

• 论著 •

结核感染 T 细胞斑点试验
在结核性胸膜炎诊断中的价值

陈希 李晓轅 李玲 孟萍 张廷军 赵红梅 李云鹏

【摘要】 目的 评价结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT. TB)在结核性胸膜炎诊断及鉴别诊断中的临床应用价值。**方法** 选取沈阳市胸科医院 2012 年 8 月至 2013 年 6 月住院的诊断明确的所有胸腔积液患者 93 例。其中符合《临床诊疗指南结核病分册》对结核性胸膜炎诊断标准的 48 例患者为结核组;根据病理学、病原学、疗效等确诊的非结核性胸腔积液 45 例患者为对照组。用 T-SPOT. TB 方法检测两组患者的外周血单个核细胞(PBMC)中对结核分枝杆菌早期分泌靶抗原 6(ESAT-6)和(或)培养滤液蛋白 10(CFP-10)致敏的 T 淋巴细胞(即斑点形成细胞, SFC)的数量, 再对两组患者 SFC 阳性率进行比较;同时检测两组患者胸腔积液中腺苷脱氨酶(ADA)、血清结核抗体(TB-AB)、胸腔积液结核分枝杆菌培养(Mtb culture)情况, 并与 T-SPOT. TB 检测进行比较。采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计学分析, 各组样本“率”的比较采用 Pearson χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。**结果** T-SPOT. TB 检测在结核组阳性率为 91.67%(44/48), 显著高于对照组的阳性率 8.89%(4/45), 差异有统计学意义($\chi^2 = 63.73, P < 0.05$)。T-SPOT. TB(E/C)的敏感度(91.67%, 44/48)高于单用 ESAT-6 的敏感度(85.42%, 41/48)或单用 CFP-10 的敏感度(75.00%, 36/48), 但差异无统计学意义(与 ESAT-6 比较: $\chi^2 = 0.92, P > 0.05$; 与 CFP-10 比较: $\chi^2 = 4.8, P > 0.05$)。T-SPOT. TB、胸腔积液中 ADA 检测、血清 TB-AB 检测、胸腔积液 Mtb culture 的敏感度分别为 91.67%(44/48)、70.83%(34/48)、62.50%(30/48)、14.58%(7/48); 特异度分别为 91.11%(41/45)、55.56%(25/45)、62.22%(28/45)、100.00%(45/45); 诊断准确率分别为 94.62%(88/93)、63.44%(59/93)、62.37%(58/93)、55.91%(52/93); 除胸腔积液 Mtb culture 特异度高于 T-SPOT. TB 外($\chi^2 = 4.18, P < 0.05$), T-SPOT. TB(E/C)检测敏感度和特异度均高于其他检验方法, 差异均有统计学意义(T-SPOT. TB 与 ADA 比较: 敏感度 $\chi^2 = 6.84, P < 0.05$; 特异度 $\chi^2 = 14.55, P < 0.05$ 。T-SPOT. TB 与 TB-AB 比较: 敏感度 $\chi^2 = 11.56, P < 0.05$; 特异度 $\chi^2 = 10.49, P < 0.05$ 。T-SPOT. TB 与 Mtb culture 比较: 敏感度 $\chi^2 = 57.27, P < 0.05$; $\chi^2 = 4.18, P < 0.05$)。**结论** T-SPOT. TB 在诊断结核性胸膜炎时有较高的敏感度、特异度和诊断准确率, 值得在临床广泛推广和应用。

【关键词】 结核, 胸膜; 干扰素 γ 释放试验; 敏感性与特异性

The application value of T-SPOT. TB in the diagnosis of tuberculous pleurisy CHEN Xi*, LI Xiao-yuan, LI Ling, MENG Ping, ZHANG Ting-jun, ZHAO Hong-mei, LI Yun-peng. * Department of Tuberculosis, Shenyang Chest Hospital, Shenyang 110044, China

Corresponding author: LI Xiao-yuan, Email: xjg5624@sina.com

【Abstract】 Objective To evaluate the clinical application value of *Mycobacterium tuberculosis* T cell enzyme-linked immunospot tuberculous test (T-SPOT. TB test) in the diagnosis and differential diagnosis of tuberculous pleurisy. **Methods** Ninety-three patients with pleural effusion who were hospitalized in Shenyang Chest Hospital from August 2012 to June 2013 were enrolled in this study. According to the diagnostic criteria of tuberculous pleurisy in *clinical guidelines for the diagnosis and treatment of tuberculosis*, 48 patients with tuberculous pleurisy and 45 cases of non-tuberculous pleurisy were divided into study group and control group. The number of T lymphocytes (namely spots forming cells, SFC) to early secretory antigenic target 6 (ESAT-6) and/or culture filtrate protein (CFP-10) sensitive in peripheral blood mononuclear cell (PBMC) of participants were determined by T-SPOT. TB test. The positive rates of SFC in two groups were compared. The results were compared with other related indicators (adenosine deaminase (ADA), serum tuberculosis antibody (TB-AB), and tuberculosis bacterium culture (Mtb

