

于患者红细胞上的抗原位点被封闭,有必要先从红细胞上洗脱自身抗体,使抗原位点暴露利于自身抗体的吸收,一旦自身抗体除去,就可检测吸收后血清中的同种抗体特异性^[4]。

目前用于红细胞放散方法有很多种,包括热放散、磷酸氯喹放散、WARM 试剂放散、乙醚放散等方法,各种方法均具有优缺点。热放散方法操作简便,放散能力和吸收能力并不显著,但不改变红细胞抗原,利于自身放散后确定 ABO/RH 血型^[4],此例 AIHA 患者的血型鉴定也印证了这一点;磷酸氯喹放散方法的放散能力和吸收能力中等,时间较长,不破坏红细胞完整性,可以用于抗球蛋白试验检测血型及用于自身吸收试验,但放散液不能用于抗体的鉴定^[5-7];乙醚放散方法对细胞破坏较严重,主要用于得到红细胞放散液来分析致敏的自身抗体和(或)同种抗体的特异性^[8];而 WARM 试剂放散法是以 ZZAP 试剂(主要成分是二巯基苏糖醇和被半胱氨酸激活的木瓜酶)为基础,在解离抗体的同时,通过蛋白水解酶处理自身红细胞可增强其吸收自身抗体的能力,提高吸附量,放散能力和吸收能力最佳^[4]。

笔者对本例患者采用 WARM 试剂来进行自身抗体的放散和吸收,结果显示 WARM 试剂在对直抗 IgG 强阳性(3+)红细胞的放散能力很强,时间短,仅需 30 min 左右,同时用 WARM 试剂处理后的红细胞与自身血清进行吸收,吸收后血清自身对照为土,说明自身抗体吸收效果比较明显,这与苏宇清等^[4]报道相一致;对吸收前后的血清用谱细胞检测,谱细胞的反应格局由无特异性抗体格局变成明显可见的 IgG 抗-S 抗体的反应格局,这也印证了自身抗体的存在会掩盖同种抗体;但是笔者在对抗-S 抗体进行进一步确认时发现 WARM 试剂处理后红细胞抗原反应敏感性增强,出现假阳性的情况,可能是由于 WARM 试剂中的木瓜酶对抗原有修饰作用,增强 Rh 血型系统抗原的检出率,红细胞 MN 和 Dully 系统抗原被酶破坏,同时 WARM 试剂中的二巯基苏糖醇会导致某些抗原变性,如 Kell、Lw 血型抗原^[9-10],因此笔者认为经过 WARM 试剂处理的红细胞可能不适用于 ABO 及 Rh 血型系统外的其他

• 检验仪器与试剂评价 •

血型系统的血型鉴定,但还需要更多实验数据的支持。

为保证临床输血安全、有效,通过 WARM 试剂的应用分析,笔者认为对直接和(或)间接抗 IgG 阳性的细胞,可以采用 WARM 试剂和热放散联合使用,快速了解患者体内是否存在同种抗体,并确定同种抗体的特异性,为患者能得到及时有效的治疗节约宝贵的时间。

参考文献

- [1] 李勇,马学严.实用血液免疫学血型理论和实验技术[M].北京:科学出版社,2006:457.
- [2] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3版.南京:东南大学出版社,2006:246-262.
- [3] 肖星甫.输血技术手册[M].北京:人民卫生出版社,1985:311-312.
- [4] 苏宇清,喻琼,梁延连,等.WARM 试剂在去除温自身抗体检测中的应用[J].临床输血与检验杂志,2008,10(3):224-227.
- [5] 庞桂芝,马云,张趁利,等.自身免疫性溶血性贫血患者 ABO 及 Rh 血型鉴定[J].郑州大学学报:医学版,2006,41(5):949-950.
- [6] 兰炯采,胡利亚,杨世英.氯奎放散法的研究[J].中华血液学杂志,1988,9:624-625.
- [7] 马幼丽,陆贤吉.自身免疫性溶血性贫血患者的不规则抗体检测[J].中国卫生检验杂志,2008,18(12):2819-2819.
- [8] 向东,刘曦,王健莲,等.红细胞温自身抗体的血清学特点分析及配血对策[J].中国输血杂志,2008,21(12):924-926.
- [9] Branch DR,Shulman IA,Sy Siok Hian AL,et al. Two distinct categories of warm autoantibody reactivity with age-fractionated red cells[J]. Blood,1984,63(1):177-180.
- [10] Naleway AL,Belongia EA,Donahue JG,et al. Risk of immune hemolytic anemia in children following immunization[J]. Vaccine,2009,27(52):7394-7397.

