

提高抗酸杆菌痰涂片镜检阳性率方法探讨及应用评价

岳友宏, 李艳霞, 肖玉梅

新邵县疾病预防控制中心, 湖南 新邵 422900

摘要: **目的** 探讨提高抗酸杆菌痰涂片镜检阳性率的方法, 为发现更多传染源, 减少结核病的传播提供科学依据。 **方法** 对本标本分别采用直接法和消化离心沉淀法进行涂片, 经萆-尼氏染色镜检, 比较两法涂片阳性率。消化离心沉淀处理的标本再分别经荧光染色、LED 镜检和萆-尼氏染色镜检结果对比, 并对两法差异结果进行分析评价。 **结果** 158 份唾液痰分别用直接涂片和消化离心沉淀法涂片, 经萆-尼氏染色镜检, 涂片阳性率分别为 2.53% 和 10.76%, 204 份粘液痰阳性率分别为 5.88% 和 13.73%, 396 份干酪痰阳性率分别为 16.92% 和 19.19%, 62 份血痰阳性率分别为 9.68% 和 14.52%。唾液痰与粘液痰阳性率结果差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 干酪痰与血痰阳性率差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而两法合计阳性率结果差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。上述标本全部经消化离心沉淀法处理后涂片, 分别用萆-尼氏染色光镜镜检和荧光染色 LED 荧光镜检, 唾液痰、粘液痰、干酪痰和血痰阳性率依次提高了 5.06%、4.41%、5.05% 与 4.83%。每种不同性状标本两法阳性率结果差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而两法合计阳性率结果差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。对两法阳性率差异结果比较, 荧光染色 1+, 而萆-尼氏染色仅只能判为 1+ 以下的标本 27 份, 荧光染色判为 2+, 而萆-尼氏染色判为 2+ 以下的标本 30 份, 荧光染色判为 3+, 而萆-尼氏染色判为 3+ 以下的标本 18 份。 **结论** 对痰标本采用消化离心沉淀法进行涂片, 再配合荧光染色、LED 荧光显微镜镜检是一种能提高抗酸杆菌涂片阳性率、且操作简单、适合基层开展的方法。

关键词: 直接涂片; 消化离心涂片; 萆-尼氏染色; 荧光染色; LED 荧光显微镜

中图分类号: R521 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2018)10-1270-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2018.10.036

作者简介: 岳友宏 (1977-), 男, 本科学历, 副主任技师, 主要从事微生物检验工作。

对终试量表回收数据进行探索性因子分析检测问卷的理论结构, 提取了 6 个公因子, 26 个条目在相应因子上的载荷值为 0.4~0.7, 累计方差贡献率为 47.8%, 高于 40% 的标准, 并满足每个条目在其中一个公因子上负荷较大, 而在其余公因子上负荷较低的要求。最终根据编制量表的预期及考虑具体题项的内容将 6 个因子命名为职业认同、情绪稳定性、进取心、理解他人、沟通能力、责任感。以护士心理素质量表为效标, 两个量表的相关系数为 0.74, 呈正向相关, 符合 Rajmil 等^[11]认可的 0.6~0.8 即为理想结果的要求。Hoare 等^[12]认为, Cronbach's α 系数 > 0.7, 信度好; 0.6~0.7, 信度一般; 小于 0.6, 信度不好。本研究中该量表总的 Cronbach's α 系数为 0.79, 将量表按照奇偶数题号分成两半后的分半信度 0.82, 量表的内部一致性和稳定性较好; 间隔 4 周前后两次测量量表总分的相关系数 0.77, 即重测信度良好。总体来说, 量表的信效度良好。

3.3 展望和局限性 由于被试有限, 编制该量表时仅采用了探索性因子分析, 而没有采用验证性因子分析对其结构进行验证。接下来的研究除对量表信度和效度进行进一步验证外, 还需对该量表的结构进行验证性因子分析。另外, 本研究未能建立该量表的常模,

