

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.21.027

新型抗酸杆菌集菌法临床应用效果研究*

邹 红,李剑鸿,陈 果,王晓燕,陈晓帆,李 广
湖南省湘潭市第一人民医院检验科,湖南湘潭 411101

摘 要:**目的** 评价新型抗酸杆菌集菌法检测痰标本抗酸杆菌的应用价值。**方法** 对 2019 年 1 月 1 日至 2020 年 5 月 15 日在湘潭市岳塘区管理的传染病信息报告系统结核病管理系统中登记在案的 416 例肺结核患者的痰标本,同时采用新型抗酸杆菌集菌法、液基夹层杯法、直接涂片抗酸染色法进行抗酸染色镜检,比较 3 种方法的阳性检出率。随机取 10 份直接涂片抗酸阳性(+++++)的标本,5 份 BD960 液体培养结核分枝杆菌阳性的标本,设定不同配比的消化集菌液及水浴时间处理后,再接种至 BD960 液体培养基,评价新型抗酸杆菌集菌法灭活集菌的安全性。跟踪 10 例初治或复治失败患者不同随访时间段的痰抗酸杆菌涂片结果,以新型抗酸杆菌集菌法阳性为对照,比较新型抗酸杆菌集菌法与液基夹层杯法对抗酸杆菌的检出差异。**结果** 新型抗酸杆菌集菌法、液基夹层杯法、直接涂片抗酸染色法抗酸杆菌的阳性检出率分别为 44.7%(186/416)、40.1%(167/416)、26.2%(109/416),且 3 种方法两两比较,阳性检出率差异有统计学意义($P<0.05$)。安全性试验发现,新型抗酸杆菌集菌法处理的阳性标本,用 BD960 液体培养未见分枝杆菌生长。10 例初治或复治失败患者不同随访时间段的痰标本,在观察时间段内随着治疗时间的推移,新型抗酸杆菌集菌法均可以检出,而液基夹层杯法漏检 8 例。**结论** 新型抗酸杆菌集菌法提高了肺结核患者痰标本抗酸杆菌的阳性检出率,且生物安全性高,特别是在初治或复治失败患者中较液基夹层杯法更有优势。

关键词:痰标本; 抗酸杆菌; 抗酸染色; 集菌法

中图分类号:R331

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)21-3173-04

结核病是全球十大死因之一,据 WHO 统计,2017 年全球约有 1 010 万结核病发病病例,而我国作为结核病高负担国家,结核病防治工作形势十分严峻^[1-2],早发现、早诊断是减少结核病传播,控制疫情的关键^[3-4]。痰涂片抗酸染色显微镜检查是“十三五”全国结核病防治规划实施中的一个重要组成部分,也是诊断结核病最基本的病原学检查方法。由于痰涂片抗酸染色直接镜检阳性率较低^[5-6],不同种类的集菌法能提高痰抗酸杆菌阳性率^[7-9],且各有优劣势,本研究以新型抗酸杆菌集菌法检测痰标本中的抗酸杆菌,以液基夹层杯法和直接涂片抗酸染色法为对比,发现新型抗酸杆菌集菌法可以提高抗酸杆菌的阳性检出率,且通过对原始标本的灭活处理可提高生物安全性。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本来源 416 例肺结核患者来自 2019 年 1 月 1 日至 2020 年 5 月 15 日在湘潭市岳塘区管理的传染病信息报告系统结核病管理系统中登记在案的病例,诊断依据符合中华人民共和国卫生行业标准-肺结核诊断标准:WS288—2017^[10]。按照肺结核患者的管理要求留取痰标本。初诊失败指初诊肺结核患者治疗第 5 个月末或疗程结束时,痰涂片或培养检查阳性,或涂阴患者治疗过程中出现痰检阳性。复治失败指复治涂阳肺结核患者治疗第 5 个月末或疗程结束

