

• 临床研究 •

# 酶联免疫斑点试验联合结核抗原检测在艾滋病合并结核感染中的意义研究

吴 昊

(江苏省南通市老年康复医院检验科, 江苏南通 226001)

**摘 要:****目的** 研究酶联免疫斑点试验联合结核抗原检测在艾滋病合并结核感染中的意义。**方法** 选取 2015 年 6 月至 2016 年 6 月该院收治的 84 例患者为研究对象,以患者是否合并结核感染为依据,分为两组,各 42 例,对比单一检测法、酶联免疫斑点试验联合结核抗原检测法的诊断效果。**结果** 结核组的联合检测阳性率高于单一检测,差异显著;组间联合检测效果相比,差异显著。**结论** 与单一检测方相比,艾滋病合并结核感染患者经酶联免疫斑点试验联合结核抗原检测,提高了诊断效果,避免了漏诊与误诊,临床上值得推广。

**关键词:**酶联免疫斑点试验; 结核抗原检测; 艾滋病; 结核感染

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2017.16.041 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2017)16-2286-03

艾滋病属于临床常见与多发疾病,具有高发病率、高传染率、高病死率等特点,患者因细胞免疫力较低,增加了其感染概率,常见感染便是结核感染<sup>[1-2]</sup>。据统计,艾滋病患者年均死亡人数在 200 万左右,其中约 25% 合并结核感染,此类患者因诊治难度较大,进一步威胁了其生命安全<sup>[3-4]</sup>。目前,临床上常见的诊断方法直接涂片法、结核抗体法等,但各方法均存在不足,未能满足实际诊断需求。因此,本文提出了酶联免疫斑点试验(ELISPOT)联合结核抗原检测,以 84 例患者为研究对象,经对照研究,证实了联合检测法的临床价值,现报道如下。

## 1 资料及方法

**1.1 一般资料** 2015 年 6 月至 2016 年 6 月,本院收治的 84 例患者,其中男 54 例,女 30 例,最小 24 岁、最大 68 岁,平均(43.4±3.5)岁,根据患者是否合并结核感染,划分为两组,各 42 例,患者性别、年龄等比较,差异不显著。纳入标准:(1)临床资料完整;(2)均无严重器质性疾病;(3)依从性良好,如表 1 所示。

表 1 结核组与非结核组研究对一般资料对比			
组别	<i>n</i>	男/女 ( <i>n</i> / <i>n</i> )	中位年龄 (岁) CD4 <sup>+</sup> 细胞<350/μL ( <i>n</i> )
结核组	42	24/18	45 42
非结核组	42	30/12	38 42

**1.2 方法** 选用 TSOPT-TB 试剂盒、结核菌检测试剂盒、培养箱、自动计数仪等,测试方法如下。

**1.2.1 联合测试** ELISPOT 联合结核抗原检测,其中 ELISPOT:采集 8 mL 静脉血,放置在抗凝血管内,离心,28 min,分离,去除内源性 IFN-,加入培养液,10 mL,离心,7 min,去除上清液,再加入培养液,重悬细胞,制备细胞稀释液,放置在培养箱内,孵育 28 h,加入酶标抗体工作液,孵育 1 h,室温放置,7 min,计数斑点。结核抗原:采集 4 mL 静脉血,放在抗凝血管内,制备混合液,稀释,观察样品液体虹吸现象,编号,室温放置,15 min。

**1.2.2 单一测试** 血培养检测、痰涂片检测、结核抗体法等,根据实验操作要求,严格规范操作。

**1.3 观察指标** 观察不同检查方法的灵敏率、特异率、准确率<sup>[5]</sup>。

**1.4 效果判定** ELISPOT 检测阳性标准:测试孔斑点数-阴性对照孔斑点数(0~5 个)≥6;或者测试孔斑点数/阴性对照孔斑点数(≥6 个)≥2<sup>[6]</sup>。结核抗体法检测阳性标准:两条红色反应线,分别位于测试线区与质控线区<sup>[7]</sup>。

