

肺泡灌洗液结核杆菌 RNA 和 DNA 检测在痰菌阴性肺结核诊断中的临床应用

陈 皋, 邬碧波, 吴孟征, 罗万蓉, 秦春俊, 刘舒舒, 刘建英, 刘 丽

[摘要] **目的** 观察肺泡灌洗液结核杆菌 RNA 和 DNA 检测在痰菌阴性肺结核患者中的阳性检出情况。**方法** 选取 2017 年 3 月—2019 年 3 月在我院接受检查和治疗且最终确诊为痰菌阴性肺结核的患者为研究对象, 所有患者均接受肺泡灌洗液结核杆菌 RNA 和 DNA 检测。分析 2 种检测方法阳性检出率的差异。**结果** 结核杆菌 RNA 阳性检出率为 63.33%, DNA 阳性检出率为 33.33%, 前者高于后者。**结论** 结核杆菌 RNA 检测对痰菌阴性肺结核具较高灵敏度, 优于 DNA 检测。

[关键词] 痰菌阴性; 肺结核; 核酸检测; 灵敏度

[中国图书资料分类号] R521

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-8134(2019)04-0344-02

DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2019.04.015

Clinical application of tuberculosis RNA and DNA detection in alveolar lavage fluid for diagnosis of sputum negative pulmonary tuberculosis

CHEN Gao*, WU Bi-bo, WU Meng-zheng, LUO Wan-rong, QIN Chun-jun, LIU Shu-shu, LIU Jian-ying, LIU Li

Department of Infectious Diseases, Deyang People's Hospital, 618000, China

*Corresponding author, E-mail: 494848467@qq.com

[Abstract] **Objective** To observe the positive detection of tuberculosis RNA and DNA in alveolar lavage fluid in sputum negative patients with pulmonary tuberculosis. **Methods** From March 2017 to March 2019, patients with sputum negative pulmonary tuberculosis who were examined, diagnosed and treated in our hospital were selected as the subjects. All patients were tested for tuberculosis RNA and DNA in alveolar lavage fluid. The difference of positive detection rate between the 2 methods was analyzed. **Results** The positive detection rate of tuberculosis RNA and DNA was 63.33% and 33.33% respectively. The former was higher than the latter. **Conclusions** Tuberculosis RNA detection is highly sensitive to sputum negative pulmonary tuberculosis than DNA detection.

[Key words] sputum negative; pulmonary tuberculosis; nucleic acid detection; sensitivity

肺结核是结核杆菌感染引发的一种呼吸系统疾病, 发病患者症状以低热、纳差、消瘦、咳嗽、咯痰、咯血等为主^[1-2]。肺结核病程长, 部分患者可呈进行性发展, 早期诊断及治疗对改善疾病症状, 提升患者生活质量具有重要意义^[3]。痰结核杆菌培养是诊断该病的“金标准”, 但该检测需要较长时间, 并且对于痰检未发现结核杆菌的痰菌阴性肺结核而言, 其诊断效能严重不足。近些年的研究发现, 以 RNA、DNA 为检测靶靶的分子生物检测技术可快速、高效诊断肺结核^[4]。为分析这 2 种检测方法在痰菌阴性肺结核中的阳性率, 本文选取我院接受检查 and 治疗的 300 例痰菌阴性肺结核患者进行了如下研究。

1 对象与方法

1.1 对象 选取 2017 年 3 月—2019 年 3 月在我院接受检查 and 治疗的痰菌阴性肺结核患者为研究对象。纳入标准^[5]: ①年龄 ≥ 18 周岁; ②诊断为痰菌阴性的肺结核患者; ③无其他系统严重疾病者。排除标准^[6]: ①临床资料不全者; ②合并其

他呼吸系统疾病者。根据纳入排除标准共纳入患者 300 例, 男 155 例, 女 145 例, 年龄 23 ~ 58 岁, 平均 (39.35±4.24) 岁。本项研究经医院伦理委员会评审通过, 且患者均知情同意。

