

· 论 著 · DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2019. 01. 017

# 安图 TB-IGRA 产品对结核病的诊断价值研究

高 伟,何 霞,陈 涛,罗雅文,王 尉  
(四川省雅安市人民医院检验科 625000)

**摘 要:****目的** 分析安图全自动磁微粒化学发光结核分枝杆菌特异性细胞免疫反应检测(安图 TB-IGRA 试验)对临床结核病诊断的灵敏度与特异度,探讨该方法对结核病的诊断价值。**方法** 收集该院 2017 年 7 月至 2018 年 2 月住院收治的疑似结核病患者 210 例,分析患者的常规相关检测结果、临床病理特征、TB-IGRA 试验结果资料,并随访 3 个月。将患者分为 2 组,其中临床确诊的 103 例患者作为结核组,非结核组 107 例,将 2 组进行比较分析,研究安图 TB-IGRA 产品对结核病的诊断价值。同时将结核组按结核类型的标准分为 3 个亚组,即肺内结核组、肺外结核组、肺内合并肺外结核组,并对其诊断的灵敏度进行结果比较。**结果**  $\gamma$ -干扰素释放试验对临床结核诊断的灵敏度为 89.32%,特异度为 85.98%,准确度为 87.62%,阳性预测值为 85.98%,阴性预测值为 89.32%。检测肺内合并肺外结核组的灵敏度为 90.63%,肺内结核组的灵敏度为 89.66%,肺外结核组的灵敏度为 84.62%。**结论** 安图 TB-IGRA 产品融合 IGRA 的免疫学方法与磁微粒化学发光法,孵育刺激后直接上机检测,避免了较多人为操作造成的结果误差,其兼具了放射免疫的高灵敏度和酶联免疫吸附试验的操作简便、快速等特点,易于自动化操作。且该方法对结核诊断的灵敏度与特异度较高,可用于活动性或潜伏性结核的辅助诊断。

**关键词:**结核分枝杆菌; 特异性细胞免疫反应; 灵敏度; 特异度

中图法分类号:R446.9

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)01-0057-04

## The diagnostic value of Antu TB-IGRA test in tuberculosis

GAO Wei, HE Xia, CHEN Tao, LUO Yawen, WANG Yu

(Department of Clinical Laboratory, Ya'an People's Hospital, Ya'an, Sichuan 625000, China)

**Abstract: Objective** To analysis the sensitivity and specificity of Automated magnetic particle chemiluminescent mycobacterium tuberculosis specific cellular immunoreactivity (Antu TB-IGRA test) in diagnosis of clinical tuberculosis. And to explore the diagnostic value of this method in tuberculosis. **Methods** Adopting a retrospective approach, 210 suspected tuberculosis patients hospitalized in Ya'an people's Hospital from July 2017 to February 2018 were studied. The results of routine correlation test, clinical case characteristics and TB-IGRA test data of the above patients were collected and analyzed. All patients were followed up for 3 months. According to the diagnosis of tuberculosis, there were 103 cases of tuberculosis including clinical diagnosis and 112 cases of non-tuberculosis. The diagnostic value of Antu TB-IGRA Test in Tuberculosis was analyzed in the two groups. In addition, the patients in tuberculosis group were divided into three groups according to the type of tuberculosis: intrapulmonary tuberculosis group, extrapulmonary tuberculosis group, pulmonary tuberculosis with extrapulmonary tuberculosis group. The sensitivity of diagnosis of these tuberculosis were compared. **Results** The sensitivity, specificity, accuracy, positive predictive value and negative predictive value of interferon  $\gamma$  release test were 89.32%, 85.98%, 87.62%, 85.98% and 89.32%, respectively. The sensitivity of detecting pulmonary tuberculosis with extrapulmonary tuberculosis was 90.63%, the sensitivity of pulmonary tuberculosis was 89.66%, and the sensitivity of extrapulmonary tuberculosis was 84.62%. **Conclusion** This method has high sensitivity and specificity for the diagnosis of tuberculosis, and can be used for the auxiliary diagnosis of active or latent tuberculosis.

