

• 论 著 •

痰涂片和 TB-DNA 及血清抗 PPD-IgG 在肺结核感染诊断中的联合应用

张 梅

(清远市人民医院检验科, 广东清远 511518)

摘要:目的 探讨痰 TB-DNA 定性及血清抗结核抗体及痰抗酸染色检测方法在肺结核感染诊断中的联合应用价值。方法 以 2013 年 1 月至 2015 年 6 月在清远市人民医院就诊的肺结核患者 278 例为研究对象。另择性别、年龄匹配的同期入院非肺结核病患者 121 例为对照组。现通过收集该肺结核患者的 TB-DNA 定性和血清抗结核抗体及抗酸染色的检测结果进行分析, 探讨痰 TB-DNA 定性及血清抗结核抗体检测及抗酸染色在肺结核感染诊断中的联合应用。结果 结核组中抗酸染色灵敏度为 32.01%; 血清抗结核抗体灵敏度为 51.44%; TB-DNA 定性灵敏度为 48.56%; TB-DNA 定性和血清抗结核抗体联合检出率为 67.63%; TB-DNA 定性和抗酸染色联合检出率为 54.68%; 血清抗结核抗体和抗酸染色联合检出率为 57.55%; 三者联合检出率为 68.71%。结论 血清抗结核抗体检测对肺结核的诊断简单、有效, 灵敏度优于 TB-DNA 定性检测及抗酸染色, 但其特异度比较低。细菌学诊断是结核病诊断的“金标准”, 但是痰涂片寻找抗酸杆菌的阳性率低, 而 TB-DNA 定性检测快速又准确。血清抗结核抗体及痰抗酸染色及痰 TB-DNA 定性检测联合应用于肺结核诊断效果更佳。

关键词: 结核抗体; 抗酸染色; 聚合酶链反应; 肺结核

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.04.030

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)04-0504-02

Combined detection of sputum smears, sputum TB-DNA and serum anti-PPD-IgG in diagnosis of tuberculosis

Zhang Mei

(Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Qingyuan City, Qingyuan, Guangdong 511518, China)

Abstract: **Objective** To explore the value of combined application of qualitative detection of TB-DNA serum anti-PPD-IgG and acid-fast staining methods in the diagnosis of tuberculosis infection. **Methods** Totally 278 pulmonary tuberculosis patients and 121 non-pulmonary tuberculosis patients were collected from Qingyuan people's hospital during the period from January 2013 to June 2015. Tuberculosis in patients with TB-DNA qualitative and serum anti-PPD-IgG and acid-fast staining test results was analyzed. Sputum TB-DNA qualitative and serum anti-PPD-IgG detection and joint application of acid-fast staining in the diagnosis of tuberculosis infection. **Results** Sensitivities of acid-fast staining, TB-DNA and serum anti-PPD-IgG in the TB group were 32.01%, 51.44% and 48.56% respectively. The detectable rate of combining TB-DNA with serum PPD-IgG was 67.63%. The detectable rate of combining TB-DNA with acid-fast staining was 54.68%. The detectable rate of combining serum anti-PPD-IgG with acid-fast combined rate was 57.55%. The detectable rate of combining three assays improved to 68.71%. **Conclusion** Serum anti-PPD-IgG detection in the diagnosis of tuberculosis is simple, effective, qualitative detection of acid-fast staining sensitivity better than TB-DNA, but it had a poor specificity. Bacteriologic diagnosis are tuberculosis diagnostic "gold standard", but the detectable rate for acid-fast bacilli is low. The qualitative of TB-DNA test had a better sensitivity and specificity than other two assay. Combining with three assays could increase detectable rate and improve diagnosis of tuberculosis disease.

Key words: tuberculosis antibody; acid fast stain; polymerase chain reaction; tuberculosis

结核病是由结核分枝杆菌感染引起的可累及全身多系统多器官的疾病, 是由单一致病菌感染导致病死率最高的人畜共患传染病。其严重危害人民群众的健康, 而这最重要的原因, 就是其早期诊断技术不理想。实验室常用抗酸染色检查痰中的结核分枝杆菌为金标法筛查肺结核^[1-2], 但其漏检率高, 目前一般采用的检测血清抗结核抗体(PPD-IgG)的方法为胶体金法, 此法快速、简便、灵敏度高, 是目前比较理想的筛查方法, 但其特异度不高, 如能结合痰 TB-DNA 定性检测, 则能提高其检测的准确性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 1 月至 2015 年 6 月在清远市人民医院就诊的以各方面综合考虑为肺结核患者, 入选病例包括诊断为肺结核的患者 278 例, 男 215 例, 女 63 例, 最大年龄为 95

