

## • 论著-研究报告 •

## 2 种方法检测与痰涂片阴性肺结核患者诊断效能的关系研究\*

黄琦<sup>1</sup> 吴婷婷<sup>1</sup> 孔晓明<sup>1</sup> 周翔<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的:研究利福平耐药实时荧光定量核酸扩增技术(Xpert MTB/RIF)结合结核感染 T 细胞试验(T-SPOT)2 种方法检测与痰涂片阴性肺结核患者诊断效能的关系。方法:收集 2020 年 1 月—2020 年 10 月就诊的呼吸系统疾病患者 212 例,分为对照组(102 例)和结核组(110 例)。对所有患者进行 Xpert MTB/RIF 以及 T-SPOT 检查,分析 2 种检测方法对结核病以及涂片阴性肺结核的诊断效能之间的差异。结果:采用 Xpert MTB/RIF、T-SPOT、涂片及培养 4 种方法同时对结核组和对照组进行检测,不同方法结果比较差异有统计学意义( $P < 0.001$ );Xpert MTB/RIF、T-SPOT、联合检测的灵敏度分别为 59.09%、64.49%及 83.46%。联合检测诊断对肺结核患者的诊断灵敏度显著高于单独检测( $P < 0.05$ );通过联合诊断效能分析,联合诊断对涂阴肺结核患者的诊断灵敏度显著高于单独检测。结论:Xpert MTB/RIF 结合 T-SPOT 检测对于痰涂片阴性肺结核患者的诊断灵敏度高,建议临床应用推广。

**[关键词]** 荧光定量核酸扩增技术;结核感染 T 细胞试验;肺结核;联合诊断

**DOI:**10.13201/j.issn.1004-2806.2021.08.010

**[中图分类号]** R521 **[文献标志码]** A

## Study on the relationship between two methods and the diagnostic efficiency of sputum smear negative pulmonary tuberculosis patients

HUANG Qi WU Tingting KONG Xiaoming ZHOU Xiang

(Department of Laboratory Medicine, Liyang People's Hospital, Liyang, 213300, China)

Corresponding author: ZHOU Xiang, E-mail:312799781@qq.com

**Abstract Objective:** To study the relationship between xpert MTB/RIF combined with T-SPOT detection and diagnostic efficiency of smear negative pulmonary tuberculosis patients. **Methods:** A total of 212 patients with respiratory diseases hospitalized in the respiratory department of our hospital from January 2020 to October 2020 were collected and divided into control group( $n=102$ ) and tuberculosis group( $n=110$ ). All patients were examined by xpert MTB / RIF and T-SPOT respectively to analyze the difference between the two diagnostic methods in the diagnosis of tuberculosis and smear negative tuberculosis. **Results:** The sensitivity of xpert MTB / RIF, T-SPOT, smear and culture were 59.09%, 64.49% and 83.46%, respectively. The diagnostic sensitivity of combined detection in patients with pulmonary tuberculosis was significantly higher than that of single detection( $P < 0.05$ ). The diagnostic sensitivity of combined diagnosis in patients with smear negative pulmonary tuberculosis was significantly higher than that of single detection. **Conclusion:** The sensitivity of xpert MTB / RIF combined with T-SPOT detection in the diagnosis of smear negative pulmonary tuberculosis patients is significantly increased, and it is recommended to be popularized in clinical practice.

