

# 应用间接荧光抗体技术进行疟疾纵向调查

中国预防医学科学院寄生虫病研究所\* 黄文洲 罗曼珍 周铭贤  
安徽省卫生防疫站 陈辅群 宣圣珍

间接荧光抗体技术已广泛应用于疟疾流行病学调查或监测<sup>[1~5]</sup>。而纵向调查目前认为是较为理想的调查方法<sup>[6]</sup>。为了解其实用的价值，本文使用恶性疟原虫与食蟹猴疟原虫两种抗原检测疟疾抗体，对安徽省三个不同地区进行了为期两年的纵向观察，并以原虫率调查与之作平行比较。

## 材料与方法

一、荧光抗体技术：抗原系以恶性疟原虫 Fcc<sub>1</sub>株(Pf)及食蟹猴疟原虫(Pc)制成亚厚涂片，按常规方法进行间接荧光抗体试验(IFAT)，以1:20为抗体阳性滴度<sup>[1]</sup>。

二、纵向调查：调查安徽省舒城县芦镇、洪庙与来安县水口三地区。前两地毗邻，分别于1981年与1979年发生间日疟与恶性疟爆发流行，主要传疟媒介均为雷氏按蚊嗜人亚种。水口属低疟区，间日疟占大多数，恶性疟仅少量散发，传疟媒介为中华按蚊，但有雷氏按蚊嗜人亚种少量散在。1983~1984年三地区采取的防疟措施，芦镇在连续两年的7月份均以DDT 2g/m<sup>2</sup>进行室内滞留喷洒，同时采用氯伯八天疗法治疗间日疟或喹哌加伯喹四天疗法治疗恶性疟现症病人；洪庙采用休止季喹哌加伯喹四天疗法治疗全部在学儿童，并按芦镇同法治疗疟疾现症病人；水口仅采取氯伯四天疗法治疗疟疾现症病人。分别于1983年及1984年疟疾传播季开始前的6月与传播季末的10月共计连续抽样调查4次，每次对同一人群的各个同一居民与小生自耳垂取血涂制厚薄血膜1份与直径1.2cm血滴滤纸标本2份，血片经吉氏染剂

染色后镜检厚血膜中疟原虫，滤纸干血滴标本置有干燥剂袋内放入冰瓶带回实验室放冰箱中保存，在50天内检查完毕。

## 结果与讨论

一、疟原虫率、抗体阳性率与抗体滴度：三地区连续4次纵向调查结果见表1。

1. 采取连续两年喷洒与对现症病人治疗的芦镇，当地主要传疟媒介雷氏按蚊嗜人亚种在措施前占人房捕蚊总数的68.2%，喷洒后未再捕到<sup>[7]</sup>。人群疟原虫率两年内下降87.5%，其中间日疟原虫率从措施前的51.1%，降至7.2%；恶性疟原虫率从8.9%降至0。Pc与Pf抗原检测的疟疾抗体阳性率，两年内分别下降70.9%与54.1%，GMRT都相应地明显下降。

2. 采取全体在学儿童休止季治疗与现症病人治疗措施的洪庙，同期总疟原虫率与间日疟原虫率措施前后均下降57.1%，恶性疟原虫在措施前一次血检中未查获，但其后2次调查检出恶性疟原虫3.9%与1.9%，Pc抗原检出的疟疾抗体阳性率两年内下降42.0%，但Pf抗原检测的血清抗体阳性率一直保持较高的水平，表示间日疟受到一定程度的控制，但恶性疟两年内无明显改变，这与血检结果相似。

3. 单纯采用现症病人治疗措施的水口，疟原虫率在第1年流行季节后有所降低，但第2年又重新升高，并查获恶性疟。两种抗原检测的抗体阳性率与GMRT同疟原虫的变动相一致，提示当地疟疾的流行未得到有效控制，其中恶性疟始终散在流行。

