

• 综 述 •

潜伏性结核感染的诊断进展*

吴思涵¹,殷 敏¹,秦明明¹,张俊丽¹综述,张莺莺^{2△}审校

(1. 皖南医学院影像与检验学院,安徽芜湖 241001;2. 皖南医学院第一附属医院检验科,安徽芜湖 241001)

关键词:潜伏性结核感染; 感染性疾病; 呼吸系统疾病; 结核诊断
DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 24. 037 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2015)24-3596-04

据世界卫生组织预测,全球约有 1/3 人口,即 20 亿人为结核病潜伏性感染者;中国 2000 年第四次全国结核病流行病学抽样调查结果表明,全年龄组结核菌素皮肤试验(TST)阳性率为 44. 5%(以硬结直径大于或等于 6 mm 为标准),而有新研究通过与 γ -干扰素释放试验(IGRA)方法的对照表明 TST 试验高估了中国高达 44. 5%的潜伏性结核感染历史数据^[1],基于 QuantiFERON-TB Gold In-Tube(QFT)得出的总体感染率为 18. 8%。如果不采取有效的预防和治疗措施,其中有 5%~10%的人有可能发展为活动性结核病,尤其在人体免疫力下降或罹患其他疾病时。因此,面对如此庞大的受累人群发现合适的潜伏性结核感染(LTBI)的诊疗方法则是控制结核疫情的关键。

TST 是 LTBI 的传统检测方法,但特异性较低。近年来,检测结核特异性抗原刺激的 γ 干扰素释放试验(QFT、T-SPOT. TB 等)得到发展和使用。尽管不断有新的检测方法出现,但目前仍缺乏 LTBI 的诊断金标准。临床应合理评估并正确使用目前有价值的诊断方法,联合规则推荐用药,从而加速消灭结核分枝杆菌的进程。

众所周知,结核病作为全球病死率最高的疾病之一,2012 年全球预计有 860 万例新发感染、130 万例死亡。同时,约 20 亿潜伏感染或无症状感染者存在,使结核病例存在持续上升的风险,成为全球关注的焦点^[2]。

1 LTBI 的感染现状

结核分枝杆菌通过活动性结核感染患者呼吸的带菌飞沫传播,大约有 10%在吸入后会发展为活动性肺结核(ATB),且接触后前两年的发病风险最高^[3]。免疫力低下的人群活化风险更高,包括 HIV 患者^[4]。剩余 90%接触者因结核分枝杆菌在体内处于休眠状态,成为无症状的 LTBI^[5]。活动性与潜伏

性感染的主要区别如表 1 所示。

2 LTBI 的诊断方法

2.1 TST 一个世纪以来,TST 是 LTBI 的唯一筛查方法。现行 TST 多采用纯蛋白衍生物(PPD)进行试验,故也称为 PPD 皮肤试验。取 0. 1 mL 结核分枝杆菌 PPD 注射于前臂掌侧皮下发生迟发型超敏反应,约在 48~72 h 内^[8],局部出现红肿硬节的阳性或阴性反应。对于定期进行 TST 检测的人群(例如医务工作者),初次 PPD 试验为阴性或弱阳性第二次检测可能会出现“增强效应”^[9],因定期 TST 检测使免疫系统有识别结核分枝杆菌的能力,这种“增强效应”提示有既往感染^[5,9]。

虽然 TST 费用低,但皮下注射和结果判断需要有经验的临床医生完成,且患者必须在 48~72 小时内回到医院判读结果。而且该检测方法特异性低,有卡介苗(BCG)疫苗接种或非结核接触者易出现假阳性^[10],在特殊人群中敏感性较差,如 HIV 感染、全身性感染、慢性肾脏疾病、胃肠道外科手术、两个月内活疫苗接种、营养不良或服用免疫抑制剂的人群中易造成假阴性^[7]。

