

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.02.014

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2021.02.014>

## T 细胞酶联免疫斑点法在风湿免疫性疾病患者中筛查结核感染的价值

罗伟, 张岩, 邓黎黎, 张壮苗, 羊章礼

(三亚市人民医院风湿免疫科, 海南 三亚 572000)

**[摘要]** 目的: 研究T细胞酶联免疫斑点法(T-cell enzyme-linked immunospot assay, T-SPOT.TB)在风湿免疫性疾病合并结核分枝杆菌诊断的临床应用价值。方法: 纳入2016年1月至2018年12月三亚市人民医院风湿免疫科住院患者, 选取48例风湿免疫性疾病合并结核分枝杆菌感染患者为研究组, 选取59例单纯风湿免疫性疾病患者为风湿对照组, 另外选取63例健康志愿者为正常对照组, 比较三组的T-SPOT.TB及结核抗体(TB-Ab)检查结果, 对2种诊断方法进行方法学评价。结果: 研究组T-SPOT.TB阳性率83.33%, TB-Ab阳性率50.00%, 均高于风湿对照组(T-SPOT.TB阳性率6.78%, TB-Ab阳性率7.93%)及正常对照组(T-SPOT.TB阳性率15.25%, TB-Ab阳性率3.17%), 组间差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。T-SPOT.TB对风湿免疫合并结核感染诊断在灵敏度(83.33%)、特异度(95.08%)、约登指数(0.78)、阴性预测值(93.55%)及阳性预测值(86.96%)均优于TB-Ab的诊断。结论: T-SPOT.TB在风湿免疫患者合并结核感染诊断有较高的临床应用价值。

**[关键词]** T细胞酶联免疫斑点法; 风湿免疫性疾病; 结核分枝杆菌

## Value of T-cell enzyme-linked immunospot assay in screening tuberculosis infection in patients with rheumatic immune diseases

LUO Wei, ZHANG Yan, DENG Lili, ZHANG Zhuangmiao, YANG Zhangli

(Department of Rheumatology Immunology, Sanya People's Hospital, Sanya Hainan 572000, China)

**Abstract** **Objective:** To study the clinical value of T-cell enzyme-linked immunospot assay (T-SPOT.TB) in the diagnosis of rheumatic immune diseases complicated with Mycobacterium tuberculosis. **Methods:** Patients admitted to the Department of Rheumatology and Immunology of Sanya People's Hospital from January 2016 to December 2018 were included. 48 patients with rheumatic immune disease complicated with Mycobacterium tuberculosis were selected as the study group, 59 patients with solely rheumatic immune disease were selected as the rheumatic control group, and 63 healthy volunteers were enrolled as the normal control group. The examination of

收稿日期 (Date of reception): 2020-06-09

通信作者 (Corresponding author): 罗伟, Email: 349155077@qq.com

基金项目 (Foundation item): 2016年三亚市科技创新项目(2016YW42)。This work was supported by 2016 Sanya Science and Technology Innovation Project, China (2016YW42).

T-SPOT.TB and TB-Ab in the three groups were compared, and the two diagnostic methods were evaluated methodologically. **Results:** The positive rates of T-SPOT.TB and TB-Ab in the study group were respectively 83.33% and 50.00%, higher than those in the rheumatic control group (respectively 6.78% and 7.93%) and those in the normal control group (respectively 15.25% and 3.17%), and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The sensitivity (83.33%), specificity (95.08%), negative predictive value (93.55%) and positive predictive value (86.96%) of T-SPOT.TB in the diagnosis of rheumatic immune disease complicated with tuberculosis were both better than those of TB-Ab. **Conclusion:** T-SPOT.TB has high clinical value in the diagnosis of rheumatic immune disease with tuberculosis infection.

**Keywords** T-cell enzyme-linked immunospot assay; rheumatic immune diseases; Mycobacterium tuberculosis

结核病由结核分枝杆菌感染所致。据统计, 全球结核病患者高达900万, 其中以发展中国家居多, 11%结核病患者来源于中国<sup>[1]</sup>。结核病的发生与自身免疫低下密切相关。研究<sup>[2]</sup>显示: 在风湿免疫性疾病患者中, 结核分枝杆菌的感染率明显升高, 且大部分患者呈现潜伏感染, 给结核病的防控增加难度。结核病诊断“金标准”为结核分枝杆菌培养法, 但诊断的延时性及培养成功率低下为其较为显著的缺点<sup>[3]</sup>, 而传统的诊断方法如痰涂片抗酸染色、结核抗体等均存在敏感性、特异性低下的局限性<sup>[4]</sup>。T细胞酶联免疫斑点法(T-cell enzyme-linked immunospot assay, T-SPOT.TB)主要检测结核分枝杆菌特异性抗原刺激所产生的特异性抗原细胞频数。本研究回顾性分析三亚市人民医院风湿免疫性疾病合并结核分枝杆菌感染的结核检测情况, 旨在探讨T-SPOT.TB在风湿免疫性疾病合并结核分枝杆菌诊断的临床应用价值。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

