

医学寄生虫学实验教程

主 编 薛长贵

河南医科大学出版社

医学寄生虫学检验教程

主 编 薛长贵
副主编 武 峰 崔 晶 杨瑞琴
曲传智 王中全

河南医科大学出版社
郑州

医学寄生虫学实验教程

主 编 薛长贵

责任编辑 赵秋民

责任监制 张 超

河南医科大学出版社出版发行

(郑州市大学路40号 邮编450052 电话0371-6988300)

河南省水利厅印刷厂印刷

开本787×1092 1/16 印张5.5 121千字

1997年4月第1版 1997年4月第1次印刷

印数1~10 000册

ISBN 7-81048-125-8/R·123

定价6.00元

编写说明

寄生虫学实验课是医学寄生虫学教学的重要内容之一,但长期以来没有一本正规的实验教材,一定程度上影响了寄生虫学实验教学的质量。根据医学寄生虫学教学大纲的要求和以往寄生虫学实验教学经验,我们编写了此实验教材。

全书共分三部分。第一部分重点介绍了医学寄生虫学实验的特点与方法,寄生虫学实验中显微镜使用的特点及注意事项,显微镜测微技术和寄生虫标本的绘制方法。第二部分为实验内容,按照理论课教学安排的顺序编排,每一实验内容主要包括实验目的与要求,观察与示教标本的特征描述和病原学检查操作技术。第三部分为附录,介绍了常用寄生虫学免疫诊断技术操作方法,在人体各种标本中可检出的寄生虫,河南省寄生虫病分布概况及医学寄生虫学专业英文词汇,以便学生查阅参考。本书可作为五年制本科和三年制专科医学各专业学生寄生虫学实验课的教材。

由于编者水平有限,难免有疏漏之处,恳请广大师生批评指正。

河南医科大学寄生虫学教研室

薛长贵

1997年1月

目 录

第一部分 实验须知	(1)
实验室规则	(1)
光学显微镜使用方法	(1)
显微镜测微技术	(2)
寄生虫标本的绘制	(3)
寄生虫学实验的特点与方法	(4)
第二部分 实验内容	(6)
医学蠕虫	
似蚓蛔线虫(蛔虫)	(6)
毛首鞭形线虫(鞭虫)	(8)
十二指肠钩口线虫、美洲板口线虫(钩虫)	(9)
蠕形住肠线虫(蛲虫)	(12)
旋毛形线虫(旋毛虫),附:结膜吸吮线虫、美丽筒线虫	(13)
班氏吴策线虫(班氏丝虫)、马来布鲁线虫(马来丝虫)	(14)
华支睾吸虫(肝吸虫)	(16)
布氏姜片吸虫(姜片虫)	(18)
卫氏并殖吸虫(肺吸虫),附:斯氏狸殖吸虫	(19)
日本裂体吸虫(日本血吸虫)	(21)
链状带绦虫(猪带绦虫)、肥胖带吻绦虫(牛带绦虫)	(22)
微小膜壳绦虫(短膜壳绦虫)	(24)
细粒棘球绦虫(包生绦虫),附:曼氏迭宫绦虫	(25)
医学蠕虫小结	(26)
医学原虫	
溶组织内阿米巴,附:结肠内阿米巴	(34)
蓝氏贾第鞭毛虫,附:结肠小袋纤毛虫	(36)
阴道毛滴虫(阴道滴虫)	(37)
杜氏利什曼原虫(黑热病原虫)	(38)
疟原虫	(39)
刚地弓形虫,附:卡氏肺孢子虫、隐孢子虫、等孢球虫	(41)
医学原虫小结	(42)
医学昆虫	
蚊	(45)
蝇	(46)
蚤	(48)
虱	(48)

臭虫	(49)
蜚、螨	(50)
医学昆虫小结	(51)
第三部分 附录	(54)
附录一 常用寄生虫学免疫诊断技术	(54)
附录二 人体各种标本中可检出的寄生虫	(65)
附录三 河南省寄生虫病分布概况	(67)
附录四 医学寄生虫学专业英文词汇	(71)

