

# 免疫学检测在结核病诊断中的应用

刘冰 综述, 陈华根 审校(四川省成都市新都区人民医院 610500)

## 【关键词】

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.15.061 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)15-2027-02

结核病是由结核分枝杆菌所致的一种古老传染病,它的传播与有记载的人类文明史同步。全球有 1/3 的人感染结核分枝杆菌,有 2 000 万活动性结核病患者,每年新发病例 900 万人,有 300 万人死于结核病。中国是结核分枝杆菌高感染率国家,仅次于印度,居世界第二,感染率 44.5%,有活动性肺结核患者 451 万,每年有 12.7 万人死于结核病。由于其治疗费用高、治愈率低、病死率高,世界卫生组织已将结核病、艾滋病和疟疾一起列为人类最主要杀手。结核病不仅损害个人健康,影响生命质量,而且还会对患者家庭造成沉重的精神与经济压力,从而加重社会负担,现已成为全球性公共卫生问题<sup>[1]</sup>。结核病的实验室诊断,对于结核病的预防和治疗具有重要作用。涂片染色镜检和培养技术是迄今应用最为广泛、经典的结核病诊断技术<sup>[2]</sup>,但存在敏感性低、检测周期长、对肺外结核和越发增多的菌阴肺结核检测局限等特点。分子生物学技术是新兴的结核病实验室诊断技术,具有快速、灵敏、特异等特点,特别是菌种鉴定和耐药基因突变检测,被认为是实验室诊断的“金标准”,必将成为结核分枝杆菌检测的常规方法,但存在设备和技术要求高,许多具体方法效能还有待临床大样本验证<sup>[3]</sup>的缺点。免疫学检测技术也是实验室诊断结核病广泛应用的技术,从早期的结核菌素试验,到现在的蛋白印迹和蛋白芯片技术,有适合基层实验室使用的酶联免疫吸附试验、免疫渗滤和层析技术,也有适合各级实验室使用的蛋白印迹试验、酶联免疫斑点技术(ELISPOT),各种免疫学检测技术正逐步在实验室开展。免疫学检测的关键是制备选择特异的免疫原。

## 1 常用免疫原

**1.1 旧结核菌素(OT)和纯蛋白衍生物(PPD)** OT 是结核分枝杆菌在甘油肉汤中培养后,经加热、过滤和浓缩处理而获得的复合抗原;PPD 是在用三氯醋酸沉淀培养滤液后的纯化物。牛分枝杆菌经 13 年 230 代传代培养后获得的减毒活疫苗一卡介苗(BCG)含 OT 和 PPD 抗原。现在常用 PPD 作皮肤试验,以此选择接种对象和判定接种效果、诊断婴幼儿结核病、未接种对象结核分枝杆菌感染流行病学调查、测定肿瘤患者的细胞免疫功能,也可用 PPD 检测结核分枝杆菌抗体。缺点是多种分枝杆菌皆含 PPD,敏感性和特异性较低,难以区分显性感染还是阴性感染、肺内外感染以及 BCG 免疫。

**1.2 早期分泌性靶抗原 6(ESAT-6)** 从结核分枝杆菌培养滤液中纯化分离的低分子蛋白,相对分子质量为  $6 \times 10^3$ ,含 95 个氨基酸。免疫原性较强,是参与结核病免疫调节的重要抗原。对结核分枝杆菌呈现免疫应答,对非结核分枝杆菌多无免疫应答,因此可作为免疫检测重要抗原和新型疫苗备选抗原,用作结核菌实验室检测和结核病防治<sup>[4]</sup>。

**1.3 CFP10** 同 ESAT-6 属同一家族,分离于结核分枝杆菌培养滤液,作用于 T 细胞,诱导皮肤迟发性超敏反应,刺激单核细胞产生特异性干扰素  $\gamma$ 。作为免疫学检测抗原,特异性

高,敏感性低,结合 38 KD 蛋白,可以提高菌阴结核病检测敏感性<sup>[5]</sup>。

**1.4 38KD 蛋白(Ag5, Pst-1, Pab)** 1986 年由 Young 等<sup>[6]</sup>首次制备,含特异的 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞抗原决定簇,是结核杆菌的主要免疫原,对结核病的诊断具有较高的特异性和敏感性,可区分结核病患者和 BCG 接种后阳性者。

