

· 临床探讨 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.23.021

## 基因芯片法和涂片法在肺部感染分枝杆菌诊断中的应用评价\*

唐柳生<sup>1</sup>, 廖光付<sup>1</sup>, 周明<sup>1</sup>, 冯光辉<sup>2△</sup>

广西壮族自治区龙潭医院:1. 中心实验室;2. 结核科二病区, 广西柳州 545005

**摘要:**目的 探讨基因芯片法和涂片法检测分枝杆菌的一致性。方法 采集肺部感染患者痰标本先进行直接涂片查找抗酸杆菌,然后用基因芯片法平行检测分枝杆菌。对两种方法的结果进行统计,分析两种方法的差异性。结果 136 例患者痰标本用基因芯片法共检测出抗酸杆菌 69 例,阳性率为 50.7%,其中结核分枝杆菌 56 例(81.2%),非结核分枝杆菌 13 例(18.8%);涂片法共找到抗酸杆菌 50 例,阳性率为 36.8%。结论 基因芯片法检测抗酸杆菌的阳性率明显高于涂片法,而且可以检测出抗酸杆菌的种类,其结果明显优于涂片法,为临床鉴别肺部疾病提供了重要依据。

**关键词:**抗酸杆菌; 结核分枝杆菌; 基因芯片法; 涂片法; 痰标本

**中图分类号:**R378.91+1

**文献标志码:**A

**文章编号:**1672-9455(2019)23-3464-03

目前,许多地区结核病的诊断仍主要依靠传统的涂片法。涂片法灵敏度低,不能区分非结核分枝杆菌(NTM)和结核分枝杆菌(MTB)。因此,如何找到一种快速、准确的肺部疾病的诊断方法,为临床治疗争取时间,仍是医务工作所面临的一个问题。近年来,分子生物技术已成为传统结核病诊断方法的重要补充,也是结核病快速诊断的主要研究方向<sup>[1]</sup>。基因芯片技术是一种新型核酸检测方法,可快速进行分枝杆菌的菌种鉴定。本研究将基因芯片法与传统痰涂片法检测 MTB 的应用效果进行评价,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2018 年 7 月至 2019 年 3 月到本院就诊的 136 例疑似肺结核初诊患者的痰液,其中男 94 例、女 42 例,年龄 17~91 岁。结核病诊断依据 WS288-2017《结核病诊断标准》和《结核病分类标准》。

**1.2 仪器与试剂** 染色液及中性罗氏培养基由珠海贝索公司提供;荧光显微镜由浙江舜宇公司提供,核酸提取仪、微型高速离心机、PCR 扩增仪、杂交仪、芯片洗干仪、芯片扫描仪及菌种鉴定试剂由北京博澳公司提供。

**1.3 方法** 患者早上起床后用清水漱口,立即从下部呼吸道咳出第一口痰,吐在无菌塑料痰盒中,及时送检。(1)小心打开痰标本的容器,用折断的竹签在端挑取标本的脓样、干酪样或可疑部分 0.05~0.10 mL,在玻片正面的右侧 2/3 中央处均匀涂抹成 1.0 cm×2.0 cm 大小的卵圆形痰膜,待自然干燥后染色镜检。(2)按基因芯片试剂盒说明书的操作流程顺序,先用消化液将痰标本消化 15 min 后加缓冲液中和,3 000 r/min 离心,取 1 mL 沉淀到核酸提取管中用核酸提取仪进行核酸提取,利用 PCR 扩增仪进行

基因扩增,然后用杂交仪对扩增后的基因进行杂交,用芯片洗干仪进行洗涤、甩干,再用芯片扫描仪进行扫描,在电脑上用软件读取结果。(3)用中和离心法对 136 例疑似肺结核患者的痰标本进行分枝杆菌培养,按《结核病诊断细菌学检验规程》<sup>[2]</sup>进行操作。

**1.4 统计学处理** 采用 Excel 2010 建立数据库,用 SPSS13.0 软件进行统计学分析。以罗氏培养法为金标准,计算涂片法、基因芯片法检测分枝杆菌的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值。不同方法检测结果的一致性用 Kappa 检验判别(Kappa≥0.75 具有高度一致性,0.4≤Kappa<0.75 具有较好一致性,Kappa<0.4 具有较差一致性)。

