

• 论 著 •

T-SPOT. TB 检测在骨结核中的辅助诊断价值*

闫丽梅¹, 王 静², 史 君³, 赵 静², 贾 鹏^{4△}

1. 内蒙古自治区人民医院重症医学科, 内蒙古呼和浩特 010050; 2. 内蒙古医科大学附属医院风湿免疫科, 内蒙古呼和浩特 010050; 3. 内蒙古医科大学基础医学院生理教研室, 内蒙古呼和浩特 010050; 4. 内蒙古自治区人民医院骨科, 内蒙古呼和浩特 010050

摘要:目的 评价检测外周血中结核感染 T 细胞斑点(T-SPOT. TB)在骨结核辅助诊断中的临床应用价值。方法 回顾性分析 2013—2017 年内蒙古自治区人民医院和内蒙古医科大学附属医院送检的疑似骨结核的患者标本 212 例, 其中男 110 例, 女 102 例; 根据临床诊断分为骨结核组 111 例, 非结核组 101 例。通过检测患者外周血中的 T-SPOT. TB, 评价其在骨结核辅助诊断中的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值, 采用 ROC 曲线下面积(AUC)评估 T-SPOT. TB 检测的诊断效能。结果 T-SPOT. TB 诊断骨结核的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 91.89%、63.37%、73.38%、87.67%。外周血早期分泌靶向抗原 6(ESAT-6)诊断骨结核的 AUC 是 0.881 9, 最佳临界值为 46 SFCs/10⁶ PBMC; 外周血培养滤过蛋白 10(CFP-10)诊断骨结核的 AUC 是 0.878 0, 最佳临界值为 34 SFCs/10⁶ PBMC; ESAT-6+CFP-10 抗原诊断骨结核的 AUC 是 0.911 0, 最佳临界值是 88 SFCs/10⁶ PBMC。结论 T-SPOT. TB 检测可作为辅助诊断骨结核的有效方法, ESAT-6 与 CFP-10 抗原联合检测的诊断效能优于单抗原检测。

关键词:骨结核; 结核感染 T 细胞斑点试验; 早期分泌靶向抗原 6; 培养滤过蛋白 10

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.21.004

中图法分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2021)21-2575-04

文献标志码:A

Assisted diagnostic value of T-SPOT. TB detection in bone tuberculosis*

YAN Limei¹, WANG Jing², SHI Jun³, ZHAO Jing², JIA Peng^{4△}

1. Department of Critical Care Medicine, Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital, Hohhot, Inner Mongolia 010050, China; 2. Department of Rheumatism and Immunology, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia 010050, China; 3. Teaching and Researching Section of Physiology, School of Basic Medicine, Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia 010050, China; 4. Department of Orthopedics, Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital, Hohhot, Inner Mongolia 010050, China

Abstract: Objective To evaluate the clinical application value of peripheral blood T-SPOT. TB in the diagnosis of bone tuberculosis. **Methods** A total of 212 samples in the patients with suspected bone tuberculosis in the Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital and the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University during 2013—2017 were retrospectively analyzed, including 110 males and 102 females. According to the clinical diagnosis, the cases were divided into 111 cases of the bone tuberculosis group and 101 cases of the non-tuberculosis group. Peripheral blood T-SPOT. TB was detected, and its sensitivity, specificity, negative predictive value and positive predictive value in the assisted diagnosis of bone tuberculosis were evaluated and its diagnostic efficiency was evaluated by using the area under the receiver operating characteristic (ROC) curve (AUC). **Results** The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of T-SPOT. TB for the diagnosis of bone tuberculosis were 91.89%, 63.37%, 73.38% and 87.67%, respectively. AUC of peripheral blood ESAT-6 in diagnosing bone tuberculosis was 0.881 9, and the optimal cut-off value was 46 SFCs/10⁶ PBMC. AUC of peripheral blood CFP-10 was 0.878 0, the optimal cut-off value was 34 SFCs/10⁶ PBMC. AUC of ESAT-6+CFP-10 antigen was 0.911 0, and the optimal cut-off value was 88 SF-

* 基金项目: 内蒙古自然科学基金项目(2016MS0883、2017MS08151); 内蒙古自治区人民医院院内基金项目(201547、201568); 内蒙古自治区人民医院博士科研启动基金(2020BS04)。

作者简介: 闫丽梅, 女, 副主任医师, 主要从事重症疾病的诊疗。△ 通信作者, E-mail: jiapeng888@126.com。

本文引用格式: 闫丽梅, 王静, 史君, 等. T-SPOT. TB 检测在骨结核中的辅助诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(21): 2575-2578.

