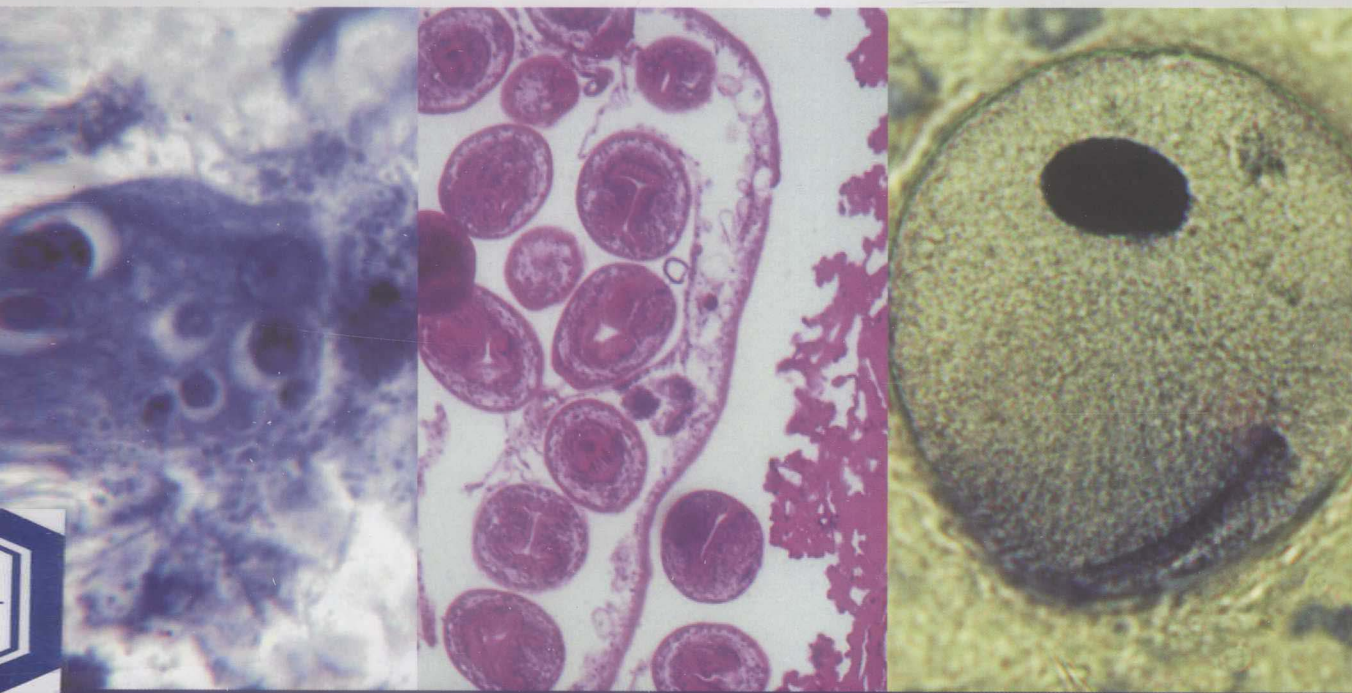


RENTI JISHENGCHONGXUE
SHIYAN JISHU ZHINAN JI CAISE TUPU

人体寄生虫学 实验技术指南及彩色图谱

张瑞琳◎主编

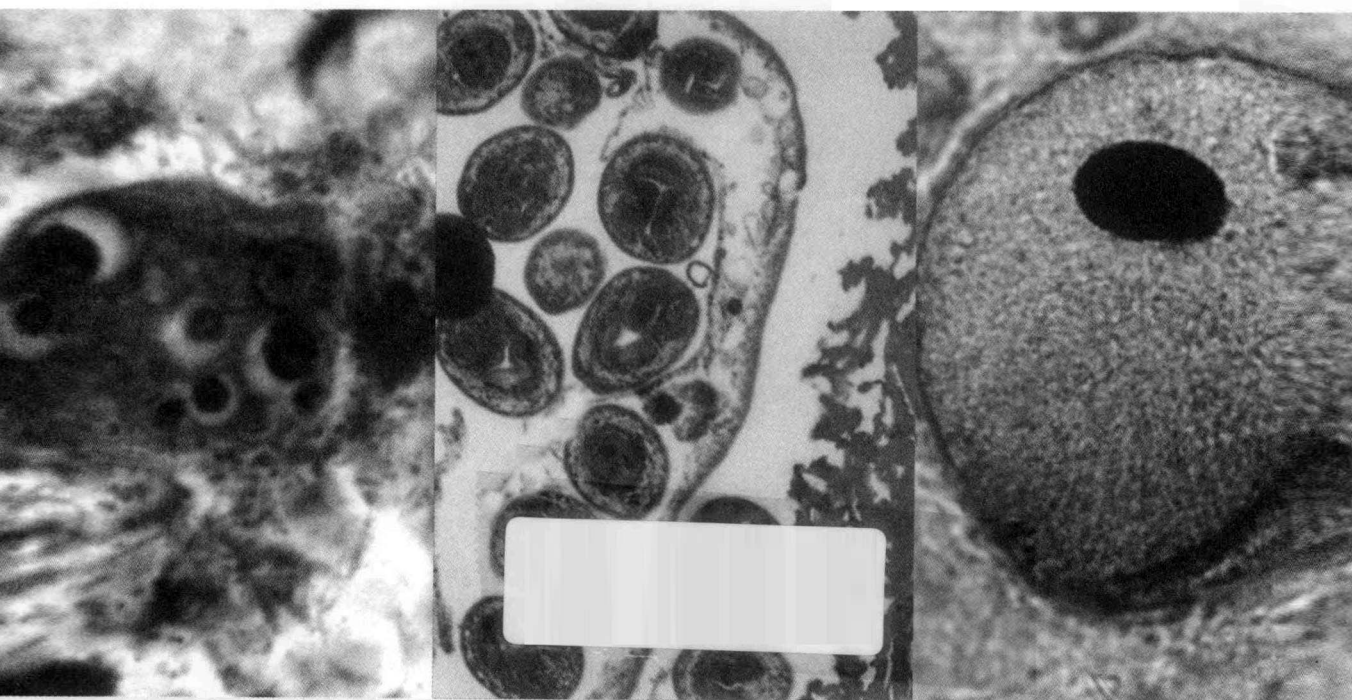


中山大学出版社

RENTI JISHENGCHONGXUE
SHIYAN JISHU ZHINAN JI CAISE TUPU

人体寄生虫学 实验技术指南及彩色图谱

张瑞琳◎主编



中山大学出版社
· 广州 ·

版权所有 翻印必究

图书在版编目 (CIP) 数据

人体寄生虫学实验技术指南及彩色图谱/张瑞琳主编. —广州: 中山大学出版社, 2013. 6

ISBN 978 - 7 - 306 - 04563 - 8

I. ①人… II. ①张… III. ①医学—寄生虫学—实验—图谱 IV. ①R38 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 114490 号

出 版 人: 徐 劲

策划编辑: 赵丽华

责任编辑: 赵丽华

封面设计: 曾 斌

责任校对: 张礼凤

责任技编: 何雅涛

出版发行: 中山大学出版社

电 话: 编辑部 020 - 84111996, 84113349, 84111997, 84110779

发行部 020 - 84111998, 84111981, 84111160

地 址: 广州市新港西路 135 号

邮 编: 510275

传 真: 020 - 84036565

网 址: <http://www.zsup.com.cn> E-mail: zdcbs@mail.sysu.edu.cn

印 刷 者: 广东省农垦总局印刷厂

规 格: 787mm × 960mm 1/16 12 印张 250 千字

版次印次: 2013 年 6 月第 1 版 2013 年 6 月第 1 次印刷

印 数: 1 ~ 1000 册 定 价: 22.00 元

如发现本书因印装质量影响阅读, 请与出版社发行部联系调换

《人体寄生虫学实验技术指南及彩色图谱》

编写人员

