

医学 寄生虫学 的



基本 实验方法



医学寄生虫学的基本实验方法

世界卫生组织 编

黄松如 甘绍伯 薛燕萍 译
刘晓天 李 爽

甘绍伯 黄松如 薛燕萍 校

YD135.451



3 0077 4908 2



人民卫生出版社

世界卫生组织委托中华人民共和国卫生部
由人民卫生出版社出版本书中文版



C

346142

ISBN 92 4 154410 4

© 世界卫生组织 1991

根据《世界版权公约》第二条规定，世界卫生组织出版物享有版权保护。要获得世界卫生组织出版物的部分或全部复制或翻译的权利，应向设在瑞士日内瓦的世界卫生组织出版办公室提出申请。世界卫生组织欢迎这样的申请。

本书采用的名称和陈述材料，并不代表世界卫生组织秘书处关于任何国家、领土、城市或地区或它的权限的合法地位、或关于边界或分界线的划定的任何意见。

本书提及某些专业公司或某些制造厂商的产品，并不意味着它们优于其他未提及的类似公司或产品而被世界卫生组织所认可或推荐。为避免差讹和遗漏，专利产品第一个字母均用大写字母，以示区别。

医学寄生虫学的基本实验方法

世界卫生组织 编

黄松如 甘绍伯等 译、校

人民卫生出版社出版
(北京市崇文区天坛西里10号)

人民卫生出版社印刷厂印刷

880×1230毫米16开本 7 $\frac{1}{4}$ 印张 149千字

1996年2月第1版 1996年2月第1版第1次印刷

ISBN 7-117-02327-9/R·2328

作者名单

本书作者如下：

- Dr P. L. Chiodini, Consultant Parasitologist, Hospital for Tropical Diseases, London, England;
- Dr K. Engbaek, Department of Clinical Microbiology, Copenhagen County Hospital, Herlev, Denmark;
- Dr C. C. Heuck, Health Laboratory Technology and Blood Safety, WHO, Geneva, Switzerland;
- Dr L. Houang, Annemasse, France;
- Dr R. C. Mahajan, Department of Parasitology, Postgraduate Institute of Medical Education and Research, Chandigarh, India;
- Dr M. A. Melvin, Atlanta, Georgia, USA;
- Dr L. Monjour, Parasitology and Mycology, Tropical and Parasitological Diseases, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Pavillon Laveran, Paris, France;
- Dr J. C. Petithory, National Quality Control in Parasitology, Department of Medical Biology, Centre Hospitalier, Gonesse, France;
- Dr J. Vandepitte, Department of Clinical Microbiology, University Hospital St Raphael, Leuven, Belgium.

内 容 介 绍

寄生虫病在全世界的发病率和死亡率都相当高，且常无特异的症状和体征。大多数寄生虫病不能单凭物理检查进行诊断。如要判断患者是否感染了寄生虫，同时进一步确定感染的是哪种寄生虫，必须进行实验室检查。因此，实验室检查在寄生虫病的诊断中起着非常重要的作用，从而在对选用恰当的治疗药物方面也至关重要。实验结果必须准确可靠，才能帮助医师作出正确的诊断，使患者得到及时的治疗。

本书是为实验室工作人员提供的指导手册。第一篇中介绍了检查粪便、血液、尿及其它标本中寄生虫的实验技术，同时指出了容易发生的错误和容易出现误差以及避免产生这些错误的方法。对质量控制措施也进行了讨论。实验室工作人员必须懂得，只有小心翼翼地按照检查和显示寄生虫的技术进行操作，才可能在显微镜下清晰地找到寄生虫。

手册的第二篇描述了鉴别寄生虫的形态学标准，同时还就人为的假象和需与之鉴别的问题进行了讨论。

所需的有关仪器设备和试剂分列在四个附录中。附录 1 列出了基层医院和卫生防疫机构的实验室中所需具备的器材和设备；附录 2 提供了配制试剂的配方和用法说明；附录 3 介绍了制备培养基的配方和方法；附录 4 阐述了清洗和保存制备血片所用载玻片的操作程序。

