

Xpert MTB/RIF 在肺结核病及耐药结核菌检测中的应用价值

李慧¹, 闫彩霞², 陈宝颖³

(1. 天津市西青医院检验科, 天津 300380;

2. 联勤保障部队第九八三医院检验科, 天津 300100;

3. 天津市宝坻区人民医院检验科, 天津 301800)

摘要:目的 研究 Xpert MTB/RIF 在肺结核病及耐药结核菌检测中的应用价值。方法 选取 2018 年 1 月-2020 年 12 月在我院诊治的 100 例肺结核病患者临床资料, 均采用固体培养、抗酸染色法、Xpert MTB/RIF 检测方法检测患者痰液标本, 比较不同检测方法检测痰液标本中结核杆菌及耐药菌阳性率以及抗酸染色法和 Xpert MTB/RIF 检测方法敏感度、特异度。结果 Xpert MTB/RIF 阳性率(72.00%)高于固体培养法(56.00%)、抗酸染色法(34.00%), 且固体培养法的阳性率高于抗酸染色法, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); Xpert MTB/RIF 检测结核杆菌敏感度为 82.50%、特异度为 88.34%, 分别高于抗酸染色法的 68.50%、53.02%, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。结论 肺结核病及耐药结核菌检测采用 Xpert MTB/RIF 检测方法, 不仅操作简单, 而且敏感度、特异度均较高, 值得临床应用。

关键词: Xpert MTB/RIF; 肺结核; 耐药结核菌; 抗酸染色法; 固体培养法

中图分类号: R521

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2022.02.047

文章编号: 1006-1959(2022)02-0178-03

Application Value of Xpert MTB RIF in the Detection of Pulmonary Tuberculosis and Drug-resistant Tuberculosis

LI Hui¹, YAN Cai-xia², CHEN Bao-ying³

(1. Laboratory of Tianjin Xiqing Hospital, Tianjin 300380, China;

2. Laboratory of the 983th Hospital of Joint Service Support Force, Tianjin 300100, China;

3. Laboratory of Tianjin Baodi District People's Hospital, Tianjin 301800, China)

Abstract: Objective To study the value of XPERT MTB/RIF in the detection of tuberculosis and drug-resistant tuberculosis. **Methods** The clinical data of 100 patients with pulmonary tuberculosis diagnosed and treated in our hospital from January 2018 to December 2020 were selected. The sputum samples of patients were detected by solid culture, acid-fast staining and Xpert MTB/RIF detection methods. The positive rates of tuberculosis and drug-resistant bacteria in sputum samples detected by different detection methods were compared, and the sensitivity and specificity of acid-fast staining and Xpert MTB/RIF detection methods were compared. **Results** The positive rate of Xpert MTB/RIF (72.00%) was higher than that of solid culture method (56.00%) and acid-fast staining method (34.00%), and the positive rate of solid culture method was higher than that of acid-fast staining method, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The sensitivity and specificity of Xpert MTB/RIF for detection of Mycobacterium tuberculosis were 82.50% and 88.34%, respectively, which were higher than 68.50% and 53.02% of acid-fast staining, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** The XPERT MTB/RIF method for detection of clinical tuberculosis and drug-resistant tuberculosis is not only simple in operation, but also highly sensitive and specific, which has significant clinical value and is worthy of clinical application.

Key words: XPERT MTB/RIF; Tuberculosis; Drug resistant tuberculosis; Acid-resistant staining; Solid culture method

结核病(tuberculosis)是临床常见的传染性疾病, 并且已经发展成为公共卫生问题, 严重威胁人类健康安全^[1]。结核菌的抵抗力非常强, 可侵入人体各个器官, 主要入侵肺脏, 称为肺结核病^[2]。积极预防和治疗肺结核仍然是我国目前肺结核防治工作的核心。目前, 肺结核病的实验室检测方法较多, 常见的方法包括痰液培养、药敏试验^[3], 其中痰涂片阳性率相对较低, 且结核杆菌培养条件要求较高。而药敏试验周期较长, 容易造成漏诊、误诊, 会延误患者的最佳治疗^[4]。随着近年来分子生物学的发展, 近年研究对结核杆菌基因组有了更深层次的认识, 出现了如 Xpert MTB/RIF、基因芯片、分子线性探针技术等多种新型检测方法^[5]; 其中 Xpert MTB/RIF 是一种全自动分子

