

全国高等院校医学实验教学规划教材

编审委员会主任委员 文格波
编写委员会总主编 姜志胜

病原生物学实验

(人体寄生虫学分册)

主 编 梁 瑜 杨秋林



科学出版社
www.sciencep.com

全國高等院校醫學實驗教學規劃教材

醫學微生物學分冊 第三版
實驗生物學分冊 第三版

病原生物學實驗

（人獸醫學微生物學分冊）

主 編 王 健 副主編 王 健



全国高等院校医学实验教学规划教材

编审委员会主任委员 文格波

编写委员会总主编 姜志胜

病原生物学实验

(人体寄生虫学分册)

科学出版社

北京

· 版权所有 侵权必究 ·

举报电话:010-64030229;010-64034315;13501151303(打假办)

内 容 简 介

人体寄生虫学属病原生物学范畴,本书是全国高等院校医学实验教学规划教材,由经典验证性实验、综合性实验、设计创新性实验、寄生虫学常用实验技术与方法、附录共5部分组成。编者精心选择了150多幅插图,包括大量的实体标本图片和显微镜照片,力求图文并茂、启发学生思维、拓宽科研思路及培养创新精神。

本书既可作为基础医学、临床医学、预防医学、医学检验、麻醉学、医学影像、护理学、妇幼卫生和卫生检验等专业学生的人体寄生虫学实验教材,也可作为医药卫生专业人员的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

病原生物学实验(人体寄生虫学分册) / 梁瑜,杨秋林主编. —北京:科学出版社,2010.7

ISBN 978-7-03-028153-1

I. 病… II. ①梁… ②杨… III. ①病原微生物-实验-医学院校-教材 ②医学:寄生虫学-实验-医学院校-教材 IV. ①R37-33 ②R38-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2010)第122143号

策划编辑:邹梦娜 李国红 / 责任编辑:许贵强 李国红 / 责任校对:张怡君
责任印制:刘士平 / 封面设计:黄超

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

骏杰印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2010年7月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2010年7月第一次印刷 印张:9 1/2 插页:4

印数:1—4 000 字数:218 000

定价:25.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

全国高等院校医学实验教学规划教材 编审委员会

主任委员	文格波			
副主任委员	吴移谋	廖端芳		
委 员	(以姓氏笔画为序)			
	田 英	吕昌银	严悦卿	李娜萍
	苏 琦	肖建华	张新华	陈 熙
	陈国强	欧阳四新	罗学港	周国民
	胡 弼	姜志胜	姜德诵	唐朝枢
	涂玉林	曾庆仁	谭立志	

编写委员会

总 主 编	姜志胜			
副 总 主 编	贺修胜	甘润良		
编 委	(以姓氏笔画为序)			
	万 炜	王汉群	任家武	刘秀华
	齐永芬	李严兵	李娜萍	李朝红
	张 艳	张建湘	张春芳	欧阳钧
	易光辉	金海燕	屈丽华	胡四海
	侯冰宗	桂庆军	龚永生	梁 瑜
	程爱兰			
秘 书	周文化	唐志晗		

序

医学是一门实践性很强的学科,而医学实验教学是医学教育的重要组成部分,是保证和提高医学人才培养质量的重要环节和必要手段。教育部、卫生部《关于加强医学教育工作提高医学教育质量的若干意见》中提出“高等学校要不断创新医学实践教学体系,加强实践能力培养平台的建设,积极推进实验内容和实验模式的改革,提高学生分析问题和解决问题的能力”,进一步明确了医学实验教学的重要性。

随着现代医学模式的转变、医学教育标准的推行和我国卫生服务发展要求的变化,进一步提高医学教育质量,构建具有中国特色社会主义医学教育体系,已成为高等医学教育界高度关注的重大课题。在这一背景下,我国医学实验教学的改革近年来也进行了积极探索和实践,许多高校通过树立以学生为本、知识传授、能力培养、素质提高、协调发展的教育理念和以能力培养为核心的实验教学观念,建立有利于培养学生实践能力和创新能力的实验教学体系,建设满足现代实验教学需要的高素质实验教学队伍,建设仪器设备先进、资源共享、开放服务的实验教学环境等有力措施,全面提高实验教学水平。

