

〔文章编号〕 1007-0893(2022)10-0072-03

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2022.10.022

深痰涂片镜检与痰液罗氏培养检验 在肺结核诊断中的效果比较

靳云飞 董曙光 景风光

(沁阳市疾病预防控制中心, 河南 沁阳 454550)

〔摘要〕 目的: 分析深痰涂片镜检与痰液罗氏培养检验在肺结核诊断中的应用效果。方法: 选取沁阳市疾病预防控制中心 2020 年 1 月至 2022 年 1 月收治的 80 例肺结核患者作为观察组, 选取同期非肺结核患者 50 例纳入对照组, 所有患者均行支气管镜肺泡灌洗术, 取出深痰, 并对痰液进行深痰涂片镜检、痰液罗氏培养检验。比较深痰涂片镜检、痰液罗氏培养检验对肺结核的诊断效能。结果: 痰液罗氏培养检验的灵敏度、特异度、准确度均高于深痰涂片镜检, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 深痰涂片镜检与痰液罗氏培养检验对肺结核的诊断均具有一定的应用价值, 痰液罗氏培养检验对肺结核诊断效能更高。

〔关键词〕 肺结核; 深痰涂片镜检; 痰液罗氏培养

〔中图分类号〕 R 521 〔文献标识码〕 B

肺结核是一种缓发的传染病, 可见于任何年龄阶段人群, 尤其是免疫力较低者感染率更高。肺结核主要致病菌为结核杆菌, 可侵入人体各器官, 潜伏期 4~8 周, 经呼吸道传播, 感染后患者无症状或出现轻微的发热、乏力等症状^[1]。若不及时诊治肺结核, 会危及患者的生命健康。目前, 临床诊断肺结核主要方法包括影像学检查、实验室检验等, 痰液涂片法、培养法均属于实验室检验方法, 具有操作简单、价格低廉等特点, 还可检测出患者痰液中是否存在结核杆菌。大多数研究文献^[2-3]指出深痰涂片镜检、痰液罗氏培养检验均为肺结核诊断的最普及的方法, 但较少研究比较两种检验方法对肺结核诊断效果。鉴于此, 本研究选择 80 例肺结核患者作为研究对象, 对照分析深痰涂片镜检、痰液罗氏培养检验对肺结核的诊断价值, 具体如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取沁阳市疾病预防控制中心 2020 年 1 月至 2022 年 1 月收治的 80 例肺结核患者作为观察组, 选取同期非肺结核患者 50 例纳入对照组。所有患者均对本研究知情同意, 并自愿参与本研究。观察组中, 男 43 例, 女 37 例, 年龄 24~63 岁, 平均年龄 (38.74 ± 8.94) 岁; 咳嗽咯痰时间 1~3 个月, 平均时间 (1.67 ± 0.28) 个月。对照组中, 男 27 例, 女 23 例, 年龄 22~67 岁, 平均年龄 ($38.91 \pm$

9.17) 岁。两组患者性别、年龄等一般资料比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。

1.1.1 纳入标准 (1) 观察组纳入标准: 符合《肺结核诊断和治疗指南》^[4] 中肺结核临床诊断标准者; 胸部 X 线检查显示肺部出现索条影、斑片、结节、空洞及胸腔积液者; 支气管镜检查适应证者; 既往患肺结核且停止抗结核治疗 6 个月以上者。(2) 对照组纳入标准: 胸部 X 线出现阴影及胸腔积液者; 经结核杆菌培养检验确诊非肺结核者; 出现发热、咳嗽、咳痰、乏力、胸闷等症者; 积极配合医务工作者诊疗者。

1.1.2 排除标准 入院前已行抗结核治疗者或抗结核治疗 1 个月以上者; 合并其他传染性疾病; 意识障碍或智力障碍者; 遵医行为较差或查体配合积极性较低者; 合并恶性肿瘤者; 免疫系统功能不全者; 肝、肾等重要脏器功能障碍者。

