

中华人民共和国卫生行业标准

WS 291—2018
代替 WS 291—2008

麻风病诊断

Diagnosis for leprosy

2018 - 03 - 06 发布

2018 - 08 - 01 实施

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会 发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 术语和定义	1
3 诊断依据	2
4 诊断原则	4
5 诊断	4
6 鉴别诊断	5
附录 A (规范性附录) 临床检查方法	6
附录 B (规范性附录) 皮肤涂片查菌方法 (Ziehl-Neelsen 抗酸染色法)	9
附录 C (规范性附录) 皮肤活检标本的送检及染色	12
附录 D (资料性附录) 麻风病五级分类法和 WHO 联合化疗分类法	15
附录 E (资料性附录) 麻风反应分型及残疾分级	18
附录 F (规范性附录) 完成疗程后的监测要求及临床治愈 (临床非活动) 标准	21
附录 G (规范性附录) 小鼠足垫接种检查活麻风杆菌的方法	22
附录 H (资料性附录) 需要鉴别的皮肤病、神经病及其他疾病	24
参考文献	25

前 言

本标准第5章为强制性条款，其余为推荐性条款。

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准代替WS 291—2008《麻风病诊断标准》。

本标准与WS 291—2008相比，主要技术变化如下：

- 修改了诊断依据部分（见第3章，2008年版的第3章）；
- 删除了原来损害活检组织学检查条款（见2008年版的3.1.3.2）；
- 增加了皮肤损害组织学检查条款（见3.2.2）；
- 增加了麻风反应诊断标准部分（见5.2）；
- 删除了MDT方案和疗程（见2008年版的表D.2）；
- 修改了临床治愈（临床非活动）标准部分（见F.2）；
- 增加了小鼠足垫接种检查活麻风杆菌的方法（见附录G）。

本标准起草单位：中国疾病预防控制中心麻风病控制中心、广东省皮肤性病防治中心、江苏省疾病预防控制中心、上海市皮肤病医院。

本标准主要起草人：沈建平、张国成、严良斌、黎明、张连华、陈家琨。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- WS 291—2008。

麻风病诊断

1 范围

本标准规定了麻风病的诊断依据、诊断原则、诊断和鉴别诊断。
本标准适用于全国各级各类医疗卫生机构及其医务人员对麻风病的诊断。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

麻风分枝杆菌 *Mycobacterium leprae*; ML

麻风菌

细胞内寄生菌，抗酸染色阳性，有排列成束或集聚成团特性，对许旺细胞和网状内皮细胞有特殊的亲和力。

2.2

抗酸杆菌 *anti-fast bacillus*; AFB

在用Ziehl-Neelsen法染色时，细菌能被石炭酸复红染成红色，着色后在规定条件不能被酸性溶液所脱色的杆菌。抗酸杆菌包括麻风杆菌，结核杆菌和其他一些分枝杆菌。

2.3

细菌形态指数 *morphological index*

各个部位（涂膜）完整菌之和除以各部位（涂膜）完整菌和非完整菌之和的数值，一般以百分比表示。

2.4

细菌密度指数 *bacterial index*; BI

皮肤组织液涂片查菌时，各个查菌部位（涂膜）的麻风细菌密度“+”数之和与查菌部位（涂膜）总数的比值（结果保留小数点后一位）。

2.5

麻风病流行地区 *leprosy endemic area*

以县（区）为单位，3年内在当地常住人口中有新发麻风病患者的地区。

2.6

麻风性结节性红斑 erythema nodosum leprosum; ENL

麻风病患者在慢性病程中，机体对ML抗原产生的一种急性或亚急性超敏反应，是麻风Ⅱ型反应的主要表现，属于有补体参与的抗原抗体复合物型超敏反应。

2.7

麻风反应 leproy reaction

麻风病患者在慢性病程中突然出现原有皮损红肿、扩大或出现新皮损、或有剧烈的周围神经肿胀疼痛，发生新的畸残，称为Ⅰ型（逆向）反应；或有麻风性结节性红斑、虹膜炎、淋巴结炎、睾丸炎或发热等部分或全部表现的情况，称为Ⅱ型反应。

2.8

早期病例 patient at early stage

病期较短（一般指1年以内），且尚未发生畸残或不可逆神经损伤的新确诊病例。

2.9

晚期病例 patient at advanced stage

病期较长（超过2年），皮损广泛或已发生畸残和/或神经损伤的新确诊病例。

2.10

复发病例 relapsed patient

完成规定疗程、显示正常疗效，在达到临床治愈（临床非活动）后又出现临床、细菌或组织病理学上疾病再活动证据的患者。

3 诊断依据**3.1 新发患者诊断依据****3.1.1 流行病学史**

3.1.1.1 生活在麻风病流行地区，与未经治疗的麻风病患者有过密切接触。

3.1.1.2 亲属、邻居或同事中有麻风病患者，并与其在没有确诊治疗前有过密切接触。

3.1.2 临床表现**3.1.2.1 临床皮损表现**

3.1.2.1.1 皮肤损害为1~5块，有斑疹或斑块，表面干燥，边缘清楚，麻木闭汗（见附录A中的A.2.1）。

3.1.2.1.2 皮肤损害在6块或以上，分布不对称，有斑疹或斑块，呈黄红色、棕褐色或淡红色，有卫星状或免疫区皮损。皮损表面干燥或光滑，边缘清楚，部分皮损处麻木闭汗。

3.1.2.1.3 皮肤损害多发，广泛对称分布，表面光滑，边缘模糊。有浅色斑、浸润性红斑、结节、斑块或弥漫性浸润。早期病例皮损浅感觉正常或减退，眉毛完整，晚期病例皮损浅感觉消失，眉毛脱落。

3.1.2.2 周围神经损害表现

3.1.2.2.1 单一周围神经干粗大，质地硬，部分患者伴有眼、手、足或面部畸残（见 A.2.2）。

3.1.2.2.2 周围神经干不对称粗大，数量在 2 条或以上，质地硬，部分患者伴有神经干触痛或眼、手、足或面部畸残。

3.1.2.2.3 早期无周围神经干粗大。晚期周围神经干轻度或中度对称粗大，质地软，数量在 2 条或以上，并出现手足麻木和畸残。

3.1.3 实验室检查

3.1.3.1 常规皮肤查菌有一处及以上部位检查 AFB 为阳性（见附录 B）。

3.1.3.2 皮肤损害组织学检查（见附录 C）：

- a) 表皮基底膜破坏，白细胞侵入表皮，真皮内见上皮样细胞肉芽肿，并见郎罕巨细胞，肉芽肿外围密集淋巴细胞包围，神经分枝破坏而难以辨认，肉芽肿内查找抗酸杆菌阴性，S-100 蛋白免疫组化染色在肉芽肿内见破坏的神经分枝；皮神经检查见神经内炎症或上皮样细胞肉芽肿。
- b) 表皮下有狭窄“无浸润带”，真皮内见上皮样细胞肉芽肿，肉芽肿周围有稀疏淋巴细胞包围，郎罕巨细胞少或无，肉芽肿内神经分枝难以辨认，肉芽肿内抗酸杆菌检查阳性，细菌密度 1+~3+。
- c) 表皮萎缩，表皮下见明显“无浸润带”，真皮内见组织细胞和泡沫细胞肉芽肿，淋巴细胞少或无，神经束膜呈洋葱样改变，神经分枝内见炎症细胞浸润。在肉芽肿内和神经分枝内抗酸杆菌检查阳性，细菌密度在 4+或以上。

