

DOI:10.16781/j.0258-879x.2019.07.0721

· 专题报道 ·

基于 γ 干扰素释放试验的流式荧光免疫分析法检测结核分枝杆菌的方法学研究

朱俊[△], 马炜[△], 李亚周, 刘云, 秦琴*

海军军医大学(第二军医大学)长海医院实验诊断科, 上海 200433

[摘要] **目的** 基于 γ 干扰素释放试验(IGRA), 利用流式荧光免疫分析法建立一种检测结核分枝杆菌(TB)感染的新方法。**方法** 分别用植物凝集素(PHA)、TB特异性混合多肽[早期分泌靶抗原(ESAT-6)和培养滤液蛋白10(CFP-10)]刺激全血标本产生 γ 干扰素(IFN- γ), 用双抗体夹心法结合流式荧光技术检测培养后血浆中的IFN- γ 浓度, 使用受试者工作特征(ROC)曲线评价其对TB感染的诊断效能。对该方法的线性范围、最低检测限、重复性、抗干扰性能及其与市售同类产品检测的一致性进行评价。**结果** 流式荧光免疫分析法检测IFN- γ 的线性范围为2~1 000 pg/mL, 最低检测限为0.3 pg/mL; 检测100 pg/mL和500 pg/mL 2个浓度标本的重复性, 2个浓度下变异系数分别为4.58%和2.46%; 回收试验平均回收率为98.0%; 三酰甘油 \leq 50 mg/mL、胆红素 \leq 0.6 mg/mL、血红蛋白 \leq 10 mg/mL时对流式荧光免疫分析法检测结果无干扰。通过ROC曲线确定该方法诊断TB感染的最佳截断值为10 pg/mL, 此时灵敏度为82.46%, 特异度为87.30%。该方法与市售TB感染T淋巴细胞斑点试验(T-SPOT)试剂盒、QuantiFERON-TB Gold(QFT)试剂盒和万泰TB-IGRA试剂盒诊断TB感染的总符合率分别为92.5%、83.0%和85.4%, $Kappa$ 系数分别为0.822、0.622和0.630。**结论** 本研究建立的TB感染检测方法性能良好, 准确性达到市售同类产品的水平, 且在重复性、检测流程等方面具有明显优势。

[关键词] 结核分枝杆菌; γ 干扰素; 流式荧光免疫试验; 诊断

[中图分类号] R 378.911

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2019)07-0721-06

Flow cytometry fluorescence immunoassay based on interferon γ release assay: a method for *Mycobacterium tuberculosis* detection

ZHU Jun[△], MA Wei[△], LI Ya-zhou, LIU Yun, QIN Qin*

Department of Laboratory Medicine, Changhai Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To establish a new method for detecting *Mycobacterium tuberculosis* (TB) infection based on flow cytometry fluorescence immunoassay and interferon γ release assay (IGRA). **Methods** The whole blood samples were stimulated to produce interferon γ (IFN- γ) with phytagglutinin (PHA) and TB specific mixed peptides (early secretory antigenic target [ESAT-6] and culture filtrate protein 10 [CFP-10]), and the plasma was analyzed by double antibody sandwich method combined with flow cytometry fluorescence immunoassay. The IFN- γ concentration was evaluated by receiver operating characteristic (ROC) curve for the diagnostic efficacy of TB. The linear range, minimum detection limit, repeatability, anti-interference performance of the established method were observed, and the consistency of detection with similar products on the market was evaluated. **Results** The linearity of the flow cytometry fluorescence immunoassay ranged from 2 pg/mL to 1 000 pg/mL. The lowest detection limit was 0.3 pg/mL; the repeatability parameters (coefficient of variation) of the samples at 100 pg/mL and 500 pg/mL were 4.58% and 2.46%, respectively. The average recovery rate of recovery assay was 98.0%. There was no interference with flow cytometry fluorescence immunoassay when the highest concentrations of triglyceride, bilirubin and hemoglobin were 50 mg/mL, 0.6 mg/mL and 10 mg/mL, respectively. As the optimum cut-off value of the IFN- γ concentration was 10 pg/mL, the sensitivity of IFN- γ in diagnosis of TB infection was 82.46% and the specificity

