

• 论 著 •

快速诊断技术在活动性肺结核的临床应用价值*

陈 蕾¹, 徐俊驰¹, 杨玉婷¹, 赵 静¹, 王凤平^{2Δ}

(1. 江苏省苏州市第五人民医院 215007; 2. 苏州大学附属传染病医院 215007)

摘要:目的 探讨联合应用痰抗酸涂片、 γ -干扰素体外释放试验(TB-IGRA)、TB-DNA 在活动性肺结核诊断的临床应用价值。方法 选取苏州第五人民医院肺结核患者 803 例,以肺部非结核疾病患者 216 例作对照,采用以上 3 种快速诊断技术进行检测,研究其在活动性肺结核的诊断效能。结果 单一检测指标曲线下面积(AUC)两两比较,痰抗酸涂片检测 AUC(0.675)最小,诊断效能最差,其敏感性及特异性分别为 35.87%、99.07%;TB-IGRA 检测 AUC(0.771)最大,诊断效能最好,其敏感性及特异性分别为 88.54%、65.74%。二联或三联组合检测两两比较,痰抗酸涂片+TB-IGRA、TB-IGRA+TB-DNA 及痰涂片+TB-IGRA+TB-DNA 的 AUC 较大,均大于痰抗酸涂片+TB-DNA,差异有统计学意义($P<0.05$),而痰抗酸涂片+TB-IGRA、TB-IGRA+TB-DNA 及痰涂片+TB-IGRA+TB-DNA 间差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 与单一指标诊断比较,多项指标联合诊断可提高其肺结核诊断的敏感性,从成本效益学角度考虑,痰抗酸涂片+TB-IGRA、TB-IGRA+TB-DNA 联合检测 AUC 较大,检验效能较好。

关键词:结核分枝杆菌; 活动性肺结核; 痰抗酸涂片; γ 干扰素释放试验分析技术; 诊断效能

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.22.002

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)22-3096-03

Study on clinical application value of rapid diagnosis technology in active pulmonary tuberculosis*

CHEN Lei¹, XU Junchi¹, YANG Yuting¹, ZHAO Jing¹, WANG Fengping^{2Δ}

(1. Suzhou Municipal Fifth People's Hospital, Suzhou, Jiangsu 215007, China; 2. Affiliated Infectious Hospital of Suzhou University, Suzhou, Jiangsu 215007, China)

Abstract: Objective To investigate the clinical application value of combined application of sputum smear acid-fast staining, tuberculosis-interferon gamma release assay (TB-IGRA) and TB-DNA in the diagnosis of active pulmonary tuberculosis (TB). **Methods** A total of 803 cases of pulmonary TB and 216 cases of non-TB lung disease as controls were selected. The above 3 kinds of fast diagnostic technology were adopted for conducting the detection. Their efficiency for diagnosing active pulmonary TB was investigated. **Results** In the pairwise comparison of the area under curve(AUC) of single detection indicator, AUC of sputum smear acid-fast staining was minimal(0.675) with the worst diagnostic efficiency, its sensitivity and specificity were 35.87% and 99.07% respectively; AUC of TB-IGRA was maximum (0.771) with the best diagnostic efficiency, its sensitivity and specificity were 88.54% and 65.74% respectively. In the pairwise comparison of the bigeminy and trigeminy combinations, AUC of sputum smear acid-fast staining+TB-IGRA, TB-IGRA+TB-DNA and sputum smear acid-fast staining+TB-IGRA+TB-DNA was larger, which was greater than that of sputum smear acid-fast staining+TB-DNA, the difference was statistically significant($P<0.05$). However, the difference among the sputum smear acid-fast staining+TB-IGRA, TB-IGRA+TB-DNA and sputum smear acid-fast staining+TB-IGRA+TB-DNA was not statistically significant($P>0.05$). **Conclusion** Compared with single indicator diagnosis, the combination diagnosis of multiple indicators can increase the sensitivity for diagnosing pulmonary TB. From the perspective of cost and effectiveness, the combined detections of sputum smear acid-fast staining+TB-IGRA and TB-IGRA+TB-DNA have larger AUC with better detection efficiency.