主 编：张瑞琳

主 审：陈省平

秘 书：侯春莲

图片拍摄处理：张瑞琳 陈穗君 梁 炽

参 编 人 员：（以编写中首次出现姓名的先后为序）

张瑞琳（中山大学中山医学院病原生物学实验室）

陈穗君（中山大学中山医学院医学标本馆）

李美玉（中山大学中山医学院病原生物学实验室）

袁广明（中山大学中山医学院形态学实验室）

胡黎平（中山大学中山医学院形态学实验室）

吴金浪（中山大学中山医学院电子显微镜实验室）

黄锦桃（中山大学中山医学院病原生物学实验室）

朱兆玲（中山大学中山医学院病原生物学实验室）

侯春莲（中山大学中山医学院形态学实验室）

梁 炽（中山大学中山医学院寄生虫学教研室）

前 言

《人体寄生虫学实验技术指南及彩色图谱》是中山大学医学实验教学中心从事相关实验技术工作的结晶。主要参编人员总结了人体寄生虫学实验教学工作 30 多年来的实践经验，以及中山医学院寄生虫学教研室老一辈专业人员的经验，整合形态学切片技术，编写了本书。全书包括医学原虫、医学蠕虫、医学节肢动物、寄生虫切片、寄生虫超薄切片等实验技术；病原学诊断技术、免疫学检测技术、动物实验基本知识、实验室生物安全等章节，内容涉及常见人体寄生虫实验标本的采集、保存、制作技术；实验教学中常用的寄生虫动物模型构建、人工培养和饲养等实验技术；寄生虫组织切片制作技术；寄生虫的病原学检查操作方法、免疫学检测操作方法及其基本原理。此外，本书还按照实验教学的先后顺序和进度，编入了在实验教学中常见的人体寄生虫相关彩图 276 幅。

本书编写过程中，得到了寄生虫学教研室柯小麟教授、李桂云教授、詹希美教授、钟作良副教授和李道宁主任技师等寄生虫学界老前辈的支持和鼓励；同时，也得到了中山医学院吴忠道副院长、陈省平副院长等相关领导的支持和鼓励；并得到中山大学实验教学研究（改革）基金（编号：YJ201123）和广东省科技计划项目（编号：2012B060400011）的资助支持，特在此致谢。

由于编者水平有限，难免有不妥之处，敬请广大读者、各位专家和同仁批评指正。

编者

2012 年 9 月

目 录

第一章 概述.....	1
第一节 人体寄生虫教学标本的种类.....	1
一、液浸标本.....	1
二、干制标本.....	1
三、玻片标本.....	1
