

特异性抗体和特异性免疫复合物的检测对结核病的诊断意义

The Diagnostic Significance of Detecting Specific Antibody and Specific Immune Complex

柳广南 陆世桃 许 辉 陆光润
Liu Guangnan Lu Shitao Xu Hui Lu Guanrun

(广西医科大学第一附院呼吸内科, 南宁市滨湖路 6 号 530027)

(Department of Respiratory, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Binhu Road, Nanning, Guangxi, 530027)

摘要 以 ELISA 检测 108 例活动性肺结核、39 例稳定期肺结核、30 例肿瘤、101 例非结核性肺部疾病患者及 202 例正常人血清的抗结核菌纯蛋白衍生物 (PPD) IgG 抗体 (简称抗-PPD) 和循环免疫复合物 (CIC) 中的抗-PPD IgG 抗体 (简称 CIC-PPD)。结果表明, 活动性肺结核患者的抗-PPD 和 CIC-PPD 水平明显高于正常人和各疾病组患者的水平 ($P < 0.001$), 但与其病变范围无关。单一测定活动性肺结核患者的抗-PPD, 敏感性为 85.2%, 特异性为 98.5%; 测定 CIC-PPD, 敏感性为 86.1%, 特异性 96.9%。以两者任一项阳性作为诊断活动性肺结核的标准, 则敏感性为 93.5%。此外, 对 11 例活动性肺结核患者的动态观察表明, 随着治疗天数的增加和临床症状的改善, 患者的抗-PPD 和 CIC-PPD 水平会逐渐降低, 前者于治疗后第 20~24 周降至正常水平, 后者则于治疗后第 12~16 周降至正常值。研究结果提示测定患者的抗-PPD 和 CIC-PPD 的水平, 可用于结核病诊断, 对结核病的疗效判定亦有帮助。

关键词 结核 抗-PPD IgG 抗体 ELISA

Abstract Anti-PPD IgG antibody (anti-PPD) and anti-PPD in circulatory immune complex (CIC-PPD) were detected by ELISA in 108 cases of active tuberculosis, 39 cases of inactive tuberculosis, 30 cases of tumour, 101 cases of nontuberculosis lung diseases and 202 cases of health persons as control. The results showed that the levels of anti-PPD and CIC-PPD in active tuberculosis patients were significantly higher than those in health persons and other disease patients ($P < 0.001$), but no relation with the range of tuberculosis' focus. Anti-PPD estimated alone had a sensitivity of 85.2% and a specificity of 98.5%, and CIC-PPD, a sensitivity of 86.1% and a specificity of 96.9%. If taking the positive alternative of anti-PPD and CIC-PPD as the standard of diagnosing active tuberculosis, then the sensitivity would be 93.5%. In addition, according to the dynamic observation of 11 cases of active tuberculosis patients showed that anti-PPD and CIC-PPD would gradually reduce with the increases of treatment-days and improvement of the symptoms of patients. Anti-PPD would be normal in 20 to 24 weeks after treatment, and CIC-PPD, in 12 to 16 weeks. Thus, it's useful for either diagnosis of tuberculosis or determining curative effect by detecting anti-PPD and CIC-PPD.

Key words tuberculosis, anti-PPD IgG antibody, ELISA

传统的结核病确诊主要是依赖结核菌的鉴别和培养, 但是痰涂片的检出率低^[1]; 痰培养的阳性率虽较高; 但痰培养常需 6~8 周, 难以满足临床诊断的

急需。X 线检查对肺结核的诊断有所帮助, 但缺乏特异性, 且对肺外结核病的诊断效果不佳。结核菌素试验特异性较强, 但又因我国居民普遍接种卡介苗 (BCG) 和结核菌的感染率高^[2~4], 从而影响了它在临床的应用。血清的特异性抗体检测是近年来用于结核

1995-02-24 收稿。

病诊断的方法之一,从1991年始,我们参考施士雄等^[5]报道的显色方法,以ELISA检测患者血清的抗结核菌纯蛋白衍生物IgG抗体(抗-PPD)和循环免疫复合物中的抗-PPD IgG抗体(CIC-PPD水平,并对11例活动性肺结核患者作动态观测,以探讨其临床意义。