此次,南华大学医学院协同国内相关高校共同编写了《全国高等院校医学实验教学规划教材》,在推进医学实验教学教材建设上迈出了新的一步。这套教材涵盖了解剖学、显微形态学、医学免疫学、病原生物学、机能学以及临床技能学的实验教学内容。全套教材贯彻了先进的教育理念和教学指导思想,把握了各学科的总体框架和发展趋势,坚持了“四个结合”,即理论与实验结合、基础与临床结合、经典与现代结合、教学与科研结合,注重对学生探索精神、科学思维、实践能力、创新能力的培养,不失为一套高质量的精品教材。

愿《全国高等院校医学实验教学规划教材》的出版进一步推动我国医学实验教学的发展。

中国高等教育学会基础医学教育分会理事长

北京大学医学部副主任

2010年2月

序 二

医学实验教学在整个医学教育过程中占有极为重要的地位,提高医学实验教学质量必将有助于提高医学教育的整体水平。随着现代生命科学及其各种实验技术的飞速发展,大量先进的医学实验教学理念与方法进入实验教学体系,医学教育内容与环境发生了日新月异的变化。近年来,国内很多医学院校对传统医学实验教学模式进行积极改革和有益尝试,积累了值得借鉴的经验。2008年,国家教育部、卫生部联合印发《本科医学教育标准——临床医学专业(试行)》,对本科临床医学专业毕业生的思想道德与职业素质、知识、技能培养目标提出了更高的明确要求。

在这一背景下,南华大学《全国高等院校医学实验教学规划教材》编写委员会组织相关学科专业的专家教授,共同编写了这套实验教学规划教材。全套教材共九本,包括:《系统解剖学实验》、《局部解剖学实验》、《显微形态学实验(组织学与胚胎学分册)》、《显微形态学实验(病理学分册)》、《医学免疫学实验》、《病原生物学实验(医学微生物学分册)》、《病原生物学实验(人体寄生虫学分册)》、《机能实验学》、《临床技能学》。

本套规划教材的编写,吸收了南华大学等多个高校多年来在医学实验教学方面的改革创新成果,强调对学生基础理论、基本知识、基本技能以及创新能力的培养,打破现行课程框架,构建以技能培养为目标的新型医学实验教学体系,注重知识的更新,反映学科的前沿动态,体现教材的思想性、科学性、先进性、启发性和实用性。借鉴国内外同类实验教材的编写模式,内容上将医学实验教学依据医学实验体系进行重组和有机融合,按照医学实验教学的逻辑和规律进行编写。

本套规划教材适用对象以本科临床医学专业为主,兼顾预防医学、医学检验、口腔医学、麻醉学、医学影像学、护理学、药学、卫生检验等专业需求,涵盖基础医学全部课程的实验教学。各层次、各专业学生可按照其专业培养的特点和要求,选用相应的实验项目进行教学与学习。

本套规划教材的编写出版,得到了科学出版社和南华大学的大力支持,凝聚了各位主编和全体编写、编审人员的心血和智慧。在此,一并表示衷心感谢。

由于医学实验教学模式尚存差异,加上我们的水平有限,本套规划教材难免存在缺点和不当之处,敬请读者批评指正。

总主编



2010年2月

前 言

病原生物学是医学领域的一门重要基础学科,包括医学微生物学和人体寄生虫学。学习人体寄生虫学的目的是为防治寄生虫病提供依据,为基础医学、临床医学和预防医学打下病原学基础。寄生虫学实验是寄生虫学的重要组成部分,不仅能推动本学科的发展,而且生命科学的许多重要发现、发明和理论也证实其在生命科学教学和科研中起着十分重要的作用。多年来的教学实践使我们体会到,实验教学是培养创新型人才的重要环节。随着实验教学模式的改革,我们对实验教学的内容也进行了改革,在保留以经典验证性实验为基础的原则上,新添了综合性与设计创新性实验,强化了实验教学的实践和创新作用。本书结合我校教学、科研改革的实际,也融入多所兄弟院校的相关教学、科研成果,体现其实用性和创新性,主要内容包括以下3个部分。