第二节 寄生虫标本的采集、保存、制作和邮寄.....	2
一、标本的采集.....	2
二、标本的保存与制作.....	3
三、标本的邮寄.....	4
第三节 寄生虫标本制作的一般原理.....	5
一、标本的固定.....	5
二、染色.....	9
三、脱水.....	14
四、透明.....	15
五、标本封固.....	16
第二章 医学原虫.....	18
第一节 肠道、腔道原虫的采集、检查、标本制作、培养与保存.....	18
一、采集标本.....	18
二、新鲜标本检查法.....	19
三、永久标本制片法.....	19
四、活组织及其他标本检查.....	21
五、保存.....	21
六、溶液与染液的配制.....	22
七、培养.....	22
八、实验动物模型的构建.....	25
九、低温冷冻保存与复苏.....	26
第二节 血内寄生原虫的采集、检查、标本制作、培养与保存.....	27
一、疟原虫.....	27
二、锥虫.....	29
第三节 其他组织器官原虫的采集、检查、标本制作、培养与保存.....	30
一、杜氏利什曼原虫.....	30

二、弓形虫	31
三、卡氏肺孢子虫（卡氏肺囊菌）	32
第三章 医学蠕虫	35
第一节 蠕虫成虫的采集、保存及标本制作	35
一、蠕虫成虫的采集	35
二、蠕虫成虫的固定及保存	36
三、蠕虫成虫的染色和制片	36
第二节 蠕虫幼虫的采集、保存及标本制作	40
一、吸虫幼虫	40
二、绦虫幼虫	43
三、线虫幼虫	45
第三节 蠕虫卵的采集、保存及标本制作	46
一、蠕虫卵的采集	46
二、蠕虫卵的保存	48
三、蠕虫卵的玻片标本制作	48
第四节 蠕虫液浸瓶装标本的制作	49
一、器材和试剂	49
二、标本装置方法及步骤	49
第五节 常见蠕虫动物模型构建及虫体传代培养技术	53
一、华支睾吸虫	53
二、并殖吸虫	55
三、日本血吸虫	56
四、布氏姜片吸虫	58
五、包生绦虫（棘球蚴模型）	59
六、缩小膜壳绦虫	60
七、猪囊尾蚴培养	61
八、钩虫	61
九、马来丝虫	62
十、旋毛形线虫	63
十一、蛔虫幼虫	64
十二、广州管圆线虫	65
第四章 医学节肢动物	67
第一节 实验物品的准备	67
一、器材与试剂	67
二、采集	69
三、毒杀	69