**1.5 统计学处理** 以 SPSS18.0 软件处理资料,其中计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料以频数与百分率表示,组间比较用  $\chi^2$  检验,*P*<0.05 表示差异有统计学意义。

## 2 结 果

结核组的联合检测阳性率高于单一检测与非结核组,差异有统计学意义(*P*<0.05),如表 2 所示。

表 2 结核组内联合检测与单一检测阳性率对比[*n*=42,*n*(%)]

组别	联合检测	单一检测		
		血培养	痰涂片	结核抗体法
结核组	40(95.24)*#	4(9.52)	4(9.52)	10(23.81)
非结核组	5(11.90)	0(0.00)	0(0.00)	5(11.90)

注:与单一检测相比相比,\**P*<0.05;与非结核组相比,#*P*<0.05。

## 3 讨 论

**3.1 艾滋病合并结核感染** 据统计,艾滋病发病率呈上升趋势,其严重影响了患者身心健康,威胁着其生命安全<sup>[8-9]</sup>。国内学者报道指出,艾滋病患者极易出现机会性感染,如:结核感染,艾滋病患者中约 35% 死于结核感染。为了延长患者生存时间,提高临床治疗效果,临床上多采用结核菌培养,其作为结核感染的诊断金标准,虽然具有一定的灵敏性,但阳性率偏低,检测结果获取时间较长,未能满足艾滋病感染患者诊断需求<sup>[10-11]</sup>。为了提高诊断准确性,临床工作者积极探索新型的检测方法。近几年,酶联免疫斑点试验技术快速发展,但其与结核抗原联合检测的报道较少。因此,本文展开了对照研究,与单一检测法相比,联合检测法临床价值显著,值得推广。

本研究以 84 例患者为研究对象,与女性相比,男性所占比

重偏高,主要是因艾滋病患者多为男性,结核组患者中位年龄较高,与年轻患者相比,年纪较大者机体素质较差,抵抗力与免疫力偏低,易于发生机会性感染。

**3.2 ELISPOT 联合结核抗原检测** 20 世纪末国外学者首次提出 ELISPOT<sup>[12]</sup>,其以 ELISA 为依据,经研究提出了新型的体外检测特异性抗体分泌细胞功能的免疫学技术,最初用于检测 B 淋巴细胞及 T 淋巴细胞数量。21 世纪,国外学者以结核患者为研究对象,诊断时采用了 ELISPOT 检测法,此后,世界范围内各国学者纷纷关注 ELISPOT,并将其用于检测结核分枝杆菌。但结核潜伏感染诊断难度较高,因此,发达国家提出,联合运用 ELISPOT 与结核抗原检测法。

有学者以肺外结核患者为研究对象,给予了 ELISPOT 检测,其灵敏度在 95% 以上,以健康人为研究对象,其特异率接近 100.00%<sup>[13]</sup>;另外,有研究以结核患者为研究对象,通过 ELISPOT 检测发现,阳性率为 94.3%<sup>[14]</sup>。与本研究报道一致,联合检测的阳性率高于单一检测,组间比较,差异显著。此结果表明,联合检测保证了确诊率,值得推广。

