

结核分枝杆菌 DNA 测定和痰涂片检测在肺结核诊断中的比较

罗巧燕

(广西省河池市第三人民医院检验科 广西河池 547000)

【摘要】目的:比较和分析结核分枝杆菌DNA测定和痰涂片检测在肺结核诊断中的应用价值。方法:选择我院自2021年1月至2022年6月收治的50例疑似肺结核患者作为研究对象,以固体培养结果(确诊47例)作为金标准,分别对其行痰涂片检测、结核分枝杆菌DNA测定,对比两种检测方法对肺结核的阳性检出率、对肺结核诊断的敏感度、特异度。结果:痰涂片检测出阳性35例、阴性15例,结核分枝杆菌DNA测定检测出阳性46例、阴性4例,结核分枝杆菌DNA测定对肺结核的阳性检出率(92.00%)高于痰涂片检测(70.00%),结核分枝杆菌DNA测定对肺结核诊断的敏感度97.87%、特异度75.00%均高于痰涂片检测74.47%、20.00%。结论:与痰涂片检测相比,结核分枝杆菌DNA测定在肺结核诊断中的应用价值更高,检测准确度更高,检测速率更快,值得临床优先使用和推广。

【关键词】结核分枝杆菌DNA测定;痰涂片检测;肺结核;诊断;比较

Comparison of Mycobacterium tuberculosis DNA determination and sputum smear detection in the diagnosis of pulmonary tuberculosis

Luo Qiaoyan

(Laboratory Department of the Third People's Hospital of Hechi City, Guangxi Hechi 547000)

[Abstract] Objective: To compare and analyze the application value of Mycobacterium tuberculosis DNA determination and sputum smear detection in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. Methods: choose our hospital from January 2021 to June 2022 admitted 50 cases of suspected tuberculosis patients as the research object, with solid culture results (47 cases) as the gold standard, respectively for the sputum smear detection, mycobacterium tuberculosis DNA determination, comparing the two detection methods of positive detection rate of tuberculosis, sensitivity to the diagnosis of tuberculosis, specificity. Results: 35 positive and 15 negative sputum smear, 46 positive and 4 negative cases, the positive detection rate of Mycobacterium tuberculosis DNA (92.00%) was higher than sputum smear (70.00%), and the sensitivity of Mycobacterium tuberculosis DNA was 97.87% and specificity 75.00% was higher than sputum smear test 74.47% and 20.00%. Conclusion: Compared with sputum smear test, DNA determination of Mycobacterium tuberculosis has higher application value, higher detection accuracy and faster detection rate, which is worthy of clinical priority use and promotion.

[Key words] DNA determination of Mycobacterium tuberculosis; sputum smear test; tuberculosis; diagnosis; comparison

肺结核是一种由结核分枝杆菌引起的慢性传染病,可发生于任何年龄段人群,不仅可引发患者出现咳嗽、咳痰、胸痛、咯血、胸闷、呼吸困难、纳差、乏力、盗汗、低热、消瘦等症状,随着病情持续进展,还易导致其发生永久性肺损伤,且结核分枝杆菌感染可传播至肝、肠、子宫、卵巢等脏器,导致这些脏器出现功能损伤,从而会对患者身心健康乃至生命安全构成严重威胁,如相关研究表明,肺结核是目前单一因素致死率最高的传染性疾病^[1]。因此,就需要尽早对肺结核患者病情进行诊断,并指导临床早期采取有效方案对患者治疗,才能改善其预后。既往,临床多采用痰涂片检测行肺结核诊断,虽有一定的效果,但是,这种检测方法敏感性较差,耗时较长,易延误患者病情治疗^[2]。随着分子生物学

技术的迅速发展,结核分枝杆菌DNA测定技术被逐步应用于肺结核诊断,本文主要分析和比较了结核分枝杆菌DNA测定和痰涂片检测在肺结核诊断中的应用价值,现报告如下。

1.资料与方法

1.1 一般资料

选择我院自2021年1月至2022年6月收治的50例疑似肺结核患者作为研究对象,纳入标准:(1)患者均存在咳嗽、咳痰、胸痛、咯血、胸闷、乏力、盗汗等症状表现,(2)患者年龄均 ≥ 18 岁,(3)患者均自愿加入本研究;排除标

准：(1) 伴有心、肝、脑等重要器官功能障碍者，(2) 存在精神障碍疾病或无法配合临床研究者。其中，男性 29 例、女性 21 例，患者年龄分布：20-75 岁，平均年龄 (48.19 ± 2.25) 岁。本研究已取得医院伦理委员会批准。

