

## • 论著 •

胸腔积液  $\gamma$ -干扰素释放试验对老年结核性胸膜炎的诊断价值

付洪义 章志华 刘宁 池跃鹏 刘会 张勤凤 宋韬

**【摘要】** 目的 评价胸腔积液  $\gamma$ -干扰素释放试验(interferon gamma release assay, IGRA)对老年结核性胸膜炎(pleural effusion, PE)的诊断价值。方法 选取 2013 年 1 月至 2015 年 7 月在河北省胸科医院结核内科疑似为结核性胸膜炎的 133 例老年住院患者,同时进行胸腔积液和外周血的 IGRA,依据最终结果将患者分为确诊结核性胸膜炎组(简称“确诊组”)、临床诊断结核性胸膜炎组(简称“临床诊断组”)、非结核性胸膜炎组,比较各组胸腔积液和外周血 IGRA 的敏感度与特异度、阳性预测值与阴性预测值。结果 13 例(9.77%)确诊为结核性胸膜炎,63 例(47.37%)临床诊断为结核性胸膜炎,57 例(42.86%)为非结核性胸膜炎。胸腔积液 IGRA 的敏感度为 90.79%(69/76),明显高于外周血的 67.11%(51/76),差异有统计学意义( $\chi^2=12.826, P<0.001$ );胸腔积液 IGRA 的特异度为 98.25%(56/57),明显高于外周血的 84.21%(48/57),差异有统计学意义( $\chi^2=7.015, P=0.016$ );胸腔积液 IGRA 的阳性预测值为 98.57%(69/70),高于外周血的 85.00%(51/60),差异有统计学意义( $\chi^2=8.380, P<0.001$ );胸腔积液 IGRA 的阴性预测值为 88.89%(56/63),明显高于外周血的 65.75%(48/73),差异有统计学意义( $\chi^2=10.059, P=0.002$ )。结论 与外周血 IGRA 相比,胸腔积液 IGRA 可大幅提高对老年结核性胸膜炎的敏感度和特异度、阳性预测值和阴性预测值,明显提高对老年结核性胸膜炎的诊断水平。

**【关键词】** 干扰素  $\gamma$ ; 酶联免疫斑点检测; 结核,胸膜; 老年人; 胸腔积液; 敏感性与特异性

**Diagnostic value of pleural effusion detected with IGRA in the elderly with tuberculous pleurisy** FU Hong-yi, ZHANG Zhi-hua, LIU Ning, CHI Yue-peng, LIU Hui, ZHANG Qin-feng, SONG Tao. Department of Tuberculosis Medicine, Hebei Chest Hospital, Shijiazhuang 050041, China  
Corresponding author: SONG Tao, Email: 115305048@qq.com

**【Abstract】** Objective To evaluate the value of pleural effusion detected with interferon-gamma release assay (IGRA) on diagnosis in the elderly with tuberculous pleurisy. Methods One hundred and thirty-three cases with suspected tuberculous pleurisy admitted in Hei Bei Chest Hospital were enrolled during Jan. 2013 to Jul. 2015. IGRA was tested for peripheral blood mononuclear cell (PBMC) and pleural effusion (PE). All patients were divided into definite tuberculous pleurisy (confirmed group), probable tuberculous pleurisy (clinical diagnostic group) and non-tuberculous pleurisy group according to the composite reference standard (CRS). The sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) of IGRA detected for PBMC and PE were compared, respectively. Results There were 13 (9.77%) cases with tuberculous pleurisy, 63 (47.37%) cases with probable tuberculous pleurisy and 57 (42.86%) cases with non-tuberculous pleurisy. The sensitivity (90.79%, 69/76) of IGRA for PE was higher than that (67.11%, 51/76) for PBMC with significant difference statistically ( $\chi^2=12.826, P<0.001$ ). The specificity (98.25%, 56/57) of IGRA for PE was higher than that (84.21%, 48/57) for PBMC with significant difference statistically ( $\chi^2=7.015, P=0.016$ ). The PPV (98.57%, 69/70) and NPV (88.89%, 56/63) for PE were higher than those (85.00%, 51/60 and 65.75%, 48/73) for PBMC with significant difference statistically ( $\chi^2=8.380, P<0.001$  and  $\chi^2=10.059, P=0.002$ ). Conclusion Compared with the result of IGRA for PBMC, IGRA for PE can improve significantly the sensitivity, specificity, PPV and NPV and then improve significantly diagnostic level in the elderly with tuberculous pleurisy.

