

团 体 标 准

T/JPMA 035—2025

结核分枝杆菌感染的 γ -干扰素检测 酶联免疫吸附法

Detection of interferon- γ among mycobacterium tuberculosis infection

Enzyme-linked immunosorbent assay

2025 - 06 - 24 发布

2025 - 07 - 01 实施

江苏省预防医学会 发 布

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 检测原理 1

5 试剂与仪器 1

6 操作流程 1

7 结果判读及临床意义 2

8 注意事项 3

9 质量控制 3

10 生物安全 3

附录 A（资料性） 外周抗凝血培养及 IGRA-ELISA 检测所需试剂和材料 4

附录 B（资料性） 检测所需仪器 5

参考文献 6

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由江苏省疾病预防控制中心提出。

本文件由江苏省预防医学会归口。

本文件起草单位：江苏省疾病预防控制中心、盐城市疾病预防控制中心、扬州市疾病预防控制中心、无锡市疾病预防控制中心。

本文件主要起草人：刘巧、竺丽梅、邵燕、陈诚、薛浩、丁晓艳、李锦程、宋红焕、许祝平、卢鹏、李国莉、丁慧。



结核分枝杆菌感染的 γ -干扰素检测 酶联免疫吸附法

1 范围

本文件规定了酶联免疫吸附试验（enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA）体外检测 γ -干扰素释放水平（interferon- γ release assays, IGRAs）的操作流程、结果解读、临床意义以及质量控制。

本文件适用于各级医疗卫生机构实验室对目标人群开展结核感染检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 19489 实验室生物安全通用要求

3 术语和定义

本文件没有特别需要界定的术语和定义。

4 检测原理

机体感染结核分枝杆菌复合群后会产生结核分枝杆菌致敏的效应T淋巴细胞，当再次受到结核分枝杆菌特异性抗原刺激后，致敏的效应T淋巴细胞会产生 γ -干扰素。通过采集新鲜全血和结核分枝杆菌特异性抗原充分混合孵育，应用酶联免疫吸附试验法（ELISA）检测 γ -干扰素浓度水平，从而判断机体是否存在结核分枝杆菌感染。

5 试剂与仪器

5.1 试剂和材料

外周抗凝血培养及酶联免疫吸附试验所需试剂和材料参见附录A。

5.2 仪器

检测所需仪器参见附录B。

6 操作流程

6.1 样本采集、运输和保存

6.1.1 样本采集

应由检验人员或培训合格的专业人员采集疑似结核分枝杆菌感染者静脉血液4-5mL，加入至含肝素锂或肝素钠的抗凝血真空管中，轻轻颠倒2次~3次使血液和抗凝剂混合均匀。

6.1.2 样本运输和保存

样品采集后置专用运输盒，由专人尽快转运至实验室，从样品采集到孵育不宜超过16 h。

6.2 检测步骤

6.2.1 血液孵育

孵育前轻轻颠倒抗凝血真空管以充分混匀血液样本，再将样本按照1.0mL/管分装至血液培养管。血液培养管一般包括三支，分别为阳性对照管、空白对照管和结核抗原管，分装后上下颠倒充分混匀，确保整个血培养管内壁都被血液覆盖，随后保持直立，于37℃±1℃恒温培养箱孵育16h~24h。

6.2.2 血浆提取

离心血培养管，3000-5000r/min，10-15min，使血浆和血细胞分层。如采用商品化试剂盒(以下简称试剂盒)，则按照试剂盒说明书操作。

6.2.3 γ -干扰素测定

不同的试剂盒可能存在免疫识别和信号输出方式的不同，因此，检测的操作步骤可能有所不同。具体操作以试剂盒说明书为准。一般包括以下四个流程：

- 标准品配制：用去离子水或蒸馏水复溶冻干人 γ -干扰素标准品，按照适宜的浓度梯度，用稀释剂配制相应浓度的 γ -干扰素标准品。
- 免疫学反应：用微量移液器将血浆样本、标准品各 50.0 μ L 分别加入 ELISA 板微孔，按试剂盒说明书确定加样孔位。随后，用微量振荡器混匀后避光孵育。
- 酶底物孵育：每个微孔内加入酶底物溶液，用微量振荡器混匀后避光孵育。
- 检测：每个微孔内加入终止液，轻轻震荡混匀后，利用酶标仪读取每个微孔的光密度 (OpticalDensity, OD)值，建议用双波长 450nm/ (620~650) nm 检测。

7 结果判读及临床意义

7.1 一般要求

本测试仅供体外诊断使用，应结合患者的流行病学史、临床资料和其他诊断结果综合应用。

7.2 判读方法

利用标准品 γ -干扰素浓度及其OD值制作标准曲线，通过标准曲线计算每个检测样本的 γ -干扰素浓度 (IU/mL) 用于结果判读。

7.3 结果判定

原则上，当结核分枝杆菌抗原管的 γ -干扰素含量明显高于空白对照管视为实验结果阳性；反之，阴性。如阳性对照管反应弱且结核分枝杆菌抗原管呈阴性反应时，则表示结果不确定。具体判读的标准以试剂盒说明书为准。