四、保存	69
五、玻片标本制作	70
第二节 蝉类标本	71
一、采集、饲养	71
二、固定与保存	72
三、成虫玻片标本制作	73
第三节 螨类	73
一、革螨	73
二、恙螨	74
三、疥螨	75
四、蠕形螨	76
五、尘螨	76
第四节 蚊	77
一、采集	77
二、饲养	78
三、保存	80
四、标本制作	81
第五节 蝇	83
一、采集、饲养	83
二、保存与标本制作	85
第六节 白蛉	86
一、采集	86
二、保存与标本制作	86
第七节 蚤	87
一、采集、饲养	87
二、保存与标本制作	87
第八节 虱	88
一、采集	88
二、保存与标本制作	88
第九节 臭虫	89
一、采集	89
二、保存与标本制作	89
第十节 蜚蠊（蟑螂）	89
一、采集、饲养	89
二、保存与标本制作	90

第五章 寄生虫组织切片技术

第一节 组织切片的原理	91
一、石蜡切片技术	91

二、冰冻切片技术	94
第二节 组织切片操作步骤	95
一、石蜡切片操作步骤	95
二、冰冻切片操作步骤	97
第六章 寄生虫超薄切片技术	98
第一节 处理标本	98
一、取材	98
二、固定	98
三、脱水	101
四、渗透与包埋	102
第二节 超薄切片与染色	102
一、超薄切片	102
二、切片染色	104
三、透射电镜样品操作步骤	105
第七章 病原学诊断技术	106
第一节 粪便及其他分泌物、排泄物的检查	106
一、粪便检查	106
二、肛周虫卵检查	110
三、排泄物与分泌物等标本的检查	110
四、其他组织器官检查	113
第二节 血液检查	115
第八章 免疫学检测实验技术	118
第一节 寄生虫特有的免疫学检测技术	118
一、环卵沉淀试验	118
二、环蚴沉淀试验	119
三、尾蚴膜反应试验	120
四、弓形虫染色试验	120
第二节 其他常用免疫学检测技术	121
一、皮内试验	121
二、挑刺试验	122
三、间接血凝试验	122
四、间接荧光抗体试验	123
五、对流免疫电泳试验	124
六、酶联免疫吸附试验	125
七、免疫印迹试验	126

第三节 免疫组织化学技术·····	128
一、实验操作过程·····	128
二、免疫酶染色试验·····	130
第九章 动物实验的基本知识·····	132
第一节 常用实验动物·····	132
第二节 实验动物操作技术·····	132
一、实验动物的抓取与固定方法·····	132
二、实验动物编号与标记方法·····	134
三、实验动物除毛法·····	135
四、实验动物麻醉方法·····	136
五、实验动物的血液采集·····	137
第三节 实验动物的安死术·····	140
一、安死术的概念·····	140
二、采用安死术必须符合的条件·····	140
三、安死术的常用方法·····	141
第四节 实验动物的伦理与福利·····	141
一、实验动物伦理与福利的概念·····	141
二、实验动物福利与“3R”原则·····	142
第十章 实验室生物安全·····	143
第一节 实验室的安全制度与管理·····	143
一、建立管理组织·····	143
二、制定安全规章制度·····	143
三、贯彻安全规章制度，树立普遍防御意识·····	144
第二节 实验人员的安全管理·····	144
一、安全教育·····	144
二、健康管理·····	144
三、意外损伤防护·····	145
第三节 实验动物安全管理·····	145
一、人畜共患病的防护·····	145
二、动物健康管理·····	146
第四节 实验室安全操作技术·····	146
一、注射器的安全操作·····	146
二、吸管的安全操作·····	147
三、菌（毒）种接种安全操作·····	147
四、离心物品的安全操作·····	147
五、避免操作中产生气溶胶·····	148

六、实验室内及时有效消毒·····	148
七、废弃物及动物尸体的无害化处理·····	148
八、其他注意事项·····	149
九、实验室生物安全术语·····	149
 主要参考文献·····	 151
 附录 常见人体寄生虫相关彩色图谱·····	 155
附图 1：华支睾吸虫·····	156
附图 2：片形吸虫·····	157
附图 3：并殖、狸殖吸虫·····	158
附图 4：血吸虫·····	160
附图 5：绦虫成虫、节片·····	162
附图 6：绦虫卵、幼虫·····	163
附图 7：细粒棘球绦虫（包生绦虫）幼虫·····	164
附图 8：绦虫中间宿主、病变液浸标本·····	165
附图 9：蛔虫、鞭虫·····	166
附图 10：钩虫、粪类圆线虫·····	167
附图 11：旋毛虫、广州管圆线虫·····	169
附图 12：蛲虫、丝虫·····	170
附图 13：肠道、腔道等原虫·····	171
附图 14：疟原虫等原虫·····	173
附图 15：蚊·····	175
附图 16：蝇、白蛉·····	176
附图 17：蜚、螨·····	177
附图 18：虱、蚤、臭虫·····	178

