

结核分枝杆菌实验室检测方法在临床诊断中的应用价值

邱旭婷 范容荣

西南医科大学附属中医医院忠山院区 四川泸州 646000

摘要：目的：分析比较结核菌涂片（抗酸染色）法、结核杆菌 DNA 荧光定量 PCR 法、结核菌感染 T 细胞（TB-IGRA）法及结核抗体 IgG 检测法 4 种方法在肺结核中的诊断价值。方法：选取 2022 年 1 月~2023 年 12 月在西南医科大学附属中医医院就诊 100 例结核患者和同期 100 例肺结核患者作为研究对象，收集各对象痰液、肺泡及支气管灌洗液、或气管镜刷片，采集各对象静脉血，4ml 肝素抗凝，3ml 分离得血清，同时采用上述 4 种方法分别进行检测，比较不同方法的诊断价值。结果：4 种检测方法之间准确度、灵敏度、特异性有较大差异。不同年龄组中结核涂片抗酸染色的准确度和灵敏度均为最高，结核杆菌 DNA 定性灵敏度均为最低。结论：根据不同方法在不同年龄组患者上的检出率，临床医生可结合不同患者的临床症状和影像学检查选择合适的检测方法，以尽早诊治。

关键词：抗酸染色；结核杆菌 DNA；结核菌感染 T 细胞（IGRA/ γ -干扰素释放试验）；结核抗体 IgG；肺结核

据 2020 年世界卫生组织发布的全球结核年度报告中显示，2021 年全球新发结核病患者达 1000 万例，结核死亡患者达 141 万例^[1]。然而，我国作为结核病高发国家，15 岁及以上人群活动性肺结核、痰涂片阳性肺结核和菌阳性肺结核的患病率分别为 456/10 万、66/10 万和 119/10^[2]。本研究分别采用结核菌涂片（抗酸染色）法、结核菌 DNA 荧光定量 PCR 法、结核菌感染 T 细胞（TB-IGRA）法及结核抗体 IgG 检测法 4 种方法，对不同方法的准确度、灵敏度及特异性进行比较分析，从而达到有效诊断肺结核的目的。

1 对象与方法

1.1 研究对象：参考《WS 288-2017 肺结核诊断》^[3]，选取 2022 年 1 月~2023 年 12 月在西南医科大学附属中医医院就诊患者，以经临床诊断确诊为肺结核的 100 例患者为结核组，以同期在医院就诊的 100 例非结核病患者为非结核组。结核组平均年龄（61.6±14.1）岁，其中男性 73 例女性 27 例。非结核组平均年龄（58.5±19.1）岁，其中男性 66 例女性 34 例。通过查阅病例，将性别、年龄、病史及各检测结果等各研究对象的基本情况收集起来。

1.2 方法：收集各研究对象①痰液、肺泡支气管灌洗液或气管镜刷片，②采集静脉血 4ml 肝素抗凝，③采集静脉血 3ml 分离血清。

1.2.1 结核菌涂片（抗酸染色）检测：用火焰固定自然干燥后的样本涂片，抗酸染色。镜下观察，阴性是在连续多个视域中未见抗酸杆菌，视域中可见则为阳性。

1.2.2 TB-DNA 荧光定量 PCR 法：按照本实验室操作规程提取结核分枝杆菌 DNA，得到 DNA 模板加入混合反应液，

混匀并瞬离反应管后置于 PCR 仪中，按要求设置程序检测结核分枝杆菌 DNA。首要满足内标 CT 值 ≤ 40 ，测定目标基因 CT >39 判定为阴性，Ct ≤ 39 判定为阳性。

