

· 临床研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.16.025

γ -干扰素释放试验对结核病的诊断价值及影响因素分析

郭林旺, 钟 山

(海南省海口市人民医院, 海南 海口 571199)

摘要:目的 探讨 γ -干扰素释放试验(IGRAs)在结核病和高危人群中的诊断价值。方法 采用单中心回顾性研究,选取2015年1月至2016年12月诊治并行IGRAs的120例结核病和高危人群作为研究对象,分为肺结核组(A组,40例)、结核性胸膜炎组(B组,40例)和高危人群组(C组,40例),另纳入40例健康体检者为健康对照组(D组)。详细记录病史、基本资料、实验室指标及外周血IGRAs结果。结果 A组、B组、C组及D组IGRAs的阳性率依次为90.00%(36/40)、70.00%(28/40)、45.00%(18/40)和5.00%(2/40),组间比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);单因素分析显示,结核病患者中IGRAs阴性者,年龄偏大,多为男性,症状持续时间更长,结核性胸膜炎比例更高;多因素逻辑回归分析显示,年龄 >60 岁、症状持续时间 >1 个月和结核性胸膜炎是IGRAs阴性的独立危险因素。结论 IGRAs对于结核病尤其是肺结核有较高的诊断价值。在分析IGRAs时,应充分考虑年龄、症状持续时间及发病部位等多种因素的影响。**关键词:** γ -干扰素释放试验;肺结核;结核性胸膜炎;高危人群;诊断价值

中图分类号:R446;R52

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2018)16-0074-03

Diagnostic Value and Influencing Factors of Interferon- γ Releases Assays on Tuberculosis

Guo Linwang, Zhong Shan

(Haikou People's Hospital, Haikou, Hainan, China 571199)

Abstract: **Objective** To investigate the diagnostic value on tuberculosis(TB) and high-risk population by interferon- γ releases assays(IGRAs). **Methods** Totally 120 cases including TB and high-risk population diagnosed by IGRAs and treated in our hospital from January 2015 to December 2016 were selected and analyzed by single-center retrospective study. The cases were divided into pulmonary TB group(group A, 40 cases), tuberculous pleurisy group(group B, 40 cases) and high-risk population group(group C, 40 cases). Another 40 medical examination people were selected as health the control group(group D). The history, basic data, laboratory index and peripheral blood IGRAs were recorded in details. **Results** The IGRAs positive rate of group A, B, C and D were 90.00%(36/40), 70.00%(28/40), 45.00%(18/40) and 5.00%(2/40), respectively, and the difference among the 4 groups was statistically significant($P < 0.05$). The single factor analysis showed that IGRAs negative patients were older, mostly male, with longer duration of symptoms and higher proportions of tuberculous pleurisy. Logistic regression analysis showed that age above 60 years old, duration of symptoms over 1 month and tuberculous pleurisy were independent risk factors for negative IGRAs. **Conclusion** IGRAs has high diagnostic value on TB, especially the pulmonary TB. Some factors such as age, duration of symptoms and side of disease should be considered when analyzing IGRAs.

Key words: interferon- γ releases assays; pulmonary tuberculosis; tuberculous pleurisy; high-risk population; diagnostic value

作为结核分枝杆菌感染引起的传染病,近年来结核病发病率呈逐年上升趋势^[1]。结核病防控的关键环节是早期快速诊断^[2],既往诊断结核病的主要方法是结核分枝杆菌(MTB)培养,但其存在敏感性低、耗时长^[3]。痰及胸腔积液抗酸染色也存在阳性率低、取样困难,且难以区分非结核分枝杆菌^[4]的缺点。结核菌素纯蛋白衍生物(PPD)试验虽应用广泛,但特异性仍较差^[5]。目前,除肺结核外,结核性胸膜炎等肺外结核的早期诊断仍缺乏特异性检测手段。 γ -干扰素释放试验(IGRAs)是近年来新开展的一项针对MTB感染的体外免疫诊断技术,通过培养滤过蛋白-10(CFP-10)肽段刺激后分泌 γ -干扰素的特异性T细胞数量,以及测定体内MTB基因组差异区1编码的抗原早期分泌靶向抗原6000蛋白(ESAT-6)来诊断结核感染,因其不受卡介苗接种及机

