

• 论 著 •

γ-干扰素体外释放试验在结核病诊断中的价值

邓 剑

(泸州医学院附属医院检验科, 四川 泸州 646000)

摘 要:目的 探讨 γ-干扰素(γ-IFN)体外释放试验(IGRA)对诊断结核病的临床价值。方法 479 例结核病患者纳入结核病组, 42 例体检健康者纳入对照组。两组被试均行 IGRA、蛋白芯片法检测, 采用抗酸染色(ABF)检测结核病患者痰液中的抗酸杆菌。比较 IGRA 与蛋白芯片法对结核病的诊断效能及在肺结核与肺外结核中的检测效果, 并比较 IGRA 对 AFB 阳性和阴性的肺结核和肺外结核患者的检测效果。结果 IGRA 和结核分枝杆菌蛋白芯片法敏感度分别为 89.56%(429/479)和 76.20%(365/479), 特异度分别为 100.00%(42/42)和 88.10(37/42), 准确率分别为 90.40%(471/521)和 77.16%(402/521)。418 例肺结核患者中 AFB 阳性 127 例, AFB 阴性者 291 例, 其中 AFB 阳性肺结核患者中 IGRA 阳性率为 93.70%(119/127), AFB 阴性肺结核患者阳性率为 88.66%(258/291); 肺外结核 61 例患者 AFB 均阴性, IGRA 和结核分枝杆菌蛋白芯片阳性率分别为 85.25%(52/61)和 68.85%(42/61)。结论 IGRA 与结核分枝杆菌蛋白芯片法相比, 对结核病诊断有较高的敏感度与特异度, 尤其是对 AFB 阴性的结核病有较高的检出率, 值得临床推广应用。

关键词: γ-干扰素释放试验; 肺结核; 肺外结核; 蛋白芯片; 结核分枝杆菌
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.02.020 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2015)02-0191-02

Clinical value of interferon-gamma release assays in diagnosis for tuberculosis

Deng Jian

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the clinical value of interferon-gamma release assays (IGRA) for the diagnosis of tuberculosis. **Methods** A total of 479 patients with tuberculosis were selected into tuberculosis group, and 42 healthy people were selected into control group. All the subjects were detected by IGRA and protein chip. Acid fast bacilli in sputum was detected by acid-fast staining (ABF). The detection effects of the IGRA and protein chip on tuberculosis, pulmonary tuberculosis and extrapulmonary tuberculosis were compared. The detection effects of the IGRA on the negative and positive result of ABF were compared too. **Results** The sensitivity, specificity and accuracy of IGRA and protein chip were 89.56% and 76.26%, 100.00% and 81.00%, 90.40% and 77.16% respectively. The positive rate of IGRA in AFB positive and AFB negative pulmonary tuberculosis were 93.70% (119/127) and 88.66% (258/291). The positive rate of IGRA and protein chip were 85.25% (52/61) and 68.85% (42/61) in extrapulmonary tuberculosis. **Conclusion** Compared with protein chip, IGRA has higher sensitivity and specificity in diagnosis for tuberculosis, in particular for the tuberculosis with negative result of ABF, it is worth of being widely applied in clinic.

Key words: interferon-gamma release assays; pulmonary tuberculosis; extrapulmonary tuberculosis; protein chip; mycobacterium tuberculosis

结核病是严重威胁人类健康的传染病之一, 据世界卫生组织统计, 全球约有 1/3 的人口感染结核分枝杆菌^[1], 目前国内结核病年发病人数约为 130 万, 占全球发病人数的 14.3%, 位居世界第 2 位^[2]。结核分枝杆菌感染率高, 人感染结核分枝杆菌后, 大部分会成为无症状的潜伏性结核感染者, 然而当机体免疫功能降低时, 则会导致结核分枝杆菌大量增殖, 引发临床症状。尽早发现结核分枝杆菌感染是预防和控制结核病传播的重要手段之一, 因此, 加强对结核分枝杆菌感染者和结核病患者的诊断, 已成为结核病防治工作的重点。近年来, 结核分枝杆菌 γ-干扰素(IFN-γ) 释放试验(IGRA) 是一种检测结核分枝杆菌感染和诊断结核病的新方法, 本研究通过对结核病患者进行 IGRA、痰涂片抗酸杆菌(ABF)检测和蛋白芯片法对结核分枝杆菌抗脂阿拉伯甘露糖 IgG(LAM-IgG)、抗 38KDa-IgG 和抗 16KDa-IgG 等特异性抗体进行检测, 探讨 IGRA 释放试验的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院 2013 年 1 月至 2014 年 3 月结核病住院患者 479 例, 其中男 204 例, 女 275 例; 平均(39.34±22.63)

