

# T-SPOT. TB, TB-Ab 和 TB-DNA 在肺结核与非结核分枝杆菌肺病鉴别诊断中的价值研究\*

邵吉宝<sup>a</sup>, 王相栋<sup>a</sup>, 夏睿<sup>a</sup>, 邵燕<sup>a</sup>, 徐春华<sup>b</sup>, 严虹<sup>a</sup>

(东南大学医学院附属南京市胸科医院 a. 检验科; b. 呼吸内科, 南京 210029)

**摘要:**目的 探讨结核感染 T 淋巴细胞酶联免疫斑点试验(T-SPOT. TB), 结核抗体(TB-Ab)和结核分枝杆菌脱氧核糖核酸(TB-DNA)在肺结核与非结核分枝杆菌肺病鉴别诊断中的价值。方法 回顾南京市胸科医院 2013 年 3 月~2017 年 4 月收治的肺结核病人 140 例, 非结核分枝杆菌肺病患者 39 例。两组患者均抽血做 T-SPOT. TB, TB-Ab(胶体金法和蛋白芯片法)检测, 培养阳性的标本同时做 TB-DNA 检测。统计四种方法的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、假阳性率、假阴性率、阴性似然比、阳性似然比、诊断符合率和约登指数。结果 T-SPOT. TB 敏感度、诊断符合率显著高于 TB-Ab 和 TB-DNA( $\chi^2=6.91\sim 87.46, P<0.01$ )。T-SPOT. TB 特异度显著高于 TB-Ab( $\chi^2=13.18\sim 24.98, P<0.01$ ), 而与 TB-DNA 差异无统计学意义(Fisher's Exact Test,  $P=0.62>0.05$ )。结论 T-SPOT. TB 检测在肺结核与非结核分枝杆菌肺病鉴别诊断中有很高的敏感度、特异度和诊断符合率, 对两种疾病的鉴别诊断有很大价值。

**关键词:**肺结核; 非结核分枝杆菌肺病; 结核感染 T 细胞斑点试验; 结核抗体; 结核菌脱氧核糖核酸

**中图分类号:** R378.91; R446.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2018)04-104-04

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2018.04.028

## Value of T-SPOT. TB, TB-Ab and TB-DNA in Differential Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis and Nontuberculous Mycobacteria Pulmonary Disease

SHAO Ji-bao<sup>a</sup>, WANG Xiang-dong<sup>a</sup>, XIA Rui<sup>a</sup>, SHAO Yan<sup>a</sup>, XU Chun-hua<sup>b</sup>, YAN Hong<sup>a</sup>

(a. Department of Laboratory Medicine; b. Department of Respiratory Medicine,

Nanjing Chest Hospital, Medical School of Southeast University, Nanjing 210029, China)

**Abstract:** **Objective** To identify and distinguish pulmonary tuberculosis (PTB) mycobacteria infections or non-tuberculous mycobacteria (NTM) pulmonary infections in a fast and accurate way, and evaluated sensitivity, specificity and diagnostic efficiency of T-SPOT. TB, TB-Ab (both colloidal gold method and protein chip method) and TB-DNA. **Methods** 140 pulmonary tuberculosis cases and 39 NTM pulmonary disease cases from March 2013 to April 2017 in Nanjing Chest Hospital were collected. All patients' blood samples were obtained and tested by T-SPOT. TB, TB-Ab. For cases with culture positive result, tested their BALF or sputum by TB-DNA assay. The sensitivity, specificity, positive predictive values, negative predictive values, false-positive rates, false-negative rates, negative likelihood ratios, positive likelihood ratios, diagnostic accordance rates and Youden's index of these four methods in diagnosis of lung tuberculosis and NTM pulmonary disease were calculated. **Results** The sensitivity and diagnostic efficiency of T-SPOT. TB were significantly higher than TB-Ab and TB-DNA ( $\chi^2=6.91\sim 87.46, P<0.05$ ). The specificity of T-SPOT. TB were significantly higher than TB-Ab ( $\chi^2=13.18\sim 24.98, P<0.01$ ), but there was no significant difference in specificity between T-SPOT. TB and TB-DNA (Fisher's Exact Test,  $P=0.62>0.05$ ). **Conclusion** T-SPOT. TB assay showed relatively higher sensitivity and specificity in diagnosis of PTB and NTM pulmonary disease and may provide valuable information in differential diagnosis.

