

ICS 11.020

C59

备案号:17595—2006

WS

# 中华人民共和国卫生行业标准

WS 257—2006

---

## 包虫病诊断标准

Diagnostic Criteria for Echinococcosis

2006-04-07 发布

2006-12-01 实施

---

中华人民共和国卫生部 发布

## 前 言

本标准是在 GB 17013—1997《包虫病诊断标准及处理原则》的基础上制定的,GB 17013—1997 作废。

本标准的附录 B、C、D 是规范性附录,附录 A 是资料性附录。

本标准由全国地方病寄生虫病标准委员会提出。

本标准由中华人民共和国卫生部批准。

本标准起草单位:中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所,新疆维吾尔自治区包虫病临床研究所,青海省地方病预防控制所,四川省疾病预防控制中心,新疆维吾尔自治区疾病预防控制中心。

本标准主要起草人:伍卫平、温浩、王虎、杨文、童苏祥、江莉。

## 包虫病诊断标准

### 1 范围

- 1.1 本标准规定了囊型包虫病和泡型包虫病的诊断依据、诊断原则、诊断标准和鉴别诊断。
- 1.2 本标准适用于各级疾病预防控制和医疗机构对两型包虫病的诊断。

### 2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

#### 2.1 包虫病 *hydatidosis/hydatid disease*

是棘球蚴病(*echinococcosis*)的俗称,是由棘球绦虫的幼虫寄生于人体引起的人兽共患寄生虫病。在我国主要有细粒棘球绦虫(*echinococcus granulosus*)的幼虫引起囊型包虫病(*cystic echinococcosis*)和多房棘球绦虫(*echinococcus multilocularis*)的幼虫引起泡型包虫病(*alveolar echinococcosis*)。

#### 2.2 包虫病流行区 *hydatidosis endemic areas*

存在着细粒棘球绦虫或多房棘球绦虫在犬、狐、狼等犬科动物终宿主和羊、牛、猪等家畜及野生动物中间宿主之间的循环,并出现人类感染病例的地区。

### 3 诊断依据

#### 3.1 流行病学史

有在流行区的居住、工作、旅游或狩猎史,或与犬、牛、羊等家养动物或狐、狼等野生动物及其皮毛的接触史;在非流行区有从事对来自流行区的家畜运输、宰杀、畜产品和皮毛产品加工等接触史。

#### 3.2 临床表现

包虫病病人早期可无任何临床症状,多在体检中发现。主要的临床表现为棘球蚴囊占位所致压迫、刺激、或破裂引起的一系列症状。囊型包虫病可发生在全身多个脏器,以肝、肺多见。泡型包虫病原发病灶几乎都位于肝脏,就诊病人多属晚期。(见附录 A)

#### 3.3 影像学检查

##### 3.3.1 发现占位性病变

3.3.2 下列任一检查发现包虫病的特征性影像(见附录 B)。

3.3.2.1 B超扫描。

3.3.2.2 X线检查。

3.3.2.3 计算机断层扫描(CT)或磁共振成像(MRI)检查。

#### 3.4 实验室检查

3.4.1 下列任何免疫学检查查出包虫病相关的特异性抗体或循环抗原或免疫复合物(见附录 C)。

3.4.1.1 酶联免疫吸附试验(ELISA)。

3.4.1.2 间接红细胞凝集试验(IHA)。

3.4.1.3 PVC 薄膜快速 ELISA。

3.4.1.4 免疫印迹技术(Western blot, WB)

3.4.2 病原学检查,在手术活检材料、切除的病灶或排出物中发现棘球蚴囊壁、子囊、原头节或头钩(见附录 D)。

### 4 诊断原则

根据流行病学史、临床表现、影像学特征和实验室检查结果综合诊断。



## 5 诊断标准

- 5.1 疑似病例。应同时符合 3.1 和 3.2,或 3.1 和 3.3.1。
- 5.2 临床诊断病例。疑似病例符合 3.3.2、或 3.4.1。
- 5.3 确诊病例。临床诊断病例符合 3.4.2。

## 6 鉴别诊断

### 6.1 肝囊型包虫病的鉴别诊断

- 6.1.1 肝囊肿:影像学检查显示囊壁较薄,无“双层壁”囊的特征,并可借助包虫病免疫学检查加以区别。
- 6.1.2 细菌性肝脓肿:无棘球蚴囊的特征性影像,CT 检查可见其脓肿壁外周有低密度水肿带;全身中毒症状较重,白细胞数明显升高;包虫病免疫学检查阴性。
- 6.1.3 右侧肾盂积水和胆囊积液:除无棘球蚴囊的影像学特征外,包虫病免疫学检查阴性。

