

论著·临床研究

GeneXpert MTB/RIF 快速检测在肺结核患者诊断中的应用价值

钟 莉, 许 锐

(云南省红河州第一人民医院检验科, 云南蒙自 661199)

摘 要:目的 探讨 Xpert MTB/RIF 快速检测在肺结核患者诊断中的应用价值。方法 应用 Xpert MTB/RIF 快速检测技术对 106 例住院的肺结核患者和疑似肺结核患者晨痰标本进行检测, 同时做抗酸染色、全血 γ -干扰素释放试验和血清结核杆菌 IgG 抗体检测。将 Xpert MTB/RIF 快速检测分别与抗酸染色、 γ -干扰素释放试验、结核杆菌 IgG 抗体检测的阳性率进行比较, 将 Xpert MTB/RIF 与抗酸染色的结果进行对比分析。结果 晨痰标本采用 Xpert MTB/RIF 快速检测技术, MTB 阳性率为 68.87% (73/106), 其中利福平耐药 14 例, 耐药率为 19.18% (14/73)。抗酸染色阳性率为、全血 γ -干扰素释放试验、结核杆菌 IgG 抗体阳性率分别为 24.53% (26/106)、62.26% (66/106)、28.30% (30/106)。Xpert MTB/RIF 的阳性率高于抗酸染色、结核杆菌 IgG 抗体检测, 差异均有统计学意义 ($\chi^2=41.86, 34.92, P<0.05$)。结论 Xpert MTB/RIF 检测速度快, 操作简单, 在肺结核患者快速诊断中优于其他三种方法。

关键词: Xpert MTB/RIF; 肺结核; 快速诊断; 利福平耐药

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.23.016

中图法分类号: R446.61

文章编号: 1673-4130(2019)23-2887-03

文献标识码: A

The value of GeneXpert MTB/RIF rapid detection in the diagnosis of pulmonary tuberculosis

ZHONG Li, XU Kai

(Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Honghe State, Mengzi, Yunnan 661199, China)

Abstract: **Objective** To investigate the application value of Xpert MTB/RIF rapid detection in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. **Methods** The rapid detection technique of Xpert MTB/RIF was used to detect the morning sputum samples of 106 hospitalized and suspected pulmonary tuberculosis patients. At the same time, acid-fast stain test, whole-blood interferon- γ release assay and serum Mycobacterium tuberculosis antibody test were performed. The positive rates of Xpert MTB/RIF were compared with those of other three tests, and the test result of Xpert MTB/RIF were compared with acid-fast stain test. **Results** The positive rate of MTB was 68.87% (73/106), 14 of which were rifampicin resistant accounting for 19.18% (14/73). The positive rates of acid-fast stain test, whole-blood interferon- γ release assay and Mycobacterium tuberculosis antibody test were 24.53% (26/106), 62.26% (66/106) and 28.30% (30/106). The positive rate of Xpert MTB/RIF was higher than acid-fast stain test and Mycobacterium tuberculosis antibody test ($\chi^2=41.86, 34.92, P<0.05$). **Conclusion** Xpert MTB/RIF detection is fast and easy to operate, which is superior to the other three methods in the rapid diagnosis of tuberculosis.

Key words: Xpert MTB/RIF; tuberculosis; rapid diagnosis; rifampin resistance

我国是全球范围内的 22 个肺结核高负担国家之一, 每年肺结核发病率居第 3 位^[1], 肺结核患者的早诊断对预防肺结核传播及提高治疗效果有积极意义, 传统的细菌学诊断方法包括痰涂片显微镜检查、结核分枝杆菌 (MTB) 固体培养。涂片抗酸染色显微镜检查至少需要每毫升含 10 000 个抗酸菌的标本才能检出, 灵敏度低, 并且不能区分 MTB 和非 MTB; MTB 固体培养方法耗时长, 不能有效满足早诊断、早治疗的要求。2010 年 WHO 推荐 Xpert MTB/RIF 系统

