

- [4] CHEN W, ZHU W, WEI Y, et al. The predictive effects of early pregnancy lipid profiles and fasting glucose on the risk of gestational diabetes mellitus stratified by body mass index[J]. J Diabet Res, 2016(8):1-8.
- [5] 黎丛飞. ¹⁴C-尿素呼气试验检测幽门螺杆菌感染的临床应用[J]. 哈尔滨医药, 2016, 36(S1):80.
- [6] MIFTAHUSSURUR M, YAMAOKA Y, GRAHAM D Y. Helicobacter pylori as an oncogenic pathogen, revisited [J]. Expert Rev Mol Med, 2017, 19(4):1-11.
- [7] 张万岱, 胡伏莲, 萧树东, 等. 中国自然人群幽门螺杆菌感染的流行病学调查[J]. 现代消化及介入诊疗, 2010, 15(5):265-270.
- [8] GUO X, ZHAO B H, ZHANG M X. Risk factors of Helicobacter pylori infection among adults in northern China [J]. Hepato-gastroenterology, 2011, 58(106):306-310.
- [9] AI-GHAMDI A, JIMAN-FATANI A A, EI-BANNA H. Role of Chlamydia pneumoniae, helicobacter pylori and cytomegalovirus in coronary artery disease [J]. Pak J Pharm Sci, 2011, 24(2):95-101.
- [10] 李光友, 苏贵灵. 幽门螺杆菌感染与多项指标的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(18):2548-2549.
- [11] 黄鲁, 沈洁, 朱筱, 等. 广州人群幽门螺杆菌感染与血脂异常的相关性[J]. 岭南心血管病杂志, 2015, 21(1):77-79.
- [12] GUNJI T, MATSUHASHI N, SATO H, et al. Helicobacter pylori infection significantly increases insulin resistance in the asymptomatic Japanese population[J]. Helicobacter, 2009, 14(5):144-150.
- [13] POLYZOS S A, KOUNTOURAS J, ZAVOS C, et al. The association between Helicobacter pylori infection and insulin resistance: a systematic review [J]. Helicobacter, 2011, 16(2):79-88.
- [14] 黄鲁. 幽门螺杆菌感染对健康体检人群胰岛素抵抗的研究[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2016, 37(9):1161-1163.
- (收稿日期:2018-03-29 修回日期:2018-06-12)
- 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.21.033

GeneXpert MTB/RIF 在检测脊柱结核患者中的诊断价值

侯婷婷¹, 侯 慊², 李 远¹, 李 钿¹, 索海燕¹, 周 正^{3△}

(1. 山东大学附属省立医院检验部, 济南 250001; 2. 山东省枣庄市立医院药房, 山东枣庄 277100;
3. 山东省胸科医院检验科, 济南 250013)

摘要:目的 评估 GeneXpert MTB/RIF 系统在脊柱组织标本中快速准确诊断脊柱结核的应用价值。方法 使用 GeneXpert MTB/RIF 对已确诊的 192 例脊柱结核患者和 50 例健康对照者的脊柱组织标本进行检测, 评价 GeneXpert MTB/RIF 系统在诊断脊柱结核中的检测性能。结果 GeneXpert MTB/RIF 在诊断脊柱结核的灵敏度为 80.72%(155/192), 特异度为 92.00%(46/50)。GeneXpert MTB/RIF 进行利福平耐药性检测的灵敏度为 94.70%, 特异度为 88.67%。结论 GeneXpert MTB/RIF 系统在诊断脊柱结核时有较高的准确性, 在辅助诊断脊柱结核中具有很高的价值, 可明显提高脊柱结核病的检出率, 可以为临床进一步提供诊断服务。

