

所以 PCR 实验室防止污染最好的办法还是预防。研究者应高度认识预防与抗污染的关系,应像预防传染病一样,提高思想认识,以“预防为主,治疗为辅”^[3]。对于实验室的消毒,要做到不遗漏每一个角落,而且每个消毒环节都要做到位。在实际工作中,一般操作台面是最容易污染的^[4],但对于加样枪、加热模块、离心机这些重要环节也要十分注意。本实验室污染原因是由离心机导致的,可能原因是离心机被离心时高浓度标本开盖后产生的气溶胶污染了离心机盖了,再次离心时离心机盖上的气溶胶颗粒在离心机气流作用下进入到开盖的离心管中,进入离心管后再在离心力的作用下进入离心管底部污染标本。所以污染的解决还是严格按照《医疗机构临床扩增检验实验室管理办法》中实验室工作导则规定进行工作,并对实验室内所有设备、台面、空间进行每日消毒,才能真正保证把 PCR 实验

室的污染降到最低。

参考文献

- [1] 李金明. 实时荧光 PCR 技术[M]. 北京:人民军医出版社,2007:1.
- [2] 蒋会勇. PCR 试验加样过程中无 DNA 原则控制污染的探讨[J]. 诊断病理学杂志,2005,12(1):45-48.
- [3] 杜绍财. 实验加样器污染的解除方法及污染对微孔板杂交的影响[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(7):662-663.
- [4] 李园. PCR 实验室的消毒与防污染措施[J]. 检验医学与临床,2010,7(3):285-286

(收稿日期:2012-06-06)

抗酸染色技术在结核病诊断中的应用

陈华根,陈宇宁,刘冰,黄学斌,陈涛(四川省成都市新都区人民医院 610500)

【关键词】 抗酸染色技术; 结核病; 诊断

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.21.077 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2012)21-2782-02

抗酸染色技术是利用一些细菌细胞壁脂质含量高,菌体内有分枝菌酸,被着色后而不易洗脱的原理来检测该类细菌,主要用于检测分枝杆菌属和奴卡菌属细菌^[1]。结核病是由结核分枝杆菌所致的慢性传染病,结核分枝杆菌富含脂质和分枝菌酸,因而可用抗酸染色技术进行检测。自 Koch1882 年发现结核分枝杆菌,并用美兰染色该菌,直到 Ziehl 和 Neelsen 技术采用(Ziehl-Neelsen 抗酸染色),迄今已 100 余年,Ziehl-Neelsen 抗酸染色技术一直是结核病诊断实验室的首选技术。虽然抗酸染色阳性涉及诸多菌种,并非结核分枝杆菌独有特性,但临床上和流行病学中常用查见抗酸杆菌作为结核病诊断的依据^[2]。因此,规范操作抗酸染色技术,掌握技术环节重点,保证检测结果准确,对于结核病的诊断具有重要意义。

1 标本的采集、保存和处理

抗酸染色诊断结核病所用标本有痰液、尿液、脓液、胸腔积液、腹水、脑脊液和病理组织等。标本的采集是抗酸染色的第 1 步,合格的标本是保证染色质量的重要环节。

1.1 痰液的采集 漱口后深咳肺部痰,盛于带旋口的塑料杯内,勿用蜡质纸杯。可采集即时痰、夜间痰和晨痰,晨痰最佳,连续 3 d 送检^[3-4]。如果咳嗽困难,可用雾化吸入、支气管镜刷检、支气管肺泡灌洗方法帮助采集,并能提高镜检阳性率^[5]。镜检阳性率由高到低的标本性状依次是干酪痰、黏液痰、血痰,尽量不用唾液。集菌痰处理法,留取深咳痰标本或 12~24 h 痰,如痰量少且黏稠时加适量蒸馏水(不超过 10 mL),标本经 121 ℃ 高压灭菌 15 min,冷却后使用。

