

# 影响 TB-IGRA 检测结果的因素分析及应对措施\*

吴晓康,周维肖,冯楠,张毅,雷珂,李丽华,刘泽世,许楠,耿燕  
(西安交通大学第二附属医院检验科,西安 710004)

**摘要:**目的 分析影响结核分枝杆菌特异性细胞免疫反应(TB-IGRA)检测结果的各种因素。方法 采用国产试剂盒及方法,选择临床标本进行实验分析和比较,获得各影响因素结果。结果 人员操作、机体免疫、药物等方面的因素,均会对 TB-IGRA 检测结果产生影响。结论 TB-IGRA 检测受多种因素影响,规范操作和全面分析原因可提高检测准确性。

**关键词:**结核分枝杆菌;特异性细胞免疫反应;影响因素

中图分类号:R378.911;R446 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2018)04-154-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2018.04.043

## Analysis of Factors Influencing TB-IGRA Detection Results and Solutions

WU Xiao-kang, ZHOU Wei-xiao, FENG Nan, ZHANG Yi, LEI Ke, LI Li-hua,

LIU Ze-shi, XU Nan, GENG Yan (Department of Clinical Laboratory,

the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China)

**Abstract:** **Objective** To analyze the influence of various factors on TB-IGRA detection results. **Methods** Clinical specimens were selected for experimental analysis and comparison with domestic kits to obtain the results of influencing factors. **Results** TB-IGRA detection results were influenced by the factors such as personnel operation, immunity, and drugs, etc. **Conclusion** There were a variety of influencing factors on TB-IGRA detection. Thus, standard operation and comprehensive analysis of the causes can be used to improve the detection accuracy.

**Keywords:** *M. tuberculosis*; specific cellular immune response; influencing factor

结核分枝杆菌(*M. tuberculosis*),简称结核杆菌,是引起结核病的病原菌。可侵犯全身各器官,但以肺结核为最多见。结核病至今仍为重要的传染病。据 WHO 估计,2016 年全球结核病新发病例数为 1 040 万例,170 万人因该病死亡<sup>[1]</sup>。近年来,因免疫抑制剂的应用、艾滋病、吸毒和贫困等原因,发病率呈上升趋势。

目前,结核分枝杆菌的实验室诊断方法有涂片抗酸染色镜检法、结核杆菌血清抗体检测、结核杆菌蛋白芯片法、结核感染 T 淋巴细胞斑点试验(T-SPOT)、结核杆菌核酸检测等。其中,以 T-SPOT 为代表的结核分枝杆菌特异性细胞免疫反应检测方法在特异度、敏感度等方面优于其他方法,对结核分枝杆菌的诊断起到积极的作用,现已广泛运用于临床实验室。然而,实验前、中、后的一些因素会对结果和临床诊断产生重要影响,此方面研究报道较少。本文依据国产品牌万泰凯瑞的“结核分枝杆菌特异性细胞免疫反应检测(TB-IGRA)试剂盒”及方法,分析其影响检测结果的各种因素,并提出应对措施以助于提高其检测的准确性和可靠性。

### 1 技术操作因素

1.1 溶血 标本溶血对本试验影响较大。笔者对同一患者溶血样本与重新抽血未发生溶血样本进行了比较,发现结果显著不同,以 3 份患者样本为例,见表 1。

表 1 溶血对样本检测的影响

| 标本 | 样本状态 | N    | T     | P        | T-N   | 结果判定  |
|----|------|------|-------|----------|-------|-------|
| 1  | 溶血   | 1.75 | 1.87  | 240.29   | 0.12  | 阴性(-) |
|    | 正常   | 1.47 | 27.78 | 2 590.43 | 26.31 | 阳性(+) |
| 2  | 溶血   | 1.35 | 1.6   | 64.1     | 0.25  | 阴性(-) |
|    | 正常   | 7.62 | 54.32 | >5 000   | 46.7  | 阳性(+) |
| 3  | 溶血   | 73.2 | 74.79 | 165.3    | 1.59  | 阴性(-) |
|    | 正常   | 4.46 | 30.33 | >5 000   | 25.87 | 阳性(+) |

注: N: 阴性对照管值, T: 样本检测管值, P: 阳性对照管值。

标本溶血后,影响抗原刺激特异性淋巴细胞活化及分泌干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )减少,造成检测数值的假性降低;另外,血红细胞内含量较高的物质进入血清,可干扰测定中的反应过程及比色。溶血原因分为体外溶血和体内溶血,体外溶血常见:不规范

\* 作者简介:吴晓康(1977—),男,博士,副主任技师,研究方向:感染性疾病的分子诊断,E-mail:wxx111506@sohu.com。

的静脉采血<sup>[2]</sup>、过度摇晃或振荡力量过大、样本置于高温或者低温环境、不合适的离心速度和时间、样本分离前放置时间过久等。体内溶血常见:自身免疫性贫血、药物反应、重度感染、血管内播散性凝血、输液反应、心脏瓣膜和 HELLP(溶血、肝酶升高和血小板减少)综合症等。应对措施:建议采用美国 BD 公司肝素抗凝真空采血管,规范的采血操作、混匀时动作轻柔、速度放慢。