**Key words:** Tuberculosis; tuberculosis specific cellular immunoreactivity; sensitivity; specificity

结核病是一种由结核分枝杆菌感染引起的全球性、严重危害人类健康的传染病。结核分枝杆菌能侵袭机体各个器官组织,具有高传染性。该病病死率较高,全球范围内每天大约有 4 500 多例的患者病死<sup>[1]</sup>。

据统计,2016 年全球约 1 040 万例结核病患者,170 万例因该病病死,估计有 100 万例儿童感染结核病,其中 25 万例病死。我国第 5 次结核病流行病学抽样调查显示,结核病年发患者例数约为 130 万,占全球的

14.3%, 位居世界第 2 位<sup>[2]</sup>。结核分枝杆菌感染引发的临床症状表现复杂多变, 部分患者因表现不典型或病情隐匿, 极易被误诊漏诊, 加之近年来艾滋病的流行及结核耐药性菌株的产生, 使结核病成为人类感染发病和病死最多的疾病之一。因此对结核病的鉴别、诊断和有效预防十分重要, 到 2030 年终结结核病流行是可持续发展目标中的卫生相关目标之一<sup>[3]</sup>。

因此, 探讨一种操作简便、快速, 对结核病诊断灵敏度和特异度较高的实验室检测方法显得尤为重要。目前, 临床上用于诊断结核分枝杆菌的实验室方法存在较多不足。干扰素分泌试验(IGRA)为近年比较流行的免疫学方法之一, 其利用结核分枝杆菌 RD1 区具有高细胞免疫性的抗原 ESAT6 和 CFP10, 将结核分枝杆菌抗原加入受试者血液标本培养基中进行培养孵化, 如果受试者以前感染过结核分枝杆菌, 那么被结核分枝杆菌激活的记忆 T 细胞就会对这些特异性抗原产生反应, 产生  $\gamma$ -干扰素( $\text{IFN-}\gamma$ )及其他一些细胞因子, 安图全自动磁微粒化学发光结核分枝杆菌特异性细胞免疫反应检测(TB-IGRA)产品将细胞免疫反应体系与磁微粒化学发光法体系结合, 测定  $\text{IFN-}\gamma$  的释放水平, 从而诊断是否存在结核分枝杆菌感染。该方法操作简便、快速、易于自动化操作。本研究探讨安图 TB-IGRA 对结核病的临床诊断价值, 从而评估该方法的临床应用推广价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集该院 2017 年 7 月至 2018 年 2 月收治入院的疑似结核病且接受全血标本 TB-IGRA 检测的 210 例患者。依据结核病原学、组织病理学、诊断性治疗有效及影像学支持; 根据中华医学会颁布的《临床诊疗指南(结核病分册)》标准, 将患者分为临

床确诊的 103 例患者作为结核组, 其中肺内结核 58 例(肺内结核组), 肺外结核 13 例(肺外结核组), 肺内合并肺外结核 32 例(肺内合并肺外结核组); 非结核组患者 107 例。

1.2 仪器与试剂 安图 A2000 全自动免疫发光分析控制管理系统、加样枪、37℃恒温孵育箱、生物安全柜等。郑州安图生物工程股份有限公司生产的结核分枝杆菌特异性细胞免疫反应检测试剂盒(磁微粒化学发光法)。

