

结核病

P H T H J J J O L O G Y

主 编 马 珣 朱莉贞 潘毓萱



人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

结核病 / 马珂等主编. —北京: 人民卫生出版社,
2006.12

ISBN 7-117-08305-0

I. 结... II. 马... III. 结核病-诊疗 IV. R52

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 146439 号

结 核 病

主 编: 马 珂 朱莉贞 潘毓萱

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-67616688)

地 址: 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

邮 编: 100078

网 址: [http://www. pmph. com](http://www.pmph.com)

E - mail: [pmph @ pmph. com](mailto:pmph@pmph.com)

购书热线: 010-67605754 010-65264830

印 刷: 三河市宏达印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 889 × 1194 1/16 印张: 39.5

字 数: 1203 千字

版 次: 2006 年 12 月第 1 版 2006 年 12 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 7-117-08305-0/R · 8306

定 价: 93.00 元

版权所有, 侵权必究, 打击盗版举报电话: 010-87613394

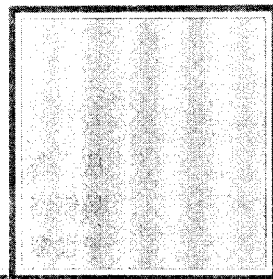
(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

编 者

(按姓氏笔画排序)

马 玟	研究员	北京市结核病胸部肿瘤研究所
马伟路	主任医师	北京胸科医院
于维琴	主任医师	天津肺科医院
王 林	副研究员	中国疾病预防控制中心结核病预防控制中心
王忠仁	研究员	北京市结核病胸部肿瘤研究所
王国斌	主任医师	河南省胸科医院
王黎霞	副研究员	北京市结核病胸部肿瘤研究所
孔文琴	主任医师	北京胸科医院
朱允中	主任医师	北京市结核病胸部肿瘤研究所
朱莉贞	主任医师	北京市结核病胸部肿瘤研究所
许绍发	主任医师	北京市结核病胸部肿瘤研究所
李拯民	主任医师	北京市结核病胸部肿瘤研究所
李 敏	主任医师	北京市结核病胸部肿瘤研究所
吴启秋	研究员	北京市结核病胸部肿瘤研究所
何礼贤	教授	复旦大学附属中山医院
周 冕	主任医师	北京市结核病胸部肿瘤研究所
周新华	主任医师	北京市结核病胸部肿瘤研究所
苑松林	主任医师	天津肺科医院
郑素华	主任医师	北京市结核病胸部肿瘤研究所
张培元	主任医师	北京胸科医院
张晨曦	主任医师	南京胸科医院
张 本	副主任医师	北京市结核病胸部肿瘤研究所
高孟秋	副主任医师	北京市结核病胸部肿瘤研究所
秦 明	副主任医师	北京市结核病胸部肿瘤研究所
徐伟贤	副主任医师	北京市结核病胸部肿瘤研究所
夏祥新	主任医师	上海市肺科医院
唐神结	副主任医师	上海市肺科医院
谢汇江	主任医师	北京市结核病胸部肿瘤研究所
汤兵祥	主任医师	河南省胸科医院
潘毓萱	研究员	北京市结核病胸部肿瘤研究所

序 言



结核病是伴随人类历史最长的疾病之一，也是由单一致病菌引致死亡最多的疾病。据资料介绍，自 1882 年 Koch（柯赫）发现结核杆菌以来，迄今因结核病死亡人数已达 2 亿。1904 年在德国 Heidelberg 附近出土的新石器时代（公元前 5 000~10 000 年）人的颈椎骨化石，就发现有结核病变的存在。金字塔时期埃及 24 王朝的木乃伊中发现脊柱结核病。公元前 300 年 Aristotle 提出结核病具有传染性的观念。18 世纪结核病曾随着工业革命的兴起，在欧洲猖獗蔓延，在不良的工作和生活条件下，结核病的发病人数大为增加，又没有治疗办法，大批病人死亡，英国伦敦的结核病死亡率曾高达 900/10 万，结核病被称为“白色瘟疫”，在人类历史上演绎了一幕幕悲剧。

