

- 析[J]. 现代检验医学杂志, 2013, 28(2): 60-62.
- [2] 王莉娟, 吴金明, 余震, 等. 肝炎后肝硬化失代偿期住院患者营养状况分析[J]. 现代实用医学, 2012, 24(7): 796-797.
- [3] 徐黎. 乙型肝炎后肝硬化患者医院感染临床分析与护理干预[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(1): 103-105.
- [4] 闫兰菊. 替比夫定治疗失代偿期乙型肝炎肝硬化的疗效分析[J]. 河南医学研究, 2014, 23(4): 58-59.
- [5] 孙玉洁, 吴兵, 金雪琴, 等. 肝炎后肝硬化患者 D-二聚体、血小板相关免疫球蛋白 G 变化及临床意义[J]. 中国血液流变学杂志, 2014, 24(1): 66-69.
- [6] 李玉梅, 刘然, 卜凡叶, 等. 肝炎后肝硬化与酒精性肝硬化 D-二聚体测定分析[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2012, 33(6): 740.
- [7] 刘同丽. 乙型肝炎肝硬化患者凝血功能与 Child-Pugh 肝功能分级的关系[J]. 河南医学研究, 2015, 24(3): 88-89.
- [8] 林莎, 祁晓婷, 毛卫林, 等. 血浆 D-二聚体及凝血指标在肝硬化、肝癌患者中的应用价值[J]. 实验与检验医学, 2011, 29(3): 279-280.

(收稿日期: 2016-04-16 修回日期: 2016-07-13)

• 临床研究 •

利福平耐药实时荧光定量核酸扩增技术检测 333 例肺结核患者痰标本的结果分析

林日文, 李 静[△]

(广东省惠州市结核病防治研究所检验科 516008)

摘要:目的 探讨采用利福平(RFP)耐药实时荧光定量核酸扩增技术(Xpert MTB/RIF)检测肺结核患者痰标本的结果并进行分析。方法 选择 2015 年 1~12 月该所就诊的肺结核患者痰标本 333 例, 分别进行抗酸染色涂片镜检、Xpert MTB/RIF、传统罗氏培养法检测, 使用 Xpert MTB/RIF 检测痰标本的结核分枝杆菌(MTB)和 RFP 耐药的敏感度和特异度, 并与传统罗氏培养法检测结果进行一致性比较。结果 Xpert MTB/RIF 检测 MTB 的敏感度为 93.6%, 特异度为 92.0%, 2 种方法进行 Kappa 检验, Kappa=0.82, 具有良好的一致性; RFP 耐药的敏感度和特异度分别为 78.6% 和 93.4%, 2 种方法的 Kappa=0.78, 具有良好的一致性。结论 应用 Xpert MTB/RIF 检测肺结核患者痰标本, 检测速度快, 准确性高, 快速获得患者是否耐药的结果, 可指导临床准确用药, 值得临床应用和推广。

关键词: 肺结核; 利福平; Xpert MTB/RIF 检测技术

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.20.041

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)20-2901-02

我国属于全球 22 个结核病高负担国家之一, 患者数据居全球第 2 位^[1]。结核病疫情具有高患病率、高耐药率、高感染率的特点。广东地区人口流动性大, 外来人口多, 结核病疫情尤为严峻。目前结核病比较突出的问题是患者产生耐药性, 治疗效果差。如何早期发现患者对抗结核药产生耐药性是临床面临的挑战。耐多药结核病是指至少对抗结核药物中异烟肼(INH)和利福平(RFP)产生耐药, 由于 90% 的结核杆菌对 RFP 耐药同时也对 INH 耐药, 因此 RFP 耐药被认为是耐多药的重要标志^[2-3]。传统罗氏结核杆菌耐药检测法, 需要的检测时间至少 2 个月, 因为检测时间长, 对患者的及时治疗和临床用药造成障碍, 利福平耐药实时荧光定量核酸扩增技术(Xpert MTB/RIF)快速检测法则弥补了其不足。现检测 111 株结核分枝杆菌, 并对 RFP 耐药情况进行总结分析, 为临床提供科学依据和经验用药参考。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2015 年 1~12 月在惠州市结核病防治研究所就诊的肺结核患者痰标本 333 例, 年龄 19~69 岁, 男 170 例, 女 163 例, 嘱患者清晨清理口腔后用力咳出深部浓痰, 一式 2 份。进行涂片镜检, 分别标记出涂片阴性和阳性的标本, 采用 Xpert MTB/RIF 核酸检测和改良罗氏培养, 培养阳性者进行药物敏感试验^[3-4]。评价 2 种方法检测结核分枝杆菌

