

结核病临床诊治进展年度报告(2012 年)

(第一部分 结核病临床诊断)

中国防痨协会临床专业委员会

编者按 《结核病临床诊治进展年度报告》是由中国防痨协会临床专业委员会组织编纂的综合性、实用性、史料性临床学术精粹。于每年年末到次年年初,通过收集本年度国内外有关结核病临床诊治技术进展的信息,组织专家加以荟萃、分析、推荐和解读,形成的一份具有参考价值的学术读物。2012 年 6 月问世了我国首份《结核病临床诊治进展年度报告(2011 年)》[简称《报告(2011 年)》],在国内防痨界引起了强烈反响,并受到了广大同道们的一致好评。《结核病临床诊治进展年度报告(2012 年)》[简称《报告(2012 年)》]仍然由中国防痨协会临床专业委员会副主任委员唐神结教授领衔,组织国内 40 余名结核病领域专家,参考 2012 年国内外公开出版的近百种医学期刊刊载的 350 余篇文献编撰而成。《报告(2012 年)》是在《报告(2011 年)》的基础上进行更新,内容主要包括结核病临床诊断(包括细菌学诊断、影像学诊断、免疫学诊断、内镜介入诊断及分子生物学诊断)和结核病治疗(包括新药物及新方案、免疫治疗及治疗性疫苗、内镜介入治疗、外科治疗、耐药结核病治疗,以及 Mtb 与 HIV 双重感染的治疗)两大部分。《报告(2012 年)》增加了内镜介入诊断及 Mtb 与 HIV 双重感染的治疗两大内容,力求全面反映结核病诊治领域在 2012 年的最新国内外进展。在追求先进、新颖的同时,更注重实用、全面和系统。近一年来,国内外在结核病临床诊治方面取得了诸多进展,不少的诊断新方法、新技术得以在临床上开展应用,许多新药物、新方案、新疗法在临床中得到了验证,《报告(2012 年)》均给予了较为全面、准确的反映。希望本报告能给国内广大结核病防治工作者提供帮助与借鉴。

第一部分 结核病临床诊断

【摘要】 近一年来,国内外在结核病临床诊断方面取得了诸多进展,不少诊断新方法、新技术得以在临床上开展应用。在细菌学诊断方面,两种新技术包括等温微量热技术及爆裂纳米金刚石技术与传统的培养法相结合,提高了阳性检出率,具有速度快、敏感度和特异度高等优点。分子影像学在肺结核及肺外结核诊断中也取得了较大的进展。 γ -干扰素释放试验在菌阴肺结核及肺外结核的诊断方面具有较大优势。2012 年结核病分子生物学诊断仍集中在以核酸扩增为核心的检测技术上,而最引人注目的是 Xpert Mtb/RIF 技术,其在结核病和耐药结核病诊断中取得了丰硕的成果,在儿童结核病及 Mtb 与 HIV 双重感染的诊断方面也发挥了重要作用。RNA 恒温扩增技术不仅可用于诊断结核病,还可用于疗效的监测。内镜介入诊断部分介绍了呼吸内镜在肺结核、气管支气管结核、纵隔淋巴结结核及胸膜结核诊断中的应用进展。其中支气管内镜超声引导下经支气管针吸活检术引起了国内外学者的极大关注,该方法以其操作技术简单、微创、定位准确、敏感度和特异度高,以及可重复性强等优势,在纵隔及肺门淋巴结结核的诊断中发挥了越来越大的作用。

【关键词】 结核/诊断; 实验室技术和方法; 放射摄影术; 内窥镜检查

Annual report on clinical diagnosis and treatment progress of tuberculosis(2012) (Part 1 clinical diagnosis) Chinese Antituberculosis Association of Clinic Society

Corresponding author: TANG Shen-jie, Email: tangsj1106@sina.com

【Abstract】 In the recent 1 year, much progress has been made on the clinical diagnosis of tuberculosis (TB),

and some new diagnostic methods and techniques have already been employed in clinical practice. In the bacteriological diagnosis, the combination of 2 new techniques isothermal microcalorimetry, detonation nanodiamonds with traditional culture is more rapid and could improve the detection rate, sensitivity and specificity. Molecular imaging in the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB has made great progress. Interferon-gamma release assays have the superiority in the diagnosis of sputum-negative pulmonary TB and extrapulmonary TB. Molecular biology diagnosis for TB still focused on testing technology with a core of nucleic acid amplification. Among those methods, Xpert Mtb/RIF is most compelling, it not only achieved fruitful results in the diagnosis of TB and drug-resistant TB, but also played an important role in pediatric TB and Mtb/HIV coinfection. RNA simultaneous amplification and testing have been used for the diagnosis of TB and the surveillance of therapeutic effect. The episode for endoscopic intervention gave an introduction of its application in pulmonary TB, tracheal/bronchial TB, mediastinal lymph node TB and pleural TB. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration (EBUS-TBNA) has drawn great attentions of scholars both at home and abroad. Being characterized by simple procedure, minimally invasive, accurate positioning with high sensitivity, specificity and repeatability, EBUS-TBNA has become more and more important in the diagnosis of mediastinal and hilar lymph node TB.

【Key words】 Tuberculosis/diagnosis; Laboratory techniques and procedures; Radiography; Endoscopy

一、结核病细菌学诊断

结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, Mtb) 细菌学诊断是结核病临床诊断的重要依据之一,包括涂片、培养和抗结核药物敏感度试验(简称“药敏”),其研究热点主要是围绕现有诊断方法的改良、新方法的开发及临床评估几个方面。2012 年 Mtb 的细菌学诊断研究在上述各方面均取得了新的进展。

(一)涂片和培养法

涂片法可快速检测出标本中的抗酸杆菌,是全世界应用最广泛的结核病实验室诊断技术,也常用来监测治疗效果。虽然荧光染色的敏感度和特异度要高出萁-尼(Ziehl-Neelsen, Z-N)染色法,但检出率仍偏低,为此各国学者展开了研究工作。我国科技重大专项研究的结核病诊断新技术——液基夹层杯法,在对痰液进行彻底消化和灭活后通过加热、高速离心,将释放出来已灭活的 Mtb 集聚到彭氏夹层杯底部的基片上,再进行染色镜检。754 份痰标本同步采用液基夹层杯法与直接痰涂片法进行镜检,前者可将阳性检出率提高到 23.5%(177/754)^[1]。多数 Mtb 分离培养前需要对标本中的分枝杆菌进行富集,从而提高培养和涂片的阳性率。离心是目前最常采用的富集方法,但离心不但有潜在的生物安全风险,而且还是自动化培养系统开发的障碍。日本学者 Mitarai 等^[2]开发出了一种基于磁珠的富集方法——TRICORE法,对未用患者的 90 份痰标本同步用该法与离心法处理后,在 MGIT 系统中培养,阳性率分别为 61.8%、57.3%。在固体培养基上培养出的菌落数量 TRICORE 法明显高于离心法;特别是对于涂阴标本 TRICORE 法的培养阳性率高达 39.6%。该研究结果显示,TRICORE 法对于菌量较少的标本有较好的富集效果,可提升培养阳性检出率。此外,Zhao 等^[3]用改良抗酸染色法检测 Mtb 及 Mtb L 型,将石碳酸品红和过氧化氢混合用来对涂片染色,该方法不需要加热,缩短染色时间至 5 min,与改良 IK(Intensified Kinyoun)抗酸染色和传统的 Z-N 染色相比较,此法与 IK 染色法阳性检测率没有差异,高于传统的 Z-N 染色。Joshi 等^[4]使用巴氏染料与 Z-N 染料对 120 例结核性淋巴结炎患者针吸细胞病理涂片进行染色后,分别用荧光电子显微镜和普通

显微镜观察菌体自发荧光和形态,结果显示荧光染色法比 Z-N 染色法的检出率提高约 20%,巴氏染色荧光法敏感度和特异度可以达到 95%和 81.8%。

目前,临床常用 BACTEC™ MGIT™ 960 和 BacT/ALERT 3D 快速培养仪系统对 Mtb 进行分离培养,以提高其检出率。Cui 等^[5]报道了双相罗氏培养基用于分枝杆菌分离培养的多中心研究,对 1192 份临床标本研究发现其分离培养阳性率显著高于罗氏培养基,培养时间明显缩短,其中涂片阳性(简称“涂阳”)标本分离培养阳性率与 BACTEC™ MGIT™ 960 相似,涂阴标本略低于 BACTEC™ MGIT™ 960 自动培养仪系统。巴基斯坦 Satti 等^[6]利用微菌落检测技术在营养琼脂上成功复苏了 37 例抗酸杆菌阳性痰标本中的 35 株。通过显微镜观察琼脂上微菌落的形成检测 Mtb,平均阳性报告时间为 9.6 d,比罗氏培养基提前 12 d,两种培养基的污染率分别为 5.4%和 2.7%。Pena 等^[7]对马萨诸塞州综合医院临床微生物实验室 2007—2009 年使用 BACTEC™ MGIT™ 960 培养系统检测分枝杆菌结果进行了回顾研究,发现约有 1%的 BACTEC™ MGIT™ 960 仪器报告阴性的标本肉眼可见分枝杆菌菌落。美国学者 Tyrrell 等^[8]对快速肉汤培养仪系统的报告阳性时间进行了多中心研究,1547 例 Mtb 和 466 例结核分枝杆菌复合群(MTBC)被纳入此研究。结果显示,按照标准标本处理流程,100%的 MTBC 可以分别在治疗前标本和治疗后标本中 28 d 和 35 d 内检出。实验室可以对治疗前标本和治疗后标本分别在第四周和第五周出具未有 MTBC 生长的报告;该研究提示临床实验室在实际使用快速培养仪系统时,应收集和分析自己实验室的检测时间数据,确定合适的培养和结果报告时间。传统的快速培养仪分离培养后,需要通过涂片和生化方法进行抗酸杆菌确认和菌种鉴定,Roberts 等^[9]对美国 BD 公司的 MGIT TBc 色谱分析检测(MGIT TBc immunochromatographic assay)鉴定 Mtb 与分子探针方法(AccuProbe Gen-Probe TB)检测进行了对比,研究显示 MGIT TBc 色谱分析检测更加敏感,特异度与 AccuProbe Gen-Probe TB 相似,MGIT TBc 色谱分析检测可以成为快速 Mtb 检测的有效替代方法。

此外,有 2 种新技术与培养法相结合,未来有望应用到结核病实验室诊断中。瑞士 Bonkat 等^[10]利用等温微量热技术(isothermal microcalorimetry)测量尿液中 Mtb 和堪萨斯分枝杆菌、草分枝杆菌、耻垢分枝杆菌的生长并量化其生长参数,除 Mtb 必须在含血清的尿液中生长,并在 3 周内才能检测到外,其余 3 种非结核分枝杆菌(NTM)均可在尿液中生长。该技术有助于了解尿路中分枝杆菌的生理学特征,并有望改善泌尿系统结核诊断和治疗方法。我国台湾的研究者开发了一种爆裂纳米金刚石(detonation nanodiamonds, DNDs)的检测方法,纳米金刚石可以有效捕获 Mtb 培养液中的分泌抗原,再通过基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)分析,确定了 DNDs 捕获的抗原是人培养滤液蛋白 10,检测液体培养液中的 MTBC,该方法能避免由免疫学交叉反应而引起 MTBC 鉴定的假阳性。研究组对 42 份样本检测的敏感度和特异度分别为 100%和 98%,分析过程可在 1 h 内完成,缩短了 MTBC 的鉴定时间^[11]。

(二)抗 Mtb 药物药敏试验

1. 传统抗 Mtb 药物药敏试验:抗 Mtb 药物药敏试验是临床医生指导结核病患者用药、制定治疗方案的重要依据。WHO 把比例法作为药敏检测的“金标准”,而部分国家依然沿用绝对浓度法进行药敏试验。WHO 委派专家编写了一篇系统分析和评价有关 WHO 认可的抗结核一线药物和二线药物药敏检测方法的诊断准确性和可重复性的综述^[12]。研究结果支持商业化液体培养检测系统建议的用绝对浓度法检测异烟肼和利福平的结论,而对用绝对浓度法检测乙胺丁醇和链霉素药敏检测结果是否准确,表示有待进一步研究分析,目前尚缺乏评价吡嗪酰胺和二线药物药敏检测结果的资料。Zhao 等^[13]对 321 株临床分离株采用 BACTEC™ MGIT™ 960 法和传统比例法进行二线抗结核药物药敏检测。结果显示两种方法对环丙沙星、卡那霉素、氧氟沙星、乙硫异烟胺药物的药敏检测一致率分别为 98.4%、98.75%、98.75%、94.08%,BACTEC™ MGIT™ 960 可在中国作为快速可靠的二线抗结核药物药敏检测的手段。国内蒋俊等^[14]对 MGIT™ 960 系统检测二线抗结核药物药敏试验的结果与罗氏比例法检测的药敏结果进行了比较研究,BACTEC™ MGIT™ 960 和罗氏培养法检测卷曲霉素、卡那霉素、氧氟沙星和乙硫异烟胺的符合率分别为 88.1%、95.8%、91.5%和 71.2%。BACTEC™ MGIT™ 960 系统药敏检测时间平均为 10 d,罗氏比例法培养时间为 28.5 d。

此外,赵雁林等^[15]在《新英格兰医学杂志》上发表了我国首次开展结核病耐药性调查的研究成果。该研究在全国随机抽取了 3929 例分枝杆菌培养阳性的肺结核患者,收集治疗前 2 份痰标本用于培养,分离培养阳性菌株传代后进行了异烟肼、链霉素、利福平、乙胺丁醇、氧氟沙星、卡那霉素等 6 种药物比例法药敏试验。研究结果显示,我国肺结核患者中耐多药(MDR)率为 8.32%,广泛耐药(XDR)率为 0.68%;初治患者中 MDR 率为 5.71%,XDR 率为 0.47%,

复治患者中 MDR 率为 25.64%,XDR 率为 2.06%。不恰当的治疗是中国 MDR-TB 及 XDR-TB 高发的最主要原因。

2. 几种抗 Mtb 药物药敏检测新方法的评价:近年来涌现出许多抗 Mtb 药物药敏快速检测的新方法,如显微镜观察药物敏感度法(microscopic observation drug susceptibility, MODS)、噬菌体扩增技术、微孔板硝酸还原酶检测(microplate nitrate reductase assay, MNRA)和刃天青检测法(resazurin microtiter assay, REMA)等,各国学者纷纷对此进行临床评估。

Rasslan 等^[16]收集了埃及 115 例涂阳患者痰标本用 MODS 法同步培养,检测 Mtb 生长及其 MDR 情况,并与 BACTEC™ MGIT™ 960 进行结果比较,两者 Mtb 检出率分别为 97.4%和 100.0%。此外,对异烟肼耐药、利福平耐药和 MDR 检测结果显示,MODS 法平均报告时间为 9 d,敏感度分别为 92.9%、95.5%和 97.3%。越南 Dang 等^[17]对 300 例同时拥有 MODS 和改良罗氏(L-J)培养药敏检测结果的标本进行分析,结果显示由于 NTM 无法用 MODS 从索状因子的观察中检出,而出现 3 例假阳性结果;对异烟肼耐药菌株和对利福平耐药菌株的检出率分别为 72.7%、77.8%,特异度分别为 97.9%、99.7%。MODS 对 MDR 诊断的阳性预测值及阴性预测值分别为 87.5%、99.3%。两种方法一致率达 99%;MODS 平均报告时间为 9 d,文章指出阳性预测值偏低的主要原因是由于 MDR 菌株所占研究对象比例低造成的。国内黄自坤等^[18]评价了 MODS 在肺外结核中的检测效果,对胸腔积液、脑脊液中的 Mtb 检出率分别为 58.1%和 54.0%,明显高于罗氏培养法的 18.9%和 20.6%,且检测时间明显缩短。以上研究显示出 MODS 检测速度快和污染率低的优势,再次验证了此方法是适合在贫困地区开展 MDR-TB 检测的一种快速低廉的检测方法。

印度 Hemvani 等^[19-20]自制噬菌体生物扩增试剂对 370 例涂片初筛阳性的痰标本进行抗 Mtb 药敏检测。使用更经济的 Mueller-Hinton 肉汤培养基取代 7H10 肉汤培养基,可于 48 h 内获得利福平和链霉素的药敏结果,72 h 内获得异烟肼、乙胺丁醇和环丙沙星的药敏结果,与比例法相比,噬菌体生物扩增试剂法的敏感度达到 93%~100%,特异度达 96%~100%,涂阳痰标本的直接药敏检出率达 90.3%(334/370)。而在对 100 例从肺结核患者痰标本中得到的分离菌株检测中,该方法检测环丙沙星耐药的敏感度和特异度较低,分别为 93%和 96%,其他药物的敏感度和特异度可高达 97%~100%。

Mansur 等^[21]用硝酸盐还原酶法(NRA)检测了 Mtb 临床分离株的利福平、异烟肼、链霉素和乙胺丁醇的药敏结果,除链霉素准确度偏低外(66.7%),其他均达到或接近 100%。土耳其 Coban 等^[22]用 MNRA 法和 REMA 法对 73 份临床菌株进行药敏检测,研究显示与 BACTEC™ 460 和 BACTEC™ MGIT™ 960 相比,MNRA 法检测利福平和异烟肼耐药的符合率均为 98.6%,REMA 法检测符合率分别为 97.2%和 94.5%。Adikaram 等^[23]对斯里兰卡的 373 例 Mtb 临床分离株采用手工 BACTEC™ MGIT™ 960 培养法、

NRA法进行利福平药敏检测,并与米氏7H10琼脂培养基比例法(APM)进行比较,结果显示3种方法共检出31株利福平耐药株,经测序确认均有编码利福平耐药位点突变,其中APM检出27株,另2种各检出26株,其中有3株NRA耐药而另2种方法检测为敏感株。与APM相比,其他2种方法敏感度分别为93%和85%,特异度为100%和99%。

西班牙López-Roa等^[24]对26株MDR菌株用琼脂糖培养基比例法、BACTEC™ MGIT™ 960法和一种新的耐药结核分枝杆菌基因分型技术(GenoType MtbDR)——GenoType MtbDRsl法进行二线抗结核药物药敏检测,结果显示,尽管后2种方法将检测时间分别缩短为8d和8h,但与前者相比仍有局限性。BACTEC™ MGIT™ 960法检测乙胺丁醇、阿米卡星和氧氟沙星耐药的敏感度分别为85.7%、50%和50%;GenoType MtbDRsl法分别为28.6%、75%和83.3%。BACTEC™ MGIT™ 960法特异度分别为73.7%、72.7%和100.0%;GenoType MtbDRsl法分别为89.5%、95.5%和100.0%。此外,Satti等^[25]使用血琼脂板和营养琼脂板作为药敏试验培养基,将涂阳痰标本中的Mtb对利福平和异烟肼的药敏情况进行了直接检测,与罗氏比例法药敏检测相比较,血琼脂板和营养琼脂板检测利福平药敏结果的符合率均为100%,异烟肼药敏结果的符合率分别为98%和95%,该结果提示,血琼脂板和营养琼脂板可以成为常规药敏培养基的替代品。

高丽等^[26]将微孔板最低抑菌浓度(MIC)检测法对Mtb利福布汀和利福平的交叉耐药性进行了研究。结果显示,在96孔板上检测利福布汀和利福平对99株MDR-TB菌株的90%最低抑菌浓度(MIC₉₀),利福布汀和利福平交叉耐药率随利福平的耐药程度加大而上升,低耐利福平组和中耐利福平组的交叉耐药例数分别为0/9和5/9,而高耐利福平组几乎全部交叉耐药(98.8%,80/81)。

二、结核病影像学诊断

(一)活动性肺结核的影像学诊断

近年来,尽管影像学检查及诊断技术不断发展,影像学检查结合痰菌的检查对结核病的诊断准确率得以提高,但对于菌阴活动性肺结核及影像学表现不典型的肺结核诊断仍然有较高的误诊断率,可以说肺结核影像学诊断一直是影像学诊断的难点之一。肺结核是否为活动性的诊断依赖于痰抗酸杆菌检测及系列X线胸片的改变或抗结核化疗的疗效表现,但抗酸杆菌仅在20%~40%活动性肺结核患者的痰中发现;而肺结核支气管内播散仅见于20%继发性结核患者的X线胸片中,且多数这种X线胸片发现常被归类为不确定;因此肺结核是否为活动性的判断常常很困难。随着多层螺旋CT(MDCT)的应用,肺结核是否为活动性的诊断有了新的进展。MDCT提高了时间分辨率及空间分辨率,能利用原始数据连续重建薄层轴位图像,因而可以对肺结核病变的细微特征做详细评价。例如,尽管影像上判断慢性毁损性肺结核的活动性是困难的,因为一些影像发现如残留空洞可被误判为活动性病变,但仍可从薄层CT图像的细节特征中判断结核病是否为活动性。Nam等^[27]比较了36例慢性

