

文章编号:2095-0411(2016)06-0018-05

全球结核病疫情与诊断新技术

罗明志,陈鹤升,周远群,高海洋,金 阳,李 琳,邓林红

(常州大学 生物医学工程与健康科学研究院,常州市呼吸医学工程重点实验室,江苏 常州 213164)

摘要:结核病是全世界重点防控的一类传染病。全球结核病在 1993 年进入紧急状态,随着“千年发展目标”结核病防控战略的实施,全球结核病防控取得了巨大进展。2016 年,全球进入“结核病终止策略”新阶段,这对结核病的诊断,尤其是潜伏性感染诊断和耐药结核诊断提出了更高的要求。概述了全球结核病疫情和防控情况,并对相关诊断技术的进行了比较,为今后结核病的精准防控提供参考。

关键词:结核病;疫情;防治;诊断技术

中图分类号:R 441

文献标志码:A

doi:10.3969/j.issn.2095-0411.2016.06.004

Global Tuberculosis Epidemic and New Diagnosis Technology

LUO Mingzhi, CHEN Hesheng, ZHOU Yuanqun, GAO Haiyang, JIN Yang, LI Lin, DENG Linhong
(Changzhou Key Laboratory of Respiratory Medical Engineering, Institute of Biomedical Engineering and Health Sciences, Changzhou University, Changzhou 213164, China)

Abstract: As one of the infectious diseases, much focus is laid on the prevention, diagnosis and treatment of Tuberculosis (TB) all over the world. Global TB infection was in a state of emergency in 1993, but with the implementation of “Millennium Development Goals”, great progress has been made in global TB prevention and control. In 2016, the world comes into a new stage of “The END TB Strategy”, and this puts forward higher requirements for the diagnosis of tuberculosis, especially for latent infection diagnosis and drug-resistant TB. This paper first summarizes the global TB epidemic and control situation, and compares the latest development of diagnostic technology, providing a reference for the further accurate early prevention and control of TB.

Key words: Tuberculosis; epidemic; prevention and control; diagnosis

结核病(Tuberculosis, TB)流行范围广、危害程度高,是伴随人类历史最长、造成死亡人数最多的一类传染病,全世界每年约有 900 万新增 TB 患者,死亡人数约 150 万,在全世界都受到高度关注^[1]。2014 年 5 月 19 日,第 67 届世界卫生大会(WHA)采纳了 WHO 提出的 2015 年之后肺结核预防、治疗

和控制全球战略(结核病终止策略, The END TB Strategy)^[2-3]。目标是与 2015 年相比,2035 年 TB 死亡率下降 95%、发病率下降 90%。远景目标是建立一个没有结核病的世界,达到零死亡、零发病,终止 TB 全球流行。同时确立了 2020 年、2025 年和 3030 年具体指标(表 1),到 2020 年没有因结核病导

收稿日期:2016-06-02。

基金项目:国家自然科学基金重点项目(11532003);江苏省高校自然科学研究面上项目(14KJB180001);常州市应用基础项目(CJ20159033)。

作者简介:罗明志(1980—),男,湖北随州人,博士,讲师,主要从事细胞生物学研究。通讯联系人:邓林红(1960—), E-mail: dlh@cczu.edu.cn

致灾难性支出的家庭;到 2025 年结核病死亡数比 2015 年减少 75%^[4]。

表 1 WHO 全球结核控制计划

Table 1 The prevention program of global tuberculosis

指标	降低幅度(与 2015 年相比)/%			
	2020 年	2025 年	2030 年	2035 年
TB 死亡人数	35	75	90	95
TB 发病率	20	50	80	90
	(<85/100 000) (<55/100 000)			
因 TB 陷入生活		100		
灾难家庭数				

说明:摘自第六十七届世界卫生大会决议(http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA67/A67_11-ch.pdf)。

因此,2016 年是全球 TB 防治转折点,即由“TB 遏制策略”^[5]转向“TB 终止策略”转变之年。我国作为 TB 高负担国,是推行 TB 防治最为全面的国家之一,在 TB 控制方面取得了良好的进展;但由于环境(尤其 PM_{2.5})污染等问题,TB 发病率有抬头之势^[6]。因此,要终止 TB 的全球流行,首先要了解全球 TB 疫情及控制情况,同时以新型的 TB 诊断和治疗技术作为保障^[1, 7-8]。

