

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.28.010

# T-SPOT. TB 技术在潜伏结核感染者免疫抑制剂治疗中的临床应用\*

毕 艳,伊正君,付玉荣<sup>△</sup>

(潍坊医学院/山东省临床检验诊断学高校重点实验室,山东潍坊 261031)

**[摘要]** **目的** 探讨 T-SPOT. TB 技术在潜伏结核感染(LTBI)者免疫抑制剂治疗中的筛查效果,为预防和控制 LTBI 提供新的依据。**方法** 应用 T-SPOT. TB 试剂盒对 162 例需要应用免疫抑制的患者进行结核分枝杆菌特异性 T 细胞的检测;同时对所有病例做结核菌素皮肤试验(TST);对其中 28 例 T-SPOT. TB 技术筛查阳性患者应用抗 TNF- $\alpha$  生物制剂治疗前均给予预防性抗结核药物治疗 4 个月并随访 1 年。**结果** T-SPOT. TB 阳性率为 36.4%,确诊率为 94.9%;TST 阳性率为 28.4%,确诊率为 69.6%。T-SPOT. TB 阳性率和确诊率与 TST 相比,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );通过对 28 例 T-SPOT. TB 技术筛查阳性,给予预防性抗结核药物治疗 4 个月的患者 1 年的随访,结果无一例结核病发生。**结论** T-SPOT. TB 技术在检测 LTBI 敏感性强、特异性高,是快速诊断结核感染的有效手段;在应用免疫抑制剂对 LTBI 的筛查诊断中具有重要临床价值。

**[关键词]** 结核;病毒潜伏期;T-SPOT. TB;结核菌素皮肤试验;免疫抑制剂

**[中图分类号]** R378.91+1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2015)28-3928-02

## T-SPOT. TB clinical value in latent tuberculosis infection by immunosuppressive therapy\*

Bi yan, Yi Zhengjun, Fu Yurong<sup>△</sup>

(Weifang Medical University/Key Laboratory of Clinical Laboratory,  
Diagnostics in University of Shandong, Weifang, Shandong 261031, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the T-SPOT. TB technology in latent tuberculosis infection (LTBI) who immunosuppressive therapy results in screening for latent tuberculosis infection prevention and control to provide a new basis. **Methods** Application of T-SPOT. TB kit 162 immunosuppressed patients need to be applied to detect M. tuberculosis-specific T cells; while doing all cases tuberculin (TST) skin test; of which 28 cases of T-SPOT. TB-positive patients before screening technique using anti-TNF- $\alpha$  biologics were given prophylactic treatment of anti-TB drugs for 4 months and followed a year. **Results** The positive rates and accuracy rate of T-SPOT. TB assay were 36.4% and 94.9%, while the positive rates and accuracy rate of TSTs were 28.4% and 69.6%. The difference between T-SPOT. TB assay and TST were statistical significance ( $P < 0.05$ ). Through our 28 cases of T-SPOT. TB positive screening technology, prophylactic anti-TB drugs to treat patients for 4 months and 1 year of follow-up, no case of tuberculosis occurred. **Conclusion** These results demonstrate that the performance of T-SPOT. TB is better than the classic TST for detection of LTBI in patients receiving immunosuppressive therapy for treatment of systemic autoimmune disorders. The T-SPOT. TB assay will be a useful tool in early and rapid diagnosis of latent tuberculosis infection. T-SPOT. TB for LTBI patients diagnosed with prophylactic anti-TB drug treatment is necessary, has important clinical significance.

