

· 论 著 ·

全血 γ -干扰素释放试验在结核病辅助诊断中的价值

李同心 何瑛 周刚 陈嵩嵩 魏成丽 刘敏 黄忠民 王静 钟敏 罗明 丁显平

【摘要】 目的 评价全血 γ -干扰素释放试验(interferon gamma release assay, IGRA)- QuantiFERON®-TB Gold IT 试验试剂盒在结核病辅助诊断中的价值。**方法** 搜集重庆市公共卫生医疗救治中心结核科和感染科 2014 年 7 月 1 日至 2015 年 12 月 31 日期间同步进行痰液抗酸杆菌涂片、快速培养(BACTEC™ MGIT™ 960)及采用 IGRA 测定外周血结核分枝杆菌抗原特异性 γ -干扰素(IFN- γ)应答水平的 1440 例患者临床资料,采用卡方检验分析不同类别患者间不同检测技术阳性率的差异,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。**结果** 与临床诊断结果相比,IGRA 检测全血诊断结核病的敏感度为 77.6%(716/923),特异度为 69.9%(158/226)。与痰涂片[肺结核、肺外结核、HIV 感染或 AIDS 患者并发肺结核的阳性率分别为 28.5%(226/792)、5.3%(7/131)、6.1%(6/98)]、液体培养[肺结核、肺外结核、HIV 感染或 AIDS 患者并发肺结核的阳性率分别为 40.9%(324/792)、13.0%(17/131)、11.2%(11/98)]检测结果相比,IGRA 诊断肺结核[77.0%(610/792)]、肺外结核[80.9%(106/131)]和 HIV 感染或 AIDS 患者并发肺结核[50.0%(49/98)]的阳性率更高,差异有统计学意义(与痰涂片比较, χ^2 值分别为 373.52、152.51、46.73, P 值均 < 0.01 ;与液体培养比较, χ^2 值分别为 212.03、121.38、34.68, P 值均 < 0.01)。**结论** IGRA 检测快速便捷,有着较高的敏感度。IGRA 对结核病辅助诊断有一定的价值,尤其对肺结核、肺外结核,以及 HIV 感染或 AIDS 并发肺结核患者的诊断有一定意义。

【关键词】 结核; 分枝杆菌, 结核; 酶联免疫斑点检测; 分子诊断技术; 评价研究

The values of whole blood interferon- γ release assay in auxiliary diagnosis of tuberculosis LI Tong-xin, HE Ying, ZHOU Gang, CHEN Duan-duan, WEI Cheng-li, LIU Min, HUANG Zhong-min, WANG Jing, ZHONG Min, LUO Ming, DING Xian-ping. Department of Clinical Laboratory, Chongqing Public Health Medical Center, Chongqing 400036, China

Corresponding author: LUO Ming, Email: luoming1976@aliyun.com

【Abstract】 Objective To evaluate the effects of whole blood interferon- γ release assay (IGRA) QuantiFERON®-TB Gold IT kit (QFT-GIT) in auxiliary diagnosis of tuberculosis. **Methods** A total 1440 patients from tuberculosis and Infection Departments of Chongqing Public Health Medical Center were collected and detected with sputum smear, Bactec960 and QFT from July 1, 2014 to December 31, 2015. The levels of IFN- γ of different groups of patients were analyzed by Chi-square χ^2 test, $P < 0.05$ was considered as statistically significant. **Results** The sensitivity and specificity of QFT were 77.6% (716/923) and 69.9% (158/226) when compared with clinical diagnosis. Compared with sputum smear (the positive rate 28.5% (226/792) in pulmonary tuberculosis, 5.3% (7/131) in extra-pulmonary tuberculosis and 6.1% (6/98) in HIV or AIDS/TB) and liquid culture (the positive rate 40.9% (324/792) in pulmonary tuberculosis, 13.0% (17/131) in extra-pulmonary tuberculosis and 11.2% (11/98) in HIV or AIDS/TB), IGRA showed higher positive rate (the positive rate 77.0% (610/792) in pulmonary tuberculosis, 80.9% (106/131) in extra-pulmonary tuberculosis and 50.0% (49/98) in HIV or AIDS/TB). The difference was significant statistically (χ^2 values 373.52, 152.51 and 46.73 compared to sputum smear, χ^2 values 212.03, 121.38 and 34.68 compared to liquid culture, $P < 0.01$). **Conclusion** IGRA is a rapid and simple tool for diagnosis of tuberculosis with high sensitivity especially for smear and culture negative, extra-pulmonary and HIV/AIDS combined tuberculosis.