本文结合近年来结核病方面主要权威文献资料,尤其是世界卫生组织(WHO)最新发布的全球结核病报告,分析了对全球结核病疫情现状^[9]进行了分析,并对目前潜伏性结核感染(LTBI)和耐药性结核病诊断方式进行了比较^[10-13],为 TB 防治尤其是对 LTBI 的准确诊断提供新的理论基础。

1 全球结核病疫情现状综述

TB 是由结核分支杆菌(*M. tuberculosis*, MTB)感染引起的慢性传染病,因致病菌可能侵入人体全身各种器官,因此可引起肺结核(pulmonary tuberculosis)和肺外结核两种类型疾病。肺外结核(extra pulmonary tuberculosis)是指当 MTB 通过呼吸系统感染后,还可以由肺部病变通过血液或淋巴系统播散到人体的各个脏器。发生在肺部以外各部位结核病称为肺外结核。依据发病程度可以分为活跃型和潜伏型 TB。

TB 疫情数据表明全球 TB 控制取得巨大进展:与 1990 年相比,2014 年全球 TB 患病率降低 42%,死亡率下降 47%;2000 年以来,全球 TB 发病率每年平均下降 1.5%,现在发病率比 2000 年水平要低 18%,有效的 TB 诊断和治疗拯救 4 300 万人的生命。美洲区域、东南亚区域和西太平洋区域以及九

个高负担国家(巴西、柬埔寨、中国、埃塞俄比亚、印度、缅甸、菲律宾、乌干达和越南)已经实现使患病率比 1990 年减半的目标。

但全球结核病防控形势仍十分严重。2014 年全世界约有 960 万新增结核病患者,其中 540 万男人、320 万妇女和 100 万儿童。2014 年,TB 死亡人数为 150 万人(89 万男人、48 万妇女和 14 万儿童),已经超越艾滋病,成为世界上致死人数最多的传染病。2014 年的 960 万结核病新病例中,58%发生在东南亚和西太平洋区域,28%发生在非洲区域。印度、印度尼西亚和中国的病例数最多,分别占全球总数的 23%、10%和 10%^[9]。

2 结核病诊断技术进展

2014 年,WHO 收到了 600 万例 TB 新病例报告,与预估罹患该病的 960 万人相比,不足 2/3。这意味着全世界有 37%的新病例未得到诊断,从而限制了全球 TB 的防控。

潜伏性感染人群诊断、耐药结核诊断是结核病防控工作中的主要挑战^[4]。2012 年 WHO 在对未来全球 20 年结核病控制目标预测时就明确指出,只有加强现有 TB 遏制策略实施的同时,做好相关诊断技术开发,再加上有效药物和疫苗的出现,才能达到全球结核病控制目标实现^[5,10]。

MTB 检测和结核菌素试验是 TB 诊断的常规方法。痰结核菌检查被用于结核菌检测,方法是将患者的痰液涂片,用显微镜观察是否有 MTB 感染。痰结核菌检查简便易行,但该方法阳性率低是其主要缺点。目前 MTB 检测的“金指标”是结核菌培养,结果可信度高,并能做结核菌药敏试验,但需时 6~8 周,应用受到限制。

2.1 免疫诊断及其在潜伏型结核诊断中的应用^[11]

血清学检测是 TB 诊断的一种重要方法^[6, 12]。脂阿拉伯甘露聚糖是分枝杆菌细胞壁的重要组成部分,属特异性抗原,可刺激机体产生抗体,因而是结核病血清学诊断应用较广的抗原。Antunes 等用美国生产的 MycoDot TM 试剂盒检测活跃型肺结核病人的敏感性为 63.0%,特异性 92.4%。

早期分泌性抗原靶 6(early secretory antigen target-6, ESAT-6),是从 MTB 短期培养滤液中分离纯化的一种低分子质量(6 kD)蛋白,具有较强的细胞免疫活性。ESAT-6 仅存在于致病性分枝杆菌

中,如结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)、非洲分枝杆菌(*Mycobacterium africanum*)、牛分枝杆菌(*Mycobacterium bovis*)和田鼠分枝杆菌(*Mycobacterium microti*)等,而在 BCG 及其他非分枝杆菌中缺失。培养滤液蛋白 10 (culture filtrate protein-10, CFP-10),可以刺激 TB 患者 Th1 T 细胞,但不会和 BCG 免疫人群或者环境分枝杆菌感染人群的 T 细胞反应。ESAT-6 和 CFP10 位于 *M. tuberculosis* 基因组的 RD1 区域,而这些基因在 BCG 疫苗和大部分非分枝杆菌中不表达,并能刺激人体产生特异性 IgG。因此,利用 ESAT-6 和 CFP10 能与 MTB 感染者血清中 IgG 结合的特点,可特异性的区分结核分枝杆菌感染或是接种 BCG,从而排除接种 BCG 对检测结果的影响^[13]。研究表明在结核病诊断过程中发现单一抗原无法产生令人满意的诊断结果,多克隆抗原“鸡尾酒”的应用,有助于诊断特异性和敏感性的提高^[14]。

