



中华人民共和国卫生行业标准

WS 369—2012

旋毛虫病的诊断

Diagnosis of trichinellosis

2012- 03 - 02 发布

2012- 09 - 01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准除第 6 章为推荐性条款外,其余为强制性条款。

本标准由卫生部寄生虫病标准专业委员会提出。

本标准起草单位:郑州大学医学院、河南省疾病预防控制中心、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:王中全、崔晶、许汴利、张红卫、官亚宜、汤林华。

旋毛虫病的诊断

1 范围

本标准规定了旋毛虫病的诊断依据、诊断原则、诊断和鉴别诊断。
本标准适用于各级医疗机构和疾病预防控制中心对旋毛虫病的诊断。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

旋毛虫病 trichinellosis

由旋毛虫(*Trichinella* spp.)寄生于人体所引起的寄生虫病(参见附录 A)。

3 诊断依据

3.1 流行病学史

有生食或半生食动物肉类(猪肉、野猪肉、狗肉、羊肉等)及其制品史或食入混有生肉屑的食物史(参见附录 B)。

3.2 临床表现

发热、以眼睑或面部最为多见的水肿、肌肉疼痛、皮疹、眼结膜下出血、指或趾甲下线状或半月形出血、腹痛、腹泻、乏力等。重度感染者可出现心肌炎、心包积液、脑炎及支气管肺炎等并发症(参见附录 C)。

3.3 实验室检查

检查项目与方法见附录 D。

3.3.1 动物肉类检查

在患者吃剩的生肉或食用的同批动物肉类中发现旋毛虫幼虫。

3.3.2 血常规检查

外周血嗜酸粒细胞百分比和(或)绝对值增高。

3.3.3 血清学检查

酶联免疫吸附试验(ELISA)等血清学方法检查旋毛虫抗体阳性。

3.3.4 病原学检查

3.3.4.1 肌肉活体组织检查发现旋毛虫幼虫。

3.3.4.2 脑脊液等体液中未发现旋毛虫幼虫。

4 诊断原则

根据流行病学史、临床表现及实验室检查结果等进行诊断。

5 诊断

5.1 疑似病例

符合下列一项可诊断：

- a) 同时符合 3.1 和 3.2；
- b) 同时符合 3.2 和 3.3.2。

5.2 临床诊断病例

符合下列一项可诊断：

- a) 疑似病例且同时符合 3.3.1；
- b) 疑似病例且同时符合 3.3.3。

5.3 确诊病例

符合下列一项可诊断：

- a) 临床诊断病例并且同时符合 3.3.4.1；
- b) 临床诊断病例并且同时符合 3.3.4.2。

6 鉴别诊断

旋毛虫病应与急性华支睾吸虫病、急性并殖吸虫病、急性日本血吸虫病、细菌性食物中毒、急性出血性坏死性肠炎、流行性感冒、急性肾小球肾炎、结节性多动脉炎、变应性血管炎、风湿热、钩端螺旋体病、流行性斑疹伤寒、地方性斑疹伤寒、皮炎炎及多发性肌炎、嗜酸粒细胞增多性肌痛综合征、嗜酸粒细胞白血病等相鉴别(参见附录 E)。

附 录 A
(资料性附录)
病 原 学

A.1 病原分类

目前,旋毛虫属已发现 8 个虫种:即旋毛形线虫(*T. spiralis*, T1, 简称旋毛虫)、乡土旋毛虫(*T. nativa*, T2)、布氏旋毛虫(*T. britovi*, T3)、伪旋毛虫(*T. pseudospiralis*, T4)、米氏旋毛虫(*T. murrelli*, T5)、纳氏旋毛虫(*T. nelsoni*, T7)、巴布亚旋毛虫(*T. papuae*, T10)及津巴布韦旋毛虫(*T. zimbabweensis*, T11),以及 4 个分类地位尚未确定的基因型(genotype),即 *Trichinella* T6、T8、T9 和 T12。T1、T2、T3、T4、T5、T7、T10 和 T11 均可感染人类。

目前,在我国已发现有 2 个虫种,即旋毛形线虫(T1)及乡土旋毛虫(T2)。旋毛形线虫(T1)分布广泛,是引起人体旋毛虫病的主要病原体,多数死亡病例由此种所致;乡土旋毛虫主要分布于北极和亚北极地区。

A.2 形态

8 种旋毛虫的形态相似。旋毛形线虫的成虫微小,细线状,乳白色,表皮光滑,头端较尾端稍细。雄虫大小为(1.0~1.8)mm×0.05 mm,雌虫大小为(2.5~3.5) mm×0.05 mm。雄虫末端有 2 片叶状交配附器,无交合刺。雌虫子宫较长,中段含虫卵,后段和近阴道处则充满幼虫,幼虫自阴门产出,阴门位于虫体前 1/5 处。雌虫在宿主肠道内刚产出的幼虫称为新生幼虫。在骨骼肌内发育为成熟的幼虫,大小为 1.0 mm×0.03 mm,成熟幼虫卷曲于骨骼肌内的梭形囊包中,称为幼虫囊包。囊包大小为(0.25~0.5)mm×(0.21~0.42)mm,其长轴与骨骼肌纤维平行排列。一个囊包内通常含有 1~2 条幼虫。

