

# 结核感染 T 细胞斑点试验诊断肺结核临床价值探讨

朱国勇(湖北省襄阳市中医院检验科 441000)

**【摘要】 目的** 对比结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT, TB)、皮肤结核菌素试验、结核抗体和痰液或肺泡灌洗液涂片 4 种方法诊断肺结核的结果,选择临床最有价值的诊断方法。**方法** 选择湖北省襄阳市中医院 2010 年 12 月至 2012 年 12 月非结核呼吸系统疾病患者 48 例和同期明确诊断为结核的患者 42 例为研究对象。对所有患者进行 T-SPOT, TB、皮肤结核菌素试验、结核抗体和痰液或肺泡灌洗液涂片,计算并比较各种检查阳性率、敏感度和特异性。**结果** T-SPOT, TB 的结核抗体敏感性和特异性均高于皮肤结核菌素和痰液及肺泡灌洗液涂片,且具体数值相同;通过两两比较发现,T-SPOT, TB 的阳性率均明显高于其他 3 种试验方法( $P < 0.05$ )。**结论** T-SPOT, TB 诊断结核具有很好的稳定性,值得临床推广使用。

**【关键词】** 结核感染 T 细胞斑点试验; 结核抗体; 痰液或肺泡灌洗液涂片; 肺结核; 诊断价值

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.14.022 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)14-1822-02

**Clinical value of T cells spot test of tuberculosis infection for diagnosis of pulmonary tuberculosis** ZHU Guo-yong (Department of Clinical Laboratory, Traditional Chinese Medicine Hospital of Xiangyang City in Hubei Province, Xiangyang, Hubei 441000, China)

**【Abstract】 Objective** To compare 4 kinds of pulmonary tuberculosis diagnosis method results, including T cells spot test of tuberculosis infection (T-SPOT, TB), tuberculin skin test, tuberculosis antibody, sputum or bronchoalveolar lavage fluid smear, and choose the most valuable clinical diagnostic method. **Methods** From December 2010 to December 2012, 48 patients with non-tuberculosis respiratory system diseases and 42 patients with definite diagnosis of tuberculosis patients as the research objects were collected in the hospital. T cells spot test of tuberculosis infection, tuberculin skin test, tuberculosis antibody and sputum or bronchoalveolar lavage fluid smear were performed in all patients, the positive rate, sensitivity and specificity was calculated and compared. **Results** The sensitivity and specificity of T-SPOT, TB, tuberculosis antibodies was higher than that of tuberculin and sputum and bronchoalveolar lavage fluid smear, and with the same numerical values. The positive rate by two two comparison of T-SPOT, TB was higher than the other 3 methods ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The positive rate of T-SPOT, TB in diagnosis of tuberculosis in the highest, the sensitivity and specificity of T-SPOT, TB rank the 2nd in the 4 methods, which has good stability and worthy popularizing.

**【Key words】** T cells spot test of tuberculosis infection; tuberculosis antibody; sputum or bronchoalveolar lavage fluid smear; pulmonary tuberculosis; diagnostic

结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT, TB)对 T 淋巴细胞的反应十分灵敏,通过检测是否存在结核感染 T 淋巴细胞后分泌的特异性细胞因子干扰素  $\gamma$  来明确患者有无结核感染<sup>[1-3]</sup>。目前,该技术主要用于人类免疫缺陷病毒合并结核感染的诊断<sup>[4]</sup>。为研究 T-SPOT, TB 在结核诊断中的价值,选择本院 2010 年 12 月至 2012 年 12 月收治的 48 例非结核呼吸系统疾病患者和同期明确诊断为结核的 42 例患者为研究对象,通过对比试验结果判断 T-SPOT, TB 的诊断价值,取得了理想结果。现将结果报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择本院 2010 年 12 月至 2012 年 12 月收治的非结核呼吸系统疾病患者 48 例和同期明确诊断为结核的患者 42 例为研究对象。非结核组患者男 26 例,女 22 例,平均年龄( $52.02 \pm 14.98$ )岁,其中肺炎患者 18 例,慢性支气管炎患者 5 例,肺脓肿患者 7 例。结核组患者男 24 例,女 18 例,平均年龄( $51.82 \pm 15.21$ )岁,其中肺部结核 24 例,肺外结核 18 例。

