

4种检测方法对骨结核的诊断价值比较

李晓琴¹⁾, 马志强¹⁾, 田楠²⁾, 陈薇¹⁾, 李才信¹⁾, 周敏¹⁾

(1)昆明市第三人民医院检验科/云南省传染性疾病预防控制中心, 云南昆明 650031;

2)昆明医科大学公共卫生学院, 云南昆明 650500)

[摘要] **目的** 探讨涂片抗酸染色、TB-DNA、Xpert MTB/RIF、结核菌培养等4种检测方法对骨结核诊断的价值对比。**方法** 对骨外科1a内住院骨质破坏患者的病灶周围脓液, 用4种检测方法进行检测, 并对结果进行统计分析, 指标包括: 灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值。**结果** 研究对象中以临床诊断为金标准, 脓液涂片查抗酸杆菌灵敏度为31.75%, 特异度为100.00%, 阳性预测值100.00%, 阴性预测值53.74%, 约登指数为0.32; TB-DNA灵敏度为88.89%, 特异度为98.00%, 阳性预测值98.25%, 阴性预测值87.50%, 约登指数为0.87; Xpert MTB/RIF灵敏度为95.23%, 特异度为68.00%, 阳性预测值78.95%, 阴性预测值91.90%, 约登指数为0.63; 脓液结核菌培养灵敏度为41.27%, 特异度为100.00%, 阳性预测值100.00%, 阴性预测值57.47%, 约登指数为0.41, ($\chi^2=77.354$, $P<0.005$)4种检测方法差异具有统计学意义。**结论** 4种检测方法中, TB-DNA灵敏度和特异度较好, Xpert MTB/RIF灵敏度较好, TB-DNA和Xpert MTB/RIF的真实性较好, 同时阳性预测值和阴性预测值较高, 对骨结核的诊断具有较好的价值。

[关键词] 涂片抗酸染色; 结核分枝杆菌基因; 结核分枝杆菌及利福平耐药检测; 结核菌培养; 骨结核

[中图分类号] R529.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2024)02-0131-05

Comparison of Four Methods in the Diagnosis of Bone Tuberculosis

LI Xiaoqin¹⁾, MA Zhiqiang¹⁾, TIAN Nan²⁾, CHEN Wei¹⁾, LI Caixin¹⁾, ZHOU Min¹⁾

(1) Dept. of Laboratory Infectious Disease, The Third People's Hospital of Kunming, Yunnan

Clinical Medical Center for Infectious Diseases, Kunming Yunnan 650031; 2) School of Public

Health, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500, China)

[Abstract] **Objective** To compare the diagnostic value of smear acid-fast staining, TB-DNA, Xpert MTB/RIF and culture of Mycobacterium tuberculosis. **Methods** Four methods were used to detect the perifocal pus of the patients with bone destruction in orthopaedics department within one year, and the results were analyzed statistically, the indexes included sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value. **Results** The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, and Youden index were 31.75%, 100.00%, 100.00%, 53.74% and 0.32 respectively. TB-DNA had a sensitivity of 88.89%, a specificity of 98.00%, a positive predictive value of 98.25%, a negative predictive value of 87.50%, and a Youden Index of 0.87. Xpert MTB/Rif had a sensitivity of 95.23%, a specificity of 68.00%, and a positive predictive value of 78.95%, the negative predictive value was 91.90%, the Youden index was 0.63. The sensitivity, the specificity, the positive predictive value, the negative predictive value and the Youden index were 41.27%, 100.00%, 100.00%, 57.47% and 0.41 respectively, ($\chi^2 = 77.354$, $P < 0.005$). **Conclusion** Among the four methods, TB-DNA has a good Sensitivity and specificity, Xpert mtbrif has a good sensitivity, TB-DNA and Xpert mtbrif ha

[收稿日期] 2023-12-19

[基金项目] 昆明市卫生科技人才培养项目〔2022-SW(后备)-85〕

[作者简介] 李晓琴(1979~), 女, 云南昆明人, 学士学位, 副主任检验师, 主要从事感染性疾病临床医学检验工作。

[通信作者] 周敏, E-mail: 952025400@qq.com; 李才信, E-mail: 954003892@qq.com

good authenticity, and both positive and negative predictive values are high, it has good value in the diagnosis of bone tuberculosis.