1 材料与方法

1.1 检测对象

1.1.1 正常对照组:202例,为广西医科大学一附院血库健康献血员。

1.1.2 非结核性疾病组:131例,其中慢性阻塞性肺部疾病(COPD)32例,肺炎32例,支气管哮喘37例,肿瘤30例。

1.1.3 结核组:活动性肺结核108例,其中病变为轻度者43例,中度者35例,重度者30例^[6];稳定期肺结核39例。

上述检测对象均采空腹静脉血,离心(4000 r/min)10 min,取上层血清分装后置-30℃以下保存备用。

1.1.4 试剂:人型PPD抗原由中国药品生物制品检定所提供,批号为91.4.17;马尔尼菲青霉抗原由广西医科大学病理教研室李山讲师惠赠,聚乙二醇(PEG)及3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)均为国产化学纯试剂。

1.1.5 仪器:DG-3022A型酶标仪为南京华东电子厂产品,96孔微量反应板为美国Costar公司产品。

1.2 检测方法

1.2.1 血清抗-PPD的测定:抗-PPD的测定按文献^[7]方法进行。其中人型-PPD最适包被浓度为10 μg/mL,显色方法见文献^[5]。反应终止后用DG3022A型酶标仪于630 nm光线下测定样本的吸光度(OD),计算每份样本复孔OD值的均值,用阳性对照的OD值进行校正,其校正值作为待测样本的OD值。

1.2.2 血清CIC-PPD的测定:参考Bhattacharya等^[8]报道的方法稍作改进,即0.4 mL待测血清与一定量低浓度PEG溶液混合后,置4℃过夜(超过15 h以上),用PEG液洗涤4次,然后用稀释液将沉淀所得的CIC作适当稀释,以ELISA测定CIC中的抗-PPD IgG抗体,同时检测PEG液、稀释液及洗涤最后1次的上清液,证实其OD值与空白孔一致,结果以大于 $\bar{x} \pm 2S$ 的上限值为阳性。

1.2.3 统计学方法:实验数据输入IBM-PC型微机,用SPSS/PC软件进行统计学处理。先行方差齐性

分析,后用Newman-keuls法做多样本均数两两比较的 q 检验,两样本间均数的比较则用 t 检验或 t' 检验,构成比或率的比较则用 χ^2 检验,两指标间关系采用直线相关分析。

2 结果

2.1 正常人和各疾病组患者的抗-PPD水平 表1的结果表明,活动性肺结核患者的抗-PPD水平明显高于正常人及其它各疾病组患者的水平($P < 0.001$),前者的均数为 0.73 ± 0.18 ,正常人的则为 0.37 ± 0.10 。

表1 抗-PPD抗体的检测

Table 1 The detection of anti-PPD

组 Group	例数 No.	抗-PPD值 Anti-PPD OD ($\bar{x} \pm S$)	阳性率 Positive rate (%)
活动性肺结核 Active tuberculosis	108	$0.73 \pm 0.18^*$	85.2
稳定期肺结核 Inactive tuberculosis	39	$0.36 \pm 0.10^{**}$	7.7
其它疾病 Other diseases	131	$0.38 \pm 0.11^{**}$	1.5
正常对照组 Health controls	202	0.37 ± 0.10	2.0

与正常人比较 Compared with controls, * $P < 0.001$, ** $P > 0.05$

表2 CIC-PPD的检测

Table 2 The detection of CIC-PPD

组	例数	抗-PPD值	阳性率
活动性肺结核 Active tuberculosis	108	$0.77 \pm 0.18^*$	82.6
稳定期肺结核 Inactive tuberculosis	39	$0.38 \pm 0.12^{**}$	10.3
其它疾病 Other diseases	131	$0.37 \pm 0.11^{**}$	3.1
正常对照组 Health controls	202	0.35 ± 0.11	1.0

