

• 论 著 •

# T-SPOT. TB 和结核菌素试验在骨关节结核诊断中的敏感性和特异性分析

马 珂<sup>1</sup>, 马 腾<sup>2</sup>, 刘增运<sup>3</sup>, 汤丽国<sup>3</sup>, 田 震<sup>3</sup>, 任志勇<sup>3△</sup>

(1. 潍坊医学院, 山东潍坊 261000; 2. 宁夏医科大学附属总院创伤骨科, 宁夏银川 750000; 3. 阳光融和医院骨科, 山东潍坊 261000)

**摘要:**目的 分析结核感染 T 细胞免疫斑点试验 (T-SPOT. TB) 和结核菌素试验在骨关节结核诊断中的应用价值。方法 收集 2014 年 1 月至 2016 年 8 月医院采用手术或保守治疗的骨关节结核患者 94 例, 以及 2016 年 2 月至 2017 年 1 月骨外科收治的手术治疗的骨关节病患者 50 例作为研究对象, 均进行结核菌素试验与 T-SPOT. TB, 对比 2 种方法的诊断效用。结果 结核菌素试验诊断敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值、符合率分别为 46.81%、98.00%、97.78%、49.49%、64.58%, T-SPOT. TB 则为 93.62%、100.00%、100.00%、89.29%、95.83%, 结核菌素试验敏感性、阴性预测值、符合率低于 T-SPOT. TB 及 2 种方法联合检测, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。T-SPOT. TB 出现 6 例漏诊, 均为早期脊柱结核病, 表现为空洞形成, 未见脊柱神经缺损。结核菌素试验出现 1 例误诊, 50 例漏诊, 漏诊者主要病情相对较轻, 伴风湿关节病等免疫疾病的患者。结论 T-SPOT. TB 是诊断骨关节结核病的理想方法, 但存在干扰因素, 需合理应用, 结核菌素试验操作简单, 尽管敏感性不足, 但在结核病筛查中有一定的价值。

**关键词:** 骨关节结核; 结核感染 T 细胞免疫斑点试验; 结核菌素试验

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.20.015

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)20-2840-03

## Analysis on the sensitivity and specificity of T-SPOT. TB and PPD test in the diagnosis of bone and joint tuberculosis

MA Ke<sup>1</sup>, MA Teng<sup>2</sup>, LIU Zengyun<sup>3</sup>, TANG Ligu<sup>3</sup>, TIAN Zhen<sup>3</sup>, REN Zhiyong<sup>3△</sup>

(1. Weifang Medical University, Weifang, Shandong 261000, China; 2. Department of Orthopedic Trauma, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750000, China; 3. Department of Orthopedics, Sunshine Union Hospital, Weifang, Shandong 261000, China)

**Abstract:** Objective To analyze the application value of T-SPOT. TB and PPD test in the diagnosis of bone and joint tuberculosis. Methods A total of 94 patients with tuberculosis of the bone and joint receiving surgery or conservative treatment from January 2014 to August 2016 were collected in this study, 50 patients with osteoarthritis treated by surgical treatment of bone surgery were recruited as objects too. All the objects received T-SPOT. TB and PPD test, and the diagnosis value were compared. Results The diagnostic sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy of PPD test were 46.81%, 98.00%, 97.78%, 49.49%, 64.58%, those of T-SPOT. TB were 93.62%, 100%, 100%, 89.29%, 95.83%. The sensitivity, negative predictive value and the coincidence rate of PPD test were less than those of T-SPOT. TB and joint test, the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ), T-SPOT. TB, combined with the diagnostic sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, with rate no significant difference ( $P > 0.05$ ). Six cases were misdiagnosed by T-SPOT. TB, they were all in the early stage of spinal tuberculosis, showed cavities, but no spinal nerve defect. One cases were erroneous diagnosis, while 50 cases were misdiagnosed by PPD test, all the symptoms of misdiagnosed patients were relatively mild, with rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. Conclusion T-SPOT. TB is an ideal method for diagnosis of bone and joint tuberculosis, but present interference factors, the operation of PPD test is simply, but lack of sensitivity, however it has certain value in screening.

