

## 聚合酶链反应检验应用于肺结核 早期诊断的准确性评价

王瑜

作者单位: 264000 山东烟台, 烟台肺科医院检验科

通信作者: 王瑜, Email: wy1234055@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2022.04.007

**【摘要】** 目的 探讨聚合酶链反应 (PCR) 检验应用于肺结核早期诊断的准确性。方法 选择 2020 年 1 月—2022 年 8 月在烟台肺科医院就诊的 120 例疑似肺结核患者作为研究对象, 在患者中开展痰涂片检查、结核菌素皮肤试验和 PCR 检验。以临床综合诊断结果作为诊断“金标准”, 比较痰涂片检查、结核菌素皮肤试验和 PCR 检验对肺结核诊断效能的各项指标 (包括敏感度、特异度、准确度、阳性预测值及阴性预测值), 分析痰涂片检查、结核菌素皮肤试验和 PCR 检验对于肺结核的诊断结果与诊断“金标准”结果的一致性, 并比较痰涂片检查、结核菌素皮肤试验和 PCR 检验对不同分期肺结核的诊断符合率。结果 依照诊断“金标准”, 在肺结核诊断时, PCR 检验的敏感度、特异度、准确度、阳性预测值及阴性预测值均明显高于结核菌素皮肤试验和痰涂片检查 (敏感度: 96.25% 比 86.25%、71.25%, 特异度: 97.50% 比 82.50%、62.50%, 准确度: 96.67% 比 85.00%、68.33%, 阳性预测值: 98.72% 比 90.79%、79.17%, 阴性预测值: 92.86% 比 75.00%、52.08%, 均  $P < 0.05$ )。采用 PCR 检验和结核菌素皮肤试验进行肺结核诊断所得结果与病理诊断结果高度一致 ( $\kappa$  值分别为 0.892、0.745), 而采用痰涂片检查所得诊断结果与病理诊断结果的一致性为中度 ( $\kappa$  值为 0.561)。在活动期和好转期肺结核患者中, PCR 检验的诊断符合率均明显高于结核菌素皮肤试验和痰涂片检查 [活动期: 94.92% (56/59) 比 83.05% (49/59)、66.10% (39/59), 好转期: 100.00% (21/21) 比 80.95% (17/21)、47.62% (10/21), 均  $P < 0.05$ ]。结论 采用 PCR 检验对肺结核具有良好的诊断价值, 其诊断准确度优于痰涂片检查和结核菌素皮肤试验, 可更加灵敏、准确地检出肺结核, 减少误诊和漏诊, 还能辅助鉴别和诊断肺结核的分期。

**【关键词】** 肺结核; 诊断; 聚合酶链反应检验; 痰涂片检查; 结核菌素皮肤试验

### Accuracy evaluation of polymerase chain reaction in early diagnosis of pulmonary tuberculosis

Wang Yu. Department of Clinical Laboratory, Yantai Lung Hospital, Yantai 264000, Shandong, China

Corresponding author: Wang Yu, Email: wy1234055@163.com

**【Abstract】** **Objective** To investigate the application accuracy of polymerase chain reaction (PCR) test in the early diagnosis of pulmonary tuberculosis. **Methods** The 120 patients with suspected pulmonary tuberculosis admitted in Yantai Lung Hospital from January 2020 to August 2022 were selected as the study objects, and sputum smear test, tuberculin skin test and PCR test were carried out in the patients. Taking the clinical comprehensive diagnosis results as "gold standard" for diagnosis, the indicators of sputum smear test, tuberculin skin test and PCR test in the diagnosis of pulmonary tuberculosis were compared (including sensitivity, specificity, accuracy, positive predictive value and negative predictive value). The consistency between the diagnostic results of sputum smear test, tuberculin skin test and PCR test for pulmonary tuberculosis and the diagnostic "gold standard" results was analyzed, and the diagnostic coincidence rates of sputum smear test, tuberculin skin test and PCR test for different stages of pulmonary tuberculosis were compared. **Results** According to the diagnostic "gold standard", when diagnosing pulmonary tuberculosis, the sensitivity, specificity, accuracy, positive predictive value and negative predictive value of PCR test were all significantly higher than those of tuberculin skin test and sputum smear (specificity: 96.25% vs. 86.25%, 71.25%, specificity: 97.50% vs. 82.50%, 62.50%, accuracy: 96.67% vs. 85.00%, 68.33%, positive predictive value: 98.72% vs. 90.79%, 79.17%, negative predictive value: 92.86% vs. 75.00%, 52.08%, all  $P < 0.05$ ). In the diagnosis of pulmonary tuberculosis, the consistency rates between PCR test, tuberculin skin test and pathological diagnosis were high ( $\kappa$  values were 0.892 and 0.745), while the consistency rate between sputum smear and

