

实时荧光定量检测诊断结核病的价值

张国福

(佳木斯市传染病院检验科,黑龙江 佳木斯 154007)

摘要:目的 分析实时荧光定量检测在结核病诊断中的应用价值。方法 选取 2018 年 3 月~2019 年 3 月在我院诊治的 76 例结核病患者为研究对象,采用随机数字表法分为对照组和观察组,各 38 例。对照组采用涂片抗酸染色法,观察组采用实时荧光定量检测,比较两组检测阳性率、阴性率、灵敏度、特异度。结果 观察组阳性率为 78.94%,高于对照组的 23.68%,差异有统计学意义($P<0.05$);观察组灵敏度为 97.36%、特异度为 71.05%,均高于对照组的 76.08%、65.21%,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 在结核病诊断中应用实时荧光定量检测,检出阳性率高,且诊断灵敏度、特异度高,在结核病诊断中具有一定参考价值。

关键词:实时荧光定量检测;结核病;诊断价值

中图分类号:R521

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2020.05.057

文章编号:1006-1959(2020)05-0159-02

Value of Real-time Fluorescent Quantitative Detection for Tuberculosis

ZHANG Guo-fu

(Department of Inspection, Jiamusi Infectious Disease Hospital, Jiamusi 154007, Heilongjiang, China)

Abstract: Objective To analyze the application value of real-time fluorescent quantitative detection in the diagnosis of tuberculosis. Methods A total of 76 patients with tuberculosis diagnosed and treated in our hospital from March 2018 to March 2019 were selected as the research subjects. They were divided into control group and observation group by random number table method, with 38 cases in each group. The control group was smeared with acid-fast staining, and the observation group was tested with real-time fluorescent quantitative detection. The positive rate, recessive rate, sensitivity, and specificity of the two groups were compared. Results The positive rate in the observation group was 78.94%, which was higher than 23.68% in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The sensitivity of the observation group was 97.36% and the specificity was 71.05%, which were higher than the 76.08% and 65.21% in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Conclusion The application of real-time fluorescent quantitative detection in the diagnosis of tuberculosis has a high positive detection rate, high diagnostic sensitivity and specificity, and has certain reference value in the diagnosis of tuberculosis.

Key words: Real-time quantitative fluorescence detection; Tuberculosis; Diagnostic value

结核病(tuberculosis)是一类严重的传染性疾病,我国约有 2000 万人次活动性肺结核患者,由于结核病治疗周期长,并且会出现耐药性结核菌,进一步增加了结核病控制和抗结核治疗的难度^[1]。临床常规痰液涂片抗酸染色法,容易受到结核病原菌阳性检出率低的影响,早期结核病诊断率低。目前临床检测结核病原菌的方式比较多,对于不同的诊断方式来说检测结果也不相同。实时荧光定量检测方法是近年新兴的基因诊断技术,是在反应体系当中加入了 1 个荧光标记探针,继而在检验的过程当中,充分借助 Taq 酶外切核酸酶活性促进荧光信号的释放,于扩增的这一过程当中,每当模板复制 1 次,便可以释放出 1 个荧光信号,而基于对荧光信号强弱度的判断,便可精准实现对模板的定量。本研究结合 2018 年 3 月~2019 年 3 月在我院诊治的 76 例结核病患者临床资料,分析实时荧光定量检测对结核患者的诊断价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 3 月~2019 年 3 月在佳木斯市传染病院诊治的 76 例结核病患者为研究对象,采用随机数字表法分为对照组和观察组,各 38 例。排除合并有严重的心、脏等重要器官疾病者。对照组男性 21 例,女性 17 例;年龄 25~63 岁,平均年

龄(39.45±8.30)岁;病程 1~8 个月,平均病程(2.89±1.05)个月。观察组男性 23 例,女性 15 例;年龄 24~61 岁,平均年龄(38.76±9.05)岁;病程 1~7 个月,平均病程(2.55±0.96)个月。两组年龄、性别、病程比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经过医院伦理委员会批准,患者自愿参加本研究,并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 对照组 采用涂片抗酸染色法,具体方法:获取痰液标本,在痰膜上盖满石炭酸复红染液,火焰加热至出现蒸汽后,脱离火焰,染色 5 min 后洗去染色液,沥干剩余的水加 5% 的盐酸酒精脱色至无色,沥干后加亚甲蓝复染 30 s,冲去复染液,自然干燥后镜检。参照《中国结核病防治规划-痰涂片镜检标准化操作质量保证手册》给出光学显微镜检查报告。

1.2.2 观察组 采用实时荧光定量检测,具体方法:首先提取 DNA:采集患者痰液标本,将其置入试管,加入 1 ml 的 4% 氢氧化钠溶液(上海生物科技有限公司,国药准字 H20130211,规格:5.0 g:500 ml),均匀摇混,常温静置 20 min,标本液化后采集 1 ml 标本液化的混合液,进行离心处理 5 min(2600 r/min)后,将上清液去除,取出离心管沉淀物,加入 1 ml 的 0.9% 氯化钠注射液(东齐都药业有限公司,国药准字 H20113297,规格:4.5 g:500 ml),再次离心 5 min,并取出沉淀物,最后将 50 μl 的 DNA 提取液加入其中,