检测技术, 可用于结核菌和其耐药性检测^[6], 但目前对结核菌和其耐药性检测的价值尚存在争议, 尤其是敏感度特异度等方面^[7]。本研究结合 2018 年 1 月-2020 年 12 月我院诊治的 100 例疑似肺结核病患者临床资料, 比较与常规检测方法对肺结核病及耐药结核菌检测的情况, 以为肺结核病及耐药结核菌检测提供一定的参考依据, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 1 月-2020 年 12 月在天津市西青医院诊治的 100 例肺结核病患者临床资料, 其中男 47 例, 女 53 例; 年龄 23~79 岁, 平均年龄 (54.20 ± 3.56) 岁; 痰液症状: 干酪痰样 34 例, 黏液痰样 50 例, 血痰 16 例。本研究经过医院伦理委员会批准, 患者自愿参加本研究, 并签署知情同意书。

1.2 纳入和排除标准 纳入标准: ①符合肺结核临床诊断标准^[8]; ②依从性良好, 能配合者; ③随访资料

作者简介: 李慧(1990.6-), 女, 天津人, 本科, 检验技师, 主要从事微生物检验工作

完善。排除标准:①合并肝、肾、心、脑血管系统等严重疾病者;②合并恶性肿瘤晚期、急性冠脉综合征、自身免疫性疾病导致的肺部病;③合并急性脑血管疾病。

1.3 方法 分别采用固体培养、抗酸染色法、Xpert MTB/RIF 检测方法检测患者痰液标本,严格按照《结核病诊断细菌学检验规程》^[9]相关要求操作。

1.3.1 仪器和试剂 恒温培养箱(SERIES 8000DH,美国 Thermo Scientific 公司)、实时荧光检测仪(Gene Xpert, 美国赛飞公司)、高速离心机(Z216MK, HERMLE 公司)、微量移液器(ACURA, SOCOREX 公司)、电加热箱(DHG-III, 上海圣试电子公司)、Xpert MTB/RIF 检测系统(美国赛飞)、加热凝固器(北京博奥公司)、冷藏箱(北京博奥公司)、反应盒(北京博奥公司)、吸管(北京博奥公司)等。Xpert MTB/RIF 试剂盒、酸性培养基、药敏培养基、肺结核分枝杆菌菌种鉴定试剂盒、菌耐药结核菌试剂盒等,试剂盒均由广州化学试剂公司提供。

1.3.2 具体方法 ①固体培养法:采用分枝杆菌菌种鉴定试剂盒、结核分枝杆菌耐药检测试剂盒检测临床常见的结核分枝杆菌复合群、胞内分枝杆菌、鸟分枝杆菌、堪萨斯分枝杆菌、耻垢分枝杆菌等 17 个种或群分枝杆菌;然后采用碱处理固体培养法进行分离培养药敏试验,无菌吸管分别吸取已准备好的实验标本(不同菌株的不同浓度菌悬液),保持固体培养基斜面水平,均匀接种至培养基斜面上,接种量为 0.10~0.15 ml(约 2~3 滴),接种时第 1 滴菌液接种至培养基斜面中部,第 2 滴接种至培养基斜面上部;于 37 °C 恒温培养箱内培养,每周观察 2 次并记录试验结果,若结果为阳性,则进行比例法药敏试验^[10];②抗酸染色:获取痰液标本,在痰膜上盖满石炭酸复红染液,火焰加热至出现蒸汽后,脱离火焰,染色 5 min 后洗去染色液,沥干剩余的水加 5%的盐酸酒精脱色至无色,沥干后加亚甲蓝复染 30 s,冲去复染液,自然干燥后镜检。参照《中国结核病防治规划-痰涂片镜检标准化操作质量保证手册》给出光学显微镜检查报告;③Xpert MTB/RIF 检测:根据 1:2 的比例原则,将 1 ml 的标本溶于处理液中,在涡旋混合器上振荡 5 s,室温放置 15 min 后,吸取 2 ml 裂解的样品到试剂盒中即可开始测试;利用菌吸管吸取混合液,吸取量为 2 ml,缓慢转移至一次性反应盒中,然后立即放入 Xpert MTB/RIF 检测系统中进行自动检测,并于 2 h 后利用检测软件读取数据。

1.4 观察指标 比较不同检测方法检测痰液标本中结核杆菌及耐药菌阳性率以及抗酸染色法和 Xpert MTB/RIF 检测方法敏感度、特异度。敏感度^[11]=真阳性/(真阳性+假阴性)×100%、特异度=真阴性/(真阴性+假阳性)×100%。以传统比例法药敏试验为金标准。

