

结核感染 T 细胞检测在肺外结核诊断应用价值

王凤平¹, 陈蕾², 陈苏芳², 赵静², 傅春玲³

1 苏州大学医学部公共卫生学院、苏州大学附属传染病医院, 江苏 苏州 215007; 2 苏州市第五人民医院, 江苏 苏州 215007; 3 苏州大学医学部公共卫生学院, 江苏 苏州 215123

摘要:目的 探讨结核感染 T 细胞检测在肺外结核诊断应用价值。**方法** 选取我院 2012 年 1 月至 2013 年 12 月依据结核病原学、组织病理学、诊断性治疗有效及影像学支持临床诊断肺外结核病例 80 例, 25 例非结核肺部疾病以及 8 例健康对照。选用英国 Oxford Immunotec Ltd.生产的结核感染 T 细胞检测试剂盒, 按照使用说明操作六部法进行检测。利用蛋白芯片技术检测结核杆菌三种抗原的 IgG 抗体、痰抗酸染色涂片检查及痰结核分枝杆菌培养(采用改良罗氏法)。**结果** T-SPOT.TB 在肺外结核阳性率为 81.3%、敏感度为 84.2%、特异度 97.1%、诊断效率 87.6 %。肺外结核组 T-SPOT.TB 检测阳性率明显高于非结核疾病和健康对照组, 差异有统计学意义($P<0.01$)。肺外结核疾病各组间敏感度、特异度、诊断效率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。肺外结核疾病利用 T-SPOT.TB 和结核杆菌蛋白芯片检测方法配对比较,前者明显高于后者,差异有统计学意义($P<0.01$)。**结论** 肺外结核多脏器及临床表现差异性及其复杂性, 需要临床经验、有效的辅助检查诊断, T-SPOT.TB 检测是结核病诊断金标准之外的非常有效辅助诊断方法, 可节约诊断时间及不必要检查, 可更好利用医疗资源同时减轻患者负担, 更好防治结核病。

关键词:T-SPOT.TB; 肺外结核; 阳性率; 诊断

Detection of tuberculosis infected T cells in extrapulmonary tuberculosis diagnosis application value

WANG Feng-ping*, CHEN Lei, CHEN Su-fang, ZHAO Jing, FU Chun-ling

*Suzhou university medical school of public health、The Affiliated Infectious Hospital of Soochow university, Suzhou 215007, China

Abstract:Objective discussing the value of tuberculosis infected T-cell in extrapulmonary tuberculosis diagnostic. **Methods** Based on clinical diagnostics, collected patients who were treated in our hospital(80 cases of extrapulmonary TB cases, 25 cases of non-tuberculous lung disease and eight healthy controls)from January 2012 to December 2013.The tuberculosis infected T-cells detection kit was produced by Oxford Immunotec Ltd.Detected the samples according to the instructions.

Using the protein chip technology to detect the IgG antibodies to three antigens of Mycobacterium tuberculosis and testing the mycobacterium tuberculosis by Acid-fast staining of sputum smears and cultures of Mycobacterium tuberculosis in sputum. **Results** The positive rate, sensitivity, specificity and diagnostic efficiency of T-SPOT.TB in extrapulmonary tuberculosis were 81.3%, 84.2%, 97.1% and 87.6 %. The T-SPOT.TB positive rate of Extrapulmonary tuberculosis group was significantly higher than non-tuberculous disease and healthy group,the difference was statistically significant ($P < 0.01$). The ensitivity, specificity, diagnostic efficiency among extrapulmonary disease groups was not statistically significant ($P > 0.05$). Paired Comparing the detecting method of T-SPOT.TB and mycobacterium tuberculosis protein chip,he former was significantly higher than the latter, the difference was statistically significant ($P < 0.01$).**Conclusion** Due to the complexity of the clinical manifestations, extrapulmonary tuberculosis diagnostic needs of clinical experiance and effective auxiliary examination diagnosis. T - SPOT.TB is a very effective means for the diagnosis of TB,it can save time, make better use of health care resources while reducing the burden on patients and is a better way to prevent and treat

基金项目: 上海市科技支撑计划项目(项目编号: 12441903300)

作者简介: 王凤平(1972), 男, 苏州, 本科学历, 副主任检验师/检验科副主任, 主要从事医学检验工作。

通讯作者: 傅春玲, 苏州大学医学部公共卫生学院, 通讯地址: 苏州姑苏区南门西二路1号, 215007, 邮箱: wangfp506@126.com

Comment [A]: 请按附件中专家审稿意见和正文中批注和修订进行修改。不能修改的另附文字说明。请严格按本刊格式行文, 请将修改处务必以其它颜色字体凸显, 并保持原文批注修改。并将修改后电子版发至 820363269@qq.com。

请逐项对照文件中批注, 是否按要求修改

Comment [A]: 给出基金项目名称及编号, 并将相关文件的影像件一并返回

tuberculosis.