### 6.2 肝泡型包虫病的鉴别诊断

- 6.2.1 肝癌:病变发展速度快,病程相对短。典型的影像学检查显示病灶周边多为“富血供区”;肝泡型包虫病病灶周边则为“贫血供区”,病变的实变区和液化区并存,而且病灶生长相对缓慢,病程较长。借助甲胎蛋白(AFP)和肿瘤相关生化检测,以及包虫病免疫学检查可有效地鉴别。
- 6.2.2 肝囊性病变:包括先天性肝囊肿和肝囊型包虫病,若肝泡型包虫病伴巨大液化坏死腔,亦可误诊为肝囊肿,甚至肝囊型包虫病。肝泡型包虫病在影像学除了显示液化腔隙外,B 超显示其周边形态为不规则室腔壁高回声或“地图征”,先天性肝囊肿的囊壁较薄,周边呈正常肝组织影像。应用泡型包虫病特异性抗原可鉴别肝囊型包虫病和肝泡型包虫病。
- 6.2.3 细菌性肝脓肿:同 6.1.2



附 录 A  
(资料性附录)  
流行病学及临床表现

### A.1 流行病学

包虫病(棘球蚴病)呈全球性分布。重要流行国家有东亚的中国、蒙古;中亚的土耳其、土库曼斯坦;西亚的伊拉克、叙利亚、黎巴嫩;南美的阿根廷、巴西、智利;大洋洲的澳大利亚、新西兰;以及非洲北部、东部和南部的一些国家。

在我国以囊型包虫病为主,主要流行于西北的牧区和半农半牧区,家犬是主要的传染源和终宿主(棘球绦虫病)。我国是世界上包虫病高发的国家之一,其中以新疆、西藏、宁夏、甘肃、青海、内蒙古、四川等7省(区)最严重。泡型包虫病又被为“虫癌”,是高度致死的疾病,分布范围稍小,多见于青海、西藏、甘肃、四川、新疆、宁夏的部分地区。

包虫病可分为囊型包虫病和泡型包虫病两种类型,分别由细粒棘球绦虫和多房棘球绦虫的幼虫引起,是重要的人兽共患寄生虫病。作为终宿主的家犬的排出成熟节片及大量虫卵时,污染草地、水源、家居环境,或附着在其毛皮上,食草动物和人无均因食入虫卵而被感染。

### A.2 临床表现

早期可无任何表现,多在体检时发现,主要的临床表现为棘球蚴囊占位所致压迫、刺激或破裂引起的一系列症状。囊性包虫病可发生在全身多个脏器,以肝、肺多见。泡型包虫病原发病灶几乎都位于肝脏。

#### A.2.1 肝囊型包虫病

A.2.1.1 棘球蚴囊占位性表现。病人出现肝大、右上腹部包块、可有肝区隐痛、上腹饱胀感、消化不良、消瘦、贫血和门静脉高压等表现。肝区持续钝痛及叩痛。肝顶部棘球蚴囊合并感染后炎症累及膈肌及胸膜会产生粘连、炎症浸润及右胸腔积液。

A.2.1.2 棘球蚴囊破裂的表现。破入腹腔最为常见,并引起腹腔继发性包虫病。多数病人可产生过敏反应,表现出皮肤红斑、瘙痒、荨麻疹、恶心、胸闷等现象,少数会有严重的过敏性休克。病人可突然地出现上腹部疼痛,可累及全腹,类似消化道穿孔的表现,但数十分钟后可自行缓解甚至消失。体检时病人仅上腹部有压痛,其他部位无明显肌紧张,但如果是合并感染或胆瘘的棘球蚴囊破裂,则腹膜刺激征比较明显。过敏性休克常为棘球蚴囊破裂的严重后果,也是导致病人死亡的主要原因之一。

A.2.2 肝泡型包虫病:主要为上腹部隐痛,有时伴有腹绞痛和寒战高热等感染症状;肝大或在肝区有明显肿块,肝脏质地坚硬有时可触及硬结节;有不同程度的胆汁淤积性黄疸,门静脉高压征。泡球蚴具有“类肝癌”样浸润性生长的特点,可发生转移并出现转移病灶所在脏器的症状。主要的并发症是因胆道系统阻塞、感染而致的败血症或中毒性休克,肝功能损害,直至肝衰竭或多器官功能衰竭而死亡。

