



Clinical Inspection Technology

Parasitic Disease

Parasitic Disease Clinical Inspection Technology

Clinical Inspection Technology

Parasitic Disease

寄生虫病临床检验技术

Parasitic Disease Clinical Inspection Technology

刘继鑫 孙艳宏 主编

江苏凤凰科学技术出版社



寄生虫病临床检验技术

Parasitic Disease Clinical Inspection Technology

刘继鑫 孙艳宏 主编

江苏凤凰科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

寄生虫病临床检验技术 / 刘继鑫;孙艳宏主编. —南京:江苏凤凰科学技术出版社,2015.4

ISBN 978-7-5537-4292-2

I. ①寄… II. ①刘… ②孙… III. ①寄生虫病—医学检验 IV. ①R530.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 060076 号

寄生虫病临床检验技术

主 编 刘继鑫 孙艳宏

责任编辑 周 骋

责任校对 郝慧华

责任监制 曹叶平 方 晨

出版发行 凤凰出版传媒股份有限公司

江苏凤凰科学技术出版社

出版社地址 南京市湖南路 1 号 A 楼,邮编:210009

出版社网址 <http://www.pspress.cn>

经 销 凤凰出版传媒股份有限公司

照 排 河南天一文化传播有限公司

印 刷 河南承创印务有限公司

开 本 718mm×1 000mm 1/16

印 张 17

字 数 278 000

版 次 2015 年 4 月第 1 版

印 次 2015 年 4 月第 1 次印刷

标准书号 ISBN 978-7-5537-4292-2

定 价 38.00 元

图书如有印装质量问题,可随时向我社出版科调换。

目 录

CONTENTS

第一篇 医学寄生虫病诊断技术

第一章 病原学诊断技术..... 3

第一节 粪便检查技术 3

一、直接涂片法 3

二、改良加藤法 4

三、浓集法 4

四、钩蚴培养法 8

五、毛蚴孵化法 9

六、成虫检查法 9

七、染色检查法 10

第二节 肛周虫卵检查技术 12

一、透明胶纸法 12

二、棉签拭子法 12

三、胶膜粘贴法 13

第三节 血液检查技术 13

一、血涂片制作技术 13

二、血涂片染色技术 14

三、其他血液检查方法 16

第四节 活组织检查技术 17

一、淋巴结活组织检查技术 17

二、皮肤活组织检查技术 17

三、肌肉活组织检查技术 18

四、肠黏膜活组织检查技术 18

五、肺活组织检查技术 19

六、肝脾活组织检查技术 20

第五节 其他标本的检查技术	20
一、尿液检查技术	20
二、痰液检查技术	20
三、十二指肠抽取物检查技术	21
四、阴道分泌物检查技术	21
五、脑脊液检查技术	22
六、骨髓检查技术	22
七、其他检查技术	23
第二章 免疫学诊断技术	24
第一节 抗原制备技术	25
一、寄生虫抗原种类	25
二、抗原制备技术	26
三、寄生虫抗原的制备	31
第二节 抗体制备技术	33
一、多克隆抗体	34
二、单克隆抗体	35
三、基因工程抗体	36
第三节 皮肤试验技术	37
一、皮内试验	37
二、挑刺试验	38
第四节 凝集反应技术	39
一、间接血凝试验	39
二、间接血凝抑制试验	42
三、胶乳凝集试验	42
第五节 沉淀反应技术	43
第六节 免疫电泳技术	44
第七节 免疫标记技术	45
一、免疫荧光标记技术	46
二、放射免疫标记技术	49
三、酶免疫标记技术	49
四、胶体金标记技术	58
五、生物素一亲和素标记技术	60



