



中国临床医学

Chinese Journal of Clinical Medicine

ISSN 1008-6358

CN 31-1794/R

针吸细胞学联合qPCR技术诊断肺外结核病的价值

王莉, 郝颖华, 刘平, 陈修文, 汤显斌

引用本文:

王莉, 郝颖华, 刘平, 等. 针吸细胞学联合qPCR技术诊断肺外结核病的价值[J]. 中国临床医学, 2020, 27(2): 317-320.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20190930>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

上海市崇明区2016至2017年活动性肺结核流行病学分析

Epidemiological analysis of active pulmonary tuberculosis in Chongming District of Shanghai during 2016 to 2017

中国临床医学. 2018, 25(6): 1024-1026 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2018.20180577>

自动尿液细胞DNA定量分析对泌尿系统炎症与膀胱癌的鉴别诊断价值

The value of automated urine cell DNA quantitative analysis in the differential diagnosis of urinary tract inflammation and bladder cancer

中国临床医学. 2016, 23(5): 629-632 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2016.20160714>

肝移植患者人类微小病毒B19感染与相关贫血的临床特点分析

Clinical characteristic analysis on anemia associated with human parvovirus B19 infection in liver transplant recipients

中国临床医学. 2018, 25(3): 405-408 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2018.20180377>

PCR检测痰曲霉菌在慢性阻塞性肺疾病合并侵袭性肺曲霉菌病中的诊断价值

Diagnostic value of PCR detection of phlegm aspergillus in chronic obstructive pulmonary disease combined with invasive pulmonary aspergillosis

中国临床医学. 2019, 26(2): 238-241 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20190013>

肺腺癌组织精氨酸酶-2的表达及临床意义

Expression and clinical significance of arginase-2 in lung adenocarcinoma

中国临床医学. 2018, 25(5): 743-747 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2018.20180673>

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20190930

· 技术与方法 ·

针吸细胞学联合 qPCR 技术诊断肺外结核病的价值

王 莉, 郝颖华, 刘 平, 陈修文, 汤显斌*

十堰市太和医院(湖北医药学院附属医院)病理科, 十堰 442000

[摘要] **目的:**探讨针吸细胞学(FNAC)联合荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)对肺外结核病的诊断价值。**方法:**收集经 FNAC 判断为可能感染结核分枝杆菌或需排除感染结核分枝杆菌的 57 例患者的体表囊肿穿刺液。提取穿刺液中的 DNA, 并采用 qPCR 法检测其中有无结核分枝杆菌 DNA。将 qPCR 检测结果、FNAC 诊断与临床诊断进行比较。**结果:**临床确诊者 23 例, FNAC 诊断符合率为 82.61%(19/23), qPCR 检测结果符合率为 86.96%(20/23), 2 种方法联合应用可使诊断符合率达到 92.98%(22/23)。**结论:**采用 FNAC 联合 qPCR 方法能对肺外结核病作出较准确诊断, 准确率高于 2 种方法单独应用。

[关键词] 针吸细胞学; 荧光定量聚合酶链式反应; 肺外结核病

[中图分类号] R 52 **[文献标志码]** A

Diagnostic value of extra-pulmonary tuberculosis by fine needle aspiration cytology combined with qPCR for extrapulmonary tuberculosis

WANG Li, HAO Ying-hua, LIU Ping, CHENG Xiu-weng, TANG Xian-bin*

Department of Pathology, Taihe Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, Hubei, China

[Abstract] **Objective:** To explore the diagnostic value of fine needle aspiration cytology (FNAC) combined with fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qPCR) for suspected extrapulmonary tuberculosis. **Methods:** A total of 57 patients probably infected by *mycobacterium tuberculosis* (TB) or needed to be excluded from infected TB were selected, and their puncture fluid of body surface cysts were collected. DNA was extracted from the puncture fluid and the qPCR method was used to detect the DNA of TB. The results of qPCR detection, FNAC, and clinical diagnosis were compared. **Results:** Based on clinical diagnosis ($N=23$), the diagnostic coincidence rate of FNAC was 82.61% (19/23), and the coincidence rate of qPCR test was 86.96% (20/23). The diagnostic coincidence of the combination of two methods was 92.98% (22/23). **Conclusions:** Fine needle aspiration cytology combined with qPCR can effectively diagnose the extrapulmonary tuberculosis, and the diagnosis rate is higher than single method.