A.2.3 肺囊型包虫病:可出现胸部隐痛、胀痛或刺激性咳嗽,巨大囊型包虫病可引起压迫性肺不张,重者胸闷气促,甚至呼吸困难。合并感染时可出现肺脓肿症状,发热,胸痛、咳嗽咳脓痰,伴有支气管瘘者,脓痰中带有囊碎屑,重者咯血。合并破裂者若穿入支气管,则引起剧烈咳嗽,咳出大量水样囊液,其内带有内囊碎片,重者窒息死亡。个别病人偶尔咳出全部棘球蚴囊内容物,外囊塌陷闭合,而获痊愈。但大多难以完全咳出,囊腔继发感染,周围肺实质发生慢性炎症,宜手术治疗。若穿入胸膜腔,发生液(脓)气胸,随后继发多发性胸膜囊型包虫病。

**A. 2.4 其他部位包虫病:**囊型包虫病可发生在腹腔和盆腔、脾、肾、脑、骨、纵隔、心脏、肌肉和皮肤、膀胱、卵巢、睾丸、眼等部位,泡型包虫病可发生肺、脑等部位的转移,并出现相应部位的占位性局部压迫、刺激或过敏反应等临床症状和体征。少数病人可同时存在 2 种棘球蚴混合感染。个别泡型包虫病病人可出现寄生虫性栓塞。



**附 录 B**  
(规范性附录)  
**包虫病的特征影像**

**B.1 B超包虫病的特征影像**

**B.1.1 囊型包虫病的B超影像学诊断与分型:**囊型包虫病在B超影像中分为六型,即囊型病灶(CL型),单囊型(囊型包虫病I型),多子囊型(囊型包虫病II型),内囊破裂型(囊型包虫病III型),实变型(囊型包虫病IV型)和钙化型(囊型包虫病V型)。

**B.1.1.1 囊型病灶:**囊壁不清晰,含回声均匀内容物,一般呈圆形或椭圆形。

**B.1.1.2 单囊型:**棘球蚴囊内充满水样囊液,呈现圆形或卵圆形的液性暗区。棘球蚴囊壁与肝组织密度差别较大,而呈现界限分明的囊壁。本病的特异性影像为其内、外囊壁间有潜在的间隙界面,可出现“双壁征”。B超检测棘球蚴囊后壁呈明显增强效应,用探头震动囊肿时,在暗区内可见浮动的小光点,称为“囊沙”影像特征。

**B.1.1.3 多子囊型:**在母囊暗区内可呈现多个较小的球形暗影及光环,形成“囊中囊”特征性影像。B超或CT显示呈花瓣形分隔的“车轮征”或者“蜂房征”。

**B.1.1.4 破裂型:**内囊破裂:肝包虫破裂后,囊液进入内、外囊壁间,出现“套囊征”;若部分囊壁由外囊壁脱落,则显示“天幕征”,继之囊壁塌瘪,收缩内陷,卷曲皱折,漂游于囊液中,出现“飘带征”。

**B.1.1.5 实变型:**棘球蚴囊逐渐退化衰亡,囊液吸收,囊壁折叠收缩,继之坏死溶解呈干酪样变,B超检查显示密度强弱相间的“脑回征”。

**B.1.1.6 钙化型:**包虫病病程长,棘球蚴外囊肥厚粗糙并有钙盐沉着,甚至完全钙化。B超显示棘球蚴囊密度增高而不均匀,囊壁呈絮状肥厚,并伴宽大声影及侧壁声影。

**B.1.2 泡型包虫病的影像学诊断与分型:**

**B.1.2.1 浸润型:**B超显示肝脏增大,探及低密度与高密度共存的回声光团,周围边界模糊,后方声束衰减。

**B.1.2.2 病灶钙化型:**多房棘球蚴在侵蚀肝组织的过程泡型包虫病病灶中发生钙盐沉积,早期即出现点状钙化颗粒,随着病程延长,钙化颗粒融合成絮状或不规则的大片钙化灶。B超显示在肝内探及低中密度占位病变,内有散在钙化点或不规则的大片钙化强回声光团伴声影。

**B.1.2.3 病灶液化空洞型:**多房棘球蚴增殖成巨块病灶,其中心部因缺血坏死,液化成胶冻状,形成形态不规则的坏死液化空腔。B超显示在不均质强回声光团内出现形态不规则、无回声的大块液性暗区,后方回声增强,呈“空腔征”。

**B.2 X线包虫病的特征影像**

**B.2.1 肺囊型包虫病:**直径小于2cm的棘球蚴囊为密度较低、边缘粗糙、模糊不清的球形阴影。较大的棘球蚴囊轮廓清晰,边缘整齐,界限锐利,密度均匀,圆形、卵圆形或有切迹呈分叶状、单发或多发的孤立的囊性阴影。由于棘球蚴囊的挤压可出现气管、心脏的移位。肺下叶的棘球蚴囊可出现随呼吸而变形的特征(包虫呼吸症)。

