

婦產科臨床簡易陰道滴蟲檢測法

阮正雄

摘要

陰道滴蟲症在婦產科臨床病例中很多都會訴說有白帶分泌物的困擾，這些分泌物常形成濃樣有特殊臭味，厲害時更會形草莓狀的紅斑點稱為草莓狀子宮頸，然而在診斷上，常以找到陰道滴蟲蟲體為主，一般婦產科臨床是陰道分泌潮濕的抹片或培養的方式來證明。作者以直接抹片的方式加上修正過的劉氏染色法，發展出一種簡易的陰道滴蟲檢測法。由於劉氏染色A溶液含有Methanol，具有固定的作用，如同Papanicolaous Smear的固定，陰道滴蟲的細胞質將被染成淡藍色，而核被染成紫色，由這種特殊染色的外形很容易即可以與白血球及表皮區別。在婦產科的臨床診斷陰道滴蟲時，成爲一種非常簡單容易，準確率很高，很方便的診斷方法。

關鍵語：陰道滴蟲，劉氏染色法。

前言

婦女之白帶 Leucorrhea 通常可以區分爲生理的白帶與病理的白帶，所謂生理的白帶仍指婦女因身體疲勞或興奮引起，陰道分泌物增加之稱謂，通常這一類的白帶多呈白色或乳白色，僅有量的增加，另外一類是病理的白帶，多由於陰道炎或性器疾病引起，臨床上幾乎一定伴發有陰道酸痛、灼燒、癢病及性感不快等，陰道炎病依其發生的原因可以分成細菌性、黴菌、寄生蟲及過濾性病毒等四大類，其中寄生蟲類似陰道滴蟲爲代表，其感染途徑尚有許多爭論，目前許多人同意由於衛生行爲之疏忽而引起，如不潔的性行爲、浴水、毛巾及各種器械接觸均可能引起，在美國被認爲是性行爲感染爲主因，估計每年有250萬到300萬病例。性交對象煩雜的人，感染率高，如妓女的發 現率高達50—70%，在夏末其感染率亦增高⁽¹⁻¹⁰⁾。其診斷主要是找到陰道滴蟲之蟲體爲主，目前台灣可以找到的文獻是利用陰道分泌物直接檢查法及培養法來檢查^(8,9,10,31)。

在顯微鏡下可以直接看到陰道滴蟲之泳動做爲判定之依據，但如蟲體不泳動時即不易判定。作

者自民國66年追隨已故台北醫學院婦產科教授歐雲炎先生從事細胞診的劉氏染色法的檢查之後⁽³³⁾在許多抹片檢查中常可很清楚的找到蟲體，而不受蟲體之泳動與否之限制，謹將觀察之心得提供大家參考。

材料與方法

自民國66年元月以降至70年12月，吾人在門診病患主訴有白帶、陰道癢症、酸痛、燒灼感、性感不快及有異味，陰道窺視鏡檢查，陰道穹隆有淡色泡沫狀或氣泡狀分泌物的聚積、陰道粘膜或子宮頸呈有細粒或草莓狀紅斑點外觀者155例，同時做(1)傳統式的陰道分泌物檢查(2)抹片染色檢查，比較其對於陰道滴蟲之檢出率。

一傳統式的陰道分泌物檢查法：是以擴陰器將陰道擴張之後，以棉棒或木棒（細胞診用之 Woods Spatus）自陰道內採取分泌物，滴到已經準備好的抹片玻璃上（抹片玻璃先擦拭乾淨，再滴上一大滴生理鹽水）加上蓋玻片之後，在顯微鏡下，直接觀察可見到滴蟲的泳動。

二抹片染色檢查法：陰道擴張之後，以刷子自子宮頸及陰道有紅斑病變起，採取分泌物，敲

捺印於已經準備好的抹片玻璃上，抹片經過乾燥固定以改良過的劉氏染色法染色，染色後的檢體標本再以酒精與 Xylene 處理，即可利用顯微鏡來做鏡檢觀察。

①標本的製作：以擴張器將陰道擴張使子宮頸與陰道充份曝露，用刷子（以牙刷切割成三小段加柄而成）在子宮頸部與陰道穹隆有紅斑病變化處捻擦後，將刷子敲捺而印在抹片玻璃上，使抹片自然乾燥（亦可以吹風機把抹片吹乾）。