**[Key words]** tuberculosis; virus latency; T-SPOT. TB; tuberculin skin test; immunosuppressive agents

潜伏结核感染(latent mycobacterium tuberculosis infection, LTBI)通常是指体内(通常是肺)存在结核杆菌,但仍未出现明显的症状且痰中也无结核菌,当机体免疫力下降时由潜伏感染转化为活动性结核感染。据世界卫生组织估计,全球有将近三分之一的人感染过结核分枝杆菌,而全国第 4 次结核病流行病学调查结果显示,中国感染结核杆菌的人数超过了 5 亿,占总人口总数的 44.5%<sup>[1]</sup>。潜伏性感染者如果不进行治疗,约有 5%~10% 将会发展成活动性结核,在伴有免疫抑制疾病的人群中,这一比例更大<sup>[2]</sup>。免疫抑制剂(激素或者生物制剂 TNF- $\alpha$ )已经成为慢性炎症性疾病(如类风湿关节炎、强直性脊柱炎、或克罗恩病等)有效的治疗方法。然而,接受免疫抑制剂患者诱发活动性结核的风险将大幅增加。因此,对应用免疫抑制剂患者进行筛查和预防性治疗是必不可少的。临床上尚缺乏诊断潜伏性结核的“金标准”。结核菌素皮肤试验(TST)因其成熟的检测手段、低成本,成为目前高危人群潜伏性结核感染的检测方法。但是多因素可影响 TST 的检测结

果,导致出现假阴性和假阳性结果,如机体处于反应前期、病毒和支原体感染性疾病、结核菌素保存不当、剂量不足、注射过深、阅读记录偏差、与卡介苗发生交叉反映等<sup>[3,4]</sup>。近年来发展的酶联免疫斑点法 T-SPOT. TB 技术是一种基于抗原特异性细胞免疫应答反应的新型免疫检测技术,为早期诊断结核潜伏感染提供了新的方向。为此,本文对 T-SPOT. TB 技术在应用免疫抑制剂前患者潜伏结核感染筛查中的应用价值进行评估。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2010 年 8 月至 2013 年 12 月在某院风湿免疫科住院治疗患者 162 例,男 89 例,女 7 例,年龄(38.6 $\pm$ 3.8)岁。结缔组织病 98 例,其中风湿或类风湿性关节炎 77 例,皮炎 4 例,白塞综合征 7 例,其中合并贝赫切特血管病 5 例且行外科手术治疗;红斑狼疮 10 例;强直性脊柱炎 54 例;克罗恩病 7 例。排除确诊的肺结核患者,肺结核确诊要求:痰涂片或培养出结核分枝杆菌;或根据临床表现、实验室检查临床诊断为肺结核。免疫抑制剂的应用纳入标准:所有应用免疫抑

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81100006);山东省自然科学基金资助项目(ZR2010HM073)。作者简介:毕艳(1982-),硕士,主要从事临床疾病的分子诊断。 <sup>△</sup> 通讯作者;E-mail:yifuyurong@163.com。

制剂的患者在应用前均行 T-SPOT, TB 检查, TST 试验。

**1.2 T-SPOT, TB 检测** T-SPOT, TB 检测采用英国 Oxford Immunotec 公司生产的试剂盒。每个入选患者用 BD 公司生产的 CPT 真空采血管采集外周血 8 mL, 室温放置不超过 4 h, 不得冷藏和冷冻。实验过程严格按照试剂盒操作说明书进行。显微镜或放大镜进行斑点计数。当测试孔 A 或 B 达到以下标准则判定为阳性结果: (1) 阴性对照斑点数为 0~5 个, A 或 B 孔斑点数-阴性孔斑点数为 6 个, 判断为阳性(+); (2) 阴性对照斑点数 26, A 或 B 孔斑点数 22 倍阴性孔, 判断为阳性(+); 若 A、B 孔斑点数不够以上标准, 且阳性对照反应良好, 则为阴性(-)。若阴性对照孔斑点数超过 10, 阳性对照孔斑点数低于 20 时, 结果不能确定。阳性结果说明患者体内存在针对结核杆菌的效应 T 淋巴细胞, 阴性结果提示患者可能不含针对结核杆菌的效应 T 淋巴细胞。

**1.3 TST 检测** 采用成都生物制品研究所生产人型结核菌素纯蛋白衍生物 (purified protein derivative, PPD) 试剂, 对所有入选患者以 0.1 mL PPD (含 BCG-PPD 5 IU) 采用孟都氏法于左侧前臂内侧皮内注射, 使局部形成皮丘。48~72 h 测量皮肤硬结直径, 硬结平均直径 = (横径 + 纵径) / 2。按照标准 OT 试验判定标准进行判断, <5 mm 阴性(-), 5~<10 mm 弱阳性(+), 10~<20 mm 阳性(++), ≥20 mm 或出现破溃, 水泡, 双圈强阳性(++++)。