作者简介:张国福(1981.4-),男,黑龙江海伦人,硕士,副主任技师,主要从事临床医学检验工作

均匀摇混后,置于-20℃的条件下保存待检。将上清液提取 2 μl,加到 PCR 反应管中,离心 1 min,放入仪器(过 ABI 7500 荧光定量 PCR 仪,美国应用生物系统公司)样品槽中。分别在 93 ℃ 2 min、55 ℃ 45 s、65 ℃ 60 s 进行 10 个循环,93 ℃ 下 30 s、55 ℃ 下 45 s 进行 30 个循环。将阴性质控品作为阳性定量参考数据。采用 FQ-PCR 软件阈值,获得呈对数增长的扩增曲线。当扩增曲线 Ct 值 ≤ 36 时,确定为阳性病例,> 40 确定为阴性病例,如果 Ct 值介于 37~40,进行再次测定,并以再次测定获得的结果作为评判依据,如果再次检验 Ct 值仍介于 37~40,则判定为阴性。

1.3 观察指标 比较两组检测阳性率、阴性率、灵敏度、特异度。灵敏度=真阳性/(真阳性+假阴性)×100%、特异度=真阴性/(真阴性+假阳性)×100%^[2]。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 统计软件包,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 *t* 检验;计数资料采用[n(%)]表示,两组间比较采用 χ^2 检验,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组结核病阳性率、阴性率比较 观察组阳性率高于对照组,阴性率低于对照组(*P* < 0.05),见表 1。

表 1 两组结核病阳性率、阴性率比较[n(%)]

组别	<i>n</i>	阳性率	阴性率
对照组	38	9(23.68)	29(76.32)
观察组	38	30(78.94)	8(21.06)
χ^2		4.032	4.030
<i>P</i>		<0.05	<0.05

2.2 两组检测灵敏度、特异度比较 观察组灵敏度、特异度均高于对照组(*P* < 0.05),见表 2。

表 2 两组检测灵敏度、特异度比较[n(%)]

组别	<i>n</i>	灵敏度	特异度
对照组	38	27(71.05)	30(65.21)
观察组	38	37(97.36)	35(76.08)
χ^2		11.029	9.043
<i>P</i>		<0.05	<0.05

3 讨论

结核病属于传染性疾病,主要是因结核分枝杆菌感染所引发的一种疾病,感染发生之后,病菌会侵入人体全身的各个器官当中。结核病多发肺部,在皮肤、脑膜等均可发病,肺结核主要通过呼吸道感染传染,飞沫感染最为常见。疑似患者就诊,多结合既往病史、影像学检查及实验室检查进行诊断^[4]。实验室检查方法常见的有痰涂片抗酸染色法、痰培养、实时荧光定量检测等,其中痰涂片抗酸染色法通过镜检可直接观察到分枝杆菌,但是容易受到痰液标本质量、检验人员主管因素等影响,降低阳性检出率^[4],同时主观判断结果缺乏标准化、规范化,

易漏诊。此外,有 100 多种的分枝杆菌同样是呈抗酸染色阳性的;其次便是抗酸杆菌的形态和大小变化均较大,会使得结果判断出现差异。同时因为受到菌体分布不均的影响,判读结果会存在差异,影响结果的准确性。

实时荧光定量检测方法是一种基因诊断技术,目前已经广泛应用与各种病原体核算检测当中。该方法操作便捷,整个检验过程在 3 h 内便可完成,在很大程度上缩短了实验室检验耗费时间,在一定程度上提高了检验效率。实时荧光定量检验是在反应体系的基础上将荧光标记探针融入其中,在检验的过程中根据外切核酸酶活性将荧光信号释放出来,根据释放出来荧光信号的强弱度可对模板进行定量监测。涂片抗酸染色法与痰培养是临床诊断肺结核的“金标准”,然而涂片抗酸染色法极易受到痰液标本质量与检验人员的影响,因此检出率比较低。

本研究结果显示,观察组阳性率为 78.94%,高于对照组的 23.68%,差异有统计学意义(*P* < 0.05),表明实时荧光定量检测阳性检出率相对比较高,该结论与张爱梅^[5]报道基本一致。实时荧光定量检测技术均采用 1 次行耗材,专区操作,有利于控制实验过程中对标本的污染因素,提高了检测准确率。此外,观察组灵敏度为 97.36%、特异度为 71.05%,均高于对照组的 76.08%、65.21%,差异有统计学意义(*P* < 0.05),提示实时荧光定量检测技术诊断结核病,灵敏度、特异度均较高,进一步促进了临床检验结果的精准度。

综上所述,实时荧光定量检测阳性检出率高,且灵敏度、特异度良好,对临床结核病患者诊治具有良好的指导作用。同时采用的扩增技术对于含有结核菌量比较低的样本有着极高的应用价值,提高检验的精准程度。

参考文献:

- [1]张治国,欧喜超,孙倩,等.利福平耐药实时荧光定量核酸扩增技术检测痰标本中结核分枝杆菌及其耐药性的研究[J].中国防痨杂志,2014,35(1):13-16.
- [2]李辉,谭耀驹,李洪敏,等.利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测技术的诊断效果对比研究[J].中国防痨杂志,2014,36(6):472-476.
- [3]李光友,苏贵灵,高杰,等.不同临床标本实时荧光定量 PCR 诊断结核分枝杆菌的检出率差异研究[J].现代检验医学杂志,2015,28(1):90-92.
- [4]曹燕珍,胡佳捷,王翠翠,等.实时荧光定量 PCR 在结核病中的诊断价值[J].医学理论与实践,2015,28(23):3178-3179.
- [5]张爱梅,李锋,刘旭晖,等.结核分枝杆菌/利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测在肺外结核中的诊断价值[J].中华传染病杂志,2016,34(3):174-179.

收稿日期:2019-11-28;修回日期:2019-12-10

编辑/冯清亮