六、免疫电镜技术	61
第八节 免疫组织化学技术	62
一、免疫组织化学的全过程	62
二、免疫组织化学技术	64
第九节 寄生虫学特有的免疫诊断技术	66
一、环蚴沉淀试验	66
二、尾蚴膜试验	66
三、弓形虫染色试验	67
第三章 寄生虫感染的影像诊断	68
第一节 脑部影像学诊断技术	68
一、脑囊虫病	68
二、脑包虫病	71
三、脑血吸虫病	72
四、脑型肺吸虫病	74
五、脑弓形虫病	75
第二节 肺部影像学诊断	76
一、肺型并殖吸虫病	76
二、肺包虫病	79
三、肺型血吸虫病	82
第三节 肝部影像学诊断技术	83
一、肝包虫病	83
二、肝血吸虫病	86
三、肝华支睾吸虫病	87
四、阿米巴肝脓肿	90
第四章 分子生物学诊断技术	92
第一节 PCR 技术	92
一、原理	92
二、反应成分	92
三、反应条件	93
四、PCR 技术在寄生虫学中的应用	94
第二节 核酸分子探针技术	97
一、弓形虫病	98

二、丝虫病	99
三、疟疾	100
四、囊尾蚴病	101
第三节 DNA 芯片技术的应用	105
一、血吸虫病	105
二、弓形虫病	105
三、疟疾	106
四、肠道原虫病	106
第四节 核糖体展示技术	107
一、核糖体展示技术的基本原理	107
二、mRNA 展示技术的基本原理	107
三、核糖体展示技术基本操作过程	108
第二篇 分子生物学研究技术	
第五章 蛋白质的分离、纯化与鉴定技术	119
第一节 蛋白质的分离与纯化技术	119
一、凝胶层析	119
二、沉淀技术	122
三、离子交换层析法	123
四、吸附层析	127
五、亲和层析	128
第二节 蛋白质的理化鉴定	130
一、含量测定	130
二、凝胶电泳	133
三、染色鉴定	135
四、一维和二维肽图谱	136
五、肽的反相高效液相色谱	137
六、序列分析	137
第六章 核酸的分离、纯化技术	139
第一节 提取 DNA	139
一、提取原则	139
二、质粒 DNA 的提取与纯化	141
三、噬菌体 DNA 的提取与纯化	145



四、真核细胞 DNA 的提取和纯化	148
第二节 DNA 凝胶电泳	152
一、琼脂糖凝胶电泳	152
二、聚丙烯酰胺凝胶电泳	154
第三节 真核细胞 RNA 的制备	157
一、异硫氢酸胍法	157
二、TRIzol RNA 提取试剂盒	157
三、细胞质 RNA 的制备	158
第四节 RNA 凝胶电泳	159
一、在含有氢氧化甲基汞的琼脂糖凝胶电泳	159
二、乙二醛化 RNA 的琼脂糖凝胶电泳	160
三、甲醛化 RNA 的琼脂糖凝胶电泳	161
第七章 分子杂交技术	163
第一节 DNA 探针	164
一、标记物分类	164
二、标记方法分类	165
第二节 寡核苷酸探针的合成	165
一、用 T ₄ 噬菌体多核苷酸激酶标记寡核苷酸探针	166
二、用大肠杆菌 DNA 聚合酶 I Klenow 片段标记合成的寡核苷酸	168
第三节 核酸分子杂交方法	170
一、固相杂交	171
二、液相杂交	176
三、原位杂交	178
四、荧光原位杂交	178
第八章 基因研究技术	180
第一节 克隆技术	180
一、基本原理和步骤	180
二、工具酶	181
三、载体	182
四、PCR 技术	184
五、目的基因的获得	191

第二节 基因文库构建技术	192
一、基因组 DNA 文库构建	193
二、cDNA 文库构建	197
第三节 RNA 干扰技术	205
一、RNA 干扰技术的原理及特点	205
二、RNA 干扰分子靶位的选择	206
三、siRNA 制备方法	206
四、RNA 干扰技术在寄生虫学研究中的应用	208
第四节 DNA 芯片技术	211
一、芯片制备	211
二、探针的准备	213
三、杂交	213
四、信号检测	213
五、结果分析	213
六、生物信息学分析	214
第九章 蛋白质组学技术	215
第一节 双向电泳技术	215
一、双向电泳原理	215
二、操作步骤	216
第二节 质谱技术	219
一、原理	219
二、操作步骤	220
第三节 蛋白质芯片技术	223
一、芯片的制作与质量控制	224
二、芯片的分类	224
第十章 抗体技术	226
第一节 单克隆抗体	226
一、单克隆抗体产生的原理	226
二、杂交瘤细胞系的建立	226
三、单克隆抗体的制备	228
四、在寄生虫中的应用	229