**【Key words】** Interferon-gamma; Enzyme-linked immunospot assay; Tuberculous, pleura; Aged; Pleural effusion; Sensitivity and specificity

结核性胸膜炎(pleural effusion, PE)是最为常见的一种胸膜炎性疾病,是胸膜对结核分枝杆菌的高强度变态反应的结果,可在不同年龄段发病<sup>[1]</sup>。随着我国人口的老龄化,老年结核性胸膜炎患者也呈逐渐增高的趋势。老年患者代偿能力差,一旦误诊或漏诊,往往致病情危重,造成较高的死亡率<sup>[2]</sup>。这就需要一种微创甚至是无创、快速而又准确的诊断老年结核性胸膜炎的方法。 $\gamma$ -干扰素释放试验(interferon gamma release assay, IGRA)以其对检查结核分枝杆菌感染独有的敏感度和特异度被广泛应用于临床检测中<sup>[2]</sup>,目前主要用于外周血的检测。由于结核分枝杆菌感染所引起的机体保护性免疫反应使大量释放 $\gamma$ -干扰素的淋巴细胞趋化、聚集至感染部位,因此胸腔积液的 $\gamma$ -干扰素释放试验的检测结果可能比外周血的更准确<sup>[3]</sup>。本研究对河北省胸科医院结核内科收住入院的疑似结核性胸膜炎的老年患者同时进行胸腔积液和外周血的 IGRA,比较胸腔积液和外周血的 IGRA 对老年结核性胸膜炎的诊断效能。

## 资料与方法

### 一、一般资料

选取河北省胸科医院结核内科 2013 年 1 月至 2015 年 7 月疑似为结核性胸膜炎的 133 例老年住院患者作为研究对象。对所有患者同时进行胸腔积液和外周血的 IGRA,根据患者结核分枝杆菌的抗酸染色、培养、组织病理学检查,以及结合临床症状与体征、影像学检查、彩色超声检查、临床药物治疗效果,将患者分为:确诊结核性胸膜炎组(简称“确诊组”),共计 13 例(9.77%),年龄 65~76 岁,平均年龄(68.6±2.4)岁,其中男 10 例(76.92%),女 3 例(23.08%);临床诊断结核性胸膜炎组(简称“临床诊断组”),共计 63 例(47.37%),年龄 66~78 岁,平均年龄(69.3±3.6)岁,其中男 53 例(84.13%),女 10 例(15.87%);非结核性胸膜炎组,共计 57 例(42.86%),包括炎性胸膜炎 8 例(14.03%),恶性胸膜炎 37 例(64.91%),风湿免疫性胸膜炎 6 例(10.53%),原因不明 6 例(10.53%),年龄 65~83 岁,平均年龄(69.4±4.2)岁,其中男 46 例(80.70%),女 11 例(19.30%)。

1. 研究对象入选标准:(1)年龄 $\geq 65$ 岁;(2)既往无结核病病史,无糖尿病及风湿免疫病病史,无其他肺部疾病史,无 HIV 感染,无妊娠,无严重肝肾功能衰竭病史,近期(3 个月内)未应用免疫抑制剂及

