

• 论 著 •

结核感染 T 细胞斑点试验及抗结核抗体检测在结核诊断中的应用价值评价

蒋 瑜, 吴 婷

(浙江大学医学院附属第二医院检验科, 杭州 31009)

摘要:目的 评价结核感染 T 细胞斑点试验和血清学结核抗体(TB-Ab)检测两种方法在结核辅助诊断中的性能。**方法** 回顾性分析 2015 年 1 月至 2016 年 3 月浙江大学附属第二医院医院就诊确诊为结核患者的结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT, TB)及 TB-Ab 检测结果。**结果** 在 112 例结核患者中, 101 例 T-SPOT, TB 检测阳性, 灵敏度为 90.18%, 32 例 TB-Ab 检测阳性, 灵敏度为 28.57%。其中肺结核 41 例, 40 例 T-SPOT, TB 阳性, 灵敏度为 97.56%; 18 例 TB-Ab 检测阳性, 灵敏度为 43.9%。肺外结核 71 例患者中, 61 例 T-SPOT, TB 检测阳性, 灵敏度为 85.91%, 14 例 TB-Ab 检测阳性, 灵敏度为 19.7%。**结论** T-SPOT, TB 检测不受标本采集的影响, 灵敏度高, T-SPOT, TB 的各项综合评价指标均优于血清学结核抗体(TB-Ab), 对活动性肺结核的辅助诊断具有较高价值。

关键词:结核感染 T 细胞斑点试验; 血清学结核抗体检测; 肺结核; 肺外结核

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.16.022 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2017)16-2234-03

Evaluation of T-SPOT, TB Test and Tuberculosis Antibody Detection in the Diagnosis of Tuberculosis

JIANG Yu, WU Ting

(Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou, Zhejiang 310009, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the performance of T-SPOT, TB Test and serological tuberculosis antibody(TB-Ab) in tuberculosis-assisted diagnosis. **Methods** Patients were diagnosed as tuberculosis from 2015 January to 2016 March in the hospital. T-SPOT, TB and tuberculosis antibody detection were performed for those patients. **Results** In 112 cases of tuberculosis patients, 101 cases of T-SPOT, TB test were positive and the sensitivity was 90.18%, 32 cases of tuberculosis antibody detection were positive and the sensitivity was 28.57%. In 41 cases of pulmonary tuberculosis, T-SPOT, TB assay showed positive results in 40 patients and the sensitivity was 97.56%, tuberculosis antibody detection showed positive results in 18 patients and the sensitivity was 43.9%; in 71 cases of extrapulmonary tuberculosis, T-SPOT, TB assay showed positive results in 61 patients and the sensitivity was 85.91%, tuberculosis antibody detection showed positive results in 14 patients and the sensitivity was 19.7%. **Conclusion** T-SPOT, TB was superior to serological tuberculosis antibody(TB-Ab), and the diagnosis of active tuberculosis was higher, and the sensitivity of T-SPOT, TB was higher than that of T-SPOT, TB value.

Key words: T-SPOT, TB; serological tuberculosis antibody; pulmonary tuberculosis; extrapulmonary tuberculosis

结核病是一种长期危害人类健康的慢性传染性疾病, 结核分枝杆菌(MTB)感染人体后产生一系列的细胞免疫及体液免疫应答。结核分枝杆菌通常感染并破坏肺及淋巴系统, 但中枢神经系统、循环系统、泌尿系统、骨骼、关节甚至皮肤亦可受感染。全球有三分之一的人(约 20 亿)曾受到结核分枝杆菌的感染, 世界卫生组织统计数据显示我国是全球 22 个结核病流行严重的国家之一, 被 WHO 列为结核病高负担、高危险性国家^[1]。新发结核病例来自数量巨大的潜伏性结核感染人群, 控制活动性结核患者必须通过鉴别“高危人群”、“预防性治疗”、“免疫接种”来控制潜伏性结核感染。因此对结核病的早期、快速、准确诊断显得极为重要^[2-3]。T-SPOT, TB 检测是建立在细胞免疫应答基础上的 T 细胞干扰素(IFN)- γ 释放试验, 所使用的抗原均来自结核分枝杆菌基因组与 BCG 比较缺失的区域即 RD(Region of difference)区, 避免了与 BCG 接种之间的交叉反应, 具有较低的假阳性率。结核病的血清学结核抗体(TB-Ab)检测以宿主感染结核分枝杆菌后的体液免疫应答为