第二节 基因工程抗体	230
一、人源化的鼠单克隆抗体	230
二、小分子抗体	232
三、双特异性抗体	233
第三节 噬菌体抗体库技术	234
一、噬菌体抗体库技术	234
二、在寄生虫学中的应用	236
第四节 转人 Ig 基因小鼠的构建	237
一、人 Ig-YACs 的构建和筛选	237
二、小鼠胚胎干细胞的分离、培养	237
三、含人 Ig-YACs 酵母与鼠 ESC 的融合及克隆	238
四、人 Ig-YACs-ESC 导入鼠卵母细胞	238
五、含人 Ig-YACs-ESC 胚胎向小鼠体内送还和子代鼠的生成	240
第五节 抗体的表达	242
一、原核表达	242
二、真核表达	244
第六节 抗体的分离、纯化、保存	245
一、抗体的分离与纯化	245
二、抗体的保存	246
第七节 抗体的鉴定与分析	246
一、抗体效价的鉴定	246
二、抗体特异性鉴定	247
三、抗体纯度鉴定	248
四、抗体亲和力鉴定	248
第八节 抗体技术在寄生虫中的应用	249
一、消化道寄生虫	249
二、脉管系统寄生虫	250
三、肝与胆管寄生虫	251
四、呼吸系统寄生虫	251
五、皮肤与组织寄生虫	251

第一篇

医学寄生虫病诊断技术

寄生虫作为病原体可以引起寄生虫病,也可以作为疾病的传播媒介,医学寄生虫主要是指一类与人类健康密切相关的寄生虫。医学寄生虫对人类身体健康和社会经济发展均产生了影响,已经成为重要的公共卫生问题。因此,寄生虫病的合理治疗首先必须进行明确的诊断,一方面,可以使患者得到及时有效的治疗,解除病人的痛苦;另一方面,也可最大限度地控制寄生虫病的传播和流行。通常情况下,寄生虫感染属于慢性感染,开始阶段没有明显的体征,临床症状特异性不强,因此寄生虫感染的诊断常常依赖于实验室诊断。本章将着重介绍医学寄生虫感染的诊断技术,包括病原学诊断技术、免疫学诊断技术、影像学诊断技术和分子生物学诊断技术。

在绝大多数医学寄生虫病的诊断中,病原学诊断为首选方法,是寄生虫病确诊的主要依据。传统的病原学诊断技术主要包括:粪便直接涂片法,饱和盐水浮聚法,薄、厚血膜涂片法,钩蚴培养法和毛蚴孵化法等。寄生虫病的病原学检查要求检验者熟练掌握寄生虫学的基本理论知识和基本操作技能,并且对于检查者来说,还需具有高度的责任感、不怕脏累的精神和周到细致的服务。病原检查的标本来源大部分在肠道和血液内,还有一部分寄生在器官、组织和体液内,因此寄生虫虫卵、幼虫、成虫或包囊从人体排出的途径,包括消化道、呼吸道、泌尿道以及皮肤黏膜等,常用的标本有粪便、血液、骨髓、活组织和一些分泌排泄物等,并且有些标本的采集有时间限定,根据不同的标本以及检查目的采取不同的检查方法。

由于病原学检查耗时耗力,一般不适于现场大规模普查,加之多年来防治工作的大力开展,寄生虫感染度明显降低,而病原学检测在低度感染中敏感性较差,因此需要发展更为简便快速准确的检测方法。免疫学方法在寄生虫病诊断中已广泛应用,但此类方法一般仅作为辅助诊断工具,临床应用时,应结合病史,症状及体征,进行综合分析。为了提高诊断效果,可以同时应用两种免疫学方法进行检测,以取长补短,提高可靠性,而方法的选择,可根据各地的具体条件而定。目前几乎所有的免疫学方法均可用于寄生虫病的诊断,但是各有各的优缺点,各有各的应用条件。第二章在介绍寄生虫抗原、抗体的制备技术后,着重介绍了用于寄生虫病诊断的凝集反应、沉淀反应、免疫标记技术、免疫电泳技术、免疫组化技术和其特有的诊断方法。目前应用最多的是抗体检查法,此类方法敏感性和特异性较好,但缺点是治疗后抗体仍长期存在于宿主血清中,难以区别现症感染与既往感染。近年来迅速发展的有疗效考核价值的循环抗原检测方法已开始用于寄生虫病诊断。特别是随着免疫学、分子生物学和基因工程技术的迅猛发展,寄生虫的重组抗原、肽抗原、单克隆抗体和基因工程抗体的研究和应用越来越多,使免疫学方法在寄生虫病的实验室诊断中具有十分重要的地位和广泛的应用前景。