[收稿日期] 2019-02-18 **[接受日期]** 2019-06-26

[基金项目] 上海青年临床医技人才(临床检验专业)培养资助计划(沪卫医基[2016]04号)。Supported by the Training Program for Young Clinical Medical Talents (Clinical Laboratory) in Shanghai (HYW[2016]04)。

[作者简介] 朱俊, 主管技师。E-mail: zjhuun@163.com; 马炜, 技师。E-mail: mwei1991@163.com

[△]共同第一作者(Co-first authors)。

*通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-31162075, E-mail: qinq78@163.com

was 87.30%. The total coincidence rates with T-SPOT, QFT, and Wantai TB-IGRA reagent were 97.2%, 83.0%, and 85.4%, respectively; and the *Kappa* coefficients were 0.822, 0.622 and 0.630, respectively. **Conclusion** The method for diagnosis of TB infection established in this study has a good performance, with the accuracy reaching the level of similar products on the market, and our method has obvious advantages in terms of repeatability and detection process.

[Key words] *Mycobacterium tuberculosis*; interferon γ ; flow cytometry fluorescence immunoassay; diagnosis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2019, 40(7): 721-726]

结核病是一种传染性疾病,由机体被结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, TB)感染引起,每年全球感染人数近1 000万,有超过100万人因结核病死亡^[1]。我国是结核病高风险国家,结核病的诊断对于疫情的控制至关重要。目前,TB感染的诊断方法主要有影像学、抗酸染色镜检、TB培养以及结核菌素皮内敏感试验(tuberculin skin test, TST),但这些传统检测方法普遍存在灵敏度差、特异度低、测试周期长、需要回访等缺点^[2-3]。血清学检测技术(测试血清中TB特异抗体或抗原)虽然操作简便、能够快速获知结果,但因容易产生大量的误诊、漏诊而在2011年被世界卫生组织正式叫停,进而一种基于T淋巴细胞介导免疫应答的全新体外诊断技术得到推荐,即 γ 干扰素释放试验(interferon γ release assay, IGRA)^[4]。IGRA采用两种TB特异的重组蛋白[早期分泌靶向抗原(early secretory antigenic target, ESAT-6)和培养滤液蛋白10(culture filtrate protein 10, CFP-10)]体外刺激T淋巴细胞,如果受试者曾经感染过TB,其体内存在的T淋巴细胞再次受到该类抗原刺激时,将增殖分化并释放大量的 γ 干扰素(interferon γ , IFN- γ),通过检测IFN- γ 含量判断机体是否存在TB感染。目前,基于IGRA检测TB感染的市售主流产品的检测技术主要分为酶联免疫斑点试验(enzyme-linked immunospot assay, ELISPOT)和酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)两种,这两种方法操作流程相对烦琐、耗时较长。有研究发现,市售IGRA产品在结核病诊断中的准确度不足^[4],有待进一步改进。本研究旨在利用流式荧光免疫分析法快速高效的特点^[5],建立一种基于IGRA原理检测TB感染的新方法。

1 材料和方法

1.1 主要试剂及仪器 Luminex 200多功能流式点阵仪为美国Luminex公司产品,ELiSpot Classic免疫斑点读数仪为德国AID公司产品, Multiskan 酶标仪为美国Thermo公司产品。植物

凝集素(phytagglutinin, PHA)购自美国Sigma公司, AIM-V培养基购自美国Gibco公司,万泰TB-IGRA试剂盒购自北京万泰生物药业股份有限公司, T淋巴细胞斑点试验(T lymphocyte spot test, T-SPOT)试剂盒购自上海复星医药(集团)股份有限公司, QuantiFERON-TB Gold(QFT)试剂盒购自德国Qiagen公司, IFN- γ 纯品、TB特异混合多肽(ESAT-6、CFP-10)、包被抗体、标记抗体、荧光编码微球及藻红蛋白(R-phycoerythrin, RPE)均由上海透景生命科技股份有限公司提供。

