

支气管镜肺泡灌洗液 GeneXpert MTB/RIF 技术、 结核分枝杆菌基因扩增、涂片找抗酸杆菌对肺结核的诊断价值

薛永新¹, 侯剑辉²

(1. 梅州市人民医院呼吸与危重症医学科; 2. 梅州市人民医院临床检验中心, 广东 梅州 514031)

【摘要】目的 分析支气管镜肺泡灌洗液 GeneXpert MTB/RIF 技术 (简称 GeneXpert)、结核分枝杆菌基因 (TB-DNA) 扩增检测、涂片找抗酸杆菌对肺结核的诊断价值, 为临床上明确疾病诊断提供依据。**方法** 选取 2021 年 6 月至 2022 年 6 月梅州市人民医院收治的 214 例疑似肺结核患者作为研究对象, 所有患者行支气管肺泡灌洗, 并行 GeneXpert、TB-DNA、涂片找抗酸杆菌检测, 并以结核分枝杆菌液体培养结果为金标准, 比较三种方法对肺结核的检出情况; 计算三种方法诊断肺结核的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值等诊断效能指标。**结果** 结核分枝杆菌液体培养结果显示阳性有 147 例, 阴性有 67 例; GeneXpert、TB-DNA、涂片找抗酸杆菌检测对肺结核的检出率分别为 93.46%、73.83%、45.79%; GeneXpert 诊断肺结核的灵敏度最高, 涂片找抗酸杆菌诊断灵敏度最低; GeneXpert 的诊断特异度最低, 涂片找抗酸杆菌的诊断特异度最高 (均 $P < 0.05$), 三种检测方法的阳性预测值、阴性预测值比较, 差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。**结论** 三种检测方法均能有效诊断肺结核, 且各有优势, 临床需要结合患者的实际情况, 酌情考虑多种检测方法的使用, 以提高肺结核特别是耐药结核的早期诊断的准确率。

【关键词】 肺结核; 结核分枝杆菌; 传染病; 干酪样坏死; 支气管镜; 肺泡灌洗液

【中图分类号】 R521

【文献标识码】 A

【文章编号】 2096-3718.2023.24.0111.03

DOI: 10.3969/j.issn.2096-3718.2023.24.035

肺结核是由结核分枝杆菌引起的一种传染病, 患者常伴有咳嗽、咳痰、胸痛、乏力、发热等症状。肺结核具有较强的传染性, 且病程时间较长, 因此现阶段对于肺结核的预防控制和检出工作仍十分重要^[1]。GeneXpert MTB/RIF 技术 (以下简称 GeneXpert) 是一种新型的结核分枝杆菌检测技术, 可对结核分枝杆菌的 *rpoB* 基因突变性进行检测, 且操作简单, 用时少, 现在临床得到广泛应用^[2]; 结核分枝杆菌基因 (TB-DNA) 扩增检测是一种基于实时荧光聚合酶链式反应 (PCR) 技术的结核分枝杆菌脱氧核糖核酸 (DNA) 检测方法, 与 GeneXpert 类似可快速准确地诊断肺结核^[3]; 而涂片找抗酸杆菌是传统的显微镜检测方法, 是通过染色后在显微镜下观察痰液中的抗酸杆菌^[4]。以上三种检测方式是临床上常用的肺结核检测方法, 但是每种方法都各有优势与劣势, 故而本研究旨在对比分析支气管镜肺泡灌洗液 GeneXpert、TB-DNA、涂片找抗酸杆菌对肺结核的诊断价值, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2021 年 6 月至 2022 年 6 月梅州市人民医院收治的 214 例疑似肺结核患者作为研究对象, 其中男性患者 178 例, 女性患者 36 例; 年龄 14~75 岁, 平均 (44.60±18.25) 岁。纳入标准: ①患者出现长期咳嗽 (超

过两周)、咳痰、咳血或呼吸困难等呼吸系统症状; ②胸部 X 线、CT 或其他影像学检查显示肺部结节、阴影、空洞、浸润或其他异常改变; ③患者肺部组织活检或刷片检查发现结核分枝杆菌或典型的干酪样坏死组织; ④均行支气管镜肺泡灌洗; ⑤所有患者行 GeneXpert、TB-DNA、涂片找抗酸杆菌检测, ⑥首次入院检查, 此前未接受过相关治疗。排除标准: ①合并严重基础疾病或严重外伤; ②合并恶性肿瘤或其他部位结核; ③依从性差或因身体原因等无法配合完成研究; ④既往有结核病史或肺部手术史。本研究经梅州市人民医院医学伦理委员会审核并通过, 所有患者均知晓并签署知情同意书。

