

· 论 著 ·

T-SPOT.TB 联合 ADA 和 TB-DNA 在诊断结核性胸膜炎中的应用价值

李锐成, 刘昕阳, 沈建军, 邹菊贤, 张惠中

[摘要] **目的** 探讨结核感染 T 细胞斑点试验 (T-SPOT.TB) 技术联合胸水腺苷脱氨酶 (ADA) 和痰液结核杆菌 (TB-DNA) 测定对结核性胸膜炎的定性诊断, 以达到早期诊断的目的。**方法** 选取唐都医院 2014 年 7 月-2015 年 12 月收治的 86 例结核性胸膜炎患者作为试验组, 80 例非结核性胸膜炎患者作为对照组, 均行 T-SPOT.TB 检测, 同时联合检查患者胸水 ADA 和痰液 TB-DNA, 比较 T-SPOT.TB、ADA 和 TB-DNA 检测与三者联合检测的应用价值。**结果** 86 例结核性胸膜炎患者, T-SPOT.TB 阳性率为 84.88% (73/86), ADA 阳性率为 53.48% (46/86), 痰液 TB-DNA 阳性率为 31.40% (27/86), 三者联合检测阳性率为 93.02% (80/86)。**结论** T-SPOT.TB 检测联合 ADA 和痰液 TB-DNA 检测对结核性胸膜炎的诊断有较高的敏感性, 对疑似结核性胸膜炎患者的快速、准确诊断具有重要的辅助诊断价值。

[关键词] 胸腔积液; 腺苷脱氨酶; 结核感染 T 细胞斑点试验; 结核性胸膜炎; 临床诊断

[中图分类号] R378 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2016.05.010

Application value of T-SPOT.TB combined with ADA and bacillus tuberculosis DNA in the diagnosis of tuberculous pleurisy

LI Rui-cheng, LIU Xin-yang, SHEN Jian-jun, ZOU Ju-xian, ZHANG Hui-zhong. Department of Laboratory, Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710038, China

[Abstract] **Objective** To discuss the qualitative diagnosis of tuberculous pleurisy under T cell spot test of TB infection (T-SPOT.TB) combined with ADA and real-time fluorescent quantity PCR or detection of bacillus tuberculosis DNA (TB-DNA) to achieve early diagnosis and treatment purpose. **Methods** We selected 86 patients of tuberculous pleurisy as the observation group and 80 patients of non-tuberculous pleurisy as the control group received treatment in our hospital from July 2014 to December 2015, and gave them T-SPOT.TB detection and at the same time, did the joint inspection of ADA and TB-DNA levels and compared with the results of the combined determination of three administered simultaneously to evaluate the clinical value. **Results** Positive rate of T-SPOT.TB, ADA, sputum TB-DNA determination and the combined determination of three for 86 patients with tuberculous pleurisy was 84.88% (73/86), 53.48% (46/86), 31.40% (27/86) and 93.02% (80/86) respectively. **Conclusion** The combined detection of T-SPOT.TB, ADA and sputum TB-DNA has a higher sensitivity in diagnosis of tuberculous pleurisy, and has important auxiliary diagnostic value for patients with suspected tuberculous pleurisy.

[Key words] pleural effusion; adenosine deaminase; T cell spot test of TB infection; tuberculous pleurisy; clinical diagnosis

结核病是由结核分枝杆菌引起的慢性传染病, 可侵及许多脏器, 以肺部结核感染最为常见, 排菌者为其重要的传染源^[1]。约有 5% 的肺结核合并有结核性胸膜炎, 是由结核分枝杆菌感染后机体产生针对其抗原成分的变态反应^[2], 具有病程缓慢、起病隐匿、缺乏特征性等临床特点。为提高结核性胸膜炎的诊断水平, 本文选取 86 例结核性胸膜炎患者行结核感染 T 细胞斑点试验 (T-SPOT.TB) 检测, 以