纳入2016年1月至2018年12月三亚市人民医院风湿免疫科的48例风湿免疫性疾病合并结核分枝杆菌感染患者, 作为研究组, 其中男20例, 女28例, 男女比例为0.74:1, 年龄23~82(45.9±12.6)岁; 类风湿性关节炎17例, 混合结缔组织病10例, 系统性红斑狼疮7例, 血管炎5例, 干燥综合征5例。选择同期59例单纯风湿免疫性疾病患者为风湿对照组, 其中男27例, 女32例, 男女比例为0.84:1, 年龄27~78(43.4±12.9)岁; 类风湿性关节炎32例, 混合结缔组织病11例, 系统性红斑狼疮7例, 银屑病6例, 干燥综合征1例, 成人Still病1例, 结节性红斑1例。另纳入同期63例健康体检人群为对照组, 其中男29例, 女34例, 男女比例为0.85:1, 年龄

41~86(55.4±12.9)岁。3组研究对象在性别、年龄构成上差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 具有可比性。本研究经三亚市人民医院医学伦理会审核批准(批号YW20160842), 研究对象均签署知情同意书。

### 1.2 诊断及纳入标准

结核分枝杆菌感染的确诊依据痰液结核分枝杆菌病原学检测, 痰结核杆菌培养阳性或痰涂片抗酸染色阳性<sup>[5]</sup>。

### 1.3 实验室检查

#### 1.3.1 结核抗体检查

在研究对象未接受抗结核治疗前, 取非抗凝静脉血5 mL离心分离血清, 采用免疫金标法检测结核抗体(TB-Ab), 试剂使用南京大渊生物技术工程公司产品, 严格按试剂说明书操作, LAM、16 kD、38 kD IgG抗体任一指标阳性为诊断结核分枝杆菌阳性。

#### 1.3.2 T-SPOT.TB 试验

T-SPOT.TB试验使用英国Oxford Immunotec公司产品。检测流程如下: 在研究对象未接受抗结核治疗前取静脉血5 mL肝素抗凝, 密度梯度离心分离单个核细胞并计数, 并置于500  $\mu$ L AIM-V配置的细胞稀释溶液; 设立阳性对照, 抗A、抗B, 阴性对照; 加入50  $\mu$ L植物血凝素、50  $\mu$ L ESAT抗原、50  $\mu$ L CFP-10抗原及50  $\mu$ L AIM-V 5% CO<sub>2</sub>培养16~20 h; 洗板加二抗, 4  $^{\circ}$ C孵育1 h, 洗板显色, 计数斑点。结果判读: 阳性对照孔的斑点数 $\geq 20$ 个, 且阴性对照孔的斑点数为0~5个抗原(A或抗原B孔的斑点数) - (阴性对照孔的斑点数) $\geq 6$ 个或阴性对照孔的斑点数为6~10个且(抗原A孔或抗原B孔的斑点数) $\geq 2 \times$ (阴性对照孔的斑点数)判为阳性。

### 1.4 统计学处理

采用SPSS 22.0统计学软件进行数据分析。计量

资料以例(%)表示, 组间阳性率比较采用 $\chi^2$ 检验, 对2种方法进行方法学评价,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 3组 T-SPOT.TB 及 TB-Ab 阳性率比较

3组研究对象 T-SPOT.TB 及 TB-Ab 阳性率比较, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 组间两两比较, 正常对照组与风湿对照组 T-SPOT.TB 及 TB-Ab 阳性率差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 但均低于研究

组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ , 表1)。

### 2.2 T-SPOT.TB 及 TB-Ab 对风湿免疫合并结核感染诊断的方法学评价

以研究组临床诊断为真阳性, 以风湿对照、正常对照组为真阴性, T-SPOT.TB 及 TB-Ab 对风湿免疫合并结核感染诊断的方法学评价详见表2, T-SPOT.TB 对风湿免疫合并结核感染诊断在灵敏度、特异度、约登指数、准确度、阴阳性预测值均优于 TB-Ab 的诊断。

