

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2017.11.016

· 论 著 ·

T-SPOT 在儿童结核病诊断中的价值

刘思景, 丁邦显, 游娟

(华中科技大学同济医学院附属武汉儿童医院, 湖北 武汉 430016)

[摘要] **目的** 探讨 T 淋巴细胞酶联免疫斑点法(T-SPOT)在儿童结核病(TB)诊断中的应用价值。**方法** 选取 2015 年 3 月—2016 年 5 月某院收治并确诊的 TB 患儿 43 例作为结核组, 随机选取同期在该院门诊及住院部排除结核感染的患儿及健康儿童 50 例作为对照组, 分别对两组进行 T-SPOT、PPD、结核抗体(MTB-Ab)及涂片抗酸染色等四种方法检测和对比分析, 并对 T-SPOT 法在结核组不同感染部位、不同年龄段患者的阳性情况进行亚组分析。**结果** T-SPOT 在灵敏度和阴性预测值方面高于其余三种方法($P < 0.05$), 特异度也高于 PPD 法($P < 0.05$); T-SPOT 在肺内结核和肺外结核中检出的阳性率分别为 88.9% 和 81.3%, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 在 ≤ 5 岁和 > 5 岁儿童两组之间的检出率分别为 70.6% 和 96.2%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。采用 T-SPOT 法和 PPD 法两种方法进行并联模式的结核检测时的灵敏度为 95.3%, 特异度为 98.0%, 相比于单一方法检测均有提高($P < 0.05$)。**结论** T-SPOT 法在儿童 TB 检测方面相对于传统方法在灵敏度和特异度上均有优势, 也适用于肺外结核的检测, 可作为儿童结核实验室诊断的主要方法, 但在 5 岁以下儿童存在不确定性, 应合理联合 PPD 法检测, 才能更好发挥在儿童 TB 诊断中的价值。

[关键词] 儿童; 结核; 结核病; 结核分枝杆菌; T 淋巴细胞酶联免疫斑点法; T-SPOT

[中图分类号] R446.6 R521 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2017)11-1060-05

Diagnostic value of T-SPOT for tuberculosis in children

LIU Si-jing, DING Bang-xian, YOU Juan (Wuhan Children's Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan 430016, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the value of T-SPOT in the diagnosis of tuberculosis (TB) in children. **Methods** 43 children who were admitted to a hospital and confirmed with TB between March 2015 and May 2016 were as TB group, 50 children who were excluded TB as well as healthy children in the outpatient and inpatient departments of this hospital during the same period were as control group, two groups were underwent detection of T-SPOT, PPD, MTB-Ab, and acid fast stain, results were compared, subgroup analysis was conducted on the positive of T-SPOT in children with different infection sites and in different age groups. **Results** Sensitivity and negative predictive value of T-SPOT were significantly higher than the other three methods ($P < 0.05$), specificity was also higher than that of PPD ($P < 0.05$); positive rates of T-SPOT in pulmonary tuberculosis and extrapulmonary tuberculosis were 88.9% and 81.3% respectively, difference was not statistically significant ($P > 0.05$); positive rates of T-SPOT in children ≤ 5 years and > 5 years were 70.6% and 96.2% respectively, difference was statistically significant ($P < 0.05$). The sensitivity and specificity of combined detection of T-SPOT and PPD for diagnosis of TB were 95.3% and 98.0% respectively, which were both higher than the single method ($P < 0.05$). **Conclusion** The sensitivity and specificity of T-SPOT for detecting TB in children are both superior to traditional methods, T-SPOT is also suitable for the detection of extrapulmonary tuberculosis, and can be used as the main method for laboratory diagnosis of tuberculosis in children, but it is uncertainty in children under 5 years of age, and should be rationally combined with PPD to improve the diagnosis of TB among children.