pathological diagnosis was moderate ( $\kappa$  value was 0.561). In the diagnosis of active and improved stages of pulmonary tuberculosis, the diagnostic coincidence rates of PCR test were significantly higher than those of tuberculin skin test and sputum smear test [active stage of pulmonary tuberculosis: 94.92% (56/59) vs. 83.05% (49/59), 66.10% (39/59), improved stage of pulmonary tuberculosis: 100.00% (21/21) vs. 80.95% (17/21), 47.62% (10/21), all  $P < 0.05$ ]. **Conclusions** PCR test has good diagnostic value for pulmonary tuberculosis, and its diagnostic accuracy is better than sputum smear and tuberculin skin test. It could detect pulmonary tuberculosis more sensitively and accurately, reduce misdiagnosis and missed diagnosis rates, and also assist in differential diagnosis of the staging of pulmonary tuberculosis.

**【Key words】** Pulmonary tuberculosis; Diagnosis; Polymerase chain reaction test; Sputum smear test; Tuberculin skin test

肺结核是一种常见的呼吸系统传染性病变,主要由结核分枝杆菌感染所致,具有高发病率,患者发病后主要表现为低热、乏力、盗汗等全身症状,还伴有咳嗽、咯痰、胸痛、咯血等呼吸系统症状,随着病情进展,还可能会累及其他部位,引发肺外结核,导致患者死亡风险增高,严重危害生命健康<sup>[1-2]</sup>。对于肺结核临床上主张对患者尽早诊断,以明确病情,给予及时有效的治疗。临床用于肺结核诊断的手段主要包括痰涂片检查、结核菌素皮肤试验等,其中痰涂片检查和结核菌素皮肤试验在肺结核诊断时较常用,可在一定程度上检出肺结核病灶,但存在部分漏诊和误诊情况。近年来,聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)检验在肺结核的诊断中得到应用,PCR 检验辅助诊断结核分枝杆菌引起的肺部感染效果良好<sup>[3-4]</sup>。为探讨 PCR 检验在肺结核诊断中的作用,本研究选择 2020 年 1 月—2022 年 8 月在烟台肺科医院就诊的 120 例疑似肺结核患者作为研究对象,在患者中分别开展痰涂片检查、结核菌素皮肤试验和 PCR 检验,比较 3 种方法对肺结核的诊断价值,现将结果报告如下。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象及一般资料** 选择 2020 年 1 月—2022 年 8 月在本院就诊的 120 例疑似肺结核患者作为研究对象,其中男性 71 例,女性 49 例;年龄 35~87 岁,中位年龄 64 岁。

**1.1.1 纳入标准** ① 由于出现不明原因的低热、乏力、咳嗽、咯痰、胸痛、咯血等症状而在医院就诊,就诊后发现具有与结核病例密切接触史,怀疑发生肺结核;② 年龄 $\geq 18$ 岁;③ 在检查过程中患者意识始终保持清醒并自愿配合。

**1.1.2 排除标准** ① 既往有胸部手术史者;② 处于妊娠期或哺乳期的女性;③ 在认知、精神等方面存在障碍者。

**1.1.3 伦理学** 本研究符合医学伦理学标准,并经

本院医学伦理委员会审批(审批号:2022-11),患者均了解本研究方法及目的,同意参与研究。

**1.2 研究方法** 在所有患者中开展痰涂片检查、结核菌素皮肤试验和 PCR 检验。

**1.2.1 痰涂片检查** 在清晨采集患者咽拭子痰液标本,置于专用试管中,再将痰液标本均匀涂抹在载玻片上,采用 4% 多聚赖氨酸对载玻片进行固定,待痰液自然晾干后,对标本进行抗酸染色处理,在显微镜下观察痰液标本,如发现痰液中存在结核分枝杆菌即可判断为阳性。