1.2 方法

所有患者均于早、中、晚采集痰液, 按照相应的操作规程及要求行支气管镜肺泡灌洗术, 留取痰标本与肺泡灌洗液, 采集痰液标本后于 1 h 内送检, 镜检仪器采用生物显微镜 (日本奥林巴斯株式会社, 型号: CX-31)。罗氏培养基、涂片染色所用的染色液购于博慧斯生物医药科技有限公司, 结核分枝杆菌核酸检测试剂盒购于湖南圣湘生物科技有限公司。

1.2.1 深痰涂片镜检 (1) 制定标本涂片, 采用 95 %

〔收稿日期〕 2022-02-26

〔作者简介〕 靳云飞, 女, 主管检验师, 主要研究方向为临床检验。

的乙醇进行脱脂，制成清洁、无划痕、干燥的载玻片，采用玻璃铅笔于玻片后面的左端 1/3 部位，对玻片进行编号。（2）采用无菌的一次性棉签蘸取痰液标本中脓样、干酪样液体，置于载玻片右侧 1/3 部位，痰液量约为 0.08 mL，并均匀涂抹成类圆形的痰膜（大小约 2.00 cm×2.50 cm），平置，并自然干燥，再用微火，对载玻片上的痰液使用抗酸染剂染色。（3）采用生物显微镜观察痰液玻片，选取 100 倍油镜，如在涂片的 300 倍视野内，观察到痰液中存在抗酸杆菌，表示结果为阳性。详细观察整个痰液涂片，时间为 5 min，如在 300 个视野内，未观察到痰液中存在抗酸杆菌，表示结果为阴性。

1.2.2 痰液罗氏培养检验 （1）根据患者痰液标本的黏稠程度，于 50 mL 处理管中加入相应体积的氯化钠氢氧化钠消化液（浓度为 2%）。针对浑浊、浓痰的痰液标本，应加入 3 倍体积的消化液；针对稀薄的痰液标本，则加入等量的消化液，拧紧处理管螺旋盖。在涡旋振荡器上放置处理管，并振荡约 20 s，直至处理管中痰液彻底液化，再放于 26 °C 室内静置 15 min。（2）将 pH 6.8 的磷酸盐缓冲液加入处理管内，直至达到 50 mL 刻度处，充分混合均匀，再进行离心，离心速率为 3000 r·min⁻¹，离心半径 10 cm，时间为 15 min，倒掉上清液，注意切勿倒掉管底沉淀物。（3）将微酸性的磷酸盐缓冲液 1.0 mL 加入处理管内，制成混悬液。（4）使用滴管吸取 2 滴处理管内混悬液，并滴于培养基中接种，每个痰液标本均接种 2 支，分别于接种第 3 天、第 7 天观察培养基中的菌落生长情况。若发现培养基中出现菌落生长，采用萼-纳抗酸染色进行证实，动态记录分枝杆菌快速生长情况，报告培养检验阳性结果，并每周观察 1 次，同时记录培养基中菌落培养情况或污染情况。若培养基菌落培养满 8 周后，未见菌落生长，则表示培养检验结果为阴性，或根据临床检验需求，延长培养时间，保证检验结果的真实性。

1.3 观察指标

比较深痰涂片镜检、痰液罗氏培养检验对肺结核的诊断效能。灵敏度 = 真阳性 / (真阳性 + 假阴性) × 100%；特异度 = 真阴性 / (真阴性 + 假阳性) × 100%；准确度 = (真阳性 + 真阴性) / 总例数 × 100%。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 23.0 软件进行数据处理，计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 *t* 检验，计数资料用百分比表示，采用 χ^2 检验，*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

深痰涂片镜检、痰液罗氏培养检验的检验结果见表 1。痰液罗氏培养检验的灵敏度、特异度、准确度均高于深

痰涂片镜检，差异均具有统计学意义 (*P* < 0.05)，见表 2。

表 1 两种方法的检验结果比较 (例)

组别	深痰涂片镜检		痰液罗氏培养检验		合计
	阴性	阳性	阴性	阳性	
对照组	46	4	50	0	50
观察组	51	29	38	42	80
合计	97	33	88	42	130