(1) 经典验证性实验:通过对人体寄生虫学实验标本的观察,以巩固理论知识和培养学生的实践动手能力。

(2) 综合性实验:融合了人体寄生虫学及其相关学科知识,结合科研而设计的一些实践性实验,以培养学生综合运用所学知识、分析和解决实际问题的能力。

(3) 设计创新性实验:根据基础医学科研和临床医学实践的实际需要,由教师提出问题,并在教师引导下由学生自行设计和完成的一些实验,以培养学生的创新能力。

综合性与设计创新性实验是综合运用寄生虫学实验的基本知识、基本方法和基本技能,解决实际问题的能力的具体体现。对于刚接触寄生虫学知识的学生来说,具有一定的难度。因此,本教材仍以经典验证性实验为主要内容,适当增加一些综合性和设计创新性实验,在确保学生对基本知识、基本方法和基本技能方面得到比较系统的学习和训练的基础上,初步培养学生设计实验的意识和能力,营造科研创新的氛围。

本教材可供基础医学、临床医学、预防医学、医学检验、麻醉学、医学影像、护理学、妇幼卫生、卫生检验等专业学生的寄生虫学实验教学使用。各学校可以按照各专业培养特点和要求,结合具体教学内容和实验条件对实验内容进行适当调整。

参加本书编写的所有作者均是长期从事人体寄生虫学实验教学的骨干教师,他们将自身教学实践和心得体会不同程度地渗透在教材的各个章节中,以此奉献给读者,但由于编写时间仓促和编者经验及水平所限,缺点和疏漏在所难免,殷切期盼各位同仁和使用者批评指正。

梁 瑜

2010年2月

目 录

第一篇 经典验证性实验

第一章 医学原虫	(1)
第一节 叶足虫	(1)
一、溶组织内阿米巴	(1)
二、结肠内阿米巴及其他非致病性阿米巴	(4)
三、致病性自由生活阿米巴	(6)
第二节 鞭毛虫	(7)
一、杜氏利什曼原虫	(7)
二、蓝氏贾第鞭毛虫	(10)
三、阴道毛滴虫	(11)
第三节 孢子虫	(13)
一、疟原虫	(13)
二、刚地弓形虫	(19)
三、隐孢子虫	(20)
第四节 纤毛虫	(22)
结肠小袋纤毛虫	(22)
第二章 医学蠕虫	(23)
第一节 吸虫	(23)
一、华支睾吸虫	(23)
二、布氏姜片吸虫	(27)
三、卫氏并殖吸虫和斯氏狸殖吸虫	(29)
四、日本血吸虫	(31)
第二节 绦虫	(39)
一、曼氏迭宫绦虫	(39)
二、猪带绦虫和牛带绦虫	(42)
三、细粒棘球绦虫	(46)
四、其他寄生于人体的绦虫	(48)
第三节 线虫	(50)
一、似蚓蛔线虫	(50)
二、毛首鞭形线虫	(54)
三、蠕形住肠线虫	(55)
四、十二指肠钩虫和美洲钩虫	(57)
五、旋毛形线虫	(59)

六、班氏丝虫和马来丝虫	(60)
七、其他寄生于人体的线虫	(63)
第三章 医学节肢动物	(66)
第一节 昆虫纲	(66)
一、蚊	(66)
二、蝇	(69)
三、蚤	(72)
四、虱	(73)
第二节 蛛形纲	(74)
一、蜱	(74)
二、螨	(76)

第二篇 综合性实验

第四章 医学原虫	(78)
第一节 人体感染齿龈内阿米巴和口腔毛滴虫的检查	(78)
第二节 荧光染色法检测阴道毛滴虫	(79)
第三节 鼠疟原虫的人工感染	(80)
第四节 弓形虫的病原学和免疫学检查	(81)
第五章 医学蠕虫	(83)
第一节 华支睾吸虫病动物模型的建立	(83)
第二节 肺吸虫病动物模型的建立	(84)
第三节 日本血吸虫感染的免疫学检查	(85)
第四节 蛙肉内裂头蚴的检查与接种	(88)
第五节 蛔虫生活史过程的验证	(89)
第六节 旋毛虫病的人工感染和免疫学检查	(91)
第七节 马来丝虫幼虫在中间宿主体内的发育	(94)
第六章 医学节肢动物	(96)
第一节 蚊成虫及幼虫标本的采集与保存	(96)
第二节 人体感染蠕形螨的检查	(97)

第三篇 设计创新性实验

第七章 医学原虫	(99)
第一节 溶组织内阿米巴病的 PCR 诊断	(99)
第二节 阴道毛滴虫的药敏试验	(100)
第八章 医学蠕虫	(103)
第一节 日本血吸虫病动物模型的建立、解剖及病理变化观察	(103)
第二节 学龄前儿童蛲虫病的现场调查	(104)
第三节 市售蔬菜土源性线虫卵与幼虫污染调查	(105)

