

DOI:10.13350/j.cjpb.220219

• 临床研究 •

结核病诊断 T-SPOT. TB、Gene Xpert MTB/RIF 技术应用价值研究*

胡婧^{1,2}, 周静³, 吴雯晶³, 付嘉^{4**}(1. 山东第一医科大学基础学院, 山东济南 250000; 2. 济宁市疾病预防控制中心检验科;
3. 济宁市公共卫生医疗中心检验科; 4. 济宁医学院法医学与医学检验学院)

【摘要】 **目的** 评估结核分枝杆菌及其利福平耐药株实时荧光定量核酸扩增(Gene Xpert MTB/RIF)和结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT. TB)在结核病诊断中的价值。 **方法** 分析 2020 年 1 月-2022 年 3 月济宁市公共卫生医疗中心收治的住院及门诊患者 643 病例的抗酸染色镜检、960 液体培养、Gene Xpert MTB/RIF 检测和结核抗体、T-SPOT. TB 检测结果,评价 Gene XpertMTB/RIF 和 T-SPOT. TB 检测诊断结核病的特点和价值,以临床诊断为金标准,以检测方法的敏感度、特异度及绘制的 ROC 曲线等作为评价指标。 **结果** 抗酸染色、960 快速培养和 Gene Xpert MTB/RIF 检测结核病的敏感度分别为 21.57%、39.21%和 59.80%,特异度分别为 100.00%、97.22%和 100.00%。ROC 曲线分析显示,抗酸染色、960 结核菌培养和 Gene XpertMTB/RIF 的 AUC 分别是 0.60、0.70 和 0.80,差异有统计学意义($P < 0.05$);95%置信区间范围分别为 0.50~0.70,0.61~0.78,0.73~0.87。T-SPOT. TB 和结核抗体检测的敏感度分别为 84.61%和 70.19%,特异度分别为 95.83%和 79.16%。ROC 曲线分析结核抗体与 TSPOT 检测的 AUC 分别为 0.75 和 0.90,95%,置信区间范围分别为 0.64~0.86 和 0.84~0.97。T-SPOT. TB 和 Gene Xpert MTB/RIF 的阳性率分别为 86.47%和 36.60%。 **结论** 在结核病诊断中, Gene Xpert MTB/RIF 和 T-SPOT. TB 检测结核病的敏感性高于痰涂片和痰培养检查及结核抗体检测,其中 T-SPOT. TB 检测的阳性率较高。Gene Xpert MTB/RIF 和 T-SPOT. TB 均可应用于肺结核的临床诊断以提高肺结核的诊治效率。

【关键词】 结核分枝杆菌及利福平耐药株实时荧光定量核酸扩增;结核感染 T 细胞斑点试验;痰涂片;液体培养;肺结核;结核抗体

【中图分类号】 R378.911

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2022)10-1454-05

[Journal of Pathogen Biology. 2022 Oct;17(10):1454-1458,1474.]

Study on the value of T-SPOT. TB and Gene Xpert MTB/RIF techniques in tuberculosis diagnosis

HU Jing^{1,2}, ZHOU Jing³, WU Wen-jing³, FU Jia⁴ (1 Shandong First Medical University, Jinan 250000, China; 2 Clinical Laboratory of Jining Center for Disease Control and Prevention; Department of Clinical Laboratory, Jining Public Health Medical Center; 4 School of Forensic Medicine and Medical Laboratory Science, Jining Medical University)***

【Abstract】 **Objective** To evaluate the diagnostic value of real-time fluorescent quantitative nucleic acid amplification (Gene Xpert MTB/RIF) and T cell spot test for tuberculosis infection (T-SPOT. TB). **Methods** The results of acid-fast staining microscopy, 960 liquid culture, Gene Xpert MTB/RIF detection, tuberculosis antibody and T-SPOT. TB detection in 643 inpatients and outpatients admitted to Jining Public Health Medical Center from January 2020 to March 2022 were analyzed. To evaluate the characteristics and value of Gene XpertMTB/RIF and T-SPOT. TB in the diagnosis of tuberculosis. The clinical diagnosis was taken as the gold standard, and the sensitivity, specificity and ROC curve of the detection method were taken as the evaluation indexes. **Results** The sensitivities of acid-fast staining, 960 rapid culture and Gene Xpert MTB/RIF in detecting tuberculosis were 21.57%, 39.21% and 59.80%, respectively, and the specificities were 100.00%, 97.22% and 100.00%, respectively. ROC curve analysis showed that the AUC of acid-fast staining, 960 tuberculus culture and Gene XpertMTB/RIF were 0.60, 0.70 and 0.80, respectively, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The 95% confidence intervals were 0.50-0.70, 0.61-0.78 and 0.73-0.87, respectively. The sensitivity and specificity of T-SPOT. TB and tuberculosis antibody detection were 84.61% and 70.19%, 95.83% and 79.16% respectively. ROC curve analysis of tuberculosis antibody and T-SPOT. TB detection AUC were 0.75 and 0.90, 95%, the