1.2 方法

分别对患者行痰涂片检测、结核分枝杆菌 DNA 测定，取样前，指导患者漱口，以免其他物质混入痰液标本中，然后，指导患者咳出咽喉部位深处痰液，将痰液标本装入一次性痰瓶中，加盖送检。痰涂片检测方法：挑取痰标本中干酪样、脓样或可疑部分约 (0.05-0.1) ml，于玻片正面右侧 2/3 处均匀涂抹成 10mm × 20mm 的卵圆形痰膜，自然干燥。染色前加热固定 (在 5 秒内将玻片置于火焰上来回烤 4 次)。涂片固定后，滴加金胺 O 染液染色 15 分钟，水洗。然后，用酸性酒精溶液脱色 1-2 分钟，水洗。如有必要，再脱色一次，直到肉眼观察无色为止，水洗。接着，用复染液复染 2-4 分钟 (复染时间不可过长以免荧光亮度减弱)，水洗。待涂片干燥后在暗室中镜检：首先以 10 × 目镜、20 × 物镜进行镜检，发现疑为抗酸杆菌的荧光杆状物质，使用 40 × 物镜确认。

结核分枝杆菌 DNA 测定方法：检测时，将痰液标本与 4% 氢氧化钠溶液等体积混合，静置液化 30min，取液化后的样本 500uL 于 1.5mL 离心管，12000r/min，离心 3min，弃上清；加入 1mL 无菌生理盐水重悬沉淀，12000r/min，离心 3min，弃上清；加入 50uL 核酸释放剂，100℃ 处理 10min，12000r/min，离心 3min，加 5uL 上清液到含有 PCR 混合液的反应管中，按 50℃ 2min → 94℃ 5min 1 个循环，完成预变性处理，随后于 94℃ 15s → 57℃ 30s 45 个循环进行核酸扩增，最后，采用实时荧光定量 PCR 法通过 2 个通道的扩增情况判读检测结果。

1.3 观察指标

以痰培养检测结果作为金标准，对比两种检测方法对肺结核的阳性检出率、敏感度、特异度，痰涂片检测出肺结核阳性的判定标准：抗酸性菌呈明亮的橘黄色或黄绿色杆状略弯曲，而背景为黑色，部分背景的残留物呈淡黄色。结核分枝杆菌 DNA 测定检测出肺结核阳性的判定标准：两个结核分枝杆菌通道均显示明显的 S 型曲线。

1.4 统计方法

本次研究采用 SPSS19.0 软件对相关数据进行统计和分析，计量资料、计数资料分别用 ($\bar{x} \pm s$)、(%) 表示，用 t、 χ^2 进行检验， $P < 0.05$ ，表明两组间的差异具有统计学意义。

2. 结果

2.1 两种检测方法对肺结核的阳性检出率对比

结核分枝杆菌 DNA 测定对肺结核的阳性检出率高于痰涂片检测，两组对比差异显著，具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 两种检测方法对肺结核的阳性检出率对比[n/(%)]

检测方法	例数	阳性检出率	阴性检出率
痰涂片检测	50	35 (70.00)	15 (30.00)
结核分枝杆菌 DNA 测定	50	46 (92.00)	4 (8.00)
χ^2	-	5.672	7.263
P	-	< 0.05	< 0.05

2.2 两种检测方法检测敏感性及其特异度对比

结核分枝杆菌 DNA 测定对肺结核诊断的敏感度 97.87%、特异度 75.00% 均高于痰涂片检测 74.47%、20.00%，两组对比差异显著，具有统计学意义 ($P < 0.05$)，见表 2。

表 2 两种检测方法检测敏感性及其特异度对比[n/(%)]

检测方法	例数	敏感度	特异度
痰涂片检测	50	35/47 (74.47%)	3/15 (20.00%)
结核分枝杆菌 DNA 测定	50	46/47 (97.87%)	3/4 (75.00%)
χ^2	-	8.170	6.342
P	-	< 0.05	< 0.05

3. 讨论

肺结核是我国重大传染病之一，相关数据显示，2021 年我国肺结核发病率为 43.3651/10 万，不仅是严重危害广大居民健康的呼吸道传染病，也是传染病中的头号杀手，我国每年因肺结核病而死亡的患者数据约有 13 万^[1]。另外，肺结核的传染性疾病，若不及时控制，易在短时间内造成大范围暴发流行，因此，需要临床早期采取有效技术对患者病情进行诊断^[4]。痰培养检测是目前临床诊断肺结核的金标准，虽有较高的诊断准确率，但是，耗时较长，需要 4-6 周才能检测到结核分枝杆菌的生长，从而易延误患者病情治疗^[5]。痰涂片检测是呼吸道疾病细菌检查的重要手段之一，临床研究指出，痰涂片检测在肺结核诊断中具有一定的应用价值，其主要是将痰液涂布于载玻片上进行染色，再进行显微镜检查以确定痰中是否存在结核分枝杆菌，虽具有操作简便、对检测仪器设备要求低、易行等优点，但是，检测阳性率和敏感度均较差，易出现假阴性现象，一般情况下，需要每毫升痰液中存在 5000-10000 条结核分枝杆菌才能检测出致病菌^[6]。

