

- [5] O'Brien S, Abboud CN, Akhtari M, et al; National Comprehensive Cancer Network Chronic myelogenous leukemia[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2012, 10(1): 64-110.
- [6] Ferdinand R, Mitchell SA, Batson S, et al. Treatments for chronic myeloid leukemia: a qualitative systematic review [J]. J Blood Med, 2012, 3: 51-76.
- [7] Vigil CE, Griffiths EA, Wang ES, et al. Interpretation of cytogenetic and molecular results in patients treated for CML[J]. Blood Rev, 2011, 25(3): 139-146.
- [8] Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, et al. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia[J]. N Engl J Med, 2006, 355(23): 2408-2417.
- [9] Michael Deininger, Stephen G O'Brien, Francois Guilhot et al. International Randomized Study of Interferon Vs STI571(IRIS) 8-Year Follow up; Sustained Survival and Low Risk for Progression or Events in Patients with Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia in Chronic Phase(CML-CP) Treated with Imatinib[J]. Blood, 2009, 114(Suppl): 462.
- [10] Mahon FX, Réa D, Guilhot J, et al. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial [J]. Lancet Oncol, 2010, 11(11): 1029-1035.
- [11] Hochhaus A. Educational session; managing chronic myeloid leukemia as a chronic disease[J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Progra, 2011: 128-135.
- [12] Breccia M, Alimena G. The current role of high-dose imatinib in chronic myeloid leukemia patients, newly diagnosed or resistant to standard dose[J]. Expert Opin Pharmacother, 2011, 12(13): 2075-2087.
- [13] Cortes J, Kantarjian H. How I treat newly diagnosed chronic phase CML[J]. Blood, 2012, 120(7): 1390-1397.
- [14] Burchert A, Müller MC, Kostrewa P, et al. Sustained molecular response with interferon alfa maintenance after induction therapy with imatinib plus interferon alfa in patients with chronic myeloid leukemia. J Clin Oncol, 2010, 28(8): 1429-1435.
- [15] Hehlmann R, Lauseker M, Jung-Munkwitz S, et al. Tolerability-adapted imatinib 800 mg/d versus 400 mg/d versus 400 mg/d plus interferon- α in newly diagnosed chronic myeloid leukemia[J]. J Clin Oncol, 2011, 29(12): 1634-1642.
- [16] Quintás-Cardama A, Cortes JE, O'Brien S, et al. Dasatinib early intervention after cytogenetic or hematologic resistance to imatinib in patients with chronic myeloid leukemia. Cancer, 2009, 115(13): 2912-2921.
- [17] Kantarjian H, Shah NP, Hochhaus A, et al. Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia[J]. N Engl J Med, 2010, 362(24): 2260-2270.
- [18] Hehlmann R, Berger U, Pffirmann M, et al. Drug treatment is superior to allografting as first-line therapy in chronic myeloid leukemia. Blood, 2007, 109(11): 4686-4692.
- [19] Saglio G, Kim DW, Issaragrisil S, et al. ENESTnd Investigators. Nilotinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia[J]. N Engl J Med, 2010, 362(24): 2251-2259.
- [20] Khoury HJ, Cortes JE, Kantarjian HM, et al. Bosutinib is active in chronic phase chronic myeloid leukemia after imatinib and dasatinib and/or nilotinib therapy failure [J]. Blood, 2012, 119(15): 3403-3412.
- [21] Cortes JE, Kim DW, Kantarjian HM, et al. Bosutinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia; results from the BELA trial[J]. J Clin Oncol, 2012, 30(28): 3486-3492.

(收稿日期: 2013-03-16 修回日期: 2013-05-12)

艰难梭菌感染实验室诊断的研究进展

郭晓月 综述, 黄 磊[△]审校(北京大学第一医院检验科 100034)

【关键词】 艰难梭菌; 毒素 A/B; 腹泻; 实验室诊断

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.20.076 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)20-2763-03

艰难梭菌(Cd)是革兰阳性厌氧芽孢杆菌,能引起伪膜性肠炎等感染性疾病(CDI)。近年来随着抗生素的广泛使用和 NAP1/027 克隆株在世界范围内传播, CDI 发病率和严重程度不断增加。在加拿大、美国和英国相继导致医院内及社区流行,已被公认为发达国家重要的医院内感染病原菌之一^[1]。住院患者长期使用抗生素可杀灭肠道内敏感细菌,破坏肠道微生态平衡,导致 Cd 过度生长并释放毒素,与 CDI 密切相关的毒素包括 TcdA 和 TcdB。美国感染病协会 2010 年版的 CDI 诊

