



病原生物学

诊断技术

主编 邵世和

病原生物学

诊断技术

主编 张树刚

人民卫生出版社

病原生物学诊断技术

主 编 邵世和

副主编 周天戟 陈盛霞

主 审 许化溪

编 者 (以姓氏笔画为序)

丁建霞	马 斌	王 华	王文红
王丽莉	王晓春	帅连云	成 静
李良菊	陈盛霞	邵世和	周天戟
段秀杰	徐会娟	韩晓红	谢立苹

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目(CIP)数据

病原生物学诊断技术/邵世和主编. —北京:人民卫生出版社, 2009. 5

ISBN 978-7-117-11354-0

I. 病… II. 邵… III. 病原微生物-实验室诊断
IV. R446. 5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 034909 号

病原生物学诊断技术

主 编: 邵世和

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010-67616688)

地 址: 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

邮 编: 100078

网 址: <http://www.pmph.com>

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

印 刷: 北京蓝迪彩色印务有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 11.5

字 数: 272 千字

版 次: 2009 年 5 月第 1 版 2009 年 5 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-11354-0/R · 11355

定 价: 26.00 元

版权所有, 侵权必究, 打击盗版举报电话: 010-87613394

(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

前 言

众所周知,实验技术是抵达知识彼岸的桥梁,是攀登科学高峰的阶梯,也是高等学校本科生、研究生教育的重要内容之一。病原生物学诊断技术是一门在微生物学及寄生虫学基本知识和技术的基础上,结合临床实际对患者标本进行检验的技术方法。其内容包括病原生物的分离培养、病原生物代谢产物的检测、机体感染病原生物后免疫应答产物的测定等,是临床医生诊断治疗疾病的重要依据。

随着医学教育的蓬勃发展,各学科及课程发生了很大的变化。病原生物学就是根据1998年国家学位办精神,将原来的医学微生物学和人体寄生虫学合并而成。目前,国内大多数高等学校都已相继合并,并调整了相关的教研室或系,随之而来便是课程和教材的同步化。本书就是由微生物学技术和人体寄生虫学技术融合而成,并适当地增加了分子生物学技术。

本书共分为三篇九章,第一篇为病原生物诊断的基本技术,第二篇为常见病原生物的诊断技术,第三篇为临床标本的病原生物学诊断技术。主要从技术的基本原理、操作方法和应用等方面进行了全面系统地阐述。可供教师授课、学生试验以及临床检验师检验时参考之用。

本书在编写过程中借鉴了吴爱武主编的《临床微生物学与检验实验指导》的编写思路和经验,得到了各位编者的大力支持,还得到了江苏大学教学研究项目(YJG08_08x、JGZ2007030)的资助,在此一并表示感谢。虽然编者尽心尽力完成编写任务,但限于我们的学术水平和编写能力,一定会有很多疏漏和不妥之处,恳请广大读者多提宝贵意见,以便修订和完善。

邵世和

2009年2月

目 录

病原生物学实验室规则与发生实验室意外时的应急处理措施	1
一、病原生物学实验室规则	1
二、实验室发生意外时的应急处理措施	1

第一篇 病原生物诊断的基本技术

第一章 显微镜检查技术	2
第一节 普通光学显微镜油镜的使用及保护	2
第二节 病原生物的显微镜检查方法	3
一、细菌不染色标本的显微镜检查方法	3
二、真菌不染色标本的显微镜检查方法	4
三、寄生虫标本的显微镜检查方法	4
第二章 病原生物的染色技术	12
一、革兰染色技术	12
二、抗酸染色技术	13
三、魏曦鞭毛染色技术	14
四、芽胞染色技术	14
五、黑斯(Hiss)荚膜染色技术	14
六、碘液染色技术	15
七、铁苏木素染色技术	15
八、三色染色技术	16
九、金胺-酚染色技术	16
十、改良抗酸染色技术	17
十一、金胺-酚改良抗酸染色技术	17
十二、六亚甲基四胺银染色技术	17
十三、吉姆萨染色技术	18
十四、瑞氏染色技术	20
十五、氯化三苯基四氮唑(TTC)-茚三酮复染技术	21
十六、乳酸酚棉蓝染色技术	21
十七、墨汁负染色技术	22
十八、病毒的电镜负染色技术	22