时,痰涂片或培养检查阳性。其他属于 8 个月末之后的时间段。

1.1.2 仪器与试剂 液基夹层杯法抗酸染色液、彭氏夹层杯、消化灭活液、取片针、TQ-12 自动离心机均由湖南天骑公司提供;改进型抗酸染色消化集菌液,2%的 NaOH(购自天津市恒兴化学试剂制造有限公司)和 3%的 N-乙酰 L-半胱氨酸(购自上海阿拉丁有限公司)混合液由本实验室自配;直接涂片抗酸染色液购自珠海贝索生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 检测方法 液基夹层杯法严格按照液基夹层杯抗酸染色试剂盒说明书步骤操作。新型抗酸杆菌集菌法操作步骤如下:于干净玻璃试管中按标本和改进型抗酸染色消化集菌的比例 1:(2~4)倍的量加入后震荡 15 s,置 78 ℃的水浴箱中 20 min 后,4 500 r/min 离心 5 min,弃上清液取沉渣涂片,干片后火焰来回 3 次固定,再用抗酸染色脱色液冲洗一遍,然后严格按照萋尼氏染色显微镜镜检。为保证结果的可比性,同一份痰标本使用液基夹层杯法和新型抗酸杆菌集菌法操作时保证均为 1 mL 左右的量。直接涂片法参照《中国结核病防治规划:痰涂片镜检质量保证手册》^[11]操作。

1.2.2 质量控制 痰标本抗酸染色镜检质量控制参照《中国结核病防治规划:痰涂片镜检质量保证手册》^[11]执行。

* 基金项目:湖南省医药卫生科研计划项目(c2016112)。

1.2.3 新型抗酸杆菌集菌法安全性试验 10 份直接涂片抗酸阳性(++++)(+)的标本,5 份 BD960 液体培养结核分枝杆菌阳性的标本,设定不同配比的消化集菌液及水浴时间后,再接种至 BD960 液体培养基观察分枝杆菌生长情况,评价新型抗酸杆菌集菌法灭活集菌的安全性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析,计数资料以率表示,采用配对 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 种方法阳性检出率 416 例肺结核患者痰标本同时采用 3 种方法处理,同一患者同一份痰标本任意一种方法阳性判断为病原学阳性患者。新型抗酸杆菌集菌法、液基夹层杯法、直接涂片抗酸染色法抗酸杆菌的阳性检出率分别为 44.7%(186/416)、40.1%(167/416)、26.2%(109/416)。

2.2 新型抗酸杆菌集菌法和直接涂片抗酸染色法阳性检出率比较 新型抗酸杆菌集菌法和直接涂片抗酸染色法阳性检出率比较,差异有统计学意义($\chi^2=69.59, P<0.05$)。见表 1。

表 1 新型抗酸杆菌集菌法和直接涂片抗酸染色法阳性检出情况比较(n)			
直接涂片抗酸染色法	新型抗酸杆菌集菌法		合计
	阳性	阴性	
阳性	106	3	109
阴性	80	227	307
合计	186	230	416

2.3 液基夹层杯法和直接涂片抗酸染色法阳性检出率比较 液基夹层杯法和直接涂片抗酸染色法阳性检出率比较,差异有统计学意义($\chi^2=46.40, P<0.05$)。见表 2。

表 2 液基夹层杯法和直接涂片抗酸染色法阳性检出情况比较(n)			
直接涂片抗酸染色法	液基夹层杯法		合计
	阳性	阴性	
阳性	103	6	109
阴性	64	243	307
合计	167	249	416

2.4 新型抗酸杆菌集菌法和液基夹层杯法阳性检出率比较 新型抗酸杆菌集菌法和液基夹层杯法阳性检出率比较,差异有统计学意义($\chi^2=11.17, P<0.05$)。见表 3。

2.5 初治或复治失败患者新型抗酸杆菌集菌法和液基夹层杯法检出比较 以新型抗酸杆菌集菌法检出阳性为对照,对 10 例初治或复治失败患者不同时间段的痰标本进行随访跟踪,发现在 10 例患者中,随着治疗时间的推移,在观察时间段内,新型抗酸杆菌集

菌法均可以检出,而液基夹层杯法漏检 8 例。见表 4。

表 3 新型抗酸杆菌集菌法和液基夹层杯法阳性检出情况比较(n)			
液基夹层杯法	新型抗酸杆菌集菌法		合计
	阳性	阴性	
阳性	162	5	167
阴性	24	225	249
合计	186	230	416

表 4 10 例初治或复治失败患者新型抗酸杆菌集菌法和液基夹层杯法检出比较											
患者 序号	登记分类	0		2 个月末		5 个月末		8 个月末		其他	
		液基 新型		A	B	A	B	A	B	A	B
1	复治失败									阴性	阳性
2	复治失败									阴性	阳性
3	复治失败									阴性	阳性
4	初治失败	阳性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性				
5	初治失败	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阴性	阳性		
6	初治失败	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阴性	阳性		
7	初治失败	阳性	阳性	阳性	阳性	阴性	阳性				
8	初治失败	阳性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性				
9	初治失败	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性				
10	初治失败	阳性	阳性								

