

聚集沉淀涂片与直接涂片抗酸染色法检测抗酸杆菌的应用比较

陈中秀¹ 谢清波¹ 周凤荣²

(1. 长春市传染病医院检验科 长春 130123; 2. 长春市二道区妇幼保健院检验科 长春 130031)

目前结核病仍是严重威胁人类健康的重大疾病之一,其实实验室快速诊断一直是国内外研究的课题。目前迫切需要一种快速、简便、灵敏、廉价的方法、应用于临床标本的检测^[1-2]。近年来,一些针对结核分枝杆菌检测的新方法陆续报道及应用。除传统细

菌学方面的涂片和培养外、仪器 BACT/ALERTD 法培养检测也需要 2~27 d 平均 8.7 d,阴性报告时间 42 d^[3]。聚合酶链反应(PCR)法、噬菌体裂解法、PCR-斑点杂交法、检测结核分枝杆菌虽然比培养快速、灵敏、但成本太高。有的还需要特殊仪器设备。

所以很难在基层实验室普及和推广应用。免疫学检测方法虽然操作简单、快速但也只能做辅助诊断。所以目前仍然主要采用传统方法涂片及培养。直接涂片虽然敏感性低,但是操作简单,特异性较高,快速、廉价仍是中小实验室和基层实验室的主要检验方法。为了提高涂片的阳性检出率,我们把痰标本先液化浓缩处理后涂片抗酸染色检查抗酸杆菌。结果取得了理想的效果。

1 资料和方法

1.1 病例的来源 2008 年 5 月—8 月本院门诊和住院 100 例肺结核病患者的痰标本。

1.2 标本的制作方法

1.2.1 直接涂片检查 严格按照《痰涂片镜检质量保证手册》中方法。

1.2.2 聚集沉淀涂片方法

1.2.2.1 标本的前处理 液化处理、将待检标本全部放在 50 ml 有盖的离心管中,加等体积的 4% NaOH 或 H_2SO_4 盖上盖后用力振荡或应用旋转振荡器混匀打散痰液。

1.2.2.2 离心沉淀 以 3 000 转/min 离心沉淀 15 min,取出将悬浮液轻轻倒入含有消毒液的缸内。

1.2.2.3 取沉淀物在载玻片上涂片 (1 cm×2 cm) 自然干燥。(用 NaOH 消化的沉淀物应先用酸中和后再涂片,这样痰膜不易脱落。)

1.2.2.4 染色 参考《痰涂片镜检质量保证手册》中抗酸染色法(萘-尼氏抗酸染色)

1.2.2.5 镜检报告 以上 2 种涂片染色法镜检结果报告;参照《痰涂片镜检质量保证手册》镜检结果分级报告标准。

2 结果

2.1 用直接和聚集沉淀涂片法对 100 份确诊肺结核患者的痰标本进行检验的结果,见表 1。

表 1 2 种涂片方法检测肺结核患者痰标本结果

涂片方法	阴性	阳 性					合计
		1~8 条	1+	2+	3+	4+	
直接涂片	74	2	10	3	4	7	26
聚集涂片	59	12	4	5	8	12	41

2.2 敏感性试验 用 BACT/ALERTD 法与聚集涂片法对 50 份痰标本做了对比,BACT/ALERTD 法阳性 51%,聚集涂片法阳性 60%。比培养高的原因可能是有一部分患者用药后 MTB 菌被抑制或被杀死。所以用 BACT/ALERTD 法培养阴性。

3 讨论

几十年来,结核病细菌学检查一直是发现主要传染源的途径和手段,是确定结核病诊断和化疗方案的重要依据。涂片找抗酸杆菌是最普及和经济的方法,缺点是敏感性底,通常需要大于 5 000 条菌/ml 才能检测到阳性结果。结核菌培养仍是目前诊断 MTB 的金指标,尤其是药敏实验结果在指导临床用药及耐药性检测等方面具有重要作用,但其耗时太长则有待改进。由于上述原因,致使结核病细菌学检查一直不能满足临床诊治的需要^[4]。

聚集沉淀涂片法原理:就是聚集分散在整个标本内的 MTB 菌,提高涂片选取标本内的 MTB 含量。这样就能明显提高抗酸杆菌阳性的检出率,来弥补直接涂片阳性检出敏感性低的缺点。本文通过对 100 例结核病人痰标本进行 2 种涂片抗酸染色方法镜检结果对比。结果阳性率由直接涂片的 26% 提高到 41%。

本法优点:既弥补了直接涂片敏感性低这一缺点,又继承了传统 AFB 镜检方法,其技术相对简单、容易标准化和完成操作。便于在临床实验室尤其是基层实验室普及和推广。

4 参考文献

- [1] 胡忠义,庞茂银,靳安佳,王亦峰.应用噬菌体裂解法快速鉴定结核分枝杆菌[J].中华结核和呼吸杂志,2001,24:611.
- [2] 黄海荣,马珂.噬菌体在结核分枝杆菌研究中的应用[J].中华结核和呼吸杂志,2002,25(8):797.
- [3] 王乐明,韩永德,王强.噬菌体扩增法与 BACT/ALERTD 法检测分枝杆菌的应用比较[J].中国实验诊断学,2007,12:1691.
- [3] 姚刚,张淑鹏.几种结核杆菌检测方法的临床应用评价[J].中国实验诊断学,2007,12:1699.
- [4] 中国疾病预防控制中心.痰涂片镜检质量保证手册[S].北京:中国疾病预防控制中心.

(收稿日期:2008-09-17)