用于结核病的快速诊断和 MTB 对利福平的耐药性检测^[2], 这种检测方法灵敏度高, 可以准确、快速地检测出利福平耐药基因 (ropB 突变基因), 成为结核病检查的重要方法之一。本研究对肺结核患者和疑似肺结核患者的标本采用了 Xpert MTB/RIF 快速检测、抗酸染色、全血 γ -干扰素释放试验、血清结核杆菌 IgG 检测, 旨在评价 Xpert MTB/RIF 快速检测的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2016 年 9 月至 2018 年 12 月在本

作者简介: 钟莉, 女, 副主任技师, 主要从事临床细菌、真菌检验和细菌耐药机制的研究。

本文引用格式: 钟莉, 许锐. GeneXpert MTB/RIF 快速检测在肺结核患者诊断中的应用价值[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(23): 2887-2889.

院就诊并住院的肺结核和疑似肺结核患者共 106 例纳入研究,上述人群均送检了 Xpert MTB/RIF、抗酸染色、全血 γ -干扰素释放试验、血清结核杆菌 IgG 检测 4 个检测项目;男性 77 例,年龄 14~79 岁;女性 29 例,年龄 17~83 岁。106 例患者的出院诊断显示,31 例为肺结核复治患者,这些患者均有肺结核病史,曾进行抗肺结核治疗;7 例患者为 AIDS 合并肺结核,其中 2 例有肺结核既往史,3 例患者 Xpert MTB/RIF 检测为 MTB 阳性且 CT 影像提示肺结核,2 例患者 CT 提示为陈旧性肺结核经抗肺结核治疗好后好转;其余 68 例为肺结核及其他诊断的患者,CT 均有疑似肺结核的影像,患者均有肺结核的临床症状。

1.2 仪器与试剂 主要的仪器包括 GeneXpert 检测系统(美国赛沛公司)、酶标仪(安图公司)、二级生物安全柜;主要的试剂包括 MTB rpoB 基因和突变检测试剂盒采用赛沛公司配套试剂;结核感染 T 细胞检测试剂盒购自北京万泰生物药业股份有限公司;结核杆菌 IgG 抗体试剂购自英科新创(厦门)科技有限公司产品;抗酸染色液(冷染法)购自珠海贝索生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 晨痰标本 Xpert MTB/RIF 快速检测 把样品消化液(消化液和痰液按 2 : 1 的比例)加入盛有痰标本中痰杯内(要求患者晨痰标本合格,不少于 2 mL,理想的标本量应为 3~4 mL,用同一份标本做抗酸染色),视痰标本的黏稠度调整处理液的加入量,盖上痰杯盖子,在振荡器上振荡 15~30 s,室温静置 10 min,再次振荡 15~30 s,室温静置 5 min,样品在测试之前应完全液化,无肉眼可见的痰块。取 2 mL 处理好的样品至反应盒中,然后将反应盒置于检测模块,仪器开始自动检测,检测耗时 1 h 50 min,MTB 检测结果以高、中、低、极低和未检出 5 个量级来表示,利福平耐药基因结果以检出和未检出表示。

1.3.2 抗酸染色 按照《痰涂片镜检标准化操作及质量保证手册》^[3] 中的标准进行操作,结果以 1+、2+、3+、4+ 和阴性表示。

1.3.3 全血 γ -干扰素释放试验 采集患者的空腹静脉血,置于肝素钠抗凝管中,严格按照 MTB 特异性细胞免疫反应试剂盒的说明书进行检测,结果以阳性或阴性报告。

1.3.4 结核杆菌 IgG 抗体检测 采用结核杆菌 IgG 抗体检测试剂盒(胶体金法)进行检测,严格按照检测试剂盒的说明书进行操作,结果以阳性或阴性报告。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.5 进行统计分析,阳性检出率的比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 4 种方法检测患者痰标本 Xpert MTB/RIF 高于抗酸染色、结核杆菌 IgG 抗体检测的阳性率,差异

均有统计学意义($\chi^2=41.86,34.92,P<0.05$),与 γ -干扰素释放试验阳性率比较差异无统计学意义($\chi^2=1.024,P>0.05$),见表 1。4 种方法检测都为阳性的患者有 13 例。