及胸水腺苷脱氨酶 (ADA)、痰液结核杆菌 (TB-DNA) 和胸水 TB-DNA (TB-DNA 连续检查 3 次) 测定, 以比较三者单项检测与联合检测的应用价值, 现报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选择第四军医大学唐都医院 2014 年 7 月-2015 年 12 月收治的结核性胸腔积液患者 86 例作为试验组; 另选 80 例非结核性胸腔积液患者作为对照组, 分别由 50 例癌性胸腔积液、20 例肺炎性胸腔积液、10 例漏出液组成。两组先行胸水常规加生化、胸水找抗酸杆菌, 胸水及痰液 TB-DNA, T-SPOT.TB 检测, 再行支气管镜、胸腔镜取材后病理

作者单位: 710038 陕西西安, 第四军医大学唐都医院检验科

通讯作者: 张惠中, E-mail: zhanghuizhong328@163.com

引用格式: 李锐成, 刘昕阳, 沈建军, 等. T-SPOT.TB 联合 ADA 和 TB-DNA 在诊断结核性胸膜炎中的应用价值 [J]. 东南国防医药, 2016, 18(5): 483-485, 504.

活检。根据患者的病史、临床表现、影像学资料以及上述检查的结果,从而获得诊断结果。诊断结核性胸腔积液需满足以下任何一条^[3]:①涂片或培养有结核分枝杆菌;②组织或胸膜活检病理为结核病变;③经抗结核治疗胸腔积液明显吸收。

1.2 主要方法

1.2.1 T-SPOT.TB 检测 (1)采集肝素锂抗凝的外周血 5 mL 行外周血单个核细胞分离;外周血单个核细胞洗涤和计数并配制成标准浓度的细胞悬液。将细胞悬液和抗原加入微孔培养板并 37 ℃、5%CO₂ 浓度培养箱中培养过夜;洗涤微孔板并加入酶标抗体;洗涤微孔板并加入底物反应液;最后斑点计数。(2)严格按照试剂说明书进行结果判读:①阴性对照孔斑点数为 6 个以下时,抗原 A 或抗原 B 任一孔斑点数超出阴性对照孔 6 个斑点数,定为阳性;②阴性对照孔斑点数为 6~10 时,抗原 A 孔或抗原 B 孔斑点数大于 2 倍阴性对照孔斑点数,定为阳性;③如不符合上述标准,且阳性对照孔正常时检测结果为阴性。试剂为英国 oxford Immunotec 公司生产的结核感染 T 细胞斑点试验诊断试剂盒。

1.2.2 胸水 ADA 检测 ADA 检测采用速率法,试剂为四川迈克生物科技股份有限公司生产,仪器采用日立 HITACHI7600-110 型全自动生化分析仪。

1.2.3 痰液及胸水 TB-DNA 检测 TB-DNA 检测采用实时荧光定量 PCR 方法,试剂为中山大学股份达安基因股份有限公司生产,仪器采用美国 ABI-7500 实时荧光定量 PCR 扩增仪。

1.3 统计学处理 用 SPSS 18.0 软件,定性资料以率(%)表示,组间率的比较用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

T-SPOT.TB、ADA、痰 TB-DNA 和胸水 TB-DNA 对诊断结核性胸膜炎的单项检测结果见表 1,试验组中各种检测方法阳性率均高于对照组 ($P<0.05$), T-SPOT.TB、ADA、痰 TB-DNA 和胸水 TB-DNA 阳性率分别为 84.88%(73/86)、53.48%(46/86)、31.40%(27/86)、6.98%(6/86),阳性率依次减低 ($P<0.05$),另痰液 TB-DNA 检测较胸水 TB-DNA 检测阳性率更高。

以临床最终诊断确定为金标准,故将试验组定为“真阳性”,将对照组定为“真阴性”,分别计算各检查方法的灵敏度、特异度、阳性及阴性预测值、符合率、约登指数和优势比(表 2),四种方法中,灵敏度、阴性预测值、符合率依次递减;特异度、阳性预测值依次递增。另痰液 TB-DNA 检测与胸水 TB-DNA 检测相比,特异度、阳性预测值相同,而灵敏度、阴性预测值、符合率、约登指数则痰液 TB-DNA 检测更高。

