vaccination[J]. J Korean Med Sci, 2017, 32(3):465-474.

[6] MAKVANDI M, TEIMOORI A, NEISI N, et al. Designing, construction and expression of a recombinant fusion protein comprising the hepatitis E virus ORF2 and rotavirus NSP4 in the baculovirus expression system[J]. Jundis J Microbiol, 2016, 9(11):40303.

[7] 陈士伟, 周仁希, 吴亦栋, 等. 杭州市 0~6 岁腹泻儿童轮状病毒感染分析[J]. 浙江预防医学, 2016, 28(5):527-528.

[8] 张海琼, 莫胜福, 蒋渝采, 等. 腹泻患儿轮状病毒与腺病毒抗原检测结果分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(11):2602-2603.

[9] VELÁZQUEZ R F, LINHARES A C, MUÑOZ S, et al. Efficacy, safety and effectiveness of licensed rotavirus vaccines: a systematic review and meta-analysis for Latin America and the Caribbean[J]. BMC Pediatr, 2017, 17(1):14.

[10] 赵嘉咏, 申晓靖, 张白帆, 等. 河南省 2011 年至 2014 年 A 组轮状病毒病原学及流行特征[J]. 中华传染病杂志, 2016, 34(9):560-562.

[11] 李兴斌, 宣昊, 李秀梅, 等. 甘肃武威市门诊腹泻儿童轮状病毒和诺如病毒腹泻流行特征分析[J]. 中国儿童保健杂志, 2016, 24(5):515-517.

[12] 司玉枝. 小儿秋季腹泻发病中轮状病毒的检验及临床意义[J]. 中国实用医药, 2016, 11(4):23-24.

[13] 曾科. 小儿秋季腹泻检测轮状病毒的临床意义[J]. 世界临床医学, 2016, 10(8):163-165.

[14] 韩小娟. 焦作市婴幼儿腹泻轮状病毒感染调查分析[J]. 中国卫生产业, 2016, 13(28):30-32.

[15] 杨彩兰, 徐小红, 谭梦婷. 小儿轮状病毒感染导致血清心肌酶 CK、CK-MB 增高探讨[J]. 中国现代药物应用, 2016, 10(15):14-15.

(收稿日期:2017-06-15 修回日期:2017-09-26)

• 短篇论著 •

Xpert MTB/RIF 在肺结核及耐药结核检测中的应用价值分析

李雪黎, 温海平, 桑俊, 甘信容, 李倩[△]
(重庆市巴南区人民医院感染科, 重庆 401320)

摘要:目的 评价结核分枝杆菌/利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测(Xpert MTB/RIF)技术在耐药结核中的应用价值。**方法** 收集 2015 年 1 月至 2016 年 12 月该院住院治疗的疑似耐药肺结核及初筛痰涂片阳性自愿行 Xpert MTB/RIF 及痰培养检查的 161 例患者,以痰培养及药敏试验结果为金标准,比较不同检测方法检出结核杆菌及耐药菌的情况。**结果** 63 例可疑耐药肺结核患者, Xpert MTB/RIF 检测方法均检出结核分枝杆菌,其中耐药 24 例,痰培养检出 23 例耐药,以痰培养耐药结果为金标准, Xpert MTB/RIF 检测法的灵敏度及特异度分别为 100.00%和 97.50%;98 例初筛痰涂片阳性病例中, Xpert MTB/RIF 检测法均检出结核分枝杆菌,检出耐药 9 例,痰培养检出 8 例耐药,以痰培养耐药结果为金标准, Xpert MTB/RIF 检测法的灵敏度及特异度分别为 100.00%和 98.89%。**结论** Xpert MTB/RIF 是一种快速、有效、准确的诊断耐药结核病的方法,对结核杆菌及耐药结核菌检测的灵敏度和特异度都较高,可作为临床检出结核菌及耐药结核筛查首选方法。

关键词:结核分枝杆菌; 耐药结核; 药敏试验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.01.031

文章编号:1673-4130(2018)01-0100-03

中图法分类号:R521

文献标识码:B

结核病的诊断主要依靠痰液涂片抗酸染色,结核分枝杆菌培养,但是痰涂片阳性率低而结核分枝杆菌培养及药敏试验条件要求苛刻且耗时长,易延误诊断或漏诊。耐多药及极度耐药结核菌的出现,给结核病的防控提出了前所未有的挑战。随着分子生物学技术的快速发展,美国 Cepheid 公司开发的结核分枝杆菌/利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测(Xpert MTB/RIF)技术,是在痰涂片及培养等常规检测手段上的巨大进步,对结核病的诊断做出了重要贡献,能在 2 h 内完成对结核分枝杆菌与利福平耐药性快速检测。然而, Xpert MTB/RIF 检测在诊断肺结核及耐药结核效能上在各个国家及地区的报道中有所差异。目前全球结核病控制重点是如何提高耐药结核的诊断效率,本院利用 Xpert MTB/RIF 检测技术来评价