第三章 病原生物的分离培养技术	24
第一节 培养基制备技术	24
一、培养基制备的基本程序	24
二、常用培养基的制备	25
三、培养基制备的注意事项	27
第二节 细菌的分离培养与鉴定技术	28
一、细菌的培养方法	28
二、细菌的体外接种方法	29
三、细菌的动物接种方法	31
四、细菌的鉴定技术	33
第三节 病毒的分离培养与鉴定技术	42
一、病毒的培养方法	42
二、病毒的接种技术	44
三、病毒的血清学检测技术	51
四、病毒的分子生物学检测技术	53
第四节 真菌的分离培养与鉴定技术	55
一、真菌的培养方法	55
二、真菌的鉴定技术	56
第五节 寄生虫的培养与鉴定技术	57
一、幼虫孵化法	57
二、体外培养法	59
三、动物接种法	59
四、寄生虫血清学诊断技术	59

第二篇 常见病原生物的诊断技术

第一章 常见细菌的诊断技术	66
第一节 球菌	66
一、葡萄球菌属	66
二、链球菌属	69
三、肠球菌属	73
四、奈瑟菌属和布兰汉菌属	74
第二节 肠杆菌科细菌	76
一、埃希菌属	76
二、沙门菌属和志贺菌属	78
三、克雷伯菌属、肠杆菌属、枸橼酸菌属和沙雷菌属	80
四、变形杆菌属和摩根菌属	82
五、小肠结肠炎耶尔森菌	83
第三节 弧菌属、弯曲菌属和螺杆菌属	83
一、弧菌属	83

二、空肠弯曲菌·····	85
三、幽门螺杆菌·····	86
第四节 非发酵菌和其他革兰阴性杆菌·····	87
一、假单胞菌属·····	87
二、窄食单胞菌属·····	89
三、产碱杆菌属·····	89
四、不动杆菌属·····	90
五、军团菌属·····	91
六、嗜血杆菌属·····	93
第五节 需氧革兰阳性杆菌·····	94
一、棒状杆菌属·····	94
二、需氧芽胞杆菌属·····	96
第六节 分枝杆菌属、放线菌属和诺卡菌属·····	100
一、结核分枝杆菌·····	100
二、放线菌属·····	102
三、诺卡菌属·····	102
第七节 厌氧菌·····	103
一、厌氧芽胞梭菌·····	103
二、无芽胞厌氧菌·····	105
第八节 螺旋体·····	108
一、螺旋体的染色技术·····	108
二、钩端螺旋体的培养与鉴定技术·····	109
三、梅毒螺旋体血清学检测技术·····	110
第九节 支原体、衣原体和立克次体·····	111
一、支原体·····	111
二、衣原体·····	112
三、立克次体·····	113
第二章 常见致病性病毒的诊断技术·····	115
第一节 呼吸道病毒·····	115
一、流行性感病毒·····	115
二、呼吸道合胞病毒(ELISA 双抗体夹心法)·····	116
第二节 肝炎病毒·····	117
一、乙型肝炎病毒(ELISA 法)·····	117
二、丙型肝炎病毒(ELISA 法)·····	117
第三节 疱疹病毒·····	118
一、单纯疱疹病毒·····	118
二、巨细胞病毒·····	118
三、EB 病毒·····	119

第四节 其他病毒	119
一、轮状病毒	119
二、人类免疫缺陷病毒	120
第三章 常见致病性真菌的诊断技术	124
第一节 常见浅部真菌的诊断技术	124
一、毛癣菌属	124
二、小孢子菌属	124
三、表皮癣菌属	125
第二节 常见深部真菌的诊断技术	125
一、假丝酵母菌属	125
二、隐球菌属	126
第四章 常见寄生虫的诊断技术	127
第一节 线虫	127
一、形态学观察	127
二、病原学技术	129
三、血清学技术	129
第二节 吸虫	129
一、形态学观察	129
二、病原学技术	132
三、血清学技术	133
第三节 绦虫	133
一、形态学观察	133
二、病原学技术	135
第四节 棘头虫	136
第五节 阿米巴	136
一、形态学观察	136
二、病原学技术	137
第六节 鞭毛虫	137
一、形态学观察	137
二、病原学技术	138
第七节 孢子虫	138
一、形态学观察	138
二、病原学技术	140
三、血清学技术	140
第八节 纤毛虫	140
第九节 昆虫纲	141
第十节 蛛形纲	145