[**Key words**] Smear acid-fast staining; TB-DNA; Xpert/MTB/RIF; Culture of mycobacterium; Tuberculosis bone

骨结核是最常见的肺外继发性结核,文献报道大约占结核总发病率的 3%~5%^[1]。多数患者并不同时伴有活动性肺结核,症状不明显,以受累器官局部疼痛为主。骨结核早期未出现骨质破坏时,影像学检查可发现异常,但诊断非常困难,随着病情进展,极易与化脓性脊柱炎、骨质疏松性椎体压缩骨折、各种脊柱原发肿瘤或转移瘤、嗜酸性肉芽肿等疾病相混淆,造成诊断失误^[2]。

结核杆菌由原发病灶通过血液传播至受累骨表面^[3-4],逐渐形成骨结核病灶。骨结核的实验检查包括血沉、结核菌素试验、结核菌培养及病理等检查^[5]。随着检验技术发展,结核杆菌相关基因检测的开展,TB-DNA、Xpert-MTB/RIF 等检测技术得到广泛应用,实时荧光定量 PCR 是近年来 WHO 向全球极力推荐的诊断技术^[6-7]。随着医学检验技术的发展,对结核病临床诊断提供越来越多的帮助,回顾性分析昆明市第三人民医院 1 a 住院患者的结核病检测数据,对骨结核临床诊断作出分析报告。

1 资料与方法

1.1 标本来源

收集 2021 年 12 月至 2022 年 11 月昆明市第三人民医院骨结核科住院患者,所有研究对象都知情同意,并经过昆明市第三人民医院伦理委员会审查(KSLL20230320007)。骨质病理性破坏患者 113 例,参照诊断标准,确诊为骨结核患者 63 例,非结核患者 50 例,对骨质破坏病灶旁脓液进行抗酸染色、TB-DNA、Xpert MTB/RIF、结核菌培养 4 种方法检测。

1.2 实验方法

1.2.1 抗酸染色(冷染法) 涂片经过固定后,滴加石碳酸复红溶液盖满玻片,室温染色后,流水冲洗,沥干,滴加酸性酒精脱色沥干,亚甲基蓝溶液染色后冲洗镜检。

1.2.2 TB-DNA(荧光 PCR 法) 在待测标本液中加入 4% 氢氧化钠混匀,液化;取液化后的样本 0.5 mL 于 1.5 mL 离心管中加入 0.5 mL 4% 氢氧化钠后放置 10 min, 13000 r/min 离心 10 min;弃上

清,沉淀中加入 1 mL 灭菌生理盐水,振荡混匀,13000 r/min 离心 10 min,再重复洗涤 1 次;弃上清,沉淀中加入 50 μ L 核酸提取液振荡混匀 15 s,100 $^{\circ}$ C 水浴或干浴 10 min 后 12000 r/min 离心 10 min。取上清液 12000 r/min 离心 10 min,进行 PCR 扩增。

1.2.3 Xpert MTB/RIF 包括用于检测结核分枝杆菌和利福平耐药性的试剂以及样本处理质控(SP-C),用于确认目标细菌的充分处理和监测是否有 PCR 反应抑制物质的存在。针对 rpoB 基因 81 bp 利福平耐药核心区间(RRDR)设计引物、探针,检测其是否发生突变,进而用于辅助诊断是否为结核以及是否对利福平耐药(rpoB 序列存在突变)。

1.2.4 结核菌培养(BACTEC MGIT 960 System)

使用快速分枝杆菌培养+药敏检测系统(美国 BD 公司生产)进行实验,运用瓶外非侵入性连续检测技术及荧光检测原理,24 h 不间断监测,对结核培养结果自动判断,一般 1~2 周即可生长。BACTEC MGIT 960 System 药敏系统采用 Method of Proportion(MOP)的方法来进行结核分枝杆菌的药物敏感性检测,结果判断的临界度取 1%。

1.3 统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料以率/百分数(%)表示,采用 SPSS 23.0 软件进行统计学分析。对不同检测方法阳性率的比较进行 χ^2 检验,并计算不同检测方法的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 患者的一般资料