表1 3组 T-SPOT.TB 及 TB-Ab 阳性率比较

Table 1 Comparison of T-SPOT.TB and TB-Ab positive rates among the three groups

组别	n	T-SPOT.TB/[例(%)]	TB-Ab/[例(%)]
正常对照组	63	2 (3.17)	5 (7.93)
风湿对照组	59	4 (6.78)	9 (15.25)
研究组	48	40 (83.33)* <sup>‡</sup>	24 (50.00)* <sup>‡</sup>
$\chi^2$		107.519	30.396
P		<0.001	<0.001

与正常对照组比较, \* $P < 0.05$ ; 与风湿对照组比较, <sup>‡</sup> $P < 0.05$ 。

Compared with normal control group, \* $P < 0.05$ ; compared with rheumatic control group, <sup>‡</sup> $P < 0.05$ .

表2 T-SPOT.TB 及 TB-Ab 对风湿免疫合并结核感染诊断的方法学评价

Table 2 Methodological evaluation of T-SPOT.TB and TB-Ab in diagnosis of rheumatic immune disease with tuberculosis infection

项目	灵敏度/%	特异度/%	约登指数	准确度/%	阳性预测值/%	阴性预测值/%
T-SPOT.TB	83.33	95.08	0.78	91.76	86.96	93.55
TB-Ab	50.00	88.52	0.39	77.64	63.16	81.81

## 3 讨论

风湿免疫性疾病主要累及肌肉、结缔组织并伴自身免疫功能紊乱。研究<sup>[6]</sup>显示: 风湿免疫性疾病患者多存在体液免疫功能亢进以及细胞免疫功能抑制状态。在临床治疗过程中, 大剂量应用糖皮质激素、免疫抑制剂也可抑制风湿免疫性疾病机体的巨噬细胞、淋巴细胞、中性粒细胞等的细胞免疫功能<sup>[7]</sup>, 并进一步加重患者的细胞免疫功能缺陷, 从而增加感染的发生概率。风湿免疫性疾病患者为结核分枝杆菌的易感人群, 研究<sup>[8]</sup>报道: 风湿免疫性疾病患者发生结核分枝杆菌感染的概率为正常人群的6倍以上, 感染可表现为活动性结核也可表现为潜伏性感染, 且以潜伏性结核居

多, 有统计资料显示潜伏性结核占结核感染的90%以上<sup>[9]</sup>。结核已成为现今较为严重的公共卫生问题。临床结核的诊断方法众多, 但各种方法均有其局限性, 寻找快速、灵敏、早期的结核诊断方法一直为结核防治领域的重要课题。本研究着重于探讨 T-SPOT.TB 在风湿免疫性疾病合并结核分枝杆菌诊断的临床应用价值。

本研究中的病例均经临床确诊, 研究方案两对照组设计分别为风湿对照组及正常对照组。实验数据显示: T-SPOT.TB 在研究组中阳性率为 83.33%, 高于风湿对照组及正常对照组阳性率, 差异有统计学意义; 同时, T-SPOT.TB 也高于 TB-Ab 在研究组中的阳性率 50.00%; 方法学评价数据显示: T-SPOT.TB 诊断风湿免疫合并结核感

染的灵敏度、特异度、约登指数、准确度、阴性预测值、阳性预测值均优于TB-Ab。T-SPOT.TB主要检测经结核分枝杆菌特异性抗原ESAT-6及CFP-10刺激后分泌细胞因子IFN- $\gamma$ 的T细胞频数, ESAT-6及CFP-10源自结核分枝杆菌基因组RD1区域; 卡介苗及非致病性分枝杆菌均缺失该区域, 与TB-Ab比较, T-SPOT.TB不受卡介苗接种以及非致病性分枝杆菌共同抗原的影响<sup>[10]</sup>。尤其对于免疫功能受损患者有较高敏感性及特异性, TB-Ab则易受交叉抗原、免疫复合物、接种、自身免疫等因素的影响<sup>[11]</sup>。本研究数据显示: TB-Ab阳性预测值(63.16%)较低, 符合上述观点。T-SPOT.TB的检测点主要为IFN- $\gamma$ , 检测的灵敏度与IFN- $\gamma$ 关系密切, 本研究所检测的时间点取患者未接受抗结核治疗前, T-SPOT.TB有较高的灵敏度。研究<sup>[12]</sup>显示: 风湿免疫患者接受抗结核治疗后, 其IFN- $\gamma$ 分泌减少, 对T-SPOT.TB的灵敏度有一定的影响。风湿免疫性疾病患者结核临床症状多不明显, 结核的漏诊及延误诊断在临床较为常见, 因免疫功能受损, 潜伏性结核也易转变为活动性结核, 增加结核控制的难度。T-SPOT.TB是一种以T细胞介导细胞免疫应答为基础的检测方法, 潜伏性感染结核分枝杆菌特异性抗原也可刺激机体产生特异性T细胞, 当再次免疫时可迅速活化增殖, 释放IFN- $\gamma$ , T-SPOT.TB在潜伏性结核中也具有较高的灵敏度<sup>[13]</sup>。

