

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2022.10.012

❖ 临床研究 ❖

不同类型标本中 Xpert Mtb/RIF 法检测结核分枝杆菌的效能比较

朱育连, 陈丹丹, 欧阳小娟, 王旭洲, 朱灵华

(中国人民解放军联勤保障部队第九〇〇医院病理科, 福建 福州 350000)

【摘要】目的: 对比不同类型标本中 Xpert Mtb/RIF 法检测结核分枝杆菌的效能。**方法:** 选取 497 例肺结核患者为研究对象, 收集痰标本 205 例, 肺泡灌洗液 221 例, 浆膜腔积液 202 例, 脓液 179 例, 其中有 135 例患者同时获得 4 种标本。**结果:** 807 例标本中 MTB 培养检测阳性 515 例, Xpert Mtb/RIF 检测阳性 584 例, 阳性率分别为 63.82%、72.37%。Xpert Mtb/RIF 多标本联合检测及各标本单独检测的阳性率均高于 MTB 培养 ($P < 0.05$)。MTB 培养和 Xpert Mtb/RIF 多标本联合检测的阳性率均高于单一标本检测; MTB 培养和 Xpert Mtb/RIF 在肺泡灌洗液中检测出 MTB 的阳性率最高, 其次是脓液, 第三是痰标本, 最后是浆膜腔积液, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。不同类型标本检测结核分枝杆菌利福平耐药性的灵敏度和特异度比较, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。**结论:** Xpert Mtb/RIF 检测 MTB 均有较高的灵敏度, 可作为检测结核分枝杆菌的有效方法。联合检测多种标本, 特别是肺泡灌洗液有助于提高 Xpert Mtb/RIF 诊断肺结核及利福平耐药性的准确性。

【关键词】 Xpert Mtb/RIF 法; 结核分枝杆菌; 肺结核; 肺泡灌洗液; 耐药

【中图分类号】 R521 **【文献标志码】** A

Efficacy comparison of Xpert Mtb/RIF assay for detection of mycobacterium tuberculosis in different types of specimens

ZHU Yu-lian, CHEN Dan-dan, OUYANG Xiao-juan, WANG Xu-zhou, ZHU Ling-hua

(Department of Pathology, the 900th Hospital of the Joint Logistics Support Force of Chinese People's Liberation Army, Fuzhou 350000, Fujian, China)

【Abstract】Objective: To compare the efficacy of Xpert Mtb/RIF assay for the detection of mycobacterium tuberculosis in different types of specimens. **Methods:** A total of 497 cases of pulmonary tuberculosis were collected, including 205 sputum samples, 221 bronchoalveolar lavage fluid (BALF), 202 serosal cavity volume and 179 pus samples. Four types of sputum samples were obtained from 135 cases. **Results:** Among 807 specimens, 515 were positive for MTB culture assay and 584 were positive for Xpert Mtb/RIF assay, with the positive rates of 63.82% and 72.37%, respectively. The positive rates of multi-sample combined assay of Xpert Mtb/RIF and individual assay of each sample were higher than those of MTB culture ($P < 0.05$). The positive rates of MTB culture and Xpert Mtb/RIF multi-sample combined detection were higher than that of single sample detection, the positive rates of MTB culture and Xpert Mtb/RIF in bronchoalveolar lavage fluid were higher than that in sputum sample, serosal effusion and pus, ($P < 0.05$). The sensitivity and specificity of detecting rifampin resistance in Mycobacterium tuberculosis from different types of specimens were statistically significant (all $P < 0.05$). **Conclusion:** Gene Xpert MTB/RIF has high sensitivity for the detection of MTB in tuberculosis and can be used as an effective method for the detection of Mycobacterium tuberculosis. The combined detection of multiple specimens, especially bronchoalveolar lavage fluid, can help improve the accuracy of Xpert Mtb/RIF in the diagnosis of tuberculosis and rifampin resistance.