体免疫状态的影响,故有较好的特异性和敏感性^[6-7]。有学者认为,IGRAs可用于成人结核和结核潜伏感染(LTBI)的诊断,但受人群性别、结核感染类别差异,也有学者不建议将IGRAs用于诊断结核^[8-9]。基于此,本研究以我院2015年1月至2016年12月诊治并行IGRAs的120例结核病及其高危人群为研究对象,探讨IGRAs在结核病及其高危人群中的诊断价值,分析其主要影响因素,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

诊断标准:肺结核诊断标准参照2008年卫生部《肺结核诊断标准》^[10]。结核性胸膜炎诊断标准参照第2版《协和呼吸病学》^[11]。

病例选择与分组:选取我院2015年1月至2016年

第一作者:郭林旺(1981-),男,大学本科,主治医师,研究方向为结核病及高危人群的临床治疗,(电话)0898-65833505(电子邮箱)zhouliningbo@126.com。

12月诊治并行IGRAs的结核病患者及其高危人群120例,年龄均大于16岁。依据与活动性结核接触情况、影像学及临床表现、PPD试验、痰涂片抗酸染色、结核培养及组织病理学及治疗后效应,将其分为肺结核组(A组,40例)、结核性胸膜炎组(B组,40例)和高危人群组(C组,40例),同步纳入40例健康体检者为健康对照组(D组)。入选对象对研究内容知情,自愿参加,并签署同意书。高危人群为我院医护人员,工作年限 ≥ 1 年;健康对照者既往无结核病史,无风湿免疫性疾病及糖尿病史,未感染人类免疫缺陷病毒(HIV),未妊娠,无严重肝肾疾病,近3个月未应用免疫调节剂,无乏力、盗汗、低热、咳嗽等结核表现,胸部X线摄片正常。

1.2 γ -干扰素释放试验

检测步骤:应用酶联免疫斑点技术(ELISPOT)进行检测。首先用肝素锂采血管收集两管受试者外周静脉血各4 mL,4 h内行外周血单核细胞(PBMCs)分离,进行细胞计数及稀释,对培养板进行组装和孵育后,记数斑点形成,检测时设空白对照。

应用目视法判定:有效为阳性对照孔内斑点数 ≥ 20 个;阳性为阴性对照孔内斑点数 ≤ 5 个,A孔或B孔内斑点数-阴性孔斑点数 ≥ 6 个;或阴性对照孔内斑点数 ≥ 6 个,A孔或B孔内斑点数 $\geq$ 阴性孔斑点数 $\times 2$;阴性为A孔或B孔内斑点数 < 20 ,且阳性对照孔内斑点数 ≥ 20 个。

1.3 观察指标

详细记录病史、基本资料、实验室指标及外周血IGRAs结果。将患者口述出现结核相关症状后至来院就诊的时间界定为症状持续时间。比较各组IGRAs阳性率,分析结核病患者(A组与B组)中IGRAs阳性与阴性者的临床症状及实验室指标,分析引起结核病患者IGRAs阴性的独立危险因素。

1.4 统计学处理

采用SPSS 20.0统计学软件分析。计量资料应用Levene方差齐性检验,对符合正态分布且方差齐者用 $\bar{X} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较应用单因素方差分析,组内比较采用LSD法。计数资料用率表示,组间比较采用 χ^2 检验。应用多因素逻辑回归分析变量对IGRAs阴性的影响,计算OR值及95%置信区间(CI)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料及IGRAs阳性率

A组患者平均年龄(51.9 ± 16.8)岁,其中男28例,女12例;B组患者平均年龄(54.4 ± 17.6)岁,其中男26例,女14例;C组对象平均年龄(51.2 ± 15.8)岁,其中男25例,女15例;D组对象平均年龄($49.8 \pm$

16.2)岁,其中男24例,女16例。4组受试者的平均年龄及性别比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。A组、B组、C组及D组IGRAs的阳性率依次为90.00%,70.00%,45.00%和5.00%,各组间比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 单因素分析

