

浮游濃集法在結核病實驗 診斷上的初步应用

王守良

(第六軍醫大學細菌系)

結核病的診斷除了臨床方面，根據其症狀、體徵和 X 射線的檢查以外，在結核病人的病理材料中找到結核桿菌，乃是最有力、最可靠的証據，尤其對於結核病的早期診斷更有重大的意義。

臨床上從肺結核患者的咯痰中檢出結核桿菌，對於其診斷和預防是一向被重視的。但把它利用到早期診斷上，却被大家所忽略。根據文獻記載，在臨床的各種檢查，特別是在 X 射綫檢查也不易發現病灶時，也往往能從咯痰中發現結核桿菌；及在結核菌素反應陰性的兒童中，也有不少在咯痰中找到結核桿菌的實例^[1]。由上述例子證明，採用咯痰的檢查，對於結核病的早期診斷，是不可輕視的。

近年來，在結核病的實驗診斷上有了不少成就，但與現在的實際需要相差甚遠。有人希望在改良標本染色的基礎上，擴大其檢菌的敏感度，但至今尚未成功^[2]。

自從 A. A. Козлов 氏倡議浮游法以來，為結核病的實驗室診斷上，開闢了新的道路。此法業經各實驗室所重視，在蘇聯已成為結核病的實驗診斷上不可缺少的方法。

根據學者的報告，充分證明浮游法是當前最有效、簡單而可靠的方法。在 C. Б. Заглухинская 氏^[3]檢查 373 例皮膚結核的報告中，陽性率從 6.9% (普通顯微鏡檢查法) 增加到 38% (浮游法)。據劉紹龍氏^[4]作了 390 次的實驗中，其陽性率比直接塗片法高達 3 倍。

浮游法不僅在檢查病理標本時，收到良好的效果，同時，也可用到有關的公共衛生方面。M. M. Дрябина 氏^[5]曾用浮法(浮游法)檢查牛乳中的結核桿菌感染，亦得到同樣的效果。

從以上各實驗的結果看來，其陽性率要比普通濃縮法增高一倍以上；此外，浮游法操作簡單而方便。為此，將本實驗室之浮游法與普通濃縮法試驗之比較，作一初步

介紹。

操作方法

(一)浮游法: 我們所使用的浮游法大体上參考 A. Я. Альтгаузен^[6] 及 M. B. Триус^[2] 二氏的資料中介紹的方法, 和筆者在工作中的体会綜合而成。現將各種材料的操作方法和步驟介紹如下:

痰 收集 24 小時的痰液, 經靜置後, 傾去其上清液, 留其粘稠部分 20—30 毫升, 置入 250—500 毫升容量的小口燒瓶中(小口錐形燒瓶), 加入等量或倍量(痰濃者)之 15% 的安替佛民 (Antiformin) 液, 用橡皮塞塞緊, 然後用手指按住橡皮塞, 振盪 10—15 分鐘, 再放置於 37°C 水溫箱中 30 分鐘, 直至痰液完全液化為止。從水箱中取出後, 待其冷卻, 再加入 1—2 毫升的苯液 (benzolum), 用力振盪 10—15 分鐘, 並靜置於室溫中 1/2—1 小時, 直到液面上形成一層白色奶油狀泡沫為止。用帶有橡皮帽的巴斯德滴管將此油狀物吸滴在一熱載物玻片上(此片放在加熱溫箱內的玻璃板上); 待乾燥後, 用同樣方法再加數滴。這樣反覆 5—6 次, 待塗片完全乾後, 用 Ziehl-Neelson 二氏染色法染色。如果標本過厚, 可以在乾標本上滴數滴醚和酒精的混合液 (Никифоров 氏混合液), 待乾後, 用上述染色法染色, 最後詳細的進行顯微鏡檢查。每張玻片至少得找 100 個視野以上。

尿 收集 24 小時之尿(尽可能採取導尿), 直接就可將尿置入錐形燒瓶中, 並添加蒸餾水至瓶的頸部, 加入 1—2 毫升的苯液。經 10—15 分鐘振盪後, 靜置於室溫中 30 分鐘, 即液面上浮起一層白色奶油狀泡沫。再按上述方法, 作成玻片標本, 再進行染色和檢查。

