

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.11.014

## 干扰素释放试验在 AIDS 合并结核感染患者中的诊断价值\*

赵磊, 薛剑, 杜君晓, 王瑜玲, 王伟

(石家庄市第五医院结核科/石家庄市结核病防治研究所, 河北石家庄 050000)

**[摘要]** **目的** 评价 4 种诊断方法对人获得性免疫缺陷综合征(AIDS)合并结核病(TB)患者的诊断价值。**方法** 将 52 例人类免疫缺陷病毒(HIV)感染合并 TB 患者作为观察组, 100 例未感染 HIV 的 TB 患者为对照组, 对两组患者进行结核菌素(PPD)试验、痰结核菌培养、结核抗体和  $\gamma$  干扰素释放试验(IGRA)进行诊断。**结果** 对照组患者 PPD 试验、痰结核菌培养和结核抗体阳性率明显高于观察组患者, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ); 而 IGRA 阳性率两组比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 观察组 IGRA 阳性率明显高于 PPD 试验、痰结核菌培养和结核抗体阳性率, 均差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。抗逆转录病毒治疗观察组患者 IGRA 阴性发生率明显高于阳性率, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** IGRA 是诊断 HIV 感染合并 TB 的敏感方法, 而抗逆转录病毒治疗可能对结果有一定的影响。

**[关键词]** 获得性免疫缺陷综合征; HIV; 结核;  $\gamma$  干扰素释放试验

**[中图分类号]** R521

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2015)11-1484-03

Diagnostic value of interferon- $\gamma$  release test in acquired immune deficiency syndrome complicating tuberculosis infection\*

Zhao Lei, Xue Jian, Du Junxiao, Wang Yuling, Wang Wei

(Department of Phymatiosis, Shijiazhuang Municipal Fifth Hospital/Shijiazhuang Municipal Institute for Tuberculosis Control, Shijiazhuang, Hebei 050000, China)

**[Abstract]** **Objective** To evaluate the value of the four kinds of diagnostic method in acquired immune deficiency syndrome (AIDS) infection complicating tuberculosis (TB). **Methods** 52 cases of human immunodeficiency virus (HIV) infection complicating TB were taken as the observation group and 100 cases of TB without complicating HIV infection were taken as the control group. The two groups were performed the PPD test, sputum Mycobacterium tuberculosis culture, tuberculosis antibody and interferon gamma release assay (IGRA) for conducting the diagnosis. **Results** The positive rate of the PPD test, sputum Mycobacterium tuberculosis culture and tuberculosis antibody in the control group were significantly higher than those in the observation group, the differences were statistically significant ( $P < 0.01$ ); the positive rate of the IGRA in the observation group was obviously higher than that of the PPD test, sputum Mycobacterium tuberculosis culture and tuberculosis antibody, the differences had statistical significance ( $P < 0.01$ ). The negative occurrence rate of the IGRA in the observation group treated by the antiretroviral therapy was obviously higher than the positive rate, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The IGRA may be a sensitive method for diagnosing HIV infection complicating TB and the antiretroviral therapy may have a certain impact on the results.

**[Key words]** acquired immunodeficiency syndrome; HIV; tuberculosis; interferon gamma release assay

结核病(tuberculosis, TB)是全球范围内主要的传染病之一, 有研究显示, 全世界 60 亿人口中大约有 20 亿人口感染结核杆菌, 并且每年新增 TB 患者 800 万至 1 000 万, TB 再次成为危害人类健康和生命安全的主要疾病之一<sup>[1-2]</sup>。研究显示, 人感染人免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)后, TB 的发病率增高 30%~50%, 根据 WHO 的研究显示, TB 是导致获得性免疫缺陷综合征(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)患者死亡的首要原因, 大约有 25% 的 AIDS 患者死亡原因是 TB<sup>[3]</sup>, 其中 2010 年新增 110 万例 HIV/TB 患者, 当年有 35 万 HIV 感染患者死于 TB, 并且 HIV/TB 双重感染的数量与日俱增, 研究一种适用于 HIV 感染合并 TB 的诊断方法已迫在眉睫, 为此本研究对 4 种 TB 诊断方法在 HIV 感染合并 TB 患者中的诊断价值进行分析, 现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2010 年 1 月至 2013 年 9 月在石家庄市