第三篇 临床标本的病原生物学诊断技术

第一章 临床标本的细菌学诊断技术	147
第一节 血液及骨髓标本	147
第二节 尿液标本	150
第三节 生殖道标本	153
第四节 肠道标本	155
第五节 呼吸道标本	159
第六节 脑脊液标本	164
第七节 脓液及穿刺液标本	166
第八节 组织标本	168
第二章 临床标本的寄生虫学诊断技术	170
第一节 粪便标本	170
一、肉眼可见虫体的检查	170
二、肉眼不可见虫体的检查	171
第二节 肛门拭子标本	171
第三节 血液及骨髓标本	171
一、血液检查	171
二、骨髓检查	172
第四节 痰及其他分泌物标本	172
一、痰液检查	172
二、支气管肺泡灌洗物检查	172
三、尿液及鞘膜积液检查	173
四、阴道分泌物检查	173
五、前列腺液检查	173
六、十二指肠液检查	173
七、口腔内物检查	173
八、脑脊液检查	173
第五节 活组织标本	174
一、皮肤及皮下包块检查	174
二、肌肉组织检查	174
三、淋巴结检查	174
四、结肠黏膜检查	175
五、肝组织检查	175
六、肺组织检查	175

病原生物学实验室规则与发生 实验室意外时的应急处理措施

一、病原生物学实验室规则

病原生物学实验室经常会存在细菌、病毒以及寄生虫。因有的病原生物的传染性较强,故实验操作时必须严格掌握无菌概念,防止造成自身感染或环境污染。为此提出下列规则:

1. 进入实验室必须穿好白大衣,离室时脱下,反折;必要时须戴口罩。
2. 勿将不必要物品带入实验室,必要的文具、书籍和笔记本应放在指定的区域或地方。
3. 禁止在实验室内饮食、抽烟、用嘴湿润标签等。
4. 实验室内要保持安静,不得高声谈笑或随便走动。
5. 未经老师批准,不得擅自搬动示教物品、器材和室内其他设施。
6. 实验用过的物品、器材等不得随便乱丢乱放,必须放在指定地点或按要求处理。
7. 正确操作,避免任何有菌材料的溅出,若不慎污染工作台、手、眼、衣服和地面等处,应立即报告老师以便及时处理。
8. 实验完毕后物归原处,并清洁和消毒桌面;用肥皂洗手、消毒液浸泡洗净;清洁后关闭门、窗、水、电和煤气方可离开实验室。

二、实验室发生意外时的应急处理措施

1. 皮肤破损 先除去异物,用蒸馏水或生理盐水洗净后,涂 2%红汞或 2%碘酒。
2. 烧伤 局部涂凡士林、5%鞣酸或 2%苦味酸。
3. 化学药品腐蚀伤 若为强酸蚀伤,先以大量清水冲洗后,再以 5%碳酸氢钠溶液中和;若强碱腐蚀伤,先用大量清水冲洗后,再用 5%醋酸或 5%硼酸溶液中和;若眼部受伤,经过上述步骤处理后,再滴入橄榄油或液状石蜡 1~2 滴。
4. 菌液误入口中 应立即吐入消毒容器内,并用 1:1000 高锰酸钾溶液或 3%过氧化氢溶液漱口;并根据菌种不同,服用相应抗菌药物。
5. 菌液流洒桌面 将适量 2%~3%甲酚皂溶液(来苏儿)或 0.1%苯扎溴胺(新洁尔灭)倒于污染桌面上,浸泡半小时后抹去;若手上有活菌,亦应浸泡于上述消毒液中,3 分钟后,再用肥皂和水清洗。
6. 火警 如发生火警险情时切勿慌张,应立即关闭电闸和煤气阀门。如酒精、乙醚、汽油等有机溶液起火,切忌用水扑救,可用沙土等扑灭火苗。

