

查细胞学特征将 LT 细分为组织细胞期、增殖期、移行期、干酪期和恢复期,能够更准确地反映疾病发生、发展的临床特点。

临床工作中需注意 LT 与其他淋巴结对肉芽肿性疾病的鉴别。在组织细胞期,须与慢性淋巴结炎及其他炎性肉芽肿鉴别,其主要区别在于 LT 病变淋巴结中组织细胞较多,且往往很少转化成吞噬细胞,后者病变淋巴结中吞噬细胞内可见黑紫色异物颗粒。在增殖期,须与结节病及其他肉芽肿鉴别,尤其是与梭形细胞癌的鉴别,LT 病变淋巴结中可见较为典型的朗格汉斯细胞或类上皮样细胞,核染色质疏松、核质较丰富,而梭形癌细胞核染色质致密、核质较少。LT 移行期较易确诊,但须注意与炎性和癌性坏死的鉴别。处于干酪期的 LT 患者易合并感染,导致病变淋巴结中出现较多的中性粒细胞,与炎性疾病如坏死性淋巴结炎的区别在于 LT 病变淋巴结组织涂片可见少量中性粒细胞残骸,且背景可见猩红色坏死物,而后者淋巴结细胞坏死程度较 LT 低,涂片可见较多的较为成型的中性粒细胞;此期 FNAC 检查未见结核细胞时,须注意癌性病变,如恶性淋巴瘤、转移癌的漏诊,或将 LT 误诊为恶性肿瘤。在恢复期,须综合考虑患者病史及临床体征,注意与其他常见炎性淋巴肉芽肿的鉴别。

通过多年的临床观察,笔者发现在没有进行分期诊断前,易出现处于组织细胞期或恢复期 LT 患者的漏诊或误诊,而 LT 细胞学分期诊断可提高检出率,减少漏诊和误诊。因此需重视 LT 早期即组织细胞期的跟踪观察,增殖期、移行期和干酪期的诊断和鉴别诊断,以及恢复期的回顾性诊断。综合分析本研究成果,笔者认为 LT 的细胞学分期诊断在疾病的正确诊断和鉴别诊断,及病程进展、疗效和转归判断等方面具有重要的临床价值。

• 检验技术与方法 •

一种细菌过氧化氢酶检测试剂的研制

马翔¹,赵娟¹,谢晓晓²,邹燕¹,丘利丹¹,钟丽妍¹,陈秋清¹

(1. 广东省广州市花都人爱医院检验科 510800;2. 广东省深圳市罗湖区新兴门诊部检验科 510000)

摘要:目的 研制反应灵敏、结果典型、无气溶胶、性质稳定的 H₂O₂ 酶试剂。方法 采用复合稀释剂配制 3%、5%、10%、15%、20% 的 H₂O₂ 溶液,通过测试 H₂O₂ 酶阳性菌株,确定 H₂O₂ 的应用浓度,并观察阴性菌株的反应和不同贮存温度下试剂的有效期。结果 配制的 5% H₂O₂ 溶液,阳性反应气泡丰富、浓密,气泡持续时间大于 180 s,结果典型、无假阳性和假阴性、无气溶胶。密封储存在 4~8 °C 12 个月及 35 °C 60 d 不影响试剂质量。结论 研制的试剂测试细菌 H₂O₂ 酶结果典型易辨,是一种优质的 H₂O₂ 酶试剂。

关键词:过氧化氢酶; 细菌; 试剂

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.13.043

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)13-1494-02

过氧化氢酶(H₂O₂ 酶)是微球菌科葡萄球菌和链球菌鉴定的关键试验,也是放线菌属、艾肯菌属等苛养菌的重要生化特征,在其他细菌等鉴别中也使用这一特征^[1-4]。即使是采用先进的自动化微生物分析仪鉴定细菌,也是仪器需要的补充试验。细菌 H₂O₂ 酶试验报道过滴定法、毛细管法、钼酸铵法,但是实验室多采用 H₂O₂ 水溶液直接检测细菌的 H₂O₂ 酶,其优点是简便、直观,但存在气泡消失快,弱反应的菌株气泡少,结果不典型,影响准确判断的不足^[5-9]。另外,阳性反应产生的气溶胶还可能给试验人员带来危害。本研究通过反复的摸索,研制出阳性反应气泡丰富、浓密、持续释放 180 s 以上、无假阴性和假阳性、无气溶胶、性质非常稳定的 H₂O₂ 酶试剂,现报道

