

• 论 著 •

Xpert MTB/RIF 在早期诊断结核性脑膜炎中的临床应用价值^{*}

刘 锐, 张 焕, 陈素丽, 李卫红, 张晓光, 王 勇, 安贺娟[△], 刘 会
(河北省胸科医院结核三科, 石家庄 050041)

摘要:目的 探讨结核性脑膜炎/利福平耐药基因检测(Xpert MTB/RIF)在早期诊断结核性脑膜炎(TBM)中的临床应用价值。方法 选取该院2015年2月至2016年12月收治的130例中枢神经系统感染患者,其中65例TBM患者作为TBM组,65例非TBM患者作为非TBM组。对所有患者的脑脊液标本分别进行结核分枝杆菌抗酸染色、罗氏固体培养以及Xpert MTB/RIF检测,比较检测结果。结果 以临床诊断为金标准,Xpert MTB/RIF检测TBM的灵敏度为43.08%,特异度为100.00%;固体培养法检测TBM的灵敏度为58.46%,特异度为98.46%;抗酸染色法检测TBM的灵敏度为9.23%,特异度为100.00%。以传统比例法药敏试验结果为金标准,Xpert MTB/RIF检测利福平耐药的灵敏度为88.89%,特异度为98.35%。结论 Xpert MTB/RIF是一种检测MTB及患者是否对利福平耐药的诊断新技术,具有快速、直接、可靠、特异度高的优点。

关键词:Xpert MTB/RIF; 结核性脑膜炎; 诊断; 利福平; 耐药

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.19.002

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)19-2660-03

Clinical value of Xpert MTB/RIF in the early diagnosis of tuberculous meningitis^{*}

LIU Rui, ZHANG Huan, CHEN Suli, LI Weihong, ZHANG Xiaoguang, WANG Yong, AN Hejuان[△], LIU Hui

(The Third Department of Tuberculosis, the Chest Hospital of Hebei Province, Shijiazhuang, Hebei 050041, China)

Abstract: Objective To investigate the clinical value of Xpert MTB/RIF in the early diagnosis of tuberculous meningitis (TBM). **Methods** Totally 130 patients with central nervous system infection in our hospital from February 2015 to December 2016 were divided into two groups, 65 cases of TBM patients as the TBM group, 65 cases of non TBM patients as the non TBM group. The CSF samples of all patients were respectively detected by acid fast staining, Roche solid culture and Xpert MTB/RIF assay. The test results were compared. **Results** With clinical diagnosis as the gold standard, the sensitivity of Xpert MTB/RIF to detection of TBM was 43.08% and specificity was 100.00%. The sensitivity of solid culture to detection of TBM was 58.46% and specificity was 98.46%. The sensitivity of acid fast staining to detection of TBM was 9.23% and specificity was 100.00%. Based on the results of drug sensitivity test of traditional proportional method, the sensitivity of Xpert MTB/RIF to detection of rifampin resistance was 88.89% and specificity was 98.35%. **Conclusion** Xpert MTB/RIF is a new diagnostic technique for detecting TBM and rifampin resistance in patients. It has the advantages of rapid, direct, reliable and high specificity and is worthy of clinical application.

Key words:Xpert MTB/RIF; tuberculous meningitis; diagnosis; rifampin; drug resistant

结核性脑膜炎(TBM)是由于感染结核分枝杆菌所引起的脑膜和脊膜非化脓性炎症性疾病,是结核病中最严重的肺外结核病类型^[1],严重者可导致患者死亡。早期诊断及合理治疗该病是改善患者预后的关键措施^[2]。目前,临幊上诊断TBM的方法是综合判断患者的临床症状、体征,以及影像学检查、脑脊液常规检验和生化检测结果等,但由于脑脊液涂片常规抗酸染色阳性率较低,导致早期诊断TBM比较困难,延误了治疗^[3]。因此,寻找一种快速、准确、有效的诊断方法十分必要。结核性脑膜炎/利福平耐药基因检测(Xpert MTB/RIF)是由美国Cepheid公司研发的一种新型的TBM感染及利福平耐药性分析的分子诊断平台,在临幊上受到广泛的关注^[4-5]。本文探讨了Xpert MTB/RIF在早期诊断TBM及利福平耐药中的临床应用价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院2015年2月至2016年12月收治的130例中枢神经系统感染患者,其中65例TBM患者作为TBM组,65例非TBM患者作为非TBM组。TBM组:男38例,女27例,年龄16~74岁,平均(43.28±14.25)岁,发病至

