

普通高等教育“十一五”国家级规划教材配套实验教材
全国高等医药院校规划教材

供临床、预防、基础、口腔、麻醉、影像、药学、检验、护理、法医等专业使用

医学寄生虫学实验教程

第3版

主编 殷国荣



科学出版社

普通高等教育“十一五”国家级规划教材配套实验教材
全国高等医药院校规划教材

供临床、预防、基础、口腔、麻醉、影像、药学、检验、护理、法医等专业使用

医学寄生虫学实验教程

第3版

主 编 殷国荣

副主编 (按姓氏笔画排序)

王春梅 李晓霞 杨晓红 张 军 崔 昱

编 委 (按姓氏笔画排序)

王花欣 山东中医药大学
王春梅 南方医科大学
申金雁 山西医科大学
司开卫 西安交通大学
刘红丽 山西医科大学
李 珀 山西医科大学
李晋川 成都医学院
李晓霞 泰山医学院

杨晓红 山西职工医学院
何深一 山东大学
张 军 河南大学
殷国荣 山西医科大学
崔 昱 大连医科大学
崔 晶 郑州大学
董惠芬 武汉大学

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

本实验教程为普通高等教育“十一五”国家级规划教材《医学寄生虫学》第4版(2014)的配套教材,也适于与本学科其他版本教材配套使用。全书分为4篇:实验总则、医学蠕虫、医学原虫和医学节肢动物。依据高等医学院校五年制和长学制培养计划,重点描述了60余种严重危害人类健康的常见寄生虫和重要病媒节肢动物的形态学,详细介绍了实验诊断常用操作技术。全书彩印,有拍摄实体标本的寄生虫形态学彩色照片130余幅,形态逼真,图文并茂,附有医学节肢动物检索图4幅,可满足实验教学。

本教材既适合于高等医学院校五年制各专业和长学制临床医学生使用,也可作为专业教师、医护人员、疾病控制和科研工作者的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

医学寄生虫学实验教程 / 殷国荣主编. —3版. —北京:科学出版社, 2014.8

普通高等教育“十一五”国家级规划教材配套实验教材·全国高等医药院校规划教材

ISBN 978-7-03-040860-0

I. 医… II. 殷… III. 医学-寄生虫学-实验-医学院校-教学参考资料 IV. R38-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第117945号

责任编辑:周万灏 / 责任校对:胡小洁

责任印制:肖 兴 / 封面设计:范璧合

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>

北京天时印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2004年1月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2014年8月第 三 版 印张:8 1/2

2014年8月第十一次印刷 字数:201 000

定价:35.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

第3版前言

掌握寄生虫的形态和寄生虫病的实验诊断技术是医学寄生虫学教学的基本目标,实验教学是达到这一目标的惟一手段,而实验教材是实现此目标的关键因素。所以,各院校非常注重实验教学的效果和教材的编写与选用。目前,仍有一些院校使用自编的实验教材,虽其原因有多种,但缺乏适合的实验教材是其重要原因。

为满足实验教学需要,2004年我们编写了本实验教程第1版,并附有70余幅寄生虫形态的照片,虽做到了图文并茂,但由于是黑白插图,学生上课时仍需借助于彩色图谱。鉴于此,2007年本实验教程的第2版采用全书彩印,附有120余幅寄生虫形态学彩色照片,收到良好教学效果,深受师生好评。

本次修订,将《医学寄生虫学实验指导》更名为《医学寄生虫学实验教程》,在保持第2版的基本内容和结构体系的基础上,将内容分为13个连续的单元,顺序编入实验总则、医学蠕虫、医学原虫和医学节肢动物4篇中。本版仍遵循三基(基本理论、基本知识和基本技能)、五性(思想性、科学性、先进性、启发性和适用性)的基本原则,重点描述了常见寄生虫的形态学和病原学检查、免疫学检验及寄生虫培养技术。特别是全部寄生虫采用实物标本拍摄的彩色照片,与实验课观察的标本色彩一致。这些实物照片与《医学寄生虫学》教材中的插图、示意图相辅相成,可使学生在实验中快速、准确地识别标本。本版更新和增加了部分寄生虫标本彩图,达到130余幅;附有寄生虫生活史图解、虫卵形态比较、粪便中常见非寄生虫物质、节肢动物检索等插图和表,丰富了本教程内容。

本教程由12所院校具有丰富教学经验的教授、副教授和高级实验师等共同执笔,全体编写人员付出了艰辛的努力;吴观陵、卢思奇、吴中兴等资深教授对本教程提出了许多宝贵建议与意见;科学出版社为本书付梓做了大量工作。谨此表示诚挚的感谢。

诚然,我们的初衷是使本书成为既有形象和可操作性的文字描述,又有逼真的寄生虫彩图的实验教材。但由于本书的内容涉及面较广,错误和纰漏在所难免,敬祈广大读者批评指正,以便在重印和再版时纠正。

