

• 论 著 •

结核感染 T 细胞检测在菌阴性肺结核诊断中的应用价值^{*}

罗 霖,徐园红,吴桂辉,杨 铭,岳 冀[△]
(成都市公共卫生临床医疗中心,四川成都 610066)

摘 要:目的 评估结核感染 T 细胞检测在菌阴性肺结核的诊断价值。方法 纳入包括菌阴性肺结核病患者 145 例、非结核肺部疾病患者 45 例共 190 例。所有研究对象进行结核感染 T 细胞检测,计算灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值等指标。结果 结核感染 T 细胞检测对菌阴性肺结核诊断的灵敏度为 85.5%,特异度为 84.4%,阳性预测值为 94.7%,阴性预测值为 64.4%。不同年龄段间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 结核感染 T 细胞检测有较高的阳性预测值,适用于菌阴性肺结核病的临床辅助诊断。

关键词:结核感染 T 细胞检测; 菌阴性肺结核; 灵敏度; 特异度

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.08.008

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)08-1035-03

Performance of T cell infected with Mycobacterium tuberculosis assay in diagnosis of smear and culture negative pulmonary tuberculosis^{*}

Luo Mei, Xu Yuanhong, Wu Guihui, Yang Ming, Yue Ji[△]
(Chengdu Public Health Clinical Center, Chengdu, Sichuan 610066, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the application value of T cell infected with Mycobacterium tuberculosis assay in diagnosis of smear and culture negative pulmonary tuberculosis. **Methods** In total, 145 patients with smear and culture negative pulmonary tuberculosis and 45 patients with non-tuberculosis lung disease were enrolled in the study. All patients received T cell infected with Mycobacterium tuberculosis test and sensitivity, specificity, positive predicted value, negative predicted value of testing for the diagnosis of smear and culture-negative TB patients were calculated. **Results** The sensitivity of specificity T cell infected with Mycobacterium tuberculosis assay in diagnosis of smear and culture negative pulmonary tuberculosis was 85.5%, the specificity was 84.4%, positive predicted value was 94.7%, negative predicted value was 64.4%. No statistical significance in age-dependent groups ($P>0.05$). **Conclusion** T cell infected with Mycobacterium tuberculosis assay has high positive predicted value in diagnosis of smear and culture negative pulmonary tuberculosis and is suitable for clinical auxiliary diagnosis.

Key words: T cell infected with Mycobacterium tuberculosis assay; smear and culture negative pulmonary tuberculosis; sensitivity; sensitivity; specificity

结核病是引起全球关注的重大公共卫生问题,结核病在我国也被列为重大传染病之一。虽然目前已有许多技术运用于结核病诊断,但各方法都有一定的局限性如抗酸染色镜检灵敏度太低、分枝杆菌培养时间长、PCR 容易产生假阳等。最常见的结核菌素皮试试验(TST)由于其与包括卡介苗在内的其他分枝杆菌有交叉反应,特异性较差^[1]。因此,以上这些方法仍不能满足临床早期诊断的需要,尤其是菌阴性结核病的诊断。由于缺乏有效的病原学诊断依据和手段,结核杆菌涂片阴性和培养阴性的结核病诊断常常依靠临床症状、影像学表现及对诊断性抗结核治疗的反应来进行判断,可能会造成诊断不明确,导致疾病的发展和传播^[2]。因此,亟需快速、准确的早期诊断方法为临床提供早期诊断依据。本研究运用了结核感染 T 细胞试验来评价该方法对菌阴性肺结核诊断的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 1 月至 2014 年 8 月就诊于成都市公共卫生临床医疗中心被诊断为菌阴性肺结核的患者共 145 例。患者的诊断根据临床表现、影像学实验室等检查,按《结核病诊断标准和分类》进行。所有患者均接受了痰涂片查

抗酸杆菌、痰结核分枝杆菌培养、胸片等结核相关检查。同时,纳入了同期本院的非结核肺部疾病患者 45 例作为对照。

1.2 结核感染 T 细胞检测 检测试剂盒为结核感染 T 细胞检测试剂盒(体外释放酶联免疫法),购自万泰生物技术有限公司。采集纳入研究者全血并用肝素抗凝,于 2 h 内分别分装 1 mL 至“N”“T”“P”3 个培养管中。37℃培养(22±2)h 之后,离心取血浆进行 ELISA 检测,得出 3 个培养管中 γ 干扰素的水平。根据说明书将结果表示为阳性、阴性和不确定 3 种。分别计算结核感染 T 细胞检测对菌阴性肺结核诊断的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、阳性似然比、阴性似然比、诊断准确度。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计学软件进行统计学处理。计数资料以频数或百分率表示,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 患者基本资料 共纳入患者 190 例,基本信息见表 1。其中菌阴性肺结核组共 145 例,初治结核 126 例(86.9%),复治结核 19 例(13.1%);非结核肺部疾病组 45 例,其中肺炎 21