(MTB)和 RFP 耐药的敏感度和特异度, 并对 2 种方法结果的一致性进行比较。

1.2 仪器与试剂 使用珠海 Baso 公司生产的培养基和标准菌株 HRV, 抗结核药由华南制药生产, Xpert MTB/RIF 核酸检测仪是美国 Motyd 公司生产, Cartridge 反应盒由北京芬尼公司提供。

1.3 方法 Xpert MTB/RIF 核酸检测采用 Cepheid 公司 Gene-Xpert 检测系统是一种半巢式定时荧光 PCR 体外诊断技术, 针对 rpoB 基因 81 bp 利福平耐药核心区(RDR)设计引物、探针、检测其是否发生突变, 进而用于诊断患者是否结核及是否对 RFP 耐药(rpoB 序列存在突变)。打开 Gene-Xpert 检测仪的电源开关, 然后运行 Gene-Xpert 操作软件, 使用扫码器扫描反应盒正面的识别码。软件将全自动填写所需信息。点击“开始测试”, 2 h 出结果, 可判读是否 MTB 感染及是否 RFP 耐药。MTB 检出高度: CT<16, 阳性级别高, 定义为 4+; MTB 检出中度: 16<CT<22, 阳性级别中, 定义为 3+; MTB 检出低度: 22<CT<28, 阳性级别低, 定义为 2+; MTB 检出极低度: 28<CT<38, 阳性级别极低, 定义为 1+。RIF 耐药的判定: CT≥3.5 RFP 耐药(R), CT<3.5 RFP 敏感(S)^[5-7]。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行数据分析, 0<Kappa<1, 其值越大, 一致性越好。

[△] 通讯作者, E-mail: ldwt010203@126.com。

2 结 果

2.1 Xpert MTB/RIF 检测 MTB 效能分析 333 例初诊患者痰标本进行涂片染色镜检,其中阳性 111 例,阴性 222 例,以罗氏培养法为标准,Xpert MTB/RIF 涂片阳性患者检测 MTB 的敏感度为 94.9%(93/98),特异度为 69.2%(9/11);Xpert MTB/RIF 涂片阴性患者检测 MTB 的敏感度为 83.3%(10/12),特异度为 94.7%(199/210);全部患者检测的敏感度 93.6%(103/110),特异度为 92.0%(208/226)。2 种方法进行 Kappa 检验,Kappa=0.82,具有良好的一致性。见表 1。

表 1 Xpert MTB/RIF 检测 MTB 效能分析(n)				
Xpert MTB/RIF	涂片阳性		涂片阴性	
	培养阳性	培养阴性	培养阳性	培养阴性
阳性	93	4	10	3
阴性	5	9	2	199
合计	98	13	12	210

2.2 Xpert MTB/RIF 检测痰标本对 RFP 耐药的结果分析 333 例初诊患者痰标本进行涂片染色镜检,涂片阳性 111 例,涂片阴性 222 例,以罗氏培养法为标准,Xpert MTB/RIF 涂片阳性患者检测 RFP 耐药的敏感度为 72.7%(8/11),特异度为 98.0%(98/100);Xpert MTB/RIF 涂片阴性患者检测 RFP 耐药的敏感度为 100%(3/3),特异度为 91.3%(200/219)。全部患者检测的敏感度为 78.6%(11/14),特异度为 93.4%(298/319)。2 种方法进行 Kappa 检验,Kappa=0.78,具有良好的一致性。见表 2。

表 2 Xpert MTB/RIF 检测痰标本对 RFP 耐药的结果分析(n)				
Xpert MTB/RIF	涂片阳性		涂片阴性	
	培养阳性	培养阴性	培养阳性	培养阴性
阳性	8	2	3	19
阴性	3	98	0	200
合计	11	100	3	219

