

· 综述 ·

Xpert MTB/RIF Ultra 在儿童结核病诊断中的应用进展

王亚翠 孙琳 申阿东

【摘要】 儿童结核病临床表现不典型,检测标本中结核分枝杆菌载量低,加之传统实验室检查方法敏感度低且耗时长,使得儿童结核病早期精准诊断面临巨大挑战。新一代 Xpert MTB/RIF Ultra(简称“Xpert Ultra”)方法凭借其较高的检测性能和较短的检测时间,正逐渐引起研究者和临床医生的关注。笔者对 Xpert Ultra 技术在儿童结核病诊断中的应用进行综述,以期儿童结核病诊治提供帮助。

【关键词】 结核; 儿童; 诊断; 核酸扩增技术; 综述文献(主题)

Application progress of Xpert MTB/RIF Ultra assay in tuberculosis diagnosis in children WANG Ya-cui, SUN Lin, SHEN A-dong. Key Laboratory of Major Diseases in Children and National Key Discipline of Pediatrics (Capital Medical University), Ministry of Education, Beijing Key Laboratory of Pediatric Respiratory Infection Diseases, Beijing Pediatric Research Institute, Beijing Children's Hospital, Capital Medical University, Beijing 100045, China
Corresponding authors: SHEN A-dong, Email: shenad16@hotmail.com; SUN Lin, Email: chinatka@163.com

【Abstract】 Accurate diagnosis of tuberculosis timely is challenging in children because of the nonspecific clinical manifestations, low load of *Mycobacterium tuberculosis* in specimens, and insensitive and time-consuming characteristics of traditional diagnostic methods. Xpert MTB/RIF Ultra (Xpert Ultra), a new generation assay of Xpert, is gradually attract the attention of researchers and clinicians due to its superior performance and shorter turnaround time. In this review, the application of Xpert Ultra technology in pediatric tuberculosis was summarized to provide assistant for the diagnosis and treatment.

【Key words】 Tuberculosis; Child; Diagnosis; Nucleic acid amplification techniques; Review literature as topic

儿童结核病存在较多漏诊和误诊且死亡率相对较高,因此,儿童结核病的防控面临着很大的挑战。目前,儿童结核病诊断的传统实验室检测方法如抗酸染色、固体培养或液体培养,敏感度低且耗时长。另外,儿童结核病大多数为原发性肺结核,标本的菌载量较低且不易采集,结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)培养和涂片检查阳性率低,导致儿童结核病早期诊治相对困难。因此,研发更加快速、敏感的检测方法对儿童结核病的早期诊断和及时治疗至关重要。

GeneXpert MTB/RIF(简称“Xpert”)是世界卫生组织(World Health Organization, WHO)推荐用于结核病早期诊断和利福平耐药检测的分子诊断技术。Xpert 检测技术具有较高的敏感度和特异度,并且能够准确、快速检测出 MTB 及其对利福平的耐药性。因此,该技术广泛应用于肺结核和肺外结核的诊断。尽管 Xpert 检测技术具有较高的敏感度,但是在含菌量较少的患者(如儿童结核病患者)中的检测敏感度较低^[1-2],并且对不同类型的肺外结核标本检测敏感度差别较大^[3]。为了进一步提高 Xpert 检测技术的敏感度,新一代的 Xpert MTB/RIF Ultra(简称“Xpert Ultra”)检测技术被研发并应用。该检测技术已经开始应用于成人结核病检测,并且多项研究结果证明其诊断成人结核病的敏感度优于 Xpert 检测^[4-8]。目前, Xpert Ultra 检测技术在儿童结核病诊断中的研究相对较少,为此,笔者对其在此方面的研究及应用进展进行综述。

