

• 调查报告 •

结核分枝杆菌蛋白芯片检测结果判定和临床意义分析

刘 杰,赵满仓
(北京军区总医院检验科,北京 100700)

摘 要:**目的** 分析结核分枝杆菌(简称结核杆菌)蛋白芯片法检测结果的判定方法和临床意义。**方法** 以结核病患者及非结核病患者作为检测对象,评价结核杆菌蛋白芯片法对结核病的诊断性能。**结果** 不同指标的单独或组合检测具有不同的诊断性能。**结论** 结核杆菌蛋白芯片法诊断结核病具有较大的阴性预测意义,是临床辅助诊断结核病的参考方法。

关键词:蛋白质阵列分析; 分枝杆菌,结核; 诊断

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 18. 022 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)18-2218-02

Results evaluation and clinical significance of protein chip detection of Mycobacterium tuberculosis

Liu Jie, Zhao Mancang

(Department of Clinical Laboratory, General Hospital of Beijing Military Area Command, Beijing 100700, China)

Abstract:**Objective** To explore the evaluation method and clinical significance of protein chip detection of Mycobacterium tuberculosis(TB). **Methods** Patients with or without tuberculosis were enrolled and detected. The diagnostic performance of protein chip detection of TB for tuberculosis was analyzed. **Results** Single or combined detection of different indexes had different diagnostic performance. **Conclusion** Protein chip detection of TB might be with great negative prediction significance, and could be reference method for the auxiliary diagnosis of tuberculosis.

Key words:protein array analysis; Mycobacterium, tuberculosis; diagnosis

结核病是严重危害人民群众健康的呼吸道传染病。传统的结核病细菌学检查主要依赖于涂片抗酸染色法和罗氏鸡蛋培养基培养法,但前者灵敏度很低,后者的检测时间则太长(2~8周),不能满足临床需要。由于分子生物学技术的介入,结核分枝杆菌(简称结核杆菌)检测技术有了较大的发展^[1]。结核杆菌蛋白质芯片是蛋白质组学新的研究方向,可以实现快速检测结核杆菌的目的^[2]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2008年1月至2011年12月于本院就诊或住院治疗的患者2780例,其中结核病患者142例(结核组,包括肺结核106例、结核性胸膜炎16例、椎体结核11例、结核性腹膜炎2例、肝结核2例、腹腔结核2例,左肘腕手滑囊结核、结核性肠膜炎、胸壁结核各1例),非结核病患者2638例[对照组,(支气管)肺炎189例、发热待查118例、肺部感染104例等]。诊断标准参照《WS288-2008 中华人民共和国传染病防治法》。

1.2 仪器与试剂 结核杆菌蛋白芯片法阅读仪、结核杆菌蛋白芯片法试剂盒均为南京大渊生物技术公司产品。

1.3 方法 以不含抗凝剂的真空采血管采集所有受试对象空腹静脉血3 mL,1 500 r/min离心5 min后分离血清。采用结核菌蛋白芯片法进行结核杆菌3种特异性抗体检测,即抗脂阿拉伯甘露糖(LAM)抗体、16kD-IgG抗体及38kD-IgG抗体;检测步骤及结果判断标准均参照试剂盒或仪器说明书。

1.4 统计学处理 采用SPSS17.0软件进行数据统计分析。计数资料以百分率表示,率的比较采用 χ^2 检验;显著性检验水

准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 阳性结果分析 2 780例血清标本抗 LAM 抗体、16kD-IgG 抗体、38kD-IgG 抗体单项、两项及三项阳性总计 438 例,阳性率 15.76%。不同科室来源阳性患者例数前 5 位分别为呼吸内科 168 例(38.36%)、消化内科 27 例(6.16%)、胸外科 24 例(5.48%)、骨科 23 例(5.25%)、内分泌科 21 例(4.79%)。438 例阳性患者中,男 274 例(62.56%)、女 164 例(37.44%)。按中华医学会老年医学分会关于年龄分组的规定,将阳性患者分为 5 组,儿童与少年组(<18 岁)8 例(1.83%)、青年组(18~<45 岁)111 例(25.34%)、中年组(45~<60 岁)85 例(19.41%)、老年前期组(60~<75 岁)102 例(23.29%)、老年组(≥ 75 岁)132 例(30.14%);如按 10 岁一个年龄段分组,构成比由高到低依次为 71~<81 岁 87 例(19.86%)、81~<91 岁 74 例(16.89%)、51~<61 岁 72 例(16.44%)、61~<71 岁 61 例(13.93%)。3 种结核杆菌抗体阳性结果构成比由高到低依次为抗 LAM 抗体阳性占 93.61%(410/438)、抗 38kD-IgG 抗体阳性占 82.42%(361/438)、抗 16kD-IgG 抗体占 12.1%(53/438)。

