

综合医院结核分枝杆菌感染实验室检查共识

中国医疗保健国际交流促进会临床微生物与感染分会 中华医学会检验医学分会临床微生物学组 中华医学会微生物学和免疫学分会临床微生物学组

通信作者:王辉,Email: whuibj@163.com

【摘要】 综合医院结核分枝杆菌感染(结核病)的病原学诊断一直是业界焦点。编写组专家对综合医院结核分枝杆菌感染(结核病)的微生物学检查进行了讨论,撰写了专家共识,并对一些关键问题给出了推荐。本文包括涂片、培养、药敏试验等技术内容,希望能为临床处置、实验室工作提供合理、实用的帮助。

【关键词】 结核; 分枝杆菌,结核; 临床实验室技术

Chinese expert consensus on the best practice of microbiological examination for *Mycobacterium tuberculosis* infection/tuberculosis in general hospital

Society of Clinical Microbiology and Infection of China International Exchange and Promotion Association for Medical and Healthcare, Clinical Microbiology Group of the Laboratory Medicine Society of the Chinese Medical Association, Clinical Microbiology Group of the Microbiology and Immunology Society of the Chinese Medical Association

Corresponding author: Wang Hui, Email: whuibj@163.com

【Abstract】 Etiological diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection (tuberculosis) in general hospitals has always been the focus. Experts discussed the microbiological examination, wrote this expert consensus, and gave the key recommendations. It involves smear, culture, antimicrobial susceptibility test and other technical contents. Hope to provide reasonable and practical help for clinical diagnosis, management, and laboratory work.

【Key words】 Tuberculosis; *Mycobacterium tuberculosis*; Clinical laboratory techniques

结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)是经典致病菌,引起肺结核和肺外感染。结核病是目前全球感染性疾病死亡的主要原因。我国是“结核病大国”,初诊患者很多在综合医院就诊,但结核病在综合医院的病原学诊断、药敏试验等却不尽如人意。中国医疗保健国际交流促进会临床微生物与感染分会、中华医学会检验医学分会临床微生物学组、中华医学会微生物学和免疫学分会临床微生物学组组织专家撰写本共识,供综合医院结核病病原学检查参考。

一、术语

(一)结核分枝杆菌复合群(*Mycobacterium*

tuberculosis complex, MTBC)

该菌是细长、直或稍弯曲、两端圆钝的杆菌,长约 1~4 μm ,宽约 0.3~0.6 μm ,抗酸染色阳性,可致结核病。结核分枝杆菌复合群包括 MTB、牛分枝杆菌、非洲分枝杆菌、卡内蒂分枝杆菌和田鼠分枝杆菌等。非结核分枝杆菌(non-tuberculous mycobacteria, NTM)是指分枝杆菌属中除结核分枝杆菌复合群及麻风分枝杆菌以外的菌种。

(二)活动性结核病

MTBC 感染人体后,处于活动期,患者有结核病相关的临床症状和体征,有 MTB 感染的病原学、病理学、影像学等检查证据。

DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20211118-00722

收稿日期 2021-11-18 本文编辑 武昱

引用本文:中国医疗保健国际交流促进会临床微生物与感染分会,中华医学会检验医学分会临床微生物学组,综合医院结核分枝杆菌感染实验室检查共识[J].中华检验医学杂志,2022,45(4):343-353. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20211118-00722.



(三) 潜伏性结核感染 (latent tuberculosis infection, LTBI)

机体感染 MTBC 后出现持久免疫应答但未发生活动性结核病的一种临床状态,临床上既无活动性结核病的症状、体征和明显的实验室检查异常,也无活动性结核病的影像学证据等。目前尚无公认的 LTBI 诊断方法。

(四) 肺外结核病

结核病变发生在肺脏以外的器官和部位,可能伴/不伴非特异性全身症状。如淋巴结、骨、关节、泌尿生殖系统、消化系统、中枢神经系统等部位。

(五) 多重耐药结核病 (multidrug resistant tuberculosis, MDR-TB)

MTB 领域指该菌同时对异烟肼和利福平耐药。该菌所致疾病为 MDR-TB。

(六) 广泛耐药结核病 (extensively drug-resistant tuberculosis, XDR-TB)

MTB 领域指该菌对利福平和任何氟喹诺酮类药物以及贝达奎林和利奈唑胺中的一种具有耐药性。该菌所致疾病为 XDR-TB。

(七) 准广泛耐药结核病 (pre-extensively drug-resistant tuberculosis, pre-XDR-TB)

MTB 领域指该菌对利福平和任何氟喹诺酮类药物。

二、目的与适用范围

(一) 目的

鼓励综合医院开展结核病的病原学检查,规范结核病实验室诊断和鉴别诊断,提高综合医院结核病诊、治、防、控能力。

(二) 适用范围

对咳嗽、咳痰 2 周或 2 周以上,或痰中带血或咯血,或依据流行病学史、临床症状、影像学特征等,疑为结核病或需要排除结核病时,应开展结核病病原学检查。

对病原学阳性患者的密切接触者、人类免疫缺陷病毒感染/艾滋病患者、透析或移植患者、硅肺患者等重点人群的主动筛查。

接受免疫抑制疗法的患者,如肿瘤坏死因子 α 拮抗剂、系统性皮质类固醇或器官移植后使用免疫抑制剂等,应开展结核病和潜伏性结核感染的筛查与监测随访。

本共识所列 MTB 实验室检测项目的相关建议适用于综合医院。结核病医院、收治结核病的感染病医院/传染病医院之外的其他专科医院,如果涉

及结核病,可以参考本共识。

三、中国结核病流行病学和综合医院在结核病微生物学诊断中的定位

(一) 结核病面临的挑战

结核病是由 MTB 感染引起的重要传染病,患病率高,社会负担重。MTB 进入人体会引发以细胞免疫为主的免疫反应和迟发性变态反应,造成慢性炎症、干酪样坏死和空洞形成的病理改变,进展缓慢。肺结核的主要临床症状为咳嗽、体重减轻、盗汗、低热等,也可以无明显症状,隐匿起病;肺外结核的临床表现还有相应受累局部的炎症病变。2021 年世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 全球结核病报告显示,2020 年全球估算新增结核病病例约 990 万,每 10 万人中约有 127 例患病^[1]。30 个结核病高负担国家占全球所有估算病例的 86%,前 3 位国家为印度 (26%)、中国 (8.5%) 和印尼 (8.4%)。2020 年中国估算发病数 84 万,发病率 59/10 万。2020 年中国登记的人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 感染者中结核阳性率 1.4%,HIV 阳性结核病发病数 1.2 万,实验室确诊的 MDR-TB 和利福平耐药结核病 (rifampicin-resistant tuberculosis, RR-TB) 患者 1.6 万,pre-XDR-TB 和 XDR-TB 患者 1.2 万。2020 年,新型冠状病毒肺炎疫情影响全球结核病防控。全球用于结核病预防、诊断和治疗服务的费用下降 9%。WHO 预计结核病作为单一传染病死亡原因从 2019 年第 1 位降至 2020 年第 2 位。