第一部分 实验须知

实验室规则

1. 实验室是培养学生理论联系实际的科学态度,独立思考和独立操作能力的课堂。学生必须遵守实验室规则。
2. 实验课不得迟到或早退,进实验室要衣着整齐,并必须穿隔离衣。
3. 实习前,凭自己学生证借用显微镜。使用前,先检查显微镜各部件是否缺失或损坏。使用后将镜头和镜台拭擦干净,合好推进尺,检查各部分完好无缺,送还显微镜并领回学生证。
4. 实习前要先预习本次实习目的、内容与要求,实习过程中,无论观察标本或进行操作均应按实验教程进行。
5. 实验台上除放标本盒、显微镜、实验教程和绘图用具外,不要放其他物品。
6. 实验过程中不得擅自移动示教显微镜视野及大体标本,以免影响别人观察。
7. 遵守实验课秩序,不要大声喧哗,不得随地吐痰和乱扔纸屑,要尊重老师,爱护公物。
8. 认真独立完成实习内容,写实验报告要求简明扼要,字迹清楚,绘图要准确、客观,不得抄袭图谱或挂图。实验报告要按时完成,不得带出实验室。
9. 实习结束时,应将标本整理好,若有缺损应及时向老师报告。污物放到指定的地方,不要乱扔乱放。每班课后留值日组进行整理和清洁工作。
10. 实验室一切物品不得携出实验室,丢失、损坏者,照价赔偿。

光学显微镜使用方法

寄生虫学实验,除基本检验技术操作外,多为标本观察。标本因大小不同,有些肉眼直接观察,有些则需用显微镜的低倍镜、高倍镜或油镜观察。根据寄生虫标本的特点,使用显微镜观察时应注意以下问题。

1. 注意显微镜的不同型号,熟悉其结构,便于使用。
2. 观察液体标本,载物台要放平,不能倾斜,防止液体的流动。
3. 观察标本时,镜检者姿势要端正,一般用左眼观察,右眼便于绘图或记录,两眼必须同时睁开,以减少疲劳。双手同时并用,左手控制粗、细螺旋,调节物体的平面,右手控制镜台推进尺,移动观察视野。
4. 显微镜光线的调节,在寄生虫标本观察中非常重要。通常,染色标本宜用强光,液体标本和未染色标本宜用弱光;同一标本,低倍镜观察光线宜弱,油镜和高倍镜观察光线宜强,应根据具体情况,通过升降聚光器、扩大或缩小光圈及旋转反光镜随时调节光线。

5. 寄生虫玻片标本大多为各种待检物的涂片,如粪便涂片、血液涂片等。因此,观察时需寻找涂片中的寄生虫或虫卵。通常先用低倍镜寻找,寻找时应按一定的顺序,看完整个涂片,以免造成漏检。在低倍镜下找到待观察的寄生虫或虫卵时,若需进一步放大观察其详细结构,可换高倍镜或油镜。低倍镜换高倍镜时,应先将待观察物体移至视野中央再转换高倍镜,注意避免高倍镜头与玻片相撞。

6. 放大倍数的计算 显微镜的放大倍数通常已在镜头上注明,只要将接目镜的放大倍数乘上接物镜的放大倍数即等于该显微镜的实际放大倍数。如接目镜上刻有 $10\times$,低倍接物镜上刻有10,高倍接物镜上刻有40,油镜上刻有100,则实际放大倍数为:低倍 $10\times 10=100$ 倍,高倍 $10\times 40=400$ 倍,油镜 $10\times 100=1\,000$ 倍。

7. 油镜使用方法

(1)先以低倍物镜对光,要求强光时,将聚光器提高,光圈放大。

(2)油镜利用油折光率放大,待查标本加香柏油一滴,油滴以绿豆大小为宜,在眼睛直视下扭动粗螺旋,使油镜头慢慢向下浸入油内,让镜头几乎接触玻片,油镜头有明确标记(有一黑或红圈,刻有 $100\times$ 字样),勿将其他镜头浸油。

