

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.03.003

结核分枝杆菌游离 DNA 检测在肺外结核诊断中的价值*

陈小娟, 向 尹, 陈俊良, 陈丽龙, 税 玉

四川省乐山市人民医院医学检验科, 四川乐山 614000

摘要:目的 探讨结核分枝杆菌(MTB)游离 DNA(cfDNA)检测技术在肺外结核诊断中的应用价值。方法 选取 2021 年 7 月至 2022 年 12 月该院收治的高度疑似肺外结核患者 266 例作为研究对象,根据临床诊断结果,分为肺外结核组 117 例和非结核组 149 例。所有患者均采集脑脊液、胸腔积液、尿液及血液标本,并同时进行了 MTB cfDNA 检测、结核分枝杆菌及利福平耐药快速检测(GeneXpert MTB/RIF)、涂片抗酸染色及血液标本结核感染 T 细胞 γ 干扰素释放试验(TB-IGRA)。通过分析 4 种检测方法的效能指标评估 MTB cfDNA 检测技术在肺外结核病诊断中的临床价值。结果 MTB cfDNA 检测法对脑脊液、胸腔积液、尿液中 MTB 的检出率均显著高于涂片抗酸染色($\chi^2=5.714, 9.289, 9.226, P=0.017, 0.002, 0.002$)。虽然 MTB cfDNA 检测法对脑脊液、尿液中 MTB 的检出率高于 GeneXpert MTB/RIF,但差异无统计学意义($\chi^2=0.143, P=0.705; \chi^2=0.648, P=0.421$);MTB cfDNA 检测法对胸腔积液中 MTB 的检出率显著高于 GeneXpert MTB/RIF($\chi^2=4.222, P=0.040$)。在肺外结核组,MTB cfDNA 检测法的 MTB 检出率为 26.50%(31/117),显著高于 GeneXpert MTB/RIF[15.38%(18/117)]和涂片抗酸染色[3.42%(4/117)],差异均有统计学意义($\chi^2=4.362, P=0.037; \chi^2=24.492, P<0.05$);而 TB-IGRA 的 MTB 检出率为 72.65%(85/117),显著高于 MTB cfDNA 检测($\chi^2=49.850, P<0.001$)。MTB cfDNA 检测法的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 26.50%、100.00%、100.00%、63.40%,其灵敏度显著高于 GeneXpert MTB/RIF(15.38%)和涂片抗酸染色(3.42%),但低于 TB-IGRA(72.65%),差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论 MTB cfDNA 检测在肺外结核诊断中具有较高的灵敏度及特异度,故 MTB cfDNA 检测在肺外结核诊断中具有较好的应用前景。

关键词:结核分枝杆菌; 结核分枝杆菌游离脱氧核糖核酸; 结核分枝杆菌及利福平耐药快速检测; 结核感染 T 细胞 γ 干扰素释放试验; 肺外结核

中图分类号:R378.91+1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2024)03-0299-05

Value of Mycobacterium tuberculosis cell-free DNA detection in the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis*

CHEN Xiaojuan, XIANG Yin, CHEN Junliang, CHEN Lilong, SHUI Yu

Department of Laboratory Medicine, the People's Hospital of Leshan, Leshan, Sichuan 614000, China

Abstract: **Objective** To investigate the clinical application value of Mycobacterium tuberculosis cell-free DNA (MTB cfDNA) detection technology in the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. **Methods** A total of 266 patients with highly suspected extrapulmonary tuberculosis were enrolled in the Hospital from July 2021 to December 2022, and divided into extrapulmonary tuberculosis group of 117 cases and non-tuberculosis group of 149 cases according to the results of clinical diagnosis. Cerebrospinal fluid, pleural effusion, urine and blood samples were collected from all patients, and MTB cfDNA detection, GeneXpert MTB/RIF, antacid staining and TB-IGRA were performed simultaneously. The clinical value of MTB cfDNA detection technology in the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis was assessed by analyzing the efficacy indexes of the four testing methods. **Results** The detection rates of MTB by MTB cfDNA detection were significantly higher in cerebrospinal fluid, pleural effusion and urine than those by antacid staining ($\chi^2=5.714, 9.289, 9.226, P=0.017, 0.002, 0.002$). Although the detection rates of MTB by MTB cfDNA were higher than those by GeneXpert MTB/RIF in cerebrospinal fluid and urine, the differences were not statistically significant ($\chi^2=0.143, P=0.705; \chi^2=0.648, P=0.421$); the detection rate of MTB by MTB cfDNA in pleural effusion was significantly higher than that by GeneXpert MTB/RIF ($\chi^2=4.222, P=0.040$). In the extrapulmonary tuberculous group,

