

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 634—2018

---

肠道原虫检测 碘液染色涂片法

Detection of intestinal protozoa—Iodine staining smear method

2018 - 09 - 26 发布

2019 - 04 - 01 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会 发布

## 前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准由国家卫生标准委员会寄生虫病标准专业委员会提出。

本标准起草单位：河南省疾病预防控制中心、上海市疾病预防控制中心、郑州大学寄生虫病研究所、中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所。

本标准主要起草人：许汴利、张红卫、张小萍、刘颖、周瑞敏、杨成运、王中全、郑彬、崔晶。

# 肠道原虫检测 碘液染色涂片法

## 1 范围

本标准规定了检测肠道原虫的碘液染色涂片法。

本标准适用于各级疾病预防控制机构和医疗机构对肠道原虫的检测。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

WS 287 细菌性和阿米巴性痢疾诊断标准

WS/T 487 隐孢子虫病的诊断

## 3 术语和定义

WS 287及WS/T 487界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**肠道原虫** intestinal protozoa

寄生在人体肠道的单细胞真核生物，常见的肠道原虫有阿米巴、鞭毛虫、孢子虫、纤毛虫和人芽囊原虫等。

### 3.2

**包囊** cyst

原虫不活动、不摄取营养的阶段。

### 3.3

**碘液** iodine solution

碘和碘化钾的水溶液，用于检查原虫的包囊。

## 4 仪器设备

4.1 生物显微镜（物镜 10×、40×、100×，目镜 10×）。

4.2 电子天平（称量范围 0 g~100 g，精度 0.1 g）。

4.3 测微尺（目镜测微尺 0.1 mm、物镜测微尺 0.01 mm）。

## 5 试剂材料

### 5.1 试剂

碘液（配制方法参见附录A）。

### 5.2 材料

5.2.1 粪便采样盒（洁净、广口、有盖）。

5.2.2 载玻片。

5.2.3 盖玻片（18 mm×18 mm）。

5.2.4 竹签。

5.2.5 镊子（医用无齿镊，12.5 cm，弯头）。

5.2.6 量筒（100 mL）。

5.2.7 容量瓶（100 mL）。

5.2.8 棕色试剂瓶（100 mL，有盖，磨砂口）。

## 6 检测步骤

### 6.1 样本准备

将5 g~10 g新鲜粪便置于粪便采样盒内，在粪便采样盒上标识编号、患者姓名、采集日期，样本应在24 h内进行检测，如未能及时检测，应在4℃条件下冷藏保存，时间不超过72 h。

### 6.2 样本检测

于载玻片近中央处，滴1滴配制好的碘液。用竹签挑取绿豆大小粪便，放于碘液中搅匀，涂成直径1 cm左右、较为均匀的粪膜，厚度以透过粪膜略能辨认其下面报纸的字迹为宜。覆以盖玻片，置显微镜下检查（参见附录B）。

### 6.3 镜下观察

使用物镜40×进行观察，按照自左到右、从上到下的顺序查找肠道原虫包囊或卵囊（参见附录B和附录C）。

### 6.4 结果判定

观察全部涂片发现包囊或卵囊为阳性，未发现包囊或卵囊判定为阴性。以包囊或卵囊大小、形状、核的数目、核周染色质粒形状和分布、核仁形状和位置、有无纤丝及纤丝排列形状、糖原块和拟染色体等形态特征判定虫种（参见附录D和附录E）。