^{*} 基金项目:成都市科技局资助项目(2014-HM01-00371-SF);四川省医学会青年创新课题资助项目(Q14021)。 作者简介:罗霖,女,主治医师,主要从事传染流行病学的相关研究。 [△] 通讯作者, E-mail: yj133881@126.com。

例、肺癌 16 例、支气管扩张 4 例,慢性阻塞性肺疾病(COPD)和肺吸虫病各 2 例。

表 1 纳入研究的患者基本信息

分组	n	年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	性别构成[n(%)]		民族构成[n(%)]		HIV 阳性 [n(%)]
			男	女	汉族	少数民族	
菌阴性肺结核组	145	38.75±16.80	80(55.2)	65(44.8)	101(69.7)	44(30.3)	3(2.1)
非结核肺部疾病组	45	44.80±18.51	32(71.1)	13(28.9)	39(86.7)	6(13.3)	0(0.0)

2.2 结核感染 T 细胞检测结果 在菌阴性肺结核组中,结核感染 T 细胞阳性有 142 例(85.8%),非结核肺部疾病组阳性有 7 例(15.6%),两组阳性率比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

2.3 结核感染 T 细胞检测对菌阴性肺结核的诊断价值 结核感染 T 细胞在不同年龄段的阳性率分别为:<18 岁 87.5%,18~60 岁 86.8%,>60 岁 73.5%,阳性率随年龄增加而下降。结核感染性 T 细胞对诊断菌阴性肺结核的灵敏度为 85.5%,特异度为 84.4%,阳性预测值为 94.7%,阴性预测值为

64.4%,阳性似然比为 5.5,阴性似然比为 0.17,诊断准确度为 85.3%。上述诊断效能指标在不同年龄段人群间进行比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 2 结核感染 T 细胞检测结果[n(%)]

组别	n	阳性	阴性
菌阴性肺结核组	145	124(85.5)	21(14.5)
非结核肺部疾病组	45	7(15.6)	38(84.4)
合计	190	131(100.0)	59(100.0)

表 3 结核感染 T 细胞检测对不同年龄组菌阴性肺结核的诊断价值

年龄段	感染 T 细胞检测[n(%)]		灵敏度及 95%CI(%)	特异度及 95%CI(%)	阳性预测值及 95%CI(%)	阴性预测值及 95%CI(%)	阳性 似然比	阴性 似然比	诊断 准确度(%)
	阳性	阴性							
<18 岁	14(87.5)	2(12.5)	87.5(61.7~98.4)	100.0(100.0~100.0)	100.0(100.0~100.0)	66.7(22.3~95.7)	—	0.12	90.0
18~60 岁	99(86.8)	15(13.2)	86.8(80.6~93.0)	78.8(64.9~92.7)	93.4(88.7~98.1)	63.4(48.6~78.2)	4.1	0.17	85.0
>60 岁	11(73.3)	4(26.7)	73.3(44.9~92.2)	100.0(100.0~100.0)	100.0(100.0~100.0)	66.7(34.9~90.1)	—	0.27	82.6
合计	124(85.5)	21(14.5)	85.5(79.8~91.2)	84.4(73.8~95.0)	94.7(90.7~98.5)	64.4(52.2~76.6)	5.5	0.17	85.3

—:该项无数据。

3 讨 论

菌阴性结核病因为缺乏理想的诊断和鉴别诊断手段,一直是结核病诊断的难点。虽然菌阴性结核较活动性肺结核传染性小,但对于密切接触者来讲依然有较大的感染风险。

结核感染 T 细胞检测是以检测结核分枝杆菌特异性 T 细胞反应为基础的 γ 干扰素释放试验为原理,作为一种新的检测方法已在欧洲、美国等地区广泛应用^[3]。结核感染 T 细胞检测是基于在体外培养条件下结核特异性抗原结核早期分泌抗原靶分子(ESAT)和培养滤液蛋白 10(CFP-10)刺激感染者的全血标本的感染性 T 淋巴细胞,检测释放的 γ 干扰素。这些抗原不存在于卡介苗及其他致病性非结核分枝杆菌的中,因此具有很高的特异性^[4]。由于其较高的灵敏度和特异度,越来越多地成为结核病辅助诊断的常规手段。

