

• 短篇论著 •

# 自动化抗酸染色系统与手工染片法检测性能的比较

袁晓华<sup>1,2</sup>, 左 芳<sup>1△</sup>

(1. 鄂东医疗集团黄石市中心医院/湖北理工学院附属医院临床输血科, 湖北黄石 435000; 2. 武汉科技大学, 湖北武汉 430000)

**摘要:**目的 通过与手工抗酸染色法比较,评价自动化抗酸染色系统的检测性能。方法 选择 2017 年 3 月黄石市中心医院住院患者的样本 300 例,其中痰 233 例,肺泡灌洗液 67 例,平行进行手工抗酸染色和自动染片系统的抗酸染色。然后用人工判读的方法,分析对比两种染色方法的结果。结果 (1)两类样本,手工法的阳性率分别为 4.29%和 13.43%,自动法的阳性率分别为 3.86%和 14.93%。成组  $\chi^2$  检验,两种方法的染色结果有相关性。(2) McNemar 检验,两种方法的差异无统计学意义( $P>0.05$ )。Kappa 检验,两种方法的一致性较好。(3)以样本阳性率为对照组,两种方法各自的阳性率为实验组,绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线),手工法和自动法的 ROC 曲线下面积都为 0.952。(4)染色过程,自动法比手工法节省 74.00%的耗时。结论 自动化抗酸染色系统和手工法抗酸染色的诊断效能相同,提高了检验效率。

**关键词:**抗酸染色; 肺结核; 结核分枝杆菌

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2019.16.029

**文章编号:**1673-4130(2019)16-2029-03

**中图分类号:**R521

**文献标识码:**B

肺结核是结核分枝杆菌(MTB)引起的肺部疾病。世界卫生组织统计,2016 年全球有 1 040.00 万例新发结核病例,且 37.40 万人死于 MTB<sup>[1]</sup>。我国在 2011 年第 5 次结核病流行病学抽样调查结果也显示,结核病发病人数约为 130 万人,占全球发病人数的 14.3%<sup>[2]</sup>;每年因结核病而死的患者人数达 13 万人,是仅次于印度的世界第二大结核病高发国家<sup>[3]</sup>,而且人类免疫缺陷病毒(HIV)死亡患者中有 1/3 是由肺结核感染引起的<sup>[4]</sup>。因此,结核病的早期准确诊断和治疗在防治中起着关键的作用<sup>[5]</sup>。根据肺结核的诊断标准,结核病的病原学检查是结核病确诊病例的必备条件<sup>[6]</sup>。而抗酸染色又是国内大多数医院用于检测体液或组织中抗酸杆菌的主要方法<sup>[7]</sup>。同时抗酸染色检查还存在操作复杂、技术要求高等缺点<sup>[8]</sup>。因此,黄石市中心医院(下称本院)运用自动染片系统进行抗酸染色,期望达到与手工抗酸染色一样的检测性能,且能缩短检测时间,提高检验效率。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2017 年 3 月本院呼吸内科普通住院患者的样本 300 例,其中痰样本 233 例,肺泡灌洗液 67 例。

**1.2 仪器与试剂** Mycol T STAINER 自动染片系统及配套抗酸染液(批号 2016121301)购自上海皓信生物科技有限公司。TXD3 细胞涂片离心机购自湖南湘仪实验室仪器开发有限公司。手工抗酸染液试剂盒(批号 415091)购自珠海贝索生物技术有限公司。BX41 显微镜购自日本奥林巴斯公司。

## 1.3 方法

**1.3.1 痰液的样本处理** 每例患者取清晨第一口痰,先用清水漱口,再用力咳出深部痰液 0.5~3.0 mL 于无菌痰杯内,及时送检。将专用竹签从中折断,用断处的茬面挑取样本中的脓样、干酪样、血样等可疑部分,在玻片正面垂直均匀涂抹成 10 mm×20 mm 卵圆形痰膜。自然干燥后,将玻片 5 s 内置于火焰上烤 4 次进行固定。每个样本制片 2 张。