表 2 两种检验方法的肺结核诊断效能比较 (%)

检验方法	灵敏度	特异度	准确度
深痰涂片镜检	36.25(29/80)	92.00(46/50)	57.69(75/130)
痰液罗氏培养检验	52.50(42/80) ^a	100.00(50/50) ^a	70.77(92/130) ^a

注：与深痰涂片镜检比较，^a*P* < 0.05。

3 讨论

我国是肺结核患病率较高的国家之一，该疾病在青壮年的感染率呈递增趋势发展，为了控制肺结核的暴发流行，需尽早控制肺结核的感染，及时发现感染情况，并阻断感染源，减少疾病对人们健康及社会造成的威胁。肺结核患者表现为咳嗽、发热、乏力、咳痰等症状，与感冒、肺炎等症状具有相似性，单纯依靠患者的症状难以鉴别，容易造成误诊，延误肺结核患者的最佳治疗时期，增加传染的可能性^[5]。有研究^[6]指出，肺结核患者的痰液携带菌群，在临床检查中发现，痰涂片和痰液培养阳性率较高。可见，肺结核确诊依据是从患者痰液中找到结核杆菌，故细菌学与病理学联合检查是肺结核诊断的金标准。

痰液培养法、涂片抗酸染色法均属于病原学检测，其中深痰涂片镜检是呼吸道疾病细菌检查的重要手段之一，也是肺结核诊断最快速、常用的检查方法，但是针对无痰或痰液较少的疑似肺结核患者，痰中含菌量也相应减少，具有一定的局限性^[7]。随着临床技术的发展，采用支气管镜肺泡灌洗术可取得患者肺部深痰，弥补深痰涂片镜检的不足，使深痰涂片镜检阳性检出率得到提升^[8]。此外，对肺部痰液中的结核杆菌进行培养，也能提高肺结核诊断阳性率^[9]。痰液罗氏培养检验是采用罗氏培养基分离培养痰液中的结核分枝杆菌，人工培养痰液细菌过程中，细菌都需要足够的营养成分，而罗氏培养基具有新鲜鸡蛋液、甘油、谷氨酸钠、马铃薯淀粉、磷酸二氢钾、孔雀石绿、柠檬酸镁与硫酸镁等成分，可以为结核杆菌提供氮源，并降低脂肪胺毒性，孔雀绿是一种抑菌剂，故当培养基出现结核杆菌时，孔雀绿会与细菌发生反应，使培养基呈绿色改变。本研究中，深痰涂片镜检灵敏度为 36.25%，痰液罗氏培养为 52.50%，痰液罗氏培养检验阳性检出率高于深痰涂片镜检，差异具有统计学意义 (*P* < 0.05)。相关研究^[10-12]也指出痰

培养细菌检测法诊断效能高于痰涂片检测法,这都表示痰液罗氏培养检验可提高肺结核患者痰液中结核杆菌的检出率。究其原因,结核分枝杆菌的细胞壁含有大量脂质与分枝杆菌酸,经涂片染色后,弯曲菌体包裹分枝杆菌酸,抵抗酒精脱色,使涂片着色,呈阳性结果,但不能直接诊断为结核杆菌^[13]。细胞壁的脂质抑制结核杆菌物质吸收,结核杆菌生长缓慢,而痰液培养周期长,采用痰液罗氏培养检验可以满足结核杆菌生长要求,培养周期长,可适应结核杆菌生长缓慢的特点,有利于增加阳性检出情况^[14]。而痰液涂片染色过程中容易与其他病菌交叉感染进而影响染色影响,产生较多的假阴性情况,同时结核杆菌生长速度缓慢,而痰结核杆菌涂片在短时间内无法显示未完全生长的致病菌,进而造成漏诊的情况。痰液罗氏培养检验培养周期较长,可以发现许多生长缓慢的结核杆菌,弥补深痰涂片镜检的不足,同时罗氏培养基提供许多营养成分,为结核杆菌提供生长物质,缩短结核杆菌生长时间,也缩短培养所用时间,最大限度改进缺陷。

