

• 论 著 •

GeneXpert MTB/RIF、MGIT960 液体培养法在 胸腔积液结核分枝杆菌检测中的应用*

刘 王¹, 罗 倩², 陈 娟², 梁 颖², 伍仕敏^{2△}, 何 柳¹, 樊 毅¹

1. 湖北省武汉市金银潭医院检验科, 湖北武汉 430023; 2. 长江航运总医院检验科, 湖北武汉 430014

摘 要: **目的** 探讨 GeneXpert MTB/RIF、MGIT960 液体培养法在胸腔积液结核分枝杆菌检测中的应用。 **方法** 回顾性分析 386 例疑似和确诊结核病患者胸腔积液标本中腺苷脱氨酶(ADA)、GeneXpert MTB/RIF 及 MGIT960 液体培养法的检测结果。以胸腔积液 ADA>40 U/L 作为鉴别结核性积液的标准, 将标本分为 3 组: 第 1 组为非结核性积液(ADA≤40 U/L, 219 例), 第 2 组为结核性积液(ADA>40 U/L, 145 例), 第 3 组为脓性胸腔积液(不能进行 ADA 检测, 22 例)。 **结果** 在 386 例患者中, GeneXpert MTB/RIF 检测结核分枝杆菌复合群的阳性率为 15.54%(60/386), MGIT960 液体培养法检测结核分枝杆菌复合群的阳性率为 5.44%(21/386), 前者检测阳性率明显高于后者($\chi^2=14.52, P<0.05$)。3 组中, GeneXpert MTB/RIF 检测阳性率分别为 3.20%、24.83% 和 77.27%; MGIT960 液体培养法检测阳性率分别为 2.74%、8.28% 和 13.64%。GeneXpert MTB/RIF 在结核性积液、脓性胸腔积液中检测结核分枝杆菌复合群的阳性率明显高于 MGIT960 液体培养法($\chi^2=14.38, 17.97, P<0.05$)。将采用 MGIT960 液体培养法检测为阳性的标本 21 例进行 GeneXpert MTB/RIF 检测发现, 两种方法检测阳性结果的符合率为 52.38%(11/21)。 **结论** GeneXpert MTB/RIF 检出结核分枝杆菌复合群的阳性率明显高于 MGIT960 液体培养法, 特别是在结核性积液和脓性胸腔积液中。两种方法联合检测, 有助于临床对结核性胸膜炎的早期诊断和治疗。

关键词: 腺苷脱氨酶; GeneXpert MTB/RIF; MGIT960 液体培养法; 结核分枝杆菌

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.04.001

中图法分类号: R446.5

文章编号: 1673-4130(2022)04-0385-04

文献标志码: A

Application of GeneXpert MTB/RIF, MGIT960 liquid culture method in Mycobacterium tuberculosis detection of pleural effusion*

LIU Ting¹, LUO Qian², CHEN Juan², LIANG Ying², WU Shimin^{2△}, HE Liu¹, FAN Yi¹

1. Department of Clinical Laboratory, Wuhan Municipal Jinyintan Hospital, Wuhan, Hubei 430032, China; 2. Department of Clinical Laboratory, General Hospital of Yangtze River Shipping, Wuhan, Hubei 430014, China

Abstract: **Objective** To explore the application of GeneXpert MTB/RIF and MGIT960 liquid culture method in the Mycobacterium tuberculosis detection of pleural effusion. **Methods** The detection results of adenosine deaminase (ADA), GeneXpert MTB/RIF and MGIT960 liquid culture method in the pleural effusion samples from 386 cases of suspected tuberculosis (TB) and definitely diagnosed as TB were retrospectively analyzed. With the pleural effusion ADA>40 U/L as the standard of differentiating TB, the samples were divided into 3 groups: the group 1 was the non-TB effusion (ADA≤40 U/L, 219 cases); the group 2 was the TB effusion (ADA>40 U/L, 145 cases) and the group 3 was the purulent pleural effusion (ADA detection could not be performed, 22 cases). **Results** Among 386 cases, the positive rate of GeneXpert MTB/RIF for detecting the Mycobacterium tuberculosis complex was 15.54%(60/386), which of MGIT960 liquid culture method was 5.44%(21/386), the positive rate of the former was significantly higher than that of the latter ($\chi^2=14.52, P<0.05$). In the three groups, the positive rates of GeneXpert MTB/RIF were 3.20%, 24.83% and 77.27%, respectively; which of MGIT960 liquid culture were 2.74%, 8.28% and 13.64%, respectively. The positive rate of GeneXpert MTB/RIF for detecting Mycobacterium tuberculosis complex in TB effusion and purulent

