

- [19] PROVENZANO R, BESARAB A, WRIGHT S, et al. Roxadustat (FG-4592) versus epoetin alfa for anemia in patients receiving maintenance hemodialysis: a phase 2, randomized, 6-to 19-week, open-label, active-comparator, dose-ranging, safety and exploratory efficacy study[J]. Am J Kidney Dis, 2016, 67(6): 912-924.
- [20] LI Z L, LV L L, WANG B, et al. The profibrotic effects of MK-8617 on tubulointerstitial fibrosis mediated by the KLF5 regulating pathway[J]. FASEB J, 2019, 33(11): 12630-12643.
- [21] BESARAB A, CHERNYAVSKAYA E, MOTYLEV I, et al. Roxadustat (FG-4592): correction of anemia in incident dialysis patients[J]. J Am Soc Nephrol, 2016, 27(4): 1225-1233.
- 临床探讨 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2022. 19. 034 (收稿日期: 2021-12-26 修回日期: 2022-04-11)

两种方法检测结核分枝杆菌的价值分析

曾庆雪, 周 明[△], 唐柳生[#]

广西壮族自治区胸科医院检验科, 广西柳州 545005

摘要:目的 比较 FS400 显微扫描系统(简称 FS400)与荧光显微镜人工阅片(简称人工阅片)在结核病诊断中的价值, 探讨其性能差异。方法 收集 133 份合格痰标本分别进行涂片和罗氏固体培养, 涂片后采用 FS400 自动识别与人工阅片同时进行检测, 以罗氏固体培养结果为金标准, 比较二者的性能差异。结果 FS400 检测的阳性率为 39.8%(53/133), 人工阅片检测的阳性率为 25.6%(34/133), 两者比较差异有统计学意义($\chi^2=6.080, P=0.014$)。与罗氏固体培养结果相比, FS400 检测结核分枝杆菌的灵敏度和特异度分别为 88.4%(38/43)和 83.3%(75/90), 阳性预测值和阴性预测值分别为 71.7%(38/53)和 93.8%(75/80); 人工阅片检测结核分枝杆菌的灵敏度和特异度分别为 79.1%(34/43)和 100.0%(90/90), 阳性预测值和阴性预测值分别为 100.0%(34/34)和 90.9%(90/99)。结论 FS400 检测结核分枝杆菌的阳性率、灵敏度和阴性预测值较高, 自动化程度高, 可以推广该技术作为筛查工具; 但其特异度较低, 阳性结果需要人工阅片复查更为可靠。

关键词: FS400 显微扫描系统; 荧光显微镜人工阅片; 结核分枝杆菌

中图分类号: R446.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2022)19-2719-04

结核病是由结核分枝杆菌复合群引起的慢性传染病, 是我国的乙类传染病, 以炎性渗出、增生和干酪样坏死为主要病理表现。世界卫生组织发布的报告指出, 结核病是世界上最重要的传染性疾病之一^[1]。结核病主要影响肺部, 但也会影响身体的其他部位, 需及早诊断和治疗, 大多数可以预防。有关流行病学调查结果表明, 我国约有 93 万人感染了结核分枝杆菌^[2], 特别是肺结核排菌患者将菌排出体外, 通过空气传播, 以致他人感染。目前检测结核分枝杆菌最经济的方法还是传统涂片法, 现就痰标本涂片用荧光显微镜人工阅片(简称人工阅片)和自动扫描仪检测结果进行比较。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院疑似为结核病患者的 133 例合格痰标本(脓痰 47 例, 血痰 9 例, 黏液痰 77 例), 同时进行抗酸杆菌涂片和结核分枝杆菌培养。

1.2 仪器与试剂 宁波舜宇仪器有限公司生产的结核分枝杆菌 FS400 显微镜扫描系统(简称 FS400)、宁波舜宇仪器有限公司生产 EX30/DMEX30 生物荧光显微镜。珠海贝索金胺 O 染色液、珠海贝索中性罗氏培养基、珠海贝索抗酸染色液(萘尼氏法)、N-乙酰-L 半胱氨酸-氢氧化钠(NALC-NaOH)混合溶液(等体

积 6% 的 NaOH 溶液和 2.9% 的柠檬酸钠溶液混合, 每 100 mL 混合溶液加入 0.5 g NALC 粉末溶解), pH 值为 6.8 的磷酸盐缓冲液。

1.3 方法

1.3.1 结核分枝杆菌涂片 用经高压灭菌的竹签挑取可疑部分痰液进行涂片, 自然干燥后金胺 O 荧光染色: (1) 标本滴加金胺 O 染液染色 15 min, 水洗。(2) 3% 盐酸乙醇溶液脱色 1~2 min 或至无色, 水洗。(3) 加复染剂(0.5% 高锰酸钾溶液)复染 2~4 min, 水洗。(4) 干燥后在暗室镜检: 首先以 10× 目镜、20× 物镜进行镜检, 发现疑为抗酸杆菌, 使用 40× 物镜确认。

