

γ -干扰素释放试验在诊断原发女性不孕患者 潜伏性结核感染中的应用

王海翔, 陈秀娟, 张先莉

内蒙古医科大学附属医院生殖中心, 内蒙古 呼和浩特 010050

摘要: **目的** 研究 γ -干扰素释放试验在诊断原发女性不孕患者潜伏性结核感染中的临床应用价值。**方法** 前瞻性收集 2013 年 1 月至 2015 年 3 月我院收治的原发性女性不孕患者 100 例, 根据两组患者结核菌素皮肤试验 (TST) 水平, 将患者分为 TST 阳性组 ($n = 64$) 和 TST 阴性 ($n = 36$) 组。使用 A. TB 试剂盒, 采用酶联免疫法 (ELISA) 进行 γ -干扰素释放试验定量检测外周血 γ -干扰素含量。比较两组患者治疗前及 TST 阳性组抗结核治疗后血 γ -干扰素水平。**结果** 两组患者的年龄和月经周期异常、月经量异常、白带异常、外阴瘙痒、子宫内膜形态异常率及生殖系统感染史、卡介苗接种史等差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05)。与 TST 阴性组相比, TST 阳性组患者血 γ -干扰素水平显著增高 [(8.63 ± 3.22) IU/ml vs (3.96 ± 1.19) IU/ml, $P < 0.01$]。对 TST 阳性组 64 例患者给予异烟肼联合利福平治疗 3 个月后, 其中 59.38% (38 例) 转为阴性, 根据患者 TST 结果分为 TST 阴转亚组 ($n = 38$) 和 TST 持续阳性亚组 ($n = 26$)。TST 持续阳性亚组患者血 γ -干扰素水平治疗后较治疗前 [(4.38 ± 1.55) IU/ml vs (8.63 ± 3.22) IU/ml] 明显降低 ($P < 0.01$), 但 TST 阴转亚组和 TST 持续阳性亚组治疗后组间比较无统计学差异 [(4.30 ± 1.09) IU/ml vs (4.38 ± 1.55) IU/ml, $P > 0.05$]。TST 阴转亚组患者中, 3 例治疗后 6 个月成功怀孕。**结论** γ -干扰素释放试验在诊断原发女性不孕患者潜伏性结核感染中具有重要的临床价值。

关键词: 原发性不孕; 结核感染, 潜伏性; γ -干扰素释放试验; 病因诊断

中图分类号: R 711.6 R 52 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2017)01-0034-04

Application of interferon-gamma release assay on the diagnosis of latent tuberculosis infection in female primary infertility patients

WANG Hai-xiang, CHEN Xiu-juan, ZHANG Xian-li

Reproductive Center, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia 010050, China

Corresponding: CHEN Xiu-juan, E-mail: chenxiujuandoc@163.com

Abstract: Objective To investigate clinical application value of interferon-gamma release assay in the diagnosis of latent tuberculosis infection in female primary infertility patients. **Method** The clinical data of 100 female primary infertility patients received and cured between January 2013 and March 2015 were collected prospectively. According to tuberculin skin test (TST) result, the patients were divided into positive TST group ($n = 64$) and negative TST group ($n = 36$). Using A. TB kit, enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to perform interferon-gamma release assay. Blood interferon-gamma (γ -IFN) levels before therapy in two groups and the change of blood γ -IFN levels after therapy in positive TST group were compared. **Result** There were no significant difference in age, incidences of abnormality of menstrual cycle, abnormality of menstrual blood volume, abnormality of leucorrhea, pruritus vulvae, abnormality of endometrial shape and the history of the reproductive system infection, history of bacille calmette-guerin vaccination between two groups (all $P > 0.05$). The γ -IFN level in positive TST group significantly increased compared with that in negative TST group [(8.63 ± 3.22) IU/ml vs (3.96 ± 1.19) IU/ml, $P < 0.01$]. Three months after treatment of isoniazid and rifampicin in positive TST group, the patients were re-divided into TST converted to negative subgroup ($n = 38$) and TST persistent positive subgroup ($n = 26$) according to the result of rechecking TST. Compared with before therapy, the γ -IFN levels in both TST converted to negative subgroup and TST persistent positive subgroup after therapy significantly decreased, but showed no significant difference between two subgroups after therapy [(4.30 ± 1.09) IU/ml vs (4.38 ± 1.55) IU/ml, $P > 0.05$]. In TST con-

verted to negative subgroup, three patients got pregnant successfully six months after treatment. **Conclusion** Interferon-gamma release assay has an important clinical value for diagnosis of latent tuberculosis infection in female primary infertility patients.