活动性毁损性肺结核与78例慢性非活动性毁损性肺结核的影像学特征,结果发现空洞破坏、非分支性小叶中心结节、树芽、气腔结节及其余肺叶的空洞更常见于慢性活动性毁损性肺结核中。逐步回归分析提示,树芽征是判断病变活动性的重要CT征象。因此,作者认为树芽征是判断慢性毁损性肺结核活动性的最有特征性的征象。Yoon等^[28]比较了活动性肺结核累及下叶基底段与累及上叶尖段或尖后段的不同点。作者回顾了986例诊断为活动性肺结核患者的CT影像。其中局限于基底段有21例,60例仅累及尖段或尖后段。结果发现实变、淋巴结结核及胸腔积液更多见于基底段活动性肺结核,而小结节更多见于尖段或尖后段结核。树芽征是基底段、尖段或尖后段活动性肺结核的最常见表现。作者认为,与尖段或尖后段肺结核相比,下叶基底段结核更多表现为原发性肺结核的表现,即实变、纵隔及肺门淋巴结肿大、胸腔积液。由于肺结核发病率的升高,不典型肺结核也明显增多。CT在不典型肺结核的影像学诊断及介入诊断中也发挥着明显作用。陈智慧等^[29]回顾分析了53例经临床和病理证实的影像学表现不典型肺结核患者的CT资料,31例段性实变型仅10例能正确诊断为结核;14例孤立结节或肿块型影像均不能肯定为结核;8例肺门及纵隔淋巴结肿大与肺癌和恶性淋巴瘤难以鉴别。作者认为,除通过结合临床、CT增强扫描、动态观察诊断外,CT穿刺对诊断不典型肺结核来说也是一个不错的选择。

(二)肺结核与非结核分枝杆菌肺病的影像学诊断

既往肺损害例如肺结核患者,易于罹患非结核分枝杆菌肺病。然而,在结核病流行地区,肺结核与非结核分枝杆菌肺病的鉴别仍然有很大难度。Hongfei等^[30]报道了1例有肺结核病史的脓肿分枝杆菌病患者。患者5年前由于抗结核疗效不佳行右肺上叶切除术。然而术后患者病情恶化。5年后患者被诊断为脓肿分枝杆菌病。连续CT扫描提示该病呈进行性进展。患者胸膜邻近有多发微结节,且NTM培养阳性。作者认为,双侧支气管扩张(简称“支扩”)且不伴肺叶显著病变是区别脓肿分枝杆菌肺病与其他分枝杆菌病的主要特征。姜聪明^[31]对高分辨率CT(HRCT)诊断为右肺中叶支扩的64例患者,通过分析支扩的形态、发生部位、支扩的累及范围及基础病变,对照临床NTM菌种鉴定,统计右肺中叶支扩与非结核分枝杆菌肺病发生的概率。结果发现,64例右肺中叶支扩患者中共18株NTM被检出,NTM的分离率为28.1%;同时发现,发生右肺中叶及左肺上叶舌段支扩的患者中,NTM检出率进一步提高,达33.3%(15/45)。作者认为,患者影像学表现符合结核表现,且出现右肺中叶支扩特别是伴有左肺上叶舌段扩张时,应进行抗酸杆菌检测同时进一步行菌种鉴定,以除外非结核分枝杆菌肺病。

(三)肺结核CT灌注成像

随着MDCT的发展,CT灌注成像已经从单一层面的技术进展为容积成像。尤其近来随着一系列商用软件包的推出,CT灌注成像的临床应用亦有拓展,已经不仅仅局限于传统的肿瘤及卒中方面,在结核病诊断方面的应用也见诸报道。国内袁小东等^[32]报道了一项320层CT的肺双重血供

灌注测量技术在活动性肺结核的应用。作者采用 320 层 CT 进行肺部动态容积灌注扫描,以肺动脉干、降主动脉作为输入动脉;以左心房的峰值时间点为肺、体循环的分界线,采用双入口灌注(DICT_P)模式进行灌注分析,得到肺动脉血流量(PF)、支气管动脉血流量(BF)及血流灌注指数[PI=PF/(PF+BF)];并前瞻性纳入 25 例活动性肺结核患者行双入口灌注研究,比较结核病灶肺循环和体循环的强弱。结果提示,对于结核病灶,PF 明显大于 BF,这与肺癌主要由支气管动脉供血有很大不同,进一步提示了 PI 可能成为结核和肺癌相鉴别的有效标志;更进一步,可利用病灶的血供强弱判断结核病灶的活跃程度,作为监测疗效及指示预后的指标。

(四)尘肺合并肺结核的影像学诊断

近年来,尘肺合并肺结核是影像学诊断研究的一个重点。尘肺结核是粉尘与 Mtb 协同作用引起的组织反应,病理基础复杂,在 X 线及 CT 影像表现上改变了尘肺和结核两种病各自原有的特征,易导致漏诊或误诊。荣城^[33]对 50 例确诊尘肺合并肺结核的影像进行回顾性分析,结果显示尘肺定期越高,合并肺结核的比例越大。空洞是尘肺合并肺结核较有特征性的影像学表现,尘肺结核病灶边缘模糊、气肿内带阴影及双侧尘肺团块影的极不对称也是并发肺结核的重要征象,动态观察是诊断此病的最佳方法。赖化平等^[34]对 448 例确诊矽肺合并肺结核的患者进行分析后认为,由于矽肺合并肺结核病变中结核病灶被矽肺形成的纤维组织包围,导致 Mtb 不容易经支气管进入痰液,另外病灶周围纤维组织和矽肺结节的收缩引起支气管扭曲、变形和闭塞,二者使矽肺合并结核患者的痰检阳性率更低。作者认为,矽肺合并肺结核,伴有空洞出现时诊断可以肯定,两侧肺野大块阴影不对称时应高度怀疑。

(五)肺结核合并肺癌的影像学诊断

由于环境污染、人口老龄化及结核病和肺癌发病率的升高,两病并存呈上升趋势。当两者并存时,由于呼吸道症状相似,易导致治疗一种疾病而延误另一种疾病的诊断及治疗。所以从肺结核患者中鉴别出并发的肺癌显得尤为重要,反之亦然。由于 MDCT 具有较高的密度及空间分辨率,其影像能够在一定程度上反映病变的生物学特性及病理变化,在同时并发这两种疾病的诊断及鉴别上起到重要作用。吕岩等^[35]分析了确诊肺结核合并肺癌的患者 104 例,作者将先有肺结核后出现肺癌或者两者同期发现者定为 I 组;将肺癌化疗期间出现肺结核者定为 II 组;再将 I 组中周围型肺癌定为 I a 组,II 组中周围型肺癌定为 II a 组,中心型肺癌分别定为 I b 组和 II b 组。观察总结肺结核和肺癌病灶的影像学特征,并将肺癌及肺结核出现的先后进行比较分析。结果显示,肺癌化疗期间继发性肺结核的 CT 表现与普通活动性肺结核具有同样特征;肺结核动态复查期间、病变处于稳定愈合阶段或相对慢性陈旧阶段、尤其是年龄较大患者肺内新发软组织肿块、结节或边缘清晰中心实性的磨玻璃状密度或原有病灶增大应首先除外肺癌。病变的形态、大小、增强扫描及动态观察等均有助于诊断及鉴别诊断。谢春英^[36]回顾分析了 72 例肺结核合并肺癌的患者,其中肺结核治疗过程中

发现肺癌 35 例,同时诊断肺结核合并肺癌 32 例,肺癌治疗过程中确诊合并结核 5 例。作者通过结合文献资料分析后认为,CT 增强扫描病变强化、病变边缘征象如毛刺征存在、抗结核治疗过程中病变持续性增大,新增纵隔淋巴结肿大或疑似转移病灶出现时应警惕合并肺癌的可能。

(六)HIV 感染和(或)AIDS 伴 Mtb 双重感染的影像学表现

据估计,约 1/3 的 HIV 感染者中合并 Mtb 感染。对于 HIV 合并 Mtb 感染患者来说,正确判断 Mtb 感染以进行抗结核治疗很重要,但更重要的是推迟高效抗逆转录病毒治疗,因为对于低 CD4 细胞计数且合并 Mtb 感染的患者来说,进行抗逆转录病毒治疗时,容易导致免疫重建炎症综合征,后者经常导致死亡。Akinbami 等^[37]在初次进行高效抗逆转录病毒治疗的 HIV 感染者中以 X 线胸片为检查手段,调查心肺疾病的发生率。结果发现 102 例患者中 54 例(52.94%)X 线胸片正常,48 例(47.06%)X 线胸片异常,包括 27.45% 的 X 线胸片表现为支气管炎,6.86% 心脏扩大,而肺结核发生率是 5.88%。HIV 阳性患者 T 细胞介导的免疫明显受损,因而,在此基础上的继发性肺结核与原发肺结核迥然不同。Kisembo 等^[38]研究了 HIV 感染严重免疫受损(CD4⁺ T 细胞计数 $\leq 50/\text{mm}^3$)肺结核患者的 X 线胸片表现,并且比较 HIV 阳性肺结核患者与 HIV 阴性肺结核患者的 X 线胸片表现,结果发现,严重免疫受损肺结核患者较少出现实变,更多表现为肺门淋巴结肿大。与 HIV 阳性肺结核患者相比,HIV 阴性患者更多出现实变及空洞形成,差异均有统计学意义。作者认为尽管结核和非结核患者的 X 线胸片表现有不同之处,但两者仍然有很多类似,而患者的临床病史及免疫状况有助于提高 X 线胸片诊断肺结核的准确性。Padyana 等^[39]则进一步研究了 HIV 阳性肺结核患者中不同 CD4⁺ T 细胞计数与 X 线胸片表现之间的关系。作者在 200 例 HIV 阳性患者中做了为期 2 年的前瞻性研究,结果发现在 CD4⁺ T 细胞计数 $< 200/\text{mm}^3$ 的肺结核患者中,X 线胸片表现以非空洞性浸润及实变为主,受累部位也不典型,以弥漫分布或中下野分布为主,而非典型的上叶分布。尽管 X 线胸片是筛查 HIV 阳性肺结核的重要手段,仍有 7%~14% 的 HIV 合并 Mtb 感染的患者 X 线胸片表现正常。Zhang 等^[40]研究了 HIV 阳性肺结核患者的 CT 表现及其与 CD4⁺ T 淋巴细胞计数之间的关系。在 44 例确诊 HIV 合并 Mtb 的患者中,15 例呈粟粒型,15 例呈结节状,6 例呈磨玻璃状影,5 例呈纤维索条影,16 例呈斑片影,5 例有空洞形成,5 例呈肿块状阴影,2 例胸膜增厚,11 例伴有胸腔积液,1 例有钙化形成,16 例淋巴结肿大。病灶集中分布于肺门、上叶前段、下叶基底段、中叶及舌叶。研究发现,CD4⁺ T 淋巴细胞计数不仅与肺结核的影像学表现密切相关,而且与其预后密切相关。

(七)MRI 在胸部结核病诊断与鉴别中的应用

近年来,随着磁共振技术的发展,MRI 技术应用于胸部良恶性疾病包括肺内结核病的诊断及鉴别诊断方面的报道愈来愈多。邓启明等^[41]研究了 26 例良性病变(其中结核球

14例)及51例恶性肿瘤的MR弥散加权成像(DWI),结果显示恶性病变组表观弥散系数(ADC)值为 $(1.23 \pm 0.234) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$,良性病变组ADC值为 $(1.663 \pm 0.443) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$,前者值明显小于后者,且两者差异有统计学意义。也有作者通过研究认为,尽管DWI在肺癌与肺炎、肺结核等良性病变鉴别诊断上有一定意义,但是仍存在一定程度的重叠。分析原因可能与炎症反应有渗出、增生、坏死、纤维化等不同阶段的变化而影响ADC值有关^[42]。

(八)氟代脱氧葡萄糖正电子发射计算机断层摄影术与计算机断层摄影术在结核病诊断及治疗中的应用

氟代脱氧葡萄糖正电子发射计算机断层摄影术-计算机断层摄影术(fluorine-18 fludeoxyglucose positron emission tomography-computed tomography, 18F-FDG PET-CT)在肿瘤诊断、分期和疗效评价方面得到广泛应用,但氟代脱氧葡萄糖(18F-FDG)并非肿瘤特异性显像剂,结核病等炎症性病变在18F-FDG PET-CT检查时也可表现为高摄取。PET显像假阳性中最常见的为结核球,在结核病流行区,以最大标准摄取值(SUV_{max})2.5为阈值或应用双时相18F-FDG PET-CT鉴别病变良恶性的特异度均较低。18F-FDG PET-CT在结核病应用中的报道包括判断结核累及部位、是否有活动性及疗效评价等方面。尽管临床根据症状和(或)影像复查监测抗结核疗效存在困难,但18F-FDG PET-CT可以定量病变摄取药物的强度,而后者提供了病变的代谢改变的信息,从而使得病变活动性的监测成为可能。Sathegke等^[43]报道20例合并HIV感染的结核性淋巴结炎患者中,18F-FDG PET-CT发现91个受累淋巴结,其中20个CT没有发现,同时以SUV_{max}≥4.5为淋巴结结核抗结核治疗有效的阈值,可以有效评估抗结核治疗后淋巴结反应。该研究表明,抗结核治疗4个月后行18F-FDG PET-CT检查评价疗效,以SUV_{max}≥4.5为评价阈值,区别治疗有效和治疗无效淋巴结结核的敏感度为95%,特异度为85%,高于CT增强扫描以环形强化伴中心低密度为评价标准,后者的敏感度和特异度分别为88%和66%。杨根东等^[44]报道23例孤立性肺结核球患者中17例有18F-FDG高摄取,其中12例经抗结核治疗后肺内病灶缩小,合并淋巴结增大的FDG高摄取患者经治疗后淋巴结缩小;6例无18F-FDG高摄取患者,经CT检查随访12个月,结节大小无明显变化,提示18F-FDG高摄取的结核病灶有活动性。因此,SUV值可能成为判断结核病是否为活动性的指标。

18F-FDG PET-CT能够评价抗结核治疗的效果。Martinez等^[45]报道了21例痰培养、组织学或临床怀疑为肺结核的患者抗结核治疗前后的18F-FDG PET-CT检查结果。经过1个月抗结核治疗后,19例患者SUV_{max}值降低,平均为31%;2例患者SUV_{max}值无降低,其中1例最终排除结核,诊断为非霍奇金淋巴瘤,另外1例患者3个月后痰涂片仍然阳性。作者认为,18F-FDG PET-CT是一种简单的早期判断结核病治疗是否有效的方法,尤其是对于肺外结核。Sathegke等^[43]对20例HIV阳性结核病患者淋巴结PET-CT图像特点的分析发现,抗结核治疗无效组淋巴结SUV_{max}值(11.2±

4.0)明显高于治疗有效组的SUV_{max}值(2.6±2.3),以SUV_{max}值4.5为阈值区分治疗无效与治疗有效的敏感度和特异度分别为95%和85%。

18F-FDG PET-CT用于结核病的诊断及疗效判断具有以下价值:(1)明确病变累及部位和范围,18F-FDG PET-CT较CT能发现更多的结核累及部位;(2)18F-FDG PET-CT及双时相PET显像能够评价结核病的活动性,FDG高摄取病灶为活动性,无FDG摄取的病变为陈旧性;(3)18F-FDG PET-CT能够评价抗结核治疗的效果,在治疗过程中病灶的FDG摄取程度降低提示治疗有效,18F-FDG PET-CT检查有可能成为早期判断结核病治疗是否有效的检查手段。

(九)肺外结核的影像学诊断

近年来,随着影像技术的发展,如MDCT、PET-CT及高场强MRI的应用,有学者对肺外结核的影像学诊断与鉴别做了一些有益的探索。

1. 结核性脑膜炎(简称“结脑”):Botha等^[46]为了评价上述影像学诊断标准对成人结脑诊断的敏感度、特异度及可信度,进行了一个前瞻性研究。专家共识中结脑的影像学诊断标准(CCD)包括:脑积液、血管栓塞(简称“栓塞”)、结核瘤、基底膜脑膜强化和增强前基底膜高密度影;并对基底膜脑膜强化(BME)的影像诊断标准进行了描述:(1)脑池闭塞,其周围血管正常强化,周围脑脊液正常影像消失;(2)外侧裂池2~3个线样强化;(3)外侧裂池的线样强化在2个至更多个层面中可见;(4)鞍上池和外侧裂池连接处可见“Y”形影;(5)鞍上池第三脑室隐窝后部强化;(6)病灶强化的边缘模糊;(7)点样连接征;(8)脑膜结节状强化;(9)上述任何一项均为非一致性。初次选例46例,存活30例,其中16例因无头部影像学资料而排除,最终14例中,确诊患者3例,可能性大1例,可疑2例,不确定2例,非结脑6例;结果显示:CCD的内信度较好(0.47~0.81),其中急性脑栓塞最高,其次为基底膜脑膜强化和脑积液;其间信度尚可(0.21~0.63),其中脑积液的一致性较好,结核瘤和急性脑栓塞的一致性一般,而基底膜脑膜强化和增强前基底膜高密度影较差(0.32和0.21);BME诊断标准的内信度亦较好(0.35~0.78),其中“不一致性”最高,其次为脑池闭塞、2~3个线样强化、“Y”形影、点样连接征、第三脑室隐窝后部强化;但其间信度较差(0.20~0.52),ALL BE(至少两个征象同时存在)间信度只有0.36(95%CI:0.19~0.52);在敏感度和特异度的评价中,以“确诊结脑”和“可能性大结脑”为金标准,BME诊断标准的特异度为61.5%~100.0%,敏感度只有5.9%~29.4%;CCD的特异度为69.2%~100.0%,敏感度只有0%~56.7%;除脑积液外(56.7%),其余各项影像学特点对结脑诊断的敏感度均小于50%;此研究认为,在成人结脑中,CCD和BME诊断标准的可信度和敏感度较差,其诊断价值尚需通过大量前瞻性研究来进一步规范和验证。但此项研究样本量较小,未排除HIV感染的影响,可能结果会有一定的偏倚。

Kalita等^[47]观察了67例结脑患者的临床特点、实验室检查、头颅MRI及磁共振血管成像(MRA),应用logistic回

归分析结脑头颅 MRA 异常与临床、实验室检查及脑栓塞的关系。结果提示: MRI 异常者 61 例(91.0%), 其中基底部渗出物 24 例, 脑积液 23 例, 结核瘤 33 例, 脑栓塞 40 例。脑栓塞多数位于前循环(18 例), 其次为前、后循环均累及(14 例), 仅累及后循环(8 例); 皮层下栓塞 34 例, 皮层栓塞 18 例, 脑干栓塞 12 例, 小脑栓塞 8 例。MRA 异常者 34 例(50.7%), 前循环 15 例, 1/3 患者只累及后循环(10 例), 9 例颈动脉系统和椎基底动脉系统均有异常; MRA 异常以大脑中动脉最常见, 为 21 例, 其次为大脑后动脉 14 例, 颈内动脉 8 例, 大脑前动脉 5 例, 基底动脉 5 例, 椎动脉和小脑上动脉各 1 例; 25 例(73.5%) MRA 异常与脑栓塞有关, 其中 21 例 MRA 异常与脑栓塞发生区域相符, 4 例不相符; 15 例脑栓塞患者无 MRA 异常。MRA 异常与脑栓塞($P=0.03$)和脑积液($P=0.04$)有显著相关性, 而与病程、格拉斯哥昏迷评分(GCS 评分)、脑膜炎分期、MRI 基底部渗出物、脑脊液蛋白和细胞数无关; 23 例脑积液患者中, MRA 异常者 16 例, 44 例无脑积液患者中, 只有 18 例 MRA 存在异常; 18 例患者 3 个月后复查了 MRI, 12 例初检 MRA 异常者有 5 例发生脑栓塞, 而 6 例 MRA 初检正常者无 1 例出现脑栓塞; 6 个月后随访了 62 例, 预后情况与 MRA 异常无相关性($P=0.63$)。此研究认为, 结脑患者中, MRA 异常与脑栓塞密切相关, 故提出 MRA 异常者是否需要抗血小板聚集和激素等干预治疗, 但结脑合并脑栓塞的病理生理较缺血性脑血管病复杂, 对抗血小板聚集等干预治疗的价值尚存争议。von Bezing 等^[48]通过对 10 例结脑合并脑积液患儿的回顾性研究, 评价了颅脑 MRI T₂ 加权轴位扫描线性测量和计算机辅助体积测量在儿童结脑合并脑积液影像诊断中的应用。线性测量包括: Evans 指数、额枕角比值(FOR)、额枕角宽度比值(FOHWR), 结果提示, 线性测量指标对脑积液的“最终”诊断(区别交通性脑积液或非交通性脑积液)差异无统计学意义, 但指出 FOHWR 是最接近统计学意义的($P=0.09$), 若样本量增大可能其统计学意义会更显著; FOR 的敏感度最高(92%), 其次为 FOHWR(85%); FOHWR 特异度最高(70%), 其次是 Evans 指数(69%); 计算机辅助体积比分析(脑室/脑、脑脊液/颅内腔、所选择层面的比值)的可靠性较差, 敏感度为 62%~77%, 特异度为 44%~67%, 这与其可能受 HIV 脑病、水合作用、营养状态及脑脊液梗阻程度的影响有关。作者认为, 计算机辅助体积测量需要专门技术, 其敏感度和特异度较差; 而线性测量(尤其是 FOHWR)对结脑合并脑积液的诊断有着较高的敏感度和特异度, 可在一个扫描层面上完成, 并能应用于 CT 检查, 是诊断儿童结脑合并脑积液最可靠的量化指标。