1.3.2 FS400 阅片与人工阅片 经金胺 O 荧光染色好的 133 份痰标本涂片用 EX30/DMEX30 生物荧光显微镜进行人工阅片, 做好记录, 人工阅片完毕后再放至 FS400 阅片, 结果出来后, 把两种方法阅片结果登记并进行比较。

1.3.3 结核分枝杆菌的罗氏固体培养观察过程 在生物安全柜内将 2~5 mL 痰标本放入离心管; 向离心管内加 1~2 倍体积的 NALC-NaOH 混合溶液, 涡旋振荡后消化 15 min 直至充分液化; 向离心管中加入磷酸盐缓冲液至 45 mL, 拧紧盖子, 低温离心机(8~10 ℃), 3 000×g, 离心 15 min; 取出离心管, 小心

[#] 共同第一作者。 [△] 通信作者, E-mail: 81577725@qq.com。

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1167.r.20220919.1156.002.html> (2022-09-20)

弃去上清液,加入 1 mL 磷酸盐缓冲液,混匀;把中性罗氏培养基多余的凝固水弃去,每份标本接种两只培养基,每支培养基接种 0.10~0.15 mL(2~3 滴),布满培养基表面。统计所有结果,对培养长菌标本进行涂片,采用萋尼染色确认培养阳性的结果。

1.3.4 菌株涂片进行萋尼染色 (1)菌膜自然干燥后固定,滴加石炭酸复红染液盖满玻片,加热至出现蒸汽后,停止加热,染色 5 min,染色期间始终保持菌膜被染液覆盖,水洗沥干。(2)滴加 5%盐酸乙醇溶液脱色 1~2 min 或至无可视红色染液为止,水洗沥干。(3)滴加亚甲蓝复染 30~60 s,冲去染液,干燥后镜检。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 对数据进行分析。计数资料以百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 133 例痰标本采用 FS400 和人工阅片检测的阳性率比较 133 例痰标本 FS400 扫描出阳性 53 例,阳性率为 39.8%(53/133),人工阅片检出阳性 34 例,阳性率为 25.6%(34/133),两者比较差异有统计学意义($\chi^2=6.080, P=0.014$)。

2.2 FS400 和人工阅片检测结果对比 两种方法阅片,结果的一致率为 84.2%(112/133),见表 1。

FS400 检测	人工阅片检测						合计
	实际条数	+	++	+++	++++	阴性	
实际条数	1	0	1	0	0	14	16
+	0	0	2	4	2	5	13
++	0	0	3	2	2	0	7
+++	0	0	0	0	8	1	9
++++	0	0	0	1	7	0	8
阴性	0	0	0	0	0	69	69
涂片阴性异常	0	0	0	1	0	10	11
合计	1	0	6	8	19	99	133

注:荧光染色镜检结果分级报告标准如下,阴性,0 条/50 视野;实际条数,(1~9)条/50 视野;+, (10~49)条/50 视野;++, (1~9)条/视野;+++,(10~99)条/视野;++++, ≥100 条/视野。

2.3 两种方法检测结果不一致者与罗氏固体培养结果的分析 FS400 扫描阳性而人工阅片阴性的结果中,罗氏固体培养结果阳性 5 例;FS400 扫描阴性而人工阅片阳性 1 例,且罗氏固体培养结果为阳性。

2.4 罗氏固体培养与 FS400、人工阅片结果的比较 以罗氏固体培养结果为金标准,FS400 检测结核分枝杆菌的灵敏度和特异度分别为 88.4%(38/43)和 83.3%(75/90),阳性预测值和阴性预测值分别为 71.7%(38/53)和 93.8%(75/80);人工阅片检测结核分枝杆菌的灵敏度和特异度分别为 79.1%(34/43)和 100.0%(90/90),阳性预测值和阴性预测值分别为 100.0%(34/34)和 90.9%(90/99)。

