

• 论 著 •

# XpertMTB/RIF 在结核病诊断及利福平耐药中的应用

刘 婷, 温贵华, 陈 伊, 郭夏娜, 邓君丽

(深圳市宝安区慢性病防治院检验科, 广东深圳 518102)

**摘 要:**目的 评价 XpertMTB/RIF 技术在诊断结核病及利福平耐药中的临床应用价值。方法 选取 196 例初诊患者痰标本, 分别进行抗酸染色涂片镜检、罗氏固体培养、比例法药敏试验和 XpertMTB/RIF 检测, 对 XpertMTB/RIF 检测痰标本中结核分枝杆菌(MTB)和利福平耐药性的敏感度和特异度, 以及与金标准的一致性进行分析。结果 以罗氏培养结果为金标准, Xpert-MTB/RIF 方法检测 MTB 的敏感度为 94.62%(123/130)、特异度为 87.88%(58/66),  $kappa=0.828$ ; 以比例法药敏试验结果相比, XpertMTB/RIF 方法检测利福平耐药的敏感度 73.33%(11/15), 特异度为 96.30%(104/108),  $kappa=0.696$ 。结论 Xpert-MTB/RIF 在结核病诊断和利福平耐药检测中敏感度和特异度较高, 与传统方法有很好的 consistency, 且更高效, 快捷, 安全, 更符合成本-效益, 值得推广。

**关键词:** XpertMTB/RIF; 结核分枝杆菌; 利福平

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.10.027

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)10-1368-03

## The application of XpertMTB/RIF in TB diagnosis and rifampicin resistance testing

Liu Ting, Weng Guihua, Chen Yi, Guo Xiana, Deng Junli

(Department of Clinical Laboratory, Bao'an Hospital of Chronic Diseases  
Control and Prevention, Shenzhen, Guangdong 518102, China)

**Abstract:** **Objective** To evaluate the accuracy of XpertMTB/RIF assay in the diagnosis of tuberculosis and detection of rifampin resistance. **Methods** A total of 196 initial diagnosis patients were recruited, sputum samples of these patients were tested by smear, solid culture, traditional proportion method drug susceptibility test and XpertMTB/RIF test. The sensitivity and specificity of XpertMTB/RIF method in detecting mycobacterium tuberculosis (MTB) and rifampin resistance, and the consistency of this method compared with the gold standard were analyzed. **Results** According to the solid culture result, the sensitivity and specificity of XpertMTB/RIF test in detecting tuberculosis were 94.62%(123/130) and 87.88%(58/66),  $kappa$  was 0.828; according to conventional drug susceptibility test result, the sensitivity and specificity in detecting rifampin resistance were 73.33%(11/15) and 96.30%(104/108) respectively,  $kappa$  was 0.696. **Conclusion** The XpertMTB/RIF test has very high sensitivity and specificity, which also has a good consistency with the traditional method. It is a more efficient, rapid, safer and more cost-effective diagnosis tool for MTB and Rifampicin resistant.

**Key words:** XpertMTB/RIF; mycobacterium tuberculosis; rifampin

近年来, 虽然对结核分枝杆菌的生物学研究已经有了很大的进展, 但是就成功控制结核病来说还是差强人意。在 2013 年, 全球仍有新增近 900 000 的结核病患者和 480 000 的多重耐药结核病(MDR-TB)患者。结核分枝杆菌感染已经成为全球第二位引起死亡的独立感染因素, 仅次于 HIV 感染<sup>[1-2]</sup>。目前, 在全球范围内有大约 18% 的 MDR-TB 和广泛耐药结核病(XDR-TB)未被检测出<sup>[3]</sup>, 具备应用现代技术的高效实验室诊断系统是早期、快速、准确检测 TB 的首要条件。一种新的结核分枝杆菌(MTB)分子检测方法——XpertMTB/RIF 试验, 已经受到广泛关注, 该试验为全自动半巢式实时荧光核酸扩增(PCR)技术, 可在 2 h 之内同时检测 MTB 和利福平耐药<sup>[4]</sup>。本研究通过用该方法对来本院就诊 196 例结核病疑似患者的痰标本进行检测, 研究该技术诊断 MTB 及利福平耐药的敏感度和特异度, 并与传统方法做比较, 以评价其在结核病诊治中的临床应用价值。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2014 年 12 月至 2015 年 2 月来本院初诊肺结核疑似患者 200 例, 收集患者痰标本分别进行涂片染色镜检、

