

- bacter baumannii isolates from the United Kingdom and the United States that were associated with repatriated casualties of the Iraq conflict[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(7): 2630-2634.
- [10] 钱小毛, 金海勇. ICU 鲍氏不动杆菌分离株耐药性和氨基糖苷修饰酶基因的研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(18): 2376-2378.
- [11] 朱健铭, 姜如金, 吴康乐, 等. 鲍曼不动杆菌老年人分离株中发现 16S rRNA 甲基化酶基因新亚型[J]. 中国抗生素杂志, 2008, 33(7): 459-462.
- [12] 黄梅, 李荣, 黎金凤. 鲍曼不动杆菌耐药机制的研究进展[J]. 检验医学与临床, 2012, 29(23): 2987-2989.
- [13] Magnet S, Courvalin P, Lambert T. Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* strain BM4454[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2001, 45(12): 3375-3380.
- [14] 黄支密, 糜祖煌, 金辉, 等. 颅脑外伤者痰标本鲍曼不动杆菌多重耐药性及机制研究[J]. 中国抗生素杂志, 2006, 31(9): 540-545.
- [15] Heinemann B, Wisplinghoff H, Edmond M, et al. Comparative activities of ciprofloxacin, clinafloxacin, gatifloxacin, gemifloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, and trovafloxacin against epidemiologically defined *Acinetobacter baumannii* strains[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44(8): 2211-2213.
- [16] 王敏, 石辉芳, 李先平, 等. 多重耐药鲍曼不动杆菌主动外排泵基因 *abeM* 的测定及耐药性分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2010, 5(10): 732-735.
- [17] 董涛, 王睿, 童卫杭, 等. 51 株鲍曼不动杆菌耐药表型及外排蛋白基因表达研究[J]. 中国药房, 2007, 18(13): 979-981.
- [18] Huys G, Cnockaert M, Vaneechoutte M, et al. Distribution of tetracycline resistance genes in genotypically related and unrelated multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains from different European hospitals[J]. Res Microbiol, 2005, 156(3): 348-355.
- [19] Moore IF, Hughes DW, Wright GD. Tigecycline is modified by the flavin-dependent monooxygenase TetX[J]. Biochemistry, 2005, 44(35): 11829-11835.
- [20] 袁瑾懿, 杨帆. 多黏菌素 B 治疗多重耐药病原菌: 要点综述[J]. 中国感染与化疗杂志, 2008, 8(5): 398-400.
- [21] Giamarellou H, Antoniadou A, Kanellakopoulou K. *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health? [J]. Int J Antimicrob Agents, 2008, 32(2): 106-119.
- [22] 王辉, 郭萍, 孙宏莉, 等. 碳青霉烯类耐药的不动杆菌分子流行病学及其泛耐药的分子机制[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(12): 1066-1073.
- [23] Héritier C, Poirer L, Lambert T, et al. Contribution of acquired carbapenem-hydrolyzing oxacillinases to carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(8): 3198-3202.
- [24] Rhomberg PR, Jones RN, Mystic P. Antimicrobial spectrum of activity for meropenem and nine broad spectrum antimicrobials: report from the MYSTIC Program (2002) in North America[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2003, 47(1): 365-372.
- [25] Ikonomidis A, Pournaras S, Maniatis A. Discordance of meropenem versus imipenem activity against *Acinetobacter baumannii*[J]. Int J Antimicrob Agents, 2006, 28(4): 376-377.
- [26] Bou G, Cerveró G, Domínguez MA, et al. Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strain with a carbapenem-hydrolyzing enzyme: high-level carbapenem resistance in *A. baumannii* is not due solely to the presence of beta-lactamases [J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(9): 3299-3305.
- [27] Zeana C, Larson E, Sahni J, et al. The epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: does the community represent a reservoir? [J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2003, 24(4): 275-279.

