

新型冠状病毒感染对结核抗体胶体金法检测结果的影响

杨明秀 许皎萍 杨爱平*

上海市松江九亭医院检验科 上海 201615

【摘要】目的:探讨新型冠状病毒感染后一定时期内对结核抗体胶体金法检测结果的影响。方法 回顾性统计分析上海市松江区某医院结核抗体检测样本 819 例。以 2022 年 12 月 01 日为界分为 A、B 组,比较两组结核抗体 IGG 和 IGM 阳性率。随机选取 B 组中结核抗体 IGM 阳性的标本 20 例,查阅病例及重新采样分别行新冠核酸抗体检测、痰结核杆菌实验、T-SPOT 检测。结果 A、B 两组结核 IGG 抗体阳性率分别为 4.34%, 5.54% 两组无统计学差异 ($p < 0.05$); B 组结核 IGM 抗体阳性率明显高于 A 组 ($p > 0.05$), 分别为 3.4%, 19.38%; 20 例患者均有新冠感染史,且痰结核杆菌实验、T-SPOT 检测结果均阴性。结论 患者感染新型冠状病毒后一定时期内可能干扰胶体金法检测结核抗体 IGM。

【关键词】新冠; 结核 IGM 抗体; T-SPOT; 新型冠状病毒; 感染

Influence of novel coronavirus infection on the results of tubercular antibody colloidal gold assay

YANG Ming-xiu XU Jiao-ping YANG Ai-ping*

Abstract: Objective: To explore the influence of novel coronavirus infection on the results of tubercular antibody colloidal gold assay Method A retrospective statistical analysis was conducted on 819 tuberculosis antibody test samples from a hospital in Songjiang District, Shanghai. Divide into groups A and B based on December 1, 2022. 20 samples with IGM positive TB antibody in group B were randomly selected, and COVID-19 nucleic acid antibody test, sputum tuberculosis bacilli test and T-SPOT test were performed respectively. Result: The positive rates of tuberculosis IGG antibodies in groups A and B were 4.34% and 5.54%, respectively ($p < 0.05$). The positive rate of tuberculosis IGM antibody in Group B was significantly higher than that in Group A, with 3.4% and 19.38% respectively ($p > 0.05$); All 20 patients had a history of COVID-19 infection, and the results of sputum tuberculosis test and T-SPOT test were negative. Conclusion Patients infected with novel coronavirus may interfere with the colloidal gold method for the detection of anti tuberculosis IGM in a certain period of time.

Keywords: COVID-19; Tuberculosis IGM antibody; T-SPOT, Infected

新冠感染和结核菌感染的体征很相同,都是以人类呼吸道为感染目标,主要通过呼吸道飞沫传播,导致严重的呼吸道疾病[1]。而当新冠合并结核菌感染时会导致细胞免疫缺陷、凝血激活、心肌梗死和其他器官功能障碍,加重病情甚至可能致命,因而临床对新冠患者进行常规结核病检测意义重大,为疾病治疗及干预策略提供依据[2]。因而本实验数据基于工作中发现新冠防疫政策调整后,结核抗体 IGM 阳性明显增多,通过统计感染新冠前后结核 IGM 抗体的阳性率,寻找差异,并对新冠感染患者结核 IGM 阳性的样本进一步特异性验证,为临床鉴别诊断提供实验室数据。

1. 材料与与方法

1.1 材料

1.1.1 样本来源 基于本院 LIS 软件统计 2022 年 8 月 1 日到 2023 年 2 月 17 日检测结核抗体样本 819 例,其中男性 424 例,平均年龄 65.4 ± 16.5 ; 女性 395 例,平均年龄 69.9 ± 13.7 , 男女性别无显著差异。收集本院 2022 年 12 月新冠政策放开以来 TB-IGM 阳性样本,共计 56 例,其中男性 28 例,平均年龄 76.2 ± 12.1 ; 女性 28 例,平均年龄 76.1 ± 9.6 。本研究经上海市松江九亭医院伦理委员会审查批准,所有患者本人或法定监护人均签署知情同意书。

