

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.24.017

外周血结核感染 T 细胞斑点试验在老年结核病诊断中的价值

黄来荣¹, 王文强^{1△}, 颜 铭², 余高旺¹, 颜远芳³

1. 福州金域医学检验所有限公司实验诊断部, 福建福州 350003; 2. 华北理工大学临床医学院, 河北唐山 063210; 3. 福建省泉州市安溪县医院检验科, 福建泉州 362400

摘要:目的 研究外周血结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT. TB)在老年结核病诊断中的应用价值。方法 选取 2018 年 12 月至 2019 年 11 月安溪县医院收治的疑似结核病的老年患者 218 例为研究对象, 分析其外周血 T-SPOT. TB 检测结果, 采用灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、阳性似然比和阴性似然比作为评价指标, 评价 T-SPOT. TB 在老年结核病诊断中的应用价值。结果 218 例疑似结核病的老年患者中, T-SPOT. TB 阳性率为 38.53%, 其中结核病患者 T-SPOT. TB 阳性率为 86.59%, 高于非结核病患者 T-SPOT. TB 的阳性率(9.56%), 差异有统计学意义($\chi^2=128.15, P<0.05$)。T-SPOT. TB 诊断结核病的灵敏度为 86.59%, 特异度为 90.44%, 阳性预测值为 84.52%, 阴性预测值为 91.79%, 阳性似然比为 9.06, 阴性似然比为 0.15。82 例结核病患者中, 肺结核患者 T-SPOT. TB 阳性率为 87.32%, 肺外结核患者 T-SPOT. TB 阳性率为 81.82%, 两组间比较差异无统计学意义($\chi^2=0.001, P=0.98$)。结论 T-SPOT. TB 在诊断老年结核病方面具有较高的灵敏度和特异度, 能够有效提高诊断的准确性, 具有重要的辅助诊断价值。

关键词: 结核感染 T 细胞斑点试验; 结核病; 灵敏度; 特异度

中图分类号: R52

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2020)24-3615-04

The value of peripheral blood tuberculosis infection T cell spot test
in the diagnosis of tuberculosis in the elderly

HUANG Lairong¹, WANG Wenqiang^{1△}, YAN Ming², YU Gaowang¹, YAN Yuanfang³

1. Department of Experimental Diagnosis, Fuzhou Kingmed for Clinical Laboratory Co., Ltd., Fuzhou, Fujian 350003, China; 2. Clinical Medical College, North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei 063210, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Anxi County Hospital of Quanzhou City, Quanzhou, Fujian 362400, China

Abstract: Objective To study the application value of peripheral blood tuberculosis infection T cell spot test (T-SPOT. TB) in the diagnosis of tuberculosis in the elderly. **Methods** A total of 218 elderly patients with suspected tuberculosis admitted to Anxi County Hospital from December 2018 to November 2019 were selected as the research objects, and analyzed the peripheral blood T-SPOT. TB detection result. Sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, positive likelihood ratio and negative likelihood ratio were used to evaluate the application value of T-SPOT. TB in the diagnosis of tuberculosis in the elderly.

Results Among 218 elderly patients with suspected tuberculosis, the positive rate of T-SPOT. TB was 38.53%. The positive rate of T-SPOT. TB in tuberculosis patients was 86.59%, which was higher than that in non-tuberculosis patients (9.56%), the difference was statistically significant ($\chi^2=128.15, P<0.05$). The sensitivity of T-SPOT. TB to diagnose tuberculosis was 86.59%, the specificity was 90.44%, the positive predictive value was 84.52%, the negative predictive value was 91.79%, the positive likelihood ratio was 9.06 and the negative likelihood ratio was 0.15. Among 82 tuberculosis patients, the positive rate of T-SPOT. TB in pulmonary tuberculosis patients was 87.32%, and the positive rate of T-SPOT. TB in extrapulmonary tuberculosis patients was 81.82%, there was no significant difference between the two groups ($\chi^2=0.001, P=0.98$). **Conclusion** T-SPOT. TB has high sensitivity and specificity in the diagnosis of tuberculosis in the elderly, can effectively improve the accuracy of diagnosis, and has important auxiliary diagnostic value.

