

• 论 著 •

涂阳肺结核患者 TB-DNA 定量、 γ 干扰素释放试验、结核抗体检测的价值

李 辉¹, 汤 进^{2△}, 黄晓霞²

(1. 汉中市中心血站检验科, 陕西汉中 723000; 2. 汉中市中心医院检验科, 陕西汉中 723000)

摘 要:目的 探讨肺结核(TB)-DNA 定量、 γ 干扰素释放试验(T-SPOT, TB)、结核抗体检测对活动性肺结核辅助诊断的价值。方法 回顾性分析 2013 年 7 月至 2014 年 6 月入院确诊为肺结核且抗酸杆菌痰涂片阳性 51 例患者的 TB-DNA 定量、T-SPOT, TB、结核抗体检测指标。结果 T-SPOT, TB 检测阳性率为 90.2%, 灵敏度最高; 其次为 TB-DNA 定量, 阳性率为 74.5%; 结核抗体检测阳性率仅为 37.3%, 灵敏度最低。结论 T-SPOT, TB 检测不受标本采集的影响, 灵敏度高, 对活动性肺结核的辅助诊断具有较高价值。

关键词: 结核, 肺/诊断; 分枝杆菌, 结核; 染色与标记; 显微镜检查; TB-DNA 定量; γ 干扰素释放试验; 结核抗体
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.02.028 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)02-0211-03

The value of quantitative TB-DNA test, interferon gamma release test, tuberculosis antibody detection in the pulmonary tuberculosis smear positive patients

Li Hui¹, Tang Jin^{2△}, Huang Xiaoxia²

(1. Department of Clinical Laboratory, Hanzhong Central Blood Station, Hanzhong, Shannxi 723000, China;
2. Department of Clinical Laboratory, Hanzhong Central Hospital, Hanzhong, Shannxi 723000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the value of quantitative TB-DNA test, interferon gamma release test and the detection of tuberculosis antibodies for the diagnosis of active pulmonary tuberculosis. **Methods** 51 patients were diagnosed as tuberculosis from 2013 July to 2014 June in the hospital, whose sputum smear microscopy for acid fast bacilli were positive. Then TB-DNA quantitative test, interferon gamma release test (T-SPOT, TB) and tuberculosis antibody detection were performed for those patients. All the result were retrospectively analysed. **Results** The positive rate of T-SPOT, TB was 90.1%, the positive rate of quantitative TB-DNA test was 74.5% and the positive rate of tuberculosis antibody detection was 37.3%. **Conclusion** Because the result of T-SPOT, TB is not affected by the process of specimen collection, it is the most sensitive test of the three tests at present, and has higher value in the auxiliary diagnosis of active pulmonary tuberculosis than the other two.

Key words: tuberculosis, pulmonary/diagnosis; mycobacterium tuberculosis; staining and labeling; microscopy; quantitative TB-DNA; interferon gamma release test; tuberculosis antibody

我国是世界上 22 个结核病高疫情国家之一, 患者数居世界第 2 位, 感染率为 44.5%, 活动性结核病患者为 450 万例, 每年死亡人数达 13 万例, 是其他传染病总死亡人数的 2 倍以上^[1]。其中肺结核(TB)最为常见, 痰涂片抗酸杆菌阳性(以下简称涂片阳性)是最简便、实用的手段, 也是活动性 TB 重要检测指标之一。本研究试图通过对 51 例确诊为活动性 TB 且涂片阳性患者的 DNA 定量、 γ 干扰素释放试验(T-SPOT, TB)、结核抗体检测探讨活动性肺结核辅助诊断的价值, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 7 月至 2014 年 6 月陕西省汉中市中心医院确诊为 TB 且涂片阳性患者 51 例, 其中男 27 例, 女 24 例, 男女性别比 1:1.12; 年龄 13~78 岁。51 例患者均进行结核杆菌痰涂片、TB-DNA 定量、T-SPOT, TB、结核抗体检测。

1.2 方法

1.2.1 标本采集

1.2.1.1 痰液标本的采集 患者清晨用生理盐水漱口后深部咳出痰于 2 个无菌密封痰杯内, 30 min 内送至实验室; 立即进行痰涂片显微镜低倍视野下白细胞大于 25 个, 鳞状上皮细胞

