

## 论著 · 临床研究

酶联免疫斑点试验在脊柱结核辅助诊断应用中的影响因素探讨<sup>\*</sup>袁凯<sup>1</sup>, 张顺聪<sup>1△</sup>, 周腾鹏<sup>1</sup>, 马延怀<sup>1</sup>, 梁德<sup>1</sup>, 吴雪琼<sup>2</sup>, 陈建庭<sup>3</sup>

(1. 广州中医药大学第一附属医院脊柱专科, 广东广州 510405; 2. 中国人民解放军三〇九医院全军结核病研究所全军结核病防治重点实验室, 北京 100091; 3. 南方医科大学附属南方医院脊柱专科, 广东广州 510515)

**摘要:**目的 分析脊柱结核患者酶联免疫斑点试验(ELISPOT)结果的相关临床影响因素。方法 选取2015年1月至2017年10月脊柱结核感染组患者85例(病例组)和非脊柱结核疾病患者71例(对照组), 抽取受试者外周静脉血, 应用ELISPOT技术, 使用结核分枝杆菌特异性融合抗原CFP-10/ESAT-6作为刺激物进行检测, 并详细记录患者基本资料、临床表现等信息, 分析临床因素对ELISPOT结果的影响。结果 ELISPOT诊断在病例组中的阳性率为83.5%, 进一步分析得出: 在老年脊柱结核患者中(年龄 $\geq 60$ 岁)的阳性率为72.7%, 而在年龄 $<60$ 岁脊柱结核患者中的阳性率高达90.4%, 两组结果比较差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。身体质量指数(BMI)偏低( $BMI \leq 16 \text{ kg/m}^2$ )脊柱结核组斑点形成细胞(SFC)数目[(25.3 $\pm$ 12.8)个]比BMI 17~25 kg/m<sup>2</sup>组[(45.2 $\pm$ 36.7)个]明显减少, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 病例组影像学上合并有椎旁脓肿的患者其SFC数目为(48.6 $\pm$ 35.8)个, 相比较单纯椎体破坏无合并椎旁脓肿者的(25.8 $\pm$ 22.9)个, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 在脊柱结核的实验室辅助诊断中, 以结核分枝杆菌特异性融合抗原CFP-10/ESAT-6作为刺激物的ELISPOT试验发挥着一定作用, 其诊断结果可能受到年龄、BMI、椎旁脓肿等临床因素影响。

**关键词:**脊柱结核; 酶联免疫斑点试验; 影响因素**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2019.12.010**中图法分类号:**R446.9**文章编号:**1673-4130(2019)12-1448-05**文献标识码:**A**Study on the influencing factors for enzyme-linked immunospot assay in spinal tuberculosis patients<sup>\*</sup>**YUAN Kai<sup>1</sup>, ZHANG Shuncong<sup>1△</sup>, ZHOU Teng peng<sup>1</sup>,  
MA Yanhuai<sup>1</sup>, LIAANG De<sup>1</sup>, WU Xueqiong<sup>2</sup>, CHEN Jianting<sup>3</sup>

(1. Department of Spine Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510405, China; 2. Army Tuberculosis Key Laboratory, Institute for Tuberculosis Research of the 309th Hospital of PLA, Beijing 100091, China; 3. Department of Spine Surgery, Nanfang Hospital Affiliated to Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China)

**Abstract: Objective** To evaluate the clinical influencing factors on the enzyme-linked immune spot test (ELISPOT) in spinal tuberculosis patients. **Methods** During January 2015 and October 2017, a total of 85 patients with spinal tuberculosis (case group) and 71 healthy subjects (control group) were enrolled and peripheral venous blood samples were collected and detected by ELISPOT using Mycobacterium tuberculosis specific fusion antigen CFP-10/ESAT-6 as a stimulant. The basic information, clinical manifestations of the patients were recorded in details. The influence of clinical factors on ELISPOT results was analyzed. **Results** The positive rate of ELISPOT in case group was 83.5%. Further analysis showed that the positive rate of ELISPOT in elderly patients with spinal tuberculosis (age  $\geq 60$  years old) was 72.7%, while that in patients with spinal tuberculosis (age  $<60$  years old) was 90.4%, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The mean number of spot-forming cells (SFC) in spinal TB patients with body mass index (BMI)  $\leq 16 \text{ kg/m}^2$  was (25.3 $\pm$ 12.8), which was lower than (45.2 $\pm$ 36.7) of spinal TB patients with BMI 17~25 kg/m<sup>2</sup>, and

