

# 腸道原蟲檢驗講義



審閱：李淑英主任  
攝影編排：許世芬

衛生福利部疾病管制署 編印

## Amebiasis

### 臨床症狀

- Intestinal amebiasis
  - 無症狀(Asymptomatic) ~90%
  - 輕微者：胃腸漲氣、便秘、軟便
  - 痢疾(dysentery)：腹痛、裏急後重、血便、噁心、嘔吐
  - 腸炎(Amebic colitis)
  - 肉芽腫(Ameboma)
- Extraintestinal amebiasis
  - 肝膿瘍(liver abscess)：發燒、腹痛
  - Lungs, brain, etc.

### 實驗室診斷

- Intestinal amebiasis:
  - 糞便檢體呈現痢疾阿米巴或
  - 腸道組織切片或潰瘍刮除呈現痢疾阿米巴活動體
- Extraintestinal amebiasis
  - 大腸以外組織切片呈現痢疾阿米巴活動體

潛伏期：2~4 週，亦可能為數天至數年。

### 傳染方式：

- 糞口(fecal-orally)
- 其他

## Epidemiology

- 全球每年四至五千萬amebic colitis及liver abscess病例，四萬至十一萬致死。
- 主要分布區域：墨西哥、南美洲西部、西非、南非、部分中東地區、南亞、東南亞。
- 雨季、水患、飲水及食物污染。
- 族群：病例接觸者、男同性戀、精神病院病人、啟智教養院院生、監獄犯人等。

## 台灣之阿米巴痢疾

- 高危險感染群：啟智教養院院生、精神療養院病人、男同性戀、赴疫區返國者、高山原住民。
- 通報病例：主要為外籍勞工、外籍新娘。
- 受聘僱外國人健檢管理辦法：入境及後續定期健檢，若糞便確診痢疾阿米巴陽性者可治療複檢。

## 疾病管制署寄生蟲實驗室阿米巴痢疾之檢驗業務

- 法定傳染病阿米巴性痢疾之確認檢驗。
- 阿米巴教學片、圖譜製作及協辦腸道原蟲鏡檢訓練。
- 外勞健檢醫院抽查複驗及協辦腸道原蟲鏡檢能力測試。

## 阿米巴性痢疾之危險群及特定檢查〈篩檢〉對象及範圍

- 曾與阿米巴性痢疾病人或長期帶原者接觸，或疑似被傳染；共同生活或食宿者；同行或同團旅遊者。

## 腸道原蟲之形態學及檢驗法

### Intestinal Amebae Protozoa:

#### Pathogenic ameba

- *Entamoeba histolytica*

#### Nonpathogenic amebae

- *E. dispar*
- *E. coli* (big sister)
- *E. hartmanni* (little brother)
- *E. polecki*
- *Endolimax nana*
- *Iodamoeba bütschlii*

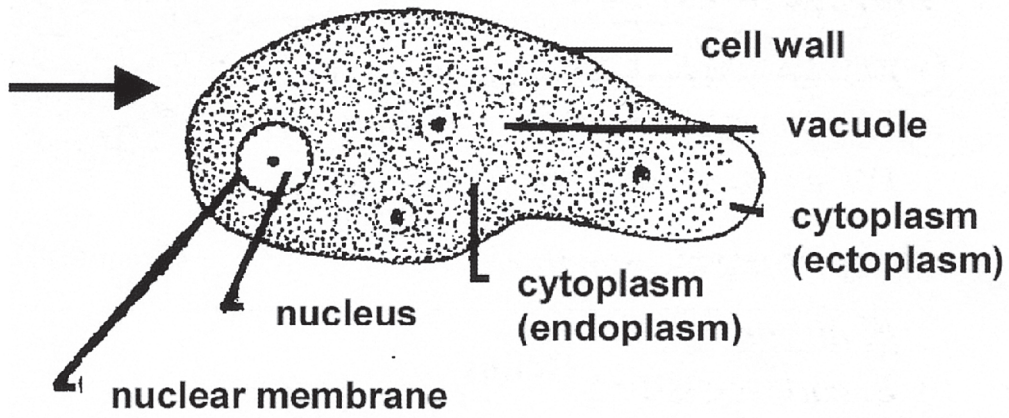
### 腸道阿米巴原蟲顯微鏡檢查

#### Six General Steps

1. Adjust Microscope
2. Find Organism
3. Identify Stage
4. Identify Genus
5. Identify Species
6. Fill Out Lab Report

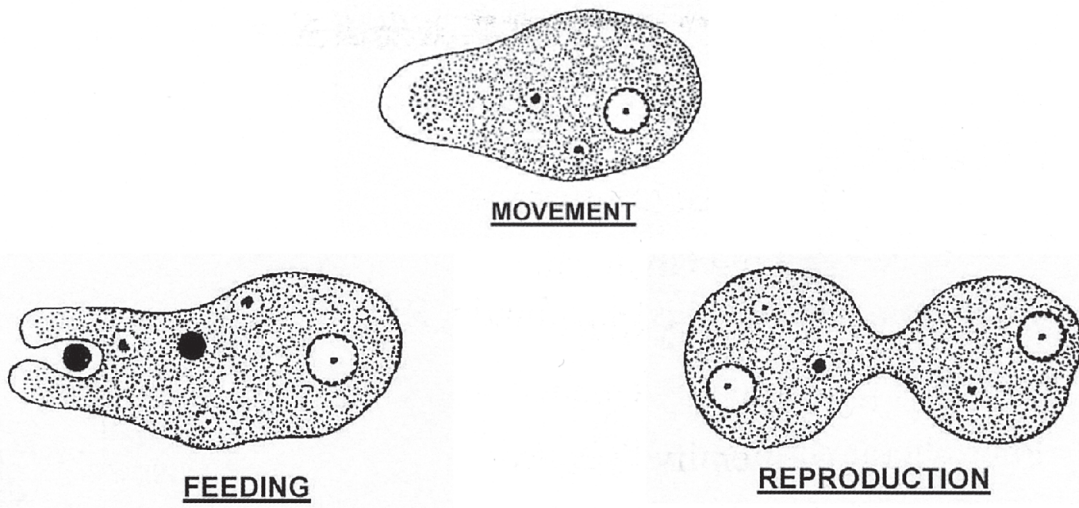
# 阿米巴原蟲之形態特徵

## 細胞結構特徵



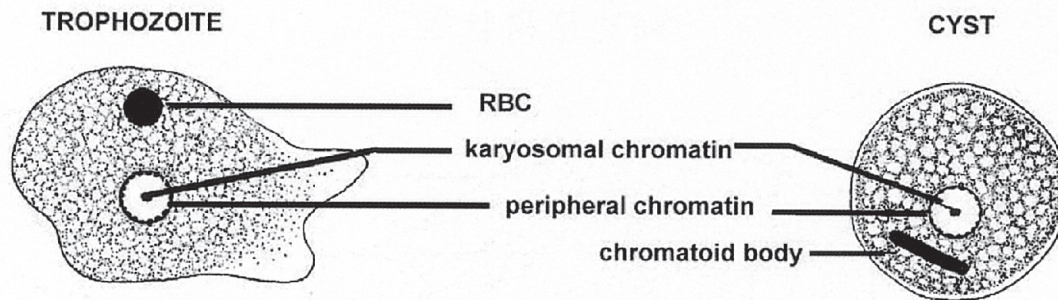
(From CDC, US)

## 細胞功能特徵



(From CDC, US)

## Stage (Trophozoite/Cyst)



(From CDC, US)

## Genus

- 細胞核內接近細胞膜處內是否有染色質 (Peripheral chromatin)
- 細胞質內是否具類染色體 (Chromatoid bodies)

## Species

下列各項之特徵：

- 核仁染色質

Karyosomal (nucleolus) chromatin, KC

- 核膜染色質

Peripheral chromatin, PC

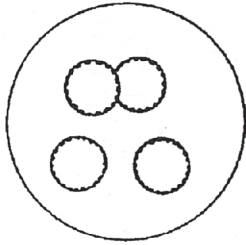
- 類染色體

Chromatoid bodies

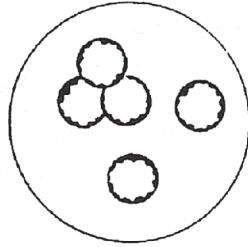
- 細胞質

Cytoplasm

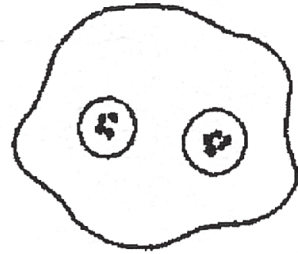
### Peripheral Chromatin (PC)



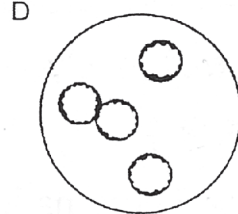
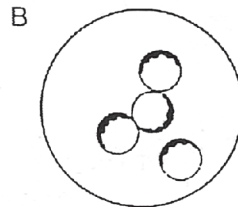
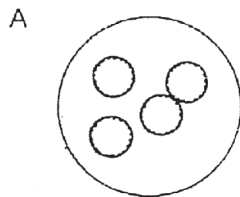
Fine and evenly dispersed  
小粒、均勻分布



coarse and irregular  
粗粒、不規則分布

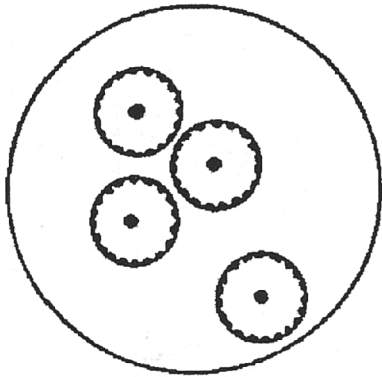


Missing  
無

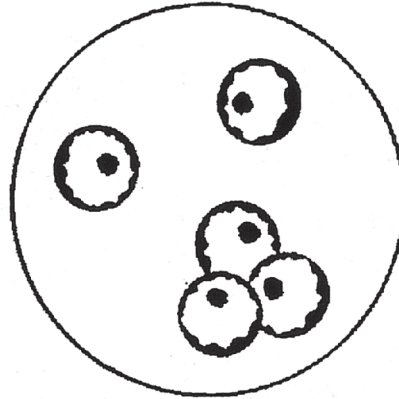


(From CDC, US)

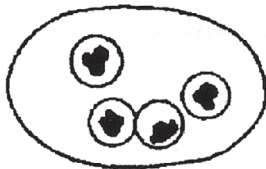
### Karyosomal Chromatin (KC)



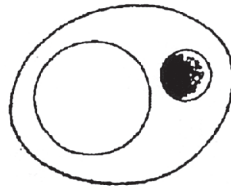
Small and centric  
小、位於中心



Large and eccentric  
大、偏離中心



Large and blot-like  
大、墨點狀



Large w/ acromatic  
granules  
大、週邊帶染色質顆粒

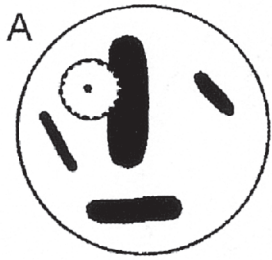


Broken and clumped  
破碎、聚集

(From CDC, US)



**Some cysts may have Chromatoid bodies**



Rod-shaped w/ round ends  
棒狀、圓形端



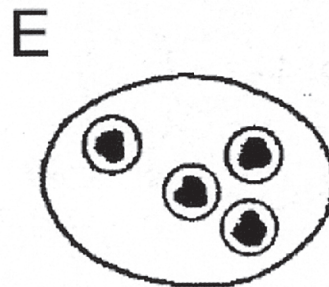
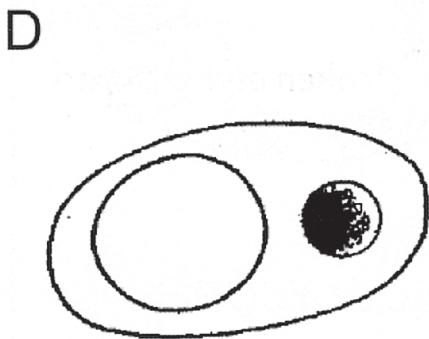
Splintered ends  
分岔端



Angular ends  
角狀端

(From CDC, US)

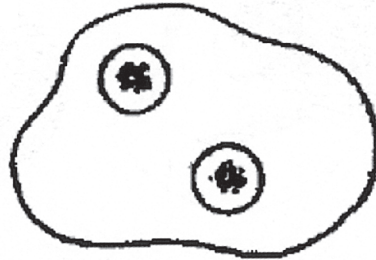
**Other cysts have no Chromatoid bodies**



(From CDC, US)

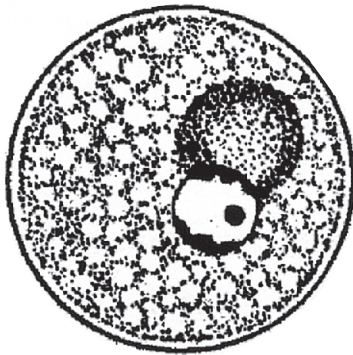
No Trophozoites has Chromatoid bodies

F

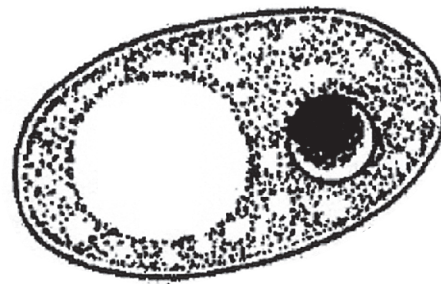


(From CDC, US)

Cyst CYTOPLASM



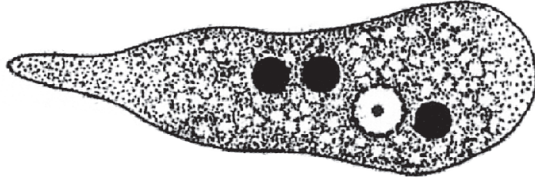
Large INCLUSION  
MASS near nucleus  
近核處有包含塊



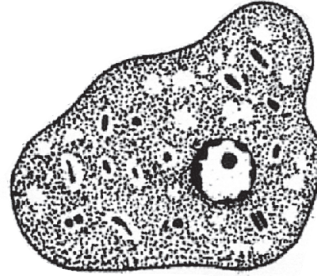
Large GLYCOGEN  
VACUOLE  
醣原塊

(From CDC, US)

## Trophozoite CYTOPLASM



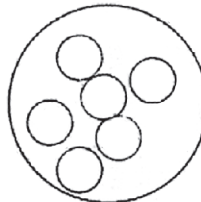
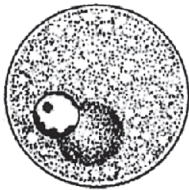
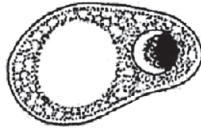
Ingested RBC 紅血球  
 Endo/Ectoplasm 內外質  
 Progressive Motility 活潑運動



Ingested bacteria  
 ("dirty" cytoplasm)

(From CDC, US)

