

改良加藤氏厚涂片法在肝吸虫检测中的研究

邹春霞(广东省河源市龙川县疾病预防控制中心 517300)

【摘要】 目的 探讨改良加藤氏厚涂片法在肝吸虫检测应用中的优越性。**方法** 针对 2009~2011 年河源市龙川县疾病预防控制中心体检时疑似肝吸虫病的 261 例患者,分别对其进行病原学和血清学进行诊断,病原学诊断包括直接涂片法和改良加藤氏厚涂片法,血清学诊断采用酶联免疫吸附试验,并对其检测结果进行比较。**结果** 对于病原学诊断方式,改良加藤氏厚涂片法无论是单次检出率还是总体检出率都优于直接粪便涂片法。酶联免疫吸附试验的检出率在统计意义上与 3 次改良加藤氏厚涂片法检出率无差异。**结论** 在肝吸虫的病原学诊断中,改良加藤氏厚涂片法检测耗材成本低,针对性强,采样简单,样本用量少,虫卵形态清晰,误检漏检率低,阳性检出率明显提高。一旦检出虫卵,便可确诊,更具有推广意义。

【关键词】 肝吸虫; 病原学诊断; 改良加藤氏厚涂片法

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.22.023 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)22-2832-02

Study of modified Kato's thick smear method detection for clonorchiasis disease ZOU Chun-xia (Longchuan Centre for Disease Control and Prevention, Heyuan City, Guangdong 517300, China)

【Abstract】 Objective To investigate the superiority of modified Kato's thick smear method for detection rate of clonorchiasis. **Methods** A retrospective study was performed to analyze the clinical data of 261 patients with the clonorchiasis in our hospital from the year of 2009 to 2011. All the patients were implemented the etiology diagnosis and serum diagnosis. Etiology diagnosis included direct smear method and the modified Kato's thick smear method. Serum diagnosis included enzyme-linked immunosorbent assay. Lastly, the results were compared in them. **Results** For the etiological diagnosis methods, the detection rate of the modified kato's thick smear method was better than that of direct fecal smear method no matter of the single time detection and multiple times detection. The detection rate of ELISA was no difference with that of three times modified kato's thick smear method in the statistical sense. **Conclusion** The modified Kato's thick smear method is worth to be promoted than the direct smear method because of the advantages which were low-cost, highly targeted, simple sampling and so on. In order to improve the detection rate in the actual application, the method of one fecal and multi-location method could be used.

【Key words】 clonorchiasis; etiology diagnosis; modified Kato's thick smear method

肝吸虫病又称华支睾吸虫病,是由华支睾吸虫寄生在人体肝胆管内,引起肝脏受损甚至病变的一种寄生虫病。该病具有明显的地域分布特点,呈现出随我国水系流域分布而分布的情况^[1]。肝吸虫的主要特点是头部和腹部均有吸盘,繁殖速度快,形状扁平,虫卵类似于瓜子状。目前常用的诊断方法是血清诊断法、寄生虫学诊断及影像学诊断。影像学诊断方法是医学领域一门新兴的学科^[2],可以直观、科学地对疾病进行诊断,但是目前报道的相关研究中,其诊断率都不是很高,而且需要昂贵的仪器,主要还是应用在一些器官病变的诊断过程中。本文主要以本中心前来就诊的患者为例,从统计意义上探讨改良加藤氏厚涂片法在肝吸虫诊断检出率的优越性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 被研究的患者从 2009~2011 年曾有食鱼史并因腹部胀痛、腹泻、乏力等来本中心进行身体检查疑似肝吸虫病的患者 261 例。男 171 例,年龄 25~69 岁,平均(44.2±13.6)岁;吃生鱼者 171 例;血常规检查异常 117 例(68.4%);丙氨酸氨基转移酶(ALT)检查异常 69 例(40.4%)。女 90 例,年龄 31~58 岁,平均(48.3±11.7)岁;吃生鱼史 90 例;血常规检查异常 66 例(73.3%);ALT 检查异常 33 例(36.7%)。

