

• 论 著 •

T-SPOT. TB 在涂阴肺结核中的快速诊断价值*

黄丽美, 林健雄[△], 彭东东, 刘晓燕, 郭苏珊, 李耿聪

(广东省汕头市结核病防治所, 广东汕头 515041)

摘要:目的 评价结核感染 T 细胞试验(T-SPOT. TB)在涂阴肺结核病诊断上的价值。方法 利用 T-SPOT. TB、TB-DNA、TB-DOT 3 种结核病诊断方法对 112 例确诊涂阴肺结核病患者和 60 例非结核病对照者分别进行检测。结果 T-SPOT. TB 试验检测灵敏度为 88.3%, TB-DNA、TB-DOT 的灵敏度依次为 25.9%、58.9%, 与 T-SPOT. TB 试验相比, 差异均有统计学意义($\chi^2 = 86.6, P < 0.05$; $\chi^2 = 23.3, P < 0.05$); T-SPOT. TB 试验特异度为 96.7%, 显著高于 TB-DOT(78.3%), 差异有统计学意义($\chi^2 = 9.22, P < 0.05$)。结论 T-SPOT. TB 对涂阴肺结核病的敏感性和特异性都有明显的优势, 可以作为涂阴肺结核病早期诊断的一种辅助检查手段, 具快速准确的诊断价值。

关键词:涂阴肺结核病; T-SPOT. TB; TB-DNA; TB-DOT

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.14.008

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)14-1975-02

The rapid diagnosis value of T-SPOT. TB for smear negative pulmonary tuberculosis*

Huang Limei, Lin Jianxiong[△], Peng Dongdong, Liu Xiaoyan, Guo Sushan, Li Gengcong

(Tuberculosis Control, Shantou, Guangdong 515041, China)

Abstract:Objective To evaluate the diagnostic value of Tuberculosis Infection in T Cell Test(T-SPOT. TB) for smear negative pulmonary tuberculosis. Methods Separately used T-SPOT. TB, TB-DNA, TB-DOT the three diagnostic methods for tuberculosis, separately detected with each method, 112 smear negative pulmonary tuberculosis, and 60 non tuberculosis regarded as control group. Results The sensitivity of T-SPOT. TB, TB-DNA, TB-DOT in proper sequence were 88.3%, 25.9%, 58.9%. Contrasted to TB-DNA and TB-DOT, the differences were statistically significant($X^2 = 86.6, P < 0.01$; $X^2 = 23.3, P < 0.01$); the specificity of T-SPOT. TB was 96.7%, significantly higher than TB-DOT(78.3%), the differences were statistically significant($X^2 = 9.22, P < 0.05$). Conclusion T-SPOT. TB has obvious advantages in sensitivity and specificity for smear negative pulmonary tuberculosis. It can be one auxiliary tool for smear negative pulmonary tuberculosis early diagnosis, provided with the value of fast and accurate.

Key words: smear negative pulmonary tuberculosis; T-SPOT. TB; TB-DNA; TB-DOT

根据世界卫生组织统计, 结核病仍然是全世界的首要传染病杀手, 2013 年全球有 900 万人患结核病, 死亡 150 万, 而由其他传染疾病引起的死亡总人数还不到其一半。控制结核病的关键是尽早发现、隔离和治疗活动性肺结核^[1], 寻找一种能有效提高结核病的检出率的方法尤为重要。近十余年来对结核病的实验诊断工具研究不断加大投入, 使新的诊断技术不断出现。结核杆菌为胞内致病菌, 免疫类型以 T 细胞介导的细胞免疫为主, 当机体感染结核杆菌后, 巨噬细胞的抗原提呈作用使周围的 T 淋巴细胞致敏, 产生包括 γ -INF 在内的多种淋巴因子, 从而杀死病灶中的结核杆菌。与此同时, 机体会产生 T 淋巴细胞介导的迟发型超敏反应, 当发生再次感染时, 记忆 T 淋巴细胞会迅速激活, 在结核特异性抗原如早期分泌靶抗原-6KD(ESAT-6)或培养滤过蛋白-10KD(CFP-10)的刺激下分泌 γ -INF, 从而进行细胞免疫^[2-4]。T-SPOT. TB 是近年来产生的新的检测技术, 通过定量检测全血在结核特异性抗原 ESAT-6 和 CFP-10 刺激下释放 γ -INF 的 T 淋巴细胞数目, 来协助诊断结核病^[5-7]。本文对 112 例确诊涂阴肺结核病患者和 60 例非结核病对照者分别用 T-SPOT. TB、TB-DNA、TB-DOT 3 种方法进行检测, 评价 T-SPOT. TB 在结核病上的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本所确诊涂阴肺结核病例 112 例, 全部