**Key words:** bone and joint tuberculosis; T-SPOT. TB; PPD test

结核病是常见及致死率较高的传染病之一。在我国, 结核分枝杆菌携带者超过 5 亿人, 结核病年死亡人数达到 13 万。近年来, 结核病发病率呈波动上升趋势<sup>[1]</sup>。结核病可侵犯人体各个部位, 骨关节结核是常见的肺外结核, 占后者的 11%~35%, 临床表现不典型, 病灶不易活动, 诊断难度较大<sup>[2]</sup>。筛查、诊断困难是导致骨关节结核病进展、耐药的重要原因之一。有报道显示, 采用涂片法筛查骨关节结核病的敏感性不足 15%, 而传统的 PCR 法又存在污染风险较高的问题<sup>[3]</sup>。近年来, 结核菌素皮肤试验有了较大的发展。结核感染 T 细胞免疫斑点试验 (T-SPOT. TB) 是一种新型的结核分枝杆菌检测技

术, 本研究对比分析了 T-SPOT. TB 与结核菌素试验在骨关节结核诊断中的应用价值, 现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2014 年 1 月至 2016 年 8 月, 医院采用手术或保守治疗的骨关节结核患者 94 例作为研究对象, 其中男 41 例, 女 53 例, 年龄 19~73 岁, 平均 (37.4±6.2) 岁。发病部位: 脊柱结核 73 例, 其他部位 21 例。纳入标准: (1) 经病理检查诊断为骨关节结核; (2) 临床资料完整, 有典型的结核病中度表现, 脊柱结核部分伴脓液标本。另选择 2016 年 2 月至 2017 年 1 月, 骨外科收治的手术治疗的骨关节病患者 50 例作为对照,

其中男 21 例,女 29 例,年龄(39.6±5.2)岁,其中化脓性脊柱炎 24 例,化脓性膝关节炎 14 例,化脓性踝关节炎 12 例。2 组患者的年龄、性别比例等差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 结核菌素试验 在患者前臂掌侧皮内注射结核菌素 5 U,注射 72 h 后检查皮肤反应,游标卡尺测量皮肤硬结,若硬结直径小于 5 mm 则为阴性,否则为阳性,若出现溃疡、破裂也视为阳性。

1.2.2 T-SPOT. TB 治疗前,采用肝素锂抗凝真空采血管采集患者的左臂外周静脉血 5 mL,颠倒 7~8 次,混匀,立即送检,停留时间不超过 4 h,实验室内预热 RPMI1640 培养液,将样本与培养液 1:1 混匀,而后按照体积比 2:1 比例稀释,加入 Ficoll 淋巴细胞分离液,在 18℃ 条件下离心,离心力 1 000×g,离心时间 22 min,将所获得的外周血单个核细胞(PBMCs)转移至 15 mL 容量的无菌尖底离心管内,定容至 10 mL,洗涤 PBMCs。在 18℃ 条件下离心,离心力 600×g,离心时间 7 min,弃上清液。加入 1 mL 的 AIM-V 培养液,沉淀 5 min,并定容至 10 mL。再次在 18℃ 条件下离心,离心力 600×g,离心时间 7 min 弃上清液。最后,配置细胞稀释液,混匀,取 10 μL 进行细胞计数,配置 250 000/100 μL 浓度的稀释细胞工作液,进行 ELISA,以酶联斑点读取分析仪测算斑点数,依次作为诊断标准。判断标准:(1)若阴性对照孔点数小于 6,抗原 A 孔或 B 孔斑点数与阴性对照孔斑点数之差值大于或等于 6,则为阳性,否则为阴性;(2)若阴性对照孔点数大于 6,抗原 A 孔或 B 孔斑点数大于或等于 2 倍阴性对照孔斑点数,则为阳性,否则为阴性。