1.2 标本来源 收集2015年1月13日至2016年11月21日海军军医大学(第二军医大学)长海医院实验诊断科120例临床全血标本,通过查阅临床诊断资料证实其中57例为确诊TB感染阳性的全血标本,63例为阴性对照全血标本,采用流式荧光免疫分析法进行检测。收集2016年7月13日至2016年9月21日长海医院实验诊断科133例临床全血标本,分别采用T-SPOT试剂盒常规检测及流式荧光免疫分析法检测;收集2017年5月22日至2017年6月7日长海医院实验诊断科47例临床全血标本,分别采用QFT试剂盒及流式荧光免疫分析法检测;收集2017年5月15日至2017年11月30日长海医院实验诊断科212例临床全血标本,分别使用万泰TB-IGRA试剂盒及流式荧光免疫分析法检测。本研究通过海军军医大学(第二军医大学)长海医院伦理委员会审批。

1.3 基于IGRA的流式荧光免疫分析法的建立

1.3.1 试剂制备 将PHA和TB特异性混合多肽使用AIM-V培养基稀释,配制成阳性对照培养液及检测培养液;将1株IFN- γ 单克隆抗体包被在荧光编码微球上,制成固相结合物工作液;将另1株IFN- γ 单克隆抗体与RPE偶联,制成发光结合物工作液;使用含牛血清白蛋白的磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)将IFN- γ 纯品配制成6个浓度梯度(0、10、50、200、600、1 000 pg/mL)的校准品。

1.3.2 全血刺激孵育 使用肝素化抗凝采血管采集全血标本,以每管 1 mL 分别加入 N、T、P 3 个培养管中(N 管为本底对照培养管,T 管为添加了 TB 特异性混合多肽的检测培养管,P 管为添加了非特异性刺激剂 PHA 的阳性对照培养管),充分混匀后,迅速置于 37 °C 恒温培养箱中孵育 18~24 h。

1.3.3 流式荧光免疫分析 在反应板中每孔加入 25 μ L 固相结合物工作液和 25 μ L 样品,加盖封板纸后充分振荡混匀;37 °C 避光反应 15 min;孵育结束后,将反应板放置在磁性分离板上 1 min,甩弃反应上清,并使用洗涤液洗涤 1 次,分离 1 min 后甩弃反应上清;加入 25 μ L 发光结合物工作液,加盖封板纸后充分振荡混匀;37 °C 避光反应 15 min;孵育结束后,将反应板放置在磁性分离板上 1 min,甩弃反应上清,并使用洗涤液洗涤 1 次,分离 1 min 后甩弃反应上清;加入 100 μ L 重悬液,在 Luminex 200 多功能流式点阵仪上读取每孔荧光编码微球信号强度。

1.3.4 IFN- γ 释放浓度计算 以平均荧光信号强度 (mean fluorescence intensity, MFI) 为纵坐标,以校准品浓度作为横坐标,通过五参数拟合法进行拟合,生成剂量反应曲线(图 1)。根据该曲线计算得到的 IFN- γ 浓度即为原标本中不同培养环境下 IFN- γ 的释放浓度。

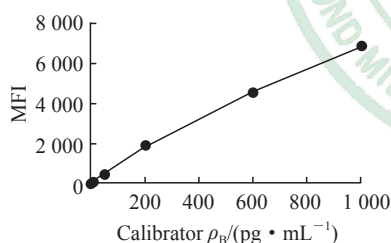


图 1 流式荧光免疫分析法检测 IFN- γ 的校准曲线

Fig 1 Calibration curve of IFN- γ as detected by flow cytometry fluorescence immunoassay

IFN- γ : Interferon γ ; MFI: Mean fluorescence intensity

1.4 基于 IGRA 的流式荧光免疫分析法的方法学评价

1.4.1 线性范围 收集 IFN- γ 高值(1 000 pg/mL)、低值(2 pg/mL)标本,按美国临床和实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)文件定量检测系统线性评价方法(EP6-A)^[6],将高值和低值标本按一定比例相互混合成 9 个浓度(2.0、12.0、51.9、101.8、201.6、401.2、600.8、800.4、1 000 pg/mL)的样品,用流式荧光免疫分析法检测 IFN- γ 浓度,每个浓度的样品重

