

溶组织内阿米巴 5 例的粪便鉴定

邓 爽, 赵红英, 韦 胜, 卢立江, 李乃梅, 梁 莉,
黄 瑛, 赖立川, 赖国建, 陈宗波, 卢建辉, 黄华艺

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院检验科(邓 爽, 赵红英, 韦 胜, 卢立江, 李乃梅, 梁 莉, 黄 瑛, 赖立川, 赖国建, 陈宗波, 卢建辉, 黄华艺); 14263 纽约, 布法罗 美国罗斯威尔帕克综合癌症中心肿瘤外科(黄华艺)

作者简介: 邓 爽(1989-), 女, 硕士研究生, 初级技师, 研究方向: 体液学检验。E-mail: 2434073700@qq.com

通讯作者: 黄华艺(1964-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 临床检验诊断学。E-mail: Huayi. Huang@Roswellpark.org

[摘要] 目的 探讨溶组织内阿米巴的粪便鉴定, 并就溶组织内阿米巴包囊及滋养体的镜检要点及常见漏检原因进行讨论。方法 用显微镜法对 5 例外院漏诊的肠阿米巴病患者粪便标本进行检验, 分别用生理盐水涂片法、碘染色和苏木素染色法, 在显微镜下进行观察鉴定。结果 溶组织内阿米巴包囊及滋养体在生理盐水涂片、碘染色涂片和苏木素染色涂片中有典型的形态学特点。结论 对于可疑肠阿米巴病患者, 应多次及时送标本进行检验, 采用几种不同方法进行鉴定, 并注意将溶组织内阿米巴与吞噬细胞及迪斯帕内阿米巴相鉴别。

[关键词] 肠阿米巴病; 溶组织内阿米巴; 迪斯帕内阿米巴; 吞噬细胞

[中图分类号] R 445 [文献标识码] A [文章编号] 1674-3806(2018)11-1129-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2018.11.17

Characterization of Entamoeba histolytica in feces: a report of 5 cases DENG Shuang, ZHAO Hong-ying, WEI Sheng, et al. Department of Laboratory Medicine, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning, 530021, China

[Abstract] Objective To characterize the Entamoeba histolytica of 5 cases in feces to avoid missing inspection. Methods Five stool samples from the patients with Entamoeba histolytica infection but missed diagnosis in the other hospitals were analyzed using normal saline smear, iodine staining and hematoxyline staining under microscopy. Results The amebic cyst and amebic trophozoite of Entamoeba histolytica displayed unique characteristics by using normal saline smear, iodine staining and hematoxyline staining. Conclusion For the patients with suspected intestinal amoeba, stool specimens should be sent to the laboratory repeatedly and timely for analysis. The Entamoeba histolytica should be identified by using different methods. Special attentions must be paid to identify the Entamoeba histolytica and distinguish it from phagocytes and Entamoeba dispar.

[Key words] Amebic dysentery; Entamoeba histolytica; Entamoeba dispar; Phagocytes

肠阿米巴病又称为阿米巴痢疾,是由溶组织性阿米巴寄生于肠道引起。患者会出现不同程度的腹痛、腹泻及脓血便,易反复发作。因肠阿米巴病临床表现及纤维结肠镜下改变缺乏特异性,不易与其他炎症性肠病相鉴别,大便镜检查阿米巴包囊及其滋养体则成为了确诊肠阿米巴病的重要依据及主要手段^[1]。本文回顾性分析 5 例外院漏诊的肠阿米巴病,对其临床表现、常见的漏检原因、大便镜检形态及鉴别进行探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本组 5 例研究对象为 2017-10 ~ 2018-03 广西壮族自治区人民医院检验科在大便中查出溶组织内阿米巴包囊及滋养体而在外院漏诊的患者,其中男 2 例,女 3 例,年龄 25 ~ 37 岁,病程 8 个月 ~ 2 年。5 例均具有腹泻症状,2 ~ 8 次/d,粪便性状呈黏液血便者 4 例,呈果酱样便者 1 例,5 例均伴有里急后重感,腹痛部位限于左下腹、右下腹及脐周。1 例伴有低热。5 例患者均在外院诊断为“溃疡

