

压患者血液动力学的影响[J]. 中华肾脏病杂志, 2005, 21(6): 365.

[4] 王饶萍, 谢丹妮, 陈桂芳, 等. 糖尿病肾病血液透析过程中血压变化特点及护理[J]. 护士进修杂志, 2002, 17(12): 921-922.

[5] 杨洛, 刁永书. 同步枸橼酸抗凝与无肝素抗凝在连续性血液净化中的应用及护理[J]. 西部医学, 2012, 24(2): 391-393.

[6] 陈志文, 王星, 代明金, 等. 持续缓慢低效血液透析患者应用枸橼酸抗凝的护理[J]. 中华护理杂志, 2013, 48(11): 978-980.

[7] 蔡冬姣, 赵梅香, 胡虞乾, 等. 13 例血浆置换治疗老年高脂血症性急性胰腺炎患者的护理[J]. 中华护理杂志, 2010,

45(11): 1032-1033.

[8] Morioka T, Emoro M, Tabata T, et al. Glycemia control is a predictor of survival for diabetic patients on hemodialysis[J]. Diabetic Care, 2001, 24(5): 909-913.

[9] 张红霞, 余毅. 缓慢低效血液透析的应用进展[J]. 医药专论, 2014, 35(2): 84-87.

[10] Tolwani AJ, Wheeler TS, Wille KM. Sustained low-efficiency dialysis[J]. Contrib Nephrol, 2007, 156(2): 320-324.

[11] 付平, 张凌. 杂合肾脏替代治疗的临床应用[J]. 中国血液净化, 2011, 10(1): 7-9.

(收稿日期: 2015-03-09 修回日期: 2015-06-15)

• 临床探讨 •

手工法和全自动机器法查找结核杆菌效果比较

戴 芸, 张 珏, 乔 昀[△] (上海市中医药大学附属曙光医院检验科 200021)

【摘要】 目的 比较实验室使用全自动机器法和传统手工冷染法进行抗酸染色查找结核杆菌的差异。**方法** 选取 2013 年 1 月 1 日至 2014 年 6 月 30 日上海市中医药大学附属曙光医院确诊的结核患者痰标本 346 份和其他疾病患者痰标本 1 150 份, 同一份标本分别使用自动染色机和传统手工冷染法进行涂片染色检测, 对 2 张涂片染色结果进行比较。**结果** 同一份痰标本在制片几乎一致的情况下, 自动化染色和手工法染色检测结果二者差异均无统计学意义 ($\chi^2_{阴性涂片} = 0.31, \chi^2_{阳性涂片} = 0.20, P > 0.05$)。**结论** 使用自动化抗酸染色仅查找痰涂片中结核分枝杆菌在临床诊断中具有一定临床意义

【关键词】 结核分枝杆菌; 抗酸染色; 全自动染色机
DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.23.046 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)23-3558-02

结核病是由结核分枝杆菌侵入人体后引起的一种慢性传染性疾病, 并具有较强的传染性, 中国是全球 22 个结核病高负担国家之一, 活动性肺结核患者数居世界第 2 位。每年因结核病死亡的人数是其他传染性疾病的总死亡人数的 2 倍以上^[1-2]。抗酸染色法是结核杆菌细菌学检查的常用方法, 也是考核疗效、评价治疗效果的可靠标准^[3]。其特点为快速、简便、实用, 检出时间短, 对器械要求不高, 一直被基层医院使用, 但该方法的染色温度及时间不容易掌握, 在开放空间进行, 有传染风险。因此, 准确、快捷且安全的染色方法对于结核病的早期诊断和及时治疗具有十分重要的意义。

1 材料与方

1.1 标本来源 收集本院 2013 年 1 月 1 日至 2014 年 6 月 30 日门诊及住院患者痰标本共 1 396 份, 其中确诊为结核患者痰标本 346 份, 非结核患者痰标本 1 050 份。所有标本由患者清晨漱口后咳出的深部痰液, 放置于无菌痰盒内。按《中国结核病防治规划涂片镜检质量保证手册》制作 2 张尽可能一致的涂片。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 全自动抗酸染色仪 DL-DYE-ACID 及原装试剂, 由珠海迪尔生物有限公司生产。