1.3 方法 (1)标本采集: 使用经无菌工艺处理的肝素钠或肝素锂抗凝真空采血管采集全血标本, 采集量不低于 4 mL。(2)培养分装: 在生物安全柜内将阴性对照培养液(N)、阳性对照培养液(P)、测试培养液(T)按照手柄方向自左向右依次加入至 3 孔细胞培养板的相应孔内, 100 毫升/孔。(3)全血分装: 全血采集后在采血管中轻柔颠倒混匀 3~5 次, 在生物安全柜内将其分装到细胞培养板相应孔内(含有“N”“P”“T”培养液各 100  $\mu\text{L}$ ), 每孔 1.0 mL 全血。标本采集后 8 h 之内需完成该操作。(4)培养: 盖紧细胞培养板上盖, 放入 37℃恒温培养箱培养 16~24 h, 培养过程中保持细胞培养板平放。(5)收集: 培养结束后将细胞培养板放置于生物安全柜中, 静置 1 min 小心开盖, 从每个细胞培养板孔中吸取上清液进行  $\text{IFN-}\gamma$  检测。注意不可吸到细胞层, 防止溶血。(6)免疫检测( $\text{IFN-}\gamma$  检测): 将收集到的培养上清液, 运用安图 A2000 全自动免疫分析控制管理系统通过磁微粒化学发光法检测  $\text{IFN-}\gamma$ , 仪器在 450 nm 处测定其吸光度, 根据试剂盒中校准品作标准曲线, 得出所测  $\text{IFN-}\gamma$  水平。见表 1。

| 表 1 结果判读标准 |                  |        |       |                       |
|------------|------------------|--------|-------|-----------------------|
| N(IU/mL)   | T 减去 N           | P 减去 N | 本研究结果 | 判读                    |
| ≤10.0      | <0.438           | ≥0.625 | 阴性    | 可能不存在结核感染 T 细胞免疫反应    |
|            | ≥0.438 和 <25%N 值 | ≥0.625 |       |                       |
|            | ≥0.438 和 ≥25%N 值 | 任何     | 阳性    | 可能存在结核感染 T 细胞免疫反应     |
|            | <0.438           | <0.625 | 不确定   | 不能确定是否存在结核感染 T 细胞免疫反应 |
| >10.0      | ≥0.438 和 <25%N 值 | <0.625 |       |                       |
|            | 任何               | 任何     |       |                       |

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行数据分析, 计数资料以例数或百分率表示, 组间比较使用  $\chi^2$  检验, 采取诊断性实验四格表得出各比较值。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组患者采用安图 TB-IGRA 检测结果比较 2 组患者采用安图 TB-IGRA 对结核病进行检测,  $\text{IFN-}\gamma$  释放试验对临床结核诊断的灵敏度为 89.32%, 特异度为 85.98%, 准确度为 87.62%, 阳性预测值为

85.98%, 阴性预测值为 89.32%。见表 2。

| 表 2 IGRA 对 2 组患者结核病的诊断结果比较[n(%)] |       |            |            |
|----------------------------------|-------|------------|------------|
| 组别                               | 例数(n) | IGRA 阳性    | IGRA 阴性    |
| 结核组                              | 103   | 92(89.32)  | 11(10.68)  |
| 非结核组                             | 107   | 15(14.02)  | 92(85.98)  |
| 合计                               | 210   | 107(50.95) | 103(49.05) |

2.2 3 个亚组患者采用安图 TB-IGRA 检测结果比

较 安图 TB-IGRA 检测肺内结核组的灵敏度为 89.66%,肺外结核组的灵敏度为 84.62%,肺内合并肺外结核组的灵敏度为 90.63%。见表 3。

| 表 3 IGRA 对 3 个亚组的诊断结果比较[n(%)] |       |           |          |
|-------------------------------|-------|-----------|----------|
| 组别                            | 例数(n) | IGRA 阳性   | IGRA 阴性  |
| 肺内结核组                         | 58    | 52(89.66) | 6(10.34) |
| 肺外结核组                         | 13    | 11(84.62) | 2(15.38) |
| 肺内合并肺外结核组                     | 32    | 29(90.63) | 3(9.37)  |