性结肠炎”,实验室检查未查到阿米巴包囊及滋养体。

1.2 实验室检查方法

1.2.1 血常规检测 用 Sysmex 血液分析仪检测血常规。

1.2.2 白蛋白检测 用 Roche c501 全自动生化分析仪检测血清白蛋白。

1.2.3 大便显微镜检查 (1)生理盐水涂片检查。将患者标本置于大便分析仪(XD-F6001,长沙协大)上充分搅拌均匀后,取悬液1滴滴于玻片上,并加一滴0.9%生理盐水,用显微镜(OLYMPUS BX51,日本东京)低倍镜(10倍)观察全片,低倍视野中发现疑似阿米巴包囊或滋养体,再转高倍镜(40倍)观察。(2)碘液染色。取大便悬液1滴滴加于玻片上,滴加碘液1滴,置于显微镜下观察。(3)苏木素染色。挑取少量粪便在玻片上制成薄粪膜,经肖丁固定,酒精脱水后,依次置于铁明矾溶液、苏米精溶液、铁明矾溶液中,最后再用酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,置于显微镜下观察。

1.2.4 大便细菌培养 挑取适量粪便接种于麦康凯、SS及沙氏平板,培养3~5 d。

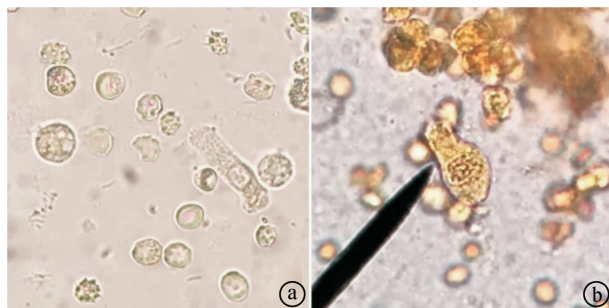
2 结果

2.1 血常规检测结果 3例血红蛋白降低(69~101 g/L),2例血红蛋白正常(121~142 g/L)。3例白细胞升高[(10.49~21.76) × 10⁹/L],2例白细胞正常[(8.65~9.71) × 10⁹/L]。1例嗜酸性粒细胞升高(6.8%),4例嗜酸性粒细胞正常(0.5~4%)。

2.2 白蛋白检测结果 5例白蛋白均降低(24.9~38.1 g/L)。

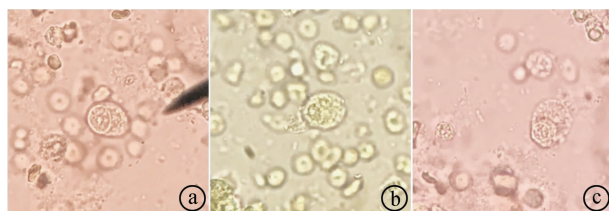
2.3 大便显微镜检查结果 5例患者大便中均检出溶组织内阿米巴包囊及滋养体。低倍镜下满视野红、白细胞,可见脓细胞,或以红细胞为主,有少量白细胞。生理盐水涂片中滋养体直径大小在12~60 μm不等,可呈圆形、椭圆形或不规则形,有指状或舌状伪足突出,可做定向运动(见图1)。细胞核较难见到。生理盐水涂片中难以确定包囊。碘染色涂片中滋养体呈黄棕色,部分滋养体可见1个核,呈鹰眼状或环形,核周染粒大小均匀,排列整齐,核仁小,居中或稍偏位(见图2)。小滋养体无明显内外质,外质仅见于伪足部分,内质内无红细胞,可有食物泡(见图3)。大滋养体有明显内外质,内质呈致密颗粒状,外质透明无颗粒,内质可见被吞噬消化后大小不一的红细胞(见图4)。包囊呈黄棕色,直径10~20 μm,圆形,可见1~4个核,呈鹰眼状或环形,核仁及核周

染粒可见,在未成熟包囊中有时可见到具有反光性的不着色的棒状拟染色体及棕色的糖原块(见图5)。铁苏木素染色涂片中,滋养体形态不规则,外质透明,内质为淡蓝黑颗粒状,有时可见1个核,呈泡状,蓝黑色,核仁致密居中或稍偏位,核周染粒分布均匀,可见淡染均质蓝黑色的被吞噬的红细胞。包囊呈灰蓝色,1~4个核,核圆形呈蓝黑色,未成熟的包囊中有时可见到染成蓝黑色的棒状拟染色体及被溶解成空泡的糖原块(见图5)。



