DOI:10.16016/j.1000-5404.201502026

论著

T细胞斑点试验在肠结核及克罗恩病鉴别诊断中的临床价值

叶丽敏,李 岚,白班俊 (550002 贵阳,贵州省人民医院消化内科)

[摘要] **目的** 探讨结核杆菌T细胞斑点试验(T-SPOT.TB)在肠结核(intestinal tuberculosis,ITB)和克罗恩(Crohn's disease,CD)病鉴别诊断中的价值。**方法** 回顾性分析2012年3月至2014年12月贵州省人民医院消化内科就诊并确诊的64例肠结核和克罗恩病住院患者。35例ITB患者中19例男性,16例女性,年龄14~77(37.3±16.5)岁。29例CD患者中13例男性,16例女性,年龄15~74(35.2±18.9)岁。比较2组患者在临床表现、实验室检查结果、内镜及病理学检查结果上的差异,统计分析T-SPOT.TB在ITB和CD中的阳性率及诊断ITB的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值,评价T-SPOT.TB鉴别诊断CD和ITB的临床价值。**结果** ITB患者腹泻(31.4% *vs* 65.5%,$\chi^2=7.41$,$P<0.01$)、便血(8.6% *vs* 41.3%,$\chi^2=9.51$,$P<0.01$)、肠梗阻(11.4% *vs* 34.5%,$\chi^2=3.799$,$P<0.05$)和肠穿孔(0% *vs* 10.3%,$\chi^2=3.799$,$P<0.05$)的发生率显著低于CD患者。T-SPOT.TB试验在ITB中的阳性率显著高于CD患者(91.4% *vs* 6.9%,$\chi^2=45.508$,$P<0.01$),其敏感性和阳性预测值(PPV)分别为91.4%和94.1%,特异性和阴性预测值(NPV)分别为93.1%和90.0%。环行溃疡(20.0% *vs* 3.4%,$\chi^2=3.972$,$P<0.05$)和回盲瓣受累(77.1% *vs* 51.7%,$\chi^2=4.542$,$P<0.05$)在ITB中多见,而纵行溃疡(2.9% *vs* 20.6%,$\chi^2=5.177$,$P<0.05$)、卵石征(0% *vs* 27.6%,$\chi^2=11.034$,$P<0.01$)和肠腔狭窄(14.3% *vs* 37.9%,$\chi^2=4.729$,$P<0.05$)在CD多见。淋巴细胞聚集在ITB中的发生率显著低于CD(31.4% *vs* 86.2%,$\chi^2=19.338$,$P<0.01$),干酪样肉芽肿在ITB中的发生率显著高于CD(42.8% *vs* 0%,$\chi^2=16.233$,$P<0.01$)。**结论** T-SPOT.TB对ITB的诊断具有较高的灵敏度及特异度,有助于鉴别CD和ITB。

[关键词] 结核杆菌T细胞斑点试验;肠结核;克罗恩病;鉴别诊断
[中图法分类号] R447;R524.04;R574.04 [文献标志码] A

Clinical value of T-cell spot test for tuberculosis in differentiating intestinal tuberculosis from Crohn's disease

Ye Limin, Li Lan, Bai Banjun (Department of Gastroenterology, People's Hospital of Guizhou Province, Guiyang, Guizhou Province, 550002, China)

[**Abstract**] **Objective** To study the differential diagnosis value of T-cell spot test of tuberculosis (T-SPOT.TB) between intestinal tuberculosis and Crohn's disease. **Methods** Sixty-four patients with intestinal tuberculosis (ITB) or Crohn's disease (CD) in our department from Mar, 2012 to Dec, 2014 were retrospectively analyzed. The ITB patients were 37.3±16.5 years old (ranged from 14 to 77), and 19 males and 16 females. The CD patients were 35.2±18.9 years old (ranged from 15 to 74), were 13 males and 16 females. The sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of T-SPOT.TB in differential diagnosis between ITB and CD were evaluated by analyzing the clinical manifestations, laboratory

