

结核病临床诊治进展年度报告(2014 年)

(第一部分 结核病临床诊断)

中国防痨协会结核病临床专业委员会

编者按 柳绿花红又一春,《结核病临床诊治进展年度报告(2014)》(简称“年度报告(2014)”)在春天里萌发面世。这是由中国防痨协会结核病临床专业委员会组织编纂的《结核病临床诊治进展年度报告》的第四卷本。“年度报告(2014)”反映 2014 年 1 月 1 日至 2014 年 12 月 31 日期间国内外公开发表的结核病临床诊治及相关领域的文献。近 50 位编撰者参阅国内外医学期刊计 200 余种,萃取精华文献共 500 余篇,其中英文 330 余篇、中文 170 余篇,总字数达 13.5 万余。编写者在解读的基础上进行提炼升华,全面、系统地记载了 2014 年国内外结核病临床诊治领域年度发展状况,客观、准确地分析了 2014 年度国际结核病临床诊治的最新进展。

“年度报告(2014)”内容仍然分为结核病临床诊断和结核病临床治疗两大部分,共计 13 章。根据查新与检索结果,“年度报告(2014)”在《结核病临床诊治进展年度报告(2013)》的基础上新增糖尿病合并结核病等的治疗章节。纵观 2014 年度国内外结核病诊断和治疗的研究,进展依然迅速、亮点纷呈。在诊断方面,分子生物学诊断技术,尤其是 Xpert Mtb/RIF 技术在结核病和利福平耐药结核病的诊断中发挥着越来越大的作用,无疑是 2014 年结核病诊断最耀眼的技术。在治疗方面,敏感结核病化疗方案是 2014 年国际结核病防治专家研究和关注的最热点。特殊人群结核病的治疗一直是世界性难题,困惑重重,然对其研究一直不多,近年来,开始受到研究者的重视与关注,编写者及时给予跟踪。在“年度报告(2014)”中新增糖尿病合并结核病等的治疗章节,给我们以更新的明晰的启示和释疑。“年度报告(2014)”对广大医务工作者尤其是结核病防治工作者及时了解、掌握国内外结核病临床诊治的新观点、新技术、新进展,提高认识、增进交流具有重要的帮助。从 2012 年开始的 4 个年度报告也是集实用性、学术性与资料性为一体的工具书,适合于从事结核病基础、控制和临床工作者阅读与参考。

【摘要】 近 1 年来,结核病临床诊断方面的研究仍然十分活跃,进展颇为迅猛。 γ -干扰素释放试验在诊断潜伏结核感染和结核病中的应用越来越广,利用其他细胞因子、化学元素和抗体等生物标志物诊断结核潜伏感染与结核病的研究也不断涌现,且受到学界关注。分子生物学诊断中 Xpert Mtb/RIF 技术仍然是结核病和耐药结核病诊断的主要热点。尤为引人注目的是支气管镜技术得到了很大的发展和进步;超声支气管镜技术应用范围逐步扩大;崭新的支气管超声下经引导鞘肺活检术(endobronchial ultrasonography with a guide sheath, EBUS-GS)可以将超声小探头引导到外周肺野进行活检,能够更准确地确认病灶部位,提高了结核病的诊断符合率;高端的电磁导航支气管镜(electromagnetic navigation bronchoscopy, ENB)技术集螺旋 CT 仿真支气管镜与传统可弯曲支气管镜的优点于一身,可进行实时引导定位,准确到达常规支气管镜技术无法到达的肺外周病灶并获取标本行病理检查,在肺结核和其他肺部疾病的诊断中发挥着巨大优势。

【关键词】 结核/诊断; 诊断技术和方法; 总结性报告

Annual report on clinical diagnosis and treatment progress of tuberculosis(2014) (Part 1: clinical diagnosis of tuberculosis) Chinese Antituberculosis Association of Clinic Society

Corresponding author: TANG Shen-jie, Email: tangsj1106@sina.com; LIU Yi-dian, Email: liuyidian115@sina.com; YAO Lan, Email: spectrum1981@126.com

【Abstract】 In the past 1 year, there were abundant researches and rapid progress in the field of clinical diagnosis of tuberculosis (TB). INF- γ (interferon gamma) released essay had been widely used in diagnosing of latent

tuberculosis infection (LTBI) and active tuberculosis. There were also emerging researches and greatly concerned in this field of diagnosing LTBI and active tuberculosis by using biomarkers like other cytokines, chemicals and antibodies. Xpert Mtb/RIF was still main hot topic in biological diagnosis of active and drug resistant tuberculosis. Noticeable development had been made in bronchoscope techniques. Endobronchial ultrasound had been used greatly enlarged; new technique of endobronchial ultrasonography with a guide sheath (EBUS-GS) could do biopsy by using the sheath to lead the small ultrasound probe to the peripheral lung field so that it could be more accurate in recognizing the lesion and improving the diagnostic coincidence rate of tuberculosis; high-end electromagnetic navigation bronchoscopy (ENB) has the advantages of spiral CT simulation bronchoscope and traditional flexible bronchoscope, and by real-time positioning it can do the biopsy in the peripheral lung field unreachable by traditional bronchoscope so it has great advantage in diagnosing pulmonary tuberculosis and other pulmonary diseases.

【Key words】 Tuberculosis/diagnosis; Diagnostic techniques and precedures; Consensus development conference

2014 年度国内外结核病临床方面研究取得了不少的进展。我们组织结核病诊断方面的专家,查询国内外相关研究文献,从中遴选出了近 200 篇具有代表性的文献,进行整理、归纳,现总结、报告如下。

结核病细菌学诊断

结核分枝杆菌(Mtb)的细菌学诊断作为结核病(TB)诊断的“金标准”,其重要地位至今无法被其他诊断技术所取代。现将 2014 年 Mtb 的细菌学诊断领域,包括涂片镜检、培养和抗结核一线、二线药物敏感性试验(drug susceptibility test, DST)等方面的国内外研究进展汇总如下。

一、涂片镜检和分离培养鉴定

(一)涂片镜检法

1. 痰标本收集策略的研究:印度 Chandra 等^[1]在 1537 例患者中,收集就诊当天间隔 1 h 的 2 份痰标本和次日晨患者的痰标本,同步进行标准抗酸染色(Ziehl-Neelsen, Z-N)法及改良 Z-N 法镜检。前者阳性率为 9.8%,比后者高 0.37%。研究认为就诊当天间隔 1 h 的 2 份痰标本可用于改良式 Z-N 染色镜检对肺结核的诊断。与此相反,印度学者 Nayak 等^[2]收集了 2012 年 10 月至 2013 年 3 月的 2251 例成人疑似肺结核患者就诊当天间隔 1 h 的 2 份痰标本和次日晨的痰标本,涂片后用金胺 O 染色、发光二极管(LED)荧光显微镜进行镜检。研究表明,尽管 LED 荧光显微镜镜检法对于菌量少的标本检出敏感度更高,但其对同一天的痰标本检测可造成 8%涂片阳性率的丢失。因此,研究者建议应谨慎对待 WHO 推荐的仅在就诊当天留取痰标本的新政策。

2. 肺外标本的检测:中国学者 Huang 等^[3]评估了显微镜观察药物敏感度检测技术(microscopic observation drug susceptibility, MODS)对中国人群中肺外结核患者的标本检测。样本包括胸腔积液

(112 例)和脑脊液(61 例),检测结果显示 MODS 对两类标本检测的敏感度分别为 20.5%、37.5%,特异度近似 100.0%。培养的中位数时间分别为 14、9 d。研究者认为与罗氏(L-J)培养方法相比,MODS 技术大大缩短了报告时间,在资源有限的国家和地区开展此类标本检测对提高肺外结核的诊断有显著帮助。张继萍等^[4]为探讨纤维支气管镜肺泡灌洗液改良 Z-N 法对痰菌阴性肺结核患者的诊断价值,对 50 例痰菌阴性肺结核患者进行纤维支气管镜肺泡灌洗,对灌洗液分别进行传统 Z-N 与改良 Z-N 抗酸染色法检测,结果对肺结核诊断的阳性率分别为 38%和 82%。研究者认为改良抗酸染色法大大提高了痰菌阴性肺结核患者的阳性诊断率,值得临床推广应用。

3. 新技术与涂片镜检的联合应用:传统 Z-N 法痰涂片镜检法的检出界限为每毫升痰液标本中含菌量最低 10^4 条 Mtb,尽管荧光染料如金胺 O 等能够提高其检出率,但培养阳性的痰标本仍有 1/2 以上涂片检测结果为阴性。Ryan 等^[5]评价了新型的与核酸结合的荧光染料 SYBR[®] Gold 对体外培养的 Mtb 涂片镜检的方法。它能够检测出有氧状态下及厌氧状态下培养的 99%的 Mtb,而常规金胺 O、金胺-若丹明染色检出率在 54%~86%范围内。尽管 SYBR[®] Gold 由于成本和稳定性的原因,目前尚无法在临床标本中检测应用,但随着相关研究的展开,未来仍有希望被应用于临床。美国学者 McCall 等^[6]将新型微型物镜与数字化荧光涂片镜检技术相结合,评价其与标准的荧光痰涂片镜检。研究证明两者有着较高的一致性,前者的敏感度和特异度分别为 100%、95%。

(二)分离培养和鉴定

李辉等^[7]综述了液体培养法在结核病及耐药结核病诊断中的应用,强调了其中实验室质量控制的重要性。文中提出国家结核病参比实验室参照

WHO 推荐的方法,为 Mtb 培养制定的质量控制程序所编写的《分枝杆菌分离培养标准化操作程序及质量保证手册》,对于常规结核病实验室培养的质量控制有 2 个参考指标,即一定时期内的“污染率”和“涂阳培阴率”。培养污染率应控制在 2%~5%;针对初治结核病患者的涂阳培阴率应控制在 10% 内。若培养污染率 < 2%,表明该实验室在分离培养前期去污染过程中分枝杆菌被杀灭太多,存在过度处理的问题;若污染率 > 5%,又表明去污染不充分、杂菌没有被杀灭,前处理不够。但通常液体培养污染率要高于固体培养,对于液体培养更加要防止操作过程的污染。涂阳培阴率若高于 10%,则表明该实验室涂片显微镜检查质量有问题或培养技术达不到要求。泰国 Phunpae 等^[8]介绍了一种通过培养法快速鉴定 Mtb 的方法,利用酶联免疫吸附试验(ELISA)在临床标本液体培养的滤液中检测 Mtb 分泌抗原 Ag85。该方法与标准培养鉴定相比较,敏感度为 89.6%,特异度为 94%。使用该方法可最早在第 3 天可得出检测结果,第 3 天、第 1 周、第 2 周和第 4 周分别诊断出了 25%、50%、80% 和 90% 的 TB 患者。

二、抗 TB 药物的 DST 结果分析

(一)一线抗 TB 药物的 DST 结果分析

1. 常规方法临床检测耐药情况分析:常规采用 L-J 培养法对一线抗 TB 药物进行 DST。据 2014 年我国文献报道,各地的 TB 耐药情况仍很严峻。蒋骏等^[9]对苏州市 2012 年 1 月至 2013 年 5 月 371 例痰培养阳性的肺结核患者进行菌种鉴定及比例法 DST。371 例痰培养阳性患者中, TB 患者为 316 例,占 85.2%;非结核分枝杆菌(NTM)患者 55 例,占 14.8%。耐多药患者为 79 例,总耐多药率为 21.3%;其中 Mtb 32 例(10.1%, 32/316), NTM 47 例(85.5%, 47/55); TB 患者与 NTM 患者耐多药率差异有统计学意义($P < 0.001$)。刘菊秀等^[10]对吉林市肺结核患者痰标本分离培养出的 493 株 Mtb 进行了 10 种抗结核药物的绝对浓度法 DST,结果 493 株中,197 株对 10 种抗结核药全部敏感,296 株有不同程度耐药,总耐药率为 60%;有 121 株为耐多药 Mtb,耐多药率为 24.5%。

杨娟等^[11]采用 WHO 推荐的比例法对分离自西藏拉萨市肺结核患者的 198 株 Mtb 进行 4 种抗结核药物利福平(rifampicin, RFP)、异烟肼(isoniazid, INH)、链霉素(streptomycin, Sm)、左氧氟沙星(leovfloxacin, Lfx)的 DST。结果显示 198 株 Mtb

中耐药菌株有 125 株,总耐药率为 63.1%(125/198),总耐多药率为 29.8%(59/198);初治耐药率为 55.1%(64/116),复治耐药率为 75.4%(40/53),初治耐多药率为 20.7%(24/116),复治耐多药率为 56.7%(30/53)。对 RFP、INH、Sm、Lfx 的耐药率分别为 36.3%(72/198)、41.9%(83/198)、41.4%(82/198)和 7.0%(14/198)。中国 Gao 等^[12]在北京收集的 41 株对结核病合并 AIDS 患者的临床菌株做了 4 种一线抗结核药物的 DST,结果发现总耐药率为 58.4%,原发性耐药占 46.7%,获得性耐药占 90.9%,明显高于普通 TB 患者。上述研究者均认为 TB 患者及 TB 合并 HIV 感染患者耐药情况应引起足够的重视。

2. 噬菌体生物扩增法(phage amplified biologically assay, PhaB):熊瑜等^[13]利用 PhaB 法检测初治肺结核合并糖尿病患者对一线抗结核药物 INH、Sm、RFP 和乙胺丁醇(ethambutol, EMB)的耐药性,并对结果进行比较。研究结果显示,该院痰培养阳性的初治住院肺结核患者对 INH、RFP、EMB、Sm 4 种一线抗结核药物的总耐药率为 27.47%,单耐药率为 14.84%,研究者认为初治肺结核合并糖尿病患者耐药率高于单纯初治肺结核患者耐药率,但差异没有统计学意义,有待于扩大样本进行深入研究。

3. 硝酸盐还原酶试验(nitrate reductase assay, NRA):Imperiale 等^[14]对 222 份涂片阳性的痰标本在改良 L-J 培养基上直接进行硝酸盐还原酶测定(direct nitrate reductase assay, D-NRA),对 INH、RFP、卡那霉素(Km)和氧氟沙星(Ofx)进行 DST 检测,结果以 BACTEC MGIT960(MGIT 960)为金标准进行比较。研究结果显示,D-NRA 约 16.9 d 得到结果,而间接 NRA 检测法 MGIT 960 需 29 d。研究者认为 D-NRA 是一种低成本的技术,易于临床实验室开展,适用于对分枝杆菌所有涂片阳性样本的 DST。Coban 等^[15]对 NRA 法检测 4 种一线抗结核药物进行 DST 的相关文献进行了搜索,并对查到的文献进行荟萃分析。共纳入 35 篇 INH 相关文献,38 篇 RFP 相关文献,22 篇 EMB 和 Sm 相关文献。结果显示,4 种药物的 DST 敏感度分别为 96%、97%、90%、82%;特异度分别为 99%、100%、98%、96%。直接法和间接 NRA 检测所需时间分别为 5~28 d, 5~14 d。研究者认为该方法值得进一步推广应用。

4. MODS:日本 Nishiyama 等^[16]综述了对 Mtb

标准菌株及临床分离株进行一线抗结核药物的 DST, 通过 MODS 法得到药物浓度的临界值 (cut-off 值)。研究显示 39 株 Mtb 菌株的 cut-off 值为: INH $0.8 \mu\text{g/ml}$ (敏感度为 96.0%; 特异度为 92.9%); RFP $2.0 \mu\text{g/ml}$ (敏感度为 100.0%; 特异度为 95.5%); Sm $4.0 \mu\text{g/ml}$ (敏感度为 90.5%; 特异度为 93.8%); EMB $4.0 \mu\text{g/ml}$ (敏感度为 100.0%; 特异度为 91.7%)。即使是涂片阴性的菌株也可以快速得到 DST 结果。英国 Coronel 等^[17]用 MODS 法对接受治疗的 TB 患者进行 RFP、INH 的 DST 检测, 264 份 TB 患者痰标本同步进行 L-J 培养和 MODS 法检测。菌株在国家参比实验室采用比例法进行 RFP、INH 的 DST。研究显示该方法对 MDR-TB 检出率为 95.8%。与比例法相比较, MODS 法对 INH、RFP 的 DST 结果一致性分别为 96.8% 和 92.6%。研究者认为, 对于此类患者采用 MODS 法在培养 1 周后判读 RFP、INH 的 DST 结果与参照方法的结果趋于一致, 可以更好地为临床服务。

Wikman-Jorgensen 等^[18]综述了 MODS 法在 HIV 感染患者中诊断 TB 的准确率。该研究在 8 种常用数据库中以培养为诊断金标准、MODS 法对 HIV 感染者进行 TB 诊断等相关内容全面搜索, 并运用了荟萃分析对结果进行处理。3259 篇文献中, 选定了 29 篇进行全文浏览, 其中 10 项研究包括 3075 份样品最终用于分析。研究显示, MODS 法对结核病的诊断总体敏感度为 88.30% (95% CI: 86.18%~90.20%)、特异度为 98.20% (95% CI: 97.75%~98.55%)。对 MDR-TB 的检测敏感度为 89.00% (95% CI: 66.07%~97.00%)、特异度为 100.00% (95% CI: 94.81%~100.00%)。对于涂阴肺结核其检测敏感度为 88.20% (95% CI: 86.10%~89.90%) 和特异度为 98.20% (95% CI: 96.80%~98.90%)。每份标本成本在 0.72 美元和 7.31 美元之间。平均培养阳性检测时间是 8.24 d。研究者认为 MODS 法廉价、快速, 对 HIV 感染者是否同时患结核病和耐多药结核病的诊断准确。有研究者以金标准如 MGIT 960 及 SD Bioline 培养滤液 MPT64 抗原检测为参照, 评价自动 MODS 检测系统对 TB 的诊断价值。研究共收集泰国清莱 17 家医院 360 份标本, 结果 221 份 MGIT 960 培养阳性, 而自动 MODS 检测 221 份阳性标本中有 9 例假阴性; 139 例 MGIT 960 培养阴性标本中有 4 例自动 MODS 检测为假阳性, 敏感度为 95.9%、特异度为

97.1%。自动 MODS 培养阳性的中位数时间为 10 d^[19]。Martin 等^[20]对一种商品化 MODS 试剂盒进行了评价。该研究同时对 2446 份痰标本做了 L-J 培养、普通 MODS 及 MODS 商品化试剂盒检测。与传统 MODS 法比较, 该试剂盒的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 99.3% (98.3%~99.8%)、98.3% (97.5%~98.8%)、95.8% (94.0%~97.1%)、99.7% (99.3%~99.9%)。MODS 商品化试剂盒培养阳性报告时间可从 10 d 缩短到 8.5 d。MODS 试剂盒对 RFP、INH 的药敏结果与传统 MODS 及间接培养法的一致性均为 97.9%。研究者认为 MODS 试剂盒与传统 PCR 相比表现更为突出, 方便、便宜且安全, 未来临床一、二线抗结核药物 DST 检测必将对其有巨大的需求。

5. 其他新方法: Jang 等^[21]开发了一种兼具固体和液体培养基快速、低成本和高效率等诸多优点的水凝胶 Mtb 培养法。研究者将卡介苗 (BCG) 的悬浮液和 200 份抗酸杆菌 (AFB) 阳性临床标本接种在 M7H9 液体培养基上, 并将其与 $75 \mu\text{l}$ 的 9-苄甲氧羰基-苯氨酸水凝胶原液混合后培养, 37°C 监测培养状态至 14 d。研究发现, 200 份 AFB 涂片阳性标本中, 158 份常规培养阳性中的 155 份和 4 份培养阴性或污染标本 14 d 内水凝胶培养出现阳性。使用水凝胶培养阳性时间 (平均 12.6 d; 区间: 7~14 d) 比常规的液体培养 (平均 16.2 d, 区间: 6~31 d) 显著缩短 ($P < 0.0001$)。研究者认为, 水凝胶培养有助于加速临床对结核病的诊断。

台湾 Yu 等^[22]通过对已被 Mtb 抗原检测试剂 MeDiPro 或 Amplicor 鉴定为 Mtb 的 432 份 MGIT 960 培养阳性标本进行检测, 评估了改良的直接琼脂比例法 (MDAPM) 作为一种快速检测技术取代传统的间接琼脂比例法进行 DST 的价值。结果发现两种方法对一线抗结核药物 RFP、INH、EMB、Sm 的 DST 结果的一致性分别为 99.31%、98.38%、98.38% 和 97.22%。前者较后者可提前 2 周出报告。因此, 作者认为, MDAPM 被认为有助于已经配备 MGIT 960 的实验室开展 TB 诊断。

Patil 等^[23]用刃天青试管 (RTM) 培养法检测 100 株临床分离菌株对抗结核药物的 DST, 8 d 后得到最低抑菌浓度 (MIC) 的结果, 并将结果与金标准比较。研究者证实该方法对 RFP、INH 检测的敏感度均为 100.0%, 特异度分别为 98.7%、95.3%, 认为 RTM 是可以同步进行 DST 及 MDR-TB 快速诊断的可信赖的检测方法, 其最主要的优点是没有生

物安全危害。

(二) 二线抗结核药物的 DST

Trollip 等^[24]于 2011 年 2 月至 2012 年 8 月在 4 个国家和地区采用 MODS 法进行了对二线抗结核药物敏感性界定浓度的多中心研究。最终确定界定浓度分别为:莫西沙星(moxifloxacin, Mfx)(0.5 $\mu\text{g/ml}$);氧氟沙星(ofloxacin, Ofx)(1 $\mu\text{g/ml}$);阿米卡星(amikacin, Am)(2 $\mu\text{g/ml}$);卡那霉素(kanamycin, Km)(5 $\mu\text{g/ml}$);卷曲霉素(capreomycin, Cm)(2.5 $\mu\text{g/ml}$)。研究者认为,直接二线抗结核药物进行 DST 时,各种药物浓度的最终确定仍需有更多的实验数据支持。申晓娜等^[25]综述了 L-J 比例培养法对 194 株 Mtb 菌株进行对氨基水杨酸异烟肼(pasiniazid isoniazide para-aminosalicylate, Pa)及 INH 的耐药性检测,并采用微孔板靛青蓝(alarma blue)细胞增殖与细胞毒检测法检测其 MIC,比较两种药物的体外抗 Mtb 活性,以探索 Pa 对耐药结核病的临床使用价值。(1)罗氏比例法测定结果:在 0.2 $\mu\text{g/ml}$ 药物浓度下,INH 耐药菌株对 Pa 耐药菌株的耐药率为 50.4% (69/137),敏感率为 49.6% (68/137);INH 敏感菌株对 Pa 耐药菌株的耐药率为 1.8% (1/57),敏感率为 98.2% (56/57);耐多药菌株对 Pa 耐药菌株的耐药率为 46.2% (24/52),敏感率为 53.8% (28/52)。(2)MIC 测定结果:经 Alarma bule 法测得 Mtb 标准菌株 H37Rv 的异烟肼 MIC 为 0.063 $\mu\text{g/ml}$,Pa 的 MIC 为 0.031 $\mu\text{g/ml}$;结果提示,在相同药物浓度下,异烟肼达到临床耐药水平后,仍有近半数菌株表现为 Pa 敏感,虽然在异烟肼敏感的情况下,两者的 MIC 分布差别不大,但对于耐 INH 和 MDR-TB,Pa 的 MIC 分布明显趋向于较低浓度,体外杀菌效力强于 INH。研究者认为,在耐异烟肼或耐多药结核病的治疗方案中用 Pa 代替 INH 可能有一定的效果。

(三) 影响临床 DST 的因素分析

美国 Banu 等^[26]对 87 株 Mtb 临床分离株用 6 种检测方法进行了耐药性检测,并对其结果的一致性进行了评估。6 种方法包括:L-J 比例法、MGIT960、利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测技术(Xpert Mtb/RIF)、线性探针检测技术 MTBDR plus、Mycobacterium MIC 检测和实验室自制的 Mtb 噬菌体定量 PCR。80% 的分离株为多耐药菌株。结果显示 Mtb 噬菌体定量 PCR 方法报告时间最短,L-J 比例法最耗时,而 MGIT 960 方法常需重复测试($P < 0.05$)。所有方法一致对 INH 检测结果为敏

感或耐药的菌株占 82%,而对于 RFP、EMB 和 Sm 等检测结果完全一致者则分别为 77%、50% 和 51%。EMB 和 Sm 进行 DST 结果一致性减弱的原因主要在于 MGIT 960 对 EMB 的检测结果($Kappa$ 系数区间 0.26~0.30)和 L-J 培养的 Sm 结果($Kappa$ 系数区间 0.35~0.45)与其他方法有很大程度差异。Mtb 噬菌体 PCR 和 MycoTB MIC 板是惟一可检测除环丝氨酸外的所有二线抗结核药物敏感性并揭示药物显著性定量关系的检测方法,以及除对氨基水杨酸外对所有药物检测结果均有中度至良好的 $Kappa$ 系数。综上所述,实验室更应考虑上述因素来选择适合的 DST 方法,尤其对临床急需的 EMB 和 Sm 检测更要仔细。

谷蕴婷等^[27]探讨和分析了使用绝对浓度法 DST 时不同报告时间结果不一致的原因。研究共收集采用绝对浓度法于 37 $^{\circ}\text{C}$ 含 INH 的 L-J 培养基上培养 4 周时无菌落生长、时间延长至 6 周后才生长的 13 株菌株(含药培养基延迟生长菌株)。这些菌株来源于 11 例结核病患者(2 例患者的菌株在低浓度和高浓度 INH 时均有菌落生长);同时收集这 11 例结核病患者的临床敏感株作为对照菌株,共计 24 株菌株,进行比例法 DST 和 PCR 菌种鉴定,并利用 Mtb 散在分布重复单位(Mycobacterium interspersed repetitive unit, MIRU)和结核分枝杆菌间隔区寡核苷酸分型(Spoligotyping)技术进行基因分型,并选择对照菌株和含药培养基延迟生长菌株 MIRU 分型不同的 3 株菌株进行人工模拟不同浓度 INH 时混合的敏感菌株和耐药菌株进行绝对浓度法 DST,观察不同报告时间(4 周和 6 周)的 DST 结果。结果发现 24 株菌株经 PCR 鉴定均为结核分枝杆菌复合群。比例法 DST 中 13 株含药培养基延迟生长菌株均对 INH 耐药,11 株对照菌株均对 INH 敏感。3 例患者的对照菌株和含药培养基延迟生长菌株 Spoligotyping 分型属于不同型别,分别为北京基因型和 T2 型、北京基因型和 H3 型、北京基因型和 T2 型。人工混合感染的 3 株菌株比例(临床株:H37Rv)小于 1:128 时可能会出现 4 周无菌落生长而 6 周有菌落生长的结果。研究者认为对药物敏感性不同的 Mtb 造成的混合感染,如耐药菌株的比例较低时,可能造成不同报告时间 DST 结果不一致的情况。

