

· 论著 ·

〔文章编号〕 1007-0893(2022)07-0001-03

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2022.07.001

T-SPOT.TB 在活动性肺结核中的应用及敏感性分析

张雅惠 伍小英 何刚 伍红

(广州市胸科医院, 广东 广州 510000)

〔摘要〕 **目的:** 分析结核感染 T 细胞斑点试验 (T-SPOT.TB) 对活动性肺结核 (ATB) 的诊断效能。**方法:** 选取 2019 年 2 月至 2021 年 2 月广州市胸科医院收治的 200 例疑似 ATB 患者, 所有患者均接受 T-SPOT.TB 及结核菌素皮肤试验 (TST), 以患者的最终临床诊断结果作为标准, 计算并比较 T-SPOT.TB 与 TST 诊断 ATB 的诊断效能。**结果:** 200 例患者的最终临床诊断结果显示, 存在 ATB 患者 84 例, 且均为肺内结核。T-SPOT.TB 诊断 ATB 的准确度、灵敏度高于 TST, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 两种诊断方式诊断 ATB 的特异度比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论:** T-SPOT.TB 诊断 ATB 的诊断效能较 TST 更高, 可将 T-SPOT.TB 结果作为 ATB 筛查的有效参考指标。

〔关键词〕 活动性肺结核; 结核感染 T 细胞斑点试验; 结核菌素皮肤试验

〔中图分类号〕 R 521 〔文献标识码〕 B

Application and Sensitivity Analysis of T-SPOT.TB in Active Tuberculosis

ZHANG Ya-hui, WU Xiao-ying, HE Gang, WU Hong

(Guangzhou Chest Hospital, Guangdong Guangzhou 510000)

〔Abstract〕 **Objective** To analyze the diagnostic efficacy of T cell spot test for tuberculosis infection (T-SPOT.TB) test in active tuberculosis (ATB). **Methods** A total of 200 suspected ATB patients admitted to Guangzhou Chest Hospital from February 2019 to February 2021 were selected. All patients received T-SPOT.TB and tuberculin skin test (TST), and the diagnostic efficacy of T-SPOT.TB and TST in diagnosing ATB was calculated and compared based on the final clinical diagnosis of the patients. **Results** The final clinical diagnosis of 200 patients showed the presence of ATB in 84 patients, all of whom had intrapulmonary tuberculosis. The accuracy and sensitivity of T-SPOT.TB in the diagnosis of ATB were significantly higher than those of the TST ($P < 0.05$), but there was no significant difference in the specificity of the two diagnostic methods ($P > 0.05$). **Conclusion** The diagnostic efficiency of T-SPOT.TB is higher than that of the TST, and the results of T-SPOT.TB can be used as an effective reference index for ATB screening.

〔Keywords〕 Active tuberculosis; T cell spot test for tuberculosis infection; Tuberculin skin test

结核病 (tuberculosis, TB) 是单因所致感染性疾病中死亡率最高的疾病, 控制结核继续传播的关键措施就是对 TB 进行早期准确诊断并进行对症治疗干预, 所以, 探讨一种有效、合理的诊断方式具有重要意义^[1]。目前, 临床中诊断 TB 的金标准为结核菌培养^[2]。但是这一诊断方式的周期比较长, 且存在较高的假阳性率及假阴性率, 同时在诊断菌阴及肺外结核患者时存在一定困难^[3]。结核菌素皮肤试验 (tuberculin skin test, TST) 在临床中应用广泛, 其优点为价格低廉、操作简便; 但是这一检测方式的缺点为十分容易受到交叉反应及机体免疫力情况的影响, 因此, 使用其诊断 TB 的效果并不理想。常规聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 的

优点为速度较快, 但是在常规扩增之后, 需要再次实施电泳; 且这一检测方式无法进行定量检测, 同时也十分容易导致交叉感染, 在临床中的诊断特异性相对较低^[4]。近几年, 临床中新兴起的诊断 TB 方式为荧光定量法, 其不仅能够进行定量检测, 同时检测速度也较快, 拥有较高的诊断准确率, 但是该方式的检测样本来源在获取方面存在一定的难度, 如病灶分泌物及浆膜腔液体等, 因此无法在所有患者当中广泛使用^[5]。痰涂片同样也是临床中应用较为广泛的一种诊断方式, 其特点为操作简便、费用低廉、快速诊断, 但是这一方式无法有效对非结核分枝杆菌 (nontuberculous mycobacteria, NTM) 及活死菌进行区分, 灵敏度低, 且无法诊断肺外结核^[6]。