本次研究结果显示结核感染 T 细胞对菌阴性肺结核总灵敏度为 85.5%,Wlodarczyk 等^[5]报道的灵敏度为 55.6%,卢峰岳等^[6]报道为 86.6%。总特异度为 84.4%同 Wlodarczyk 等^[5]报道的 87.0%相近。灵敏度随年龄增长有下降的趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$)。Kobashi 等^[7]报道日本青年和老年结核病患者的灵敏度无明显差异。该方法的特异度在小于 18 岁和大于 60 岁的年龄段中均为 100.0%,阳性集中在 18~60 岁的年龄段,可能与我国属于结核高发国家之一,患者是未知的感染暴露人群,有待进一步追踪调查。

本次报道的菌阴性肺结核组有 3 例 HIV 阳性,HIV 感染

合并结核时,由于病情表现的复杂性,因此诊断更有难度。在这 3 例患者中,2 例检测结果为阳性,分别是年龄 31 和 34 岁的成年男性;另 1 例检测结果阴性的为 4 岁男性儿童,由于同时有免疫系统损害和细胞免疫未成熟的表现,1 型 T 细胞介导的细胞免疫反应低下,所以出现假阴性,因此免疫低下人群的对结核感染 T 细胞检测反应还需要通过增加样本量来加强研究。

早期诊断和早期治疗是结核防控最重要的策略之一。结核感染 T 细胞检测对菌阴性肺结核有较高的灵敏度、特异度和阳性预测值,标本容易获取,实验室结果快速、稳定。该方法适合于临床辅助诊断和鉴别诊断。

参考文献

[1] Rangaka MX, Wilkinson KA, Glynn JR, et al. Predictive value of interferon- γ release assays for incident active tuberculosis: a systematic review and meta-analysis[J]. Lancet Infect Dis, 2012, 12(1):45-55.

[2] Dorman SE. New diagnostic tests for tuberculosis: bench, bedside, and beyond[J]. Clin Infect Dis, 2010, 50(Suppl 3):S173-177.

[3] Mazurek GH, Jereb J, Lobue P, et al. Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting Mycobacterium tuberculosis infection, United States[J]. MMWR Recomm Rep, 2005, 54(RR/15):49-55.

[4] Onur H, Hatipoglu S, Arica V, et al. Comparison(下转第 1038 页)

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析, 计数资料以率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

观察组 461 例新生儿高胆红素血症尿液 HCMV-DNA 阳性 239 例, 占 51.8%; 对照组尿液 HCMV-DNA 阳性为 89 例, 占 19.8%, 两者比较差异有统计学意义 ($P<0.01$), 见表 1。观察组 450 例高胆红素血症母乳 HCMV-DNA 阳性 367 例, 占 79.6%, 对照组母乳 HCMV-DNA 阳性 137 例, 占 30.4%, 两者比较差异有统计学意义 ($P<0.01$), 见表 2。

表 1 两组新生儿尿液 HCMV-DNA 检测结果的比较			
组别	<i>n</i>	阳性(<i>n</i>)	阳性率(%)
观察组	461	239	51.8
对照组	450	89	19.8
χ^2	—	—	38.96
<i>P</i>	—	—	<0.01

—: 该项无数据。

表 2 两组新生儿母乳 HCMV-DNA 检测结果的比较			
组别	<i>n</i>	阳性(<i>n</i>)	阳性率(%)
观察组	461	367	79.6
对照组	450	137	30.4
χ^2	—	—	25.17
<i>P</i>	—	—	<0.01

—: 该项无数据。

3 讨 论

HCMV 是一类在自然界广泛存在的疱疹病毒, 它具有严格种属特异性。由于人是 HCMV 的唯一宿主^[4], 因此人类感染 HCMV 非常普遍, 有文献报道西方发达国家的感染率为 30%~70%, 一些发展中国家感染率更高, 中国人群的感染率约在 80% 以上。HCMV 感染一般表现为潜伏感染且无症状。它是引起先天性及围生期感染的重要病原微生物之一^[5], 它可通过胎盘、血液或母乳直接传播给婴儿, 导致流产、胎儿畸形、早产、注意力不集中及生长发育迟缓等症状^[6]。大部分新生儿高胆红素血症也是由于 HCMV 引起, 它是指足月新生儿血清总胆红素超过 220.6 $\mu\text{mol/L}$ (12.9 mg/L), 早产儿血清总胆红素超过 255 $\mu\text{mol/L}$ (15.0 mg/L), 足月儿发病率大概为 60%, 早产儿的发病率大概为 80%。大部分黄疸患儿通过处理会自行消退, 但是由于胆红素具有毒性, 少数患儿出现严重的高胆红素血病, 甚至胆红素脑病。研究表明足月新生儿总胆红素值超过 428 $\mu\text{mol/L}$ (25 mg/L), 就可能会发生胆红素脑病, 轻者

