

γ -干扰素体外释放试验 在艾滋病并发结核感染诊断中的应用价值探讨*

钱宏波^a, 郭蕊^a, 赵汉东^a, 杨欢^a, 康立^b, 刘红莉^a

(陕西省传染病院 西安市第八医院 a. 检验科; b. 感染一科, 西安 710061)

摘要:目的 探讨艾滋病病毒(HIV)感染者 γ -干扰素体外释放试验(TB-IGRA)对于并发结核分枝杆菌感染诊断的应用价值。方法 选取2015年1月~2016年2月期间确诊艾滋病病毒感染者共387例(其中男性320例,女性67例;年龄15~81岁);根据外周血CD4+T淋巴细胞计数分为三期四组:HIV感染I期组(58例,CD4+细胞计数 ≥ 500 cell/ μ l);HIV感染II期组(54例,CD4+细胞计数200~500 cell/ μ l);艾滋病期A组(108例,CD4+细胞计数50~199 cell/ μ l);艾滋病期B组(167例,CD4+细胞计数 ≤ 50 cell/ μ l)。按照《临床诊疗指南/结核病分册》标准,各组确诊并发结核分枝杆菌感染数分别为14,15,26和39例。采用TB-IGRA检测各组外周血结核分枝杆菌特异性 γ -干扰素体外释放水平,判断试验的阴阳性结果。计数资料采用卡方检验,对TB-IGRA在艾滋病病毒并发结核分枝杆菌感染者中的诊断价值进行评价。结果 HIV感染者中确诊的结核感染率平均为24.29%,各期之间差异无统计学意义($\chi^2=0.440$, $P=0.932$, 95%可信区间0.928~0.938)。HIV感染四组的TB-IGRA试验阳性率分别为25.86%,27.78%,25.00%和14.37%,其中艾滋病期B组阳性率(14.37%)显著低于确诊感染率(23.35%),差异有统计学意义($\chi^2=4.402$, $P=0.036$);艾滋病期B组TB-IGRA试验阳性率低于其余三组,差异有统计学意义($\chi^2=3.967\sim 5.047$; P 值均 <0.05)。TB-IGRA试验对艾滋病并发结核感染的诊断灵敏度四组分别为92.86%,86.67%,88.46%和53.85%,前三组显著高于艾滋病期B组,差异有统计学意义($\chi^2=5.004\sim 8.547$; P 值均 <0.05);特异度分别为95.45%,94.87%,95.12%和97.66%;诊断效率分别为94.83%,92.59%,93.52%和87.43%,TB-IGRA试验诊断特异度和诊断效率四组差异无统计学意义($\chi^2=1.271, 4.626$; $P=0.736, 0.201$)。结论 TB-IGRA对艾滋病感染者并发结核分枝杆菌的诊断具有较高灵敏度和特异度,但对于外周血CD4+T淋巴细胞计数 ≤ 50 cell/ μ l的患者诊断灵敏度相对较差。

关键词: γ -干扰素;体外释放;艾滋病;结核

中图分类号:R512.91;R392.11 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2016)04-035-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2016.04.008

Application Value of γ -Interferon in Vitro Release Test in the Diagnosis of AIDS with Tuberculosis Infection

QIAN Hong-bo^a, GUO Rui^a, ZHAO Han-dong^a, YANG Huan^a, KANG Li^b, LIU Hong-li^a

(a. Department of Clinical Laboratory; b. Department of Infectious Diseases,

Shaanxi Provincial Infectious Diseases Hospital & Xi'an Eighth Hospital, Xi'an 710061, China)