结脑的影像学资料以头颅 CT 或 MRI 多见, 而颅内血管方面的资料较少。Singh 等^[49]对 47 例初治、无卒中史的结脑患者进行头颅 CT 血管成像(CTA)扫描观察, 初次扫描结果提示: 正常 14 例(29.80%), 异常 33 例(70.20%), 其中 30 例(91%)累及前循环, 9 例(27.3%)累及后循环, 6 例(18.2%)两者均有损害; 大脑中动脉受累 13 例, 大脑前动脉受累 23 例, 颈内动脉受累 17 例; 在后循环中, 大脑后动脉

8 例, 基底动脉 2 例, 小脑上动脉 1 例; 最常累及的血管是颈内动脉床突上段、大脑前动脉和大脑中动脉近端。单变量分析显示, 视觉损伤($P=0.019$)、轻偏瘫($P=0.002$)、脑积液($P<0.001$)、基底部渗出物($P<0.001$)、脑膜强化($P=0.026$)和栓塞($P<0.001$)与血管造影异常密切相关; 多变量分析显示, 只有基底部渗出物与血管造影异常密切相关; 随访 6 个月, 死亡 8 例(17%), 预后较好 35 例(GCS 评分 >12), 预后较差 4 例(GCS 评分 <12); 脑卒中发生率 34%(16 例), 其中 15 例偏瘫、1 例截瘫, 有 2 例初次血管造影正常者在随访期间出现偏瘫, 1 例异常者又出现对侧偏瘫; CT 扫描显示 19 例(40.4%)存在脑栓塞, 其中 4 例(8.5%)为多发栓塞, 所有偏瘫和脑栓塞的患者血管造影均异常; 另外对 33 例血管造影异常者分析发现, 死亡 7 例, 恶化 3 例, 无好转 1 例, 改善 22 例; Kaplan Meier 法分析血管造影异常与不良预后(死亡和严重后遗症)有关, 但差异无统计学意义。作者认为, 结脑患者颅内血管造影异常较常见, 可累及颈总动脉和椎-基底动脉, 并且血管造影异常可能与不良预后有关。CTA 检查有助于及时发现颅内血管异常, 若给予必要的干预治疗, 可能有利于改善预后, 但结脑致颅内血管病变的原因较为复杂, 干预治疗方案的确立尚有待于进一步探讨。

2. 其他肺外结核: 刘桂超等^[50]回顾性分析经病理确诊的 39 例肺外结核患者的临床表现和 18F-FDG PET-CT 图像, 采用目测和半定量分析相结合的方法, 判断 PET 图像上病变的示踪剂浓集程度, 结合相应层面低剂量 CT 图像和两者的融合图像判断病变性质。结果显示, 淋巴结结核表现为体部单发或多发肿大淋巴结, 部分可见融合或钙化, FDG 显著浓集, 部分 FDG 呈环形摄取; 胸膜和腹膜结核表现为胸膜和腹膜增厚, 部分呈结节样增厚, FDG 显著不均匀浓集, 以边缘及浆膜增厚处更为显著; 骨结核均有不同程度的溶骨性骨质破坏, 部分脊柱结核的椎旁软组织增厚, 1/2 的病灶可见 FDG 环形摄取; 4 例肠结核均累及回盲部, 肠壁呈环形或偏心性增厚, FDG 呈局灶性、弥漫性等多种浓集形式; 肾上腺结核表现为双侧肾上腺肿块样增厚, 输卵管结核表现为右侧附件区结节影, 肝结核表现为肝脏多发类圆形低密度灶, 均可见 FDG 高摄取。作者认为, 18F-FDG PET-CT 检查有助于肺外结核与肿瘤的鉴别诊断。淋巴结结核和骨结核的 PET-CT 图像 FDG 环形摄取可能是特异性表现。对仍难以与恶性病变鉴别的患者, 病史、临床表现和其他检查结果及病理对诊断较为重要。邱大胜等^[51]的观点却与之不同, 作者回顾性分析 25 例 18F-FDG PET-CT 误诊为恶性肿瘤的肺外结核患者资料, 25 例因病灶 18F-FDG PET-CT 呈高代谢而误诊为恶性肿瘤患者中的 23 例经病理证实为结核病, 2 例经临床诊断性治疗最终诊断为结核病; 包括 8 例骨关节结核, 10 例胸腹膜结核, 7 例淋巴结结核。8 例骨关节结核中 4 例为胸椎结核, 2 例为关节结核, 另 2 例全身骨骼广泛受侵。作者认为, 肺外结核的 18F-FDG PET-CT 表现没有特征性, 与恶性肿瘤鉴别困难。在充分分析 PET-CT 征象的基础上结合临床及实验室检查才能最大限度地减少肺外结核的误诊。吕岩等^[52]回顾性分析 56 例临床及病理确诊的

结核性腹膜炎患者,观察分析腹膜结核的CT影像特征,包括腹腔积液、腹膜(壁腹膜、肝包膜、大网膜及肠系膜)及腹腔淋巴结,认为结核性腹膜炎CT表现为多种综合征象,其中少量腹腔积液伴壁腹膜、网膜及肠系膜的增厚粘连是最为常见的影像学表现;CT影像动态变化对临床评价疗效具有重要意义。当影像学检查难以诊断时,应将临床与实验室检查密切结合,以获得有助于正确诊断的证据,必要时进行开腹探查活检证实。卵巢结核的影像诊断一直是影像诊断的一个难点,往往只能通过腹腔镜活检确诊,各种影像检查的诊断准确率较低。李水婷等^[53]认为卵巢结核的CT表现主要分为单纯囊性、实性、囊实性3种类型,以第三种最常见。单纯囊性卵巢结核CT表现为圆形或卵圆形病灶,长径多为2.5~9.5 cm,边界较清楚,囊壁完整且较厚,囊液密度均匀,其内无分隔,增强扫描中囊壁明显强化,作者认为,输卵管增粗、积液为女性结核性盆腔炎较常见和较具特征性的CT表现。

(十)分子影像学在肺结核及肺外结核诊断中的应用

分子影像学是指用影像学的方法在活体的条件下反映细胞和分子水平的变化。它是由医学影像技术和分子生物学相互交叉渗透而产生的新学科,与之相对应的分子影像是利用现有的一些医学影像技术(主要是光学成像、核素成像和磁共振成像)对人体内部特定的分子进行无损伤的实时成像。近年来,分子影像学在肺结核及肺外结核诊断中的应用取得了诸多进展。张昊凌等^[54]提取纯化的85B和ESAT-6鼠单克隆抗体与碘原子偶联制备靶向CT对比剂,注射入20只小鼠急性感染肺结核动物模型,行微CT(micro-CT)扫描,观察小鼠肺内病变的显示情况,判断病变CT值变化,绘制CT强化-时间曲线,计算强化率。统计分析结果证实,靶向对比剂组小鼠肺内病变的CT值随时间延长而逐渐升高,在注射对比剂后12 h病变强化明显,注射对比剂24 h后肺内病变仍有强化,且与普通对比剂组小鼠肺内CT值相比,差异具有统计学意义。此实验为结核相关靶向对比剂的研究奠定了实验基础。Lee等^[55]开发了高特异性的纳米粒子探针检测肺外结核,由超顺磁性纳米铁颗粒(SPIO)组成的纳米粒子探头特异性地与Mtb表面抗体(MtbsAb-nanoparticles)结合,能14倍缩短 T_2 WI信号,此研究已经在动物实验中得到证实,逐步进入临床实验。随着工程短肽的提取与研发,提供了分子质量较小的配体,为探针分子质量优化迈进了一大步;纳米材料的运用为提高探针的稳定性与生物相容性做出了巨大贡献,为探针的偶联、螯合提供了更为丰富的结合位点,在成像技术方面,近年来越来越多的研究者致力于多模态成像的实验研究,多模态探针的设计合成虽然克服了MR单因素成像敏感度低的缺点,然而,值得注意的是探针的分子质量和探针的化学淬灭现象。

三、结核病的免疫学诊断

(一)结核病细胞免疫学诊断

1. γ -干扰素释放试验(interferon-gamma release assays, IGRAs)在结核病诊断中的应用:自从美国CDC于2005年发表了使用QFT-G方法(QuantiFERON-TB Gold test)检测

Mtb感染以后,美国FDA又批准了2种新的IGRAs方法辅助诊断潜伏Mtb感染和活动性结核病的方法,包括QFT-GIT(QuantiFERON-TB Gold In-Tube test)和T-SPOT(the T-SPOT, TB test)。QFT-G和QFT-GIT是由澳大利亚Cellestis公司开发的使用全血进行检测的,而T-SPOT则是由英国Oxford Immunotec公司开发的使用外周血单核细胞来完成检测的。近年来,IGRAs试验在诊断潜伏性结核感染和结核病临床诊断中的应用越来越广。

IGRAs主要用于诊断结核潜伏感染(latent TB infection, LTBI),由于采血量为3 ml,使其在儿童的应用受到限制。因此澳大利亚Cellestis公司将原本需要3 ml标本量的IFN- γ 定量实验QFT-GIT改成仅需0.9 ml的新方法QFT-MT(QuantiFERON-microtube),并对QFT-MT的性能和可行性进行评价。结果认为,QFT-GIT和QFT-MT诊断儿童结核感染的敏感度太低,分别是23%和19%,可能与儿童发育不全或免疫系统受损有关^[56]。QFT-GIT和QFT-MT诊断成人LTBI的敏感度分别为83%和88%,QFT-MT有代替QFT-GIT用于诊断成人LTBI的潜能,但两者都不适合诊断儿童LTBI。Riazi等^[57]认为IGRAs诊断儿童LTBI还是优于结核菌素皮肤试验(TST),他们对517名儿童同时用TST和QFT-G法诊断LTBI,TST阳性率为83.9%(434/517),但434名TST阳性儿童中,QFT-G阳性的仅占5.8%(25/434)。对这517名儿童的进一步分析发现,有355名曾接种过BCG,其中310(87.3%)名TST阳性。517名儿童中,92.8%的儿童能产生足够的IFN- γ 供IGRAs检测之用,其中5岁以下儿童占29.6%。可见IGRAs用来诊断包括5岁以下儿童的LTBI明显优于TST。面对不同的研究结论,南非学者Machingaidze等^[58]对2010年1月之前发表的20篇关于IGRAs诊断儿童LTBI和结核病的论著进行荟萃分析,发现IGRAs诊断儿童LTBI的特异度高于TST,但其敏感度却不理想。

李红等^[59]评估了T-SPOT在涂阴肺结核快速诊断中的应用价值。结果显示,肺结核组T-SPOT阳性率为89.3%涂阴肺结核组T-SPOT阳性率为85.8%,其他肺部疾病组T-SPOT阳性率为19.2%,肺结核组及涂阴肺结核组的T-SPOT阳性率均明显高于其他肺部疾病组($P < 0.01$)。肺结核组TST阳性率为66.8%,涂阴肺结核组TST阳性率为72.4%,其他肺部疾病组TST阳性率为21.8%。肺结核组及涂阴肺结核组的TST阳性率明显高于其他肺部疾病组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。在涂阴肺结核组,血T-SPOT的敏感度(85.8%)明显高于TST(72.4%)、痰慢速培养(22.0%)、痰快速培养(37.8%)、痰Mtb-DNA(34.1%)、血结核抗体(TB-AB)(64.6%)($P < 0.01$)。血T-SPOT、TST、痰慢速培养、痰快速培养、痰TB-DNA、血TB-AB的特异度分别为80.8%、78.2%、100.0%、88.5%、80.8%、53.8%。T-SPOT对涂阴肺结核的阳性预测值为87.9%,阴性预测值为77.8%。作者认为,全血T-SPOT在涂阴肺结核的诊断上具有快速,敏感度及特异度较高的优点,在临床上对疑似肺结核患者进行T-SPOT试验对鉴别诊断具有重

要价值。陶学芳等^[60]采用 T-SPOT 方法检测 55 例活动性肺结核患者、14 例肺部病变非肺结核患者和 12 名健康体检者外周血特异性 T 细胞释放 IFN- γ 的斑点形成细胞数。结果显示,肺结核组 T-SPOT 阳性率(85.5%)显著高于肺部疾病组和健康对照组。T-SPOT 诊断菌阳和菌阴肺结核的敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为 88.6% 和 80.0%, 88.5% 和 88.5%, 91.2% 和 84.2%, 85.0% 和 85.2%, 差异无统计学意义。曾谊等^[61]应用 T-SPOT 试剂盒对 55 例菌阴肺结核患者(A 组)和 36 例其他肺部疾病患者(B 组)的外周血中 Mtb 特异性 T 淋巴细胞进行检测,同时对两组患者进行 PPD 试验、血清 TB-AB 检测。结果显示, A 组 T-SPOT 的阳性率为 89.1%(49/55), 明显高于 B 组的 19.4%(7/36) ($P < 0.001$)。在 A 组, T-SPOT 的阳性率要明显高于 PPD 试验(36.4%, 20/55)、TB-AB(52.7%, 29/55)及 PPD 试验 + TB-AB 的阳性率(23.6%, 13/55) (P 值均 < 0.01)。T-SPOT、TB 在 B 组中的阴性率为 80.6%(29/36), 与 PPD 试验(86.1%, 31/36)及 TB-AB 阴性率(63.9%, 23/36)和 PPD + TB-AB 检测方法的阴性率(88.9%, 32/36)相比, 差异无统计学意义。作者认为, T-SPOT 检测特异度和敏感度要优于 PPD 试验及 TB-AB 的检测, 可用于菌阴肺结核的辅助诊断。张立华等^[62]探讨 T-SPOT 和 PPD 试验对结核病患者的临床诊断价值。结果显示, 222 例结核病患者中, PPD 阳性者 139 例, PPD 的阳性率为 62.6%(139/222), T-SPOT 阳性者 192 例, T-SPOT 的阳性率为 86.5%(192/222), 两种阳性率经检验, 差异具有统计学意义。在 139 例 PPD 阳性患者中, PPD(+) 为 57 例, PPD(++) 为 75 例, PPD(+++) 为 7 例。而这三组中对应的 T-SPOT 阳性的患者分别为 52、75 和 7 例, T-SPOT 和 PPD 的符合率为 96.4%(134/139)。在 PPD(+++) 以上的患者中, 两种检测技术的符合率达 100.0%(82/82), 作者认为, T-SPOT 作为一种新的诊断技术在结核病的临床诊断中具有较好的应用价值。

肺外结核的现代诊断方法以微生物法和免疫法为主, 尽管 IGRAs 和 TST 都无法鉴别 LTBI 和活动性结核病, 但 IGRAs 的敏感度和特异度都高于 TST 并能监测疗效, 因此提倡在组织活检和外科等创伤性检查之前进行 IGRAs^[63]。对英格兰某医院传染科 64 例采用过 T-SPOT 诊断活动性结核病的患者进行回顾性研究, 与培养法相比, T-SPOT 的敏感度为 83.3%, 特异度为 75.0%。虽然 T-SPOT 有助于临床诊断, 但其用于肺外结核患者时仍然不可信^[64]。Gao 等^[65]评估 QFT-GIT 和巢式 PCR 在结核性胸膜炎患者中的诊断准确性。58 例为确定诊断和临床诊断的结核性胸膜炎患者, 20 例为非结核的其他疾病患者。胸腔积液抗酸杆菌(AFB)涂片和 Mtb 培养的阳性率分别为 4.8%(2/42) 和 10.6%(5/47)。QFT-GIT 的敏感度和特异度分别为 93.1%(54/58) 和 90.0%(18/20), 而 TST 的敏感度和特异度分别为 68.5%(37/54) 和 86.7%(13/15), QFT-GIT 的敏感度显著高于 TST ($P = 0.013$)。胸腔积液的 Mtb 特异性巢式 PCR 的敏感度和特异度分别为 94.8%(55/58) 和 90.0%

(18/20), PCR 1 个循环的时间为 7 h。而且, QFT-GIT 和巢式 PCR 联合诊断的特异度能够达到 100.0%, 敏感度达到 90.0%。免疫诊断和分子生物学检测技术联合应用为结核性胸膜炎临床诊断带来了希望。

2. 腺苷脱氨酶(ADA)联合 IGRAs 在结核病诊断中的应用: Park 等^[66]以 31 例结脑和 82 例非结核性脑膜炎患者为研究对象, 用外周血单核细胞(PBMC)-酶联免疫斑点实验(ELISPOT)(PBMC-ELISPOT)法检测脑脊液及外周血 IFN- γ 及 ADA 的含量。结果显示, PBMC-ELISPOT 法有其局限性, 敏感度和特异度分别为 88% 和 58%, 不能鉴别 LTBI 及活动性结核, 而 PBMC-ELISPOT 斑点 < 6 联合脑脊液 ADA < 5.7 IU/L 可以判断结脑较稳定, 抗结核治疗可以终止。脑脊液单核细胞与 PBMC-ELISPOT 斑点之比 ≥ 1.0 强烈提示结脑未愈, 需继续抗结核治疗。Saleh 等^[67]比较 QFT-GIT 和 ADA 在诊断结核性腹膜炎方面的价值, 结果显示, 以腹腔积液中 ADA 35 IU/L 为分界点, 其敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为 100.0%、92.6%、87.5% 和 100.0%。QFT-GIT 的敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为 92.9%、100.0%、100.0% 和 96.4%。ADA 和 QFT-GIT 与传统细菌培养相比, 在结核性腹膜炎的早期诊断方面具有明显优势。

3. T 细胞特异性抗原的应用: 流式细胞术分析 T 细胞分化抗原 CD25/CD134 共表达可检测对结核病的记忆性免疫反应以判断 LTBI。该法在悉尼用于结核病筛查时, 与 QFT-GIT 法和 TST 的一致性分别为 93.2% 和 73.6%。在曼谷用于 HIV 患者结核病筛查时, 与 QFT-GIT 和 TST 的一致性分别为 90% 和 84%。因此可用于筛查成人甚至 HIV 严重感染者的 LTBI^[68]。Jones 等^[69]发现在 ESAT-6/CFP-10 和 Rv3615c 抗原混合肽中加入分枝杆菌抗原 Rv3020c 衍生肽能提高皮试诊断牛分枝杆菌感染和 BCG 免疫动物的敏感度而不降低特异度。沈颖等^[70]分析 ESAT-6/CFP-10 融合蛋白作为刺激抗原的特性, 并探讨以其作为抗原的 ELISPOT 在结核病诊断中的应用价值。结果显示, ESAT-6/CFP-10-ELISPOT 与 TST 在所有 81 例结核病患者中的比较, ESAT-6/CFP-10-ELISPOT 阳性率为 98.8%, TST 阳性率为 56.8%; ESAT-6/CFP-10-ELISPOT 在涂阳结核组、涂阴结核组、Mtb 与 HIV 双重感染组阳性率分别为 100.0%、97.1%、100.0%, 其敏感度远高于痰涂片检查。