**Key words** Xpert MTB/RIF; T-SPOT; tuberculosis; joint diagnosis

结核病是国际关注的公共卫生问题,中国的结核病防治形势严峻。根据世界卫生组织的最新报告,2013 年全球新增结核病约 900 万例,死亡 150 万例,中国的结核病病例数占高负担国家的 13.2%<sup>[1]</sup>。根据 2018 年全球结核病控制报告,结核病仍然是世界十大死亡原因之一,也是比艾滋病高的单一传染病的最大杀手<sup>[2]</sup>。2017 年,我国结核病患者数居世界第二<sup>[3]</sup>。2010 年调查显示全国有 499 万活动性结核患者,其中涂片阳性结核病患者 72 万,涂片阴性结核病患者 427 万,是涂片阳性

结核的近 6 倍<sup>[4]</sup>。因此,如果大量的涂片阴性患者不能及时被确诊,不仅会影响自身的身体健康,还有可能传染给其他人,所以对于结核病早期诊断显得至关重要。目前,结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)涂片抗酸染色镜检是结核病诊断的常用方法之一,但灵敏度较低,单纯依靠痰培养分离的阳性率偏低,尤其是对于菌阴肺结核缺乏有效的检测方法。利福平耐药实时荧光定量核酸扩增技术(Xpert MTB/RIF)以 PCR 为基础,检测结核分枝杆菌的同时,不会受混合感染的影响<sup>[5]</sup>。该方法灵敏度、特异度高,检测耗时少,使用方便易学,适于临床应用及流行病学调查。结核感染 T 细胞检测(T-SPOT)是以  $\gamma$  干扰素释放试验

\*基金项目:常州市科研计划项目(No:WZ201730)

<sup>1</sup>溧阳市人民医院检验科(江苏溧阳,213300)

通信作者:周翔,E-mail:312799781@qq.com

(interferon- $\gamma$  release assays, IGRA)为基础的结核病早期快速诊断方法<sup>[6]</sup>。本研究旨在采用 Xpert MTB/RIF 结合 T-SPOT 联合检测,评估两者联合筛检对涂阴性肺结核患者的诊断效能。

### 1 资料与方法

#### 1.1 资料

收集 2020 年 1 月—2020 年 10 月在我院就诊的呼吸道疾病患者 212 例,分为对照组和结核组。对照组 102 例,其中男 52 例,女 50 例;平均年龄(51.23 $\pm$ 7.01)岁。纳入标准:呼吸道疾病患者;由医生根据其临床表现、影像学检查、实验室检测及流行病学资料综合分析后排除结核病诊断的患者。结核组 110 例,其中男 58 例,女 52 例;平均年龄(52.13 $\pm$ 6.85)岁。纳入标准:符合肺结核临床诊断病例和确诊病例标准<sup>[7]</sup>。

根据痰涂片抗酸染色镜检结果,涂片阴性肺结核组共 81 例,其中男 40 例,女 41 例,平均年龄(52.36 $\pm$ 6.14)岁;涂片阳性肺结核组共 29 例,其中男 18 例,女 11 例,平均年龄(52.01 $\pm$ 6.35)岁。排除标准:HIV 或其他病毒感染者;既往结核病史;符合支气管镜检查适应证;严重心肺功能障碍等禁忌证者。各组一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

#### 1.2 方法

所有患者均留取下呼吸道合格痰样本 3 份,同时留取 10 mL 肝素锂抗凝静脉血,均行 Xpert MTB/RIF、T-SPOT 试验、痰抗酸杆菌染色、痰结核菌罗氏培养 4 项检查。

**1.2.1 Xpert MTB/RIF 试验** Xpert MTB/RIF 试验所用的仪器及试剂均由美国 Cepheid 公司提供。在 2 mL 标本处理液加入 1 mL MGIT 液体,盖紧,混匀后室温静置 15 min,取 2 mL 以上样品置入 Xpert MTB/RIF 反应盒中,2 h 后读出结果。检测结果分为阴性和阳性。

**1.2.2 T-SPOT 试验** 所有患者在初诊当日采集 10 mL 肝素抗凝静脉血,分离得外周血单个核细胞,将分离后的血单个核细胞和结核特异抗原同时加入预包被有 IFN- $\gamma$  抗体的反应孔中,培养过夜(37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub>);次日洗板,加入二抗,培养 1 h 后再次洗板,加入底物显色液反应 5~7 min,蒸馏水终止反应,记录斑点形成细胞数。根据孔的反应判