Cs/10⁶ PBMC. **Conclusion** T-SPOT. TB can serve as an effective way in the assisted diagnosis of bone tuberculosis. The diagnostic efficiency in the combined detection of ESAT-6 and CFP-10 antigen is better than that in the single antigen detection.

Key words: bone tuberculosis; T-SPOT. TB; early secreting antigen target 6; culture filtrate protein 10

骨结核是肺外结核累及的主要部位,约占肺外结核的 30%左右。骨结核是由结核分枝杆菌(MTB)感染骨、脊柱和关节所导致的疾病,通常发病隐匿,病程长,可影响骨骼的发育,容易致残。骨结核中最常见的是脊柱结核,约占骨结核的 50%,占全身结核的 3%~5%^[1]。临床上诊断骨结核主要依据患者的临床表现、影像学检查、局部病灶的病理结果和 MTB 的培养。但由于 MTB 培养周期长、阳性率低,而病理诊断属于有创检查,使其临床应用受到限制。因此,迫切需要新的检测方法来提高骨结核的早期诊断率和准确性。

结核感染 T 细胞斑点(T-SPOT. TB)检测是近年来辅助诊断结核感染的新免疫学方法,被广泛使用于临床^[2]。T-SPOT. TB 的检测原理是采用 MTB 特异性抗原早期分泌靶向抗原 6(ESAT-6)和培养滤过蛋白 10(CFP-10)肽段刺激 T 淋巴细胞,使其释放 γ 干扰素(INF- γ),使用酶联免疫斑点法(ELISPOT)计数活化的效应性 T 淋巴细胞^[3]。本文评价 T-SPOT. TB 检测在骨结核辅助诊断中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2013—2017 年内蒙古自治区人民医院和内蒙古医科大学附属医院送检的疑似骨结核患者的外周静脉血标本 212 例,其中男 110 例、女 102 例,平均年龄(54.06±14.76)岁。根据临床表现、影像学检查、细菌学、组织病理学等诊断分为骨结核组和非结核组。骨结核诊断标准:(1)病理学诊断,标本活检的组织病理结果显示为结核性肉芽肿和干酪样坏死组织;(2)细菌学诊断,局部脓液抗酸染色涂片或 MTB 培养提示阳性;(3)临床诊断标准,临床表现、影像学等支持结核、排除其他疾病,且诊断性抗结核治疗有效者。局部组织、脓液抗酸涂片和 MTB 培养阳性是目前确诊骨结核的金标准。骨结核组 111 例,包括脊柱结核 72 例(64.87%),关节及其他部位骨结核 39 例(35.13%);非结核组 101 例。两组性别、年龄资料见表 1。

表 1 骨结核和非结核组的基本资料			
组别	n	男/女(n/n)	平均年龄($\bar{x}\pm s$,岁)
骨结核组	111	55/56	56.29±14.73
脊柱结核	72	41/31	56.05±13.23
关节及其他部位骨结核	39	14/25	56.53±16.22
非结核组	101	55/46	52.34±15.33

1.2 方法

1.2.1 提取单个核细胞(PBMC) 所有患者空腹抽取静脉全血 4 mL,加入肝素锂抗凝管。加入同比例培养基混匀,将稀释后的全血缓慢加入淋巴细胞分离液离心管内,形成液面层,梯度离心分离 PBMC,用细胞培养基清洗 2 次,离心后弃上清液,用 AIM-V 培养基调整细胞浓度为 2.5×10⁵/mL 悬液。

1.2.2 T-SPOT. TB 检测 使用 T-SPOT. TB 检测试剂盒(Oxford Immunotec 公司,生产批号:TEC220430、TEB086167、TEC233280)检测。每个标本设 4 个孔,分别将 A 抗原(ESAT-6)、B 抗原(CFP-10)、空白对照(AIM-V 培养基)和阳性对照(植物血凝素),加入到包被有 INF- γ 单抗的 96 孔板孔内,每孔各加入 50 μ L,然后加入分离后的细胞悬液 100 μ L,37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱放置 16~20 h,弃细胞悬液后 PBS 洗涤 3 次,分别加入二抗和底物显色,吹干后读数。用 ELISPOT 斑点分析仪(AID 公司)计数斑点形成细胞(SFCs)。每个斑点代表一个活化的特异性 T 淋巴细胞。减去空白孔后任一孔斑点 ≥ 6 为阳性,如果空白孔斑点数 ≥ 6 时,任一实验孔大于空白对照 2 倍为阳性。本试验设静脉血界值 24 SFCs/10⁶ PBMC 为阳性。A 抗原和 B 抗原任一阳性即为阳性。

