

一株“自由生活阿米巴”培养和保种方法的探讨*

闵秀婷

(第一军医大学寄生虫学教研室)

我室从中山大学生物系取回一株“自由生活阿米巴”(待定名)。这种阿米巴的形态与致病性“自由生活阿米巴”耐格里属相似^{[6][7]}。其大小为15—30×10—15微米。本株阿米巴原保种在稻草液和琼脂培养基内,需半月左右转种一次。为进一步了解本株阿米巴生活特点,节省保种工作中的人力、物力。我们对本株“自由生活阿米巴”的培养、保种方法进行了初次探讨,其内容主要是温度(室温和温箱37℃)和培养基的成份对本株阿米巴生活力的影响,以便找出合适的温度和较好的培养基。现将实验结果报告如下:

材 料 和 方 法

培养材料和方法基本上参考前人用于培养溶组织内阿米巴的方法,但稍有改动,其中皮蛋和咸蛋培养基为我们首次用于培养试验,前人未见报道。

一、培养基的制造 洛克氏液的配法,鸡蛋与营养琼脂血清培养基的配法见文献[7]。米粉制备法见文献[7][3];血清来源与灭活的

* 本文蒙承本室何麟副教授审阅,在此表示感谢!

方法见文献 [2]; 双抗 (青、链霉素) 液见文献 [6], 兹不赘述。现将皮蛋及咸蛋培养基的配制法叙述如下:

(一) 皮蛋培养基

(1) 材料 市场出售的皮蛋一个, 手术刀一把, 中号镊子二把、平皿一个, 中号试管数个、酒精棉球。

(2) 方法 先将蛋壳外泥土洗净, 用中号镊子取 75% 酒精棉球擦洗蛋壳三次, 用消毒镊子撕破蛋壳、将蛋白和蛋黄从蛋壳内取出, 放在消毒的平皿中, 用手术刀切割成条状, 其大小较中号试管直径小些, 用镊子取蛋条放入试管内, 每管约放如小指头或数个黄豆大小, 不再加其他物品, 然后置冰箱备用 (整个操作要求无菌)。

(二) 咸蛋培养基 除材料改为咸蛋外, 其他方法与上相同。

二、培养方法 培养过程均须无菌操作, 现举洛克氏液和皮蛋培养基的方法为例。

(一) 洛克氏液血清培养法

1. 培养管准备 取消毒之中号试管两支, 倒入上述灭菌洛克氏液 7—8 毫升, 用火焰消毒白金耳环取米粉一勺放入培养液内, 加双抗液各两滴, 然后加入灭活血清 10 滴、用棉塞塞紧试管、即准备完毕。

2. 接种法 用消毒玻管取出虫种培养液约 0.5 毫升, 移入上述培养管中。接种两管, 一管置于 35—37°C 温箱内, 一管置于室温下 (广州市 11—12 月份室温为 13—28°C)。

(二) 皮蛋血清培养基培养法

1. 培养管准备 从冰箱取出放有皮蛋的培养管, 倒入覆盖液 (洛氏液) 7—8 毫升, 用火焰灭菌的白金耳环, 取米粉一勺放入培养管内, 加双抗液各 2 滴, 灭活人血清 10 滴, 棉塞塞紧备用。

2. 接种法 与上述洛氏血清培养接种法相同, 均不赘述。

三、检查方法 在无菌柜内操作, 用消毒玻璃吸管吸取培养液底部之混合液一滴。放在载玻片上, 加一片 18 × 18 毫米盖玻片, 置光镜

低倍镜下检查, 检查全盖片中活动的阿米巴, 并计算其总数。

结 果

一、室温培养结果

我们做了两次培养试验, 第一次实验是从 10 月 21 日接种的; 第二次实验是从 11 月 3 日接种的。室内的最低与最高温度为 13—28°C。检查天数为自接种之日起隔天或隔 2—3 天检查一次。为节省篇幅, 以 4—5 天合并统计一次 (取其平均虫数)。第一次的培养基有四种, 自 10 月 21 日至 12 月 23 日已有两个月, 在洛氏液和琼脂培养基仍有阿米巴存活, 而鸡蛋培养基中的阿米巴只存活了一个月; 但在第二次实验中, 自 11 月 3 日至 12 月 23 日已一个半月了, 除咸蛋培养基外, 其它四种培养基仍有阿米巴存活仅皮蛋培养基虫数逐渐减少, 其结果可见下表 1 和表 2。

二、温箱培养结果

用同样培养基, 同时接种同一株虫种, 置温箱中培养。检查时间与室温培养相同, 结果在第一次实验中, 阿米巴在洛氏液中只存活 10 天, 鸡蛋培养液中存活 3 天, 琼脂和皮蛋培养基始终未见存活的阿米巴。在第二次实验中, 阿米巴在琼脂培养液存活至 18 天, 鸡蛋培养基存活 4 天, 其他培养液 (洛氏液、皮蛋和咸蛋培养基) 也始终未见存活的阿米巴。与上述室温培养比较, 可明显看出, 本株“自由生活阿米巴”不适应于 35—37°C 的温度。其结果可见下表 3 和表 4。