结核潜伏感染(LTBI)通常指体内存在结核杆菌,但无症状且痰中无结核菌。虽然 TB 是一个古老的疾病,但 LTBI 是在 19 世纪后期随着技术的进步才认识到的。1882 年,科赫发现了 TB 的致病菌,随后发明了“科赫液体”(纯培养结核分枝杆菌丙三醇提取物)用于结核的活菌免疫,随后证明这种方法没有免疫效果,但有意思的是发现科赫液体是一种有效的诊断手段。Mantoux 在 1934 年在此基础上发展出结核皮试(tuberculin skin test, TST),结果发现在健康人群中也有阳性结果,首次提出潜伏感染的问题。

如果 MTB 在宿主受到免疫抑制,将以休眠的状态存在于宿主体内几十年甚至一生,导致持续感染而不发病。LTBI 人群占到总人口的 30%,而 TB 患者最终是从 LTBI 中诞生(2 年内发展成 TB 概率为 5%,最终发展成 TB 的概率约 10%)。因此,降低 LTBI 人群数量将显著降低 TB 发病率,诊断和治疗潜伏型结核病 LTBI 是控制结核病的基石。

MTB 只能从体内具有活菌的疾病期患者体内分离获得,因此 LTBI 主要是通过非直接的测量人体对抗原刺激的免疫活性而诊断。LTBI 患者体内菌量少,人体应答弱,所以直接检测结核杆菌的血清免疫反应不可行。目前主要是采用结核菌素皮试实验(TST)和 γ -干扰素释放试验(IGRAs)联合诊断(图 1)。

TST 检测是通过检测皮肤对纯化 MTB 相关蛋白的过敏反应来检测 TB,该方法被 WHO、美国胸

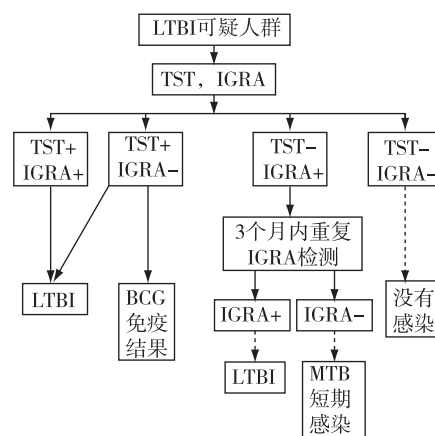


图 1 LTBI 人群检测流程^[15-16]

Fig.1 The detection process for LTBI^[15-16]

腔学会和美国疾病控制与预防中心推荐使用, TST 检测不仅可用于 TB 诊断,还可为卡介苗接种提供依据(阴性者是卡介苗的接种对象),同时为测定疫苗接种效果提供依据(阳性表示卡介苗接种成功)^[7]。但是 TST 特异性低,敏感性较差,原因是免疫低下的人群(HIV 患者等)无变应反应^[8]。

IGRAs 是从受试者收集血液,检测其 T 细胞受 MTB 抗原刺激后 IFN- γ 释放能力^[17]的 LTBI 诊断新方法。这个有潜力的诊断新方法有两种试验方式:酶联免疫斑点测定法(直接计算 γ 干扰素分泌 T 淋巴细胞的数量)和全血酶联免疫吸附测定(T 淋巴细胞分泌 γ 干扰素的浓度)。市场上酶联免疫斑点测定法以 T-SPOTTM(英国阿宾顿牛津大学建立)为主,酶联免疫吸附测定对应的产品是 QuantiFERON-TBw Gold In-Tube (QFT)(卡内基梅隆大学澳大利亚分校建立)。两种释放试验都包括 ESAT-6 和 CFP-10,是 MTB 引起 Th1 T 淋巴细胞活化的强抗原,但卡介苗 BCG 菌株和大部分结核杆菌中没有。因此,与 TST 相比,IGRAs 不会被之前接种的卡苗混淆,提高了检测准确性。其中 QFT 实验还包括第三个抗原(TB7.7,位于 RD-11 区域)。QFT 是基于 ELISA 检测全血的一种方法,检测细胞悬液上清中的 IFN- γ (IU/mL)。通过分析显示 TST、QFT 和 T-SPOT 诊断 TB 的敏感性分别为 0.70, 0.81 和 0.88^[16]。

