

• 论 著 •

## 酶联免疫斑点法对 AIDS 患者感染结核分枝杆菌的诊断价值

蒋 鹏

四川省凉山彝族自治州第一人民医院长安分院, 四川西昌 615000)

**摘要:**目的 探讨酶联免疫斑点(ELISPOT)法对获得性免疫缺陷综合征(AIDS)患者感染结核分枝杆菌的诊断价值。方法 选取该院 AIDS 合并结核分枝杆菌感染的 42 例住院患者作为观察组。另外,选取未患结核病的同期呼吸系统疾病住院患者 60 例做为对照组,两组均采用 ELISPOT 法、结核抗体(TBAb)法及结核分枝杆菌素皮试试(TST)分别进行检测,比较 3 种方法的灵敏度、特异度及准确度。结果 对于结核分枝杆菌感染诊断,ELISPOT 法的灵敏度、特异度、准确度分别为 92.9%、93.3%、93.1%,TBAb 法分别为 54.8%、71.7%及 64.7%,TST 法为 47.6%、53.3%及 51.0%。3 种检测方法的灵敏度、特异度及准确度比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。两两比较,ELISPOT 法的灵敏度、特异度及准确度均高于 TBAb 法及 TST 法( $P < 0.05$ );TBAb 法与 TST 法比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 ELISPOT 对 AIDS 患者感染结核分枝杆菌具有较高的诊断价值。

**关键词:**酶联免疫斑点法; 人类免疫缺陷病毒; 获得性免疫缺陷综合征; 结核病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.20.037

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)20-3009-02

## The diagnostic value of enzyme-linked immunospot assay in AIDS patients with Mycobacterium tuberculosis infection

Jiang Peng

(Chang'an Branch, the First People's Hospital of Liangshan Yi Autonomous Prefecture, Xichang, Sichuan 615000, China)

**Abstract: Objective** To explore the value of enzyme-linked immunospot(ELISPOT) assay in the diagnosis of acquired immunodeficiency syndrome(AIDS) patients with Mycobacterium tuberculosis infection. **Methods** 42 hospitalized AIDS patients with Mycobacterium tuberculosis infection and 60 non-tuberculosis hospitalized patients with diseases of respiratory system in the same period were recruited as observation group and control group, respectively. ELISPOT assay, tuberculosis antibody(TBAb) test and tuberculin skin test(TST) were performed for all the patients, respectively. The sensitivity, specificity and accuracy of the 3 methods were comparatively analyzed. **Results** The sensitivity, specificity and accuracy of ELISPOT were 92.9%, 93.3% and 93.1%. These of TBAb were 54.8%, 71.7% and 64.7%, and of TST were 47.6%, 53.3% and 51.0%, respectively. There were significant differences among three methods in sensitivity, specificity and accuracy( $P < 0.05$ ). The sensitivity, specificity and accuracy of ELISPOT were the highest in the 3 methods( $P < 0.05$ ). There were no significant differences between TBAb test and TST in sensitivity, specificity and accuracy( $P > 0.05$ ). **Conclusion** ELISPOT assay has relatively high diagnostic value in AIDS patients with Mycobacterium tuberculosis infection.

**Key words:** enzyme-linked immunospot; human immunodeficiency virus; acquired immunodeficiency syndrome; tuberculosis

结核病已是全球严重的公共卫生问题之一<sup>[1]</sup>。我国是结核分枝杆菌感染多发的国家,仅次于印度,居世界第二<sup>[2]</sup>。随着人类免疫缺陷病毒(HIV)即获得性免疫缺陷综合征(AIDS)在全球的流行,结核病已是 AIDS 患者最常见的致死病因<sup>[3]</sup>。我国作为结核分枝杆菌高感染率和 HIV 感染快速增长的地区,提高 AIDS 合并结核病的早期诊断水平刻不容缓。酶联免疫斑点(ELISPOT)法通过检测结核特异性抗原刺激后分泌细胞因子  $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )的细胞数量,评价细胞免疫功能,从而辅助判断受检者是否曾受结核感染<sup>[4]</sup>,是诊断结核感染的新方法。2012 年 10 月至 2014 年 10 月笔者对 ELISPOT 法用于 AIDS 患者感染结核分枝杆菌诊断的价值进行了评估,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2012 年 10 月至 2014 年 10 月本院感染科的 42 例 AIDS 合并结核分枝杆菌感染的住院患者作为观察