(3)用细螺旋向上调节焦点,勿用粗螺旋,以免紧压玻片,损坏镜头和标本,用细螺旋调节时不要超过180度。

(4)油镜用毕,将镜筒提高,取下标本,用擦镜纸一角轻轻拭去镜头上的浮油,再用擦镜纸的另一角,滴上二甲苯少许,擦净香柏油,最后用干净擦镜纸再轻擦一次。

(5)标本上的油滴亦应用擦镜头的方法除油,擦时动作一定要轻,以免损坏标本。

显微镜测微技术

(一)基本原理

寄生虫的大小,是其形态特征之一,也是重要的分类鉴定依据。寄生原虫和虫卵的个体微小,必须借助于显微镜才能观察。其大小的测定通常也需在显微镜下用目镜测微尺来测量。目镜测微尺是一块圆形玻片,在中央刻有5 mm长的等分线,测量时,将其放在接目镜中的隔板上。因此目镜测微尺不是直接测量寄生虫,而是观测显微镜放大后的物像。由于不同显微镜的放大倍数不同,故目镜测微尺每格实际代表的长度随显微镜放大倍数的不同而异,因此,在使用前须用镜台测微尺校正,以求得在一定接物镜及接目镜等光学系统下,目镜测微尺每格实际测量时的长度。镜台测微尺是中央部分刻有精确等分线的载玻片。一般将1 mm等分为100格(或2 mm等分为200格),每格等于0.01 mm($10\,\mu\text{m}$),是专用于校正目镜测微尺每格长度的。

(二)器材

蛔虫卵玻片标本;目镜测微尺;镜台测微尺;显微镜。

(三)操作步骤

1. 目镜测微尺的校正

首先把接目镜上的上透镜旋下,将目镜测微尺的刻度朝下轻轻地装入接目镜的隔板

上,然后把镜台测微尺置于载物台上,使刻度朝上并对准聚光器。先用低倍镜观察,对准焦距,当看清镜台测微尺后,转动接目镜,将目镜测微尺的刻度与镜台测微尺刻度平行,移动推动器,将目镜测微尺的0点与镜台测微尺的一条刻线重合,然后于另一端找重合线,计算两端重合线之间目镜测微尺和镜台测微尺各有若干格。因为镜台测微尺的刻度是在载物台上,所以每格的长度($10\text{ }\mu\text{m}$),就是实际测量时的长度。由下列公式可以算出所校正的目镜测微尺每格所量的镜台上物体的实际长度:

$$\text{目镜测微尺每格长度}(\mu\text{m}) = \frac{\text{两个重合线间镜台测微尺的格数} \times 10}{\text{两个重合线间目镜测微尺的格数}}$$

例如:目镜测微尺20小格等于镜台测微尺3小格,已知镜台测微尺每格为 $10\text{ }\mu\text{m}$,则3小格的宽度为 $3 \times 10 = 30\text{ }\mu\text{m}$,那么相应地在目镜测微尺上每小格大小为:

$$\frac{3 \times 10}{20} = 1.5(\mu\text{m})$$

用同法校正在高倍镜下目镜测微尺每格所量的载物台上物体的实际长度。

由于不同显微镜及附件的放大倍数不同,因此校正目镜测微尺必须针对特定的显微镜和附件(特定的接物镜、接目镜、镜筒长度等)进行,而且只能在这特定的情况下重复使用。

2. 蛔虫卵大小的测定

目镜测微尺校正好以后,移去镜台测微尺,以目镜测微尺来测量蛔虫卵占有几格(长、宽),测出的格数乘上目镜测微尺每格的长度,即等于该蛔虫卵之大小。

一般测量虫卵的大小要在同一个涂片测定10个~20个虫卵,求出平均值,才能代表该虫卵的大小。

(薛长贵)

寄生虫标本的绘制

绘图在寄生虫学研究中是不可缺少的,尤其是寄生虫标本的虫体构造,形态上的细微特征,颜色变化等等,这些都是用文字不易完善表达的,即使在描述时相当仔细认真,往往用很多文字说得也不够真切,绘制成图则可将这些真实情况记录下来。因此,作为医学生,也应该具备有一定的绘图知识和掌握绘图的基本技术。

在寄生虫学研究工作中所绘制的图采用的是生物绘图法,可以对观察标本做精确的记录。生物绘图法不同于一般的美术绘画,美术绘画侧重于艺术性,可以对某些能突出主题的部分进行必要的艺术夸张,这在生物绘图里是绝对不允许的。生物绘图是绘制科学的图,应以精确为主,具有真实性,必须严格按照比例放大或缩小倍数,在这些基础上力求做到画面整洁、美观。

在寄生虫学实验课上,最常用的生物绘图法是铅笔线条图(黑白图)和彩色铅笔着色图。铅笔线条图主要用于表达寄生虫不同发育阶段的内部和外部形态构造特征,以及虫体的其他详细结构。用彩色铅笔着色图表现虫体染色标本的形态特征。下面着重介绍铅笔线条图。