* 基金项目:四川省乐山市重点科技计划项目(21SZD067)。

作者简介:陈小娟,女,主管技师,主要从事结核病临床分子诊断相关方面的研究。

the MTB detection rate by MTB cfDNA test was 26.50% (31/117), which was significantly higher than that of GeneXpert MTB/RIF[15.38% (18/117)] and antacid staining[3.42% (4/117)], with statistically significant differences($\chi^2=4.362, P=0.037$; $\chi^2=24.492, P<0.05$); while the MTB detection rate of TB-IGRA test was 72.65% (85/117), which was significantly higher than that of MTB cfDNA test ($\chi^2=49.850, P<0.001$). The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of MTB cfDNA detection were 26.50%, 100.00%, 100.00%, and 63.40%, respectively. The sensitivity of MTB cfDNA detection was significantly higher than that 15.38% of GeneXpert MTB/RIF and 3.42% of antacid staining, and lower than 72.65% of TB-IGRA, the differences had statistical significance($P<0.05$). **Conclusion** MTB cfDNA detection exhibits high sensitivity and specificity in the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis, and it has good application prospect in the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis.

Key words: Mycobacterium tuberculosis; Mycobacterium tuberculosis cell-free DNA; GeneXpert MTB/RIF; TB-IGRA; extrapulmonary tuberculosis

结核病是由结核分枝杆菌(MTB)感染引起的一种疾病,是全球重大公共卫生问题之一,对人类健康造成严重危害。结核病的防控关键在于对患者的早期诊断和及时治疗。然而,现有的临床实验室病原体检测方法灵敏度较低,使得大量低菌负荷的结核病患者因缺乏病原学证据,临床诊断极为困难。2022 年全球结核病报告显示,2021 年仍有 420 万例患者未被诊断,这对全球结核病的防控计划构成了巨大的挑战^[1]。在难诊结核病中,肺外结核的诊断尤为困难。肺外结核是由 MTB 感染肺部以外其他部位导致的一种结核病,约占据全部结核病的 20%^[2]。由于肺外结核的病变部位分布广泛,临床症状不具有典型特征,标本难以获得且含菌量低,其诊断一直是临床的难点。因此,寻求一种快速、准确的肺外结核病诊断方法具有重要意义。

细胞游离 DNA(cfDNA)是在细胞死亡或病理状态下,由原始细胞释放的细胞外 DNA 片段,在各种体液中以游离状态存在^[3]。cfDNA 于 1948 年被发现,可以在人类血浆、脑脊液、胸腔积液、尿液、前列腺液、唾液和其他体液中检测到^[4]。近年来,cfDNA 的检测在无创产前诊断、肿瘤的诊断分期和治疗监测中已得到广泛应用并成为研究热点^[5-7]。有研究发现,当人体感染细菌、寄生虫等病原体时,可在体液中检测出相应的 cfDNA 片段,并且其含量与感染性疾病的发生、发展相关^[8-9],提示 cfDNA 检测在感染性疾病的诊断和治疗方面具有潜在的应用价值。在结核病诊断和治疗方面,cfDNA 作为一种新兴的生物标志物近年来也得到了广泛关注。MTB cfDNA 可以通过聚合酶链反应(PCR)在人类血浆、胸腔积液、脑脊液等体液中检测,可能成为诊断低杆菌量结核病的有效方法^[10]。有研究指出,胸腔积液中 MTB cfDNA 检测对结核性胸膜炎具有较高的诊断价值^[11]。近年来也有在脑脊液、腹水、尿液等体液中检测 MTB cfDNA 的相关研究,证明其在结核性脑膜炎、腹部结核及泌尿系统结核等肺外结核中具有一定的诊断价值^[12-14]。cfDNA 作为一种新兴的检测和监测肺结核及肺外结