2.2 IGRAs IGRA 试验通过检测 γ -干扰素对结核分枝杆菌特异性抗原的免疫反应性^[11],弥补了 TST 的不足。疾病预防控制中心(CDC)2007 年批准 QuantiFERON-TB Gold In-Tube(QFT)评价对结核特异性抗原(CFP-10, ESAT-6, TB7. 7)的反应性^[12]。2008 年 T-SPOT. TB 开始发展,即取 5 mL 外周血分离外周血单核细胞(PBMC),利用酶联免疫斑点法检测分泌干扰素的淋巴细胞数量^[13]。QFT 和 T-SPOT. TB 检测结果在 24 h 内有定性和定量分析价值^[12]。TST 和 IGRA 作为 LTBI 的诊断方法主要不同点如表 2 所示。

表 1 ATB 与 LTBI 的主要区别

项目	ATB	LTBI
2012 年全球感染人数 ^[2]	860 万/年,死亡 130 万	20 亿
中国感染人数 ^[6]	100 万	6 亿
临床表现 ^[2]	取决于基础病,但通常症状有持续,咳嗽超过 2 周、发热、盗汗、不明原因体重下降、易疲劳、呼吸困难、咯血、胸痛、胸膜痛	无明显症状
胸部 X 线检查 ^[2,7]	一般有异常表现,取决于基础病,但通常可表现:首次(新近)感染:中叶或下叶有渗出、单侧肺门淋巴结肿大、空洞形成;二次感染:上叶渗出或空洞;愈合感染:肺门或上叶有密集结节,伴或不伴可见性钙化。	正常表现

* 基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(81301497);安徽省自然基金青年科学基金项目(1408085QH148);安徽省级大学生创新创业训练计划项目(AH201310368085)。 作者简介:吴思涵,女,本科,主要从事临床免疫与微生物学检验研究。 △ 通讯作者,Email:ying-micky@163. com。

表 2 TST 和 IGRA 作为 LTBI 的诊断方法主要不同点

特点	TST	IGRA
方法 ^[12]	在皮下注射 0.1 mLPPD,48~72 h 后测量硬结直径	3~5 mL PBMC 标本,24 h 后观测
敏感性 ^[14]	75%~90%(免疫抑制人群中下降)	78%~92%
特异性 ^[14]	70%~95%(BCG 疫苗和非结核分枝杆菌感染)	93%~98%
优点 ^[15]	没有严格实验室要求和过高费用,可获得结果,无需再次回访	结果解释客观,体外实验 24~48 h
缺点 ^[14]	结果解释的主观性,需再次回访	可能费用更高,有实验室要求,2 岁以下儿童不适用

BCG:卡介苗; IFN:干扰素; NTM:非结核分枝杆菌; PPD:纯蛋白衍生物。

表 3 主要诊断和治疗方法的分类推荐强度

临床推荐	推荐度
首次结果阴性和需要基础评估的人需 2 步 TST 测试程序 ^[9]	C
5 岁以下儿童的结核诊断 TST 优于 IGRA	B
BCG 接种和免疫抑制状态的成年人	A
对难以研究人群给予 IGRA 推动 LTBI 的诊断和管理	A
HIV 患者、肝脏疾病患者、孕妇或者产妇应该检测肝脏基础酶水平,基础检查结果异常的患者在 LTBI 治疗期间要例行临床监测	B
每天异烟肼规则用药 9 个月是 LTBI 成人和儿童的必选方案	A
12 剂异烟肼联合 RPT 用药 3 个月效果相同,但比每天服用异烟肼 9 个月显示出更好的服从性 ^[28-29]	A

推荐分级:A=有以患者为导向的有力证据,B=以患者为导向的证据有限,C=以疾病为导向的证据、共识惯例或以诊断治疗预防筛查研究为目的病例。

表 4 特定人群 LTBI 检测

目录	人群	描述
高暴露或结核感染者 ^[7]	密切接触	儿童,青少年,与高风险人群密切接触的成年人
	集体生活状态	疗养院的员工或长期定居、管教所、收容所
	流动人口	从结核高负担地区移居而来(5 年内)
LTBI 活化高危进程 ^[7]	结核感染历史	在近两年内感染 LTBI 之前接受受 ATB 治疗或治疗无效,在 LTBI 治疗开始阶段有没有出现 ATB 症状
	年龄	小于 4 岁的儿童
	用药	违禁药物的使用
	免疫抑制	营养不良、外科干预(胃肠道手术)、免疫抑制药物(α-肿瘤坏死因子拮抗剂、糖皮质激素)、免疫抑制状态(HIV 感染、慢性肾衰竭、糖尿病、肿瘤)