<sup>\*</sup> 基金项目:广东省医学科学技术研究基金项目(B2018153);广州中医药大学第一附属医院“创新强院”青年科研人才培优项目(2016QN05)。

作者简介:袁凯,男,主治医师,主要从事脊柱退变、脊柱感染性疾病的的相关临床基础研究。△ 通信作者, E-mail:drzsc@sina.com。

本文引用格式:袁凯,张顺聪,周腾鹏,等.酶联免疫斑点试验在脊柱结核辅助诊断应用中的影响因素探讨[J].国际检验医学杂志,2019,40(12):1448-1452.

the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The mean number of SFC was  $(48.6 \pm 35.8)$  in spinal TB patients with abscesses, which was significantly higher than  $(25.8 \pm 22.9)$  of spinal TB patients of simple vertebral body destruction without abscesses, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). **Conclusion** In the laboratory-assisted diagnosis of spinal tuberculosis, the ELISPOT test using the specific fusion antigen CFP-10/ESAT-6 of *Mycobacterium tuberculosis* as a stimulant plays a certain role. Its diagnosis results may be influenced by clinical factors such as age, BMI and paravertebral abscess.

**Key words:** spinal tuberculosis; enzyme-linked immunospot assay; influence factors

结核病目前是全世界范围内最广泛流行的传染病之一,世界卫生组织(WHO)报告 2015 年全世界范围内共约 1 000 万人口确诊感染结核<sup>[1]</sup>。骨与关节结核是由于结核分枝杆菌侵蚀骨与关节而引起的破坏性病变,脊柱是最常好发的部位<sup>[2]</sup>。实验室检查在脊柱结核的早期辅助诊断中发挥着重要作用。酶联免疫斑点试验技术(ELISPOT)在诊断结核病感染方面发挥了重要作用<sup>[3]</sup>。结核感染 T 细胞斑点试验在脊柱结核辅助诊断中有着良好的灵敏度和特异度<sup>[4]</sup>。应用 ELISPOT 技术诊断活动性结核感染过程中,由于结核患者的不同机体功能状态及体内细胞免疫功能差异,其诊断率受多种临床因素的影响<sup>[5]</sup>。本研究旨在探讨在脊柱结核辅助诊断中,CFP-10/ESAT-6 蛋白的 ELISPOT 技术的应用价值及临床影响因素。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 从 2015 年 1 月至 2017 年 10 月期间本课题组共前瞻性纳入可疑脊柱结核病例 156 例(患者就诊于广州中医药大学第一附属医院脊柱骨科和南方医科大学附属南方医院脊柱专科)。最终经临床诊断为新发脊柱结核的患者共 85 例。脊柱结核组(病例组)中,男 45 例,女 40 例,年龄 5~85 岁,平均  $(41.3 \pm 20.5)$  岁,病程 1~13 个月,平均  $(7.3 \pm 3.2)$  个月。病变累及部位:颈胸交界区 7 例,胸椎 25 例,胸腰段 15 例,腰椎 29 例,腰骶段 9 例,其中共有 43 例合并明显椎旁脓肿。非脊柱结核疾病组共 71 例(对照组),其中男 32 例,女 39 例,年龄 15~72 岁,平均  $(45.5 \pm 15.9)$  岁。诊断为腰椎间盘突出症 22 例、颈椎病 15 例、化脓性脊柱炎 6 例,脊柱转移瘤 16 例,椎管内肿瘤 12 例。病例组纳入标准<sup>[6]</sup>:(1)经影像学和病灶标本病理检查确诊结核改变;(2)入院前抗结核治疗时间 $<2$  周;(3)患者病灶菌种经鉴定排除非结核分枝杆菌的感染;(4)无人类免疫缺陷病毒(HIV)感染。对照组纳入标准:(1)无结核感染征象;(2)经影像学评估无结核感染特征;(3)3 个月内无与活动性结核感染患者接触史;(4)无 HIV 感染。排除标准:其他部位出现结核的患者。本研究经过医院伦理委员会的批准,受试者均签订项目知情同意书。