与正常人比较 Compared with controls, * $P < 0.001$, ** $P > 0.05$

2.2 正常人和各疾病组患者的CIC-PPD水平 表2的结果显示,活动性肺结核患者的CIC-PPD均值为 0.77 ± 0.18 ,正常人的则为 0.35 ± 0.11 ,前者与后者及前者与各疾病组的比较,均有显著性差异($P < 0.001$)。

2.3 活动性肺结核各病变组的抗-PPD和CIC-PPD水平 表3的结果显示,病变为中度者,其抗-

PPD 和 CIC-PPD 的水平均较轻、重度者为高,但无显著性差异 ($P > 0.05$)。

表 3 结核病各病变范围的抗-PPD 和 CIC-PPD 的检测

Table 3 The detection of anti-PPD and CIC-PPD in different range of tuberculosis' focus

病变范围 Range	例数 No.	抗-PPD Anti-PPD		CIC-PPD	
		$\bar{x} \pm S$	阳性 Positive	$\bar{x} \pm S$	阳性 Positive
轻度者 Slight	44	0.70±0.18	37	0.77±0.11	35
中度者 Middle	34	0.75±0.17*	31*	0.79±0.14*	32*
重度者 Heavy	30	0.73±0.20*	24*	0.76±0.16*	26*

与轻度病变比较 Compared with slight range, * $P > 0.05$

表 4 11 例活动性肺结核病人的抗-PPD 和 CIC-PPD 于治疗中的变化

Table 4 The change of anti-PPD and CIC-PPD during the therapy of 11 cases of active tuberculosis patients

治疗时间 Time	抗-PPD OD 值 Anti-PPD OD $\bar{x} \pm S$	CIC-PPD OD $\bar{x} \pm S$
治疗前 Before therapy	0.66±0.20	0.62±0.10
治疗后 4 周 4 weeks after therapy	0.80±0.17	0.77±0.17
治疗后 8 周 8 weeks after therapy	0.78±0.12	0.67±0.12
治疗后 12 周 12 weeks after therapy	0.67±0.12	0.53±0.06
治疗后 16 周 16 weeks after therapy	0.65±0.11	0.44±0.04
治疗后 20 周 20 weeks after therapy	0.54±0.10	0.36±0.04
治疗后 24 周 24 weeks after therapy	0.43±0.08	0.34±0.04
治疗后 28 周 28 weeks after therapy	0.38±0.08	0.32±0.04

2.4 抗-PPD 和 CIC-PPD 的相关性 对表 1 的结果进行相关性分析,结果示活动性肺结核患者于化疗
广西科学 1995 年 5 月 第 2 卷第 2 期

前的抗-PPD 与 CIC-PPD 成正相关 ($r = 0.58, P < 0.001$),其它各疾病组则无相关性 ($P > 0.05$)。

2.5 抗-PPD 和 CIC-PPD 的动态观测 11 例活动性肺结核患者治疗过程中的抗-PPD 和 CIC-PPD 变化情况见图 1 和表 4, 其中 6 例抗-PPD 和 CIC-PPD 均为阳性的患者,于治疗后 4~8 周,其抗-PPD 逐渐升高,以后逐渐下降,于 20~24 周降至正常水平;CIC-PPD 亦于治疗后 4~8 周升高,但于 12~16 周降至正常水平。2 例抗-PPD 阳性而 CIC-PPD 阴性者,其抗-PPD 的变化同上述,CIC-PPD 则于治疗后第 4 周升高,第 8 周升到高峰,第 12~16 周又降至正常值。3 例抗-PPD 和 CIC-PPD 均为阴性者,其中 2 例的抗-PPD 和 CIC-PPD 于治疗后第 4 周升高,第 8 周升至最高峰,CIC-PPD 于第 16 周降至正常,抗-PPD 则于第 24 周降到正常;另一例的抗-PPD 和 CIC-PPD 则于治疗前后无明显变化。