核的生物标志物,其研究尚处于起步阶段,现有的研究对肺结核和肺外结核患者的血液、胸腔积液、脑脊液和尿液等标本进行 cfDNA 检测的灵敏度和特异度差异较大且标本量较小,故其在结核病诊断中的应用价值仍然存在争议^[15]。因此,本研究拟通过对临床疑似肺外结核患者的相关体液标本进行 MTB cfDNA 检测,评估其在肺外结核诊断中的临床应用价值。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2021 年 7 月至 2022 年 12 月本院收治的临床高度疑似肺外结核患者为研究对象,排除临床资料不全者、仅诊断为肺结核及临床诊断不确定者,最终纳入 266 例患者,其中男 159 例、女 107 例,年龄 42~70 岁、中位年龄 56.50 岁。根据结核病复合诊断标准(CRS),按照临床最终诊断结果分为肺外结核组 117 例和非结核组 149 例。MTB 检测标本来自患者的肺外结核相关体液标本,其中脑脊液 49 例、胸腔积液 142 例、尿液 54 例、血浆 21 例。肺外结核纳入标准:参考我国肺结核诊断标准(WS288-2017)和结核病分类标准(WS196-2017),综合考虑患者的病史、临床症状、体征,肺外结核诊断标准至少符合以下几项之一:(1)脑脊液、浆膜腔积液、尿液等相关临床标本 MTB 病原学检测阳性;(2)影像学检查有肺外结核相关证据;(3)符合肺外结核组织病理改变;(4)合并有肺结核;(5)2 次以上血液标本结核感染 T 细胞 γ 干扰素释放试验(TB-IGRA)阳性且抗结核治疗有效。排除标准:(1)临床资料不全者;(2)已确诊肺结核并排除肺外结核者;(3)临床诊断不确定者。所有研究对象均知晓本研究,且本研究经本院医学伦理委员会审批通过[审批号:2021(117)号]。

1.2 仪器与试剂 实时荧光定量 PCR 仪(ABI QuantStudio5)、全自动核酸纯化仪及其配套试剂(厦门恺硕生物科技有限公司)、MTB DNA 检测试剂盒(广州达安基因有限公司)、结核分枝杆菌及利福平耐药快速检测(GeneXpert MTB/RIF)仪器及配套试剂(美国 Cepheid 公司)、MTB 抗酸染色染液(珠海贝索生物有

限公司)、TB-IGRA 检测试剂(北京万泰生物药业股份有限公司)。

1.3 方法 收集患者肺外结核相关体液标本,所有标本均进行涂片抗酸染色、MTB cfDNA 检测、GeneXpert MTB/RIF。同时,所有患者均抽取静脉血进行 TB-IGRA 试验。以临床最终诊断结果为金标准,对 4 种检测方法的检出率、灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值等效能指标进行统计分析。

1.3.1 MTB 涂片抗酸染色 分别取脑脊液、胸腔积液、尿液及血浆标本 1 mL,3 000 r/min 离心 10 min,去除上清液后,取底部沉淀物或留存液体涂片抗酸染色,于显微镜下观察计数,阳性判定规则为每 100 个油镜视野查见抗酸杆菌 3 条及以上。

1.3.2 MTB cfDNA 检测

1.3.2.1 MTB cfDNA 提取 脑脊液及血浆标本 2~5 mL,4 ℃ 条件下 3 000 r/min 离心 10 min,留取上清液用于 cfDNA 提取。胸腔积液及尿液标本 10~15 mL,4 ℃ 条件下 3 000 r/min 离心 10 min,取上清液 5 mL 再次离心 10 min,留取上清液用于 cfDNA 提取。取已离心处理的上清液标本 800 μ L 按照核酸提取试剂盒[恺硕生物科技(厦门)股份有限公司,RC1016]说明书操作进行 cfDNA 提取。为提高核酸浓度,最后洗脱体积设定为 50 μ L。