**1.2 方法** 所纳入受试者均抽取 3~5 mL 外周静脉抗凝血,分离,提取,进一步制备浓度为  $2.5 \times 10^6/\text{L}$

单核细胞悬液。试验所用 CFP-10/ESAT-6 融合蛋白由解放军三〇九医院结核病研究所提供。ELISPOT 具体试验流程参照课题组前期方法<sup>[7]</sup>。将细胞培养液,阳性对照 PHA、特异性融合抗原分别加入到 3 个检测孔(空白对照孔、阳性对照孔、检测孔),然后在上述孔内分别加入分离的单细胞悬液,置于  $37^\circ\text{C}$  含 5%  $\text{CO}_2$  孵箱中孵育 20 h。洗板后,加入配制的检测抗体,  $37^\circ\text{C}$  孵育 1 h;再次洗板后,加入链亲和素-碱性磷酸酶 100  $\mu\text{L}$ ;最后一次洗板后,加入配制的 BICP/NBT 底物,显色 15 min。在孔内可看到有蓝色斑点形成。其他仪器设备包括:  $\text{CO}_2$  孵育箱(Heraeus 公司,德国),微量移液器(Eppendorf 公司,德国),96 孔细胞培养板:MILIPOR 公司,美国),用于检测计数着色的斑点形成细胞(SFC)的酶联斑点分析仪(CTL 公司,美国)。检测当日实验室温度、湿度符合本试验要求。

**1.3 ELISPOT 结果判断** 根据前期实验受试者工作特征曲线(ROC 曲线)的阳性阈值<sup>[7]</sup>,结果判断参照以下标准:若空白对照孔斑点小于 17,检测孔斑点数减去空白对照孔斑点数不低于 17,结果为“阳性”;若空白对照孔斑点数不低于 17,检测孔斑点数不低于空白对照孔斑点数的 2 倍,结果为“阳性”。阴性标准为:上述标准不符合,且阳性对照孔正常。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS19.0 统计软件对所收集患者数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,计量资料两样本间均数比较采用独立样本  $t$  检验。组间率的比较采用  $\chi^2$  检验。以  $P<0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 各组间 ELISPOT 的诊断率** 在最终临床确诊的 85 例脊柱结核患者中,ELISPOT 诊断的阳性率为 83.5%。病例组中 SFC 数量高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

**2.2 病例组 ELISPOT 检测结果与临床相关因素分析** 纳入临床确诊的 85 例脊柱结核患者中,ELISPOT 诊断在老年脊柱结核患者(年龄  $\geq 60$  岁)中的阳性率低于年龄  $<60$  岁的患者,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),但两组间 SFC 数量比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。身体质量指数(BMI)  $\leq 16 \text{ kg/m}^2$  的

脊柱结核患者 SFC 数量低于 BMI  $17\sim25 \text{ kg/m}^2$  组患者, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 但两组间 ELISPOT 诊断阳性率差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ); 脊柱结核同时合并有椎旁脓肿组的 SFC 数量高于单纯椎体破坏组, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 但两组间 ELISPOT 诊断阳性率差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。见表 2。

表 1 病例组和对照组 ELISPOT 检测效果

| 组别  | n  | CFP-10/ESAT-6-ELISPOT   |           |
|-----|----|-------------------------|-----------|
|     |    | SFC(个, $\bar{x}\pm s$ ) | 阳性率[n(%)] |
| 病例组 | 85 | 52.08±29.06             | 71(83.5)  |
| 对照组 | 71 | 6.75±8.03               | 9(12.7)   |