culture) of pleural effusion. SPSS 17.0 was used for statistical analysis. Pearson Chi-square test was used to compare rates and P value less than 0.05 was considered statistically significant. **Results** The positive rate of tuberculous pleurisy group (91.67%, 44/48) by T-SPOT. TB test was significantly higher than that of control group (8.89%, 4/45). The difference was statistically significant ($\chi^2=63.73$, $P<0.05$). The sensitivity of T-SPOT. TB test in detection of ESAT-6 and CFP-10 (91.67%, 44/48) was higher than that in detection of ESAT-6 (85.42%, 41/48) or CFP-10 (75.00%, 36/48). The difference had no statistical significance (compared with ESAT-6, $\chi^2=0.92$, $P>0.05$; compared with CFP-10, $\chi^2=4.8$, $P>0.05$). The sensitivities of T-SPOT. TB, ADA detection, TB-AB detection and Mtb culture were 91.67% (44/48), 70.83% (34/48), 62.50% (30/48) and 14.58% (7/48) respectively. The specificities were 91.11% (41/45), 55.56% (25/45), 62.22% (28/45) and 100.00% (45/45). The diagnostic accuracy rates were 94.62% (88/93), 63.44% (59/93), 62.37% (58/93) and 55.91% (52/93). Except the specificity of Mtb culture which was higher than T-SPOT. TB test, the sensitivity and specificity of T-SPOT. TB test were higher than those of other test methods, and the difference was statistically significant (compared with ADA-sensitivity $\chi^2=6.84$, $P<0.05$, specificity $\chi^2=14.55$, $P<0.05$; compared with TB-AB-sensitivity $\chi^2=11.56$, $P<0.05$, specificity $\chi^2=10.49$, $P<0.05$; compared with Mtb culture-specificity $\chi^2=57.27$, $P<0.05$, specificity $\chi^2=4.18$, $P<0.05$). **Conclusion** T-SPOT. TB test has high sensitivity, specificity and diagnostic accuracy in the diagnosis of tuberculous pleurisy. Therefore, it is worth in the clinical extension and application.

【Key words】 Tuberculosis, pleural; Interferon-gamma release tests; Sensitivity and specificity

结核性胸膜炎是胸腔积液最常见的原因,在各种不同病因的胸腔渗液中占 30%~60%,与淋巴结结核并列为最常见的肺外结核^[1]。目前结核性胸膜炎的诊断主要是通过病史、临床表现、影像学 and 胸腔积液常规检查和疗效观察,诊断准确率较低,与恶性胸腔积液等难以鉴别,易造成误诊,从而带来严重后果^[2]。细菌学和病理学检查是结核性胸膜炎诊断的金标准,但因结核性胸腔积液中细菌含量少,胸腔积液中涂片和培养结核分枝杆菌阳性率低,且胸腔积液结核分枝杆菌培养(Mtb culture)时间较长,通过胸膜活检或胸腔镜取病理检查阳性率相对较高,但这些为有创性检查,不能作为常规应用,免疫学和分子生物学技术简便、快速,适合大规模筛查,但有假阳性和操作不当影响效果的缺点,现有检测方法对结核性胸膜炎的诊断存在局限性,迫切需要一种新的检测技术以提高结核性胸膜炎的诊断准确性。

目前,临床上应用由 ELISPOT 技术发展而来的结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT. TB)进行结核分枝杆菌感染的早期诊断,此方法使用结核分枝杆菌特异性抗原刺激外周血单个核细胞(PBMC),通过细胞因子 γ 干扰素(INF- γ)的分泌检测抗原特异性 T 淋巴细胞的应答反应,从而判断结核分枝杆菌感染的状态,具有较高的敏感度和特异度^[3-4]。本实验通过对患者外周血进行 T-SPOT. TB 检测,并与胸腔积液中腺苷脱氨酶(ADA)检测、血清结核抗体(TB-AB)检测、胸腔积液 Mtb culture 共 3 种传统检测方法比较,探讨其在结核性胸膜炎诊断及鉴别诊断中的临床应用价值,从而提高结核性胸膜炎早期诊断水平。

材料和方法

一、研究对象

1. 结核病组:2012 年 8 月至 2013 年 6 月我院收治的全部符合《临床诊疗指南结核病分册》^[5]对结核性胸膜炎诊断标准的患者 48 例为结核病组。其中男 31 例,女 17 例;年龄 14~85 岁,平均年龄(39.5±19)岁。30 例为确诊患者,其中胸腔积液 Mtb culture 阳性 7 例,23 例经胸膜病理检查可见干酪性肉芽肿;临床诊断患者 18 例,抗结核治疗有效。48 例患者中,单纯结核性胸膜炎 33 例,合并肺结核 15 例。