**1.4 随访** 对应用 T-SPOT, TB 筛查阳性的 28 例患者, 在应用抗 TNF-α 生物制剂治疗前均给予预防性抗结核药物治疗 4 个月, 并随访 1 年。

**1.5 统计学处理** 应用 SPSS16.0 统计软件进行分析, 计数资料用率表示, 采用  $\chi^2$  检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 T-SPOT, TB 及 TST 试验检查应用免疫抑制剂患者阳性率比较** 162 例患者中, T-SPOT, TB 阳性例数为 59 例, 阳性率为 36.4%; TST 阳性例数为 46 例, 阳性率为 28.4%, 两者比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。

表 1 T-SPOT, TB 及 TST 试验阳性率

项目	阳性例数(n)	阴性例数(n)	阳性率(%)
T-SPOT, TB	59	103	36.4
TST	46	116	28.4

**2.2 T-SPOT, TB 及 TST 试验检查应用免疫抑制剂患者确诊率比较** 59 例 T-SPOT, TB 阳性患者中, 确诊为结核感染 56 例, 确诊率为 94.9%; 46 例 TST 阳性患者中, 确诊为结核感染 32 例, 确诊率为 69.6%; 两者比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 2。

表 2 T-SPOT, TB 及 TST 试验确诊率

项目	阳性病例数	确诊例数	未确诊例数	确诊率
	(n)	(n)	(n)	(%)
T-SPOT, TB	59	56	3	94.9
TST	46	32	14	69.6

**2.3 T-SPOT, TB 技术筛查后应用免疫抑制剂患者管理** 鉴于 T-SPOT, TB 阳性患者爆发结核感染率较高 (94.9%, 56/59), 有 28 例应用抗 TNF-α 生物制剂治疗且 T-SPOT, TB 阳性患者被纳入, 对于 LTBI 患者, 给予目标性治疗方案 (包括单用异烟肼、异烟肼和利福平联用、利福平和吡嗪酰胺联用等, 持

续 4 个月。在药物治疗过程中严密监测患者的肝功能, 一旦出现肝炎临床表现, 立即停药。28 例患者应用抗 TNF-α 生物制剂治疗, 治疗前均给予预防性抗结核药物治疗 4 个月, 在 1 年的随访过程中, 28 例患者其中 2 例爆发肝炎, 停抗结核药物治疗, 其中 1 例死于肝功能衰竭。所有患者均未发生结核感染。

## 3 讨 论

结核病是全球主要的公共卫生问题之一, 严重危害人类的健康。据世界卫生组织估计全球约有 1/3 的人口接近 2 亿人是潜伏性结核的感染者。我国是世界上 22 个结核病高负担国家之一, 结核病患者数量居世界第 2 位, 全国约有肺结核病患者 450 万人, 每年因患结核病死亡的人数达到 13 万人<sup>[5]</sup>。因此早期发现及时确诊结核病在控制结核病措施中显得极为重要。目前临床上免疫抑制剂剂剂已经成为慢性炎症性疾病有效的治疗方法。但是应用免疫抑制剂, 导致机体细胞免疫功能下降, 包括淋巴细胞、单核、巨噬细胞、中性粒细胞、嗜酸粒细胞等功能的抑制, 容易引发潜伏结核分支杆菌感染, 引起活动性结核。我国目前很多医院特别是基层的医院没有对需要应用免疫抑制剂的患者并发潜伏结核感染引起足够的重视, 有的医院仅做 TST 筛查, 有的根本就没有筛查, 从而导致应用免疫抑制剂诱发结核病<sup>[6-7]</sup>。

TST 是诊断 LTBI 的传统方法, 但影响因素很多, 导致阳性率并不高, 张然等回顾性分析了 2 682 例 SLE 应用免疫抑制剂患者中 93 例患结核, 93 例 TST 试验强阳性仅 13 例 (13.98%), 阴性高达 80 例 (86.02%)<sup>[8]</sup>。Xie 等<sup>[9]</sup>采用 Meta 分析法对国内常见 3 种生物制剂治疗 RA 过程中发生感染、重症感染以及结核感染等的风险进行系统评价。发现涉及的 14 例结核患者在使用生物制剂前的结核筛查项目为 TST 皮试、胸部平片等传统手段, 筛查结果均为阴性, 说明了传统结核检测手段并不能有效发现潜伏性结核患者, 达不到早期诊断的目的。