**1.2 结核患者纳入标准** (1)行支气管镜肺泡灌洗,灌洗液内

查到抗酸杆菌,或病理检查证实具有肺结核改变,或痰涂片检查显示抗酸杆菌阳性至少 1 次;(2)抗酸杆菌检查显示阴性,但患者具有长期低热、咳嗽、咳痰、咯血、消瘦、乏力等典型症状,胸部 CT 提示明显肺结核征象,抗结核治疗明显有效,抗炎治疗无效;(3)胸腔积液患者穿刺检查,穿刺液为渗出液,穿刺液标本检查可见大量淋巴细胞,腺苷脱氨酶大于 45 U/L。

**1.3 方法** 分别对所有患者进行 T-SPOT, TB、皮肤结核菌素试验、结核抗体和痰液或肺泡灌洗液涂片检查。

**1.3.1 T-SPOT, TB** 使用上海复兴公司提供的 T-SPOT, TB 试剂盒,按照试剂说明书进行操作。采集每位患者外周血 6 mL 予以肝素抗凝,再通过离心的方法分离外周单核细胞,并通过计算机辅助成像分析系统进行斑点计数。结果判断标准:(1)阴性对照孔点数小于 6,总检测孔点数-阴性对照孔点数大于或等于 6,可以认为检测标本为阳性;(2)阴性对照孔点数大于或等于 6,总检测孔点数是阴性对照孔点数的 2 倍,可以认为检测标本为阳性。

**1.3.2 皮肤结核菌素试验** 在受试者前臂内侧注射 0.1 mL

洁素纯蛋白衍化物,受试 72 h 后观察患者有无硬结,若有硬结观察患者平均直径(横径/2+纵径/2)。若皮试硬结平均直径小于 5 mm 则判断为阴性,若直径大于或等于 5 mm 或皮试区出现水泡或坏死则判断为阳性。

1.3.3 结核抗体试验 采用上海奥普生物医药有限公司生产的结核分枝抗体胶体金法诊断试剂盒对血清标本中的 38kd-IgG 进行检测,具体检测方法及判断标准见试剂盒。

1.4 统计学方法 使用 SPSS13.0 进行数据统计,计数资料采用百分比表示,使用  $\chi^2$  检验和 fisher 确切概率法对资料进行统计学分析,当  $P<0.05$  时差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 4 种方法敏感度和阳性率结果 (1)T-SPOT. TB 结果:结核组 T-SPOT. TB 阳性率为 83.33%(35/42),非结核组 T-SPOT. TB 阳性率为 14.58%(7/48);本次研究中 T-SPOT. TB 对肺结核临床诊断的敏感性为 83.33%,特异性为 85.42%,两组患者阳性率差异有统计学意义( $P<0.05$ )。(2)皮肤结核菌素试验结果:结核组皮肤结核菌素试验阳性率为 64.29%(27/42),非结核组 T-SPOT. TB 阳性率为 33.33%(16/48),本次研究中皮肤结核菌素试验对肺结核临床诊断的敏感性为 64.29%,特异性为 66.67%,两组患者阳性率差异有统计学意义( $P<0.05$ )。(3)结核抗体试验结果:结核组结核抗体阳性率为 61.90%(26/42),非结核组结核抗体阳性率为 14.58%(7/48),本次研究中结核抗体试验对肺结核临床诊断的敏感性为 61.90%,特异性为 85.42%,两组患者阳性率差异有统计学意义( $P<0.05$ )。(4)痰液及肺泡灌洗液涂片结果:结核组痰液及肺泡灌洗液涂片阳性率为 19.05%(8/42),非结核组痰液及肺泡灌洗液涂片阳性率为 0.00%,本次研究中痰液及肺泡灌洗液涂片对肺结核临床诊断的敏感性为 19.05%,特异性为 100.00%,两组患者阳性率差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