基础, 通过检测血清中结核分枝杆菌抗原特异性的抗体来诊断结核病。目前已经有数种具有较高诊断价值的抗原被筛选出来, 包括 38×10^3 抗原、结核分枝杆菌脂阿拉伯甘露聚糖(LAM)及 Antigen 60 等^[4-6]。本研究通过对 112 例确诊结核患者 T-SPOT, TB 检测结果与 TB-Ab 检测结果进行比较, 以评价两种诊断方法在不同类型结核病诊断与筛查中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2015 年 1 月至 2016 年 3 月在浙江大学附属第二医院医院就诊, 并且诊断为结核的患者。112 例结核患者中, 包括肺结核 41 例, 肺外结核 71 例, 其中男 65 例, 女 47 例, 年龄 15~89 岁, 平均 54.77 岁。结核患者确诊标准参照中华医学会颁布的《临床诊疗指南: 结核病分册》。112 例结核患者通过临床表现加涂阳(20 例)和临床表现加组织病理或影像学或诊断性治疗方式(92 例)明确诊断。其中肺结核 41 例(35.71%), 肺外结核 71 例(63.39%), 包括结核性胸膜

炎 14 例(12.5%),结核性腹膜炎 4 例(3.57%),结核性脑膜炎 3 例(2.68%),结核性心包炎 6 例(5.36%),肠结核(4.46%),淋巴结核 3 例(2.68%),泌尿系统结核 6 例(5.36%),喉结核 2 例(1.79%),生殖系统结核 3 例(2.68%),皮肤结核 1 例(0.89%),骨骼及关节结核 25 例(22.32%)。

1.2 仪器与试剂 瑞士 Teacan 公司 Freedom EVO 酶免前处理加样仪、PW-960PLUS 全自动酶标洗板机、MK100-4A 微孔板恒温孵育器、BIO-RAD iMark 酶标仪、ESCO 二级生物安全柜 AC2-4S1、水平恒温离心机、恒温 CO₂ 培养箱。结核感染 T 细胞检测试剂盒(免疫斑点法,英国 Oxford immunotec ltd 公司),结核抗体 IgG 诊断试剂盒(北京万泰生物有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 T-SPOT. TB 按 T-SPOT. TB 试剂盒说明书操作:采集患者 6 mL 外周静脉血置于肝素抗凝管,Ficoll 淋巴细胞分离液分离的外周血单个核细胞,与结核杆菌特异混合多肽 A (ESAT-6)和结核杆菌特异混合多肽 B(CFP10),在抗 INF-γ 抗体预包被的板中 37 ℃ 5% CO₂ 共同孵育 16~20 h。经碱性磷酸酶标记的抗 INF-γ 抗体和底物显色后计数斑点。阳性结果判断:若空白对照孔斑点数为 0~5 个时且 ESAT-6 或 CFP 10 孔的斑点数-空白对照孔斑点数≥6 可判断标本为阳性;若阴性对照孔斑点数为 6~10 时,检测孔斑点数为阴性对照孔的 2 倍,可判断所测标本为阳性。

1.3.2 TB-Ab 结核抗体 IgG 检测 严格参照试剂说明书进行操作与结果判读。临界值(CO)=阴性对照 OD 均值+0.15;样本 OD 值 S/CO≥1 者为阳性。样本 OD 值 S/CO<1 者为阴性(阳性对照 OD 值<0.8 或者阴性对照 OD 值>0.1 时,实验无效应重新试验)。