3.1.4 麻风病的分类

麻风病患者五级分类法和 WHO 联合化疗分类法参见附录 D。

3.2 麻风反应患者诊断依据

3.2.1 临床表现

3.2.1.1 患者原有皮损突然红肿，出现新皮损，严重者皮损发生水疱或浅溃疡。手足面部肿胀。皮损消退后有脱屑。部分患者单条或多条周围神经干肿胀，伴有不同程度的疼痛或触痛，或突然发生爪形手、垂腕、垂足或面瘫等畸残。

3.2.1.2 患者突然出现触痛的结节性红斑。严重者有水疱、脓疱、大疱、坏死、破溃和结痂。少数患者有多形性红斑或坏死性红斑表现。严重患者出现发热、疲倦、厌食、淋巴结炎、虹膜睫状体炎、睾丸炎、神经炎和关节炎等部分或全部表现。

3.2.2 皮肤组织学检查

3.2.2.1 表皮见细胞内外水肿。真皮浅层纤维组织水肿，淋巴管扩张，上皮样细胞胞浆出现空泡状变性，细胞间距离变大，胶原组织出现纤维蛋白样变性。严重者出现小灶性坏死。

3.2.2.2 真皮及皮下组织炎症灶内见动、静脉全层血管炎。血管内膜及内皮细胞呈显著肿胀，管腔变细而闭塞。血管壁各层及周围见中性粒细胞、淋巴细胞、嗜酸性细胞等浸润，血管壁发生纤维蛋白样变性和红细胞外渗。

3.2.3 麻风反应分型和残疾分级

麻风反应分型及残疾分级参见附录E。

3.3 复发患者诊断依据

3.3.1 治疗史

完成规定疗程的抗麻风病治疗（如联合化疗），显示正常疗效，在达到临床治愈后（临床非活动）又出现临床、细菌或组织病理学上疾病再活动的证据者。

完成规定疗程后的监测要求及临床治愈（临床非活动）标准，按照附录F规定的方法进行。

3.3.2 临床表现

在已消退皮疹部位或其他部位出现新的斑疹、丘疹、斑块、结节及弥漫浸润等麻风病活动性皮损，但皮损无明显的触痛和水肿。部分患者发生新的周围神经干粗大，或新的眼、手、足或面部畸残。

3.3.3 实验室检查

3.3.3.1 皮肤涂片检查 AFB，符合以下之一者：

- a) 皮肤查菌阴转后，出现任一部位细菌密度 $\geq 2+$ ；
- b) 皮肤查菌阴转后，重新出现任一部位或多部位查菌阳性，同时见有完整染色菌。

3.3.3.2 复发皮损的组织学检查，符合以下之一者：

- a) 重现活动性麻风病特异性病理改变，且无明显组织水肿；
- b) 病理组织像组织水肿不明显，出现任一部位皮肤查菌 $\geq 2+$ ；
- c) 病理抗酸染色阳性，同时有完整染色菌。

3.3.3.3 小鼠足垫接种证实有活菌者（见附录G）。

4 诊断原则

根据流行病学史、临床表现，结合实验室检查（皮肤涂片检查AFB和组织活检的麻风病特异性病理改变）等，进行综合分析，及时、准确地做出诊断。

5 诊断

5.1 新发患者诊断标准

5.1.1 疑似病例

符合3.1.2.1之一项或3.1.2.2之一项，同时有或无3.1.1中之一项者。

5.1.2 临床诊断病例

同时符合3.1.2.1中之一项和3.1.2.2中之一项，有或无3.1.1中之一项者。

5.1.3 确诊病例

符合5.1.1或5.1.2，同时符合3.1.3中之一项者。

5.2 麻风反应诊断标准

5.2.1 麻风反应临床病例

符合3.2.1中之一项或多项者。

5.2.2 麻风反应确诊病例

同时符合3.2.1中之一项或多项和3.2.2中之一项或多项者。

5.3 复发患者诊断标准

符合3.3.1、3.3.2，且同时符合3.3.3中之一项者。

在临床上，复发与 I 型麻风（逆向）反应的区别，参见附录E中的表E.2。

6 鉴别诊断

临床上，需要与麻风病鉴别的疾病很多。因此应充分了解麻风病的临床特征，掌握其诊断要点和诊断技能，再结合流行病史、实验室检查结果和需要鉴别疾病的临床特点，通过认真全面和客观分析，才可做出本病的诊断。需要与麻风病鉴别的皮肤病、神经疾病、其他疾病以及皮肤也能查到抗酸杆菌的疾病参见附录H。

附录 A

(规范性附录)

临床检查方法

A.1 病史询问及临床损害检查

与就诊者及其家属交谈，获得与麻风病有关的真实病史。主要了解患者的确切姓名、年龄、地址、职业、工作单位及出生地点，是否到过麻风病流行区，有无家族史或接触史。尽量回顾初发症状及其发生时间，皮损有无瘙痒、蚁走感、针刺感、烧灼感及疼痛感。有无皮损闭汗，眼、手、足感觉减退或丧失，手足无力、瘫痪等运动障碍。查询其持续时间及演变，掌握求医、治疗和转归全过程。

皮肤损害检查要保证在明亮的自然光线和适宜的温度条件下进行，检查的重点是皮肤、黏膜和周围神经。事先向受检者讲清检查方法和要求，从而取得其配合。应自头到足、从前到后，以不同角度和距离，依次进行全身详细检查，以便清晰辨认皮肤上任一皮损，并尽可能包括隐蔽部位。周围神经检查应在双侧对比下，检查各对周围浅神经的粗细、形态、质地、均匀度、触痛及放射痛等。注意有无神经瘤、神经脓肿或纤维化。

A.2 体格检查

A.2.1 皮肤损害的检查

A.2.1.1 皮肤损害种类和形态

如斑疹、丘疹、斑块、结节和浸润等，有无“免疫区”或“卫星状”损害。

A.2.1.2 边缘

清楚与否，有无浸润、高起。如呈环状，要分别叙述内、外缘是否清楚。尤其要注意大片地图状、中央为接近正常皮色免疫区皮损的边缘所在。

A.2.1.3 数目及大小

皮损少者可直接计数，多者可写多数或难以计数。大小可用实物形容（如粟粒、黄豆或银元大小），也可以cm为单位测其纵、横径。

A.2.1.4 颜色与光泽

如浅色、淡红色、棕褐色或玫瑰色等；皮损有无浸润、发亮、萎缩或无光泽。

A.2.1.5 皮疹表面

高起、扁平或凹陷，干燥或多汁感，光滑或粗糙、有无鳞屑、毳毛脱落和“免疫区”。

A.2.1.6 分布

簇集与否，局限或广泛，对称或不对称。

A. 2. 1. 7 硬度及活动度

坚硬或柔软，活动或不活动。

A. 2. 1. 8 浅感觉、查菌及病理变化

皮肤损害有无浅感觉障碍、查菌阳性或阴性、有无麻风病特异性病理变化。

A. 2. 2 神经损害的检查

A. 2. 2. 1 神经形态检查

A. 2. 2. 1. 1 眶上神经：出眶上切迹与眉弓垂直上行于额部。检查时使用两手按住受检者颞部，两拇指在眉上缘自内向外触摸，检查有无神经粗大及硬度异常。

A. 2. 2. 1. 2 耳大神经：在胸锁乳突肌的后缘中1/3穿出，经皮下斜向内上方，和该肌交叉至耳后。检查时嘱受检者头稍后仰并转向对侧，即可触摸，检查有无神经粗大及硬度异常。

A. 2. 2. 1. 3 尺神经：行经肱骨内踝上方，肘管近端和腕横韧带尺侧的腕管近端。检查时将受检者肘关节微屈、外展，检查者一手托稳前臂，一手自尺神经沟向上触摸；或左手抓住受检者的手，在腕横韧带尺侧腕管近端触摸，检查有无神经粗大及硬度异常。

