

结核分枝杆菌检测方法临床应用的对比研究

李春林¹, 孙 峰² (1. 新疆维吾尔自治区伊犁州友谊医院检验科 835000; 2. 新疆维吾尔自治区伊犁州疾病预防控制中心 835000)

【摘要】 目的 用涂片、聚合酶链反应(PCR)法检测结核分枝杆菌,探讨其临床应用价值。方法 对 169 例临床确诊的肺结核患者、可疑肺结核患者和非结核患者痰标本用涂片、PCR 两种方法进行检测,对结果进行对比分析。结果 169 例痰标本中,痰涂片检查阳性率为 7.1%(12/169),PCR 检测阳性率为 32.54%(55/169);痰涂片、PCR 法检测 42 例临床确诊的肺结核患者痰标本阳性率分别为 11.9%(5/42)、57.1%(24/42);检测 82 例临床可疑肺结核患者痰标本阳性率分别为 8.54%(7/82)、37.8%(31/82)。比较两种方法的阳性检测率,差异有统计学意义($\chi^2=19.729, P<0.01$),检测 45 例非结核患者痰标本,涂片及 PCR 检测均为阴性。结论 PCR 法检测结核分枝杆菌具有较高的敏感性和特异性,可作为临床结核病检测诊断的有效方法之一。

【关键词】 结核分枝杆菌; 痰涂片; 聚合酶链反应
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.17.027 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)17-2164-01

Comparative study of the detection method of *Mycobacterium tuberculosis* LI Chun-lin¹, SUN Feng² (1. Department of Clinical Laboratory, The Xinjiang Uygur Autonomous Region of Yili Friendship Hospital, 835000, China; 2. The Xinjiang Uygur Autonomous Region Yili Disease Prevention and Control Center, 835000, China)

【Abstract】 Objective To investigate the clinical value of smear, polymerase chain reaction(PCR) method in detection of *Mycobacterium tuberculosis*. Methods 169 cases were clinically diagnosed pulmonary tuberculosis patients and patients with suspected tuberculosis or non-TB, their sputum samples were tested with smear, PCR methods, and the results were analyzed. Results 169 cases of sputum specimens, sputum smear positive rate was 7.1%(12/169), PCR detection positive rate was 32.54%(55/169). Positive rates of 42 cases diagnosed pulmonary tuberculosis patients' sputum specimens by sputum smear and PCR assay were 11.9%(5/42), 57.1%(24/42) respectively; in the 82 cases of suspected tuberculosis patients, they were 8.54%(7/82), 37.8%(31/82) respectively. Compare positive detection rates of the two methods, there were significantly different($\chi^2=19.729, P<0.01$). Sputum specimens of 45 cases with non-TB detected by smear and PCR analysis were both negative. Conclusion PCR assay of mycobacterium tuberculosis has high sensitivity and specificity, it can be used as one of effective methods of TB detection and diagnosis.

【Key words】 mycobacterium tuberculosis; sputum smear; polymerase chain reaction

近年来,人们的生活水平不断提高,结核已基本控制,但随着环境污染和艾滋病的传播,新疆伊犁地区发病率有所提高。结核病是目前严重威胁人类健康的重大传染性疾病之一,但只要早期诊断和合理用药,绝大多数的结核患者是可以治愈的。然而现有的结核病实验室诊断方法远不能满足临床诊治的需要,尤其是边远地区。因此结核杆菌快速、准确的检测方法尤为重要。据此作者借助现有技术平台,选用涂片、聚合酶链反应(PCR)两种方法对可疑结核患者痰标本进行检测^[1],以比较和评价各种检测方法的临床应用价值,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 待检标本 2011 年 1~12 月伊犁州友谊医院临床确诊的肺结核患者痰标本 42 例,可疑肺结核患者痰标本 82 例取自本院同期呼吸科住院患者,45 例非结核患者痰标本取自本院同期肺炎、慢性支气管炎和哮喘患者。

1.1.2 试剂 PCR 试剂盒结核分枝杆菌 PCR 扩增试剂盒由广州达安基因提供,批号 2010005。

1.2 方法

1.2.1 痰涂片检查 按照《结核病细菌学检验规程》进行涂片、染色、镜检。

1.2.2 PCR 扩增 严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.3 统计学处理 检测结果采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有