2 结果

2.1 两种方法灵敏度比较 对两种检测方法在结核患者中的灵敏度进行比较,明确诊断结核的 112 例病例中 101 例 T-SPOT. TB 检测阳性,灵敏度为 90.18%;32 例 TB-Ab 检测阳性,灵敏度为 28.57%。

2.2 两种检测方法在肺内结核和肺外结核检测中的灵敏度 112 例结核病例中,诊断肺结核 41 例,其中 40 例 T-SPOT. TB 阳性,灵敏度为 97.56%;18 例 TB-Ab 检测阳性,灵敏度为 43.9%。诊断肺外结核 71 例,61 例 T-SPOT. TB 检测阳性,灵敏度为 85.91%,14 例 TB-Ab 检测阳性,灵敏度为 19.7%,见表 1。

表 1 T-SPOT. TB 和 TB-Ab 两种检测方法在各组样本中检测的阳性率

组别	n	T-SPOT. TB		TB-Ab	
		阳性(n)	阳性率(%)	阳性(n)	阳性率(%)
肺结核组	41	40	97.56	18	43.9
肺外结核	71	61	85.91	14	19.7

3 讨论

我国是世界上第二大结核高负担国家,结核病的早期快速诊断与治疗是减少结核分枝杆菌传播,控制结核病的关键。快速而敏感的诊断结核的实验室技术显得十分重要。现我国结核病诊断方法有涂片和培养检查(包括显微镜痰涂片检查、支

气管灌洗液涂片检查、快速培养药敏检测技术、液体变色培养基、噬菌体裂解试验和结核杆菌 L 型检查)、结核菌素蛋白衍生物(PPD)皮试试验、影像学检查(包括 X 线、CT、高分辨率 CT)、免疫学诊断(血清学检测、INF-γ 释放分析、结核感染 T 细胞斑点试验)、微生物分子学诊断方法(核酸扩增技术、线性探针分析)等^[6-7]。不同方法对结核感染情况的检测效果存在差异,应根据临床实际情况加以选择,发挥各自的优势。本文主要回顾性分析例结核确诊患者 T-SPOT. TB 和 TB-Ab 检测结果,并评价这两种检测方法在结核辅助诊断中的价值。

由酶联免疫斑点技术(ELISPOT)发展而来,是以 ESAT-6 和 CFP-10 两种低分子蛋白作为 T 淋巴细胞的特异性刺激抗原刺激结核感染的免疫活性 T 淋巴细胞产生高水平 IFN-γ,应用 ELISPOT 技术检测外周血中分泌 IFN-γ 的 T 淋巴细胞数量。T-SPOT. TB 检测方法灵敏度和特异度较高,与卡介苗及绝大多数非结核分枝杆菌无交叉免疫反应^[8-10]。TB-Ab 检测的是血液中的抗结核分枝杆菌的抗体结核抗体,检测以宿主感染结核分枝杆菌后的体液免疫应答为基础^[11]。本文回顾性分析结果显示 TB-Ab 的灵敏度明显低于 T-SPOT. TB,但由于不同结核患者之间以及同一患者处于疾病的不同阶段,自身的体液免疫和细胞免疫水平是不同的。如病变重、受损范围大的患者细胞免疫功能弱^[7],在回顾性病例中有 1 例肺结核患者,痰涂片抗酸杆菌阳性,而 T-SPOT. TB 却是阴性,TB-Ab 阳性,符合了上述推断。因此同时进行体液免疫和细胞免疫的检测,从不同角度反映疾病的存在,对提高诊断具有互补的作用。