糞便 將 5—10 克的糞便, 置入燒瓶中, 加入約 5 倍量之 15% 的安替佛民液 (50—100 毫升), 用攪棒攪動, 使其充份均勻成乳狀。再加入蒸餾水 120—150 毫升, 並用粗濾紙濾過, 將濾液靜置於室溫中 30 分鐘。以後細心將上層帶混濁狀的液體傾入另一燒瓶中(勿將沉渣傾入), 該液體再接上述操作法進行浮游法檢查。

其他 如膿液、脊髓液、洗胃水及各種滲出液等約 5—15 毫升, 按其材料的不同, 加以適當處理後, 均可用上述方法進行浮游。

(二)安替佛民濃縮法 (Antiformin method): 我們使用浮游法的同時, 還將這些標本用安替佛民濃縮法進行對照, 比較其效果, 其操作步驟如下:

痰 取痰 10—20 毫升, 視痰之濃薄, 加入等量或倍量之 15% 的安替佛民液, 混合

振盪 30 分鐘。如有不易液化者，置入 37°C 水箱中 30 分鐘，使其完全液化。再加入等量之蒸餾水，用每分鐘 3,000 迴轉的遠心沉澱器，沉澱 30 分鐘，傾去上清液（切勿將沉澱物傾出），用白金耳取沉澱物作塗片，以 Ziehl-Neelson 二氏染色法染色，仔細鏡檢。同樣每張玻片檢查 100 個視野以上。

糞便 取 5—10 克之糞便，加入 5 倍量之 15% 安替佛民液，用攪棒攪動，充份使其均勻液化，再加入等量蒸餾水，並用粗濾紙濾過，將濾液行每分鐘 3,000 迴轉遠心沉澱，以沉澱物作塗片、染色及鏡檢。

其他 如尿、脊髓液及各種滲出液等，視其材料性質，加以適當處理後，以遠心沉澱之沉澱物進行塗片、染色及檢查。

結 果

用上述浮游法和安替佛民濃縮法檢查 152 例，所得之結果列如表 1。

表 1

材 料 分 類	例 數	檢 查 方 法			
		濃 縮 法		浮 游 法	
		陽 性	百分率(%)	陽 性	百分率(%)
痰	115	38	33	72	62.6
尿	24	3	12.5	12	50
糞便	5	0		1	
腹水	3	1		2	
胸腔抽出液	2	0		0	
脊髓液	2	0		0	
洗胃水	1	0		1	
總計	152	42	27.6	88	57.9

根據上表的結果看來，無疑的，浮游法的陽性率要比濃縮法的陽性率是大大提高。特別是尿的陽性率。上表中的結果也初步指出，浮游法不僅可用於痰液、尿液之病理材料，而且還可能適合於其他膿液、糞便、脊髓液、洗胃水等材料。

討 論

當浮游法尚未採用之前，以採用濃縮法找結核桿菌是一般實驗室所普遍採用的。但這種方法檢菌的敏感度是很有限的。目前認為，在結核病的實驗診斷上，以浮游法

為最有效且容易做到。近年來，在蘇聯已經被廣泛地實際应用到各種結核病防治機構的實驗室中，在我國也有不少實驗室被採用了。

據上表比較的結果來看，浮游法要比濃縮法的陽性率增高一倍以上，表中特別明顯的表示出，尿的陽性率為最高，據以往參考資料中的記載，痰的陽性率比尿為高。筆者的初步意見認為，可能是使用大量尿液進行浮游，增加了檢菌的機會。但本實驗室的材料不夠多，不能得出結論，希望讀者今後更加以注意。

