

• 论 著 •

γ-干扰素释放试验用于出入境人群结核病诊断的研究*

杨国平¹, 叶敏霞², 杨启生¹, 殷竹君¹

(1. 江苏国际旅行卫生保健中心, 南京 210000; 2. 江苏省中西医结合医院, 南京 210000)

摘要:目的 探讨 γ-干扰素释放试验(IGRA)对结核病患者的临床诊断意义。方法 64 例结核病患者(结核组)选自江苏国际旅行卫生保健中心出入境人员, 46 例健康者(健康对照组)选自江苏国际旅行卫生保健中心体检人员, 分别用 IGRA、结核菌素皮试试验(TST)、结核菌脂阿拉伯露聚糖(LAM)、结核菌重组 38×10³ 蛋白(38×10³)和结核菌重组 16×10³ 蛋白(16×10³)的方法检测, 比较分析不同方法的检测结果, 并进行统计学分析。结果 IGRA 检测方法的敏感性(88.9%)和特异性(95.8%)均较好, TST 法的敏感性(92.7%)较好, 但特异性(76.7%)较差。结论 IGRA 检出结核病敏感性和特异性均较好, 具有重要的临床应用价值。

关键词: 结核病; γ-干扰素释放试验; 诊断性试验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.01.010

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)01-0027-03

Value of γ-interferon release test in the diagnosis of entry-exit people with tuberculosis*

YANG Guoping¹, YE Minxia², YANG Qisheng¹, YIN Zhujun¹

(1. Jiangsu International Travel Health Care Center, Nanjing, Jiangsu 210000, China; 2. Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine of Jiangsu, Nanjing, Jiangsu 210000, China)

Abstract: Objective To investigate the clinical significance of γ-interferon release test (IGRA) in the diagnosis of entry-exit people with tuberculosis. **Methods** A total of 64 patients with tuberculosis and 46 healthy people were detected by IGRA, tuberculin skin test (TST), LAM, 38×10³ and 16×10³. The results of different methods were compared and analyzed. **Results** The sensitivity of IGRA detection method (88.9%) and specificity (95.8%) were both higher, while the sensitivity (92.7%) of the TST method was higher and the specificity (76.7%) was lower. **Conclusion** The sensitivity and specificity of IGRA in the detection of tuberculosis are higher, and it has important clinical application value.

Key words: tuberculosis; γ-interferon release test; diagnostic test

结核病是由结核分枝杆菌引起的一种严重危害人类健康的慢性传染病, 尽管在过去的几十年间, 通过全球结核病控制工作的有效实施已经取得了巨大成就, 结核病在全球范围仍然是最严重的公共卫生威胁。据 WHO 统计, 全球约有 1/3 的人口感染过结核分枝杆菌^[1], 2014 年全球有 960 万新发结核病病例, 死亡 150 万。我国是全球 22 个结核病高负担国家之一, 2014 年的新发肺结核人数约为 93 万, 居全球第 3 位, 我国已把结核病列为重点防控的传染病^[2-3]。2010 年新修订的《中华人民共和国国境卫生检疫法实施细则》将第九十九条修改为“卫生检疫机关应当防止患有严重精神病、传染性肺结核病或者有可能对公共卫生造成重大危害的其他传染病的外国人入境”, 随着经济全球化趋势的发展, 我国对外联系得到不断加强, 人流的国际交往也日渐频繁, 这对我国口岸防控一线人员提出了更高的要求。

近年新发展起来的 γ-干扰素释放试验(IGRA)为结核感染的快速诊断和筛查开辟了一条新思路^[4]。这是一种用于结核分枝杆菌感染的体外免疫检测的新技术方法, 主要用于检测针对结核杆菌特异性抗原(ESAT-6、CFP-10 等)的特异性 IFN-γ 分泌型 T 淋巴细胞, 该细胞被证实在结核分枝杆菌感染检测中有较好的敏感性和特异性, 能够代替结核菌素皮肤试验(TST)用于结核病的监控, 已在国外公共卫生和临床检测等领域得到了广泛应用^[5-8]。IGRA 检测优点在于可鉴别卡介苗疫苗接种导致的假阳性, 结果 24 h 之内可获得, 而且不需要受检

查者回访, 不但实现了结核分枝杆菌的快速检测, 而且减少了结果获取的缺失率。

鉴于口岸出入境人员来源的多样性, IGRA 周期短、特异性强, 可能更具普适性, 目前发表的使用 IGRA 的指南和文献越来越多, 但关于如何准确使用 IGRA 存在较大差异, 引起差异的原因归结于国情差异、选用检测人群差异和有关的临床试验结论性数据不足等原因, 因此通过研究得出如何在我国口岸出入境人群应用的数据, 对于我国口岸系统就显得尤为重要。本研究选取 64 例结核病患者(结核组)和 46 例健康者(健康对照组)作为研究对象, 通过比较 IGRA 与 TST、结核菌脂阿拉伯露聚糖(LAM)、结核菌重组 38×10³ 蛋白(38×10³)和结核菌重组 16×10³ 蛋白(16×10³)检测方法, 分析 IGRA 检测结核的特点和优势。