组,男 18 例、女 24 例,年龄 25~70 岁,平均年龄(45.7±18.2)岁。纳入条件:(1)根据 1995 年中华人民共和国卫生部颁布的《HIV/AIDS 诊断标准及处理原则》<sup>[5]</sup>明确诊断为 AIDS 的患者;(2)符合活动性肺结核的临床证据<sup>[6]</sup>:①有持续低热、盗汗、乏力、咳嗽、咳痰、血痰或咯血、胸闷、气短和胸痛等临床症状;②痰涂片或痰培养抗酸杆菌阳性;③胸部 X 片有活动性肺结核征象;④诊断性抗结核治疗有效。另选取未患结核病的同期呼吸系统疾病住院患者 60 例作为对照组,主要包括支气管肺癌、支气管肺炎、大叶性肺炎、支气管扩张、慢性支气管炎、特发性肺间质纤维化、细菌性肺脓肿等疾病的患者,均无肺结核或肺外结核病史,男 26 例、女 34 例,年龄 23~68 岁,平均(41.2±17.4)岁。所有纳入研究的患者均签署知情同意书。

## 1.2 方法

**1.2.1 ELISPOT 法** 采用英国牛津免疫公司的 ELISPOT 试剂盒(购于上海复星长征医学科学有限公司)检测体外 IFN-

$\gamma$ ,应用德国 AID 公司 ELISPOT 分析仪计数着色的斑点。实验操作和结果判断根据试剂盒说明书进行。判断标准:如果阴性对照孔斑点数为 0~5,检测孔点数减去阴性对照孔点数不少于 6,判断为阳性;如果阴性对照孔点数不少于 6,任意 1 个检测孔点数为阴性对照孔 2 倍,判断为阳性。

**1.2.2 结核抗体(TBAb)法** 采用胶体金标法测定血浆中 TBAb,结核分枝杆菌免疫胶体金诊断试剂盒购于杭州艾康生物技术有限公司,具体步骤及阳性结果严格按照试剂盒说明操作及判定。

**1.2.3 结核分枝杆菌素皮试试验(TST)** 于前臂皮内注射标准结核分枝杆菌素纯蛋白衍生物(PPD)0.1 mL(含 5 个结核分枝杆菌素单位),72 h 后查验反应结果,记录硬结平均直径。按 PPD 皮试结果分级,PPD(-);硬结小于 5 mm;PPD(+):硬结 5~9 mm;PPD(++):硬结 10~19 mm;PPD(+++):硬结大于或等于 20 mm 或出现明显水泡、坏死。

**1.2.4 对方法的评价** 分别计算 3 种方法的灵敏度、准确度及特异度,进行对比分析。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 18.0 统计软件对试验数据进行分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,计数资料以百分率表示,采用  $\chi^2$  或 Fisher's 精确概率检验法进行比较, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 ELISPOT、TBAb 及 TST 法检测的结果分析** 对于结核分枝杆菌感染诊断,ELISPOT 法的灵敏度为 92.9%(39/42),特异度为 93.3%(56/60),准确度为 93.1%(95/102);TBAb 法的灵敏度为 54.8%(23/42),特异度为 71.7%(43/60),准确度为 64.7%(66/102);TST 法的灵敏度为 47.6%(20/42),特异度为 53.3%(32/60),准确度为 51.0%(52/102)。

表 1 ELISPOT 法、TBAb 法及 TST 法的检查结果(n)

| 组别  | n  | ELISPOT 法 |    | TBAb 法 |    | TST 法 |    |
|-----|----|-----------|----|--------|----|-------|----|
|     |    | 阳性        | 阴性 | 阳性     | 阴性 | 阳性    | 阴性 |
| 对照组 | 60 | 4         | 56 | 17     | 43 | 28    | 32 |
| 观察组 | 42 | 39        | 3  | 23     | 19 | 20    | 22 |

**2.2 ELISPOT、TBAb 及 TST 法灵敏度、特异度及准确度的比较** 3 种检测方法的灵敏度、特异度及准确度比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。两两比较,ELISPOT 法的灵敏度、特异度及准确度均高于 TBAb 法及 TST 法( $P < 0.05$ ),TBAb 法与 TST 法比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 2。