统计学意义。

2 结果

肺结核患者和可疑肺结核患者痰标本用痰涂片和 PCR 检测结果比较(表 1),差异有统计学意义($\chi^2=19.012, P<0.01$); 42 例肺结核和 82 例可疑肺结核患者痰标本,涂片和 PCR 检测结果(表 2),差异有统计学意义($\chi^2=19.729, P<0.01$)。

表 1 42 例肺结核患者痰标本两种方法检测结果比较

方法	<i>n</i>	阳性(<i>n</i>)	阴性(<i>n</i>)	阳性率(%)
涂片	42	5	37	11.9
PCR	42	24	18	57.1

表 2 82 例临床可疑肺结核患者痰标本两种方法检测结果比较

方法	<i>n</i>	阳性(<i>n</i>)	阴性(<i>n</i>)	阳性率(%)
涂片	82	7	75	8.54
PCR	82	31	51	37.80

3 讨论

结核病细菌学检查,是发现传染源的主要途径和手段,是确定结核病诊断和化疗方案的重要依据^[2]。细菌培养法其灵敏度虽略高于痰涂片抗酸染色检查,且可鉴定死菌与活菌,被誉为结核病诊断的“金标准”。但一般实验室(下转第 2166 页)

定受试者 T2DM 风险增加的标志物。IL-18 参与 IR 的具体机制仍然不清楚,研究发现,在 Th1 细胞 IL-18 可以通过肿瘤坏死因子受体相关因子(IRAK-TRAF6)信号途径激活核因子- κ B(NF- κ B)^[3]。其参与 IR 的机制可能是:(1)抑制胰岛素的 PI-3K/蛋白激酶 B 通路;(2)激活 IKK β /NF- κ B 信号转导通路;(3)通过影响 TNF- α 、IL-6 而作用于 IKK/NF- κ B 及细胞因子信号抑制物(SOCS-3)通路,从而抑制胰岛素信号转导,导致 IR^[4]。多项研究表明,血清 IL-18 增高可能与 T2DM 的发生有关,且 IL-18 升高可作为 T2DM 胰岛素抵抗的标志,提示血清 IL-18 水平与 T2DM 存在着较为密切的关系。本研究发现,在 T2DM 组中血清 IL-18 浓度明显高于健康对照组,表明在 T2DM 患者体内存在一定程度的低度炎症状态。这正符合 T2DM 的炎症病因学理论,即 T2DM 是一种自然免疫和低度炎症性疾病^[5]。有研究发现 T2DM 患者体内 IL-18 增高的同时,FPG 较健康对照组明显升高,IL-18 浓度与 FPG 水平呈正相关^[6]。Esposito 等^[7]发现高血糖引起的血清 IL-18 升高可以被谷胱甘肽所抑制。由此认为氧化应激可能是高血糖引起血清 IL-18 水平升高的一个可能机制,IL-18 可能参与了 T2DM 发生、发展。

周晓兰等^[8]认为 T2DM IL-18 基因启动子区-137G/C 可能与珠海地区汉族人群 T2DM 易感性有关,其中 G 等位基因可能是 T2DM 发病的危险因素之一,IL-18-137G/C 位点 GG 型 SNP 与血清 IL-18 水平变化有一定的相关性,可能是 IL-18 合成和分泌的影响因素。陈军宁等^[9]认为 IL-18 基因-137 G/C 多态性与 DN 发病有相关性,C 等位基因可能是其发病的遗传易感基因;携带 C 等位基因的个体可能通过促进 IL-18 高度表达而增加 DN 发病风险。

本研究再次证明,T2DM 的发生、发展与 IL-18 浓度表达相关。随着分子生物学研究的进展,人们发现 IL-18 基因存在多种多态性位点,更多的应从 IL-18 的基因多态性多个位点进行研究,由于多个位点都位于 IL-18 基因启动子区域中,其 SNPs 可影响 IL-18 的转录和表达,进而影响体内 IL-18 的水

