

两种方法检测痰和支气管肺泡灌洗液中结核杆菌的研究

张代香

四川绵阳四〇四医院检验科 四川绵阳 621000

【摘要】目的 比较两种方法检测痰液和支气管肺泡灌洗液(BALF)中结核分枝杆菌(MTB)的阳性检出率,评价两种样本在诊断肺结核时应用价值。方法 收集肺结核疑似病例BALF和痰液,使用荧光染色涂片和GeneXpert MTB检测,采用 χ^2 检验,比较两种方法在两类样本中的阳性检出率。结果 所有样本荧光染色涂片和GeneXpert MTB阳性率分别为11.00%(200/1818)、44.74%(281/628),差异有统计学意义;所有痰液和BALF阳性率分别为18.81%(355/1887)、22.54%(126/559),差异无统计学意义;相同患者痰液荧光染色涂片和GeneXpert MTB阳性率分别为34.46%(122/354)、46.04%(163/354),差异有统计学意义;相同患者BALF荧光染色涂片和GeneXpert MTB阳性率分别为1.88%(4/213)、42.25%(90/213),差异有统计学意义;相同患者痰液和BALF荧光染色涂片阳性率分别为13.30%(29/218)、2.75%(6/218),差异有统计学意义;相同患者痰液和BALFGeneXpert MTB阳性率分别为36.37%(24/66)、60.61%(40/66),差异有统计学意义。结论 相同样本类型,GeneXpert MTB阳性检出率高于荧光染色法;荧光染色法检测痰液阳性率高于BALF, GeneXpert MTB检测BALF阳性率高于痰液,不同样本类型采用两种方法联合检测可提高MTB阳性检出率。

【关键词】 MTB; 痰; BALF; 荧光染色; GeneXpert MTB

肺结核是我国重点防治的传染病之一,其在人群中传播范围广,人群普遍易感,因此需要快速准确的对疑似患病人群进行筛查诊断,及时治愈确诊患者,才能从源头上控制其流行。肺结核诊断的最终依据是痰细菌学检查。随着电子支气管镜技术的日渐成熟肯发展,其已成为辅助诊断和治疗肺结核的重要手段^[1]。有报道表明,选择检测的样本类型和方法不同会对肺结核的诊断产生不同影响^[2-6],但痰液与BALF阳性检出率结果差异,目前说法不一。本文对1583例疑似肺结核患者痰液和BALF采用荧光染色法和Xpert MTB检测结果进行比较,结果如下。

1 材料与方法:

1.1 一般资料 收集我院2019年1月至10月初诊肺结核疑似病例1583例,男1048例(66.20%),女535例(33.80%);年龄分布3~97岁,中位年龄58岁。

1.2 样本 痰液要求患者送晨间、夜间和随机痰各一份,清水漱口后深咳痰于专用痰杯及时送检。BALF为患者行电子支气管镜下获得样本,样本需进行离心前处理(时间5分钟,转速3500转),留取沉淀进行检测。

1.3 荧光染色镜检:样本经自动制片机(中国,上海皓信生物 薄层液基制片机)制片,自动染片机进行荧光染色,在自动荧光显微扫描仪(中国,上海皓信生物 Mycob.T SCANNER Alpha)读片,人工复核阳性结果。按实验室SOP操作。

1.4 GeneXpert MTB检测使用赛沛全自动PCR仪(美国,赛沛 GeneXpert 分子诊断系统),仪器根据荧光探针自动报告检测结果。按实验室SOP操作。

1.5 结果处理:采用SPSS19.0专业数据统计分析软件对计数资料进行分析,运用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 时视为差异有统计学意义。

2 结果

2.1. 不同检测方法阳性结果比对

荧光染色镜检法共检测1818例,阳性结果占比为11.00%(200/1818), GeneXpert MTB共检测628例,阳性结果占比为44.74%(281/628),差异有统计学意义($P < 0.05$),见表1。

表1 两种样本不同检测方法的阳性结果比对

检测方法	样本数	阳性(例)	阳性率
荧光染色法	1818	200	11.00%

GeneXpert MTB	628	281	44.74%*
------------------	-----	-----	---------

*两种方法结果比较, $\chi^2=336.433$, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

2.2 不同样本类型阳性结果比对

所有痰液标本采用两种方法共检测 1887 例, 阳性结果占比为 18.81% (355/1887), 所有 BALF 标本采用两种方法共检测 559 例, 阳性结果占比为 22.54% (126/559), 两者差异无统计学意义 ($P>0.05$), 见表 2。

表 2 两种方法检测不同样本的阳性结果比对

样本类型	样本数	阳性 (例)	阳性率
痰液	1887	355	18.81%
BALF	559	126	22.54%*

*两种样本检测结果比较, $\chi^2=3.793$, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

2.3 两种方法检测相同患者不同标本类型阳性结果比对

相同患者痰液荧光染色涂片镜检和 GeneXpert MTB 检测阳性结果占比分别为 34.46% (122/354)、46.04% (163/354), 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 相同患者 BALF 样本荧光染色涂片镜检和 GeneXpert MTB 检测阳性结果占比分别为 1.88% (4/213)、42.25% (90/213), 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 见表 3。

