

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.22.015

不同染色试剂和时间对组织抗酸杆菌染色的影响及其质量控制的意义

刘瑾¹, 李刚¹, 袁怀志^{2△}

(1. 重庆市人民医院病理科 400013; 2. 重庆三峡中心医院病理科, 重庆万州 404000)

[摘要] 目的 观察不同染色试剂和时间对组织抗酸杆菌染色结果的影响,并探讨其质量控制措施。方法 搜集抗酸杆菌染色阳性病例共 38 例,取带菌落的典型组织蜡块,每个蜡块切片 4 张,用不同的染色试剂和时间进行抗酸染色。结果 采用二甲苯及乙醇流程染色 20 min 组在显微镜下观察到抗酸杆菌明显淡薄,抗酸杆菌区域呈不连续的模糊淡红色小点,阳性 0 例,阳性率 0%;松节油流程染色 15 min 组在显微镜下观察到抗酸杆菌清晰,呈红色,微弯曲分枝状,容易识别辨认,阳性 34 例,阳性率 89%;松节油流程染色 20 min 组在显微镜下观察到抗酸杆菌区域整个背景呈红色,不易辨识抗酸杆菌,阳性 28 例,阳性率 74%;松节油流程染色 30 min 组,在显微镜下观察到整个抗酸杆菌区域呈深红色,难以辨识抗酸杆菌,阳性 27 例,阳性率 71%。结论 不同染色试剂和时间对抗酸杆菌染色阳性结果有明显差异;组织抗酸杆菌适宜松节油流程设定染色 15 min 组。

[关键词] 指示剂和试剂;染色与标记;组织抗酸杆菌;质量控制

[中图分类号] R446.8

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)22-3066-02

The effect of different staining reagent and time on acid fast bacilli staining and its quality control significance

Liu Jin¹, Li Gang¹, Yuan Huaizhi^{2△}

(1. Department of Pathology, People's Hospital of Chongqing City, Chongqing 400013, China;

2. Department of Pathology, Central Hospital of Chongqing Three Gorges, Wanzhou, Chongqing 404000, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of different staining reagent and time on acid fast bacilli staining and study its quality control measures. **Methods** We collected 38 cases for positive acid fast bacilli stain. Every wax blocked into 4 pieces, with different staining reagent and time of acid fast staining. **Results** Using xylene and ethanol staining for 20 minutes, acid fast bacilli was discontinuous and red punctate. Zero cases were positive and the positive rate was 0%. Turpentine dyeing for 15 minutes group, acid fast bacilli was clear, bright red, slightly bent branched, and easy to identify. A total of 34 cases were positive and positive rate was 89%. Turpentine dyeing process for 20 minutes, the whole background was red, and was not easy identification. A total of 28 cases were positive and the positive rate was 74%. Turpentine dyeing for 30 minutes, the background was entirely deep red, and was hard to discern the acid fast bacilli. A total of 27 cases were positive and the positive rate was 71%. **Conclusion** Different staining reagent and time had different positive staining results. Suitable turpentine process was stained for 15 minutes for acid fast bacilli.

[Key words] indicators and reagents; staining and labeling; organization of acid fast bacilli; quality control

在组织病理诊断中,结核病变组织和疑似结核病变组织的病例有上升趋势^[1-3]。尽管目前诊断结核的指标多样,但金标准仍是在病理组织切片中找到结核杆菌^[4-5]。为了协助病理诊断,抗酸杆菌均需做染色技术处理。有研究报道,不同染色试剂和时间处理标本后其阳性结果差异明显^[6-8]。本研究为了证实以上观点,同时探讨结核病变组织抗酸杆菌染色对病理诊断的重要性做了如下试验,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 回顾性搜集重庆人民医院病理科和重庆市三峡中心医院病理科 2010 年 1 月至 2014 年 10 月被确诊抗酸杆菌染色阳性病例,共 38 例。其中男 11 例、女 27 例;肺组织 10 例、颈部淋巴结 16 例、心包 2 例、皮肤 6 例、扁桃体 4 例。抗酸杆菌染色试剂盒由迈新生物技术有限公司提供,主要成分:试剂 A 为苯酚碱性品红液;试剂 B 为分化液;试剂 C 为 Mayer's 苏木素。