1.2.2 染色液 由珠海贝索生物技术有限公司生产, 染液由石碳酸复红溶液、酸性乙醇溶液、亚甲蓝溶液组成, 均在有效期

内使用。

1.2.3 其他 全新玻片、显微镜 (Olympus CX21)、生物安全柜 (STERILCKER GARO4)。

1.3 方法

1.3.1 选取上海市临检中心的阳性质控片 20 张, 各使用 10 张进行手工染色和机器染色。

1.3.2 涂片 用接种环挑取适量痰液, 制成 20 mm×15 mm 大小的厚膜涂片。每份标本涂抹 2 张涂片, 分别用于手工法与机器法染色。尽量使每份标本的 2 张涂片在取痰部位、痰膜厚薄、痰膜大小一致。

1.3.3 手工染色 初染: 将涂片置于染色架上滴加石碳酸复红液盖满玻片静置 15 min。脱色: 流水轻缓冲洗以冲去初染液, 沥出玻片上的水, 滴加盐酸乙醇脱色剂至痰膜无可视红色为止。复染: 流水轻缓冲洗以冲去脱色液, 沥出剩余的水, 滴加亚甲蓝复染液染色 30 s 后, 流水轻缓冲洗冲去复染液。

1.3.4 自动染色 按仪器操作规定先观察试剂充足情况, 然后调节水压, 打开电磁阀冲水观察水流状况同时调节水流使喷水口的水流至转盘而不溅起水花, 且水流至喷水口时为线状快掉落转盘时为断续水珠状。再按机器顺序及位置装载玻片, 在主操作界面上设置玻片数量, 后按确定即进入染色循环。完成后取下已染色的玻片放置在烤片机加热槽中加热固化以待镜检。

[△] 通讯作者, E-mail: qiaoyun1252@live.cn.

1.3.5 显微镜镜检及结果判断 严格按《结核病实验室诊断检验规程》和试剂说明书进行。镜检结果报道如下,抗酸杆菌阴性:连续观察 300 个不同视野,未发现抗酸杆菌。抗酸杆菌阳性(±):报告抗酸杆菌数为 1~8 条/300 个视野。抗酸杆菌(+)为 3~9 条/100 个视野,连续观察 300 个视野。抗酸杆菌(++)为 1~9 条/10 个视野,连续观察 100 个视野。抗酸杆菌(+++)为 1~9 条/每个视野,连续观察 50 个视野。抗酸杆菌(++++)为≥10 条/每个视野,连续观察 50 个视野。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 进行数据分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 自动染色机进行质控片染色结果 机器法染色效果见图 1,在蓝色背景下可见清晰的红色抗酸杆菌,染色效果较好。

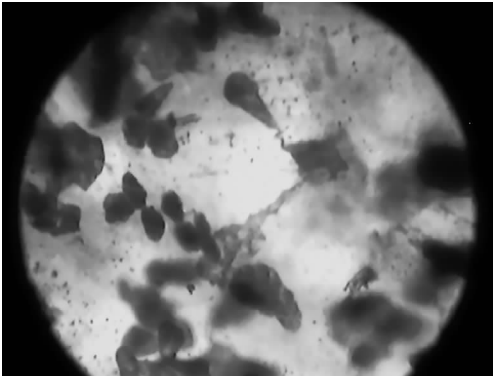


图 1 全自动染色机染色效果

2.2 手工法与自动染色法阳性结果比较 见表 1。由表 1 可见,全自动染色机法与手工法染色阳性结果在结核组与非结核组差异均无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 手工法与自动法染色阳性结果比较 [$n(\%)$]

