

结核病检查方法的研究进展

吴弟梅¹综述, 阳 萍²校审

(1. 合川区中医院检验科, 重庆 401519; 2. 重庆医科大学附属医院检验科, 重庆 400016)

关键词: 结核病; 检测方法; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 01. 046 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2015)01-0106-02

临床诊断结核病除了结合临床症状和病史资料外, 还依靠影像学检查、病理检查、实验室检查及结核菌素纯蛋白衍生物皮试(PPD)等辅助检查。实验室检查根据方法学不同可分为微生物学检查、免疫学检查、分子生物学检查、结核感染 T 细胞试验等, 现将各种检查方法的原理及优缺点综述如下。

1 影像学检查

通过超声、照片、CT 等手段对结核感染部位的形态改变、组织破坏、钙化等特点做出诊断。影像学检查快速、直观, 但特异性差, 因异病同影、同病异影及诊断思维局限的原因, 结核难与癌症和其它炎症性疾病区别^[1]。

2 病理学检查

结核病的典型病理变化为结核结节形成并伴有不同程度的干酪样坏死。病理学诊断结核就是将病灶组织切片, 通过脱水、透明、浸蜡、染色等处理后, 显微镜下观察是否有典型的结核结节, 即病灶中央为坏死物, 周围由类上皮细胞、朗格汉斯细胞、淋巴细胞和少量增生的纤维母细胞聚集而成^[2], 结合临床表现等对结核作出诊断。该法用时相对较短, 直观可靠, 但需要切取病灶组织, 对患者是一种损伤性的检查。

3 PPD 试验

PPD 试验是将结核杆菌纯化、灭菌后得到的一种蛋白衍生物注入患者的皮下, 使局部组织出现红肿和硬结, 红肿和硬结范围越大、越明显, 结核菌的感染程度就越强^[3]。PPD 试验方便、快速, 是一种辅助诊断结核的常用和传统方法。但其阳性率较低, 在迟发型变态反应、弱免疫力低下、应用免疫抑制剂、营养不良、百日咳、麻风等患者中可出现假阴性反应, 何绿英等^[4]报道 PPD 试验以硬结的直径大于或等于 15 mm 为判定标准时, 其灵敏度为 36. 6%, 漏诊率为 63. 4%, 高保护等^[5]报道 PPD 试验以硬结的直径大于或等于 15 mm 为判定标准时, 其灵敏度为 30. 3%, 漏诊率为 69. 7%。另外因 PPD 所含的抗原为多种分枝杆菌共有, 可与其他分枝杆菌发生交叉反应, 因此其特异性不高。PPD 试验对接种过卡介苗(BCG), 还是接触了环境中的分枝杆菌, 或是感染了结核杆菌也无法区别^[6]。因此, PPD 试验最好联合其它检查, 并结合临床表现综合分析, 才能得出正确的诊断。

4 实验室检查方法

4.1 微生物学检查 结核病的实验室检查方法较多, 包括微生物学检查、免疫学检查、分子生物学检查、结核感染 T 细胞试验等。微生物学检查是诊断结核的金标准, 包括直接涂片查找抗酸杆菌和结核杆菌的培养。直接涂片查找抗酸杆菌是将

病灶分泌物、浆膜腔积液等涂成薄片, 或将病灶组织压片, 固定后进行抗酸染色或金胺“O”荧光染色, 前者用普通光学显微镜观察, 后者用荧光显微镜观看^[7]。抗酸染色法较为经典, 目前被实验室广泛使用。荧光染色阳性率高, 适合大批量的样本检查, 一般认为它优于抗酸染色^[8]。而刘晓敏等^[9]报道荧光法对结核分枝杆菌的检查在八、九十年代普遍应用, 检查阳性率虽高, 但会出现假阳性, 此法现已少用。还有荧光染色的荧光会随时间的延长而衰减, 所以中国结核病防治规划 EQA 手册要求荧光染色法染色后应当日镜检, 如不能及时镜检也应放置于 4 ℃ 的冰箱中避光保存, 并于次日完成镜检, 需要复片时还要用抗酸染色复染^[10]。总之, 直接涂片染色法操作较为简便、快速、但阳性率低。结核杆菌的培养以前多以 Lowenstein Jensen 培养基培养, 接种后第一周每天观察一次生长情况, 以后每周观察 1 次, 直至 6~8 周, 根据初生长的时间、菌落形态、是否产生色素等特点作出判断, 此法经典, 特异性好, 但耗时太长^[11]。70 年代以后研究人员创立了分枝杆菌的快速液体培养法, 包括¹⁴C 标记的半自动和全自动快速分枝杆菌培养系统, 液体培养基内含有生物素, 触酶能刺激标本中受损的结核杆菌复苏, 这样在操作方便程度、分离率、报告速度等方面均有很大的提高, 临床实验室也得到广泛应用。