2. 对照组:2012 年 8 月至 2013 年 6 月我院收治的明确诊断的全部非结核性胸腔积液患者 45 例,其中胸膜转移癌 21 例,胸膜间皮瘤 6 例,肺炎旁胸腔积液 12 例,风湿性疾病 3 例,心功能不全 3 例。其中肿瘤患者均经病理学或细胞学检查明确诊断,其他疾病根据病原学、临床症状、体征、化验检查、影像学表现及疗效等证实。其中男 25 例,女 20 例;年龄 26~78 岁,平均年龄(53±15)岁。45 例患者既往均无结核病病史和结核病接触史,无合并活动性肺结核或影像学未显示陈旧性结核病变,肿瘤患者未经过放疗、化疗和手术治疗。

两组所有患者均无 HIV 感染者和艾滋病患者及急性病毒感染者,未接受免疫抑制剂和增强剂治疗。两组患者的年龄经两独立样本均数 t 检验($t=1.96$, $P>0.05$),性别经卡方检验($\chi^2=0.815$, $P>0.05$),差异均无统计学意义,具有可比性。本研究过程经我院伦理委员会审核,所有研究对象对临床诊断过程知情同意。

二、主要试剂和仪器

T-SPOT. TB 试剂盒(牛津 Immunotec 公司产品,英国),人淋巴细胞分析仪(中国医学科学院生物工程医学研究所灏阳生物公司产品),细胞培养液 RPMI Medium 1640(美国 Invitrogen/Gibco 公司产品),无血培养液 AIM-V(美国 Invitrogen/Gibco 公司产品),二氧化碳培养箱(北京北方利辉试验仪器设备有限公司产品),酶联斑点分析仪(Immunospot TATC Analyzer,美国 CTL 公司产品),结核分枝杆菌 IgG 抗体检测试剂盒(潍坊市康华生物技术有限公司产品),腺苷脱氨酶测定试剂盒(北京九强生物技术有限公司产品),TBA-40FR 全自动生化分析仪[东芝医疗系统(中国)有限公司产品],全自动 Bactec MGIT 960 系统(美国 BD 公司产品),MGIT 960 液体培养基(管)(美国 BD 公司产品)。

三、T-SPOT. TB 检测方法

采用 T-SPOT. TB 试剂盒检测分泌 IFN- γ 的 T 细胞,严格按照说明书操作。抽取患者外周血 4~5 ml,将抗凝液和血液混匀待用;放置室温于 4 h 内进行 PBMCs 的分离,用淋巴细胞分离液分离 PBMCs,配制细胞浓度为 2.5×10^6 个/ml 的细胞悬液至少 300 μ l 待用。每份待测样本需要 4 个检测孔:空白对照孔、检测孔 A(抗原 A)和检测孔 B(抗原 B)、阳性质控对照[植物血凝素(phytohemagglutinin, PHA)对照],在各反应孔内加入下列试剂:加入 50 μ l 细胞培养液至每个空白对照孔内;加入 50 μ l 抗原 A 溶液至每个必要的检测孔内;加入 50 μ l 抗原 B 溶液至每个必要的检测孔内;加入 50 μ l 阳性质控至每个细胞功能控制孔内;然后每孔加入 100 μ l 配制好的浓度为 2.5×10^6 个/ml 的 PBMCs 悬液,将反应板放入湿润的培养箱在 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养 18~20 h,弃培养上清液,每个反应孔用 200 μ l PBS 缓冲液清洗 4 次,在每个孔中加入 50 μ l 标记抗体工作液,2 $^{\circ}$ C~8 $^{\circ}$ C 孵育 1 h,弃去液体,每孔用 200 μ l PBS 缓冲液清洗 4 次,每孔加入 50 μ l 底物显色溶液室温孵育 7 min,用蒸馏水或去离子水冲洗终止反应,将板放入 37 $^{\circ}$ C 烘箱干燥或者室温干燥,记数着色的斑点,每一个点代表一个分泌 IFN- γ 的 T 淋巴细胞。

四、T-SPOT. TB 结果判断

1. 阳性判断标准:按照 T-SPOT. TB 试剂盒使用说明,根据检测孔的反应判断结果,检测结果为“阳性”,参照以下标准:(1)空白对照孔斑点数为 0~5 个时且(抗原 A 或抗原 B 孔斑点数)-(空白对照

孔斑点数) ≥ 6 ;(2)空白对照孔斑点数为 6~10 个时且(抗原 A 或抗原 B 孔斑点数) $\geq 2 \times$ (空白对照孔斑点数)。

2. 阴性判断标准:如果上述标准不符合,且阳性对照孔正常时,检测结果为“阴性”。各抗原 T-SPOT. TB 阳性及阴性检测结果见图 1~2。

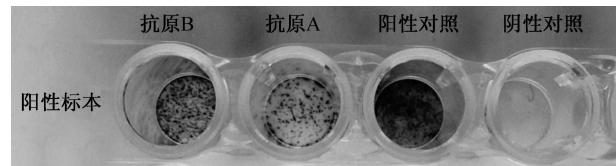


图 1 阳性结果示意图

(抗原 A 或抗原 B 孔斑点数-阴性对照孔斑点数 ≥ 6)