殷国荣

2014年5月28日

目 录

第1篇 实验总则	(1)
第1单元 实验总则	(1)
一、实验规则与注意事项	(1)
二、实验的进行程序与要求	(2)
三、光学显微镜的使用与维护	(2)
四、显微测微尺的使用	(5)
五、寄生虫标本的类别与实验方法	(6)
六、实验报告绘图要求	(7)
第2单元 寄生虫标本的采集与保存	(9)
一、粪便的采集与保存	(9)
二、标本的转送与邮寄	(11)
第2篇 医学蠕虫 Medical helminth	(12)
第3单元 医学蠕虫概论	(12)
第4单元 线虫 Nematode	(15)
一、似蚓蛔线虫 <i>Ascaris lumbricoides</i> (蛔虫 roundworm)	(15)
二、毛首鞭形线虫 <i>Trichuris trichiura</i> (鞭虫 whipworm)	(20)
三、十二指肠钩口线虫(十二指肠钩虫) <i>Ancylostoma duodenale</i> 美洲板口线虫(美洲钩虫) <i>Necator americanus</i>	(22)
四、蠕形住肠线虫 <i>Enterobius vermicularis</i> (蛲虫 pinworm)	(26)
五、班氏吴策线虫(班氏丝虫) <i>Wuchereria bancrofti</i> 马来布鲁线虫 (马来丝虫) <i>Brugia malayi</i> ...	(28)
六、粪类圆线虫 <i>Strongyloides stercoralis</i>	(31)
七、旋毛形线虫(旋毛虫) <i>Trichinella spiralis</i>	(33)
八、广州管圆线虫 <i>Angiostrongylus cantonensis</i>	(36)
九、结膜吸吮线虫 <i>Thelazia callipaeda</i>	(38)
十、美丽筒线虫 <i>Gongylonema pulchrum</i>	(39)
第5单元 吸虫 Trematode	(41)
一、华支睾吸虫 <i>Clonorchis sinensis</i>	(42)
二、布氏姜片吸虫 <i>Fasciolopsis buski</i>	(45)
三、卫氏并殖吸虫 <i>Paragonimus westermani</i>	(47)
四、斯氏并殖吸虫 <i>Paragonimus skrjabini</i>	(50)
五、日本血吸虫 <i>Schistosoma japonicum</i>	(51)
第6单元 绦虫 Cestode	(59)
一、链状带绦虫 <i>Taenia solium</i> (猪带绦虫、猪肉绦虫、有钩绦虫)	(59)
二、肥胖带绦虫 <i>Taenia saginata</i> (牛带绦虫、牛肉绦虫、无钩绦虫)	(62)
三、细粒棘球绦虫(包生绦虫) <i>Echinococcus granulosus</i>	(65)

四、多房棘球绦虫 <i>Echinococcus multilocularis</i> (泡状棘球绦虫)	(69)
五、微小膜壳绦虫(短膜壳绦虫) <i>Hymenolepis nana</i>	(71)
六、曼氏迭宫绦虫(孟氏裂头绦虫) <i>Spirometra mansoni</i>	(73)
第7单元 棘头虫 <i>Acanthocephala</i>	(77)
猪巨吻棘头虫 <i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i>	(77)
第3篇 医学原虫 Medical protozoa	(79)
第8单元 阿米巴 <i>Amoeba</i>	(79)
一、溶组织内阿米巴 <i>Entamoeba histolytica</i>	(79)
二、消化道其他阿米巴	(84)
第9单元 鞭毛虫 <i>Flagellate</i>	(88)
一、杜氏利什曼原虫 <i>Leishmania donovani</i>	(88)
二、锥虫 <i>Trypanosome</i>	(90)
三、蓝氏贾第鞭毛虫 <i>Giardia lamblia</i>	(92)
四、阴道毛滴虫 <i>Trichomonas vaginalis</i>	(94)
第10单元 孢子虫 <i>Sporozoa</i>	(96)
一、疟原虫 <i>Plasmodium</i>	(96)
二、刚地弓形虫 <i>Toxoplasma gondii</i>	(101)
三、隐孢子虫 <i>Cryptosporidium</i>	(104)
第11单元 纤毛虫 <i>Ciliate</i>	(105)
结肠小袋纤毛虫 <i>Balantidium coli</i>	(105)
第4篇 医学节肢动物 Medical arthropod	(107)
第12单元 医学昆虫 <i>Medical insect</i>	(107)
一、蚊 <i>Mosquito</i>	(107)
二、蝇 <i>Fly</i>	(110)
三、白蛉 <i>Sand fly</i>	(112)
四、蚤 <i>Flea</i>	(115)
五、虱 <i>Louse</i>	(116)
六、臭虫 <i>Bedbug</i> 、蜚蠊 <i>Cockroach</i>	(118)
第13单元 医学蜱螨 <i>Medical tick and mite</i>	(120)
一、蜱 <i>tick</i>	(120)
二、螨 <i>Mite</i>	(122)
主要参考书目	(126)
附 医学节肢动物检索图	
检索图1 双翅目重要医学昆虫分科检索图	
检索图2 常见重要传病蚊种检索图	
检索图3 常见重要蚤种检索图	
检索图4 重要医学蜱螨检索图	

第1篇 实验总则

实验课是医学寄生虫学教学的重要组成部分,主要为验证性实验。通过实验可以巩固和加深对理论知识的理解,掌握和熟悉寄生虫的形态结构,接受寄生虫学基本实验技能的训练和掌握实验观察的基本方法,培养实事求是的科学态度和独立工作能力,为后续课程打下坚实的基础。