1.2 检测方法

1.2.1 支气管镜肺泡灌洗 患者入院后先进行心电图、凝血功能、血常规等常规检查, 充分了解患者既往病史及疾病身体状况等情况后禁食水 4 h, 患者取平卧位, 采用 2% 盐酸利多卡因注射液 (石药银湖制药有限公司, 国药准字 H14024045, 规格: 5 mL : 0.1 g) 局部麻醉后从口腔将支气管镜 (上海澳华内镜股份有限公司, 型号:BBF-4) 放入气管, 对双侧气道行局部麻醉, 通过配套显示屏观察, 根据需求在病变部位取活检组织、刷检, 然后取 80~100 mL 生理盐水灌入支气管及病变部位, 灌洗后负压吸引回收洗液, 留取适量洗液送检。

1.2.2 GeneXpert 检测 取 1 mL 支气管镜肺泡灌洗标本放入预处理管中, 然后加入液化液; 15~20 min 后将混合液 2 mL 放入反应盒, 采用结核分枝杆菌复合群核酸检测试剂盒 (PCR- 荧光探针法) (广州达安基因股份有限公司, 规格: 单管单人份, 20 人份 / 盒) 和荧光 PCR 检测系统 (杭州博日科技有限公司, 型号: FQD-48A), 行扩增检测, 应用全自动医用 PCR 分析系统 (美国赛沛公司, 型号: GX-XVI R2) 进行自动化检测并报告结果。扩增曲线呈 S 型, 根据 Ct 值和扩增曲线判断 (Ct 值 >10 Hu 为阳性, ≤10 Hu 为阴性)。

1.2.3 TB-DNA 检测 取 1 mL 支气管镜肺泡灌洗标本, 4% 氢氧化钠溶液稀释液化摇匀后静置 30 min, 离心 (转速 3 000 r/min, 时间 10 min) 用于基因扩增。应用实时荧光定量 PCR 技术检测标本中 TB-DNA。实验步骤及结果判读严格按照试剂盒上的说明书实施操作, 同时做好室内质量控制。

1.2.4 涂片找抗酸杆菌检测 取新鲜灌洗液, 离心 (转速 3 000 r/min, 时间 10 min), 取下层浓缩液或沉淀涂片, 若表面为活检组织则通过匀浆后取匀浆液涂片, 涂片后紫外线照射 30 min 进行固定, 萘-尼法染色后在 10×100 倍镜下观察标本。

1.3 观察指标 ①比较三种检测方式下肺结核阳性检出情况。对比 GeneXpert、TB-DNA、涂片找抗酸杆菌等方式的阳性及阴性检出率。②比较三种检测方式对肺结核的诊断效能。以结核分枝杆菌液体培养结果为金标准, 对比 GeneXpert、TB-DNA、涂片找抗酸杆菌等方式检测诊断肺结核的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值。阳性预测值 = [真阳性数量 / (真阳性数量 + 假阳性数量)] × 100%; 阴性预测值 = [真阴性数量 / (真阴性数量 + 假阴性数量)] × 100%; 特异度 = [真阴性数量 / (真阴性数量 + 假阳性数量)] × 100%; 灵敏度 = [真阳性数量 / (真阳性数量 + 假阴性数量)] × 100%。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计学软件分析本研究所有数据, 计数资料以 [例 (%)] 表示, 两组间比较用 χ^2 检验, 3 组间比较行 χ^2 趋势检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GeneXpert 对肺结核检出情况 结核分枝杆菌液体培养结果阳性有 147 例, 阴性有 67 例; GeneXpert 诊断肺结核的检出率为阳性 93.46%、阴性 6.54%, 见表 1。

表 1 GeneXpert 对肺结核检出情况 (例)

