维普资讯 http://www.cqvip.com

Relationship between gall stone and serum insulin in patients with NIDDM

Wang Yujun, et al
Department of endocrinology, the second college of clinical medicine

To investigate the relationship between hyperinsulinemia and chronic complication (gall stone)in NIDDM, levels of fasting serum insulin and after 1-and 2-hour oral glucose tolerance test in 40 NIDDM patients with gall stone and 59 NIDDM patients without gall stone were determined.

It was found that the level of insulin in NIDDM with gall stone was much higher than in NIDDM without gall stone ($P<0.05$, $P<0.05$, $P<0.05$).

The results indicated that hyperinsulinemia may participate in pathogenesis of gall stone in NIDDM.

KEY WORDS Gall Stone; NIDDM; Serum insulin

373-375

儿童脑脊液中结核菌抗原抗体检测及意义

15

R725.293
R446.14

检验系临床微生物学教研室 卢贤瑜* 邓一平 陶 昆 兰景刚
儿童医院传染科 王绍映 胡修瑾

提 要 为快速诊断结核性脑膜炎(简称结脑),减少漏诊误诊,本文利用自制抗结核菌抗体,采用ELISA试验平行检测了24例结脑和29例其他疾病患儿脑脊液中结核菌抗原和抗PPD抗体IgG。结果表明:检测抗原、抗体的敏感性分别为83.3%(20/24)、91.7%(22/24);特异性分别为100%(29/29)、93.1%(27/29)。认为用ELISA法同时检测脑脊液中结核菌抗原和抗体比单检测抗原或抗体好,这样可以弥补单项检测的假阴性,减少漏诊,有助于快速诊断结脑。

关键词 结性脑膜炎; 酶联免疫吸附试验(ELISA); 抗原; 抗体 儿童 脑脊液
中图分类号 R529.9 结核性

结核性脑膜炎(简称结脑)是儿科常见传染病之一,常因诊断和治疗不及时而危及患儿生命或留下后遗症。如能早期诊断及时治疗不但可以完全康复,还可减少盲目用药对病人的不良影响。结脑的早期临床表现和脑脊液(CSF)改变往往不典型,加上盲目用药对病程的干扰,很容易造成漏诊误诊。CSF细菌培养虽确切可靠,但阳性率低且不及时。自1983年Kalish等[1]和Watt等[2]用ELISA法检测结脑病人CSF中的结核菌特异性抗原抗体以来,国内外陆续有些报道,但以检测抗体多见。本文采用ELISA法平行检测了结脑患儿和其他疾病患儿脑脊液中结核菌抗原和抗PPD抗体IgG,对两者结果进行了比较,并探讨了其临床意义。

※女,1947-06出生,副教授

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 BCG注射液1ml/支,0.75mg/ml,购于卫生部成都生物制品研究所,批号881219—10。将BCG接种于罗氏培养基上,37℃培养4周,刮下菌苔,于无菌NS中混匀,离心去杂质,配成湿重80mg/ml,超声波粉碎后免疫用。