Abstract: Objective Discussing the diagnostic value of AIDS with tuberculosis infection about the test results of γ -interferon in vitro release test (TB-IGRA). **Methods** There were 387 patients of HIV-infected in total in our study which choose from January 2015 to February 2016(including men 320 cases, women 67 cases, aged 15-81 years old). They were divided into three periods of four groups according to the CD4 + cell count, as shown below: HIV infection stage I group (58 cases, CD4 + cell count ≥ 500 cell/ μ l), HIV infection stage II group (54 cases, CD4 + cell count between 200 and 500 cell/ μ l), AIDS period in group A (108 cases, CD4 + cell count between 50 and 199 cell/ μ l), AIDS period in group B (167 cases, CD4 + cell count ≤ 50 cell/ μ l). The numbers of each group infected tuberculosis were 14, 15, 26, 39 cases in order according to the Standard for Clinical Guidelines/Archives of Tuberculosis. Used TB-IGRA method to test the levels of the tuberculin specificity γ -interferon in vitro release in peripheral blood to estimate the results. Counted the data by chi-square test to evaluate the diagnostic value of HIV with tuberculosis infection. **Results** The average rate of infection with TB of people living with HIV was 24.29%, there were no difference between the different stages ($\chi^2=0.440$, $P=0.932$, 95% CI 0.928~0.938). The TB-IGRA test positive rate of the four groups with AIDS were 25.86%, 27.78%, 25.00% and 14.37%, respectively. Among them, HIV positive rate of group B (14.37%) was significantly lower than confirmed infection rate (23.35%), and the difference was statistically significant ($\chi^2=4.402$, $P=0.036$). The positive rate of TB-IGRA test in AIDS period of group B was lower than the other three groups ($\chi^2=3.967\sim 5.047$, P values <0.05). The diagnostic sensitivity of TB-

* 基金项目:陕西省社会发展科技攻关项目(2016SF-218)。

作者简介:钱宏波(1976—),男,学士,主管检验技师,主要从事传染病临床免疫学检验工作, E-mail: qianhb1027@163.com。

通讯作者:刘红莉,女,博士,主任检验技师, E-mail: liuhonglili@sina.com。

IGRA test for HIV with TB were 92.86%, 86.67%, 88.46% and 53.85% respectively in order. The first three groups were significantly higher than AIDS period in group B, and the difference was significant ($\chi^2 = 5.004 \sim 5.547$, P values < 0.05). The diagnostic specificity were 97.73%, 97.73%, 95.12% and 97.66% respectively. The diagnostic efficiency were 96.55%, 96.55%, 92.59% and 87.42% respectively, and there were no difference between the four groups of TB-IGRA test on diagnostic specificity and efficiency ($\chi^2 = 1.271, 4.626$; $P = 0.736, 0.201$). **Conclusion** There are high sensitivity and specificity in diagnosis of B IGRA test for HIV infected patients with tuberculosis, but the diagnostic sensitivity is relatively poor for HIV infected patients with tuberculosis whose CD4+ cell count of peripheral blood are less than 50 cell/ μ l.

Keywords: INF- γ ; vitro release; AIDS; tuberculosis

我国是结核病(tuberculosis, TB)高发国家之一,而艾滋病(acquired immune deficiency syndrome, AIDS)同样也面临严峻的形势。人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染者感染结核的几率,以及感染后发展为活动性结核病的几率远大于未感染 HIV 人群。TB 已成为 HIV 感染者最常见的机会性感染性疾病,也是最常见的死亡原因。如何在 HIV 感染者中尽早准确诊断活动性结核及发现潜伏性结核患者,成为一个热点问题。我们使用结核分枝杆菌相关 γ -干扰素体外释放酶联免疫法(TB-IGRA)对 HIV 感染者中结核分枝杆菌感染进行检测,现将 2015 年 1 月~2016 年 2 月期间 387 例检测结果进行统计分析,评估该方法在 HIV 感染者中诊断 TB 的应用价值,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 研究对象 所有分析的 387 例 HIV 感染者病例,均来源于西安市第八医院 2015 年 1 月~2016 年 2 月的门诊随访及住院治疗患者,其中男性 320 例,女性 67 例,年龄 15~81 岁;确诊并发感染结核患者 94 例。所有病例根据外周血 CD4+ 细胞绝对计数结果分为四组: HIV 感染 I 期组(CD4+ 细胞计数 ≥ 500 cell/ μ l), 58 例; HIV 感染 II 期组(CD4+ 细胞计数 200~500 cell/ μ l), 54 例; 艾滋病期 A 组(CD4+ 细胞计数 50~199 cell/ μ l), 108 例; 艾滋病期 B 组(CD4+ 细胞计数 ≤ 50 cell/ μ l), 167 例。所有病例 HIV 感染诊断均符合中国卫生行业标准《艾滋病和艾滋病病毒感染诊断标准》