岁, 最小年龄为 14 岁, 平均年龄为 54.8 岁, 纳入肺结核病例组的严格遵照世界卫生组织(WHO)《肺结核诊断指南》诊断标准: (1) 症状典型如有接触病史、潮热、盗汗、咳嗽、咯血; (2) 体征典型如消瘦、贫血、肺上部湿啰音; (3) X 线片表现典型(病灶位于上叶后或下叶背段, 浸润、增殖、空洞、钙化多种性质病灶并存, 同侧或对侧有播散病灶)或痰菌抗酸染色阳性或抗结核治疗有效即可诊断。另择性别、年龄匹配的同期入院非肺结核病患者 121 例, 男 79 例, 女 42 例, 最小年龄为 9 岁, 最大年龄为 88 岁, 平均年龄 56.6 岁为对照组。排除标准: (1) 本次入院前已存在严重的肝肾疾病、恶性肿瘤等严重的系统性疾病; (2) HIV 的患者; (3) 孕妇或哺乳妇女及对药物过敏的患者。所有入选者在就诊期间, 取痰液送往检验科微生物室进行痰涂片, 进行抗酸染色; 另取痰液送往广东省金域检验中心检测痰液

TB-DNA;空腹采集静血 3 mL,分离血清送往检验科免疫室检测 PPD-IgG。

1.2 仪器与试剂 日本 OLYMPUS 公司的光学显微镜(O-OLYMPUS-BX41);美国伯乐公司的 CFX-96 荧光定量 PCR 仪。杭州天和微生物试剂有限公司的抗酸染液;上海奥普生物医药有限公司的结核分枝杆菌抗体诊断试剂盒;凯杰生物工程有限公司的结核分枝杆菌核酸检测试剂盒。

1.3 方法 抗酸染色在加热条件下使分枝菌酸与石炭酸复红牢固结合成复合物,石炭酸复红染色后,用盐酸乙醇分色,当再加碱性美兰复染后,分枝杆菌仍然为红色,而其他细菌及背景中的物质为蓝色。涂片染色镜检严格按《结核病诊断实验室检验规程》^[3]和试剂说明书进行。镜检结果按以下方式报告:连续观察 300 个不同视野,未发现抗酸杆菌为抗酸杆菌阴性(-);否则为抗酸杆菌阳性(+)。PPD-IgG 试验步骤:在反应板的反应孔中间,依次加入 2 滴封闭液、40 μ L 血清标本、6 滴洗涤液、2 滴金标液、6 滴洗涤液,等待薄膜吸入。结果读取,薄膜中间有红圆点为阳性,否则为阴性。FQ-PCR 检测严格按试剂说明书进行。主要实验操作包括样本液化、DNA 提取、扩增试剂准备、加样和 PCR 扩增。反应条件:先在 37 $^{\circ}$ C 扩增 3 min;93 $^{\circ}$ C 再变性 1 min;93 $^{\circ}$ C 退火 5 s,最后在 60 $^{\circ}$ C 延伸 40 s,以 20 μ L 的反应体系重复 40 个循环。

1.4 统计学处理 按涂片抗酸染色镜检结果及 PPD-IgG、TB-DNA 检测结果均以阴性(-)、阳性(+)对检测样本进行分类。采用 SPSS17.0 统计学软件,采用 χ^2 检测结核阳性率的比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结核抗酸染色两组检测结果的灵敏度及特异度比较 肺结核病例组血清结核抗体检测的阳性率为 32.01%,显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。在结核组别中,阳性 89 例,阴性 189 例,灵敏度为 32.01%;在非结核组别中,全部为阴性结果,特异度为 100.00%,约登指数为 32.01%。

2.2 血清抗结核抗体两组检测结果的灵敏度及特异度比较结果 肺结核病例组血清结核抗体检测的阳性率为 51.44%,显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。在结核组别中,阳性为 143 例,阴性为 135 例,灵敏度为 51.44%;在非结核组别中,阳性为 41 例,阴性为 80 例,特异度为 66.12%,约登指数为 17.56%。