第一章 概 述

第一节 人体寄生虫教学标本的种类

根据人体寄生虫标本的保存和制作方法的不同，寄生虫实验教学标本可分为以下几类。

一、液浸标本

保存在药液中的标本称为液浸标本。例如，较大的猪、牛带绦虫，棘球蚴，蛔虫等蠕虫；鱼类、溪蟹、蜊蛄等中间宿主；血吸虫病患者的肝、肠病变，肺吸虫病肺脏病变，阿米巴病肝、肠病变等与寄生虫有关的病变组织；以及蟑螂、蜘蛛、蝎子、蜚类等大型医学节肢动物均可制成液浸标本。常用的保存液主要为5%~10%福尔马林液。

二、干制标本

经过防腐处理干燥后的标本称为干制标本。例如，蚊、蝇等有翅昆虫的成虫；扁卷螺、川卷螺、钉螺、纹沼螺等吸虫的中间宿主螺类和甲壳类动物等。制作干制标本的关键是注意防潮、防霉、防蛀以避免标本受损。

三、玻片标本

将寄生虫或相关宿主标本封存在载玻片和盖玻片之间，或涂布在载玻片上，以保存这些标本的完整性和特殊性，便于在显微镜、解剖镜下观察。如原虫、蠕虫的卵、幼虫和成虫，或虫体的某一部分以及医学节肢动物的虫卵、幼虫和成虫。玻片标本又分为临时玻片标本和永久玻片标本两类，临时玻片标本仅在实验教学中供学生在临时观察病原体或某些特征时使用，不能长期保存；永久玻片标本可长期保存、使用，但制作过程较复杂，一般需要经过固定、染色、分色、脱水、透明和封固等步骤。按其性质和制作方式的不同，分为以下几类：

（一）整封标本

体形较小的蠕虫、医学节肢动物或虫体的某一部分，以及寄生虫生活史各期幼虫和虫卵等，均可封藏于载玻片和盖玻片之间制成封片标本。例如，吸虫成虫、幼虫，绦虫节片，囊尾蚴，线虫幼虫，蜚，螨，蚤，虱，白蛉等。

（二）涂片标本

血液、骨髓液、组织内的寄生虫、肠道和腔道内的原虫、培养液中的病原体均可随同血液、组织液、培养液和排泄物直接涂于载玻片上，制作成涂片标本，如疟原虫、利

什曼原虫、阴道毛滴虫、阿米巴原虫、蓝氏贾第鞭毛虫等。

（三）切片标本

寄生在各组织或器官的寄生虫均可制作成切片标本，染色、封固于载玻片与盖玻片之间，有利于虫种的鉴定和细微结构的观察。例如，寄生在人体各部位的曼氏迭宫绦虫裂头蚴，寄生在横纹肌的旋毛虫囊包幼虫，沉积在肝、肠组织中的血吸虫卵，以及肝、肠等组织中寄生的阿米巴原虫等。

第二节 寄生虫标本的采集、保存、制作和邮寄

寄生虫标本的采集、固定、保存、制作和邮寄是人体寄生虫学实验教学和研究工作中需要掌握的基本技术之一。我们根据实验教学或科学研究的需要，将采集回实验室的各类寄生虫标本进行相应的处理，以达到所需目的。熟练掌握这些实验技术的基本知识和基本技能，有利于实验教学的顺利进行并确保教学质量，同时也有利于科研工作的开展。