Key words: Primary infertility; Tuberculosis infection, latent; Interferon-gamma release assay; Etiologic diagnosis

临床上,很多原发性不孕患者病因诊断较为困难,尤其是不明原因的原发性不孕^[1-2]。结核感染是导致不明原因女性不孕的主要原因^[3]。发展中国家是结核菌感染的重灾区,我国结核病患者人数位居世界前列^[4-5]。据统计,在 2010 年全球新增的结核感染患者高达 880 万。随着抗结核感染治疗方法的进步,多数确诊的结核感染患者病情可以得到较大的改善,甚至痊愈^[6-7]。但是,结核菌感染的危害却日益增加,根本原因是目前对于结核感染的诊断缺乏金标准。虽然对于有明确病灶的结核感染患者,影像学检查可较准确地协助诊断^[8-9]。但是对于潜伏性的感染,尚无可靠的检测方法。目前对于潜伏性的结核感染,主要检测手段为结核菌素皮肤试验(TST)。然而 TST 在诊断结核感染中缺乏特异性,主要表现为不能很好地区分陈旧性结核感染和新发结核感染^[10]。近些年,国外的一些研究表明 γ -干扰素释放试验在诊断新发的结核感染中具有较好的敏感性和特异性^[11],它是通过测定外周血单个核细胞(PBMC)中 T 细胞对结核分枝杆菌菌种特异性“早期分泌靶抗原 6”和“培养分泌蛋白 10”刺激后释放 γ -干扰素来判断是否存在结核杆菌的感染。截止目前为止,尚未见对 γ -干扰素释放试验在诊断原发女性不孕患者潜伏性结核感染中的临床应用价值的研究报道。本研究旨在探讨该试验在原发女性不孕患者潜伏性结核感染诊断中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究采用前瞻性研究方法,对象为 2013 年 1 月至 2015 年 3 月我院收治的原发性女性不孕患者 100 例。纳入标准:(1)原发性女性不孕;(2)20~35 岁;(3)夫妻双方有生育意愿。排除标准:(1)明确病因的原发性女性不孕患者;(2)研究期间转院或失访;(3)影像学检查示结核感染;(4)结核菌培养阳性;(5)输卵管梗阻;(6)原发性脏器功能不全;(7)精神病等不能合作患者;(8)伴有全身和生殖系统感染;(9)合并多囊卵巢综合征等其他生殖系统疾病。本研究通过本院伦理委员会批准,所有参与者均签署了知情同意书。入院后完善相关检验检查,明确诊断后对患者进行 TST 检查,根据 TST 检查结果将患者分为 TST 阳性组(硬结直径 ≥ 15 mm) 64 例

[年龄(28.45 \pm 4.69)岁]和 TST 阴性组(硬结直径 < 15 mm) 36 例[(28.64 \pm 4.75)岁]。两组患者年龄相当($P>0.05$),且均无严重的心脑血管疾病。

1.2 研究方法

1.2.1 诊断方法 不明原因的原发性女性不孕:夫妻双方不采取任何措施,有规律的夫妻生活且不采取避孕措施超过 1 年,男方健康,女性生殖系统等检查未发现多囊卵巢综合征等导致不孕的病因,但从未怀孕,则诊断为不明原因的原发性女性不孕。

1.2.2 研究策略 明确诊断后根据 TST 结果将患者分为 TST 阳性和阴性两组,对两组患者进行 γ -干扰素释放试验,比较两组患者血 γ -干扰素水平。对 TST 阳性组进行预防性抗结核治疗(异烟肼联合利福平,疗程:3 个月),治疗结束后再对患者进行 TST 和 γ -干扰素释放试验。根据治疗后 TST 结果,将 64 例 TST 阳性组患者分为 TST 阴转组和 TST 持续阳性组,比较两个亚组患者 γ -干扰素水平的差异。

1.2.3 γ -干扰素释放试验 使用试剂 A. TB(结核杆菌特异性细胞免疫反应检测试剂盒),采用酶联免疫法(ELISA)进行 γ -干扰素释放试验。在无菌条件下,采集新鲜的全血,使用肝素钠进行抗凝,16 h 内对样品进行刺激,使用 3 ml 以上的新鲜血液,定量检测 PBMC 中 γ -干扰素含量。

1.3 资料收集 两组患者的基础临床数据包括年龄、月经周期、月经量、白带异常、外阴瘙痒、子宫内膜形态异常、既往生殖系统感染史、既往结核感染病史和卡介苗接种率等。主要观察数据为两组患者血 γ -干扰素水平、治疗后 TST 阴转率和治疗后亚组血 γ -干扰素水平。