Key words: mycobacterium tuberculosis; active pulmonary tuberculosis; sputum smear acid-fast staining; IRGA; diagnostic efficiency

结核病是严重危害人民群众健康的呼吸道传染病。世界卫生组织 2015 年全球结核病报告中指出,结核病发病率每年平均下降 1.5%,但结核病死亡人数达 150 万,与艾滋病一样,成为全世界的主要死因之一。我国是全球 22 个结核病高负担国家之一,结核病年发病患者数约为 100 万,占全球发病患者数的 14%^[1]。耐多药肺结核危害日益凸显,未来数年内可能出现以耐药菌为主的结核病流行态势。对结核病而言,早期诊断、及时治疗是有效控制结核病传播蔓延的有效措施。目前,

结核病确诊主要依据病原学检查[结核分枝杆菌(MTB)培养和病理学诊断,但 MTB 培养周期长(6~8 周),而且 10%~20%患者培养失败。结核菌素试验与卡介苗存在交叉免疫,诊断特异性较差^[2]。免疫学技术[如 γ -干扰素体外释放试验(TB-IGRA)]和分子生物学方法(如 TB-DNA)的应用具有发展前景,但各种检测方法均有其不足之处,需联合应用现有检测技术,以规范准确、简便快捷地提高对肺结核的诊断效能^[3]。本研究主要对苏州市第五人民医院 2014~2015 年住院诊治的

* 基金项目:江苏省科学技术厅自然科学“miRNA-1914-3p 调节靶基因 NF- κ B2 促进耐药结核杆菌治疗的机制”项目(BK20161230);江苏省苏州市卫生和计划生育委员会重点诊疗项目(LCZX201314);江苏省苏州市结核病防治重点实验室项目(SZS201412)。

作者简介:陈蕾,女,主管技师,主要从事医学检验感染免疫方面的研究。 Δ 通讯作者, E-mail: wangfp506@126.com。

活动性肺结核患者进行回顾性分析,探讨联合应用结核快速检测技术对活动性肺结核的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择苏州市第五人民医院 2014~2015 年住院治疗患者共 1 019 例,年龄 13~81 岁,中位年龄 57.4 岁,男女比例为 1.4 : 1.0。活动性肺结核患者共 803 例(肺结核组),年龄 15~81 岁,中位年龄 56.2 岁,男女比例为 1.5 : 1.0;肺结核诊断依据 2013 年中华医学会结核病分会制订的《肺结核诊断和治疗指南》。肺部非结核疾病组患者共 216 例,年龄 13~78 岁,中位年龄 54.8 岁,男女比例为 1.2 : 1.0;患者均依据各类疾病临床表现和相关检查排除肺结核,其中包括肺部感染 98 例、肺炎 51 例、支气管扩张 35 例、慢性阻塞性肺病 30 例、非 MTB 感染 2 例。

1.2 方法

1.2.1 痰液标本检测 研究对象按要求留取清晨痰液于痰液标本留置器内(含杀菌液),取部分进行萋尔-尼尔逊涂片查抗酸杆菌,痰抗酸涂片按照《痰涂片镜检标准化操作及质量保证手册》要求操作。另一部分用于提取 TB-DNA 进行聚合酶链式反应(PCR)扩增检测,TB-DNA 采用北京博奥生物有限公司提供 MTB 整体解决方案,包括检测仪器设备、晶芯 MTB 核酸检测试剂盒,严格按照检测试验操作说明进行;试验以阴性、阳性质控品及阳性定量参考品的 Ct 值为参考判定。试验人员均具有中级以上职称并通过江苏省分子诊断技术培训。

1.2.2 TB-IGRA 疑似患者留取痰液标本后 1 周内采集血液标本,采集肝素锂抗凝鲜全血 5 mL 并于 2 h 内送检。TB-IGRA 检测使用北京万泰生物技术有限公司生产的 TB-IGRA 检测试剂盒,严格按照说明书操作。

1.3 统计学处理 收集资料用 SPSS17.0 软件进行统计学分析,采用敏感性、特异性、受试者工作特征(ROC)曲线及曲线下面积(AUC)评估上述 3 种结核快速检测方法的诊断效能,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各项检测指标阳性率比较 痰抗酸涂片、TB-DNA、TB-IGRA 检测指标在 803 例肺结核患者与 216 例肺部非结核疾病患者阳性率比较结果,见表 1。其中,痰涂片阳性率最低,肺结核组阳性率为 35.9%,肺部非结核疾病组阳性率为 0.9%;TB-IGRA 阳性率最高,肺结核组阳性率为 88.5%,肺部非结核疾病组阳性率为 34.3%;肺结核组上述检测指标阳性率均高于肺部非结核疾病组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

2.2 单一检测指标 ROC 曲线 AUC 比较 痰抗酸涂片、TB-DNA、TB-IGRA 检测指标在 803 例肺结核组与 216 例肺部非结核疾病组检测敏感性、特异性及单一指标 ROC 曲线比较结果,见表 2。单一检测指标 AUC 两两比较发现,痰涂片检测的 AUC(0.675)最小,诊断效能最差,其敏感性及特异性分别为