伪旋毛虫、巴布亚旋毛虫及津巴布韦旋毛虫的幼虫在宿主肌肉内不形成囊包。除了不成囊的伪旋毛虫虫体较小之外,在形态学上不能鉴别其他 7 种旋毛虫。对于从患者吃剩的生肉、食用的同批生肉或肌肉活检标本中检获的幼虫,可应用多重 PCR 进行虫种鉴定。

A.3 生活史

8 种旋毛虫的生活史基本相同。旋毛形线虫的成虫寄生在宿主小肠,幼虫则寄生于同一宿主的骨骼肌内,形成具有感染性的幼虫囊包。旋毛虫在完成生活史过程中不需要在外界发育,但需转换宿主才能继续下一代生活史。人、猪、犬、猫、鼠、野猪及熊等多种野生动物和马等食草动物均可作为本虫的宿主。

宿主由于食入含有活幼虫囊包的肉类或肉制品而感染。在消化酶的作用下,幼虫在胃中自囊包内逸出,钻入十二指肠及空肠上段的肠黏膜中,经过一段时间发育再返回肠腔。感染后 48 h,幼虫经 4 次蜕皮发育为成虫。感染后 3 d~5 d,虫体生殖系统发育成熟。交配后,雄虫死亡,雌虫子宫内的虫卵发育为幼虫。在感染后 5 d,开始产幼虫。每条雌虫一生可产 1 500 条~2 000 条幼虫,产幼虫期可持续 4 周~16 周或更长。雌虫寿命一般为 1 个月~2 个月,少数达 3 个月~4 个月。

产于肠黏膜内的幼虫侵入局部淋巴管或小静脉,随淋巴和血循环到达各器官、组织或体腔,但只有侵入骨骼肌内的幼虫才能进一步发育。适宜幼虫发育的部位多为活动频繁、血液供应丰富的膈肌、舌

肌、咽喉肌、胸肌及腓肠肌等处。幼虫刺激肌细胞,其周围出现炎性细胞浸润,纤维组织增生。幼虫侵入肌细胞后 28 d 形成幼虫囊包。幼虫囊包对新宿主具有感染性,被新宿主食入后,又可继续下一代生活史。幼虫囊包若无机会进入新宿主,多在感染后半年开始钙化,幼虫则逐渐丧失感染力并随之死亡,最后整个囊包钙化,但有时钙化囊包内的幼虫可继续存活数年。在人体内幼虫最长可存活 30 年,在其他哺乳动物体内幼虫则可生存到动物死亡。

伪旋毛虫除感染哺乳动物,还可感染鸟类,并可实验室感染母鸡和鹌鹑。巴布亚旋毛虫和津巴布韦旋毛虫除感染哺乳动物外,还可感染鳄鱼、蜥蜴、蟒蛇、海龟等爬行动物。

附 录 B
资料性附录
流行病学

旋毛虫病是一种动物源性疾病。猪、野猪、犬、鼠等 150 多种动物可自然感染旋毛虫,并成为人类感染的来源。

旋毛虫病的地理分布广泛,目前全世界 66 个国家(或地区)有本病报告。本病曾在欧洲及北美国家发生过严重流行,通过对肉制品的严格检疫,发病率已明显下降。目前,旋毛虫病仍在俄罗斯及东欧国家(白俄罗斯、克罗地亚、立陶宛、格鲁吉亚、乌克兰、罗马尼亚、保加利亚及塞尔维亚等)、墨西哥、智利、阿根廷及泰国等国严重流行。近年来,在法国和意大利因食马肉,在美国和加拿大因食熊、海象、美洲狮等野生动物肉类发生了多起暴发。

在我国,除海南省以外,其他省、市、自治区均有动物感染旋毛虫的报道,其中以西南(云南、四川、西藏、广西)、中部(湖北、河南)及东北(辽宁、吉林、黑龙江)等地区猪的感染率较高。人体旋毛虫病的流行具有地方性、群体性、食源性和季节性的特点。1964 年~2008 年我国 12 个省、市、自治区发生 580 多起暴发,发病 25 000 多人,死亡 257 人,死亡病例均发生在西南地区;另有 3 500 多例散发病例的报道,分布于 17 个省、市、自治区。

人体感染主要源于食用含活幼虫囊包的猪肉及其制品。随着居民饮食的多样化和饮食习惯的改变,生食或半生食肉类者逐渐增多。近年来已发生多起因食羊肉、犬肉、野猪肉及熊肉等引起的旋毛虫病暴发,发病人群常可追溯到共同进餐史;暴发多发生于节假日、传统节日或婚丧、建房等聚餐后,中部与东北地区多发生于中秋节、冬至、元旦及春节前后。