**B.2.2 肝囊型包虫病:**腹部平片显示肝脏轮廓增大,肝顶部棘球蚴囊使右膈隆起或突入胸腔。较大的棘球蚴囊可使膈肌升高,呼吸移动度减弱,甚至挤压心脏左移。肝中下部的棘球蚴囊使膈肌抬高不明显,在肝下缘可见密度较高的半球形阴影。棘球蚴囊钙化时可见钙化影。

**B.3 计算机断层扫描(CT)包虫病的特征影像**

**B.3.1 肝囊型包虫病:**较大的棘球蚴囊使肝脏轮廓扩大,在肝实质内显示大小不等的类球形囊状占位



阴影。内囊壁光滑,厚度 1~3mm,CT 值 30~40Hu。囊内充满液体呈水样密度,CT 值 10~20Hu。外囊壁较厚,3~8mm,可显示双壁征,CT 值 30~50Hu 界线清楚,加强扫描时周围肝组织密度增加而棘球蚴囊密度不增加,显示边界明显,可与血管瘤、肝癌鉴别。子囊液的密度低于母囊液,含有子囊时,显示有密度略低的多个较小的圆形低密度影。过多的子囊可充满母囊,相互挤压呈方形、菱形呈蜂房状。钙化的外囊呈不规则的“蛋壳”状结构,亦可呈斑块状、条状或整个棘球蚴囊全部钙化,CT 值 >60Hu。内囊破裂后,囊壁塌陷形成各种不规则图像。由于包虫死亡,囊液吸收浓缩,类似干酪样变并含有变性的子囊,CT 值增高而不均匀,近似实质性肿瘤影像,但 CT 增强扫描时不出现强化。位于肝顶部或边缘的棘球蚴囊可出现球形或半弧形凸出的边缘。

**B. 3.2 肝泡型包虫病:**CT 扫描可见形态不规整、不均匀低密度阴影,密度低于肝组织,增强扫描病灶无强化效应,形成具有“贫血供区”特征,可与血管瘤、肝癌病灶的“富血供区”鉴别;并可见泡球蚴向边缘扩张而形成的低密度的“浸润带”,退行性渐变过程中伴有钙盐沉积,呈现“钙化带”;显示呈高密度钙化病灶内出现低密度积液腔,大小不一,形态不规整,液化区周围是钙化壁形成“岩洞征”,液化区边缘大钙化影可伸入液化区内则呈现“半岛征”。泡型包虫病持续向周边肝组织侵蚀繁衍,形成“小泡征”,提示为新鲜病灶,增强扫描病灶无强化效应。病灶内出现多个同心圆状细颗粒钙化影是泡型包虫病的特征性 CT 表现。

#### **B. 4 磁共振成像(MRI)包虫病的特征影像**

T1、T2 加权像均呈低信号的不规则病灶,内部坏死形成液化灶,病灶周边的新生小囊仍生存繁衍扩展,侵蚀肝组织,呈现“晕带征”。由于腔壁是由肥厚的纤维组织构成边界,形态不规整,MRI 检查可显示腔壁呈 T1WI 和 T2WI 均呈较低信号、外周浸润带呈低信号的“地图征”。



**附录 C**  
**(规范性附录)**  
**免疫学诊断方法**

人体包虫病免疫学诊断方法有间接红细胞凝集试验(IHA)、酶联免疫吸附试验(ELISA)、PVC薄膜快速 ELISA 等。其中,以 ELISA 法最为常用且较敏感。现有的包虫病免疫学试验方法在敏感性和特异性上存在很大的差异。试验结果受许多因素的影响:抗原的性质和质量;检测用的试验系统;棘球蚴囊的数量、部位和活力;不同地理虫株差异;个体免疫应答反应的差异等。约 10%~40% 的手术确诊的包虫病患者用目前已知的抗原检测不到特异性抗体。本规范中列出了国内外普遍应用的一些方法。