耐多药结核(MDR-TB)的检测效能及应用价值。

1 资料与方法

1.1 标本采集 收集 2015 年 1 月至 2016 年 12 月本院住院的 365 例可疑肺结核患者,筛选出疑似 MDR-TB 63 例及初筛痰涂片阳性感染者 98 例,所有患者均行荧光涂片显微镜检,液体快速生长培养(MGIT 960)及 Xpert MTB/RIF。依据患者临床表现,收集患者的基本信息及病史,如性别、年龄、药物治疗史、初治还是复治等信息,收集患者影像学、实验室等资料。

1.2 入选标准 依据 WS288-2008 肺结核诊断标准,符合肺结核的诊断将纳入统计对象。入选标准:(1)初筛痰涂片阳性自愿行 Xpert MTB/RIF 及痰培养检查者;(2)怀疑 MDR-TB 患者临床诊断纳入标准为痰

[△] 通信作者, E-mail:lq66234017@126.com。

涂片阳性者；(3)有以下病史之一者：①复治失败病例；②初治病例在治疗 3 个月时痰涂片仍为阳性者；③已知的 MDR-TB 患者在复治时已明确诊断为 MDR-TB 的痰涂片阳性者。

1.3 仪器与试剂 抗酸染色液(珠海贝索生物技术有限公司)；Xpert MTB/RIF 检测系统及试剂(美国 Cepheid 公司)；BACTEC MGIT 960 相关分析系统、试剂及培养管等(美国 BD 公司)；分枝杆菌鉴定仪器及试剂盒(博奥生物有限公司)。

1.4 检查流程方法 所有临床怀疑 MDR-TB 及初筛痰涂片阳性者每人均需留取 3 份晨痰标本，分别行荧光涂片显微镜镜检、液体快速生长培养(BACTEC MGIT 960)及 Xpert MTB/RIF 检查。若液体快速培养结果为结核分枝杆菌感染，则进一步行药敏试验。使用 Xpert MTB/RIF 与传统的结核菌培养技术分别对结核分枝杆菌的检测和利福平耐药点检测进行比较。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行分析，两独立样本的计量资料使用 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用 t 检验；计数资料组间比较采用 χ^2 检验， $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 入组患者基本资料 本研究共纳入 161 例患者，63 例临床怀疑 MDR-TB 患者中 9 例为初治且规律一线抗痨治疗大于 3 个月痰涂片仍为阳性者，8 例为复治失败者，3 例为入组时已诊断为耐药结核，2 例发病前有开放性耐药肺结核患者接触史；98 例其他入组患者为初筛痰涂片阳性自愿行相关检测者。其中男 95 例(59.00%)，女 66 例(41.00%)，男性平均年龄为(55.29 ± 1.33)岁，女性平均年龄为(54.21 ± 1.97)岁，差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 相关方法检出耐药情况 63 例痰涂片阳性且临床怀疑 MDR-TB 患者中，Xpert MTB/RIF 检测方法检出耐药者 24 例(38.09%)，应用培养法检测出耐药者 23 例(36.51%)；98 例初筛痰涂片阳性自愿行相关检测患者中，Xpert MTB/RIF 检测方法检出耐药者 9 例(9.18%)，应用培养法检测出耐药者 8 例(8.16%)。

2.3 Xpert MTB/RIF 对临床怀疑 MDR-TB 病例的检测效能分析 63 例痰涂片阳性的疑似 MDR-TB 患者行 Xpert MTB/RIF 检测提示 63 例均检出结核分枝杆菌感染，与传统的液体快速生长培养法一致，Xpert MTB/RIF 检测结核分枝杆菌的灵敏度和特异度均为 100.00%。63 例患者行利福平耐药性检测，两种方法共检出利福平耐药 24 例；Xpert MTB/RIF 检测出 rpoB 基因突变者 24 例，而痰液体外培养及药敏试验均提示对异烟肼和利福平耐药 23 例，有 1 例患者 Xpert MTB/RIF 检测出 rpoB 基因突变，但液体培养药敏法提示对异烟肼和利福平敏感；以液体培养药敏法为金标准，Xpert MTB/RIF 检测利福平耐药的灵敏度为 100.00%，特异度 97.50%。

