

## 三种永久虫卵封片标本制作方法的比较

陈熙, 杨立军

(昆明医科大学病原生物学及免疫学实验室, 云南昆明 650500)

[关键词] 寄生虫; 虫卵; 标本制作

[中图分类号] R383.15 [文献标识码] A [文章编号] 1003-4706(2013)03-0138-02

人体寄生虫学作为医学教育的一门重要基础桥梁课程, 属于形态学范畴。寄生虫虫卵的形态特征是该门课程教学的重点、难点。长久以来, 昆明医科大学病原生物学及免疫学实验室沿用传统的临时涂片镜检法进行实验教学, 锻炼了学生的动手操作能力, 取得较好的教学效果。但随着人们生活水平的提高, 卫生状况的改善, 人体寄生虫的感染率日趋下降, 虫卵收集已较为困难, 加之在临时涂片中, 冲洗、回收等操作环节会损失部分虫卵, 昆明医科大学病原生物学及免疫学实验室尚存的虫卵标本显著减少。鉴于以上原因, 笔者改用永久封片标本开展实验教学, 以节约宝贵的教学资源。在不断改进方法制作标本的过程中, 对比了3种封片方法的优缺点, 认为双层盖方法是较适合制永久教学标本的方法, 现介绍如下。

### 1 材料与方法

#### 1.1 虫卵

常规收集经鉴定的虫卵, 用10%甲醛液固定保存备用。

#### 1.2 实验材料

方形盖玻片(22 mm × 22 mm), 圆形盖玻片(直径为18 mm), 盖玻片, 金属打孔器(直径为6、14 mm), 中性树胶液态成品(上海标本模型厂生产), 二甲苯, (中性树胶久置后浓度过高, 稀释备用), 蜡纸, 石蜡块, 竹签, 滴管, 标签, 纱布, 95%酒精。

#### 1.3 方法

##### 1.3.1 载、盖玻片制备

将盖玻片、载玻片用洗衣粉水浸泡3 d后用软刷流水冲洗, 用纱布擦净后浸入95%酒精加盖过

夜, 次日用清洁干燥纱布擦干, 分别放入盖玻片、载玻片盒内保存备用。

**1.3.2 单层盖片法** 在载玻片右2/3处滴一滴制备好的虫卵液(左侧空白处贴标签), 将方形盖玻片以45°角与虫卵液接触后放下, 用吸水纸吸去盖玻片四周溢出的液体, 用竹签蘸取中性树胶, 在盖玻片四周封边。

**1.3.3 双层盖片法** 在载玻片右2/3处滴一滴制备好的虫卵液, 加盖圆形盖玻片, 避免出现气泡, 用吸水纸吸去盖玻片四周溢出的液体, 然后在圆形盖玻片上加一滴中性树胶, 再盖上一张方形盖玻片, 并在方形盖玻片四周用竹签添加中性树胶, 不遗留空隙, 保证两层盖玻片间无空气残留, 封片。

**1.3.4 改良蜡圈法<sup>[1]</sup>** 用金属打孔器将蜡纸制成内、外径分别为6、14 mm纸圈备用;将石蜡块置容器内用酒精灯热熔后, 将纸圈放入其中, 随后将浸有石蜡的纸圈置于载玻片右2/3处, 使蜡圈牢固粘贴于载玻片上, 另用一载玻片在蜡圈上方轻压, 保持蜡圈表面平整, 待石蜡凝固后在其中滴入一滴虫卵液, 完全占满蜡圈, 至液面略高于蜡圈平面, 45°角加盖盖玻片, 用吸水纸吸去四周溢出的液体, 在盖玻片四周添加中性树胶<sup>[2]</sup>, 封片。制作好的虫卵标本均放于晾片夹内, 加盖干净纱布室温下自然晾干, 镜检合格后贴标签。

### 2 结果

用以上方法制作的寄生虫虫卵封片标本200余片, 其中部分为单种虫卵标本, 部分为混合虫卵标本。镜检视野内均有典型虫卵, 经2 a使用观察, 镜下虫卵清晰可见, 形态典型, 易于辨认。

单层盖片法制作的标本观察范围较大, 观察效

[基金项目] 云南省自然科学基金资助项目(2010ZC111)

[作者简介] 陈熙(1981~), 女, 云南曲靖市人, 医学硕士, 助理实验师, 主要从事医学寄生虫学实验教学工作。

果较好,经1a使用之后,部分标本的中性树胶干裂,标本密封不好,虫卵变形、发黑.