**1.5 Ag85 复合体** 是一组具有较强免疫活性的分枝杆菌分泌性蛋白,至少包括 Ag85A、Ag85B、Ag85C 3 种蛋白成分,可在所有的分枝杆菌菌株中引起广泛的交叉反应。Ag85B(抗原 6、MPB/MPT59)是结核杆菌的主要分泌蛋白,诊断上优于 Ag85A 和 Ag85C。Ag85 的增高,对活动性结核病判定具有辅助诊断价值<sup>[7]</sup>。

**1.6 MPT64** 是一种 24KD 的结核分枝杆菌分泌蛋白,只存在于结核分枝杆菌复合群中,大多数 BCG 菌株对 MPT64 皮肤试验不反应,作为皮肤试验诊断蛋白优于 PPD<sup>[8]</sup>。

**1.7 A60 抗原** 是一种脂-多糖-蛋白复合物,OT 和 PPD 的主要成分,具有强免疫原性,激发特异性免疫应答和迟发性超敏反应,对肺外结核诊断具有一定价值。

**1.8 14KD 蛋白** 含结核杆菌特异性的 B 抗原表位,诱导特异性体液免疫应答,感染早期特异性抗体升高。

**1.9 TB4** 是结核分枝杆菌强毒株 H37RV 多肽,只与少数分枝杆菌有交叉免疫反应,作为结核菌感染诊断有较高的灵敏度和特异性。

**1.10 LAM** 即脂阿拉伯甘露聚糖抗原,是分枝杆菌特有的细胞壁成分,正生长的结核菌能大量产生,可能是 A60 抗原的重要成分。对判定活动性结核、菌阴结核和其他肺外结核有诊断意义<sup>[9-10]</sup>。

虽然各种结核分枝杆菌免疫原不断发现,但没有任何一种抗原能检测结核病患者血清中所有结核抗体,且在分枝杆菌中存在不同程度的交叉反应性<sup>[11]</sup>。利用多个相关抗原联合检测,可以提高免疫学检测的敏感性和特异性,满足结核病诊断的各种需求。朱中元等<sup>[12]</sup>报道,以 38KD、蛋白 16 和 LAM,利用蛋白芯片进行临床实验,取得较理想的快速诊断效果。杜凤娇等<sup>[13]</sup>报道,用 ESAT-6 和 CFP-10 融合蛋白刺激,利用 ELISPOT 和流式细胞术检测干扰素  $\gamma$ ,对结核性胸膜炎的诊断有较高的敏感度和特异度。刘忠华等<sup>[14]</sup>报道,CFP-10、MPT48 和 TB8.4 融合蛋白具有很好的免疫原性,可以提高结核抗体检测的特异度和敏感度。因此,利用多个纯化的特异抗原,联合检测,可显著提高检测的敏感性,是结核病免疫检测今后研究和应用的方向。

## 2 主要免疫学检测技术

**2.1 酶联免疫吸附试验** 利用包被在微孔上的已知抗原(抗体)和待测抗体(抗原)及酶标记抗原(抗体)反应,洗涤去多余的反应物,催化底物显色,根据呈色强弱判定待测物有无(多

少)。通常检测步骤包括:加样、温育、洗涤、显色、比色、结果判断和报告。该检测技术检测结核抗体具有快速、简便、准确、价廉的特点,临床应用广泛。

**2.2 金标免疫渗滤法和金标免疫层析法** 均属固相膜免疫测定,不同的是前者液体在硝酸纤维素膜上是直向穿流,后者是横流。无需特殊仪器,易于判读,简便快速、试剂稳定,临床应用广泛。

**2.3 免疫印迹技术** 是电泳技术与酶联免疫吸附测定技术结合的产物,常用作抗体确认试验。对活动性结核病,尤其是菌阴肺结核的诊断具有很高的价值。但该方法繁琐,成本较高,常规检测应用较少。

**2.4 蛋白芯片技术** 将多种结核分枝杆菌特异抗原联合,借助微阵列高通量平台,检测结核特异性抗体。具有操作简便快速、敏感性高、特异性强等优点,但芯片制作工艺需完善,需要仪器判读,临床推广还需时日。

**2.5 ELISPT** 是近年来应用在结核病免疫检测的新兴技术,具有较高的灵敏度和特异性,但操作繁琐,推广困难。

## 参考文献

- [1] 端木宏谨,龚幼龙,武桂英,等. 浙江和广东两省耐药和药物敏感性肺结核患者疾病负担研究[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2005, 28(6): 407-410.
- [2] 唐神结,高文. 临床结核病学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2011: 39-44.
- [3] Bao JR, Master RN, Schwab DA, et al. Identification of acid-fast bacilli using pyrosequencing analysis[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2010, 67(3): 234-238.
- [4] Kraus AB, Shaffer J, Toh HC, et al. Early host CD8 T-cell recovery and sensitized anti-donor interleukin-2-producing and cytotoxic T-cell responses associated with marrow graft rejection following nonmyeloablative allogeneic bone marrow transplantation[J]. Exp Hematol, 2003, 31(7): 609-621.
- [5] Dillon DC, Alderson MR, Day CH, et al. Molecular and immunological characterization of mycobacterium tuber-

culosis CFP-10, an immunodiagnostic antigen missing in mycobacterium bovis BCG[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(9): 3285-3290.