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81471910)。

作者简介: 刘王, 女, 主管技师, 主要从事微生物学检验工作。△ 通信作者, E-mail: mintyrain@126.com。

本文引用格式: 刘王, 罗倩, 陈娟, 等. GeneXpert MTB/RIF、MGIT960 液体培养法在胸腔积液结核分枝杆菌检测中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(4): 385-387.

pleural effusion was significantly higher than that of MGIT960 liquid culture method ($\chi^2=14.38, 17.97, P<0.05$). Twenty-one cases of positive detected by MGIT960 liquid culture method conducted the GeneXpert MTB/RIF detection, it was found that the coincidence rate of the positive results by two detection methods was 52.38% (11/21). **Conclusion** The positive rate of Mycobacterium tuberculosis complex detected by GeneXpert MTB/RIF is significantly higher than that of MGIT960 liquid culture method, especially in TB effusion and purulent pleural effusion. The combined detection of the two methods is helpful to the early diagnosis and treatment of TB pleurisy.

Key words: adenosine deaminase; GeneXpert MTB/RIF; MGIT960 liquid culture method; Mycobacterium tuberculosis

肺外结核是肺部感染后结核分枝杆菌及其自溶产物、代谢产物血源性播散,进入胸腔、脊柱、泌尿系统引起的炎症,占所有结核病的 10%~20%^[1]。结核性胸膜炎(TBP)作为第二常见的肺外结核,是指胸腔感染结核分枝杆菌后发生的高度过敏性炎性病变,该病可引起胸膜通透性增强,导致炎性渗出物增多,易出现胸腔积液^[2]。胸腔积液中结核分枝杆菌数量较少,实验室辅助检查阳性率较低,临床上常用的超声检查也存在一定局限性。因此,选择一种科学、准确、快速的检测方法对 TBP 的诊断具有非常重要的意义。GeneXpert MTB/RIF 是由美国赛沛公司研发的一项基于巢式实时荧光 PCR 法的体外诊断技术,2013 年被世界卫生组织(WHO)推荐用于肺外结核诊断,是一种新型分子诊断方法^[3]。目前,临床上该方法对 TBP 的诊断价值报道较少,本研究拟回顾性分析 2019 年 8 月至 2020 年 7 月武汉市金银潭医院结核病区收治的 386 例疑似和确诊结核病患者胸腔积液标本的 GeneXpert MTB/RIF、MGIT960 液体培养法检测结果,旨在探讨这两种方法对临床 TBP 早期诊断和治疗的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2019 年 8 月至 2020 年 7 月武汉市金银潭医院结核病区疑似和确诊结核病患者(包括肺结核、TBP 和其他肺外结核)386 例,彩超引导下进行胸腔穿刺,获得胸腔积液标本,其中男 305 例,女 81 例,平均年龄(27.5 ± 4.5)岁。所有入选病例均符合中华人民共和国卫生行业标准《肺结核诊断标准》^[4]中肺结核、肺外结核的诊断标准。未排除同时有结核伴其他可能引起胸腔积液疾病的患者。TBP 的诊断标准:(1)具备 TBP 影像学改变特征及胸腔积液或胸膜病理学检查符合上皮细胞样肉芽肿性炎症表现;(2)具备 TBP 影像学改变特征及胸腔积液病原学检查阳性或分枝杆菌培养阳性且菌种鉴定为结核分枝杆菌复合群,或符合分子生物学检查结果(结核分枝杆菌核酸检测阳性)。

1.2 仪器与试剂 美国赛沛公司 GeneXpert MTB/RIF 仪及相应试剂盒、BD 公司 BACTEC MGIT960 全自动结核培养系统、雅培 c16000 全自动生化分析仪、宁波瑞源腺苷脱氨酶(ADA)测定试剂盒。

1.3 方法

1.3.1 GeneXpert MTB/RIF 采取膜过滤法提取核酸,通过超声破碎细胞,然后通过滤膜来分离蛋白和核酸。不同性状的胸腔积液标本先进行前处理,取标本离心后沉淀物约 1 mL,先加入 1~2 mL 标本消化液(试剂盒自带),如标本蛋白含量过高或者为脓性标本,可适当增加标本消化液量,使标本完全液化,振荡混匀后静置 15~20 min 后进行操作。取液化后的标本加入反应盒指定孔,避免气泡,尽快上机进行检测。检测完成后软件可自动判读结果,判断待测标本中是否检出结核分枝杆菌复合群,如果检出,同时判断是否检出利福平耐药基因。