一、Xpert Ultra 与 Xpert 技术原理对比

2017 年 3 月,WHO 推荐使用新一代的检测方法 Xpert Ultra 替代 Xpert,旨在提高检测敏感度。与 Xpert 相比, Xpert Ultra 检测技术的 PCR 扩增体系由原来的 25 μ l 增加至 50 μ l,并且在 Xpert 检测单个 *ropB* 目的基因的基础上增加检测 2 种多拷贝序列 IS6110 和 IS1081。这些技术的改进使 Xpert Ultra 对 MTB 的检出下限由原来的 112.6 CFU/ml 下降为 15.6 CFU/ml,与 Xpert 相比敏感度提高了 7 倍^[9-10]。



开放科学(资源服务)标识码(OSID)的开放科学计划以二维码为入口,提供丰富的线上扩展功能,包括作者对论文背景的语音介绍、该研究的附加说明、与读者的交互问答、拓展学术圈等。读者“扫一扫”此二维码即可获得上述增值服务。

doi:10.3969/j.issn.1000-6621.2021.08.017

基金项目:“十三五”国家科技重大专项(2018ZX10103001-003)

作者单位:100045 国家儿童医学中心 首都医科大学附属北京儿童医院呼吸疾病研究室 北京市儿科研究所 儿科学国家重点学科教育部儿科重大疾病研究重点实验室 儿童呼吸道感染性疾病研究北京市重点实验室

通信作者:申阿东, Email: shenad16@hotmail.com; 孙琳, Email: chinatka@163.com

此外, Xpert Ultra 检测原理由半定量半巢式循环阈值比较变为半定量巢式 PCR, 并采用了高分辨率熔解曲线技术。改善了 Xpert 检测 *ropB* 基因突变类型中“沉默突变”错误报阳的情况, 重新设计了 *ropB* 基因的分子信标, 提高了利福平耐药相关第 553 位密码子突变检测能力, 以及使 Q513Q、F514F 沉默突变与其他利福平耐药相关的决定区域的突变得以区分, 从而更好地区分 *ropB* 突变种类及在混合感染时检测利福平耐药情况。Xpert Ultra 检测技术的另一个优势是检测时间明显缩短, 报阳和报阴时间由 Xpert 的 110 min 分别缩短至 77 min 和 66 min, 从而有利于患者的快速诊断和及时采取治疗措施^[11]。

二、Xpert Ultra 对儿童结核病诊断的敏感度

(一) Xpert Ultra 检测不同类型标本的敏感度

Xpert Ultra 检测不同类型临床标本的效能不同。在儿童结核病诊断中检测的标本类型包括痰液、胃液、支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF)、鼻咽抽吸物、粪便等。目前以痰标本 Xpert Ultra 检测开展的研究最多。研究表明, 在呼吸道样本中, Xpert Ultra 检测 BALF 的敏感度最高, 胃液和痰液次之, 鼻咽拭子较低^[12-16]。痰液是肺结核诊断应用最广泛的呼吸道样本类型。以痰标本 MTB 培养结果为金标准, Xpert Ultra 检测痰标本诊断肺结核的敏感度为 58%~75%^[12-13, 15, 17]; Meta 分析结果显示, Xpert 检测痰标本诊断肺结核的汇总敏感度约为 62%^[1]。Sun 等^[14]研究显示, 以 MTB 培养或涂片抗酸染色镜检结果为金标准时, Xpert Ultra 检测 BALF 标本诊断肺结核的敏感度可达 91%。Zar 等^[15]研究显示, 以痰培养结果为金标准, Xpert Ultra 检测鼻咽抽吸物诊断肺结核的敏感度为 46%。在消化道样本中, 已有很多研究报道了胃液 Xpert 检测在儿童结核病诊断中的准确性^[18-23]。Detjen 等^[1]荟萃分析显示, Xpert 检测胃液标本诊断肺结核的汇总敏感度为 66%。Sun 等^[16]研究显示, 以 MTB 培养结果为金标准, Xpert Ultra 检测儿童胃液标本诊断肺结核的敏感度可达 87.5%。两项研究评估了 Xpert Ultra 检测儿童粪便标本诊断肺结核的临床应用价值。Kabir 等^[24]研究显示, 以痰 MTB 培养结果为金标准, Xpert Ultra 检测儿童粪便标本诊断肺结核的敏感度优于 Xpert (88.9% vs 77.8%); 该研究中粪便标本 Xpert Ultra 阳性的检测结果中 80% 为“痕量 (trace)”。Liu 等^[25]研究显示, Xpert Ultra 检测粪便和呼吸道样本的一致性可达 84.1%, 检测粪便样本诊断儿童肺结核的敏感度为 45.5%, 与细菌学培养敏感度相同。一篇纳入 9 项研究的 Meta 分析显示, Xpert 检测粪便标本诊断儿童肺结核的汇总敏感度为 67%^[26], 与检测痰标本的诊断敏感度 (62%) 相当^[1]。