无论是 TST、血清检测、还是 IGRAs 都不能在 TB 感染的早期检测出来,因为这些方法都是检测在 TB 感染大约 8 周以后人体获得性免疫系统(表 2)。这些方法预测 LTBI 向活跃期 TB 转换(PPV)的能力较差,其中 IGRAs 的相关性略高于 TST

(2.4% TST 的相关性为 2.4%,IGRAs 的相关性为 6.8%)^[16]。人体免疫能力也会影响 TST 和 IGRAs 检测的敏感性和准确性^[18]。

表 2 TB 免疫诊断方法的优点和局限性^[9]
Table 2 The advantages and limitations of the immune diagnosis method for TB^[9]

方法	血清检测	干扰素释放试验
检测原理	体液免疫反应(抗体)	细胞免疫反应(T 细胞)
应用领域	活跃型结核病诊断	潜伏型结核病诊断
优点	可在销售点使用不需要痰液,指尖取血技术简单(如酶链反应吸附测定,层析检测)3~4h 获得结果	使用卡介苗和非结核杆菌中没有的特异的肺结核核抗体离体试验不需要痰液可在 24h 内获得结果
缺点	不是直接检测结核杆菌假阳性和假阴性异质性的抗原识别患者不推荐或监管批准临床使用	不是直接检测结核杆菌昂贵且要求实验设备不能即时检测特异性高

2.2 耐药型结核诊断新技术

耐药型结核尤其是耐多药结核病(MDR-TB)和广泛耐药结核病(XDR-TB)的快速诊断仍然是结核病控制面临的主要难题之一^[19]。在全球,估计有 3.3%的结核病新病例和 20%的曾接受治疗病例罹患 MDR-TB。2014 年,接受耐药性检测的结核病患者大幅增加(报告例数 12.3 万例,但预估总数达 48 万例),其中半数以上(54%)出现在印度、中国和俄罗斯联邦,约 19 万人死于 MDR-TB。到 2015 年,已有 105 个国家报告发生了 XDR-TB。据估计,9.7%的 MDR-TB 患者罹患 XDR-TB。

现代基因诊断技术为分枝杆菌的快速检测提供了可能,将诊断时间从传统方法的几周降低到 1 天。目前临床使用的 MTB 基因诊断技术主要为 PCR 等^[20]。

Xpert MTB/RIF^[21] 是美国 Cepheid 公司开发的 GeneXpea 全自动一体化荧光定量 PCR 仪专用的 MTB 检测试剂盒,它将超声破碎、核酸提取、样品扩增、实时检测融于一体,能在 2h 内从患者新鲜痰液中直接检出是否含有 MTB 及该菌是否对利福平耐药。该方法对 MTB 特有的与利福平耐药相关序列 rpoB 基因上 81 bp 的核心区域(RRDR)进行检测,该区域突变种类多,突变率相对较高^[10]。

自 WHO 在 2010 年首次建议使用 Xpert MTB/RIF 法诊断耐药性结核以来,该方法得到了大范围的推广。116 个低收入和中等收入国家在

2014 年以优惠价格总共采购了 480 万支检测试剂,而 2011 年的采购量仅为 55 万支。到 2015 年,69%的国家把 Xpert MTB/RIF 用作为耐药结核的初步诊断检测法。

2014 年 12 月,科学家在巴西进行了关于用 Xpert MTB/RIF 取代涂片镜检诊断结核病影响的试验,结果表明 Xpert MTB/RIF 检测增加了肺结核的确诊率,而且能准确检测出利福平的耐药性^[11]。

3 总结和展望

1993 年 WHO 宣布结核病进入紧急状态^[13],随后全球开始 DOTS 策略和遏制结核病战略,这些新型防控技术的实施保证了目前全球结核病的有效遏制^[14]。尽快引进、评估、推广新的结核病诊断技术,这对于提高结核病发现水平极为重要。

由于 MTB 特性、感染发病过程的复杂性、TB 流行程度的广泛性及 TB 耐药程度逐渐增高,导致目前结核病的实验室诊断中检验项目多,涉及实验技术学科众多,检验结果需要涵盖临床诊断、治疗方案确定和疗效评价等多个方面^[18]。

追踪 LTBI 需要鉴别和治疗无症状个体,考虑部分 LTBI 阳性个体不会发展成结核病,且 LTBI 治疗效果存在缺陷并产生副作用,因此开发可预测哪些 LTBI 人群会发生结核的检测方法将具有突破性意义。

