

# 第一篇 总 论

## 第一章 寄生虫和环境

两种生物在一起生活的现象，称为共生 (symbiosis)。因共生双方利害关系不同，一般可分为共栖，互利共生和寄生。共栖是一方受益，另一方既不受益亦不受害。互利共生 (mutualism) 是两种生物互相依赖 彼此受益。寄生 (parasitism) 是一方受益 另一方受害。受益的一方称为寄生物 (parasite) 包括细菌、病毒、立克次体、真菌、寄生虫等。其中低等的多细胞的无脊椎动物如蠕虫、节肢动物及单细胞的原虫称为寄生虫。它适应于生存在另一种生物的体表或体内，从中获取营养，并且损害对方。受害的一方称为宿主 (host)。它们为寄生虫提供营养和居住场所，在共生关系中不仅不受益，而且还受害。为了适合于种族的延续，有的生物以多种方式生活 有的时候进行自生生活 有时进行寄生生活。如粪类圆线虫 有自生生活世代 也有寄生生活世代。

寄生虫在宿主体内，有一定的寄生部位，那些生活在宿主体外的叫体外寄生虫 (ectoparasite) 如虱、蜱等即是 而寄生在宿主体内的则叫体内寄生虫 (endoparasite) 如寄生在肠道内的蛔虫、鞭虫 寄生在组织内的旋毛虫、丝虫 寄生在细胞内的杜氏利什曼原虫。寄生虫可以因食物需要和宿主进行短暂接触，称为暂时性寄生虫 (temporary parasite) 如白蛉、蚤等在吸血时暂时寄生于宿主。为了取食，某些寄生虫在生活中的某一阶段必须将其居住场所定位于宿主，否则就不能生存，这种寄生虫称为永久性寄生虫 (permanent parasite) 如蛲虫、丝虫等。它们趋向于停留在宿主体内，直到寿辰已到，或者借体内免疫力、药物治疗驱除它们。根据寄生性质 可分为专性寄生虫 (obligatory parasite) 和兼性寄生虫 (facultative parasite)。前者指生活史每个阶段都必须寄生，或某个阶段必须寄生，如旋毛虫各个阶段必须营寄生生活，钩虫的幼虫必须侵入宿主体内，才能发育为成虫；后者指既可寄生生活又可自生生活的种类，如棘阿米巴属原虫既可自生生活，又可寄生在人的脑组织。

人是某些寄生虫的非正常宿主。因偶然机会，某些寄生虫会进入人体内而寄生；人仅仅是偶然的宿主，如某些蝇蛆进入肠内而寄生。这些寄生虫称为偶然寄生虫 (accidental parasite)。

人和动物都可作为寄生虫的宿主，为了完成生活史，有的寄生虫需一个宿主，有的则需要几个宿主，寄生虫对宿主这种选择性称为宿主特异性 (host specificity) 这是寄生虫在长期演化过程中，对寄生的内环境适应的结果。人通常成为几种满意宿主中的一种，如华支睾吸虫、日本裂体吸虫、旋毛形线虫。不同发育阶段的寄生虫需要不同的宿主。寄生虫的成熟阶段 (成虫) 或有性生殖阶段所寄生的宿主称终宿主 (definitive host) 其幼虫或无性生殖阶段寄生的宿主称中间宿主 (intermediate host)。在寄生性蠕虫生活史中若需要两个以上中间宿主，可按寄生的先后次序分为第一，第二中间宿主等。如淡水螺和螯蛄分别是肺吸虫第一、第二中间宿主。某些蠕虫成虫或原虫某一发育阶段不但寄生于人体，也寄生于某些脊椎动物，在人和脊椎动物之间自然地传播着人兽互通病。流行病学称这些动物为保虫宿主或储存宿主 (reservoir

host)，例如，肝吸虫可寄生于人和猫，猫即为肝吸虫的保虫宿主。某些寄生虫的幼虫阶段侵入非正常宿主，长期保持幼虫状态，不能发育为成虫。若幼虫阶段再进入正常宿主体内后，又可发育为成虫，这种非正常宿主称为转续宿主 (paratenic host)，例如，野猪是卫氏并殖吸虫的非正常宿主，童虫在野猪体内不能发育为成虫，保持童虫状态，若犬吞食含有卫氏并殖吸虫童虫的野猪肉后，童虫在犬体内仍可发育为成虫。野猪是该虫的转续宿主。

因长期寄生环境的影响，与自生生活的虫种相比较，寄生虫发生形态构造变化。肠道线虫为长形，适于窄长的肠腔；左右侧扁平的跳蚤体形便于在毛发间穿行；体内寄生蠕虫消化器官已退化，感觉器官已退化或消失，新的器官则产生，如绦虫吸盘、吸槽，有利于虫体附着于宿主的组织中。生殖器官发达，生殖能力也增强，雌蛔虫日产卵约 24 万个。生理功能也适于寄生生活。虫体表皮会产生酶抑制物，可抑制宿主体酶对它的作用。在低氧环境下以酵解方式获得能量。免疫功能上也适于寄生生活。虫体通过免疫逃避方式长期寄生于宿主而不被排出。

寄生虫在一定的环境条件下完成它的生长发育和繁殖的整个过程，这就是寄生虫的生活史 (life cycle)。寄生虫种类多，生活史多种多样，除了某些原虫和单殖目吸虫外，发育过程比较复杂，例如吸虫从受精卵到成虫，经历几个幼虫期，还可能先后需要两个或两个以上的宿主，经历无性繁殖和有性繁殖才能完成发育。寄生虫通过不同感染途径和方式进入宿主体内才能完成寄生生活。

## 第二章 寄生虫的致病机理

寄生虫的生长、发育、繁殖等生理功能和宿主密切相关，宿主的营养物质和酶系统是寄生虫的新陈代谢所必需的。寄生虫对人体产生不利影响。

### 一、寄生虫的致病作用

#### （一）夺取营养

寄生虫的生长发育和繁殖夺取了宿主大量的营养物质，影响宿主对营养物质的吸收。钩虫附着于肠壁吸取血液，造成宿主贫血，贾第虫覆盖在小肠上段，影响脂肪以及脂溶性维生素的吸收。

#### （二）机械性损伤

寄生虫侵入体内或在人体中移行造成组织损伤。血吸虫尾蚴侵入皮肤，蛔虫幼虫移行至肺部造成肺毛细血管损伤。钩虫丝状蚴侵入皮肤以及成虫口囊的钩齿或板齿咬附肠粘膜造成局部损伤。粪类圆线虫的雌虫在肠粘膜内寄生及产出幼虫都能破坏肠粘膜。寄生虫压迫周围组织，破坏组织细胞，大量寄生时堵塞腔道。如细粒棘球绦虫的棘球蚴寄生在肝脏中，随着体积增大，压迫组织、造成萎缩。黑热病原虫在单核巨噬细胞内增殖，破坏寄生的细胞。大量蛔虫缠结成团堵塞肠管造成机械性阻塞。

#### （三）化学作用

产生致病作用的化学物质有寄生虫的分泌物、排泄物、代谢物、死亡虫体分解产物、幼虫的蜕皮液、蜕下的外皮以及绦虫幼虫的囊液等。如痢疾阿米巴侵入肠粘膜分泌溶组织酶能溶解宿主的组织细胞，造成肠壁溃疡。血吸虫卵内毛蚴分泌物通过卵壳上微孔进入周围组织形成肉芽肿。丝虫幼虫的蜕皮液，蜕下外皮造成急性淋巴管炎、淋巴结炎；棘球蚴囊液进入皮肤，造成严重过敏反应，甚至过敏性休克。疟原虫的抗原物质与抗体作用生成免疫复合物沉积于肾小球毛细血管基底膜上，在补体参与下，引起肾小球肾炎。