* 【基金项目】 山东省自然科学基金面上项目(No. ZR2015HL051)。

** 【通讯作者】 付嘉, E-mail: fujia730511@163.com

【作者简介】 胡婧(1989-), 女, 山东济宁人, 硕士在读, 主管检验师, 研究方向为微生物和理化检验。E-mail: 984499052@qq.com

range of confidence intervals were 0.64-0.86 and 0.84-0.97, respectively. The positive rates of T-SPOT. TB and Gene Xpert MTB/RIF were 86.47% and 36.60%, respectively. **Conclusion** In the diagnosis of tuberculosis, Gene Xpert MTB/RIF and T-SPOT. TB are more sensitive than sputum smear, sputum culture and tuberculosis antibody detection, and the positive rate of T-SPOT. TB detection is higher. Gene Xpert MTB/RIF and T-SPOT. TB can be used in the clinical diagnosis of pulmonary tuberculosis to improve the efficiency of diagnosis and treatment of pulmonary tuberculosis.

【Key words】 Gene Xpert MTB/RIF; T cell spot test for tuberculosis infection; Sputum smear; Liquid culture; Tuberculosis; tuberculosis antibody

肺结核是由结核分枝杆菌经呼吸道传播入侵人体引起的一种慢性传染病,传播能力强,发病率高。据《世界卫生组织全球结核病报告》统计2019年全球估算新发结核病患者996万例,其中居前三位的印度、印度尼西亚和中国的病例数占全球发病总数的一半左右^[1],结核病疫情仍然较为严重,结核病仍然是威胁人类健康的重大传染性疾病之一^[2]。快速准确诊断活动期和潜伏期结核病患者是防控结核病的关键,而建立快速、准确、敏感的检测方法至关重要。传统结核病临床检测有涂片抗酸染色镜检和结核菌培养检查,其中抗酸染色对检测环境及标本采集要求高,阳性检测率不高;结核菌培养费时,条件需求苛刻,阳性率虽较前者稍高,但存在自身的局限性。近年来分子生物学检测技术快速发展,WHO推荐结核分枝杆菌及利福平耐药实时荧光定量核酸扩增(Gene Xpert MTB/RIF)就是一种新型分子检测技术,具有操作简单、安全性高、检测速度快且自动化程度高等优点。结核感染T细胞斑点试验(T-SPOT. TB)是一种诊断结核病的新免疫学技术,具有高灵敏性和特异性^[3]。越来越多的结核病实验室引入了这两种结核病的检测方法。本研究根据临床确诊病例,分别对比分析了Gene Xpert MTB/RIF和T-SPOT. TB与其它检测方法对肺结核的诊断效能,探讨其在肺结核诊断中的优势和特点,结果报告如下。

对象与方法

1 病例

2020年1月-2022年3月济宁公共卫生医疗中心收治的门诊及住院结核病患者共643例,根据研究目的不同分3组:第1组138例患者留取痰标本均进行涂片抗酸染色镜检、960液体分枝杆菌培养和Gene Xpert MTB/RIF检测,其中结核组102例,对比组36例。第2组128例患者采集血液标本进行结核抗体和T-SPOT. TB检测,其中结核组104例,对照组24例。第3组377例结核病确诊患者同时进行Gene Xpert MTB/RIF、T-SPOT. TB检测。3组患者一般资料见表1。

表1 病例一般资料

Table 1 Data analysis of three groups of research objects

组别 Group	例数 Cases	平均年龄(岁) Average age (years)	男性 Male (%)	女性 Female (%)
GenXpert MTB/RIF 检测组	138	43±17.739	72.46	27.53
T-SPOT. TB 检测组	128	47±20.183	64.84	42.97
GenXpert MTB/RIF 与 T-SPOT. TB 检测组	377	46±17.95	59.41	32.62