1.2 方法 采用生理盐水直接涂片法、改良加藤氏厚涂片法

及酶联免疫吸附试验(ELISA)对相应送检的粪便和血清进行测定并记录,操作方法如下。

1.2.1 生理盐水直接涂片法 生理盐水直接涂片法是在一洁净干燥的载玻片中央加 1~2 滴生理盐水,用竹签取少许粪便(约 5 g)均匀涂抹于生理盐水中,使其成混合液进行镜检,涂片厚度以透过片子能看到报纸上的纸为宜。为了避免对镜头的污染,需要加盖玻片。

1.2.2 改良加藤氏厚涂片法 从新鲜的粪便标本中取出一部分,覆盖 5 cm×5 cm 100 目/英寸尼龙网,刮取细粪样 41.7 mg 置于塑料定量板椭圆形模孔(4.00 cm×3.00 cm×1.37 cm)内^[3],充分混匀后用含孔雀绿的 50% 的甘油浸泡过的亲水玻璃纸覆盖,压平,置于 75 ℃温箱中约 20~30 min 后即可镜检。镜检计数肝吸虫卵,为控制诊断率,如果在涂片中发现肝吸虫卵,即判断为阳性。为了提高阳性检出率,直接涂片法和加藤氏厚涂片法均采用一粪三检,即每一份送检的粪便做成 3 份涂片。

1.2.3 ELISA 采用 ELISA 检测血清样本,送检的血清来自于受检者的静脉血经过离心获得。确定肝吸虫感染者的血清抗体,采用市场上生产的试剂盒(深圳绿翰生物技术有限公司研制)。酶标仪采用美国 Rayto 雷杜公司,型号为 RT-6000。

严格按照试剂盒说明书进行加样,洗板操作。以空白对照调零用酶标仪读取 OD 值,大于阴性对照物的 2.1 倍定以为阳性。

1.3 统计学方法 采用 SPSS17.0 软件进行统计分析,不同方法检出率差异比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两种病原学诊断结果 采用粪便集卵的两种方法诊断结果见表 1。由表 1 可见,无论是单次的检出率还是累计的检出率,改良加藤氏厚涂片法都要高于直接涂片法。3 次检出率分别提高了 12.5%、9.53%、7.36%。统计检验结果比较,改良加藤氏厚涂片法和直接涂片法检出率差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 两种粪便集卵诊断法的阳性检出结果[n=261,n(%)]

粪检次数	直接涂片法	改良加藤氏厚涂片法	χ^2	P
1 次	136(52.1)	153(58.6)	3.927	0.043
2 次	178(68.2)	195(74.7)	4.343	0.029
3 次	202(77.4)	217(83.1)	6.696	0.035

2.2 ELISA 诊断结果 采用重组抗原对送检的 261 份血清进行测定,阳性例数为 213 例,检出率为 81.6%,对 3 种诊断方法进行统计检验,改良加藤氏厚涂片法与 ELISA 的检出结果差异无统计学意义。

3 讨 论

肝吸虫病主要病发于我国东南沿海、珠江三角洲、松花江等地,与当地人民喜吃生鱼、生虾等饮食习惯有关。目前感染人群已超过 1 000 万^[4]。随着社会经济水平的提高,本地区吃生鱼片的传统亦有流行扩大的趋势,而生鱼片中寄生的肝吸虫卵是诱发肝吸虫病的主要原因。淡水鱼虾类是华支睾吸虫的第 2 中间宿主,当虫子侵入到鱼虾体内后,在其肌肉内发展成为囊蚴。当囊蚴随着未煮熟的鱼虾进入人体内,在十二指肠内脱囊,沿着胆汁流动的方法逆向移动,经胆总管进入肝胆管,感染之后,经过 1 个月发展为成虫。成虫主要寄生在肝内中小胆管中,依靠吸吮胆管壁的血管分泌物提供的营养生存。由于虫体较中小胆管的内径要大,与组织相互摩擦形成刺激作用,轻者导致组织局部发炎,胆管增生、纤维化、胆管阻塞,引起肝组织脓肿、萎缩、坏死,以虫卵、死虫以及感染渗出物等中心体为核心形成胆结石,更进一步引发萎缩性肝硬化,甚至诱发癌变。因此及时进行诊断具有重要意义^[5]。