【Key words】 Tuberculosis; *Mycobacterium tuberculosis*; Enzyme-linked immunospot assay; Molecular diagnostic techniques; Evaluation studies

doi:10.3969/j.issn.1000-6621.2016.08.005

基金项目:重庆市卫生局 2012 年医学科研重点项目(2012-1-085)

作者单位:400036 重庆市公共卫生医疗救治中心检验科(李同心、何瑛、周刚、陈嵩嵩、魏成丽、王静),感染二科(刘敏),病案室(黄忠民),结核重点实验室(钟敏、罗明);四川大学生命科学学院遗传医学研究所 特色生物资源研究与利用川渝共建重点实验室(丁显平)

通信作者:罗明, Email: luoming1976@aliyun.com

结核病是一种长期危害人类身体健康的慢性传染病,是我国防治政策规定的重大传染病之一。快速、准确地诊断结核病一直是临床检测上的难点和热点。虽然细菌学诊断结核病是临床诊断的“金标准”,但也面临诸多问题;比如,抗酸杆菌涂片检测阳性率低,结核分枝杆菌培养周期长,组织病理学检查多为有创性等。我国菌阴肺结核约占所有肺结核患者的 60%~70%^[1],肺外结核病约占结核病的 5%~30%^[2],因此亟需一种更快速、更准确的实验室诊断方法辅助临床诊断。

γ -干扰素释放试验(interferon gamma release assay, IGRA)是近 20 多年来结核分枝杆菌感染免疫诊断的最重要的进展之一,目前作为一种新的辅助诊断结核分枝杆菌感染的免疫学方法,已经被广泛应用于临床并得到认可。IGRA 主要原理是检测全血和(或)外周血单核细胞在结核分枝杆菌特异性抗原刺激下释放 γ -干扰素的水平,判断受试者是否感染结核,目前主要应用酶联免疫斑点法(enzyme linked immunospot assay, ELISPOT)^[3-5]或酶联免疫吸附法(enzyme linked immune sorbent assay, ELISA)^[6-7]来检测。相对结核菌素皮肤试验(tuberculin skin test, TST)而言,IGRA 通过检测结核分枝杆菌特异性抗原刺激下释放 γ -干扰素(IFN- γ)的水平,从而有效地区分结核分枝杆菌感染和 BCG 疫苗接种引起的免疫应答^[6-7]。目前,被美国和中国 FDA 批准应用于临床的较为成熟的 IGRA 试验方法主要有两种,一种是 QuantiFERON®-TB Gold IT 试验(QFT-GIT),另一种是结核感染 T 细胞酶联免疫斑点试验(T-SPOT. TB)。

本研究采用 QFT-GIT 对结核分枝杆菌感染的患者和 HIV 感染并发结核分枝杆菌感染的患者进行检测,探讨 IGRA 在结核病辅助诊断中的价值,结果报告如下。

资料和方法

一、研究对象、试验仪器及试剂

1. 患者来源:收集重庆市公共卫生医疗救治中心结核科和感染科 2014 年 7 月 1 日至 2015 年 12 月 31 日期间同步进行痰液抗酸杆菌涂片、快速培养(BACTEC™ MGIT™ 960)及采用 IGRA 测定外周血结核分枝杆菌抗原特异性 IFN- γ 应答水平的 1440 例患者,其中男 959 例,女 481 例,年龄范围 10~85 岁,平均年龄(43.4±17.5)岁。110 例 HIV 感染或 AIDS 并发肺结核的患者临床血液检测

HIV 抗体为阳性,并经重庆市 HIV 确证实验室确认。所有肺结核和非结核分枝杆菌(non-tuberculous mycobacteria, NTM)肺病诊断均符合中华医学会结核病学分会制定的肺结核诊断标准^[8]和 NTM 肺病诊断标准^[9],所有患者(无严重的肝肾功能衰竭史,结核病患者无免疫系统疾患)血样采集均在入院初期、使用免疫抑制剂或增强剂之前。