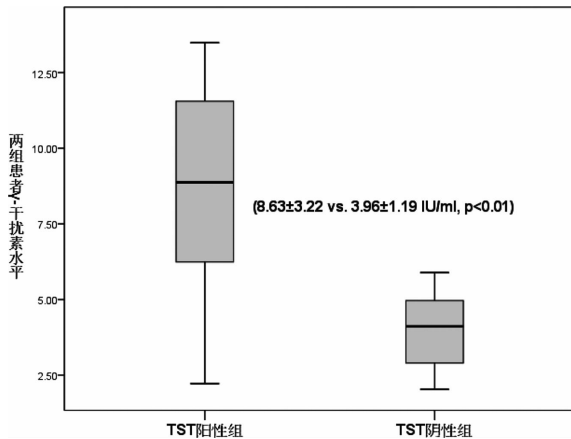
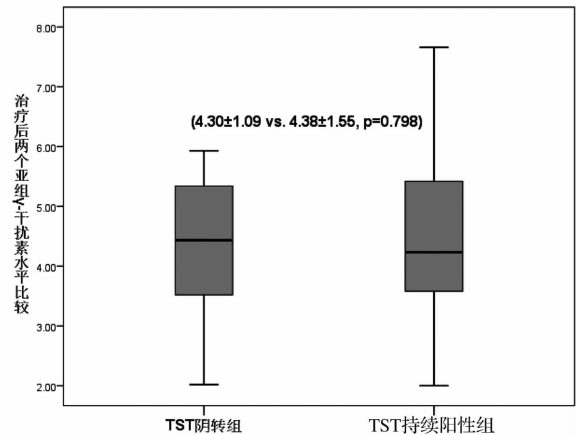
1.4 统计学处理 数据分析采用 SPSS 22.0 软件。对符合正态分布的连续变量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用独立样本 t 检验,并绘制直条图;分类变量资料以例(%)表示,采用四格表 χ^2 检验,当 $1 < T < 5$ 时,采用四格表 χ^2 检验的校正;当 $T < 1$ 时,采用 Fisher 确切概率法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义(双侧)。

2 结果

2.1 基础临床情况比较 两组患者的年龄和月经周期异常、月经量异常、白带异常、外阴瘙痒、子宫内膜形态异常率及生殖系统感染史、卡介苗接种史等比

表 1 两组患者临床症状及病史比较 例(%)

组别	例数	月经周 期异常	月经量 异常	白带异常	外阴瘙痒	子宫内膜 形态异常	生殖系统 感染史	结核感染史	卡介苗 接种史
TST 阳性组	64	12(18.75)	6(9.38)	5(7.81)	4(6.25)	3(4.69)	5(7.81)	3(4.69)	63(98.44)
TST 阴性组	36	3(8.33)	1(2.78)	1(2.78)	2(5.56)	0	2(5.56)	1(2.78)	34(94.44)
χ^2 值		1.961	0.694	0.335	0.000	0.502	0.000	0.000	0.263
P 值		0.161	0.405	0.563	1.000	0.479	0.987	1.000	0.608

图 1 两组患者治疗前 γ -干扰素比较图 2 治疗后两个亚组 γ -干扰素水平比较

较,差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。见表 1。

2.2 两组患者治疗前血 γ -干扰素水平 与 TST 阴性组相比,TST 阳性组患者血 γ -干扰素水平显著增高 [(8.63 \pm 3.22) IU/ml vs (3.96 \pm 1.19) IU/ml, $P < 0.01$]。见图 1。但 TST 阴性组有 2 例患者 γ -干扰素水平明显高于其余 TST 阴性的患者,其 γ -干扰素水平分别是 12.11 IU/ml 和 10.89 IU/ml。

2.3 TST 阳性组治疗后亚组 γ -干扰素水平 对入院时 TST 阳性患者 64 例给予异烟肼联合利福平治疗 3 个月后,其中 59.38% (38 例) 转为阴性,根据患者 TST 结果分为 TST 阴转亚组 ($n = 38$) 和 TST 持续阳性亚组 ($n = 26$)。TST 持续阳性亚组患者 γ -干扰素水平治疗后较治疗前 [(4.38 \pm 1.55) IU/ml vs (8.63 \pm 3.22) IU/ml] 明显降低 ($P < 0.01$),但 TST 阴转亚组和 TST 持续阳性亚组患者 γ -干扰素水平治疗后组间比较无统计学差异 [(4.30 \pm 1.09) IU/ml vs (4.38 \pm 1.55) IU/ml, $P = 0.798$]。见图 2。TST 阴转亚组患者中,3 例治疗后 6 个月怀孕。

