

• 论著 •

三种检测方法联合使用对结核性胸膜炎的诊断价值

程丽平 肖和平

【摘要】 目的 探讨结核性胸膜炎患者外周血结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT. TB)、胸腔积液腺苷脱氨酶(ADA)及胸腔积液结核分枝杆菌 DNA 荧光定量聚合酶链反应(TB-DNA-PCR)联合检测对结核性胸膜炎的诊断价值。**方法** 收集 2012 年 1 月至 2014 年 5 月在上海市肺科医院住院的胸腔积液患者 399 例,其中确诊为结核性胸膜炎 296 例,非结核性胸膜炎 103 例。分别采集患者外周血和胸腔积液,进行外周血 T-SPOT. TB、胸腔积液 ADA 和胸腔积液 TB-DNA-PCR 的检测,分别计算 3 项检测的敏感度和特异度,以及串联联合检测(ADA、TB-DNA-PCR 和 T-SPOT. TB 检测结果均为阳性视为阳性结果)和并联联合检测(ADA、TB-DNA-PCR 和 T-SPOT. TB 任意一项检测结果为阳性视为阳性结果)的敏感度和特异度。样本“率”的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。**结果** 分别采用 ADA 检测、TB-DNA-PCR 和 T-SPOT. TB 的方法对 296 例结核性胸膜炎和 103 例非结核性胸膜炎患者进行检测,敏感度分别为 90.88% (269/296)、31.42% (93/296) 和 81.76% (242/296);胸腔积液 ADA 检测的敏感度高于外周血 T-SPOT. TB,差异有统计学意义($\chi^2 = 11.23, P = 0.000$);外周血 T-SPOT. TB 的敏感度高于胸腔积液 TB-DNA-PCR,差异有统计学意义($\chi^2 = 152.66, P = 0.000$)。ADA 检测、TB-DNA-PCR 和 T-SPOT. TB 方法的特异度分别为 78.64% (81/103)、97.09% (100/103) 和 73.79% (76/103);胸腔积液 TB-DNA-PCR 的特异度高于外周血 T-SPOT. TB,差异有统计学意义($\chi^2 = 22.47, P = 0.000$);胸腔积液 TB-DNA-PCR 的特异度高于胸腔积液 ADA 检测,差异有统计学意义($\chi^2 = 16.43, P = 0.000$);而胸腔积液 ADA 检测与外周血 T-SPOT. TB 的特异度差异无统计学意义($\chi^2 = 0.67, P = 0.513$)。对 3 项诊断方法进行联合检测,行串联试验时,特异度高达 99.03% (102/103),敏感度为 28.38% (84/296);行并联试验时,敏感度高达 99.32% (294/296),特异度为 69.90% (72/103)。**结论** 胸腔积液 ADA 检测、胸腔积液 TB-DNA-PCR 及外周血 T-SPOT. TB 进行串联联合检测特异度较高,能够更好地降低误诊率;并联联合检测敏感度较高,能够更好地降低漏诊率。

【关键词】 结核,胸膜; 诊断技术和方法; 胸腔积液; 腺苷脱氨酶; 聚合酶链反应; 酶联免疫斑点检测

Evaluation on the combination of three methods for the diagnosis of tuberculous pleurisy CHENG Li-ping, XIAO He-ping. Clinic and Research Center of Tuberculosis, Shanghai Key Lab of Tuberculosis, Shanghai Pulmonary Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai 200433, China
Corresponding author: XIAO He-ping, Email: xiaoheping_sars@163.com

【Abstract】 Objective To study the clinical value of combined detection using peripheral blood T-SPOT. TB, pleural effusion adenosine deaminase (ADA) and pleural effusion *Mycobacterium tuberculosis* DNA fluorescence quantitative polymerase chain reaction (TB-DNA-PCR) for the diagnosis of tuberculous pleurisy. **Methods** Three hundred and ninety-nine cases in Shanghai Pulmonary Hospital from January 2012 to May 2014 were retrospectively analyzed, including 296 cases of tuberculous pleurisy and 103 cases of non-tuberculous pleurisy. Every patient was tested with pleural effusion ADA, pleural effusion TB-DNA-PCR and peripheral blood T-SPOT. TB. The sensitivities and specificities of three detections, serial joint detection and parallel joint detection are calculated, respectively. ADA, TB-DNA-PCR and T-SPOT. TB test results were all positive as a positive result in serial joint detection, any one of ADA or TB-DNA-PCR or T-SPOT. TB test results was positive as a positive result in parallel joint detection. Data were compared with χ^2 test, $P < 0.05$ was considered statistically significant. **Results** The sensitivities of pleural effusion ADA, pleural effusion TB-DNA-PCR and peripheral blood T-SPOT. TB were 90.88% (269/296), 31.42% (93/296), and 81.76% (242/296), respectively. The sensitivity of T-SPOT. TB was significantly higher than that of TB-DNA-PCR ($\chi^2 = 152.66, P = 0.000$), but significantly lower than that of ADA ($\chi^2 = 11.23, P = 0.000$).

