

· 短篇论著 ·

sPD-L1、TB-PPD 及 T-SPOT. TB 联合检测对菌阴肺结核诊断的临床价值*

刘 锐, 张 焕, 刘 会, 王显雷, 陈素丽[△]

(河北省胸科医院结核三科 河北石家庄 050041)

摘 要:目的 探究可溶性程序性死亡分子配体 1(sPD-L1)、结核菌素纯蛋白衍生物(TB-PPD) 及 T 细胞斑点试验(T-SPOT. TB)联合检测在菌阴肺结核诊断中的应用价值。方法 选取 2015 年 1 月至 2017 年 1 月该院收治的经临床证实的 100 例菌阴肺结核患者作为试验组;另选取同期该院收治的 100 例非结核感染的肺部疾病患者作为对照组。对两组对象进行 sPD-L1、TB-PPD、T-SPOT. TB 检测,比较 3 种方法单独检测及联合检测诊断菌阴肺结核的应用价值。结果 试验组患者血清 sPD-L1 水平较对照组高,组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。3 项指标联合检测的灵敏度、特异度、约登指数及 ROC 曲线下面积分别为 97.00%、98.00%、0.355、0.846,均优于单一指标检测。结论 sPD-L1、TB-PPD 及 T-SPOT. TB 联合检测对菌阴肺结核的诊断具有重要的应用价值,可提高诊断的灵敏度和特异度。

关键词:菌阴肺结核; 结核菌素纯蛋白衍生物; T 细胞斑点试验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.18.033

中图法分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2018)18-2320-03

文献标识码:B

肺结核是一种以呼吸道传播为主要途径的慢性传染病,主要由肺部结核杆菌感染导致,多个器官可受累,对患者的生命健康造成严重危害^[1]。近年来,我国肺结核发病率呈逐年递增的趋势,以痰菌阴肺结核最多见,占 60%~70%。因此,早期诊断结核病显得尤为重要,既可改善患者的预后,也可一定程度上控制结核的传播。菌阴肺结核的临床表现无特异性,且典型影像学特征缺乏,应用传统的结核病诊断手段容易造成误诊和漏诊,最后发展为涂阳病例,导致结核病传播^[2]。目前,结核病诊断的金标准是痰结核菌培养,但该方法耗时较长,且易受痰菌量的影响,故不适合用于结核病的早期诊断,对菌阴肺结核实验室诊断较为困难^[3]。可溶性程序性死亡分子配体 1(sPD-L1)能参与体液循环,并结合远端表面受体,进而参与机体的免疫反应,在疾病的发生、发展过程中具有重要作用^[4]。有研究发现,sPD-L1 可在感染性疾病中异常表达,作为诊断及判断患者预后的生物学标志物。T 细胞斑点试验(T-SPOT. TB)是新引进的用于结核病辅助诊断的一种快速诊断手段,其通过酶联免疫斑点法(ELISPOT 法)来对结核杆菌感染者的特异性 T 细胞进行检测,以达到诊断结核病的目的^[5]。结核菌素试验(PPD)是一种常见的结核病诊断方法,多运用卡介菌素纯蛋白衍生物(BCG-PPD)和结

核菌素纯蛋白衍生物(TB-PPD) 作为该实验的纯蛋白衍生物^[6]。本研究对菌阴肺结核患者行 sPD-L1、TB-PPD 及 T-SPOT. TB 联合检测,以寻求更有效、更有价值的早期辅助诊断方法。现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1.1 一般资料 选取 2015 年 1 月至 2017 年 1 月本院收治的 100 例菌阴肺结核病患者,其中男 60 例,女 40 例,年龄 20~77 岁,平均(48.3±4.6)岁。本研究经医院伦理委员会通过。

1.1.2 纳入与排除标准 纳入标准:(1)肺结核的诊断参照中华医学会结核病学分会《肺结核诊断和治疗指南》;(2)胸部 X 线片显示有活动性肺结核征象;(3)3 次痰涂片均为阴性和 1 次痰培养结果阴性;(4)未采用抗结核药治疗,或经正规诊断性抗结核治疗(不超过 1 个月)后 CT 复查显示病灶吸收明显;(5)患者知情并签署知情同意书。排除标准:(1)排除急性病毒感染、人类免疫缺陷病毒感染及使用免疫抑制剂者;(2)排除妊娠或哺乳期妇女;(3)排除其他脏器恶性肿瘤、严重心肝肾等重要脏器功能不全者。