但是,应当指出离完全消灭结核病的目标还有很长的一段距离。WHO 提出完全消灭一种传染病的一个前提是拥有易于使用的诊断工具,因此,未来结核病诊断试剂的发展更加强调简单、廉价、快速、敏感且特异,尤其是开发潜伏性感染和耐药性诊断新方法对全球结核病终止策略的实现尤为重要。

参考文献:

[1]PAI M, SCHITO M. Tuberculosis diagnostics in 2015: Landscape, priorities, needs, and prospects[J]. Journal of Infectious Diseases, 2015, 211(suppl2): 21-28.
[2] PRASAA A, ROSS A, ROSENBERG P, et al. A world of cities and the end of TB[J]. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 2016, 110 (3):151-152.
[3] UPLEKAR M, WEIL D, LONNROTH K, et al. WHO's new End TB strategy[J]. The Lancet, 2015, 385(9979): 1799-1801.

- [4] CHEON S A, CHO H H, KIM J, et al. Recent tuberculosis diagnosis toward the end TB strategy[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2016, 123: 51-61.
- [5] RAVIGLIONE M C, UPLEKAR M W. WHO's new stop TB strategy[J]. *The Lancet*, 2006, 367(9514): 952-955.
- [6] HUYNH G H. Can China achieve the WHO global targets for TB control by 2035[J]. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2016, 110(3): 161-162.
- [7] DENG J, BI L, ZHOU L, et al. Mycobacterium tuberculosis proteome microarray for global studies of protein function and immunogenicity[J]. *Cell Reports*, 2014, 9(6): 2317-2329.
- [8] LALVANI A, PAREEK M. A 100 year update on diagnosis of tuberculosis infection [J]. *British Medical Bulletin*, 2010, 93(1): 69-84.
- [9] ROBERTS C A. Old world tuberculosis: Evidence from human remains with a review of current research and future prospects. *Tuberculosis*, 2015, 95 (Suppl 1): 117-121.
- [10] EVANS C A. GeneXpert-A game-changer for tuberculosis control[J]. *PLoS Medicine*, 2011, 8: e1001064.
- [11] DORMAN S E. New diagnostic tests for tuberculosis: Bench, bedside, and beyond[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2010, 50(suppl3): 173-177.
- [12] WINETSKY D E, NEGOESCU D M, DEMARCHIS E H, et al. Screening and rapid molecular diagnosis of tuberculosis in prisons in Russia and Eastern Europe: A cost-effectiveness analysis[J]. *PLoS Medicine*, 2012, 9(11): e1001348.
- [13] WHITWORTH H S, SCOTT M, CONNELL D W, et al. IGRAs-the gateway to T cell based TB diagnosis [J]. *Methods*, 2013, 61(1): 52-62.
- [14] SINGH N, SREENIVAS V, SHEORAN A, et al. Serodiagnostic potential of immuno-PCR using a cocktail of mycobacterial antigen 85B, ESAT-6 and cord factor in tuberculosis patients [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2016, 120: 56-64.
- [15] Redelman-SIDI G, SEPKOWITZ K A. IFN- γ release assays in the diagnosis of latent tuberculosis infection among immunocompromised adults[J]. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2013, 188(4): 422-431.
- [16] DIEHL R, LODDENKEMPER R, NIENHAUS A. Predictive value of interferon- γ release assays and tuberculin skin testing for progression from latent TB infection to disease state[J]. *Chest*, 2012, 142(1): 63-75.
- [17] PAI M, ZWERLING A, MENZIES D. Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: An update[J]. *Annals of Internal Medicine*, 2008, 149(3): 177-184.
- [18] ABUBAKAR I, STAGG H R, WHITWORTH H, et al. How should I interpret an interferon gamma release assay result for tuberculosis infection[J]. *Thorax*, 2013, 68(3): 298-301.
- [19] ATRE S. An urgent need for building technical capacity for rapid diagnosis of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) among new cases: a case report from Maharashtra, India [J]. *Journal of Infection and Public Health*, 2015, 8(5): 502-505.
- [20] YAN L, XIAO H, ZHANG Q. Systematic review: Comparison of Xpert MTB/RIF, LAMP and SAT methods for the diagnosis of pulmonary tuberculosis[J]. *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)*, 2016, 96: 75-86.
- [21] STEINGART K R, SCHILLER I, HORNE D J, et al. Xpert(R) MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults[J]. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2014(1): CD009593.

(责任编辑:殷丽莉)