根據臨床家的經驗所知，在肺結核活動型中，必有許多患者常常無痰，或不把痰咳出來而嚥入胃內，這種情形尤其是兒童為最常見。因此必須注意，對於無痰患者，用洗胃水來找尋結核桿菌，尤其對於可疑的兒童用洗胃水找尋結核桿菌是完全必要的。Коганас氏^[2]在無痰的結核病人中，發現有 71% 例的洗胃水中有結核桿菌，而有破壞性病變者，差不多 100% 病例都有之。Триус, Баландер 及 Клебанова 二氏^[2]僅檢查了結核菌素陽性及肺部 X 射綫檢查有小範圍浸潤的幼年兒童，其中有 40% 病例洗胃液中有結核桿菌。由此可知，適當的運用洗胃水來尋找結核桿菌，是具有重大意義的。如在洗胃水內發現有結核桿菌，則無疑地証實了在機體中某處有結核桿菌感染的存在。

在浮游法中，最重要的二個環節，乃是吸附和集中。吸附劑本身為脂溶劑（苯、二甲苯、醚、汽油等），不溶於水，比重較水小，易於浮在表面。同時，結核桿菌表層存在着大量類脂體，所以，經混合振盪後，該菌吸附而浮在表面的白色奶油狀泡沫中。加入吸附劑後，振盪是一個很重要的步驟，它不但可以增加細菌與吸附劑互相撞碰的機會，而且，由於振盪而將吸附劑形成微小的泡沫，因而可增加其分散度，增加了吸附劑的界面面積，使其與結核桿菌接觸面增加，提高其吸附能力^[7]。

浮游法是在一窄口燒瓶中進行的，是因為瓶頸的表面積愈小，則吸附着結核桿菌的白色奶油狀泡沫愈集中。但浮游法尚存在着一定的缺點，例如吸附劑加入後，再經劇烈振盪，瓶塞易於衝出而易被沾污。為了實驗的安全，我們應重視這問題。

總 · 結

1. 浮游法的陽性率要比濃縮法為高。在本實驗 152 例中，陽性率從 27.6% 增加到 57.9%，其中尿的陽性率更高。浮游法不僅適用於痰液，而且還適用於其他的病理材料，如尿、糞便、腹水及皮膚結核所成之潰瘍分泌物等。

2. 浮游法設備簡單，操作方便，在某些設備尚差的地方均可適用。

3. 本實驗的例數还不够多, 可能對於浮游法的陽性率尚不能完全說明, 但是至少啓示我們, 浮游法是目前結核病實驗診斷上比較滿意的方方法。

参 考 文 献

- [1] 坪崎治男: 關於結核的細菌學診斷。東北醫學雜誌, 2 (3): 180—182, 1950。
- [2] Триус, М. В. Современные методы лабораторной диагностики туберкулеза. *Советская Медицина* 9: 20-23, 1952.
- [3] Заглухинская, С. В. Значение метода флотации в бактериоскопической диагностике туберкулеза кожи. *Новости Медицины* 19: 40-42, 1950.
- [4] 刘紹龍: 浮游集菌法檢查結核桿菌的優越性。人民軍醫, 2: 152—153, 1954。
- [5] Дрябина, М. М. Метод флотации применительно к исследованию молока на туберкулез. *Гигиена и Санитария* 1: 34-36, 1951.
- [6] Альтгаузен, А. Я. Лабораторные Клинические Исследования, 233, 1951.
- [7] 徐濤: 結核菌浮游濃集法之原理及应用範圍。中華結核病科雜誌, 1: 70—72, 1954。

A PRELIMINARY REPORT ON THE FLOATATION- CONCENTRATION METHOD FOR THE DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS

WANG, S. L.

Department of Bacteriology, Military Medical College

Koslav's floatation method has been applied to the examination of sputa for the detection of tubercle bacilli. Altogether, 152 specimens were examined, and the percentage of positive findings was increased from 27.6 % with the conventional concentration method to 57.9% by the floatation method. The latter method was applicable not only to the examination of sputa, but also to that of urine, stool, ascitic fluid and exudate from various discharging lesions. It was found to be simple, easily carried out, and especially suitable for laboratories with simple equipments. Although the number of specimens examined was small, these preliminary encouraging results suggested desirability of more extensive trials in order to reach a definite conclusion.