痰结核杆菌实验室检测是肺结核诊断主要方法,但深痰涂片镜检与痰液罗氏培养检验阳性率通常较低,这与病灶部位、检验标本不合格、实验室操作不当、痰液难以收集等因素有一定关联,从而出现较多的假阴性结果^[15]。为了提高痰液罗氏培养检验与深痰涂片镜检阳性率,应保证痰液标本的质量,反复多次收集,预防痰液标本受污染或存放时间过长。痰液标本储存或送检过程中,应严谨准确,核对痰液标本储存时间,密封痰液标本存放容器,避免与空气中的细菌接触,而影响痰液罗氏培养检验结果。此外,也应提高实验室检验水平,要求检验人员严格按照相关规程及要求进行无菌操作,依据痰液涂片或培养的最佳要求、条件进行检验,增加镜检观察次数,或者延长痰培养时间,动态观察和记录结核杆菌出现情况。此外,深痰涂片镜检与痰液罗氏培养检验在肺结核诊断中发挥的作用不同,两者均有应用价值,痰液罗氏培养检验更有利于提高结核杆菌阳性检出率,更有利于对肺结核早期诊断和治疗方案的制定。

[参考文献]

- (1) 王丽娜. 89例肺结核继发肺部感染患者痰液标本中病原菌的培养及耐药性分析(J). 抗感染药学, 2020, 17(9): 1270-1272.
- (2) 杜伟勤, 任建斌. γ 干扰素、骨桥蛋白、白细胞介素-18在肺结核患者血清与痰液上清液中的表达与临床意义(J). 中国当代医药, 2020, 27(11): 12-15.
- (3) 白丹. 肺结核患者痰中结核分枝杆菌检验的临床价值研究(J). 中国实用医药, 2021, 16(3): 211-212.
- (4) 中华医学会结核病学分会. 肺结核诊断和治疗指南(J). 中华结核和呼吸杂志, 2001, 24(2): 70-74.
- (5) 彭荣, 龚倩. GeneXpert MTB/RIF检测肺泡灌洗液对无痰或少痰肺结核的诊断价值(J). 检验医学与临床, 2020, 17(22): 3267-3269.
- (6) 白丹. 不同检验方法对肺结核患者痰液结核分枝杆菌的检验价值研究(J). 质量安全与检验检测, 2021, 31(1): 144-146.
- (7) 冷霞, 孙晓柯, 周晓蕾, 等. 灌洗液 Xpert MTB/RIF检测在涂片阴性及无痰疑似肺结核患者中的应用分析(J). 临床肺科杂志, 2022, 27(2): 226-229, 255.
- (8) 张波, 张涛, 张茜, 等. 痰液涂片、支气管刷片抗酸染色联合 γ -干扰素释放试验对肺结核的诊断价值(J). 海南医学, 2021, 32(21): 2759-2762.
- (9) 丁海霞, 郭慧. 肺结核合并肺部其他感染的危险因素及痰液标本病原菌特点(J). 河南医学研究, 2021, 30(14): 2667-2670.
- (10) 赵文君, 李子安. 三种结核分枝杆菌检测方法在高原地区临床实验室中的应用(J). 吉林医学, 2021, 42(9): 2070-2072.
- (11) 王晨, 张双双, 刘晓莉. 结核病诊断中细菌学检验的临床价值(J). 内蒙古医学杂志, 2020, 52(10): 1281.
- (12) 王丽娜. 痰液结核杆菌涂片及培养在初诊结核病中的应用比较(J). 罕少疾病杂志, 2019, 26(5): 19-21.
- (13) 陈小冬, 葛旭峰. 结核患者痰结核杆菌检验的方法分析(J). 中国医药指南, 2020, 18(7): 83-84.
- (14) 曾皎箭. 肺结核患者痰中结核分枝杆菌检验的价值和安全性评价(J). 科学养生, 2021, 24(5): 157.
- (15) 余智高. 不同检验方法对肺结核患者痰中结核分枝杆菌检验价值分析(J). 中国农村卫生, 2020, 12(20): 40.