

结核感染 T 细胞斑点试验在小儿结核诊断中的应用研究

吴青,李艳,徐万洲,龚卫杰,吴泽刚,蔡璇,韩瑞玲
(武汉大学人民医院检验科,湖北 武汉 430060)

摘要:目的 探讨结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT. TB)在小儿结核诊断中的应用价值。**方法** 回顾性分析 78 例疑似小儿结核患者病例,收集患者年龄、性别、是否接种卡介苗、临床表现及诊断、结核菌素纯蛋白衍生物(PPD)试验及 T-SPOT. TB 检测结果。结合最终临床诊断,对比分析 PPD 与 T-SPOT. TB 检测在小儿结核诊断中的应用价值。**结果** 78 例疑似小儿结核患者分为确诊及临床诊断小儿结核组 13 例,排除小儿结核组 65 例。T-SPOT. TB 和 PPD 检测的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 84.6%、100.0%、100.0%、97.0% 和 69.2%、76.9%、37.5%、90.9%。T-SPOT. TB 检测的敏感度、特异性均高于 PPD,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** T-SPOT. TB 检测诊断小儿结核的敏感性、特异性均较高。T-SPOT. TB 检测可辅助诊断小儿结核,阴性结果有助于排除小儿结核。

关键词:结核感染 T 细胞斑点试验;小儿结核;结核菌素试验;诊断

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2016.10.023

Diagnostic performance of T-SPOT. TB assay in children with tuberculosis

WU Qing, LI Yan, XU Wanzhou, et al

(Clinical Laboratory Department, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China)

Abstract: Objective To evaluate the application value of T-SPOT. TB assay in the diagnosis of tuberculosis in children. **Methods** A total of 78 patients of children with suspected tuberculosis were enrolled in this retrospective study. Age, gender, imageology character, clinical manifestation and diagnosis, PPD and T-SPOT. TB testing result were collected. According to the results of clinical diagnosis, the diagnostic value of the two tests were evaluated and compared with each other. **Results** Thirteen patients had culture-confirmed or probable tuberculosis, and the remaining 65 patients did not have tuberculosis. The sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of PPD and T-SPOT. TB test were 84.6%, 100.0%, 100.0%, 97.0% and 69.2%, 76.9%, 37.5%, 90.9% respectively. The sensitivity and specificity of T-SPOT. TB assay were higher than PPD test ($P < 0.05$). **Conclusions** Compared with PPD, T-SPOT. TB assay possesses more satisfactory sensitivity and specificity in the diagnosis of tuberculosis in children, which could provide useful support in diagnosing tuberculosis in children. And tuberculosis could be excluded based on a negative T-SPOT. TB assay.

Key words: T-SPOT. TB; Children; PPD test; Diagnosis

近年来,结核分枝杆菌(MTB)感染所致的结核病已成为严重危害人类健康的传染病之一^[1-2]。0~14岁儿童由于其免疫力较低初次感染结核分枝杆菌后就有可能发展成结核病,如未能及时发现并诊断极易发展成重症肺结核和肺外结核^[3]。目前结核病确诊手段依然是细菌学方法。但由于结核菌的遗传特性,致使常规细菌学检查方法存在着取材困难、灵敏度低、操作复杂,需时间较长等缺点^[4]。结核菌素纯蛋白衍生物(PPD)试验是 MTB 感染筛查与辅助诊断的经典方法,但其诊断敏感性、特异性均不能满足临床需要。因此,尽早发现结核分枝杆菌感染是预防与控制结核病的关键,寻求一个敏感度及特异度均较高的检测方法已成为

临床的迫切需求。结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT. TB)是一种新型免疫学诊断方法。大量研究表明^[5-7]结核特异抗原诱导活化分泌 γ 干扰素的 T 淋巴细胞可作为结核分枝杆菌感染的一种可靠标志物,已被广泛应用于结核病的基础研究和早期诊断等方面。本研究主要探讨 T-SPOT. TB 在小儿结核诊断中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 8 月至 2016 年 4 月武汉大学人民医院收治的疑似小儿结核的患者 78 例,其中男性 37 例,女性 41 例,年龄 2 个月~14 岁,平均年龄(6.34 ± 0.73)岁。根据病史、临床表现、影像学检查、组织病理学检查、病原学检查结果

以及抗结核治疗效果进行诊断,分为小儿结核组(确诊及临床诊断组)患者 13 例,排除小儿结核患者 65 例。分组标准为:(1)确诊组:结核杆菌培养、涂片或 gene 检测阳性或有病理学证据者;(2)临床诊断组:结核杆菌培养阴性,但临床表现、实验室检查、影像学检查等支持结核感染,且抗结核治疗有效;(3)排除患者:明确为其他疾病所致,或者经其他治疗(未经抗结核治疗)病情改善或治愈。