A. 2. 2. 1. 4 正中神经：检查时触摸腕管中部屈腕肌与掌长肌肌腱之间，注意有无压痛和观察该部有无肿胀。

A. 2. 2. 1. 5 桡神经：检查时触摸上臂外侧中部肱骨桡神经沟间的桡神经及桡骨小头处的桡浅神经，检查有无神经粗大及硬度异常。

A. 2. 2. 1. 6 腓总神经：经腓窝外侧股二头肌内缘、腓骨小头后上方。检查时嘱受检者膝关节微屈，自腓窝外侧触摸，检查有无神经粗大及硬度异常。

A. 2. 2. 1. 7 胫神经：经内踝后下方的跗管上端（内踝与足跟上1/3），检查有无神经粗大及硬度异常。

A. 2. 2. 1. 8 皮神经：检查皮损及麻木区内或其附近的皮神经，有无神经粗大及硬度异常。

A. 2. 2. 2 周围神经功能检查

A. 2. 2. 2. 1 感觉功能检查

A. 2. 2. 2. 1. 1 皮肤痛、触及温度觉检查：感觉检查特异性高而敏感性低，常常有主观成分，需取得受检者合作才能反映客观结果。检查前，耐心、细致地向受检者说明检查目的、方法和要求。先在正常的皮肤上测试，使患者领会检查的方法，然后嘱其在闭目或以物遮盖双眼情况下，指出被测部位的感觉如何。检测皮损及相对应的正常皮肤作对比，同时观察其表情和反应，判断检查结果的可信度。当受检者思想不集中或检查结果不确定时，应该重新测试。应当注意，不是所有麻风病损害肯定有感觉障碍，特别是早期LL端患者的躯干红斑与面部弥漫性浸润，浅感觉障碍不明显。

A. 2. 2. 2. 1. 1. 1 痛觉：取两根大头针或缝针，分别以尖端或钝头，交替刺激正常皮肤及相应皮损部位，让受检者回答是“尖的”还是“钝的”，或“痛”与“不痛”。正常者可明确回答，并观察其表情及有无避开刺激的动作；痛觉减退者则对“尖”与“钝”分辨不清或反应缓慢；痛觉丧失者分不清尖、钝，或无痛感，仅感有物触及。

A. 2. 2. 2. 1. 1. 2 触觉：以棉签末端的棉絮或柔软的羽毛，轻轻触试正常皮肤及相应皮损部位，嘱受检者感到有物触及时，指出每次触及的部位或顺序回答触及的次数。触觉正常者，指点触试部位或报数无误；减退者，大多指点、报数不准或反应缓慢；丧失者，不能指点或报数。手足保护性感觉应该用圆珠笔尖检查。

A. 2. 2. 2. 1. 1. 3 温度觉（冷热觉）：用两支试管，一置冷水（10℃左右），一置热水（50℃左右），用两试管下端交替测试正常皮肤及相应皮损部位，了解其对冷、热觉的敏感性。减退者大多回答不正确或迟缓；丧失者分不清冷、热试管。

A. 2. 2. 2. 2 运动功能检查

A. 2. 2. 2. 2. 1 对比检查、记录受累神经所支配肌肉的肌力，测定各神经支配肌肉的抗阻力情况，有无瘫痪或萎缩。

A. 2. 2. 2. 2. 1. 1 面：通过蹙额、皱眉、闭眼、吹口哨及露齿等动作，观察有无面神经功能障碍。令受检者闭眼，看上下眼睑能否闭合，有无睑外翻；如不能闭合，应测量睑裂的距离（mm）并记录。

A. 2. 2. 2. 2. 1. 2 手：测定上肢神经（尺神经、正中神经及桡神经）有无功能障碍。观察手指外展、内收，拇指掌侧外展、对掌，握拳，腕背屈等动作的情况和力量。

A. 2. 2. 2. 2. 1. 3 足：观察受检者足的背屈、内翻、外翻，以及屈趾、伸趾的情况及力量，检查下肢神经（腓总神经及胫后神经）有无功能障碍。

A. 2. 2. 2. 3 自主神经功能检查

检查皮损处有无闭汗，组胺试验三联反应是否完整。

A. 2. 2. 2. 4 残疾程度判断

如出现残疾，应采用WHO的0~2级残疾分级法记录（见附表E.3）。

A. 2. 3 眼病的检查

各型麻风病患者往往伴有原发性或继发性眼病，应重视对眼的检查。主要应注意眉毛、睫毛是否脱落；有无倒睫，眨眼及闭眼异常。角膜感觉是否正常，眼睛是否有疼痛、畏光或异物感。检查角膜有无白斑、溃疡或混浊，巩膜有无睫状充血。有无麻风瘤，虹膜纹理是否清楚，瞳孔是否规则，对光反应是否灵敏，眼压是否增高。

A. 2. 4 其他检查

特别是多菌型病人(MB)中、晚期病例，尚应进行耳、鼻、咽、喉、淋巴结及内脏检查。

A. 3 临床试验

周围神经功能有否受损，还可在皮损或麻木部位，通过组胺试验、出汗试验及立毛肌试验等临床试验测定。但这些试验并无特异性，凡周围神经疾病或外伤时亦可异常，部分早期麻风患者也可有正常反应，均应注意排除。

附 录 B (规范性附录)

皮肤涂片查菌方法 (Ziehl-Neelsen 抗酸染色法)

B.1 皮肤涂片取材

B.1.1 选择涂片部位

皮肤切刮法涂片,一般取材4~6处部位。应取病情最活动处,如环状损害在其边缘取材;斑块与结节在中央取材;浸润性皮炎在浸润明显处取材;有新、老皮损时,应选择在新损害上取材等。常规取材部位为眶上、耳垂、下颌和躯干或肢体2~3处活动性皮炎;如仅有一块皮损者,取其边缘及对侧各一处;如无明显皮损,则在膝关节上方、腕背或中指近侧指关节背面的皮肤取材。为便于比较治疗前后的细菌指数,以后的复查通常不得任意变更已定的部位。

B.1.2 取材方法

B.1.2.1 患者要安置在光线较好的场所,坐在头部有依靠的位置,并说明目的、要求和方法。

B.1.2.2 取材部位皮肤经75%酒精棉球擦拭消毒,检验者洗净双手、戴消毒手套后,以左手拇指、食指紧捏该处皮肤,使之呈苍白色;如有充血,可用刀柄轻轻压之驱散。

B.1.2.3 右手持消毒手术刀(刀片、刀柄规格可按习惯选用,常用15号圆头或11号尖头手术刀),用锐利刀尖切一长5 mm,深2 mm~3 mm的切口,然后刀片呈90°旋转,并来回3~4次刮取切口边缘和底部的组织液。