注:A 表示液基夹层杯法,B 表示新型抗酸杆菌集菌法。

2.6 新型抗酸杆菌集菌法安全性试验 10 份直接涂片抗酸阳性(++++)(+)的标本,5 份 BD960 液体培养结核分枝杆菌阳性的标本经 2%NaOH 和 3%N-乙酰 L-半胱氨酸混合液消化,再 78℃水浴 15~20 min 后,接种 BD960 液体培养 42 d 后未报阳,未见抗酸杆菌生长。而 78℃水浴时间不足或 NaOH 和 N-乙酰 L-半胱氨酸配比不当的处理方式均有抗酸杆菌生长。见表 5。

表 5 不同 NaOH 和 N-乙酰 L-半胱氨酸配比及水浴时间的安全性试验结果		
NaOH : N-乙酰 L-半胱氨酸	78℃水浴时间 (min)	生长结果
1.5 : 2.0	10	有分枝杆菌生长
2.0 : 3.0	10	有分枝杆菌生长
1.5 : 2.0	15	有分枝杆菌生长
2.0 : 3.0	15	无分枝杆菌生长
1.5 : 2.0	20	有分枝杆菌生长
2.0 : 3.0	20	无分枝杆菌生长

3 讨 论

抗酸染色至今仍是结核病细菌学诊断的主要方法之一,然而痰直接涂片抗酸染色镜检灵敏度低,通常痰液中分枝杆菌的浓度达到每毫升 5 000~10 000

条时才能得到阳性结果,如何提高痰涂片抗酸杆菌镜检的灵敏度对结核患者的细菌学检测工作具有重大意义。本研究课题组前期通过试验验证不同浓度的 NaOH 和 N-乙酰 L-半胱氨酸消化液,在 78 ℃ 左右(不超过 80 ℃)水浴不同时间,新型抗酸杆菌集菌法安全有效的操作标准后,开始对临床标本做新型抗酸杆菌集菌法临床应用效果的研究。78 ℃ 水浴温度的选择考虑了结核分枝杆菌对湿热的灵敏度,然而痰标本如果不液化处理就达不到湿热对抗酸杆菌的杀灭效果;痰标本的液化处理采用的 N-乙酰 L-半胱氨酸在高于 80 ℃ 时易失活,单纯的 N-乙酰 L-半胱氨酸对痰液化效果不理想,且结核分枝杆菌对一定浓度的 NaOH 有抵抗力,本研究通过试验确定了理想的 NaOH 和 N-乙酰 L-半胱氨酸配比及水浴温度和时间。结核分枝杆菌的抵抗力在中华人民共和国卫生行业标准-肺结核诊断:WS288—2017 附录 A 肺结核病原学中有提及^[10]。

本研究结果显示,新型抗酸杆菌集菌法抗酸杆菌阳性检出率要优于液基夹层杯法和直接涂片抗酸染色法。液基夹层杯法、新型抗酸杆菌集菌法与直接涂片抗酸染色法两两比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。其原因分析如下:分枝杆菌抗酸性的强弱除与细胞壁的完整性有关以外,还与其细胞成熟和衰老程度有关。抗酸染色的原理是分枝杆菌含有分枝菌酸,可与苯酚复红牢固结合,不易被酸性乙醇脱色。分枝杆菌抗酸性是菌体内分枝菌酸、RNA 蛋白及细胞壁的完整性相结合的综合反应。液基夹层杯法因采用集菌法能提高痰抗酸杆菌阳性率^[12-15]。然而液基夹层杯法使用的消化液在对分枝杆菌的菌体灭活的同时也影响抗酸杆菌的着色性及集菌效果,且由于液基夹层杯法操作时对背景细胞的破坏严重,观察视野背景为白色,比较刺眼,不利于观察者的观察,容易造成漏检,使得液基夹层杯法检出阳性率(40.1%)稍低于新型抗酸杆菌集菌法(44.7%)。笔者发现部分初治或复治失败患者的痰标本在直接涂片抗酸染色阳性的情况下,液基夹层杯法是阴性,而新型抗酸杆菌集菌法因采用对抗酸杆菌菌体损伤较小的化学法和对抗酸杆菌抗酸性没有影响的物理方法,达到集菌的目的,从而除适用于初诊和疑似患者的痰标本之外,也适合于初治失败或复治患者的随访跟踪。本研究跟踪 10 例初治或复治失败患者不同时间段的痰标本,发现在 10 例患者中,随着治疗时间的推移,在观察的时间段内与新型抗酸杆菌集菌法相比,液基夹层杯法漏检 8 例。刘燕文等^[12]研究也显示,某些长期服用抗结核药物的患者其结核分枝杆菌抗酸性减弱,加上消化液对菌体的影响使得用液基夹层杯法检测变成阴性。

