

北京、山西长治及湖北宜昌等地区人群中 CMV和EBV抗体的研究

军事医学科学院微生物流行病学研究所 刘玉堂 鲁晏希 朱 曼 蒋豫图

摘要 本文用ELISA法检测北京郊区(785份)、山西长治郊区(309份)和湖北宜昌(264份)等地区不同年龄组健康人群血标本1 358份,抗-CMV IgG抗体阳性率和GMT分别为88.8%, 1:1661.4; 89.4%, 1:749.9; 98.4%, 1:1448.2。而抗-EBV IgG抗体阳性率与GMT分别为98.1%, 1:258.8; 94.3%, 1:99.2; 100%, 1:539.4; 显然城市抗体阳性率明显高于郊区。

关键词 巨细胞病毒 爱泼斯坦-巴尔病毒 酶联免疫吸附试验

巨细胞病毒(Cytomegaloviruses, 简称CMV)和爱泼斯坦-巴尔病毒(Epstein-Barr Virus, 简称EBV)均系疱疹病毒属,也是人类常见的寄生病毒,一般常呈潜伏性感染。

CMV可对胎儿、免疫缺陷者和接受免疫抑制剂治疗的病人引起全身性感染,故CMV已列入胎儿宫内感染的重要病因之一^[1]。EBV可引起白细胞异嗜性感染的单核细胞增多症,已从癌细胞和正常人体分离出EBV^[2]。

1973年和1981年世界卫生组织用补集法调查CMV抗体,证实世界许多地区都有CMV感染。国际癌症中心检测不同人群中EBV抗体,阳性者($\geq 1:10$)90.4%。为了解健康人群中这两种病毒抗体的水平,本文用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测北京郊区、长治郊区和宜昌市等地区不同年龄组健康人群中特异抗体,现报告如下:

材料与方 法

一、材料:

1.病毒株:CMV AD-169株和EBV(为类淋巴母细胞B95-8)株由中国医学科学院病毒学研究所和肿瘤研究所赠给。

2.人胚肺纤维细胞株:为本组自建传代细胞,用于病毒感染^[3]。

3.抗原制备:(1)CMV抗原用AD-169株感染单层人胚肺细胞,当病变为“+++”时取上清冻融三次,经3 000rpm离心10'后取上清作抗原,浓度为1:20;而细胞沉渣用pH7.4 PBS冲洗后集中并加入适量的pH9.0甘氨酸缓冲液,置-25℃冻融三次,末次4℃过夜,再经10 000rpm离心60'后取上清作抗原,浓度为1:200;(2)EBV抗原的制法同上;(3)正常抗原为将未感染的人胚肺成纤维细胞同法制备,浓度为1:50。

4.羊抗人IgG和IgM酶标抗体:抗体由本所免疫室提供,用辣根过氧化物酶以过碘酸钠法标记,经ELISA滴定,浓度分别为1:3 200和1:800。

5.包被板:天津有机玻璃制品厂生产,40孔平底板。

6.血标本的采集:1981~1986年分别从北京郊区(418份)、山西长治郊区(158份)和湖北宜昌市(142份)采集健康人群血标本718份;又从河北保定(急性期肝炎病人血136份)、长治(SGPT增高者双份血清211份)等地区采集的异常人群血标本558份,共计血标本1 276份,置-25℃保存。

二、方法:

1.包被抗原:将EBV、CMV和正常抗原

分别用pH9.0碳酸盐缓冲液以1:20, 1:200和1:500稀释,按0.2ml/孔加入置4℃过夜,次日用pH7.4PBS冲洗三次,甩干备用。

2.加待检血清:血清用pH7.4PBS连续4倍稀释加入,各稀释度以0.1ml/孔加2孔,37℃60'后冲洗三次甩干。

3.加酶标抗体:标记抗体以1:3200和1:800稀释,按0.1ml/孔加入,置37℃60'后冲洗三次甩干。

4.加底物:加邻苯二胺底物0.1ml/孔,置室温30'后加2M H₂SO₄终止反应。

5.结果判定:用DG-3021 II型酶联仪在490nm波长测OD值,以标本OD值/阴性标本OD值(P/N)≥2.1倍为阳性;抗体滴度CMV≥1:50为阳性;EBV≥1:10为阳性。

结 果

一、ELISA法检测抗体的特异性和重复性:

1.用ELISA法检测抗-CMV IgG抗体:将

CMV抗原、正常抗原和阳性与阴性血清进行方阵滴定。CMV抗原的OD值一般比正常抗原OD值高10倍。同时将77份标本重复三次,符合率为91.8%,说明此方法特异性和重复性尚佳。