B.1.2.4 预先在载玻片正面一端用记号笔编号。自载玻片编号端按送检单所列取材部位顺序,在载玻片的确定位置上,用刀尖上的组织液均匀涂成黄豆大小(直径5 mm~7 mm)圆形涂膜。要求组织浆不应混有血液,涂膜均匀,厚薄适当。所用载玻片应洁净、光滑无划痕,无油脂、杂质、灰尘和指印。查菌时用新的洁净玻片,并不应重复使用。

B.1.2.5 切口在手指松开后,立即用消毒胶布或干棉球压迫止血。每换一取材部位前,刀片均在酒精灯上烧灼,冷却后使用。并用酒精棉球擦拭干净,以免导致交叉污染。

B.1.2.6 涂膜自然干燥后,将载玻片的反面(未作涂膜的一面)在酒精灯火焰上,似钟摆速度来回移动2~3次固定标本(以不烫手为宜)。

B.1.2.7 核对并标记玻片号、患者姓名及取材日期,涂片放置标本盒内(防潮、防尘、防日光),在三日内连同送检单,送检验室及时染色检查。

B.2 涂片染色

B.2.1 染液配制

B.2.1.1 石炭酸碱性复红饱和液

B.2.1.1.1 取碱性复红6 g,溶于95%乙醇溶液100 mL中成饱和溶液。

B. 2. 1. 1. 2 再取饱和液10 mL与5%石炭酸水溶液90 mL混合即成。

B. 2. 1. 1. 3 复红乙醇饱和液及配好的复红染液，均应盛于棕色玻璃瓶内，置冷暗处存放。新配置的抗酸染液，一般勿超过1年。存放日久易生沉淀，此时可用水浴加温溶解、过滤后使用。

B. 2. 1. 2 1%盐酸乙醇

取浓盐酸1 mL，70%乙醇99 mL混合。

B. 2. 1. 3 碱性亚甲蓝液

B. 2. 1. 3. 1 取亚甲蓝（美蓝）2 g，溶于95%乙醇100 mL内，制成乙醇饱和液。

B. 2. 1. 3. 2 取亚甲蓝乙醇饱和液30 mL，加入蒸馏水100 mL及10%氢氧化钾水溶液0.1 mL即成。

B. 2. 1. 3. 3 此液配妥后，需经过滤后方能使用，置棕色玻璃瓶内于冷暗处存放。

B. 2. 2 染色步骤

B. 2. 2. 1 滴加石炭酸碱性复红液于已固定的载玻片涂膜上30 min，以覆盖涂膜为宜，时间到后自片端用清水缓慢冲洗去染液。

B. 2. 2. 2 用1%盐酸乙醇脱色10 s~30 s，摇动玻片，使涂膜脱至微带粉红色为止或至无红色溢出后（对未达要求者可反复脱色；不能脱色过度，以免AFB染色变淡或失去红色，而不能查见），从片端用清水缓慢冲洗去脱色液。

B. 2. 2. 3 滴加碱性亚甲蓝液复染0.5 min~1 min，使背景呈浅蓝色，流水自片端缓慢冲洗去染液。自然干燥后，用油镜检查。

B. 3 镜检

B. 3. 1 镜检要求

B. 3. 1. 1 染色后尽可能及时镜检，如不可能，标本应保存在标本盒内。避免灰尘和光照。

B. 3. 1. 2 显微镜要视野清晰，分辨率高；物镜用90×或100×油浸镜头，目镜以5×或10×为宜。

B. 3. 1. 3 为了减少涂膜中因细菌分布不匀造成的误差，应选一定顺序多检查几个区域。

B. 3. 2 镜检结果及报告

B. 3. 2. 1 细菌密度标准

用Ridley对数法计算细菌密度，每一级间相当于10倍之差：

阴性：100个以上油镜视野未检出ML；

a) 1+：平均每100个视野有1~10条ML；

b) 2+：平均每10个视野有1~10条ML；

c) 3+：平均每个视野有1~10条ML；

d) 4+：平均每个视野有10~100条ML；

e) 5+：平均每个视野有100~1 000条ML；

f) 6+：平均每个视野有1 000条以上ML，并有大量菌团。

为使结果具有相对的准确性，应多检查些视野。阴性涂膜至少检查100个视野，3+~6+的涂膜至少检查50个视野，若在100个以上视野内仅发现1条ML，仍属1+范围。

B.3.2.2 细菌密度指数

细菌密度指数（BI）计算法

$$BI = \frac{a}{b} \dots\dots\dots (B.1)$$

式中：

BI——细菌密度指数；

a ——各个部位（涂膜）细菌密度“+”数之和；

b ——查菌部分（涂膜）数。

如1+为1，2+为2，……依次类推，按式（B.1）即可求得BI值。

B.3.2.3 细菌形态的描述

油镜下可见AFB呈鲜红色，组织细胞染成蓝色，背景呈浅蓝色。注意细菌的密度和形态，按下列方法记录报告：在未治疗的多菌型麻风中，有一部分染色均匀且着色较深的杆状菌，称为完整菌。菌体断裂、染色不均匀者，为非完整菌。一般认为完整菌是活菌，非完整菌是死菌。完整菌占全部检查菌的百分率称为形态指数（morphological index, MI）。由于细菌形态指数较难标准化，一般不要求报告形态指数值。但在报告细菌指数的同时应大体描述细菌的形态，如杆状、粒状、杆多粒少、杆粒相近或粒多杆少等。

B.3.3 涂片标本保存

每份标本镜检后，于涂片上放2~3张拭镜纸，滴上两滴二甲苯，自涂片一端轻轻拉动移去该纸，以完全清除涂片上的镜油。然后按取材日期顺序置玻片盒内，保存备查。

B.3.4 细菌检查质量控制

皮肤查菌工作在麻风病防治和科研工作中具有重要意义，为此应有相对稳定的实验条件，加强检验人员的岗位培训，统一查菌操作程序，建立定期的细菌片质量考核制度，以确保工作质量。把查菌质量考核列入麻风病防治质量考核的技术指标之一。

附 录 C
(规范性附录)
皮肤活检标本的送检及染色

C.1 皮肤活检标本送检

C.1.1 取材部位

C.1.1.1 环状损害取最活动高起的边缘；结节、斑块取浸润最明显的中央部位；不同阶段的皮损应取较成熟的部分。

C.1.1.2 如同时有不同形态或发展阶段的皮损，必要时可取多处标本，但应分别固定于几个瓶内，并注明取材日期、皮损性质及各自部位，病理申请单填写内容应与之一致。

C.1.1.3 取材应避免开较大的皮下小血管，并尽可能不在面部、关节周围。

C.1.1.4 为使活检有助于诊断，避免在麻木区、皮损消退区或“免疫区”内取材。

C.1.2 取材方法

C.1.2.1 刀切法：一般可取到大小满意的活体组织。取材后直接缝合，减少感染的机会，并且愈合快。取材部位消毒后置手术巾，用2%利多卡因在取材皮损周围行皮下浸润麻醉，药液勿直接注入要切取的组织内，以免使组织发生人为变化。取材者洗净双手、戴消毒手套后，以左手拇指和食指将皮肤绷紧，但勿用手揉捻，右手持手术刀与皮面垂直，切取0.5 cm×1 cm之梭形皮肤组织，深达皮下脂肪层。切取时应避免挤压组织，切取后从一端轻轻镊起组织块，避免破坏病变结构导致细胞变性而影响诊断。伤口缝合包扎，5 d~7 d拆线。