**Keywords:** pulmonary tuberculosis (PTB); nontuberculous mycobacteria pulmonary disease; tuberculosis T lymphocytes enzyme-linked immune SPOT test (T-spot. TB); tuberculosis antibody (TB-Ab); TB-DNA

肺结核(pulmonary tuberculosis, PTB)是由结核分枝杆菌复合群引起的慢性传染性疾病, 其发病率和死亡率都在逐年增加。与此同时, 非结核分枝杆菌(nontuberculous mycobacteria, NTM)肺病发病率也不断增加, 我国 2010 年全国结核病流行病学抽样调查显示结核培养阳性的标本中非结核分

枝杆菌占到 11.1%<sup>[1]</sup>。PTB 与 NTM 肺病在临床特征、影像学表现、病原学检查和组织病理学改变等方面都非常相似, 鉴别诊断相对困难, 临床易误诊。目前临床常用对硝基苯甲酸(4-Nitrobenzoic acid, PNB)选择性培养基法鉴别 PTB 与 NTM<sup>[2]</sup>, 但培养方法耗时长且标本培养阳性率较低, 在两者

\* 作者简介: 邵吉宝(1983—), 男, 在职硕士研究生, 主管技师, 研究方向: 肺结核的实验室诊断, E-mail: 979202335@qq.com。

通讯作者: 严虹, 博士, 副主任技师。

中鉴别诊断价值有限。因此,需要寻找快速准确易于推广的实验室检查方法,是目前亟待解决的问题。近年来大量研究表明,T淋巴细胞酶联免疫斑点试验(tuberculosis T lymphocytes enzyme-linked immune SPOT test, T-SPOT. TB)、结核抗体(myco bacterium tuberculosis antibody, TB-Ab)和结核杆菌脱氧核糖核酸(tuberculosis bacterium deoxyribose nucleic acid, TB-DNA)在结核病的鉴别诊断中具有重要价值。因此,本研究通过对两类患者进行 T-SPOT. TB、TB-Ab(胶体金法和蛋白芯片法)和 TB-DNA 检测,以评价它们在 PTB 和 NTM 肺病鉴别诊断中的价值。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2016 年 4~12 月在南京市胸科医院住院治疗的肺结核患者 140 例,所有患者均通过肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)培养确诊为结核分枝杆菌感染。所有患者年龄为 17~78 岁,平均年龄  $38.4 \pm 16.6$  岁,其中男性 78 例,女性 62 例。同时,选取 2013 年 3 月~2017 年 4 月在南京市胸科医院确诊为 NTM 肺病患者 39 例,所有患者 BALF 或痰培养确诊为非结核分枝杆菌感染。所有患者年龄 36~81 岁,平均年龄  $61.6 \pm 11.0$  岁,其中男性 14 例,女性 25 例。NTM 肺病诊断符合中华医学会结核病学分会 2000 年对非结核分枝杆菌肺病诊断标准<sup>[3]</sup>。

NTM 组和 PTB 组相比,NTM 组病人以中老年人居多,且女性更多见。

1.2 仪器与试剂 T-SPOT. TB 试剂:英国 Oxford Immunoter 公司生产,上海复星科技有限公司提供。TB-Ab IgG/IgM(胶体金法)试剂:北京健乃喜生物技术有限公司。TB-Ab IgG(蛋白芯片法)试剂及 PBT-X4 生物芯片识别仪(南京大渊生物技术有限公司)。荧光定量 PCR(realtime fluorescence quantitative PCR, RTFQ-PCR)仪器为罗氏公司 Roche Light Cycler,试剂购自中山大学达安基因股份有限公司。