Their specificities were 78.64% (81/103), 97.09% (100/103), and 73.79% (76/103), respectively. The specificity of TB-DNA-PCR was significantly higher than those of T-SPOT. TB ($\chi^2 = 22.47, P = 0.000$) and ADA ($\chi^2 = 16.43, P = 0.000$), but there was no statistical difference between the specificities of T-SPOT. TB and ADA ($\chi^2 = 0.67, P = 0.513$). The sensitivity and specificity of serial joint detection was 28.38% (84/296) and 99.03% (102/103) respectively. The sensitivity and specificity of parallel joint detection was 99.32% (294/296) and 69.90% (72/103), respectively. **Conclusion** The specificity of the serial joint detection of pleural effusion ADA, pleural effusion TB-DNA-PCR and peripheral blood T-SPOT. TB was higher, better to reduce the misdiagnosis; the sensitivity of the parallel joint detection was higher, better to decrease the missed diagnosis.

【Key words】 Tuberculosis, pleural; Diagnostic techniques and procedures; Pleural effusion; Adenosine deaminase; Polymerase chain reaction; Enzyme-linked immunospot assay

结核性胸膜炎(tuberculous pleurisy, TBP)在我国胸腔积液住院患者中占 49.5%~54.5%^[1],在临床诊断上,通常以胸膜活检发现肉芽肿或活检组织、胸腔积液检测到结核分枝杆菌为标准。胸膜活检的病理组织阳性率较高,可达 50%~80%,胸腔镜诊断阳性率可高达 86%~97%^[2]。但上述两种检查方法均为有创性,而结核性胸膜炎胸腔积液中抗酸杆菌涂片阳性率仅为 0%~25%,胸腔积液培养阳性率也仅为 11.7%~56.8%^[3]。因此寻找方便、可靠的检测指标迫在眉睫。

本研究主要通过结核性胸膜炎及非结核性胸膜炎患者外周血结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT. TB)、胸腔积液腺苷脱氨酶(ADA)检测、胸腔积液结核分枝杆菌脱氧核糖核酸聚合酶链反应(TB-DNA-PCR)水平,评价各项检测指标的敏感度及特异度,并探讨联合检测对结核性胸膜炎的诊断价值。

资料和方法

一、研究对象及诊断标准

1. 一般资料:本研究对 2012 年 1 月至 2014 年 5 月在上海市肺科医院住院的胸腔积液患者进行回顾性分析。共收集胸腔积液患者 478 例,根据纳入和排除标准,最终进入本研究 399 例。入选患者中结核性胸膜炎组 296 例,其中男 210 例,女 86 例,平均年龄(42.08 ± 17.91)岁;非结核性胸膜炎组 103 例,男 79 例,女 24 例,平均年龄(53.36 ± 14.20)岁。

2. 最终诊断情况:(1)结核性胸膜炎组,共 296 例。16 例胸腔积液涂片抗酸染色阳性(其中 13 例结核分枝杆菌培养阳性,3 例培养阴性);75 例胸腔积液或胸膜组织改良罗氏培养结果为阳性,经菌型鉴定为结核分枝杆菌;92 例胸膜病理检查可见干酪性肉芽肿伴(或不伴)抗酸杆菌阳性。其中,170 例有细菌学和(或)病理学诊断依据(其中 13 例涂片和培养结果均为阳性),其余 126 例通过临床诊断性抗结核药物治疗有效而确诊。(2)非结核性胸膜炎组,

共 103 例。包括肺癌胸膜转移 65 例(63.11%),原发性胸膜恶性病变 3 例(2.91%),肺炎旁胸腔积液 9 例(8.74%),漏出性胸腔积液 13 例(12.62%),乳糜胸 3 例(2.91%),肺部真菌感染 3 例(2.91%),其他风湿性疾病 2 例(1.94%),肺栓塞 5 例(4.85%)。

3. 结核性胸膜炎诊断标准:参照中华医学会结核病学分会《肺结核诊断和治疗指南》^[4]中的诊断标准,并符合以下 3 条或 3 条以上:(1)胸腔积液找到结核分枝杆菌;(2)胸膜活检发现结核性肉芽肿;(3)临床有发热、盗汗、咳嗽、消瘦等结核中毒症状;(4)胸部影像学检查提示有结核病灶;(5)抗结核治疗后临床症状改善,胸腔积液吸收;(6)治疗后直至停药后 6 个月随访,病情稳定,胸腔积液未见复发。

4. 非结核性胸腔积液纳入标准:(1)胸腔积液为漏出液,排除结核病因;(2)胸腔积液病理细胞学检查或胸膜组织病理学检查明确恶性肿瘤;(3)其他疾病:胸腔积液为渗出液,涂片及结核分枝杆菌培养阴性,根据临床症状、体征、常规化验检查、细菌学检测、影像学表现及疗效等证实病因。

5. 排除标准:上述患者诊断均依据相关诊断标准^[5],同时需要排除:(1)人类免疫缺陷病毒感染;(2)妊娠;(3)并发自身免疫系统疾病;(4)有移植或免疫抑制剂用药史;(5)其他脏器疾病终末期;(6)并发活动性肺结核;(7)血性胸腔积液。