(二) 综合医院是发现结核病的主要场所和前哨

结核病患者常常以呼吸道疾病表现为主,估计有超过 50% 的结核感染者到综合医院首诊就医。建设综合医院结核病检测能力是提升结核病防治水平的首要任务。及时发现结核感染者,控制传染源是结核病防治工作的起点^[2],而结核病的临床实验室检测是诊断该病的重要支撑。结核病防治体系中传染病专科医院集中收治结核病患者,而综合医院已成为发现结核病的主要场所和前哨^[3]。WHO 全球结核病报告显示,2020 年全球病原学阳性证据率为 58%。而我国登记的结核病数据显示 2020 年诊断结核病时 55% 的患者具有病原学阳性证据^[4],比例低于全球水平,误诊和漏诊并不少见。另一方面,结核病的实验室诊断技术不断进步,从传统抗酸染色、MTB 培养、体外药敏等经典细菌学检查发展成包括结核免疫学、分子生物学检测及结

核病辅助检测等多方面的结核病临床检验体系,同时从手工到自动化,从定性到定量的变革,使综合医院可根据自身能力开展和优化结核病检测工作^[5],为“健康中国 2030”“2035 终止结核流行”目标提供保障。

四、结核病实验室检查方法与结果解释

结核病实验室检查方法按方法学分类包括以下 3 种。(1)病原学诊断方法:如涂片显微镜检查与培养;(2)免疫学诊断试验:如结核菌素皮肤试验(tuberculin skin test, TST)、结核抗体检测与 γ -干扰素释放试验(interferon- γ release assay, IGRA);(3)分子生物学方法。其中,培养与分子生物学方法可用于结核病确诊。

(一)涂片显微镜检查

用于涂片显微镜检查的临床标本,包括但不限于呼吸道标本(痰、咽喉拭子、支气管肺泡灌洗液、支气管毛刷等)、胸腔积液、腹腔积液、尿液、脑脊液、胃液、脓液(分泌物、穿刺液等)、穿刺物、病理组织、粪便等。对于痰标本,采用 5% 次氯酸钠液化后离心浓缩,沉淀物涂片染色可有效增加阳性率,对于未采用分子生物学或培养等手段的实验室非常重要。对于体液标本,含有的 MTBC 的数量很少,涂片本身价值非常有限,一般推荐浓缩后涂片。但是浓缩过程存在生物安全风险,且 MTBC 的比重与水相近,有一部分 MTBC 会存在于上清液中,离心未必有效提高检出率。因此在实验室有条件时应尽可能采用更灵敏的手段进行 MTBC 检测。目前较为实际的方法是,对肉眼所见清亮的体液标本,优选细胞离心甩片机浓缩制片,也可使用普通离心机。对于脑脊液,标本量充足时建议至少用 5 ml 标本。当标本混浊、血性或脓性,可直接涂片不离心。浓缩的标本在进行半定量报告时,建议备注为“浓缩标本”。胸腔积液时,优选胸腔活检组织用于 MTBC 微生物学检查。

1. 萋-尼抗酸染色和显微镜检查:该方法采用萋-尼抗酸染色液对临床标本涂片染色后,用普通光学显微镜或发光二极管显微镜进行观察。

2. 荧光染色和显微镜检查:该方法利用金胺“O”染料对抗酸杆菌进行染色。该方法阅片时间较短,一般为 1~3 min,可减轻工作强度。荧光染色后的标本要立即观察,否则应将玻片标本置于 2~8 °C 黑暗中以减少淬灭对结果的影响。结果分级报告标准见表 1。

涂片镜检具有操作简单、检测迅速、对硬件设

施要求不高等优点,适合基层开展。但该方法敏感度较低,特别是儿童、艾滋病与肺外结核病患者^[6-7]。Tan 等^[8]以 BD MGIT 液体培养和/或 Xpert MTB/RIF 分子生物学方法作为 MTBC 检测“金标准”,评估了自动涂片显微镜检查技术(自动系统)的敏感度和特异度。结果自动系统检出率为 28.2% (150/496),明显高于人工涂片镜检 21.1% (111/496, $P < 0.01$)。190 份阳性标本中,自动系统检出 140 份阳性,敏感度为 73.7%,明显高于人工涂片镜检 55.3% ($P < 0.01$)。

此外,涂片镜检的缺点还包括:不能区分菌体的死活,无法开展后续的药物敏感性试验;只能检测标本中是否存在分枝杆菌,不能区分 MTB 和 NTM,检测结果阳性还需进一步明确。我国“MTB 分离株”中最后鉴定为 NTM 的比例约 22.9%^[9]。很多 NTM 可呈现一定程度的抗酸性,其他如红球菌属、诺卡菌属、米克戴德军团菌、隐孢子虫属的包裹、等孢子虫、环孢子虫和微孢子菌属孢子,也有些程度的抗酸性。 $\leq 10\%$ 的快生长分枝杆菌有抗酸性但不被荧光素着色。因此,对于有肺结核症状和体征的患者,建议采用快速分子生物学方法(如 Xpert MTB/RIF 等)作为涂片的替代方法用于结核病及耐药结核病患者病原学检查的首选方法。

共识 1:建议综合医院微生物学实验室开展涂片镜检(萋-尼染色和/或荧光染色),辅助结核病诊断。该方法敏感度与特异度较低。涂片抗酸染色镜检阳性,应报告为“抗酸杆菌阳性”,而非“MTBC 阳性”。应考虑 MTB 或 NTM 或其他可能性,建议进行进一步鉴别。结核病患者呼吸道标本涂片抗酸染色阳性,提示其可能为活动性肺结核,其传染性强。因结核病而隔离的人群,如连续 3 次痰涂片(咳痰或诱导痰,其中 1 份标本为晨痰)抗酸染色阴性,可考虑解除感染控制措施^[6]。

共识 2:有条件的实验室应考虑用快速的分子生物学方法作为结核病病原学诊断的首选方法;使用自动涂片显微镜检查技术。

共识 3:革兰染色后 MTBC 不着色,可呈“鬼影”现象(须连续细致观察)。观察到该现象时,建议增加萋-尼染色和/或荧光染色。

(二)免疫学诊断试验

1. 结核菌素皮肤试验(tuberculin skin test, TST):基于 IV 型变态反应原理的皮肤试验。感染过 MTBC 的患者,会产生相应的致敏淋巴细胞,对 MTBC 具有识别能力。一旦再次感染 MTBC 或者接

表 1 分枝杆菌萋-尼染色与荧光染色镜检结果分级报告标准

项目	萋-尼染色 ^a	荧光染色 ^b
显微镜视野	油镜	高倍镜
阴性	连续观察 300 个视野,未发现抗酸杆菌	0 条/50 视野
阳性(报告分枝杆菌数)	1~8 条/300 视野	1~9 条/50 视野
1+	3~9 条/100 视野,连续观察 300 个视野	10~49 条/50 视野
2+	1~9 条/10 视野,连续观察 100 个视野	1~9 条/1 视野
3+	1~9 条/1 视野	10~99 条/1 视野
4+	≥10 条/1 视野	100 条及以上/1 视野