第1单元 实验总则

一、实验规则与注意事项

实验室是供学生进行实验的重要场所。在实验室内,学生通过实物观察和技术操作,进一步理解、巩固和掌握理论课内容,掌握寄生虫检验、鉴定等基本技能。学生必须遵守实验室的有关规章制度。

(1) 每位学生必须严格遵守实验室规则。不得迟到、早退或无故缺席,有病或有事应向任课教师请假。

(2) 在实验室内不做与实验无关的事情。应保持肃静,保证实验室的良好秩序。实验过程中如有问题,应举手后再询问,不得高声呼叫、谈笑、喧哗或随意走动。

(3) 实验前,要认真检查所用仪器、器材、标本等是否完好、齐全,如有缺损应及时向教师报告,不得随意调换仪器、标本等。

(4) 操作时,按实验教程逐项进行。仔细观察标本,做好记录,充分了解观察物的特点。肉眼观察的大体示教标本,不要随意移动。镜下示教标本,只在必要时,调节光源和微调焦钮,以免所示标本移位,影响其他学生观察。

(5) 注意节约,爱护设备和器材,不得随意摆弄室内仪器设备。爱惜标本,标本损坏应及时报告。

(6) 注意安全,保护环境。使用危险品或感染性病原体时,应严格按照操作规程进行,并注意防护。严禁随意丢弃感染性病原体或含有病原体的物品、动物尸体及排泄物等。

(7) 保持实验室整洁,禁止随地吐痰,禁止吸烟,禁止饮食。实验完毕后,学生应将实验台清理整洁,检查标本、器材,并按原位放好或送还标本室,如有遗失或损坏,应及时报告教师。每次实验结束,值日学生应做好实验室清洁,关好门、窗、水、电后再离开。

(8) 发生事故,应及时报告。发生重大事故时,应及时抢救受伤人员,尽力阻止事故扩大,并保护好事故现场。

二、实验的进行程序与要求

(1) 预习:在课前,应认真预习实验教程以及教材的有关章节,必须对该次实验的内容、目的与要求、操作方法有一定的了解。

(2) 观看录像:一般在每次实验开始,先看录像,以便对实验内容有概括了解。

(3) 讲解:教师一般仅对该实验内容的安排及注意事项进行讲解,让学生有充分的时间按实验教程的要求进行独立操作与观察。

(4) 独立操作与观察:由学生独立进行操作和观察。在实验中要按实验教程认真操作,仔细观察,做好记录。有关基本技能的训练,要按操作程序反复练习,以达到一定的熟练程度。

(5) 示教:多数实验备有示教内容,其目的是使学生在实验课的有限时间内有获得更多知识的机会。

(6) 实验报告:实验报告必须强调科学性,实事求是地记录、绘制。在实验结束时,由学习委员将实验报告按学号排序,呈交教师。学生应认真阅读教师批改后的实验报告,不断提高实验质量。

(7) 小结:实验结束后,由师生共同小结本次实验的主要收获及今后应注意的问题。

三、光学显微镜的使用与维护

1. 普通光学显微镜的结构

普通光学显微镜由机械部分、照明部分和光学部分组成,其主要结构和部件名称参见图 1-1。

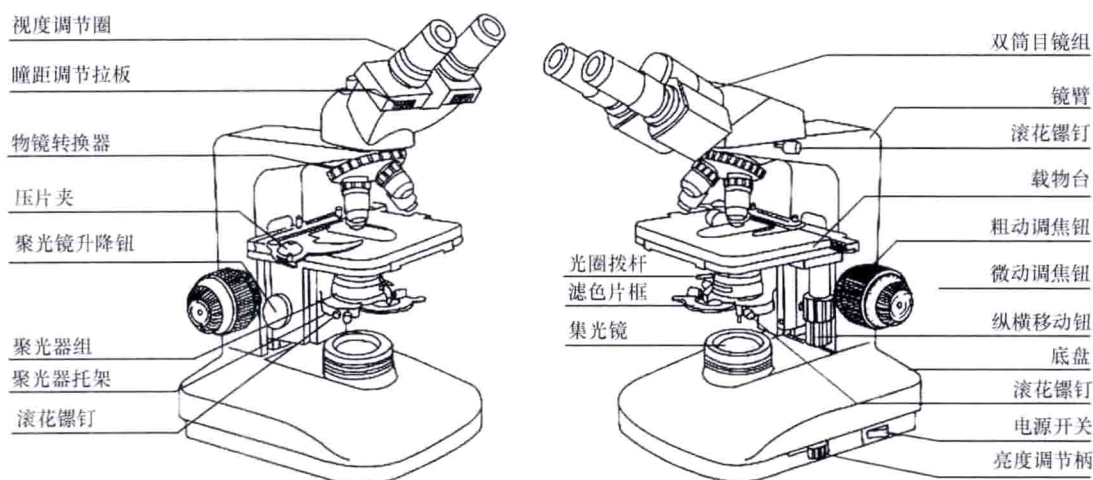


图 1-1 光学显微镜结构示意图

2. 低倍镜的使用方法

(1) 检查:右手握紧镜臂,左手托住底盘,轻轻放在实验桌上。先检查显微镜各部件有无缺损,如发现有损坏或性能不良者,立即报告教师请求处理。

(2) 准备:将显微镜放于操作者前方略偏左侧,转动粗调焦钮,将载物台略下降(或镜筒略升高),使物镜与载物台的距离略拉开。再旋转物镜转换器,将低倍镜对准载物台中央的通光孔(可听到“咔哒”声)。