附 录 C
 (资料性附录)
 临床 表 现

C.1 潜伏期

一般为 5 d~15 d, 平均为 10 d 左右, 但也有短至数小时、长达 46 d 者。一般是感染程度越重, 潜伏期越短。

C.2 肠道期

肠道期是指脱囊幼虫及雌成虫侵入肠黏膜引起肠黏膜炎症反应的阶段(约 1 周)。患者可出现恶心、呕吐、腹痛、腹泻等症状。腹泻和腹痛最为常见, 重者腹泻每天可达 10 次~15 次, 便中常有黏液但无脓血。可伴有乏力、畏寒及低热等全身症状。除重度感染, 本期症状一般较轻, 常被患者忽视。极个别患者死于此期是因广泛性肠炎和严重腹泻所致。肠道期症状缺如或不明显者常以发热起病。

C.3 急性期

急性期是指新生幼虫随淋巴、血液循环到达宿主各器官及侵入骨骼肌内发育为幼虫囊包, 主要引起中毒症状及超敏反应、导致全身性血管炎和肌炎的阶段(约 2 周~3 周)。发热、眼睑或面部水肿及肌肉疼痛是急性期的主要临床表现。发热以弛张热为主, 一般为 38℃~40℃, 也可呈不规则热或低热, 一般持续 2 周~4 周, 重者可达 6 周, 以后体温逐渐下降。多数患者在发热的同时出现对称性的眼睑、眼眶周围及面部水肿, 重者可伴有下肢甚至全身水肿。眼眶周围及面部水肿常持续 1 周后消失, 罕见复发。部分患者可出现眼结膜水肿、出血。约有 18% 的患者出现指(趾)甲下线状或半月形出血, 常见于感染后 1 周, 可发生于 1 个、数个或全部指(趾)甲, 出血线初为红色, 后变成褐色, 随甲的增长向甲的远端移行, 最后全部离开甲床而脱落。全身性肌痛是本病最为突出的症状, 多出现在感染后 2 周~3 周, 表现为肌肉肿胀, 有硬结感及明显触痛与压痛, 常累及颈肌、躯干肌和上下肢肌肉, 尤以腓肠肌、肱二头肌及肱三头肌为甚。部分患者可伴有咀嚼吞咽和说话困难, 呼吸和眼球活动时均感疼痛, 患者感觉极度乏力。肌痛常在运动时出现, 重症患者在休息时亦有肌痛。约 10%~44% 的患者出现皮疹。在感染后 2 周~5 周, 患者外周血白细胞水平迅速增高, 白细胞总数多在 $15 \times 10^9 / L \sim 30 \times 10^9 / L$ 。绝大多数患者的嗜酸粒细胞明显升高, 占 10%~40% 甚至高达 90%, 绝对计数 $0.6 \times 10^9 / L \sim 3 \times 10^9 / L$, 最高可达 $19 \times 10^9 / L$; 嗜酸粒细胞增多发生较早, 常出现在全身症状和体征之前, 嗜酸粒细胞水平与肌痛的严重程度有关, 在有神经系统并发症的患者明显升高。在发病早期(第 1 周), 重症患者及应用激素治疗后的患者, 嗜酸粒细胞可不增多, 病原治疗后嗜酸粒细胞可明显升高。

在我国, 急性期的典型表现病例常见于有食生肉习惯的西南地区(如云南、四川、西藏、广西等)的严重感染者, 此类患者如未及时诊断与治疗, 可因恶液质、心肌炎等而死亡。中部与东北地区多数患者的症状一般较轻或不典型。多数患者主要表现为长期不明原因发热及四肢和腰背部肌肉酸痛, 部分患者早期伴有眼睑和(或)面部水肿, 绝大多数患者无胃肠道症状。部分患者肌肉疼痛不明显, 仅表现为四肢关节疼痛、颈和腰背部疼痛或仅有四肢酸困乏力。少数患者表现为皮下肿块和眼眶蜂窝组织炎。儿童患者的临床表现多不典型, 潜伏期长, 病情较轻, 主要表现为长期发热, 肌痛的发生率常低于成人。

C.4 恢复期

恢复期是指肠道内的成虫停止产幼虫且肌肉内的幼虫形成囊包后的阶段(约1周~16周)。急性炎症反应消退,症状和体征逐渐减轻,但肌痛与乏力可持续数月甚至数年之久。若不进行病原治疗,囊包内的幼虫最长可存活30年。

C.5 并发症

并发症常在急性期出现,主要见于重度感染、未进行及时治疗的中度感染以及老年患者。主要有心脏、中枢神经系统及肺部并发症,表现为心肌炎、心包积液、脑炎及支气管肺炎等。心肌炎和脑炎常同时出现,并可危及生命。

附 录 D
(规范性附录)
实验室检查

D.1 动物肉类检查

如保留有患者吃剩的生肉或食用的同批动物肉类,采用压片镜检法或人工消化法检查动物肌肉样本(方法同 D.1.1),若发现旋毛虫幼虫可作为诊断的有力佐证。用压片镜检新鲜肉时,可清晰看见囊包或幼虫;若放置过久肌肉发生自溶,则幼虫轮廓变得模糊不清。此时如用美蓝溶液(0.5 mL 饱和美蓝酒精溶液及 10 mL 蒸馏水)或吉氏(Giemsa)染液染色,则可看清囊包与幼虫。

