

外周血结核感染 T 细胞斑点试验在结核病中的应用价值研究

白文静 胡型忠 施伎婵 曹苗苗 唐少华

【摘要】 **目的** 探讨外周血结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT.TB)在结核病中的应用价值。**方法** 回顾行 T-SPOT.TB 检查的住院疑似结核病患者 536 例;根据患者诊断为结核组和非结核组;根据活动性、病变部位和化疗史将结核病患者分为活动性结核组和非活动性结核组,肺结核组、肺外结核组和混合组,初治结核组和复治结核组。比较上述各组间 T-SPOT.TB 诊断价值以及分析肺外结核组各种结核病阳性率。**结果** 536 例患者中有 344 例确诊为结核病,其中 T-SPOT.TB 试验阳性 296 例,阴性 48 例,灵敏度为 86.0%(296/344);192 例非结核病患者中,T-SPOT.TB 阴性 162 例,特异度为 84.4%(162/192)。非活动性结核组和活动性结核组阳性率分别为 44.4%和 88.4%($P<0.01$)。肺结核组、肺外结核组和混合组阳性率分别为 87.3%、70.4%和 94.3%($P<0.01$);初治结核组和复治结核组阳性率分别为 87.1%和 100%($P<0.05$)。肺外结核以结核性脑膜炎、胸膜炎和腹膜炎最常见,结核性脑膜炎阳性率最低为 42.9%。**结论** 外周血 T-SPOT.TB 试验在诊断住院患者结核病中具有很高的灵敏度和特异度;活动性结核和复治结核敏感度高于非活动性结核和初治结核;结核性脑膜炎敏感度不高,而在其它肺外结核具有较高临床应用价值。

【关键词】 结核 结核感染 T 细胞斑点试验 灵敏度 特异度

Clinical evaluation of peripheral blood T-SPOT.TB in diagnosis of tuberculosis BAI Wenjing, HU Xingzhong, SHI Jichan, et al. Department of Laboratory Medicine, Wenzhou Central Hospital, the Dingli Clinical School of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China

【Abstract】 **Objective** To evaluate the application of peripheral blood T-SPOT.TB assay for the diagnosis of tuberculosis. **Methods** Total 536 tuberculosis (TB) suspects were admitted in Wenzhou Central Hospital from April 2013 to August 2014, T-SPOT.TB assay was performed in all patients. The diagnostic value of T-SPOT.TB assay for tuberculosis was analyzed. **Results** Among 536 TB suspects 344 patients were diagnosed as tuberculosis, in whom 296 cases were T-SPOT.TB positive with a diagnostic sensitivity of 86.0%. Among 192 non-tuberculosis patients 162 cases were T-SPOT.TB negative with a specificity of 84.4%. T-SPOT.TB positive rates in inactive TB and active TB group were 44.4% and 88.4%, respectively (Peripheral blood T-SPOT.TB assay is a promising test for diagnosis of TB in hospitalized patients with high sensitivity and specificity. $\chi^2=27.380$, $P<0.05$). T-SPOT.TB positive rates in pulmonary TB, extrapulmonary TB and mixed groups were 87.3%, 70.4% and 94.3%, respectively. T-SPOT.TB positive rates in primary treatment and retreatment TB groups were 87.1% and 100.0%, respectively ($P<0.05$). Tuberculous meningitis, pleurisy and peritonitis were the most common extrapulmonary tuberculosis, among which tuberculous meningitis had lowest T-SPOT.TB positive rate (42.9%). **Conclusion** Peripheral blood T-SPOT.TB assay is a promising test for diagnosis of TB in hospitalized patients with high sensitivity and specificity.