1.1.2 人型PPD冻干制剂,购于卫生部北京生物制品药品鉴定所,批号87—213,抗原包被浓度为10μg/ml[3,4]。

1.1.3 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816,工作浓度1:1000。

1.1.4 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。

1.2 标本

24例临床已确诊结脑患儿脑脊液,临床诊断依据:(a)有

维普资讯 http://www.cqvip.com

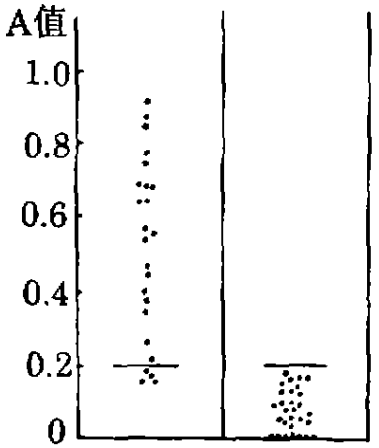


图1 CSF中结核菌抗原检测结果
A值示抗原量,A>0.20为阳性

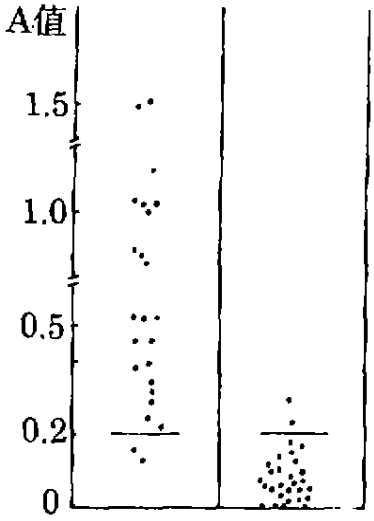


图2 CSF中抗PPD抗体(IgG)检测结果
A值示抗体量,A>0.20为阳性

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。29例其他疾病患儿脑脊液,病种有:细菌性脑膜炎、病毒性脑膜炎、颅内肿瘤、癫痫等10种脑疾患和非脑疾患的其他疾病。所有标本均采于重庆医科大学儿童医院。

1.3 方法

1.3.3 结核菌抗原的检测参考庄玉辉[5]和张清福[6]等人制结核抗体的方法,加以修改。制结核抗体:用上述方法制备的BCG抗原1ml加PPD1mg加福氏完全佐剂免疫雄性2~2.5kg家兔,在双后足掌皮下各注射1ml,第2次双腹股沟淋巴结内注射0.5ml,第3、4次同第1次量,在背部皮内多点注射,第5次同第2次,第6次用粉碎的BCG1ml加PPD0.5mg静脉缓注。每次间隔2周。末次注射后7天试血。BCG凝集效价达1:100以上,PPD(385μg/ml)双扩效价达1:8以上即放血,分离血清。经$(NH_4)_2SO_4$盐析2次,测蛋白浓度。部分抗体用过碘酸钠法标记辣根过氧化物酶,滴定酶标抗体工作浓度为1:80。抗体包被浓度为50μg/ml,每孔100μl,4℃过但,洗3次后用1%牛血清白蛋白加满孔,37℃1h,洗3次后加1:2稀释CSF100μg/ml,37°C 1.5h,洗3次,加底物OPD(邻苯二胺)100μl,37°C20′,$2MH_2SO_4$终止反应,酶标光度计上读A492nm值[A为吸光度,曾称光密度(OD)值]。所有检测数据经统计学处理后,以A>0.20为阳性结果。

1.3.2 抗PPD抗体IgG的检测[7]PPD10μg/ml包被,4°C过夜后洗3次,加1:10稀释的CSF100μl,37°C 1.5h,洗3次,加羊抗人IgG酶结合物100μl,37°C 1.5h,洗3次,加底物OPD100μl,37°C20′,$2MH_2SO_4$终止反应,酶标仪上读A492nm值。检测数据经统计学处理后以A>0.20为阳性结果。

所有试验板设阳性、阴性、酶结合物、底物对照。每份标本作复孔,以A值平均数为结果。

2 结果与讨论

表1 53份CSF中结核抗原抗体检测结果

组别	抗原检测			抗体检测		
	A值范围	阳性数※	%	A值范围	阳性数※	%
结脑组(n=24)	0.160~0.908	20	83.3	0.111~1.510	22	91.7
其他疾病组(n=29)	0~0.183	0	0	0~0.304	2	6.9

※ A>0.20为阳性

维普资讯 http://www.cqvip.com

两组标本中结核菌抗原和抗PPD抗体IgG检测结果见图1图2及表1.

