

但落在均值线的同一侧。

3 讨 论

3.1 外部临界质控血清是为了监控检测结果的重复性和稳定性,在配制过程中是按 1 年的用量进行配制的,这样保证临界质控血清的一致性。在前 20 次临界质控血清的检测中要求管间变异系数(CV<15%)。

3.2 在采购试剂盒时,根据试剂盒的有效期,预估 1 年的试剂用量一次购进,检测试剂的同一批号保证了整个质控过程的连续性。

3.3 即刻法适用于试剂有效期短,批号更换频繁或不常开展的检验项目,对于经常性开展的 TORCH 检测来说并不是一个适合的质控方法。由于选择的是价格较高的进口检测试剂,因此出于质量控制的经济性考虑,在质控初期采用较为经济的即刻法进行质控。

3.4 由于即刻法在 ELISA 室内质控应用中存在对异常值的判断滞后,前 3 次测定对后续质控影响大、对漂移和趋势性变化不能直观反映等局限性,根据王玲玲等^[6]的报道,作者设立即刻法的管间变异系数(CV<15%)。对临界质控血清的检测结果进行筛选分析,取得 20 次符合要求的检测结果后运用 L-J 质控图法进行质量控制。

质量控制是实现检测结果准确的必经之路,任何实验检测都必须建立相应的质控体系,而目前最适宜、合理的 TROCH

检测室内质量控制的方法尚未建立。作者认为各实验室都应根据具体情况选择适合自己实验室的质量管理方法,以确保实验数据的准确性和可靠性,为优生工作提供及时准确的临床信息。

参考文献

[1] 宋丽,朱庆义. 神经管畸形的病原探讨及预防[J]. 中国优生与遗传杂志,2001,9(2):88-89.

[2] 陆亭屹,徐萍. HIV 抗体 ELISA 测定中影响因素探讨[J]. 实用医技杂志,2008,15(26):3542-3543.

[3] 钟筑宁,谷俊莹,肖文革. 对影响 ELISA 实验质量的有关因素分析[J]. 贵州医药,2005,29(12):1131-1132.

[4] 陈家宝,李斌,陶静,等. 应用 Excel 2000 管理软件作 L-J 质控图[J]. 中华现代检验医学杂志,2002,25(2):100.

[5] 张学文. 用 Excel 绘制临床检验 L-J 质控图[J]. 中国现代医生,2008,46(29):103-104.

[6] 王玲玲,汪全民,董玲凤. 探讨即刻法在 ELISA 室内质控应用中的局限性[J]. 实验与检验医学,2008,26(6):703-704.

(收稿日期:2010-12-18)

• 临床研究 •

角膜感染棘阿米巴原虫的实验室培养

鹿秀海¹,魏 芳²,姜丽红¹,张怡琳¹,孟 红³(1. 山东省医学科学院/山东省眼科医院,济南 250021; 2. 山东省中医院,济南 250011;3. 山东省医学科学院,济南 250062)

【摘要】 目的 为棘阿米巴感染的病原诊断、形态学观察及进一步的研究建立棘阿米巴的实验室培养方法。**方法** 选取本院 2005 年 7 月至 2010 年 8 月 22 例经共焦显微镜或刮片检查阳性,将拟诊为棘阿米巴角膜炎患者的角膜材料或角膜刮取物置于平铺了一层活的大肠埃希菌的培养基上,35℃进行恒温培养。**结果** 5 例(23%)培养阴性,17 例(77%)培养阳性,其中 10 例从第 3 天起可在培养基上观察到包囊,6 例在 5 d 后可观察到包囊,1 例在 20 d 后观察到包囊。包囊具有双层囊壁,外壁皱缩,内壁呈多边形或波浪状。**结论** 该方法取材容易,培养皿保存方便,能够为临床随时应用,便于在各实验室进行推广。

【关键词】 角膜感染; 棘阿米巴原虫; 实验室培养; 包囊

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.09.048 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)09-1104-02

棘阿米巴性角膜炎是由棘阿米巴原虫感染引起的顽固性、进行性角膜炎。目前,在感染性角膜炎中,虽然棘阿米巴的比例不足 1%,但是近年来,由于角膜接触镜的广泛使用,其发病率迅速增长^[1]。棘阿米巴原虫广泛分布在空气、土壤、水中,甚至从鼻腔和口腔黏膜中也曾分离出棘阿米巴原虫。它有两种存在形式:滋养体和包囊,二者可相互转变。包囊对外界因素抵抗力较强,可在宿主组织中生存数月。人类最常见的棘阿米巴感染就是角膜炎,现已分离鉴定出至少 5 个常见菌株。