注:^a报告 1+ 时至少观察 300 个视野,报告 2+ 至少观察 100 个视野,3+、4+ 时至少观察 50 个视野。注意细菌的形态和排列,报告时建议进行形态学描述。不典型抗酸菌(如:颗粒体、丝状体、巨球体等),按实际观察情况描述报告结果。例如:萋-尼染色阳性颗粒体(2+)。^b报告 2+ 至少观察 50 个视野,3+ 及以上的阳性结果至少观察 20 个视野

受结核菌素注射,致敏的 T 淋巴细胞受抗原刺激,释放出多种可溶性淋巴因子,在 48~72 h 内局部出现红肿硬节,为阳性反应。常用的反应原是纯蛋白衍生物(purified protein derivative, PPD),含有 200 余种抗原成分,与卡介苗和 NTM 有大量相同或相似的抗原成分,导致 TST 很容易发生交叉反应。但其操作简单,无需实验室与特殊设备,适用于各种环境,包括简陋条件。TST 较早用于诊断潜伏感染及辅助诊断活动性结核病,但不能区分活动性结核病、LTBI、接种卡介苗引起的致敏反应以及 NTM 感染引起的交叉反应。对于部分特殊人群,包括营养不良、HIV 感染等免疫抑制人群,容易因免疫应答不足造成假阴性。此外,TST 的特异度受卡介苗接种策略的影响,加强免疫策略对 TST 结果影响更为显著持久。目前尚无充分数据说明出生后接种一次卡介苗对 TST 结果影响持续时间。目前我国已经注册新型重组结核分枝杆菌融合蛋白(指结核病早期分泌性抗原靶 6 和培养滤液蛋白 10)皮肤试验,即含有该融合蛋白的皮肤试验。国内推荐该融合蛋白用于紧密接触者、高风险者、重点人群筛查^[10]。

2. 结核抗体检测:MTBC 感染机体后生长繁殖,产生代谢产物,刺激免疫系统产生特异性抗体,检测这些抗体有助于结核病的诊断。但该方法特异度与灵敏度均较差,近年来已不推荐作为结核病的实验室检查方法。

3. γ 干扰素释放试验(interferon- γ release assays, IGRA):近年用于结核病辅助诊断的新型免疫学方法,通过 MTBC 特异抗原(主要为早期分泌性抗原靶 6 和培养滤液蛋白 10,也有的试剂包括 TB7.7.)刺激 T 淋巴细胞释放 γ 干扰素来检测是否存在结核感染。部分 NTM,如堪萨斯分枝杆菌、海

分枝杆菌、戈登分枝杆菌、苏氏分枝杆菌与 MTBC 存在相近的特异抗原片段 1(region of difference 1, RD1),可造成假阳性,但是也有研究并未发现这种干扰^[11]。

目前 IRGA 有 2 种较为成熟的方法,即检测:(1)释放 γ 干扰素水平(结核感染 T 淋巴细胞免疫吸附检测);(2)释放 γ 干扰素效应 T 淋巴细胞数量(酶联免疫斑点技术)。与 TST 相比,IGRA 阳性结果可排除卡介苗接种及大部分 NTM 造成的假阳性,但均不能区分潜伏感染与活动性结核,只能提示患者体内存在结核感染^[12]。目前新型重组结核分枝杆菌融合蛋白 III 期临床试验显示,健康人群筛查、结核病患者诊断中 IGRA 与该蛋白的检测结果具有较高一致性;在卡介苗接种对检测结果影响的研究中发现,T-SPOT.TB 和该蛋白检测基本不受卡介苗影响^[10]。

用于辅助诊断活动性结核病时,IGRA 须结合影像学、病原学、临床症状等综合分析,不能作为单独或是决定性的诊断结核病的确诊依据,也不能根据阳性检测数值判断结核病病情。另外不能排除少数 NTM 感染(表 2)。IGRA 阴性结果可以考虑排除结核病的诊断,尤其是在结核病高发地区、免疫功能正常人群;无可靠依据诊断结核病时,在可能的诊断排序上,结核病应列在其他疾病之后,但需要警惕因感染窗口期及免疫系统功能不全、基础疾病的情况(艾滋病、肿瘤患者、婴幼儿等)造成假阴性。

上述释放 γ -干扰素水平和释放 γ 干扰素效应 T 淋巴细胞数量两方法对诊断活动性结核病的综合敏感度和特异度报道不一,约为 80%(95%CI 75%~84%)/79%(95%CI 75%~82%)和 81%(95%CI 78%~84%)/59%(95%CI 56%~62%)。约 20% 的活动性

表 2 检测释放 γ 干扰素水平试验、释放 γ 干扰素效应 T 淋巴细胞数量试验与 TST 比较

项目	释放 γ 干扰素水平试验	释放 γ 干扰素效应 T 淋巴细胞数量试验	TST
方法学	酶联免疫吸附试验	酶联免疫斑点试验	迟发型超敏反应
细胞介导的免疫反应检测目标	CD4+和 CD8+细胞释放的 IFN- γ 水平	CD4+和 CD8+细胞释放的 IFN- γ 细胞数	皮肤硬结大小
鉴别 LTBI 与活动性结核	不能	不能	不能
预测活动性结核进展	不能	不能	不能
NTM 交叉反应	海分枝杆菌、苏氏分枝杆菌、堪萨斯分枝杆菌	海分枝杆菌、苏氏分枝杆菌、堪萨斯分枝杆菌、戈登分枝杆菌	多种 NTM
标本	肝素抗凝全血	肝素抗凝全血 胸腔积液、腹腔积液、脑脊液等无菌体液	无
刺激抗原	ESAT-6 CEF-10	ESAT-6 CEF-10	>200 结核分枝杆菌蛋白
报告结果时间(h)	24~48	24~48	48~72
适用范围	实验室条件要求相对较低、检测通量相对较大而更适用于流行病学调查和重点人群筛查	粒细胞缺乏患者中敏感度更佳	小于 5 岁免疫功能正常的个体敏感度更佳

注: TST 为结核菌素皮肤试验, LTBI 为潜伏结核分枝杆菌感染, CD 为分化抗原, IFN 为干扰素, NTM 为非结核分枝杆菌, ESAT-6 为早期分泌性抗原靶 6, CEF-10 为培养滤液蛋白 10

结核病患者 IGRA 为阴性^[13]。IGRA 在健康人群中阴性预测值较高, 而 HIV 感染人群则较低。在结核低发病率国家, 有超过 50% 的 HIV 感染者进行 2 种试验方法均为阴性, 而后来发展为活动性结核病。IGRA 对进展为结核病的预测能力并不优于 TST。释放 γ 干扰素水平增高, 或释放 γ 干扰素效应 T 淋巴细胞数量增加, 也不意味着发展为活动性结核病的风险就更大。IGRA 阳性值水平与罹患结核病的风险之间不具有相关性。不同免疫状况的人群中, IGRA 阳性未来罹患活动性结核病的风险存在差异。IGRA 数值的变化与治疗效果之间未发现明确的相关性^[13]。