总的来说,本年度结核病细菌学研究并未有突破性进展。而拥有可以同步进行诊断和 DST、价格低廉等诸多优点的 MODS 法,在 WHO 的推荐下、

在多方学者努力下,进一步向自动化、商业化迈进,这将对其在世界范围的推广应用奠定良好的基础。随着耐药结核病的高发,对于二线抗结核药物 DST 的需求将会使其继续成为结核病细菌学研究的焦点之一。

结核病的影像学诊断

一、CT 在结核病诊断中的应用

1. 肺结核的 CT 诊断:CT 在诊断肺结核方面有重要价值,尤其是高分辨率 CT(HRCT),对病变细节的观察给与组织病理学相结合去观察病变提供了良好的基础。影像上的形态可以与多种病理改变相关,研究影像表现与组织病理学特点能帮助我们更好地理解肺结核,总结临床特点,更有利于诊断。近几年 HRCT 又报道了肺结核的另一特征性征象——“反晕征”。反晕征是指中心为磨玻璃样密度影、周围为一环形实变影的影像学征象。最初于 1996 年由 Voloudaki 在 2 例隐源性机化性肺炎中报道,2003 年由 Ki 正式命名,并且认为是隐源性机化性肺炎的特异性征象;后来相继在其他疾病中也报道了这一征象,如副球孢子菌病、淋巴瘤样肉芽肿病、结节病、侵入性肺真菌感染;2010 年首次报道发现于成人肺结核,2011 年 Marchiori 比较了隐源性机化性肺炎与肺结核反晕征在组织病理学上的不同,前者反晕征的环为远端气道管腔内组织纤维化,而后者环形壁由多发肉芽肿结节组成;之后未见相关报告。最近对肺结核的“反晕征”影像学特征及其组织病理学相关联系又有了新的研究,北京朝阳医院 Zhan 等^[28]分析了 80 例肺结核患者的 HRCT 表现、临床症状及组织病理学基础,其中 17 例有反晕征;研究结果表明具有反晕征的患者吸烟史、结核相关症状和合并症较无反晕征的患者少,原因可能是免疫状态好的患者更容易形成成簇结节、组成结节壁,形成 HRCT 上观察到的密度增高的环;因此当 HRCT 上发现反晕征时,对是否为肺结核是鉴别诊断要考虑的因素之一,因为有 1/2 以上具有反晕征的肺结核患者没有任何结核病的相关临床症状。

不少结核病患者的症状体征和 HRCT 上影像表现都不典型,这使诊断有一定困难,易与肺内常见的炎性病变、肺癌、肺结节病等混淆,导致误诊,致使肺结核延误治疗而导致病情加重、传染性增加等严重后果。为进一步认识肺结核的不典型影像表现,谢汝明等^[29]分析了 33 例不典型肺结核,主要分为两类:一是结核球(15 例),二是以形态单一的片絮

状渗出为影像表现的继发性肺结核(18 例)。与相应类似形态的其他肺内疾病进行比较,作者认为对未见明显卫星病灶、结节实质如存在小片状境界模糊的低密度灶、不均匀强化特点及增强后 CT 值增加 <20 HU,要高度怀疑为影像表现不典型结核球的可能;增强扫描出现多少不等且境界模糊的低密度区时不能除外肺结核,该影像学特征的病理基础与影像学表现不典型的结核球一致,均为以非干酪为主的增殖性肺结核为病理特点。

CT 上以肺实变为主要表现的疾病很多,尤其是缺乏特征性的局限性病变,鉴别诊断非常困难。周震等^[30]总结了肺结核患者 CT 检查表现为肺实变影时,与肺癌、肺真菌病及机化性肺炎进行鉴别的几点经验:一是肺结核、肺淋巴瘤及肺真菌病以多发的段性实变较多,而肺癌及机化性肺炎以单发为主;肺癌及肺淋巴瘤多表现为段性实变,肺癌、肺真菌病、机化性肺炎多表现为亚段性实变。二是主体病变实质内出现含气支气管气像征象时对鉴别诊断意义不大。三是 CT 引导下肺穿刺活检是对疑难患者进行诊断的一种安全、有效的重要方法。

结核性肉芽肿表现多样,与肺癌等其他肺内占位病变难以鉴别,有研究总结了 32 例结核性肉芽肿病变的 CT 征象,发现一个特征性的影像改变:即病灶一般在外周生长,形成软组织结节或肿块,近肺门侧有沿支气管血管束向肺门生长的趋势,外侧部分较大,作者称此征象为“支气管树爬行征”。作者认为这可能是由于 Mtb 为专性需氧菌,所以病变沿支气管血管束向通气更加良好的、氧分压更高的肺门周围生长,或沿淋巴管通路向肺门播散,这个推论还需临床及病理生理学进一步证实;由于缺乏前瞻性的研究,该征象的敏感度和特异度还不确定^[31]。

随着现代影像学技术不断发展和创新,越来越多的新技术逐步应用于结核病的诊断及鉴别研究中。渠海贤等^[32]运用 320 排螺旋 CT 双入口灌注技术定量评估活动性肺结核的血流灌注,研究揭示肺结核病灶接受肺循环和体循环双重血供,为支气管动脉-肺动脉瘘伴发于结核咯血提供了合理的解释;由于在结核病灶中同时存在两套血管系统,当病灶坏死后两套血管床亦有可能受破坏、相通,并在压力差的驱使下发生支气管动脉-肺动脉瘘;研究还提示肺动脉血流明显高于支气管动脉血流,暗示灌注指数(perfusion index, PI)这一指标可能成为结核与肺癌相鉴别的有效标志,因为后者被大多数研究报道认为是支气管动脉供血占优势。另有研究显

示,病灶血供的强弱还可用来判断结核病灶的活跃程度及血供的丰富与否,通过治疗前后的对照监测疗效并判断预后,支气管动脉血流量(bronchial flow, BF)值升高提示结核病灶进展,预后较差^[33]。

杨露露等^[34]应用能谱 CT 研究一组结核性胸腔积液与恶性胸腔积液的鉴别特征,结果显示结核性胸腔积液能谱曲线斜率明显小于恶性胸腔积液能谱曲线斜率,结核性与恶性胸腔积液有效原子序数值的比较差异有统计学意义;结核性与恶性胸腔积液碘(水)含量比差异有明显统计学意义,恶性胸腔积液中碘的含量明显高于结核性胸腔积液。因此,两种胸腔积液具有不同的 CT 能谱曲线和能谱特征物质含量,CT 能谱成像对两者的鉴别诊断可提供临床参考的多参数影像学特征。林吉征等^[35]运用 CT 能谱成像对一组肺内孤立结节患者进行疾病的鉴别诊断,结果显示恶性组、炎性组及结核组之间能谱曲线斜率、碘浓度及标准化碘浓度两两比较差异均有统计学意义,炎性组最高、结核组最低,对定性诊断具有一定价值。

肺结核是否存在活动性是当今临床及影像学研究的重点和难点。Bolursaz 等^[36]研究一组儿童肺结核患者的痰菌与 HRCT 表现的关系,结果显示痰菌阳性患者中,HRCT 扫描以空洞、树芽征及上叶结节浸润为主要表现;痰菌阴性患者则表现为以淋巴结病变为主。同时说明痰菌阳性患者多数以继发性肺结核为表现,而痰菌阴性患者主要以原发性肺结核为表现。方文春等^[37]在肺结核 CT 影像量化评分方面进行了尝试性研究,包括反映活动性肺结核的主要征象,分级评分方法,以及 HRCT 评分与免疫学的相关性进行了分析,认为 HRCT 与免疫学及细菌学有很好的正相关性,即在患者免疫功能正常的情况下,CT 评分分值越高,相关抗原酶联免疫斑点细胞数也增高,其肺结核的活动性也越大。对临床上无症状涂阴肺结核及涂阳肺结核抗结核化疗 2~3 个月后转阴的患者,是否存在活动性及是否继续进行抗结核治疗具有指导性意义。朱明等^[38]进行了活动性肺结核(PTB)患者痰涂片分级与 HRCT 影像学评分的相关性研究,结果显示 HRCT 总评分及各征象评分在痰涂片阴性和阳性之间差异有明显统计学意义,并在痰涂片阳性的级别之间有显著正相关性,空洞和支气管壁病变对于预测 HRCT 总评分影响很大,是非常重要的征象。

2. 肺结核与非结核分枝杆菌病的鉴别诊断:非结核分枝杆菌病是指由结核分枝杆菌复合群和麻风

分枝杆菌以外的非结核分枝杆菌(non tuberculous mycobacteria, NTM)引起的疾病。NTM 肺病和肺结核的临床表现相似,且抗酸杆菌培养均为阳性,临床易将 NTM 肺病误诊为肺结核而导致治疗迁延,故早期诊断意义重大。有研究认为 NTM 病好发于非囊性纤维化支气管扩张患者^[39]。另外有研究表明,在胃大部切除患者中结核的年龄标准化发病率(the age-standardized incidence rate)较普通人群显著增高;而胃大部切除患者的 NTM 肺感染和疾病发生率较未行胃大部切除患者比较差异无统计学意义。患 NTM 病的患者常合并慢性肺疾病,而结核病患者术前胸片常有纤维性病变,这一点可作为两者的鉴别诊断。胃大部切除不会增加患 NTM 病的风险^[40]。

鸟分枝杆菌复合群(*Mycobacterium avium* complex, MAC)肺病和脓肿分枝杆菌肺病为两种发病率较高的 NTM 肺病。有研究着重分析了这两种 NTM 肺病的 CT 影像特点,结果显示,两种不同 NTM 肺病的 CT 表现有相似性,各种 CT 征象在两组患者中的出现率差异均没有统计学意义(P 值均 >0.05),但各种 CT 征象的检出率排列有所差异,作者认为若病变以肺上叶发病占优势,多为空洞型,且肺实变、空洞病变、小叶中心性结节影及树芽征等病变累及范围广,肺实变及空洞病变多叶分布,均可提示为 MAC 肺部感染;而对于主要表现为双肺多发支气管扩张和小叶中心性结节影,且各种病变未见叶性分布优势者,要考虑脓肿分枝杆菌肺病^[41]。

当 NTM 肺病与肺结核鉴别时,王钦棋等^[42]认为以下几点有一定价值:一是 NTM 肺病以 40 岁以上男性多见,而肺结核患者年龄和性别无特殊关系;NTM 肺病患者家庭接触史少,人与人间的感染罕见,而肺结核患者与传染源接触史较明显,人群中感染为其特点。二是 NTM 肺病结节以直径 <1 cm 小结节较多,散在多发,分布不均,少见弥漫性粟粒,结节内少见钙化。三是由于 NTM 的毒力较结核分枝杆菌低,病变进展要比活动性肺结核缓慢,可维持多年不变或缓慢发展,临床表现大多轻微,而感染的时间较长,所以容易出现影像学征象严重而临床症状较轻的“影像-临床背离”现象。

3. 艾滋病合并纵隔淋巴结结核的 CT 诊断:肺结核是艾滋病最常见的机会性感染之一,约 1/2 艾滋病患者死亡归因于合并结核病。艾滋病中晚期由于免疫系统遭到严重损害,免疫力低下,即使是再次感染,机体也难以阻止结核分枝杆菌在肺内的扩散,

故多呈原发感染表现,也可出现纵隔与肺门淋巴结肿大。张宏伟等^[43]分析对比一组艾滋病合并纵隔淋巴结结核(合并组)与单纯纵隔淋巴结结核(对照组)的临床及 CT 特点,结果显示:①PPD 阳性率合并组为 7.7%,对照组为 73.1%; $P=0.000$,两组差异有统计学意义。② $CD4^+$ T 淋巴细胞计数合并组为 $(6\sim 108)\times 10^6/L$,对照组为 $(425\sim 557)\times 10^6/L$; $t=55.75$, $P<0.001$,两组差异有统计学意义。③CT 显示病变累及 3~5 组以上淋巴结者,合并组有 20 例,对照组有 6 例; $P=0.000$,两组差异有统计学意义。④CT 平扫淋巴结密度均匀者,合并组有 4 例,对照组有 15 例; $P=0.003$,两组差异有统计学意义。⑤CT 平扫淋巴结内有低密度区者,合并组有 20 例,对照组有 10 例; $P=0.005$,两组差异有统计学意义。⑥CT 显示淋巴结有钙化者,合并组有 2 例,对照组有 12 例; $P=0.004$,两组差异有统计学意义。⑦CT 增强扫描呈均匀强化者,合并组有 4 例,对照组有 15 例; $P=0.012$,两组差异有统计学意义。⑧CT 增强扫描呈分格状强化者,合并组有 16 例,对照组有 6 例; $P=0.033$,两组差异有统计学意义。因此,作者认为艾滋病合并纵隔淋巴结结核与无免疫损害患者的淋巴结结核比较,具有 PPD 阳性率低、 $CD4^+$ T 淋巴细胞计数低的临床特点;在 CT 表现上具有肿大淋巴结直径多 $>20\text{ mm}$ 、易出现融合甚至破溃、病变多累及 3~5 组以上淋巴结、很少出现钙化、平扫可见淋巴结密度不均匀减低、增强可见分格状强化或环形强化等特点。

4. CT 在肺外结核诊断中的应用:近来,颅内结核的发病率逐渐增加。根据英国感染学会发布的相关指南,每例患有结核患者的头颅检查均应做 CT 增强扫描。Hou 等^[44]对颅内结核增强扫描的最佳时间窗作了研究,结果无论是结核引起的脑膜增厚还是颅内结核病变大小、病灶边缘状况,增强扫描延时 5 min 后获得的图像均优于没有延时扫描者。这是由于 CT 时间分辨率很高,1~2 s 内便可扫完,然而颅内结核缺乏快速的动脉血供,病变难以在注入对比剂后立刻充分显示。因此,作者认为对于颅内结核的 CT 增强检查,延时 5 min 扫描更有利于病变的显示。有作者对 276 例颅内结核临床及头颅 CT 影像学特征进行了分析,结果显示:头颅 CT 平扫检查阳性率为 63.4%,增强扫描阳性率为 98.6%;其中结核性脑膜炎为 85.5%、结核性脑炎为 57.2%、结核瘤为 52.2%、结核性血管炎为 48.2%。作者认为,颅内结核临床表现不典型,头颅

CT 平扫检查多有异常,增强扫描阳性率明显增加,脑膜、脑血管、脑实质病变常常相伴而行。诊断要依据临床、实验室检查,以及头颅 CT 扫描结果综合判断,尤其要重视头颅 CT 增强扫描的临床应用^[45]。

二、 ^{18}F -氟代脱氧葡萄糖正电子发射体层摄影(^{18}F -2-fluoro-D-deoxy-glucose positron-emission tomography, ^{18}F -FDG PET)在结核病诊断中的应用

(一) ^{18}F -FDG PET-CT 在肺结核诊断中的应用

对肺部结节及肿块的定性诊断和鉴别诊断一直是影像学诊断的难点之一, ^{18}F -FDG PET-CT 显像技术对肺部病变定性诊断的价值已得到肯定。 ^{18}F -FDG PET-CT 对肺部病变良恶性病变进行鉴别诊断,其主要依据为肺部肿块或结节是否具有恶性肿瘤的一般 CT 特征(包括边缘、密度及伴随征象等),同时病灶还具有较高的 ^{18}F -FDG PET 浓聚程度,一般以最大摄取标准值(maximum standardized uptake values, SUVmax) ≥ 2.5 为鉴别标准,但病变表现不典型时易导致误诊。谢丽璇等^[46]回顾性分析 ^{18}F -FDG PET-CT 误诊为恶性病变的 33 例肺部良性病变的影像资料,对病灶大小、分布、边缘、密度、周围伴随征象等 CT 表现进行分析,统计良性病变放射性浓聚的患者例数,并对不同病理类型病变的 SUVmax 进行比较,结果显示:肺结核、真菌感染、良性肿瘤、炎性病变各组平均 SUVmax 依次为 5.54 ± 4.18 、 4.63 ± 1.28 、 6.23 ± 1.32 、 2.07 ± 1.44 ,组间差异无统计学意义($F=2.36$, $P=0.064$);其中 25 例发生 ^{18}F -FDG 放射性浓聚,包括肺结核 18 例,真菌感染及良性肿瘤各 3 例,炎性病变 1 例。作者认为肺结核是最易误诊的肺部良性病变,误诊原因与不典型 CT 征象及 ^{18}F -FDG 高代谢有关;正确认识不同性质良性病变的好发部位、特征性 CT 征象及放射性摄取特点,对减少误诊有一定帮助。有学者还发现活动性结核多表现为 ^{18}F -FDG 高摄取,而经治疗或陈旧性结核 PET 显像表现为无明显摄取或轻中度摄取($\text{SUVmax}<2.5$)^[47];因此对诊断不明的患者,抗结核治疗后复查其代谢情况也是鉴别方式之一^[48]。Sathekge 等^[49]亦认为 FDG-PET-CT 影像可以作为抗结核治疗效果评价的方法。

(二) ^{18}F -FDG PET 在脊柱结核诊断中的应用

由于结核病灶内含有大量的类上皮细胞、郎罕巨细胞和淋巴细胞等,外缘包有网状纤维,这些细胞葡萄糖代谢旺盛,FDG 摄取可以很高,是结核病 ^{18}F -FDG PET 显像的基础。 ^{18}F -FDG PET 融合图像可以清晰反映受累椎体范围,终板及椎间盘有无

累及,椎管内脊髓受压情况,以及椎旁脓肿具体范围,大多数椎旁脓肿范围均超过受累椎体高度。张峰等^[50]研究¹⁸F-FDG PET-CT 在诊断脊椎结核中的应用价值及影像学表现,以标准摄取值(SUV)作为半定量指标,并把异常放射性浓聚灶的 SUV_{max}>2.5 者最终定为阳性病灶。20 例中¹⁸F-FDG PET-CT 检出 36 个椎体,其中 4 例为单一椎体受累,16 例表现为 2 个连续椎体同时受累,以胸腰段椎体为主,诊断脊椎结核 20 例(100%)。另外,延迟扫描 SUV_{max} 可以升高也可以下降,其原因可能是较为新鲜的骨结核内类上皮细胞、郎罕巨细胞和淋巴细胞等占多数,¹⁸F-FDG 摄取增加,延迟扫描 SUV_{max} 上升;而较为陈旧的骨结核因大量干酪样坏死及周缘成纤维细胞大量增生,¹⁸F-FDG 摄取减少,从而导致 SUV_{max} 下降。

多发非连续性脊柱结核属于影像学表现不典型的脊柱结核。运用常规影像学检查,辅以¹⁸F-FDG PET-CT 能够加深对该病的认识,提高诊断准确性。高欣等^[51]报告 5 例多发非连续性脊柱结核的¹⁸F-FDG PET-CT 表现,5 例中 2 例有 2 处病灶均位于腰椎,1 例有 3 处病灶同时累及胸、腰椎,1 例有 4 处病灶同时累及胸、腰、骶椎,1 例有 5 处病灶同时累及颈、胸、腰、骶椎。3 例同时累及椎体和附件。所有患者的病变椎体密度均增高。4 例见沙粒样死骨,4 例椎旁软组织肿胀或冷脓肿形成,2 例椎间隙狭窄。3 例发现脊柱外其他骨关节病灶,包括肋骨、骨盆、胸骨等。5 例病灶的 FDG 摄取均明显增高,SUV_{max} 为 7.2~18.8,平均摄取值(average uptake values, SUV_{avg})为 6.2~16.6,4 例表现为环形摄取。作者认为,¹⁸F-FDG PET-CT 可以同时提供形态学和葡萄糖代谢的信息,本病的 CT 形态学特征是沙粒样死骨和病变椎体密度增高,以及椎间隙狭窄。仅凭 SUV_{max} 值难以鉴别,脊柱结核的 SUV_{max} 可以在 10 以上,甚至更高;FDG 呈环形摄取提示感染性病变,具有特征性。¹⁸F-FDG PET-CT 可以扫描全脊柱,对于本病的定位、定性及定量的评价有重大价值,有助于与其他脊柱良、恶性病变相鉴别,在临床诊疗和预后评估中可以发挥其独特的作用

(三)¹⁸F-FDG PET 在其他肺外结核诊断中的应用

发生于四肢软组织(包括肌肉组织及肌腱等)的结核少见,临床易误诊。肌肉结核早期常为非特异性炎性反应表现,主要是充血、水肿,中性粒细胞和

淋巴细胞浸润,偶尔找到结核分枝杆菌,诊断比较困难,若合并肺内活动性结核则有助于诊断^[52]。确诊依靠病灶病原学诊断和病理检查,抗结核治疗有效。肌肉结核的¹⁸F-FDG PET-CT 显像文献报道较少,对反复发热而抗感染效果不佳、肌肉多发病变的年轻患者,如¹⁸F-FDG PET-CT 表现为全身肌肉多发广泛的代谢增高,建议行延迟显像、CT 增强扫描及实验室相关检查,以排除或确诊肺外结核,减少误诊^[53]。

李伏燕等^[54]报告 1 例心包结核合并淋巴结结核患者采用¹⁸F-FDG PET 检查的情况。患者,男,38 岁;因咳嗽和心包积液 3 d 入院。患者咯少量白色黏痰,无发热、寒战等。胸片示大量心包积液;心脏彩色超声检查显示心包积液(中等);胸部 CT 检查显示心包积液、纵隔淋巴结肿大、左肺下叶少许纤维灶、左侧胸膜稍增厚。¹⁸F-FDG PET 检查显示心包不均匀增厚伴代谢异常增高,双肺肺门、纵隔、左锁骨上区及门腔静脉间隙多发肿大淋巴结,并且代谢异常增高;左锁骨上区淋巴结活检病理报告为淋巴结结核。由于淋巴细胞、单核细胞等在行使其吞噬功能时,其能量代谢也是以无氧糖酵解模式为主,因此感染、肉芽肿等炎性病变在¹⁸F-FDG PET-CT 图像中也可以表现为高摄取灶。因此,在分析图像时不能仅通过¹⁸F-FDG PET-CT 显示摄取¹⁸F-FDG 的高低来鉴别病灶良恶性,需结合临床症状、相关实验室及病理检查等进行综合分析;在诊断中应拓宽思维,注意鉴别诊断,提高此类疾病诊断的准确性。

三、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)在结核病诊断中的应用

(一)MRI 在脊柱结核诊断中的应用

脊椎结核主要由结核分枝杆菌通过血行播散至脊椎而引起,少数由肺结核、椎前或椎旁淋巴结结核直接侵犯导致,极少部分通过脑脊液播散引起。由于 MRI 对组织中水含量和蛋白含量的变化非常敏感,故 MRI 对脊椎结核的诊断具有很高的敏感度和特异度,特别是在评价硬膜外间隙和脊髓等椎管内结构方面,MRI 是惟一可靠的非侵袭性影像学检查方法。典型脊椎结核的影像学表现为相邻椎体骨质破坏,椎间盘破坏,椎间隙狭窄或消失,椎旁脓肿形成。既往文献认为椎体终板破坏、椎旁软组织形成及椎间盘在 T₂ 加权像(T₂ weighted imaging, T₂WI)呈高信号为 3 个敏感度和特异度较高的脊椎结核的 MRI 征象。但实际上病变椎体信号的变化有时较复杂^[55],因除骨质破坏外,尚有充血、水肿等

情况。大多在 T_1 加权像 (T_1 weighted imaging, T_1 WI) 上呈混杂低信号或均匀低信号; 在 T_2 WI 上多呈混杂高信号, 部分呈均匀高信号。而病灶内死骨和椎体边缘增生硬化的骨质可使 T_1 WI、 T_2 WI 信号明显不均匀; 脂肪抑制 T_2 WI 由于抑制了骨髓内脂肪信号, 因而对病变显示清楚。增强后骨质破坏区多呈不均匀强化, 周边强化较明显。椎间隙狭窄或消失是椎间盘破坏的表现。当邻近椎体受累, 椎间盘可能失去营养而继发性受累。病变早期椎间盘在 T_1 WI 上呈低信号, 在 T_2 WI 上信号增高; 随着病变进展, 椎间盘破坏, 髓核突入椎体或消失, 在 T_2 WI 上呈不均匀略高信号或高低混杂信号, 与相邻椎体分界不清, 增强后有不均匀强化或无强化。椎旁软组织影常见于结核性肉芽肿和冷脓肿, 其范围、大小不一, 常跨椎体生长。典型的脊椎结核多有冷脓肿形成, 在 T_1 WI 上呈不均匀的等信号或低信号, 在 T_2 WI 上呈混杂信号或均匀高信号, 增强扫描冷脓肿壁可见强化, 边界显示更清楚。MRI 上可显示脓肿范围、程度, 尤其在肿瘤引起的软组织病变鉴别方面可发挥重要作用。脓肿在 T_1 WI 上多呈低信号, T_2 WI 上呈高信号。 T_1 WI 强化后为弱高信号, 而脓肿内部为低信号改变。恶性肿瘤引起的软组织肿块由于内部血运丰富, T_2 WI 强化后呈高信号改变, 可用于结核性冷脓肿与肿瘤软组织肿块的鉴别诊断^[56]。