2. 主要仪器及试剂来源:本研究使用的抗酸染色液购自珠海贝索生物技术有限公司。FACS Calibur 流式细胞仪、CD4⁺ T 淋巴细胞绝对计数管和 BACTEC™ MGIT™ 960 分枝杆菌培养检测系统、PAN-TA 杂菌抑制剂、分枝杆菌培养管(MGIT)及营养添加剂(OADC)均来源于美国 BD 公司。噻吩-2-羧酸肼(TCH)和对硝基苯甲酸(PNB)罗氏培养基购自珠海银科医学工程有限公司。结核分枝杆菌分泌蛋白 MPB64 抗原检测试剂盒(胶体金法)购自杭州创新生物检控技术有限公司。QFT-GIT 检测试剂盒和专业分析判读软件均来源于 Cellestis Limited 制造商。GF-M3000 型酶标仪由山东彩虹仪器有限公司生产。PW-960 型自动酶标洗板机由深圳市汇松科技发展有限公司生产。

3. 研究对象资料来源:医院信息系统(hospital information system, HIS;为上海瑞美电脑科技有限公司生产)和实验室信息系统(laboratory information system, LIS;为上海瑞美电脑科技有限公司生产)。

二、方法

1. 标本采集:痰液留取参照中国防痨协会《结核病诊断细菌学检验规程》^[10],无痰患者可采取雾化引痰或通过纤维支气管镜取痰,痰液不合格者,需进一步指导后重新留取标本送检。

2. 痰涂片镜检和分离培养:痰涂片按照《痰涂片镜检标准化操作及质量保证手册》的要求处理^[11],采用萋-尼染色法镜检。痰液培养前处理按照《分枝杆菌分离培养标准化操作及质量保证手册》^[12]中关于碱处理-中和离心沉淀法的要求进行,并按照 BACTEC™ MGIT™ 960 分枝杆菌痰培养操作说明书将前处理后的沉淀物接种于 MGIT。

3. 菌种鉴定:所有患者分枝杆菌培养产物均采用如下鉴定:(1)参照中国防痨协会《结核病诊断细菌学检验规程》^[10],使用 TCH 和 PNB 进行分枝杆菌菌种初步鉴定试验,TCH、PNB 药物终浓度分别为 5 μ g/ml、500 μ g/ml。对照管阳性、TCH 阳性或阴性、PNB 阴性的菌株为结核分枝杆菌复合群,对

照管阳性、TCH 阳性、PNB 阳性或阴性的菌株为非结核分枝杆菌。对照管阴性,即不生长,需要重做。(2)胶体金法定性检测培养阳性菌液中的结核分枝杆菌分泌蛋白 MPB64 抗原。以上两种方法检测结果一致才纳入本研究的统计范围。

4. QFT-GIT 检测方法:主要包括血液培养和酶联免疫法测定 IFN- γ 的水平两个步骤。

具体操作如下:抽取血液至 3 支 QFT 专用采血管(采血量要准确,采集后立即剧烈上下振摇 10 次,以确保整个试管内层都被血液覆盖),将采血管以直立方式,于 37℃ 培养 16~24 h。培养结束后,采血管以 $(2000\sim 3000)\times g$ 离心 15 min,分离血细胞及血浆。从每支离心后的采血管取血浆用 ELISA 法进行 IFN- γ 的定量,以装有 450 nm 滤光片及 620~650 nm 参考滤光片的酶标仪来读取吸光度值(A 值)。

结果判定标准:利用 QFT-GIT 专业分析判读软件,分析原始数据,报告检测结果。结果判读原理如表 1 所示。

质量控制:每次试验均测定标准品绘制标准曲线,并利用 LIS 分析标准曲线的相关系数和标准品测定值的准确度。若 QFT-GIT 阴性对照管的 IFN- γ 值高于 8 IU/ml,如果不能排除技术上的差错和样本污染的可能,需要将该个体所有血浆样本都重测。

5. CD4⁺ T 淋巴细胞计数:实验操作按照美国 BD 公司 FACS Calibur 流式细胞仪说明书进行。CD4⁺ T 淋巴细胞计数单位:个/ μ l,本实验室参考值为 414~1123 个/ μ l。

三、统计学方法

用 Microsoft Excel 软件进行基础数据整理,采用 SPSS 13.0 分析软件进行统计学分析,各组阳性率比较采用卡方检验,以 $P<0.05$ 为差异具有统计