结果见表1。

表1 IGRAs阳性与IGRAs阴性结核病患者临床特征、实验室指标的单因素分析

因素	IGRAs 阳性 (n=64)	IGRAs 阴性 (n=16)	t/χ^2 值	P 值
年龄($\bar{X} \pm s$, 岁)	49.8 $\pm$ 17.8	59.5 $\pm$ 11.6	6.218	0.034
性别(男/女,例)	35/29	14/2	5.806	0.016
饮酒(例)	18	5	0.061	0.805
吸烟(例)	29	7	0.013	0.911
曾行抗结核治疗(例)	23	7	0.333	0.564
症状 胸闷	24	8	0.833	0.361
(例) 咳嗽	48	9	2.197	0.138
咳痰	32	8	0.000	1.000
发热	28	8	0.202	0.653
体质量减轻	14	3	0.346	0.557
症状持续 <1 个月	48	6	8.205	0.004
时间(例) ≥ 1 个月	16	10		
发病部位 肺	36	4	5.000	0.025
(例) 胸膜	28	12		
WBC($\times 10^9/L$)	7.03 $\pm$ 3.52	8.15 $\pm$ 3.36	1.018	0.325
PLT($\times 10^9/L$)	332.1 $\pm$ 142.5	332.8 $\pm$ 102.1	0.012	0.942
ALB/GLO	1.22 $\pm$ 0.24	1.18 $\pm$ 0.21	0.464	0.616
BUN(mmol/L)	4.21 $\pm$ 1.41	4.68 $\pm$ 2.24	1.021	0.315
Cr(μ mol/L)	56.2 $\pm$ 13.4	62.7 $\pm$ 11.2	0.013	0.928

注:WBC为白细胞计数;PLT为血小板计数;ALB/GLO为白蛋白/球蛋白比值;BUN为尿素氮;Cr为肌酐。

2.3 影响因素多因素逻辑回归分析

将单因素分析中差异有统计学意义的参数(年龄、性别、症状持续时间、发病部位)纳入,分为 > 60 岁和 ≤ 60 岁亚组,根据症状持续时间不同分为 > 1 个月和 ≤ 1 个月亚组,采用多因素逻辑回归分析。结果见表2。

表2 IGRAs阴性结核病患者多因素逻辑回归分析

因素	β	Wald	P	OR	95% CI
年龄 > 60 岁	-0.278	5.213	0.034	0.92	0.86, 0.98
症状持续时间 > 1 个月	2.986	58.386	0.003	42.42	3.62, 128.42
结核性胸膜炎	2.048	18.438	0.042	5.42	1.02, 30.28

3 讨论

结核的传统诊断技术,如抗酸染色涂片、结核分枝杆菌培养和结核菌素皮肤试验(TST),存在取样困难、阳性率低、敏感性差、培养周期长,以及无法区分非结核分枝杆菌感染等缺点^[3-5],临床亟须新的快速简便、诊

断敏感性 & 特异性高的实验室检测方法。

随着分子生物学及免疫学的发展,IGRAs 作为一种新型诊断方法,在 MTB 诊断中具有早期、快速、准确、特异性高、创伤性小等优点^[6],目前已在国内少数医疗机构应用于临床。本研究中评估了 IGRAs 在结核病及其高危人群中的诊断价值,并观察到 IGRAs 在肺结核、结核性胸膜炎、结核高危人群和健康对照者中的阳性率逐渐降低,各组间比较有显著差异,提示 IGRAs 对结核病尤其是肺结核有较高的诊断价值。医护人员作为与结核病患者长期接触的高危人群,也存在较高的 IGRAs 阳性率。目前,考虑到我国部分医疗机构防治结核的硬件设施仍不够完善,大大增加了从事结核诊疗医护人员的感染风险。鉴于医护人员感染的 MTB 除敏感菌外,还有一部分为耐药结核或泛耐药结核,也增加了感染后治疗的难度^[12]。未来需进一步制订更加合理、有效的医疗机制结核防范措施,提高个人防范意识,减少结核感染概率,保障医护人员安全。

本研究中,还观察了不同结核类型患者引起 IGRAs 阴性、敏感性降低的影响因素。鉴于肺结核和结核性胸膜炎(肺外结核)是结核病的 2 个主要类型,也是本研究中纳入观察对象的主要结核类型。研究结果显示,年龄 > 60 岁、症状持续时间 > 1 个月和结核性胸膜炎是 IGRAs 阴性的独立危险因素,这与国内外相关研究结果一致^[13-14]。究其原因,可能与高龄、结核性胸膜炎患者机体免疫力可能较肺结核患者更低,继而引起效应 T 细胞功能下降,减少 γ -干扰素释放,降低 IGRAs 诊断敏感性有关^[15]。我国老龄化人口越来越多,临床需考虑因年龄增长引起 IGRAs 诊断结核漏诊率上升这一因素^[16-17],也需进一步探索针对老年人的更敏感、准确的结核检测方法。有研究认为, γ -干扰素会随着发病时间延长而呈现先增高后降低的趋势^[18]。亦有报道认为,PBMCs γ -干扰素释放与结核活动性呈负相关,结核初期或接受抗结核治疗的患者 γ -干扰素释放增多^[19],随着病情的进展,结核在体内逐渐活跃,但 γ -干扰素释放逐渐减少,抑制了 IGRAs 中的特异性抗原反应,导致阴性率升高^[20]。本研究中纳入样本数,尤其是 IGRAs 阴性例数较少,未来尚需扩大处于活动性结核病的患者的样本量,以进一步明确 IGRAs 在结核病不同病程阶段及结核性胸膜炎的诊断价值。