1.5 统计学方法 采用统计软件包 SPSS 21.0 对本研究的数据进行处理,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料采用[n(%)]表示,组间比较采用 χ^2 检验;*P*<0.05 表示差异有统计学意义。采用受试者工作特征曲线(ROC)评价 Xpert MTB/RIF 检测、抗酸染色法检测法检测肺结核病及耐药结核菌的价值。

2 结果

2.1 不同检测方法阳性率比较 Xpert MTB/RIF 阳性率高于固体培养法、抗酸染色法,且抗酸染色法的阳性率低于固体培养法(*P*<0.05),见表 1。

表 1 不同检测方法阳性率比较[n(%)]

样本	<i>n</i>	固体培养	抗酸染色法	Xpert MTB/RIF
干酪样痰	34	20(58.82)	18(52.94) [△]	26(76.47) [*]
黏液痰	50	32(64.00)	23(46.00) [△]	42(84.00) [*]
血痰	16	4(25.00)	2(12.50) [△]	4(25.00) [*]
合计	100	56(56.00)	43(43.00) [△]	72(72.00) [*]

注:与固体培养法、抗酸染色法阳性率比较,^{*}*P*<0.05;与固体培养阳性率比较,[△]*P*<0.05

2.2 Xpert MTB/RIF 检测和抗酸染色法敏感度、特异度比较 Xpert MTB/RIF 检测结核杆菌敏感度、特异度均高于抗酸染色法(*P*<0.05),见图 1、表 2。

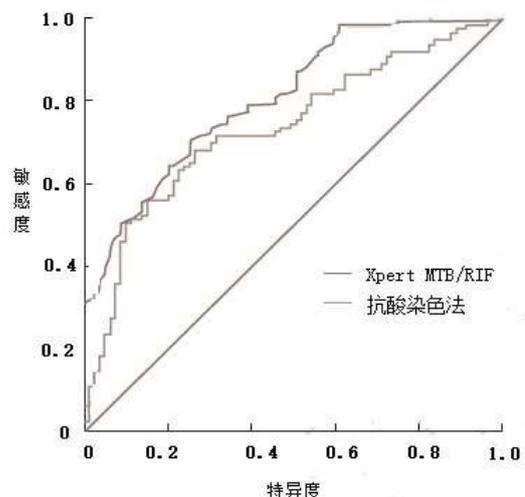


图 1 Xpert MTB/RIF 检测和抗酸染色法敏感度、特异度 ROC 曲线

表 2 Xpert MTB/RIF 检测和抗酸染色法敏感度、特异度比较

检测方法	<i>n</i>	AUC	YI	敏感度(%)	特异度(%)	95% CI
Xpert MTB/RIF	100	0.856	0.809	82.50	88.34	0.982~0.997
抗酸染色法	100	0.634	0.743	68.50	53.02	0.834~0.988

3 讨论

肺结核病是一种传染性疾病,且耐药情况较为严重。传统的结核菌检测方式不仅操作复杂、周期长,且特异度较低,严重影响药敏结果的时效性^[12]。因此,寻找诊断准确性高,具有良好时效性的检测方法对肺结核的诊治至关重要。Xpert MTB/RIF 采用半巢式实时荧光 PCR 法技术,对 *rpoB* 基因 81bp 利福平耐药核心区间设计引物、探针,对其是否发生突变进行检测,同时对是否为肺结核病,或者是否对利福平耐药进行检测^[13]。研究显示^[14],Xpert MTB/RIF 检测方法操作简单、检测快速,但其检测肺结核杆菌的敏感度、特异度上存在争议,需要临床进一步进行研究。