3 讨论

尽管在一些结核病低疫情的国家如美国和欧洲等, γ -干扰素释放试验已经被广泛使用^[12]。但在一些低疫情的国家,多不接种疫苗,而我国是结核感染的重灾区,因此 γ -干扰素释放试验在我国的应用价值尚不清楚,尤其是在原发性女性不孕患者中。目前,尚未见对 γ -干扰素释放试验在诊断原发性女性不孕患者中的临床应用价值的研究报道。

为探讨 γ -干扰素释放试验在我国原发性女性不孕患者中的临床应用价值,我们设计了本研究。结果显示对于原发性女性不孕患者,TST 阳性者血 γ -干扰素水平显著增高 [(8.63 \pm 3.22) IU/ml vs (3.96 \pm 1.19) IU/ml]。对入院时 TST 阳性的患者进行异烟肼联合利福平治疗 3 个月后,59.38% (38 例) TST 阳性患者发生阴转。TST 阴转患者和持续阳性的患者,血 γ -干扰素水平均明显下降。这种现象可能说明 γ -干扰素在评价预防性抗结核治疗的疗效中更敏感,更有临床应用价值。但由于潜伏性结核感染的诊断缺乏金标准^[13],多数患者无法明确是否合并结核感染或者结核感染的时间,这个推测尚需要进一步证实。另外,本研究 TST 阴转的患者中,有 3 例治疗结束 6 个月后成功怀孕,表明对这部分患者进行预防性抗结核治疗具有一定的成效,不过本研究样本量不够大,尚缺乏说服力。但是,从目前的相关研究中可以发现,潜伏性结核感染是原因不明原发性女性不孕的主要原因之一^[3],所以预防性抗结核治疗是否可以帮助原发女性不孕患者在治疗中获益值得进一步探讨。

临床上常认为 TST 阴性的患者无结核感染,但本研究中 TST 阴性组有 2 例患者 γ -干扰素水平明显高于其余 TST 阴性的患者,其 γ -干扰素水平分别为 12.11 IU/ml 和 10.89 IU/ml,这可能是 TST 存在一定的假阴性率造成的^[14]。

本研究的主要优点是一个前瞻性的对照试验,具有一定的创新性;缺点是未能明确 γ -干扰素释放试验在结核感染诊断中的敏感性和特异性,这主要是受

限于目前尚缺乏对结核潜伏性感染诊断的金标准,故无法对 γ -干扰素释放试验进行诊断效能的分析。

综上所述, γ -干扰素释放试验在诊断原发女性不孕患者潜伏性结核感染中具有重要的临床价值。

参考文献

- [1] Aziz MU, Anwar S, Mahmood S. Hysterosalpingographic evaluation of primary and secondary infertility[J]. Pak J Med Sci, 2015, 31(5): 1188 - 1191.
- [2] Kazemijaliseh H, Ramezani Tehrani F, Behboudi-Gandevani S, et al. The Prevalence and Causes of Primary Infertility in Iran: A Population-Based Study[J]. Glob J Health Sci, 2015, 7(6): 226 - 232.
- [3] Wanyoike-Gichuhi J, Parkar R. Atypical Tuberculosis Presenting with Primary Infertility and Endometrial Calcification[J]. East Afr Med J, 2014, 91(11): 423 - 426.
- [4] Hamilton CD, Swaminathan S, Christopher DJ, et al. RePORT International: Advancing Tuberculosis Biomarker Research Through Global Collaboration[J]. Clin Infect Dis, 2015, 61(Suppl 3): S155 - S159.
- [5] WHO global tuberculosis control report 2010. Summary[J]. Cent Eur J Public Health, 2010, 18(4): 237.
- [6] Murray JF, Schraufnagel DE, Hopewell PC. Treatment of Tuberculosis. A Historical Perspective[J]. Ann Am Thorac Soc, 2015, 12(12): 1749 - 1759.
- [7] Nam SJ, Cho YJ. The successful treatment of refractory respiratory failure due to miliary tuberculosis: Survival after prolonged extracor-

poreal membrane oxygenation support[J]. Clin Respir J, 2016, 10(3): 393 - 399.