(收稿日期:2012-07-08)

5 种结核杆菌抗体检测试剂对肺结核的诊断效能评价

吴士及,陈家逸,黄劲,何虹燕,段金玉,殷波涛,朱琴,孙自镛[△]
(华中科技大学同济医学院附属同济医院检验科,湖北武汉 430030)

摘要:目的 评价 5 种结核抗体检测试剂盒在肺结核诊断中的诊断效能。方法 采用酶联免疫吸附法和胶体金法以上海奥普(奥普)、天津中新科炬(中炬)、杭州艾康(艾康)、韩国 SD(SD)和北京万泰(万泰)5 种不同试剂检测 97 例肺结核患者、62 例非肺结核患者和 100 例健康人血清中的结核抗体。结果 奥普、中炬、艾康、SD、万泰 5 种试剂盒的灵敏度分别为 78.4%、78.4%、90.7%、69.1%和 67.0%;特异度为 88.9%、71.0%、80.2%、99.4%和 95.1%;阳性预测值分别为 80.9%、61.8%、73.3%、98.5%和 89.0%;阴性预测值分别为 87.3%、84.6%、93.5%、84.3%和 82.8%;临床诊断符合率分别为 84.9%、73.7%、84.2%、88.0%和 84.6%;ROC 曲线下面积分别为 0.833、0.731、0.844、0.851 和 0.821。结论 奥普、艾康、SD 和万泰的诊断效能类似,均优于中炬。

关键词:结核抗体;结核,肺;诊断效能

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.02.045

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)02-0217-03

结核病被列为中国重大传染病之一,是严重危害人民群众健康的呼吸道传染病。目前一般采用的检测血清结核抗体的方法有 ELISA 法和胶体金法,这 2 种方法检测患者血清抗结

核抗体简便、快速、特异性好,是目前最理想的诊断方法。而结核抗体的诊断试剂多种多样,对检测结果的影响也不尽相同。本研究采用 ELISA 法和胶体金法,用 5 种不同的试剂,分别检

[△] 通讯作者,E-mail:ziyongsun@hotmail.com。

测 97 例确诊肺结核患者样本、100 例健康人样本和 62 例非肺结核病患者样本中的血清结核抗体,并对结果进行比较,评价各种试剂对结核病的诊断效能。

1 资料与方法

1.1 一般资料 肺结核组 97 例(男性 73 例,女性 24 例)均为确诊肺结核住院患者,痰菌涂片与培养均阳性[涂(+)培(+)]者 86 例,涂片与培养均阴性[涂(-)培(-)]者 11 例,年龄 15~85 岁,平均年龄 48.8 岁。疾病对照组为来自临床确诊为非结核病的 62 例住院患者,其中男性 35 例,女性 27 例,年龄 17~79 岁,平均年龄 46.85 岁。健康对照组为健康体检者 100 例,其中男性 51 例,女性 49 例,年龄 23~73 岁,平均年龄 39.78 岁。

1.2 主要试剂 上海奥普生物医药有限公司生产的迪比多结核分枝杆菌抗体诊断试剂盒(胶体金法),批号 20111003,以下简称奥普。天津中新科炬生物制药有限公司生产的结核分枝杆菌(TB)IgG 抗体检测试剂盒(胶体金法),批号 201106231,以下简称中炬。杭州艾康生物技术有限公司生产的结核分枝杆菌抗体检测试剂盒(胶体金法),批号 201108339,以下简称

