

给药后原虫暂时受到抑制，后又升高，3 只猴均未治愈。可见在猴疟实验治疗中，磷酸萘酚喹和青蒿素伍用，可明显提高疗效。

讨 论

2006 年 WHO 出版的“疟疾治疗指南”^[2]中正式提出，治疗无并发症恶性疟须使用以青蒿素类药物为基础的联合疗法 (artemisinin-based combination therapy, ACT)，要求停止使用青蒿素类单方制剂，以延缓或防止疟原虫对此类药物产生抗药性^[3]。

复方蒿甲醚 (Coartem) 是军事医学科学院研制的第一个 ACT 药物，2002 年被列入 WHO 基本药物核心目录，推荐为治疗抗药性恶性疟的首选药物。在此基础上作者进行了青蒿素与磷酸萘酚喹复方的研究，青蒿素与磷酸萘酚喹伍用在鼠疟模型上显示出很好的增效作用，对鼠疟敏感株和抗氯喹株的增效指数分别为 4.2 和 8.2。在鼠疟模型上进行抗药性培育，至 100 代时，青蒿素、磷酸萘酚喹及其伍用的抗性指数分别为 5.6、200.3 和 4.4，两药伍用可明显延缓磷酸萘酚喹抗性的产生，降低抗性程度^[4]。在此基础上，本实验对这两药伍用在猴疟模型上的药效学进行了研究，磷酸萘酚喹多次给药的总剂量达 18 mg/kg，治愈数仅为 1/3。青蒿素多次给药总剂量达 126.4 mg/kg，未治愈。而磷酸萘酚喹与青蒿素以 1 : 1、1 : 2 和 1 : 2.5

比例配伍，治愈数分别为 2/3、2/3 和 3/3。平行对照组的 6 只实验猴无一治愈。本研究结果显示，在猴疟实验治疗中磷酸萘酚喹与青蒿素配伍可明显提高疗效，降低伍用单药剂量，缩短疗程，提高治愈率，其中 1 : 2.5 比例组治愈率达 100%。猴疟模型的实验结果可为磷酸萘酚喹和青蒿素复方的临床研究提供依据。

磷酸萘酚喹与青蒿素配伍增加疗效的作用机制还不十分清楚。青蒿素与磷酸萘酚喹的药代动力学特点不同，青蒿素进入体内迅速吸收，短时间即达到峰浓度，但消除也快，而磷酸萘酚喹则是半衰期较长的药物。两药伍用可能通过作用不同的靶点以及药代动力学而提高疗效，其作用机制尚待深入研究阐明。

参 考 文 献

- [1] Davidson DE, Johnsen DO, Tanticharoenyos P, et al. Evaluating new antimalarial drugs against trophozoite induced *Plasmodium cynomolgi* malaria in rhesus monkeys[J]. Am J Trop Med Hyg, 1976, 25(1): 26-33.
- [2] World Health Organization. Guidelines for the Treatment of Malaria[M]. WHO, Geneva, 2006: 16-38.
- [3] WHO call for an immediate halt to provision of single-drug artemisinin malaria pills, <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2006/pr02/en/index.html>
- [4] Wang JY, Cao WC, Shan CQ, et al. Naphthoquinone phosphate and its combination with artemisinin[J]. Acta Trop, 2004, 89 (3): 375-381.

(收稿日期: 2008-04-30 编辑: 杨频)

文章编号: 1000-7423(2008)-06-0444-02

【研究简报】

人芽囊原虫标本染色方法的改进

张瑞其¹, 陈厚彪², 危会萍³, 苏水莲^{1*}

【提要】 人芽囊原虫标本经肖氏液固定后，用改良的哈氏苏木素染色。结果表明，标本内部结构清晰，中心体明显，与传统的铁苏木素染色方法相比，染色效果好，制片时间短，操作步骤简单。

【关键词】 人芽囊原虫；标本；染色

中图分类号: R382.9

文献标识码: B

Staining Improvement for *Blastocystis hominis* Specimen

ZHANG Rui-qi¹, CHEN Hou-biao², WEI Hui-ping³, SU Shui-lian^{1*}

(1 Microbiology Laboratory of Gannan Medical College, Ganzhou 341000, China; 2 Pediatrics department, Hospital for Women and Children, Ganxian 341100, China; 3 Ganzhou City Hospital, 341000, China)

【Abstract】 Schaudinn solution was used to fix the *Blastocystis hominis* specimen and an improved Harris hematoxylin staining was applied to stain it. The method shows clearer internal structure of the parasite, simpler and less time-consuming than the traditional iron hematoxylin solution.

