

## • 传染性疾病专题

# γ-干扰素释放试验辅助诊断不同年龄段肺结核的价值分析

龙妍帆, 蒙是升

(江门市结核病防治所结核内科, 广东 江门 529020)

**摘要:** **目的** 探讨应用 γ-干扰素释放试验 (IGRA) 对不同年龄段肺结核辅助诊断的价值, 为临床提供诊断依据。 **方法** 回顾性分析 2018 年 1 月至 2019 年 12 月江门市结核病防治所接收的 500 例疑似肺结核患者的临床资料, 根据患者年龄段分成青年组 (18~44 岁, 142 例)、中年组 (45~59 岁, 113 例)、老年组 (≥ 60 岁, 245 例)。所有疑似患者在入院后均进行结核感染 T 细胞斑点试验 (T-SPOT.TB) 及痰涂片检测, 分析 3 组疑似患者的一般资料; 以痰涂片检测为金标准, 比较 T-SPOT.TB 检测对不同年龄段疑似肺结核患者的诊断价值, 以及不同年龄段确诊肺结核患者 T-SPOT.TB 检测斑点形成细胞数量。 **结果** 3 组疑似患者性别、体质指数 (BMI)、合并肿瘤疾病患者占比比较, 差异均无统计学意义 (均  $P>0.05$ ); 500 例疑似肺结核患者 T-SPOT.TB 检测结果显示, 老年组阳性率均显著低于青年组、中年组 (均  $P<0.05$ ); 青年组与中年组阳性率比较, 差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ); T-SPOT.TB 检测对老年组肺结核的诊断敏感度、准确度、阳性预测值、阴性预测值均显著低于青年组, 阳性预测值显著低于中年组; 401 例金标准确诊的肺结核病例中, 经 T-SPOT.TB 检测结果显示, 老年组斑点形成细胞数量为 71 个 (47, 160) /  $10^6$  PBMCs, 低于中年组的 142 个 (65, 254) /  $10^6$  PBMCs 与青年组的 188 个 (102, 241 个) /  $10^6$  PBMCs, 且两两比较, 差异均有统计学意义 (均  $P<0.05$ )。 **结论** T-SPOT.TB 检测对于中青年肺结核患者的诊断价值较老年肺结核高, 临床应用 T-SPOT.TB 检测诊断肺结核时应考虑年龄因素。

**关键词:** 肺结核; γ-干扰素释放试验; 年龄; 结核感染 T 细胞斑点试验; 斑点形成细胞数量

**中图分类号:** R521

**文献标识码:** A

**文章编号:** 2096-3718.2022.18.0018.03

肺结核是威胁全世界人群健康的一种传染性疾病, 在全国第 5 次结核病调查中提出, 全国 ≥ 15 岁人口中活动性肺结核患者已经高达 499 万人, 疾病负担严重<sup>[1]</sup>。因此, 尽早筛查、诊断肺结核, 对防止其传播具有重要意义。目前, 结核病的诊断主要采用临床症状、影像学、微生物学、病理学等多种手段, 但由于部分患者临床与影像学表现不典型, 微生物学检测阳性率低或病理学标本取材困难等因素, 导致结核病早期诊断仍然较为困难<sup>[2]</sup>。随着近年来医学技术的发展, γ-干扰素释放试验 (IGRA) 为结核病的早期诊断提供了新的方向, 结核感染 T 细胞斑点试验 (T-SPOT.TB) 作为 IGRA 的一种, 其主要原理是利用结核分枝杆菌株系表达的抗原, 刺激外周血单核细胞产生 γ 干扰素 (IFN-γ) 来进行诊断, 且有研究发现, 其阳性率可达 87.31%, 具有较高的诊断价值<sup>[3]</sup>。本研究通过回顾性分析不同年龄段疑似肺结核患者的临床资料, 旨在进一步评估 IGRA 对不同年龄段肺结核的诊断价值, 为临床提供参考依据, 现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 回顾性分析 2018 年 1 月至 2019 年 12 月江门市结核病防治所接收的 500 例疑似肺结核患者的临

床资料, 根据患者年龄的不同分成青年组 (18~44 岁, 142 例)、中年组 (45~59 岁, 113 例)、老年组 (≥ 60 岁, 245 例)。纳入标准: 存在咳嗽、咳痰 ≥ 2 周, 咯血或血痰等任何 1 项症状者即判断为肺结核可疑患者; 无其他肺部疾病者; 临床资料完整者等。排除标准: 乙型或丙型肝炎病毒感染患者; 人类免疫缺陷病毒感染患者; 合并恶性肿瘤疾病者。本研究经过院内医学伦理委员会批准同意。