随着结核分枝杆菌的变异和重组、人们生活水平的提高和免疫力的增强等原因造成了不典型脊柱结核的产生, 给临床诊治带来挑战。当 MRI 表现不典型时, 容易造成临床上对普通非特异性脊椎炎和一部分肿瘤性病变与结核性脊椎炎混淆, 因此仔细分析 MRI 显示的病变特点 (包括形态、信号细微差异), 总结其特征及鉴别点, 结合临床资料及实验室检查, 可以提高对相关疾病的认识, 减少误诊^[57]。甄平等^[58] 收集 45 例成人非典型性脊柱结核, 探讨其影像学分型与表现形式, 结果显示非典型性脊柱结核的影像学分型包括: 单椎体型 (9 例), T_2 WI 示单一椎体病灶呈不均匀高信号; CT 扫描示老年人病变椎体以虫蚀样、溶骨性破坏为主, 青年人病变椎体内呈单个均匀透亮的圆形溶骨性骨质破坏区。单脊椎椎体附件型 (2 例), T_2 WI 示椎体附件呈高信号改变; CT 扫描示椎板及椎弓根呈虫蚀样骨质破坏。单脊椎全椎骨型 (8 例), CT 扫描示单脊椎的椎体及附件均呈虫蚀样广泛骨质破坏。椎间盘型结核 (5 例), MRI 示椎间盘信号减低, 团状的椎间盘组织

突入椎管压迫脊髓。多发性相邻型脊柱结核 (14 例), 螺旋 CT 示多个相邻椎体呈虫蚀样骨质破坏。多发性非相邻型 (跳跃型) 脊柱结核 (7 例), 非相邻多个椎体脊柱结核在 T_2 WI 上呈现椎体骨质结构破坏的混杂信号, 个别患者 T_2 WI 示高信号的椎旁脓肿, 通过流注方式波及多个非相邻椎体。作者认为虫蚀样骨质破坏、骨髓水肿、前和 (或) 后纵韧带高信号等影像学改变, 均为非典型性脊柱结核影像学的特征性表现。

由于脊柱结核治疗不及时可导致椎体严重破坏、脊柱畸形和神经损害等, 正确诊断、及时有效的早期治疗可减少致残率, 所以早期诊断和治疗显得尤为重要。MRI 在早期炎性水肿期就能有异常表现, 尤其磁共振扩散加权成像 (diffusion weighted imaging, DWI) 是对水分子运动敏感的成像技术, 可以从分子水平定量提供一定的对疾病诊断有用的信息。刘晓晨等^[59] 通过建立兔脊柱结核模型进行实验研究, 建立 29 只实验组兔脊柱结核动物模型后, 在手术后 4 周、8 周分别采用常规 MRI 及 MRI-DWI。结果显示, 手术造模后第 4 周见实验组 8 只兔 L5 椎体上缘有轻微骨质破坏, 矢状面上显示 T_1 WI 低信号及 T_2 WI 混杂高信号改变, L5 椎体形态欠规则, L5~6 椎间盘信号在 T_1 WI 及 T_2 WI 矢状面上呈低信号改变; 术后第 8 周可见实验组 16 只兔 L5 椎体有明显骨质破坏, 在矢状面上呈混杂长 T_1 长 T_2 信号, 矢状面同层扫描显示 L5 椎体后方可见 T_1 WI 呈高信号、 T_2 WI 及 T_2 WI-频谱预饱和反转恢复序列 (SPIR) 呈混杂高信号的脓肿; T_2 WI-SPIR 示 L4~5、L5~6 椎间盘信号减低, 椎管受压移位; 实验中 b 值为 600 s/mm^2 , 在 DWI 图像上测得术后 4 周、8 周实验组病变椎体与对照组椎体、正常椎体的表观扩散系数 (apparent diffusion coefficient, ADC) 值差别较大, 差异均有统计学意义, 病变椎体的 ADC 值明显高于对照组椎体及正常椎体; b 值为 800 s/mm^2 时, DWI 上病变椎体显示不清, 无法测量 ADC 值; 随着 b 值的增加, 所获图像信噪比逐渐减低, 图像质量逐渐变差, 伪影增多, 所得到的 ADC 值稳定性较差, 因此在临床应用中注意选择适当的 b 值, 将常规 MRI 与 DWI 相结合, 可以更好地做到对脊柱结核的早发现、早诊断、早治疗。

(二) MRI 在颅内结核诊断中的应用

近年来结核病发病率呈上升趋势, 颅内结核亦随之增多, 以结核性脑膜炎最为常见。多数学者将直径数毫米至数厘米大小的脑实质结核病灶统称为

结核瘤,且分为非成熟结核瘤和成熟结核瘤 2 种,并认为前者为非干酪性结核瘤,病理上为增生性结核结节;仅少数学者根据颅内结核结节的 MRI 特点分为肉芽肿型、干酪样型、脑膜炎型及弥漫粟粒型。过丽芳等^[60]通过观察颅内结核的 MRI 特点及抗结核治疗动态分析,认为上述按照结核病灶强化特点进行的分型虽然在一定程度上可以反映结核病变的病理改变和 MRI 特点,但与直径 2.0 cm 或者 1.0 cm 大小称为结核球(瘤)的病理解剖学定义相差甚远;此外,颅内结核病灶的形成,尤其是粟粒和多发性结节病灶,是结核病变血行播散性改变的特点之一,若均以结核瘤来进行描述则过于笼统,不能真正反映脑实质结核的病理变化特点。本研究资料显示,38 例单纯脑实质结核均表现为大小不一的多发性结节,883 个结节病灶中直径 ≤ 0.3 cm 者占 47.9%,若加上直径 < 1.0 cm 的多发性结节则高达 85.3%;而上述分型显然难以解释这些粟粒病灶的影像特点。此外,本组资料中 ≥ 1.0 cm 病灶(可定义为结核瘤者)仅占 14.7%,反之也足以说明以占较少比例的类型来确定脑实质结核的分型是不适宜的;同时,36 例动态 MRI 随访患者中,22 例表现为单纯脑实质结核的粟粒病灶、结节病灶及结核瘤,治疗 3 个月病灶消失率分别为 52.2%(59/113)、33.3%(33/99)和 0.0%,治疗 6 个月病灶消失率分别为 87.6%(99/113)、50.5%(50/99)和 18.2%(2/11);粟粒病灶在 3 及 6 个月时的病灶消失率明显高于结节病灶,差异有统计学意义(χ^2 值分别为 7.657、34.786, P 值均 < 0.01)。结核性脑膜炎 10 例吸收相对缓慢,本研究资料中治疗 3 个月尚未见脑膜病变完全吸收的患者。作者认为,按照脑实质结核病灶大小及分布分为粟粒型、多发结节型及结核瘤型较为客观,在一定程度上能够包括结核病变的不同病理阶段,可以将脑实质结核的 MRI 表现描述得更为完全。姜涛等^[61]对中枢神经系统感染性疾病患者脑脊液(CSF)常规及 MRI 特点进行分析,以探讨其特点对中枢神经系统感染性疾病鉴别诊断的意义。结果显示, MRI 显示异常患者 76 例,病毒性脑炎和(或)脑膜炎、化脓性脑膜炎、结核性脑膜炎、隐球菌性脑膜炎患者的 CSF 压力、蛋白质、氯化物、糖、中性粒细胞含量、血中性粒细胞百分比不同,差异有统计学意义;逐步回归分析筛选出 CSF 压力、蛋白质、氯化物、血中性粒细胞百分比、有无 MRI 显示的病灶 5 项指标建立判别函数,诊断的总准确率为 59.1%。诊断结核性脑膜炎的敏感度、特异度和

准确率分别为 61.7%、80.6% 和 77.4%。作者认为,CSF 压力、蛋白质、氯化物、血中性细胞百分比、有无 MRI 病灶对中枢神经系统感染性疾病的鉴别诊断最有意义,建立的判别函数对鉴别诊断具有一定价值,但临床上仍需依据病原学进行确诊。

(三)MRI 在前列腺结核诊断中的应用

泌尿生殖系统结核中以肾结核最常见,前列腺结核患病率低,临床及影像学医师常将其误诊为前列腺癌或前列腺炎,因此早期诊断具有重要意义。程悦等^[62]报道 4 例经穿刺活检病理证实的前列腺结核患者的 MRI 表现。(1)结节型:2 例表现为中央带及外周带多发结节,结节直径 4~18 mm,结节呈多边形,边界清晰,边缘锐利, T_1WI 呈等信号, T_2WI 呈极低信号,与闭孔内肌信号相似。DWI 及 ADC 上均呈稍低信号,其中 1 例在结节内见脓肿形成, DWI 上呈明显高信号,同时累及右侧精囊腺、输尿管及附睾。(2)弥漫型:2 例表现为中央带和(或)外周带多发片状异常信号, T_1WI 呈等信号, T_2WI 呈中等程度信号减低,与坐骨骨髓呈等信号,但高于肌肉。DWI 呈稍高信号, ADC 呈低信号,其中 1 例在中央带内可见脓肿形成,同时此例进行了磁共振波谱(MR spectroscopy, MRS)检查, T_2WI 上中央带及外周带低信号区“(Cho+Cre)/Cit 比值”[(胆碱+肌酸)/枸橼酸盐的比值]处于正常范围。病理结果:显微镜下可见结核结节,包括上皮样细胞、朗罕巨细胞,以及外周局部集聚的淋巴细胞,部分可见干酪样坏死,抗酸染色阳性。作者认为前列腺结核的 MRI 表现有一定特征性,主要分为结节型和弥漫型。结节型病变的特征为多形性形态及 T_2WI 上类似于肌肉的极低信号;弥漫型病变与前列腺癌的鉴别点在于 T_2WI 上的信号减低区 MRS 代谢正常,中央带及外周带常同时受累,伴有脓肿形成等。

四、CT 引导下经皮穿刺活检在结核病诊断及介入治疗中的应用

菌阴肺结核患者的痰中查不到结核分枝杆菌,但并不能将此类患者认为是真正意义上的细菌学阴性。临床证实,此类患者仍然具有传染性,仅仅在传染强度上低于痰菌检查阳性的肺结核患者^[63]。菌阴肺结核目前的诊断标准为支气管肺泡灌洗液检出抗酸分枝杆菌或支气管、肺部组织病理证实为结核病变,这两项中具备任何一项即可确诊。但是临床实践发现,在支气管肺泡灌洗液中抗酸分枝杆菌检出率较低,诊断价值较低;因此肺部组织病理检查被认为是提高菌阴肺结核确诊率的有效手段。刘华

等^[64]回顾性分析 59 例接受经皮肺穿刺活检的菌阴肺结核患者资料,结果活检病理报告:肺结核占 75.44% (43/57),肺炎占 14.04% (8/57),肺癌占 8.77% (5/57),间质性肺病为 1.75% (1/57);CT 引导下经皮肺穿刺活检成功率为 96.61% (57/59),准确率为 87.72% (50/57),敏感度为 84.00% (42/50),特异度为 85.71% (6/7),阳性似然比为 5.87,阴性似然比为 0.19。气胸发生率为 6.78% (4/59),咯血发生率为 1.69% (1/59),穿刺部位出血发生率为 10.17% (6/59),皮下气肿发生率为 3.38% (2/59)。因此,CT 引导下经皮肺穿刺活检能有效确诊菌阴肺结核,安全性较好,具有较好的临床应用价值。Choo 等^[65]亦进行了此项研究,认为当痰菌阴性,CT 表现为含有支气管气像及团块影等不典型结核表现,并与肺癌较难鉴别时,经皮肺穿刺活检是早期诊断的最有效的确诊方法。Zhang 等^[66]报告 1 例 30 岁肝结核患者,患者既往有 10 年乙型肝炎病史。常规 B 超及 CT 扫描检查发现肝内多发大结节,B 超显示为大小不等的低回声结节。CT 表现为低密度结节,边缘模糊、密度均匀,最大结节 7.04 cm×6.37 cm,最小结节直径约 1.02 cm;腹腔少量积液;难以与肝癌肝转移鉴别。经皮肺穿刺活检病理证实为肝结核。

结核病免疫学诊断

2014 年度,结核病免疫诊断方法的研究仍然方兴未艾。作为新锐的免疫检测方法, γ -干扰素释放试验(interferon gamma release assay, IGRA)在诊断结核潜伏感染和发病中的应用仍是热点;但同时,利用其他细胞因子、化学元素和抗体等生物标志物诊断潜伏结核感染与结核病的研究也不断涌现,且受到学界关注。

一、IGRA

IGRA 主要目的是用于诊断潜伏结核感染(latent tuberculosis infection, LTBI)的试验,目前国际上 IGRA 已有 2 个商业化试剂盒,即 QuantiFERON-TB Gold (QFT)[其第二代为 QuantiFERON-TB Gold In-Tube test (QFT-GIT)]和结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT. TB)试剂盒。

(一)诊断 LTBI

1. 结核病低流行国家的 LTBI 筛查研究: Erkens 等^[67]在荷兰进行的一项研究纳入接受结核菌素皮肤试验(TST)受试者 91 334 名,接受 IGRA 受试者 4497 名。结果发现,使用 TST 诊断为 LTBI

者,其 IGRA 检测结果至少 60% 为阴性;TST 阴性者中的 16% IGRA 检测结果阳性;41% 在行 TST 后再做 IGRA 的受试者,IGRA 检测结果影响到最终是否诊断 LTBI。因此认为,如以 IGRA 为诊断标准,在结核低流行国家,高比例的人群因 TST 阳性而接受预防性治疗;而有一小部分结核感染者则被忽略了。二步法策略有利于发现预防性化疗真正的目标人群,也符合卫生经济学原则。Iqbal 等^[68]对美国 and 外国出生的人口怀疑结核潜伏感染者(分别为 89 例与 132 例)以 TST 和 T-SPOT. TB 进行筛查,计算诊断结核潜伏感染和预防性治疗需要的费用,发现与 TST 相比,T-SPOT. TB 是一种经济的筛查方法,尤其对于高危人群,比如在美国以外出生者。

2. IGRA 在特殊人群 LTBI 筛查中的应用研究:在对医务工作者的结核潜伏感染筛查的研究中,IGRA 与 TST 结果的一致性并非高度一致。Dorman 等^[69]对 2418 名医务工作者进行了结核潜伏感染筛查,其中 TST 阳性者 5.2%,QFT-GIT 阳性者 4.9%,T-SPOT. TB 阳性者 6.0%。18 个月,后,QFT-GIT、T-SPOT. TB、TST 结果阳转率分别为 6.1%、8.3%、0.9%。QFT-GIT 与 T-SPOT. TB 的阳转者中,分别有 76.4%与 77.1%的人员 6 个月后又转为阴性,提示在结核低流行国家 IGRA 阳转者多为假阳性。Babayigit 等^[70]检测了 100 名健康工作者 TST 与 QFT-GIT 的情况,32 例 TST 阳性(硬结平均直径 ≥ 15 mm)受试者中有 17 例 QFT-GIT 结果为阴性;而在 61 例 TST 硬结平均直径在 6~14 mm 之间者,有 4 例 QFT-GIT 结果为阴性;在 TST 硬结平均直径在 0~5 mm 者 QFT-GIT 结果全为阴性。说明在 TST 硬结平均直径 ≥ 15 mm 时两个试验的一致程度中等。建议在结核高危人群及普种卡介苗(BCG)地区使用 IGRA 作为 TST 的替代试验。耿梦杰等^[71]对中国 917 名医务人员分别行 TST 与 QFT-GIT 检测,结果 TST 硬结平均直径 5、10 和 15 mm 临界值阳性率分别为 68.92% (632/917)、47.87% (439/917)和 25.08% (230/917);QFT-GIT 阳性率为 69.57% (638/917),TST 和 QFT-GIT 一致率为 44.82%~66.85%(依据 TST 硬结平均直径变化而异)。提示 TST 和 QFT-GIT 判定结核感染的一致性较差。

不少作者对 IGRA 在 Mtb 与 HIV 双重感染者中结核感染筛查的应用进行了研究。Rose 等^[72]对 81 例 HIV 阳性儿童行 QFT-GIT,其中 18.5%呈阳

性;17 周后复查 79% 的患者转为阴性,7 例(QFT>1.0 IU/ml 或 TST 阳性)接受预防性化疗,随访 2 年未发生活动性结核病。提示 QFT-GIT 对免疫状况相对稳定的 HIV 感染儿童是一个可靠的诊断 LTBI 的方法;然而其重复试验结果的阴转,与 TST 结果及结核暴露危险的不一致导致了结果的解释困难。Jeong 等^[73]研究发现,在 129 例接受肾移植术的患者中,32.5% 患者的 QFT-GIT 结果阳性。随访(8.4±6.8)个月后,2 例患者发生活动性结核病,其中 1 例 QFT-GIT 阳性、另 1 例 QFT-GIT 阴性。在等待 272 例肾移植术的患者中,TST 与 QFT-GIT 检测结果阳性率分别为 22.8% 与 35.3%,两者一致性很差。因此,QFT-GIT 不能短期预测肾移植术患者发生活动性结核病。Sherkat 等^[74]对 44 例肾移植术后患者行 TST 及 T-SPOT. TB 检查,结果 18.2% 的患者 TST 阳性,13.6% 的患者 T-SPOT. TB 阳性,两者一致性中等。虽然 TST 和(或)T-SPOT. TB 阳性的患者使用了异烟肼化疗,但仍有 1 例患者结核病复发。说明在此类患者中 TST 和 T-SPOT. TB 检测对诊断 LTBI 的价值是相似的。Mardani 等^[75]报告 55 例心肺移植术后患者行 TST 及 QFT-GIT 检查,结果 5% 的患者 TST 阳性,20% 的患者 QFT-GIT 阳性,差异无统计学意义($P=0.56$);然而,QFT-GIT 阳性率更高,预测潜伏结核感染的准确性更高。此类研究样本量较小,仍需要大样本研究进一步验证其研究结论。

另外,IGRA 尚可用于应用于旅行者 LTBI 筛查的研究。Elfrink 等^[76]对赴结核病高流行国家旅行 13~52 周者进行旅行前后的 IGRA 及 TST 检测,发现 516 名旅行者中 2 例 IGRA 阳转,5 例 TST 阳转,提示旅行导致潜伏结核感染的风险是较低的,仅长期在结核病高流行国度旅行的人员需要接受 IGRA 监测。

3. IGRA 诊断 LTBI 的相关指南:各国研究所获结论及指南内容仍有差异。在加拿大及大多数欧洲国家,指南建议 IGRA 结合 TST 以二步法的形式用于诊断 LTBI;而美国及日本的指南建议直接以 IGRA 取代 TST^[77]。中华医学会结核病学分会 2014 年指南^[78]中再次重申 WHO2011 年指南的意见:在中、低收入国家和(或)结核病高负担国家中不应推荐用 IGRA 替代 PPD 试验作为大规模健康人群中筛查结核病的公共卫生手段,指出 IGRA 可用于诊断 LTBI,但不能区分活动性结核病和 LTBI,并详细阐述了 IGRA 在我国不同人群中的应用。

针对其在结核密切接触者及医务人员 LTBI 中的筛查,指南建议:(1)PPD 试验和 IGRA 均可用于 LTBI 的诊断和追踪,若考虑到 PPD 试验检测结果可能受卡介苗接种或 NTM 感染影响时,可对 PPD 试验阳性者进一步采用 IGRA 帮助确认;(2)不宜采用 IGRA 对大范围人群进行 LTBI 筛查;(3)PPD 试验仍是在健康人群中动态筛查 LTBI 的首选。对儿童 LTBI,指南建议:先采用 PPD 试验,对 PPD 试验阳性者可再行 IGRA 辅助确诊。针对免疫抑制宿主的筛查,指南建议:(1)对 HIV 感染人群进行 LTBI 筛查,应单用 IGRA 或联合使用 PPD 试验,在方法选择上优先考虑细胞免疫检测技术。(2)自身免疫性疾病和器官移植患者在接受糖皮质激素或肿瘤坏死因子 α (TNF- α)拮抗剂治疗前,应单用 IGRA 或联合使用 PPD 试验筛查 LTBI^[78]。

(二)IGRA 辅助诊断结核病

1. 应用 IGRA 辅助诊断结核病的大样本研究:章淑梦等^[79]对 523 例中国患者(其中诊断为活动性结核病 136 例,非活动性结核病 387 例)血标本行 T-SPOT. TB 检查,结果提示 T-SPOT. TB 诊断活动性结核病(含肺结核与肺外结核)的总敏感度为 94.9%(129/136,95%CI 为 89.7%~7.9%),特异度为 71.1%(275/387,95%CI 为 66.2%~75.5%),阳性预测值为 53.5%(129/241,95%CI 为 47.0%~60.0%),阴性预测值 97.5%(275/282,95%CI 为 95.0%~99.0%)。T-SPOT. TB 诊断痰菌阳性与阴性结核病的敏感度,以及诊断不同部位结核病的敏感度相比较,各组之间差异无统计学意义。该研究认为,T-SPOT. TB 在 Mtb 高自然感染率的中国,用于诊断活动性结核病值得推广,其较高的阴性预测值可为临床结核病的诊断和治疗提供重要参考。刘红等^[80]对结核病(含肺结核与肺外结核)疑似患者 1084 例行 T-SPOT. TB 检查,1084 例中有 384 例(35.4%)确诊为结核病患者;54 例为实验室诊断,其中 42 例 T-SPOT. TB 结果阳性,敏感度为 77.8%(42/54);330 例为临床诊断,其中 289 例 T-SPOT. TB 结果阳性,敏感度为 87.6%(289/330)。T-SPOT. TB 的综合敏感度为 86.2%(331/384)。700 例(64.6%)非结核病患者中,638 例 T-SPOT. TB 检测结果为阴性,特异度为 91.1%(638/700)。60 例经抗结核治疗 2~4 周后复查 T-SPOT. TB,治疗后 2 种抗原即早期分泌抗原靶 6(ESAT-6)和培养滤液蛋白 10(CFP-10)的特异性斑点数(平均数分别为 47 个和 18 个)均显著低于治疗前(平均数分别为

99 个和 49 个),提示 T-SPOT. TB 诊断结核病的敏感度和特异度较高。

2. 应用 IGRA 辅助诊断肺外结核:贾红彦等^[81]纳入 51 例淋巴结核、105 例非结核性淋巴结疾病患者进行对照研究,均行外周血 T-SPOT. TB 及免疫印迹法检测结核分枝杆菌抗体,结果 T-SPOT. TB 和免疫印迹法检测结核分枝杆菌抗体的敏感度分别为 92.2%(47/51)和 60.8%(31/51),特异度分别为 79.0%(83/105)和 77.1%(81/105),T-SPOT. TB 敏感度显著高于免疫印迹法,提示 T-SPOT. TB 在淋巴结核的诊断中有着较高的敏感度。陆迪雅等^[82]采用患者外周血进行 T-SPOT. TB 检测,同时采用患者脑脊液进行 γ -干扰素检测,探讨两种方法在诊断结核性脑膜炎中的价值。结果显示,结核性脑膜炎组外周血 T-SPOT. TB 阳性率为 70%,非结核性脑膜炎组为 13%(5/39),两组差异有统计学意义($P < 0.01$)。首次脑脊液 γ -干扰素水平检测两组间(结核性脑膜炎组和非结核性脑膜炎组)差异有统计学意义($Z = -4.646, P < 0.01$)。随访脑脊液 γ -干扰素水平,结核性脑膜炎组较治疗前明显降低,差异有统计学意义($Z = -3.099, P = 0.002$)。外周血 T-SPOT. TB 诊断结核性脑膜炎的敏感度为 70%,特异度为 87%;脑脊液 γ -干扰素诊断结核性脑膜炎的受试者工作特征曲线下面积为 0.819,敏感度为 83%,特异度为 85%。作者认为,外周血 T-SPOT. TB 及脑脊液 γ -干扰素检测对结核性脑膜炎均有较高的诊断价值,动态观察脑脊液 γ -干扰素含量变化对结核性脑膜炎患者的病情监测具有重要意义。

3. IGRA 在鉴别结核病与非结核分枝杆菌病中的作用:林玲等^[83]用结核分枝杆菌 DNA-PCR 和 IGRAs 检测对 334 例分枝杆菌肺病患者进行鉴别,发现结核分枝杆菌 DNA-PCR 和 IGRAs 诊断肺结核和 NTM 肺病的敏感度分别为 74.58%(179/240)、77.08%(185/240),特异度分别为 89.36%(84/94)、79.79%(75/90),两种方法联合检测肺结核的敏感度为 93.75%(225/240)、特异度为 77.66%(73/94),提示 IGRAs 对于鉴别肺结核和 NTM 肺病具有较好的应用价值,联合应用结核分枝杆菌 DNA-PCR 和 IGRAs 可以显著增加鉴别诊断的准确性。

4. IGRA 对特殊人群结核病的诊断价值:James 等^[84]在结核病高流行、BCG 普种地区对 Mtb 与 HIV 双重感染者行 QFT-GIT 与 TST 检查,100 例成人分为 4 组:HIV 阳性并有结核病患者接触史,

HIV 阳性并有结核病过去史,结核病患者,健康人。QFT-GIT 与 TST 检测的一致率约 52.4%,将 TST 硬结平均直径的临界值从 5 mm 增加到 10 mm 可以将第一组患者检测一致率提高到 62.5%,第二组提高到 81.2%。因此,认为二步法在低收入国家(如印度)是经济而可靠的手段。Sauzullo 等^[85]研究了 QFT-GIT 在合并活动性结核病的 HIV 感染者中的诊断价值及变化情况。该研究招募 44 例入组,结果为阳性 66%,阴性 11.3%,不明确者 22.7%;13 例患者进入随访,虽然体外实验发现 4 种抗结核药物对 QFT-GIT 的结果及 T 淋巴细胞凋亡无影响,但治疗结束后 38.4%的患者阴转,提示 QFT-GIT 在 HIV 感染者合并结核病的诊断方面有一定价值,并且抗结核治疗对其结果有影响。