某些寄生虫病,病原学诊断方法的应用受到一定限制,在实施免疫学检查方法的辅助诊断后,影像学恰好弥补了这些缺点,它是一种简便、快速、无创伤、能定位且易被病人接受的现代常用的诊断方法。第三章重点介绍肝脏和神经系统寄生虫感染的影像诊断,对于其他的可提示寄生虫感染的影像学表现也进行了说明,为寄生虫病的诊断提供参考。此外,随着分子生物学的迅速发展和分子生物学技术在各个学科中的快速移植和应用,寄生虫病诊断技术也相应地得到提高,新的实验诊断手段层出不穷。所谓分子生物学诊断主要指基因诊断或核酸诊断技术,其在寄生虫病的诊断中显示出了高度的敏感性和特异性,同时还具有早期诊断和确定现症感染等优点。这方面内容集中在第四章。

总之,寄生虫病诊断方法的选择,要符合寄生虫的生活史特点,适应我国的国情,能够用于临床和现场。病原学诊断仍然是寄生虫病诊断的最可靠依据,免疫学诊断有简便易行、快速、微量、特异性强等优点,特别是在目前寄生虫感染度降低的情况下也不失为一种好方法。新技术的应用,为寄生虫病诊断开辟了新道路。但各种诊断技术的规范化、标准化,判定结果的客观化还需要加强。



第一章 病原学诊断技术

第一节 粪便检查技术

粪便检查是诊断寄生虫病常用的病原学检测方法。人体内寄生的蠕虫、原虫,生活史的某一时期均可随宿主粪便排出体外。要取得准确的结果,粪便必须新鲜(特别是检查原虫滋养体时),送检时间一般不宜超过 24h,如检查肠内原虫滋养体,最好立即检查,稀便应在 30min 内,软便应在 1h 内检查,注意保温。盛粪便的容器须洁净、干燥,并防止污染;粪便不可混入尿液及其他体液等,以免影响检查结果。在盛粪便的容器上应记录检查者姓名、粪便收集的日期和时间。单一的检查方法往往容易漏诊,两种或几种方法联合使用,可以提高检出率。

一、直接涂片法

直接涂片法用以检查蠕虫卵、原虫的包囊和滋养体。方法简便,快速,但是由于所用的粪量少,对轻度感染很容易漏诊,若连续作 3 次涂片,可以提高检出率。

1. 生理盐水直接涂片法 该法可用于检查粪便中的蠕虫卵、幼虫、原虫包囊、滋养体或卵囊等。在洁净的载玻片上滴一滴生理盐水,用棉签或牙签挑取绿豆大小的粪便块,在生理盐水中涂抹均匀,除去大块粪渣,加盖片,避免出现气泡和液体溢出。涂片的厚度以透过玻片隐约可辨认书上的字迹为宜。一般先在低倍镜下检查,再换高倍镜观察。此法是检查粪便中蠕虫卵最常规、最简单的诊断方法。应注意虫卵与粪便中异物的鉴别。虫卵都具有一定的形状和大小,卵壳表面光滑整齐,具固有的色泽,卵内含卵细胞或幼虫。本方法也适用于原虫滋养体的检查,粪便应在排出后立即送检,取有脓血及黏液部分涂片,涂片应较薄,并注意保温,气温越接近体温,滋养体的活动愈明显,必要时可用保温台保持温度。对观察溶组织内阿米巴、蓝氏贾第鞭毛虫和结肠小袋纤毛虫的活滋养体特别有用。最后根据虫卵的形态特点或原虫滋养体的大小、形态等特点进行鉴别。

【注意事项】:(1)粪便要新鲜,不能混入尿液、污水、泥土、药物或其他杂物等;(2)涂片的厚度适宜;(3)棉签或牙签要清洁干燥;(4)容器外要用标签标注;