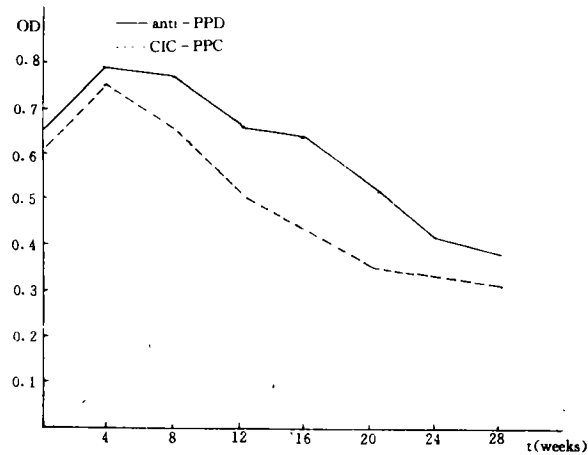


图 1 11 例活动性肺结核患者治疗过程中抗-PPD 和 CIC-PPD 的变化情况

Fig. 1 The change of anti-PPD and CIC-PPD during the therapy of 11 cases of active tuberculosis patients

2.6 特异性试验

2.6.1 取代试验: 分别用牛血清白蛋白、马尔尼菲青霉抗原取代 PPD 包被反应板,结果抗-PPD 和 CIC-PPD 阳性者均变为阴性。

2.6.2 阻断试验: 在抗-PPD 阳性的血清中分别加入等体积的牛血清白蛋白、马尔尼菲青霉抗原及 PPD (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$),混合后置 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,次日以 ELISA 进行测定,结果加入 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ PPD 的阳性血清,出现全部抑制作用,加入 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ PPD 的血清仅出现部分抑制作用,而加入无关抗原的血清则不出现抑制作用。

3 讨论

Nassau, Grang 和 kardjito 等^[9-11]的研究表明,检

测患者血清 IgG 类结核抗体水平,可鉴别活动性结核病、既往结核病患者和 BCG 接种者。我们的研究表明,活动性肺结核患者的抗-PPD 水平明显高于正常人、稳定期肺结核及各非结核性疾病患者的水平 ($P < 0.001$),如以抗-PPD 的 OD 值 > 0.57 作阳性标准,则诊断肺结核的敏感性为 85.2%,特异性 98.5%,这与潘孝璋^[12]、候凡凡^[13]等报道的结果相近,而与国外学者^[14,15]报道的不一致。Daniel 等^[16]认为,ELISA 检测结核抗体的敏感性与结核病的流行情况有关,在低发区,敏感性为 50%~60%,在高发区,则为 70%~90%,但这又极可能与患者就诊时疾病病程有关。

在结核抗体测定的研究中,可发现部分结核病人的结核抗体为阴性,其原因除可能与病程的长短有关外,可能与特异性免疫复合物形成、消耗了机体的特异性抗体有关,Bhattacharya^[7]的研究表明,活动性肺结核患者的 CIC 中特异性抗体水平明显高于正常人的水平,同时他的研究亦表明,特异性免疫复合物中抗原为结核菌抗原。杨佩珍等^[17]的研究表明,19 例抗-PPD 为阴性的结核病患者中,有 13 例的 CIC-PPD 却为阳性。我们的研究显示,活动性肺结核患者的 CIC-PPD 水平明显高于正常人、稳定期肺结核及各组非结核性疾病患者的水平 ($P < 0.001$)。在所测定的 108 例活动性肺结核患者中,有 16 例患者的抗-PPD 为阴性,但这 16 例中有 9 例的 CIC-PPD 为阳性,占 56.3%。由此可见,CIC-PPD 的测定,对那些抗-PPD 为阴性而又高度怀疑为结核病的患者诊断有较大的帮助。

我们的研究结果还表明,活动性肺结核患者的抗-PPD 和 CIC-PPD 于化疗前呈正相关,且于化疗后第 4~8 周升高,但随着化疗天数的增加和临床症状改善,抗-PPD 于化疗第 20~24 周降至正常水平,这与胡惠英^[18]的报道相一致;CIC-PPD 则于化疗后的第 12~16 周降至正常,较抗-PPD 的下降提高 4~8 周,其原因可能与结核患者的红细胞免疫功能增强,从而促进网状内皮系统对 CIC 的降解有关^[19]。由此可见,测定患者 CIC-PPD,比测定抗-PPD 能更早了解患者的病情和疗效,为临床及时调整治疗方案提供客观依据。由于本研究的动态观测例数尚少,因此对抗-PPD 和 CIC-PPD 的变化规律及其测定的临床意义有待进一步探讨。