1.2 方法 取带菌落的典型组织蜡块,每个蜡块的原切片至少有 2 个菌落点,每个蜡块切片 4 张,厚度 4 μm,裱片的位置和方向与原切片尽量一致,分 A、B、C、D 4 个组进行抗酸杆菌

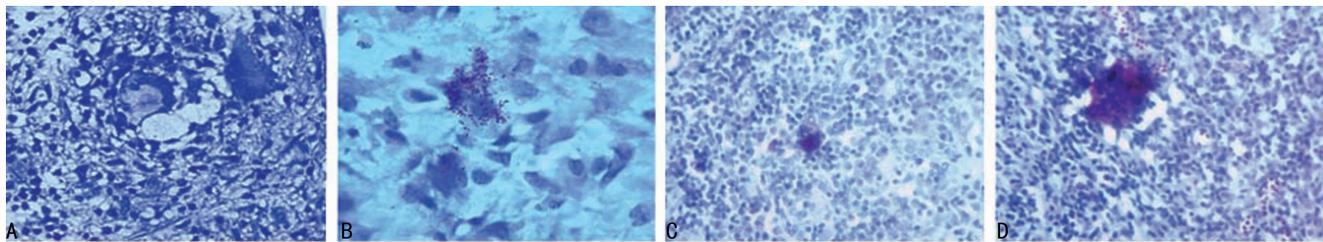
染色,具体流程分为:(1)A 组,烤片 10 min,二甲苯 3 缸脱蜡,每缸 5 min,梯度乙醇每缸 1 min,水洗 1 min,试剂 A 液 20 min,水洗 1 min,试剂 B 液 2 min,水洗 1 min,试剂 C 液 30 s,水洗 10 min,梯度乙醇脱水,每缸 1 min,电吹风干燥,树脂胶封片。(2)B 组,烤片 10 min,松节油 3 缸脱蜡,每缸 5 min,水洗 30 s,试剂 A 液 15 min,水洗 1 min,试剂 B 液 2 min,水洗 1 min,试剂 C 液 30 s,水洗 10 min,电吹风干燥,树脂胶封片。(3)C 组,烤片 10 min,松节油 3 缸脱蜡,每缸 5 min,水洗 30 s,试剂 A 液 20 min,水洗 1 min,试剂 B 液 2 min,水洗 1 min,试剂 C 液 30 s,水洗 10 min,电吹风干燥,树脂胶封片。(4)D 组,烤片 10 min,松节油 3 缸脱蜡,每缸 5 min,水洗 30 s,试剂 A 液 30 min,水洗 1 min,试剂 B 液 2 min,水洗 1 min,试剂 C 液 30 s,水洗 10 min,电吹风干燥,树脂胶封片。然后显微镜下先低倍观察,然后高倍和油镜下观察确定。

2 结果

4 组不同染色试剂和时间流程组合对抗酸杆菌染色结果为:A 组阳性 0 例,阳性率 0%;B 组阳性 34 例,阳性率 89%;C 组阳性 28 例,阳性率 74%;D 组阳性 27 例,阳性率 71%。镜

下观察:A组采用二甲苯及乙醇流程染色 20 min,在显微镜下观察到抗酸杆菌明显淡薄,抗酸杆菌区域呈不连续的模糊红色小点;B组松节油流程染色 15 min,在显微镜下观察到抗酸杆菌清晰,呈红色,微弯曲分枝状,容易识别辨认;C组松节油流

程染色 20 min 在显微镜下观察到抗酸杆菌区域背景呈均匀红色,不易辨识抗酸杆菌;D组松节油流程染色 30 min,在显微镜下观察到抗酸杆菌区域背景呈深红色,难以辨识抗酸杆菌,见图 1。



