

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.09.015

3 种检测方法对结核病诊断效能的比较

王蕊^{1,2}, 李妍², 杨健², 王盼婷², 张萌², 陈艳炯^{1△}

1. 西安交通大学医学部病原生物学与免疫学系, 陕西西安 710061;

2. 陕西省结核病防治研究所结核病参比实验室, 陕西西安 710048

摘要:目的 评价 γ -干扰素释放试验(IGRA)、涂片抗酸染色镜检(ACB)和实时荧光定量核酸扩增检测技术(Xpert MTB/RIF)诊断结核病的应用价值。方法 选取 2019 年 6 月至 2023 年 6 月在陕西省结核病防治研究所就诊的疑似结核病患者 397 例作为研究对象, 所有研究对象均同时行 IGRA、ACB、Xpert MTB/RIF 检测, 收集患者的检测结果和病例资料。排除无法诊断是否为结核病的患者 39 例, 最终纳入 358 例, 并根据临床诊断结果将其分为结核患者 141 例和非结核患者 217 例。比较 IGRA、ACB、Xpert MTB/RIF 在结核病中的阳性检出情况及其对结核病的诊断效能。结果 IGRA、ACB、Xpert MTB/RIF 检测结核病的灵敏度分别为 95.74%、31.21%、56.74%, IGRA 的灵敏度高于 ACB 和 Xpert MTB/RIF ($\chi^2=126.66, P<0.01$; $\chi^2=59.22, P<0.01$), Xpert MTB/RIF 的灵敏度高于 ACB ($\chi^2=18.65, P<0.01$); IGRA、ACB、Xpert MTB/RIF 检测结核病的特异度分别为 60.37%、99.54%、100.00%, 其中 ACB 和 Xpert MTB/RIF 的特异度均高于 IGRA ($\chi^2=103.86, P<0.01$; $\chi^2=107.25, P<0.01$), 而 ACB 和 Xpert MTB/RIF 的特异度比较, 差异无统计学意义 ($\chi^2=1.00, P=0.32$)。IGRA、ACB、Xpert MTB/RIF 检测结核病的准确率分别为 74.30%、72.63%、82.96%, 其中 Xpert MTB/RIF 的准确率最高, 且 3 种检测方法的准确率比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2=12.30, P<0.01$)。IGRA 与 AFP 检测结果的总符合率为 31.21% (44/141), 阳性符合率为 95.45% (42/44), 阴性符合率为 4.12% (4/97); Xpert MTB/RIF 与 AFP 检测结果的总符合率为 74.47% (105/141), 阳性符合率为 100.00% (44/44), 阴性符合率为 62.89% (61/91)。结论 在结核病诊断中, Xpert MTB/RIF 和 ACB 的特异度高于 IGRA, 而 IGRA 和 Xpert MTB/RIF 的灵敏度高于 ACB, 临床可根据 3 种方法各自的优势应用于结核病的诊断, 以此来提高结核病的临床诊治效率。

关键词: 结核病; γ -干扰素释放试验; 实时荧光定量核酸扩增检测技术; 涂片抗酸染色镜检; 阳性检出率

中图法分类号: R522

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2024)09-1259-04

Comparison of the efficacy of three tests for the diagnosis of tuberculosis

WANG Rui^{1,2}, LI Yan², YANG Jian², WANG Panting², ZHANG Meng², CHEN Yanjiong^{1△}

1. Department of Pathogenic Biology and Immunology, Xi'an Jiaotong University Health Science

Center, Xi'an, Shaanxi 710061, China; 2. Tuberculosis Reference Laboratory, Shaanxi

Provincial Institute for Tuberculosis Control and Prevention, Xi'an, Shaanxi 710048, China

Abstract: **Objective** To evaluate the value of interferon- γ release assay (IGRA), acid fast staining (AFB) and real-time fluorescence quantitative nucleic acid amplification detection technology (Xpert MTB/RIF) for the diagnosis of tuberculosis. **Methods** A total of 397 patients with suspected tuberculosis who attended to the Shaanxi Provincial Institute for Tuberculosis Control and Prevention from June 2019 to June 2023 were selected as the study subjects, all the study subjects underwent IGRA, AFB and Xpert MTB/RIF tests simultaneously, and the test results and case data of the patients were collected. Excluding 39 patients in whom tuberculosis could not be diagnosed, finally 358 confirmed cases were included and divided into 141 cases with tuberculosis and 217 cases without tuberculosis according to the clinical diagnosis. The positive detection and diagnostic efficacy for tuberculosis of IGRA, AFB and Xpert MTB/RIF were compared. **Results** The sensitivity of IGRA, AFB and Xpert MTB/RIF assays was 95.74%, 31.21% and 56.74%, respectively, while the sensitivity of IGRA was higher than that of AFB and Xpert MTB/RIF ($\chi^2=126.66, P<0.01$; $\chi^2=59.22, P<0.01$), and the sensitivity of Xpert MTB/RIF was higher than that of AFB ($\chi^2=18.65, P<0.01$). The specificity of IGRA, AFB and Xpert MTB/RIF assays was 60.37%, 99.54% and 100.00%, respectively, and the specificity of AFB and Xpert MTB/RIF was higher than that of IGRA ($\chi^2=103.86, P<0.01$; $\chi^2=107.25,$