2.3 结核核酸定性两组检测结果的灵敏度及特异度比较 肺结核病例组痰 TB-DNA 阳性率 48.56%,显著高于对照组(阳性率为 0),差异有统计学意义($P < 0.05$)。在结核组中阳性为 135 例,阴性为 143 例,灵敏度为 48.56%;在非结核组别中,全部为阴性,特异度为 100.00%,约登指数为 48.56%。

2.4 各种检测方法的检测结果检出率比较 各种检测方法诊断肺结核感染中,由单一痰抗酸染色检测方法检出率为 32.01%,血清抗体检出率为 51.44%,由痰 PCR 检出率为 48.56%;三者的联合检出率为 68.71%。

3 讨论

结核病目前在我国发病率极高,其特点依然是流行性高、感染性高、患病情况严重、耐药性高、病死率较高、疫情难以递减。发现患者,实施治疗和系统管理,直到传染源完全消灭是

结核病控制的最重要措施。发现患者主要属于肺结核诊断问题,只有确诊了才可以采取措施进行治疗,及时诊断或延误诊断都能够影响到治疗效果和预后问题,所以肺结核诊断对流行病学和临床治疗有非常重要的意义。呼吸系统疾病属于常见肺结核疾病的临床症状。通常在肺结核诊断中,痰和病变组织检测结核杆菌属于最为可靠的诊断方法,被认为是金标准。胸部 X 线片检查通常无法确诊肺结核,因为有其他类似肺部疾病,如肺炎、肺部肿瘤等疾病也能够发生相似的肺部 X 线影像学资料。所以,在大多数发展中国家,检查痰中细菌学,通常可以作为诊断肺结核的唯一指标。但是,此种方法的检出率比较低,若是只使用此痰结核菌检查方法作为诊断的唯一标准,有可能导致大多数结核患者出现漏诊。在全国肺结核流行病学调查当中,痰菌呈现阴性的肺结核患者占总的结核患者的 60%~70%。在实际临床应用中,痰菌出现阴性且通过临床综合资料确诊为肺结核病的患者占临床诊断为肺结核病例的 70%~80%。因此,在临床实际应用中,如果没有得到病原学确诊依据,菌阴肺结核的诊断依然需要按照临床资料综合分析进行确诊避免发生误诊。

通过本研究发现,单独使用一种检测方法来诊断肺结核是非常不理想的,而使用 3 种检测方法联用对肺结核的灵敏度和准确度最高,和一些发表的研究文献结果相一致^[4]。PPD-IgG 属于肺结核基本诊断中比较传统的方法,阳性者显示患者已经感染了结核杆菌且存在抗结核杆菌的免疫力,但是并无法确定其就是结核病,其特异性也比较差。使用通常认为强阳性才能成为其诊断的标准,能够避免过度误诊。本研究发现,痰结核分枝杆菌抗酸染色检测、血清结核分枝杆菌抗体检测、痰结核分枝杆菌核酸定性联合检测,检测率为 68.71%,明显优于其他组合,可减少肺结核分枝杆菌感染的漏诊率。

诊断中以痰 TB-DNA 作为检测标准^[5],并不完善,容易漏诊误诊,最好使用多种方法联检,确保得到最高检出率以及最低的误诊率。本研究涉及的检测方法如痰结核分枝杆菌抗酸染色检测、PPD-IgG 检测、痰 TB-DNA 等都比较经济、方便,可以快速确认,适合在基层医院使用,有较高的价值^[6]。

参考文献

- [1] 王成勇,李益荣. 3 479 例肺结核患者痰标本抗酸杆菌检查结果分析[J]. 临床肺科杂志,2004,9(6):605-606.
- [2] 张梅,焦祖伟,聂渝琼. 我国结核病诊断方法现状与进展[J]. 中国卫生检验杂志,2011,21(12):3018-3020.
- [3] 中国防痨协会基础专业委员会. 结核病诊断实验室检验规程[M]. 北京:中国教育文化出版社,2006:13-19.
- [4] 王成勇,李翠萍. 三种检测方法在菌阴结核病诊断中的价值[J]. 临床肺科学杂志,2007,12(9):933-934.
- [5] 李振生,李德新. 结核菌噬菌体生物扩增法与结核菌 DNA 联合检测对痰菌阴性肺结核诊断的价值[J]. 河北医科大学学报,2012,33(8):881-883.
- [6] 戴骏,徐玉婵. TB-DNA、TB-DOT、BCG-PPD 检测在痰菌阴性肺结核诊断中的价值[J]. 山东医药,2009,49(50):50-52.