艾康。韩国 SD 标准诊断公司生产的结核杆菌抗体检测试剂盒(胶体金法),批号 046041,以下简称 SD。北京万泰生物药业股份有限公司生产的结核杆菌 IgG 抗体检测试剂盒(ELISA 法),批号 TB20110905,以下简称万泰。

1.3 方法 严格按照 5 种结核杆菌抗体检测试剂盒所附的说明书上来进行操作。

1.4 统计学处理 本实验试剂盒的评价通过计算灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、符合率来进行比较分析。所有数据均采用 SPSS19.0 软件进行统计学分析,绘制 ROC 曲线。计数资料运用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 5 种试剂检测结果 5 种结核杆菌抗体检测试剂盒检测 97 例肺结核病患者、62 例非肺结核疾病患者和 100 例健康体检者标本的结果见表 1。97 例肺结核患者中,奥普、中炬、艾康、SD、万泰结核抗体检测试剂盒检测的阳性率分别为 78.4%、78.4%、90.7%、69.1%、67.0%。艾康的灵敏度明显高于其余四者,差异有统计学意义($P < 0.01$)。162 例对照组中,上述 5 种试剂分别检测出 18、47、32、1、8 例阳性。

表 1 5 种结核抗体检测试剂盒的结果(n)

分组	n	奥普		中炬		艾康		SD		万泰	
		阳性	阴性								
肺结核病组	97	76	21	76	21	88	9	67	30	65	32
涂(+)培(+)	86	72	14	70	16	79	7	61	25	61	25
涂(-)培(-)	11	4	7	6	5	9	2	6	5	4	7
疾病对照组	62	15	47	23	39	18	44	0	62	2	60
健康对照组	100	3	97	24	76	14	86	1	99	6	94

2.2 诊断效能评价 奥普检测结核病的灵敏度为 78.4%,特异度为 88.9%,阳性预测值为 80.9%,阴性预测值为 87.3%,符合率为 84.9%;中炬检测结核病的灵敏度为 78.4%,特异度为 71.0%,阳性预测值为 61.8%,阴性预测值为 84.6%,符合率为 73.7%;艾康检测结核病的灵敏度为 90.7%,特异度为 80.2%,阳性预测值为 73.3%,阴性预测值为 93.5%,符合率为 84.2%;SD 检测结核病的灵敏度为 69.1%,特异度为 99.4%,阳性预测值为 98.5%,阴性预测值为 84.3%,符合率为 88.0%;万泰检测结核病的灵敏度为 67.0%,特异度为 95.1%,阳性预测值为 89.0%,阴性预测值为 82.8%,符合率为 84.6%。艾康的诊断敏感性优于奥普、中炬、SD 和万泰,差异有统计学意义($P < 0.01$),后四者间差异无统计学意义($P > 0.05$)。SD 的特异度优于万泰,差异有统计学意义($P = 0.036$),且明显优于其余三者($P < 0.01$);万泰的特异度优于奥普、中炬以及艾康,奥普的特异度优于中炬和艾康,差异均有统计学意义($P < 0.01$);而中炬和艾康的特异度相当($P = 0.07$)。5 种试剂的 ROC 曲线下面积分别为 0.833、0.731、0.844、0.851 和 0.821。

3 讨论

肺结核病的诊断金标准以病原学方法(痰涂片或痰培养)为主,该法特异度高,但检出率低,尤其是对于涂片阴性或者无痰患者,初步诊断较为困难,因此血清结核抗体的检测日益受到重视,对临床诊断有着重要参考意义^[1-4]。目前,结核抗体检

测试剂盒很多,质量参差不齐,另外,由于使用的抗原种类和纯度不同,检测方法不同等原因,致使不同厂商的试剂盒应用范围也不尽相同。因此,笔者对目前商品化试剂中常用的 5 种试剂盒检测结果进行了比较,以评价其对肺结核病的诊断效能。

