维普资讯 http://www.cqvip.com

脑脊液中抗PPD抗体的检测及意义

临床微生物学、免疫学教研室 卢贤瑜 范筱玲* 兰景刚 邓一平 陶 昆

提 要 用ELISA法分别检测了结核性脑膜炎、其他脑疾病和正常对照共76份脑脊液(CSF)中抗PPD抗体IgG。经统计学处理，选择OD值≥0.20为阳性。结果表明结脑组脑脊液中抗PPD抗体IgG水平明显高于对照组($P<0.01$)。该检测的敏感性和特异性分别为92.1%和94.7%。

关键词 结核性脑膜炎；酶联免疫吸附试验(ELISA)；结核菌纯蛋白衍化物(PPD)
中图分类号 R446.62

结核性脑膜炎(简称结脑)是目前发展中国家较为常见的疾病，常因诊断和治疗不及时而危及生命或留下后遗症。该病如能早期确诊，及时有效治疗，不但可完全康复不留任何后遗症，同时还可减少盲目用药对病人的不良影响。因此早期确诊是结脑治疗的关键。然而该病早期的临床表现和CSF改变往往不典型，加上一些药物对病程的干扰容易造成误诊。CSF涂片查菌和结核杆菌培养特异性虽高，但阳性率较低，且培养颇费时间(2～4周)。本文以结核菌纯蛋白衍化物PPD(purified protein derivative,PPD)为抗原，应用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测了38例结脑、20例其它脑病和18例正常对照CSF中的抗PPD抗体IgG，并探讨了其临床意义。

材料和方法

1 材料

(1)抗原 人型PPD冻干制剂，由卫生部生物制品鉴定所(北京)生产，批号82—213，参考有关文献确定抗原包被浓度为10μg/ml[1,2,3]。

(2)羊抗人IgG辣根过氧化物酶结合物卫生部北京生物制品研究所生产，批号861，工作浓度1∶1000。

(3)40孔聚苯乙烯酶标板GXM—201酶标光度计，四川分析仪器厂生产。

(4)标本 临床已确诊的结脑患者脑脊液38份来源于本校附属儿童医院和四川隆昌县人民医院。结脑临床诊断依据为：(a)有脑膜炎的临床表现；(b)CSF生化符合结脑改变；(c)部分病例同时伴有脑外结核；(d)经抗结核治疗有效。20份其他脑病脑脊液来自附属儿童医院，病种有：细菌性脑膜炎、病毒性脑膜炎、颅内肿瘤、癫痫等10种脑疾患。18份正常对照脑脊液收集于本校儿童医院、附一院、附二院，临床诊断非脑疾患者，CSF常规及生化均在正常范围内。

2 测定方法

(1)ELISA试验 PPD包被浓度为10μg/ml，每孔100μl，4℃过液后洗3次，加入1∶10稀释的CSF100μg/μl(用含20%免血清洗液稀释)[4]，37℃1.5h；洗3次，加酶结合物100μl，37℃1.5h，洗3次。加底物(邻苯二胺)溶液100μl，37℃20min，2MH_2SO_4终止反应。在酶标光度计上读492nmOD值。每板设阳性、阴性对照。每份标本作复孔，平均OD值为结果。所有检测数据经统计学处理后以OD≥0.20为阳性结果。

(2)重复性试验 7份结核抗体阳性的CSF在同

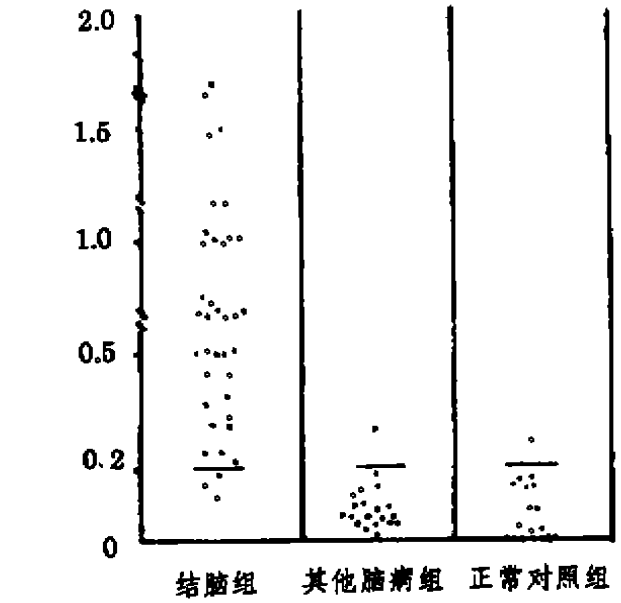
* 四川隆昌县人民医院

维普资讯 http://www.cqvip.com

一批实验中测定，每份平行做5孔.