1.2 脓液的采集 注意防止污染菌混入。

1.3 尿液的采集 留全部夜尿,静置 4~5 h 后,取容器底部尿液 10 mL,3 000 r/min 离心 30 min 后,留取沉渣。

1.4 胸腔积液及腹水和脑脊液的采集 处理方法同尿液标本。

1.5 病理组织采集 研磨混匀后涂片。不能及时涂片染色的标本,置 4 ℃ 保存。

2 涂片

合格的涂片是抗酸染色的重要步骤,也是保证染色质量的重要环节。涂片可分为直接涂片法和集菌涂片法,集菌涂片法

有两种方式,即漂浮集菌涂片法和离心集菌涂片法,(1)漂浮集菌涂片法:处理的痰液 5~10 mL 入 100 mL 容积的玻璃瓶中,加蒸馏水 20~30 mL(总量不超过瓶容积的 1/3),加二甲苯 0.3 mL,放振荡机上振荡 10 min(振荡机速率 2 400 r/min),取出平放台上,加蒸馏水至满瓶口,把标号的载玻片盖于瓶口上,放置 15~20 min,取下玻片平放台上。(2)离心集菌涂片法:处理后的痰液 5~10 mL(不超过 10 mL)置入 50 mL 离心管内,加蒸馏水至 50 mL,以 6 000~8 000 r/min 离心 20 min,取沉淀物涂片。

用折断的竹签茬端或接种环,挑取标本于玻片正面右侧 2/3 处均匀涂抹成 2.0 cm×2.5 cm 的卵圆形薄厚适宜的涂膜,自然干燥固定。

涂片的厚度要适当,太薄太厚都会影响镜检。涂片必须使用 95%乙醇擦拭脱脂过的清洁、干燥、无油污、无划痕的新载玻片,一张玻片涂 1 份标本,且一次性使用。

3 染色

抗酸染色法多用 Ziehl-Neelsen 染色,从试剂的配制到环节操作技术,相关技术规范都有明确的要求^[6]。染色步骤如下:涂片平放染色架上,加染色剂盖满涂膜,微火加热至染液呈现蒸汽,去火焰,染色 5~10 min(勿使染液呈现干涸)。水洗,加脱色剂盖满涂膜,脱色 3~5 min,至无红色。水洗,加复染剂盖满涂膜,直接涂片复染 30 min,集菌涂片复染 1~3 min,水洗,干后,镜检。

染色时间要把握适当,温度偏高时染色时间可缩短,反之则相反。脱色时间一定要把握好,脱色要彻底,否则片子呈红色,无法查找抗酸杆菌,但是脱色时间过长,片子呈空白,也无法镜检,要准确把握脱色时间。

也有实验报告认为,恒温水浴染色和常温染色效果优于推荐的染色方法^[7-8]。

4 结果报告和质量要求

(1)镜下计数 100 个视野(观察时间不少于 4 min),未发现抗酸菌者继续观察至 300 个视野,仍未发现抗酸菌者报告抗酸菌阴性(-)。(2)镜检 100~300 个视野找到抗酸杆菌 1~2 条者,报告抗酸杆菌可疑(±),或重新涂片或另留痰标本复查。

(3)镜检 100 个视野内找到抗酸杆菌 3~9 条者,报告抗酸杆菌阳性(+)。(4)镜检 10 个视野内找到抗酸杆菌 1~9 条者,报告抗酸杆菌阳性(++)。(5)镜检每个视野内找到抗酸杆菌 1~9 条者,报告抗酸杆菌阳性(+++)。(6)镜检每个视野内找到抗酸杆菌多于 9 条以上者,报告抗酸杆菌阳性(++++)。在痰涂片检查报告中应包括痰标本的性状和质量。

痰涂片镜检结果质量要求痰涂片阴性符合率在 95.0% 以上,涂片阳性符合率在 98.0% 以上,总符合率在 96.5% 以上。“+”以上的阳性痰片不允许出现假阴性。

5 临床应用评价

抗酸染色技术是诊断结核病最基本的细菌学检查方法,是世界卫生组织推荐的全球结核病控制策略重要方案,不仅是发现传染源的最主要的途径和手段,也是确定结核病诊治方案的主要依据,更是考核疗效、评价防治效果的可靠标准。其优点具有简便、快速和价廉,设备需求少,技术简单易于掌握,涂阳病例是主要的传染源,当天出结果;缺点是敏感性低、特异性差,无法辨别死菌与活菌,通常需每毫升 5 000~10 000 条菌才能得到阳性结果。约 40%~60% 的涂阴结核患者不能及时发现,无种特异性。