3 讨 论

结核分枝杆菌的检测工具有很多,但使用最广泛的是痰涂片镜检,在低收入和中等收入国家,使用传统光学显微镜进行痰涂片镜检是诊断肺结核的主要方法^[3],为保证显微镜检查的质量,结核病实验室检验规程规定:每天一名镜检人员的涂片阅读量不应超过 25 张^[4],阅片量远远满足不了临床的需求与日益增加的标本量。人们已经尝试采用从显微镜下的痰涂片图像中识别结核杆菌^[5],自动阅片扫描仪的使用对我国控制和及时治疗结核病提供了很大的帮助。快速检测结核病对我国控制及治疗结核病至关重要。结核病病原体结核分枝杆菌的检测技术的不断改革:从萋尼染色到金胺 O 染色法,提高了阳性率和特异度^[6]。本研究结果显示,FS400 阅片阳性率(39.8%)高于人工阅片阳性率,李强等^[7]研究结果显示,扫描仪阳性率(32.1%)略高于传统荧光显微镜检查(31.9%),检测效能较高,在工作量大的实验室、特别是人员缺乏的实验室,扫描检测技术可以作为传统检查的替代工具。金胺 O 荧光染色法是一种高效率的检查方法,但容易受到其他荧光染色物质干扰,FS400 荧光染色的不足为将非抗酸杆菌也判读阳性,本研究中 FS400 实际条数阳性总数为 16 份标本,人工阅片有 14 份阴性,占比 87.5%(14/16)。抗酸杆菌分离培养是结核病诊断的金标准,因此,抗酸杆菌的培养对结核病早期发现和早期治疗控制起到非常重要作用^[8],且培养阳性率较涂片高。两种阅片方法阴阳性不一致者与培养阳性结果中 FS400 符合率[83.3%(5/6)]更高,抗酸涂片镜检对菌量要求高,灵敏度低,要求菌量达(5~10)×10³/mL 才能检出,因此涂片镜检阳性检出率仅 30% 左右^[9],FS400 灵敏度和阴性预测值较人工阅片高,基于以上统计数据,FS400 可以作为筛查工具。

影响扫描仪结果的因素为涂片质量,涂片过厚或过薄,FS400 提示涂片阴性异常,无法判读结果。染色时间较短,荧光无法上色会出现判读阴性;染色时间过长,杂质也会染上荧光,仪器也会判读阳性。脱色时间要够,冲洗一定要干净,否则仪器会判读阳性。实验室操作人员应加强培训,保证涂片质量的可靠。临床留取标本是检验结果可靠的前提^[10],文献报道,高质量痰标本涂片检查的阳性率可达 62%^[11],不合格痰标本(唾液)的阳性率仅为 1%^[12]。只有合格标本才能得到正确的检验结果。

金胺 O 荧光染色法在低倍镜下可观察菌体呈亮绿色,背景黑暗,具有清晰的形态特征,不容易出现漏检情况,使镜检效率显著提高,杂质在荧光显微镜蓝色激发后,可产生亮绿色荧光,与抗酸杆菌相似,容易与之混淆^[13],钟丽云^[14]及樊晓东等^[15]研究显示,金胺 O 荧光染色法不容易出现漏检情况,使镜检效率显著提高,可作为诊断结核病的有效手段。

在结核病诊断中使用 FS400 能够获得更高的灵敏度。人工阅片时如果在低倍镜下见形似抗酸杆菌,

尤其是少量分布的形似抗酸杆菌,可调至高倍镜,或者由经验丰富的镜检人员确认。FS400 阳性和异常结果必须经过人工阅片才更为可靠,FS400 减轻了工作人员负担,提高了工作效率,但不能完全替代传统显微镜人工阅片。近年来,医院患者不断增多,结核实验室工作量大幅上升,实验室空间和工作人员数量日显紧张,尽管人工阅片更可靠,但人工阅片的速度较慢,王前等^[16]研究也证明自动阅片技术诊断病原学阳性肺结核的灵敏度高于人工阅片,可用于患者抗酸杆菌的筛查。FS400 说明书强调需要注意扫描仪结果不做最终临床诊断依据,用户根据实际扫描图像进行人工判读,从而确定被检标本的最终结果,以防止假阴性而出现漏检。本研究中 FS400 阴性而人工阅片阳性标本 1 例,说明 FS400 出现假阴性结果,因此,扫描检测技术需要做进一步改善以便更能满足临床需求。但 FS400 检测结核分枝杆菌的灵敏度和特异度较高,自动化程度高,值得推广应用。

参考文献

- [1] 陈晶,丘文,苏冰,等. GeneXpert MTB/RIF 系统对结核病诊断价值的回顾性分析[J]. 检验医学与临床,2021,18(21):3101-3104.
- [2] 杨振兴,陈威,许敏,等. 五种检测方法在结核病诊断中的应用评价[J]. 中国热带医学,2016,16(10):1024-1026.
- [3] STEINGART K R, HENRY M, NG V, et al. Fluorescence versus conventional sputum smear microscopy for tuberculosis: a systematic review[J]. Lancet Infect Dis, 2006,6(9):570-581.
- [4] 夏辉,赵冰,宋媛媛,等. 全国结核病实验室网络痰涂片镜检室间质量保证结果分析[J]. 医学研究杂志,2013,42(4):21-26.
- [5] KHUTLANG R, KRISHNAN S, WHITELAW A, et al. Automated detection of tuberculosis in Ziehl-Neelsen-stained sputum smears using two one-class classifiers[J].