岁。所有入选病例均经临床或细菌学检查确诊^[3], 肺结核 418 例, 肺外结核 61 例, 其中包括结核性胸膜炎 24 例, 结核性腹膜炎 13 例, 淋巴结核 8 例、骨结核 10 例及结核性脑膜炎 6 例。42 例体检健康者纳入对照组, 其中男 19 例, 女 23 例; 平均(33.58±19.92) 岁, 均否认结核病接触史。所有入选病例均排除原发性免疫缺陷性疾病, 近一月内未接受免疫抑制药物治疗。

1.2 标本采集 所有检测对象均于清晨采集空腹静脉血 5 mL, 肝素抗凝, 采血后立即进行 IGRA 检测。同时采集静脉血 3 mL, 室温静置 30 min, 3 000 r/min 离心 10 min, 弃上层血清, 检测结核分枝杆菌特异性抗体。采集所有患者清晨深部咳嗽痰液, 抗酸染色检测抗酸杆菌。

1.3 检测方法 采用北京万泰生物药业股份有限公司生产的结核感染 T 细胞检测试剂盒进行 IGRA 检测。采用蛋白芯片法检测结核分枝杆菌特异性抗体(抗 LAM-IgG、抗 8KDa-IgG 和抗 16KDa-IgG 抗体), 3 种抗体中任一种阳性则判断患者感染结核分枝杆菌, 试剂盒购自南京大渊生物科技有限公司; 抗酸染色法检测痰液中抗酸杆菌, 抗酸染液购自四川迈克科技有

限公司。所有检测均严格按照说明书规范操作。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件对数据进行处理及统计学分析,计数资料以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两种检测方法对结核病的诊断效能比较 IGRA 对结核病组与对照组检测阳性率分别为 89.56%(429/479)、0.00%(0/42);结核蛋白芯片法对结核病组与对照组检测阳性率分别为 76.20%(365/479)、11.90%(5/42)。与结核蛋白芯片法相比,IGRA 诊断结核病的敏感度、特异度、准确度均优于结核蛋白芯片法,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 两种方法对结核病的诊断效能比较 [% (n/n)]			
方法	敏感度	特异度	准确度
IGRA 法	89.56(429/479)	100.00(42/42)	90.40(471/521)
蛋白芯片法	76.20(365/479)	88.10(37/42)	77.16(402/521)
χ^2	30.134	5.316	33.625
P	<0.05	<0.05	<0.05

2.2 两种方法在肺结核与肺外结核中的检测效果比较 IGRA 和结核蛋白芯片法对肺结核的检出率分别为 90.19%(377/418)和 77.27%(323/418),差异有统计学意义($\chi^2=25.607, P<0.05$);两种方法对肺外结核的检出率分别为 85.25%(52/61)和 68.85%(42/61),差异有统计学意义($\chi^2=4.635, P<0.05$)。

2.3 IGRA 对 AFB 阳性和阴性的肺结核和肺外结核患者的检测效果 AFB 结果表明,418 例肺结核中 AFB 阳性 127 例,AFB 阴性 291 例;61 例肺外结核患者 AFB 均为阴性;AFB 的敏感度为 26.51%。AFB 阳性的肺结核患者 IGRA 阳性率为 93.70%(119/127),AFB 阴性肺结核患者 IGRA 阳性率仍高达 88.66%(258/291),二者比较差异无统计学意义($\chi^2=2.540, P>0.05$);61 例肺外结核患者 IGRA 阳性率为 85.25%(52/61)。

3 讨 论

目前结核病诊断方法种类繁多,其中细菌学培养是结核病诊断的金标准,但是敏感度较低且耗时长,对肺外结核病的诊断阳性率更低,影像学、结核菌素皮肤试验(TST)、结核分枝杆菌抗体检查、分子诊断等方法均存在一定的局限性,因此寻找新的灵敏度高、特异度强的检测方法对结核病进行早期诊断具有十分重要的意义。

