

- patients at a tertiary care medical center [J]. Clin Infect Dis, 2013, 57(9): 1300-1303.
- [53] RIGATTO M H, OLIVEIRA M S, PERDIGÃO-NETO L V, et al. Multicenter prospective cohort study of renal failure in patients treated with colistin versus polymyxin B [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60(4): 2443-2449.
- [54] KASSAMALI Z, DANZIGER L. To B or not to B, that is the question: is it time to replace colistin with polymyxin B? [J]. Pharmacotherapy, 2015, 35(1): 17-21.
- [55] DE OLIVEIRA M S, DE ASSIS D B, FREIRE M P, et al. Treatment of KPC-producing *Enterobacteriaceae*: suboptimal efficacy of polymyxins [J]. Clin Microbiol Infect, 2015, 21(2): 179, e1-e7.
- [56] ANTACHOPOULOS C, IOSIFIDIS E. Colistin use in neonates and children with infections due to carbapenem-resistant bacteria [J]. Pediatr Infect Dis J, 2017, 36(9): 905-907.
- [57] NAKWAN N, USAHA S, CHOKEPHAIBULKIT K, et al. Pharmacokinetics of colistin following a single dose of intravenous colistimethate sodium in critically ill neonates [J]. Pediatr Infect Dis J, 2016, 35(11): 1211-1214.
- [58] ANTACHOPOULOS C, KARVANEN M, IOSIFIDIS E, et al. Serum and cerebrospinal fluid levels of colistin in pediatric patients [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(9): 3985-3987.
- [59] KARBUSZ A, ÖZDEMİR H, YAMAN A, et al. The use of colistin in critically ill children in a pediatric intensive care unit [J]. Pediatr Infect Dis J, 2014, 33(1): e19-e24.
- [60] KARAASLAN A, ÇAĞAN E, KADAYIFCI E K, et al. Intravenous colistin use for multidrug-resistant Gram-negative infections in pediatric patients [J]. Balkan Med J, 2016, 33(6): 627-632.
- [61] TAMMA P D, NEWLAND J G, PANNARAJ P S, et al. The use of intravenous colistin among children in the United States; results from a multicenter, case series [J]. Pediatr Infect Dis J, 2013, 32(1): 17-22.
- [62] MANCHANDANI P, THAMLIKITKUL V, DUBROVSKAYA Y, et al. Population pharmacokinetics of polymyxin B [J]. Clinical pharmacology & therapeutics, 2018, 104(3): 534-538.
- [63] MIGLIS C, RHODES N J, AVEDISSIAN S N, et al. Population pharmacokinetics of polymyxin B in acutely ill adult patients [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2018, 62(3): e01475-e01417.
- [64] SANDRI A M, LANDERSDORFER C B, JACOB J, et al. Population pharmacokinetics of intravenous polymyxin B in critically ill patients: implications for selection of dosage regimens [J]. Clin Infect Dis, 2013, 57(4): 524-531.
- [65] SADER H S, CASTANHEIRA M, FLAMM R K, et al. Tigecycline activity tested against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* from 18 European nations: results from the SENTRY surveillance program (2010 – 2013) [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2015, 83(2): 183-186.
- [66] FALAGAS M E, KARAGEORGOPOULOS D E, DIMOPOULOS G. Clinical significance of the pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of tigecycline [J]. Curr Drug Metab, 2009, 10(1): 13-21.
- [67] FALAGAS M E, LOURIDA P, POULIKAKOS P, et al. Antibiotic treatment of infections due to carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: systematic evaluation of the available evidence [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(2): 654-663.
- [68] LEE Y R, YEO S. Cefiderocol, a new siderophore cephalosporin for the treatment of complicated urinary tract infections caused by multidrug-resistant pathogens: preclinical and clinical pharmacokinetics, pharmacodynamics, efficacy and safety [J]. Clinical drug investigation, 2020, 40(10): 901-913.
- [69] WU J Y, SRINIVAS P, POGUE J M. Cefiderocol: a novel agent for the management of multidrug-resistant Gram-negative organisms [J]. Infectious diseases and therapy, 2020, 9(1): 17-40.
- [70] SOLOMKIN J, EVANS D, SLEPAVICIUS A, et al. Assessing the efficacy and safety of eravacycline *vs* ertapenem in complicated intra-abdominal infections in the investigating Gram-negative infections treated with eravacycline (IGNITE 1) trial [J]. JAMA Surg, 2017, 152(3): 224-232.
- [71] CONNOLLY L E, RIDDLE V, CEBRIK D, et al. A multicenter, randomized, double-blind, phase 2 study of the efficacy and safety of plazomicin compared with levofloxacin in the treatment of complicated urinary tract infection and acute pyelonephritis [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2018, 62(4): e01989-e01917.
- [72] WAGENLEHNER F M E, CLOUTIER D J, KOMIRENKO A S, et al. Once-daily plazomicin for complicated urinary tract infections [J]. N Engl J Med, 2019, 380(8): 729-740.
- [73] GUTIÉRREZ-GUTIÉRREZ B, SALAMANCA E, DE CUETO M, et al. Effect of appropriate combination therapy on mortality of patients with bloodstream infections due to carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (INCREMENT): a retrospective cohort study [J]. Lancet Infect Dis, 2017, 17(7): 726-734.
- (编辑:杨丹)
(收稿日期:2021-11-30 修回日期:2022-03-20)