断结果:①对照孔斑点数小于 6 个,样本斑点数—对照孔斑点数 $\geq$ 6 个,则判断为阳性;②对照孔斑点数 $\geq$ 6 个,样本斑点数 $\geq$ 2 倍对照孔斑点数,则判断为阳性。否则判断为阴性。

**1.2.3 痰抗酸杆菌染色** 按照《痰涂片镜检标准化操作及质量保证手册》中的标准化操作流程对痰涂片样本进行抗酸染色,报告结果。

**1.2.4 痰结核菌培养** 采用罗氏培养液培养结核分枝杆菌。

**1.2.5 联合判定结果** 在 Xpert MTB/RIF、血 T-SPOT 检测中,只要其中任一项检测结果为阳性,即判为联合阳性;全部检测结果为阴性,即判断为联合阴性。

#### 1.3 统计学处理

数据分析采用 SPSS 22.0 进行,计数资料以%表示,采用  $\chi^2$  检验比较;计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示正态分布检验, $t$  检验比较正态分布的计量资料,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

#### 2.1 Xpert MTB/RIF、T-SPOT、涂片及培养的检测

用 Xpert MTB/RIF、T-SPOT、涂片及培养 4 种方法同时对结核组和对照组进行检测,不同方法之间结果均有统计学意义( $P<0.001$ ),见表 1。

表 1 Xpert MTB/RIF、T-SPOT、涂片及培养的检测结果例

组别	例数	Xpert MTB/RIF(+)	T-SPOT (+)	涂片 (+)	培养 (+)
结核组	110	65	89	29	58
对照组	102	3	38	0	0

#### 2.2 2 种检测方法对肺结核的诊断效能比较

联合诊断对肺结核患者的诊断灵敏度显著高于单独检测,见表 2、图 1。

#### 2.3 联合诊断对痰涂片阴性肺结核患者的诊断效能比较

通过联合诊断效能分析,联合诊断对涂阴肺结核患者的诊断灵敏度显著高于单独检测,见图 2、表 3。

表 2 2 种检测方法对肺结核的诊断效能比较

诊断方法	真阳例数	假阴例数	真阴例数	假阴例数	准确率/%	灵敏度/%	特异度/%	阳性预测值/%	阴性预测值/%	标准误	AUC	AUC (95%CI)	P
Xpert MTB/RIF	65	3	99	45	77.36	59.09	60.37	95.59	68.75	11.231	0.775	0.520~0.872	0.017
T-SPOT	89	19	83	49	71.67	64.49	48.26	82.41	62.88	9.252	0.603	0.600~0.746	<0.001
联合检测	92	43	59	18	71.23	83.64	39.07	68.15	76.62	3.222	0.773	0.755~0.852	<0.001