$P < 0.01$), but the difference of specificity of between AFB and Xpert MTB/RIF had no statistical significance ($\chi^2 = 1.00, P = 0.32$). The accuracy of IGRA, AFB and Xpert MTB/RIF assays was 74.30%, 72.63% and 82.96%, respectively, and Xpert MTB/RIF had the highest accuracy, the difference of accuracy among the three methods was statistically significant ($\chi^2 = 12.30, P < 0.01$). The total consistent rate between IGRA and AFP test results was 31.21% (44/141), with positive consistent rate of 95.45% (42/44) and negative consistent rate of 4.12% (4/97); the total consistent rate between Xpert MTB/RIF and AFP test results was 74.47 (105/141), with positive consistent rate of 100.00% (44/44) and consistent compliance rate of 62.89% (61/91). **Conclusion** In the diagnosis of tuberculosis, the specificity of Xpert MTB/RIF and AFB is higher than that of IGRA, while the sensitivity of IGRA and Xpert MTB/RIF is higher than that of AFB. The clinic can apply the three methods to the diagnosis of tuberculosis according to their respective advantages, so as to improve the efficiency of clinical diagnosis and treatment of tuberculosis.

Key words: tuberculosis; interferon- γ release assay; Xpert MTB/RIF; acid fast staining; positive detection

结核病是仅次于新型冠状病毒感染(COVID-19)的第2大传染性疾病,目前我国仍是第3大结核病高负担国家^[1]。早期诊断是治疗结核病的关键环节,而实验室检查是诊断结核病必不可少的方法之一,目前,实验室检查方法主要包括涂片抗酸染色镜检(AFB)、结核分枝杆菌(MTB)培养、 γ -干扰素(IFN- γ)释放试验(IGRA)、实时荧光定量核酸扩增检测技术(Xpert MTB/RIF)等^[2]。AFB是最常用的确诊结核病的方法,而IGRA和Xpert MTB/RIF是近年来结核病检测的新技术^[3-5],Xpert MTB/RIF更是被纳入肺结核的诊断标准(WS288-2017)^[6]。本研究回顾性分析了同时采用IGRA、AFB、Xpert MTB/RIF 3种方法检测结核病患者的检测结果及病例资料,以评价3种检测方法对结核病的诊断价值。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2019年6月至2023年6月在陕西省结核病防治研究所就诊的疑似结核病患者397例作为研究对象。所有研究对象均同时进行IGRA、AFB、Xpert MTB/RIF 3种检测方法,收集患者的检测结果及病历资料,排除无法诊断是否为结核病的患者39例,最终纳入358例,根据结核病诊断标准,将其分为结核患者141例和非结核患者217例。结核患者中男87例(61.70%)、女54例(38.30%),平均年龄(49.50 ± 7.90)岁;非结核患者中男125例(57.60%)、女92例(42.40%),平均年龄(50.61 ± 9.14)岁。两组研究对象性别、年龄比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。所有研究对象均知晓本研究,并签署知情同意书。纳入标准:年龄18~80岁;临床症状提示结核病,如咳嗽、咳痰、发热、接触过结核病患者等。排除标准:Xpert MTB/RIF检测结果无效;患者病例资料不完整。本研究经过陕西省结核病防治研究所医学伦理委员会审批通过(伦理审批号:2019JY03)

1.2 仪器与试剂 IGRA相关试剂和仪器均购自北京万泰生物药业公司;AFB染色液购自珠海贝索生物

技术有限公司;Xpert MTB/RIF相关试剂盒和仪器均购自美国Cepheid公司。严格按照使用说明步骤进行操作。

1.3 方法

1.3.1 IGRA 采集所有研究对象6 mL肝素锂抗凝的静脉血,在2 h之内,以1 mL/管分装到“N”“T”“P”3种培养管中,颠倒混匀后置于37℃环境中培养22~24 h;以3 000~5 000 r/min离心10 min,取3种培养血浆各100 μ L与100 μ L样本稀释液分别进行1:1稀释混匀;取稀释后样本70 μ L加至测试卡加样口。加样后15 min置于荧光扫描仪判读结果。