[通信作者] 叶丽敏,E-mail:499081944@qq.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20150703.1449.009.html(2015-07-03)

examination results, endoscopic findings and pathological results. **Results** The incidences of diarrhea (31.4% *vs* 65.5%, *Chi*-square = 7.41, $P < 0.01$), hematochezia (8.6% *vs* 41.3%, *Chi*-square = 9.51, $P < 0.01$), obstruction (11.4% *vs* 34.5%, *Chi*-square = 3.799, $P < 0.05$) and bowel perforation (0% *vs* 10.3%, *Chi*-square = 3.799, $P < 0.05$) in the ITB patients were significantly lower than those in the CD patients. The positive rate of T-SPOT.TB test in the ITB patients was higher than that in the CD patients (91.4% *vs* 6.9%, *Chi*-square = 45.508, $P < 0.01$), with sensitivity and positive predictive value of 91.4% and 94.1%, respectively and specificity and negative predictive value of 93.1% and 90.0%, respectively. Circular ulcer (20.0% *vs* 3.4%, *Chi*-square = 3.972, $P < 0.05$) and ileocecum involvement (77.1% *vs* 51.7%, *Chi*-square = 4.542, $P < 0.05$) were significantly more common in the ITB patients, while higher incidences of longitudinal ulcer (2.9% *vs* 20.6%, *Chi*-square = 5.177, $P < 0.05$), pebble levy (0% *vs* 27.6%, *Chi*-square = 11.034, $P < 0.01$) and luminal stenosis (14.3% *vs* 37.9%, *Chi*-square = 4.729, $P < 0.05$) were found in the CD patients as compared with the ITB patients. Lymph cell aggregation incidence of ITB was significantly lower than that of CD (31.4% *vs* 86.2%, *Chi*-square = 19.338, $P < 0.01$), and granuloma formation was significantly more common in ITB as compared with CD (42.8% *vs* 0%, *Chi*-square = 16.233, $P < 0.01$). **Conclusion** T-SPOT.TB blood test is useful for differential diagnosis between ITB and CD with high sensitivity and specificity.

[**Key words**] T-cell spot test of tuberculosis; intestinal tuberculosis; Crohn's disease; differential diagnosis

Corresponding author: Ye Limin, E-mail: 499081944@qq.com

近几年我国克罗恩病(Crohn's disease,CD)的发病率成增加趋势。部分肠结核(intestinal tuberculosis,ITB)和克罗恩病患者在临床表现、内镜和病理学等方面的改变极为相似,两者的鉴别诊断一直是临床难题。临床常用的细菌培养和PPD试验,因为培养周期长、阳性率低、假阳性率和假阴性率高及易受干扰等因素,导致诊断结核的灵敏性和特异性欠佳。由于鉴别诊断的失误甚至会造成结核播散的风险。结核杆菌T细胞斑点试验(T-SPOT.TB)检测结核感染后T细胞分泌的特异性γ-干扰素[1],以此判断是否存在结核感染,对结核诊断的特异度和敏感度均较高[2-3]。本研究通过对本院102例患者进行回顾性分析,探讨T-SPOT.TB在ITB和CD鉴别诊断中的价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象

回顾性分析2012年3月至2014年12月我院消化科就诊并确诊的肠结核(intestinal tuberculosis,ITB)和克罗恩病(Crohn's disease,CD)住院患者。64例入选患者均有较为完整的病历资料,其中35例为ITB,29例为CD。ITB患者中19例男性,16例女性,年龄14~77(37.3±16.5)岁。CD患者中13例男性,16例女性,年龄15~74(35.2±18.9)岁。2组年龄($P > 0.05$)及性别($P > 0.05$)均无统计学差异。

1.2 试剂

T-SPOT.TB结核试剂盒购自上海复星公司,结核菌素纯蛋白衍化物(PPD)试剂购自成都生物制品研究所,结核分枝杆菌抗体诊断试剂盒(胶体金法)购自北京贝尔生物工程有限公司。