## 2 结果

**2.1 两种方法检测抗酸杆菌情况** 136 例疑似肺结核患者痰标本用基因芯片法共检测出抗酸杆菌 69 例,阳性率为 50.7%,其中 MTB 56 例(81.2%),NTM 13 例(18.8%);涂片法共找到抗酸杆菌 50 例,阳性率为 36.8%,所有涂片法阳性者在基因芯片检测中结果均为阳性,涂片法阳性率低于基因芯片法,二者阳性率比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 5.39, P < 0.05$ )。50 例痰涂片阳性患者中检测出 MTB 47 例,龟/脓分枝杆菌 1 例,堪萨斯分枝杆菌 1 例,鸟分枝杆菌 1 例;86 例痰涂片阴性患者中检测出 MTB 9 例,龟/脓分枝杆菌 6 例,堪萨斯分枝杆菌 1 例,鸟分枝杆菌 3 例。13 例 NTM 中,涂片阴性者占 10 例,涂片阳性者占 3 例。

**2.2 痰标本罗氏法培养分枝杆菌情况** 86 例涂片阴性患者中有 29 例罗氏法培养阳性,57 例罗氏法培养阴性。50 例涂片阳性患者中有 42 例罗氏法培养阳性,8 例罗氏法培养阴性。67 例基因芯片法阴性患者中有 17 例罗氏法培养阳性,50 例罗氏法培养阴性。

\* 基金项目:广西壮族自治区卫生和计划生育委员会自筹资金计划研究课题(Z20180063)。

△ 通信作者, E-mail:892193726@qq.com。

69 例基因芯片法阴性患者中有 62 例罗氏法培养阴性,7 例罗氏法培养阴性。以罗氏培养法为标准,涂片法的特异度为 87.7%,灵敏度为 59.1%,阳性预期值为 84.0%,阴性预期值为 66.3%,Kappa 检验,  $K = 0.47$ ,二者具有较好的一致性;基因芯片法的特异度为 87.7%,灵敏度为 78.5%,阳性预期值为 89.6%,阴性预期值为 74.6%,Kappa 检验,  $K = 0.63$ ,二者具有较高的一致性。

### 3 讨论

随着基因芯片技术在分枝杆菌检测中的广泛应用,目前已有许多学者对该技术进行了研究报道,基因芯片技术检测在分枝杆菌的优点已经逐渐得以证明。本研究利用基因芯片技术检测本院就诊的疑似结核患者痰标本,通过与传统的涂片法相比较,探讨其在肺部疾病诊断中的应用价值,结果显示,136 例疑似肺结核患者痰标本基因芯片法阳性检出率为 50.7%,涂片法阳性检出率为 36.8%,并且所有涂片阳性者在基因芯片检测中结果均为阳性,涂片法阳性率显著低于基因芯片法,二者的符合率为 76.0%。以罗氏培养法为标准,涂片法的特异度与基因芯片法的特异度一致,涂片法的灵敏度、阳性预期值、阴性预期值、Kappa 检验的  $K$  值均低于基因芯片法,说明基因芯片法在检测抗酸杆菌的灵敏度、阳性预期值、阴性预期值及一致性方面均优于涂片法。陈蕾<sup>[1]</sup>报道 641 例患者标本采用抗酸染色法阳性检出率为 27.61%,低于本研究的结果,这是由于二者所用的染色方法不同,说明荧光法检测抗酸杆菌的灵敏度高于萋尼氏法,从二者的灵敏度数据中也得以证明;基因芯片法检测结核杆菌阳性检出率为 54.91%,略高于本文报道,但二者差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.8, P > 0.05$ );以罗氏培养法检测结果为金标准,基因芯片法检测技术的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值均高于本研究结果;抗酸染色涂片法检测技术的灵敏度和阴性预测值均低于本研究结果,而特异度、阳性预测值均高于本研究结果,一致性方面,通过 Kappa 检验,本研究的  $K$  值基因芯片法低于陈蕾<sup>[1]</sup>的报道,涂片法略高于陈蕾<sup>[1]</sup>的报道,可能与所研究的样本数及染色方法有关,尽管与本文报道有一定的差异,但二者结果均证明了基因芯片法检测分枝杆菌的能力明显优于涂片法。林秀华等<sup>[3]</sup>对 182 例临床疑似结核性脓胸患者用基因芯片法进行检测,检测出结核杆菌 66 例,阳性率为 36.2%,本研究中基因芯片法共检测出结核杆菌 56 例,阳性率为 41.1%,二者比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),二者检测结果均体现了基因芯片法在检测结核杆菌方面也为临床快速诊断结核病提供了重要的依据。