1.3.2 AFB 取适量痰液在玻片上涂抹成1 cm $\times$ 2 cm的卵圆形,自然干燥,置于染色架上,玻片间至少留有1 cm的距离;加热固定;滴加苯酚复红盖满玻片,加热至产生蒸汽,5 min后,流水轻缓冲洗;加酸性酒精,保持1~2 min,流水轻缓冲洗,必要时重复脱色,至无红色为止;加亚甲蓝染液染色30~60 s;流水轻缓冲洗,沥干。在油镜下观察。依照《结核病实验室检验规程》^[7]判定结果。

1.3.3 Xpert MTB/RIF 先吸取痰液1 mL置于一一次性无菌试管内,然后加入2倍量前处理液并旋紧瓶盖,利用涡旋振荡器振荡30 s,直至样品溶解无凝块;常温下静置15 min,无菌吸管吸出2 mL处理液,从加样孔慢慢添加到试剂盒中,盖上试剂盒盖,上机检测。

1.4 统计学处理 采用SPSS18.0统计软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验;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。

2 结果

2.1 IGRA、AFB、Xpert MTB/RIF对结核病的诊断结果比较 在结核患者中,IGRA、AFB和Xpert MTB/RIF的阳性检出率分别为95.74%(135/141)、31.21%(44/141)和56.74%(80/141);在非结核患者中,IGRA、AFB和Xpert MTB/RIF的阳性检出率分

别为 39.63%(86/217)、0.46%(1/217)和 0.00%(0/217)。3 种方法对结核的阳性检出率比较,差异有统计学意义($\chi^2=125.50, P<0.01$)。见表 1。

2.2 IGRA、AFB、Xpert MTB/RIF 对结核病的诊断效能比较 IGRA、AFB、Xpert MTB/RIF 检测结核病的灵敏度分别为 95.74%、31.21%、56.74%,其中 IGRA 的灵敏度均高于 AFB 和 Xpert MTB/RIF ($\chi^2=126.66, P<0.01$; $\chi^2=59.22, P<0.01$),且 Xpert MTB/RIF 的灵敏度高于 AFB($\chi^2=18.65, P<0.01$);IGRA、AFB、Xpert MTB/RIF 检测结核病的特异度分别为 60.37%、99.54%、100.00%,其中 AFB 和 Xpert MTB/RIF 的特异度均高于 IGRA ($\chi^2=103.86, P<0.01$; $\chi^2=107.25, P<0.01$),但 AFB 和 Xpert MTB/RIF 的特异度比较,差异无统计学意义($\chi^2=1.00, P=0.32$)。IGRA、AFB、Xpert MTB/RIF 检测结核病的准确率分别为 74.30%、72.63%、82.96%,其中 Xpert MTB/RIF 的准确率最

高,且 3 种检测方法的准确率比较,差异有统计学意义($\chi^2=12.30, P<0.01$)。见表 2。

表 1 IGRA、AFB、Xpert MTB/RIF 检测结果比较 (n)			
检测方法	临床诊断		合计
	结核	非结核	
IGRA			
阳性	135	86	221
阴性	6	131	137
合计	141	217	358
AFB			
阳性	44	1	45
阴性	97	216	313
合计	141	217	358
Xpert MTB/RIF			
阳性	80	0	80
阴性	61	217	278
合计	141	217	358

表 2 IGRA、AFB、Xpert MTB/RIF 检测方法对结核病的诊断效能(%)					
检测方法	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值	准确率
IGRA	95.74	60.37	61.09	96.62	74.30
AFB	31.21 ^a	99.54 ^a	97.78	69.01	72.63
Xpert MTB/RIF	56.74 ^{ab}	100.00 ^a	100.00	78.06	82.96

注:与 IGRA 比较,^a $P<0.05$;与 AFB 比较,^b $P<0.05$ 。

2.3 结核病患者中 AFB、Xpert MTB/RIF 检测结果与 AFB 检测结果比较 IGRA 与 AFP 检测结果的总符合率为 31.21%(44/141),阳性符合率为 95.45%(42/44),阴性符合率为 4.12%(4/97);Xpert MTB/RIF 与 AFP 检测结果的总符合率为 74.47(105/141),阳性符合率为 100.00%(44/44),阴性符合率为 62.89%(61/91)。见表 3。