- [8] Stelzmueller I, Huber H, Wunn R, et al. 18 F-FDG PET/CT in the Initial Assessment and for Follow-up in Patients With Tuberculosis[J]. Clin Nucl Med, 2016, 41(4): e187 - e194.
- [9] 邓瑞芳. CT 与 MRI 影像学诊断脊柱结核的差异[J]. 中国医疗器械杂志, 2015, 39(4): 302 - 303.
- [10] Buchwald UK, Adetifa IM, Bottomley C, et al. Broad adaptive immune responses to M. tuberculosis antigens precede TST conversion in tuberculosis exposed household contacts in a TB-endemic setting[J]. PLoS One, 2014, 9(12): e116268.
- [11] Kruczak K, Duplaga M, Sanak M, et al. Comparison of IGRA tests and TST in the diagnosis of latent tuberculosis infection and predicting tuberculosis in risk groups in Krakow, Poland[J]. Scand J Infect Dis, 2014, 46(9): 649 - 655.
- [12] Santin M, García-García JM, Domínguez J, et al. Guidelines for the use of interferon-gamma release assays in the diagnosis of tuberculosis infection[J]. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2016, 34(5): 303.
- [13] Lalvani A, Pareek M. A 100 year update on diagnosis of tuberculosis infection[J]. Br Med Bull, 2010, 93: 69 - 84.
- [14] Diel R, Loddenkemper R, Meywald-Walter K, et al. Predictive value of a whole blood IFN-gamma assay for the development of active tuberculosis disease after recent infection with Mycobacterium tuberculosis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2008, 177(10): 1164 - 1170.

收稿日期: 2016-07-17 修回日期: 2016-08-07 编辑: 石嘉莹

(上接第 33 页)

- [6] Malik AN, Gross BA, Rosalind Lai PM, et al. Neurogenic Stress Cardiomyopathy After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage[J]. World Neurosurg, 2015, 83(6): 880 - 885.
- [7] Ivanov A, Linninger A, Hsu CY, et al. Correlation between angiographic transit times and neurological status on admission in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. J Neurosurg, 2016, 124(4): 1093 - 1099.
- [8] Wong GK, Nung RC, Sitt JC, et al. Location, infarct load, and 3-month outcomes of delayed cerebral infarction after aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. Stroke, 2015, 46(11): 3099 - 3104.
- [9] Konczalla J, Schuss P, Platz J, et al. Clinical outcome and prognostic factors of patients with angiogram-negative and non-perimesencephalic subarachnoid hemorrhage: benign prognosis like perimesencephalic SAH or same risk as aneurysmal SAH? [J]. Neurosurg Rev, 2015, 38(1): 121 - 127.
- [10] Helbok R, Schiefecker AJ, Beer R, et al. Early brain injury after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a multimodal neuromonitoring study[J]. Crit Care, 2015, 19(1): 75.
- [11] Zhang L, Wang Z, Qi S. Cardiac Troponin Elevation and Outcome after Subarachnoid Hemorrhage: A Systematic Review and Meta-analysis[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2015, 24(10): 2375 - 2384.
- [12] Oras J, Grivans C, Dalla K, et al. High-Sensitive Troponin T and N-

Terminal Pro B-Type Natriuretic Peptide for Early Detection of Stress-Induced Cardiomyopathy in Patients with Subarachnoid Hemorrhage[J]. Neurocrit Care, 2015, 23(2): 233 - 242.

- [13] Baydin A, Amanvermez R, Tuncel OK, et al. Ischemia-modified albumin is not better than creatine kinase-MB and cardiac troponin I in predicting a cardiac injury in nontraumatic subarachnoid hemorrhage[J]. Am J Emerg Med, 2015, 33(4): 488 - 492.
- [14] Gupte M, John S, Prabhakaran S, et al. Troponin elevation in subarachnoid hemorrhage does not impact in-hospital mortality[J]. Neurocrit Care, 2013, 18(3): 368 - 373.
- [15] Simon-Pimmel J, Lorton F, Guiziou N, et al. Serum S100 β neuroproteins reduces use of cranial computed tomography in children after minor head trauma[J]. Shock, 2015, 44(5): 410 - 416.
- [16] Patro N, Naik A, Patro IK. Differential temporal expression of S100 β in developing rat brain[J]. Front Cell Neurosci, 2015, 9(3): 87.
- [17] 杨波, 刘艳芳, 边立衡, 等. 血浆 S100B 蛋白预测动脉瘤性蛛网膜下腔出血短期预后及并发症的研究[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2015, 41(11): 674 - 678.
- [18] Turck N, Vutskits L, Sanchez-Pena P, et al. A multiparameter panel method for outcome prediction following aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. Intensive Care Med, 2010, 36(1): 107 - 115.

收稿日期: 2016-08-03 修回日期: 2016-09-02 编辑: 石嘉莹