表 1 不同组别检测结果(n)

组别	阳性	阴性	合计
结核组	135	7	142
对照组	303	2 335	2 638
总计	438	2 342	2 780

表 2 不同组别不同 3 项抗体单一或任意组合阳性结果及诊断性能*

项目	LAM	16kD	38kD	LAM+38kD	LAM+16kD	16kD+38kD	3 项阳性
结核组(n)	8	6	1	91	2	4	23
非结核组(n)	47	13	3	235	1	1	3
合计(n)	55	19	4	326	3	5	26
灵敏度(%)	5.6	4.2	0.7	64.1	1.4	2.8	16.2
特异度(%)	98.2	99.5	99.9	91.1	100.0	100.0	99.9

续表 2 不同组别不同 3 项抗体单一或任意组合阳性结果及诊断性能*

项目	LAM	16kD	38kD	LAM+38kD	LAM+16kD	16kD+38kD	3 项阳性
+PV(%)	14.5	31.6	25.0	27.9	66.7	80.0	88.5
-PV(%)	95.1	95.1	94.9	97.9	95.0	95.0	95.7
误诊率(%)	1.8	0.5	0.1	8.9	0.0	0.0	0.1
漏诊率(%)	94.4	95.8	99.3	35.9	98.6	97.2	83.8
诊符率(%)	93.5	94.6	94.8	89.7	94.9	95.0	95.6
Youden 指数(%)	3.9	3.7	0.6	55.2	1.4	2.8	16.1

*:仅百分率数据显示小数点后 1 位;LAM:抗 LAM 抗体;16kD:16kD-IgG 抗体;38kD:38kD-IgG 抗体。

2.2 结核杆菌蛋白芯片法诊断性能评价 不同组别间抗 LAM 抗体、16kD-IgG 抗体或 38kD-IgG 抗体单项或任意组合的阳性率比较差异有统计学意义($\chi^2=709.248, P<0.01$),见表 1。以 3 种抗体任意 1 项阳性作为结核病诊断依据,则结核杆菌蛋白芯片法对结核病的诊断性能为灵敏度 95.1%、特异度 88.5%、误诊率 11.5%、漏诊率 4.9%、阳性预测(+PV)值 30.8%、阴性预测值(-PV)99.7%、诊断符合率(诊符率)88.8%、约登指数 83.6%。不同组别 3 项抗体单一或任意组合阳性结果及诊断性能见表 2。

3 讨 论

结核杆菌蛋白芯片法利用微阵列技术,将纯化的结核杆菌 LAM、16kD 蛋白(rTPA16)和 38kD 蛋白(rTPA38)作为抗原固定于同一膜片上,待测标本中的抗体与抗原在固相膜上特异性结合,以免疫金作为标记物在膜上显色后可通过芯片阅读仪分析抗原点阵的灰度值,以达到检测结核杆菌感染的目的。38kD 与 16kD 蛋白是结核杆菌所特有的抗原,因此具有较高的诊断特异性^[3-9]。本研究结果显示结核杆菌蛋白芯片法阳性患者主要来源于呼吸、消化等内科科室,以老年前期及老年人群为主。

本研究中结核杆菌蛋白芯片法检测诊断结核的灵敏度为 95.1%、特异度为 88.5%,与国内何启军等^[10]的报道略有差异;诊符率为 88.8%,约登指数为 83.6%,说明该方法较为可靠。在 142 例结核患者中,7 例患者结核杆菌蛋白芯片法检测为阴性,可能与患者血液中的抗体和菌蛋白抗原相结合导致游离抗体滴度降低有关。2 638 例对照组患者中有 303 例结核杆菌蛋白芯片法检测为阳性,主要为抗 LAM 抗体阳性。LAM 是分枝杆菌属细胞壁的重要组成部分,属特异性抗原,具有较强的免疫原性,以其为抗原检测抗 LAM 抗体的灵敏度较高,但对结核杆菌的特异度较低,故误诊率为 11.5%。因此,仅抗 LAM 抗体阳性并不能确诊为结核杆菌感染,只能提示抗 LAM 抗体水平异常,须结合体征以判断是否感染结核杆菌。