## Cysts



僅有 cyst 具：

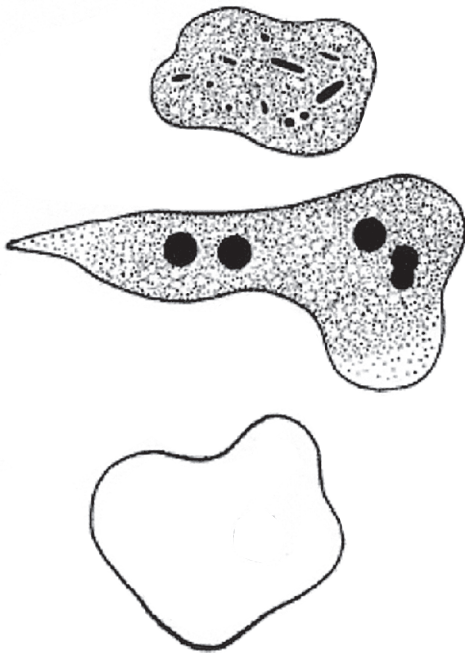
- 類染色體(chromatoid body)
- 醣原塊(glycogen vacuole)
- 包含塊(inclusion mass)

大部分 cyst 具：

- 光滑圓形細胞壁
- 超過一個核

(From CDC, US)

## Trophozoites



僅有 trophozoite

-含細菌、食物顆粒或紅血球

-變形蟲運動

大部分 trophozoite

-不規則形狀

-單核

(From CDC, US)

## Entamoeba or not?

GENUS *Entamoeba* → has PC and or chromatoid bodies

GENUS *Endolimax*  
*Iodamoeba*  
*Dientamoeba* → no PC or chromatoid bodies

GENUS	<i>Entamoeba</i>	OR	other
SPECIES	<i>histolytica</i> <i>hartmanni</i> <i>coli</i> <i>polecki</i>		<i>Endolimax nana</i> <i>Iodamoeba buetschlii</i>  <i>Dientamoeba fragilis</i>

(From CDC, US)

### *Entamoeba* 屬的各種原蟲

- *Entamoeba histolytica/dispar*      *E.h.*
- *Entamoeba hartmanni*              *E.h.*
- *Entamoeba coli*                        *E.c.*
- *Entamoeba polecki*                    *E.p.*

### *E. histolytica/dispar* vs. *E. hartmanni*

- 細胞形態學極相似
- *E. hartmanni* 不會吞噬紅血球
- 僅 size 可區分二者，*E. histolytica/dispar* 較 *E. hartmanni* 大
  - Wet mount
    - 10  $\mu\text{m}$  為 cyst 之界線
    - 12  $\mu\text{m}$  為 trophozoite 之界線
  - 永久染色者，細胞會萎縮至 80% 左右

*E.h., E.c., or E.p.*

	<i>E.h.</i>	<i>E.c.</i>	<i>E.p.</i>
KC	small centric	large eccentric	
PC	fine even	coarse irregular	
NUCLEI IN CYST*	1 - 4 (4 in mature cyst)	1 - 8 (8 in mature cyst)	1
CHRISMATOID BODIES IN CYST (if present)	rod-shaped rounded ends	irregular splintered ends	angular pointed ends
OTHER BODIES	RBC (in trophozoite)		inclusion mass (in cyst)
CYTOPLASM OF TROPHOZOITE		dirty cytoplasm (contains bacteria, food, particles, etc.)	
MOTILITY	progressive		

\*Cyst 僅具一核者無法區分；Trophozoite 只有一核。

(From CDC, US)

### 非 *Entamoeba* 屬的各種腸道阿米巴原蟲

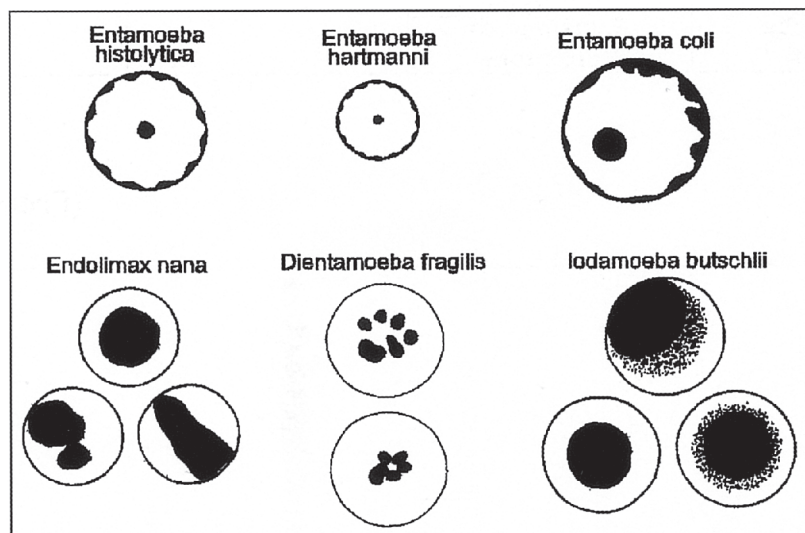
- *Endolimax nana*            *E.n.*
- *Iodamoeba buetschlii*    *I.b.*
- *Dientamoeba fragilis*    *D.f.*

- ✓ *D.f.* 之 trophozoite 有兩個核
- ✓ *D.f.* 僅有 trophozoite stage
- ✓ “fragile” – 破碎成兩核

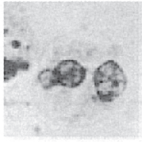

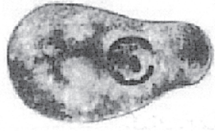

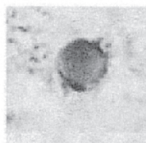



### *E.n.*, *I.b.*, or *D.f.*

	<i>E.n.</i>	<i>I.b.</i>	<i>D.f.</i>
KC		large with achromatic granules beside KC	
CYTOPLASM*		large glycogen vacuole in cyst(only suggestive)	
NUCLEI IN TROPHOZOITE	1		2**
NUCLEI IN CYST	4	1	

### Nuclear Morphology



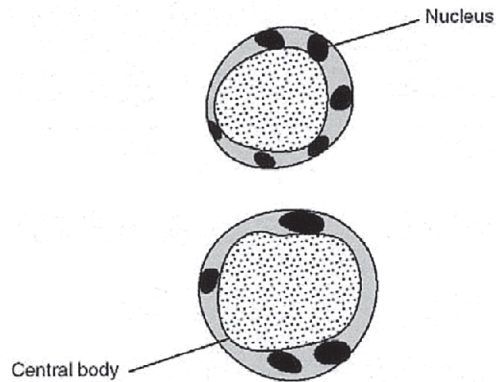
## Similar Organisms & Artifacts

ARTIFACT ↓	RESEMBLES ↓	but	artifact CYTOPLASM ↓	and	artifact NUCLEUS ↓
 polymorphonuclear leukocyte	 <i>E. histolytica</i> cyst		is less dense		is coarser, more elongated
 epithelial cell	 trophozoite of <i>E. coli</i> and <i>polecki</i>		is more granular, not as vacuolated; has no ingested particles		is coarser, larger
 plant cell ( <i>Blastocystis hominis</i> )	 cysts (many species)		has larger central vacuole or mass		has several granules around edge of cell
 macrophage (stained)	 when unstained, <i>E. histolytica</i> trophozoite		is coarser with less distinctive pseudopodia		is larger with chromatin particles

(From CDC, US)



## 人芽囊原蟲 (*Blastocystis hominis*)



- Yeasts, fungi, or ameboid, flagellated, or sporozoan protozoa.
- Tramenopiles, as a group of protists including brown algae, diatoms, chrysophytes, slime molds, etc.
- Pathogenic

## 報告書寫

- 格式：
  - 原蟲甲， Stage；原蟲乙， Stage.....
- 範例：
  - *Entamoeba histolytica*/*E. dispar*, cyst 或
  - 疑似痢疾阿米巴，囊體
- 400X 鏡檢可能無法鑑定原蟲囊體至種 (species) 層次。

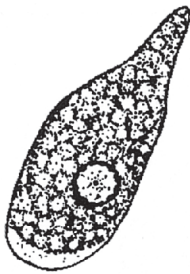




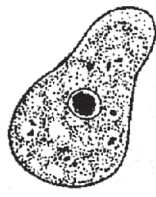







### 常見腸道阿米巴原蟲之學名及中文譯名

- *Entamoeba histolytica/E. dispar* (疑似痢疾阿米巴)
- *Entamoeba hartmanni* (哈氏阿米巴)
- *Entamoeba coli* (大腸阿米巴)
- *Entamoeba polecki* (波列基阿米巴)
- *Endolimax nana* (微小阿米巴)
- *Iodamoeba bütschlii* (嗜碘阿米巴)
- *Dientamoeba fragilis* (雙核阿米巴)
- *Blastocystis hominis* (人芽囊原蟲)

### 腸道寄生蟲檢驗法 (糞便檢體)

- 顯微鏡形態檢查：直接法；極度依賴人員經驗。
  - MIF；用於篩檢
  - PVA/Trichrome stain
- ELISA 試劑：間接法；快速、便利；用於篩檢
- PCR 分子檢測：直接/間接法；依賴技術、設備

**Figure 1**  
**PROTOZOA FOUND IN STOOL SPECIMENS OF HUMANS**

AMEBAE							
	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Entamoeba hartmanni</i>	<i>Entamoeba coli</i>	<i>Entamoeba polecki</i> <sup>1</sup>	<i>Endolimax nana</i>	<i>Iodamoeba bütschlii</i>	<i>Dientamoeba fragilis</i> <sup>2</sup>
Trophozoite							
Cyst							No cyst

<sup>1</sup>Rare, probably of animal origin  
<sup>2</sup>Flagellate

Scale: | 0 5 10 μm

Adapted from Brooke and Melvin, 1964

**Figure 2**  
**PROTOZOA FOUND IN STOOL SPECIMENS OF HUMANS**

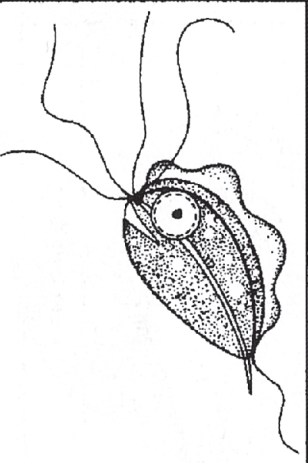
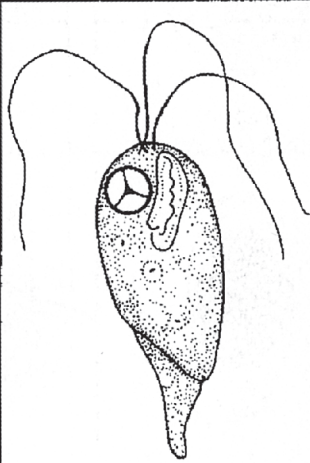
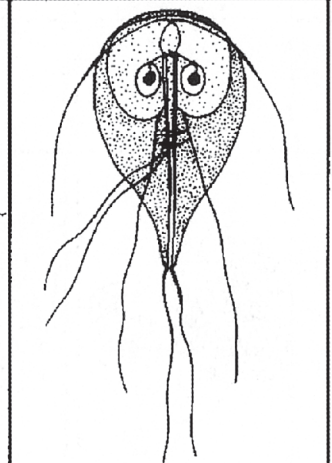
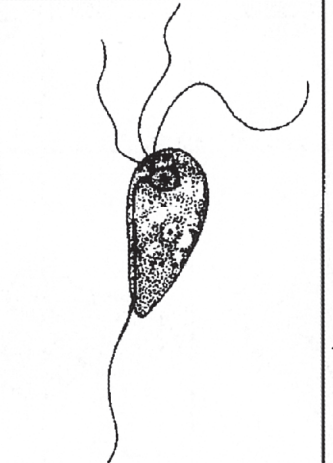
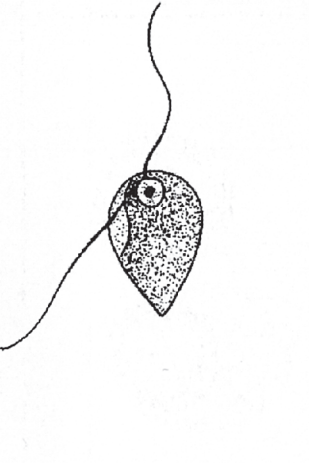
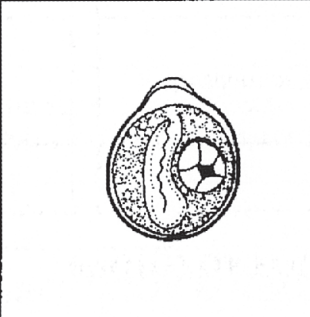
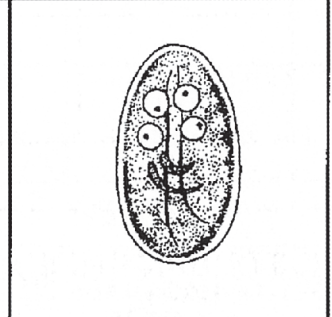
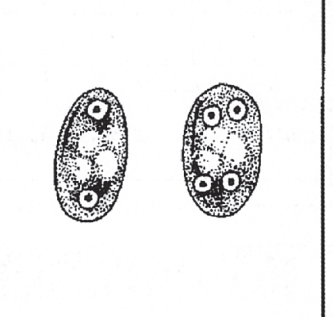
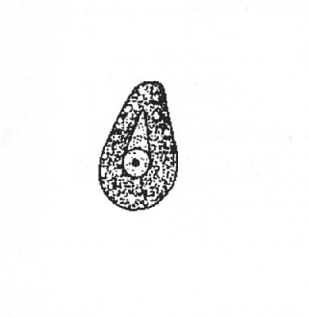
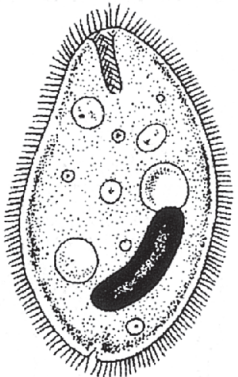



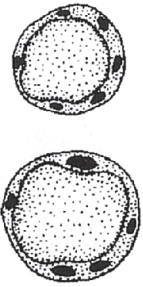
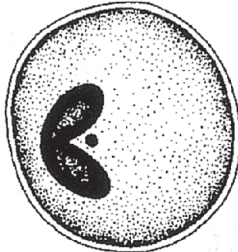


FLAGELLATES					
	<i>Trichomonas hominis</i>	<i>Chilomastix mesnili</i>	<i>Giardia lamblia</i>	<i>Enteromonas hominis</i>	<i>Retortamonas intestinalis</i>
Trophozoite					
Cyst	No cyst  Scale: 0 5 10 μm				

Figure 3  
PROTOZOA FOUND IN STOOL SPECIMENS OF HUMANS

CILIAE		COCCIDIA			BLASTOCYSTIS
	<i>Balantidium coli</i>	<i>Isospora belli</i>	<i>Sarcocystis</i> spp.	<i>Cryptosporidium</i> spp.	<i>Blastocystis hominis</i>
Trophozoite					
Cyst					
	0 20 40 $\mu m$	Scale: 0 10 20 30 $\mu m$			Scale: 0 10 20 $\mu m$

## 致病性阿米巴症之鑑別檢驗

### 腸道阿米巴原蟲

#### Pathogenic ameba 致病性阿米巴

- *Entamoeba histolytica*

#### Nonpathogenic amebae 非致病性阿米巴

- *E. dispar*
- *E. coli*
- *E. hartmanni*
- *Endolimax nana*
- *Iodamoeba bütschlii*

### 痢疾阿米巴分類史

- 1875 人類病例鑑定 (Lösch)
- 1903 命名 *E. histolytica* (Schaudinn)
- 1913 *E. histolytica* 為致病原 (Walker & Sellards)
- 1925 非致病株: *E. dispar* (Brumpt)
- 1961 無菌培養成功 (Diamond)
- 1978 以 zymodeme pattern 分析區分兩「種」*E. histolytica* : P and NP (Sargeant)
- 1986 Isoenzymes pattern 會隨培養條件改變 (現證明為誤) (Mirelman)
- 1993 提出致病與非致病阿米巴原蟲為兩個「物種」之原蟲 (Diamond & Clark)
- 1997 WHO: amoebiasis 為 *E. histolytica* 之感染症；非致病之原蟲命名為 *E. dispar*

## 結論

WHO 1997

WHO/PAHO/UNESCO Expert Consultation on Amoebiasis  
(Jan. 28-29, 1997, Mexico City). *W. Epidemiol Rec* 72:97-100, 1997.