提高抗酸染色质量,有效促进结核病的防治,需要对实验人员进行业务培训和技术指导,提高业务技术水平,使抗酸染

色技术达到科学化、标准化、规范化。

参考文献

[1] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2006:791-796.
 [2] 马琦,朱莉珍,潘毓莹. 结核病[M]. 北京:人民卫生出版社,2009:100-104.
 [3] 叶关霞. 不同痰标本质量的抗酸杆菌镜检结果分析[J]. 浙江预防医学,2011,23(6):95-96.
 [4] 秦云. 抗酸杆菌检测的质量保证[J]. 哈尔滨医药,2011,31(5):362-363.
 [5] 张楠,张敏,王红阳,等. 支气管镜技术在肺结核病诊治中的应用进展[J]. 河北医药,2011,31(7):1057-1059.
 [6] 赵雁林,姜广路. 中国结核病防治规划[M]. 北京:中国协和医科大学出版社,2009:50.
 [7] 陈文文,张维,沈况敏,等. 恒温水浴加热染色法检测结核分枝杆菌效果分析[J]. 中外医疗,2011,16(1):72.
 [8] 杜建梅. 温度对结核杆菌抗酸染色检出率的影响[J]. 青海医药杂志,2011,41(5):52.

(收稿日期:2012-06-26)

1 067 例农村合作医疗农民健康体检血脂结果分析

张莉辉(云南省红河州红河县人民医院 654400)

【关键词】 合作医疗; 农民; 血脂; 健康体检

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.21.078 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2012)21-2783-02

高血脂是引起动脉粥样硬化造成冠心病的直接因素,尤其是三酰甘油,根据近年来的专家研究考察,心血管疾病对人类健康的威胁仅次于癌症,尤其是老年人受危害更大。本文对红河县农村合作参保人员 1 067 例进行血脂 4 项测定,检测结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择县城周边各乡镇长住农民,健康体检者 1 067 例,被检者平时身体健康,无心血管病史,年龄 14~80

岁,男 254 例,女 813 例。

1.2 检测方法

1.2.1 所有检测者均采取清晨空腹静脉血,分离血清。

1.2.2 血清总胆固醇和三酰甘油采用酶法测定,高密度脂蛋白胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇采用直接法测定。

2 结果

各年龄组 4 项检测结果见表 1。

表 1 各年龄组 4 项检测结果 (mmol/L)

年 龄 (岁)	总人数			总胆固醇		三酰甘油		高密度脂蛋白胆固醇		低密度脂蛋白胆固醇	
	男	女	合计	男	女	男	女	男	女	男	女
14~20	11	15	26	3.23	3.48	1.20	0.85	1.26	1.54	2.51	2.60
21~30	24	116	140	3.62	3.71	1.64	1.16	1.43	1.62	2.77	2.78
31~40	58	211	269	4.01	3.78	1.62	1.17	1.47	1.52	3.17	2.81
41~50	64	225	289	4.31	4.04	1.94	1.45	1.48	1.51	3.26	3.01
51~60	61	126	187	4.39	4.42	1.24	1.81	1.72	1.38	3.21	3.35
61~70	26	91	117	4.55	4.55	1.66	1.72	1.60	1.48	3.30	3.44
71~80	10	29	39	4.69	5.20	0.92	1.94	2.16	1.31	3.70	3.05
合计	254	813	1 067	4.11	4.16	1.46	1.44	1.59	1.48	3.17	3.15

3 讨 论

由表 1 可见,血脂水平是随着年龄的增长而逐渐增加的,胆固醇的增加更明显,男性与女性均值血脂水平差异无统计学意义,但高密度脂蛋白胆固醇男性高于女性。

作者认为,随着我国社会和经济的不断发展,农村地区人口结

构、经济水平、行为生活方式和膳食模式的改变,各地报告的健康人群血脂水平极不一致。原因有饮食习惯、劳动强度和自然环境的不同,血脂和脂蛋白的含量也会有较大的差异。一般来说,喜食素食的人,血清脂质和脂蛋白的含量偏低,而喜食动物性食物者,则血清中胆固醇、三酰甘油及极低密度脂蛋白会显