**1.2.2 结核菌素皮肤试验** 在患者前臂皮下注射结核菌素蛋白衍生物,注射剂量为 0.1 mL,在注射后 72 h 内观察注射点部位的皮肤,根据患者既往是否有卡介苗接种史判断不同情况下的阳性表现。如患者既往有卡介苗接种史,当注射点皮肤红肿硬块的直径达到 15 mm 时,即可判断为阳性;如患者既往未接种卡介苗,当注射点皮肤红肿硬块的直径达到 5 mm 时,即可判断为阳性。

**1.2.3 PCR 检验** 在清晨采集患者深度咳嗽后的第一口痰液 0.5 mL 作为痰液标本,在痰液标本中加入 5  $\mu$ L 浓度为 1 mol/L 的氢氧化钠(NaOH)溶液,混合均匀后将其放置在 37  $^{\circ}$ C 孵育箱中静置 40 min,再使用离心机对混合液进行离心处理,离心速度为 10 000 r/min(离心半径为 10 cm),持续离心 5 min 后将上清液去除,取底部沉淀物。采用生理盐水洗脱液对沉淀物进行洗脱处理,连续洗涤 2 次,得到沉淀物。采用 QSDX 实时荧光定量 PCR 检测仪(购自美国应用生物系统公司)以及结核分枝杆菌 PCR 检测试剂盒(由上海康朗生物科技有限公司生产)对沉淀物标本进行 PCR 检验,严格按照仪器及检测试剂盒说明书进行操作,如在实时荧光定量 PCR 检测仪检测时出现荧光带,即可判断为阳性。

**1.3 观察指标** ① 以临床综合诊断结果作为“金标准”,比较痰涂片检查、结核菌素皮肤试验、PCR

检验对肺结核的诊断效能,考察指标包括敏感度、特异度、准确度、阳性预测值及阴性预测值,计算公式如下:敏感度=真阳性例数/(真阳性例数+假阴性例数) $\times 100\%$ ,特异度=真阴性例数/(真阴性例数+假阳性例数) $\times 100\%$ ,准确度=(真阳性例数+真阴性例数)/总例数 $\times 100\%$ ,阳性预测值=真阳性例数/(真阳性例数+假阳性例数) $\times 100\%$ ,阴性预测值=真阴性例数/(真阴性例数+假阴性例数) $\times 100\%$ 。②分析结核菌素皮肤试验、痰涂片检查和 PCR 检验对肺结核的诊断结果与诊断“金标准”结果的一致性。③将确诊肺结核患者分为活动期和好转期,比较结核菌素皮肤试验、痰涂片检查和 PCR 检验对不同分期肺结核患者的诊断符合率。

**1.4 统计学方法** 应用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计学分析。计数资料以例(%)表示,进行组间比较采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  即差异具有统计学意义。采用 Kappa 检验对不同诊断方法对肺结核诊断结果进行一致性分析,依据  $\kappa$  值来判断诊断结果的一致性,  $\kappa$  值  $< 0.4$  即存在低度一致性,  $0.4 \leq \kappa$  值  $< 0.7$  即存在中度一致性,  $\kappa$  值  $\geq 0.7$  即存在高度一致性。

## 2 结果

**2.1 痰涂片检查、结核菌素皮肤试验和 PCR 检验对肺结核诊断的结果比较与分析** 在 120 例疑似肺结核患者中,经临床综合诊断,有 80 例患者确诊肺结核,其余 40 例患者均证实非肺结核。在 80 例确诊肺结核患者中,分期为活动期 59 例,好转期 21 例。依照诊断“金标准”(临床综合诊断结果),在肺结核诊断时,结核菌素皮肤试验和 PCR 检验的敏感度、特异度、准确度、阳性预测值及阴性预测值均明显高于痰涂片检查,而 PCR 检验的敏感度、特异度、准确度、阳性预测值及阴性预测值均明显高于结核菌素皮肤试验(均  $P < 0.05$ )。见表 1~2。

**表 1 痰涂片检查、结核菌素皮肤试验和 PCR 检验对肺结核的诊断结果比较**

检查方法	例数(例)	临床综合诊断结果(例)	
		阳性	阴性
痰涂片检查	阳性	72	15
	阴性	48	25
	合计	120	40
结核菌素皮肤试验	阳性	76	7
	阴性	44	33
	合计	120	40
PCR 检验	阳性	78	1
	阴性	42	39
	合计	120	40