- 生化、免疫及遺傳證據指出有兩種符合以前所謂以 *E. histolytica* 形態描述之原蟲，一為 *E. histolytica*，另一者為 *E. dispar*；

只有 *E. histolytica* 能造成侵入性病變，生物學名 *E. histolytica* 應僅限用於致病之那一種阿米巴原蟲。

- 檢驗法為鏡檢時，因無法區分 *E. histolytica* 與 *E. dispar*，檢驗報告應載明為「*E. histolytica/E. dispar*」。
- 糞便檢體鏡檢時若發現吞噬紅血球之營養體，或是組織切片中發現營阿米巴營養體，與 *E. histolytica* 之存在並侵入組織現象相關。
- WHO 之阿米巴感染症 (amebiasis) 定義修正為 *E. histolytica* (新定義的) 之感染，而不論是否有臨床上的症狀發生。

## 建議

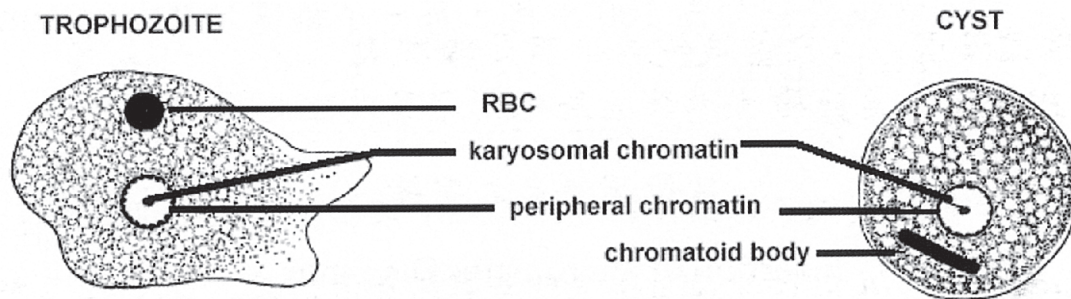
WHO 1997

- 應清楚鑑別 *E. histolytica* 再投藥治療。
- 針對無症狀者，如果只檢測到 *E. histolytica/E. dispar*，不應投藥治療，除非另有理由懷疑其為痢疾阿米巴之感染。
- 針對有症狀之病人，如果檢驗結果為 *E. histolytica/E. dispar*，不應假設 *E. histolytica* 為病症的原因，應另尋其他病因。
- 抗痢疾阿米巴藥物有兩類：組織抗阿米巴藥（如 5-nitromidazole）及腔道抗阿米巴藥（如 diloxanide、furoate 和 paromomycin），侵入性阿米巴病應先以組織抗阿米巴藥治療後，隨後再投予腔道抗阿米巴藥。
- 無須採預防性投藥。

## 目鏡測微尺校正及顯微測量法

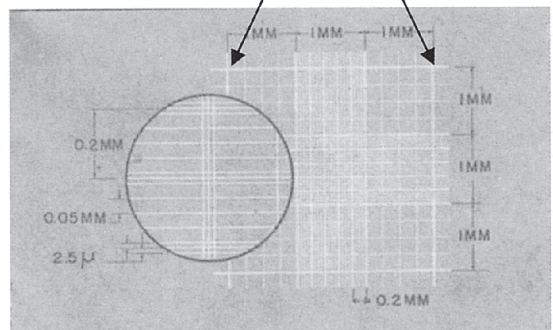
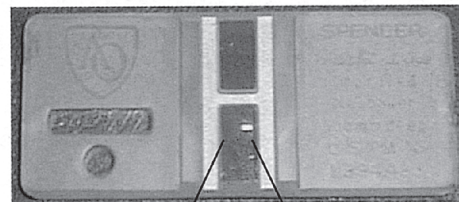
### 原蟲鑑別之要點

- 整體形狀
- 細胞核數目、染色質之型態
- 細胞質之內涵物
- 大小(長度 / 直徑)
- 生活史階段鑑別
- 屬之鑑別
- 種之鑑別



### 顯微測量法

- 比較法：
  - 粗估，紅血球(約 7.5  $\mu\text{m}$ )
- 血球記數器
- 目鏡測微尺測量



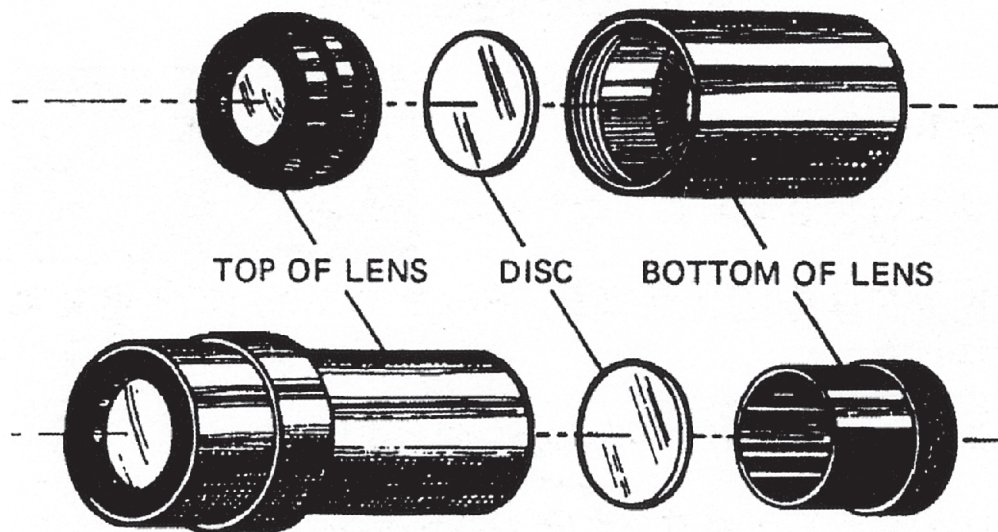


## 測微尺之種類

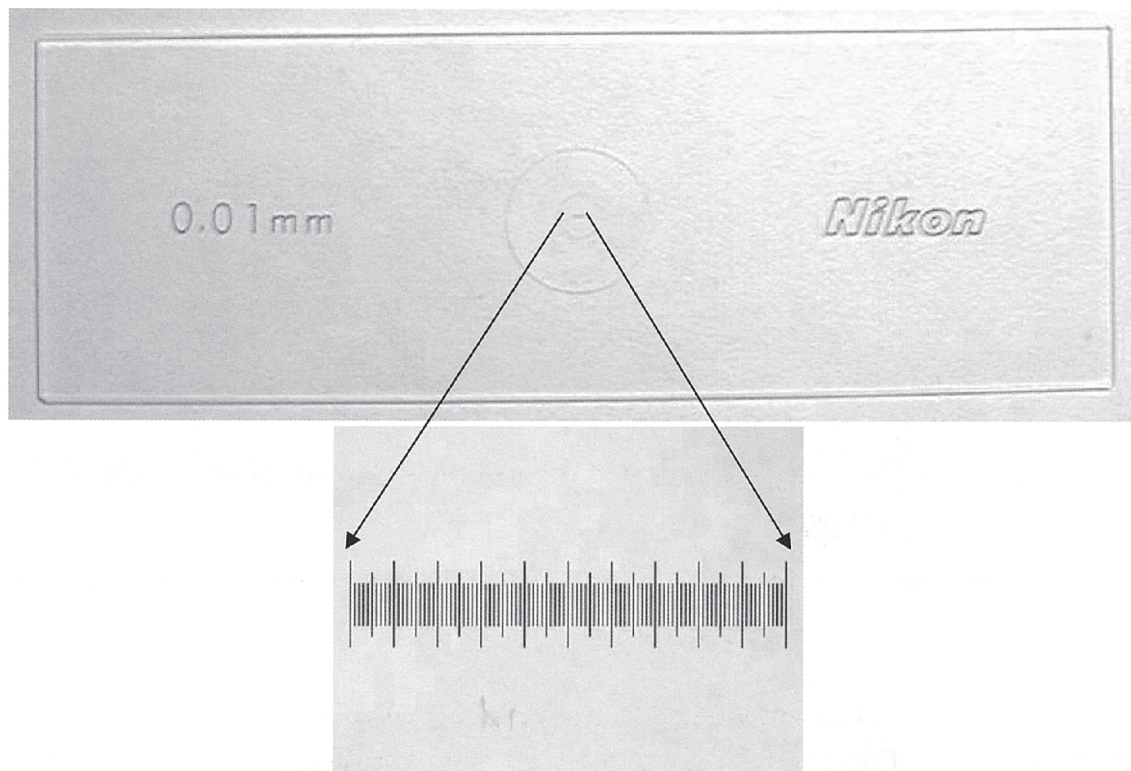
- 目鏡測微尺
  - 直徑為 20 mm 的圓形玻片，
  - 玻片上有一段劃分為 100 (或 50) 小格的線段
  - 每一小格寬度是未知的
- 載物台測微尺
  - 長方形的玻片，玻片上有一段 1 毫米(mm)的線段，該線段劃分為 100 小格，每一小格寬度是 0.01 mm (=10  $\mu$ m)

## 目鏡測微尺之安裝

### Insertion of Micrometer Disc into Ocular of Two Types of Microscopes



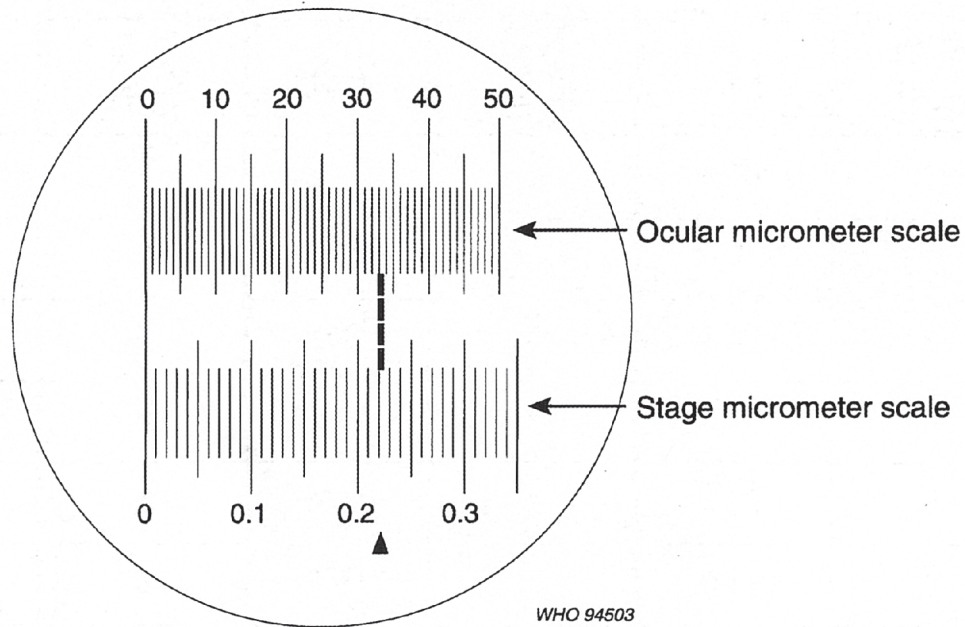
## 載物台測微尺



## 目鏡測微尺之校正步驟

- 安裝目鏡測微尺。
- 置放載物台測微尺，選定物鏡，調焦。
- 使兩測微尺於“0”端重疊，再分別紀錄另一端重疊處之單位格數。
- 依低倍、高倍及油鏡物鏡順序分別校正。
- 經公式換算，將校正數值紀錄於表格上。
- 載物台測微尺之格線寬度會隨放大倍率增加而增加，可選定格線之邊緣或中央與目鏡測微尺對齊。

## 目鏡/載物台測微尺顯微鏡下重疊



### 公式換算

#### 公式

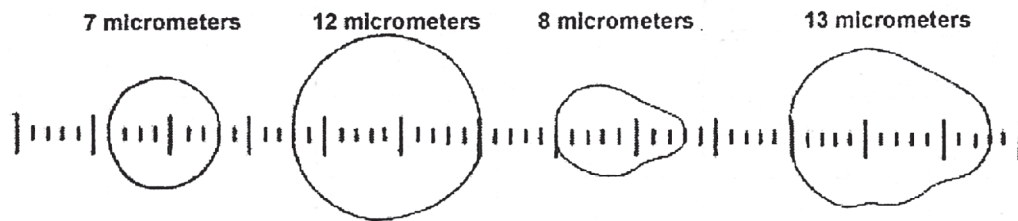
$$\frac{\text{載物台測微尺讀數(mm)}}{\text{目鏡測微尺讀數(單位格數)}} \times \frac{1,000 \mu\text{m}}{1 \text{mm}} = \text{目鏡測微尺單位長度}(\mu\text{m})$$

#### 範例

$$\frac{0.22 \text{mm}}{33} \times \frac{1,000 \mu\text{m}}{1 \text{mm}} = 6.6 \mu\text{m}$$

### 顯微測量要點

- 圓形
  - 測其直徑
- 橢圓及不規則形狀
  - 測其縱軸長度



### *E. histolytica/E. dispar* 及 *E. hartmanni* 之鑑別

- Wet mount:
  - Cyst: >10  $\mu\text{m}$  *E. histolytica/dispar*  
<10  $\mu\text{m}$  *E. hartmanni*
  - Trophozoite: >12  $\mu\text{m}$  *E. histolytica/dispar*  
<12  $\mu\text{m}$  *E. hartmanni*
- Permanent stain:
  - Cyst: >8  $\mu\text{m}$  *E. histolytica/dispar*  
<8  $\mu\text{m}$  *E. hartmanni*
  - Trophozoite: >10  $\mu\text{m}$  *E. histolytica/dispar*  
<10  $\mu\text{m}$  *E. hartmanni*

## MIF 固定、染色及濃縮法

### Merthiolate-iodine-formaldehyde Concentration Method

#### MIF 配方

1. 魯氏碘液 (Lugol's Iodine Solution) :

2. M 儲存液:

Merthiolate..... 1 g  
95% Ethanol..... 500 ml  
Acetone..... 100 ml  
Eosin..... 2 g  
以上加蒸餾水至 1,000 ml

3. MF 儲存液:

M 儲存液.....200 ml  
蒸餾水.....250 ml  
Formaldehyde (37%) ...25 ml  
Glycerol.....5 ml