【Key words】 Xpert Mtb/RIF method; Mycobacterium tuberculosis; Tuberculosis; Bronchoalveolar lavage fluid; Drug resistance

结核病是临床多发的慢性传染性疾病, 通常侵犯肺部, 结核分枝杆菌 (mycobacterium tuberculosis, MTB) 是引起结核病的病原菌^[1]。据世界卫生组织调查统计, 全球每年结核病病例达 800 ~ 1 000 万, 其作为造成死亡人数最多的单一传染病, 已成为威胁全球民众健康安全的公共卫生问题^[2]。MTB 可

经消化道、呼吸道及皮肤黏膜损伤侵入机体, 早期潜伏在人体内, 并在组织细胞内大量繁殖, 其菌体成分和代谢物质毒性可诱导机体发生免疫损伤, 故早期检测 MTB 至关重要。

实时荧光定量核酸扩增检测技术 (Xpert Mtb/RIF) 为一种以利福平耐药相关 rpoB 基因为靶基因

基金项目: 第九〇〇医院院立课题 (2019L03)

作者简介: 朱育连 (1979 -), 女, 主管技师。E-mail: 13053116053@163.com

的全自动半巢式实时 PCR 体外诊断技术,可在 2 h 内快速检测 MTB 和利福平耐药^[3]。经过对既往文献^[4]的总结,本研究发现该技术在结核病诊断及其利福平耐药中具有检测高效快速,短时间获取结果的优势,可为初诊患者争取最佳治疗时间。但国内外鲜有研究报道该技术在不同类型标本中的诊断效能。本研究对比 Xpert Mtb/RIF 检测痰标本、肺泡灌洗液、浆膜腔积液及脓液等不同类型的标本中 MTB 阳性率及利福平耐药性的灵敏度。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2016 年 2 月至 2019 年 2 月中国人民解放军联勤保障部队第九〇〇医院收治的 497 例肺结核患者,年龄(49.35 ± 8.71)岁,男性 257 例,女性 240 例。纳入标准:所有患者均符合肺结核诊断标准^[5];入组前未接受抗结核药物治疗。剔除临床资料不完整者。收集痰标本 205 例,肺泡灌洗液 221 例,浆膜腔积液 202 例,脓液 179 例,其中有 135 例患者同时获得 4 种标本。

1.2 方法

1.2.1 仪器与试剂 Xpert MTB/RIF GeneXpert 系统(美国 Cepheid 公司),BACTEC MGIT 960 系统及配套培养基(美国 BD 公司)、抗酸染色试剂、消化液(美国 BD 公司),抗酸染液(珠海 BASO 公司)等。

1.2.2 MTB 检测 取 2 mL 标本用 N-乙酰-L-半胱氨酸-氢氧化钠化处理,强力旋涡震荡后室温静置,加入磷酸盐缓冲液,离心 15 min 后弃去上清液,沉淀后制备成悬浊液,取 0.5 mL 接种于培养管,采用 BACTEC MGIT 960 系统进行培养,培养阳性的样本进一步以最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)法进行结核药敏试验。

1.2.3 Xpert Mtb/RIF 检测 取 1 mL 体液标本加入前处理管中,视样本性状加入两倍处理液,旋紧螺旋盖,灌洗液经离心后加入处理液,涡旋振荡 15~30 s,室温静置。充分液化后用专用无菌吸管吸取 2 mL 处理后样本缓慢加入 Cartridge 单独反应盒内,放入检测模块开始进行自动化检测,约 2 h 后加入盒子,在 Xpert MTB/RIF GeneXpert 系统中直接读取 MTB 和利福平耐药性结果。对 MTB 结果判读根据 DNA 拷贝的高低分为高、中、低、极低和未检出 5 个量级;RIF 药敏结果分为 RIF Resistance 检出,RIF 耐药和 RIF Resistance 未检出,RIF 敏感^[6]。