1.3.2 结核分枝杆菌培养 待检标本离心后取沉淀物,先加入标本体积 1.0~1.5 倍 4% NaOH,充分振荡后静置 15~20 min,再加入磷酸盐缓冲液(PBS)至 50 mL,颠倒混匀后 4℃ 3 000×g 离心 15~20 min,弃去上清液,加入 2~3 mL PBS 重悬,取 500 μ L 加至 MGIT960 结核分枝杆菌培养系统液体培养管,培养管中预先加入配套添加剂和杂菌抑制剂,放入自动培养仪进行培养。待机器阳性报警后取出阳性培养管,取沉淀物进行抗酸染色,鉴定是否有结核分枝杆菌复合群生长。

1.3.3 全自动生化分析仪检测 ADA 严格按 ADA 测定试剂说明书操作。标本采用血清或血浆,采血后应及时分离,分离后立即检测,避免溶血。本试验操作采用速率法,使用配套的校准品绘制校准曲线,采用配套的质控品,控制相对偏差在质控品偏差范围内。试验结果的计算:ADA 活性(U/L)=标准浓度 $\times(\Delta A$ 测定/ ΔA 标准)。

1.4 分组 根据《全国临床检验操作规程》(第 4 版)^[5]相关内容,以 ADA>40 U/L 作为鉴别结核性积液的标准,将 386 例患者分为 3 组:第 1 组(非结核性积液)为 ADA $\leq$ 40 U/L,第 2 组(结核性积液)为 ADA>40 U/L,第 3 组为脓性胸腔积液,不能进行 ADA 检测。

1.5 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行数据处理和分析,计量资料先进行 Shapiro-Wilk 正态性检验,均确认近似服从正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较行 F 检验,组间两两比较采用 LSD- t 法;计数

资料以例数或率表示,组间比较采用 χ^2 检验;相关性分析采用 Spearman 相关。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 全自动生化分析仪检测 ADA 的活性 在 386 例患者中,ADA 检测结果为 (37.0 ± 14.0) U/L。其中,第 1 组(非结核性积液)有 219 例,ADA 检测结果为 (20.5 ± 17.5) U/L;第 2 组(结核性积液)有 145 例,ADA 检测结果为 (59.5 ± 11.5) U/L;第 3 组(脓性胸腔积液)22 例,因脓液黏稠,不能在全自动生化分析仪上进行 ADA 检测。

2.2 GeneXpert MTB/RIF 和 MGIT960 液体培养法检测阳性率比较 在 386 例患者中, GeneXpert MTB/RIF 共检测出阳性 60 例,阳性率为 15.54%(60/386),MGIT960 液体培养法共检测出阳性 21 例,阳性率为 5.44%(21/386)。GeneXpert MTB/RIF 检测阳性率明显高于 MGIT960 液体培养法($\chi^2=14.52,P<0.05$)。

2.3 3 组 GeneXpert MTB/RIF 和 MGIT960 液体培养法检测结果 在 3 组患者中, GeneXpert MTB/RIF 检出结核分枝杆菌复合群的阳性率分别为 3.20%、24.83%和 77.27%;MGIT960 液体培养法检测阳性率分别为 2.74%、8.28%和 13.64%。GeneXpert MTB/RIF 在结核性积液、脓性胸腔积液中检测结核分枝杆菌复合群的阳性率明显高于 MGIT960 液体培养法($\chi^2=14.38,17.97,P<0.05$)。见表 1。

表 1 两种方法检出结核分枝杆菌复合群的情况比较					
组别	n	GeneXpert MTB/RIF		MGIT960 液体培养法	
		阳性(n)	阳性率(%)	阳性(n)	阳性率(%)
第 1 组	219	7	3.20	6	2.74
第 2 组	145	36	24.83	12	8.28
第 3 组	22	17	77.27	3	13.64
总计	386	60	15.54	21	5.44

2.4 3 组 GeneXpert MTB/RIF 和 MGIT960 液体培养法检测阳性标本分析 如表 2 所示,将采用 MGIT960 液体培养法检测为阳性的标本 21 例进行 GeneXpert MTB/RIF 检测发现,3 组共检测出阳性 11 例,阴性 10 例。两种方法检测阳性结果的符合率为 52.38%(11/21)。

表 2 MGIT960 液体培养法阳性标本与 GeneXpert MTB/RIF 检测结果比较(n)			
组别	GeneXpert MTB/RIF		MGIT960 液体培养法阳性
	阳性	阴性	
第 1 组	1	5	6
第 2 组	7	5	12
第 3 组	3	0	3
合计	11	10	21