D.2 血常规检查

按常规进行,计数白细胞总数并分类,计数嗜酸粒细胞百分比值和绝对值。如果采用自动检测项目,嗜酸粒细胞的百分比值和(或)绝对值超过正常值范围或怀疑患旋毛虫病时,宜同时采用血膜涂片镜检方法计数和分类,以核实结果。

D.3 血清学检查

人体感染旋毛虫后可产生特异性 IgG,即使是轻度或无症状的感染者,特异性 IgG 也可在感染后持续存在多年。由于 IgG 在血清中含量高,持续时间长,较易检测,且结合物来源方便,价格便宜,对可疑旋毛病患者进行血清学检查时,一般首选检测特异性 IgG。有些患者发病后第 1 周血清学检测可能为阴性,数日后应作第 2 次检测。IgM 与 IgE 对本病的早期诊断有较大价值。

目前,用于检测抗旋毛虫抗体的血清学方法主要有酶联免疫吸附试验(ELISA)、间接荧光抗体试验(IFA)、免疫印迹试验(Western blot)等。为了提高诊断旋毛虫病的敏感性和特异性,可同时应用 2 种血清学方法,如 ELISA 可用于检测抗肌幼虫排泄-分泌(excretory-secretory, ES)抗原的相应抗体,而 IFA 可用于检测抗肌幼虫表面抗原及体抗原的相应抗体。在现有的血清学方法中,以 ELISA 的敏感性最高,且具有简便经济、特异性、敏感性和稳定性好以及检测结果可靠等优点,已经成为人体旋毛虫病最常用的检测方法,也是国际旋毛虫病委员会(International Commission on Trichinellosis, ICT)专家组推荐应用的方法。在 ELISA 所使用的各种抗原中,特异性和敏感性均较满意者是体外培养获得的肌幼虫 ES 抗原。当 ELISA 结果阳性时,可再进行 Western blot 检测,以进一步证实 ELISA 阳性标本或排除 ELISA 的假阳性结果,检测时应同时设立阳性和阴性血清对照。在 ELISA 中应用种特异性的抗 IgG 偶联试剂,其特异性优于葡萄球菌 A 蛋白(SPA)偶联试剂,因此,诊断人体旋毛虫病时最好使用酶标记的结合物。

D.3.1 酶联免疫吸附试验(ELISA)

D.3.1.1 旋毛虫肌幼虫的收集

将 300 条~500 条旋毛虫肌幼虫经口感染小鼠,感染后 42 d 麻醉下引颈处死,剥皮后去除内脏和脂肪,先取一小块膈肌压片镜检,观察是否感染旋毛虫。将感染成功的小鼠全身骨骼肌剪碎或置于搅拌机中搅碎数次,每次 5 s,至肌肉被完全搅碎,然后将肌肉与人工消化液[1%胃蛋白酶(活性 1:3 000)-

0.7%盐酸-0.85%氯化钠]按 1 g : 10 mL 混合后置于 4℃ 搅拌消化 1 h, 按贝氏法收集肌幼虫备用。

D.3.1.2 肌幼虫 ES 抗原的制备

将新鲜分离出的旋毛虫肌幼虫用 Hank's 平衡盐溶液(含青霉素、链霉素 100 U/mL)彻底清洗 3 遍, 然后用 1640 培养液清洗 1 遍, 按 5 000 条/mL 幼虫的比例, 将肌幼虫加入无血清的 1640 培养液中(含青霉素、链霉素 100 U/mL), 于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 18 h~24 h 后收集培养液, 4℃ 200g 离心 15 min, 收集上清。将离心后的上清移入已处理过的透析袋中, 放入装有 Milli-Q 水的大烧杯中, 用磁力搅拌器搅拌, 在 4℃ 透析 2 d~3 d。每 1 h~6 h 换一次去离子水。透析完成后, 收集透析袋中的液体, 用快速真空浓缩系统冰冻浓缩, 测定蛋白浓度, 分装后置 -80℃ 备用。

D.3.1.3 操作方法

D.3.1.3.1 用 0.05 mol/L(pH9.6)碳酸钠-碳酸氢钠缓冲液将 ES 抗原稀释至蛋白含量为 2.5 μg/mL~10 μg/mL。在每个聚苯乙烯板的反应孔中加入 100 μL, 4℃ 过夜。弃去孔内溶液, 用含有 0.05% 吐温-20 的磷酸缓冲液(0.01 mol/L, pH7.4 PBST)洗涤 3 次, 每次 5 min, 甩干。

D.3.1.3.2 每孔加入含 2% 牛血清白蛋白(BSA)的 PBST 200 μL, 37℃ 孵育 1 h。弃去孔内溶液, 以 PBST 洗涤 3 次, 每次 5 min, 甩干。

