

### 3 种检测痰抗酸杆菌方法的比较研究

刘海波<sup>1</sup>, 邵 玉<sup>2</sup> (1. 湖南省长沙市第三医院检验科 410015; 2. 湖南省邵阳市隆回县中医院检验科 422000)

**【摘要】 目的** 探讨噬菌体生物扩增法、夹层杯法和直接涂片法(简称直涂法)在检测痰抗酸杆菌中的应用价值。**方法** 收集临床确诊的 114 例活动性肺结核患者的晨痰,同时进行噬菌体生物扩增法、夹层杯法和直涂法检测痰抗酸杆菌,统计分析 3 种方法的检出率。**结果** 噬菌体生物扩增法、夹层杯法和直涂法对 114 例晨痰标本的阳性检出率分别为 50.9%、28.9%、16.7%,3 种方法检出率两两比较,经卡方检验差异均具有统计学意义( $P<0.01$ )。**结论** 噬菌体生物扩增法检测抗酸杆菌阳性率明显高于夹层杯法和直涂法,且所需设备简单,是一种具有推广价值的检测方法。

**【关键词】** 噬菌体生物扩增法; 夹层杯法; 直涂法; 痰; 抗酸杆菌  
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.13.006 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)13-1548-02

**Comparison study of three methods on detection of sputum acid-fast bacilli** LIU Hai-bo<sup>1</sup>, SHAO Yu<sup>2</sup> (1. Department of Clinical Laboratory, the Third Hospital of Changsha City, Hunan 410015, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Traditional Chinese Medicine Hospital of Longhui County, Shaoyang, Hunan 422000, China)

**【Abstract】 Objective** To evaluate the clinical value of phage amplified biologically (phaB) assay, interlayer vessel method, sputum smear on detection of sputum acid-fast bacilli (AFB). **Methods** 114 morning sputum specimens were collected from 114 patients with active tuberculosis, each sputum specimen was detected simultaneously by three methods as follows: PhaB assay, interlayer vessel method and direct AFB. Detection rate of three methods was analyzed by statistics. **Results** Of 114 morning sputum specimens, the positive rates of PhaB assay, interlayer vessel method and direct AFB were 50.9%, 28.9%, 16.7% respectively. Significant difference was found in multiple comparison among detection rate by Chi-square test ( $P<0.01$ ). **Conclusion** The positive rate of detecting AFB by the PhaB assay is higher than that of interlayer vessel method and direct AFB. It is a simple, convenient diagnostic method and worthy to popularize.

**【Key words】** PhaB assay; interlayer vessel; direct AFB; sputum; acid-fast bacilli

结核病仍然是严重威胁人类健康的重大慢性传染病,目前的疫情依然较重<sup>[1-2]</sup>。肺结核患者的细菌学检查是发现传染源的主要途径和手段,是确定结核病诊断和化疗方案的重要依据,痰中结核杆菌培养虽为肺结核诊断金标准,但时间需要 2 个月左右,周期太长,难以满足临床需要。因此,快速简单、灵敏准确的细菌学检查方法研究成为国内外学者所关注的课题。本文通过噬菌体生物扩增法、夹层杯集菌离心涂片法(简称夹层杯法)和直接涂片找抗酸杆菌法(简称直涂法)对肺结核患者痰标本进行检测并进行了比较,评价 3 种方法对肺结核病临床诊断的应用价值,现报道如下。

#### 1 材料与方法

**1.1 标本来源** 2009 年 10 月至 2010 年 5 月在长沙市疾病预防控制中心结核病防治科就诊,已确诊为活动性肺结核患者共 114 例。每例患者留取晨痰标本 1 份。

**1.2 试剂与仪器** FASTPlaque TBTM 结核分枝杆菌快速诊断试剂盒(PhaB)购于上海金浩科技发展有限公司,由英国 Biotec 公司生产,产品批号:AC-9008;夹层杯、TQ-12 自动离心涂片机、KP-1 快速干片机和贝索抗酸染液购于湖南天骑医学新技术有限公司。