5 岁以上免疫功能正常的个体, IGRA 对于结核病的检测敏感度常优于 TST, 尤其是已接种卡介苗的人群。与此相反, 对于小于 5 岁免疫功能正常的个体, IGRA 敏感度常不如 TST。对于免疫功能受损的个体, IGRA 与 TST 的敏感度均低于健康人群, 前者优于后者, 且患者的免疫状况对 IGRA 的释放 γ 干扰素效应 T 淋巴细胞数量影响较小。对免疫功能低下的高危人群, 依次或同时使用 IGRA 和 TST, 可提高结核病和潜伏感染者的敏感度, 任何一个阳性均可能有临床指导意义。

除了辅助结核病的诊断, IGRA 也广泛用于在高危人群排除活动性结核病后定义潜伏感染, 指导结核病预防性治疗。如 HIV/AIDS、实体器官移植、硅肺、慢性肾功能衰竭/透析、激素应用等患者, LTBI 活化为活动性结核病的几率增加。此外, 近年来随着生物制剂在中国不断广泛应用, 明显改善

了免疫性疾病患者的临床进程及预后, 改善了患者的生活质量。但与此同时, 用药安全性的问题也愈发受到重视。对此类人群除了排除活动性结核病外, 还应进行 IGRA 的检测或监测, 必要时采用抗结核药物预防活动性结核病^[14]。

共识 4: 建议 IGRA 用于结核感染的诊断。该检查不能区分潜伏感染、活动性结核、陈旧结核。辅助诊断活动性结核病时, 须结合临床表现、影像学、检验医学等综合判断分析, 不能作为单独或是决定性的结核病确诊依据。

共识 5: 对于需要接受各类免疫抑制治疗的 IGRA 阳性患者, 原因确定前, 须慎重实施免疫抑制治疗, 警惕结核感染风险。5 岁以上免疫正常人群进行 IGRA 检查, 结果阴性常可排除活动性结核, 但免疫系统功能不全、有基础疾病的情况应结合临床。

共识 6: 不建议将 IGRA 用于疗效监测。在治疗活动性结核过程中, IGRA 数值变化幅度不反映抗结核疗效。结核病治愈患者 IGRA 可阳性。

共识 7: 无结核病风险的人群, 不建议常规筛查 IGRA 或 TST。对生物制剂(如肿瘤坏死因子拮抗剂)治疗的患者, 建议采用 IGRA 进行下呼吸道 MTB 感染的筛查与监测随访。

共识 8: 对于卡介苗接种人群结核感染的特异度, IGRA 常优于 TST, 但与接种策略有关。

共识 9: 部分 NTM 感染人群, 存在的交叉抗原可致 IGRA 阳性。

共识 10: 不建议将结核抗体检测用于结核病

诊断,不建议实验室开展该检测。

(三)病原学检测

1. MTB 培养:作为结核病诊断金标准,分枝杆菌培养是结核病诊治的重要检测手段。通过培养获得的菌株可用于后续的药敏检测、基因测序、进化分析等。目前培养方法最低检出限约为 10~100 CFU/ml^[15],固体培养敏感度约为 67%,Bactec MGIT 960 敏感度约 80%,特异度均约 98%,高于抗酸染色^[16-17]。MTBC 生长缓慢,因此对有菌部位来源的标本和培养过程均需去污染处理。注意去污染对 MTBC 生长亦有影响^[18-19]。

固体培养可能有 2%~5% 的污染率。污染率超过 5% 时,可提高前处理中 NaOH 的浓度至 4%^[18]。过低的污染率可能有去污染处理过度的可能,会降低阳性检出率,增加检出时间^[20]。降低污染率的措施常包括延长 NaOH 作用时间、小幅度增加 NaOH 浓度、增加 N-乙酰-L-半胱氨酸浓度等,但改变前处理方法时需评估,以免影响 MTBC 生长。

液体培养方案中采集的标本包括非无菌标本和无菌体液标本。非无菌标本主要指痰液,以及其他有菌部位标本,如脓液、胃引流液、支气管灌洗液、喉部拭子、开放伤口组织、尿液等。无菌体液标本包括血液、胸腔积液、腹腔积液、关节炎、脑脊液等。Bactec MGIT 960 系统对非无菌标本和无菌体液标本均适用。Bactec FX 血培养系统和 VersaTREK 培养系统适用于无菌体液标本。Bactec MGIT 960 液体培养基中含有特殊复合物,随着培养基中分枝杆菌的生长,氧气消耗,复合物荧光增强,从而监测分枝杆菌生长。通常,液体培养基加入复合抗生素抑制杂菌。MTBC 在液体培养基中生长呈颗粒状聚集。液体培养基中促 MTBC 生长的营养因子更为丰富,因此培养阳性率比固体培养高约 10%^[21],且检测时限更短(约 14 d)^[22],但同时污染率也升高(7%~8%)。

固体培养是目前较为成熟的分离培养方法,对结核菌分离效果较好,但对 NTM 分离效果不佳,有各种改良方法供 NTM 培养使用。固体培养时间较长,培养菌可直接用于药敏检测。液体培养因其快速、自动化的特点为实验室初次分离和传代培养的最常用方法。通常认为要更好地分离结核菌,可使用液体培养联合一种或多种固体培养方法,但会增加实验成本。通常实验室根据自身条件、操作习惯、工作量等因素,选择培养方式并进行优化。

无论液体培养还是固体培养,培养物都需要经

过抗酸染色证实。抗酸阳性标本可以通过胶体金方法检测结核抗原——结核分枝杆菌蛋白 64(MPT64)、荧光定量扩增结核特异基因检测、基质辅助激光解析电离时间飞行质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)检测或对硝基苯甲酸(P-nitrobenzoic acid, PNB)生长试验法进一步区分 MTBC 和 NTM。MPT64 为 MTBC 早期分泌的特异蛋白,可作为 MTBC 的鉴定指示,敏感度和特异度约为 98.5% 和 100.0%^[23]。荧光定量扩增结核特异性基因检测可区分 MTBC 和 NTM,敏感度和特异度约为 97.0% 和 98.9%。MALDI-TOF 质谱鉴定技术对抗酸阳性培养物可鉴定到种水平,总体鉴定率大于 99%^[24],但前处理过程尚需标准化。PNB 生长试验为分枝杆菌属初步分型的传统生化反应,与噻吩-2-羧酸肼(2-thiophene carborylic acid hydrazide, TCH)生长试验配合,用于抗酸阳性培养物以及人型、牛型 MTB 的鉴定。该方法检测 MTBC 的敏感度和特异度分别为 100.0% 和 96.9%^[23]。

共识 11:为更好分离 MTBC,实验室可根据自身条件,选择固体培养和/或液体培养。固体培养孵育至少 8 周,液体培养孵育至少 6 周,方可报告阴性培养结果。MTB 属于高致病性病原微生物,分离培养须在风险评估后,并采取相应的防护措施后进行操作。