病例纳入标准:结核组为参照WS288-2017《肺结核诊断标准》^[4]以病原学检测阳性为依据,再结合影像学 and 实验室检查的确诊病例。符合有以下任一种情况:1)两次抗酸痰涂片检查阳性;2)一次抗酸痰涂片检查阳性并有典型肺结核胸部影像学特征;3)肺部组织病理学诊断为结核。对照组为临床排除结核病病例。

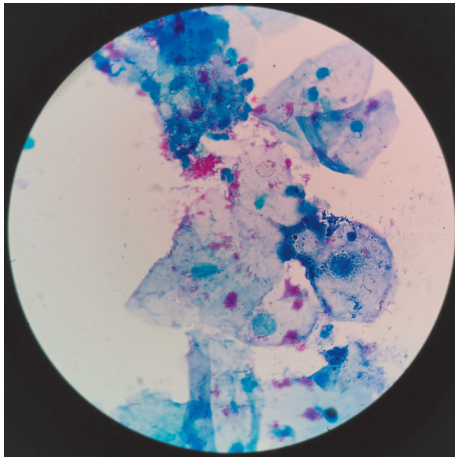
排除标准:1)就诊年龄小于14岁;2)HIV感染,以及长期接受免疫抑制剂或增强剂治疗者;3)妊娠及有严重肝、肾功能障碍者;4)标本质量不合格者(培养标本污染,痰液标本量<2 mL, T-SPOT. TB血液标本量<6 mL)。

2 主要仪器与试剂

Gene Xpert MTB/RIF 仪器及试剂盒购于美国 Cepheid 公司;萋-尼氏抗酸染液购于珠海贝索生物技术有限公司;痰涂片镜检油镜为 OLYMPUSCKX-53; MTB 液体快速分离培养采用 BACTEC_MGIT960 操作系统;液体培养基、营养抑菌添加剂等购于美国 BD 公司;结核分枝杆菌 IgG 抗体胶体金法检测试剂盒购于上海奥普生物医药股份有限公司;结核分枝杆菌特异性细胞免疫反应检测试剂盒购于北京同生时代生物技术有限公司;标准菌株 H37RV 由山东省胸科医院汉光中心参比实验室提供。

3 方法

3.1 痰涂片染色镜检 参照《结核病实验室检验规程》^[5],按照要求留取足量痰液标本,制成痰涂片,用萋-尼氏抗酸染液染色后置于油镜下观察,按图1判定结果。



注:红色为结核杆菌,蓝色为细胞和其他细菌。

图1 抗酸杆菌染色结果判定

Notes: Tuberculosis bacilli in red, cells and other bacteria in blue.

Fig. 1 Acid fast bacilli stain determination

3.2 960 液体快速培养 将标本接种 MTB 培养管,参照《结核病实验室检验规程》将培养管放入到 BACTECMGIT 960 系统进行培养,仪器自动判定培养结果,阴性培养管培养判读持续 42 d。

3.3 Gene Xpert MTB/RIF 参照《结核病实验室检验规程》,留取合格痰标本 1 mL 置于无菌螺旋管中,加入消化液 2 mL 并拧紧试管盖,涡旋振荡,室温静置 15 min,用无菌吸管吸取 2 mL 处理液缓慢加入标本反应盒内,上机测试,仪器自动判定结果。

3.4 结核抗体检测 依据结核分枝杆菌 IgG 抗体胶体金法检测试剂盒操作说明书方法检测结核抗体。结果判定:质控点区域显示红色、反应孔中心出现红色斑点时为阳性,表示感染过结核分枝杆菌病;反应孔中心仅为痕迹或无显示者判读为阴性,表示未感染分枝杆菌。

3.5 T-SPOT. TB 按照 T-SPOT. TB 检测试剂盒说明进行检测。采集患者 6 mL 血至肝素抗凝管,在 4 h 内将标本送检,在二级生物安全柜内用密度梯度离心法分离单个核细胞(PBMCs)并进行两次洗涤和提纯,显微镜下计数活细胞后将标本稀释成 2.5×10^6 / mL 细胞悬液。取 100 μ L 细胞悬液依次加入阴性对照孔、检测孔、阳性对照孔后放入 37 $^{\circ}$ C、5%二氧化碳恒温培养箱中孵育 18~20 h 每孔加入 300 μ L 洗涤工作液洗涤 4 遍;每孔加入 100 μ L 酶标抗体工作液室温孵育 1 h,洗涤 4 遍后进行显色,蒸馏水洗板终止显色,在光学显微镜下计数斑点。结果判定:阴性对照斑点 >6,检测孔斑点数目 > 阴性对照 2 倍,或阴性对照斑点数在 5 以下,检测孔与阴性对照斑点数目差在 6 到 10 个为阳性;阳性对照结果良好,2 个检测孔斑点数均未达到阳性标准者判为阴性。