1.2 方法 抽取患者肺泡灌洗液后, 对样本进行结核杆菌 RNA 和 DNA 检测。结核杆菌 RNA 检测试剂盒由上海仁度生物科技有限公司提供, 检测参照说明书操作, 注意样本取出后 30 min 内送检, 避免污染。结核杆菌 DNA 检测试剂盒选用苏州天隆生物科技有限公司检测试剂盒, 同时选用 Roche LightCycle 480 进行检测。

1.3 评价指标 计算结核杆菌 RNA 和 DNA 阳性检出率, 公式为: 检测阳性例数 / 300 × 100%。

1.4 统计学处理 数据录入后, 采用 SPSS 11.5 软件进行分析。计数资料用频数和百分率, 并计算相应的阳性检出率。

2 结果

结核杆菌 RNA 阳性检出率为 63.33%, DNA 阳性检出率为 33.33%, 前者高于后者, 见表 1。

3 讨论

RNA 恒温扩增实时检测技术是一种直观、快

[作者单位] 618000, 德阳市人民医院感染科 (陈皋、邬碧波、吴孟征、罗万蓉、秦春俊、刘舒舒、刘建英、刘丽)

[通信作者] 陈皋, E-mail: 494848467@qq.com

表1 2种检测方法对痰菌阴性肺结核阳性检出率
Table 1 Positive rate of 2 detection methods in sputum negative pulmonary tuberculosis

方法	检测例数	阳性例数	阳性检出率(%)
DNA 检测	300	100	33.33
RNA 检测	300	190	63.33

速的结核杆菌检测技术，不但可有效检出结核杆菌，还可对结核杆菌存活状态进行鉴定^[7]。结核杆菌死亡后其RNA将会降解，而DNA则不会降解，因此，如RNA恒温扩增实时检测显示RNA阳性则意味着结核杆菌是活菌^[8-9]。此外，RNA恒温扩增实时检测还可对结核病是否进展以及相关药物疗效进行评估^[10]。结核杆菌DNA检测是通过DNA片段进行放大扩增，并借助荧光标记探针，对结核杆菌DNA扩增序列进行定量检测的一种检测方法，可有效诊断结核病^[11]。但结核杆菌DNA无法鉴别菌体存活状态，也无法对结核病进展情况进行鉴别，并且结核杆菌DNA检测时容易出现交叉污染^[12-13]。本研究中，结核杆菌RNA检测痰菌阴性肺结核的阳性检出率为63.33%，DNA阳性检出率为33.33%，前者高于后者，表明结核杆菌RNA检测对痰菌阴性肺结核诊断的灵敏度高于结核杆菌DNA检测。

有研究发现，结核杆菌RNA检测在肺结核中的检测灵敏度以及阳性、阴性预测值均高于DNA检测，并且ROC曲线下面积最大^[14]。还有研究通过痰样本结核杆菌RNA检测发现，该种检测方案所需时间短，灵敏度、阳性率均较高，与结核杆菌培养结果具有较高相似性^[15]，这也佐证了本研究结论。

本研究通过对比检测，发现结核杆菌RNA检测对痰菌阴性肺结核具较高灵敏度，优于DNA检测。须要注意的是，RNA检测结果还可能受患者症状、灌洗液取样冲洗位置、样本送检时间以及样本污染与否等因素影响，这需要检测人员严格操作，或待患者症状改善后检测，以提高RNA检测效能。因为样本量小，本研究尚存在一些不足之处，有待纳入更多样本进行验证。