第五医院诊治的 HIV 感染合并 TB 患者 52 例(观察组), 其中男 34 例, 女 18 例, 平均年龄(34.23±11.32)岁。52 例患者均经过 HIV 确认试验(Western blot 免疫印迹法)2 次确定为阳性, 其中 T 淋巴细胞亚群 CD4<sup>+</sup> ≥ 200 mm<sup>3</sup> 41 例, CD4<sup>+</sup> < 200 mm<sup>3</sup> 11 例; 无症状期 42 例, 艾滋病期 10 例。选取同期在本院住院治疗的 TB 患者 100 例为对照组, 男 65 例, 女 35 例, 平均年龄(36.34±14.32)岁。两组患者均符合 TB 的诊断标准, 且均排除急性病毒感染, 严重肝、肾衰竭等病史。两组患者年龄、性别比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 具有可比性。

## 1.2 方法

**1.2.1 结核菌素(PPD)试验及痰结核杆菌培养** PPD 试验: 在前臂内侧注射 PPD 5 个单位, 72 h 测量其硬结大小。痰结核杆菌培养: 患者入院后连续 3 d 取清晨痰, 由本院细菌室经验丰富的检验科医师进行培养检查。

**1.2.2 血清结核抗体检测** 采用结核分枝杆菌抗体检测试剂

\* 基金项目: 石家庄科学技术研究与发展计划基金项目(121461833); 河北省科技技术研究与发展计划项目(12277746)。 作者简介: 赵磊(1982—), 主治医师, 硕士研究生, 主要从事结核病的诊断与治疗研究。

盒(上海凯士佰科技有限公司提供)进行分析,具体步骤及判断方法严格按照说明书进行操作。

**1.2.3  $\gamma$  干扰素释放试验(interferon gamma release assay, IGRA)方法** (1)血样采集:两组患者于入院次日清晨抽取空腹静脉血 3 mL,置于真空肝素抗凝管中。(2)刺激采血后 6 h 内在生物安全柜内将静脉血加入 24 孔培养板内(1 mL/孔),共 5 孔,每孔依次加入植物血凝素(phytohemagglutinin, PHA)、培养滤过蛋白-10(culture filtrate protein, CFP-10)、早期分泌抗原靶-6(early secretory antigenic target, ESAT-6)、ESAT-6/CFP-10 融合抗原和生理盐水,所有操作均按生产供应商要求进行。(3)孵育于 5%CO<sub>2</sub>, 37 °C 细胞培养箱孵育过夜 16~22 h。(4)每孔收集血浆至少 300  $\mu$ L,于 -20 °C 保存不超过 28 d。(5)采用海口维瓊瑗生物研究院生产的 IFN- $\gamma$  检测试剂盒检测,严格按照试剂盒要求进行操作。结果判定:当 N<0.5 IU/mL 时,(T-N)/(P-N)  $\geq$  0.06 时判为阳性,否则为阴性;当 N $\geq$ 0.5 IU/mL 时,(T-N)/(P-N)  $\geq$  0.85 时判为阳性,否则为阴性。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析,计数资料采用  $\chi^2$  检验,以 P<0.05 视为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 4 种诊断方法阳性率观察** 对照组 PPD 实验、痰结核菌培养和结核抗体检测阳性率明显高于观察组(P<0.01);而 IGRA 阳性率两组比较,差异无统计学意义(P>0.05);观察组 IGRA 阳性明显高于 PPD 实验、痰结核菌培养和结核分枝杆菌抗原阳性率,均差异有统计学意义(P<0.01),见表 1。

表 1 不同诊断方法阳性率比较[n(%)]