表 3 结核病患者中 AFB、Xpert MTB/RIF 检测结果与 AFB 检测结果比较 (n)			
检测方法	AFP 诊断		合计
	阳性	阴性	
IGRA			
阳性	42	93	135
阴性	2	4	6
合计	44	97	141
Xpert MTB/RIF			
阳性	44	36	80
阴性	0	61	61
合计	44	97	141

3 讨 论

IGRA 采用 MTB 特异性抗原刺激培养血液中的特异性 T 细胞产生免疫应答并释放 IFN- γ ,通过检测 IFN- γ 的水平来判断患者是否感染了 MTB,其结果

不受非结核分枝杆菌和卡介苗的影响^[8-9]。IGRA 阳性说明患者存在结核感染,但并不表明结核是否处于活动期^[10],因此,IGRA 不能独立诊断结核病^[11]。本研究 IGRA 检测结核病的灵敏度最高(95.74%)、阴性预测值最高(95.62%),提示 IGRA 阴性可作为排除结核病的诊断指标。IGRA 与 AFP 检测结果的阴性符合率为 4.12%(4/97),说明 IGRA 可用于痰涂片阴性患者的进一步检测。

病原学诊断中,AFB 操作简单、费用低、耗时短,是应用最广泛的实验室检查方法,但是标本中的细菌数至少在每毫升 5 000~10 000 条时才能检测出阳性,且阳性率低,仅为 14%~47%^[12-14]。本研究中 AFB 的敏感度为 31.21%,与 IGRA 和 Xpert MTB/RIF 相比,灵敏度最低,说明了 AFB 易造成临床漏诊。本研究中 AFB 的特异度为 99.54%,共检测出阳性 45 例,其中 44 例诊断为结核病,剩余 1 例涂片阳性经对硝基苯甲酸(PNB)/ 噻吩-2-羧酸胍(TCH)选择培养基鉴定为非结核分枝杆菌(NTM)。这表明 AFB 无法区分 MTB 和 NTM,容易导致临床误诊。

Xpert MTB/RIF 是近年来快速发展应用的 MTB 分子生物学检测技术,不仅可以检测 MTB,还可以检测利福平的耐药性,其整个检测过程只需要 2 h^[15]。本研究的 Xpert MTB/RIF 灵敏度为 56.74%,这与邹远妩等^[16]研究的灵敏度 63.8%接

近。Xpert MTB/RIF 的灵敏度显著高于 AFB($\chi^2=18.65, P<0.01$), 与既往研究相符^[17-19]。Xpert MTB/RIF 与 AFP 检测结果的阳性符合率为 95.45%(42/44), 这提示临床非必要可不对 AFB 阴性患者进行 Xpert MTB/RIF 检测, 尤其对经济欠发达地区; Xpert MTB/RIF 与 AFP 检测结果的阴性符合率为 62.89%(61/91), 表明 Xpert MTB/RIF 在 AFB 阴性患者中有进一步检测的价值。Xpert MTB/RIF 特异度为 100.00%, 3 种检测方法中最高。在 1 例 NTM 感染病例中, AFB 检测呈阳性, 而 Xpert MTB/RIF 检测呈阴性, 因此, 当 AFB 呈阳性而 Xpert MTB/RIF 呈阴性时, 临床应高度怀疑 NTM 感染。

IGRA、AFB、Xpert MTB/RIF 检测方法各有利弊。Xpert MTB/RIF 的灵敏度和特异度都很高^[20-21], 但它对实验室人员和环境的要求很高, 而且价格昂贵, 这就意味着一些患者会选择价格低廉的 AFB 检测, 排菌量少的患者就无法被检测出来。IGRA 检测还受到患者免疫水平的限制, 一些免疫力低下的患者无法被检测出来^[9, 22]。因此, 为患者找到合适的检测方法并进行最佳组合, 为临床医生提供准确、快速的临床证据尤为重要^[23]。

综上所述, 在结核病诊断中, Xpert MTB/RIF 和 AFB 的特异度均高于 IGRA, 而 IGRA 和 Xpert MTB/RIF 的灵敏度高于 AFB, 故临床上可用 IGRA 阴性作为排除结核病的指标, Xpert MTB/RIF 可作为病原学检测的首选方法, 并可联合 AFB 辅助诊断 NTM 感染, 以此来提高结核病的临床诊治效率。只有充分利用这 3 种检查方法的优势, 并根据患者的实际情况适当应用, 才能以尽可能低的成本尽快确诊结核病。