1 资料与方法

1.1 一般资料 结核组 64 例, 选自江苏国际旅行卫生保健中心出入境人员, 其中男 34 例, 女 30 例, 平均(36.47±16.84)岁。健康对照组 46 例, 选自江苏国际旅行卫生保健中心体检人员, 其中男 21 例, 女 25 例, 平均(18.72±3.01)岁, 所有研究对象均为 HIV 抗体检测阴性。

1.2 仪器与试剂 结核分枝杆菌 γ-干扰素(TB-IGRA)试剂盒(武汉海吉力生物科技有限公司); 结核菌素 PPD(成都生物制品研究所), MTB IgG 抗体检测试剂盒(蛋白芯片), (南京大渊生物技术工程有限责任公司生产); BIO-RED 酶标仪。

* 基金项目: 江苏出入境检验检疫局科技项目(2015KJ34)。

作者简介: 杨国平, 男, 主管检验师, 主要从事出入境口岸传染病监测方向的研究。

1.3 方法

1.3.1 IGRA 检测 采集研究对象的静脉血,使用肝素钠抗凝,于室温储存和运输,6 h 内进行样品刺激,严格按照试剂盒说明书操作。

1.3.2 TST 试验 所有研究对象在采血后于前臂皮内注射 PPD 0.1 mL(5 U),72 h 观测结果,用直尺量取硬结平均直径并记录。由于卡介苗接种者 PPD 注射部位会出现明显的红肿,因此以红肿硬块直径≥15 mm 和≥5 mm 作为判断卡介苗接种者与未接种者是否感染结核分枝杆菌的标准。

1.3.3 血清抗结核抗体检测 常规方法收集血清,采用 MTB 多种抗原 IgG 抗体蛋白芯片法检测抗结核抗体,严格按试剂盒说明书操作。

1.4 统计学处理 统计分析采用 SPSS13.0 软件,计数资料用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 5 种检测方法在结核组和健康对照组的检测情况对比 分别用 5 种方法对 64 例结核病患者和 46 例健康者进行检测,其中,IGRA 法在 64 例结核组中检出阳性 56 例,TST 法 59 例,LAM 法 21 例,28×10³ 法 38 例,16×10³ 法 33 例,IGRA 法检出结核的阳性率明显高于其他 4 种。见表 1。

表 1 5 种不同方法在结核组和健康对照组的检测情况[n(%)]

组别	n	IGRA	TST	LAM	38×10 ³	16×10 ³
结核组	64	56(87.50)	59(92.19)	21(37.50)	38(59.38)	33(51.56)
健康对照组	46	2(4.55)	14(72.73)	4(8.69)	4(8.69)	3(6.52)
χ^2		32.58	42.27	14.55	24.44	20.95
P		<0.001	<0.01	<0.01	<0.001	<0.001

2.2 5 种检测方法检测结果的对比分析 5 种方法检出结核的阳性率分别为 87.50%、92.18%、32.81%、59.38%、51.56%,5 种方法检出结核的阴性率分别为 95.65%、69.57%、91.30%、91.30%、93.48%。具体数据如表 2。分析 5 种检测方法的敏感性和特异性(表 3),IGRA 检测方法的敏感性(88.9%)和特异性(95.8%)均较好,TST 法的敏感性(92.7%)较好,但特异性(76.7%)较差。综合比较敏感性和特异性,IGRA 检测方法性能较好。

表 2 5 种检测方法检测结果的对比分析(%)

检测方法	结核组		健康对照组	
	阳性率	假阴性率	阳性率	假阴性率
IGRA	87.50	12.50	95.65	4.35
TST	92.18	7.82	69.57	30.43
LAM	32.81	67.19	91.30	8.70
38×10 ³	59.38	40.63	91.30	8.70
16×10 ³	51.56	48.44	93.48	6.52

表 3 5 种检测方法敏感性和特异性的比较(%)

检测项目	敏感性	特异性
IGRA	88.9	95.8
TST	92.7	76.7
LAM	59.8	92.0
38×10 ³	71.1	92.0
16×10 ³	67.4	93.9