第九章 医学节肢动物·····	(107)
第一节 家蝇幼虫抗菌物的提取及抑菌试验·····	(107)
第二节 高校学生宿舍内尘螨污染状况的现场调查·····	(108)

第四篇 寄生虫学常用实验技术与方法

第十章 常用试剂的配制·····	(110)
第一节 常用标本固定液的配制·····	(110)
一、单纯固定液·····	(110)
二、复合固定液·····	(112)
第二节 常用标本染色剂的配制·····	(114)
第十一章 寄生虫病实验诊断技术·····	(120)
第一节 病原学实验诊断技术·····	(120)
一、粪便检查·····	(120)
二、血液检查·····	(126)
三、其他排泄物与分泌物的检查·····	(128)
四、其他器官组织检查·····	(129)
第二节 免疫学实验诊断技术·····	(131)
一、皮内试验·····	(131)
二、染色试验·····	(131)
三、环卵沉淀试验·····	(132)
四、间接血凝试验·····	(132)
五、对流免疫电泳试验·····	(133)
六、免疫荧光法·····	(133)
七、酶联免疫吸附试验(ELISA)·····	(134)
八、斑点 ELISA·····	(135)
九、免疫酶染色试验(IEST)·····	(135)
附 录·····	(137)
附录一 寄生虫标本的类别与实验观察方法·····	(137)
一、寄生虫标本的类别与观察方法·····	(137)
二、实验技术操作·····	(138)
三、电化教学设备·····	(138)
附录二 寄生虫学实验报告绘图要求·····	(138)
附录三 医学蠕虫和医学原虫实验标本总复习·····	(139)
一、肉眼观察标本·····	(139)
二、显微镜观察玻片标本·····	(140)

彩图

第一篇 经典验证性实验

第一章 医学原虫

第一节 叶足虫

一、溶组织内阿米巴

溶组织内阿米巴(*Entamoeba histolytica*)寄生于人体肠道和其他器官,侵入宿主组织,引起肠内、肠外阿米巴病,感染阶段是四核成熟包囊(cyst),致病阶段是滋养体(trophozoite)。溶组织内阿米巴感染期包囊经口摄入后,在肠道内酶的作用下,包囊内虫体活动并脱囊而出。四核虫体经分裂后发育为8个滋养体,随即在结肠上端摄食细菌并进行二分裂增殖。在肠内下移过程中,受到环境变化的影响,虫体变圆,分泌成囊物质形成包囊,随粪便排出。包囊在外界潮湿环境中可存活并保持感染性数日至1个月,但在干燥环境中易死亡。滋养体可侵入肠黏膜,吞噬红细胞,破坏肠壁引起肠壁溃疡;也可随血流进入其他组织或器官,引起肠外阿米巴病(extraintestinal amoebiasis)。随坏死组织脱落进入肠腔的滋养体可随粪便排出体外,在外界环境中存活时间很短。

溶组织内阿米巴病原学检查注意事项:取脓血粪便、痰液、脓液,或用乙状结肠镜检、直肠窥镜取肠黏膜溃疡边缘活组织或刮取物,做直接涂片查组织型滋养体;取稀便做涂片查肠腔型滋养体;取成形粪便离心沉淀查包囊。做滋养体检查时应注意,快送快检,一般在30min内完成;冬天应注意保温,必要时可用保温台保持温度,或先将载玻片和生理盐水略加温,使滋养体保持活动状态;避免尿液污染粪便,便于观察到活的虫体;盛装标本的容器要干净、干燥且不含任何化学药品。

溶组织内阿米巴临床诊断要点为:每份标本至少检查3次,以免漏诊;通过直接粪检(生理盐水涂片法和碘液染色法)不能确诊的标本,必须用铁苏木素染色等方法加以鉴别;血清学检查作为辅助性诊断方法,在肠阿米巴病人中抗体未必都是阳性,而在肠外阿米巴病人中抗体阳性率高。

【实验目的】

- (1) 掌握溶组织内阿米巴滋养体及包囊的形态结构特征。
- (2) 掌握溶组织内阿米巴滋养体的活动方式。
- (3) 掌握碘液染色方法。
- (4) 熟悉溶组织内阿米巴滋养体的培养方法。