关键词:GeneXpert MTB/RIF; 脊柱结核; 利福平

中图法分类号:R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)21-3268-03

中国的结核病发病率位居全球第二, 结核病患者人数仅次于印度^[1]。脊柱结核是结核病中的重要类型之一, 占结核病总患者的 2%~5%^[2], 并且脊柱结核约占人类骨结核的 50%^[3]。在中国、印度等发展中国家中, 20 岁以下人群为易感人群, 在发达国家, 则反之^[3], 并且发展中国家的男性发病率远远高于女性。传统结核病实验室诊断的金标准一般为结核分枝杆菌(MTB)培养, 然而, 传统试验方法存在较多弊端, 例如抗酸染色法阳性率偏低, MTB 培养周期较长, 需 3~7 周, 而且对 MTB 的质量要求较高, 因而, 急需一种能快速准确检测 MTB 感染的方法。GeneXpert MTB/RIF 作为一种快速、有效的分子诊断手段, 得到世界卫生组织的认可和推荐。GeneXpert MTB/RIF

可在 2 h 内直接从痰液标本中检测 MTB 和利福平(RIF)耐药性, 其灵敏度为 67%~96%, 特异度为 95%^[4-5]。本研究通过脊柱组织标本检测, 评价了 GeneXpert MTB/RIF 在脊柱结核患者中的诊断价值, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2015 年 1 月至 2016 年 12 月山东大学附属省立医院收治的经临床表现、病理学检查和影像学检查确诊的脊柱结核患者共 192 例纳入病例组, 其中男 100 例(52.08%), 女 92 例(47.92%); <20、20~<40、40~<60、≥60 岁患者分别为 16 例(8.33%)、66 例(34.37%)、76 例(39.58%)、34 例(17.70%); 病变部位包括颈椎、胸椎、腰椎、骶椎分别

△ 通信作者, E-mail: 411164249@qq.com.

12 例(6.25%)、72 例(37.50%)、100 例(52.08%)、8 例(4.17%);主要症状包括咳嗽、咳痰、发热、咯血、胸痛、血液传播、继发性肺结核分别 23 例(11.97%)、33 例(17.18%)、35 例(18.22%)、18 例(9.37%)、31 例(16.14%)、2 例(1.04%)、50 例(26.04%)。选取 50 例健康体检者纳入对照组,结核抗体和胸片检查均为阴性,排除结核病,其中男 37 例,女 13 例,年龄 15~61 岁,平均(39.3±7.7)岁。

1.2 方法 所有研究对象标本采集前未使用过抗结核药物治疗。对术中所获取的脊椎组织,使用高速粉碎机进行充分的粉碎研磨,加入 NaOH 和磷酸盐缓冲液,在高速振荡仪中振荡,并在高速离心机中以 15 000 r/min 离心 15 min,离心后的沉淀物分成 3 份待用,分别进行荧光抗酸涂片染色法检测、BACTECT MGIT 960 (BD 公司) MTB 培养、GeneXpert MTB/RIF 检测。

1.2.1 荧光抗酸涂片染色法 按照《结核病诊断实验室检验规程》^[6]中的要求进行标准化操作。报告方式按照 100 倍物镜按 1+~4+进行分级。

1.2.2 MGIT960 MTB 液体培养及 RIF 灵敏度试验

取沉淀物 1 mL 置于添加营养剂和杂菌抑制剂的 MGIT960 液体培养管中,放于 BACTECT MGIT960 培养仪中进行培养,培养过程中对阳性标本进行 RIF (1 μg/mL)药敏试验。

1.2.3 GeneXpert MTB/RIF 检测 取 1.5 mL 沉淀物加入 2 mL 处理液中,并置于高速涡旋振荡器上混匀,孵育 15 min 取处理液加入反应盒后,置于 GeneXpert 检测模块中,2 h 后判读结果。

1.3 统计学处理 以临床诊断和 MTB 液体药敏法为金标准,通过计算灵敏度、特异度、阴性预测值、阳性预测值及其 95%置信区间,评价 GeneXpert MTB/RIF 检出 MTB 及 RIF 耐药性的准确性。

2 结 果

2.1 GeneXpert MTB/RIF 在脊柱结核诊断中的应用 192 例脊柱结核患者病灶标本中,155 例 GeneXpert MTB/RIF 结果阳性,37 例阴性。以临床诊断影像学为金标准,荧光抗酸涂片染色法、MGIT960 MTB 液体培养、GeneXpert MTB/RIF 在检测脊柱结核方面的灵敏度分别为 26.56%、58.33%和 80.72%,见表 1。