3 结核检测的诊断建议

在目前临床实践和诊断建议中,IGRA 比 TST 更有优势^[7,16-17]。因为 IGRA 有对结核分枝杆菌靶向性的特异抗原,与非结核分枝杆菌和 BCG 疫苗菌株没有交叉反应^[7,16]、能在 24 h 内提供结果、且没有免疫“增强效应”^[18],使试验过程易于管理和控制。

IGRA 检测方法可在不同的临床病例上使用,如成年人、包括 BCG 疫苗接种或有免疫抑制状态^[17,19]、在 TST 检测阳性或难以研究人群^[20]、五岁以下疑为 LTBI 患儿都可考虑,无论是来自结核高发地区还是有确切的结核患者密切接触史人群^[21]。此外,应复查有免疫抑制状态的疑似 LTBI 儿童。

对于临床出现的处于临界值区间的定性或定量结果,需结合临床表现进行分析^[22]。若 IGRA 产生不确定或弱阳性结果,应对检测者进行追踪和复查^[12]。

4 现有结核诊断方法的不足与发展方向

LTBI 的最终确诊目前没有诊断金标准,也没有影像学图像或血清标记物可直接诊断^[23],需根据临床症状和其他相关检查结果逐案分析^[14]。而且,现有的 IGRA 和 TST 方法无法区分新近感染和既往感染^[24]。

结核检测方法的未来研究目标应放在高危人群 LTBI 检测准确性上。首先,因为机体的免疫反应是 IGRA 方法的关键,有免疫抑制状态的人群,如自身免疫病、肾衰竭、器官移植患者等,易导致试验假阴性,应研发更为严谨的检测手段^[25]。其次,在检测 5 岁以下儿童感染状况时,TST 比 IGRA 更为有效,因为儿童可能产生各种免疫反应,而两种诊断方法的敏感性都有待提高^[20]。最后,应对临床诊疗参考区间的制定继续考量,并尝试制定能够区分潜伏感染和现症感染的折点,从而降低感染者数量,尤其是参与 LTBI 预防及治疗的医务工作者

人群^[26]。现有主要诊断和治疗方法的分类推荐强度如表 3。

5 小 结

准确诊断有高风险转化为活动性结核的 LTBI 患者,规范使用推荐药物治疗可降低结核发病、流行和病死率^[2]。LTBI 的流行和活化过程中常出现很多其他状况,如合并 HIV 感染、免疫力下降、药物滥用、多重耐药等^[3]。对于发展为 ATB 高风险人群而言,IGRA 可以作为一种重要的检测手段,包括接种过 BCG 人群^[20]。通过有效筛查,使需要治疗的 LTBI 患者逐年减少。特定人群的 LTBI 检测如表 4 所示。

在过去的 40 年中,结核病的药物治疗成果有限,而防止 LTBI 活化新策略的出现,则对结核病的预防和控制有极为重要的意义^[27-30]。随着基于 LTBI 病原学的诊断方法和药物联合在过去的 40 年中,结核病的药物治疗成果有限,而防止 LTBI 活化新策略的出现,则对结核病的预防和控制有极为重要的意义^[30]。随着基于 LTBI 病原学的诊断方法和药物联合治疗发展,LTBI 的传播、预防,减少其对社会健康的影响,成为结核病全球控制的关键。通过结核活化高危人群的筛查、LTBI 的化疗,加上高效的诊断方法、宣传教育等,可以加强患者对 LTBI 的了解和对药物治疗依从性,从而最终使全球 LTBI 得到有效的控制。

参考文献

[1] Gao L, Lu W, Bai L, et al. Latent tuberculosis infection in rural China; baseline results of a population-based, multicentre, prospective cohort study[J]. *Lancet Infect Dis*, 2015, 15(3): 310-319.

[2] Zu mLa A, Raviglione M, Hafner R, et al. Tuberculosis[J]. *N Engl J Med*, 2013, 36(8): 745-755.