〔收稿日期〕 2022 - 02 - 14

〔基金项目〕 广东省医学科研基金指令性课题项目 (C2020042)

〔作者简介〕 张雅惠, 女, 主治医师, 主要从事结核病临床工作。

结核感染 T 细胞斑点试验 (T cell spot test for tuberculosis infection, T-SPOT.TB) 属于细胞免疫学技术之一, 其主要原理是通过酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 这一技术对细胞因子进行检测, 其主要的产品特点及优点就是易采集检测样本, 且检测的时间较短^[7]。基于此, 笔者对 T-SPOT.TB 诊断活动性肺结核 (active pulmonary tuberculosis, ATB) 的效果展开了研究, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 2 月至 2021 年 2 月广州市胸科医院收治的 200 例疑似 ATB 患者, 其中, 男 125 例, 女 75 例, 年龄 15~85 岁, 平均年龄 (50.6±1.6) 岁。其中, 81 例是在接受健康体检检查当中被发现, 未表现出相关临床症状, 其余 119 例均表现出不同程度的胸痛、咳嗽咳痰、发热、盗汗。

1.1.1 纳入标准 (1) 所有患者都自愿接受 T-SPOT.TB 及 TST; (2) 年龄范围在 15~85 岁; (3) 临床资料齐全者; (4) 有随访资料; (5) 人类免疫缺陷病毒抗体 (human immunodeficiency virus-antibody, HIV-Ab) 检查结果提示为阴性。

1.1.2 排除标准 (1) 处于妊娠或哺乳期内; (2) 合并肿瘤者; (3) 合并其他相关肺部疾病者; (4) 不明确诊断结果者。

1.2 方法

1.2.1 T-SPOT.TB 使用真空抗凝管采集患者的血液样本约 5 mL, 完成采样后轻轻的颠倒约 5~8 次, 使其可以充分的混匀。在常温环境下静置待统一检测 (注意需要在采样后 4 h 内完成送检)。通过密度梯度离心法来对外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMCs) 进行制备; 完成制备后将细胞进行洗涤, 将内源性的 γ 干扰素去除、计数细胞及稀释、加样后孵育、洗板、显色。

通过放大镜或显微镜来计数斑点。假如测试孔 A 或测试孔 B 实现下述标准时, 提示为阳性 (+): (1) 空白对照孔当中的斑点个数 < 5 个, 测试孔 A 或测试孔 B 当中的斑点个数与空白对照孔当中的斑点个数之间的差值 ≥ 6 ; (2) 空白对照孔当中的斑点个数 ≥ 6 , 测试孔 A 或测试孔 B 当中的斑点个数为空白对照孔的 2 倍^[8]。阴性 (-): 测试孔 A 或测试孔 B 当中的斑点个数达不到上述标准, 且存在较好的阳性对照反应。

1.2.2 TST 取结核菌素 5 U (0.1 mL), 在患者的左侧前臂内侧当中通过孟都氏法来进行皮内注射, 形成局部皮丘。在注射后的 48~72 h 左右, 对皮肤的硬结

直径尺寸进行测量, 平均硬结直径 = (纵径尺寸 + 横径尺寸) / 2。

阴性 (-): 平均硬结直径尺寸 < 5 mm; 弱阳性 (+): 平均硬结直径尺寸范围为 5~9 mm; 阳性 (++) : 平均硬结直径尺寸范围为 10~19 mm。强阳性 (+++) : 出现双圈、水泡、破溃或平均硬结直径尺寸 ≥ 20 mm^[9]。

