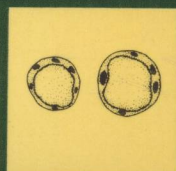


寄生虫检验手册

Basic Laboratory Methods in Medical Parasitology



翻译:陈亚伟
刘崇义
刘群华
肖 宁



校阅:王兴振
范根生

成都科技大学出版社

目 录

前言	(1)
导言	(1)
实验安全	(2)
第一部份 标本的收集、制备和检查技术	(4)
显微镜的保养	(4)
显微镜测量的校准	(5)
粪便标本	(7)
粪便标本的收集	(7)
检查	(8)
粪便的肉眼检查	(8)
湿封片的显微镜检查	(9)
寄生虫的鉴别	(13)
补充技术	(15)
浓集法	(16)
永久性染色法	(18)
染色涂片中寄生虫的鉴别	(28)
蛲虫的肛拭子检查	(29)
粪便厚涂片透明纸法诊断肠道血吸虫病 (Kato-Katz 法)	(30)



将标本送至有关咨询实验室的要求	(32)
标本的处理	(34)
粪便检查的质量控制	(34)
标本的收集	(34)
试剂的配制	(35)
技术操作	(36)
尿液标本	(38)
诊断血吸虫感染时尿液的收集	(38)
尿液检查	(38)
沉淀法查 24 小时终末尿	(38)
注射器过滤法	(39)
鉴别	(41)
阴道和尿道标本	(42)
标本的收集	(42)
直接涂片检查阴道和尿道分泌物	(42)
血液和其它标本	(44)
血片的染色	(45)
标本收集	(45)
姬姆萨染色法	(48)
费氏染色法	(49)
德拉菲尔德苏木素染色法染微丝蚴	(50)
检查厚血片	(51)
检查薄血片	(52)

血检的质量控制	(52)
检查疟原虫的特殊方法	(54)
疟原虫的鉴别	(54)
抗氯喹恶性疟的诊断	(55)
锥虫的特殊检查法	(57)
血检锥虫	(57)
淋巴结穿刺物中检查锥虫	(62)
脑脊液中检查锥虫	(63)
检查微丝蚴的特殊方法	(65)
微丝蚴血液的采集	(65)
外周血中检查微丝蚴	(65)
利什曼原虫的特殊检查法	(67)
皮肤标本	(71)
标本的采集	(71)
检查	(72)
第二部分 寄生虫虫种的鉴定	(73)
肠道寄生虫	(73)
蠕虫	(73)
虫卵的鉴别要点	(73)
蠕虫的幼虫	(77)
原虫	(78)
阿米巴滋养体	(80)

阿米巴包囊	(81)
鞭毛虫	(86)
贝氏等孢子球虫和隐孢子虫	(88)
鼠弓形体	(89)
鉴别中存在的问题	(89)
血液寄生虫	(91)
疟原虫	(91)
薄血片上疟原虫的鉴别	(91)
厚血片上疟原虫的鉴别	(91)
易与疟原虫混淆的物质	(94)
锥虫	(95)
微丝蚴	(95)
 附录 1: 卫生中心和地区医院实验室用于寄生虫学	
诊断的设备和材料	(99)
附录 2: 试剂和溶液及其制备	(104)
附录 3: 培养基的制备	(120)
附录 4: 显微镜载片的清洁和贮存	(122)

前 言

本手册的目的是为在健康中心或医院实验室的工作人员提供实用的指导。诊断方法主要使用显微镜，虽然有的标本可能需要送交血清学诊断。

本手册内容是根据下列单位的培训材料和手册资料等编辑而成的。即：英国伦敦热带病医院，美国乔治亚州亚特兰大疾病控制中心，检验办公厅，检验训练咨询部，寄生虫学培训处，瑞士日内瓦世界卫生组织，美国华盛顿哥伦比亚特区泛美卫生组织。特别是，不少插图取自下列出版物：Brooke, M.M.和 Melvin, D.M., 人体肠道寄生虫诊断期形态学 (*Morphology of diagnostic stages of intestinal parasites of humans*) 第二版，美国乔治亚州亚特兰大；美国卫生和人类服务中心，1984《HHS 出版号 (CDC) 84-8116》，以及 Melvin, D.M.和 Brooke, M.M.肠道寄生虫检验方法 (*Laboratory procedures for the diagnosis of intestinal parasites*)，第三版，美国乔治亚州亚特兰大，美国卫生和人类服务中心，1982《HHS 出版号 (CDC) 82-8282》。