铅笔线条图即用线画出标本的各部轮廓,再用点的疏密表示标本的明暗部分,光线越暗的部分点越稠密,反之则疏。点点时笔的方向要成垂直,点好一个点再点另一个点,这样点出的点才圆。不要点好一个点后,笔不提起就向后一拉即去点另一个点,这样点的点带一个尾巴不美观。最常用的是梅花点点法,即中间点一点,四角各点一点。这样由许多梅花点组成的点群看上去非常规律。也可采用其他的点点法。无论采用哪种方法,所点的点要圆,大小相同,点与点之间不能相连,因为许多点相连就成一片污黑。绘图时应注意下述几点。

1. 绘制精确的图,必须认真观察标本(左眼观察显微镜下标本,右眼视绘图)。不可仿抄教材中的模式图。

2. 在纸的一面绘图,铅笔应经常保持尖锐,纸面力求整洁。

3. 绘图的大小应适宜,图的各部分结构必须按要求表示清楚。一般较大的图每页绘一个,同一类的小图可以在一张纸上绘数个,但应在纸上适当安排,预留注释的空地。

4. 绘图时先把标本放在一个适宜的位置,以便展示出图中要求表示的各部分。先测量或估量一下标本的大小、长短,按照应放大或缩小的倍数用软铅笔(HB)先轻轻描在纸上。

5. 先用软铅笔把标本轮廓及主要部分轻轻画出,如标本是两侧对称,则应先画一条线垂直经过图的正中,这样就很容易把两部分画得相称。

6. 根据草图添绘各部分的详细结构,最后用尖的硬铅笔(2H 或 3H)以清晰的笔画绘出全图,点线不要重复描绘。失误画错部分宜用软橡皮修正。

7. 绘图纸上所有的字都必须用硬铅笔以楷书写出,不可潦草。图上的注字应横写,并且最好在右侧排成一竖行。注字引线尽量水平伸出,各引线不能交叉。图的标题应写在该图的下面,并注明放大倍数。在纸的上方正中写出本次实验的题目,并在纸的右上角注明实验日期。

8. 所有的图都要注释完全。

(崔 晶)

寄生虫学实验的特点与方法

(一)寄生虫学实验的目的

寄生虫学实验,是学习医学寄生虫学的重要内容之一。通过寄生虫学实验,可以验证大课中所学的基本理论,对部分理论内容加深理解。通过寄生虫标本的观察和基本实验技术操作使学生能够辨认常见的寄生虫,熟习各种常见寄生虫的病原学检查方法。通过寄生虫学实验的基本技能训练,可以培养学生的动手能力和独立工作能力。

寄生虫感染的实验诊断是临床上确诊寄生虫病的主要依据,包括病原学检查、免疫学检查及其他实验室常规检查。病原学检查是指从血液、组织液、排泄物、分泌物或活体组织中检查寄生虫的某一发育期,是确诊寄生虫感染最可靠的方法。免疫学检查包括皮内试验和血清学试验。皮内试验的特异性较低,主要供大面积普查和初次筛选病人之用;血清学试验包括用不同方法检查特异性抗体或抗原,特异性抗体阳性表明患者既往或现在感染,抗原阳性则表明有现在感染。实验室常规检查时若发现外周血液或其他体液(如脑积液、

心包液或胸腔液等)中嗜酸性粒细胞增多,常需考虑可能存在有寄生虫感染。此外,在活体组织检查时,即使未发现虫体或虫卵,若病理检查报告为嗜酸性肉芽肿,亦应考虑有寄生虫感染的可能。本寄生虫学实验,主要是为病原学诊断打基础。