3 讨 论

目前结核病诊断主要依赖于临床症状、影像学检查、实验室诊断。相关的实验室诊断方法主要分 3 大类:细菌学、分子生物学、血清学。细菌学检查的痰涂片抗酸杆菌检出率仅约为 30%,且无法区分结核分枝杆菌和其他分枝杆菌,培养是临床诊断的金标准,但培养阳性率仅约为 50%,且耗时长,特异度低,对实验室要求高,各类分枝杆菌均可生长,需进一步结合分枝杆菌菌种鉴定才能确定是否为结核分枝杆菌,不能及时诊断和治疗<sup>[4]</sup>。分子生物学提高了结核分枝杆菌的阳性检出率,但容易受采样、实验室、试剂等污染,导致假阳性率偏高,且该方法操作对技术要求较高,需要配合大型仪器使用,检测费用高昂,因此普及率较低<sup>[5-7]</sup>。免疫学领域最常用的是基于体内迟发型超敏反应的皮肤试验(TST),即以机体注射的结核分枝杆菌纯化蛋白衍生物(PPD)是否产生变态反应而判断曾否感染过结核分枝杆菌而作为一项辅助诊断,但其结果无法区分卡介苗(BCG)、既往感染、是否发病等情况<sup>[8]</sup>。

本研究采用安图 TB-IGRA 产品,运用安图全自动免疫发光检测系统,通过化学发光方法直接定量检测 IFN-γ 的释放水平,从而诊断机体是否存在结核分枝杆菌感染<sup>[9]</sup>。磁微粒化学发光技术兼具放射免疫的高灵敏度与酶联免疫吸附法(ELISA)的简便快速优点,易于自动化操作,准备工作与所需设备更简单便捷,检测完毕后全自动判读结果,目前国内实验室常用的其他 IGRA 方法几乎都需要洗板机、离心机、酶标仪且需手工导入判读结果,操作相对繁琐,易对试验产生影响。

本研究结果显示,该方法的灵敏度为 89.32%,特异度为 85.98%,准确度为 87.62%,阳性预测值为 85.98%,阴性预测值为 89.32%。相对其他方法有较高的灵敏度与特异度。非结核组 107 例患者有 92 例检测结果为阳性,11 例为阴性,假阴性率为 10.68%。TB-IGRA 试验假阴性结果多见于标本采集在机体发生细胞免疫反应之前、结核并发免疫功能疾病、服用免疫抑制剂、患者本身 T 淋巴细胞对外界刺激不敏感、静脉采血操作有误导致 T 淋巴细胞定向聚集、测定操作有误或其他免疫学原因等。11 例假阴性患者的 P 值(阳性刺激值)有 7 例偏低(均低于 6 IU/mL),

其中有 1 例 HIV 患者和 1 例肿瘤患者,该类患者一般免疫功能比较差,对测定结果有一定影响,其他有 6 例淋巴细胞计数降低,还有 2 例淋巴细胞绝对值在正常范围内,但是不排除淋巴细胞功能障碍,还有 1 例患风湿免疫类疾病,测定的 N 值(阴性刺激值)偏高,这可能也是造成假阴性的原因。因此分析 TB-IGRA 检测结果特别是高度怀疑结核感染的阴性结果需结合其他辅助检查、淋巴细胞计数或淋巴细胞功能,具体诊断需综合分析患者的临床症状及其他检测指标。

非结核组患者 107 例中有 92 例检测结果为阴性,15 例为阳性,假阳性率为 14.02%。TB-IGRA 试验假阳性结果可见于妊娠、肺癌、衣原体感染、低钾血症、克隆病、隐球菌感染、老年痴呆,以及操作过程中内毒素污染<sup>[10]</sup>。本研究 15 例假阳性患者包括 2 例乙型肝炎、3 例 2 型糖尿病、2 例高危高血压、2 例肿瘤、2 例慢性阻塞性肺部疾病急性加重期者、1 例尿毒症。检测结果有 7 例 T 值偏低,患者多数有感染性疾病病史或免疫性疾病,不能排除非特异性感染、免疫增强剂或使用,或者实验室操作条件的改变对该项结果的影响。总体来说,对假阳性结果应该结合各种实验室检测与临床辅助手段综合分析。

