

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.17.025

4 种检测技术对艾滋病合并肺结核的诊断效能比较*

蒋玲¹, 钱春芳¹, 李同心^{2△}, 彭羽静^{3▲}

重庆市公共卫生医疗救治中心:1. 结核二科;2. 实验室;3. 结核四科, 重庆 400000

摘要:目的 比较痰涂片抗酸染色镜检(简称“涂片法”)、BACTEC MGIT 960 液体培养法(简称“MGIT960 培养法”)、RNA 恒温扩增技术快速检测法(简称“TB-SAT 法”)、Gene-Xpert MTB/RIF 检测法(简称“Gene-Xpert 法”)在进行艾滋病合并肺结核患者痰标本病原学检测中的诊断效能。方法 收集 2020 年 1—12 月重庆市公共卫生医疗救治中心感染科收治的艾滋病合并肺结核患者 107 例为研究对象,采集患者的痰标本同时进行 4 种实验室检测技术检验,比较 4 种检测技术的诊断效能。结果 TB-SAT 法阳性率(35.51%)高于涂片法阳性率(30.84%),但差异无统计学意义($\chi^2=0.764, P=0.382$),MGIT960 培养法阳性率(51.40%)高于涂片法阳性率(30.84%),差异有统计学意义($\chi^2=10.246, P=0.001$);MGIT960 培养法阳性率(51.40%)高于 TB-SAT 法阳性率(35.51%),差异有统计学意义($\chi^2=5.496, P=0.019$);Gene-Xpert 法阳性率(49.53%)低于 MGIT960 培养法阳性率(51.40%),但差异无统计学意义($\chi^2=0.075, P=0.078$);Gene-Xpert 法阳性率(49.53%)高于 TB-SAT 法阳性率(35.51%),差异有统计学意义($\chi^2=4.302, P=0.038$)。涂片法灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为 52.72%、92.31%、87.88%和 64.87%,与 MGIT960 培养法 *Kappa* 值为 0.445,两者一致性中等;TB-SAT 法灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为 67.27%、98.07%、97.36%和 73.91%,与 MGIT960 培养法 *Kappa* 值为 0.648,两者具有较高的一致性;Gene-Xpert 法灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为 90.91%、94.23%、94.34%和 90.74%,MGIT960 培养法 *Kappa* 值为 0.851,两者一致性良好。结论 Gene-Xpert 法的诊断效能较高,并且与 MGIT960 培养法检测结果具有良好的一致性,建议在诊断艾滋病合并肺结核时优先选用 Gene-Xpert 法。

关键词:艾滋病; 肺结核; Gene-Xpert MTB/RIF 法; BACTEC MGIT 960 液体培养法; RNA 恒温扩增技术快速检测法

中图分类号:R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)17-2553-03

艾滋病使人体丧失免疫功能,其患者极易合并各种机会性感染。肺结核是艾滋病患者最常合并的机会性感染之一,是艾滋病患者疾病进展的重要影响因素,也是艾滋病患者死亡的重要原因。艾滋病合并肺结核临床表现不典型,且可能还合并多种其他机会性感染,使病情更加复杂,因此,艾滋病合并肺结核的诊断相对较困难。目前,病原学检测仍是艾滋病合并肺结核诊断的主要依据,常用的检测技术有痰涂片抗酸染色镜检(简称“涂片法”)、BACTEC MGIT 960 液体培养法(简称“MGIT960 培养法”)、RNA 恒温扩增技术快速检测法(简称“TB-SAT 法”)、Gene-Xpert MTB/RIF 检测法(简称“Gene-Xpert 法”)。本研究采用以上 4 种实验室检测技术对艾滋病合并肺结核患者的痰标本进行病原学检测,比较 4 种检测技术的诊断效能。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2020 年 1—12 月重庆市公共卫生医疗救治中心感染科收治的 107 例通过实验室病原学检测、影像学检查和临床综合分析诊断为艾

滋病合并肺结核的患者为研究对象,其中男 86 例,女 21 例;平均年龄(47.12±15.21)岁。所有痰标本采集前未使用过抗结核药物,所有痰标本均进行了涂片法、MGIT960 培养法、Gene-Xpert 法、TB-SAT 法 4 种实验室检测技术检验。