(二)寄生虫学实验的方法

实验课以寄生虫标本观察为主,包括肉眼观察的大体标本和显微镜观察的玻片标本,部分重要虫种有活体观察和常用的病原学检查技术操作。

(三)寄生虫学实验的注意事项

1. 认真学习和严格遵守实验室规则,以保证实验的顺利完成。
2. 实验用品应准备白大衣、实验教程、实验报告本(无格白纸本)、绘图用具(铅笔、尺子、橡皮)、学生证(借显微镜用)。
3. 实验中应有无菌观念,待检的粪便、组织液等实验材料是有菌的,有些寄生虫标本,如猪带绦虫卵、蛲虫卵、旋毛虫幼虫囊包、血吸虫尾蚴、部分肠道原虫包囊、弓形虫滋养体等,具有感染性。因此,操作时要避免污染实验台、显微镜、地面及手,实验完成后要妥善处理实验材料和器具,并注意洗手。
4. 观察标本要认真仔细,抓着特征进行观察。示教标本不得擅自移动。
5. 树立立体概念和动态概念。在显微镜下,寄生虫(虫卵)是一个立体图像,因此观察时必须调节不同的水平面,力求看到寄生虫的全貌。例如,成熟的溶组织内阿米巴包囊内有4个核,但观察时在一个水平面上可能仅看到1个~2个,调节平面后才能看到其余的核。另外,寄生虫是一个活的生物,观察时处在不同的发育期,故其形态特征会不断变化,如典型的钩虫卵内含有4个卵裂细胞,若待检粪便放置过久,检查时可能会发现桑椹期钩虫卵,甚至会发现钩蚴。
6. 实验结束时应将标本整理好,玻片标本放在标本盒内。若发现标本有缺损,应及时向辅导教师报告。显微镜应拭擦干净,合好推进尺,送回显微镜柜。

(薛长贵)

第二部分 实验内容

医学蠕虫

似蚓蛔线虫(蛔虫)

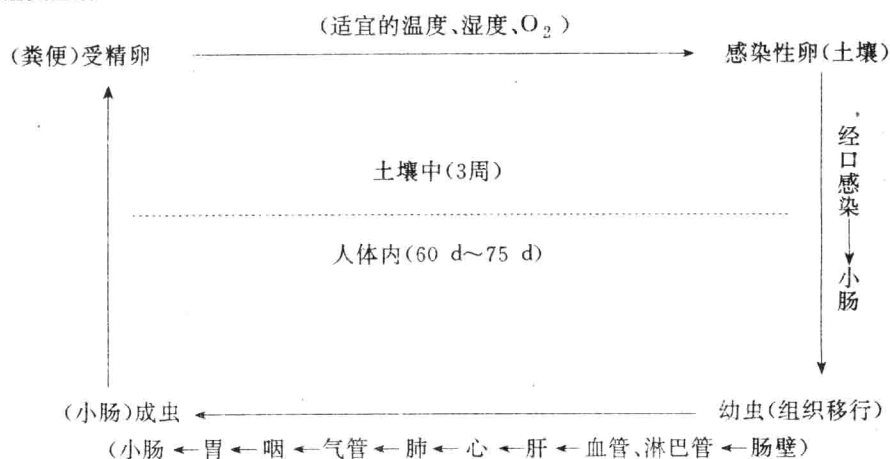
【学名】似蚓蛔线虫(*Ascaris lumbricoides*)

【病名】蛔虫病(ascariasis)

【目的要求】

1. 掌握蛔虫受精卵及未受精卵的形态特征。
2. 通过蛔虫形态结构的观察,了解线虫的一般形态特征。
3. 了解蛔虫病的流行、致病情况及防治原则。
4. 掌握粪便直接涂片法。

附:生活史图解



【观察标本】

似蚓蛔线虫卵形态特征观察

1. 受精卵 一般为椭圆形, $(45\sim75)\mu\text{m} \times (35\sim50)\mu\text{m}$, 卵壳厚而透明, 壳外附一层凸凹不平的蛋白质膜, 因受胆汁染色而呈棕黄色, 卵内有一圆形卵细胞, 卵细胞两端与卵壳间多可见半月形空隙, 但部分虫卵的卵细胞充满壳内, 两端无空隙。
2. 未受精卵 较受精卵长而窄, 大小为 $(88\sim94)\mu\text{m} \times (39\sim44)\mu\text{m}$, 卵壳较薄, 壳外亦附有一层较薄而凸凹不平的蛋白质膜, 卵内含有许多折光性强的卵黄颗粒。
3. 蛋白膜脱落的蛔虫卵 有时卵壳上附的蛋白质膜可以脱落, 脱落蛋白质膜后的虫卵呈无色透明, 遇有这种的卵, 应注意勿与其他虫卵, 尤其是钩虫卵混淆。

【示教标本】

1. 蛔虫成虫外形观察(瓶装标本)

注意其大小、色泽(新鲜标本微黄色, 固定标本色变浅)、头和尾的区别、雌和雄的区别。

虫体表皮光滑,可见极细的环纹,沿体之背、腹中线以及两侧各有纵线一条,以两侧较为明显。雌虫尾尖直,雄虫尾部卷曲。

未发育成熟的童虫,体虽小,但仍具备似蛔虫的特征。

2. 似蛔虫线虫成虫内部结构观察(解剖标本)