寄生虫的化学性因子包含有抗原物质，诱发人体产生免疫病理。

#### （四）继发性侵入

寄生虫的侵入为其它病原微生物侵入皮肤或消化道打开了道路。钩虫的丝状蚴侵入部位的皮肤若合并有化脓菌感染，会导致局部出现脓疱。慢性阿米巴性结肠炎合并痢疾杆菌感染，会改变原有阿米巴病理特征，细菌通过阿米巴侵入道路到达深层的内脏器官，病毒也通过寄生虫到达内脏。

### 二、寄生虫病的病理变化

寄生虫病的病理变化是宿主对寄生虫的致病因素所表现的组织学和免疫学反应。

## （一）组织反应

寄生虫进入人体引起局部和全身的组织细胞学反应。

1 局部反应 在许多寄生虫病中，宿主反应通过形成纤维组织包囊，使宿主和寄生虫隔离。如旋毛虫幼虫的周围形成旋毛虫囊包；棘球蚴周围形成棘球蚴囊，棘球蚴周围有宿主细胞反应 包含有嗜酸性粒细胞、淋巴细胞 另外还有纤维组织形成厚壁囊包围虫体。

2 细胞浸润 寄生虫的虫卵、幼虫以及成虫寄生部位都有细胞浸润。如在肺部蛔虫幼虫周围有嗜酸性细胞和中性粒细胞浸润，以后出现上皮样细胞，最后转化为肉芽肿样病变。犬弓首线虫病中 造成内脏幼虫移行症的幼虫周围形成浆细胞、淋巴细胞、嗜酸性粒细胞 组织细胞组成的肉芽肿。

3 细胞增生 寄生虫寄生常引起局部细胞、组织的增生。宿主组织对阿米巴反应形成了阿米巴肉芽肿，所谓阿米巴瘤伴有粘膜表面损伤或息肉状溃疡；杜氏利什曼原虫寄生在肝、脾、骨髓、淋巴结造成巨噬细胞大量破坏和增生。在程度上类似于白血病，但在预后上完全不同，因为在应用特殊药物杀死原虫后，细胞学特征即会恢复到正常。肝吸虫寄生在肝胆管引起胆道上皮增生，胆道周围纤维化，严重感染时伴有肝硬化。主要寄生在肠系膜门静脉中的血吸虫，产出的虫卵沉积在结肠肠壁或膀胱壁，造成组织增生，有时伴有大肠癌或膀胱癌。当消化道、肝、膀胱中出现新生物时，注意是否由寄生虫引起的。上述组织反应伴有免疫病理的机制。

## （二）变态反应及免疫病理

宿主感染寄生虫后所产生的免疫，一方面抵抗再感染，另一方面发生变态反应，导致组织损伤和功能紊乱 产生免疫病理。

1 速发型变态反应 常见于蠕虫感染。蠕虫的可溶性抗原与附在肥大细胞、嗜碱性粒细胞表面上的 IgE 结合，引起细胞中的活性物质释放，如组织胺、5-羟色胺等，在几分钟内出现局部（皮肤过敏反应）或全身（过敏性休克）过敏反应。例如禽类或畜类血吸虫尾蚴引起人体的尾蚴性皮炎；棘球蚴液外逸引起过敏性休克。

2 细胞毒型 这类变态反应是抗体（IgG、IgM）直接作用于相应的细胞膜上的抗原，在补体、巨噬细胞作用下，引起组织损伤反应。其作用方式有抗体依赖性的细胞介导的细胞毒作用；补体依赖性细胞毒作用；促进巨噬细胞的吞噬作用等。例如疟原虫抗原吸附于红细胞表面 患者血中的 IgG 或 IgM 与之结合 在补体参与下 引起红细胞溶解 出现溶血 这是疟疾引起贫血的原因之一。

3 免疫复合物型在血液中，寄生虫的可溶性抗原与抗体特异性地结合，形成免疫复合物，沉着于组织中引起炎症反应。当免疫复合物沉着在血管壁或组织内，激活补体，产生白细胞趋化因子，中性白细胞积聚、吞噬免疫复合物，释放出溶酶体酶，造成血管壁及周围组织损伤 如疟疾引起急性肾小球肾炎。

4 迟发型 这是 T 淋巴细胞引起的细胞免疫反应。例如血吸虫卵内毛蚴分泌的可溶性抗原经卵壳上的微孔渗出后，接触到致敏 T 细胞。当致敏 T 细胞再次接触同样抗原，出现分化、增殖 并释放各种淋巴因子 吸引、集聚大量巨噬细胞、嗜酸性粒细胞于虫卵周围 形成虫卵肉芽肿。

有的寄生虫病同时存在几型变态反应，例如血吸虫病可有速发型，免疫复合物型及迟发型变态反应同时存在。

很多蠕虫感染中，周围血液及局部组织内嗜酸性粒细胞增加。蠕虫感染时，蠕虫的抗原作用于致敏 T 细胞，促其分泌嗜酸性粒细胞生成素。这类因子促使骨髓中的嗜酸粒细胞前体分裂和分化为嗜酸性粒细胞，造成周围血液中嗜酸性粒细胞增加。被蠕虫抗原致敏的 T 淋巴细胞分泌各种嗜酸性粒细胞趋化因子，吸引血管内嗜酸性粒细胞从血管内游出并聚集于虫体或虫卵周围。这是局部嗜酸性粒细胞增多机理。嗜酸性粒细胞作用为吞噬抗原抗体复合物，调节速发型变态反应，损伤蠕虫的功能。

### 三、寄生虫病的临床症状

#### (一) 临床表现

大多数的寄生虫病没有特殊诊断性症状。临床上诊断寄生虫病可根据患者主观症状、病史以及体检客观症状、血象等方面资料综合作出诊断。

像微生物一样，寄生虫病也有发热、局部和全身疼痛、水肿、咳嗽、咳痰、腹泻、消化道出血、贫血、休克等症状。

1 发热 体温调节中枢在大脑皮层及丘脑下部，当寄生虫产生的热源质刺激体温中枢时引起发热。如疟疾高热达 39 以上，经数小时后降至正常，隔日或数日后又升高，表现为间歇热，发热快，退热也快。

2、疼痛 可为局部性或全身性疼痛，常和寄生虫所在部位有关。肠管受阻塞而引起痉挛性疼痛，如蛔虫性肠梗阻；蛔虫性腹痛常常在脐周围，呈间歇性腹痛；也有的表现为牵涉性疼痛，如胆道蛔虫引起绞痛，涉及到右肩、右肩胛。

3、水肿 水肿可为局限性或全身性。淋巴管阻塞如丝虫病。肝脏合成蛋白功能降低，血浆蛋白和血浆胶体渗透压降低以及激素灭能作用降低，尿中蛋白大量损失，造成血浆中蛋白含量降低，肝内静脉压增高，门静脉高压，形成腹水，使血浆蛋白和胶体渗透压降低，水肿更严重，如晚期血吸虫病。蛋白质及维生素摄入不足以及营养物质大量耗损引起营养不良性水肿，如钩虫病病人面部及全身浮肿；在水肿病例中，严重者有胸腔积液、心包积液。