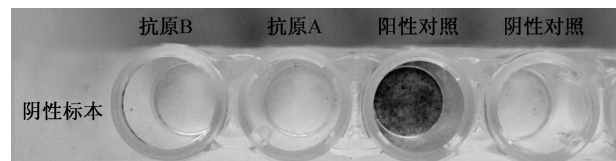


图 2 阴性结果示意图(阳性对照孔正常,

抗原 A 或抗原 B 孔斑点数-阴性对照孔斑点数 ≤ 6)

五、血清 TB-AB 检测

采用结核分枝杆菌 IgG 抗体检测试剂盒,应用胶体金法,取静脉血 4~5 ml,离心半径 15 cm,4000 r/min 离心 10 min,检测卡平衡至室温,在硝酸纤维素膜区中间位置加 4 μ l 血清,待血清完全吸收后,在加样孔中加入 50~80 μ l 稀释液,15 min 后观察结果,出现 1 条红色质控线为阴性,出现质控线和反应线 2 条红色为阳性。

六、胸腔积液中 ADA 检测

采用速率法检测,参照 ADA 测定试剂盒使用说明,取胸腔积液 5 ml,离心半径 15 cm,2000 r/min 离心 10 min,取上清液,应用 TBA-40FR 全自动生化分析仪进行结果分析,胸腔积液 ADA ≥ 45 U/L 为阳性。

七、胸腔积液中 Mtb culture

采用 Bactec MGIT 960 系统快速培养操作方法,取胸腔积液 5 ml 于无菌试管中,先将样本消化处理,从中取 0.5 ml 样本加入含有杂菌抑制剂和营养添加剂 7 ml 的 Bactec MGIT 960 液体培养基(管)中培养,培养阳性者均以鉴别培养基对其菌种进行鉴定,将非结核分枝杆菌排除。

八、统计学处理

斑点形成细胞(SFC)数量呈非正态分布,用中位数表示;两组间 SFC 数量比较应用 Mann-Whitney U 检验;各组样本率的比较采用 Pearson χ^2 检验;

敏感度(结核病患者中 T-SPOT. TB 检测阳性例数/结核病患者总例数)、特异度(结核病患者中 T-SPOT. TB 检测阴性例数/结核病患者总例数)、阳性预测值(结核病患者中 T-SPOT. TB 检测阳性例数/两组中 T-SPOT. TB 检测阳性总例数)、阴性预测值(对照组患者中 T-SPOT. TB 检测阴性例数/两组中 T-SPOT. TB 检测阴性总例数)、诊断准确率(结核病患者中 T-SPOT. TB 检测阳性例数+对照组患者中 T-SPOT. TB 检测阴性例数/两组患者总例数)、约登指数(1-误诊率-漏诊率)用四格表计算;应用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、两组间不同抗原 T-SPOT. TB 形成 SFC 数量的比较

分别以早期分泌靶抗原 6 (ESAT-6) 和培养滤液蛋白-10 (CFP-10) 多肽抗原作为刺激物, 结核病患者和对照组每例患者 T-SPOT. TB 形成的 SFC 间差异有统计学意义 ($U = 205, P < 0.001; U = 327, P < 0.001$), 结核病患者均显著高于对照组的 SFC 数量(表 1, 图 3)。

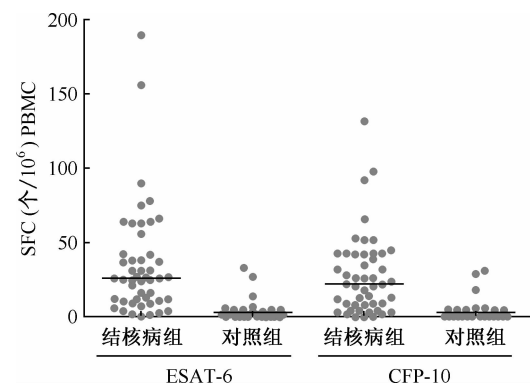
表 1 结核病患者和对照组不同抗原 T-SPOT. TB 形成的 SFC 数量比较

组别	例数	ESAT-6 检测 SFC 数量(个/ 10^6)	CFP-10 检测 SFC 数量(个/ 10^6)
结核病患者	48	35(0~190)	28(0~132)
对照组	45	4(0~33)	4(0~29)
U 值		205	327
P 值		< 0.001	< 0.001

注 括号外数值为两组斑点形成细胞(SFC)数量的中位数, 括号内为各组患者 SFC 数量的最小值和最大值

二、两组间不同抗原 T-SPOT. TB 形成 SFC 阳性率的比较

结核病患者和对照组两组间 ESAT-6、CFP-10 和



图中“圆点”代表两组研究对象经 ESAT-6 抗原和 CFP-10 多肽抗原刺激后形成的 SFC 数量, 黑线代表 SFC 数量的中位数

图 3 结核病患者(48 例)和对照组(45 例)患者 SFC 数量散点图

E/C(对 ESAT-6 抗原或 CFP-10 多肽抗原任一阳性)在 T-SPOT. TB 形成 SFC 阳性率差异均有统计学意义;结核病患者 3 种抗原 T-SPOT. TB 形成 SFC 的阳性率显著高于对照组形成 SFC 的阳性率($\chi^2 = 6.84, P < 0.001$)(表 2)。