20 世纪 40 年代后，多种抗结核药物相继出现，结核病已成为可治之症，在 20 世纪 80 年代初甚至认为在世纪末可以消灭结核病，但是，过度的乐观导致了疏忽，世界许多地区的结核病防治系统被削弱甚至取消。AIDS 的流行导致结核病人迅速增加以及耐药性菌株产生，使结核病的流行成为严重的公共卫生问题。

当前，结核病仍然严重危害着人类健康，是我国重点控制的重大疾病之一，也是全球关注的公共卫生问题和社会问题。世界卫生组织（WHO）估算全球有 20 亿人已受结核杆菌感染，每年有约 6 500 万人受到结核杆菌感染，全球结核病发病率每年平均增加 0.4%，2001 年结核病新病例 846 万人，涂阳病人 374 万人，每年有 300 万人死于结核病。

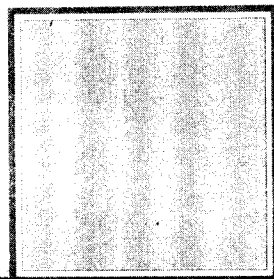
医务人员的共同责任是使每一个病人都有得到诊断的机会，享受治疗的权利。面对结核病的危害，结核病防治专业以及结核病专科的医生、护士，综合医疗机构的内科、放射科医生和有关研究人员工作在结核病防治和研究的第一线，从结核病人的诊断治疗着手，努力钻研，及时总结，使结核病防治、临床、科研密切配合，把最新的科研成果应用到防治和临床实践中，积极治愈病人。

马珂研究员、潘毓萱研究员和朱莉贞主任医师是北京市结核病胸部肿瘤研究所的老专家，他们主编的《结核病》，集从事结核病研究四、五十年的经验，集国内外文献之精华，汇结核病基础、诊断、治疗及预防于一体，是战胜结核病的有力武器。全书分三篇 47 章，共约 80 余万字。参与著书的 30 名作者来自北京、天津、上海、南京和郑州的 7 个科研、医疗、教学单位，都是长期从事结核病基础和临床科研的著名学者，有的作者已年逾七旬，披着满头银丝，仍执笔伏几，辛勤耕耘。他们不辞辛劳，翻阅国内外文献之精华，总结长年研究工作的经验，垦出一片知识之田，把厚实的学术之果奉献在读者面前。面对凝结着作者心血的《结核病》巨著，让我们细细品味这果实的甘甜，思索作者历尽的艰辛，悟出学术成功之路，展望未来，共同走向控制结核病的远大目标。

端木宏谨

2006 年 10 月

前 言



中国、古希腊和古埃及等几个古老文明国家的史籍中都有结核病的记载，或许在上古狩猎农牧时代结核病就困扰着人类。1882 年柯赫发现了结核分枝杆菌，从而奠定了现代结核病学的基础，距离 20 世纪中叶人类摆脱结核病带来的恐惧也仅仅是半个世纪。

结核分枝杆菌是结核病的病原菌，已是一个广为确认的事实。但是，历经百年努力之后，虽然人类对结核病在临床方面所表现的迁延性、易产生耐药性、保护性免疫和病原性免疫本质等基本问题的认识有了关键性的突破，但是距离其本质的明确阐述尚有待时日。有人将人类对结核病的认识分为无知、启蒙和认知三个阶段，当前我们仍处于由柯赫开启的启蒙时代。因此，对结核病的临床诊断和治疗仍不可避免地存在很强的经验色彩。

临床医学的发展与基础研究紧密相关，柯赫发现结核分枝杆菌就是最好的例证。一些基础研究的成果赋予结核病临床以巨大的支持与推动。现代短程化疗就是以抗结核药物中利福平的问世、实验细菌药理学和临床药理学研究为基础的。近年来正处于结核病基础研究蓬勃发展的时期，结核病细菌学和免疫学已进入以分子生物学为特点的现代化进程。因此，现代临床医生渴求对基础研究的现状有较深入了解。深层次了解基础研究的进展必将对临床医生理解新的诊断方法、新的治疗方案以及对新的理论探索均有所裨益。为此，我们在临床篇外增加了和结核病临床直接相关的基础章节，并且以临床医生的视角介绍结核病病原学、免疫学、病理学以及细菌学诊断和影像学诊断的相关内容，力图简洁、实用。