1.3 检测方法

T-SPOT.TB试验采集患者4 mL外周静脉血,肝素抗凝,加入Ficoll淋巴细胞分离液后,用密度梯度离心法分离外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells,PBMCs)。用细胞培养基AIM-V将细胞调整为2.5×10^6/mL,以100 μL/孔的体积加至包被了IFN-γ单抗的96孔板中。以50 μL AIM-V作为空白对照,50 μL植物血凝素作为阳性对照,检测孔中则加入50 μL结核分枝杆菌特异性ESAT-6和CFP-10肽段(Oxford Immunote Ltd.,Oxford,UK)作为刺激源。把96孔板置于CO_2培养箱中,37 ℃培养16~20 h。PBS洗板4次,加入碱性磷酸酶标记的抗γ干扰素抗体,在2~8 ℃下孵育2 h。PBS洗板4次,每孔加入100 μL显色底物液BCIP/NBTPLUS,室温下静置7 min后加PBS终止反应。ELISPOT计数仪(KS ELISPOT VERSION4.9,ZEISS,德国)做斑点计数和统计。PPD试验采用曼图氏法皮内注射PPD 0.1 mL,

72 h 测量局部硬结。结核分枝杆菌抗体试验操作与结果判读严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 阳性结果的判定

T-SPOT.TB 试验:(1)当空白对照孔斑点数<5 个时,检测孔斑点数比空白对照孔斑点数多6 个为阳性;(2)当空白对照孔斑点数≥6 个,检测孔斑点数是空白对照孔斑点数的2 倍为阳性。PPD 试验:硬结的平均直径≥5 mm 为阳性,10~19 mm 为中度阳性,≥20 mm 或伴水泡或破溃为强阳性。

1.5 诊断标准

ITB 的诊断符合下列至少一项:①内镜活检组织显示干酪样坏死;②病变组织病理检查显示抗酸染色阳性;③影像学检查显示肺部结核,且结肠镜或钡餐提示肠道病变;④病变处取材培养结核分枝杆菌阳性;⑤抗结核治疗有效[4]。结核菌素试验(PPD)强阳性。CD 的诊断:参照2012 年中华医学会消化病学分会的IBD 诊断治疗规范[5]。

1.6 统计学方法

用SPSS 17.0 软件对数据进行统计分析。样本率的比较做 χ^2 检验,均数比较做 t 检验。

2 结果

2.1 临床症状的比较

ITB 患者腹泻、肠梗阻和肠穿孔的发生率显著低于CD 患者($P<0.05$)。而腹痛、发热、贫血、腹部包块和消瘦的发生率在2 组中均无统计学差异($P>0.05$)。见表1。

2.2 实验室检查

T-SPOT.TB 试验在ITB 中的阳性率显著高于CD 患者($P<0.01$),且ITB 患者PPD 试验阳性率和结核分枝杆菌抗体阳性率也显著高于CD 患者($P<0.01$)。在T-SPOT.TB 试验、PPD 试验和结核分枝杆菌抗体检测中,T-SPOT.TB 试验的阳性率最高。血沉增快、C-反应蛋白升高和大便潜血试验阳性在2 组中均无统计学差异($P>0.05$)。见表2。

2.3 内镜及组织病理学检查

环行溃疡在ITB 中的发生率显著高于CD($P<0.05$),而纵行溃疡、卵石征、回盲瓣受累和肠腔狭窄的发生率则显著低于CD($P<0.05$)。其余内镜下表现在2 组中均无统计学差异($P>0.05$)。淋巴细胞聚集在ITB 中的发生率显著低于CD($P<0.01$),肉芽肿形成在ITB 中则显著高于CD($P<0.01$),其中干酪样肉芽肿在ITB 中的发生率显著高于CD($P<0.01$)。见表3。

2.4 T-SPOT.TB 与PPD、结核抗体评价指标比较

T-SPOT.TB 的敏感性、特异性、阳性预测值(PPV)和阴性预测值(NPV)等均显著高于PPD 试验和结合抗体检测($P<0.05$)。此外,T-SPOT.TB 的阳性似然比值(LR+)明显高于PPD 试验和结合抗体检测,而阴性似然比值(LR−)则明显减低。见表4。