三、T-SPOT. TB 对结核性胸膜炎的诊断评价

由于 T-SPOT. TB 试剂盒检测孔 A (ESAT-6 抗原作为刺激物) 和检测孔 B (CFP-10 多肽抗原作为刺激物) 使用的抗原不同, 引起的细胞免疫反应也有所差别, 联合应用 (E/C) 可提高检测的阳性率。T-SPOT. TB (E/C) 在结核患者的诊断中敏感度 (91.67%)、阴性预测值 (91.11%)、约登指数 (Youden) (0.828), 诊断准确率 (94.62%) 均高于单独应用 ESAT-6 抗原或 CFP-10 多肽抗原检测的各项指标, 但联合应用 (E/C) 与单用 ESAT-6 抗原的敏感度差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.92, P > 0.05$), 联合应用 (E/C) 与单用 CFP-10 抗原的敏感度差异有统计学意义 ($\chi^2 = 4.8, P < 0.05$)。ESAT-6 抗原和 CFP-10 多肽抗原比较, 除了特异度相同外, ESAT-6 抗原的各项指标数均高于 CFP-10 多肽抗原(表 3), 但两者敏感度差异无统计学意义 ($\chi^2 = 1.64, P > 0.05$)。

表 2 两组患者在 3 种抗原 T-SPOT. TB 检测下 SFC 阳性率比较

组别	例数	ESAT-6 检测 SFC 阳性率(%)	CFP-10 检测 SFC 阳性率(%)	E/C 检测 SFC 阳性率(%) ^a
结核病患者	48	85.42(41/48)	75.00(36/48)	91.67(44/48)
对照组	45	6.67(3/45)	6.67(3/45)	8.89(4/45)
χ^2 值		57.78	44.54	63.73
P 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001

注 ^a: E/C 表示对 ESAT-6 抗原或 CFP-10 多肽抗原任一阳性; 表中括号内的分母数值为两组患者的例数, 分子数值为各抗原检测阳性的例数

表 3 T-SPOT. TB 检测在结核性胸膜炎诊断中的评价

抗原	敏感度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)	Youden 指数	诊断准确率 (%)
ESAT-6	85.42(41/48)	93.33(42/45)	93.18(41/44)	85.71(42/49)	0.786	89.25(83/93)
CFP-10	75.00(36/48)	93.33(42/45)	92.31(36/39)	77.78(42/54)	0.683	83.87(78/93)
E/C	91.67(44/48)	91.11(41/45)	91.67(44/48)	91.11(41/45)	0.828	94.62(88/93)

注 敏感度(%)=结核组中“E/C”阳性例数/总例数 $\times 100\%$,特异度(%)=对照组中“E/C”阴性例数/总例数 $\times 100\%$,阳性预测值(%)=结核组中“E/C”阳性例数/两组中阳性总例数 $\times 100\%$,阴性预测值(%)=对照组中“E/C”阴性例数/两组中阴性总例数 $\times 100\%$,诊断准确率(%)=(结核组中“E/C”阳性例数+对照组中“E/C”阴性例数)/两组总例数 $\times 100\%$ 。敏感度:ESAT-6 与 CFP-10 比较, $\chi^2=1.64, P=0.2$; ESAT-6 与 E/C 比较, $\chi^2=0.92, P=0.34$; CFP-10 与 E/C 比较, $\chi^2=4.8, P=0.03$ 。特异度:ESAT-6 与 CFP-10 比较,相同;ESAT-6 与 E/C 比较, $\chi^2=1.08, P=0.30$; CFP-10 与 E/C 比较, $\chi^2=1.08, P=0.3$ 。阳性预测值:ESAT-6 与 CFP-10 比较, $\chi^2=0.24, P=0.87$; ESAT-6 与 E/C 比较, $\chi^2=0.08, P=0.78$; CFP-10 与 E/C 比较, $\chi^2=0.01, P=0.91$ 。阴性预测值:ESAT-6 与 CFP-10 比较, $\chi^2=1.08, P=0.30$; ESAT-6 与 E/C 比较, $\chi^2=0.66, P=0.42$; CFP-10 与 E/C 比较, $\chi^2=3.22, P=0.07$ 。诊断准确率:ESAT-6 与 CFP-10 比较, $\chi^2=1.16, P=0.28$; ESAT-6 与 E/C 比较, $\chi^2=1.81, P=0.18$; CFP-10 与 E/C 比较, $\chi^2=5.60, P=0.02$