1.3 方法 四种方法的操作均严格按照说明书进行。

1.4 统计学分析 以临床诊断为金标准,计算四种方法的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、假阳性率、假阴性率、阴性似然比、阳性似然比、诊断符合率和约登指数。用 SPSS 20.0 软件进行两组间配对  $\chi^2$  检,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。当最小理论频数  $T < 1$  或总频数  $n < 40$ ,用 Fisher's Exact Test,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 四种方法的检测结果

2.1.1 阳性检出率:179 例患者四种方法的阳性检出率分别为 74.3%, 44.7%, 63.7%, 63.1%。见表 1。

表 1 四种方法检测结果

结 果	T-SPOT. TB		TB-Ab(胶体金法)		TB-Ab(蛋白芯片法)		TB-DNA	
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
阳性	130	10	63	77	90	50	112	28
阴性	3	36	17	22	24	15	1	38
合计	133	46	80	99	114	65	113	66

### 2.1.2 四种方法的统计学指标:见表 2。

表 2 四种方法的方法学指标

指 标	T-SPOT. TB	TB-Ab(胶体金法)	TB-Ab(蛋白芯片法)	TB-DNA
敏感度(%)	92.9	45.0	64.3	80.0
特异度(%)	92.3	56.4	38.5	97.4
阳性预测值(%)	97.7	78.8	78.9	99.1
阴性预测值(%)	78.3	22.2	23.1	57.6
假阳性率(%)	7.7	43.6	61.5	2.6
假阴性率(%)	7.1	55.0	35.7	20.0
阴性似然比	0.08	0.96	0.93	0.21
阳性似然比	12.1	1.0	1.1	30.8
诊断符合率(%)	92.7	47.5	58.7	83.8
约登指数	0.85	0.01	0.03	0.77

2.2 四种方法的敏感度、特异度和诊断符合率统计分析 T-SPOT. TB法敏感度显著高于 TB-Ab(胶体金法), TB-Ab(蛋白芯片法)和 TB-DNA( $\chi^2=9.87\sim74.86, P<0.01$ )。T-SPOT. TB法特异度显著高于 TB-Ab(胶体金法), TB-Ab(蛋白芯片法)( $\chi^2=13.18\sim24.98, P<0.01$ ), 而与 TB-DNA 比较差异无统计学意义(Fisher's Exact Test,  $P=0.62>0.05$ )。T-SPOT. TB 诊断符合率显著高于 TB-Ab(胶体金法), TB-Ab(蛋白芯片法)和 TB-DNA, 差异有统计学意义( $\chi^2=6.91\sim87.46, P<0.01$ )。

3 讨论 肺结核是由结核分枝杆菌复合群引起的肺部感染性疾病, 是造成死亡人数最多的单一性传染病。NTM 肺病是由 NTM 复合群感染肺引起的肺组织病变, 易引起中老年人, 特别是老年女性<sup>[4,5]</sup>及原有慢性肺部基础疾病及免疫力低下人群发病。NTM 肺病对常用的抗结核药均有耐药性且易引起院内感染, 需引起重视。目前鉴别 PTB 与 NTM 肺病金标准是依靠实验室对培养的分枝杆菌菌种进行鉴定。常用的方法是在对硝基苯甲酸(PNB)培养基进行培养鉴别(结核分枝杆菌不能生长而 NTM 可以生长)。但该方法前提是标本必须培养出分枝杆菌, 而且培养周期很长, 很难满足临床需求。其他的方法包括抗酸杆菌培养阳性的液体培养基中的 MPB64 抗原检测、HPLC 检测细胞壁分枝杆菌菌酸、同源基因序列比较鉴定、分子生物学检测<sup>[6]</sup>等。但这些方法技术复杂、设备昂贵, 不适合一般医院常规检测。而用细胞免疫及体液免疫相关方法来鉴别 PTB 与 NTM 肺病还不多见。