痰 TB 培养、比例法药敏试验及 XpertMTB/RIF 检测。其中有 4 例 XpertMTB/RIF 检测结果报告为错误或无法判读, 最终有效例数为 196 例, 其中涂阳 134 例, 涂阴 62 例。

**1.2 研究方法** 抗酸染色涂片检测, 改良罗氏培养基培养, 中性罗氏培养基比例法药敏操作及结果判定。其操作均按《结核病诊断细菌学检验规程》进行。XpertMTB/RIF 核酸扩增检测: 按试剂说明书完成标本的前处理后加入检测反应盒, 上机进行自动化检测, 1.5 h 后反应结束, 可直接观察测试结果。XpertMTB/RIF 检测试剂盒购自美国 Cepheid 公司, 抗酸染色液和罗氏固体培养基均购自珠海贝索生物技术有限公司。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS19.0 对 XpertMTB/RIF 检测和检测金标准进行一致性检验,  $kappa$  统计量的可接受范围:  $kappa < 0$ , 一致性程度极差;  $0 \leq kappa \leq 0.2$ , 一致性程度微弱;  $0.2 < kappa \leq 0.4$ , 一致性程度弱;  $0.4 < kappa \leq 0.6$ , 一致性程度适中;  $0.6 < kappa \leq 0.8$ , 一致性程度良好;  $0.8 < kappa \leq 1.0$ , 一致性程度最佳。同时, 对 XpertMTB/RIF 检测和培养及比例法药敏结果行 McNemar 检验,  $P < 0.05$  表示两者差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 XpertMTB/RIF 对痰标本 MTB 的检测 使用 Xpert-MTB/RIF 对 200 例痰标本进行检测,其中有 4 例 XpertMTB/RIF 检测结果报告为错误或无法判读。最终有效例数为 196 例.其中涂阳 134 例,涂阴 62 例。结果显示,以罗氏固体培养结果为金标准,XpertMTB/RIF 检测涂阳患者 MTB 的敏感度为 96.61%(114/118)、特异度为 62.50%(10/16);检测涂阴患者 MTB 的敏感度为 75.00%(9/12)、特异度为 96.00%(48/50);全部患者检测的敏感度为 94.62%(123/130)、特异度为 87.88%(58/66)。对 XpertMTB/RIF 和固体培养进行  $\kappa$ appa 检验, $\kappa$ appa=0.828,两者具有很好的一致性。对两者 McNemar 检验,两者差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 1。

表 1 XpertMTB/RIF 检测 MTB 效能分析(n)

| XpertMTB/RIF | 涂阳  |    |     | 涂阴 |    |    |
|--------------|-----|----|-----|----|----|----|
|              | 培阳  | 培阴 | 合计  | 培阳 | 培阴 | 合计 |
| 阳性           | 114 | 6  | 120 | 9  | 2  | 8  |
| 阴性           | 4   | 10 | 14  | 3  | 48 | 54 |
| 合计           | 118 | 16 | 134 | 12 | 50 | 62 |

2.2 XpertMTB/RIF 检测痰标本中 MTB 对利福平的耐药性分析 XpertMTB/RIF 结果显示中同步给出了 123 例阳性标本的利福平的耐药情况,其中涂阳 114 例,涂阴 9 例。与金标准结果相比较,XpertMTB/RIF 方法检测涂阳患者利福平耐药的敏感度为 66.67%(8/12)、特异度为 98.04%(100/102);检测涂阴患者利福平耐药的敏感度和特异度分别为 100%(3/3)、66.67%(4/6);全部患者检测的敏感度为 73.33%(11/15)、特异度为 96.30%(104/108)。对两者进行  $\kappa$ appa 一致性比较, $\kappa$ appa=0.696,两者具有良好一致性。McNemar 检验,两者差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 2。