3 讨论

在我国国境口岸卫生检疫部门结核病监测及检测主要依

据《出入境人员健康检查规程》(SN/T 1295)及《国境口岸结核病监测规程》(SN/T 1283),要求对出入境人员开展胸部 X 线检查和实验室检测,目前的结核病诊断方法中,虽然细菌学检查是结核病诊断的金标准,但是敏感性较低且耗时长,对肺外结核病的诊断阳性率更低,影像学、TST、蛋白芯片抗体检查、分子诊断方法等都存在一定的局限性^[9-12]。因此寻找新的诊断方法对结核病进行早期诊断与治疗具有十分重要的意义。传统的检测流程不利于口岸结核病防控,同时还带来了许多不必要的 X 线暴露。口岸检验检疫部门对结核病的检测需要同时满足快速、准确的双重要求,但是上述传统方法以及防控策略的特性限制了其在口岸结核病检测工作中的应用,因此尽快寻求一种周期短、特异性高的结核病检测技术,始终是困扰口岸卫生检疫机构的一个问题。

近年发展起来的 IGRA 是一种用于结核分枝杆菌感染的体外免疫检测方法。该方法原理:源自 ESAT-6、CFP-10 序列表达的高度特异性蛋白,在所有的 BCG 菌株及绝大部分的非结核分枝杆菌(*M. kansasii*、*M. szulgai* 及 *M. marinum* 除外)都不含有。受结核分枝杆菌感染的患者诱导机体产生分泌 IFN- γ 的 CD4⁺ T 细胞,而这种特异性蛋白是此类 T 细胞的靶抗原,这一识别过程伴随着产生和分泌 IFN- γ ,检测结核分枝杆菌感染者的外周血细胞中的 IFN- γ 表达就可以间接了解患者是否感染,因此能更为真实地反映机体对结核分枝杆菌的免疫状态,而卡介苗中不存在这类抗原,因此具有更高的敏感性 & 特异性^[13]。其在结核病诊断中的意义正在被越来越多的临床实验所证实,尤其对于像中国这样普遍接种卡介苗的结核高负担国家,更具有重要意义。IGRA 目前已成为欧美等国家潜伏性结核及结核筛查的主要方法,如出现阳性结果再进行胸部 X 线片或痰液结核分枝杆菌检查,并结合临床及其他辅助检查,明确是否为现症感染,制定后续预防性干预措施或治疗方案,将对结核疫情的有效控制发挥巨大作用。

本研究中,通过比较 IGRA、TST、LAM、38×10³ 和 16×10³ 5 种结核检测方法的阳性率、假阴性率、阴性率、假阳性率、敏感性、特异性等指标,发现 IGRA 检测方法的特异性和敏感性均较高,保证了检测的准确性,为选择适合我国国情的结核感染检测方法提供了思路和数据,有助于实现对出入境人员结核感染的高准确率,对实现口岸结核病防控和快速鉴别诊断,有较高的临床诊断价值。

采纳和借鉴欧美发达国家结核病控制的新技术和检测流程,在出入境人群中开展 IGRA,尤其针对孕妇及儿童等不宜开展 X 线检查的人群。对阳性病例进行胸片及痰液结核分枝杆菌检查,明确是否为传染性结核病患者,同时对潜伏感染者进行有效的追踪随访,采取适当的干预措施,可有效减少结核的发病。这种积极的措施将有助于及时发现结核感染者,有效减少活动性结核的发病率,对口岸结核病的有效防控具有重要意义。

参考文献

[1] Nachega JB, Uthman OA, Ho YS, et al. Current status and future prospects of epidemiology and public health training and research in the WHO African region[J]. Int J Epidemiol, 2012, 41(6):1829-1846.
[2] Loennroth K, Castro KG, Chakaya JM, et al. Tuberculosis control and elimination 2010-50: cure, care, and social development [J]. Lancet, 2010, 375(9728):1814-1829. (下转第 31 页)

生率升高,娩出畸形儿可能性越小,相反,则畸形儿和早期流产发生率越高。

染色体多态性在本次研究中比例较高,占染色体异常率的 56.25%, 占有例数异常率的 17.65%, 这和临床实际情况是一致的。染色体多态性主要以正常染色体各种微小变异,主要是异染色质变异,常发生在 1、9、16 号染色体核 Y 染色体异染色质区和每条染色体着丝粒区,而这些区域含有高度重复 DNA 结构异染色质^[6]。相关研究认为,Y 染色体多是异染色质 DNA 序列片段过多重复产生剂量效应或 DNA 螺旋化程度的改变,造成有丝分裂发生错误或影响基因调节和细胞分化,从而造成不良妊娠^[7-8]。另外本次研究中发现有 G 染色体异常,结合刘丽等^[9]研究认为,其和染色体结构、功能和变异等不分离有关,其机制可能是生殖细胞分裂。

研究结果显示,染色体异常发生率和自然流产次数之间无相关性,但在临床上对 2 次以上的 RSA 患者均尽可能进行必要染色体核型检查。研究还发现在染色体异常中女性更常见,其原因可能与平衡易位失调有关。虽然平衡易位因遗传物质未丢失而染色体结构发生异常,故虽然患者在智力和表型上无明显异常,但有危害后代的风险。另外一个因素可能是男性再生殖细胞形成时可产生携带平衡易位精子,但精子有选择优势性^[10]。而女性卵子数量有限,故其频率高于男性。