#### MIF 配製

- 將 MF 儲存液與魯氏碘液以 15:1 的比例混合均勻。
- MIF 需新鮮配製使用。

# MIF 染色、固定及濃縮法

## Merthiolate-iodine-formaldehyde concentration method

### MIF 目的：

供檢查感染腸道寄生蟲患者糞便中蠕蟲蟲卵及原蟲(滋養體及囊體)之染色和固定與鑑定之用

### MIF 原理：

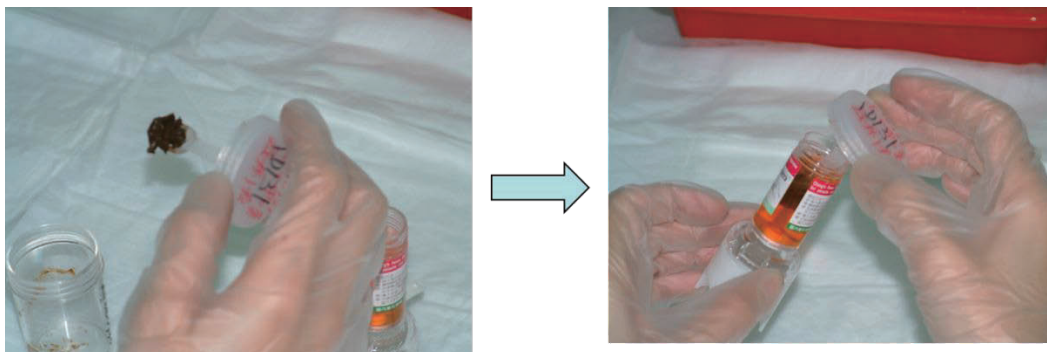
利用 Merthiolate 可阻斷細胞之代謝作用及原蟲細胞核有嗜碘性之特性而 5%Formalin 可固定細胞並利用 Eosin-Y 的紅色去襯托細胞背景

### MIF 配製：

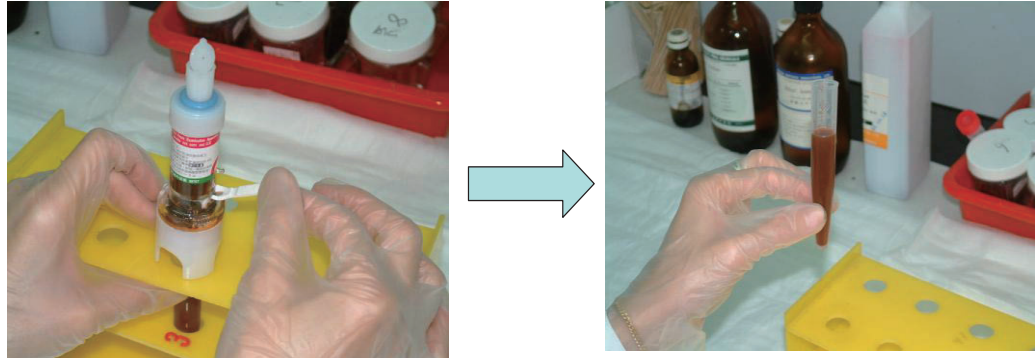
MIF 染色液配方為 MF 儲存液：魯氏碘液=15：1 之比例  
(MIF 配製後勿置放超過 24 小時，碘液會揮發而效果遞減)

### 操作步驟：

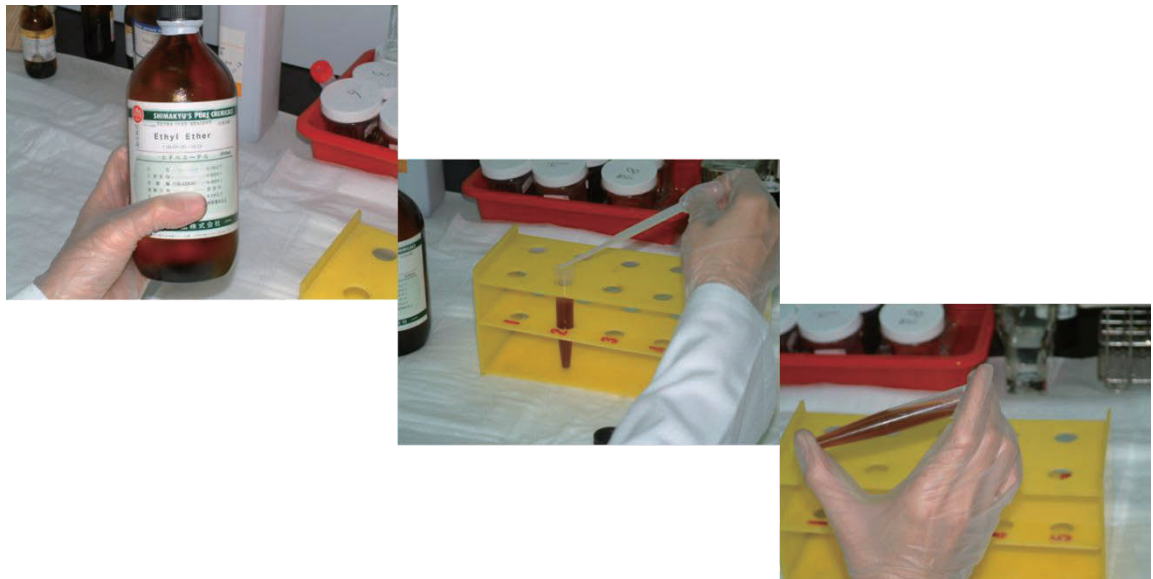
1. 1g 糞便 (約拇指頭大小，解出不超過 1hr)放入呈有 10cc MIF 溶液之集卵瓶，充分攪拌均勻後放置室溫 2 小時以上固定&染色，**overnight** 呈色更好。



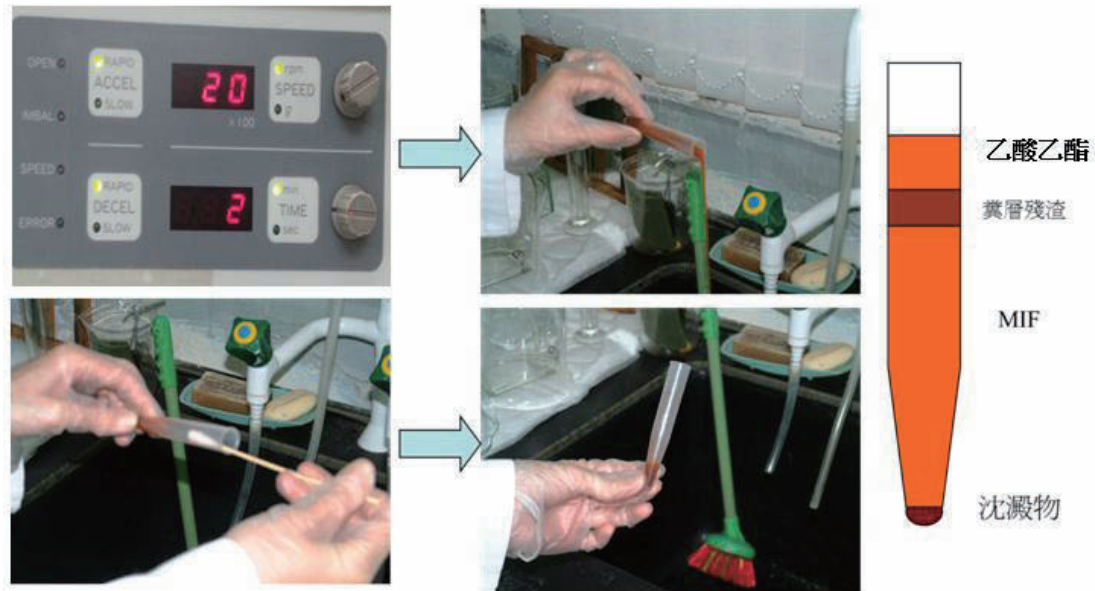
2. 以集卵瓶的濾網過濾之，將濾液注入 10cc 離心管內，應達 7~8ml，未達時再補加入 MIF solution 至 7-8 ml 即可。



3. 加乙酸乙酯(Ethyl Acetate) 0.5~1 ml，用蓋子蓋住管口，上下強力震盪至少 30 秒(或 15 次至 30 次)。



4. 離心 2000rpm，2 分鐘，將上清液丟棄，留沈渣約 0.5~1 ml，再以棉花棒擦拭管壁周圍，以免上層液回流。



5. 以吸管吸取沉渣物鏡檢之



#### 試劑品管：

1. 取尿沉渣管(已確知內含 WBC 或 Epithelial cell)約 0.6ml 沉渣當品管檢體。
2. 將 MIF 6ml 加入 0.6ml 尿沉渣細胞內(10:1)染色 3 分鐘。
3. 顯微鏡鏡檢，若細胞染成粉紅色即為染液品管通過。



## MIF 染色形態學

### MIF 染色腸道阿米巴原蟲可見之形態特徵

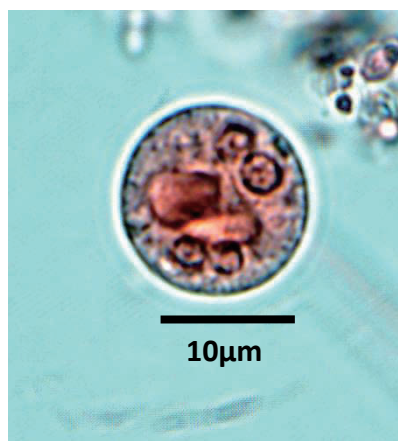
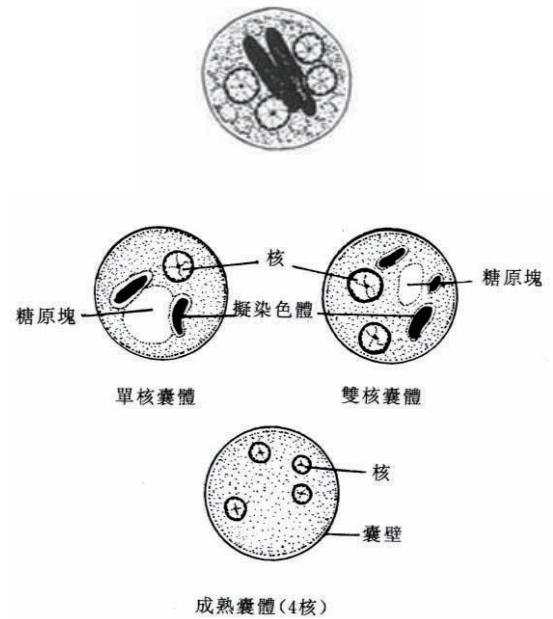
形態特徵	Trophozoites	形態特徵	Cysts
Motility		Nuclei	+
Cytoplasm		Chromatoid bodies	+
Appearance	+	Glycogen	+
Inclusions	+		
Nucleus	+		

### MIF 染色腸道鞭毛蟲可見之形態特徵

形態特徵	Trophozoites	形態特徵	Cysts
Motility		Shape	+
Shape	+	Nuclei	+
Nucleus	+	Fibrils	+
Flagella	+/-		
Others	+		

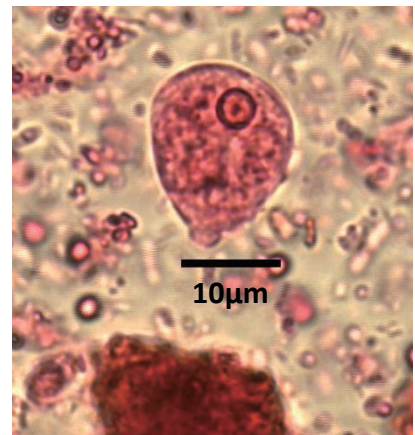
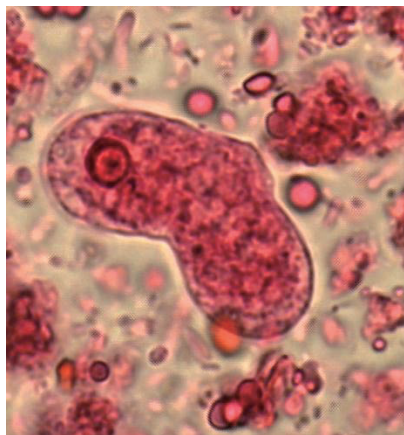
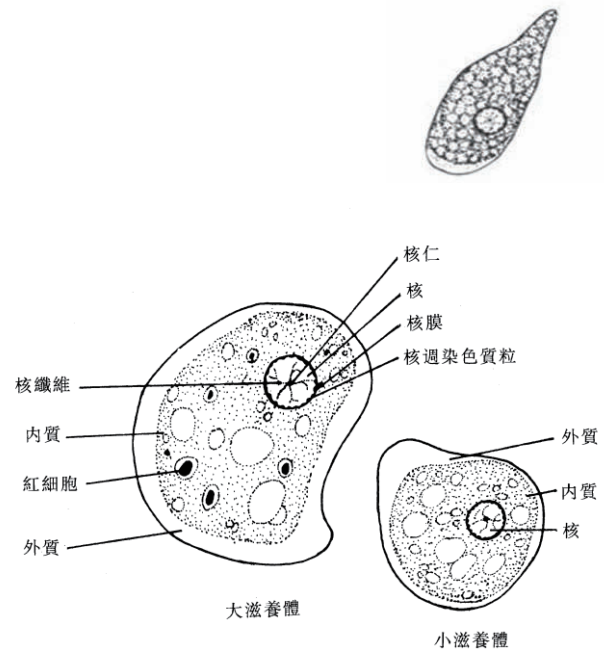
## *Entamoeba histolytica/E. dispar* cyst

- 10~20  $\mu\text{m}$ (常見 12~15  $\mu\text{m}$ )
- 外形呈圓球狀。
- 1~4 個核，未成熟囊體 1~2 個核，不常見。
- PC 顆粒細緻，通常大小一致且分布均勻。
- 核仁(KC)小，密實或分散的，
- 通常居中，偶而偏心。
- 類染色體呈長棒形，邊緣圓鈍。
- 糖原塊通常呈散佈狀，年輕囊體呈塊狀。



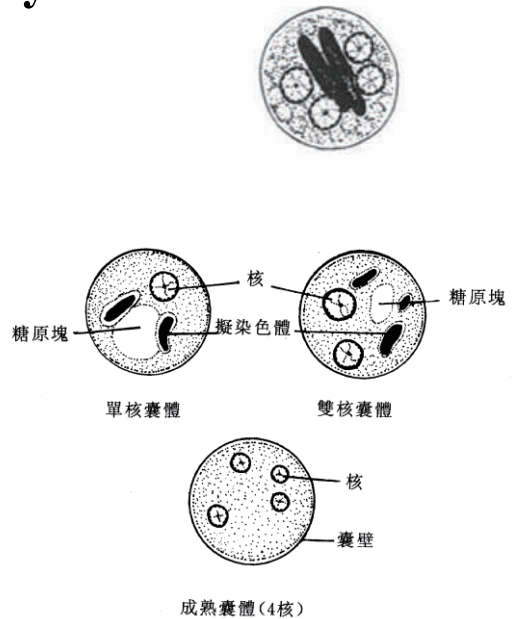
## *Entamoeba histolytica*/*E. dispar* trophozoite

- 10~60  $\mu\text{m}$ (常見 15~20  $\mu\text{m}$ )
- 單核
- 核周染色質(PC)顆粒細緻，通常大小一致且分布均勻。
- 核仁(KC)小，密實或分散的，通常居中，偶而偏心。
- 胞質外觀呈細緻顆粒狀，內含細菌或 RBC。
- Hematophagous：*E. histolytica* 特有



## *Entamoeba hartmanni* cyst

- 5~10  $\mu\text{m}$ (常見 6~8  $\mu\text{m}$ )
- 外形呈圓球狀
- 1~4 個核，未成熟囊體 1~2 個核，也常見。
- PC 顆粒細緻，通常大小一致且分布均勻。
- 核仁(KC)小，密實或分散的，通常居中，偶而偏心。
- 類染色體呈長棒形，邊緣圓鈍。
- 醣原塊通常呈散佈狀，年輕囊體呈塊狀。