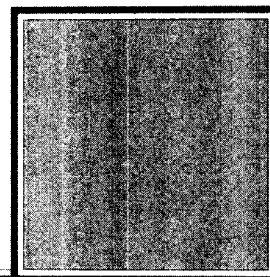
如上所述，鉴于基础研究成果尚未取得突破性进展，临床结核病研究近年来实质性进展亦较少，实践是临床医学很重要的特色，为此，我们相约国内结核病界临床学诸位知名资深专家殚心竭力编著本书，以期能够对从事结核病防治工作的同仁们有所帮助。

虽然近年来国内已有多个结核病学著作问世，但本书由卓有成就的诸位专家以结核病临床为中心，汇集结核病及其相关疾病如肺癌、糖尿病、矽肺、AIDS 等，并以临床医生的视角对与临床相关的基础、诊断领域的新成就进行描述是本书的特色。我们希望它能够成为从事结核病临床和防治工作的中、青年医师很好的案头工具。但限于我们的学识水平，不当之处在所难免，又由于作者来自各单位，交流与沟通不够，内容重复或论点不同也可能存在，恳请读者批评指正。

特别感谢高孟秋主任拨冗为本书的稿件进行精细的收集、刊定和一切其他事务，没有她的鼎力相助，我们也是无法将此书奉献于诸位。

编 者
2006 年秋

目 录



【基础篇】

第一章 临床结核病病原学	3
第一节 Koch 的历史性贡献	3
第二节 结核分枝杆菌复合群	3
第三节 结核分枝杆菌基因组	4
第四节 结核分枝杆菌形态特征	6
第五节 结核分枝杆菌的生长	8
第六节 结核分枝杆菌结构和功能	14
第七节 结核分枝杆菌代谢	18
第八节 结核分枝杆菌病原性和毒力	22
第九节 结核分枝杆菌药物敏感性和耐药性	25
第二章 临床结核病发生学	33
第一节 结核分枝杆菌的传播及其进入人体致病的条件	33
第二节 变态反应和免疫机制	35
第三节 第一次感染和原发综合征	36
第四节 继发性结核病	39
第五节 AIDS 合并结核病的新问题	41
第三章 临床结核病免疫学	46
第一节 结核性感染免疫学概述	46
第二节 原发和继发性结核病的免疫学反应	59
第三节 皮肤变态反应	62
第四节 体液免疫和血清学诊断	65
第五节 HIV 和结核性双重感染结核病的免疫反应	68

第四章 临床结核病病理学	70
第一节 结核病发病	70
第二节 结核病发病与免疫	79
第三节 结核病变的基本病理变化及转归	83
第四节 肺结核病	92
第五章 细菌学检查	99
第一节 序言	99
第二节 实验室安全	99
第三节 涂片检查	100
第四节 培养检查	104
第五节 结核分枝杆菌复合群的鉴定	109
第六节 结核分枝杆菌药物敏感性和耐药性	110
第七节 结核分枝杆菌复合群基因诊断和株的基因型鉴定	113
第八节 小结	116
第六章 肺结核影像诊断	118
第一节 肺结核影像检查方法	118
第二节 胸部正常 X 线解剖及读片要点	121
第三节 肺段的 X 线解剖	123
第四节 正常胸部 CT 影像	126
第五节 肺结核的 X 线诊断	132
第六节 免疫功能损害者肺结核的影像特点	136
第七节 CT 在胸部结核诊断与鉴别中的应用	137
第八节 肺结核的鉴别诊断	144
第九节 介入放射学技术在肺结核诊断与治疗中的应用	146
第七章 B 型超声在胸部疾病诊断中的应用	152
第八章 纤维支气管镜检查	155
第九章 电视胸腔镜在胸部疾病诊断与治疗中的应用	160
第十章 结核病的血清学诊断	164

【 临 床 篇 】

第十一章 结核病分类	175
第十二章 肺结核的诊断	180
第一节 肺结核的临床表现	180
第二节 影像学诊断	182
第三节 细菌学诊断	182
第四节 PPD 皮肤试验	183
第五节 支气管镜及其他内镜检查	183