1.2 诊断标准 根据《国家肺结核诊断标准:WS288-2017》^[1]《临床结核病学(第 2 版)》^[2]《结核菌/艾滋病病毒双重感染防治政策指南——适用于国家规范和利益攸关方》^[3]和《HIV 合并结核分枝杆菌感染诊治专家共识》^[4],结合本研究的全部检测方法,对艾滋病确诊患者进行结核病诊断,如判定为活动性肺结核再进一步确定为临床诊断病例或确诊病例。

1.3 仪器与试剂 抗酸染色液购自珠海贝索生物技术有限公司,显微镜购自日本 Olympus 公司;BACTEC MGIT 960 分枝杆菌培养系统及 MGIT960 分枝杆菌培养管购自美国 BD 公司;RNA 恒温扩增检测试剂盒(TB-SAT 试剂)购自上海仁度生物科技有限公司;Gene-Xpert 检测仪及试剂盒购自美国 Cepheid 公司;H37RV 结核分枝杆菌标准菌株由中国疾病预防控制中心

* 基金项目:重庆市卫生和计划生育委员会医学科研项目(2019MSXM065)。

△ 通信作者,E-mail:773211948@qq.com。 ▲ 共同通信作者,E-mail:9608277@qq.com。

本文引用格式:蒋玲,钱春芳,李同心,等.4 种检测技术对艾滋病合并肺结核的诊断效能比较[J]. 检验医学与临床,2021,18(17):2553-

制中心国家结核病参比实验室提供。

1.4 检测方法 收集 107 例艾滋病合并肺结核患者的晨痰标本 5~6 mL 于无菌痰杯中送检,每份标本同时采用涂片法、MGIT960 培养法、TB-SAT 法和 Gene-Xpert 法检测。

1.4.1 涂片法 采用萋-尼抗酸染色,按照《结核病实验室检验规程》(简称“规程”)^[5]进行涂片法检测和结果判读。

1.4.2 MGIT960 培养法及菌种鉴定 严格按照 BACTEC MGIT960 分枝杆菌培养系统操作说明书进行操作,吸取 0.5 mL 痰标本加入 50 mL 圆底离心管内,再加入 1~2 mL 前处理液,振荡消化 15 min,加入 40 mL 磷酸盐缓冲液(PBS)中,离心(3 000×g 离心 18 min),弃上清液,加 1 mL 的 PBS 进行重悬沉淀,取 0.1 mL 接种到准备好的培养管内,放入 BACTEC MGIT960 分枝杆菌培养系统中培养,按照说明书进行结果判读。

1.4.3 TB-SAT 法 严格按照 TB-SAT 试剂说明书操作,取 1 mL 痰标本采用 13 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,再用 1 mL 无菌生理盐水洗涤一次后加入 50 μL TB 裂解液重悬,超声(功率 300 W)处理 15 min。取 2 μL 处理后的标本加入含 30 μL 扩增检测液的微量反应管中,将微量反应管置于干热恒温器上 60 ℃保温 10 min,再置于 42 ℃保温 5 min,同时将反应酶预热至 42 ℃,最后向每支反应管中加入 10 μL 反应酶,迅速混匀并转至荧光定量 PCR 仪进行检测。反应程序:荧光通道设定为 FAM,每个循环为 42 ℃、1 min,共 40 个循环;荧光信号收集每分钟 1 次,共检测 40 次。阳性结果判读标准:标本曲线与阈值线交叉点的横坐标读数(检测时间)<40 min。每次检测都必须做阴性和阳性对照。

1.4.4 Gene-Xpert 法 取 1 mL 标本加入前处理管内,视标本性状加入 2 倍标本处理试剂(SR),涡旋振荡 15~30 s,静置 15 min;取 2 mL 处理后标本加入 Gene-Xpert 的反应盒,自动进行 PCR 检测所需的 3 个步骤(标本核酸提取、扩增和检测)。采用 Gene-Xpert 检测系统,针对结核分枝杆菌利福平耐药基因 rpoBde 81bp 利福平核心区进行检测,以确定是否发生基因突变。

1.5 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理及统计分析,计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学

意义。采用 *Kappa* 检验将涂片法、TB-SAT 法、Gene-Xpert 与 MGIT960 培养法进行一致性检验,当 $Kappa\leq 0.4$ 时,表示一致性较差,当 $0.4<Kappa\leq 0.6$ 时,表示一致性中等,当 $0.6<Kappa\leq 0.8$ 时,表示有较高的一致性,当 $Kappa>0.8$ 时,表示一致性良好。