参考文献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2022[R]. Geneva: World Health Organization, 2022.
- [2] GONG W P, WU X Q. Differential diagnosis of latent tuberculosis infection and active tuberculosis: a key to a successful tuberculosis control strategy[J]. Front Microbiol, 2021, 12: 745592.
- [3] 彭远远, 包训迪, 徐东芳. 支气管肺泡灌洗液应用涂片抗酸染色 T-SPOT. TB 与 GeneXpert MTB/RIF 联合检测对菌阴肺结核的诊断价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(6): 913-917.
- [4] PROGRAMME-G T. WHO operational handbook on tuberculosis module 3: diagnosis tests for tuberculosis infection[J]. Geneva: World Health Organization, 2022.
- [5] ZHANG H H, LI H, TAN M Y, et al. GeneXpert MTB/RIF combined with conventional methods for tuberculosis in Shanghai Regional Medical Center: a retrospective diagnostic study[J]. Ann Transl Med, 2022, 10(10): 575.
- [6] 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(WS 288-2017)[J/OL]. 新发传染病电子杂志, 2018, 3(1): 59-61.
- [7] 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.
- [8] 智深深, 陶俊吉, 丁燕, 等. 五种临床常用结核分枝杆菌检测方法的应用性评价[J]. 国际检验医学杂志, 2023, 44(21): 2587-2591.
- [9] 吴多池, 梁爱群, 吴烨莹, 等. 结核菌素皮肤试验、干扰素释放酶联免疫法及核酸分子检测技术在结核病中的诊断价值[J/CD]. 新发传染病电子杂志, 2023, 8(4): 60-63.
- [10] 马婷婷, 岳英, 严文, 等. γ -干扰素释放试验在结核病专科门诊诊断儿童活动性结核病的效能[J]. 临床肺科杂志, 2023, 28(6): 848-853.
- [11] 袁梁, 隋文君, 王玫, 等. Xpert MTB/RIF、AFB 与 IGRA 对结核病诊断价值的比较[J]. 标记免疫分析与临床, 2022, 29(7): 1081-1085.
- [12] 张海霞, 张觅, 腾晓燕, 等. GeneXpert 法与涂片抗酸染色法检测结核分枝杆菌的比较研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2022, 42(1): 129-132.
- [13] 罗倩, 刘泽远, 刘亨, 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(5): 774-780.
- [14] 曾庆雪, 周明, 唐柳生. 两种方法检测结核分枝杆菌的价值分析[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(19): 2719-2721.
- [15] KAY A W, FERNÁNDEZ L G, YEMISI T Y, et al. Xpert MTB/RIF and xpert MTB/RIF ultra assays for active tuberculosis and rifampicin resistance in children[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2020, 8(8): CD013359.
- [16] 邹远妩, 刘尚武, 朱蕾, 等. Xpert MTB/RIF 检测结核分枝杆菌及其耐药性在结核病辅助诊断中的临床价值[J]. 临床肺科杂志, 2015, 20(3): 568-570.
- [17] 王云格. Xpert MTB/RIF 在肺结核及耐药结核检测中的价值[J]. 中国实用医药, 2021, 16(11): 103-104.
- [18] 胡婧, 周静, 吴雯晶, 等. 结核病诊断 T-SPOT. TB、Gene Xpert MTB/RIF 技术应用价值研究[J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(12): 1454-1458.
- [19] 彭利君, 刘立宾, 王静, 等. 五种结核检测方法在支气管肺泡灌洗液中对结核病的独立和联合诊断价值[J]. 全科医学临床与教育, 2022, 20(9): 778-782.
- [20] 柳正卫, 彭颖, 张明五, 等. 浙江省推广基于 GeneXpert MTB/RIF 检测的结核病诊断流程的效果分析[J]. 中国防痨杂志, 2021, 43(8): 790-795.
- [21] 苟海梅, 薛鳗玲, 钟晓武, 等. 支气管肺泡灌洗液和痰液 Xpert MTB/RIF 检测对肺结核临床诊断的价值分析[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(6): 745-748.
- [22] LIN W, LIU Z, ZHANG Y, et al. Diagnostic value of TB-IGRA, PPD, TB-DNA-PCR and TB-Ab in silicosis complicated with tuberculosis[J]. J Tuberc Res, 2021, 9(2): 110-116.
- [23] 张贺龙, 王慧燕, 刘威, 等. IGRA、LAM 抗体联合 Xpert 技术检测对膝关节结核的诊断价值及与结核活动性的关系[J]. 临床误诊误治, 2021, 34(10): 84-87.