1.3 统计学处理 采用 WPS 表格记录数据,SPSS18.0 软件对数据进行统计学处理,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,若服从正态分布,则组间比较采用  $t$  检验,否则采用非参数检验,计数资料以频数( $n$ )或百分率(%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验, $P<0.05$  表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 检验诊断效用 T-SPOT. TB 和结核菌素试验对骨关节结核病的诊断结果,见表 1。结核菌素试验敏感性、阴性预测值、符合率低于 T-SPOT. TB 及 2 种方法联合检测,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),T-SPOT. TB 与联合检测的敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值、符合率差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 2。

表 1 T-SPOT. TB 和结核菌素试验诊断骨关节结核结果比较( $n$ )

| 骨关节<br>结核病 | $n$ | 结核菌素试验 |    | T-SPOT. TB |    | 结核菌素试验+<br>T-SPOT. TB |    |
|------------|-----|--------|----|------------|----|-----------------------|----|
|            |     | 阳性     | 阴性 | 阳性         | 阴性 | 阳性                    | 阴性 |
| 阳性         | 94  | 44     | 50 | 88         | 6  | 88                    | 6  |
| 阴性         | 50  | 1      | 49 | 0          | 50 | 0                     | 50 |

表 2 不同检验方法诊断骨关节结核病效用对比(%)

| 方法                | 敏感性   | 特异性    | 阳性预测值  | 阴性预测值 | 符合率   |
|-------------------|-------|--------|--------|-------|-------|
| 结核菌素试验            | 46.81 | 98.00  | 97.78  | 49.49 | 64.58 |
| T-SPOT. TB        | 93.62 | 100.00 | 100.00 | 89.29 | 95.83 |
| 结核菌素试验+T-SPOT. TB | 93.62 | 100.00 | 100.00 | 89.29 | 95.83 |

2.2 误漏诊分析 T-SPOT. TB 未见误诊,出现 6 例漏诊,均为早期脊柱结核病,表现为空洞形成,未见脊柱神经缺损。结核菌素试验出现 1 例误诊,为化脓性膝关节炎,50 例漏诊,患者主要病情相对较轻、伴风湿关节病等免疫疾病的患者。

2.3 不同部位 T-SPOT. TB 检出阳性率 采用 T-SPOT. TB 对关节及脊柱结核的阳性检出率分别为 87.8%(65/74)和 85.71%(60/70),差异无统计学意义( $\chi^2=0.14, P>0.05$ )。

3 讨论

结核分枝杆菌通过消化系统和呼吸系统进入人体,再通过淋巴系统向全身各器官传播,到达了骨关节后,形成了骨关节结核病。骨关节结核病以青少年发病最多,一般为单发,常发生在脊椎,其次为膝、髋及肘关节等。骨关节结核病前期发病症状不明显,很容易被患者忽略,若不及时就医,会发生关节感染,威胁患者的生命健康。早期诊断是骨关节结核病治疗的关键,治疗方法包括休息及局部制动,增加营养及应用抗结核药物,脓肿穿刺排脓并注入抗结核药物。

结核病的诊断方法较多,对于骨关节结核病而言,传统的培养法同样适用,但因采样难度较大,适用于达到手术标准的患者,而对于保守治疗的患者而言,采样所带来的创伤可能是让他们无法接受的,故选择合适的结核病诊断方法是关键。关于骨结核关节炎的影像学检查方法研究较多,但影像学检查的特异性明显不足,特别是在鉴别非典型的骨关节结核病、化脓性关节炎方面力有未逮,此外合并疾病也容易导致误诊和漏诊,造成关节结核病典型影像学表现被掩盖,尽管影像学检查的检出率较高,但特异性难以让人满意<sup>[4-6]</sup>。