【实验内容】

1. 实验观察内容

- (1) 观察溶组织内阿米巴滋养体和包囊的形态。

(2) 观察溶组织内阿米巴滋养体的运动方式。

2. 实验操作内容

(1) 溶组织内阿米巴滋养体生理盐水涂片法。

(2) 溶组织内阿米巴包囊碘液涂片法。

(3) 溶组织内阿米巴的培养。

【实验观察】

1. 滋养体

(1) 铁苏木素染色标本:阿米巴痢疾病人黏液血便涂片,经铁苏木素染色(iron hematoxylin stain)的玻片标本。先在低倍镜下找到清晰均匀的界面,换高倍镜查找,发现疑似虫体(蓝黑色、边界分明的圆形或椭圆形小体,外围有一空白圈)后仔细观察。若有较清晰的泡状核,内质中有若干个被吞噬的红细胞(黑色点状),则证明已找到滋养体。将其移向视野中央,并在载玻片上滴加镜油1滴,转换油镜观察。此时只可用细螺旋调节器纠正焦距,切不可用粗螺旋调节器,否则容易损坏镜头和标本。

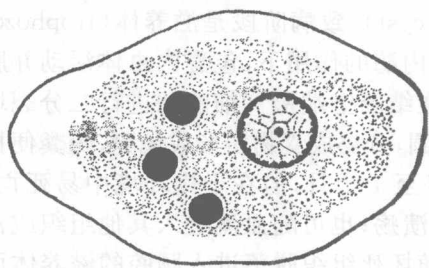


图 1-1 溶组织内阿米巴滋养体

滋养体形状多变,多为圆形或椭圆形,虫体直径一般为 $20\sim 40\mu\text{m}$ 。经铁苏木素染色后,呈蓝灰色。外质(ectoplasm)无色透明,不很清晰,伪足不明显或不易看到,如有伪足(舌状或指状),则在伪足处外质最明显;内质(endoplasm)为蓝黑色的颗粒状,颗粒细小、均匀,食物泡中含有圆形、大小不等、被染成墨黑色的红细胞(erythrocyte)。衰老的滋养体内质中可出现空泡(vacuole)。核(nucleus)1个,圆形,呈

泡状,核膜(nuclear membrane)内缘有大小一致、排列整齐的核周染粒;核仁(karyosome)1个,小而圆,亦呈黑色,多位于核中央,也可略偏位(图 1-1)。

(2) 活体标本:此标本取自体外培养悬液,置低倍镜和高倍镜下观察,不可用油镜观察。因虫体无色透明,故视野光线不宜太强。观察要及时,冬天注意保温(可把标本放在保温台上观察)。注意观察滋养体的结构及运动形式。

活动的阿米巴滋养体一般源于有菌或无菌培养。若有菌培养的虫体,虫体透明,呈圆形或卵圆形,大小为 $10\sim 30\mu\text{m}$,转高倍镜后见虫体运动缓慢,运动时外质伸出叶状或舌状伪足(pseudopodium),内质流入伪足,虫体形态随之而变,即为阿米巴运动。内质颗粒状,食物泡内含细菌或淀粉颗粒(勿认为是红细胞或细胞核),细胞核不易见到。若无菌培养的虫体,内质颗粒状,外质不断伸出形成伪足,运动较快,隐约可见1个以上的核,但核内结构不清。

2. 包囊

(1) 铁苏木素染色标本:采自慢性感染者或带虫者的成形粪便涂片,经铁苏木素染色的玻片标本。先在低倍镜下找到清晰均匀的界面,换高倍镜查找,发现疑似虫体(蓝黑色、边界分明的圆形小体,外围有一空白圈)后,将其移向视野中央,并在载玻片上滴加镜油1滴,转换油镜观察。

1) 形状与颜色:圆球形,直径约 $10\sim 20\mu\text{m}$;包囊经铁苏木素染色后呈蓝灰色,囊壁很薄,不着色。

2) 细胞核:囊内可见1~4个泡状核(图 1-2)。单核包囊的核较大,结构较清晰,与滋养体的核相似。成熟包囊有4个核,核较小,有的只能见到核的轮廓。



图 1-2 溶组织内阿米巴包囊

3) 囊内容物: 未成熟包囊胞质内可见深黑色、两端钝圆的棒状拟染色体(chromatoid body), 一般为1~3个, 以及空泡状的糖原泡(glycogen vacuole)。四核成熟包囊一般见不到拟染色体和糖原泡。