(收稿日期: 2014-01-14)

• 综 述 •

胰岛素抗体及其临床意义

陈 程 综述, 李双庆[△] 审校

(华西医院全科医学科, 四川成都 610041)

关键词: 糖尿病; 胰岛素治疗; 胰岛素抗体

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 12. 033

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)12-1599-04

在人类使用动物胰岛素治疗糖尿病后不久, 便发现许多与胰岛素抗体(IAA)形成有关的免疫学现象, 如胰岛素抗药性、低血糖及胰岛素过敏等。几乎所有使用胰岛素治疗的患者体内都能检测到 IAA^[1]。使用外源性胰岛素治疗的患者大部分在数周后即可形成 IAA, 停用胰岛素后 1 年 IAA 可消失, 完全消失则至少需要 2 年时间^[2]。本文就外源性胰岛素引起的 IAA 抗体及其临床意义作一综述。

1 影响 IAA 产生的因素

动物胰岛素属于异种蛋白, 与人胰岛素的个别氨基酸存在差异, 使用动物胰岛素治疗会引起糖尿病患者体内 IAA 水平升高^[3-4]。相对动物源性胰岛素而言, 人胰岛素的免疫原性已明显减弱, 显著地减少了由动物胰岛素治疗引起的免疫性并

发症^[5]。经过分子修饰后, 胰岛素类似物与人胰岛素有少数氨基酸不同, 其抗原性以及与人胰岛素受体的结合能力与人胰岛素略有差异, 但与人胰岛素导致 IAA 产生的概率无明显差别^[6]。另外, 胰岛素制剂及纯度、给药途径、年龄、个体差异、糖尿病类型、体内激素水平等都会影响 IAA 的产生^[5-14]。

2 IAA 对临床的影响

2.1 胰岛素抵抗/低血糖 长期接受胰岛素治疗产生的 IAA, 往往会导致胰岛素抵抗或低血糖症。严重的胰岛素抵抗是指持续 2 d 以上, 胰岛素日需求量超过 200 U, 主要表现为高血糖症, 包括酮症酸中毒和高渗性昏迷^[3, 15]。而由 IAA 导致的低血糖症尚未引起足够重视, 故常呈隐性发病, 且病因难寻。胰岛素治疗产生的 IAA 是低亲和力/高容积型, 当大量胰岛素

分子和 IAA 结合时,会引起明显的胰岛素抵抗,引发高血糖症;而当大量胰岛素分子和 IAA 解离时,游离胰岛素迅速增加,引发低血糖症^[16]。夜间低血糖并日间高血糖的病例时有报道,日间胰岛素结合引起胰岛素抵抗和夜间胰岛素解离引起低血糖的原因仍不明,可能与夜间血液酸度增加,促进胰岛素和 IAA 的解离以及夜间禁食有关,还可能和遗传因素有关^[4,16-17]。尽管有研究认为高水平的 IAA 与胰岛素抵抗和低血糖有关,但大样本研究却无法证实 IAA 与其发生率的关系^[1]。所以 IAA 是否能引起胰岛素抵抗和低血糖症还有待进一步研究。

2.2 胰岛素过敏 是指接受胰岛素治疗的患者对胰岛素分子和(或)其添加成分产生的过敏反应,由抗胰岛素 IgE 抗体和胰岛素结合引起。目前,接受胰岛素或胰岛素类似物治疗的患者中胰岛素过敏的发生率约为 2%,其中 1/3 以下的过敏反应与胰岛素制剂中的胰岛素分子相关,其他的则与制剂杂质或添加成分相关^[18]。胰岛素过敏包括局部过敏和全身过敏;其引起的免疫反应包括体液免疫和细胞免疫;病理类型包括 I 型(速发型)、Ⅲ型(免疫复合物型)和Ⅳ型(迟发型)变态反应。大多数胰岛素过敏患者属于 I 型或Ⅳ型变态反应,过敏症状主要局限于皮肤,且有限性,患者往往在继续使用原来胰岛素的过程中症状会缓解或消失;而有全身过敏反应的患者,其血糖往往难以控制,严重的全身性过敏反应甚至可能危及患者生命^[19]。

2.3 脂肪萎缩 胰岛素注射能引起注射部位的脂肪萎缩,通过免疫荧光法能测出注射部位有抗原-抗体复合物异常聚集,这是引起脂肪萎缩的最主要原因,此反应在注射胰岛素第 3~6 个月时最明显。报道称 10%~55%使用纯度不高的动物胰岛素治疗的糖尿病患者会出现脂肪萎缩,现在由于人胰岛素的广泛使用,脂肪萎缩已经很少发生了^[7]。Wang 等^[20]研究表明,组织细胞吞噬胰岛素引起早期脂肪萎缩,胰岛素/IAA 复合物对皮下巨噬细胞的激活可以引发初始的免疫反应。这是目前极少能提供明确证据证实胰岛素参与脂肪萎缩形成的报道。