1.3.2.2 MTB cfDNA 扩增 使用 MTB 实时荧光定量 PCR 试剂盒进行 MTB cfDNA 扩增检测,该试剂盒检测靶基因为 MTB 特异性插入序列 IS6110。按照每测试 27.0 μ L MTB PCR 反应液 A,3.0 μ L MTB PCR 反应液 B(Taq 酶和尿嘧啶糖基化酶混合液),提取好的 MTB cfDNA 及阴阳对照分别取 20.0 μ L 构建 PCR 反应体系。在实时荧光定量 PCR 仪中扩增,扩增程序如下:50 ℃ 2 min;95 ℃ 15 min;94 ℃ 15 s、55 ℃ 45 s,40 个循环。反应体系为 50.0 μ L。按照试剂盒说明书进行扩增结果判定。

1.3.3 GeneXpert MTB/RIF 检测 在生物安全柜内按照标准操作程序进行标本前处理。相对清亮的脑脊液、尿液及血浆可不用前处理直接检测。胸腔积液若较浓稠或者有凝块则按说明书进行充分液化处理。取处理后的各类型标本 2.0~2.5 mL 于 GeneXpert Dx 检测系统进行检测。检测时间约 2 h。

1.3.4 TB-IGRA 检测 采集患者肝素抗凝血 4 mL,于 2 h 内取 1 mL 分装到 N、T、P 培养基中,放入 37 ℃ 培养箱培养(22 $\pm$ 2)h,将培养管于 3 000~5 000 r/min 离心 10 min,取血浆按照 MTB 特异性细胞免疫反应检测试剂盒说明检测干扰素- γ 水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 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,多组间比较采用方差分析,多组间两两比较采用 LSD-*t* 检验;计数资料以例数或百分数表示,组间比较采用

χ^2 检验。以灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值描述各检测方法诊断效能。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MTB cfDNA 检测法、GeneXpert MTB/RIF 和涂片抗酸染色对肺外结核患者不同类型标本中 MTB 的检出率比较 非结核组各类型标本均未检出 MTB 阳性病例。根据临床最终诊断,肺外结核组包括结核性脑膜炎 20 例、结核性胸膜炎 57 例、泌尿系统结核 31 例、其他部位结核 9 例(淋巴结核 3 例、脊柱结核 5 例、肠结核 1 例)。MTB cfDNA 检测法对脑脊液中 MTB 的检出率为 25.00%,对胸腔积液的检出率为 22.81%,对尿液的检出率为 38.71%,对血浆检出率为 11.11%。MTB cfDNA 检测法对脑脊液、胸腔积液、尿液中的 MTB 检出率均显著高于涂片抗酸染色($\chi^2 = 5.714, 9.289, 9.226, P = 0.017, 0.002, 0.002$)。虽然 MTB cfDNA 检测法对脑脊液、尿液中 MTB 的检出率高于 GeneXpert MTB/RIF,但差异无统计学意义($\chi^2 = 0.143, 0.648, P = 0.705, 0.421$);MTB cfDNA 检测法对胸腔积液中 MTB 的检出率显著高于 GeneXpert MTB/RIF($\chi^2 = 4.222, P = 0.040$)。见表 1。

2.2 MTB cfDNA 检测法、GeneXpert MTB/RIF、涂片抗酸染色、TB-IGRA 在两组患者中的 MTB 检出率比较 在肺外结核组,MTB cfDNA 检测法对 MTB 的检出率为 26.50%(31/117),明显高于 GeneXpert MTB/RIF[15.38%(18/117)]和涂片抗酸染色[3.42%(4/117)],差异均有统计学意义($\chi^2 = 4.362, P = 0.037; \chi^2 = 24.492, P < 0.001$);而 TB-IGRA 对 MTB 的检出率为 72.65%(85/117),明显高于 MTB cfDNA 检测法($\chi^2 = 49.850, P < 0.001$)。在非结核组,MTB cfDNA 检测法、GeneXpert MTB/RIF、涂片抗酸染色对肺外结核相关体液标本进行的 MTB 病原学检测均未检出阳性病例,但 TB-IGRA 检出阳性 47 例。见表 2。