(邵世和)

第一篇 病原生物诊断的基本技术

第一章 显微镜检查技术

第一节 普通光学显微镜油镜的使用及保护

病原生物个体微小,需借助显微镜才能观察到它的个体形态和结构。用于检查病原生物的显微镜有普通光学显微镜、暗视野显微镜、荧光显微镜、相差显微镜和电子显微镜等。普通光学显微镜(图 1-1-1)的接物镜有三种,即低倍镜、高倍镜和油镜。检查微生物和原虫时常用的是油镜。油镜的标志是:①透镜直径最小;②油镜镜头长度大于低倍镜和高倍镜;③油镜头的下缘有一圈黑线或两圈红线;④有“oil”等字样;⑤有放大倍数 $100\times$ 的标记。当接目镜倍数为 $10\times$,接物镜用油镜时,显微镜的放大倍数为 1000 倍。

1. 原理 使用油镜时需要在玻片上滴加香柏油。这是因为:油镜的透镜很小,自标本片透过的光线,因玻片和空气介质密度不同,而使部分光线经载玻片和空气折射后而不能进入接物镜,致使射入光线较少,使物像不清晰。在油镜和标本片之间滴加与玻璃折光率($n=1.52$)相近的香柏油($n=1.515$),则使进入油镜的光线增多,视野光亮度增强,物像清晰(图 1-1-2)。

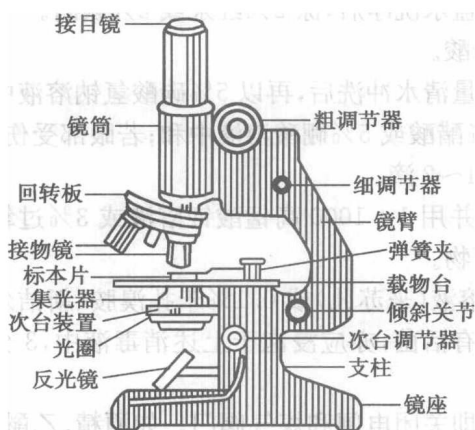


图 1-1-1 显微镜结构

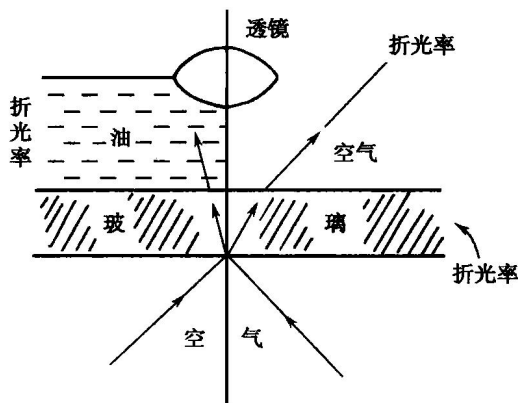


图 1-1-2 油镜原理示意图

2. 显微镜油镜的使用方法

(1)先用低倍镜对光。由于直射阳光光线过强,不仅其反射热有损显微镜的光学装置,而且不易看清物像,因此不能作为光源,而常以间接日光或灯光为光源。转动反光镜(以间接日光为光源时,使用平面反光镜;如以灯光为光源,使用凹面反光镜),使光线集中于集光器。

(2)根据所观察的标本升降集光器,缩放光圈,以获得最佳光度。当用油镜检查染色标本时,光线宜强,可将集光器上升到最高位置,把光圈完全打开;当用低倍镜或高倍镜检查未染色标本时,应适当缩小光圈,下降集光器,使光度减弱。

