

干燥血吸虫尾蚴片的制作及应用

王大坤 赵慰先

(南京医学院寄生虫学研究室)

摘要 本文以玻片为载体,借助明胶-铬明矾溶液将醛固定的尾蚴粘附其上制成尾蚴抗原片,该抗原片制作简便、保存方便。采用间接免疫荧光法将该抗原片用于检测感染血清或杂交瘤培养上清时,均证实其具有敏感性。

在现行血吸虫病的血清学诊断方法中,多以血吸虫成虫或感染鼠肝组织内虫卵切片作为间接免疫荧光法或免疫酶染色法的试验抗原。鉴于切片法比较烦琐以及成虫和虫卵抗原属血吸虫发育阶段的晚期抗原,我们选择血吸虫尾蚴虫体作为试验抗原,并将其制成便于保存的干燥尾蚴片,在检测感染血清和筛选单克隆抗体等应用中,效果满意。现介绍如下:

(一) 固定尾蚴的制备 阳性钉螺按常规法逸放尾蚴,捞取的尾蚴用磷酸盐缓冲液(PBS, 0.15M pH7.2)离心洗涤三次后,加入 10% 甲

醛溶液(PBS 配制),悬匀,置4℃冰箱过夜,次日,收获固定的尾蚴,并用PBS离心洗涤三次。

(二) 干燥尾蚴片的制作 取洁净玻片,薄薄涂上一层明胶-铬明矾粘着剂(3%明胶, 0.05%铬明矾),凉干后,于玻片的两侧各滴加20 μ l的固定尾蚴悬液(约含50条尾蚴),再将该片置37℃烘箱过夜,次日取出,置室温或4℃冰箱保存备用。

(三) 间接免疫荧光法 取1:50稀释的不同感染期鼠血清(76天慢性感染血清、26天与45天急性感染血清)或杂交瘤培养上清50 μ l,

加在尾蚴片的斑点处,置 4℃ 孵育 30 分钟,甩干,再滴加 200 μ l PBS,作用 3—5 分钟后,甩干,如此重复三次后,加入 1:16 稀释的羊抗鼠荧光标记抗体(北京生物制品研究所),置 4℃ 孵育 30 分钟,同前洗涤,最后,将尾蚴片置荧光显微镜下观察结果。

结果与讨论:

本文介绍的干燥尾蚴片制作简便,易于保存和可一次性大量制备。经醛固定的尾蚴,表膜抗原性无变化,且能经受反复冻融。采用明胶—铬明矾粘着剂涂于玻片上,能增强尾蚴附着玻片的能力,尾蚴脱落率为 15% 左右。由于

明胶具亲水性,因此,于斑点处所加的待测样品不会流动而交叉污染,同一张玻片可加入不同血清样品。制成的干燥片置室温或 4℃ 保存半年以上,其检测敏感性未见下降。我们的试验结果初步表明,该抗原片适合于现场或实验室进行血吸虫病血清学诊断等免疫学方面的应用。

参 考 文 献

- [1] 李允鹤等 1988 中华内科杂志 27:31。
- [2] 彭道仪等 1988 中华流行病学杂志 9:46。