目前多数体外诊断试剂性能评价研究仅采用了灵敏度和特异度指标,导致评价结果的可信度降低。例如本研究中,当对照组阴、阳性比例相等时,灵敏度和特异度不会改变,但 -PV 则随着病例数增加而增加,而 +PV 减小,即对真阴性(健康者)的诊断可靠性大于真阳性(患者)。对于发病率较低的疾病,即患者相对较少的疾病,这种现象更为明显。对于体外诊断试剂性能评价试验的结果,不能简单依靠试验数据和厂商资料得出所谓的“确诊”结论,而应通过大样本量临床试验,建立适合实验室的诊断标准,临床医生也必须结合患者体征及临床症状进行确诊判断。

本研究结果显示,结核杆菌蛋白芯片法 3 项抗体检测诊断结核病的特异度较低(88.5%),但 -PV 可达 99.7%。以任意 1 项阳性作为诊断结核病为标准,则灵敏度很高(95.1%),但 +PV 仅 30.8%,说明单一指标检测结果对真阳性(患者)的确诊能力较低,存在一定程度的假阳性。假阳性结果可能与潜伏结核、环境中分枝杆菌的污染或患者经有效治疗后体内依然存

在抗体有关。3 项指标均为阳性时,其 +PV 和 -PV 均较高,诊符率达 95.6%,可确诊为结核杆菌感染。抗 LAM 抗体与 38kD-IgG 抗体均阳性时,-PV 和诊符率最高,但假阳性例数较多,+PV 很低,必须结合其他临床指标才可确诊结核病。16kD-IgG 与 38kD-IgG 同时阳性、抗 LAM 抗体与 16kD-IgG 同时阳性或仅 38kD-IgG 抗体阳性的例数较少,但均可作为结核病的确诊依据。仅 16kD-IgG 阳性时,需结合患者体征以判断是否感染结核杆菌,且患者有必要每半个月或 1 个月进行复查。

综上所述,结核杆菌蛋白芯片法诊断结核病,虽然简便、快速、灵敏度较高、特异性较强,适合用于涂片(或培养)检测为阴性的人群检测、肺部其他疾病的鉴别诊断和结核病化疗后的动态观察,但总体上只能作为临床辅助诊断结核病的参考方法。

参考文献

[1] 张秀珍,胡云建,陈东科. 结核病实验诊断进展[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(8):865-866.

[2] 李洪敏,王巍,陈红兵,等. 应用 PBT-X2 型识别仪进行结核蛋白生物芯片检测[J]. 医疗卫生装备,2007,28(8):64-65.

[3] Wu X, Yang Y, Zhang J, et al. Humoral immune responses against the Mycobacterium tuberculosis 38-kilodalton, MTB48, and CFP-10/ESAT-6 antigens in tuberculosis[J]. Clin Vaccine Immunol, 2010,17(3):372-375.

[4] Houghton RL, Lodes MJ, Dillon DC, et al. Use of multiepitope polypeptides in serodiagnosis of active tuberculosis[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2002,9(4):883-991.

[5] Julián E, Matas L, Alcaide J, et al. Comparison of antibody responses to a potential combination of specific glycolipids and proteins for test sensitivity improvement in tuberculosis serodiagnosis[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2004,11(1):70-76.

[6] Deng S, Yuan T, Xia J, et al. Clinical utility of a combination of lipoarabinomannan, 38-kDa, and 16-kDa antigens as a diagnosis tool for tuberculosis[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2011,71(1):46-50.

[7] Min F, Zhang Y, Huang R, et al. Serum antibody responses to 10 Mycobacterium tuberculosis proteins, purified protein derivative, and old tuberculin in natural and experimental tuberculosis in rhesus monkeys[J]. Clin Vaccine Immunol, 2011,18(12):2154-2160.

[8] Wu L, Zhang M, Sun M, et al. Humoral immune responses to a recombinant 16-kDa-38-kDa-ESAT-6 mycobacterial antigen in tuberculosis[J]. J Int Med Res, 2011,39(2):514-521.

[9] Silva VM, Sardella IG, Luiz RR, et al. Immunoreactivity of five antigens of Mycobacterium tuberculosis in patients attending a public health care facility in an area with high endemicity for TB[J]. Microbiol Immunol, 2008,52(11):544-550.

[10] 何启军,姚敏,吴多荣. 蛋白芯片法诊断结核病的评价[J]. 中国热带医学,2010,10(5):523-524.