学意义。

结 果

一、临床诊断和实验室检测情况

143 例患者各种实验室检查阴性但又疑似结核病、临床诊断不明确者,不纳入本统计范围。1247 例患者临床诊断和全血 IGRA 检测结果均已明确,其中肺结核患者 792 例,肺外结核 131 例,NTM 肺病 43 例,HIV 感染或 AIDS 患者并发肺结核 98 例,临床诊断其他疾病 183 例(含心血管系统疾病 75 例,呼吸系统疾病 53 例,肝胆系统疾病 41 例,泌尿系统疾病 9 例,结膜炎 3 例,肺癌 2 例)。50 例患者临床诊断明确,全血 IGRA 检测结果为“不明确”。实验室检查结果显示:痰涂片和液体培养总阳性率为 29.0%(376/1297),其中涂片阳性共 244 例,阳性率为 18.8%(244/1297);液体培养阳性 362 例,阳性率为 27.9%(362/1297),经菌种鉴定结核分枝杆菌 343 例,占 94.8%(343/362);NTM 19 例,占 5.2%(19/362);14 例痰涂片阳性的肺结核患者液体培养为阴性。全血 IGRA 检测结果:833 例患者检测为阳性,阳性率为 64.2%(833/1297);414 例患者检测为阴性;50 例患者(已剔除 3 例临床诊断不明确患者)检测为“不确定”,其痰涂片和液体培养均为阴性。

二、全血 IGRA 与痰涂片、液体培养的检测结果

肺结核、肺外结核、NTM 肺病、HIV 感染或 AIDS 患者并发肺结核、其他系统疾病 5 组患者痰涂片阳性率分别是 28.5%(226/792)、5.3%(7/131)、11.6%(5/43)、6.1%(6/98)、0.0%(0/183);痰液体培养阳性率分别是 40.9%(324/792)、13.0%(17/131)、23.3%(10/43)、11.2%(11/98)、0.0%

表 1 QFT-GIT 结果判读原理表

Nil	TB-Nil	Mitogen-Nil	本测试结果	判读
≤ 8.0	< 0.35	≥ 0.5	阴性	不太可能感染结核分枝杆菌
	≥ 0.35 和 $< 25\%$ Nil	≥ 0.5		
	≥ 0.35 和 $\geq 25\%$ Nil	任意值	阳性	很可能感染结核分枝杆菌
	< 0.35	< 0.5	不确定	对结核分枝杆菌抗原的反应结果不确定
	≥ 0.35 和 $< 25\%$ Nil	< 0.5		
> 8.0	任意值	任意值		

注 Nil 表示空白对照管 IFN- γ 检测值;TB-Nil 表示结核抗原管 IFN- γ 检测值减去空白对照管 IFN- γ 检测值;Mitogen-Nil 表示促有丝分裂因子管 IFN- γ 检测值减去空白对照管 IFN- γ 检测值,单位均为“IU/ml”

(0/183); 全血 IGRA 检测阳性率分别是 77.0% (610/792)、80.9% (106/131)、27.9% (12/43)、50.0% (49/98)、30.6% (56/183), 见表 2。全血 IGRA 与痰涂片相比, 菌阴(涂阴和培阴)肺结核、肺外结核、HIV 感染或 AIDS 患者并发肺结核各组阳性率差异有统计学意义(χ^2 值分别为 373.52、152.51、46.73, P 值均 <0.01), NTM 肺病组差异无统计学意义($\chi^2=3.59$, $P>0.05$)。全血 IGRA 与痰液体培养相比, 肺结核、肺外结核、HIV 感染或 AIDS 患者并发肺结核各组内检测阳性率差异有统计学意义(χ^2 值分别为 212.03、121.38、34.68, P 值均 <0.01), NTM 肺病组差异无统计学意义($\chi^2=0.24$, $P>0.05$)。在涂阳患者中, 肺结核、肺外结核、NTM 肺病和 HIV 感染或 AIDS 患者并发肺结核的全血 IGRA 检测阳性率分别为 93.8%、100.0%、40.0%、66.7%; 而在涂阴患者中, 各组全血 IGRA 检测阳性率分别为 70.3%、79.8%、