综上所述,核型异常夫妇中 RSA 发生率较高,其中 RSA 主要原因有易位、多态性等,对育龄夫妇在临床上要常规进行染色体检测,这很有必要,而对已知携带染色体变异夫妇要进行染色体和相关遗传学检查,这有助于对复发性流产原因分析,同时做好产前检查对优生优育进行有效指导,能减轻社会和家庭负担。

参考文献

[1] 滕奔琦,范建辉,章钧,等.初次自然流产与复发性自然流

(上接第 28 页)

[3] Dirlikov E, Raviglione M, Scano F. Global tuberculosis control; toward the 2015 targets and beyond[J]. Ann Intern Med, 2015, 163(1): 52-58.

[4] Lalvani A. Diagnosing tuberculosis infection in the 21st century; new tools to tackle an old enemy[J]. Chest, 2007, 131(6): 1898-1906.

[5] Diel R, Loddenkemper R, Nienhaus A. Evidence-based comparison of commercial interferon-gamma release assays for detecting active TB; a metaanalysis[J]. Chest, 2010, 137(4): 952-968.

[6] Fathy MM, Asaad A, Mansour M, et al. Cellular interferon-gamma based assay for diagnosis of pulmonary tuberculosis[J]. Egypt J Immunol, 2007, 14(1): 33-41.

[7] Arend SM, Thijsen SF, Leyten EM, et al. Comparison of two interferon-gamma assays and tuberculin skin test for tracing tuberculosis contacts[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2007, 175(6): 618-627.

[8] Diel R, Loddenkemper R, Meywald-Walter K, et al. Predictive value of a whole blood IFN-gamma assay for the

产绒毛组织细胞遗传学分析[J]. 新医学, 2011, 42(11): 723-726.

[2] 刘玉昆,陈欣,刘颖琳,等.高龄早期复发性流产患者流产原因分析[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2013, 34(4): 646-650.

[3] 王晶晶,王蕴端,陈锡泉,等. 394 对复发性自然流产夫妇染色体核型分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 5(1): 49-50.

[4] 贾颀舫,彭文,石东红,等. 染色体微阵列分析技术在妊娠早期复发性自然流产病例绒毛组织体外培养失败后的应用[J]. 中华围产医学杂志, 2014, 8(12): 832-835.

[5] 陈慧,宋小侠,杜涛,等. 染色体异常的复发性自然流产夫妇妊娠结局及子代染色体状况的临床研究[C]//中华医学会第十次全国妇产科学术会议论文集, 厦门, 2012: 202-203.

[6] 张楚. 染色体核型分析及荧光原位杂交检测助孕夫妇自然流产绒毛组织染色体异常[D]. 济南: 山东大学, 2014.

[7] 刘玉昆,刘梅兰,杜涛,等. 不同年龄和流产次数的复发性流产患者绒毛染色体核型分析[J]. 现代妇产科进展, 2012, 21(12): 925-928.

[8] 肖卓妮,徐望明,杨菁. 湖北地区 1725 例不育男性的外周血染色体核型分析[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版), 2012, 6(16): 4671-4674.

[9] 刘丽,徐凤琴,邸建永,等. 二代测序技术检测早期自然流产胚胎染色体异常[J]. 天津医药, 2015, 4(8): 932-935.

[10] 李亚丽,高健,余小平,等. 复发性流产与染色体相关性研究[J]. 中国妇幼保健, 2013, 28(22): 3615-3618.

(收稿日期:2016-08-05 修回日期:2016-10-24)

development of active tuberculosis disease after recent infection with Mycobacterium tuberculosis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2008, 177(10): 1164-1170.

[9] Ariga H, Harada N. Evolution of IGRA researches[J]. Kekkaku, 2008, 83(9): 641-52.

[10] Desem N, Jones SL. Development of a human gamma interferon enzyme immunoassay and comparison with tuberculin skin testing for detection of Mycobacterium tuberculosis infection[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 1998, 5(4): 531-536.

[11] 陈奎霖. 结核抗体在诊断结核病中的意义[J]. 中国热带医学, 2008, 8(9): 1608.

[12] 张裕君. 蛋白芯片三种抗原检测结核抗体对肺结核的诊断价值[J]. 实用医技杂志, 2014, 21(9): 985-986.

[13] Su WL, Perng WC, Huang CH, et al. Identification of cytokines in whole blood for differential diagnosis of tuberculosis versus pneumonia[J]. Clin Vaccine Immunol, 2010, 17(5): 771-777.

(收稿日期:2016-08-02 修回日期:2016-10-24)