**1.3.2 支气管肺泡灌洗液的样本处理** 收到呼吸内科纤支镜室送检的支气管肺泡灌洗液样本后,将试管轻轻颠倒混匀,取 0.9 mL 灌洗液加入细胞涂片离心机的漏斗中,2 000 r/min,离心 10 min,拿出漏斗和滤纸,取下制好的涂片。自然干燥后,同痰样本一样固定。每个样本制片 2 张。

**1.3.3 抗酸染色** 手工染片法,首先滴加石炭酸复红,染色 30 min 后水洗,接着用 3% 盐酸乙醇脱色 2 次,每次 1 min,2 次脱色都用水洗。最后用美蓝复染 0.5 min 后水洗,自然干燥,记录用时。自动染片法,将涂片分批插入自动染片机的转盘中。选择数字后按开始键,染片机集染色、加热、脱色、复染、干燥于一体,染色完成后记录用时。每次手工法或自动法染色时用自制的阳性质控片进行质量控制<sup>[9]</sup>。阳性质控片预先准备,用临床抗酸杆菌阳性程度++++~++++的痰液涂片制作,热固定后不染色,置于密闭的玻片盒内于 4℃ 冰箱内储存。

**1.3.4 阅片** 采用双盲法对 300 例样本的 600 张玻片用油镜进行镜检,根据《痰涂片镜检标准化操作及

△ 通信作者, E-mail: 82283861@qq.com.

本文引用格式:袁晓华,左芳. 自动化抗酸染色系统与手工染片法检测性能的比较[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(16): 2029-2031.

质量保证手册》<sup>[10]</sup>和上海地区综合性医院结核病实验诊断操作规范<sup>[9]</sup>。观察 300 个视野,镜下见抗酸杆菌为阳性,未见为阴性,只统计阴、阳性,不统计阳性程度。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS16.0 软件对数据进行统计学分析,计数资料以例数表示,采用 Fisher's 确切概率法。用成组  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为两种染色方法的结果有相关性。用配对资料的 McNemar 检验,  $P < 0.05$  为两种染色方法的差异有统计学意义。用 Kappa 检验来分析两种染色方法结果之间的一致性,  $P < 0.01$  为一致性有统计学意义,当 Kappa 值  $\geq 0.75$  时为一致性好,  $0.75 > \text{Kappa 值} \geq 0.4$  时为一致性一般, Kappa 值  $< 0.4$  时为一致性较差。以样本阳性率为对照组,两种方法各自的阳性率为实验组,绘制两种方法的受试者工作特征曲线(ROC 曲线),计算曲线

下面积(AUC)。

**2 结果**

**2.1 相关性** 233 例痰和 67 例肺泡灌洗液用手工法和自动法平行进行抗酸染色。手工法检出痰阳性 10 例,灌洗液阳性 9 例,阳性率分别为 4.29%和 13.43%。自动法检出痰阳性 9 例,灌洗液 10 例,阳性率分别为 3.86%和 14.93%。成组  $\chi^2$  检验,痰样本  $\chi^2 = 163.1$ ,  $P < 0.01$ ,灌洗液样本  $\chi^2 = 59.26$ ,  $P < 0.01$ 。说明两种方法的染色结果有相关性。

**2.2 McNemar 检验** 检验结果痰和灌洗液的  $P > 0.05$ ,为两种抗酸染色法,结果的差异无统计学意义, Kappa 检验,检验结果痰和灌洗液  $P < 0.01$ , Kappa 值分别为 0.835、0.939,为两种抗酸染色法的一致性有统计学意义,且一致性好。见表 1、2。

表 1 两种方法染色 233 例痰样本的结果

手工法	自动染片机法(n)		成组 $\chi^2$ 检验		McNemar 检验 P	Kappa 检验	
	阳性	阴性	$\chi^2$	P		Kappa 值	P
阳性	8	2	163.1	0.000	1.000	0.835	0.000
阴性	1	222					