CSF中结核菌抗原和抗体的检测结果经统计学处理，结脑组与其他疾病组之间有显著性差异($P<0.01$)，结脑组中检测的抗原和抗体间无显著性差异($P<0.05$)。24份结脑CSF中，抗原抗体均阳性者有18份，占75%。其余6份中有2例抗原阳性，4例抗体阳性，这6例临床上经抗结核治疗，症状明显好转，临床上仍支持结核诊断。

以上结果显示，若只检测抗原，特异性虽高(100%)，但敏感性仅有83.3%，会造成少数漏诊；若只检测抗体，敏感性高些(91.7%)，但特异性稍低(93.1%)，有6.9%的假阳性，可造成误诊。因此如果两者同时进行检测，则可对单项检测中的假阳性假阴性进行相互弥补，便可避免漏诊误诊。24例结脑CSF中无1例两项检测均为阴性者。为何结脑标本会有单一的抗原或抗体为阴性，这是由于ELISA试验检测结核抗原抗体本身就存在有5%左右的假阳性假阴性的可能。此外在感染早期已有抗原存在而抗体IgG还未足够产生也是其原因之一。对照组中有2例抗体检测为阳性，1例是5个月婴儿，临床诊断为流脑，分析其抗体有可能来自其母亲(胚胎时)，因患流脑时血脑屏障受损使血中抗体进入CSF中所致。另1例是高热惊厥患儿，脑脊液生化检验正常，其结核抗体阳性原因尚不清楚。有资料报道在非结脑CSF中可以有低滴度的结核抗体存在[6]。

虽自Kalish和Watt等[1,2]报道用ELISA检测CSF中结核菌抗原抗体快速诊断结脑以来，国内外陆续有相关报道，但以检测抗体为多，而且选用的抗原各不一样。有BCG提取物、OT、聚合OT、PPD等。作者先后用过上述几种抗原，认为PPD最为稳定可靠，并易定量，可以推广。在检测结核菌抗原中，首先要获特异性强、效价高的抗结核抗体，但这是较为困难的，作者在实验中用过多种方法免疫动物，最后认为用本文所述的方法制备的抗体效价较高，用此抗体检测抗原的敏感性较好。由于ELISA法检测结核抗原抗体均有一定假阳性假阴性，因此作者认为尽可能同时进行检测抗原抗体，对减少漏诊误诊是很有效的。此外近年来用PCR技术检测结脑CSF中结核菌抗原是较新而先进的方法之一，但该项实验的阳性率也仅为50－60%[8]，而且由于仪器和试剂的限制难以在基层医院推广。而ELISA法较为成熟稳定，方法简便，可不需特殊仪器，完全适宜在我国基层医院广泛推广。

参 考 文 献

1.Kalish SB, et al, Ann Itern Med 1983;99:63
2.Watt G, et al. J Infect Dis 1988;158:681
3.Park SC, et al. Tuberc Lung Dis 1993;74:317
4.Daniel TM, et al. Am Rev Respir Dis 1987;135:1137
5.庄玉辉，等.微生物学通报 1987;14(2):60
6.张清福、等.临床检验杂志 1987;5(4):195
7.卢贤瑜，等.重庆医科大学学报 1994;19(1):26
8.王 巍，等.中华结核和呼吸杂志 1996;19(5):303

(收稿日期 1998－03－10)

Detection and slgnificance of mycobacterial antigen and antibody in children CSF

Lu Xianyu, et al
Department of clinical microbiology

The mycobacterial antigen and IgG antibody to purified derivative(PPD) in cerebrospinal fluid of 24patients with tuberculous meningitis and 29 other patients were detected by means of Enzyme－linked immunosorbent assay(ELISA)in order to diagnose rapidly tuberculous meningitis(TBM). The sensitivity for the detection of antigen and antibody in CSF was 83.3%(20/24)and 91.7%(22/24);and the specificity,100%(29/29)and 93.1%(27/29)
Conclusion detecting simultaneously mycobacterial antigen and antibody in CSF is better than detecting only antigen or antiboby. It make up for false negative in the detection antigen alone or antibody alone and helps diagnose TBM rapidly.

KEY WORDS *Tuberculous meningitis(TBM); Enzyme－linked immunosorbent assay (ELISA); antigen; antibody*