

# 中性红染色日本血吸虫卵的条件探索与结果分析\*

丘继哲<sup>1,2</sup>, 王乐三<sup>1</sup>, 邹艳<sup>2</sup>, 黄旭<sup>2</sup>, 徐妮<sup>2</sup> (1. 中南大学公共卫生学院, 长沙 410013; 2. 湖南中医药高等专科学校基础医学部, 湖南株洲 412012)

【关键词】 中性红染色; 日本血吸虫卵; 条件

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.20.068 文献标志码: B 文章编号:1672-9455(2015)20-3128-02

日本血吸虫病是一种较为常见的易对人体健康造成威胁的寄生虫病类型<sup>[1-2]</sup>, 血吸虫病的临床诊断在这类疾病的预防和治疗中具有十分积极的意义, 免疫诊断和病原学检查是临床上较为常用的两种日本血吸虫病临床检查技术, 免疫学诊断的方法存在一定的假阳性率, 病原学检查是确诊血吸虫感染的手段, 但漏检率高<sup>[3-4]</sup>, 同时, 临床上现有的各种检测技术操作方法均较为繁琐, 且费力费时, 因而现场应用价值较低。因此提高病原学检出率和工作效率是当前血防工作要解决的重点问题之一, 解决办法之一即为粪膜镜下阅片自动化, 然而, 很长时间以来粪渣和虫卵之间存在的反差问题未得到有效的解决, 使其一直未能实现。为了对粪渣和虫卵之间存在的反差问题进行深入分析, 本课题组一直致力于对血吸虫卵染色的研究, 本次研究采用中性红对血吸虫卵进行染色, 探索不同染色时间、不同浓度等条件对日本血吸虫卵染色的效果及影响, 以便找出最佳的染色条件, 现将研究结果报道如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验仪器和材料** 中性红、甘油、孔雀绿为国产化学纯试剂; 中国厦门 Motic 公司生产的荧光显微镜; 北京长源实验设备厂生产的电动匀浆机; 阳性钉螺; 6 周龄清洁级雄性昆明小鼠 5 只。

**1.2 配制化学染料溶液** 在常规条件下实施改良加藤法 (Kato-Katz) 检测, 中性红参考有关资料配制 0.01%、0.05%、0.10% 3 个浓度。

**1.3 虫卵粪液配制** 对 5 只昆明小鼠实施常规法人工日本血吸虫尾蚴感染处理, 每只小鼠感染尾蚴约 40 尾, 45 d 后将其剖杀, 对肝脏等器官进行收集检测, 根据余传信等<sup>[5]</sup>提出的方法将日本血吸虫虫卵分离纯化, 用生理盐水控制虫卵浓度为每微升 2 个虫卵, 并在 4℃ 的冰箱中留置保存。同时, 留取 10 g 健康人粪便标本, 使用 100 目和 40 目的尼龙网筛进行过滤处理, 经过自然沉淀后去除上清液, 在日本血吸虫虫卵溶液中加入 5 mL 沉淀粪渣, 控制生理盐水的虫卵浓度为每 10 μL 有 1 个虫卵, 以此作为血吸虫病中度感染患者的模拟粪液。

**1.4 染色方法** 分别取 3 个 5 mL 塑料离心管, 每管加入 2 mL 含虫卵粪液, 中性红配制成 0.01%、0.05%、0.10% 3 个浓度, 每管中含有 1 mL 染色溶液, 在 30℃ 和室温下, 分别取 40 张涂片, 每张玻片取 20 μL 粪液。涂片玻片分别染色 5、20、30 及 60 min 后进行镜检。改良加藤法按常规进行, 即用玻璃纸浸于甘油-孔雀绿溶液 24 h 至玻璃纸呈绿色。粪渣用 120 目网筛除去粪渣, 用标准孔板取粪渣约 50 mg 于载玻片上, 覆以浸

