

瘧原虫鏡檢

張奎編著

5381

2

上海科学技术出版社



瘧原虫鏡檢

(第二版)

張奎編著

上海科學技術出版社

內 容 提 要

本书是《瘧原虫鏡檢》的增訂再版本，系作者根据工作中所获得的經驗和参考了国内外有关文献編写而成。

內容除介紹瘧原虫的生活史外，較詳細地闡述了薄血膜与厚血膜上瘧原虫的特征和鉴别方法，并对血膜涂制技术作了介紹。书后附有彩图十幅。

本书这次增訂除补充了近五年来国内外新的資料外，作者还重画了部分彩图，比第一版更有特色。

可供有关瘧疾防治部門、化驗所、医院以及医学院校师生参考。

瘧 原 虫 鏡 檢 (第二版)

张 奎、編 著

上海科学技术出版社出版 (上海瑞金二路450号)

上海市书刊出版业营业許可証出093号

上海市印刷三厂印刷 新华书店上海发行所发行

开本 850×1168 1/32 印张 2 16/32 插頁 5 排版字数 54,000

(原科技版共印 3,000 册 1957 年 8 月第 1 版)

1963 年 9 月第 2 版 1964 年 8 月第 2 次印刷

印数 2,001—5,500

統一书号 16119·59 定价(十二) 0.76 元

再 版 前 言

自本书第一版出版至今,已有五年多的時間了。在这五年中,在党的正确领导下,我国的瘧疾防治工作进一步获得了輝煌的成就,瘧疾的科学研究,也有显著的成績。例如:瘧疾在我国各地的分布和流行概况,以及媒介按蚊的种类和生态习性等已基本上研究清楚;最有效的现代抗瘧药物和杀蚊虫药剂不但能在实验室内合成,而且已能大量生产,并在使用上累积了不少經驗。尽管如此,瘧疾在我国还是重要寄生虫病之一,特别是在农村中;在高瘧区,还没有能达到彻底消灭瘧疾,在低、中瘧区,瘧疾还是不同程度地存在着,并且潜在着暴发性流行的危险。对于瘧疾学的理论研究,至今我国还进行得不多。随着深入贯彻以农业为基础、以工业为主导的发展国民经济的总方针,对瘧疾的防治和科学研究的要求,也相应地提高了。

在这五年中,关于厚薄血膜上瘧原虫形态结构方面的研究没有任何变动,但对人体瘧原虫生活史中,在人体的部分有了若干进一步的发现。如 Bray 氏用切除脾脏的黑猩猩 (*Pan troglodytes versus*) 成功地实验感染了四种人体瘧原虫,进一步証实了四种人体瘧原虫的紅血球前期;而三日瘧原虫的紅血球前期原虫的发现还是第一次。Bray 氏并在黑猩猩的肝切片中,首次查见了間日瘧原虫和蛋形瘧原虫的持續性紅血球外期的裂殖体。Shute 氏和 Maryon 氏对瘧疾的实验技术具有丰富的經驗,他們合著的《Laboratory Technique for the Study of Malaria》一书于1960年出版。上述及若干其他对充实本书内容有关的資料,已相应地包括在本版中。本书第一版中的部分彩色图版不够滿意,所以經笔者

重画。

限于笔者的学识和经验，修订本一定还有遗漏和错误之处，深望读者指正。

张 奎 1963 年 1 月

第一版前言

瘧疾是我国旧社会遗留下来的严重寄生虫病之一。解放后党和政府关怀劳动人民的健康,在瘧疾严重的地区,立即設法防治扑灭,并且获得了一定的成就,但就这个疾病的传布范围和危害性而言,它仍然威胁着我国人民的健康,并且影响着社会主义的建設。1956年8月間,中华人民共和国卫生部在广州召开全国瘧疾防治专业會議时,提出了要在一定时期內基本上消灭瘧疾的任务。这一号召,多么令人兴奋鼓舞。我們必須利用一切已有的瘧疾理論知識,摸清现在瘧疾的流行情况,提供足够的医药器材,訓練干部,布置队伍,进行科学研究,提高防治技术,并且发动群众与专业队伍相結合,为最后消灭瘧疾而斗争。