(3) 对光:打开光圈,上升聚光器,双眼向目镜内观察,同时调节反光镜的方向(电光源显微镜无反光镜,应调节亮度调节柄),直到视野内光线明亮均匀为止。反光镜的平面镜易把其他景物映入视野,一般用凹面镜对光。

(4) 放玻片标本:玻片标本的盖片向上,将玻片标本放到载物台前方,然后推到物镜下面,用压片夹压住,或用弹簧夹夹住,然后把要观察的部分移到通光孔的正中央。

(5) 调节焦距:从显微镜侧面注视物镜镜头,同时旋转粗调焦钮,使载物台缓慢上升(或镜筒下降),当低倍镜头与玻片之间的距离约5mm时,从目镜里观察视野,左手慢慢转动粗调焦钮,直至视野中出现物像为止。如物像不太清晰,可转动细调焦钮,使物像更加清晰。调节焦距时,要认清物镜的放大倍数,不同放大倍数物镜的工作距离不同(图1-2)。

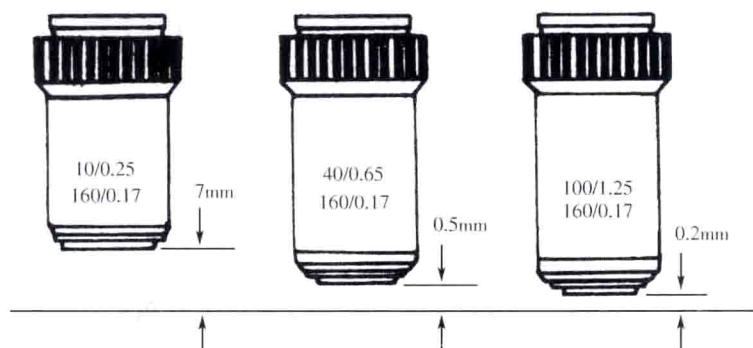


图 1-2 三种物镜及其工作距离

如果按上述操作步骤仍看不到物像,可能由以下原因造成:

- ◆ 转动调焦钮太快,超过焦点,应按上述步骤重新调节焦距。
- ◆ 物镜没有对正,重新对正后再观察。
- ◆ 标本没有放到视野内,应移动标本片,寻找观察对象。
- ◆ 光线太强,尤其观察比较透明的标本或没有染色的标本时,易出现这种现象,应将光线略调暗一些,再观察。在调节光线时,应重视聚光器的重要作用。一般地说,所用物镜的放大倍数越小,聚光器的位置越低。

3. 高倍镜的使用方法

(1) 依照上述操作步骤,先用低倍镜找到清晰物像。

(2) 将需要观察的部分移到视野中央。

(3) 眼睛从侧面注视物镜,用手移动物镜转换器,换高倍镜。

(4) 眼睛向目镜内观察,同时微微上下转动细调焦钮,直至视野内看到清晰的物像为止。

按上述操作仍看不到物像时,可能由下列原因造成:

◆ 拟观察的部分不在视野内,应在低倍镜下寻找到观察目标后,移到视野中央,再换高倍镜观察。

◆ 标本片放反(玻片的物面应向上),应把标本片放正后,再按上述步骤操作。

◆ 焦距调节不准确,应仔细调节焦距。

有的显微镜的高倍镜与低倍镜不够配套,从低倍镜转换至高倍镜时,往往转不过来或撞坏标本(物镜松动时,也有此现象),如遇到这种情况,可把载物台略下降(或镜筒略升高),直接用高倍镜调焦。方法是:从侧面注视物镜,调节粗调焦钮,使高倍镜头下降至与玻片最短距离,再观察目镜视野,慢慢调节细调焦钮,使镜头缓缓上升,直至物像清晰为止。

如需要更换标本时,应该先将载物台下降(或镜筒升高),然后把标本片移到载物台前方,再拨开压片夹,取出玻片。

4. 油镜的使用方法

(1) 先按低倍镜→高倍镜的操作步骤,找到清晰的物像,把要放大观察的部分移到视野中央。调节聚光器上升到最高处,光圈调大。

(2) 将高倍镜移开,在玻片标本的镜检部位滴1滴香柏油,眼睛从侧面注视镜头,轻轻转换油镜,使镜面浸在油滴中。在一般情况下,转过油镜上下微旋转细调焦钮,即可看清物像。如仍看不清,应按上述步骤重新操作。

(3) 油镜使用完毕后,下降载物台(或上升物镜)约10mm,把物镜转到一边,用擦镜纸把镜头擦净。油镜的正确擦拭是:先用干净擦镜纸(通常用双层)擦去镜头上的香柏油,再用蘸少许二甲苯(或乙醚7:乙醇3混合液)的擦镜纸轻擦,再用干净的擦镜纸擦1~2次除去二甲苯。

(4) 封加盖片的玻片标本的擦拭方法同油镜。无盖片的玻片标本,可用拉纸法擦油。方法是:先用1小块擦镜纸覆盖在标本片的油滴上,再滴1滴二甲苯(或乙醚7:乙醇3混合液),平拉擦镜纸,反复几次即可擦净。