综上所述,IGRAs 对结核病尤其是肺结核有较高的诊断价值,在分析 IGRAs 结果时,应充分考虑年龄、症状持续时间及发病部位等多种因素的影响。

参考文献:

[1] ZumLa A, George A, Sharma V, et al. The WHO 2014 Global tuberculosis report - further to go[J]. The Lancet Global Health, 2015,3(1):e10-e12.

- [2] 李亮. 从临床医生的角度看结核病诊断技术[J]. 中华临床医师杂志,2014,8(23):4165-4168.
- [3] 王馨. 结核菌快速培养法与 γ -干扰素释放试验在结核病诊断中的应用价值[J]. 安徽医药,2015,36(5):607-609.
- [4] 李娜,邱珊. 458 份痰抗酸染色涂片和结核杆菌快速培养的结果比较[J]. 甘肃医药,2013,32(10):732-734.
- [5] 荣兰香,马淑红,艾清,等. T-SPOT, TB 试验与 PPD 试验对结核病患者诊断价值相关性比较[J]. 中国实验诊断学, 2013,17(8):1475-1476.
- [6] Fan L, Chen Z, Hao XH, et al. Interferon - gamma release assays for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis: a systematic review and meta - analysis[J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2012,65(3):456-466.
- [7] Gan SH, KhinMar KW, Barkham TM, et al. Interferon - gamma responses to mycobacterium tuberculosis - specific antigens in diabetes mellitus[J]. Eur Respir J, 2014,44(3):805-808.
- [8] Zhang L, Zhang Y, Shi X, et al. Utility of T - cell interferon - gamma release assays for diagnosing tuberculous serositis: a prospective study in Beijing, China[J]. PLoS One, 2014,9(1): e85030.
- [9] Liu F, Gao M, Zhang X, et al. Interferon - gamma release assay performance of pleural fluid and peripheral blood in pleural tuberculosis[J]. PLoS One, 2013,8(12):e83857.
- [10] WS288-2008, 中华人民共和国卫生行业标准·肺结核诊断标准[S].
- [11] 蔡伯菁,李龙芸. 协和呼吸病学[M]. 第2版. 北京:中国协和医科大学出版社,2005:117-121.
- [12] 耿梦杰,宋渝丹,赵飞. 国内外医务人员结核感染控制现状的比较研究[J]. 中国防痨杂志,2013,35(8):581-586.
- [13] Lee YM, Park KH, Kim SM, et al. Risk factors for false - negative results for T - SPOT. TB and tuberculin skin test in extrapulmonary tuberculosis[J]. Infection, 2013,41(6):1089-1095.
- [14] Aggarwal AN, Agarwal R, Gupta D, et al. Interferon gamma release assays for diagnosis of pleural tuberculosis: a systematic review and meta - analysis[J]. J Clin Microbiol, 2015,53(8):2451-2459.
- [15] 王健,刘欣. γ -干扰素释放试验(TB-IGRA)在结核性胸膜炎诊断中的应用[J]. 实用医药杂志,2015,31(9):815-816.
- [16] Inal A, Koc B, Bircan HY, et al. The effects of aging on lymphocyte subgroups in males and females[J]. Med Sci Monit Basic Res, 2014,20:93-96.
- [17] Tavares SM, Junior Wde L, Lopes ESMR. Normal lymphocyte immunophenotype in an elderly population[J]. Rev Bras Hematol Hemoter, 2014,36(3):180-183.
- [18] 崔丹,赵杰,李志惠. γ -干扰素释放试验与结核菌素试验对菌阴肺结核的诊断价值[J]. 解放军医药杂志,2015,27(7):89-91.
- [19] Pan L, Jia H, Liu F, et al. Risk factors for false - negative T - SPOT. TB assay results in patients with pulmonary and extra - pulmonary TB[J]. J Infect, 2015,70(4):367-380.
- [20] 邵丽佳,胡轶,陈伟,等. γ -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,2016,25(3):352-353.

(收稿日期:2017-12-28)