診斷瘧疾的最可靠方法,至今仍然是非用显微鏡检查瘧原虫不可。正确的鏡检瘧原虫,是进行瘧疾防治工作中不可缺少的基本技术操作。据笔者了解,我們现在还缺少一本比較系統的詳細的介紹显微鏡检查瘧原虫的参考书籍,尤其是关于厚血膜鏡检的书。过去这类技术操作,一般都是用师傅带徒弟的方式传授,个人要想自学是不容易的。这样显然大大限制了扩大队伍的要求,不能满足今天的需要。现在国内的医疗机构,一般不常用厚血膜鏡检瘧原虫的方法。其实,有了参考书以后,識別厚血膜上的各种瘧原虫和它們的各个时期,是并不困难的;在一般情况下,厚血膜鏡检能大大地加强瘧疾的診斷效率,因之,这个檢驗方法还是值得广泛应用的。本书的編写,希望能适应这一需要,以便在防治瘧疾的工作中,起一个螺絲釘的作用。

本书的材料,是根据笔者在瘧疾調查研究工作中所得到的經

驗,和散見在國內外有關這個問題的參考文獻;其中要特別指出的是,Field 氏關於厚血膜上瘧原蟲形態所發表的一系列報導。筆者對於瘧疾工作的經驗非常膚淺,所見到的標本材料,大部分是在雲南邊區及江蘇、浙江某些地區進行瘧疾工作時所獲得的,因之對於各種瘧原蟲各個時期的敘述以及所繪的圖畫,都很片面,可能有不妥和錯誤的地方,希望讀者多多指正。

張 奎 1957 年 1 月於上海

目 次

人体疟原虫的种类和疟疾的重要性	1
一、人体疟原虫的种类	1
二、疟疾的重要性	2
疟原虫的生活史	5
一、有性期	5
二、红血球前期	6
三、红血球内期	8
四、持续性红血球外期	9
薄血膜上疟原虫的鉴别特征	11
一、间日疟原虫	11
二、三日疟原虫	13
三、恶性疟原虫	14
四、蛋形疟原虫	16
厚血膜上疟原虫的种类和时期的鉴别	19
一、早期滋养体	19
二、晚期滋养体	20
三、早期裂殖体	22
四、晚期裂殖体	23
五、配子母体	24
六、混合感染	27
厚薄血膜的优缺点	31
血膜涂制技术	36
一、载玻片	36
二、刺血针	36
三、取血和涂制血膜	37
四、取血的适当时间	39

五、固定和溶血色素	39
六、缓冲液、缓冲蒸馏水和中性蒸馏水	40
七、常用的血膜染剂及其用法	41
(一) 罗氏染剂	41
(二) 吉氏染剂	42
(三) 瑞氏染剂	44
(四) 利氏染剂	45
(五) 费氏染剂	46
(六) 杰、司、皮染剂	47
(七) 品蓝染色法	49
八、集体染色	50
九、皮内液汁检查, 穿刺检查和诱激剂	52
十、复染血膜	53
十一、若干值得注意之点	53
参考文献	56
图 版	61

人体瘧原虫的种类和瘧疾 的重要性

一、人体瘧原虫的种类

瘧疾是一組寄生虫病，我国民間一般叫“打摆子”、“发瘧子”、“冷热病”、“隔日头”、“三日头”等。瘧疾的病原体属于原生动物門 (Phylum Protozoa)、孢子綱 (Class Sporozoa)、血孢子目 (Order Haemosporidia)、瘧原虫科 (Family Plasmodiidae)、瘧原虫属 (Genus Plasmodium) 的原虫。目前一般公认的自然感染人体的瘧原虫有下列四种：