二、检查方法

1. ADA 的检测:根据患者胸腔彩色超声结果,行常规胸腔穿刺。抽取胸腔积液 2~3 ml 置于无菌试管中,1500×g 离心 5 min 后,取其上清液,吸入样本杯,上机进行检测。检测仪器采用日立 7150 全自动生化仪和北京利德曼生化股份有限公司试剂盒,按试剂盒说明书要求将参考值设定为 ≥ 25 U/L 为阳性, < 25 U/L 为阴性。

2. TB-DNA-PCR:抽取患者胸腔积液置于无菌试管中,加入 2~3 倍体积 4% 的 NaOH 溶液,37℃ 恒温处理 30 min 使之液化。取标本 900 μ l 及试剂

盒中的阴性对照、阳性对照各 500 μl 置于 1.5 ml 无菌离心管中, 6000 $\times g$ 离心 10 min。弃上清, 沉淀中加入 1 ml 灭菌生理盐水, 振荡悬浮, 6000 $\times g$ 离心 10 min。弃上清, 向沉淀中加入 DNA 提取液 30 μl , 振荡混匀, 1000 $\times g$ 离心 5 s, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 温浴 30 min, 放入 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴或干浴 10 min, 6000 $\times g$ 离心 10 min。取出 PCR 反应液、Taq 酶及尿嘧啶糖苷酶(UNG), 室温融化并振荡混匀, 1000 $\times g$ 离心 10 s。设所需要的 PCR 反应管数为 n (n =样本数+1 管阴性对照+1 管阳性对照), 向设定的 n 个 PCR 反应管中分别加入 38 μl 经上述步骤处理过的样本、阴性对照、阳性对照上清液各 2 μl , 置于 PCR 仪上检测。37 $^{\circ}\text{C}$: 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$: 1 min; 95 $^{\circ}\text{C}$: 5 s, 60 $^{\circ}\text{C}$: 40 s, 40 个循环。反应体系设为 40 μl 。根据检测结果绘制标准曲线, 取 6~10 或 6~15 个循环的荧光信号确定基线。Ct 值等于 40 或 0 的样本判为阴性; 循环阈值(Ct 值) ≤ 37.0 者判为阳性; Ct 值 >37.0 的样本重做。重做结果 Ct 值 <40 者为阳性, 否则为阴性。本试验采用的是深圳凯杰生物工程有限公司试剂盒, 以及瑞士罗氏实时荧光定量 PCR 扩增仪(Light Cycler 480)。

3. T-SPOT. TB: 本试验是利用结核分枝杆菌感染者外周血单个核细胞(PBMC)中存在致敏的 T 淋巴细胞, 在受到结核分枝杆菌特异抗原 A (ESAT-6; 早期分泌抗原靶分子) 和抗原 B (CFP-10; 培养滤液蛋白) 刺激后释放相应 γ -干扰素的特异性 T 细胞, 分别记为 T-SPOT. TB 评分的 A 抗原值、B 抗原值。无菌注射器抽取足量的外周静脉血, 加至含肝素或柠檬酸钠抗凝剂的真空采血管直接进行采集; 或使用 BD 公司的单个核细胞准备管(CPT), 根据厂家说明书要求分离 PBMC, 吸取 PBMC 层并转移至 15 ml 尖底离心管中。加入细胞培养液至 10 ml, 600 $\times g$ 离心 7 min。弃上清, 用 1 ml 培养液重悬沉淀, 加培养液至 10 ml, 350 $\times g$ 离心 7 min。弃上清, 加 0.7 ml 培养液重悬沉淀。以细胞培养液作为阴性对照, 植物血凝素(PHA)作为阳性对照, ESAT-6 和 CFP-10 作为刺激抗原, 每个检测孔加入 100 μl 细胞终溶液(含有 25 万个活细胞), 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 湿润的含有 5% 的 CO_2 培养箱中孵育 16~20 h。洗板后加入含有碱性磷酸酶标记的小鼠抗人 γ -干扰素单抗的抗体工作液, 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h。洗板后加入含 5-溴-4-氯-3-吡啶磷酸(BCIP)和氯化硝基四氮唑蓝(NBT)的显色底物, 室温孵育 7 min。在通风处或 37 $^{\circ}\text{C}$ 温箱干燥培养板, 记录每个反应孔内深蓝

色清晰的斑点数, 每个斑点代表每个活化的结核特异性效应 T 细胞。应用结核感染 T 细胞检测试剂盒(免疫斑点法)进行检测。

根据抗原 A 和(或)抗原 B 孔的反应判断结果: 空白对照孔斑点数为 0~5 个时, 且抗原 A 或抗原 B 孔的斑点数-空白对照孔斑点数 ≥ 6 ; 空白对照孔斑点数为 6~10 个时, 且抗原 A 或抗原 B 孔的斑点数 ≥ 2 倍空白对照孔斑点数, 检测结果为“有反应性”; 如果上述标准不符合, 且阳性质控对照孔正常时, 检测结果为“无反应性”。