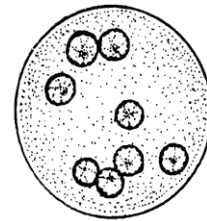
## *Entamoeba hartmanni* trophozoite

- 5~12  $\mu\text{m}$ (常見 8~10  $\mu\text{m}$ )
- 單核
- PC 顆粒細緻，通常大小一致且分布均勻
- 核仁(KC)小，密實或分散的，通常居中，偶而偏心
- 細胞質呈細緻顆粒狀內含細菌

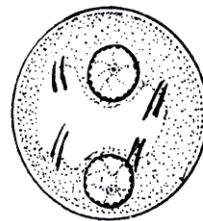


## *Entamoeba coli* cyst

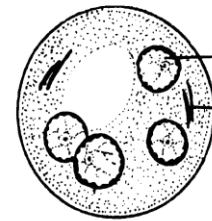
- 10~35  $\mu\text{m}$ (常見 15~25  $\mu\text{m}$ )
- 通常呈圓形，因固定液較難進入，偶而呈卵形、三角形或其他形狀。
- 1~16 核，8 個核常見，偶爾可見不成熟 2 核囊體。
- PC 顆粒粗，大小不一且分布不均勻，但較活動體分布均勻。
- KC 大，分散或密實的，通常偏心，偶而居中。
- 類染色體較不常出現，通常成裂片狀，尖形末端。
- 醣原塊通常呈散佈狀，未成熟囊體有清楚之質塊。



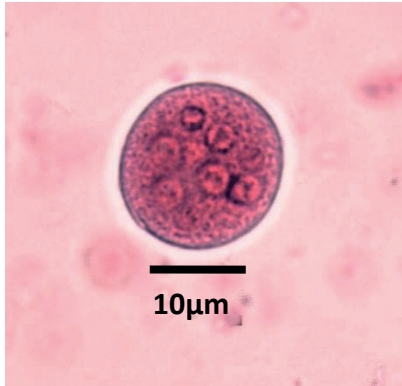
成熟囊體(8核)



未成熟囊體(雙核)



未成熟囊體(4核)



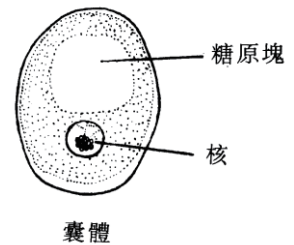
## *Entamoeba coli* trophozoite

- 15~50  $\mu\text{m}$ (常見 20~25  $\mu\text{m}$ )，單核。
- PC 顆粒粗，大小不一且分布不均勻，或形成一粗黑環。
- KC 大，分散或密實的，通常偏心，偶而居中。
- 細胞質呈粗顆粒狀內含細菌，常具空泡。



## *Iodamoeba bütschlii* cyst

- 5~20  $\mu\text{m}$  (常見 10~12  $\mu\text{m}$ )
- 呈卵形、長橢圓形、三角形或其他形狀。
- 單核
- 沒有 PC
- KC 很大，通常居中，有時週邊圍繞著會屈光之非染色質顆粒。
- 類染色體呈顆粒狀
- 醣原塊通常呈清楚之密實質塊



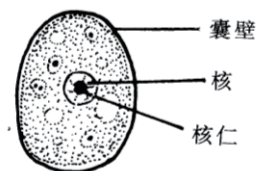
## *Iodamoeba bütschlii* trophozoite

- 8~20  $\mu\text{m}$  (常見 12~15  $\mu\text{m}$ )
- 單核
- 沒有 PC
- KC 很大，通常居中，有時週邊圍繞著會屈光之非染色質顆粒。
- 細胞質呈粗顆粒狀內含細菌，酵母菌，可見空泡。



## *Endolimax nana* cyst

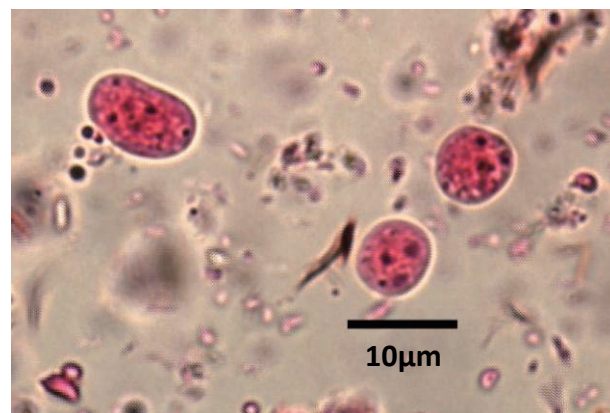
- 5~10  $\mu\text{m}$ (常見 6~8  $\mu\text{m}$ )
- 呈圓形、卵形或長橢圓形
- 1~4 核，少於 4 核之不成熟囊體少見。
- 沒有 PC
- KC 很大，呈不規則之墨點狀，通常居中。
- 類染色體呈顆粒狀或小卵形質塊
- 醣原塊通常呈散佈狀



囊體(單核)

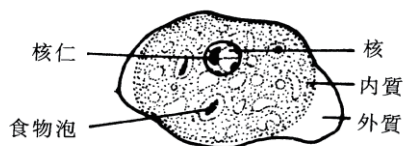


成熟包整(4核)



## *Endolimax nana* trophozoite

- 6~12  $\mu\text{m}$ (常見 8~10  $\mu\text{m}$ )
- 單核
- 沒有 PC
- KC 很大，呈不規則之墨點狀。
- 細胞質呈顆粒狀內含細菌，可見空泡。

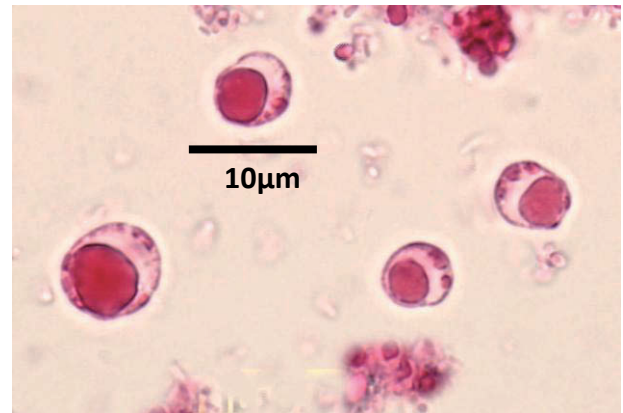
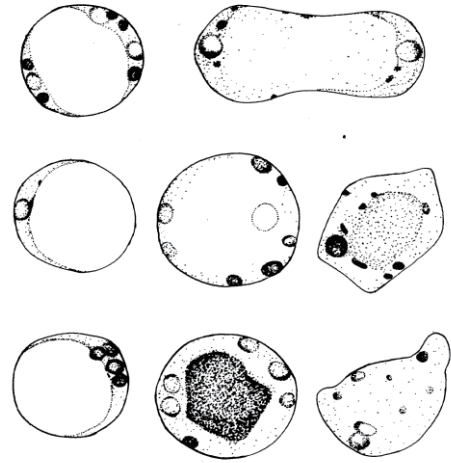


滋養體



## *Blastocystis hominis*

- 生活史仍不清楚
- 5~30  $\mu\text{m}$ (常見 8~10  $\mu\text{m}$ )
- 呈圓形、卵形或長橢圓形。
- 核位於細胞質邊緣，1~4 核，常見單核，2~4 核次之。
- 細胞中央有一大空泡(central body)將核及顆粒擠到細胞邊緣形成環形。



## *Dientamoeba fragilis* trophozoite

- 為一種鞭毛蟲
- 生活史沒有囊體階段
- 5~15  $\mu\text{m}$ (常見 9~12  $\mu\text{m}$ )
- 鞭毛不可見
- 雙核或單核(只占 20%)
- 沒有 PC
- 裂成碎片之 KC，或呈 4~8 顆粒之叢集
- 細胞質呈細顆粒狀內含細菌





## *Giardia lamblia* cyst

- 8~19  $\mu\text{m}$ (常見 11~12  $\mu\text{m}$ )
- 呈卵形或長橢圓形
- 4 個核，通常位於一側。
- 鞭毛縱向位於囊體中
- 纖毛常側向或斜向交岔置於囊體較低部位
- 細胞質經常從細胞壁處往內縮

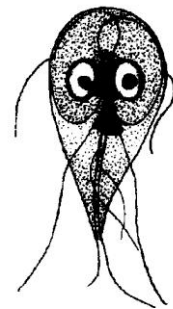


成熟囊體(4核)



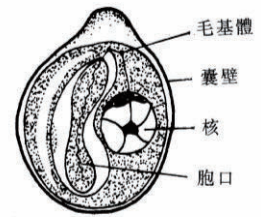
## *Giardia lamblia* trophozoite

- 10~20  $\mu\text{m}$ (常見 12~15  $\mu\text{m}$ )
- 呈梨形
- 雙核
- 鞭毛-側鞭毛 4 根、軸(腹)鞭毛 2 根、尾鞭毛 2 根。
- 吸盤占腹部表面積 1/2~3/4
- 中央體水平或斜向置於吸盤下方



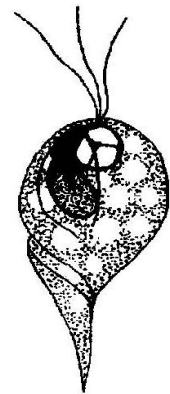
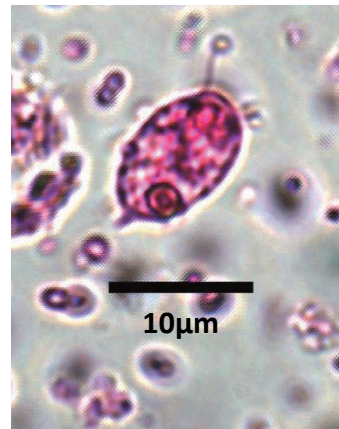
## *Chilomastix mensnili* cyst

- 6~10  $\mu\text{m}$ (常見 8-9  $\mu\text{m}$ )
- 呈檸檬形，前端帶有透明球型突出物
- 單核
- 胞體帶有支持纖毛

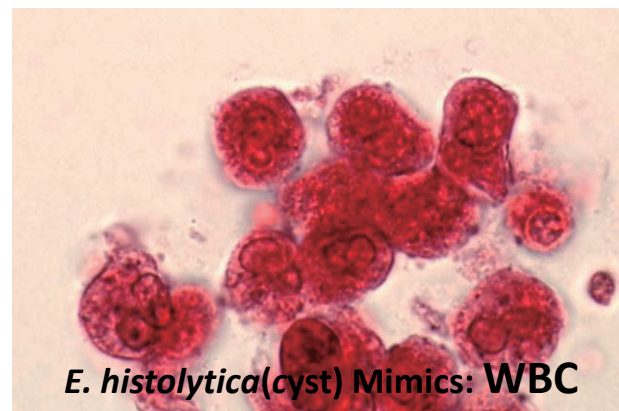
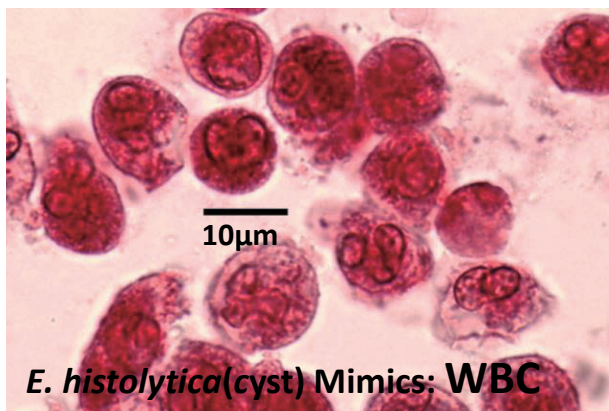


## *Chilomastix mensnili* trophozoite

- 6~24  $\mu\text{m}$ (常見 10-15 $\mu\text{m}$ )
- 呈梨形
- 單核
- 鞭毛-前側鞭毛 3 根、胞體鞭毛 1 根。
- 胞體之突出向下延伸 1/2~1/3 胞體長
- 螺旋型溝紋銜越腹部表面



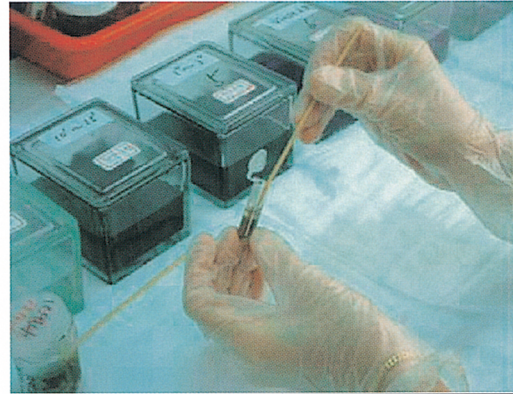
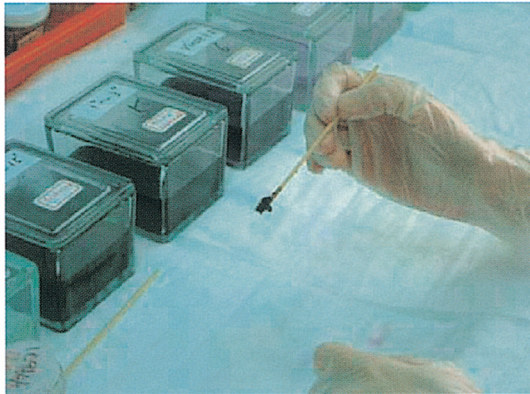
## Artifact-WBC (White Blood Cell)



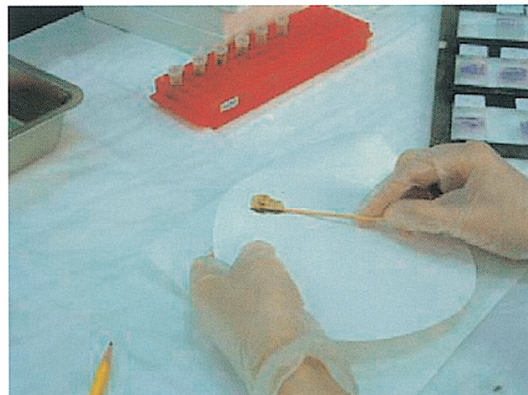
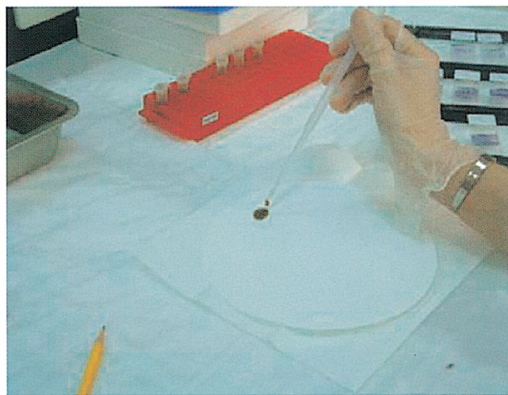
## PVA 固定法 (Polyvinyl Alcohol Fixation)