Mtb 侵入巨噬细胞内可诱发结核特异性抗原(TB-SA)基因表达。Li 等^[71]根据痰涂片、培养、X 线胸片检查结果将 316 例疑似肺结核患者分为 3 组: 涂片和(或)培养均阳性组、涂片和(或)培养均阴性但 X 线胸片异常组、涂片和(或)培养均阴性且 X 线胸片正常组, 治疗前各组例数比例分别为 10.4%、73.1%、16.5%; TB-SA 抗体阳性比例分别为 57.6%、44.6%、44.2%, 经抗结核治疗 6 个月后各组 TB-SA 抗体阳性比例较治疗前明显下降, 差异有统计学意义。由于 TB-SA 基因的表达对 Mtb 感染具有特异性, 能排除人群接种卡介苗对实验结果的影响, 有效控制假阳性。同时 TB-SA 也有较高的特异性, 可以避免由 NTM 和其他非相关细

菌引起的交叉反应,因此测定血清 TB-SA 抗体浓度有助于筛选痰抗酸染色阴性的肺结核患者,并且可用于肺结核患者治疗的疗效监测。

Zhang 等^[72]对 60 例非 HIV 感染的肺结核患者及 32 例健康对照者的 Mtb 基因组特异分化区域(RD)衍生抗原 Rv3117、Rv3121 进行测定,肺结核组较对照组明显升高($P < 0.05$)。与 ESAT-6 比较,Rv3117、Rv3121 二者具有更高的敏感度和特异度,因此在结核病诊断中的价值更高。

Sutherland 等^[73]研究发现,检测胸腔积液中的细胞和可溶性细胞因子诊断结核性胸膜炎的准确性显著高于检测外周血中的相应物质。检测胸腔积液中非刺激状态下的 IP-10+IL-6+IL-10 诊断结核性胸膜炎阳性似然比为 10,敏感度 92%,特异度 91%;结核性胸膜炎患者胸腔积液中的 PPD 特异性 IFN- γ +TNF- α +相应细胞群(PPD-IGTA)显著高于外周血中。检测胸腔积液 PPD-IGTA 诊断结核性胸膜炎的敏感度为 95%,特异度为 100%,可见分析感染部位的免疫细胞及细胞因子具有较高的准确性^[73]。Wankhade 等^[74]用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测 24 例结核性胸膜炎和 9 例非结核性胸膜炎患者血清和胸腔积液 ES-31、ESAT-6 抗原,结果显示胸腔积液中联合检测 ES-31、ESAT-6 抗原对结核诊断敏感度及特异度分别为 83%、100%,而血清中敏感度和特异度分别为 92%、78%,与单一检测 ES-31 或 ESAT-6 相比,联合检测对结核诊断具有更大的优势。另外胸腔积液中升高的基质金属蛋白酶也可作为诊断结核性胸膜炎的标志物^[75]。

4. T 细胞免疫相关细胞因子的测定:CXC 趋化因子配体 12(CXCL12)是 CXC 趋化因子家族之一,对 T 淋巴细胞具有极强趋化性,Kohmo 等^[76]对 15 例结核性胸膜炎和 45 例非结核性胸膜炎患者胸腔积液及血清 CXCL12 浓度进行测定,结果显示,CXCL12 在结核和非结核组患者胸腔积液中浓度分别为(4456 \pm 1013)pg/ml 和(2851 \pm 1229)pg/ml,两者差异有统计学意义($P < 0.01$),但两组血清 CXCL12 浓度差异无统计学意义。以 4600 pg/ml 为分界点,胸腔积液 CXCL12 对结核性胸腔积液诊断的敏感度和特异度分别为 60.0%和 93.2%,故胸腔积液 CXCL12 可作为早期诊断的指标,且其不受机体免疫状态影响。

多项研究证实 Mtb 感染可诱导 IFN- γ 和 IL-17 表达。Jurado 等^[77]根据 T 淋巴细胞对结核抗原反应性(T 淋巴细胞分泌 IFN- γ 水平)将活动性结核病患者分为高反应组与低反应组,与接种卡介苗健康对照组相比,结核病患者 IFN- γ 降低,但 IL-17 明显增加,同时研究证实结核病患者外周血与胸腔积液中 CD4(+)IFN- γ (+)IL-17(+)淋巴细胞亚群比例高低直接反应机体对 Mtb 感染的反应情况,与肺部病变程度及病程长短成正相关。因此,检测患者外周血 CD4(+),IFN- γ (+),IL-17(+)淋巴细胞亚群增殖程度可用来诊断结核病的活动性。

Vanini 等^[78]从结核病低流行地区随机选择 118 例 HIV 感染者和 77 例非 HIV 感染者,对比血清 QFT-GIT 和 IP-10 对结核病诊断的价值,研究显示,IP-10 和 QFT-GIT 对 HIV

感染活动性结核病诊断的敏感度分别为 66.7%、52.4%,特异度分别为 87.1%、95.2%,且 IP-10 对 CD4⁺T 细胞数依赖性较低,对 HIV 感染同时疑似结核患者的诊断具有较大优势。但在结核病高流行地区,Goletti 等^[79]证实 IP-10 与 QFT-GIT 对活动性结核病诊断的特异度分别为 13%、68%,因此认为 IP-10 可作为结核病低流行地区 HIV 感染者活动性结核病的筛选指标。Sutherland 等^[73]对结核性胸膜炎患者外周血及胸腔积液标志物进行研究,发现胸腔积液中 IP-10 对结核性胸腔积液诊断阳性似然比为 9.6,而 IFN- γ 仅有 2.8;联合检测胸腔积液中 IP-10、IL-6、IL-10 对结核性胸膜炎诊断阳性似然比达 10.0。

(二)结核病血清学诊断

脂阿拉伯甘露聚糖是分枝杆菌细胞壁上重要的非蛋白抗原。Sarkar 等^[80]研发了针对脂阿拉伯甘露聚糖抗原和辣根过氧化物酶的双特异性单克隆抗体,然后将这种抗体附着在棉签上,制成成本低、使用方便的免疫棉签,用以检测脂阿拉伯甘露聚糖抗原。对 21 份血清标本的检测发现该法特异度为 100%,敏感度为 64%。可见该法特异度较好,2 h 获得实验结果并可用肉眼判读。Welch 等^[81]对 2150 例患者进行回顾性研究,在活动性结核病患者中,仅 61.5% IgG 抗体阳性,其中,50%以上的假阴性发生在 90 岁以上老年人中,有 12.9%的自身免疫疾病患者为假阳性。虽然活动性结核病患者中能检测到抗 IgG 抗体,但免疫球蛋白水平低下患者和自身抗体增高患者对实验结果的影响不容忽视。Xu 等^[82]将 CFP-10-ESAT-6-PPE68 共 3 种蛋白融合在一起进行原核表达,能刺激活动性结核病患者释放高水平的 IFN- γ 。CFP-10-ESAT-6-PPE68 融合蛋白免疫 C57BL/6 老鼠能产生高浓度抗原特异性 IFN- γ 和高滴度 IgG,还能长期诱导体液免疫反应。ELISA 结果显示,CFP-10-ESAT-6-PPE68 诊断活动性结核的敏感度为 73.3%,特异度为 94.3%。因此,CFP-10-ESAT-6-PPE68 融合蛋白有作为诊断活动性结核病的潜能。但 ELISA 检测诱导痰液脂阿拉伯甘露聚糖法的特异度和敏感度都不理想,不能用于诊断少痰的结核病患者^[83]。阳幼荣等^[84]研究重组 ESAT-6(rESAT-6)、重组 CFP-10(rCFP-10)、重组 CFP-10-ESAT-6(rCFP-10-ESAT-6)共 3 种 Mtb 重组抗原在结核病血清学诊断中的应用价值。方差分析表明,rCFP-10、rESAT-6、rCFP-10-ESAT-6 这 3 种抗原对肺结核、非结核疾病及健康人血清标本的检测结果有统计学意义($P < 0.05$),3 种抗原检测肺结核患者血清标本的敏感度分别为 31.3%、25.2%、34.8%,特异度分别为 94.8%、97.8%、95.6%。rCFP-10 和 rESAT-6 联合检测敏感度及特异度分别为 40.0%和 93.0%。Halder 等^[85]应用 ELISA 和定量聚合酶链反应(Q-PCR)以及双重 PCR 方法,首次定量检测儿童结脑脑脊液 Mtb GlcB、HspX、MPT51、Ag85B、PstS1 抗原和 DNA 水平,评价其在结脑诊断中的作用。此研究共纳入 532 例患者进行观察,结脑 194 例,其中 29 例为确诊患者(脑脊液 Mtb 培养阳性),165 例为结脑可能性大的患者;非结核感染性脑膜炎(NTIM)130 例;感染性神经功能障碍(IND)78 例;非感染性神经功能障碍(NIND)130 例。

DNA 检测结果提示:以确诊结脑组和 NTIM 组检测数据建立 ROC 曲线,以 $4 \text{ fg}/5 \mu\text{l}$ 为临界值,确诊结脑组特异度为 96%,敏感度为 100%;结脑可能性大的组特异度为 98%,敏感度为 98%;双重 PCR,确诊结脑组敏感度为 66%,特异度为 93%;结脑可能性大的组敏感度为 83%,特异度为 93%。抗原检测结果提示,以确诊结脑组和 NTIM 组建立 ROC 曲线,GlcB、HspX、MPT51、Ag85B 和 PstS1 的临界值分别为 0.095、0.125、0.1、0.105 和 0.095,确诊结脑组 GlcB、HspX、PstS1 的敏感度为 100%、特异度均 $\geq 96\%$;Ag85B、MPT51 敏感度相对较低,分别为 79% 和 90%,特异度均 $\geq 97\%$ 。GlcB、HspX 和 MPT51 对结脑可能性大的组敏感度较高,为 92%~95%;Ag85B 和 PstS1 敏感度较低,分别为 84% 和 89%;所有检测指标特异度均达到 92%~96%。在确诊结脑患者中,Q-PCR 检测的阳性似然比为 23,阴性似然比为 0.02;抗原检测中,GlcB 和 HspX 的似然比与 Q-PCR 相同;Q-PCR 和 GlcB 联合 HspX 检测对确诊或排除儿童结脑诊断有高度的准确性。

(三)其他方法在结核病诊断中的应用

神经元特异性烯醇化酶(NSE)是神经组织损伤的一个生化指标,Song 等^[86]为了评价其对结脑的诊断价值及临界值,对 15 例结脑、28 例无菌性脑膜炎、37 例对照组(紧张性头痛)患者血清及脑脊液 NSE 水平进行了观察,结果提示,结脑组脑脊液与血清 NSE 比值平均为 1.62 ± 0.59 ,明显高于无菌性脑膜炎组(1.07 ± 0.23)和对照组(0.92 ± 0.30)($P=0.001$);多变量分析,脑脊液白细胞计数增高($P=0.004$)、脑脊液与血清 NSE 比值增高($P=0.022$),与结脑诊断密切相关;同时 ROC 曲线提示,脑脊液与血清 NSE 比值的临界值为 1.21,敏感度为 86.7%,特异度为 75.4%。作者认为,脑脊液与血清 NSE 比值可以作为结脑早期诊断的指标,并提出其用于诊断结脑的临界值为 1.21。Hristea 等^[87]应用 logistic 回归 β 相关系数,建立了一个用于结脑诊断的评分系统。此研究对 433 例病毒性脑膜炎(病脑)、101 例结脑患者进行回顾性分析,比较其临床和实验室特点;多变量分析提示,年龄、结核病史、精神症状、头痛症状在结脑和病脑患者中差异无统计学意义($P>0.05$);而入院前病程 ≥ 5 d、神经功能损伤(意识改变、癫痫、神经系统定位体征、多发的脑神经麻痹、偏瘫或截瘫)、脑脊液与血糖比值 <0.5 、脑脊液蛋白 $>100 \text{ mg/dl}$ ($>1000 \text{ mg/L}$,换算为法定计量单位的系数为“10”,以下不再加注)等因素与结脑诊断密切相关;结脑组住院前病程平均为 12 d(1~90 d),病脑组平均 3 d(0.3~15 d);以 ≥ 5 d 为临界值,敏感度和特异度分别为 93% 和 76%;神经功能损伤在结脑组较常见,为 68 例(67.3%),病脑组只有 48 例(11.1%)($P<0.001$);结脑组脑脊液蛋白平均为 $[204(33\sim 4829)\text{mg/dl}]$,高于病脑组 $[78(10\sim 291)\text{mg/dl}]$ ($P<0.001$),应用 ROC 曲线,确定临界值为 100 mg/dl ,其敏感度为 87%,特异度为 68%。应用这个 logistic 回归模型可以准确预测 95.6%的病脑和 89.1%的结脑,ROC 曲线下面积达 0.977($P<0.001$,95%CI:0.964~0.990);此评分系统具体为:(1)病程 ≥ 5 d(3 分);(2)神经功能损伤分期 II 或

III 期(2 分);(3)脑脊液与血糖比值 <0.5 (3 分);(4)脑脊液蛋白 $>100 \text{ mg/dl}$ (1 分)。以 ≥ 6 分为临界值,其敏感度和特异度分别为 92%(95%CI:87%~97%)和 94%(95%CI:92%~97%)。研究认为,上述变量临床容易获取,可以快速做出推论性诊断。吡啶胺-2,3-双加氧酶(IDO)可催化色氨酸(Trp)降解为犬尿酸(Kyn),人体内 Kyn/Trp 比例可反映 IDO 活性。Suzuki 等^[88]通过流式色谱分析仪测定 174 例肺结核和 84 例对照组血清中 IDO 活性,结果显示,肺结核患者血清中 Kyn 浓度及 IDO 活性较对照组明显升高,Trp 明显下降,差异有统计学意义($P<0.0001$)。多元回归分析显示,IDO 活性可作为诊断肺结核的独立指标。

四、结核病分子生物学诊断

分子生物学方法用于结核病诊断目前已经获得 WHO 认可。2012 年结核病的分子生物学诊断仍集中在以核酸扩增为核心的检测技术的应用上,如 Xpert Mtb/RIF、Multiplex PCR、MtbDRsl;也有其他的一些方法,如焦磷酸测序法等。

(一)Xpert Mtb/RIF 技术

Xpert Mtb/RIF 技术是由美国的 Cepheid 公司研发的一项基于 Mtb 核酸扩增为基础的全自动分子诊断方法^[89-92]。Xpert Mtb/RIF 技术是集痰标本处理、DNA 提取、核酸扩增、Mtb 特异核酸检测、利福平耐药基因 *rpoB* 突变检测于一体的结核病和耐药结核病快速诊断方法,全过程只需 90 min,即可同时实现 Mtb 和利福平耐药的检测。由于整个过程在封闭的腔室内自动化完成,无需生物安全需求。2010 年 12 月,WHO 批准了 Xpert Mtb/RIF 的应用。该技术也被 WHO 誉为结核病诊断中革命性的突破,是 WHO 在 2011 年重点推荐的技术^[90-92]。国内也有少数单位在开展应用。

多项研究表明,其诊断率明显高于显微镜,但低于液体培养法,并且检测利福平药敏的结果快速且准确^[93-97]。Dorman 等^[94]对南非 6893 例患者痰标本进行了显微镜涂片、液体培养及 Xpert Mtb/RIF 检测,Xpert Mtb/RIF 的敏感度、特异度、阳性预测值及阴性预测值分别为 62.6%、99.6%、81.3% 和 98.9%;Xpert Mtb/RIF 和培养法一致率为 98.5%。韩国 Kim 等^[96]采用 Xpert Mtb/RIF 在 24 h 内共检测 71 份经实时定量 PCR 反应扩增结果为阳性的痰标本沉淀检测 Mtb,并与涂片和培养进行结果比较;并将其检测利福平耐药结果与传统培养药敏结果以及 *rpoB* 基因测序两种方法进行对比。同时本研究也评价了检查突变检测下限和诊断所节省的时间。结果显示,Xpert Mtb/RIF 在 71 份痰(涂阳标本 32 份,涂阴标本 39 份)标本中检测出了 Mtb,检出率为 100.0%。与培养法药敏结果一致率为 100.0%(62/62),与耐药基因突变位点测序检测一致率为 98.4%(61/62)。其中 1 株含有约 50%p. His526Tyr 突变的菌株被 Xpert Mtb/RIF 误认为野生型。该方法的突变:野生型的最小检测比例为 5:1。为结核病诊断平均节省时间为 18.5 d(9~30 d),而在涂阴培阳患者的利福平药敏检测平均可节约 81.5 d(65~136)。结果表明,Xpert Mtb/RIF 在检测 Mtb 及利福平药敏的敏感度很高,与传统试验方法相比

也更为快速,但突变位点的定位和突变数量可能影响实验的敏感度。

Barnard等^[98]评价了 Xpert Mtb/RIF 方法及另一种耐药结核分枝杆菌基因分型技术(GenoType MtbDRplus)(2.0版)对 282 份涂阳及涂阴患者标本的诊断价值。对于培养阳性标本,GenoType MtbDRplus 与 Xpert Mtb/RIF 的敏感度分别为 73.1%和 71.2%,特异度均为 100.0%。对于痰涂片阴性(简称“涂阴”)标本,两种方法的检测率为 57%~58%。两种方法检测利福平耐药性的敏感度和特异度均为 100%;然而,GenoType MtbDRplus 还能检测异烟肼的耐药。有作者研究发现,在所有培养阳性的患者中,Xpert Mtb/RIF 具有很高的敏感度(79%,187/237)和特异度(96%,190/199),而在涂阴患者中,Xpert Mtb/RIF 敏感度较低(42%,34/81)。与传统的痰涂片及痰培养相比,Xpert Mtb/RIF 更显著的特点是操作简便和快速,检测时间少于 2 h,Xpert Mtb/RIF 降低了所有患者检测所需的中位时间(d)[1(四分间距 0~26) vs 0(四分间距 0~1), $P<0.001$],同时涂阴患者中位时间(d)[35(四分间距 22~55) vs 22(四分间距 0~33), $P=0.001$]也明显降低^[99]。有研究显示,抗酸涂片的敏感度和特异度分别为 66.7%和 98.6%;Xpert Mtb/RIF 的敏感度和特异度分别为 91.7%和 99.3%。与抗酸涂片相比,Xpert Mtb/RIF 可使 25%的患者获得早期快速诊断。此外,Xpert Mtb/RIF 可以提前检测 16.6%的患者的利福平耐药性,从而为快速调整 MDR-TB 患者治疗方案提供依据^[100]。

Kurbatova等^[101]同时使用 Xpert Mtb/RIF 和 TB-Biochip MDR 生物芯片法对俄罗斯 2 个耐药结核病高流行地区的 238 份标本进行检测,结果显示,Xpert Mtb/RIF 检测 MTBC 的敏感度(95.3%)明显高于直接涂片法(59.6%)、浓缩涂片法(85.3%)和罗氏培养(80.8%);特异度为 86.0%。和 MGIT 药敏结果相比,Xpert Mtb/RIF 对鉴定利福平耐药的符合率为 98.2%,对利福平敏感的符合率为 95.5%。与培养法相比,生物芯片法对 MTBC 检测的敏感度为 97.3%,特异度为 78.1%。与 MGIT 药敏结果相比,生物芯片法鉴定利福平耐药的符合率为 100.0%,利福平敏感的符合率为 94.7%,异烟肼耐药的符合率为 98.2%,异烟肼敏感的符合率为 78.6%。Xpert Mtb/RIF 的检测时间仅为 2 h,而检测下限为痰液中 100 条细菌/ml^[102]。

Al-Ateah等^[103]比较了 Cepheid 公司研发的 Xpert Mtb/RIF 法检测呼吸道及非呼吸道标本 Mtb 及其对利福平耐药性的敏感度及特异度。结果发现,239 例标本中培养阳性率为 25.9%,Xpert Mtb/RIF 法阳性率为 24.6%,有 3 份标本出现 Xpert Mtb/RIF 法的假阳性结果。与培养法比较,Xpert Mtb/RIF 法检测呼吸道标本的敏感度可达到 95.4%,特异度 100.0%。非呼吸道标本的敏感度为 94.4%,特异度为 100.0%。表明 Xpert Mtb/RIF 法检测呼吸道及非呼吸道标本具有较高的敏感度及特异度。Moure等^[104]采用 Xpert Mtb/RIF 法检测 108 例涂阴培阳的肺外结核标本(其中 43 例为体液标本,65 例为非体液标本),结果发现阳性率为 58.3%(63 例),Xpert Mtb/RIF 法对无菌体液标本的检