2.4 淀粉样变 医源性胰岛素注射可引起局部淀粉样变,即在反复注射部位形成的结节状沉淀物,此沉淀物是由 B 折叠的异常蛋白在皮下聚集形成,其组织学特征是由嗜酸性非晶体组织和浆细胞构成,而后者被认为是淀粉样蛋白原^[21]。而 Yumlu 等^[22]发现淀粉样肿块主要组成成分是胰岛素。各种胰岛素注射引起的局部淀粉样变病例时有报道^[23-24]。Kudo-Watanuki 等^[25]还报道了 1 例胰岛素注射引起的淀粉样变并黑棘皮症的病例。这些淀粉样瘤会不规则的释放胰岛素,所以一些人往往患有脆性糖尿病^[26]。

2.5 妊娠 IAA 引起的妊娠相关危险尚不清楚,目前的研究主要报道母体 IAA 与新生儿低血糖和新生儿体质量之间的关系,存在 2 种主要的学说:第 1 种认为,母体 IAA 会干扰胎儿体内胰岛素的作用,造成胎儿代偿性高胰岛素血症,结果引起新生儿低血糖及体质量的增加;第二种认为,胰岛素通过与 IAA 形成复合物转运到胎儿体内,后解离出有生物活性的胰岛素,影响胎儿血糖及体质量。但是研究表明 IAA 与新生儿体质量及新生儿低血糖之间并没有明显关系^[1]。另有研究表明,母体外源性胰岛素抗体传播给胎儿并不会影响新生儿糖尿病的发病率^[27]。

3 IAA 的检测

对使用胰岛素引起的并发症来说,阶梯式的诊断方法对其确诊及后续治疗是很重要的。诊断包括以下几个步骤:

3.1 皮肤试验 皮肤试验是诊断胰岛素过敏的金标准,且能判断过敏反应的类型。皮肤试验包括皮肤点刺试验及皮内试验。一般来说,最初应采用皮肤点刺试验,以防发生严重的反应,若接受该试验的患者在 15 min 内出现皮损则可诊断为 I 型超敏反应。皮内试验比皮肤点刺试验更灵敏,故常用于胰岛素过敏的确诊。若接受该试验的患者在 60 min 内出现皮损则可确诊为 I 型超敏反应,若在 12 h 或 48 h 出现皮损则分别确诊为Ⅲ型或Ⅳ型超敏反应。试验使用组胺(0.01%)和氯化钠(0.9%)分别作为阳性对照和阴性对照,患者接受此试验前应停用组胺类药物至少 3 d^[5,19,28]。

3.2 IAA 定量 外源性胰岛素能引起免疫系统产生 IgG、IgE 以及少量 IgA、IgM 和 IgD 类抗体,其中 IgG 和 IgE 类抗体临床意义较大。通常采用克里斯琴森放射免疫电泳法来测定 IgG 型 IAA 水平,此法测定的正常值小于 0.01 mU/mL;而 IgE 型胰岛素抗体的测定使用 CAP-SYSTEM 法,其正常值小于 0.35 kU/L^[5]。

3.3 时间依赖性结合/解离分析 测定出了 IAA 的量,还需分析胰岛素与 IAA 的结合力以及胰岛素/IAA 复合物解离的时间依赖性,以推测其与临床症状的关系。先用甲基纤维素吸附游离的胰岛素,再以离心的方式将胰岛素/IAA 复合物与游离胰岛素分离,分别计算其量,从而确定与 IAA 结合的胰岛素的初始百分比。随后用同样的方法在不同的时间点(30、60、90、120、240 min)测定,以确定胰岛素/IAA 复合物解离的时间依赖性。如此,可以测定随时间改变胰岛素与 IAA 结合及解离的情况,以证实 IAA 与临床症状的关系以及保证治疗的有效性^[5]。