本研究还采用了常规检测方法:(1)血培养,其作为结核诊断金标准,具有一定的有效性,但因检测周期,影响了诊治效率。国内学者以疑似艾滋病合并结核感染患者为研究对象,给予了血培养检测,其阳性率仅为 28.5%,经 PCR 证实,阳性标本中 74.3% 合并结核感染。(2)痰涂片,该检测方法有点为简便性,但其极易受人为因素影响,如果操作人员综合素质偏低,则会降低检测准确率。艾滋病患者合并结核感染后,其结核分枝杆菌被吞噬,随之降低结核分枝杆菌的抗酸性,增加了染色难度,进而影响了检出率。本研究痰涂片阳性率为 9.52%,与联合方法相比,差异显著。国内学者以 450 份痰标准为研究对象,与黏液痰、唾液痰相比,血痰、脓性痰的阳性率相对较高,但均不足 35%;有关学者以艾滋病合并结核患者为研究对象,给予了痰涂片检测,阳性率仅为 23.4%,与上述报道相比,本研究的痰涂片检测阳性率较低,经分析发现,其与痰液性质、取痰时间等均有一定联系。(3)结核抗体法,在先进结核抗体制备技术支持下,结核分枝杆菌检测开始运用胶体金法接合抗体试纸条,此时的检测方法优势明显,如:简便、省时、经济等,易于推广与普及。本研究显示,结核组的检测阳性率为 23.81%,非结核组的为 11.90%。结核抗原检测充分利用了免疫胶体金技术,其特点如下:(1)成本低廉,易于制备;(2)控制了胶体金颗粒大小,保证了其均匀,并对其给予了双重、多重标记,满足了不同物质检测需求;(3)胶体金对组织细胞的敏感性 & 特异性均相对较高;(4)胶体金呈酒红色,利用颜色有效体现了检测结果,操作者凭借肉眼便可准确判断,具有一定的直观性与可靠性;(5)操作简便,控制了检测时间。

与单一检测方法相比,在结核抗原检测辅助下,ELISPOT 诊断艾滋病合并结核感染,效果显著。与非结核组相比,结核组的血培养与痰涂片均相对较高,均为 9.52%。相关学者报道指出<sup>[15]</sup>,艾滋病患者经血培养可能存在假阳性,主要是因检测过程中容易受到细菌污染。因此,疑似患者需要给予 PCR 检测,以此确定是否感染结核。

**3.3 注意事项** (1)ELISPOT 技术作为新型技术尚未普及与推广,部分医护人员对其缺少认识与了解,为了充分发挥其作用,临床工作者应积极学习,通过培训与交流,掌握先进技术的

作用机制、优势、注意事项、操作流程等,完善自身知识体系,提高试验操作技能,增强责任心与使命感,以此保证检测效果。此外,酶联免疫吸附试验法用于临床实践,但缺点明显,如:操作复杂,并未能合理运用胶体金法,随之影响了检测效果,因此,有关人员要不断探索新的检测方法,并主动尝试与实践。无论是采用传统检测法,还是先进检测法,有关人员均要结合相关的规范 & 要求,精准操作,落实无菌操作原则,减少医源性因素影响,为医师提供准确的检测结果<sup>[8]</sup>。(2)医疗组织及医护人员均要坚持以患者为中心的服务理念,为了控制艾滋病、结核病发病概率,临床工作者应加大宣教力度,使人们了解艾滋病、结核感染等发病机制、影响因素,诊治方法及预后等,一旦表现为咳嗽、咳痰、咯血等症状,要及时就诊。患者因不了解疾病知识,导致其均伴有不同程度的心理障碍,如恐惧、悲观及焦虑等,医护人员应结合患者实际身心状况,及时疏导,尽量消除其不良情绪,提高其治愈信心。(3)待患者入院后,医护人员应热情接待,通过诚恳的态度、严谨的操作、规范的诊治,获得患者及其家属认可,防止医护纠纷发生。由于艾滋病、结核感染等均属于慢性疾病,因病程较长,患者身心均备受折磨,为了缩短其治疗时间,促进其早日康复,医护人员应充分考虑患者病情、病史及经济条件等,为其提供针对性的诊治方案,尽量减轻其心理负担,缓解其疼痛。综上所述,艾滋病合并结核感染患者经酶联免疫斑点试验联合结核抗原检测,保证了诊断效果,为临床治疗提供了可靠的参考依据。为了进一步明确联合检测方法的临床价值,日后应开展大样本、多中心和长期随访的研究工作。

参考文献

[1] 万荣,汪亚玲,祁燕伟,等. 结核感染 T 细胞斑点试验在 HIV/AIDS 合并结核感染诊断中的应用[J]. 昆明医学院学报,2011,32(2):138-141.

[2] 欧阳晖,陈柏林. T 细胞酶联免疫斑点法对艾滋病合并结核患者的诊断价值研究[J]. 实用预防医学,2010,17(10):1950-1953.