随着分子生物学迅速发展,结核分枝杆菌 DNA 测定技术被临床广泛应用于肺结核诊断中,结核分枝杆菌 DNA 测定技术主要是采用实时荧光定量 PCR 技术、半巢氏全自动实时荧光定量 PCR 技术、Xpert 技术、Taqman 探针技术、环介导等温扩增技术、实时荧光核酸恒温扩增技术、交叉引物恒温扩增技术、基因探针检测技术等分子生物学技术检测结核分枝杆菌特异的 DNA 片段以及结核分枝杆菌的 MBP64 基因、热激蛋白 65、rpoB、插入序列 6110 等靶序列,在上述分子生物学技术中,测定结核分枝杆菌 DNA 多选用实时荧光定量 PCR 技术,该项检测技术不仅是目前国内获得国家食品药品监督管理总局认证的可以快速检测结核分枝杆菌核酸的 PCR 技术之一,同时其还能实现对肺结核的快速诊断,可在 3 小时内完成检测^[7]。另外,通过结核分枝杆菌 DNA 测定还能辅助临床准确判断人体是否受到结核分枝杆菌影响、受结核分枝杆菌影响程度、肺结核病情严重程度,从而能帮助临床合理选择异烟肼片、盐酸乙胺丁醇胶囊等抗结核类药物对患者治疗,进而能改善其预后^[8]。值得注意的是,

采用结核分枝杆菌 DNA 测定法行肺结核诊断需要使用荧光 PCR 检测试剂盒等特殊工具及医学体外基因扩增技术等检查方法,对检测人员的操作技能要求较高,因此,为保障结核分枝杆菌 DNA 测定结果的准确性,检测人员应全面学习医学体外基因扩增技术、实时荧光定量 PCR 技术,在检测操作过程中,严格按照荧光 PCR 检测试剂盒说明书进行相关操作,才能减小结核分枝杆菌 DNA 测定结果的误差,从而为肺结核诊断提供可靠的依据^[9-10]。

本次研究结果显示,结核分枝杆菌 DNA 测定对肺结核的阳性检出率(92.00%)高于痰涂片检测(70.00%),结核分枝杆菌 DNA 测定对肺结核诊断的敏感度 97.87%、特异度 75.00%均高于痰涂片检测 74.47%、20.00%,说明结核分枝杆菌 DNA 测定诊断肺结核的效果优于痰涂片检测。

综上所述,与痰涂片检测相比,结核分枝杆菌 DNA 测定在肺结核诊断中的应用价值更高,检测准确度更高,检测速率更快,值得临床优先使用和推广。

参考文献:

- [1]胡月红.结核分枝杆菌相关 γ -干扰素检测联合结核杆菌 DNA、结核抗体检测对菌阴肺结核阳性检出率的影响[J].中国医药科学, 2021, 11(23): 146-150.
- [2]田丽丽, 杨新宇, 代小伟, 等.免疫学检测联合痰涂片和痰培养检测在活动性肺结核临床诊断中的价值[J].中国防痨杂志, 2021, 43(10): 1073-1078.
- [3]邹有琴.痰涂片结合结核杆菌培养诊断肺结核的价值分析[J].黑龙江中医药, 2021, 50(01): 180-181.
- [4]雷莉.痰涂片结合结核杆菌培养诊断肺结核的价值分析[J].现代诊断与治疗, 2020, 31(23): 3776-3777.
- [5]杨晓敏.痰涂片及痰培养检测在肺结核患者诊断中的应用价值[J].现代医学与健康研究电子杂志, 2020, 4(17): 98-100.
- [6]郭宇美, 骆子义, 彭劲甫.结核分枝杆菌 16Sr RNA+DNA 和 23S DNA 检测对肺结核的诊断及治疗状态评价[J].新发传染病电子杂志, 2020, 5(02): 118-121.
- [7]Singha S K, Kashyap B, Avasthi R, et al.Socio-clinico-radiological profile of smear-positive pulmonary tuberculosis patients in association with sputum conversion and baseline hsCRP levels: [J].Tropical Doctor, 2022, 52(1): 84-89.
- [8]谢景齐, 周娇红.荧光定量 PCR 法用于诊断肺结核患者痰液中结核分枝杆菌 DNA 的临床价值[J].中国当代医药, 2019, 26(12): 150-152+155.
- [9]Park J H, Jo K W, Shim T S, et al.Diagnostic yield of post-bronchoscopy sputum for diagnosing pauci-bacillary pulmonary tuberculosis[J].Annals of Medicine, 2021, 53(1): 576-580.
- [10]冯彦军, 李小红, 凌寅, 等.痰结核分枝杆菌 DNA 检测诊断肺结核的临床意义[J].传染病信息, 2018, 31(04): 342-344.