2.3 MTB cfDNA 检测法、GeneXpert MTB/RIF、涂片抗酸染色、TB-IGRA 对肺外结核的诊断效能 MTB cfDNA 检测法、GeneXpert MTB/RIF、涂片抗酸染色、TB-IGRA 诊断肺外结核的灵敏度分别为 26.50%、15.38%、3.42%、72.65%,特异度分别为 100.00%、100.00%、100.00%、68.46%,阳性预测值分别为 100.00%、100.00%、100.00%、64.39%,阴性预测值分别为 63.40%、60.08%、56.87%、76.12%。MTB cfDNA 检测法的灵敏度明显高于 GeneXpert MTB/RIF、涂片抗酸染色,差异均有统计学意义($\chi^2 = 4.362, 24.492, P < 0.05$);TB-IGRA 的灵敏度显著高于 MTB cfDNA 检测法,但其特异度显著低于 MTB cfDNA 检测法,差异均有统计学意义($\chi^2 = 49.850, 55.801, P < 0.05$)。见表 3。

表 1 MTB cfDNA 检测法、GeneXpert MTB/RIF 和涂片抗酸染色对肺外结核患者不同类型标本中 MTB 的检测结果比较[n(%)]

检测方法	脑脊液(n=20)	胸腔积液(n=57)	尿液(n=31)	血浆(n=9)	总计(n=117)
MTB cfDNA 检测法	5(25.00)	13(22.81)	12(38.71)	1(11.11)	31(26.50)
GeneXpert MTB/RIF	4(20.00)	5(8.77) ^a	9(29.03)	0(0.00)	18(15.38)
涂片抗酸染色	0(0.00) ^a	2(3.51) ^a	2(6.45) ^a	0(0.00)	4(3.42)
χ^2	5.490	10.985	9.127	2.077	24.313
P	0.064	0.004	0.010	0.354	<0.001

注：与 MTB cfDNA 检测法比较，^aP<0.05。

表 2 MTB cfDNA 检测法、GeneXpert MTB/RIF、涂片抗酸染色、TB-IGRA 在两组患者中的 MTB 检测结果比较[n(%)]

检测方法	肺外结核组(n=117)		非结核组(n=149)	
	阳性	阴性	阳性	阴性
MTB cfDNA 检测法	31(26.50)	86(73.50)	0(0.00)	149(100.00)
GeneXpert MTB/RIF	18(15.38) ^a	99(84.62)	0(0.00)	149(100.00)
涂片抗酸染色	4(3.42) ^a	113(96.58)	0(0.00)	149(100.00)
TB-IGRA	85(72.65) ^a	32(27.35)	47(31.54)	102(68.46)

注：与同组 MTB cfDNA 检测比较，^aP<0.05。

表 3 MTB cfDNA 检测法、GeneXpert MTB/RIF、涂片抗酸染色、TB-IGRA 检测对肺外结核的诊断效能[% (n/n)]

诊断方法	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
MTB cfDNA 检测法	26.50(31/117)	100.00(149/149)	100.00(31/31)	63.40(149/235)
GeneXpert MTB/RIF	15.38(18/117) ^a	100.00(149/149)	100.00(18/18)	60.08(149/248)
涂片抗酸染色	3.42(4/117) ^a	100.00(149/149)	100.00(4/4)	56.87(149/262)
TB-IGRA	72.65(85/117) ^a	68.46(102/149) ^a	64.39(85/132)	76.12(102/134)

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%；阴性性预测值=真阴性性例数/(真阴性例数+假阴性例数)×100%。由于金标准为临床最终诊断结果,故肺外结核组的检出率即为灵敏度。与 MTB cfDNA 检测法比较，^aP<0.05。

3 讨 论

肺外结核由 MTB 侵犯肺部以外的组织器官引起,常见类型有结核性胸膜炎、结核性脑膜炎、结核性腹膜炎、泌尿系统结核、淋巴结核、肠结核、腹部结核等^[16]。MTB 在正常代谢、凋亡或被破坏后可释放其特异 cfDNA 片段 IS6110 并可通过 PCR 检测^[17]。有研究发现,肺外结核患者相关部位非痰液标本中 MTB 特异性 cfDNA 的灵敏度和特异度可能高于诊断肺外结核的痰液标本^[15]。本研究收集了肺外结核患者相应部位的非呼吸道体液标本(脑脊液、胸腔积液、尿液、血浆)进行 MTB cfDNA 检测,检测靶基因为 IS6110,通过比较其与 GeneXpert MTB/RIF、涂片抗酸染色以及 TB-IGRA 检测的灵敏度、特异度等效能指标,初步探讨 MTB cfDNA 检测在肺外结核诊断中的应用价值。