TB-Ab 检测方法阳性率较低的原因,一方面由于 38×10³-IgG 抗体常在结核病的中晚期出现,因此在发病早期可能会导致 TB-Ab 检测结果的假阴性;另一方面可能机体对结核杆菌免疫应答有关,包括由于患者免疫功能异常导致机体不产生或只少量产生特异性结合抗体,无法与健康人群的结核抗体水平相区分;活动性结核患者体内产生的特异性抗体与结核抗原结合,形成免疫复合物,从而导致结核抗体测定为阴性^[12-13];结核杆菌的免疫应答是 T 细胞可被多种表位活化,而用于血清检测的试剂盒所提供的抗原表位则不够丰富。

许多结核病没有特异临床表现,本文中明确诊断的结核患者大多数为肺外结核。与肺结核相比,肺外结核的诊断通常更加困难,其主要的原因之一就是肺外结核缺乏肺部病变的特点,且病变部位并不一致,典型的临床症状不明显^[14]。T-SPOT. TB 能早期诊断结核感染,需时较短;且受机体免疫状态的影响较小^[15],本文回顾性研究发现无论从肺结核还是肺外结核,T-SPOT. TB 检测方法灵敏度均高 TB-Ab 检测,且在肺外结核中的差异更明显;无论是 T-SPOT. TB 检测还是 TB-Ab 检测,肺结核较肺外结核有更高的灵敏度。

综上所述,T SPOT-TB 试验在菌阳患者和菌阴患者,肺内结核和肺外结核患者中灵敏度都较高,对结核的辅助诊断具有较高的价值;而 TB-Ab 的灵敏度则较低,其用于辅助诊断的优势只在于快速,不适合单独使用,若与 T-SPOT. TB 联合使用可以提高结核的检出率。

参考文献

[1] 王黎霞. 中国结核病防治工作现状分析[J]. 中国公共卫生,2012,28(4):413-414.

- [2] Zumla A, Chakaya J, Centis R, et al. Tuberculosis treatment and management—an update on treatment regimens, trials, new drugs, and adjunct therapies[J]. *Lancet Respir Med*, 2015, 3(3): 220-234.
- [3] Toujani S, Ben Salah N, Cherif J, et al. Primary infection and pulmonary tuberculosis[J]. *Rev Pneumol Clin*, 2015, 71(2/3): 73-82.
- [4] Escalante P, Kooda KJ, Khan R, et al. Diagnosis of latent tuberculosis infection with T-SPOT®. TB in a predominantly immigrant population with rheumatologic disorders[J]. *Lung*, 2015, 193(1): 3-11.
- [5] Wang Y, Lu B, Liu J, et al. A multicenter clinical evaluation of *Mycobacterium tuberculosis* IgG/IgM antibody detection using the colloidal gold method[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2014, 33(11): 1989-1994.
- [6] 唐神结, 胡忠义, 张青. 结核病临床诊治进展年度报告[J]. *中国防痨杂志*, 2012, 34(3): 393-403.
- [7] Schichter-Konfino V, Halasz K, Grushko G, et al. Interferon-gamma-release assay prevents unnecessary tuberculosis therapy[J]. *Isr Med Assoc J*, 2015, 17(4): 223-226.
- [8] Pai M, Riley LW, Colford JM. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review[J]. *Lancet Infect Dis*, 2004, 4(17): 761-776.
- [9] Yang J, Xu K, Zheng J, et al. Limited T cell receptor beta variable repertoire responses to ESAT-6 and CFP-10 in subjects infected with *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Tuberculosis*(Edinb), 2013, 93(5): 529-537.
- [10] Haustein T, Ridout A, Hartley C, et al. The likelihood of an indeterminate test result from a whole-blood interferon-gamma release assay for the diagnosis of mycobacterium tuberculosis infection in children correlates with age and immune status[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2009, 28(8): 669-673.
- [11] 王金富, 孙正松, 巢国祥. T 细胞免疫检测和蛋白芯片技术用于 HIV 感染人群中结核潜伏感染筛查的比较[J]. *中国卫生检疫杂志*, 2015, 25(24): 4219-4220.
- [12] Abebe F, Holm-Hansen C, Wiker G, et al. Progress in serodiagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection[J]. *Scand J Immunol*, 2007, 66(2/3): 176-191.
- [13] Hoff T, Abebe M, Ravn P, et al. Evaluation of mycobacterium tuberculosis-specific antibody responses in populations with different levels of exposure from Tanzania, Ethiopia, Brazil, and Denmark[J]. *Clin Infect Dis*, 2007, 45(5): 575-582.
- [14] 王凤平, 陈蕾, 陈苏芳, 等. 结核感染 T 细胞检测在肺外结核诊断应用价值[J]. *实用预防医学*, 2014, 21(10): 1247-1249.
- [15] Yoon HJ, Song YG, Park W, et al. Clinical manifestaion and diagnosis of extrapulmonary tuberculosis[J]. *Yonsei Med J*, 2004, 25(3): 453-461.