实验室的安全措施

一般规则

1. 实验室应张贴供随时遵循的安全实验方法守则。
2. 实验室应设立急救箱并指派在职的急救人员。
3. 非实验室人员禁止进入工作区。
4. 实验室内禁止吃饭、饮水、吸烟及化妆。
5. 实验室人员应穿防护性工作服，离开实验区时脱下。
6. 每口实验后或溅洒出感染性物质时，实验员须用清洁剂（肥皂）清洗工作台，并消毒台面。常用的消毒剂有：
96%乙醇或异丙醇（对皮肤有刺激），
—1%苯酚溶液（有腐蚀性），
—0.5%~1%次氯酸溶液（有腐蚀性）（碱性次氯酸溶液较中性次氯酸溶液更具腐蚀性）。
—1%甲醛或2%戊二醛溶液（有毒，对皮肤有刺激）。
甲醛和苯酚溶液在较长时间内仍具活性，采用浸过消毒液的织物擦拭工作区域，比消毒液喷雾效果更好。
7. 实验室工作人员在离开实验室前必须洗手。

标本的处理

处理所有实验标本需格外小心，并应戴橡胶手套。

血标本：所有血标本均被视为具有潜在传染性，因为危害严重的病原体可通过血液传播（例如：人类免疫缺陷病毒（HIV），乙肝病毒），采集标本和进行操作时需格外小心。特别应注意以下危险性：

- (a) 刺伤或割伤——将用过的针头和刺血针放在容器内焚烧或经消毒液浸泡后弃入一次性标本容器中掩埋。勿重复使用刺血针。勿将用过的刺血针随意扔在实验室周围。勿使用破碎或断裂的玻璃器皿。
- (b) 破损皮肤或粘膜的感染——用非渗透性的敷料覆盖伤口。避免将血液溅洒在皮肤或粘膜上。绝对禁止用嘴吸液！如果血液弄到皮肤上，立即以肥皂水清洗污染区；如血液进入眼内，需用大量净水冲洗。实验台上任何血迹均需用次氯酸溶液浸泡，然后用浸过次氯酸溶液的抹布擦净。
粪便标本：避免皮肤接触标本。检查完毕后，标本或被焚烧，或在消毒液中浸泡后弃入一次性标本容器中掩埋。

尿液标本：避免皮肤接触标本。尿液标本可弃入污水处理系统。

显微镜玻片的处理

玻片如不需清洗后重新使用，应在1%次氯酸溶液中浸泡后弃入一次性标本容器中掩埋。

前 言

本手册是一本专门为基层医院和卫生防疫机构的实验室工作人员编写的实用指南。尽管某些送检标本可能需要作血清学检查，但本书所介绍的诊断方法仅限于显微镜检查。

本手册的内容是根据英国伦敦热带病医院；美国佐治亚州亚特兰大疾病控制中心实验规划办公室、实验室培训及咨询部寄生虫学培训处；瑞士日内瓦世界卫生组织以及美国华盛顿泛美卫生组织等单位的培训材料和手册中的资料编写而成的。手册中的多处插图取材于以下出版物：Brooke, M. M. 与 Melvin, D. M. 著《人类肠道寄生虫的诊断形态学》，第二版，亚特兰大，GA，美国健康与人类服务部，1984 [HHS 出版号 (CDC) 84-8116]；Melvin, D. M. 与 Brooke, M. M. 著《肠道寄生虫诊断的实验室程序》，第三版，亚特兰大，GA，美国健康与人类服务部，1982 [HHS 出版号 (CDC) 82-8282]。