消化系统:为单一管道,最前端有口,下接食道,食道短棒状,后接中肠,中肠最长,其后为短的直肠,直肠由虫体后端腹面的肛门通体外。雄虫直肠则与射精管共同通入泄殖腔,由泄殖孔通体外。

生殖系统:雌雄虫生殖系统均甚发达,同为细长而盘曲的管状结构。

(1)雌性生殖系统为成对的管状结构(某些线虫为单一管状结构),末端细长而盘曲的部分为卵巢,接输卵管、子宫,子宫最粗,左右二子宫末端会合形成阴道,阴门位于腹前端1/3处。

(2)雄性生殖系统为单一细长而曲折的管状结构,由末端最细长的睾丸起始,渐次为输精管、储精囊(最粗部分)和射精管,这些结构之间的分界线无法以肉眼识别,射精管最后与直肠共同通入泄殖腔,且以泄殖孔开口于虫体后端腹面。交合刺两枝,自射精管两侧伸入泄殖腔,由泄殖孔通体外(可用放大镜观察)。

3. 似蛔虫线虫头端观察(头端横切标本,镜下示教)

上有唇瓣三枚,背面一、腹面二,呈“品”字排列。唇瓣的特征为似蛔虫线虫定种的主要依据之一。

4. 似蛔虫线虫所引起的严重损害 肠梗阻、肠穿孔、肝脓肿的大体标本。

【操作技术】

粪便直接涂片法检查蛔虫卵

1. 使用器材

(1)待查粪便

(2)生理盐水

(3)洁净载玻片

(4)竹棒

2. 操作步骤

(1)吸取生理盐水一滴,滴于载玻片中央。

(2)用竹棒从待查粪便的不同部位沾取少许粪便。

(3)将粪便均匀涂在载玻片的盐水中,厚薄以能透过印刷字为准。

(4)先用低倍镜寻找虫卵,一张涂片要按顺序全部查寻一遍,注意镜台要平,不能倾斜(思考:为什么不能倾斜?),勿使物镜污染粪便。

(5)低倍镜下卵的基本结构已可见到,换高倍镜后更为清晰。

(6)常规检查以三张涂片为标准。

【实验报告】

绘受精蛔虫卵和未受精蛔虫卵,注明放大倍数及各部名称。

毛首鞭形线虫(鞭虫)

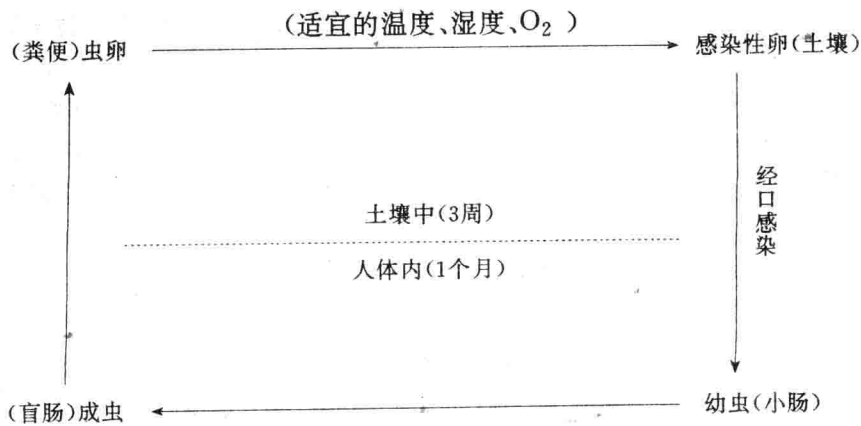
【学名】毛首鞭形线虫(*Trichuris trichiura*)

【病名】鞭虫病(trichuriasis)

【目的要求】

1. 掌握鞭虫卵的形态特征。
2. 了解鞭虫成虫的外部形态及生活史。

附:生活史图解



【观察标本】

鞭虫卵形态特征:

大小为 $(50\sim 54)\mu\text{m}\times(22\sim 23)\mu\text{m}$,形似腰鼓,壳厚,两端各有塞状透明栓1个,壳质层外的蛋白质膜被胆汁染成黄褐色,在新鲜粪便中所见到的虫卵内含1个卵细胞。在低倍镜下即可见其基本结构,换高倍镜后更为清晰。