测敏感度较低(尤其对于胸腔积液,仅 26.9%),但对于非液体的标本敏感度高,比如脓肿穿刺物阳性率 76.5%,结果显示,Xpert Mtb/RIF 法为肺外结核的有效诊断工具。也有研究显示,采用 Xpert Mtb/RIF 法检测尿液可以提高不能进行痰液检查的严重免疫抑制 HIV 感染者结核病的诊断率^[105]。

由于缺乏快速可靠的检测手段,儿童结核往往得不到及时的诊断和治疗,特别是在 HIV 感染高发地区。Rachow等^[106]评价 Xpert Mtb/RIF 法检测在 Mtb 与 HIV 双重感染高负荷地区检测儿童疑似结核患者的价值。结果显示,164 例儿童中有 28 例(17.1%)确诊为结核病。Xpert Mtb/RIF 法检测出了 100.0%的涂阳患者和 66.6%的培阳涂阴患者。Xpert Mtb/RIF 法的敏感度与培养法相似(54.7%)。Xpert Mtb/RIF 特异度为 100.0%。Xpert Mtb/RIF 法在相似的时间内确诊了 3 倍于涂阳的结核病患者。Zar等^[107]采用涂片法、液体培养基法和 Xpert Mtb/RIF 法对疑似肺结核的儿童患者标本进行检测,每名患者分别取诱导痰标本(IS)和鼻咽分泌物(NPA)进行检测。结果显示,535 名儿童(年龄中位数为 19 个月,117 名为 HIV 感染者)取得 1 份 IS 标本和 1 份 NPA 标本;396 名儿童取得 2 对 IS 和 NPA 标本。其中涂阳、Xpert Mtb/RIF 法阳性或者培养阳性的标本分别为 30 例(5.6%)、81 例(15.1%)和 87 例(16.3%)。IS 标本培养阳性的例数(84/87,96.6%)明显高于 NPA 标本(61/87,70.1%)($P<0.001$)。在提供 2 对检测标本的儿童中,63 例培养阳性[IS 标本培养阳性 60 例(95.2%),NPA 标本培养阳性 48 例(76.2%)]($P=0.002$)。IS 和 NPA 标本 Xpert Mtb/RIF 法检测的敏感度相似,分别为 71%(45/63)和 65%(41/63)($P=0.444$);涂片的敏感度相对较低,分别为 33%(21/63)和 25%(16/63);第二份 IS 标本检测,培养和 Xpert Mtb/RIF 法检测阳性标本分别增加 9 例和 9 例。第二份 NPA 标本检测,培养和 Xpert Mtb/RIF 法检测阳性标本分别增加 10 例和 11 例。Xpert Mtb/RIF 法检测 IS 标本的特异度为 99.1%(98.1%~100.0%),检测 NPA 标本特异度为 98.2%(96.8%~99.6%)。Xpert Mtb/RIF 法检测可以比培养更加快速地获得结果(天数中位数分别为 0 d 和 15 d, $P<0.001$)。Xpert Mtb/RIF 法有助于儿童疑似肺结核的诊断,特别是在无法进行 IS 标本采集或者无法进行培养时尤为适合。

在结核病、HIV 感染和 AIDS 高流行国家,结核病的诊断仍然依赖痰涂片和培养法,不少患者不能得到及时确诊。Carriquiry等^[93]对 131 例患有 AIDS 同时临床高度怀疑结核病的患者进行 Xpert Mtb/RIF 法检测,并与改良罗氏培养和液体培养对比,结果显示,Xpert Mtb/RIF 法的敏感度为 97.8%,特异度为 97.7%,阳性预测值为 95.7%,阴性预测值为 98.8%。在利福平耐药性检测中,Xpert Mtb/RIF 法的敏感度为 100.0%,特异度为 91.0%,阳性预测值为 66.7%,阴性预测值为 100.0%。O'Grady等^[95]对赞比亚一家三级医疗转诊中心采用 Xpert Mtb/RIF 法诊断结核病的有效性进行了评估。结果显示,痰培养阳性患者为 22.8%(201/881)。Xpert Mtb/RIF 检测 Mtb 的特异度为 95.0%,敏感

度为 86.1%，在涂阴培阳的患者中，Xpert Mtb/RIF 法诊断的敏感度 74.7%。Xpert Mtb/RIF 法诊断利福平耐药的敏感度和特异度分别为 81.3% 和 97.5%。在结核病及 HIV 感染高发地区，Xpert Mtb/RIF 法的诊断优势强于显微镜涂片法，其可增加结核病及 MDR-TB 的检出率，降低痰涂片的漏诊率，通过评估其有效性及成本效益，认为在其他 HIV 感染及结核病高发国家的结核病转诊中心，该项技术也值得推广使用^[95]。

Chang 等^[97]进行了 Meta 分析综合了 18 个研究(10 224 例疑似结核病患者临床标本)，结果显示，Xpert Mtb/RIF 法在肺结核诊断中总敏感度、特异度、诊断比值比(DOR)和 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 90.4%、98.4%、328.3 和 0.9822；在肺外结核诊断中合并敏感度和特异度分别为 80.4% 和 86.1%。Xpert Mtb/RIF 法诊断利福平耐药的敏感度、特异度、DOR 和 AUC 分别为 94.1%、97.0%、177.8 和 0.9832。亚组分析显示，Xpert Mtb/RIF 法检测涂阳标本的准确性较高，诊断成人肺结核的敏感度高于儿童(分别为 90.8% 和 74.3%)。

Meyer-Rath 等^[108]对南非规模化应用 Xpert Mtb/RIF 法的费用及影响进行了评估。结果显示，Xpert Mtb/RIF 法最多可以以每年 30%~37%、69%~71% 的速度分别增加结核病和 MDR-TB 诊断例数，首诊后即可诊断出 81% 的结核病患者，而目前的方法只能达到 40%。每例疑似患者结核病诊断花费将增加 55%，达到 51~60 美元，而结核病患者者的诊治费用会增加 8%，达到 797~873 美元。随着 Xpert Mtb/RIF 法的规模化，增资费用将达到 2200 万美元，循环增资费用 6 年将达到 28.7~31.6 千万美元。结果表明，Xpert Mtb/RIF 法不仅可以提高结核病诊治数量还会提高结核病诊断的费用。上述结果并没有包括由于早期诊断、及时治疗而减少结核病传播所节省的费用。Xpert Mtb/RIF 法可通过提高结核病的发现率和及早治疗，从本质上改变结核病的发病率和死亡率，对结核病的长期传播模式也会有更多影响。采用 Xpert Mtb/RIF 法可明显提高与其成本相对应的合理的价值。然而，额外的经济负担也是巨大的^[109]。由于此项技术成本昂贵，许多中等收入国家可以负担用此方法检测疑似结核病患者，而在低收入国家，其广泛应用尚有一段距离^[110]。

(二) 分子线性探针测定法(molecular line probe assays)

分子线性探针测定法即耐药 Mtb 基因分型技术(GenoType MtbDR)诊断 MDR-TB 已得到了 WHO 的认可与推荐。最近，一种新的分子线性探针测定法——GenoType MtbDRsl 试验快速检测乙胺丁醇、氟喹诺酮类药物和二线注射类药物的耐药性已用于诊断 XDR-TB。Lacoma 等^[111]使用 GenoType MtbDRsl 法和 BACTEC™ 460 TB 法检测临床分离株对氟喹诺酮类、卡那霉素-卷曲霉素和乙胺丁醇药敏的总体符合率分别为 72.4%(21/29)、88.9%(24/27)、67.6%(23/34)。检测临床样本，符合率分别为 86.5%(45/52)、92.3%(48/52)、56.0%(28/50)。作者认为，GenoType MtbDRsl 进行耐药性检测费时较短，用于检测氟喹诺酮类和乙胺丁醇

耐药的敏感度较好，也可用于早期检测卡那霉素-卷曲霉素的敏感度。Said 等^[112]检测了 342 株 MDR-Mtb 分离株对氧氟沙星、卡那霉素、卷曲霉素和乙胺丁醇的耐药情况，并与比例法进行比较。结果显示，上述 4 种药的敏感度和特异度分别为：氧氟沙星为 70.3% 和 97.7%，卡那霉素为 25.0% 和 98.7%，卷曲霉素为 21.2% 和 98.7%，乙胺丁醇为 56.3% 和 56.0%。前苏联的类似研究认为 GenoType MtbDRsl 检测对氟喹诺酮类药物、乙胺丁醇、阿米卡星、卷曲霉素耐药性检测的敏感度好，对卡那霉素则低得多，具体的差异有待于更多的分析^[113]。

Chryssanthou 等^[114]采用 GenoType MtbDRplus 测试 604 株 Mtb 的耐药性，结果显示，其对异烟肼耐药、利福平耐药和 MDR 的敏感度分别为 87.5%、100.0% 和 95.2%，特异度均为 100.0%。耐药性的检测时间由常规药敏的中位数 21 d 缩短至 7 d。Jin 等^[115]使用 GenoType MtbDRplus 药敏试验和 DNA 测序检测 237 株 MDR-Mtb 菌株耐药情况，结果显示，GenoType MtbDRplus 对异烟肼耐药株的敏感度是 75.0%(126/168)，对利福平耐药株的敏感度是 93.5%(157/168)，特异度均为 100.0%。认为 GenoType MtbDRplus 是一个快速和可靠的 MDR-TB 分子检测方法，但同时发现，因部分少见的异烟肼耐药基因突变(如 *katG* S315N)不能被该方法检测出，认为需要进一步改进检测方法以提高对异烟肼耐药株检测的敏感度。与第一代不同，GenoType MtbDRplus (2.0 版)还可用于痰涂阴的样本。Barnard 等^[98]比较了 GenoType MtbDRplus(2.0 版)和 Xpert Mtb/RIF 对 282 份临床标本进行了检测。结果显示，GenoType MtbDRplus (2.0 版)和 Xpert Mtb/RIF 法检测 Mtb 培养阳性标本的敏感度分别为 73.1% 和 71.2%，特异度均为 100.0%。检测痰涂阴标本的阳性率为 57% 和 58%，说明其检测结果与细菌负荷量相关。两种方法对利福平耐药性的检测敏感度和特异度均为 100%，而 GenoType MtbDRplus 可同时获得异烟肼的敏感度结果。

Seoudi 等^[116]采用新型线性探针反向杂交(line probe assay, LiPA)试剂盒与常规液体和固体培养对药敏检测快速分子鉴别和培养进行对比，对 7836 例患者样本进行检测，LiPA 用于 MTBC 检测的全部 3382 例痰标本的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值及准确度分别为 94.7%、85.6%、92.7%、86.9% 和 90.7%；与 2606 例涂阴痰标本的值相近，分别为 94.7%、80.9%、93.9%、83.3% 和 91.3%。对于全部 1667 例痰标本的利福平耐药性进行检测，敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和准确度分别为 92.1%、99.3%、89.4%、99.5% 和 98.9%，与 1477 例痰涂阳标本的检测结果相近，分别为 93.3%、99.3%、87.5%、99.6% 和 99.0%。应用 LiPA 技术对涂阳标本进行结核病诊断和利福平耐药性检测分别节省 25.3 d 和 32.2 d。结果显示，应用这种非自动化线性探针检测方法能为 MTBC 的诊断和利福平耐药提供一种快速而可靠的检测方法。Mitarai 等^[117]评估了 LiPA 在分枝杆菌菌种鉴定和检测 Mtb 耐药性相关基因突变的应用。采用 LiPA 检测了 554 株临床分离株，包

括 Mtb(316 株)、鸟分枝杆菌(71 株)、胞内分枝杆菌(51 株)、堪萨斯分枝杆菌(54 株)、其他种类分枝杆菌(62 株)。结果显示, LiPA 对临床分离株的菌种鉴定结果和常规方法的鉴定结果几乎相同。与标准的药敏试验结果相比, LiPA 检测利福平耐药临床分离株的敏感度和特异度分别为 98.9% 和 97.3%, 异烟肼耐药株分别为 90.6% 和 100.0%, 吡嗪酰胺耐药株分别为 89.7% 和 96.0%, 左氧氟沙星耐药株分别为 93.0% 和 100.0%。LiPA 直接检测痰标本中 Mtb 的敏感度是 85.6%。直接检测痰标本利福平、吡嗪酰胺和左氧氟沙星耐药菌株的敏感度和特异度均为 100.0%, 而检测异烟肼耐药株的敏感度和特异度分别为 75.0% 和 92.9%, 认为 LiPA 试剂盒可鉴定分枝杆菌菌种的水平, 同时耐药表型的检测也具有较高的敏感度和特异度。

(三) 多重 PCR(multiplex PCR) 检测技术

PCR 可在短短数小时内完成对临床样本的检测。然而, 由于在某些 Mtb 分离株中缺失靶点 DNA, 单基因作为检测靶点可造成假阴性结果。多重 PCR 检测技术采用多个引物扩增多个靶 DNA, 可以减少假阴性结果。Kulkarni 等^[118] 采用扩增 38 kDa(即相对分子质量为 38 000 的基因, 以下不再加注) 基因和 *IS6110* 片段的多重 PCR 对 120 例肺结核患者痰标本进行抗酸染色、痰菌培养、多重 PCR 以及单基因 PCR 检测, 并以 72 份非结核呼吸疾病患者标本作为阴性对照。结果显示, 以临床诊断作为金标准, 两种目的基因的多重 PCR 敏感度(81.7%) 高于痰培养(69.2%) 和抗酸染色法(53.3%)。在抗酸染色法得出的阳性和阴性结果的样本中, 多重 PCR 的敏感度分别为 93.7% 和 67.9%。在痰菌培养阳性的样本中, 敏感度由单基因 PCR 检测的 77.1% 增加到多重 PCR 检测的 89.2%。仅使用 38 kDa 基因引物的单基因 PCR 发现有 4 个样本显示 PCR 结果阳性。多重 PCR 改进了单基因 PCR 的敏感度, 对于诊断少菌的涂阴样本是非常有用的。此外, 这种方法还能用于发现感染了 *IS6110* 缺失型 Mtb 菌株的样本。Sharma 等^[119] 研究发现在结核病患者组, 以 *IS6110* 和 *devR* 作为引物的多重 PCR 的阳性率为 97.5%, 而以 *IS6110* 作为引物的单 PCR 阳性率仅为 84.5%。临床疑似患者中, 多重 PCR 和 PCR 的阳性率分别为 45% 和 40%。两种方法的特异度均为 96.5%。多重 PCR 提高了诊断的敏感度, 同时特异度也不降低。Pérez-Osorio 等^[120] 介绍了另外一种多重 PCR 的方法, 称为分枝杆菌鉴定和耐药性筛查方法(mycobacterial identification and drug resistance screen, MID-DRS), 可用于 MTBC 的鉴定, 也可检测利福平、异烟肼和吡嗪酰胺耐药情况, 同时扩增一种特异基因 16S rRNA 以快速鉴定鸟分枝杆菌复合群(MAC) 以及扩增热休克蛋白 65 并进一步行 DNA 测序鉴别其他分枝杆菌菌种。与 188 例培养结果相比, MID-DRS 检测 MTBC 的敏感度和特异度分别为 100.0% 和 96.8%, 识别 MAC 的敏感度和特异度为 100.0% 和 98.3%。检测利福平、异烟肼及吡嗪酰胺耐药情况的敏感度和特异度分别为 97.4% 和 98.7%、60.6% 和 100.0% 及 75.0% 和 98.1%。MID-DRS 也可直接检测抗酸杆菌阳性标本, 其检测 MTBC

的敏感度和特异度分别为 100.0% 和 78.6%; 识别 MAC 的敏感度和特异度分别为 100.0% 和 97.8%。作者认为, MID-DRS 可将菌种鉴定和耐药检测时间缩短至 2 d。Vadwai 等^[121] 用多重等位基因特异性 PCR 检测 *katG315*、*rpoB531*、*gyrA94* 和 *rrs1401* 位点的突变来确定 Mtb 对异烟肼、利福平、氟喹诺酮类和氨基糖苷类药物的敏感性。结果显示, 多重等位基因特异 PCR 培养阳性的患者准确率为 97.2%, 涂阴患者准确率为 100.0% 和涂阴患者准确率为 55.5%, 对培养阴性的患者正确鉴定率为 93.6%。与药敏试验比较, 多重等位基因特异 PCR 检测对异烟肼、利福平、氟喹诺酮类和氨基糖苷类药物耐性率检测的准确度分别为 89.2%、94.9%、72.5% 和 92.3%; 对异烟肼、利福平、氟喹诺酮类和氨基糖苷类药敏检测的准确度分别为 94%、86.9%、93.1% 和 99.2%。因此, 该方法可推荐用于耐药结核病的快速检测手段。

Chia 等^[122] 以 5 个异烟肼和利福平抗药性的突变位点为目标进行多重等位基因特异性聚合酶链反应(MAS-PCR), 相对于药敏检测, MAS-PCR 检测异烟肼耐药性的突变, 敏感度为 82.8%, 特异度为 100.0%; 利福平耐药的敏感度 98.4%, 特异度 100.0%。作者认为, 该方法对发展中国家是一种相对便宜的、技术上可行的快速检测 MDR-TB 的方法。Nasr 等^[123] 应用一种新型的多重实时 PCR 来进行分枝杆菌菌属的快速鉴定, MTBC 和最常见的 NTM 菌种包括脓肿分枝杆菌、偶然分枝杆菌、鸟分枝杆菌、堪萨斯分枝杆菌和戈登分枝杆菌, 在相同 PCR 反应条件下分为 3 个反应管。靶基因的引物设计包括 16S rDNA、*dnaJ* 基因、*gyrB* 基因和内转录间隔区(ITS), 采用多重实时 PCR 对 66 例临床结合分离株进行检测。用分枝杆菌、MTBC 和每一种 NTM 菌种的溶解曲线和解链温度来对多重实时 PCR 的结果进行分析。将多重实时 PCR 结果同 16S-23S rDNA ITS 扩增和测序对分枝杆菌进行鉴定的结果进行比较。结果显示, MTBC、脓肿分枝杆菌、偶然分枝杆菌、鸟分枝杆菌、堪萨斯分枝杆菌和戈登分枝杆菌引物设计的敏感度和特异度都是 100%。分枝杆菌菌属引物设计的敏感度和特异度分别是 96% 和 100%。结果表明, 多重实时 PCR 溶解曲线和新的引物分析可用于对分枝杆菌菌属、MTBC 和常见 NTM 菌种的快速准确鉴定。Reddington 等^[124] 采用 SeekTB, 即一种内部控制的两阶段多重实时 PCR 为基础的方法, 能准确鉴定出 MTBC 中的菌种以及 NTM 菌株。其检测 MGIT 培养阳性菌株与 GenoType MTBC 线性探针法检测符合率为 100%, 且 1.5~3.5 h 可出结果。

Chia 等^[125] 开发了一种改良的多重 PCR。实验设计了 9 对引物的靶标包括 16S-23S rDNA 的内部转录间隔区-1、热休克蛋白 65 和 ESAT-6 的基因, 并与传统培养和 16S rRNA 基因测序相比较。自 2005 年 11 月至 2006 年 5 月共收集 200 份涂片和培养阳性的痰标本进行分析, 结果显示, 抗酸杆菌涂片 +++、++ 和 + 标本中该方法发现 Mtb 的阳性率分别为 98%、95% 和 53%。改良的多重 PCR 可以节省时间, 适合在结核病高流行国家应用。有作者采用多重等