钟一鸣等^[86]选取结缔组织病(CTD)合并结核病患者 44 例,并随机选取同期没有结核病的 CTD 患者 44 例为对照组,比较 T-SPOT. TB 和 TST 对 CTD 合并结核病患者辅助诊断价值。T-SPOT. TB 诊断 CTD 合并结核病的敏感度为 70.5%(31/44),显著高于 TST(27.3%,12/44),两项指标的特异度分别为 93.2%(41/44)和 88.6%(39/44),差异无统计学意义。当 T-SPOT. TB 斑点形成细胞频数取值为 38 个斑点形成细胞(SFC)/ 10^6 外周血单个核细胞时,为诊断结核病的最佳分界值;并发现年龄、糖皮质激素或免疫抑制剂的使用、淋巴细胞减少症和低白蛋白血症均不是 T-SPOT. TB 诊断假阴性的危险因素。提示 T-SPOT. TB 对 CTD 合并结核病的辅助诊断价值明显高于 TST。

关于 IGRA 在儿童结核病中的诊断价值其结论仍有分歧。Mukherjee 等^[87]在包括 362 例儿童的横断面调查研究中发现,微量营养素缺乏,尤其是缺锌,可能影响胸腔内结核儿童的 QFT-GIT 检测结果。因此,在锌缺乏的高流行地区,以 QFT-GIT 辅助诊断结核病应慎重。有人认为 IGRA 在儿童结核病检测时的敏感度较低,例如 Wang 等^[88]在中国采用 T-SPOT. TB 检测了 102 例儿童结核病,发现敏感度为 58.8%(95%CI: 49.1%~67.9%),各年龄组间差异无统计学意义。Schopfer 等^[89]在柬埔寨纳入 405 例临床诊断为结核病的儿童进行研究,获得微生物学证据证实为结核病患者有 81 例(22.5%),其中 43 例获得 IGRA 阳性结果(敏感度为 53.1%,95%CI 为 42.3%~63.6%)。然而,鲍磊等^[90]入组中国儿童与成人怀疑结核病患者各 60 例,均行 QFT-GIT 检测。发现儿童中诊断结核病

的敏感度为 83.87%, 特异度为 92.00%; 成人则分别为 78.57% 与 84.62%。作者认为该检测在儿童结核病中的诊断价值更好。

5. 循证医学研究: Sollai 等^[91]的 Meta 分析提示, 被纳入的 31 个 QFT-GIT、14 个 T-SPOT. TB、34 个 TST 研究中, 在高收入国家微生物学证实的患者中 QFT-GIT 的敏感度为 86% (95%CI 为 81%~90%), T-SPOT. TB 为 79% (95%CI 为 69%~87%); 在低收入国家, 微生物学证实的患者中 QFT-GIT 的敏感度为 66% (95%CI 为 55%~76%), T-SPOT. TB 为 80% (95%CI 为 73%~86%)。TST 的敏感度在高收入与低收入国家则分别为 86% (95%CI 为 79%~91%) 与 74% (95%CI 为 68%~80%)。IGRA 与 TST 相比, 其特异度在高收入地区为 97%~98% 与 92%, 而低收入地区仅有 85%~93% 与 90%。提示在低收入国家 2 种 IGRA 方法的检测结果并不比 TST 优越。

6. IGRA 辅助诊断结核病的相关指南: WHO 曾在 2011 年指南中指出 IGRA 和 PPD 试验均不能准确预测 Mtb 感染者发生结核病的风险^[92]。中华医学会结核病学分会参考本国临床研究数据及 WHO 发布的指南, 肯定了对结核病的辅助诊断作用, 于 2014 年发布指南建议: (1) IGRA 不能用于确诊或排除活动性结核病, 但对缺少细菌学诊断依据的活动性结核病 (如菌阴肺结核等), IGRA 可在常规诊断依据的基础上, 起到补充或辅助诊断的作用, IGRA 阴性结果对排除 Mtb 感染有一定帮助; (2) IGRA 检测胸腔积液和腹水等非血液标本的检测程序、判断标准和诊断效能有待进一步研究^[10]。针对在儿童结核病中的应用, 指南建议^[78]: (1) IGRA 的敏感度并不优于 PPD 试验, 且 IGRA 操作复杂、价格昂贵, 不建议常规以 IGRA 替代 PPD 试验对儿童活动性结核病进行辅助诊断; (2) 联合应用 IGRA 和 PPD 试验作为儿童结核病的辅助诊断方法, 尤其适用于重症结核病和难以获得细菌学诊断依据的结核病。

(三) IGRA 方法学的改进

IGRA 方法学的改进包括使用不同的抗原、观察不同指标、用于除血液以外的其他标本、阳性临界值的判定等, 均有助于改善 IGRA 准确性。Goletti 等^[93]对 IGRA 诊断 LTBI, 尤其用于免疫抑制患者时的准确性、临界值策略及改进措施进行探讨, 建议对使用 IGRA 诊断了 LTBI 的自身免疫性疾病患者进行随访和检测, 了解结核病进展的风险, 并提出可

考虑改进 IGRA 方法学, 如改变临界值、增加 IGRA 的观察指标 [比如干扰素诱导蛋白 10 (IP-10)、白介素 2 (IL-2)、多功能 CD4⁺ T 淋巴细胞] 等提高其诊断效能。Whitworth 等^[94]用自动和手工 ELISA 方法通过 QFT-GIT 检测 IFN- γ 释放量, 结果表明, 自动 ELISA 能降低临界值附近的变异。Araujo 等^[95]将另一蛋白磷酸特异性运输底物结合-1 与 CFP-10 融合, 并与融合蛋白 CFP-10-ESAT-6 相比较, 应用于 108 名 PPD 皮试阳性的与结核病患者密切接触患者中, 检测 IFN- γ 反应, 发现其诊断结核潜伏感染及预测活动性结核病的阳性率稍高于 ESAT-6-CFP-10, 是一个有前景的结核潜伏感染标志物。张丽帆等^[96]用固相酶联免疫斑点技术 (ELISPOT) 检测 151 例疑似肺结核患者血中重组结核分枝杆菌相对分子质量为 11 000 蛋白的 T 淋巴细胞反应, 并与 ESAT-6 及 CFP-10 激发 T 淋巴细胞反应相比较, 敏感度分别为 60.6% 与 81.8%, 特异度为 82.1% 及 72.9%, 联合检测为 84. % 与 86.9%; 提示 ELISPOT 检测血中重组结核分枝杆菌相对分子质量为 11 000 蛋白的 T 淋巴细胞反应诊断结核病的特异性更优, 且可和 T-SPOT. TB 联合应用。Liao 等^[97]评估了 352 例结核性胸膜炎患者的 T-SPOT. TB 检测结果, 发现胸腔积液抗原特异性 IFN- γ 水平为同步外周血中的 4~5 倍, 其敏感度、特异度分别为 95.7% 与 100.0%, 高于外周血 (分别为 78.3% 与 86.3%), 提示取胸腔积液标本检测抗原特异性 IFN- γ 不失为快速、敏感的辅助诊断方法。

二、多种细胞因子的研究

(一) 细胞因子在诊断 LTBI 中的价值

为了解决在 TST 和 IGRA 结果不一致情况下判定是否为 LTBI, Sauzullo 等^[98]对 196 名卫生工作者在进行 TST 和 IGRA 检测结果不一致且除外 BCG 接种者后, 延长特异性抗原刺激时间至 72 h, 检测 IFN- γ 与 IL-2 水平。发现上述结果不一致的患者中 13% 在延长实验中 IL-2 产生了阳性反应。因此, 延长实验的 IL-2 反应有潜在诊断 LTBI 的价值, 尤其是患者在接受 TST 与 IGRA 检查后诊断仍不能确定时。Buchwald 等^[99]评估了暴露于结核分枝杆菌的接触者基线和 6 个月后的 TST 状态, 分为 TST 阳性、TST 阳转、TST 阴性三种。用 ESAT-6-CFP-10 融合蛋白刺激 1、6 d 后, 12 种细胞因子 [IFN- γ 、IL-2、IP-10、TNF- α 、IL-13、IL-17、IL-10、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、巨噬细胞炎性蛋白-1 β (MIP-1 β)、单核细胞趋化蛋白 3

(MCP-3)、白介素-2 受体抗体(IL-2RA)、IL-1 α]在 TST 阳性与 TST 阳转受试者中没有差异。IP-10 和 IL-17 在基线时 IGRA 为阳性的 TST 阳转受试者中水平最高,提示此两项指标可能提示为新近感染的生物标志物,提供了结核病密切接触者的免疫动力学反应,有利于鉴别出结核感染的高危人群。Garcia Jacobo 等^[100]发现持续 IGRA 阳性的结核病密切接触者中,体外抗原特异性辅助性 T 细胞(Th) 1 与 Th17 的水平增加,并且血 CD4⁺ 细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4(CTLA 4)和 CD4⁺ 叉头框蛋白 P3(FoxP3) T 淋巴细胞的比例明显增高,说明 IGRA 阳性的个体可呈现出不同的免疫表型。鉴于使用 TNF- α 拮抗剂的患者 LTBI 的诊断即使采用 IGRA 也不能完全确诊,Sauzullo 等^[101]率先研究此类患者血中多功能 CD4⁺ T 淋巴细胞[产生 IFN- γ , IL-2 和(或) TNF- α]的变化情况,发现 LTBI 受试者血中 IFN- γ +、IL-2 + (双阳)或 IFN- γ +、IL-2 +、TNF- α + (三阳)CD4⁺ T 细胞的比例更高,而非 LTBI 受试者显示 IFN- γ 或 IL-2 单阳,或者 IL-2 与 TNF- α 双阳。该发现有助于诊断或排除 LTBI,尤其是在最初 IGRA 阴性但治疗过程中 IFN- γ 水平波动的受试者。

(二)细胞因子在结核病诊断与鉴别诊断中的价值

Silva 等^[102]探讨了结核病患者、结核感染者、健康人血 CD8⁺ 细胞的不同表型,结果发现在 CD8⁺ 细胞中 IL-10 与转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)的存在,以及颗粒酶 B 表达的下调与活动性结核患者的细菌载量有关,提供了关于 CD8⁺ 细胞在结核病中扮演角色的新视角。Hur 等^[103]试图寻找有用的生物标志物鉴别结核感染者、结核病患者、非结核分枝杆菌病患者,结果发现抗原特异性 IFN- γ 、IL-2 与 CXC 趋化因子配体 10 (CXCL-10)在结核病患者及感染者中较健康人明显增高,只有血管内皮生长因子(VEGF)水平在结核病患者与感染者中有差异。而活动性结核病与 NTM 病患者可通过血清 IL-2、IL-9、IL-13、IL-17、TNF- α 和可溶性 CD40 配体(sCD40L)水平分辨开来。增加的 sCD40L 和降低的抗原特异性 IFN- γ 水平与治疗 2 个月后痰菌的阴转有关。Hur 等^[104]为鉴别诊断儿童结核病与环境非结核分枝杆菌感染,评估了结核分枝杆菌 ESAT-6 免疫反应与堪萨斯分枝杆菌、鸟胞内分枝杆菌的 ESAT-6 类似物交叉反应。针对接种 BCG 3 年后的儿童血液细胞培养液

的特异性细胞因子和趋化因子进行检测,并检测 IFN- γ 结果共 5 年。超过 45% 对 ESAT-6 有反应的受试者对非结核分枝杆菌的 ESAT-6 类似物也有反应。以 ESAT-6-CFP-10 融合蛋白刺激后对 IL-5、IL-9、IL-13 及 IL-17 的检测有利于将两病区分开来,尤其在两病流行广泛的地区使用该鉴别方法很有必要。

三、抗体的检测

Leng 等^[105]制备和定性了一个针对 ESAT-6 的新型单克隆抗体,其敏感度和特异度在受试的 280 例患者中达到 92.4% 和 100.0%,提示是一个有前景的结核病诊断工具。Tiwari 等^[106]用离子交换层析法将结核分枝杆菌的分泌性和膜蛋白分离出来,发现由 4 种蛋白(相对分子质量分别为 6000、27 000、30 000、38 000,即 6、27、30 和 38 kDa)组成的鸡尾酒抗原用一种新型 ELISA 法检测抗体,其敏感度达到 98.67%,特异度 98.06%。Hwang 等^[107]将磷酸盐传送蛋白 1(phosphate transport system protein 1, PstS1)与谷胱甘肽 S-转移酶(gultathione S transferases, GSTs)及大肠埃希菌激活因子(Escherichia coli trigger factor)分别融合在一起,得到表达 PstS1 为融合蛋白的 PstS1-GST 与 PstS1-TF[转录因子(transcription factor, TF)],用 ELISA 法在 22 例结核病患者与 22 名健康人中检测其血清抗体水平,结果发现制作 ROC 曲线后, PstS1-TF 特异度在 84.2% ~ 89.5% 之间,而 PstS1-GST 特异度波动在 78.9% ~ 26.3% 之间,说明 PstS1-TF 作为结核病诊断试剂能产生更准确和恒定的结果。薛丽京等^[108]采用结核分枝杆菌多克隆抗体以免疫组化方法检测两组患者各部位不同类型病变组织活检标本,其中结核病患者 288 例、非结核病患者 81 例。结果发现结核病组对结核分枝杆菌多克隆抗体呈阳性反应者 234 例,占 81.25%;抗酸染色阳性者 61 例,占 21.18%,多克隆抗体检测法显著高于后者。在不同病理类型之间的比较中,渗出为主型的结核分枝杆菌多克隆抗体染色阳性率均高于增殖为主型和变质为主型。邢爱英等^[109]对 88 例肺结核患者与 100 名健康对照组外周静脉血的血清以免疫印迹法检测结核分枝杆菌复苏因子特异性抗体(RpEf-Ab),同时行 T-SPOT.TB 及抗结核抗体(LAM. Ab)检测,结果提示肺结核组 RpEf-Ab、T-SPOT.TB 和 LAM. Ab 阳性者分别为 73、80 和 76 例,敏感度分别为 83%(73/88)、91%(80/88)和 86%(76/88);对照组 RpEf-Ab、T-SPOT.TB 和

LAM. Ab 阴性者分别为 92、95 和 91 名,特异度分别为 92%(92/100)、94%(94/100)和 91%(91/100)。三种检测方法比较,差异无统计学意义。以上述 3 项检测中任意两项检测阳性为诊断指标,其敏感度和特异度可升至 91%(80/88)和 94%(94/100)。作者认为,RpE-Ab 检测方法可作为 T-SPOT. TB 和 LAM. Ab 检测法的补充,是一种有希望的肺结核辅助诊断方法。

四、抗原的检测

Song 等^[110]调查了脑脊液单核细胞中结核分枝杆菌抗原表达的重要意义。经过对 50 例结核性脑膜炎患者与病毒性脑膜炎及健康对照组对比,分别在治疗的第一周和第二、四周使用免疫组化法检测 ESAT-6 阳性细胞。结核性脑膜炎患者脑脊液单核细胞 ESAT-6 的阳性患者和阳性细胞的比例在第一周、第二周较第四周增高($P<0.01$);第一周和第二周结核性脑膜炎患者脑脊液单核细胞结核分枝杆菌抗原的阳性患者和阳性细胞的比例较病毒性脑膜炎和健康对照组高($P<0.01$)。在结核性脑膜炎的早期阶段,敏感度为 90%,特异度为 92%。作者认为,脑脊液单核细胞中 ESAT-6 阳性表达对结核性脑膜炎的早期诊断有帮助。有作者研究了对脑脊液白细胞进行改良的抗酸染色和 ESAT-6 检测胞内菌的方法来提高结核性脑膜炎的诊断率。疑似结核性脑膜炎患者的脑脊液标本常规抗酸染色法染色、改良抗酸染色包括离心涂片并用 Triton 处理、ESAT-6 免疫细胞化学染色。抗酸染色的细菌和 ESAT-6 表达的白细胞用显微镜检测。与临床诊断的金标准相比,常规抗酸染色的敏感度为 3.3%(95%CI 为 1.6%~6.7%),改良抗酸染色的敏感度为 82.9%(95%CI 为 77.4%~87.3%),ESAT-6 免疫染色的敏感度为 75.1%(95%CI 为 68.8%~80.6%)。采用改良抗酸染色胞内细菌阳性率为 87.8%。改良抗酸染色和 ESAT-6 染色的特异度分别为 85.0%(95%CI 为 69.4%~93.8%)和 90.0%(95%CI 为 75.4%~96.7%)。通过简单改良抗酸染色及 ESAT-6 胞内染色来加强细菌检测,可完善结核性脑膜炎的实验室诊断^[111]。

总之,近年来结核病的免疫学诊断研究取得了较大进展。IGRA 在诊断和鉴别诊断 LTBI 和结核病患者中的应用进一步得到推广,方法学日渐改进,研究趋于大样本,研究对象细化为不同人群,高质量的临床证据不断涌现。继 WHO 指南后,我国推出了自己的 IGRA 应用建议,有利于规范各级医生的

临床实践,使得 IGRA 的应用更为合理;另外,利用其他细胞因子和特异性抗体诊断 LTBI 与结核病的免疫学研究也蓬勃发展,新的生物学标志物呼之欲出,令人对结核病免疫学诊断的前景十分期待。

结核病分子生物学诊断

基于 PCR 基础上的分子生物学诊断技术仍然是目前结核病诊断的重要手段,并且这方面得到不断改进和发展,使其操作更加简便、成本更加低廉、效率更高。在 2014 年,基于 PCR 基础上的结核病分子生物学诊断技术主要集中在 Xpert Mtb/RIF 技术,另外焦磷酸测序技术、熔解曲线分析技术、质谱分析技术等也得到进一步验证。这些技术被重点用来辅助诊断耐药结核病。令人意外的是,芯片技术在 2014 年有极少的报道,这可能与芯片技术需要昂贵的仪器和复杂的操作步骤有关系。

一、Xpert Mtb/RIF 技术

由美国 Cepheid 公司研发的 Xpert Mtb/RIF 技术是一项基于实时 PCR 检测的快速全自动的核酸扩增技术。Xpert Mtb/RIF 技术是集痰标本处理、DNA 提取、核酸扩增、结核分枝杆菌特异性核酸检测、利福平耐药基因 *rpoB* 突变检测于一体的结核病和利福平耐药结核病的快速诊断方法。手工操作部分仅需 5 min,并且由于整个过程在封闭的腔室内自动化完成,生物学安全有保障。WHO 已于 2010 年底批准其应用。截止 2012 年 7 月,2/3 的结核病高负担国家、1/2 耐多药结核病高负担国家均将 Xpert Mtb/RIF 的应用列入国家结核病规划指南。2013 年 7 月,Xpert Mtb/RIF 通过了美国食品药品监督管理局(FDA)的认证。

2014 年,以 Xpert Mtb/RIF 技术为内容发表的 SCI 收录期刊的论文近 100 篇,该技术不但得到了世界上更多国家和地区的验证,并且与多种技术进行了比较,充分显示了该技术的优越性。尽管 Xpert Mtb/RIF 技术具有较高的优越性,能够提早快速地检出病原菌,但是在有些国家仍然有 70% 的患者在 1 个月内未得到有效治疗,提示 Xpert Mtb/RIF 应当与改善治疗流程相结合才能显示出更大的优势。在巴西,研究者总结了全国范围内推广使用 Xpert Mtb/RIF 技术应当注意的问题,例如:基层 Xpert Mtb/RIF 的技术服务系统、试剂盒及时保障、显微镜镜检的配合和医疗信息系统的升级等。Xpert Mtb/RIF 技术在结核性胸膜炎、结核性脑膜炎、结核性淋巴结炎、脊柱结核、纵隔淋巴结和儿

童结核病的痰、胃液、支气管肺泡灌洗液等的检测表现出了较高的敏感度和特异度。

(一) Xpert Mtb/RIF 技术在结核病诊断中的应用

Theron 等^[112]在南非进行的大规模多中心随机对照临床实验结果发表在 2014 年的《柳叶刀》杂志。研究对 758 份痰标本进行涂片镜检(其中 182 例培养阳性),其中 744 份同时进行 Xpert Mtb/RIF 检测(其中 185 例培养阳性)。结果显示,Xpert Mtb/RIF 的门诊即时操作与痰涂片镜检相比,具有较高的敏感度(83%和 50%)、相似的特异度(95%和 96%);而 Xpert Mtb/RIF 实验室操作与痰涂片镜检相比,具有相似的敏感度(83%和 83%)、较高的特异度(95%和 92%)。与痰涂片镜检相比,Xpert Mtb/RIF 检测具有较高的就诊当天诊断率(24%和 13%, $P < 0.0001$)和就诊当天治疗率(23%和 15%, $P = 0.0002$)。基层诊所护士即可对 Xpert Mtb/RIF 进行精确的操作,从而可使更多的患者得到更早的治疗。

Davis 等^[113]进行了一项随访 2 个月的前瞻性横断面研究,以评估 Xpert Mtb/RIF 对经验性治疗、接触者调查和隔离治疗的潜在临床影响和公共卫生的影响。他们对共 156 例患者进行了单样本 Xpert Mtb/RIF 检测,最终 59 例(38%)接受经验治疗,13 例(8%)为培养阳性。以 3 次培养阳性为参考进行评估,结果显示:用 Xpert Mtb/RIF 替代标准诊断策略用于结核病的诊断指导管理,在不减少结核病患者早期检出率的同时,能够降低 94%的过度治疗,平均每个患者减少 44 d 的过度治疗,平均每年减少 2169 d 的过度治疗。接触者调查中,用 Xpert Mtb/RIF 用于替代标准诊断策略减少了 66 名接触者继续进行不必要的筛查处理,将非结核病患者的接触者筛查从 99 名减少至 9 名。而在隔离治疗评估中,Xpert Mtb/RIF 可将总隔离天数从 495 d 减少至 30 d。因此认为,Xpert Mtb/RIF 增加了诊断价值,如果以 Xpert Mtb/RIF 检测结果指导结核病管理决策,可以降低不必要的经验治疗、接触者调查和隔离治疗。

Xpert Mtb/RIF 还可以用于痰菌负荷的测量。Hanrahan 等^[114]对 2406 例结核病疑似患者分别应用 Xpert Mtb/RIF 循环阈值(Ct 值)、集菌痰涂片镜检级别和液体培养阳性时间来评价痰菌负荷。结果显示 HIV 感染者的 Ct 值高于 HIV 未感染者,且 HIV 感染者的 Ct 值与 CD4 细胞计数相关:与 HIV

未感染者相比,CD4 细胞计数 ≥ 2000 个/ mm^3 的 HIV 感染者的 Ct 值平均增加 1.50 个循环;而 CD4 细胞计数 < 200 个/ mm^3 的 HIV 感染者的 Ct 值平均增加 3.66 个循环。即随着免疫抑制程度的增加,由 Xpert Mtb/RIF Ct 值评价的细菌负荷逐渐降低。同时发现,培养阳性时间与 Ct 值及涂片方法的 Spearman 相关系数均为 0.58,且不同方法检测结果之间的相关强度也随着免疫抑制程度的增加而降低。故作者认为,在 HIV 感染高负担地区,以 Xpert Mtb/RIF Ct 值 28 为界值,可以很好地诊断痰菌阳性患者。

在肺外结核的诊断方面,Denkinger 等^[115]对 18 项研究、共计 4461 例样本进行了综述和 Meta 分析。由于各个研究中样本类型和前处理措施差异较大,Xpert Mtb/RIF 的敏感度亦差异较大。结果显示:对于淋巴组织及抽取物样本,Xpert Mtb/RIF 与培养相比的总敏感度为 83.1%,与复合参考标准(composite reference standard, CRS;包括 Xpert 之外的其他核酸扩增实验、组织学、痰涂片、生化检测、症状或诊断性治疗的反应等的复合标准)相比的总敏感度为 81.2%;对于脑脊液,Xpert Mtb/RIF 与培养和 CRS 相比的总敏感度分别为 80.5%和 62.8%;对于胸腔积液,Xpert Mtb/RIF 与培养和 CRS 相比的总敏感度分别为 46.4%和 21.4%。与 CRS 相比,Xpert Mtb/RIF 对各类样本的总特异度均 $> 98.7\%$ 。因此,WHO 推荐 Xpert Mtb/RIF 用于淋巴结核和结核性脑膜炎等肺外结核病的诊断。Pandey 等^[116]比较了 Xpert Mtb/RIF、腺苷脱氨酶(adenosine deaminase, ADA)和未刺激 γ -干扰素(unstimulated interferon-gamma, uIFN- γ)对结核性心包炎的诊断准确性。结果显示 Xpert Mtb/RIF 的敏感度和特异度分别为 63.8%和 100.0%;ADA 和 uIFN- γ 的敏感度均为 95.7%,阴性似然比为 0.05,均显著高于 Xpert Mtb/RIF;uIFN- γ 与 ADA 相比较,特异度分别为 96.3%、84%,阳性似然比分别为 25.8、6.0,均高于 ADA。因此,综合来讲,uIFN- γ 诊断结核性心包炎的准确性高于 ADA 和 Xpert Mtb/RIF。有作者对 Xpert Mtb/RIF 诊断结核性脑膜炎的一项回顾性研究和 4 项前瞻性研究进行 Meta 分析,发现其敏感度达到 70%,特异度高达 97%^[117]。Patel 等^[118]对目前商用的核酸扩增试验(Xpert Mtb/RIF 和 Amplicor PCR 技术)对结核性脑膜炎的诊断准确性进行了比较。对 148 例疑似结核性脑膜炎患者进行评估,并以培养结果作为参考标

准。结果显示, Amplicor PCR 技术和 Xpert Mtb/RIF 试验的敏感度分别为 46% (95%CI 为 31%~60%) 和 50% (95%CI 为 33%~67%); 特异度分别为 99% (95%CI 为 93%~100%) 和 94% (95%CI 为 84%~99%), 两者之间差异无统计学意义。表明, 这两种分子生物学方法诊断结核性脑膜炎具有较高的敏感度和特异度。