【Key words】 Tuberculosis T-SPOT.TB Sensitivity Specificity

结核分枝杆菌感染 T 淋巴细胞斑点试验(T-SPOT.TB)在结核病的诊断中具有良好的灵敏度和特异度。目前研究重点主要集中在结核诊断价值方面,鲜有其用于判断结核具体类型方面的研究,笔者将我院住院结

核病患者的感染 T 细胞试验结果与最终临床诊断进行对照,分析 T-SPOT.TB 试验在活动性结核和非活动性结核,肺结核、肺外结核病和肺内外混合结核患者,初治、复治结核患者中的应用价值,现将结果报道如下。

1 对象和方法

1.1 对象 收集 2013 年 4 月至 2014 年 8 月本院疑似结核住院患者 536 例,其中男 340 例,女 196 例;年龄

作者单位:325000 温州医科大学附属定理临床学院、温州市中心医院检验科(白文静、胡型忠、曹苗苗、唐少华),感染科(施伎婵)

通信作者:唐少华,E-mail:tsh006@163.com

17~88 岁,平均(50±18)岁。

1.2 分组方法

1.2.1 活动性结核组 涂片抗酸杆菌阳性,结核分枝杆菌(MTB)培养阳性,病理结果提示肉芽肿性炎伴凝固性坏死;符合典型结核病临床及影像学表现,但未获得病原学及病理学证实,疑似结核病患者经诊断性抗结核治疗后好转或痊愈,临床可排除其他非结核性疾病。

1.2.2 非活动性结核组 患者过去有结核病史,无结核中毒症状及其它结核临床表现,细菌学及其它实验室结核杆菌检查阴性,影像学检查肺上纤维化病变和钙化不变。

1.2.3 肺结核组 肺结核的诊断参照 2001 年中华医学会结核病分会制订的诊断标准^[1]:均为实验室细菌学或组织学确诊患者及临床诊断肺结核患者,有发热、咳嗽、胸痛、咯血及中毒症状等临床表现,有肺结核影像学表现,痰涂片抗酸染色、MTB 培养阳性或组织病理学检查阳性;或痰培养阴性,但临床表现和影像学表现支持肺结核诊断,且抗结核治疗有效。

1.2.4 肺外结核组 均为实验室细菌学或组织学确诊患者及临床诊断肺外结核患者,有发热、盗汗等结核病症状,有相应的肺外结核局部表现及影像学表现,相应的体液或组织涂片抗酸染色、MTB 培养阳性或组织病理学检查阳性;或相应的体液或组织 MTB 培养阴性,但临床表现和影像学表现支持肺外结核诊断,且抗结核治疗有效。

1.2.5 非结核组 临床表现明确为其他疾病所致,或经其他治疗(非抗结核治疗)病情改善。排除人免疫缺陷病毒阳性患者。

1.2.6 初治结核组 初治肺结核是指初次发现,并未接受任何抗结核药物治疗,或发现肺结核后虽经不规则、不合理抗结核治疗,但疗程不超过 1 个月的患者。

1.2.7 复治结核组 复治肺结核是指初治失败或规则用药满疗程痰菌又复阳的患者,或查出肺结核后接受不规则、不合理化疗已经超过 1 个月者。

1.3 T-SPOT.TB 试验 T-SPOT.TB 试剂盒由英国 Oxoid Immunotec 公司生产,上海复星公司提供。操作方法:应用肝素抗凝管收集受检者静脉血 10ml,加入 Ficoll 淋巴细胞分离液,密度梯度离心法分离出单个核淋巴细胞(PBMC),计数活淋巴细胞,培养板条每孔依次加入 50 μ l AIM-V、抗原 ESAT-6、抗原 CFP-10、阳性对照后,每孔分别加入 100 μ lPBMC。37 $^{\circ}$ C,5%CO₂ 培养箱孵育 16~20h 后去培养液并洗涤,再加碱性磷酸酶标记的

鼠抗人 γ -干扰素抗体,2~8 $^{\circ}$ C 孵育 1h 洗涤后加显色液 50 μ l,室温避光反应 7min 终止反应,室温下干燥 2h 计数斑点。当混合多肽 ESAT-6 和 CFP-10 测试孔中任何一孔达到以下标准即认为阳性:当阴性对照孔斑点数为 0~5 个,测试孔斑点数减去阴性对照孔斑点数 \geq 6 个;当阴性对照孔 \geq 6 个,测试孔斑点数 \geq 2 倍阴性对照孔斑点数。