Key words: tuberculosis infection T cell spot test; tuberculosis; sensitivity; specificity

结核病是一种由结核分枝杆菌感染引起的慢性 传染性疾病。结核分枝杆菌不仅能通过呼吸道进入

人体,还可以通过消化道、破损的皮肤黏膜等途径进入人体,在人体内扩散,浸润全身各器官,引起器官病变,严重影响患者的生活质量和健康。由于结核病的临床症状不典型,常用的检测方法受到患者免疫系统的影响,易导致诊断的准确性下降^[1]。目前,临床上诊断结核病最为准确的检测方法为病原学诊断,但由于该方法检测时间长、取样要求高等,不利于结核病的早期诊断。结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT. TB)主要通过结核分枝杆菌特异性抗原(EAST-6、CFP-10)对人外周血单个核细胞(PBMC)发挥刺激作用,释放 γ -干扰素来确定是否存在感染,该检测方法不受卡介苗接种的影响,是目前临床诊断结核分枝杆菌感染最灵敏的检测方法之一^[2]。本研究分析了 2018 年 12 月至 2019 年 11 月安溪县医院收治的 218 例疑似结核病老年患者的 T-SPOT. TB 检测结果,旨在为老年结核病的预防和治疗提供理论依据,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2018 年 12 月至 2019 年 11 月安溪县医院收治的疑似结核病的老年患者 218 例为研究对象,其中男 157 例,女 61 例;年龄 60~94 岁,平均(70.85±8.05)岁。经病原学诊断,218 例疑似患者中,结核病 82 例,包括肺结核 71 例、肺外结核(结核性胸膜炎、脊柱结核和腰椎结核)11 例;非结核病患者 136 例,包括肺炎、支气管扩张、肺癌、尘肺、肺脓肿、间质性肺炎等。纳入标准:(1)年龄≥60 岁,既往无结核病史及结核病患者密切接触史;(2)伴不同程度的发热、消瘦、乏力等,呼吸道症状有咳嗽、咳痰、咯血、胸痛、不同程度胸闷或呼吸困难等;(3)影像学检查显示肺部阴影;(4)自愿参与本研究,能够积极配合并顺利完成各项检查。排除标准:(1)临床资料不完整或难以配合诊治;(2)合并严重心、肝、肾疾病及精神疾病;(3)合并呼吸衰竭、循环衰竭等生命体征不稳定表现。

1.2 方法

1.2.1 检测方法

采集患者清晨空腹静脉血 8 mL 于肝素抗凝管中,混匀,进行 PBMC 分离。严格按照 T-SPOT. TB 试剂盒操作说明书进行操作。分别吸取 50 μ L 结核分枝杆菌特异混合多肽 A(抗原 A)、50 μ L 结核分枝杆菌特异混合多肽 B(抗原 B)、50 μ L 空白对照细胞培养液及 50 μ L 阳性对照植物血凝素加入对应的微量板(已包被抗体)检测孔中,每个孔分别加入 100 μ L 细胞终止溶液,将加完样的微量板放置于 37 $^{\circ}$ C,含有 5% CO₂ 的培养箱中孵育 16~20 h。从培养箱中取出微量板,弃去细胞培养液,用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤至少 3 遍。加入 PBS 200 倍稀释浓缩

标记抗体试剂,制成标记抗体工作液,每个反应孔加入 50 μ L 标记抗体工作液,2~8 $^{\circ}$ C 孵育 1 h,洗涤 3 遍。每个反应孔加入 50 μ L 底物显色溶液,室温孵育 7 min,用去离子水彻底洗涤微量板以终止反应,然后置于 37 $^{\circ}$ C 温箱干燥,计数每个反应孔内深蓝色的清晰斑点。

1.2.2 结果判读

T-SPOT. TB 结果判定:若患者空白对照孔斑点数为 0~5 个,且抗原 A 或抗原 B 孔的斑点数-空白对照孔斑点数≥6 个,则判断为阳性;患者空白对照孔斑点数为 6~10 个,且抗原 A 或抗原 B 孔的斑点数-空白对照孔斑点数≥2×空白对照孔斑点数,则判断为阳性;不符合上述标准且阳性对照孔结果正常,则判断为阴性。

1.3 统计学处理

采用 SPSS21.0 统计软件对数据进行统计分析。计数资料以例数或百分率表示,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