从阳性片阅片的时间成本上比较,同一患者同一份痰标本因集菌法提高了每视野中抗酸杆菌的菌量,需要观察的视野数可以减少,阅片视野数在中华人民

共和国卫生行业标准-肺结核诊断:WS288—2017 附录 B 分枝杆菌细菌学检查中有提及^[10],能明显减轻观察者的负担。阴性片的阅片时间没有差异。

直接涂片抗酸染色法相较于新型抗酸杆菌集菌法和液基夹层杯法虽然阳性检出率要低,但是也存在对于同一份标本直接涂片抗酸染色阳性而其他 2 种方法阴性的情况,这与抗酸杆菌菌量很少,且抗酸杆菌在标本中分布有一定的聚集性有关。虽然集菌法也存在漏检,但标本量使用多的集菌法漏检的概率会小得多。

本研究的不足之处:因抗酸杆菌的涂片镜检存在死菌依然阳性的情况,10 例初治或复治失败抗酸杆菌涂片阳性患者未用同一份标本做结核培养甚至有未做培养的情况。

综上所述,新型抗酸杆菌集菌法具有快速、简单、生物安全性高、检出率高的优势,优于直接涂片抗酸染色法及液基夹层杯法。

参考文献

- [1] SU Z, CHENG Y, WU Z, et al. Incidence and predictors of tracheobronchial tuberculosis in pulmonary tuberculosis: a multicentre, large-scale and prospective study in southern China [J]. *Respiration*, 2019, 97(2): 153-159.
- [2] ZHU M, HAN G, TAKIFF H E, et al. Times series analysis of agespecific tuberculosis at a rapid developing region in China, 2011—2016 [J]. *Sci Rep-UK*, 2018, 8(1): 8727.
- [3] TANIMOTO T, WANG N, YAMAMOTO K, et al. Incidence of active tuberculosis in rural China [J]. *Lancet Infect Dis*, 2018, 18(2): 144-145.
- [4] YANG Z, ZHOU C, NING Z, et al. High-risk screening and detection of multidrug-resistant tuberculosis in two prefectures of China: a drug susceptibility surveillance-based secondary data analysis [J]. *Global Health Action*, 2018, 11(1): 1500763.
- [5] WU W, YANG M, XU M, et al. Diagnostic delay and mortality of active tuberculosis in patients after kidney transplantation in a tertiary care hospital in China [J]. *PLoS One*, 2018, 13(4): e0195695.
- [6] 胡彦, 陈娟娟, 王小中. 结核分枝杆菌实验室诊断及评价 [J]. *实验与检验医学*, 2016, 34(2): 177-179.
- [7] 李国莉, 陆伟, 竺丽梅, 等. 集菌涂片染色法在检测痰液中抗酸杆菌的临床应用 [J]. *江苏预防医学*, 2019, 30(4): 364-366.
- [8] 林燕. 直接涂片法与浓缩集菌法找结核分支抗酸杆菌的比较分析 [J]. *吉林医学*, 2015, 58(6): 1161-1163.
- [9] 何义明, 陆建荣, 赵建华. 汽油漂浮集菌法在抗酸杆菌检验中的应用 [J]. *交通医学*, 2015, 29(2): 169-170.
- [10] 王黎霞, 成诗明, 周林, 等. 中华人民共和国卫生行业标准-肺结核诊断: WS288—2017 [J]. *中国感染控制杂志*, 2018, 17(7): 642-652.
- [11] 刘建军. 中国结核病防治规划: 痰涂片镜检质量保证手册 [M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2004: 1-8.

- [12] 刘燕文,曾少芳,吴龙章,等. 3 种不同涂片法对分枝杆菌涂片阳性率的影响[J]. 现代医院,2014,14(11):88-89.
- [13] 周亚丽,韩中波. 液基夹层杯技术检测抗酸杆菌的应用效果[J]. 世界临床医学,2017,11(15):226.
- [14] 成松,刘成永,张雪迪,等. 液基夹层杯技术检测支气管肺泡灌洗液中抗酸杆菌对菌阴肺结核的诊断价值[J]. 实验

与检验医学,2016,34(4):428-430.