一、标本的采集

人体寄生虫包括体内寄生虫和体外寄生虫，采集标本之前，应先了解这些寄生虫的形态、生活史、寄生部位、生活习性、地域分布等特点，以保证采集工作的顺利进行。

（一）体内寄生虫的采集

体内寄生虫的寄生部位因虫种而异，有的寄生于人体的肠道、腔道，有的寄生于血液、淋巴管、骨髓，还有的寄生于肌肉、肝、肺、脑等器官组织内。寄生在肠道、腔道内的原虫滋养体或包囊、蠕虫虫卵及某些种类的成虫或幼虫，可从其寄生部位的排泄物或分泌物中获取；寄生于肠道内的蠕虫成虫则需服用驱虫药物驱出虫体后收集；血液及骨髓内的寄生虫则通过抽血或抽取骨髓液收集。一般寄生于肝、肺、脑等器官及肌肉组织内的寄生虫则多靠活组织检查、尸体解剖、动物解剖，以及人工构建实验动物模型来收集。近年来，通过构建实验动物模型收集实验教学标本是本实验室最重要的标本来源之一。例如，本实验室构建的肝吸虫、肺吸虫、血吸虫、曼氏迭宫绦虫、包生绦虫、旋毛形线虫、卡氏肺孢子虫、鼠疟原虫等动物模型，为实验教学标本的收集提供了方便，同时也为实验寄生虫课程的顺利开展提供了丰富的实验材料。

（二）体外寄生虫的采集

体外寄生虫主要寄生在人和动物宿主的体表，或栖息在动物的养殖栖息场地、洞穴、鸟巢，甚至遍布动物的滋生场所。采集标本时可从动物的体表获取或在其孳生地和栖息场所收集，如在牛棚、猪栏采集成蚊，在稻田、水塘采集蚊幼虫；或捕获动物收集，如捕获鼠类，可收集蜱、螨、蚤类等；也可通过人工饲养或构建动物模型获取寄生虫生活史发育过程中的某个时期的虫体或各时期虫体，如我们在实验室饲养家猫，可获取大量的蚤类生活史各期虫体；饲养蚊、蝇、蟑螂也可获取这些寄生虫生活史各期的虫

体；构建人工生态室采集华支睾吸虫第一、二中间宿主阳性螺、阳性鱼等。

（三）采集标本注意事项

1. 采集记录

正确的采集记录应包括标本名称、采集地点、日期、标本来源、宿主种类、寄生部位和采集人的姓名等。对医学节肢动物标本，应详细记录采集场所的情况及气候条件等。

2. 保存标本的完整性

采集标本时操作要细致，应尽量避免损坏标本的任何构造。例如，昆虫标本的足、翅、体毛和鳞片等均为分类的重要依据，故标本须力求完整，最好无残缺。

3. 防止感染

采集前必须了解各种寄生虫的感染时期；采集过程中，必须采取适当的防护和消毒措施。如解剖动物或尸检时，需按照实验室生物安全相关要求做好个人防护，使用过的器具和实验台必须消毒清洗；采集钉螺、解剖钉螺和感染动物时，应预防血吸虫尾蚴侵入皮肤；采集病媒节肢动物时，应防止被叮咬；进入疟区采集疟原虫标本时，要使用驱避剂、服用防疟药物等。

二、标本的保存与制作

新采集的标本可能粘有污物，需将污物清洗干净后，再根据实验教学或其他实验的需要进行相应的处理。

从体内或体外采集所获得的寄生虫标本，须按其寄生虫的种类、大小、性质和制作的要求，对不同的标本尽快进行相应的处理。

（一）培养或人工饲养

对捕获的标本如果要进行培养或人工饲养，应在虫体活力较好的时候，立即用生理盐水清洗干净，再用消毒生理盐水清洗多次，选择虫体发育所需条件进行培养或饲养，尽量避免虫体死亡。如果是从临床患者的分泌物中采集到的标本，如阴道毛滴虫、口腔毛滴虫等，须迅速接种到预先准备好的培养基内，放入恒温箱内进行培养。如果因当时条件所限不能及时接种，或采集时温度较低，则需预放在 35 ~ 37 ℃ 条件下临时保存。

（二）制作瓶装标本

清洁→固定→保存→装入标本瓶（或标本缸）→封盖→贴标签，是制作瓶装标本的基本过程。即先将虫体或组织器官表面黏附的污物洗净，置于生理盐水中清洗，然后按标本的特点选择玻璃固定容器，以及合适的固定液分别进行固定，并依据标本的大小固定 24 ~ 72 h 后更换保存液（或水洗后再更换保存液），经多次更换至容器内的保存液清澈，选择大小合适的玻璃或有机玻璃标本瓶（或缸），将标本放入，使病变部位或虫体特征突出，再加入保存液，封闭瓶口，贴上标签即可供教学使用。

（三）制作干制标本

实验教学中常见的干制标本主要有纹沼螺、长角涵螺、川卷螺、扁卷螺、钉螺、锥实螺、福寿螺、溪蟹、蜾蛄等淡水螺类和甲壳类，蚊、蝇、蟑螂等医学节肢动物。对清洁干净的标本进行干燥处理、防腐处理，选择合适的标本容器，再把标本放入容器内，调整好标本的位置，盖上瓶盖或塞子，用石蜡封口，贴上标签即可使用。注意：蚊、蝇、蟑螂等医学节肢动物标本需加复方樟脑粉等防霉、防蛀、防潮的试剂后才能封口。

