

Xpert MTB/RIF 在结核性胸膜炎诊断中的研究进展

曾路^{1,2}, 王曼¹, 刘侠², 王水利³

(1. 西安医学院, 西安 710068; 2. 陕西省结核病防治院, 西安 710100;

3. 陕西省人民医院 呼吸与危重症一病区, 西安 710068)

摘要: 结核性胸膜炎是引起胸腔积液常见的原因之一, 其诊断主要通过临床表现、影像学、实验室检查等综合判断。结核性胸膜炎诊断常用检测技术包括胸腔积液细胞生化检查、结核分枝杆菌抗体检测、结核分枝杆菌涂片及培养等, 但敏感度及特异度不高。结核分枝杆菌/利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测技术(Xpert MTB/RIF)为诊断结核病新兴技术手段, 在肺结核病诊断方面有较高应用价值, 但在结核性胸膜炎诊断方面临床研究报道较少, 部分观点不统一, 该文对其在诊断结核性胸膜炎的研究进展进行综述。

关键词: 结核分枝杆菌/利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测技术(Xpert MTB/RIF); 结核性胸膜炎
中图分类号: R521.7; Q503 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2019)06-161-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2019.06.041

Research Progress of Xpert MTB/RIF in Diagnosis of Tuberculous Pleurisy

ZENG Lu^{1,2}, WANG Man¹, LIU Xia², WANG Shui-li³

(1. Xi'an Medical University, Xi'an 710068, China; 2. Tuberculosis Hospital of Shaanxi Province, Xi'an 710100, China;

3. Respiratory and Critical Illness Ward 1, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China)

Abstract: Tuberculous pleurisy was one of the common reasons which causing pleural effusion. It was diagnosed mainly by the comprehensive judgment of clinical presentation, imaging features, laboratory examination, and so on. The technologies which were usually used in the diagnosis of tuberculous pleurisy included cytobiochemical examination of pleural effusion, detection of *Mycobacterium tuberculosis* antibody, smear and culture of *Mycobacterium tuberculosis*, etc, but the sensitivity and specificity remained low. Xpert MTB/RIF was one of the new technology to diagnose tuberculosis, which had high value in diagnosing lung tuberculosis. In diagnosing tuberculous pleurisy, there were few clinical studies and some views hadn't reach an agreement. This paper was to review the research progress of Xpert MTB/RIF in tuberculous pleurisy diagnosis.

Keywords: Xpert MTB/RIF; Tuberculous pleurisy

结核性胸膜炎是导致胸腔积液的常见疾病, 在结核病流行地区, 50% 的胸腔积液为结核性胸膜炎引起^[1]。因胸膜腔细菌负荷量低、特征性病理改变少^[2], 胸腔积液结核分枝杆菌涂片及培养、胸膜组织病理活检阳性率不高, 临床诊断常受限。结核分枝杆菌/利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测技术(Xpert MTB/RIF)是目前诊断结核病的分子生物学检测方法之一, 可同时检测有无结核分枝杆菌感染及是否对利福平耐药。与传统核酸扩增检测技术相比, Xpert MTB/RIF 具有全封闭检测系统、全自动操作过程、样本交叉污染小、结果精确度高及检测周期短等优势^[3], 2017 年中华医学会结核病学分会制定的《WS 288-2017 肺结核诊断》^[4], 明确 Xpert MTB/RIF 结果阳性可作为诊断结核病依据, 表明该检查对诊断结核病的重要性。本文对 Xpert MTB/RIF 在结核性胸膜炎中的诊断价值回顾分析,

综述如下:

1 Xpert MTB/RIF 检测原理

Xpert MTB/RIF 是以聚合酶链反应(PCR)为基础的全自动半巢式实时检测技术, 有 5 个相互重叠探针(探针 A~E), 以 *rpoB* 基因为靶基因检测其 81bp 利福平耐药核心区间(RRDR)是否发生突变, 可在 2h 内检出有无结核分枝杆菌感染及是否对利福平耐药。其操作简单, 将约 2ml 检测标本置入试剂盒中, 样品自动洗涤、过滤、超声破壁释放出结核分枝杆菌 DNA, DNA 与试剂盒中的 PCR 试剂混合并进行扩增, 最后可自动检测结果。结果判读可依据探针的循环阈值(*Ct*), 当 5 个探针中至少 2 个探针 *Ct* \geq 38, 表明检测结核分枝杆菌阳性。可进一步根据 *Ct* 值进行半定量分析, *Ct* \leq 16 为高菌量, *Ct* 值 16~22 为中菌量, *Ct* 值 22~28 为低菌量, *Ct* > 28 为极低菌量。检测利福平耐

基金项目: 陕西省科技厅 2013 年科技惠民专项基金(2013K14-02-09)。

作者简介: 曾路(1991-), 女, 研究生, 研究方向: 结核病, E-mail: 15109261933@163.com。

通讯作者: 王水利, 男, 研究生, 主任医师, 研究方向: 呼吸系统感染性疾病, E-mail: shuilwang3384@163.com。

药的基础由结核分枝杆菌特异性分子信标早期 Ct 值与晚期 Ct 值之差, 即 ΔCt 值判断。系统设置结果判断标准: $\Delta Ct > 3.5$ 提示对利福平耐药, $\Delta Ct \leq 3.5$ 提示对利福平敏感。Xpert MTB/RIF 目前有 G1, G2, G3, G4 四种版本, 经研究四种不同版本间其特异度及敏感度无统计学差异, 目前主要应用 G4 版本。Xpert MTB/RIF 耗费人工时间少, 其内的样本试剂既可用于处理标本, 也可杀灭结核分枝杆菌, 环境污染少, 无需高生物安全级别实验室操作平台^[5]。2010年9月WHO建议Xpert MTB/RIF用于快速诊断结核分枝杆菌感染及耐药结核分枝杆菌的早期鉴定。

2 Xpert MTB/RIF 诊断结核性胸膜炎的研究进展

2.1 Xpert MTB/RIF 诊断结核性胸膜炎的价值 Xpert MTB/RIF 以痰液、脓液、淋巴结活检组织等作为检测标本筛查结核病时具有较高敏感度及特异度。以胸腔积液为检测标本时多项研究显示 Xpert MTB/RIF 敏感度较差, 波动在 15%~54.8%, 特异度在 95% 左右^[6-8], 敏感度低可能与胸腔积液结核分枝杆菌负荷量少有关。SAEED^[9] 分析 158 例结核性胸膜炎患者胸腔积液, 以罗氏培养为参考标准, Xpert MTB/RIF 的敏感度约 90%, 特异度 100%, 较高的敏感度可能与巴基斯坦为结核病高流行区, 且研究样本入选标准较高有关。

2.2 影响 Xpert MTB/RIF 诊断结核性胸膜炎的因素 Xpert MTB/RIF 检测结果可受多种因素影响, 包括耐药细菌及不耐药细菌混合感染、野生型 $rpoB$ 基因^[10]、标本采集储存处理及送检时间^[11]、标本污染、技术人员操作不规范等^[12]。选择合适的标本可提高 Xpert MTB/RIF 检测的敏感度。研究发现, 与冷冻胸腔积液标本相比, 送检新鲜胸腔积液标本 Xpert MTB/RIF 检测敏感度更高 [新鲜胸腔积液 59.0% (95%CI: 41.0% ~ 76.9%) vs 冷冻胸腔积液 31.4% (95%CI: 18.9% ~ 43.9%)]^[13]。世界卫生组织指南也建议送检新鲜标本以避免标本搁置过久变质引起结果误差^[14]。同时, 世界卫生组织推荐 Xpert MTB/RIF 以胸膜活检组织为检测标本, DU 等^[15] 研究证实 Xpert MTB/RIF 以胸膜活检为检测标本时诊断结核性胸膜炎的敏感度和特异度分别为 85.5% 和 97.2%, 高于以胸腔积液为检测标本时的敏感度 43.6% 和特异度 98.6%。涂盛锦^[16] 发现将大量胸腔积液浓缩处理后再行 Xpert MTB/RIF 检测, 敏感度 (64.6%) 高于常规胸腔积液 (27.8%)。Xpert MTB/RIF 联合其它检测方法可提高结核性胸膜炎的诊断率, AREF 等^[17] 研究表明胸腔积液 Xpert MTB/RIF 与胸腔积液腺苷酸脱氨酶 (临界值 $\geq 40U/L$) 联合诊断结核性胸膜炎敏