(5)注意粪便的性状和颜色,如有脓血,应取材进行检查;(6)粪便中常有一些宿主残留物或脱落细胞,已与虫卵、滋养体等混淆,要注意区别。

2. 碘液直接涂片法 主要用于粪便内原虫包囊的检查。直接涂片方法同上,以一滴碘液代替生理盐水,粪便涂抹方法同上。或在已经涂好的生理盐水直接涂片上,从盖玻片一侧滴碘液一滴,待其渗入后观察。此法用于检查阿米巴和其他原虫(隐孢子虫)包囊,滋养体在碘液中变形,甚至死亡。碘染溶组织内阿米巴包囊细胞核不着色且具有反光性,细胞质黄色,糖原泡棕色,拟染色体不着色;碘染隐孢子虫卵囊油镜下呈圆形或卵圆形折光颗粒,不吸收碘液。最后从大小、形状、核的数目、核型、拟染色体等几个方面进行鉴别。

【注意事项】:(1)碘液不宜过多、过浓,否则粪便易凝结成团,致使包囊折光性降低,不利于观察;(2)涂片的厚度适宜,不宜过厚或过薄;(3)因包囊间隙排出,需多次检查,以防漏检;(4)容器外要用标签标注;(5)注意与粪便中的杂质相区别。

二、改良加藤法

改良加藤法(modified Kato thick-smear technique) 适用于蠕虫卵检查。取约 50mg(已用 100 目不锈钢筛除去粪渣)粪便,置于载玻片上,使粪便铺开(20mm×25mm),覆以浸透甘油-孔雀绿溶液的玻璃纸片,用橡皮塞轻压,或反扣于玻璃板上,置于 30~36℃温箱中约半小时或 25℃室温中 1~2h。待粪膜稍干,即可镜检。

使用改良加藤法需掌握粪膜的合适厚度和透明的时间,粪膜要厚薄均匀。如粪膜厚透明时间短,虫卵难以发现;如透明时间过长则虫卵变形,也不易辨认。特别是钩虫卵和血吸虫卵,如检查钩虫卵时,透明时间宜在 30min 以内。

三、浓集法

粪便中含有少量的虫卵和包囊,用直接涂片法很难检出,若用较多的粪便,通过各种方法使蠕虫卵浓集则易于检出。浓集法(concentration method)即是利用虫卵的比重不同而使虫卵集中。

(一)沉淀法

沉淀法(sedimentation method) 适用于原虫包囊、球虫卵囊和蠕虫卵的收集。原虫包囊和蠕虫卵的比重比水大,可沉积于容器底部,有助于提高检出率。沉淀所需的时间与包囊和虫卵的比重以及粪便的浓度都有关系。但比重较小的钩虫卵和某些原虫包囊则效果较差。

1. 重力沉淀法(gravity sedimentation method) 即自然沉淀法,又称水洗



沉淀法。本法是利用虫卵和包裹的比重比水大而自然下沉的原理,使大量粪便中的虫卵和包裹下沉而达到浓集的目的。本法主要用于蠕虫卵检查,蠕虫卵比重大于水,可沉于水底,使虫卵浓集。加之,经水洗后,视野清晰,易于检查。有些虫卵,如钩虫卵,比重较轻,应用此法效果不佳。原虫包裹的比重一般在 $1.060\sim 1.070$ 之间,小于蠕虫卵的比重,因此收集原虫包裹需要时间较长。

取粪便 $20\sim 30\text{g}$,加 $10\sim 12$ 倍水制成混悬液,用金属筛(40~60孔)或2~3层湿纱布过滤,再加清水冲洗残渣;过滤粪液在容器中静置25min,倒去上液,重新加满清水,以后每隔 $15\sim 20\text{min}$ 换水一次(共3~4次),直至上清液清澈为止。最后倒去上清液,取沉渣作涂片镜检。检查血吸虫卵时,沉淀时间不宜过长,尤其在室温高于 15°C 时,卵内毛蚴易孵化。当检查包裹时,换水间隔时间宜延长至约6h。