表 2 XpertMTB/RIF 检测 MTB 培养阳性标本对利福平耐药的结果分析(n)

| XpertMTB/RIF | 涂阳 |     |     | 涂阴 |    |    |
|--------------|----|-----|-----|----|----|----|
|              | 耐药 | 敏感  | 合计  | 耐药 | 敏感 | 合计 |
| 耐药           | 8  | 2   | 10  | 3  | 2  | 5  |
| 敏感           | 4  | 100 | 104 | 0  | 4  | 4  |
| 合计           | 12 | 102 | 114 | 3  | 6  | 9  |

表 3 XpertMTB/RIF 对痰标本 MTB 分级与固体培养分级的检出情况(n)

| 组别  | ++++ | +++ | ++ | +  | 阴性 | 合计  |
|-----|------|-----|----|----|----|-----|
| 高   | 14   | 4   | 1  | 2  | 0  | 21  |
| 中   | 16   | 47  | 4  | 4  | 1  | 72  |
| 低   | 0    | 4   | 16 | 3  | 2  | 25  |
| 极低  | 0    | 0   | 1  | 4  | 5  | 10  |
| 未检出 | 0    | 2   | 1  | 7  | 58 | 68  |
| 合计  | 30   | 57  | 23 | 20 | 66 | 196 |

2.3 XpertMTB/RIF 对痰标本的分级与固体培养分级的一致性分析 XpertMTB/RIF 对 MTB 的检测结果由检测系统直接给出,MTB 检出高:CT 值小于 16;MTB 检出中等:CT 值在

16~<22;MTB 检出低:CT 值在 22~28;MTB 检出极低:CT 值大于 28;MTB 未检出:CT 值大于 38。分枝杆菌培养结果由人工肉眼判读:++++,菌落布满全斜面;+++ ,菌落布满斜面达 3/4; ++ ,菌落布满斜面达 2/4; + ,菌落布满斜面达 1/4; 阴性,无菌落生长。具体分级情况见表 3。对 XpertMTB/RIF 痰标本的分级与固体培养分级进行一致性检验, $\kappa$ appa=0.607,两者具有良好的一致性。

3 讨 论

由于 MTB 耐多药菌株的出现,且合并感染 HIV,结核病的交叉感染及人口流动的增加等因素,使得结核病的防控难度越来越大。2009 年全球结核病患者患病率只有 63%<sup>[5]</sup>,2011 年痰涂片阳性患者只占登记患者的 56%。全球 2013 年新增有近 900 000 例的结核病患者和 480 000 例的 MTB-TB 患者。诊断延迟或漏诊的情况在结核病合并感染 HIV 患者中极其常见并进一步加剧<sup>[6]</sup>,使大部分患者在治疗前就已经成为传染源<sup>[7]</sup>,进一步导致了再次耐药的发生和新发病例数的逐年递增<sup>[8]</sup>。如果能对结核病及其耐药性做到早诊断,便有助于临床早治疗且尽早控制耐药 MTB 的传播。XpertMTB/RIF 系统是一项将 DNA 提取、定量 PCR 扩增、MTB 特异核酸和利福平耐药基因荧光检测集于一身的全自动分子诊断方法。

本研究以罗氏固体培养法和比例法药敏试验为金标准,将 XpertMTB/RIF 与这两种传统方法的检测结果进行比对,来评价其在检测痰标本中的 MTB 及利福平耐药中的应用价值。与罗氏培养结果相比,XpertMTB/RIF 检测涂阳与涂阴患者 MTB 的敏感度分别为 96.61%和 75.00%,这与 Boehme 等<sup>[9]</sup>的研究结果相似。总体检测 MTB 的敏感度为 94.62%、特异度为 87.88%,且 XpertMTB/RIF 与罗氏固体培养具有很好的一致性( $\kappa$ appa=0.828),这与国内学者张治国等<sup>[10]</sup>的试验结果相似,他们的研究发现 XpertMTB/RIF 检测 MTB 的敏感度和特异度分别为 95.00%、89.60%,与 Bowles 等<sup>[11]</sup>相关报道相比较,特异度略低,可能是由于国外多以液体培养作为金标准,而本研究中金标准为罗氏固体培养。同时,本研究还对 XpertMTB/RIF 检测 MTB 的分级情况与金标准固体培养的分级情况做了一致性分析,发现两者一致性相对较差( $\kappa$ appa=0.607)。