Key words: T-SPOT.TB; Extrapulmonary tuberculosis; Positive rate; Diagnostic

中图分类号:R446.61 文献标志码:A

Comment [A]: 英文文摘语法错误多, 请重译, 否则编辑部将不予保留

Comment [A]: 入题太慢, 简化

Comment [A]: 10 、15、35、2.5

肺外结核病是发生于肺部以外其他脏器的临床结核病, 有研究显示, 在结核病高负担国家, 肺外结核病发病所占比例低, 而在结核病发病率低国家, 肺外结核病占比例高^[1]。我国结核病分类卫生行业标准 (WS196-2001) 将结核病分五种, 原发性肺结核 (含胸内淋巴结结核)、血行播散性肺结核、继发性肺结核、结核性胸膜炎、其他肺外结核 (其他肺外结核按部位及脏器命名, 如: 骨关节结核、结核性脑膜炎、肾结核、肠结核等。肺外结核病的发病多发生肺内初染后, 经淋巴、血行途径至肺外脏器或部位。肺外结核病变部位不同, 临床症状不明显^[2]。随着人类免疫缺陷病毒 (HIV) 感染流行, 肺外结核病及播散性结核病增多, 病灶结核分枝杆菌检出率不高, 诊断较为困难, 易造成误诊、漏诊, 需要结合临床经验、治疗效果及辅助检查综合分析^[3]。

我院自 2012 年 1 月至 2013 年 12 月, 共收治肺外结核病 80 例, 利用结核感染 T 细胞酶联免疫斑点试验, 在肺外结核病临床辅助诊断应用作一分析。

1 对象与方法

1.1 对象

选取我院 2012 年 1 月至 2013 年 12 月依据结核病原学、组织病理学、诊断性治疗有效及影像学支持临床诊断肺外结核病例 80 例, 其中男 34 例, 女 46 例, 平均年龄 45.5 ± 19 岁 (见表 1)。病例符合以下诊断条件: (1) 临床表现及细菌学诊断; (2) 临床表现及组织病理诊断; (3) 临床表现、影像学及诊断性及临床表现及治疗有效。非结核疾病组 25 例, 男 10 例, 女 15 例, 平均年龄 35 ± 2.5 岁, 其中肺部慢性炎症 20 例, 肺部肿瘤 5 例; 同时选择 8 例健康对照, 男 5 例, 女 3 例, 平均年龄 25 ± 2 岁, 无结核病史和临床症状同时胸部放射学诊断无陈旧性结核病灶。以上所有研究对象均为人类免疫缺陷病毒抗体检测为阴性, 未使用免疫抑制及严重肝肾损害。

表1 肺外结核临床诊断资料

Comment [A]: 全文删除

诊断依据	n	男/女	平均年龄 (45岁)	神经系 统结核	淋巴结 结核	泌尿生 殖系统 结核	骨关 节结 核	皮肤、 皮下组 织结核	肠、腹膜、 肠系膜结 核
临床表现、细 菌学	5	3/2	68.5±3.53			4			1
临床表现、组 织病理	37	14/23	43.4±11.79		26	3		3	5
临床表现、影 像学、诊断性 治疗	38	17/21	43.4±21.51	14		4	18		2

1.2 结核感染 T 细胞检测：采用酶联免疫斑点试验（enzyme-linked immunospot assay, ELISPOT），选用英国 Oxford Immunotec Ltd. 生产的结核感染 T 细胞检测试剂盒，按照使用说明操作六部法。首先外周单个核细胞（PBMCs）分离制备，单个核细胞洗涤和计数制备工作浓度细胞悬液，将细胞悬液和抗原加入微孔培养板，37℃，5%CO₂ 培养过夜，洗涤微孔板并加入酶标抗体，洗涤微孔板加入底物反应液，最后斑点计数。根据抗原 A 或/和抗原 B 孔的反应判断结果：阴性对照孔斑点数为 0-5，阳性样本应为：（抗原 A 或 抗原 B 斑点数）-（阴性对照孔斑点数）≥ 6；当阴性对照孔斑点数 ≥ 6 spots，阳性样本应为：（抗原 A 或抗原 B 斑点数）≥ 2x（阴性对照孔斑点数）。