[收稿日期] 2016-11-04

[作者简介] 刘思景(1984-), 女(汉族), 湖北省武汉市人, 护师, 主要从事呼吸道相关疾病的护理及临床应用研究。

[通信作者] 游娟 E-mail: ayanghu1227@163.com

[Key words] child; tuberculosis; *Mycobacterium tuberculosis*; T-SPOT

[Chin J Infect Control, 2017, 16(11): 1060 - 1064]

结核病 (tuberculosis, TB) 是由结核分枝杆菌引起的慢性传染病, 全身各个器官均可能累及, 以肺结核病最为常见。TB 是全球主要的公共卫生问题之一^[1], 也是危害儿童身体健康的重要疾病。据世界卫生组织 (WHO) 报道, 全球有近 1/3 人群感染结核分枝杆菌^[2], 其中有 5%~10% 的人 would 发展成活动性结核。2013 年全球新发 TB 患儿 55 万例, 死亡 8 万例, 以发展中国家尤为突出^[3]。2015 年我国 TB 发病率为 70/10 万, 居全球第二位, 新发 TB 93 万, 占全球 11%, 死亡率 3/10 万^[4]。目前国际社会缺乏对儿童 TB 的足够重视, 对于儿童 TB 诊断的相关研究也相对不足^[5]。儿童作为高危人群, 自身免疫力较弱, 因此感染结核分枝杆菌后容易进展成活动性 TB, 同时儿童 TB 临床表现不典型, 现行的实验诊断方法存在很大的局限性, 极易造成漏诊和误诊^[6], 因此, 探索快速准确的检验方法对于儿童 TB 的早期诊断具有重要意义。目前诊断 TB 除了临床表现、影像学检查外, 同样依赖各种实验室检查。传统检查包括结核菌素 (PPD) 试验、涂片镜检、结核分枝杆菌培养以及结核抗体 (MTB-Ab) 检测等。近年来国内外大量研究表明, 于 2001 年由 Lalvani 等^[7] 发明的 T 淋巴细胞酶联免疫斑点法 (T-SPOT) 是一种快速、准确检测结核的新方法, 迅速得到美国食品药品监督管理局 (FDA) 及欧盟、加拿大、日本等管理机构认可而运用于临床^[8]。该方法源于由 Mahairas 等^[9] 发现的 RD1 基因序列, 该序列仅存在于致病性结核分枝杆菌及堪萨斯分枝杆菌、海分枝杆菌等极少数环境分枝杆菌中, 因此, 由 RD1 编码产生的早期分泌抗原靶 6 (ESAT-6) 和培养滤液蛋白 10 (CFP-10) 可作为特异性抗原, 刺激 TB 患者血液中存在的结核特异性效应 T 细胞分泌干扰素 γ (IFN- γ), 再通过酶联免疫斑点技术快速检测是否感染结核分枝杆菌。本研究通过对 43 例 TB 组和 50 例对照组分别进行 T-SPOT、PPD 试验、MTB-Ab 及抗酸染色等四种方法检测, 并进行统计学分析, 从而探讨 T-SPOT 在儿童 TB 诊断中的价值和意义, 具体报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 3 月—2016 年 5 月

某院收治并确诊的 TB 患儿 43 例作为结核组, 随机选取同期在该院门诊及住院部进行过各种结核分枝杆菌检测并最终依据实验室数据、影像学、病原学检查及临床表现排除结核感染的患儿及健康儿童 50 例作为对照组。病例组诊断主要参照中华医学会儿科学分会呼吸学组的《儿童肺结核的临床诊断标准和治疗方案》^[10] 以及《诸福棠实用儿科学》^[11] 中的诊断标准。

1.2 实验方法 本研究中结核组和对照组均分别进行 PPD 试验、T-SPOT 检测、MTB-Ab 检测及痰涂片抗酸染色四种方法进行检测。

1.2.1 PPD 试验 PPD 试剂由成都生物制品研究所生产提供。将 0.1 mL 含 5 IU 的卡介苗纯蛋白衍生物稀释剂注入到研究对象左/右前臂掌侧中下 1/3 交界处皮内, 形成直径约 6~10 mm 皮丘, 72 h 后观察反应结果; 测量硬结直径, 结果判定标准如下: (1) PPD 皮试硬结 ≥ 5 mm 并有以下情形者认为是阳性: 与 TB 患者有密切接触; 影像学发现有活动性肺结核表现; 免疫功能低下; 重症 TB 确诊者。 (2) PPD 皮试硬结 ≥ 10 mm 并有以下情形者认为是阳性: 年龄 < 4 岁; 伴有淋巴瘤、营养不良、肾衰竭等高危因素; 出生在 TB 高发区。 (3) PPD 皮试硬结 ≥ 15 mm 者均认为是阳性。 (4) PPD 皮试硬结 < 5 mm 为阴性。