1.2.3 TB-IGRA：根据本实验室操作规程完成 IFN- γ 的体外释放并测定，以保证实验结果准确性可靠。

1.2.4 结核抗体 IgG 检测：本实验采用胶体金法测定，测量板平衡至室温后于加样孔加入 100 μ l 血清，20 分钟内完成结果判读。

1.3 统计学处理：数据分析采用 Excel 2016MSO 进行，用 (%) 描述定性资料，用 χ^2 检验比较各组间；用 ($\bar{x}\pm s$) 描述定量资料，用 t 检验比较各组间差异，以 P <0.05 为差异具有统计学意义。准确度 = (真阳性 + 真阴性) / 总例数 $\times 100\%$ ，灵敏度 = 真阳性 / (真阳性 + 假阴性) $\times 100\%$ ，特异性 = 真阴性 / (真阴性 + 假阳性) $\times 100\%$ ，阴性预测值 = (真阴性 + 假阴性) $\times 100\%$ ，阳性预测值 = 真阳性 / (真阳性 + 假阳性) $\times 100\%$ 。

2 结果

2.1 两组患者样本经不同方法的检出情况比较

依据 2017 版《肺结核诊断标准》，以临床确诊为标准，分别用结核菌涂片抗酸染色法、结核杆菌 DNA PCR 法、TB-IGRA 法及结核抗体 IgG 检测法对收集样本进行检测。发现结核菌涂片抗酸染色法的准确度、灵敏度、阴性预测值和阴性预测值均最高，结核杆菌 DNA 定性特异性最高、灵敏度最低，而 TB-IGRA 法准确度和特异性均最低，结核抗体 IgG 检测则阳性预测值、阴性预测值均最低。4 种检测方法的准确度、灵敏度、特异性等差异具有统计学意义 ($\chi^2 =$

表1 4种结核检测方法在200例患者中的检出情况

检测方法	结核涂片抗酸染色 (例)		结核杆菌 DNA 定性 (例)		结核菌感染 T 细胞 (例)		结核抗体 IgG 检测 (例)	
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
结核组	64	36	9	91	20	80	64	36
非结核组	7	93	4	96	32	68	7	93
合计	71	129	13	187	52	148	71	129

表2 4种结核检测方法各指标比较

检测方法	准确度	灵敏度	特异性	阳性预测值	阴性预测值
结核涂片抗酸染色	78.5%	64.0%	93.0%	90.1%	72.1%
结核杆菌 DNA 定性	52.5%	9.0%	96.0%	69.2%	51.3%
结核菌感染 T 细胞	50.0%	38.0%	62.0%	50.0%	50.0%
结核抗体 IgG 检测	44.0%	20.0%	68.0%	38.5%	45.9%

表3 4种结核检测方法在不同年龄段的检出情况

检测方法	低龄组			中龄组			高龄组		
	准确度	灵敏度	特异性	准确度	灵敏度	特异性	准确度	灵敏度	特异性
结核涂片抗酸染色	73.1%	55.6%	82.4%	74.2%	57.6%	93.1%	82.1%	69.0%	96.3%
结核杆菌 DNA 定性	65.2%	0.0%	100.0%	53.2%	15.2%	96.6%	49.1%	6.9%	94.4%
结核菌感染 T 细胞	73.1%	55.6%	82.4%	50.0%	36.4%	65.5%	44.6%	36.2%	53.7%
结核抗体 IgG 检测	42.3%	33.3%	47.1%	41.9%	15.2%	72.4%	45.5%	20.7%	72.2%

860.72、478.60、455.28, $P < 0.05$), 见表1~2。

2.2 不同年龄段各检测方法结核检出情况比较

根据年龄将所有患者分为：低龄组 (<44岁)、中龄组 (45~59岁)和高龄组 (>59岁)。在3组年龄分组中。在三组年龄分组中，结核涂片抗酸染色的准确度和灵敏度均为最高，结核杆菌DNA定性灵敏度均为最低，特异性均为最高，尤其在低龄组可高达100%。在低龄组和中龄组中准确度最低方法分别为结核抗体IgG检测，高龄组中准确度最低的方法则为结核菌感染T细胞。在低龄组中特异性最低的方法分别为结核抗体IgG检测，中龄组和高龄组中特异性最低的方法则为结核菌感染T细胞。

3 讨论

结核是由结核分枝杆菌感染引发的传染性疾病，细菌通过呼吸系统传播，多定植于肺部^[4]。它的潜伏期一般为1~2个月，为了提高病人的生活质量，需要及早发现，及早介入。由于肺结核患者的临床表现和其他肺部疾病较为相似，故不能仅通过临床表现而做出诊断，需结合临床症状和实验室检查结果对结核病进行综合分析^[5]。