表 4 各种检验方法诊断结核性胸膜炎的评价

检验方法	敏感度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)	Youden 指数	诊断准确率 (%)
T-SPOT. TB (E/C)	91.67(44/48)	91.11(41/45)	91.67(44/48)	91.11(41/45)	0.828	94.62(88/93)
ADA	70.83(34/48)	55.56(25/45)	62.96(34/54)	64.10(25/39)	0.264	63.44(59/93)
TB-AB	62.50(30/48)	62.22(28/45)	63.83(30/47)	60.87(28/46)	0.247	62.37(58/93)
Mtb culture	14.58(7/48)	100.00(45/45)	100.00(7/7)	52.33(45/86)	0.146	55.91(52/93)

注 T-SPOT. TB(E/C)检测的敏感度分别与 ADA、TB-AB 和 Mtb culture 比较,差异均有统计学意义(分别为: $\chi^2=6.84, P=0.009$; $\chi^2=11.56, P=0.001$; $\chi^2=57.27, P<0.001$)。T-SPOT. TB(E/C)检测的特异度分别与 ADA、TB-AB 和 Mtb culture 比较,差异均有统计学意义(分别为: $\chi^2=14.55, P<0.001$; $\chi^2=10.49, P=0.001$; $\chi^2=4.18, P=0.04$)

四、不同检验方法诊断结核性胸膜炎的评价

在诊断结核性胸膜炎敏感度方面:T-SPOT. TB (E/C) 敏感度(91.67%)高于胸腔积液 ADA (70.83%),高于 TB-AB(62.50%),高于胸腔积液 Mtb culture(14.58%),与 ADA、TB-AB、Mtb Culture 比较差异均有统计学意义(表 4)。

在诊断结核性胸膜炎特异度方面:T-SPOT. TB (E/C) 特异度(91.11%)高于胸腔积液 ADA (55.56%),高于 TB-AB(62.22%),低于胸腔积液 Mtb culture(100.00%),与 ADA、TB-AB 比较差异均有统计学意义(表 4)。

胸腔积液 Mtb culture 的特异度虽好(100.00%),但敏感度过低(14.58%),综合比较 T-SPOT. TB (E/C)无论在敏感度还是特异度等方面都较高。

讨 论

1. 结核性胸膜炎早期诊断的重要性:结核性胸腔积液是肺外结核中常见的形式,在结核病患者中大约有 5%会发生结核性胸腔积液。尽管部分患者未经任何抗结核治疗可以出现病情缓解,但未经抗结核治疗的患者中有 65%在 5 年内发生活动性肺

结核或肺外结核,而且几乎所有结核性胸腔积液患者可以经规范的抗结核治疗得到治愈^[6]。因此早期快速诊断并积极治疗对结核性胸膜炎和肺结核的控制至关重要。

2. T-SPOT. TB 检测技术的优越性:以 T 细胞免疫应答为基础的 T-SPOT. TB 检测技术作为一种新的结核分枝杆菌感染的快速诊断工具被广泛应用于临床,具有较高的敏感度和特异度,即使在免疫力低下的人群中,T-SPOT. TB 依然能够维持较高的敏感度^[7]。由于两种特异性结核分枝杆菌刺激原 ESAT-6 和 CFP-10 的使用,使得此方法的敏感度和特异度大幅度增加,目前已成为欧美国家检测结核分枝杆菌感染的临床常规方法之一。本研究 T-SPOT. TB 检测的 SFC 在分别以 ESAT-6 抗原和 CFP-10 多肽抗原作为刺激物,结核组(中位数分别为 35 个/ 10^6 、28 个/ 10^6)和对照组(中位数分别为 4 个/ 10^6 、4 个/ 10^6) T-SPOT. TB 形成的 SFC 间存在的差异有统计学意义,结核组均显著高于对照组的 SFC 数量,同时结核组 ESAT-6 抗原和 CFP-10 多肽抗原 T-SPOT. TB 形成 SFC 的阳性率(85.42%、75.00%)显著高于对照组形成 SFC 的阳

性率(6.67%、6.67%),此结果提示以结核分枝杆菌 RDI 区编码蛋白 ESAT-6、CFP-10 为抗原的 T-SPOT. TB 检测在结核性胸膜炎中有一定的诊断价值。

3. T-SPOT. TB 对结核性胸膜炎诊断的应用价值:胸腔积液是全身疾病或胸膜疾病所导致的液体过多渗出或漏出并积蓄在胸膜形成的病理现象。其鉴别是临床经常遇到的难题,且结核性胸膜炎早期胸腔积液少,不易抽胸腔积液化验诊断。本研究表明,T-SPOT. TB 在结核病组患者的阳性检出率(91.67%)远高于对照组(8.89%),说明 T-SPOT. TB 在结核性胸膜炎鉴别诊断中有较好的性能。Losi 等^[8]对来源于欧洲国家的 41 例胸腔积液患者(20 例结核性胸膜炎)的胸腔积液和 PBMC 进行 T-SPOT. TB 检测,胸腔积液的 T-SPOT. TB 的敏感度和特异度分别为 95%、76%,外周血的 T-SPOT. TB 敏感度和特异度分别为 90%、67%。本研究用外周血进行检测,T-SPOT. TB 的敏感度为 91.67%,特异度为 91.11%,敏感度与 Losi 等^[8]研究结果接近,特异度高于其研究结果。本研究表明,T-SPOT. TB 进行外周血检测对结核性胸膜炎早期诊断有较高的应用价值。