小于 10 个, 判断痰液合格后进行抗酸染色及 TB-DNA 定量检测。

1.2.1.2 血液标本的采集 用肝素钠管和生化管分别采集患者清晨空腹静脉血 3.5 mL, 2 h 内送至实验室进行检测。

1.2.2 结核杆菌痰涂片 染色方法采用齐尔-尼尔森(Ziehl-Neelsen)染色法; 试剂采用贝索公司成品染液。结果判读标准: 在淡蓝色背景下抗酸杆菌呈红色, 其他细菌和细胞呈蓝色。根据细菌数量分为 6 个标准: (1) 抗酸杆菌阴性, 连续观察 300 个不同视野, 未发现抗酸杆菌; (2) 抗酸杆菌可疑(±), 1~2 条抗酸杆菌/300 视野; (3) 抗酸杆菌阳性(1+), 3~9 条抗酸杆菌/100 视野; (4) 抗酸杆菌阳性(2+), 1~9 条抗酸杆菌/10 视野; (5) 抗酸杆菌阳性(3+), 1~9 条抗酸杆菌/每视野; (6) 抗酸杆菌阳性(4+), ≥ 10 条抗酸杆菌/每视野。

1.2.3 TB-DNA 定量 荧光定量-聚合酶链反应(FQ-PCR)基因扩增仪及 TB-PCR 荧光定量检测试剂盒使用中山大学达安基因股份有限公司产品, 结果判读标准: >50 拷贝为 TB-DNA 阳性。

1.2.4 T-SPOT, TB 使用英国 Oxford Immunotec 公司结核感染 T 细胞检测试剂盒, 结果判读标准: A 抗原孔或 B 抗原孔斑点数大于等于 6 为阳性。

1.2.5 结核抗体检测 金标法试剂盒由珠海市银科医学工程有限公司提供。

2 结 果

2.1 51 例涂片阳性患者 TB-DNA、T-SPOT. TB、结核抗体检测结果 T-SPOT. TB 检测 A 抗原孔均值为 63,B 抗原孔均值为 179。TB-DNA 在 10³ 拷贝级别 5 例,占 9.8%;10⁴ 拷贝级别 7 例,占 13.7%;10⁵ 拷贝级别 5 例,占 9.8%;10⁶ 拷贝级别 18 例,占 35.3%;10⁷ 拷贝级别 3 例,占 5.9%。见表 1。

表 1 51 例涂片阳性患者 TB-DNA、T-SPOT. TB、结核抗体检测结果

患者 编号	抗酸染色 涂片结果	TB-DNA (拷贝)	T-SPOT. TB(斑点数)		结核 抗体
			A 抗原孔	B 抗原孔	
1	1+	1.26×10 ⁶	20	436	+
2	3+	2.3×10 ⁵	66	215	—
3	1+	< 50	30	8	—
4	2+	6.7×10 ⁶	201	84	+
5	2+	1.9×10 ³	123	30	—
6	3+	8.29×10 ⁶	56	302	+
7	2+	2.3×10 ⁶	29	420	+
8	3+	1.6×10 ⁶	56	265	+
9	2+	< 50	21	3	—
10	2+	< 50	27	4	—
11	2+	2.3×10 ⁶	46	12	—
12	1+	1.5×10 ⁴	38	65	—
13	1+	< 50	1	0	—
14	1+	1.6×10 ⁷	44	178	+
15	1+	3.2×10 ⁴	45	125	—
16	2+	< 50	37	14	+
17	2+	2.2×10 ⁶	52	360	+
18	1+	1.25×10 ⁴	56	63	—
19	1+	< 50	3	5	—
20	2+	2.36×10 ³	25	63	—
21	1+	1.75×10 ⁴	230	124	+
22	1+	< 50	42	12	—
23	2+	1.1×10 ⁷	56	269	—
24	2+	5.2×10 ⁴	127	356	+
25	2+	< 50	122	28	+
26	3+	4.2×10 ⁶	29	365	—
27	2+	1.66×10 ⁶	45	256	—
28	2+	3.3×10 ⁵	12	56	—
29	2+	6.2×10 ⁶	68	298	+
30	3+	7.7×10 ⁵	158	235	+
31	2+	3.9×10 ³	5	6	—
32	4+	8.09×10 ⁶	55	489	+
33	1+	2.47×10 ⁶	3	5	+
34	2+	1.55×10 ⁶	98	563	—
35	1+	< 50	145	153	—

续表 1 51 例涂片阳性患者 TB-DNA、T-SPOT. TB、结核抗体检测结果

患者 编号	抗酸染色 涂片结果	TB-DNA (拷贝)	T-SPOT. TB(斑点数)		结核 抗体
			A 抗原孔	B 抗原孔	
36	2+	< 50	23	15	—
37	1+	5.3×10 ³	25	232	—
38	3+	5.29×10 ⁶	98	554	+
39	1+	2.54×10 ⁶	33	253	—
40	2+	1.75×10 ⁶	54	213	+
41	1+	< 50	55	45	—
42	1+	< 50	0	5	—
43	1+	2.9×10 ³	154	21	—
44	1+	4.51×10 ⁴	45	56	+
45	1+	1.51×10 ⁴	51	32	—
46	2+	2.36×10 ⁷	23	452	+
47	1+	3.43×10 ⁶	36	21	—
48	2+	2.6×10 ⁶	42	256	—
49	1+	<50	12	6	—
50	1+	1.3×10 ⁵	0	0	—
51	1+	2.87×10 ⁵	78	214	—