T-SPOT. TB 和结核菌素试验是目前 2 种应用较广的结核病检查技术,不受感染部位的影响。结核菌素试验是一种基于Ⅳ型变态反应原理的皮肤试验,对结核病的诊断具有一定参考价值,但其灵敏性、特异性明显不足,无法有效区分结核分枝杆菌复合群与环境结核分枝杆菌感染,对卡介苗接种引起的阳性反应也不能排除<sup>[7-10]</sup>。本研究结果显示,结核菌素试验的诊断敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值、符合率分别为 46.81%、98.00%、97.78%、49.49%、64.58%;T-SPOT. TB 则为 93.62%、100.00%、100.00%、89.29%、95.83%,敏感性、特异性、符合率均达到较高水平。有 Meta 分析显示,T-SPOT. TB 筛查潜伏期结核的敏感性可达到 0.9(0.86~0.93)<sup>[11]</sup>。T-SPOT. TB 属于血清学检测方法,根据抗原抗体反应原理,分析血清中存在的结核分枝杆菌感染所产生的特异性抗原,灵敏度较好。需注意的是,T-SPOT. TB 也存在漏诊<sup>[12]</sup>,本研究中,漏诊率为 6.4%。此外,相较于结核菌素皮肤试验,T-SPOT. TB 检查费时费力、价格昂贵。另有报道称,对于儿童及有近期结核分枝杆菌暴露史的对象,T-SPOT. TB 检验的效能并不理想<sup>[13-14]</sup>。

综上所述,T-SPOT. TB 和结核菌素试验在骨关节结核诊断中各有优劣,后者可作为有骨关节结核病相似影像学表现、临床表现的患者的筛查技术,前者可作为进一步明确诊断方法。T-SPOT. TB 容易受到高危因素影响,若有必要可进行复查,待危险因素得到控制后检查。

参考文献

[1] 舒奇,朱建明,干红卫,等.上海市金山区流动人口结核病患者流行病学特征及就诊情况分析[J].现代预防医学,2016,43(7):1162-1165. (下转第 2844 页)

型频率 0.774; TT 基因型与 GT+GG 基因型频率在胃癌组和对照组中差异有统计学意义( $\chi^2=6.517, P<0.05$ )。经年龄分组后,在年龄 $\geq 60$ 岁的患者中,基因型频率差异有统计学意义( $P<0.05$ )。Khoram-Abadi 等<sup>[11]</sup>对 1 387 例胃癌患者和 2 064 例对照人群的聚类分析发现 DNMT3B -579G>T 和胃癌无相关性,而与结直肠癌有相关性。Ahmadi 等<sup>[12]</sup>以西伊朗人群中的 100 例胃癌患者和 112 例健康对照者为研究对象,评估了 DNMT3B -579G>T 多态性与胃癌风险的关系,发现在病例组和对照组之间的基因分布差异无统计学意义;然而,临床病理分类分析发现-579 T 等位基因可能增加胃癌患者病理特征恶性进展的相对风险。这可能与 DNMT3B -579G>T 等位基因频率在中国汉族人群和其他人群中的分布频率不同有关。许多研究表明 DNMT3B 基因多态性与癌症易感性相关。然而,不同的研究方法和样本量可能导致研究的结论不尽相同。因此,需要更准确的基因型检测方法和较大样本量来研究 DNMT3B -579G>T 多态性与癌症的关联。

参考文献

[1] Wang C, Jia Z, Cao D, et al. Polymorphism of DNA methyltransferase 3b and association with development and prognosis in gastric cancer[J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0134059.

[2] Yang XX, He XQ, Li FX, et al. Risk-association of DNA methyltransferases polymorphisms with gastric cancer in the Southern Chinese population[J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(7): 8364-8378.

[3] Lao Y, Wu H, Zhao C, et al. Promoter polymorphisms of DNA methyltransferase 3B and risk of hepatocellular carcinoma[J]. Biomedical Reports, 2013, 1(5): 771-775.

[4] Shen H, Wang L, Spitz MR, et al. A novel polymorphism

in human cytosine DNA-methyltransferase-3B promoter is associated with an increased risk of lung cancer[J]. Cancer Res, 2002, 62(17): 4992-4995.

[5] Chang KP, Hao SP, Tsang NM, et al. Gene expression and promoter polymorphisms of DNA methyltransferase 3B in nasopharyngeal carcinomas in Taiwanese People: a case-control study[J]. Oncol Rep, 2008, 19(1): 217-222.