4. T-SPOT. TB、ADA、TB-AB、Mtb culture 检测方法的比较:目前结核性胸膜炎尚缺乏敏感度和特异度高的诊断手段,对结核性胸膜炎最可靠的诊断依据是胸腔积液结核分枝杆菌的检测和胸膜活检病理检查,阳性率分别为:胸腔积液涂片 5.8%,胸腔积液培养约 30%,胸膜活检 69.9%~82%^[9]。本研究表明,胸腔积液 Mtb culture 的特异度虽好(100.00%),但敏感度过低(14.58%),而且胸腔积液 Mtb culture 需时较长,影响了其对结核性胸膜炎的早期诊断。血清结核抗体检测虽然快,但特异度不高^[10],检测结果受很多因素的影响,当体内含有交叉抗原时会出现假阳性结果;而当存在免疫复合物或抑制性 T 细胞增多时又可引起假阴性结果。结核抗体增高程度与病变性质有一定关联,当病变处于窗口期或稳定状态时,检测结果会出现阴性可能^[11]。对活动性结核分枝杆菌感染的诊断有一定的缺陷。本研究数据显示,TB-AB 检测的敏感度为 62.50%,特异度为 62.22%,敏感度和特异度均不高。胸腔积液中 ADA 检测目前已被临床接受作为结核性胸膜炎的辅助诊断指标,但对其诊断价值意见不一,有文献报道 ADA 诊断的敏感度和特异度偏低,敏感度降低的原因可能是炎症早期或机

体免疫功能减退(如感染人类获得性免疫缺陷病毒),而特异度降低可能出现在肺炎旁积液和类风湿疾病中^[12-13]。本研究结果显示,胸腔积液 ADA 的敏感度(70.83%)、特异度(55.56%)、阳性预测值(62.96%)、阴性预测值(64.10%)、Youden 指数(0.264)、诊断准确率(63.44%)均低于 T-SPOT. TB 的敏感度(91.67%)、特异度(91.11%)、阳性预测值(91.67%)、阴性预测值(91.11%)、Youden 指数(0.828)、诊断准确率(94.62%)。

5. ESAT-6 和 CFP-10 两种抗原应用比较:由结核分枝杆菌复合群基因 RDI 区域编码的 ESAT-6 和 CFP-10 是结核特异性抗原及 T 细胞最主要的靶抗原,可以诱导较强的细胞免疫反应^[14],ESAT-6 从结核分枝杆菌短期培养滤液中分离出来,经纯化后获得,为低相对分子质量分泌性蛋白,拥有较强的细胞免疫活性,在抗结核分枝杆菌感染的免疫记忆应答过程中发挥重要作用。ESAT-6 只存在于具有致病性的分枝杆菌中,包括结核分枝杆菌、牛分枝杆菌、非洲分枝杆菌及苏尔加分枝杆菌、海水分枝杆菌和堪萨斯分枝杆菌等非典型分枝杆菌,在 BCG 及其他非致病性的分枝杆菌上则 ESAT-6 缺失。CFP-10 与 ESAT-6 位于同一基因族上,两者分布相同,都为 RDI 区编码。Hill 等^[15]报道使用任意单一抗原的敏感度要低于联合使用两种多肽抗原的敏感度,本研究成果与此相符,以联合应用 ESAT-6 和 CFP-10 的敏感度(91.67%)最高,高于单用 ESAT-6 的敏感度(85.42%)或单用 CFP-10 的敏感度(75.00%),但联用与单用 ESAT-6 抗原的敏感度差异无统计学意义($\chi^2=0.92, P>0.05$),联用与单用 CFP-10 抗原的敏感度差异有统计学意义($\chi^2=4.8, P<0.05$)。单独应用 ESAT-6 的敏感度(85.42%)高于单独应用 CFP-10 的敏感度(75.00%),但两者敏感度差异无统计学意义($\chi^2=1.64, P>0.05$),总体考虑 ESAT-6 抗原诊断的敏感度和特异度较高,相对 CFP-10 多肽抗原有更高的应用价值,可能是由于 ESAT-6 是 T 细胞最主要的靶抗原之一,含有多个特异性 T 细胞表位。

T-SPOT. TB 也有极少的假阳性和假阴性比例,出现假阳性的原因可能是患者曾经有过结核分枝杆菌潜伏性感染,出现假阴性的原因可能是标本在细胞免疫发生前获取,或者少数免疫系统功能不健全,因此当其值接近临界值时,应慎重参考,结合临床表现及其他辅助检查进一步明确诊断。

