

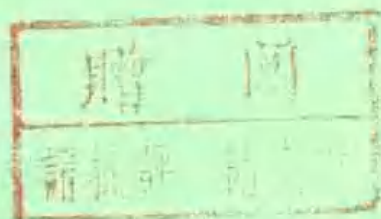
麻风涂片检查技术指南

(直接镜检)

D. L. Leiker 和 A. C. McDougall 著

✓ 叶顺章译

叶于运校



中国医学科学院皮肤病研究所

1985.5

R755/L.K

世界卫生组织麻风专家委员会

“委员会对在许多麻风防治规划中使用的极其粗糙的细菌学检查标准表示关切，强调必须改进这种情况……”

〔摘自WHO麻风专家委员会（日内瓦—1977）第五次报告第16页，技术报告系列号607号〕

序

有效的麻风防治在目前正面临着许多挑战。首先是多种药物治疗方案的使用（它比用氨苯砒单疗复杂得多）现在已成为必不可少的了，如果我们不想使麻风成为不可控制的疾病的话。其次，是在许多麻风防治规划中病人处理的很多方面还需要改进，而细菌学检查就是其中需改进的重要的一个方面。

因此，在许多提供给卫生工作者防治麻风的成果中，我们欢迎这本D.L. Leiker和A.C. McDougal写的直接显微镜检查用麻风涂片检查技术指南。

我们确信，由于作者对有关的各种方法和步骤的精确的叙述，这本指南将成为培训和监督细菌学检查的工作人员的十分有价值的工具。这本指南满足了当前的迫切需要，特别是在应用各种药物治疗方案和评定化学治疗获得的临床进步时，病人的细菌学状态十分重要。

可是，也还有进行标准化的余地，而且无论什么时候只要有可能，应该简化细菌学检查的程序。我们强烈地感到应进行研究，建立一种最低限度的简单的标准化的细菌学检查方法，以提供给基层对大量病人进行有决定意义的诊断和随访。

在当前，所有麻风防治的方法很需要简化到在综合性的卫生服务机构尤其是初级卫生保健系统很易做到的程度。在当前，我们也相信，本指南提供的详细描述的方法是未来现场研究的极好基础。

世界卫生组织麻风科首席卫生官员

H·桑萨里克

前 言

这本麻风指南的产生是受到了一本极好的结核病痰标本检查指南的鼓舞而写的，那本指南是1978年由国际抗痨协会首先发表的。麻风病人的皮肤涂片，这个在很多麻风防治规划中被忽视的工作，可以在负责结核病痰标本检查的实验室或中心内很方便地开展起来。为此，我们试图将这本麻风指南和国际防痨协会的痰标本检查指南相一致。就如关于描述结核的方法那样，也还有余地进行修改使这里叙述的方法适合于麻风，但是我们力图使这本小册子，能为世界不同地区的专家都能接受。

许多麻风病人皮肤切刮涂片检查并不是阳性，在这种病例，诊断就只能靠临床来确定。可是，涂片的检查在瘤型麻风，在某些型的界线类麻风和在未定类麻风中具有极端的重要性：

- a) 在发病时，证实诊断和分类；
- b) 在治疗时，用以衡量病情的进步；
- c) 用于检查和评定复发病时，可判断复发是由于服药不足还是由于耐药菌株所引起。

此外，麻风细菌涂片的检查还由于最近发表了WHO推荐的麻风化疗控制规划而增加了重要性，这个规划需要将麻风病人作基本的分型，分成少菌型麻风和多菌型麻风。

这本指南是按这样的原则写成的，即它应该为相当广泛的具有不同教育水平的读者所看，但是本主题的技术性决定了它很难仅仅使用基础英语来写，因而有可能，这本册子的最大价值，至少在现在这一版，将只是为那些和教学、在职训练和监督有关的人员服务。可是，我们也希望这本书对医学院校学生，新的合