2.4 Xpert MTB/RIF 对痰涂片初筛阳性自愿检测病例的检测效能分析 98 例初筛阳性自愿检测病例中，行 Xpert MTB/RIF 均检出结核分枝杆菌感染，培养法检出利福平耐药 8 例，Xpert MTB/RIF 检测出 rpoB 基因突变者 9 例。以液体培养药敏法为金标准，Xpert MTB/RIF 检测利福平耐药的灵敏度为 100.00%，特异度 98.89%。

3 讨 论

结核病是由结核分枝杆菌感染引起的危害人类健康的全球性公共卫生问题，世界卫生组织(WHO)估计 2014 年全球结核病新发病例预计达到 960 万，亚洲和西太平洋地区占总数的 58%，导致 150 万人死亡^[1-2]。全球新发结核病例中有 1/3 未能明确诊断，其耐药性结核检出率仅为 45%，MDR-TB 病例估计达 48 万，其中 21 万因此死亡^[2]。据中国疾病预防控制中心统计，2015 年中国新发肺结核 86.4 万人。无论是结核还是 MDR-TB 中国均属高负担国家^[3]。早期诊断及发现其中耐药病例是治疗成功的关键。提高结核病尤其是 MDR-TB 的诊断能力是全球结核病防控的重点，2007—2008 年全国耐药结核基线调查结果显示，新涂阳肺结核利福平耐药率为 6.70%，复治涂阳肺结核患者利福平耐药率为 29.40%^[4]。虽然结核治疗药物应用一直受限，但结核分枝杆菌液体培养、基因扩增实验及 Xpert MTB/RIF 检测技术的应用极大地提高了结核病尤其是耐药结核的诊断率，为结核病的控制做出了不菲贡献，尤其是 Xpert MTB/RIF 检测技术的出现，提前了抗结核相关药物应用的时间，从而减少了传播的概率^[5]。Xpert MTB/RIF 检测技术在所有结核患者中，其检出结核菌的灵敏度达到 67.60%^[6-7]。2010 年 WHO 建议将的 Xpert MTB/RIF 检测技术应用于医疗设施匮乏国家的结核检测，特别是 HIV 合并结核感染患者及可疑耐药结核患者的诊断。

Xpert MTB/RIF 检测技术在涂片阳性或培养阳性的结核病例中，其检出结核菌的灵敏度达 95.00% 以上，特异度达 99.00% 以上，而其检出耐药结核菌的灵敏度均达到了 94.00% 以上，特异度达 97.00% 以上^[8-10]；研究者将 Xpert MTB/RIF 检测方法应用于痰涂片阳性人群的检测，其结核菌检出率达到 100.00%，而其中耐药菌检出率为 9.18%，其检出效率高，更能够早期发现并及时调整该类人群的抗结核方案，提高治愈率。将该技术应用于高度怀疑耐药结核群体的检测，其结核菌检出率仍为 100.00%，耐药菌的检出比例达到 38.10%。因此本检测手段不仅适应于初治患者，更适合于初治持续阳性、复治失败、开放性肺结核接触史患者，更能提高治疗疗效，能更有效的控制治疗耐药菌人群，降低耐药菌的传播扩散。

痰涂片阴性肺结核中检出结核菌的灵敏度为 61.00%~77.70%，特异度为 96.30%~99.30%，可以及早的介入抗结核治疗^[10-16]。研究者检测并没有将首次痰涂片阴性的怀疑肺结核人群纳入检测范围，

该类患者同样有相当比例耐药人群的存在,其隐匿性强,延误抗结核药物的应用时间,危害性更大,更容易引起传播,以后的检测中会加强对该类人群的检测。

与传统液体培养法比较,Xpert MTB/RIF 检测结核分枝杆菌的灵敏度和特异度均为 100.00%,这与 HELB 等^[17]的研究结论相似,而对于利福平耐药性检测情况来看,Xpert MTB/RIF 检测出 rpoB 基因突变者 34 例,而痰液体外培养及药敏试验均提示对异烟肼和利福平耐药者 32 例,有 2 例患者 Xpert MTB/RIF 检测出 rpoB 基因突变,但液体培养药敏法提示对异烟肼和利福平敏感;以液体培养药敏法为金标准,Xpert MTB/RIF 检测利福平耐药的灵敏度为 100.00%,特异度为 98.89%。这 2 例 Xpert MTB/RIF 检测提示耐药的患者经过正规一线药物抗结核治疗后临床症状好转,复查痰涂片痰菌阴性,故考虑对利福平敏感。该结果考虑是假阳性结果,分析原因可能与痰液中抗酸杆菌数量有关系,另外 Xpert MTB/RIF 检测是基于核酸基因扩增,其检测结果不一定代表有生命活力的结核分枝杆菌。