[Key Words] fine needle aspiration cytology; fluorescence quantitative polymerase chain reaction; extrapulmonary tuberculosis

目前,结核病仍然是严重威胁人类健康的传染病。2016 年 WHO 发布的统计数据显示,仅 2015 年,全球范围内就有 1 000 多万的新发结核病患者,180 万人死于结核^[1]。结核病的病原菌为结核分枝杆菌复合群(*mycobacterium tuberculosis* complex, MTBC)^[2]。最常见的感染部位是肺,而发生在肺外的结核感染更为隐匿,易漏诊^[3]。

患者因须明确病变性质到病理科行细胞学检查,其中相当一部分为可疑肺外结核病。本科采用针吸细胞学(fine needle aspiration cytology, FNAC)联合实时荧光定量聚合酶链式反应(real-time fluorescence quantitative polymerase chain

reaction, qPCR)做出诊断与鉴别,效果满意,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择湖北省十堰市太和医院 2016 年 4 月至 2018 年 12 月经 FNAC 涂片显示为可疑结核病感染或需排除结核病感染的患者 57 例。其中,男性 28 例、女性 29 例,年龄 15~77 岁,中位年龄 39 岁。样本来源于表浅可触及体表囊肿的穿刺液,其中淋巴结 46 例,关节腔 2 例,泌尿生殖系统 4 例,胸腹壁 5 例。

1.2 FNAC 检查 常规局部消毒,用左手拇指及

[收稿日期] 2019-06-10 **[接受日期]** 2019-07-29

[作者简介] 王 莉,主管技师。E-mail: jeevzhang@163.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 0719-8801145, E-mail: taihecexu@163.com

示指固定穿刺部位,右手持 10 mL 一次性塑料注射器(7 号针头)前后左右多方向穿刺取材。将部分穿刺液均匀涂抹于载玻片上,95%乙醇固定,苏木精-伊红(H-E)染色,在 BX51 生物显微镜(奥林巴斯)下观察。其余穿刺液预留,用于 qPCR 检测。

1.3 提取 DNA 在穿刺液中加入 2~3 倍体积的 4%NaOH 溶液,37℃水浴 0.5~1 h,至完全液化。16 000×g 离心 10 min,弃上清,加入 1 mL 0.9%氯化钠液并一起移入 1.5 mL 离心管中。16 000 ×g 离心 10 min,弃上清,根据沉淀量加入 30~50 μL DNA 提取液,吹打混匀,37℃水浴 30 min,再 100℃干浴 10 min,16 000 ×g 离心 10 min,取上清检测 DNA。

1.4 qPCR 检测 荧光定量 PCR 仪购自 ABI 公司 (ABI7500);结核分枝杆菌核酸检测试剂盒(PCR-

荧光探针法)购自 qiagen 公司。qPCR 反应总体系为 40 μL,包括反应液 37.8 μL、Taq 酶 0.2 μL、UNG 0.06 μL 及待测 DNA 样本 2 μL。设阴性对照、强阳性对照和临界阳性对照。PCR 反应条件:37℃去除污染 5 min;94℃预变性 1 min;95℃变性 5 s、60℃退火加延伸 30 s,共 40 个循环。实验结果按照说明书进行判读。

2 结 果

2.1 临床诊断结果 57 例可能感染或需排除感染结核分枝杆菌的患者中,判断倾向结核者 43 例,倾向其他但需排除结核者 14 例。57 例中有临床确诊结果者 23 例,其中结核分枝杆菌阳性 16 例、阴性 7 例(表 1)。

表 1 样本检测结果比较

序号	部位	FNAC	qPCR	临床诊断	序号	部位	FNAC	qPCR	临床诊断
1	左腮腺	-	-	-	30	颈部淋巴结	+	+	ND
2	左膝关节	-	-	-	31	颈部淋巴结	+	+	ND
3	左颌下淋巴结	-	-	-	32	颈部淋巴结	+	+	ND
4	胸大肌脓肿	-	-	-	33	颈部淋巴结	+	+	ND
5	颈部淋巴结	-	-	-	34	右侧腋窝淋巴结	+	+	ND
6	左腋窝淋巴结	-	-	-	35	颈部淋巴结	+	+	ND
7	颈部淋巴结	+	+	-	36	颈部淋巴结	+	+	ND
8	右锁骨上淋巴结	+	-	+	37	颈部淋巴结	+	-	ND
9	右侧附睾	+	+	+	38	颈部淋巴结	-	+	ND
10	颈部淋巴结	+	+	+	39	颈部淋巴结	+	+	ND
11	颈部淋巴结	+	+	+	40	颈部淋巴结	+	+	ND
12	颈部淋巴结	+	+	+	41	颈部淋巴结	+	+	ND
13	右上腹壁脓肿	+	+	+	42	颈部淋巴结	+	+	ND
14	右侧髂腰脓肿	+	+	+	43	颈部淋巴结	+	-	ND
15	右侧附睾	+	+	+	44	颈部淋巴结	+	+	ND
16	右锁骨上淋巴结	+	+	+	45	颈部淋巴结	+	+	ND
17	颈部淋巴结	+	+	+	46	颈部淋巴结	+	+	ND
18	附睾	+	+	+	47	颈部淋巴结	+	+	ND
19	颈部淋巴结	+	+	+	48	颈部淋巴结	+	+	ND
20	胸壁皮下囊肿	+	-	+	49	右侧背部包块	+	+	ND
21	颈部淋巴结	-	+	+	50	右侧腋窝淋巴结	+	-	ND
22	颈部淋巴结	-	+	+	51	右侧颌下淋巴结	-	-	ND
23	颈部淋巴结	-	+	+	52	左侧腹股沟淋巴结	+	+	ND
24	颈部淋巴结	-	-	ND	53	右侧颌下淋巴结	+	+	ND
25	颈部淋巴结	+	+	ND	54	右侧锁骨上淋巴结	+	+	ND
26	左侧附睾	+	+	ND	55	左侧锁骨上淋巴结	+	+	ND
27	颈部淋巴结	+	+	ND	56	颈部淋巴结	-	-	ND
28	颈部淋巴结	+	+	ND	57	颈部淋巴结	-	-	ND
29	颈部淋巴结	+	+	ND					