3.6 统计学分析 实验数据录入 Microsoft Excel 2019 数据库,采用 SPSS 20.0 统计软件进行统计学分析。计数资料用例数(n)表示,进行 χ^2 检验;计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)描述,进行 Z 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。T-SPOT. TB 斑点数使用中位数(上下四分位数)表示。绘制各种检测方法的 ROC 曲线,比较不同方法的诊断价值。

结果

1 抗酸涂片、960 快速培养与 Gene Xpert MTB/RIF 检测对比分析

以临床诊断为金标准对 102 例确诊结核病患者和 36 例对照进行检测,阳性和阴性数抗酸染色法分别为 22、80 例和 0、36 例,960 快速培养分别为 40、62 例和 1、35 例, Gene Xpert MTB/RIF 法分别为 41、61 例和 1、35 例。3 种方法的诊断效能见表 2。

2 抗酸涂片、960 快速培养与 Gene Xpert MTB/RIF 检测的 ROC 曲线

ROC 曲线分析显示,抗酸染色、960 结核菌培养和 Gene Xpert MTB/RIF 的 AUC 分别为 0.599、0.696 和 0.804, $AUC > 0.5$ 有意义, AUC 越接近 1, 检测性能越好。采用 Z 检验对比 AUC 差异,分别 $aZ = 3.28, P < 0.01, bZ = 1.90, P < 0.05$ 有统计学差异(a. Gene Xpert MTB/RIF 与抗酸染色 AUC 比较; b. Gene Xpert MTB/RIF 与 960 结核菌培养 AUC 比较)(表 3); 95% 置信区间范围分别为 0.499~0.699, 0.609~0.783, 0.734~0.874(图 2)。

表 2 Gene Xpert MTB/RIF 与抗酸涂片及 960 快速培养法检测效能比较

Table 2 Comparison of Gene Xpert MTB/RIF test performance with acid-fast smear and 960 rapid culture

检测方法 Method	敏感度 Sensitivity (%)	特异度 Specificity (%)	阳性预测值 Positive predictive value (%)	阴性预测值 Negative predictive value (%)
抗酸涂片	21.57	100.00	100.00	31.03
960 快速培养	39.21	97.22	97.56	36.08
GeneXpert MTB/RIF	59.80 ^a	100.00 ^b	100.00	46.75

注:与抗酸涂片及 960 快速培养法比较,^a $\chi^2 = 30.90, P < 0.01$; ^b $\chi^2 = 8.65, P < 0.05$ 。

表 3 痰液抗酸涂片、960 快速培养与 Gene Xpert MTB/RIF 检测 ROC 曲线下的面积

Table 3 Areas under the ROC curve of acid-fast sputum smear, 960 rapid culture and Gene Xpert MTB/RIF test

检测方法 Detection method	面积 Area (AUC)	标准误 Standard error	P	95% CI	
				下限 Lower limit	上限 Upper limit
抗酸染色	0.599	0.051	<0.01	0.499	0.699
960 结核菌培养	0.696	0.044	<0.01	0.609	0.783
GeneXpert MTB/RIF	0.804	0.036	<0.01	0.734	0.874

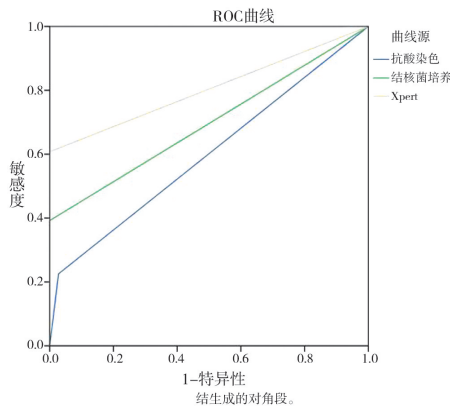


图2 抗酸涂片、960快速培养与 Gene Xpert MTB/RIF 检测 ROC 工作曲线

Fig. 2 Operating ROC curves of acid-fast smear, 960 rapid culture and Gene Xpert MTB/RIF test