### C.1 抗原制备

**C.1.1 囊液粗抗原:**完整的棘球蚴组织表面清洗干净消毒后,无菌抽取囊液(宜使用无化脓和无钙化的可育囊)。将囊液经 5 000r/min 离心 20min,上清液冻存备用。

#### C.1.2 纯化抗原

可用磷钨酸、氯化镁沉淀法对棘球蚴囊液抗原进行部分纯化。取 20ml 离心后的囊液上清,加入 2mol/L MgCl<sub>2</sub> 和 4%磷钨酸(用 NaOH 调节 pH 至 7.5~7.6)各 1.2ml;室温搅拌 5min,5 000r/min 离心 30min;将沉淀用 0.02mol/L pH7.2 PBS 溶解;4℃透析 24 小时,测定蛋白浓度,-20℃冻存。

### C.2 酶联免疫吸附试验(ELISA)

#### C.2.1 抗原

囊液粗抗原、纯化抗原、特异性抗原。

#### C.2.2 操作方法

**C.2.2.1 抗原包被:**用 0.05mol/L pH9.6 碳酸缓冲液稀释抗原至工作浓度,每孔加入 100μl,置湿盒 4℃过夜。次日,倾去抗原,用含 0.05%吐温-20 的磷酸盐缓冲液(0.02mol/L, pH7.4 PBST)洗涤 3 次,每次 3min,拍干;

**C.2.2.2 加待检血清:**血清用含 3%BSA 的 PBST 1:200 稀释,每孔加入 100μl,每板应设参考阳性一孔,参考阴性三孔及 PBS 对照一孔。置湿盒,37℃ 1h,取出倾去血清,同前洗涤 3 次;

**C.2.2.3 加酶标记第二抗体:**加入工作浓度的辣根过氧化物酶(HRP)标记的抗人 IgG 100μl,37℃,1h,倾去第二抗体,同前洗涤;

**C.2.2.4 加底物显色:**加邻苯二胺(OPD,橙红色)或四甲基胺/四甲基联苯胺硫酸盐(TMB/TMBS,蓝色)底物溶液 100μl,37℃,30min;

**C.2.2.5 加终止液:**2mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50μl。

#### C.2.3 结果判断

在酶标仪上读取 492nm(OPD)或 450nm(TMB/TMBS)吸光值,以待测样本(S)对阴性对照血清(N)的 S/N≥2.1 为阳性临界值。

### C.3 间接红细胞凝集试验(IHA)

#### C.3.1 红细胞醛化

**C.3.1.1** 从绵羊颈静脉无菌采血 100ml,加入 200~400ml 阿氏液(400ml 三蒸水中溶解葡萄糖 8.2g、NaCl 1.68g、柠檬酸钠 2.4g 和柠檬酸 0.22g,调 pH 至 6.1,高压或过滤除菌)中,混匀抗凝。3 000r/min 离心 15min,弃上清;



C. 3. 1. 2 用生理盐水洗涤红细胞 3 次,同上离心。沉淀中加入 50ml 生理盐水和 100ml PBS(0. 15mol/L, pH8. 0)混匀;

C. 3. 1. 3 加入经 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  中和的戊二醛 300ml(10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  75ml 与 25% 戊二醛 225ml 混合)于磁力搅拌器 4℃ 缓慢搅拌 24h;