1.2.4 质量控制 本实验操作人员均参加并通过中国疾病预防控制中心组织的结核病实验室药敏测试及全国结核病分子诊断技术能力验证等培训及考试。

1.3 统计学分析

应用 SPSS 22.0 软件对数据进行处理与分析。分类变量资料以[n(%)]表示,组间采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同标本中 MTB 培养和 Xpert Mtb/RIF 检测 MTB 的阳性率对比

807 例标本中 MTB 培养检测阳性 515 例,Xpert Mtb/RIF 检测阳性 584 例,阳性率分别为 63.82%、72.37%。Xpert Mtb/RIF 多标本联合检测及各标本单独检测的阳性率均高于 MTB 培养($P < 0.05$)。

MTB 培养和 Xpert Mtb/RIF 多标本联合检测的阳性率均高于单一标本检测,MTB 培养和 Xpert Mtb/RIF 在肺泡灌洗液、痰标本、脓液和浆膜腔积液中检测出 MTB 的阳性率不同,其中在肺泡灌洗液中检测出 MTB 的阳性率最高,其次是脓液;第三是痰标本;最低的是浆膜腔积液,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同标本中 MTB 培养和 Xpert Mtb/RIF 检测 MTB 的阳性率对比[n(%)]

标本类型	MTB 培养	Xpert Mtb/RIF	χ^2 值	P 值
痰标本(n=205)	120(58.54)	144(70.24)	6.127	0.013
肺泡灌洗液(n=221)	159(71.95)	181(81.90)	6.169	0.013
浆膜腔积液(n=202)	106(52.48)	129(63.86)	5.381	0.020
脓液(n=179)	116(64.80)	140(78.21)	7.897	0.005
多标本(n=135)	108(80.00)	120(88.89)	4.060	0.044
χ^2 值	35.521	36.801		
P 值	<0.001	<0.001		

2.2 Xpert Mtb/RIF 在不同标本中检测结核分枝杆菌利福平耐药性的灵敏度和特异度对比

497 例患者在痰标本、肺泡灌洗液、浆膜腔积液、脓液标本及多标本联合中 Xpert Mtb/RIF 检测利福平耐药性的灵敏度、特异度分别为 79.27%、72.11%;84.15%、80.08%;86.59%、86.06%;93.09%、83.27%;97.15%、85.26%,不同类型标本检测结核分枝杆菌利福平耐药性的灵敏度和特异度比较,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 2。

表 2 Xpert Mtb/RIF 在不同标本中检测结核分枝杆菌利福平耐药性的灵敏度和特异度对比[n(%)]

标本	Xpert Mtb/RIF 检测	药物敏感试验利福平耐药	
		阳性	阴性
痰标本	阳性	195(39.24)	51(10.26)
	阴性	70(14.08)	181(36.42)
肺泡灌洗液	阳性	207(41.65)	39(7.85)
	阴性	50(10.06)	201(40.44)
浆膜腔积液	阳性	213(42.86)	33(6.64)
	阴性	35(7.04)	216(43.46)
脓液	阳性	229(46.08)	17(3.42)
	阴性	42(8.45)	209(42.05)
多标本	阳性	239(48.09)	7(1.41)
	阴性	37(7.44)	214(43.06)

3 讨论

抗结核治疗的原则是尽早治疗,制定合理的联合用药方案,并按制定的方案完成全部疗程。临床上,结核的治疗主要以口服抗结核药物为主,并辅助对症治疗及手术治疗^[7-8]。一般情况下,耐药性肺结核患者由于体内的结核分枝杆菌对一种或多种抗结核药产生耐药性,多为获得性耐药,此类患者的治疗周期需更长时间,给家庭和社会带来沉重负担^[9-10]。由于耐多药结核病的筛查率低、发现率低、耐药率高,而传统的涂片抗酸染色法的检测灵敏度较低,MTB 培养法需获取活菌培养 2~6 周,耗时较长。因此耐药结核的规范治疗关键是尽早诊断及进行药敏试验指导的个体化治疗。