表 1 3 种方法检测脊柱结核的诊断性能

方法	灵敏度[% (n/n)]	特异度[% (n/n)]	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)
GeneXpert MTB/RIF	80.72(155/192)	92.00(46/50)	97.48	55.42
MGIT960 MTB 培养	58.33(112/192)	94.00(47/50)	97.39	37.00
荧光抗酸涂片染色法	26.56(51/192)	100.00(50/50)	100.00	26.17

2.2 GeneXpert MTB/RIF 在检测 RIF 耐药性方面的应用 本试验以 MGIT960 MTB 液体药敏法为金标准,利用 GeneXpert MTB/RIF 系统对 192 例患者和 50 例健康对照者标本进行 RIF 耐药检测,结果显示 MGIT960 MTB 液体药敏法检测出对 RIF 敏感 189 例,耐药 53 例,GeneXpert MTB/RIF 系统检出对 RIF 敏感 185 例,耐药 57 例,2 种方法均检测对 RIF 敏感的为 179 例,耐药 47 例。因而, GeneXpert MTB/RIF 在检测 RIF 耐药方面的灵敏度为 94.70%,特异度为 88.67%,阳性预测值为 96.75%,阴性预测值为 82.45%。

3 讨 论

2017 年 WHO 对全球结核病控制的重点是快速准确地诊断结核病,尤其是提高耐多药结核的诊断能力。结核病的早期诊断及其耐药性的检测,对于很好地控制耐药结核病的传播具有十分重要的意义。近年来我国结核病患者数量大大降低,然而脊柱结核病患者比例逐年升高,现已占国内总结核感染人数的 22%^[7],传统实验室使用的固体 MTB 培养和普通抗酸染色涂片方法灵敏度较低(<48%)^[8],又由于脊柱结核标本的特殊性,在实验室操作和检测时,较难从

脊柱组织标本中分离 MTB,导致较高的假阴性率,从而会出现临床诊断的延误。因此,在脊柱结核临床诊疗中急需一种快速、准确的检验方法,近年来,分子诊断技术检测 MTB 中的 DNA 可提高试验的有效性和准确性^[9]。GeneXpert MTB/RIF 系统以半巢式实时定量聚合酶链式反应(PCR)为基础检测 MTB 中 rpoB 基因,检测周期为 2 h 左右,并且可以检测 RIF 的耐药性^[10]。本研究使用脊柱组织标本,评估 GeneXpert MTB/RIF 系统快速准确诊断脊柱结核的应用价值。

本研究使用 GeneXpert MTB/RIF 系统检测脊柱结核的灵敏度为 80.72%、特异度为 92.00%,检测 RIF 耐药性的灵敏度为 94.70%,特异度为 88.67%。然而李力韬等^[11]用 GeneXpert MTB/RIF 系统检测脊柱结核患者的灵敏度和特异度均达到 98%以上,均高于本研究中结果。本研究结果较低的原因有以下几点,首先,李力韬等^[11]的研究中标本来源均使用 MTB 培养阳性的标本,而本研究中标本直接来源于临床手术标本,未使用细菌培养阳性标本。其次,国外学者 ARMAND 等^[12]的研究中,对同一脊柱标本进行重复试验,根据多次结果平均值得出最终结果,其

灵敏度和特异度均高于单次试验结果,而本研究对每份标本只检测一次。由此可见 GeneXpert MTB/RIF 检测次数的增加会提高其检测 MTB 的灵敏度和特异度^[13]。由于本试验标本量较少,并且病例中含有较多儿童病例,有国外文献报道, GeneXpert MTB/RIF 检测儿童结核患者时,其灵敏度和特异度明显低于成人,因此较多的儿童病例会降低本研究的灵敏度和特异度^[14]。