5. 显微镜使用的注意事项及维护

(1) 取显微镜时必须右手握紧镜臂,左手托底盘,切勿一手斜提、前后摆动,以防镜头或其他零件跌落。

(2) 观察标本时,显微镜离实验台边缘应保持一定距离(约5cm),以免显微镜翻倒落地。

(3) 使用时要严格按步骤操作,熟悉显微镜各部件性能,掌握粗、细调焦钮的转动方向与载物台或物镜的关系。转动粗调焦钮时,眼睛必须注视物镜头。

(4) 观察带有液体的临时标本时要加盖片,应将显微镜充分放平,以免液体污染镜头和显微镜。

(5) 粗、细调焦钮要配合使用,细调焦钮不能单方向过度旋转。调节焦距时,要从侧面注视物镜下降,以免压坏标本和损坏镜头。

(6) 用单筒显微镜观察标本时,应双眼同时睁开,左眼观察物像,右眼用以绘图。左手调节焦距,右手移动标本或绘图。

(7) 禁止随意拧开或调换目镜、物镜和聚光器等零件。

(8) 显微镜的光学部件不可用手指、纱布、手帕或其他粗糙物擦拭,以免磨损镜面。需要时只能用擦镜纸擦拭。

(9) 凡有腐蚀性和挥发性的化学试剂和药品,如碘、乙醇溶液、酸类、碱类等都不可与显微镜接触,如不慎污染时,应立即擦干净。

(10) 实验完毕,要将标本片取出,用擦镜纸将镜头擦拭干净后移开(通常转换 $4\times$ 物镜于镜下),不能与通光孔相对(把物镜转离聚光器上方)。将电源线收好,放回镜箱。切不可把显微镜放在直射光线下曝晒。

四、显微测微尺的使用

1. 显微测微尺的组成

寄生虫大小的测定,一般用显微测微尺。显微测微尺由目镜测微尺(ocular micrometer)和镜台测微尺(stage micrometer)组成(图 1-3)。

(1) 目镜测微尺:简称目微尺,是 1 块直径 20mm 的圆形玻璃片。它上面有直线刻度或网格式标尺。网格式的目微尺可用来测量物体的体积。

(2) 镜台测微尺:简称台微尺,是 1 块特制的载玻片。其中央镶有 1 个刻度标尺,全长 1mm,共划分成 10 个大格,每个大格又分成 10 个小格,共 100 个小格,每个小格长 0.01mm , ($10\mu\text{m}$),在标尺的外围有 1 个黑色环,利于找到标尺的位置。

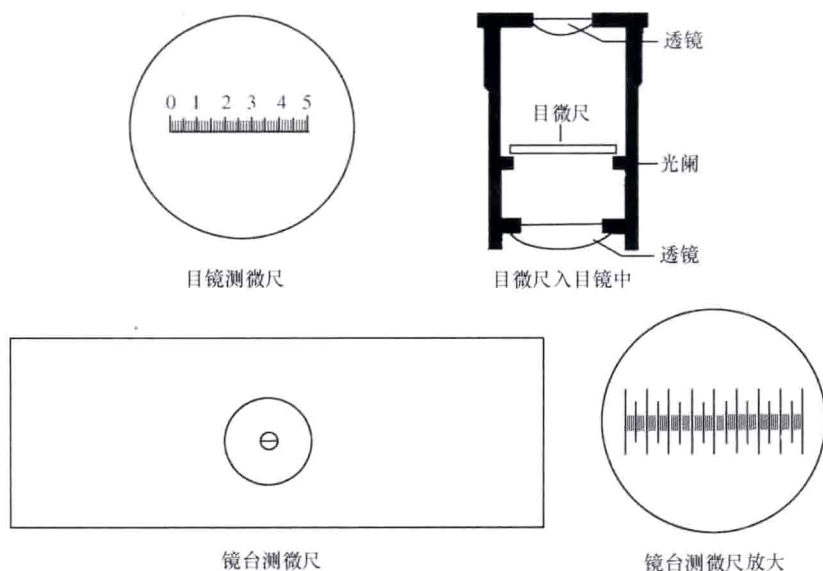


图 1-3 显微测微尺结构示意图

2. 显微测微尺的使用

(1) 测微尺的安放:使用目微尺时,先将目镜从镜筒中抽出,旋去接目透镜,然后将目微尺放在目镜的光阑上。注意应将目微尺上有刻度的一面朝下,再将接目透镜旋上,把目镜插入镜筒,即可进行测量。