长期以来,肺结核的诊断以实验室、影像学 and 病理学检查为主,MTB 培养阳性率亦相对较低^[11-12]。本研究结果显示,Xpert Mtb/RIF 多标本联合检测及各标本单独检测的阳性率均高于 MTB 培养 ($P < 0.05$),与既往研究^[13]基本一致,证实 Xpert Mtb/RIF 检测在早期诊断肺结核中的优势。Xpert Mtb/RIF 检测是近年来研发的一种分子生物学诊断技术,其可不受 MTB 影响,因此可将 MTB 及利福平耐药检测缩短至 2 h,进而最大程度简化 MTB 检测^[14]。已有大量研究就 Xpert Mtb/RIF 检测在结核病诊断应用中的价值进行过评估,如熊梦园等^[15]在 2020 年的一项研究中就指出,与涂片抗酸染色镜检等传统方法相比,Xpert Mtb/RIF 检测技术的灵敏度、特异度更高,并且对结核杆菌利福平耐药性的鉴定准确性高。尽管如此,Xpert Mtb/RIF 检测在利福平耐药和结核分枝杆菌培养检测中只有平均敏感度,标本类型对该技术的检测效能的影响尚无定论^[16]。

本研究结果显示,Xpert Mtb/RIF 在肺泡灌洗液、浆膜腔积液、脓液和痰标本这四种不同类型标本中的阳性率以肺泡灌洗液最高,其次为脓液;且以药物敏感试验为金标准,不同类型标本检测结核分枝杆菌利福平耐药性的灵敏度和特异度比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。这提示临床采用 Xpert Mtb/RIF 测定 MTB 阳性情况时收集不同类型的结核标本,将对肺结核的诊断大有裨益,对加快诊断速度亦有积极意义,其中以肺泡灌洗液的诊断价值最高。进一步分析其中的原因,肺泡灌洗液是利用纤维支气管镜对肺段和肺亚段灌洗后所采集的肺泡表面衬液^[17-18]。肺泡灌洗液是距离肺结核患者发生炎症或病变部位最近的标本,因此该标本获得的阳性率远高于痰标本和浆膜腔积液^[19]。另外,在肺结核发

病早期,由于 MTB 数量多,变态反应性较强,此时组织器官中的炎性介质及蛋白质因血管渗透性较高而渗出到血管外,故此时病变以渗出的脓液为主,收集患者脓液也有助于检测 MTB 阳性情况^[20-21]。同时,本研究结果显示多标本联合检测的阳性率均高于单一标本检测 ($P < 0.05$),表明多标本联合检测可进一步提高患者早期诊断的阳性率。

综上,GeneXpert Mtb/RIF 检测结核 MTB 均有较高的灵敏度,可作为检测结核分枝杆菌的有效方法。联合检测多种标本,特别是肺泡灌洗液有助于提高 Xpert Mtb/RIF 诊断肺结核及利福平耐药性的准确性。