位基因特异性 PCR 方法对 450 份痰标本进行 Mtb 的检测,并且通过靶向基因 *katG315*、*rpoB531*、*gyrA94* 和 *rrs1401* 位点的突变来分别确定 Mtb 对异烟肼、利福平、氟喹诺酮类和氨基糖苷类药物的敏感性。结果显示,对 1 份单一的痰标本,多重等位基因特异 PCR 培养阳性的患者准确率为 97.2%,涂阳患者为 100.0%,涂阴患者为 55.5%,对培养阴性的患者正确鉴定率为 93.6%。每份标本同时进行耐药性的检测,与表型药敏试验比较,多重等位基因特异 PCR 实验对异烟肼、利福平、氟喹诺酮类和氨基糖苷类药物耐药性检测的准确度分别是 89.2%、94.9%、72.5%和 92.3%,对异烟肼、利福平、氟喹诺酮类和氨基糖苷类药物敏感检测的准确度分别为 94%、86.9%、93.1%和 99.2%。多重等位基因特异 PCR 实验作为耐药结核病的快速检测手段,可以使患者进行早期快速有效的抗结核治疗^[121]。Zhao 等^[126]采用 MAS-PCR 多重等位基因特异 PCR 和 PCR-RFLP 限制性片段长度多态性相结合的方法对 Mtb *gyrA* 基因 90、91 和 94 的密码子进行突变检测。结果显示,用常规表型药敏检测作为参照标准,该改良方法对于 *gyrA* 基因突变检测的敏感度、特异度和准确度分别为 70.8%、100.0%和 84.8%。

(四) 实时 PCR 技术

实时 PCR 技术具有特异性强、有效解决 PCR 污染问题、自动化程度高等优点。Darban-Sarokhalil 等^[127]采用实时定量 PCR 技术扩增呼吸道标本中的 Mtb *cyp141* 基因来检测和定量 Mtb,并和直接镜检和培养方法相比较。结果显示,实时定量 PCR 总的敏感度、特异度、阳性预测值(PPV)和阴性预测值(NPV)分别为 90.2%、97.8%、97.1%和 92.3%。Pholwat 等^[128]利用实时 PCR 分枝杆菌噬菌体 D29 DNA 评估临床 Mtb 耐药性。分枝杆菌噬菌体在其生存的细菌细胞中感染和复制比细菌细胞更快速,应用报告细胞或者操纵报告构建的噬菌体可用于检测 Mtb 及其耐药性。结果发现,在噬菌体 DNA 实时 PCR 计算的 CT 值在对照分枝杆菌和经药物治疗的分枝杆菌之间,并与常规琼脂比例药敏结果相关。特别是用 9 株敏感临床株,22 株 MDR 和 1 株 XDR 结核分枝杆菌菌株的药物 CT 临界值在 +0.3 和 -6.0 之间,对异烟肼、利福平、链霉素、乙胺丁醇、阿米卡星、卡那霉素、卷曲霉素、氧氟沙星、莫西沙星、乙硫异烟胺、对氨基水杨酸、环丝氨酸和利奈唑胺的准确度为 98%(422/429)。结果表明,定量 PCR 检测为一线和二线药物提供了一种快速、准确、1~3 d 的表型药敏检测法。Seagar 等^[129]比较以 *IS6110* 为靶点的实时 PCR(IH *IS6110*)、Q-PCR 和 GenoType MtbDRplus 等方法检测 87 份痰标本 MTBC 的价值。结果显示,以培养的结果为对照, IH *IS6110*、Q-PCR 和 GenoType MtbDRplus 检测 MTBC 的敏感度分别是 100%、92%和 87%。

(五) 恒温扩增检测技术

恒温扩增检测技术包括 RNA 恒温扩增实时检测(simultaneous amplification and testing, SAT)和环介导等温扩增法(loop mediated isothermal amplification, LAMP)等。SAT 是基于 RNA 恒温扩增技术发展起来的一项最新核酸

检测技术,是国内自主专利技术。检测结果可作为区分死菌、活菌的依据,因此更利于用药之后疗效的监测,以及对是否治愈进行判断。SAT 整体耗时小于 1.5 h。Cui 等^[130]检测 253 例肺结核标本和 134 例非结核标本中, SAT 检测和 BACTEC™ MGIT™ 960 培养的符合率为 95.6%(370/387)。SAT 对肺结核检测的敏感度、特异度、阳性和阴性预测值分别为 67.6%、100.0%、100.0%和 62.0%。而 BACTEC™ MGIT™ 960 培养的敏感度、特异度、阳性和阴性预测值分别为 61.7%、100.0%、100.0%和 58.0%,认为对于肺结核诊断, SAT 和 BACTEC™ MGIT™ 960 培养是相当的。SAT 和 BACTEC™ MGIT™ 960 检测痰涂阳标本,其敏感度分别为 97.6%和 95.9%,而痰涂阴标本敏感度分别为 39.2%和 30.2%。SAT 检测方法是一种新的高敏感度的简易检测方法,可以提高结核病的诊断率,在临床微生物快速诊断中此法很有前景。沙巍等^[131]收集了 172 例疑似肺结核患者的痰液标本,以 Mtb 培养鉴定结果和荧光 PCR 结果作为判定金标准, SAT 检测的敏感度和特异度分别为 97.8%(89/91)和 97.5%(79/81);以临床诊断为标准, SAT 诊断结核病的敏感度为 58.3%(91/156),特异度为 100.0%(16/16)。对于痰菌阳性肺结核患者, SAT 阳性率为 84.9%(79/93);对于痰菌阴性患者, SAT 的阳性率为 19.0%(12/63)。认为 SAT 可以作为临床对结核病的辅助诊断方法。倪丽丽等^[132]对 230 例临床确诊肺结核患者和 78 例其他呼吸系统疾病患者的痰液进行 SAT 检测,结果显示, SAT 法与 BACTEC™ MGIT™ 960 培养法结果符合率为 86.4%(260/301), SAT 法的阳性检出率显著高于 BACTEC™ MGIT™ 960 培养法、罗氏培养法和涂片法的阳性检出率,认为 SAT 技术用于 Mtb 实验室诊断具有特异度和敏感度高,操作简便、快速,污染率低的特点,有望成为实验室诊断的新方法,是一项很有市场前景的新技术。

LAMP 是一种手工核酸扩增技术。该技术直接扩增临床标本中的 Mtb DNA,扩增在等温条件下进行,不需要扩增仪,肉眼就可以观察结果,整个过程约需 2 h。陈涛等^[133]对 2129 份标本进行了 LAMP 法、直接涂片法、罗氏固体培养法检测,阳性检出率分别为 13.2%(282/2129)、21.7%(463/2129)和 20.3%(432/2129),同罗氏培养法相比, LAMP 法敏感度、特异度、阳性和阴性预测值分别为 89.1%(432/485)、95.5%(1570/1644)、85.4%(432/506)和 96.7%(1570/1623)。浓缩的痰标本实时荧光定量 PCR 阳性率为 35.0%(118/337), LAMP 阳性率为 35.9%(121/337); LAMP 法与直接涂片法、罗氏固体培养法和 Q-PCR 法比较,检测结果实际一致率分别为 87.9%(κ 值 = 0.612)、96.1%(κ 值 = 0.89)和 91.4%(κ 值 = 0.812)。LAMP 法用于痰标本中 Mtb 检测,其效能同罗氏培养法及 Q-PCR 法相当,同直接涂片法相比, LAMP 法能够大幅提高阳性检出率,具有很好的临床应用和推广前景。Bi 等^[134]进行的以 *hspX* 基因为靶标的 LAMP 法检测可准确鉴别出不同的 MTBC 成员及 NTM,最少仅需 10 个拷贝,可在 27 min 内完成,认为 LAMP 法快速、简单、敏感、特异和廉价,有望成为结核病高负担的发展中国家结核病的

诊断方法。

(六) 基因芯片技术

Shi 等^[135]采用基因芯片法对 54 株临床分离菌株进行菌种鉴定及耐药性测定,结果显示,54 株中 44 株为 Mtb,10 株为 NTM。44 株 Mtb 中异烟肼耐药 2 株,利福平耐药 1 株,异烟肼和利福平耐药 1 株。作者认为基因芯片法用于分枝杆菌菌种和耐药性鉴定具有简便、快速、可靠等优点。Kurbatova 等^[101]同时使用 Xpert Mtb/RIF 法和 TB-Biochip 生物芯片法对俄罗斯 2 个耐药结核病高流行地区的 238 份标本进行检测。与培养法相比,Xpert Mtb/RIF 法检测 MTBC 的敏感度和特异度是 95.3%和 86%。与 MGIT 药敏结果相比,TB-Biochip 检测利福平耐药准确率是 98.2%,利福平敏感准确率是 95.5%。与培养法相比,TB-Biochip 检测 MTBC 的敏感度和特异度分别是 97.3%和 78.1%。与 MGIT 药敏结果相比,TB-Biochip 检测利福平耐药准确率是 100.0%,利福平敏感准确率是 94.7%,异烟肼耐药和敏感的准确率分别为 98.2%和 78.6%。结果表明,Xpert Mtb/RIF 法和生物芯片法对鉴定 MTBC 对利福平的耐药时有相似的准确性。

(七) 其他分子生物学方法

焦磷酸测序法无须进行电泳,DNA 片段也无须荧光标记,操作极为简便快速。Engström 等^[136]对 290 株 Mtb 临床分离株的 *rpoB*、*katG*、*embB*、*rrs*、*gyrA* 以及 *inhA* 和 *eis* 启动子区进行焦磷酸测序法检测,与药敏试验相比,焦磷酸测序法检测 MDR 菌株表现出高特异度(100%)和敏感度(94.6%),检测 XDR 菌株的特异度为 99.3%,敏感度为 86.9%。平行检测多个菌株的多位点区,使得焦磷酸测序法检测耐药结核更有吸引力。

Yadav 等^[137]采用高分辨率熔解曲线(HRM)检测了 29 例耐利福平、35 例耐异烟肼及 34 例耐链霉素的耐药基因情况。结果显示,与表型耐药性测定比较 HRM 检测利福平、异烟肼及链霉素耐药基因的敏感度分别为 93.1%、80%和 61.8%;与 DNA 测序相比较,其敏感度则为 93.1%、93.3%和 100.0%。结果表明,HRM 具有高通量、步骤简单、快速、低成本及易于应用等特点,对于结核耐药易感基因检测是一种快速的分子生物学诊断方法。

Papaventsis 等^[138]使用美国 Gen-Probe 公司的转录介导扩增反应即基因探针扩增直接试验(amplified *Mycobacterium tuberculosis* direct test, AMTDT)及涂片、液体培养、罗氏培养检测儿童结核病样本,结果显示,与培养法相比,AMTDT 的敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为 100%、85%、50%和 100%。与培养法相比,其检测肺部样本的敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为 100%、77%、46%和 100%,而检测肺外样本分别为 100%、97.5%、75%和 100%。说明核酸扩增试验是敏感度和特异度更好的 Mtb 快速检测方法,相比传统方法,AMTDT 提高了儿童结核病的检出率。

Hida 等^[139]使用新型全自动的淬灭探针 PCR 方法(gene Cube)检测 73 份培养阳性(MTBC 39 株,MAC 32 株,

混合型 2 株)和 443 份培养阴性的标本,并与培养、COBAS AMPLICOR 检测的结果相比较。gene Cube 检测 MTBC 的敏感度为 85.3%,特异度为 99.8%;检测 MAC 的敏感度为 85.4%,特异度为 99.8%。检测时间由 5 h 进一步缩短为 1 h。

Zhang 等^[140]用 DNA 微阵列方法(CapitalBio™ DNA microarray)检测脊柱结核病变中 Mtb 及其耐药性检测。结果显示,其检测 Mtb 培养阳性样本的敏感度为 93.55%,检测培养阴性样本的敏感度为 45%。检测利福平耐药的敏感度为 88.9%,特异度为 90.7%,而检测异烟肼耐药的敏感度和特异度分别为 80.0%和 91.0%。作者认为,该方法可在 9 h 内检测出样本中的 Mtb 以及直接用于检测利福平和异烟肼的耐药性。

五、内镜介入诊断在结核病中的应用

内镜介入诊断在结核病中的应用已有很长一段历史了,而呼吸内镜用于诊断呼吸系统疾病有 100 多年,最早应用于临床的为硬质支气管镜,随着可弯曲性纤维或电子支气管镜、特殊类型支气管镜及胸腔镜应用于临床,为肺结核、气管支气管结核、纵隔肺门淋巴结核以及胸膜结核等结核病诊断提供了必不可少的帮助,并取得了可喜的进展。

(一) 肺结核

经支气管镜检查可获取活检、刷检及灌洗等标本,进行抗酸杆菌微生物学及相关检测为肺结核尤其是菌阴肺结核的临床诊断提供了帮助。

菌阴肺结核是临床结核病诊断的难题,一方面提高抗酸杆菌检出率,可促进菌阴肺结核的诊断。Chandra 等^[141]选择了影像学提示而痰菌阴性的疑似肺结核患者 533 例,经鼻咽通道应用纤维支气管镜检查,留取支气管肺泡灌洗液、刷片及检查后痰液标本进行抗酸杆菌检查。结果显示,三者联合检测阳性率为 45%,仅支气管镜检查后及时留痰标本阳性率即为 19%。提示:支气管镜检查有助于菌阴肺结核的诊断。Jacomelli 等^[142]选择了临床表现及影像学疑似肺结核的患者 286 例,分别进行支气管镜检查,留取经支气管镜灌洗液、组织活检及镜检后痰液进行涂片查抗酸杆菌、培养检查及病理学检查。结果显示,支气管肺泡灌洗液检测抗酸杆菌诊断肺结核敏感度、特异度分别为 60%、100%,联合活检敏感度为 84%,联合镜检后痰液检查敏感度为 94%。推论:支气管镜检查对于菌阴肺结核的诊断是有效的诊断方法。而国内李峰等^[143]选择了疑似肺结核的菌阴患者 555 例,分别进行支气管镜检查并留取经支气管镜灌洗液标本,进行离心集菌查抗酸杆菌及 Mtb 快速培养(BACTEC™ MGIT™ 960 法)。结果显示,支气管肺泡灌洗液检测抗酸杆菌离心集菌法及快速培养法敏感度分别为 6.67%、21.42%,联合检测敏感度为 22.16%。结论:虽支气管灌洗液检出率较低,但对菌阴肺结核的诊断仍具有一定的诊断价值。结合李峰等采用每次经灌洗管注入 10~20 ml 无菌生理盐水灌洗方法,笔者以为严格来说应是支气管冲洗而非真正支气管肺泡灌洗,这也是检测阳性率低于国外学者的原因。

另一方面,细菌学以外的有关检测指标也有助于肺结核诊断。Boonsarngsuk 等^[144]选择了 286 例患者的抗酸杆菌检查阴性的支气管肺泡灌洗液标本,分别进行 ADA 及聚合酶链反应 Mtb DNA(PCR-Mtb-DNA)检测。结果显示,支气管肺泡灌洗液中 ADA 及 PCR-Mtb-DNA 检测诊断肺结核的敏感度、特异度分别为 58.7%、81.8%及 28.1%、99.0%,两者联合检测敏感度、特异度分别为 71.7%、81.8%。提示:支气管肺泡灌洗液标本 ADA 及 PCR-Mtb-DNA 可作为肺结核诊断的有价值的标志物。Chou 等^[145]对 105 例肺结核疑似患者支气管冲洗或灌洗标本及痰液标本进行直接核酸扩增试验,结果发现,Mtb 直接核酸扩增试验敏感度、特异度分别为 80.0%、97.5%。进一步说明支气管镜标本直接核酸扩增有助于菌阴肺结核的诊断。

(二)气管支气管结核

气管支气管结核的确诊需依赖于支气管镜检查并结合微生物学或病理学证据,支气管镜检查是临床确诊气管支气管结核必不可少的手段。

随着临床上气管支气管结核,尤其是气管结核及中心气道结核合并所属气道狭窄、闭塞及软化等患者的增多,在气管支气管结核的及时正确诊断等方面存在诸多问题,急需建立诊断规范程序,以便结核病学、呼吸病学专业医师及其他医疗卫生机构医师,正确掌握诊断技术,提高气管支气管结核的早期正确诊断,以免气管支气管结核被误诊、漏诊。中华医学会结核病学分会、《中华结核和呼吸杂志》编辑委员会邀请结核病学及呼吸病学专家,共同编写了《气管支气管结核诊断和治疗指南(试行)》^[146](以下简称《指南》)。本《指南》对气管支气管的诊断标准、诊断流程、镜下分型及支气管镜检查适应证等作了进一步规范,重点强调了气管支气管结核的确诊仍依赖于支气管镜检查及细菌学或病理学的证据,并严格介入检查诊断适应证,依据支气管镜下观察到的主要大体改变及组织病理学特征分为炎症浸润型、溃疡坏死型、肉芽增殖型、瘢痕狭窄型、管壁软化型及淋巴结瘘型。本《指南》为气管支气管结核临床正确诊断制定了标准,为介入治疗措施的正确选择奠定了基础。

国外支气管结核临床分型与我国现有分型有所差异,目前仍分为充血水肿型、肉芽肿型、黏膜肥厚型、干酪坏死型、纤维狭窄型及非特异性炎症型。为了解临床支气管结核常见类型及哪种类型临床抗酸杆菌检出率较高,Ozkaya 等^[147]回顾了 2003—2009 年间经支气管镜组织活检确诊为支气管结核的患者 23 例,分析发现,充血水肿型占 34.7%、肉芽肿型占 21.7%、黏膜肥厚型占 17.3%、干酪坏死型占 17.3%、纤维狭窄型占 4.3%及非特异性炎症型占 4.3%;尽管所有患者痰涂片抗酸杆菌阴性,但支气管灌洗液抗酸杆菌阳性率为 26.0%、培养阳性率为 39.1%;黏膜肥厚型、干酪坏死型、肉芽肿型、充血水肿型、纤维狭窄型及非特异性炎症型支气管结核临床类型患者支气管灌洗液抗酸杆菌涂片率分别为 75%、25%、20%、12.5%、0%、0%,Mtb 培养阳性率分别为 75%、50%、40%、25%、0%、0%。提示:充血水肿型是临床常见类型,黏膜肥厚型支气管灌洗液涂片查抗酸杆菌

及 Mtb 培养均有较高阳性率,疑似支气管结核患者应尽早进行支气管镜检查。

气管支气管结核合并气道狭窄是临床上常见问题,也是治疗面临的难题。为探讨基质金属蛋白酶-1(MMP-1)基因 1G/2G 多态性在支气管结核人群中的分布及其与支气管结核狭窄的关系,梁莉等^[148]采用 DNA 测序方法,对 114 例支气管结核患者和 110 例单纯肺结核患者进行 MMP-1 基因 1G/2G 多态性的基因分析,比较基因型分布和支气管结核组织浸润和治疗后狭窄指标的关系。结果显示,MMP-1 基因 1G/2G 多态的 1G/1G、1G/2G 和 2G/2G 基因型在支气管结核患者中的分布频率分别为 44.7%、38.6%、16.7%;1G/2G 多态性基因型分布与支气管结核治疗后支气管狭窄显著相关($P=0.003$);与 2G/2G 纯合子基因型相比,携带 1G 等位基因的支气管结核患者治疗后发生支气管狭窄情况更严重($P<0.005$);1G/2G 基因型分布与支气管结核患者的年龄、性别、支气管结核分型无明显相关。从而得出结论:MMP-1 基因 1G/2G 多态性与治疗后支气管结核的狭窄性有关,携带 1G 等位基因可能是支气管结核治疗后支气管狭窄的危险因素。

(三)纵隔及肺门淋巴结结核

支气管内镜超声引导下经支气管针吸活检术(endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration, EBUS-TBNA)是一项集超声、支气管镜以及针吸活检相结合的新技术,使超声在胸部疾病的应用从体表扩大到肺内,将支气管镜探查范围延伸至气道壁外,可以用于探查纵隔、肺门、气管支气管周围肿大淋巴结及占位性病变,并经超声引导进行穿刺。EBUS-TBNA 最初是用来对肺癌进行淋巴结分期的,2007 年 EBUS-TBNA 被美国国立综合癌症网络(NCCN)和美国胸科医师学会(ACCP)肺癌指南推荐为肺癌术前评估的重要工具。近年来,EBUS-TBNA 的用途不断扩大。纵隔及肺门淋巴结结核的诊断一直是困扰广大临床医生的难题。既往主要靠影像学诊断,往往容易误诊,纵隔镜创伤大、并发症多,患者不易接受。EBUS-TBNA 以其操作技术简单、微创、定位准确、敏感度和特异度高及可重复性强的优势,其在诊断纵隔及肺门淋巴结结核的价值也日益受到重视。

