

4 种检测痰结核杆菌的方法评价

周玉娟^{1,2}, 王 飞³ (1. 武汉大学第二临床学院 430077; 2. 湖北中医药大学, 武汉 430065; 3. 武汉市结核病防治所 430030)

【摘要】 目的 对武汉市结核病防治所 4 种检测结核杆菌的方法进行比较分析。方法 将结核病患者 166 份痰标本分别用荧光染色法、酸性罗氏培养基培养法、BacT/ALERT 3D 快速培养法和聚合酶链反应 (PCR) 进行检测。结果 4 种方法检测结核杆菌的阳性率分别为 22.29%、32.53%、34.34% 和 36.75%。4 种方法所需时间分别为 23 min、24.7 d、19.6 d 和 3 h。结论 4 种方法中荧光染色法耗时最短, 但准确率最低, 酸性罗氏培养基培养法耗时最长, 准确率与 BacT/ALERT 3D 快速培养法相当, PCR 检出率最高, 耗时也较短。

【关键词】 结核分枝杆菌; 痰/微生物学; 荧光染料; 染色与标记; 培养基; 聚合酶链反应

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.02.027 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)02-0182-01

结核杆菌是一种具有高传播性的致病菌, 在我国乃至世界都引起过大规模的流行。在我国曾一度得到控制, 但近些年来由于工作压力、精神紧张和抗生素滥用等因素, 使结核病的发病率逐年增高, 结核杆菌耐药菌株不断出现, 因此对结核病的检测和预防显得尤为重要。本文对检测结核杆菌的荧光染色法、酸性罗氏培养基培养法、BacT/ALERT 3D 快速培养法和 PCR 4 种方法进行评估, 希望能对结核病的检测和预防提供参考。

1 材料与与方法

1.1 标本来源 本市结核病防治所临床送检痰标本 166 份。

1.2 材料 染色液及酸性罗氏培养基均为本市结核病防治所自制, BacT/ALERT 3D 快速培养系统及试剂均为法国生物梅里埃公司提供, PCR 试剂盒由安达基因公司提供。

1.3 方法 同一份标本分别做涂片、酸性罗氏培养、3D 快速培养和 PCR 检测, 痰液用碱液化后分别接种于酸性罗氏培养基和 3D 快速培养基, 染色法及酸性罗氏培养基培养法操作规则按照文献[1]进行操作。3D 快速培养是将液化后的标本用酸中和后取 0.5 mL 标本接种于 3D 培养瓶, 如标本含菌则需加入 0.5 mL 抗生素。PCR 检测痰标本用胰酶消化处理后加盐水洗涤沉淀后离心, 提取 DNA 用以扩增。

1.4 统计学方法 采用 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 结核杆菌 4 种方法检测结果比较 见表 1。从表 1 可以看出, 荧光染色法与其他 3 种方法相比检出率最低 ($P < 0.05$), 而酸性罗氏培养法、3D 快速培养法和 PCR 的检出率相当, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 4 种方法平均耗时 通过比较, 4 种方法检测结核杆菌所需平均时间分别为 23 min、24.7 d、19.6 d 和 3 h, 可以看出荧光染色法的平均耗时最短, 酸性罗氏培养法的平均耗时最长。

表 1 结核杆菌 4 种方法检测结果

方法	n	阳性例数	阴性例数	阳性率 (%)
荧光染色	166	37	129	22.29
酸性罗氏培养	166	54	112	32.53
3D 快速培养	166	57	109	34.34
PCR	166	61	105	36.75

3 讨 论

近几年来结核病的发病率逐年增加, 这给结核病的防治工

作提出了更高的要求, 因而对于一种能够快速准确地检测结核杆菌的方法的需求也日益迫切。从本市结核病防治所目前采用的 4 种检测方法来看, 荧光染色法检出率最低但耗时最短, 其优点是耗时短, 出结果快, 但是也存在较高的漏检率, 且对人员的镜检能力有要求^[2]。酸性罗氏培养和 3D 快速培养检出率较高, 但所需时间较长, 尤其是酸性罗氏培养需时更长。结核杆菌罗氏培养基培养法一直是结核诊断的金标准, 3D 快速培养虽然能缩短一定的时间, 但是仪器和试剂价格昂贵^[3]。PCR 检出率最高, 耗时也较短, 但是这种方法容易受到外界干扰, 还存在一定程度的不稳定性^[4], 易有假阳性产生。说明上述 4 种方法各有优缺点。目前关于结核杆菌的检测又有几种新的方法, 如噬菌体法, 已有文献报道它是一种敏感性、特异性都较好的方法, 且耗时只需 2 d^[5]。还有一种利用酶联免疫斑点试验来快速检测结核的方法, 它除了上述噬菌体法的优点外, 还能及时检测潜伏感染病例^[6]。此外, 人们还在积极研究其他的方法, 但是这些方法都还需等待时间的检验, 并没有在大部分的医疗机构中普及。自 1998 年结核杆菌全基因测序的完成, 人们已经着手利用基因工程技术来检测结核杆菌, 相信在不久的将来会有更加快速、敏感而有效的实验室检测方法为人类服务。但目前仍应根据现有的几种实验室检测方法的实际情况, 按需要选择不同的方法进行结核杆菌检测。

参考文献

- [1] 中华医学会. 临床技术操作规范: 结核病分册[M]. 北京: 人民军医出版社, 2004: 32-36.
- [2] 李艳, 邝浩斌, 刘宝瑛, 等. 糖尿病合并结核感染诊断中结核分枝杆菌检测方法比较[J]. 现代医院, 2010, 10(1): 76-77.
- [3] 石榴, 黄文杰. 结核病实验室诊断技术新进展[J]. 广东医学, 2008, 29(11): 1770-1771.
- [4] Shankar P, Manjunath N, Mohan KK, et al. Papid diagnosis of tuberculosis eninigitis by polymerase chain reaction [J]. Lancet, 1991, 237(1): 5-10.
- [5] 张红, 郑秀云, 姜行云. 痰结核菌两种不同检测方法分析[J]. 中国误诊学杂志, 2010, 10(15): 3557.
- [6] 柳红梅. 一种新型结核杆菌感染快速检测方法的应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(3): 572-573.