导 言

寄生虫病是造成全球性众多发病和死亡的原因，然而往往没有特殊的症状和体征。大多数寄生虫病不能单独用物理检查来诊断，而需要以实验室检查来决定病人是否感染寄生虫以及系何虫种。因此，实验室检查在确定寄生虫病诊断方面起着重要的作用，同时也是选择适当药物治疗的关键。实验室检查必须准确可靠，因此，其结果将有助于医生造福于病人。

本手册是为实验室工作人员提供指南。第一部分叙述了用于粪便、血、尿和其它材料的寄生虫检验技术，指出了容易犯的和可能出现的错误及其避免方法，还讨论了质量控制措施。实验室工作人员必须明白，只有仔细按要求操作才能发现寄生虫并使之在镜检时清楚地显示出来。

本手册第二部分叙述了用于鉴别寄生虫的形态学特征，还讨论了鉴别中容易导致误诊的假象和问题。

关于所需设备和试剂则列在4个附录中。附录1列出了在初级卫生保健水平的卫生中心和医院实验室所需的材料和设备。附录2列出了试剂配制的处方和方法。附录3列出了培养基配制的处方和方法。附录4叙述了制备血膜的载片清洗和贮存操作方法。

实验室安全

一般原则

- 1、每个实验室应写出必须随时遵守的实验室安全规程。
- 2、实验室应有急救箱并在职工中指派专人做急救员。
- 3、非实验室工作人员不允许进入实验室工作区。
- 4、实验室内不允许吃、喝、吸烟和化妆。
- 5、实验室人员应穿上防护衣服，但在离开实验室时应脱去。
- 6、实验室人员应用去污剂（肥皂）清洁长凳。每天下班或有传染病物溢出后应消毒工作台表面。常用消毒剂为：
 - 96%乙醇或异丙醇（对皮肤有刺激性）。
 - 1%苯酚溶液（腐蚀剂）。
 - 0.5—1%次氯酸盐溶液（腐蚀剂）（碱性次氯酸溶液比中性次氯酸溶液腐蚀性更强）。
 - 1%甲醛或2%戊二醇溶液（对皮肤有毒性和刺激

性)。

醛和酚溶液在很长时间内具有活性。用消毒液浸透的抹布擦洗工作区比喷洒法为好。

7、实验室人员在离开实验室之前必须洗手。

标本处理

处理实验室标本时应倍加小心并应戴上橡皮手套。

血液标本：所有血液标本都必须被认为有潜在传染性，因为通过血液能够传播严重的病原体[如人的免疫缺陷病毒(HIV)，乙肝病毒]。当收集和处理标本时，需要倍加小心，特别危险的是：

(a) 刺伤或割伤—将用过的针头或刺血针经消毒液浸泡后置于易处理的容器内，然后予以焚烧或埋掉。用过的刺血针不能再用并不得任意到处放置。不用能割手的或破裂的玻璃制品。

(b) 损伤的皮肤或粘膜的污染—如有伤口应予妥善包扎。应避免血液溅在皮肤或粘膜上。绝对禁止用嘴吸移液体！如果血液溅在皮肤上，应立即用肥皂和水冲洗，如果血液误入眼睛，就应用大量清水冲洗，实验室任何表面溅有血液，应当用次氯酸盐溶液浸泡，然后用浸透次氯酸盐溶液的抹布擦洗。

粪便标本：应避免与皮肤接触，检查完毕后，标本应当用下列方法处理：(a) 焚烧或 (b) 用消毒液浸泡后，装入容器中埋掉。

尿标本：应避免与皮肤接触，标本可经污水系统排放。

显微镜载片的处理

如不拟清洁重用，载片应丢入含有 1% 次氯酸盐溶液缸中并装入容器中埋掉。

第一部分

标本的收集、制备和检查技术

显微镜的保养

应该做到:

1、显微镜不用时,用清洁的塑料罩或布套套在显微镜上。

2、在热而干燥的季节里,要特别注意防尘。

3、在热而潮湿的季节里,要特别注意防止透镜和棱镜生长霉菌。为此,可以:

—将显微镜放在有空调的房内。或

—将显微镜放在有除湿机的房间内—电除湿机约为空调机价格的一半。或

—将显微镜放在密封性好的柜内,在柜内连接多个15或25瓦的灯泡。或

—在各显微镜箱内,放一个15瓦灯泡,这与上面加温箱作用相当。或

—在没有电的地方,将装有显微镜的架子放在烧煤气或煤油的冰箱或冷藏柜烟囱上方30cm处;此外,也可在一个不漏气的口袋内放入二氧化硅凝胶,其干燥状态(由蓝色显示)足以保护透镜不发生霉变。

4、用柔软的浸有乙醇/乙醚(3ml/7ml或汽油/乙醇/乙醚(2ml/2ml/1ml)的布来清洁浸过油的物镜,并用一块无绒毛的干净布来擦亮镜头。

5、用柔软无绒毛的布清洁目镜,也可用拭镜纸或美容用擦面薄纸代替。

6、使用底部紧固螺旋将显微镜固定于箱内以防止在运输时损坏仪器。

7、订购配件时，应写明型号及部件编号。

注意：

- 1、不能用清洁油镜的拭镜纸或布来清洁目镜。
- 2、不能用酒精来清洁显微镜油漆的表面。
- 3、未经训练不能随意拆卸或清洁显微镜内部零部件。
- 4、空的镜筒口，应该用适当的盖或胶纸盖住。
- 5、不同产品的显微镜，不能互换镜头—即使是相同生产厂家的不同规格产品也不行。

显微镜测量的校准

为鉴定寄生虫，测量大小是一个重要的鉴定标准，特别是包囊和虫卵。血细胞计数池（Neubauer），或目镜测微尺均可用来测定大小，目镜测微尺的操作如下：

- 1、目镜刻度分成 100 等份。
- 2、镜台测微尺的刻度由 1 毫米分成 0.1 毫米，每 0.1 毫米再分成 0.01 毫米。
- 3、旋开目镜上盖将目镜测微尺（一块圆玻片）装入目镜中，置于视野顶端上。
- 4、将目镜插入显微镜筒。
- 5、将镜台测微尺置于镜台上。
- 6、用低倍镜聚焦。
- 7、调整镜台和目镜测微尺，使二者刻度平行。
- 8、根据镜台测微尺刻度推算目镜刻度大小，如 50 个目镜刻度 = 0.75 毫米；则 10 个目镜刻度 = 0.15 毫米。
- 9、根据上述刻度值，计算出每一目镜刻度的值如下：
50 个目镜刻度 = 0.75 毫米

1 个目镜刻度 = $0.75 / 50 = 0.015$ 毫米, 或 10 个目镜刻度 = 0.15 毫米

1 个目镜刻度 = $0.15 / 10 = 0.015$ 毫米。

10、将测量值从毫米换算到微米 (1 毫米 = 1000 微米) 如 0.015 毫米 = 15 微米。

11、变换物镜重复操作, 记下每个物镜下的刻度值。

12、每台显微镜仅需如此校准一次即可用于测量。

(刘崇义 译)

粪 便 标 本

检查粪便标本可以发现原虫、蠕虫幼虫或虫卵。

粪便中发现的原虫期是滋养体和包囊。虽然在粪便中也可发现蠕虫的整条成虫或成虫的某一部分，但常见的还是其幼虫或虫卵。绦虫的成虫或节片常常可用肉眼见到，但虫卵、幼虫、滋养体和包囊仅能用显微镜才能看见。为了观察这些结构，必须正确地准备和检查粪便。