1.2.2 T-SPOT 检测 T-SPOT 试剂盒由上海复星生物公司提供。具体操作严格按照试剂盒提供的标准操作规程进行: 肝素锂抗凝管取患儿外周血 6~8 mL (2 岁以下 2~3 mL), Ficoll Paque 法分离出单个核细胞, 用 AIM-V 培养液对分离的细胞进行两次洗涤, 通过显微镜细胞计数制备成 250 000/100 μ L 的稀释细胞工作液; 分别将 50 μ L A 抗原 (ESAT6) 和 50 μ L B 抗原 (CFP10) 加入到 A 和 B 培养孔中, 再分别加入配好的细胞悬液各 100 μ L, 在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下孵育 16~20 h。加酶标二抗, 2 $^{\circ}$ C~8 $^{\circ}$ C 孵育 1 h 加显色液 50 μ L, 室温避光反应 7 min 中止反应, 室温下干燥 2 h 计数斑点。实验结果阳性的判别标准: 空白对照孔斑点数为 0~5 个时且 (抗原 A 或抗原 B 孔的斑点数) - (空白对照孔斑点数) ≥ 6 ; 空白对照孔斑点数为 6~10 个时且 (抗原 A 或抗原 B 孔的斑点数) $\geq 2 \times$ 空白对照孔斑点数。如果上述标准不符合且阳性质控对照孔正常时

检测结果为“无反应性”。

1.2.3 MTB-Ab 检测 试剂盒由南京大渊生物工程有限公司提供,通过测定人血清中特异性的 LAM、16kD、38kD 抗体诊断 TB。具体操作严格按照胶体金试剂盒说明书进行操作。

1.2.4 涂片抗酸染色 用经典的萋尼氏染色(Z-N)法对痰或脑脊液等体液进行抗酸染色后显微镜镜检。

1.3 统计学方法 应用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验;计数资料间比较采用 χ^2 检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 结核组共 43 例患者,年龄 3 个月~15 岁,平均年龄 (6.1 ± 1.8) 岁,男性 28 例,女性 15 例;对照组共 50 例,年龄 5 个月~14 岁,平均年龄 (5.8 ± 1.5) 岁,男性 31 例,女性 19 例。两组之间年龄($t = 0.376, P > 0.05$)和性别构成($\chi^2 = 0.125, P > 0.05$)无统计学差异。结核组中具有典型的临床症状和影像学证据,同时经病原学或组织病理学

证实者,即为确诊病例,共 19 例。具有典型的临床症状和影像学证据,同时具有活动性 TB 接触史、PPD 试验阳性、抗结核治疗有效、排除其他肺部疾病项中任意两者,即为临床诊断病例,共 24 例。此外,根据结核感染部位诊断分为肺结核 27 例,肺外结核 16 例。

2.2 不同方法的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值的比较 在灵敏度、特异度、阴性预测值方面,各方法间进行统计学比较,差异均有统计学意义(χ^2 值分别为 60.85、24.46、14.68,均 $P < 0.05$);阳性预测值的各方法间统计学比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 7.69, P > 0.05$)。T-SPOT 在灵敏度和阴性预测值方面高于其余三种方法;特异度和阳性预测值与 MTB-Ab 和涂片抗酸染色相比差异无统计学意义;PPD 在此两方面均低于其他各方法。见表 1。

2.3 不同感染部位和年龄段患者 T-SPOT 法检测阳性率比较 T-SPOT 在肺内结核和肺外结核中的阳性率分别为 88.9%和 81.3%,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.488, P = 0.485$);在 ≤ 5 岁和 > 5 岁儿童两组之间的阳性率分别为 70.6%和 96.2%,差异有统计学意义($\chi^2 = 5.596, P = 0.018$)。见表 2。

表 1 T-SPOT、PPD、MTB-Ab 和涂片抗酸染色的灵敏度、特异度、阳性预测值及阴性预测值比较(%)

Table 1 Comparison of sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value among T-SPOT, PPD, MTB-Ab, and acid fast stain (%)

项目	T-SPOT	PPD	MTB-Ab	涂片染色	χ^2	P
灵敏度	86.0(37/43)	67.4(29/43)	18.6(8/43)	7.0(3/43)	60.85	< 0.001
特异度	94.0(47/50)	76.0(38/50)	98.0(49/50)	100.0(50/50)	24.46	< 0.001
阳性预测值	92.5(37/40)	70.7(29/41)	88.9(8/9)	100.0(3/3)	7.69	0.053
阴性预测值	88.7(47/53)	73.1(38/52)	58.3(49/84)	67.6(50/74)	14.68	0.002