②染色步驟：把製作好的抹片標本，浸入或滴上劉氏染色A液中15秒，倒掉染色A液，再把劉氏染色B液滴到抹片標本上，經過6分鐘再以水淋洗（此時即可用顯微鏡檢查），但為了使抹片背景清晰透明，可以無水酒精或95%酒精浸洗若干次，一直到背景透明無雜色（要永久保存的片子需經過 xylene 處理後，滴上 permount 並加上蓋玻片利用顯微鏡觀察）。

劉氏染色法染色液的泡製法

| | |
|---|---------|
| A、染色液：Eosin Y (Merck) | 0.19 gm |
| Methylene Blue (Merck) | 0.05 gm |
| Methaul Extrapore | 100 cc. |
| B、染色液：Methylene Blue (Merck) | 0.7 gm |
| Azase I (chroma) | 0.7 gm |
| Na ₂ H pO ₄ · 12 H ₂ O | 12.6 gm |
| KH ₂ PO ₄ | 6.25 gm |
| Distal Water | 500 ml |

結 果

在以往的5年間收集陰道滴蟲檢查例共有155人次，並在臨床上認定可能有滴蟲症之病患，用傳統式的直接陰道分泌物檢查，可以找到滴蟲1，以二者不同的方法測定之結果及其檢出率

蟲的游動者145例，找不到的有10例，用抹片染色檢查法可找到滴蟲的有148例，而沒有找到的有7例（表1）

| Result Methods | + | - | Total | Sensitivity |
|--------------------------|-----|----|-------|-------------|
| Traditional Direct Smear | 145 | 10 | 155 | 93.6 % |
| Smear with Liu's Stain | 148 | 7 | 155 | 95.5 % |
| Total | 293 | 17 | 310 | |

其中用傳統直接抹片檢查發現有少量滴蟲之游動，而用抹片檢查法未能找到滴蟲的有5例，而抹片染色法找到滴蟲而直接抹片檢查並無發現表2；同時以二種不同方法檢測之結果

者有8例，二種方法都沒有找到的只有2例（表2）

| Traditional direct smear | Smear with Liu's Stain | Total |
|--------------------------|------------------------|-------|
| + | + | 140 |
| + | - | 8 |
| - | + | 5 |
| - | - | 2 |

Two methods are difference with non-significant P Value > 0.10

討 論

陰道滴蟲首先在1836年為法國 Donne⁽²⁷⁾在婦女的陰道分泌物中發現，隨後即有許多有關陰道滴蟲感染的研究報告^(1 33)。

我們了解滴蟲的形態 (Morphology of *Trichomonas Vaginalis*) 蟲體長12~30微米 (microns) 常見的長15~18微米，寬6~12微米，稍帶橢圓形，却透明無色，在身體前端生了四根帶似的鞭毛在前面飄揚著。波動膜核，軸刺，基纖維等的外形都和口腔滴蟲一般，只是細胞漿中多了許多大小不均的粗大顆粒佈遍在體內有深色清楚的副基體，副基體纖維和一根頭髮似的自蟲體後向前走，讓接近核繞過核旁，波動膜下面的基纖維長約為其蟲體的 $\frac{1}{3}$ ~ $\frac{2}{3}$ ，波動膜外側旁緣處，鑲邊的鞭毛，剛如和波動膜一樣長，飄曳在體外，長橢圓形的核中央處有一顆色較深濃的核小體，長細的軸刺屈光性很強⁽²⁸⁾。

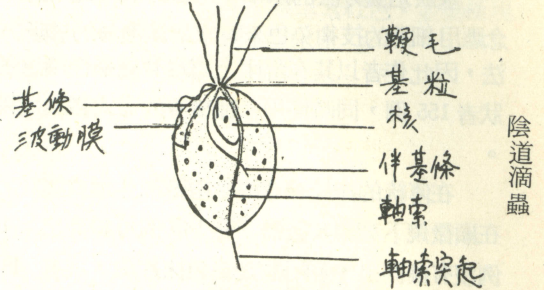
根據歐雲炎教授在第九次世界婦產科學會的發表⁽³²⁾，陰道滴蟲的外形可分為大小二種，即大型蟲體與小型蟲體，其中大型者偶而可發現二個以上的核，有如胞囊的形態，歐教授認為是一種分裂的形態，外形常呈橢圓形或紡錘形，在大型蟲體偶而會呈圓形，細胞質的邊緣亦常變為模糊不清，在細胞核則呈現紡錘形的紫紅色，軸索及鞭毛經常可見到。