(二) Xpert Ultra 诊断培阴涂阴结核病的敏感度

既往研究显示, 结核病患儿培养阳性率约为 30%~40%^[27], 抗酸染色镜检阳性率仅为 6.8%^[28]。因此, 在儿童结核病中也会存在一定比例的培阴涂阴患者。涂阴患者也具有传染性, 约有 10%~20% 结核病患者的传播来源于涂

阴患者^[29], 并且由于缺乏细菌学证据导致误诊误治, 从而使涂阴患者的病死率高达 20%^[30]。加强该部分患儿的早期快速诊断, 对于及早诊治尤为重要。目前, 关于 Xpert Ultra 检测技术在涂阴结核病患者中的应用多集中于成人, Xpert Ultra 诊断成人培阳涂阴肺结核患者的敏感度优于 Xpert, 较 Xpert 提高了 13%~25%^[4-5, 10]。Sabi 等^[13]研究显示, 在 Xpert Ultra 和 Xpert 诊断儿童涂阴肺结核的敏感度分别为 44.4% 和 27.8%, Xpert Ultra 的诊断敏感度明显高于 Xpert。由上述研究结果可知, Xpert Ultra 诊断敏感度相对较好, 有助于患儿的早期诊断和早期治疗, 控制疾病的进展。

(三) Xpert Ultra 检测 MTB/HIV 双重感染的敏感度

结核病是艾滋病患者最常见的机会感染之一, 约占 20%~50%, 艾滋病患者结核病发病率是正常人的 30 倍^[31]。艾滋病并发结核病患者死亡率较高, 特别是儿童患者, 免疫损伤更严重, 导致 MTB 广泛播散、病情进展更快和临床表现复杂。因此, 早期诊断并及时治疗对降低此类患者的死亡率至关重要。Xpert 和 Xpert Ultra 被推荐用于 MTB/HIV 双重感染的检测。2014 年 WHO 出版的《国家结核病规划关于儿童结核病处理指南》建议, 对疑似 HIV 感染的结核病患者, Xpert 可先于培养法和抗酸染色法作为初筛方法^[32]。Meta 分析显示, Xpert 诊断儿童结核病并发 HIV 感染的汇总敏感度为 70%^[1]。Sabi 等^[13]研究表明, Xpert Ultra 检测该类患者的敏感度更高, 较 Xpert 增加了 19%。

三、Xpert Ultra 诊断儿童结核病的特异度

Xpert Ultra 检测在敏感度增高的同时不可避免地会引起特异度降低^[33]。该检测方法的特异度受检测地区结核病发病率及患病人群的影响。在结核病发病率低于 100/10 万的国家或地区, Xpert Ultra 检测的特异度为 99%; 在结核病发病率高于 100/10 万的国家或地区, 其检测特异度为 95%^[2]。结核病发病率高的地区人群有既往结核病病史的比例高, Xpert Ultra 因其检出限较低能够检测到既往感染者体内残存少量的 MTB 核酸, 从而导致其检测特异度降低。Xpert Ultra 检测各种类型标本用于诊断儿童结核病时, 其特异度较为接近, 为 96.9%~99.4%^[12-16], 高于其在成人检测中的特异度^[4]。这可能与成人既往结核病病史比例高于儿童有关 (21% vs 7%)^[33]。

