

# 结核感染 T 细胞斑点试验在脊柱结核诊断中的应用

地里下提, 古甫丁, 马 良

**【摘要】 目的** 探讨结核感染 T 细胞斑点试验在脊柱结核诊断中的临床应用价值。**方法** 选取 2012 年 4 月 ~ 2013 年 1 月本院骨科病区收治的疑似脊柱结核患者 156 例, 分别采用结核感染 T 细胞斑点试验和结核菌素试验进行诊断, 比较两者对脊柱结核诊断的临床意义 (包括灵敏性、特异性、假阳性率和假阴性率指标的差别)。**结果** 结核感染 T 细胞斑点试验的灵敏性和特异性明显高于结核菌素试验 ( $P < 0.05$ ); 同时, 结核感染 T 细胞斑点试验的假阳性率和假阴性率明显低于结核菌素试验 ( $P < 0.05$ )。**结论** 结核感染 T 细胞斑点试验在诊断脊柱结核中具有良好的敏感性和特异性, 具有重要临床应用价值。

**【关键词】** 结核, 脊柱; 结核菌素试验; T 淋巴细胞; 敏感性与特异性

**【中图分类号】** R 529.2 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-2957(2014)06-0357-03

**【DOI】** doi:10.3969/j.issn.1672-2957.2014.06.009

**Primary study of T-cell spot of tuberculosis test in diagnosis of spinal tuberculosis** DI Li-xia-ti, GU Fu-ding, MA Liang. Department of Orthopaedics, Chest Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830049, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the diagnostic value of T-cell spot of tuberculosis (T-SPOT. TB) test in patients with spinal tuberculosis. **Methods** The recorded clinical data of 156 suspected patients with spinal tuberculosis during April 2012 to January 2013, were collected retrospectively and reviewed systematically by the T-SPOT. TB test and tuberculin skin test (TST). The sensitivity, specificity, false positive rate and false negative rate of 2 tests were compared. **Results** The sensitivity and specificity of T-SPOT. TB test was significantly higher than those of TST test ( $P < 0.05$ ); the false positive rate and false negative rate of T-SPOT. TB test were significantly lower than those of TST test ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** T-SPOT. TB assay possesses satisfactory sensitivity and specificity in diagnosis of spinal tuberculosis, and it is an effective way for the diagnosis of spinal tuberculosis.

**【Key words】** Tuberculosis, spinal; Tuberculin Test; T-Lymphocytes; Sensitivity and specificity

J Spinal Surg, 2014, 12(6):357-359

近年来, 结核的发生率呈上升趋势, 除肺部感染外, 结核杆菌还能侵入人体其他各种器官, 脊柱结核是由于结核杆菌累及脊柱造成的病变, 其临床表现缺乏特异性, 误诊极为常见。建立更加快速、准确的诊断方法对于早期发现和诊断脊柱结核至关重要。但临床常用的结核菌素皮试试验 (tuberculin skin test, TST) 对脊柱结核的诊断具有敏感度及特异性低、易受患者自身免疫功能水平干扰等缺点<sup>[1]</sup>, 为此本院开展了结核感染 T 细胞斑点 (T-cell spot of tuberculosis, T-SPOT. TB) 试验在脊柱结核诊断中的应用研究, 现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2012 年 4 月 ~ 2013 年 1 月本院骨科收治

的疑似脊柱结核病例 156 例, 其中男 82 例, 女 74 例; 年龄 17 ~ 81 岁, 平均 25.4 岁; 所有病例中颈椎 9 例, 胸椎 45 例, 腰椎 78 例, 腰骶椎 21 例, 多节段 3 例; 病程 1 ~ 38 个月, 平均 11.5 个月; 患者可伴低热、盗汗、食欲不振、消瘦、倦怠等全身性中毒症状及颈、背、腰部疼痛等局部表现。

### 1.2 检测方法

详细询问每个患者既往结核病史及结核病接触史资料; 常规行胸部 X 线、脊柱 X 线、CT 和 MRI 检查, 合并肺部病变的患者行痰涂片测试结核杆菌; 所有患者均做 T-SPOT. TB 试验及 TST。

#### 1.2.1 T-SPOT. TB 试验检测方法

首先采集患者 5 mL 的外周静脉血 (使用肝素抗凝管), 使用密度梯度离心法分离出外周血单个核细胞。在已包被抗 INF- $\gamma$  抗体微量板的 4 孔中, 分别加入 4 种不同的对照物进行对比: 阳性对照物为植物血凝素、阴性对照物为 AIM-V 细胞培养液、