4、呼吸困难 过敏性物质引起的小支气管狭窄，病人呼气费力的呼气性呼吸困难。如蛔虫重度感染时引起的支气管哮喘，又如尘螨性哮喘。

5、咳嗽、咳痰 呼吸系统的寄生虫病伴有咳嗽，过敏原引起咳嗽，肺吸虫病引起咳痰，痰中有夏科-雷登氏结晶，铁锈色样血痰。棘球蚴病咳出生发囊。

6、食欲异常 寄生虫病患者常有食欲减退，如肺吸虫病。食欲亢进，见于牛带绦虫患者。牛带绦虫吸取宿主营养物质，当正常的食物消耗后，病人有饥饿感，故引起食欲亢进。寄生虫患者精神神经变态反应造成异嗜症，如钩虫病患者。

7、消化障碍 病变累及胃，胃液反流刺激食管粘膜，造成上腹部烧灼感，如粪类圆线虫病。

8、恶心呕吐 棘球蚴寄生于脑内，引起颅内压增高，引起头痛、呕吐。旋毛虫病早期有胃肠道充血水肿，表浅溃疡引起呕吐等症状。肠腔阻塞引起肠梗阻，伴有腹痛呕吐，如蛔虫性肠

梗阻。呕吐物中有时见到虫体，如蛔虫。

9 消化道出血 肝硬化并发食管及胃静脉曲张破裂引起呕血，如晚期血吸虫病。病变深及粘膜下层 肌层 引起小肠结肠和直肠出血 如钩虫病、血吸虫病 阿米巴痢疾。这些寄生虫引起的疾病 粪便中可有鲜血 或粪便乌黑发亮 无鲜血 或外观正常的粪便 但隐血试验为阳性。

10、腹泻 肠运动和分泌功能失调 粪便通过结肠加速 结肠溃疡 水分不能吸收 由于出血 粪便呈暗红色、酱色或血水样 并含脓血小块及粪质 例如阿米巴痢疾。血吸虫病腹泻 粪便呈脓血样。粪便量多，脂肪含量大，如蓝氏贾第鞭毛虫病。

11、贫血 由于长期慢性失血，使机体丧失生成红细胞的原料尤其是铁质，形成低色素小细胞性贫血 如钩虫病。寄生虫寄生在红细胞中 破坏红细胞 寄生虫的抗原破坏红细胞 脾功能亢进 红细胞破坏速度超过代偿再生时 出现溶血性贫血 如疟疾、黑热病。

12、休克 寄生虫病引起的休克常见为过敏性休克。过敏物质引起机体组胺类物质释放，引起血管扩张 毛细血管通透性增加 发生过敏性休克。如棘球蚴囊液外漏引起休克。

13、昏迷 脑部微血管被寄生虫感染的红细胞阻塞，引起脑缺氧，发生昏迷。如恶性疟原虫的脑型疟。

14、感觉运动障碍，瘫痪 游走性寄生虫穿越肝脏，通过椎间孔进入椎管，引起胸椎病变，脊髓受压，下肢感觉运动障碍，甚至截瘫，如肺吸虫病脊髓型。

## (二) 病史

虽然近代医学广泛应用精密器械和实验室检查帮助诊断寄生虫病，但详细地询问病史仍然是诊断疾病重要方法。早期疾病只有自觉症状而无体征，无实验室诊断异常，这时就要靠认真地收集病史，会有助于诊断寄生虫病。常见病史包括如下：

1 流行区居住史 非流行区的易感者进入流行区，因缺乏相应免疫力，由于和疫水接触（如血吸虫病）媒介昆虫叮咬 如疟疾、丝虫）污染的土壤 如钩虫 接触而感染 因此即使非流行区患者也应询问有关进入流行区病史。

2 饮食史 不良生活习惯可以是地方性也可能是个别家族史。地方性吃生牛肉（如牛带绦虫）个别家族不注意饮食卫生都易感染寄生虫病。

3 旅行史 由于交通愈来愈方便，国际间交往越来越频繁，可以感染上其它国家寄生虫病。近年来从中国回国人员中发现罗阿丝虫和常现丝虫感染病例。旅行者、男性同性恋者易患蓝氏贾第虫病。

4家属史 询问父、母、兄、弟、姊、妹的健康状况 有无遗传性疾病。在无癫痫家属史者患有癫痫 应考虑是否有脑部寄生虫病 如脑囊虫病。

5 婚姻史 询问爱人健康状态，有的寄生虫病男女同患，如阴道毛滴虫。

6生育史 询问并记录有无早产、流产、死产、畸胎 这些都是初孕妇女在早孕期有弓形虫感染 多数为隐性感染 但经胎盘传给胎儿所致。

7 家庭环境史 猫为弓形虫的终宿主。家中养猫，接触猫粪便中卵囊而感染。革螨侵入人体引起的皮炎 通常与养鸡、鸽及家宅附近有雀窝有关。

8 疾病周期史 有的寄生虫病发作有明显的季节史、周期史，如疟疾有周期性寒颤、发热、

出汗退热史，血吸虫性皮炎多在夏季和疫水接触有关。

### （三 寄生虫病的体征

1 皮肤 有的寄生虫通过皮肤进入人体，如血吸虫、钩虫，有的经吸血节肢动物由皮肤进入人体 如丝虫、疟原虫。因此首先在皮肤上出现症状 如由钩蚋、尾蚴引起的皮炎。有的寄生虫经口感染 但首先出现症状在皮肤 如肺吸虫皮下结节 患者常因局部皮肤上结节而就诊 如猪囊虫病皮下结节。检查时应注意皮肤颜色。

(1) 苍白。皮肤粘膜因贫血而苍白，如钩虫病。

(2) 色素沉着。全身性色素沉着见于黑热病、疟疾。

(3) 皮疹、水疱。和泥土接触部位出现斑疹、丘疹，如钩蚋性皮炎；与松毛虫和桑毛虫毒毛接触皮肤出现红肿、水疱。

(4) 水肿。水肿是皮下组织液体潴留，皮肤因水肿而发亮，如血吸虫病门静脉高压引起水肿。

(5) 发红。皮内毛细淋巴管炎时，局部皮肤红肿，有烧灼感，如丝虫病的丹毒样皮炎。

(6) 淋巴结肿大。腹股沟淋巴结肿大，无压痛，无红肿为淋巴结型黑热病；有疼痛、压痛为丝虫病。

2 头部 头部检查尤其应注意检查眼和口腔。检查视力和眼前房，视力下降、失明见于眼囊尾蚴病；眼前房有丝状物阴影为结膜吸吮线虫。齿龈出血、鼻衄见于黑热病。

3 胸部 感染较重以及变态反应。胸部听诊可闻及两肺散在哮鸣音和干性罗音，少数有湿性罗音 如蛔虫性哮喘 肺孢子虫病等。

4 腹部 门静脉循环障碍形成侧支循环，可见明显腹壁静脉曲张，如晚期血吸虫病。深部触诊有压痛，肝脏触诊，有局限性肿大如包虫病。在触诊肝包虫病囊肿时，以 2 个或 3 个手指头放在囊肿上，稍施加压力，并叩击一指，可感觉到震颤，这是小囊肿互相撞击所致。肝脏触诊、叩诊时 局限性肿大 位于前上方时肝浊音界升高 如包虫病。肝右叶顶端的脓肿可使膈肌抬高，如阿米巴性肝脓肿。急性寄生虫感染时脾肿大程度较轻，质地柔软，如疟疾。慢性寄生虫病 脾肿大较显著 质地亦较硬 如黑热病。乙状结肠 直肠是溶组织内阿米巴较常见寄生部位，也是血吸虫卵沉积部位，采用乙状结肠镜、直肠镜进行活组织检查有利于确诊病因。寄生虫病引起腹泻，严重的慢性感染可导致直肠脱垂，如鞭虫。