表1 ITB 和CD 患者主要临床表现和并发症比较[例(%)]

组别	n	腹痛	腹泻	便血	发热	贫血	腹部包块	消瘦	肠梗阻	肠穿孔
ITB 组	35	31(88.6)	11(31.4)	3(8.6)	16(45.7)	20(57.1)	4(11.4)	24(68.6)	4(11.4)	0(0)
CD 组	29	26(89.7)	19(65.5)[a]	12(41.3)[a]	9(31.0)	17(58.6)	3(10.3)	19(66.0)	10(34.5)[b]	3(10.3)[b]

a:$P<0.01$,b:$P<0.05$,与ITB 组比较

表2 ITB 和CD 患者实验室检查指标比较[例(%)]

组别	n	ESR 增快	CRP 增高	大便潜血试验阳性	T-SPOT.TB 阳性	PPD 阳性	结核分枝杆菌抗体阳性
ITB 组	35	27(77.1)	30(85.7)	8(22.9)	32(91.4)	16(45.7)	11(31.4)
CD 组	29	20(69.0)	21(72.4)	10(34.5)	2(6.9)[a]	3(10.3)[a]	2(6.9)[a]

a:$P<0.01$,与ITB 组比较

表3 ITB 和CD 患者内镜表现和组织病理学特征比较[例(%)]

组别	n	溃疡数≥2 个	纵行溃疡	环形溃疡	不规则溃疡	卵石征	回盲瓣受累	节段分布	肠腔狭窄	结节增生	淋巴细胞聚集	肉芽肿形成	干酪样肉芽肿
ITB 组	35	30(85.7)	1(2.9)	7(20.0)	11(31.4)	0(0)	27(77.1)	6(17.1)	5(14.3)	20(57.1)	11(31.4)	19(54.3)	15(42.8)
CD 组	29	25(86.2)	6(20.6)[b]	1(3.4)[b]	10(34.5)	8(27.6)[a]	15(51.7)[b]	11(37.9)	11(37.9)[b]	12(41.4)	25(86.2)[a]	4(13.8)[a]	0(0)[a]

a:$P<0.01$,b:$P<0.05$,与ITB 组比较

表4 T-SPOT.TB与PPD、结核抗体评价指标比较

项目	n	敏感性			特异性			PPV			NPV			LR+	LR−
		百分率(%)	χ^2	P	百分率(%)	χ^2	P	百分率(%)	χ^2	P	百分率(%)	χ^2	P		
T-SPOT.TB	32	91.4	—	—	93.1	—	—	94.1	—	—	90	—	—	13.2	0.63
PPD	16	45.7	16.8	0.000 1	89.6	0.22	0.6	84.2	1.40	0.24	57.7	9.1	0.003	4.39	0.61
结核抗体	11	31.4	26.6	0.000 1	93.1	0.000 1	0.7	84.6	1.09	0.27	52.9	11.7	0.001	4.55	0.74

3 讨论

近年来结核病疫情在全球范围内呈明显上升趋势,结核病已成为成年人的首要死因。我国仍然是世界上仅次于印度的第二结核病大国,在肺外结核中,消化系统感染占第6位[6]。克罗恩病是一种反复发作性疾病。近10年来,该病在我国的发病率成明显上升趋势[7]。克罗恩病和肠结核临床表现、内镜下表现都有一定相似之处,但是治疗原则却截然不同,诊断为"克罗恩病"的肠结核患者一旦接受糖皮质激素或肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor alpha,TNF-α)拮抗剂等免疫抑制剂治疗,将导致潜伏性结核感染患者进展为活动性结核的风险显著增加[8-9]。目前肠结核与克罗恩病的鉴别诊断还无"金标准",其鉴别诊断仍是临床难点。