本研究结果显示,Xpert MTB/RIF 阳性率高于固体培养法、抗酸染色法,且抗酸染色法的阳性率低于固体培养法 ($P<0.05$),提示在 3 种检测方法中 Xpert MTB/RIF 检测肺结核病及耐药结核菌阳性率最高,进一步提示对临床肺结核病中诊出率较高,该结论与刘亚芹等^[15]的研究结果基本一致。分析认为,固体培养法在酸碱处理样本时,可能对痰样本造成一定程度损伤,从而影响结果的准确性。同时固体培养法手操作手法、环境因素影响较大,并且在染色过程中会造成样本部分成分丢失,可能会造成阳性检出率减小。Xpert MTB/RIF 检测系统属于全自动运行,可降低或避免污染和人为因素影响,最大化提高临床检出率,从而提高检测结果准确性。同时本研究结果显示,Xpert MTB/RIF 检测结核杆菌敏感度、特异度均高于抗酸染色法 ($P<0.05$),提示肺结核杆菌采用 Xpert MTB/RIF 检测敏感度、特异度最高,可准确判断出患者是否有结核杆菌耐药菌的感染,该结论与伊惠霞等^[16]的报道相似。分析认为,固体培养法检测时间较长,不能满足临床需求,其敏感度、特异度缺少临床意义。而 Xpert MTB/RIF 检测方法和抗酸染色方法比较,抗酸染色方法虽然具有操作简单的优势,但是敏感度和特异度较低,容易造成漏诊和误诊。相比 Xpert MTB/RIF 检测技术更具有优势,所有检测均是全自动进行,不仅操作简单、快速,且敏感度和特异度较高,可提高整体诊断准确率。由于 Xpert MTB/RIF 将常规核酸扩增步骤整合,以少量 MTB 病原菌 DNA 为模板,扩增、检测,故检出率较涂片镜检更高。因此,该检测方法可作为临床诊断肺结核的首选检测方法进行推荐,以满足临床早期诊断、发现和治疗需求。

综上所述,Xpert MTB/RIF 检测肺结核病及耐药结核菌敏感度、特异度均较高,具有重要的临床应用价值。

参考文献:

- [1]中华医学会结核病学分会,结核病病理学诊断专家共识编写组.中国结核病病理学诊断专家共识[J].中华结核和呼吸杂志,2017,40(6):419-425.
- [2]金阳辉,石仕元,郑琦,等.XpertMTB/RIF 在脊柱结核诊断及利福平耐药检测中的应用价值[J].中国骨伤,2017,30(9):787-791.
- [3]Zhang Y,Yew WW.Mechanisms of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis:update 2015[J].Int J Tuberc Lung Dis,2015,19(11):1276-1289.
- [4]赵冰,欧喜超,夏辉,等.XpertMTB/RIF 检测技术在结核病诊断中的应用评价[J].中国防痨杂志,2015,36(6):462-466.
- [5]徐礼锋,余旭良,张峰,等.液体 MGIT 培养联合 XpertMTB/RIF 快速检测结核分枝杆菌及其耐药性的研究[J].中华检验医学杂志,2016,39(4):272-276.
- [6]王蔚,吕青山,郝勤龙,等.GeneXpertMTB/RIF 在疑似肺结核患者诊断中的应用价值[J].中国防痨杂志,2018,40(5):543-547.
- [7]邹远妮,刘尚武,朱蕾,等.XpertMTB/RIF 检测结核分枝杆菌及其耐药性在结核病辅助诊断中的临床价值[J].临床肺科杂志,2015,20(3):568-570.
- [8]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.
- [9]黄建斌,杨玲,梁晓莉.GeneXpertMtb/RIF 检测技术在结核病诊断中的应用探讨[J].医学动物防制,2017,33(4):465-467.
- [10]赖聪娟,雷永良,季柏林,等.XpertMTB/RIF 技术辅助诊断耐药肺结核的价值分析[J].中国卫生检验杂志,2016,20(18):2628-2630.
- [11]陈金兰,全毅,赵艳兰,等. γ -干扰素释放试验对肺结核与肺外结核诊断的敏感性和特异性观察 [J]. 检验医学与临床,2016,13(21):3021-3022,3025.
- [12]Jagielski T,Bakua Z,Roeske K,et al.Detection of mutations associated with isoniazid resistance in multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis clinical isolates [J].J Antimicrob Chemother,2014,69(9):2369-2375.
- [13]周洪经,郭明日,冯爽,等.XpertMTB/RIF 在快速诊断肺结核及利福平耐药中的临床应用[J].国际检验医学杂志,2016,37(18):2568-2570.
- [14]孙蕊,王志锐,穆成,等.XpertMtb/RIF、痰涂片和培养在疑似肺结核诊断中的对比研究 [J]. 中国卫生检验杂志,2018,28(1):10-13.
- [15]刘亚芹,杨振斌,冯冬霞,等.DNA 微阵列芯片法用于检测结核分枝杆菌耐药性的研究[J].国际检验医学杂志,2016(14):1910-1913
- [16]伊惠霞,侯新月,王泉,等.XpertMTB/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,2015(12):1643-1646.

收稿日期:2021-04-20;修回日期:2021-04-30

编辑/肖婷婷