注:PCR 为聚合酶链反应

**表 2 痰涂片检查、结核菌素皮肤试验和 PCR 检验对肺结核的诊断效能**

检查方法	敏感度(%)	特异度(%)	准确度(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)
痰涂片检查	71.25	62.50	68.33	79.17	52.08
结核菌素皮肤试验	86.25 <sup>a</sup>	82.50 <sup>a</sup>	85.00 <sup>a</sup>	90.79 <sup>a</sup>	75.00 <sup>a</sup>
PCR 检验	96.25 <sup>ab</sup>	97.50 <sup>ab</sup>	96.67 <sup>ab</sup>	98.72 <sup>ab</sup>	92.86 <sup>ab</sup>

注:PCR 为聚合酶链反应;与痰涂片检查比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与结核菌素皮肤试验比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

**2.2 痰涂片检查、结核菌素皮肤试验和 PCR 检验对肺结核的诊断结果与“金标准”诊断结果的一致性分析** 在肺结核诊断结果中,PCR 检验和结核菌素皮肤试验的诊断结果与临床综合诊断结果呈高度一致,  $\kappa$  值分别为 0.892、0.745,而痰涂片检查诊断结果与临床综合诊断结果的一致性为中度,  $\kappa$  值为 0.561。

**2.3 痰涂片检查、结核菌素皮肤试验、PCR 检验对不同分期肺结核的诊断符合率比较** 在活动期和好转期肺结核诊断中,PCR 检验和结核菌素皮肤试验的诊断符合率均明显高于痰涂片检查,PCR 检验的诊断符合率明显高于结核菌素皮肤试验,差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。见表 3。

**表 3 结核菌素皮肤试验、痰涂片检查和 PCR 检验对不同分期肺结核的诊断符合率**

检查方法	诊断符合率[%(例)]	
	活动期( $n=59$ )	好转期( $n=21$ )
痰涂片检查	66.10(39)	47.62(10)
结核菌素皮肤试验	83.05(49) <sup>a</sup>	80.95(17) <sup>a</sup>
PCR 检验	94.92(56) <sup>ab</sup>	100.00(21) <sup>ab</sup>

注:PCR 为聚合酶链反应;与痰涂片检查比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与结核菌素皮肤试验比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

## 3 讨论

肺结核在临床上属于常见的传染性疾病,主要由结核分枝杆菌感染所致<sup>[5]</sup>。结核分枝杆菌感染引起的结核病可在多器官及组织中分布,肺结核是其中最常见的一种类型,在发病后患者会伴有乏力、低热、咳嗽、咯血等症状,随着病情进展,还可能影响肺功能<sup>[6-8]</sup>。由于肺结核的病程较长,病情常反复发作,严重影响患者日常生活和工作,还容易发生传播,因此,在患者发病后需尽早诊断,以做好肺结核的防控工作<sup>[9-10]</sup>。

对于肺结核,临床诊断时常采用痰涂片检查,痰涂片检查是临床对呼吸系统感染性疾病进行诊断的最常用方法,主要是通过采集痰液标本进行抗酸

染色,并在显微镜下对染色结果进行观察,来判断是否发生结核分枝杆菌感染。结核菌素皮肤试验是临床诊断肺结核的常用方法,可通过对患者皮肤注射结核菌素蛋白衍生物,观察注射后的皮肤是否出现红肿硬块及红肿硬块面积,判断患者是否发生肺结核。痰涂片检查与结核菌素皮肤试验均可在一定程度上检出活动期肺结核,但对好转期的肺结核容易出现漏诊<sup>[11]</sup>。

近年来,临床上关于肺结核与 PCR 检验的研究较多,PCR 检验是一种新型的快速核酸检验技术,主要是通过对痰液标本的沉淀物进行洗脱后,采用实时荧光定量 PCR 检测仪对结核分枝杆菌进行检测,这种检测方法对结核分枝杆菌可进行有效识别,其检测准确度较高,可避免检测结果受到人为因素的影响<sup>[12-14]</sup>。本研究结果显示,依照诊断“金标准”,在肺结核诊断时,结核菌素皮肤试验和 PCR 检验的敏感度、特异度、准确度、阳性预测值及阴性预测值均明显高于痰涂片检查,而 PCR 检验的敏感度、特异度、准确度、阳性预测值及阴性预测值均明显高于结核菌素皮肤试验,且 PCR 检验和结核菌素皮肤试验的诊断结果与病理诊断结果高度一致,痰涂片检查的诊断结果与病理诊断结果的一致性为中度,表明 PCR 检验对肺结核的诊断准确度较高,可减少误诊和漏诊。