观察时应注意: 包囊是一个立体结构, 细胞核、拟染色体、糖原泡可能不在同一焦距出现, 应正确使用显微镜细螺旋调节器, 在不同层面观察包囊的内部结构和计数全部核数目。

(2) 碘液染色标本: 吸取1~2滴保存的包囊悬液, 滴于载玻片上, 经碘液染色后进行观察。包囊呈圆球状, 直径为10~20 μm , 因碘液染色呈棕黄色, 内部结构需用高倍镜观察, 切勿用油镜观察。囊壁薄而透明(发亮), 细胞核1~4个, 不着色, 呈小亮圈状, 核内有一亮点状核仁。糖原泡被染成棕红色, 但边缘模糊。拟染色体不着色, 呈透明的棒状或点状。

观察包囊时必须与人酵母菌和脂肪滴相鉴别: 人酵母菌形状大小不同, 内有较大的空泡; 脂肪滴反光性强, 不着色, 内无任何结构。

3. 病理标本

(1) 阿米巴痢疾肠病理标本: 10%甲醛浸制, 瓶装标本, 肉眼观察。溶组织内阿米巴滋养体侵入肠黏膜下层繁殖, 破坏肠黏膜, 形成口小底大的烧瓶状溃疡。溃疡底部向四周扩展, 使相邻溃疡底部互通形成隧道。肠黏膜上可见多个开口小的溃疡面, 偶见黏膜破絮状大片坏死。

(2) 阿米巴肝脓肿病理标本: 10%甲醛浸制, 瓶装标本, 肉眼观察。溶组织内阿米巴滋养体随血流经门静脉进入肝脏, 引起肝组织坏死、液化, 形成脓肿。脓肿常为单个。大的脓肿可见明显的脓肿壁, 为纤维组织所形成, 脓腔内有未被溶解的结缔组织, 形成肝组织支持架, 呈带状贯通脓腔中间。

【实验操作】

1. 滋养体生理盐水直接涂片法

(1) 实验材料: 载玻片、盖玻片、竹签和生理盐水。

(2) 操作方法: 在洁净的载玻片中央, 滴生理盐水1滴, 用竹签取火柴头大小的黏液血便, 在生理盐水中混匀, 摊开呈薄膜状。一般在低倍镜下检查, 如发现可疑物再转高倍镜观察。

检查滋养体时应与宿主组织细胞相鉴别。区别要点如下: 溶组织内阿米巴滋养体大于宿主细胞; 虫体胞核与胞质大小比例低于宿主细胞; 滋养体呈泡状核, 核仁居中, 核周染粒清晰; 滋养体胞质中可含有红细胞和组织碎片。此外还应注意区分滋养体与中性粒细胞。

2. 包囊碘液染色涂片法

(1) 实验材料: 载玻片、盖玻片、卢戈碘液、竹签和吸水纸。

(2) 卢戈碘液配方:碘化钾 4g、碘 2g、蒸馏水 100ml。

(3) 操作方法:取 1 滴卢戈碘液加于载玻片中央,挑取米粒大小的粪便置于碘液中,调匀涂片,厚度以透过涂片约可看清书上的字迹为宜。盖上盖玻片,用吸水纸吸去多余溢出的液体,置于低倍镜下观察,见圆球形小体,再转高倍镜(不可用油镜)观察包囊的结构特点。