这也是今后研究的目标之一。

参考文献

- [1] Okura M, Uza M, Izumi H, et al. Factors that affect the process of professional identity formation in public health nurses[J]. Open J Nurs, 2013, 3(1): 8-15.
- [2] 王丽雅, 樊晶晶, 彭文骏, 等. 国内外护士职业自我概念测评的研究进展[J]. 中国实用护理杂志, 2014, 30(1): 46-48.
- [3] 王章安, 黄宝芹, 韦艳华, 等. 护理核心能力的概念分析[J]. 中华护理杂志, 2012, 47(6): 562-564.
- [4] 张俐. 护士心理素质量表的编制[J]. 中国行为医学科学, 2003, 12(1): 99-100.
- [5] 曾勇. 高职生职业心理素质问卷的初步编制及应用研究[D]. 长沙: 湖南师范大学, 2011.
- [6] 邓芳丽, 张健, 李宣霖, 等. 中文版护士职业认同量表的信效度分析[J]. 护理学报, 2016, 23(1): 47-50.
- [7] 年承涛. 广东省公务员职业心理素质量表的初步编制[D]. 广州: 华南师范大学, 2005.
- [8] 王阳, 马磊, 隋国媛, 等. 护士职业倦怠与职业紧张的关系研究[J]. 实用预防医学, 2012, 19(4): 628-629.
- [9] 徐慧兰, 李嫔, 李丽, 等. 长沙市基层卫生人才队伍建设研究[J]. 实用预防医学, 2014, 21(1): 121-124.
- [10] 臧爽, 刘富强, 赵梅珍, 等. 不同录取批次护理本科生学习投入情况的比较研[J]. 实用预防医学, 2014, 21(11): 1321-1324.
- [11] Rajmil L. Health measurement scales: a practical guide to their development and use, 3rd ed[J]. Br J Gen Pract, 1990, 40(334): 219.
- [12] Hoare KJ, Millsc J, Francis K. Becoming willing to role model. Reciprocity between new graduate nurses and experienced practice nurses in general practice in New Zealand: a constructivist grounded theory[J]. Collegian, 2013, 20(2): 87-93. 收稿日期: 2017-10-10

痰涂片镜检一直以来是发现结核病传染源的一种最直接、易行且有效的方法,在结核病防控工作中起着不可缺少的重要作用,但随着时代的发展,面临着耐药结核、结核病与艾滋病双重感染与流动人口结核病三大难题与挑战。直接痰涂片镜检敏感性低,涂阳患者漏检现象严重,传统方法难以满足新形势下结核防控策略的需求,为此亟待需要提高痰涂片镜检阳性率,以便发现更多的传染源,来遏制结核病疫情进一步传播。为此,本文从传统的直接涂片与普通光镜检两个环节着手改进,采用消化离心沉淀集菌涂片、荧光染色、发光二极管显微镜镜检,来探讨一种能提高抗酸杆菌痰涂片镜检阳性率,且适合基层开展应用的方法,现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 对象 收集 2015 年 11 月-2016 年 2 月来新邵县疾病预防控制中心结防科就诊的初诊肺结核可疑症状者和随访患者 820 份痰标本作为研究对象。

1.2 仪器与试剂 奥林巴斯 CX31RTSF 生物显微镜,Primo Star i LED 荧光显微镜,湘仪 CTK120 自动脱盖离心机,XH-C 旋涡振荡器,萋-尼氏抗酸染色液,荧光染色液(由珠海贝索生物公司提供),3%NaOH 消化液,pH6.8 PBS 缓冲液。

1.3 方法

1.3.1 标本处理 消化离心沉淀法涂片按以下步骤操作:在标本中加入 1~2 倍体积 3%NaOH 消化液,旋涡振荡器上振荡 15 s,至标本充分液化,加入 pH6.8 PBS 缓冲液至 50 ml 刻度,混匀,3 500×g 离心 15 min,弃上清,加入 PBS 缓冲液 2 滴,混匀。取沉淀物 50 μl 制成 1×2 cm 椭圆、厚薄适度的涂片。

1.3.2 染色镜检 萋-尼氏染色、荧光染色及结果判读依照《中国结核病防治规划痰涂片镜检质量保证手册》^[1]操作规程进行。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据处理和分析。定性资料分析采用 χ^2 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ (双侧)。

2 结果

2.1 直接涂片与消化离心沉淀涂片经 Z-N 染色镜检结果比较 唾液痰与粘液痰分别用直接涂片和消化离心沉淀法涂片,经萋-尼氏染色镜检,两法阳性率结果差异有统计学意义($P<0.01$),干酪痰与血痰阳性率差异无统计学意义($P>0.05$),而两法合计阳性率结果差异有统计学意义($P<0.01$)。见表 1。