作者简介: 地里下提 (1970—), 学士, 副主任医师

作者单位: 830049 新疆维吾尔自治区, 新疆维吾尔自治区胸科医院骨科

结核杆菌特异混合多肽 A [早期分泌抗原靶蛋白 6 (early secreted antigenic target, ESAT-6) 抗原]、结核杆菌特异混合多肽 B [培养滤液蛋白 10 (culture filtrate protein 10, CFP-10) 抗原], 然后在上述 4 孔中每孔中加入含 250 000 个细胞的外周血单个核细胞, 再将微量板放入二氧化碳培养箱培养 16 ~ 20 h (环境为 37℃, 5% CO<sub>2</sub>), 用 PBS 洗板 4 次后, 加入碱性磷酸酶标记的  $\gamma$  干扰素抗体, PBS 洗脱, 显色, PBS 终止, 最后计数斑点数, 以测量孔点数是阴性对照的 2 倍以上或者比阴性对照多 5 个点为阳性结果。

### 1.2.2 TST (Mantoux 法)

选取 0.1 mL 含 5 个单位的结核杆菌纯蛋白衍生物 (purified protein derivative, PPD) 对患者行前臂尺侧皮内注射, 48 ~ 72 h 后观察结果。硬结的直径  $\geq 10$  mm 考虑为 TST 阳性。

### 1.3 脊柱结核的临床诊断

脊柱结核的最终确诊需依靠患者的临床表现、X 线、CT 和 MRI 图像、手术后组织病理学及患者对抗结核治疗的反应综合做出评估后确定<sup>[2]</sup>。

### 1.4 评价指标

将灵敏性、特异性、假阳性率和假阴性率作为 2 种试验临床效果的评价指标。采用 SPSS 11.5 统计软件进行分析, 采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  提示差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 临床诊断结果

全部 156 名疑似脊柱结核患者中确诊 112 例。其余 44 例术后被确诊为布氏杆菌性脊柱炎、椎间隙非特异性感染、终板炎、脊柱肿瘤等其他疾病。

### 2.2 T-SPOT. TB 试验与最终诊断结果比较

T-SPOT. TB 试验的灵敏度为 85.7% (96/112), 特异度为 86.4% (38/44), 假阴性率为 14.3% (16/112), 假阳性率为 13.6% (6/44)。

### 2.3 TST 试验与最终诊断结果比较

TST 试验的灵敏度为 33.9% (38/112), 特异度为 75.0% (33/44), 假阴性率为 66.1% (74/112), 假阳性率为 25.0% (11/44)。

### 2.4 2 种检测方法比较

T-SPOT. TB 的灵敏度和特异度数据明显高于 TST ( $P < 0.05$ ); 与此同时其假阴性率和假阳性率数据低于 TST 试验 ( $P < 0.05$ )。统计学提示对比差异有统计学意义。

## 3 讨 论

据世界卫生组织估计, 全球约有 1/3 亿人口受

到结核分枝杆菌感染, 每年约有 800 万新病例发生, 至少有 300 万人死于该病。而我国为结核病的发病大国, 每年约新增结核病患者 150 万, 受感染人数约 5 亿, 且近年来发生率又呈上升趋势<sup>[3]</sup>。脊柱结核又称 Pott 病, 是椎体感染结核杆菌后造成的一种破坏性骨关节病, 其发生率居全身骨关节结核的首位, 占 40% ~ 50%。本病好发于儿童和青年, 病变多发生在椎体, 发病部位成人以腰椎最多, 胸椎次之, 颈椎、骶椎少见; 儿童则以胸椎或胸腰段发生率最高<sup>[4]</sup>。病程长, 如不能得到有效治疗, 严重者可导致骨骼畸形或累及椎管产生脊髓、神经压迫而截瘫, 严重影响患者健康。因其临床表现及诊断方法缺乏特异性, 极易出现误诊或漏诊, 如能做到早期诊断、早期治疗, 则可以有效制止病变发展, 减少畸形发生, 避免手术治疗而采用药物治疗<sup>[5]</sup>。因此寻找一种方便、可靠的诊断方法显得尤为重要。

目前脊柱结核主要是根据患者的临床表现、影像检查及病灶局部的病理改变来确诊, 且为了取得局部组织进行病理检查对患者机体造成一定创伤。细菌学检查或组织学检查虽然是结核病诊断的金标准, 但结核分枝杆菌培养或组织病理学检查需时较长, 检出阳性率低<sup>[6]</sup>。目前针对结核感染的免疫学检测方法主要是检测结核细胞免疫功能的 PPD 试验和检测体液免疫功能的结核抗体<sup>[7]</sup>。PPD 试验是体外试验, 检查结果判定易受检查者主观因素影响, 且在结核感染高发地区, 随着卡介苗接种的普及, 假阳性增多, 同时 PPD 试验结果也会受机体免疫状态等多种因素影响, 使其在结核的诊断中灵敏度及特异性均较低。结核抗体检测虽然特异性较高, 但缺乏敏感性<sup>[8]</sup>。