1.2.3 ATB 最终临床诊断依据 结合相关临床体征表现, 如胸痛、咯血、咳嗽及发热等, 同时经影像学检查提示存在相应表现, 且组织病理学或涂片抗酸染色检查结果提示为阳性, 经抗结核治疗干预后有效。不明 TB 诊断: 既无法完全排除 TB, 但又无法临床确诊。排除 ATB 诊断: 符合相关其他的疾病临床明确诊断, 且组织学、结核菌培养及抗酸染色检查结果提示为阴性。

1.3 观察指标

(1) 患者的最终临床诊断结果; (2) 以患者的最终临床诊断结果作为标准, 计算并比较 T-SPOT.TB 与 TST 诊断 ATB 的诊断效能。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 24.0 软件进行数据处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 *t* 检验, 计数资料用百分比表示, 采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

200 例患者的最终临床诊断结果显示, 存在 ATB 患者 84 例 (42.0%), 且均为肺内结核。TST、T-SPOT.TB 与最终临床诊断的结果比较见表 1。T-SPOT.TB 诊断 ATB 的准确度、灵敏度高于 TST, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 两种诊断方式诊断 ATB 的特异度比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

表 1 TST、T-SPOT.TB 与最终临床诊断的结果比较 (例)

诊断方式	结果	最终临床诊断		合计
		阳性	阴性	
TST	阳性	26	23	49
	阴性	58	93	151
T-SPOT.TB	阳性	78	20	98
	阴性	6	96	102
合计		84	116	200

注: TST 一结核菌素皮肤试验; T-SPOT.TB 一结核感染 T 细胞斑点试验。

表 2 T-SPOT.TB、TST 对 ATB 的诊断效能比较 (%)

组别	准确度	灵敏度	特异度
TST	59.5(119/200)	31.0(26/84)	80.2(93/116)
T-SPOT.TB	87.0(174/200) ^a	92.9(78/84) ^a	82.8(96/116)

注: TST 一结核菌素皮肤试验; T-SPOT.TB 一结核感染 T 细胞斑点试验; ATB 一活动性肺结核。

与 TST 比较, ^a $P < 0.05$ 。

3 讨论

TB 在临床中十分常见, 是发生率较高的一种慢性传染病, 导致发生 TB 的最主要因素为感染 NTM^[10]。我国是一个 TB 高发国, 每年临床当中的新发 TB 病例在全球范围当中约占 16% 左右; 而在 TB 患者的占比方面, 位居第二, 仅次于印度^[11]。临床上若将 TB 误诊为其他疾病, 会导致患者病情延误, 使得病情进一步的发展; 而假如未确诊即进行治疗, 比如使用激素类药物等, 会引发疾病播散、股骨头坏死及消化道出血等不良后果^[12]。因此, 给予 TB 进行及时有效准确的临床诊断, 可有效的避免不合理的治疗或延误病情。

近年来, 随着临床研究的不断深入及进步, 逐渐兴起了一种全新诊断 TB 的方式, 即 T-SPOT.TB^[13]。这一试验方式的原理主要为: 机体感染 NTM 之后, 会导致机体当中的 T 淋巴细胞被致敏, 并产生针对 NTM 的记忆性 T 淋巴细胞及效应性 T 淋巴细胞。假如这部分被致敏的 T 淋巴细胞在体外再次遇到 NTM 特异性抗原的刺激作用影响时, 在短时间内能够快速被激活, 并产生包括 γ 干扰素在内的相关细胞因子。而 T-SPOT.TB 试剂盒当中存在的相应抗体能够有效的捕获 γ 干扰素, 通过显色剂的影响作用会表现出有色的斑点。斑点即代表被致敏的 T 淋巴细胞。通过对外周血当中存在的致敏 T 淋巴细胞水平进行检测, 判断是否感染 NTM。有研究指出^[14], T-SPOT.TB 的特异度及灵敏度较高, 且不会因为机体的免疫状态及是否接种卡介苗而受到影响, 这与本研究结果一致。