格医生，医学助教、实验室技术员和所有麻风流行国家的公共卫生学校都有意义。

作者希望，这本书将会促使麻风的细菌学检查成为一种常规程序，并对方法的标准化有所贡献。作者最热烈地欢迎读者提出批评建议以改进再版时的质量。

1983年5月

Dr. D. L. Le : Ker

麻风文件服务中心

皇家热带研究所

荷兰，阿姆斯特丹

Dr. A. C. Me. Dougall

斯赖特医院

英国，赫丁顿

目 录

序

前言

1、引言	(1)
1.1 麻风的分类和术语	
1.2 各型麻风的细菌学所见	
1.3 鼻部涂片	
1.4 涂片中细菌的数量	
1.5 涂片中细菌的形态学	
1.6 细菌学检查的设备	
1.7 监督：工作的标准和质量控制	
2、采取涂片的方法	(8)
2.1 病人的选择	
2.2 每个时期的涂膜数目	
2.3 检查的部位	
2.4 涂片检查的频度	
2.5 设备和材料	
2.6 采取涂片	
2.7 鼻部涂片	
2.7.1 鼻拭子	
2.7.2 鼻洗液	
2.7.3 鼻涕	
2.8 固定、	

2.8.1	固定	
2.8.2	保存和运送	
3、	染色的方法	(17)
3.1	设备和材料	
3.2	试剂的配制	
3.2.1	石炭酸复红染液 (萋尼氏法)	
3.2.2	酚溶液	
3.2.3	石炭酸复红工作液	
3.2.4	盐酸脱色剂	
3.2.5	美兰复染	
3.3	涂片的染色	
4、	显微镜检查	(21)
4.1	设备和材料	
4.2	显微镜的使用	
4.3	涂片结果的判断	
4.3.1	细菌指数 (BI)	
4.3.2	形态指数 (MI)	
4.3.3	完整菌—断裂菌—颗粒菌百分率 (SFG)	
4.3.4	对判断涂片结果的几点意见	
参考文献		(28)
附件		
I	治疗中心给实验室的涂片登记和发送单	
II	各项设备价目表	
III	工作和质量控制的标准: 目的和任务	
IV	描绘和皮肤刮涂片位置的人体图和分格方法	

1 引言

1.1 麻风的分类和术语

选择和采取涂片的方法和治疗前、治疗中和治疗后预期产生的结果在很大程度上取决于病人所患麻风的型别。因而，简要回顾一下麻风分类问题和解释一下这本小册子中使用的分类系统和符号（LL、BL、BB、BT和TT）是很有必要的。

在过去二十多年中，在世界的不同地区使用了不同的分类方法（“马德里”“印度”“南美”等）。1953年马德里国际麻风会议所采用的分类方法已广泛地为大家所接受⁽¹⁾。这个分类方法将麻风分为I、T、B和L四个型类。这儿的I = 未定类，T = 结核样型，B = 界线类（双型类）和L = 瘤型。

由于三级分类法不能对实践中遇到的麻风主要型别提供完整和满意的描述，将麻风分成五个类型的五级分类法表现出具有越来越大的意义，这种方法最初是Ridley和Jopling提出来为研究工作者使用⁽²⁾并于1966年进一步完善起来的⁽³⁾。该分类法使用下列名称和符号：

麻 风 的 型 别	符 号
结核样型	T T
界线类偏结核样型	B T
中间界线类	B B
界线类偏瘤型	B L
瘤 型	L L

现在这五个类型麻风的主要特征已被Jopling在为现场工作者改良的分类法中作了简要介绍⁽⁹⁾：

现场工作者使用的麻风分类表(根据Ridley-Jopling分类)

观察和试验	麻 风 分 型					
	T	T	B	T	BB—BL	LL
皮损的数目	通常为一个	一个或不多几个	一个或不多几个	好几个和许多	许多	很多
皮损的大小	大小不一	大小不一	大小不一	大小不一	大小不一	小
皮损表面	非常干, 有时有鳞屑	干	干	有光泽	有光泽	有光泽
皮损中毛发生长情况	不生长	中度减少	中度减少	轻微减少	轻微减少	无影响
皮损的感觉(不包括脸部)	完全丧失	中度丧失	中度丧失	轻微丧失	轻微丧失	不丧失
皮损涂片中的抗酸杆菌	无	无或很少	无或很少	好几根至很多	许多(或成团)	许多(或成团)
鼻涕或鼻刮片中的抗酸杆菌	无	无	无	无(很少为几根)	许多(或成团)	许多(或成团)
麻风菌素试验	强阳性(+++)	弱阳性(+或++)	弱阳性(+或++)	阴性	阴性	阴性