诊断方法	n	PPD 试验	痰结核杆菌培养	结核抗体	IFN- $\gamma$ 释放试验
观察组	52	4(7.69)	3(5.77)	10(19.23)	42(80.77)
对照组	100	62(62.00)	67(67.00)	56(56.00)	92(92.00)
$\chi^2$		41.70	51.63	8.21	0.27
P		<0.01	<0.01	<0.01	>0.05

**2.2 影响 IGRA 阳性率相关因素分析** 不同性别、感染方式及 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞计数在 HIV 感染合并 TB 患者的 IGRA 阳性率比较,差异无统计学意义(P>0.05),而经过抗逆转录病毒治疗 HIV 感染合并 TB 患者 IGRA 阴性发生率明显高于阳性率(P<0.05),见表 2。

表 2 影响 IGRA 阳性率相关因素调查

项目	阳性组 (n=42)	阴性组 (n=10)	$\chi^2$	P
性别			2.27	>0.05
男性	30(71.43)	4(40.00)		
女性	12(28.57)	6(60.00)		
感染方式			0.38	>0.05
异性接触	6(14.29)	1(10.00)		
同性接触	18(42.86)	5(50.00)		
注射及血液接触	11(26.19)	2(20.00)		
其他及不明确	7(26.19)	2(20.00)		

续表 2 影响 IGRA 阳性率相关因素调查

项目	阳性组 (n=42)	阴性组 (n=10)	$\chi^2$	P
CD4 <sup>+</sup> T 淋巴细胞计数			0.11	>0.05
<200 mm <sup>3</sup>	9(21.43)	2(20.00)		
$\geq$ 200 mm <sup>3</sup>	33(78.57)	8(80.00)		
是否经过抗逆转录病毒治疗			4.33	<0.05
是	12(28.57)	7(70.00)		
否	30(71.43)	3(30.00)		

**3 讨 论**

TB 是一种严重危害人类身体健康的传染性疾病,并且 21 世纪以来全球范围内 TB 的死灰复燃趋势<sup>[4-5]</sup>。中国是全球 TB 高负担国家之一,以往的流行病学调查中国已有 1/3 以上的人口感染了结核菌,其中活动性肺 TB 患者 450 万,每年死于 TB 的患者约有 25 万,是其他各类传染性疾病死亡人数总和的 2 倍<sup>[6]</sup>。而且, HIV 感染逐渐由高危人群向普通人群播散, HIV 的感染呈现持续增加的趋势。人体感染 HIV 后, HIV 主要攻击人的 CD4<sup>+</sup>T 细胞,从而导致机体免疫功能受损,是导致结核菌感染发展成为活动性结核患者最重要的危险因素<sup>[7]</sup>,并且相对于非 HIV 感染的 TB 患者, HIV 感染合并 TB 的诊断和治疗更为困难,并且 HIV 感染合并 TB 因为机体免疫功能受损导致 TB 扩散较为迅速<sup>[8]</sup>,患者随时有生命危险,因此及时诊断并控制 TB 对 HIV 感染患者提高生存率至关重要。但 HIV 感染合并 TB, PPD 试验的假阴性、影像学结核病灶表现不典型,因此,寻找一种敏感的检测方法具有重要的临床价值和社会意义。