2.1 结核病与非结核病患者 T-SPOT. TB 检测结果

218 例疑似结核病的老年患者中,T-SPOT. TB 阳性患者 84 例,阳性率为 38.53%(84/218),其中结核病患者 T-SOPT. TB 阳性率为 86.59%(71/82),非结核病患者 T-SOPT. TB 阳性率为 9.56%(13/136),结核病患者 T-SOPT. TB 阳性率明显高于非结核病患者($\chi^2 = 128.15, P < 0.05$),见表 1。T-SPOT. TB 诊断结核病的灵敏度为 86.59%(71/82),特异度为 90.44%(123/136),阳性预测值为 84.52%(71/84),阴性预测值为 91.79%(123/134),阳性似然比为 9.06(86.59%/9.56%),阴性似然比为 0.15(13.41%/90.44%)。

表 1 结核病与非结核病患者 T-SPOT. TB 检测结果

项目	n	阳性(n)	阴性(n)	阳性率(%)
结核病	82	71	11	86.59
非结核病	136	13	123	9.56

2.2 肺结核与肺外结核患者 T-SPOT. TB 检测结果

82 例结核病患者中,71 例肺结核患者 T-SPOT. TB 阳性率为 87.32%(62/71),11 例肺外结核患者 T-SPOT. TB 阳性率为 81.82%(9/11),两组间比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.001, P = 0.98$)。见表 2。

表 2 肺结核与肺外结核患者 T-SPOT. TB 检测结果

项目	n	阴性(n)	阳性(n)	阳性率(%)
肺结核	71	9	62	87.32
肺外结核	11	2	9	81.82

3 讨 论

结核病作为临床常见的一种慢性传染性疾病,严重危害着人类的健康及生存质量。虽然近年来结核病得到了有效控制,但其发病率仍呈现出逐年上升的趋势,且发病率与患者年龄密切相关,老年患者的发病率较高。老年患者的呼吸系统各项功能容易出现衰退性改变,如呼吸运动效率降低、部分小气道阻塞性通气障碍和引流不畅等^[3];同时,老年患者感染结核分枝杆菌时没有明确的免疫反应表现,细胞浸润程度不一,临床表现不够典型,容易造成临床诊断准确率低,出现漏诊、误诊等,从而导致其失去最佳的治疗时机,增加病死率。因此,选择一种灵敏度、特异度高的检测方法对老年结核病患者的诊断具有十分重要的意义。

目前,临床实验室检测结核病常用方法包括:支气管镜取病理组织或行肺泡灌洗液检测、红细胞沉降率(ESR)检测、痰结核分枝杆菌涂片检测、血结核分枝杆菌抗体检测、结核菌素试验及 T-SPOT. TB。其中支气管镜取病理组织或行肺泡灌洗液检测为有创伤性检查,老年人群进行该项检查的风险较高,导致该方法在临床上的应用受到一定程度的限制。痰结核分枝杆菌涂片检测是诊断肺结核的“金标准”,但由于检测结果易受标本采集、运输及人为主观因素的影响,存在阳性率低的情况^[4]。ESR 易受到患者自身的炎症反应、应激、血液成分的改变等影响,诊断结核病的特异度低。血结核分枝杆菌抗体检测会受到患者既往感染过结核分枝杆菌或对结核分枝杆菌有免疫力的影响而产生假阳性结果,或由于患者体质因素影响而产生假阴性结果^[5]。结核菌素试验易受到检测技术、环境、既往卡介苗接种,以及非结核分枝杆菌的影响而产生假阳性或假阴性结果^[6]。本研究所采用的 T-SPOT. TB 是一种由酶联免疫斑点技术发展而来的检测方法,是从单细胞水平检测细胞因子的一种细胞免疫学技术,其对患者进行结核分枝杆菌感染状态判断时较少受到人体免疫状态的影响^[7-9]。

近年来,T-SPOT. TB 已发展为临床诊断结核病的有效手段,研究发现,其在结核病诊断中具有较高的灵敏度和特异度^[10]。LALVANI^[11]的研究结果显示,T-SPOT. TB 诊断结核病的灵敏度为 83%~97%;TURTLE 等^[12]的研究结果中,T-SPOT. TB 诊断结核病的灵敏度和特异度分别为 83.3%和 75.0%。本研究结果显示,T-SPOT. TB 诊断结核病的灵敏度为 86.59%(71/82),特异度为 90.44%(123/136),与上述研究结果类似。本研究中,11 例结核病患者的 T-SPOT. TB 检测结果呈假阴性,导致出现假阴性的原因可能与淋巴细胞的数量和功能有关。