附 录 A  
(资料性附录)  
碘液的配制

A.1 配方

碘化钾 4.0 g, 化学纯。  
碘 2.0 g, 化学纯。  
蒸馏水 100 mL。

A.2 配制方法

将碘化钾4.0 g溶解于30 mL蒸馏水中, 然后加碘2.0 g, 溶解后加蒸馏水定容至100 mL, 充分混匀, 贮于有瓶塞的棕色试剂瓶中备用。

## 附录 B

### (资料性附录)

### 肠道原虫检测

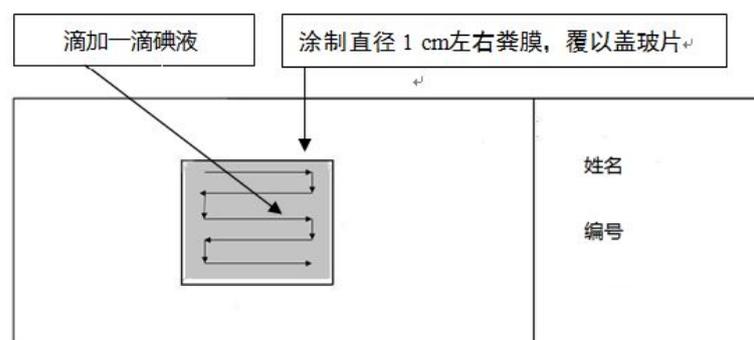
#### B.1 粪便检查

于载玻片近中央处，滴1滴配制好的碘液，用竹签挑取绿豆大小新鲜粪便，放于碘液中搅匀，涂成直径1 cm左右、较为均匀的粪膜，粪膜厚度以透过粪膜略能辨认其下面报纸的字迹为宜。覆以盖玻片，置显微镜下检查。先用物镜10×找到视野，再用物镜40×进行观察，必要时可用物镜100×观察包囊或卵囊镜下结构特征，用测微尺测量包囊或卵囊大小。按照自左到右、从上到下的顺序查找肠道原虫包囊或卵囊。观察全部涂片发现包囊或卵囊为阳性，未发现原虫包囊或卵囊判定结果为阴性。以包囊或卵囊大小、形状、核的数目、核周染色质粒形状和分布、核仁形状和位置、有无纤丝及纤丝排列形状、糖原块和拟染色体等形态特征判定虫种。

为避免造成漏检，应隔天采集粪便，连续3次以上。对于一些慢性患者，粪检应持续1周~3周，多次检查，以确保无漏诊病人。常见肠道原虫的包囊或卵囊多见于慢性腹泻患者及成形粪便，而滋养体多见于稀便或带有脓血的粪便，滋养体检测常用生理盐水直接涂片法。

盛粪便的容器要干净，并防止污染及干燥，粪便不可混杂尿液等，在粪便采样盒上标识编号、患者姓名、采集日期，24 h内进行检测。

检测过程中工作人员应做好安全防护，避免粪便污染环境。用具每次使用后要清洗干净并彻底消毒，废弃物应按医疗废物处置要求处置。



图B.1 涂片制备及看片顺序模式图

#### B.2 迈氏唇鞭毛虫

迈氏唇鞭毛虫包囊呈梨形或柠檬状，长度为6.5 μm~10.0 μm，壁薄，有1个细胞核，细胞器包括胞口纤维 (cytostomal fibrils)、动基体和轴丝 (axonemes)等。对迈氏唇鞭毛虫，应采集新鲜粪便做碘液染色，在物镜40×和物镜100×下观察，以提高查找包囊的机会。

#### B.3 贝氏等孢球虫

贝氏等孢球虫卵囊微小，颜色浅，且虫体在体外容易裂解，很容易漏检。采用2.5%重铬酸钾保存的粪便标本，可杀灭全部细菌，有利于检出卵囊，并可以长久保存标本。

#### B.4 隐孢子虫

隐孢子虫卵囊呈圆形或椭圆形，因虫种而异大小不一，在4 μm~6 μm范围内。囊壁光滑、无色，囊内含有4个子孢子。子孢子月牙状，大小为1.5 μm×0.8 μm，核1个，位于虫体后部。卵囊内含残余体1个，由成堆颗粒状物和一空泡组成。隐孢子虫卵囊在碘液涂片检测中漏检率较高，常用抗酸染色法进行检测。

急性隐孢子虫病人，其腹泻粪便中含有较多卵囊，一般碘液染色涂片法即可。如检查与病人或家畜接触过的人群、复查治疗后的病人时，采用浓集法可提高检出率，判断困难时需使用金胺-酚染色、改良抗酸染色等特殊染色进行鉴别。

#### B.5 结肠小袋纤毛虫

结肠小袋纤毛虫包囊呈圆形或卵圆形，直径为40 μm~60 μm，呈淡黄色或浅绿色。囊壁厚而透明，染色后可见胞核。新形成的包囊可清晰见到滋养体在囊内活动。结肠小袋纤毛虫包囊的排出常呈间歇性，故需反复检查。