J Microscopy,2010,237(1):96-102.

- [6] 赵慧,王春花,孙蕊,等. 萋-尼氏抗酸染色法和金胺 O 荧光染色法在结核分枝杆菌痰涂片检测中的对比[J]. 天津医科大学学报,2018,24(4):357-360.
- [7] 李强,杨红国,邓云峰,等. 抗酸杆菌自动荧光染色和显微镜扫描技术在结核病诊断中的临床评价[J]. 中国防痨杂志,2018,40(10):1075-1078.
- [8] 陈敬捷,唐柳生,杨小兵,等. 2 种结核杆菌培养基培养抗酸杆菌的应用评价[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(11):1429-1430.
- [9] 李秋平,霍丽静,张雪丽,等. GeneXpert MTB/RIF 系统联合抗酸涂片镜检在结核病诊断中的价值[J]. 山东医药,2021,61(5):57-59.
- [10] 周林,刘二勇,孟庆琳,等.《WS 288-2017 肺结核诊断》标准实施后肺结核诊断质量评估分析[J]. 中国防痨杂志,2020,42(9):910-915.
- [11] 李笑颜,刘玉美,宋涛,等. 肺结核患者痰涂片抗酸染色检查结果与咳嗽咳痰时间及胸部 X 线影像学特征的相关性[J]. 国际医药卫生导报,2019,25(11):1684-1687.
- [12] 胡君. 2 024 份痰液标本行痰涂片检查结核杆菌结果分析[J]. 内蒙古中医药,2014,33(5):80-81.
- [13] 廖子龙,徐加誉,陈宝玉,等. 金胺 O 荧光染色法辅助诊断结核抗酸杆菌感染的价值分析[J]. 中国医学工程,2019,27(3):5-7.
- [14] 钟丽云. 金胺 O 荧光染色联合抗酸染色在结核病诊断中的应用价值[J]. 深圳中西医结合杂志,2016,26(7):23-24.
- [15] 樊晓东,陆兴热,张成伟,等. 集菌涂片金胺“O”荧光染色法在检测痰液中抗酸杆菌的临床应用[J]. 中国医疗器械信息,2018,24(18):8-9.
- [16] 王前,何金戈,李玉红,等. 人工智能自动阅片技术用于 HIV/AIDS 人群结核病主动筛查效果的研究[J]. 中国防痨杂志,2021,43(6):557-561.

(收稿日期:2021-12-16 修回日期:2022-04-08)

(上接第 2698 页)

- [11] TRAN A, HE W, CHEN J, et al. Spexin: Its role, regulation, and therapeutic potential in the hypothalamus[J]. Pharmacol Ther, 2021:108033.
- [12] AL-DAGHRI N M, AL-HAZMI H A, AL-AJLAN A, et al. Associations of Spexin and cardiometabolic parameters among women with and without gestational diabetes mellitus[J]. Saudi J Biol Sci, 2018,25(4):710-714.
- [13] 张蕊,李荣山. Irisin 与糖尿病肾病的关系研究进展[J]. 国际移植与血液净化杂志,2016,14(5):5-7.
- [14] ONAT T, INANDIKLIOGLU N. Circulating myonectin and irisin levels in gestational diabetes mellitus-a case-control study[J]. Z Geburtshilfe Neonatol, 2021,225(4):320-326.
- [15] 薛国辉,华琳,王满庭,等. 血清 Irisin 和 Visfatin 在 2 型糖尿肾病患者中的变化及临床意义[J]. 江西医药,2021,56(10):1651-1653.

- [16] ZHANG L, LU B, WANG W, et al. Alteration of serum neuregulin 4 and neuregulin 1 in gestational diabetes mellitus [J]. Ther Adv Endocrinol Metab, 2021, 12:1869548402.
- [17] KUREK E M, YAYLA A C, SAHIN E G, et al. Clinical significance of neuregulin 4 (NRG4) in gestational diabetes mellitus[J]. Gynecol Endocrinol, 2018, 34(7):605-608.
- [18] 左帆,张旭祥,吴斌,等. 妊娠期糖尿病患者血清 NRG4、FGF-23、PGRN 水平及其临床意义[J]. 现代生物医学进展,2020,20(20):3961-3964.
- [19] 刘云涛,高学农,江攀. 神经调节蛋白 4 与 2 型糖尿病早期肾脏疾病相关性的观察[J]. 中国糖尿病杂志,2019,27(11):816-819.

(收稿日期:2022-01-03 修回日期:2022-04-23)