**1.2 检测方法** 所有患者均进行痰涂片与 IGRA 诊断, 其中痰涂片方法参照《中国结核病防治规划: 痰涂片镜检质量保证手册》<sup>[4]</sup> 中的标准化操作程序执行, 利用显微镜对标本进行观察, 选择 100 个视野, 当视野中可发现 3 个及以上的结核分枝杆菌时, 则判断为肺结核阳性。而 IGRA 诊断主要以 T-SPOT.TB 试剂盒进行测定, 在实际的检测中严格按照试剂盒说明书进行操作, 方法如下: 采集患者 6 mL 的外周静脉血液, 经抗凝处理后, 用淋巴细胞分离液辅助获得外周血单个核细胞 (PBMC), 将其制备成  $2.5 \times 10^6$  个 / mL 的细胞悬液。每份待测样本需要 4 个细胞培养孔, 每孔均加入 0.1 mL 的细胞悬液, 以细胞培养液作为阴性对照, 植物血凝素为阳性对照, 早期分泌抗原靶点 6 (ESAT-6)、结核分枝杆菌培养滤过蛋

白 10 (CFP-10) 为刺激抗原, 后将微孔板放入到 5% 二氧化碳 (CO<sub>2</sub>) 的培养箱中进行培养, 于第 2 天取出培养板, 采用磷酸盐缓冲液洗板 4 次, 加入 50 μL 酶标二抗工作液, 于 2~8 °C 温度下反应 1 h; 再次洗板 4 次, 加入 50 μL 显色底物液, 闭光显色 7 min 后, 使用蒸馏水终止反应, 干燥后对反应结果进行观察, 并应用酶联斑点分析仪计数着色斑点。结果判定标准: ①若阴性对照孔斑点数 ≤ 5 个 /10<sup>6</sup> PBMCs 时, 且任意 1 个检测孔斑点数 - 阴性对照孔斑点数 > 6 个 /10<sup>6</sup> PBMCs 可判定为阳性; ②阴性对照孔斑点数 ≥ 6 个 /10<sup>6</sup> PBMCs 时, 任意 1 个检测孔的斑点数 ≥ 2 倍阴性对照孔斑点数可判定为阳性<sup>[5]</sup>。

**1.3 观察指标** ①对比不同年龄段疑似患者一般资料, 包括性别、体质量指数 (BMI)、合并肿瘤疾病等。②对比不同年龄段疑似患者痰涂片与 T-SPOT.TB 检测对肺结核的诊断结果。③以痰涂片检测为金标准, 统计对比 T-SPOT.TB 检测对不同年龄段疑似肺结核患者的诊断价值, 敏感度 = 真阳例数 / (真阳 + 假阴) 例数 × 100%, 特异度 = 真阴例数 / (假阳 + 真阴) 例数 × 100%, 准确度 = (真阳 + 真阴) 例数 / 总例数 × 100%, 阳性预测值 = 真阳例数 / (真阳 + 假阳) 例数 × 100%, 阴性预测值 = 真阴例数 / (假阴 + 真阴) 例数 × 100%。④对比不同年龄组确诊肺结核患者 T-SPOT.TB 检测中斑点形成细胞数量。

**1.4 统计学方法** 使用 SPSS 21.0 统计学软件分析数据, 计数资料采用 [例 (%)] 表示, 组间两两比较行  $\chi^2$  检验, 多组间比较采用  $\chi^2$  趋势检验; 计量资料不符合正态分布, 以中位数 (四分位数) [M(P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>)] 表示, 两组间比较采用 Mann Whitney U 检验, 多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验。以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 3 组疑似患者一般资料比较** 3 组疑似患者的性别、BMI、合并肿瘤疾病的占比比较, 差异均无统计学意义 (均 P > 0.05), 见表 1。

**2.2 不同年龄段疑似患者痰涂片与 T-SPOT.TB 检测对肺结核的诊断结果** 500 例疑似肺结核 T-SPOT.TB 检测结果显示, 青年组、中年组、老年组中 T-SPOT.TB 检测阳

性率分别为 76.76% (109/142)、73.45% (83/113)、62.86% (154/245), 老年组阳性率均显著低于青年组、中年组, 差异均有统计学意义 ( $\chi^2=7.981, 3.879$ , 均 P < 0.05); 青年组与中年组阳性率比较, 差异无统计学意义 (P > 0.05), 见表 2。