感度 [96.78% (95% CI: 77.13%~99.66%)] 高于 Xpert MTB/RIF 单独诊断的敏感度 [47.83% (95% CI: 32.89% ~ 63.05%)]。临床可设计 Xpert MTB/RIF 联合其它检测方法, 如 γ -干扰素释放试验 (IGRA)、胸腔积液中淋巴细胞比率等, 以更好地诊断结核性胸膜炎。

2.3 Xpert MTB/RIF 检测利福平耐药性的价值 Xpert MTB/RIF 可在 2h 内检出利福平是否耐药, 其检测利福平耐药的敏感度和特异度分别为 95% 和 98%^[18]。部分胸腔积液经规范抗结核治疗后吸收不佳, 在排除其它疾病可能性后需考虑耐药结核分枝杆菌感染导致的胸腔积液, 以胸腔积液为标本检测利福平耐药性时, Xpert MTB/RIF 诊断效能是否受到影响值得商榷。多项研究均证实 Xpert MTB/RIF 检测利福平耐药性的阳性率与细菌负荷量高低有关^[19-20], 因胸腔积液中结核分枝杆菌负荷量低, 发生 $rpoB$ 基因 RRDR 突变的细菌负荷量可能会更低, 当低于 Xpert MTB/RIF 检测利福平耐药标准的最低限时, 会出现假阴性结果。又有学者提出胸腔积液中可能存在聚合酶链式反应抑制物会影响 Xpert MTB/RIF 检测结果。

2.4 Xpert MTB/RIF 评估结核性胸膜炎治疗价值的价值 结核分枝杆菌定量检测有助于评估患者传染性、疾病严重程度及治疗效果, 研究证实 Xpert MTB/RIF 结果可用来评估检测标本中结核分枝杆菌负荷量的高低^[21], 有报道 Xpert MTB/RIF 结果示高结核分枝杆菌负荷量者, 其结核分枝杆菌培养阳性时间较低结核分枝杆菌负荷量者缩短, 表明 Xpert MTB/RIF 可在一定程度上预测结核分枝杆菌培养的结果^[3]。但临床应用过程中不建议通过 Xpert MTB/RIF 定量结果监测结核性胸膜炎治疗效果, 原因有: 监测胸腔积液中细菌负荷量的变化, 需有创操作才能获取检测标本, 结核性胸膜炎经有效治疗后胸腔积液可明显减少, 检测标本不易获取; Xpert MTB/RIF 检测的是结核分枝杆菌的 DNA, 无法区分活菌与死菌, 抗结核治疗后患者体内失去活性的结核分枝杆菌 DNA 仍可长期存在, 对评判治疗效果意义不大; Xpert MTB/RIF 检测胸腔积液阳性率低, 多次检测性价比不高。这与世界卫生组织不建议用 Xpert MTB/RIF 评估结核病治疗效果观点相符^[22]。

2.5 Xpert MTB/RIF 诊断特殊人群结核性胸膜炎的价值 研究证实结核病患者并发 HIV (人类免疫缺陷病毒) 感染时机体的生理变化是不同于未合并 HIV 感染者的, 合并 HIV 感染者其体内结核分枝杆菌负荷量减少且胸膜组织干酪样坏死程度较低^[23]。Xpert MTB/RIF 检测结果可能会受影响。Xpert MTB/RIF 诊断儿童肺结核的敏感度为 62% (95%CI:

51%~73%），与 Xpert MTB/RIF 应用于成人肺结核敏感度 89%（95%CI：85% ~ 92%）相比稍低^[24]，说明儿童结核病机体生理变化可能不同于成人。已有研究示儿童结核病相较于成人存在细菌负荷量低的特点^[25]，因此 Xpert MTB/RIF 检测儿童结核性胸膜炎标本时其敏感度也可能不同于成人。目前有关 Xpert MTB/RIF 诊断儿童结核病的研究多以诱导痰、胃液、粪便为检测标本^[26, 27]，应用于结核性胸膜炎相关研究较少。少部分非结核分枝杆菌（NTM）感染引起的胸腔积液，临床在无菌型鉴定结果时无法确诊，但较多试验已经证实 Xpert MTB/RIF 检测结果与 NTM 之间无交叉^[28-29]。

3 Xpert MTB/RIF 展望

Xpert MTB/RIF 诊断结核性胸膜炎敏感性低，其第二代 Xpert MTB/RIF Ultra（Cepheid）已研制成功，用熔解曲线法检测，检测靶标除 *rpoB* 基因外，增加 IS1081 和 IS6110 基因，反应体系由原来的 25 μ l 增加至 50 μ l，比 Xpert MTB/RIF 检测所需时间缩短，敏感度更高^[30-31]，且更适用于结核病并发 HIV 感染者的检测^[32]。在儿童结核病患者，Xpert MTB/RIF Ultra 检测效能也较 Xpert MTB/RIF 高^[33-34]。WU 等^[35]发现 Xpert MTB/RIF Ultra 以胸腔积液为检测标本的敏感度 43.7%（45/103）及以细针穿刺活检组织为检测标本的敏感度 78.9%（56/71），均高于 Xpert MTB/RIF 以胸腔积液为检测标本的敏感度 20.4%（21/103）及以细针穿刺活检组织为检测标本的敏感度 63.4%（45/71），但 Xpert MTB/RIF Ultra 特异性略低于 Xpert MTB/RIF（92% vs 96%）。表明 Xpert MTB/RIF Ultra 诊断结核性胸膜炎的敏感度优于 Xpert MTB/RIF，但特异度稍低，且细针穿刺活检组织为理想检测标本。PEREZ-RISCO 等^[36]通过 108 例结核病患者不同部位组织标本，证实 Xpert MTB/RIF Ultra 对细菌负荷量少的标本仍有较高敏感度及特异度，其中对胸腔积液检测敏感度高达 47.6%。随着 Xpert MTB/RIF Ultra 在临床的广泛应用，结核性胸膜炎诊断率可能会有所提高。

总之，Xpert MTB/RIF 在结核病领域是一项前景广阔的检测方法，因结核性胸膜炎发病机理及特点因人而异，Xpert MTB/RIF 在结核性胸膜炎的应用仍需不断探索，本文对 Xpert MTB/RIF 对结核性胸膜炎的诊断价值进行综述，有助于临床更好地应用 Xpert MTB/RIF。

参考文献：

[1] THOMAS R, Lee Y C. Causes and management of common benign pleural effusions[J]. Thorac Surg Clin,