目 录

前 言	IV
作者名单	V
内容介绍	VI
实验室的安全措施	VII
第一篇 标本的采集、制备及检查技术	1
显微镜的保管	3
显微镜的校准	4
粪便标本	5
粪便标本的采集	5
检查	5
粪便的显微镜检查	5
湿片法显微镜检查	6
寄生虫的鉴别	8
其它技术	10
浓缩技术	10
永久性染色技术	11
染色涂片寄生虫的鉴别	18
蛲虫的肛周拭子检查	18
肠道血吸虫病的透明纸粪便厚涂片诊断技术（加藤法）	19
标本的实验室递送	22
标本的处理	23
粪便检查的质量控制	23
标本的采集	23
试剂的配制	24
技术操作	24
尿液标本	26
血吸虫感染诊断的尿样采集	26
尿样检查	26
24 小时终末尿液的沉淀检查法	26
注射器过滤法	27
鉴别	28
阴道及尿道分泌物	30
标本的采集	30
阴道及尿道分泌物直接涂片法	30
血液及其它标本	32
血片的染色	32
标本的采集	32
血片的吉姆萨染色法	35

血片的费尔德染色法	36
微丝蚴的德拉费尔苏木精染色法	37
检查	38
血液检查的质量控制	38
疟原虫的特殊检查技术	39
疟原虫的鉴定	39
恶性疟对氯喹抗药性的检测	40
锥虫的特殊检查技术	41
血液中锥虫的检查	41
淋巴结抽吸物的锥虫检查	46
脑脊液的锥虫检查	48
间接检查	49
微丝蚴的特殊检查技术	50
血液标本的采集	50
外周血中微丝蚴的检查	50
利什曼原虫的特殊检查技术	51
皮肤标本	54
标本的采集	54
标本的检查	55
 第二篇 各种寄生虫的鉴别	 57
 肠道寄生虫	 59
蠕虫	59
鉴别虫卵的要点	59
幼虫	62
原虫	63
阿米巴滋养体	63
阿米巴包囊	67
鞭毛虫	68
结肠小袋虫	69
贝氏等孢子球虫和隐孢子虫	70
刚地弓形虫	70
鉴定中遇到的问题	71
血液寄生虫	72
疟疾	72
薄血片中疟原虫的鉴定	72
厚血片中疟原虫的鉴定	72
易与疟原虫混淆的物体	80
锥虫	80
微丝蚴	81
文献目录	84

附录 1. 卫生防疫中心和基层医院实验室诊断寄生虫病的设备及材料	85
附录 2. 试剂和溶液及其配制	88
附录 3. 培养基的制备	98
附录 4. 显微镜用载玻片的清洗和保存	100
索引	101

第 一 篇

标本的采集、 制备及检查技术

显微镜的保管

应做事项

1. 显微镜闲置时用干净的塑料罩或布罩盖好。
2. 在干热的条件下，需特别注意显微镜的防尘。
3. 在湿热的条件下，可通过以下措施避免显微镜镜头及目镜生长霉菌：
 - 将显微镜置于有空调的房间，或
 - 将显微镜置于除湿房间——电力干燥所需费用仅为空调的一半，或
 - 在密封门的小棚中安放一个 15 或 25 瓦的电灯泡，或
 - 在单独的显微镜镜盒中装置一个 15 瓦电灯泡，以起到温热柜的作用，或，
 - 在无电地区，在以天然气或煤气为动力的冰箱或致冷器的排气孔上方 30cm 处搭一支架安放显微镜镜盒；并放置一个密封的装有干燥态硅胶的袋子（以其蓝色作为指示），用此法足以保持显微镜的干燥。
4. 每日用浸有乙醇/乙醚（3ml/7ml）或汽油/乙醇/乙醚（2ml/2ml/1ml）的软布清洁油镜上的镜油，再用干净、无毛边的布擦净。
5. 用无毛边的软布擦拭目镜，如有可能，最好用擦镜纸或擦面纸代替。
6. 必须将显微镜盒底部的螺丝拧紧，以防止搬运过程中对机件的损坏。
7. 订购替换零件时需抄写出型号，如有可能，应抄写出仪器和部件的号码

禁做事项

1. 勿用擦拭油镜的镜纸和软布清洁目镜。
2. 勿用酒精清洗上了漆的显微镜表面。
3. 未经过专门培训，勿拆卸或试图清洗显微镜内不易触到的部件。
4. 显微镜在使用完毕后，其透光孔须用合适的盖子或粘膏遮住。
5. 勿更换使用不同显微镜厂家的镜头——即使是同一厂家某些型号的镜头亦有不同特点。