表 2 不同年龄段疑似患者痰涂片与 T-SPOT.TB 检测对肺结核的诊断结果 (例)

组别	T-SPOT.TB 检测	痰涂片检测		合计
		阳性	阴性	
青年组 (142 例)	阳性	104	5	109
	阴性	3	30	33
	合计	107	35	142
中年组 (113 例)	阳性	80	3	83
	阴性	8	22	30
	合计	88	25	113
老年组 (245 例)	阳性	143	11	154
	阴性	31	60	91
	合计	174	71	245

注: T-SPOT.TB: 结核感染 T 细胞斑点试验。

**2.3 T-SPOT.TB 检测对不同年龄段疑似肺结核患者的诊断价值** T-SPOT.TB 检测对老年组疑似肺结核患者的诊断敏感度、准确度、阳性预测值、阴性预测值均显著低于青年组, 且阳性预测值显著低于中年组, 差异均有统计学意义 (均 P < 0.05); 而青年组与中年组的诊断价值指标比较, 差异均无统计学意义 (均 P > 0.05), 见表 3。

**2.4 不同年龄组确诊肺结核患者 T-SPOT.TB 检测中斑点形成细胞数量比较** 401 例确诊肺结核病例 T-SPOT.TB 检测显示, 青年组斑点形成细胞数量为 188 个 (102, 241) /10<sup>6</sup> PBMCs, 中年组为 142 个 (65, 254) /10<sup>6</sup> PBMCs, 老年组为 71 个 (47, 160) /10<sup>6</sup> PBMCs。青年组与中年组比较显著升高 (Z=4.556), 青年组与老年组比较显著升高 (Z=7.451), 中年组与老年组比较显著升高 (Z=5.662), 差异均有统计学意义 (均 P < 0.05)。

## 3 讨论

肺结核是一种由结核分枝杆菌感染所导致的呼吸系统

表 1 3 组疑似患者一般资料比较 [例 (%)]

组别	例数	性别		BMI(kg/m <sup>2</sup> )			肿瘤疾病
		男	女	BMI < 18.5	18.5 ≤ BMI < 24	BMI ≥ 24	
青年组	142	101(71.13)	41(28.87)	65(45.77)	24(16.90)	53(37.32)	12(8.45)
中年组	113	81(71.68)	32(28.32)	58(51.33)	20(17.70)	35(30.97)	7(6.19)
老年组	245	182(74.29)	63(25.71)	110(44.90)	41(16.73)	94(38.37)	21(8.57)
$\chi^2$ 值		0.545		1.339	0.052	1.899	0.648
P 值		>0.05		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

注: 与青年组比, \*P < 0.05; 与中年组比, #P < 0.05。BMI: 体质量指数。

表 3 T-SPOT.TB 检测对不同年龄段疑似肺结核患者的诊断价值比较 (%)

组别	例数	敏感度	特异度	准确度	阳性预测值	阴性预测值
青年组	142	97.20(104/107)	85.71(30/35)	94.37(134/142)	95.41(104/109)	90.91(30/33)
中年组	113	90.91(80/88)	88.00(22/25)	90.27(102/113)	96.39(80/83)	73.33(22/30)
老年组	245	82.18(143/174)*	84.51(60/71)	82.86(203/245)*	92.86(143/154)*#	65.93(60/91)*
$\chi^2$ 值		15.405	0.184	11.945	1.544	7.623
P 值		<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05

注：与青年组比，\* $P<0.05$ ；与中年组比，# $P<0.05$ 。

传染病，病灶主要发生在肺组织、气管、支气管部位，是一种常见且难以进行病原学诊断的疾病<sup>[6]</sup>。痰涂片是目前诊断肺结核的主要方法，也是评估治疗效果的重要参考，但该方式具有耗时长、部分患者采样困难的不足，从而给临床诊断带来一定程度上的困难<sup>[7]</sup>。

