

4 JinLin Hou, Peter Kaniyannis, Jenny Waters, et al. A unique insertion in the S gene of surface antigen negative hepatitis B virus Chinese carriers. *Hepato*, 1995, 21:273-278.

5 骆抗先. 乙型肝炎—基础和临床. 北京: 人民卫生出版社, 1996. 40-43.

(收稿: 1999-01-20 修回: 1999-07-04)

## 建立引物双标记的聚合酶链反应—酶联免疫吸附法检测军团菌 mip 基因

朱利平 石尧忠 陈一平 李忠明 钟平 邬祥惠 翁心华

建立一种新的检测嗜肺军团菌 mip 基因的引物双标记聚合酶链反应—酶联免疫吸附(PCR-ELISA)法, 应用于豚鼠军团菌感染的早期检测和诊断。其方法是将一对嗜肺军团菌引物分别标记有生物素和异硫氰酸荧光素, 经 PCR 扩增后, 将标记有生物素的 PCR 扩增产物加入链酶亲和素包被的微孔板中, 洗去未结合物后直接加入碱性磷酸酶标记的抗荧光素抗体, 待与荧光素结合后, 再加入底物产生显色反应, ELISA 仪测得 A 值。通过对该系统的

各项参数的优化, 该方法能特异地检出嗜肺军团菌和米克戴德军团菌, 检测灵敏度为 150fg 军团菌基因组 DNA(相当于 15~30 个军团菌), 将不同时间经腹腔感染军团菌的 22 份豚鼠组织标本, 应用该方法与培养法比较, 结果显示在感染后 3.5 天培养法阳性率为 88.9%(8/9), 7.5 天为 0(0/9), 而此方法则分别为 100%(9/9)、22.2%(2/9)。引物双标记 PCR-ELISA 法能早期快速、敏感、特异地诊断军团菌病。与 PCR-凝胶电泳法敏感性相一致, 由于该方法是建立在微孔板检测基础上, 故可与临床常规使用的试剂及仪器设备相配套, 易于临床推广使用。

(收稿: 1999-04-21)

作者单位: 200040 上海医科大学华山医院传染病学教研室(朱利平、石尧忠、陈一平、邬祥惠、翁心华); 美国食品药品监督管理局(李忠明); 上海生物制品研究所(钟平)

## 戊型肝炎病毒结构区编码多肽检测相应抗体方法的建立及应用

李顺天 高桂芝 阎志慧 梁树仁 朱理珉

利用多肽合成技术在戊型肝炎病毒(HEV)的结构区内的开放读码框(ORF)-2 和 ORF-3 区合成了 P1、P2 二条具有明确抗原表位的合成多肽, 作为 EIA 法抗-HEV 诊断试剂的固相抗原测定抗-HEV。在 78 例急性甲型肝炎中抗-HEV 检出率为 7.8%, 慢性乙型肝炎的检出率为 2.9%, 志愿献血员为 1.4%, 急性输血性丙型肝炎检出率为 0。本室抗-HEV 诊断试剂的精密度检测 CV 值为 6.8%~9.1%。优于部颁体外诊断试剂 CV 值≤15% 的标准。抗-HEV 的灵敏度测定 P1 合成肽为 1:1 600, 而 P2 合成肽 1:12 800, P2 合成肽的终点稀释度比 P1 合成肽高出 8 倍。P1+P2 合成肽混合包被检测抗-HEV, 经 162 例血清标本的结果检测与 Genelaps 抗-HEV 诊断试

剂的检测结果对比符合率达 98.8%。同时在抗-HEV 检测中发现了有单独抗 P1 合成肽和 P2 合成肽的数例血清样本。上述结果表明①所用 P1、P2 二条合成肽选择的合成区域 ORF-2、ORF-3 区最为保守, 氨基酸的同源分别达 99%~100%, 是合成 HEV 抗原的理想区域; ② P1、P2 合成肽因合成区域、位点、抗原性、亲水性、片段大小有所不同, 而发现数例单独抗-P1 或 P2 合成肽的阳性标本。为此 P1、P2 二条合成肽应混合配置, 使抗不同表位的抗体均能与之结合, 反应强度也会相应增大, 进一步提高抗-HEV 的检出率; ③抗-HEV 诊断试剂的灵敏度、特异性检测结果满意, 精密度检测优于部颁标准, 同时在与 Genelaps 诊断试剂的对比测定也呈高度一致性。

(收稿: 1999-01-25)

作者单位: 300192 天津市传染病医院