

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2017.08.022

· 综述 ·

Xpert MTB/RIF 试验快速诊断结核病的研究进展

Advances in rapid diagnosis of tuberculosis by Xpert MTB/RIF test

付沛文(FU Pei-wen)¹, 李世宝(LI Shi-bao)^{1,2}, 李洪春(LI Hong-chun)^{1,2}, 顾兵(GU Bing)^{1,2}

(1 徐州医科大学医学技术学院, 江苏 徐州 221004; 2 徐州医科大学附属医院, 江苏 徐州 221002)

(1 College of Medical Technology, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, China; 2 Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221002, China)

[关键词] 结核病; Xpert MTB/RIF 试验; 诊断效能

[中图分类号] R521 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9638(2017)08-0779-05

结核病是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)感染引起的慢性传染病, 仍然是全世界公共卫生面临的重大威胁。据世界卫生组织统计^[1-2], 我国 2014 年的新发肺结核人数位居全球第三位, 是 22 个全球结核病高负担国家之一。目前肺结核的诊断主要依靠痰涂片抗酸染色, 但由于痰涂片对标本的含菌量要求高, 导致其诊断结核病的敏感度较低。诊断结核病的金标准是 MTB 培养^[3], 由于 MTB 生长缓慢的习性, 导致培养所需时间较长(2~6 周), 仅用 MTB 培养诊断结核病可能延误治疗。耐多药结核病的传统诊断方法是药物敏感试验^[4], 该方法有对实验室要求高及耗时长缺点。因此, 寻求快速诊断结核病和耐多药结核病的方法成为控制结核病的重点。近些年涌现出许多基于分子生物学或免疫学的方法, 利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测技术(Xpert MTB/RIF)就是其中最具有应用前景的方法之一。本文就 Xpert MTB/RIF 的发展、应用现状以及对特殊人群的诊断价值进行综述。

1 Xpert MTB/RIF 检测方法的发展

Xpert MTB/RIF 试验以半巢式实时荧光定量 PCR 技术为基础, rpoB 基因为靶基因, 系统自动运行并检测标本中是否含有结核分枝杆菌, 以及利福

平是否耐药, 全程约 2 h。1998 年, Piatek 等^[5]首先提出以分子信标技术为基础, 以 rpoB 基因为靶基因对结核分枝杆菌进行检测的试验模型, 随后有多位研究者将分子信标技术应用于耐药结核菌株的检测^[6-7]。全自动快速分子病原学诊断检测系统 Gene Xpert 平台由美国国防部资助研发, 2009 年美国 Cepheid 公司在 Gene Xpert PCR 平台基础上成功研发出一种应用于结核病诊断领域的新技术——Xpert MTB/RIF 技术, 包括 Gene Xpert PCR 平台和 Xpert MTB/RIF 诊断试剂盒。2010 年 12 月, 世界卫生组织(WHO)首次向国际社会推荐将 Xpert MTB/RIF 用于结核病和利福平耐药快速检测, 并组织专家组对该技术检测的准确性进行综述性分析, 于 2011 年初推出关于 Xpert MTB/RIF 应用的政策性指南^[8], 对其进行重点推广。

1.1 测定原理 Xpert MTB/RIF 试验以半巢式实时定量 PCR 技术为基础, 以 rpoB 基因为靶基因, 设计出 5 个相互重叠的分子探针(分别以探针 A~E 命名)选择性覆盖 rpoB 基因的 81 bp 核心区, 同时根据球芽孢杆菌的基因组设计 1 条对照探针, 通过这条探针的荧光显示结果对标本中的结核分枝杆菌及对利福平的耐药情况进行检测, 具体理论基础如下。

1.1.1 rpoB 基因在同一菌种中高度保守 分枝杆菌的 rpoB 基因为分枝杆菌依赖 DNA 的 RNA 聚合

[收稿日期] 2017-04-20

[基金项目] 江苏省“教科强卫”医学重点人才项目(ZDRCA2016053)

