

• 检验技术与方法 •

多种肺结核临床实验室诊断方法的比较分析

郑 强,李朝金,苟 莉,何 鹏,徐小渊

(攀枝花市第六人民医院检验科,四川攀枝花 617023)

摘 要:**目的** 探讨多种结核分枝杆菌(MTB)实验室诊断方法联合应用对肺结核的诊断价值。**方法** 比较结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT. TB)、痰涂片、痰培养和结核分枝杆菌核酸(MTB-DNA)等 4 种方法及其两两联合应用对肺结核病的诊断灵敏度、特异度、漏诊率、符合率及正确诊断指数。**结果** T-SPOT. TB 联合 MTB-DNA 检测的灵敏度高于其余各种方法,其漏诊率低于其余各种方法,而符合率和正确诊断指数均高于其余各种方法,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** T-SPOT. TB 联合 MTB-DNA 检测方法可以成为早期诊断结核病的辅助检查方法。

关键词:结核; 痰涂片; 痰培养

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.21.034

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)21-2941-02

Comparative analysis of various clinical laboratory diagnosis methods of pulmonary tuberculosis

Zheng Qiang, Li Chaojin, Gou Li, He Peng, Xu Xiaoyuan

(Department of Clinical Laboratory, the Sixth People's Hospital of Panzhihua, Panzhihua, Sichuan 617023, China)

Abstract:**Objective** To discuss the value of combination of various clinical laboratory methods in the diagnosis of Mycobacterium tuberculosis(MTB). **Methods** T-SPOT. TB, sputum smear, sputum culture, and MTB-DNA detection were used to detect MTB. The sensitivity, specificity, rate of missed diagnosis, coincidence rate and correct diagnosis index for tuberculosis diagnosis of the four methods and their pairwise combinations were analyzed and compared. **Results** Comparing with other methods, T-SPOT. TB combined with MTB-DNA detection had the highest sensitivity, coincidence rate and correct diagnosis index, and the lowest rate of missed diagnosis, with significant difference($P<0.05$). **Conclusion** T-SPOT. TB combined with MTB-DNA detection could be used as an adjuvant method for the early diagnosis of tuberculosis.

Key words:tuberculosis; sputum smear; sputum culture

由结核分枝杆菌(MTB)引起的结核病是一种慢性传染病,全身各个器官均可受累,其中以肺感染 MTB 最为常见。近 20 年来,结核病在全球的发病率有回升态势^[1]。根据世界卫生组织统计,MTB 感染人数约占全球人口的 1/3,且每年新增结核病患者约 800 万例,其中由 MTB 感染所导致的死亡人数约为 200 万,且病死率不断上升。而在传染病所致的死亡人数中,由非 MTB 感染的其他类型不到 50%^[2]。目前,早期诊断并治疗结核病是控制结核分枝杆菌感染和传播的主要措施,而当今临床诊断结核病的实验室方法主要有结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT. TB)、痰涂片、痰培养和结核分枝杆菌核酸(MTB-DNA)检测等 4 种方法,本文比较了这 4 种方法两两联合应用对诊断肺结核的价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2012 年 3 月至 2013 年 12 月住院的 90 例临床确诊为肺结核的患者(肺结核组),诊断依据 WS288-2008 诊断标准,其中男 48 例,女 42 例,年龄 30~75 岁。选择同期临床非结核病的呼吸道感染患者 60 例作为对照组,其中男 38 例,女 22 例,年龄 40~80 岁。

1.2 方法

1.2.1 T-SPOT. TB 检测 试剂盒由上海长征复兴公司提供,采集患者的外周血,按照手册进行操作,提取单核细胞(PBMC),经培养显色后观察结果。如果阴性孔斑点数为 0~5 个,抗原 A 或 B 检测孔数量减去阴性孔数量大于等于 6,或者

检测显色孔数大于等于 2 倍阴性显色孔数,则说明为阳性;如果阳性显色孔显色良好,但抗原 A 或 B 均无显色孔显色,则说明是阴性。

1.2.2 痰涂片萋-纳氏抗酸染色 参照萋-纳氏抗酸染色原理并按“操作规程”操作,用干燥无菌容器收集患者清晨留取的痰标本,然后将痰标本的一部分用无菌棉签涂于干燥的载玻片上,待载玻片干后进行萋-纳氏抗酸染色,最后将染色后的载玻片置于镜下观察并计数抗酸杆菌,以每 100 个视野查见抗酸杆菌大于等于 3 个为阳性。

1.2.3 MTB-DNA 检测 试剂盒及仪器均由广州市凯杰股份有限公司提供,采用定量 PCR 方法,按 MTB-DNA 检测试剂盒说明书进行操作。

1.2.4 痰培养检测 采用罗氏培养基培养。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件,应用 χ^2 检验比较各组数据,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各种方法的灵敏度和特异度结果,见表 1。T-SPOT. TB 联合 MTB-DNA 检测的灵敏度显著高于其他方法,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 肺结核组 and 对照组各项检测指标结果,见表 2。T-SPOT. TB 联合 TB-DNA 检测的漏诊率最低,符合率和正确诊断指数最高,与其他方法相比,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 各种方法的灵敏度和特异度结果				
方法	肺结核组阳性(n=90)	对照组阴性(n=60)	灵敏度(%)	特异度(%)
T-SPOT. TB	75	57	83.33	95.00
痰涂片	13	60	14.44	100.00
痰培养	25	60	27.78	100.00
MTB-DNA	62	60	68.89	100.00
T-SPOT. TB+痰涂片	77	59	85.56	98.33
T-SPOT. TB+痰培养	79	60	87.78	100.00
痰涂片+MTB-DNA	68	60	75.56	100.00
痰涂片+痰培养	32	60	35.56	100.00
痰培养+MTB-DNA	70	60	77.78	100.00
T-SPOT. TB+MTB-DNA	87	59	96.67	98.33