35.87%、99.07%。TB-IGRA 检测指标 AUC(0.771)最大,诊断效能最好,其敏感性及特异性分别为 88.54%、65.74%,见图 1。

2.3 二联及三联组合检测指标 ROC 曲线 AUC 比较 分别采用 3 项检测指标二联或三联组合检测其 ROC 曲线及 AUC,4 种组合的联合检测结果比较发现,痰涂片+TB-IGRA+TB-DNA 的 AUC 值最大,诊断效能最好;而痰涂片+TB-DNA 的 AUC 最小,诊断效能较差。另痰涂片+TB-IGRA、TB-IGRA+TB-DNA 与痰涂片+TB-IGRA+TB-DNA 的 AUC 值较接近,从成本效益出发可作为诊断优选组合。见表 3、图 2。

表 1 各项检测指标阳性率比较[n(%)]

检测指标	肺结核组 (n=803)	肺部非结核 疾病组(n=803)	χ^2	P
痰涂片	288(35.9)	2(0.9)	102.059	<0.05
TB-DNA	384(47.8)	8(3.7)	139.959	<0.05
TB-IGRA	711(88.5)	74(34.3)	283.529	<0.05

表 2 单一检测指标 ROC 曲线 AUC 比较

检测指标	敏感性(%)	特异性(%)	AUC	SE	Z	P
痰涂片	35.87	99.07	0.675	0.009	19.249	<0.05
TB-DNA	47.82	96.30	0.721	0.010	20.199	<0.05
TB-IGRA	88.54	65.74	0.771	0.017	15.843	<0.05

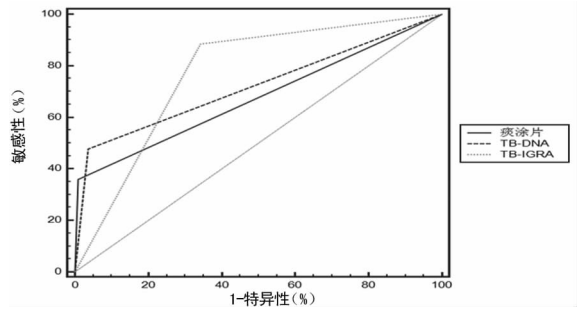


图 1 单一检测指标 ROC 曲线 AUC

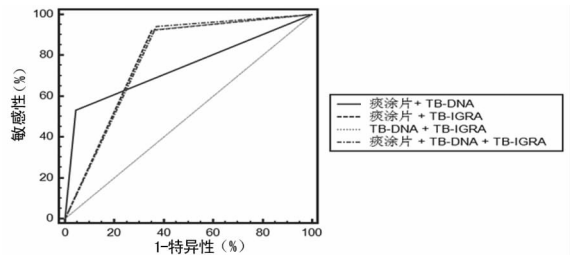


图 2 二联及三联组合检测指标 ROC 曲线 AUC

表 3 二联及三联组合检测指标 ROC 曲线 AUC 比较

检测指标	敏感性(%)	特异性(%)	AUC	SE	Z	P
痰涂片+TB-DNA	53.30	95.37	0.743	0.011	21.432	<0.05
痰涂片+TB-IGRA	92.28	64.81	0.785	0.017	16.839	<0.05
TB-IGRA+TB-DNA	92.65	63.89	0.783	0.017	16.616	<0.05
痰涂片+TB-DNA+TB-IGRA	94.15	62.96	0.786	0.017	16.816	<0.05

3 讨 论

结核病的全球发病率和病死率高,与艾滋病一样成为主要死因之一。2015 年世界卫生组织全球结核病报告中指出,应从千年发展目标过渡到可持续发展目标的新时代,从遏制结核病策略过渡到终结结核病策略。全球结核病发病率每年平均下降 1.5%,但我国仍是全球 22 个结核病高负担国家之一。耐药药肺结核危害日益凸显,未来数年内可能出现以耐药菌为主的结核病流行态势^[4]。目前,结核病确诊主要依据病原学检查和病理学诊断,细菌学方法培养周期长、阳性率不高;免疫学方法存在交叉免疫,未筛选到敏感性和特异性都高的诊断抗原;分子生物学方法易检出假阳性,且对实验室条件及人员有较高要求^[5]。研发敏感性高、特异性强的免疫诊断试剂,联合应用现有结核病试验技术将是预防控制结核病的有效手段。