表 1

HIV 感染并发结核患者 TB-IGRA 结果

组别	n	确诊结核感染		TB-IGRA 试验		χ^2	P
		例数(n)	感染率(%)	阳性(n)	阳性率(%)		
HIV 感染 I 期组	58	14	24.14	15	25.86 ^①	0.046	0.083
HIV 感染 II 期组	54	15	27.78	15	27.78 ^②	0.000	1.000
艾滋病期 A 组	108	26	24.07	27	25.00 ^③	0.025	0.874
艾滋病期 B 组	167	39	23.35	24	14.37 ^④	4.402	0.036
合计	387	94	24.29	81	20.93	1.284	0.264

注:① vs ④: $\chi^2 = 3.967$, $P = 0.046$; ② vs ④: $\chi^2 = 5.047$, $P = 0.025$; ③ vs ④: $\chi^2 = 4.905$, $P = 0.027$ 。

各期之间差异无统计学意义($\chi^2 = 0.440$, $P = 0.932$, 95%可信区间 0.928~0.938)。TB-IGRA 试验显示,艾滋病期 B 组阳性率低于确诊感染率,

(WS 293~2008); 并发结核患者,符合中华医学会制订的《临床诊疗指南/结核病分册》标准。试验均在患者及家属知情同意下进行,且试验通过本院伦理委员会批准同意。

1.2 试剂和仪器 TB-IGRA 试剂来源于北京万泰生物药业股份有限公司,使用雷杜 RT-6100 酶标仪; CD4+T 淋巴细胞计数试剂为 BD 公司提供的 CD4-FITC/CD8-PE/CD3-P-CP 三色抗体和 TruCOUNT Tubes 管,采用 BD FACSCalibur 流式细胞仪检测。

1.3 方法 各组的门诊患者于当日、住院患者入院当日或次日清晨空腹采集肝素锂抗凝静脉血 4 ml,用于 TB-IGRA 试验:在阴性对照管(含基质液)、检测管(含有 ESAT-6, CFP-10 两种基因大肠埃希菌表达的重组抗原)和阳性对照管(含有结核非特异度刺激抗原)中分别加入 1 ml 新鲜血液,混匀后 37℃ 水浴 22~24 h,离心取上清液进行 ELISA 检测,根据标准曲线计算出各管中 γ -IFN 的含量,确定 TB-IGRA 的阴阳性结果; EDTA-K₂ 抗凝静脉血 1 ml,用于检测 T 淋巴细胞亚群绝对计数,使用 MultiTEST 软件分析 15 000 个细胞,得出 CD3⁺CD4⁺T 淋巴细胞绝对计数值。

1.4 统计学分析 使用 SPSS19.0 统计学软件进行数据分析,组间计数资料和多个样本率间多重比较采用卡方检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HIV 感染者并发结核感染的分析 见表 1。 HIV 感染者中确诊的结核感染率平均为 24.29%,

差异有统计学意义($\chi^2 = 4.402$, $P < 0.05$); 艾滋病期 B 组阳性率(14.37%)低于其余三组,差异有统计学意义($\chi^2 = 3.967 \sim 5.047$; P 值均 < 0.05); 而

HIV 感染 I 期组、HIV 感染 II 期组和艾滋病期 A 组之间 TB-IGRA 试验阳性率差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.1454, P = 0.930$)。2.2 TB-IGRA 试验结果的评价 见表 2。试验灵敏度前三组显著高