四、Xpert Ultra 在实际应用中的要点

(一) 不同类型标本检测的处理流程及影响因素

痰液、鼻咽抽吸物、BALF 的处理流程类似, 加入标本处理液后振荡并室温孵育后, 加入试剂盒进行检测。胃液标本因为 pH 值较低, 需要加入等体积 1.5% 的氢氧化钠中和胃酸; 振荡并室温孵育, 离心后的沉淀添加标本处理液并加入试剂盒进行检测。粪便标本因含有较多的杂质, 与其他标本处理步骤不同。待测粪便标本加入粪便处理液、标本处理液和玻璃珠振荡混匀并室温孵育, 混合物过滤后才能加入试剂盒进行检测。

如采集的标本 10 d 内进行检测, 则建议放在 2~8 °C 冷藏。如长期储存则建议冷冻保存。在加入标本处理液之后,

如不能立即处理则需要放 $2^{\circ}\text{C}\sim 8^{\circ}\text{C}$ 冷藏,并于 4 h 内加入试剂盒进行检测;如果加入试剂盒后,则需要在 30 min 内上机检测。标本的储存时间是否会影响检出率也存在一些不一致的结论。例如, Singh 等^[34]认为,随着胃液储存时间延长, Xpert 检测的阳性率也下降,在冷冻储存 650~849 d 内,其阳性率为 77.1%,而超过 1050 d 后其阳性率降至 50%。但该研究结果也提示,即使采用冷冻存放 4 年以上的胃液标本,其检出率也可以达到 50%。这可能与分子生物学方法较高的敏感度有关。尽管如此,在有条件的情况下,采集标本后尽快进行检测有助于保证标本的检出效率。

(二) 不同类型样本的选择和联合应用

呼吸道样本中以痰液、BALF、鼻咽拭子使用较多。由于痰标本采集具有无创性,大年龄、能够自主咳痰儿童可优先选择采用痰液进行检测。但是大多数情况下,儿童肺结核患者痰标本获取难度大,不合格率高且含菌量较少,因此,临床广泛探索其他呼吸道标本用于 Xpert Ultra 检测,以期提高检出率。在符合气管镜检查指征且行支气管肺泡灌洗的结核患儿中, BALF 也是非常有效的检测标本。但 BALF 的采集受医院资源设备、医生技术水平等多种因素的影响,在基层医院和疾病高负担国家和地区应用受到一定的限制。另外,鼻咽抽吸物相对容易获取,也可作为无痰患儿的补充样本。

除外呼吸道样本,消化道样本中胃液和粪便也是儿童结核病诊断的重要样本类型。儿童因其生理特点无法咳出呼吸道分泌物,而通过吞咽活动将含有 MTB 的分泌物咽入消化道,在其胃液和粪便标本中可检测到 MTB,因此,适用于排痰困难的儿童。胃液一直被国内外推荐作为住院儿童进行病原体检测的标本类型。例如,德国 50% 以上的肺结核患儿都是采用胃液 MTB 培养得以确诊^[35]。Meta 分析和临床研究的数据也都显示, Xpert 和 Xpert Ultra 检测胃液、粪便与呼吸道标本的敏感度接近,甚至略高,均在 60% 以上^[1,25-26]。研究显示,消化道标本检出的阳性率随年龄逐渐下降^[16,35],在小于 1 岁患儿中检出率最高^[35],提示胃液标本在咳痰困难的小年龄患儿中诊断价值更高。

因此, Xpert Ultra 检测技术用于儿童肺结核诊断时,首先应考虑无创性痰标本和鼻咽抽吸物进行检测。如果患儿不能自主排痰,或者痰液标本质量无法达到检测要求时,可选择胃液标本。其次,粪便标本也是很好的补充标本类型,但目前仍需要进一步的验证。在满足纤维支气管镜检查适应证且条件允许时,可考虑 BALF 检测。