应该指出上述的某些观察是指在发病的早期。例如, 在TT麻风病例, 一个原始损害可以传播开来形成多个损害。某些学者也提议在上表中作下列小的改动:

a) 在TT麻风, 毛发的生长可以明显减少而不是生长。

b) 在TT麻风, 皮损的感觉可以是明显的减退而不是完全丧失。

c) 在LL麻风, 应为“不丧失或稍稍丧失感觉”而不是“不丧失感觉”。

d) 在BB/BL麻风, 麻风菌素试验可以是很弱而不是阴性。

需要指出的是, 这个分类方法中没有包括未定类和“纯神经”型麻风。

未定类麻风是在麻风发展的早期和没有特征化的阶段, 它可以朝结核样型、界线类或瘤型麻风发展。因而, 未定类麻风不适合于放到以已经建立的免疫力的临床表现为基础的光谱之中。未定类麻风可以发生自然痊愈。在未定类麻风中可表现为一个单个的斑, 或几个小的轻微的色素减退斑, 这些斑既不象结核样型的斑那样边缘清楚和干燥, 也不象瘤型麻风斑那样模糊不清, 临床诊断由于仅有非常轻微的感觉丧失而显得困难。皮肤切刮涂片通常为阴性, 活检往往不能作出最后结论。这些病例应该送给有经验的专家去诊断。

所谓纯神经型麻风, 按照定义来说, 是没有皮肤损害的, 这里再强调一下, 这种完全根据神经方面的检查才能确定为麻风的病例, 现场工作人员应将其转送有经验的专家。这种病例最后应放在Ridley—Jopling分类的哪个位置可能要通过麻风菌素试验和神经活检。

马德里分类中的符号I、T和L与Ridley和Jopling使用的符号相当接近。马德里分类中的界线类(B)规定定义如下:

“它是一种恶性型, 非常不稳定; 细菌检查几乎总是强阳性; 麻风菌素反应一般为阴性。……通常看到的皮损如斑块、带状、结

节等，它们除了特别明显的不对称之外都象瘤型麻风中那样的分布部位，它们的耳垂像存在瘤型浸润……”⁽³⁾。

这个描述和Ridley—Jopling分类中的BL型基本相符。可是，在后来，另外二组也加了进去：一组是界线类偏结核样型（BT），表现的特点更像是光谱的结核样型一边、另一组为中间界线类（BB），其特点处于BT和BL之间。

1.2 不同类型麻风的细菌学所见

在早期瘤型（LL）麻风，甚至在临床症状出现之前，病人的涂片，尤其是从耳垂和鼻粘膜取的涂片通常表现为阳性。在进一步恶化的病人，甚至从外表正常的皮肤所作的涂片，通常细菌也是阳性。明显的皮损的涂片通常是强阳性并有菌球。进行治疗的病人，涂片阳性要保持好多年。（参阅4.3.1细菌指数）。

在界线类偏瘤型麻风（BL）病人中，皮损的涂片可以像在瘤型病人中那样表现为强阳性，但是如果涂片取自可见皮损的外面（即从看起来正常的皮肤取材）则经常为阴性。偶然可发现菌球，比在瘤型病人中见到的菌球为小。在化学治疗开始以后涂片保持阳性的时间不一，并且在大多数BL病人没有确切的记载。然而可以说BL病人细菌阴转比LL病人快的多。

在界线类偏结核样（BT）麻风病人中，涂片一般是阴性或弱阳性。在治疗期间，涂片通常可在一年内迅速变为阴性，也可自然变为阴性。

在结核样型（TT）麻风，涂片几乎总是阴性，但偶然也可以在早期的非常活跃的皮损中发现少数的细菌。

在未定类（I）麻风，涂片通常为阴性或弱阳性。中等或强阳性涂片表示病情恶化。临床上诊断为未定类的病人应该再次仔

细检查整个体表，从各个部位包括耳垂取材作皮肤切刮涂片检查以排除是早期瘤型麻风的可能性。

按照定义，所谓纯神经性麻风是没有皮肤损害的，因而皮肤切刮检查应是阴性。而且，标记为“纯神经”的病人决不要忽略多个部位包括耳垂的皮肤切刮检查，因为早期瘤型麻风临床诊断也可以非常困难。

1.3 鼻涂片

鼻粘膜的细菌学是病人传染程度的良好指标。鼻粘膜是麻风杆菌最重要的排出途径。另一方面，鼻腔也常隐匿有非致病的腐生性分枝杆菌，因而在鼻腔发现少量麻风杆菌并不能就诊断为麻风。而且，鼻部粘液物质和排出物的检查，除了有身体其它部位的非常仔细对照和相应的别的临床和细菌学资料之外，并不比皮肤切刮涂片的系统和标准检查有任何优越性。