【Key words】 *Blastocystis hominis*; Specimen; Staining

* Corresponding Author, E-mail: ssushui@gmail.com

作者单位: 1 赣南医学院显微实验室, 赣州 341000; 2 赣县妇幼保健院儿科, 赣县 341100; 3 赣州市立医院, 赣州 341000

* 通讯作者, E-mail: ssushui@gmail.com

人芽囊原虫 (*Blastocystis hominis*) 是引起人体肠道腹泻的重要病原体之一, 临床上常用粪便直接生理盐水涂片和碘染镜检等方法进行诊断。在人体寄生虫学实验教学中, 为了让学生进一步观察了解人芽囊原虫内部结构, 在传统铁苏木素染色方法的基础上进行人芽囊原虫标本涂片、固定、染色方法改进, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 改良哈氏 (Harris) 苏木素染色液为上海市青析化工科技有限公司产品, 肖氏固定液按文献 [1] 方法配制, 伊红购自上海公私合营新中化学厂, 其他试剂均为国产分析纯。人芽囊原虫患者粪便取自本院学生。

1.2 方法

1.2.1 推片 选 1 张边缘光滑平整、洁净的 18 mm×50 mm 盖玻片与人芽囊原虫患者粪便悬液接触, 45°角直接推于干净的 20 mm×20 mm 盖玻片, 推片越薄越好。

1.2.2 固定 将推片后的盖玻片依次置于 40~43 °C 肖氏固定液 (Schaudinn) 固定 8 min, 70%乙醇 20 s (去除多余的肖氏固定液), 含碘的 70%乙醇 10 min, 取出后置于 70%乙醇 1 h。

1.2.3 染色 按文献 [1] 方法配制改良哈氏 (Harris) 苏木素染色液, 按文献 [2] 方法配制复染液和稀氨水。从 70%乙醇中取出标本, 依次转入 60%、50%、40%和 30%乙醇及蒸馏水中各 8 min。40~43 °C Harris 染色液中 1 min, 自来水冲洗 2 次, 置 1%盐酸乙醇中分色 10~35 s (根据显微镜下细胞核清晰度确定分色时间), 自来水冲洗 1 min。1%稀氨水中洗 5~10 s, 自来水冲洗 1 min。置已加 0.05%冰醋酸的 1%伊红液中复染 1 min。

1.2.4 脱水 从伊红液中取出标本依次置于 70%、80%、90%、95%及 100%的乙醇中各 20 s。

1.2.5 透明 从 100%乙醇中取出标本后, 置苯酚二甲苯混合液 (苯酚:二甲苯=1:5) 及二甲苯中各透明 1.5 min。

1.2.6 封片 在洁净载玻片上滴 1~2 滴中性树胶, 从二甲苯中取出标本, 将盖玻片的正面迅速盖在洁净载玻片的树胶上, 自然干燥后镜检。

1.3 传统铁苏木素染色 根据文献 [1] 方法, 对人芽囊原虫标本进行传统铁苏木素染色, 作为对照。

2 结果

上述方法染色后, 人芽囊原虫标本内部结构清晰, 形态特征明显, 中心体呈橘红色, 细胞核呈深蓝色, 标本已保存 7 年, 不易褪色 (图 1), 而传统铁苏木素染色的虫体皱缩变形、着色深、内部结构模糊 (图 2)。

3 讨论

在制作人芽囊原虫粪便涂片染色标本中, 用盖玻片推片制作粪膜优于传统的粪便涂片法。经此法制作的人芽囊原虫标

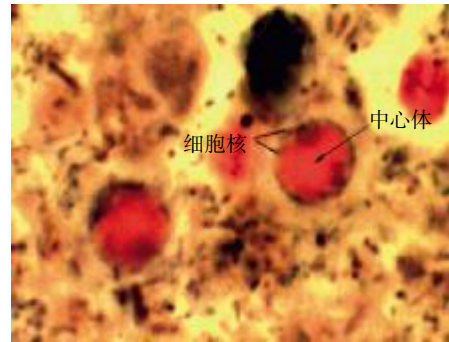


图 1 改良的哈氏苏木素染色人芽囊原虫标本 (×1000)

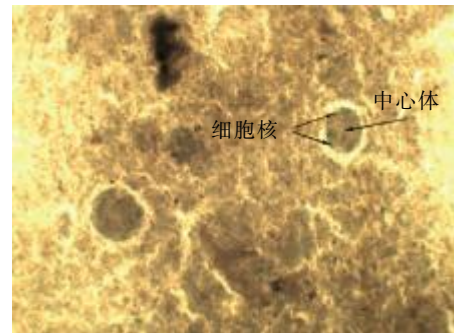


图 2 铁苏木素染色人芽囊原虫标本 (×1000)

本, 厚薄均匀, 干燥快, 虫体形态正常, 内部结构清晰, 中心体染成橘红色, 细胞核深蓝色, 标本可长期保存不易褪色。本研究用肖氏液热固定和改良的哈氏苏木素液染色, 使虫体各部位着色清晰。用此法制作 100 张切片, 全程仅需 2 h, 固定液和染液各需 100 ml, 与传统的铁苏木素染色方法相比更简便、快速, 且此法染色效果好, 可长期保存, 供人体寄生虫学教学和研究使用。如能在盖玻片专用的染色皿中操作, 将大大提高标本制作的效率。

参 考 文 献

- [1] Chen PH, Kong DF, Li HZ, et al. Experimental Technology of Human Parasites [M]. Beijing: Science Press, 1988: 29. (in Chinese)
(陈佩惠, 孔德方, 李慧珠, 等. 人体寄生虫实验技术 [M]. 北京: 科学出版社, 1988: 29.)
- [2] Chen GF, Su SL, Xie RL, et al. Re-staining of the slides of *Entamoeba histolytica* trophozoites [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2004, 22(5): 317. (in Chinese)
(陈桂凤, 苏水莲, 谢瑞莲, 等. 溶组织内阿米巴滋养体标本的复染 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2004, 22(5): 317.)
(收稿日期: 2008-08-06 编辑: 高石)