26.3%、48.9%。

三、全血 IGRA 检测结果与临床诊断结果的比较

临床诊断为肺结核、肺外结核的 923 例患者, 痰涂片阳性 233 例, 痰涂片检测结核病的敏感度为 25.2% (233/923), 特异度为 97.8% (221/226); 液体培养阳性为 341 例, 液体培养检测结核病的敏感度为 36.9% (341/923), 特异度为 95.6% (216/226); 全血 IGRA 检测阳性 716 例, IGRA 检测结核病的敏感度为 77.6% (716/923), 特异度为 69.9% (158/226), 见表 3。比较痰涂片、液体培养、全血 IGRA 3 种方法对临床诊断结核病患者标本检测的敏感度和特异度, 3 种方法的敏感度差异有统计学意义($\chi^2=559.60$, $P<0.01$), 3 种方法的特异度差异有统计学意义($\chi^2=101.02$, $P<0.01$)。

四、全血 IGRA 检测结果不确定患者 CD4⁺ T 淋巴细胞计数结果

50 例患者全血 IGRA 检测结果为“不确定”,

表 2 不同组别患者的痰检与全血 IGRA 检测结果

组别	全血 IGRA 检测结果		合计
	阳性[例数(构成比, %)]	阴性[例数(构成比, %)]	[例数(构成比, %)]
肺结核患者			
涂阳	212(93. 8)	14(6. 2)	226(100. 0)
培阳	296(91. 4)	28(8. 6)	324(100. 0)
涂阴	398(70. 3)	168(29. 7)	566(100. 0)
培阴	314(67. 1)	154(32. 9)	468(100. 0)
肺外结核患者			
涂阳	7(100. 0)	0(0. 0)	7(100. 0)
培阳	15(88. 2)	2(11. 8)	17(100. 0)
涂阴	99(79. 8)	25(20. 2)	124(100. 0)
培阴	91(79. 8)	23(20. 2)	114(100. 0)
NTM 肺病			
涂阳	2(40. 0)	3(60. 0)	5(100. 0)
培阳	7(70. 0)	3(30. 0)	10(100. 0)
涂阴	10(26. 3)	28(73. 7)	38(100. 0)
培阴	5(15. 2)	28(84. 8)	33(100. 0)
HIV 感染或 AIDS 并发肺结核患者			
涂阳	4(66. 7)	2(33. 3)	6(100. 0)
培阳	8(72. 7)	3(27. 3)	11(100. 0)
涂阴	45(48. 9)	47(51. 1)	92(100. 0)
培阴	41(47. 1)	46(52. 9)	87(100. 0)
其他系统疾病			
涂阳	0(0. 0)	0(0. 0)	0(0. 0)
培阳	0(0. 0)	0(0. 0)	0(0. 0)
涂阴	56(82. 4)	12(17. 6)	68(100. 0)
培阴	56(30. 6)	127(69. 4)	183(100. 0)

表 3 痰涂片、液体培养、全血 IGRA 检测结果与临床诊断结果的比较

检测结果	临床诊断(例)		敏感度(%)	特异度(%)
	结核病	非结核病		
痰涂片			25.2	97.8
阳性	233	5		
阴性	690	221		
液体培养			36.9	95.6
阳性	341	10		
阴性	582	216		
全血 IGRA			77.6	69.9
阳性	716	68		
阴性	207	158		
合计	923	226		

注 结核病包括肺结核和肺外结核;非结核病包括 NTM 肺病和其他系统疾病

占全部患者的 3.9%(50/1297),临床诊断 26 例为结核病(12 例菌阴肺结核,5 例菌阳肺结核,3 例 AIDS 并发肺结核,2 例结核性胸膜炎,2 例颈部淋巴结结核,1 例 AIDS 并发结核性胸膜炎,1 例骨结核),24 例为非结核病(8 例 AIDS,6 例肺炎,5 例胸膜炎,3 例胸腔积液,2 例糖尿病;实验室和影像学检查均已排除结核病)。22 例结核病患者全血 CD4⁺ T 淋巴细胞计数结果低于参考值下限,占 84.6%(22/26),20 例非结核病患者全血 CD4⁺ T 淋巴细胞计数结果低于参考值下限,占 83.3%(20/24),两组比较差异无统计学意义($\chi^2=0.07, P>0.05$),统计全血 IGRA 检测结果“阳性”和“阴性”的患者外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞计数结果具体见表 4。833 例 IGRA 检测阳性患者中,25 例 CD4⁺ T 淋巴细胞计数低于参考值下限,占 3.0%(25/833);414 例 IGRA 检测阴性患者中,28 例 CD4⁺ T 淋巴细胞计数低于参考值下限,占 6.8%(28/414),两组间差异有统计学意义($\chi^2=9.62, P<0.01$)。IGRA 不确定组 CD4⁺ T 淋巴细胞计数分别与阳性、阴性组比较,差异均具有统计学意义($\chi^2=429.86, P<0.01$; $\chi^2=207.75, P<0.01$)。