2 结 果

2.1 4 种方法检测结果 107 例患者痰标本同时进行 4 种方法检测的阳性率由低到高依次为涂片法、TB-SAT 法、Gene-Xpert 法、MGIT960 培养法,分别为 30.84%(33/107)、35.51%(38/107)、49.53%(53/107)、51.40%(55/107)。TB-SAT 法阳性率(35.51%)虽高于涂片法阳性率(30.84%),但差异无统计学意义($\chi^2=0.764, P=0.382$),MGIT960 培养法阳性率(51.40%)高于涂片法阳性率(30.84%),差异有统计学意义($\chi^2=10.246, P=0.001$);MGIT960 培养法阳性率(51.40%)高于 TB-SAT 法阳性率(35.51%),差异有统计学意义($\chi^2=5.496, P=0.019$);Gene-Xpert 法阳性率(49.53%)低于 MGIT960 培养法阳性率(51.40%),但差异无统计学意义($\chi^2=0.075, P=0.078$);Gene-Xpert 法阳性率(49.53%)高于 TB-SAT 法阳性率(35.51%),差异有统计学意义($\chi^2=4.302, P=0.038$)。

2.2 检测结果一致性分析 以 MGIT960 培养法检测结果为金标准,检验涂片法、TB-SAT、Gene-Xpert 法与 MGIT960 培养法检测结果的一致性,3 种检验方法结果与 MGIT960 培养法检验结果进行比较,见表 1。通过 *Kappa* 值判定 3 种检验方法与 MGIT960 培养法的一致性:涂片法 *Kappa* 值为 0.445,两者一致性中等;TB-SAT 法 *Kappa* 值为 0.648,两者具有较高的一致性;GeneXpert 法 *Kappa* 值为 0.851,两者一致性良好。见表 2。

表 1 其他 3 种检测方法与 MGIT960 培养法检验结果(n)

检测方法	检验结果	MGIT960 培养法	
		阳性	阴性
涂片法	阳性	29	4
	阴性	26	48
TB-SAT 法	阳性	37	1
	阴性	18	51
Gene-Xpert 法	阳性	50	3
	阴性	5	49

表 2 以 MGIT960 培养法为金标准判定其他 3 种检测方法的诊断效能

检测方法	灵敏度(%)	特异度(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)	<i>Kappa</i>
涂片法	52.72	92.31	87.88	64.87	0.445
TB-SAT 法	67.27	98.07	97.36	73.91	0.648
Gene-Xpert 法	90.91	94.23	94.34	90.74	0.851

注:灵敏度=真阳性例数/(真阳性例数+假阴性例数)×100%;特异度=真阴性例数/(真阴性例数+假阳性例数)×100%;阳性预测值=真阳性例数/(真阳性例数+假阳性例数)×100%;阴性预测值=真阴性例数/(真阴性例数+假阴性例数)×100%;*Kappa*=(真阳性例数+真阴性例数)/总例数。

3 讨 论

2019 年全球结核病报告显示,全球范围约有 1 000 万例结核病新发病例,其中 8.6% 为人类免疫缺陷病毒(HIV)阳性患者,且约 25.1 万例艾滋病患者相关死因是由于结核病所致^[6]。中国是结核病高负担国家,HIV 感染者的艾滋病患者中结核病的患病率分别为 7.2% 和 22.8%^[7]。与单纯的结核病诊断相比,艾滋病合并结核病患者诊断相对困难,容易误诊、漏诊和延迟诊断。因此,世界卫生组织推荐对于艾滋病患者中疑似有结核分枝杆菌感染者要使用包括分子生物学诊断工具、培养和影像诊断在内的所有手段,缩短艾滋病合并结核病的诊断时间,以降低患者病死率^[4]。

MGIT960 培养法及菌种鉴定为结核病诊断的金标准,还能进行药物敏感性试验;在本研究中,MGIT960 培养法阳性率高于其他 3 种方法,是临床诊断中不可或缺的检验技术,但该技术操作繁琐,培养周期长,艾滋病患者因免疫力低下,病情进展迅速导致不良结局风险高,若仅采用此方法诊断,容易造成艾滋病合并肺结核患者的延迟诊断。