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2024.04.015

• 综述 •

儿童结核病诊断方法的研究进展

汤龙杰, 许红梅 (重庆医科大学附属儿童医院, 国家儿童健康与疾病临床医学研究中心, 儿童发育疾病研究教育部重点实验室, 儿科学重庆市重点实验室, 重庆 400014)

[中图分类号] R529.9

[文献标识码] A

[文章编号] 1672-108X(2024)04-0058-06

作者简介: 汤龙杰 (1996.10-), 男, 硕士, 主要从事儿科临床工作, E-mail: 18225096246@163.com。

通信作者: 许红梅 (1965.01-), 女, 博士, 主任医师, 主要从事儿童感染性疾病研究, E-mail: xuhongm0095@sina.com。

Progress of Diagnosis for Tuberculosis in Children

Tang Longjie, Xu Hongmei (Children's Hospital of Chongqing Medical University, National Clinical Research Center for Child Health and Disorders, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Chongqing 400014, China)

结核病(tuberculosis, TB)是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)引起的慢性炎症性疾病,目前仍是全球病死率最高的传染病^[1],也是引起全球公共卫生安全问题的主要原因之一。成人 TB 多有报道,但儿童 TB 常常未被及时诊断。TB 是流行地区儿童发病和死亡的重要原因,同时也是引起世界范围内<5 岁儿童死亡的重要原因^[2],因此不应忽视儿童 MTB 感染的风险。有研究^[3]表明,在低发病率地区,儿童 TB 仅占有 TB 病例的 5%,但在流行控制不良的地区,至少占有 TB 病例的 10%。传统上全球公共卫生控制 TB 的重点是通过早期发现病例和对最具传染性的病例进行有效治疗以减少传播^[4],但目前儿童 TB 治疗的难点在于诊断,特别是早期诊断,因儿童 TB 缺乏快速和有效的诊断方法。此外,儿童相较于成人的配合度较低(低龄儿童缺乏咳痰能力、标本采集时易哭吵烦闹等),常导致收集不到足够且合格的标本。儿童 TB 易进展为活动性 TB,甚至可进展为重症浸润性肺结核、全身播散性结核等严重感染情况,预后不理想^[5]。对于儿童 TB,早期快速诊断有助于患儿尽早获得规范治疗、改善预后及提高生存率,同时也有利于控制疾病传播。本研究系统地总结了儿童 TB 诊断方法,以提高儿童 TB 早期确诊率,降低远期病死率。

1 生物学检测

1.1 MTB 培养

MTB 是引起人类 TB 的主要病原体,一般认为对人致病的 MTB 包括人型、牛型和非洲型。MTB 是一种专性需氧菌,抗酸染色阳性。初次分离 MTB 需含有丰富营养的培养基,其中罗氏(Lowenstein-Jensen)固体培养基较常用。罗氏培养基内含蛋黄、无机盐和孔雀绿等,是分离人 MTB 和大多数其他分枝杆菌的培养基^[6]。培养对结核诊断的特异性较高,被认为是诊断 TB 的金标准。但 MTB 生长缓慢,一般需 6~8 周^[7],周期太长,不利于儿童 TB 早期诊断和治疗。有研究报道,双相培养基可提高罗氏培养基的检出率,在含菌量较低的标本中也有较高的阳性检出率,还可缩短检出 MTB 时间,达到快速检测目的,适用于我国基层医院对 TB 的诊断^[8]。

1.2 MTB 涂片检查

显微镜涂片检查是一种快速、价廉和简单的 MTB 检测方法,将采集到的标本经萁-尼氏染色(Ziehl-Neelsen, Z-N)后,于显微镜下检测,其特异度为 100%^[9],可作为常规检查方法,但由于其灵敏度不高、所需标本具有较高含菌量(5 000~10 000 CFU/mL)^[10],且显微镜涂片检查的敏感性因观测者的经验水平与工作量不同而具有较大差异^[11]。目前痰液是检测 MTB 主要标本来源,但儿童痰液采集困难、含菌量较少^[5],故可能导致假阴性结果。

2 影像学检查

X 线片具有价廉、操作简便等特点^[12]。肖岚等^[13]

研究显示,X 线片对儿童 TB 的检出率较高(78%),可作为儿童 TB 的主要影像学筛查手段。原发性 TB 是儿童 TB 最主要的类型,主要累及肺门和纵隔淋巴结,典型影像学表现为“哑铃状双极影”,即一端为肺内实变影,另一端为肿大的肺门淋巴结、纵隔淋巴结。但目前小儿原发性 TB 在 X 线片的表现多不典型,多为纵隔和肺门淋巴结肿大^[14]。儿童因免疫功能不成熟,MTB 常经肺内血流播散,形成粟粒性肺结核,主要表现为双肺“三均匀”(弥漫分布、密度一致、大小相似)的粟粒样非钙化小结节^[12],直径 1~3 mm^[15]。小儿 TB 在 X 线片的表现多样,与肺炎不易区分,可能延误诊治,故应结合患儿临床表现进行诊治,怀疑结核感染者,需加做胸部 CT 检查,提高诊断率。有研究表明,低剂量 CT 与正常剂量 CT 对肺结核患儿的成像质量相当,且诊断效能基本一致,但低剂量 CT 可降低对儿童的辐射剂量,减少对儿童生长发育的影响,推荐使用低剂量 CT 辅助诊断儿童 TB^[16-17]。但影像学结果的解读易受临床医师个人经验影响,且当病变不典型时,易误诊或漏诊^[18]。