T-SPOT. TB 作为近年来结核诊断中的一项新技术, 主要用于检测外周血标本。国外报道其灵敏度和特异度分别高达 89.0% 和 98.1%<sup>[9]</sup>。机体被结核杆菌感染后, 体内 T 淋巴细胞被致敏, 当这些致敏 T 细胞再次受到结核菌特异性抗原刺激后, 继而产生细胞因子  $\lambda$  干扰素, 通过检测外周血单核细胞中经结核特异性抗原刺激后释放  $\lambda$  干扰素的 T 细胞数量, 从而诊断结核分枝杆菌感染; 而且无论是否有临床症状, 检测效应 T 淋巴细胞在血中的水平可作为机体是否被感染的指标。效应 T 淋巴细胞存活期很短, 一般在病原体被消灭后就消失, 故其灵敏度较高。致病性结核分枝杆菌中一段名为“RD1”的基因序列可以编码产生结核杆菌特异性抗原 ESAT-6 和 CFP-10, 且 ESAT-6 和 CFP-10 的编码基因只存在于致病性分枝杆菌中, 而不存在于大多数环境分枝杆菌和卡介苗中, 因此 T-SPOT. TB 的特异

度较高,不受大多数环境分枝杆菌感染和卡介苗接种的影响<sup>[10]</sup>。

综上所述,T-SPOT. TB 试验在脊柱结核的诊断中具有灵敏度高,特异性高、方法简便,检测周期短的优点,具有重大的临床价值,值得广泛应用。

#### 参考文献

- [1] 乐军,梁莉,李苏辉,等. 酶联免疫斑点试验快速诊断结核分枝杆菌感染的临床应用价值[J]. 中华检验医学杂志,2010,29(11):1005-1008.
- [2] Lalvani A, Pathan AA, McShane H, et al. Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis infection by enumeration of antigen-specific T cells[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 163(4): 824-828.
- [3] Kim SH, Choi SJ, Kim HB, et al. Diagnostic usefulness of a T-cell based assay for extrapulmonary tuberculosis [J]. Arch Intern Med, 2007, 167(20):2255-2259.
- [4] 张培元. 肺结核诊断和治疗指南[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2001,24(2):70-74.
- [5] 全国结核病流行病学抽样调查技术指导组. 2000年全国结核病流行病学抽样调查报告[J]. 中国防痨杂志, 2002,24(2): 98-102.
- [6] Lee JY, Choi HJ, Park IN, et al. Comparison of two commercial interferon-gamma assays for diagnosing Mycobacterium tuberculosis infection[J]. Eur Respir J, 2006, 28(1):24-30.
- [7] Ribeiro S, Dooley K, Hackman J, et al. T-SPOT. TB responses during treatment of pulmonary tuberculosis[J]. BMC Infect Dis, 2009, 9:23.
- [8] Liebeschuetz S, Bamber S, Ewer K, et al. Diagnosis of tuberculosis in South African children with a T-cell-based assay: a prospective cohort study [J]. Lancet, 2004, 364(9452): 2196-2203.
- [9] Lee JY, Choi HJ, Park IN, et al. Comparison of two commercial interferon-gamma assays for diagnosing Mycobacterium tuberculosis infection[J]. Eur Respir J, 2006, 28(1):24-30.
- [10] 成诗明,杜昕,徐敏. 1992-2004年全国儿童新发现的痰涂片阳性肺结核检测与分析[J]. 中华儿科杂志,2009,44(4): 257-261.

(收稿日期:2014-06-05)

(本文编辑 张丽)

### · 征订启事 ·

## 欢迎订阅 2012 年和 2013 年《脊柱外科杂志》(合订本)

《脊柱外科杂志》是一本经国家新闻出版总署批准,由上海市卫生局主管,中华医学会上海分会主办,上海长征医院骨科承办的高级学术期刊,于2003年2月28日正式创刊。自出版以来,本刊提倡学术争鸣,务求真实严谨,深受读者的认可和好评。已被中国学术期刊综合评价数据库、中国期刊全文数据库、中文科技期刊数据库、中文生物医学期刊文献数据库、中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)收录为统计源期刊。

应广大读者要求,2012年和2013年《脊柱外科杂志》年度合订本将分别装订成册,欢迎大家订阅。定价(含邮费):精装本100元/卷,平装本70元/卷。

此外,本编辑部尚余几册第一卷(2003年)至第六卷(2009年)合订本,需要者也可汇款订购。

汇款方式如下(请勿汇给个人)

收款人地址:上海市凤阳路415号长征医院骨科1楼

收款人姓名:《脊柱外科杂志》编辑部

收款人邮编:200003

注:附言中请注明“订阅××年合订本精装××册,平装××册”字样

若需开具发票,请注明发票抬头、详细通信地址及邮编

本刊欢迎各位同仁踊跃投稿,投稿请登录 <http://www.spinejournal.net>