Zar 等^[15]指出,2 次鼻咽抽吸物取样用于 Xpert Ultra 检测可将其敏感度增加至 54%;单次痰标本联合单次鼻咽抽吸物进行检测, Xpert Ultra 的敏感度可高达 80%;单次痰标本联合 2 次鼻咽抽吸物进行检测, Xpert Ultra 的敏感度可升高至 87%。虽然 Xpert Ultra 检测鼻咽抽吸物的敏感度低于痰标本,但是多次取样及联合多种不同类型标本进行检测也可以提高其对 MTB 的检出率。因此,针对诊断困难的儿童结核病患者,尤其是培阴涂阴结核病和结核病并发 HIV

感染的患儿,选择敏感度高的分子生物学方法可提高检出率,而且多次取样和联合多种标本同时进行检测也可有效提高其诊断效能。

(三) Xpert Ultra 的痕量结果判读

Xpert Ultra 检测结果在 Xpert 的基础上增加了“痕量”这一项。“痕量”结果被认为是导致 Xpert Ultra 检测特异度降低的主要原因,通常代表无活力的细菌,尤其在有近期结核病病史的人群中^[9]。然而,由于儿童结核病患者 MTB 载量较低,在儿童中 Xpert Ultra 检测结果为“痕量”的患者多数可诊断为结核病^[13-15]。成人有结核病病史的比例高于儿童,如果将成人 Xpert Ultra 检测为“痕量”患者视为阳性,则容易出现假阳性。为了解决这一问题,研究者将 Xpert Ultra 检测“痕量”结果给出了 3 种解读方案:一是直接将检测结果划分为阴性结果;二是将有结核病病史且出现“痕量”结果的患者视为阴性;三是重新采集标本再进行 Xpert Ultra 检测,如果第 2 次检测结果为阴性则视为阴性患者,如果第 2 次检测结果为阳性则视为阳性患者^[4]。研究表明,第 1 种方案的 Xpert Ultra 检测特异度最高,但是以该分类分析 Xpert Ultra 检测敏感度也会随之下降;第 2、3 种方案在提高 Xpert Ultra 检测特异度的同时也维持了相对较高的敏感度^[4]。

综上所述, Xpert Ultra 检测可以明显提高儿童结核病患者,以及临床难以诊断的涂阴肺结核患者、结核病并发 HIV 感染等载菌量较低患者的检出率。目前,在儿童群体中 Xpert Ultra 检测主要应用于肺结核的诊断,并且当前所用标本多为呼吸道标本和胃液标本。未来,还需要评估 Xpert Ultra 用于肺外结核诊断的临床应用价值,探讨其对不同类型标本的检测效能。

参 考 文 献

- [1] Detjen AK, DiNardo AR, Leyden J, et al. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Respir Med*, 2015, 3(6): 451-461. doi:10.1016/S2213-2600(15)00095-8.
- [2] Steingart KR, Schiller I, Horne DJ, et al. Xpert MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014, 2014(1): CD009593. doi:10.1002/14651858.CD009593.pub3.
- [3] Kohli M, Schiller I, Dendukuri N, et al. Xpert® MTB/RIF assay for extrapulmonary tuberculosis and rifampicin resistance. *Cochrane Database Syst Rev*, 2018, 8(8): CD012768. doi:10.1002/14651858.CD012768.pub2.
- [4] Dorman SE, Schumacher SG, Alland D, et al. Xpert MTB/RIF Ultra for detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampicin resistance: a prospective multicentre diagnostic accuracy study. *Lancet Infect Dis*, 2018, 18(1): 76-84. doi:10.1016/S1473-3099(17)30691-6.
- [5] Opota O, Zakhm F, Mazza-Stalder J, et al. Added value of Xpert MTB/RIF Ultra for diagnosis of pulmonary tuberculosis in a low-prevalence setting. *J Clin Microbiol*, 2019, 57(2): e01717-18. doi:10.1128/JCM.01717-18.
- [6] Moure R, Martin R, Alcaide F. Effectiveness of an integrated real-time PCR method for detection of the *Mycobacterium tuberculosis* complex in smear-negative extrapulmonary samples in