(2) 测微尺的标定:在测量标本的长度之前,必须首先对目微尺在不同放大倍数的物镜下进行标定。

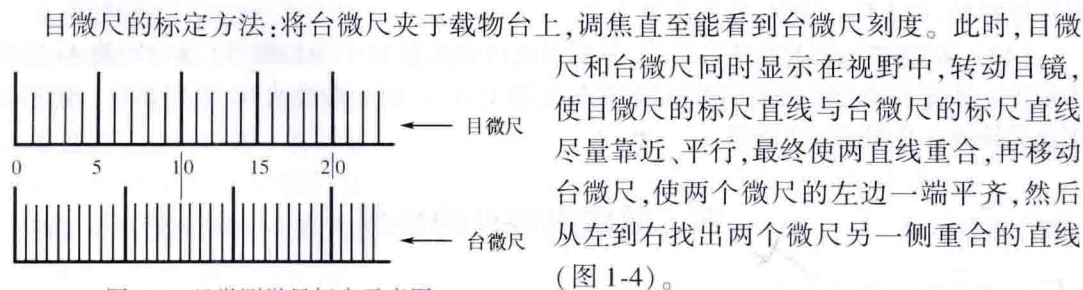


图 1-4 显微测微尺标定示意图

目微尺和台微尺同时显示在视野中,转动目镜,使目微尺的标尺直线与台微尺的标尺直线尽量靠近、平行,最终使两直线重合,再移动台微尺,使两个微尺的左边一端平齐,然后从左到右找出两个微尺另一侧重合的直线(图 1-4)。

分别计数重合线之间台微尺和目微尺各自包含的小格数,根据公式计算出目微尺每个小格的长度(格值)。公式如下:

$$\text{目微尺每格值}(\mu\text{m}) = \frac{\text{台微尺格数}}{\text{目微尺格数}} \times 10$$

公式中“10”表示台微尺每个小格长 $10\mu\text{m}$ 。

例如,目微尺的第 33 格正好与台微尺的第 22 格重合,代入公式

$$\text{目微尺每格值}(\mu\text{m}) = \frac{22}{33} \times 10 = 6.6\mu\text{m}$$

为减少测量误差,应对目微尺的格值测量 3 次,求其平均值。如果更换不同放大率的镜头,必须重新标定目微尺,才能再次测量。标定完成,就可进行测定。

(3) 标本的测量与体积计算:测定时,取下台微尺,换上标本片,记录被检标本占目微尺的格数,然后乘以每个小格代表的长度。

例如,当用低倍镜测出某种寄生虫卵的长度为目微尺的 4 格,而已知每格等于 $6.6\mu\text{m}$ 时,则该虫卵的长度为: $6.6\mu\text{m} \times 4 = 26.4\mu\text{m}$ 。

根据测量结果,也可计算虫体各部分的体积或核质比例(如原虫),公式如下:

◆ 椭圆形:计算式为 $V = 4/3\pi ab^2$ (a 、 b 为长、短半径)。

◆ 圆球形:计算式为 $V = 4/3\pi R^3$ (R 为半径)。

◆ 核质比例:计算式为 $N_p = V_n / (V_c - V_n) = \text{细胞质体积} / \text{细胞核体积}$ (V_c 为细胞体积, V_n 为细胞质体积)。

五、寄生虫标本的类别与实验方法

1. 标本类别与观察方法

寄生虫标本一般分为大体标本(活体标本、甲醛固定标本、浸制标本)、针插标本和玻片标本(包括封片标本和染色标本)。观察时应分别采用不同方法。

(1) 大体标本:主要为较大的寄生虫虫体及其所引起的器官病理标本,可用肉眼或放大镜观察。观察时,首先要辨认是何种寄生虫、何阶段,然后仔细观察其形态、大小、颜色和结构。结合致病与诊断,达到系统掌握。如为病理标本,则应联系寄生虫的致病机制,掌握其病理改变的特征。

(2) 针插标本:一般为昆虫标本,装于指形玻璃管中,用肉眼或放大镜观察,了解外观基本结构特征。

(3) 玻片标本:为某些体积较小的寄生虫成虫、幼虫、虫卵和原虫,分别采用不同方法制作而成。它们是要观察和掌握的主要标本。一般观察方法为:

◆ 对自学标本首先要了解标本的大小,如为较大的虫体,则应用放大镜或解剖镜观察,否则应用显微镜观察。先在低倍镜下寻找标本,并将其移至视野中央,然后换高倍镜观察其细微结构;虫体很小的原虫标本需在油镜下观察才可辨清形态结构。

◆ 镜检粪便、血液和体液等涂片标本时,必须按一定的顺序进行观察(图 1-5),以免遗漏而影响检查结果。

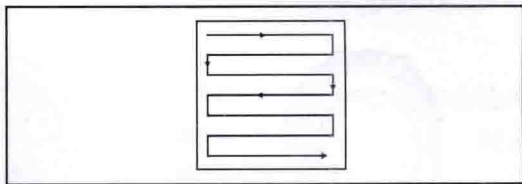


图 1-5 标本顺序观察法示意图

◆ 由于寄生虫玻片标本的厚薄和着色的深浅不同,大小不一,观察标本时要求的放大倍数和光线的强度也不相同,应随时作适当调整,才能看清物像。

◆ 镜下示教标本,一般有指针指在视野中央。观察时,请勿移动玻片,以免影响其他同学观察。

2. 实验操作技术

各项操作技术,特别是对粪便和血液或体液中各种寄生虫的检查方法,包括获取标本、标本处理、虫体染色等技术,是本学科要求学生掌握的主要技术。必须按照实验要求,认真操作,积极思考各种方法的设计依据,了解各个操作环节的意义。在操作过程中,既要做到不怕脏、不怕臭,又要避免粪、血液等对实验环境的污染,防止实验室感染发生。

