

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.22.012

GeneXpert MTB/RIF 检测肺泡灌洗液对无痰或少痰肺结核的诊断价值*

彭 荣, 龚 倩[△]

复旦大学附属中山医院青浦分院检验科, 上海 201700

摘要:目的 探讨应用结核分枝杆菌/利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测体系(GeneXpert MTB/RIF)检测支气管肺泡灌洗液(BALF)对无痰或少痰肺结核的诊断价值。**方法** 选取该院 2017 年 10 月至 2018 年 10 月无痰或少痰肺结核患者 100 例作为观察组,无痰或少痰的其他肺部疾病患者 50 例作为对照组。比较涂片法、培养法、GeneXpert MTB/RIF 检测 BALF 标本用于肺结核诊断的灵敏度、特异度。**结果** 涂片法、培养法、GeneXpert MTB/RIF 检测 BALF 标本对肺结核诊断的灵敏度和特异度分别为 13%和 100%、21%和 96%、30%和 100%。灵敏度的比较:GeneXpert MTB/RIF 与涂片法差异有统计学意义($P < 0.05$),但 GeneXpert MTB/RIF 与培养法差异无统计学意义($P > 0.05$)。三者间特异度比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 对于无痰或少痰的患者,取 BALF 标本做 GeneXpert MTB/RIF 检测有助于肺结核的诊断。

关键词: GeneXpert MTB/RIF; 支气管肺泡灌洗液; 结核

中图分类号: R446.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2020)22-3267-03

GeneXpert MTB/RIF assay for diagnosis of tuberculosis patients without or with little sputum from bronchoalveolar lavage fluid*

PENG Rong, GONG Qian[△]

Department of Clinical Laboratory, Qingpu Branch of Zhongshan Hospital, Affiliated to Fudan University, Shanghai 201700, China

Abstract: Objective To investigate the diagnostic value of GeneXpert MTB/RIF for diagnosis of tuberculosis patients without or with little sputum from bronchoalveolar lavage fluid(BALF). **Methods** From October 2017 to October 2018, 100 pulmonary tuberculosis patients without or with little sputum were enrolled as the observation group, and 50 patients with other pulmonary diseases without or with little sputum were enrolled as the control group. The sensitivity and specificity of smear method, culture method and GeneXpert MTB/RIF assay for the detection of pulmonary tuberculosis from BALF samples were compared. **Results** The sensitivity and specificity of smear, culture and GeneXpert MTB/RIF were 13% and 100%, 21% and 96%, 30% and 100%, respectively. Sensitivity comparison: GeneXpert MTB/RIF was significantly different from smear method ($P < 0.05$), while there was no significant difference between GeneXpert MTB/RIF and culture method ($P > 0.05$). There was no significant difference in specificity among the 3 methods ($P > 0.05$). **Conclusion** For patients without or with little sputum, GeneXpert MTB/RIF assay from BALF samples is helpful for the diagnosis of pulmonary tuberculosis.

Key words: GeneXpert MTB/RIF; bronchoalveolar lavage fluid; tuberculosis

结核分枝杆菌感染引起的结核病是全球造成死亡病例最多的单一传染病^[1]。肺结核的诊断一直依赖于痰标本检测,但 40% 的疑似肺结核患者无痰或少痰^[2],这类患者往往容易被漏诊。近年来,纤维支气管镜被广泛应用,其提供的细菌学和病理学诊断依据逐渐受到重视。多种检查方法,如活检、刷检、支气管肺泡灌洗液(BALF)涂片及培养等,联合应用可以提

高结核分枝杆菌的检出率。结核分枝杆菌/利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测体系(GeneXpert MTB/RIF)是一套整合了核酸准备、扩增、实时检测,用于结核分枝杆菌和利福平耐药检测的全自动化检测技术,是 WHO 推荐的检测结核分枝杆菌的新方法^[3];而对于很多无痰或少痰的患者, GeneXpert MTB/RIF 无法对其痰液标本进行检测,故本研究将

* 基金项目:上海市青浦区科委项目(QKY2017-05)。

作者简介:彭荣,女,主管技师,主要从事结核病实验室诊断方面的研究。△ 通信作者, E-mail: gongqian39@aliyun.com。

此检测技术用于无痰和少痰患者 BALF 标本的检测,比较该技术与传统 BALF 涂片法和培养法对肺结核的诊断价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取该院 2017 年 10 月至 2018 年 10 月无痰或少痰肺结核患者 100 例作为观察组,无痰或少痰其他肺部疾病患者 50 例作为对照组。观察组:男 67 例,女 33 例;年龄 17~51 岁,平均(28.4±15.7)岁。对照组:男 24 例,女 26 例;年龄 19~56 岁,平均(30.4±12.7)岁;肺部肿瘤 23 例,支气管扩张 27 例;排除可能合并肺结核的患者。肺结核诊断参照《肺结核诊断标准》^[4]。对照组肺部肿瘤、支气管扩张等疾病的诊断参照文献^[5]。另外,无痰或少痰是指送检的痰液标本性状为水样或者黏液样并少于 1 mL。