透甘油-孔雀绿溶液的玻璃纸, 轻压, 使粪便铺开, 置 36℃ 染色 1 h。

**1.5 结果观察与分析** 以粪渣与虫卵的反差程度作为染色效果判断标准, 也就是粪渣着色浅或不着色, 但是虫卵着色较重, 且在粪渣中十分易于辨别为最优。根据虫卵检出数的不同, 对比分析不同各种染色条件对于日本血吸虫虫卵检测的敏感性。

## 2 结 果

中性红染色能够将日本血吸虫卵染为红色, 并将大部分的粪渣染成浅黄色, 而少数粪渣则会被染为较深的颜色, 以目测判断染色效果, 发现染色时间为 5、20 min 的玻片上虫卵着色较浅, 而染色 60 min 与染色 30 min 的着色效果无明显差别。本实验室室温为 10℃ 左右, 通过实验发现温度为 30℃ 时着色速度更快。故中性红染色获得最佳效果的条件为 0.05% 中性红染色 30 min, 且最佳室温条件为 30℃。不同浓度中性红染液对日本血吸虫卵检出率差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 1、图 1。

表 1 中性红染色对日本血吸虫卵检出结果对比分析

方法	标本数 (n)	检出例数 (n)	虫卵检出率 (%)
改良加藤氏法	40	15	37.5
中性红染色法	0.01% 中性红	40	19
	0.05% 中性红	40	25
	0.10% 中性红	40	22

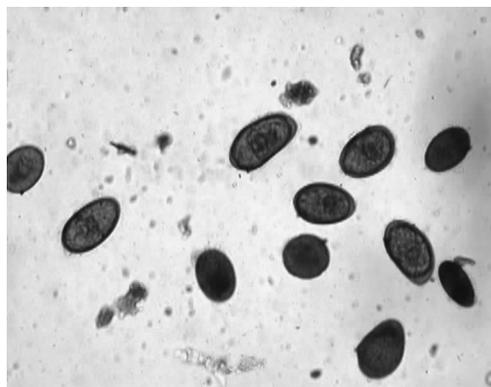


图 1 中性红对日本血吸虫卵染色结果 (×400)

\* 基金项目: 湖南省卫生和计划生育委员会资助项目 (B2012-129)。

### 3 讨 论

在各种血吸虫病的临床治疗和预防过程中,血清免疫学检测和粪检查毛蚴或虫卵是血吸虫病临床诊断的主要依据。免疫学检测技术具有较高的灵敏度,然而这一检测方法的假阳性率较高,特异性较差,因而其现场应用价值较低,限制了技术的进一步发展和推广应用。尽管粪便检测是血吸虫病诊断、治疗和疗效评定的金标准,但是,因为日本血吸虫寄生于血管,且虫卵主要附着在肝脏和肠壁等部位,仅有较少一部分能够随宿主粪便排出,所以,常规的粪便检测操作方法较为复杂,且费时费力,同时,随着近年来人们对于血吸虫病防治工作重要性认识的逐渐深入,疫区居民的感染度和感染率均有所降低,使粪便检测的敏感度也逐步降低,漏检率高。对血吸虫卵进行染色再镜检是提高粪检出率的方法之一<sup>[6-7]</sup>, Sarvel 等<sup>[8]</sup>用中性红对曼氏血吸虫卵进行了染色,发现用中性红染色后虫卵均为红色。有其他学者亦做过用中性红对其他寄生虫等生物的研究<sup>[9-10]</sup>。

本次研究用不同的浓度中性红对日本血吸虫卵进行染色,在不同温度和不同时间点进行观察,发现 0.05% 中性红染色的检出率(62.5%)明显高于改良加藤氏法检出率(37.5%),在 30℃ 条件下染色 30 min 后观察效果最佳,虫卵为红色,粪渣表现为淡黄色,虫卵内结构更加清晰,辨别较为容易,中性红染色条件的要求较低,是一种较为有效的染色方法,有望为血吸虫卵自动检测提供借鉴,对血吸虫病流行区现场调查具有巨大的应用价值。

### 参考文献

[1] 利娟,朱蓉,党辉,等. 2011 年全国血吸虫病监测点疫情分析[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2012, 24(6): 627-631.