粪便标本的收集

由于许多肠道寄生虫极易损坏，为保持它们的原有形态以便准确鉴别，只有正确的收集粪便才能作可靠的显微镜诊断。

1、给病人以下材料：

有盖的涂蜡纸盒或有密封盖的塑料杯或盒。

2 支竹签（或涂药棒）。

如无涂蜡纸盒或塑料杯，可使用罐头盒或玻璃容器。尽可能不用香蕉叶和火柴盒作为收集和储存粪便标本的容器。

在防治规划中，为发现寄生虫感染，检查一份标本就足够了；但对病人通常需要检查 3 份标本，每份间隔三天。各种物质均可能影响粪便标本的寄生虫检查（例如轻泻剂、抗酸剂、食入的光反差很强的物质、某些抗生素）。

2、告诉病人直接把粪便排到容器内或一张纸上然后用竹签转移到容器内。如无可用的纸，将粪便排在一张大而干净的叶子上，例如香蕉叶，然而必须立即转到标本容器内。决不要保留在叶子上，或放在叶子上带入实验室。

3、某些生物，特别是阿米巴滋养体，随粪便排出后短时间内开始崩解和变化，不易辨认，环境温度较高时将加速

这些变化。因此标本排出后一定要迅速（例如半小时内）送到实验室。否则一定要用防腐剂处理。

4、在有标本的容器上应清楚地标明下列内容：

一病人姓名或编号

一收集日期

一病人排便的时间（可询问病人何时排的便）

5、为了达到满意的检查结果，粪便标本一定要足量。至少要鸽蛋大小，而且要把尿液和脏物除去。尿液将毁坏阿米巴滋养体；脏物将影响检查。

如果标本太少或混有尿液或脏物，不要收下，应让病人另送一份。

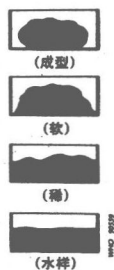
6、将装有标本的纸盒放在冰箱内，如不可能，则将其放在实验室最冷、最阴凉的地方。切忌将标本保存在温暖的地方，也不要放在阳光下。

检查

粪便的肉眼检查

1、当实验室一收到标本，就立即检查其粪型（潮湿程度），并在容器上注明下列字母：F（成形），S（软），L（稀），W（水样）。

如果有粘液写上 M，有血则写上 B。例如带有血和粘液的稀粪应记载为 L，B，M。根据粪型或潮湿程度能提示是否有原虫的滋养时期或包囊期存在。表 1 列出了粪便的各种粪型和相应的检查方法。



2、如同时收到几份标本，首先应检查那些含有血和粘液的标本，然后检查液体标本。这些标本最有可能含有阿米巴滋养体，因此在排出后的一小时内一定要及时检查（滋养体排出后很快死亡），成形标本可在排出后第一天的任何时候检查，但不要过夜（包囊可能崩解）。

湿封片的显微镜检查

检查粪便最简单和最容易掌握的方法是湿封片法。此法在基层医疗机构的所有实验室中都能完成。

湿封片可用粪便或浓集标本直接制备。常用湿封片的基本类型为生理盐水，碘液及美蓝缓冲液。

一生理盐水湿封片用来作粪便最初的显微镜检查。它可初步用以证实虫卵、幼虫、原虫滋养体和包囊。这类封片也能发现红细胞和白细胞。

表 1 粪便的类型和适宜的检查方法

粪 型	最可能被 发现的原虫期	检 查 方 法		
		生理盐水	碘液	美蓝缓冲液 (如见到滋养体)
成型	包囊	+	+	
软	包囊（偶见滋养体）	+	+	+
稀	滋养体	+		+
水样	滋养体	+		+

注：任何粪型中都可能发现虫卵和幼虫。

一碘液湿封片主要用于染糖原和包囊核（如果存在）。在这种封片中，包囊通常能被特异地鉴别出来。

一每次在生理盐水封片中发现阿米巴滋养体或怀疑其存在时，即应制备美蓝缓冲液湿封片。美蓝缓冲液能染阿米巴滋养体，但不能染阿米巴包囊、鞭毛虫滋养体或其包囊。美蓝缓冲液染色仅适合于新鲜未防腐的标本。防腐处理过的标本不能使用，因为在这种标本中寄生虫已经死亡。