把 T-SPOT.TB、ADA 和痰 TB-DNA 三种检测方法分别进行两两组合或 3 种组合计算出其在并联联合(只要有一个检测指标呈阳性,即可判断为“患病”)和在串联联合(只有三种检测方法均为阳性时,方可判断为“患病”)中的诊断效能(表 3,表 4)。三种检测方法两两组合或 3 种组合并联使用时, T-SPOT.TB+ADA、T-SPOT.TB+痰 TB-DNA 和三者联合这 3 种组合在灵敏度、特异度上比较差异无统计学意义 ($P>0.05$),但相比较 ADA+痰 TB-DNA 组合而言差异有统计学意义 ($P<0.05$)。三种检测方法两两组合或 3 种组合在串联使用时,以特异度由高

表 1 两组患者四种检测方法阳性率比较

检测方法	试验组				对照组			
	阳性	阴性	总数	阳性率(%)	阳性	阴性	总数	阳性率(%)
T-SPOT.TB	73	13	86	84.88*	31	49	80	38.75
ADA	46	40	86	53.48*	4	76	80	5.00
痰 TB-DNA	27	59	86	31.40*	0	80	80	0.00
胸水 TB-DNA	6	80	86	6.98*	0	80	80	0.00

注:与对照组同方法比较,* $P<0.05$

表 2 T-SPOT.TB、ADA、痰 TB-DNA 和胸水 TB-DNA 对诊断结核性胸膜炎的价值评价

指标	灵敏度(%)	特异度(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)	符合率(%)	约登指数	优势比
T-SPOT.TB	84.88	61.25	70.19	79.03	73.49	0.46	8.88
ADA	53.48	95.00	92.00	65.52	73.49	0.49	21.85
痰 TB-DNA	31.40	100.00	100.00	57.55	64.46	0.31	—
胸水 TB-DNA	6.98	100.00	100.00	50.00	51.81	0.07	—

表 3 三种检测在并联联合中的诊断效能评价

指标	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)	符合率 (%)	约登指数
T-SPOT.TB+ADA	89.53	61.25	71.30	84.48	75.90	0.51
T-SPOT.TB+痰 TB-DNA	86.05	61.25	70.48	80.33	74.10	0.47
ADA+痰 TB-DNA	58.14 *	95.00 *	92.60	67.86	75.90	0.53
三者联合	93.02	61.25	72.07	89.09	77.71	0.54

注:与其他 3 种组合比较, * $P<0.05$

表 4 三种检测在串联联合中的诊断效能评价

指标	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)	符合率 (%)	约登指数
T-SPOT.TB+ADA	52.33 *	96.25	93.75	65.25	73.49 *	0.49
T-SPOT.TB+痰 TB-DNA	29.07	98.75	96.15	56.43	62.65	0.28
ADA+痰 TB-DNA	26.74	100.00	100.00	57.55	64.46	0.31
三者联合	6.98	100.00	100.00	55.94	62.05	0.07

注:与其他 3 种组合比较, * $P<0.05$

到低的次序进行,即先做痰 TB-DNA 检测,其次做 ADA 检测,最后做 T-SPOT.TB 检测。所有组合中,以 T-SPOT.TB+ADA 组合诊断效能较高,灵敏度、符合率均显著高于其他组合 ($P<0.05$),阴性预测值虽高于其他组合但差异无统计学意义 ($P>0.05$),特异度、阳性预测值虽低于其他组合但同样差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

3 讨 论

随着 AIDS 流行,人口流动性的加大和结核耐药菌群的增多^[4],结核性胸膜炎发病率呈上升趋势。既往结核性胸膜炎的诊断主要依靠临床表现、痰涂片、细菌培养、影像学检查、试验性诊断、病理活检,但临床表现的不典型,诊断方法的缺少特异性,试验治疗的毒副作用,病理活检的滞后性和有创性,耐药变异株的增加,个体差异的存在,成为临床诊断难以准确、及时进而误诊、漏诊的主要原因^[5-6],所以提高对该病的早期诊断水平极为关键。

T-SPOT.TB 检测是通过检测干扰素量的多少来判断患者是否有结核感染。该检测只需要患者 5 mL 的新鲜静脉血,具有取材方便、结果可靠、耗时短的特点,此法得到美国疾病控制预防中心的推荐和国内专家的认同,可以辅助早期诊断和鉴别诊断^[7-8]。此外,T-SPOT.TB 检测标本类型不局限于静脉血,痰液、胸腹水、脑脊液等均可适用^[9],在操作时更加方便和简单。