3 结核抗体与 T-SPOT. TB 检测对比分析

对 104 例确诊结核患者和 24 例对照同时进行结核抗体和 T-SPOT. TB 检测, 阳性数和阴性数分别为 73、31 例和 5、19 例, 88、16 例和 1、23 例。抗核抗体和 T-SPOT. TB 检测效能对比: 敏感度分别为 70.19%、84.61%; 特异度分别为: 79.16%、95.83%; 阳性预测值分别为 93.59%、98.87%; 阴性预测值分别为: 38.00%、58.97%。与结核抗体检测方法比较, $\chi^2 = 6.19, P < 0.05$ 。

4 结核抗体与 T-SPOT. TB 检测 ROC 曲线

ROC 曲线分析显示, 结核抗体与 T-SPOT. TB 检测 AUC 分别为 0.747 和 0.902, 差异有统计学意义 ($Z = 2.44, P < 0.01$) (表 4); 95% 置信区间范围分别为 0.639~0.855 和 0.839~0.965 (图 3)。

表 4 外周血结核抗体、T-SPOT. TB 检测 ROC 曲线下的面积
Table 5 Areas under ROC curve of peripheral blood tuberculosis antibody and TSPOT detection

检测方法 Detection method	面积 Area (AUC)	标准误 Standard error	P	95% CI	
				下限 Lower limit	上限 Upper limit
结核抗体	0.747	0.055	<0.01	0.639	0.855
T-SPOT. TB	0.902	0.032	<0.01	0.839	0.965

5 TSPOT. TB 检测斑点分布分析

采用 TSPOT. TB 对受试对象的外周血进行检测, 统计产生的 IFN- γ 斑点数, 分别计算结核组与非结核组抗原 A (ESAT-6) 与抗原 B (CFP-10) 刺激后分泌 IFN- γ 的淋巴细胞斑点中位数, 其中 104 例结核患者和 24 例对照阳性和阴性例数分别为 88、16 例和 1、23 例。结核组与非结核组孔内 SFC 中位数, 四分位位置 [M(Q1, Q3)] 结果对比: 抗原 A (ESAT-6) / 10^5 PBMC 结果为 21(9, 42)、0(0, 1); 抗原 B (CFP-10) /

10^5 PBMC 结果为 21(8, 37)、0(0, 2)。结核组与非结核对照组斑点数差异有统计学意义 ($\chi^2 = 59.57, P < 0.01$)。

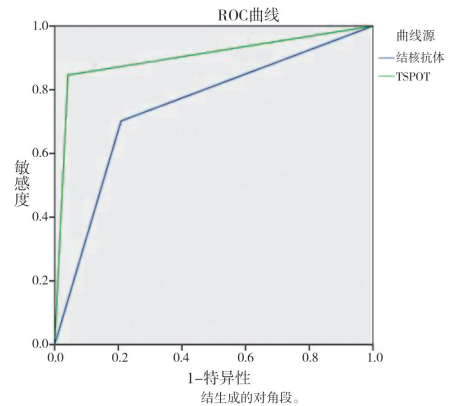


图3 结核抗体与 TSPOT 检测 ROC 工作曲线

Fig. 3 ROC curve of tuberculosis antibody and TSPOT detection

6 Gene Xpert MTB/RIF 与 T-SPOT. TB 检测结果比较

对 377 例临床诊断肺结核病例同时进行 Gene Xpert MTB/RIF 和 T-SPOT. TB 检测, 阳性率分别为 86.47% (326/377) 和 36.60% (138/377), 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 198.05, P < 0.01$)。

讨论

合理推广快速、准确、高效的结核病诊断技术, 及时发现结核病患者有利于提升我国结核病的防治水平^[6]。结核病检测方法有传统方法、免疫学方法、分子技术等, 传统方法痰涂片染色镜检法方法简单、价格低廉, 但其敏感性低, 漏诊率和误诊率高, 容易受到环境、人员操作、标本含菌量情况的影响; 结核菌培养法过程较长, 一般需 4~8 周, 标本质量要求高, 容易受到污染, 确定结果还需要菌种鉴定。免疫学方法 T-SPOT. TB 检测有很高的灵敏度和特异性, 检测过程安全快速准确, 步骤相对简单。该检测方法受到 FDA 认证, 其原理是: 机体受结核分枝杆菌特异性抗原刺激产生活化效应 T 细胞释放 γ -干扰素, 通过检测特异性抗原 (ESAT-6、CFP-10), 利用 ELISPOT 技术判断患者结核感染的可能性^[7]。其操作方法简单, 24 h 内可得出检测结果, 不易受非结核分枝杆菌的影响。本研究中 T-SPOT. TB 检测的敏感度为 84.61%, 特异度为 95.83%, 阳性预测值为 98.87%, 阴性预测值为 58.97%。根据 ROC 曲线分析, T-SPOT. TB 曲线下面积 (AUC) 0.902, 显著大于结核抗体检测的 AUC 面积 0.747, 说明方法的灵敏度和特异度高于结核抗体检测。Muflihah 等^[8] 报道 T-SPOT. TB 检测活动性肺结核的敏感性为 84.95%、特异性为 85.12%, 本研