1.4 统计学处理 采用 SPSS1 9.0 统计软件,计数资料比较采用 χ^2 检验或精确概率法。

2 结果

2.1 临床诊断情况 536 例患者中有 344 例确诊为结核病(其中男 230 例,女 114 例,192 例为非结核病)。活动性结核 326 例,非活动性结核 18 例;肺结核 220 例,肺外结核病 54 例,肺内外混合 70 例;初治结核 294 例,复治结核 32 例。

2.2 T-SPOT.TB 诊断结核病的总体情况 T-SPOT.TB 试验结核病的灵敏度为 86.0%(296/344),特异度为 84.4%(162/192),假阳性率为 15.6%(30/192),假阴性率为 14%(48/344),阳性预测值为 90.8%(296/326),阴性预测值为 77.1%(162/210),阳性似然比为 5.51,阴性似然比为 0.17,详见表 1。

表 1 56 例疑似结核住院患者 T-SPOT.TB 试验结果(例)

组别	n	T-SPOT.TB 检测结果		灵敏度(%)	特异度(%)
		阳性	阴性		
结核组	344	296	48	86.0	84.4
非结核组	192	30	162		

2.3 各组结核患者的 T-SPOT.TB 试验结果比较 活动性结核组和非活动性结核组阳性率比较差异有统计学意义($P<0.01$),详见表 2。肺结核组、肺外结核组和混合组的 T-SPOT.TB 试验阳性率比较差异有统计学意义($P<0.01$),详见表 3。初治结核组和复治结核组 T-SPOT.TB 试验结果阳性率比较差异有统计学意义($P<0.05$),详见表 4。

表 2 活动性结核组和非活动性结核组的 T-SPOT.TB 试验结果(例)

组别	n	T-SPOT.TB 试验结果		阳性率(%)
		阳性	阴性	
活动性结核组	326	288	38	88.4
非活动性结核组	18	10	8	44.4

2.4 54 例肺外结核组患者分布情况及 T-SPOT.TB 试验结果 结核性脑膜炎、结核性胸膜炎和结核性腹膜

表 3 不同病变部位结核组的 T-SPOT.TB 试验结果(例)

组别	n	T-SPOT.TB 试验结果		阳性率(%)
		阳性	阴性	
肺结核组	220	192	28	87.3
肺外结核组	54	38	16	70.4
混合组	70	66	4	94.3

表 4 初治结核组和复治结核组 T-SPOT.TB 试验结果(例)

组别	n	T-SPOT.TB 试验结果		阳性率(%)
		阳性	阴性	
初治结核组	294	256	38	87.1
复治结合组	32	32	0	100

炎占肺外结核前 3 位,淋巴结结核、支气管结核阳性率最高,结核性胸膜炎、结核性腹膜炎和其它结核次之,结核性脑膜炎阳性率最低,详见表 5。

表 5 54 例肺外结核组患者分布情况及 T-SPOT.TB 试验结果

部位	n	阳性例数	阳性率(%)	构成比(%)
结核性脑膜炎	14	6	42.9	25.9
结核胸膜炎	14	10	71.4	25.9
结核性腹膜炎	8	6	75.0	14.8
淋巴结结核	3	3	100.0	5.6
支气管结核	5	5	100.0	9.3
其它结核	10	8	80.0	18.5