[3] Millet JP, Moreno A, Fina L, et al. Factors that influence current tuberculosis epidemiology[J]. *Eur Spine J*, 2013, 22(4): 539-548.

[4] Gordin FM, Masur H. Current approaches to tuberculosis in the United States[J]. *JAMA*, 2012, 308(3): 283-289.

[5] Barker RD. Clinical tuberculosis[J]. *Medicine*, 2008, 36(11): 300-305.

[6] Word Health Organization. Global tuberculosis report 2013[R]. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2013.

[7] ATS. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. Joint statement of the American Thoracic Society and the Centers for Disease Control and Prevention, July[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 161(4): 1376-1395.

[8] Campos-Outcalt D. Tuberculosis; old problem, new concerns[J]. *J Fam Pract*, 2003, 52(5): 792-798.

[9] Trajman A, Steffen RE, Menzies D. Interferon-gamma release assays versus tuberculin skin testing for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an overview of the evidence[J]. *Pulm Med*, 2013, 20(3): 601737.

[10] Hwang LY, Grimes CZ, Beasley RP, et al. Latent tuberculosis infections in hard-to-reach drug using population-detection, prevention and control[J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2009, 89(1): 41-45.

[11] Abubakar I, Stagg HR, Whitworth H, et al. How should I interpret an interferon gamma release assay result for tuberculosis infection[J]. *Thorax*, 2013, 68(4): 298-301.

[12] Pollock L, Roy RB, Kampmann B. How to use; interferon gamma release assays for tuberculosis[J]. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*, 2013, 98(3): 99-105.

[13] Lalvani A. Diagnosing tuberculosis infection in the 21st century;

new tools to tackle an old enemy[J]. *Chest*, 2007, 131(6): 1898-1906.

[14] Pai M, Kalantri S, Dheda K. New tools and emerging technologies for the diagnosis of tuberculosis; Part I. Latent tuberculosis[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2006, 6(3): 413-422.

[15] Linas BP, Wong AY, Freedberg KA. Priorities for screening and treatment of latent tuberculosis infection in the United States[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 184(5): 590-601.

[16] Winthrop KL, Weinblatt ME, Daley CL. You can't always get what you want, but if you try sometimes (with two tests-TST and IGRA-for tuberculosis) you get what you need[J]. *Ann Rheum Dis*, 2012, 71(4): 1757-1760.

[17] Diel R, Goletti D, Ferrara G, et al. Interferon-gamma release assays for the diagnosis of latent Mycobacterium tuberculosis infection: a systematic review and meta-analysis[J]. *Eur Res J*, 2011, 37(1): 88-99.

[18] Pinto LM, Grenier J, Schumacher SG, et al. Immunodiagnosis of tuberculosis: state of the art[J]. *Med Princ Pract*, 2012, 21(1): 4-13.

[19] Grant J, Jastrzebski J, Johnston J, et al. Interferongamma release assays are a better tuberculosis screening test for hemodialysis patients: a study and review of the literature[J]. *Can J Infect Dis Med Microbiol*, 2012, 23(6): 114-116.

[20] Mazurek GH, Jereb J, Vernon A, et al. IGRA expert committee, centers for disease control and prevention[J]. *Updated Guidelines*, 2010, 58(5): 1-25.

[21] Starke JR. Interferon-gamma release assays for the diagnosis of tuberculosis infection in children[J]. *J Ped*, 2012, 161(4): 581-582.

[22] Ringshausen FC, Nienhaus A, Costa JT, et al. Within-Subject variability of mycobacterium tuberculosis-Specific gamma interferon responses in German health care workers[J]. *Clin Vacc Imm*, 2011, 18(7): 1176-1182.

[23] Takenami I, Loureiro C, Machado AJ, et al. Blood cells and interferongamma levels correlation in latent tuberculosis infection[J]. *ISRN Pulmonol*, 2013, 13(1): 256148.

[24] Sridhar S, Pollock K, Lalvani A. Redefining latent tuberculosis[J]. *Future Microbiol*, 2011, 6(9): 1021-1035.