1.2 检测方法 于清晨空腹状态下,抽取患者 10 mL 外周静脉血,分为 2 份,一份取 5 mL 经肝素抗凝后离心分离外周血单核细胞,另外 5 mL 静脉血经离心后取

* 基金项目:2016 年度河北省医学科学研究重点课题计划项目(20160494)。

[△] 通信作者,E-mail:648429638@qq.com。

本文引用格式:刘锐,张焕,刘会,等. sPD-L1、TB-PPD 及 T-SPOT. TB 联合检测对菌阴肺结核诊断的临床价值[J]. 国际检验医学杂志,2018,

上层清液,置于-80℃冰箱保存待检。T-SPOT. TB 检测:试剂盒由英国 Immunotec 公司提供,操作严格按照试剂盒上的说明书进行,计数斑点数。TB-PDD 试验:在受试者左前臂内侧中上 1/3 注入 0.1 mL 的 PDD 稀释液(由四川成都生物技术公司生产),在局部产生皮丘,于 72 h 后对注射部位反应进行观察,并测量局部硬结大小。sPD-L1 检测:采用双抗体夹心 ELISA 法检测患者血清中 sPD-L1 含量,由上海华大科技有限公司提供试剂盒,严格按照说明书上的步骤进行操作。

1.3 判断标准 T-SPOT. TB 检测结果判断标准^[7]:1 个斑点表示 1 个效应 T 细胞,当无反应对照孔有 0~5 个斑点数,且测量孔(抗原 A 或抗原 B)斑点数与无反应对照孔斑点数之差 ≥ 6 时,即可判定所测样本为有反应性,即阳性;若无反应对照孔斑点数为 6~10 个,且测量孔斑点数为无反应对照孔斑点数的 2 倍以上时,则可判断所测样本为阳性。TB-PDD 判断标准^[8]:以硬结平均直径大小[(横径+纵径)/2]为依据进行分级,若直径 < 5 mm,记为阴性;若直径为 5~9 mm,记为弱阳性;若直径为 10~19 mm,记为阳性;若直径 ≥ 20 mm 或局部出现明显坏死、水泡,记为强阳性。sPD-L1 判断标准^[9]:当 sPD-L1 > 1.33 ng/mL 时,记为阳性;当 ≤ 1.33 ng/mL 时,记为阴性。若 sPD-L1、TB-PDD、T-SPOT. TB 3 项检测中的任一项结果为阳性,即可判定为 sPD-L1+TB-PDD+T-SPOT. TB 检测阳性,3 项检测结果中均为阳性则判定为 sPD-L1 * TB-PDD * T-SPOT. TB 结果阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行统计学处理与分析,计数资料采用[n(%)]表示,并行 χ^2 检验分析组间数据差异,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用两独立样本 t 检验,以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者血清 sPD-L1 水平比较 试验组患者血清 sPD-L1 水平高于对照组,组间比较差异有统计学意义(P < 0.05)。见表 1。

表 1 两组患者血清 sPD-L1 水平比较 (ng/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	sPD-L1
试验组	100	3.43 \pm 0.15
对照组	100	0.92 \pm 0.08
t		147.65
P		0.000

2.2 菌阴肺结核患者各项检测单独或联合应用时的诊断价值 sPD-L1、TB-PDD、T-SPOT. TB 3 项指标单独检测时,T-SPOT. TB 检测的灵敏度、特异度、约登指数及 ROC 曲线下面积(AUC)最高。sPD-L1+TB-PDD+T-SPOT. TB 联合检测具有最高的灵敏度,为 97.00%,

sPD-L1 * TB-PDD * T-SPOT. TB 联合检测具有最高的特异度,为 98.00%,见表 2。

表 2 菌阴肺结核患者各项检测单独或联合应用时的诊断价值

检测方法	灵敏度 (%)	特异度 (%)	约登指数	AUC
sPD-L1	45.00	84.00	0.165	0.704
TB-PDD	67.00	62.00	0.245	0.735
T-SPOT. TB	88.00	94.00	0.330	0.792
sPD-L1+TB-PDD+T-SPOT. TB	97.00	67.00	0.355	0.846
sPD-L1 * TB-PDD * T-SPOT. TB	45.00	98.00	0.342	0.828