間日瘧原虫 *Plasmodium vivax* (Grassi & Feletti), 1890

三日瘧原虫 *Plasmodium malariae* (Laveran), 1881

恶性瘧原虫 *Plasmodium falciparum* Welch, 1897^①

蛋形瘧原虫 *Plasmodium ovale* Stephens, 1922

間日瘧原虫产生間日瘧，大約每隔 48 小时发作一次。間日瘧的分布較广，約占全世界瘧疾总数的 43%，不但在热带地区流行，即在温带地区也极普遍。除少数地区外，赤道以南北緯 43 度之間都有它的存在；甚至在北緯 64 度的某些地区，也有間日瘧的发生。夏季最低平均温度在 16°C 始能传播。

三日瘧原虫产生三日瘧，每隔 72 小时发作一次，比較有规律。

① 仍有学者认为恶性瘧原虫的学名应改为 *Laverania falciparum* 或 *Laverania falcipara*。

它的分布散发，約占全世界瘧疾总数的7%。夏季最低平均温度在18°C始能传播。

恶性瘧原虫产生恶性瘧，大約每隔24~48小时发作一次，亦有发作很不規則的。恶性瘧又名热带瘧或夏秋瘧，分布极广，約占全世界瘧疾总数的50%，一般多流行在較热的地区。夏季最低平均温度在21°C始能传播。恶性瘧原虫是瘧原虫中最重要的一种，它所产生的瘧疾，有时很凶险，且可致命。

蛋形瘧原虫又名卵圆瘧原虫，是一种不常见的瘧原虫。发生在非洲的热带地区較多，在西伊里安、南美洲和苏联的东部也有报告；我国云南，以前也有过一次記載(Yao and Wu, 1941)，解放后又有若干病例报导(郑祖佑、吉瑞庭，1956；吉瑞庭、郑祖佑，1957；王世聞等，1957)，最近在貴州亦发现一例(毛克强，1963)。此种瘧原虫产生蛋形瘧，大約每隔48小时发作一次。

二、瘧疾的重要性

地球上較热的地区，在人类有历史以前，大概即已有瘧疾的存在。自有文字以后，根据中外书籍的記載，在文化最古的国家中，如中国、印度、埃及和希腊等，都很早就有周期性发热疾病，甚至已有瘧疾或类似瘧疾的名称。祖国医学对瘧疾的認識很早，远在紀元前722~481年，春秋战国时期，已有瘧疾这个病名的記載。当时所著的第一部中医經典著作——《黃帝內經》中已包括了《瘧論篇》和《刺瘧篇》；对瘧疾的病因、症状、病理和針刺的經穴等論述很詳。其后我国历代的著述中，瘧疾的記載和討論也是不少，并对瘧疾的病因、診斷、治疗、預防等有进一步的認識和发展。关于瘧疾的类型，我国文字中早有“瘧”（隔日发的瘧疾）、“疟”（多日发的瘧疾）和“瘧”（恶性瘧疾）等之分（近代我国学者通过研究曾証明，所謂瘧气实为恶性瘧）。这些名詞，今天已不常用。在国外方面，約在紀元前400年，瘧疾在希腊成为地方性疾病，严重影响人民的健康。其后約在紀元前200年，羅馬古国也开始有瘧疾病症状的記載。当时一般人把瘧疾看成是鬼神作祟所致；但在有科学头脑的医生和

学者,早已联想到沼泽(蚊虫孳生处)与瘧疾的关系。瘧疾的英語名 malaria 一字即来自意大利語 *mal'aria* (恶气),并于1740年首次被采用。

瘧疾在地球上的分布极广,北至北緯 64 度(在苏联),南迄南緯 32 度(在阿根廷)。以海拔而言,非洲海拔 2591 公尺、南美洲海拔 2770 公尺、中亚海拔 2850 公尺等的某些地区,也都有瘧疾传染的記載;即使在海拔最低的黑海地区(低于海平面約 400 公尺),也有瘧疾的存在。不过,虽然瘧疾的分布极广,但往往是局限性的,不是均匀而普遍的分布。如在上述的南北緯度和海拔范围以内,有些地区的瘧疾非常猖獗,有些地区的危害性則并不显著,而在另一些地区甚至可能完全没有瘧疾(Russell, 1952)。