[作者简介] 付沛文(1995-), 女(汉族), 江苏省淮安市人, 医学生, 主要从事细菌病原体感染研究。

[通信作者] 顾兵 E-mail: gb20031129@163.com

酶 β 亚单位的编码基因, rpoB 基因同时具有保守序列和可变序列, 具有显著的种间相似度和种内相似度高特点, 利用 rpoB 基因的保守序列和可变序列, 可以对分枝杆菌进行菌种鉴定。

1.1.2 MTB 对利福平的耐药机制由 rpoB 基因的点突变造成 利福平的作用机制是与结核分枝杆菌 DNA 依赖的 RNA 聚合酶中的 β 亚基结合, 干扰转录的开始和 RNA 的延长而引起抗菌作用, rpoB 基因的突变可导致利福平无法与 β 亚基结合而失效。

此外, 由于大部分利福平耐药菌株同时对异烟肼耐药, 故利福平耐药情况在一定程度上可作为耐多药结核病的监测指标^[9]。

1.2 试验方法 将不同标本按相应预处理方法处理后, 取 2 mL 所得混合液转移至一次性多室塑料反应盒中。样品自动洗涤和过滤, 自动超声破碎样品, 释放核酸, DNA 与 PCR 试剂混合, 半巢式荧光定量 PCR 扩增和检测, 打印结果。不同类型临床标本预处理方法^[10], 见表 1。

表 1 Xpert MTB/RIF 试验中不同临床标本的预处理方法

标本类型	预处理方法
可能含杂菌的标本(痰、粪、鼻咽拭子、支气管肺泡灌洗液、尿、脓液)	标本处理液为氢氧化钠与异丙醇, 通常将标本与处理液按 1:2 混合(若混合液黏稠, 可适当加大比例至呈无悬浮物液体), 充分震荡, 使痰充分匀化, 静置 15 min
无杂菌污染标本(脑脊液、胸腹腔积液、关节腔积液、淋巴结组织抽出物)	(1) 无菌液体标本: 取适量无菌液体标本直接加入等量的标本处理液制成混合液, 无需震荡, 静置。若标本量 >5 mL, 经 3 000 g 离心 15 min 后, 弃去上清液, 取沉淀做相同处理。(2) 块状组织标本: 将组织匀质化处理, 加入大约 2 mL 无菌磷酸盐缓冲液(PBS), 研磨混合液直至得到均匀悬浮液, 用移液管吸取约 0.7 mL 的均质悬浮组织液至无菌的锥形螺旋帽管, 用移液管吸取 2 倍的标配处理液至均质悬浮组织液中, 大力摇晃试管 10~20 次或涡旋至少 10 s, 在室温条件下静置 10 min 然后再大力摇标本 10~20 次或涡旋至少 10 s, 在室温下再次静置样品 5 min

1.3 结果判读 结果判读依照探针的循环阈值(Ct 值), 当内对照探针(即芽孢杆菌内对照)的 Ct 值 ≤ 38 时为阳性, 反之则为无效, 提示标本提取不合格或含有 PCR 抑制物。MTB 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 值对标本中的 MTB 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。检测利福平耐药的基础在于 MTB 特异性分子信标早期 Ct 值与晚期 Ct 值之差, 即 ΔCt 值。系统设置的结果判断标准为: ΔCt > 3.5 提示对利福平耐药, ΔCt ≤ 3.5 提示对利福平敏感。由于终止循环数为 38 个循环, 因此, 当早期探针 Ct 值 >

34.5 或晚期探针 > 38 时, 利福平耐药结果不确定。

2 MTB/RIF 试验对不同临床标本的诊断效能

研究表明, Xpert MTB/RIF 试验对肺结核的诊断价值已经逐步得到证实^[11-12], 其中痰标本敏感度最高可达 97.50%, 特异度在 95.00%~99.00%; 但对肺外结核诊断研究尚不一致, 敏感度欠佳, 但是具有较高的特异度, 即在确诊肺外结核方面具有较高的价值。国内外 Xpert MTB/RIF 试验与涂片显微镜检查针对不同类型临床标本检测效能(以细菌培养结果为金标准)^[13-22], 见表 2。