共识 12:培养阳性时,建议进行抗酸染色镜检,以确认培养物是否为抗酸染色阳性。抗酸染色阳性者建议报告抗酸菌生长,而不是 MTBC 生长。条件具备时进行菌种鉴定。

2. 分子生物学方法:WS 288-2017《肺结核诊断标准》增加了分子生物学检查检测出 MTBC 核酸作为确诊依据之一^[25]。美国 CDC 建议在怀疑 MTBC 感染患者中,将 MTBC 核酸扩增试验(nucleic acid amplification test, NAAT)作为初始检测手段^[26]。分子生物学方法可在 2 h 内得到结果,相比传统培养方法明显缩短了检测时间,提高了敏感度和特异度。同时,分子生物学方法可进行菌种鉴定和耐药基因检测,利于结核病的快速诊断和及时治疗。目前实验室开展的分子生物学检测包括实时荧光定量聚合酶链反应、GeneXpert MTB/RIF、线性探针分析(line-probe assays, LPA)以及恒温扩增技术等,主要靶标为 MTB 基因组中保守的管家基因(如 *rpoB*、16s rRNA 和 IS6110)。

实时荧光定量 PCR:实时荧光定量 PCR 技术的原理主要是通过荧光基团标记的特异性探针 (Taqman 探针或分子信标) 对基因扩增产物进行标记跟踪, 实时在线监控反应过程, 并结合相应软件对产物进行分析^[25]。检测靶基因常为 IS6110, 可检测临床各类型标本, 包括痰液及肺外结核标本, 针对实验室在用试剂盒适用范围外的标本类型, 应进行性能验证。常用核酸提取方法包括热裂解、手动提取和核酸提取全自动设备。结果阳性表示标本中含有 MTBC, 检测限约为 100 CFU/ml, 对结核检测的灵敏度为 64%~81%, 特异度为 95%~96%^[27]。该技术的开展需实验室严格分区, 并做好实验室分子诊断试剂耗材的质控, 定期采取有效的防污染措施, 保证检测质量。实时荧光定量 PCR 所需设备及试剂成本较低, 但无法同时检测利福平耐药突变。

Xpert MTB/RIF: Xpert MTB/RIF 基于半巢式 PCR 反应, 通过荧光标记探针检测信号, 扩增 *rpoB* 基因上的利福平耐药决定区域 (81 bp)。该方法通过超声裂解和微流体技术将核酸提取、扩增及检测集成在一个反应盒, 整个过程在封闭系统中完成, 可进行标本直接检测, 具有快捷性、易操作性和安全性。该方法具有较高的检测灵敏度和特异度, 最低检测限约为 131CFU/ml^[25]。WHO 多中心研究表明该方法在肺结核检测中总灵敏度和总特异度为 88% 和 99%, 在淋巴结、脑脊液中的灵敏度和特异度分别为 85%、92.5% 和 79.5%、98.6%, 在胸腔积液中的灵敏度较低 (43.7%)^[28]。WHO 建议对于怀疑肺结核感染的成人和儿童、MDR-TB 感染或 HIV 共感染人群, Xpert MTB/RIF 应作为初始检测。对肺外结核, Xpert MTB/RIF 检测淋巴结和脑脊液效果良好, 对胸腔积液须结合其他项目综合判断。在利福平耐药性检测性能上, Xpert MTB/RIF 灵敏度和特异度为 95% 和 98%^[28]。

线性探针分析:该方法为 WHO 推荐的方法之一^[21], 可用于临床标本和培养物中分枝杆菌菌种鉴定以及利福平和异烟肼耐药突变检测。LPA 具有高检测通量的优势, 以培养法为基础, 使用线性探针检测培养物的灵敏度 >95%, 对利福平和异烟肼耐药性检测灵敏度约为 97% 和 85%^[29]。

恒温扩增技术:该类技术灵敏度高、仪器要求低, 易实现 POCT 化。主要包括环介导等温扩增 (loop-mediated isothermal amplification, LAMP)、交叉引物恒温扩增 (cross priming isothermal amplification, CPA) 等。一项 Meta 分析显示 LAMP

应用于呼吸道标本 MTBC 的检测敏感度和特异度为 89.6% 和 94%^[30]。CPA 检测位点为 MTBC 的 IS6110。通过特异性扩增引物、荧光探针以及链置换特性的 DNA 聚合酶, 在恒定温度条件下一次性完成 MTBC 检测。恒温扩增技术可用于结核 RNA 检测。它利用靶标 RNA 在逆转录酶作用下合成双链 DNA, T7 RNA 聚合酶以这条双链 DNA 为模板进行 1:100~1 000 倍的转录, 转录出 RNA 与分子信标结合发出荧光, 实现高效扩增。因逆转录、转录和检测同时进行, 故称同时扩增检测法 (simultaneous amplification and testing, SAT)。

综上, 实验室可根据条件开展分子检测。实时荧光定量 PCR 方法具有良好敏感度和特异度, 且设备及试剂成本较低, 易于基层医院开展, 推荐实验室作为首选方法。Xpert MTB/RIF 灵敏度和特异度均优于实时荧光定量 PCR, 操作更为简单、安全、快速, 不需要实验室严格分区, 同时可检测利福平耐药, 但检测成本较高, 推荐具有条件的实验室可开展此项检测。LPA 操作复杂、耗时较长, 易污染, 需要一定的技术积累, 但可同时检测利福平、异烟肼耐药, 适用于有经验的实验室开展。恒温扩增方法对检测环境和条件的要求低, 可作为结核病实时检查项目。此外, 高通量测序在结核病检测中也有应用^[31-34]。

共识 13: 分子生物学方法具有较高的灵敏度和特异度, 能有效缩短 MTBC 鉴定和耐药性检测的时间。条件具备, 建议进行分子生物学检测。

共识 14: 分子生物学检测阳性时, 如果患者临床症状相符, 建议考虑结核病诊断。分子生物学检测中可能出现假阳性, 在排除核酸污染的情况下, 多由标本中死亡的 MTBC 核酸片段引起。

共识 15: 多次分子生物学检测阴性, 而抗酸染色或培养为阳性时, 建议考虑包括 NTM、诺卡菌等在内的抗酸阳性菌感染。分子生物学检测阴性时, 不能排除结核感染。

(四) 药物敏感性试验

表型药敏试验是 MTB 药物敏感性的金标准。根据 WHO 指南, 开展 MTB 表型药敏试验最基本的检测药物应包括: 利福平、异烟肼、乙胺丁醇和吡嗪酰胺; 对于 MDR-TB 和 RR-TB, 优先推荐在 4 种药物基础上加做贝达喹啉、利奈唑胺、氟喹诺酮类药物 (左氧氟沙星或莫西沙星); 可选做氯法齐明、环丝氨酸、阿米卡星、链霉素、乙硫异烟胺和对氨基水杨酸。国内常用的表型药敏检测方法分为比例法 (固

体)、绝对浓度法(固体)、液体法和最低抑菌浓度法(minimum inhibitory concentration, MIC)。固体药物敏感试验简单、经济,不需要特殊仪器,易于推广,但耗时较长,便于标本量较小的实验室开展^[19]。美国食品药品监督管理局在 2002 年批准 BACTEC MGIT™ 960 法用于 MTB 对链霉素、异烟肼、利福平、乙胺丁醇和吡嗪酰胺的药物敏感试验,该方法在阳性检出率和培养时间上具有明显优势,缩短了结果报告时间,操作简便,具备相应条件的实验室优先推荐。WHO 还推荐液体法对贝达喹啉、利奈唑胺、氯法齐明和德拉马尼这类新型抗结核药物进行药物敏感试验^[35]。最低抑菌浓度法操作简便,且体积小,适用于标本量较大的实验室。