我們今天虽然已掌握了好几种比較滿意的抗瘧特效药和效力很高的杀灭媒介按蚊的化学药剂;而且世界上一部分地区已得到控制,一部分地区正在进行有效的瘧疾防治工作;但总的來說,直到现在为止,瘧疾仍旧是人类最严重的疾病之一。根据較近的估計(Russell, 1955),全世界二十五亿人口中(据最近的估計,全世界人口已增至約三十亿),有一半以上在瘧疾的流行地区。每年約有二亿五千万人患瘧疾,其中每年約有二百五十万人因瘧疾而死亡。

根据我国学者的意见(何琦等,1959),我国瘧疾的分布概况如下:

【极低度瘧区】 在西北高寒干燥地带,絕大部分地区无瘧疾,但在北疆河流二岸某些低洼地区有間日瘧的存在。

【低度瘧区】 北緯 32 度以北的地区。脾肿率一般不超过 10%。間日瘧为主,恶性瘧和三日瘧偶见,系由外地輸入,仅能短期存在。中华按蚊为传染媒介。发病最高月份为 8 月。

【中度瘧区】 北緯 25~32 度間的地区。脾肿率山麓区为 10~50%,平原区常在 10% 以下。三种瘧原虫都有,地区性暴发性流行常存在,并以恶性瘧为主。中华按蚊为主要传染媒介,但有的地区以微小按蚊为主要传染媒介。发病最高月份为 9~10 月。

【高度瘧区】 北緯 25 度以南的地区。丘陵及山麓区的脾肿率

在50~100%之間,平原区为10~50%。間日瘧和恶性瘧并存,恶性瘧可多于間日瘧,三日瘧一般稀少,混合感染常见。微小按蚊为主要传染媒介。发病最高月份为5~6月。成年居民有免疫力。

过去历代反动統治,对劳动人民的健康漠不关心,因此瘧疾在我国得以流行肆虐,严重地危害人民的健康,每年死于瘧疾的人数,不知多少。据估計,解放前我国患瘧人数每年約有三千万之多。解放后,在党和人民政府的英明领导下,积极进行了瘧疾防治工作。經過十三年来的努力已获得了輝煌的成就;全国每年的瘧疾发病率已大大地降低,好些过去是“談虎色变”的高瘧区,现在已变为无瘧疾区,或变为不严重。在进行防治工作的同时,有关部門还积极进行了瘧疾的科学研究工作和培养专业人員,成績也是巨大的。但是在我国瘧疾仍有不同程度的流行,特別在南方的农村中。因此我們还应当进一步对瘧疾进行科学研究、培养防治人員、进行防治工作。

瘧原虫的生活史

(图版一)

人体瘧原虫的整个生活史中，須有二个宿主，即人与某些种的按蚊；按蚊为传染媒介。关于瘧原虫生活史中在蚊体内的部分，早在五六十年前已研究得比較清楚。关于瘧原虫在人体内的实际情况，如紅血球外各期，近二三十年来虽有极具价值的发现，但还有若干不够明了的地方，尚須作更深入的研究。人体瘧原虫生活史中包括：(1)有性期，(2)无性的紅血球前期，(3)无性的紅血球內期，(4)无性的持續性紅血球外期。有性期开始于人体内，而在蚊体内发育和完成；行孢子生殖。无性各期皆在人体内完成；行裂体生殖。

一、有 性 期

适宜的雌按蚊吸入了在人的血循环中的配子母体后，配子母体即在蚊胃中繼續发育，而进行配子的形成。其过程如后：配子母体从紅血球逸出后，大配子母体变成圓形，并把一部分的染色质粒排出細胞质外，逐渐发育成圓形的大配子，即雌卵。小配子母体的配子形成，变化比較复杂，先有6~8根很活动的鞭毛状物由小配子母体伸出，每根长约21微米，含有染色质粒一个，最后自圓形的中央部脫离，成小配子，即雄精〔有人把小配子的形成称为“出絲作用”(exflagellation)〕。在按蚊吸血数分钟后，即能在蚊胃中查到大小配子。