引起神经损害导致脑瘫, 重者导致死亡。如果血清总胆红素值未达到高胆红素血症, 但是合并窒息、高碳酸血症、低蛋白血症也可能导致胆红素脑病, 而且由于中枢听觉神经对胆红素的毒性反应敏感, 因此高胆红素血症也可能会引起感音神经性听力损伤等^[7], 从而严重影响胎儿的健康。

近年来分子生物学技术越来越广泛地应用于临床检测, 它具有快速、灵敏、特异等特点, PCR 技术是目前诊断 HCMV 感染的最敏感方法。本研究采用的荧光定量 PCR 技术检测 461 例母乳喂养的新生儿高胆红素血症患儿, 其中尿液 HCMV-DNA 阳性 239 例, 占 51.8%, 高胆红素血症新生儿母乳 HCMV-DNA 阳性 367 例, 占 79.6%, 与国内文献报道相同^[8]。本研究中, 观察组 450 例健康新生儿, 尿液 HCMV-DNA 阳性为 89 例, 占 19.8%, 其母乳 HCMV-DNA 阳性 137 例, 占 30.4%, 高胆红素血症患儿尿液及母乳 HCMV-DNA 感染率与健康新生儿比较, 差异均有统计学意义 ($P<0.01$)。研究表明, 母乳 HCMV 感染率较高, 因此摄入带病毒的母乳是新生儿感染 HCMV 的重要途径。

综上所述, 荧光定量 PCR 技术能快速、灵敏及特异地检出 HCMV 感染, HCMV 母乳感染是新生儿 HCMV 感染的重要途径, 母乳及尿液 HCMV-DNA 检测对高胆红素血症的诊断具有重要意义。

参考文献

[1] 朱建康, 李耀军. 住院患儿血清巨细胞病毒核酸与 IgM 抗体检测比较研究[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 9(24): 3437-3438.

[2] 翁玉英, 倪琛, 林秀凤, 等. 不同标本巨细胞病毒检测在诊断小儿人巨细胞病毒感染中的应用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2014, 6(6): 410-414.

[3] 王淑贞, 王静, 张琳. 尿、乳汁 HCMV 定量检测在婴幼儿 HCMV 感染诊治中的意义[J]. 放射免疫学杂志, 2013, 26(3): 361-362.

[4] 李娇, 马洪刚, 单风平. 实验室 2 种检测小儿巨细胞病毒方法的比较[J]. 微生物学杂志, 2013, 33(1): 100-103.

[5] 张钰雯, 徐天勇. 荧光定量 PCR 技术在孕妇和新生儿巨细胞病毒感染检测中的应用[J]. 中国现代药物应用, 2013, 7(15): 34-35.

[6] 徐学勤, 杨洁. 母亲巨细胞病毒 DNA 检测与新生儿感染的相关性研究[J]. 中国妇幼保健研究, 2014, 25(4): 569-571.

[7] 张紫香. 新生儿高胆红素血症对听力的影响[D]. 广州: 广州医科大学, 2010.

[8] 赵巍松, 刘伶, 杨飞. 母乳及婴儿血液、尿液人巨细胞病毒 DNA 检测在婴儿 HCMV 感染中的应用[J]. 中国实验诊断学, 2013, 17(6): 1059-1061.

(收稿日期: 2016-01-18)

(上接第 1036 页)

of quantiferon test with tuberculin skin test for the detection of tuberculosis infection in children[J]. Inflammation, 2012, 35(4): 1518-1524.

[5] Włodarczyk M, Rudnicka W, Janiszewska-Drobinska B, et al. Interferon-gamma assay in combination with tuberculin skin test are insufficient for the diagnosis of culture-negative pulmonary tuberculosis[J]. PLoS One, 2014, 9(9): e107208.

[6] 卢峰岳, 黄艳君, 刘春平, 等. γ -干扰素释放试验诊断活动性结核病的临床评价[J]. 实用医学杂志, 2013, 29(23): 3827-3829.

[7] Kobashi Y, Mouri K, Yagi S, et al. Clinical utility of the QuantiFERON TB-2G test for elderly patients with active tuberculosis[J]. Chest, 2008, 133(5): 1196-1202.

(收稿日期: 2015-12-20)