[25] Smith R, Cattamanchi A, Steingart KR, et al. Interferon-gamma release assays for diagnosis of latent tuberculosis infection: evidence in immune-mediated inflammatory disorders[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2011, 23(3): 377-384.

[26] Nienhaus A, Ringshausen FC, Costa JT, et al. IF-release assay versus tuberculin skin test for monitoring TB infection in health-care workers[J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2013, 11(2): 37-48.

[27] Grant J, Jastrzebski J, Johnston J, et al. Interferon-gamma release assays are a better tuberculosis screening test for hemodialysis patients: A study and review of the literature[J]. *Canadian J Infect Dis Med Microbiol*, 2012, 23(3): 114-116.

[28] Sterling TR, Villarino ME, Borisov AS, et al. TB Trials Consortium prevent TB Study Team. Three months of rifapentine and isoniazid for latent tuberculosis infection[J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(6): 2155-2166.

[29] Sharma SK, Sharma A, Kadiravan TA. Rifamycins (rifampicin, rifabutin and rifapentine) compared to isoniazid for preventing tuberculosis in HIV-negative people at risk of active TB[J]. *Coch*

Dat System Rev, 2013, 10(7): 7545.

(6): 579-585.

[30] Dooley KE, Nuermberger EL, Diacon AH. Pipeline of drugs for related diseases: tuberculosis[J]. Curr Opin HIV AIDS, 2013, 8

(收稿日期: 2015-08-11)

• 综 述 •

阴道正常菌群构成及其影响因素的研究进展

马立艳 综述, 孙 伟 审校

(首都医科大学附属北京友谊医院临床检验中心, 北京 100050)

关键词: 阴道菌群; 菌群构成; 激素水平; 避孕方式

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 24. 038

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)24-3599-03

人体的体表与开放腔道内分布着大量与人体共生的正常菌群, 它们与宿主、环境之间构成了相互制约、相互协调、动态的微生物生态平衡, 不仅有助于人体消化、吸收营养物质、能量供应、脂肪代谢、免疫调节和生物拮抗, 而且在人体抵御致病菌或条件致病菌等方面也发挥着重要的作用。19 世纪晚期, “微生物之父” 安东· 范· 列文虎克在观察牙齿上的生物膜时首次发现了口腔菌群的存在, 从此展开了以细菌培养为基础的传统微生物生态学研究。但是, 由于宿主微生态环境中存在着众多的不可培养细菌, 限制了人们对微生物生态菌群构成与疾病发生发展关系的认识。始于 2007 年的人类基因组计划将现代分子生物学技术引入人体微生物生态菌群研究中, 使微生物生态菌群构成及其功能的研究得到了前所未有的突破性进展, 阴道微生物生态研究即为其中之一^[1-3]。本文拟就女性阴道正常菌群构成及其影响因素进行综述, 以期明确阴道菌群在女性生殖道健康中的作用。

1 阴道正常菌群构成

在传统微生物生态研究中, 研究人员通过对阴道分泌物进行细菌培养发现阴道内以乳酸杆菌, 尤其是产过氧化氢的乳酸杆菌, 为优势菌群在阴道黏膜表面形成一道天然屏障, 维持阴道微生物生态环境的稳定。乳酸杆菌占健康妇女阴道全部微生物数量的 75%~95%, 通过定植抗力、生物拮抗、产酸、产过氧化氢(H₂O₂)、刺激机体免疫防御等作用在维持女性阴道“自净”功能方面发挥着重要的作用。雌激素刺激阴道上皮细胞增殖, 产生大量糖原, 乳酸杆菌分解糖原生成乳酸和其他有机酸, 使阴道 pH 降至 3.7~4.5, 维持阴道内特征性酸性环境。过氧化氢的产生可抑制厌氧菌和阴道加德纳菌等潜在致病菌的生长, 有效避免阴道菌群失调。研究表明, 乳酸杆菌在预防细菌性阴道病(BV)、获得性免疫缺陷病毒(HIV)感染中发挥着重要的作用。但是, 单纯依赖传统培养方法一方面高估了乳酸杆菌在阴道菌群中的地位, 另一方面却低估了苛养菌在阴道菌群中的分布。随着分子生物学技术在微生物研究中的广泛应用, 研究人员意识到并非所有的乳酸杆菌都是阴道微生物屏障的有益成分, 不同种类的乳酸杆菌在妇女生殖健康中发挥着不同的作用。