3 讨 论

肺结核发病例数逐年升高,每年新增患者 130 万例。传统罗氏固体培养法是目前常用的诊断耐药结核的方法,其结果可靠,是诊断耐药结核的金标准。但其耗时较长,平均 1~2 个月的操作时间易造成诊断延误,期间耐药结核患者无法得到有效化疗,容易导致获得性耐药、结核复发或切口处窦道形成^[8]。因此,需开发或寻找快速、准确、安全的检测结核耐药性的分子药敏诊断技术。近年来,Xpert MTB/RIF 受到国内外广泛关注和探讨,临床应用处于初级起步阶段。本研究 Xpert MTB/RIF 检测 333 例肺结核患者痰标本结果表明,Xpert MTB/RIF 检测 MTB 的敏感度为 93.6%,特异度为 92.0%,2 种方法进行 Kappa 检验,Kappa=0.82,具有良好的一致性;RFP 耐药的敏感度和特异度分别为 78.6%和 93.4%,2 种方法进行 Kappa 检验,Kappa=0.78,具有良好的一致性。

Xpert MTB/RIF 作为一种全新的结核病快速检测新方

法,具有如下特点:(1)集成性:将样品准备、扩增、定量检测进行统一。(2)快捷性:拥有极速加热和制冷的能力,可在 2 h 内提供精确稳定的试验结果。(3)灵活性:可配置多个模块同时进行多种不同的检测,任何 1 个反应都可随时启动和终止。(4)易操作:系统软件实时监测 PCR 进行情况,一旦 PCR 完成自动给出试验结果。(5)安全性:独立并自成体系的一次性反应盒增加了设备的安全性。(6)精确性:多个光谱的光学检测可以提供准确的实时定量 PCR 结果^[9-10]。

Xpert MTB/RIF 检测方法是全球结核病诊断和治疗方面的一个重要里程碑,为面临罹患结核病和耐药结核病危险的人群带来新希望。耐药结核病常规疫情的监测不仅是临床用药和评价化疗的重要依据,也是流行病学和结核病工作的重要指标。结核分枝杆菌耐药,特别是对 RFP 耐药,比对 RFP 敏感的结核患者有更高的病死率。RFP 耐药非常广泛,且是耐药药的一个重要标志。MDR-TB 患者很难被治愈,将带来潜在 MDR-TB 的传染性。因此,结核分枝杆菌耐药性快速检测对结核患者的有效治疗至关重要,特别是 RFP 耐药性快速检测具有重要的临床意义。

参考文献

[1] 洪秀华. 临床微生物学检验[M]. 北京:中国医药科技出版社,2014:326-333.

[2] 中国防痨协会. 结核病诊断细菌学检验规程[J]. 中国防痨杂志,2006,18(1):28-31.

[3] Lawn SO, Meaba P, Bates M, et al. Advances in tuberculosis diagnostics the xpert MTB/RIF assay and future prospects for a point of care test[J]. Lancet Infect Dis, 2013,13(4):349-361.

[4] Vadwaiv C, Bochme C, Nabeta P, et al. xpert MTB/RIF: a new pillar in diagnosis of extrapulmonary tuberculosis [J]. Clin Microbial, 2011,49(7):2540-2545.

[5] 唐神结. 结核病临床诊治进展年度报告 2014[M]. 北京:人民卫生出版社,2014:51-68.

[6] 欧喜超,夏辉,李强,等. 结核分枝杆菌及利福平耐药核酸扩增检测成本分析[J]. 中国防痨杂志,2013,35(9):723-728.

[7] 雷云. 荧光 PCR 诊断肺结核的临床应用研究[J]. 临床肺科杂志,2014,19(7):1278-1279.

[8] 夏辉,赵雁林. xpert MTB/RIF 检测技术在我国应用前景[J]. 实用医学杂志,2013,29(23):3799-3800.

[9] 赵冰,欧喜超,夏辉,等. xpert MTB/RIF 检测技术在结核病诊断中的应用评价[J]. 中国防痨杂志,2014,36(6):462-466.

[10] 郑强,李朝金,苟莉,等. 多种肺结核临床实验室诊断方法的比较分析[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(21):2941-2942.