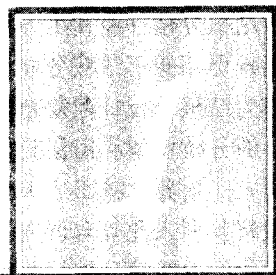
第六节	分子生物学及免疫学检查	185
第七节	胸膜、肺的活体组织检查	187
第八节	试验性诊断性治疗	188
第十三章	原发性肺结核	191
第一节	原发性肺结核概述	191
第二节	原发性肺结核的诊断	201
第三节	原发性肺结核的鉴别诊断	203
第四节	原发性肺结核的治疗和预后	212
第十四章	血行播散性肺结核	214
第一节	急性血行播散性肺结核	214
第二节	亚急性及慢性血行播散性肺结核	221
第十五章	继发性肺结核	223
第十六章	结核性胸膜炎及脓胸	229
第一节	结核性胸膜炎	229
第二节	结核性脓胸	242
第十七章	气管、支气管结核	247
第十八章	结核性脑膜炎	254
第十九章	结核性心包炎	263
第二十章	腹腔结核	271
第一节	肠结核	271
第二节	结核性腹膜炎	274
第三节	肠系膜淋巴结结核	278
第二十一章	肾结核	280
第二十二章	淋巴结结核	285
第二十三章	骨与关节结核	295
第一节	概述	295
第二节	脊椎骺髂关节结核	301
第三节	上肢关节结核	307
第四节	下肢关节结核	309
第二十四章	非结核分枝杆菌病	314
第二十五章	肺不张	340
第二十六章	支气管扩张	347
第二十七章	自发性气胸	360
第二十八章	咯血	372

第二十九章 慢性肺源性心脏病	382
第三十章 呼吸衰竭	391
第一节 呼吸衰竭的概念和分类	391
第二节 慢性呼吸衰竭	394
第三节 急性呼吸衰竭	404
附：急性呼吸窘迫综合征	407
第三十一章 肺结核与糖尿病	411
第三十二章 肺结核与肺尘埃沉着症	428
第三十三章 肺结核与艾滋病	436
第三十四章 肺结核与非艾滋病免疫缺陷	445
第一节 非艾滋病免疫缺陷并发肺结核的流行病学	445
第二节 非艾滋病免疫缺陷并发肺结核的临床和 X 线特点	447
第三节 非艾滋病免疫缺陷并发肺结核的诊断	448
第四节 非艾滋病免疫缺陷并发肺结核的防治	451
第三十五章 肺结核与肺癌	454
第三十六章 肺结核与妊娠	463
第三十七章 老年肺结核	471
第三十八章 肺结核合并感染	480
第一节 肺结核合并感染的临床类型和病原体分布	480
第二节 肺结核合并感染的诊断	483
第三节 抗菌药物在呼吸系统的药动学和药效学	490
第四节 肺部感染抗菌治疗的药物选择	493
第五节 细菌耐药与对策	497
第三十九章 肺结核化学治疗总论	507
第一节 肺结核化学治疗理论	507
第二节 抗结核药物和辅助治疗药物概况	511
第三节 肺结核的化学治疗策略	526
第四十章 肺结核化学治疗各论	532
第一节 初、复治肺结核的治疗	532
第二节 肺结核伴发相关疾病的化疗实施	534
第三节 特殊生理情况下肺结核病的化学治疗	544
第四节 耐药、耐多药肺结核的治疗	547
第四十一章 结核病在治疗过程中发生的暂时恶化问题	556
第四十二章 抗结核药物不良反应发生机制和临床对策	561
第一节 药物不良反应的类型	561

第二节	抗结核药物致超敏反应发生机制	562
第三节	抗结核药物致毒性反应的发生机制	563
第四节	不良反应的临床表现	564
第五节	临床常见的不良反应	566
第六节	发生不良反应后的临床对策	568
第七节	再用药原则及步骤	570
第四十三章	肺结核的外科治疗	572
第一节	肺结核的外科手术适应证	573
第二节	结核性支气管狭窄的外科治疗	575
第三节	结核性损毁肺的外科治疗	577
第四节	肺结核并发大咯血的外科治疗	579
第五节	纵隔淋巴结结核的外科治疗	581
第六节	自发性气胸	582
第七节	肺结核肺切除术治疗	585
【 预 防 篇 】		
第四十四章	世界结核病的流行趋势与控制对策	593
第一节	结核病的流行趋势	593
第二节	现代结核病的控制对策	595
第三节	积极推广现代结核病控制策略	597
第四十五章	结核菌传播理论研究的新进展	601
第一节	结核病传染源的新概念	601
第二节	结核菌传播机制	602
第三节	人群中牛型结核菌感染与患病情况	607
第四十六章	卡介苗与卡介苗接种	611
第四十七章	结核病化学药物预防	616