1.2 样本量不足 本试验所需样本量在 4 ml 以上,临床科室采血量不足时,给后续上机检测造成检测量不足的影响。应对措施:首先和临床科室积极沟通,重新采集血样。但时常会遇见依从性不好的患者,这时拿原样本检测时,应尽量保证阴性对照管(N管)、检测管(T管)的所需量。

1.3 分装污染 采集静脉血后,需在 2 h 内分装到阴性对照管(N管)、检测管(T管)、阳性对照管(P管)中进行孵育培养,此步操作一般建议是按照 N,T,P 管顺序分装全血,其原因是不同培养管中试剂不同,此顺序减少分装过程中沾上培养管中试剂而污染下一管。同时,需要注意在分装前,最好将空置的培养管短时离心一下,将黏附在管盖上的试剂离心到底部,以减少开盖一瞬间管中液体溅出。

1.4 孵育的温度和时间 全血分装 N,T,P 三管后,需要及时放入 37℃ 温箱培养 22±2 h,此步是 TB-IGRA 检测最关键环节。本研究比较了孵育低温(<25℃)和高温(>39℃)对检测结果的影响,结果显示孵育温度过低或过高都会对检测结果产生显著影响,见表 2。

表 2 温度对样本检测的影响

| 标本 | 温度放置 | N    | T        | P        | T-N     | 结果判定  |
|----|------|------|----------|----------|---------|-------|
| 1  | 低温   | 4.05 | 16.96    | 1 947.48 | 12.91   | 阴性(-) |
|    | 37℃  | 1.52 | 3 695.22 | >5 000   | 3 693.7 | 阳性(+) |
| 2  | 低温   | 9.93 | 17.18    | 1 585.19 | 7.25    | 阴性(-) |
|    | 37℃  | 18.5 | 87.77    | >5 000   | 69.27   | 阳性(+) |
| 3  | 低温   | 3.64 | 10.02    | 2 479.22 | 6.38    | 阴性(-) |
|    | 37℃  | 7.51 | 191.76   | >5 000   | 184.25  | 阳性(+) |
| 4  | 高温   | 0.1  | 1.68     | 257.01   | 1.58    | 阴性(-) |
|    | 37℃  | 1.37 | 16.54    | >5 000   | 15.17   | 阳性(+) |
| 5  | 高温   | 2.33 | 3.58     | 93.14    | 1.25    | 阴性(-) |
|    | 37℃  | 5.39 | 72.54    | >5 000   | 67.15   | 阳性(+) |
| 6  | 高温   | 1.22 | 1.69     | 51.3     | 0.47    | 阴性(-) |
|    | 37℃  | 2.08 | 95.48    | >5 000   | 93.4    | 阳性(+) |

分析其原因低温使得特异性抗原未能很好活化 T 淋巴细胞,从而影响  $\gamma$ -干扰素的产生;而温度过高,可以直接造成孵育过程中的溶血。

在检测管(T管)中,选用了致病性结核分枝杆菌特异性刺激抗原片段(卡介苗、其他分枝杆菌没有)与全血孵育,如果此患者感染过结核分枝杆菌,体内存在针对这些抗原的特异性 T 淋巴细胞,抗原即会被识别和递呈,刺激特异性 T 淋巴细胞增殖、释放细胞因子  $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ ),通过检测  $\gamma$ -干扰素来反映结核分枝杆菌是否感染。因而,此检测等同于体内一次免疫应答过程,因而对反应的温度要求较高,应保证 37℃。

2 机体免疫因素 本实验原理是依赖于特异性 T 淋巴细胞在结核抗原片段刺激下产生细胞因子(IFN- $\gamma$ )的检测,患者的免疫状态如 T 淋巴细胞的数量和功能活性,就对结果产生重要影响。实验中为排除假阴性结果,设置阳性对照管,多数免疫功能正常的人群其阳性对照管(P管)值往往大于 5 000,若患者患有慢性疾病或免疫力低下,其阳性对照管(P管)检测数值往往偏低,可低至几十或者几百。应对措施:发现结果异常时,及时与临床沟通了解患者病情,待患者免疫功能恢复后复查,或者结合其他结核杆菌检测方法进行诊断<sup>[3]</sup>。笔者在检测中发现 P 管值低者,患者多为慢性髓系白血病、肺部肿瘤、老年慢性支气管炎等疾病,同期血细胞检测结果显示淋巴细胞或细胞因子数值降低。