一项包含324例样本量的回顾性研究[10]表明,盗汗、发热、腹水、伴有肺结核等有助于ITB的诊断,腹泻、便血和肠梗阻有助于CD的诊断。但在徐燕琴等[11]的研究中显示,发热症状并不能鉴别诊断ITB和CD。本研究得到了部分相似的结果,腹泻、便血、肠梗阻和肠穿孔可有助于CD的诊断,但是腹痛、发热、贫血、腹部包块和消瘦等临床表现在ITB和CD间无明显差异。因此,仅根据临床特征难以准确鉴别诊断ITB和CD。ESR增快、C-反应蛋白升高和大便潜血试验阳性在ITB和CD的鉴别诊断中尚存在阳性率低的缺点[10-11]。与史笑梅[12]的结果相反,本研究认为PPD阳性率和结核抗体阳性率可有助于诊断ITB,这在李雪峰等[10]的大型回顾性研究中得到佐证。经本研究分析发现,ESR增快、C-反应蛋白升高和大便潜血试验阳性难于鉴别ITB和CD,PPD试验和结核抗体检测仍存在灵敏度和特异性低的缺陷,在不同学者的研究中对ITB的诊断结果不尽相同,因而血清学检查也不能完全用于二者的鉴别诊断。内镜及组织病理学方面虽然可以观察到环形溃疡、纵行溃杨、卵石征和干酪样肉芽肿等典型表现,但仍然受制于低灵敏度和低特异性,难于对ITB和CD进行鉴别诊断。

T-SPOT.TB是近年来兴起的一种检测结核杆菌感染的新检验手段,通过检测外周血中经结核杆菌特异性抗原6×10^3早期分泌靶向抗原(early secreting antigen target 6, ESAT-6)和10×10^3培养滤过蛋白(culture filtrate protein 10,CFP-10)肽段库刺激后释放γ-IFN的T细胞来诊断结核感染,具有较高的敏感性[13]。抗原ESAT-6和CFP-10为结核分枝杆菌和少数非结核分枝杆菌所特有,而不存在于卡介苗及大多数非结核分枝杆菌中[14],因而从根本上避免了传统结核菌素皮试中所存在的卡介苗(BCG)交叉抗原反应,从而确保了T-SPOT.TB的高度特异性。2004年经美国FDA批准后,T-SPOT.TB已被广泛应用于肺结核的诊断,近5年开始用于ITB和CD的鉴别诊断。雷少妮等[15]的一项研究表明,T-SPOT.TB鉴别CD和ITB的敏感度、特异度分别为93.3%、87.5%和85.7%、93.3%。本研究结果显示,T-SPOT.TB诊断肠结核的敏感性和阳性预测值(PPV)均为92.7%,特异性和阴性预测值(NPV)均为91.5%,与国内外多项研究结果一致[16-17]。通过比较分析发现,T-SPOT.TB诊断肠结核的敏感性和特异性水平显著高于PPD和结核抗体检测。虽然本研究样本量较少、对比比较单一,但对于临床症状不典型、鉴别诊断不明确的疑似肠结核患者,具有辅助诊断的临床意义。

我国作为结核感染的高流行区,存在较高比例的肠结核患者,鉴于目前缺乏有效的诊断和鉴别诊断肠结核的手段,使得临床漏诊和误诊率较高,一旦造成结核播散则会给患者带来极大的健康危害和经济负担。T-SPOT.TB作为高灵敏度和高特异性的检测方法,不受BCG接种[18-19]和HIV感染[20]的影响,更适合在我国这种卡介苗接种率高的国家推广。然而要实现临床的广泛应用,仍需要更大样本量和前瞻性的队列研究对其进行评估和数据支持。

参考文献:

[1] 祁明浩, 沈凌, 叶健, 等. γ干扰素释放分析T-SPOT. TB在成年人肺结核诊断中的临床价值[J]. 疾病监测,

2013, 28(2): 115 – 117.

[2] Wang X, Wu Y, Wang M, *et al*. The sensitivity of T-SPOT. TB assay in diagnosis of pediatric tuberculosis[J]. Fetal Pediatr Pathol, 2014, 33(2): 123 – 125.