结果和讨论

CSF中抗PPD抗体IgG的高低以OD值表示。结脑组中95%病例$OD>0.155$，正常对照和其它脑病组90%$OD<0.192$，故我们确定$OD\geqslant0.20$为阳性，该界限值与国内外报导一致[1~3,6]。76份CSF的检出结果见附图及表1。



附图　结脑和对照脑脊液中抗PPD抗体IgG水平的分布

该法检测三组结果，敏感性为92.1%(35/38)，特异性为94.7%(36/38)。结脑组与其它脑病组、与正常对照相比结果有显著性差异($P<0.01$)。正常对照组与其它脑病组之间无明显差异($P<0.05$)。

自1983年Kalish等[4]用ELISA法检测结核病人CSF中的特异性抗体以来，国内外陆续有一些报导，方法渐趋于成熟，但选用的抗原各不一致。有BCG提取物、OT、聚合OT、PPD等。作者先后用过以上几种抗原，认为PPD最为稳定可靠并易定量。本文结果表明，从PPD为抗原用ELISA法检测CSF中特异抗结核抗体IgG，其敏感性达92.1%，特异性达94.7%，与国内胡忠义[3]报告相近，说明本法有较高的敏感性和特异性。但比Kalish[4]Hernandez等[6]报导的双100%要低。

文献报导[6]结脑病人CSF中存在外周血不能检出的少克隆IgG带，且能被结核菌抗原吸附，提示中枢神经系统在受抗原刺激后局部能合成特异性抗体。Kalish[4]也发现结脑病人CSF特异性抗体水平均高于血清抗体水平。国内吴成翰[7]指出由于血脑屏障的作用，血液内的抗体不一定均能达到颅内，这对鉴别诊断无脑膜炎的结核与结脑有一定意义。该作者还发现结脑早期CSF内即有特异性抗体，主要为IgM。随着疾病的好转抗体滴度随之降低。但如病情迁延，抗体IgG则持续存在。这时早期诊断和观察病情变化是有价值的。

本文实验结果结脑组中有3例检出为阴性，2例是儿童，1例成人。其中1例儿童是结脑治疗3月后所取的脑脊液，是否会因治疗后病情好转使CSF中抗体降低。此外，这3例病人的机体免疫功能如何，病史中无明确记载，故也不能排除是否由于免疫功能特别低下而影响抗体产生。对照组中有2例检出为阳性。其中1例是5个月的婴儿，临床诊断为流脑。我们分析，其脑脊液中结核抗体是否来自其母亲(胚胎时)，而患流脑时血脑屏障受损使血中抗体进入脑脊液所致；另1例是附一院检验科所留的脑脊液，虽然其常规和生化均为正常，但该例病人其它具体情况无法追查。据Watt[2]所报导肺炎链球菌、流感嗜血杆菌性脑膜炎脑脊液中结核抗体偶为阳性，估计是这些细菌的某些抗原成分刺激机体产生的抗体可与结核杆菌抗原发生交叉反应。当然上述分析均有待进一步研究。此外实验所造成的误差我们认为也不是绝对没有。在我们实验中如同一标本复孔OD值相差较大，我们均重复了实验，以求得一较准确的结果。从总的结果来看，我们认为该实验是较稳定的、可靠的。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表1 76份CSF中抗PPD抗体IgG检测结果

组 别	OD值范围	阳性数*	(%)	阴性数	(%)
结 脑($n=38$)	0.111～1.800	35	92.1	3	7.9
其它脑病($n=20$)	0.016～0.304	1	5.0	19	95.0
正常对照($n=18$)	0～0.274	1	5.6	17	94.4

* $OD \geq 0.20$为阳性。

重复性试验结果见表2。该结果可见变异系数均<6.3表明本法重复性较好。

表2 重 复 性 试 验

标本	重复次数					$\bar{X}\pm S$	CV(%)
	1	2	3	4	5		
1	0.58	0.62	0.57	0.59	0.61	0.59±0.02	3.4
2	0.48	0.50	0.49	0.47	0.54	0.50±0.03	6.0
3	1.65	1.55	1.58	1.72	1.62	1.62±0.07	4.3
4	1.30	1.15	1.24	1.36	1.32	1.27±0.08	6.3
5	0.36	0.38	0.35	0.37	0.39	0.37±0.02	5.4
6	0.55	0.56	0.59	0.61	0.60	0.58±0.03	5.2
7	0.59	0.58	0.60	0.62	0.57	0.59±0.02	3.4

关于ELISA实验所使用的结核抗原，我们认为PPD较理想。因PPD成份稳定，易于定量，并有商品化产品，故较易推广。经超声波处理的BCG抗原物质由于受处理仪器条件的影响，其成份不够稳定。国内刘君英等[8]报导的聚合OT为抗原，由于其聚合过程不易标准化，所得聚合物不够稳定，而且放4℃冰箱一段时间后其蛋白质含量有所改变，故难于标准化和推广。

由于用ELISA检测结脑CSF中特异结核抗体(抗PPD)具有较高的特异性和敏感性，而且快速简便，重复性好，故可作为结脑辅助诊断方法之一。

参 考 文 献

1. Daniel TM,et al. Am Rev Respir Dis 1987;135:1137
2. Watt G,et al. J Infect Dis,1988;158:681
3. 胡忠义,等.中国免疫学杂志 1986;2:245
4. Kalish SB,et al,Ann Inter Med,1983;99:630
5. Hernadez R, et al. J Clin Microbiol,1984;20:533
6. Kinnman J, et al. J Clin Microbiol,1981;13:30
7. 吴成翰,等.中国防痨通讯 1990;1:20
8. 刘君炎,等.湖北医学院学报 1984;5(3):211

(收稿日期 1993-09-17)

(致谢:本文大部分标本由本校儿童医院传染科采集,特此致谢)

(下转31页)