表 2 病例组 ELISPOT 试验与临床因素的相关性

| 项目                      | n  | CFP-10/ESAT-6-ELISPOT |        |                | CFP-10/ESAT-6-ELISPOT |          |                |
|-------------------------|----|-----------------------|--------|----------------|-----------------------|----------|----------------|
|                         |    | SFC                   | t      | P <sup>a</sup> | 阳性[n(%)]              | $\chi^2$ | P <sup>b</sup> |
| 性别                      |    |                       |        |                |                       |          |                |
| 男                       | 45 | 35.4±30.4             | -0.655 | 0.516          | 38(84.4)              | 0.074    | 0.765          |
| 女                       | 40 | 42.9±32.1             |        |                | 33(82.5)              |          |                |
| 年龄(岁)                   |    |                       |        |                |                       |          |                |
| <60                     | 52 | 42.8±32.5             | 0.894  | 0.225          | 47(90.4)              | 4.459    | 0.015          |
| ≥60                     | 33 | 31.8±30.5             |        |                | 24(72.7)              |          |                |
| 居住地                     |    |                       |        |                |                       |          |                |
| 农村                      | 51 | 45.3±23.8             | 0.865  | 0.317          | 43(84.3)              | 0.842    | 0.582          |
| 城市                      | 34 | 38.2±25.1             |        |                | 28(82.4)              |          |                |
| 病程(月)                   |    |                       |        |                |                       |          |                |
| <6                      | 25 | 47.2±43.8             | 0.879  | 0.357          | 21(84.0)              | 0.193    | 0.568          |
| ≥6                      | 60 | 36.8±26.8             |        |                | 50(83.3)              |          |                |
| BMI(kg/m <sup>2</sup> ) |    |                       |        |                |                       |          |                |
| ≤16                     | 36 | 25.3±12.8             | -3.869 | 0.000          | 29(80.6)              | 1.294    | 0.138          |
| 17~25                   | 49 | 45.2±36.7             |        |                | 42(85.7)              |          |                |
| 合并症                     |    |                       |        |                |                       |          |                |
| 否                       | 32 | 31.2±35.4             | -0.886 | 0.279          | 26(81.3)              | 0.545    | 0.423          |
| 是                       | 53 | 45.4±30.6             |        |                | 45(84.9)              |          |                |
| 椎旁脓肿                    |    |                       |        |                |                       |          |                |
| 否                       | 42 | 25.8±22.9             | -1.537 | 0.015          | 34(80.9)              | 2.231    | 0.156          |
| 是                       | 43 | 48.6±35.8             |        |                | 37(86.0)              |          |                |

注:<sup>a</sup> 为独立样本 t 检验用于比较不同临床亚组间 SFC 数量, <sup>b</sup> 为  $\chi^2$  检验用于比较不同临床亚组间阳性率

**2.3 病例组中 ELISPOT 假阴性结果可能原因** 在确诊的 85 例脊柱结核患者中, 有 14 例患者 ELISPOT 结果呈假阴性改变。其中男 8 例, 女 6 例, 年龄 34~76 岁, 其中 10 例患者有合并症, 且 7 例合并风湿免疫系统疾患者(3 例系统性红斑狼疮、3 例类风湿性关节炎、1 例强直性脊柱炎)在接受 ELISPOT 检测前均应用了相关免疫抑制剂系统治疗 3 个月以上。6 例脊柱结核患者淋巴细胞数量较正常值明显减少, 其淋巴细胞平均值为 (725±81) 个/微升, CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞为 (355±23) 个/微升。

### 3 讨 论

脊柱结核为继发性疾病, 绝大部分患者在结核分枝杆菌感染机体后, 经血液循环途径出现脊柱椎体或者附件结构感染病变<sup>[8]</sup>。早期常见症状一般是病变椎体部位疼痛, 病情发展缓慢, 影像学特点不典型。

随着病情的演变, 脊柱结核患者病灶可能致使椎体破坏进一步加重, 并波及椎管内脊髓、神经组织, 造成严重的临床后果。在本研究中病程超过 6 个月的患者占到全部病例的 2/3, 部分患者已出现双下肢麻痛, 活动受限甚至截瘫的状况。因此, 如何在早期实现对脊柱结核的诊断, 并进行干预治疗, 显得非常重要。已有研究证实, ELISPOT 因其良好的灵敏度和特异度, 在肺结核和肺外结核辅助诊断中取得了一定效果<sup>[9~11]</sup>。课题组前期将该项技术应用于脊柱结核辅助诊断中, 相比传统实验室检查取得了良好的诊断效率<sup>[7]</sup>。本次研究中, ELISPOT 技术在可疑脊柱结核诊断中的阳性率为 83.5%, 这同文献报道的结果基本一致<sup>[6]</sup>。