表 3 两种方法检测相同患者不同标本类型阳性结果比对

样本类型	检测方法	样本数	阳性 (例)	阳性率
痰液	荧光染色	354	122	34.46%
	GeneXpert MTB	354	163	46.04%*
BALF	荧光染色	213	4	1.88%
	GeneXpert MTB	213	90	42.25%#

*与痰液荧光染色镜检结果相比, $\chi^2=9.872$, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); #与 BALF 荧光染色镜检结果相比, $\chi^2=100.958$, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

2.4 相同检测方法在不同标本类型中阳性结果比对

相同患者两种样本荧光染色涂片阳性结果占比分别为 13.30% (29/218)、2.75% (6/218); 相同患者两种样本 GeneXpert MTB 检测阳性结果占比分别为 36.37% (24/66)、60.61% (40/66), 两组比对结果显示差异都有统计学意义 ($P<0.01$), 见表 4。

表 4 相同检测方法在不同标本类型中的阳性结果比对

检测方法	样本类型	样本数	阳性 (例)	阳性率
荧光染色 法	痰液	218	29	13.30%
	BALF	218	6	2.75%*
GeneXpert MTB	痰液	66	24	36.37%
	BALF	66	40	60.61%#

*与痰液样本相比, $\chi^2=16.433$, 差异有统计学意义 ($P<0.05$);

#与痰液样本相比, $\chi^2=7.765$, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

3. 讨论

肺结核的临床诊断除体征、症状和胸部影像学检查外, 实验室检查主要涉及免疫、细菌、分子生物和病理学检查^[7], 临床最常应用的是分子生物学和细菌学检查。为进一步研究疑似肺结核患者送检样本的选择问题, 笔者回顾性分析了疑似肺结核患者的痰液和 BALF 荧光染色和 GeneXpert MTB 检测结果, 将两种样本和两种检测方法结果分别比较, 评估不同样本类型及不同检测方法对诊断肺结核的应用价值。

本研究结果显示, 两种方法检测患者的痰液和 BALF 样本, 荧光染色法与 GeneXpert MTB 阳性结果占比差异有统计学意义, 分别对同一患者的痰液样本和 BALF 样本使用两种方法进行检测, 结果显示两种方法检测的阳性结果占比差异有统计学意义。三组数据结果一致, 表明在疑似肺结核患者人群中, 选择 GeneXpert MTB 能更快速、准确地诊断出肺结核。

对所有样本检测结果进行分析, BALF 与痰液检测总阳性结果占比差异无统计学意义; 对相同患者样本荧光法检测结果进行分析, BALF 与痰液阳性结果占比差异有统计学意义。分析此结果与其他研究结果不同的原因, 我院荧光染色法对痰液样本细胞及细菌通过膜滤过后进行充分富集后制片染色, MTB 的丢失较少, 而 BALF 则只有离心取沉淀制片染色, MTB 在制片过程中可能丢失较多, 降低了 BALF 的阳性检出率。

对相同患者样本 GeneXpert MTB 检测结果进行分析, BALF 与痰液阳性结果差异有统计学意义。此结果表明, 在疑似肺结核患者人群使用 GeneXpert MTB 进行

检测时, BALF 能更快速、准确地诊断出肺结核。

综上所述, 在疑似肺结核患者进行实验室辅助检查时, 可首选 GeneXpert MTB 法进行检测。在选择样本类型时, 若患者有条件进行电子纤维镜检查, 可首选 BALF 样本送检, 能提高阳性检出率。

实验室荧光染色法检查方面, 当前已有商品化的痰液前处理体系, 对痰液液化后进行细菌富集, 此法能提高样本阳性检出率, 但临床留取的 BALF 样本当前只是采取离心后收集沉淀的方法进行前处理, 下一步可对 BALF 样本前处理方法进行进一步研究和比对, 以期提高 MTB 阳性检出率。

【参考文献】

- [1] 李鑫. 应用纤维支气管镜术治疗肺结核病的疗效 [J]. 健康大视野, 2019,20:221.
- [2] 康怡. 不同方法检测痰和肺泡灌洗液中结核杆菌的分析 [J]. 临床肺科杂志, 2014,19(12):2253-2254.
- [3] 唐怡敏, 张培泽, 叶涛生等. 三种方法检测痰液和肺泡灌洗液中结核分枝杆菌阳性率的比较 [J]. 结核病与肺部健康杂志, 2016,5(3):237-239.
- [4] 李妍, 张天华, 鲜小萍等. Xpert MTB/RIF 技术在 MTB 检测中的应用价值 [J]. 检验医学, 2016,31(1):52-55.
- [5] 吴淑红, 荣福, 欧阳雁弟. 荧光定量聚合酶链反应检测支气管肺泡灌洗液中结核分枝杆菌脱氧核糖核酸诊断肺结核的价值 [J]. 中国实用医药, 2018,13(10):116-18.
- [6] 钟永辉, 张锡林. GeneXpert MTB/RIF 技术在肺结核诊断及利福平耐药检测中的意义研究 [J]. 临床医学工程, 2016,23(6):785-786.
- [7] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 中华人民共和国卫生行业标准肺结核诊断标准 (WS 288-2017)[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2017.

作者简介: 张代香, 女 (1986.12—), 汉族, 四川绵阳人, 本科, 四川绵阳四〇四医院检验科, 主管检验技师, 研究方向: 临床生物化学, 分子生物学。