本研究采用 PPD 试验、痰结核菌培养、结核抗体及 IGRA 对 HIV 感染合并 TB 患者进行分析,结果显示, PPD 试验、痰结核菌培养、结核抗体在单纯 TB 患者中的阳性率明显高于 HIV 感染合并 TB 患者,而 IGRA 的阳性率两组比较差异无统计学意义(P>0.05),说明 IGRA 在 HIV 感染合并 TB 的诊断中具有重要的辅助诊断价值。这可能是因为传统的诊断 TB 方法有痰结核菌培养、PPD 试验、结核抗体等检测方法在检测 HIV 感染合并 TB 中均存在不同的局限性。痰结核菌培养:培养周期较长,培养基 2~3 周末见结核杆菌,则需观察至 45 d 才能出最后结果<sup>[9]</sup>,会延误临床诊断,并且影响培养阳性率的因素较多,培养阳性率相对于 IGRA 较低。由于中国大面积接种卡介苗导致 PPD 试验存在假阳性,且对于 HIV 感染合并 TB 患者属于免疫低下人群,假阴性率较大<sup>[10-11]</sup>,郑素华等<sup>[12]</sup>对 HIV 感染合并 TB 患者研究发现,当患者 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞小于 200 mm<sup>3</sup> 时, PPD 试验无反应,因此此方法只能作为 TB 的辅助诊断。结核抗原常规检测方法较复杂,并且也受到免疫力的影响,导致 HIV 合并 TB 患者阳性率同样低下。IGRA 其原理是 TB 患者体内存在特异的效应 T 淋巴细胞,当在体外再次受到结核杆菌特异抗原(ESAT-6 与 CFP-10)的刺激时,会分泌释放 IFN- $\gamma$ ,因此,通过检测 IFN- $\gamma$  的水平可以判断机体是否存在结核感染<sup>[13]</sup>。Mori 等<sup>[14]</sup>进行的大模多中心实验显示, IGRA 在针对 TB 中敏感性为 89.0%, 特异性为 98.1%, 本研究 IGRA 显示,对于 HIV 感染合并 TB 的敏感性 80.77%, 较对照组有所下降,这可能是因为 IFN- $\gamma$  主要由 CD4<sup>+</sup>T 细胞

分泌产生, HIV 感染后导致 CD4<sup>+</sup> T 细胞下降, 然而 CD8<sup>+</sup> T 细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞也可以少量分泌 IFN- $\gamma$ , 从而导致该试验受 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的影响并不十分明显<sup>[13]</sup>, 因此本研究认为可以应用于 HIV 感染合并 TB 的诊断中。

为了分析导致 HIV 感染合并 TB 患者 IGRA 出现假阴性的因素, 本研究对 HIV 感染合并 TB 患者 IGRA 阳性和阴性的相关资料进行了对比分析, 结果显示性别、感染方式及 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞计数对于 IGRA 结果影响并不明显, 而经过抗逆转录病毒治疗 HIV 感染合并 TB 患者 IGRA 阴性发生率较高, 这一结果可能是因为本研究样本量较小有关, 也可能是因为经过抗逆转录病毒治疗对机体的免疫功能有影响, 有待进一步研究。

综上所述, 本研究认为 IGRA 在诊断 HIV 感染合并 TB 患者中敏感度较高, 值得临床推广应用, 但是本研究存在因为病例资源有限, 样本量过少的局限性, 导致结果难免存在偏差, 因为本研究将进一步扩大样本量进行研究。

#### 参考文献

[1] Sails AD, Barrett A, Sarginson S, et al. Molecular epidemiology of Mycobacterium tuberculosis in East Lancashire 2001-2009[J]. Thorax, 2011, 66(8): 709-713.

[2] Fortún J, Martín-Dávila P, Navas E, et al. Changes in the epidemiology of tuberculosis; the influence of international migration flows[J]. Enferm Infect Microbiol Clin, 2011, 29(9): 654-659.

[3] Lawn SD, Bekker LG, Wood R. How effectively does HAART restore immune responses to Mycobacterium tuberculosis? Implications for tuberculosis control[J]. AIDS, 2005, 19(11): 1113-1124.

[4] 韦海旭, 席薇莲, 陆利欢, 等.  $\gamma$ -干扰素释放分析 T-SPOT. TB 在结核性疾病中的诊断价值[J]. 临床肺科杂志, 2012, 17(8): 1439-1444.

[5] Lalvani A. Diagnosing tuberculosis infection in the 21 st century; new tools to tackle an old enemy[J]. Chest, 2007, 131(6): 1898-1906.