分子生物学方法可以对 MTB 的药物敏感性进行快速检测。对于没有条件开展表型药敏试验的综合医院,分子药物敏感性试验可作为补充方法。目前,临床运用非常广泛的 Xpert MTB/RIF 同时检测 MTB 和利福平耐药的方法。其操作简便,结果报告时间短,适用于综合医院开展。对于有 Xpert MTB/RIF 检测平台的实验室,推荐使用,可用于对 RR-TB 进行筛查。国内已有基于荧光 PCR 溶解曲线法检测 MTB 对利福平、异烟肼、乙胺丁醇、链霉素和氟喹诺酮类耐药突变的试剂盒,该技术较为方便、快捷,检测时间短,且有自动判读结果的软件,因此较适用于临床推广^[36]。对于合并其他感染或临床诊疗不理想时,可采用测序技术作为补充。WHO 于 2021 年 6 月发布了 MTBC 耐药突变目录,有助于解释 MTB 耐药基因突变与耐药性的关联^[37]。

共识 16: 进行表型药敏试验时,建议实验室满足加强型生物安全二级要求。方法涉及活菌时,操作须严格遵守生物安全要求。

共识 17: 固体比例法是检测除吡嗪酰胺以外其他抗结核药物敏感性试验的参考方法,在符合生物安全条件的情况下,建议开展表型药敏试验。

共识 18: 表型药敏试验为金标准方法,分子药物敏感性试验可作为补充方法。建议综合医院优先采用分子药物敏感性试验。建议使用复杂度低、自动化程度高的分子药物敏感性试验检测方法。

(五)生物安全、质量控制与临床会诊

1. 生物安全:由于 MTB 主要通过呼吸道传播,有效控制气溶胶产生可以增加生物安全性。个人防护推荐 N95 口罩、一次性隔离衣、酌情佩戴护目镜^[38]。开展项目前应做好生物安全风险评估。

共识 19: 建议实验室根据自身生物安全条件选择适合实验室的项目。分子检测及涂片抗酸染色检测应在生物安全二级实验室开展,培养及表型药敏必须在加强型生物安全二级实验室开展。

共识 20: 条件有限无法完全满足要求的实验室,在生物安全风险评估基础上,建议通过强化防护意识、提高个人防护措施、规范防护行为等方式减少生物安全风险。

共识 21: MTB 的培养和表型药敏检测开展实验室间比对时,标本的运输应满足《可感染人类的高致病性病原微生物(毒)种或样本运输管理规定》要求。

2. 质量控制:实验室对开展的 MTB 的检测方法都应建立完整的质量控制体系,包括人员、设施、环境条件、实验室设备、试剂、耗材、检验前过程、检验过程、检验后过程及结果报告。同时,应制定详细的室内质量控制程序,对于分子生物学检测方法,应有针对核酸检测防污染的具体措施。对每一项针对 MTBC 检测方法,实验室也都应开展室间质评。如无法参与则可采用实验室间比对方式来保证实验室检测质量。对每一批次的新试剂都需要进行验证,验证结果合格才可以进行临床标本检测。

此外实验室还应针对 MTBC 细菌学检测项目进行监测,监测内容应包括但不限于:标本总量、涂片阳性培养阳性数/率、涂阴培养阴数/率、培养阳性标本中 MTB 和非结核分枝杆菌数量及所占比率、平均培养阳性时间、污染率、阴性质控等。这些监测指标应在实验室设置的范围内保持相对稳定。实验室监测指标中涂片阳性培养阳性率应在 90% 以上^[39]。另外良好的环境控制(如生物安全柜性能保证、培养箱温湿度的保证等)和人员培训及人员比对等都是保证实验室检测质量的重要措施。

共识 22: 实验室对每一项 MTB 的检测方法都应开展室内质控,参与室间质评;没有质控时,须完成实验室间比对。没有质控、没有比对,或质控不合格、比对不合格时,不建议开展相应检测,不能发出报告。

3. 临床会诊:建议医务部门、相应临床科室安排涉及 MTBC 微生物学检查或结核病等会诊工作时,邀请临床微生物学同事参与。建议微生物学实验室工作人员参与临床会诊。参与人员名单在医务部门提前备案。参与人员是实验室资深同事即可,不必拘泥于是否有临床医师执照。参与后对微

生物学检查结果(涂片、培养、IGRA、分子生物学检查、药物敏感性试验等)进行解释,对结核病和LTBI进行判断,对进一步处置给出建议。

五、总结与展望

目前,MTBC 培养仍是诊断结核病、药物敏感性检测所必需,且为金标准。对于没有条件开展 MTBC 培养的综合医院,应开展 MTB 检测的分子生物学技术,可优先使用自动化程度高的分子检测方法。MALDI-TOF-MS 在分枝杆菌的鉴定上也有较好应用前景,但其临床应用价值还是主要依赖于其数据库的建立^[40-42],对于有相应平台的综合医院可将其用于分枝杆菌鉴定;Xpert MTB/RIF Ultra 在国外已获得批准用于临床检测,提高了 MTB 的检测敏感度,特别是在检测脑脊液、胸腔积液等肺外结核标本^[43-44],在未来也有望给综合医院提供新的诊断工具。二代测序技术和全基因组测序技术在结核病检测方面还面临一些挑战^[45-47]。如何将新型结核病实验室诊断技术真正应用于临床,值得关注。目前,很多新型技术还未获得医疗器械注册证。此外,实验室自建检测今后也将是 MTB 实验室诊断的方向。在 MTB 药物敏感性检测方面,分子药物敏感试验的应用范围会越来越广,除了基于 PCR 的各种分子药物敏感检测技术外,核酸质谱技术检测 MTB 对抗结核药物的耐药性也将得到很好地应用,特别是基于纯培养的全基因组测序技术在 MTB 分子药物敏感检测方面更具有临床应用价值。综合医院应利用现有的实验室平台及条件,在做好生物安全防护的基础上,努力做到 MTB 不漏检、不错检。对于有条件的综合医院,建议开展分子生物学检查和药物敏感性检测。

执笔人:鲁炳怀、谢轶、余方友、宁永忠

编写组成员(按姓氏拼音排序):阿祥仁(青海省人民医院检验科)、曹彬(中日友好医院)、陈佰义(中国医科大学附属第一医院感染科)、陈天艳(西安交通大学第一附属医院感染科)、戴二黑(石家庄市第五医院检验科)、杜鸿(苏州大学附属第二医院医学检验中心)、范红(四川大学华西医院呼吸与危重症医学科)、高磊(中国医学科学院/北京协和医学院病原生物学研究所)、公衍文(山东大学第二医院检验医学中心)、谷丽(首都医科大学附属朝阳医院感染和临床微生物科)、胡继红(国家卫生健康委临床检验中心)、刘家云(空军军医大学第一附属医院检验科)、鲁炳怀(中日友好医院呼吸与危重症医学科临床微生物与感染实验室)、鲁辛辛(首都医科大学附属同仁医院检验科)、马筱玲(中国科学技术大学附属第一医院检验科)、穆红(天津市第一中心医院检验科)、宁永忠(清华大学附属垂杨柳医院检验科)、