我们的研究表明,测定患者血清的抗-PPD 和测定 CIC-PPD 对诊断肺结核的效果相当,其敏感性分别为 85.2% 和 86.1%,特异性为 98.5% 和 96.9%,如以两者中任一项阳性作为诊断活动性肺结核的标

准,则可使检测敏感性提高到 93.5%,表明同时检测抗-PPD 和 CIC-PPD 可明显提高 ($P < 0.05$) 诊断活动性肺结核的灵敏性,从而能有效地防止结核病的漏诊,为结核病的诊断提供有效的手段。

参考文献

- 1 王宠林主编. 肺结核及其它肺病误诊剖析. 重庆: 重庆出版社, 1989. 234~39.
- 2 上海医科大学《实用内科学》编辑部. 实用内科学. 第 12 版. 北京: 人民卫生出版社, 1986. 230~31.
- 3 邵永芳, 苏莉桢, 朱珍月, 等. 401 例结核菌素试验呈阳性儿童与肺结核患者情况分析. 中华结核和呼吸系统疾病杂志, 1982, 5 (2): 213.
- 4 许佩舜, 黄芝芳, 陈韵琴, 等. 结核菌素试验在肺部疾病鉴别诊断上的应用. 中华结核和呼吸系统疾病杂志, 1983, 6 (6): 236.
- 5 施士雄, 徐正璋, 陆小泉. ELISA 新底物 TMB 终止剂的研究. 上海免疫学杂志, 1991, 11 (4): 222~24.
- 6 上海医科大学《实用内科学》编辑部. 实用内科学. 第 12 版. 北京: 人民卫生出版社, 1986, 239.
- 7 蒋成澄编著. 酶免疫测定法. 北京: 人民卫生出版社, 1984, 182.
- 8 Bhattacharya A, Ranadive SN, Kale M et al. Antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for determination of immune complexes in clinical tuberculosis. Am Rev Respir Dis, 1986, 134: 205~09.
- 9 Nassau E, Parson ER, Johnson GD. The detection of antibodies to mycobacterium tuberculosis by microplate enzyme-linked immunosorbent assay. Tubercle, 1976, 57: 67~70.
- 10 Grang JM, Gibson J, Nassau E. Enzyme-linked immunosorbent assay: A study of antibodies to mycobacterium tuberculosis in the IgG, IgA, IgM classes in the tuberculosis, sarcoidosis and crohn's disease. Tubercle, 1980, 61: 145~52.
- 11 Kardjito T, Handoyo I, Grang JM. Diagnosis of active tuberculosis by immunological methods: 1. The effect of tuberculin reactivity and previous BCG vaccination on the antibody levels determined by ESISA. Tubercle, 1982, 63: 263~74.
- 12 潘孝璋, 沈福珍, 吴融新. 酶联免疫吸附试验检测结核病人抗体的观察. 中华结核和呼吸系统疾病杂志, 1983, 6 (2): 68~70.
- 13 候凡凡, 刘志强, 王力等. 血清抗结核纯蛋白衍生物 IgG 测定对结核病的诊断意义. 第一军医大学学报, 1991, 11 (1): 17~19.