2.2 4 种检验方法实验数据比较 T-SPOT. TB 和结核抗体敏感性、特异性均高于结核菌素和痰液及肺泡灌洗液涂片,且具体数值相同,通过两两比较发现 T-SPOT. TB 的阳性率均明显高于其他 3 种试验方法( $P<0.05$ ),见表 1。

表 1 4 种检验方法实验数据比较(%)

| 方法         | 结核组阳性率 | 非结核组阳性率 | 敏感性   | 特异性   |
|------------|--------|---------|-------|-------|
| T-SPOT. TB | 83.33  | 14.58   | 83.33 | 85.42 |
| 皮肤结核菌素试验   | 64.29  | 33.33   | 64.29 | 66.67 |
| 结核抗体试验     | 61.90  | 14.58   | 61.90 | 85.42 |
| 肺泡灌洗液涂片    | 19.05  | 0.00    | 19.05 | 100   |

3 讨 论

酶联免疫斑点试验是基于聚合酶链反应技术,从单细胞水平上对具有分析抗体或细胞因子功能的细胞极性进行检测,具有高敏感度及高特异性,其操作简便,经济要求低,并可以进行高通量筛查<sup>[4]</sup>。目前此项技术被广泛用于癌症、自身免疫疾病和过敏性疾病的研究中,在临床应用方面具有很好的前景<sup>[5]</sup>。T-SPOT. TB 技术和酶联免疫斑点法技术原理一致<sup>[6-7]</sup>,首先将无毒、不含内毒素和亲和力高的单克隆抗体提前置于贴有聚偏氟乙烯膜或硝酸纤维素膜的 96 孔微孔板上。再将经过抗原刺激后的免疫细胞加入微孔,在一定条件(37℃、5%CO<sub>2</sub> 孵箱

中孵育)和特异性抗原刺激下,捕获 T 细胞分泌的细胞因子,并洗掉该结合后的成分,再使用已被标记后的第二抗体结合被捕获的细胞因子(第二抗体利用生物素进行标记)。最后将生物素与酶标亲和素结合,并通过显色反应在实验膜上形成圆形的局部斑点,从而对应出每个分泌细胞因子的细胞。T-SPOT. TB 技术通过计算斑点的数量推测体内结核杆菌产生反应的效应 T 细胞是否存在,从而进行诊断<sup>[8]</sup>。无论患者是否出现症状或症状是否典型,都能够通过检测效应 T 淋巴细胞的水平来确定是否有结核杆菌感染。

目前,我国通常使用皮肤结核菌素对肺结核进行初筛,因其假阳性率高,仅能表示患者曾经有过结核分枝杆菌感染或者对结核杆菌有免疫力,所以其诊断主要通过涂片检查和结核抗体以明确<sup>[9]</sup>。痰液及肺泡灌洗液涂片特异性很高<sup>[10]</sup>,本实验中此检查特异性高达 100.00%,但是此方法敏感性太低,实验结果仅为 19.05%,位居 4 项检查最末尾,对潜伏性结核的筛查意义不大。T-SPOT. TB 和结核抗体敏感性、特异性为 83.33%和 85.42%,明显高于皮肤结核菌素试验。通过两两比较发现 T-SPOT. TB 的阳性率均明显高于其他 3 种试验方法( $P<0.05$ )。

综上所述,T-SPOT. TB 诊断结核阳性率、敏感性和特异性均较高,值得临床广泛推广。

参考文献

[1] 彭春仙,郑晓燕,钱峰,等. T 细胞斑点试验技术在结核病诊断方面的应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 11(4): 918-920.

[2] Lalvani A, Pathan AA, McShane H, et al. Rapid detection of mycobacterium tuberculosis infection by enumeration of antigen-specific T cells[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 163(4): 824-828.