显微镜的校准

大小是鉴别许多寄生虫，特别是鉴别包囊和虫卵的重要标准。大小可用血细胞计数板测量，或用目镜测微计测定。使用目镜测微计的步骤如下：

1. 目镜刻度尺已分为100格。
2. 镜台测微计刻度包括：1mm以0.1mm分格，每个0.1mm再以0.01mm分格。
3. 置入目镜刻度尺（一个圆形玻片），掀开目镜最上面的镜片，将刻度尺放在视区的顶部。
4. 将目镜插回显微镜。
5. 将镜台测微器安放在显微镜镜台上面。
6. 用低倍物镜对好镜台测微器的刻度调节聚焦。
7. 调节镜台和目镜刻度，直至目镜刻度和镜台刻度平行为止。
8. 记下目镜分格数目及其表示的刻度量度。例如：50个目镜分格=0.75mm；
10个目镜分格=0.15mm。
9. 根据这个读数，推算出一个目镜分格的量值。如下所示：50个目镜格=0.75mm
1个目镜分格=0.75/50=0.015mm
或
10个目镜分格=0.15mm
1个目镜分格=0.15/10=0.015mm。
10. 将量度值从mm转换为 μm （1mm=1000 μm ），例如，0.015mm=15 μm 。
11. 重复校对全部物镜，记下每个数据。
12. 每台待用的显微镜仅做一次校对即可。

粪 便 标 本

粪便标本用来查找原虫和蠕虫的幼虫或虫卵。

原虫在粪便中出现的发育阶段为滋养体和包裹。尽管也可见到成虫或成虫的节片，但蠕虫在粪便中出现的发育阶段通常为虫卵和幼虫。成虫及其节片通常肉眼可见，而虫卵、幼虫、滋养体和包裹则只有通过显微镜才能看到。为了观察其结构，粪便必须经过适当处理准备，并进行正确的检查。

粪便标本的采集

由于许多肠道寄生虫虫体易遭破坏，而准确的鉴别又需要保持虫体完整的形态，因此，必须妥善采集粪便标本，才能作出可靠的镜下诊断。

1. 应给病人：

- 有盖的石蜡纸盒或能盖紧的塑料杯或盒。
- 两根小棍。

如果没有石蜡纸盒或塑料杯，可用罐头盒或玻璃罐。香蕉叶和火柴盒用来收集和保存粪便标本是不安全的。

对照检查仅查一份标本即可。对病人而言，检查所有的寄生虫感染通常要求在3天内送检3份大便标本。许多物质可能干扰寄生虫的检查（例如：缓泻剂、抗酸药、吞食的反差介质、某些抗生素）。

- 告知病人可将大便直接解至容器内，或解在纸上，然后用小棍挑入容器。如果没有纸，可将大便解在大张干净的叶子上，例如香蕉叶。但是，大便必须被迅速转移至粪便容器内，而不能继续留在叶子上或用叶子送至实验室。
- 某些病原体，特别是阿米巴滋养体，在排便后很短时间就会裂解或变形，从而不易辨认。因此，解大便后，标本必须速送实验室（例如在半小时之内）。如不能做到，标本需做保存处理（见22~23页）。
- 装有粪便标本的容器需清楚地标明以下内容：
 - 病人的姓名或编号
 - 采集日期
 - 病人排便时间（询问病人何时排便）。
- 粪便标本量需足够做化验检查，不能小于鸽子蛋。标本不能混有尿液或尘土，尿液会破坏阿米巴滋养体，尘土则干扰检查。如果标本太少，或混有尿液，必须要求病人重新排便送检。
- 盛放粪便标本的纸盒应保存在冰箱内，如无冰箱，应放在实验室的阴凉处。勿将粪便标本放在温热处或暴露于阳光下。

检查

粪便的显微镜检查

- 接到标本后，应立即检查其粘稠度（干湿程度），并在容器上写出以下字母之一：F（成形）、S（软）、L（稀），或W（水样）。
如有粘液，写M；如有血，写B。例如，带脓血稀便应记录为：L、B、M。