究结果与其相似。

本研究中有确诊病例出现 T-SPOT. TB 阳性而结核抗体阴性的情况,可能与机体免疫功能有关,也可能存在结核抗体与共同抗原的交叉反应。在结核病早期,结核抗体假阴性偏高,其敏感性对临床诊治有限。通过计数斑点可推测体内是否存在对结核杆菌反应的 T 细胞,几乎不受机体免疫功能低下或缺陷的影响,可作为结核杆菌感染的辅助诊断^[9]。本研究中 T-SPOT. TB A、B 孔内斑点数目中位数,四分位位置分别为 21(9,42)、21(8,37),根据结核组与非结核组对比,其斑点数可能与结核发展情况有关,一定意义上来说其数目与刺激产生的 T 细胞一致,或许能反映活动性结核与潜伏期的截断值。但由于研究斑点数目的病例较少,且资料不完善,未按结核病是否处于活动期分组,有一定的局限性。但可以看出其阳性预测值较高,可用于潜伏期结核病的早期发现,其阴性预测值高,表示阴性结果对活动性肺结核的排除有重要临床意义^[10]。对早期结核病患者及时检测到感染状态,便于制定相应的治疗方案,提高治疗效率。任斐等^[11]的研究表明其阳性结果基本可以排除卡介苗接种或非结核杆菌感染。肖敏等^[12]的研究指出 T-SPOT. TB 检测不受到环境分枝杆菌感染、卡介苗接种及个体免疫机制的影响。

T-SPOT. TB 检测依然有良好的前景。结核分枝杆菌抗原特异性 T 淋巴细胞有向病灶部位集中的特点,因此 T-SPOT. TB 检测标本来源不限制于静脉血,还可以采集脑脊液、支气管肺泡灌洗液、无菌胸腹水等标本,助益于从肺内到肺外结核诊断。有研究指出 T-SPOT. TB 检测与抗酸染色联合检测更加能够提升诊断效能,因为其阴性预测值较高,恰好弥补抗酸染色阳性预测值高而阴性预测值低的不足^[13-14]。同时应用两种方法能够及时有效地诊断活动期肺结核。

分子技术有 PCR、DNA 探针、基因芯片等,大多是通过检测结核分枝杆菌特异性核酸来判断感染风险。Xpert MTB/RIF 是一种由世界卫生组织(WHO)推荐临床检测结核病的半巢式实时荧光 PCR 检测方法^[15]。该方法具有较高的灵敏度和特异性^[16],操作简单,耗时短(仅需 2 h),检测过程安全,自动化,且不易受外界因素干扰,临床上已广泛应用于痰与灌洗液标本的检测。本研究结果显示, Gene Xpert MTB/RIF 的灵敏度为 59.8%, 特异度为 100%, 阳性预测值为 100%, 阴性预测值为 53.24%。根据 ROC 曲线分析,曲线下面积(AUC)抗酸染色法为 0.599, 960 快速培养法为 0.696, Gene Xpert MTB/RIF 法为 0.804, 表明 Gene Xpert MTB/RIF 法的敏感度要远高于抗酸染色法和 960 快速培养法,对于涂阴患者检

出率较高,在肺结核的诊断中优势明显。涂阴的阳性患者由于痰液杂质过多,含菌量少等原因在痰培养检测过程中会直接影响其结果,从而影响检出率, Gene Xpert MTB/RIF 检测 131 CFU/mL 可得到阳性结果,而痰液涂片抗酸染色检出结核杆菌的最低限为 5×10^3 CFU/mL^[16-17],可用于涂阴患者的进一步检测。