表 2 不同类型临床标本 Xpert MTB/RIF 试验与涂片显微镜检查的敏感性与特异性(%)

标本类型	Xpert MTB/RIF 检测		涂片显微镜检查	
	敏感性	特异性	敏感性	特异性
可能含杂菌标本				
痰	78.66(822/1 045)	98.67(888/900)	75.60(790/1 045)	98.67(888/900)
粪便	85.71(48/56)	100.00(37/37)	46.43(26/56)	94.59(35/37)
鼻咽拭子	65.08(41/63)	99.48(192/193)	34.48(30/87)	100.00(193/193)
支气管肺泡灌洗液	90.00(18/20)	99.03(102/103)	57.69(15/26)	99.21(126/127)
尿	88.24(15/17)	100.00(218/218)	-	-
脓液	93.88(46/49)	96.88(31/32)	26.00(13/50)	100.00(10/10)
无杂菌污染标本				
脑脊液	55.56(25/45)	99.57(687/690)	-	-
胸腹腔积液	54.76(23/42)	100.00(119/119)	9.52(4/42)	100.00(119/119)
关节腔积液	68.97(20/29)	90.00(18/20)	17.24(5/29)	85.00(17/20)
淋巴结组织抽出物	87.78(79/90)	91.11(41/45)	26.14(23/88)	94.00(47/50)

3 Xpert MTB/RIF 试验在特殊人群中结核病诊断价值

2015 年,世界范围内估计有 1 040 万新发结核病病例,其中成人患者中男性 590 万(56.73%),女性 350 万(33.65%);儿童 100 万(9.62%)。新发病例中有 120 万(11.54%)人类免疫缺陷病毒(HIV)感染患者^[2]。国内外研究^[23-25]证实,Xpert MTB/RIF 试验在成年人及未感染 HIV 的患者中有较高的敏感性和特异性,而在儿童结核病以及结核合并 HIV 感染者中的应用价值尚在研究阶段。

3.1 Xpert MTB/RIF 试验在儿童结核病诊断中的应用 儿童是结核菌的主要易感者,少数感染严重的儿童,会发生急性血行播散型结核病和结核性脑膜炎等严重疾病,危及儿童健康和生命。每年约有 7.4 万例 HIV 阴性患儿死于结核病^[26]。早期发现和早期治疗儿童原发型肺结核对进一步降低结核病死亡率有重要意义。结核患儿细菌载量低于成人患者,病灶部位常伴有明显炎性渗出,排菌量低,且婴幼儿排痰困难,常将痰液咽下,涂片镜检在儿童标本中的阳性率不足 15%^[27]。Singh 等^[28]报道了 2009—2012 年 Xpert MTB/RIF 试验在印度地区儿童结核病中的应用情况,以培养为金标准,胃液标本敏感性和特异性分别为 67.5%和 89.6%,痰标本为 70.0%和 94.3%。国内张爱梅等^[29]研究中胃液标本和痰标本的敏感性分别为 33.3%和 57.1%,低于印度地区,但两种标本特异性较高,均为 100%。Tortoli 等^[30]通过对 494 份儿童非呼吸道标本(包括组织活检、脓液、胃肠道抽吸物、尿和脑脊液)的检测用于诊断肺外结核,发现其敏感性达到 86.9%,结果略高于成人。Xpert MTB/RIF 试验对儿童结核病的诊断价值尚需更多的研究证实并推广。