对于非呼吸系统样本, Xpert Mtb/RIF 诊断少痰肺结核和肺外结核也具有一定的准确性。Maynard-Smith 等^[119]在 Medline、EMBASE 等 7 个数据库检索到 27 项研究共计 6026 例样本, 对 Xpert Mtb/RIF 在非呼吸系统样本的诊断准确性做了系统的综述。结果显示: 以培养为参考标准, Xpert Mtb/RIF 的敏感度差异较大, 敏感度中位数为 83% [四分位数间距 (inter quartile range, IQR) 为 68%, 94%]; 特异度为 98% (IQR 为 89%, 100%)。涂片阳性和阴性样本的敏感度分别为 95% (95%CI 为 91%~100%) 和 69% (95%CI 为 60%~80%)。不同类型样本的特异度不同: 淋巴结样本为 96% (95%CI 为 72%~99%); 其他组织样本为 88% (95%CI 为 76%~94%); 胸腔积液为 34% (95%CI 为 24%~44%); 胃抽出物诊断少痰肺结核为 78% (IQR 为 68%, 85%); 脑脊液和非胸腔积液样本的敏感度分别为 85% (IQR 为 75%, 100%) 和 67% (IQR 为 0%, 100%)。作者认为 Xpert Mtb/RIF 对于绝大多数涂片阳性和 2/3 涂片阴性的肺外结核非呼吸系统样本具有很高的特异度, 尤其对于脑脊液和组织样本, 可以作为肺外结核的筛查诊断方法。而 Xpert Mtb/RIF 对胃抽出物检测诊断肺结核具有较高的敏感度。结果支持 WHO 使用 Xpert Mtb/RIF 检测非呼吸系统样本来诊断结核病。

在儿童结核病的诊断方面, Reither 等^[120]进行了一项评估 Xpert Mtb/RIF 对儿童结核病诊断准确性的前瞻性多中心研究, 对非洲 451 例 8 周至 16 岁疑似结核病的患儿进行了 Xpert Mtb/RIF 检测, 其中包括 37 例 (8%) 培养阳性确诊为结核病、48 例 (11%) 高度可疑为结核病、62 例可疑为结核病的患者。以培养阳性作为参考标准, Xpert Mtb/RIF 诊断儿童结核病的敏感度为 68% (95%CI 为 50%~82%), 特异度为 100% (95%CI 为 97%~100%); Xpert Mtb/RIF 检出的培养阳性患者比痰涂片镜检方法多 1.7 倍, 而检出时间相似。因此, 作者认为 Xpert Mtb/RIF 与痰培养相比较, 在诊断儿童结核

病方面具有中度的敏感度和极高的特异度, 并及时获得结果。

在 HIV 合并结核病的诊断方面, Ssengooba 等^[121]使用直接 Ziehl-Neelsen 染色 (DZN)、直接荧光染色镜检 (DFM)、集菌荧光染色镜检 (CFM)、罗氏培养 (L-J)、分枝杆菌生长指示试管 (MGIT) 培养和 Xpert Mtb/RIF 检测了 424 例 HIV 感染疑似结核病的成人患者 (67% 患者的 CD4 细胞计数 < 200 个/mm³)。结果显示, 以 MGIT 培养结果 (123 例为阳性) 为参考标准, 各方法的敏感度 (95%CI) 为: DZN 31.7% (23.6%~40.7%), DFM 35.0% (26.5%~44.0%), CFM 43.9% (34.9%~53.1%), Xpert Mtb/RIF 76.4% (67.9%~83.6%), L-J 培养 81.3% (73.2%~87.7%)。Xpert Mtb/RIF 与涂片镜检方法合并后的总敏感度为: Xpert Mtb/RIF + DZN 76.4%, Xpert Mtb/RIF + DFM 77.3%, Xpert Mtb/RIF + CFM 79.0%, 仅略高于单独采用 Xpert Mtb/RIF 检测。因此, 作者认为对于 HIV 感染合并结核病患者, 在 Xpert Mtb/RIF 之前进行涂片镜检仅能额外检出很少的结核病患者, 二者合并意义不大。

(二) Xpert Mtb/RIF 技术在利福平耐药结核病诊断中的应用

Rufai 等^[122]进行了一项双盲前瞻性研究, 对 405 例采用 MTBDRplus 线性探针技术检测的样本同时进行了 Xpert Mtb/RIF 检测。结果显示, 在 MTBDRplus 线性探针技术显示利福平单耐药的 62 例样本中, Xpert Mtb/RIF 检测 38 例符合, 21 例利福平敏感, 3 例无效 (阳性对照无信号); MTBDRplus 显示两药敏感的 116 例中, 83 例样本采用 Xpert Mtb/RIF 检测, 其中只有 74 例与 MTBDRplus 符合, 4 例利福平耐药, 5 例无效。实验中将 25 例检测结果不一致的样本进行 MGIT960 药敏试验, MGIT960 药敏试验结果显示除 2 例污染外, 其余 23 例均与 MTBDRplus 检测结果一致; MGIT960 培养成功的 23 例还同时进行了测序, 结果显示, 21 例与 MTBDRplus 检测结果一致, 2 例与 Xpert Mtb/RIF 检测结果一致。作者认为, Xpert Mtb/RIF 会低估耐药结核病的负担, 建议根据不同地区设计特异性的探针来增加 Xpert Mtb/RIF 的敏感度。李力韬等^[123]用 Xpert Mtb/RIF 系统对系列脊柱结核临床标本进行结核分枝杆菌检出与利福平耐药基因 *rpoB* 突变检测, 实验以培养结果及表型药敏试验为金标准, 判断 Xpert Mtb/RIF 检测的敏感度、

特异度、95%CI 及检测耗时,并初步验证该项技术的可行性与准确性。结果显示,对临床确诊为脊柱结核的 140 份临床标本, Xpert Mtb/RIF 系统的结核分枝杆菌阳性检出率为 63.57%(89/140);在 64 份培养阳性标本中, Xpert Mtb/RIF 检测结核分枝杆菌的敏感度为 98.44%(63/64);在 76 份培养阴性标本中, Xpert Mtb/RIF 检测结核分枝杆菌的敏感度为 34.21%(26/76)。以表型药敏试验为金标准,采用 Xpert Mtb/RIF 系统行利福平耐药性检测的敏感度为 93.33%(28/30),特异度为 94.12%(32/34)。Xpert Mtb/RIF 系统平均检测耗时为 2.1 h(1.8~2.6 h)。作者认为, Xpert Mtb/RIF 是一种简便、快速、准确,且能够同时对脊柱结核临床标本行结核分枝杆菌检测与利福平耐药性检测的分子检测技术,具有潜在的临床应用价值。

二、焦磷酸测序法

焦磷酸测序技术(pyrosequencing)是一种以检测 DNA 合成过程中所产生的焦磷酸为基础的实时 DNA 测序技术,操作简单、准确性高,一次能完成 96 个样品的检测。焦磷酸测序法适于对已知的短序列的测序分析,其可重复性和精确性能与 Sanger DNA 测序法相媲美,而速度却大大的提高。在每一轮测序反应中,反应体系中只加入一种脱氧核苷酸三磷酸(dNTP)。如果它刚好能和 DNA 模板的下一个碱基配对,则会在 DNA 聚合酶的作用下,添加到测序引物的 3'末端,同时释放出一个分子的焦磷酸(PPi)。在三磷酸腺苷(ATP)硫酸化酶的作用下,生成的 PPi 可以和腺苷-5'-磷酸硫酸(adenosine 5'-phosphosulfate, APS)结合形成 ATP;在荧光素酶的催化下,生成的 ATP 又可以和荧光素结合形成氧化荧光素,同时产生可见光。通过微弱光检测装置及处理软件可获得一个特异的检测峰,峰值的高低则和相匹配的碱基数成正比。如果加入的 dNTP 不能和 DNA 模板的下一个碱基配对,则上述反应不会发生,也就没有检测峰。该技术采用测定插入序列 6110(IS6110)的方法用来进行结核分枝杆菌复合群的菌种鉴定,采用检测 *katG*、*inhA*、*ahpC*、*rpoB*、*gyrA* 和 *rrs* 突变的方法检测相应基因的突变。7 个反应同时进行,反应仅需 6 h。该检测方法可以检测出 100 fg/ μ l and 50 fg/ μ l 的模板量;各种药物的基因型耐药检测结果与表型耐药的一致性分别为:异烟肼(INH)为 94.3%,利福平(RFP)为 98.7%,氟喹诺酮类(FQ)药物为 97.6%,阿米卡星(Am)为 99.2%,卷曲霉素(Cm)为 99.2%,卡

那霉素(Km)为 96.4%。对临床菌株的检测,其检测结核分枝杆菌复合群的敏感度达到 98.4%,耐药结果的敏感度为 95.8%^[124]。

Lin 等^[124]将 130 株临床分离株和 129 份样本用于耐药性研究,收集焦磷酸测序分析和表型药敏试验的结果,其符合率分别是:异烟肼 94.3%,利福平 98.7%,氟喹诺酮类 97.6%(氧氟沙星、左氧氟沙星或莫西沙星),阿米卡星 99.2%,卷曲霉素 99.2%,卡那霉素 96.4%。用于临床样本的检测,焦磷酸测序技术检测结核分枝杆菌复合群有 98.4%的敏感度,并且在耐药基因全序列检测中有 95.8%的敏感度。Zheng 等^[125]探索焦磷酸测序法检测结核分枝杆菌 *rpoB*、*katG*、*rpsL*、*embB*、*gyrA* 和 *rrs* 耐药基因的最佳模式,并用该条件检测 205 例临床分离株和 24 例复治患者的痰标本。*rpoB*、*gyrA* 基因检测宜采用焦磷酸测序序列分析模式, *katG*、*rpsL*、*embB*、*gyrA* 和 *rrs* 耐药基因检测宜采用焦磷酸测序单核苷酸多态性模式。与 MGIT960 药敏试验进行比较,焦磷酸测序法检测临床分离株对利福平、异烟肼、乙胺丁醇、链霉素、阿米卡星和氧氟沙星耐药性的准确度分别为 95%、79.2%、70.3%、84.5%、96.5%和 91.1%,其检测痰标本的准确度分别为:83.3%、83.3%、60.9%、83.3%、87.5%和 91.7%。此外,德国艾迪(AID)公司应用耐药结核病线性探针检测技术进行了结核分枝杆菌对一线和二线药物的耐药性检测,并定义了该技术的敏感度和特点^[126]。

三、熔解曲线分析基因突变技术

利用熔解曲线分析技术既可以分析结核病患者易感基因的突变情况,也可以分析结核分枝杆菌的耐药基因突变位点,后者又以耐药基因突变检测为主。2014 年该方法有了进一步的发展,主要有 3 个方面的内容:一是利用恒温扩增联合熔解曲线分析技术(RIARD-MCA)进行分枝杆菌菌种鉴定,主要是胞内分枝杆菌的鉴定^[127];二是 PCR 探针熔解曲线法(PMAA)进行病原菌的耐药基因突变检测,主要是以厦门致善生物科技有限公司开发的相关荧光 PCR 熔解曲线法检测耐药突变试剂盒为代表^[128];三是高分辨率熔解曲线(HRM)法检测耐药基因突变,该方法目前已经在 INH、RFP、Sm、FQ 药物和 PZA 中得到验证。Pholwat 等^[129]对 98 株临床分离株(经 MGIT960 验证 41 株对吡嗪酰胺敏感,55 株耐药,2 株不确定)的 *pncA* 基因进行 HRM 分析,HRM 检测与测序结果的一致性为 94%,测序和

HRM 检测与吡嗪酰胺表型药敏试验的一致率分别为 82% 和 84%，这可能是由于一些菌株存在野生型 *pncA*，同时却出现表型耐药。

Haeili 等^[130]用比例法药敏试验筛选出 95 株结核分枝杆菌临床菌株，包括 20 株利福平耐药株、21 株异烟肼耐药株和 54 株全敏感株。研究以 19 株已知药物易感基因型的结核分枝杆菌临床分离株作为对照，通过测定 *rpoB* 和 *katG* 基因特定区域的核苷酸序列来研究变异的频率和类型，并证实 HRM 结果。结果显示，HRM 分析 *rpoB* 的 129 bp 片段可以正确鉴定出 20 株 RFP 耐药基因型中的 19 株和全部的 INH 敏感株均产生野生型 HRM 曲线，21 株 INH 耐药株中的 18 株在 *katG* 基因的 109 bp 核酸片段产生突变 HRM 曲线。然而，1 株 RFP 耐药和 3 株 INH 耐药菌株被错判为敏感株，测序在其靶基因区域未发现突变。RFP 和 INH 耐药的主要突变，分别在密码子 *rpoB*531(60% 的 RFP 耐药株)和 *katG*315(85.7% 的 INH 耐药株)。因此，作者认为，在资源有限的条件下，HRM 是一种可靠、快速并且低成本的方法，可应用于临床结核分枝杆菌分离株的药敏试验。

HRM 分析方法也可应用于分枝杆菌的分类研究。目前，已开发了一种实时荧光定量 PCR 结合 HRM 分析来区分分枝杆菌的种类。Issa 等^[131]在分枝杆菌分类研究中发现，已被证实的 16S *rRNA* 基因可作为区别分枝杆菌菌种的合适靶基因。在温度梯度和引物最优化过程中，以浓度为 50 ng DNA 为模板，以 0.3、0.4 和 0.5 μmol 的引物来确定熔解温度，发现其他分枝杆菌的实时荧光定量 PCR(qPCR)试验的熔解温度为 62 $^{\circ}\text{C}$ ，引物浓度为 0.4 μmol 。HRM 分析对分枝杆菌的可识别的微序列差异较为特异且敏感。本研究提出了针对分枝杆菌种类的以 16S 核糖体核糖核酸为基础的实时定量基因扩增荧光检测系统结合 HRM 分析的方案，并能区分紧密联系的分枝杆菌种类。

Hu 等^[132]应用 HRM 技术对 422 例结核病患者和 402 名健康志愿者进行了研究，选取 Wnt 信号通路的 3 个关键基因，分别为：*rs4135385*、*rs7832767* 和 *rs11079571*。研究发现 *rs4135385* 在结核组和健康对照组之间差异有统计学意义($P < 0.05$)，G 等位基因可能是结核病的危险因子($OR = 1.26$ ；95% *CI*: 1.04~1.53； $P = 0.020$)；*rs7832767* 在结核组和健康对照组之间差异也有统计学意义($P < 0.05$)，T 等位基因可能是结核病的危险因子($OR =$

1.26；95% *CI*: 1.05~1.58； $P = 0.047$)；然而 *rs11079571* 在两组间差异无统计学意义。在携带 *rs4135385* 基因 AG/GG 的受试者中，结核病发病风险为未携带者的 1.49 倍(AG/GG vs AA： $OR = 1.49$ ；95% *CI*: 1.06~2.09； $P = 0.019$)；在携带 *rs7832767* 基因的受试者中，TT 基因型发病风险为 TC/CC 基因型的 2.70 倍($OR = 2.70$ ；95% *CI*: 1.41~5.18； $P = 0.002$)。因此，从遗传学角度讲，*rs4135385* 基因的 AG/GG 基因型和 *rs7832767* 基因的 TC/CC 基因型可能是结核病的危险因子。另外，SNP 与炎性标志物还存在一定的联系，*rs7832767* 在 C 反应蛋白升高组和正常组之间差异有统计学意义($P < 0.05$)，而携带 T 等位基因的受试者可能存在 C 反应蛋白明显升高($OR = 1.90$ ；95% *CI*: 1.21~2.96； $P < 0.05$)，然而 3 个基因与血沉变化之间无明显联系。

张娟等^[133]利用基因芯片技术和探针熔解曲线技术同时对 46 例涂阳肺结核患者的痰标本进行异烟肼和利福平耐药检测，以传统罗氏药敏试验为金标准，对基因芯片技术和探针熔解曲线技术的检测效果进行评价。结果显示，探针熔解曲线法对 INH 进行检测的 46 例临床分离菌株中，42 例与罗氏药敏试验结果相符，总符合率为 91.3%，敏感度和特异度分别是 95% 和 88.46%；38 例对 RFP 的检测结果中，32 例与罗氏药敏试验结果相符，总符合率为 84%，敏感度和特异度分别是 79% 和 93%。20 例对异烟肼敏感的菌株中，探针熔解曲线技术检测敏感菌株 19 例，敏感度为 95%；基因芯片检测敏感菌株 18 例，敏感度为 90%，两者比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。在 26 例对异烟肼耐药的菌株中，探针熔解曲线技术检出 23 例，检出率为 88.46%；基因芯片检出 19 例，检出率为 82.6%，两者比较差异无统计学意义($P > 0.05$)；对于利福平的耐药性检测，两种方法检测的结果一致，差异无统计学意义。

四、质谱分析技术

利用质谱进行细菌学分析的技术始于 20 世纪 70 年代。临床实验室接受质谱检测技术较为缓慢，但是最近飞行时间质谱分析技术(MALDI-TOF MS)得到了较为迅速的发展。Zhang 等^[134]综述了 MALDI-TOF MS 技术在菌种鉴定中的应用。最新的以布鲁克公司为代表的质谱鉴定技术，能够鉴定 2000 多个菌种，包括 150 余种分枝杆菌。质谱分析的另一重要内容是对结核病患者血清蛋白组进行分析，用于结核病的诊断。新的研究进展关注的是

菌阴肺结核病和肺外结核病的诊断。有作者对 180 例菌阴肺结核病进行了血清蛋白组学研究:发现有 5 个蛋白峰(1028.49、4796.56、7564.77、8048.02 和 11 526.75)组成的诊断模型鉴别诊断菌阴肺结核与肺炎的总有效率为 84.2%,敏感度与特异度分别为 82.5%和 85.9%;阳性预测值 86.7%,阴性预测值为 81.7%。诊断模型在判别肺炎、菌阴肺结核与健康者之间,总有效率达 89.4%,特异度为 100.0%,敏感度为 84.2%^[135]。肺外结核病主要集中在结核性脑膜炎,研究结果表明,相对分子质量为 2660 的菌体蛋白具有重要的诊断价值。刘炳祥等^[136]采用气相色谱-质谱联用技术观察了结核性脑膜炎患者脑脊液代谢组学的变化,并与对照组比较,结核性脑膜炎组脑脊液中的代谢物表达下调者为 L-苏氨酸、来苏糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、十二烷酸、十六烷酸、十八烷酸、单棕榈酸甘油、十八酸甘油酯,表达上调者为山梨醇。作者认为,结核性脑膜炎患者糖、脂肪酸及氨基酸代谢均发生改变,有助于结核性脑膜炎的诊断及分子基础研究。Zhang 等^[137]应用质谱技术检测结核潜伏感染的生物标志物。对结核潜伏感染检测的敏感度和特异度分别为 85.2%~88.9%和 85.7%~100.0%。另外,还鉴定了 14 个结核潜伏感染的生物标志物,所有的蛋白质均是首次被鉴定。总之,蛋白质组学分析可以提高结核潜伏感染诊断的准确性,并为结核潜伏感染蛋白水平研究提供新的思路。

质谱能够对体液样品中的蛋白质或者多肽进行全面的表达谱分析,而不需要对样品进行预分离。这种方法因为对样品的要求较少,并且可以较容易实现高通量,因此非常适合生物标志物的发现。Lange 等^[138]应用双向电泳及质谱技术对等电点 4.0~4.7 和相对分子质量为 6000~20 000 的结核分枝杆菌分泌蛋白进行研究。共有 128 个点,其中有 121 个点被鉴定为 277 个不同蛋白种类来源的 33 种不同蛋白,这意味着每个蛋白质大约有 8.4 个蛋白种类。而且 ESX-1 家族的 15 种蛋白质检测结果序列覆盖率为 100%。刘志辉等^[139]应用表面增强激光解析电离飞行时间质谱技术,检测了 5 例结核性胸膜炎患者的结核分枝杆菌分离株,对米氏 7H9 液体培养早、中期(7 与 14 d)培养滤液及其血清、胸腔积液进行了蛋白质组分析。培养滤液蛋白质组蛋白质种类数量远多于胸腔积液和血清蛋白质组,在所有患者培养滤液、胸腔积液、血清中均存在相对分子质量为 2660 的蛋白质,推测其具备结核性

胸膜炎特异性体液蛋白质标志物的表征。钱明等^[140]应用表面增强激光解析-电离飞行时间质谱技术,检测 11 株龟分枝杆菌临床分离株及 ATCC19977 参考株培养 7 d 的 Middlebrook 7H9 培养滤液蛋白和 Middlebrook 7H9 培养液蛋白,结果在 11 株龟分枝杆菌培养 7 d 的 Middlebrook 7H9 培养滤液中检测到 49~101 种差异蛋白,相对分子质量为 1101~3953,丰度水平为 84~7238(用质谱峰面积计算)。其中 32 种差异蛋白在 11 株中均有表达,相对分子质量为 1108~3953,丰度水平为 98~7231。曹翌明等^[141]应用表面增强激光解析-电离飞行时间质谱技术对 1 株异烟肼单耐药结核分枝杆菌和 1 株异烟肼敏感结核分枝杆菌临床分离株培养 7 及 14 d 的 Middlebrook 7H9 培养滤液蛋白进行比较,结果在异烟肼敏感和异烟肼单耐药结核分枝杆菌菌株培养 7 及 14 d 的 Middlebrook 7H9 培养滤液中分别检测到 164、175、133、147 种蛋白质和(或)多肽,其相对分子质量(依质荷比“m/z”而得)范围分别为 982~9328、997~9327、1050~8903、996~9369,表达丰度(通过质谱峰面积计算)分别为 17~2100、21~1943、60~5355、41~3267;异烟肼单耐药结核分枝杆菌菌株与异烟肼敏感结核分枝杆菌菌株相比较,7 和 14 d 培养滤液分别存在 47 与 58 种差异蛋白质和(或)多肽,这些差异蛋白质相对分子质量在 1083~8812、1012~9327 之间,表达丰度在 76~1811、25~3010 之间。

生物质谱可以通过准确的分子量测定,进行单核苷酸多态性片段(SNP)分析。文玉欣等^[142]应用美国 Sequenom®公司生产的 MassARRAY 飞行时间质谱生物芯片技术,分别检测结核病区(1533 例)和对照组(1445 名) *IFNA8* 基因 SNPs(*rs1330322*、*rs10964982*、*rs4978116*)的基因型。*rs1330322* 位点 A 等位基因频率在结核病区、对照组中分别为 30.5%(936/3066)、27.8%(804/2890),差异有统计学意义($\chi^2=5.277$, $OR=1.140$, 95% $CI=1.019\sim1.275$, $P=0.022$)。*rs10964982* 和 *rs4978116* 位点的次要等位基因频率在结核病区中分别为 17.0%(520/3066)和 28.8%(882/3066),在对照组中分别为 17.0%(491/2890)和 28.6%(826/2890),两组间差异无统计学意义(χ^2 值分别为 0.001、0.025, P 值分别为 0.976、0.874)。结核病区女性患者中, *rs1330322* 位点等位基因 A 频率为 30.8%(330/1072),对照组等位基因 A 频率为 26.6%(300/1126),两组间差异有统计学意义($\chi^2=4.605$, $OR=1.225$,

95%CI=1.018~1.474, $P=0.032$)。男性结核组、对照组患者等位基因 A 频率分别为 30.4% (606/1994)、28.6% (504/1764), 两组间差异无统计学意义 ($\chi^2=1.489$, $OR=1.091$, 95%CI=0.948~1.256, $P=0.222$)。对女性患者进一步进行年龄分层发现, 对于 *rs1330322* 位点, ≤ 25 岁结核组、对照组 A 等位基因频率分别为 33.8% (111/328)、25.2% (112/444), 两组间差异有统计学意义 ($\chi^2=6.818$, $OR=1.516$, 95%CI=1.108~2.074, $P=0.009$)。而 >25 岁人群 A 等位基因在两组人群中差异无统计学意义 ($\chi^2=0.610$, $OR=1.096$, 95%CI=0.871~1.380, $P=0.435$)。作者认为, SNP 位点 *rs1330322* 与结核分枝杆菌易感性密切相关, *rs1330322* 位点基因型在女性、年龄 ≤ 25 岁组人群中具有更高的结核病患风险预测价值。汪文斐等^[143]比较基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF-MS) 技术和 TaqMan 探针筛选与结核易感性相关 SNP 位点的结果, 700 例标本中, MALDI-TOF MS 技术成功判读 698 例, 其中质谱峰高质量者 674 例, 中等质量者 24 例; 判读失败即低质量质谱峰 2 例, 判读成功率为 99.7% (698/700)。TaqMan 探针技术成功判读 689 例, 11 例标本因 PCR 扩增的 Ct 值较大而判读失败, 判读成功率为 98.4% (689/700)。这些结果提示, 在标本浓度相同的情况下, MALDI-TOF MS 可以成功分型而 TaqMan 探针法分型失败; MALDI-TOF MS 判读失败的 2 例 TaqMan 探针技术也失败, 提示 MALDI-TOF MS 的敏感度稍高, 差异有统计学意义 ($\chi^2=6.289$, $P=0.0061$)。作者认为, 上述肺结核易感基因的 MALDI-TOF MS 和 TaqMan 探针筛选法均是可行的; 实例分析中, 将两种方法联合应用, 发现了 *IL-22* 基因 *rs2227473* 位点等位基因 G 可能与肺结核发病相关, 两位点中等位基因 A 可能为保护性基因。

介入医学在结核病诊治中的发展

由于结核分枝杆菌的检出率在痰液和其他体液样本中均低于 50%, 结核病的诊断中病理诊断占重要地位。随着介入肺脏病学技术的发展, 可以在病变部位获取标本或组织活检, 以进一步进行细菌学、病理学和分子生物学检测。2014 年, 支气管镜技术等的发展及其临床应用尤为引人关注, 现介绍如下。