复检测 2 次,计算平均值。采用线性、二次多项式及三次多项式模型对稀释浓度及检测均值进行回归分析。

1.4.2 最低检测限 将 20 个空白孔加入不含 IFN- γ 的抗原稀释液(含牛血清白蛋白的 PBS),然后分别测定其荧光信号值,计算其平均值(\bar{x})及标准差(s)。以荧光信号值 $\bar{x}+2s$ 对应的 IFN- γ 浓度作为最低检测限。

1.4.3 重复性 使用 100 pg/mL 和 500 pg/mL 2 个浓度的标本,采用流式荧光免疫分析法重复检测 20 次,计算批内检测结果的平均值 \bar{x} 、标准差 s 及变异系数(coefficient of variation, CV)。

1.4.4 回收率 选择 1 例常规检测标本,分为 4 份,向其中 3 份标本中加入不同浓度的 IFN- γ 标准物质(赋过值的 IFN- γ 抗原纯品),1 份标本加入等体积的基质溶液,制成 3 份不同浓度(30、100、300 pg/mL)的回收样品及 1 份基础样品。对这些样品进行 3 次重复分析,计算回收率。

1.4.5 抗干扰能力评估 按照美国国家临床实验室标准委员会(National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS)制定的 EP7-P 干扰实验评价方案^[7],在高低 2 个浓度(206.2、45.1 pg/mL IFN- γ)的样品中加入不同浓度的三酰甘油(25、50、75、100 mg/mL)、胆红素(0.2、0.4、0.6、0.8 mg/mL)和血红蛋白(5、10、15、20 mg/mL)模拟干扰,以相对偏差分析检测方法对这 3 种常见干扰物质的抗干扰能力。

1.5 基于 IGRA 的流式荧光免疫分析法的诊断价值评估 收集 120 例临床全血标本,其中 57 例为确诊 TB 感染阳性标本,63 例为阴性对照标本,使用流式荧光免疫分析法检测,对检测结果作受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线,获得最佳截断值,计算灵敏度和特异度。

1.6 基于 IGRA 的流式荧光免疫分析法与市售试剂盒检测一致性比较 收集 133 例临床全血标本,分别使用 T-SPOT 试剂盒和流式荧光免疫分析法检测,比较两种方法检测结果的一致性;收集 47 例临床全血标本,分别使用 QFT 试剂盒和流式荧光免疫分析法检测,比较两种方法检测结果的一致性;收集 212 例临床全血标本,分别使用万泰 TB-IGRA 试剂盒和流式荧光免疫分析法检测,比较两种方法检测结果的一致性。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 18.0 软件与 GraphPad Prism 5 软件进行数据统计分析与图形处理。采用线性、二次多项式及三次多项式模型对稀释浓度及检测均值进行回归分析;采用 ROC 曲线评估流式荧光免疫分析法的诊断效能,选取约登指数最大时的浓度作为最佳截断值,计算灵敏度和特异度;绘制四格表,计算阴性符合率、阳性符合率和 Kappa 系数。检验水准 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 方法学评估结果 回归分析结果显示二次多项式及三次多项式的非线性系数无统计学意义 (P 值分别为 0.684 和 0.361), 线性回归系数有统计学意义 ($P < 0.001$), 精密度评价测量相对误差为 0.07%, 可确定流式荧光免疫分析法检测 IFN- γ 在 2~1 000 pg/mL 范围内呈线性, 此时 $R^2 = 0.999$ 。IFN- γ 的最低检测限为 0.3 pg/mL; 重复性分析显示 100 pg/mL 和 500 pg/mL 2 个浓度下 CV 分别为 4.58% 和 2.46%; 回收试验显示 30、100、300 pg/mL 回收样品的回收率分别为 94.9%、104.0%、95.1%, 平均回收率为 98.0%; 抗干扰能力试验结果显示样品中三酰甘油 ≤ 50 mg/mL、胆红素 ≤ 0.6 mg/mL、血红蛋白 ≤ 10 mg/mL 时对流式荧光免疫分析法检测结果无干扰 (图 2)。