本研究中结核定点医院结核病诊疗流程为:病人若咳嗽两周、咳痰两周以上或者痰中带血或伴有发热等典型肺结核可疑症状,可进入医院门诊进行排查。T-SPOT. TB 是常规排查项目,阴性者可基本排除肺结核,阳性者可作进一步检查如影像学及支气管镜检查及实验室检查等进行确诊。在应用支气管镜时可留取肺部灌洗液,取痰和灌洗液进行 Gene Xpert MTB/RIF 检测,根据肺结核诊断标准(WS288-2017),确诊病例根据病情住院治疗。由此可见 T-SPOT. TB 检测与 Gene Xpert MTB/RIF 在诊疗过程中是至关重要的环节,能够精准快速地诊断肺结核病,因此是临床提高救治率的关键。Gene Xpert MTB/RIF 与 T-SPOT. TB 比较均存在一定的假阴性和假阳性,而 T-SPOT. TB 阳性率(86.47%)高于 Gene Xpert MTB/RIF(36.60%)。分析确诊病例会出现以下多种情况:两者均阳性对提前诊断 PTB 提供可靠证据, T-SPOT. TB 阳性而 Xpert MTB/RIF 阴性可能因为 Gene Xpert MTB/RIF 检测痰液标本容易误取自唾液,还有操作过程中过度稀释等问题都可能导致其检测的敏感度偏低,假阴性比例升高,因此应加强规范化操作,按要求留取标本以增加准确率,而灌洗液相对能够避免影响程度。当然也存在一部分 T-SPOT 假阳性情况,这是由于少量结核分枝杆菌进入部分患者呼吸道内,刺激机体产生致敏 T 淋巴细胞而造成血液中异性抗原增高。T-SPOT. TB 因其高检出率可用于疑似结核患者的初级筛查。进行 Gene Xpert MTB/RIF 与 T-SPOT. TB 联合检测, Gene Xpert MTB/RIF 对 T-SPOT. TB 检测的灵敏度提高空间受限,却能弥补其特异度相对不足,排除假阳性,提高临床诊断率。

综上所述, Gene Xpert MTB/RIF 与 T-SPOT. TB 两种检测方法均具有高敏感度与高特异性,可根据方法各自的特点与优势应用于肺结核的诊断,提高肺结核病的临床诊治效率。

【参考文献】

- [1] 高静韬,刘宇红. 2020 年世界卫生组织全球结核病报告要点解读[J]. 河北医科大学学报, 2021, 42(1): 1-6.
- [2] 王巧智,龚德华. 结核病疫情现状和控制策略[J]. 实用预防医学, 2017, 24(3): 257-259, 351.

(下转 1474 页)

- gene, pilZ, essential for type 4 fimbrial biogenesis in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J Bacteriol, 1996, 178(1):46-53.
- [81] Hickman JW, Harwood CS. Identification of FleQ from *Pseudomonas aeruginosa* as a c-di-GMP-responsive transcription factor [J]. Mol Microbiol, 2008, 69(2):376-389.
- [82] Zhou T, Huang J, Liu Z, et al. The two-component system FleS/FleR represses H1-T6SS via c-di-GMP signaling in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Appl Environ Microbiol, 2022, 88(2):e0165521.
- [83] Wang F, He Q, Yin J, et al. BrlR from *Pseudomonas aeruginosa* is a receptor for both cyclic di-GMP and pyocyanin [J]. Nat Commun, 2018, 9(1):2563.
- [84] Whitney JC, Colvin KM, Marmont LS, et al. Structure of the cytoplasmic region of PelD, a degenerate diguanylate cyclase receptor that regulates exopolysaccharide production in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J Biol Chem, 2012, 287(28):23582-23593.
- [85] Whitfield GB, Marmont LS, Ostaszewski A, et al. Pel polysaccharide biosynthesis requires an inner membrane complex comprised of PelD, PelE, PelF, and PelG [J]. J Bacteriol, 2020, 202(8):e00684-19.
- [86] Roelofs KG, Jones CJ, Helman SR, et al. Systematic identification of cyclic-di-GMP binding proteins in vibrio cholerae reveals a novel class of cyclic-di-GMP-binding ATPases associated with type II secretion systems [J]. PLoS Pathog, 2015, 11(10):e1005232.
- [87] Baker AE, Diepold A, Kuchma SL, et al. PilZ Domain Protein FlgZ Mediates Cyclic Di-GMP-Dependent Swarming Motility Control in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J Bacteriol, 2016, 198(13):1837-1846.
- [88] Xu L, Xin L, Zeng Y, et al. A cyclic di-GMP-binding adaptor protein interacts with a chemotaxis methyltransferase to control flagellar motor switching [J]. Sci Signal, 2016, 9(450):ra102.
- [89] Rehman ZU, Wang Y, Moradali MF, et al. Insights into the assembly of the alginate biosynthesis machinery in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Appl Environ Microbiol, 2013, 79(10):3264-3272.
- [90] Ryder C, Byrd M, Wozniak DJ. Role of polysaccharides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development [J]. Curr Opin Microbiol, 2007, 10(6):644-648.
- [91] Baraquet C, Murakami K, Parsek M R, et al. The FleQ protein from *Pseudomonas aeruginosa* functions as both a repressor and an activator to control gene expression from the Pel operon promoter in response to c-di-GMP [J]. Nucleic Acids Res, 2012, 40(15):7207-7218.
- [92] Liao J, Schurr MJ, Sauer K. The MerR-like regulator BrlR confers biofilm tolerance by activating multidrug efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms [J]. J Bacteriol, 2013, 195(15):3352-3363.
- [93] Liao J, Sauer K. The MerR-like transcriptional regulator BrlR contributes to *Pseudomonas aeruginosa* biofilm tolerance [J]. J Bacteriol, 2012, 194(18):4823-4836.