(3)将标本置于载物台上,用弹簧夹或标本推进器固定,将待检部位移至接物镜下。

(4)先用低倍镜找出标本的位置,然后提高镜筒,在标本欲检部位滴1滴香柏油,然后转换成油镜。从侧面观察,缓慢转动粗调节器,使油镜头浸没在油滴内,当油镜头几乎接触玻片时停止转动。用肉眼观察接目镜,缓慢调节粗调节器,使镜筒上升(只能上升,不能下降,以防压碎标本片和损坏镜头),待看到模糊物像时,再调节细调节器,直至清晰看到细菌等病原生物的形态。

3. 注意事项

(1)观察标本时应两眼同时睁开,以减少眼睛疲劳。左眼用于窥镜,右眼用于绘图。

(2)显微镜在使用时应平放在实验台的适宜处。用油镜时,勿将载物台倾斜,以免镜油流出,影响观察。

4. 显微镜的保护

(1)显微镜是精密的光学仪器,在使用时应注意爱护,各部分结构不得随意拆卸,以免损坏。

(2)取送搬移显微镜时,要一手持镜臂,一手托镜座,平端在胸前,轻拿轻放。

(3)避免强酸、强碱、氯仿、乙醚、乙醇等对机件有损坏作用的化学药品与显微镜接触。目镜、物镜、反光镜等光学部分,必须保持清洁,且避免日光直接照射。细调节器是显微镜精细而脆弱的部分,不要向一个方向连续转动数圈,应轻微地来回旋转。

(4)镜头必须保持清洁,油镜使用后应立即用擦镜纸拭去镜油。若油镜头上的油迹未擦干净,应先将二甲苯滴在擦镜纸上擦拭镜头,再用干净擦镜纸擦去镜头上残留的二甲苯。二甲苯应尽量少用,以免渗入油镜内溶解用以粘固透镜的胶质,造成透镜移位或脱落。

(5)显微镜擦净后,接物镜转成“品”字形并降低,下降聚光器,用软布拭净各部件后覆盖于接目镜上,放入镜箱内或送至显微镜室。

第二节 病原生物的显微镜检查方法

一、细菌不染色标本的显微镜检查方法

器材与试剂:变形杆菌6~12小时肉汤培养物、葡萄球菌6~12小时肉汤培养物、凡士林、显微镜、载玻片、凹玻片、盖玻片、小镊子等。

原理:在液体培养基中,有鞭毛的细菌可以运动,而无鞭毛的细菌只发生颤动,以此可

以观察和了解细菌的运动能力及是否具有鞭毛结构。

步骤与方法

1. 悬滴法

(1) 标本片的制备: 取洁净凹玻片一张, 在凹窝四周涂凡士林少许; 用接种环取一环变形杆菌或葡萄球菌 6~12 小时肉汤培养物于盖玻片中央; 将凹玻片倒合于盖玻片上, 使凹窝中央正对菌液; 迅速翻转载玻片, 用小镊子轻压盖玻片, 使之与凹窝边缘粘紧封闭, 以防水分蒸发(图 1-1-3)。

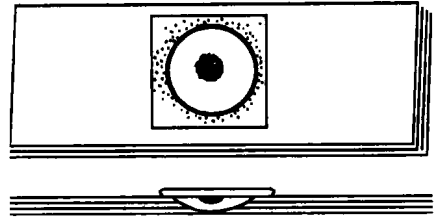


图 1-1-3 悬滴法

(2) 显微镜观察: 先用低倍镜找到悬滴, 再换高倍镜。因为是不染色标本, 背景稍暗些更易于观察, 因此, 在观察时应下降聚光器、缩小光圈, 以减少光亮。变形杆菌有鞭毛, 运动活泼, 可向不同方向迅速运动, 位置移动明显。葡萄球菌无鞭毛, 不能做真正的运动, 但受水分子的撞击而呈分子运动(布朗运动), 即在一定范围内作往复颤动, 位置移动不大。

2. 压滴法 用接种环分别取葡萄球菌及变形杆菌菌液 2~3 环, 置于洁净载玻片中央; 用小镊子挟一盖玻片, 先使盖玻片一边接触菌液, 然后缓缓放下, 覆盖于菌液上, 避免菌液中产生气泡; 先用低倍镜找到观察部位, 再换高倍镜观察细菌的运动。