3 病理学检测

组织病理学是诊断 TB 的主要方法之一,尤其在痰涂片阴性 TB 及肺外结核的诊断中具有重要作用^[19]。TB 的特征性病理变化是结核肉芽肿(80.7%)^[20],其中央为干酪样性坏死,常有钙化或纤维化^[21],周围为上皮样细胞、朗格汉巨细胞及淋巴细胞等。但非结核分枝杆菌(NTM)也可产生类似肉芽肿,不易与 TB 区分。目前,分子病理学的快速发展有效地提升了组织标本中 MTB 检出率,还可区分 NTM 与 MTB 感染,以及辅助诊断耐药结核病(drug-resistant tuberculosis, DR-TB),帮助实现 TB 病理学的精确诊断^[22]。高分辨溶解曲线(high resolution melting, HRM)技术可检测组织标本中分枝杆菌的种类及 MTB 耐药性^[23],可快速鉴定 NTM 对评估潜在的人畜共患病风险有重要作用^[24],对于快速鉴定 NTM 感染具有较高灵敏度(99%)和特异度(100%)^[25],但目前儿童 TB 中的研究数据较少。

4 免疫学检测

4.1 结核菌素皮肤试验

结核菌素皮肤试验(tuberculin skin test, TST)是指通过在个体前臂皮内注射纯化蛋白衍生物(PPD),根据注射部位的皮肤变化情况判断是否有 MTB 感染迹象,故又称 PPD 试验。该试验操作简便且价廉,是一种重要的结核诊断方法^[26],临床应用广泛,尤其是在发展中国家^[27]。由于 TST 和卡介苗(BCG)具有交叉免疫反应,且结果易受非 MTB 影响,易造成假阳性^[28-29],故 TST 阴性不能除外结核诊断。重组结核杆菌融合蛋白(EC)是一种融合基因,由高效表达 MTB 早期分泌抗原靶 6(ESAT-6)与培养滤液蛋白(CFP-10)基因的大肠埃希菌发酵、分

离和纯化后行成^[30],是目前新型结核诊断试剂。目前有研究表明,EC 对 TB 患者有良好的敏感性,对非 TB 患者及 NTM 感染者具有较高的阴性率^[31]。与 TST 相比,EC 皮试不易受 BCG 和大多数 NTM 影响^[32],具有较高的特异性,故可早期、快速、准确地检测 MTB 感染^[33]。EC 和 TST 联用可排除 BCG 的影响,区分人群 MTB 感染状态^[30]。

4.2 干扰素释放试验(IGRA)

IGRA 的基本原理是机体感染 MTB 后,外周血中的记忆 T 淋巴细胞再次接触到 MTB 特异性抗原(如 ESAT-6、CFP-10 等)时,可激活并释放相应细胞因子,而干扰素(IFN)- γ 就是其中一种^[34],通过酶联免疫斑点试验(ELISPOT)或酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 IFN- γ 水平,进而判定是否感染 MTB。相对于 TST,IGRA 不受 BCG 和 NTM 影响^[34-35],具有较高灵敏度和特异度,且能更特异性地识别潜伏结核感染(latent tuberculosis infection, LTBI),故美国儿科学会推荐<2 岁儿童使用 IGRA 诊断 MTB 感染^[36]。QFT-G Plus 是第四代 IGRA 试剂盒,其既能诱导 CD4⁺ T 细胞产生应答,还能诱导 CD8⁺ T 细胞产生应答,获得更广泛的 T 细胞亚群表达,从而提高 IGRA 检测效能^[31]。卢永辉^[37] 研究显示, QFT-G Plus 灵敏度、特异度分别为 75.00%、97.50%,与 T-SPOT.TB 检测结果具有一致性,且明显高于培养与涂片结果。IFN- γ 诱导蛋白 10(IP-10)是一种可替代 IFN- γ 的生物标志物,其表达水平远高于 IFN- γ ,故可检测 IP-10 表达水平进而检测机体感染 MTB。有研究显示,IP-10 蛋白检测特异度为 98%,灵敏度为 87%,与 Quantiferon-TB gold(QFT)检测水平相当^[38]。但也有文献^[39] 报道年龄小、体质量超标、低蛋白血症等可能与 IGRA 假阴性结果有关,对于有免疫抑制、营养不良或严重 TB 患儿,可能会出现假阴性结果。

5 分子生物学检测

5.1 MTB 核酸检测

聚合酶链反应(PCR)是最早应用于儿童 TB 的核酸检测方法,可在不同临床标本中快速诊断儿童肺结核^[40]。Oya A 等^[41] 报道 PCR 检测的灵敏度为 77%,高于涂片和培养。国内外多项研究表明,儿童胃液载菌量较高,PCR 检测的灵敏度高于自然排痰的涂片及培养结果,胃液在儿童 TB 检测中越来越被重视^[5-6,10,42]。实时荧光恒温扩增检测技术(simultaneous amplification and testing, SAT)是新一代的核酸检测技术,具有高灵敏度、高特异度、低污染、反应稳定等优点。杨翰等^[43] 报道的 SAT 技术敏感度为 78.83%,与传统的痰培养具有高度的符合率和一致性。有研究^[44] 显示, SAT 技术用于超声引导下的经支气管镜针吸活检的标本检测,可识别活动性 MTB 感染,特异性为 100%,可鉴别痰菌阴性结核与结节病,敏感度、特异性和诊断准确性分别为 77.78%、100%和 94.44%。