[基础篇]

临床结核病病原学



第一节 Koch 的历史性贡献

中国、古希腊和古埃及等几个古老文明国家史籍中都有结核病的记载，或许人类进入上古狩猎牧农时代以来结核病就困扰着人类。那时人们将结核病恐惧地视作天谴，即使君王也不能幸免。19 世纪中叶，著名科学家巴斯德建立了传染性病原微生物学理论，之后欧洲医学界开始认识到结核病的传染性。Villemin（1865 年）发现结核病临床标本可以感染家兔等动物。麻风菌等病原菌的发现以及染色技术和凝固血清培养基的出现，共同促进了病原性细菌学的发展。最后，1882 年 3 月 24 日在柏林生理学会晚会上，德国科学家 Robert Koch 发表了历史性的报告，将结核病的罪魔——结核杆菌公之于世人。结核病之谜的破获标志着结核病细菌学的诞生。

Koch（柯赫）的历史功绩在于不仅阐明了结核菌是结核病病原菌，建立结核菌玻片染色显微镜检、平板分离培养技术等奠定了结核病细菌学，而且在随后的旧结素工作又开创了结核病的免疫学和现代临床治疗学之先河。因此，Koch 将一完整的结核病学引进了现代科学殿堂。在此过程中建立的著名的柯赫病原菌三原则至今仍然是鉴定病原菌所必须遵循的原则。

柯赫的发现燃起了人们摆脱结核病阴影的多年期盼和热情，对结核杆菌自身、结核病诊断和治疗，以及菌苗的研究随之兴起，出现了结核病学奠基时代的研究高潮。柯赫及其同代人建立的许多概念和技术仍然是我们现在人所拥有的宝贵遗产，许多结核病细菌学及其细菌学诊断学的基本方法沿用至今。

第二节 结核分枝杆菌复合群

Koch（1882 年）发现的结核杆菌，当时曾被看作是一链球菌样细菌。1896 年 Lehmann 和 Neumann 的细菌学手册中首次将结核菌命名为 *Mycobacterium tuberculosis*，它和麻风分枝杆菌（*Mycobacterium lepre*）组成了新建的分枝杆菌属（*mycobacteriaceae*）。“*Mycobacteria*”一词并非如后来翻译的那样有着“分枝”的含义。当初实际上是因为在液体培养基中此菌出现真菌样膜样生长特性，因此以霉菌字头（*myco-*）和细菌词根（*bacteria*）结合而成的，最初的中文译名如何敲定尚待考证。但和字头的含义相反，结核分枝杆菌和真菌并无系统发生学上的相关性。在发现结核分枝杆菌之后，Smith（1898 年）将由人患者和患牛的分离菌分别称为人型（*human type*）和牛型（*bovine type*）结核分枝杆菌，1946 年 Wills 又增加了田鼠型结核分枝杆菌（*vole type*）。后来 Reed（1957 年）和