表 2 ELISPOT 法、TBAb 法及 TST 法灵敏度、特异度及准确度的比较[% (n/n)]

| 检查方法      | 灵敏度          | 特异度          | 准确度           |
|-----------|--------------|--------------|---------------|
| ELISPOT 法 | 92.9(39/42)* | 93.3(56/60)* | 93.1(95/102)* |
| TBAb 法    | 54.8(23/42)  | 71.7(43/60)  | 64.7(66/102)  |
| TST 法     | 47.6(20/42)  | 53.3(32/60)  | 51.0(52/102)  |

\*:  $P < 0.05$ ,与 TBAb 法及 TST 法比较。

## 3 讨 论

目前,临床应用的结核病诊断金标准是在痰液、体液或病理标本中找到结核分枝杆菌。临床应用最多的检测方法仍然

是涂片或培养和 TST,但其存在灵敏度低、需时较长、卡介苗接种的交叉反应以及 AIDS 患者的免疫功能缺陷造成假阴性率高等问题,给临床快速准确诊断 AIDS 合并结核病带来了困难<sup>[7-8]</sup>。因此,开发新的非细菌学诊断技术已成为结核病控制的关键。研究发现人体感染结核分枝杆菌后产生一系列体液免疫和细胞免疫变化,人体初次感染结核分枝杆菌后使 T 淋巴细胞致敏,转化为记忆 T 淋巴细胞。当人体再次接触结核分枝杆菌后,会迅速产生效应 T 淋巴细胞,产生多种细胞因子发挥免疫学效应<sup>[9]</sup>。ELISPOT 法的原理是通过检测结核特异性抗原刺激后分泌细胞因子的 T 细胞数量,评价细胞免疫功能,从而辅助判断受检者是否曾受结核感染<sup>[4]</sup>。在本研究中,对 42 例明确诊断的 AIDS 合并结核病患者同时进行了 ELISPOT 法、TBAb 法及 TST 法检测,并对 3 种检测方法用于诊断的灵敏度、特异度及准确度进行了比较。3 种检测方法的灵敏度、特异度及准确度比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );ELISPOT 法的灵敏度、特异度及准确度均高于 TBAb 法及 TST 法( $P < 0.05$ );TBAb 法与 TST 法比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

ELISPOT 技术作为一种新的细胞特异性酶联免疫检测方法在国外已开始用于结核病的检测,该方法以结核分枝杆菌特有 2 种蛋白质蛋白抗原刺激 T 细胞,通过检测产生特异性记忆 T 淋巴细胞来诊断是否存在结核分枝杆菌感染,不会同卡介苗或其他的环境分枝杆菌发生抗原交叉反应,具有较高的灵敏度和特异度<sup>[10]</sup>,ELISPOT 检测法有助于 AIDS 患者合并结核患者的早期、快速诊断。

## 参考文献

- [1] 陈姗姗,杨文华,薛为高.免疫学检测技术在结核病诊断中的应用与进展[J].医学信息,2013,26(16):677-678.
- [2] 刘冰,陈华根.免疫学检测在结核病诊断中的应用[J].检验医学与临床,2013,10(15):2027-2028.
- [3] 彭红,许卫国,王芳,等.结核分枝杆菌与艾滋病病毒双重感染的流行现状与管理策略进展及对策[J].中国防痨杂志,2011,33(11):769-772.
- [4] Metcalfe JZ, Everett CK, Steingart KR, et al. Interferon- $\gamma$  release assays for active pulmonary tuberculosis diagnosis in adults in low- and middle-income countries: systematic review and meta-analysis[J]. J Infect Dis, 2011, 204(suppl 4): S1120-S1129.
- [5] 中华人民共和国卫生部. GB 16000-1995 HIV/MDS 诊断标准及处理原则[S].北京:中国标准出版社,1995.
- [6] 华医学会结核病学分会.肺结核诊断和治疗指南[J].中华结核和呼吸杂志,2001,24(2):5-9.
- [7] Matthews K, Ntsekhe M, Syed F, et al. HIV-1 infection alters CD4+ memory T-cell phenotype at the site of disease in extrapulmonary tuberculosis[J]. Eur J Immunol, 2012, 42(1): 147-157.
- [8] 曾谊,冯泉,宋梅梅,等.酶联免疫斑点试验在菌阴肺结核诊断中的价值[J].中国防痨杂志,2012,34(2):100-102.
- [9] 邹俊辉,陶小华,关杨,等.酶联免疫斑点技术诊断潜伏结核的系统分析[J].中国实用医药,2010,5(15):100-102.
- [10] 张桂芝.诊断结核感染的新方法-酶联免疫斑点法技术[J].医学综述,2012,18(18):3047-3049.