表 2 各种方法检测指标结果			
方法	漏诊率(%)	符合率(%)	正确诊断指数
T-SPOT. TB	16.67	88.00	0.78
痰涂片	85.56	48.67	0.14
痰培养	72.22	56.67	0.28
MTB-DNA	31.11	81.33	0.69
T-SPOT. TB+痰涂片	14.44	90.67	0.84
T-SPOT. TB+痰培养	12.22	92.67	0.88
痰涂片+MTB-DNA	24.44	85.33	0.76
痰涂片+痰培养	64.44	61.33	0.36
痰培养+MTB-DNA	22.22	86.67	0.78
T-SPOT. TB+MTB-DNA	3.33	97.33	0.95

3 讨 论

结核病的早期诊断和治疗是非常重要的控制 MTB 感染和传播的方法,但其早期诊断较难。当今临床诊断结核病除了依靠 T-SPOT. TB、痰涂片、痰培养和 MTB-DNA 等多种实验室方法以外,仍然需要结合患者的临床表现、病史和影像学检查结果进行综合分析^[3]。传统的痰涂片萋-纳氏抗酸染色检测方法简单,费用低,但其灵敏度很低,且有很多局限性,因此漏诊率较高,符合率和正确诊断指数均很低^[4]。当今临床实验室诊断结核病的金标准仍是 MTB 培养,尤其是药敏实验结果在指导临床用药及耐药性监测等方面具有重要作用,但其周期长,灵敏度较低,有待完善^[5]。采用 PCR 检测 MTB-DNA 的方法,因其周期短、灵敏度较高,是近年来发现并被实验室广泛使用的 MTB 感染诊断新方法,该方法可以定量检测 MTB-DNA,并且所检测的 MTB 数量可达 1~20/mL^[6-7],因此该检测法的灵敏度高于传统的痰涂片萋-纳氏抗酸染色检测法和 MTB 培养方法。T-SPOT. TB 检测技术是一种国际上新开发的临床实验室检测技术,因其费用昂贵,操作较繁琐,因此其在国内临床实验室的推广与应用受到了很大的限制,但因其具有

高灵敏度的特点,现已成为欧洲临床实验室检测 MTB 感染的重要手段^[8-12]。

本研究中,MTB-DNA 与 T-SPOT. TB 两种检测方法的灵敏度分别为 68.89%和 83.33%,均比其他方法高(见表 1)。因此将这两种方法联合应用,大大提高了检测灵敏度,且符合率达到 97.33%,正确诊断指数为 0.93,漏诊率仅为 3.33%,均优于其他方法(见表 2)。

综上所述,痰涂片、痰培养和 MTB-DNA 漏诊率仍较高,不利于结核病的早期确诊和及时治疗,而 T-SPOT. TB 的灵敏度高于痰涂片、痰培养和 MTB-DNA,与 MTB-DNA 联合应用,可以成为结核病早期诊断的辅助检查方法。

参考文献

[1] Yew WW,Leung CC. Update in tuberculosis 2007[J]. Am J Respir Crit Care Med,2008,177(5):479-485.

[2] Losi M,Bossink A,Codecasa L,et al. Use of a T-cell interferon-γ release assay for the diagnosis of tuberculous pleurisy[J]. Eur Respir J,2007,30(6):1173-1179.

[3] 周为鸿. 结核诊断金标准探讨[J]. 实用诊断与治疗杂志,2006,20(10):741-742.

[4] Breen RAM,Hardy GAD,Perrin FMR,et al. Rapid diagnosis of smear-negative tuberculosis using immunology and microbiology with induced sputum in HIV-infected and uninfected individuals [J]. PLoS One,2007,2(12):1335.

[5] 杨新明,邹文玮. 不同方法检查痰中结核杆菌的结果及分析[J]. 实验与检验医学,2010,28(3):303-304.

[6] 韩敏,乐军. 结核病诊断和耐药性检测新技术[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(3):260.

[7] 中国疾病预防控制中心. 痰涂片镜检质量保证手册[M]. 北京:中国协和医科大学出版社,2004:5-18.

[8] 张玉平,丁显平,张丽媛,等. T-SPOT. TB、痰涂片和 TB-DNA 检测在肺结核诊断中的比较研究[J]. 成都医学院学报,2013,8(1):49-51.

[9] Meier T,Eulenbruch HP,Wrighton-Smith P,et al. Sensitivity of a new commercial enzyme-linked immunospot assay (T SPOT-TB) for diagnosis of tuberculosis in clinical practice[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis,2005,24(8):529-536.

[10] Steingart KR,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.

[11] Kim TC,Blackman RS,Heatwole KM,et al. Acid-fast bacilli in sputum smears of patients with pulmonary tuberculosis. Prevalence and significance of negative smears pretreatment and positive smears post-treatment[J]. Am Rev Respir Dis,1984,129(2):264-268.

[12] Fend R,Kolk AHJ,Bessant C,et al. Prospects for clinical application of electronic-nose technology to early detection of Mycobacterium tuberculosis in culture and sputum[J]. J Clin Microbiol,2006,44(6):2039-2045.