3.2 Xpert MTB/RIF 试验在筛查 HIV 感染结核病患者中的应用 HIV 感染者与艾滋病(AIDS)患者由于处于免疫妥协状态,多表现为肺外结核和涂阴肺结核,目前诊断潜伏性 MTB 感染的检测手段敏感度欠佳,漏诊率较高。MTB 感染导致机体免疫应答反应以细胞免疫为主,但对于 HIV 感染者与 AIDS 患者来说,不同的免疫缺陷程度影响着潜伏性感染检测手段的应答反应。研究^[31]表明在高 MTB 感染的流行区域,PPD 试验阳性的发生率在 HIV 感染者与非 HIV 感染者人群之间有明显差异,只有当 CD4+淋巴细胞计数 >500 个/ μL 时,两组发生率是相似的。研究显示 CD4+淋巴细胞

计数对 PPD 试验和 T-SPOT 这两种检测方法的检测结果均起重要作用,其阳性率与 CD4+淋巴细胞计数呈正比,且认为,相较于 PPD 试验而言,T-SPOT 受 CD4+淋巴细胞计数的影响更小^[32]。Carriquiry 等^[33]对 131 例临床高度怀疑结核病的 HIV 感染者进行 Xpert MTB/RIF 试验检测,并与改良罗氏培养和液体培养方法比较,结果显示,Xpert MTB/RIF 试验的敏感性高达 97.8%,特异性为 97.7%;阳性预测值为 95.7%,阴性预测值为 98.8%。一项由多国共同参与的结核病防治项目数据显示^[34],Xpert MTB/RIF 试验在 HIV 感染者中的敏感性(82.4%)与非 HIV 感染者(90.7%)比较,差异无统计学意义($P>0.05$),而在同时进行的痰涂片显微镜检测中,HIV 感染者的敏感性为 44.6%;非 HIV 感染者敏感性为 68.6%。因此,WHO 建议,Xpert MTB/RIF 试验可作为 HIV 感染者及 AIDS 患者结核病筛查的首选方法。

4 Xpert MTB/RIF 试验用于疗效监测的新进展

2013 年,Friedrich 等^[35]招募 221 例 MTB 涂片阳性患者接受结核抗菌药物治疗,并在治疗开始的第 0~8 周每周获取合格痰标本,利用 Xpert MTB/RIF 测定 MTR 特异性 DNA 测序,随后在第 12、17、22、26 周做相同操作,并将结果与镜下涂片和细菌培养进行比较,结果显示 Xpert MTB/RIF 试验相比于以上两种方法,有较高的灵敏度(95%CI:95.8%~97.9%)和较低的特异度(95%CI:45.0%~52.2%)。作者认为 Xpert MTB/RIF 技术无法识别细菌存活状态,在结核疗效监测过程中假阳性率较高,特异度较低,因此,不宜用于 MTB 治疗过程的疗效监测。

目前有新的研究^[36]认为,Friedrich 等将 Xpert 结果仅以“DNA 检出”或“DNA 未检出”作为二元指标进行疗效监测存在一定的缺陷。Xpert 能揭示循环阈值(Ct)中的定量输出,进而可纵向动态检测痰液中杆菌的载荷量。结果显示,采用非线性混合效应模型来表明纵向 Ct 数据与利福喷丁暴露量之间的关系(浓度-时间曲线下面积[AUC]),利福喷丁药物暴露量每增加 100 mcg * h/mL,Ct 斜率约上升 0.11Ct/周(95%CI:0.05-0.17),利福喷丁暴露量(未分配剂量)与 Ct 变化率相关($P=0.02$);此外,研究还发现利福喷丁用药量增加与 Xpert Ct 变化率加快(表明结核分枝杆菌 DNA 清除加快)有

关^[36]。目前临床上无统一有效的肺结核病疗效评价标准,此类研究为 Xpert MTB/RIF 试验用于结核病疗效监测提供了新思路。

5 展望

目前,世界上许多国家已经开展了 Xpert MTB/RIF 试验。该方法具有高度敏感性和特异性、快速简单、交叉污染少、能同时检测利福平耐药菌株等优点,使之有望在全球范围内得到广泛应用。但是,Xpert MTB/RIF 试验检测成本较高;标本中一些非结核分枝杆菌的耐药基因与 MTB 耐药基因存在一定同源性,使得检测利福平耐药时可出现假阳性结果;且中国大部分地区以异烟肼耐药为主,而该方法不能直接检测 MTB 异烟肼耐药,只能在一定程度上作为耐多药结核病的监测指标。但其有助于临床上早期快速诊断结核病,更早撤除阴性患者的空气传播隔离,快速识别真正需要隔离的患者,医院可以锁定目标、集中资源,最有效地控制感染。