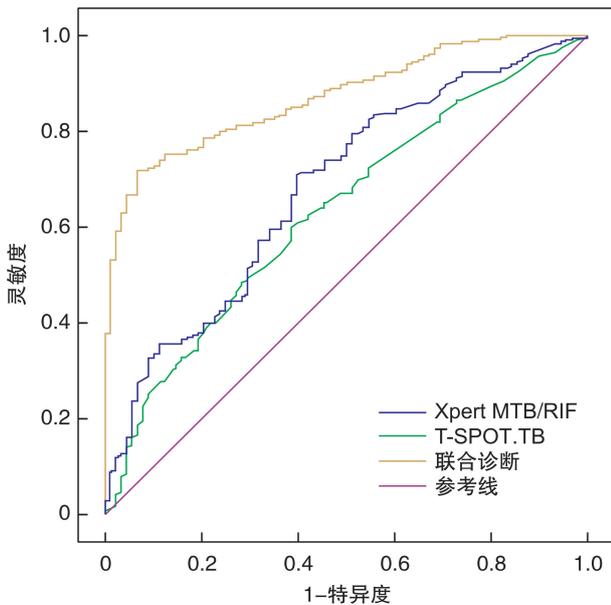


图 1 2 种检测方法对肺结核的诊断效能比较

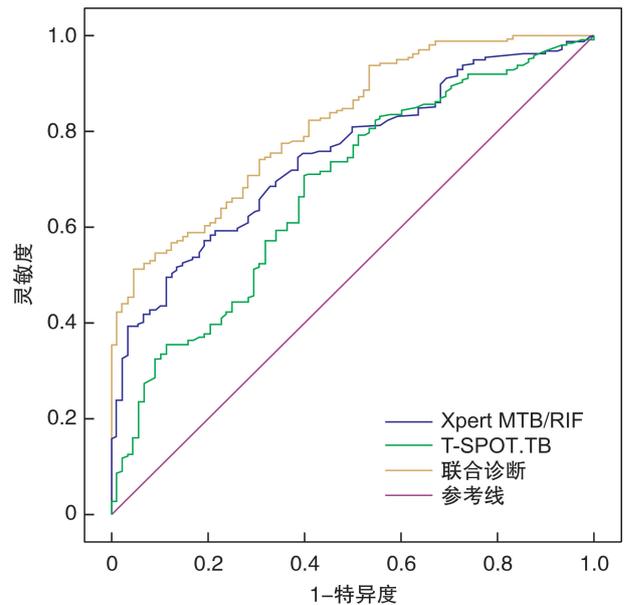


图 2 联合诊断对涂阴肺结核患者的诊断效能比较

表 3 联合诊断对涂阴肺结核患者的诊断效能比较

诊断方法	真阳 例数	假阳 例数	真阴 例数	假阴 例数	准确率 /%	灵敏度 /%	特异度 /%	阳性预 测值/%	阴性预 测值/%	标准误	AUC	AUC (95%CI)	P
Xpert MTB/RIF	35	3	99	46	73.22	43.21	73.88	92.11	68.28	11.231	0.771	0.762~0.864	<0.001
T-SPOT	64	38	64	17	69.95	79.01	50.00	62.75	79.01	9.252	0.776	0.602~0.800	<0.001
联合检测	66	47	55	15	66.12	81.48	45.45	58.41	78.57	3.222	0.773	0.755~0.852	<0.001

### 3 讨论

我国是结核病的发病大国,目前对于结核病的诊断仍然需要通过患者的痰涂片寻找抗酸杆菌作为诊断依据<sup>[8]</sup>,有研究报道指出,结核病的诊断灵敏度在 20%~30%<sup>[9]</sup>,而针对痰液较少的患者,其对于结核病的诊断效能更低。虽然通过多种途径可促使患者的痰液排除,但是通过此种方法对于结核病的诊断效能仍然存在 20% 的患者无法进行诊断,所以,单独通过对患者的痰涂片诊断,仍然存在一定的局限性。有研究报道指出,在结核病患者中,涂片阴性患者的比例高达 60.10%<sup>[10]</sup>,大多数患者只能通过影像学数据进行诊断。随着诊断技术的不断提升,通过对患者支气管镜的检查,直接对患者的病灶部位进行观察,同时对于病灶部位进行涂片检查,显著提高患者阴性结核病的诊断效能。随着分子生物技术的不断发展,Xpert MTB/RIF 诊断技术不仅可以从患者的核酸水平进行诊断,同时对患者的利福平诊断耐药情况均差异有统计学意义<sup>[11]</sup>。在对结核病患者诊断中,通过对患者采取 T-SPOT 进行诊断,对于肺结核的确诊具有显著的辅助性意义。同时通过对患者的 T-SPOT 诊断,可在一定程度上避免由于卡介苗接种造成的假阳性。目前,在欧洲地区,T-SPOT 检测已经成为结核杆菌感染的重要手段。我国对于 T-SPOT 对