5.2 环介导等温扩增技术 gu(LAMP)

LAMP 的原理是针对 *GYRB*、*IS6110* 两种靶基因上的 6 个区段设计 4 个不同的引物,利用链置换反应在 64℃^[7] 下进行高效特异性扩增反应,与 PCR 比较,

LAMP 检测 MTB 的能力提高了数倍^[45]。印度一项关于 LAMP 的先导性研究显示, LAMP 敏感度高于 PCR 和 MTB 培养,且具有较高特异性,联合培养或 PCR 可提高检测的总体敏感性。此外, LAMP 对培养阴性的标本灵敏度更高^[11]。也有研究表明, LAMP 在培养阴性时,阴性预测率为 100%,提示 LAMP 在少菌情况下对 TB 也具有较高的灵敏度,而儿童 TB 的本质就是少菌性的,表明 LAMP 对儿童 TB 的诊断有一定前景。有研究^[46] 报道,在 TB 负担高、资源和基础设施匮乏的发展中国家, LAMP 可帮助快速诊断儿童肺外结核,其灵敏度和特异度分别为 79.6%、78.0%。但目前国内研究较少,且在儿童 TB 中的应用还缺乏大量数据支持。

5.3 Xpert MTB / RIF Ultra(Xpert Ultra)

GeneXpert 是利用分子信标技术建立的半巢氏 PCR 扩增检测技术,可自动扩增 MTB *mpoB* 基因的 81bp 核心区,直接从痰液中检测 MTB 及利福平耐药性,检出下限为 112.6 cfu/mL,2 h 内即可获得结果^[47-49]。Xpert 在少菌标本下敏感度不足,限制了其在痰涂片阴性、肺外结核及人类免疫缺陷病毒(HIV)患儿中的应用, Xpert Ultra 正是基于这一限制而建立的新一代检测方法。相较于 Xpert, Xpert Ultra 有一个更大的 DNA 扩增室(从 25 μ L 增至 50 μ L),且采用了两种不同的多拷贝扩增目标(*IS6110* 和 *IS1081*),这些技术的改进旨在提高 Xpert 敏感度,减少或避免在少菌性疾病患儿中检测利福平耐药性出现假阳性的结果^[48-51]。有研究报道,改进后的 Xpert Ultra 较 Xpert 降低了痰液 MTB 菌株的检出下限(约 15.6 CFU/mL),检测能力提升 8 倍,对痰涂片阴性而培养阳性标本,敏感度提高了约 13%^[49]。一项系统评价和 Meta 分析显示, Xpert Ultra 诊断 TB 的综合灵敏度为 87.2%、综合特异度为 96.5%,优于 Xpert 的敏感性(72.5%)。一项南非开普敦的研究表明, Xpert Ultra 对同一痰诱导标本的总体灵敏度和特异度为 75.3%和 96.9%,当以 Xpert、Xpert Ultra、MTB 培养和临床资料为综合参考时, Xpert Ultra 灵敏度(73.7%)优于 Xpert(63.2%)^[52-53]。Sabi I 等^[54] 研究表明,在经 MTB 培养确诊的儿童中, Xpert Ultra(64.3%)较 Xpert(53.6%)具有更高的灵敏度,在涂阴结核患者中,两种检测技术的灵敏度差异更加明显(Xpert Ultra 44.4%、Xpert 27.8%)。此外,在诊断利福平耐药方面, Xpert 综合灵敏度与 Xpert Ultra 相近(95.1%),而综合特异度为 98.5%,低于 Xpert Ultra 的 98.9%^[55]。提示 Xpert Ultra 具有较好的诊断灵敏度,有助于儿童 TB 早期诊断和治疗。

5.4 线性探针法(LPA)

LPA 是利用 DNA 扩增-杂交反应,将特定的寡核苷酸固定在膜上已知位置,与生物素标记 PCR 产物杂交,通过检测形成的杂交体获得序列信息。LPA 具有快速、准确、技术要求较低等优势,主要优点是可直接用于痰等临床标本的检测,但由于探针的限制,不能检出所有耐药基因^[56-57],此外, LPA 所需费用较传统药敏试验更高。一项 Meta 分析显示, LPA 检测利福平耐药的灵敏度为 91%、特异度为 98%,检测异烟肼耐药的灵敏度和特异度分别为 80%、98%^[58],灵敏度和特异度均较高,被世界卫生组织(WHO)推荐用于痰涂片和 MTB 培养阳性

标本的利福平和异烟肼耐药性检测^[59]。一项尼日利亚的研究表明, LPA 对胃液及痰标本的检出率分别为 41.8% 和 58.1%, 提高了对儿童 TB 的诊断率^[60]。

基于 LPA 原理制成的商业试剂种类较多, 如 GenoType MTBDR、GenoType MTBDRplus、GenoType MTBDRsl 等。其中 GenoType MTBDRsl 可在 48~72 h 内进行氟喹诺酮类及二线注射药物耐药检测, 有助于早期诊断广泛耐药 TB 和广泛耐药 TB^[61]。GenoType MTBDRsl V2.0 较 GenoType MTBDRsl V1.0 增加了包含 *gyrB* 和 *eis* 基因相关突变的探针^[62], 对氟喹诺酮类及卡那霉素等二线注射药物耐药检测的灵敏度有所提升^[61, 63]。