方法	结核组($n=346$)	非结核组($n=1\ 150$)
手工法	107(30.92)	11(0.96)
自动法	119(34.39)	13(1.13)

2.3 手工法与自动法染色结果比较 见表 2。由表 2 可见,全自动染色机法与手工法染色经镜检各级结果差异均无统计学意义($P>0.05$)。

表 2 手工法与自动法染色各级结果比较 (n)

方法	±	+	++	+++	++++
手工法	3	9	10	51	34
自动法	4	12	15	57	31

3 讨 论

长期以来,结核病的实验室诊断方法主要依赖涂片抗酸染色镜检、结核菌培养法及聚合酶链反应(PCR)等方法,但是,传统的改良罗氏培养法细菌生长周期长(4~8 周)易延误患者病情与治疗。荧光定量 PCR 技术虽然有灵敏度高、特异性强、快速等优势,但是,此检测方法对实验环境和操作技术都有很高

标准的要求,不利于基层结防控制机构的工作。人工操作染色涂片也存在操作繁琐、耗时长、不能标准化、难以质控及浪费染色液的问题,而且人工操作还存在一定的开放性传染风险。据有些报道,实验室工作人员结核患病风险为普通人群的 7~79 倍^[4]。因此,准确、快捷且安全的染色检测方法对于结核病的早期诊断和及时治疗具有十分重要的意义。

全自动抗酸染色机具有较多优点:(1)操作简单,只要在主界面设置染片数量即开始染色循环且一次最多可以染 8 张涂片,利于基层实验室开展工作。(2)能定量加液模拟手工染色避免浪费染色液,并且仪器内置染色液能有效保护染色液。(3)采用“微量浸泡技术”,保证染液与涂片充分接触,内置独特转盘杜绝玻片之间交叉污染,同时低速脱水保护标本不脱落。(4)在生物安全方面,自动染色机内置染色液具备自动清洗功能,能防止仪器内部污染,同时其封闭式染色系统减轻了结核菌对实验室工作人员的职业危害。(5)具备自动清洗功能,杜绝仪器内部污染,保护仪器长期使用。

本试验结果表明,在用抗酸染色查找痰中结核杆菌时,无论是阴性还是阳性痰标本,手工法和自动法在检测结果上其差异均无统计学意义,由此提示使用全自动抗酸染色机查找痰涂片中结核分枝杆菌在临床诊断中具有一定临床意义。但是同许多研究一样,本次试验发现痰涂片染色找抗酸杆菌的其敏感性太低,仅分别为 30.92% 和 34.39%。这是因为抗酸染色受痰中细菌数量限制,一般至少每毫升痰液含 5 000~10 000 个细菌方可得出阳性结果;且结核病患者是间断性排菌,可能造成假阴性造成漏诊^[5-6]。另外干扰因素多,系统及人为引起的误差大。

因此,在实验室允许的条件下,结合其他诊断方法有一定的临床需要。

参考文献

[1] Jasmer RM, Nahid P, Hopewell PC. Latent tuberculosis infection[J]. N Engl J Med, 2002, 347(23): 1860-1866.

[2] Lee E, Holzman RS. Evolution and current use of the tuberculin test[J]. Clin Infect Dis, 2002, 34(3): 365-370.

[3] 刘卓然. 三种方法联合检测肺结核病人痰液和支气管刷洗物中结核杆菌的临床意义[J]. 实用预防医学, 2008, 15(6): 1938-1939.

[4] Joshi R, Reingold AL, Menzies D, et al. Tuberculosis among health-care workers in low-and middle-income countries: a systematic review [J]. PLoS Med, 2006, 3(12): e494.

[5] 徐蓉. 荧光定量 PCR 检测结核杆菌 DNA 与涂片抗酸染色结果的对照分析[J]. 中外医学研究, 2012, 10(1): 62-63.

[6] 戴佩佩. 三种检测方法对活动性结核病的临床诊断价值[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(7): 1748-1749.