表 2 不同感染部位及年龄段的 T-SPOT 检测阳性情况比较
Table 2 Comparison of positive result of T-SPOT in different infection sites and age groups

分组	例数	T-SPOT 阳性数	阳性率 (%)	χ^2	P
感染部位				0.488	0.485
肺内	27	24	88.9		
肺外	16	13	81.3		
年龄段(岁)				5.596	0.018
≤ 5	17	12	70.6		
> 5	26	25	96.2		

2.4 T-SPOT、PPD 联合诊断试验 结核组 43 例样本中 T-SPOT 法和 PPD 法同时检测阴性的

共 2 例,同时检测阳性的共 25 例,阳性符合率为 58.1%(25/43);对照组 50 例样本中两种方法同时检测阳性的共 1 例,同时检测阴性的共 36 例,阴性符合率为 72.0%(36/50)。同时采用 T-SPOT 法和 PPD 法两种方法进行联合诊断试验,采用并联模式,即以其中任意方法检测为阳性的样本认定为阳性,同时检测为阴性的样本认定为阴性。该联合检测法的灵敏度为 95.3%(41/43),特异度为 98.0%(49/50),T-SPOT、PPD 法及联合检测方法比较,联合检测方法的灵敏度和特异度高于其他两种单一检测方法(χ^2 值分别为 12.28、14.41,均 $P < 0.05$)。见表 3。

表 3 T-SPOT、PPD 法及联合检测的灵敏度、特异度比较 (%)

Table 3 Comparison of sensitivity and specificity among T-SPOT, PPD, and combined detection (%)

	T-SPOT 法	PPD 法	联合检测	χ^2	P
灵敏度	86.0(37/43)	67.4(29/43)	95.3(41/43)	12.28	0.002
特异度	94.0(47/50)	76.0(38/50)	98.0(49/50)	14.41	0.001

3 讨论

当前我国儿童患 TB 的数量逐渐增多,已占总 TB 患者的五分之一,且儿童重症肺结核及肺外结核增长尤为明显,原因之一是未能及时发现和诊断^[12]。能否早期快速诊断是制约儿童 TB 诊疗的关键。目前实验室的 TB 检测方法虽然有 PPD 试验、MTB-Ab、涂片抗酸染色、结核分枝杆菌培养等多种方法,但这些方法都有很大的局限性。PPD 试验与接种的卡介苗(BCG)存在交叉反应,特异性低;涂片及 MTB-Ab 检测敏感性较低;结核分枝杆菌培养虽然是 TB 诊断的金标准,但存在着培养周期太长的的问题,不利于快速诊断和早期治疗。因此,探索出一种快速有效的 TB 诊断方法已是当务之急。T-SPOT 是近年来国际上开始采用的一种快速检测结核感染的新型免疫检测技术,引起了国内外广泛的关注,并被逐渐应用于临床。该试验通过检测 ESAT-6 和 CFP-10 两个抗原刺激 T 细胞释放 γ 干扰素来诊断是否存在结核感染。ESAT-6 是从结核分枝杆菌短期培养滤液(SF-CF)中纯化分离出的一种低分子量的可溶性早期分泌性蛋白,ESAT-6 其编码基因 Rv3875 位于 RD1 区,而 RD1 是卡介苗和结核分枝杆菌毒株的基因组相比较的一组缺失序列,根据 Swissprot 和 GenBank 等数据库资料分析,ESAT-6 基因仅存在于结核分枝杆菌复合群和 4 种非结核分枝杆菌(即堪萨斯分枝杆菌、海分枝杆菌、微黄分枝杆菌和苏加分枝杆菌)基因组中,卡介苗和其他非结核分枝杆菌缺失^[13]。CFP-10 也是卡介苗所缺失的,其基因产物存在于结核分枝杆菌早期培养滤液中,是一种编码 100 个氨基酸、具有免疫原性的分泌性蛋白。ESAT-6 和 CFP-10 具有较强的辅助性 T 细胞表位^[14],既有 T 细胞抗原决定簇,又有 B 细胞抗原决定簇,因此,能同时引起细胞免疫应答和体液免疫应答,并产生大量 γ 干扰素,用其作为结核分枝杆菌感染的特异性 T 细胞刺激抗原,诊断结核感染的特异性较高。

