

无动力。系统生化鉴定结果见表 1。该两株菌均具大肠艾希氏菌的生化性状。据发酵分解葡萄糖产酸产气,迟缓分解乳糖,迅速分解甘露醇和利用醋酸钠可区别于痢疾志贺氏菌。

### (二) 交叉凝集、交叉吸收试验

受检菌与标准株间交叉凝集和交叉吸收试验结果见表 2。4 株间抗 O 血清与 O 菌液的交叉凝集滴度基本一致。交叉吸收试验中 88-297、88-449 株和大肠艾希氏菌 O<sub>121</sub> 株 3 株间均相

互完全吸收,表明其 O 抗原完全相同。痢疾志贺氏菌 7 型 51259 株 O 抗原吸收 88-297、88-449 和 44482 抗 O 血清,吸收后血清对其相应免疫菌均不凝集,而 51259 株抗 O 血清经 88-297、88-449 和 44482 株的 O 菌液吸收后,对 51259 菌尚呈 1:160 的凝集滴度。该结果表明受检菌 88-297、88-449 与痢疾志贺氏菌 7 型间的 O 抗原成 a-a, b 的交互关系。

表 2 交叉凝集和交叉吸收试验结果

抗 O 血清	吸收菌	凝集 O 菌液			
		88-297	88-449	44482	51259
88-297	—	1280	1280	1280	640
	88-449	0	0	0	0
	44482	0	0	0	0
	51259	0	0	0	0
88-449	—	5120	5120	5120	2560
	88-297	0	0	0	0
	44482	0	0	0	0
	51259	0	0	0	0
O <sub>121</sub> 标准株 44482	—	5120	5120	1520	2560
	88-297	0	0	0	0
	88-449	0	0	0	0
	51259	0	0	5	0
痢疾志贺氏菌 7 型 51259	—	5120	5120	5120	5120
	88-297	0	0	0	160
	88-449	0	0	0	160
	44482	0	0	0	160

表内数字系凝集滴度

### (三) 致病力试验

致病力检测结果, 88-297 和 88-449 的 Sereny 试验呈典型的阳性结果, 并均检测出 140Md 侵袭性大质粒, 证明该两菌株具有侵袭性的菌株。LT 和 ST 检测结果均呈阴性, 表明该两菌株无产生不耐热和耐热的肠毒素的能力。

### 参 考 文 献

1. Silva R M et al.: *J. clin. Microbiol.*, 11 (5):441—444, 1980.
2. 郑国樾等: 中华医学检验杂志, 10(1): 51, 1987.
3. 爱德华等: 《肠杆菌科的鉴定》(郝士海等译), 卫生部药品生物制品检定所, 1978.
4. Kado C I et al.: *J. Bact.*, 145(3):1365—1373, 1981.

# 用生物素标记结核菌单克隆抗体检测脑脊液 结核菌抗原的研究

胡忠义\* 陆东明 赵淑兰

(青海医学院微生物学教研室, 西宁)

**摘要** 应用生物素标记结核菌单克隆抗体酶联免疫吸附试验 (BA-ELISA) 检测脑脊液结核菌抗原,并在同一滴定板上与常规 ELISA 比较。结果表明在 85.4% 的脑脊液中, BA-ELISA 较常规 ELISA 敏感,抗原滴度为后者的 2.5 倍。本法阳性率为 88.5%, 明显高于常规 ELISA 法 ( $P < 0.05$ ), 而其非特异性却无明显增加,提示本法为结核性脑膜炎的免疫学诊断提供了一种比常规 ELISA 更为敏感的新方法

**关键词** 生物素-亲和素系统;单克隆抗体;结核性脑膜炎;脑脊液

生物素-亲和素系统应用于固相免疫酶技术,是近年来发展起来的一种新型检测技术,灵敏度高,特异性强,使用方便,已在许多领域内广泛研究和应用<sup>[1-3]</sup>。为探讨其对结核性脑膜炎(简称结脑)的诊断价值,本研究用生物素标记结核菌单克隆抗体酶联免疫吸附试验 (BA-ELISA) 检测脑脊液 (CSF) 结核菌抗原,并与常规 ELISA 进行比较。结果如下。

## 材料和方法

### (一) 待检脑脊液

1. 试验组: 38 例临床确诊的结脑患者,每例于病程不同日期各取 CSF 1—7 次,共取 157 份。结脑的诊断依据为(1)有脑膜炎的临床表现;(2) CSF 生化符合结核性改变;(3)多数病例同时伴有脑膜外结核;(4)经抗痨治疗有效。

2. 对照组: 118 份对照 CSF 分别取自 33 例其它脑膜炎(包括流行性、化脓性和病毒性脑膜炎)和 85 例非脑膜炎患者(包括脑血拴、脑出血、颅脑外伤、颅内肿瘤、三叉神经痛、癫痫、瘻病及血管神经性头痛等)。

### (二) 主要实验材料

1. 结核杆菌单克隆抗体 IgG: 结核菌单克隆抗体腹水由上海第一结核病院王荣福大夫惠赠(批号 850427)。腹水的纯化参照文献[4]方法提取 IgG 部分。此抗体用于包被微量滴定