结核分枝杆菌液体培养	GeneXpert		合计
	阳性	阴性	
阳性	141	6	147
阴性	59	8	67
合计	200	14	214

注: 结核分枝杆菌 / 利福平耐药性实时荧光 PCR 检测。

2.2 TB-DNA 对肺结核检出情况 结核分枝杆菌液体培养结果阳性有 147 例, 阴性有 67 例; TB-DNA 检测诊断肺结核的检出率分别为阳性 73.83%、阴性 26.17%, 见表 2。

表 2 TB-DNA 对肺结核检出情况 (例)

结核分枝杆菌液体培养	TB-DNA		合计
	阳性	阴性	
阳性	117	30	147
阴性	41	26	67
合计	158	56	214

注: 结核分枝杆菌基因。

2.3 涂片找抗酸杆菌对肺结核检出情况 结核分枝杆菌液体培养结果阳性有 147 例, 阴性有 67 例; 涂片找抗酸杆菌检测诊断肺结核的检出率分别为阳性 45.79%、阴性 54.21%, 见表 3。

表 3 涂片找抗酸杆菌对肺结核检出情况 (例)

结核分枝杆菌液体培养	涂片找抗酸杆菌		合计
	阳性	阴性	
阳性	80	67	147
阴性	18	49	67
合计	98	116	214

2.4 三种方法诊断肺结核诊断效能比较 GeneXpert 诊断肺结核的灵敏度最高, 涂片找抗酸杆菌最低; GeneXpert 特异度最低, 涂片找抗酸杆菌最高, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$); 三种检测方法的阳性预测值、阴性预测值比较, 差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$), 见表 4。

表 4 三种方法诊断肺结核诊断效能比较 (%)

方法	例数	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
GeneXpert	214	95.92(141/147)	11.94(8/67)	70.50(141/200)	57.14(8/14)
TB-DNA	214	79.59(117/147)	38.81(26/67)*	74.05(117/158)	46.43(26/56)
涂片找抗酸杆菌	214	54.42(80/147)*#	73.13(49/67)*#	81.63(80/98)	42.24(49/116)
χ^2 值		71.773	52.005	4.250	1.228
P 值		<0.05	<0.05	>0.05	>0.05

注: 与 GeneXpert 比, * $P < 0.05$; 与 TB-DNA 比, # $P < 0.05$ 。

3 讨论

肺结核是国内最常见的传染病之一，是目前最严峻的公共卫生问题之一，防治肺结核是医护人员的重要工作内容^[5]。尽管医疗技术日益发达，肺结核的治疗效果也有了明显改善，死亡率和致残率大幅度降低，治疗后患者生活质量明显提高，但是我国人口基数大，绝对患病人数和新发病例数都较大，因此对肺结核的防治工作仍旧不能松懈。患者感染肺结核后早期大多无临床表现，少数患者会出现咳嗽、咳痰等症状，随着疾病发展或机体免疫力降低时才会出现明显症状，若不及时治疗可出现典型病变，包括发热、咯血、咳嗽、乏力、结核结节、干酪样坏死等，影响患者预后^[6]。因此需要广泛开展结核病的筛查工作，对早期患者进行准确的诊断，这样有助于保护患者及公众健康，尽可能减少疾病的伤害，提高治疗效果。

支气管肺泡灌洗是肺部疾病诊断和治疗中常用的方法，常用生理盐水通过支气管镜的辅助灌入支气管肺泡中，再将液体排出，进而达到清洁气道，标本取材及治疗的目的^[7]。灌洗液可用于临床上常见的生化、免疫、微生物、细胞学等检查，应用十分广泛。

GeneXpert、TB-DNA、涂片找抗酸杆菌检测是目前临床应用较多的肺结核筛查和诊断措施。每种检测方法各有优缺点，部分医护人员尚不明确这几种检测方法在诊断肺结核中的价值，因此开展本次研究，探索这几种方法对肺结核的诊断效能。本研究结果显示，结核分枝杆菌液体培养结果阳性有 147 例，阴性有 67 例；GeneXpert、TB-DNA、涂片找抗酸杆菌检测对肺结核的检出率分别为 93.46%、73.83%、45.79%，说明 3 种方法均对肺结核具有一定的诊断价值，其中 GeneXpert、TB-DNA 的检出率相对较高，虽然涂片找抗酸杆菌检测检出率虽然较低，但是作为传统简单快速的检测方法也是必不可少的。