1.3 血清标本利用蛋白芯片技术检测结核杆菌三种抗原的 IgG 抗体、痰抗酸染色涂片检查及痰结核分枝杆菌培养（采用改良罗氏法），以上实验按照蛋白芯片试剂说明书及全国临床检验操作规程第三版技术规范进行操作。

1.4 统计学处理，采用 SPSS 13.0 统计学软件、计数资料以率表示，采用卡方检验 X²，检验水准 α=0.05（双侧）。

2 结果

2.1 肺外结核、非结核疾病及健康对照组检测 T-SPOT. TB 结果

见表 2，T-SPOT. TB 在肺外结核病阳性率为 81.3%、敏感度为 84.2%、特异度 97.1%、诊断效率 87.6 %。肺外结核组 T-SPOT. TB 检测阳性率明显高于非结核疾病和健康对照组，差异有统计学意义（P<0.01）。肺外结核疾病各组间敏感度、特异度、诊断效率比较差异无统计学意义（P>0.05）。

表2 肺外结核、非结核疾病及健康对照组 T-SPOT. TB 检测资料

Tab.2 Extrapulmonary tuberculosis, non-tuberculosis disease and healthy controls T - SPOT. TB testing data

组别	例数	阳性	阴性	阳性率 (%)	敏感度 (%)	特异度 (%)	诊断效率 (%)
神经系统结核	14	11	3	78.6	82.4	97.1	92.2

淋巴结核	26	23	3	88.5	89.7	97.1	93.7
泌尿生殖系统结核	11	8	3	72.7	78.6	97.1	91.7
骨关节结核	18	13	5	72.2	78.3	97.1	89.5
皮肤、皮下组织结核	3	3	0	100	100	97.1	97.3
肠、腹膜、肠系膜结核	8	7	1	87.5	88.9	97.1	95.3
非结核疾病组	25	1	24	4			
健康对照组	8	0	0	0			
肺外结核合计	80	65	15	81.3	84.2	97.1	87.6

Comment [A]: 把率的数值表示出来

2.2 肺外结核疾病利用 T-SPOT. TB 及结核杆菌蛋白芯片检测方法配对比较 52 例肺外结核疾病利用 T-SPOT. TB 与结核杆菌蛋白芯片检测方法配对比较结果见表 3。T-SPOT. TB 与结核杆菌蛋白芯片方法检测对肺外结核诊断阳性率分别为 80.7%、50%，前者明显高于后者，差异有统计学意义(P<0.01)。

表3 T-SPOT. TB 与结核杆菌蛋白芯片检测方法配对结果比较

结核蛋白芯片检测	T-SPOT. TB 检测		合计
	阳性	阴性	
阳性	20	6	26
阴性	22	4	26
合计	42	10	52

$\chi^2 = 9.14$ $P < 0.005$

3 讨论

肺外结核指多系统、多部位、多种类型结核病，我院收治 80 例结核病例主要存在于淋巴结核、骨关节结核、神经系统结核、泌尿生殖系统结核病为主，占肺外结核病 86.25%。由于肺外结核存在部位不同，而临床表现差异及其复杂性，需要临床经验、辅助检查及治疗效果综合分析，因而肺外结核病诊断较困难^[4]。