本研究采用 T-SPOT、PPD、MTB-Ab 和涂片抗酸染色四种方法分别对结核组和对照组进行结核检测,分析发现结核组中 T-SPOT 的阳性率最高,其次为 PPD,而 MTB-Ab 和涂片抗酸染色的阳性率极低,仅为 18.6% 及 7.0%。在非结核对照组方面 T-SPOT 的假阳性率为 6.0%,和涂片抗酸染色则分别为 2.0% 和 0,而 PPD 的假阳性率高达 24.0%。通过对灵敏度、特异性、阳性预测值和阴性预测值四个指标的对比发现,MTB-Ab 和涂片染色两种方法的特异度和阳性预测值高,但在灵敏度方面较差,因此,这两种检测方法作为 TB 常规检测效果非常不理想,主要原因可能是 MTB-Ab 受抗原处理方法免疫分析方法和机体的免疫状况的影响^[15],以及儿童免疫功能相对较低,产生抗体的能力差有关,而涂片抗酸染色灵敏度低则主要由于儿童的痰及体液标本难于收集,及儿童结核排菌量低等,该方法仍为 TB 检测的金标准,因此,需要连续采集检测以提高检出率。PPD 在特异度方面差于其他三种方法,但灵敏度高于 MTB-Ab 和涂片抗酸染色。PPD 特异度相对较差的原因主要是由于无法有效区分卡介苗和非结核分枝杆菌感染所致的 PPD 交叉反应。关于 PPD 阳性结果的判读目前主要依靠硬结的平均直径来判断,但有研究表明硬结直径并不是一个准确的诊断指标^[16]。T-SPOT 法在灵敏度、特异度等方面均优于另外三种方法,与 Lalvani 等^[7]研究的结果一致。在阴性预测值方面也高于其他方法,提示 T-SPOT 结果阴性时排除结核感染的可能性较高,与时春虎等^[17]研究结果相符。T-SPOT 在肺内结核和肺外结核中的检出率均较高,目前已有大量报道^[18]表明 T-SPOT 在结核性胸/腹膜炎、结核性脑膜炎、骨关节结核等肺外结核中的重要诊断价值,同时在诊断淋巴结核、结核性心包炎等方面的少量报道,但相关的临床研究仍然较少,尚需大量临床样本试验进一步证实,因此,未来几年感染部位体液的 T-SPOT 检测成为肺外结核实验室诊断研究和探索的热点,并有望成为肺外结核诊断的高敏感性、特异性的临床辅助诊断方法。T-SPOT 在结核组 >5 岁儿童中检出率高于 ≤5 岁儿童,提示该方法对于 5 岁以上儿童的结核诊断价值优于 5 岁以下儿童,有相关研究^[19]表明 T-SPOT 阴性对于儿童 (<5 岁)不能排除 TB。2009 年美国儿科学会红皮书关于儿童结核感染诊断的指南^[20]建议 5 岁以上免疫功能正常的儿童可用 T-SPOT 替代 PPD 诊断 TB 或隐性结核感染,美国 2010 最新指南中也强调

PPD 诊断 5 岁以下儿童结核感染的价值高于 T-SPOT, 而日本相关指南^[21] 也提出不建议应用 T-SPOT 诊断 5 岁以下儿童的隐性结核感染, 但可作为活动性结核的辅助诊断。鉴于目前国际上关于这方面的研究相对较少, 而由于本研究中结核组病例数不太多, 且 ≤5 岁儿童及 >5 岁儿童两组间的例数相差较大, 研究结果可能与实际情况存在一定偏差, 因此, 今后须收集更多实验标本进一步研究。本研究还表明同时采用 T-SPOT 法和 PPD 法两种方法进行并联模式的结核检测时的灵敏度为 95.3%, 特异度为 98.0%, 高于两种方法进行单一检测。

总之, T-SPOT 作为近年来新开展的一种 TB 诊断方法, 在灵敏度、特异度等多方面都优于传统的结核检测方法, 在肺外结核方面也逐步体现了价值, 但在 5 岁以下儿童特别是隐性结核感染诊断方面还存在一定的不确定性, 且该方法操作较为繁琐, 试验成本较高。传统的 PPD 法虽然简单快速, 灵敏度也较高, 但存在假阳性较多的问题。因此结合我国国情, 将 T-SPOT 与 PPD 两种检测方法合理组配, 特别是 5 岁以下高危潜伏性结核感染儿童必须联合检测, 才能更好保证儿童 TB 的早期快速诊断。

[参 考 文 献]

[1] World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2012 [EB/OL]. (2012-6)[2016-9]. http://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr12_main.pdf.