[参考文献]

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2015 [M]. Geneva: WHO, 2015.
- [2] World Health Organization. Global tuberculosis report 2016 [M]. Geneva: WHO, 2016.
- [3] 中华医学会结核病学分会. 肺结核诊断和治疗指南[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2001, 24(2): 70-74.
- [4] 王黎霞. 结核分枝杆菌药物敏感性实验标准化操作程序及质量保证手册[M]. 北京:人民卫生出版社, 2013:1-40.
- [5] Piatek AS, Tyagi S, Pol AC, et al. Molecular beacon sequence analysis for detecting drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Nat Biotechnol, 1998, 16(4): 359-363.
- [6] Piatek AS, Telenti A, Murray MR, et al. Genotypic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* in two distinct populations using molecular beacons: implications for rapid susceptibility testing[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44(1): 103-110.
- [7] El-Hajj HH, Marras SA, Tyagi S, et al. Detection of rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* in a single tube with molecular beacons[J]. J Clin Microbiol, 2001, 39(11): 4131-4137.
- [8] World Health Organization. Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF system. Policy statement[EB/OL]. (2011-04)[2014-02]. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44586/1/9789241501545_eng.pdf?ua=1&ua=1.
- [9] Mokrousov I, Otten T, Vyshnevskiy B, et al. Allele-specific *rpoB* PCR assay for detection of rifampin-resistance *Mycobacterium tuberculosis* in sputum smears[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47(7): 2231-2235.
- [10] World Health Organization. Xpert MTB/RIF implementation manual: technical and operational 'how-to'; practical considerations[M]. Geneva: WHO, 2014.
- [11] Chang K, Lu W, Wang J, et al. Rapid and effective diagnosis of tuberculosis and rifampicin resistance with Xpert MTB/RIF assay: a meta-analysis[J]. J Infect, 2012, 64(6): 580-588.
- [12] 李妍, 张天华, 鲜小萍, 等. Xpert MTB/RIF 检测技术诊断肺结核和肺外结核的价值[J]. 中国防痨杂志, 2015, 37(6):586-589.
- [13] 李辉, 谭耀驹, 李洪敏, 等. 利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测技术的诊断效果对比研究[J]. 中国防痨杂志, 2014, 36(6):472-476.
- [14] Kokuto H, Sasaki Y, Yoshimatsu S, et al. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) in fecal specimens from adults diagnosed with pulmonary tuberculosis using the Xpert MTB/rifampicin test[J]. Open Forum Infect Dis, 2015, 2(2): ofv074.
- [15] Zar HJ, Workman L, Isaacs W, et al. Rapid molecular diagnosis of pulmonary tuberculosis in children using nasopharyngeal specimens[J]. Clin Infect Dis, 2012, 55(8): 1088-1095.
- [16] Theron G, Peter J, Meldau R, et al. Accuracy and impact of Xpert MTB/RIF for the diagnosis of smear-negative or sputum-scarce tuberculosis using bronchoalveolar lavage fluid[J]. Thorax, 2013, 68(11): 1043-1051.
- [17] Gu Y, Wang G, Dong W, et al. Xpert MTB/RIF and GenoType MTBDRplus assays for the rapid diagnosis of bone and joint tuberculosis[J]. Int J Infect Dis, 2015, 36: 27-30.
- [18] Mazzola E, Arosio M, Nava A, et al. Performance of real-time PCR Xpert MTB/RIF in diagnosing extrapulmonary tuberculosis[J]. Infez Med, 2016, 24(4): 304-309.
- [19] Pink F, Brown TJ, Kranzer K. Evaluation of Xpert MTB/RIF for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in cerebrospinal fluid[J]. J Clin Microbiol, 2016, 54(3): 809-811.
- [20] Rufai SB, 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.
- [21] 唐恺, 董伟杰, 兰汀隆, 等. 应用 Xpert MTB/RIF 技术快速诊断膝关节结核[J]. 中国防痨杂志, 2016, 38(4):300-304.
- [22] Tadesse M, Abebe G, Abdissa K, et al. GeneXpert MTB/RIF assay for the diagnosis of tuberculous lymphadenitis on concentrated fine needle aspirates in high tuberculosis burden settings[J]. PLoS One, 2015, 10(9): e0137471.
- [23] Akkerman OW, van der Werf TS, de Boer M, et al. Comparison of 14 molecular assays for detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in bronchoalveolar lavage fluid[J]. Clin Microbiol, 2013, 51(11): 3505-3511.