研究表明,由于结核分枝杆菌对机体存在免疫性逃避,从而导致了淋巴细胞的功能异常^[13-14]。常见的免疫性逃避方式有:(1)结核分枝杆菌进入巨噬细胞后通过释放大分子物质阻止内含体与溶酶体融合,进而阻止特异性免疫反应的激活;(2)结核分枝杆菌本身的毒力导致淋巴细胞死亡;(3)结核分枝杆菌可以干扰主要组织相容性复合体 II 类分子的合成与转运,进而影响 T 淋巴细胞的识别、活化。年龄较大、超重及住院前有较长病程(>6 个月)的患者淋巴细胞对结核分枝杆菌特异性抗原的免疫应答弱化或异常应答,导致 T-SPOT. TB 检测结果呈假阴性。非结核病患者中有 13 例 T-SPOT. TB 检测结果呈假阳性,考虑可能与以下因素有关,(1)既往结核病病史和影像学资料提示的肺部钙化纤维增殖灶可能会对 T-SPOT. TB 的检测结果造成干扰,产生假阳性结果^[15]。(2)患者既往无结核病患者接触史且肺部 CT 也未显示明显的钙化纤维增殖灶,但 T-SPOT. TB 呈假阳性,这可能与潜伏期结核分枝杆菌感染有关。(3)当患者感染堪萨斯分枝杆菌、苏尔加分枝杆菌、海分枝杆菌和戈登分枝杆菌时,也可导致 T-SPOT. TB 出现假阳性结果^[16]。

本研究结果显示,肺结核和肺外结核患者 T-SPOT. TB 阳性率差异无统计学意义($P>0.05$),与文献^[17]的研究结果一致。肺外结核由于发病形式多样、病程隐匿、易累及多个脏器、临床特征不典型等原因,需通过手术或病理组织活检进行病原学诊断,而本研究中均为老年患者,对诊断的依从性较差,部分患者家属不能接受有创性检查,诊断难度高。因此,对于肺外结核患者可能存在一定的误诊、漏诊情况。

综上所述,T-SPOT. TB 在诊断老年结核病方面具有较高的灵敏度和特异度,能够有效提高诊断的准确性,减少误诊、漏诊,具有重要的辅助诊断价值。

参考文献

- [1] 李建之,孟凡亮,张鑫. 泰安市实施结核病专科医院项目效果分析[J]. 社区医学杂志,2013,11(24):38-39.
- [2] 陈新秀,郑成芳. 结核感染 T 细胞试验对于肺结核诊断的意义研究[J]. 解放军预防医学杂志,2019,37(5):5-6.
- [3] 张子胜. 老年人肺结核的临床特点及诊治对策[J]. 中国农村卫生杂志,2016,8(4):30-31.
- [4] 宋瑞红,沈魏,鲁立文. 结核感染 T 细胞斑点试验在肺结核和肺外结核诊断中的价值[J]. 中国医药导报,2019,16(1):163-167.
- [5] 易平,田芳,郭旭丽,等. 外周血 T 细胞抗原刺激试验(T-SPOT)在结核病检测中的应用[J]. 实用预防医学,2017,24(3):10-14.

单纯颅脑损伤急性期凝血功能障碍具有一定的诊断价值,可用于临床辅助诊断。但本研究纳入的样本量较小,且为回顾性研究,结果的可靠性有待大样本的前瞻性研究进一步验证。

参考文献

[1] MARTIN G, DHAVAN S, ELSON N, et al. Relationship of coagulopathy and platelet dysfunction to transfusion needs after traumatic brain injury[J]. *Neurocrit Care*, 2018, 28(3):330-337.

[2] ZHANG J N, ZHANG F Y, DONG J F. Coagulopathy induced by traumatic brain injury: systemic manifestation of a localized injury[J]. *Blood*, 2018, 131(18):2001-2006.