2.2 51 例涂片阳性患者 TB-DNA、T-SPOT. TB、结核抗体检测结果比较 见表 2。

表 2 51 例涂片阳性患者 TB-DNA、T-SPOT. TB、结核抗体检测结果比较

项目	阳性(n)	阴性(n)	阳性率(%)
TB-DNA 定量	38	13	74.5
T-SPOT. TB	46	5	90.2
结核抗体	19	32	37.3

3 讨 论

不同方法对痰液结核分枝杆菌的检测效果存在差异,应根据临床实际情况加以选择,发挥不同检测手段的优势^[2]。通过对涂片阳性 TB 患者 TB-DNA、T-SPOT. TB、结核抗体检测结果显示,T-SPOT. TB 检测阳性率为 90.2%,灵敏度最高,与于永敏^[3]和王莹等^[4]报道的结果相近。5 例阴性患者中 4 例均来自血液科,白细胞计数均低于 2.0×10⁶ L⁻¹,是否对 T-SPOT. TB 检测构成影响尚有待于进一步研究。

TB-DNA 检测阳性率为 74.5%,与朱玉兰等^[5]报道的 100.0%有一定差距,分析其原因可能有以下几点:(1)与痰标本留取的质量有关,如果患者痰液留取不规范,标本中很可能无结核杆菌,故造成阴性;(2)主观误差,PCR 检测操作要求很高,个别标本在 DNA 提取过程中很有可能造成 DNA 裂解或破坏,造成阴性;(4)本研究 TB-DNA 和结核杆菌涂片未用同一份标本检测,而是 2 份标本分别检测,会造成 2 份标本有一定差异;(4)朱玉兰等^[5]报道的 100.0%阳性率尚有待于其他研究进一步论证。

结核抗体检测阳性率仅为 37.3%,灵敏度很低,与张瑛等^[6]报道的结果一致,但与辛茶香等^[7]和邱素(下转第 215 页)

混合感染密切相关,可作为细菌感染和病毒感染的鉴别指标,与刘怀平等^[4]报道结果一致。

CRP 是由肝脏合成并分泌的急性时相反应蛋白^[5],在不同病理状态下如各种感染、心血管疾病、风湿性疾病等均可升高,当病情好转时随之下降,常被临床作为细菌和病毒感染鉴别的有效指标。本研究结果显示治疗后细菌感染组和混合感染组患者 CRP 水平明显低于治疗前,而病毒感染组治疗前后无明显变化,提示该指标对监测和评估老年 ARI 具有非常重要的意义。

PCT 是降钙素的前体物质^[6],是主要由甲状腺 C 细胞分泌的促炎症介质,是一种新的细菌感染早期诊断指标,已广泛用于细菌感染早期诊断及预后评估^[7],有研究表明当老年患者受到细菌感染时 PCT 水平急剧上升,在感染发生后很短时间内即可被检出,而当感染被控制后又快速下降^[8]。本研究结果显示治疗前细菌感染组和混合感染组患者 PCT 水平明显高于对照组,而经过合理抗感染治疗后 PCT 水平明显下降,而病毒感染组患者治疗前后 PCT 水平无明显变化,表明 PCT 是检测老年感染性疾病有效的指标。本研究同时对细菌感染组、混合感染组和病毒感染组患者治疗前后 PCT 与其他指标进行了相关性分析,结果显示,治疗前后细菌感染组和混合感染组 PCT 与 CRP 均呈正相关,与 PA 均呈负相关;治疗前后病毒感染组 PCR 与 CRP、PA 均无关。进一步证明了 PCT 在鉴别细菌感染与病毒感染及药物疗效观察中具有不可替代的作用。

本研究同时分析了 PCT、CRP、PA 3 项指标联合检测老年 ARI 的灵敏度、特异性、准确度、阳性预测值、阴性预测值和约登指数,分别为 94.27%、86.47%、93.47%、87.42%、90.42%、0.81,均高于单项检测,提示 3 项指标联合检测既可提高诊断老年 ARI 的准确度,又可降低漏治率,可以为老年 ARI 的早期正确的诊断提供参考。

(上接第 212 页)