细胞介导免疫反应是抗结核分枝杆菌感染的重要机制。因此可以用 ESAT-6, CFP-10 刺激被结核杆菌抗原致敏的 T 细胞并使之活化, 活化的 T 细胞( $CD4^+$ , 部分  $CD8^+$ )会产生  $\gamma$ -干扰素, 通过  $\gamma$ -干扰素检测来判断机体是否被结核分枝杆菌感染, 这是 T-SPOT. TB 的检测原理。ESAT-6, CFP-10 在所有卡介苗及绝大部分环境分枝杆菌中缺失, 这就保证了 T-SPOT. TB 的高特异度<sup>[7]</sup>。同时, 酶联免疫技术保证了 T-SPOT. TB 的高敏感度。本研究显示在 PTB 与 NTM 肺病的诊断中, T-SPOT. TB 的敏感度、特异度、诊断符合率分别为 92.9%, 92.3%, 92.7%, 这与国内文献报道一致<sup>[8~10]</sup>。在本研究中, TB-DNA 仅检测了培养阳性的 BALF 或痰标本, 而有研究显示 TB-DNA 在所有肺结核患者 BALF 或痰中敏感度、特异度及诊断符合率为 46.1%, 98.4% 和 51.6%<sup>[11]</sup>。而 T-SPOT. TB 在涂片阳性、涂片阴性肺结核患者中敏感度、特异度及诊断符合率无显著差异<sup>[12]</sup>。故对

整体患者而言, T-SPOT. TB 有最好的敏感度、特异度和诊断符合率。在本研究中 PTB 组仍有少数患者 T-SPOT. TB 为阴性, 可能有以下几种情况: ①免疫系统功能不全的疾病如 HIV 患者, 免疫抑制剂使用患者等; ②标本获取时间在细胞免疫发生前; ③前期进行抗结核治疗可使效应细胞消失; ④实验非正常操作引起。在 NTM 肺病组出现假阳性, 可见于: ① NTM 病原菌为堪萨斯分枝杆菌(*M. kansasii*)、海分枝杆菌(*M. marinum*)、苏尔加分枝杆菌(*M. szulgai*)和戈登分枝杆菌(*M. goodii*); ②体内有残存的结核特异性效应 T 细胞, 但其在体内存活期很短, 一般在病原菌消灭后即消失。本研究中 NTM 肺病组中有一例 T-SPOT. TB 为阳性的患者, 其 2015 年 5 月诊断为 PTB 并进行规范化治疗, 2016 年 3 月入院并诊断为 NTM 肺病。此患者 T-SPOT. TB 检测值较低, 紧邻 CUT-OFF 值, 其阳性结果可能是体内残留有致敏 T 细胞引起。

研究表明, TB-Ab 检测的敏感度、特异度及诊断符合率最低。阳性仅表示检测者感染过结核杆菌, 不一定发病。我国城市居民结核感染率近六成, 且普遍接种过卡介苗, 易导致假阳性。而在感染早期或免疫低下患者可出现假阴性。同时, TB-Ab 检测所用的抗原为结核分枝杆菌和 NTM 共有成分或有交叉的成分, 因此该方法对两种疾病的鉴别诊断意义不大。

综上所述, T-SPOT. TB 相较于 TB-Ab(胶体金法), TB-Ab(蛋白芯片法)和 TB-DNA 在 PTB 与 NTM 肺病鉴别诊断中有很高的敏感度、特异度和诊断符合率, 而且 T-SPOT. TB 可以早期诊断并且快速无创, 值得在临床推广。