（四）制作玻片标本

清洁→固定→洗涤→染色→分色→脱水→透明→封固→贴标签，是制作玻片标本的基本过程。即先将待制作的虫体置于生理盐水中反复清洗干净，用毛笔轻轻将虫体表面的污物去除，如果虫体消化道内的食物过多，可饲养数小时使其排泄或消化后再进行固定。如因特殊情况不能及时处理，应立即将标本放入冰箱内，但时间不易过久，以免虫体蛋白变性而影响制作效果。虫体经固定后，再置于合适的保存液（固定液）内保存，待染色。如肝吸虫、肺吸虫、姜片吸虫、肝片形吸虫等吸虫标本，固定前需在两块玻璃之间加压，使虫体处于合适的平整状态后，再滴加固定液在玻璃之间进行固定，依据虫体厚薄大小固定4~8 h后，在微量流水冲洗的条件下，将虫体从玻璃之间取出处理后进行染色。如果选择劳氏液固定标本，需进行脱汞、脱碘处理才能进行染色。标本染色后需进行分色，然后经70%，80%，90%，95%的乙醇及无水乙醇脱水；二甲苯透明；用中性树胶封固在载玻片与盖玻片之间，阴干后供教学或科研使用。

三、标本的邮寄

标本邮寄前，必须按生物安全相关要求及其不同种类分别包装，才能交快递公司运送。不同标本的包装和邮寄方法如下：

（一）液浸标本

凡保存于乙醇或福尔马林等固定液中的标本，可置于大小适当的玻璃瓶或塑料瓶内，附上用铅笔写的标签，加满保存液，并用棉花填塞空隙，以防液体因震荡而损伤标本。盖紧瓶塞，再用石蜡封口。邮寄时，需用棉花或海绵或纸包裹在瓶（管）外，再装入邮寄箱内，四周用废纸填充后交专业物流公司运送。如果邮寄非瓶装标本，则将标本从保存液中取出，用浸湿保存液的棉花包裹标本，放入多层保鲜袋内封口，再置邮寄箱内邮寄。

（二）干制标本

邮寄节肢动物标本时，将单个标本装入玻璃管内，或多个标本存放于玻璃瓶（管）或昆虫盒内，分别贴上标签，盖严瓶盖（塞），用石蜡封口或用胶纸封盒盖，再用纸包裹好即可放入邮寄箱内，用废纸填充好空隙即可交邮局或物流公司投递。邮寄螺类的干制标本时，先将待寄的螺类放入管或瓶内，盖紧瓶盖，用胶纸封好口，再用纸包裹好即可放入邮寄箱内邮寄。

(三) 玻片标本

将待寄标本插在标本盒内, 上下用纸垫好, 在玻片之间用软纸或棉花塞紧即可放入邮寄箱内。也可将每两张玻片背对背, 然后在玻片两端用厚纸片或海绵隔开, 每 20 ~ 30 张玻片用线扎紧, 用纸包好, 再扎紧即可放入邮寄箱内, 箱内不能有任何松动, 以避免损坏标本。

(四) 活体标本

活钉螺可放入竹筒内, 或有孔的塑料管内直接特快专递, 或装在网纱袋内放入小木盒特快专递; 活蚊卵须先将产在滤纸上的蚊卵置室温中经 48 h 发育后, 将带有蚊卵的湿滤纸放在海绵薄膜塑料袋里直接装入信封特快专递; 寄蜚蠊类标本时, 可取一个广口瓶, 放入湿润沙土和一团皱滤纸以利其在滤纸上停息, 将待寄的活标本放入瓶中, 用棉塞轻塞瓶口。另取一较大的广口瓶, 瓶底置湿棉花, 将装有蜚蠊的小瓶放入大瓶内, 塞上留有小孔的软木塞, 使空气流通, 放入邮寄箱内, 在邮寄箱四周打些小空, 避免虫体窒息死亡。寄阿米巴培养管或其他原虫培养管时, 先用棉花或海绵将培养管包裹好, 再放入较大的塑料瓶内邮寄。一般温度在 25 ~ 30 ℃ 之间, 均可存活 3 ~ 5 d。