3.4 IAA 的测定 目前对于 IAA 的测定主要有 2 种方法,即反向线性杂交(RLB)法和 ELISA 法,RLB 法比 ELISA 法敏感性更高,且对于两法测定 IAA 均阳性的患者,RLB 法比 ELISA 法能更好地预测受试者罹患糖尿病的风险,所以目前大多数实验室使用 RLB 测定 IAA 浓度。由于患者体内源性 IAA 比外源性 IAA 浓度低很多,目前还没有确切的方法对内源性 IAA 进行测量,所以还需要进一步改进和验证测量方法,提高其敏感性,以精确测量内源性 IAA 的浓度^[1]。

4 治疗

4.1 停用胰岛素或合并使用口服降糖药 停用胰岛素 2 周到 1 个月 IAA 逐渐减少,1 年后 IAA 可消失,完全消失则至少需要 2 年时间。磺脲类降糖药可刺激 B 细胞产生胰岛素或使抗体与胰岛素结合能力减弱;双胍类降糖药可增强胰岛素的作用,并能促进胰岛素/IAA 复合物解离^[4]。GLP-1 受体激动剂有强大的促胰岛素分泌作用,特别是与磺酰脲类药物联合使用时,是高 IAA 水平糖尿病有效的治疗措施^[21]。

4.2 换用纯度高抗原性低的胰岛素 胰岛素治疗后高 IAA 水平的患者,可以将动物胰岛素或人胰岛素更换为人胰岛素或胰岛素类似物;胰岛素类似物之间的更换也能降低 IAA 水平^[29]。虽然前一种胰岛素治疗产生的 IAA 能与更换后的胰岛素产生交叉反应,但只是部分性的^[15],所以更换胰岛素对高 IAA 水平糖尿病的治疗有一定疗效。

4.3 类固醇和免疫抑制剂 高 IAA 水平的患者,使用大剂量类固醇激素治疗能显著降低血 IAA 水平。应用糖皮质激素的有效率达 75%,2~3 周内胰岛素用量可明显减少,可能糖皮质激素可以抑制 IAA 产生,促进胰岛素抗体免疫复合物解离,或使抗体复合物清除增快^[30]。而免疫抑制剂(如环磷酰胺和霉酚酸酯)能特异性的抑制 T、B 细胞产生,从而减少 IAA 的产生^[31-32]。

4.4 血浆置换 血浆置换能清除患者循环中的抗体、补体、细胞因子、自身抗体、免疫复合物及可溶性黏附因子,故此法对清除胰岛素治疗产生的 IAA 同样有效。高 IAA 水平患者经过血浆置换及免疫抑制治疗后,体内 IAA 水平明显下降,血糖亦得到良好的控制^[33]。

5 小 结

随着胰岛素制剂纯度的提高及人胰岛素的广泛使用,外源性胰岛素导致的 IAA 日趋减少,但严重的并发症甚至会危及患者生命,故正确的诊断及有效的治疗显得尤为重要。通过皮肤试验、IAA 定量、时间依赖性的结合/解离分析等检测明确诊断后,通过综合评估,合理选用口服降糖药、更换胰岛素制剂、使用类固醇激素或免疫抑制剂、进行血浆置换等治疗,多数 IAA 增多能得到有效治疗。