#### 参考文献:

- [1] 全国结核病流行病学抽样调查技术指导组. 第四次全国结核病流行病学抽样调查报告[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2002, 25(1): 3-7.  
Report on fourth national epidemiological sampling survey of tuberculosis. National Technic Steering Group of the Epidemiological Sampling Survey for Tuberculosis[J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2002, 25(1): 3-7.
- [2] 李国利, 张灵霞, 陈 澎. 对硝基苯甲酸生长试验鉴别结核与非结核分枝杆菌应用评价[J]. 临床肺科杂志, 2009, 14(12): 1648-1649.  
Li GL, Zhang LX, Chen P. The evaluation of p-aminobenzoic acid growth assay for distinguishing mycobacterium tuberculosis complex from nontuberculous mycobacteria[J]. Journal of Clinical Pulmonary Medicine, 2009, 14(12): 1648-1649. (下转 111 页)

- [3] 中华医学会结核病学分会. 非结核分枝杆菌病诊断与处理指南[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2000, 23(11): 650-653.  
Chinese Society for Tuberculosis, Chinese Medical Association. Guidelines for the diagnosis and treatment of non tuberculous *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2000, 23(11): 650-653.
- [4] Prince DS, Peterson DD, Steiner RM, et al. Infection with *Mycobacterium avium* complex in patients without predisposing conditions[J]. New Engl and Journal of Medicine, 1989, 321(13): 863-868.
- [5] 马 均, 王 敬. 重视非结核分枝杆菌肺病与肺结核的鉴别[J]. 临床肺科杂志, 2010, 15(3): 301-302.  
Ma Y, Wang J. Identification of non tuberculosis *Mycobacterium tuberculosis* and pulmonary tuberculosis [J]. Journal of Clinical Pulmonary Medicine, 2010, 15(3): 301-302.
- [6] 中华医学会结核病学分会. 非结核分枝杆菌病实验室诊断专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39(6): 438-443.  
Chinese Society for Tuberculosis Chinese Medical Association. Expert consensus on laboratory diagnosis of non tuberculous *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2016, 39(6): 438-443.
- [7] Zhong L, Zhou XL, Li J, et al. The T-SPOT. TB test for diagnosis of breast tuberculosis [J]. Laboratory Medicine, 2015, 46(1): 14-19.
- [8] 姚雨濛, 潘 珏, 高晓东, 等. T 细胞斑点试验对活动性结核与非结核分枝杆菌感染的鉴别诊断价值[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(12): 2683-2685, 2690.  
Yao YM, Pan Y, Gao XD, et al. Evaluation of T-SPOT. TB test in differential diagnosis between active tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease [J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2017, 27(12): 2683-2685, 2690.
- [9] 施瑞洁, 刘文康, 范 云, 等. T-SPOT. TB 在肺结核早期诊断中的应用研究[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(2): 60-63.  
Shi RJ, Liu WK, Fan Y, et al. Application of T-SPOT. TB in the early diagnosis of tuberculosis [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(2): 60-63.
- [10] 王铁山, 齐墨词. 比较四种实验室辅助检查方法在肺结核诊断中的应用价值[J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(1): 134-137.  
Wang TS, Qi MC. A comparative study on four methods in the diagnosis of tuberculosis [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2016, 31(1): 134-137.
- [11] 李春梅, 邵吉宝, 董慧霞, 等. 1 085 份痰和支气管肺泡灌洗液标本结核杆菌培养结果的对比分析[J]. 临床肺科杂志, 2017, 22(12): 2230-2232.  
Li CM, Shao JB, Dong HX, et al. Comparative analysis of culture results of *Mycobacterium tuberculosis* in 1 085 sputum and bronchoalveolar lavage fluid [J]. Journal of Clinical Pulmonary Medicine, 2017, 22(12): 2230-2232.
- [12] 张玉平, 丁显平, 张丽媛, 等. T-SPOT. TB, 痰涂片和 TB-DNA 检测在肺结核诊断中的比较研究[J]. 成都医学院学报, 2013, 8(1): 49-51.  
Zhang YP, Ding XP, Zhang LY, et al. Comparative research of T-SPOT. TB, sputum smear and TB-DNA test in the diagnosis of tuberculosis [J]. Journal of Chengdu Medical College, 2013, 8(1): 49-51.

收稿日期: 2017-12-21

修回日期: 2018-07-05