

• 短篇论著 •

结核蛋白芯片联合 PPD 皮试检测对肺结核病快速诊断价值的研究

李丹 杜德兵 何健 余平 袁容静 罗世珍 陈冬云

(湖北宜昌市第三人民医院肺科 宜昌 443003)

肺结核病疫情在我国仍较严重,是危害人民健康的重要传染病之一。目前,肺结核病的快速诊断依然是迫切需要解决的问题。结核免疫学诊断是结核病诊断和鉴别诊断的重要方法之一^[1]。为提高结核病快速诊断水平,通过对结核病患者进行血清结核蛋白芯片检测及 PPD 皮试,观察结核蛋白芯片联合 PPD 皮试对肺结核病的诊断意义,评价其用于临床诊断的应用价值。

1 资料和方法

1.1 研究对象

1.1.1 活动性结核组 选取 2006—2007 年宜昌市第三人民医院肺科住院其临床表现、细菌学、影像学或抗结核治疗有效而明确诊断的肺结核病人 90 例;男性 65 例,女性 25 例,年龄 18~70 岁,平均 32.5 岁。其中菌阳肺结核 30 例,菌阴肺结核 60 例。入选者留取的痰标本行浓缩集菌,均抽取空腹血液 5 ml,血清标本应用结核分枝杆菌蛋白芯片检测,同时行卡介苗—纯蛋白衍化物(BCG-PPD)皮试。

1.1.2 其他疾病组 选取宜昌市第三人民医院细胞学或病理组织学明确诊断的肿瘤病人 16 例,肺炎病人 11 例,支气管炎 6 例,哮喘 2 例,慢性阻塞性肺疾病(COPD) 5 例。所有研究对象均无 HIV 感染、妊娠、使用免疫抑制剂或增强剂。

1.1.3 健康对照组 选取健康志愿者 40 例,均经体检证实为健康者。所有受试者均已签属知情同意书,且该研究获得医院医学伦理委员会批准。

1.2 主要仪器和试剂 蛋白芯片阅读仪,结核分枝杆菌抗体检测蛋白芯片试剂盒均由南京大渊生物技术公司提供,国药准字:S20050089,PPD 皮试试剂购自武汉高科技生命科技开发有限公司。

1.3 方法

1.3.1 痰涂片镜检 操作程序严格按照中华医学会编著的《临床技术操作规范(结核病分册)》^[2]。

1.3.2 结核抗体蛋白检测芯片的操作步骤 在芯片盒窗口内加入 4 滴 A 试剂,使膜完全浸湿,待完全渗入后,室温放置 1 min,加待检血清 100 μ l,血清完全渗入后,滴加 B 试剂 6 滴,完全渗入后,滴加 C 试剂 10 滴,完全渗入后,最后滴加 D 试剂 6 滴。反应完毕后 30 min 内,将蛋白检测芯片放入芯片阅读仪进行检测分析,结果根据南京大渊生物技术公司生产的芯片阅读仪设置参数自动判别。

1.3.3 PPD 皮试结果判断 PPD 5 IU(0.1 ml)注射于前臂掌侧皮内,于注射后 72 h 检查注射部位的反应,测量硬结直径(mm)。

1.3.4 判定标准 该抗体检测蛋白芯片试剂盒采用基因工程表达的结核菌重组蛋白抗原 16 kD 和 38 kD 蛋白及脂阿拉伯甘露聚糖(LAM) 3 种结核分枝杆菌复合群特异性的抗原来检测待检血清中的抗体,如果任一抗体检测阳性,结果可判定为阳性,3 种抗体检测均为阴性,结果可判定为阴性。PPD 反应硬结直径 < 5 mm(-), ≥ 5 mm(+), $\geq 10 \sim 19$ mm(++), ≥ 20 mm 或伴水泡、溃破为强阳性(++++)。

1.4 试验结果分析 以 SPSS12.0 软件对数据进行统计学分析。组间差异显著性比较采用 t 检验,率比较采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 各组患者血清血清结核蛋白芯片、PPD 皮试结果,见表 1。

表 1 各组血清结核蛋白芯片及 PPD 皮试检测结果

组别	例数	结核蛋白芯片		PPD 皮试	
		阳性	阳性率	强阳性	强阳性率
初治涂阳组	30	26	86.7%	25	83.3%
初治涂阴组	60	29	48.3%	26	43.3%
非结核肺部疾病组	40	2	5.0%	2	5.0%
健康对照组	40	0	0	1	2.5%

表 2 涂阴肺结核血清结核蛋白芯片、PPD 皮试及 2 者联合检测结果

实验分组	例数	阳性	阳性率	χ^2	P [▲]
结核蛋白芯片组	60	29	48.3%	4.126	<0.05
PPD 组	60	26	43.3%	6.599	<0.05
结核蛋白芯片+PPD 组	60	40	66.7%		