表 2 两种方法染色 67 例灌洗液样本的结果

手工法	自动染片机法(n)		成组 $\chi^2$ 检验		McNemar 检验 P	Kappa 检验	
	阳性	阴性	$\chi^2$	P		Kappa 值	P
阳性	9	0	59.26	0.000	1.000	0.939	0.000
阴性	0	57					

**2.3 诊断效能** 设两种染色方法其中任意一种阳性,即认定为样本阳性,计算样本阳性率,痰和灌洗液的样本阳性率分别为 4.72%和 14.93%。以样本阳性率为对照组,以两种方法各自的阳性率为实验组,绘制 ROC 曲线。手工法和自动法的 AUC 都为 0.952,见图 1 和表 3。说明手工法抗酸染色和自动法抗酸染色的诊断效能相同。

省 74%的耗时。

表 3 两种方法染色 300 例样本的 AUC 和 P 值

检验变量	AUC	标准误	P	95%置信区间	
				上限	下限
手工法	0.952	0.038	0.000	0.879	1.026
自动法	0.952	0.038	0.000	0.879	1.026

**3 讨论**

目前,临床上已经有了几种新的方法能快速诊断结核分枝杆菌,如实时荧光定性 PCR 在检测低排菌量标本时具有明显优势<sup>[11]</sup>。只是检测成本较高,在一些经济欠发达的地区并不适用<sup>[12]</sup>。抗酸染色检测因其较高的特异度、方便快捷的可操作性、生物安全要求低,在诊断分枝杆菌的感染中仍起着重要的临床作用<sup>[13]</sup>。有文献指出,抗酸染色的检测性能与多色巢式实时荧光定量核酸扩增法(Xpert MTB/RIF)的符合率为 90.93%<sup>[14]</sup>。它作为一个传统的方法仍不可丢弃<sup>[15]</sup>。痰涂片抗酸染色还是判定结核患者预后的重要临床监测指标<sup>[16]</sup>。韩莹等<sup>[17]</sup>报道,近几年抗酸染色涂片阳性患者逐年递增,提示受感染者有扩大的趋

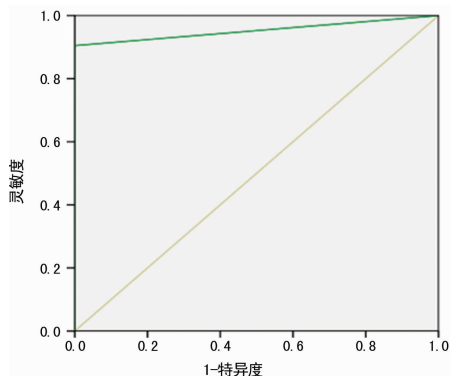


图 1 两种方法染色 300 例样本的 ROC 曲线

**2.4 用时比较** 300 例样本,手工法平均用时 46 min/n,自动法平均用时 12 min/n,自动法比手工法节

势。因此,如何准确、快速地进行抗酸染色检测,仍是临床研究的目标。

本文收集了 233 例痰样本。另外考虑到普通痰样本的阳性率低,阳性样本太少,因此又收集了 67 例阳性率较高的肺泡灌洗液样本。使用手工法和自动法各染色涂片 300 张,采用双盲法进行阅片比较。结果,痰和灌洗液样本,手工法阳性率分别为 4.29% 和 13.43%。自动法阳性率分别为 3.86% 和 14.93%。成组  $\chi^2$  检验说明两种方法的染色结果有相关性。McNemar 检验说明两种方法染色结果的差异无统计学意义,Kappa 检验说明两种方法的一致性有统计学意义,且一致性好。另外,设两种染色方法其中任意一种阳性即认定为样本阳性,计算样本阳性率,以样本阳性率为对照组,手工法和自动法的阳性率为实验组,绘制 ROC 曲线。结果手工法和自动法的 AUC 都为 0.952。两种方法的 ROC 曲线完全重合,虽然由于样本量小的原因,这种重合有着偶然性。但也说明了手工法抗酸染色和自动法抗酸染色的诊断效能相同,自动化抗酸染色系统可以代替手工抗酸染色法进行临床检测,与戴芸等<sup>[18]</sup>研究的结论一致。