[6] Cebrian A, Pharoah PD, Ahmed S, et al. Genetic variants in epigenetic genes and breast cancer risk[J]. Carcinogenesis, 2006, 27(8): 1661-1669.

[7] 中华人民共和国卫生部. WS316-2010 胃癌诊断标准[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2010.

[8] Lee SJ, Jeon HS, Jang JS, et al. DNMT3B polymorphisms and risk of primary lung cancer[J]. Carcinogenesis, 2005, 26(2): 403-409.

[9] Liu Z, Wang L, Wang L, et al. Polymorphisms of the DNMT3b gene and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck: a case-control study[J]. Cancer Letters, 2008, 268(1): 158-165.

[10] 王志刚, 吴建新. DNA 甲基转移酶分类、功能及其研究进展[J]. 遗传, 2009, 31(9): 903-912.

[11] Khoram-Abadi KM, Forat-Yazdi M, Kheirandish S, et al. DNMT3B -149 C>T and -579 G>T polymorphisms and risk of gastric and colorectal cancer: a meta-analysis[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2016, 17(6): 3015-3020.

[12] Ahmadi K, Soleimani A, Irani S, et al. DNMT3B -579 G>T promoter polymorphism and the risk of gastric cancer in the West of Iran[J]. J Gastrointest Cancer, 2017: 1-5.

(收稿日期: 2017-04-13 修回日期: 2017-06-17)

(上接第 2841 页)

[2] 胡自强. 脊柱结核的诊断及手术治疗进展[J]. 医学综述, 2014, 20(18): 3372-3374.

[3] 中国防痨协会临床专业委员会. 结核病临床诊治进展年度报告(2012 年)[J]. 中国防痨杂志, 2013, 35(7): 488-510.

[4] Fu Y, Yi Z, Wu X, et al. Circulating microRNAs in patients with active pulmonary tuberculosis[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(12): 4246-4251.

[5] 李君, 李泽清. 耐多药骨关节结核的诊断与治疗新进展[J]. 青海医药杂志, 2015, 45(2): 73-74.

[6] 李丹, 杜德兵, 陈玉龙, 等. T 细胞斑点试验、结核蛋白芯片、抗酸染色涂片和结核菌素试验对肺结核病诊断价值的比较[J]. 中国现代医学杂志, 2015, 25(11): 38-41.

[7] Winthrop L, Weinblatt E, Daley L. You can't always get what you want, but if you try sometimes(with two tests-TST and IGRA-for tuberculosis) you get what you need[J]. Ann Rheum Dis, 2012, 71(11): 1757-1760.

[8] 李文文, 冯喜英, 关巍. 结核病诊断与治疗的研究进展

[J]. 中华肺部疾病杂志, 2016, 9(2): 204-206.

[9] 刘盼含, 刘钢, 徐源. 结核菌素皮试和  $\gamma$  干扰素释放试验在筛查慢性关节炎患者潜伏性结核感染中的研究进展[J]. 四川医学, 2015, 36(5): 729-732.

[10] 张梅, 焦祖伟, 聂渝琼. 我国结核病诊断方法现状与进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(12): 3018-3020.

[11] Mazurek GH, Jereb J, Vernon A, et al. Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection-United States, 2010[J]. MMWR Recomm Rep, 2010, 59(RR/5): 1-25.

[12] 郝云连. 结核菌素试验在临床结核病诊断中的意义[J]. 中国社区医师, 2014, 30(8): 111.

[13] 高玉然, 张翠英, 刘琳, 等. 结核抗体检测及结核菌素试验在结核病诊断中的价值[J]. 中国热带医学, 2011, 11(5): 542-544.

[14] 林伟灵. 结核患者结核抗体、血沉以及 C-反应蛋白检测的临床分析[J]. 中国医药导报, 2012, 9(31): 55-56.

(收稿日期: 2017-03-28 修回日期: 2017-06-02)