C.1.2.2 钻孔法：此法无需缝合和拆线，便于现场应用。一般选用直径6 mm左右皮肤钻孔器（或用角膜环钻代之）为宜。局部消毒和麻醉方法同上。取材时用左手绷紧皮肤，右手持钻孔器对准皮肤向下来回旋转，用力至适当深度后，用小有齿镊从边缘将标本轻轻夹起，以剪刀从根部剪断取出。创面撒碘仿后用消毒纱布覆盖，胶布固定。保持干燥，伤口一般在一周左右愈合。

C.1.3 固定

C.1.3.1 皮肤组织块切取后，要求对标本的大小、颜色、形态等给以详细描述和记录。

C.1.3.2 把标本立即放入固定液中，以保持活组织的形态、特性及染色反应正常，避免分解腐化。但固定时间也不宜过长，一般在1 d~3 d，否则会使组织变硬而影响制片质量。

C.1.3.3 选择何种固定液及固定时间，取决于组织块的大小、组织结构及所观察的内容而定。通常用10%中性福尔马林溶液，加以缓冲剂，能保持pH 7.0，染色较好。

C.1.3.4 组织块固定于10%中性福尔马林溶液中，用胶布固定瓶盖，标上患者姓名、取材部位及日期，随同病理送检单在48 h小时内送至相关的病理检验室。

10%中性福尔马林液的配制：

福尔马林（40%甲醛水溶液） 100 mL

磷酸二氢钠 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	3.5 g
磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	6.5 g
蒸馏水	900 mL

C.2 皮肤活检标本的染色

C.2.1 改良的Wade-Fite抗酸染色法

C.2.1.1 染色方法

染色方法如下：

- 将切片用等份 120 号汽油（航空汽油）和纯松节油 I 脱蜡 30 min；
- 等份汽油和松节油 II 脱蜡 30 min；
- 取出切片用吸水纸吸干或自然风干，不用酒精洗；
- 温水充分洗净油液 5 min；
- 用石炭酸复红（Ziehl-Neelsen）染液在室温下染 20 min~25 min；
- 水洗 5 min；
- 15%~20%硫酸 I 脱色 1 min~2 min；
- 15%~20%硫酸 II 脱色 1 min~2 min（至切片呈粉红色为止）；
- 充分水洗 5 min；
- 用 Harris 苏木素染液染色 2 min~3 min；
- 水洗 1 min；
- 1%盐酸水溶液分化 1 s~5 s；
- 水洗 1 min；
- 1%氢氧化铵蓝化 1 s~5 s；
- 水洗 1 min；
- 风干（自然干燥）；
- 香胶封固。

C.2.1.2 染液配制

C.2.1.2.1 石炭酸复红（Ziehl-Neelsen）染液

甲液：盐基复红 6.0 g；无水乙醇 100 mL。

乙液：石炭酸 5 mL；蒸馏水 95 mL。

配法：用时取甲液 10 mL，乙液 90 mL 混合配制即成。此染液着色力强，但易沉淀，用前过滤使用。

C.2.1.2.2 汽油松节油脱蜡液

松节油（优质纯）500 mL；加等量无色透明的 120 号汽油（航空汽油）500 mL 混合即成。脱蜡一定要完全，以免影响硫酸脱色。

C.2.1.2.3 Harris 苏木素染液

甲液：苏木素 1.0 g；无水乙醇 10 mL。苏木素加入无水乙醇中，稍加热使之尽量溶解。

乙液：铵（或钾）明矾 20.0 g；蒸馏水 200 mL。将铵（或钾）明矾加入蒸馏水中，加热至沸腾。

配法：甲、乙两液分别溶解后，以较大的优质玻璃杯，将甲液加入乙液中混合，加热至沸腾，防止染液溢出，再逐渐加入一氧化汞0.5 g~1 g，用玻棒搅至溶液呈深紫色，立即移于流动冷水中，促使冷却，静置一夜，过滤密封保存。用前若加入少许5%冰醋酸，则染色更佳。本染液冷却后即可应用，经2个月~3个月后，着色力会减退，故应重配。

C.2.1.3 结果

镜检时AFB呈红色，细胞核呈蓝色。

C.2.2 S-100蛋白免疫组化染色方法

皮肤切片HE染色时，炎症病灶中破坏了的神经纤维与上皮样细胞、立毛肌片段和小血管混在一起，常难以鉴别。S-100蛋白免疫组化染色可在麻风肉芽肿内显示残余或破坏的神经组织，对诊断PB（特别是切片中抗酸染色阴性者）病例有一定价值。此法以皮肤组织石蜡包埋切片，目前染色大多使用商品化的免疫组化标准试剂盒，具体方法根据不同试剂盒而异。

附录 D

(资料性附录)

麻风病五级分类法和 WHO 联合化疗分类法

D.1 麻风病五级分类法

根据麻风免疫光谱学说，将麻风病分为以下5种类型：

- a) 结核样型麻风 (tuberculoid leprosy; TT)；
- b) 界线类偏结核样型麻风 (borderline tuberculoid leprosy; BT)；
- c) 中间界线类麻风 (mid-borderline leprosy; BB)；
- d) 界线类偏瘤型麻风 (borderline lepromatous leprosy; BL)；
- e) 瘤型麻风 (lepromatous leprosy; LL)。

除上述5种麻风类型，临床上还有无法分类的患者，一般为上述各型麻风病的早期阶段，称为未定类麻风 (indeterminate leprosy; I)。

五级分类法各型及未定类麻风病的临床特征见表D.1。

D.2 WHO联合化疗 (WHO-MDT) 的分类法

为了方便基层对病例登记报告及MDT的现场实施，WHO将麻风病简化为少菌型及多菌型：

- a) 少菌型麻风 (paucibacillary leprosy; PB)：包括五级分类法中皮肤查菌阴性、且皮损 ≤ 5 块和神经损伤 ≤ 1 条的 I、TT 与 BT 病例；
- b) 多菌型麻风 (multibacillary leprosy; MB)：包括五级分类法中的皮肤查菌阳性的 LL、BL、BB 和其他病例或皮肤查菌阴性但是皮损 ≥ 6 块或神经损伤 ≥ 2 条的病例。