断标准包括: (1)有腹泻症状, 24 h 内排未成形便大于或等于 3 次; (2)大多数患者近 8 周内使用过抗生素; (3)粪便中检出产毒型 Cd 或 Cd 毒素, 或结肠镜检或组织病理检查发现伪膜性肠炎^[2]。其中腹泻症状与抗生素使用为非特异指标; 病理学检查为有创操作, 不适于常规开展。因此, 准确、快速的实验室检验结果对 CDI 诊断和治疗具有重要意义。现有的 CDI 检测方法种类较多, 它们各自有优势和局限性, 本文对 CDI 实验室诊断的研究进展作一综述。

[△] 通讯作者, E-mail: leihuang2031@163.com。

1 Cd 培养

环丝氨酸-头孢西丁-果糖琼脂(CCFA)是最早从粪便标本中分离 Cd 的选择性培养基。在厌氧环境中培养 18~24 h 后 Cd 生长为黄色毛边样粗糙菌落。在 CCFA 中加入牛磺胆酸盐能增加 Cd 芽孢的分离率^[3]。由于 CCFA 制作成本高, Nerandzic 等^[4]研制出成本较低的改良 Cd 布鲁琼脂(CDBA)和 Cd 布鲁肉汤(CDBB)培养基,并达到了与 CCFA 相当的分离率。Perry 等^[5]发现,鉴定 Cd 的原型显色培养基(IDCd)对新鲜粪便标本和经乙醇处理过的粪便标本 24 h 内鉴定符合率分别为 99.6%和 96.3%,明显高于其他选择性培养基,是一种值得推荐的新方法。某些非产毒素型 Cd 可定植于人体而不致病,健康成人粪便中携带率为 3%,住院患者粪便携带率为 16%~35%,此比例与住院时间和抗生素使用量相关。培养方法敏感性高,但少数非产毒素菌株也能在选择性培养基上生长,因此培养方法的特异性还有待提高。

2 酶联免疫法(EIA)检测毒素 A/B

大多数临床实验室采用 EIA 检测 TcdA 和/或 TcdB 用于诊断 CDI,目前已有 TechLab ToxA/B II、Meridian Premier、TechLab ToxA/B Quik Chek、Remel Xpect、Meridian Immuno-card、Biomerieux VIDAS 等多种商品化试剂盒投入使用^[6]。EIA 的优点是特异性高,能区分产毒株和不产毒株,并且检测周期短,数小时即可出结果。缺点是灵敏度不如培养方法高,并且不能得到菌株用于分子分型等进一步研究。

最初 TcdA 比较流行,EIA 只检测 TcdA,随着 TcdA-TcdB+菌株(血清型 F)在世界范围内不断增多,因此有必要同时检测 TcdA 和 TcdB。Shin 等^[7]比较了新 VIDAS CDAB(C. difficile Toxin A & B assay)和以前的 VIDAS CDA(C. difficile Toxin A II assay)在 TcdA-TcdB+菌株流行地区的检测效果,发现新方法能检测出更多的 TcdA-TcdB+菌株。

3 EIA 检测谷氨酸脱氢酶(GDH)

谷氨酸脱氢酶(GDH)是一种存在于 Cd 细胞壁抗原性蛋白,它比 EIA 检测毒素 A/B 更加灵敏;但是 GDH 也可存在于无毒性 Cd 和某些其他细菌中,因此该方法特异性较低,是一种有效的筛查试验。Shetty 等^[8]发现,GDH 与培养方法相比有很高的灵敏度和阴性预告值(>90%),当联合其他检测时是一种很好的筛查试验。

4 细胞毒性试验(CCTA)

CCTA 被认为是实验室确诊 CDI 的“金标准”^[9]。该方法将粪便滤液与 Vero 或 HepG2 细胞一起孵育,分别加入和不加入抗毒素 A/B 的中和抗体。然后分别在 24、48 h 显微镜下观察细胞病变效应(细胞凋亡而变圆),而加入抗毒素抗体能阻止这种细胞病变。CCTA 需要细胞培养及显微镜观察的相应设施和技术,并且耗时长,因此限制了它在临床常规实验室的应用。

5 产毒素培养(TC)

TC 是检测粪便中产毒素型 Cd,试验阳性说明患者腹泻具有传染性。由于它操作繁琐并且判定结果需要一定经验的技术人员,因此不适宜临床常规检测。若用 EIA 直接对菌落进行毒素检测,则 TC 阳性结果可在 1~2 d 内获得^[10]。TC 是检测具有产毒素能力的菌株或芽孢,而 CCTA 是检测 Cd 毒素。同一粪便标本可能 CCTA 阴性而 TC 阳性,产毒素型 Cd 存在于 2%健康人和 7%~25%住院患者,这部分人群中多数无 CDI,因此对这些患者需进行仔细的临床评估^[9]。