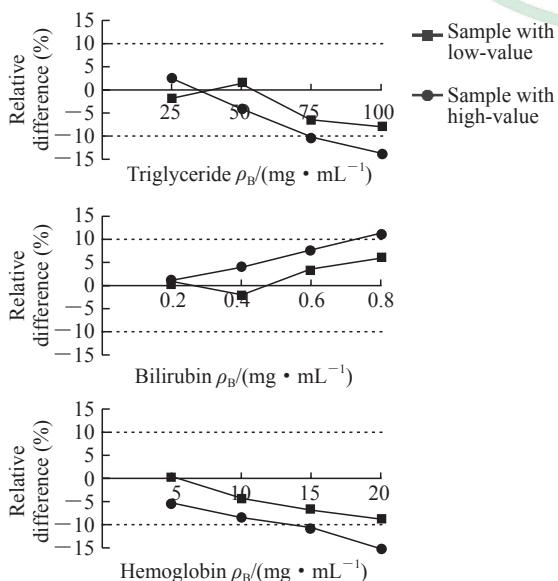


图 2 流式荧光免疫分析法检测 IFN- γ 的抗干扰实验结果
Fig 2 Anti-interference test results of IFN- γ as detected by flow cytometry fluorescence immunoassay

IFN- γ : Interferon γ

2.2 诊断价值评估结果 收集 120 例临床全血标本, 其中 57 例确诊 TB 感染阳性标本, 63 例阴性对照标本, 使用流式荧光免疫分析法检测, 对检测结果进行 ROC 曲线分析, 结果显示曲线下面积 (area under curve, AUC) 为 0.868 8 (图 3), 最佳截断值在 9.8~10.1 pg/mL 之间, 取最佳截断值为 10 pg/mL, 此时灵敏度为 82.46%, 特异度为 87.30%。

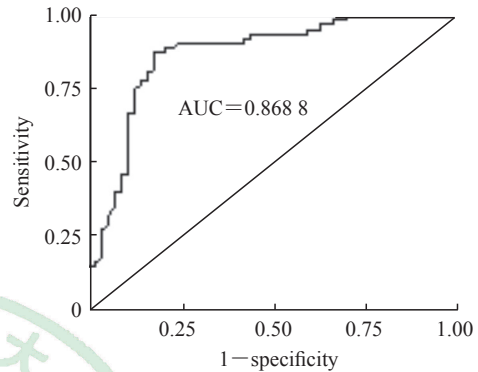


图 3 流式荧光免疫分析法检测 IFN- γ 诊断 TB 感染的 ROC 曲线

Fig 3 ROC curve of IFN- γ as detected by flow cytometry fluorescence immunoassay for diagnosis of TB infection

IFN- γ : Interferon γ ; TB: *Mycobacterium tuberculosis*; ROC: Receiver operating characteristic; AUC: Area under curve

2.3 一致性检验结果 流式荧光免疫分析法和 3 种市售试剂盒的检测结果见表 1, 一致性检验结果见表 2。市售 T-SPOT 试剂盒与流式荧光免疫分析法检测结果的阳性符合率为 97.2%, 阴性符合率为 90.7%, 总符合率为 92.5%, Kappa 系数为 0.822; 市售 QFT 试剂盒与流式荧光免疫分析法检测结果的阳性符合率为 80.0%, 阴性符合率为 84.4%, 总符合率为 83.0%, Kappa 系数为 0.622; 市售万泰 TB-IGRA 试剂盒与流式荧光免疫分析法检测结果的阳性符合率为 76.4%, 阴性符合率为 88.5%, 总符合率为 85.4%, Kappa 系数为 0.630。

3 讨论

目前市场上利用 IGRA 检测 TB 感染的主要产品有 T-SPOT、QFT 和 TB-IGRA 等, 其中 T-SPOT 基于 ELISPOT 法以计数阳性细胞数目的方法来判定结果, 细胞计数可以使用显微镜人工计数, 此法存在工作量大、人员主观影响因素多、结果重复性差等缺点, 若使用酶联斑点图像分析仪, 相对减少

了工作量, 但价格相对昂贵, 而且整个细胞培养的过程对人员操作要求高、操作烦琐; 而 QFT 和 TB-IGRA 是基于 ELISA 法检测 IFN- γ , 其方法较