IGRA 是一种新型的快速诊断结核分枝杆菌感染的免疫学方法。基于机体感染结核分枝杆菌后,体内存在特异的记忆 T 淋巴细胞,其在体外再次受到早期分泌靶向抗原 6000 蛋白(ESAT-6)和培养滤过蛋白 10(CFP-10)等结核分枝杆菌特异抗原刺激时,会快速分泌释放 IFN- γ ,通过检测 IFN- γ 的水平可以了解机体对结核分枝杆菌的免疫应答状态,从而判断机体是否感染结核分枝杆菌^[4]。本研究结果显示,IGRA 特异度明显高于结核分枝杆菌蛋白芯片法($P<0.05$),原因在于 ESAT-6 和 CFP-10 的蛋白编码来源于结核分枝杆菌基因中的一个菌种特异性基因片断,被称为“region of difference 1”(RD1),这个基因片段在大部分的分枝杆菌以及所有的牛型分枝杆菌(包括卡介苗)中均不存在,因此 ESAT-6 和 CFP-10 具有高度菌种特异性,这个明显的优势也使 IGRA 特异度大大提高^[5]。

本研究结果显示,IGRA 与结核分枝杆菌蛋白芯片法敏感度分别为 89.56% 和 76.20%,特异度分别为 100.00% 和 88.10%,准确度分别为 90.40% 和 77.16%,IGRA 检测效能

明显优于结核分枝杆菌蛋白芯片法。同时,两种方法对肺结核的检出率分别为 90.19% 和 77.27%,对肺外结核的检出率分别为 85.25% 和 68.85%,表明 IGRA 检测肺结核和肺外结核敏感度明显高于结核分枝杆菌蛋白芯片法。本研究还表明,IGRA 对 AFB 阳性的肺结核患者和 AFB 染色阴性的肺结核检出率比较差异无统计学意义($P>0.05$),对肺外结核的检出率仍高达 85.25%。上述结果表明,IGRA 比结核分枝杆菌蛋白芯片法对诊断结核病具有更高的敏感度与特异度,尤其是对 AFB 阴性的肺结核和肺外结核有 80% 以上的检出率,表明 IGRA 对于用常规方法难以检测的结核病患者也具有重要诊断价值。

综上所述,IGRA 诊断人体肺内肺外的结核病具有较高的特异度、敏感度、准确度^[6-7],是目前欧美发达国家替代 TST 诊断结核分枝杆菌感染的一种新方法^[8],在结核病的诊断中具有良好的应用前景,尤其是在 AFB 阴性的肺结核和肺外结核的诊断与鉴别诊断中有着重要临床价值。但是,IGRA 是检测记忆 T 淋巴细胞受特异性抗原刺激后分泌的 IFN- γ ,其缺点是不能对活动性结核病和潜伏性结核感染加以鉴别且可能出现一定比例的不确定结果^[9-11]。

参考文献

[1] Nachega JB, Uthman OA, Ho YS, et al. Current status and future prospects of epidemiology and public health training and research in the WHO African region[J]. Int J Epidemiol, 2012, 41(6): 1829-1846.

[2] World health organization. Global tuberculosis control: WHO report 2011[J]. Aust NZ J Publ Heal, 2011, 36(5): 497-498.

[3] 中华医学会. 临床诊疗指南-结核病分册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 1-46.

[4] Madariaga MG, Jalali Z, Swindells S. Clinical utility of interferon gamma assay in the diagnosis of tuberculosis [J]. J Am Board Fam Med, 2007, 20(6): 540-547.

[5] Molten R, Morten BA, Paulo R, et al. CXCL10/IP-10 release is induced by incubation of whole blood from tuberculosis patients with ESAT-6, CFP10 and TB7. 7 [J]. Microbes and Infection, 2007, 9(9): 806-812

[6] Breen RA, Hardy GA, Perrin RM, et al. Rapid diagnosis of smear-negative tuberculosis using immunology and microbiology with induced sputum in HIV-infected and uninfected individuals [J]. Plos One, 2007, 2(12): 1335-1339.

[7] Strassburg A, Jafari C, Ernst M, et al. Rapid diagnosis of pulmonary TB by BAL enzyme-linked immunospot assay in an immunocompromised [J]. Eur Respir J, 2008, 31(5): 1132-1135.

[8] Lalvani A. Diagnosing tuberculosis infection in the 21st century: new tools to tackle a old enemy [J]. Chest, 2007, 131(6): 1898-1906.

[9] Mazurek GH, Villarino ME. Updated guidelines for using interferon gamma release assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection united states, 2010[J/OL]. Mub Mortal Wkly Rep, 2010, 59(5): 1-25.

[10] 杨新婷, 贾红彦, 李琦, 等. 全血 γ 干扰素释放试验在菌阴肺结核中诊断价值的临床观察[J]. 中国临床医生, 2013, 41(3): 42-45.

[11] 杨新婷, 梁清涛, 杨扬, 等. 不同抗原全血 ELISA 检测技术对活动性肺结核的辅助诊断价值研究[J]. 结核病与肺部肿瘤, 2014, 43(1): 10-13.