没有条件进行皮肤查菌的地区，暂可根据皮损或神经受累数目确定治疗方案。当对患者分类有疑问时，可按MB方案治疗。WHO-MDT分类法，参见表D.2。

表 D.1 五级分类法各型及未定类麻风病的临床特征

临床特征		瘤型 (LL)	界线类偏瘤型 (BL)	中间界线类 (BB)	界线类偏结核样型 (BT)	结核样型 (TT)	未定类 (I)
皮肤损害	形态和种类	斑疹、结节和弥漫性浸润等 ^b ，淡红色、淡黄色或暗褐色。可有狮面、眉毛及睫毛脱落	斑疹、结节、弥漫浸润性损害和倒置碟状边缘的斑块，淡红或棕褐色 ^b	斑疹、斑块、结节和浸润性损害，常见典型“免疫区”（外缘模糊，内缘清楚），黄红、淡红或棕褐色 ^b	浅色斑、斑块或浸润性损害，有的皮损中央可见空白的“免疫区”。呈红褐色或橘黄色	浅色斑、红斑、丘疹或暗褐色斑块	浅色斑或淡红斑
	数目	大量，分布广泛，实际上没有正常皮区	许多，但可见正常皮区	中等，有正常皮区	单个或有很少卫星状损害	单个或数个	常常单个，很少多发
	分布	对称性	大致对称	明显不对称	不广泛，不对称	局限而不对称	不一定

临床特征		瘤型 (LL)	界线类偏瘤型 (BL)	中间界线类 (BB)	界线类偏结核样型 (BT)	结核样型 (TT)	未定类 (I)
	表面	光滑有光泽	光滑有光泽, 毳毛轻度减少	轻度发亮多汁感, 无鳞屑, 毳毛中度减少	有点干燥, 有鳞屑, 毳毛明显减少	干燥, 附有细小鳞屑, 可有毳毛脱落	可能光滑
	边缘	模糊, 渐渐地融入周围区	模糊, 向外呈斜坡	模糊, 向外呈斜坡	清楚	清楚, 整个斑或其边缘高起或不高起	清楚或不清楚
神经损害	感觉障碍	早期病例无, 晚期广泛	轻度减退	中度减退	明显丧失	明显丧失	轻度减退
	周围神经	早期无粗大, 晚期受累广泛, 质地软, 导致广泛麻木	早期可粗大, 质地软, 多条神经受累, 较对称	早期可粗大, 质地较软, 受累较广泛, 欠对称	早期可粗大, 质地较硬, 受累不多, 不对称	早期周围神经干及皮神经粗大, 质地硬, 可形成神经脓疡	神经无粗大, 损伤多不明显
皮肤涂片查抗酸菌		阳性 (4+~6+)	阳性 (4+~5+)	阳性 (2+~4+)	阴性 ^a 或 1+~2+	阴性 ^a	阴性 ^a 或 1+
皮肤活检		表皮下可见“无浸润带”。真皮内形成弥漫的巨噬细胞肉芽肿, 淋巴细胞很少。巨噬细胞呈空泡状(称泡沫细胞)。神经束膜可呈洋葱皮样改变, 没有显著的浸润。AFB 极多	表皮下可见“无浸润带”。真皮及皮下组织见巨噬细胞肉芽肿, 间有大量淋巴细胞, 有时巨噬细胞泡沫化。神经束膜常呈洋葱样改变, 并有细胞浸润使束膜不易辨认。有较多 AFB	表皮下可见“无浸润带”。真皮内有上皮样细胞肉芽肿, 没有郎罕巨细胞, 淋巴细胞少而散在。泡沫细胞少且不典型。可见到神经束膜层状变, 并有上皮样细胞浸润。有中等量 AFB	表皮下可见狭窄“无浸润带”。偶有表皮楔状浸润或侵蚀, 范围不大。真皮内上皮样细胞肉芽肿, 外围有中度淋巴细胞, 异物巨细胞多于郎罕巨细胞。神经中度肿胀, 有肉芽肿病变。皮肤附件及神经中可见少量 AFB	没有表皮下“无浸润带”。真皮内上皮样细胞肉芽肿外围密集淋巴细胞, 或肉芽肿内见许多郎罕巨细胞, 小神经被破坏难辨。真皮深层神经束肿胀。皮肤附件及神经中不见 AFB	真皮浅、中层附件血管及神经周围和神经束膜内有淋巴细胞为主非特异性慢性炎症细胞浸润, 可见皮神经小分支粗大。少数病例在皮神经和立毛肌内可查到 AFB
麻风菌素试验		阴性	阴性	阴性	可疑或弱阳性	强阳性	阴性或阳性
病程和预后		主要传染源, 易发生 II 型麻风反应, 如不治疗, 预后差	不稳定, 易发生 I 型或 II 型反应	多不稳定, 易发生 I 型反应	较不稳定, 易发生 I 型反应	稳定, 一般不发生麻风反应及型类演变	可自愈或发展成其他型类麻风
^a BT或I中任何涂片查菌阳性病例, 均应列入MB。 ^b LL 皮疹另有一种特殊形态——组织样麻风瘤 (histoid leprosy): 可发生在砒类药物治疗后病情恶化或复发的病例; 也可见于未经治疗的 BL 及 LL。部分病例可能与砒类药物耐药有关。							

表 D.2 WHO-MDT 分类法

特 点	少菌型 (PB)	多菌型 (MB)
皮肤损害的数目	≤5 块	≥6 块
神经损伤的数目	≤1 条	≥2 条
皮肤查菌	所有部位均阴性	任一部位阳性
五级分类法	皮肤查菌阴性、且皮损≤5 块和神经损伤≤1 条的 I、TT 与 BT 病例	LL、BL、BB 以及其他皮肤查菌阳性的病例或皮肤查菌阴性但是皮损≥6 块或神经损伤≥2 条的 BT 病例

附 录 E
(资料性附录)
麻风反应分型及残疾分级

E.1 麻风反应

指在麻风病慢性病程中，机体对ML抗原产生的一种急性或亚急性超敏反应。它可发生在治疗前、治疗期间，甚至完成治疗以后。有的患者以反应状态作为首发症状而就诊，如不及时识别、诊断与处理，常会导致严重皮肤、神经及其他组织的损伤，产生永久性畸残。根据超敏反应的性质，临床上通常分为I型、II型和混合型反应。I型麻风反应是一种迟发超敏反应，属于机体对ML抗原的细胞免疫反应。其中经过化疗者，往往发生逆向反应(reversal reaction)亦称升级反应(upgrading reaction)，临床上多见；该反应伴有特异性细胞免疫增强，经过反应病情向TT端转变。另一种为降级反应(downgrading reaction)，伴有特异性细胞免疫降低，反应后病情则向LL端转变，往往在治疗不足或不治疗的情况下发生，临床上较少见。II型麻风反应又称为麻风结节性红斑(erythema nodosum leprosum; ENL)，它系有补体参与的ML抗原和相应抗体的复合物反应。混合型反应皆有I和II型反应的免疫学和临床特征。

I型与II型麻风反应的临床特征，参见表E.1。临床上，I型麻风反应应注意与复发区别，参见表E.2。

E.2 残疾分级

麻风患者延迟诊治的后果，是发生渐进性周围神经损害，产生残疾和/或畸形。为对残疾者的神经损害程度及其变化进行评价，WHO第7次麻风专家委员会修正的麻风病残疾分级法(1997年)，参见表E.3。