参考文献

- [1] Fineberg SE, Kawabata TT, Finco-Kent DA, et al. Immunological responses to exogenous insulin[J]. *Endocr Rev*, 2007, 28(6): 625-652.
- [2] Ionescu-Tirgoviste C. Insulin resistance-what is myth and what is reality? [J]. *Acta Endocrinologica-Bucharest*, 2011, 7(1): 123-145.
- [3] Oak S, Phan THT, Gilliam LK, et al. Animal insulin therapy induces a biased insulin antibody response that persists for years after introduction of human insulin[J]. *Acta Diabetol*, 2010, 47(2): 131-135.
- [4] Zhao TY, Li F, Xiong ZY. Frequent reoccurrence of hypoglycemia in a type 2 diabetic patient with insulin antibodies[J]. *Mol Diagn Ther*, 2010, 14(4): 237-241.
- [5] Radermecker RP, Renard E, Scheen AJ. Circulating insulin antibodies; influence of continuous subcutaneous or intraperitoneal insulin infusion, and impact on glucose control[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2009, 25(6): 491-501.
- [6] Mianowska B, Szadkowska A, Pietrzak I, et al. Immunogenicity of different brands of human insulin and rapid-acting insulin analogs in insulin-naïve children with type 1 diabetes[J]. *Pediatr Diabetes*, 2011, 12(2): 78-84.
- [7] Kinoshita H, Yasuda M, Nagasawa K, et al. Protamine-containing insulins are strong risk factors, and human insulin analogues are possible risk factors for insulin autoantibody: case-control study [J]. *Endocrinol Studies*, 2013, 3(1): e3.
- [8] Gad S C. Drug safety evaluation[M]. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2009: 312-319.
- [9] Rosenstock J, Cefalu WT, Hollander PA, et al. Safety and efficacy of inhaled human insulin (exubera) during discontinuation and re-administration of therapy in adults with type 2 diabetes: a 3-year randomized controlled trial[J]. *Diabetes Technol Ther*, 2009, 11(11): 697-705.
- [10] Ang E, Lawrence MK, Heilmann CR, et al. Safety and efficacy of AIR inhaled insulin compared with subcutaneous insulin in patients having diabetes and asthma: A 12-month, randomized, non-inferiority trial[J]. *Diabetes Technol Ther*, 2009, 11(S2): S35-44.
- [11] Skyler JS, Hollander PA, Jovanovic L, et al. Safety and efficacy of inhaled human insulin(Exubera) during discontinuation and readministration of therapy in adults with type 1 diabetes: a 3-year randomized controlled trial[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2008, 82(2): 238-246.
- [12] de Galan BE. Can inhaled insulin be used for the treatment of diabetes mellitus? [J]. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res*, 2008, 8(1): 33-42.
- [13] Wong C, Goldstein DR. Impact of aging on antigen presentation cell function of dendritic cells[J]. *Curr Opin Immunol*, 2013, 25(4): 535-541.
- [14] Richer MJ, Lavallee DJ, Shanina IA. Immunomodulation of antigen presenting cells promotes natural regulatory T cells that prevent autoimmune diabetes in NOD mice[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e31153.
- [15] Jaeger C, Winter S, Eckhard M, et al. Binding characteristics and crossreactivity of insulin autoantibodies and insulin antibodies directed to three different insulin molecules [J]. *Acta Diabetol*, 2008, 45(3): 191-194.
- [16] Ishizuka T, Ogawa S, Mori T, et al. Characteristics of the antibodies of two patients who developed daytime hyperglycemia and morning hypoglycemia because of insulin antibodies[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2009, 84(2): e21-e23.
- [17] Itoh A, Saisho Y, Mitsuishi M, et al. Insulin glulisine May ameliorate nocturnal hypoglycemia related to insulin antibody: a case report[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2011, 94(2): e53-e54.
- [18] Ghazavi MK, Johnston GA. Insulin allergy[J]. *Clin Dermatol*, 2011, 29(3): 300-305.
- [19] Heinzerling L, Raile K, Rochlitz H, et al. Insulin allergy: clinical manifestations and management strategies[J]. *Allergy*, 2008, 63(2): 148-155.
- [20] Wang X, Xu XL, Zhao XL, et al. Hypoglycemia due to insulin binding antibodies in a patient with insulin-treated type 2 diabetes and Graves' disease[J]. *Endocrine*, 2013, 43(1): 236-237.
- [21] Yoshida M, Asai M, Miyata M, et al. Combination therapy with liraglutide and sulfonylurea for a type 2 diabetic patient with high titer of anti-insulin antibodies produced by insulin therapy[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2012, 96(3): e55-e56.
- [22] Yumlu S, Barany R, Eriksson M, et al. Localized insulin-derived amyloidosis in patients with diabetes mellitus: a case report[J]. *Hum Pathol*, 2009, 40(11): 1655-1660.
- [23] Sie MP, van der Wiel HE, Smedts FM, et al. Human recombinant insulin and amyloidosis: an unexpected association [J]. *Neth J Med*, 2010, 68(3): 138-140.
- [24] Shikama Y, Kitazawa J, Yagihashi N, et al. Localized amyloidosis at the site of repeated insulin injection in a diabetic patient[J]. *Intern Med*, 2010, 49(5): 397-401.
- [25] Kudo-Watanuki S, Kurihara E, Yamamoto K, et al. Coexistence of insulin-derived amyloidosis and an overlying acanthosis nigricans-like lesion at the site of insulin injection[J]. *Clin Exp Dermatol*, 2013, 38(1): 25-29.
- [26] D'souza A, Theis JD, Vrana JA, et al. Localized insulin-derived amyloidosis: A potential pitfall in the diagnosis of systemic amyloidosis by fat aspirate[J]. *Am J Hematol*, 2012, 87(11): e131-e132.
- [27] Sahin SB, Cetinkalp S, Ozgen AG, et al. The importance of anti-insulin antibody in patients with type 1 diabetes mellitus treated with continuous subcutaneous insulin infusion or multiple daily insulin injections therapy[J]. *Acta Diabetol*, 2010, 47(4): 325-330.
- [28] Jacquier J, Chik CL, Senior PA. A practical, clinical approach to the assessment and management of suspected insulin allergy[J]. *Diabet Med*, 2013, 30(8): 977-985.
- [29] Yanai H, Adachi H, Hamasaki H, et al. The treatment for anti-insulin antibody-mediated immunological insulin resistance [J]. *J Endocrinol Metab*, 2011, 1(5): 234-236.