3 讨 论

据流行病学调查显示,在结核病患者中,菌阴肺结核占 60%~70%,具有较强的传染性,可导致约 1/3 的结核菌传播,且随访发现菌阴肺结核在 1~3 年内的痰菌阳转率为 40%~60%,严重威胁患者的生命健康。因此,对菌阴肺结核的早期快速准确诊断十分重要,可控制结核病的传播。菌阴肺结核无明显的细菌学或病理学证据,这给诊断造成了一定的困难,容易引起漏诊、误诊^[10]。故目前亟待解决的问题是寻求一种快速、准确、可靠的检测手段以诊断菌阴肺结核。用于菌阴肺结核诊断的方法有很多,包括胸部影像学检查、结核菌素试验、结核杆菌细菌学检查、纤维支气管镜检查、诊断性抗结核治疗及肺组织病理活检等,这些方法由于灵敏度、特异度欠佳或取材困难而对菌阴肺结核的诊断有一定困难。

细胞免疫是机体感染结核分枝杆菌后产生的主要免疫应答反应,首次感染后,机体产生特异效应 T 淋巴细胞,再次感染时,记忆 T 淋巴细胞受结核杆菌特异度抗原的刺激而迅速增殖活化,分泌并释放多种细胞因子,其中干扰素- γ (IFN- γ)是一种重要的细胞因子。大量研究发现,计数分泌 IFN- γ 的 T 淋巴细胞数及检测 IFN- γ 水平,可对结核分枝杆菌感染后机体产生的免疫应答状态进行了解,用于结核病的辅助诊断^[11]。sPD-L1 是一种生物学标志物,可参与机体的免疫应答,在 IFN- γ 的诱导下,T 淋巴细胞高表达 sPD-L1,sPD-L1 结合细胞表面的 PD-1 受体后可抑制 T 淋巴细胞功能,对 T 细胞免疫应答进行负性调控,从而减弱抗结核免疫应答。sPD-L1 水平是通过 ELISA 法来检测的,该方法具有方便、简单、快速等优点,可用于结核病的辅助诊断。本研究结果显示,菌阴肺结核患者血清 sPD-L1 水平较健康体检者高(P < 0.05),这与肺结核患者细胞免疫应答的产生有关,在结核杆菌特异性抗原的刺激下,T 淋巴细胞产生大量的 sPD-L1。本研究中 sPD-L1 检测诊断菌阴

肺结核的灵敏度、特异度分别为 45.00%、84.00%，故其诊断肺结核的价值有限。TB-PPD 试验是最常见的一种筛查肺结核的方法，操作十分简便，但由于用于 TB-PPD 皮试的纯蛋白衍生物与卡介苗和环境中的非结核分枝杆菌存在一些共同的抗原成分，故容易产生交叉反应，导致假阳性的出现^[12]；同时，受免疫抑制剂使用及营养状况等的影响，也可出现假阴性，大大降低诊断的特异度。本研究中 PPD 试验诊断菌阴肺结核的灵敏度、特异度为 67.00%、62.00%，故对菌阴肺结核的准确诊断较为困难，进一步验证了 TB-PPD 试验存在的缺陷。T-SPOT. TB 试验是新研发的一种 IFN- γ 干扰素释放实验，以 T 细胞免疫应答为基础，选取培养滤液蛋白 10 和抗原靶 6 作为体外刺激物，由于这些体外刺激物是由结核分枝杆菌和牛分枝杆菌有毒菌株基因组中菌种特异度基因片断序列编码而成的，且不存在于大多数非结核分枝杆菌基因组中，故其对结核分枝杆菌诊断的灵敏度较高^[13]。本研究中 T-SPOT. TB 诊断菌阴肺结核的灵敏度、特异度为 88.00%、94.00%，这与较多文献报道的结果相似^[13-14]，说明 T-SPOT. TB 在菌阴肺结核诊断中的应用价值较高。对于单一指标检测来说，本研究中 T-SPOT. TB 检测的阳性率明显高于 sPD-L1、TB-PDD 检测，为 88.00%，这与曾谊等^[15]报道的 T-SPOT. TB 检测阳性率 89.1% 相近，提示这与 T-SPOT. TB 检测对菌阴肺结核的诊断有一定的意义。目前，T-SPOT. TB 在肺结核诊断中的应用仍存在一定的局限性，只能检测是否存在感染，但对活动性感染和潜伏期感染并不能进行有效区分。为了进一步提高肺结核诊断效率，临床上通常采用 2 个或 2 个以上试验进行诊断。本研究将上述 3 项指标联合检测诊断菌阴肺结核，结果显示，sPD-L1+TB-PDD+T-SPOT. TB 联合检测的灵敏度、特异度分别为 97.00%、67.00%，与 3 项指标单独检测相比，具有较高的灵敏度，但是特异度较低；而 sPD-L1*TB-PDD*T-SPOT. TB 联合检测的灵敏度、特异度分别为 45.00%、98.00%，虽然灵敏度较低，但是具有较高的特异度，在临床应用中，应根据实际问题考虑联合检测，弥补单独检测的不足，提高诊断准确率，以减少漏诊、误诊的发生。