C. 3. 1. 4 离心弃上清,沉淀用生理盐水洗涤 5 次。最后,将红细胞沉淀用含 0. 1%  $\text{NaN}_3$  的生理盐水配成 10% 细胞悬液,4℃ 保存。

### C. 3. 2 红细胞致敏

C. 3. 2. 1 将 10% 戊二醛醛化的绵羊红细胞 20ml 用生理盐水 300ml 洗 3 次(3 000r/min, 5min),红细胞压积约为 2ml;

C. 3. 2. 2 加入生理盐水 98ml,将红细胞配成 2% 悬液 100ml;

C. 3. 2. 3 与 1: 10 000 鞣酸 100ml 混合于 37℃ 水浴 30min,每 10min 混旋一次;

C. 3. 2. 4 同 C. 3. 2. 1 离心洗 3 次,弃上清;

C. 3. 2. 5 沉淀加入生理盐水 198ml,将鞣化红细胞配成 1% 悬液 200ml;

C. 3. 2. 6 与稀释好的囊液抗原 200ml 混合,37℃ 水浴 30min,每 10min 混旋一次;

C. 3. 2. 7 离心弃上清,用 1% 兔血清 PBS(0. 15mol/L pH7. 2 PBS)洗 3 次,弃上清;

C. 3. 2. 8 用 10% 兔血清 PBS 18ml 将红细胞配成 10% 致敏红细胞 20ml。置 4℃ 冰箱保存。

### C. 3. 3 操作方法

C. 3. 3. 1 准备抗原:用 0. 15mol/L pH7. 2 PBS 将 10% 致敏红细胞保存液稀释至 1% 备用;

C. 3. 3. 2 血凝板每孔加入 25 $\mu\text{l}$  PBS;

C. 3. 3. 3 第一孔加入待检血清 25 $\mu\text{l}$ ,用移液器或稀释棒从第一孔开始逐孔向后稀释;

C. 3. 3. 4 每孔加 1% 致敏红细胞 25 $\mu\text{l}$ ,振荡混合 3min,置 37℃ 反应 1h,判定结果;

C. 3. 3. 5 对照设置:每批试验均应设置阳性、阴性和红细胞对照(红细胞对照孔只有 PBS 和致敏红细胞)。

### C. 3. 4 结果判断

C. 3. 4. 1 阴性反应:红细胞全部沉入孔底呈点状,边缘光滑;

C. 3. 4. 2 阳性反应:++++100%红细胞凝集;+++75%红细胞凝集;++50%红细胞凝集;+25%红细胞凝集。

以血清 1: 128 稀释出现阳性反应者(++)判为血清抗体阳性。

## C. 4 PVC 薄膜快速 ELISA

### C. 4. 1 抗原

囊液粗抗原、纯化抗原、特异性抗原。

### C. 4. 2 操作方法

C. 4. 2. 1 取已包被好抗原的 PVC 薄膜软板,编号,用 PBST 洗 1 次,然后每孔加 PBST 200 $\mu\text{l}$ ;

C. 4. 2. 2 加待检血清及参考血清(每板作阴性对照一孔、阳性对照一孔)每孔 10 $\mu\text{l}$ ,混匀,置湿盒 37℃ 5min(或 25℃ 室温 10min)。倾去血清,用 PBST 连续洗 8 次,甩干;

C. 4. 2. 3 加酶标抗体:每孔加工作浓度酶标抗体 200 $\mu\text{l}$ ,37℃ 5min,同上洗涤 8 次,再加蒸馏水洗一次,甩干;

C. 4. 2. 4 加底物显色:每孔加 TMB 底物 200 $\mu\text{l}$ ,反应 5min~10min(TMB 底物溶液的制备:TMB 50mg 溶于 10ml 二甲基亚砷中作为母液,4℃ 保存。用前取母液 1ml+pH 5. 0 柠檬酸缓冲液 50ml+30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  8 $\mu\text{l}$ )。

### C. 4. 3 结果判断

参照阴性及阳性对照,用目视法判断结果。阴性基本无色,阳性为鲜蓝色。



## C.5 免疫印迹技术(Western blot, WB)

### C.5.1 抗原膜制备

囊液粗抗原、原头节粗抗原或特异性纯化抗原进行常规 SDS-PAGE 凝胶电泳,分离胶浓度为 15%,抗原蛋白经 SDS-PAGE 电泳分离后,再转移到硝酸纤维膜上。经 Ponceau S 染色,标记标准分子量位置。将抗原膜用封闭液(3%脱脂奶粉,0.15mol/L NaCl,0.05mol/L Tris-HCl,pH 7.4,0.02%吐温-20)封闭 1h 后将膜裁成宽 2~3mm 的膜条备用。此抗原膜条,可夹在 PBS 湿滤纸中封于塑料袋内,4℃保存备用。若置低温冰箱中,可长期保存。

### C.5.2 操作方法

C.5.2.1 将抗原膜置于反应槽中,加入用封闭液(3%脱脂奶粉,0.15mol/L NaCl,0.05mol/L Tris-HCl,pH 7.4,0.02%吐温-20)1:100 稀释的待检血清,每批试验应设参考阳性、阴性和 PBS 对照。室温振荡 2h(4℃可过夜)。次日,用上述封闭液洗 4 次,每次 5min;

C.5.2.2 加入工作浓度的辣根过氧化物酶(HRP)标记的抗人 IgG,室温 2h,同前洗涤;

C.5.2.3 加入二氨基联苯胺(DAB,棕色)显色至清晰后,蒸馏水终止反应,将反应膜干燥保存。

### C.5.3 判读结果

细粒棘球蚴特异性反应条带:8kDa、16kDa、20-24kDa(AgB)和 38kDa(Ag5)

多房棘球蚴特异性反应条带:18kDa(Em18)、54kDa(Em2)和 220kDa(EmAP)

## C.6 循环抗原检测(circulating antigen, cAg)

### C.6.1 特异性单克隆或多克隆抗体的制备

C.6.1.1 用粗抗原或特异性抗原免疫 Balb/c 小鼠,按常规方法进行细胞融合、阳性细胞克隆筛选和鉴定,将分泌特异性单克隆抗体的细胞株腹腔注射小鼠,获得单克隆抗体腹水;

