

全蚊压片荧光吡啶橙染色法快速检查蚊体内孢子

广西壮族自治区寄生虫病防治研究所 南宁 530021

黄亚铭 傅伟忠 韦海燕

指导者: 王树声

长期以来,对感染疟原虫的按蚊均采用解剖蚊唾液腺的方法来观察蚊体内的孢子^[1],该法操作难度大、费时、准确性差,且对蚊体内未进入唾液腺的孢子无法判断。1995年我们采用全蚊压片荧光染色的方法能简单、快速、敏感地检测蚊体内的孢子^[2],为进一步评价该方法的效果,我们做了深入的观察。

材料和方法

1 仪器

Nikon Model HB 10101A F 型荧光显微镜,物镜为 20×,目镜为 10×。

2 荧光染色液

采用吡啶橙(acridine orange 简称 AO,中国医药公司上海试剂采购供应站提供)。用 pH 7.2 的磷酸缓冲生理盐水(PBS)液稀释(1:10 000),装入有色瓶内备用。

3 试验用按蚊

大劣按蚊(*Anopheles dirus*)引自海南省。按蚊吸吮带食蟹猴疟原虫(*Plasmodium cynomolgi*)的血后,将吸血蚊捕出,单独分笼饲养。在吸血后 8 d,逐日解剖蚊胃,观察卵囊发育情况,至 14 d 发现部分蚊唾液腺有孢子后,将同蚊笼按蚊用于观察。

4 感染蚊观察方法

4.1 唾液腺压片荧光染色 按常规方法解剖出唾液腺^[3],将唾液腺压片后用吡啶橙染色,进行观察,共观察 40 只吸血蚊。

4.2 全蚊压片荧光染色 用乙醚麻醉按蚊后,将蚊置于载玻片上加盖玻片(1cm×1cm),用手指轻轻将蚊压碎后,从盖玻片周围将荧光染色液缓慢滴入,使其在整个盖玻片中均匀散布,然后在荧光显微镜下检查,共观察 41 只按蚊。

结果和讨论

1 全蚊压片荧光染色法观察了 41 只吸血蚊,孢子阳性蚊为 16 只,阳性率为 39.02%,一人操作前

后时间为 100 min,平均每只按蚊用时为 2.4 min。

2 唾液腺荧光染色法观察 40 只吸血蚊,孢子阳性蚊为 5 只,阳性率为 12.5%。

3 两种方法观察到的孢子形态无区别,孢子核呈绿色,虫体呈弱橙红色,虫体清晰易辨,容易与蚊体内的其他组织碎片区别。

4 过去应用解剖蚊唾液腺内孢子的方法检测按蚊的感染,技术要求高,掌握比较困难,观察唾液腺内的孢子也较困难。用普通染液将唾液腺染色后观察,必然丢失一定量的孢子,且无法观察未进入唾液腺的孢子,对现场传疟按蚊的判断不够客观。采用荧光素染色观察唾液腺孢子清晰易辨,在感染度低的情况下不易遗漏,但仍需解剖蚊唾液腺^[4]。我们的研究表明,采用全蚊压片荧光染色技术,可快速、准确地检测蚊体内孢子,不仅检测的速度提高,检查的阳性率比传统的方法提高 3.12 倍,因此,对疟疾流行区的传疟按蚊调查评价更为准确。我们用此法曾观察到一只按蚊体内仅有的一个孢子。

5 在试验中,曾将全蚊压片置于湿盒内 1 d 后再进行荧光染色,染色后的孢子同样清晰易辨,这将为现场防治工作提供一种可行的方法。

参 考 文 献

- 1 王 钊编译 疟疾学 第 1 版 青岛海关大学出版社, 1992 1-25
- 2 黄亚铭,傅伟忠,韦海燕,等. 简单快速检查按蚊体内孢子方法的初探 中华预防医学杂志 1996; 30(2) 109
- 3 上海寄生虫病研究所疟疾研究室主编 实用疟疾学 第 1 版 北京:人民卫生出版社 1978 76-97
- 4 吴开琛,潘玉蓉,张家坝,等. 荧光素吡啶橙染色活体检查疟原虫孢子初步结果 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 1993; 11 126

1996年5月16日收稿 1996年11月18日修回

(编辑: 庄兆农)