[3] 贾文青. 结核感染 T 细胞斑点试验对结核病诊断的研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(11):1519-1522.

[4] 徐君君,隆靖,袁柳凤,等. 艾滋病合并结核病人的诊断与病人  $\gamma$ -干扰素释放试验检测结果差异的分析[J]. 中国艾滋病性病,2016,14(7):493-497.

[5] 汪亚玲,祁燕伟,万荣,等. HIV/AIDS 合并结核感染患者中分枝杆菌检测技术比较和耐药表型研究[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版),2012,6(21):2115-2119.

[6] 童学成,陈国春,濮翔科,等. 结核感染 T 细胞斑点试验对艾滋病合并肺结核的临床诊断价值[J]. 中华医院感染学杂志,2014,24(14):3632-3634.

[7] 张舒. 卡介苗接种地区免疫功能不全患者潜伏性结核感染免疫学诊断及免疫学发病机制的实验研究[D]. 上海:复旦大学,2011.

[8] 田洪飞. 酶联免疫斑点试验联合结核抗原检测对艾滋病合并结核感染的临床诊断价值[D]. 杭州:浙江中医药大学,2012.

[9] 孟珊珊,张乐乐,张海邻,等. 酶联免疫斑点技术对儿童结

核病诊断的应用价值[J]. 医学研究杂志, 2013, 42(1): 151-154.

[10] 杜方雄,何敏,廉国利. 酶联免疫斑点试验对肺外结核病的辅助诊断价值[J]. 陕西医学杂志, 2015, 17(8): 1009-1010.

[11] 刘琳,吴雪琼,王兰,等. 酶联免疫斑点法检测在涂阴肺结核患者的诊断价值[J]. 北京医学, 2015, 37(3): 220-223.

[12] Feng Y, Diao N, Shao L, et al. Interferon-gamma release assay performance in pulmonary and extrapulmonary tuberculosis[J]. PLoS One, 2012, 7(3): e32652.

[13] Kang JY, Rhee CK, Kang NH, et al. Clinical utility of two interferon-gamma release assays on pleural fluid for the diagnosis of tuberculous pleurisy[J]. Tuberc Respir Dis (Seoul), 2012, 73(3): 143-150.

[14] Diel R, Goletti D, Ferrara G, et al. Interferon- $\gamma$  release assays for the diagnosis of latent Mycobacterium tuberculosis infection; a systematic review and meta-analysis[J]. Eur Respir J, 2011, 37(1): 88-99.

[15] 童凤军,胡驾云,曹军燕. 艾滋病病毒合并结核分枝杆菌感染者  $\gamma$ -干扰素水平分析[J]. 预防医学, 2016, 28(9): 921-923.

(收稿日期: 2017-03-13 修回日期: 2017-05-13)

• 临床研究 •

# 果糖胺/血浆清蛋白与果糖胺/血浆总蛋白在糖尿病诊断中的价值比较

陈立新, 张靖宇<sup>△</sup>, 王丽芳, 王 军

(河北省沧州中西医结合医院实验诊断科, 河北沧州 061001)

**摘要:**目的 比较果糖胺(FMN)/血浆清蛋白(ALB)比值与 FMN/血浆总蛋白(TP)比值在糖尿病诊断中的价值。方法 2013 年 2 月至 2016 年 1 月期间, 入住本院的糖尿病患者 422 例, 纳入糖尿病组, 健康体检者 110 例, 纳入对照组, 两组均进行检测 FMN 和总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、空腹血糖(FPG)、餐后 2 小时血糖(2 h PG)、TP、ALB 等指标水平, 并计算 FMN/TP 和 FMN/ALB 值, 同时采取受试者工作特征曲线(ROC)评估各项指标对糖尿病的诊断效能。结果 糖尿病组患者的 FMN/ALB 比值、FPG、HbA1c、TG、FMN、FMN/TP 比值、2 h PG 等均明显高于对照组( $P < 0.05$ ), 而两组间的年龄和 TC 等比较则无明显差异( $P > 0.05$ )。运用受试者工作特征曲线进行评估, 选择最大的 Youden 指数为 cut-off 值, 结果显示 2 h PG 的敏感度最高, 并且 HbA1c 的特异度最高。而 FMN/ALB 诊断糖尿病的敏感度为 89.6%、特异度为 95.2%; FMN/TP 的敏感度为 88.4%、特异度 96.3%, 均高于 FMN。结论 FMN/ALB 和 FMN/TP 均能有效排除血清蛋白浓度对 FMN 水平的影响, 较好地提高糖尿病的诊断效能。