(下转第 55 页 Continue on page 55)

农业生产受着多种因素的综合影响,当促进因素的作用大于抑制因素的作用时,即使灾害的危害有所增加,农业生产仍可表现为一个增长序列。

因此,本文提出如下判定关联性质的命题:

设系统特征行为序列为 χ_0 , 相关因素序列为 χ_i , 则,

1°当影响因素的性质一致时(如均为促进或抑制), 设 χ_0 为增长序列, 若 χ_i 为增长序列, 则 χ_i 与 χ_0 呈正相关关系; 若 χ_i 为衰减序列, 则 χ_i 与 χ_0 呈负相关关系;

2°当系统主行为受性质不一致的因素(包含促进和抑制因素)影响时, 若 χ_{i+1} 的增长促使 χ_0 增长或衰减趋势减弱, χ_i 的衰减使 χ_0 衰减或增长趋势减弱, 则 χ_i 与 χ_0 呈正相关关系; 若 χ_i 增长促使 χ_0 衰减或增长趋势减弱, χ_i 衰减使 χ_0 增长或衰减趋势减弱, 则 χ_i 与 χ_0 为负相关关系 ($i = 1, 2, \dots, n$)。

也就是说, 文献 [4] 只考虑了第一种情况而忽

略了第二情况下的关联性质判定。

致谢

作者在几年来对“灰色系统理论”探讨及在完成本文的过程中, 得到华中理工大学教授陈绵云先生的诸多指导和帮助, 谨此致以诚挚的谢忱!

参考文献

- 1 邓聚龙. 灰色系统理论简介. 见: 刘思峰, 史开泉主编. 灰色系统学术论文集. 开封: 河南大学出版社, 1993. 1~2.
- 2 金 磊. 灾害系统论及其减灾模型研究初步. 系统工程理论与实践, 1994, 14 (1): 77~78.
- 3 邓聚龙. 灰色预测与决策. 武汉: 华中工学院出版社, 1986. 103~104.
- 4 刘思峰, 郭天榜. 灰色系统理论及其应用. 开封: 河南大学出版社, 1991. 49~85.
- 5 刘思峰, 赵 理, 朱永达. 灰色经济计量学组合模型. 见: 刘思峰, 史开泉主编. 灰色系统学术论文集. 开封: 河南大学出版社, 1993. 133~135.

[编者按: 华中理工大学邓聚龙教授于80年代初创导“灰色系统理论”以来, 作为系统科学的一个新的重要分支, 其理论方法日臻完善。据知已有许多行业的专家学者在各自领域发表不少应用研究“灰色系统理论”的文章, 但其中有的对其思想、方法论不甚了解, 死搬硬套, 也引起一些不良的影响。李先琨是位青年科技人员, 他针对目前农业灾害系统灰关联分析中存在的有关问题, 作了一些探讨。本刊发表此文, 以期引起有关专家学者利用本身的科研实践参与讨论。愿“灰色系统理论”的应用得以健康的发展, 便可避免在应用灰关联分析时未加以转化而说些牵强附会的外行话之差错。]

(责任编辑: 蒋汉明)

(上接第46页 Continue from page 46)

- 14 Tandon A, Saxena RP, Saxena kc et al. Diagnostic potentialities of enzyme-linked immunosorbent assay in tuberculosis using purified tuberculin antigen. Tubercle, 1980, 61: 87~89.
- 15 Daniel TM, Debanne SM, Kugp VD. Enzyme-linked immunosorbent assay using mycobacterium tuberculosis antigen 5 and PPD for the serodiagnosis of tuberculosis. Chest, 1985, 88 (3): 338~92.
- 16 Daniel TM, Depanne SM. The serodiagnosis of tuberculosis and other mycobacterial diseases by enzyme-linked

immunosorbent assay. Am Rev Respir Dis, 1987, 135: 1137~51.

- 17 杨佩珍, 郑锡铭, 张建军. 血清特异性 IgG 及特异性循环免疫复合物的检测在结核病诊断的意义. 中华结核和呼吸杂志, 1990, 13 (6): 358~59.
- 18 胡惠英, 马惠斌, 彭湘文, 等. 聚合-OT 抗原 ELISA 早期诊断结核的应用. 中华结核和呼吸杂志, 1989, 12 (5): 294~96.
- 19 胡佩村, 林震勋, 江之泉. 肺结核与矽肺结核患者红细胞免疫粘附功能的变化及意义. 中华结核和呼吸杂志, 1992, 15 (3): 163~164.

(责任编辑: 蒋汉明、邓大玉)