- [30] Gomez CJ, Jabbar M, Saini N, et al. Severe hypoglycemia secondary to methimazole-induced insulin autoimmune syndrome in a 16 year old African-American male[J]. *Pediatr Diabetes*, 2012, 13(8):652-655.
- [31] Qing Y, Zhou JG, Yuan G. Systemic lupus erythematosus presenting as hypoglycaemia with insulin receptor antibodies and insulin autoantibodies[J]. *Lupus*, 2009, 18(5):457-459.
- [32] Segal T, Webb EA, Viner R, et al. Severe insulin resistance secondary to insulin antibodies; successful treatment with the immunosuppressant MMF[J]. *Pediatr Diabetes*, 2008, 9(3, 1): 250-254.
- [33] Greenfield JR, Tuthill A, Soos MA, et al. Severe insulin resistance due to anti-insulin antibodies; response to plasma exchange and immunosuppressive therapy[J]. *Diabet Med*, 2009, 26(1):79-82.
- (收稿日期:2014-02-18)
- 综 述 •

儿童结核病的实验室检测进展

郭 倩 综述, 朱朝敏[△] 审校
(重庆医科大学附属儿童医院感染消化科, 重庆 400014)

关键词: 儿童; 结核分枝杆菌; 实验室检测
DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 12. 034 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2014)12-1602-03

在新诊结核病患者中, 儿童患者占有较高比例, 且多数生活在亚洲和非洲^[1-2], 儿童结核病临床表现多样, 使儿童结核病的诊断十分困难。而早期诊断和治疗, 对儿童结核病的预后有着重要的意义, 所以, 人们一直在努力探索新的实验室检测方法用来快速、准确、方便地检测结核分枝杆菌。本文就结核分枝杆菌的细菌学检测、结核菌素皮肤试验(TST)、 γ 干扰素释放试验(IGRA)、分子生物学检测的研究进展作一综述。

1 细菌学检测

抗酸染色镜检法和结核菌培养法是最传统的检测方法, 但仍然是诊断结核病的金标准。由于儿童痰液标本难以收集、儿童结核病相对于成人排菌量低等原因, 儿童结核病的结核分枝杆菌检出率低。幼儿往往不能自行咳出痰液, 常将痰液咽下, 所以采用清晨空腹抽取胃液作为标本, 对于疑诊肺结核患儿, 应连续取样 3 d 以提高检出率^[3-4]。临床上还可用脑脊液、浆膜腔积液等体液本来检测结核分枝杆菌^[5], 同时也用多种方法来获取含菌标本, 其中, 诱导痰(IS)用于儿童痰液标本的取材比较方便, 研究证实诱导痰方法用于儿童是安全有效的, 甚至 1 月龄的婴儿, 相比清晨胃液可以提高 4. 3% 的检出率^[6-7]。纤维支气管镜在诊断儿童肺结核上的价值存在争议, 曾有报道显示纤支镜灌洗液的培养阳性率低于连续 3 d 清晨抽取胃液。细菌性检测包括以下方法^[8]。