T-SPOT, TB 检测原理是利用结核分支杆菌 RD1 区域编码的  $6 \times 10^3$  早期分泌抗原靶分子蛋白和  $10 \times 10^3$  培养滤液蛋白的肽段作为特异性抗原, 刺激 T 细胞释放  $\gamma$ -干扰素, 再分别通过酶联免疫斑点试验和全血酶联免疫吸附试验检测  $\gamma$ -干扰素水平来判断是否存在结核分支杆菌感染。T-SPOT, TB 技术是目前检测抗原特异性 T 细胞最敏感的方法, 可检测出 1/100 000~1/50 000 外周血单个核细胞中经某种抗原刺激后释放某种细胞因子的细胞, 在 2008 年, 美国 FDA 已将 T-SPOT 作为第 4 种 IGRAs 批准使用。Mandalakas 等<sup>[10]</sup>比较 T-SPOT, TB 与 TST 对诊断的准确性, 得出 IGRAs 在诊断潜伏性结核感染时比 TST 有更大的优势, 而且在排除结核感染中可信度更大。本研究也说明 T-SPOT, TB 在潜伏性结核感染诊断的准确性上要优于 TST。

日本 Takeuchi 等<sup>[11]</sup>报道 5 000 例使用英夫利西单抗治疗的 RA 患者中, 前 2 000 例 RA 患者中结核发病数为 11 例, 由于加强对后 3 000 例患者的结核筛查和预防性治疗, 结核发病例数由 11/2 000 例减少至 3/3 000 例。因此, 本研究中遵循了专家组建议, 对潜伏结核感染的患者, 在使用免疫抑制剂前, 先行预防性抗结核治疗至少 4 个月<sup>[12]</sup>。通过对 28 例高危患者 (T-SPOT, TB 筛查阳性), 给予预防性治疗的患者 1 年的随访, 无一例结核病发生, 这与国外相关研究结果是一致的<sup>[9, 11-12]</sup>。所以对 T-SPOT, TB 阳性的患者给以抗结核药物的预防性治疗非常必要的。

由于目前 LTBI 的诊断缺乏金标准, 惟一能证实的较好方法就是对未经治疗的阳性个体进行随访, (下转第 3932 页)

是早搏发生当时的血流动力学机制和对心脏的影响,其对心脏长期影响机制还值得进一步探讨。

由此可见,房性早搏对血流动力学有一定影响,其发生早晚又与基础心血管病有关;房性早搏提前率越大对血流动力学的影响越大,从而更易导致心悸、胸闷、头晕、乏力等不同症状。临床上应综合评估房性早搏的病理生理危害,尤其是频发、提前率大的房性早搏,应给予及时的病因治疗及抗心律失常药物治疗,减小房性早搏对血流动力学的影响。

#### 参考文献

- [1] 陈新. 黄宛临床心电图学[M]. 6 版. 北京:人民卫生出版社,2009:299-302.
- [2] Inohara T, Kohsaka S, Okamura T, et al. Long-term outcome of healthy participants with atrial premature complex: a 15-year follow-up of the NIPPON DATA 90 cohort[J]. PLoS One, 2013, 8(11): e80853.
- [3] Conen D, Adam M, Roche F, et al. Premature atrial contractions in the general population: frequency and risk factors[J]. Circulation, 2012, 126(19): 2302-2308.
- [4] Cheriya P, He F, Peters I, et al. Relation of atrial and/or ventricular premature complexes on a two-minute rhythm strip to the risk of sudden cardiac death (the Atherosclerosis Risk in Communities [ARIC] study)[J]. Am J Cardiol, 2011, 107(2): 151-155.
- [5] Binici Z, Intzilakis T, Nielsen OW, et al. Excessive supraventricular ectopic activity and increased risk of atrial fibrillation and stroke[J]. Circulation, 2010, 121(17):

1904-1911.