表 2

HIV 感染者 TB-IGRA 试验结果评价

组 别	n	阳性	灵敏度(%)	特异度(%)	诊断效率(%)
HIV 感染 I 期组 ^①	58(14)	15(13)	92.861	95.45	94.83
HIV 感染 II 期组 ^②	54(15)	15(13)	86.672	94.87	92.59
艾滋病期 A 组 ^③	108(26)	27(23)	88.463	95.12	93.52
艾滋病期 B 组 ^④	167(39)	24(21)	53.854	97.66	87.43
合 计	387(94)	81(70)	74.47	96.59	90.96

注: n=病例数(确诊结核病例); ① vs ④: $\chi^2 = 6.817, P = 0.009$; ② vs ④: $\chi^2 = 5.004, P = 0.025$; ③ vs ④: $\chi^2 = 8.547, P = 0.003$ 。

3 讨论 结核类疾病是 HIV 感染者最为常见,也是最早发生的并发感染之一。据有关资料表明, HIV 感染者并发结核类疾病的发病率约为正常人的 30 倍^[1]。CD4⁺T 淋巴细胞是抗结核菌中重要的调节免疫细胞,同时也是 HIV 病毒入侵的靶细胞, CD4⁺T 淋巴细胞对于控制 HIV 感染者病情进展及抑制机会性感染具有重要的作用^[2]。当 HIV 侵入 CD4 淋巴细胞后,造成 CD4 淋巴细胞逐渐减少、功能下降。在艾滋病晚期患者,尤其是 CD4⁺T 淋巴细胞计数 $\leq 50 \text{ cell}/\mu\text{l}$ 的患者,其结核病临床表现不典型,多表现为肺外结核,易发生非结核分枝杆菌感染,引起诊断的困难。因此,我们结合《艾滋病和艾滋病病毒感染诊断标准 (WS293-2008)》,将 HIV 感染者以外周血 CD4⁺T 淋巴细胞计数分为三期四组,探讨 TB-IGRA 试验对于 HIV 感染不同病期患者中并发结核感染的诊断价值。

结核病的血液学实验诊断有许多不同原理和方法。由于结核分枝杆菌是一种细胞内病原微生物,因此评估患者的 T 淋巴细胞是否被结核分枝杆菌特异性抗原致敏是一种可行的诊断方法,如经典的 TST 试验。结核分枝杆菌中存在一段名为“RD1”的基因序列,该序列编码产生两种蛋白:早期分泌型抗原靶蛋白 (ESAT-6) 和培养滤过蛋白 10 (CFP-10),这两种蛋白作为再次刺激的特异性抗原,可刺激机体记忆性 T 细胞产生 IFN- γ ,利用体外检测 IFN- γ 释放的方法进行结核感染的诊断,这种方法被称为 γ 干扰素体外释放试验 (IGRA)。目前,IGRA 的实验室方法主要有两种:一种为结核感染 T 细胞斑点试验 (T-SPOT·TB),另一种为结核分枝杆菌相关 γ -干扰素检测 (TB-IGRA)。因该方法在肺外结核诊断方面有优势^[3,4],已广泛应用于临床结核病的诊断和鉴别诊断^[2,5]。