娟等^[8]报道的 79.6%和 84.1%差距较大,分析可能为不同厂家试剂灵敏度和特异性存在较大差异。故在活动性结核诊断中不推荐应用。

通过以上分析作者认为,T-SPOT. TB 检测不受标本采集的影响,灵敏度高,对活动性 TB 的辅助诊断具有很高价值。刘珍琼等^[9]采用 T-SPOT. TB 检测外周血和胸腔积液中单个核细胞结核杆菌感染,结果发现有助于提高结核性胸膜炎的诊断率,且在疑似结核患者中 T-SPOT. TB 检测阳性预测值为 96.5%,阴性预测值为 86.9%,具有较高的灵敏度和特异性^[10],另外伍仕敏等^[11]报道 T-SPOT. TB 检测对诊断结核病有较高的灵敏度与特异性,尤其是对抗酸杆菌阴性的肺结核和肺外结核有 80%以上的检出率,有很好的临床应用前景^[11],故作者认为该项技术值得临床推荐应用。

T-SPOT. TB A 抗原孔均值为 63,B 抗原孔均值为 179;对高于均值的其他结核患者是否提示活动性结核的可能?尚有待于进一步研究。

参考文献

[1] 全国结核病流行病学抽样调查技术指导组. 2000 年全国结核病流行病学抽样调查报告[J]. 中国防痨杂志,2002,24(2):65-108.
[2] 王慧. 3 种方法对痰液标本结核分枝杆菌检测结果的影响[J]. 临床合理用药杂志,2013,6(7):107-108.

综上所述,PCT、CRP、PA 在老年 ARI 的早期诊断和鉴别诊断中具有重要临床参考价值,三者联合检测不但可提高疾病确诊率,降低误、漏诊率,而且对临床合理使用抗生素和防止药物滥用具有有效的指导作用。

参考文献

[1] Kurata K, Kazuyori T, Shimizu K, et al. Usefulness of serum procalcitonin measurement in the diagnosis of respiratory infectious diseases[J]. Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi, 2010, 48(9):654-660.
[2] 陆再英, 钟南山. 内科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 11-45.
[3] 杨琼, 俞文萍, 张艳. 血清前清蛋白和 C-反应蛋白检测在小儿感染性疾病临床诊断中的应用[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(10):2233-2234.
[4] 刘怀平, 张建东, 丁贤, 等. 降钙素原等多项指标联合检测对老年患者抗细菌感染价值分析[J]. 中华老年医学杂志, 2012, 31(10): 863-866.
[5] 张洁. 降钙素原、C-反应蛋白、前白蛋白联合检测在肺部感染中的应用体会[J]. 现代诊断与治疗, 2014, 25(15): 3475-3476.
[6] 侯艳, 陈卫强, 刘卫, 等. 血清降钙素原检测对肺部感染诊断及治疗的临床价值[J]. 临床军医杂志, 2014, 42(10):1007-1008.
[7] 杨滨, 康海. 降钙素原在细菌感染性疾病诊断及治疗中的应用[J]. 现代预防医学, 2009, 36(3):596-597, 封 3.
[8] Bellmann-Weiler R, Ausserwinkler M, Kurz K, et al. Clinical potential of C-reactive protein and procalcitonin serum concentrations to guide differential diagnosis and clinical management of pneumococcal and Legionella pneumonia[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(5):1915-1917.

(收稿日期:2015-07-25)

[3] 于永敏. 结核分枝杆菌培养阳性患者 T-SPOT. TB 检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(1):106-107.
[4] 王莹, 阳幼荣, 尹文东, 等. 全血 γ -干扰素释放试验对活动性结核病的辅助诊断价值[J]. 标记免疫分析与临床, 2012, 19(4):193-197.
[5] 朱玉兰, 王佃鹏, 高朝贤, 等. 结核分枝杆菌荧光定量 PCR 检测方法的建立与应用[J]. 中国热带医学, 2008, 8(10):1680-1682
[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):64-67.
[7] 辛茶香, 陈超. 血清中结核分枝杆菌 IgG/IgM 抗体检测在肺结核诊断中的应用价值[J]. 实验与检验医学, 2015, 33(4):430-431.
[8] 邱素娟, 欧宏杰, 马筱玲. 289 例结核感染患者外周全血 T-SPOT. TB 检测与结核抗体 IgM 比较结果分析[J]. 中国当代医药, 2013, 20(13):104-105.
[9] 刘珍琼, 段永和, 张齐龙, 等. T-SPOT. TB 技术检测胸腔积液在结核性胸膜炎诊断中的应用[J]. 实验与检验医学, 2013, 31(4):306-308.
[10] 雷红鸽, 张敏, 韩丰娟, 等. 疑似结核患者 T-SPOT. TB 检测结果分析[J]. 河北医药, 2015, 37(10):1523-1526.
[11] 伍仕敏, 项杰, 周虹, 等. γ -干扰素释放试验在肺结核和肺外结核诊断中的应用[J]. 武汉大学学报:医学版, 2013, 34(3):403-406.

(收稿日期:2015-09-19)