\* 世界卫生组织疟疾、血吸虫病及丝虫病合作中心

表 1 三地区疟疾纵向调查结果

地 点	调查 年月	调查 人数	疟 原 虫				IFA			
			阳性 (%)	虫种与人数			Pc抗原		Pf抗原	
				间日	恶性	混合	抗体阳性 %*	阳性 GMRT	抗体阳性 %*	阳性 GMRT
芦 镇	1983.6	237	57.4	115	15	6	89.9	77.1	71.7	91.9
	10		8.0	16	2	1	58.2	32.4	54.4	78.6
	1984.6		16.5	35	3	1	35.9	34.7	48.1	39.8
	10		7.2	17	0	0	26.2	24.1	32.9	31.9
洪 庙	1983.6	103	34.0	35	0	0	90.3	77.1	39.8	38.5
	10		17.5	14	4	0	56.3	30.3	51.5	26.2
	1984.6		20.4	19	2	0	57.3	29.4	52.4	21.8
	10		14.6	15	0	0	52.4	21.3	48.5	22.0
水 口	1983.6	48	12.5	6	0	0	56.3	29.3	10.4	26.3
	10		8.3	4	0	0	37.5	24.2	2.1	20.0
	1984.6		8.3	3	0	1	43.8	20.6	2.1	20.0
	10		10.4	5	0	0	50.0	20.5	4.2	20.0

\* ≥1:20

4. 各年龄组各次抗体阳性率的变动趋势都与该地各次总抗体阳性率的变动大致相同。措施后各年龄组抗体阳性率的变动为低年龄组较高年龄组明显。以芦镇为例,19岁以下比20岁以上下降更为显著。表明疟疾抗体的纵向观察,亦应侧重于低年龄人群。

二、接种率与恢复率: 根据上述调查资料,参照Bekessy和 Vercruysse<sup>[8,9]</sup>的方法:

$$\hat{h} = \frac{\alpha}{t(\alpha + \beta)} \ln \frac{1}{1 - (\alpha + \beta)}$$

$$\hat{r} = \frac{\beta}{t(\alpha + \beta)} \ln \frac{1}{1 - (\alpha + \beta)}$$

$\alpha$  = 本次调查阴转阳人数 / 上次调查阴性总人数,  $\beta$  = 本次调查阳转阴人数 / 上次调查阳性总人数,  $t$  为两次调查间隔的天数。分别计算1983年与1984年每年6~10月间疟疾传染季节的寄生虫学接种率即疟原虫血症发生率( $\hat{h}_p$ )与恢复率( $\hat{r}_p$ ), 并以此公式计算Pc抗原与Pf抗原检测的疟疾抗体阳性发生率( $\hat{h}_c$ 与 $\hat{h}_f$ )及恢复率( $\hat{r}_c$ 与 $\hat{r}_f$ ), 结果列于表2、3、4。从表可见, 三个不同地区计算的寄生虫学接种率的高低分别与该地当年疟疾传播的程度相平行, Pc

与Pf抗原检测的疟疾抗体阳性发生率又与该地间日疟与恶性疟传播强度相一致(表2、3、4)。

在三个地区中, 水口的 $\hat{h}_p$ 最低, 1983年仅为0.0007, 这与该地属低疟区, 疟疾传播程度较低吻合。芦镇与洪庙均为近年发生疟疾爆发流行地区, 两地的 $\hat{h}_p$ 均较水口高, 但前者采取喷洒措施后 $\hat{h}_p$ 均明显地低于后者, 显示寄生虫学接种率所代表的疟疾传播水平是反映实际传播程度的一项指标。以两种抗原检测计算的 $\hat{h}_c$ 与 $\hat{h}_f$ , 洪庙最高, 芦镇次之, 水口最低, 同各地的 $\hat{h}_p$ 数值大小相应。三地区的 $\hat{h}_c$ 都明显大于 $\hat{h}_f$ , 这与三个地区均是间日疟流行为主恶性疟为辅相一致。 $\hat{h}_c$ 与 $\hat{h}_f$ 的大小与该地当年两种疟疾的数量及其变动程度表现出密切的关系。表明Bekessy等原用于计算恶性疟的寄生虫学接种率与恢复率的公式, 亦可试用于疟疾血清流行病学计算恶性疟与间日疟的抗体阳性发生率与恢复率, 用以阐明疟疾的流行和传播。

表 2

疟原虫血症发生率与恢复率

调查 年月	调查 地点	调查 人数	疟原虫血症变动		原虫血症发生率 $\hat{h}_p \pm Sh_p$	原虫血症恢复率 $\hat{r}_p \pm S_{r_p}$
			阴转阳比例 $\alpha$	阳转阴比例 $\beta$		
1983. 6~10	芦镇	237	0.069	0.912	0.0023 ± 0.0017	0.0307 ± 0.0138
	洪庙	103	0.162	0.800	0.0046 ± 0.0034	0.0226 ± 0.0144
	水口	48	0.048	0.667	0.0007 ± 0.0005	0.0097 ± 0.0054
1984. 6~10	芦镇	237	0.066	0.897	0.0019 ± 0.0010	0.0256 ± 0.0108
	洪庙	103	0.159	0.810	0.0047 ± 0.0042	0.0240 ± 0.0208
	水口	48	0.068	0.500	0.0008 ± 0.0005	0.0062 ± 0.0046

