

## 酶联免疫吸附试验在检测流脑病人血清抗体中的应用

湖南省常德地区卫生防疫站 唐蕊妍 杨德秀 张丽蓉

检测流脑病人血清抗体通常采用间接血凝试验, 但该方法敏感性较低。为选择一种敏感、快速的血清学诊断方法, 我们对酶联免疫吸附试验(ELISA)、间接血凝试验(IHA)、杀菌力试验进行了现场考核, 于1986年3~4月采集了慈利县、汉寿县的29例流脑病人血清标本进行检测。结果表明ELISA方法敏感、简便, 可用于流脑的诊断和免疫水平的调查。

### 一、ELISA

1. 包被抗原: 将冻干流脑多糖菌苗(提纯A群流脑多糖抗原), 用兰州生物制品研究所生产的A群诊断血清行方阵滴定, 确定包被之抗原浓度为 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ 。用pH9.6碳酸盐缓冲液稀释抗原, 加入聚苯乙烯微量反应板。第1~10孔每孔加0.1ml, 置 $4^{\circ}\text{C}$ 过夜。次日取出, 甩去抗原。用pH7.4PBS-T<sub>20</sub>洗涤三次, 每次5分钟。

2. 待检血清稀释: 每孔加含1%小牛血清的pH7.4PBS-T<sub>20</sub>稀释液0.05ml, 第1孔加待检血清0.05ml系列倍比稀释至第9孔, 第10孔为抗原对照, 置 $37^{\circ}\text{C}$ 2小时。甩去血清稀释液, 同上述洗涤。

3. 加结合物: 将辣根过氧化物酶标记的羊抗人IgG作1:10000稀释, 每孔0.1ml, 置 $37^{\circ}\text{C}$ 2小时。同上述洗涤。

4. 加新配制之底物(邻苯二胺), 每孔0.1ml, 置 $37^{\circ}\text{C}$ 30分钟。每孔加2M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>0.025ml终止反应。

5. 结果判定: 肉眼观察, 以出现棕黄色或黄色判为阳性, 以“+”号表示; 无色或微黄色为阴性或可疑。以血清最高稀释度出现黄色为终点滴度。每次试验设阴性和阳性血清对照。

二、IHA: 用流脑A群致敏血球作抗原, 按常规操作进行。

三、微量杀菌力试验: 用辽宁省卫生防疫站赠送的A群菌株1792作抗原, 按全国流脑协作会议统一方法进行。

四、结果: 29例流脑病人血清抗体ELISA①、IHA②、杀菌力试验③检测结果, GMT分别为116.3322、43.6616和211.4463。经显著性检验: ①② $t=3.3724$ ,  $P<0.01$ ; ②③ $t=4.1775$ ,  $P<0.01$ ; ①③ $t=1.8443$ ,  $P>0.05$ , 表明ELISA比IHA敏感, 与杀菌力试验相比, 其间无显著性差别。但因后者筛选不含非特异性杀菌物质的补体较困难, 且乳兔血清量少来源不易, 难以用于诊断实践。

(本文承湖南省卫生防疫站[袁约伯]主任技师审阅)

## 中华流行病学杂志

ZHONGHUA LIUXING BINGXUE  
ZAZHI

Chinese Journal of Epidemiology  
(双月刊)

1981年8月创刊

每逢双月10日出版

中华流行病学杂志编辑委员会编辑·中国预防医学科学院流研所出版 北京昌平流字5号, 北京市邮政局总发行 全国各地邮电局订阅 国外总发行: 中国国际图书贸易总公司(中国国际书店 北京2820信箱) 河北省香河县印刷厂印刷 北京市期刊登记证第479号

CHINESE JOURNAL OF EPIDEMIOLOGY is published bi-monthly by the Institute of Epidemiology and Microbiology, Chinese Academy of Preventive Medicine, P.O.Box 5 Changping Beijing  
Subscriptions: Domestic: Local Post Offices, Foreign: China International Book Trading Corporation, P.O.Box 2820, Beijing, THE PEOPLE'S REPUBLIC OF CHINA