就诊时间1~54 d,平均(7.42±3.05)d。非TBM组:男36例,女29例,年龄17~78岁,平均(44.73±13.80)岁,发病至就诊时间1~50 d,平均(7.39±3.21)d。两组患者的性别、年龄以及发病至就诊时间等方面比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。所有患者均对本研究知情同意,并签署知情同意书。

1.2 诊断标准 TBM组的诊断标准参考Ahuja等^[6]提出的相关标准:(1)患者具有发热、头痛、呕吐等临床表现,持续时间>5 d,脑膜刺激征阳性或伴有局灶性神经损害,伴或不伴有结核分枝杆菌感染的全身症状;(2)脑脊液常规检验结果显示细胞数明显增加(10~500个/微升),淋巴细胞比例在50%以上,蛋白>1 g/L,葡萄糖<血糖的50%(低于2.2 mmol/L),阿利新兰染色未见隐球菌,细菌培养阴性;(3)头颅CT或MRI检查结果显示存在脑基底池渗出、梗死灶、脑积水或结核瘤等表现;(4)有颅外结核的临床症状存在,如肺结核;(5)排除其他的神经系统疾病。满足以上(1)(5)和(2)(3)(4)中任意两项即可诊断。非TBM的诊断标准参考人民卫生出版社《神经病学》(第5版)^[7]中制定的相关标准,其中包括脑膜白血病、化脓

* 基金项目:河北省卫生和计划生育委员会2016年度医学科学研究课题计划项目(20160494)。

作者简介:刘锐,女,主治医师,主要从事结核病学相关研究。 △ 通信作者, E-mail:liuseng123321@163.com。

性脑膜炎及脑膜癌。

1.3 检测方法 所有患者在排除腰椎穿刺禁忌证后,采集脑脊液 5 mL 进行检测。所有标本均严格按照说明书分别进行结核分枝杆菌抗酸染色、罗氏固体培养及 Xpert MTB/RIF 检测,具体步骤见《结核病诊断实验室检验规程》^[8]。严格按照美国 Cepheid 公司 Xpert MTB/RIF 试剂盒说明书进行 Xpert MTB/RIF 检测,并进行质量控制措施。取 1 mL 脑脊液放置于前处理管中,加入 2 mL 标本处理液,旋紧处理管旋盖,在涡旋振荡器上振荡 20 s,充分混合脑脊液,室温静置 15 min,取处理后的样品 2 mL,加入至 Xpert MTB/RIF 反应盒,置于检测模块上,仪器自动检测,2 h 后,系统自动判读 TBM 检测结果与利福平耐药分析结果。

1.4 统计学处理 应用统计学软件 SPSS19.0 进行研究数据的统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料以率(%)表示,组间比较采用 $R \times C \chi^2$ 检验,然后进一步两两比较;以临床诊断为金标准分析各检验方法对 TBM 的诊断效能;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 种方法 TBM 检测结果 65 例 TBM 患者 Xpert MTB/RIF 检测阳性 28 例,非 TBM 患者检测阳性 0 例;固体培养法检测阳性 38 例,非 TBM 患者检测阳性 1 例;抗酸染色法检测阳性 6 例,非 TBM 患者检测阳性 0 例。见表 1。

表 1 3 种方法 TBM 检测结果[n(%)]

检测方法	TBM 组(n=65)		非 TBM 组(n=65)	
	阳性	阴性	阳性	阴性
Xpert MTB/RIF	28(43.08)	37(56.92)	0(0.00)	65(100.00)
固体培养	38(58.46)	27(41.54)	1(1.54)	64(98.46)
抗酸染色	6(9.23)	59(90.77)	0(0.00)	65(100.00)