本研究结果表明,肺内合并肺外结核组的灵敏度为 90.63%,肺内结核组的灵敏度为 89.66%,肺外结核组的灵敏度为 84.62%。肺外结核指多系统、多部位、多种类型的结核病,由于肺外结核存在部位不同,临床表现极其复杂,需临床经验、辅助检测及治疗效果综合分析,肺外结核由于标本不易获得,且细菌载量低、病理取样较困难等原因,建立病原学和病理学诊断的概率就更加不易,故诊断及鉴别诊断较为困难<sup>[11]</sup>。本研究肺外结核组 13 例患者,灵敏度也达到 84.62%,有相对较好的临床诊断价值,与王凤平等<sup>[12]</sup>的研究结果一致。

IFN-γ 的释放水平与结核的活动程度相关,潜伏结核进展为活动性结核时,被活化的结核分枝杆菌特异性效应 T 细胞数量及其分泌也增加,相应产生 IFN-γ 的量也会增加,但是 IGRA 在鉴别活动性与潜伏性结核的证据比较有限,不能很好地区分这两者。有研究报道,IGRA 阳性率与结核发病率呈非线性相关,尤其在我国这类结核病相对高流行的地区,采用该方法诊断活动性结核时,较高的潜在结核感染率会不可避免地降低结核诊断的特异性<sup>[13-14]</sup>。TB-IGRA 阳性提示患者感染或者曾经感染结核,目前国内外使用的 TB-IGRA 方法(酶联免疫吸附法或者斑点杂交法)都不能区分潜伏性结核和活动性结核,要区分是这两者还要结合临床其他检测手段进行综合分析。IFN-γ 的释放水平与结核分枝杆菌数量也存在相关性,但结核患者即使治愈,IFN-γ 也可能长期存在,不能根据测定值的高低判断疾病的转归,所以该试验对预测抗结核治疗价值的价值有待进一步研究<sup>[15]</sup>。对

于该方法,国内外也有相关研究,一致认为该方法不受卡介苗影响,与其他大多数非结核分枝杆菌无交叉免疫反应<sup>[16]</sup>。

该方法最后判读结果时可能会出现因为 P 值过低或 N 值过高等原因造成的结果不确定,因此应尽量避免因操作过程中未加入合适量的刺激液、全血采集后放置时间过长、孵育温度不够或过长、试验过程中环境污染等人为因素造成的试验误差。还有一些是患者的自身问题,如患有影响免疫功能的疾病、服用免疫抑制剂类药物等导致 T 淋巴细胞对外界刺激不敏感、T 淋巴细胞总数偏低或者患有风湿免疫类疾病、急性病毒感染、正在或刚结束干扰素治疗等,都可能造成结果的不确定性。所以应该结合实验室条件及患者的临床特点综合分析,去除影响因素后复查或者结合其他辅助检测进行综合判断。

综上所述,安图 TB-IGRA 产品将细胞免疫反应体系与磁微粒化学发光法体系结合,通过检测 IFN- $\gamma$  的释放水平,从而诊断是否存在结核分枝杆菌感染。该方法操作简便、快速、易于自动化操作,避免了很多人为操作造成的结果误差,可用于活动性或潜伏性结核的辅助诊断,可结合病史、细菌学检查、病理学检查、影像学检查等多种检查手段综合判断,有较高的临床诊断价值,值得临床应用推广。

参考文献

[1] 霍霏霏,张丽帆,刘晓清. 评价  $\gamma$  干扰素释放分析 T-SPOT · TB 在肺外结核病诊断中的敏感性[J]. 中国医学科学院学报,2009,31(4):449-452.

[2] 中华人民共和国卫生部. 卫生部召开新闻发布会介绍全国肺结核疫情现状[S]. <http://www.moh.gov.cn/publicfiles/business/htmlfiles/mohjbyfkj/s3590/201103/51027.htm>.

[3] 张培莉,刘义庆,邵婧,等. 结核感染 T 淋巴细胞 IFN- $\gamma$  释放实验临床检测分析[J]. 现代检验医学杂志,2017,32(1):22-25.