六、实验报告绘图要求

医学寄生虫学是以形态学为基础的学科,实验内容以观察标本为主,真实准确地记录所观察的标本,对正确掌握其形态特点、加强记忆至关重要。绘图是主要的基本实验技能之一,应重点掌握。

(1) 实验前准备好绘图本(实验报告纸)和绘图笔(包括 2H 或 4H 铅笔和红、蓝、黄、褐色彩笔),不宜用钢笔或圆珠笔绘图。

(2) 认真观察标本,仔细绘图,把寄生虫的主要形态特征用绘图方式真实记录下来。

(3) 根据标本的特点选择不同的绘图方法。

◆ 铅笔点线图:铁苏木精染色和非彩色标本应选择铅笔点线图,用点和线勾画标本结构图,线要圆滑,点要圆,可利用点的疏密表示寄生虫的立体感。

◆ 彩图:除铁苏木精染色外,其他染色和彩色的标本一般要求绘彩图,按所观察标本的

实际颜色绘制。

(4) 按标本大小比例绘图,对于构造复杂和体积较小的标本,可画大些,以展示其结构;而构造简单和较大的标本可画小些,以结构清晰,不影响注字为准。在绘图中要注意标本的长宽比例和内部结构的位置,要特别注意不同虫种同类标本之间(如虫卵类标本之间,包囊类标本之间)以及同种寄生虫不同阶段之间(如疟原虫环状体、滋养体、裂殖体和配子体之间,杜氏利什曼原虫无鞭毛体和前鞭毛体之间)的大小比例。绘制的标本图以符合实物为准。

(5) 画面要求整洁,字迹清楚。所有绘图必须注字,要求用中文或中英文注字。一律用平行线引出后注字,所有注字应上下对齐,标本名称一律写在图的下方,标明观察时的放大倍数(图 1-6)。

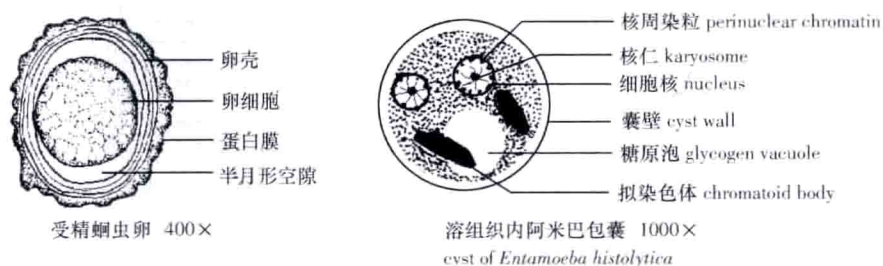


图 1-6 实验报告的绘图范例

第2单元 寄生虫标本的采集与保存

一、粪便的采集与保存

对大多数肠道寄生虫感染的诊断,需要从患者粪便中检获蠕虫卵或幼虫、原虫的滋养体或包囊,因此适当的采集和处理粪便标本才能保证在标本内发现寄生虫。如果标本陈旧,数量不足及不适当的保存不仅会影响检测结果还会导致不准确的诊断。

1. 采集粪便标本的方法

为保证采集到或提供的粪便标本能用于实验室,医生应给病人清楚的提示和合适的物品用于标本的采集。印刷品和描述采集程序的线条图将有助于病人采集标本。印刷品应翻译成一种或多种语言以便特殊病人应用。完整的采集盒包括纸板盒,一种或多种固定液的小瓶,涂抹棒和能装入纸盒或纸箱的指示。这些常规用品应放置在实验室中以便分发给病人或医学人员。装固定液的小瓶应标明“有毒”以警告和保护病人。

粪便标本应采集在干净的广口容器中。250ml 的纸盒则要有蜡纸外包装和紧密封口,以防漏和丧失水分。也可以用有盖的塑料容器、玻璃容器采集粪便。

粪便最好是直接采集在容器中,不能从便池的水中或土壤以及草地上采集,这可以防止标本被水、尿和无关的物质污染。水会破坏滋养体,并会携带自由生活的生物使诊断困难;尿也会对滋养体运动有影响。

2. 标本的数量和种类

在检查中所需粪便的量是不同的。一般病人会提供完全的量。如不是,核桃大小(20~40g)的成形粪便或5~6大汤匙的水样便对常规检查来说就足够了。如要做特殊检查(如离心或培养),则需要整次的粪便。可戴手套直接从粪便上采集,小儿常用此项方法。

在排除寄生虫感染前应做多次粪便检查。虽然大多数的蠕虫卵是连续排出的,但是大多数的原虫则间断排出,因此最好采用检查间隔2到3天采集的多份标本。靠检查一份粪便标本所做出的“无寄生虫”的报告应谨慎采纳。

常建议检查间隔2到3天采集的3份粪便标本,前两份标本应为普通粪便标本,第三份应在服泻药(如硫酸镁等)后采集。已经证明当只有一份标本时,用泻药能提高检查率。当怀疑阿米巴感染而没有查到时,采用查6份标本(三份正常和三份泻药标本)能有效地诊断超过90%的感染。当怀疑蓝氏贾第鞭毛虫感染而前三份标本阴性时,可另取三份以一周为间隔的标本。另外,直接采用十二指肠内容物可提高隐性贾第鞭毛虫病的检出率。