讨 论

一、温度对阿米巴生活的影响 一般溶组织阿米巴培养的适宜温度为 35—37°C (3—7), 但本株“自由生活阿米巴”在 37°C 情况下却不能存活或存活不久 (见表 3、4), 而仅能在较低的温度存活, 如本实验室在室温中 (13—28°C) 看到的情况 (见表 1、2)。在室温中本株阿米巴

表 1 室温中阿米巴存活虫数统计(一)

培养基	检 查 天 数											
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
洛氏液	—	—	60	300	300	1103	749	1256	604	105	129	125
琼脂	—	0—3	160	336	173	402	332	332	310	82	97	40
鸡蛋	—	0—4	48	400	280	14	—	2	0			
皮蛋	—	0—4	—	—	—	—	—	0				

注: 1.“0”表示将试管全部液体离心沉淀仍未发现阿米巴,

2.“—”表示未发现阿米巴。

3.在第 10 天检查结果为每视野里的虫数。

表 2 室温中阿米巴存活虫数统计(二)

培养基	检 查 天 数											
	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44	50
洛氏液	168	289	704	1250	1004	749	1420	2183	1130	1450	1099	737
琼脂	8	236	765	740	807	344	664	390	362	450	290	241
鸡蛋	213	162	372	374	1394	783	1696	868	689	814	601	544
皮蛋	—	17	67	226	575	342	276	91	97	29	15	25
咸蛋	—	46	—	—	—	—	—	0				

表 3 温箱中(37℃)阿米巴存活虫数统计(一)

培养基	检 查 天 数							
	3	7	10	15	21	25	30	33
洛氏液	—	0—5	0—4	—	—	—	—	0
琼脂	—	—	—	—	—	—	—	0
鸡蛋	15	—	—	—	—	—	—	0
皮蛋	—	—	—	—	—	—	—	0

表 4 温箱中(37℃)阿米巴存活虫数统计(二)

培养基	检 查 天 数													
	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
洛氏液	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
琼脂	—	—	—	—	1120	525	429	231	—	—	—	—	—	0
鸡蛋	49	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
皮蛋	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
咸蛋	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0

在适宜培养液内可以存活 2 个月或更长的时间;在 13—28℃ 情况下 45 天甚至 60 天转种一次即可,这样比过去 15 天转种一次大大节省时间和培养液。至于本株阿米巴在更低的温度下,如 0—10℃ 的存活时间尚须作实验观察。又从温箱(37℃)实验结果看来,本株阿米巴在炎

夏时,如室温过高,应将培养管置放阴凉处,或采取一定降温措施,以免影响其存活能力。

二、培养基成份对阿米巴生活的影响 上述试验表明,在室温情况下,本株阿米巴在洛克氏液、琼脂、鸡蛋培养基中生长较好。如第一次实验从 10 月 21 日到 12 月 23 日已有两个多月,

在洛氏液和琼脂培养基内仍有阿米巴存活。第二次实验从11月3日到12月23日也有一个月另20天了(见表1、2)也是洛氏液,琼脂和鸡蛋培养基较好,特别是洛氏液又简单又好,是本株阿米巴较简易的培养液,值得应用。

三、本株阿米巴的一些生物学特性 本株阿米巴适宜生活在较低的温度下和简易的培养液中已如上述,由于本株阿米巴的形态特征与致病性“自由生活阿米巴”相似,因此,尚须作致病能力的观察。又耐格里属原虫有双营养型(Trophic dimorphism)的特性,在蒸馏水中可转变为“双鞭毛虫”^[1]。本株阿米巴是否有此特性,亦应作进一步的实验观察并鉴定其虫名。

本株阿米巴保种较容易,我们教研室鉴于其形态和活动与溶组织阿米巴相似,因此,在教

学上已用作代用虫种,供学员实验用,取得较好的效果。

参 考 文 献

- [1] 中山医学院主编 1979 人体寄生虫学(教材)第二版。北京人民卫生出版社 57—58
- [2] 田浩泉、谭绪恕等 1954 培养法在阿米巴性疾病诊断上之应用。中华医学杂志 40(5): 351—352
- [3] 张景斌 1955 痢疾变形虫(阿米巴)检查之探讨。中华医学杂志 41(2): 126—132
- [4] —— 1958 阿米巴综述。临床检验杂志 2(2): 18—22
- [5] 余锦云 1965 肠阿米巴简易培养法。中级医刊(4): 225—226
- [6] 何麟等主编 1982 医用寄生虫学(教材)第二版广州第一军医大学训练部 169—172
- [7] 蔡长霖 1954 溶组织内阿米巴与结肠阿米巴的培养及长期保种之简易方法。微生物学报 2(2): 181—186