1.2 仪器与试剂 纤维支气管镜为奥林巴斯 BFP60 型;GeneXpert MTB/RIF 和配套试剂盒均为美国赛沛公司产品;BALF 涂片法使用的染色液为珠海贝索公司产品;BALF 培养法使用罗氏培养基,购自上海申启生物科技公司。

1.3 方法

1.3.1 BALF 标本的获取 使用纤维支气管镜,选取纳入研究者病变累及的肺段作为灌洗部位;使用一次性灌洗液回收装置,将 50 mL 无菌生理盐水分 2 次经过纤维支气管镜注入病变累及的叶段支气管,然后用负压吸引缓慢回收,混匀后送检。每份 BALF 标本约 5 mL,平均分成 2 份,1 份用于涂片法和培养法检测;1 份于 -20 °C 冻存,用于 GeneXpert MTB/RIF 检测。

1.3.2 涂片法和培养法 涂片法:待测 BALF 以 3 000×g 离心 15 min,取沉淀涂片;沉淀为浓厚的痰样,涂片才容易固定;涂片自然干燥,紫外照射 2 h,用抗酸染色液手工染色。培养法:在涂片完成之后的沉淀中加入等体积的 4% 氢氧化钠,消化 15 min 后,取两滴加入到罗氏培养基斜面。所有操作及后续涂片镜检和培养结果的判读都严格按照《结核病实验室检验规程》^[6]进行。

1.3.3 GeneXpert MTB/RIF 检测 将之前冻存的 BALF 平衡至室温,取 1.5 mL BALF 加入 50 mL 尖底离心管中,加入 700 mL 试剂盒自带的标本处理液,静置 15 min,期间涡流振荡 1~2 次。将检测盒打开,吸取 2 mL 处理后的样品并缓慢加入到检测盒中,上机检测。机器设有 A、B、C、D、E 5 条相互重叠的分子探针,能够与利福平 rpoB 基因的 81 bp 核心区结合并完全覆盖。另外,此反应体系中还包含 1 个球芽孢杆菌特异探针作为内对照,当内对照探针的循环阈值

(Ct)值≤38 时为阳性,反之则为无效。结核分枝杆菌阳性的诊断标准为 5 个探针中至少 2 个探针 Ct 值≤38,并可进一步按照 Ct 值对样本中的结核分枝杆菌进行半定量分析,Ct 值<16 为高荷菌量,16~22 为中等荷菌量,>22~28 为低荷菌量,>28 为极低荷菌量。检测利福平是否耐药是基于结核分枝杆菌特异分子探针最早期的 Ct 值和晚期的 Ct 值之差,即 ΔCt 值,系统设置的判断标准为当 ΔCt>3.5 时判断为对利福平耐药,当 ΔCt≤3.5 时判断为对利福平敏感^[3]。约 2 h 后,反应结束,读取检测结果并打印存档。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计处理。灵敏度和特异度的计算以临床诊断为参考标准。涂片法、培养法和 GeneXpert MTB/RIF 检测用于肺结核诊断的灵敏度、特异度比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 种方法的检测结果 对照组中,2 例支气管扩张患者培养法检测阳性,后来送相关机构鉴定,1 例为非结核分枝杆菌,另 1 例为弱抗酸的诺卡菌属,并非分枝杆菌;但当时培养基上的形态及菌落涂片镜下观察显示为抗酸杆菌,被误认为是分枝杆菌。观察组中,未见利福平耐药的患者。见表 1。

表 1 两组患者结核涂片法、培养法、GeneXpert MTB/RIF 检测结果[n(%)]

组别	n	涂片法		培养法		GeneXpert MTB/RIF	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
观察组	100	13(13)	87(87)	21(21)	79(79)	30(30)	70(70)
对照组	50	0(0)	50(100)	2(4)	48(96)	0(0)	50(100)

2.2 灵敏度和特异度的比较 3 组间灵敏度比较,差异有统计学意义($P=0.013$);然后进行两两比较, GeneXpert MTB/RIF 与涂片法的灵敏度差异有统计学意义($P<0.05$),其余两两比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。3 组间特异度比较,差异无统计学意义($P=0.132$)。见表 2。

表 2 涂片法、培养法、GeneXpert MTB/RIF 诊断效能的比较(%)