本研究结核确诊结果显示, HIV 感染者中结

核感染率各期无显著差异,平均约 24.29%,说明在 HIV 病毒感染各期,并发结核感染的机率相同。北京地坛医院曾调查了 834 位 AIDS 患者,其结核感染率为 32.5%^[6],较本研究稍高。这是因为 AIDS 的机会性感染分布差异会受到地域、经济条件、CD4⁺T 细胞计数以及 HIV 感染途径等多种因素的影响,表现出不同的机会感染率。TB-IGRA 试验结果显示: HIV 病毒感染者中并发结核感染的试验阳性率和诊断灵敏度, HIV 感染 I 期组、HIV 感染 II 期组和艾滋病期 A 组显著高于艾滋病期 B 组。在艾滋病期 (CD4⁺T 淋巴细胞计数 $< 200 \text{ cell}/\mu\text{l}$) 时的灵敏度和诊断效率分别为 67.69% (44/65) 和 89.81% (247/275),较童学成等^[7]使用 T-SPOT 法灵敏度低;陈仁芳等^[8]研究显示, HIV 阳性的结核患者中 T-SPOT 的灵敏度为 92.3%,在本研究中, HIV 感染者中的 TB-IGRA 试验整体灵敏度为 74.47% (80/94),也较 T-SPOT 试验低。这是因为本研究选择的艾滋病晚期患者组人数较多,一方面该组患者 T 淋巴细胞计数较低,不能像 T-SPOT 试验那样保证参与反应的 T 淋巴细胞数量,另一方面,该组患者免疫功能极其低下, T 淋巴细胞的生物学活性较差,从而导致部分并发结核感染者的 TB-IGRA 试验出现不确定或阴性结果。

通过本研究发现, TB-IGRA 试验对 HIV 并发 TB 感染的诊断具有良好的灵敏度和特异度。在 HIV 感染者中,如果患者结核潜伏感染相关检测阳性,可进行预防性干预^[9]。并且 TB-IGRA 试验操作简便,所需仪器设备为检验科常备,该方法在 HIV 并发 TB 的诊断方面值得广泛推广和应用。但应注意在艾滋病晚期患者中,其阳性率较低,应和其他检测方法联合使用,提高诊断效率。

参考文献:

- [1] 蓝珂, 吴秋蝉, 覃善芳, 等. 艾滋病经高效抗逆转录病毒治疗后发生免疫重建综合征并发 (下转 40 页)

治疗。在 MG 患者中开展血清 Titin 抗体的测定对于胸腺瘤的早期诊断及判断预后具有重要的临床指导意义。

参考文献:

- [1] Szczudlik P, Szyluk B, Lipowska M, et al. Antititin antibody in early and late-onset myasthenia gravis [J]. *Acta Neurol Scand*, 2014, 130(4): 229-233.
 - [2] Tsai Y, Lin Y, Chen C, et al. Thymoma associated with myasthenia gravis and sjogren syndrome [J]. *West Indian Med J*, 2013, 62(3): 264-265.
 - [3] 吴君霞. 重症肌无力相关自身抗体的研究进展 [J]. *医学综述*, 2013, 19(19): 3491-3493.
Wu JX. Research progress in myasthenia gravis related autoantibodies [J]. *Medical Recapitulate*, 2013, 19(19): 3491-3493.
 - [4] He ZF, Lu W, Qiao J, et al. Thymic expression of the main immunogenic region of titin in thymomatoas myasthenia gravis [J]. *J Int Med Res*, 2010, 38(4): 1324-1332.
 - [5] Yilmaz V, Oflazer P, Aysal F, et al. Differential cytokine changes in myasthenia gravis patients with antibodies against AChR and MusK [J]. *Plos One*, 2015, 10(4): e123546.
 - [6] Sun C, Meng F, Li Y, et al. Antigen-specific immunoadsorption of anti-acetylcholine receptor antibodies from sera of patients with myasthenia gravis [J]. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol*, 2010, 38(1): 99-102.
 - [7] Pasnoor M, Wolfe GI, Nations S, et al. Clinical findings in MusK-antibody positive myasthenia gravis: a U. S. experience [J]. *Muscle Nerve*, 2010, 41(3): 370-374.
 - [8] Suzuki S, Utsugisawa K, Nagane Y, et al. Three types of striational antibodies in myasthenia gravis [J]. *Autoimmune Dis*, 2011(2011): 740583.
 - [9] Romi F. Thymoma in myasthenia gravis: from diagnosis to treatment [J]. *Autoimmune Disease*, 2011(2011): 474512.
-
- (上接 37 页)肺结核的临床特点研究 [J]. *中国全科医学*, 2012, 15(19): 2191-2192.
- Lan K, Wu QC, Qin SF, et al. Clinical characteristics research of immune reconstitution syndrome complicated with pulmonary tuberculosis in AIDS patients after highly active anti-retroviral therapy [J]. *Chinese General Practice*, 2012, 15(19): 2191-2192.
- [2] Kobashi Y, Abe M, Mouri K, et al. Usefulness of tuberculin skin test and three interferon-gamma release assays for the differential diagnosis of pulmonary tuberculosis [J]. *Intern Med*, 2012, 51(10): 1199-1205.
 - [3] 钱晨. 结核感染 T 细胞酶联免疫斑点试验与结核抗体试验在诊断骨关节结核中的临床应用价值 [J]. *现代检验医学杂志*, 2015, 30(4): 74-76.
Qian C. Clinical value of tuberculosis infection T cell ELISPOT and TB antibody test in experimental tuberculosis of bones and joints [J]. *J Mod Lab Med*, 2015, 30(4): 74-76.
 - [4] 鲁曦, 李王平, 谢永宏, 等. γ -干扰素释放试验在肺外结核诊断中的应用与评价 [J]. *中华肺部疾病杂志 (电子版)*, 2016, 9(1): 20-25.
Lu X, Li WP, Xie YH, et al. Evaluation of interferon-gamma release technique in extra-pulmonary tuberculosis detection [J]. *Chin J Lung Dis (Electronic Edition)*, 2016, 9(1): 20-25.
 - [5] 段静, 王艳, 袁杭, 等. 结核杆菌五种实验室检测方法比较 [J]. *现代检验医学杂志*, 2014, 29(4): 79-82.
Duan J, Wang Y, Yuan H, et al. Comparison of *mycobacterium tuberculosis* in five kinds of laboratory tests [J]. *J Mod Lab Med*, 2014, 29(4): 79-82.
 - [6] 李珊, 刘媛媛, 李宁, 等. 住院艾滋病患者并发巨细胞病毒感染特点分析 [J]. *中国病毒病杂志*, 2015, 5(3): 185-188.
Li S, Liu YY, Li N, et al. Cytomegalovirus infection among hospitalized AIDS patients in Wuhan city of China [J]. *Chin J Viral Dis*, 2015, 5(3): 185-188.
 - [7] 童学成, 陈国春, 濮翔科, 等. 结核感染 T 细胞斑点试验对艾滋病合并肺结核的临床诊断价值 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2014, 24(14): 3632-3634.
Tong XC, Chen GC, Pu XK, et al. Clinical value of T-cell enzyme-linked immunospot test in diagnosis of AIDS complicated with tuberculosis [J]. *Chin J Nosocomiol*, 2014, 24(14): 3632-3634.
 - [8] 陈仁芳, 杨琦恩, 陆宇红, 等. T-SPOT. TB 在艾滋病合并结核感染诊断中的应用 [J]. *江苏医药*, 2014, 40(5): 532-534.
Chen RF, Yang QE, Lu YH, et al. Application of T-SPOT. TB in diagnosis of tuberculosis in AIDS patients in advanced stag [J]. *Jangsu Med J*, 2014, 40(5): 532-534.
 - [9] 中华医学会感染病学分会艾滋病学组. 艾滋病诊疗指南第 3 版 (2015 版) [J]. *中华临床感染病杂志*, 2015, 8(5): 385-401.
AIDS Professional Group, Society of Infectious Diseases, Chinese Medical Association. Third edition of the guidelines for diagnosis and treatment of HIV/AIDS (2015) [J]. *Chin J Clin Infect Dis*, 2015, 8(5): 385-401.

收稿日期: 2016-05-05

修回日期: 2016-06-29

收稿日期: 2016-05-05

修回日期: 2016-06-25