4 结 论

综上所述，sPD-L1、TB-PDD、T-SPOT. TB 联合检测在菌阴肺结核临床诊断中的应用价值重大，可根

据临床需要联合检测方式，值得在临床上推广。

参考文献

- [1] 郝兴亮, 蔺景双, 崔丽华, 等. 结核感染 T 细胞斑点试验联合电子支气管镜检查快速诊断菌阴肺结核价值[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2016, 30(10): 1039-1040.
- [2] 钱鹏, 李玲. 5 种方法联合检测对菌阴肺结核的诊断价值分析[J]. 中国医药指南, 2016, 14(25): 108.
- [3] 李振生, 李德新, 李春霞, 等. TB-RNA、TB-DNA 联合检测在痰菌阴性肺结核诊断中的应用价值[J]. 实用临床医药杂志, 2016, 20(17): 32-34.
- [4] 冀玉珍, 刘晓良, 侯森. 可溶性程序性死亡分子配体 1 在肺癌胸腔积液中的水平及临床意义[J]. 检验医学, 2017, 32(2): 99-103.
- [5] 施佐蝉, 陈永平, 蒋贤高, 等. 结核感染 T 细胞斑点试验在菌阴肺结核中的诊断应用[J]. 浙江预防医学, 2015, 27(6): 641-643.
- [6] 高爱忠. 两种试验对菌阴肺结核诊断价值的比较[J]. 临床肺科杂志, 2015, 15(3): 432-434.
- [7] 刘锐. 多指标联合检测对菌阴肺结核的诊断价值[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2015.
- [8] 廖明, 刘琳, 杨明炜. 血 T-SPOT. TB 联合肺泡灌洗液 TbDNA 检测对诊断肺结核的应用价值[J]. 临床肺科杂志, 2014, 19(12): 2249-2252.
- [9] 杜岩青, 张立, 冯爽, 等. 探讨 T-SPOT. TB、CA125、TB-Ab 在痰菌阴性肺结核诊断中的价值[J]. 中国现代医生, 2014, 52(32): 43-45.
- [10] 耿睿. 可溶性程序性死亡配体 1 在肺癌患者外周血血浆中的表达及预后价值[D]. 太原: 山西医科大学, 2016.
- [11] 江道斌, 温澍, 齐曼古力·吾守尔, 等. 结核感染 T 淋巴细胞斑点试验在菌阴肺结核诊断中价值[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2013, 27(10): 1037-1039.
- [12] 李站领, 李艳静, 彭勋. 多种手段联合应用对菌阴不典型肺结核的诊断价值[J]. 河北医科大学学报, 2013, 34(6): 639-642.
- [13] 李振生, 李德新, 陈素丽, 等. 结核菌噬菌体生物扩增法与结核菌 DNA 联合检测对痰菌阴性肺结核诊断的价值[J]. 河北医科大学学报, 2012, 33(8): 881-883.
- [14] 边红芝. PPD 试验、结明三项联合 ESAT-6 检测在菌阴肺结核诊断中的价值[D]. 郑州: 郑州大学, 2012.
- [15] 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.

(收稿日期: 2018-02-02 修回日期: 2018-04-20)