检测方法	灵敏度	特异度
涂片法	13	100
培养法	21	96
GeneXpert MTB/RIF	30*	100

注:与涂片法比较,* $P<0.05$ 。

3 讨论

结核病的快速诊断是其防控的关键。GeneXpert MTB/RIF 作为快速诊断结核的利器,自问世以来,在

肺结核和肺外结核的诊断应用中进行过诸多评估。国外有学者做了大样本的肺结核 GeneXpert MTB/RIF 的应用评估,得出涂片法、GeneXpert MTB/RIF、培养法在肺结核诊断中的灵敏度分别为 18.90%、23.85%和 20.35%^[7]。国内学者也得出 GeneXpert MTB/RIF、涂片法和培养法检测结核分枝杆菌的灵敏度和特异度分别为 37%和 99%、17%和 98%、37%和 95%^[8]。GeneXpert MTB/RIF 用于痰标本检测的优势显而易见。对于 BALF,国内有学者做过 BALF 的 GeneXpert MTB/RIF 检测研究,特别是针对菌阴肺结核,得到的灵敏度数据不一致,但特异度较一致^[9-13]。本研究以临床诊断为标准,涂片法、培养法、GeneXpert MTB/RIF 检测对于肺结核诊断的灵敏度和特异度分别为 13%和 100%、21%和 96%、30%和 100%,与劳海黎等^[9]的结果较为一致。与其他几位学者的结果^[10-13]比较,本研究的灵敏度略低,韩丹等^[10]和李妍等^[11]报道的灵敏度高达 60%,这可能是因为本研究选择的都是无痰和少痰的患者,肺部炎症轻,渗出少,结核分枝杆菌载量少,而在特异度方面较为一致。

GeneXpert MTB/RIF 检测与涂片法的灵敏度差异有统计学意义;GeneXpert MTB/RIF 与培养法的灵敏度差异无统计学意义,这与张志学等^[13]的报道相符。另外,3 种方法在特异度方面无明显差异,甚至培养法在对照组也检出 2 例阳性,后经鉴定,检出的菌株并非分枝杆菌,培养法的特异度因此降为 96%。另外,从检测时效性方面考虑,GeneXpert MTB/RIF 检测只需耗时 2 h 就有结果,培养法却需要 3~4 周才会有阳性结果,GeneXpert MTB/RIF 检测有很大的优势。更重要的是,GeneXpert MTB/RIF 检测以 *rpoB* 基因为靶基因,能正确鉴定出 97.6%的利福平耐药菌株^[14],与比例法测得的利福平耐药结果比较,差异无统计学意义^[15]。

综上所述,用 BALF 做 GeneXpert MTB/RIF 检测,特异度高,灵敏度明显高于传统的 BALF 涂片法,用时短,而且能快速判断是否对利福平耐药,对于无痰和少痰肺结核患者的快速诊断有较大的价值。

参考文献

[1] 梅建. 上海结核病防治工作面临新的历史转折点[J]. 上

海预防医学,2019,31(1):23-27.

- [2] 刘静莉,金发光,傅恩清,等. 比较超声雾化诱痰与支气管镜下取痰技术在可疑肺结核诊断中的应用价值[J/CD]. 中华肺部疾病杂志(电子版),2016,9(1):69-70.
- [3] 张丽霞,谢祎,孙昕. GeneXpert MTB/RIF 检测技术在艾滋病合并肺结核双重感染中的诊断价值[J]. 中华检验医学杂志,2016,39(1):53-54.
- [4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 肺结核诊断标准:WS288-2017[S]. 北京:中国标准出版社,2017.
- [5] 牛广明,苏秉亮. 临床比较影像学[M]. 北京:科学出版社,2007:304-411.
- [6] 赵雁林,逢宇. 结核病实验室检验规程[M]. 北京:人民卫生出版社,2015.
- [7] MECHAL Y, BENAÏSSA E, MRIMAR N, et al. Evaluation of GeneXpert MTB/RIF system performances in the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis[J]. BMC Infect Dis, 2019,19(1):1069-1077.
- [8] 徐礼锋,祝进,朱晟梅,等. Xpert MTB/RIF 检测结核分枝杆菌和利福平耐药性的应用研究[J]. 中华临床感染病杂志,2016,9(1):66-68.
- [9] 劳海黎,周蕾. GeneXpert MTB/RIF 系统在快速诊断肺结核中应用价值的研究[J]. 大家健康,2014,28(2):345-346.
- [10] 韩丹,段慧楠,饶有益,等. 纤维支气管镜灌洗液 Xpert MTB/RIF 检测对肺结核诊断和利福平耐药菌株筛选的临床价值[J]. 医学综述,2016,22(16):3243-3246.
- [11] 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.
- [12] 潘永,张瑞梅,王银红. Genexpert 检查在初治菌阴肺结核患者支气管肺泡灌洗液的应用[J]. 临床医药文献杂志,2016,3(45):8928-8929.
- [13] 张志学,苍爱泽,孙静. 应用 GeneXpert MTB/RIF 技术检测肺泡灌洗液对菌阴肺结核的临床诊断价值[J]. 结核病与肺部健康杂志,2017,6(2):128-130.
- [14] 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.
- [15] 刘亚芹,杨振斌,冯冬霞,等. GeneXpert 法检测结核分枝杆菌及其对利福平耐药性的研究[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版),2015,9(4):524-527.

(收稿日期:2020-03-10 修回日期:2020-07-08)