板 ( $5\mu\text{g}/\text{ml}$ )。

2 辣根过氧化物酶标记结核菌单克隆抗体 IgG: 参照文献[5]方法,用辣根过氧化物酶 (Sigma 产品, RZ = 31) 标记上述纯化的 IgG 制备而成。经棋盘滴定,工作浓度为 1:800。

3 生物素标记结核菌单克隆抗体 IgG: 参照文献[6]方法,用酯化生物素(海军医学研究所产品)标记结核菌单克隆抗体 IgG。经棋盘滴定,工作浓度为 1:400。

4. 亲和素-生物素化酶复合物(海军医学研究所产品,批号 850715),经棋盘滴定,工作浓度为 1:300。

5. 稀释液: 含 20% 正常兔血清的磷酸盐缓冲液吐温 20,用于稀释待检 CSF 和各种试剂。

### (三) 实验方法

参照文献[7,8]方法,稍有改进。

1. 每块滴定板的 1—5 孔做 BA-ELISA 系统,6—10 孔做常规 ELISA 系统,第一排孔做对照,包括空白、阴性及阳性 CSF 对照。待检 CSF 经 1:10—1:160 稀释后,分别加入同一板上的两个检测系统中。

本文蒙杜寿昌教授指导,特此致谢。并感谢上海第一结核病院王荣福大夫惠赠结核菌单克隆抗体。

\* 现在宁夏医学院微生物学教研室工作。

2. BA-ELISA 加生物素标记结核菌单克隆抗体 IgG 时, 常规 ELISA 只加等量稀释液。

3. BA-ELISA 加亲和素-生物素化酶复合物时, 常规 ELISA 加酶标记结核菌单克隆抗体 IgG。

4. 结果判定: 以待检 CSF(S) 与阴性对照 CSF(N) 的光密度比值 (S/N)  $\geq 2.1$  为阳性, 否则为阴性<sup>[6,8]</sup>。

## 结 果

### (一) BA-ELISA 与常规 ELISA 的检测 结果比较

1. 阳性率与假阳性率: 用两种方法同时检

测结核和非结核患者 CSF 中的特异性抗原, 结果见表 1。157 份结核性 CSF, BA-ELISA 阳性 139 份, 阳性率 88.5%; 常规 ELISA 阳性 126 份, 阳性率 80.3%, 两者的阳性率有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。两法检测 33 份其它脑膜炎和 85 份非脑膜炎患者 CSF, 结果 BA-ELISA 阳性 4 份, 假阳性率 3.4% (4/118), 常规 ELISA 阳性 2 份, 假阳性率 1.7% (2/118), 两者的假阳性率无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。

2. 抗原滴度分布: 126 份两种方法均为阳性的 CSF 特异性抗原滴度分布见表 2。由表 2 可知 BA-ELISA 滴度范围在 1:10—1:160, 常规 ELISA 滴度范围在 1:10—1:80。经计算, BA-ELISA 的抗原几何平均滴度为 1:47.4,

表 1 CSF 特异性抗原的阳性率与假阳性率比较

组别	份数	BA-ELISA		常规 ELISA	
		阳性份数(%)	阴性份数(%)	阳性份数(%)	阴性份数(%)
结核	157	139(88.5)	18(11.5)	126(80.3)	31(19.7)
其它脑膜炎	33	1(3.0)	32(97.0)	0(0.0)	33(100.0)
非脑膜炎患者	85	3(3.5)	82(96.5)	2(2.4)	83(97.6)

表 2 CSF 特异性抗原滴度分布

滴度	BA-ELISA		常规 ELISA	
	例数	%	例数	%
1:10	11	8.7	41	32.5
1:20	24	19.0	58	46.0
1:40	36	28.6	24	19.9
1:80	33	26.2	3	1.6
$\geq 1:160$	22	17.5		
合计	126	100.0	126	100.0

常规 ELISA 为 1:18.8, 两者的滴度有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

3. 抗原滴度比较: 157 份结核性 CSF 两种方法的抗原滴度比较见表 3。BA-ELISA 较常规 ELISA 敏感者 134 份(85.4%), 滴度相同者 23 份(14.6%), 差异有高度显著性 ( $P < 0.05$ )。有 13 份 CSF 常规 ELISA 阴性, 而 BA-ELISA 阳性。

### (二) BA-ELISA 的特异性试验

取一份结核抗原阳性 CSF 分为 4 份, 分别

加入等体积的结核杆菌单克隆抗体 IgG、羊抗人 IgG 和稀释液, 混匀后 37°C 温育 60 分钟, 然后进行 BA-ELISA 测定。结果(图 1)显示: 用 100 $\mu$ g/ml 的结核菌单克隆抗体 IgG 与阳性 CSF 作用组出现全部抑制作用、而用 10 $\mu$ g/ml 的结核抗体组仅出现部分抑制作用; 而加入羊抗人 IgG 温育组则不出现抑制作用。

### (三) BA-ELISA 的 性试验

取 5 份结核抗原阳性 CSF, 在同一批实验中测定, 每份平行做 9 孔, 计算批内变异系