DOI:10.16016/j.1000-5404.1990.05.016

且为了避免小鼠个体差异，每一菌株应同时接种数只小鼠。

2.3 判断小鼠接种后是否致病，最初只根据肝、脾培养结果[3]，以后才根据脑培养结果[4]。本文显示颅内或尾静脉接种后，全部有脑组织感染；腹腔接种者，均可见腹腔脏器表面或肠系膜有感染形成的结节。从本研究结果看出，进行新隐动物试验，3种接种途径均可，但颅内和尾静脉接种感染出现早，而腹腔接种方法简便；然后分别取脑或腹腔结节检查。

参考文献

1. Rippon JW. Medical Mycology. 2nd ed. Philadelphia: unders. 1982:532～558
egold SM, et al. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 6th ed. St. Louis: Mosby Co. 1982:438
3. Kao CJ, et al. The isolation of Cryptococcus neoformans from pigeon nests. Am J Clin Path 1957;27:652
4. Hasenclever HF, et al. The prevalence and mouse virulence of Cryptococcus neoformans strains isolated from urban areas. Am J Hyg 1963;78:227
5. Emmons CW, et al. Medical Mycology. 3rd ed. Philadelphia:Loa & Febiger. 1977:206～229

（收稿：1989.11.14；修回：1990.07.11）

用DEAE纤维素粉柱清除疟原虫感染血中白细胞

庞林华 胡友梅（药理教研室）

随着对疟原虫生化代谢体外研究的日益增多，清除感染血中白细胞以提高结果的可靠性问题已引起越来越广泛的重视。我们通过借鉴同行的报道，摸索出了一种简便有效的方法。

1 方 法

疟原虫（P. yoelii, yoelii, By265株）感染血中白细胞的清除采用纤维素粉柱过滤法[1]加以改进，具体步骤如下：

取一直径为0.5cm之层析柱，将出口用少许脱脂棉堵塞以防漏出，然后将DEAE纤维素粉（DE 11型，英国进口分装）充填于柱内，使成一高约5 cm，内无明显空隙的纤维素粉柱。使用前用pH7.4的PBS（磷酸缓冲盐液）将该柱浸湿并联于负压抽滤装置。

于小白鼠（昆明种，体重18g～24g，雌雄不拘）腹腔接种疟原虫后第5天，选择红细胞感染率达10%以上的小鼠，摘眼球取血于肝素抗凝瓶内，涂片吉氏染色计数白细胞，再按1:4的比例加入PBS稀释，然后将5 ml标本加入1支纤维素粉柱内，在恒定负压下调节流量为1 ml/min进行抽滤。处理后的标本经离心弃上清后再用PBS清洗2次，然后将沉积细胞稀释至原血液量，涂片染色计数白细胞并观察疟原虫形态。为确定该方法对疟原虫感染力的影响，将处理前后的标本按每只小鼠200万个感染红细胞分别接种20只小鼠，并于接种后第24、48和72h分别取血样涂厚、薄片检查感染情况。

2 结 果

2.1 清除白细胞的效果

白细胞清除效果的评价采用对比计数处理前后100个高倍视野（1000个红细胞/高倍视野）中白细胞数目的方法进行。结果可见血液标本经DEAE纤维素粉柱过滤后未见白细胞存在（表1）；用低倍镜观察整个涂片也未发现白细胞。表明该方法能清除血中所有白细胞。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表1　处理前后血液标本中白细胞数目的比较

组　别	白细胞数目（个/1×10^5红细胞，$\bar{X}\pm SD$，n=20）
处理前	109.00±14.04
处理后	0

2.2　疟原虫形态和感染力的观察

光镜下观察可见经去白细胞处理后的疟原虫其胞膜、胞浆和胞核的形态与处理前比较无明显异常改变。比较小鼠接种疟原虫后在不同时间的感染程度发现各时间组数据经秩和检验P值均大于0.05，未处理组与处理组疟原虫感染程度无显著差异（表2）。表明用DEAE纤维素粉清除白细胞对疟原虫的感染力无显著影响。

表2　接种疟原虫后各种感染程度的小鼠数

感染程度	24h		48h		72h	
定性结果*	未处理组	处理组	未处理组	处理组	未处理组	处理组
—	20	20	6	8	—	—
+	—	—	5	12	—	2
++	—	—	9	—	14	17
+++	—	—	—	—	4	1
++++	—	—	—	—	2	—
	P>0.05		P>0.05		P>0.05	

注：*定性结果与感染率的关系是："—"代表厚片阴性；"+"代表厚片阳性，但薄片不能计数；"++"，0.0‰<感染率≤5.0‰；"+++"，5.0‰<感染率≤10.0‰；"++++"，10.0‰<感染率≤15.0‰。

3　小　结

文献报道，纤维素粉柱法是迄今最有效的清除疟原虫感染血中白细胞的方法，但仍不能清除所有的白细胞[2]。本文所采用的DEAE纤维素粉（DE11）比已报道的其它纤维素粉（如CF12）更能有效地清除血中白细胞（清除率100%）。本文还初步证实了该方法对疟原虫的形态和感染力均无显著影响。我们把该方法应用于抗疟药作用机理的体外研究已取得良好的结果[3]。

参考文献

1. Baggaley VC and Atkinson EM. Use of the CF 12 columns for preparations of DNA from rodent malarias. Trans R Soc Trop Med Hyg 1972; 66: 4
2. Homewood CA and Neame KD. A comparision of methods used for the removal of white cells from malaria-infected blood. Ann Trop Med Parasitol 1976; 70: 249
3. 庞林华　胡友梅。硝喹（CI-679）对[^{3}H]次黄嘌呤在体外参入约氏疟原虫核酸的影响。中国药理学报　1988；9：349

（收稿：1988.06.29，修回：1989.11.28）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net