参考文献

- [1] Park M, Kon OM. Use of Xpert MTB/RIF and Xpert Ultra in extrapulmonary tuberculosis [J]. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 2021, 19(1): 65-77.
- [2] 苟海梅, 薛曼玲, 钟晓武, 等. 支气管肺泡灌洗液和痰液 Xpert MTB/RIF 检测对肺结核临床诊断的价值分析 [J]. *检验医学与临床*, 2022, 19(6): 745-748.
- [3] Kay AW, Fernández LG, Takwoingi Y, et al. Xpert MTB/RIF and Xpert MTB/RIF Ultra assays for active tuberculosis and rifampicin resistance in children [J]. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2020, 8(8): 13359.
- [4] 张学文, 李国栋, 陈晨楠, 等. 三种检测技术在涂阴肺结核快速诊断中的应用 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2022, 32(5): 650-653.
- [5] 陈蕊, 朱建波, 马南. Xpert MTB/RIF 及 Xpert MTB/RIF Ultra 在涂阴肺结核中的诊断价值 [J]. *医学理论与实践*, 2022, 35(2): 211-212.
- [6] Kohli M, Schiller I, Dendukuri N, et al. Xpert MTB/RIF Ultra and Xpert MTB/RIF assays for extrapulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults [J]. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2021, 1(1): 12768.
- [7] 刘静, 王晓林, 田旭升, 等. Xpert MTB/RIF 在结核分枝杆菌及利福平耐药性检测中的应用分析 [J]. *实验与检验医学*, 2021, 39(6): 1424-1427.
- [8] Kim SK, Chang J, Choi SH, et al. Performance of Xpert MTB/RIF for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis [J]. *Clinical Laboratory*, 2021, 67(2): 229-234.
- [9] 马明, 何小成, 刘伟. 支气管镜肺泡灌洗液 Xpert MTB/RIF 技术诊断早期耐药肺结核的临床意义 [J]. *中华肺部疾病杂志 (电子版)*, 2021, 14(5): 626-629.
- [10] 王欣. 利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测技术诊断涂阴肺结核的临床意义 [J]. *当代医学*, 2021, 27(29): 125-126.
- [11] 张锡林, 王伟亮, 钟永辉, 等. Xpert MTB/RIF 检测内科胸腔镜活检胸膜组织诊断结核性胸膜炎的效能 [J]. *临床肺科杂志*, 2021, 26(10): 1459-1462.
- [12] Tan HK, Fan SJ, Xu YC, et al. The clinical diagnostic value of Xpert MTB/RIF for the detection of mycobacterium tuberculosis in gastric aspirates [J]. *Bioscience Reports*, 2020, 40(6): 652-655.
- [13] 王亚翠, 孙琳, 申阿东. Xpert MTB/RIF Ultra 在儿童结核病诊断中的应用进展 [J]. *中国防痨杂志*, 2021, 43(8): 843-846.

- [14] Li HH, He ZJ, Liang JQ, *et al.* Evaluation of Xpert MTB/RIF for the diagnosis of lymphatic tuberculosis[J]. *Biomed Research International*, 2020, 22(35):1968487.
- [15] 熊梦园, 方芳, 李一荣. Xpert MTB/RIF 检测技术对肺结核的诊断价值[J]. *海南医学*, 2020, 31(5):554-558.
- [16] Liu HC, Gao YL, Li DF, *et al.* Value of Xpert MTB/RIF using bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of pulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2021, 59(4):466-469.
- [17] 黄大业, 张毅, 张建华, 等. Gene Xpert MTB/RIF 检测在结核性胸膜炎诊断及利福平耐药检测中的应用价值[J]. *海南医学*, 2020, 31(4):438-441.
- [18] Koegelenberg C, Shaw JA. Xpert MTB/RIF on pleural biopsy in suspected pleural TB: does it add anything other than cost? [J]. *African Journal of Thoracic and Critical Care Medicine*, 2021, 27(1):4994-4998.
- [19] Lee HN, Kim JI, Kim YH. Clinical and CT characteristics of Xpert MTB/RIF-negative pulmonary tuberculosis[J]. *PLoS One*, 2021, 16(5):e250616.
- [20] 周艳艳. 利福平耐药实时荧光定量核酸扩增技术法、液体培养法和涂片抗酸染色法在结核分枝杆菌检测中的应用[J]. *实用医技杂志*, 2021, 28(7):903-905.
- [21] Karthek V, Bhilare P, Hadgaonkar S, *et al.* Gene Xpert/MTB RIF assay for spinal tuberculosis-sensitivity, specificity and clinical utility[J]. *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma*, 2021, 16(6):233-238.