2013, 23(1):25-42, v-vi.
[2] STEAD WW, EICHENHOLZ A, STAUSS H K. Operative and pathologic findings in twenty-four patients with syndrome of idiopathic pleurisy with effusion, presumably tuberculous[J]. Am Rev Tuberc, 1955, 71(4):473-502.
[3] 刘家云, 郝晓柯. 结核病实验室诊断方法新进展 [J]. 临床检验杂志, 2013, 31(2):115-117.
LIU Jiayun, HAO Xiaoke. New progress in laboratory diagnosis of tuberculosis [J] Chinese. Journal of Clinical Laboratory Science, 2013, 31 (2):115-117.
[4] 姜世闻. 《结核病分类》和《肺结核诊断》新标准对结核病控制工作的影响 [J]. 中国防痨杂志, 2018, 40(3):229-230.
JIANG Shiwen. The impact of new TB classification and TB diagnosis standards on TB control [J]. Chinese Journal of Antituberculosis, 2018, 40 (3): 229-230.
[5] World Health Organization. Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extra-pulmonary TB in adults and children: policy update[M]. Geneva: WHO, 2014.
[6] LUSIBA J K, NAKIYINGI L, KIRENGA B J, et al. Evaluation of cepheid's Xpert MTB/Rif test on pleural fluid in the diagnosis of pleural tuberculosis in a high prevalence HIV/TB setting[J]. PLoS One, 2014, 9(7):e102702.
[7] RUFAI S B, SINGH A, KUMAR P, et al. Performance of Xpert MTB/RIF assay in diagnosis of pleural tuberculosis by use of pleural fluid samples[J]. J Clin Microbiol, 2015, 53(11):3636-3638.
[8] PORCEL J M, PALMA R, VALDES L, et al. Xpert(R) MTB/RIF in pleural fluid for the diagnosis of tuberculosis[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2013, 17(9):1217-1219.
[9] SAEED M, AHMAD M, IRAM S, et al. GeneXpert technology. A breakthrough for the diagnosis of tuberculous pericarditis and pleuritis in less than 2 hours[J]. Saudi Medical Journal, 2017, 38(7):699-705.
[10] VAN RIE A, MELLE K, JOHN M A, et al. False-positive rifampicin resistance on Xpert(R) MTB/RIF: case report and clinical implications[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2012, 16(2):206-208.
[11] FRIEDRICH S O, VON GROOTE-BIDLINGMAIER F, DIACON A H. Xpert MTB/RIF assay for diagnosis of pleural tuberculosis[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(12):4341-4342.
[12] ARDIZZONI E, FAJARDO E, SARANCHUK P, et al. Implementing the Xpert® MTB/RIF diagnostic test for tuberculosis and rifampicin resistance: outcomes and lessons learned in 18 countries[J]. PLoS One, 2015, 10(12):e0144656.
[13] VADWAI V, BOEHME C, NABETA P, et al. Xpert MTB/RIF: a new pillar in diagnosis of extra-pulmonary tuberculosis?[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(7):2540-2545.