结核病原学诊断（痰结核杆菌检查涂片及培养）是肺结核诊断的重要检查方法，作为国家结核病防治规划（NTP）最重要肺结核诊断手段。但由于肺外结核病人中合并活动性肺结核较低，痰涂阳率不高，诊断效率很低^[5]。从表 1 可见 80 例肺外结核中仅有 5 例经结核病原学诊断，占 6.25%，其中 4 例为泌尿生殖系统结核；37 例经外科手段、窥镜等技术组织病理学诊断，其中主要为淋巴结核、盆腔、肠系膜结核等；38 例经影像学及诊断性治疗，其中以神经系统和骨关节结核为主。现肺外结核诊断主要依靠组织病理学及影像学等手段，螺旋 CT 或磁共振技术在中枢神经系统及骨关节肺外结核病诊断应用广泛，但较高诊断费用加重患者经济负担^[6]。外科手段及微创后组织病理是确诊肺外结核重要方法，但活检为有创检查，适应症须严格掌握和操作技术上专业要求等。血清学诊断可成为结核病的辅助诊断，但特异性敏感性均较低，从表 3 可见结核蛋白芯片检测阳性率仅 50%，对疾病的诊断效率较低^[7]。

从表 2 可见本研究对 80 例肺外结核病利用结核感染 T 检测, 肺外结核组 T-SPOT. TB 检测阳性率明显高于非结核疾病和健康对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。其中非结核疾病组中有 5 例为确诊肺部恶性肿瘤患者, T-SPOT. TB 检测均为阴性结果。肺外结核疾病各组间敏感度、特异度、诊断效率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。说明 T-SPOT. TB 检测对肺外结核疾病有较高诊断效率[8]。

肺外结核发病多样性、多脏器以及临床症状不典型性, 同时依据病原诊断较困难, 大多需手术或创伤性活检以及 CT、MRI 等手段以确诊, 但现从患者经济收入及依从性等原因, 很多患者会延误诊断或误诊漏诊, 影响患者预后。特别是神经系统结核病死亡率和致残率高, 早期治疗与患者死亡率有强相关, 早期诊断及有效抗结核治疗直接关系到患者预后。T-SPOT. TB 在诊断结核感染有较高的敏感度和特异度, 有助对神经系统结核病早期诊断和治疗, 本研究显示 T-SPOT. TB 对肺外结核有较高的诊断效率, 敏感度为 84.2%、特异度为 97.1%。肺外结核疾病各组间敏感度、特异度、诊断效率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。说明 T-SPOT. TB 检测对肺外结核疾病有较高诊断效率[9]。

总之, 肺外结核多脏器及临床表现差异性及复杂性, 需要临床经验、有效的辅助检查诊断, T-SPOT. TB 检测是结核病诊断金标准之外的非常有效辅助诊断方法, 可节约诊断时间及不必要检查, 可更好利用医疗资源同时减轻患者负担, 更好防治结核病。

参考文献

- [1] 霍霏霏, 张丽帆, 刘晓清. 评价 γ 干扰素释放分析 T-SPOT. TB 在肺外结核病诊断中的敏感性[J]. 中国医学科学院学报, 2009, 31 (4): 449-452.
- [2] Yoon HJ, Song YG, Park W I, et al. Clinical manifestation and diagnosis of extrapulmonary tuberculosis [J]. Yonsei Med J 2004, 25(3):453-461.
- [3] 欧阳晖, 陈柏林. T 细胞酶联免疫斑点法对艾滋病合并结核患者的诊断价值研究[J]. 实用预防医学, 2010, 17 (10): 1950-1953.
- [4] P. D. O. Davies, M. Pal. The diagnosis and misdiagnosis of tuberculosis[J]. INT J TUBERC LUNG DIS 2008, 12(11):1226-1234.
- [5] 蒋英, 赵蓉, 张胜男, 等. 干扰素释放酶联免疫法 (TB-IGRA) 用于检测结核分枝杆菌的优越性[J]. 实用预防医学, 2012, 19 (1): 24-27.
- [6] 陶学芳, 王建华, 李永兴, 等. 结核感染 T 细胞酶联免疫斑点试验在肺结核及肺外结核诊断中的价值[J]. 浙江预防医学, 2012, 24 (11): 4-7.
- [7] 张明科, 吴芬娇, 梁朝霞, 等. 结核抗体与痰检结果的比较分析[J]. 临床肺科杂志, 2007, 12 (5): 436.
- [8] Liao CH, Chou CH, Lai CC, et al. Diagnostic performance of an enzyme-linked immunospot assay for interferon-gamma in extrapulmonary tuberculosis varies between sites of disease[j]. J Infect, 2009, Oct 9.
- [9] 刘晓清, 张丽帆. γ 干扰素释放分析 T-SPOT. TB 在诊断结核感染中的研究进展[J]. 中国实验诊断学, 2010, 14 (12): 2065-2068