本研究结果显示,在检测利福平耐药方面,XpertMTB/RIF 和金标准比例法药敏试验具有较好的一致性,虽然  $\kappa$ appa 系数小于 0.750,这可能是由于样本量不够大的原因造成的,经进一步对两者行 McNemar 检验,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。Boehme 等<sup>[9]</sup>的试验中 XpertMTB/RIF 对利福平耐药的检测敏感度为 97.60%、敏感菌株检测敏感度为 98.10%。Blakemore 等<sup>[12]</sup>检测利福平耐药的敏感度和特异度均为 100.0%。而在本研究中,XperMTB/RIF 检测 MTB 对利福平耐药特异性为 96.30%,敏感度仅为 73.33%。这可能是因为纳入本研究的研究对象均为结核病初治患者,因此样本中最终对利福平耐药的例数过少,在 130 例固体培养阳性的患者中,仅 15 例表现为利福平耐药。

在临床上,由于痰结核病涂片阴性的 MTB 患者确诊需依靠 MTB 培养,而 MTB 培养时间长,且要求标本中含有活菌。而临床上合格的标本又不易获取,尤其是在复治患者。故 MTB 涂阴菌培养阳性的标本中,应用 XpertMTB/RIF 试验,结核病的检测敏感度仍能达到 75.00%,其中检测涂阴患者利

福平耐药的敏感度为 100.00%。虽然检测涂阴培阳的效能与金标准还是有一定距离,但仍提示 XpertMTB/RIF 试验的临床应用价值高于结核病涂片;并且其同时检测出了利福平耐药,比传统方法先做培养再进行药敏试验节省了最少 30 d 的时间,有利于临床的早诊断、早治疗。

XpertMTB/RIF 为单墨盒反应装置,将样品准备所需的所有试剂都提前装入可以密封的一次性反应盒中,整个过程在封闭的腔室内自动化完成,从加样到出结果,2 h 便可完成。与传统固体培养及药敏试验相比,具备以下诸多优点:(1)对实验操作人员和周围环境安全,减少气溶胶的产生;如此便减少了操作过程中污染<sup>[13]</sup>;(2)其为全封闭全自动分子诊断方法,对操作人员的技术水平和实验室硬件设备的要求不高,生物安全要求低,具备生物安全柜就可操作,且操作简单,可在普通实验室条件下进行,易在基层医院推广<sup>[14]</sup>;(3)从本研究及之前国内外学者的研究中都可以看到,XpertMTB/RIF 在检测 MTB 效能及利福平耐药方面都有很好的敏感度和特异度,且整个实验在 2 h 之内即可完成,远远低于培养(2 个月)、培养药敏(3 个月)的报告时间。为临床及时诊治争取了大量的宝贵时间。特别是对于涂阴培阳同时又存在利福平耐药的患者,之前,“涂阴”患者从接受检测到开始治疗一般需要 58 d,应用 Xpert-MTB/RIF 可缩短到 4 d<sup>[15]</sup>。

因此,在 2010 年 12 月,世界卫生组织(WHO)将 Xpert-MTB/RIF 誉为突破性结核病诊断方法面向全球推荐<sup>[16]</sup>,2013 年 5 月,WHO 推荐对结核病疑似患者率先使用 XpertMTB/RIF 方法检验,并建议 XpertMTB/RIF 可用于涂片阴性病例的进一步检测<sup>[17]</sup>。之前有学者报道该技术检测费用较昂贵,每例标本的检测成本约 10 美元<sup>[18]</sup>。但我国学者研究表明传统方法检测每例结核病患者所需成本为 172.57 元,检测每例耐药结核患者的平均成本为 208.84 元。而 XpertMTB/RIF 检测每例结核病及利福平耐药的的成本仅为 118.62 元,比传统方法更经济<sup>[19]</sup>。当然,该技术也存在弊端,即不能同时检测异烟肼耐药,而根据临床资料发现,如果患者是异烟肼耐药却利福平敏感,用传统的治疗方案会降低治愈率,这将增加 MDR-TB 发生的概率<sup>[20]</sup>。