C.6.1.2 用粗抗原或特异性抗原免疫兔,获得高效价的多克隆抗体;

C.6.1.3 建立可检测粗抗原或特异性抗原的敏感的双抗体夹心 ELISA 方法;

C.6.1.4 用建立的双抗体夹心 ELISA 反应系统检测病人血清中的 cAg。

### C.6.2 循环抗原检测

C.6.2.1 将特异性单克隆抗体或多克隆抗体用 0.05mol/L pH9.6 碳酸盐缓冲液稀释至工作浓度包被酶标板,每孔 100 $\mu$ l,4℃过夜后用 PBST 洗板 3 次;

C.6.2.2 每孔加入含 3% BSA 的 PBST 100 $\mu$ l,于 37℃封闭 1h,洗板 3 次;

C.6.2.3 待检血清用上液 1:2 稀释,每孔加 100 $\mu$ l,37℃温育 1h,洗板 3 次;

C.6.2.4 加工作浓度的酶标记第二抗体(特异性单抗或多抗)100 $\mu$ l 37℃ 1h 后,洗板 3 次;

C.6.2.5 加邻苯二胺(OPD,橙红色)或四甲基胺/四甲基联苯胺硫酸盐(TMB/TMBS,蓝色)底物溶液 100 $\mu$ l,37℃,30min;

C.6.2.6 加入 50 $\mu$ l 2mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,终止反应;

C.6.2.7 酶标仪测各孔吸光值;

C.6.2.8 对照设置和结果判定:每板设阳性对照一孔(1 $\mu$ g/ml 抗原 100 $\mu$ l),阴性血清对照三孔,以阴性对照 OD 均值+3SD 或 S/N $\geq$ 2.0 为阳性临界值。

## C.7 循环免疫复合物检测(circulating immune complex, CIC)

### C.7.1 检测 CIC 中的循环抗原

C.7.1.1 用 0.01mol/L pH8.4 硼酸盐缓冲液将 PEG6000 配成 7%溶液,取此液 100 $\mu$ l 加等量 1:2 待检血清混合置室温下 1h 后,5 000r/min 离心 1h;

C.7.1.2 吸去上清液,在沉淀中加含有 8mol/L 尿素的 0.05mol/L pH9.6 碳酸盐缓冲液 0.5ml,溶解



沉淀物；

C. 7. 1. 3 用此液包被酶标板每孔  $100\mu\text{l}$ ，每份标本包被两孔， $4^{\circ}\text{C}$  过夜后，洗板 3 次（阳性及阴性对照同样处理）；

C. 7. 1. 4 每孔加含有 3% BSA 的 PBST  $100\mu\text{l}$ ， $37^{\circ}\text{C}$  封闭 1h，洗板 3 次；

C. 7. 1. 5 加入 HRP 标记的工作浓度特异性单抗或多抗  $100\mu\text{l}$ ， $37^{\circ}\text{C}$  下 1h 后洗板 3 次；

C. 7. 1. 6 加邻苯二胺 (OPD, 橙红色) 或四甲基胺/四甲基联苯胺硫酸盐 (TMB/TMBS, 蓝色) 底物溶液  $100\mu\text{l}$ ， $37^{\circ}\text{C}$ ，30min。

C. 7. 1. 7 加入  $2\text{mol/L H}_2\text{SO}_4$   $50\mu\text{l}$  终止反应；

C. 7. 1. 8 酶标仪测各孔吸光值；

C. 7. 1. 9 对照设置和结果判定：每板设阳性对照一孔 ( $1\mu\text{g/ml}$  抗原  $100\mu\text{l}$ )，阴性血清对照三孔，以阴性对照 OD 均值 + 3SD 为阳性临界值。

### C. 7. 2 检测 CIC

C. 7. 2. 1 特异性抗体的制备同 C. 6. 1；

C. 7. 2. 2 将特异性单克隆抗体或多克隆抗体用  $0.05\text{mol/L pH}9.6$  碳酸盐缓冲液稀释至工作浓度包被酶标板，每孔  $100\mu\text{l}$ ， $4^{\circ}\text{C}$  过夜后用 PBST 洗板 3 次；