**关键词:**果糖胺; 血浆清蛋白; 血浆总蛋白; 糖尿病; 受试者工作特征曲线

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.16.042 文献标识码: A 文章编号: 1673-4130(2017)16-2288-03

糖尿病是一种常见内分泌疾病, 目前发病率一直处于上升趋势。早期诊断和早期干预是预防和控制糖尿病的关键, 为降低并发症提供良好的前期保障<sup>[1]</sup>。目前临床上常用于诊断及检测糖尿病患者的指标主要有糖化血红蛋白(HbA1c)和餐后 2 小时血糖(2 h PG)以及空腹血糖(FPG)等, 但以上指标存在一定的局限性, 大量糖尿病患者仍然无法得到及时有效的诊断<sup>[2-3]</sup>。果糖胺(FMN)作为一种诊断糖尿病的指标已经广泛用于临床, 所以有研究提出 FMN/血浆清蛋白(ALB)和 FMN/血浆总蛋白(TP)的比值对于临床诊断糖尿病也能起到一定的作用<sup>[4]</sup>。为此, 选取了 422 例于本院就诊的糖尿病患者和 110 例同期来本院进行健康体检的健康者展开相关研究, 旨在探讨 FMN/ALB 比值与 FMN/TP 比值在糖尿病诊断中的价值。

## 1 资料和方法

**1.1 一般资料** 选取本院于 2013 年 2 月至 2016 年 1 月收治的 422 例糖尿病患者和同期来本院的健康体检者 110 例, 其中糖尿病患者设为糖尿病组(DM), 健康体检者设为对照组(NGT)。422 例糖尿病患者中男性患者 216 例, 女性患者 206 例, 包括 37 例 T1DM 患者、376 例 T2DM 患者、9 例 GDM 患者, 患者年龄 14~82 岁, 平均年龄为(51.18±11.23)岁。对照

组中男性 56 例, 女性 54 例, 年龄 22~73 岁, 平均年龄为(50.32±10.27)岁。所有入选患者均签署知情同意书, 本研究已经伦理委员会讨论通过。

**1.2 纳入与排除标准** 糖尿病组患者均符合 2011 年 ADA 糖尿病诊断标准, 并且两组入选人员均没有服用过降糖药物也未控制饮食<sup>[5]</sup>; 经本院医学伦理委员会批准后, 两组人员均知情同意并且自愿参与本次研究; 排除有严重心、肝、肾等功能不全的患者; 排除有其他明确疾病的患者。

**1.3 仪器与试剂** 自动生化分析仪采用日立公司生产的 7600-120 分析仪, 选用北京森美希克玛生物科技有限公司所生产的 FMN 试剂。

**1.4 研究方法** 两组入选人员均空腹 12 h 后采取 3 mL 次晨静脉血, 采取高效液相层析法对入选人员的 HbA1c 进行检测; 利用生化分析仪检测 FMN、总胆固醇(TC)、FPG、TP、三酰甘油(TG)、ALB 等水平, 并且采取 75 g OGTT 对 2 h PG 进行检测; 计算糖尿病组和对对照组的 FMN/TP 以及 FMN/ALB 值<sup>[6]</sup>。

**1.5 统计学处理** 采用 SPSS19.0 软件进行统计分析, 试验所得数据均用  $\bar{x} \pm s$  形式表示, 组间比较采用  $t$  检验。受试者

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: 40241994@163.com。