- [6] Young D, Kent L, Rees A, et al. Immunological activity of a 38 kilo dalton protein purified from mycobacterium tuberculosis[J]. Infect Immun, 1986, 54(1): 177-183.
- [7] Lim JH, Park JK, Jo EK, et al. Purification and immunoreactivity of three components from the 30/32-kilodalton antigen 85 complex in mycobacterium tuberculosis[J]. Infect Immun, 1999, 67(11): 6187-6190.
- [8] Srensen AL, Nagai S, Houen G, et al. Purification and characterization of a low-molecular-mass T-cell antigen secreted by mycobacterium tuberculosis[J]. Infect Immun, 1995, 63(5): 1710-1717.
- [9] Sada E, Brennan PJ, Herrera T, et al. Evaluation of lipoarabinomannan for the serological diagnosis of tuberculosis[J]. J Clin Microbiol, 1990, 28(12): 2587-2590.
- [10] Hunter SW, Gaylord H, Brennan PJ. Structure and antigenicity of the phosphorylated lipopolysaccharide antigens from the leprosy and tubercle bacilli[J]. J Biol Chem, 1986, 261(26): 12345-12351.
- [11] 马巧,朱莉贞,潘毓莹. 结核病[M]. 北京:人民卫生出版社, 2006: 65-68.
- [12] 朱中元,王海波,刘爱国,等. 抗结核分枝杆菌多种抗原的抗体检测蛋白芯片研究[J]. 中国热带医学, 2004, 4(6): 907-910.
- [13] 杜凤娇,戈启萍,韦攀健,等. 酶联免疫斑点术和流式细胞术检测  $\gamma$ -干扰素对结核性胸膜炎的辅助诊断价值[J]. 结核病与胸部肿瘤, 2011, 34(3): 617-622.
- [14] 刘忠华,杨华,秦莲花,等. 结核分枝杆菌 CFP-10 和 MPT48 及 TB8.4 融合蛋白的表达与临床应用[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(4): 345-348.

(收稿日期:2013-01-28 修回日期:2013-03-18)

# 人工髋关节及膝关节置换术后患者康复治疗现状

田治标 综述,俞益火 审校(重庆市梁平县人民医院骨一科 405200)

**【关键词】** 全髋关节置换术; 膝关节置换术; 康复治疗

**DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.15.062 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)15-2028-02**

现在,越来越多的患者开始采用全髋关节置换(THA)、全膝关节置换(TKA)术来治疗髋、膝关节方面的疾病,这就要求人工THA、TKA术后的患者康复治疗也要不断发展,满足患者的康复需求<sup>[1]</sup>。本文首先对近年来国内外与THA、TKA术后患者的康复治疗相关的文献进行了总结,之后对THA、TKA术后的临床现状和其未来的展望进行了综述。

## 1 国内外关于THA、TKA术的文献报道综述

人工THA、TKA术后,影响患者康复治疗效果的因素有很多,包括术前患者的病情、手术的效果以及手术的类型等因素<sup>[2]</sup>。为了进一步提高患者术后的康复疗效,国内外许多学者对此进行了研究,并提出了较新的观点。

**1.1 手术后的出院时间不宜过早** 有学者认为,接受THA、TKA术的患者不宜过早地出院<sup>[3]</sup>。经过相关学者的研究表明,在98例接受TKA术的患者当中,35%左右的患者都是被医院限制住院天数而被迫提前出院<sup>[4]</sup>。但是,这些患者的身体机能还没有得到完全的恢复,加上提前出院,患者的治疗效果会减弱许多<sup>[5]</sup>。因此,部分学者建议接受TKA术的患者不宜过早的出院,而要等到各项指标完全恢复正常以后才能出院。

**1.2 人工THA、TKA术时机选择要恰当** 经过有关学者研究表明,许多骨关节炎的患者在接受TKA手术之前通常要排很长的队等候<sup>[6]</sup>。学者把适于接受TKA手术而且等待时间已经超过6个月的患者与等待时间在6个月以内的需要接受