2.用ELISA法测定抗-EBV IgG抗体:将ELISA法检测抗体滴度高的2份血清作阻断试验^[4],阻断率均在50%以上。同时将ELISA检测的10份标本重复三次,其结果完全相同,说明ELISA法检测抗-EBV IgG抗体的特异性和重复性较好。

二、用ELISA法检测三个地区健康人群中抗-CMV IgG抗体(表1):从表1可见10~14岁年龄组的抗体滴度较高。抗-CMV IgG抗体标化阳性率和GMT分别为92.26%,89.23%,98.25%,和1:1661.6,1:749.9,1:1448.2。宜昌高于北京和长治,但宜昌与长治之间相对数标化率显著性测验 $u=3.25 > 2.58, P < 0.01$,而宜昌与北京 $u=1.88$,邻近1.96, $P > 0.05$,北京与长治无差异。

表1

ELISA检测健康人群中CMV IgG抗体

年龄组	北 京				长 治				宜 昌			
	总数	阳性数	GMT	%	总数	阳性数	GMT	%	总数	阳性数	GMT	%
0~	59	45	1413.2	76.3	—	—	—	—	10	9	303.0	90.0
5~	81	67	813.8	82.7	25	20	716.0	80.0	13	12	799.9	92.3
10~	89	82	1026.4	92.1	23	23	1295.6	100.0	16	16	1345.4	100.0
15~	30	28	1269.9	93.3	19	18	516.3	94.7	25	25	1942.7	100.0
20~	27	24	558.4	88.9	13	12	469.3	92.3	10	10	1055.6	100.0
25~	13	13	3200.0	100.0	15	13	962.3	86.7	12	12	897.9	100.0
30~	17	16	153.6	94.1	22	19	705.4	86.6	23	23	2514.4	100.0
40~	17	17	3471.8	100.0	22	19	621.7	86.4	7	7	975.2	100.0
50~	34	34	2718.4	100.0	12	11	712.7	91.7	6	6	3200.0	100.0
合计	367	326	1661.4	88.8	151	135	749.9	89.4	122	120	1448.2	98.4

注^[10]: 1.标化人口数为三个地区各年龄组(除0~4)人数的合计数

2.检验方法: 相对标化率的显著性测验用间接法

3.判断值: $P < 0.05$ $u=1.96$, $P < 0.01$ $u=2.58$

三、用ELISA检测三个地区健康人群中抗-EBV IgG抗体:从表2可见抗-EBV IgG抗体标化阳性率和GMT分别为97.48%,95.90%,

100%; 1:258.8, 1:99.2, 1:539.4, 宜昌与长治相对数标化率的显著性测验, $u=0.45$ $P > 0.05$,表明宜昌对北京,北京对长治没有

差异,但宜昌略高于北京和长治。

四、用ELISA法检测长治郊区SGPT正常

表2 ELISA检测健康人群中EBV IgG抗体

年龄组	北 京				长 治				宜 昌			
	总数	阳性数	GMT	%	总数	阳性数	GMT	%	总数	阳性数	GMT	%
0~	59	57	377.2	96.6	—	—	—	—	19	19	165.9	100.0
5~	141	138	160.0	97.9	23	23	891.5	100.0	15	15	335.1	100.0
10~	158	157	341.7	99.4	21	21	445.1	100.0	22	22	160.0	100.0
15~	16	16	246.7	100.0	11	11	233.5	100.0	25	25	1244.0	100.0
20~	24	22	106.7	91.7	14	14	72.5	100.0	11	11	1363.3	100.0
25~	5	5	844.4	100.0	15	13	25.2	86.7	12	12	1015.9	100.0
30~	7	7	289.8	100.0	35	34	241.7	97.1	23	23	266.8	100.0
40~	—	—	—	—	27	23	34.1	85.2	8	8	987.0	100.0
50~	8	8	2152.6	100.0	12	10	17.8	83.3	7	7	1050.0	100.0
合计	418	410	258.8	98.1	158	149	99.2	94.3	142	142	539.4	100.0

注:标化人口数为三个地区各年龄组(除0~4,40~49)人数的合计数

人群和异常人群及保定急性期肝炎病人血中抗体:

1.用ELISA法检测SGPT正常与异常人群中抗体(双份血距一年):从表3可见SGPT正常人群中抗体4倍以上增高者CMV为24人,占25.8%;EBV10人,占10.8%;CMV和EBV5人,占5.4%,说明93人中有39人近期感染CMV和EBV,感染率为41.9%。从表4可

表3 SGPT正常人群中抗体测定

年龄组	总 数	抗体4倍增高人数(%)		
		CMV	EBV	CMV和EBV
15~19	12	4(33.3)	—	—
20~24	80	20(25.0)	9(11.3)	5(6.3)
25~29	1	—	1(100.0)	—
合计	93	24(25.8)	10(10.8)	5(5.4)