病例均符合《临床诊疗指南结核病分册》(2002 年)所制定的涂阴肺结核病临床诊疗标准^[8]。男 65 例, 女 47 例, 年龄 19~89 岁, 平均 54.9 岁。均有长期低热、反复咳嗽咳痰、消瘦、盗汗、食欲不振及神疲乏力等临床表现, 痰涂片抗酸染色 3 次均为阴性, 经系统抗结核治疗有效。非结核呼吸系统疾病对照组 60 例(包括肺炎 30 例、肺气肿 9 例、肺癌 21 例, 经相关检查及治疗后确认为非结核呼吸系统疾病患者, 经仔细询问均未有活动性结核病患者密切接触史)。其中男 31 例, 女 29 例, 年龄 17~88 岁, 平均 53.2 岁。

1.2 检测方法

1.2.1 T-SPOT 检测方法 采集被检者外周静脉血, 依据试剂盒的说明进行操作, 提取单个核细胞, 加入结核特异性抗原刺激, 经培养显色后显微镜下计数斑点数(即分泌 γ -干扰素的单个核细胞数)。抗结核治疗可能导致结果假阴性, 标本溶血会降低 T-SPOT 对结核的灵敏度^[3]。故确诊涂阴肺结核病例均在未治疗前进行采血, 且保证标本不溶血。

1.2.2 TB-DNA 检测 以干净一次性无菌容器分别收集被检者晨痰 2 mL, 经消化处理后, 裂解提取离心沉渣 DNA, 置于达安 760 荧光定量扩增分析仪内扩增, 由仪器报告结果。

1.2.3 TB-DOT 检测方法 采集被检者外周静脉血, 离心后取血清, 按试剂盒的说明进行操作。

* 基金项目: 广东省汕头市科技重点攻关课题(2012165)。 作者简介: 黄丽美, 女, 主管检验师, 主要从事结核病及耐多药结核病的诊断技术研究。 [△] 通讯作者, E-mail: 823727864@qq.com。

1.3 统计学处理 应用 SPSS19.0 分析,本研所得数据均为计数数据,均以%表示,分别以 χ^2 检验进行分析,当 $P < 0.05$ 时为存在统计学差异。

2 结 果

表 1 确诊患者 3 种检测方法结果

方法	总数(n)	阳性数(n)	敏感性(%)	χ^2 值*	P*
T-SPOT. TB	112	98	88.3		
TB-DNA	112	29	25.9	86.6	<0.05
TB-DOT	112	66	58.9	23.3	<0.05

*: T-SPOT. TB 法分别与 TB-DNA、TB-DOT 比较计算 χ^2 值和 P 值。

表 2 非结核菌对照组 3 种检测方法结果

方法	总数(n)	阴性数(n)	特异性(%)	χ^2 值*	P*
T-SPOT. TB	60	58	96.7		
TB-DNA	60	60	100.0	1.09	>0.5
TB-DOT	60	47	78.3	9.22	<0.5

*: T-SPOT. TB 法分别与 TB-DNA、TB-DOT 比较计算 χ^2 值和 P 值。

3 讨 论

结核病的有效控制有赖于对活动性结核病例的快速检测和治疗,但诊断常常是困难和延迟的。我国的结核病控制策略仍然采取痰涂片作为主要的诊断方法,尽管涂片阳性肺结核可以在数小时内快速诊断,但肺外结核和涂阴肺结核却费时,且不易通过细菌学确诊,因此寻找一种更合适的检验方法尤为重要。培养是国内外公认的金标准,相比涂片虽然可以小幅提高阳性检出率,但由于结核分枝杆菌缓慢的生长特性,即使采用最先进的液体快速培养仍需要 1~2 周才能获得阳性结果,显然不符合临床快速诊断的需求;本文采用的 3 种结核诊断辅助方法均能在 24 h 内获得检查结果,且在临床上广泛应用。其中 TaqMan 探针技术的分子生物学方法近年来使用日趋成熟,4 h 内即可获得结果,而且特异性和敏感性可以与培养法媲美^[9];TB-DOT 是采用胶体金方法快速检测患者血清中存在的特异性结核抗体,由于操作简便而广泛使用。