[3] Hill PC, Jackson-Sillah D, Fox A, et al. ESAT-6/CFP-10 fusionprotein and peptides for optimal diagnosis of mycobacterium tuberculosis infection by ex vivo enzyme-linked immunospot assay in the Gam-bia [J]. J Clin Micro biol, 2005, 43(5): 2070-2074.

[4] Kalyuzhny AE. ELISPOT assay on membrane microplates[J]. Methods Mol Biol, 2009, 536: 355-365.

[5] 张宗新. 结核性胸水细胞学和结核菌涂片联检的诊断价值[J]. 浙江预防医学, 2004, 16(7): 72.

[6] 王陵, 杨晓燕, 吕韶敏, 等. 结核感染 T 细胞斑点试验在活动性结核病中的辅助诊断价值[J]. 武警后勤学院学报: 医学版, 2012, 12(21): 1029-1031.

[7] 乐军, 梁莉, 李苏辉, 等. 酶联免疫斑点试验快速诊断结核分枝杆菌感染的临床应用价值[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(11): 1005-1008.

[8] 付茂英, 顾雪峰, 倪慧慧. 结核抗体对肺结核诊断价值[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2008, 22(9): 685-686.

[9] Al-Zamel FA. Detection and diagnosis of mycobacterium tuberculosis[J]. Expert Rev Anti infect Ther, 2009, 7(9): 1099-1108.

[10] Lalvani A, Nagvenkar P, Udwadia Z, et (下转第 1825 页)

组患者不同途径内固定治疗颧上颌骨复合体的手术效果。术后对患者进行跟踪调查,便于获取患者术后的恢复情况。

**1.3 观察指标及疗效评价标准<sup>[3]</sup>** 观察颧上颌骨复合体手术术后患者骨折部位的愈合状况,术后患者的不良反应发生率。疗效评价标准:骨折断端接口骨质愈合良好无错位,面型对称,即为优;骨折端基本复位,面型基本对称,即为良;骨折端稍微有错位,但不明显,面型略微偏斜,即为差。优、良均为手术合格。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS16.0 软件进行统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,计数资料以绝对值或者构成比表示。如果计量资料呈正态分布且方差齐采用  $t$  检验,如果资料不符合正态性分布则用秩和检验,计数资料采用  $\chi^2$  检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 两组患者手术后骨骼愈合情况** 在对照组 35 例患者中,骨骼生长优者 24 例(68.57%),骨骼生长良者 2 例(5.71%),骨骼生长差者 9 例(25.71%),合格者 26 例(74.29%);在观察组 35 例患者中,骨骼生长优者 30 例(85.71%),骨骼生长良者 5 例(14.29%),骨骼生长差者 0 例(0.00%),合格者 35 例(100.00%)。观察组患者术后的骨骼生长优良情况明显高于对照组患者,且合格率明显高于对照组患者的手术合格率,差异具有统计学意义( $\chi^2 = 8.160\ 3, P < 0.05$ )。

**2.2 两组患者手术后不良反应发生率** 在对照组 35 例患者中,面瘫者 1 例(2.86%),面部痉挛者 4 例(11.43%),切口炎性反应者 5 例(14.29%),不良反应发生 10 例(28.57%);在观察组 35 例患者中,面瘫者 0 例(0.00%),面部痉挛者 0 例(0.00%),切口炎性反应者 1 例(2.86%),不良反应发生 1 例(2.86%)。观察组患者的术后面瘫、面部痉挛、切口炎性反应等发生率低于对照组患者,且总不良反应发生率明显低于对照组患者,差异具有统计学意义( $\chi^2 = 8.736\ 5, P < 0.05$ )。