3 讨 论

结核病是严重危害人类健康的传染病之一,其传染性和致死性较高。结核病类型众多,不同类型疾病病程及耐药性区别较大。TBP 作为第 5 种类型的结核病,早期对其进行鉴别诊断对于后续的治疗有重要意义^[6]。作为“金标准”的结核分枝杆菌培养,具体操作是对患者痰液标本或胸腔积液标本进行结核分枝杆菌培养,但培养所需时间较长,检出阳性率较低,易延误治疗时间^[7]。

胸腔积液是 TBP 早期临床常见症状之一,与恶性胸腔积液等非结核性胸腔积液难以鉴别。当结核分枝杆菌侵犯胸膜,或者在体内其他结核病灶的作用下,都会引发胸腔积液。这种积液通常是由结核分枝杆菌及其代谢产物引起的迟发型超敏反应所致,胸腔积液中结核分枝杆菌菌量较低,活性不足,采用病原学培养方式确诊率低^[8]。胸腔积液 ADA 检测是目前临床用于结核性胸腔积液的辅助诊断方法之一,其对于鉴别诊断结核性与非结核性胸腔积液具有重要价值^[9]。因此,根据《全国临床检验操作规程》(第 4 版)要求,本研究以 ADA>40 U/L 作为判断结核性积液的标准^[5]。MGIT960 液体培养法作为改良的液体培养结核分枝杆菌的方法,相比传统的罗氏培养,明显缩短了检出结核分枝杆菌的培养周期,但仍需 20 d 左右才能获得培养结果,仍然不能满足临床对 TBP 早期诊断和治疗的需求^[10]。

GeneXpert MTB/RIF 于 2010 年得到 WHO 的认可并推荐用于结核病的诊断^[11],其采用封闭式自动化系统,不仅能确保检测中的生物安全,操作也更加简便,更能够缩短检测时间(2 h 内出结果),在辅助临床结核病的诊断中具有快速、安全、便捷的优势^[12]。本研究发现, GeneXpert MTB/RIF 对胸腔积液结核分枝杆菌复合群检出的阳性率(15.54%)明显高于 MGIT960 液体培养法检测结果(5.44%),差异有统计学意义($P<0.05$)。进一步研究发现, GeneXpert MTB/RIF 在结核性积液、脓性胸腔积液中检出结核分枝杆菌复合群的阳性率明显高于 MGIT960 液体培养法($P<0.05$)。因此,胸腔积液 GeneXpert MTB/RIF 检测对临床 TBP 的早期诊断具有重要的意义。

进一步的研究发现,在 21 例 MGIT960 液体培养法阳性标本中, GeneXpert MTB/RIF 检测结果与其的符合率仅为 52.38%,推测可能与不同患者胸腔积液形成的位置、性状、病灶中结核分枝杆菌的活性以及这两种方法学的灵敏度有关。这也表明,虽然目前结核分枝杆菌培养是结核病诊断的“金标准”,但灵敏度有限,其“金标准”的光环也有待商榷。

目前, GeneXpert MTB/RIF 和 MGIT960 液体培养法都是 WHO 推荐的结核病实验室诊断中非常重要的两种诊断试验。本研究结果表明, MGIT960 液体培养法检测胸腔积液标本的阳性率(下转第 393 页)