1.3 统计学处理 统计学分析用 GraphPad Prism 8 软件,计算诊断实验评价指标的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值;绘制 ROC 曲线,确定诊断最佳临界值。计数资料以例数表示,比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 骨结核和非结核组 T-SPOT. TB 检测结果比较 T-SPOT. TB 检测辅助诊断骨结核的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 91.89%、63.37%、73.38%、87.67%。T-SPOT. TB 检测在骨结核组和非结核组阳性数差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 骨结核和非结核组 T-SPOT. TB 检测结果比较(n)			
分组	T-SPOT. TB		合计
	阳性	阴性	
骨结核组	102	9	111
非结核组	37	64	101
合计	139	73	212

2.2 T-SPOT. TB 不同抗原检测辅助诊断骨结核的效能分析 外周血 ESAT-6 抗原诊断骨结核的最佳临界值是 46 SFCs/10⁶ PBMC,曲线下面积(AUC)是

0.881 9。外周血 CFP-10 抗原诊断肺结核的最佳临界值是 34 SFCs/10⁶ PBMC, AUC 是 0.878 0。ES-AT-6+CFP-10 抗原诊断肺结核的最佳临界值是 88 SFCs/10⁶ PBMC, AUC 是 0.911 0。见表 3。

2.3 T-SPOT. TB 不同抗原检测辅助诊断脊柱结核的效能分析 外周血 ESAT-6 抗原诊断脊柱结核的

最佳临界值是 50 SFCs/10⁶ PBMC, AUC 是 0.895 1。CFP-10 抗原诊断脊柱结核的最佳临界值是 34 SFCs/10⁶ PBMC, AUC 是 0.878 4。ESAT-6 + CFP-10 抗原诊断脊柱结核的最佳临界值是 114 SFCs/10⁶ PBMC, AUC 是 0.912 3。见表 4。

表 3 T-SPOT. TB 不同抗原检测辅助诊断肺结核的效能分析

抗原	AUC(95%CI)	最佳临界值(SFCs/10 ⁶ PBMC)	灵敏度(%)	特异度(%)	P
ESAT-6	0.881 9(0.835 5~0.928 4)	46	81.1	82.2	<0.001
CFP-10	0.878 0(0.829 3~0.926 8)	34	79.3	90.1	<0.001
ESAT-6+CFP-10	0.911 0(0.871 2~0.950 7)	88	80.2	90.1	<0.001

表 4 T-SPOT. TB 不同抗原检测辅助诊断脊柱结核的效能分析

抗原	AUC(95%CI)	最佳临界值(SFCs/10 ⁶ PBMC)	灵敏度(%)	特异度(%)	P
ESAT-6	0.895 1(0.843 5~0.946 8)	50	81.9	84.2	<0.001
CFP-10	0.878 4(0.819 3~0.937 4)	34	79.2	90.1	<0.001
ESAT-6+CFP-10	0.912 3(0.865 0~0.959 6)	114	81.9	92.1	<0.001

3 讨 论

骨结核是肺外结核的重要组成部分,其疾病进展缓慢、无特异性临床表现,容易导致患者的骨关节实质性破坏,给临床诊断和治疗带来巨大的挑战。骨结核通常以局部疼痛和压痛为主要临床表现,同时伴有炎症指标增高^[4],临床常规应用的检测项目包括细菌学检测、免疫学检测、病理学检查和影像学检查等。细菌学和病理学检测虽然是结核病诊断的金标准,但存在一些缺陷,MTB 培养时间长,病理学检测属于有创性检查,而且二者检测阳性率均较低。免疫学检测方法主要包括结核菌素试验和抗结核抗体检测,其灵敏度和特异度较差^[5]。MRI 等影像学检查在临床中也有重要作用,但一些症状不典型或疾病早期的患者往往影像学表现不显著,均给骨结核的诊断带来了难题^[6]。T-SPOT. TB 是近年来出现的免疫检测新方法^[7],研究证实,检测外周血 T-SPOT. TB 是诊断活动性和隐匿性结核病的有效方法^[8]。除检测外周血 T-SPOT. TB 外,还可检测胸腔积液、腹水、脑脊液 T-SPOT. TB^[9],不同种类标本联合检测 T-SPOT. TB 可提高结核病的诊断率^[10-11]。有研究显示,T-SPOT. TB 检测在肠结核中也有较好的辅助诊断价值^[12-13]。本研究评价 T-SPOT. TB 检测对骨结核的辅助诊断价值。