4.2 免疫学检查 结核杆菌是一种细胞内寄生菌, 可引起肺及其他脏器结核, 诱导机体产生抗感染的细胞免疫和体液免疫。一般认为, 这两种免疫反应在结核感染时可发生分离现象, 即活动性结核时免疫功能下降, 抗体的滴度升高。恢复期、稳定期细胞免疫功能增强而抗体滴度下降。免疫学检查法是用结核菌的菌体成分制成抗原或抗体, 检查患者血清中的结核抗体或抗原, 具有检查速度快、操作简单、敏感性和特异性均较好等特点, 对菌阴肺结核及不易取得细菌学检查标本的肺外结核、儿童结核病等的诊断有较高的参考价值^[12]。免疫学检测法根据抗原抗体反应时产生可见反应的标记物不同, 分为凝集试验包括胶乳凝集试验、反向间接凝集试验等, 酶联免疫吸附试验(ELISA)法, 免疫斑点法, 免疫金标技术等。与凝集法相比 ELISA 法的特异性和敏感性有一定程度的提高; ELISA 法和免疫斑点法的检测原理相近, 只是包被的支持物不同, 前者为聚苯乙烯固相载体, 后者为硝酸纤维薄膜, 但后者操作更为简便、可将常规的 ELISA 检测时间由 2~4 h 缩短到 5~15 min, 且所需试剂量少, 不需特殊设备, 肉眼可判读结果, 易于普及和推广, 特异性和敏感性也得到了保持。而免疫金标技术是在免疫斑点技术基础上发展而来, 用胶体金代替了酶标记, 利

用金颗粒的高电子密度特性,当标志物在配体处大量聚集时,肉眼即可见红色斑点,因而可用于定性或半定量检测。

4.3 分子生物学检查 分子诊断技术是利用检测结核菌的基因方法而诊断结核病,包括 PCR、DNA 探针、DNA 芯片等技术,文献报道 PCR 技术可检测出 10~100 个结核杆菌。胡静等^[13]报道 PCR 对结核的阳性检出率达 74.4%。因此 PCR 在结核分枝杆菌检测中为一种灵敏、快速、简便的方法,但由于环境、操作、标本污染等会造成检测结果的假阳性(假阳性率达到了 11.06%),且不同样本假阳性率不同,痰、纤刷物及胸腔积液的假阳性率较高,血液样本假阳性率较低,所以 PCR 技术若再能与其他检测方法有机结合,对检查结果综合分析,可大大提高检测特异性。DNA 芯片技术是将结核分枝杆菌 DNA 的保守片段分数段固定在芯片上,与结核分枝杆菌杂交,以检测结核分枝杆菌,该技术适于基因表达、基因功能研究,基因分型和序列分析,最大优势是能同时分析成千上万个基因^[14]。景奉香^[15]报道采用该法检测结核分枝杆菌对利福平的耐药情况,发现 84.6%的耐药菌株可被检测出来,其结果与测序结果一致。潘建华等^[16]报道该技术具有简便快速敏感的特点,DNA 芯片杂交方法适用于临床批量结核分枝杆菌耐药性的初筛。

4.4 结核感染 T 细胞试验 结核感染 T 细胞斑点实验技术(T-SPOT. TB),由酶联免疫斑点技术发展而来,酶联免疫斑点技术是一种新型的免疫酶技术,从单细胞水平检测分泌抗体或分泌细胞因子细胞。T-SPOT. TB 使用结核分枝杆菌特异性抗原刺激外周血单个核细胞,通过细胞因子 γ 干扰素的分泌检测抗原特异性 T 淋巴细胞的应答反应,从而判断结核的感染状态,具有较高的敏感性和特异性^[17-18],张瑛等^[19]报道 T-SPOT. TB 检测诊断结核性疾病敏感性、特异性分别为 94.4%、95.2%,谢希等^[20]报道 T-SPOT. TB 诊断结核的敏感性 89.3%、特异性 85.5%。免疫抑制状态也不影响 T-SPOT. TB 的敏感性^[21],适用于免疫低下、接受免疫抑制剂治疗患者结核感染的检测。该法检查时间不长,24 h 即可出结果,但操作较繁琐、成本较高,限制了其在临床的推广和应用。它不能区分隐匿性结核和活动性结核,我国结核发病率高,隐匿性结核多,这削弱 T-SPOT. TB 在诊断活动性肺结核时的特异性^[20]。