材料和试剂

- 1、盖片
- 2、滴瓶，内含：等渗盐溶液（生理盐水）（24号试剂），卢戈氏碘液（1%溶液）（18号试剂），美蓝缓冲液（2号试剂）。

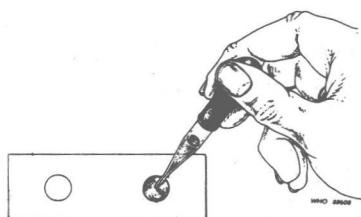
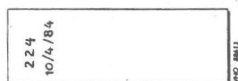
3、显微镜载片

4、标记用钢笔或记号笔

5、金属环（或竹签，火柴棒，牙签）

生理盐水和碘液直接涂片法

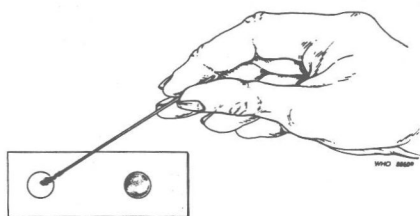
- 1、用蜡笔将病人姓名或编号、日期写于载片的左端。
- 2、滴一滴盐水溶液于载片左半侧中央，滴一滴碘溶液于载片右半侧中央。



注意：如怀疑有阿米巴滋养体存在，应将盐水溶液加温至 37℃ 才能使用。

- 3、用竹签（火柴棒或牙签）取标本的一小部分（火柴

头大小) 与盐水滴混合。



注意:

成型粪: 所取粪便标本须包括内面和外面部分。

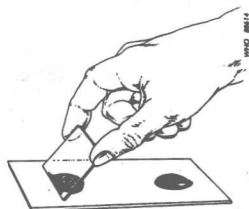
带有粘液的粪: 如果有粘液, 在另一张载片上标记病人姓名或编号, 滴一滴盐水溶液于载片上, 取一小部分粘液和盐水溶液混合, 如果存在滋养体, 在粘液中比在粪便的固体部分更易发现。

稀水样粪: 如果无粘液, 取粪便 (任何部分) 的一小部分和盐水溶液混合。

4、同样, 取少量粪便和碘液滴混合制备碘涂片。如果使用金属环, 在制作涂片后应将其置火焰上烧灼; 如果是使用竹签, 用后丢弃。

5、将盖片盖在盐液滴和碘液滴上。先捏住盖片的一角接触液滴边缘, 再轻轻放于载片上, 这将减少涂片内含有气泡的机会。

美蓝缓冲液 (BMB) 涂片
(用于在盐水涂片上已查见滋养体者)



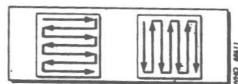
操作方法同“盐水和碘液直接涂片”的 1-5 步，滴一大滴美蓝缓冲液在载片上以代替碘和盐水。检查前等 5-10 分钟，以便染液能使滋养体着色。约 30 分钟后美蓝缓冲液将使滋养体过度着色，因此载片制作后 30 分钟内必须进行检查。

检查

1、把有标本的载片放在显微镜台上，用 $\times 10$ 或低倍物镜聚焦。

2、用镜台下的光圈调节显微镜视野的亮度，使能清楚地看见视野中的标本。光线太强或太弱皆不合适。

3、用 $\times 10$ 的物镜检查整个盖片所覆区域，将物镜聚焦在左上角，有秩序地由后向前或由上向下地移动载玻片。



4、当看见寄生虫或可疑物时，转用高倍镜，并打开镜台下的光圈以增加亮度详细观察形态。

这是一种系统检查法。用此法检查涂片，所有寄生虫通常都能查出。如不系统地检查涂片，寄生虫可能被遗漏。仔细检查显微镜的每个视野，在移到下一个视野之前，应上下调节焦距。

记住：系统地检查整个涂片

图表 1 表明不同水平实验室中应该进行的检查项目。