1 资料与方法

1.1 一般资料 22 例均为 2005 年 7 月至 2010 年 8 月来本院就诊的拟诊为棘阿米巴角膜炎患者,临床症状典型,角膜刮片直接镜检阳性 17 例(77%)。共焦显微镜检查阳性 20 例(91%),其中男 14 例(63.6%),女 8 例(36.4%),男女比例 1.75:1,年龄 18~55 岁。戴角膜接触镜感染者 5 例,非角膜接触镜佩戴者 17 例。

1.2 方法

1.2.1 培养基的配制 棘阿米巴固体培养基,取纯化琼脂 100 g 加蒸馏水 1 000 mL 加热溶解后,120℃ 10 min 高压灭菌后分装成平板培养基,冷却后放入 2~8℃ 冰箱保存备用,有效期 30 d。

1.2.2 取材及培养 在进行培养前,往培养基中加入适量的大肠埃希菌悬液后在温箱内放置 5 min,以去除培养基表面多余的水分。将角膜组织或刮取物置于处理过的培养基中,深度适中,或置于表面,放入湿盒中,35℃进行恒温培养,2 周以上无阿米巴原虫生长判定为阴性。

2 结 果

22 例棘阿米巴性角膜炎患者当中,角膜刮片或共焦显微镜确诊 20 例,通过病理确诊 2 例。22 例患者当中 5 例(23%)培养阴性,17 例(77%)培养阳性,其中 10 例从第 3 天起可在培养基上观察到包囊,6 例在 5 d 后可观察到包囊,1 例在 20 d