(收稿日期: 2017-02-19 修回日期: 2017-04-19)

(上接第 2233 页)

- 前, 等. 宫颈癌和 CIN 患者 HPV-16 感染和血清中 L1 抗体的检测及其临床意义[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2012, 17(4): 306-309.
- [3] 马正海, 梅新娣, 张富春. 新疆南部地区维吾尔族妇女宫颈癌组织中 HPV-16 型 L2 基因多态性突变谱分析[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2004, 24(9): 968-972.
- [4] 帕提曼·米吉提, 古扎丽努尔·阿不力孜. HPV 各亚型在 350 例新疆维吾尔族宫颈癌患者中的分布研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2008.
- [5] Defilippis RA, Goodwin EC, Wu L, et al. Endogenous human papillomavirus E6 and E7 proteins differentially regulate proliferation, senescence, and apoptosis in HeLa cervical carcinoma cells[J]. *J Virol*, 2003, 77(15): 1551-1563.
- [6] 李小梅. 宫颈癌与性传播疾病的相关性分析[J]. *实用医技杂志*, 2008, 15(21): 2750-2751.
- [7] 勒琼, 沈铿, 李辉, 等. 西藏自治区妇女子宫颈癌人乳头状瘤病毒感染现状调查及相关因素分析[J]. *中华妇产科杂志*, 2009, 44(8): 898-902.
- [8] 周平, 周武, 沈默. 温州地区女性体检人群人乳头状瘤病毒感染及分布情况研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2015, 19(10): 3353-3355.
- [9] 王小娟, 周燕飞. 武汉地区妇女宫颈人乳头状瘤病毒感染的基因分型[J]. *湖北中医药大学学报*, 2015, 17(1): 105-107.
- [10] 邱慧玲, 王玲玲, 沙爱国. 厦门地区女性宫颈人乳头状瘤病毒感染 3155 例检测结果分析[J]. *临床军医杂志*, 2010, 36(9): 988-989.
- [11] 浦霞, 郭庆赫, 尚秀丽, 等. 泸州地区女性宫颈人乳头状瘤病毒感染与宫颈病变关系研究[J]. *泸州医学院学报*, 2014, 37(4): 349-352.
- [12] 叶丽, 赵湘婉, 陶洒洒, 等. 温岭地区 3 197 例女性宫颈人乳头状瘤病毒感染亚型检测分析[J]. *现代实用医学*, 2011, 23(2): 155-156.
- [13] 李毅坚, 王堃成, 袁健生, 等. 佛山市南海区妇女子宫颈癌人乳头状瘤病毒感染现状及相关因素分析[J]. *现代医院*, 2011, 11(1): 20-22.
- [14] 努尔比娅姆·吾舒尔, 刘雅轩. 少数民族地区农民收入现状分析与增收对策[J]. *经济论坛*, 2015, 38(1): 62-66.
- [15] 郝治, 吴继留, 杜靖, 等. 维吾尔族妇女宫颈癌组织中 p16 蛋白与 HPV16/18 的相关性[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2008, 29(4): 450-453.

(收稿日期: 2017-02-18 修回日期: 2017-04-18)