1.1 直接涂片法

1.1.1 抗酸染色法 最常用的萋尼氏染色(Z-N)法为经典方法, 现在实验室广泛应用, 方便、经济、快捷、特异性高, 但敏感性低, 无法鉴别死菌与活菌, 无法鉴别结核分枝杆菌与非结核分枝杆菌, 并且需要标本中抗酸杆菌的数量大于 10 000/mL。

1.1.2 荧光染色法 包括金胺“O”染色法和罗丹明 B 染色(SRB)法。与萋尼氏染色相比荧光染色法可提高镜检率, 而且镜检所需时间也明显缩短, 还能鉴别是否为活菌^[9]。不足之处是荧光法成本较高, 限制了其在基层的使用^[10-11]。

1.2 结核菌培养法

1.2.1 改良罗氏(LJ)培养基 是长期以来广泛使用的传统的结核菌固体培养基, 含有促进结核分枝杆菌生长的甘油。该法经济、方便, 但培养周期长, 需要 4~8 周。

1.2.2 BACTEC MGIT 960 液体培养基 作为一种新的细菌学检测方法, 比固体培养基更灵敏、更快。其中, 在 BACTEC 460 基础上发展起来的 BACTEC MGIT 960, 是美国 BD 公司

生产的新一代分枝杆菌自动培养及药敏系统, 已获得美国 FDA 的认证, 其用于二线药物的敏感性诊断也被 WHO 认可。1 项多中心的研究显示, MGIT 960 对临床标本中的结核分枝杆菌进行直接药敏试验, 需 6~10 d^[12], 但实验所需的培养基、营养添加剂、杂菌抑制剂依赖进口, 价格昂贵, 需要专用的大型培养仪, 存在一定的污染率^[13], 以上均限制了在基层结核控制机构的应用。

1.3 噬菌体生物扩增(PhaB)法 是间接检测标本中结核分枝杆菌活菌的一种快速诊断技术。1997 年由 Wilson 等^[14]建立, 并用于利福平和异烟肼的耐药性测定。PhaB 法的敏感度和准确度均明显高于传统的罗氏培养法, 在 2 d 内可得结果^[15], 4 d 即可获得耐药性测定结果, 而且只检测活的结核分枝杆菌, 无需特殊的仪器设备, 操作简单, 非常适合基层推广使用。Minion 等^[16]报道 PhaB 法诊断结核病的灵敏度为 81%~100%, 特异度为 73%~100%。但该方法用于儿童时仍受小儿结核的带菌量少的影响, 细菌学检测方法不易检出。

2 TST

结核菌素(PPD)是将结核分枝杆菌经培养、杀菌、过滤除去菌体后纯化的纯蛋白衍生物, 感染过结核分枝杆菌的抗体再次接触到结核菌素中的抗原物质时发生的迟发型超敏反应。体内活化的 T 细胞聚集在注射局部并释放淋巴因子, 使局部血管舒张、水肿、纤维素沉积, 并使其他炎症细胞聚集, 从而出现硬结。以皮肤注射局部硬结的大小作为判断指标。现世界上普遍的使用的有美国研制的 PPD-S 和丹麦研制的 PPD RT23。我国使用从卡介苗制成的卡介菌纯蛋白衍生物(HCG-PPD)和从人型结核杆菌制成的结核菌纯蛋白衍生物(TB-PPD), 均采用 0.1 mL(5 TU)皮内注射, 在注射后 48~72 h 通过测量注射处皮下结节的直径大小来判断试验结果。硬结平均直径 5~9 mm 为阳性反应(+), 10~19 mm 为(++), ≥ 20 mm 为(+++), 如有双圈反应或水泡、淋巴管炎则数(++++)^[5]。

而 TST 易出现假阳性和假阴性。除了对结果的判读错误外, WHO 认为假阴性包括以下情况: 结核菌素失效、HIV 感染、病毒感染(如麻疹、水痘)、细菌感染(如伤寒、麻风病、百日咳)、接种活病毒疫苗(6 周内)、免疫抑制药物(例如皮质类固醇)、营养不良、低蛋白状态、新生儿患者、原发性免疫缺陷、淋巴组织疾病(如霍奇金病、淋巴瘤、白血病、结节病)、严重的结