一、支气管镜技术

(一) 常规支气管镜技术

通过支气管镜获得的标本, 其抗酸杆菌涂片和

培养的阳性率显著高于痰液中的阳性率, 同时支气管镜对诊断支气管结核的敏感度和特异度均高于影像学检查, 因此支气管镜已常规用于结核病的诊断。儿童结核病患者由于留取痰样本较为困难, 因此, 支气管镜检查占有较重要的地位。Goussard 等^[144]对 1990—2013 年的文献综述后认为: 支气管镜对儿童肺结核的诊断具有重要作用, 是评价儿童气道疾病、收集样本进行培养等的有效技术。儿童疑似肺结核中 41%~63% 的患者出现气道病变, 最常涉及的呼吸道是中间支气管、左主支气管和气管, 对于重症气道阻塞患儿进行支气管镜检查是安全的。罗汶鑫等^[145]收集 269 例肺结核儿童进行回顾性分析, 结果发现痰菌阴性肺结核儿童临床表现不典型; 典型或相对特异的影像学征象较痰菌阳性组少; PPD 试验、红细胞沉降率、C 反应蛋白检测在痰菌阴性组的阳性率分别较痰菌阳性组的患者低, 通过气管镜检查, 87.0% 的患者镜下发现有诊断价值的形态学改变和(或)获得病原学、病理学诊断依据, 因此, 支气管镜技术是十分重要的辅助检查手段。

(二) 超声支气管镜技术

超声支气管镜 (endobronchial ultrasound, EBUS) 是一项将超声与电子支气管镜相结合的内镜技术, 在超声内镜引导下经支气管针吸活检 (EBUS-TBNA) 术在国内外已广泛应用于肺癌的诊断及分期, 其对于结核病尤其是诊断纵隔淋巴结结核的价值颇高。上海市肺科医院和上海市胸科医院均对 EBUS-TBNA 对胸内结核病的诊断进行了观察, 前者的诊断率为 90.41%^[146]; 后者的诊断率为 86.7%, 且多因素回归分析发现阳性病理、涂片、培养均与病灶的短径大小呈正相关, 阳性病理又与穿刺次数呈正相关^[147]。印度的研究数据也显示, EBUS-TBNA 作为一种微创技术, 在结核病高负担国家对纵隔淋巴结结核的诊断率较高; 在该项研究中, 对 102 例淋巴结肿大的患者行 EBUS-TBNA 术, 同时行现场快速样本检测 (rapid on-site evaluation, ROSE)。结果显示, 对结节病、肺结核、肺癌的诊断率分别为 80.9%、84.8% 和 75.0%; EBUS-TBNA 对纵隔淋巴结肿大的病因诊断的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 81.7%、100.0%、100.0% 和 22.7%^[148]。台湾学者 Kuo 等^[149]对纵隔肺门孤立淋巴结肿大的患者建立了基于 EBUS-TBNA 的诊断流程图, 结果显示各种疾病的诊断率类似: 恶性疾病为 77.8%, 结核病为 70.0%, 结节病为 75.0%, 矽肺为 80.0%, 淋巴样增生为 70.0%, 且发

现了 3 例结核病密切接触者为淋巴结结核。作者认为该流程简化了患者的诊断过程,它可以用于恶性肿瘤早期检测,为良性病变患者制定正确的治疗方案,尤其可以尽快明确结核病复发高危人员的诊断,并予以及时的抗结核治疗。EBUS-TBNA 的样本除了可以进行病理检测和细菌培养外,亦可进行分子生物学检测。Dhasmana 等^[150]对疑似结核病的纵隔淋巴结进行 EBUS-TBNA,对于涂片阳性的患者,Xpert Mtb/RIF 的确诊率为 100.0%;对于涂片阴性的患者 Xpert Mtb/RIF 的阳性率为 67.6%;总体来说,单次 Xpert Mtb/RIF 检测对培养阳性的结核病患者诊断的敏感度为 72.6% (62.3%~81.0%),联合细胞学检测可将敏感度提高到 96.6%,且 2/3 的耐多药结核病通过 Xpert Mtb/RIF 确诊,较标准的药敏试验报告提早了 5 周。

随着该项技术的发展,一些相关的新技术和设备也获得了应用。其中气管镜超声弹性成像分析是在气管镜超声引导下针吸活检时有助于判断病灶组织硬度的一种新技术。Izumo 等^[151]采用该技术对 75 组纵隔淋巴结进行了分析,超声显像包括 3 种类型:第一种几乎没有蓝色(绿,黄或红);第二种部分蓝色,部分非蓝色(绿,黄或红);第三种几乎都是蓝色。第 1 种类型 100.0%为良性(24/24);第 2 种类型 42.9%为良性(6/14)、57.1%为恶性(8/14);第 3 种 5.4%为良性(2/37)、94.6%为恶性(35/37)。通过类型 1 和类型 3 鉴别良、恶性疾病的敏感度、特异度、阳性预测值及阴性预测值和诊断准确率分别为 100.0%, 92.3%, 94.6%, 100.0% 和 96.7%。Izumo 等^[152]采用新的 22 G 穿刺针[GUS-45-18-022,德国环球医疗设备有限公司(Medi-Globe GmbH)生产]进行穿刺病理检查,相对于传统的 22 G 穿刺针(NA-201SX-4022,日本 Olympus 公司生产),针尖斜面更长,更为锐利。新 22 G 穿刺针组操作时间明显短于传统 22 G 穿刺针组($P=0.049$)。新 22 G 穿刺针组的 214 例患者中 159 例通过穿刺明确了诊断(74.3%),28 例(13.1%)穿刺后诊断不明,其中 27 例(12.6%)穿刺后未获得病理标本。传统 22 G 穿刺针组 235 例患者中 144 例(61.3%)诊断明确,60 例(25.5%)诊断不明确,31 例(13.2%)未获得病理标本。新 22 G 穿刺针组取得有助诊断的病理标本概率明显高于传统 22 G 穿刺针组($P=0.0035$)。

(三)支气管超声下经引导鞘肺活检术

支气管超声下经引导鞘肺活检术(endobronchial ultrasonography with a guide sheath, EBUS-GS)

可以通过引导鞘将超声小探头导引到外周肺野进行活检,可更准确地确认病灶部位。李明等^[153]对 75 例患者 78 处肺外周病变进行了 EBUS-GS 的肺活检,恶性疾病的诊断率为 84.4%(27/32),良性疾病的诊断率为 67.4%(31/46)。患者均能很好耐受 EBUS-GS-TBLB 操作,仅在操作时镜下见少许出血,无气胸、咯血等并发症。日本学者 Takai 等^[154]对行 EBUS-GS 时超声小探头无法到达病灶内的患者进行了针吸活检,37 例患者中,21 例(56.8%)通过小探头可直达病灶内行活检,另 17 例(43.2%)无法到达病灶内(在病灶外)进行针吸活检,结果显示两种诊断方法阳性率差异无统计学意义(超声小探头活检 90.5% vs 针吸活检 81.3%),且患者不良反应发生率也比较低。因此,如果小探头无法进入到病灶内进行肺活检时,针吸活检术可以替代。

(四)电磁导航支气管镜技术

电磁导航支气管镜(electromagnetic navigation bronchoscopy, ENB)技术集螺旋 CT 仿真支气管镜与传统可弯曲支气管镜的优点于一身,可进行实时引导定位,准确到达常规支气管镜技术无法到达的肺外周病灶并获取标本行病理检查,在肺内结节、肺内淋巴结肿大等疾病的诊断上有着重要的意义。ENB 在西方国家已开展了近 10 年,Gex 等^[155]进行 Meta 分析结果显示,ENB 总的确诊率为 73.9% (95%CI:68.0%~79.2%),对于恶性病变的敏感度为 71.1% (95%CI:64.6%~76.8%),阴性预测值为 52.1% (95%CI:43.5%~60.6%)。Loo 等^[156]将 ENB 针吸活检术(ENB-FNA)、ENB 下肺刷检(ENB-BB)和肺活检术(ENB-TBx)等应用于临床,结果显示:病灶直径 >2 cm 者均得到了诊断,病灶直径 ≤ 2 cm 者 87%的患者有阳性结果;ENB-BB 和 ENB-TBx 的确诊率分别为 61%和 95%,ENB-FNA 的确诊率为 94%。国内 ENB 技术刚处于起步阶段,陈愉等^[157]对 17 例患者共 20 个肺外周微小病灶进行 ENB 实时引导下完成活检,并与 X 线透视下经支气管肺活检术(TBLB)进行对比,ENB 组的确诊率为 80.0%,显著高于 X 线透视组的 45.0%。顾晔等^[158]初步观察了 ENB 技术对结核病的诊断作用,对 3 例患者经正规抗结核治疗疗效不佳,反复多次痰抗酸杆菌涂片和培养均为阴性的诊断不明的患者进行了 ENB 检查,3 例患者的病灶且均为两上肺尖后段病灶,常规气管镜无法抵达。3 例患者经 ENB 引导的刷检和活检均得到了病理学和细菌学依据,确诊为肺结核,说明电磁导航支气管镜在不典

型肺结核病的诊断中将可能具有较好的临床应用前景。

二、细针穿刺细胞学(fine needle aspiration cytology, FNAC)技术

FNAC 技术操作简便、创伤小而广泛地应用于淋巴结、体表肿块和脏器病灶的诊断,可以盲穿,也可以在超声和 CT 引导下进行穿刺。

(一)浅表淋巴结穿刺

Chand 等^[159]对 550 例经 FNAC 诊断为淋巴结结核的细胞病理学结果进行了回顾性研究,肉眼观察穿刺物多见白色物质(占 74.5%),细胞病理中干酪样坏死合并变性的炎症细胞为最常见的表现,抗酸染色阳性率为 44.54%,抗酸染色阳性率高的患者其病理表现仅为干酪样坏死。南非 Coetzee 等^[160]对 110 例患儿进行了 FNAC,72 例诊断为淋巴结结核,其中 32 例 Xpert Mtb/RIF 阳性,36 例为细胞学诊断,25 例结核分枝杆菌培养阳性。与细胞学+培养联合诊断比较,Xpert Mtb/RIF 检测了 40 例,其中 32 例阳性,敏感度及特异度分别为 80% 和 93.8%。也有研究采用空芯针穿刺(core needle biopsy, CNB)活检术取代细针对肿大淋巴结进行活检,在较严重的疾病(淋巴瘤、癌和结核)中, CNB 活检术的敏感度及阴性预测值显著高于 FNAC;在诊断不同疾病的统计中发现,使用 CNB 对淋巴瘤的诊断尤为敏感,因此在淋巴瘤的筛查中有较高的诊断价值^[161]。

(二)经皮胸膜及肺穿刺

结核性胸膜炎的细菌学阳性率极低,进行胸腔穿刺取得胸膜组织,有助于诊断的确立。最常使用的是胸膜活检针进行盲检,但阳性率不高。熊震等^[162]通过经皮穿刺闭式胸膜活检术对 356 例患者共计 405 人次进行了活检病理检查,总成功率为 86.2%,通过病理诊断胸膜结核 94 例(26.4%)、诊断腺癌 45 例(12.6%)、找到异型细胞 34 例(9.5%)。窦健萍等^[163]采用超声引导下斜行胸膜穿刺组织活检术,术前采用彩色多普勒血流成像观察预设穿刺路径,以避免穿刺路径上的大血管,64 例患者均一次成功取到胸膜组织,超声引导胸膜穿刺组织活检取材成功率为 100% (64/64),有 73% (46/64)的患者超声引导胸膜穿刺组织活检病理明确诊断为肿瘤性或结核性胸腔积液。Cao 等^[164]采用 CT 引导下的胸膜活检,总的诊断正确率为 94.6%,诊断恶性疾病的敏感度、特异度分别为 90.9% 和 100.0%。对于良性疾病的确诊率为 86.4%。刘

华^[64]回顾性分析了 59 例接受经皮肺穿刺活检的疑难菌阴肺结核患者,分析活检组织标本病理结果、敏感度与特异度,以及各种并发症的发生率。CT 引导下经皮肺穿刺活检病理检查结果显示:肺结核占 75.44% (43/57),肺炎占 14.04% (8/57),肺癌占 8.77% (5/57),间质性肺病占 1.75% (1/57)。CT 引导下经皮肺穿刺活检成功率为 96.61% (57/59),准确率为 87.72% (50/57),敏感度为 84.00% (42/50),特异度为 85.71% (6/7)。气胸发生率为 6.78% (4/59),咯血发生率为 1.69% (1/59)。因此,对于影像学不典型的肺结核,如病变位于肺外周,CT 引导下经皮肺穿刺无疑是一种确诊率高、创伤小、操作简便的成熟技术。

三、内镜超声引导下细针穿刺活检(EUS-FNA)技术的临床应用

随着超声内镜,尤其是 EUS-FNA 技术的广泛应用,大大提高了腹腔内的淋巴结或肿块,尤其是胰腺周围病灶的确诊率。覃山羽等^[165]等对胰腺实性占位性病变 72 例患者行 EUS-FNA 取材,分别行常规涂片、液基涂片及细胞块结合免疫组织化学检查,最终确诊胰腺肿瘤 61 例,良性病变 11 例,包括 2 例结核病。韩国 Kim 等^[166]对 42 例胰腺结核行 EUS-FNA 进行了回顾性分析,14 例患者(33.3%)最初倾向为胰腺癌,13 例倾向为淋巴结结核(31.0%)。42 例患者全部进行了 EUS-FNA 检查,80.5%做了病理检查,42.9%采用 PCR 检测结核分枝杆菌,47.4%做了培养,10.0%做了抗酸杆菌染色。28 例患者(66.7%)证实为结核,14 例患者(33.3%)为可疑结核。因此 EUS-FNA 可以为明确诊断提供帮助,避免了手术治疗。Nieuwoudt 等^[167]对 HIV 阳性患者进行超声内镜引导下的腹腔肿大淋巴结穿刺,并采用 PCR 检测结核分枝杆菌 DNA。该研究纳入了 31 例 HIV 感染合并腹部淋巴结肿大患者,平均 CD4 细胞计数为 124 个/ μ l,26%的患者合并纵隔淋巴结肿大。腹部淋巴结肿大最多见于肝门淋巴结,通过 EUS-FNA 对穿刺物进行细胞学检测、培养及 PCR 检测,结果 67.7%确诊为结核病、31%为淋巴结反应性增生。细胞学检测和培养敏感度较低,而通过 PCR 确诊了 90%的患者。因此,通过 EUS-FNA 获取标本进行 PCR 检测具有很高的准确性,并且可以进行分枝杆菌耐药性检测。

四、胸腔镜技术

可视胸腔镜技术的成熟使得胸膜病变可以在直视下进行活检,大大提高了检出率和确诊率。随着

胸腔镜技术的成熟,由于内科胸腔镜操作简便,创伤较小,价格便宜,因此在胸膜腔积液患者的诊断中已逐渐替代了外科胸腔镜。况里衫等^[168]对比了内科胸腔镜技术与胸膜盲检的确诊率,胸腔镜组的病理确诊率为 84%,显著高于胸膜盲检组的病理确诊率(58%),其中胸腔镜组恶性肿瘤的病理确诊率显著高于胸膜盲检组;对于结核性胸膜炎的诊断,胸腔镜组病理确诊率为 56%,胸膜盲检组病理确诊率为 54%,两组比较差异无统计学意义。欧勤芳等^[169]采用全血 γ -干扰素释放试验联合胸腔镜下胸膜活检对结核性胸膜腔积液进行诊断,胸膜组织活检诊断结核性胸膜炎的敏感度为 96.3%(26/27),特异度为 100.0%(12/12)。全血 γ -干扰素释放试验联合胸膜活检诊断结核性胸膜炎的敏感度为 95.5%(42/44),特异度为 94.1%(32/34)。印度 Dhooria 等^[170]随机对比了硬质胸腔镜(外科胸腔镜)和半硬质胸腔镜(内科胸腔镜)对于胸膜炎的诊断价值,前者总的诊断率高于后者(97.8% vs 73.3%, $P=0.002$),但是在成功获取胸膜组织的患者中,两组的确诊率差异无统计学意义(100.0% vs 94.3%, $P=0.18$),且并发症差异无统计学意义。Kong 等^[171]进行的一项回顾性研究显示,76 例经病理确诊为结核性胸膜炎的患者,胸腔镜下表现为:(1)58 例可见坏死(占 76.32%);(2)49 例可见播散性粟粒结节(占 64.67%);(3)11 例可见 1 个或多个胸膜结节(占 14.47%);(4)43 例可见充血、水肿和胸膜增厚(占 56.58%);(5)60 例可见胸膜粘连或纤维间隔(占 78.95%);所有患者均有胸液或包裹性积液,结核性胸膜炎内科胸腔镜的镜下诊断率为 93.41%。因此,有经验的呼吸科医师能通过内科胸腔镜下所见有效地进行活检,内科胸腔镜与活检结合是诊断结核性胸膜炎准确而安全的方法。

结核病的病理学诊断

病理学诊断结核病主要依靠组织形态学、病原学、免疫组织化学及分子病理学等诊断方法。其中组织形态学及病原学检查是历史悠久的传统病理学诊断方法,是目前国内外病理科最常用的诊断手段。免疫组织化学及分子病理检测是近年来在结核病病理学诊断中新出现的技术,结合传统的诊断方法可以有效地提高病理学诊断结核病的准确性^[172]。

一、传统病理学诊断

结核病的诊断与鉴别诊断中病理学诊断发挥着

非常重要的作用。传统结核病病理学诊断是通过大体和镜下直接观察病灶组织的病理形态学变化,利用特殊染色查找病原菌来获得诊断结果,具有针对性强、准确性高等特点。

肺结核的鉴别诊断中病理学诊断可以提高准确性,减少结核病的过诊或漏诊。在结核病流行地区有些肺部疾病有可能会被误诊为肺结核病。Lee 等^[173]报道了 1 例误诊为肺结核的肺吸虫患者。该患者为 53 岁女性,出现持续几个月的咳嗽、痰中带血等症状,但无发热及体重减轻。TST 及 QFT-G 结果均为阳性。胸部 CT 为右肺上叶有局部实性病变,空洞形成,磨玻璃样病变;右肺下叶胸膜增厚。2 次痰涂片及 1 次痰 PCR 检测结果均为阴性。服用几个疗程的抗生素后临床症状及肺部病变均无改善。结合以上信息,该患者被诊断为菌阴肺结核。6 个月抗结核治疗后胸部 CT 结果显示病变有好转。但抗结核治疗结束 4 个月后右肺上叶又出现了新的实性病变。支气管灌洗液的抗酸染色、PCR 检测均为阴性,细菌、真菌及分枝杆菌培养结果均为阴性。再次抗结核治疗 5 个月后 CT 结果显示右肺上叶出现新的空洞性结节病灶。最后通过胸腔镜楔形肺切除手术,病理诊断为由卫氏肺吸虫引起的肺部肉芽肿病变及嗜酸性粒细胞浸润。此后停用抗结核药物,改用吡喹酮治疗后痊愈,且随访 1 年来病情无复发。另一肺血吸虫病患者的报道也说明即使有肺结核病家族史,影像学出现实性结节病变,肺结核与肺部寄生虫病仍需进一步进行鉴别诊断^[174]。此外,菌阴肺结核有时仅靠临床症状及影像学检查很难明确诊断,还需要借助病理学检查。Choo 等^[65]报道利用经皮肺穿刺活检(percutaneous transthoracic needle biopsy,PTNB),病理学诊断明确了 84 例菌阴肺结核病。孙加源等^[147]探索了 EBUS-TBNA 技术在胸内淋巴结结核或肺结核中的诊断效率。在 75 例确诊患者中该技术的诊断阳性率为 80.00%,其中病理诊断阳性率为 77.33%。孙雯雯等^[146]报道了 EBUS-TBNA 技术在诊断纵隔淋巴结结核中的应用价值。在 87 例疑似患者中最终确诊 73 例,确诊率为 90.41%,其中 57.58%确诊患者病理检查提示为结核性病变。因此,EBUS-TBNA 技术结合病理学检查在肺结核及胸内淋巴结结核的诊断中具有有良好的临床价值。此外,儿童结核性胸膜炎临床表现不典型,容易造成误诊或漏诊。聂洪梅等^[175]对 51 例结核性胸膜炎患儿进行了回顾性分析,发现 47 例经胸膜活组织检查确诊为结核性胸膜炎;而这

些患儿术前诊断为结核性胸膜炎 15 例(32%)、化脓性胸膜炎 24 例(51%)、胸腔积液原因待查 8 例(17%);胸膜活检组织检查检出率为 92%,术前诊断的误诊率为 68%。这些结果提示,胸膜活组织检查对儿童结核性胸膜炎具有重要诊断价值。

肺外结核中淋巴结核是最常见的。除了细菌学涂片及培养,病理学诊断依然是肺外结核确诊的重要手段。细针针吸活检(FNA)的细胞病理学诊断作为简单、快速、廉价、准确的诊断手段,在淋巴结核的诊断中具有很好的临床应用价值。因此,有学者提议在结核病流行的发展中国家,这项检查应作为淋巴结核诊断的首选检查项目^[159]。

肺外结核病发病率较低,其传染性也比肺结核小。因此,在结核病流行地区受重视程度不够,漏诊情况比较多见。在发展中国家,手术治疗的乳腺疾病中乳腺结核的比率仅在 3%左右,很容易误诊为乳腺脓肿或乳腺癌等其他常见疾病。Prathima 等^[176]报道了 1 例 35 岁女性原发性乳腺结核,该患者乳腺出现肿块 3 个月,无发热、咳嗽或体重减轻等症状。胸部 X 线检查、血常规及生化指标均无异常。临床常规检查后初步诊断为乳腺脓肿或乳腺癌。后通过 FNA 取脓液做细胞病理学检查,发现有肉芽肿样改变, Z-N 染色发现抗酸杆菌,诊断为乳腺结核。1 个月后结核分枝杆菌培养结果阳性也支持了结核病诊断。此外,其他组织器官,如肝脏、心脏、脾脏、鼻咽、口腔、肾脏、扁桃腺等部位的结核病,病理学诊断均发挥了至关重要的作用^[66,177-182]。

2014 年传统病理学诊断技术也有新的进展。Niazi 等^[183]开发了一种叫作 DeHiDe 的数字病理检测技术,它可以利用特殊的算法识别不同细胞密度区,并将可疑病灶区进一步划分为肉芽肿区及淋巴细胞边缘区。该技术在感染结核分枝杆菌小鼠肺部组织切片中可以准确定位 99.39%的可疑区域,并对这些区域进行 90.87%的准确划分。数字病理技术发展传统结核病病理学诊断提供了新平台,这项技术将帮助病理科医师提高病理诊断效率及准确性。Feng 等^[111]报道利用细胞离心涂片机处理脑脊液后,用改良的 Z-N 染色方法可以将结核性脑膜炎中抗酸杆菌的检出率从 3.3%提高到 82.9%,但特异性为 85.0%。这项新技术操作简单,可以在细胞学诊断中常规开展。

二、免疫组织化学诊断

免疫组织化学是病理科常用的检测方法,但目前主要应用于肿瘤疾病的诊断及分型,在结核病诊

断中的应用非常少。主要存在的问题是缺少可用于结核病诊断的免疫组织化学抗体及判读标准。Tadele 等^[184]报道利用挪威卑尔根大学提供的识别结核分枝杆菌复合群特异抗原 MPT64 的抗体,对 51 例(26 例结核性胸膜炎和 25 例淋巴结核)肺外结核细胞学标本进行了免疫细胞化学(immunocytochemistry, ICC)检测,其敏感度和特异性分别为 74.5%和 89.5%。与 Z-N 染色(13.7%)及分枝杆菌培养(19.6%)的阳性率相比,ICC 可以显著提高结核病的诊断阳性率。Feng 等^[111]报道利用识别结核分枝杆菌分泌蛋白 ESAT-6 的抗体进行 ICC 检测,可以有效提高结核性脑膜炎的诊断阳性率。与传统的 Z-N 染色阳性率(3.3%)相比,ICC 阳性率可以达到 75.1%。车南颖等^[185]报道了利用自主研发的识别结核分枝杆菌分泌蛋白 Ag85B 抗体进行免疫组织化学检测。结核病组织标本中的免疫组织化学结果显示,Ag85B 表达部位及强度与抗酸杆菌的分布一致,表明该抗体具有良好的特异性。并根据 Ag85B 的表达特点提出了免疫组织化学阳性判读标准。Z-N 染色阳性率为 31.4%,免疫组织化学阳性率为 50.5%,说明免疫组织化学可以显著提高结核病诊断阳性率。此外,免疫组织化学不使用油镜,可大幅度提高病理医师的阅片速度。为了检测不同结核分枝杆菌抗原表达特性,Mustafa 等^[186]制备了 11 种结核分枝杆菌抗原的抗体,在少量组织标本中(3 例肺结核、17 例淋巴结核、12 例非结核病患者进行对照)进行了免疫组织化学检测。结果显示,不同抗原在不同类型的结核病组织标本中表达水平存在差异,在不同类型的组织病变中也有不同的表达特性。这些结果表明,结核病免疫组织化学检测中还有很多问题需要解决,比如不同抗原在不同组织、不同病变、不同细胞类型、不同结核病类型中的表达特性,以及高效稳定的新抗体、阳性结果判定标准等。

人体内源的免疫相关基因的表达也可以为结核病的诊断提供依据。比如 CD68 作为组织细胞特异性抗原,可以帮助区分类上皮细胞与上皮来源的细胞,有助于确认肉芽肿细胞成分^[181]。Kang 等^[187]报道胸腺素 $\beta 4$ (thymosin $\beta 4$, T $\beta 4$)在初始肉芽肿及肉芽肿病变中有高表达,并只在坏死组织周围的组织细胞中有表达。Phillips 等^[188]报道了免疫调节蛋白——淋巴细胞激活基因 3(lymphocyte-activation gene 3, LAG3)蛋白在结核分枝杆菌感染的恒河猴组织标本中的表达。他们发现,LAG3 在活动

性肺结核恒河猴的肉芽肿病变中高表达,但在潜伏感染恒河猴的肉芽肿组织中低表达。同时,猿免疫缺陷病毒(simian immunodeficiency virus, SIV)感染引发潜伏结核感染转变为活动性肺结核时,LAG3 表达增强。但在其他细菌感染或单独 SIV 感染中 LAG3 表达并没有被激活。这些结果提示,与免疫应答或调节相关的蛋白可能与结核病的发病密切相关,具有成为结核病诊断分子标志物的潜力。

