虫。后返回乌干达工作。

病例 3, 男性, 24 岁, 安徽省黄山市人。2005 年 4 月 6 日到乌干达务工, 2006 年 3 月 24 日出现头痛、畏寒、发热、关节疼痛、无力、腹泻及呕吐等。查体: 急性热面容, 唇干脱水状, 体温 40.5 °C、血压 90/50 mmHg、心率 125 次/min, 心肺无异常, 血涂片镜检确诊为恶性疟。自服氯喹服用 (第 1 天 1 g, 第 2、3 天各 0.5 g, 连服 3 d), 发热头痛稍好转, 但继续呕吐、腹泻, 未进一步诊治。第 5 日凌晨 5 点被发现在住处死亡。经乌干达法医尸解报告为脑型疟并发多器官功能衰竭, 死亡。从发病到死亡共 5 d。

病例 4, 男性, 24 岁, 浙江省温州市人。2005 年 7 月 9 日到乌干达工作。2006 年 6 月 22 日因头痛畏寒、发热和颈项关节疼痛就诊。查体: 急性热病容, 神差、无力, 痛苦表情。体温 40 °C、血压 95/55 mm Hg、心率 118 次/min, 心肺无异常, 血涂片镜检确诊为恶性疟。自服氯喹 2 d, 第 1 天 1 g, 第 2 天 0.5 g, 自觉发热头疼轻微缓解。次日晚胃区不适、腹痛、呕吐咖啡样物、咳血少许、皮下有出血点, 继而出现浮肿、淡咖啡色尿、少尿, 第 3 天出现呼吸困难、烦躁、神志模糊, 送急诊。检查: 胸部 X 片提示肺出血约 40 ml。肝脏轻度损伤,

作者单位: 昆明医学院第一附属医院麻醉科, 昆明 650032