### 操作步驟:

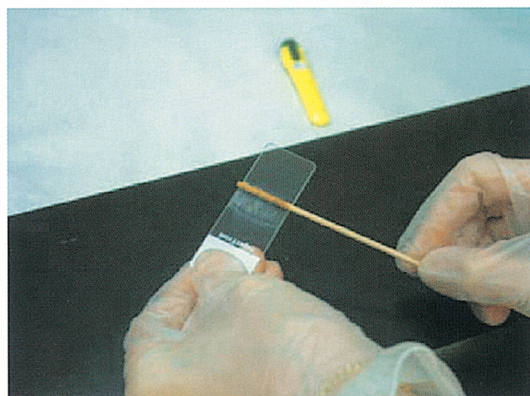
1. 取糞便約 0.5 g 放入含有 1 cc PVA 固定液中(糞便與 PVA 比為 1 : 2)，攪拌均勻後放置室溫 2 小時以上。



2. 檢體經固定後，取沈澱物約 4~5 滴於濾紙上，1 分鐘後再用竹棒刮取糞便。



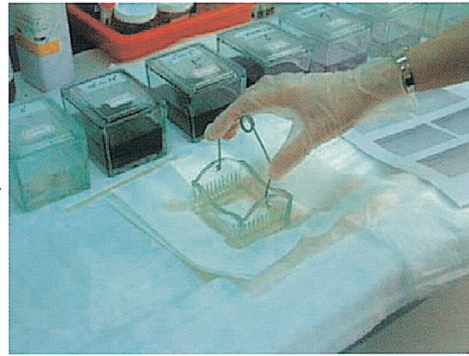
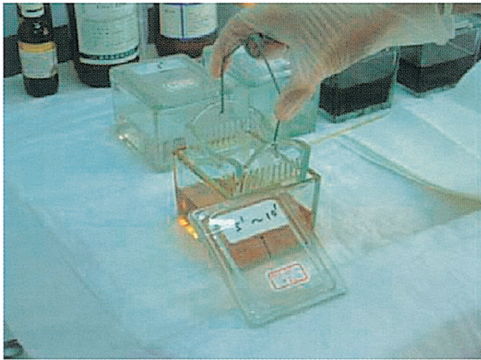
3. 將糞便塗於載玻片上，經隔夜風乾後即可進行染色。



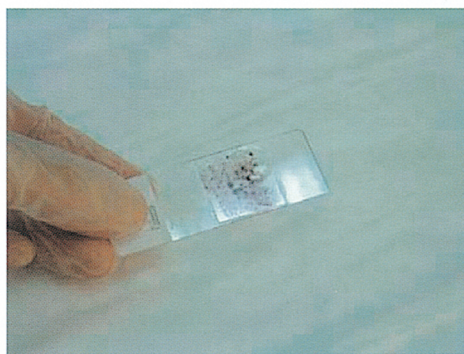
## Trichrome 染色

### 操作步驟:

1. 將製作好的玻片放入含碘液的 70%酒精中，5~10 分鐘。



2. 70%酒精 5 分鐘。再放入 70%酒精 3 分鐘。
3. 放入 Trichrome 染缸內，染 10~15 分鐘。
4. 酸性酒精脫色( 90%酒精 + 0.5%醋酸 ) 1~3 秒。
5. 95%酒精 rinse 2 次。
6. 100%酒精 rinse 3 次。
7. 100%酒精 3 分鐘，脫水 2 次。
8. Hemo-De 5~10 分鐘，浸潤 2 次。
9. 玻片 mounting、風乾後，即可鏡檢。



## Trichrome Stain 材料之配製

### ● Trichrome stain

Chromotrope 2R-----0.6g  
Light green SF-----0.3g  
Phosphotungstic acid-----0.7g  
Acetic acid (glacial)-----1.0 ml  
Distilled water-----100 ml

1. 將 0.6 克 Chromotrope 2R、0.3 克 Light green SF 和 0.7 克 Phosphotungstic acid 加入 1 ml 的冰醋酸中，置於室溫 15~30 分鐘等待混合物熟化(ripen)。
2. 反應完全後加入 100 ml 的去離子水，溶液將呈現紫色，配置完成之 trichrome stain 於室溫下可保存 24 月。

### ● 70% ethanol plus iodine

Lugol's iodine stock solution (5%) 滴入 70% 酒精至呈深褐色即可 (約 50 至 100 倍稀釋)。

### ● 90% ethanol, acidified

90% ethanol-----99.5 ml  
Acetic acid (glacial)-----0.5 ml 將兩者混合即可。

### ● 其他材料

70% ethanol  
100% ethanol (建議用) or 95% Ethanol (第二選擇)  
Xylene or Xylene Substitute (Hemo-De ; Fisher Sci Co,)

### ● Trichrome stain 染缸順序

染缸 I: 含碘之 70% 酒精  
染缸 II、III: 70% 酒精  
染缸 IV: Trichrome stain  
染缸 V: 90% 酸性酒精 (Plus acetic acid)  
染缸 VI: 95% 酒精  
染缸 VII、VIII、IX: 100% 酒精  
染缸 X、XI: Hemo-De

## Trichrome staining 步驟

1. 將經過 PVA 處理過的糞便檢體塗於載玻片上，並置於室溫晾乾(overnight)。

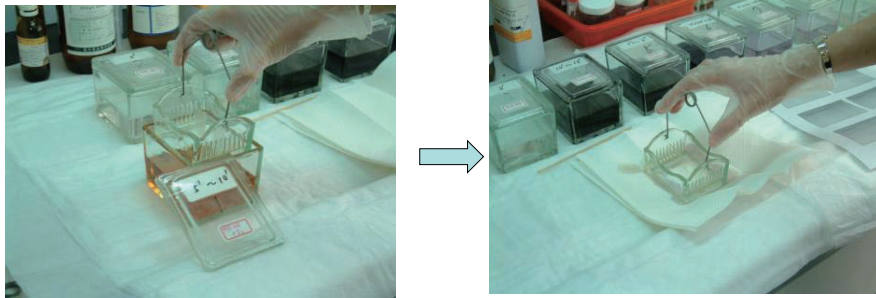
(在下列染色及脫色過程中，載玻片移至下一染缸前，須於紙巾上瀝乾過多染劑或溶劑，避免挾帶物改變試藥成分。)

2. 將晾乾的載玻片置於染缸 I 中，5 至 10 分鐘。
3. 將載玻片移置於染缸 II 中，5 分鐘後；再一次將玻片移置於染缸 III 中 3 分鐘。
4. 將載玻片放入染缸 IV 中，染色 10 至 15 分鐘。
5. 將載玻片置於染缸 V 中，脫色 1 至 3 秒後迅速拿起。
6. 將載玻片置於染缸 VI 快速 rinse 2 次。
7. 將載玻片置於染缸 VII 快速 rinse 3 次。
8. 將載玻片置於染缸 VIII 中 3 分鐘後；再一次將載玻片置於染缸 IX 中 3 分鐘。
9. 將載玻片置於染缸 X 中，5 到 10 分鐘後；再一次將載玻片置於染缸 XI 中 5 至 10 分鐘。
10. 玻片滴上 Permont，蓋上蓋玻片後，置於室溫晾乾(overnight)或者於 37 °C 中烘乾 1 小時。
11. 以油鏡檢查玻片。

# Trichrome Stain 染色步驟

操作步驟:

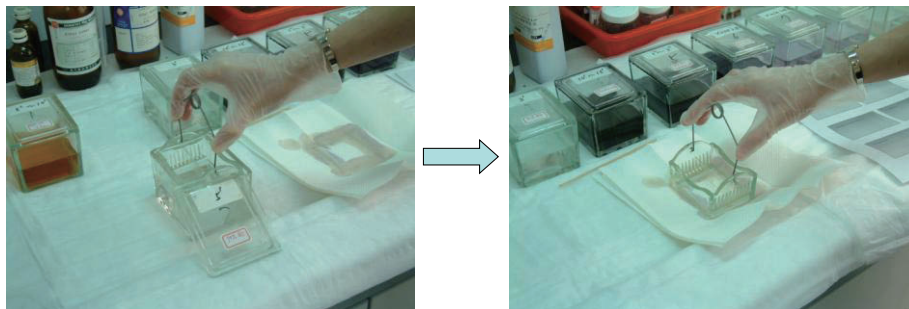
1. 將製作好的玻片放入**含碘液的70%酒精**中，5~10分鐘。  
(CAP能力測試檢體非汞固定，不須此步驟脫汞。)



目的：以碘置換移除氯化汞

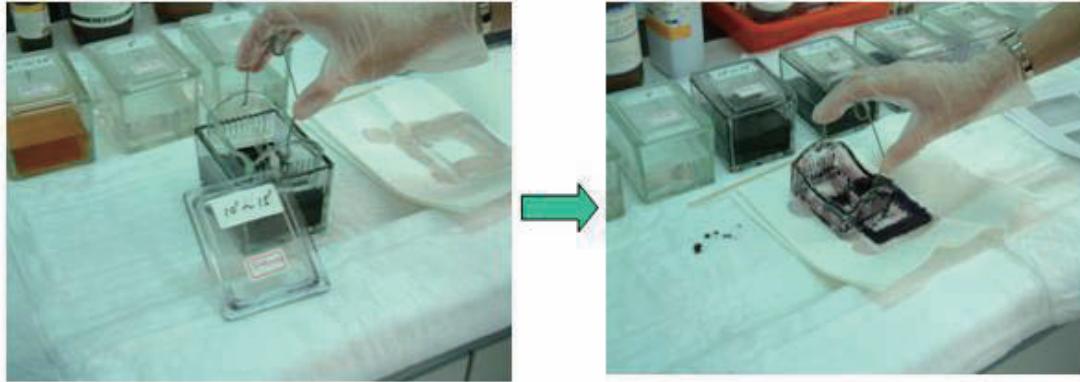
(載玻片移至下一染缸前，須於紙巾上瀝乾過多染劑，  
避免挾帶物改變試藥成分。)

2. 70%酒精5分鐘，再放入70%酒精3分鐘。  
(CAP測試片由此步驟開始70%酒精5分鐘，  
接著放入trichrome染缸)或  
(CAP測試片不需此步驟，直接放入trichrome染缸。)



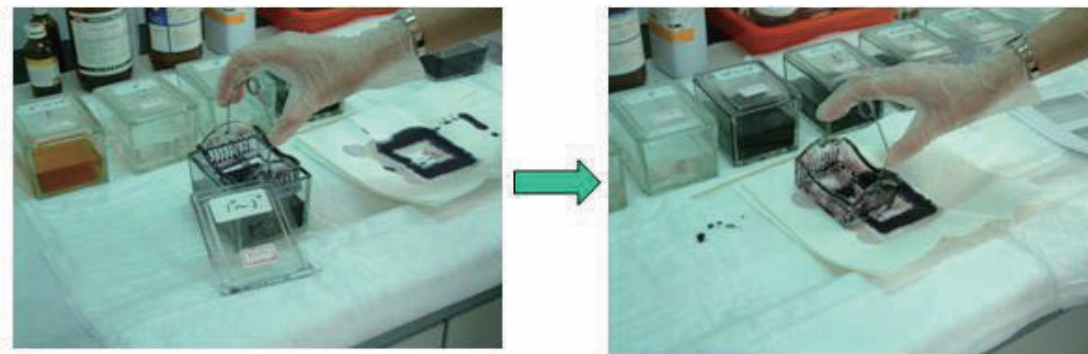
(載玻片移至 trichrome 染缸前，須於紙巾上瀝乾過多染劑，  
避免挾帶物改變試藥成分。)

3. 放入 Trichrome 染缸內，染 10~15 分鐘。  
(CAP 測試檢體不易上色，建議 Trichrome 染 30 分鐘)



Trichrome 染後載玻片移至下一染缸前，須於紙巾上瀝乾過多染劑，  
或用紗布在玻片背面擦拭 Trichrome 染劑，避免挾帶物污染下一染劑。

4. 酸性酒精脫色(90%酒精+0.5%醋酸)1~3 秒  
(Destaining for a very short time-two dips only)



酸性酒精退染後不用擦拭背面，  
請爭取時間快速移至 100%酒精 rinse 。

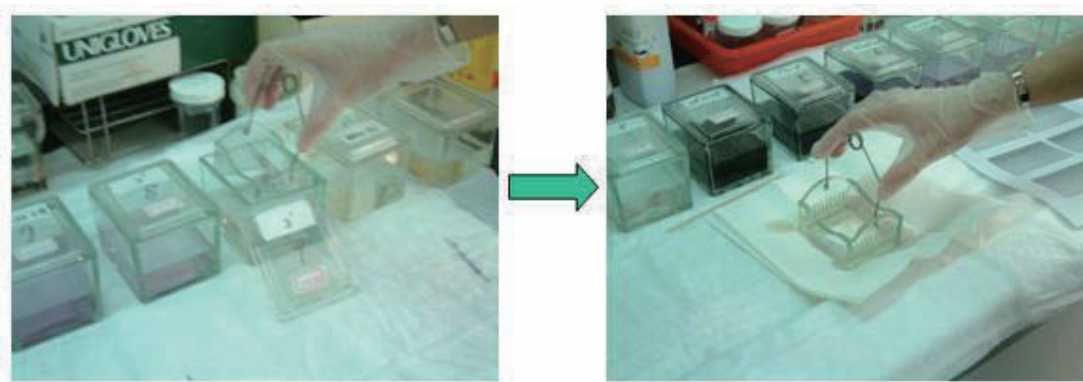


5. 95%酒精 rinse2 次

6. 100%酒精 rinse3 次

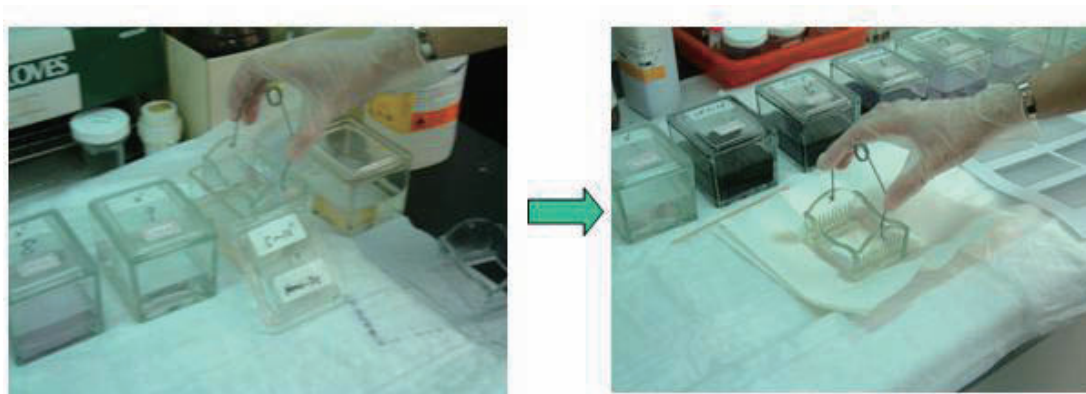
(不用擦拭背面，快速移至下一缸 100%酒精。)

7. 100%酒精 3 分鐘，脫水 2 次。



(載玻片移至 Xylene 前，快速擦拭背面過多酒精)