三、分子病理学诊断

分子病理学诊断是传统病理学诊断的重要补充,在结核病诊断中起着越来越重要的作用。结核病分子病理诊断主要是通过核酸扩增技术,在组织标本中检测是否存在结核分枝杆菌特异基因片段。结核病组织标本的分枝杆菌培养阳性率一般比较低,多项研究结果表明基因检测技术可以有效提高利用组织标本诊断结核病的阳性率^[167,189-191]。PCR 技术虽然敏感、快速,但也存在假阳性和假阴性的可能。因此,结核病病理学诊断不能完全依赖分子病理学检测结果,应结合传统病理学检查结果及其他临床信息得出最后的诊断^[192]。

基因检测技术在痰标本及分枝杆菌培养物的检测中应用非常广泛,已经成为临床诊断中最为常见的诊断方法。但这些技术在组织标本的检测中需要进一步验证其有效性。Seo 等^[193]探索了 5 种 PCR 方法在结核病患者福尔马林固定-石蜡包埋(formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE)组织标本中的检测阳性率,发现阳性率从 31.3%到 87.5%不等,差异比较大。因此,选择适合不同组织标本的基因检测方法对于结核病病理学诊断是非常重要的。利用显微切割技术富集结核病变组织可进一步提高基因检测的敏感度。目前,最常用的组织显微切割方法是激光切割,但主要存在成本高、耗时长等缺点。Hudock 等^[194]介绍了一种新的显微切割方法,具有快捷、廉价等优点,尤其有利于提取 FFPE 中的 RNA,通过这种方法从感染结核分枝杆菌恒河猴的 FFPE 组织中,显微切割富集了肉芽肿组织,并提取组织中的 RNA,通过 PCR 证明其中含有结核分枝杆菌 16S rRNA。

分子病理检测技术不仅有助于提高结核病确诊率,还可以帮助病理医师作出更加精细准确的病理学诊断。利用传统的组织形态学及病原学方法很难鉴别诊断结核病与非结核分枝杆菌病。通过检测分枝杆菌特异的基因片段,分子病理学检测技术可以有效区分这两种“近亲病”^[52,194-195]。

耐药结核病治疗难度大、疫情越来越严重,是结核病诊断中的重要问题。利用分子病理技术可以在组织标本中检测所感染的结核分枝杆菌是否发生耐药基因突变,提高了耐药结核病的诊断阳性率。近年来,具有快速、简便特点的 Xpert Mtb/RIF 技术在结核病的诊断中应用越来越广泛。这项技术不仅可以诊断结核病还可以同时诊断利福平耐药结核病,且可用于组织标本的检测。Maynard-Smith 等^[119]对近年来发表的 Xpert Mtb/RIF 检测肺外结核标本的研究做了 Meta 分析,共分析了 27 项研究中 6026 例肺外结核标本的检测结果。Xpert Mtb/RIF 检测敏感度在不同研究中的结果差异比较大,敏感度的中位数为 83%(IQR 为 68%,94%),而特异度都比较高,特异度的中位数为 98%(IQR 为 89%,100%)。Scott 等^[196]在南非结核病参比实验室做了不同来源临床标本的 MGIT 培养和 Xpert Mtb/RIF 检测的方法学比较。共有 84 例淋巴结针吸活检标本同时做了两种检测。Xpert Mtb/RIF 检测全部成功,而 MGIT 培养中 10.7%标本出现污染没有结果。Xpert Mtb/RIF 检测 Mtb 的阳性率为 46.0%,MGIT 培养阳性率为 23.8%。共有 38 例组织活检标本同时做了两种检测,Xpert Mtb/RIF 检测全部成功,而 MGIT 培养中 29.0%的标本出现污染没有结果。Xpert Mtb/RIF 检测 Mtb 的阳性率为 16.0%,MGIT 培养阳性率为 10.0%。另外,Xpert Mtb/RIF 对于利福平耐药的检出率(9.6%)也比传统 MGIT 方法高(7.6%)。这些结果提示,Xpert Mtb/RIF 对于针吸活检标本及组织活检标本的检测成功率优于传统培养方法,且准确性较高,不仅可以诊断结核病还可以同时诊断对利福平耐药的结核病。

综上所述,2014 年传统病理学诊断方法依旧在结核病与其他疾病的鉴别诊断中发挥着重要作用,同时免疫组织化学及分子病理学检测新技术目前在少数医院中开始应用于临床,也是目前结核病病理学诊断的研究热点。

参加编写人员 首都医科大学附属北京胸科医院(李亮、李琦、张宗德、陈效友、张海青、陆宇、丁卫民、孙照刚、车南颖、张立群、郑晓静、李芳、徐建、唐神结);同济大学附属上海市肺科医院(张青、沙巍、范琳、刘一典、姚岚、郝晓晖、胡忠义、毕爱笑、顾瑾、尹洪云、桂徐蔚、楼海);解放军三〇九医院(张广宇、梁建琴、陈志);北京地坛医院(谢汝明);长春市结核病医院(闫世明);广州市胸科医院(谭守勇);武汉市结核病防治所(王卫华、王婷萍、袁保东、戴希勇);上海市公共卫生临床中心(卢水华、宋言峥);天津海河医院(吴琦、梅早仙);山东省胸科医院(侯代伦、金锋、张旭);四川华西医院

(陈雪融); 沈阳胸科医院(孙炳奇); 安徽省铜陵市卫生局(朱友生); 杭州市红十字会医院(蔡青山); 湖南省结核病医院(厉娟)

志谢 中国防痨协会、中华医学会结核病学分会、中国防痨杂志、中国疾病预防控制中心结核病防治临床中心、各参与编写单位和编委、人民卫生出版社及结核界同仁和专家给予了大力支持和帮助, 尤其是中国防痨协会许绍发副理事长和中国防痨协会结核病临床专业委员会刘志敏主任委员对编纂工作热情指导和鼓励, 在此一并表示最诚挚的谢意与敬意。感谢上海市肺科医院刘一典医生、安徽省铜陵市卫生局朱友生教授等所做的大量文字校对与修订工作

参 考 文 献

- [1] Chandra TJ, Raj RS, Sharma YV. Same day sputum smear microscopy approach with modified ZN staining for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in a microscopy centre at Rajahmundry. *Indian J Med Microbiol*, 2014, 32(2): 153-156.
- [2] Nayak P, Kumar AM, Claassens M, et al. Comparing same day sputum microscopy with conventional sputum microscopy for the diagnosis of tuberculosis—Chhattisgarh, India. *PLoS One*, 2013, 8(9): e74964.
- [3] Huang Z, Xiong G, Luo Q, et al. Evaluation of the performance of the microscopic observation drug susceptibility assay for diagnosis of extrapulmonary tuberculosis in China: A preliminary study. *Respirology*, 2014, 19(1): 132-137.
- [4] 张继萍, 柳晓金, 叶迎宾, 等. 支气管镜肺泡灌洗液改良抗酸染色法诊断菌阴性肺结核的价值探讨. *国际检验医学杂志*, 2014, 35(13): 1702-1703.
- [5] Ryan GJ, Shapiro HM, Lenaerts AJ. Improving acid-fast fluorescent staining for the detection of mycobacteria using a new nucleic acid staining approach. *Tuberculosis (Edinb)*, 2014, 94(5): 511-518.
- [6] McCall B, Olsen RJ, Nelles NJ, et al. Evaluation of a miniature microscope objective designed for fluorescence array microscopy detection of *Mycobacterium tuberculosis*. *Arch Pathol Lab Med*, 2014, 138(3): 379-389.
- [7] 李辉. 液体培养方法在结核病和耐药结核病诊断中的应用. *中华检验医学杂志*, 2014, 37(8): 637-638.
- [8] Phunpae P, Chanwong S, Tayapiwatana C, et al. Rapid diagnosis of tuberculosis by identification of Antigen 85 in mycobacterial culture system. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2014, 78(3): 242-248.
- [9] 蒋骏, 张晓龙. 苏州市痰培养阳性肺结核患者的菌型鉴定及药物敏感性试验结果分析. *结核病与肺部健康杂志*, 2014, 3(2): 91-95.
- [10] 刘菊秀, 刘丹丹. 493 例结核分枝杆菌耐药情况分析. *结核病与肺部健康杂志*, 2014, 3(2): 133-134.
- [11] 杨娟, 央拉, 巴桑琼达, 等. 西藏拉萨地区 198 株结核分枝杆菌耐药性分析. *西藏大学学报(自然科学版)*, 2014, 29(1): 36-39.
- [12] Gao GJ, Lian L, Sun Y, et al. Drug resistance characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* isolates to four first-line antituberculous drugs from tuberculosis patients with AIDS in Beijing, China. *Int J Antimicrob Agents*, 2015, 45(2): 124-129.
- [13] 熊瑜, 高胜胜, 丁彩红. 初治肺结核合并糖尿病患者噬菌体检测法一线抗结核药物耐药分析. *中国防痨杂志*, 2014, 36(3): 211-213.
- [14] Imperiale BR, Morcillo NS, Palomino JC, et al. Predictive value of direct nitrate reductase assay and its clinical performance in the detection of multi-and extensively drug-resistant tuberculosis. *J Med Microbiol*, 2014, 63(Pt 4): 522-527.
- [15] Coban AY, Devci A, Sunter AT, et al. Nitrate reductase assay for rapid detection of isoniazid, rifampin, ethambutol, and streptomycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Microbiol*, 2014, 52(1): 15-19.
- [16] Nishiyama H, Aono A, Sugamoto T, et al. Optimization of the microscopic observation drug susceptibility assay for four first-line drugs using *Mycobacterium tuberculosis* reference strains and clinical isolates. *J Microbiol Methods*, 2014, 101: 44-48.
- [17] Coronel J, Roper MH, Herrera C, et al. Validation of microscopic observation drug susceptibility testing for rapid, direct rifampicin and isoniazid drug susceptibility testing in patients receiving tuberculosis treatment. *Clin Microbiol Infect*, 2014, 20(6): 536-541.
- [18] Wikman-Jorgensen P, Llenas-García J, Hobbins M, et al. Microscopic observation drug susceptibility assay for the diagnosis of TB and MDR-TB in HIV-infected patients: a systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J*, 2014, 44(4): 973-984.
- [19] Wang L, Mohammad SH, Chaiyasirinroje B, et al. Evaluating the Auto-MODS assay, a novel tool for tuberculosis diagnosis for use in resource-limited settings. *J Clin Microbiol*, 2015, 53(1): 172-178.
- [20] Martin L, Coronel J, Faulx D, et al. A field evaluation of the Hardy TB MODS Kit™ for the rapid phenotypic diagnosis of tuberculosis and multi-drug resistant tuberculosis. *PLoS One*, 2014, 9(9): e107258.
- [21] Jang MH, Kim SY, Kim CK, et al. Early detection of mycobacteria using a novel hydrogel culture method. *Ann Lab Med*, 2014, 34(1): 26-30.
- [22] Yu FL, Lee JC, Wang MS, et al. Evaluation of a modified direct agar proportion method for testing susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* from MGIT samples. *J Microbiol Immunol Infect*, 2014, pii: S1684-1182(14)00006-1. [Epub ahead of print].
- [23] Patil SS, Mohite ST, Kulkarni SA, et al. Resazurin tube method: rapid, simple, and inexpensive method for detection of drug resistance in the clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Glob Infect Dis*, 2014, 6(4): 151-156.
- [24] Trollip AP, Moore D, Coronel J, et al. Second-line drug susceptibility breakpoints for *Mycobacterium tuberculosis* using the MODS assay. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2014, 18(2): 227-232.
- [25] 申晓娜, 赵雁林, 肖和平, 等. 对氨基水杨酸异烟肼及异烟肼体外抗结核分枝杆菌活性分析. *中华结核和呼吸杂志*, 2014, 37(2): 132-134.
- [26] Banu S, Rahman SM, Khan MS, et al. Discordance across several methods for drug susceptibility testing of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in a single laboratory. *J Clin Microbiol*, 2014, 52(1): 156-163.
- [27] 谷蕴婷, 于霞, 李云絮, 等. 不同报告时间结核分枝杆菌药物敏感性试验结果不一致的原因. *中国防痨杂志*, 2014, 36(10): 874-879.
- [28] Zhan X, Wang Z, Zhang L, et al. Clinical and pathological features of adult pulmonary tuberculosis with reversed halo sign. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2013, 17(12): 1621-1625.
- [29] 谢汝明, 吕岩, 周震, 等. 33 例肺结核不典型 CT 征象分析. *中国防痨杂志*, 2014, 36(3): 171-175.
- [30] 周震, 吕岩, 谢汝明, 等. 局限性肺实变病灶的 CT 表现特点分析. *中国防痨杂志*, 2014, 36(3): 149-154.
- [31] 袁怀平, 彭勇, 唐永强, 等. 肺内结核性肉芽肿特征性 CT 征象分析. *实用放射学杂志*, 2014, 30(7): 1112-1120.
- [32] 渠海贤, 敖国昆, 袁小东, 等. 320 层动态容积 CT 灌注成像应用于肺结核伴咯血的初步研究. *中国防痨杂志*, 2014, 36(10):

- 901-904.
- [33] 李利佳, 敖国昆, 袁曙辉, 等. 320 排 CT 双入口灌注技术在肺结核化疗疗效评价中的应用. 中国医学装备, 2014, 11(4): 26-29.
 - [34] 杨露露, 潘自兵, 石华, 等. CT 能谱成像鉴别诊断结核性与恶性胸腔积液. 实用放射学杂志, 2014, 30(5): 763-782.
 - [35] 林吉征, 张亮, 邹婧, 等. CT 能谱成像诊断孤立性肺结节. 中国医学影像技术, 2014, 30(2): 224-227.
 - [36] Bolursaz MR, Mehrian P, Aghahosseini F, et al. Evaluation of the relationship between smear positivity and high-resolution CT findings in children with pulmonary tuberculosis. Pol J Radiol, 2014, 79: 120-125.
 - [37] 方文春, 马威, 陆普选, 等. 肺结核高分辨率 CT 半定量评分与酶联免疫斑点形成细胞数的相关性分析. 实用医技杂志, 2014, 21(5): 464-466.
 - [38] 朱明, 雷振. 活动性肺结核高分辨 CT 征象评分与痰涂 AFB 分级的相关性研究. 实用放射学杂志, 2014, 30(7): 1115-1117.
 - [39] Mirsaedi M, Hadid W, Ericsson B, et al. Non-tuberculous mycobacterial disease is common in patients with non-cystic fibrosis bronchiectasis. Int J Infect Dis, 2013, 17(11): e1000-1004.
 - [40] Kim CH, Im KH, Yoo SS, et al. Comparison of the incidence between tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease after gastrectomy. Infection, 2014, 42: 697-704.
 - [41] 贺伟, 宁锋钢, 李成海, 等. 鸟-胞内分枝杆菌复合群肺炎和脓肿分枝杆菌肺炎的 CT 影像学比较. 中国防痨杂志, 2014, 36(8): 700-705.
 - [42] 王钦棋, 姜勇. 非结核分枝杆菌肺炎的 CT 表现分析. 中外医学研究, 2014, 12(12): 60-61.
 - [43] 张宏伟, 余文格. 艾滋病合并纵隔淋巴结结核的临床及 CT 特点. 浙江中医药大学学报, 2014, 38(3): 289-293.
 - [44] Hou D, Qu H, Zhang X, et al. Multi-slice computed tomography 5-minute delayed scan is superior to immediate scan after contrast media application in characterization of intracranial tuberculosis. Med Sci Monit, 2014, 20: 1556-1562.
 - [45] 吕圣秀, 李春华, 戴欣, 等. 276 例颅内结核的临床及 CT 影像学特征分析. 重庆医学, 2014, 43(36): 4884-4886.
 - [46] 谢丽璇, 李国雄, 刘志军. 33 例肺良性病变的 ^{18}F -FDG PET/CT 误诊原因分析. 放射学实践, 2014, 29(5): 541-544.
 - [47] Jeong YJ, Paeng JC, Nam HY, et al. ^{18}F -FDG positron-emission tomography/computed tomography findings of radiographic lesions suggesting old healed tuberculosis. J Korean Med Sci, 2014, 29(3): 386-391.
 - [48] Heysell SK, Thomas TA, Sifri CD, et al. ^{18}F -Fluorodeoxyglucose positron emission tomography for tuberculosis diagnosis and management: a case series. BMC Pulm Med, 2013, 13: 14.
 - [49] Sathekge M, Maes A, Van de Wiele C. FDG-PET imaging in HIV infection and tuberculosis. Semin Nucl Med, 2013, 43(5): 349-366.
 - [50] 张峰, 刘东锋, 潘贤成, 等. ^{18}F -FDG PET/CT 对脊椎结核的诊断价值. 功能与分子医学影像学(电子版), 2014, 3(2): 388-391.
 - [51] 高欣, 杨春山, 石华铮. 多发非连续性脊柱结核的 ^{18}F -FDG PET/CT 应用价值. 中国医学影像学杂志, 2014, 22(3): 195-198.
 - [52] Wang SH, Pancholi P. Mycobacterial skin and soft tissue infection. Curr Infect Dis Rep, 2014, 16(11): 438.
 - [53] 沈国华, 贾志云, 周绿漪, 等. 双时相 ^{18}F -FDG PET/CT 对肺结节诊断价值的 Meta 分析. 中国医学影像学杂志, 2014, 22(7): 529-534.
 - [54] 李伏燕, 陈义加, 裴之俊. 心包结核合并淋巴结结核 PET/CT 显像 1 例. 医学影像学杂志, 2014, 24(6): 901-905.
 - [55] 宁锋钢, 赵泽钢, 周新华, 等. 193 例脊椎结核的 MRI 表现分析. 中国防痨杂志, 2014, 36(3): 161-165.
 - [56] 黄光海, 赵丽, 林月. 脊柱结核的 MRI 诊断价值(附 40 例报告). 医学影像学杂志, 2014, 24(3): 503-504.
 - [57] Sureka J, Samuel S, Keshava SN, et al. MRI in patients with tuberculous spondylitis presenting as vertebra plana: a retrospective analysis and review of literature. Clin Radiol, 2013, 68(1): e36-42.
 - [58] 甄平, 蓝旭, 李旭升, 等. 非典型性脊柱结核影像学分型与表现形式. 中华骨科杂志, 2014, 34(2): 204-210.
 - [59] 刘晓晨, 贾文霄, 王红, 等. 磁共振扩散加权成像在兔脊柱结核模型中的应用. 中国医学计算机成像杂志, 2014, 20(2): 182-186.
 - [60] 过丽芳, 吕岩, 周新华, 等. 颅内结核的 MRI 特点及抗结核治疗动态分析. 中华放射学杂志, 2014, 48(3): 202-206.
 - [61] 姜涛, 张爱武, 方燕南, 等. MRI 及脑脊液分析在中枢神经系统感染鉴别中的作用. 中华神经医学杂志, 2014, 13(1): 76-79.
 - [62] 程悦, 季倩, 沈文. 前列腺结核的 MRI 特征. 中华放射学杂志, 2014, 48(4): 342-343.
 - [63] Boskovic T, Stanic J, Pena-Karan S, et al. Pneumothorax after transthoracic needle biopsy of lung lesions under CT guidance. J Thorac Dis, 2014, 6 Suppl 1: S99-107.
 - [64] 刘华. CT 引导下经皮肺穿活检对疑难菌肺炎结核的诊断意义. 四川医学, 2014, 35(11): 1485-1487.
 - [65] Choo JY, Lee KY, Kim MY, et al. Pulmonary Tuberculosis Confirmed by Percutaneous Transthoracic Needle Biopsy: Analysis of CT Findings and Review of Correlations with Underlying Lung Disease. Balkan Med J, 2014, 31(3): 208-213.
 - [66] Zhang L, Yang NB, Ni SL, et al. A case of multiple macronodular hepatic tuberculosis difficult to differentiate from hepatocellular carcinoma with intrahepatic metastasis: CT-guided fine needle aspiration biopsy confirmed the diagnosis. Int J Clin Pathol, 2014, 7(11): 8240-8244.
 - [67] Erkens CG, Dinmohamed AG, Kamphorst M, et al. Added value of interferon-gamma release assays in screening for tuberculous infection in the Netherlands. Int J Tuberc Lung Dis, 2014, 18(4): 413-420.
 - [68] Iqbal AZ, Leighton J, Anthony J, et al. Cost-effectiveness of using Quantiferon Gold (QFT-G)[®] versus tuberculin skin test (TST) among U. S. and foreign born populations at a public health department clinic with a low prevalence of tuberculosis. Public Health Nurs, 2014, 31(2): 144-152.
 - [69] Dorman SE, Belknap R, Graviss EA, et al. Interferon- γ release assays and tuberculin skin testing for diagnosis of latent tuberculosis infection in healthcare workers in the United States. Am J Respir Crit Care Med, 2014, 189(1): 77-87.
 - [70] Babayigit C, Ozer B, Ozer C, et al. Performance of QuantiFERON-TB Gold In-Tube test and Tuberculin Skin Test for diagnosis of latent tuberculosis infection in BCG vaccinated health care workers. Med Sci Monit, 2014, 20: 521-529.
 - [71] 耿梦杰, 宋渝丹, 熊勇超, 等. 结核菌素皮肤试验和 γ 干扰素释放试验检测 917 名医务人员结核分枝杆菌感染一致性的比较分析. 中国防痨杂志, 2014, 36(2): 121-125.
 - [72] Rose W, Kitai I, Kakkar F, et al. Quantiferon Gold-in-tube assay for TB screening in HIV infected children: influence of quantitative values. BMC Infect Dis, 2014, 14: 516.
 - [73] Jeong JC, Koo TY, Jeon HJ, et al. Utility of QuantiFERON-TB assay for prediction of tuberculosis development in kidney transplant patients in an intermediate-tuberculosis-burden country: lack of evidence for enhanced prediction for short-term tuberculosis development. Transplant Proc, 2014, 46(2): 583-587.
 - [74] Sherkat R, Yaran M, Shoaie P, et al. Concordance of the tuberculin skin test and T-SPOT[®]. TB test results in kidney transplant candidates. J Res Med Sci, 2014, 19 Suppl 1: S26-29.