参考文献

- [1] 王玲,王永才,赵成艳,等. 淋巴腺结核针吸细胞病理学分型诊断与结核抗体检测[J]. 中国医疗前沿(学术版),2008,3(14):87,114.
- [2] 王颖,王永才,赵成艳,等. 淋巴结核针吸细胞病理学对淋巴结核早期诊断的研究应用[J]. 医药世界,8(7):68-70.
- [3] 刘奉春. 淋巴腺结核分期针吸细胞学的检验诊断[J]. 中华医学研究与实践,2004,2(8):43.
- [4] 刘秀娜,张华芬,于海涛. 淋巴结核针吸细胞病理学对淋巴结核分型诊断的应用研究[J]. 现代检验医学杂志,2005,20(2):43-44.
- [5] 高绪锋,张守永,张松涛,等. 细针穿刺细胞学与抗酸染色检验在淋巴结核诊断中的比较[J]. 检验医学,2010,25(12):944-946.
- [6] 王永才,崔娟维. 针吸脱落细胞诊断学图谱[M]. 北京:人民军医出版社,2003:109-126.
- [7] 张乃鑫,丁顺利,步宏,等. 结核性淋巴结炎的组织细胞反应性增生变型[J]. 中华病理学杂志,1994,23(2):104-106.
- [8] 曾桂香,陈梅桂,谢小英. 1 425 例淋巴结肿大针吸细胞学检查的临床意义[J]. 华北煤炭医学院学报,2009,11(3):338-339.
- [9] 王永才,赵成艳,王忠利,等. 结核性淋巴结炎针吸细胞病理学分型与结核抗体相互关系研究[J]. 医学研究杂志,2008,37(4):88-91.
- [10] 徐裕海,王永才,张蕾. 结核抗体、PPD 与结核性淋巴结炎病理细胞分型相互变化关系[J]. 中国医疗前沿(学术版),2008,3(11):168-170.

(收稿日期:2010-11-10)

如下。

1 材料与方法

1.1 试剂 30% H₂O₂ 为广州化学试剂厂生产,批号为 20090502-1,用复合稀释剂(自配,成分为蒸馏水和添加剂)配置 3%、5%、10%、15%、20% H₂O₂ 溶液,分装带螺帽试管,密封保存。

1.2 试验平板 营养琼脂(Nutrient agar, NA)、水解酶蛋白琼脂(Muller-Hinton agar, MH)、巧克力琼脂(Chocolate agar, CA)及哥伦比亚血琼脂(Columbia blood agar, CBA)平板均购自广州迪景微生物科技有限公司(用 Oxoid 公司干粉配制)。

1.3 试验菌株 为本室保存菌种,其中嗜蚀艾肯菌为广东省

临床检验中心室间质评鉴定正确菌株,其他菌株经法国生物梅理埃公司 ATB 半自动微生物分析仪鉴定。其中 H₂O₂ 酶强阳性菌为金黄色葡萄球菌 ATCC25923、金黄色葡萄球菌 ATCC29213, H₂O₂ 酶弱阳性菌为单核细胞增多李斯特菌、大肠埃希菌 ATCC25922。H₂O₂ 酶阴性菌为肺炎链球菌 ATCC49619、化脓性链球菌 ATCC19615、粪肠球菌 ATCC33186、粪肠球菌 ATCC29212、嗜蚀艾肯菌。

1.4 试验方法

1.4.1 分别取 3%、5%、10%、15%、20% 的 H₂O₂ 酶试剂直接滴在 NA、MH、CA 和 CBA 平板 18~24 h 细菌生长物上,在黑色背景(CA、CBA 除外)下观察阳性菌株的反应,确定 H₂O₂ 的应用浓度。同时观察阴性菌的反应以及不同培养基对 H₂O₂ 酶的影响。

1.4.2 观察试剂冷藏(4~8℃)的有效期,即在每月固定日期检测阳性和阴性菌株,连续观察 12 个月。同时还观察 35℃(放恒温培养箱中)对试剂质量的影响。

2 结果

用 3%、5%、10%、15%、20% 5 个浓度的 H₂O₂ 酶试剂,在未接种细菌的 NA、MH、CA 平板上无气泡出现,但在 CBA 上产生大量的气泡。5 个浓度的 H₂O₂ 酶试剂测试 NA、MH、CA 平板上的金黄色葡萄球菌 ATCC25923、29213 的 H₂O₂ 酶反应 3+;测试单核细胞增多李斯特菌和大肠埃希菌 ATCC25922 的 H₂O₂ 酶反应 2+。在 5 个浓度的 H₂O₂ 溶液中,5% 的浓度即能满足试验的要求。阴性菌株均无气泡出现,阳性反应均不产生气溶胶。有关试验的结果及试剂有效期见表 1。