- an area of low tuberculosis prevalence. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(2):513-515. doi:10.1128/JCM.06467-11.
- [7] Ullah I, Javaid A, Masud H, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampicin resistance in extrapulmonary tuberculosis and sputum smear-negative pulmonary suspects using Xpert MTB/RIF. *J Med Microbiol*, 2017, 66(4): 412-418. doi:10.1099/jmm.0.000449.
 - [8] Zeka AN, Tasbakan S, Cavusoglu C. Evaluation of the GeneXpert MTB/RIF assay for rapid diagnosis of tuberculosis and detection of rifampin resistance in pulmonary and extrapulmonary specimens. *J Clin Microbiol*, 2011, 49(12): 4138-4141. doi:10.1128/JCM.05434-11.
 - [9] World Health Organization. Non-inferiority analysis of Xpert MTB/RIF Ultra compared to Xpert MTB/RIF. Geneva: World Health Organization, 2017.
 - [10] Chakravorty S, Simmons AM, 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. *mBio*, 2017, 8(4): e00812-17. doi:10.1128/mBio.00812-17.
 - [11] Donovan J, Thu DDA, Phu NH, et al. Xpert MTB/RIF Ultra versus Xpert MTB/RIF for the diagnosis of tuberculous meningitis: a prospective, randomised, diagnostic accuracy study. *Lancet Infect Dis*, 2020, 20(3): 299-307. doi:10.1016/S1473-3099(19)30649-8.
 - [12] Nicol MP, Workman L, Prins M, et al. Accuracy of Xpert Mtb/Rif Ultra for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children. *Pediatr Infect Dis J*, 2018, 37(10): e261-e263. doi:10.1097/INF.0000000000001960.
 - [13] Sabi I, Rachow A, Mapamba D, et al. Xpert MTB/RIF Ultra assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children: a multicentre comparative accuracy study. *J Infect*, 2018, 77(4): 321-327. doi:10.1016/j.jinf.2018.07.002.
 - [14] Sun L, Qi X, Liu F, et al. A Test for More Accurate Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis. *Pediatrics*, 2019, 144(5): e20190262. doi:10.1542/peds.2019-0262.
 - [15] Zar HJ, Workman LJ, Prins M, et al. Tuberculosis Diagnosis in Children Using Xpert Ultra on Different Respiratory Specimens. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 200(12): 1531-1538. doi:10.1164/rccm.201904-0772OC.
 - [16] Sun L, Zhu Y, Fang M, et al. Evaluation of Xpert MTB/RIF Ultra Assay for Diagnosis of Childhood Tuberculosis: a Multi-center Accuracy Study. *J Clin Microbiol*, 2020, 58(9): e00702-20. doi:10.1128/JCM.00702-20.
 - [17] Ssengooba W, Iragena JD, Nakiyingi L, et al. Accuracy of Xpert Ultra in Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis among Children in Uganda: a Substudy from the SHINE Trial. *J Clin Microbiol*, 2020, 58(9): e00410-20. doi:10.1128/JCM.00410-20.
 - [18] 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. *Lancet Infect Dis*, 2013, 13(1): 36-42. doi:10.1016/S1473-3099(12)70245-1.
 - [19] Causse M, Ruiz P, Gutiérrez-Aroca JB, et al. Comparison of two molecular methods for rapid diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol*, 2011, 49(8): 3065-3067. doi:10.1128/JCM.00491-11.
 - [20] Nhu NT, Ha DT, Anh ND, et al. Evaluation of Xpert MTB/RIF and MODS assay for the diagnosis of pediatric tuberculosis. *BMC Infect Dis*, 2013, 13: 31. doi:10.1186/1471-2334-13-31.
 - [21] Tortoli E, Russo C, Piersimoni C, et al. Clinical validation of Xpert MTB/RIF for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *Eur Respir J*, 2012, 40(2): 442-447. doi:10.1183/09031936.00176311.