A:A组;B:B组;C:C组;D:D组。

图 1 4 组不同染色试剂和时间流程组合对抗酸杆菌染色

3 讨 论

本研究将组织抗酸杆菌染色采用回顾性研究,用不同试剂组合的时间和方式,探讨组织抗酸杆菌染色的质量控制,协助病理诊断得到可靠的结果。本研究结果显示,不同染色试剂和时间对抗酸杆菌染色阳性结果有明显差异。组织抗酸杆菌染色适宜松节油流程染色 15 min。分析:A组没有阳性结果,镜下见抗酸杆菌区域出现模糊红色小点,可能与二甲苯、乙醇脱脂有关^[9-11]。B组、C组和 D 组染色流程一样,只是随着试剂 A 液(苯酚碱性品红液)染色时间延长,阳性结果减少。其原因可能是试剂 A 液(苯酚碱性品红液)染色过深,分色时间不够有关,可以采取的措施是相应延长分化液时间。从本研究的染色中观察,抗酸杆菌染色的切片以 4 μm 最适宜,过厚则影响观察。本研究 B 组、C 组和 D 组都没有完全染出,考虑原因是蜡块平面不一样,切片时初切过多,把抗酸杆菌菌落切完了^[12]。故在切片时应尽量将组织裱片的方向一致,将原来切片的抗酸杆菌定位,染色后就容易确定其抗酸杆菌的位置。

根据本研究的染色结果分析:抗酸杆菌染色在脱蜡中不能用二甲苯和乙醇,随着 A 液(石炭酸品红)染色时间的延长,分化液也要相应延长。同时,在松节油脱蜡水洗后要将组织周围的水擦干净,以免滴上试剂 A 液时到处漂移,在染色前也可以用蜡笔在组织周围划个圈,防止染色液体外溢。试剂 C 液染色 30 s 后,水洗 10 min 不能少,水洗必须充分。每次染色时采用的阳性对照只能做参考,因为原来的阳性蜡块有可能切的平面不一样,抗酸杆菌菌落没有了。只有严格按照操作程序和设计的时间进行抗酸杆菌染色,才能保证质量。这也是抗酸杆菌染色质量控制的关键。

参考文献

[1] 王刚,杨喜民,余航,等.抗酸染色阳性结果的临床提示及

流行病学价值[J].西北国防医学杂志,2007,28(5):378-379.

[2] 关欣,王爱平,蔡林,等.肛周溃疡性皮肤结核 1 例[J].临床皮肤科杂志,2003,32(8):467-468.
 [3] 王秀娥,王郑莹,王秀敏.97 例结核病变组织中抗酸染色结果的分析报道[J].中国防痨杂志,2007,29:130-132.
 [4] 王陇德.结核病防治[M].北京:中国协和医科大学出版社,2004:10-470.
 [5] 杨莉,王亚梅,邹远妮.抗酸染色在结核诊断中的应用[J].临床肺科杂志,2013,18(12):2310.
 [6] 闫文婧.两种不同方法检测痰抗酸杆菌的比较[J].临床合理用药杂志,2014,7(7):154.
 [7] 陈华根,陈宇宁,刘冰,等.抗酸染色技术在结核病诊断中的应用[J].检验医学与临床,2012,9(21):2782-2783.
 [8] 汪清雅,胡代玉,刘英,等.重庆市主城区肺结核耐药情况分析[J].重庆医学,2014,43(22):2913-2915.
 [9] 孔洁,谢惠康,陈岗.一种在石蜡切片中应用的改良抗酸染色法的要点及解析[J].临床与实验病理学杂志,2012,28(9):1062-1063.
 [10] 袁薇,陈依江,张铭,等.两种染色方法检测抗酸杆菌的结果分析[J].贵州医药,2011,35(10):935-937.
 [11] 海晓欧,徐静,王澜,等.痰标本替代物的抗酸染色效果分析[J].沈阳医学院学报,2014,16(1):35-36.
 [12] 张国.三种痰涂片方法找抗酸杆菌的比较分析[J].医学检验与临床,2013(5):88-89.

(收稿日期:2015-02-08 修回日期:2015-07-09)

(上接第 3065 页)

疗脑干梗塞吞咽障碍的疗效观察[J].中国医疗前沿:上半月,2010,5(1):48,53.

[13] Nogueira D, Reis E. Swallowing disorders in nursing home residents; how can the problem be explained? [J]. Clin Interv Aging, 2013(8):221-227.

[14] Kikuchi A, Baba T, Hasegawa T, et al. Hypometabolism in the supplementary and anterior cingulate cortices is related to dysphagia in Parkinson's disease; a cross-section-

al and 3-year longitudinal cohort study[J]. BMJ Open, 2013,3(3):e002249.

[15] Chadwick DD, Stubbs J, Fovargus S, et al. Training support staff to modify fluids to appropriate safe consistencies for adults with intellectual disabilities and dysphagia: an efficacy study[J]. Intellect Disabil Res, 2013, 58(1): 84-98.

(收稿日期:2015-02-08 修回日期:2015-07-20)