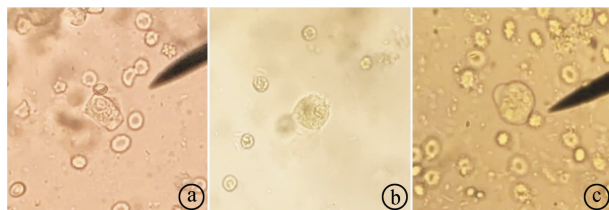
溶组织内阿米巴滋养体,内质滚动进入外质中,①生理盐水涂片;②碘染色

图1 溶组织内阿米巴滋养体的显微镜下特征(生理盐水涂片法和碘染色法对比)图



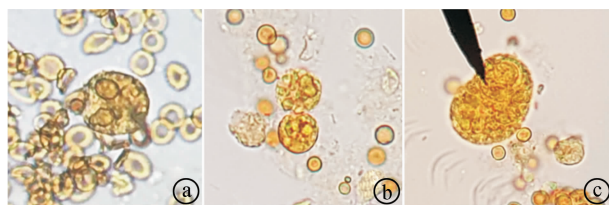
溶组织内阿米巴滋养体,核仁小,居中或稍偏位,核周染粒大小均匀,排列整齐

图2 溶组织内阿米巴滋养体的显微镜下特征(碘染色法)图(一)



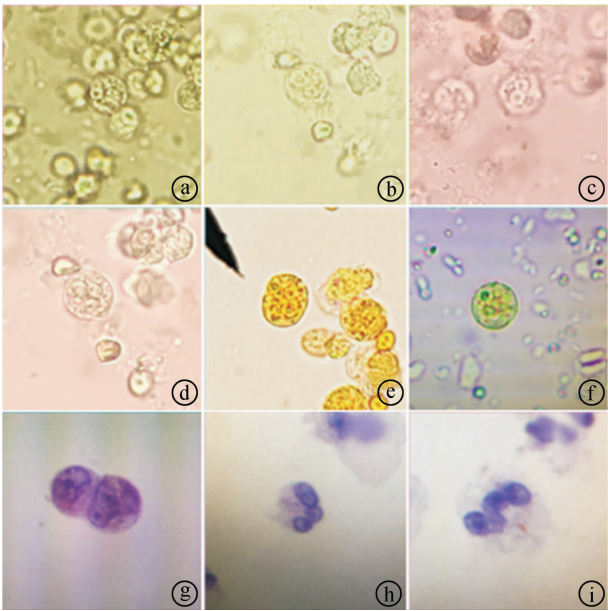
溶组织内阿米巴滋养体,内质呈致密颗粒状,外质透明无颗粒

图3 溶组织内阿米巴滋养体的显微镜下特征(碘染色法)图(二)



溶组织内阿米巴滋养体,可见吞噬的消化后大小不一的红细胞

图4 溶组织内阿米巴滋养体的显微镜下特征(碘染色法)图(三)



溶组织内阿米巴包囊, 1~4 个核, 核仁核膜可见, ①~⑥碘染色; ⑦~⑨苏木素染色
图 5 溶组织内阿米巴包囊的显微镜下特征(碘染色法和苏木素染色法)图

2.4 大便细菌培养结果 5 例患者粪便培养阴性, 均未检测到沙门菌、志贺菌及深部真菌。

3 讨论

3.1 食物或水中的四核包囊被人体摄入后, 包囊在小肠发育为小滋养体, 小滋养体寄生在肠腔, 吞噬细菌及肠内容物。部分小滋养体侵入肠黏膜组织, 吞噬红细胞, 形成大滋养体, 导致肠阿米巴病, 并随坏死组织脱落进入肠腔, 由粪便中排出; 部分小滋养体继续在肠腔中下移, 转变成 1~4 核包囊由粪便中排出。滋养体侵入肠壁后还可随血流感染其他组织器官, 引起肠外阿米巴病。目前, 酶联免疫吸附试验(ELISA)、免疫荧光测定(IFA)、间接血凝试验、PCR 等方法正逐渐运用于阿米巴感染检测, 但这些方法均未成熟, 易出现假阳性, 无法在临床推广应用^[2,3]。通过镜检在粪便中检出阿米巴包囊及滋养体仍是实验室用来检测阿米巴感染的主要手段, 是临床确诊肠阿米巴病的重要依据。在人类肠道寄生的阿米巴中, 仅溶组织内阿米巴具有致病性。其潜伏期长短不一, 临床表现轻重各异, 多为普通型或慢性型, 无症状带虫者及暴发型较为少见。暴发型患者有典型的腹痛症状, 果酱样大便并伴有奇臭, 且粪便中有大量脓血及滋养体, 较易通过镜检确定阿米巴感染; 无症状带虫者粪便中只有包囊而无滋养体, 仅靠镜检不易发现; 而普通型及慢性型患者症状多不典型, 可呈间歇性反复发作且缺乏特征性, 患者粪便中含有

