

短,发挥各自优点。有条件的实验室可以 CMIA 法检测为主,但对 HBsAg 测定值 S/CO 在 0.05~0.2 之间的弱阳性结果应予以复检(相同方法或 ELISA 法),并且建议 1~3 个月后复查该结果<sup>[9-10]</sup>。不能以 CMIA 法检测为主的实验室,可以 ELISA 法为主,对于可疑结果或少见模型(尤其涉及抗-HBe 和抗-HBc)再使用 CMIA 法复核其结果。

## 参考文献

- [1] 刘崇柏.我国乙型肝炎的流行现状及预防[J].中华预防医学杂志,1996,30(增刊):61.
- [2] 谭凌卉.ELISA 法检测 HBV 血清标志物影响因素的分析[J].湖南师范大学学报(医学版),2009,6(2):20-23.
- [3] 葛君刚,王丽娜.影响 ELISA 法检测乙型肝炎病毒血清标志物的因素[J].国际检验医学杂志,2010,31(3):289-290.
- [4] 张国元,胡彦,瞿明凡,等.1 010 例乙型肝炎病毒血清标志物检测[J].国际检验医学杂志,2007,28(2):119-121.

- [5] 李金明.血液感染性疾病标志物筛选中应重视的若干问题[J].中华检验医学杂志,2006,29(7):577-580.
- [6] 李金明.感染性疾病血清学检验中应重视对弱反应性标本的确认[J].中华检验医学杂志,2006,29(5):385-389.
- [7] 李琦,尚晓泓.浅析乙型肝炎病毒免疫检测弱反应性标本的产生原因及报告处理[J].中国医学检验杂志,2005,7(6):454-456.
- [8] 谢云琴,方军,周莺莺,等.探讨酶联免疫吸附试验检测乙型肝炎核心抗体假阴性的问题[J].中国卫生检验杂志,2005,15(5):610-612.
- [9] 马跃飞,高丽钦,林晓丽,等.ELISA 法检测乙型肝炎表面抗原假阳性的影响因素[J].国际检验医学杂志,2010,31(10):616-617.
- [10] 王晓蓉,胡爱玲,张中伟,等.减少 ELISA 检测 HBV 血清标志物假阳性方法的探讨[J].现代检验医学杂志,2008,23(5):103-105.

(收稿日期:2011-12-27)

## • 检验技术与方法 •

# 两种抗酸染色法对麻风分枝杆菌和结核分枝杆菌染色结果分析

蒙在杨<sup>1</sup>,黄培胜<sup>2</sup>

(1.广西壮族自治区亭凉医院检验科,南宁 530022;

2.广西壮族自治区崇左市人民医院检验科 532200)

**摘要:**目的 比较 Ziehl-Neelsen 加热抗酸染色法和快速抗酸染色法(TAAS)在麻风分枝杆菌和结核分枝杆菌染色的应用结果。方法 用加热抗酸染色法和 TAAS 法同时检测 17 例现症多菌型(MB)麻风病患者和 157 例肺结核初诊阳性患者标本,对检测结果进行分析。结果 两种染色方法在结核病痰检中符合率为 100%;加热法和 TAAS 法在麻风分枝杆菌中阳性率分别为 100%和 71.36%,加热法阳性率高于 TAAS 法,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 两种染色方法在结核病痰检中符合率一致;加热法在麻风分枝杆菌中阳性率高于 TAAS 法。

**关键词:**麻风分枝杆菌; 结核分枝杆菌; 萘尼抗酸染色

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2012.07.035

**文献标识码:**A

**文章编号:**1673-4130(2012)07-0847-02

麻风分枝杆菌(*Mycobacterium leprae*)是麻风病的病原体,称麻风菌(*leprosy bacillus*);结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)是结核病的病原体,称结核菌(*tubercle bacillus*)。这两种细菌是抗酸性细菌中主要的致病菌,菌体内均含有大量脂质,一般染色难以着色,而且能抵抗酸性物质脱色,是实验室进行重点检查的致病性抗酸菌类<sup>[1-2]</sup>。现采用 Ziehl-Neelsen 加热抗酸染色法(传统抗酸染色法)和快速抗酸染色法(TAAS)对 1998~2009 年该院现症多菌型(MB)麻风病患者组织液涂片标本和由外医院提供的已确诊的肺结核患者痰涂片标本进行检测,比较两种抗酸染色法对两种抗酸性细菌的染色结果,并对临床资料作回顾性分析,以期为实验室选择更为有效、准确的抗酸染色方法提供参考。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** MB 麻风病 17 例全部来自该院住院患者,其中男 16 例,女 1 例,年龄 19~70 岁,入院时已确诊为 MB 麻风病患者。157 例肺结核初诊阳性患者,年龄 6~77 岁,其中男 87 例,女 70 例。