大小配子形成以后，小配子受大配子的吸引，一端与大配子突出部接触，其內的染色质粒便进入大配子，并与大配子的染色质粒相結合，完成受精作用；此种受精的卵，就是合子。合子形圓，不动，

在按蚊吸血后的 12~24 小时即能在蚊胃内查见。合子在蚊胃内继续发育成蠕形的动合子,长约 18~24 微米,一端较宽,一端较尖,尖的一端为前端,核在中央,较宽的一端含有色素颗粒。动合子会动,能钻入蚊的胃壁内,停留在胃上皮细胞层与胃表面的富于伸缩性的薄膜层之间,体积逐渐变圆,即成卵囊(囊合子)。在按蚊受染后约三、四日,即能在蚊胃上查见早期卵囊。卵囊的核经一再分裂,成为很多,体积也由直径数微米发育至 60~80 微米,以后卵囊的细胞质亦分裂,发育成很多的孢子体。孢子体呈梭形,长约 8~12 微米,宽约 1 微米,一般有一个染色质粒,位于孢子体的中央。最后卵囊破裂,孢子体便逸出到按蚊的体腔(血体腔)中,并由体腔分布至蚊体各部;有些孢子体则穿过蚊虫的涎腺细胞而达涎腺管,以后当按蚊在吸取人血时,即传播给人。按蚊涎腺内孢子体的数目,多者可达数千,能供按蚊约二个月时间的传播。

实验结果证明,间日疟原虫很容易在按蚊体内滋长发育,它在蚊体内进行孢子生殖的夏季最低平均温度是 16°C,在 20°C 的环境中需时约 16 日。恶性疟原虫虽然一般也比较容易在按蚊体内发育,但在某些按蚊体内有时不能滋长,发育需要的夏季最低平均温度是 21°C,在 20°C 的环境中需时约 23 日。按蚊对三日疟原虫的感染力很低,一般不容易在按蚊体内滋长,更不容易使已受染的按蚊将三日疟原虫传染给人。三日疟原虫在蚊体内发育所需的时间较长,在平均温度 20°C 的环境中,需时 30~35 日,它所需要的夏季最低平均温度是 18°C。由于三日疟原虫在蚊体内发育较慢为时较长,而有些按蚊成虫的寿命较短,因此对这些按蚊来说,当还没待三日疟原虫在体内发育完成以前,可能已经死亡,因而不致造成传播的条件。

二、红血球前期^①

(图版二)

当感染的按蚊在吸取人血时,便将涎腺中的孢子体注入人体血循环中。最早人们误认孢子体在注入血循环后,就直接侵入红血

球。以后学者們对于这种說法的正确性逐漸发生了怀疑，因为从来沒有人証实孢子体的进入紅血球(虽然在1903年 Schaudinn 氏曾报告他见到过間日瘧原虫的孢子体进入了紅血球，但以后沒见有人能証实他的观察)。經研究証明，孢子体在初入人体后的短時間以內，确实存在于血循环中，但过了約半至一小时以后就絕迹了，需再經若干日子以后，才再度出现于血循环中(Fairly, 1947)。上述的事实和现象，显示人体瘧原虫在进入紅血球以前，可能先侵入人体其他組織內而滋长发育，然后侵入紅血球中^②，此即所謂紅血球前期。这种推测，现在經過科学家的不断努力学习而得到了証明。关于間日瘧原虫在人体內的紅血球前期，已由 Shortt 氏与 Garnham 氏(1948)研究証明；恶性瘧原虫在人体的紅血球前期則由 Shortt 氏等(1951)以及 Jeffery 氏等(1952)先后研究証实。至于蛋形瘧原虫在人体內的紅血球前期則已为 Garnham 氏等(1955)研究而发现。最近 Bray 氏(1957, 1957a, 1958)用黑猩猩(*Pan troglodytes verus*)进行实验，也証实了間日瘧原虫、蛋形瘧原虫和恶性瘧原虫的紅血球前期。关于三日瘧原虫在人体內的紅血球前期，至今尚无报导。Bray (1959, 1960) 氏对此問題曾用黑猩猩进行了研究，把感染人体三日瘧原虫的蚊虫的孢子体，靜脉注射入切除脾脏的黑猩猩，經一定时期后，在黑猩猩的肝脏切片中成功地找