- [6] Chong BH, Pong V, Lam KF, et al. Frequent premature atrial complexes predict new occurrence of atrial fibrillation and adverse cardiovascular events [J]. Europace, 2012, 14(7): 942-947.
- [7] Hasdemir C, Simsek E, Yuksel A. Premature atrial contraction-induced cardiomyopathy [J]. Europace, 2013, 15(12): 1790.
- [8] 蒋黎鹏, 杨力, 季忠, 等. 心阻抗法检测的研究进展[J]. 传感器与微系统, 2014, 33(2): 1-3, 8.
- [9] 胡怡, 张怡, 赵鹏飞, 等. 无创血流动力学监测对超重及肥胖者早期左心功能的评估作用[J]. 中国全科医学, 2014, 17(5): 494-497.
- [10] 张维维, 宫剑滨, 汪俊军, 等. 无创血流动力学检测在冠心病及其合并症患者中的应用[J]. 医学研究生学报, 2010, 23(6): 609-612.
- [11] 王庚勤, 李世锋, 井艳, 等. 老年房性早搏患者桡动脉图积分面积测定[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2009, 44(2): 412-414.
- [12] Starling EH. The linacre lecture on the law of the heart [M]. London, UK: Longmans, Green and Co. Ltd, 1918: 1-27.
- [13] 李桂侠. 房性早搏和室性早搏后点集与窦性心律散点集的夹角观察[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2014, 28(5): 437-440.

(收稿日期: 2015-04-28 修回日期: 2015-07-10)

(上接第 3929 页)

这在临床研究中是难以实现的。在应用免疫抑制剂前对潜伏结核感染的筛查就具有重要的临床价值。T-SPOT 试验具有较高的特异性和敏感性,是目前快速筛查 LTBI 感染最有潜力的新方法。本研究认为对于 T-SPOT. TB 阳性的患者给以预防性的抗结核治疗,加强免疫抑制剂(尤其生物制剂)使用前对潜伏性结核感染的检测和预防性治疗,可有效且最大程度减低免疫抑制剂致结核感染风险。对 T-SPOT. TB 确诊的阳性 LTBI 患者给予预防性抗结核药物治疗也是非常必要的。

#### 参考文献

- [1] National Technic Steering Group of The Epidemiological Sampling Survey For Tuberculosis, Duanmu H. Report on fourth national epidemiological sampling survey of tuberculosis[J]. Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi, 2002, 25(1): 3-7.
- [2] CDC. Latent Tuberculosis Infection: A Guide for Primary Health Care Providers [EB/OL] [2012-01-15] <http://www.cdc.gov/tb/publications/LTB>.
- [3] American Thoracic Society. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2000, 161: 1376-1395.
- [4] 屠德华. 结核菌素试验的应用[J]. 中国防痨杂志, 2001, 23(2): 123-125.
- [5] 全国结核病流行病学抽样调查技术指导组, 全国结核病流行病学抽样调查办公室. 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: 98-102.

- [6] 王宏智, 杨艳英, 张斌, 等. 78 例风湿科患者 T-SPOT. TB 检查结果分析及应用评价[J]. 浙江医学, 2013(18): 1682-1683.
- [7] 李爱民, 王豫皖. 应用免疫抑制剂过程中并发肺结核 35 例临床分析[J]. 中国防痨杂志, 2000, 22(1): 36-38.
- [8] 张然, 刘钢, 孙燕玲. 系统性红斑狼疮合并结核 93 例临床分析[J]. 南方医科大学学报, 2007, 27(5): 615-617.
- [9] Xie X, Chen J, Peng Y, et al. Meta analysis of infection risks of anti-TNF- $\alpha$  treatment in rheumatoid arthritis[J]. Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Yue, 2013, 38(7): 722-736.
- [10] Mandalakas AM, Detjen AK, Hesselning AC, et al. Interferon-gamma release assays and childhood tuberculosis: systematic review and meta-analysis [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2011, 15(8): 1018-1032.
- [11] Takeuchi T, Tatsuki Y, Nogami Y, et al. Postmarketing surveillance of the safety profile of infliximab in 5 000 Japanese patients with rheumatoid arthritis [J]. Ann Rheum Dis, 2008, 67(2): 189-194.
- [12] 英夫利西单抗治疗前结核预防与管理专家建议组. 英夫利西单抗治疗前结核预防与管理专家建议[J]. 中华内科杂志, 2009, 48(11): 980-982.

(收稿日期: 2015-04-20 修回日期: 2015-07-03)