目前用於陰道滴蟲診斷的方法大約有三類^(1 32)，第一，巴氏染色法 (Papanicolaou Smear)^(6 11)：準確率78%，一般陰道塗抹染色片，用於細胞診的檢查時，偶而發現，可見到蟲體及蟲體作用之繼續變化，蟲體在染色時所常呈 Basophilic 使蟲體呈淡綠色橢圓形。

第二類：是陰道分泌物直接觀察^{5, 6, 12}，準確率82%。加一滴生理食鹽水於載玻片上，直接在顯微鏡下觀察，可見到滴蟲的游動，如以位相差顯微鏡觀察則更清楚，其缺點是對於不動的陰道滴蟲無法鑑定，由於本法使用簡單，成本低，目前為一般臨床家及檢驗室所普遍採用，在有經驗工作者，其檢出率亦可達到90%以上。

第三類：是利用培養的方法^(1, 2, 5, 6, 8, 9, 10, 12)

，準確率94%，將陰道分泌物採取放入培養基內經2~7天的培養時間有時顧慮蟲體發育的營養，必需更換或增加基，各家使用不同的培養基來培養，1915年 Lynch，1921年 Reuling，1935年 Fischr 用 Simple liquid bacterial growth medium, 1925年 Boechad Drbhbar 用 Richer



Medium 有很好的結果，隨後1929年 Anchenesi，1947年 Hawes, 1951年用 CPLM Mead Whitliagtion 多加利用，1943年 Johnsons，Trussell，1947年 Sprince 與 Kup frbery 用 ebaborate Mediar，1952年 Me Zntegant 修改簡化，1943年 Jrussells 與 Johnson 的 Forncella 或為 McZutergant Mesiar⁽²⁵⁾，1957年 Feinberg 與 whitlington 更改為 Feinberg Mesiu⁽²⁴⁾ Diamond L. S. 改為 MD Mesiar，1977年 Rodney Fismith⁽¹²⁾ 用 Trichoselbroth (BBL)，1969年作者曾用 Magada Medium，對特種營業酒吧女郎做了一千多例培養只有4%陽性率⁸，當時我們認為酒吧女為了通過安全檢查取得營業執照，每次檢查都先經過沖洗，致使檢出率偏低，最近台北市之性病防治所陳澤三合作用 STS Medium，其結果特種營業有17.8%⁽⁹⁾，榮民總醫院范秉真教授與吳香達主任等1981年近的報告亦有5.7%⁽³¹⁾，1963年台大醫院婦產吳家鑄教授與沈銘鏡教授等⁽¹⁰⁾ 用 vbroth 加10%馬血清及0.5% glucose 及抗生素來做陰道滴蟲培養，培養後分別以一般顯微鏡、位相差顯微鏡，各種染色方法 (Heiclenheina's Iron hemat oxylin 染色法，Giemsa 染色法，劉氏染色法，Hematoxylin eosin, Methylene Blue Gram's 染色法) 來檢測，其中以 Giem's stain 與劉氏染色法比

較滿意，Giem's stain 在培養基抹片不太厚時效果不錯，但太花費時間，不如劉氏染色法方便僅僅需花費 2-3 分鐘即可得到滿意的染色片，又因基於 Solution A 中含有 Methanol 兼具有固定的作用，而不需將檢體先行固定。

基於培養方法的煩雜，作者仍利用臨床的觀念應用細胞的技術染色來尋求臨床簡易的診斷方法，因此作者以其在臨床上認定有滴蟲性陰道症狀者 155 例，同時使用二種檢查的方式做為比較。

在傳統的抹片檢查法（白帶加生理食鹽水，在顯微鏡下觀察其游動）有 145 例可檢測出，10 例沒有檢測出，利用劉氏染色抹片法，則有 148 例檢測出（圖 1-4）；只有 7 例沒有檢測出來，二者之間之比較以統計方式來處理：

| 發現 方法 | 檢 出 結 果 | | 合 計 |
|----------|---------|----|-----|
| | + | - | |
| 1 | 145 | 10 | 155 |
| 2 | 148 | 7 | 155 |
| | 293 | 17 | 310 |

利用 Four fold table 四格表求取開方檢定

$\chi^2 - \text{test}^{(34)}$

$$\chi^2 d - f = 1 = \frac{\left| \frac{ac}{bd} \right|^2 T}{T_1 T_2 T_3 T_4}$$

(利用 YATE'S 修正方)

$$\chi^2 = \frac{\left(\left| \frac{ac}{bd} \right| \pm \frac{t}{2} \right)^2 T}{T_1 T_2 T_3 T_4}$$

$$= \frac{\left(\left| \frac{145}{148} \frac{10}{17} \right| \pm \frac{310}{2} \right)^2 \times 310}{293 \times 17 \times 155 \times 155}$$

$$= 0.249$$

310 = YATE'S Correction

$P > 0.10$ (Non - Significant)