本研究对痰抗酸涂片、TB-DNA、TB-IGRA 检测 803 例肺结核与 216 例肺部非结核疾病阳性率进行比较,痰抗体涂片阳性率最低(35.87%),在 288 例患者中出现 2 例假阳性,后经改良罗氏培养显示为非 MTB,而采用北京博奥生物有限公司非 MTB 菌种鉴定 2 例均为鸟-胞内分枝杆菌复合群。近年来,非 MTB 感染病呈快速增涨趋势,成为威胁人类健康的公共卫生问题,临床医师应提高对非 MTB 感染病的诊断与防治水平^[6]。TB-IGRA 阳性率最高(88.5%),3 项检测指标在肺结核组的阳性率均高于肺部非结核疾病组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。从表 2 可见,单一检测指标 AUC 两两比较发现,痰涂片检测 AUC(0.675)最小,诊断效能最差;TB-IGRA 检测 AUC(0.771)最大,诊断效能最好,其敏感性及特异性分别为 88.54%、65.74%。分析 TB-IGRA 检测方法学原理,机体感染 MTB 后,体内特异效应 T 淋巴细胞在体外受到 MTB 特异性抗原(即早期分泌靶抗原 ESAT-6 和培养滤液蛋白 CFP-10)刺激后,分泌干扰素(IFN)- γ ,通过检测 IFN- γ 水平反应机体是否感染 MTB。机体感染 MTB 后,小部分人群可引起急性疾病,而大部分人群通过自身免疫应答,可阻止疾病发展,成为无临床症状的潜伏感染状态,持续多年。在我国,潜伏性结核菌感染者比例较大,由于缺乏典型临床症状及影像诊断支持,诊断出现滞后,部分患者作为肺部非结核疾病治疗,当患者机体免疫力下降,结核复发风险增加,而 TB-IGRA 检测在诊断结核潜伏性感染方面有优势^[7]。

从表 3 可见,二联及三联组合检测,含 TB-IGRA 组合 ROC 曲线 AUC 较大,均大于痰涂片+TB-DNA,诊断效能较好。TB-DNA 荧光定量 PCR 技术的应用虽克服了传统 PCR 技术易污染、假阳性高等缺点,检测敏感性仅优于传统细菌学培养和涂片方法,能反映机体 MTB 感染情况,对临床诊断及

疗效观察有一定指导意义^[8]。本研究对象中,肺结核组未剔除涂阴肺结核而 TB-DNA 检测敏感性相对较低。因其阳性率受制于痰液中 MTB 数量,故在涂阴肺结核及肺外结核诊断应用有其局限性^[9-10]。

从成本效益学角度考虑,各种联合检测中,痰涂片+TB-IGRA 组合或 TB-IGRA+TB-DNA 组合 AUC 较大,检验效能较好;较单一检测指标,多项指标联合诊断可提高肺结核诊断的敏感性,痰涂片+TB-IGRA 组合或 TB-IGRA+TB-DNA 组合为较优组合。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 王宗义,胡爱荣,蒋素文,等.T-SPOT、TB、痰涂片和 TB-DNA 平行检测在结核病中的诊断评价[J].中国预防医学杂志,2014,15(5):249-252.
- [3] 茅惠娟,王祥,陈小蓉,等.快速检测结核分枝杆菌方法的比较与评价[J].临床肺科杂志,2010,15(11):1657.
- [4] 蔡常辉,梁连辉,曾桂云,等.实时荧光 PCR 与 BACTEC MGIT 960 快速培养在初治痰涂片阴性未受抗结核治疗的肺结核诊断中的应用[J].放射免疫学杂志,2012,25(1):68-70.
- [5] 牛宁奎,王自立,施建党,等.荧光定量 PCR 对结核分枝杆菌 DNA 的检测分析[J].白求恩军医学院学报,2012,10(3):235-236.
- [6] 中华医学会结核病学分会.《中华结核和呼吸杂志》编辑委员会.非结核分枝杆菌病诊断与治疗专家共识[J].中华结核和呼吸杂志,2012,35(8):572-580.
- [7] 孔令和,柯云霞,高素香,等. IFN- γ 释放试验(T-SPOT、TB)在结核病诊断中的应用[J].实验与检验医学,2013,31(6):535-537.
- [8] 雷云.荧光 PCR 诊断肺结核的临床应用研究[J].临床肺科杂志,2014,19(7):1278-1279.
- [9] 李锐成,刘昕阳,邹菊贤,等.3 860 例不同标本结核分枝杆菌 DNA 检测结果分析[J].中国卫生检验杂志,2013,23(8):1987-1989.
- [10] 李群,张恒.核酸扩增检测结核杆菌 DNA 方法在肺结核诊断中的临床价值[J].疾病监测与控制,2013,7(8):457-459.

(收稿日期:2016-04-13 修回日期:2016-07-18)

总体与样本

根据研究目的确定的同质研究对象的全体(集合)称为总体,包括有限总体和无限总体。从总体中随机抽取的部分观察单位称为样本,样本包含的观察单位数量称为样本含量或样本大小。如为了解某地区 10~15 岁儿童血钙水平,随机选取该地区 3 000 名 10~15 岁儿童并进行血钙检测,则总体为该地区所有 10~15 岁儿童的血钙检测值,样本为所选取 3 000 名儿童的血钙检测值,样本含量为 3 000 例。类似的研究需满足随机抽样原则,即需要采用随机的抽样方法,保证总体中每个个体被选取的机会相同。