本研究回顾性分析了疑似骨结核患者的全血标本 212 例,根据临床诊断分为骨结核组 111 例和非结核组 101 例,均进行了 T-SPOT. TB 检测。T-SPOT. TB 检测辅助诊断骨结核的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别是 91.89%、63.37%、73.38%、87.67%,结果提示 T-SPOT. TB 检测可作为诊断骨结核的有效辅助手段。YUAN 等^[14]报道对 65 例疑

似非典型性脊柱结核患者进行 T-SPOT. TB 检测,其灵敏度和特异度分别为 83%和 81%。姚利等^[15]纳入 8 篇研究 T-SPOT. TB 检测对脊柱结核诊断价值的文献进行 Meta 分析,结果提示外周血 T-SPOT. TB 检测诊断脊柱结核的灵敏度为 88%,特异度为 90%,阳性似然比为 8.67,阴性似然比为 0.13, AUC 为 0.95。本研究中 T-SPOT. TB 检测诊断骨结核的特异度与以上报道一致,但灵敏度略低。

临床上使用的试剂盒上推荐的外周血 T-SPOT. TB 诊断临界值是 24 SFCs/10⁶ PBMC,适用于肺内结核的诊断,但对于骨结核 T-SPOT. TB 的诊断临界值报道不一。本研究根据入组患者外周血 ESAT-6、CFP-10 抗原单项检测和 ESAT-6+CFP-10 抗原联合检测,建立 ROC 曲线,确定诊断骨结核的最佳临界值,骨结核外周血 ESAT-6 抗原的诊断最佳临界值是 46 SFCs/10⁶ PBMC, CFP-10 抗原的诊断最佳临界值是 34 SFCs/10⁶ PBMC,均高于试剂盒上推荐的临界值。脊柱结核通常占全身骨结核的发病首位,本研病例中也显示脊柱结核发病率较高,占骨结核组的 64.87%,因此,将脊柱结核也做了单独统计,其诊断最佳临界值与骨结核组基本一致。ESAT-6+CFP-10 抗原诊断骨结核的最佳临界值是 88 SFCs/10⁶ PBMC, AUC 明显优于 ESAT-6 或 CFP-10 单抗原检测,具有较好的灵敏度和特异度。