- [75] Mardani M, Farshidpour M, Nekoonam M, et al. Performance of QuantiFERON TB gold test compared with the tuberculin skin test for detecting latent tuberculosis infection in lung and heart transplant candidates. *Exp Clin Transplant*, 2014, 12(2):129-132.
- [76] Elfrink F, van den Hoek A, Mensen ME, et al. Screening travellers to high-endemic countries for infection with *Mycobacterium tuberculosis* using interferon gamma release assay; a prospective study. *BMC Infect Dis*, 2014, 14:515.
- [77] Thillai M, Pollock K, Pareek M, et al. Interferon-gamma release assays for tuberculosis: current and future applications. *Expert Rev Respir Med*, 2014, 8(1): 67-78.
- [78] 中华医学会结核病学分会, 中华结核和呼吸杂志编委会. γ -干扰素释放试验在中国的应用建议. *中华结核和呼吸杂志*, 2014, 37(10):744-747.
- [79] 章淑梦, 周华, 符一骐, 等. γ -干扰素释放试验在活动性结核病诊断中的临床价值. *中华结核和呼吸杂志*, 2014, 37(5): 372-373.
- [80] 刘红, 黄永杰, 王静, 等. 结核感染 T 细胞斑点试验在疑似结核病患者诊断中的价值研究. *中华结核和呼吸杂志*, 2014, 37(3):192-196.
- [81] 贾红彦, 潘雨萍, 刘菲, 等. 结核分枝杆菌感染 T 细胞斑点试验对淋巴结结核的辅助诊断价值研究. *中国防痨杂志*, 2014, 36(6):467-471.
- [82] 陆迪雅, 陈澍, 高有方, 等. 外周血结核感染 T 淋巴细胞斑点试验和脑脊液 γ -干扰素检测诊断结核性脑膜炎的价值. *中华传染病杂志*, 2014, 32(6): 338-342.
- [83] 林玲, 刘厚明, 邓群益, 等. γ -干扰素释放试验在肺结核和非结核分枝杆菌肺病鉴别诊断中的应用价值. *中国防痨杂志*, 2014, 36(6):477-481.
- [84] James PM, Ganaie FA, Kadahalli RL, et al. The performance of quantiferon-tb gold in-tube (QFT-IT) test compared to tuberculin skin test (TST) in detecting latent tuberculosis infection (LTBI) in the presence of HIV coinfection in a high TB-burden area with BCG-vaccinated population. *J Int Assoc Provid AIDS Care*, 2014, 13(1):47-55.
- [85] Sauzullo I, Mengoni F, Ermocida A, et al. Interferon- γ release assay in HIV-infected patients with active tuberculosis: impact of antituberculous drugs on host immune response. *New Microbiol*, 2014, 37(2), 153-161.
- [86] 钟一鸣, 谷秀梅, 刘文恩, 等. 结核感染 T 细胞斑点实验在结缔组织病患者中辅助诊断结核感染的应用. *中华检验医学杂志*, 2014, 37(2):132-135.
- [87] Mukherjee A, Saini S, Kabra SK, et al. Effect of micronutrient deficiency on QuantiFERON-TB Gold In-Tube test and tuberculin skin test in diagnosis of childhood intrathoracic tuberculosis. *Eur J Clin Nutr*, 2014, 68(1):38-42.
- [88] Wang X, Wu Y, Wang M, et al. The sensitivity of T-SPOT. TB assay in diagnosis of pediatric tuberculosis. *Fetal Pediatr Pathol*, 2014, 33(2):123-125.
- [89] Schopfer K, Rieder HL, Bodmer T, et al. The sensitivity of an interferon- γ release assay in microbiologically confirmed pediatric tuberculosis. *Eur J Pediatr*, 2014, 173(3):331-336.
- [90] 鲍磊, 李涛, 卢水华. 全血 γ -干扰素释放试验在儿童和成人中的结核病诊断价值. *微生物与感染*, 2014, 9(1):21-27.
- [91] Sollai S, Galli L, de Martino M, et al. Systematic review and meta-analysis on the utility of Interferon-gamma release assays for the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children: a 2013 update. *BMC Infect Dis*, 2014, 14 Suppl 1:S6.
- [92] World Health Organization. Guidelines for intensified tuberculosis case-finding and isoniazid preventive therapy for people living with HIV in resource-constrained settings. WHO/HTM/TB/2011.11. Geneva: World Health Organization, 2011.
- [93] Goletti D, Sanduzzi A, Delogu G. Performance of the tuberculin skin test and interferon- γ release assays: an update on the accuracy, cutoff stratification, and new potential immune-based approaches. *J Rheumatol Suppl*, 2014, 91:24-31.
- [94] Whitworth WC, Goodwin DJ, Racster L, et al. Variability of the QuantiFERON[®]-TB gold in-tube test using automated and manual methods. *PLoS One*, 2014, 9(1):e86721.
- [95] Araujo LS, Mello FC, Silva Nde B, et al. Evaluation of gamma interferon immune response elicited by the newly constructed PstS-1(285-374):CFP10 fusion protein to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin Vaccine Immunol*, 2014, 21(4):552-560.
- [96] 张丽帆, 刘晓清, 高微微, 等. 重组结核分枝杆菌 11 000 蛋白特异性 T 细胞反应诊断活动性结核病的应用价值. *中华医学杂志*, 2014, 94(15):1161-1164.
- [97] Liao M, Yang Q, Zhang J, et al. Gamma interferon immunospot assay of pleural effusion mononuclear cells for diagnosis of tuberculous pleurisy. *Clin Vaccine Immunol*, 2014, 21(3): 347-353.
- [98] Sauzullo I, Mastroianni CM, Mengoni F, et al. Long-term IFN- γ and IL-2 response for detection of latent tuberculosis infection in healthcare workers with discordant immunologic results. *J Immunol Methods*, 2014, 414:51-57.
- [99] Buchwald UK, Adetifa IM, Bottomley C, et al. Broad adaptive immune responses to *M. tuberculosis* antigens precede TST conversion in tuberculosis exposed household contacts in a TB-endemic setting. *PLoS One*, 2014, 9(12):e116268.
- [100] García Jacobo RE, Serrano CJ, Enciso Moreno JA, et al. Analysis of Th1, Th17 and regulatory T cells in tuberculosis case contacts. *Cell Immunol*, 2014, 289(1/2):167-173.
- [101] Sauzullo I, Scrivo R, Mengoni F, et al. Multi-functional flow cytometry analysis of CD4⁺ T cells as an immune biomarker for latent tuberculosis status in patients treated with tumour necrosis factor (TNF) antagonists. *Clin Exp Immunol*, 2014, 176(3):410-417.
- [102] Silva BD, Trentini MM, da Costa AC, et al. Different phenotypes of CD8⁺ T cells associated with bacterial load in active tuberculosis. *Immunol Lett*, 2014, 160(1):23-32.
- [103] Hur YG, Kang YA, Jang SH, et al. Adjunctive biomarkers for improving diagnosis of tuberculosis and monitoring therapeutic effects. *J Infect*, 2015, 70(4):346-355.
- [104] Hur YG, Crampin AC, Chisambo C, et al. Identification of immunological biomarkers which may differentiate latent tuberculosis from exposure to environmental nontuberculous mycobacteria in children. *Clin Vaccine Immunol*, 2014, 21(2):133-142.
- [105] Leng J, Ding Y, Shou C, et al. Development of a novel anti ESAT-6 monoclonal antibody for screening of *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(11):4238-4243.
- [106] Tiwari D, Tiwari RP, Chandra R, et al. Efficient ELISA for diagnosis of active tuberculosis employing a cocktail of secretory proteins of *Mycobacterium tuberculosis*. *Folia Biol (Praha)*, 2014, 60(1):10-20.
- [107] Hwang WH, Lee WK, Ryoo SW, et al. Expression, purification and improved antigenicity of the *Mycobacterium tuberculosis* PstS1 antigen for serodiagnosis. *Protein Expr Purif*, 2014, 95: 77-83.
- [108] 薛丽京, 刘燕, 何桥, 等. 结核分枝杆菌多克隆抗体在结核性病变中的诊断价值. *临床肺科杂志*, 2014, 19(1):69-72.
- [109] 邢爱英, 刘忠泉, 杜博平, 等. 血清结核分枝杆菌复苏因子抗体检测方法在肺结核诊断中的应用价值. *中华结核和呼吸杂志*, 2014, 37(2):137-138.
- [110] Song FX, Sun XW, Wang XT, et al. Significance of *Mycobacterium tuberculosis* antigen expression in cerebrospinal fluid monocytes in diagnosing tuberculous meningitis. *Indian J Pathol Microbiol*, 2014, 57(2):265-268.

- [111] Feng GD, Shi M, Ma L, et al. Diagnostic accuracy of intra-cellular *Mycobacterium tuberculosis* detection for tuberculous meningitis. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 189(4): 475-481.
- [112] Theron G, Zijenah L, Chanda D, et al. Feasibility, accuracy, and clinical effect of point-of-care Xpert MTB/RIF testing for tuberculosis in primary-care settings in Africa: a multi-centre, randomised, controlled trial. *Lancet*, 2014, 383 (9915): 424-435.
- [113] Davis JL, Kawamura LM, Chaisson LH, et al. Impact of GeneXpert MTB/RIF on patients and tuberculosis programs in a low-burden setting: a hypothetical trial. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 189(12):1551-1559.
- [114] Hanrahan CF, Theron G, Bassett J, et al. Xpert MTB/RIF as a measure of sputum bacillary burden. Variation by HIV status and immunosuppression. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 189 (11):1426-1434.
- [115] Denkinger CM, Schumacher SG, Boehme CC, et al. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J*, 2014, 44(2):435-446.
- [116] Pandie S, Peter JG, Kerbelker ZS, et al. Diagnostic accuracy of quantitative PCR (Xpert MTB/RIF) for tuberculous pericarditis compared to adenosine deaminase and unstimulated interferon- γ in a high burden setting: a prospective study. *BMC Med*, 2014, 12:101.
- [117] Solomons RS, van Elsland SL, Visser DH, et al. Commercial nucleic acid amplification tests in tuberculous meningitis—a meta-analysis. *Diag Microb Infect Dis*, 2014, 78 (4): 398-403.
- [118] Patel VB, Connolly C, Singh R, et al. Comparison of amplifier and GeneXpert MTB/RIF tests for diagnosis of tuberculous meningitis. *J Clin Microbiol*, 2014, 52(10): 3777-3780.
- [119] Maynard-Smith L, Larke N, Peters JA, et al. Diagnostic accuracy of the Xpert MTB/RIF assay for extrapulmonary and pulmonary tuberculosis when testing non-respiratory samples: a systematic review. *BMC Infect Dis*, 2014, 14:709.
- [120] Reither K, Manyama C, Clowes P, et al. Xpert MTB/RIF assay for diagnosis of pulmonary tuberculosis in children: A prospective, multi-centre evaluation. *J Infect*, 2015, 70(4): 392-399.
- [121] Ssengooba W, Nakiyingi L, Armstrong DT, et al. Clinical utility of a novel molecular assay in various combination strategies with existing methods for diagnosis of HIV-related tuberculosis in Uganda. *PLoS One*, 2014, 9(9):e107595.
- [122] Rufai SB, Kumar P, Singh A, et al. Comparison of Xpert MTB/RIF with line probe assay for detection of rifampin-monoresistant *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol*, 2014, 52(6):1846-1852.
- [123] 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. *中华骨科杂志*, 2014, 34(2):211-215.
- [124] Lin SY, Rodwell TC, Victor TC, et al. Pyrosequencing for rapid detection of extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in clinical isolates and clinical specimens. *J Clin Microbiol*, 2014, 52(2):475-482.
- [125] Zheng R, Zhu C, Guo Q, et al. Pyrosequencing for rapid detection of tuberculosis resistance in clinical isolates and sputum samples from re-treatment pulmonary tuberculosis patients. *BMC Infect Dis*, 2014, 14:200.
- [126] Molina-Moya B, Lacombe A, Prat C, et al. AID TB resistance line probe assay for rapid detection of resistant *Mycobacterium tuberculosis* in clinical samples. *J Infect*, 2015, 70 (4): 400-408.
- [127] 李园园, 程松, 陆俊梅, 等. RNA 恒温扩增联合熔解曲线分析鉴定胞内分枝杆菌的应用研究. *中国人兽共患病学报*, 2014, 30(1):58-62.
- [128] 倪丽丽, 景玲杰, 杨景卉, 等. 结核分枝杆菌对氟喹诺酮类药物敏感性的实验研究. *现代检验医学杂志*, 2014, 29(2): 84-86.
- [129] Pholwat S, Stroup S, Gratz J, et al. Pyrazinamide susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* by high resolution melt analysis. *Tuberculosis(Edinb)*, 2014, 94(1): 20-25.
- [130] Haeili M, Fooladi AI, Bostanabad SZ, et al. Rapid screening of rpoB and katG mutations in *Mycobacterium tuberculosis* isolates by high-resolution melting curve analysis. *Indian J Med Microbiol*, 2014, 32(4):398-403.
- [131] Issa R, Abdul H, Hashim SH, et al. High resolution melting analysis for the differentiation of *Mycobacterium species*. *J Med Microbiol*, 2014, 63(Pt 10):1284-1287.
- [132] Hu X, Shang M, Zhou J, et al. Association of genetic variants in Wnt signaling pathway with tuberculosis in Chinese Han population. *PLoS One*, 2014, 9(4):e93841.
- [133] 张娟, 孙炳奇, 孙娇, 等. 两种基因诊断技术对结核分枝杆菌耐药性检测效果比较. *实用医学杂志*, 2014, 30 (9): 1482-1485.
- [134] Zhang R, Long Y, He W, et al. Application status of MALDI-TOF mass spectrometry in the identification and drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Thorac Dis*, 2014, 6 (5): 512-516.
- [135] 王琳, 翁丽珍, 陈晓红, 等. 应用蛋白质指纹图谱技术快速鉴别诊断菌肺肺结核. *中国人兽共患病学报*, 2014, 30(7): 688-691.
- [136] 刘炳祥, 欧强. 基于气相色谱-质谱联用技术的结核性脑膜炎患者脑脊液代谢组学观察. *山东医药*, 2014, 54 (16):4-9.
- [137] Zhang X, Liu F, Li Q, et al. A proteomics approach to the identification of plasma biomarkers for latent tuberculosis infection. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2014, 79(4):432-427.
- [138] Lange S, Rosenkrands I, Stein R, et al. Analysis of protein species differentiation among mycobacterial low-Mr-secreted proteins by narrow pH range Immobililine gel 2-DE-MALDI-MS. *J Proteomics*, 2014, 97:235-244.
- [139] 刘志辉, 彭德虎, 孟繁荣, 等. 结核性胸膜炎患者结核分枝杆菌培养滤液、胸腔积液和血清蛋白组分析. *实用医学杂志*, 2014, 30(17):2745-2747.
- [140] 钱明, 陈涛, 卓文基, 等. 龟分枝杆菌培养滤液蛋白质组生物质谱分析. *结核病与肺部健康杂志*, 2014, 3(3):157-160.
- [141] 曹翌明, 孟繁荣, 谢贝, 等. 异烟肼敏感与耐药结核杆菌临床分离株培养滤液蛋白比较分析. *现代医院*, 2014, 14(8): 11-13.
- [142] 文玉欣, 张国良, 林巧, 等. IFNA8 基因单核苷酸多态性与我国汉族人群结核分枝杆菌易感性的关联分析. *中国防痨杂志*, 2014, 36(6):418-423.
- [143] 汪文斐, 张国良, 杨帆, 等. 飞行时间质谱与 TaqMan 探针技术在结核病易感性相关基因单核苷酸多态性筛选中的应用. *中国防痨杂志*, 2014, 36(6):434-439.
- [144] Goussard P, Gie R. The role of bronchoscopy in the diagnosis and management of pediatric pulmonary tuberculosis. *Expert Rev Respir Med*, 2014, 8(1): 101-109.
- [145] 罗汶鑫, 黄英, 李渠北, 等. 多项无创或微创检查联合对痰菌阴性儿童肺结核的诊断价值. *中国当代儿科杂志*, 2014, 16 (8):791-794.
- [146] 孙雯雯, 吴福蓉, 肖和平, 等. 超声支气管镜下穿刺活检对成人纵隔淋巴结结核的早期诊断价值(附 87 例临床报告). *中国防痨杂志*, 2014, 36(3): 180-183.
- [147] 孙加源, 滕家俊, 钟润波, 等. 支气管内超声引导下经支气管针吸活检诊断胸内结核. *中华心胸外科杂志*, 2014, 30(11): 653-656.
- [148] Madan K, Mohan A, Ayub II, et al. Initial experience with endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspira-

- tion (EBUS-TBNA) from a tuberculosis endemic population. *J Bronchology Interv Pulmonol*, 2014, 21(3):208-214.
- [149] Kuo CH, Lin SM, Lee KY, et al. Algorithmic approach by endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for isolated intrathoracic lymphadenopathy: a study in a tuberculosis-endemic country. *J Formos Med Assoc*, 2014, 113(8):527-534.
- [150] Dhasmana DJ, Ross C, Bradley CJ, et al. Performance of Xpert MTB/RIF in the diagnosis of tuberculous mediastinal lymphadenopathy by endobronchial ultrasound. *Ann Am Thorac Soc*, 2014, 11(3): 392-396.
- [151] Izumo T, Sasada S, Chavez C, et al. Endobronchial ultrasound elastography in the diagnosis of mediastinal and hilar lymph nodes. *Jpn J Clin Oncol*, 2014, 44(10):956-962.
- [152] Izumo T, Sasada S, Watanabe J, et al. Comparison of two 22 G aspiration needles for histologic sampling during endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration (EBUS-TBNA). *Jpn J Clin Oncol*, 2014, 44(9):841-845.
- [153] 李明, 彭爱梅, 张国良, 等. 支气管超声下经引导鞘肺活检术诊断肺周围性病变的价值. *中华结核和呼吸杂志*, 2014, 37(1): 36-40.
- [154] Takai M, Izumo T, Chavez C, et al. Transbronchial needle aspiration through a guide sheath with endobronchial ultrasonography (GS-TBNA) for peripheral pulmonary lesions. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*, 2014, 20(1):19-25.
- [155] Gex G, Pralong JA, Combesure C, et al. Diagnostic yield and safety of electromagnetic navigation bronchoscopy for lung nodules: a systematic review and meta-analysis. *Respiration*, 2014, 87(2):165-176.
- [156] Loo FL, Halligan AM, Port JL, et al. The emerging technique of electromagnetic navigation bronchoscopy-guided fine-needle aspiration of peripheral lung lesions: promising results in 50 lesions. *Cancer Cytopathol*, 2014, 122(3): 191-199.
- [157] 陈愉, 李时悦, 陈汉, 等. 电磁导航支气管镜实时引导肺活检对肺外周微小病变的诊断价值. *中华结核和呼吸杂志*, 2014, 37(8):579-582.
- [158] 顾晔, 郝晓晖, 沈芸, 等. 电磁导航支气管镜诊断菌阴肺结核三例并文献复习. *中国防痨杂志*, 2014, 36(12): 1084-1088.
- [159] Chand P, Dogra R, Chauhan N, et al. Cytopathological pattern of tubercular lymphadenopathy on FNAC: analysis of 550 consecutive cases. *J Clin Diagn Res*, 2014, 8(9): FC16-19.
- [160] Coetsee L, Nicol MP, Jacobson R, et al. Rapid diagnosis of pediatric mycobacterial lymphadenitis using fine needle aspiration biopsy. *Pediatr Infect Dis J*, 2014, 33(9): 893-896.
- [161] Ryu YJ, Cha W, Jeong WJ, et al. Diagnostic role of core needle biopsy in cervical lymphadenopathy. *Head Neck*, 2015, 37(2):229-233.
- [162] 熊震, 阳光辉, 黎光强, 等. 经皮穿刺闭式胸膜活检术在不明原因胸腔积液中的诊断价值. *中华肺部疾病杂志(电子版)*, 2014, 7(2): 62-63.
- [163] 窦健萍, 徐建红, 费翔, 等. 超声引导胸膜穿刺组织活检联合胸腔积液生化检查在恶性和结核性胸腔积液鉴别诊断中的价值. *中华医学超声杂志(电子版)*, 2014, 11(3): 54-58.
- [164] Cao YY, Fan N, Xing F, et al. Computed tomography-guided cutting needle pleural biopsy: Accuracy and complications. *Exp Ther Med*, 2015, 9(1):262-266.
- [165] 覃山羽, 姜海行, 李萍, 等. 细胞块结合免疫组化在内镜超声引导下穿刺诊断胰腺实性占位中的应用价值. *中华消化内镜杂志*, 2014, 31(6): 312-316.
- [166] Kim JB, Lee SS, Kim SH, et al. Peripancreatic tuberculous lymphadenopathy masquerading as pancreatic malignancy: a single-center experience. *J Gastroenterol Hepatol*, 2014, 29(2):409-416.
- [167] Nieuwoudt M, Lameris R, Corcoran C, et al. Polymerase chain reaction amplifying mycobacterial DNA from aspirates obtained by endoscopic ultrasound allows accurate diagnosis of mycobacterial disease in HIV-positive patients with abdominal lymphadenopathy. *Ultrasound Med Biol*, 2014, 40(9): 2031-2038.
- [168] 况里杉, 张孝彬, 廖秀清. 内科胸腔镜与经皮穿刺胸膜盲检对渗出性胸腔积液诊断价值的对比研究. *海南医学*, 2014, 25(1):21-23.
- [169] 欧勤芳, 高岩, 邵凌云, 等. γ -干扰素释放试验联合胸膜组织活检用于诊断结核性胸膜炎的评估. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2014, 8(3):391-395.
- [170] Dhooria S, Singh N, Aggarwal AN, et al. A randomized trial comparing the diagnostic yield of rigid and semirigid thoracoscopy in undiagnosed pleural effusions. *Respir Care*, 2014, 59(5):756-764.
- [171] Kong XL, Zeng HH, Chen YH, et al. The visual diagnosis of tuberculous pleuritis under medical thoracoscopy: a retrospective series of 91 cases. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2014, 18(10):1487-1495.
- [172] 张海青, 车南颖. 我国结核病病理学诊断和研究的现状与展望. *中国防痨杂志*, 2014, 36(9):793-797.
- [173] Lee S, Yu Y, An J, et al. A Case of Delayed Diagnosis of Pulmonary Paragonimiasis due to Improvement after Anti-tuberculosis Therapy. *Tuberc Respir Dis (Seoul)*, 2014, 77(4):178-183.
- [174] Chaudhry IU, Manah W, Alghamdi M, et al. A rare cause of asymptomatic solitary pulmonary nodule: adult Schistosoma worm. *BMJ Case Rep*, 2014, pii: bcr2013202840.
- [175] 聂洪梅, 代继宏. 胸膜活组织检查诊断儿童结核性胸膜炎的临床价值分析. *中华儿科杂志*, 2014, 52(5):392-396.
- [176] Prathima S, Kalyani R, Parimala S. Primary tubercular mastitis masquerading as malignancy. *J Nat Sci Biol Med*, 2014, 5(1):184-186.
- [177] Kandachar P, Guin D, Mohanty S, et al. Endocardial tuberculosis. *Ann Thorac Surg*, 2014, 98(4):e81-82.
- [178] Gochhait D, Dey P, Rajwanshi A, et al. Role of fine needle aspiration cytology of spleen. *APMIS*, 2015, 123(3): 190-193.
- [179] Zhang Y, Chen Y, Huang Z, et al. Nasopharyngeal tuberculosis mimicking nasopharyngeal carcinoma on ^{18}F -FDG PET/CT in a young patient. *Clin Nucl Med*, 2015, 40(6): 518-520.
- [180] Jain P, Jain I. Oral Manifestations of Tuberculosis: Step towards Early Diagnosis. *J Clin Diagn Res*, 2014, 8(12): ZE18-21.
- [181] Terada T. Inflammatory pseudotumor containing necrotizing granulomatous lesions of kidney: a hitherto undescribed entity. *Case Rep Urol*, 2014, 2014:263859.
- [182] 普布卓玛, 罗布卓玛. 扁桃腺结核一例报告. *中国防痨杂志*, 2014, 36(6):508.
- [183] Niazi MK, Beamer G, Gurcan MN. Detecting and characterizing cellular responses to *Mycobacterium tuberculosis* from histology slides. *Cytometry A*, 2014, 85(2):151-161.
- [184] Tadele A, Beyene D, Hussein J, et al. Immunocytochemical detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex specific antigen, MPT64, improves diagnosis of tuberculous lymphadenitis and tuberculous pleuritis. *BMC Infect Dis*, 2014, 14:585.
- [185] 车南颖, 曲杨, 张晨, 等. 结核分枝杆菌 Ag85B 蛋白表达特点及其病理学诊断价值. *中华病理学杂志*, 2014, 43(9): 600-603.
- [186] Mustafa T, Leversen NA, Sviland L, et al. Differential in vivo expression of mycobacterial antigens in *Mycobacterium tuberculosis* infected lungs and lymph node tissues. *BMC Infect Dis*, 2014, 14:535.
- [187] Kang YJ, Jo JO, Ock MS, et al. Over-expression of thymo-

sin $\beta 4$ in granulomatous lung tissue with active pulmonary tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*, 2014, 94(3):323-331.

[188] Phillips BL, Mehra S, Ahsan MH, et al. LAG3 expression in active *Mycobacterium tuberculosis* infections. *Am J Pathol*, 2015, 185(3):820-833.

[189] McKew GL, Dubadat SM, Chan RC. Do the eyes have it? Performance of molecular detection of tuberculosis on fresh and paraffin embedded tissues, including those with no visible tissue. *J Clin Pathol*, 2014, 67(12):1104-1105.

[190] Hou G, Zhang T, Kang DH, et al. Efficacy of real-time polymerase chain reaction for rapid diagnosis of endobronchial tuberculosis. *Int J Infect Dis*, 2014, 27:13-17.

[191] Bhanothu V, Theophilus JP, Rozati R. Use of endo-ovarian tissue biopsy and pelvic aspirated fluid for the diagnosis of female genital tuberculosis by conventional versus molecular methods. *PLoS One*, 2014, 9(5):e98005.

[192] Surat G, Wallace WA, Laurenson IF, et al. Rapid real-time PCR for detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex DNA in formalin-fixed paraffin embedded tissues: 16% of histological 'sarcoid' may contain such DNA. *J Clin Pathol*, 2014, 67(12):1084-1087.

[193] Seo AN, Park HJ, Lee HS, et al. Performance characteristics of nested polymerase chain reaction vs real-time polymerase chain reaction methods for detecting *Mycobacterium tuberculosis* complex in paraffin-embedded human tissues. *Am J Clin Pathol*, 2014, 142(3):384-390.

[194] Hudock TA, Kaushal D. A novel microdissection approach to recovering *Mycobacterium tuberculosis* specific transcripts from formalin fixed paraffin embedded lung granulomas. *J Vis Exp*, 2014, (88). doi: 10.3791/51693.

[195] Jang HY, Burbelo PD, Chae YS, et al. Nontuberculous mycobacterial infection in a clinical presentation of Fitz-Hugh-Curtis syndrome: a case report with multigene diagnostic approach. *BMC Womens Health*, 2014, 14:95.

[196] Scott LE, Beylis N, Nicol M, et al. Diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF for extrapulmonary tuberculosis specimens: establishing a laboratory testing algorithm for South Africa. *J Clin Microbiol*, 2014, 52(6):1818-1823.

(收稿日期:2015-05-04)

(本文编辑:薛爱华)

· 简讯 ·

“2015 年复治结核病与艾滋病合并结核病诊治研讨会”在成都召开

《中国防痨杂志》编辑委员会主办,北京金之路医药科技有限公司协办,成都市公共卫生临床中心承办的“2015 年复治结核病与艾滋病合并结核病诊治研讨会”于 2015 年 5 月 15—18 日在成都市召开。来自全国相关医院、结核病与艾滋病防治机构的 120 多位专家参加了本次研讨会。

会议开幕式由《中国防痨杂志》常务副主编薛爱华编审主持。中国 CDC 结核病预防控制中心副主任成诗明教授致开幕词,承办单位成都市公共卫生临床中心副主任田明教授致欢迎辞。

简短的开幕式后,肖和平、成诗明、周林、沈银忠、韩喜琴教授分别以《复治结核病诊治新进展》、《结核病控制策略与发展》、《Mtb 与 HIV 双重感染防治工作的进展》、《艾滋病合并非结核分枝杆菌病的诊断与治疗》、《*rpoB* 基因突变与利福霉素类药物耐药的关系及临床应用》为题进行了专题讲座。代表们认真听课、积极提问,讲者与代表们互相切磋、共同探讨复治结核病与艾滋病合并结核病的防控和临床诊治的热点问题和难题,学术气氛浓厚,大家一致认为通过此次会议受益匪浅。

为活跃会议气氛,加深参会人员大会报告内容的掌握

情况,会议还安排了专业知识抢答活动。以省为单位分别选派 2 位专家组成 5 组进行抢答。肖和平教授既是主持人又是裁判员,依据大会报告内容出了 20 多道题。各组积极抢答,代表们参与评判,对这样的形式表现了极大的兴趣。最后,辽宁省与广东省代表队分获第一、二名,当即给予了表彰和奖励。这样的活动既锻炼了参与者思维的敏捷性,又巩固了会议的重要知识。

最后,肖和平教授对本次会议进行了总结。他指出一次学术会议能解决一两个问题就很好,解决问题不在于多而在于精。我国耐药结核病疫情严重,虽然耐多药结核病的发生率从 2000 年的 10.7% 降到了 2010 年的 6.8%,但 XDR-TB 率有上升趋势。因此,我们要特别关注从源头上控制 MDR-TB 和 XDR-TB 的发生,努力提高 MDR-TB 的治愈率。呼吁政府有关部门对这些结核病患者的传染性引起足够的重视,积极推进和制定相关的控制传染源的法规,在积极治疗的同时,有效地遏制 MDR-TB 与 XDR-TB 的传播势头。本次会议对复治结核病与艾滋病合并结核病的临床诊治、基础研究和预防控制进行了深入探讨,达到了预期目的。

本刊编辑部