表 1 4 种检测方法的阳性率($n=106$)			
检测方法	阳性(n)	阴性(n)	阳性率(%)
Xpert MTB/RIF	73	33	68.87
抗酸染色	26	80	24.53 [*]
γ -干扰素释放试验	66	40	62.26
结核杆菌 IgG 抗体检测	30	76	28.30 [*]

注:与 Xpert MTB/RIF 比较,^{*} $P<0.05$

2.2 Xpert MTB/RIF 检测基因突变 106 例患者晨痰标本检出 14 例 rpoB 基因突变,耐药率为 19.18% (14/106)。8 例探针位点为 ProbeD,6 例为 ProbeE。

2.3 Xpert MTB/RIF 与抗酸染色结果的分析 Xpert MTB/RIF 检测为 MTB 高量级的 8 例患者抗酸染色均为阳性;MTB 中量级的 37 例患者中,抗酸染色阳性 15 例;15 例 MTB 低量级的患者中,抗酸染色阳性 2 例;13 例 MTB 极低量级的患者中,抗酸染色阳性 1 例;33 例未检出 MTB 的患者抗酸染色均阴性。Xpert MTB/RIF 与抗酸染色的检测结果比较,差异有统计学意义($\chi^2=41.86,P<0.05$),见表 2。

表 2 Xpert MTB/RIF 与抗酸染色比较							
MTB 量级	n	抗酸染色阳性(n)					抗酸染色阴性(n)
		1+	2+	3+	4+	合计	
高	8	3	2	3	0	8	0
中	37	15	0	0	0	15	22
低	15	2	0	0	0	2	13
极低	13	1	0	0	0	1	12
未检出	33	0	0	0	0	33	33
合计	106	21	2	3	0	106	80

3 讨 论

Xpert MTB/RIF 是可同时进行 MTB 及利福平耐药性检测的自动化、全封闭检验平台。近年来,该技术被用于临床分离株、痰液标本及少数肺外结核标本 MTB 及利福平耐药性的检测,多项研究证实其具有灵敏度与特异度高,生物安全性好、耗时短等优点,成为 WHO 推荐的药敏感性分子检测技术^[4-6]。

Xpert MTB/RIF 快速检测 MTB 的半定量结果分为高、中、低、极低、未检出 5 个级别。本研究检出的 8 例 MTB 高量级标本抗酸染色均为阳性,抗酸染色结果为 2+~3+;检出的 37 例 MTB 中量级标本中,抗酸染色阳性 15 例(占 40.55%),抗酸染色结果均为 1+;低和极低量级标本,抗酸染色阳性检出率很低,分别是 2 例和 1 例,抗酸染色结果均为 1+,说明 Xpert MTB/RIF 检测的量级结果与标本中 MTB 数量呈正相关,抗酸染色方法结果也可能与标本中 MTB 数量呈正相关,这与文献报道一致^[18]。样本中

MTB 数量很低的时候抗酸染色(直接涂片法)很可能镜检找不到,MTB 中量级标本如果标本处理不当或标本质量欠佳时抗酸染色(直接涂片法)镜检就可能漏检。Xpert MTB/RIF 快速检测在这些患者的临床诊治中有较高的灵敏度和特异度,与国内外研究结果也基本一致^[7-9]。

中国是耐药结核病高负担国家之一,尤其是耐多药结核病,是目前临床工作中遇到的重大挑战和主要障碍^[10],根据 WHO 报道,80% 以上对利福平耐药的结核病患者同时对异烟肼耐药,即绝大多数对利福平耐药的结核病患者为耐多药结核病患者。Xpert MTB/RIF 可检测利福平耐药基因,尽早发现结核感染与耐药结核,可以为治疗与治愈结核创造机会。Xpert MTB/RIF 快速检测技术还可以用于脑脊液、关节液、胃液、组织等肺外标本的检测^[11-12]。