[3] KUNIO N R, DIFFERDING J A, WATSON K M, et al. Thrombelastography-identified coagulopathy is associated with increased morbidity and mortality after traumatic brain injury[J]. *Am J Surg*, 2012, 203(5):584-588.

[4] MASSARO A M, DOERFLER S, NAWALINSKI K, et al. Thromboelastography defines late hypercoagulability after TBI: a pilot study[J]. *Neurocrit Care*, 2015, 22(1):45-51.

[5] GONZALEZ E, PIERACCI F M, MOORE E E. Coagulation abnormalities in the trauma patient: the role of point-of-care thromboelastography[J]. *Semin Thromb Hemost*, 2010, 36(7):723-737.

[6] BRILL J B, BADIEE J, ZANDER A L, et al. The rate of

deep vein thrombosis doubles in trauma patients with hypercoagulable thromboelastography[J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2017, 84(3):413-419.

[7] JEGER V, WILLI S, LIU T, et al. The rapid TEG α -Angle may be a sensitive predictor of transfusion in moderately injured blunt trauma patients[J]. *Sci World J*, 2012, 2012:821794.

[8] DORAN C M, WOOLLEY T, MIDWINTER M J. Feasibility of using rotational thromboelastometry to assess coagulation status of combat casualties in a deployed setting[J]. *J Trauma*, 2010, 69(Suppl 1):S40-S48.

[9] COTTON B A, FAZ G, HATCH Q M, et al. Rapid thromboelastography delivers real-time results that predict transfusion within 1 hour of admission[J]. *J Trauma*, 2011, 70(2):407-414.

[10] HOLCOMB J B, MINEI K M, SCERBO M L, et al. Admission rapid thrombelastography can replace conventional coagulation tests in the emergency department: experience with 1 974 consecutive trauma patients[J]. *Ann Surg*, 2012, 256(3):476-486.

[11] KORNB LITH L Z, KUTCHER M E, REDICK B J, et al. Fibrinogen and platelet contributions to clot formation: implications for trauma resuscitation and thromboprophylaxis[J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2014, 76(2):255-256.

(收稿日期:2020-03-13 修回日期:2020-10-17)

(上接第 3617 页)

[6] SOYSAL A, BAKIR M. T-SPOT. TB assay usage in adults and children[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2011, 11(6):643-660.

[7] 刘琳,王敬亚,祖蓓蓓,等. T-SPOT. TB 试验对 240 例疑似结核患者的诊断分析[J/CD]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2016, 10(3):440-442.

[8] 石菡,袁媛,李艳芳,等. 结核感染 T 细胞斑点试验对结核性胸膜炎的临床诊断分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2016, 26(7):1486-1488.

[9] 翁绳凤,邢俊蓬,郭威. 结核感染血清学诊断技术的应用评价[J]. *中国实验诊断学杂志*, 2019, 23(5):815-817.

[10] LAURENTI P, RAPONI M, DE WAURE C. Performance of interferon- γ release assays in the diagnosis of confirmed active tuberculosis in immunocompetent children: a new systematic review and meta-analysis[J]. *BMC Infect Dis*, 2016, 16:131.

[11] LALVANI A. Diagnosing tuberculosis infection in the 21st century: new tools to tackle an old enemy[J]. *Chest*, 2007, 131(6):1898-1906.

[12] TURTLE L, KEMP T, DAVIES G R, 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.

[13] 景淑贤,陈宝荣,赵培明,等. T-SPOT. TB 试验在活动性结核病诊断中的应用价值[J]. *中国现代医药杂志*, 2018, 20(8):28-30.

[14] HMAMA Z, PENA-DIAZ S, JOSEPH S, et al. Immunoevasion and immunosuppression of the macrophage by *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Immunol Rev*, 2015, 264(1):220-232.

[15] KIM C H, KIM J Y, HWANG Y I, et al. Interferon- γ enzyme-linked immunospot assay in patients with tuberculosis and healthy adults[J]. *Tuberc Respir Dis*, 2014, 76(1):23-29.

[16] 郑颖,徐冬梅,丁文杰,等. 4 种不同检测方法对肺结核的诊断价值比较[J]. *中国乡村医药*, 2016, 23(1):65-66.

[17] 陶学芳,王建华. 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.

(收稿日期:2020-04-11 修回日期:2020-10-08)