檢出率：傳統方法為 $145 / 155 = 93.6\%$

抹片染色法 $148 / 155 = 95.5\%$

常態檢定：

相關差異 Relative deviate RD

$$RD = \frac{P_1 - P_2}{\sqrt{\frac{PQ}{n_1 + n_2}}} \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}}$$

$$P = \frac{T_3}{T} \quad Q = \frac{T_4}{T} \quad P_1 \text{ 第一事件 } \frac{a}{T_1}$$

$$P_2 \text{ 第二事件 } \frac{b}{T_2}$$

$$RD = \frac{145 / 155 - 148 / 155}{\sqrt{\frac{293 / 310 \times 17 / 310}{\frac{155 \times 155}{155 + 155}}}} \times$$

$$= \frac{-0.0194}{4.009} \times 8.803 = -0.0426$$

$0.46 < P < 0.50$ Non-Significant

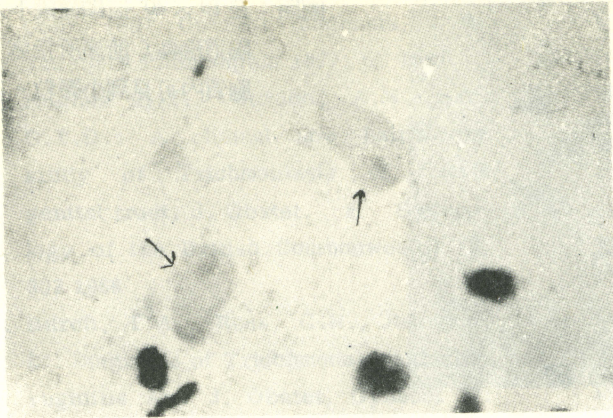
亦即二者間無統計學上的差異，然而抹片染色法，在 Solution A 中含有 methanol 已具有抹片固定之效果，因可應用於已乾燥固定的抹片，應用上幾年比傳統的方法更可令臨床醫師方便應用，在其忙碌後，仍可很容易的診斷出陰道滴蟲。

結 論

作者利用劉氏染色法改良應用於抹片檢測陰道滴蟲的感染，將於與傳統的抹片方式比較經統計學的处理，證實無統計學上差異，其檢出率分別有 93.6% 與 95.5%，但由於此新方法可應用於固定乾燥之抹片，陰道滴蟲經由染色後可容易的表現時有情況，陰道滴蟲以劉氏染色法染色後其形態隨有大小及單核或多核之分別，但其細胞質呈淡藍色，核呈紫紅色，連軸索突起都可清楚的觀測出來，使臨床醫師忙碌之後，不會因抹片乾燥而降低其診斷的準確率，故臨床醫師可以感到更方便。