(4) 注意事项:碘液不宜太多太浓,否则着色过深,粪便凝成团块,包囊折光降低且结构不易看清,不利于观察。

3. 溶组织内阿米巴培养 当受检者临床表现和体征疑为阿米巴病,而病原学检查为阴性时,可采用人工培养进一步确诊,以便及时针对病因进行治疗。

常用培养基:营养琼脂双相培养基、Locke 液鸡蛋血清培养基、鸡蛋斜面培养基、血清斜面培养基。这里以血清斜面培养基为例,简单介绍溶组织内阿米巴的培养。

(1) 实验材料:无菌血清、消毒米粉、培养管、接种棒、吸管、温箱、烤箱、载玻片、盖玻片和盖液。

(2) 培养液配制:分液相和固相两部分。

液相部分(盖液):蛋白胨 1g,氯化钠 0.5g,蒸馏水 100ml,55kPa 灭菌 20min 待用。

固相部分(血清斜面):将 4 ml 无菌血清分装到培养管中,放入烤箱内(使试管倾斜),加热到 90℃,1h 后即制成斜面。

取出固相部分,接种前每管加液相部分 4~5ml,再加少许消毒米粉和青霉素、链霉素各 1000 U/ml。

(3) 操作方法:用接种棒取被检者黏液血便少许,接种到培养管里与液相部分混匀,置 37℃ 温箱中培养,于 24h、48h、72h 取沉淀镜检有无阿米巴生长。

(4) 结果观察:若粪便中含有溶组织内阿米巴滋养体,镜检时则可见做阿米巴运动的活滋养体。

(5) 注意事项:制作斜面使用的血清一定要严格无菌;加热温度不能超过 90℃,否则血清会被烤焦不能使用;若培养后的镜检物中无滋养体,需再次检查,以免漏诊。

【作业与思考题】

(1) 课堂作业:用普通铅笔绘溶组织内阿米巴滋养体和包囊的黑白点线图(铁苏木素染色标本),显示其在油镜下所见特征,并注明结构名称、放大倍数和染色方法。

(2) 课后思考题:溶组织阿米巴致病机制是什么?如何进行诊断?

二、结肠内阿米巴及其他非致病性阿米巴

寄生于人体消化道的阿米巴除溶组织内阿米巴外,其余均为腔道共栖原虫,一般不侵入人体组织,但在重度感染或宿主免疫力低下时,也可引起不同程度的黏膜浅表炎症,合并细菌感染时可引起腹泻或肠功能紊乱。

结肠内阿米巴(*Entamoeba coli*)寄生于结肠,不侵入组织,亦无临床症状,常与溶组织内阿米巴共同存在,其形态与溶组织内阿米巴非常相似。

【实验目的】

(1) 掌握结肠内阿米巴滋养体及包囊的形态结构特征。

(2) 掌握结肠内阿米巴与溶组织内阿米巴滋养体及包囊的形态区别。

(3) 了解其他非致病性阿米巴滋养体及包囊的形态特征。

【实验内容】

- (1) 观察结肠内阿米巴滋养体和包囊的形态。
- (2) 制作和观察结肠内阿米巴碘液染色包囊。
- (3) 观察布氏嗜碘阿米巴和微小内蜒阿米巴包囊。
- (4) 制作和观察齿龈内阿米巴滋养体。

【实验观察】

1. 结肠内阿米巴滋养体 粪便涂片,铁苏木素染色,观察方法同溶组织内阿米巴。

(1) 外形:略大于溶组织内阿米巴滋养体,直径约20~50 μm 。

(2) 细胞质:外质不分明,内质中食物泡(food vacuole)内含有被吞噬的细菌、淀粉粒(starch granule)等,不含红细胞。

(3) 细胞核:较溶组织内阿米巴大,核仁粗大,多偏位;核周染粒粗大,且大小及分布不均匀(图1-3)。

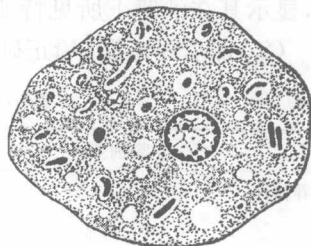


图1-3 结肠内阿米巴滋养体

2. 结肠内阿米巴包囊

(1) 铁苏木素染色标本:粪便涂片,先找到包囊(方法同溶组织内阿米巴),转油镜观察。

1) 外形与颜色:圆球状,蓝黑色,略大于溶组织内阿米巴包囊。

2) 细胞核:1~8个,4核以上多见,核的结构与滋养体的核相同。

3) 囊内容物:未成熟包囊可见空泡状的糖原泡;拟染色体偶见,常不清晰,似碎片状或草束状,两端尖细不整。

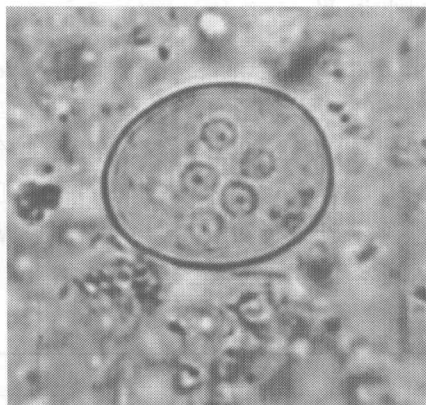


图1-4 结肠内阿米巴包囊(碘染色)