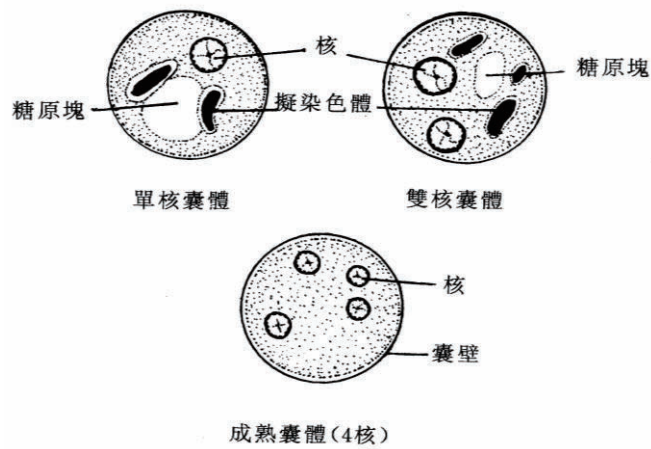
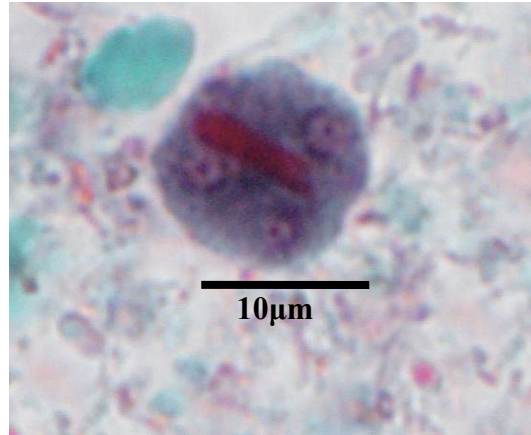
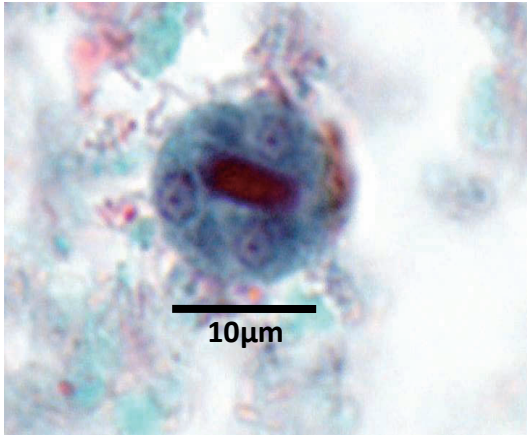
8. Xylene 5~10 分鐘，浸潤 2 次。



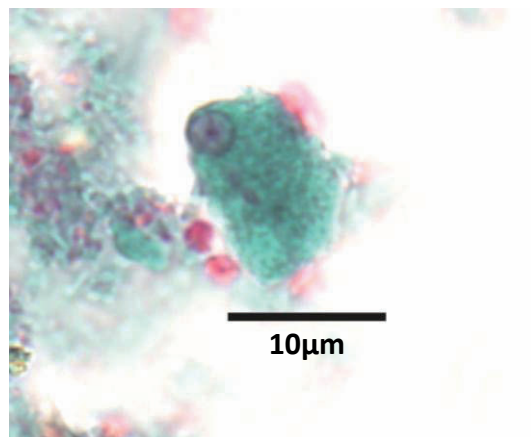
9. 滴上封片膠蓋上蓋玻片後，置於室溫晾乾 (overnight) 或者於 37°C 中烘乾 1 小時。

# Trichrome Stain 形態學介紹

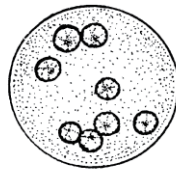
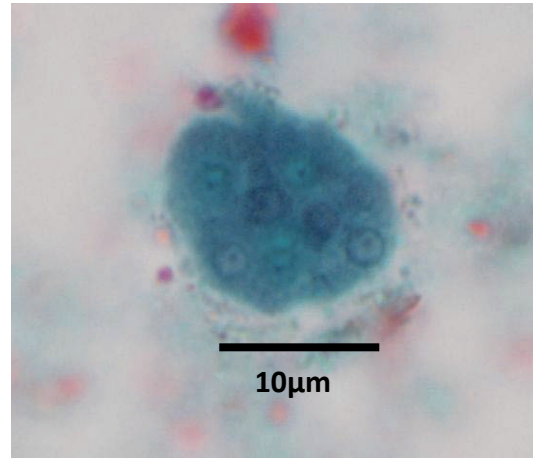
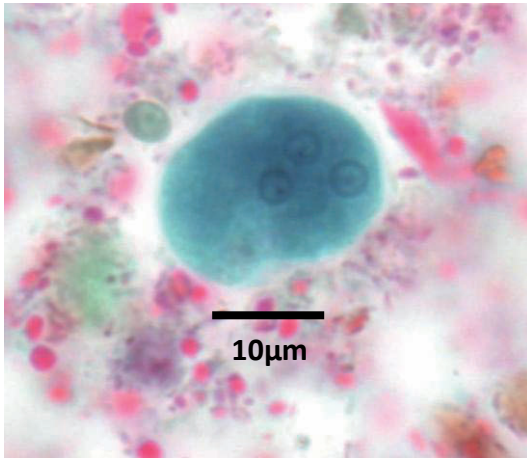
*Entamoeba histolytica/E. dispar* cyst 12~15  $\mu\text{m}$



*Entamoeba histolytica/E. dispar* trophozoite 15~20  $\mu\text{m}$



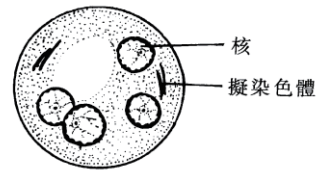
## *Entamoeba coli* Cyst 15~25 μm



成熟囊體(8核)

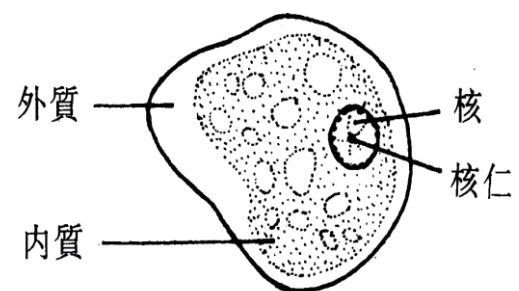
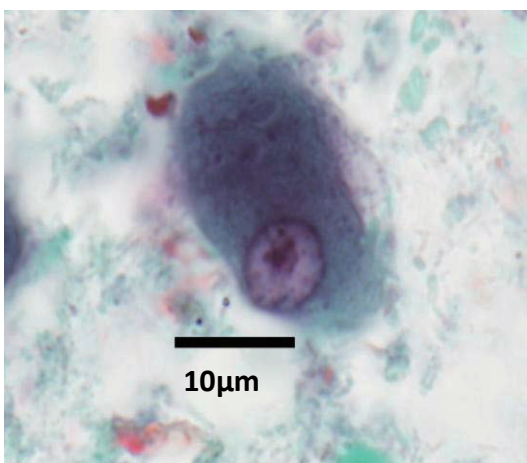


未成熟囊體(雙核)



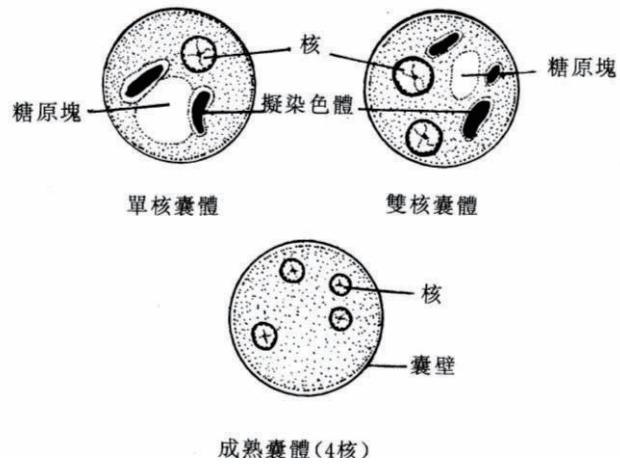
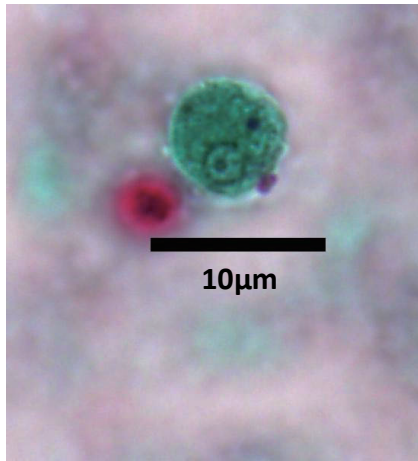
未成熟囊體(4核)

## *Entamoeba coli* Trophozoite 20~25 μm

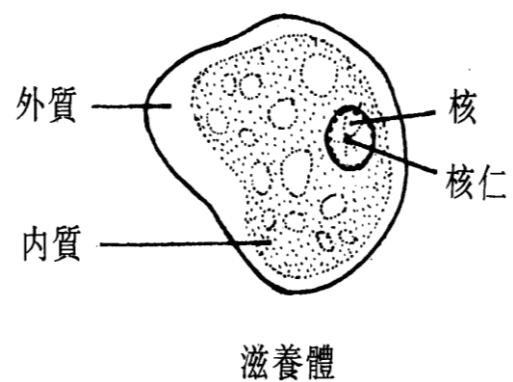
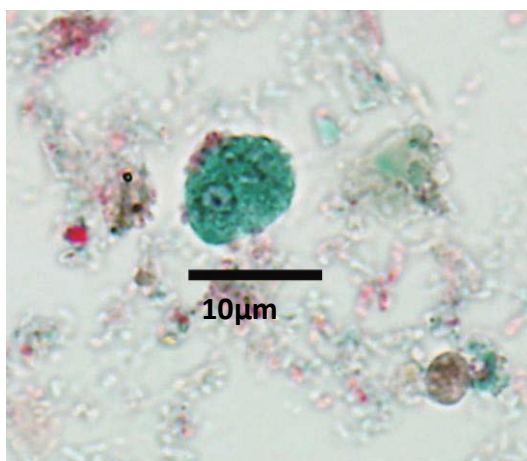
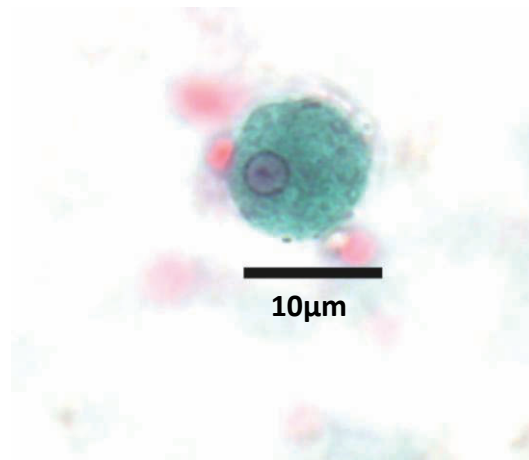
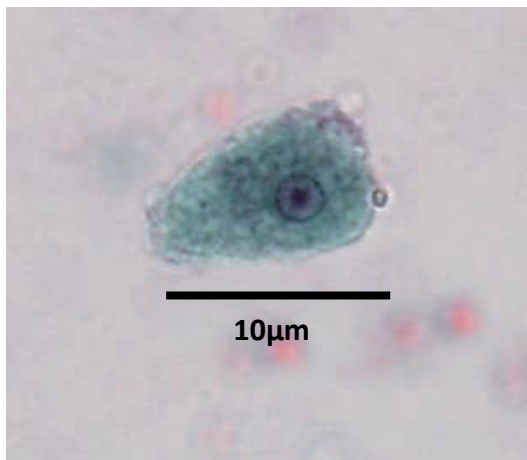


滋養體

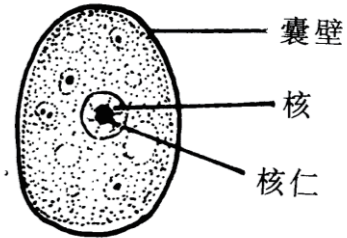
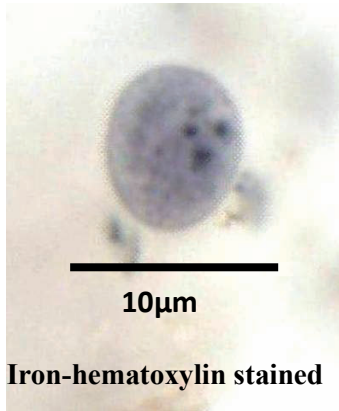
## *Entamoeba hartmanni* Cyst 6~8 $\mu\text{m}$



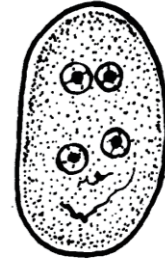
## *Entamoeba hartmanni* Trophozoite 8~10 $\mu\text{m}$



*Endolimax nana* Cyst 6~8  $\mu\text{m}$

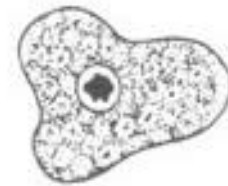
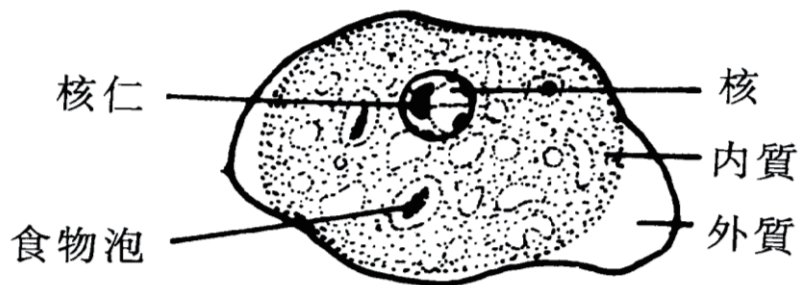
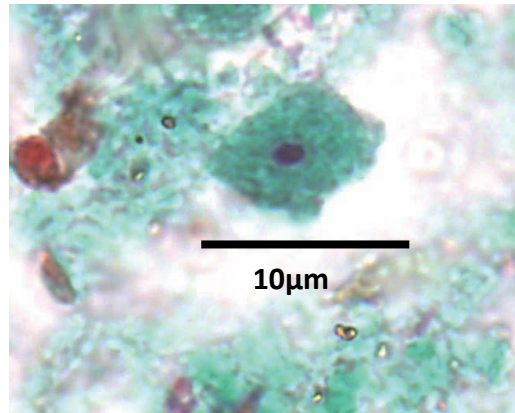
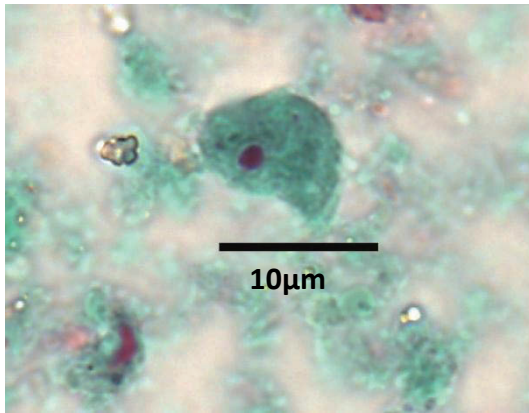


囊體(單核)