D.3.1.3.3 每孔加入含 2% BSA 的 PBST 作 1 : 100 稀释的待检血清 100 μL, 每板均设已知阳性、阴性血清及空白(含 2% BSA 的 PBST)对照, 37℃ 孵育 1 h。倾去血清, 以 PBST 洗涤 3 次, 每次 5 min, 甩干。

D.3.1.3.4 每孔加入以 2% BSA 的 PBST 稀释至工作浓度的辣根过氧化物酶(HRP)-标记结合物 100 μL, 37℃ 孵育 1 h。倾去酶标记结合物, 以 PBS-T 洗涤 3 次, 每次 5 min, 甩干。

D.3.1.3.5 每孔加入临用前配制的含 3% H₂O₂ 的 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)或邻苯二胺(OPD)底物溶液 100 μL, 37℃ 孵育 30 min。

D.3.1.3.6 每孔加入 2 mol/L 硫酸(H₂SO₄)50 μL。

D.3.1.4 结果判断及其临床意义

在酶标仪上读取 450 nm(TMB 为底物)或 492 nm(OPD 为底物)的吸光度(A)值, 以 $P/N \geq 2.1$ 判为阳性(P 为待测血清 A 值, N 为阴性对照血清 A 值), $P/N < 2.1$ 判为阴性。应用旋毛虫肌幼虫 ES 抗原通过 ELISA 检测抗 ES 抗原的抗体, 结果阳性时可作为诊断本病的依据。结果阴性时数日后应作第 2 次检测, 阳性结果有助于本病的诊断, 结果阴性时除免疫功能低下者外一般可排除本病。如临床上仍疑为本病时可再用其他血清学方法进行检测。

D.3.2 免疫印迹试验(western blot, WB)

D.3.2.1 旋毛虫肌幼虫可溶性抗原的制备

将纯净的旋毛虫肌幼虫用 Milli-Q 水洗涤 3 次, 加入少量 Milli-Q 水, 在冰浴中以组织研磨器研磨虫体至碎片, 再于冰浴中用超声波细胞粉碎仪破碎虫体碎片。电压 300 V, 超声时间 5 s, 间隔时间 9 s, 工作 5 次, 超声 3 个循环。光镜下观察虫体已粉碎成较小碎片时, 置 4℃ 和 -20℃ 交替冻融 5 次。冻融后的虫体匀浆用低温高速冷冻离心机 4℃ 1 600 g 离心 30 min。离心后吸取上清即为可溶性抗原, 测定抗原的蛋白浓度, 分装后置 -80℃ 备用。

D.3.2.2 抗原膜制备

将旋毛虫肌幼虫可溶性抗原或 ES 抗原进行常规 SDS-PAGE 凝胶电泳, 分离胶浓度为 11%, 积层

胶浓度为 1%，抗原蛋白浓度为 11 μg/孔。抗原蛋白经 SDS-PAGE 凝胶电泳分离后，再转移到硝酸纤维素膜上。经丽春红 S(Ponceau S)染色，标记标准蛋白分子量位置。将抗原膜在封闭液(含 3% 脱脂奶粉或 2% 牛血清白蛋白、0.02% 吐温-20 的 PBS)中 4℃ 过夜，将膜切成膜条，夹于 PBS 湿滤纸中封于塑料袋，保存于 4℃ 备用，若存于低温冰箱，可长期保存。

D.3.2.3 操作方法

D.3.2.3.1 将抗原膜置于反应槽中，加入用封闭液 1:20 稀释的待检血清，每批试验均设已知阳性、阴性血清和 PBS 对照。室温振荡 2 h(或 4℃ 过夜)。用封闭液洗涤 4 次，每次 5 min。

D.3.2.3.2 加入用封闭液稀释至工作浓度的辣根过氧化物酶(HRP)标记的抗人 IgG，室温孵育 2 h，同前洗涤。

D.3.2.3.3 加入临用前配制的二氨基联苯胺(DAB)-H₂O₂ 底物溶液，室温轻轻振荡，经 1 min~3 min 显色清晰后用蒸馏水终止反应。照相后将反应膜干燥保存。

D.3.2.4 结果判断及其临床意义

免疫印迹试验检测针对旋毛虫肌幼虫抗原中特异性抗原组分的抗体，当 23 kDa 与 40 kDa~70 kDa 抗原带出现阳性反应时为阳性结果，否则为阴性结果。阳性结果可确认为旋毛虫感染，阴性结果除免疫功能低下者外可排除本病。

D.3.3 间接荧光抗体试验(IFA)

D.3.3.1 旋毛虫肌幼虫冰冻切片抗原制备

将旋毛虫肌幼虫包埋后冰冻，切制成 1 μm 厚的切片，贴附于 0.5% 明胶处理的载玻片上，-20℃ 备用。

D.3.3.2 检测方法

D.3.3.2.1 抽取患者静脉血液 2 mL，放置 30 min，分离血清待用。

D.3.3.2.2 取 10 μL 待测血清加入 90 μL PBS(0.01 mmol/L、pH 7.4 的磷酸盐缓冲液)中按 1:10 稀释，其余血清置 -80℃ 冰箱保存，复检时备用。每批同时设立阳性和阴性血清对照。