6 基因检测

二代测序技术 (next-generation sequencing, NGS) 是在传统 Sanger 测序技术上发展而来的高通量测序技术, 每次可测定大量 DNA 序列, 可确定患者的基因组和参照基因组之间 DNA 序列的改变和拷贝数变异情况, 在快速准确鉴别细菌种类及耐药基因检测方面具有较大临床应用潜力^[64-65]。Illumina MiSeq™ 是目前主要使用的 NGS 技术, 采用合成测序方法检测核酸序列, 但 NGS 平台操作复杂, 需操作者获得较多培训, 故不利于其在低资源地区的应用。Oxford Nanopore MinION (简称 MinION) 携带便携, 主要通过测量分子链通过生物纳米孔时产生的电导率的变化识别 DNA 碱基。由于不同核苷酸具有不同形状, 当碱基通过纳米孔时, 每个不同的核苷酸对离子电流变化的影响可被识别出来。有研究报道, MinION 与 Illumina MiSeq™ 对 9 种抗结核药物 (如吡嗪酰胺、异烟肼、乙胺丁醇、利福平、卡那霉素、链霉素、阿米卡星、氟喹诺酮类药物和乙硫胺等) 表型耐药预测的一致性为 98.1%, 检测所需时间相近, 但 MinION 每个样本花费更低, 其成本更有竞争力, 操作也较 Illumina MiSeq™ 更简便, 有利于在低资源及发展中国家中普及。

儿童 TB 具有含菌量少、取样困难、临床表现不典型等特点, 且 MTB 涂片及培养阳性率较低, 其早期和准确诊断仍面临较大挑战, 尤其是在 TB 高负担地区, 故为提高检测的灵敏度, 应尽量选取含菌量较多的部位多次取样, 如胃液、诱导痰等。同时, 应重视免疫学及分子生物学的检测结果, IGRA 具有较高的灵敏度和特异度, 对 MTB 感染有提示意义, 还能识别潜伏结核感染; 分子诊断技术可快速地提供病原学诊断依据, 提高儿童 TB 检出率。但无论哪种检测技术都有其优劣, 为早期准确诊断儿童 TB, 还应联合多种检测技术及结合患儿临床表现。

参考文献:

- [1] HARDING E. WHO global progress report on tuberculosis elimination [J]. The Lancet respiratory medicine, 2020, 8(1): 19.
- [2] KHATAMI A, BRITTON P N, MARAIS B J. Management of children with tuberculosis [J]. Clin Chest Med, 2019, 40(4): 797-810.
- [3] MARAIS B J, OBIHARA C C, WARREN R M, et al. The burden of childhood tuberculosis: a public health perspective [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2005, 9(12): 1305-1313.
- [4] GRAHAM S M, SISMANIDIS C, MENZIES H J, et al. Importance of tuberculosis control to address child survival [J]. Lancet, 2014, 383(9928): 1605-1607.
- [5] 吕纯阳, 罗晶晶, 石华, 等. 儿童结核病的实验室诊断现状与

- 进展[J]. 中国防痨杂志, 2020, 42(2): 178-184.
- [6] FURIN J. Advances in the diagnosis, treatment, and prevention of tuberculosis in children [J]. Expert Rev Respir Med, 2019, 13(3): 301-311.
- [7] PANDEY B D, POUDEL A, YODA T, et al. Development of an in-house loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for detection of *Mycobacterium tuberculosis* and evaluation in sputum samples of Nepalese patients [J]. J Med Microbiol, 2008, 57(Pt 4): 439-443.
- [8] 宋媛媛, 刘二勇, 陶波山, 等. 分枝杆菌双相罗氏培养基在结核病诊断中的应用研究[J]. 中国防痨杂志, 2018, 40(12): 1325-1329.
- [9] 刘珍敏, 许红梅. 结核感染 T 细胞斑点试验、涂片检查和结核菌素试验在儿童结核病诊断中的比较 [C]//中华医学会结核病学分会 2019 年全国结核病学学术大会论文汇编, 江苏苏州, 2019: 152. doi: 10.26914/c.cnkihy.219.023596.
- [10] ACHARYA B, ACHARYA A, GAUTAM S, et al. Advances in diagnosis of tuberculosis: an update into molecular diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Mol Biol Rep, 2020, 47(5): 4065-4075.
- [11] SREEDEEP K S, SETHI S, YADAV R, et al. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) in the respiratory specimens for the diagnosis of pediatric pulmonary tuberculosis: a pilot study [J]. J Infect Chemother, 2020, 26(8): 823-830.
- [12] 赵磊, 刘文亚. 儿童肺结核的影像学研究进展 [J]. 放射学实践, 2020, 35(2): 246-249.
- [13] 肖岚, 毛莲. 16 排螺旋 CT 在小儿肺结核中的诊断价值 [J]. 中国实用医药, 2016, 11(20): 69-70.
- [14] BOLURSAZ M R, MEHRAN P, AGHAHOSSEINI F, et al. Evaluation of the relationship between smear positivity and high-resolution CT findings in children with pulmonary tuberculosis [J]. Pol J Radiol, 2014, 79: 120-125. doi: 10.12659/PJR.889749.
- [15] NACHIAPPAN A C, RAHBAR K, SHI X, et al. Pulmonary tuberculosis: role of radiology in diagnosis and management [J]. Radiographics, 2017, 37(1): 52-72.
- [16] 李英. 低剂量 CT 扫描应用于肺结核患儿诊断中的价值分析 [J]. 现代医用影像学, 2021, 30(8): 1467-1469.
- [17] 徐昌浓, 吕铭, 张洪标, 等. 低剂量多排螺旋 CT 扫描对儿童肺结核的诊断价值 [J]. 吉林医学, 2020, 41(4): 950-952.
- [18] 马艳, 成诗明, 周林, 等. 初治涂阴肺结核胸片复读结果与诊断质量多因素分析 [J]. 中国防痨杂志, 2011, 33(11): 707-712.
- [19] 李雪, 孟禹彤, 周翔, 等. 结核病病理诊断的新方法研究 [J]. 诊断病理学杂志, 2020, 27(5): 300-305.
- [20] LI Y, WANG Y, DING H, et al. Pathologic characteristics of spinal tuberculosis: analysis of 181 cases [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2020, 13(5): 1253-1261.
- [21] 林秀球, 欧敏, 颜韵灵, 等. 皮肤分枝杆菌感染的研究进展 [J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2022, 38(1): 60-64.
- [22] 中华医学会结核病学分会, 结核病病理学诊断专家共识编写组. 中国结核病病理学诊断专家共识 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2017, 40(6): 419-425.
- [23] LANDOLT P, STEPHAN R, STEVENS M J A, et al. Three-reaction high-resolution melting assay for rapid differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* complex members [J]. Microbiologyopen, 2019, 8(12): e919.
- [24] LANDOLT P, STEPHAN R, SCHERRER S. Development of a new High Resolution Melting (HRM) assay for identification and differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* complex samples [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 1850.
- [25] PEIXOTO A D S, MONTENEGRO L M L, LIMA A S, et al. Identification of nontuberculous *Mycobacteria* species by multiplex real-time PCR with high-resolution melting [J]. Rev Soc Bras Med Trop, 2020, 53: e20200211. doi: 10.1590/0037-8682-0211-2020.
- [26] ALAM T, ABBAS Z, GILLANI S, et al. Comparison of