**3 讨 论**

颧骨和上颌骨是 2 块重要的骨骼,与其他几块脑颅骨一同构成头部骨骼框架<sup>[4]</sup>。颧骨复合体位于面部两侧前突部位,极易受到外力的作用而造成骨折,在外科手术中也是最常见的骨折之一<sup>[5]</sup>。正因为其解剖位置的特殊性,普通的单手术切口法并不能很好地对颧骨复合体手术患者进行骨折端的骨骼对接固定,不能有效地帮助其生长<sup>[6]</sup>。因此,对于颧上颌骨复合体骨折的患者,临床上一般采用多切口进行手术,以便于医疗人员对骨折端有更好地观察<sup>[7]</sup>。只有弄清骨折端结构以及其与周围组织的关系,才能对手术进行充分的把握和掌控,提高颧上颌骨复合体骨折手术的成功率<sup>[8]</sup>。而下睑缘外眦小切口配合口腔前庭沟切口正是从 2 个切口,多个角度对手术进行控制,避免了单个手术切口手术的局限性,增加了手术的灵活性。

避免了对一些面部神经的伤害,同时也避免手术过程中对患者带来的不必要伤害,以及手术后面部神经受损而导致的后遗症和不良反应,从而弥补了单纯口腔前庭沟切口手术的缺陷。为在临床上得到验证,本研究征求骨折患者同意并对其进行研究分析。根据上述结果显示,采用下睑缘外眦小切口配合口腔前庭沟切口方案治疗的观察组患者术后骨骼生长状况明显优于对照组患者,且合格率明显高于对照组患者,这说明联合切口方案在临床上有其不可替代的优点,比如术后骨折端对齐程度高,骨质愈合良好,且术后面部的外形对称性好。此外,联合切口的手术方案,最大限度地避免了手术过程中对患者带来不必要伤害,减少了术后患者的后遗症以及不良反应发生率<sup>[9]</sup>。本院通过对 70 例颧骨复合体骨折患者手术的回溯性研究分析,发现下睑缘外眦小切口配合口腔前庭沟切口的手术方法在治疗颧上颌骨复合体骨折的手术中效果显著,不仅大大帮助了患者骨骼的愈合,显著提高了手术的合格率,而且减少了手术过程中因损伤面神经而给患者带来的后遗症以及不良反应发生率,最大程度地降低了患者的痛苦。

参考文献

[1] 章禾,刘宇,林松杉,等. 颧上颌骨复合体骨折坚固内固定的切口选择及临床应用[J]. 中国美容医学,2009,18(8): 1095-1097.

[2] Shetty SK, Saikrishna D, Kumaran S. A study on coronal incision for treating zygomatic complex fractures [J]. J Maxillofac Oral Surg, 2009, 8(2): 160-163.

[3] 任晓旭,殷学民,吕晓智,等. 计算机辅助治疗颧上颌骨复合体骨折[J]. 口腔颌面外科杂志, 2011, 21(3): 185-188.

[4] 沈毅,孙坚,李军,等. 正常人上颌骨的生物力学分析[J]. 组织工程与重建外科杂志, 2009, 5(1): 25-28.

[5] 任晓旭,殷学民. 颧上颌骨复合体骨折坚强内固定术式研究进展[J]. 口腔颌面外科杂志, 2011, 21(4): 296-298.

[6] 张纯妍,刘磊,王舒婷,等. 颧-眶复合体骨折修复重建的临床观察[J]. 临床口腔医学杂志, 2009, 25(7): 422-423.

[7] 吴健有,刘静明,陈志远,等. 个体化数字导板在颧眶复合体骨折中的应用[J]. 北京口腔医学, 2011, 19(1): 31-34.

[8] 程业忠,李祖兵,姚声,等. 眶-颧-上颌骨骨折的诊断与治疗: 32 例临床分析[J]. 中国口腔颌面外科杂志, 2008, 6(2): 134-136.

[9] 何巍,余俊,李方,等. 坚强内固定对颧-上颌-眼眶复合体骨折的外科整复[J]. 中华创伤杂志, 2011, 27(10): 890-892.

(收稿日期:2012-12-28 修回日期:2013-03-01)

(上接第 1823 页)

fect Dis, 2001, 183(3): 469-477.

(收稿日期:2013-02-11 修回日期:2013-03-22)

al. Enumeration of T cell sspecific for RD1-encoded anti-  
gens suggests a high prevalence of latent mycobacterium  
tuberculosis infection in healthy urban Indians[J]. J In-