附录 C  
 (资料性附录)  
 常见肠道原虫包囊或卵囊形态模式图

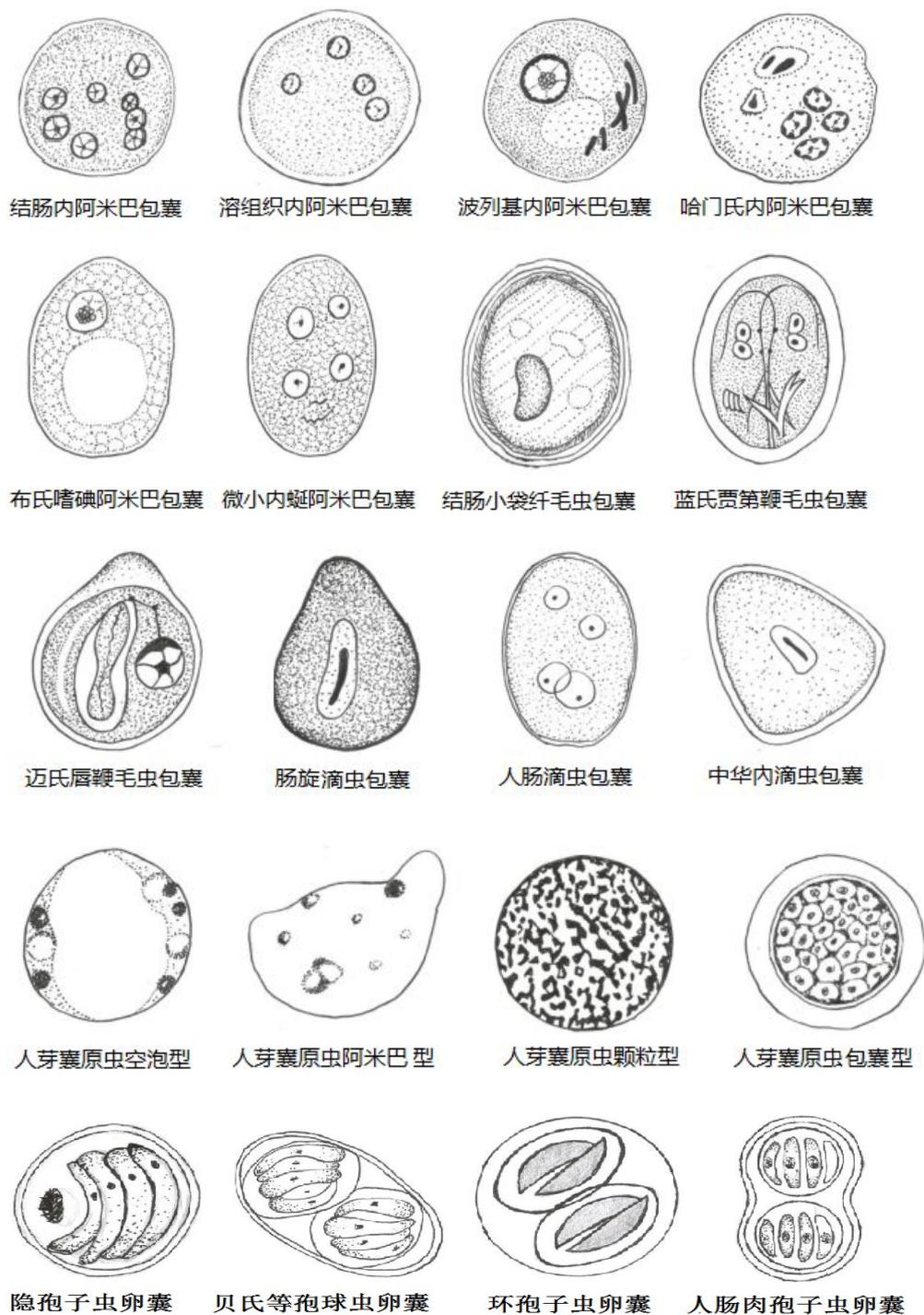


图 C.1 常见肠道原虫包囊或卵囊形态模式图

注：此图仅体现常见肠道原虫包囊或卵囊形态结构

## 附 录 D

## (资料性附录)

## 常见肠道原虫及其包囊或卵囊形态特征

## D.1 阿米巴

寄生人体肠内的阿米巴主要有结肠内阿米巴、溶组织内阿米巴、波列基内阿米巴、哈门氏内阿米巴、布氏嗜碘阿米巴、微小内蜒阿米巴、迪斯帕内阿米巴等。溶组织内阿米巴包囊和肠内其他阿米巴包囊的区别见表D.1。溶组织内阿米巴和迪斯帕内阿米巴在形态上难以区别,1997年WHO专门委员会建议,显微镜下检获含四核的包囊应鉴定为溶组织内阿米巴或迪斯帕内阿米巴,可进一步采用同工酶、ELISA和PCR分析等方法进行鉴别。

表D.1 人体肠内阿米巴包囊鉴别特征(碘液染色)

虫种	形态特征			
	直径/ $\mu\text{m}$	形状	细胞核	细胞质
结肠内阿米巴	10~35	圆形	1~8个,偶见8个以上,核膜厚,核仁大多偏位	棕色未成熟包囊,可见棕色糖原泡;拟染色体两端尖细不整、碎片状,折光性强,呈白色
溶组织内阿米巴	10~20	圆形	1~4个,偶有8个,可见核仁和核膜,核仁小多居中,核膜较薄	棕色未成熟包囊,可见棕色糖原泡,中央着色深,边缘着色较浅而且模糊;有时可见未着色的棒状拟染色体,两端钝圆
波列基内阿米巴	10~15	圆形	1个,隐约可见,核仁稍大,多偏位	约半数有1~2个包涵体;拟染色体数目多,形状多样不规则
哈门氏内阿米巴	5~10	椭圆形	1~4个,可见核仁和核膜,核仁所占比例较大,核膜稍厚	棕色未成熟包囊,可见棕色糖原泡;拟染色体呈细杆状,两端似米粒形,数目最多时为4~6个,不着色,呈折光性空白