综上所述,XpertMTB/RIF 试验在检测 MTB 和利福平耐药方面均与金标准表现出良好的一致性。且与传统方法相比,具有检测耗时短,生物安全级别高,成本低廉等优点。适合在我国基层实验室推广。目前 XpertMTB/RIF 试验在国内尚处于试验阶段,还没有普遍在临床实验室中得到推广,且已发表的中文相关文献较少。因此有待在国内开展更多的此类研究,为其在国内的临床应用提供更多的可靠数据。

## 参考文献

- [1] WHO. Global tuberculosis report 2015[EB/OL]. [2015-07-30]. [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/.html](http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/.html).
- [2] WHO. Supplement: Global tuberculosis report 2014. Drug-resistant TB Surveillance & response[EB/OL]. [2015-07-09]. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/137095/1/WHO\\_HQ\\_TB\\_2014\\_12\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/137095/1/WHO_HQ_TB_2014_12_eng.pdf?ua=1).html.
- [3] WHO. TB diagnostics and laboratory strengthening[EB/OL]. [2015-07-09]. <http://www.who.int/tb/laboratory/en/.html>.
- [4] Lawn SD, Nicol MP. Xpert(R) MTB/RIF assay: development, evaluation and implementation of a new rapid molecular diagnostic for tuberculosis and rifampicin resistance[J]. *Future Microbiol*, 2011,6(9):1067-1082.
- [5] WHO. Global tuberculosis control 2010[R]. Geneva: WHO Press,2010.
- [6] Havlir DV, Getahun H, Sanne I, et al. Opportunities and challenges for HIV care in overlapping HIV and TB epidemics[J]. *JAMA*, 2008,300(4):423-430.
- [7] Dye C, Williams BG. The population dynamics and control of tuberculosis[J]. *Science*, 2010,328(5980):856-861.
- [8] Lonnroth K, Castro KG, Chakaya JM, et al. Tuberculosis control and elimination 2010-50: cure, care, and social development[J]. *Lancet*, 2010,375(9728):1814-1829.
- [9] Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance[J]. *N Engl Med*, 2010,363(11):1005-1015.
- [10] 张治国, 欧喜超, 孙倩, 等. 利福平耐药实时荧光定量核酸扩增技术检测痰标本中结核分枝杆菌及其耐药性的研究[J]. *中国防痨杂志*, 2013,35(1):13-16.
- [11] Bowles EC, Freyee B, Van Ingen, et al. Xpert MTB/RIF, anovel automated polymerase chain reaction-based tool forthe diagnosis of tuberculosis[J]. *Int Tuber Lung Dis*, 2011,15(7):988-989.
- [12] Blakemore R, Story E, Helb D, et al. Evaluation of the analytical performance of the XpertMTB/RIF assay[J]. *Clin Microbiol*, 2010,48(7):2495-2501.
- [13] Helb D, Jones M, Story E, et al. Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis and rifampin resistance by use of on-demand, near-patient technology[J]. *J Clin Microbiol*, 2010, 48(1):229-237.
- [14] Lawn SD, Mwaba 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.
- [15] WHO. Policy statement: automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: XpertMTB/RIF System[R]. Geneva: WHO Press, 2011.
- [16] WHO. Policy statement: Xpert MTB/RIF system[EB/OL]. [2014-03-20]. [http://who.int/publications/2011/97892415-01545\\_eng.pdf.html](http://who.int/publications/2011/97892415-01545_eng.pdf.html).
- [17] WHO. Policy update: Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children[EB/OL]. [2015-05-27]. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112472/1/9789241506335\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112472/1/9789241506335_eng.pdf?ua=1).html.
- [18] Pai M, Palamountain KM. New tuberculosis technologies: challenges for retooling and scale-up[J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2012,16(10):1281-1290.
- [19] 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.
- [20] Gegia M, Cohen T, Kalandadze I, et al. Outcomes among tuberculosis patients with isoniazid resistance in Georgia, 2007 - 2009[J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2012,16(6):812-816.

(收稿日期:2015-11-04)