综上所述, T-SPOT.TB在风湿免疫患者合并结核感染诊断有较高的临床应用价值, 值得在基层医院推广。

## 参考文献

1. Uda S, Ono S, Yuba T, et al. Clinical features in active tuberculosis patients with effects on T-SPOT.TB assay results[J]. *Infect Dis (Lond)*, 2020, 52(1): 58-60.
2. Zhong L, Zhou XL, Li J, et al. The T-SPOT.TB test for diagnosis of breast tuberculosis[J]. *Lab Med*, 2015, 46(1): 14-19.
3. Spicer KB, Turner J, Wang SH, et al. Tuberculin skin testing and T-SPOT.TB in internationally adopted children[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2015, 34(6): 599-603.
4. Urzua CA, Liberman P, Abuauad S, et al. Evaluation of the accuracy of T-SPOT.TB for the diagnosis of ocular tuberculosis in a BCG-vaccinated, non-endemic population[J]. *Ocul Immunol Inflamm*, 2017, 25(4): 455-459.
5. Zhu M, Zhu Z, Yang J, et al. Performance evaluation of IGRA-ELISA and T-SPOT.TB for diagnosing tuberculosis infection[J]. *Clin Lab*, 2019, 65(8): 1385-1394.
6. Igari H, Ishikawa S, Nakazawa T, et al. Lymphocyte subset analysis in QuantiFERON-TB Gold Plus and T-SPOT.TB for latent tuberculosis infection in rheumatoid arthritis[J]. *J Infect Chemother*, 2018, 24(2): 110-116.
7. Sun X, Wan S, Zhang L, et al. Prevalence and influencing factors of the high nil-control spot count in T-SPOT.TB: a matched case-control study[J]. *Clin Chim Acta*, 2018, 487: 96-100.
8. Shen F, Han C, Wang MS, et al. Poor agreement between repeated T-SPOT.TB in a short time period in a high TB burden country[J]. *Infect Dis (Lond)*, 2018, 50(10): 771-774.
9. Yang X, Feng M, Shen Y, et al. Clinical characteristics and potential indicators for definite diagnosis of tuberculous pleural effusion[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1): 1924-1931.
10. 冯所远, 陈灼霖, 符史健, 等. DNA微阵列芯片法在海南地区结核病诊断及耐药性检测中的应用[J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(4): 416-420.  
FENG Suoyuan, CHEN Zhuolin, FU Shijian, et al. Application of DNA microarray method in tuberculosis diagnosis and drug resistance detection in Hainan region[J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2021, 42(4): 416-420.
11. Wang L, Tian XD, Yu Y, et al. Evaluation of the performance of two tuberculosis interferon gamma release assays (IGRA-ELISA and T-SPOT.TB) for diagnosing *Mycobacterium tuberculosis* infection[J]. *Clin Chim Acta*, 2018, 479: 74-78.
12. Rego K, Pereira K, MacDougall J, et al. Utility of the T-SPOT (R). TB test's borderline category to increase test resolution for results around the cut-off point[J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2018, 108: 178-185.
13. Urzua CA, Liberman P, Abuauad S, et al. Evaluation of the accuracy of T-SPOT.TB for the diagnosis of ocular tuberculosis in a BCG-vaccinated, non-endemic population[J]. *Ocul Immunol Inflamm*, 2017, 25(4): 455-459.

本文引用: 罗伟, 张岩, 邓黎黎, 张壮苗, 羊章礼. T细胞酶联免疫斑点法在风湿免疫性疾病患者中筛查结核感染的价值[J]. *临床与病理杂志*, 2021, 41(2): 329-332. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.02.014

Cite this article as: LUO Wei, ZHANG Yan, DENG Lili, ZHANG Zhuangmiao, YANG Zhangli. Value of T-cell enzyme-linked immunospot assay in screening tuberculosis infection in patients with rheumatic immune diseases[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2021, 41(2): 329-332. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.02.014