【示教标本】

1. 鞭虫成虫自然标本观察(瓶装标本)

成虫外形似马鞭,虫体前部较细,后部较粗,灰白色。雌虫较长,尾端不弯曲。雄虫较短,尾端向腹面作 360° 卷曲,有交合刺1根。

2. 成虫寄生于肠内状态(瓶装标本)

头端插入肠粘膜。

【操作技术】

鞭虫卵检查法

可采用粪便直接涂片法或饱和盐水浮聚法,本次实习用5%福尔马林保存的虫卵直接涂片。

【实验报告】

绘鞭虫卵图,注明结构和放大倍数。

十二指肠钩口线虫、美洲板口线虫(钩虫)

【学名】十二指肠钩口线虫(*Ancylostoma duodenale*)

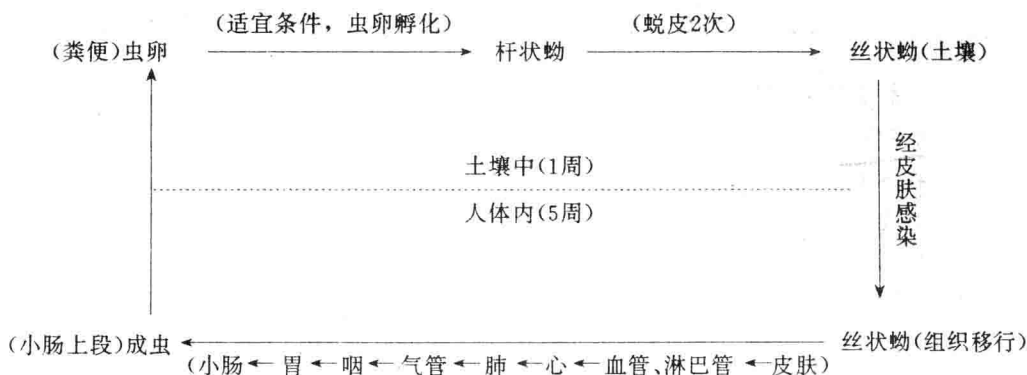
美洲板口线虫(*Necator americanus*)

【病名】钩虫病(ancylostomiasis)

【目的要求】

1. 掌握钩虫卵的形态特征及两种钩虫成虫形态鉴别。
2. 掌握诊断钩虫感染常用的饱和盐水浮聚法。
3. 了解钩虫培养法及虫卵计数法。
4. 了解钩虫的致病作用、传播及防治原则。

附:生活史图解



【观察标本】

钩虫卵的形态特征观察:

两种钩虫卵不易区别,不再分述。

低倍镜下特征:长椭圆形,无色透明,大小为 $(56\sim76)\mu\text{m}\times(36\sim40)\mu\text{m}$,卵壳薄,内含卵细胞。

高倍镜下特征:除低倍镜下所见特征更为清晰外,可见卵内含有2个~8个卵裂细胞,且卵细胞和卵壳间有明显的空隙;如粪便搁置1天~2天或数天后,则卵内细胞分裂为多个卵裂细胞,或已发育成1条卷曲的幼虫。

【示教标本】

1. 十二指肠钩虫和美洲钩虫成虫自然标本(肉眼观察)

钩虫病患者经驱虫后,由粪便中收集成虫,保存于5%福尔马林液中。观察时注意其大小、外形、雌雄区别。

2. 十二指肠钩虫,美洲钩虫成虫形态鉴别(染色标本,低倍观察)

经福尔马林液固定过的虫体,经盐酸卡红或苏木精卡红染色,透明处理后,用树胶封片。

两种钩虫鉴别要点

鉴别特征	虫 种	
	十二指肠钩虫	美洲钩虫
体 态	前端与尾端均向背侧弯曲呈“C”形	前端向背侧弯曲,尾端向腹侧弯曲呈“S”形
口 囊	腹侧缘有两对钩齿	腹侧缘有 1 对半月形切板
雄 虫 交 合 伞	长宽相等或圆形,背肋由远端分二长枝后每枝再分三小枝	宽度大于长度,略扁,背肋由基部分二长枝后每枝再分成二小枝
雄 虫 交 合 刺	二根,末端分开	一刺末端形成倒钩,常与另一刺合在一起
雌虫阴门	在虫体中央略后方	在虫体中央略前方

3. 虫体寄生状态(大体标本)