- positivity of tuberculin skin test with diagnostic BCG in children suffering from tuberculosis [J]. J Ayub Med Coll Abbottabad, 2020, 32(2): 204-207.
- [27] CARRANZA C, PEDRAZA-SANCHEZ S, DE OYARZABAL-MENDEZ E, et al. Diagnosis for latent tuberculosis infection; new alternatives [J]. Front Immunol, 2020, 11: 2006. doi: 10.3389/fimmu.2020.02006.
- [28] SIDDIQI K, LAMBERT M L, WALLEY J. Clinical diagnosis of smear-negative pulmonary tuberculosis in low-income countries; the current evidence [J]. Lancet Infect Dis, 2003, 3(5): 288-296.
- [29] BOTHAMLEY G H. IFN-gamma-release assays in the management of tuberculosis [J]. Expert Rev Respir Med, 2007, 1(3): 365-375.
- [30] 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.
- [31] 逢宇, 高兴辉, 汤一苇, 等. 基于结核病宿主免疫反应的实验室检测技术及其临床应用[J]. 中国防痨杂志, 2021, 43(9): 883-892.
- [32] 张凯, 陶立峰, 韦芬, 等. 重组结核杆菌融合蛋白(EC)的免疫特性和临床前安全性研究[J]. 中国防痨杂志, 2020, 42(8): 807-813.
- [33] ZHANG H, WANG L, LI F, et al. Induration or erythema diameter not less than 5 mm as results of recombinant fusion protein ESAT6-CFP10 skin test for detecting *M. tuberculosis* infection [J]. BMC infectious diseases, 2020, 20(1): 685.
- [34] TUFARIELLO J M, CHAN J, FLYNN J L. Latent tuberculosis; mechanisms of host and bacillus that contribute to persistent infection [J]. Lancet Infect Dis, 2003, 3(9): 578-590.
- [35] GOLETTI D, SANDUZZI A, DELOGU G. Performance of the tuberculin skin test and interferon- γ release assays: an update on the accuracy, cutoff stratification, and new potential immune-based approaches [J]. J Rheumatol Suppl, 2014, 91: 24-31. doi: 10.3899/jrheum.140099.
- [36] WENDORF K A, LOWENTHAL P, FERAUD J, et al. Interferon- γ release assays for tuberculosis infection diagnosis in refugees <5 years old [J]. Pediatrics, 2020, 146(4): e20200715.
- [37] 卢永辉. γ -干扰素释放试验在儿童结核病诊断中的价值[D]. 浙江温州: 温州医科大学, 2018.
- [38] BLAUENFELDT T, VILLAR-HERNÁNDEZ R, GARCÍA-GARCÍA E, et al. Diagnostic accuracy of interferon gamma-induced protein 10 mRNA release assay for tuberculosis [J]. J Clin Microbiol, 2020, 58(10): e00848-e00820.
- [39] WANG M S, LIU X J. Risk factors for false-negative interferon- γ release assay results in culture-confirmed childhood TB [J]. Am J Trop Med Hyg, 2019, 101(6): 1303-1307.
- [40] GHOLBOBI A, MASOUDI-KAZEMABAD A, MESHKAT M, et al. Comparison of culture and PCR methods for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* in different clinical specimens [J]. Jundishapur J Microbiol, 2014, 7(2): e8939.
- [41] OYA A, MUHAMMET G K. Comparison of conventional and molecular methods in the detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinically suspected samples of tuberculosis [J]. Journal of pure and applied microbiology, 2019, 13(2): 1217-1222.
- [42] WALTERS E, GIE R P, HESSELING A C, et al. Rapid diagnosis of pediatric intrathoracic tuberculosis from stool samples using the Xpert MTB/RIF assay: a pilot study [J]. Pediatr Infect Dis J, 2012, 31(12): 1316.
- [43] 杨翰, 李爱芳, 王佩, 等. DNA 实时荧光恒温扩增法在结核病临床检测中的应用价值[J]. 中国防痨杂志, 2020, 42(12): 1294-1298.
- [44] LI Q H, ZHANG Y, ZHAO M M, et al. Simultaneous amplification and testing method for *Mycobacterium tuberculosis* rRNA to differentiate sputum-negative tuberculosis from sarcoidosis [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2019, 316(3): L519-L524.