3 讨论

T-SPOT.TB 由 ELISPOT 发展而来^[2],是以 RD1 编码的 ESAT-6 和 CFP-10 作为 T 细胞特异性刺激原,应用 ELISPOT 技术检测外周血中 MTB 特异性释放 INF- γ 的 T 细胞而建立。该试验结果不受机体 CD4⁺T 细胞数影响,对受试者免疫状态的影响较小,与卡介苗和绝大多数非结核分枝杆菌无交叉免疫反应。多项研究表明,T-SPOT.TB 诊断结核病具有较高的灵敏度和特异度^[3-5]。目前国内诸多研究结果显示,T-SPOT.TB 试验诊断结核病的灵敏度为 81.1%~98.4%,特异度为 90.9%~100.0%^[6-7]。本研究结果表明,T-SPOT.TB 试验检测结核病的灵敏度为 86.0%,与国内的许多报道相仿,而特异度为 84.4%,较文献报道低。本研究分析了 30 例假阳性患者:8 例为癌症,6 例为自身免疫系统疾病,4 例为重症肺炎,4 例克罗恩病,4 例糖尿病及其它疾病。假阳性可能与以下原因有关:30 例患者大部分病情危重,患者状态较差,基础疾病症状较明显可能掩盖了潜伏 MTB 感染症状,潜伏 MTB 可能性不能排除;另外这些结果中大部分两个抗原呈低强度阳性,其斑点

数均<10 个,可能受标本留取时机、实验操作等因素影响,本身结果诊断价值有待探讨。

本研究对 T-SPOT.TB 试验检测活动性结核和非活动性结核进行比较,结果表明活动性结核的阳性率为 86.4%,明显高于非活动性结核的阳性率(44.4%),同其他文献报道结核病活动性与 INF- γ 的量或斑点数目有一定的相关性较一致^[8],非活动性肺结核有一定阳性率,可能与笔者未排除潜伏感染和陈旧性肺结核有关,另外非活动性结核 T-SPOT.TB 试验阳性是否可以提示患者结核复发概率明显增高,值得进一步跟踪观察和研究。有文献报道,T-SPOT.TB 对肺外结核和肺结核的阳性率无统计学差异^[9-10];本研究肺结核组、肺外结核组和混合组的阳性率比较差异有统计学意义,肺结核组的阳性率同混合组较接近且同文献报道较一致,但肺外结核组阳性率偏低,可能与以下原因有关:本研究中肺外结核组中结核性脑膜炎比例占相当大一部分,其阳性率仅为 42.9%,与一些文献报道的不相符^[9];本研究对初治结核组和复治结核 T-SPOT.TB 试验的结果进行了分析,结果表明复治结核组的阳性率高于初治结核组,差异有统计学意义,且复治结合组的阳性率达到了 100%,可能与复治结核患者是由初治失败或治疗后再次复发,或查出肺结核后接受不规则、不合理化疗构成,一般病程较长使体内 T 淋巴细胞受结核杆菌长期频繁刺激有关。但由于本研究复治结核组例数较少,此结论仍需要大量临床和实验室资料进一步证实。

本研究对肺外结核组进行了进一步分析,以结核性胸膜炎、结核性脑膜炎和腹膜炎最常见,淋巴结和支气管结核阳性率最高可能与本研究病例数过少有关,胸膜炎和腹膜炎阳性率较接近,结核性脑膜炎阳性率最低,结核性脑膜炎阳性率同其他文献报道不一致,可能与其他文献大部分采用脑脊液进行 T-SPOT.TB 试验,而本研究采用住院患者外周血有关;结核性脑膜炎早期发现、及时治疗可明显降低患者病死率和减轻后遗症尤为重要,结核性脑膜炎患者疾病初期即可出现明显脑膜刺激征,故临床上选择 T-SPOT.TB 试验检查一般在结核性脑膜炎初期,此时 TBM 患者脑脊液检查往往细胞数高,且以中性粒细胞为主,1~2 周后转为淋巴细胞占优势^[11],故早期淋巴细胞未能通过血脑屏障导致外周血 T-SPOT.TB 敏感性不高,随着疾病进展致敏的淋巴细胞通过血脑屏障,外周血 T-SPOT.TB 试验阳性率可能会升高。因此外周血 T-SPOT.TB 试验在结核性脑膜炎患者中检测时机选择及临床价值有待我们进一

(下转第 1218 页)