讨 论

QFT-GIT 是一种体外诊断试验,它利用克隆早期分泌性抗原靶 6(ESAT-6)、培养滤液蛋白 10(CFP-10)和 TB7.7(P4)这 3 种蛋白的混合多肽刺激肝素化全血中的 T 淋巴细胞,再利用酶联免疫吸附法测定与多肽抗原体外反应所产生的 γ -干扰素,从而判断受试者是否受到结核分枝杆菌的感染。该试验不能区分近期感染和既往感染,也不能区别结核潜伏感染和活动性结核病;当检测结果是阴性时表示可能没有感染但不能完全排除,尤其是当患者患有多种疾病而结核病只是其中一种时,又或者患者受免疫抑制限制,但发展成活动性结核病的可能性很大时。QFT-GIT 检测应用 ESAT-6、CFP-10 和 TB7.7(P4)作为抗原,ESAT-6、CFP-10 抗原的蛋白编码来源于结核分枝杆菌基因中的一个菌种特异性基因片段 RD-1,而所有的 BCG 菌株和绝大多数 NTM(堪萨斯分枝杆菌、海分枝杆菌和苏尔加分枝杆菌除外)不含 RD-1,因此该试验有着较高的特异度,且不受是否接种 BCG 的影响^[6-7,13-14]。

本研究显示,全血 IGRA 对于肺结核、肺外结核、

表 4 不同全血 CD4⁺ T 淋巴细胞计数结果在 IGRA 检测结果 3 类患者中的统计分析

CD4 ⁺ T 淋巴细胞 计数(个/ μ l)	IGRA 不确定患者		IGRA 阳性 患者(例)	IGRA 阴性 患者(例)
	结核病(例)	非结核病(例)		
0~	22(84.6)	20(83.3)	4(0.5)	2(0.5)
101~	0(0.0)	0(0.0)	21(2.5)	26(6.3)
414~1123	4(15.4)	4(16.7)	808(97.0)	386(93.2)
合计	26(100.0)	24(100.0)	833(100.0)	414(100.0)

注 表中括号内数值为“构成比(%)”

NTM 肺病、HIV 感染或 AIDS 并发肺结核的患者检测阳性率分别为 77.0% (610/792)、80.9% (106/131)、27.9% (12/43)、50.0% (49/98), 均高于痰涂片和痰液体培养的阳性率 [28.5% (226/792)、5.3% (7/131)、11.6% (5/43)、6.1% (6/98) 和 41.0% (325/792)、13.0% (17/131)、23.3% (10/43)、11.2% (11/98)]。全血 IGRA 分别与痰涂片、痰液体培养相比, 肺结核、肺外结核、HIV 感染或 AIDS 并发肺结核各组内阳性率差异有统计学意义 (P 值均 < 0.01), NTM 肺病组内差异无统计学意义 (P 值均 > 0.05)。由此可见, 在肺结核、肺外结核、HIV 感染或 AIDS 并发肺结核的诊断上, 全血 IGRA 检测较痰涂片和培养有着更高的敏感度。在涂阳患者中, 肺结核、肺外结核、NTM 肺病和 HIV 感染或 AIDS 并发肺结核的全血 IGRA 检测阳性率分别为 93.8%、100.0%、40.0%、66.7%; 而在涂阴患者中, 各组全血 IGRA 检测阳性率分别为 70.3%、79.8%、26.3%、48.9%; 此结果显示: 肺结核和肺外结核患者选择全血 IGRA 辅助诊断结核病有着更高的价值, 尤其对肺外结核和 HIV 感染或 AIDS 并发肺结核时更有意义。