包囊及数量不等的滋养体, 当无滋养体或滋养体数量很少时镜检易漏检而造成误诊。此外, 阿米巴包囊及滋养体自粪便排出常呈间隙性^[2], 因而对于症状不典型的、不明原因的长期腹泻患者或抗菌药物治疗无效的痢疾患者, 应注意考虑溶组织内阿米巴感染的可能, 不能仅凭一次阴性结果排除阿米巴感染, 应多次留取标本送检, 尤其是要留取发作期粪便, 以提高检出率, 必要时还可借助血清学、分子学试验辅助诊断^[4~6]。大便常规查阿米巴, 在生理盐水涂片中即可发现滋养体, 而包囊一般需经碘液或苏木素染色后才可确定, 仅凭生理盐水涂片难以发现。因而, 使用生理盐水涂片镜检时, 若粪便中存在定向运动的滋养体, 则镜检易发现, 但滋养体在体外易失去活力或死亡。由于部分门诊患者在家留取粪便, 或病房患者留取粪便后流转时间过长, 导致标本未能及时送检, 或滋养体被粪便中混入的尿液及消毒液杀死, 或温度过低, 滋养体在低温条件下死亡等原因, 生理盐水涂片镜检难以发现活动的滋养体, 故容易漏检。对于临床高度怀疑为阿米巴感染的患者, 可建议其到检验科现场采集新鲜、清洁的标本, 以便在粪便中能够检出活动的滋养体。对于镜检发现的、疑似失去活力的滋养体, 可继续进行碘液或苏木素染色寻找包囊。对于有腹痛、腹泻、粘液血便等症状的患者, 当大便中出现大量的红细胞, 数量甚至远超白细胞, 且伴有嗜酸性粒细胞升高时, 应特别注意是否有阿米巴包囊或滋养体^[7]。

3.2 本研究的 5 例患者均在外院诊断为“溃疡性结肠炎”。肠阿米巴病的临床表现为腹痛、腹泻、黏液血便, 缺乏特异性, 与溃疡性结肠炎症状相似。普通型及慢性型患者大便中无滋养体或仅有少量滋养体, 多种原因可导致滋养体在体外失活, 加上包囊及滋养体排出具有间歇性, 这些均可导致镜检漏检或未检出。当多次粪便未检出阿米巴时, 临床就易误诊为溃疡性结肠炎。在生理盐水涂片中, 大吞噬细胞与滋养体大小相近, 且均可有伪足样突起及含有被吞噬的红细胞, 但阿米巴滋养体内外质分界明显, 且伪足可做定向运动。此外, 阿米巴滋养体的核在生理盐水涂片中不易见, 而吞噬细胞的核则很大且清晰可见。吞噬细胞与阿米巴包囊在生理盐水涂片中较难区分, 仅凭生理盐水涂片中的形态不易判断是否为阿米巴包囊, 但在碘染色及苏木素染色涂片中则可通过细胞核的数量及形态区分吞噬细胞与包囊。经碘液或苏木素染色后包囊可见 1~4 个核, 且核膜核仁清晰似鹰眼状, 而吞噬细胞只有 1~2 个