Karlson (1970 年) 分别将田鼠型和牛型结核菌命名为田鼠分枝杆菌 (*Mycobacterium microti*) 和牛分枝杆菌 (*Mycobacterium bovis*)。1969 年 Caster 将在赤道非洲地区的结核病患者中分离到的另一种结核病原菌, 命名为非洲分枝杆菌 (*Mycobacterium africanum*)。在性状上, 非洲分枝杆菌是处于结核分枝杆菌和牛分枝杆菌之间的过渡类型, 西非国家分离株更倾向于牛分枝杆菌, 而东非国家分离株更相似于结核分枝杆菌, 一些性状可彼此鉴别。由于其间广泛的相似性, 现在一般将这些菌合并称为结核分枝杆菌复合群 (*Mycobacterium tuberculosis complex*), 包括结核分枝杆菌、牛分枝杆菌、非洲分枝杆菌和田鼠分枝杆菌。此外, 从结核性乳腺炎牛的病变中分离到的牛结核菌株, 通过多年长期人工培养, 减毒成卡介苗菌株或直接称为卡介苗分枝杆菌 (*Mycobacterium bovis BCG*), 人们也常将其列入此复合群内。由于复合群内各种的基因组高度同源, 有学者认为它们实际上是古结核杆菌进化中的结核分枝杆菌的各个变种。最近, 人们将 1967 年发现的肯尼迪分枝杆菌也列入结核分枝杆菌复合群。此菌生化反应和 16S rRNA 序列相似于结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*), 但存在相异糖脂, 并呈光滑型菌落生长特性, 对豚鼠有致病力。Wayne 于 1981 年从猿猴中分离的一亚洲分枝杆菌 (*Mycobacterium asiaticum*), 此菌是一缓慢生长的光产色分枝杆菌, 一些株虽对人有致病性, 但不属于结核分枝杆菌复合群之列。

20 世纪在南印度马德拉斯地区结核病患者等分离到对豚鼠毒力下降的株系, 称为亚洲型或株, 但从未鉴定为独立的种。这些株含有减毒脂质和有一独特的噬菌体型, 在试管内对过氧化氢更为敏感, 对豚鼠毒力下降。但该型株在小鼠模型中毒力下降并不显著, 对人毒力下降与否并未得到确认。因此有学者认为结核分枝杆菌有两个主型: Koch 经典型和南印度亚洲型。近些年来, 因其 DNA 指纹相近, 国际上将在中国很多地区发现的菌株统称为北京家族, 存在于我国和东南亚很多地区。

各病原菌毒力强弱显示宿主种属差异, 如牛分枝杆菌对人宿主毒力稍低于结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*), 但对家兔则显示强毒特性。但是, 在结核分枝杆菌复合群内各种中, 除田鼠分枝杆菌对人无致病力和卡介苗分枝杆菌对正常人无毒力外, 结核分枝杆菌、牛分枝杆菌和非洲分枝杆菌是主要的人致病菌, 其感染后的病理进程和临床表现相近, 对现有抗结核药物反应性 (除牛分枝杆菌对吡嗪酰胺不敏感外) 也大体相近。因此, 就临床结核病学而言, 结核分枝杆菌复合群可以是临床细菌学鉴定的单位, 一般可不再进行种的亚分。结核分枝杆菌复合群内种的亚分很大程度上是流行病学的需要。但是, 在临床上需要鉴别诊断时, 病原菌的准确种水平鉴定是必要的。

鉴于历史和习惯, 在现代医学文献中仍常出现历史上以往常采用的词汇, 如“结核菌”、“人型结核菌”、“牛型结核菌”等简便或历史性的表述或俗名。今日, 应该将这些表述看作是一种非规范的异名, 至少在正式表达时应该予以避免。

除结核分枝杆菌复合群和麻风分枝杆菌外, 在分枝杆菌属内还有一些条件致病分枝杆菌和一般不致病的环境分枝杆菌。其中一些可感染人肺和其他部位, 特别是 HIV 感染等免疫损伤人群。这些条件致病性分枝杆菌具有对现有抗结核药物不敏感性和敏感株异质性, 是需要特别关注的群体。此时, 需要进行临床细菌学水平的鉴定。

分枝杆菌属内各个种共同具有抗酸染色性、缓慢生长、丰富的脂质和许多共担抗原等共同特征。

第三节 结核分枝杆菌基因组

一、结核分枝杆菌复合群

和其他细菌一样, 分枝杆菌基因组是由一简单的共价封闭环的 DNA 链组成。有些分枝杆菌还含有附加的小的环状 DNA, 即质粒。复性动力学分析测定的结核分枝杆菌 H37Ra 基因组大小是 2.8×10^9 D。富含 G+C 是分枝杆菌基因组构成的共同特点, 大多数分枝杆菌的 G+C 含量在 64%~70% 之间, 结核分枝杆菌复合群为 65% 左右。这种明显的差异使得分枝杆菌基因组 DNA 和低 GC 含量的大