5 生殖器 淋巴管炎或阻塞引起生殖器象皮病；睾丸鞘膜积液、阴囊肿大，多由于丝虫病所引起。在暗室中透光测验为阳性

## 第三章 寄生虫病的实验诊断

### 一、病原学诊断

#### (一) 粪便检查

粪便检查是诊断寄生虫病常用的方法。主要有直接涂片法、厚涂片法和浓聚法。每种方法都应采用顺序观察法把涂片看完。

1 直接涂片法 此法用于检查蠕虫卵、原虫包囊和滋养体，方法简便。当粪便中蠕虫卵或原虫包囊数量少 取材少 检出率低 为了提高检出率 可连续涂片 3 张或间隔一天以上涂片 3 张。

(1)蠕虫卵的检查。取洁净载玻片 在中央滴 1—2 滴生理盐水，用牙签挑取火柴头大小粪便，在生理盐水中涂抹均匀，盖上盖片，涂片厚度以透过涂片略能辨别字迹为宜，然后镜检。

(2)原虫的检查。 活滋养体检查。标本新鲜，保持接近人体温度，容器清洁，取有粘液、脓血的粪便检查，涂片方法同蠕虫卵检查。②包囊的碘液染色检查。在直接涂片法的玻片上滴上一滴碘液，以便包囊和粪便中异物相区别。便于和其它包囊区别。 隐孢子虫卵囊的染色检查。将过滤的粪液制成涂片，干后，用油镜观察。如需与酵母菌区别，可将涂片用甲醇固定后，以石碳酸复红染液染色 55 分钟，水洗后再用 3% 盐酸酒精脱色，然后用美蓝复染 3 分钟 卵囊染成红色 酵母菌呈蓝色。

2 厚涂片透明法（改良加滕法）取用 100 目 2.54cm(1 寸) 尼龙网去除粪渣的粪便 50g，置于载玻片，用浸透甘油—孔雀绿溶液的玻璃纸片覆盖于粪便上，轻压，使粪便铺开成为 20 × 25mm 的膜 置于 30—36 温箱中约半小时 或 25 约 1 小时后镜检。

此法应掌握粪膜厚度和透明时间 时间过长 虫卵变形 粪膜过厚 透明时间短 虫卵难以发现。

3、浓集法 (1)沉淀法。利用蠕虫卵和原虫包囊的比重大，可沉集于水底的特点，使用此法便于提高检出率。但钩虫卵比重小，检出率低。 自然沉淀法。取粪便 20—30g 加水调成混悬液 用 40—60 孔的金属筛或 2—3 层湿纱布过滤于锥形量杯中，再加清水冲洗残渣；加水至量杯将满 静置 20—30 分钟 倒去上液 重新加满清水 以后每隔 15—20 分钟换水一次 直至上层液体清晰为止，最后倾去上清液，取沉渣作成涂片镜检。 离心沉淀法。将上述滤液用纱布滤入离心管内 以 1500—2000rpm 离心 1—2 分钟，倾去上液，注入清水调匀，再离心沉淀 如此反复离心 3—4 次，直至上液澄清为止。最后倾去上液，取沉渣涂片镜检。 汞碘醛离心沉淀法。粪便 1g 加汞碘醛液约 10ml 充分调匀 用二层纱布过滤 再加乙醚 4ml 摇匀 离心 (2000rpm)1—2 分钟 即分成乙醚、粪渣、汞碘醛及沉淀物四层 吸出上面三层 取沉渣作涂片镜检。汞碘醛配制 :a. 汞醛液 :0.1% 硫柳汞酊 200ml, 40% 甲醛 25ml 甘油 5ml, 蒸馏水 200ml。 b. 卢戈氏液 碘 5g 碘化钾 10g, 蒸馏水 100ml。检查时 取汞醛液 9.4ml 及卢戈氏液 0.6ml 混

合备用,8 小时后混合液变质,不应再用。

(2)漂浮法。虫卵和包囊在比重大的液体中上浮而集中在液体表面。①饱和盐水浮聚法。此法用以检查钩虫卵效果最好 取黄豆粒大小的粪便放入浮聚瓶中(可用青霉素小瓶代替)加少量饱和盐水调匀,再慢慢加入饱和盐水至液面略高出瓶口但不溢出为止,在瓶口盖上洁净载玻片 静止 15 分钟 将载玻片垂直提起并迅速翻转 盖上盖片 镜下检查。饱和盐水配制 在盛有沸水的烧杯中慢慢地加入食盐,不断搅动,直到食盐不再溶解为止。 硫酸锌离心浮聚法。按离心沉淀法过滤,离心 3—4 次 至上液澄清为止 倾去上清液 在沉淀物中加入 33% 硫酸锌(比重为 1.180)少许 调匀后 再加硫酸锌溶液距管口 1cm 处 离心 1 分钟 用金属环取表面的粪液置载玻片上 加碘液 1 滴 镜检。

常见蠕虫卵 包囊比重如下

名称	比重
姜片虫卵	1.190
血吸虫卵	1.20
华支睾吸虫卵	1.170—1.190
带绦虫卵	1.140
短膜壳绦虫卵	1.050
未受精蛔虫卵	1.210—1.230
受精蛔虫卵	1.110—1.130
钩虫卵	1.055—1.080
鞭虫卵	1.150
蛲虫卵	1.105—1.115
痢疾阿米巴包囊	1.060—1.070
蓝氏贾第鞭毛虫包囊	1.040—1.060

4、毛蚴孵化法 根据血吸虫卵内的毛蚴在适宜的温度下,在清水中短时间可孵出的特征而设计的。取粪便 30g 按自然沉淀法取沉渣 倒入三角烧瓶中 加去氯的清水至瓶口 在 20—30 的条件下经 4—6 小时后用肉眼或放大镜观察结果,若见瓶颈水面下 1cm 处有直线来往游动白色点状物 即是毛蚴 必要时吸出毛蚴于载玻片上观察 若无毛蚴 每隔 4—6 小时观察一次。或放置第二天观察。夏季气温高,毛蚴在短时间内孵出,因此用 1.2% 食盐水冲洗粪便 以抑制毛蚴孵化 最后一次改用清水孵化。

毛蚴促孵法 将沉淀法处理的粪便沉渣倒入三角烧瓶内 不加水 或将粪渣置于吸水纸上,放入 20—30 温箱中过夜,检查时,加清水2 小时后可见孵出的毛蚴,用此法孵出毛蚴数量多。

为了和水中原生动物相区别,先把孵化物用水处理, 50kg 水中加漂白粉 0.4g 或漂白精 0.17g 约半小时杀死原生动物 然后加 10% 硫代硫酸钠 1.2ml 可将水中氯去除。