我们并不推荐鼻粘液的切刮检查，因为它可以造成病人疼痛和流血，方法也不普遍。关于病人传染性的确实可靠的资料可由鼻拭子、鼻洗液或鼻涕来获得。可是，应该重复说明的是这些方法无法替代使用标准化的皮肤切刮检查。

1.4 涂片中细菌的数量

皮肤涂片中的菌数随着麻风上述不同型别和发展的时期而异，受治疗药物的影响也很大。在未治疗的瘤型（LL）病人的皮损中，而且在外观正常的皮肤中都有很多细菌。在结核样型（TT）麻风病人的皮肤涂片中，则没有菌或几乎没有菌。在界线类麻风（BT、BB和BL）、就如在上面 Ridley—Jopling 分类表中所指出的那样、细菌是逐级增加的。

按照标准方法所做的涂片中存在的菌数可以通过石炭酸复红染色和显微镜的油镜检查来达到，这些菌数可以记录为细菌指数（BI），其范围是从0到6+。进行这种计数的方法在本指南的4.3.1作了全面的描述。

在有效的治疗中，瘤型麻风病人在第一年中菌量的减少是微不足道的。而且以后，平均说来，每年BI大约下降1+。一个典型的瘤型病人，在开头时BI常为6+，因而要通过6年以上的治疗才能使细菌指数达到零（BI=0）。如果下降速度比这更快往往提示对病人的分型不准确，病人实际上可能是界线类麻风。下降较慢则提示病人没有规则地服药，或者提示有耐药菌株的存在。在后面这种情况下，细菌的形态或者没有改变或者有完整染色菌的增加。这个特性也可以用下面所叙述的指数来测量。

1.5 涂片中麻风检菌的形态学

在活动性未治疗的多菌型麻风（即LL、BL和较小程度上说的BB型）中有一部分细菌在染色之后表现为染色均匀且染色较深的杆状抗酸菌。这种菌称为完整菌且被认为是活菌。这种完整均匀菌的百分率称为形态指数（MI），这是病人对治疗药物反应的一个很有价值的指数。测MI的方法的全部细节将在4.3.2中叙述。

在有效治疗之后不久，细菌的染色变得不均匀，虽然他们还是杆状的，但沿着他们的长轴出现一个以上的小的不着色点。这种菌称为断裂菌。某些断裂菌在涂片固定和染色之前可能一直是活着的，在进一步治疗之后，全部细菌或几乎全部细菌变成具有不着色的横裂的死菌。颗粒菌是死菌。在未治疗的病人涂片中，并不是所有的菌都是完整染色和活的。有一部分菌已经自然死

亡，因而它们染成断裂形和颗粒形菌。完整菌、断裂菌和颗粒菌也可记录为SFG百分率，在后一部分（见4.3.3）作了详细叙述。如果声称现时进行规则治疗的病人涂片中有大量完整菌，那么病人要么并不是一直在服药要么是存在了耐药菌。如果一个瘤型病人声称目前没有治疗，但所有的菌都是颗粒形菌，那他定是以前经过治疗的。

1.6 细菌学检查的设备

所有边远的治疗中心都应该能够作皮肤切刮涂片。本方法完全适合于现场工作，所以涂片可以在点上采取，不需要将病人送到门诊部、医院或专门中心去。一般的卫生工作人员在他们进行基本训练时应该学习做皮肤切刮涂片，使他们能进行这种操作，就象从结核病人收集痰标本那样。在现场所取的涂片应该毫不迟疑地送到实验室或由管理人员按一定的间隔时间收集，特别重要的事情是涂片的固定，标记和寄送（见2.8）。按常规来说，涂片的染色和检查应由专科医院或普通医院的实验室中受过适当训练的工作人员来承担。这里再强调一下，麻风病人皮肤切刮涂片的染色和结果观察应该和结核病人的痰标本及其它类似的实验室操作所需的标本一样对待。

在一些设备极其有限的国家或大行政区，那儿没有作分枝杆菌染色和准确观察涂片结果的经验，应根据情况建立一个“中心”来检查麻风的皮肤切刮涂片。一旦建立起可以被大家接受的标准，并为主要的培训人员所掌握，就有可能去教会其它人，并同时成为国家或地区的查询和质量控制中心。

1.7 监督：工作的标准和质量控制

监督在麻风的实验室工作中的重要性不能过分强调。临床资料应该比实验室资料更为重要，但在麻风作出最后的诊断时实验室资料往往是十分重要的。尤其是在临床上怀疑的病例，实验室资料可以明显影响诊断，因而不正确或不准确的实验资料会造成麻风诊断的遗漏或错误。