根据周晴等^[6]的经验, 对特异性抗原孔数值进行分层。分层 1: 阴性对照斑点数为 0~5 个, 任何一个检测孔计数减去阴性孔计数 ≥ 6 , 或者阴性对照斑点数 ≥ 6 , 检测孔斑点数 ≥ 2 倍阴性对照孔斑点数; 分层 2: 抗原 A 或抗原 B 孔计数减去阴性孔计数 >10 ; 分层 3: 抗原 A 或抗原 B 孔计数减去阴性孔计数 >20 ; 分层 4: 抗原 A 和抗原 B 孔计数减去阴性孔计数均 >20 。分别统计两组患者于不同 T-SPOT. TB 分层组别的反应情况。

4. 联合检测: (1) 串联试验: 分别检测两组患者胸腔积液 ADA、胸腔积液 TB-DNA-PCR 及外周血 T-SPOT. TB, 行串联试验(2 项或 3 项分别进行比较时, 检测结果均为阳性视为阳性; 2 项或 3 项分别进行比较时, 其中任意一项检测结果为阴性视为阴性), 分组如下: ADA 和 TB-DNA-PCR、ADA 和 T-SPOT. TB、TB-DNA-PCR 和 T-SPOT. TB、ADA 和 TB-DNA-PCR 和 T-SPOT. TB, 比较各组敏感度和特异度的差异。(2) 并联试验: 分别检测两组患者胸腔积液 ADA、胸腔积液 TB-DNA-PCR 及外周血 T-SPOT. TB, 行并联试验(2 项或 3 项分别进行比较时, 其中任意一项检测结果为阳性即视为阳性; 检测结果均为阴性视为阴性), 分组如下: ADA 或 TB-DNA-PCR、ADA 或 T-SPOT. TB、TB-DNA-PCR 或 T-SPOT. TB、ADA 或 TB-DNA-PCR 或 T-SPOT. TB, 比较各组的敏感度和特异度的差异。

三、统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。计数资料采用 χ^2 检验; 在符合正态分布, 且方差齐性的条件下, 计量资料采用 t 检验。均以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、3 项指标的单项诊断价值

1. ADA 检测结果: 结核性胸膜炎组胸腔积液

ADA 平均值为 (56.18 ± 17.84) U/L, 非结核性胸膜炎组胸腔积液 ADA 平均值为 (19.38 ± 5.59) U/L。两组比较, 结核性胸膜炎组胸腔积液 ADA 平均值明显高于非结核性胸膜炎组 ($t = 9.59, P = 0.000$)。胸腔积液 ADA 诊断的敏感度为 90.88% (269/296), 特异度为 78.64% (81/103)。

2. TB-DNA-PCR 检测结果: 结核性胸膜炎组胸腔积液 TB-DNA-PCR 阳性 93 例, 非结核性胸膜炎组胸腔积液 TB-DNA-PCR 阳性 3 例, 胸腔积液 TB-DNA-PCR 诊断的敏感度为 31.42% (93/296), 特异度为 97.09% (100/103)。

3. 外周血 T-SPOT. TB 检测结果: 外周血 T-SPOT. TB 敏感度为 81.76% (242/296), 特异度为 73.79% (76/103)。其中, 结核性胸膜炎组抗原 A 孔平均计数为 (15.81 ± 4.29) 个, 明显高于非结核性胸膜炎组抗原 A 孔平均计数 $[(2.73 \pm 0.89)$ 个], 差异有统计学意义 ($t = -5.50, P = 0.000$)。结核性胸膜炎组抗原 B 孔平均计数为 (18.93 ± 5.67) 个, 明显高于非结核性胸膜炎组抗原 B 孔平均计数 $[(2.21 \pm 0.70)$ 个], 差异有统计学意义 ($t = 4.61, P = 0.000$)。

根据分层分析, 当抗原 A 或 B 孔计数的数值 ≥ 6 (分层 1), 外周血 T-SPOT. TB 敏感度最高, 达到 81.76%, 特异度为 73.79%; 当抗原 A 和 B 两孔计数均 > 20 (分层 4), 外周血 T-SPOT. TB 特异度最高, 达到 100.00%, 敏感度为 17.23%。如表 1 所示: 分层 1 敏感度高于分层 2, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 12.50, P = 0.001$); 分层 2 敏感度高于分层 3,

差异有统计学意义 ($\chi^2 = 31.12, P = 0.000$); 分层 3 敏感度高于分层 4, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 58.83, P = 0.000$); 分层 4 特异度高于分层 3, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 8.10, P = 0.005$); 分层 3 特异度与分层 2 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 3.23, P = 0.105$); 分层 2 特异度与分层 1 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.24, P = 0.747$)。