本研究以 CRS 为参考标准,以临床最终诊断结果为金标准,MTB cfDNA 检测法、GeneXpert MTB/RIF、涂片抗酸染色、TB-IGRA 诊断肺外结核的灵敏度分别为 26.50%、15.38%、3.42%、72.65%,特异度分别为 100.00%、100.00%、100.00%、68.46%,阳性

预测值分别为 100.00%、100.00%、100.00%、64.39%,阴性预测值分别为 63.40%、60.08%、56.87%、76.12%。MTB cfDNA 检测法的灵敏度明显高于 GeneXpert MTB/RIF 与涂片抗酸染色检测,而明显低于 TB-IGRA 检测,差异均有统计学意义(P<0.05)。GeneXpert MTB/RIF 为世界卫生组织推荐的诊断肺结核及肺外结核的分子快速检测方法,近年来已在临床广泛应用。但 GeneXpert MTB/RIF 对于低菌量标本的检出率低,且对于不同类型标本灵敏度差异较大,有研究报道其在胸腔积液中 MTB 检出率最低^[18]。对于肺外结核相关标本,由于其不易获得大量标本且含菌量低,涂片抗酸染色的检出率极低。本研究在肺外结核组患者相关部位的非痰液标本检测中,MTB cfDNA 检测法对 MTB 的检出率为 26.50%,明显优于 GeneXpert MTB/RIF 及涂片抗酸染色,提示 MTB cfDNA 检测在肺外结核的诊断中具有较好的应用前景。TB-IGRA 是通过检测人体免疫系统对 MTB 感染的免疫反应来判断结核感染存在与否。患者的免疫状态、疾病状态、性别和年龄等因素均可能影响到 TB-IGRA 的结果,其特异度较 MTB

的病原学检测低^[19-20]。在使用 TB-IGRA 进行结核病诊断时,需要综合考虑临床症状、病史以及其他检测结果,故其对结核病诊断存在一定的局限性。本研究中 TB-IGRA 灵敏度明显高于 MTB cfDNA 检测法、GeneXpert MTB/RIF 及涂片抗酸染色,但是其特异度仅为 64.39%,而其他 3 种病原学检测方法的特异度均为 100.00%,提示对肺外结核的诊断与病原学检测方法联合使用可获得较好的诊断效能。

笔者进一步分析了使用不同类型标本的 MTB cfDNA 检测在肺外结核中的诊断效能,结果显示 MTB cfDNA 检测法对尿液中 MTB 的检出率最高,对脑脊液和胸腔积液中 MTB 的检出率次之。与 GeneXpert MTB/RIF 相比,MTB cfDNA 检测法对各类型标本中 MTB 的检出率均升高,但两种检测方法仅对胸腔积液中 MTB 检出率的差异有统计学意义($P<0.05$),提示其对结核性胸膜炎的诊断与其他分子检测方法相比更具优势,这也与多项研究结果相符^[11,15]。在对患者血浆标本的检测中,MTB cfDNA 检测法检出 1 例阳性,而 GeneXpert MTB/RIF 与涂片抗酸染色均未检出,提示 cfDNA 血浆检测具有作为早期诊断肺外结核病工具的潜力,但本研究中血浆标本量较小,且来自不同类型的肺外结核患者,其在肺外结核的诊断效能需要进一步研究证实。

综上所述,MTB cfDNA 作为新型分子标志物在肺外结核诊断中具有较好的应用前景,有望为少菌型结核病患者尤其是病原学证据获得困难的结核患者的早期诊断提供强有力的证据。