表 E.1 I 型(逆向)与 II 型麻风反应的临床特征

临床特征	I 型(逆向)反应	II 型反应(ENL)
麻风型类	主要发生于 BB、BT 及 BL	主要发生于 LL，有时发生于 BL
发生时间	BB、BT 患者通常发生于首次治疗的 6 个月左右，而 BL 患者可在更长时间后发生	ENL 可以发生在疗前，治疗期间和完成治疗后
原因	与细胞免疫(CMI)的变化有关，逆向反应是由于 CMI 的突然增强	因抗原和抗体复合物沉积在组织间、血管和淋巴管内的免疫复合物反应
临床表现	表现为原有皮损部分或全部急性浸润(疼痛、触痛、红斑和水肿)。严重病例可发生坏死和溃疡。皮损消退后可有脱屑。有时可出现水肿性、疼痛的新皮损	原有麻风损害未显示临床恶化，突然分批出现(持续几天)带玫瑰红色有触痛的结节或斑块。可成为小疱、脓疱、大疱、坏死及破溃(坏死性结节红斑)。ENL 亦可以是麻风病首诊时的表现
全身症状	一般无	患者可以有反复发热或高热(39℃以上)和全身不适等
并发症	往往出现急性神经炎的表现，如 1 条或多条神经发生急性肿胀，伴有疼痛和触痛。手、足或面部可出现水肿；可以形成神经脓肿。能突然发生爪形手、垂足和面瘫，如不及时处理可导致永久性瘫痪	常有手、足或面部水肿。II 型反应往往出现无痛性神经炎的表现，神经损害可发生瘫痪，但是不像 I 型反应来的突然。常见并发症有：虹膜炎、虹膜睫状体炎、喉头水肿、鼻出血、肌肉痛、骨痛(常限于胫骨)、神经痛、关节痛、淋巴结炎及睾丸炎

特殊症状	很严重的反应可以发生广泛的坏死和深部溃疡	露西奥 (Lucio) 现象, 是 Lucio 和 Latapi 在未经治疗播散性病例中观察到的一种特殊而严重的 II 型反应类型。以疼痛、触痛的紫癜性斑演变为坏死和溃烂为特征 (有或没有大疱), 致多发性坏死性脉管炎, 留下星状瘢痕
组织学变化	淋巴细胞、上皮样细胞和巨细胞增多。细菌的数量减少	ENL 损害通常细菌阳性, 早期可见中性白细胞浸润。并见到血管炎的表现
血液学变化	无明显变化	中性白细胞增多, 丙种球蛋白 (IgG, IgM)、补体 C2 及 C3 增加
病程变化	持续数月, 甚至 1 年以上	轻者常迅速消退; 重者以慢性反复发生方式, 可持续多年或呈激素依赖状态

表 E.2 麻风病复发与 I 型麻风 (逆向) 反应的主要鉴别

特点	复发	I 型反应
机制	耐药变异菌或“持久菌”繁殖的结果	机体对 ML 抗原之迟发性超敏反应
麻风类型	主要见于 LL 及 BL 等 MB 患者	主要发生于 BT、BB 及少数 BL
发生频率	氨苯砜单疗者累计约 5%~10%, MDT 者在 1% 以下	约占界线类病人 1/4
发生时间	常是少数病人发生, 耐药菌所致之复发多在 MDT 停药后短时间内 (1 年以内), 持久菌引起的复发通常在完成治疗 2 年后	一般发生在疗前、化疗期间或停药后
发病和进展	发生和进展均缓慢, 呈隐袭性, 不予治疗病情持续加剧, 皮损治疗时消退缓慢	突然发生 (可在数小时或数天内), 进展较快
全身症状	多无	可伴有低热、疲乏或全身不适
原皮损	多无变化	原有部分或所有皮损, 迅速发红、发亮和肿胀
新皮损	时常发生	可见
皮损破溃	无	时可发生
皮损脱屑	无脱屑	消退期常有脱屑
神经受累	可能仅 1~2 条神经受累, 一般无明显疼痛和触痛, 运动功能障碍较少见、发展亦慢	常见, 可有多条神经迅速受累, 伴有疼痛、触痛和迅速发生的运动功能障碍
皮肤查菌	多为阳性或菌量较前明显增多	逆向反应菌量减少
组织学检查	麻风特异性改变, 抗酸染色多为阳性	麻风反应组织像, 水肿明显; 抗酸染色多为阴性
糖皮质激素治疗	效果不显著, 长期使用可使病情加剧	足量规则治疗, 见效显著

表 E.3 麻风病残疾分级法 (WHO, 1997) *

级别	手、足	眼
0	无感觉障碍, 未见畸形和 (或) 损伤	无麻风所致眼病 ^a , 无视力及角膜感觉障碍
1	有感觉障碍, 但未见畸形和 (或) 损伤 ^b	有角膜感觉障碍, 但未导致严重视力障碍 (视力 6/60 或更好些, 6 m 处可看清指数)
2	有可见畸形和 (或) 损伤 ^c	视力严重受损 (视力低于 6/60, 6 m 处看不清指数) 或眼睑闭合不全、或虹膜睫状体炎、或角膜混浊

注 1: 各手、足及眼应分别检查、分级并记录。

注 2: 为安全原因, 不推荐在现场条件下测试角膜的感觉敏感性, 观察患者有无自发性眨眼即可。

注 3: 患者若有非麻风所致的残疾, 应予注明。

注 4: 任一部位的最高等级的麻风残疾, 即为该患者残疾总的分级。

^a 麻风所致眼病, 包括角膜感觉障碍、眼睑闭合不全及虹膜睫状体炎。

^b 损伤包括肌肉无力。

^c 损伤包括溃疡、短缩、结构破坏、关节挛缩、强直及手或足的部分或完全缺失。

附 录 F

(规范性附录)

完成疗程后的监测要求及临床治愈（临床非活动）标准

F.1 完成疗程后监测

各型麻风病患者在完成规定疗程时，应做1次临床检查和皮肤查菌；以后每半年接受一次上述检查，每年接受一次皮肤组织液查菌，直至判定临床治愈（临床不活动）。停药时应嘱患者：今后在出现新皮损或原有皮损红肿、有周围神经疼痛或者麻木区扩大时，应随时主动就诊，以便及早判断是否出现了麻风反应或复发，并予以适当治疗。

F.2 临床治愈（临床非活动）标准

F.2.1 MB方案者（多为初诊皮肤查菌阳性者，少数为多皮损或多神经损害的皮肤查菌阴性者）

当患者活动性症状（活动性皮损或周围神经疼痛及压痛等）消失，无麻风反应或神经炎，皮肤查菌阴转或初诊皮肤查菌阴性现仍为阴性，应临床判愈。

F.2.2 PB方案者（为初诊皮肤查菌阴性者）

当患者活动性症状（活动性皮损或周围神经疼痛及压痛等）消失，无麻风反应和神经炎，皮肤查菌仍为阴性，应临床判愈。

附 录 G

(规范性附录)

小鼠足垫接种检查活麻风杆菌的方法

G.1 取材方法

G.1.1 活检法

选择麻风患者的活动性皮损，用外科手术或钻孔方法切取活体组织。

G.1.2 切刮法

选择细菌密度较高的皮损部位，先将取材部位皮损用70%的酒精表面消毒，然后用切刮查菌方法刮取皮肤组织液（可稍带组织碎片），按无菌操作将组织液立即置入含1 mL~2 mL保存液的灭菌小瓶中，制备成接种菌悬液。