2.2 FNAC 初筛结果 57 例样本中, FNAC 检测为结核阳性 43 例、阴性 14 例, 诊断符合率为 82. 61% (19/23); 假阴性 3 例、假阳性 1 例(表 1、图 1)。

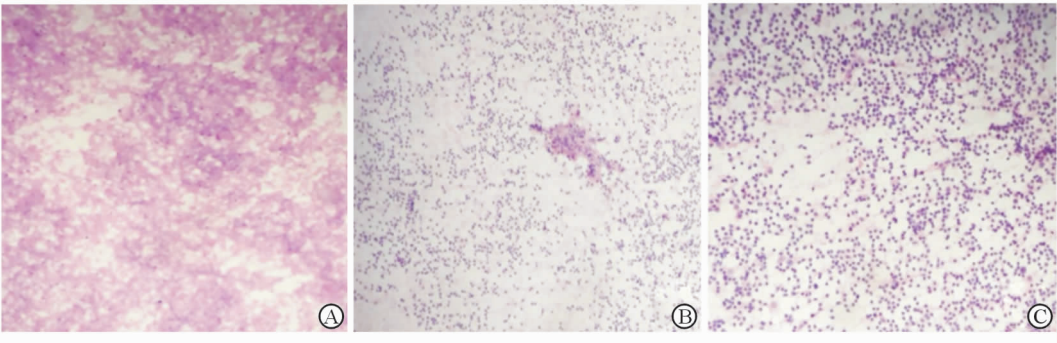


图 1 组织结核分枝杆菌 FNAC 检查结果(H-E 染色)

A: 阳性, 可见坏死; B: 阳性, 可见朗汉斯巨细胞; C: 阴性, 仅见大量淋巴细胞. Original magnifications: $\times 10$ (A, B), $\times 20$ (C)

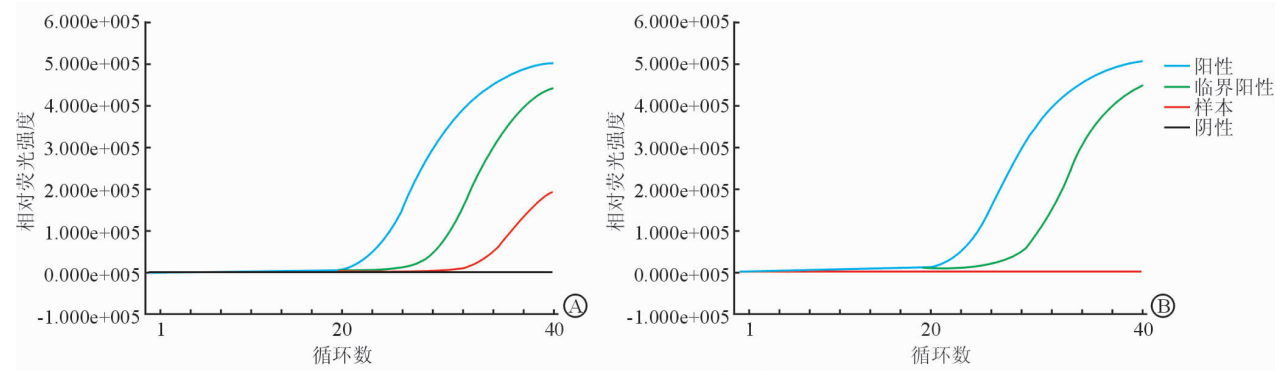


图 2 结核分枝杆菌 qPCR 典型检测结果

A: 阳性; B: 阴性

2.4 FNAC 与 qPCR 联合诊断结果 有临床确诊结果的 23 例患者中, FNAC 联合 qPCR 检测为结核阳性 16 例、阴性 7 例, 诊断符合率为 92. 98% (22/23); 假阳性 1 例(表 1)。

3 讨论

肺外结核病指发生在肺以外的结核病, 发生率占结核病的 12. 0%~28. 5%^[4]。肺外结核病的临床表现多不典型, 诊断有一定困难。传统的检测方法, 如痰涂片找抗酸杆菌、抗酸染色等阳性率低, 且结核杆菌培养法周期很长, 难以满足临床需要^[5]。