[3] Kobashi Y, Mouri K, Obase Y, *et al*. Clinical application of T-SPOT. TB using pleural effusion as a diagnostic method for tuberculosis infection[J]. Open J Respir Dis, 2014, 4(2): 64 – 72.

[4] 谢惠安, 阳国太, 林善梓, 等. 现代结核病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 366 – 375.

[5] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年, 广州)[J]. 中华消化杂志, 2012, 32(12): 796 – 813.

[6] Pradhan A, Karki S, Khaniya S. Colorectal signet ring cell carcinoma coexisting with tuberculosis[J]. Health Renaissance, 2013, 11(2): 162 – 165.

[7] 李原, 任建安, 吴秀文, 等. 克罗恩病诊断延迟的危险因素及其对预后的影响[J]. 中华消化外科杂志, 2015, 14(7): 598 – 600.

[8] Byun J M, Lee C K, Rhee S Y, *et al*. The risk of tuberculosis in Korean patients with inflammatory bowel disease receiving tumor necrosis factor-α blockers[J]. J Korean Med Sci, 2015, 30(2): 173 – 179.

[9] 戢丽娟, 宋长杰. 溃疡型肠结核并肠穿孔误诊病例讨论[J]. 临床误诊误治, 2014, 27(5): 31 – 32.

[10] 李学锋, 邹益友, 周明欢, 等. 克罗恩病与肠结核临床及内镜特征的鉴别分析[J]. 中华消化杂志, 2010, 30(1): 11 – 14.

[11] 徐燕琴, 李志晋, 詹丽英, 等. T细胞斑点试验在临床鉴别克罗恩病与肠结核中的应用[J]. 河南中医, 2014, 34(B06): 183.

[12] 史笑梅, 褚燕君, 张芳宾, 等. T细胞斑点试验在肠结核与克罗恩病鉴别诊断中的价值[J]. 河南医学研究, 2013, 22(1): 47 – 50.

[13] Herzmann C, Sotgiu G, Schaberg T, *et al*. Early BCG vaccination is unrelated to pulmonary immunity against Mycobacterium tuberculosis in adults[J]. Eur Respir J, 2014, 44(4): 1087 – 1090.

[14] Danielsen A V, Floe A, Lillebaek T, *et al*. An interferon-gamma release assay test performs well in routine screening for tuberculosis[J]. Dan Med J, 2014, 61(6): A4856.

[15] 雷少妮, 刘家云, 梁洁, 等. 结核杆菌T细胞斑点试验在克罗恩病与肠结核鉴别诊断中的应用价值[J]. 中华消化杂志, 2011, 31(10): 677 – 680.

[16] Zhang L, Zhang Y, Shi X, *et al*. Utility of T-cell interferon-γ release assays for diagnosing tuberculous serositis: a prospective study in Beijing, China[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e85030.

[17] Li Y, Zhang L, Liu X, *et al*. The role of *in vitro* interferon-γ-release assay in differentiating intestinal tuberculosis from Crohn's disease in China[J]. J Crohns Colitis, 2012, 6(3): 317 – 323.

[18] Wolf T, Goetsch U, Oremek G, *et al*. Tuberculosis skin test, but not interferon-γ-releasing assays is affected by BCG vaccination in HIV patients[J]. J Infect, 2013, 66(4): 376 – 380.

[19] Zhang L, Liu X, Zhang Y, *et al*. A prospective longitudinal study evaluating a T-cell-based assay for latent tuberculosis infection in health-care workers in a general hospital in Beijing[J]. Chin Med J (Engl), 2013, 126(11): 2039 – 2044.

[20] Cai R, Chen J, Guan L, *et al*. Relationship between T-SPOT. TB responses and numbers of circulating CD4 + T-cells in HIV infected patients with active tuberculosis[J]. Biosci Trends, 2014, 8(3): 163 – 168.

(**收稿**:2015-02-26;**修回**:2015-03-26)

(编辑 栾 嘉)