本研究结果显示,5 种试剂盒的灵敏度由高到低分别是艾康(90.7%)、奥普(78.4%)、中炬(78.4%)、SD(69.1%)和万泰(67.0%),艾康的诊断敏感性明显优于其余四者,而其余四者之间并无明显差异。在 97 例肺结核患者中,5 种试剂均不同程度地出现了假阴性结果,可能的原因之一是各试剂盒抗原组成成分的差异。用于结核血清学实验的众多抗原组分中,38KDa 重组蛋白是对结核分枝杆菌最为特异的抗原组分^[5],而也正是由于其高度特异性,使得其灵敏度通常较低^[6]。本实验中,SD 试剂盒主要采用了重组 38KDa 抗原,其灵敏度(69.1%)与国内文献报道的 65.1%类似^[7],高于国外学者报道的 55%^[8]。万泰试剂盒采用 5 片段抗原,含有不同来源的卡介苗所缺失的片段,可检出结核分枝杆菌分泌性磷酸酯酶(TB-SA),该酶仅存在于致病性的结核分枝杆菌中,是区分结核分枝杆菌的致病性较理想的抗体^[9]。另外,结核病的不同阶段其抗体滴度不同,例如结核病患者在治疗后或者处于相对稳定状态时,抗体检测可出现阴性结果^[10-11]。在结核感染早期,抗体尚未产生或滴度很低时检测血清抗体同样可能为阴性结果。

本研究中 5 种结核抗体检测试剂盒的特异度由高到低分

别为 SD (99.4%)、万泰 (95.1%)、奥普 (88.9%)、艾康 (80.2%)、中炬 (71.0%)。假阳性率分别为 SD (0.6%)、万泰 (4.9%)、奥普 (11.1%)、艾康 (19.8%)、中炬 (29.0%)。SD 对肺结核的诊断特异度最高 ($P < 0.05$)。不同试剂盒的抗原纯度以及对结核分枝杆菌的特异度不同是出现这些假阳性的可能原因之一。另外不同分枝杆菌间抗原的交叉反应也是造成假阳性的重要原因。奥普、中炬、艾康、SD 和万泰的阳性预测值分别为 80.9%、61.8%、73.3%、98.5% 和 89.0%，阴性预测值分别为 87.3%、84.6%、93.5%、84.3% 和 82.8%，临床诊断符合率分别为 84.9%、73.7%、84.2%、88.0% 和 84.6%。另外，上述 5 种试剂的 ROC 曲线下面积分别为 0.833、0.731、0.844、0.851 和 0.821。由此可知，除中炬外，奥普、艾康、SD 和万泰对肺结核的诊断符合率以及诊断准确性无明显差异 ($P > 0.05$)，其中 SD 的诊断效能最高。另外，SD 的阳性预测值最高，即其检出结核抗体阳性时，98.5% 可诊断为肺结核病，而阴性预测值最高的是艾康，当其检出结核抗体为阴性时，93.5% 的可能性诊断为非结核病。

综上所述，5 种试剂盒中，奥普、艾康、SD 和万泰对肺结核的诊断效能近似，均优于中炬。而艾康的诊断灵敏度最高，在结核病流行调查和筛选可疑患者时，可以选用此灵敏度较高的试剂盒。在用于临床诊断时应更加注重检测系统的诊断特异度。本研究中的疾病对照组是由肺部真菌感染、上呼吸道感染、结核病史、肺肿块、肺转移癌等确诊排除活动性结核的疾病组成，这些疾病都较容易被误诊为肺结核病^[12]。因此在重要的鉴别诊断或结核患者的确定诊断时，应选用特异性强、阳性预示值高的检测系统。