既往研究表明, 当结核分枝杆菌感染人体时, 细胞免疫应答发挥着重要作用<sup>[12]</sup>, 结核分枝杆菌被巨噬

细胞吞噬后成为特异性抗原肽,然后通过抗原提呈细胞递呈给 T 细胞,特异性 CD4<sup>+</sup> T 细胞接受其刺激后产生  $\gamma$ -干扰素<sup>[13]</sup>。由于结核感染个体细胞免疫受多方面影响,  $\gamma$ -干扰素释放试验的最终结果也会受到疾病个体各种临床因素的影响<sup>[14]</sup>。有文献报道,年龄的增长可能是导致 ELISPOT 结果假阴性的一个重要因素<sup>[15-16]</sup>,不过上述研究都是基于肺结核病例的探讨,关于肺外结核,脊柱结核的相关数据是相对缺乏的。本研究通过对不同年龄段脊柱结核患者分组研究,得出在年龄  $\geq 60$  岁的老年脊柱结核患者中 ELISPOT 诊断阳性率显著低于年龄  $<60$  岁组患者,且差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。这在一定程度上说明,在脊柱结核辅助诊断中,年龄的增长与 ELISPOT 结果有着密切联系。中国是一个人口大国,即将迎来人口老龄化的时代,结核病在老龄人口中的发病率已经超过年轻人,脊柱结核发病也呈现老龄化趋势,这部分患者同时还可能合并有其他并发症,加大了诊疗难度<sup>[17]</sup>。因此,提示医务工作者在应用 ELISPOT 技术诊断这部分疑似结核患者时,需要充分考虑年龄的影响因素。

本次研究发现 BMI 偏低的脊柱结核患者 SFC 数量低于 BMI 17~25 kg/m<sup>2</sup> 组患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。同样,国内学者薛芳芳等<sup>[18]</sup>通过对 47 例结核性胸膜炎患者外周血进行检测,认为 BMI 是影响 T-SPOT. TB 结果的一个独立危险因素。考究其原因,体质量过轻、营养状况偏差可能会抑制患者的免疫应答功能<sup>[17]</sup>。这种不健康的身体状况会减弱结核特性抗原的反应程度,从而出现假阴性的结果。然而本研究不同 BMI 组间,总体 ELISPOT 阳性率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。由于本次研究纳入低 BMI 患者的例数有限,后期仍需要通过进一步加大样本量继续验证。

本研究进一步探讨发现,合并椎旁脓肿的脊柱结核患者 SFC 数量显著高于单纯椎体破坏改变无椎旁脓肿的患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。椎旁脓肿是脊柱结核一种常见的并发症,形成过程较为缓慢,脓肿出现时意味着疾病发展到相对严重的地步。此时,脊柱结核患者机体内环境及宿主免疫力发生了显著改变,体内细胞免疫应答机制及相关基因的调控作用更为显著<sup>[19]</sup>。同时结核分枝杆菌感染的过程与相关抗原的高表达、较强的免疫应答密切相关<sup>[20]</sup>。

本次研究中 85 例脊柱结核组患者中有 14 例 ELISPOT 的结果呈假阴性,假阴性率为 16.5%。这个同文献报道的检测指标假阴性率范围是一致的(5%~20%)<sup>[17]</sup>,但目前文献数据大部分是基于肺结核病例,关于脊柱结核病例的相关数据是缺乏的。通过对本组假阴性病例进一步研究发现,有 6 例脊柱结

核患者淋巴细胞数量较正常值明显减少,其淋巴细胞平均值为(725  $\pm$  81)个/微升,CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞为(355  $\pm$  23)个/微升。LEE 等<sup>[10]</sup>在对结核性胸膜炎患者外周血应用 ELISPOT 技术检测时同样发现,此类合并淋巴细胞减少症的结核患者结果呈假阴性改变,推测  $\gamma$  干扰素的分泌可能受机体外周血 T 淋巴细胞数目影响。同时,关于检测前免疫抑制剂的应用是否对 ELISPOT 结果会产生影响,目前也有部分研究。LIAO 等<sup>[16]</sup>认为 T 淋巴细胞  $\gamma$ -干扰素的分泌会受到免疫抑制剂的干扰,从而在一定程度上影响 ELISPOT 的诊断阳性率。本次研究 ELISPOT 结果呈假阴性的病例中,有 7 例脊柱结核患者由于同时合并风湿免疫性疾病,检测前均接受了不同程度皮质类固醇和免疫抑制剂的治疗,但不确定其究竟是不是独立影响因素。由于这部分病例较少,无法分亚组继续开展讨论,本研究拟下一步通过多中心、大样本研究,验证 ELISPOT 技术在合并免疫功能缺陷的脊柱结核辅助诊断中的应用价值,进一步验证其可靠性。