第三节 寄生虫标本制作的一般原理

寄生虫标本的制作方法较多, 但其基本制作过程相似, 制作玻片标本一般要经过固定、染色、分色、脱水、透明和封固等步骤。现简介如下:

一、标本的固定

(一) 固定的目的

固定是将新鲜的寄生虫或宿主组织器官等标本放入固定液内, 标本的形态结构和组织成分被化学试剂固定后能够保持原有的姿态, 与生活时相仿, 以达到防止细胞自溶、蛋白变性和组织腐败的目的; 沉淀和凝固细胞内物质, 如使蛋白质、脂肪、糖、酶类成分产生不同的折光率, 使这些物质通过染色后易于识别细胞的结构; 同时, 使组织硬度增加防止变形等。另外, 有些固定剂具有助染的作用, 可与细胞的蛋白质结合, 也能与染料相结合, 促使细胞各部着色清晰。

(二) 固定的方法

主要用物理法和化学法固定标本。物理法可选用加热、冰冻或干燥等方法, 化学法可选用甲醛、乙醇和某些化学试剂配制的混合固定剂。由于细胞具有多种成分和结构, 在用化学方法固定时, 用单一固定剂固定效果往往不理想, 因而常用两种以上试剂配成混合固定剂, 以达到令人满意的固定效果。每种固定剂各有其优点和不足, 与随后进行的染色有密切的关系, 因此应针对拟选用的染色液来选择合适的固定液。

(三) 固定剂的性质与作用原理

1. 固定剂的性质

固定剂分为还原剂和氧化剂两类，如甲醛、乙醇、甲醇等属于还原剂，苦味酸、重铬酸钾、钼酸等属于氧化剂。还原剂和氧化剂一般不可混合使用。另外，固定剂对蛋白质的作用有所不同，有的使蛋白沉淀，如乙醇、升汞、苦味酸等；有的不能沉淀蛋白质，如甲醛、重铬酸钾等。

2. 固定剂的作用原理

一种良好的固定剂必须具备以下条件：

- (1) 能够迅速穿透组织，并防止细胞自溶和腐败。
- (2) 能使细胞内的各种成分凝固为不溶解和不变形的物质。
- (3) 使虫体和组织基本保持原来的大小。
- (4) 硬化组织的程度适中，既不变性又便于制作标本。
- (5) 能增加细胞内含物的折光率，有利于鉴别。
- (6) 增加媒染作用及染色能力，并起到保存作用。

(四) 固定剂的种类及标本固定

在制作寄生虫教学标本过程中，常用于配制固定液的试剂主要有甲醛、乙醇、甲醇、氯化汞、苦味酸、冰乙酸、氯仿、丙酮等。可根据实验材料的性质及制作标本的要求选择较为满意的固定液，将需要固定的标本放入其中进行固定。一般情况下，标本与固定液的比例为 1 : (20 ~ 30)，有些标本需要稍加热后再进行固定，如寄生虫虫卵、血吸虫毛蚴等，以保持标本与固定前的形态结构相近。固定液分为单纯固定液和混合固定液两类，混合固定液由两种以上的试剂配合而成。关于固定液的种类和配制下文将作详细介绍。

(五) 单纯固定液

1. 甲醛 (formaldehyde)

甲醛为一种无色液体，溶于水称甲醛水溶液或福尔马林液。固定和保存时所用的溶液是指福尔马林的百分比，市售甲醛为 37% 甲醛水溶液，在实验中稀释时当作 100% 的溶液使用。37% 甲醛水溶液易挥发，有强烈的刺激性气味。由于甲醛是一种强还原剂，一般不可与氧化剂混合使用。甲醛水溶液有很强的杀菌力，是较好的防腐保存液，可保存大块组织和大型虫体。但甲醛水溶液不能使白蛋白和核蛋白凝固或沉淀，而对脂肪、神经的固定效果很好，常用 10% 的中性甲醛水溶液固定此类细胞，在测定细胞内 DNA 含量时，也常用此液固定。经甲醛水溶液固定的细胞，对碱性染剂的染色效果要比酸性染剂好，故对细胞核的染色也较细胞质为佳。

通常所用的甲醛水溶液必须呈无色透明状，若储藏较久或暴露于日光或在低温下存放，会变成混浊状，甚至变为白色胶冻状沉淀物，称为多聚甲醛 (paraformaldehyde)，因其是变性的甲醛水溶液，而不宜作为固定剂使用，但加少许甘油可使其聚合 (沉淀物加热)。