謝 辭

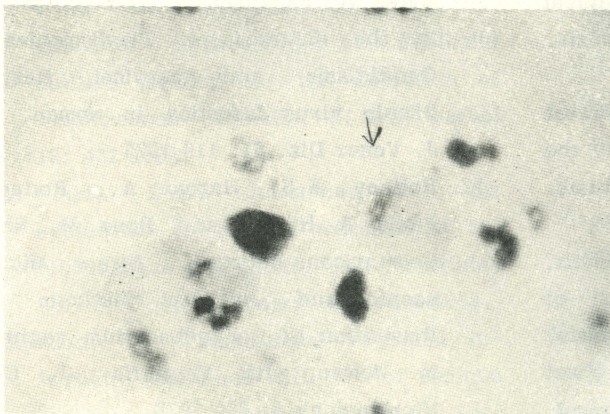
感謝台北醫學院公共衛生副教授洪清霖協助處理，使本論文能順利完成，謹此一併道謝。



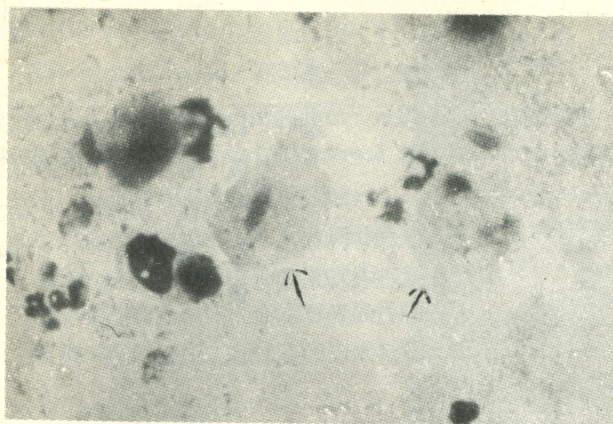
圖一：利用劉氏染色法檢測陰道滴蟲，箭頭所指即為陰道滴蟲之蟲體，細胞質染色呈淡藍色，核呈紫紅色，並偏極現象。



圖二：在 10×40 倍的顯微鏡下所見之小型陰道滴，在偏極的核略微可見基粒與鞭毛（圖一右上方）圖二 見軸索



圖三：在 10×40 倍顯微鏡下大型陰道滴蟲（箭頭所指處）細胞質呈淡而模糊，但可見到核或枋椎形。



圖四：在 10 × 40 倍顯微鏡下大型陰道滴蟲（箭頭所指處）細胞質內可見到小顆粒。

參考文獻

1. Robert Mciellan, Michael R.S. Mary Brockman, Lynda Raffel and Joan Smith: The clinical diagnosis of Trichomoniasis. *Obstet. Gynec* 60: 30 1982
2. Mason PR, Super H, Fripp P. J. : Comparison of four techniques for the routine diagnosis of Trichomonas vaginalis infection. *J. Clin Pathol* 29: 154 1976
3. Spence M.R., Hollander D. H., Smith J. L. et al: The clinical and Laboratory diagnosis of Trichomonas vaginalis infection. *Sex Trans Dis* 7: 168, 1980
4. Fouts A C, Kraus S J: Trichomonas vaginalis: Revaluation of its clinical presentation and laboratory diagnosis. *J Infect. Dis* 141: 137, 1980
5. McCann J S : Comparison of direct microscoph and culture in the diagnosis of trichomo Trichomoniasis. *Br J Vener Dis.* 50: 450 1974
6. Margaret T Mc Lennan, Jean M Smith, Charles E Melenan: Diagnosis of vaginal Mycosis and Trichomoniasis. Reliability of cytology Smear wet smear and culture. *Obstet. & Gynecol.* 40: 231 1972
7. Rein M.F. and T.A. Chapel: Trichomoniasis candidiasis and the minor venereal diseases. *Clin. Obstet. Gynecol* 18: 73, 1975
8. 阮正雄、賴焜勳：酒吧女陰道滴蟲症之發病率，1969年11月12日於中華民國婦產科醫學會宣讀。
9. 陳澤三：台北市公娼及暗娼滴蟲罹患率之專案研究，1979年 月台北市立性病防治所十週年專輯 p41-43。
10. Chia-Cu Wu & Ming-Ching Shen: Culture of Trichomonas vaginalis and its morphological physiological studies. *J F M A* 62: 735, 1963
11. Thin, R.N.T., W. Atia, J.D.J. Parker. C.S. Nicol and G. Canti: Value of Papanicolaou stained smears in the diagnosis of Trichomoniasis, Candidiasis and cervical Herpes Simple virus infection in women. *Br J. Vener Dis.* 51: 116 1975
12. Rodney F.S. Harold A., Rodgers Paula A Hines, and Rose M. Ray: Comparisons Between Direct Microscopic and Cultureal Methods for Reconition of Corynebactrium vaginale in Women with Vaginitis. *J. Clin Microbiology* 5: 268 1977
13. Breen, J.L. Smith, C.: Trichomonas