5 钩蚴培养法 钩虫卵在适宜的条件下较短时间内孵出钩蚴,常用小试管法。取长

10cm,口径 1cm 的试管 1 支。将滤纸剪成比试管稍宽,比试管稍短的‘T’字形纸条 横条部用铅笔书写受检者姓名或编号,将黄豆大小的粪便均匀地涂在纸条的中段,长度是纸长 1/2,纸条上下各 1/4 不涂粪便,将纸条插入试管中,下端浸于水中,但粪便不接触水面,培养在 20—30 条件下,每天补充少量水以保持液面高度,3 天后,用放大镜观察试管下段作蛇形运动的钩蚴 若阴性 继续培养至第五天。

6、虫卵计数法 本法用于估计人体内寄生虫的感染度,目前常用厚涂片透明定量法。采用聚苯乙烯作定量板 大小为 60×30×0.9mm 中部有二个模孔 每孔大小为 12×2.1mm,两孔间隔为 4.5mm。操作时将 100 目/2.54cm(1 寸)尼龙网或铜丝网覆盖于粪便上,用刮片自筛网上刮取粪便,将定量板放在载玻片上,将刮片上的粪便填入模孔,刮去多余粪便。掀起定量板,载玻片上留下的粪条上覆盖甘油一孔雀绿溶液浸泡的玻璃纸条,加压后使粪便展开,在室温下经 1—2 小时后镜下计数 虫卵数乘以 23 即为每克粪便的虫卵数。

已知每条雌虫每日排卵数和每克粪便虫卵数,可以算出病人体内寄生虫数。

也可用司徒尔(stoll)氏法,估计人体内寄生虫的感染度。在容量为 65ml 三角烧瓶颈部有相当于 56 和 60ml 处有两个刻度。把 0.1mol NaOH 溶液倒入瓶内 56ml 处 加入粪便 使液面上升到 60ml 处 放进玻璃珠 10 颗 塞紧瓶口 充分摇动 制成混悬液。在载玻片上滴上 0.075 或 0.15ml 粪液,加盖片,低倍下观察计算全部虫卵数。乘以 200(吸 0.075ml)或 100(吸 0.15ml) 即得每克粪便中虫卵数。粪便性状影响计算结果,因此乘以每克粪便校正系数,半成形粪便 ×1.5 软湿形粪便 ×2,稀湿形粪便 ×3 水泻形粪便 ×4。

每日总排卵量 = 每克粪便含卵数 × 每日粪便总量

雌虫寄生数 = 每日总排卵量 ÷ 每条雌虫每日产卵数

成虫寄生总数 = 雌虫寄生数 × 2

各种雌性蠕虫每日产卵数

虫名	产卵数/日/条(平均数)
华支睾吸虫	1600—4000(2400)
日本血吸虫	1000—3500
卫氏并殖吸虫	10000—20000
姜片虫	15000—48000(25000)
牛带绦虫	97000—124000/孕节
猪带绦虫	30000—50000/孕节
蛔虫	234000—245000(240000)
鞭虫	1000—7000(2000)
美洲钩虫	5000—10000(9000)
十二指肠钩虫	10000—30000(24000)

⑦ 淘虫法 为了识别蠕虫和考核驱虫疗效,常需从粪便中淘取蠕虫进行鉴定。

方法 收集患者 1—2 天全部粪便 加少量水 用玻棒搅成糊状 用 40 目/cm<sup>2</sup> 筛滤出粪渣,用水冲洗 倒在衬以黑纸的大型玻皿内 检查虫体。

8 带绦虫孕节检查法 用清水洗净节片，置于两块载玻片之中，轻压，观察内部结构，根据子宫分支数鉴定虫种。也可用注射器从孕节主干后端插入子宫内注射墨汁或卡红。

卡红染液配制：钾明矾饱和液 100ml,卡红 3g 冰醋酸 10ml,37℃温箱中过夜保存混和液，第二天过滤后即可应用。

## （二）肛门拭子检查

蛲虫成虫夜间爬出肛门产卵，半夜小孩熟睡后，用手电筒照明，可在肛门周围检获成虫。用肛门拭子法可检查虫卵，常用的有棉签拭子法和透明胶纸法。

1、棉签拭子法 用蘸有生理盐水的灭菌棉签拭擦肛门周围皱襞，然后将棉签放入盛有饱和盐水的青霉素小瓶中 将棉签在盐水中振荡 使虫卵掉在水中 并在瓶壁挤去盐水 再加饱和盐水至瓶口盖上报玻片,10 分钟后，提起载玻片，小心翻转，镜检。也可以把棉签放入盛有清水的试管中 搅动 取出棉签 在管壁挤去水分 静止 10 分钟 取沉渣镜检。

2.透明胶纸法 剪取长 6cm 宽 2cm 透明胶带，贴于干净的载玻片上，其一端向胶面折叠约 0.5cm 便于揭开胶纸 于清晨起床排便前 在玻片上揭开 3/4 透明胶纸 用胶面在受检者肛门周围皮肤粘贴几下，然后复位贴于载玻片上，镜检。也可以在胶纸与玻片之间滴上生理盐水 消除气泡镜检。

## （三）血液检查

血液检查是诊断疟疾，丝虫病的基本方法，涂制血膜用的载玻片应先经去污处理，然后用自来水、蒸馏水冲洗，95% 酒精浸泡，擦干或烤干后使用。

洗涤去污液配制 重铬酸钾 80g,溶于 1000ml 冷水中 然后徐徐加入浓硫酸 100ml 同时用玻璃棒搅拌。

1 检查疟原虫 (1)取血。用 75% 酒精棉球消毒耳垂，干后用左手拇指与食指捏着耳垂下方 并使皮肤绷紧 右手持采血针 刺破皮肤 用手挤出血滴。

(2)制片。①薄血膜制片。在载玻片 1/3 与 2/3 交界处蘸血一小滴，取一边缘光滑的载玻片为推片，一端置于血滴之前待血液沿边缘展开后，操作时两载玻片之间角度为 30°—45° 自右向左推成薄血膜，一张好的薄血膜推片应是血细胞分布均匀，无空隙，呈舌形。 厚血膜制片。厚血膜可制于上述薄血膜的另一端，蘸血一小滴（约 10mm<sup>3</sup>）以推片的一角将血滴自内向外作螺旋式摊开 使成直径 1cm 大小的厚薄均匀圆形血膜，待干后溶血。

(3)固定和染色。充分晾干血片（否则染色时会脱落），用玻棒蘸甲醇或无水酒精轻轻抹过薄血膜 用滴管滴水于厚血膜上 待血膜呈灰白时 拭去水滴晾干 再用甲醇或酒精固定。

常用染色剂有姬氏染剂(Giemsa's stain)和瑞氏染剂(Wright's stain)。①姬氏染液染色法。此法染色效果好 血膜褪色慢 保存时间较久 但染色时间长。

姬氏染液原液以 1:20 的比例 用 pH7.0—7.2 的缓冲液稀释 备用。染色时 将染液滴在已固定的血膜上 染色 30 分钟 缓冲液冲洗 冲洗时注意 不要对着血膜冲洗。晾干 镜检。

染液配制：

姬姆萨粉 1g 甲醇 50ml 纯甘油 50ml 将姬氏染液粉置于研钵中 加少量甘油充分研磨，边加边研磨 直至 50ml 甘油加完，倒入棕色瓶中，再多次用少量甲醇冲洗研钵中的甘油染液，