#### 4 结 论

在脊柱结核的实验室辅助诊断中,以结核分枝杆菌特异性融合抗原 CFP-10/ESAT-6 作为刺激物 ELISPOT 试验发挥着一定作用,其诊断结果可能受到年龄、BMI、椎旁脓肿等临床因素影响。实际临床诊疗过程中应充分考虑上述因素影响,尽可能减少漏诊。

#### 参考文献

- [1] WHO. Global tuberculosis report 2016 [R]. Geneva: WTO, 2016.
- [2] 赵涛,彭茂轩,方海林. 脊柱结核合并神经功能受损的手术时机[J]. 中国矫形外科杂志, 2018, 26(23): 2157-2162.
- [3] 段月庭,毕科研,解金磊,等. 酶联免疫斑点法联合肺泡灌洗液结核菌 Xpert 检测在涂阴肺结核的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(12): 1460-1466.
- [4] 袁凯,吴雪琼,张强,等. 结核杆菌抗原特异性  $\gamma$  干扰素释放试验在脊柱结核辅助诊断中的应用研究[J]. 实用医学杂志, 2013, 29(14): 2314-2316.
- [5] YANG C, ZHANG S, YAO L, et al. Evaluation of risk factors for false-negative results with antigen-specific peripheral blood-based quantitative T cell assay (T-SPOT. TB) in the diagnosis of active tuberculosis: A large-scale retrospective study in China [J]. J Int Med Res, 2018, 46(5): 1815-1825.
- [6] 郭琪琼. T 细胞  $\gamma$ -干扰素释放试验对脊柱结核的诊断效果评价[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(6): 718-721.
- [7] 袁凯,梁德,吴雪琼,等. 以 CFP10/ESAT6 融合蛋白为抗原的酶联免疫斑点技术在脊柱结核感染辅助诊断中的应用研究[J]. 中国医学科学院学报, 2015, 37(1): 44-49.
- [8] 胡斌,王洪凯,黄家菊,等. 脊柱结核的发病现状及诊断方法的研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18,

- (102):158-160.
- [9] 宋江勤,徐湖波,乔文龙.肠结核患者的临床表现与T细胞斑点试验的相关性分析[J].国际检验医学杂志,2018,39(6):755-757.
- [10] LEE L N, CHOU C H, WANG J Y, et al. Enzyme-linked immunospot assay for interferon-gamma in the diagnosis of tuberculous pleurisy[J]. Clin Microbiol Infect, 2009, 15 (2):173-179.
- [11] LAI C C, TAN C K, LIU W L, et al. Diagnostic performance of an enzyme-linked immunospot assay for interferon- $\gamma$  in skeletal tuberculosis[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2011, 30(6):767-771.
- [12] BOGGIANO C, EICHELBERG K, RAMACHANDRA L, et al. The impact of *Mycobacterium tuberculosis* immune evasion on protective immunity: implications for TB vaccine design-meeting report[J]. Vaccine, 2017, 35 (27):3433-3440.
- [13] LIANG Y, WANG Y, LI H, et al. Evaluation of a whole-blood chemiluminescent immunoassay of IFN- $\gamma$ , IP-10, and MCP-1 for diagnosis of active pulmonary tuberculosis and tuberculous pleurisy patients[J]. APMIS, 2016, 124 (10):856-864.
- [14] KIM Y J, KANG J Y, KIM S I, et al. Predictors for false-negative QuantiFERON-TB Gold assay results in patients with extrapulmonary tuberculosis[J]. BMC Infect Dis.
- 2018, 18(1):457.
- [15] KOBASHI Y, MOURI K, YAGI S, et al. Clinical utility of the QuantiFERON TB-2G test for elderly patients with active tuberculosis[J]. Chest, 2008, 133(7):1196-1202.
- [16] LIAO C H, LAI C C, TAN C K, et al. False-negative results by enzyme-linked immunospot assay for Interferon-gamma among patients with culture-confirmed tuberculosis[J]. J Infect, 2009, 59(2):421-423.
- [17] PAN L, JIA H, LIU F, et al. Risk factors for false-negative T-SPOT. TB assay results in patients with pulmonary and extra-pulmonary TB[J]. J Infect, 2015, 70(4):367-380.
- [18] 薛芳芳,徐金莲.胸腔积液和外周血T细胞斑点试验对结核性胸膜炎的诊断价值及影响因素分析[J].现代中西结合杂志,2017,26(7):780-782.
- [19] 张宏其,高琪乐,郭超峰,等.单核细胞趋化蛋白-1基因多态性对脊柱结核易感性的影响[J].中国矫形外科杂志,2012,20(9):843-846.
- [20] CHO O H, PARK K H, KIM S M, et al. Diagnostic performance of T-SPOT. TB for extrapulmonary tuberculosis according to the site of infection[J]. J Infect, 2011, 63 (5):362-369.