观察不染色标本中细菌的运动, 除用光学显微镜外, 还可用暗视野显微镜。

二、真菌不染色标本的显微镜检查方法

器材与试剂: 甲屑或皮屑少许或患者头发、KOH 溶液、显微镜、载玻片、盖玻片、小镊子等。

原理: KOH 可以消化标本中蛋白质残余并使角化组织透明, 而真菌细胞壁的蛋白质对实验浓度的 KOH 溶液有一定的抵抗作用, 以此可以观察标本中的真菌。

步骤与方法

1. 标本片制备 用小镊子取甲屑或皮屑少许或病发一根, 置于载玻片中央, 滴加 100~400g/L KOH 溶液 1~2 滴。稍待片刻, 盖上盖玻片, 将载玻片放在火焰上方微加热, 使组织或角质溶解, 但切勿过热以免产生气泡或烤干。冷后, 压紧盖玻片使溶解的组织分散并使其透明, 驱除气泡并吸去周围溢液, 避免沾污盖玻片。

2. 显微镜观察 先用低倍镜检查有无真菌菌丝或孢子, 再以高倍镜检查菌丝、孢子的特征。镜检时用稍弱的光线使视野稍暗为宜。低倍镜下, 菌丝折光性较强、为绿色纤维分枝丝状体; 高倍镜下, 可见菌丝分隔或不同的孢子形态。

三、寄生虫标本的显微镜检查方法

(一) 生理盐水直接涂片法

生理盐水直接涂片法是常用的检查方法, 可检查粪便或人体其他分泌物中的蠕虫卵、幼虫、原虫的滋养体等, 是适用范围最广的方法。此法操作简单、快速, 但检出率不高。它对活的虫期是不可少的检验手段, 但由于取粪量少, 易漏诊。每份粪便连续检查涂片 3

张,可提高检出率。

器材与试剂:生理盐水,载玻片,盖玻片,竹签,显微镜。

原理:生理盐水可使粪便或分泌物中虫卵、幼虫、原虫的滋养体等形态保持完整,将粪便或分泌物均匀分散在载玻片上,便于显微镜下观察。

步骤与方法:(以粪便检查为例)取洁净无油污的载玻片一张,在其中滴加生理盐水 1 滴,用竹签取火柴头大小的粪便混于生理盐水内。调匀后,把粪液涂布成边缘整齐的椭圆形的粪膜,盖上盖玻片,置于显微镜下检查。

注意事项

1. 涂片厚薄以能透过粪膜看清载玻片下面印刷体字迹为宜。
2. 粪便中如有脓血,应取此部分作涂片。
3. 粪膜约占玻片的 2/3 大小,粪便不要接近玻片边缘,避免污染载物台及手指。
4. 注意防止干燥,必要时再滴加生理盐水。
5. 镜检时,先用低倍镜按顺序检查;发现可疑时,再换用高倍镜加以鉴别。
6. 为了鉴别原虫(阿米巴、阴道毛滴虫)的滋养体,需观察虫体的运动,注意保温,或将制好标本的载玻片在酒精灯火焰上迅速来回数次略加温后镜下观察。

(二) 加藤厚涂片法

加藤厚涂片法(Kato-katz thick smear),又称厚涂片透明法、定量透明法,是一种粪便浓集法,适用于定性检查或定量计数各种蠕虫卵。

器材与试剂:载玻片、亲水性玻璃纸、100 目金属筛网片(或尼龙袋)、甘油-孔雀绿溶液、聚丙烯定量板(大小为 40mm×30mm×1.37mm,模孔为 8mm×4mm)、刮棒、压板、温箱、显微镜等。

原理:用粪便作定性或定量厚涂片,增加视野中虫卵的数量,甘油可使粪便透明,便于光线透过、镜检虫卵。孔雀绿使视野光线柔和,减少眼睛的疲劳。

步骤与方法

1. 玻璃纸制备 将玻璃纸剪成 30mm×22mm 大小,浸于甘油-孔雀绿溶液(纯甘油 100ml,蒸馏水 100ml,3%孔雀绿水溶液 1ml)中,至少 24 小时,玻璃纸浸透呈绿色即可。