- [2] 郑浩,张利娟,朱蓉,等. 2011 年全国血吸虫病疫情通报[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2012, 24(6): 621-626.
- [3] 朱蓉,秦志强,冯婷,等. 全国血吸虫病监测点现场病原学检测效果及质控评估[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2013, 24(6): 11-15.
- [4] 苏川. 我国常用血吸虫病诊断方法面临的问题与展望[J]. 中华地方病学杂志, 2013, 32(6): 593-594.
- [5] 余传信,赵飞,殷旭仁,等. 日本血吸虫成虫呕吐和排泄分泌物的蛋白质组学分析[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2010, 22(4): 304-309.
- [6] 王芳,曾庆仁,喻鑫玲,等. AKP 染色鉴别组织内死活血吸虫卵的条件探索与效果观察[J]. 中国病原生物学杂志, 2011, 6(5): 336-338.
- [7] 叶品凯,唐雪,吴丹,等. 染色法快速鉴别湖北钉螺死活的实验研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2014, 26(4): 466-467.
- [8] Sarvel AK, Kusel JR, Araújo N, et al. Comparison between morphological and staining characteristics of live and dead eggs of *Schistosoma mansoni*[J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 101 Suppl 1(1): 289-292.
- [9] 王小莉,李亮,方强,等. 染色法鉴别旋毛形线虫成虫死活的实验观察[J]. 蚌埠医学院学报, 2011, 36(10): 1041-1042.
- [10] 高学娟,尹文彦,陆娟,等. 染色法鉴别秀丽隐杆线虫生命状态探究[J]. 广东农业科学, 2010(9): 189.

(收稿日期:2015-03-25 修回日期:2015-07-12)

## 胃肠神经症误诊为慢性胃炎 1 例

余化平,陈长宇(成都军区峨眉疗养院,四川峨眉山 614200)

### 【关键词】

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.20.069 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2015)20-3129-02

胃肠神经症又称胃肠神经官能症,它不同于一般的胃肠道疾病,而是神经功能紊乱引起的胃肠功能障碍,是神经官能症的一个特殊类型,精神因素是其发病的主要原因,一般在病理解剖上无器质性病变。因临床医生常关注患者的躯体症状,而忽视了其心理变化,所以其治疗效果往往不明显。现就本院收治的 1 例胃肠神经症患者,院外误诊为慢性胃炎长达半年之久,现报道如下。

### 1 临床资料

患者,男性,45 岁,因反复中上腹胀痛伴反酸、嗝气、食欲不振 6 月余,就诊于某市级医院,行电子胃镜检查提示“慢性浅表性胃炎改变”,诊断“慢性胃炎”,给予阿莫西林、泮托拉唑、胃必治等药物口服治疗,上述症状无明显缓解,仍感腹痛,并伴有反酸、嗝气及食欲不振,多方诊治无效来本院就诊。体格检查:生命体征均正常,心、肺、腹部及神经系统未见明显阳性体征。辅助检查:血常规、生化、免疫、肿瘤标志物、甲状腺功能五项、大小便常规等均正常,心电图、胸腹 X 线片、腹部 B 超未见明

显异常。接诊中发现患者精神差,情绪低落,长期失眠多梦,注意力不集中、健忘、易激惹等精神症状明显,行自主神经系统平衡检查发现自主神经系统活性、抗压能力指数、疲劳指数均极差,抑郁自评量表(SDS)检查提示中度抑郁,焦虑自评量表(SAS)检查提示轻度焦虑。经详细询问病史,得知该患者在其父亲因胃癌病故后开始出现上述症状,常常担心自己也会患上癌症,情绪波动或工作压力大时症状会明显加重。经对患者耐心解释病情,并给予心理疏导,帮助其树立战胜疾病的信心,给予口服抗焦虑药物艾司唑仑,中药参芪五味子片调节自主神经功能,并停用相关胃炎药物。半个月后患者上述症状好转,无明显腹痛、反酸、嗝气,食欲增加,夜间休息好,复查自主神经系统平衡检查、SDS、SAS 均正常,确诊为胃肠神经症。

### 2 讨 论

胃肠神经症是一种临床上比较常见的神经官能症,是由各种原因引起神经功能失调所致胃肠道功能紊乱的一组综合征<sup>[1]</sup>。患者多以消化系统症状为主诉,可表现为呕吐、反酸、嗝