2.2 3 种方法 TBM 诊断效能比较 以临床诊断为金标准, Xpert MTB/RIF 检测 TBM 的灵敏度为 43.08%, 特异度为 100.00%, 准确率为 71.54%; 固体培养法检测 TBM 的灵敏度为 58.46%, 特异度为 98.46%, 准确率为 78.46%; 抗酸染色法检测 TBM 的灵敏度为 9.23%, 特异度为 100.00%, 准确率为 54.61%。Xpert MTB/RIF 诊断 TBM 的灵敏度及准确率明显优于抗酸染色($\chi^2 = 19.28, 7.99$; 均 $P < 0.001$), 但与固体培养法比较, 差异无统计学意义($\chi^2 = 3.08, 1.66$; $P = 0.079, 0.197$); 3 种检测方法特异度比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 3 种方法 TBM 诊断效能比较(%)

检测方法	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值	准确率
Xpert MTB/RIF	43.08	100.00	100.00	63.73	71.54
固体培养	58.46	98.46	97.44	70.33	78.46
抗酸染色	9.23	100.00	100.00	52.42	54.61

2.3 结核分枝杆菌对利福平耐药情况分析 以传统比例法药敏试验结果为金标准, 130 例 TBM 患者脑脊液标本中, 传统比例法检测出利福平耐药菌 9 株, 耐药率为 6.92%。传统比例法耐药的患者标本中, Xpert MTB/RIF 检出 8 株为耐药株, 灵敏度为 88.89%; 传统比例法敏感菌中, Xpert MTB/RIF 检出 2 株为耐药株, 特异度为 98.35%。Xpert MTB/RIF(7.69%, 10/130) 与传统比例法耐药率比较差异无统计学意义($\chi^2 =$

0.06, $P = 0.811$)。见表 3。

表 3 结核分枝杆菌对利福平耐药情况分析(n)

Xpert MTB/RIF	传统比例法		合计
	敏感	耐药	
敏感	119	1	120
耐药	2	8	10
合计	121	9	130

3 讨 论

TBM 是肺外结核中最为严重的类型, 患者常遗留有永久性的中枢神经系统后遗症, 严重者可能死亡^[9]。随着结核病发病率的逐渐升高, TBM 的发病率也明显升高, 严重影响人们的健康。目前, 诊断 TBM 依赖于临床表现、脑脊液常规检验和生化检测结果, 缺乏特异度, 敏感度也较低, 延误了治疗, 患者的预后不良。抗酸染色法具有操作简便、快速、特异度强、经济的优点, 在结核病控制工作中的应用最为广泛, 但是, 该方法的敏感度较低。固体培养法敏感度较抗酸染色法高, 价格低廉, 但是, 报告阳性结果需要较长时间, 一般需要 3~4 周, 报告阴性结果则需要的时间更长, 一般在 8 周左右, 阻碍了结核病的快速诊断^[10]。因此, 急需寻找一种快速、敏感度和特异度高的检测方法。