1.1.2 主要仪器与设备 实时荧光 PCR 仪为 ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI)、SLAN-96P 型实时荧光定量 PCR 仪(上海宏石)、MA-6000 型实时荧光定量 PCR 仪(苏州雅睿),核酸提取仪为达安基因 Stream SP96 全自动核酸提取仪(广州达安)、圣湘生物 Natch CS 全自动核酸提取系统(湖南圣湘)。PBMCS 计数设备,CO2 细胞培养箱。

1.1.3 主要实验试剂 新型冠状病毒样本保存液(康为世纪,国械注准 20203400063),核酸提取或纯化试剂盒(湘长械备 20150021)或(粤穗械备 20170667),新型冠状病毒核酸检测试剂(国械注准 20203400064)购自湖南圣湘生物科技有限公司和广州达安基因股份有限公司。结核分枝杆菌 IGG/IGM 抗体检测试剂盒(北京健乃喜,国械注准 20163401205),结核分枝杆菌特异性细胞免疫反应检测试剂盒(广东希格,国械注准 20173401338),抗酸杆菌染色法(BASO 染液),新型冠状病毒 IGM/IGG 抗体检测试剂盒(英诺特,国械注准 20203400177)

2.2 方法

2.2.1 新型冠状病毒核酸检测 按试剂盒及实验室 SOP 操作规程:1) 依据待测样本数量加规定质控数配制 PCR 反应混合液,瞬时离心后备用; 2) 按说明书要求混合圣湘生物科技股份有限公司的样本释放剂及待测样本; 3) 加入 20ul 待测样本混合液、阴阳对照至 8 联排管中; 4) 加入 30ul

预先配制好的 PCR 混合液于 8 联连管；5) 将 PCR 反应管放入扩增仪，按对应顺序设置对照、阴性对照及待测样本，并设置样本名称；6) 试剂盒推荐的扩增程序运行反应程序。

2.2.2 结核分枝杆菌 IGG/IGM 抗体检测 按试剂盒及实验室 SOP 操作规程：1) 取出检测卡平放于桌面平衡至室温；2) 用滴管取 1 滴（约 50ul）样本滴于检测卡上样本孔内，另外加一滴样本稀释液；3) 10 分钟内判读结果。

2.2.3 新型冠状病毒（2019-nCoV）IGM/IGG 抗体检测 按试剂盒及实验室 SOP 操作规程：1) 打开检测卡的铝箔袋包装，取出检测卡；2) 分别取 10ul 待测血清加入到 IGM 抗体和 IGG 抗体检测试剂的圆形样本孔中；3) 再分别加 80ul（或 2 滴）样本稀释液；4) 室温放置 15 分钟内观察结果。

2.4 结核分枝杆菌特异性细胞免疫反应检测（酶联免疫斑点法）：按试剂盒及实验室 SOP 操作规程 1) 在肝素抗凝血中加入分离液；2) 吸取 PBMCs，计数，与免疫原混合加入反应孔；3) 培养过夜，CO₂ 孵育；4) 洗涤，显色；5) 干燥，计数斑点，判读结果。

2.5 统计学方法 用 SPSS17.0 进行数据处理和统计学分析，计量资料正态分布用 t 检验，非正态分布用秩和检验，组间两两比较采用单因素方差分析，不同组间阳性率采用卡方检验，ROC 曲线分析用于抗原检测的诊断效能评价，均以 P<0.05 为有统计学差异。

2. 结果

2.1 感染新冠前后结核抗体检测情况 感染新冠前后结核抗体 IGG 分别为 4.34%、5.54%，两者无明显差异（p=0.442），而 IGM 感染新冠前后阳性率分别为 3.4%、19.4%，感染新冠后结核抗体 IGM 阳性率明显高于感染新冠前（p<0.001）。见表 1 和表 2

表 1 新型冠状病毒感染前后组结核抗体 IGG 阳性率情况

| 分组 | 总例数 (n) | 阳性例数 (n) | 阳性率 (%) | p 值 |
|------|---------|----------|---------|-------|
| 感染前组 | 530 | 23 | 4.34 | 0.442 |
| 感染后组 | 289 | 16 | 5.54 | |

表 2 新型冠状病毒感染前后组结核抗体 IGM 阳性率情况

| 分组 | 总例数 (n) | 阳性例数 (n) | 阳性率 (%) | p 值 |
|------|---------|----------|---------|--------|
| 感染前组 | 530 | 18 | 3.4 | <0.001 |
| 感染后组 | 289 | 56 | 19.4 | |