增强剂;(3)胸腔彩色超声检查显示胸腔积液;(4)抗结核药物治疗 4 周之内;(5)签署患者知情同意书。

2. 分组标准:(1)确诊组:胸腔积液结核分枝杆菌培养阳性,或抗酸染色阳性,或胸膜活检病理显示干酪样坏死的肉芽肿性改变;(2)临床诊断组:有发热、乏力、纳差、盗汗、消瘦等典型的结核全身中毒症状,结核菌素皮肤试验强阳性(硬结平均直径 $\geq 15$  mm 或出现水疱、坏死及淋巴管炎)和(或)血清结核抗体阳性,实验室检查(常规、生化)符合结核性渗出液特点[白细胞数增高,以淋巴细胞和单核细胞为主;胸腔积液腺苷脱氨酶(ADA) $> 45$  U/L,胸腔积液 ADA/血清 ADA $> 1$ ],抗结核药物治疗(1 个月)有效;(3)非结核性胸膜炎组:实验室及病理检查结果均不支持结核性胸膜炎的诊断,可明确诊断为其他疾病,且治疗原发病有效。

### 二、方法

1. 主要试剂和仪器:(1)无血清培养基:RPMI (PPA laboratory GmbH, Roswell Park Memorial Institute)-1640, GIBCO AIM-V<sup>TM</sup> (Invitrogen 公司);单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)分离液:Lymphoprep<sup>TM</sup> (Ads-Shield PocAS, Oslo, Norway);无水乙醇(分析纯);磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS): $1 \times$  DPBS PH 7.4(美国 GIBCO<sup>TM</sup> 公司, catalogue number 14040-091);T-SPOT. TB(结核感染 T 细胞斑点试验)试剂盒(Oxford Immunotec, Abingdon, UK);结核菌素纯蛋白衍生物(北京祥瑞制药有限公司, purified protein derivative of tuberculin, TB-PPD)。(2)二级生物安全柜(美国 Thermo Scientific 公司), ELISPOT 分析仪(德国 ADI 公司);37 °C, 90%湿度,5%CO<sub>2</sub> 培养箱(美国 Thermo Scientific 公司);4 °C 冰箱 BCD-257SL(青岛海尔公司);超大容量低温离心机(美国 Thermo Scientific 公司);台式振荡器 Vortex-Geniez(上海易扩仪器有限公司);电热恒温水槽(上海精宏实验设备有限公司);新型全自动恒温鼓风干燥箱(上海智城分析仪器制造有限公司);移液器(美国 Thermo Scientific 公司);肝素锂真空采血管(美国 BD 公司, CPT, 4 ml);流式标本检测管(美国 BD 公司);细胞计数板(美国 HCYCOR 生物学公司)。

2. T-SPOT. TB 检测:采用单盲的方法,用一次性胸穿包为患者行胸腔穿刺术,采集患者胸腔积液 50 ml(肝素抗凝),同时用肝素真空采血管收集外周血 5 ml,并由研究人员在 6 h 内分别完成二者的

T-SPOT. TB 检测。T-SPOT. TB 检测以 GIBCO AIM-V™ 细胞培养基作为空白对照,植物血凝素 (PHA) 作为阳性对照,分别以结核分枝杆菌特异性抗原[早期分泌抗原靶 6 (ESAT-6)、培养滤液蛋白 10 (CFP-10)] 作为刺激原。密度梯度离心 (density gradient centrifugation) 分离胸腔积液 (第 1 次为 18 °C, 1800 × g, 离心 30 min; 处理后第 2 次为 600 × g, 离心 7 min, 弃去上清液; 处理后第 3 次为 350 × g, 离心 7 min, 弃去上清液, 将沉淀悬浮于 0.7 ml AIM-V 培养液之中), 在预先包被抗 IFN-γ 单抗的微孔板上, 分别加入抗原和胸腔积液或外周血中单个核细胞 (2.5 × 10<sup>9</sup>/L), 将微孔板置于 37 °C, 90% 湿度, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中孵育 18~20 h, 加入二抗和显色底物, 显色 6~8 min。将微孔板置于通风、避光、干燥处过夜, 应用酶联免疫斑点试验 (ELISPOT) 分析仪计数斑点, 每一个斑点代表一个分泌 IFN-γ 特异性 T 细胞。目视法判定标准: 阳性对照孔内斑点数 ≥ 20 个视为试验有效; 阴性对照孔内斑点数 ≤ 5 个, A 孔内斑点数或 B 孔内斑点数 - 阴性对照孔斑点数 ≥ 6 个, 认定结果为阳性; 若阴性对照孔内斑点数 ≥ 6 个, A 孔内斑点数或 B 孔内斑点数 ≥ 阴性对照孔内斑点数 × 2, 认定结果为阳性; 若 A 孔内斑点数或 B 孔内斑点数的数量 < 20, 且阳性对照孔内斑点数 ≥ 20 个, 认定结果为阴性。