肺结核的发生是由机体对感染的结核分枝杆菌产生的迟发型变态反应，在人体初次被结核分枝杆菌感染后，使机体 T 淋巴细胞致敏，转变为记忆 T 淋巴细胞，若是机体再次接触结核分枝杆菌就迅速生成效应 T 淋巴细胞同时还会产生并且释放多种细胞因子，发挥免疫学效应作用，而其中重要的因子就是 INF- $\gamma$ 。而基于这一发病机制，临床中衍生出 T-SPOT.TB 这一免疫诊断方式，其中 T-SPOT.TB 利用酶联免疫斑点技术，将结核杆菌 ESAT-6、CFP-10 在体外与 PBMC 共孵育，通过检测分泌 INF- $\gamma$  的效应 T 细胞数量判断机体有无结核杆菌感染<sup>[8]</sup>。研究表明，随着年龄增长，免疫系统不可避免地会发生衰退，其机制涉及免疫器官、免疫细胞及免疫分子各种水平，如树突细胞对抗原摄取及其成熟能力、外周 T 细胞数量的稳定与分化、增殖及效应分子的分泌能力等<sup>[9]</sup>。鉴于此，本研究选取了不同年龄段的疑似肺结核患者，通过分析其性别、BMI、合并肿瘤疾病发现，3 组疑似患者的性别、BMI、合并肿瘤疾病的占比比较，差异均无统计学意义，说明上述一般资料不会影响 T-SPOT.TB 检测的准确性；本研究进一步观察了各个年龄段的 T-SPOT.TB 检测结果，发现随着年龄升高，假阴性例数逐渐增多。但由于本研究未纳入使用免疫抑制剂的人群，也未能对假阴性的患者进行人类白细胞抗原（HLA）分型，因此，对于这些因素是否是辅助确认 T-SPOT.TB 阴性的原因，仍需更多研究进一步证实。

此外，本研究中，老年组 T-SPOT.TB 检测诊断敏感度、准确度、阳性预测值、阴性预测值均显著低于青年组，且阳性预测值显著低于中年组，说明相较于老年人群，T-SPOT.TB 检测对中、青年人群的辅助诊断价值相对较高。可能是随着年龄增长，胸腺的萎缩、骨髓造血干细胞与外周血免疫细胞数量的减少、免疫细胞分化增殖及发挥免疫反应的能力降低，导致 T 细胞绝对值及其功能的下降，使老年人群对于 T-SPOT.TB 检测的敏感性降低。同时，在潘丽

萍等<sup>[10]</sup>研究中还表明，在老年结核病例中，随着年龄的增长，机体免疫力逐渐下降，从而对结合抗原的应答能力也趋于下降，因此表现出结合抗原刺激后释放 INF- $\gamma$  的斑点数降低，甚至不反应。在本研究中，老年组斑点形成细胞数量显著低于中年组与青年组，说明老年肺结核患者中 T-SPOT.TB 的诊断敏感性低于中、青年患者。

综上，将 T-SPOT.TB 检测用于辅助诊断肺结核患者有着较高的诊断价值，但在实际临床诊断上，相较于老年群体，T-SPOT.TB 用于中、青年疑似肺结核群体的诊断敏感度与准确度更高，因此，对于老年疑似肺结核患者的 T-SPOT.TB 检测结果应结合全方面检测结果，谨慎解读。

## 参考文献

- [1] 全国第五次结核病流行病学抽样调查技术指导组，全国第五次结核病流行病学抽样调查办公室. 2010 年全国第五次结核病流行病学抽样调查报告 [J]. 中国防痨杂志, 2012, 34(8): 485-508.
- [2] 邵丽佳, 胡轶, 陈伟, 等.  $\gamma$ -干扰素释放试验在结核病诊断中的临床价值 [J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(3): 352-353, 357.
- [3] 尹美玲, 李明, 崔花芹, 等. 结核  $\gamma$  干扰素释放试验在结核病诊断中的价值 [J]. 临床输血与检验, 2019, 21(6): 589-592.
- [4] 中国疾病预防控制中心. 中国结核病防治规划: 痰涂片镜检质量保证手册 [M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2004: 5-18.
- [5] 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.
- [6] 中华人民共和国国务院办公厅. “十三五”全国结核病防治规划 [J]. 中国实用乡村医生杂志, 2017, 24(5): 1-5.
- [7] 吴多池, 黄守凤, 郭爱珍.  $\gamma$ -干扰素释放试验诊断结核分枝杆菌感染的临床意义 [J]. 广东医学, 2011, 32(10): 1317-1319.
- [8] 傅志辉, 骆虹妹, 何约明, 等.  $\gamma$ -干扰素释放试验在活动性肺结核的诊断价值 [J]. 中外医学研究, 2018, 16(30): 43-44.
- [9] 胡开明, 王席, 陶芳, 等.  $\gamma$  干扰素释放试验在不同年龄肺结核患者中阳性程度比较 [J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(16): 2024-2027.
- [10] 潘丽萍, 贾红彦, 刘菲, 等.  $\gamma$ -干扰素释放试验对不同年龄组疑似肺结核的辅助诊断价值 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2015, 38(12): 892-896.