(收稿日期:2018-12-01 修回日期:2019-02-25)

(上接第1447页)

- [3] OPLADEN T, HOFFMANN GF, BLAU N. An international survey of patients with tetrahydrobiopterin deficiencies presenting with hyperphenylalaninaemia[J]. J Inher Metab Dis, 2012, 35(6):963-973.
- [4] 韦洪伟.212万新生儿高苯丙氨酸血症筛查与治疗情况分析[J].中国优生与遗传杂志,2016,24(7):71-72.
- [5] 曾伟宏,欧阳辉,邓惠英,等.顺德地区新生儿先天性甲状腺功能减退症和高苯丙氨酸血症调查[J].检验医学与临床,2013,10(11):1354-1355.
- [6] 李丽欣,王亚凡,封纪珍,等.石家庄市新生儿高苯丙氨酸血症筛查及治疗情况分析[J].河北医科大学学报,2014,35(9):1078-1080.
- [7] 宣兆宇.长春地区356 697例新生儿高苯丙氨酸血症的筛查状况分析[J].中国妇幼保健,2015,30(9):1434-1435.
- [8] 邹卉.新生儿遗传代谢病筛查诊治模式建立及筛查疾病基因研究[D].山东大学,2016.
- [9] 徐小兰,杨蓉,王枫,等.江西省新生儿高苯丙氨酸血症筛查结果分析[J].中国儿童保健杂志,2008,16(5):599-601.
- [10] 范歆,陈少科,林彩娟,等.广西地区高苯丙氨酸血症发病情况分析[J].广西医科大学学报,2012,29(4):579-581.
- [11] 江剑辉,李蓓,刘孜孜,等.广东省新生儿筛查检出持续性

高苯丙氨酸血症的鉴别诊断及管理模式[J].广东医学,2008,45(11):1815-1816.

- [12] SINGH R H, ROHR F, FRAZIER D, et al. Recommendations for the nutrition management of phenylalanine hydroxylase deficiency[J]. Genet Med, 2014, 16(4):121-131.
- [13] 屈萍,武雅俐,成艳,等.宝鸡地区2007-2013年新生儿筛查高苯丙氨酸血症结果分析[J].中国优生与遗传杂志,2014,22(7):101-102.
- [14] 张晓刚,杨建平,郁梁,等.山西省新生儿苯丙酮尿症筛查苯丙氨酸切值初探[J].中国优生与遗传杂志,2015,23 (2):76.
- [15] 朱文斌,陈涵强,王旌,等.福建省新生儿苯丙酮尿症苯丙氨酸筛查切值的研究[J].中国优生与遗传杂志,2004 (4):94-96.
- [16] 中华医学会儿科分会内分泌遗传代谢组,中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会新生儿筛查组学.高苯丙氨酸血症的诊疗共识[J].中华儿科杂志,2014,52 (6):420-425.
- [17] 顾学范.加强高苯丙氨酸血症的诊治规范及预后研究[J].中华儿科杂志,2014,24(6):401-402.

(收稿日期:2018-12-20 修回日期:2019-03-12)