结核病的诊断仅局限于血液样本的检测<sup>[12]</sup>。

在本研究中,通过对结核病以及结核病中的涂片阴肺结核的诊断中,Xpert MTB/RIF 以及 T-SPOT 的联合诊断灵敏度显著优于单独检测。在我国对于肺结核患者的诊断中,目前尚不能将 Xpert MTB/RIF 以及 T-SPOT 的单独检测作为常规的诊断标准,只可作为辅助性诊断。本研究中,Xpert MTB/RIF 以及 T-SPOT 对于肺结核的诊断灵敏度分别为 59.09%,60.04%。而 Xpert MTB/RIF 以及 T-SPOT 对于肺结核涂阴患者的灵敏度分别为 73.22%,69.95%,与以往的研究类似。Joon 等<sup>[13]</sup>报道指出,机体在处于较低的免疫状态时,单独通过对患者的 T-SPOT 诊断,极易出现假阴性事件的产生,例如在结核病合并免疫缺陷病毒或者新冠病毒的感染时,单独通过对患者的 T-SPOT 诊断,患者的假阴性率显著升高。Xpert MTB/RIF 诊断过程中,由于在非结核杆菌的基因片段中也存在 rpoB 基因或者类似基因,所以在对患者的诊断中,通过对患者的 Xpert MTB/RIF 诊断,患者存在假阳性情况的产生。而在本研究中,通过 2 种技术的联合诊断,患者的诊断灵敏度显著升高,对于菌阴性结核病患者诊断提供可靠依据。另外,通过对患者的经济学分析中,在实际对患者的诊断过程

(下转第 575 页)

- (3):35-38.
- [6] Poder TG, Pruneau D, Dorval J, et al. Effect of warming and flow rate conditions of blood warmers on red blood cell integrity[J]. *Vox Sang*, 2016, 111(4): 341-349.
- [7] 朱红艳, 孟强, 欧阳红梅, 等. 流式细胞术检测红细胞渗透脆性试验方法的建立[J]. *中国实验血液学杂志*, 2016, 24(1): 229-232.
- [8] Wagner T, Pabst MA, Leitinger G, et al. Impact of constant storage temperatures and multiple warming cycles on the quality of stored red blood cells[J]. *Vox Sang*, 2014, 106(1): 45-54.
- [9] Donati F, Acciarini R, De Benedittis I, et al. Detecting Autologous Blood Transfusion in Doping Control: Biomarkers of Blood Aging and Storage Measured by Flow Cytofluorimetry [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2018, 19(2): 124-135.
- [10] Balvers K, Wirtz MR, van Dieren S, et al. Risk factors for trauma-induced coagulopathy and transfusion-associated multiple organ in severely injured trauma patients[J]. *Front Med(Lausanne)*, 2015, 24(2): 24-26.
- [11] Patel RM, Knezevic A, Shenvi N, et al. Association of Red Blood Cell Transfusion, Anemia, and Necrotizing Enterocolitis in Very Low-Birth-Weight Infants [J]. *JAMA*, 2016, 315(9): 889-897.
- [12] 马弘扬, 马雪松, 丛玉双, 等. 库存血水浴复温的研究进展[J]. *医学综述*, 2017, 23(16): 3216-3218.
- [13] Barshtein G, Gural A, Manny N, et al. Storage-induced damage to red blood cell mechanical properties can be only partially reversed by rejuvenation [J]. *Transfus Med Hemother*, 2014, 41(3): 197-204.
- [14] Simmonds MJ, Atac N, Baskurt OK, et al. Erythrocyte deformability responses to intermittent and continuous subhemolytic shear stress [J]. *Biorheology*, 2014, 51(2-3): 171-185.
- [15] 符珉瑞, 穆振霞, 常宇. 轴衬磨损导致的轴流式血泵偏心对其血流动力学性能和血液损伤的计算流体力学分析[J]. *医用生物力学*, 2017, 34(增刊): 94-98.