5 小 结

结核病的诊断可从患者的临床表现、影像学检查、病理诊断、实验室检查等多方面入手,每种检查方法都有其优缺点,特别是实验室检查根据检测原理不同,所需的试剂、设备、检出时间大不相同,检测结果的敏感性和特异性也有较大的差异,只有充分了解各种检查方法的优缺点、影响因素,再根据病原量、设备、技术力量等选择检查方法,必要时对可疑的患者联合多种检测方法同时进行,综合分析检查结果,方能做出正确的诊断。

参考文献

[1] 高长乐,林家声.肺癌与肺结核的影像学鉴别诊断[J].中国社区

医师:医学专业半月刊,2009,11(18):173-174.

- [2] 李玉林.病理学[M].北京:中国协和医科大学出版社,2011:325-326.
- [3] 李艳英.基层常用结核病诊断及展望[J].临床肺科杂志,2012,17(11):2103-2104.
- [4] 何绿茵,叶惠芬,杨银梅,等.多种实验室检查方法在结核病诊断中的价值[J].实验与检验医学,2009,27(1):104-105.
- [5] 高保护,杨江莉.痰菌阳性肺结核 211 例 PPD 试验及血清抗结核抗体检查分析[J].陕西医学杂志,2006,35(1):33-34.
- [6] Bosman M, Swai OB, Kwamanga DO, et al. National tuberculin survey of Kenya, 1986-1990[J]. Int J Tubercul Lung Dise, 1998, 2(4): 272-280.
- [7] 倪语星,尚红.临床微生物学与检验[M].第 4 版.北京:人民卫生出版社,2007:244-245.
- [8] 赵群莉.常见实验室结核菌检测的方法及进展[J].医学综述,2010,16(13):2051-2052.
- [9] 刘晓敏.结核分枝杆菌的实验室检查及其临床应用[J].实用医技杂志,2008,15(2):262-264.
- [10] 端木宏谨,王黎霞.中国结核病控制的可持续发展问题的探讨[J].中国防痨杂志,1999,21(2):7-8.
- [11] 张卓然.临床微生物学和微生物检验[M].第 3 版.北京:人民卫生出版社,2003:218-220.
- [12] 王海英,于春宝,王燕,等.TB-SA 抗体检测对结核病临床诊断价值的研究[J].中国防痨杂志,2008,30(1):33-36.
- [13] 胡静,袁文清.PCR 技术检测体液中结核分枝杆菌的结果分析[J].国际检验医学杂志,2013,34(5):588-589.
- [14] 王祖恩,汤红丽,马钰婷,等.结核病的分子生物学诊断进展[J].吉林医学,2012,33(13):2821-2822.
- [15] 景奉香.肺结核的诊断及鉴别诊断新进展学术研讨会纪要[J].中华结核和呼吸杂志,2001,24(7):397.
- [16] 潘建华,彭雪峰,邓为之,等.DNA 芯片技术检测结核分枝杆菌耐药基因[J].临床肺科杂志,2010,15(6):825-828.
- [17] Al-Zamel FA. Detection and diagnosis of Mycobacterium tuberculosis[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2009, 7(9): 1099-1108.
- [18] Lalvani A, Pareek M. Interferon gamma release assays: principles and practice[J]. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2010, 28(4): 245-252.
- [19] 张瑛,孙亚蒙,徐欣晖,等.结核感染 T 细胞斑点试验在结核性疾病中的诊断价值[J].中华临床医师杂志:电子版,2010,4(12):2431-2434.
- [20] 谢希,陈进伟,高洁生,等.结核感染 T 细胞斑点试验在结核诊断中的应用[J].临床内科杂志,2010,27(6):396-399.
- [21] Kim SH, Song KH, Choi SJ, et al. Diagnostic usefulness of a T-cell-based assay for extrapulmonary tuberculosis in immunocompromised patients[J]. Am J Med, 2009, 122(2): 189-195.

(收稿日期:2014-09-17)