本研究中男性 61 例(53.98%),女性 52 例(46.02%);年龄 13~86 岁,平均年龄 51.81 岁,结核组中脊柱结核 95 例,其中合并肺结核 8 例,肩关节结核 5 例,肘关节 4 例,腕结核 10 例。非结核组中布鲁氏脊柱炎 11 例,化脓性骨髓炎 7 例。对象患者年龄以中老年为主,发病器官以胸腰椎多见,其次腕关节、肩关节、肘关节,其中不完全截瘫 7 例,7 例完全性截瘫。并发多器官结核 33 例,比例为 29.20%,高于王琦璞等报道 26.4%。

住院治疗期间无死亡, 均治疗好转出院。

2.2 不同检测方法检测结果

脓液涂片阳性 20 例(17.70%), 阴性 93 例(82.30%); 脓液 TB-DNA 检测阳性 57 例(50.44%), 阴性 56 例(49.56%); 脓液 Xpert MTB/RIF 检测阳

性 76 例(67.26%), 阴性 37 例(32.74%); 脓液结核菌培养阳性 26 例(23.01%), 阴性 87 例(77.00%), 采用行表 χ^2 检验, 检验水准 $\alpha=0.05$, 4 种检测方法差异具有统计学意义 ($\chi^2=77.354$, $P<0.005$), 见表 1。

表 1 4 种检测方法阳性率比较 [n (%)]

Tab. 1 Comparison of positive rates of 4 different detection methods [n (%)]

项目	涂片抗酸染色	TB-DNA	Xpert MTB/RIF	结核菌培养	χ^2	P
阴性	93 (82.30)	56 (49.56)	37 (32.74)	87 (77.00)		
阳性	20 (17.70)	57 (50.44)	76 (67.26)	26 (23.01)	77.354	0.001*
合计	113	113	113	113		

* $P<0.05$ 。

2.3 不同结核检测技术的诊断效能

以临床诊断为金标准, 对不同结核检测技术的诊断效能进行评价。涂片抗酸染色法灵敏度 31.75%, 特异度 100.00%, 阳性预测值 100.00%, 阴性预测值 53.76%, 约登指数为 0.32; TB-DNA 法灵敏度 88.89%, 特异度 98.00%, 阳性预测值

98.25%, 阴性预测值 87.50%, 约登指数为 0.87; Xpert MTB/RIF 法灵敏度 95.23%, 特异度 68.00%, 阳性预测值 78.95%, 阴性预测值 91.90%, 约登指数为 0.63; 结核菌培养法灵敏度 41.27%, 特异度 100.00%, 阳性预测值 100.00%, 阴性预测值 57.47%, 约登指数为 0.41, 见表 2。

表 2 不同结核检测方法的诊断效能 [n (%)]

Tab. 2 Diagnostic efficacy of different tuberculosis testing methods [n (%)]

检测方法	结果	临床诊断		灵敏度(%)	特异度(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)
		骨结核(63例)	非骨结核(50例)				
涂片抗酸染色法	阳性	20 (31.75)	0 (0.00)	31.75	100.00	100.00	53.76
	阴性	43 (68.25)	50 (100.00)				
TB-DNA	阳性	56 (88.89)	1 (0.20)	88.89	98.00	98.25	87.50
	阴性	7 (11.11)	49 (98.00)				
Xpert MTB/RIF	阳性	60 (95.24)	16 (32.00)	95.23	68.00	78.95	91.90
	阴性	3 (4.76)	34 (68.00)				
结核菌培养	阳性	26 (41.27)	0 (0.00)	41.27	100.00	100.00	57.47
	阴性	37 (58.73)	50 (100.00)				

3 讨论

骨结核由于发病缓慢隐匿, 住院患者中病史最长者 10 a 以上, 病史最短者因脊柱结核椎体骨坏死, 出现椎体结构破坏, 脊柱失稳、后凸畸形, 压迫神经, 双下肢出现乏力, 活动受限 10 d 就诊。病例中患者最大年龄 86 岁, 最小年龄 13 岁, 男性 61 例 (53.98%), 女性 52 例 (46.02%), 男女比