T-SPOT 结果判断相对简单, 但 ELISA 孵育时间较长, 使得检测 IFN- γ 过程就需要 3 h 以上, 而且灵敏度和特异度较 T-SPOT 略差一些。

表 1 流式荧光免疫分析法和 3 种市售试剂盒的检测结果比较

Tab 1 Comparison of the results of flow cytometry fluorescence immunoassay with 3 commercially available reagents

Flow cytometry fluorescence immunoassay	T-SPOT			QFT			Wantai TB-IGRA		
	Positive	Negative	Total	Positive	Negative	Total	Positive	Negative	Total
Positive	35	9	44	12	5	17	42	18	60
Negative	1	88	89	3	27	30	13	139	152
Total	36	97	133	15	32	47	55	157	212

T-SPOT: T lymphocyte spot test; QFT: QuantiFERON-TB Gold; TB-IGRA: Tuberculosis interferon γ release assay

表 2 流式荧光免疫分析法与 3 种市售试剂盒检测结果的一致性分析

Tab 2 Consistency analysis between flow cytometry fluorescence immunoassay and 3 commercially available reagents

Comparative reagent	Positive coincidence rate (%)	Negative coincidence rate (%)	Total coincidence rate (%)	Kappa coefficient
T-SPOT	97.2	90.7	92.5	0.822
QFT	80.0	84.4	83.0	0.622
Wantai TB-IGRA	76.4	88.5	85.4	0.630

T-SPOT: T lymphocyte spot test; QFT: QuantiFERON-TB Gold; TB-IGRA: Tuberculosis interferon γ release assay

流式荧光免疫分析法整合了荧光编码微球、激光分析、应用流体力学及高速数字信号处理等多项新技术, 具有高通量、高敏感性、快速准确和仅需极少标本量等优势, 可用于免疫分析、核酸研究、酶学分析、受体和配体识别分析等多领域的研究^[5]。本研究将 2 株 IFN- γ 单克隆抗体分别连接在荧光编码微球及 RPE 上, 形成双抗体夹心的反应模式, 用以检测经 TB 特异性抗原刺激的全血标本产生的 IFN- γ , 检测过程可在 1 h 内完成, 而且操作较 T-SPOT、QFT 和 TB-IGRA 等方法简单, 影响因素也少。

本研究根据 CLSI 文件定量检测系统线性评价方法 (EP6-A)^[6], 确定流式荧光免疫分析法检测 IFN- γ 的线性范围为 2~1 000 pg/mL, 最低检测限为 0.5 pg/mL; 而市售同类产品万泰 TB-IGRA 试剂盒的检测线性范围为 12.5~400 pg/mL, 最低检测限为 2 pg/mL; T-SPOT 试剂盒通过判读斑点数来判断阳性和阴性, 主要用于定性分析; QFT 试剂盒虽然能够利用 ELISA 技术测出相应的 IFN- γ 活性值 (U/mL), 但因其影响因素较多, 因此其结果的判断仅是将加入 TB 抗原血浆的 TB 管与加入对照血浆的 Nil 管对比来

判断阳性和阴性, 无法精确定量。由此可见, 流式荧光免疫分析法检测线性范围更宽、最低检测限更低, 且操作流程简化, 减少了部分高浓度标本重新稀释检测的过程, 节约了检测时间及试剂成本。从本实验的回收率数据来看, 平均回收率达 98.0%, 说明该方法是可行的。对检测线性范围内 100 pg/mL 和 500 pg/mL 2 个浓度的标本进行了重复性实验, 其中 100 pg/mL 标本的 CV 为 4.58%, 500 pg/mL 标本的 CV 为 2.46%, 说明该方法的重复性好, 精密度较高。从抗干扰实验结果看, 血液样品的三酰甘油 \leq 50 mg/mL、胆红素 \leq 0.6 mg/mL、血红蛋白 \leq 10 mg/mL 时, 对 IFN- γ 检测结果无干扰。