Gurioli 等^[149]选择肺门或纵隔淋巴结肿大患者 96 例,分别进行 EBUS-TBNA。结果显示,EBUS-TBNA 诊断淋巴结肿大的敏感度、特异度分别为 92.4%、100.0%,其中 3 例诊断为淋巴结结核。推论:诊断肺门或纵隔淋巴结肿大,EBUS-TBNA 是安全有效的方法。裴迎华等^[150]评估了 EBUS-TBNA 在诊断纵隔及肺门病变中的应用及其安全性。结果显示,21 例患者均顺利完成 EBUS 检查,无并发症发生,20 例患者穿刺活检阳性。统计穿刺阳性率为 95.2%(20/21),诊断阳性率为 66.7%(14/21)。作者认为,EBUS-TBNA 是诊断纵隔及肺门病变一项有效的检查技术,安全性高,可在临床上推广应用。罗广裕等^[151]评价支气管内超声引导下的经支气管针吸活检术对纵隔及肺门肿大淋巴结的诊断价值。结果显示,132 例患者共穿刺 171 个淋巴结,其

中经EBUS-TBNA诊断为肺癌85例、转移癌3例、食管癌纵隔淋巴结转移4例、淋巴结核4例、结节病1例、淋巴结炎26例、假阴性9例,诊断率为93.2%,敏感度为91.5%,特异度为100.0%,阳性预测值为100.0%,阴性预测值为74.3%。全部患者无严重并发症发生。蒋延文等^[152]研究增强CT联合超声内镜引导下经EBUS-TBNA明确诊断的纵隔淋巴结结核患者的临床及影像学特点,对10例肺门纵隔病变为主的患者行EBUS-TBNA检查,分析其临床特点及影像学特点。结果显示,9例明确纵隔淋巴结结核诊断,1例诊断为结节病。纵隔淋巴结结核好发部位为4R区、7区及2R区淋巴结,增强CT扫描常表现为不均匀强化、环形强化。认为纵隔淋巴结结核临床及影像学表现有其特点,增强CT结合EBUS-TBNA有助于该病的诊断。赵辉等^[153]总结了73例不伴肺内异常的单纯纵隔病变患者的EBUS-TBNA的结果,EBUS-TBNA在单纯纵隔病变良恶性诊断和鉴别诊断方面的敏感度、特异度和准确度分别为95.8%(23/24)、100.0%(49/49)和98.6%(72/73)。通过EBUS-TBNA检查,10例纵隔淋巴结结核患者获得了确诊。所有患者检查耐受良好,无任何相关并发症发生。认为对于单纯纵隔病变,EBUS-TBNA是一种安全、有效的诊断及鉴别诊断方法。Sentürk等^[154]对34例纵隔肉芽肿性淋巴结炎患者进行EBUS-TBNA检查,并对标本进行了TB-PCR检测,其中13例诊断为纵隔淋巴结结核,7例纵隔淋巴结病变穿刺标本TB-PCR结果阳性,结核病患者EBUS-TBNA标本进行TB-PCR的敏感度为54%,特异度为100%。作者认为,对于纵隔肉芽肿性淋巴结炎,EBUS-TBNA标本进行TB-PCR检测有助于纵隔淋巴结结核的诊断。Tournoy等^[155]对既往数篇EBUS-TBNA对胸内淋巴结结核的诊断进行分析后认为,EBUS-TBNA对纵隔淋巴结结核诊断的敏感度为94%,如为阴性,则可排除结核性淋巴结炎。

以上结果表明,EBUS-TBNA是诊断纵隔及肺门淋巴结结核安全、有效的方法,值得推广应用。

(四)胸膜结核

近几年来,半硬质胸腔镜(又称“内科胸腔镜”)在胸膜疾病临床诊断中发挥越来越重要的作用。为比较外科胸腔镜及内科胸腔镜在结核性胸膜炎诊断中应用的价值,Khan等^[156]对27例和39例胸膜病变患者分别应用硬质胸腔镜、半硬质胸腔镜进行胸膜活检术,胸膜活检组织病理学诊断的阳性率分别为96.3%、92.3%,差异无统计学意义(95%CI:-0.11~0.17),提示:在胸膜疾病诊断方面内科胸腔镜与外科胸腔镜临床价值相同,内科胸腔镜更具有优势。陈力舟等^[157]先利用内科胸腔镜对121例胸膜腔积液患者进行了胸膜活检,经组织病理学确诊病理中30例为恶性胸腔积液患者、50例为结核性胸腔积液患者,然后又对组织病理学阳性的80例患者经内科胸腔镜所获得的胸腔积液分别进行蛋白指纹图谱检测。结果显示,恶性胸腔积液及结核性胸腔积液两组间有7个差异蛋白峰(分别为5335、8048、11700、11670、15982、11683、7700 m/z),依据蛋白峰值表达情况,以5335、8048 m/z用于建立结核性胸腔积液诊断模型,诊断

恶性胸腔积液阳性率达16.7%(5/30),诊断结核性胸腔积液阳性率为52.0%(26/50),两组差异有显著统计学意义($\chi^2=9.86, P<0.01$),倾向于判定结核性胸腔积液;其敏感度为52.0%(26/50),特异度为83.3%(25/30)。结论:内科胸腔镜对胸腔积液具有鉴别诊断价值,胸腔积液蛋白指纹图谱检测是鉴别结核性与恶性胸腔积液特异性标志物的有效手段之一。

参加编写人员 200433 同济大学附属上海市肺科医院(唐神结、胡忠义、居金良、张青、沙巍、范琳、刘一典、崔振玲、郝晓晖、姚岚、毕爱笑);首都医科大学附属北京胸科医院(李琦、张宗德、李亮、谢汝明、丁卫民、陈效友、陆宇、秦世炳、杜凤娇、戚建树、李多);山东省胸科医院(侯代伦、金锋、张旭);解放军第三〇九医院(张广宇、陈志、袁小东);长春市传染病医院(闫世明、赵云虹);广州市胸科医院(谭守勇、胡族琼);沈阳市胸科医院(邢勇、孙炳奇);武汉市结核病防治所(王卫华);复旦大学附属上海市公共卫生临床中心(卢水华、宋言崢);中南大学湘雅医院(罗百灵、谢旺);安徽省铜陵市第二人民医院(朱友生);杭州市红十字会医院(蔡青山)

志谢 感谢中国防痨协会及《中国防痨杂志》编委会的大力支持,更感谢许绍发副理事长和刘志敏主任委员对编撰工作的关心、支持与鼓励!感谢安徽省铜陵市第二人民医院朱友生教授、上海市肺科医院方园园和张占军医生所做的大量文字校对与修订工作,以及张青、陈曦、陈梓、段琼红、周利君等医生所做的文献整理和翻译工作!对上海仁度生物科技有限公司的大力支持表示诚挚的谢意!

参 考 文 献

- [1] 宋红焕, 季明, 唐国锋, 等. 液基夹层杯技术用于基层实验室结核菌诊断的可行性研究. 中国防痨杂志, 2012, 34(7): 441-444.
- [2] Mitarai S, Karinaga R, Yamada H, et al. TRICORE, a novel bead-based specimen concentration method for the culturing of *Mycobacterium tuberculosis*. J Microbiol Methods, 2012, 90(3):152-155.
- [3] Zhao D, Yang XM, Chen QY, et al. A modified acid-fast staining method for rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis*. J Microbiol Methods, 2012, 91(1):128-132.
- [4] Joshi P, Singh M, Bhargava A, et al. Autofluorescence-an important ancillary technique for the detection of *Mycobacterium tuberculosis*: Revisited. Diagn Cytopathol, 2012, 41(4): 330-334.
- [5] Cui Z, Wang J, Zhu C, et al. Evaluation of a novel biphasic culture medium for recovery of mycobacteria: a multi-center study. PLoS One, 2012, 7(4):e36331.
- [6] Satti L, Abbasi S, Faiz U. Evaluation of nutrient agar for the culture of *Mycobacterium tuberculosis* using the microcolony detection method. Int J Tuberc Lung Dis, 2012, 16(7): 908-910.
- [7] Peña JA, Ferraro MJ, Hoffman CG, et al. Growth detection failures by the nonradiometric Bactec MGIT 960 mycobacterial culture system. J Clin Microbiol, 2012, 50(6):2092-2095.
- [8] Tyrrell FC, Budnick GE, Elliott T, et al. Probability of negative *Mycobacterium tuberculosis* complex cultures based on time to detection of positive cultures: a multicenter evaluation of commercial-broth-based culture systems. J Clin Microbiol, 2012, 50(10):3275-3282.
- [9] Roberts SA, Lowe O, Pandey S, et al. Comparison of the

- MGIT TBc immunochromatographic assay with the Accuprobe Gen-Probe TB assay for identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex: results from a low-burden tuberculosis setting. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2012, 74(4):415-416.
- [10] Bonkat G, Bachmann A, Solokhina A, et al. Growth of mycobacteria in urine determined by isothermal microcalorimetry; implications for urogenital tuberculosis and other mycobacterial infections. *Urology*, 2012, 80(5):1163.
- [11] Soo PC, Kung CJ, Horng YT, et al. Detonation nanodiamonds for rapid detection of clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* complex in broth culture media. *Anal Chem*, 2012, 84(18):7972-7978.
- [12] Horne DJ, Pinto LM, Arentz M, et al. Diagnostic accuracy and reproducibility of WHO-endorsed phenotypic drug susceptibility testing methods for first-line and second-line antituberculosis drugs. *J Clin Microbiol*, 2013, 51(2):393-401.
- [13] Zhao LL, Xia Q, Lin N, et al. Evaluation of BACTEC MGIT 960 system for the second-line drugs susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* in China. *J Microbiol Methods*, 2012, 91(1):212-214.
- [14] 蒋俊, 张娟, 张红, 等. MGIT 960 系统行二线抗结核药物敏感性试验的实用性评价. *中国防痨杂志*, 2012, 34(8):527-531.
- [15] Zhao Y, Xu S, Wang L, et al. National survey of drug-resistant tuberculosis in China. *N Engl J Med*, 2012, 366(23):2161-2170.
- [16] Rasslan O, Hafez SF, Hashem M, et al. Microscopic observation drug susceptibility assay in the diagnosis of multidrug-resistant tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2012, 16(7):941-946.
- [17] Dang TM, Nguyen TN, Wolbers M, et al. Evaluation of microscopic observation drug susceptibility assay for diagnosis of multidrug-resistant tuberculosis in Viet Nam. *BMC Infect Dis*, 2012, 12:49.
- [18] 黄自坤, 方乐, 姜碧霞, 等. 显微镜观察药物敏感度检测技术在肺外结核诊断中的应用. *中华传染病杂志*, 2012, 30(7):411-415.
- [19] Hemvani N, Patidar V, Chitnis DS. A simple and economical in-house phage technique for the rapid detection of rifampin, isoniazid, ethambutol, streptomycin, and ciprofloxacin drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*, directly on decontaminated sputum samples. *Int J Infect Dis*, 2012, 16(5):e332-336.
- [20] Hemvani N, Patidar V, Chitnis DS, et al. In-house, simple & economical phage technique for rapid detection of rifampicin, isoniazid, ethambutol, streptomycin & ciprofloxacin drug resistance using *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *Indian J Med Res*, 2012, 135(5):783-787.
- [21] Mansur Mde F, Carvalho Wda S, Silva RB, et al. Evaluation of the nitrate reductase assay for the rapid detection of resistance to first-line medications in *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated from patients in a general hospital. *J Bras Pneumol*, 2012, 38(2):210-213.
- [22] Coban AY, Uzun M, Akgunes A, et al. Comparative evaluation of the microplate nitrate reductase assay and the rezasurin microtitre assay for the rapid detection of multidrug resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2012, 107(5):578-581.
- [23] Adikaram CP, Perera J, Wijesundera SS. The manual mycobacteria growth indicator tube and the nitrate reductase assay for the rapid detection of rifampicin resistance of *M. Tuberculosis* in low resource settings. *BMC Infect Dis*, 2012, 12:326.
- [24] López-Roa P, Ruiz-Serrano MJ, Alcalá L, et al. Susceptibility testing to second-line drugs and ethambutol by GenoType MTBDRsl and Bactec MGIT 960 comparing with agar proportion method. *Tuberculosis (Edinb)*, 2012, 92(5):417-421.
- [25] Satti L, Ikram A, Coban AY, et al. Rapid direct testing of susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to isoniazid and rifampin on nutrient and blood agar in resource-starved settings. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(5):1659-1662.
- [26] 高丽, 肖和平, 胡忠义, 等. 耐多药结核分枝杆菌对利福布汀和利福平的交叉耐药性分析. *中华结核和呼吸杂志*, 2012, 35(5):333-335.
- [27] Nam KJ, Jeong YJ, Kim YD, et al. Chronic destructive pulmonary tuberculosis; assessment of disease activity by computed tomography. *Acta Radiol*, 2012, 53(9):1014-1019.
- [28] Yoon JY, Lee IJ, Im HJ, et al. CT findings in apical versus basal involvement of pulmonary tuberculosis. *Diagn Interv Radiol*, 2013, 19(2):85-90.
- [29] 陈智慧, 冯贞贞, 司徒敏婷, 等. 肺结核的不典型 CT 征像分析. *实用医学影像杂志*, 2012, 13(1):26-28.
- [30] Hongfei D, Xuerui H, Jing W, et al. *Mycobacterium abscessus* lung disease in a patient with previous pulmonary tuberculosis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2012, 43(4):959-963.
- [31] 姜聪明. 右肺中叶支扩在非结核分枝杆菌肺病 CT 诊断的应用. *中国医疗前沿*, 2012, 7(15):51.
- [32] 袁小东, 敖国昆, 全昌斌, 等. 肺双重血供的 CT 灌注技术及其应用于肺结核的初步研究. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2011, 5(20):5913-5918.
- [33] 荣城. 尘肺合并肺结核的 X 线及 CT 诊断回顾性分析. *江西医药*, 2012, 47(1):71.
- [34] 赖化平, 林韬, 陈江莉, 等. 矽肺并发症的影像学特点分析. *白求恩医学院学报*, 2012, 10(2):114-115.
- [35] 吕岩, 谢汝明, 周新华, 等. 肺结核与肺癌并存的 CT 影像研究. *中华放射学杂志*, 2013, 47(1):8-12.
- [36] 谢春英. 老年肺结核合并肺癌的 CT 表现及临床误诊分析. *中国老年学杂志*, 2012, 32(5):1057-1058.
- [37] Akinbami A, Balogun B, Balogun M, et al. Chest X-ray findings in HIV-infected Highly Active Antiretroviral Treatment (HAART)-naïve patients. *Pan Afr Med J*, 2012, 12:78.
- [38] Kisebo HN, Boon SD, Davis JL, et al. Chest radiographic findings of pulmonary tuberculosis in severely immunocompromised patients with the human immunodeficiency virus. *Br J Radiol*, 2012, 85(1014):e130-139.
- [39] Padyana M, Bhat RV, Dinesha M, et al. HIV-tuberculosis: a study of chest X-ray patterns in relation to CD4 count. *N Am J Med Sci*, 2012, 4(5):221-225.
- [40] Zhang YZ, Li HJ, Cheng JL, et al. Computed tomographic demonstrations of HIV seropositive pulmonary tuberculosis and their relationship with CD4⁺ T-lymphocyte count. *Chin Med J (Engl)*, 2011, 124(5):693-698.
- [41] 邓启明, 邱维加, 张培平, 等. 扩散加权成像鉴别肺部良性病变的价值. *中国 CT 和 MRI 杂志*, 2012, 10(1):35-37.
- [42] 蔡春仙, 赵世胜, 林丽萍, 等. 磁共振 STIR-EPI 序列在肺良恶性结节鉴别诊断中的应用. *实用医学影像杂志*, 2011, 12(6):358-361.
- [43] Satheke M, Maes A, D'Asseler Y, et al. Tuberculous lymphadenitis; FDG PET and CT findings in responsive and non-responsive disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2012, 39(7):1184-1190.
- [44] 杨根东, 陆普选, 肖勇, 等. 孤立性肺结核球的 18F-FDG PET/CT 影像学表现. *放射学实践*, 2011, 26(9):934-937.
- [45] Martínez V, Castilla-Lievre MA, Guillet-Caruba C, et al. (18) F-FDG PET/CT in tuberculosis; an early non-invasive marker of therapeutic response. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2012, 16(9):1180-1185.
- [46] Botha H, Ackerman C, Candy S, et al. Reliability and diagnostic performance of CT imaging criteria in the diagnosis of tuberculous meningitis. *PLoS One*, 2012, 7(6):e38982.
- [47] Kalita J, Prasad S, Maurya PK, et al. MR angiography in tuberculous meningitis. *Acta Radiol*, 2012, 53(3):324-329.
- [48] von Bezings H, Andronikou S, van Toorn R, et al. Are linear measurements and computerized volumetric ratios determined