D.3.3.2.3 取出冰冻保存的抗原片，用 PBS 冲洗 1 次~2 次，滴加 1:10 稀释的血清覆盖抗原片，置于湿盒内 37℃ 孵育 30 min。

D.3.3.2.4 将抗原片用 PBS 冲洗 3 次，加 PBS 稀释至工作浓度的异硫氰酸荧光素(FITC)标记的抗人 IgG，湿盒内孵育 30 min。

D.3.3.2.5 将抗原片用 PBS 冲洗 3 次，室温下用 0.02% 伊文思蓝(Evans blue)复染 5 min。

D.3.3.2.6 将抗原片用 PBS 冲洗 3 次，滴加一滴缓冲甘油，再覆以盖玻片。

D.3.3.3 结果判断及临床意义

荧光显微镜下观察结果，在虫体切面(体壁及内脏器官等)有黄绿色荧光者判为阳性，虫体切面呈橘红色者判为阴性。IFA 检测抗肌幼虫表面抗原及体抗原的相应抗体，结果阳性时可作为诊断本病的依据。结果阴性时，数日后应作第 2 次检测，结果阳性有助于本病的诊断；结果阴性时除免疫功能低下者外一般可排除本病。

D.4 病原学检查

D.4.1 肌肉活体组织检查法

从患者肌肉活体组织中查出旋毛虫幼虫是最可靠的诊断本病方法。一般于发病后 10 d，从患者腓

肠肌、肱二头肌或三角肌摘取 0.2 g~0.5 g 肌肉组织,剪成小米粒大小,置于载玻片上,加一滴 50% 甘油溶液,用解剖针将肌肉撕碎,另覆盖 1 张载玻片,用手指轻压后低倍镜检查,发现旋毛虫幼虫即可确诊。若经此法观察到典型的囊包和肌纤维内的幼虫,一般不需再作肌肉组织切片检查。若作肌肉组织切片病理检查,则可观察到旋毛虫幼虫或囊包的断面。

用肌肉活检法往往不易检获早期和轻度感染者体内的幼虫,即使在急性期以后,因受摘取肌肉组织的范围及数量所限,肌肉活检的阳性率仅为 50% 左右。对肌肉活检标本,也可采用人工消化法分离幼虫。先将肌肉消化,沉淀后直接取沉渣镜检,消化法可计算每克肌肉的幼虫数,并可获得幼虫,然后通过分子生物学方法鉴定虫种。值得注意的是,在感染早期(感染后 18 d 内)因消化液可将幼虫破坏,可将肌肉剪碎后不经消化液处理,直接用贝氏法分离幼虫。

D. 4. 2 体液检查

具有中枢神经系统症状的患者,在其脑脊液标本内偶可检获旋毛虫幼虫。抽取急性期患者静脉血 2 mL~3 mL,溶血后离心沉淀,镜检沉渣亦偶可发现旋毛虫幼虫,但此法检出率极低。体液检出的幼虫虫体微小,大小约为 $124\ \mu\text{m} \times 6\ \mu\text{m}$,呈圆柱状或棒状,两端钝圆。

附 录 E
(资料性附录)
鉴别诊断

E.1 寄生虫病

一些蠕虫(华支睾吸虫、并殖吸虫、日本血吸虫等)感染人体后也可出现腹痛、腹泻、发热、嗜酸粒细胞增多等与旋毛虫病相似的临床表现,且这些寄生虫病的病原在急性期不易检出,因此,旋毛虫病应与它们相鉴别。鉴别要点包括流行病学史、典型临床表现、血清学检查结果等。

E.1.1 华支睾吸虫病

因华支睾吸虫童虫在人体内移行及成虫在肝胆管内寄生而引起的一种寄生虫病,俗称肝吸虫病。我国除内蒙古、甘肃、青海、西藏、宁夏等省、自治区外,其余省、自治区、直辖市以及台湾省、香港和澳门特别行政区都有本病流行,目前以广东、广西、黑龙江和吉林等省、自治区为重流行区。急性华支睾吸虫病是患者在短期内食入大量华支睾吸虫囊蚴所引起的急性感染。

鉴别要点如下:

- a) 有在流行区生活、工作、旅游史,并有食入生的或未熟的淡水鱼、虾史;
- b) 右上腹痛、肝脏肿大或伴有触痛,黄疸、转氨酶升高;
- c) 粪便中可查到华支睾吸虫卵;
- d) 血清学检查华支睾吸虫特异性抗体阳性。

E.1.2 并殖吸虫病

由并殖吸虫童虫、成虫在人体内移行、窜扰或定居所引起的疾病。我国的并殖吸虫病主要由卫氏并殖吸虫和斯氏狸殖吸虫所致。目前,全国 25 个省、自治区、直辖市有该病的自然疫源地分布。人因食入未熟的含有并殖吸虫活囊蚴的淡水蟹、蝾蛄等而感染。

鉴别要点如下:

- a) 有在并殖吸虫病流行区旅游或居住史,或有食入生的或未熟的淡水蟹、蝾蛄史,或生饮溪水史;
- b) 具有并殖吸虫病典型的临床表现,如咳嗽、咳血、咳铁锈色痰、胸腔积液、皮下游走性包块等;
- c) 痰或粪便中可查见并殖吸虫卵;
- d) 皮下包块等活体组织检查可发现虫体或虫卵;
- e) 皮下包块等活体组织中如未查出虫体或虫卵,但发现有并殖吸虫病特征性的病理损害(窦道、嗜酸性脓囊肿或囊肿等);
- f) 血清学检查并殖吸虫特异性抗体或抗原阳性。

E.1.3 日本血吸虫病

由日本血吸虫寄生在人体肠系膜静脉-门静脉系统所引起的疾病。目前,日本血吸虫病在我国主要分布于江苏、安徽、江西、湖北、湖南、四川、云南等 7 个省,主要通过皮肤接触疫水而感染。急性日本血吸虫病是由于初次感染或再次感染大量日本血吸虫尾蚴引起的。临床表现为接触疫水后 1 d~2 d 内接触疫水的皮肤出现点状红色丘疹、发热、腹痛、腹泻、黏液血便、肝脏肿大并伴有压痛、咳嗽(多为干咳)及嗜酸粒细胞增多等。

鉴别要点如下:

- a) 发病前数周在日本血吸虫病流行区有疫水接触史(如捕鱼、捞虾、收割、放牧、游泳、戏水及抗洪抢险等);
- b) 有脓血便、以左叶显著的肝脏肿大并伴有压痛;
- c) 粪便查出日本血吸虫卵或孵出毛蚴;
- d) 血清学检查日本血吸虫特异性抗体或抗原阳性。

E.2 细菌性食物中毒

食入被细菌或细菌毒素污染的食物而引起的急性感染和中毒性疾病,根据临床表现的不同分为胃肠型食物中毒和神经型食物中毒。旋毛虫病肠道期主要与胃肠型食物中毒相鉴别,后者多见于夏秋季,患者有食入不洁食物史,潜伏期短(一般不超过 72 h),临床表现以急性胃肠炎为主,如恶心、呕吐、腹痛、腹泻等。对可疑食物、患者呕吐物及粪便进行细菌学培养可分离出致病菌。

E.3 急性坏死性出血性肠炎

以小肠急性广泛性、出血性、坏死性炎症为特征的消化系统急症。任何年龄均可发病,但以 3 岁~12 岁儿童多见,夏秋季节发病率较高。临床上以突然起病、腹痛、腹泻、便血为主要特征,全身中毒症状较重,易出现休克、肠麻痹等中毒症状和肠穿孔等并发症。

E.4 流行性感冒

由流行性感冒病毒引起的急性呼吸道传染病,简称流感。多发于冬季,患者发病急,主要表现为高热、寒颤、全身不适、肌肉与关节疼痛,但无腓肠肌压痛,发热 3 d~5 d 后消退,白细胞总数与嗜酸粒细胞计数正常。发病后 2 d~3 d 咽部、气管分泌物中流感病毒核酸检测阳性或分离到流感病毒。

E.5 急性肾小球肾炎

以急性肾炎综合征为主要表现的一组疾病,简称急性肾炎。患者发病前 1 周~3 周多有链球菌感染史,常以水肿或肉眼血尿为首发症状,水肿亦多见于面部及眼睑,但常伴有蛋白尿与高血压,甚至少尿及氮质血症等,白细胞总数与嗜酸粒细胞计数正常,发病初期血清总补体与补体 C3 水平下降。

E.6 结节性多动脉炎

一种累及中、小动脉全层的血管炎和坏死性血管炎,至今病因与发病机制不清,是一种少见的疾病。可累及人体任何器官,但以皮肤、关节、胃肠道及肾脏等受累较常见。患者表现为发热、关节痛与肌痛,累及胃肠道时可出现恶心、呕吐、腹痛、腹泻等。白细胞总数与嗜酸粒细胞计数正常。血管造影与组织病理检查有助于诊断。

E.7 变应性血管炎

比较常见的一种疾病,其组织病理有白细胞核破碎的血管炎表现,有皮肤损伤,也有多个内脏损伤。主要见于 7 岁以下儿童,患者有发热、肌痛、皮疹、嗜酸粒细胞轻度增多等,但病变多累及关节与肾脏,表现为关节痛、血尿与蛋白尿等。

E.8 风湿热

感染 A 组 β 溶血链球菌后,以发热、关节炎、心脏炎为突出表现的全身性结缔组织疾病。主要表现为发热、游走性关节炎或肌肉疼痛、皮疹及心脏炎等。发热,常伴有多汗症状;游走性关节炎常影响膝、踝、肩、肘等大关节,局部可有红、热、肿、痛。心脏炎包括心肌炎、心内膜炎及心包炎,症状轻重不一。实验室检查血沉增快,抗链球菌溶血素“O”滴度增高,血清粘蛋白增高,白细胞总数轻度增高,无嗜酸粒细胞增多。