布氏嗜碘阿米巴	5~20	不规则,卵圆形	1个,偶有2个,核隐约可见	1个深棕色、大而圆、边缘清楚的糖原泡
微小内蜒阿米巴	5~10	椭圆或圆形	1~4个,核仁清晰	未成熟包囊中可见棕色糖原泡

## D.2 纤毛虫

结肠小袋纤毛虫包囊呈圆形或卵圆形,直径为40 $\mu\text{m}$ ~60 $\mu\text{m}$ ;囊壁厚而透明,染色后可见胞核。新形成的包囊可清晰见到囊内的滋养体,体表的纤毛明显可见,后逐渐消失。人体内极少形成包囊,故少见。

## D.3 鞭毛虫

寄生人体肠内的鞭毛虫主要有蓝氏贾第鞭毛虫 (*Giardia lamblia* Stile, 又称十二指肠贾第虫)、迈氏唇鞭毛虫、肠旋滴虫、人肠滴虫和中华内滴虫等。蓝氏贾第鞭毛虫包囊和肠内其他鞭毛虫包囊的区别见表D. 2。

表D. 2 蓝氏贾第鞭毛虫和肠内其他鞭毛虫包囊的区别

虫种	形态特征							
	形状	囊壁	大小/ $\mu\text{m}$	核	胞口	螺旋沟	轴柱	鞭毛
蓝氏贾第鞭毛虫	椭圆形	囊壁较厚, 细胞质收缩使之和囊壁之间出现明显间隙	(8~12) × (7~10)	2个或4个	—	—	2	胞质中可见中体、鞭毛、轴丝结构
迈氏唇鞭毛虫	梨形或柠檬形	较薄, 但前端颇厚, 染色可见前端有一个乳突状透明泡	6.5~10	1个	有(染色可见有纤维支撑的胞口)	有	—	胞口内含短鞭毛和两侧纤维
肠旋滴虫	梨形	厚, 双层	(4~9) × (3~4)	1个, 常位于包囊中央	有(染色显示)	—	—	囊内可见自核边缘向包囊窄端延伸的两根纤丝
人肠滴虫	卵形或圆形	双层	(6~8) × (3~4)	1~4个, 多数2个或4个, 对称分布在两端	—	—	—	囊壁清楚, 鞭毛和纤丝通常看不到
中华内滴虫	梨形	双层	6 × 3	1个	有(染色显示)	—	—	胞质中可见中体、鞭毛、轴丝结构