- vaginalis. In H.E. Conn and R.B. Conn (ed) Current diagnosis, W.B. Saunders Philadelphia 1977, p. 1067
14. Hughes H.E., Gordon, A.M. Barr G.T.D.: A clinical and Laboratory study of Trichomoniasis of female genital tract. J. Obstet. & Gynecology of the British Commonwealth 73: 832 1966
 15. Burch, T.A., Rees, C.W., Reardon, L.: Diagnosis of Trichomonas vaginalis vaginitis Am. J. Obstet. Gynecol 77: 309 1959
 16. Burch T.A. Rees C.W. Kayhoe D.E.: Laboratory and clinical study on vaginal trichomoniasis. Am. J. Obstet Gynecol 76: 658 1958
 17. Stein I.F., Cope, E.J.: Trichomonias vaginalis (Donne) Am. J. Obstet Gynecol 25: 819 1933
 18. Angelucci H.M.: Trichomonas vaginalis vaginitis. A clinical study. Am. J. Obstet Gynecol. 31: 1020 1936
 19. Morton, J.H.: Trichomonas vaginalis infestation in women. Br, J. Vener Dis 19: 121 1943
 20. Naguib S.M. Comstock, G.W. Davis H.J.: Epidemiologic study of trichomoniasis in normal women. Obstet Gynecol 27: 607 1966
 21. Lowe G.H.: A comparison of current laboratory methods and new semisolid culture medium for the detection of Trichomonas vaginalis. J. Clin pathol 18: 432 1965
 22. Clark, D.H. Solomona, E.: An evaluation of routine examination for trichomonas vaginalis and Candida. Am. J. Obstet. Gynecol 78: 1314 1959
 23. Lazar, A: Trichomonas vaginalis infection. Incidence with use of various contraceptive methods. J. Med. Soc. N.J. 67: 225 1970
 24. Feinber J.G. and Whittington M. Joan: A culture medium for Trichomonas vaginalis Donne and species of Candida. J. Clin pathol 10: 327 1957
 25. Ray E. Trussell and Plass E.D.: Trichomonas vaginalis and Trichomoniasis Charles C. Thomas Publisher, Springfield Illinois 1947 First edition
 26. Jirovec O., Petro M.: Trichomonas vaginalis and trichomoniasis. Adv. Parasitol 6: 117 1968
 27. Donne H.A.: Animalcules observe dans les materes purulentes et le produit des secretions des organes genitaux de l homme et de la femme compte Rendus Hebdomadaires des Seances der l Academie des Science 3: 385 1836
 28. Najarian H.H.: Textbook of Medical Parasitology William and Wilkins Baltimore 1967 p. 92.
 29. Angelucci H.M.: Trichomonas vaginalis vaginitis. A clinical study Am. J. Obst. Gynecol 31: 1020 1936
 30. Naguib S.M., Comstock G.W., Davis H.J.: Epidemiologic study of Trichomoniasis in normal women. Obstet. Gynecol 27: 607 1966
 31. 范秉真、劉和榮、曾麗璇、吳香蓮、王冠一：陰道鞭毛蟲之研究，著重於陰道鞭毛蟲攜帶單純疱疹病毒第二型之可能，中華民國微生物學會第14次學術演講會摘要，中華民國微生物及免疫學會雜誌第1卷第4號，p. 271-272民國70年12日。
 32. Ou Yun-Yen: Invasive property pathologic manifestation and life cycle of trichomonas vaginalis and its clinical significance. IX the world congress of Gynecology and Obstetrics Abstract. p. 502 FIGO 1979, Tokyo
 33. 阮正雄：組織細胞診對於子宮頸惡性病變的檢測，醫檢雜誌第1卷第2號，民國68年10月25日，p.11-15，大學圖書出版社70年1月
 34. Anita K., Bahn Sc D. M.D.: Basic Medical statistic

TRICHOMONAS VAGINALIS DETECTED BY A SIMPLE APPLIED METHOD IN OBSTETRICS AND GYNECOLOGIC CLINIC—USING THE LIU'S STAIN

Cheng-Hsiung Roan

SUMMARY

Vaginal discharge is the most common complaint in *Trichomonas vaginalis*. The frequently diagnosed problem among women attending the Obs. & Gyn clinic. If the patient had a "Strawberry cervix" a reddened friable granular appearing cervix, purulent, frothy discharge is indeed a characteristic of *Trichomonas vaginitis*. But the diagnosis is sure to find that *Trichomonas vaginalis* is present in the vaginal discharge. In the Obs-Gyn clinic, Donn'e wet-mount test and culture are common diagnostic methods which had remains highly specific. The author developed a simple applied method to detected *Trichomonas vaginalis* with direct smear and Liu's stain. In the solution A containing methanol which had fixation function as papanicoalous smear. The trichomonas vaginalis was stained with cytoplasm in light blue in color and violet in nuclear and Axostyle. From the staining morphology It can be easy differert diagnosis from leucocyte and epithelium. This method is simple and satisfactory to diagnosed *Trichomonas* infection in the clinic.

Key word: *Trichomonas vaginalis*, Liu's stain,

Department of Pathology and Obs-Gyn, Taipei Municipal Women and Children's Hospital.

Received for Publication: April 22, 1983.