本研究中以临床诊断结核病为标准, 全血 IGRA 对临床患者标本检测的敏感度为 77.6% (716/923), 高于痰涂片、液体培养的敏感度 ($P < 0.01$); 全血 IGRA 检测的特异度为 69.9% (158/226), 低于痰涂片、液体培养的特异度, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。国内外 IGRA 检测的敏感度为 53%~98%, 特异度为 60%~90%, 多篇文献报道的敏感度和特异度 $> 70\%$ [15-18]。本研究中 IGRA 特异度稍低, 分析原因主要是: NTM 肺病中 27.9% (12/43) 的患者呈阳性, 其他系统疾病中 30.6% (56/183) 的患者呈阳性, 两者较高的阳性率降低了 IGRA 特异度。前者呈现较高的阳性率与此类人群中可能有些受 NTM 和结核分枝杆菌的混合感染但临床上患者结核病表现不明显, 或感染了与 IGRA 检测抗原相交叉的 NTM, 如海分枝杆菌、堪萨斯分枝杆菌等有关; 后者呈现较高的阳性率, 主要原因与本中心收治患者病源种类有关, 可能由于患者生活在结核病高度流行环境, 已感染了结核分枝杆菌, 但目前没有发病, 临床和实验室无法判断已感染了结核分枝杆菌; 或既往患结核病未痊愈。这些患者均为外院转诊或本中心收治的高度怀疑结核病但结核感染诊断依据不足者, 虽然病历上临床诊断与结核感染不相关, 但笔者认为此类患者考虑为结核潜伏

性感染的可能性较大, 应该继续追踪、关注这类患者, 以证实是否患有结核病 [15, 19-20]。有文献报道证明, IGRA 试验检测效率受结核分枝杆菌感染流行情况等因素影响, 在低风险人群中检测的特异度较好, 而在有潜在结核分枝杆菌感染的高危人群中检测的特异度明显降低 [16, 21-22]。

T 淋巴细胞参与全血 IGRA 反应过程。效应 T 细胞是免疫应答的主要成分, $CD4^+$ T 淋巴细胞在免疫反应中扮演重要角色, 可以通过监测人体内 $CD4^+$ T 淋巴细胞数量来评估人体免疫功能。本研究中 50 例全血 IGRA 检测结果为“不确定”, 占全部患者的 3.9% (50/1297), 22 例结核病患者全血 $CD4^+$ T 淋巴细胞计数结果低于参考值下限, 占 84.6% (22/26), 20 例非结核病患者全血 $CD4^+$ T 淋巴细胞计数结果低于参考值下限, 占 83.3% (20/24), 两组间比较差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.07$, $P > 0.05$)。IGRA 不确定组 $CD4^+$ T 淋巴细胞计数分别与阳性、阴性组比较, 差异均具有统计学意义 ($\chi^2 = 429.86$, $P < 0.01$; $\chi^2 = 207.75$, $P < 0.01$)。这说明 IGRA “不确定”的结果与人体淋巴细胞数量低下、淋巴细胞活力降低、免疫功能受损、淋巴细胞产生 $IFN-\gamma$ 不足等有关。当患者的免疫功能受到抑制或免疫系统功能欠佳, 均有可能造成 IGRA 结果的不确定性。

许多研究表明, QFT-GIT 优点较多: QFT-GIT 试验设置了空白对照管和阳性对照管, 以利于评价受试者的基础免疫状态和血样处理是否得当 (阳性对照管), 及排除受试者体内嗜异性抗体效应和非特异的 $IFN-\gamma$ 等影响 (空白对照管), 从而提高了方法学的可靠性 [17, 23-25]。QFT-GIT 试验属于体外试验, 方便快捷, 由专业软件判定结果, 不受人为因素影响。QFT-GIT 试验出现不确定结果, 提示可能受试者免疫功能异常或血样处理、孵育过程不恰当 [17, 23-25]。QFT-GIT 试验有着较高的敏感度和特异度, 在检测过程中已对单个核细胞数量进行了标准化, 基本可以消除淋巴细胞相对减少对检测结果的影响 [16], 但本研究提示淋巴细胞严重减少对检测结果仍有干扰。因此, IGRA (QFT-GIT) 在临床上可以作为结核病辅助诊断手段, 尤其对肺外结核、涂阴肺结核, 以及 HIV 感染或 AIDS 并发肺结核的患者有一定价值。但是 QFT-GIT 试剂盒价格较贵, 对本标本采集和处理的要求较高, 结果不明确样本需重复检测, 在一定程度上限制了其在临床诊断中的使用。