2. 操作 定性时,取约 50mg 已用金属筛网(或尼龙袋)除去粗渣的粪便,置于载玻片上。定量时,定量板先紧贴于载玻片上,将筛网(或尼龙袋)覆在粪便标本上,刮取从筛孔溢出的粪便,填满定量板模孔并刮去多余部分,掀起定量板。以浸透甘油-孔雀绿溶液的玻璃纸片覆盖于粪样,轻压,使粪便铺成 25mm×20mm 椭圆形粪膜,置 30~37℃温箱中半小时或 25℃约 1 小时镜检虫卵。定量计数虫卵时,顺序观察并记录粪样中的全部虫卵,将虫卵数乘以 24,再乘以粪便性状系数(成形便为 1,半成形便为 1.5,软湿便为 2,粥样便为 3,水样便为 4),即为每克粪便虫卵数(eggs per gram,EPG)。根据排便量和常见蠕虫每条雌虫每天的排卵数计算出感染度(虫荷)。

注意事项

1. 过硬和过稀的粪便不宜使用本法。泡沫状的粪便会在玻璃纸下形成许多微小气泡,妨碍镜检。
2. 注意掌握粪膜的合适厚度及透明时间。粪膜厚,透明时间短,虫卵难以发现;透明

时间过长,虫卵变形,不易辨认;或因虫卵过分透明,镜检时易遗漏。

3. 经透明处理后的虫卵形态与直接粪便观察到的虫卵有较大差异,需要注意鉴别。

(三) 自然沉淀法

自然沉淀法亦称水洗沉淀法或静置沉淀法。适用于粪便各种蠕虫卵和幼虫、原虫包囊的检查,尤其适用于血吸虫卵等有益虫卵。本法是传统的集卵方法,经几次水洗沉淀后,虫卵和包囊仍保持活力,可浓集较多的粪便标本。其缺点在于操作繁琐、费时、费水,浓集包囊和虫卵的效果一般不如浮聚法。

器材与试剂:清水、搪瓷杯、60 目铜筛、沉淀杯(或锥形量杯)、污物缸、滴管、载玻片、盖玻片、显微镜等。

原理:有些蠕虫卵和原虫包囊的比重比水大,使虫卵和包囊自然下沉达到浓集的目的;且经过水洗后,洗去悬浮的碎屑和细菌,视野清晰,提高检出率。

步骤与方法:取粪便 20~30g,在搪瓷杯内加水调成糊状,再加水稀释,经 60 目铜筛过滤至 500ml 沉淀杯(或锥形量杯)中,用水清洗粪渣,量杯上加满水静置 25~30 分钟,倒去上液,重新加满清水,每隔 15~20 分钟换水一次,如此沉淀 3~4 次,直至上液清晰为止,然后倾去上清液,取沉渣涂片镜检(图 1-1-4)。