2010 年 12 月, 世界卫生组织批准了 Xpert MTB/RIF 在临床的推广使用。Xpert MTB/RIF 是一种以半巢式实时定量 PCR 为技术基础, 利用美国 Cepheid 公司生产的基因 Xpert MTB/RIF 平台系统, 可以同时检测 TBM 和利福平耐药。该检测方法不但结果准确可靠, 而且出具结果的时间非常快, 仅为 2 h^[11]。2010 年, 在南美洲、非洲和亚洲的多个国家级结核病实验室对 1 843 例患者采用 Xpert MTB/RIF 进行了验证评估, 研究结果表明, 该方法的检测灵敏度和特异度非常高, 分别为 96.0% 和 98.6%^[12]。这表明 Xpert MTB/RIF 对痰标本具有较高的灵敏度和特异度, 对肺结核的诊断具有较高的临床应用价值。目前, Xpert MTB/RIF 对肺外结核的诊断价值研究的较少。Nhu 等^[13]发现, 基因 Xpert MTB/RIF 检测脑脊液诊断 TBM 的灵敏度为 59.3%, 特异度为 99.5%。本研究结果显示, Xpert MTB/RIF 检测 TBM 的灵敏度为 43.08%, 特异度为 100.00%; 其灵敏度明显优于抗酸染色的 9.23% ($P < 0.05$), 略低于固体培养法的 58.46%, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 结核分枝杆菌抗酸染色、Xpert MTB/RIF 的特异度均为 100.00%, 而固体培养法有 1 例假阳性, 其特异度为 98.46%。虽然该检测技术的敏感度未能达到临床要求, 但是, 该方法所有较高的特异度, 是临床诊断所必需的, 且该检测技术操作较抗酸染色、固体培养简单, 出具结果的时间较短, 对于可以获得大量脑脊液, 但是抗酸染色阳性率比较低的实验室, 该检测技术仍可作为提高 TBM 诊断阳性率的检测方法^[14]。

Xpert MTB/RIF 最突出的优势在于: 它可以同时检测利福平的耐药情况。研究表明, 在结核高负荷国家, 绝大多数利福平耐药株也对异烟肼耐药, 因此, Xpert MTB/RIF 对利福平耐药的检测可以为耐多药结核的筛查提供一种快速、灵敏的方法^[15]。本研究中以传统比例法药敏试验为金标准, Xpert MTB/RIF 检测 MTB 对利福平耐药性检测的灵敏度和特异度分别为 88.89%、98.35%。说明 Xpert MTB/RIF 对利福平耐药具有较高的灵敏度和特异度, 与传统比例法药敏试验金标准具有较高的一致性, 进一步显示出 Xpert MTB/RIF 在我国具有较强的实用性和应用价值。但是, Xpert MTB/RIF 也存在

价格比较昂贵的缺点,临幊上应根据患者的实际情況应用。本次研究结果还显示,Xpert MTB/RIF 与传统比例法药敏试验对利福平耐药性的检出率分别为 6.92% 和 7.69%,但两者之间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。分析认为一是因为 Xpert MTB/RIF 系统的灵敏度低,导致个别不耐药的 TBM 未检出;二是与样本量较少有关,应进一步扩大样本量来研究利福平的耐药率。

综上所述,Xpert MTB/RIF 是一种检测 TBM 及患者是否对利福平耐药的诊断新技术,具有快速、直接、可靠、特异度高的优点。

参考文献

- [1] 马江涛,吴文苑,张立军,等. ESAT-6,IL-8 和 INF- γ 在结核性脑膜炎早期诊断中的应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(14): 2027-2028.
- [2] 陈效友. 成人结核性脑膜炎诊疗进展[J]. 中国实用内科杂志, 2015, 35(8): 661-667.
- [3] 邹月丽,白鸽,卜晖,等. 改良抗酸染色法在结核性脑膜炎诊断中的应用[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2014, 40(3): 149-152.
- [4] 刘佳庆,张丽霞,孙海柏,等. Xpert MTB/RIF 在结核病诊断中的研究进展[J]. 广东医学, 2016, 37(12): 1894-1899.
- [5] Kim YW, Kwak N, Seong MW, et al. Accuracy of the Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of extra-pulmonary tuberculosis in South Korea[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2015, 19(1): 81-86.
- [6] Ahuja GK, Mohan KK, Prasad K, et al. Diagnostic criteria for tuberculous meningitis and their validation[J]. Tuber
- [7] 王维治. 神经病学[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 175-179.
- [8] 中国防痨协会基础专业委员会. 结核病诊断实验室检验规程[M]. 北京: 中国教育文化出版, 2006: 17-18.
- [9] 柴璐璐,田宋新,袁俐,等. miR-125b、miR-29a 和 miR-155-5p 作为诊断结核性脑膜炎生物标志的研究[J]. 天津医药, 2015, 43(6): 674-677.
- [10] 梅孜,罗雁,刘会领. Xpert MTB/RIF 检测在肠结核快速诊断中的应用观察[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(18): 3073-3075.
- [11] 贾文韫,李元. Xpert MTB/RIF 在骨关节结核患者快速诊断中的应用[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2015, 25(3): 208-212.
- [12] 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.
- [13] Nhu NT, Heemskerk D, Thudo DA, et al. Evaluation of GeneXpert MTB/RIF for diagnosis of tuberculous meningitis[J]. J Clin Microbiol, 2014, 52(1): 226-233.
- [14] 郭明日,张丽霞,周洪经,等. Xpert MTB/RIF、T-SPOT·TB 及 BACTEC MGIT960 在结核病诊断中的应用[J]. 山东医药, 2016, 56(37): 93-95.
- [15] 伊惠霞,侯新月,王泉,等. Xpert MTB/RIF 系统快速检测结核分枝杆菌及利福平耐药性研究[J]. 新疆医科大学学报, 2014, 37(12): 1643-1646.