(2) 碘液染色涂片:吸取1~2滴保存的包囊悬液,滴于载玻片上,经碘液染色后进行观察(方法同溶组织内阿米巴)。圆球形,直径约10~35 μm ;棕黄色,囊壁和核膜不着色;胞核较清楚,1~8个(图1-4,彩图1-1),成熟包囊为8个核,偶有超过8个者;未成熟包囊的糖原泡较大,棕黄色;拟染色体呈草束状或碎片状,不着色。

3. 布氏嗜碘阿米巴滋养体 粪便涂片,铁苏木素染色。直径8~20 μm ,伪足较宽大;食物泡内含有细菌和有机质碎屑物,不吞噬红细胞。核膜染色浅,核周染粒较小,核仁粗大,周围有一层几乎无色的颗粒状结构,中心位或稍偏心位。

4. 布氏嗜碘阿米巴包囊 粪便涂片,碘液染色标本。比溶组织内阿米巴包囊略小,呈椭圆形、梨形或不规则椭圆形,染成黄色。无拟染色体,糖原泡1~2个,经碘液染色后多呈棕色,边界极清晰(此特点为鉴定本虫的重要依据)。细胞核1个,被挤于一侧;核仁呈亮点状,核内染色质粒聚于一侧呈新月状。

5. 微小内蜒阿米巴滋养体 粪便涂片,铁苏木素染色标本。直径为6~12 μm ,食物泡内含有细菌和有机质碎屑物;核型特殊,核仁大而形状不规则,占核直径的1/3~1/2,无核周染粒。

6. 微小内蜒阿米巴包囊 粪便涂片,碘液染色。比溶组织内阿米巴包囊略小,平均

9 μm ,染成黄色;偶见形状不一的棕色糖原泡,无拟染色体;核1~4个,4核包囊为成熟包囊,核仁粗大、清晰。

7. 齿龈内阿米巴滋养体 生活史中只有滋养体时期,寄生于齿龈组织内,常与齿龈的化脓感染并存。用牙签取少许牙垢做生理盐水涂片,观察有无齿龈内阿米巴感染。滋养体直径5~15 μm ,内外质分明,活动频繁,食物泡内含细菌、白细胞等,偶见红细胞。

【作业与思考题】

(1) 课堂作业:用普通铅笔绘结肠内阿米巴滋养体及包囊(铁苏木素染色)的黑白点线图,显示其在油镜下所见特征,并注明结构名称、放大倍数和染色方法。

(2) 课后思考题:请正确填写表1-1。

表 1-1 溶组织内阿米巴与结肠内阿米巴形态区别

	鉴别要点	溶组织内阿米巴	结肠内阿米巴
滋养体	大小		
	内、外质		
	吞噬物		
包囊	泡状核		
	大小		
	囊内容物		
	泡状核		

三、致病性自由生活阿米巴

致病性自由生活阿米巴(pathogenic free-living amoebae)以福氏耐格里阿米巴(*Naegleria fowleri*)和卡氏棘阿米巴(*Acanthamoeba Castellanii*)多见,存在于污水体、游泳池或土壤中。福氏耐格里阿米巴的感染方式主要是接触污染水体,原虫自鼻腔侵入至中枢神经系统,引发原发性阿米巴脑膜脑炎,诊断时可取脑脊液涂片检查有无阿米巴;卡氏棘阿米巴可经呼吸道或皮肤侵入,由血行播散至脑,引起肉芽肿性阿米巴脑炎;角膜接触污水或佩戴不洁隐形眼镜可致阿米巴角膜炎。两种致病性自由生活阿米巴的比较见下表(表1-2)。

表 1-2 耐格里属阿米巴和棘阿米巴属阿米巴的比较

特征	耐格里属	棘阿米巴属
滋养体	分阿米巴型和鞭毛型,直径为10~35 μm ,阿米巴型有叶状伪足	直径15~45 μm ,无鞭毛,有细小的棘状伪足
包囊	圆形,直径7~10 μm ,内壁光滑,不存在于组织中	圆形,直径9~27 μm ,外壁有皱纹,内壁光滑但呈多形性,可存在于组织中
可生长的培养基	必须与细菌或细胞共同生长,在浓度大于0.4%NaCl条件下不能生长	可以无需细菌而培养,0.8%NaCl不影响其生长

【实验目的】

- (1) 熟悉福氏耐格里阿米巴滋养体和包囊的形态特征。
- (2) 熟悉卡氏棘阿米巴滋养体和包囊的形态特征。