(收稿日期:2022-04-18)

修回日期:2022-06-24

(上接第 1260 页)

- [7] Tsaousi G, Tramontana A, Yamani F, *et al.* Cerebral perfusion and brain oxygen saturation monitoring with Jugular venous oxygen saturation, cerebral oximetry, and transcranial Doppler ultrasonography [J]. *Anesthesiology Clinics*, 2021, 39(3):507-523.
- [8] 万丽. 颅脑超声在新生儿缺氧缺血性脑病诊疗中的临床应用价值[J]. *系统医学*, 2019, 4(19):89-91.
- [9] Rodriguez MJ, Corredera A, Martinez-Orgado J, *et al.* Cerebral blood flow velocity and oxygenation correlate predominantly with right ventricular function in cooled neonates with moderate-severe hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *European Journal of Pediatrics*, 2020, 179(10):1609-1618.
- [10] Natiq KR, Das Y, Maxey MN, *et al.* Early use of transcranial doppler ultrasonography to stratify neonatal encephalopathy[J]. *Pediatric Neurology*, 2021, 124:33-39.
- [11] 盛蕾. 新生儿缺氧缺血性脑病的超声诊断价值研究[J]. *现代实用医学*, 2020, 32(11):1308-1310.
- [12] 吴晶, 刘丽, 郑军. 多普勒超声评估亚低温疗法治疗新生儿缺氧缺血性脑病效果的临床价值[J]. *中国妇幼保健*, 2021, 36(4):813-816.
- [13] 李晨晨. 缺氧缺血性脑病新生儿脑超声血流动力学变化及与预后的相关性分析[J]. *现代医学与健康研究电子杂志*, 2021, 5(14):119-121.
- [14] 容蓉, 班奕, 周肖滢, 等. 经颅多普勒超声与 CT 平扫对新生儿缺氧缺血性脑病的诊断及临床分级研究[J]. *中国 CT 和 MRI 杂志*, 2019, 17(8):18-20, 24.
- [15] 陈文显, 韩运生, 刘道. 新生儿缺氧缺血性脑病的脑超声血流动力学特征及与临床预后的关系[J]. *中国超声医学杂志*, 2020, 36(9):769-773.
- [16] Habib S, Saini J, Amendoeira S, *et al.* Hemodynamic instability in hypoxic ischemic encephalopathy: More than just brain injury-understanding physiology, assessment, and management[J]. *Neonatal Network*, 2020, 39(3):129-136.
- [17] Sheppard SR, Desale S, Abubakar K. Respiratory and hemodynamic changes in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy during and after whole-body hypothermia[J]. *American Journal of Perinatology*, 2021, 38(1):37-43.
- [18] 黄月爱, 梁翔空, 曾玲. HIE 新生儿大脑中动脉血流动力学、脑白质密度及相关炎症因子表达水平的变化[J]. *广东医科大学学报*, 2020, 37(4):492-494.
- [19] Altit G, Levy PT. Cardiopulmonary impact of hypoxic ischemic encephalopathy in newborn infants. The emerging role of early hemodynamic assessment in determining adverse neurological outcomes [J]. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2019, 200(10):1206-1207.
- [20] Mohammad K, Hicks M, Buchhalter J, *et al.* Hemodynamic instability associated with increased risk of death or brain injury in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy[J]. *Journal of Neonatal-Perinatal Medicine*, 2017, 10(4):363-370.
- [21] 马乾凤, 马丽园, 王福霞. 头颅 B 超在新生儿缺血缺氧性脑病中的应用价值[J]. *宁夏医学杂志*, 2019, 41(12):1145-1146.
- [22] 李建波, 吴文燊, 杜邦, 等. 中重度缺氧缺血性脑病新生儿亚低温治疗诱导期血流动力学的变化探讨[J]. *中国当代儿科杂志*, 2021, 23(2):133-137.

(收稿日期:2022-01-03)

修回日期:2022-02-24