本研究中 T-SPO T. TB 表现出明显的优越性,T-SPOT. TB 的敏感性为 88.3%、特异性为 96.7%,相比 TB-DNA 的敏感性(34.8%)和特异性(100%),二者特异性无统计学差异($\chi^2=1.09, P>0.5$);,而 T-SPOT. TB 敏感性大大提高($\chi^2=86.6, P<0.05$);相比 TB-DOT (敏感性 58.9%,特异性 78.3%),则无论敏感性还是特异性均存在统计学差异($\chi^2=$

23.3, $P<0.05$; $\chi^2=9.22, P<0.05$)。本研究与国内刘艳等^[10]文献报道 T. SPOT. TB 在菌阴肺结核组中的敏感性(89.6%)和特异性(91.1%)接近,该作者研究的是 T-SPOT. TB 在菌阴肺结核中的诊断价值,菌阴肺结核的研究范围稍小于本研究的范围,即涂片阴性减去涂阴培阳的部分,但要确定菌阴必须培养 6~8 周后,因而本文对涂阴患者的诊断研究则更具时效性。对于涂片阴性肺结核的试验诊断,结核病的病原学诊断(包括涂片、培养、分子生物学检测)虽然具有确诊意义,但存在阳性检出率低(30~40%)的不足^[9],对于病原学诊断检出阴性部分,只能依赖免疫学诊断或根据临床排除性诊断或进行诊断性治疗,在当前尚无更好的诊断工具问世之前,T-SPOT. TB 有明显的优势,本研究通过与 TB-DNA、TB-DOT 的比较表明在临床上对疑似肺结核而又涂片阴性患者进行 T-SPOT. TB 检测有较高的敏感度和特异性,具快速准确的诊断价值。

参考文献

- [1] 高谦,梅建. 早期诊断技术的突破是当前控制结核病的关键[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(7):729-731.
- [2] 李文丽,李金明. 结核病实验室诊断新进展[J]. 实用医院临床杂志,2012,9(1):11-14.
- [3] Simsek H, Alpar S, Ucar N, et al. Comparison of tuberculin skin testing and T-SPOT. TB for diagnosis of latent and active tuberculosis[J]. Jpn J Infect Dis,2010,63(2):99-102.
- [4] Turtle L, Kemp T, Davies GR, et al. In routine UK hospital practice T-SPOT. TB is useful in some patients with a modest pre-test probability of active tuberculosis[J]. Eur J Intern Med,2012,23(4):363-367.
- [5] 杜森荣,侯秀英. 结核感染 T 细胞酶联免疫斑点试验对结核诊断价值的 Meta 分析[J]. 中国临床研究,2014,27(5):526-529.
- [6] 张瑛,孙亚蒙,徐欣晖,等. 结核感染 T 细胞斑点试验在结核性疾病中的诊断价值[J]. 中华临床医师杂志(电子版),2010,4(12):2431-2434.
- [7] 张丽帆,刘晓清. γ 干扰素释放分析 T-SPOT. TB 诊断结核感染临床应用进展[J]. 中国医学科学院学报,2009,31(4):506-510.
- [8] 中华医学会. 临床诊疗指南-结核病分册[M]. 中华医学会,2005:1
- [9] 林健雄,纪丽微,彭东东,等. 结核病早期诊断技术组合的临床应用评价[J]. 广东医学杂志,2009,30(8):1145-1147.
- [10] 刘艳,浦永兰,王杰. T-SPOT. TB 在菌阴肺结核中的诊断价值[J]. 中国医学创新杂志,2013,34(2):124-125.

(收稿日期:2015-03-08)

(上接第 1974 页)

- enterovirus 71[J]. BMC Infect Dis,2013,13(1):383.
- [9] 王宝因,郑链跃,韦翊,等. 手足口病患儿心肌损伤的监测[J]. 中华医院感染学杂志,2014,30(8):2051-2053.
- [10] 李媛霞. 60 例病毒性心肌炎患者的心电图观察[J]. 医学综述,2013,19(7):1304-1305.
- [11] 邹志宝. 心肌酶谱、高敏肌钙蛋白在小儿手足口并发心肌炎的诊断[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(20):2760-2761,2764.
- [12] Song C, Yibing C, Guo Y, et al. Risk factors of severe hand, foot

and mouth disease complicated with cardiopulmonary collapse[J]. Infect Dis,2015,28(1):1-5.

- [13] 吕娇凤,谢爱民,姚全良,等. 心脏型脂肪酸结合蛋白定性检测对急性心肌梗死早期诊断的价值[J]. 实用医学杂志,2012,28(4):647-649.
- [14] 马健. 心肌型脂肪酸结合蛋白对早期诊断心肌损伤的意义探讨[J]. 临床和实验医学杂志,2012,19(11):1535-1536.

(收稿日期:2015-02-18)