核。阿米巴与吞噬细胞鉴别的关键是细胞核的形态,典型的阿米巴细胞核的核仁清晰可见,居中或稍偏位,而吞噬细胞的核则不见核仁。当镜检发现阿米巴包囊及滋养体时,还应注意溶组织内阿米巴与迪斯帕内阿米巴包囊及滋养体在镜下的形态相同,需通过血清学试验区分,迪斯帕内阿米巴感染者体内无特异性抗体产生,而溶组织内阿米巴可诱导人体产生特异性抗体^[8]。若存在包含有吞噬红细胞的滋养体,则高度考虑为溶组织内阿米巴,但极少部分的迪斯帕内阿米巴也可吞噬红细胞,此时可结合临床表现进行鉴别,迪斯帕内阿米巴均为无症状型,若患者出现腹泻、腹痛、里急后重、果酱样脓血便等临床表现则为溶组织内阿米巴^[9]。值得注意的是,10%溶组织内阿米巴感染为无症状的带包囊者,此时还是需要借助血清学或分子学方法进行鉴别^[10,11]。

3.3 由于肠阿米巴病临床表现及纤维结肠镜下改变缺乏特异性,镜检阿米巴包囊及滋养体是其确诊的重要手段,但镜检常因多种原因而易漏检。因而在实际工作中,对于临床高度怀疑肠阿米巴病的患者,应多次、及时、清洁送检标本,对于生理盐水涂片疑似溶组织内阿米巴包囊及滋养体者,可借助碘液及苏木素等染色手段观察其自身的形态特点,并注意与吞噬细胞及迪斯帕内阿米巴鉴别,以提高溶组织内阿米巴的检出率。

参考文献

1 陈玉玲,樊翔,王龙飞,等.阿米巴结肠炎3例临床病理分析及文献复习[J].临床与实验病理学杂志,2017,33(1):90-93.

- 2 张威,宋太平.阿米巴痢疾误诊原因分析及避免误诊的措施[J].中国肛肠病杂志,2011,31(7):65-67.
- 3 Kamidani S, Melgar M, Robinson C, et al. No detection of Entamoeba histolytica by multiplex chain reaction in children with acute non-bloody diarrhea in Guatemala[J]. Pediatr Infect Dis J, 2018, 37(4):107-108.
- 4 Mero S, Kirveskari J, Antikainen J, et al. Multiplex PCR detection of Cryptosporidium sp., Giardia lamblia and Entamoeba histolytica directly from dried stool samples from Guinea-Bissauan children with diarrhea[J]. Infect Dis (Lond), 2017, 49(9):655-663.
- 5 宋太平,张威,巩跃生,等.肠阿米巴病113例误诊原因分析[J].临床误诊误治,2011,24(3):69.
- 6 Saidin S, Yunus MH, Othman N, et al. Development and initial evaluation of lateral flow dipstick test for antigen detection of Entamoeba histolytica in stool sample[J]. Pathog Glob Health, 2017, 111(3):128-136.
- 7 辜淑英,邱财丽,李佩贤.溶组织内阿米巴致慢性腹痛腹泻1例[J].检验医学与临床,2010,7(8):765.
- 8 Uslu H, Aktas O, Uyanik MH. Comparison of various methods in the diagnosis of Entamoeba histolytica in stool and serum specimens[J]. Eurasian J Med, 2016, 48(2):124-129.
- 9 Oliveira FM, Neumann E, Gomes MA, et al. Entamoeba dispar: Could it be pathogenic[J]. Trop Parasitol, 2015, 1:9-14.
- 10 孙晓东,Manue S,张晓阳,等.溶组织内阿米巴ELISA试剂盒在阿米巴病调查的应用[J].中国热带医学,2006,6(11):1931-1934.
- 11 López-López P, Martínez-López MC, Bolado-León XM, et al. Detection and differentiation of Entamoeba histolytica and Entamoeba dispar in clinical samples through PCR-denaturing gradient gel electrophoresis[J]. Braz J Med Biol Res, 2017, 50(4):e5997.

[收稿日期 2018-04-15][本文编辑 韦颖]

文稿摘要、关键词和作者简介的书写要求

根据国家新闻出版广电总局发出的(1999)17号文件精神,入编正式期刊要执行《中国学术期刊(光盘版)检索与评价数据规范》,要求来稿须书写摘要、关键词和作者简介。论著摘要采用结构式摘要,内容包括目的、方法、结果、结论“四要素”连排,不分段。其他文体可采用报道指示性摘要。摘要均用第三人称写法。关键词尽可能选用《医学索引》(Index Medicus)的医学主题词表(MeSH)中的词语。重点文稿还须增加英文摘要及关键词。作者简介包括姓名、出生年、性别、学历、学位、职称、研究方向(本人所从事的业务专业方向)等。

· 本刊编辑部 ·