2.2 感染后组 20 例结核抗体 IGM 阳标本确诊情况 病例显示 20 例患者近期均有新型冠状病毒感染病史，其中新型冠状病毒 RNA 阳性现症患者 2 例，新型冠状病毒 IGM 阳性 2 例。结核分枝杆菌特异性细胞免疫反应检测（T-SPORT）及痰结核杆菌实验结果均为阴性。

3. 讨论

三年的 COVID-19 疫情在世界范围内的流行引起高度关注。而另一种传染病，如结核病（TB），一种由结核分枝杆菌引起的传染性和空气传播的细菌感染，也不应该被忽视[1]。COVID-19 患者的体征和症状几乎与结核病相同，都以人类呼吸道为目标，主要通过受感染者的呼吸道飞沫

传播给健康人。COVID-19 患者免疫力低下，给结核分枝杆菌乘虚而入的机会，而结核病患者更容易感染 COVID-19[3]。新冠肺炎-TB 复合感染可能是致命的，除了细胞免疫缺陷、凝血激活、心肌梗死和其他器官功能障碍外，还加剧了当前的新冠肺炎疫情[4]。因而需要考虑对 COVID-19 患者进行常规结核病检测。

本实验数据显示新型冠状病毒联防联控政策调整大面积感染后结核 IGM 抗体的阳性率明显高于感染前，国内外研究数据显示结核分枝杆菌感染增加了宿主对 SARS-CoV-2 感染的易感性，结核感染期间，结核分枝杆菌与 SARS-CoV-2 相互作用并诱导免疫反应，导致细胞因子风暴[5]。但也有数据显示卡介苗接种可能会增强宿主的免疫力，可以预防或减少 SARS-CoV-2 感染，并可能降低 COVID-19 的严重程度[6]。本文实验室数据与上述结论存在较大差异，SARS-CoV-2 感染后一定时期内，结核杆菌 IGM 抗体的阳性率明显增高，但以假阳性为主，导致的原因可能 SARS-CoV-2 属于新病毒株，在某种程度上与结核杆菌存在一定的同源性，有待后续实验进一步深入研究。

本研究结论存在以下几点不足：本研究数据仅来源于单中心，可能不具有广泛代表性；实验组 COVID-19 感染患者未排除其它病同时毒感染的可能性；其次再次采样送检样本数不大，数据结论可能存在一定的偏差。总之本文数据显示 SARS-CoV-2 感染后一定时期内合并结核感染的情况有待临床医生进一步核实，避免误诊导致过度干预，浪费医疗资源。

参考文献：

[1]T, Shah Z, Yasmeen N, Baloch Z, et al. Pathogenesis of SARS-CoV-2 and Mycobacterium tuberculosis Coinfection.[J]Front Immunol. 2022, 16 (6) : 13-19.

[2]Patel Nishant, Kaur Manpreet, Aggarwal Richa, et al. Clinical characteristics, course and outcome of critically ill COVID-19 patients with previous or current TB admitted in ICU of a tertiary care COVID centre of Indian subcontinent[J]. 2023, 33 (1) : 102-118.

[3]Bostanghadiri Narjess et al. Mycobacterium tuberculosis and SARS-CoV-2 Coinfections: A Review [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 12 (8) : 827-835.

[4]Berry. S, Blankley, C.M. Bloom, A. et al. O'Garra Systems approaches to studying the immune response in tuberculosis.[J] Curr Opin Immunol, 2019, 25 (5) : 579-58.

[5]CrisanDabija Radu, Grigorescu Cristina, Pavel CristinaAlice, et al. Tuberculosis and COVID-19: Lessons from the Past Viral Outbreaks and Possible Future Outcomes.[J]. Canadian respiratory journal, 2020, 2020: 1401053-1401053.

[6]Peng Cong, Tang Fengjie, Wang Jie, et al. Immunoinformatic-Based Multi-Epitope Vaccine Design for Co-Infection of Mycobacterium tuberculosis and SARS-CoV-2[J].Journal of Personalized Medicine, 2023, 13 (1) : 116-116.