(收稿日期:2017-03-14 修回日期:2017-05-03)

(上接第 2659 页)

参考文献

- [1] Martineau AR, Jolliffe DA, Hooper RL, et al. Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory tract infections: systematic review and meta-analysis of individual participant data[J]. BMJ, 2017, 356:i6583.
- [2] GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990–2013: a systematic analysis for the global burden of disease study 2013[J]. Lancet, 2015, 356: 117-171.
- [3] 胡英会,张景亮,杨继红. 呼吸道感染 IgM 联检试剂盒临床应用评价[J]. 公共卫生与预防医学, 2013, 24(2): 105.
- [4] 刘杨,王明贵. 非典型病原体的耐药性及其所致呼吸道感染的抗菌治疗[J]. 中国内科实用杂志, 2009, 29(8): 763-771.
- [5] 李润生,王媚. 成人呼吸道病原九项临床应用初探[J]. 中外医学研究, 2016, 14(30): 43-45.
- [6] Tsutomu Y, Mitsuo N, Nozomu S, et al. Comparison of PCR for sputum samples obtained by induced cough and serological tests for diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection in Children[J]. Clin Vaccine Immunol, 2006, 13(6), 708-710.
- [7] 李涛,徐恩君,陈秋莉,等. 呼吸道感染儿童九项呼吸道病原体 IgM 抗体结果分析[J]. 安徽医科大学学报, 2016, 51(7): 149-152.
- [8] 何秀娟,李全亭,王红,等. 2730 例呼吸道病原体 IgM 检测结果分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(15): 2246-2248.
- [9] 夏丽君,巫雯嘉,杨瑾. 9 种呼吸道病原体 IgM 抗体联合检测的临床意义[J]. 中国实验诊断学, 2016, 20(9): 1477-1479.
- [10] 廖冰洁,周迎春,李翠,等. 呼吸道病原体 IgM 抗体联合检测在呼吸道感染诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(10): 1339-1340.
- [11] 冉健,裴元元,汤菊妹,等. 深圳地区 9 种常见呼吸道病原体 IgM 抗体结果[J]. 热带医学杂志, 2016, 16(9): 1112-1114.
- [12] 卢永芳,林卿,谢丹萍,等. 9 项呼吸道病原体 IgM 抗体联合检测的临床意义[J]. 医学理论与实践, 2014, 27(18): 2383-2398.
- [13] 梁丽霞,蔡健梅,吴小文. 肇庆市 4958 例 9 种呼吸道病原体人群流行特征分析[J]. 中国热带医学, 2015, 15(6): 711-713.
- [14] 薛白,刘洁,胡志刚,等. 呼吸道感染患者病原学调查分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(2): 309-311.
- [15] 宋文仕,张海艳,马海生,等. 9 项呼吸道病原体检测在儿童呼吸道感染中应用[J]. 分析齐齐哈尔医学院学报, 2015, 36(26): 3988-3989.

(收稿日期:2017-02-12 修回日期:2017-05-01)