参 考 文 献

- [1] 张贺秋, 赵雁林. 现代结核病诊断技术. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [2] 朱莉贞. 加强对肺外结核病的协作研究. 中华结核和呼吸杂志, 2008, 31(2): 81-82.
- [3] 张娟, 孙娇, 李莹, 等. 1873 例结核感染 T 细胞斑点试验检测阳性患者的临床分析. 中国防痨杂志, 2015, 37(7): 778-783.
- [4] 孙雯雯, 肖和平, 吴福蓉, 等. 结核感染 T 细胞斑点试验在临床诊断为肺外结核患者中的价值评价. 中国防痨杂志, 2015, 37(7): 784-789.
- [5] 杨新婷, 郭超, 梁清涛, 等. 结核感染 T 细胞斑点试验检测对老年活动性肺结核的诊断价值. 中国防痨杂志, 2015, 37(7): 790-794.
- [6] 吴雪琼, 梁艳, 王国治. γ 干扰素释放试验临床应用的价值、问题与展望. 中国防痨杂志, 2015, 37(7): 722-727.
- [7] 裴宁, 卢水华. WHO《潜伏性结核感染管理指南》要点解析及我国研究现状. 中国防痨杂志, 2015, 37(7): 736-739.
- [8] 中华医学会结核病学分会. 肺结核诊断和治疗指南. 中华结核和呼吸杂志, 2001, 24(2): 70-74.
- [9] 中华医学会结核病学分会. 非结核分枝杆菌病诊断和处理指南. 中华结核和呼吸杂志, 2000, 23(11): 650-653.
- [10] 中国防痨协会基础专业委员会. 结核病诊断实验室检验规程. 北京: 中国教育文化出版社, 2006.
- [11] 赵雁林, 刘宇红, 姜广路, 等. 中国结核病防治规划·痰涂片镜检标准化操作及质量保证手册. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2009.
- [12] 赵雁林, 王黎霞, 成诗明, 等. 分枝杆菌分离培养标准化操作程序及质量保证手册. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [13] Andersen P, Munk ME, Pollock JM, et al. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. Lancet, 2000, 356 (9235): 1099-1104.
- [14] Adewole OO, Erhabor GE, Sogaolu MO, et al. Diagnostic utility of QuantiFERON-TB gold in-tube in active pulmonary Tuberculosis in Nigeria. West Afr J Med, 2013, 32(3): 180-185.
- [15] 高孟秋. γ 干扰素释放试验检测结果的临床意义解读. 中华结核和呼吸杂志, 2014, 37(10): 742-743.
- [16] 中华医学会结核病学分会. 《中华结核和呼吸杂志》编辑委员会. γ 干扰素释放试验在中国应用的建议. 中华结核和呼吸杂志, 2014, 37(10): 744-747.
- [17] Matsumoto T, Yamazaki T. The evaluation of the utility of QuantiFERON TB-Gold In-Tube; QFT-GIT. Kekkaku, 2014, 89(9): 743-755.
- [18] Diel R, Goletti D, Ferrara G, et al. Interferon- γ release assays for the diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: a systematic review and meta-analysis. Eur Respir J, 2011, 37(1): 88-99.
- [19] 李锋, 卢水华. γ 干扰素释放试验在儿童结核病和潜伏结核感染中的诊断价值. 中国防痨杂志, 2015, 37(7): 732-735.
- [20] 李晋, 杨倩婷, 岳建荣, 等. γ 干扰素释放试验与结核菌素皮肤试验在肺结核患者密切接触者随访中的应用比较. 中国防痨杂志, 2015, 37(7): 748-752.
- [21] Dai Y, Feng Y, Xu R, et al. Evaluation of interferon-gamma release assays for the diagnosis of tuberculosis: an updated meta-analysis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2012, 31(11): 3127-3137.
- [22] Menzies D, Pai M, Comstock G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. Ann Intern Med, 2007, 146(5): 340-354.
- [23] 尹青琴, 申阿东. 不同国家 γ 干扰素释放试验临床应用指南的概述. 国际呼吸杂志, 2011, 31(21): 1663-1666.
- [24] 王立红, 付秀华, 张桂芝, 等. 结核感染 T 细胞斑点试验在结核病诊断中的应用价值. 中国防痨杂志, 2013, 35(12): 992-996.
- [25] 刘旭晖, 肖和平. γ 干扰素释放试验 (IGRAs) 对于诊断结核分枝杆菌感染的应用. 临床肺科杂志, 2009, 14(5): 672-674.

(收稿日期: 2016-05-09)

(本文编辑: 薛爱华)