与其他检测方法相比, FNAC 具有检测快速、创伤小、费用低、特异性高和敏感性高的优点。Saatian 等的研究^[6]中, 100 例颈部包块的 FNAC 检测结果与组织病理检测的符合率可达 79%。本研究中, FNAC 的阳性预测值为 92. 86% (13/14), 阴性预测值为 66. 67% (6/9), 诊断符合率为 82. 61% (19/23), 与上述研究相似。结核病的细胞学表现多为均匀粉染的彻底性坏死, 可见类上皮细胞或郎

2.3 qPCR 检测结果 57 例样本中, qPCR 检测为结核分枝杆菌阳性 42 例、阴性 15 例, 诊断符合率为 86. 96% (20/23); 假阴性 2 例、假阳性 1 例(表 1、图 2)。

汉斯巨细胞^[7]。但结核病有时与其他类上皮细胞肉芽肿难以鉴别, 如真菌感染、结节病等; 也可能与某些化脓性感染难以区分, 如有液化坏死或混合感染时, 也可见脓细胞和坏死物^[8]。因此, 诊断结核病时, 需将 FNAC 与其他检测方法联合应用。

qPCR 可特异性地扩增模板 DNA 上的一段序列, 并通过荧光标记的探针实时记录扩增产物的量, 具有操作简便、敏感、特异的优点。目前, qPCR 法已广泛应用于石蜡包埋组织样本中结核杆菌核酸的检测^[9-10], 效果较好, 但在穿刺液中的应用还鲜有报道。本研究采用的 qPCR 试剂盒包含 dUTP-UNG 酶防污染系统, 可有效降低假阳性。在有临床确诊结果的 23 例患者中, qPCR 的阳性预测值为 93. 33% (14/15), 阴性预测值为 75% (6/8), 与临床诊断的符合率达 86. 96% (20/23), 本研究中 qPCR 对结核分枝杆菌感染的检测率较高除了与其准确率较高有关外, 还与前期 FNAC 筛选及例数较少有一定关系。为避免漏诊, 建议对所有 FNAC 涂片镜检时发现有类上皮细胞, 伴或不伴坏死的样本行

qPCR 检测。

综上所述, FNAC 是诊断肺外结核病, 尤其是有体表囊肿的肺外结核病的首选手段, 可在减轻患者痛苦的基础上减少漏诊。将 FNAC 和 qPCR 法联合用于肺外结核病, 可提高诊断准确率。

参考文献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2019 [EB/OL]. Geneva, Switzerland: WHO Press, 2019 (2019-11-20) [2019-10-17]. http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/.
- [2] 中华医学会结核病学分会, 结核病病理学诊断专家共识编写组. 中国结核病病理学诊断专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2017, 40(6): 419-425.
- [3] 张 瑞. 实时荧光定量 PCR 在疑似肺外结核诊断中的应用价值[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(2): 239-240, 241.
- [4] 傅衍勇, 李敬新, 江丽娜, 等. 2011—2013 年天津市医疗机构报告肺外结核的情况调查[J]. 中国防痨杂志, 2016, 38(2):

104-109.

- [5] 况 宇, 万腊根, 程小平, 等. 荧光定量聚合酶链反应在颈部、胸壁脓肿穿刺液中诊断结核的应用[J]. 实验与检验医学, 2011, 29(4): 450.
- [6] SAATIAN M, BADIE B M, SHAHRIARI S, et al. FNA diagnostic value in patients with neck masses in two teaching hospitals in Iran[J]. Acta Med Iran, 2011, 49(2): 85-88.
- [7] 李加平. 荧光定量聚合酶链反应在淋巴结核鉴别诊断中的应用[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(1): 67-68.
- [8] 钱 同, 朱立强. 针吸细胞学在诊断儿童颈部肿块中的应用价值[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(24): 3732-3733, 3734.
- [9] 罗春英, 王建东, 王 璇, 等. 荧光定量聚合酶链反应检测石蜡包埋组织结核杆菌的应用价值[J]. 中华病理学杂志, 2012, 41(8): 562-563.
- [10] POLEPOLE P, KABWE M, KASONDE M, et al. Performance of the Xpert MTB/RIF assay in the diagnosis of tuberculosis in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues[J]. Int J Mycobacteriol, 2017, 6(1): 87-93.

[本文编辑] 姬静芳