例为 1 : 0.85, 北京胸科医院的研究显示, 女性患骨结核是男性的 1.64 倍^[8], 骨结核病变进展缓慢, 脓液中结核杆菌数量少, 同医疗机构中, 脓液直接涂片检测抗酸杆菌阳性率低于痰液和肺泡灌洗液; 结核菌培养阳性率也同样低于同类标本。观察对象中, 脓液直接涂片检测抗酸杆菌, 阳性病例 20 例, 阳性率 17.7% (20/113), 低于张宏其等^[9]报道 56 例脊柱结核脓液直接涂片的阳性率

23.2%。TB-DNA, 阳性 57 例, 阳性率为 50.44% (57/113)。脓液 TB-DNA 高于李素华等的荧光定量 PCR 法进行 TB-DNA 检测脓液、肺泡灌洗液、痰液、胸水的检验结果 47.4%^[10]。Xpert MTB/RIF 检测阳性 76 例, 阳性率为 67.25%(76/113)。高于阳红梅等所研究的 Xpert MTB/RIF 的阳性检测率 52.2%^[11]。目前 Xpert MTB/RIF 检测方法作为世界卫生组织唯一推荐的快速检测结核分枝杆菌及其利福平耐药性的手段, 它具有快速、操作简单、污染小、灵敏度高、特异性强的特点。结核菌培养, 阳性 26 例, 阳性率 23.0%(26/113), 低于沈健等^[12]报道的骨与关节结核患者病灶分枝杆菌感染分布研究中结核菌培养阳性率 58.46%。培养结果与结核组患者经抗结核治疗后, 检测标本细菌含量减少有关。

脓液直接涂片检测抗酸杆菌法具有快速简单的特点, 但阳性率(17.7%)低, 灵敏度(31.75%)较差, 国内大多数研究也呈现这一特点^[13-14]; 人工镜检的经验和操作对结果也会产生影响^[15], 手术治疗患者经过抗结核治疗, 病灶细菌浓度降低可能是导致脓液直接涂片检测抗酸杆菌法的阳性率较低原因之一。在一些研究中发现由于非结核分枝杆菌抗酸染色也阳性, 结核菌培养(BACTEC MGIT 960 System)可进行菌种鉴定区分结核和非结核分枝杆菌, 并对菌种做出药敏试验。本研究结核菌培养法的阳性检出率 67.25%(76/113), 灵敏度为 41.27%, 与其他研究呈现类似结果^[16]。结核菌培养法可反映结核杆菌存活能力高, 可做菌种和药敏试验, 但结核杆菌培养周期长, 且对实验室的生物安全级别要求较高^[13]。

脓液 TB-DNA 结核分枝杆菌的检测效果较好, PCR 法具有敏感、特异、快速的优点, 国内文献显示, TB-DNA 检测脓液样本的敏感度为 58.90%~88.23%^[17], 本次研究过程中也发现脓液 TB-DNA 检测方法具有类似的研究结果, 灵敏度(88.89%)和特异度(98.00%)较高, 阳性预测值也较好, 筛检效益好。有利于提高医生诊断的准确率, 缩短病人等待确诊的时间。Xpert MTB/RIF 检测法快速、简单、污染小、灵敏度高、特异度高的特点。国外一项研究中 Xpert MTB/RIF 检测在脓液中敏感度为 94.7%, 特异度为 100%^[18]。国内贾秀杰等^[19]的研究结果显示 Xpert MTB/RIF 在 73 例肺外结核性脓液中的敏感度为 89.04%, 特异度为 100.00%。本次研究结果显示灵敏度较高的原因可能是由于病人来自于传染病医院, 真阳性率较

高。孙秀华等人对骨关节脓液中 Xpert MTB/RIF 的阳性检出率为 88.5%^[20]。

综上所述, 本文不同检测方法对骨结核的诊断价值中, TB-DNA、Xpert MTB/RIF 对骨结核的诊断价值较好。当然本文存在一些不足, 由于所研究的患者来自于结核病专科医院, 非结核病人数量较少, 部分阳性检出率较高; 以及检测过程中实验人员的操作及经验, 可能会对实验结果造成误差, 在后续的研究工作中仍需不断总结和改进。

[参考文献]