- [45] ARYAN E, MAKVANDI M, FARAJZADEH A, et al. A novel and more sensitive loop-mediated isothermal amplification assay targeting IS6110 for detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex [J]. Microbiol Res, 2010, 165(3): 211-220.
- [46] RAJPUT R, SINGH P, SARIN R, et al. Diagnostic accuracy of loop-mediated isothermal amplification assay for extra-pulmonary tuberculosis in Indian population [J]. J Microbiol Methods, 2019, 158(1): 59-65.
- [47] 夏露, 张峭, 卢水华. 儿童结核病的诊断新进展[J]. 中国防痨杂志, 2018, 40(4): 416-419.
- [48] ATHERTON R R, CRESSWELL F V, ELLIS J, et al. Xpert MTB/RIF Ultra for tuberculosis testing in children; a mini-review and commentary [J]. Front Pediatr, 2019, 7: 34. doi: 10.3389/fped.2019.00034.
- [49] CHAKRAVORTY S, SIMMONS A M, ROWNEKI M, et al. The new Xpert MTB/RIF Ultra: improving detection of *Mycobacterium tuberculosis* and resistance to rifampin in an assay suitable for point-of-care testing [J]. mBio, 2017, 8(4): e00812-e00817.
- [50] 王亚翠, 孙琳, 申阿东. Xpert MTB/RIF Ultra 在儿童结核病诊断中的应用进展[J]. 中国防痨杂志, 2021, 43(8): 843-846.
- [51] World Health Organization. WHO meeting report of a technical expert consultation: non-inferiority analysis of Xpert MTB/RIF Ultra compared to Xpert MTB/RIF [R]. WHO/HTM/TB. <http://www.jou.com/en/article/doi/10.5964/bes2017.115>.
- [52] NICOL M P, WORKMAN L, PRINS M, et al. Accuracy of Xpert MTB/RIF Ultra for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children [J]. Pediatr Infect Dis J, 2018, 37(10): e261-e263.
- [53] OPOTA O, MAZZA-STALDER J, GREUB G, et al. The rapid molecular test Xpert MTB/RIF Ultra: towards improved tuberculosis diagnosis and rifampicin resistance detection [J]. Clin Microbiol Infect, 2019, 25(11): 1370-1376.
- [54] SABRI I, RACHOW A, MAPAMBA D, et al. Xpert MTB/RIF Ultra assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children; a multicentre comparative accuracy study [J]. J Infect, 2018, 77(4): 321-327.
- [55] ZHANG M, XUE M, HE J Q. Diagnostic accuracy of the new Xpert MTB/RIF Ultra for tuberculosis disease: a preliminary systematic review and Meta-analysis [J]. Int J Infect Dis, 2020, 90: 35-45. doi: 10.116/j.ijid.2019.09.016.
- [56] 王江峡, 许红梅. 儿童结核病分子诊断技术研究进展[J]. 临床儿科杂志, 2019, 37(11): 872-876.
- [57] NINAN M M, GOWRI M, CHRISTOPHER D J, et al. The diagnostic utility of line probe assays for multidrug-resistant tuberculosis [J]. Pathog Glob Health, 2016, 110(4-5): 194-199.
- [58] 许璐, 孙一鑫, 詹思延. 线性探针技术诊断耐药肺结核准确性的 Meta 分析[J]. 中华流行病学杂志, 2018, 39(11): 1491-1495.
- [59] SCOTT L, DA SILVA P, BOEHME C C, et al. Diagnosis of opportunistic infections: HIV co-infections-tuberculosis [J]. Curr Opin HIV AIDS, 2017, 12(2): 129-138.
- [60] EBONYI A O, OGUCHE S, ABOK I I, et al. Improving the diagnosis of pulmonary tuberculosis using line probe assay and determining the factors associated with the disease in children in Jos, Nigeria [J]. Germs, 2020, 10(4): 328-337.
- [61] RUFAI S B, Umay K, SINGH P K, et al. Performance of Genotype MTBDRsl V2.0 over the Genotype MTBDRsl V1 for detection of second line drug resistance: an Indian perspective [J]. PLoS One, 2020, 15(3): e0229419.
- [62] BROSSIER F, VEZIRIS N, AUBRY A, et al. Detection by