Xpert MTB/RIF 核酸检测方法采用 GeneXpert 检测系统,是一种半巢式实时荧光定量 PCR 体外诊断技术,以 *rpoB* 基因为靶基因,自动提取 DNA 后扩增 *rpoB* 基因的 192 bp 片段进行检测,采用 3 种特异的引物和 6 种分子信标,同时检测 6 种探针,其中 5 个相互重叠的分子探针(分别以探针 A~E 命名)选择性覆盖 *rpoB* 基因的 81 bp 核心区,用于检测利福平耐药。

Xpert MTB/RIF 技术由于检测费用高,推广普及有一定困难,不能够检测非 MTB,不能区分死菌和活菌^[13],另外 Xpert Mtb/RIF 只能检测一种药物耐药基因,检测结果受一些特殊的利福平耐药相关基因突变的影响,例如耐多药菌株由于含有 *rpoB*1491F 突变而不能被检测出^[14]。也有研究表明,*rpoB*533 区的亮氨酸变为脯氨酸可导致假阴性的出现^[15]。

γ -干扰素释放试验检测需耗时 20 多小时,在肺结核和肺外结核患者中的检出率较高,优于抗酸染色(直接涂片法)和结核杆菌 IgG 抗体检测^[16],但不能检测耐药基因,不能将既往感染和活动性肺结核进行区分。结核杆菌 IgG 抗体检测阳性,有可能是由注射过卡介苗的交叉反应导致。4 种方法比较,Xpert MTB/RIF 快速检测的检出率和指导治疗的价值均较高,与赵冰等的研究结果相似^[17-18]。

4 结 论

GeneXpert MTB/RIF 快速检测能提高菌含量少的痰液标本或肺结核患者抗酸染色(直接涂片法)阴性标本的 MTB 检出率,能尽早发现耐药结核菌,对肺结核的诊断和用药指导优于其他 3 种方法。

参考文献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2015[R]. Geneva:WHO,2015.
- [2] World Health Organization. Policy statement: automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid

and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance:Xpert MTB/RIF system[R]. Geneva:WHO,2011.

- [3] 赵雁林,姜广路.痰涂片镜检标准化操作及质量保证手册[M].北京:中国协和医科大学出版社,2009.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] VADWAI V, BOEHME C, NABETA P, et al. Xpert MTB/RIF: a new pillar in diagnosis of extrapulmonary tuberculosis[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49 (7): 2540-2545.
- [7] GURSOY N C, YAKUPOGULLARI Y, TEKEREKOGLU M S, et al. Evaluation of the diagnostic performance of Xpert MTB/RIF test for the detection of Mycobacterium tuberculosis and rifampin resistance in clinical samples[J]. Mikrobiyol Bul,2016,50(2):196-204.
- [8] 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.
- [9] 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,2016,31(1):52-55.
- [10] 中国防痨协会. 耐药结核病化学治疗指南(2015)[J]. 中国防痨杂志,2015,37(5):421-469.
- [11] 贾文韞,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] 李力韬,李洪敏,马远征,等. 应用 Xpert MTB/RIF 对脊柱结核临床标本行结核分枝杆菌与利福平耐药性检测的验证性研究[J]. 中华骨科杂志,2014,34(2):211-215.
- [13] 程燕芝,刘群群,苗艳芳. Xpert MTB/RIF 在检测利福平耐药性中的临床价值[J]. 中国药物与临床,2017,17(9):1389-1391.
- [14] 唐神结,李亮,高文,等. 中国结核病年签(2015)[M]. 北京:人民卫生出版社,2016:210.
- [15] SHINNICK T M, STARKS A M, ALEXANDER H L, et al. Evaluation of the Cepheid Xpert Mtb/RIF assay[J]. Expert Rev Mol Diagn,2015,15(1):9-22.
- [16] 王华,甄拴平,高涛. 结核感染 T 细胞 γ 干扰素释放试验(TB-IGRA)在结核病诊断中的应用[J]. 临床医学研究与实践,2018,3(25):97-98.
- [17] 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.
- [18] 徐东芳,王庆. Xpert MTB/RIF 系统在结核分枝杆菌和利福平耐药性快速检测中的应用[J]. 检验医学,2017,32(8):722-726.