- [24] Kayigire XA, Friedrich SO, Venter A, et al. Direct comparison of Xpert MTB/RIF assay with liquid and solid mycobacterial culture for quantification of early bactericidal activity[J]. Clin Microbiol, 2013, 51(6): 1894 - 1898.
- [25] Hu P, Bai L, Liu F, et al. Evaluation of the Xpert MTB/RIF assay for diagnosis of tuberculosis and rifampin resistance in county-level laboratories in Hunan province, China[J]. Chin Med J (Engl), 2014, 127(21): 3744 - 3750.
- [26] Chisti MJ, 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[J]. PLoS One, 2014, 9(4): e93776.
- [27] Nhu NT, Ha DT, Anh ND, et al. Evaluation of Xpert MTB/RIF and MODS assay for the diagnosis of pediatric tuberculosis[J]. BMC Infect Dis, 2013, 13: 31.
- [28] 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[J]. BMC Microbiol, 2015, 15:191.
- [29] 张爱梅, 李锋, 刘旭晖, 等. 利福平耐药实时荧光定量核酸扩增技术在儿童结核病快速检测中的应用[J]. 中华儿科杂志, 2016, 54(5):370 - 374.
- [30] Tortoli E, Russo C, Piersimoni C, et al. Clinical validation of Xpert MTB/RIF for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis[J]. Eur Respir J, 2012, 40(2): 442 - 447.
- [31] Garcia-Garcia ML, Valdespino-Gómez JL, Garcia-Sancho C, et al. Underestimation of *Mycobacterium tuberculosis* infection in HIV-infection subjects using reactivity to tuberculin and anergy panel[J]. Int J Epidemiol, 2000, 29(2): 369 - 375.
- [32] Yang CH, Chan PC, Liao ST, et al. Strategy to better select HIV-infected individuals for latent TB treatment in BCG-vaccinated population[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e73069.
- [33] Carriquiry G, Otero L, González-Lagos E, et al. A diagnostic accuracy study of Xpert? MTB/RIF in HIV-positive patients with high clinical suspicion of pulmonary tuberculosis in Lima, Peru[J]. PLoS One, 2012, 7(9): e44626.
- [34] Boehme CC, Nicol MP, Nabeta P, et al. Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentralised use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance: a multicentre implementation study[J]. Lancet, 2011, 377(9776): 1495 - 1505.
- [35] Friedrich SO, Rachow A, Saathoff E, et al. Assessment of the sensitivity and specificity of Xpert MTB/RIF assay as an early sputum biomarker of response to tuberculosis treatment [J]. Lancet Respir Med, 2013, 1(6): 462 - 470.
- [36] Jayakumar A, Savic RM, Everett CK, et al. Xpert MTB/RIF assay shows faster clearance of *Mycobacterium tuberculosis* DNA with higher levels of rifampentine exposure[J]. J Clin Microbiol, 2016, 54(12): 3028 - 3033.

(本文编辑:陈玉华)