**1.2 仪器与试剂** (1)仪器:OLYMPUS XTF-1 调制反差显微镜,型号:CX21FS1-5。(2)试剂:传统抗酸染色液的配制,第 1 液为 5%的石炭酸复红染液,首先配制饱和液,配方为:碱性复红 4 g,加少量 95%酒精研磨后加至 100 mL,然后取 10 mL 饱和液+5%石炭酸溶液(苯酚 5 g 溶于 100 mL 蒸馏水中)成为应用液。第 2 液为脱色剂,7%稀硫酸液(浓硫酸 7 mL 溶于

蒸馏水然后加蒸馏水至 100 mL)。第 3 液为复染液,配方为美兰(次甲基蓝)0.3 g 加少量 95%酒精研磨后加酒精至 30 mL,然后再加蒸馏水至 100 mL,配制好后加 10%KOH 溶液 0.1 mL。传统染色液试剂的检查,第 3 液滴加 1 滴在干净载玻片上,液滴张力好,边缘不散则可用;每一次染色前均要检查,如液滴散开则在溶液中滴加 10%KOH 溶液到检查液滴不散为止。如果试剂检查有下列情况则弃去不用:(1)第 3 液滴加 10% KOH 溶液检查依然不合格;(2)3 种染色液中出现絮状沉淀;(3)试剂配制超过 6 个月。TAAS 试剂盒由四川省迈克科技有限责任公司提供。

**1.3 方法** 17 例 MB 麻风患者取材部位、方法和日期主要参照文献[1]进行,部分检查根据临床医师的临床需要进行,共取材检查 136 次,每次取材均要同时涂片两张,共涂片 272 张。157 例肺结核初诊阳性患者,每一标本涂片两张,共涂片 314 张(由崇左市人民医院检验科提供)。每位患者同时制备的两张涂片,分别采用传统抗酸染色法和 TAAS 法进行染色检测。

传统染色方法:(1)所有涂片经火焰固定,加第 1 染液徐徐加热至微冒蒸汽然后放置 1~3 min(夏天染色时间较短,冬天较长),然后水洗;(2)加脱色剂约 3 min 至无红色脱落为止,水洗;滴加复染液,0.5~1 min,然后水洗;自然干燥/吹风筒吹干。TAAS 按操作说明书进行。干燥后置于油镜下对整张涂片检测,发现检测菌记录为阳性,未检测到为阴性;传统抗酸染色麻风杆菌标本还要按 Ridley 对数分级法计数菌数并记录,

TAAS 麻风菌涂片标本和结核菌标本只记录阳性和阴性<sup>[3-4]</sup>。

1.4 统计学处理 两组间的比较采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

2.1 传统抗酸染色法和 TAAS 法检测阳性结果比较, 见表 1。

表 1 两种抗酸染色法在麻风菌和结核菌涂片镜检结果比较[n(%)]

染色方法	MB 组织液标本涂片	TB 痰标本涂片
加热抗酸染色法	136(100.0)	157(100.0)
快速抗酸染色法	97(71.36)	157(100.0)

2.2 按 Ridley 计数级数(4+~6+、1+~3+, 按显微镜检测视野中最高计数记录), 136 例 MB 麻风病患者组织液涂片标本按加热抗酸染色阳性标本分为两组, 即 4+~6+ 组(A 组) 47 例和 1+~3+ 组(B 组) 89 例, 其中 A 组 TAAS 法检测阳性 40 例, 阴性 7 例, B 组 TAAS 法检测阳性 57 例, 阴性 32 例。A 组 TAAS 法检测阳性率 85.11%(40/47) 高于 B 组阳性率 64.04%(57/89), 差异有统计学意义( $\chi^2 = 6.67, P < 0.05$ )。