表 1 H₂O₂ 酶试验结果及试剂有效期

试剂	H ₂ O ₂ 酶阳性菌				H ₂ O ₂ 酶阴性菌 [△]				
	金黄色葡萄球菌 ATCC 25923	金黄色葡萄球菌 ATCC 29213	单核细胞增多 李斯特菌 [△]	大肠埃希菌 ATCC 25922	肺炎链球菌 ATCC 49619	化脓性链球菌 ATCC 19651	粪链球菌 ATCC 29212	粪链球菌 ATCC 33186	嗜蚀 艾肯菌 [#]
新配试剂	3+	3+	2+	2+	-	-	-	-	-
4~8℃ 12 个月	3+	3+	2+	2+	-	-	-	-	-
35℃ 60 d	3+	3+	2+	2+	-	-	-	-	-

3+: 气泡丰富、浓密,持续释放时间大于 180 s;2+: 气泡稍少,持续释放时间大于 180 s;-: 无气泡产生;#: 嗜蚀艾肯菌接种 CA 平板,其他细菌均为 NA 平板;△: 单核细胞增多李斯特菌和 H₂O₂ 酶阴性菌采用密涂法培养。

3 讨论

金黄色葡萄球菌在 NA、MH 上生长良好,但链球菌、嗜蚀艾肯菌等在无血琼脂上生长不佳,而 CA 平板适合包括苛氧菌在内的细菌生长,不产生假阳性,可作为 H₂O₂ 酶的首选培养基(苛养菌应采取密涂法培养,使之有足够的生长物)。培养基是否造成 H₂O₂ 酶假阳性,可直接在未接种细菌处滴加 H₂O₂ 酶试剂进行验证,无气泡出现即可使用。在平板上做 H₂O₂ 酶试验的优点是不需要挑起菌落,操作简便、直观,特别适合苛养菌。由于 CBA 本身可产生剧烈的 H₂O₂ 酶反应,取菌落时应避免刮到血琼脂,以免造成假阳性。若将菌落刮到玻片上试验,在黑色背景下更便于弱阳性菌的气泡观察^[9]。

H₂O₂ 使用浓度没有明确的规定,长期以来各实验室都是凭经验自配水溶液。高浓度的 H₂O₂ 有强腐蚀性,对于试验本身也无必要。以复合稀释剂配制的 5% H₂O₂ 溶液测试金黄色葡萄球菌产生丰富的气泡,特别是 H₂O₂ 酶弱的单核细胞增多李斯特菌和大肠埃希菌也能产生大量的气泡。这是因为试剂有罩住气泡的作用,使产生的气泡持续 180 s 以上,气泡浓密且长时间不消失,以及试剂无假阴性和假阳性,明显优于传统的试剂。不产生气溶胶,不会对试验人员带来危害。

研制的试剂稳定性极好,在 4~8℃ 保存 12 个月,35℃ 保存 60 d 不影响试剂质量。在试验中观察到试剂的密封比冷藏更为重要,用完后应当密封保存。

全国临床检验操作规程未明确 H₂O₂ 酶阴、阳性质控菌株^[9],有研究者推荐金黄色葡萄球菌和肺炎链球菌^[10],而肺炎链球菌容易死亡。本试验结果表明,葡萄球菌和肠球菌都可以

作为质控菌株,这些菌株是细菌室常规药敏质控菌,容易获得和保存。

参考文献

- [1] 高志庆. 过氧化氢酶阴性 MRSA 检测方法的比较[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(15): 2348.
- [2] 吕晓英, 张朝武, 余倩, 等. 保加利亚乳杆菌 β-半乳糖苷酶高产株的筛选[J]. 现代预防医学, 2002, 29(6): 756-759.
- [3] 宗晓福, 刘云霞, 王琴. 成团泛菌肺部感染 8 例[J]. 中国医刊, 2007, 42(8): 43-44.
- [4] 崔凡, 陶诗沁, 沈永年, 等. 马拉色菌临床株分类鉴定的研究[J]. 中华皮肤科杂志, 2005, 38(8): 492-494.
- [5] 唐明忠, 宋金福, 陈淑英, 等. 滴定法定量检测细菌过氧化氢酶和在肠杆菌科的应用[J]. 中华医学检验杂志, 1991, 14(4): 238-239.
- [6] 廖文, 何颖, 高海燕, 等. 临床常见地阳性菌属简易鉴定法的研究[J]. 中国公共卫生, 2003, 19(7): 874-875.
- [7] 杜忠斌. 用钼酸铵间接测定细菌过氧化氢酶[J]. 中华医学检验杂志, 1995, 18(2): 105.
- [8] 贺岩松. 毛细管用于触酶试验[J]. 中华医学检验杂志, 1999, 22(5): 312.
- [9] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 760.
- [10] 周庭银, 倪语星. 临床微生物检验标准化操作(ISO15189 认可指导书)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2010: 196.

(收稿日期: 2010-10-09)