[2] Lönnroth K, Raviglione M. Global epidemiology of tuberculosis; prospects for control[J]. *Semin Respir Crit Care Med*, 2008, 29(5): 481-491.

[3] World Health Organization. Global tuberculosis report 2014 [EB/OL]. (2014-8)[2016-9]. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/137094/1/9789241564809_eng.pdf.

[4] World Health Organization; Global Tuberculosis Report 2015 [EB/OL]. (2015)[2016-9]. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059_eng.pdf.

[5] Chiappini E, Lo Vecchio A, Garazzino S, et al. Recommendations for the diagnosis of pediatric tuberculosis[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2016, 35(1): 1-18.

[6] 江载芳, 易著文. 实用小儿结核病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006:7.

[7] Lalvani A, Pathan AA, McShane H, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific T cells[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001,

163(4): 824-828.

[8] Did R, Loddenkemper R, Nienhaus A. Evidence-based comparison of commercial interferon-gamma release assays for detecting active TB; a meta analysis[J]. *Chest*, 2010, 137(4): 952-968.

[9] Mahairas GG, Sabo PJ, Hickey MJ, et al. Molecular analysis of genetic differences between *Mycobacterium bovis* BCG and virulent M. bovis[J]. *Bacteriol*, 1996, 178: 1274-1282.

[10] 中华医学会儿科学分会呼吸学组, 《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童肺结核的临床诊断标准和治疗方案(试行)[J]. *中华儿科杂志*, 2006, 44(4):249-251.

[11] 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002:991-1011.

[12] 成诗明, 杜听, 徐敏. 1992—2004 年全国儿童新发现的痰涂片阳性肺结核检测与分析[J]. *中华儿科杂志*, 2006, 44(4):257-261.

[13] Dillon DC, Alderson MR, Day CH, et al. Molecular and immunological characterization of *Mycobacterium tuberculosis* CFP-10, an immunodiagnostic antigen missing in *Mycobacterium bovis* BCG[J]. *Clin Microbiol*, 2000, 38(9): 3285-3290.

[14] 王荣堂, 陈春梅, 朱晓华, 等. 体外释放酶联免疫法检测结核杆菌 T-干扰素的实验研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2011, 21(5):1163-1164, 1166.

[15] Welch RJ, Lawless KM, Litwin CM. Antituberculosis IgG antibodies as a marker of active *Mycobacterium tuberculosis* disease[J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2012, 19(4): 522-526.

[16] Haimi-Cohen Y, Zeharia A, Mimouni M, et al. Skin indurations in response to tuberculin testing in patients with nontuberculous mycobacterial lymphadenitis [J]. *Clin Infect Dis*, 2001, 33(10): 1786-1788.

[17] 时春虎, 康振, 杨克虎, 等. γ 干扰素释放试验诊断儿童潜伏结核菌感染的 Meta 分析[J]. *中国循证儿科杂志*, 2010, 7(5):263-269.

[18] 陆迪雅, 陈澍. T 淋巴细胞酶联免疫斑点法在肺外结核诊断中的应用[J]. *中华传染病杂志*, 2013, 31(6):377-381.

[19] Mandalakas AM, Detjen AK, Hesselning AC. Can we accurately diagnose tuberculosis infection in children? [J]. *Pediatr Infect Dis*, 2011, 30(9): 817-818.

[20] American Academy of Pediatrics. Red Book®:2012 Report of the Committee on Infectious Diseases [M]. 29th ed, 141 Northwest Point Blvd Elk Grove Village.

[21] No authors listed. The 81st annual meeting of the Japanese Society for Tuberculosis. Sendai, Japan. April 26-28, 2006. Program and Abstracts[J]. *Kekkaku*, 2006, 81(3): 105-319.

(本文编辑:周鹏程、陈玉华)