见SGPT异常人群中抗体4倍增高者CMV为38人,占18.0%;EBV为26人,占12.3%;CMV和EBV为21人,占10.0%,说明211人中有85人近期感染CMV和EBV,感染率为40.3%,表明SGPT正常和异常人感染率无差异。

2.用ELISA法检测急性期肝炎病人血中IgM抗体:用此法检测136份病人血中抗-CMV

表4 SGPT异常人群抗体测定

年龄组	总 数	抗体4倍增高人数(%)		
		CMV	EBV	CMV和EBV
15~19	66	10(15.2)	6(9.1)	5(7.6)
20~24	104	19(18.3)	13(12.5)	11(10.6)
25~29	12	2(16.7)	3(25.0)	1(8.3)
30~39	25	5(20.0)	4(16.0)	4(16.0)
50~	4	2(50.0)	—	—
合计	211	38(18.0)	26(12.3)	21(10.0)

IgM抗体,GMT为1:1312.7;抗-EBV IgM抗体GMT为1:412.3,可见抗-CMV IgM抗体滴度明显高于抗-EBV IgM抗体滴度。

讨 论

关于ELISA法检测健康和异常人群中的抗-CMV和EBV抗体的资料国内报道尚少。国内闻玉梅等^[5]报道用ELISA法检测抗-CMV IgG抗体正常人为84%,脐血为97.36%,孕妇为99.45%;韩世杰等^[6]用同法检测正常人为92.81%;曾毅等^[2]用CF法检测抗-EBV IgG抗体正常人为90.4%。而国外报道用ELISA法检测抗-EBV IgG抗体,巴巴多斯为95%,美国为93%,印尼为88%,菲律宾为82%,夏威

夷为60%，法兰西为50%。

本文用ELISA法检测不同年龄组健康人群中抗-CMV IgG和抗-EBV IgG抗体，宜昌市分别为98.4%和100%；长治为89.4%和94.3%；北京为88.8%和98.1%，显然城市高于郊区。本文还检测了SGPT正常和异常人群中的双份血中抗体，证实一年后的感染率分别为41.9%和40.3%，由此说明检测单份血清诊断近期感染的意义不大，只有双份血清同时检测，抗体在4倍以上增高方可确诊为近期感染。另外由于感染这两种病毒后多为亚临床或虽有症状但易与其它疾病相混而误诊，因而采集急性期血的时间很难控制，检测急性期IgM抗体为诊断标准的依据值得研究。

目前国内不同方法检测健康人群中抗体的标准尚未统一。据国外Janos和Lars等〔7, 8〕报道用ELISA检测抗-EBV IgG抗体<1:10为健康阴性者；1:80~1:640为健康阳性者；1:20~1:640为单核细胞增多症；1:160~1:5120为鼻咽癌病人；1:160~1:640为其它癌症。国内韩世杰用ELISA法测抗-CMV IgG抗体≥1:40为阳性；CF≥1:8为阳性；广东中山县肿瘤防治队等〔9〕用CF测定EBV抗体≥1:10为90.4%，≥1:320为12.3%，20岁以上正常人血中抗体的GMT在鼻咽癌高发区明显高于低发区。本文用ELISA法检测不同年龄组健康人血清1358份，抗-CMV IgG 1:50者59份，1:200~1:640者463份，1:1280~1:2560者118份；抗-EBV IgG<1:10者17份，1:10~1:640者522份，1:1280~1:2560者179份；试验中部分人员抗体滴度偏高是否与癌症有关，我国正常人群的正常值是否与国外相同有待进一步探索。

本文的结果证明CMV和EBV的感染在我国相当普遍，各地因社会经济状况、生活方式不同，因而感染率也不相同。一般认为CMV是先天性病毒感染最常见的病原，脐血中抗-CMV IgG抗体反映了母体的抗体水平，而抗-CMV IgM抗体反映宫内感染，然而从优生学

的角度来看早期的诊断更为重要，我国成人中感染率如此之高，特别是孕妇应引起重视。为了预防该病毒对胎儿的侵害，应该加强这项工作的研究。

A Serological Study on Anti-CMV and Anti-EBV Antibodies in population of Beijing, Changzhi Shanxi and Yichang Hubei
Liu Yutang, et al., Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing, China

1358 serum samples of healthy persons in Beijing (785) Changzhi, Shanxi (309) and Yichang, Hubei (264) of different age groups were detected for anti-Cytomegalovirus (CMV) IgG and anti-Epstein-Barr virus (EBV) IgG antibodies by using ELISA. The positive rates and GMT of anti-CMV IgG antibody in each group were 88.8%, GMT 1:1661.6; 89.4%, GMT 1:749.9; 98.4%, GMT 1:1448.2 respectively. The positive rates and GMT of anti-EBV IgG antibody in each group were 98.1%, GMT 1:258.8; 94.3%, GMT 1:99.2; 100%, GMT 1:539.4 respectively. The data showed that there were significant differences in the positive rates between the urban and rural areas.