本研究还表明,在活动期和好转期肺结核诊断中,PCR 检验和结核菌素皮肤试验的诊断符合率均比痰涂片更高,PCR 检验的诊断符合率明显高于结核菌素皮肤试验,表明 PCR 检验不仅可准确检出活动期肺结核,还可对好转期肺结核进行诊断,准确率较高,推荐将其用于肺结核的病情及预后评估中。

综上所述,PCR 检验对肺结核具有良好的诊断价值,其诊断准确度优于痰涂片检查和结核菌素皮肤试验,可更加灵敏、准确地检出肺结核,还可辅助鉴别和诊断肺结核的分期,为肺结核的临床治疗提供指导和借鉴。

**利益冲突** 作者声明不存在利益冲突

## 参考文献

- 1 李幸旻.结核分枝杆菌/利福平耐药性实时荧光 PCR 检测与抗酸染色在肺结核中的诊断价值[J].中国当代医药,2022,29(14):146-149. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4721.2022.14.038.
- 2 李卫鸿,刚永桂,刘明,等.左氧氟沙星、胸腺五肽和四君子汤联合治疗重症肺结核的机制研究[J].中国中西医结合急救杂志,2017,24(1):44-48. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2017.01.014.
- 3 林艳荣,韦静.肺结核合并呼吸衰竭患者的集束化治疗[J].中国中西医结合急救杂志,2015,22(3):291-294. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.03.016.
- 4 匡林芝,周峥珍,张丽琼,等.荧光定量聚合酶链反应检测在肺结核诊断中的应用价值[J].实用检验医师杂志,2020,12(1):26-28. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2020.01.009.
- 5 韩伟东,刘海梅,施慧慧,等.PCR 检验在肺结核早期诊断中的应用效果[J].中国卫生检验杂志,2022,32(3):334-337.
- 6 任成新.RNA 恒温扩增实时检测技术联合荧光定量 PCR 技术对痰涂片阴性肺结核患者的诊断价值分析[J].中国现代药物应用,2022,16(17):75-77. DOI: 10.14164/j.cnki.cn11-5581/r.2022.17.021.
- 7 袁瑛,明湘虹,郑宏,等.SAT 技术与荧光定量 PCR 在痰涂片阴性肺结核诊断中的价值研究[J].临床肺科杂志,2019,24(3):538-540. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6663.2019.03.038.
- 8 廖菲.PCR、培养法和抗酸染色在肺结核诊断中的价值分析[J].医学检验与临床,2020,31(10):55-56,34. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5013.2020.10.014.
- 9 王娟娟,施旭东,吴梅香,等.不同分子检测方法在肺结核诊断中的应用评估[J].临床检验杂志,2022,40(5):368-370. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2022.05.11.
- 10 徐少华,黄江华,谢晓霞,等.外周血单个核细胞中 hsa\_circ\_0005836 和 miR-146b 表达水平在肺结核诊断中的价值分析[J].国际检验医学杂志,2022,43(19):2305-2309. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.19.001.
- 11 曾跃彬,姚叶萍,邓永佳.血清白蛋白、血小板计数及降钙素原联合检测对肺结核的诊断价值[J].实用检验医师杂志,2020,12(3):147-149. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2020.03.005.
- 12 朱晓颖,骆妙卡,朱惠慧.实时荧光定量 PCR 技术在诊断肺结核和检测利福平耐药性中的应用效果[J].医学检验与临床,2019,30(7):20-23. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5013.2019.07.006.
- 13 步晓琳,李宝华,连爱琼,等.抗酸染色与实时荧光定量 PCR 法检测在肺结核辅助诊断中的应用效果对比[J].中国医疗器械信息,2020,26(22):25-26,94. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6586.2020.22.012.
- 14 谢景齐,周娇红.荧光定量 PCR 法用于诊断肺结核患者痰液中结核分枝杆菌 DNA 的临床价值[J].中国当代医药,2019,26(12):150-152,155. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4721.2019.12.046.

(收稿日期:2022-11-29)

(本文编辑:邵文)