单斌(昆明医科大学第一附属医院医学检验科)、余丹阳(解放军总医院呼吸与危重症医学部)、王辉(北京大学人民医院检验科)、王新宇(复旦大学附属华山医院感染科)、魏莲花(甘肃省人民医院检验科)、鄢小萍(南昌大学第一附属医院感染科)、伍勇(长沙市第一医院检验科)、谢轶(四川大学华西医院实验医学科)、余方友(同济大学附属上海市肺科医院检验科)、俞云松(浙江大学医学院附属邵逸夫医院感染科)、赵晓涛(北京大学人民医院检验科)、赵雁林(中国疾病预防控制中心结核病预防控制中心)、卓超(广州医科大学附属第一医院感染科)

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2021[EB/OL] [2022-01-15]. <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2021>.
- [2] 张慧,成君,屈燕,等.“三新一加强”结核病综合防治服务模式的验证、示范与推广:中国国家卫生健康委员会-比尔及梅琳达·盖茨基金会结核病项目[J].中国防痨杂志,2021,43(8):757-760. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6621.2021.08.001.
- [3] 徐彩红,赵雁林.从《2020年全球结核病报告》看我国结核病防治工作[J].中华传染病杂志,2021,39(7):392-397. DOI: 10.3760/cma.j.cn311365-20210406-00117.
- [4] 任坦坦,陆普选,邓国防,等.2020 WHO 全球结核报告:全球与中国关键数据分析[J].新发传染病电子杂志,2020,5(4):280-284. DOI: 10.19871/j.cnki.xfcrbz.2020.04.015.
- [5] 徐彩红,周向梅,范伟兴,等.我国结核病防治主要成就回眸及亟待解决的问题与建议[J].中国防痨杂志,2020,42(12):1263-1267. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6621.2020.12.002.
- [6] Sterling TR.Active tuberculosis[EB/OL][2022-01-15].https://www.hopkinsguides.com/hopkins/view/Johns_Hopkins_ABX_Guide/540370/all/Tuberculosis_Active.
- [7] Sauzullo I, Rodio DM, Facchinetti S, et al. Diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF versus smear microscopy in the early diagnosis tuberculosis in the real life of "Umberto I" Hospital Rome[J]. New Microbiol, 2016, 39(4):304-306.
- [8] Tan Y, Su B, Cai X, et al. An automated smear microscopy system to diagnose tuberculosis in a high-burden setting [J]. Clin Microbiol Infect, 2019, 25(12): 1553-1559. DOI: 10.1016/j.cmi.2019.04.033.
- [9] 全国第五次结核病流行病学抽样调查技术指导组,全国第五次结核病流行病学抽样调查办公室.2010年全国第五次结核病流行病学抽样调查报告[J].中国防痨杂志,2012,34(8):485-508.
- [10] 中国防痨协会,中国防痨协会学校与儿童结核病防治专业分会,《中国防痨杂志》编辑委员会.重组结核杆菌融合蛋白(EC)临床应用专家共识[J].中国防痨杂志,2020,42(8):761-768. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6621.2020.08.001.
- [11] Yang C, Luo X, Fan L, et al. Performance of interferon-gamma release assays in the diagnosis of nontuberculous Mycobacterial diseases-a retrospective survey from 2011 to 2019[J]. Front Cell Infect Microbiol,

- 2020, 10:571230. DOI: 10.3389/fcimb.2020.571230.
- [12] Mazurek GH, Jereb J, LoBue P, et al. Guidelines for using the QuantiFERON®-TB gold test for detecting Mycobacterium tuberculosis infection, United States [EB/OL] [2022-01-15]. <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5415a4.htm>.
- [13] Lange C, Mandalakas AM, Kalsdorf B, et al. Clinical application of interferon- γ release assays for the prevention of tuberculosis in countries with low incidence [J]. *Pathog Immun*, 2016, 1(2): 308-329. DOI: 10.20411/pai.v1i2.173.
- [14] Sterling TR, Njie G, Zenner D, et al. Guidelines for the treatment of latent tuberculosis infection: recommendations from the national tuberculosis controllers association and CDC, 2020. *MMWR Recomm Rep*, 2020, 69(1):1-11. DOI: 10.15585/mmwr.rr6901a1.
- [15] Karen C, Michael AP. *Manual of clinical microbiology* [M]. 12th ed. ASM Press: Washington DC USA, 2019.
- [16] Styrt BA, Shinnick TM, Ridderhof JC, et al. Turnaround times for mycobacterial cultures [J]. *J Clin Microbiol*, 1997, 35(4): 1041-1042. DOI: 10.1128/jcm.35.4.1041-1042.1997.
- [17] Cruciani M, Scarparo C, Malena M, et al. Meta-analysis of BACTEC MGIT 960 and BACTEC 460 TB, with or without solid media, for detection of mycobacteria [J]. *J Clin Microbiol*, 2004, 42(5): 2321-2325. DOI: 10.1128/JCM.42.5.2321-2325.2004.
- [18] Clinical and Laboratory Standards Institute. M48Ed2: Laboratory Detection and Identification of Mycobacteria [EB/OL] [2021-11-01]. 2nd ed. <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m48/>.
- [19] 赵雁林, 逢宇. 结核病实验室检验规程 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [20] Kent PT, Kubica GP. *Public health mycobacteriology. A guide for the level III laboratory* [M]. Centers for Disease Control and Prevention: Atlanta, 1985.
- [21] World Health Organization. Implementing tuberculosis diagnostics: A policy framework. Implementing tuberculosis diagnostics: Policy framework [EB/OL] [2022-01-15]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241508612>.
- [22] Hanna BA, Ebrahimzadeh A, Elliott LB, et al. Multicenter evaluation of the BACTEC MGIT 960 system for recovery of mycobacteria [J]. *J Clin Microbiol*, 1999, 37(3): 748-752. DOI: 10.1128/JCM.37.3.748-752.1999.
- [23] 易俊莉, 杨新宇, 张洁, 等. 三种检测技术鉴别结核分枝杆菌复合群与非结核分枝杆菌的效能评价 [J]. *结核与肺部疾病杂志*, 2020, 1(4): 240-244.
- [24] 杜岩青, 秦中华, 张丽霞. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术对分枝杆菌液体培养系统菌种鉴定的临床研究 [J]. *中国人兽共患病学报*, 2021, 37(10): 871-877. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2021.00.122.
- [25] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WS 288-2017 中华人民共和国卫生行业标准. 肺结核诊断 [S]. 2017-11-09.
- [26] Lewinsohn DM, Leonard MK, LoBue PA, et al. Official American Thoracic Society/Infectious Diseases Society of America/Centers for Disease Control and Prevention Clinical Practice Guidelines: diagnosis of tuberculosis in adults and children [J]. *Clin Infect Dis*, 2017, 64(2): 111-115. DOI: 10.1093/cid/ciw778.
- [27] 中华医学会结核病学分会临床检验专业委员会. 结核病病原学分子诊断专家共识 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2018, 41(9): 688-695. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2018.09.008.
- [28] World Health Organization. Using the Xpert MTB/RIF assay to detect pulmonary and extrapulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults and children [EB/OL] [2021-11-01]. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-HTM-TB-2013.14>.
- [29] World Health Organization. Molecular line probe assay for rapid screening of patients at risk of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB): policy statement [EB/OL] [2021-11-01]. https://www.who.int/tb/features_archive/policy_statement.pdf.
- [30] MacLean E, Kohli M, Weber SF, et al. Advances in molecular diagnosis of tuberculosis [J]. *J Clin Microbiol*, 2020, 58(10). DOI: 10.1128/JCM.01582-19.
- [31] 中华医学会检验医学分会临床微生物学组, 中华医学会微生物学与免疫学分会临床微生物学组, 中国医疗保健国际交流促进会临床微生物与感染分会. 宏基因组高通量测序技术应用于感染性疾病病原检测中国专家共识 [J]. *中华检验医学杂志*, 2021, 44(2): 107-120. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20201026-00794.
- [32] 中华医学会检验医学分会. 高通量宏基因组测序技术检测病原微生物的临床应用规范化专家共识 [J]. *中华检验医学杂志*, 2020, 43(12): 1181-1195. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20200903-00704.
- [33] 宏基因组测序技术在中重症感染中的临床应用共识专家组, 中国研究型医院学会脓毒症与休克专业委员会, 中国微生物学会微生物毒素专业委员会, 等. 宏基因组测序技术在中重症感染中的临床应用专家共识(第一版) [J]. *中华危重病急救医学*, 2020, 32(5): 531-536. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200228-00095.
- [34] 宏基因组分析和诊断技术在急危重症感染应用专家共识组. 宏基因组分析和诊断技术在急危重症感染应用的专家共识 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2019, 28(2): 151-155. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2019.02.005.
- [35] World Health Organization. Policy guidance on drug-susceptibility testing (DST) of second-line antituberculosis drugs [EB/OL] [2022-01-15]. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-HTM-TB-2008.392>.
- [36] Pang Y, Dong H, Tan Y, et al. Rapid diagnosis of MDR and XDR tuberculosis with the MeltPro TB assay in China [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:25330. DOI: 10.1038/srep25330.
- [37] World Health Organization. Catalogue of mutations in Mycobacterium tuberculosis complex and their association with drug resistance [EB/OL] [2022-01-15]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240028173>.
- [38] 中华医学会检验医学分会临床微生物学组. 临床微生物学检验过程的生物安全风险专家共识 [J]. *中华检验医学杂志*, 2021, 44(9): 808-813. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20210222-00117.
- [39] Clinical and Laboratory Standards Institute. 分枝杆菌实验室检测及鉴定; 批准的指南. 中国防痨协会, 赵雁林, 译. [M]. 北京: 中华医学电子音像出版社, 2015.
- [40] Fernández-Esgueva M, Fernández-Simon R, Monforte-Cirac ML, et al. Use of MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics) for identification of Mycobacterium species isolated directly from liquid medium [J]. *Enferm Infecc*