Key words Cytomegalovirus Epstein-Barr virus Enzymelinked immunosorbent assay

参 考 文 献

- 1.汪慧民,等.武汉地区不同年龄组巨细胞病毒抗体的研究.中华医学杂志 1982; 62(4):247.
- 2.曾毅,等.EBV及其与鼻咽癌关系研究的进展.医学参考资料 1979; 5:217.
- 3.上海市卫生防疫站.卫生防疫检验“病毒检验”.第1版.上海人民出版社,1977:35~37.
- 4.李秉权,等.微量酶联免疫吸附试验检测白喉毒素抗体的初步应用.中华流行病学杂志 1985; 6:47.
- 5.闻玉梅,等.酶免疫检测巨细胞病毒抗体.中华传染病杂志 1984; 2(3):193.
- 6.韩世杰,等.海岛居民中巨细胞病毒抗体检测.山东医学院学报 1985; 23(1):42.
- 7.Janos L, et al. A Sensitive Enzyme-Linked Im-

munosorbent Assay against the Major EBV-Associated Antigens. *Jouinol of Immunological Methods* 1984; 67: 145.

8. Lars S, et al. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Epstein-Barr virus-Induced Antigens and Antibodies. *Jouinol of Im-*

munological Methods 1983; 63: 171.

9. 广东中山县肿瘤防治队, 等. 广东和北京正常人群血清中EBV CF抗体水平的调查研究. *中华耳鼻咽喉杂志* 1978~1979; 13~14: 23.

10. 上海第一医学院卫生统计教研室. 相对数分析. *医学统计方法*. 第1版. 上海科学出版社, 1979: 108~120.

SP-RPHA 检测pHSARe的研究

同济医科大学协和医院 倪若愚 王小平¹ 晏斌²

聚合人血清白蛋白受体 (pHSARe) 是HBV前S基因产物。一般认为, 含有pHSARe的HBsAg仅在HBV复制期出现。临床检测pHSARe对HBV感染状态、预后及治疗效果判断均有一定意义。作者参考国外文献, 建立了一种新的检测pHSARe的方法——固相反向间接血凝试验 (SP-RPHA)。此法用聚合人血清白蛋白 (pHSA) 包被96孔U型PVC微量软板, 加入待检血清, 洗涤后加入抗HBsAg McAb致敏的醛化血球。出现凝集者为pHSARe阳性, 血球沉积于孔底者为阴性。作者检测乙型病毒性肝炎病人血清127份, pHSARe阳性率为36%, 其中HBsAg阳性者pHSARe阳性率为55%, HBeAg阳性者为78%, HBV DNA阳性者为89%, 抗-HBc阳性

者为53%, 抗-HBs阳性者为0%。结果表明, pHSARe与HBV DNA和HBeAg关系密切。pHSARe阳性与否, 与HBsAg滴度高低亦有明显关系, pHSARe阳性者其HBsAg平均滴度为1:493, pHSARe阴性者则仅为1:82, 差异有极显著性意义 ($P < 0.01$)。如HBsAg阴性, 则pHSARe绝无阳性。SP-RPHA与ELISA检测pHSARe的符合率为97.6%, 差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。SP-RPHA方法简便, 肉眼判断结果, 易为一般基层实验员掌握。PVC软板可随意裁剪, 每次检测标本份数不限, 临床使用极为方便, 值得推广使用。

- 1 宜昌葛洲坝工程局第三医院免疫室
- 2 宜昌市传染病院免疫室

郑州市门诊病人空肠弯曲菌调查

冯艳平¹ 姜红² 徐玉凤¹ 苏惠存¹

为了解空肠弯曲菌腹泻在我市分布情况, 我们于1985年11月至1986年10月在郑州铁路中心医院进行门诊病人粪便中该菌的调查, 以日腹泻三次以上者为观察对象 (695人), 选条件基本相同的非腹泻病人为对照 (533人)。腹泻组共检出空肠弯曲菌25株, 检

出率3.6%。以5岁以下组和20~40岁组检出率最高 (4.1%, 4.9%); 男性高于女性 (4.56%: 1.95%); 未显示明显的季节高峰。对照组检出4例带菌者, 其中3例均为一岁以下儿童。

- 1 郑州市卫生防疫站
- 2 河南省卫生防疫站