在本研究中,T-SPOT.TB 检测在诊断效能方面比其他指标较好,灵敏度、阴性预测值、符合率、约登指数、优势比分别为 84.88%、79.03%、73.49%、0.46、8.88,相比较王永等^[10]报道稍低,与宋巍等^[11]

报道相符。本研究显示,T-SPOT.TB 检测存在特异度不是很高的情况,究其原因可能为:①部分非结核杆菌感染可导致 T-SPOT.TB 检测;②结核病自愈患者也可存在干扰。这也验证了 T-SPOT.TB 检测尚不能完全鉴别结核感染是否在潜伏期或活动期,对于结核发病率高,潜伏性结核多的地区,削弱了其诊断活动性结核感染的特异性。本研究 T-SPOT.TB 检测阳性率虽高,但仍有部分阴性结果,提示 T-SPOT.TB 检测阴性不能排除结核病。尽管如此,该检测方法还是展现了较好的应用前景^[8]。

ADA 作为活动性结核时辅助性 T 淋巴细胞的一种标志物会进入胸腔积液中,导致结核性胸膜炎时胸水中的 ADA 活性增高^[12]。本次研究中,ADA 的阳性率为 53.48%,特异度为 95.00%,一些肿瘤或艾滋病患者的免疫力较弱,即便患有结核性胸膜炎,ADA 浓度也比较低,阳性率自然也比较低,因此,ADA 对结核有一定的特异性,但其局限性在于活性与机体的免疫情况相关,而不直接与结核感染相关。通过 T-SPOT.TB 检测与 ADA 的互补性分析发现,31 例 T-SPOT.TB 检测结果阳性的非结核性胸腔积液患者中有 28 例 ADA 阴性,故二者的组合有更好临床价值。虽然 TB-DNA 也有较好的特异度,但其灵敏度较低,尤其是胸水 TB-DNA,分析原因为:①胸水中菌量少、结核分枝杆菌在胸水中分布不均;②胸水中存在扩增抑制物;③抗结核治疗。研究报道,TB-DNA 定量在治疗前后阳性检出率会大大降低。由于我院结核患者绝大多数由下级医院转来,许多已经实施不规范的治疗,因此出现低阳性率表现。但 TB-DNA 采用实时荧光定量 PCR 方

(下转第 504 页)

- the growth of Caco-2 cells[J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2003, 69(4): 207-215.
- [9] Calder PC, Yaqoob P, Thies F, et al. Fatty acids and lymphocyte functions [J]. Nutr, 2002, 87(Suppl 1): S31.
- [10] Li H, Ruan XZ, Powis SH, et al. EPA and DHA reduce LPS-induced inflammation responses in HK-2c cells: evidence for a PPAR-gamma-dependent mechanism [J]. Kidney Int, 2005, 67(3): 867-874.
- [11] Zhao Y, Chen LH. Eicosapentaenoic acid Prevents lipopolysaccharide-stimulated DNA binding of activator protein-1 and c-Jun N-terminal kinase activity [J]. J Nutr Biochem, 2005, 16(2): 78-84.
- [12] 刘洪汎, 刘跃武, 孙永亮. omega-3 鱼油脂肪乳剂对胃肠道术后病人炎症反应和凝血功能的影响[J]. 肠外与肠内营养, 2009, 16(5): 272-275.
- [13] 蒋小华, 李 宁, 朱维铭. 肠内免疫营养对手术创伤后机体免疫、炎症反应及预后的影响[J]. 中国实用外科杂志, 2004, 24(1): 43-46.
- [14] 鲍 捷, 董 兵. omega-3 多不饱和脂肪酸对体外循环下心脏直视手术围术期炎症反应及凝血功能的影响[J]. 浙江临床医学, 2014, 16(7): 1049-1051.
- [15] 李 卫, 赵雍凡. 术后早期肠内营养对食管癌患者肠黏膜屏障功能的影响[J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 2004, 11(2): 108-111.
- (收稿日期: 2016-06-20; 修回日期: 2016-08-30)
(本文编辑: 黄攸生; 英文编辑: 王建东)