二、3 项指标诊断价值的比较

对 3 种诊断方法进行比较, 胸腔积液 ADA 检测的敏感度高于外周血 T-SPOT. TB, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 11.23, P = 0.000$); 外周血 T-SPOT. TB 的敏感度高于胸腔积液 TB-DNA-PCR, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 152.66, P = 0.000$)。胸腔积液 TB-DNA-PCR 的特异度高于外周血 T-SPOT. TB, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 22.47, P = 0.000$); 胸腔积液 TB-DNA-PCR 的特异度高于胸腔积液 ADA 检测, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 16.43, P = 0.000$); 胸腔积液 ADA 检测与外周血 T-SPOT. TB 的特异度差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.67, P = 0.513$)。具体见表 2。

三、3 项指标联合检测的价值

两组患者分别检测胸腔积液 ADA、胸腔积液 TB-DNA-PCR 和外周血 T-SPOT. TB, 行串联试验。如表 3 所示, 当胸腔积液 ADA、胸腔积液 TB-DNA-PCR 和外周血 T-SPOT. TB 3 项检测结果均为阳性时, 相比于 2 项联合检测, 特异度更高, 达到 99.03% (102/103), 敏感度为 28.38% (84/296)。

两组患者分别检测胸腔积液 ADA、胸腔积液 TB-DNA-PCR 和外周血 T-SPOT. TB, 行并联试

表 1 T-SPOT. TB 检测不同分层标准对两组患者的诊断价值

抗原 A 或 B 孔 计数分层	结核性胸膜炎组 (296 例)		非结核性胸膜炎组 (103 例)		敏感度 (%)	特异度 (%)
	阳性例数	阴性例数	阳性例数	阴性例数		
分层 1	242	54	27	76	81.76	73.79
分层 2	205	91	24	79	69.26	76.70
分层 3	138	158	14	89	46.62	86.41
分层 4	51	245	0	103	17.23	100.00

注 敏感度 = 真阳性例数 / (真阳性例数 + 假阴性例数) $\times 100\%$; 特异度 = 真阴性例数 / (真阴性例数 + 假阳性例数) $\times 100\%$

表 2 不同检测方法对结核性胸膜炎的诊断价值

检测方法	结核性胸膜炎组 (296 例)		非结核性胸膜炎组 (103 例)		敏感度 (%)	特异度 (%)
	阳性例数	阴性例数	阳性例数	阴性例数		
T-SPOT. TB	242	54	27	76	81.76	73.79
TB-DNA-PCR	93	203	3	100	31.42	97.09
ADA 检测	269	27	22	81	90.88	78.64

注 敏感度 = 真阳性例数 / (真阳性例数 + 假阴性例数) $\times 100\%$; 特异度 = 真阴性例数 / (真阴性例数 + 假阳性例数) $\times 100\%$

表 3 3 种检测方法串联试验的诊断价值

串联检测项目	结核性胸膜炎组(296 例)		非结核性胸膜炎组(103 例)		敏感度 (%)	特异度 (%)
	阳性例数	阴性例数	阳性例数	阴性例数		
ADA 和 TB-DNA-PCR	88	208	2	101	29. 73	98. 06
ADA 和 T-SPOT. TB	252	44	9	94	85. 14	91. 26
TB-DNA-PCR 和 T-SPOT. TB	87	209	2	101	29. 39	98. 06
ADA 和 T-SPOT. TB 和 TB-DNA-PCR	84	212	1	102	28. 38	99. 03

注 敏感度=真阳性例数/(真阳性例数+假阴性例数)×100%;特异度=真阴性例数/(真阴性例数+假阳性例数)×100%

表 4 3 种检测方法并联试验的诊断价值

并联检测项目	结核性胸膜炎组(296 例)		非结核性胸膜炎组(103 例)		敏感度 (%)	特异度 (%)
	阳性例数	阴性例数	阳性例数	阴性例数		
ADA 或 TB-DNA-PCR	274	22	24	79	92. 57	76. 70
ADA 或 T-SPOT. TB	290	6	28	75	97. 97	72. 82
TB-DNA-PCR 或 T-SPOT. TB	279	17	14	89	94. 26	86. 41
ADA 或 T-SPOT. TB 或 TB-DNA-PCR	294	2	31	72	99. 32	69. 90

注 敏感度=真阳性例数/(真阳性例数+假阴性例数)×100%;特异度=真阴性例数/(真阴性例数+假阳性例数)×100%

验。如表 4 所示,当胸腔积液 ADA 或胸腔积液 TB-DNA-PCR 或外周血 T-SPOT. TB 任意一项检测结果为阳性时,相比于 2 项联合检测,其敏感度更高,达到 99. 32% (294/296),特异度为 69. 90% (72/103)。

讨 论

ADA 目前在很多国家已经成为诊断结核性胸膜炎的常规检测项目。梁秋丽等^[7]将 61 项独立研究进行 Meta 分析,结果显示:ADA 诊断结核性胸膜炎的总体敏感度为 0. 92(95%CI:0. 91~0. 93),特异度为 0. 90(95%CI:0. 89~0. 91)。Meta 分析结果表明胸腔积液 ADA 测定有助于诊断结核性胸膜炎。研究阳性似然比为 8. 82,提示结核性胸膜炎患者 ADA 检测结果为阳性的机会约为非结核性胸膜炎患者的 9 倍。然而,在一些细菌感染和风湿性疾病引起的胸腔积液中 ADA 活性也有所升高,诊断的特异度降低^[8]。