表 3

Pc抗原检测的疟疾抗体阳性发生率与恢复率

调查 年月	调查 地点	调查 人数	疟疾抗体变动		抗体阳性发生率 $\hat{h}_c \pm Sh_c$	抗体阳性恢复率 $\hat{r}_c \pm S_{r_c}$
			阴转阳比例 $\alpha$	阳转阴比例 $\beta$		
1983. 6~10	芦镇	237	0.125	0.362	0.0014 ± 0.0009	0.0041 ± 0.0005
	洪庙	103	0.364	0.163	0.0043 ± 0.0023	0.0019 ± 0.0006
	水口	48	0.100	0.429	0.0012 ± 0.0009	0.0051 ± 0.0015
1984. 6~10	芦镇	237	0.099	0.306	0.0011 ± 0.0003	0.0033 ± 0.0007
	洪庙	103	0.296	0.271	0.0036 ± 0.0011	0.0033 ± 0.0009
	水口	48	0.192	0.091	0.0019 ± 0.0009	0.0009 ± 0.0006

表 4

Pf抗原检测的疟疾抗体阳性发生率与恢复率

调查 年月	调查 地点	调查 人数	疟疾抗体变动		抗体阳性发生率 $\hat{h}_f \pm Sh_f$	抗体阳性恢复率 $\hat{r}_f \pm S_{r_f}$
			阴转阳比例 $\alpha$	阳转阴比例 $\beta$		
1983. 6~10	芦镇	237	0.063	0.217	0.0006 ± 0.0003	0.0021 ± 0.0004
	洪庙	103	0.237	0.159	0.0025 ± 0.0007	0.0017 ± 0.0007
	水口	48	0.024	0.667	0.0003 ± 0.0003	0.0094 ± 0.0051
1984. 6~10	芦镇	237	0.024	0.368	0.0003 ± 0.0002	0.0039 ± 0.0006
	洪庙	103	0.204	0.278	0.0023 ± 0.0008	0.0031 ± 0.0009
	水口	48	0.021	—	0.0002 ± 0.0002	—

摘 要

应用恶性疟原虫与食蟹猴疟原虫两种抗原作间接荧光抗体试验, 1983~1984年间对安徽省三个采取不同抗疟措施的间日疟与恶性疟混合流行区进行了两年的纵向调查, 血清学结果与疟原虫率调查结果在反映疟疾不同的流行水平上显示平行的关系。三个地区每年疟疾传播季节的寄生虫学接种率(疟原虫血症发生率)与恢复率, 食蟹猴疟原虫与恶性疟原虫抗原检测的疟疾抗体阳性发生率与恢复率, 其数值大小与变动分别与该地间日疟与恶性疟的传播强度及采取的抗疟措施相关。

Indirect Fluorescent Antibody Test (IFAT) *Huang Wenzhou, et al. Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Preventive Medicine; WHO Collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Shanghai*

A 2-year longitudinal survey of malaria was carried out with *P. falciparum* and *p. cynomolgi* antigens in IFAT in three mixed endemic areas of *vivax* and *falciparum* malaria of Anhui Province where the different antimalarial measures were adopted respectively during 1983~1984. The results of the serological survey with two antigens in IFAT are parallelly related to the parasite rates on reflecting the different endemicity of malaria. The

parasitological inoculation rate (the incidence of parasitemia) and its recovery rate, incidences of positive malaria antibody and their recovery rates detected by *P. cynomolgi* and *P. falciparum* antigens of annual malaria transmission season were associated with the transmission intensity of *vivax* and *falciparum* malaria and with the measures of antimalarial treatment.

### 参 考 文 献

1. 黄文洲, 等. 间接荧光抗体试验使用两种不同疟原虫抗原进行疟疾单次横向调查. 寄生虫学与寄生虫病杂志 1985, 3: 181.
2. Ambroise-Thomas P, et al. Longitudinal sero-epidemiological studies on malaria in Tunisia. WHO/MAL/74.834.
3. Lobel HO. Indications for and usefulness of serological technique in epidemiological and assessment. WHO/MAL/81.967.
4. Collins WE, et al. Seroepidemiological studies of

malaria in Central and South America. WHO/MAL/81.968.