倒入玻璃瓶内 直至甲醇加完为止 塞紧瓶口 充分摇匀 置 65℃ 温箱内 24 小时 若室温 1—2 周后 过滤备用。

缓冲液的配制：

缓冲液用 1/15M 磷酸氢二钠  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  液和 1/15M 磷酸二氢钾  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  液配制 将磷酸氢二钠 9.464g 和磷酸二氢钾 9.073g 分别溶于 1000ml 蒸馏水中 装瓶 备用 原液按下表配成不同 pH 使用：

pH	1/15M $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (ml)	1/15M $\text{KH}_2\text{PO}_4$ (ml)	蒸馏水(ml)
6.8	4.9	5.1	90.0
7.0	6.3	3.7	90.0
7.2	7.3	2.7	90.0

瑞氏染液染色法。本法操作简便、迅速，保存时间短，适于临床检验，染液中含高浓度甲醇，因此血膜不需先固定，因甲醇蒸发快，染色玻片上易发生染液沉淀，较易褪色。

染色方法 厚血膜先经溶血 待血膜干后 在厚薄血膜间用蜡笔划好染色范围 滴染液覆盖全部厚、薄血膜，30 分钟后滴加等量的蒸馏水 摇动玻片 混匀水和染液 此时出现一层灿铜色浮膜，3—5 分钟后 从玻片一端冲洗 晾干后镜检。

染液配制：

瑞氏染剂粉 0.1—0.5g 甲醇 97ml 甘油 3ml 将染剂加甘油充分研磨 加少量甲醇后 再研磨 倒入瓶中 用甲醇分数次冲洗研钵中的染液 倒入瓶中 直至 97ml 甲醇用完为止 摇匀，24 小时过滤后备用 通常 1—2 周再过滤一次。

2 检查微丝蚴 (1)新鲜血片检查法。利用微丝蚴的夜现周期性，患者于晚间 9 点至凌晨 2 点检查外周血液。消毒耳垂，取血 1—2 滴于载玻片上 加盖片 在低倍镜下观察 发现蛇形运动的微丝蚴后 仍须作染色检查 以确定虫种。

(2)厚血膜法。轻揉耳垂 使其充血 用 70% 酒精消毒耳垂。待酒精干后，以左手拇指和食指紧捏耳垂前后两面，右手持用酒精棉球消毒过的三棱针沿耳垂边缘迅速刺破耳垂皮肤，取三大滴 约  $60\text{mm}^3$  血 置于洁净的载玻片上 均匀地涂成约  $2 \times 3\text{cm}$  大小的长方形厚血膜，晾干 次日将血片浸在清水中溶血 直至血膜变灰白色。若发现微丝蚴 血膜干后用甲醇固定 用姬氏染液染色镜检，鉴别虫种，其染色法同疟原虫。也可用德氏苏木素染剂 (Delafields hematoxylin stain) 染色。

染液配制：

苏木素 1g 溶于纯酒精或 95% 酒精 10ml 中，加饱和硫酸铝铵 100ml 倒入棕色瓶中 用两层纱布扎紧瓶口 在阳光下氧化 2—4 周 过滤 加甘油 25ml 和甲醇 25ml 用时稀释 10 倍。染色时，将已溶血，固定的厚血膜放入已稀释的德氏苏木素溶液中染 10—15 分钟 在 1% 酸酒精中分色 1—2 分钟 蒸馏水洗涤 1—5 分钟 至血膜为蓝色 再用 1% 伊红染色 0.5—1 分钟 用水洗涤 2—5 分钟后 晾干镜检。

(3)微丝蚴浓集法。外周血液中微丝蚴少量时 厚血膜不易查到 可采用此法浓集 提高检出率。

方法 无菌抽取静脉血 1ml 加入盛有 10ml 蒸馏水的离心管混匀，使红细胞溶解后，离心 (3000rpm/min) 2 分钟 倾去上液 加水再离心 取沉渣制成涂片镜检。

#### (四) 分泌物、排泄物检查

1、痰液 肺吸虫卵，寄生于肺的溶组织内阿米巴滋养体，棘球蚴的原头蚴，肺孢子虫，蛔虫、钩虫、尘螨均可随痰液排出，但检出率低。

(1) 检查肺吸虫卵。直接涂片法。在洁净的载玻片上滴上 1—2 滴生理盐水，挑取铁锈色痰液部分，制成痰膜，加盖片镜检，可见肺吸虫卵，夏科—雷登氏结晶。多次涂片阴性，可采用浓集法。(2) 浓集法。收集患者 24 小时痰液于小玻璃杯内，加等量 10% NaOH 溶液，搅匀，放入 37℃ 温箱内，2 小时后，将稀液状痰液分装于数个离心管内，离心 (1500rpm/min) 10 分钟，弃去上液，取沉渣制成涂片镜检。

(2) 溶组织内阿米巴大滋养体检查。取新鲜痰液作涂片，天冷时保持和体温相同的温度，高倍镜观察，可见作阿米巴运动的滋养体。

(3) 蠕虫幼虫，螨等宜用浓集法检查。

2、十二指肠液和胆汁 蓝氏贾第鞭毛虫滋养体，肝吸虫卵、姜片虫卵、肝片虫卵等可随胆汁排出。镜检时可将十二指肠液和胆汁经直接涂片法或离心浓集后，镜检。

方法：将十二指肠液或胆汁滴于载玻片上，加盖片后镜检。或将各部分引流物加生理盐水稀释后分装于离心管内，离心 (2000rpm/min) 5—10 分钟，取沉渣镜检。粘稠的引流液加 10% NaOH 消化后再离心，贾第虫滋养体附着于粘液小块上，虫体聚集成片状物。

3、尿 先离心，然后取沉渣镜检，用于检查微丝蚴、阴道毛滴虫的滋养体。但乳糜尿需加等量乙醚，用力振荡，吸去溶于脂肪中的乙醚层，然后离心，取沉渣镜检。

4、鞘膜积液 常用于检查班氏微丝蚴，经碘酒和 70% 酒精消毒阴囊皮肤后，用注射器抽取睾丸鞘膜积液作直接涂片检查，也可加水稀释离心沉淀，取沉渣镜检。

5、阴道分泌物 (1) 直接涂片法。在洁净的载玻片上加 1—2 滴生理盐水，用消毒棉签在患者的阴道后穹窿、子宫颈及阴道壁上取分泌物在载玻片上作涂片，镜检。

(2) 阴道分泌物涂片染色镜检。常用染色法显示内部结构以资鉴别。将上述涂片晾干固定后，用瑞氏染液或姬氏染液染色镜检。

6、脑脊液 弓形虫、溶组织内阿米巴大滋养体、卫氏并殖吸虫卵、棘阿米巴、棘头蚴的原头节常存在脑脊液中。检查时，常规抽取脑脊液，离心沉淀，取沉渣镜检。查原虫时，涂片晾干固定，用瑞氏或姬氏染液染色后镜检。

#### (五) 其它器官组织检查

1、骨髓穿刺 常用于杜氏利什曼原虫利杜体，通常在髂骨部位进行穿刺，患者侧卧，露出髂骨部位，消毒皮肤后，视年龄大小，选用 17—20 号带有针芯的干燥无菌穿刺针，从髂前上棘后约 1cm 处刺入皮下，当针尖触及骨面时，再慢慢地钻入骨内 0.5—1.0cm，拔出针心，接上 2ml 的干燥消毒的注射器，抽取骨髓液，取一滴骨髓液作成薄涂片，晾干，用醇固定，染色，同疟原虫薄血膜染色法镜检。