肠杆菌的同源性很低。

Athwal (1989 年) 指出, 结核分枝杆菌复合群 (结核分枝杆菌、牛分枝杆菌、非洲分枝杆菌和田鼠分枝杆菌) 内 DNA 杂交同源性 78%~98%, 形成一个高度同源性的复合群。它们和快速生长分枝杆菌的同源性则为 4%~26%, 和同为缓慢生长的麻风分枝杆菌的同源性仅 1%。

1998 年 Cole 等报道的结核分枝杆菌 H37Rv 全染色体测序结果是现代结核病细菌学的里程碑。整个基因组约含有由 4 411 532 个碱基组成, G+C 含量为 65.6%, 约含 4 000 个基因, 其分布见表 1-1。

表 1-1 结核分枝杆菌基因组内各基因分布

功 能	基因数	占总基因数的百分数(%)	占总编码能力百分数(%)
脂质代谢	225	5.7	9.3
信号支路	207	5.2	6.1
细胞壁和细胞合成	517	13.0	15.5
稳定 RNA	50	1.3	0.2
插入序列和噬菌体	137	3.4	2.5
PE 和 PPE 蛋白	167	4.2	7.1
中间代谢和呼吸	877	22.0	24.6
未知功能蛋白	607	15.3	9.9
保守蛋白	911	22.9	18.4
毒力、解毒和适应	91	2.3	2.4

二、插入序列和限制性片段长度多态性 (RFLP)

转位子 (转座子, transposon) 是一段单独的 DNA, 能够掺入同一细胞的其他 DNA 顺序上许多不同位点, 以 Tn 和编号命名。依据其组成结构, 转座成分 (Tn) 可分以下几类: 插入序列 (insertion sequence, IS)、复合转位子 (composite transposon)、TnA 转座子家族和可转移噬菌体 (transposable phages)。插入序列是指插入到多核苷酸链的一些额外的核苷酸序列, 以字头 IS 和其后的数字组成其命名, 长度一般是 1.8~2.5kb, 一般无表型标记, 其编码容量仅够编码转位酶的开放性阅读框架。

在分枝杆菌中发现的第一个插入片段是 IS900。结核分枝杆菌复合群的插入序列有 IS6110、IS986、IS1081 和 Ismyco, 其长度在 968~1 361bp 之间。基因组分析发现了 32 个不同的插入序列, 主要属于 IS3 和 IS256 家族, 其中大多尚未分离到。

Eisenach (1988 年) 和 Thierry (1990 年) 两个工作小组分别鉴定到结核分枝杆菌复合群的插入序列 IS6110 和 IS980。它们序列相同, 现统称插入序列 IS6110。IS6110 长度为 1 361bp, 其末段含 28bp 的不完全的重复序列 (imperfect repeats) 和 3bp 的正向重复序列, 两个开放性阅读框架 (ORF), 具有 IS3 序列家族的特点。插入序列 IS6110 仅存在于结核分枝杆菌复合群内, 具有复合群特异性。大多数结核分枝杆菌野生株含有 5~20 个拷贝, H37Rv 株有 16 个拷贝。也见为数极少株缺失此序列的报道。因此, IS6110 是临床中用作聚合酶链反应 (PCR) 扩增结核分枝杆菌复合群的良好模板。

结核分枝杆菌各野生株因 IS6110 拷贝数和定位的差异, 在限制性内切酶水解后出现大小不等的片段, 经凝胶电泳和探针转印杂交, 获得独特杂交带的多形性图谱, 称为限制性片段长度多态性现象 (RFLP), 可作为结核分枝杆菌株水平鉴定技术, 即结核分枝杆菌株的指纹鉴定。

IS1081 也是结核分枝杆菌复合群特异性插入序列, 长度为 1 324bp。结核分枝杆菌野生株基因组约含 5~6 个拷贝, H37Rv 株有 6 个拷贝, 但是其中一个为截短的。因拷贝少和无定位的多形性, 不

能用作诊断和指印分析的模板。

三、rRNA 和核糖型

核糖体 rRNA 是一高度保守稳定 RNA 分子,由 23S rRNA 和 16S rRNA 组成。16S rRNA 是更为保守的序列,其序列微小的变异反映了种系发生上的相关性,可作为分枝杆菌种的鉴定。