7.4 临床意义

7.4.1 阳性结果

7.4.1.1 潜伏感染：临床上无结核临床症状及其他活动性结核病诊断证据，但有结核分枝杆菌暴露史，阳性提示结核分枝杆菌潜伏感染。

7.4.1.2 既往感染：既往有结核感染史或有明确的结核病证据者，无论是否治疗，但目前无结核临床症状，阳性提示机体曾经感染过结核分枝杆菌。

7.4.1.3 活动性结核病：阳性结果可作为病原学阴性的活动性结核病辅助诊断依据之一，但不能根据阳性检测数值的高低判断是否罹患活动性结核病以及结核病病情。

7.4.1.4 非结核分枝杆菌感染：部分非结核分枝杆菌感染（如 *M. kansasii*、*M. szulgai* 或 *M. marinum*）也会出现阳性结果，如无结核感染史，且怀疑为非结核分枝杆菌感染，应进一步排查。

7.4.2 阴性结果

不支持结核分枝杆菌感染状态的判定，但要结合临床表现排除免疫功能缺陷或低下、接受免疫抑制剂治疗等情况下可能出现的假阴性结果。

7.4.3 不确定结果

不确定结果为该检测的应用局限性之一，主要与患者处于免疫抑制状态有关，如淋巴细胞不足；血液中 γ -干扰素浓度过高或存在异嗜性抗体等。需结合临床表现、肺结核患者的密切接触史和暴露程度等具体情况进行临床综合评估，做出不支持感染状态的判定或重新检测。

8 注意事项

8.1 应根据试剂盒说明书选择合适抗凝剂的采血管，采集量必须足够，如样本需运输，运输过程中避免剧烈震荡。孵育前采血管应在室温（ $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ）保存，切勿冷藏或冷冻血液样本。

8.2 血浆样本提取前一般需要离心，吸取时避免上下反复吸液和触碰分离胶表面物质；如不离心直接吸取，应避免吸取到血细胞，吸取不同样本时应更换移液器吸头，避免交叉污染。

8.3 血浆样本如室温（ $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ）保存，不能超过3天， $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$ 保存，不能超过28天， -20°C 则可以保存数月，但不可反复冻融。血浆样本如经冷藏或静置超过24 h后加入酶标板前应充分混匀。

8.4 所有试剂应严格按照要求存储且在有效期内使用。不同批号酶标板、酶标试剂、校准品和血培养管不能混用。检测前试剂应进行室温平衡1h以上。

8.5 每次测定前，必须配制新的标准品，生成本次实验的标准曲线；在结果判读之前应先根据试剂盒说明书判断各标准液的OD值、变异系数等是否满足要求。如果标准曲线不合格，则本次检测结果无效，需重新检测。

8.6 现配试剂如标准品应按照要求存储并在限定时间内使用。

8.7 实验涉及的设备应定期进行校准或检定，经确认后方可用于检测。

9 质量控制

9.1 外部质控

由于该检测需要新鲜采集的血液标本，外部质控品难以获取，实验室可以通过室间比对等措施评价结果的准确性。

9.2 内部质控

部分检测试剂盒有商品化质控品，可以用于内部质控，一般1次/周，也可以根据检测工作量确定合适的质控频次。

10 生物安全

本标准的检测样本为临床血标本，有潜在生物安全风险，因此操作过程应予以按照《实验室生物安全通用要求》（GB19489）的相关管理要求进行。

附 录 A

(资料性)

外周抗凝血培养及 IGRA-ELISA 检测所需试剂和材料

- A.1 肝素锂或肝素钠抗凝血真空管
- A.2 一次性采血针
- A.3 200 μ L、1000 μ L微量移液器吸头
- A.4 配套抗凝管的试管架
- A.5 酶联免疫试验所需试剂盒、反应槽、封板膜
- A.6 1.5ml、15ml 离心管
- A.7 去离子水或蒸馏水



附录 B
(资料性)
检测所需仪器

- B.1 恒温培养箱 ($37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$)
- B.2 酶标仪 (至少应包含450nm主滤光片, 620~650nm参考滤光片可选)
- B.3 洗板机 (可选)
- B.4 微量振荡器 (可选)
- B.5 离心机 (支持5ml和10ml采血管离心, 最大离心转速不低于6000转/分)
- B.6 微量移液器 (200 μL 、1000 μL)
- B.7 多通道微量移液器(50 μL 、100 μL)

参 考 文 献

- [1] WS 196—2017 结核病分类
- [2] WS 288—2017 肺结核诊断
- [3] 赵雁林, 逢宇. 结核病实验室检验规程[M]. 人民卫生出版社, 2015.
- [4] 张贺秋、赵雁林.现代结核病诊断技术[M].人民卫生出版社, 2013.
- [5] 国家卫生健康委办公厅.中国结核病预防控制工作技术规范[M]. 2020.
- [6] 中华医学会结核病学分会.“结核分枝杆菌 γ -干扰素释放试验及临床应用专家意见(2021年版)[J].
中华结核和呼吸杂志, 2022, 45(2): 143-450.