① 亦有称紅血球前期(pre-erythrocytic stage)为早期紅血球外期(early exo-erythrocytic stage)，或初級紅血球外期(primary exo-erythrocytic stage)，或初級組織期(primary tissue stage)等。

② 虽然对瘧原虫的研究已有近一百年的历史，但瘧原虫是否进入紅血球，还是寄生在紅血球表面；或者有一部分時間寄生在紅血球表面，一部分時間寄生在紅血球里面，直到现在仍未解决。最近用比相显微鏡观察或用电子显微鏡观察切得很薄的($0.02 \sim 0.05 \mu$)感染人体瘧原虫、白氏瘧原虫(*P. berghei*)和諾氏瘧原虫(*P. knowlesi*)等的紅血球的结果，认为瘧原虫是寄生在紅血球內的，但仍有观察論据清楚的显示人体四种瘧原虫都是附着地寄生在紅血球表面的(Covell, Russell and Swellengrebel, 1953; Sinton, 1955; Shute and Maryon, 1956; Fulton and Flewett, 1956; Trager, 1956; Wolcott and Young, 1958)。本书仍采用瘧原虫进入紅血球的說法。

到了三日瘧原虫的紅血球前期裂殖体。各种人体瘧原虫紅血球前期所需的日数間日瘧原虫約 8 日,恶性瘧原虫約 6 日,蛋形瘧原虫約 9 日,三日瘧原虫約 16~18 日(?) (Bray 氏虽在黑猩猩肝內查到了三日瘧原虫的紅血球前期原虫,惟未能肯定三日瘧原虫紅血球前期完成发育所需的时间,不过在他所实验的二只黑猩猩中,一只在接种后 16 天,另一只在 18 天血內成为阳性)。

三、紅血球內期

根据研究結果,一般认为人体瘧原虫紅血球前期裂殖体生殖只有一代(鳥类有数代)。成熟的紅血球前期裂殖子破肝实质細胞逸出后,大概一部分侵入紅血球进行紅血球內期的裂殖体生殖;另一部分再次侵入健康的肝实质細胞而进行裂殖体生殖,成为持續性紅血球外期。

紅血球前期的裂殖子进入紅血球后,发育成为滋养体。早期滋养体最初是一团很微小的細胞质,含有染色质粒一个,接着很快发育成环状滋养体。細胞质呈环状,中間有一个很大的空泡〔瘧原虫环状滋养体中的所謂空泡,究竟是何物?目前意见还不一致。有些学者以为它是能增加营养物质吸收表面的空泡,另有些学者认为它是泡状的核(Covell, Russell and Swellengrebel, 1953; Sinton, 1955),本书姑且称为空泡〕。染色质粒常位于环状細胞质的一端,恰恰象宝石戒子上的宝石,但偶然亦有位于环状細胞质中央的。环状滋养体染色质粒的数目有时不止一个(特別在恶性瘧原虫),这种情形一般认为是由于染色质粒的碎裂,而不是分裂。早期滋养体逐渐滋长发育而成晚期滋养体;亦有称晚期滋养体为阿米巴状滋养体的,因为这一时期的瘧原虫或多或少呈阿米巴运动。滋养体借渗透作用或細胞內的吞噬作用,吸取紅血球內的物质。由于血紅素的代謝而产生一种黄褐色或黄綠色或黑褐色的短杆状的或粒状的副产物,称为色素顆粒,或瘧色素;它的形状与顏色,各种瘧原虫不同,都分布于細胞质中。当晚期滋养体成熟时,阿米巴运动即逐渐减少,細胞质一般变为坚实,并呈边缘不规则的圓形,此时染色质