【注意事项】:(1)粪便要充分搅匀后过滤;(2)注意换水时间;(3)换水时应一次倒完上清液,避免沉渣浮起,使虫卵或包裹随上清液流失;(4)注意粪便对环境的污染。

2. 离心沉淀法(centrifugal sedimentation method) 取粪便约1g,加水10ml,调匀过滤后离心($1\,500\sim 2\,000\text{r/min}$)1~2min,倒去上液,注入清水,再离心沉淀,如此反复沉淀3~4次,直至上液澄清为止,最后倒去上液,取沉渣镜检。本法省时、省力,适用于临床检验。

3. 醛醚沉淀法(formalin-ether sedimentation) 取粪便1~2g置于小容器内,加水 $10\sim 20\text{ml}$ 充分混匀,将粪便混悬液经2层纱布(或100目/时金属筛网)过滤,离心($2\,000\text{r/min}$)2min;倒去上层粪液,保留沉渣,加生理盐水10ml混匀,离心2min;倒去上液,加10%甲醛7ml;静置5min后加乙醚3ml,塞紧管口并充分摇匀;取下管口塞,离心2min。试管直立静置,可见管内自上而下分为4层,顶层为乙醚,第二层为杂质,第三层为甲醛透明层,第四层为沉淀层(此层含有原虫包裹或蠕虫卵)。倒去上三层液体,留少量甲醛液,取管底沉渣涂片镜检,查包裹时可滴加碘液。应用此法时,试剂最好用蒸馏水配制。加甲醛的目的在于固定和保存包裹或虫卵,乙醚的作用在于除去粪便中的油脂,并可除去臭味。本法不仅浓集效果好,而且不损伤包裹和虫卵的形态,易于观察和鉴定。对于含脂肪较多的粪便,本法效果优于硫酸锌漂浮法,但对布氏嗜碘阿米巴包裹、贾第虫包裹及微小膜壳绦虫卵等的检查效果较差。

【注意事项】:(1)不适用于经福尔马林保存数天后的虫卵和包裹;(2)不用于原虫滋养体的检查;(3)若检查包裹,需做碘液染色检查。

4. 汞碘醛离心沉淀法(merthiolate-iodine-formaldehyde centrifugation sedimentation method, MIFC) 本法综合了浓集、固定和染色三个步骤,适用于原虫包囊、滋养体及蠕虫卵和幼虫的检查。

检查时取汞醛液 9.4ml 及 5% 卢戈液 0.6ml 混合备用。但混合液保存 8h 后即变质,不应再用;碘液 1 周后亦不宜再用。

取粪便 1g,加汞碘醛液 10ml,充分混匀,用 2 层湿纱布过滤,再加入乙醚 4ml,塞紧管口摇匀后静置 2min,离心(2 000r/min)1~2min,管内从上到下即分成乙醚、粪渣、汞碘醛及沉淀物 4 层。倒去上面 3 层,将沉淀摇匀,用吸管吸取沉渣镜检。

【注意事项】:(1)汞碘醛液在检查时临时混合,保存不能超过 8 小时,否则会发生变化变质;(2)碘液保存 1 周内为宜;(3)如检查包囊,需要做碘液染色检查。

(二)浮聚法

浮聚法(flotation method) 利用比重较大的液体,使较轻的原虫包囊或蠕虫卵上浮,集中于液体表面。

1. 饱和盐水浮聚法(brine flotation) 是利用饱和盐水的比重较大,而某些蠕虫卵的比重小而上浮于液面的原理来达到浓集的目的。此法用以检查钩虫卵效果最好,也可用于检查其他线虫卵和微小膜壳绦虫卵。但不适于检查吸虫卵、原虫包囊、未受精蛔虫卵和带绦虫卵。用竹签取黄豆粒大小(约 1g)的粪便置于浮聚瓶(高 3.5cm,直径约 2cm 的圆形直筒瓶)中,加入少量饱和盐水(比重 1.20),用玻璃棒搅动调匀,再慢慢加入饱和盐水,除去液面上漂浮的大块杂质,至液面接近瓶口时改用吸管慢慢滴加,使液面略高于瓶口,以不溢出为止。此时在瓶口覆盖一载玻片(7.5cm×5cm),静置 15~20min 后,将载玻片提起并迅速翻转,避免液体滴落,覆以盖玻片,置显微镜下直接镜检。