监督，包括友善地提醒注意，建设性的批评和表扬都是重要的组成部分，因为这项工作经常重复和使人感到枯燥无味。一个初级的技术员如果由于他职业上的局限性，不太了解或根本不理解麻风防治规划和它的进展的话，那么要期望他天天把工作完成得很好这是不完全不合理的。

监督应该是有规律的、系统的、从容不迫的和信息灵通的。如果监督员不知道他正在谈什么，那么初级工作人员（常有好多年工作经验）就会很快注意到。

关于工作的标准和质量的控制问题，在作麻风涂片时部位的选择、取材、固定、寄送、染色、镜检和报告中，工作质量差和马马虎虎可以说比不干更坏。应该停止不准确或不可靠的工作。任何时候如果对皮肤刮涂片的可靠性有任何怀疑的话，那么诊断和评价工作应该完全根据临床资料和常识。

“可靠性”的精确的标准是很难定的，但是关于方法中从取材部位的选择到最后作出报告的最重要的步骤已经根据目的和任务作了尝试性的规定。（见附件Ⅱ）。

2 采取涂片的方法

希望本指南最终会导致改进工作的标准和促使方法某种程度标准化。可是，世界范围的标准化可能是困难的，部分原因是为经验已经表明，在事实上在世界不同地区存在着许多取材、

色和观察涂片的方法，其中有许多方法也能取得满意的和稳定一致的结果。下面所叙述的方法是基于“方便”或在不同的麻风防治中都能接受的原则，并不是全面的或最后的。这方面，进一步的研究是很需要的，例如：

a) 固定：用加热还是用其它的方法？

b) 染色：用加热还是不加热？

c) 细菌指数 (BI) 的测定：什么是涂膜合适的大小和厚度？

d) 形态指数 (MI) 的测定：确定“完整”菌、“短杆”菌等的精确的标准。

此外，从马拉维⁽⁸⁾和埃塞俄比亚⁽⁹⁾的观察已经注意到：

a) 在将“常规的”细菌指数 (BI) 平均时，可能引起错误；

b) 所涂的部位包括小的或局限性的损害（包括那些称为“组织样”麻风瘤的部位）是很重要的，应恰当地提供这些部位的BI和MI的单独记录及其在体表图上的确切位置。（见附件IV）。

* “组织样”麻风是Wade在1963年最早记叙的，在一些特殊部位出现的高度活动性的瘤型麻风结节，在组织学上它们很像是“……从单一的纺锤状的组织成分发展成的肿瘤”。组织样麻风瘤经常在复发病人中看到，包括那些由氨苯矾耐药菌引起的复发病人。

2.1 病人的选择

涂片应该取自：

a) 所有怀疑有任何一型（包括未定类和纯神经型）麻风的病人

- b) 所有临床上诊断为有麻风的新病人（仅有一个或少数几个皮损的明确的结核样型麻风病人可除外）。
- c) 所有在以前三次检查中一次或一次以上发现为阳性的病人。涂片的部位必须包括以前阳性的部位（见2.2和附件Ⅳ），这一类实际上包括了对药物治疗明显有效的病人。
- d) 所有疑似复发的病人，无论是由于不能按处方服药或由于耐药引起的病人。
- e) 所有已经经过足够治疗和根据WHO推荐的标准可以解除控制的病人。

2.2 每次涂膜的数目

a) 在活动性病人，每次最少的涂膜数为3个，包括两侧耳垂和一个身体任何部位的活动性皮损。实际上，四个涂膜更为合适，这些部位应包括两个耳垂和二个活动性皮损。

b) 如果病人以前记载有活动性皮损而现在已成为非活动性，则涂膜应从原来标记有活动性皮损的部位和二个耳垂取材，总数至少为三个，而取四个涂膜更为适宜。

c) 如果病人以前没有活动性皮损的记载，并且现在也没有明显的活动性皮损，则应取六处：双侧耳垂，双侧前臂的背部和双侧大腿的前缘，刚好在膝盖之上。

d) 以前经过治疗的，怀疑为耐药的瘤型病人至少应取四个涂膜，但是正如c)所指出，6个部位更为适合。

e) 当对象很清楚是处于界线类偏瘤型（BL）和瘤型（LL）麻风之间时，除了由上述推荐的部位取材之外，还应在活动性皮损的外面靠近皮损的部位取材做涂片。

2.3 检查的部位