通过对 Xpert MTB/RIF 和痰涂片及液体培养法的比较,提示 Xpert MTB/RIF 检测结核菌及耐药结核的临床应用价值高,对生物安全的条件要求低,能极大节约时间成本。但 Xpert MTB/RIF 检测法目前在我国正处于推广阶段,昂贵的经济成本是广大患者及医务工作者不得不考虑的因素,也是制约了该项技术大力推广的主要障碍,尤其是中西部等经济条件较差的地区。Xpert MTB/RIF 可以快速、准确地诊断结核分枝杆菌感染和快速筛选耐多药肺结核,对肺结核和 MDR-TB 的诊断具有重要的临床应用价值,值得推广,特别是在耐药率低的国家及地区,有利于早期诊断结核及耐药结核,选择治疗方式,抑制结核传播。

本研究存在一定的局限性,没有将所有怀疑结核的人群纳入检测范围,特别是怀疑结核但痰涂片阴性的患者,其危害性更大。本研究没有对检测对象进行后期的随访,对于出院后的治疗效果也没有追踪。

参考文献

[1] ZUMLA A, GEORGE A, SHARMA V, et al. The WHO 2014 global tuberculosis report—further to go[J]. *Lancet Glob Health*, 2015, 3(1):10-12.

[2] HERVE C, BERGOT E, VEZIRIS N, et al. Tuberculosis in 2015: from diagnosis to the detection of multidrug-resistant cases[J]. *Rev Mal Respir*, 2015, 32(8):784-790.

[3] PRASAD R. Multidrug and extensively drug-resistant TB (M/XDR-TB): problems and solutions[J]. *Indian J Tuberc*, 2010, 57(4):180-191.

[4] 肖东楼. 全国结核病耐药性基线调查报告(2007—2008年)[M]. 北京:人民卫生出版社,2010:97-99.

[5] SHENOI S V, ESCOMBE A R, FRIEDLANG G. Transmission of drug-susceptible and drug-resistant tuberculosis and the critical importance of airborne infection control

in the era of HIV infection and highly active antiretroviral therapy rollouts[J]. *Clin Infect Dis*, 2010, 50(3):231-237.

- [6] BALCHA T T, STUREGARD E, WINQVIST N, et al. Intensified tuberculosis case-finding in HIV-positive adults managed at Ethiopian health centers: diagnostic yield of Xpert MTB/RIF compared with smear microscopy and liquid culture[J]. *PLoS One*, 2014, 9(1):85478.
- [7] 李妍, 张天华, 鲜小萍, 等. Xpert MTB/RIF 技术在 MTB 检测中的应用价值[J]. *检验医学*, 2016, 12(1):52-55.
- [8] BOEHME C C, NABETA P, HILLEMANN D, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(11):1005-1015.
- [9] ZEKA A N, TASBAKAN S, CAVUSOGLU C. Evaluation of the GeneXpert MTB/RIF assay for rapid diagnosis of tuberculosis and detection of rifampin resistance in pulmonary and extrapulmonary specimens[J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49(12):4138-4141.
- [10] SHARMA S K, KOHLI M, YADAV R N, et al. Evaluating the diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF assay in pulmonary tuberculosis[J]. *PLoS One*, 2015, 10(10):141011.
- [11] STEINGART K R, SOHN H, SCHILLER I, et al. Xpert[®] MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2013, 31(1):9593.
- [12] WILLIAMSON D A, BASU I, BOWER J, et al. An evaluation of the Xpert MTB/RIF assay and detection of false-positive rifampicin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2012, 74(2):207-209.
- [13] VASSALL A, VAN KAMPEN S, SOHN H, et al. Rapid diagnosis of tuberculosis with the Xpert MTB/RIF assay in high burden countries: a cost-effectiveness analysis[J]. *PLoS Med*, 2011, 8(11):e1001120.
- [14] SCOTT L E, MCCARTHY K, GOUS N, et al. Comparison of Xpert MTB/RIF with other nucleic acid technologies for diagnosing pulmonary tuberculosis in a high HIV prevalence setting: a prospective study[J]. *PLoS Med*, 2011, 8(7):1001061.
- [15] BOEHME C C, NICOL M P, NABETA P, et al. Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentralised use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance: a multicentre implementation study[J]. *Lancet*, 2011, 377(9776):1495-1505.
- [16] GELETA D A, MEGERSSA Y C, GUDETA A N, et al. Xpert MTB/RIF assay for diagnosis of pulmonary tuberculosis in sputum specimens in remote health care facility[J]. *BMC Microbiol*, 2015, 15(15):220.
- [17] 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.