3 药物等其他因素 免疫抑制剂在临床上已经被广泛使用,如器官移植术后、血液性疾病、自身免疫性疾病等,此类患者并发结核分枝杆菌感染,检测结果会受到影响。多数抗肿瘤的化疗药物具有骨髓抑制或免疫抑制的作用,造成淋巴细胞基础水平降低,而影响 TB-IGRA 检测<sup>[4]</sup>。其他,影响到机体产生  $\gamma$ -干扰素分泌的因素,理论上都会影响到该检测,如服用糖皮质激素后引起  $\gamma$ -干扰素分泌增加,结果偏高。

综上所述, TB-IGRA 检测基于特异性细胞免疫反应,具有高灵敏度,可用于潜伏感染的检测,有效提高早期感染检出的能力;采用结核分枝杆菌特异性抗原,排除卡介苗干扰,提高特异度,同时可鉴别非结核分枝杆菌肺部感染与肺结核,该方法具有明显的优势。因此,对影响检测结果各种因素的分析,有助于提高检测的准确性和可靠性,更好地为结核病诊断服务。

#### 参考文献:

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2016 [EB/OL]. <http://www.who.int/iris/handle/10665/250441>, 2016.
- [2] 谢锦奎,陈少清,曾晓清. 外周静脉血标本溶血的原因分析及研究[J]. 中国卫生标准管理, 2017, 8(23): 143-145.

- Xie JL, Chen SQ, Zeng XQ. Cause analysis and study on hemolysis in peripheral venous blood samples[J]. China Health Standard Management, 2017, 23(8): 143-145.
- [3] 可春梅, 秦东春. 肺结核患者 TB-IGRA 结果及影响因素分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2016, 16(38): 125-126, 130.
- Ke CM, Qin DC. Analysis of TB-IGRA results and influencing factors in patients with pulmonary tuberculosis[J]. World Latest Medicine Information, 2016, 16(38): 125-126, 130.
- [4] 周际昌. 实用肿瘤内科治疗[M]. 2版. 北京: 北京科学技术出版社, 2016.
- Zhou JC. Practice medical oncology treatment[M]. 2th Ed. Beijing: Beijing Science and Technology Press, 2016.
- 收稿日期: 2018-05-25  
修回日期: 2018-06-20

(上接 153 页)

表 6 结果度量质量指标

| 编 码         | 质量指标(%)           | 优先顺序 |
|-------------|-------------------|------|
| 标本重新采集      |                   |      |
| Out-RecOutp | 门诊重新采集的标本数/门诊标本总数 | 1    |
| Out-RecInp  | 住院重新采集的标本数/住院标本总数 | 1    |
| 不准确的结果      |                   |      |
| Out-InacR   | 发布的不准确结果数/发布的结果总数 | 1    |

#### 参考文献:

- [1] Sandberg S, Fraser CG, Horvath AR, et al. Defining analytical performance specifications: Consensus Statement from the 1st Strategic Conference of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine[J]. Clin Chem Lab Med, 2015, 53(6): 833-835.
- [2] 张 路, 王 薇, 王治国. 临床检验前和检验后阶段的管理[J]. 中国医院管理, 2015, 35(8): 34-36.
- Zhang L, Wang W, Wang ZG. Management of the pre-and post-analytical phases of the clinical laboratory[J]. Chinese Hospital Management, 2015, 35(8): 34-36.
- [3] International Organization for Standardization. ISO 15189: 2012, Medical Laboratories; Requirements for Quality and Competence[S]. Geneva (Switzerland): International Organization for Standardization, 2013.
- [4] Sciacovelli L, Aita A, Padoan A, et al. Performance criteria and quality indicators for the post-analytical phase[J]. Clin Chem Lab Med, 2016, 54(7): 1169-1176.
- [5] Kemp GM, Bird CE, Barth JH. Short-term interventions on wards fail to reduce preanalytical errors: results of two prospective controlled trials[J]. Ann Clin Biochem, 2012, 49(Pt2): 166-169.
- [6] 张诗诗, 费 阳, 王 薇, 等. 临床检验后阶段质量指标及其质量规范[J]. 中国医院管理, 2017, 37(1): 46-49.
- Zhang SS, Fei Y, Wang W, et al. Quality indicators and quality specifications for the clinical post-testing phase[J]. Chinese Hospital Management, 2017, 37(1): 46-49.
- [7] Plebani M. Harmonization in laboratory medicine: requests, samples, measurements and reports[J]. Crit Rev Clin Lab Sci, 2016, 53(3): 184-196.
- [8] Clinical and Laboratory Standards and Institute. Quality management system: continual improved[S]. Approved Uideline Third Edition, Wayne: PA, CLSI QMS06-A3, 2001.
- [9] International Organization for Standardization. ISO/PDTS 22367, Medical laboratories; reducing error through risk management and continual improvement[S]. Geneva: Switzerland, International Organization for Standardization, 2008.
- [10] Plebani M, Astion ML, Barth JH, et al. Harmonization of quality indicators in laboratory medicine. A preliminary consensus [J]. Clin Chem Lab Med, 2014, 52(7): 951-958.
- 收稿日期: 2018-02-26  
修回日期: 2018-03-17