双层盖片法制作方法制成的标本耐用,不易压碎.

改良蜡圈法制成的蜡圈能够保存较多的虫卵液,视野内可供观察的虫卵量增加,观察效果较好.但学生使用时,经常由于操作不当压坏玻片标本,虫卵液易干,标本的损害率较高好.

### 3 讨论

在不断的学习、探索过程中,本实验改用封片虫卵标本进行实验教学.单种虫卵标本用于平时教学,混合虫卵用于考前实验复习,与采用混合虫卵进行教学<sup>[3]</sup>相比,单种虫卵便于强化知识点,能够排除不典型虫卵造成的混淆,而在考试前综合复习时采用混合虫卵,能够综合知识点,利于学生融会贯通所学内容.

三种制片方法相比,直接盖片法方法最简单,制作工序较少,但单层盖玻片封片时,中性树胶与虫卵液接触不完全,易产生空隙、气泡,虫卵液易流出,封片成功率与其他两种方法相比较低,且由于中性树胶易干裂,虫卵液漏出,虫卵易发生变形、发霉,标本保存时间不长.改良蜡圈法制作方法较为复杂,制作工序较多.对操作者的熟练程度要求高,制作较好的蜡圈能够保存较多的虫卵液,但若蜡纸蘸蜡过多,保存虫卵液量也相对较小,不利于实验观察.蜡圈及中性树胶的双层封闭利于保存虫卵液,但实验操作中,由于显微镜使用不当,单层盖玻片易被压碎,也不利于标本的长期保存.与上述两种方法相比,双层盖片法制作方法也较简单,在传统的双层盖片法<sup>[4]</sup>基础上进行改良,采用圆形盖玻片盖住虫卵液,利用液体的表面张力,虫卵固定液不易溢出,但本法采用45°角加盖方形

盖玻片并从周边添加树胶的方法,两层盖玻片间未出现空泡,这与采用桃胶片封片制作寄生虫卵玻片标本<sup>[5]</sup>、琼脂糖为介质制作虫卵封片标本<sup>[6]</sup>的方法相比明显简单.而制作的标本片密封较好,两层盖玻片间虽有中性树胶,但树胶高干燥后无色透明状,与盖玻片紧密相接,不出现皱缩、发黄的现象,不影响观察视野,且增加了双层盖玻片的总体厚度,在实验教学中,玻片不易损坏,在封片严密的标本,虫卵清晰可见,易于辨认.虫卵保持原来的颜色,未发现颜色发黑的情况,虫卵的形态及内部结构均保持完好,未出现皱缩、破裂,也未出现虫卵在标本中大量移动的现象.

笔者通过反复尝试、改进,综合考虑制作成本、工序及在实际教学过程中使用效果及节约虫卵等诸多方面因素认为,双层盖片法是一种较为适合制作永久教学标本的方法.

### [参考文献]

- [1] 章洁,言敢威,张顺科,等. 寄生虫卵玻片标本制作方法的改进[J]. 实用预防医学,2004,11(6):274.
- [2] 林丽卿. 寄生虫虫卵永久性玻片标本的制备[J]. 实用医技杂志,2008,15(9):1 127-1 128.
- [3] 胡守锋,刘家荣,孙新,等. 永久性混合虫卵玻片标本制作和使用效果观察 [J]. 中国病原生物学杂志,2009,4(6):474.
- [4] 陈佩惠,孔德芳,李惠珠,等. 人体寄生虫学实验技术 [M]. 北京:科学出版社,1988:90-94.
- [5] 宾正凤. 采用桃胶片封片制作寄生虫卵玻片标本[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志,1990,8(3):239.
- [6] 邹艳,丘继哲,黄旭,等. 两种制作寄生虫虫卵长期性玻片标本新方法介绍 [J]. 中国病原生物学杂志,2008,3(4):256-271.

(2013-01-10 收稿)