【收稿日期】 2022-07-20 【修回日期】 2022-10-12

(上接 1458 页)

- [3] Bajrami R, Mulliqi G, Kurti A, et al. Comparison of GeneXpert MTB/RIF and conventional methods for the diagnosis of tuberculosis in Kosovo [J]. J Infect Dev Ctries, 2016, 10(4):418-422.
- [4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 肺结核诊断标准 (WS288-2017) [J]. 新发传染病电子杂志, 2018, 3(1):59-61.
- [5] 赵雁林, 逢宇. 结核病实验室检验规程 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015:18-98.
- [6] 舒薇, 孙巧贤, 张立杰, 等. 结核病的研究与创新-2021年世界卫生组织全球结核病报告解读 [J]. 中国防痨杂志, 2022, 44(1):45-48.
- [7] 陈民, 美朗曲措, 暴婧, 等. TSPOT. TB、GeneXpert 与抗酸染色在西藏地区结核病诊断中的价值研究 [J]. 高原科学研究, 2018, 2(2):93-96.
- [8] Muflihah H, Florido M, Lin L, et al. Sequential pulmonary immunization with heterologous recombinant influenza A virus tuberculosis vaccines protects against murine *M. tuberculosis* infection [J]. Vaccine, 2018, 36(18):2462-2470.
- [9] Dela AI, Tank NKD, Singh AP, et al. Adverse drug reactions and treatment outcome analysis of DOTS-plus therapy of MDR-TB patients at district tuberculosis centre: A four year retrospective study [J]. Lung India, 2017, 34(6):522-526.
- [10] 郝梦, 马瑛龙. 三种检测方法诊断活动性肺结核的价值探讨 [J]. 宁夏医学杂志, 2016, 38(8):753-755.
- [11] 任斐, 岳英, 苗风济, 等. γ -干扰素释放试验对活动性肺结核的诊断价值 [J]. 山西医科大学学报, 2015, 46(3):252-255.
- [12] 肖敏, 赵红霞, 朱珉之. T-SPOT. TB 在涂阴肺结核早期诊断中的效果评价 [J]. 临床医药文献电子杂志, 2019, 6(85):148-149.
- [13] 罗倩, 刘泽远, 刘王亭, 等. 抗酸染色、Xpert MTB/RIF 与 T-SPOT. TB 联合检测在结核病诊断中的应用价值 [J]. 武汉大学学报(医学版), 2022, 43(05):774-780.
- [14] Gertz MA. How to manage primary amyloidosis [J]. Leukemia, 2012, 6(2):191-198.
- [15] 周红恩, 边玛措, 边巴琼达, 等. 西藏高原地区 146 例成人肺结核应用 Xpert MTB/RIF 联合 T-SPOT. TB 在诊断中的价值 [J]. 西藏科技, 2019(5):67-69.
- [16] 李妍, 张天华, 鲜小萍, 等. 利用 Xpert MTB/RIF 检测结核分枝杆菌及利福平耐药性的研究 [J]. 临床肺科杂志, 2016, 21(10):1762-1765.
- [17] Horne DJ, Kohli M, Zifodya JS, et al. Xpert MTB/RIF and Xpert MTB/RIF Ultra for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2019, 6(6):CD009593.

【收稿日期】 2022-07-16 【修回日期】 2022-10-02