表 1 直接涂片与消化离心沉淀涂片经 Z-N 染色镜检结果比较

标本性状	直接涂片法			消化离心沉淀法			χ^2 值	P 值
	标本数	阳性	阳性率(%)	标本数	阳性	阳性率(%)		
唾液痰	158	4	2.53	158	17	10.76	8.63	0.004
粘液痰	204	12	5.88	204	28	13.73	7.11	0.007
干酪痰	396	67	16.92	396	76	19.19	0.69	0.406
血痰	62	6	9.68	62	9	14.52	0.68	0.410
合计	820	89	10.85	820	130	15.85	8.86	0.003

2.2 消化沉淀涂片经萋-尼氏染色与荧光染色镜检结果比较 上述标本全部经消化离心沉淀法处理后涂片,分别用萋-尼氏染色光镜镜检和荧光染色 LED 荧光镜检,每种不同性状标本两法阳性率结果差异无统计学意义($P>0.05$),而两法合计阳性率结果差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 消化沉淀涂片经萋-尼氏染色与荧光染色镜检结果比较

标本性状	萋-尼氏染色法			荧光染色法			χ^2 值	P 值
	标本数	阳性	阳性率(%)	标本数	阳性	阳性率(%)		
唾液痰	158	17	10.76	158	25	15.82	1.76	0.185
粘液痰	204	28	13.73	204	37	18.14	1.48	0.224
干酪痰	396	76	19.19	396	96	24.24	2.97	0.085
血痰	62	9	14.52	62	12	19.35	0.51	0.475
合计	820	130	15.85	820	170	20.73	6.53	0.011

2.3 消化沉淀涂片萋-尼氏染色与荧光染色镜检差异结果比较 萋-尼氏染色与荧光染色两法一致阴性 645 份,对两法不同等级阳性结果差异比较,荧光染色 1+,而萋-尼氏染色仅只能判为 1+以下的标本 27 份,荧光染色判为 2+,而萋-尼氏染色判为 2+以下的标本 30 份,荧光染色判为 3+,而萋-尼氏染色判为 3+以下的标本 18 份,结果见表 3。

表 3 消化沉淀涂片萋-尼氏染色与荧光染色镜检差异结果比较

萋-尼氏染色	荧光染色						
	阴性	1~9 条/50 视野	1+	2+	3+	4+	合计
阴性	645	13	18	12	2	0	690
1~8 条/300 视野	2	8	9	6	2	0	27
1+	2	3	17	12	7	0	41
2+	1	2	2	28	7	1	41
3+	0	0	1	1	13	2	17
4+	0	0	0	0	0	4	4
合计	650	26	47	59	31	7	820

3 讨论

直接涂片法通常需 5 000~10 000 条菌/ml 才能够得到阳性结果^[2],其灵敏度低,尤其对于痰性状为唾液痰与黏液痰标本,其检出率更低。本文采用 2%~4%NaOH 消化痰标本,由于消化液既能够杀死抗酸杆菌,保护痰检人员的安全,又能有助于降解痰中的蛋白成分,使痰中的抗酸杆菌分散出来,消化后的标本经高速离心沉淀,富集于试管底部,极大地浓缩了抗酸杆菌,实验结果表明,标本经直接涂片与消化离心沉淀法处理后,其阳性率分别为 10.85% 和 15.85%,尤其对唾液痰与粘液痰标本,消化离心处理后其阳性率分别提高了 8.23% 和 7.85%,两法差异有统计学意义。而且消化离心沉淀法不需专门的仪器设备且操作简单,实验结果表明其阳性率明显高于传统的直接涂片法,这与钱雪琴等^[3]、史煜波等^[4]报道一致。但与大多数采用溶痰剂处理标本不同的是,本法采用 2%~4%NaOH 消化痰标本,较溶痰剂处理标本相比,镜检背景更干净,非特异性物质更少,其次它对血性脓痰的消化更彻底,有利于细菌的释放。本方法操作的关键点是,标本量以 2~3 ml 为佳,量大不易消化,离心力至少 3 500×g 离心 15 min 以上,标本离心后要用蒸馏水洗涤处理,涂片宁薄不能厚,否则染色时痰膜易被冲洗掉,降低镜检阳性率。