参 考 文 献

- [1] 马珂. 提高我国结核性胸膜炎的诊治水平. 中国防痨杂志, 2009, 31(1): 1-2.
- [2] 刘菲, 张霞, 杜凤娇, 等. γ -干扰素释放试验检测胸腔积液对诊断结核性胸膜炎的初步探讨. 中华结核和呼吸杂志, 2014, 37(5): 323-327.
- [3] Al-Zamel FA. Detection and diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis*. Expert Rev Anti Infect Ther, 2009, 7(9): 1099-1108.
- [4] Lalvani A, Pareek M. Interferon gamma release assays: principles and practice. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2010, 28(4): 245-252.
- [5] 中华医学会. 临床诊疗指南结核病分册. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 10-12.
- [6] 施焕中. 重视胸腔积液的基础与临床研究. 中华结核和呼吸杂志, 2013, 36(5): 323-324.
- [7] 张丽帆, 刘晓清. γ 干扰素释放分析 T-SPOT. TB 诊断结核感染临床应用进展. 中国医学科学院学报, 2009, 31(4): 506-510.
- [8] Losi M, Bossink A, Codecasa L, et al. Use of a T-cell interferon-gamma release assay for the diagnosis of tuberculous pleurisy. Eur Respir J, 2007, 30(6): 1173-1179.
- [9] 谢惠安, 阳国太, 林善梓, 等. 现代结核病学. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 324.
- [10] Drobniewski FA, Caws M, Gibson A, et al. Modern laboratory diagnosis of tuberculosis. Lancet Infect Dis, 2003, 3(3): 141-147.
- [11] 胡革灵, 李静媛. 结核分枝杆菌抗体检测在结核病诊断中的价值. 临床血液学杂志, 2008, 21(4): 434-435.
- [12] 尉艳霞, 童朝晖, 龚娟妮, 等. 腺苷脱氨酶诊断结核性胸膜炎价值的再评价. 中华结核和呼吸杂志, 2010, 33(4): 273-275.
- [13] Valdés L, San José E, Alvarez D, et al. Adenosine deaminase (ADA) isoenzyme analysis in pleural effusions: diagnostic role, and relevance to the origin of increased ADA in tuberculous pleurisy. Eur Respir J, 1996, 9(4): 747-751.
- [14] 吴雪琼. 结核分枝杆菌保护性抗原的研究进展. 中华结核和呼吸杂志, 2006, 29(5): 340-342.
- [15] Hill PC, Jackson-Sillah D, Fox A, et al. ESAT-6/CFP-10 fusion protein and peptides for optimal diagnosis of *mycobacterium tuberculosis* infection by ex vivo enzyme-linked immunospot assay in the Gambia. J Clin Microbiol, 2005, 43(5): 2070-2074.

(收稿日期: 2014-07-23)

(本文编辑: 郭萌)

《中国防痨杂志》和《结核病与肺部健康杂志》征订启事

《中国防痨杂志》(月刊, 主编: 王撷秀) 是中国科协主管、中国防痨协会主办的国内外公开发行的中央性结核病防治专业学术期刊, 是中国科技核心期刊、中国科学引文数据库统计源期刊(邮发代号: 2-488)。

《结核病与肺部健康杂志》(季刊, 主编: 王撷秀) 是中国科协主管、中国防痨协会主办的国内外公开发行的中央性高级学术期刊。

为了方便广大读者、作者能够更好地浏览和收藏杂志, 现推出《中国防痨杂志》和《结核病与肺部健康杂志》合订本, 合订本均采用精装本, 烫金题字, 装订精美。订购者请速与编辑部联系, 数量有限, 订完为止。征订可在《中国防痨杂志》网站下载, 网址为 <http://www.zgflzz.cn>。订购电话: +86(10)62257587; Email: zgflzz@163.com; 联系人: 杨颖。

期刊信息					
刊 名	刊期	期数/年	每期(元)	全年(元)	年优惠价(元)
2015 年《中国防痨杂志》	月刊	12 期	18	216	194.4
2015 年《结核病与肺部健康杂志》	季刊	4 期	12	48	43.2
2014 年《中国防痨杂志》合订本	合订	12 期			116
2014 年《结核病与肺部健康杂志》合订本	合订	4 期			58
收刊信息					
联 系 人	邮 编		手 机		
单位名称			传 真		
地 址			Email		
订购信息					
刊 名	订购数量		挂号(3 元/期, 合订本只收 3 元)		
			☐ 需要 ☐ 不需要		
			☐ 需要 ☐ 不需要		
			☐ 需要 ☐ 不需要		
付款金额: 杂志费用 ¥_____元 挂号费用 ¥_____元 总计费用 ¥_____元 ☐ 邮局 ☐ 银行					
备注说明: _____					
特别提醒: 价格含平信邮费, 平信邮寄有丢失现象, 为确保您安全的收到杂志, 建议选择挂号邮寄。					
发票信息					
发票抬头				收件人	
寄送地址				邮 编	
邮局汇款			银行汇款		
收款人: 中国防痨杂志编辑部			收款人: 《中国防痨杂志》期刊社(请务必加书名号)		
地 址: 北京市西城区东光胡同 5 号			开户行: 工商银行永定门分理处		
邮 编: 100035			账 号: 0200001519217904993		