**1.3 检测方法** 对每例痰标本同时采用噬菌体生物扩增法、夹层杯法和直涂法进行检测。噬菌体生物扩增法按照试剂盒操作说明书操作,每次检测同时设阳性对照和阴性对照平皿,在各对照组结果正确的条件下,观察检测标本结果。阳性:平

皿中可见大小数量不等的透明状噬菌斑或许多噬菌斑相互融合成透明状;阴性:可见指示细胞在琼脂培养基中均匀分布、无噬菌斑出现。夹层杯法按照参考文献进行操作<sup>[3]</sup>,直涂法按《中国结核病防治规划-痰涂片镜检质量保证手册》的方法进行涂片、染色和镜检,按试剂盒要求进行操作。

**1.4 统计学方法** 采用 SPSS11.0 软件进行数据输入和统计分析。

#### 2 结 果

**2.1 3 种检测方法的检出率** 114 例痰标本检出的总阳性检出率分别为:噬菌体生物扩增法 50.9%(58/114),夹层杯法 28.9%(33/114),直涂法 16.7%(19/114),3 种方法检测痰抗酸杆菌阳性检出率的差异具有统计学意义( $\chi^2=31.386, P<0.01$ )。

表 1 噬菌体生物扩增法与夹层杯法检测痰抗酸杆菌结果比较

| 噬菌体生物扩增法 | 夹层杯法 |    | 合计  |
|----------|------|----|-----|
|          | 阳性   | 阴性 |     |
| 阳性       | 29   | 29 | 58  |
| 阴性       | 4    | 52 | 56  |
| 合计       | 33   | 81 | 114 |

**2.2 噬菌体生物扩增法、夹层杯法和直涂法阳性率的分别比**

较 3 种方法阳性率两两比较,经配对四格表  $\chi^2$  检验差异均具有统计学意义( $P<0.01$ )。见表 1~3。

表 2 噬菌体生物扩增法与直涂法检测痰抗酸杆菌结果比较(n)

| 噬菌体生物扩增法 | 直涂法 |    | 合计  |
|----------|-----|----|-----|
|          | 阳性  | 阴性 |     |
| 阳性       | 18  | 40 | 58  |
| 阴性       | 1   | 55 | 56  |
| 合计       | 19  | 95 | 114 |

表 3 夹层杯法与直涂法检测痰抗酸杆菌结果比较(n)

| 噬菌体生物扩增法 | 直涂法 |    | 合计  |
|----------|-----|----|-----|
|          | 阳性  | 阴性 |     |
| 阳性       | 19  | 14 | 33  |
| 阴性       | 0   | 81 | 81  |
| 合计       | 19  | 95 | 114 |

3 讨 论

120 多年前,由德国科学家 Robert • Koch 所创立的直涂法至今仍然是结核病细菌学实验室诊断的主要方法之一。相对于临床和实验室的其他诊断方法,直接涂片找抗酸杆菌法具有特异性高、技术相对简单、成本低廉和报告时间短等优势;另一方面,我国是全球 22 个高负担国家之一,结核病疫情比较严重,痰涂片抗酸杆菌镜检仍是我国开展结核病控制项目时最符合成本-效益原则的细菌学实验技术。通常痰液中抗酸杆菌的浓度达到 5 000~10 000 条菌/mL 时才能得到阳性结果。本研究显示,痰涂片抗酸杆菌的阳性率为 16.7%,这与国内其他学者报道的结果基本一致<sup>[4-5]</sup>。国内学者杨华林等<sup>[6]</sup>研究发现,采用直涂法检测抗酸杆菌晨痰的阳性率高于即时痰,提示肺结核可疑症状者最好留取晨痰检测抗酸杆菌。