参考文献

- [1] BAGCCHI S. WHO's Global Tuberculosis Report 2022 [J]. *Lancet Microbe*, 2023, 4(1): e20.
- [2] ALLAHYARTORKAMAN M, MIRSAEIDI M, HAMZ-EHLOO G, et al. Low diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF assay for extrapulmonary tuberculosis: a multicenter surveillance[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 18515.
- [3] SOUZA A G, BASTOS V A, FUJIMURA P T, et al. Cell-free DNA promotes malignant transformation in non-tumor cells[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 21674.
- [4] MANDEL P, METAIS P. Nuclear acids in human blood plasma[J]. *C R Seances Soc Biol Fil*, 1948, 142(3/4): 241-243.
- [5] MARIN A M, SANCHUKI H B S, NAMUR G N, et al. Circulating cell-free nucleic acids as biomarkers for diagnosis and prognosis of pancreatic cancer [J]. *Biomedicines*, 2023, 11(4): 1069.
- [6] SALFER B, LI F, WONG D T W, et al. Urinary cell-free DNA in liquid biopsy and cancer management[J]. *Clin Chem*, 2022, 68(12): 1493-1501.
- [7] GAITSCH H, FRANKLIN R J M, REICH D S. Cell-free DNA-based liquid biopsies in neurology[J]. *Brain*, 2023, 146(5): 1758-1774.

- [8] WEERAKOON K G, MCMANUS D P. Cell-free DNA as a diagnostic tool for human parasitic infections[J]. *Trends Parasitol*, 2016, 32(5): 378-391.
- [9] ULLAH H, QADEER A, GIRI B R. Detection of circulating cell-free DNA to diagnose *Schistosoma japonicum* infection[J]. *Acta Trop*, 2020, 211: 105604.
- [10] CHE N, YANG X, LIU Z, et al. Rapid detection of cell-free *Mycobacterium tuberculosis* DNA in tuberculous pleural effusion[J]. *J Clin Microbiol*, 2017, 55(5): 1526-1532.
- [11] 寿娟, 谢青梅, 龙昭玲, 等. 胸水游离 DNA 的结核杆菌检测在结核病诊断中的价值[J]. *中华病理学杂志*, 2018, 47(6): 465-467.
- [12] LI X, DU W, WANG Y, et al. Rapid diagnosis of tuberculosis meningitis by detecting *Mycobacterium tuberculosis* cell-free DNA in cerebrospinal fluid [J]. *Am J Clin Pathol*, 2020, 153(1): 126-130.
- [13] SHARMA P, ANTHWAL D, KUMARI P, et al. Utility of circulating cell-free *Mycobacterium tuberculosis* DNA for the improved diagnosis of abdominal tuberculosis[J]. *PLoS One*, 2020, 15(8): e0238119.
- [14] ORESKOVIC A, PANPRADIST N, MARANGU D, et al. Diagnosing pulmonary tuberculosis by using sequence-specific purification of urine cell-free DNA[J]. *J Clin Microbiol*, 2021, 59(8): e0007421.
- [15] YU G, SHEN Y, YE B, et al. Diagnostic accuracy of *Mycobacterium tuberculosis* cell-free DNA for tuberculosis: a systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2021, 16(6): e0253658.
- [16] MANYELO C M, SOLOMONS R S, SNYDERS C I, et al. Application of cerebrospinal fluid host protein biosignatures in the diagnosis of tuberculous meningitis in children from a high burden setting[J]. *Mediators Inflamm*, 2019, 2019: 7582948.
- [17] GAUR M, SINGH A, SHARMA V, et al. Diagnostic performance of non-invasive, stool-based molecular assays in patients with paucibacillary tuberculosis [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 7102.
- [18] JAFARI C, ERNST M, KALSDORF B, et al. Comparison of molecular and immunological methods for the rapid diagnosis of smear-negative tuberculosis[J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2013, 17(11): 1459-1465.
- [19] NDIAYE M D B, RANAIVOMANANA P, RASOLOHARIMANANA L T, et al. Plasma host protein signatures correlating with *Mycobacterium tuberculosis* activity prior to and during antituberculosis treatment[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 20640.
- [20] DRUSZCZYNSKA M, WLODARCZYK M, KIELNIEROWSKI G, et al. Two-year follow-up study of *Mycobacterium tuberculosis* antigen-driven IFN- γ responses and macrophage SCD14 levels after tuberculosis contact[J]. *Indian J Microbiol*, 2016, 56(2): 205-213.