#### D. 4 人芽囊原虫

人芽囊原虫呈圆形或卵圆形, 大小 $2\ \mu\text{m}$ ~ $200\ \mu\text{m}$ , 平均 $4\ \mu\text{m}$ ~ $15\ \mu\text{m}$ , 虫体有明显的壁, 原虫的胞浆被染成黄色或浅褐色, 胞核染成深褐色, 周边有3~7个颗粒, 颗粒的大小和形状有变化, 并可见到核仁、染色体、糖原块等。人芽囊原虫有5种类型。

##### D. 4.1 空泡型(亦称中央泡型)

虫体呈圆形或卵圆形, 直径 $2\ \mu\text{m}$ ~ $200\ \mu\text{m}$ , 平均 $4\ \mu\text{m}$ ~ $15\ \mu\text{m}$ ; 中央有一透亮的大空泡, 周围细胞质形成一月牙状薄带, 在其内有核2~4个不等, 核膜内集聚块状的异染色质。

##### D. 4.2 阿米巴型(又称为变形型)

虫体大小为 $2.6\ \mu\text{m}$ ~ $7.8\ \mu\text{m}$ , 形态多变, 可见伪足突起; 胞质内含许多小颗粒状物质, 无细胞膜。

##### D. 4.3 颗粒型

虫体稍大于空泡型, 细胞质中充满颗粒状物质。

#### D. 4.4 包囊型

圆形或卵圆形，直径 $3\ \mu\text{m}\sim 8\ \mu\text{m}$ ；囊壁厚，胞质中有1~4个核，含多个空泡和糖原及脂质沉着。

#### D. 4.5 复分裂型

不多见，其体积最大，具有增殖现象。复分裂过程：首先是细胞核不断分裂成多个核，核与核之间只有少量的细胞质连接，其余的空间为空泡结构。当细胞膜内陷，分裂成多个大小不等的虫体。

#### D. 4.6 其它

除上述5种类型外，还有无空泡型和多空泡型：无空泡型缺乏中央空泡，细胞较小，直径 $5\ \mu\text{m}$ ，无表膜。多空泡型虫体直径为 $5\ \mu\text{m}\sim 8\ \mu\text{m}$ ，体内含多个内容物、大小不等的小泡，虫体表面具有厚的表膜。当体外培养时，无空泡型和多空泡型虫体消失，转变成空泡型和颗粒型虫体。

### D. 5 孢子虫

寄生人体肠内的孢子虫主要有隐孢子虫、贝氏等孢球虫、环孢子虫、人肠肉孢子虫。

#### D. 5.1 隐孢子虫卵囊

呈圆形或椭圆形，大小在 $4\ \mu\text{m}\sim 6\ \mu\text{m}$ 范围内，囊壁光滑、无色、囊内含有4个子孢子。子孢子月牙状，大小为 $1.5\ \mu\text{m}\times 0.8\ \mu\text{m}$ ，核1个，位于虫体后部。卵囊内含残留体1个，由成堆颗粒状物和一空泡组成。

#### D. 5.2 贝氏等孢球虫卵囊

呈圆形或长椭圆形，大小为 $(20\sim 33)\ \mu\text{m}\times (10\sim 19)\ \mu\text{m}$ 。未成熟卵囊内含1个大而圆的细胞。成熟卵囊含有2个椭圆形孢子囊，每个孢子囊含有4个半月形子孢子和1个残留体。

#### D. 5.3 环孢子虫卵囊

为不折光、玻璃样的球体，直径 $8\ \mu\text{m}\sim 10\ \mu\text{m}$ 。新鲜卵囊含有1个直径 $6\ \mu\text{m}\sim 7\ \mu\text{m}$ 的淡绿色桑椹胚。其内部含有3~9个直径为 $2\ \mu\text{m}\sim 3\ \mu\text{m}$ 、外周包有一层膜的折光颗粒，呈中空簇状排列。成熟卵囊含有2个孢子囊。孢子囊呈卵圆形，大小为 $4\ \mu\text{m}\times 6\ \mu\text{m}$ ，每个孢子囊内含有2个子孢子。环孢子虫卵囊大小是与隐孢子虫鉴别的重要依据。