本研究显示结核杆菌DNA定性灵敏度最低，低至9.0%，

而结核菌涂片抗酸染色法最高。与专家文献描述痰涂片抗酸染色灵敏度低，实时定量PCR技术具有灵敏度高特异性强相悖^[6]。出现这种情况考虑主要受样本类型及实验室操作影响。结核菌涂片采集清晨漱口后第一口深部痰，连续采集三天进行涂片染色镜检，且每一份标本至少制备三份痰涂片。医嘱对象为高度怀疑对象故而检测具有倾向，实验室操作流程有利于提高灵敏度。结核杆菌DNA检测样本类型不限于痰液，血清样本占比高达24.0%，同时核酸提取流程需要先液化痰液再取1ml进行预处理，液化不全和取样少均大大降低了检测灵敏度。

对各年龄段人群分布上分析，结核菌涂片抗酸染色法随年龄层增长准确度、灵敏度、特异性都更高，另外三种方法则相反。一方面同上述抗酸染色样本是以痰为主的呼吸道样本，结核杆菌DNA检测样本类型中血清含量高，其余两种方法样本则为静脉血和血清。另一方面可能是中老年人从事社会工作主要为环境较差的重体力劳力活动，体质较差往往合并多种疾病，感染结核几率也比较大，一旦发病对身体影响更明显，就医情况较多，检出病例也多。

本次研究收集数据发现，2年来本院就诊患者中进行结



核抗体 IgG 检测 3841 例、TB-IGRA 检测 2268 例、结核菌涂片抗酸染色检测 2505 例、结核杆菌 DNA 检测 313 例。近年来，分子生物学技术发展迅速，具有简单、快速、特异、灵敏等优点，可有效提高病原菌的检出率，并能帮助鉴别结核病和非肺结核分枝杆菌病，为肺结核的精准诊断提供了依据。而不同检测方法医嘱量差异较大反映了本实验室结核杆菌 DNA 检测阳性率低，临床反馈不佳，需要通过改进操作流程来提高检出率。TB-IGRA 具有较高的灵敏度和特异性，不受卡介苗接种及机体免疫状态的影响^[7]，有助于肺结核病原学检查阴性患者的鉴别诊断，防止漏诊和误诊等。TB-IGRA 法和 TB-IgG 法检测量居于前列反映了 TB-IGRA 对于区分潜伏感染和健康人群的在临床上的重要价值，也反映了结核 IgG 在陈旧性结核诊断中的重要意义。

参考文献：

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2020[R]. In Global tuberculosis report 2020.
- [2] 国第五次结核病流行病学抽样调查技术指导组，全国第五次结核病流行病学抽样调查办公室. 2010 年全国第五次结核病流行病学抽样调查报告 [J]. 中国防痨杂志，2012, 34(8): 485-508.
- [3] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 肺结核诊断标准 (WS288-2017) [J]. 新发传染病电子杂志，2018, 3(1): 59-61.
- [4] 陈丹霞，曹东林，林茂锐，等. 3 种检测方法对不同年龄组肺结核疑似患者诊断价值的对比分析 [J]. 国际检验医学杂志，2020, 41(22): 2792-2796, 2813.
- [5] 张阳，韦红. 三种方法检测结核分枝杆菌的应用评价 [J]. 河南预防医学杂志，2021, 32(9): 719-720, 734.
- [6] 逢宇，王玉峰，高兴辉，等. 结核分枝杆菌实验室检测产品和技术应用进展 [J]. 中国临床新医学，2021, 14(1): 23-34.
- [7] 2012[M]. Geneva: World Health Organization, 2012: 1-51. 万东勇，黄正谷，何静. 抗结核抗体与 γ -干扰素释放试验在结核病诊断中的临床价值 [J]. 国际检验医学杂志，2016, 37(20): 2912-2913. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.20.047

作者简介：

邱旭婷 (1992.9-)，女，四川乐山，本科，初级检验师，研究方向：医学检验。

范容荣 (1997.8-)，女，四川泸州，本科，初级检验师，研究方向：医学检验技术。