- [14] DENKINGER C M, SCHUMACHER S G, BOEHME C C, et al. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis[J]. Eur Respir J, 2014, 44(2):435-446.
- [15] DU Jinghui, HUANG Zikun, LUO Qing, et al. Rapid diagnosis of pleural tuberculosis by Xpert MTB/RIF assay using pleural biopsy and pleural fluid specimens[J]. Journal of Research in Medical Sciences: the Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences, 2015, 20(1):26-31.
- [16] 涂盛锦, 黄汉平, 曹珊. 浓缩胸腔积液 Gene Xpert MTB/RIF 试验在结核性胸膜炎快速诊断中的应用价值[J]. 临床内科杂志, 2019, 36(1):44-46.
- TU Shengjin, HUANG Hanping, CAO Shan. Application value of concentrated pleural effusion Gene Xpert MTB/RIF test in rapid diagnosis of tuberculous pleurisy [J]. Journal of Clinical Internal Medicine, 2019, 36(1):44-46.
- [17] AREF H. Diagnostic utility of QuantiFERON-TB Gold and Xpert MTB/RIF combined with adenosine deaminase in tuberculous pleural effusion: a prospective study[J]. Egypt Journal of Bronchology, 2017, 11(4):346-354.
- [18] PANDEY P, PANT N D, RIJAI K R, et al. Diagnostic accuracy of GeneXpert MTB/RIF assay in comparison to conventional drug susceptibility testing method for the diagnosis of multidrug-resistant tuberculosis[J]. PLoS One, 2017, 12(1):e0169798.
- [19] HUANG Hai, ZHANG Yanlin, LI Sheng, et al. Rifampicin resistance and multidrug-resistant tuberculosis detection using Xpert MTB/RIF in Wuhan, China: a retrospective study[J]. Microb Drug Resist, 2018, 24(5):675-679.
- [20] OCHERETINA O, BYRT E, MABOU M M, et al. False-positive rifampin resistant results with Xpert MTB/RIF version 4 assay in clinical samples with a low bacterial load[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2016, 85(1):53-55.
- [21] World Health Organization. Xpert MTB/RIF implementation manual: technical and operational 'how-to'; practical considerations[M]. Geneva: World Health Organization, 2014.
- [22] ABLANEDO-TERRAZAS Y, ALVARADO-DE LA BARBERA C, HERNANDEZ-JUAN R, et al. Xpert MTB/RIF for diagnosis of tuberculous cervical lymphadenitis in HIV-infected patients[J]. Laryngoscope, 2014, 124(6):1382-1385.
- [23] MARJANI M, YOUSEFZADEH A, BAGHAEI P, et al. Impact of HIV infection on tuberculous pleural effusion[J]. International Journal of STD & AIDS, 2016, 27(5):363-369.
- [24] SINGH M, SETHI G R, MANTAN M, et al. Xpert(®) MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2016, 20(6):839-843.
- [25] STEINGART K R, SCHILLER I, Horne D J, et al. Xpert(R) MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2014(1):CD009593.
- [26] DETJEN A K, DINARDO AR, LEYDEN J, et al. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children: a systematic review and meta-analysis[J]. Lancet Respir Med, 2015, 3(6):451-461.
- [27] LACOURSE SM, PAVLINAC PB, Cranmer LM, et al. Stool Xpert MTB/RIF and urine lipoarabinomannan for the diagnosis of tuberculosis in hospitalized HIV-infected children[J]. AIDS, 2018, 32(1):69-78.
- [28] BATES M, O' GRADY J, MAEURER M, et al. Assessment of the Xpert MTB/RIF assay for diagnosis of tuberculosis with gastric lavage aspirates in children in sub-Saharan Africa: a prospective descriptive study[J]. Lancet Infectious Diseases, 2013, 13(1):36-42.
- [29] AL-ATEAH S M, AL-DOWAIDI M M, EL-KHIZZI N A. Evaluation of direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory and non-respiratory clinical specimens using the Cepheid Gene Xpert(R) system[J]. Saudi Med J, 2012, 33(10):1100-1105.
- [30] BISOGNIN F, LOMBARDI G, LOMBARDO D, et al. Improvement of *Mycobacterium tuberculosis* detection by Xpert MTB/RIF Ultra: A head-to-head comparison on Xpert-negative samples[J]. PLoS One, 2018, 13(8):e0201934. .
- [31] CHAKRAVORTY S, SIMMONS A M, ROWNEKI M, et al. The new Xpert MTB/RIF Ultra: improving detection of *Mycobacterium tuberculosis* and resistance to rifampin in an assay suitable for point-of-care testing[J]. mBio, 2017, 8(4): e00812-17.
- [32] BAHR N C, NUWAGIRA E, EVANS E E, et al. Diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF Ultra for tuberculous meningitis in HIV-infected adults: a prospective cohort study[J]. Lancet Infect Dis, 2018, 18(1):68-75.
- [33] NICOL M P, WORKMAN L, PRINS M, et al. Accuracy of Xpert Mtb/Rif Ultra for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children[J]. The Pediatric Infectious Disease Journal, 2018, 37(10):e261-e263.
- [34] SABI I, RACHOW A, MAPAMBA D, et al. Xpert MTB/RIF Ultra assay for the diagnosis of pulmonary TB in children: a multi-centre comparative accuracy study[J]. The Journal of Infection, 2018, 77(4):321-327.
- [35] WU Xiaocui, TAN Guangkun, GAO Rongliang, et al. Assessment of the Xpert MTB/RIF Ultra assay on rapid diagnosis of extrapulmonary tuberculosis[J]. Int J Infect Dis, 2019, 81:91-96.
- [36] PEREZ-RISCO D, RODRIGUEZ-TEMPORAL D, VALLEDOR-SANCHEZ I, et al. Evaluation of the Xpert MTB/RIF Ultra assay for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in smear-negative extrapulmonary samples[J]. J Clin Microbiol, 2018, 56(9): e00659-18.

收稿日期: 2019-10-13

修回日期: 2019-11-10