【注意事项】:(1)将载玻片盖于杯口时,注意不要有气泡残留;(2)静置时间要适宜,过短影响检出率,过长虫卵容易变形而不易辨认。

2. 硫酸锌离心浮聚法(zinc sulfate centrifugal flotation method) 是利用包囊、虫卵等比重小于 33% 硫酸锌的比重,经离心后上浮于液面的原理来达到凝集的目的。此法适用于检查原虫包囊、球虫卵囊、线虫卵和微小膜壳绦虫卵。取粪便约 1g,加 10~15 倍的水,充分搅碎,按离心沉淀法过滤,反复离心。(2 000r/min)3~4 次,至上层液体变清为止,最后倒去上清液,在沉渣中加入比重 1.18 的硫酸锌液(33% 的溶液)3~4ml,调匀后再加硫酸锌溶液至距管口约 1cm 处,离心 1min。用金属环取表面的粪液置于载玻片上(2~3 次),加碘液一滴(查包囊),混匀后镜检。取标本时,用金属环轻轻接触液面即可,切勿搅动。



离心后应立即取标本镜检,如若放置时间超过 1h 以上,会因包裹或虫卵变形而影响观察效果。

【注意事项】:(1)加硫酸锌溶液前,应将上层液体倒净;(2)取标本时,切勿搅动液面;(3)离心后立即镜检,放置时间过久会对检测结果产生影响。

3. 蔗糖离心浮聚法(sucrose solution centrifugal flotation method) 此法适用于检查粪便中隐孢子虫的卵囊。取粪便约 5g,加水 15~20ml 调匀,以 260 目/时尼龙袋或 4 层纱布过滤。取滤液离心 5~10min,吸弃上清液,加等量饱和蔗糖溶液(蔗糖 500g,蒸馏水 320ml,石炭酸 6.5ml)再离心 10min,然后如同饱和盐水浮聚法,取其表面膜镜检(高倍镜或油镜)。卵囊透明无色,囊壁光滑,内含一小暗点和淡黄色的子孢子。隐孢子虫的卵囊在漂浮液中浮力较大,常紧贴于盖片之下,鉴于 1h 后卵囊脱水变形不易辨认,故应立即镜检。也可用饱和硫酸锌溶液或饱和盐水替代蔗糖溶液。

饱和蔗糖溶液配制:在 320ml 蒸馏水中加入 500g 蔗糖,煮沸至蔗糖完全溶解,仔细加入石炭酸 6.5ml 并搅动,置室温冷却。

(三)尼龙袋集卵法

本法主要用于血吸虫卵的浓集。先将 120 目/时(孔径略大于血吸虫卵)的尼龙袋套于 260 目/时(孔径略小于血吸虫卵)的尼龙袋内(两袋的底部均不黏合,分别用金属夹夹住)。取粪便 30g,放入搪瓷杯内加水捣碎调匀,经 60 目/时铜筛滤入内层尼龙袋,然后将两个尼龙袋一起在清水桶内缓慢上下提动洗滤袋内粪液,或在自来水下缓缓冲洗,至袋内流出清水为止。将 120 目/时尼龙袋提出,弃去袋内粪渣,取下 260 目/时尼龙袋下端金属夹,将袋内粪渣全部倒入三角量杯内,静置 15min。倒去上清液,吸沉渣镜检或将沉渣倒入三角烧瓶内做血吸虫毛蚴孵化。

本法有费时短、虫卵丢失少等优点,并可避免在自然沉淀过程中孵出的毛蚴在换水时被倒掉。尼龙袋在每次使用后,需用清水冲洗,然后于 70~80℃ 热水中浸泡 2~3min,以达到杀卵目的。必须严格清洗干净,防止交叉污染,影响检查结果。

【注意事项】:(1)应缓慢清洗或冲洗;(2)使用后的尼龙袋应放入来苏水溶液中浸泡消毒半小时,然后清水冲洗干净,晒干保存。

附:虫卵计数法

虫卵计数用于估计人体内寄生虫的感染度。蠕虫排卵量和宿主的年龄、营养、健康等情况,以及寄生虫的成熟情况都有一定的关系,因此计数结果只能做