2、淋巴结穿刺 (1) 检查利什曼原虫。操作方法简便，安全，但检出率低于骨髓穿刺。患者治疗后，淋巴结内原虫消失较慢，故有一定考核疗效价值，常取腹股沟处淋巴结穿刺。方法是常规消毒腹股沟处皮肤，用左手拇指和食指捏住一个较大的淋巴结，右手取干燥无菌的 6 号

针头刺入淋巴结 此时淋巴结组织液自动进入针内 稍待片刻 拔出针头 将针头内少量淋巴结组织液注于载玻片上 涂片 染色 镜检。

(2)检查丝虫成虫。在可疑的淋巴结中用注射器抽取成虫，或解剖已摘除的淋巴结找成虫 也可作病理组织切片检查。

3、检查皮下结节 (1)检查肺吸虫。卫氏并殖吸虫和斯氏狸殖吸虫的童虫在皮下形成“游走性皮下结节”。其特点为游走性，因此应注意选择切开皮下结节的合适时间。最好在结节刚形成时切开 否则童虫移行别处 按小手术常规切开皮下结节 发现童虫 立即放入生理盐水 镜检。或用 70% 酒精固定送检。

(2)检查囊尾蚴。囊尾蚴结节不会游走，呈黄豆大小，推之可活动。检查时可按小手术摘取结节，在两张载玻片间压平结节后镜检。检查头节上吸盘和小钩。

4、皮肤检查 (1)疥螨。

(2)蠕形螨。

(3)利什曼原虫。在可疑的皮肤黑热病患者的丘疹和结节上皮损明显之处，作皮肤消毒，用干燥无菌的注射器，刺破皮损处，抽取病变部位组织液作涂片，染色，镜检。或用锋利小剪刀 无菌解剖刀取一小片皮损处组织 用切面作涂片 瑞氏或姬氏液染色 镜检。

5 肌肉检查 (1)检查旋毛虫幼虫。用外科手术从患者腓肠肌或二头肌处取米粒大小的肌肉一小块。置于载玻片上 加 50% 甘油一滴，盖上另一块载玻片，压紧肌肉，低倍镜下观察包囊内的幼虫。

(2)检查猪囊尾蚴。常规摘取肌肉内的结节，剥除外层纤维被膜，在 2 张载玻片间压平结节，镜检。观察头节上结构。

6 肠粘膜检查 血吸虫卵和溶组织内阿米巴大滋养体常寄生在肠粘膜，可采用活组织检查虫卵和大滋养体。

(1)检查日本血吸虫卵。用直肠镜取米粒大小的直肠粘膜一小块，经水洗后，在两块载玻片间压平，镜检找虫卵。对已治疗过的病人，鉴别死卵和活卵常采用氯化三苯基四氮唑—茚三酮复染法。染色后，活卵可见橘红色油滴状物，紫色至紫蓝色晶体颗粒或晶体。死卵，近期变性虫卵呈深蓝灰色，远期变性虫卵不着色。

(2)检查溶组织内阿米巴。用乙状结肠镜或纤维结肠镜直接观察粘膜溃疡；自溃疡边缘或深层刮取溃疡组织 置于载玻片上 滴加 1—2 滴生理盐水 盖上盖片 轻轻压平 立即镜检 寻找阿米巴滋养体。另外 也可取一小块病变粘膜组织 固定后切片 染色镜检。

7 肺组织检查 用改良银染色法检查卡氏肺孢子虫包囊。

方法 :a. 取一小块肺组织作涂片，干后用甲醇固定。b. 肺涂片置于 5% 铬酸中 氧化 15 分钟 温度为 20℃，氧化后标本用流水冲洗数秒钟。c. 再用 1% 亚硫酸氢钠过 1 分钟 而后用自来水冲洗 蒸馏水洗 3—4 次。d. 60 条件下 在四胺银工作液内孵育约 90 分钟 直至标本转为黄褐色为止 自来水 蒸馏水各洗 5 分钟。e. 0.1% 氯化金 2—5 分钟 蒸馏水洗 4—5 次。f. 2% 硫代硫酸钠 5 分钟 自来水洗 10 分钟以上。g. 亮绿复染 45 秒钟。h. 而后用 95%、99%、100% 乙醇脱水。i. 最后用二甲苯透明 3 次 树胶封片。

经染色 卡氏肺孢子虫包囊呈圆形、卵圆形或多角形 囊壁为淡褐色或深褐色 红细胞为淡黄色，视野为淡绿色。

## 二、免疫学诊断

### (一) 皮内试验

利用速发型变态反应，将特异性抗原注入皮内，观察并测量丘疹及红晕反应范围判断体内是否有特异性抗体 IgE 的存在 称皮内试验。

此方法可用于检测血吸虫病、肺吸虫病等多种寄生虫病，方法简便，观察结果迅速。以肺吸虫病为例。

(1)用 0.5cm 直径的圆圈在受检者前臂屈面皮肤上盖一个印迹，70% 酒精棉球消毒皮肤，干后，用吸有肺吸虫成虫抗原的配有 4—5 号针头的卡介苗注射器，由圆形印痕的边缘向中心平行刺入皮内 注入抗原 0.03ml 恰好充满印迹范围 拔出针头 用干棉球擦去漏液。

(2)在同侧手臂和抗原注射部位相距 10cm 处，或在另一手臂同侧皮内注射 1/10000 硫柳汞溶液生理盐水 0.03ml 作为对照 避免假阳性。

(3)15 分钟后，用纸尺测量丘疹的直径和红晕的大小。

- “ - ” 丘疹 < 13mm。
- “ + ” 丘疹 13—20mm 红晕 < 35mm。
- “ + + ” 丘疹 13—20mm 红晕 > 35mm。
- “ + + + ” 丘疹 < 21mm 红晕 < 50mm。
- “ 卍 ” 丘疹 < 21mm 红晕 > 50mm。

皮内试验在多种寄生虫病诊断中 阳性率较高 但有一定假阳性 并有交叉反应 保持阳性时间长，因此临床上有辅助诊断价值，但无考核疗效价值。在流行病学调查上，作为过筛方法；若皮试阳性者应作进一步病原学检查。

### (二) 环卵沉淀试验 (circumoval precipitin test, COPT)

是以血吸虫整卵为抗原的特异性血清免疫学试验，血吸虫卵内毛蚴分泌排泄的抗原物质经卵壳上微孔渗出并与检测特异性抗体结合，在虫卵周围形成免疫复合物，在光镜下根据沉淀物覆盖虫卵范围判断反应强度。

(1)在载玻片或凹玻片上加检测血清后，挑取鲜卵或干卵约 100—150 个 覆盖 24×24mm 盖片 用石蜡密封四周 在 37℃ 下保温 48 小时，用显微镜观察结果。

(2)典型的阳性反应为虫卵周围出现泡状、指状或细长卷曲的带状沉淀物 边缘整齐 与卵壳牢固粘连。泡状沉淀物大于 10 $\mu$ m 以上定为阳性反应。阳性者观察 100 个成熟虫卵 计算环沉率及反应强度比例。环沉率指 100 个成熟卵中出现沉淀物的虫卵数。环沉率  $\geq$  5% 者可报告为阳性 基本消灭血吸虫病地区 环沉率  $\geq$  3% 者可定为阳性，1%—4% 为弱阳性。判定标准：

- “ - ” 折光淡 虫卵周围光滑 无沉淀物 或有小于 10 $\mu$ m 的泡状沉淀物。
- “ + ” 虫卵周围出现泡状、指状沉淀物 累积沉淀物面积小于虫卵面积的 1/4 而且细长卷曲样沉淀物不超过虫卵的长径。