综上所述,T-SPOT. TB 检测可作为辅助诊断骨结核的有效方法,ESAT-6+CFP-10 抗原联合检测的诊断效能优于单抗原检测。

参考文献

[1] GOLDEN M P, VIKRAM H R. Extrapulmonary tubercu-

- losis; an overview[J]. *Am Fam Physician*, 2005, 72(9): 1761-1768.
- [2] PAI M, ZWERLING A, MENZIES D. Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection; an update[J]. *Ann Intern Med*, 2008, 149(3): 177-184.
 - [3] LIEBESCHUETZ S, BAMBER S, EWER K, et al. Diagnosis of tuberculosis in South African children with a T-cell-based assay: a prospective cohort study[J]. *Lancet*, 2004, 364(9452): 2196-2203.
 - [4] ALI A, MUSBAHI O, WHITE V, et al. Spinal tuberculosis: a Literature review[J]. *JBJS Rev*, 2019, 7(1): e9.
 - [5] LEUNG C C, YAM W C, HO P L, et al. T-SPOT. TB outperforms tuberculin skin test in predicting development of active tuberculosis among household contacts[J]. *Respirology*, 2015, 20(3): 496-503.
 - [6] 吴伟光, 郭海龙. 脊柱结核的早期诊断研究进展[J]. *中国防痨杂志*, 2018, 40(5): 531-534.
 - [7] ADAMS S, EHRLICH R, BAATJIES R, et al. Predictors of discordant latent tuberculosis infection test results amongst South African health care workers[J]. *BMC Infect Dis*, 2019, 19(1): 131-135.
 - [8] JIANG B, DING H, ZHOU L, et al. Evaluation of interferon-gamma release assay (T-SPOT. TBTM) for diagnosis of tuberculosis infection in rheumatic disease patients[J]. *Int J Rheum Dis*, 2016, 19(1): 38-42.
 - [9] ZHANG L F, LIU X Q, ZHANG Y, et al. A prospective longitudinal study evaluating a T-cell-based assay for latent tuberculosis infection in health-care workers in a general hospital in Beijing[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2013, 126(11): 2039-44.
 - [10] 王静, 史君, 赵静, 等. 结核感染 T 细胞斑点试验在结核性浆膜炎中的诊断价值[J]. *中国卫生检验杂志*, 2017, 27(12): 1728-1730.
 - [11] 赵静, 刘轩, 沈广萍, 等. T-SPOT. TB 对风湿免疫病患者活动性肺结核诊断准确性的影响因素分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2020, 41(7): 850-855.
 - [12] 徐蕙, 李玥, 钱家鸣. γ 干扰素释放分析在亚洲地区肠结核与克罗恩病鉴别诊断中准确性评价的 Meta 分析[J]. *中华内科杂志*, 2016, 55(7): 535-540.
 - [13] AUGUSTE P, TSERTSVADZE A, PINK J, et al. Comparing interferon-gamma release assays with tuberculin skin test for identifying latent tuberculosis infection that progresses to active tuberculosis: systematic review and meta-analysis[J]. *BMC Infect Dis*, 2017, 17(1): 200-204.
 - [14] YUAN K, ZHONG Z M, ZHANG Q, et al. Evaluation of an enzyme-linked immunospot assay for the immunodiagnosis of atypical spinal tuberculosis (atypical clinical presentation/atypical radiographic presentation) in China[J]. *Braz J Infect Dis*, 2013, 17(5): 529-537.
 - [15] 姚利, 盛健, 王冰, 等. 外周血结核感染 T 细胞斑点试验对脊柱结核诊断价值的 Meta 分析[J]. *中国防痨杂志*, 2019, 41(10): 1084-1089.
- (收稿日期: 2021-01-09 修回日期: 2021-09-08)
-
- (上接第 2574 页)
- [16] 潘俊娣, 叶斌, 戴木根, 等. 肝硬化合并急性肾损伤患者尿 NGAL、L-FABP 变化及意义[J]. *中西医结合肝病杂志*, 2019, 29(1): 29-32.
 - [17] 张震, 富文俊, 邢宇锋, 等. L-FABP/PPAR α 信号通路与非酒精性脂肪性肝炎关系的研究进展[J]. *山东医药*, 2016, 56(8): 98-100.
 - [18] PAN L, WANG X, LI W, et al. The intestinal fatty acid binding protein diagnosing gut dysfunction in acute pancreatitis: a pilot study[J]. *Pancreas*, 2010, 39(5): 633-638.
 - [19] 梁育飞, 李春秀, 李春英. 联合检测 NLR、IL-6、CRP、PCT 对急性胰腺炎的诊断价值[J]. *中国现代医学杂志*, 2018, 28(31): 64-68.
 - [20] MARTINS DE LIMA-SALGADO T, COCCUZZO SAMPAIO S, CURY-BOAVENTURA M F, et al. Modulatory effect of fatty acids on fungicidal activity, respiratory burst and TNF- α and IL-6 production in J774 murine macrophages[J]. *Br J Nutr*, 2011, 105(8): 1173-1179.
 - [21] 孙燕, 万忠均, 毛亮, 等. 中枢神经系统来源的 HMGB1 表达模式和释放特征[J]. *中南民族大学学报(自然科学版)*, 2020, 39(1): 29-34.
 - [22] ODE Y, AZIZ M, WANG P. CIRP increases ICAM-1 + phenotype of neutrophils exhibiting elevated iNOS and NETs in sepsis[J]. *J Leukoc Biol*, 2018, 103(4): 693-707.
 - [23] GONG J D, QI X F, ZHANG Y, et al. Increased admission serum cold-inducible RNA-binding protein concentration is associated with prognosis of severe acute pancreatitis[J]. *Clin Chim Acta*, 2017, 471(1): 135-142.
 - [24] 柯贵宝, 刘哲, 徐云滢, 等. L-FABP 和 NAG 在重症急性胰腺炎合并急性肾损伤中的早期诊断价值[J]. *现代临床医学*, 2015, 41(4): 263-264.
 - [25] LI L, LIU M, ZHANG T, et al. Indomethacin down-regulating HMGB1 and TNF- α to prevent pancreatitis after endoscopic retrograde cholangiopancreatography [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2019, 54(6): 793-799.
 - [26] 胡慧婷, 袁静芝, 史清海, 等. 血清 sCD14、HMGB1 联合检测在肺部感染疾病中的临床诊断价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2020, 41(3): 270-273.
 - [27] LI J, HUANG L, WANG S, et al. Increased serum levels of high mobility group protein B1 and calprotectin in pre-eclampsia[J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2018, 142(1): 37-41.
 - [28] 李霞, 邢江, 李娟. 血浆氨基末端-B 型钠尿肽联合 A-PACHE II 评分预测老年重症社区获得性肺炎 14 天生存的价值[J]. *中国临床医生杂志*, 2019, 47(11): 1327-1330.
- (收稿日期: 2021-01-15 修回日期: 2021-08-18)