## 3 讨 论

实验室检查是发现麻风病、结核病传染源的主要途径和手段, 是该病诊断和确定化疗方案的重要依据, 也是考核疗效、评价治疗效果的可靠标准<sup>[5-6]</sup>。麻风菌目前还无法培养分离提纯出来, 皮肤刮取组织液涂片抗酸染色显微镜检查是实验室唯一的有效方法, 联合病理检查可确诊麻风病; 而分子诊断学检测麻风菌的可行性在国内外还处于理论探讨和小规模实验阶段。结核菌除了显微镜检查外还有培养法和分子诊断学方法的检查, 如蛋白芯片技术等, 但 WHO 还是把显微镜检查列为实验室首选方法之一<sup>[7-8]</sup>。本研究采用的本医院传统的抗酸染色法也是从 Ziehl-Neelsen 法改良而来, 检测麻风菌效果理想。本研究结果显示加热抗酸染色法在 136 张片中均能检查到细菌, 而快速抗酸染色阳性率只有 71.36%(91/136), 在细菌数和完整细菌(活菌)较多的 4+~6+ 时较高, 85.11%(40/47), 而在 1+~3+ 细菌数较少中和不规则细菌(死菌)较多中阳性率较低, 表明三联化疗(MDT)后随着时间的推移和药物的作用, 麻风菌数逐渐降低和形状从完整杆状(活菌)变成不规则珠状(死菌)时该方法更难着色, 而传统抗酸染色法就不存在这种问题。在阳性痰片中两种方法均能查到结核菌。分析该两种染色方法在不同标本不同细菌染色阳性率结果不同的原因是: (1) 涂片中两种细菌存在的标本不同, 结核菌存在于痰液中, 痰液成分脂质和蛋白质较少, 而麻风菌存在于皮肤刮取的组织液, 脂质和蛋白质含量较高, 而脂质和蛋白质有抵抗着色剂的渗透作用, 而且麻风菌大多在泡沫细胞中, 泡沫细胞可能有阻碍着色剂穿透作用, 未加热不易穿透着色<sup>[9]</sup>。(2) 菌体大小、分布不同, 麻风菌大小为(1×0.3)  $\mu\text{m}$  稍短于结核菌(3×0.3)  $\mu\text{m}$ , 镜下观测麻风菌实际比结核菌小, 麻风菌大多分布在泡沫细胞中, 未治疗时成柴捆样排列, 而结核菌大多呈单条菌散在涂片中, 这两种细菌细胞壁蛋白质和脂质化学结构也不甚相同。本研究在 TAAS 中的结核菌、麻风菌和在两个麻风菌计数级数中阳性率结果和其他学者观点一致。不加热抗酸染色和加热

抗酸染色在结核菌检出的阳性率无差异, 但在麻风菌中阳性率明显低于加热抗酸染色, 有可能不加热着色较弱易被酸性物质脱色。(3) 脱色剂不同, TAAS 脱色剂是盐酸酒精溶液, 而传统染色法是 7% 稀硫酸溶液, 有文献报道病理室抗酸染色改用 5%~20% 稀硫酸水化能提高麻风菌阳性率<sup>[10]</sup>。本研究表明两种染色法在痰片结核菌检测的结果无差异, 但在麻风菌检查中加热抗酸染色法更准确。

在实际工作中, 痰片筛查结核菌工作量较大, 用传统抗酸染色加热观察到微冒蒸气较难把握, 也很容易爆沸造成污染和玻片爆裂损坏标本, 试剂也用得较多, 大量配制试剂会给检验工作人员增加工作量, 影响检查效率<sup>[8]</sup>。使用 TAAS 法工作效率较高, 而且成本相当。现在人口流动性大, 已不使用大规模拉网检查麻风病, 主要依靠皮肤科门诊患者就诊时发现, 但患者只是发现自己患皮肤病, 并不自知是麻风病, 早发现早治疗可减少患者携带传染性的完整菌接触到易感人群而造成传染。而且病程迁延易造成畸残, 实验室及早准确检测是防治过程中重要一环, 实验室选择准确性高的染色法是早发现的关键因素之一<sup>[11-12]</sup>。因此, 在痰涂片中显微镜检查结核菌选用 TAAS 法更有效, 而在麻风病检测中选择传统抗酸染色更准确。

## 参 考 文 献

- [1] 马海德. 麻风防治手册[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1989: 431-432.
- [2] Simsek H, Ceyhan I, Tarhan G, et al. Quality assessment of microscopic examination in tuberculosis diagnostic laboratories: a preliminary study[J]. Mikrobiyol Bul, 2010, 44(4): 561-569.
- [3] 格林伍德. 医学微生物学[M]. 15 版. 北京: 北京科学出版社, 1999: 210-212.
- [4] 张凤娥, 杨克健, 莫拉提, 等. 19 例麻风杆菌抗酸染色[J]. 临床与病理学杂志, 2005, 20(3): 261-263.
- [5] 韩敏, 乐军. 结核病诊断和耐药性检测新技术[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(3): 260-262.
- [6] Nigusie M, Mamo G. Detection of acid fast bacilli (AFB) in tuberculous lymphadenitis among adult Ethiopians[J]. Ethiop Med J, 2010, 48(4): 277-83.
- [7] Hooja S, Pal N, Malhotra B, et al. Comparison of Ziehl Neelsen & Auramine staining methods on direct and concentrated smears in clinical specimens[J]. Indian J Tuberc, 2011, 58(2): 72-76.
- [8] 侯远沛, 彭素真, 彭韞丽, 等. 徐州市结核分枝杆菌耐药原因分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(4): 493-494.
- [9] Mastrangelo G, Silva-Neto J, Silva GV, et al. Leprosy reactions: the effect of gender and household contacts[J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2011, 106(1): 92-96.
- [10] 张春萍, 黄拯球, 翁立强, 等. 改良 Wade-Fite 氏石炭酸品红法显示麻风杆菌 50 例[J]. 福建医药杂志, 2010, 32(1): 78-79.
- [11] 吕新民. 麻风病 20 例实验室检查质量控制分析[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2011, 14(7): 1070-1071.
- [12] 白广红, 李耀军. 结核生物蛋白芯片技术在结核病临床诊断中的价值探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(5): 597-599.