编码 16S rRNA 基因是多拷贝基因。通过适当设计的引物可扩增临床标本中结核分枝杆菌 16S rRNA 或其编码 DNA,达到菌的检出和种鉴定的目的。

四、噬菌体

1947 年首次报道了分枝杆菌噬菌体,可分为裂解性和溶源性两类。前者曾用于结核分枝杆菌种内的分型,得到为数不多的噬菌体型,但并不能满足流行病学株鉴定的需要。溶源性噬菌体可与宿主菌染色体整合保持很多代。近年来,分枝杆菌溶源性噬菌体和大肠杆菌质粒构建穿梭噬粒 (phasmid),能在大肠杆菌中表达质粒功能,而在分枝杆菌中,可与噬菌体一样整合在细菌染色体上。因此,在导入外源性 DNA 片段后可穿梭于两种菌之间表达,是分枝杆菌重组分析的重要工具。

第四节 结核分枝杆菌形态特征

分枝杆菌是一群好氧,无运动能力,缓慢生长,具有富脂质的细胞壁的抗酸染色阳性杆菌,可能由革兰阳性菌进化而来,和棒状杆菌属、诺卡氏菌属有系统发育相关性。属内各种生长缓慢,其代期在 2~20 小时,在合适的温度等条件下,2 天~8 周可见菌落。因此,依据生长速度可分为缓慢和快速生长两群。

结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 由 Lehmann 和 Neumann 于 1896 年正式命名,是结核病的病原菌,其形态是 $(0.3\sim0.6\mu\text{m})\times(1\sim4\mu\text{m})$ 大小的杆菌,直或稍弯曲,单个排列,或偶呈串状,似有分枝生长倾向,临床痰样本中常见串珠状颗粒存在。生长呈蜿蜒样同轴向平行索状生长,一些临床检查方法中将其作为结核分枝杆菌种快速鉴定的依据。但是,近年的研究也在一些其他分枝杆菌中发现索状生长形态。

结核分枝杆菌生长最适温度 37℃。大多数培养基上菌落粗糙、凸起、致密,有表面皱褶和薄的不规则边缘。菌落脆性,呈程度不同的黄色色泽:黄白、浅黄、黄色,无可溶性色素。在油酸白蛋白琼脂培养基上菌落扁平、粗糙、干燥,一般无色素。在液体培养基中深部培养时,呈培养基液体底部和表面膜样生长。表面膜白色,逐渐加厚、皱褶,呈淡黄色。有毒株在液体培养基中呈索状生长。在杜氏白蛋白吐温 80 培养基中可分散均匀生长。在半流体培养基中可在中部呈致密菌团样生长。临床野生株,特别是化疗后菌落常有不典型的菌落形态、生长贫瘠、缓慢、湿润等表型异质性改变。

Koch 采用陈旧的含美蓝复合染液染色,显微镜下可见纤细而清晰的蓝色细菌。不久后 Ehrlich 就发现了结核菌着色的抗酸洗脱特性,Ziehl 和 Neelsen 加以修改建立了抗酸性染色法,沿用至今。

抗酸染色性是结核分枝杆菌的众所周知的特征。抗酸染色性是指细菌在经苯胺染料染色后的一种耐受酸和(或)醇脱色的着色性。

抗酸染色性的基础是结核分枝杆菌富脂质外壁,特别是细胞壁的分支菌酸,但其他胞壁损伤也会降低着色的抗酸性。抗酸染色性并不是一个完全稳定的形状,可随着分支菌酸的变化而变化。有报道指出,在缺乏甘油、某些糖苷等成分的人工培养物和陈旧培养物,以及干酪性病灶、冷性脓肿中的菌体,特别是异型相如 L-型、颗粒型中显示出抗酸染色性的减弱甚至完全丧失。

分支菌酸是分枝杆菌共有的,因此抗酸性也是分枝杆菌属内各种共同的着色特性。此外,具有诺卡氏分支菌酸和棒菌分支菌酸的诺卡氏菌、棒状杆菌、玫瑰红球菌属和一些细菌孢子也具有抗酸染色性,但程度较弱。可见,抗酸菌是一非分类学的染色性状的俗名。因此,抗酸染色阳性虽然是分枝杆