C. 7. 2. 3 每孔加入含 3% BSA 的 PBST  $100\mu\text{l}$ ，于  $37^{\circ}\text{C}$  封闭 1h，洗板 3 次；

C. 7. 2. 4 待检血清用上述液 1 : 20 稀释，每孔加  $100\mu\text{l}$ ， $37^{\circ}\text{C}$  温育 1h，洗板 3 次；

C. 7. 2. 5 加工作浓度的酶标记抗人 IgG 或 IgM  $100\mu\text{l}$   $37^{\circ}\text{C}$  1h 后，洗板 3 次；

C. 7. 2. 6 加邻苯二胺 (OPD, 橙红色) 或四甲基胺/四甲基联苯胺硫酸盐 (TMB/TMBS, 蓝色) 底物溶液  $100\mu\text{l}$ ， $37^{\circ}\text{C}$ ，30min。

C. 7. 2. 7 加入  $2\text{mol/L H}_2\text{SO}_4$   $50\mu\text{l}$  终止反应；

C. 7. 2. 8 酶标仪测各孔吸光值；

C. 7. 2. 9 对照设置和结果判定：每板设阳性对照一孔 (人工复合物)，阴性血清对照三孔，以阴性对照 OD 均值 + 3SD 或  $S/N \geq 2.0$  为阳性临界值。



**附 录 D**  
**(规范性附录)**  
**寄生虫学和病理组织学检查**

**D.1 细粒棘球蚴**

呈囊状,内含液体,圆形或卵圆形多为单囊,直径由不足1cm至10cm以上,巨大的虫体可达30cm。组织学检查可见囊壁分为两层,外层为角皮层,内层为生发层,生发层向内长出许多原头节或生发囊。

肺包虫病患者在棘球蚴囊破裂后,可咳出含棘球蚴囊壁、子囊、原头节和顶突钩的痰液。肉眼即可识别棘球蚴囊壁和子囊,但仍应进行组织学检查。痰液可直接涂片镜检。最好将痰液稀释后离心,取沉渣镜检。肝包虫病患者可应用B超引导下的细针穿刺检查,或手术摘除棘球蚴后取材做检查。

**D.2 多房棘球蚴**

典型的多房棘球蚴是由无数直径小于1mm至30mm的不规则的棘球蚴囊组成泡状结构。由于变性坏死,在病灶的中心区常形成充满坏死组织的液化腔。显微镜检查,可见较薄的PAS阳性的角皮层,生发层常不易辨认。感染人体的泡球蚴很少形成育囊和原头节。泡球蚴的内部为坏死组织区,外部有组织细胞和淋巴细胞浸润。泡球蚴周围有慢性炎症反应、组织纤维化和钙化。由于组织纤维化使泡球蚴变得致密和坚硬。

参 考 文 献

1. WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern Edited by J. Eckert, M. A. Gemmell, F. -X. Meslin and Z. S. Pawlowski World Organization for Animal Health(Office International des Epizooties)and World Health Organization, 2001 Reprinted: January 2002
  2. Craig P, Pawlowski Z. Cestode Zoonoses; echinococcosis and cysticercosis. An emergent and global problem. IOS Press
  3. Oriol R, Williams J F. Purification of lipoprotein antigens of *Echinococcus granulosus* from sheep hydatid fluid. Am J Trop Med Hyg 1971;20 : 569-574
  4. Gottstein B, Eckert J, Fey H. Serological differentiation between *Echinococcus granulosus* and *Echinococcus multilocularis* infections in Man. Parasitol Res, 1983; 69 : 347-356
  5. Ito A. , Nakao M. , Kutsumi H. Serodiagnosis of alveolar hydatid disease by Western Blotting. Trans R Soc Trop Med Hyg 1993;87 : 170-172
  6. Jiang L, Wen H and Ito A. Immunodiagnostic differentiation of alveolar and cystic echinococcosis using ELISA test with 18-kDa antigen extracted from *Echinococcus* protoscoleces. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 2001;95(3) : 285-288
-



中 华 人 民 共 和 国  
卫 生 行 业 标 准  
包 虫 病 诊 断 标 准  
WS 257—2006

\*

出版发行：人民卫生出版社（中继线 010-67616688）

地 址：北京市丰台区方庄芳群园3区3号楼

邮 编：100078

网 址：<http://www.pmph.com>

E - mail：[pmph@pmph.com](mailto:pmph@pmph.com)

购书热线：010-67605754 010-65264830

印 刷：北京新丰印刷厂

经 销：新华书店

开 本：880×1230 1/16 印张：1.25

字 数：28千字

版 次：2006年12月第1版 2006年12月第1版第1次印刷

书 号：14117·61

定 价：9.00元

版权所有，侵权必究，打击盗版举报电话：010-87613394

（凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换）



WS 257-2006