参考文献

- [1] 金关甫, 李伟霞, 刘金伟, 等. ICT-TB 卡快速检测肺结核患者血清中五种抗结核抗体的效果[J]. 中国防痨杂志, 1998, 20(3): 148-149.
- [2] 陈奎霖. 结核抗体在诊断结核病中的意义[J]. 中国热带医学, 2008, 8(9): 1608.
- [3] 张国庆, 付玉军, 田巧, 等. 斑点金免疫渗滤法检测结核分枝杆菌抗体在肺结核诊断中的应用[J]. 中国医药导报, 2008, 5(8): 89-90.
- [4] 胡忠义, 靳安佳, 宋月珍, 等. 四种结核抗体试剂盒临床应用评价[J]. 中国防痨杂志, 1998, 20(1): 32-34.
- [5] Singh M, Andersen AB, McCarthy JEG, et al. The Mycobacterium tuberculosis 38-kDa antigen: overproduction in Escherichia coli, purification and characterization[J]. Gene, 1992, 117(1): 53-60.
- [6] Jackett PS, Bothamley GH, Batra HV, et al. Specificity of antibodies to immunodominant mycobacterial antigens in pulmonary tuberculosis[J]. J Clin Microbiol, 1988, 26(11): 2313-2318.
- [7] 陈红兵, 张小刚, 何秀云, 等. 结核分枝杆菌重组 38KDa 蛋白质抗原免疫学特性的研究[J]. 中国现代医学杂志, 2005, 15(6): 837-839.
- [8] Said Tohir AH, Richard V, Raharimanga V, et al. Evaluation of an immunochromatographic test for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in Madagascar[J]. BMC Res Notes, 2011, 4: 403.
- [9] Li X, Xu H, Jiang S, et al. TB-SA antibody test for diagnosis and monitoring treatment outcome of sputum smear negative pulmonary tuberculosis patients[J]. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2011, 42(5): 1147-1153.
- [10] 高孟秋, 初乃惠, 王海英, 等. 结核分枝杆菌特异性蛋白抗体检测在结核病诊断中的价值[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2007, 30(12): 918-920.
- [11] 毕爱笑, 徐德兴, 胡忠义, 等. TB-SA 结核抗体检测的临床应用评价[J]. 同济大学学报: 医学版, 2008, 29(2): 77-84.
- [12] 孙伟民, 任永变. 肺结核误诊 54 例原因分析[J]. 职业与健康, 2001, 17(11): 146-147.

(收稿日期: 2012-09-18)

(上接第 200 页)

- in mikroskopischen Präparaten [J]. Hoppe-Seylers Z Physiol Chem, 1924, 135(2): 204-248.
- [2] Hall TL, Fu YS. Applications of quantitative microscope in tumor pathology[J]. Lab Invest, 1985, 53(1): 5-21.
- [3] Mellin W. Cytophotometry in tumor pathology. A critical review of methods and applications, and some results of DNA analysis [J]. Pathol Res Pract, 1990, 186(1): 37-62.
- [4] 孙小蓉, 汪键. DNA 定量细胞学[M]. 武汉: 湖北科技出版社, 2006.
- [5] Bocking A, Giroud F, Reith A. Consensus report of the ESACP task force on standardization of diagnostic DNA image cytometry [J]. Anal Cell Path, 1995, 8(1): 67-74.
- [6] Vendrely R, Vendrely C. La teneur du noyan cellulaire en acid desoxyribonucléique atraverse le organs, les individus et les especes animals[J]. Experientia, 1948, 4(3): 434-436.

- [7] Swift H. The constancy of desoxyribose nuclei acid in plant nuclei [J]. Proc Natl Acad Sci, 1950, 36(4): 643-654.
- [8] Patau K, Swift H. The DNA-content (Feulgen) of nuclei during mitosis in a root tip of onion [J]. Chromisoma, 1953, 6(2): 149-169.
- [9] Guillaud M, Benedit JL, Cantor SB, et al. DNA ploidy compared with human papilloma virus testing (Hybrid Capture II) and conventional cervical cytology as a primary screening test for cervical high-grade lesions and cancer in 1555 patients with biopsy confirmation [J]. Cancer, 2006, 107(3): 309-318.
- [10] Tong H, Shen R, Wang ZM, et al. DNA ploidy cytometry testing for cervical cancer screening in China (DNACIC Trial); a prospective randomized, controlled trial [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(23): 6438-6445.

(收稿日期: 2012-09-18)