3. 统计学处理: 数据资料的整理录入与分析均用 SPSS 18.0 软件进行。两组间率的比较采用卡方检验, 以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

### 结 果

胸腔积液 IGRA 的敏感度、特异度均明显高于

外周血, 差异均有统计学意义 ( $\chi^2 = 12.826, P < 0.001$ ;  $\chi^2 = 7.015, P = 0.016$ ); 胸腔积液 IGRA 的阳性预测值、阴性预测值均明显高于外周血, 差异均有统计学意义 ( $\chi^2 = 8.380, P < 0.001$ ;  $\chi^2 = 10.059, P = 0.002$ ) (表 1)。

### 讨 论

伴随我国进入老龄化社会, 老年肺结核发病患者逐年增加, 导致老年结核性胸膜炎患者不断增多。目前, 确诊结核性胸膜炎需要胸腔积液涂片发现抗酸杆菌或者结核分枝杆菌液体培养阳性, 亦或胸膜活检病理结果有干酪样坏死的肉芽肿性组织; 但前者阳性检出率极低, 仅有 1.7%~24.5%<sup>[4]</sup>, 后者在采集样本时又存在一定的风险, 故实际临床诊断结核性胸膜炎主要依靠疾病史、典型的临床症状与体征、胸部 X 线摄影、胸腔积液的实验室检查, 以及经验性药物治疗后的效果评估等进行综合诊断。与其他人群相比, 老年人器官功能衰退、多并发各种慢性疾病、免疫功能低下, 故老年人罹患结核病时症状多不典型, 且发病后病程长, 血性胸腔积液较多见, 导致结核病的诊断和鉴别诊断较困难, 往往造成病情诊治的延误, 出现高死亡率<sup>[5-6]</sup>。因此, 临床工作中迫切需要一种新型的、微创甚至是无创的、快速而又准确的检测技术, 以提高老年结核性胸膜炎的诊断准确性。

IGRA 是近年来结核病诊断技术的重大突破。大量实验数据表明, 外周血 IGRA 对结核感染的诊断有较高的敏感度和特异度, 但其在不同部位结核病的诊断敏感度不一致, 且在结核病高流行地区其特异度也表现不佳, 不能区分活动性结核病和潜伏

表 1 胸腔积液和外周血的 IGRA 诊断结核性胸膜炎的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值比较

检测标本组别	IGRA		敏感度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
	阳性例数	阴性例数				
外周血						
确诊组	11	2			85.00(51/60)	65.75(48/73)
临床诊断组	40	23	67.11(51/76)			
非结核性胸膜炎组	9	48		84.21(48/57)		
胸腔积液						
确诊组	13	0				
临床诊断组	56	7	90.79(69/76)		98.57(69/70)	88.89(56/63)
非结核性胸膜炎组	1	56		98.25(56/57)		

注 敏感度 = 阳性病例数 / 总数 × 100%; 特异度 = 阴性病例数 / 总数 × 100%; 阳性预测值 = 真阳性 / (真阳性 + 假阳性) × 100%; 阴性预测值 = 真阴性 / (真阴性 + 假阴性) × 100%。表中括号内数值分子为上述公式中的分子例数, 分母为上述公式中的分母例数