(上接第 56 页)

时更换易老化的零件,避免由于仪器零件老化带来的交叉污染,保证检验结果的准确性,更好地为临床服务。

参考文献

[1] 周新,涂植光. 临床生物化学和生物化学检验[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2006:33-33.

[2] 陈燕,黄泽玉,许磊,等. 生化分析仪交叉污染发现和消除方法探索[J]. 标记免疫分析与临床,2015,22(3):215-223.

[3] 陈茹,张波,王永新,等. 日立 7180 全自动生化分析仪项目间交叉污染实验研究[J]. 检验医学与临床,2010,7(18):1973-1975.

[4] 郭华. 酶法测定血清钠离子的评价[J]. 检验医学,2012,

[4] 赵群莉. 常见实验室结核菌检测的方法及进展[J]. 医学综述,2010,16(13):2051-2052.

[5] 胡静,袁文清. PCR 技术检测体液中结核分枝杆菌的结果分析[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(5):588-589.

[6] 王宗义,胡爱荣,蒋素文,等. 2014 年 T-SPOT,痰涂片和 TB-DNA 平行检测在结核病中的诊断评价[J]. 中国预防医学杂志,2014,15(5):249-252.

[7] 谭珂,孙炳奇. 荧光定量 PCR 检测技术在结核诊断中的应用探讨[J]. 中国医疗器械信息,2018,24(4):7-8.

[8] 杨建蓉,杨红. T-SPOT、TB 和 TST 在结核诊断中的临床意义[J]. 医学综述,2015,21(12):2279-2281.

[9] 田瑞雪,马丽萍,武红莉,等.  $\gamma$ -干扰素释放试验对老年肺结核的辅助诊断价值[J]. 实用老年医学,2018,32(2):140-143.

[10] 袁平,吴国斌,刘欣欣.  $\gamma$ -干扰素释放试验在肺结核诊断中的应用价值[J]. 现代医院,2016,16(10):1486-1487.

[11] DAVIES P D, PAL M. The diagnosis and miadiagnosis of tuberculosis[J]. J Tuberc Lung Dis, 2008,12(11):1226-1234.

[12] 王凤平,陈蕾,陈苏芳,等. 结核感染 T 细胞检测在肺外结核诊断应用价值[J]. 实用预防医学,2014,21(10):1247-1249.

[13] CAMPBELL J R, CHEN W J, JOHNSTON J, et al. Latent tuberculosis infection screening in immigrants to Low-Incidence countries:a Meta-Analysis[J]. Mol Diagn Ther,2015,19(2):107-117.

[14] 张丽帆,张月秋,刘晓清.  $\gamma$  干扰素释放分析在结核病中的诊断价值[J]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版),2012,6(6):633-636.

[15] 赵巍松,刘伶,杨飞. 母乳及婴儿血液、尿液人巨细胞病毒 DNA 检测在婴儿 HCMV 感染中的应用[J]. 中国实验诊断学,2013,17(6):1059-1061.

[16] 钟洪燕,马莹,康梅,等. 结核分枝杆菌相关  $\gamma$ -干扰素体外释放试验对结核病的诊断价值[J]. 四川医学,2015,36(9):1269-1271.

(收稿日期:2018-06-25 修回日期:2018-09-13)

27(10):813-815.

[5] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2015:245-246.

[6] 于雷. 生化自动分析仪项目间试剂的交叉污染及其避免方法[J]. 临床检验杂志,2003,21(3):168-168.

[7] 陈寿林. 生化检测中的交叉污染及预防[J]. 现代实用医学,2003,15(11):698-698.

[8] 周威勇. 全自动生化分析仪检测试剂间干扰减免方法的探讨[J]. 实验与检验医学,2011,29(1):86-86.

[9] 杜立水. 全自动生化分析仪试剂间携带污染及解决方法[J]. 实验与检验医学,2011,29(6):685-686.

(收稿日期:2018-06-17 修回日期:2018-09-04)