- Microbiol Clin (Engl Ed), 2021, 39(5): 241-243. DOI: 10.1016/j.eimc.2020.05.011.
- [41] Luo L, Cao W, Chen W, et al. Evaluation of the VITEK MS knowledge base version 3.0 for the identification of clinically relevant Mycobacterium species[J]. Emerg Microbes Infect, 2018, 7(1): 114. DOI: 10.1038/s41426-018-0120-3.
- [42] 陈汐濛, 贾兴旺, 雷红, 等. 应用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱行骨关节结核血清鉴别标志物的初探[J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42(6): 420-426. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-8158.2019.06.006.
- [43] Dorman SE, Schumacher SG, Alland D, et al. Xpert MTB/RIF Ultra for detection of Mycobacterium tuberculosis and rifampicin resistance: a prospective multicentre diagnostic accuracy study[J]. Lancet Infect Dis, 2018, 18(1): 76-84. DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30691-6.
- [44] World Health Organization. WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 3: Diagnosis-Rapid diagnostics for tuberculosis detection 2021 update [EB/OL] [2022-01-15]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240029415>.
- [45] Wu H, Wei J, Yu D. Application of NGS in diagnosis of tuberculous pleurisy with multiple negative tests: a case report[J]. Infect Drug Resist, 2020, 13: 3543-3550. DOI: 10.2147/IDR.S269779.
- [46] 《中华传染病杂志》编辑委员会. 中国宏基因组学第二代测序技术检测感染病原体的临床应用专家共识[J]. 中华传染病杂志, 2020, 38(11): 681-689. DOI: 10.3760/cma.j.cn311365-20200731-00732.
- [47] 洪创跃, 陈蓉, 李金莉, 等. 全基因组测序技术预测二线注射类抗结核药物耐药性的应用评价[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(6): 497-502. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20200902-00700.

附: 2022 年继续教育单项选择题(七)

- 涂片抗酸染色镜检阳性, 应报告为()
 - 抗酸杆菌阳性
 - 结核分枝杆菌阳性
 - 非结核分枝杆菌阳性
 - 诺卡菌阳性
- γ 干扰素释放试验能否用于结核感染的诊断()
 - 能用于诊断。阳性可以直接确诊
 - 能用于诊断。辅助诊断活动性结核病时, 须结合临床表现、影像学、检验医学等综合判断分析
 - 不能用于诊断。因为该检查不能区分潜伏感染、活动性结核、陈旧结核
 - 不能用于诊断。因为有假阳性。中国普遍接种卡介苗, 影响结果
- 关于分子生物学方法, 下列说法正确的是()
 - 分子生物学检测, 不会出现假阳性
 - 多次分子生物学检测阴性, 而抗酸染色或培养为阳性时, 依然要考虑结核分枝杆菌
 - 该方法具有较高的敏感度和特异度, 能有效缩短 MTBC 鉴定和耐药性检测的时间。条件具备, 建议进行分子生物学检测
 - 分子生物学检测阴性时, 可以排除结核感染
- 关于结核分枝杆菌药物敏感试验, 下列说法正确的是()
 - 进行表型药敏试验时, 建议实验室满足生物安全一级要求
 - 固体比例法是检测吡嗪酰胺敏感性试验的参考方法
 - 综合医院必须优先采用分子药物敏感性试验
 - 表型药敏试验为金标准方法, 分子药物敏感性试验可作为补充方法
- 疑似或需要排除结核分枝杆菌感染时, 关于临床会诊, 下列说法正确的是()
 - 医务部门安排涉及该菌的微生物学检查或结核病等会诊时, 不必邀请临床微生物学参与
 - 微生物学实验室工作人员不能参与临床会诊
 - 参与人员是实验室资深同事即可, 不必拘泥于是否有临床医师执照
 - 参与后对微生物学检查结果进行解释, 但禁止对结核病诊断和治疗给出建议

【编后】 经全国继续医学教育委员会批准, 本刊全年选择 10 篇文章作为继续教育文章, 文后附 5 道单选题, 读者阅读后可扫描标签二维码答题, 每篇可免费获得 II 类继续教育学分 0.5 分, 全年最多可获得 5 分。