- GenoType MTBDRsl test of complex mechanisms of resistance to second-line drugs and ethambutol in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates [J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(5): 1683-1689.
- [63] YADAV R, SAINI A, KAUR P, et al. Diagnostic accuracy of GenoType® MTBDRsl VER 2.0 in detecting second-line drug resistance to *M. tuberculosis* [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2018, 22(4): 419-424.
- [64] WATTAL C, RAVEENDRAN R. Newer diagnostic tests and their application in pediatric TB [J]. Indian J Pediatr, 2019, 86(5): 441-447.
- [65] MUZZEY D, EVANS E A, LIEBER C. Understanding the basics of NGS: from mechanism to variant calling [J]. Curr Genet Med Rep, 2015, 3(4): 158-165.

(编辑:邓境)

(收稿日期:2021-12-14 修回日期:2022-01-31)

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2024.04.016

• 综述 •

A 族链球菌感染与儿童风湿性疾病发病机制研究进展

徐银玉,唐雪梅(重庆医科大学附属儿童医院,国家儿童健康与疾病临床医学研究中心,儿童发育疾病研究教育部重点实验室,儿童感染与免疫罕见病重庆市重点实验室,重庆 400014)

[中图分类号]R725.9

[文献标识码]A

[文章编号]1672-108X(2024)04-0063-04

Progress of Group A *Streptococcus* Infection and Pathogenesis of Rheumatic Diseases in Children

Xu Yinyu, Tang Xuemei (Children's Hospital of Chongqing Medical University, National Clinical Research Center for Child Health and Disorders, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, Chongqing Key Laboratory of Child Rare Diseases in Infection and Immunity, Chongqing 400014, China)

A 族链球菌(group A *Streptococcus*, GAS)又称化脓性链球菌,是自然界中一种常见的致病菌,可引起多种疾病,包括浅表性感染、侵袭性感染、毒素介导的疾病以及感染后免疫反应性疾病等^[1]。风湿热是 GAS 感染相关免疫性疾病的典型代表,近年来研究发现,GAS 感染还与过敏性紫癜^[2]、川崎病^[3]、幼年特发性关节炎^[4]等多种风湿性疾病发病有一定关联,本文主要就 GAS 感染与儿童风湿性疾病发病机制进行阐述。

1 GAS 感染简述

GAS 是革兰阳性球菌,常定植在人类鼻咽部和皮肤,其主要致病机制^[5]:(1)GAS 的菌体成分及其分泌的多种毒力因子,促使链球菌粘附于宿主细胞表面,侵入宿主组织,破坏宿主防御机制,导致疾病的发生;(2)GAS 的某些抗原作为交叉反应抗原,通过分子模拟机制,触发对宿主组织的自身免疫反应。抗链球菌溶血素 O(anti-streptolysin O, ASO)是机体感染 GAS 后产生的相应抗体,其血清水平一般于感染 1 周后开始上升,3~6 周后达到峰值,常用于 GAS 感染后继发疾病如风湿热的辅助诊断^[1]。

临床上, β -内酰胺类抗生素是治疗 GAS 感染的首选药物。虽然目前未发现对青霉素耐药的 GAS^[6],但最近研究表明,GAS 可能通过青霉素结合蛋白 2x(penicillin binding protein 2x, PBP2x)基因突变降低对 β -内酰胺类

抗生素的敏感性^[7]。对于青霉素过敏者,大环内酯类和林可酰胺类抗生素是常用的替代药物。自 20 世纪 90 年代以来,我国 GAS 对大环内酯类药物和克林霉素耐药率一直相对较高^[8],原因可能与 GAS 通过 *ermB* 或 *ermA* 亚型 *ermTR* 编码的红霉素核糖体甲基化酶靶点修饰,以及 *mef* 基因编码的主动外排泵对大环内酯类、林可霉素类抗生素产生耐药性有关。此外,GAS 对四环素类耐药的原因主要与核糖体保护基因(如 *tetM*、*tetO*)和外排泵基因(*tetK*)相关^[1]。

GAS 疫苗的开发历史悠久,但至今尚未获批上市。GAS 疫苗研发工作存在许多障碍,包括疫苗可能诱发自身免疫性疾病风险、GAS 血清型众多、缺乏合适 GAS 感染的动物模型进行疫苗评估、GAS 流行病学的复杂性等。

目前 GAS 疫苗主要分为 M 蛋白相关疫苗和非 M 蛋白相关疫苗。全球范围内 M 蛋白相关疫苗主要包括 StreptAnova、StreptInCor、J8/S2 combivax、P * 17/S2 combivax、PMA-P-J8、BP-p * 17-S2 等^[9-10]。其中 StreptAnova 覆盖 30 个 GAS 血清型,于 2020 年已完成 I 期临床试验。试验结果显示其具有良好的耐受性和免疫原性,同时没有诱发自身免疫性疾病的临床证据^[11]。StreptInCor 是来自 M 蛋白 C 末端区域的 55 个氨基酸组成,计划于 2023 年底前开始临床试验。J8/S2 combivax 及 P * 17/S2 combivax 是 M 蛋白抗原表位(J8 和 P * 17)与化脓性链球菌细胞包膜蛋白酶(*Streptococcus pyogenes* cell envelope proteinase, SpyCEP)的 B 细胞表位结合而成,已

基金项目:国家重点研发计划“生育健康及妇女儿童健康保障”重点专项,编号 2021YFC2702003。

作者简介:徐银玉(1998.10-),女,硕士,住院医师,主要从事儿童风湿免疫疾病研究,E-mail: x384324943@163.com。

通信作者:唐雪梅(1969.02-),女,博士,主任医师,主要从事儿童风湿免疫疾病研究,E-mail: tangxuemei2008@163.com。