5. Jacobs BB, et al. Seroepidemiology of malaria in Northern Thailand. Southeast Asian J Trop Med Pub Health 1983; 14: 235.
6. Molineaux L. Essential parameters in seroepidemiological assessment epidemiological analysis of serological data. WHO/MAL/81.969.
7. 吴振友, 等. DDT滞留喷洒防制雷氏按蚊嗜人亚种控制恶性疟的实验研究. 寄生虫学与寄生虫病杂志 1984; 2: 220.
8. Bekessy A, et al. Estimation of incidence and recovery rates of *Plasmodium falciparum* parasitemia from longitudinal data. Bull WHO 1976; 54: 685.
9. Vercauteren J, et al. Epidemiology of seasonal *falciparum* malaria in an urban area of Senegal. Bull WHO 1983; 61: 821.

(本研究得到联合国开发计划署/世界银行/世界卫生组织热带病培训特别规划的部分支持。本文蒙任道性教授关怀指导, 安徽省舒城县、来安县卫生防疫站大力协助, 谨致感谢)

## 对流免疫电泳技术鉴定蚊虫胃血血源的实验研究

贵州省寄生虫病研究所 王世海 陈光华 指导者 郑惠君

1983年我们用对流免疫电泳法(电泳法)进行蚊胃血血源的鉴定, 并与醋酸纤维膜扩散法(醋纤法)比较。

### 一、材料与方 法:

1. 按常规方法(见《实验免疫学技术》, 科学出版社, 1979年)制备兔抗人、牛、猪血清。效价达1:32以上放血。

·未知抗原: 将采自贵州省从江县人、牛房的408只吸血蚊(其中人房216只, 牛房192只)经蚊种鉴定后制成胃血滤纸标本置4°C冰箱干燥保存。试验前剪碎胃血滤纸, 按编号依次放入血凝板孔内, 每孔加pH7.2 PBS缓冲液0.2~0.4ml, 浸泡过夜。抗原稀释为1:200~1:400。

3. 用猪血滤纸标本作为已知抗原。

二、结果: 408份蚊胃血滤纸标本保存6个月后, 用电泳法和醋纤法同时进行试验, 前者阳性率为99.51%(406/408), 后者阳性率96.06%(392/408), 两者阳性检出率差异非常显著( $P < 0.01$ )。在醋纤法未检出的16份标本中, 有2份电泳法亦未检出, 可能是蚊胃血在捕获前已基本消化殆尽; 余14份标本电泳法试验全部阳性。结果显示电泳法敏感性明显高于醋纤法。此外, 我们又对捕自人房的216份蚊胃血标本用兔抗人血清单独试验, 结果电泳法阴性率为3.7%(8/216), 醋纤法为9.7%(21/216), 表明电泳法特异性高于醋纤法( $P < 0.05$ )。

在56份猪血滤纸标本(已知抗原)试验中, 用PBS缓冲液浸泡后分别稀释成1:200、1:400、1:800, 抗血清以1:2、1:4、1:8、1:16、1:32的稀释度用二种方法分别与各稀释度的血清试验, 结果电泳法检出全部标本的最高抗原与抗血清稀释度分别为1:400和1:8。抗原稀释度为1:200时, 全部标本检出的最高抗血清稀释度为1:16。当抗原稀释度为1:800时, 抗血清不稀释可检出19份抗原标本, 检出率33.93%。稀释度提高则为阴性。醋纤法检出全部标本的最高抗原稀释度为1:200, 抗血清1:4。抗原稀释成1:400时, 抗血清不稀释仅可检出22份抗原标本, 检出率39.2%。抗原再稀释成1:800时, 则全部标本呈阴性。两种方法检出全部标本的抗原, 抗血清浓度相差2~3个倍比稀释度, 故前者的敏感性较后者高约8~16倍左右。试验结果显示, 抗原标本的检出率与抗原抗血清的稀释度密切相关, 即当抗血清稀释度不变, 抗原稀释度增加, 检出率下降, 反之亦然。二种方法检出的宿主血源一致, 未出现交叉反应。

试验结果证明电泳法的敏感性及特异性明显高于醋纤法。且电泳法操作简易, 不需特殊设备, 各期蚊胃血均可试验, 结果准确, 加样时不易造成标本间相互污染, 判断结果快, 反应的标本经染色处理可长期保存, 适用于大量标本的试验, 故易于在基层推广应用。