应用 PCR 检测结核分枝杆菌 DNA 对病因学诊断的阳性率明显高于常规涂片和培养,因而特别适用于难于培养和生长缓慢的结核分枝杆菌的诊断。Kalantri 等^[9]研究显示结核性胸膜炎患者胸腔积液实时荧光 TB-DNA-PCR 与 γ -干扰素及 ADA 检测比较,敏感度较低,但阳性似然比更高。TB-DNA-PCR 的假阴性结果目前考虑为胸腔积液样本中所含结核分枝杆菌菌量较少的缘故。

近年来, γ -干扰素释放试验(IGRA)被认为是结

核病诊断方面的一个重大突破。外周血 IGRA 对结核感染的诊断有较高的敏感度和特异度,但在不同部位,结核病诊断的敏感度不一致,不能区分活动性结核病和潜伏性结核感染^[10]。本研究选取的 T-SPOT. TB 是目前临床常用的 IGRA 检测方法。范俊等^[11]对 156 例骨关节疾病患者的研究发现:外周血 T-SPOT. TB 试验作为一种非侵入性且便利的辅助诊断方法,在我国这种结核病高流行国家的骨关节结核病中仍有较高的诊断价值。本研究选用外周血 T-SPOT. TB 试验进行相关检测,结果显示:在结核性胸膜炎的诊断中,T-SPOT. TB 敏感度为 81. 76% (242/296),特异度为 73. 79% (76/103)。其中,非结核性胸膜炎组 T-SPOT. TB 阳性 27 例,分析资料后发现 18 例为恶性胸腔积液(其中 1 例为肺结核并发肺癌),3 例为肺炎旁胸腔积液,2 例为漏出性胸腔积液,2 例为肺栓塞,1 例为乳糜胸,1 例为风湿病。分析出现假阳性的原因可能是:(1)中国属于结核病高流行地区,结核潜伏感染(LTBI)者占总人口的 44. 5%^[12],T-SPOT. TB 检测技术不能区分 LTBI 和活动性结核病;(2)患者可能存在目前常规方法尚不能检出的肺外结核病;(3)肺癌患者的某些肿瘤抗原与 2 种结核抗原存在交叉表位,导致肿瘤患者的 T 细胞对 ESAT-6 或 CFP-10 产生细胞免疫反应;(4)存在感染,Diel 等^[13]研究发现,如果炎症同时并发短暂的一过性感染,也可出现 T-SPOT. TB 阳性结果;(5)存在特殊非结核分枝杆菌感染,当感染堪萨斯分枝杆菌、海分枝杆菌等时,T-SPOT. TB

检测可能出现“有反应性”的结果。Lee 等^[14]对结核与非结核性胸腔积液患者的胸腔积液和外周血进行 T-SPOT. TB 检测,结果显示胸腔积液中的敏感度和特异度分别为 94.7%、85.7%,外周血的敏感度和特异度分别为 77.8%、90.5%。付洪义等^[15]应用 T-SPOT. TB 方法检测,结果显示:在老年结核性胸膜炎患者中,胸腔积液 IGRA 的敏感度为 90.79%,特异度为 98.25%,明显高于外周血的 67.11%和 84.21%,差异有统计学意义。今后可进一步研究胸腔积液的 T-SPOT. TB 检测,了解其对结核性胸膜炎的诊断价值。

Janssens 等^[16]研究显示,T-SPOT. TB 斑点计数与结核病情活动程度密切相关。结核活动度越高,T-SPOT. TB 斑点数呈现越多的趋势。本研究将外周血 T-SPOT. TB 的检测价值提高并进行分层,探讨对疾病的诊断价值。研究结果显示:当抗原 A 孔和 B 孔斑点数均 >20 时,结核性胸膜炎诊断特异度明显提高,而敏感度相对较低;当发生胸膜炎时,尤其抗原 A 孔和 B 孔斑点数均 >20 时,强烈提示结核性胸膜炎的可能。

Gao 等^[17]将 QFT-GIT 和巢氏 PCR 法联合检查,发现两者联合检测可显著提高结核性胸膜炎诊断的敏感度,达到 100.0%,特异度可增至 90.0%,认为免疫及分子生物学方法联合检测可显著提高结核性胸膜炎的临床诊断。Villegas 等^[18]应用胸腔积液 ADA、TB-DNA-PCR(结核分枝杆菌 IS6110 序列)及 IFN- γ 联合检测,探讨对结核性胸膜炎患者的诊断意义。结果显示,当进行串联试验时,ADA 和 IFN- γ 组合的特异度为 98.5%,TB-DNA-PCR 和 ADA 组合的特异度为 98.6%,而 TB-DNA-PCR 和 IFN- γ 组合的特异度最高,可达 100.0%,但组间差异无统计学意义;当进行并联试验时,ADA 或 IFN- γ 组合的敏感度为 90.5%,TB-DNA-PCR 或 IFN- γ 组合的敏感度为 90.5%,TB-DNA-PCR 或 ADA 组合的敏感度为 90.5%,三组间差异无统计学意义。此外,Kalantri 等^[9]做了同类联合检测试验,结果发现 TB-DNA-PCR 或 IFN- γ 组合在确诊的结核性胸膜炎组的敏感度高达 100.0%,在疑似结核性胸膜炎组诊断的敏感度高达 96.2%;ADA 和 IFN- γ 组合在确诊的结核性胸膜炎组中,特异度达到 100.0%,在疑似结核性胸膜炎组,特异度达到 100.0%。

本研究显示,在结核性胸膜炎组中,胸腔积液 ADA、胸腔积液 TB-DNA-PCR 及外周血 T-SPOT.