韦海旭等^[2]对 57 例临床标本分析发现 T-SPOT 试剂的灵敏度为 83.3%, 特异度为 96.4%; 鲍磊等^[8]研究发现 QFT 试剂在成人中诊断灵敏度为 78.57%, 特异度为 84.62%; 万泰 TB-IGRA 试剂说明书给出对 1 228 例有效标本的灵敏度为 78.3%, 特异度为 76.2%; 本研究采用流式荧光免疫分析法对 120 例临床全血标本进行检测, 发现以最佳截断值 10 pg/mL 为标准时, 灵敏度为 82.46%, 特异度为 87.30%。本研究还对流式荧光免疫分析法与市

售同类产品的检测一致性进行了验证,结果显示流式荧光免疫分析法与 T-SPOT 试剂盒、QFT 试剂盒和万泰 TB-IGRA 试剂盒均具有较高的一致性,总符合率分别为 92.5%、83.0% 和 85.4%, *Kappa* 系数分别为 0.822、0.622 和 0.630。从上述数据可以看出,流式荧光免疫分析法检测的灵敏度及特异度与市售同类产品相当。说明本研究建立的新方法检测准确度达到了市售同类产品的要求,并且在最低检测限、检测范围、精密度、操作流程、检测时间等方面具有明显的优势,有利于在各级检验机构推广。

近年来,一些新的 TB 感染相关指标被报道,如 IFN- γ 诱导蛋白 10 (IFN- γ inducible protein 10, IP-10)。Wang 等^[9]研究发现全血结核特异性的 IP-10 检测可能成为结核病辅助诊断的指标之一; Jeong 等^[10]研究表明 IP-10 在鉴别活动性肺结核与潜伏性肺结核时具有重要意义; Qiu 等^[11]研究表明 IP-10 是一种有发展前景的诊断潜伏性 TB 感染的生物标志物。因此,可以利用流式荧光免疫分析法多指标联合检测的优势,在不增加检测时间的情况下,实现 IFN- γ 、IP-10 甚至更多指标的同时检测,进一步提高 TB 感染诊断的准确度,为结核病的防治提供依据。

[参考文献]

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2017[R]. Geneva: WHO Press, 2017: 1-2.
- [2] 韦海旭,席薇莲,陆利欢,陈健. γ -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,2012,17:1439-1440.
- [3] 丰玫玫,苏文琴. 结核分枝杆菌诊断技术的发展及目前临床应用的新型诊断技术产品分析[J]. 中国医药科学, 2012,2:26-28.
- [4] WHITWORTH H S, BADHAN A, BOAKYE A A, TAKWOINGI Y, REES-ROBERTS M, PARTLETT C, et al. Clinical utility of existing and second-generation interferon- γ release assays for diagnostic evaluation of tuberculosis: an observational cohort study[J]. Lancet Infect Dis, 2019, 19: 193-202.
- [5] 姚见儿. Luminex 高通量检测技术的应用和挑战[J]. 临床检验杂志,2010,28:250-251.
- [6] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach; approved guideline. CLSI document EP6-A[S]. Wayne: CLSI, 2003.
- [7] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. Proposed Guideline, NCCLS document 1986; EP7-P[S]. Wayne: NCCLS, 1986.
- [8] 鲍磊,李涛,卢水华. 全血 γ 干扰素释放试验在儿童和成人中的结核病诊断价值[J]. 微生物与感染,2014,9:21-27.
- [9] WANG Y, YANG Y, LI H, LIANG Y, LIU J, YU T, et al. Evaluation of a whole blood chemiluminescent immunoassay of interferon-gamma inducible protein 10 (IP-10) for diagnosis of tuberculosis patients[J]. Clin Lab, 2016, 62(1/2): 165-172.
- [10] JEONG Y H, HUR Y G, LEE H, KIM S, CHO J E, CHANG J, et al. Discrimination between active and latent tuberculosis based on ratio of antigen-specific to mitogen-induced IP-10 production[J]. J Clin Microbiol, 2015, 53: 504-510.
- [11] QIU X, TANG Y, YUE Y, ZENG Y, LI W, QU Y, et al. Accuracy of interferon- γ -induced protein 10 for diagnosing latent tuberculosis infection: a systematic review and meta-analysis[J]. Clin Microbiol Infect, 2019, 25: 667-672.

[本文编辑] 孙 岩