本研究结果显示，GeneXpert 诊断肺结核的灵敏度最高，涂片找抗酸杆菌最低；GeneXpert 特异度最低，涂片找抗酸杆菌最高。分析其原因，GeneXpert 检测技术是一种以 GeneXpert 系统平台及 PCR 原理为基础的体外诊断技术，全自动一体化实时定量检测，以利福平耐药 *rpoB* 基因为靶基因，自动提取 DNA 片段，并扩增其基因的 192bp 片段，以进行检测的技术手段，并检测出结核分枝杆菌对利福平是否耐药情况；且与传统的培养方法相比，GeneXpert 具有更高的敏感性，并且结果可以在几小时内得出，这使得 GeneXpert 成为一种快速、准确的肺结核诊断方法^[8]。然而，GeneXpert 的成本较高，限制了其在资源匮乏地区的应用。TB-DNA 可以检测肺结核病原体的 DNA，但是 TB-DNA 在测定中极易因采样、试剂等污染致使结果出现误差，而且 TB-DNA 的操作复杂常需要较高水

平的实验室设备和技术人员，因此在资源匮乏地区的使用也受到限制^[9]。而涂片找抗酸杆菌作为一种常见的快速病原体检测方法，可以通过染色技术直接观察抗酸杆菌（结核分枝杆菌）的存在，尽管涂片找抗酸杆菌具有简单、快速的优点，但其敏感性较低，特别是对于微量感染和难以培养的菌株^[10]，因此，涂片找抗酸杆菌常常与其他诊断方法联合使用，以提高诊断准确性。通过分析后发现，单一检测虽具有一定优势但具体应用还应根据实际情况酌情考虑。

综上，GeneXpert 具有较高的灵敏度、涂片找抗酸杆菌有较高的特异度，TB-DNA 也有着比涂片找抗酸杆菌较高的检出率和较 GeneXpert 更高的特异度。三种检测方法均能有效诊断肺结核，且各有优势，临床需要结合患者的实际情况，酌情考虑多种检测方法的使用，以提高肺结核特别是耐药结核的早期诊断率。

参考文献

- [1] 沈甜, 朱慧明, 田华, 等. 外周血降钙素原、C-反应蛋白、纤维蛋白原、D-二聚体水平对肺结核合并细菌性肺炎的早期诊断价值[J]. 中国热带医学, 2023, 23(7): 730-735.
- [2] 李幸旻. 结核分枝杆菌/利福平耐药性实时荧光 PCR 检测与抗酸染色在肺结核中的诊断价值[J]. 中国当代医药, 2022, 29(14): 146-149.
- [3] 何家花, 余成强, 李步荣, 等. TB-DNA、T-SPOT.TB 和 TB-Ab 平行检测在肺结核诊断中的应用价值[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(1): 67-69, 72.
- [4] 陈桂茹, 周欣滢, 黄广荣. 结核分枝杆菌复合群核酸检测联合痰涂片找抗酸杆菌检测对诊断肺结核的临床应用价值[J]. 智慧健康, 2022, 8(28): 27-29, 35.
- [5] 陈静. 肺结核疾病的发病原因与护理手段浅析[J]. 中国科技期刊数据库医药, 2021, 3(2): 83-85.
- [6] 王燕波, 胡阳, 宋宁, 等. 支气管镜在菌阴肺结核诊断中应用价值[J]. 临床肺科杂志, 2022, 27(6): 915-918.
- [7] 张艳, 王华, 侯婧, 等. 支气管肺泡灌洗液结核分子生物学检测与外周血 T 细胞斑点试验对痰涂片阴性肺结核患者的诊断价值[J]. 中国医药导报, 2023, 20(23): 115-118, 124.
- [8] 郑永乐, 王秀英. GeneXpert 快速诊断肺结核和肺外结核标本利福平耐药的检测研究[J]. 中国基层医药, 2019, 26(21): 2574-2577.
- [9] 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.
- [10] 李明瑛, 姚恒波, 柴青峰, 等. 液基细胞学涂片法检测痰抗酸杆菌对肺结核的诊断价值[J]. 新乡医学院学报, 2019, 36(4): 364-367.