6 聚合酶链反应(PCR)检测毒素 A/B 基因

PCR 未广泛用于粪便标本检测,主要是考虑到经济原因;另外从粪便中提取核酸较为困难,以及分离 DNA 模板时干扰物质很难彻底去除。Larson 等^[11]优化了粪便 DNA 提取和纯化方法,能有效去除抑制剂和干扰物质,使荧光定量 PCR 检测结果达到较高的灵敏度和特异度。Tenover 等^[12]对荧光定量 PCR 进行了多中心评价,与 TC 相比,Cepheid Xpert 检测系统的敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为 93.5%、94.0%、73.0%和 98.8%,是一种在粪便标本中快速、准确检测产毒型 Cd 的方法。

7 环介导等温扩增(LAMP)

LAMP 技术针对靶基因设计特异性引物,通过高活性的链置换 DNA 聚合酶(BstDNA 聚合酶)进行恒温(63~67 ℃)扩增反应。该方法耗时短,操作简便,可通过显色试剂肉眼判断结果,因此适用于基层医院及小型实验室快速检测。Lalande 等^[13]研究发现,LAMP 与 TC 相比,敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为 91.8%、99.1%、91.8%和 99.1%。刘畅等^[14]研究发现,该方法对 CDI 的检测结果与荧光定量 PCR 比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

8 多种方法联合检测

由于上述方法各自存在局限性,有学者提出用 2~3 种方法联合检测来诊断 CDI,从而弥补各自方法的局限性,达到比较满意的阳性预测值和阴性预测值。Schmidt 等^[15]提出先用快速免疫层析方法检测 GDH 进行初筛,然后用 CCTA 进行确证,这样可以使 90%标本得到正确结果。对于剩下的 10%标本,需要采用其他的方法(TC 或 PCR 方法等)进行确证。Sharp 等^[16]提出了一种简单的 3 步法检测 Cd 毒素,即先筛查 GDH 抗原,阳性标本用两种不同的方法检测毒素 A/B。该联合检测的优点是简单易行,不需要细胞培养等复杂设备与条件,因此有利于常规开展。

9 小 结

综上所述,现有 CDI 检测方法各自有优势和局限性。Barbut 等^[17]在欧洲调查了 8 个国家 212 家医院实验室的 CDI 检测情况,其中 87.7%的实验室常规开展 CDI 检测。所用检测方法中毒素 A/B 检测占 93%,Cd 培养占 55%,GDH 检测占 5.9%。

我国目前仅少数医院开展 CDI 检测,方法主要为毒素 A/B 检测^[18-19]。我国 CDI 检测的方法学评价和流行病学研究目前还处于起步阶段,相关报道较少。有报道表明,虽然我国尚未发现 NAP1/027 克隆株,但 CDI 在我国仍是一种重要的疾病^[20]。因此应对 CDI 引起足够重视,相关研究还有待于进一步深入。

参考文献

- [1] Kelly CP, LaMont JT. Clostridium difficile—more difficult than ever[J]. N Engl J Med, 2008, 359(18):1932-1940.
- [2] Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, et al. Clinical practice guidelines for Clostridium difficile infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America(SHEA) and the infectious diseases society of America(IDSA)[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2010, 31(5):431-455.
- [3] Wilson KH, Kennedy MJ, Fekety FR. Use of Sodium tau-