本研究显示,夹层杯法的阳性率(28.9%)高于直涂法(16.7%),与传统直涂法相比,更容易发现抗酸杆菌。夹层杯法的原理是使用特制的痰液消化液,并结合高速振荡,使痰标本充分液化而有利于其中的抗酸杆菌沉淀于特制的彭氏夹层杯底部的菌膜上,再进行染色、读片。它比原来的涂片法收集抗酸杆菌的范围更广泛,更完全,其检查结果更具有代表性,克服了原来采集的标本范围比较局限、不一定具有广泛代表性的弊端。直涂法取材量相对较少,况且只留一口痰液,而实际上涂片采用的痰液也不一定是分泌自结核病灶的局部。即便是来源于病灶局部分泌的痰液,涂片所涂抹的那一部分标本也不一定会具有代表性,从而可能影响了其阳性率。同时,夹层杯法收集标本的条件、标本量、染色温度、夹层杯菌膜面积、油镜每个视野的实际面积均容易被“标准化”,而便于大规模开展时的质量监控。同时,还可以通过抗酸杆菌自动阅片机、计算机报告系统,准确计算出每毫升所含细菌浓度。所以,夹层杯法适合大面积普查,尤其是在基层医疗单位易于推广应用。

FASTPlaque TBTM 是第一个利用噬菌体生物扩增技术并使之商品化的试剂盒,噬菌体 D29 作为指示物直接检测标

本中的结核分枝杆菌。基本原理是以噬菌体感染活的分枝杆菌并大量增殖将细菌裂解,释放出的子代噬菌体可感染随后加入的指示细胞,并将其裂解,在平皿上出现噬菌斑,根据噬菌斑的数量判定阳性结果,如待测标本不含结核分枝杆菌,则噬菌体被随后加入的杀病毒剂杀灭,平皿中无噬菌斑,为阴性。由于噬菌体能够快速增殖,本法从标本采集、处理到结果判定只需 18~24 h。本研究中 114 例临床确诊的活动性肺结核患者痰标本,3 种检测方法中,噬菌体生物扩增法的阳性率是最高的。其中,有 4 例痰标本夹层杯法检测阳性而噬菌体生物扩增法阴性,1 例痰标本直涂法法检测阳性而噬菌体生物扩增法阴性,经临床病例回顾性分析发现,这 4 例患者在留取痰标本之前,均已经接受抗痨治疗,并且患者自己在家不规律服用抗痨药物,痰中结核杆菌可能已经死亡或者活性降低,而噬菌体不能感染死的结核分枝杆菌,导致 4 例噬菌体生物扩增法与涂片镜检的结果不相符。

近 20 年来,噬菌体生物扩增法已广泛应用于分枝杆菌的快速检测,并已取得良好效果。Albert 等<sup>[7]</sup>检测 1 618 例可疑肺结核患者痰标本,敏感度为 87%,特异度为 83%。由于噬菌体裂解法具有敏感性较高,特异性高,省时方便,无需昂贵的自动化仪器等优点,并且可以直接确定标本中有无活的结核分枝杆菌,对及早诊疗具有重要意义。

综上所述,检测痰抗酸杆菌的方法中,噬菌体生物扩增法优于夹层杯法和直涂法。它能为结核病的快速诊断提供新的检测手段,并具有推广应用价值。

参考文献

[1] Rao VG, Bhat J, Yadav R, et al. Prevalence of pulmonary tuberculosis among the Bharia, a primitive tribe of Madhya Pradesh, central India[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2010, 14(3): 368-370.

[2] 蔡娜. 天津市 2005~2007 年结核病流行病学分析[J]. 临床肺科杂志, 2009, 14(2): 152-153.

[3] 王建民. 结核病诊断实验室检验规程[M]. 北京: 中国教育文化出版社, 2006: 30-37.

[4] 金晗英, 叶森德, 付风云, 等. 1 100 份痰标本结核杆菌涂片镜检与培养结果分析[J]. 浙江预防医学, 2009, 21(2): 95.

[5] Ozkutuk A, Terek G, Coban H, et al. Is it valuable to examine more than one sputum smear per patient for the diagnosis of pulmonary tuberculosis [J]. Jpn J Infect Dis, 2007, 60(2): 73-75.

[6] 杨华林, 谭云洪, 白丽琼. 液基夹层杯技术检测抗酸杆菌应用性研究[J]. 中国防痨杂志, 2010, 32(5): 279-282.

[7] Albert H, Heydenrych A, Brookes R, et al. Performance of a rapid phage-based test, FASTPlaqueTB to diagnose pulmonary tuberculosis from sputum specimens in South Africa[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2002, 6(6): 529-537.

(收稿日期: 2012-01-05)