- sights[J]. *Curr Opin Oncol*, 2020, 32(4):347-355.
- [10] HO S W T, TAN P. Dissection of gastric cancer heterogeneity for precision oncology[J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(11):3405-3414.
 - [11] SASAKO M. Optimizing adjuvant therapies for the treatment of gastric cancer: with a special focus on Asia[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2019, 19(11):939-945.
 - [12] RUSSO A, LI P, STRONG V E. Differences in the multimodal treatment of gastric cancer: East versus west[J]. *J Surg Oncol*, 2017, 115(5):603-614.
 - [13] TEY J, SOON Y Y, KOH W Y, et al. Palliative radiotherapy for gastric cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(15):25797-25805.
 - [14] PÉREZ-HERRERO E, FERNÁNDEZ-MEDARDE A. Advanced targeted therapies in cancer: drug nanocarriers, the future of chemotherapy [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2015, 93:52-79.
 - [15] LORDICK F, SHITARA K, JANJIGIAN Y Y. New agents on the horizon in gastric cancer[J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(8):1767-1775.
 - [16] LI T, GAO X, HAN L, et al. Identification of hub genes with prognostic values in gastric cancer by bioinformatics analysis[J]. *World J Surg Oncol*, 2018, 16(1):114.
 - [17] JIANG K, LIU H, XIE D, et al. Differentially expressed genes ASPN, COL1A1, FN1, VCAN and MUC5AC are potential prognostic biomarkers for gastric cancer [J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(3):3191-3202.
 - [18] CHENG Y, SUN H, WU L, et al. VUp-regulation of VCAN promotes the proliferation, invasion and migration and serves as a biomarker in gastric cancer [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13:8665-8675.
 - [19] FENG L, LI J, LI F, et al. Long noncoding RNA VCAN-AS1 contributes to the progression of gastric cancer via regulating p53 expression[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(5):4388-4398.
 - [20] WANG J, DING Y, WU Y, et al. Identification of the complex regulatory relationships related to gastric cancer from lncRNA-miRNA-mRNA network [J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(1):876-887.
 - [21] FAN Z Y, LIU W, YAN C, et al. Identification of a five-lncRNA signature for the diagnosis and prognosis of gastric cancer[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(10):13265-13277.
 - [22] CAI W Y, DONG Z N, FU X T, et al. Identification of a tumor microenvironment-relevant gene set-based prognostic signature and related therapy targets in gastric cancer[J]. *Theranostics*, 2020, 10(19):8633-8647.
 - [23] LI F, SUN Y, HUANG J, et al. CD4/CD8⁺ T cells, DC subsets, Foxp3, and IDO expression are predictive indicators of gastric cancer prognosis[J]. *Cancer Med*, 2019, 8(17):7330-7344.
 - [24] CUI Z, ZHANG J, ZHANG J, et al. Evaluation of IgG, IgM, CD4⁺ and CD8⁺ T cells during neoadjuvant chemotherapy with tezio and apatinib in gastric cancer patients [J]. *Cell Mol Biol*, 2020, 66(3):113-118.
 - [25] KAMADA T, TOGASHI Y, TAY C, et al. PD-1⁺ regulatory T cells amplified by PD-1 blockade promote hyperprogression of cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(20):9999-10008.

(收稿日期:2021-05-11 修回日期:2021-10-29)

(上接第 387 页)

明显低于 GeneXpert MTB/RIF, 两种方法阳性结果也无明显一致性。因此, 建议在怀疑 TBP 的胸腔积液标本中, 可以将两种方法联合应用以提高结核分枝杆菌的检出率, 这对于临床 TBP 的早期诊断和治疗有重要意义。

参考文献

- [1] 彭荣, 王芳, 曲浩, 等. GeneXpert MTB 技术在肺外结核诊断中的应用进展[J]. *检验医学与临床*, 2019, 16(17):2560-2562.
- [2] LI C, LIU C, SUN B, et al. Performance of Xpert[®] MTB/RIF in diagnosing tuberculous pleuritis using thorascopic pleural biopsy[J]. *BMC Infect Dis*, 2020, 20(1):840.
- [3] SASIKUMAR C, UTPAT K, DESAI U, et al. Role of GeneXpert in the diagnosis of mycobacterium tuberculosis[J]. *Adv Respir Med*, 2020, 88(3):183-188.
- [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[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2017.
- [5] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [6] ANTONANGELO L, FARIA C S, SALES R K. Tuberculous pleural effusion: diagnosis & management[J]. *Expert Rev Respir Med*, 2019, 13(8):747-759.
- [7] 方圆, 赵峰, 陈佩, 等. 胸腔积液结核分枝杆菌感染 T 细胞检测对结核性胸膜炎的诊断价值研究[J]. *陕西医学杂志*, 2020, 49(12):1681-1683.
- [8] 曾路, 王曼, 刘侠, 等. Xpert MTB/RIF 在结核性胸膜炎诊断中的研究进展[J]. *现代检验医学杂志*, 2019, 34(6):161-164.
- [9] 韩厅蓄, 周南南, 孙彬, 等. 腺苷脱氨酶诊断结核性胸腔积液的性能验证[J]. *临床检验杂志*, 2019, 37(6):413-417.
- [10] 吴学兵, 陆彬, 桂晓虹, 等. 液体 MGIT 培养法在结核分枝杆菌检测中的应用评估[J]. *检验医学*, 2013, 28(3):211-214.
- [11] HILLEMANN D, RUSCH-GERDES S, BOEHME C, et al. Rapid molecular detection of extrapulmonary tuberculosis by the automated GeneXpert MTB/RIF system[J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49(4):1202-1205.
- [12] MECHAL Y, BENAÏSSA E, MRIMAR N E L, et al. Evaluation of GeneXpert MTB/RIF system performances in the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis[J]. *BMC Infect Dis*, 2019, 19(1):1069.

(收稿日期:2021-03-27 修回日期:2021-09-30)