 - [22] Chisti M, Graham SM, Duke T, et al. A prospective study of the prevalence of tuberculosis and bacteraemia in Bangladeshi children with severe malnutrition and pneumonia including an evaluation of Xpert MTB/RIF assay. *PLoS One*, 2014, 9(4): e93776. doi:10.1371/journal.pone.0093776.
 - [23] Walters E, Gie RP, Hesselning AC, et al. Rapid diagnosis of pediatric intrathoracic tuberculosis from stool samples using the Xpert MTB/RIF Assay: a pilot study. *Pediatr Infect Dis J*, 2012, 31(12): 1316. doi:10.1097/INF.0b013e318266c21c.
 - [24] Kabir S, Rahman SMM, Ahmed S, et al. Xpert Ultra assay on stool to diagnose pulmonary tuberculosis in children [J/OL]. *Clin Infect Dis*, 2020 [2021-03-08]. doi:10.1093/cid/ciaa583. Online ahead of print.
 - [25] Liu XH, Xia L, Song B, et al. Stool-based Xpert MTB/RIF Ultra assay as a tool for detecting pulmonary tuberculosis in children with abnormal chest imaging: A prospective cohort study. *J Infect*, 2021, 82(1): 84-89. doi:10.1016/j.jinf.2020.10.036.
 - [26] MacLean E, Sulis G, Denking CM, et al. Diagnostic Accuracy of Stool Xpert MTB/RIF for Detection of Pulmonary Tuberculosis in Children: a Systematic Review and Meta-analysis. *J Clin Microbiol*, 2019, 57(6): e02057-18. doi:10.1128/JCM.02057-18.
 - [27] Lange C, Abubakar I, Alffenaar JW, et al. Management of patients with multidrug-resistant/extensively drug-resistant tuberculosis in Europe: a TBNET consensus statement. *Eur Respir J*, 2014, 44(1): 23-63.
 - [28] Kunkel A, Wiesch PA, Nathavitharana RR, et al. Smear positivity in paediatric and adult tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*, 2016, 16(1): 282. doi:10.1183/09031936.00188313.
 - [29] Tostmann A, Kik SV, Kalisvaart NA, et al. Tuberculosis transmission by patients with smear-negative pulmonary tuberculosis in a large cohort in the Netherlands. *Clin Infect Dis*, 2008, 47(9): 1135-1142. doi:10.1086/591974.
 - [30] Rebouças MC, Silva MOD, Haguithara T, et al. Tuberculosis incidence among people living with HIV/AIDS with virological failure of antiretroviral therapy in Salvador, Bahia, Brazil. *Braz J Infect Dis*, 2017, 21(5): 562-566. doi:10.1016/j.bjid.2017.05.005.
 - [31] Myo K, Zaw M, Swe TL, et al. Evaluation of Xpert® MTB/RIF assay as a diagnostic test for pulmonary tuberculosis in children in Myanmar. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2018, 22(9): 1051-1055. doi:10.5588/ijtld.18.0024.
 - [32] World Health Organization. Guidance for national tuberculosis programmes on the management of tuberculosis in children. 2nd ed. Geneva: World Health Organization, 2014.
 - [33] World Health Organization. Global tuberculosis report 2016. Geneva: World Health Organization, 2016.
 - [34] Singh S, Singh A, Prajapati S, et al. Xpert MTB/RIF assay can be used on archived gastric aspirate and induced sputum samples for sensitive diagnosis of paediatric tuberculosis. *BMC Microbiol*, 2015, 15:191. doi:10.1186/s12866-015-0528-z.
 - [35] Fiebig L, Hauer B, Brodhun B, et al. Bacteriological confirmation of pulmonary tuberculosis in children with gastric aspirates in Germany, 2002–2010. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2014, 18(8): 925-930. doi:10.5588/ijtld.13.0578.

(收稿日期:2021-03-08)

(本文编辑:李敬文)