本研究结果提示, T-SPOT.TB 诊断 ATB 的准确性、灵敏度比 TST 更高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 两种诊断方式诊断 ATB 的特异度比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。临床当中对某一诊断方法的诊断效能优劣进行评价时的常用指标为特异度及灵敏度; 特异度主要是代表对非疾病患者进行鉴别的能力, 而灵敏度主要是代表检出疾病患者的能力。TST 会依据不同的筛查人群而表现出不同的特异度及灵敏度。相比灵敏度, TST 在特异度方面会表现出更大的波动幅度。虽然从理论方面来说, 因为卡介苗与 TST 包含的共同抗原较多, 会增加发生假阳性的风险; 但也有部分研究指出, 接种卡介苗也并不会一定会对 TST 结果产生较大干扰。并且, 在本研究中 TST 并没有表现出较高水平的假阳性结果。分析可能的原因为, 本研究的患者年龄较大, 接种卡介苗所起到的相关保护机制已经失去其原有的作用, 亦或者因为使用了不同的卡介苗菌株, 不同的接种频率及时间, 同时跟免疫接种效果之间均存在一定的关系。而 TST 诊断的灵敏度显著低于 T-SPOT.TB 的结果表明, 在

缺少判定 NTM 潜伏感染的黄金指标时, 有必要联合使用 T-SPOT.TB 及 TST, 以提高诊断结果的可靠程度。

综上所述, T-SPOT.TB 诊断 ATB 的诊断效能较高, 可将 T-SPOT.TB 结果作为 ATB 筛查的有效参考指标。

〔参考文献〕

- (1) 王婷, 谭耀驹, 吴士及, 等. 结核感染 T 细胞斑点试验中结核特异性抗原和植物血凝素比值对活动性结核的诊断价值 (J). 中华结核和呼吸杂志, 2019, 42(4): 262-267.
- (2) 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.
- (3) 刘裔, 韩红洋. 联合检测 T-SPOT.TB, PPD 及 TB-Ab 在活动性肺结核中的临床意义 (J). 川北医学院学报, 2020, 35(5): 167-170.
- (4) 张丽媛, 刘昌江, 杜永国, 等. 结核感染 T 细胞斑点试验及结核抗体检测在肺结核诊断中应用 (J). 中国热带医学, 2019, 19(1): 100-102.
- (5) Kim J, Im JP, Yim JJ, et al. Clinical Features and Outcomes of Tuberculosis in Inflammatory Bowel Disease Patients Treated with Anti-tumor Necrosis Factor Therapy (J). Korean Journal of Gastroenterology, 2020, 75(1): 29-38.
- (6) 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.
- (7) 向仕婷, 周蓉, 吴舒婷, 等. 湖南省儿童医院结核病住院患儿的流行病学特征及 T-SPOT.TB 结果分析 (J). 实用预防医学, 2019, 26(11): 104-106.
- (8) Issa A, Ali E, Abdel-Bass R, et al. Application of Three Cyanobacteria in Foods and Feeds Biotechnology: Phosphorus Affects (J). Pakistan Journal of Biological Sciences, 2019, 23(1): 55-62.
- (9) 潘丽萍, 高孟秋, 贾红彦, 等. 新型结核分枝杆菌特异性细胞免疫反应检测技术对结核病辅助诊断的价值评估 (J). 中华结核和呼吸杂志, 2021, 44(5): 443-449.
- (10) 吕东, 严萍. ADA, TB-DNA, T-spot 单用或联合检测对结核性胸膜炎早期诊断的临床意义 (J). 中国现代医学杂志, 2020, 4(1): 82-86.
- (11) Meinerz G, Silva CD, Dorsdt D, et al. pre-kidney transplant latent tuberculosis infection screening and posttransplant active tuberculosis (J). Transplantation, 2020, 104(S3): S375-S376.
- (12) 石卫武, 董飞波, 陈锦春, 等. 结核感染 T 细胞斑点试验在结核病中的应用价值探讨 (J). 中国卫生检验杂志, 2019, 8(17): 2086-2088.
- (13) 徐焯, 王小中. T 细胞斑点试验在骨关节结核诊断中的应用价值研究 (J). 中国卫生检验杂志, 2019, 2(11): 1375-1378.
- (14) 陈志海, 许红阳. T-SPOT.TB 与 sPD-L1 检测对结核性胸腔积液的诊断价值 (J). 临床肺科杂志, 2019, 24(6): 91-94.