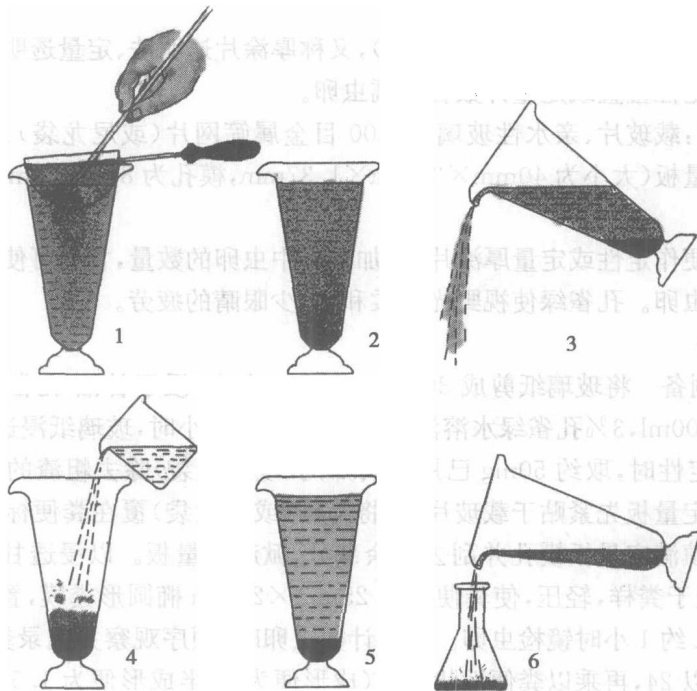


图 1-1-4 自然沉淀法

注意事项

1. 过滤前尽量将粪便搅成糊状粪浆,筛网上的粪渣应用水充分冲洗。
2. 注意沉淀时间。如沉淀日本血吸虫卵时,应缩短沉淀时间,或用 5% NaOH 溶液替代清水,以免毛蚴从虫卵中孵化。钩虫卵和原虫包囊比重较小,短时间内很难完全沉

淀,应适当延长沉淀的时间,如钩虫卵沉淀需要 1 小时以上,包裹沉淀需要 6 小时。

3. 换水时注意手法,宜 1 次倾倒完上清,避免沉渣浮起,虫卵或包裹随上清流失。

4. 查原虫包裹需滴加碘液染色。

(四) 离心沉淀法

离心沉淀法适用于粪便、尿液、十二指肠液、脑脊液等分泌物以及排泄物中的蠕虫卵、幼虫、原虫包裹的检查。本法粪便检查与自然沉淀法相似。因费时较少,适用于临床检查。

器材与试剂:60 目铜筛、离心管、离心机、滴管、载玻片、盖玻片、显微镜等。

原理:离心机的离心力使虫卵、幼虫、包裹快速沉积于管底,易于检出。

步骤与方法:(以粪便检查为例)取粪便 5g 左右,加水捣碎、调匀,经 60 目铜筛过滤至离心管中,1500~2000r/min 离心 2 分钟,倒去上液,注入清水,再离心沉淀,如此反复 3~4 次,直至上液澄清为止,倒去上液,取沉渣镜检。

注意事项

1. 过滤前尽量将粪便搅成糊状粪浆,筛网上的粪渣应用水充分冲洗。

2. 粪便以外的其他排泄物、分泌物一般不需要过滤,直接离心沉淀;也可根据其性状,加入适量的水或溶液后离心沉淀。

3. 查原虫包裹需滴加碘液染色。

(五) 醛醚沉淀法

醛醚沉淀法适用于浓集粪便中的虫卵和卵囊,浓集效果好,可提高 20~30 倍。不损伤包裹及虫卵形态,易于鉴别。对于含较多脂肪的粪便,浓集效果比硫酸锌浮聚法好。但对微小膜壳绦虫卵、蓝氏贾第鞭毛虫包裹和布氏嗜碘阿米巴包裹的浓集效果不好。本法破坏滋养体。

器材与试剂:10%甲醛、乙醚、100 目铜筛、离心管、离心机、滴管、载玻片、盖玻片、显微镜等。

原理:乙醚能除去粪便中的脂肪并吸附轻的上浮粪渣,使虫卵和包裹与粪便中较重的物质一起沉入管底,除去了很多杂质,以利于检查;同时用福尔马林可固定虫卵和包裹。

步骤与方法:取粪便 1g,加水 10~15ml 捣碎调匀,经 100 目铜筛过滤于 15ml 离心管中,2000r/min 离心 2 分钟,倾去上层粪液,沉渣内加水 10ml 调匀,离心 2 分钟,倾去上层液,加 10%甲醛 10ml,搅匀沉淀,静置 5~10 分钟,加乙醚 3ml,用橡皮塞紧塞瓶口,充分摇匀,取下瓶塞离心 2 分钟,即可见管内自上而下分 4 层,取管底沉渣涂片镜检。如查原虫包裹,可加碘液染色。

(六) 汞醛离心沉淀法

汞醛离心沉淀法适用于检查蠕虫卵和幼虫、原虫的滋养体和包裹。若准确称取粪便,还可作蠕虫卵的定量检查,以测定感染度。

器材与试剂:汞醛液、卢戈碘液、乙醚、100 目铜筛、离心管、离心机、滴管、载玻片、盖玻片、显微镜等。