1.2 PPD 检测 结核菌素纯蛋白衍生物 TB. PPD (北京祥瑞生物制品有限公司生产);于患者前臂掌侧皮内注射 TB. PPD $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (5 U), 72 h 后观察注射部位的反应情况。参照《中国结核病防治规划实施工作指南》(2008 版)^[8] 标准:硬结直径 $< 5 \text{ mm}$ 为阴性(-), $\geq 5 \sim < 10 \text{ mm}$ 为弱阳性(+), $\geq 10 \sim \leq 20 \text{ mm}$ 为阳性(+++), $> 20 \text{ mm}$ 或局部出现水泡、淋巴管炎、坏死等为强阳性(+++)。

1.3 T-SPOT. TB 检测 收集患者新鲜 5 mL 肝素钠抗凝全血,使用试剂盒(T-SPOT TB, Oxford Immunote Ltd, Abingdon, UK) 从外周抗凝全血中分离出单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs),在每个预包被抗人- γ 干扰素抗体的板孔中加入 2.5×10^5 个单个核细胞(PBMCs),再往 4 个单独板孔中分别加入阴性对照试剂(细胞培养液)、两种抗原(ESAT-6, CFP-10)及阳性对照,并置于 37°C , $5\% \text{ CO}_2$, 且保持一定湿度(60% ~ 80%)的培养箱孵育 16 ~ 20 h 后,利用碱性磷酸酶偶联的二抗和底物显色,洗板后对斑点进行计数。结果判定:抗原 ESAT-6 或 CFP-10 板孔中任意一孔点数与对照孔点数之差为 6 即为检测阳性。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,分别计算 PPD 和 T-SPOT. TB 试验的灵敏度、特异性、阳性预测值、阴性预测值。两组比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

根据患者临床表现、影像学检查、组织病理学检查、病原学检查等结果,最终诊断为小儿结核共 13 例(确诊小儿结核 5 例、临床诊断小儿结核 8 例);临床诊断排除小儿结核 65 例。T-SPOT. TB 与 PPD 检查的灵敏度、特异性、阳性预测值、阴性预测值分别为 84.6%、100.0%、100.0%、97.0% 和 69.2%、76.9%、37.5%、90.9%。T-SPOT. TB 检测的灵敏度(84.6%)和特异度(100.0%)均高于 PPD,差异有统计学意义($P < 0.05$)。临床诊断、T-SPOT. TB、PPD 检测结果见表 1,两种检测方法的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值见表 2。

表 1 T-SPOT. TB 与 PPD 检测结果比较/例

组别	例数	T-SPOT. TB		PPD	
		阳性(+)	阴性(-)	阳性(+)	阴性(-)
诊断小儿结核	13	11	2	9	4
排除小儿结核诊断	65	0	65	15	50

表 2 T-SPOT. TB 与 PPD 对小儿结核诊断效能的比较/%

检测方法	敏感度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
T-SPOT. TB	84.6	100.0	100.0	97.0
PPD	69.2	76.9	37.5	90.9

3 讨论

结核是一种常见传染病,由于居住条件的逐步提高和抗结核药物的广泛使用,使得结核的发病率明显下降。但近年来,由于耐药性结核杆菌的增加,结核的发生率有所上升^[2]。0 ~ 14 岁小儿作为一个特殊的群体,其感染后患病率高,病情严重,预后差。小儿结核自觉症状少,肺结核特别是肺外结核的标本采集困难。因此,临床诊断小儿结核十分困难,如何早期诊断小儿结核是临床共同关注的问题。PPD 试验具有快速、简便、成本低的优点,但在小儿检测的灵敏度、特异度方面受患者免疫力影响较大。本研究中 PPD 试验灵敏度为 69.2%,与小儿免疫力低有关;特异度为 76.9%,此受我国实行卡介苗接种的影响。

T-SPOT. TB 作为一种新型免疫性诊断方法,为临床医学带来了快速准确的结核病诊断方法。T-SPOT. TB 试验具有耗时少、取材方便、灵敏度高、特异性强等优点。目前,欧美等发达国家均将 T-SPOT. TB 试验列入结核病诊疗指南,成为替代诊断结核病的主要方法^[9]。本研究显示 T-SPOT. TB 试验检测小儿结核灵敏度为 84.6%,与钟一鸣等^[10]报告的灵敏度为 82.5% 基本一致。T-SPOT. TB 试验可作为诊断小儿结核的有效方法。

小儿结核诊断困难,晚期引起严重的后遗症。因此,早期诊断或鉴别诊断意义重大,本研究中 11 例诊断结核的患儿 T-SPOT. TB 试验检测结果均为阳性,特异度为 100%,尽管本研究的数量不足以得出明确结论,但研究提示 T-SPOT. TB 试验阳性结果可以诊断小儿结核。

综上所述,T-SPOT. TB 试验具有较高灵敏度、特异度,优于 PPD 试验,可辅助诊断小儿结核。T-SPOT. TB 试验阳性可诊断小儿结核。