[6] 于兰, 王黎明, 唐志荣, 等. HIV/AIDS 患者合并活动性结

核病的诊断及方法探讨[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(4): 377-382.

[7] 刘国华, 王林, 崔为国, 等. HIV 感染者 PPD 试验结果及其与 CD4 细胞计数的关系分析[J]. 中国防痨杂志, 2002, 24(4): 195-196.

[8] 安云庆, 高晓明. 医学免疫学[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2009: 157-158.

[9] 彭卫生, 王英年, 肖成志. 新编结核病学[M]. 2 版. 北京: 中国医药科技出版社, 2003: 138-139.

[10] Pai M, Zwerling A, Menzies D. Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection an update[J]. Ann Intern Med, 2008, 149(3): 177-184.

[11] Chapman AL, Munkanta M, Wikinson KA, et al. Rapid detection of active and latent tuberculosis infection in HIV positive individuals by enumeration of Mycobacterium tuberculosis specific T cells[J]. AIDS, 2002, 16(17): 2285-2293.

[12] 郑素华, 端木宏瑾, 李拉民, 等. 人类免疫缺陷病毒(HIV)感染者结核菌素试验反应的研究[J]. 中国防痨杂志, 2002, 24(6): 320-322.

[13] Kang JY, Rhee CK, Kang NH, et al. Clinical utility of two interferon-gamma release assays on pleural fluid for the diagnosis of tuberculous pleurisy[J]. Tuberc Respir Dis (Seoul), 2012, 73(3): 143-150.

[14] Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, et al. Specific detection of tuberculosis infection with an interferon-gamma based assay using new antigens[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2004, 170(1): 59-64.

[15] Aichelburg MC, Rieger A, Breitenacker F, et al. Detection and prediction of active tuberculosis disease by a whole-blood interferon-gamma release assay in HIV-1-infected individuals[J]. Clin Infect Dis, 2009, 48(7): 954-962.

(收稿日期: 2014-09-08 修回日期: 2015-01-05)

(上接第 1483 页)

affects the morphology and function of mesothelial cells and promotes peritoneal carcinomatosis[J]. Int J Mol Med, 2010, 26(3): 325-332.

[9] Ananiev J, Gulubova M, Tchernev G, et al. Relation between transforming growth factor- $\beta$ 1 expression, its receptor and clinicopathological factors and survival in HER2-negative gastric cancers[J]. Wien Klin Wochenschr, 2011, 123(21/22): 668-673.

[10] Li X, Yue ZC, Zhang YY, et al. Elevated Serum Level and Gene Polymorphisms of TGF- $\beta$ 1 in Gastric Cancer[J]. J Clin Lab Anal, 2008, 22(3): 164-171.

[11] Matsuzaki K, Kitano C, Murata M, et al. Smad2 and Smad3 phosphorylated at both linker and COOH-terminal regions transmit malignant TGF-beta signal in later stages of human colorectal cancer[J]. Cancer Res, 2009, 69(13): 5321-5330.

[12] 张勇, 秦娜, 于斌. TGF- $\beta$ /Smads 信号转导通路的研究进展[J]. 广西医科大学学报, 2009, 26(1): 155-157.

[13] Stelow EB, Mills SE, Jo VY, et al. Adenocarcinoma of the upper aerodigestive tract[J]. Adv Anat Pathol, 2010, 17(4): 262-269.

[14] García-González MA, Nicolás-Pérez D, Lanas A, et al. Prognostic role of host cyclooxygenase and cytokine genotypes in a Caucasian cohort of patients with gastric adenocarcinoma[J]. PLoS One, 2012, 7(9): e46179.

[15] Neal JT, Peterson TS, Kent ML, et al. H. pylori virulence factor CagA increases intestinal cell proliferation by Wnt pathway activation in a transgenic zebrafish model[J]. Dis Model Mech, 2013, 6(3): 802-810.

(收稿日期: 2014-11-10 修回日期: 2015-01-25)