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2016[M]. Geneva, Switzerland: WHO Press, 2016: 1-5.
- [2] Hsiao C H, Lin Y T, Lai C C, et al. Identification of non-tuberculous mycobacterial infection by IS6110 and hsp65 gene analysis on lung tissues[J]. Diagnostic Microbiology & Infectious Disease, 2010, 68(3): 241-246.
- [3] 孙宇航, 王骞, 施建党, 等. 脊柱结核不同技术与病理标本结核分枝杆菌培养及药敏试验的比较[J]. 中国矫形外科杂志, 2018, 26(2): 5.
- [4] 董伟杰, 秦世炳, 兰汀隆, 等. 耐多药脊柱结核的原因分析及处理对策[J]. 中华骨科杂志, 2014, 34(2): 6.
- [5] 吴丹梅. 结核病检查方法的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(1): 106-107.
- [6] 马爱静, 赵雁林. 耐药结核病的流行和监测现状[J]. 中国抗生素杂志, 2018, 43(5): 5.
- [7] 李亮. 中国结核病诊疗现状及展望[C]. 第八届东北地区呼吸疾病学术会议暨吉林省医学会呼吸病学分会第十三次学术会议, 2016.
- [8] 王琦璞, 侍效春, 刘晓清, 等. 68例骨关节结核的临床特征[J]. 中国医学科学院学报, 2022, 44(6): 6.
- [9] Pang Y, An J, Shu W, et al. Epidemiology of extrapulmonary tuberculosis among inpatients, China, 2008-2017[J]. Emerg Infect Dis, 2019, 25(3): 457-464.
- [10] 张宏其, 向伟能, 郭超峰, 等. 噬菌体生物扩增法快速检测脊柱结核脓液中结核分枝杆菌[J]. 医学临床研究, 2007, 24(9): 1455-1458.
- [11] 李素华, 陈莉, 王欢. 荧光定量PCR检测TB-DNA在各类检样中的阳性率分析[J]. 西南国防医药, 2007, 17(6): 752-753.
- [12] 阳红梅, 苏丹虹, 管婧. 5种结核分枝杆菌检测方法的临

- 床应用价值研究[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(4): 4.
- [13] 沈健, 郑琦, 汪翼凡, 等. 骨与关节结核患者病灶分枝杆菌感染分布研究[J]. 中国预防医学杂志, 2019, 20(11): 020.
- [14] 王华钧, 孙小军, 金法祥, 等. 4种结核分枝杆菌检测方法的比较[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(11): 3.
- [15] 王震, 龚玉华, 钱彩娣, 等. 5种结核杆菌检测方法的临床应用价值[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(3): 334-336.
- [16] 韩鹏, 赵丽萍, 李彦芳, 等. 3种方法检测痰标本结果临床应用对比分析[J]. 医学动物防制, 2018, 34(1): 3.
- [17] 邵燕琴, 朱明智, 戴玲珊, 等. GeneXpert MTB/RIF和TB-DNA两种荧光PCR方法检测肺外结核脓液样本的效能分析[J]. 中国防痨杂志, 2023, 45(12): 1158-1163.
- [18] Tadesse M, Abebe G, Bekele A, et al. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis: a diagnostic evaluation study[J]. Clinical Microbiology and Infection, 2019, 25(8): 1000-1005.
- [19] 贾秀杰, 胡小芳, 程亮, 等. 结核分枝杆菌/利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测技术对肺外结核性脓肿的诊断价值分析[J]. 现代生物医学进展, 2022, 22(22): 4385-4389.
- [20] 孙秀华, 孙娇, 孙炳奇. Xpert MTB/RIF检测技术和MGIT960培养在肺外结核诊断中的比较分析[J]. 当代医学, 2019, 25(17): 45-48.

征稿启事

为积极支持和推动昆明医科大学学科建设和发展, 进一步提升《昆明医科大学学报》的办刊质量, 不断扩大本刊的学术影响力, 特对高质量稿源进行广泛征集。(1)国家自然科学基金资助课题的综述类论文可以在学报正刊发表;(2)对国家自然科学基金资助课题、云南省自然科学基金资助课题及昆明医科大学“十三五”省级、校级重点学科立项建设的研究论文, 给予优先刊登。另外, 投稿时需同时附: 投稿单位证明、论文诚信承诺书以及基金项目证明。欢迎广大临床科研教学人员、硕士及博士研究生踊跃投稿。

网上投稿 <http://kmykdx.cnjournals.cn>, 电话: 0871-65936489, 65393133, 65922951, 65922874。

昆明医科大学学报编辑部

2024年1月1日