TB 诊断的敏感度分别为 90.88%(269/296)、31.42%(93/296)、81.76%(242/296)。胸腔积液 ADA 诊断的敏感度高于外周血 T-SPOT. TB,差异有统计学意义;外周血 T-SPOT. TB 的敏感度高于胸腔积液 TB-DNA-PCR,差异有统计学意义。胸腔积液 ADA、胸腔积液 TB-DNA-PCR 及外周血 T-SPOT. TB 特异度分别为 78.64%(81/103)、97.09%(100/103)、73.79%(76/103)。胸腔积液 TB-DNA-PCR 的特异度高于外周血 T-SPOT. TB,差异有统计学意义;胸腔积液 TB-DNA-PCR 的特异度高于胸腔积液 ADA 检测,差异有统计学意义;而胸腔积液 ADA 检测与外周血 T-SPOT. TB 的特异度差异无统计学意义。联合检测上述 3 项指标,结果显示:在串联试验中,ADA 和 TB-DNA-PCR 组合、T-SPOT. TB 和 TB-DNA-PCR 组合的特异度较高,均达到 98.06%(101/103);而三者联合检测时,ADA 和 TB-DNA-PCR 及 T-SPOT. TB 组合的特异度高达 99.03%(102/103),能够更好地降低误诊率;在并联试验中,ADA 或 TB-DNA-PCR 组合、ADA 或 T-SPOT. TB 组合、TB-DNA-PCR 或 T-SPOT. TB 组合的敏感度分别为 92.57%(274/296)、97.97%(290/296)、94.26%(279/296)。但三者联合检测,ADA 或 T-SPOT. TB 或 TB-DNA-PCR 组合的敏感度更高,达到 99.32%(294/296),能够更好地降低漏诊率。

根据本次研究结果,提示联合检测胸腔积液 ADA、胸腔积液 TB-DNA-PCR 及外周血 T-SPOT. TB 是一种快速、敏感度和特异度很高的诊断结核性胸膜炎的方法。3 种检测方法进行串联联合检测时,特异度较高,能够更好地降低误诊率;并联联合检测时,敏感度较高,能够更好地降低漏诊率。

参 考 文 献

- [1] 中华医学会结核病学分会. 中国结核病分类法. 中华结核和呼吸杂志,1998,21(12):716-717.
- [2] 卜建玲,马巧. 结核性胸膜炎的诊断现状与研究进展. 中国防痨杂志,2009,31(1):70-74.
- [3] Mehta AA, Gupta AS, Ahmed S, et al. Diagnostic utility of adenosine deaminase in exudative pleural effusions. Lung India, 2014, 31(2):142-144.
- [4] 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.
- [5] 中华医学会. 临床诊疗指南·呼吸病学分册. 北京:人民卫生出版社,2009.
- [6] 周晴,胡必杰,黄声雷,等. 结核感染 T 细胞斑点试验在结核诊断中的价值. 中华医院感染学杂志,2013,23(7):1726-1728.
- [7] 梁秋丽,施焕中,王可,等. 腺苷脱氨酶对结核性胸膜炎诊断价值的荟萃分析. 中华结核和呼吸杂志,2008,31(9):707.
- [8] Villena V, López-Encuentra A, Pozo F, et al. Interferon gam-

- ma levels in pleural fluid for the diagnosis of tuberculosis. Am J Med, 2003, 115(5): 365-370.
- [9] Kalantri Y, Hemvani N, Chitnis DS. Evaluation of real-time polymerase chain reaction, interferon-gamma, adenosine deaminase, and immunoglobulin A for the efficient diagnosis of pleural tuberculosis. Int J Infect Dis, 2011, 15(4): e226-231.
- [10] 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.
- [11] 范俊, 秦世炳, 贾红彦, 等. 结核感染 T 细胞酶联免疫斑点试验与结核抗体检测在骨关节结核辅助诊断中的价值. 中国防痨杂志, 2014, 36(10): 884-887.
- [12] 全国结核病流行病学抽样调查技术指导组, 全国结核病流行病学抽样调查办公室. 2000 年全国结核病流行病学抽样调查报告. 中国防痨杂志, 2002, 24(2): 65-108.
- [13] Diel R, Lodenkemper R, Nienhaus A. Evidence-based comparison of commercial interferon-gamma release assays for detecting active TB: a metaanalysis. Chest, 2010, 137(4): 952-968.
- [14] Lee LN, Chou CH, Wang JY, et al. Enzyme-linked immunospot assay for interferon-gamma in the diagnosis of tuberculous

pleurisy. Clin Microbiol Infect, 2009, 15(2): 173-179.