E.9 钩端螺旋体病

由钩端螺旋体引起的动物源性传染病。多发生于秋收水稻和暴雨或洪水泛滥之后,患者近期(20 d 内)有疫水接触史。病程较短,一般为 1 周~2 周。临床上,患者出现先寒战后发热,并有头痛、眼结膜充血、畏光、腹股沟淋巴结肿大与压痛、全身肌肉疼痛等;肌肉疼痛以腓肠肌及腰、背、颈部肌痛较明显。外周血白细胞总数升高,但以中性粒细胞为主,占 80%~90%。发病后第 1 周的血培养和第 2 周的尿液内可查到钩端螺旋体,凝集试验抗体效价 $>1:100$,或早期及恢复期双份血清抗体效价上升 4 倍以上。

E.10 流行性斑疹伤寒

以人虱为传播媒介、由普氏立克次体引起的急性传染病。有人虱寄生或接触史,患者表现为发热、头痛及皮疹等,皮疹的发生机率(约 90%以上)明显高于旋毛虫病患者(约 10%~44%),白细胞总数多正常,中性粒细胞多升高,嗜酸粒细胞显著减少或消失;外斐反应滴度较高(1:160 以上)或呈 4 倍以上。

E.11 地方性斑疹伤寒

以鼠蚤为传播媒介、由莫氏立克次体引起的急性传染病。有鼠类接触史或蚤叮咬史,患者表现为发热、皮疹(约见于 30%~80%的病例),常同时伴有头痛、全身肌肉酸痛等。白细胞总数及分类多正常,外斐反应阳性,但滴度较低。

E.12 皮炎炎与多发性肌炎

皮炎炎是一种亚急性或慢性结缔组织疾病,以全身广泛性血管炎为病理基础,或累及皮肤、肌肉、皮下组织、胃肠道等全身多个系统,以皮肤和骨骼肌受累为主,表现为特征性皮肤损害和非化脓性骨骼肌炎症。如病变只限于肌肉而无皮肤损害则称多发性肌炎。患者常隐匿起病,表现为四肢近端对称性肌无力、关节疼痛、发热、体重减轻等。血清肌酸激酶等升高,肌肉活检可见典型的肌炎病理改变。

E.13 嗜酸粒细胞增多性肌痛综合征

一种表现为硬皮病样皮肤改变、同时伴有肌痛和嗜酸粒细胞增多的疾病。患者经治疗可缓解,除少数患者可遗留有周围神经病变外,一般预后较好。多见于女性患者,早期表现为乏力、低热、呼吸困难、咳嗽、关节痛、关节炎,皮肤可出现红色斑疹,但消失快;患者有明显的肌痛和嗜酸粒细胞增多,皮肤有硬

皮病样改变。

E. 14 嗜酸粒细胞白血病

一种罕见的白血病,以外周血及骨髓嗜酸粒细胞异常增多为特征,常累及心脏、肺及神经系统并呈进行性贫血和血小板减少。临床上感染出血较少,主要是各个脏器的嗜酸粒细胞浸润,导致功能障碍,除了肝、脾、淋巴结的受累外,还表现为心、肺、中枢神经系统受累。实验室检查时,外周血嗜酸粒细胞明显而持续增多,多数高达60%,并常有幼稚型嗜酸粒细胞;骨髓检查时嗜酸粒细胞增多,形态异常,核左移,有各阶段幼稚型粒细胞,可见粗大的嗜酸颗粒,原始细胞 $>5\%$,脏器有嗜酸粒细胞浸润。

参 考 文 献

- [1] Dupouy-Camet J, Kociecka W, Bruschi F, et al. Opinion on the diagnosis and treatment of human trichinellosis. *Expert Opin Pharmacother*, 2002, 3: 1117-1136
- [2] Gamble HR, Pozio E, Bruschi F, et al. International Commission on Trichinellosis: recommendations on the use of serological tests for the detection of *Trichinella* infection in animals and man. *Parasite*, 2004, 11: 3-13
- [3] Pozio E, Murrell KD. Systematics and epidemiology of *Trichinella*. *Adv Parasitol*, 2006, 63: 367-439
- [4] Wang ZQ, Cui J, Wu F, et al. Epidemiological, clinical and serological studies on trichinellosis in Henan province, China. *Acta Trop*, 1998, 71: 255-268
- [5] 陈兴保, 吴观陵, 孙新等. 现代寄生虫病学. 北京: 人民军医出版社, 2002: 410-429
- [6] 崔晶, 王中全. 我国旋毛虫病的流行趋势与防制对策. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2005, 23: 344-348, 354
- [7] 李朝品. 人体寄生虫学实验研究技术. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 765-775
- [8] 李雍龙. 人体寄生虫学(第7版). 北京: 人民卫生出版社, 2008: 176-180
- [9] 王中全, 崔晶. 旋毛虫病的诊断与治疗. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2008, 26: 53-57
- [10] 吴观陵. 人体寄生虫学(第3版). 北京: 人民卫生出版社, 2005: 603-618
-