本文报道中有 19 例患者标本涂片阴性而基因芯片阳性。涂片法漏检主要与实验人员的操作(如制片的质量、染色的效果及阅片的能力等)和受试标本的

取样量等因素有关。痰涂片制作的好坏直接影响镜检工作效率和检出率,因此,涂片制作、染色和镜检各个环节都要规范操作,对痰涂片的大小、厚薄及染色、脱色程度的把握都至关重要。痰检人员要有高度的责任心和耐心细致的工作态度,确保阳性检出率,但当涂片工作量较大的时候工作人员很容易产生疲劳,所以阳性检出率会大大降低<sup>[4-6]</sup>。13 例 NTM 中,涂片阴性 10 例,涂片阳性 3 例,说明 NTM 检测采用涂片法很容易产生漏检,可能与 NTM 的形态不典型有关,情况是否属实仍需进一步研究。传统的涂片法操作繁琐、费时,影响因素多,生物安全防护要求高,操作人员容易疲劳,本研究印证了基因芯片法改变了传统涂片法效率低的现状,能在较短的时间内鉴定出 MTB 复合群和常见 NTM 致病菌,对临床快速诊断结核病具有十分重要的意义。

NTM 是分枝杆菌属中除结核分枝杆菌复合群和麻风分枝杆菌外的一类分枝杆菌,多为腐生菌,广泛存在于自然界中,如水、土壤、灰尘等。致病菌或条件致病菌常发生于老年人、免疫力低下者,并多发于慢性肺病,如支气管扩张、矽肺和肺结核等,也是人类免疫缺陷病毒感染、获得性免疫缺陷综合征的常见并发症,也可因消毒不严而引起院内感染。不同的 NTM 感染可导致不同的非结核分枝杆菌病。近年来,NTM 相关报道日趋增多,提示了 NTM 已成为威胁人类健康的重要公共问题<sup>[7-16]</sup>。

本研究显示,136 例疑似肺结核患者痰标本用基因芯片法共检测出抗酸杆菌 69 例,其中 NTM 13 例,占 18.9%,说明肺部感染 NTM 的问题必须引起高度重视,快速、准确鉴定 NTM 菌种对临床诊治、疾病监测控制均具有重大意义。

### 参考文献

- [1] 陈蕾. 基因芯片法在肺结核诊断中的临床应用价值[J]. 临床肺科杂志, 2017, 22(10): 1879-1883.
- [2] 中国防痨协会. 结核病诊断细菌学检验规程[J]. 中国防痨杂志, 1996, 18(1): 28-31.
- [3] 林秀华, 赖国祥, 陈雨燕, 等. 基因芯片技术检测分枝杆菌和异烟肼、利福平耐药性在结核性脓胸诊断中的应用[J]. 中国人兽共患病学报, 2017, 33(8): 720-723.
- [4] 董莘, 许银伍, 陈红兵, 等. 薄层 CT 引导支气管灌洗提高结核菌涂片和培养的阳性率[J]. 中国医学装备, 2015, 12(3): 27-29.
- [5] 何文. 浅谈结核杆菌痰涂片镜检结果[J]. 养生保健指南, 2016(36): 140.
- [6] 何虹. 如何做好结核菌涂片检查的质量控制[J]. 世界最新医学信息文摘, 2016, 16(26): 119.
- [7] 何贵清, 徐克, 单志力, 等. 2014 至 2016 年温州地区呼吸道非结核分枝杆菌的流行状况分析[J]. 中华临床感染病杂志, 2017, 10(4): 262-267.
- [8] 张结, 苏建荣, 丁北川, 等. 北京地区非结核分枝杆菌菌种分布及耐药性研究[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2017, 40

(3):210-214.

- [9] 张鑫,蔡静,姜元,等. 43 株甘肃临床分离非结核分枝杆菌分类鉴定[J]. 中国人兽共患病学报, 2017, 33(2): 173-176.
- [10] 郭明日,张丽霞,周洪经,等. 非结核分枝杆菌肺病患者下呼吸道感染病原菌分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(20): 4641-4644.
- [11] 张静波,褚海青. 非结核分枝杆菌肺病临床特征及其影像学特点[J]. 中国感染与化疗杂志, 2016, 16(1): 86-91.
- [12] 段飞鸿,王庆枫,王敬,等. 呼吸道快速生长分枝杆菌的检出率与肺部疾病的相关性[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39(20): 113-116.
- [13] 吴亦斐,刘伟,谢捷,等. 杭州地区流行非结核分枝杆菌鉴

定、易感因素和耐药性分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2017, 33(10): 882-887.