后观察到包裹。包裹具有双层囊壁,外囊皱缩,内囊呈多边形或波浪状,滋养体少见,见图 1~3。

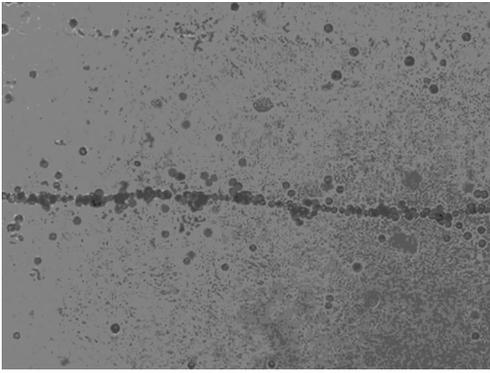


图 1 100 倍镜下阿米巴沿着大肠的分布迁移

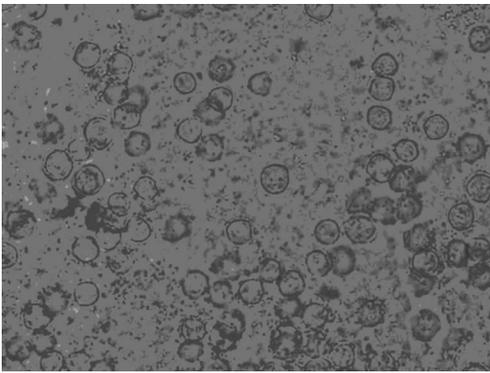


图 2 400 倍镜下直接刮片

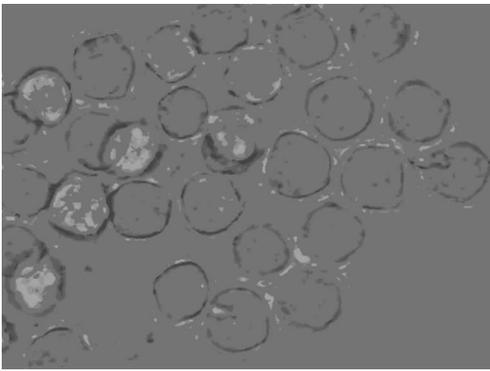


图 3 100 倍镜下纯培养

3 讨 论

棘阿米巴原虫在自然界分布广泛,健康人一般不被感染,但眼部或皮肤受损时可被感染^[2-3]。棘阿米巴性角膜炎由 Jones 等^[4]首次报道,以后随着角膜接触镜的广泛应用、临床检查方法的完善以及对本病认识的加深,有关本病感染例数在世界各国逐渐增多。目前我国的棘阿米巴性角膜炎报道也呈快速上升趋势。因棘阿米巴原虫形态特殊,故通过刮取物的镜检或培养不难诊断。棘阿米巴原虫滋养体具有特殊的棘状伪足,外形不规则,细胞质内收缩泡及食物泡等空泡较多,包裹具有特殊性的双层囊壁,外层常呈皱缩状,内层呈四边形或波浪形。棘阿米巴原虫已分离出 25 种,致病菌株有 8 种,根据包裹的形态特征分为 3 个组^[5],但包裹的形态受培养条件的影响具有明

显不同,在深低温(-80~-20℃)条件下,酸性环境中的棘阿米巴原虫多呈皱缩状,甚至破裂;在碱性环境中,棘阿米巴原虫多以典型的囊前期或包裹状态存在。培养温度为 4~35℃,棘阿米巴原虫处于酸性环境中,多以滋养体形势存在,在 pH>8 的碱性环境中,棘阿米巴虫株多以包裹形势存在。28~35℃、pH=6.5 为棘阿米巴原虫体外生长的最适条件^[6]。

在本次回顾性分析当中,22 例患者培养阳性率达 77%,获得了较高的检出率。其中 10 例从第 3 天起便可在培养基上观察到包裹,经共焦显微镜检查显示,该 10 例患者的病灶均存在于角膜上皮层,而 1 例在 20 d 后观察到包裹,其病灶比较深且局限,存在于角膜基质层,上皮层没有破坏,后来病灶扩大,进行角膜移植,将切除的角膜进行培养 14 d 未见阿米巴原虫生长,后将角膜组织取出,进行细碎的剪切再次进行培养,5 d 后在角膜组织周围可见到大量的包裹生长。说明阿米巴原虫所致的深层角膜感染在进行培养的时候要将角膜尽可能切碎,以使包裹充分暴露,接触琼脂,能接触到大肠埃希菌而得以繁殖。

棘阿米巴在固体培养基上能以大肠埃希菌为食,以辐射状移动。该方法在阿米巴培养,由于阿米巴的移行轨迹在平皿上用肉眼无法清楚看到,次日即可在显微镜下观察,可以将平皿直接放在显微镜下观察或刮片进行观察,阿米巴原虫将随着大肠埃希菌的分布不断移行繁殖,且与大肠埃希菌的量直接相关。无营养培养基仅需要纯化琼脂和蒸馏水按 1% 的浓度配制即可,方法简单,取材容易,保存方便,能够为临床随时使用,便于在各实验室进行推广,为临床棘阿米巴原虫感染的病原诊断、形态观察以及虫种鉴定及进一步的生物化学及分子生物学实验研究奠定了基础。

参考文献

- [1] Xuan YH, Yu HS, Jeong HJ, et al. Molecular characterization of bacterial endosymbionts of *Acanthamoeba* isolates from infected corneas of Korean patients[J]. *Korean J Parasitol*, 2007, 45(1): 1-9.
- [2] Nagington J, Watson PG, Playfair T, et al. Amoebic infection of the eye[J]. *Lancet*, 1974, 2(7896): 1537-1540.
- [3] Martinez AJ, Sotelo Avila C, Gatica Tamayo J. Meningoencephalitis due to *Acanthamoeba* sp. Pathogenesis and clinico pathological study[J]. *Acta Neuropath*, 1977, 37(3): 183-191.
- [4] Jones BR, Mo Gill JI, Steele AD. Recurrent suppurative kerato-uvetis with loss of eye due to infection by *Acanthamoeba castellanii*[J]. *Trans Ophthalmol Soc UK*, 1975, 95(2): 210-213.
- [5] Pussard M, Pons R. Morphologie de la paroi kystique et taxonomie du genre *Acanthamoeba* (Protozoa, Amoebida) [J]. *Protistologica*, 1977, 13: 557-610.
- [6] 高敏. 温度及酸碱度对角膜分离棘阿米巴虫株活性影响的实验研究[J]. *眼科研究*, 2009, 8(18): 685-686.

(收稿日期:2010-12-16)