性结核感染,使其临床应用受限<sup>[7]</sup>。由于结核性胸膜炎的发生是结核分枝杆菌及其特异性抗原与 CD4<sup>+</sup> T 细胞为主的特异性 T 细胞相互作用的过程,胸腔积液中的各种细胞因子,如 IFN- $\gamma$ 、白细胞介素(IL)-2、IL-6 等浓度水平均明显高于外周血,局部病变呈现隔室化特点<sup>[8]</sup>,所以相对于外周血而言,其内的抗原特异性 T 细胞数量可能受结核潜伏感染影响较小。文献报道,结核性胸膜炎患者胸腔积液中效应 T 细胞数量与外周血比较可增高 10~15 倍<sup>[9]</sup>,提示在结核性胸腔积液中有足够的效应 T 细胞,这就使 IGRA 用于在结核病高负担国家中的结核性胸膜炎的诊断变成可能。目前,胸腔积液行 T-SPOT. TB 结果判定标准还没有明确的临界值(cut-off 值),还是按照外周血的标准来判断,希望本研究能对 T-SPOT. TB 在外周血以外的应用提供依据。

本研究显示在老年结核性胸膜炎患者中,胸腔积液 IGRA 的敏感度为 90.79%(69/76)、特异度为 98.25%(56/57),明显高于外周血的 67.11%(51/76)和 84.21%(48/57),差异均有统计学意义( $\chi^2 = 12.826, P < 0.001; \chi^2 = 7.015, P = 0.016$ )。其原因可能是抗原特异性 T 细胞向胸膜病变部位聚集,从而使外周血的抗原特异性 T 细胞数量减少。提示胸腔积液进行 IGRA 检测结果可以在一定程度上用于诊断老年结核性胸膜炎。

再者,本研究显示,胸腔积液进行 IGRA 检测结果的阳性预测值为 98.57%(69/70)、阴性预测值为 88.89%(56/63),高于外周血的 85.00%(51/60)和 65.75%(48/73),差异均有统计学意义( $\chi^2 = 8.380, P < 0.001; \chi^2 = 10.059, P = 0.002$ ),可见胸

腔积液进行 IGRA 检测结果能很好地帮助诊断老年结核性胸膜炎,并能为临床医生排除老年结核性胸膜炎提供有力依据。

本研究局限之处为仅有 133 例患者,确诊组患者仅 13 例,导致敏感度、特异度等数据科学参考意义有限,需日后开展大样本研究进一步证实。

综上所述,与外周血 IGRA 相比,胸腔积液 IGRA 可大幅提高对老年结核性胸膜炎诊断的敏感度和特异度、阳性预测值和阴性预测值,可明显提高老年结核性胸膜炎的诊断水平。

#### 参 考 文 献

- [1] 唐神结,高文. 临床结核病学. 北京:人民卫生出版社, 2011:366.
- [2] 史玲莉. 免疫学方法诊断结核病的研究进展. 河北医科大学学报, 2013, 34(11):1475-1480.
- [3] 吴雪琼,梁艳,王国治.  $\gamma$ -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.
- [4] 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.
- [5] 陈敏,赖天文,陈衡华,等. 结核性胸膜炎内科胸腔镜下表现及其诊断价值. 临床肺科杂志, 2013, 18(6):1064-1065.
- [6] 王洋. 老年结核性胸膜炎临床及胸腔镜下表现分析. 中国伤残医学, 2015, 23(20):95-96.
- [7] 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.  $\gamma$ -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.
- [8] 刘菲,张霞,杜凤娇,等.  $\gamma$ -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.
- [9] Pai M, Zwerling A, Menzies D. Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection; an update. *Ann Intern Med*, 2008, 149(3):177-184.

(收稿日期:2016-02-14)

(本文编辑:孟莉 范永德)