犬钩虫寄生于小肠,成虫借口囊内的齿咬附于肠粘膜上。

【操作技术】

1. 饱和盐水虫卵浮聚法(操作)

(1)使用器材

1)青霉素空瓶

2)竹棒

3)载玻片

4)饱和盐水

(2)操作步骤

1)加少量饱和盐水于青霉素瓶内。

2)用竹棒挑取黄豆大小的粪便置瓶内,调匀成糊状,不可留有粪块(为什么不可留粪块?)。

3)加满盐水并使液面稍凸出瓶口(为什么要稍凸出瓶口?)。

4)盖上载玻片(载玻片需清洁无油,为什么?),使其和液面充分接触,载玻片和液面间不可使其出现气泡(为什么?),静置 15 min~20 min。

5)取下载玻片时,需先平着上提,使其脱离液面,再迅速向内翻转,使玻片粘着液体的一面向上,翻转时用力要均匀,不可太猛,以免玻片上的液体脱掉。

6)镜检。

饱和盐水配制:食盐 40g,置于 100 ml 水中,加热煮沸使溶,冷却后过滤使用。饱和盐水比重为 1.20,钩虫卵比重为 1.06,容易上浮,检出率远较直接涂片法为高,故较为常用。采用 25.5%浓度的盐水(比重 1.158)浮聚钩虫卵,检出效果亦佳,可与饱和盐水近似,但蛔虫卵、鞭虫卵的比重大,浮聚效果则差。

2. 钩蚴培养法(小试管法,示教)

钩虫卵在一定温、湿度条件下,数天内可发育为幼虫而孵出。钩蚴有向温、向湿特性,可集中于水内,用放大镜即可观察。

(1)使用器材 小试管;竹棒;试管架;滤纸条;剪刀;清水。

(2)操作步骤

1)将滤纸剪成对折的“T”形,垂直部分与小试管等长,其宽度以能顺利插入小试管为限。

2)将对折的“T”形滤纸摊开,以竹棒挑取黄豆大小粪便涂于滤纸条一侧中段。

3)小试管内加自来水(如用河水或井水需煮沸待冷后使用,为什么?)约 2 ml 然后将涂有粪便的滤纸条照旧对折置于小试管内,使滤纸和水接触,但不要使粪便直接接触水(为什么不能直接接触水?)。

4)将试管置试管架上,放 20℃~35℃ 温箱内,经 2 天~3 天后幼虫即可孵出。

5)培养过程中,需每天观察,如试管内水份已蒸发,应不断加水以保持滤纸湿润。

6)孵出的钩蚴,在水中呈蛇状运动。

3. 虫卵计数(定量透明法,示教)

(1)所需工具

1)定量板及刮棒;

2)100 目尼龙或金属筛网片(大小约 4 cm×4 cm);

3)亲水玻璃纸条(约 5.0 cm×2.6 cm),浸泡于甘油孔雀绿液(3%孔雀绿 1ml,甘油 50 ml,水 49 ml)中过夜后用;

4)压板(厚玻璃或有机玻璃制品,大小为 5 cm×3 cm,可连续使用)

5)载玻片及显微镜。

(2)操作步骤

1)滤取粪便 将筛网复盖在送检查标本上,自筛网上用刮棒刮取挤溢到网面上的粪便。

2)模板取样 将定量板放在载玻片上,使小边突紧贴玻片的一边,用一手的两指压住定量板的一端,将刮棒上取得的粪便填满模孔,刮去多余的部分,然后自一端掀起定量板,再松开压住的两指把板取去,玻片上即留下二个长条形粪样;

3)盖纸压片 在粪条上复盖含孔雀绿甘油液的玻璃纸条,展平后用压板加压,粪样即在玻璃纸与载玻片间铺开成长椭圆形,小心取下压板,(一指固定压板外的玻璃纸的一端,另手平拖移去压板,以免玻璃纸与压板同时揭起);

4)透明读片 约 1 h~2 h 粪膜透明后即可读片。钩虫卵不宜透明过久。

5)每克粪便含虫卵数(EPG) 经测定,每板取粪量平均 43.5 mg,将读得虫卵数乘以系数 23。

6)根据每克粪便所含虫卵数推算成虫数目而测定感染度。

$$\frac{\text{每克粪便含卵数} \times 24 \text{ h 粪便克数}}{\text{雌虫每天排卵总数}} = \text{雌虫寄生总数}$$