自动染片系统耗时短,染色过程仅 8~12 min。比手工法节省 74% 的用时。每次可同时染 12 或 24 片,另外,全封闭系统,集加热、甩干一体,不需要接近水池。比起手工法,使用染料少,污染环境小。因此,本文认为,运用自动染片系统进行抗酸染色,由于其操作简便,耗时短,较容易建立标准化,诊断效能和手工法相同,提高了检验效率,值得临床推广。

## 参考文献

- [1] LIN P, WEN D Y, DANG Y W, et al. Comprehensive and integrative analysis reveals the diagnostic, clinicopathological and prognostic significance of polo-like kinase 1 in hepatocellular carcinoma[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 47(3):925-947.
- [2] 全国第五次结核病流行病学抽样调查技术指导组,全国第五次结核病流行病学抽样调查办公室. 2010 年全国第五次结核病流行病学抽样调查报告[J]. 中国防痨杂志, 2012, 34(8):485-508.
- [3] 陈国会,冯大山,王秀丽,等.应用基因芯片检测系统诊断结核分枝杆菌感染及耐药基因突变的临床研究[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(5):638-640.
- [4] 李晓非,黄山,梁桂亮,等.6 种检测方法在 HIV 合并结核分枝杆菌感染诊断中的应用价值分析[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(3):378-380.
- [5] 齐兴峰,郑智勇.结核分枝杆菌检测技术的研究进展[J]. 临床与实验病理学杂志, 2016, 32(11):1263-1266.
- [6] 中华人民共和国卫生部. 肺结核诊断标准: WS288-2008 [S]. 北京:人民卫生出版社, 2008.
- [7] BHAT J, RAO V, MUNIYANDI M, et al. Impact of sputum quality and quantity on smear and culture positivity: findings from a tuberculosis prevalence study in central India[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2014, 108(1):55-56.
- [8] 张青,薛冰茹,李克诚. GeneXpert MTB/RIF 系统对肺结核的诊断价值[J]. 检验医学, 2016, 31(7):599-602.
- [9] 上海医学会检验医学专科委员会临床微生物学组. 上海地区综合性医院结核病实验诊断操作规范[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(4):292-299.
- [10] 赵雁林,姜广路,卫生部疾病预防控制局,等. 痰涂片镜检标准化操作及质量保证手册[M]. 北京:中国协和医科大学出版社, 2009.
- [11] 樊红丽,李健健,高丽,等. 3 种检测方法在 HIV 合并结核分枝杆菌感染诊断中的对比研究[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(3):392-395.
- [12] 黄富礼,范佳,林雁,等. 16 697 例临床抗酸染色特点研究[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(3):338-340.
- [13] 张登才,刘斌,张丽华,等. 抗酸染色在结核病病理诊断中的价值[J]. 中国防痨杂志, 2014, 36(4):274-278.
- [14] 刘涛,杨翌翔,刘军,等. Xpert MTB/RIF 检测技术诊断结核病及其耐药的研究[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(13):1898-1900.
- [15] 滕晓梅. 结核感染 T 细胞、结核抗体、抗酸染色 3 种方法的临床评价[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(8):1149-1150.
- [16] SU W J, FENG J Y, CHIU Y C, et al. Role of 2-month sputum smears in predicting culture conversion in pulmonary tuberculosis[J]. Eur Respir J, 2011, 37(2):376-383.
- [17] 韩莹,刘昕阳,王会平,等. 15 082 例抗酸染色镜检结果分析[J]. 检验医学与临床, 2014, 12(z1):62-64.
- [18] 戴芸,张珏,乔昀. 手工法和全自动机器法查找结核杆菌效果比较[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(23):3558-3559.

(收稿日期:2018-12-12 修回日期:2019-03-26)