- [15] 宋红焕,季明,唐国锋,等. 液基夹层杯技术用于基层实验室结核病诊断的可行性研究[J]. 中国防痨杂志,2012,34(7):441-444.

(收稿日期:2020-05-12 修回日期:2020-08-20)

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.21.028

临床护理路径在类风湿关节炎康复护理中的效果评价^{*}

陈晓玲,高慧文,李 斌[△]

海南省人民医院护理部,海南海口 570311

摘 要:目的 探讨临床护理路径在类风湿关节炎康复护理中的应用效果。方法 将 2015 年 1 月至 2016 年 12 月该院收治入院的 136 例类风湿关节炎患者分为对照组与观察组,每组各 68 例。对照组给予常规护理,观察组在对照组基础上给予临床护理路径进行护理。比较 2 组患者类风湿关节炎相关指标(血清白细胞介素 6、C 反应蛋白、类风湿因子)的变化情况。通过视觉模拟评分法(VAS)及生活质量综合评定量表(GQOLI-74)对 2 组患者疼痛情况及生活质量进行评价。结果 2 组患者在干预前血清白细胞介素 6、C 反应蛋白、类风湿因子水平差异无统计学意义($P>0.05$);观察组干预后各指标水平均较对照组下降明显,差异有统计学意义($P<0.01$)。干预前,2 组患者 GQOLI-74 评分比较,差异无统计学意义($P>0.05$);干预后,观察组患者的 GQOLI-74 评分优于对照组,差异有统计学意义($P<0.01$)。干预前,2 组患者 VAS 疼痛评分比较,差异无统计学意义($P>0.05$);干预后,观察组患者 VAS 疼痛评分明显低于对照组,差异有统计学意义($P<0.01$)。结论 类风湿关节炎患者应用临床护理路径进行护理干预后,能显著提高护理质量,有效改善各项类风湿关节炎指标水平,减少关节疼痛,提高患者的整体生存质量。

关键词:临床护理路径; 类风湿关节炎; 生存质量; 康复护理

中图分类号:R473.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)21-3176-04

类风湿关节炎具有致残率高、病情易反复、无特异疗法等特点,属于慢性全身炎症反应的自身免疫缺陷性疾病,以四肢小关节对称性、慢性、进行性的结构破坏,同时伴有关节畸形、肿痛、运动功能丧失为主要临床表现^[1]。已有研究表明,国内类风湿关节炎的发生率达 0.4%,全世界类风湿关节炎发病率达 1.2%,女性较男性患病率高。因为病情易反复、病程长、关节疼痛明显等特点,类风湿关节炎带来的高致残性及预后差等问题已引起重视,做好类风湿关节炎的护理是目前相关护理工作的重要课题。临床护理路径由医生、护士及其他专业人员组成专业小组,能够为患者提供高效率、高品质、低成本的护理^[2-3],本研究通过对类风湿关节炎患者进行临床护理路径护理干预,取得较满意的效果,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院风湿免疫科 2015 年 1 月至 2016 年 12 月收治的 136 例类风湿关节炎患者为研究对象。纳入标准:(1)符合美国风湿学会制订的诊断及分类标准;(2)患者能按照医嘱定时服药,依从

性好,同时能做到定期复诊;(3)患者或家属能够按时完成调查问卷。排除标准:合并肝肾功能损害、严重心脑血管疾病的患者不被纳入。采用随机数字表法进行分组,分为对照组和观察组,每组各 68 例。对照组中男 25 例,女 43 例;年龄 25~70 岁,平均(44.5±5.7)岁;病程 2 个月至 15 年,平均(9.1±2.5)年;疾病分级:I 级 15 例,II 级 21 例,III 级 21 例,IV 级 11 例。观察组中男 21 例,女 47 例;年龄 24~72 岁,平均(46.7±6.8)岁;病程 4 个月至 15 年,平均(9.8±3.2)年;疾病分级:I 级 16 例,II 级 21 例,III 级 21 例,IV 级 10 例。2 组患者年龄、性别、病程、疾病分级等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。患者及家属了解本次研究,并自愿签署知情同意书;本研究经本院伦理委员会通过。

1.2 方法 对照组患者入院后给予常规护理模式,包括告知住院注意事项、观察生命体征改变等基础护理,并对患者的心理及饮食进行护理指导。观察组在对照组基础上给予临床护理路径进行护理。临床护理路径的建立:成立临床护理路径小组,成员包括主

^{*} 基金项目:海南省科技厅 2018 年度省重点研发计划项目(ZDYF2018112)。

[△] 通信作者,E-mail:lblb1999@163.com。