(上接第 485 页)

法仍具有以下几个优点^[13-14]: ①有效解决 PCR 污染问题, 整个过程在单管中进行, 不需打开管盖, 基本杜绝了污染; ②自动化程度高, 检测周期短; ③检测的高特异性; ④能够检测出 L 型结核菌, 相对培养法和涂片法不能检出 L 型菌来讲, 提高了检出率。由于 TB-DNA 诊断结核性胸膜炎的灵敏度较低, 不应做单独诊断试验, 需联合其他指标, 以避免漏诊。同时, 一旦 TB-DNA 阳性, 应高度怀疑结核性胸膜炎的存在。

研究表明, 在结核性胸膜炎的诊断中, T-SPOT.TB 检测技术相比较其他检查, 具有高敏感性、特异性较强、取材易于获取、简单方便、无创伤的特点, 是早期诊断的一个可靠指标, 应将其作为结核性胸膜炎临床检查中的一项常规检查方法。ADA 有较高的特异度和中等灵敏度, 是一项较有价值的指标。痰液 TB-DNA 在三种检测方法中特异度最高, 灵敏度最低, 有一定诊断意义, 但不宜做排除性诊断, 应将三者联合检测有机结合, 对提高结核性胸膜炎诊断具有重要的诊断意义。

【参考文献】

- [1] Rahimkhani M, Einollahi N, Daneshvar HK, et al. Survey of serum procalcitonin in cirrhotic patients[J]. Acta Medical Iranica, 2013, 51(3): 153-156.
- [2] 黄宇筠, 黄鑫炎, 罗益锋. HS-CRP、PCT 在鉴别类肺炎性与结核性胸腔积液的研究[J]. 实用医学杂志, 2013, 29(22): 3666-3667.
- [3] 唐神结, 李 亮, 高 文, 等. 中国结核病年鉴(2015)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2016.
- [4] 张文宏, 李忠明. 全球结核病控制六十年规划的成果、现状和展望[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2013, 33(1): 47-55.
- [5] Sahn SA, Huggins JT, San José ME, et al. Can tuberculous pleural effusions be diagnosed by pleura fluid analysis alone? [J]. Int J Tuber Lung Dis, 2013, 17(6): 787-793.
- [6] 何丙生, 代秀萍, 李双初, 等. 腺苷脱氨酶、结核抗体及 DNA 联合检测在结核性积液的临床诊断价值[J]. 武汉大学学报, 2012, 33(4): 544-546.
- [7] 郭新美, 尹丽霞, 寇昌伟, 等. 结核感染 T 细胞斑点试验诊断老年患者肺结核的应用研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 25(12): 2647-2660.
- [8] 李林阳, 廖江荣. 结核感染 T 细胞斑点试验对尘肺结核的诊断价值[J]. 解放军医学杂志, 2015, 40(8): 683-685.
- [9] 魏 娟. 非血液体的 γ -干扰素释放检测对结核感染的诊断价值[J]. 东南国防医药, 2012, 14(1): 49-54.
- [10] 王 永, 姜 岩. 结核感染 T 细胞斑点试验诊断结核性胸腔积液的临床价值[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2015, 49(2): 165-167.
- [11] 宋 巍, 朱可玉, 孙艳华, 等. 结核感染 T 细胞斑点试验在结核性疾病中的诊断价值分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(9): 1934-1935.
- [12] 廖 兵, 丁显平. T-SPOT.TB 和 ADA 在结核性胸膜炎中的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(17): 2323-2325.
- [13] 王晓琴, 马燕粉, 李锐成, 等. 尿液结核分支杆菌检测方法在泌尿系结核诊断中的应用研究[J]. 山西医科大学学报, 2013, 44(8): 624-627.
- [14] 陈学羽, 陈 中, 夏 萍. 某部 2012 年新兵复检中肺结核筛查结果分析[J]. 东南国防医药, 2013, 15(4): 367-367.
- (收稿日期: 2016-06-22; 修回日期: 2016-07-29)
(本文编辑: 张仲书; 英文编辑: 王建东)