国外文献报道 MGIT960 MTB 液体培养法无法培养非 MTB,但由于非 MTB 会引起病变与 MTB 相似的临床症状,临床上易被误诊为结核感染。MCNERNEY 等^[15]报道,对已知的 11 株非 MTB 进行 GeneXpert MTB/RIF 检测,检出 11 株非 MTB, GeneXpert MTB/RIF 检测结果均为阴性反应,特异度达 100.00%。在本次研究中未检出非 MTB 的标本,原因可能为:非 MTB 通常感染部位是肺部组织、淋巴结、终末支气管、皮肤及特殊软组织。另由于本研究收集组织标本量较少,没有足够量标本来分析非 MTB 在脊柱组织中的感染情况。因此,在日常临床工作中,对于 GeneXpert MTB/RIF 检测结果为阴性的患者,临床医师也需要根据影像学诊断及其他检测方法,客观分析患者病情。

MTB 感染患者中有一部分为血液播散性的病例,患者病情十分凶险,但是国内外研究中,并没有纳入血液播散性病例,在未来的研究中,将进一步纳入血液播散性病例。本研究由于使用的标本类型为脊柱病灶组织,标本数量较少,标本类型单一,不能全面、综合地评价 GeneXpert MTB/RIF 系统在不同类型标本诊断结核感染中的诊断价值,在下一步研究中,尽量多收集不同标本类型的标本,例如胸腔积液、肺泡灌洗液、关节液等。因此,还需要更多实验报告来评价 GeneXpert MTB/RIF 在快速诊断病情危重结核患者的价值。

参考文献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing: WHO report 2003[M]. Geneva: WHO, 2002: 98-101.
- [2] TRECARICHI E M, MECO E D, MAZZOTA V. Tuberculous spondylitis: epidemiology[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2012, 16: 58-72.
- [3] MASSI M N, BIATKO K T, HANDAYANI I A, et al. Evaluation of rapid GeneXpert MTB/RIF method using DNA tissue specimens of vertebral bones in patients with suspected spondylitis TB[J]. J Orthopaed, 2017, 14(1):

189-191.

- [4] 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, 2014, 1(1): CD009503.
- [5] 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.
- [6] 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: 中国教育文化出版社, 2006: 54-62.
- [7] HILLEMANN D, RÜSCH-GERDES S, BOEHME C, et al. Rapid molecular detection of extrapulmonary tuberculosis by the automated GeneXpert MTB/RIF system[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(4): 1202-1205.
- [8] 董伟杰, 秦世炳, 赵立平, 等. 骨关节结核各类标本进行结核分枝杆菌培养与 PCR 检测的阳性率结果分析[J]. 中国防痨杂志, 2014, 36(1): 46-48.
- [9] MELDAU R, PETER J, THERON G, et al. Comparison of same day diagnostic tools including Gene Xpert and unstimulated IFN- γ for the evaluation of pleural tuberculosis: a prospective cohort study[J]. BMC Pulmon Med, 2014, 14(1): 58.
- [10] RACHOW A, ZUMLA A, HEINRICH N, et al. Rapid and accurate detection of Mycobacterium tuberculosis in sputum samples by Cepheid Xpert MTB/RIF assay—a clinical validation study[J]. PLoS One, 2011, 6(6): e20458.
- [11] 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.
- [12] ARMAND S, VANHULS P, DELCROIX G, et al. Comparison of the xpert MTB/RIF test with an IS6110-TaqMan real-time PCR assay for direct detection of mycobacterium tuberculosis in respiratory and nonrespiratory specimens[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(5): 1772-1776.
- [13] LAWN S D, NICOL M P. Xpert (R) MTB/RIF assay: development, evaluation and implementation of a new rapid molecular diagnostic for tuberculosis and rifampicin resistance[J]. Future Microbiol, 2011, 6(9): 1067-1082.
- [14] NICOL M P, WORKMAN L, ISAACS W, et al. Accuracy of the GeneXpert MTB/RIF test for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children admitted to hospital in Cape Town, South Africa: a descriptive study[J]. Lancet Infect Dis, 2011, 11(11): 819-824.
- [15] MCNERNEY R, CUNNINGHAM J, HEPPLER P, et al. New tuberculosis diagnostics and rollout[J]. Internat J Infect Dis, 2015, 32(C): 81-86.

(收稿日期: 2018-02-16 修回日期: 2018-05-18)