1892 年, Albert Doderlein 从健康妊娠妇女阴道内首次培养分离到一种产生乳酸的革兰阳性菌, 在体内和体外均可抑制致病菌的生长。直到 1928 年, Stanley Thomas 才通过生化反应将其命名为嗜酸乳杆菌。但是, 研究人员在之后的工作中发

现收集的嗜酸乳杆菌存在高度异质性, 不能用生化反应进行区分。直到 1980 年, 借助于分子技术才将该嗜酸乳杆菌复合体按照核酸序列不同分为不同的种类, 包括卷曲乳酸杆菌、詹氏乳酸杆菌、加氏乳酸杆菌、约氏乳酸杆菌等。2002 年, 嗜性乳酸杆菌首次从一位健康育龄期妇女的阴道分泌物中分离, 该菌不能在常规使用的 MRS 和 Rogosa 培养基上生长, 只能用哥伦比亚血平板培养或应用分子技术从分泌物中直接检测。与卷曲乳酸杆菌不同, 嗜性乳酸杆菌在健康人和 BV 患者中均可检出, 尤其是在 BV 患者中可大量存在^[4-5]。因此, 推测嗜性乳酸杆菌可能更适于在 pH 升高、多微生物的厌氧环境中生长, 当阴道菌群以嗜性乳酸杆菌为优势菌群时, 更易发生 BV。

基于 16S rDNA 的变性梯度凝胶电泳/温度梯度凝胶电泳(PCR-TGGE/DGGE)、基因克隆文库、末端限制性片段长度多态性分析(T-RFLP)、实时定量 PCR、基因芯片和荧光原位杂交(FISH)等分子生物学技术为阴道菌群的研究展开了新篇章^[6-9]。目前, 应用分子技术已从阴道分泌物中鉴定出 20 多种乳酸杆菌。研究证实, 正常阴道菌群并非由多种乳酸杆菌共同构成, 而是以卷曲乳酸杆菌、嗜性乳酸杆菌、詹氏乳酸杆菌和加氏乳酸杆菌中的 1~2 种为主^[10-12]。在一项对瑞典健康育龄期妇女阴道乳酸杆菌的研究中, 18/23 妇女阴道菌群以 1 种乳酸杆菌(包括卷曲乳酸杆菌、嗜性乳酸杆菌、詹氏乳酸杆菌或加氏乳酸杆菌)为优势菌, 5/23 妇女阴道内定植 2 种乳酸杆菌。研究表明, 阴道卷曲乳酸杆菌可以竞争性排斥其他细菌在阴道内的定植^[13]。

不同种乳酸杆菌产过氧化氢的能力也不相同, 产过氧化氢乳酸杆菌数量减少与细菌性阴道病和阴道感染性疾病的发生密切相关。在日本健康妇女阴道中, 卷曲乳酸杆菌和加氏乳酸杆菌的检出率分别为 52.7% 和 20.8%, 未检测到詹氏乳酸杆菌。该研究中, 100% 卷曲乳酸杆菌产过氧化氢, 是产过氧化氢能力最强的乳酸杆菌, 而 41% 加氏乳酸杆菌产过氧化氢试验强阳性, 59% 加氏乳酸杆菌产过氧化氢试验弱阳性。有研究者检测卷曲乳酸杆菌的检出率为 32%, 加氏乳酸杆菌的检出率为 23%, 其中, 95% 的卷曲乳酸杆菌和 94% 的加氏乳酸杆菌产过氧化氢。与之相比, 詹氏乳酸杆菌检出率为 5%, 嗜性乳酸杆菌的检出率为 15%, 其中只有 71% 的詹氏乳酸杆菌和 9% 的嗜性乳酸杆菌产过氧化氢。与之相应, 以卷曲乳酸杆菌和加氏乳酸杆菌为优势菌的妇女中细菌性阴道病的发生率分别为