“++”虫卵外周出现泡状沉淀物的面积大于虫卵面积的  $1/4$ ，细长卷曲样沉淀物相当或超过虫卵的长径。

“+++”虫卵外周出现泡状沉淀物的面积大于虫卵面积的  $1/2$ ，或细长卷曲样沉淀物相当或超过虫卵长径的 2 倍。

(3)近年来，国内对 COPT 的方法作了改进，采用双面胶纸条法环卵沉淀试验（DGS—COPT）取双面胶纸条一块剪成  $50 \times 23\text{mm}$  长条，用打孔器打成孔径为  $16\text{mm}$  相距为  $8\text{mm}$  的两个圆孔，有胶的一面紧贴载片，盖玻片细心地覆盖在圆孔上，四周稍加压力，使与胶纸粘牢。操作方法 判断标准 反应强度与常规方法相同。

COPT 可作为诊断血吸虫病血清学方法之一，以及治疗病人的依据，考核防治效果，进行流行病学调查及监测。

### (三)间接血凝试验 indirect haemagglutination test

常用绵羊红细胞或人“O”型红细胞为免疫配体的载体，并以红细胞凝集读数的血清学方法。

以弓形虫为例：

(1)选择绵羊红细胞或“O”型人血的红细胞 经过醛化、鞣化和致敏 制成诊断液。

(2)抽取受检者血液 2—2.5ml 分离出 1ml 血清检测样品。

(3)取 96 孔  $110^\circ\text{V}$  型微量血凝反应板、用移液器在每孔内加  $0.075\text{ml}$  稀释液 ( $0.15\text{mol/L}$ , pH7.2 PBS 99ml 加灭活的兔血清 1ml)。定性检查时每个样品 4 孔 定量检查时加 8 孔。一块反应板上定性可检 20 个样品 定量能检 10 个样品，每块反应板上均设有对照。

(4)每个样品的第 1 孔 加检测血清  $0.025\text{ml}$ ，对照组的第 1 孔 分别加阳性、阴性对照血清  $0.025\text{ml}$ 。用移液器或  $0.025\text{ml}$  稀释棒稀释。定性检查时 稀释至第 3 孔 定量与对照均稀释至第 7 孔。经过稀释后 每孔内液体仍为  $0.075\text{ml}$ 。定性第 4 孔、定量和对照的第 8 孔为稀释液对照。

各 孔 的 稀 释 度 ( 1 : )								
孔号	1	2	3	4	5	6	7	8
	4	16	64	256	1024	4096	16384	
稀释度				或稀释 液对照				稀释液 对照

(5)每孔加  $0.025\text{ml}$  诊断液后将反应板在微型振荡器上振荡 1—2 分钟 使诊断液中血球分布均匀 取下反应板 盖上玻璃片或干净纸 在  $22-37^\circ\text{C}$  条件下 2—3 小时后观察结果。

(6)阳性对照血清滴度不低于  $1:1024$  (第 5 孔) 阴性对照血清消除第 1 孔允许存在前滞现象“+”外 其余各孔均为“-” 稀释液对照为“-”的前提下 对被检血清抗体滴度达到或超过  $1:64$  判断为阳性。

“-”所有红细胞均不凝集 沉于孔底呈规则的最大的圆点。

“+” 红细胞在孔底凝集为 25%，不凝集的红细胞在孔底中央集成大的圆点。  
 “++” 在孔底呈稀疏凝集的红细胞占 50%，其余红细胞在孔底中央集成较大的圆点  
 “+++” 75% 的红细胞呈膜样凝集，其余红细胞在孔底集成很小的圆点。  
 “++++” 所有的红细胞在孔底呈膜样凝集 边缘整齐、致密 有时凝集红细胞出现下滑现象。

间接血凝试验操作简便 敏感性高 作为流行病学调查 综合查病 辅助诊断病人之用。先后在疟疾、血吸虫、猪囊虫、旋毛虫、肺吸虫、阿米巴、弓形虫、肝吸虫等多种寄生虫感染中应用。有的已制成商品诊断盒。不足之处是不能提供检测抗体的亚型类别，容易发生异常的非特异凝集。另外抗原的标准化，操作方法规范化急待解决，以提高诊断的效果。

#### (四) 间接荧光抗体试验(indirect fluorescent antibody test, IFAT)

将抗原与未标记的特异性抗体结合，然后与荧光标记的抗免疫球蛋白抗体（抗抗体）结合，三者结合物发出荧光。优点为制备一种荧光标记的抗体，用于多种抗原、抗体系统的检测。可用于测定抗原，也可用于测定抗体。以间日疟原虫为例。

(1) 荧光抗体。取北京或上海生产的商品，羊抗人 IgG 荧光抗体 用 0.01mol/L, pH 7.0 PBS 稀释为 1:10 的稀释荧光抗体备用。

(2) 抗原标本制备。间日疟原虫或食蟹猴疟原虫为抗原。疟疾病人耳垂取血涂成 1×4—5cm 长形血片 干燥后 分装于有干燥剂的塑料袋中 封口 保存于 4℃ 冰箱中备用。原虫密度高，每个高倍镜视野至少有大滋养体 4—6 个 裂殖体 2 个。

(3) 检测血清制备。在滤纸上划一直径为 1.2cm 圆圈 取患者血约 20mm<sup>3</sup> 使与滤纸圆圈接触，扩展至圆圈范围。每个受检者取血滴三个，迅速干燥后装入纸袋，放入有干燥剂的塑料袋中 在 4℃ 冰箱中保存。可使用 1 个月。测验时，剪下滤纸上干血滴，置于塑料板的各孔中，每孔加 pH 7.0, 0.01mol/L PBS 0.2ml。

(4) 染色。a. 抗原血膜用蜡笔分成 1×1cm 方形血块。b. 在 0.1mol/L HCl 液中脱色 5 分钟 用 pH 7.0, 0.01mol/L PBS 洗净方块血片上的盐酸。c. 干燥后 每个血膜上滴加 1:20 稀释度的受检者血清 置湿盒内 在 37℃ 孵箱中反应放置 30 分钟。d 用 PBS 缓冲液冲洗 1—2 分钟 血片浸于 PBS 的染缸中 摇动染缸 充分染色共 10 分钟。e. 血片干后 在血膜上滴加 1:10 的荧光抗体一滴 覆盖整个血膜 置湿盒内 在 37℃ 孵箱中孵育 30 分钟。f. 用 PBS 洗净血膜上的荧光抗体后 用 0.1% 伊文思蓝复染 10 分钟 再用 PBS 流水冲洗 1 分钟。g. 用 pH8.0 碳酸或磷酸缓冲甘油封片 镜检时 阳性血片对倍稀释 染色 确定最高滴度 每批染色设正常血清、阳性血清 (1:20) 和盐水作对照组。

(5) 结果判断。镜检时用荧光显微镜或荧光光源，以及合适的激光滤片、吸收滤片，用 10×40 倍进行荧光观察。根据大滋养体和裂殖体的荧光强度分级：

- “—” 疟原虫细胞质不显荧光。
- “+” 疟原虫细胞质荧光清晰可见 但结构不清楚。
- “++” 原虫细胞质荧光较明亮 结构清楚。
- “+++” 原虫细胞质荧光明亮或辉煌 形态结构很清楚。

此法具有较高的敏感性，特异性和重现性，应用抗原经济，是广泛应用的寄生虫病的血清