涂片法简单便捷,成本低,易普及,目前,仍是国内结核病最主要的初筛方法和随访时监测疗效手段^[8-9]。但涂片法阳性率低,本研究中,艾滋病合并肺结核患者中涂片法检测阳性率为 30.84%,难以满足临床诊断的需求。若仅采用涂片法进行艾滋病合并肺结核的诊断,容易造成艾滋病合并肺结核患者漏诊。

TB-SAT 法的操作简单,2 h 内可获得检测结果^[10],对于 RNA 转录活跃的病原体,是一项较好的诊断指标^[11],且可以区分结核分枝杆菌有无生命力,试验过程中交叉污染较少,可为结核病患者的治疗效果提供参考。本研究中,TB-SAT 法阳性率为 35.51%,高于王静等^[12]报道的阳性率(7.6%);灵敏度为 67.27%,低于安东成等^[13]报道的灵敏度(88.1%)。该方法与 MGIT960 培养法具有较高的一致性,推荐用于诊断艾滋病合并肺结核,同时可采用此方法评价患者的治疗效果。

Gene-Xpert 法将 MGIT960 培养至少需要 3 周才能完成的结核分枝杆菌检测时间缩短为 2 h,且该技术操作简单,实验室人员容易掌握,整个实验手动操作时间不超过 5 min,整个检测在一个密闭的环境中进行,对实验室人员有较好的保护^[14]。本研究中,Gene-Xpert 法灵敏度较涂片法、TB-SAT 法都高,与 MGIT960 培养法具有良好的一致性,可以用来代替 MGIT960 培养法诊断艾滋病合并肺结核。

综上所述,笔者建议在诊断艾滋病合并肺结核时优先选用 Gene-Xpert 法;可选用 TB-SAT 法进行该类患者诊断及治疗效果的评估;选用 MGIT960 培养法做菌种鉴定,便于进行药物敏感试验,明确该类患者是否耐药;条件有限的基层实验室仍可选用涂片法进行初筛和疗效评估。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 国家肺结核诊断标准: WS288-2017[S]. 北京: 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 2017.
- [2] 唐神结, 高文. 临床结核病学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2019: 92-101.
- [3] 世界卫生组织. 结核菌/艾滋病病毒双重感染防治政策指南——适用于国家规范和利益攸关方[S]. 日内瓦: 世界卫生组织, 2012.
- [4] 中华医学会感染病学分会艾滋病学组, 中华医学会热带病与寄生虫学分会艾滋病学组. HIV 合并结核分枝杆菌感染诊治专家共识[J]. 中华临床感染病杂志, 2017, 10(2): 81-90.
- [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: 12-18.
- [6] World Health Organization. Global tuberculosis report 2019[R]. Geneva: WHO, 2019.
- [7] GAO L, ZHOU F, LI X, et al. HIV/TB co-infection in mainland China: a Meta-analysis[J]. PLoS One, 2010, 5(5): e10736.
- [8] 李欣, 青青, 李多孚. 荧光染色法与萋-尼染色法检测结核分枝杆菌的效果评价[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(6): 745-746.
- [9] 夏辉, 陈丽, 柳正卫, 等. 荧光染痰涂片镜检在涂阳肺结核患者随访中的准确性研究[J]. 中国防痨杂志, 2016, 38(9): 739-741.
- [10] 廖鲁燕, 赵明伟, 杨国峰. RNA 恒温扩增实时检测技术对结核性胸膜积液的诊断价值[J]. 中国防痨杂志, 2018, 40(1): 84-86.
- [11] 戴显宁, 童郁, 许锴, 等. RNA 恒温扩增技术在非淋球菌性尿道炎病原体检测中的临床评估[J]. 中国卫生检验杂志. 2017, 27(22): 3242-3243.
- [12] 王静, 刘立宾, 岳永宁, 等. TB-SAT 检测支气管肺泡灌洗液诊断肺结核的价值研究[J]. 预防医学, 2018, 30(4): 429-431.
- [13] 安东成, 李园园, 程松, 等. RNA 恒温扩增检测痰标本结核分枝杆菌应用评价[J]. 当代医学, 2019, 25(22): 176-178.
- [14] 麦梅珍. XpertMTBRIF 技术在基层实验室结核病诊断中的应用[J]. 临床合理用药杂志. 2018, 11(10): 117-118.