本文采用 3 种不同的方法对肝吸虫病进行检测,结果表明,改良加藤氏厚涂片法和 ELISA 对肝吸虫都有较好的诊断

结果,检出率分别为 83.1%和 81.6%,而直接涂片法的效果要稍微差些,检出率为 77.4%。

直接涂片法由于受到粪便采样量的限制,因此对于低度感染的患者,检出率受到一定的影响,而增大粪便采样量会使涂片太厚而不利于镜检。改良加藤氏厚涂片法由于采用了含孔雀绿的 50%的甘油代替传统的生理盐水,加上亲水玻璃纸代替盖玻片,操作简单,检出率要较直接涂片法高,因此,可以代替生理盐水直接涂片法作为临床粪便检查肝吸虫卵的常规检验方法而推广使用。虽然改良加藤氏厚涂片法具有很多优越性和先进性,但是对于轻度感染的人群,该方法一次性检出率较低,会出现大量假阴性。本文的病例中只有一次检出率 58.6%,为了提高该方法的检出率,可以增加送检单份样本的个数。本文的数据结果表明,3 次检查就可以得到在 95%可信区间 83.1%的检出率。因此,在实际操作过程中为了提高检测的敏感性,可以采用一类多检的方法来提高检出率。

ELISA 对肝吸虫的诊断率虽然也较高(81.6%),与改良加藤氏厚涂片在检出率差异无统计学意义。但是检测结果非常容易受到免疫抗原的影响,即抗原的好坏决定检测的敏感性和特异性。不同的抗原具有不同的问题,故 ELISA 不适合作为肝吸虫诊断的主要方法。

肝吸虫临床上无明显特征表示,只有在大量成虫堵塞胆总管引起腹痛或黄疸时才会引起重视。对于那些有吃生鱼历史的人,应该定期体检,做粪便病原学检查,及早发现病情及时治疗。

参考文献

[1] 李坊贞,张文斌. 人体肝吸虫病的地域分布特点和规律研究[J]. 赣南医学院学报,2008,28(2):297-300.
[2] 李晓林,智发朝,黄宝裕. 三种影像学检查对华支睾吸虫所致胆胰疾病诊断的对比研究[J]. 中华消化杂志,2005,25(10):583-585.
[3] 周长海,陈颖丹,许隆祺. 改良加藤厚涂片法定量板的 3 次改进[J]. 国际医学寄生虫病杂志,2011,38(5):318-320.
[4] 莫刚,卢柳艺,农林琳. 4 种方法检测肝吸虫感染的对比研究[J]. 华夏医学,2011,24(1):37-39.
[5] 于海龙,姜泰俊,孟庆瑞. 肝吸虫病的 CT 表现(附 48 例分析)[J]. 中国实用医药,2011,6(8):58-59.

(收稿日期:2012-06-02)

(上接第 2831 页)

细胞学图谱[M]. 北京:科学出版社,2006:83.
[6] 闵迅,陈丽华,骆科允. XT-1800i 血细胞分析仪不能提供完整血小板参数的原因及对策[J]. 现代检验医学杂志,2008,23(6):38-39.
[7] 丛玉隆,尹一兵,陈瑜. 检验医学高级教程[M]. 北京:人民军医出版社,2010:143.

[8] 中华医学会检验分会全国血液学复检专家小组,中华检验医学杂志编辑委员会. 全国血液学复检专家小组工作会议纪要暨血细胞自动计数复检标准释义[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(4):380-382.

(收稿日期:2012-06-14)