- rocholate to enhance spore recovery on a medium selective for *Clostridium difficile*[J]. J Clin Microbiol, 1982, 15(3): 443-446.
- [4] Nerandzic MM, Donskey CJ. Effective and reduced-cost modified selective medium for isolation of *Clostridium difficile*[J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(2): 397-400.
- [5] Perry JD, Asir K, Halimi D, et al. Evaluation of a chromogenic culture medium for isolation of *Clostridium difficile* within 24 hours[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(11): 3852-3858.
- [6] Planche T, Aghaizu A, Holliman R, et al. Diagnosis of *Clostridium difficile* infection by toxin detection kits: a systematic review[J]. Lancet Infect Dis, 2008, 8(12): 777-784.
- [7] Shin BM, Lee EJ, Kuak EY, et al. Comparison of VIDAS CDAB and CDA immunoassay for the detection of *Clostridium difficile* in a *tcdA*-*tcdB*+ *C. difficile* prevalent area[J]. Anaerobe, 2009, 15(6): 266-269.
- [8] Shetty N, Wren MW, Coen PG. The role of glutamate dehydrogenase for the detection of *Clostridium difficile* in faecal samples: a meta-analysis[J]. J Hosp Infect, 2011, 77(1): 1-6.
- [9] Planche T, Wilcox M. Reference assays for *Clostridium difficile* infection: one or two Gold standards[J]. J Clin Pathol, 2011, 64(1): 1-5.
- [10] Delmée M, Van Broeck J, Simon A, et al. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea: a plea for culture[J]. J Med Microbiol, 2005, 54(Pt 2): 187-191.
- [11] Larson AM, Fung AM, Fang FC. Evaluation of *tcdB* real-time PCR in a three-step diagnostic algorithm for detection of toxigenic *Clostridium difficile*[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(1): 124-130.
- [12] Tenover FC, Novak-Weekley S, Woods CW, et al. Impact of strain type on detection of toxigenic *Clostridium difficile*: comparison of molecular diagnostic and enzyme immunoassay approaches [J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(10): 3719-3724.
- [13] Lalande V, Barrault L, Wadel S, et al. Evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay for diagnosis of *Clostridium difficile* infections[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(7): 2714-2716.
- [14] 刘畅, 蒋栋能, 蒲晓允. 快速检测粪便中艰难梭菌的方法研究[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(20): 2488-2491.
- [15] Schmidt ML, Gilligan PH. *Clostridium difficile* testing algorithms: what is practical and feasible [J]. Anaerobe, 2009, 15(6): 270-273.
- [16] Sharp SE, Ivie WM, Buckles MR, et al. A simple 3-step algorithm for improved laboratory detection of *Clostridium difficile* toxin without the need for tissue culture cytotoxicity neutralization assays [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2009, 64(3): 344-346.
- [17] Barbut F, Delmee M, Brazier JS, et al. A European survey of diagnostic methods and testing protocols for *Clostridium difficile* [J]. Clin Microbiol Infect, 2003, 9(10): 989-996.
- [18] 李文丽, 简子娟, 刘文恩, 等. 艰难梭菌毒素 A&B 测定在医院腹泻患者中的应用 [J]. 中国感染控制杂志, 2010, 9(4): 261-263.
- [19] 孙立颖, 黄磊, 严岩, 等. 酶联荧光免疫分析技术检测粪便中艰难梭菌毒素 A/B [J]. 临床检验杂志, 2012, 30(2): 95-97.
- [20] Huang H, Wu S, Wang M, et al. Molecular and clinical characteristics of *Clostridium difficile* infection in a University Hospital in Shanghai, China [J]. Clin Infect Dis, 2008, 47(12): 1606-1608.

(收稿日期: 2013-02-08 修回日期: 2013-06-12)

颈胸段脊柱病变的外科治疗进展

刘 港 综述, 权正学 审校(重庆医科大学附属第一医院骨科 400016)

【关键词】 颈胸段; 病变; 外科治疗

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.20.077 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)20-2765-03

近年来随着脊柱内固定器械的发展以及脊柱外科治疗理念的不断完善, 颈胸段脊柱病变的外科治疗也有了较大的发展。本文就此节段的应用解剖、主要病变、外科手术方式进行综述^[1-2]。

1 应用解剖

颈胸段是一个结构汇合的区域, 这部位位置较深, 且前方有胸骨柄、锁骨和肋骨等骨性结构, 椎体前方毗邻主动脉弓及其他大血管、气管、食管、胸导管、喉返神经和交感神经纵横交错, 这些结构造成手术野显露困难, 并且增加了手术的风险性^[3-4]。

2 颈胸段区域的主要伤病

2.1 创伤 颈胸段创伤主要发生于成年人, 是一种高能量损

伤, 通常有明显的创伤史, 如车祸、高处坠落、挤压伤等^[5]。颈胸段脊柱骨折脱位常常导致脊髓损伤, 根据美国脊髓损伤学会 (ASIA) 分级, 脊髓损伤分五级, 多为脊髓不全性受压、挫伤。患者表现为肩部以下的截瘫, 上肢感觉运动障碍。伤后 6 h 为关键时期, 24~48 h 内是脊髓损伤的急性期, 可用大剂量的甲强龙和神经营养药物减轻外伤后神经细胞的变性和维持神经细胞的正常生理功能。绝大多数患者由于颈胸部位疼痛造成肌肉痉挛使双肩上移, 以及颈胸段脊柱前方有胸骨, 侧方有肩关节的遮挡, 在普通 X 线片检查时侧位片显像多不够清晰, 容易漏诊甚至误诊。颈胸段骨折脱位的患者中, 约一半在术中发现, 给手术增加了新的困难。积极完善术前检查, 并根据国际 AO 创伤骨折分型, 充分做好术前准备, 才能降低医源性脊柱