#### D. 5.4 人肠肉孢子虫卵囊

为球形或短椭圆形，大小为 $(15\sim 19)\ \mu\text{m}\times (15\sim 20)\ \mu\text{m}$ ，囊壁较薄，内有2个椭圆形薄壁透明的孢子囊，每个孢子囊内含有4个新月形的子孢子和残体。因囊壁薄而脆弱常在肠内自行破裂，进入粪便的孢子囊呈椭圆形，无色透明，大小为 $(15\sim 19)\ \mu\text{m}\times (8\sim 10)\ \mu\text{m}$ 。

附录 E  
(资料性附录)  
粪便中与包囊形态相似的常见杂质

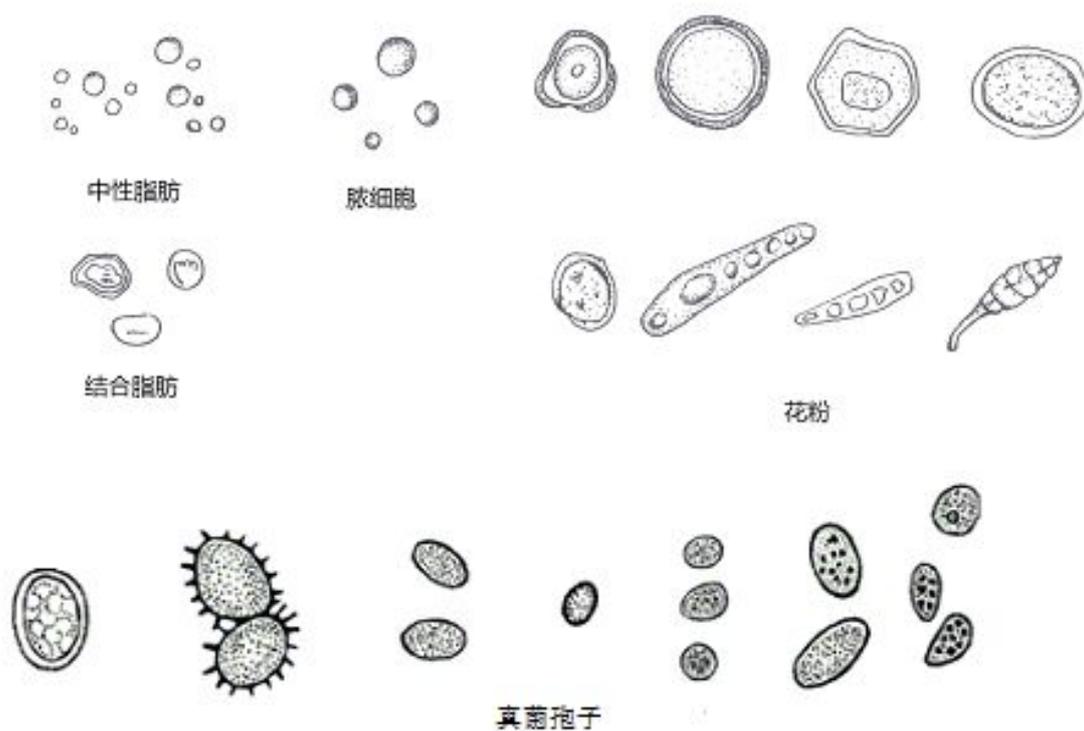


图 E.1 粪便中与包囊形态相似的常见杂质

### 参 考 文 献

- [1] 余森海, 许隆祺. 人体寄生虫学彩色图谱[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1992: 1-15
  - [2] 张进顺, 高兴政. 临床寄生虫检验学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 88-90
  - [3] 段义农, 王中全, 方强, 等. 现代寄生虫病学[M]. 2版. 北京: 人民军医出版社, 2015: 223-225
  - [4] 周晓农. 寄生虫病检测技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 5-9
  - [5] 吴观陵. 人体寄生虫学[M]. 4版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 133-155
  - [6] 诸欣平, 苏川. 人体寄生虫学[M]. 8版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 252
  - [7] Robert LS, Janovy J, Schmid G.D. Foundations of Parasitology[M]. 8th ed. Singapore: International Editions, 2009: 350-363
-