3. 标本检查中的时间因素

标本的检查时间是影响感染诊断的常见因素。原虫滋养体多见于水样或腹泻粪便标本中,应在排出后的30min内检查。如标本不能立即检查,应保存在PVA或其他合适的固定液中。对软便的检查也应在排出后的1小时内,或将其保存在固定液中。对成形粪便的

检查可延后数小时或更长,但应当天检查。如做不到,标本应保存在固定液或放入冰箱($3\sim 5^{\circ}\text{C}$)中过夜。虽然滋养体可被冻死,蠕虫卵和原虫包囊在粪便中可保存它们的形态数天或更长。粪便标本不应冰冻或放入孵箱。冰箱中的标本几天后可变干,因此,用有盖的玻璃容器可延长保存时间。当标本由病人邮寄或提交时间超过1天时,应给病人合适的防腐剂以便保存标本。

4. 药物对检查和鉴别寄生虫的干扰

在采集粪便标本前患者服用的一些药物可能对检查和鉴别寄生虫有干扰作用。非吸收性的止泻药成分,制酸剂,铋剂和矿物油可以干扰检查。在放射性检查前病人服用的硫酸钡,其磨蚀作用会损伤或破坏原虫的滋养体,其结晶也可干扰对虫体鉴别,应在1~2周后再进行检查粪便标本。胆囊造影的病人应3周后再提交标本。抗生素类,如四环素能消除或减少粪便标本中的生物达数周或更长。

5. 标本信息的标注

所有的标本应贴上注明病人姓名、诊断号、年龄、性别、采集时间和医师姓名的标签。在某些标本中,有关病人临床情况,前次感染情况或旅行史的信息则有助于实验室更好的检查标本。如怀疑特殊寄生虫感染,检查时应关注以上信息。

6. 粪便标本的保存

若新鲜粪便标本需要较长时间才能送到诊断实验室,必须采取措施防止标本在检查前被破坏或病原体变形,可将标本保存在合适的容器及固定液中,以保护原虫的形态和防止蠕虫卵或幼虫的发育或形态变化。

防腐剂最好放在15~30ml塑料或玻璃的螺口小瓶,以防止漏出。粪便和固定液的比例一定要合适、混合一定要均匀。每个小瓶上的标签应清楚标明所装的固定液,另外在标签上画两条线可帮助病人加入正确的粪便量,即从原来的液面(低处的线)到最终的液面(高处的线)。常用比例为1份粪便,3份固定液。应告诉病人先将粪便采集在干净广口容器中,然后用采集盒中提供的涂抹棒挑取合适的粪量加入小瓶中,并混合好。

要求采用两个小瓶保存粪便。一个小瓶装PVA用来制作永久染色玻片。另一个小瓶装5%或10%的甲醛用来离心浓集。也提供小瓶用来装新鲜粪便标本。也有实验室用单一小瓶装MIF固定液(Merthiolate-Iodine-formalin),这样可直接用来做涂片染色和离心浓集。

保存粪便最常用的4种防腐固定液是聚乙烯醇(polyvinyl alcohol,PVA)、Schaudinn's固定液、5%或10%甲醛和MIF固定液。

PVA固定液在保存肠道原虫形态特征方面是很好的,特别是对滋养体。粪便和PVA固定液应以1:3的比例混合。固定后的片子可保存2~3个月再染色。

绍丁固定液常用来固定新鲜粪便,用以肠道原虫的永久染色涂片。用绍丁固定液时,在收到粪便样品后应尽快做新鲜粪便涂片。可用涂棒或刷子做新鲜涂片。涂片应立即放入绍丁固定液中。玻片至少固定30min。

10%甲醛或5%甲醛盐溶液就可以保存原虫包囊及蠕虫卵和幼虫。粪便标本可按1:3的比例保存于10%甲醛水溶液或5%甲醛盐溶液中。用甲醛保存的粪便可做标准醛—乙酸乙酯(或醚)沉淀浓集,也可作硫酸锌浮聚。甲醛保存的粪便不适用做永久染色涂片。要

长期用甲醛保存粪便,可采用有缓冲能力的 10% 甲醛或 5% 甲醛盐溶液。

MIF 在野外调查时特别有用。固定后即刻或几周甚至几月后,均可涂片检查肠道原虫和蠕虫卵和幼虫。

二、标本的转送与邮寄

邮寄生物学标本时要遵守邮政规则。通过邮政系统邮寄寄生虫标本必须仔细包裹,以防渗漏和感染处理包裹的人员。

大多数邮寄的寄生虫标本是保存标本,没有感染性。不过用玻璃和塑料容器邮寄时应包好以防渗漏。小瓶应用吸收性的物质包好,在有渗漏或破裂时可以吸收。要求用大小合适的螺口双层容器。内层为金属圆筒,外层可为金属或厚纸板。有关的资料应贴在内层圆筒上。在邮包外面应贴上写清地址的标签,另一个同样的标签应放入邮包中,以防外包装损坏。

粪便涂片、血涂片或组织切片等玻片标本可放入纸盒,塑料或聚苯乙烯泡沫塑料容器(箱)中邮寄。载玻片盒要坚固,以保存玻片不被损坏。

(殷国荣)