- [14] 平国华,于梅,潘爱珍,等. 宁波地区非结核分枝杆菌病原谱的分析[J]. 卫生研究, 2014, 43(5): 849-850.
- [15] 黄明翔,万康林,陈力舟,等. 福建省临床分离非结核分枝杆菌菌种分布研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2014, 30(12): 1227-1229.
- [16] 李昕浩,谭守勇,黄业伦,等. 812 株非结核分枝杆菌临床分离株流行病学特征分析[J]. 中国防痨杂志, 2010, 32(12): 811-814.

(收稿日期:2019-02-24 修回日期:2019-06-03)

• 临床探讨 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2019.23.022

## 运用 PDCA 循环管理法提高珠蛋白生成障碍性贫血产前实验室筛查流程的完善率分析\*

李育敏<sup>1</sup>,许晓清<sup>1</sup>,阚丽娟<sup>1</sup>,张水兰<sup>1</sup>,金 满<sup>2</sup>,徐 怡<sup>2</sup>,张秀明<sup>1△</sup>

广东省深圳市罗湖区人民医院:1. 医学检验科;2. 感染管理科,广东深圳 518001

**摘要:**目的 运用 PDCA 循环管理法提高珠蛋白生成障碍性贫血(下称地贫)产前实验室筛查流程的完善率,有效落实深圳市地贫预防和控制工作任务。方法 采用 PDCA 循环管理法,通过主题选定、现状调查、目标设定、人员确立、原因分析、真因确定、计划制订、对策拟订、措施实行、效果确认、标准化及体会总结等阶段提高地贫产前实验室筛查流程的完善率。结果 经过 PDCA 循环管理后,地贫产前实验室筛查流程的完善率明显提高,由对策实施前的 47.75% 提高至实施后的 79.33%。结论 采用 PDCA 循环管理法,可有效提高地贫产前实验室筛查流程的完善率,以防止重型地贫和减少中间型地贫患儿出生。

**关键词:**PDCA 循环管理法; 地中海贫血; 产前筛查; 产前诊断; 遗传

中图分类号:R556.6

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)23-3466-04

珠蛋白生成障碍性贫血(下称地贫)是我国长江以南各省发病率最高,影响最大的单基因遗传病之一。2012 年广东省地贫预防控制项目基线调查数据显示,户籍人口地贫基因携带率约为 16.8%,平均每 6 个人中就有 1 个携带者,同型地贫基因夫妇约占 1.87%。2012 年起广东省在全省范围内开展地贫预防控制工作。地贫的常规实验室检测包括地贫筛查和基因诊断,筛查项目包括红细胞参数和血红蛋白分析,基因诊断是确诊地贫的金标准<sup>[1]</sup>。如果只检测血常规(红细胞参数分析)和地贫基因而不进行血红蛋白分析,或者不进行地贫筛查直接做基因诊断则容易漏检罕见地贫,导致重型地贫和中间型地贫患儿出生,增加产前诊断的风险。PDCA 循环管理法包含 4 个阶段,即计划阶段(P)、执行阶段(D)、检查阶段(C)和行动阶段(A),被广泛应用于我国多家医院的质量管理活动中<sup>[2-6]</sup>。为有效落实深圳市地贫预防控制工作任务,提高地贫产前实验室筛查流程的完善率,避免罕见地贫的漏检,本院检验科组织相关科室通过

PDCA 循环管理法来提高地贫产前实验室筛查流程的完善率,取得较好效果,现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2016 年 11 月至 2017 年 6 月在本院检验科进行地贫产前遗传筛查标本的检验资料。地贫产前实验室筛查流程包括血常规检测、血红蛋白分析和地贫基因诊断。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 计划阶段

**1.2.1.1 主题选定** 根据广东省及深圳市地贫预防控制政策、实施情况及重要性和迫切性,通过头脑风暴手段,确立“提高地贫产前实验室筛查流程完善率”为主题,拟通过解决该问题,有效落实深圳市地贫预防控制工作任务,防止重型地贫和减少中间型地贫患儿出生。完善率=完善地贫产前实验室筛查流程的人数/进行地贫产前遗传筛查的所有人数×100%。

**1.2.1.2 现状调查及目标设定** 通过统计本院 2016 年 11 月至 2017 年 6 月进行地贫产前遗传筛查人数

\* 基金项目:广东省深圳市医疗卫生三名工程(SZSM201601062)。

△ 通信作者,E-mail:zxm0760@163.com。