▲与“结核蛋白芯片+PPD 组”比较的统计学结果

2.2 血清结核蛋白芯片、PPD 皮试及 2 者联合检测涂阴肺结核结果比较,见表 2。

60 例涂阴肺结核患者中,结核蛋白芯片组、PPD 组、结核蛋白芯片+PPD 组阳性检出率分别为 48.3%、43.3%和 66.7%。阳性检出率由 43.3%提高到 66.7%,差异有统计学意义($P<0.05$)(表 2)。

2.3 灵敏度和特异度 用结核蛋白芯片检测对肺结核患者的灵敏度和特异度分别为 61.1%(55/90)和 97.5%(78/80),PPD 皮试强阳性的灵敏度和特异度分别为 56.7%(51/90)和 96.3%(77/80),PPD-IgG 阳性和/或 PPD 皮试强阳性共 68 例,灵敏度 75.6%(68/90)和特异度 93.8%(75/80)。

3 讨论

目前,肺结核病由于是传染性疾病,早发现、早诊断、早治疗显得尤为重要。传统的细菌学诊断技术是结核病诊断的“金标准”,被沿用至今,但由于它临床检测的灵敏度较低、特异性较差,致使部分肺结核患者检出率低,漏诊漏治时有发生。结核分枝杆菌重组蛋白抗原 16 kD 和 38 kD 蛋白及 LAM 3 种抗原均为结核菌特异性较高的抗原,存在于结核分枝杆菌复合群中,具有较强的免疫原性,适用于血清学诊断^[3]。

据吴雪琼介绍,结核分枝杆菌抗体检测蛋白芯片是一种集基因工程技术、芯片技术和免疫学技术的检测一体化的新型结核病快速诊断方法,是克隆多种结核菌重组蛋白抗原,从中筛选灵敏度高、特异性强,并具有互补性的重组蛋白抗原和糖抗原联合研制成的一种蛋白诊断芯片,它大大提高了结核抗体检测的灵敏度和特异性,具有简便、快速、大量、敏感性高和特异性强、检测成本较低的特点,辅助结核病的诊断和鉴别诊断有较好的效果^[4]。本次研究中,结核蛋白芯片的灵敏度是 61.1%(55/90)。在菌阳肺结核中,阳性率为 86.7%,菌阴肺结核患者的阳性率也达到了 48.3%,在非结核呼吸系统疾病和健康人对照组中,蛋白芯片的特异度是 97.5%(78/80),表明蛋白芯片技术适用于肺结核的诊断,特别是对菌阴肺结核的诊断可以起辅助作用。与王甦民等的报道较一致^[5]。尽管结核抗体检测蛋白芯

片的研究应用刚刚开始,但从本次实验的结果来看,已经显示出其检测能力具有较高的灵敏度和特异度,从患者血清的分离到结果的分析和判定不超过 15 min,而且该芯片既可以检测单个患者的血清,也可以检测大批量的血清标本,降低了试验的成本。符合简便、快速、准确的要求,为结核病的诊断提供了新的手段。

结核菌素试验是一种最简单最常用的检测方法,可用于结核感染的调查,也是诊断婴幼儿及青少年结核病的有效手段,PPD 皮试阴性在除去各种免疫抑制因素外,表明机体未受到结核杆菌的自然或人工感染,一般可作为否认结核病的佐证,PPD 试验强阳性常表示活动性结核病可能性^[6]。从本实验看,在菌阳肺结核中,PPD 强阳性率为 83.3%,菌阴肺结核患者的 PPD 强阳性率也达到了 43.3%,在非结核呼吸系统疾病和健康人对照组中,PPD 强阳性率仅 3.8%(3/80),与张思潮等的报道较一致^[7]。且同时应用结核蛋白芯片联合 PPD 皮试检测,可使菌阴肺结核阳性检出率由 43.3%提高到 66.7%,强于单独任一方法检测($P<0.05$)。

在目前肺结核诊断尚缺乏快速有效手段时,尤其对菌阴肺结核,结核蛋白芯片检测联合 PPD 皮试可相互补充,提高诊断的敏感度,结合临床表现、影像学检查,可作为肺结核诊断的重要参考依据。

4 参考文献

- [1] 王甦民. 应重视结核病的实验诊断[J]. 中华检验医学杂志, 2005,28(8):769-770.
- [2] 端木宏谨,屠德华,张培元,等. 临床技术操作规范. 结核病分册[M]. 北京:人民军医出版社,2004:25-41.
- [3] Worku S, Hoft DF. Differential effects of control and antigen-specific T cells on intracellular mycobacterial growth[J]. Infect Immun, 2003,71(4):1763-1773.
- [4] 梁建琴,吴雪琼. 基因芯片技术及其在结核病研究中的应用[J]. 中国抗生素杂志,2005,30(2):2.
- [5] 王甦民,付育红,刘洋,赵雁林. 应用蛋白芯片技术快速诊断肺结核病的研究[J]. 中国防痨杂志,2007,29(5):379-381.
- [6] 叶任高,陆再英. 内科学. 第 6 版,北京:人民卫生出版社,2004:45.
- [7] 张思潮,邱志红,杨俊超. 四种方法诊断涂阴肺结核的临床应用价值探讨[J]. 中国防痨杂志,2007,29(4):357-358.