(收稿日期: 2021-01-08)

(上接第 570 页)

中, 首先优先考虑对患者采取 T-SPOT 诊断, 在对患者 T-SPOT 诊断中存在阴性结果, 在通过对患者的 Xpert MTB/RIF 诊断进行确认, 在经济允许的前提下, 提升对患者的诊断效能<sup>[14]</sup>。

但是本研究还存在一定的局限性, 由于患者的资料不完整, 对于经济效益的评价有待在日后的研究中进行。

综上所述, Xpert MTB/RIF 结合 T-SPOT 检测对于涂阴肺结核患者的诊断灵敏度显著升高, 建议临床推广。

#### 参考文献

- [1] 林东子, 罗勇强, 李玉美, 等. 东莞市 2013-2017 年结核病流行病学特征分析[J]. *广东医学*, 2019, 40(9): 1264-1267.
- [2] 陈军, 陈丽峰, 饶有益, 等. GeneXpert MTB/RIF 试验与 4 种结核分枝杆菌检测方法的比较[J]. *临床血液学杂志*, 2018, 31(12): 956-959.
- [3] 全国结核病流行病学抽样调查技术指导组. 2000 年全国结核病流行病学抽样调查报告[J]. *中国防痨杂志*, 2002, 24(2): 65-66.
- [4] 程曦, 李亚斐, 饶英, 等. 2271 例结核病患者耐药情况的流行病学特征分析[J]. *重庆医学*, 2015, 44(12): 1635-1637.
- [5] 刘军, 刘涛, 戴碗琴, 等. Xpert MTB/RIF 技术在结核分枝杆菌利福平耐药性快速检测中的价值[J]. *检验医学*, 2020, 35(9): 920-923.
- [6] 鲍登, 周逸, 王一鸣, 等. T-SPOT 在肾透析患者结核潜伏感染中的应用价值[J]. *当代医学*, 2020, 26(24): 64-66.
- [7] Jiang J, Yang J, Shi Y, et al. Head-to-head comparison of the diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF and Xpert MTB/RIF Ultra for tuberculosis: a meta-analysis[J]. *Infect Dis(Lond)*, 2020, 52(11): 763-775.
- [8] Yadav R, Vaidya P, Mathew JL, et al. Utility of Xpert MTB/RIF Assay for Diagnosis of Pediatric Tuberculosis Under Programmatic Conditions in India [J]. *J Epidemiol Glob Health*, 2020, 10(2): 153-156.
- [9] 秦志华, 施军卫, 郑宏, 等. Xpert MTB/RIF 对初治涂阴肺结核支气管肺泡灌洗液检测的研究[J]. *中国热带医学*, 2019, 19(4): 382-385.
- [10] Chin JH, Musubire AK, Morgan N, et al. Xpert MTB/RIF Ultra for Detection of Mycobacterium tuberculosis in Cerebrospinal Fluid [J]. *J Clin Microbiol*, 2019, 57(6): e00249-19.
- [11] Tadesse M, Abebe G, Bekele A, et al. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis: a diagnostic evaluation study [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2019, 25(8): 1000-1005.
- [12] Bankar S, Set R, Sharma D, Shah D, Shastri J. Diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF assay in extrapulmonary tuberculosis [J]. *Indian J Med Microbiol*, 2018, 36(3): 357-363.
- [13] Joon D, Nimesh M, Gupta S, et al. Development and evaluation of rapid and specific sdaA LAMP-LFD assay with Xpert MTB/RIF assay for diagnosis of tuberculosis [J]. *J Microbiol Methods*, 2019, 159: 161-166.
- [14] Lee HS, Kee SJ, Shin JH, et al. Xpert MTB/RIF Assay as a Substitute for Smear Microscopy in an Intermediate-Burden Setting [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 199(6): 784-794.

(收稿日期: 2021-02-01)