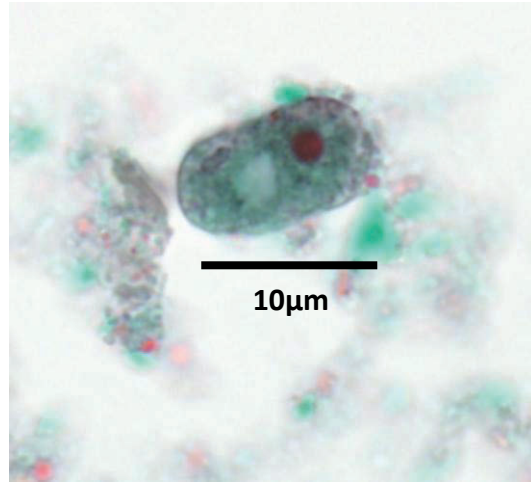
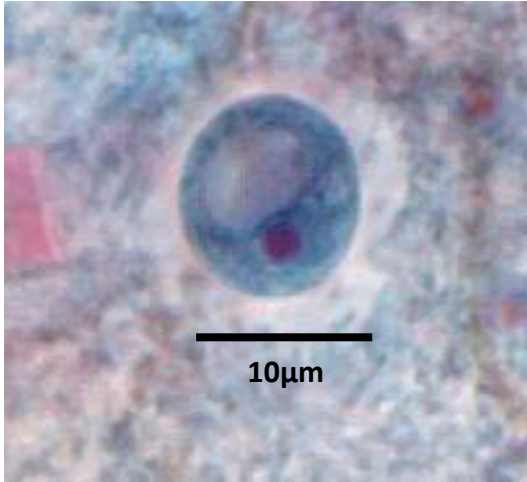
成熟包整(4核)

*Endolimax nana* Trophozoite 8~10  $\mu\text{m}$

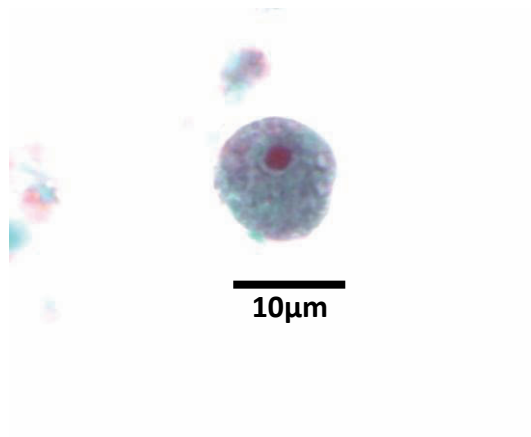
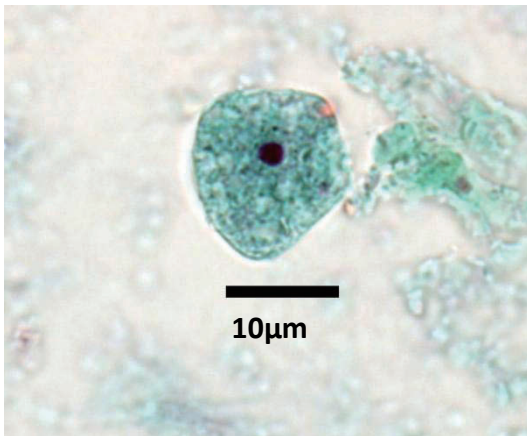


滋養體

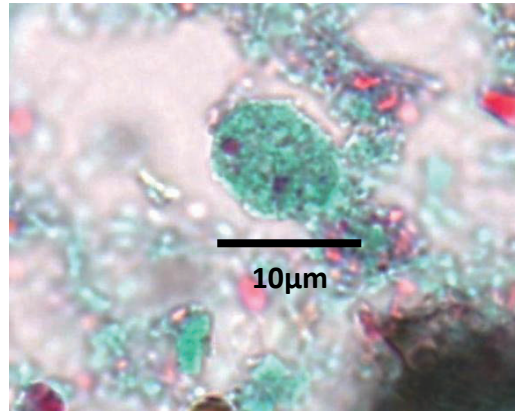
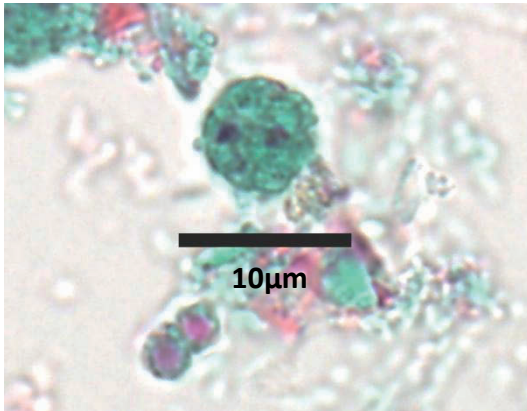
***Iodamoeba butschlii* Cyst 10~12  $\mu\text{m}$**



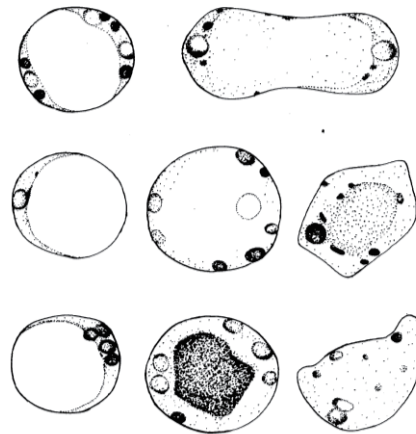
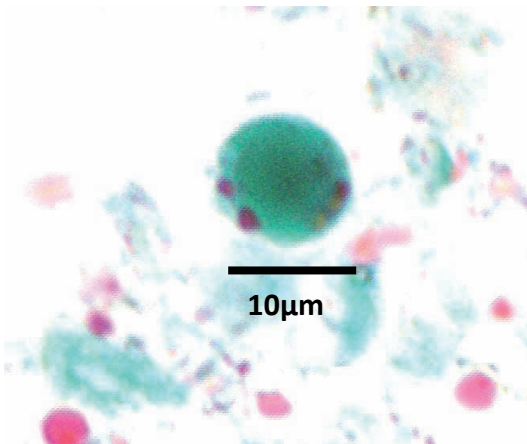
***Iodamoeba butschlii* Trophozoite 12~15  $\mu\text{m}$**



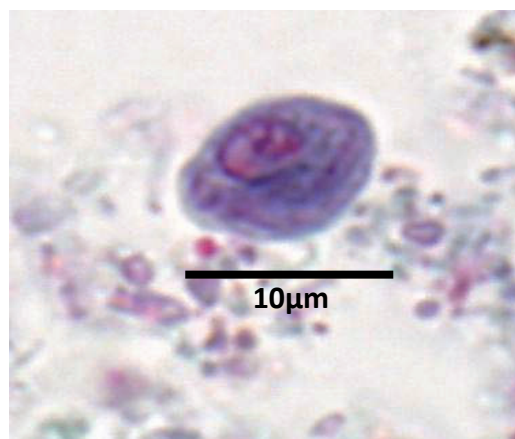
***Dientamoeba fragilis* Trophozoite 9~12  $\mu\text{m}$**



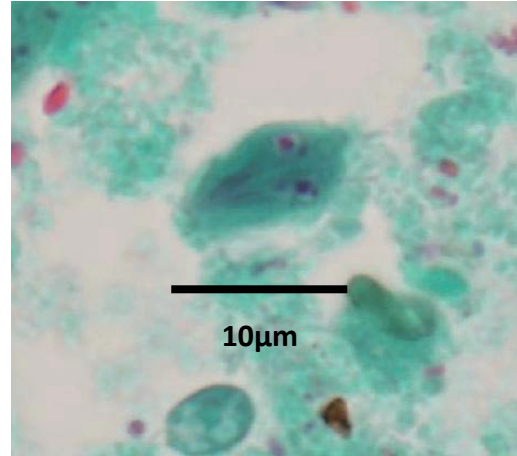
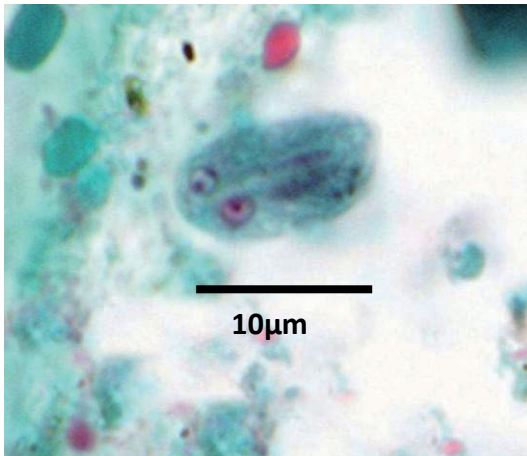
***Blastocystis hominis* 8~10  $\mu\text{m}$**



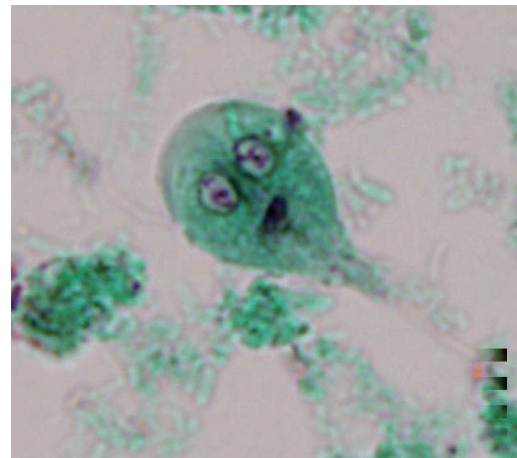
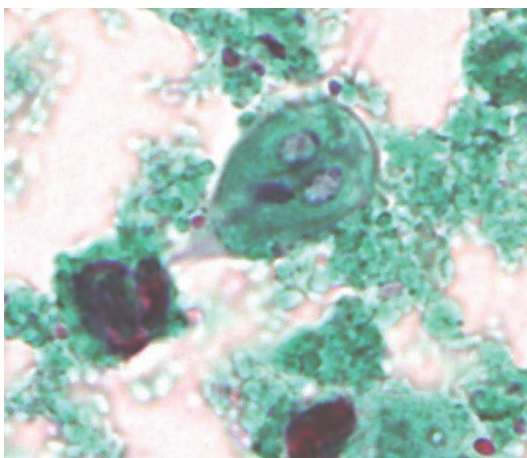
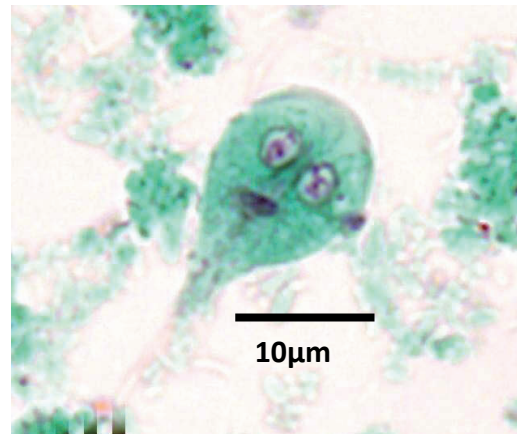
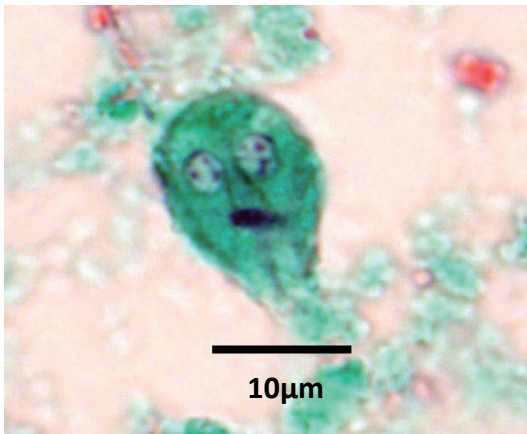
***Chilomastix mesnili* Cyst 8~9  $\mu\text{m}$**



***Giardia lamblia* Cyst 11~12  $\mu\text{m}$**



***Giardia lamblia* Trophozoite 12~15  $\mu\text{m}$**





## 阿米巴性痢疾

### 致病原

痢疾阿米巴原蟲 (*Entamoeba histolytica*) 為本病之致病原，其生活史有兩個階段：主司代謝繁殖的活動體 (trophozoite；又名營養體) 及能耐惡劣環境的囊體 (cyst)，後者具囊壁，隨寄主之排泄物進入環境，經食入後，在下一寄主腸道脫囊 (excystation) 成為活動體。活動體可侵入組織造成病變，囊體則為具感染力之階段。

### 流行病學

阿米巴性痢疾屬世界性分布，但熱帶、亞熱帶開發中國家之感染較普遍，長期集體生活之孤兒院、教養院、收容所、監獄為易發之場所。臺灣地區調查發現教養院及精神病患收容所，感染情形較為普遍，此與生活習慣、衛生條件，環境污染及群居狀況關係密切。此外，男同性戀者、國人赴疫區返國者、來自疫區外勞及外籍新娘等為高危險族群。

### 傳染方式

經糞口途徑傳染，主要藉由糞便中之囊體污染的飲用水、食物或病媒（如：蟑螂、蠅）傳染；亦可能由口對肛門的接觸行為造成。

### 預防方法

- (一) 注意個人衛生習慣、飲食衛生、手部清潔及家庭廢水之妥善處理，可防止感染。
- (二) 帶蟲者除治療外，應注意飯前、便後洗手。
- (三) 糞便妥善處理，最好使用密閉式抽水馬桶。

- (四) 公用水源之妥善消毒，避免糞便污染水源。
- (五) 避免吃生菜及煮沸飲用水。
- (六) 檢查和治療從事飲食業的帶蟲者及慢性患者。
- (七) 水源或蓄水設施與污染源（如廁所、化糞池等）應具隔水性並至少距離 15 公尺以上。
- (八) 紗罩隔離食物或剝皮水果，避免被病媒（如：蠅、蟑螂）接觸污染。
- (九) 避免口對肛門的接觸行為。

### 臨床症狀

症狀可從輕微到慢性腹瀉程度不等，其他常見症狀包括：糞便中帶黏液及血絲、腹痛、裏急後重、間歇性下痢、噁心、嘔吐及發燒等。

### 檢體採檢送驗事項 (Specimens taking and transportation)

醫院通報時（含外勞健檢）經離心濃縮法顯微鏡檢查

結果及判定原則分別如次：

- (一) 人芽囊原蟲 (*Blastocystis hominis*) 及阿米巴原蟲類，如：哈氏阿米巴 (*Entamoeba hartmanni*)、大腸阿米巴 (*Entamoeba coli*)、微小阿米巴 (*Endolimax nana*)、嗜碘阿米巴 (*Iodamoeba butschlii*)、雙核阿米巴 (*Dientamoeba fragilis*)、唇形鞭毛蟲 (*Chilomastix mesnili*) 等，可不予治療，視為「合格」。
- (二) 「疑似痢疾阿米巴原蟲」(*Entamoeba histolytica/E. dispar* 包含囊體或活動體)，指定醫院必須於二十四小時內通報所在地衛生主管機關，並同時通知雇主，且於通知之日起七日內至原醫院重新採取三次（每天一次）之新鮮糞便檢體（至少

拇指大小之量；勿加入任何固定液；4 °C 保存），併同原始已固定染色之檢體及送驗單於每次採檢後二十四小時內（冰寶冷藏運送）送中央衛生主管機關所屬疾病管制署進行確認檢查；經確認檢查若屬迪斯帕阿米巴原蟲（*Entamoeba dispar*）時判為「合格」；若屬痢疾阿米巴原蟲（*Entamoeba histolytica*）則為「不合格」。但得依本辦法第七條第二項第四款辦理再檢查，未依規定採檢進行確認檢查者，亦為「不合格」。

- （三）腸道蠕蟲蟲卵或其他原蟲類如：鞭毛原蟲類，纖毛原蟲類及孢子蟲類者為「不合格」。但得依本辦法第七條第二項第四款辦理再檢查。

寄生蟲實驗室(痢疾阿米巴) 電話: (02) 33935050 許世芬