- from axial MRI useful for diagnosing hydrocephalus in children with tuberculous meningitis? *Childs Nerv Syst*, 2012, 28(1): 79-85.
- [49] Singh B, Garg RK, Singh MK, et al. Computed tomography angiography in patients with tuberculous meningitis. *J Infect*, 2012, 64(6): 565-572.
- [50] 刘桂超, 高硕, 蔡莉, 等. 肺外结核 39 例临床表现与 18F-氟脱氧葡萄糖正电子发射计算机断层成像-CT 的特点分析. *中华结核和呼吸杂志*, 2012, 35(3): 184-188.
- [51] 邱大胜, 胡晓燕, 彭辽河, 等. 肺外结核 18F-FDG-PET/CT 误诊分析. *临床放射学杂志*, 2012, 31(11): 1567-1571.
- [52] 吕岩, 赵泽钢, 周震, 等. 56 例结核性腹膜炎患者 CT 影像分析. *中国防痨杂志*, 2012, 34(4): 220-223.
- [53] 李水婷, 江魁明. 囊肿型卵巢结核伴结核性盆腔炎 CT 表现 1 例. *中国医学影像技术*, 2012, 28(5): 1023.
- [54] 张昊凌, 施裕新, 钱隽, 等. 靶向 CT 对比剂在结核急性感染动物模型中的初步观察. *中华放射学杂志*, 2012, 46(12): 1132-1137.
- [55] Lee CN, Wang YM, Lai WF, et al. Super-paramagnetic iron oxide nanoparticles for use in extrapulmonary tuberculosis diagnosis. *Clin Microbiol Infect*, 2012, 18(6): E149-157.
- [56] Rose MV, Kimaro G, Kroidl I, et al. Evaluation of QuantiFERON microtube, using 0.9 ml blood, for diagnosing tuberculosis infection. *Eur Respir J*, 2013, 41(4): 909-916.
- [57] Riazi S, Zeligs B, Yeager H, et al. Rapid diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children using interferon-gamma release assays (IGRAs). *Allergy Asthma Proc*, 2012, 33(3): 217-226.
- [58] Machingaidze S, Wiysonge CS, Gonzalez-Angulo Y, et al. The utility of an interferon gamma release assay for diagnosis of latent tuberculosis infection and disease in children; a systematic review and meta-analysis. *Pediatr Infect Dis J*, 2011, 30(8): 694-700.
- [59] 李红, 唐神结, 史祥, 等. 全血 γ -干扰素释放试验对涂阴肺结核诊断价值的研究. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2012, 6(16): 4894-4897.
- [60] 陶学芳, 王华钧, 王建华, 等. T 细胞斑点试验在肺结核诊断和疗效评价中的意义. *中华临床感染病杂志*, 2012, 5(4): 221-224.
- [61] 曾谊, 冯泉, 宋梅梅, 等. 酶联免疫斑点试验在菌阴肺结核诊断中的价值. *中国防痨杂志*, 2012, 34(2): 100-102.
- [62] 张立华, 靳文香, 贾红彦, 等. T-SPOT 与结核菌素试验对结核患者的临床诊断价值. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2012, 6(14): 4107-4108.
- [63] Delogu G, Zumbo A, Fadda G. Microbiological and immunological diagnosis of tuberculous spondylodiscitis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2012, Suppl 2: 73-78.
- [64] Turtle L, Kemp T, Davies GR, et al. In routine UK hospital practice T-SPOT. TB is useful in some patients with a modest pre-test probability of active tuberculosis. *Eur J Intern Med*, 2012, 23(4): 363-367.
- [65] Gao Y, Ou Q, Huang F, et al. Improved diagnostic power by combined interferon-gamma release assay and nested-PCR in tuberculous pleurisy in high tuberculosis prevalence area. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2012, 66(3): 393-398.
- [66] Park KH, Cho OH, Lee EM, et al. T-cell-based assays on cerebrospinal fluid and PBMCs for rapid diagnosis of TB meningitis in non-HIV patients. *Eur Respir J*, 2012, 39(3): 768-770.
- [67] Saleh MA, Hammad E, Ramadan MM, et al. Use of adenosine deaminase measurements and QuantiFERON in the rapid diagnosis of tuberculous peritonitis. *J Med Microbiol*, 2012, 61(Pt 4): 514-519.
- [68] Hsu DC, Zaunders JJ, Plit M, et al. A novel assay detecting recall response to *Mycobacterium tuberculosis*: comparison with existing assays. *Tuberculosis (Edinb)*, 2012, 92(4): 321-327.
- [69] Jones GJ, Whelan A, Clifford D, et al. Improved skin test for differential diagnosis of bovine tuberculosis by the addition of Rv3020c-derived peptides. *Clin Vaccine Immunol*, 2012, 19(4): 620-622.
- [70] 沈颖, 陆国华, 姚航平. ESAT-6/CFP-10 融合蛋白的抗原性分析及其对诊断结核临床应用价值. *中华医院感染学杂志*, 2012, 22(7): 1531-1534.
- [71] Li X, Xu H, Jiang S, et al. TB-SA antibody test for diagnosis and monitoring treatment outcome of sputum smear negative pulmonary tuberculosis patients. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2011, 42(5): 1147-1153.
- [72] Zhang MM, Zhao JW, Sun ZQ, et al. Identification of RD5-encoded *Mycobacterium tuberculosis* proteins as B-cell antigens used for serodiagnosis of tuberculosis. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012: 738043.
- [73] Sutherland JS, Garba D, Fombah AE, et al. Highly accurate diagnosis of pleural tuberculosis by immunological analysis of the pleural effusion. *PLoS One*, 2012, 7(1): e30324.
- [74] Wankhade G, Majumdar A, Kamble PD, et al. Multi-antigen and antibody assays (SEVA TB ELISA) for the diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Indian J Tuberc*, 2012, 59(2): 78-82.
- [75] Sundararajan S, Babu S, Das SD. Comparison of localized versus systemic levels of Matrix metalloproteinases (MMPs), its tissue inhibitors (TIMPs) and cytokines in tuberculous and non-tuberculous pleuritis patients. *Hum Immunol*, 2012, 73(10): 985-991.
- [76] Kohmo S, Kijima T, Mori M, et al. CXCL12 as a biological marker for the diagnosis of tuberculous pleurisy. *Tuberculosis (Edinb)*, 2012, 92(3): 248-252.
- [77] Jurado JO, Pasquinelli V, Alvarez IB, et al. IL-17 and IFN- γ expression in lymphocytes from patients with active tuberculosis correlates with the severity of the disease. *J Leukoc Biol*, 2012, 91(6): 991-1002.
- [78] Vanini V, Petruccioli E, Gioia C, et al. IP-10 is an additional marker for tuberculosis (TB) detection in HIV-infected persons in a low-TB endemic country. *J Infect*, 2012, 65(1): 49-59.
- [79] Goletti D, Raja A, Syed Ahamed Kabear B, et al. Is IP-10 an accurate marker for detecting *M. tuberculosis*-specific response in HIV-infected persons? *PLoS One*, 2010, 5(9): e12577.
- [80] Sarkar S, Tang XL, Das D, et al. A bispecific antibody based assay shows potential for detecting tuberculosis in resource constrained laboratory settings. *PLoS One*, 2012, 7(2): e32340.
- [81] Welch RJ, Lawless KM, Litwin CM. Antituberculosis IgG antibodies as a marker of active *Mycobacterium tuberculosis* disease. *Clin Vaccine Immunol*, 2012, 19(4): 522-526.
- [82] Xu JN, Chen JP, Chen DL. Serodiagnosis efficacy and immunogenicity of the fusion protein of *Mycobacterium tuberculosis* composed of the 10-kilodalton culture filtrate protein, ESAT-6, and the extracellular domain fragment of PPE68. *Clin Vaccine Immunol*, 2012, 19(4): 536-544.
- [83] Peter JG, Cashmore TJ, Meldau R, et al. Diagnostic accuracy of induced sputum LAM ELISA for tuberculosis diagnosis in sputum-scarce patients. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2012, 16(8): 1108-1112.
- [84] 阳幼荣, 吴雪琼, 赵卫国, 等. 三种结核分枝杆菌重组蛋白抗原血清学诊断价值的研究. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2012, 6(2): 382-384.
- [85] Haldar S, Sankhyan N, Sharma N, et al. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* GlcB or HspX Antigens or devR DNA impacts the rapid diagnosis of tuberculous meningitis in children. *PLoS One*, 2012, 7(9): e44630.
- [86] Song TJ, Choi YC, Lee KY, et al. Serum and cerebrospinal fluid neuron-specific enolase for diagnosis of tuberculous meningitis. *Yonsei Med J*, 2012, 53(6): 1068-1072.
- [87] Hristea A, Olaru ID, Baicus C, et al. Clinical prediction rule

- for differentiating tuberculous from viral meningitis. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2012, 16(6): 793-798.
- [88] Suzuki Y, Suda T, Asada K, et al. Serum indoleamine 2,3-dioxygenase activity predicts prognosis of pulmonary tuberculosis. *Clin Vaccine Immunol*, 2012, 19(3): 436-442.
- [89] Weyer K, Mirzayev F, Migliori G, et al. Rapid molecular TB diagnosis: evidence, policy-making and global implementation of Xpert(R) MTB/RIF. *Eur Respir J*, 2012, Nov 22.
- [90] WHO. Policy statement: Xpert MTB/RIF system[DB/OL]. Geneva: WHO, 2011[2013-01-20]. http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241501545_eng.pdf.
- [91] WHO. Rapid implementation of the Xpert MTB/RIF diagnostic test[DB/OL]. Geneva: WHO, 2011(2011-05-03)[2013-01-25]. http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241501569_eng.pdf.
- [92] WHO. Checklist of prerequisites to country implementation of Xpert MTB/RIF and key action points at country level[DB/OL]. Geneva: WHO, 2011[2013-01-25]. http://whqlibdoc.who.int/hq/2011/WHO_HTM_TB_2011.12_eng.pdf.
- [93] Carriquiry G, Otero L, González-Lagos E, et al. A diagnostic accuracy study of Xpert® MTB/RIF in HIV-positive patients with high clinical suspicion of pulmonary tuberculosis in Lima, Peru. *PLoS One*, 2012, 7(9): e44626.
- [94] Dorman SE, Chihota VN, Lewis JJ, et al. Performance characteristics of the Cepheid Xpert MTB/RIF test in a tuberculosis prevalence survey. *PLoS One*, 2012, 7(8): e43307.
- [95] O'Grady J, Bates M, Chilukutu L, et al. Evaluation of the Xpert MTB/RIF assay at a tertiary care referral hospital in a setting where tuberculosis and HIV infection are highly endemic. *Clin Infect Dis*, 2012, 55(9): 1171-1178.
- [96] Kim SY, Kim H, Kim SY, et al. The Xpert® MTB/RIF assay evaluation in South Korea, a country with an intermediate tuberculosis burden. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2012, 16(11): 1471-1476.
- [97] Chang K, Lu W, Wang J, et al. Rapid and effective diagnosis of tuberculosis and rifampicin resistance with Xpert MTB/RIF assay: a meta-analysis. *J Infect*, 2012, 64(6): 580-588.
- [98] Barnard M, Gey van Pittius NC, van Helden PD, et al. The diagnostic performance of the GenoType MTBDRplus version 2 line probe assay is equivalent to that of the Xpert MTB/RIF assay. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(11): 3712-3716.
- [99] Yoon C, Cattamanchi A, Davis JL, et al. Impact of Xpert MTB/RIF testing on tuberculosis management and outcomes in hospitalized patients in Uganda. *PLoS One*, 2012, 7(11): e48599.
- [100] Balcells ME, García P, Chanqueo L, et al. Rapid molecular detection of pulmonary tuberculosis in HIV-infected patients in Santiago, Chile. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2012, 16(10): 1349-1353.
- [101] Kurbatova EV, Kaminski DA, Erokhin VV, et al. Performance of Cepheid(®) Xpert MTB/RIF (®) and TB-Biochip (®) MDR in two regions of Russia with a high prevalence of drug-resistant tuberculosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2013, 32(6): 735-743.
- [102] van Zyl-Smit RN, Binder A, Meldau R, et al. Comparison of quantitative techniques including Xpert MTB/RIF to evaluate mycobacterial burden. *PLoS One*, 2011, 6(12): e28815.
- [103] Al-Ateah SM, Al-Dowaidi MM, El-Khizzi NA. Evaluation of direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory and non-respiratory clinical specimens using the Cepheid Gene Xpert® system. *Saudi Med J*, 2012, 33(10): 1100-1105.
- [104] Moure R, Martín R, Alcaide F. Effectiveness of an integrated real-time PCR method for detection of the *Mycobacterium tuberculosis* complex in smear-negative extrapulmonary samples in an area of low tuberculosis prevalence. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(2): 513-515.
- [105] Peter JG, Theron G, Muchinga TE, et al. The diagnostic accuracy of urine-based Xpert MTB/RIF in HIV-infected hospitalized patients who are smear-negative or sputum scarce. *PLoS One*, 2012, 7(7): e39966.
- [106] Rachow A, Clowes P, Saathoff E, et al. Increased and expedited case detection by Xpert MTB/RIF assay in childhood tuberculosis; a prospective cohort study. *Clin Infect Dis*, 2012, 54(10): 1388-1396.
- [107] Zar HJ, Workman L, Isaacs W, et al. Rapid molecular diagnosis of pulmonary tuberculosis in children using nasopharyngeal specimens. *Clin Infect Dis*, 2012, 55(8): 1088-1095.
- [108] Meyer-Rath G, Schnippel K, Long L, et al. The impact and cost of scaling up GeneXpert MTB/RIF in South Africa. *PLoS One*, 2012, 7(5): e36966.
- [109] Menzies NA, Cohen T, Lin HH, et al. Population health impact and cost-effectiveness of tuberculosis diagnosis with Xpert MTB/RIF: a dynamic simulation and economic evaluation. *PLoS Med*, 2012, 9(11): e1001347.
- [110] Pantoja A, Fitzpatrick C, Vassall A, et al. Xpert MTB/RIF for diagnosis of TB and drug-resistant TB: a cost and affordability analysis. *Eur Respir J*, 2012, Dec 20.
- [111] Lacoma A, García-Sierra N, Prat C, et al. GenoType MTBDRsl for molecular detection of second-line-drug and ethambutol resistance in *Mycobacterium tuberculosis* strains and clinical samples. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(1): 30-36.
- [112] Said HM, Kock MM, Ismail NA, et al. Evaluation of the GenoType® MTBDRsl assay for susceptibility testing of second-line anti-tuberculosis drugs. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2012, 16(1): 104-109.
- [113] Ignatyeva O, Kontsevaya I, Kovalyov A, et al. Detection of resistance to second-line antituberculosis drugs by use of the genotype MTBDRsl assay: a multicenter evaluation and feasibility study. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(5): 1593-1597.
- [114] Chryssanthou E, Angeby K. The GenoType® MTBDRplus assay for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* in Sweden. *APMIS*, 2012, 120(5): 405-409.
- [115] Jin J, Zhang Y, Fan X, et al. Evaluation of the GenoType® MTBDR plus assay and identification of a rare mutation for improving MDR-TB detection. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2012, 16(4): 521-526.
- [116] Seoudi N, Mitchell SL, Brown TJ, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampicin drug resistance: retrospective analysis of a national U. K. molecular service over the last decade. *Thorax*, 2012, 67(4): 361-367.
- [117] Mitarai S, Kato S, Ogata H, et al. Comprehensive multicenter evaluation of a new line probe assay kit for identification of *Mycobacterium* species and detection of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(3): 884-890.
- [118] Kulkarni S, Singh P, Memon A, et al. An in-house multiplex PCR test for the detection of *Mycobacterium tuberculosis*, its validation & comparison with a single target TB-PCR kit. *Indian J Med Res*, 2012, 135(5): 788-794.
- [119] Sharma SK, Sethi S, Sharma M, et al. Development and evaluation of a multiplex polymerase chain reaction for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* from pulmonary specimens. *Scand J Infect Dis*, 2012, 44(10): 739-744.
- [120] Pérez-Osorio AC, Boyle DS, Ingham ZK, et al. Rapid identification of mycobacteria and drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* by use of a single multiplex PCR and DNA sequencing. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(2): 326-336.
- [121] Vadwai V, Shetty A, Rodrigues C. Multiplex allele specific PCR for rapid detection of extensively drug resistant tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*, 2012, 92(3): 236-242.
- [122] Chia BS, Lanzas F, Rifat D, et al. Use of multiplex allele-specific polymerase chain reaction (MAS-PCR) to detect multidrug-resistant tuberculosis in Panama. *PLoS One*, 2012,

- 7(7):e40456.
- [123] Nasr Esfahani B, Rezaei Yazdi H, Moghim S, et al. Rapid and accurate identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex and common non-tuberculous mycobacteria by multiplex real-time PCR targeting different housekeeping genes. *Curr Microbiol*, 2012, 65(5):493-499.
- [124] Reddington K, Zumla A, Bates M, et al. SeekTB, a two-stage multiplex real-time-PCR-based method for differentiation of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(7):2203-2206.
- [125] Chia JH, Wu TL, Su LH, et al. Direct identification of mycobacteria from smear-positive sputum samples using an improved multiplex polymerase chain reaction assay. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2012, 72(4):340-349.
- [126] Zhao LL, Xia Q, Lin N, et al. Multiplex allele-specific PCR combined with PCR-RFLP analysis for rapid detection of *gyrA* gene fluoroquinolone resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Microbiol Methods*, 2012, 88(1):175-178.
- [127] Darban-Sarokhalil D, Imani Fooladi AA, Maleknejad P, et al. Comparison of smear microscopy, culture, and real-time PCR for quantitative detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical respiratory specimens. *Scand J Infect Dis*, 2013, 45(4):250-255.
- [128] Pholwat S, Ehdaie B, Foongladda S, et al. Real-time PCR using mycobacteriophage DNA for rapid phenotypic drug susceptibility results for *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(3):754-761.
- [129] Seagar AL, Neish B, Laurensen IF. Comparison of two in-house real-time PCR assays with MTB Q-PCR Alert and GenoType MTBDRplus for the rapid detection of mycobacteria in clinical specimens. *J Med Microbiol*, 2012, 61(Pt 10):1459-1464.
- [130] Cui Z, Wang Y, Fang L, et al. Novel real-time simultaneous amplification and testing method to accurately and rapidly detect *Mycobacterium tuberculosis* complex. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(3):646-650.
- [131] 沙巍, 何娅, 蒋瑞华, 等. 实时荧光核酸恒温放大检测(SAT)法对肺结核诊断价值的研究. *中国防痨杂志*, 2012, 34(6):377-379.
- [132] 倪丽丽, 罗柳林, 景玲杰, 等. 恒温扩增实时荧光检测技术在肺结核诊断中的临床价值. *中华检验医学杂志*, 2012, 35(8):702-705.
- [133] 陈涛, 周琳, 周杰, 等. 环介导等温扩增法快速检测结核分枝杆菌的临床应用评估. *中国防痨杂志*, 2012, 34(7):413-418.
- [134] Bi A, Nakajima C, Fukushima Y, et al. A rapid loop-mediated isothermal amplification assay targeting *hspX* for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Jpn J Infect Dis*, 2012, 65(3):247-251.
- [135] Shi XC, Liu XQ, Xie XL, et al. Gene chip array for differentiation of mycobacterial species and detection of drug resistance. *Chin Med J (Engl)*, 2012, 125(18):3292-3297.
- [136] Engström A, Morcillo N, Imperiale B, et al. Detection of first- and second-line drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates by pyrosequencing. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(6):2026-2033.
- [137] Yadav R, Sethi S, Mewara A, et al. Rapid detection of rifampicin, isoniazid and streptomycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates by high-resolution melting curve analysis. *J Appl Microbiol*, 2012, 113(4):856-862.
- [138] Papaventsis D, Ioannidis P, Karabela S, et al. Impact of the Gen-Probe Amplified MTD® Test on tuberculosis diagnosis in children. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2012, 16(3):384-390.
- [139] Hida Y, Hisada K, Shimada A, et al. Rapid detection of the *Mycobacterium tuberculosis* complex by use of quenching probe PCR (geneCube). *J Clin Microbiol*, 2012, 50(11):3604-3608.
- [140] Zhang Z, Li L, Luo F, et al. Rapid and accurate detection of RMP- and INH-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in spinal tuberculosis specimens by CapitalBio™ DNA microarray: a prospective validation study. *BMC Infect Dis*, 2012, 12:303.
- [141] Chandra TJ, Dash S, Srinivas G, et al. A study on rapid confirmation of pulmonary tuberculosis in smear-negative acid fast bacilli cases by using fiberoptic bronchoscopy, done through a trans oro pharyngeal spacer. *J Family Community Med*, 2012, 19(1):43-46.
- [142] Jacomelli M, Silva PR, Rodrigues AJ, et al. Bronchoscopy for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in patients with negative sputum smear microscopy results. *J Bras Pneumol*, 2012, 38(2):167-173.
- [143] 李峰, 可春梅, 付津平, 等. 支气管肺泡灌洗液检测对诊断痰涂片阴性肺结核的效果评价. *中国防痨杂志*, 2012, 34(4):261-263.
- [144] Boonsangskul V, Suwannaphong S, Laohavich C. Combination of adenosine deaminase activity and polymerase chain reaction in bronchoalveolar lavage fluid in the diagnosis of smear-negative active pulmonary tuberculosis. *Int J Infect Dis*, 2012, 16(9):e663-668.
- [145] Chou PC, Wang CH, Huang CD, et al. Nucleic acid amplification test and bronchoscopy improve the diagnostic accuracy of smear-negative tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2012, 16(12):1674-1679.
- [146] 中华医学会结核病学会, 《中华结核和呼吸杂志》编辑委员会. 气管支气管结核诊断和治疗指南(试行). *中华结核和呼吸杂志*, 2012, 35(8):581-587.
- [147] Ozkaya S, Bilgin S, Findik S, et al. Endobronchial tuberculosis; histopathological subsets and microbiological results. *Multidiscip Respir Med*, 2012, 22, 7(1):34.
- [148] 梁莉, 乐军, 刘丽蓉, 等. MMP-1 基因 1G/2G 多态性在支气管结核狭窄中的作用. *中华医院感染学杂志*, 2012, 22(11):2261-2264.
- [149] Gurioli C, Ravaglia C, Romagnoli M, et al. EBUS-TBNA in mediastinal/hilar lymphadenopathies and/or masses an Italian case series. *Clin Respir J*, 2012, 6(1):3-8.
- [150] 裴迎华, 张杰, 王娟, 等. 超声支气管镜引导下支气管镜活检对纵隔及肺门病变诊断的应用. *中华医学超声杂志(电子版)*, 2012, 9(9):827-831.
- [151] 罗广裕, 单宏波, 赖仁纯, 等. 支气管内超声引导下经支气管镜活检术对纵隔及肺门肿大淋巴结的诊断价值. *中国超声医学杂志*, 2012, (12):1078-1081.
- [152] 蒋延文, 田庆, 马迎民, 等. EBUS-TBNA 明确诊断纵隔结核的 CT 影像学表现. *军医进修学院学报*, 2012, 33(6):610-612, 641.
- [153] 赵辉, 王俊, 周足力, 等. 支气管内超声引导针吸活检术在单纯纵隔病变诊断中的应用价值. *北京大学学报(医学版)*, 2012, 44(1):147-150.
- [154] Sentürk A, Hezer H, Karalezli A, et al. Importance of polymerase chain reaction in patients with histopathological diagnosis of granulomatous disease by EBUS-TBNA: a preliminary report. *Tuberk Toraks*, 2012, 60(4):355-364.
- [155] Tournoy K. Tuberculosis through the rose tinted spectacles of the EBUS endoscopist; be aware of the bias. *Thorax*, 2012, 67(7):650.
- [156] Khan MA, Ambalavanan S, Thomson D, et al. A comparison of the diagnostic yield of rigid and semirigid thoroscopes. *J Bronchology Interv Pulmonol*, 2012, 19(2):98-101.
- [157] 陈力舟, 王岗玲, 王鸿翔, 等. 胸腔镜与蛋白指纹图谱技术在胸腔积液诊断中的应用. *中国防痨杂志*, 2012, 34(12):825-829.

(收稿日期:2013-04-01)

(本文编辑:郭萌)