成形



软



标本的粘稠度或干湿度预示原虫滋养体或包囊出现的可能性。表1列出了对不同粪便标本适用的不同检查技术。

- 如果同时收到多份标本，须先查脓血便，水样便次之，因为这些标本很可能含有阿米巴滋养体（其在排便后很容易死亡），而且必须在排大便后1小时内进行检查。成形便可在当天任何时间检查，但不可过夜（包囊可能会分解）。

湿片法显微镜检查

稀



水样



湿涂片是最简单易行的粪便检查技术，此法可在所有基层实验室开展。湿涂片可直接利用粪便材料制备，亦可用浓缩后的粪便标本制成（见11页）。检查每份标本制备湿涂片的基本种类有生理盐水、碘液、及美蓝缓冲液三种方法。

一生理盐水涂片法用于粪便的初步镜检。可用来检查虫卵、幼虫，原虫的滋养体和包囊。此法还可查见红细胞和白细胞。

表1 各类粪便标本及其适用的检查技术

粘稠度	最可能发现的原虫阶段 ¹	适用技术		
		生理盐水	碘液	美蓝缓冲液 (如查见滋养体)
成形便	包囊	+	+	—
软便	包囊(偶有滋养体)	—	+	—
稀便	滋养体	+	—	+
水样便	滋养体	+	—	—

¹ 蠕虫卵和幼虫可在任何粘稠度的粪便中查见。

一碘液法主要用于粪便内有包囊存在时，对包囊内的糖原及核进行染色。这种涂片可用来进行包囊的特异性鉴定。

一美蓝缓冲液法(BMB)在生理盐水涂片法查见阿米巴滋养体或怀疑粪便中有滋养体时采用。BMB只能对阿米巴滋养体而不能对阿米巴包囊、鞭毛虫滋养体及其包囊进行染色。BMB染色只适用于新鲜未放置的标本，而不适用于已放置保存的标本，因为此时的滋养体已经死亡破坏。

材料和试剂

- 盖玻片
- 盛装下列试剂的滴液瓶：等渗盐水（试剂24）¹
卢戈氏碘（1%溶液）（试剂18）
美蓝缓冲液（试剂2）
- 载玻片
- 记号笔
- 接种环（或小木棍、火柴、牙签）。

盐水和碘液直接涂片法

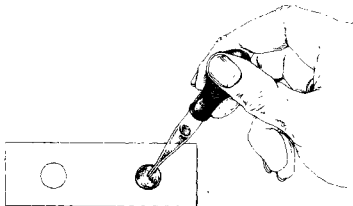
¹ 本手册内的“试剂号码”见附录2。

粪便标本

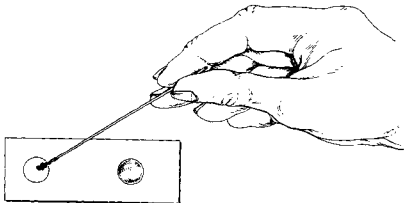
1. 在玻片左侧用记号笔标明病人的姓名或编号及日期。



2. 在玻片左半侧中心滴一滴盐水，右半侧中心滴一滴碘液。注意：如怀疑标本中有阿米巴滋养体，需使用温盐水（37℃）。



3. 用小棍（火柴或牙签）挑起一小块标本（火柴头大小）与盐水混合。



注意

成形便：从标本的中央部位和外侧部位混合取材。

粘液便：如有粘液，取另一玻片标记病人姓名或编号，滴一滴盐水，取少量粘液与盐水混合。如有滋养体存在，粘液部分较固体部分更易发现。

稀水样便：如无粘液，取任何部分的少量标本与盐水混合。

4. 同样，取一小块粪便与碘液混合，做出碘液涂片。如使用接种环，用后应在火焰上烧过；如用小棍，用后弃之。

5. 用盖玻片盖住盐水及碘液：先以一定角度将盖玻片接触液滴的边缘，然后慢慢放下，盖住液滴，这样可减少产生气泡的机会。