【参考文献】

[1] 王静, 刘立宾, 岳永宁, 等. RNA 恒温扩增实时检测技术与荧光定量 PCR 联合检测肺泡灌洗液对痰涂阴性肺结核的快速诊断价值 [J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(2):300-304.
 [2] 李德新, 高江彦, 邢艳荣, 等. 结核杆菌 RNA、结核杆菌 DNA 及 γ -干扰素释放试验联合检测对菌阴性肺结核的诊断价值 [J]. 国际呼吸杂志, 2017, 37(13):966-969.
 [3] 李君莲. RNA 恒温扩增技术快速检测痰标本中结核分枝杆菌的研究 [J]. 检验医学与临床, 2017, 14(1):68-70.
 [4] 胡云衢, 任海波, 崔志茹. 电子支气管镜检查对老年痰菌阴性疑似肺结核的诊断价值 [J]. 武警医学, 2018, 29(1):66-68.
 [5] Zhang L, Shi X, Zhang Y, et al. Analysis of factors influencing diagnostic accuracy of T-SPOT.TB for active tuberculosis in clinical practice [J]. Sci Rep, 2017, 7(1):7764.
 [6] 吴璇, 毛晓辉, 王勃, 等. 肺泡灌洗液 RNA 恒温扩增实时检测在肺结核诊断中的应用价值 [J]. 陕西医学杂志, 2017, 46(5):600-601.
 [7] Mathevon Y, Foucras G, Falguières R, et al. Estimation of the sensitivity and specificity of two serum ELISAs and one fecal qPCR for diagnosis of paratuberculosis in sub-clinically infected young-adult French sheep using latent class Bayesian modeling [J]. BMC Vet Res, 2017, 13(1):230.
 [8] 许蕴怡, 蔡杏珊, 谭耀驹, 等. SAT 技术检测结核杆菌 rRNA 对肺结核的快速诊断价值 [J]. 实用医学杂志, 2018, 34(2):297-300.
 [9] 徐茜, 贺家勇, 常炜, 等. 结核感染 T 细胞斑点实验在结核病诊断中的价值 [J]. 新疆医科大学学报, 2018, 41(3):308-310.
 [10] Foddai AC, Grant IR. Sensitive and specific detection of viable *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in raw milk by the peptide-mediated magnetic separation-phage assay [J]. J Appl Microbiol, 2017, 122(5):1357-1367.
 [11] 吴晓瑛, 苟运浩, 吕铁峰, 等. HIV/AIDS 合并痰抗酸菌涂片阴性肺结核 112 例临床分析 [J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2017, 31(5):450.
 [12] 孙宝彬, 谢明娟, 陈效友, 等. 恒温扩增实时荧光检测技术检测痰液对肺结核患者诊断价值的 Meta 分析 [J]. 中国防痨杂志, 2017, 39(5):511-517.
 [13] Nakiyingi L, Nakanwagi P, Briggs J, et al. Performance of loop-mediated isothermal amplification assay in the diagnosis of pulmonary tuberculosis in a high prevalence TB/HIV rural setting in Uganda [J]. BMC Infect Dis, 2018, 18(1):87.
 [14] 李苏梅, 包紫薇, 唐佩军, 等. 荧光定量 PCR 对痰涂片阴性肺结核的临床诊断价值 [J]. 临床肺科杂志, 2018, 23(6):14-16.
 [15] 张国. 肺结核患者血清 GM-CSF、hs-CRP 水平与患者病情进展及预后评估的相关性研究 [J]. 检验医学与临床, 2017, 14(2):263-264.

(2019-06-23 收稿 2019-08-09 修回)
(本文编辑 张云辉)

(上接第 343 页)

[12] Asai N, Koizumi Y, Yamada A, et al. *Pantoea dispersa* bacteremia in an immunocompetent patient: a case report and review of the literature [J]. J Med Case Rep, 2019, 13(1):33.
 [13] 陈敏华, 孙仁华, 李茜, 等. 脓毒症伴急性肾损伤患者连续性肾脏替代治疗时机的探讨 [J]. 中华危重症医学杂志 (电子版), 2016, 9(3):149-153.
 [14] 戴甜, 曹书华, 杨晓龙, 等. 连续性肾脏替代治疗与间歇性血液透析对脓毒症急性肾损伤的临床疗效比较 [J]. 中华危重病急救医学, 2016, 28(3):277-280.

[15] Thompson K, Venkatesh B, Finfer S. Sepsis and septic shock: current approaches to management [J]. Intern Med J, 2019, 49(2):160-170.
 [16] Saturno-Hernández PJ, Poblano-Verástegui O, Flores-Hernández S, et al. Quality care indicators for neonates with selected pathologies: pilot study [J]. Salud Publica Mex, 2019, 61(1):35-45.

(2019-03-25 收稿 2019-07-31 修回)
(本文编辑 赵雅琳)