G.2 标本的保存和运输

G.2.1 标本的保存

采取组织块标本后，立即置入含无菌的Hanks缓冲液或生理盐水的灭菌小瓶中。

G.2.2 标本的运输

标本需用冰壶冷藏保存，并尽快送到实验室作接种，标本离体时间越短越好，一般不超过72 h。

G.3 分离和制备麻风菌接种悬液

具体步骤如下：

——先用无菌的Hanks缓冲液或生理盐水将活检组织冲洗3次，在低温下用消毒眼科剪将组织剪碎，再用吸管吸取，置无菌玻璃研磨器中，使研磨成菌悬液；如标本为切刮液，也应稍加研磨后制成均匀菌悬液。将菌悬液低速离心（1 000 r/min~1 500 r/min）5 min~10 min后吸取上清液作细菌计数。

——经计数后的细菌上清液，用生理盐水或Hanks缓冲液稀释成每0.03 mL内含有 $5.0 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^4$ 条接种菌悬液。

G.4 麻风菌接种小鼠足垫及收获

具体步骤如下：

——对麻风杆菌易感的CFW、CBA、BALB/C、DBA系小鼠以及国内昆明种小鼠都可选用，每一种类挑选10只健康活泼小鼠；

- 用微量注射器吸取菌悬液，从足垫根部刺入皮下，并向趾尖方向进针，在单侧或双侧小鼠后足垫皮下，推注 0.03 mL 菌悬液；
- 将接种后小鼠置于鼠笼，喂养正常饲料和饮水，接种后 4 个月~8 个月（平均 6 个月），处死小鼠，收获小鼠足垫，检查麻风菌繁殖情况。

G.5 小鼠足垫内麻风菌计数方法

具体步骤如下：

- 处死小鼠，将其背朝上放在解剖板上，将接种鼠的后腿部用动物钉固定，足底朝上，用液体肥皂擦一遍足底，用吸管吸取灭菌蒸馏水或生理盐水冲洗干净，再用灭菌纱布将足垫擦干。左手用止血钳夹起足垫皮肤，右手用解剖刀（15 号刀片）自踝关节向趾尖切下皮肤，放在灭菌平皿中，再切下趾浅屈肌和肌腱，最后切下趾深屈肌。
- 将足垫标本剪碎，加入 1 mL Hanks 缓冲液或生理盐水，用玻璃研磨器将鼠足垫标本研磨成匀浆。
- 吸取 0.3 mL 足垫匀浆，加入等量 0.5%酚水配置的 2%动物血清，用吸管吹打使之均匀，再吸 0.3 mL 细菌混悬液置于直径为 1.0 cm~1.13 cm 的玻璃凹槽内，用经标定的大头针尾蘸细菌混悬液在干净的载玻片上点成多个涂膜。
- 用 10%福尔马林液固定涂片 3 min, 再加热 2 min, 然后滴加石碳酸复红，加温到 50℃~60℃，持续 15 min。水洗后滴加 1%盐酸酒精脱色，再水洗后滴加 1%美蓝复染 1 min，水洗后自然干燥。
- 在染好的涂片上选取 4 个等大、圆形、厚薄均匀的涂膜做细菌计数。用油镜沿每个涂膜纵横两个直径方向逐个视野检查，求得直径的平均油镜视野数 d 及每个油镜视野内的平均菌数 n ，按照公式 $d^2 \times n$ 求得涂膜的平均菌数，再由以下公式计算出每毫升菌量。

每毫升菌量=涂膜菌量/大头针尾传液量（大头针尾每次传液量约为 4.1×10^{-4} mL）

G.6 结果

经过检查，如收获鼠足垫时计数的麻风杆菌数量比接种时的 $5.0 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^4$ 增长 50~1 000 倍，被视为有活菌生长。一般每只鼠足垫细菌仅增长到 10^6 条。

G.7 细菌涂片抗酸染色染液配制

见附录B。

附 录 H

(资料性附录)

需要鉴别的皮肤病、神经病及其他疾病

H.1 需要鉴别的皮肤病

LL麻风应与脂溢性皮炎、接触性皮炎、结节性红斑、硬红斑、皮肤黑热病、多发性神经纤维瘤、组织细胞瘤（皮肤纤维瘤）、斑秃、结节性黄色瘤、鱼鳞病、酒渣鼻、皮炎、结节病、结节性脂膜炎和硬皮病等鉴别；TT麻风应与银屑病、体癣、玫瑰糠疹、环状肉芽肿、白癜风、多形性红斑、环状红斑、持久隆起性红斑、固定性药疹、皮肤黑热病浅色斑型、寻常性狼疮和离心性红斑等鉴别；未定类应与单纯糠疹、花斑癣、继发性色素减退斑、贫血痣（胎记）、无色素痣、老年性白斑和皮肤黑热病浅色斑型等鉴别；界线类麻风应与红斑性狼疮、二期梅毒疹、皮肤黑热病和蕈样肉芽肿（浸润期）等鉴别。

H.2 需要鉴别的神经疾病

如局限性皮神经炎（如股外侧皮神经炎）、脊髓空洞症、脊柱裂、脊髓灰白质炎、其他原因引起的多发性神经炎、外伤性周围神经损伤、进行性脊髓性肌萎缩、进行性增殖性间质性神经炎、遗传性周围性感觉神经根病、多种神经受压征（如肘管、腕管、跗管等综合征）、贝尔氏面瘫（病毒性面神经炎）、腓总神经麻痹、肢端动脉痉挛症、血栓闭塞性脉管炎、原发性周围神经淀粉样变等。

H.3 需要鉴别的其他疾病

如肉芽肿唇炎、类风湿性关节炎、进行性肌营养不良、足底溃疡（非麻风性）、风湿热、掌筋膜挛缩症等。

H.4 需要鉴别的皮肤能查到抗酸杆菌的疾病

皮肤结核病、非典型分枝杆菌疾病等。

参 考 文 献

- [1] 李文忠. 现代麻风病学. 第1版. 上海: 上海科技出版社, 2006.
- [2] Chemotherapy of leprosy for Control Program. report of a WHO Study Group. *Technical Report Series 675*. Geneva, 1982.
- [3] Report of the Eighth Meeting of the WHO Technical Advisory Group on Leprosy Control, World Health organization, Regional office for South-east Asia, new Delhi, SEA-GLP-2006.
- [4] Chemotherapy of leprosy, report of a World Health Organization Study Group. *Technical Report Series 847*. Geneva, 1994.
- [5] World Health Organization Expert Committee on Leprosy :Seventh Report. *Technical Report Series 874*. Geneva, 1998.
- [6] Report of the global forum on elimination of leprosy as a public health problem, World Health Organization, WHO/CDS/NTD/2006.
- [7] Diagnosis and classification of leprosy, *Leprosy review*, 2002, 73: S17-26.
- [8] Yawalkar SJ, *Leprosy*, 7th edition, NFSD, Basle, Switzerland, 2002, 24, 32-33, 64, 73-75.
- [9] International classification of impairment, disabilities, and handicap, Geneva, World Health Organization, 2000.
- [10] Ooi WW, Moschella SL. Update on leprosy in immigrants in the United States: status in the year 2000. *Clin Infect Dis*. 2001, 32: 930-7.
- [11] Global Strategy for Further Reducing the leprosy Burden and Sustaining Leprosy Control Activities (Plan period:2006-2010), World Health Organization, WHO/CDS/CPE/2005.53.
-