维普资讯 http://www.cqvip.com

283-284



# 快速鉴定卡氏肺孢子虫*

临床学院传染病寄生虫病研究所 倪小毅** 陈雅棠

**提 要** 本方法是一种检测卡氏肺孢子虫快速简便的方法,有利于卡氏肺孢子虫肺炎的诊断和治疗。采用过碘酸钠、GMS工作液染色,将经典的六亚甲基四胺银染色步骤简化为二步,染色时间缩短到几分钟,染色效果良好,卡氏肺孢子虫囊壁上的特征性括弧样结构很易察见。

**关键词** 卡氏肺孢子虫; 括弧样结构; 六亚甲基四胺银染色; 爱滋病
**中图分类号** R382.3

卡氏肺孢子虫肺炎(Pneumocystis Carinii Pneumonia, PCP) 是由卡氏肺孢子虫引起的一种主要发生于免疫缺陷病人肺部的严重并发症,特别在艾滋病人,肺孢子虫肺炎是主要的直接死亡原因。国外报告60%以上的艾滋病人以肺孢子虫肺炎为首发症状,至少有85%的艾滋病人在病程中发生肺孢子虫肺炎,早期诊断和治疗可延长病人的生命。由于卡氏肺孢子虫肺炎缺乏特异的临床症状和体症,它的确诊依赖于病原学诊断。因此,检测卡氏肺孢子虫的简便准确的方法,对该病的诊断治疗起着致关重要的作用。其中涂片染色是最基础而重要的方法之一,尤其是六亚甲基四胺银染色(Gomori's methnanime silvernitrate stain,GMS)法,可见包囊壁上特有的括弧样结构(parenthesis-like structure)能与真菌鉴别,具有确诊价值。但过去常规GMS染色法操作复杂,花费时间较长。我们将该法改良后达到省时,省力,简便易行。现报告如下:

## 1 材料与方法

1.1 **动物模型建立**[1] 纯系Wistar大鼠,由本校动物中心提供,雌性,200g左右。在敞开式鼠笼中用普通颗粒饲料喂养。于腹股沟区皮下注射地塞米松1mg/次/只,2次/周。同时在饮用水中加入四环素1mg/ml,预防细菌感染。用药后10周内陆续剖杀大鼠。以肺切面在洁净载玻片上印片,空气干燥后,甲醇固定3min,流水冲洗后凉干备用。

1.2 **快速GMS染色**

1.2.1 试剂 六亚甲基四胺 (重庆北碚化学试剂厂)
硝酸银 (天津市化学试剂二厂)
四硼酸钠 (重庆东方红试剂厂)
过碘酸钠 (北京化工厂)

将六亚甲基四胺配成3%溶液,硝酸银配成5%溶液,四硼酸钠配成5%溶液,过碘酸钠配成5%溶液,以上各溶液均用蒸馏水配制。

1.2.2 GMS工作液配制[2] 3%六亚甲基四胺100ml,加5%硝酸银5ml,充分混匀。取25ml上述混合液加25ml蒸馏水,再加2ml 5%四硼酸钠,混合后即成GMS工作液,该工作液应新鲜配制。

1.2.3 染色步骤 (1)5%过碘酸钠滴于已固定好的肺印片上,液体应完全盖住印片,在酒精灯火焰上加热30s左右,流水冲洗。如加热程度不好掌握,也可将印片浸于5%过碘酸钠溶液里3~4min,室温20℃左右,流水冲洗。(2)将GMS工作液滴于载玻片上,复盖印片范围,酒精灯火焰上加热,至玻片上印片处呈淡褐色即可(约30s左右),流水冲洗。新鲜配制试剂显色较快,如已配制数日的试剂可适当延长加热时间,仍能显色。在火焰上加热过程中如有试剂流失或挥发,应不断补充。(3)烤干或吹干,油镜下观察。

## 2 结果

2.1 肺孢子虫动物模型在第6周陆续死亡或剖杀的鼠肺中即可查见卡氏肺孢子虫,第10周剖杀全部剩余的大鼠肺中均可查见肺孢子虫。

2.2 肺组织染成淡红色。真菌染成棕黑色圆球形,无括弧样结构。

2.3 卡氏肺孢子虫的包囊壁呈淡褐色,清晰可见,圆形、椭圆形、月牙形或折叠状,部分包囊可见典型括弧样结构,为肺孢子虫特征性标志。囊内小体

* 国家自然科学基金资助(编号 89670658)
** 女,1959-08出生,讲师

维普资讯 http://www.cqvip.com



不染色。

## 3 讨论

目前在卡氏肺孢子虫肺炎的诊断中大多采用包囊染色法。常用的有姬姆萨(Giemsa)染色法[3]：虽可使囊内小体着色呈紫红色，但缺点是囊壁不着色，周围组织也染上相同颜色，缺乏对比，容易漏检。亚甲胺蓝染色(TBO)法[3]：标本中仅有少数散在包囊时，肺孢子虫和真菌很难区分，一般用于初筛。GMS染色法：该法最初系真菌染色法，后经Grocott改良用于卡氏肺孢子虫。Grocott[4]方法可使卡氏肺孢子虫与真菌同样着色，但在前者囊壁上可显示一对特征性的括弧样结构，而真菌没有该结构，以此可作为鉴别的标志。但该法费时费力，染一次需几个小时，操作步骤繁多。70年代以后，国外一些人在Grocott染色法的基础上进行了改良，如Charles等[5]用20min即可完成全过程。Musto等[6]，用10min完成染色。但这些染色方法都需使用铬酸、酸性硫酸钠、氯化金，及亮绿溶液对比染色，乙醇反复脱水，二甲苯透明等步骤。步骤越多，越不易掌握，影响因素也越多。我们将GMS染色法进一步改良，即主要为过碘酸钠氧化、GMS工作液染色、仅二个步骤就可在几分钟之内看到一张清晰的片子，且卡氏肺孢子虫囊壁特征性的括弧样结构同样能检出，在有少量包囊存在时也能与真菌相鉴别。该法简便易行，使用试剂少，既经济又快速，具有染色步骤少，影响因素少，容易掌握，成功率高的优点。用过碘酸钠代替铬酸作氧化剂，同时也免去了铬酸对人体的危害，以及对环境的污染。本法是目前染色步骤最少，染色时间最短的GMS染色法。即使在常规实验室也能进行，有利于卡氏肺孢子虫肺炎的诊断和早期治疗。

### 参 考 文 献

1. 安春丽，等.中国医科大学学报 1994; 32(5):421
2. Charles J et al. A.J.C.P. 1977;68(3):427
3. 刘约翰，等. 寄生虫病临床免疫学. 第1版. 重庆: 重庆出版社 1993;146
4. Grocott TG. Am J Clin Pathol 1955;25:975
5. Charles T, et al. Arch Pathol Lab Med, 1978;7(102):351
6. Musto L, et al. Arch Pathol Lab Med 1982;6(106): 292

(收稿日期 1998－11－17)

# Rapid detection of Pneumocystis carinii

*Ni Xiaoyi*, et al
Institute of infectios and parasitic diseases, college of clinical medicine

We have developed an easier and simplified method to detect P.carinii rapidly. It is useful for diagnosis and treatment . Using sodium periodate and methenamine silver solution, we shortened the classical methenamine silver stain to two steps and a few minutes. The effect of the stain was excellent. The parenthesis-like body of P.carinii on cyst walls was easily identified.

**KEY WORDS** Pneumocystis carinii; Parenthesis-like body; Methenamine silver stain; Acquired immunodeficiency syndrome(AIDS)