- [15] 付洪义, 章志华, 刘宁, 等. 胸腔积液 γ -干扰素释放试验对老年结核性胸膜炎的诊断价值. 中国防痨杂志, 2016, 38(8): 630-633.
- [16] Janssens JP, Roux-Lombard P, Perneger T, et al. Quantitative scoring of an interferon-gamma assay for differentiating active from latent tuberculosis. Eur Respir J, 2007, 30(4): 722-728.
- [17] Gao Y, Ou Q, Huang F, et al. Improved diagnostic power by combined interferon-gamma release assay and nested-PCR in tuberculous pleurisy in high tuberculosis prevalence area. FEMS Immunol Med Microbiol, 2012, 66(3): 393-398.
- [18] Villegas MV, Labrada LA, Saravia NG. Evaluation of polymerase chain reaction, adenosine deaminase, and interferon-gamma in pleural fluid for the differential diagnosis of pleural tuberculosis. Chest, 2000, 118(5): 1355-1364.

(收稿日期: 2016-06-22)

(本文编辑: 郭萌)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

医学论文中表格的设计及注意事项

1. 表的设置应有助于简洁、明了、直观地表达结果。若表的内容简单、用简洁文字可表达清楚的, 可删去表格, 选用文字; 表的内容不要与正文文字及插图内容重复, 通常强调事物的形貌或参量变动的总体趋势时, 以插图为宜。表设计的基本原则是重点突出、简单明了, 主谓分明、层次清楚, 结构完整、有自明性。

2. 表应按统计学的制表原则设计, 力求结构简洁。(1) 横、纵标目间应有逻辑上的主谓关系, 主语一般置表的左侧, 谓语一般置表的右侧。我刊采用三横线表, 也即表格通常只有 2 根粗的反线(表格的起、止线)和表头下 1 根细的正线(表头线); 如有合计行或表达统计学处理结果的行, 则在该行上再加 1 条分界横线。(2) 表应有序号和简明的表题, 居中排印在表的上方。表序一律使用阿拉伯数字依序编排。只有 1 幅表时应标注“表 1”, 且“表 1”为黑体。表号与表题之间至少应留 1 个同类字符的空隙。表题的主谓语要与表格内的主谓语一致。(3) 表中不设“备注”栏, 若有需说明的事项(例如 P 值等), 可在表内有关内容的右上角标出注释符号, 在表格底线的下方以相同的注释符号引出简练的文字注释。对于统计学结果的注释, 应注明比较对象、检验值、P 值(如 $\times\times$ 与 $\times\times$ 比较, $t=\times\times$, $P<0.05$)。(4) 表中各栏应标明标目词, 参数栏的标目词一般为量或测试项目及其单位符号。若表中所有参数的单位相同, 可标注在表的右上方, 或表题之后(加括号)。各栏参数的单位不同, 则应将单位符号加括号标注在各栏标目词后或下方。(5) 表中同一栏的阿拉伯数字必须按位次上下对齐。若数值中有加减号(±)或起止号(～), 则以“±”或“～”为中心对齐。(6) 表中不用“同上”、“同左”、“//”和类似词, 而要一律填入具体数字(包括

“0”)或文字。若使用符号表示“未测”或“未发现”, 应在表格底线的下方以简练文字注释。

3. 主语横标目和谓语纵标目需要时均可分层。横标目分层时, 应在横标目下缩进 1 个字格排列; 纵标目分层时, 在 2 层标目之间加短横线。纵、横标目分层一般不超过 2 层, 个别可至 3 层。

4. 表中的量、单位、符号、缩略语等必须与正文中一致。为保持表的自明性, 对表中使用的缩略语应予注释。

5. 表中注释用的角码符号一律采用单个右上角码的形式, 按英文字母小写形式顺序选用: a、b、c、d……在表注中依先纵后横的顺序依次标出。表注栏要有“注”字样, 其后留空一个汉字; 上述符号仍为角码形式。

6. 表应随正文, 通常应紧跟在“(表×)”或“见表×”文字的自然段落的下方, 一般先见文字后见表。需要转页的表, 应在续表的右上角或左上角注明“续表×”, 并重复排印表头。表宽大于版心宽度时, 可将表左转 90°排。通栏表力求顶天或立地排放, 以免腰截文字。

7. 根据表格内容的繁简, 在“三线表”的基础上可以适当变通表格的版式, 以求得版面和谐, 并可节省篇幅。(1) 直表转栏排: 凡谓语项目较少、全表横短竖长时, 可转成 2 栏甚至 3 栏来排。两栏之间用双线隔开(双线的间距为 1 mm), 转栏后重复表头。(2) 横表分段排: 凡主语项目较少、全表横长竖短时, 可把表分成 2 段, 上下重排, 上下 2 段之间用双线隔开(双线的间距为 1 mm), 下方的一段需要重复排主语横标目。

8. 确保每幅表都在正文中标明。