平。IL-18 基因启动子的多态性有可能通过影响体内 IL-18 的水平,而对 T2DM 发挥致病作用。

参考文献

- [1] Reddy P. Interleukin-18: recent advances[J]. Curr Opin Hematol,2004,11(6):405-410.
- [2] Thorand B, Kolb H, Baumert J, et al. Elevated levels of interleukin-18 predict the development of type 2 diabetes: results from the MONICA/KORA Augsburg Study,1984-2002[J]. Diabetes,2005,54(10):2932-2938.
- [3] 蒋定文. IL-18 与 IL-1 相似的信号转导途径[J]. 国外医学:免疫学分册,2000,23(3):185-187.
- [4] 宁光. 脂肪炎症因子在 2 型糖尿病发病中的重要性[J]. 中华内分泌杂志,2006,22(2):S1-S3.
- [5] 李秀钧, 邬云红. 糖尿病是一种炎症性疾病[J]. 中华内分泌代谢杂志,2003,19(4):251-253.
- [6] 肖有为, 李华, 翟绍忠. 白细胞介素 18 与 2 型糖尿病患者大血管病变的相关性研究[J]. 中国误诊学杂志,2004,4(12):1972-1974.
- [7] Esposito K, Nappo F, Marfella R, et al. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress[J]. Circulation,2002,106(16):2067-2072.
- [8] 周晓兰, 黄启强, 王才友, 等. 珠海地区汉族人群 IL-18 基因启动子 SNP 与 2 型糖尿病的关系[J]. 广东医学,2011,32(22):2956-2958.
- [9] 陈军宁, 尹友生, 李小励, 等. IL-18 基因型及血清 IL-18 水平与糖尿病肾病的相关性[J]. 山东医药,2009,49(37):7-9.

(收稿日期:2012-05-04)

(上接第 2164 页)

(P2 级以下)不允许做结核分枝杆菌的细菌培养。痰涂片抗酸染色检查是全世界结核病实验室都在使用的最基本细菌学检查方法;优点是简便、快速和价廉,当天出结果;缺点是敏感性低、特异性差,无法辨别死菌与活菌。据报道,通常需每毫升 5 000~10 000 条菌才能得到阳性结果,而且各种抗酸分枝杆菌均可着色,需进一步试验才可确定是否为结核分枝杆菌,易漏检(假阴性)或出现假阳性结果。

PCR 是一种以核酸扩增技术为基础的分子生物学诊断技术,由于其具有快速、灵敏、特异的优点,非常适合结核分枝杆菌的快速诊断。2002 年 PCR 经我国卫生部规范重新开放于临床应用以来,已成为病原微生物学诊断领域中备受关注的焦点,并得到广泛的应用^[3-6]。早在 2003 年 3~6 月,本院成立“临床基因扩增检验实验室”时,就对 50 例可疑肺结核患者痰标本进行过对比检测,并将结果以简报形式发在了伊犁州友谊医院院刊(内部资料)上,发现其差异有统计学意义。为进一步探讨 PCR 的临床应用,作者采用实时荧光定量 PCR 技术检测肺结核患者、可疑肺结核患者和非结核患者痰标本,并与涂片检查结果进行比较。结果其中的 124 份临床确诊的肺结核及可疑肺结核患者痰标本,涂片和 PCR 检测阳性率分别为 11.9%(5/42)、57.1%(24/42)和 8.54%(7/82)、37.8%(31/82)。比较两种方法的阳性检测率,差异有统计学意义($P < 0.01$)。以 PCR 阳性率为高,是涂片的 4.8 倍和 4.4 倍,涂片

检测和 PCR 检测的 45 例非结核患者痰标本,结果全部阴性,由于样本量较小,尚未发现 PCR 检测的假阳性现象,但足以证明 PCR 具有较高特异性。

综上所述,PCR 在结核分枝杆菌的临床诊断中,具有很高的应用价值。

参考文献

- [1] 庄玉辉. 加强结核病实验诊断新技术的临床应用研究[J]. 中华检验医学杂志,2001,24(1):70.
- [2] 张金福, 李传友, 陈效友, 等. TaqMan-PCR 技术诊断结核病的临床应用研究[J]. 中国防痨杂志,2003,25(4):250-253.
- [3] 张祖平, 李小月, 李宗光, 等. 荧光定量 PCR 和抗酸染色在联合诊断结核病及其疗效考核中的应用[J]. 安徽医学,2010,31(11):1353-1355.
- [4] 韩纪勤. 荧光定量聚合酶链反应诊断结核病临床应用研究[J]. 山西医科大学学报,2006,37(2):180-181.
- [5] 杨伟洪, 陈罡, 罗殿中. PCR 检测结核杆菌的优越性及局限性分析[J]. 国际医药卫生导报,2006,12(10):141-144.
- [6] 邹静, 李燕芹. 结核分枝杆菌感染的诊断[J]. 上海交通大学学报:医学版,2006,26(2):203-206.

(收稿日期:2012-03-15)