为进一步提高镜检阳性率,本文对消化离心后标本分别采用荧光染色、LED 荧光显微镜与萋-尼氏染色、普通光镜镜检,结果发现其涂片阳性率分别为 15.85% 和 20.73%,平均阳性率提高 4.88%,说明荧光显微镜阳性率高于普通光学显微镜,这与田斌等^[5]、夏辉等^[6]报道相符。通过对结果分析发现,有 2 例合并艾滋病感染者、2 例随访病人和 3 例早期肺结核患者,其普通光镜镜检阴性而 LED 荧光镜检阳性,这主要由于艾滋病合并结核其痰中结核分枝杆菌浓度显著降低,而且被吞噬于巨噬细胞内的 MTB 抗酸性减弱甚至消失,致使常规抗酸染色不易检出,对于某些长期服用抗二线抗结核药物硫脲胺的病人,其分枝杆菌抗酸性被破坏,但荧光染色性被保留,因而在抗酸染色中为阴性结果,而在金胺 O 中仍为阳性,荧光显微镜对于那些病变活动性轻,排菌量较少的早期肺结核病人,也有较高敏感性,可以减少漏诊机会。

通过对普通光镜与 LED 荧光镜检不同等级阳性

结果分析发现,荧光染色 1+,而萋-尼氏染色仅只能判为 1+以下的标本有 21 份,荧光染色判为 2+,而萋-尼氏染色判为 2+以下的标本有 30 份,荧光染色判为 3+,而萋-尼氏染色判为 2+以下的标本有 18 份,结果表明 LED 荧光显微镜诊断性能明显优于普通光学显微镜,这主要由于在荧光显微镜下菌体呈亮黄色,背景黑色,分枝杆菌形态十分清晰,不易漏检,而且 LED 荧光显微镜采用 10×物镜扫描全片,可减少由于菌体分布不均造成的假阴性,再之荧光染色读片放大倍数为 400 倍,所观察的视野面积较大,易于观察,提高了检测敏感性,另外 LED 荧光显微镜读片只需 50 个视野(通常需 2 min 左右),可加快阅片速度,提高工作效率,并且 LED 荧光显微镜价格低廉,灯泡寿命长,不需要复杂的光路调节和暗室操作,适合基层单位开展。LED 荧光染色镜检优越性已于 2011 年得到 WHO 组织的认可与推荐^[7]。

综上所述,采用消化离心沉淀集菌法进行痰涂片结合荧光染色、LED 显微镜镜检,能提高结核杆菌痰涂片镜检阳性率,且操作简单,是适合在基层开展应用的技术。

参考文献

- [1] 中国疾病预防控制中心. 中国结核病防治规划痰涂片镜检标准化操作及质量保证手册[M]. 北京:中国协和医科大学出版社,2009: 7-9.
- [2] 刘丰平. 液基夹层杯法检测抗酸菌[J]. 实用预防医学,2010, 17 (6):1215-1216.
- [3] 钱雪琴,吴文娟,卢水华. 采用快速离心沉淀法检测初诊肺结核患者痰内抗酸杆菌[J]. 中国卫生检验杂志,2009,19(1):141.
- [4] 史煜波,翁幸璧,胡丽庆,等. 改良离心集菌法检测痰内抗酸杆菌的研究[J]. 中国微生态学杂志,2012,24(8):751-753.
- [5] 田斌,刘庆华,张才,等. 发光二极管荧光显微镜在基层实验室诊断结核分枝杆菌的应用评价[J]. 实用预防医学,2012,19(10): 1448-1451.
- [6] 夏辉,赵冰,李强,等. 发光二极管荧光显微镜在基层应用的多中心研究[J]. 中国防痨杂志,2011,33(9):592-595.
- [7] 王森,张文宏. 结核病诊断技术新进展[J]. 微生物与感染,2016, 11(3):188-192.
- [8] 李平,黄文忠,于中青,等. 浦江县 2011-2015 年学生肺结核流行特征及预防措施[J]. 实用预防医学,2017, 24(7):859-861.
- [9] 谢显扬,凌春飞,江小英,等. 平远县 2009-2014 年结核分枝杆菌检出及耐药情况[J]. 实用预防医学,2016,23(9):1134-1136.

收稿日期:2017-10-31