

以酶联免疫吸附试验诊断肺吸虫病

张月清¹ 孙家鑫¹ 唐来仪² 郭顺祥³ 尹哲友⁴ 杨渭钦² 张新雄² 李浩宏¹

前文^[1]在报道用酶联免疫吸附试验(ELISA)诊断肺吸虫病时,曾提到静脉血和耳血滤纸片法都可适用。为进一步验证,我们曾于1980年9月在湖南茶陵县湘东钨矿肺吸虫病流行区进行现场调查,除用同一受检者的静脉血清和耳血进行检测外,还同时用间接血凝、补体结合、对流电泳及琼脂扩散作对照,结果如下:

材料和方法

一、抗原:采用卫氏肺吸虫成虫抗原,ELISA效价为1:40,000,蛋白质含量10微克/毫升。

二、血标本:①采用湘东钨矿肺吸虫皮试阳性者178例,肺吸虫皮试阴性者30例,同时采取静脉血和耳血双份血样。②半年后复查25例(其中10例经治疗,15例未经治疗)。

三、酶结合物:采用辣根过氧化物酶标记的马抗人IgG。

四、方法:对受检者先行肺吸虫皮试和ELISA(耳血、目测)检测,对部分受检者同时采取静脉血。在现场将耳血20微升,直接置于PBS稀释液中与血清同时进行ELISA目测。再取耳血数滴(每滴20微升)滴于滤纸上,干后放入冰箱备用。

ELISA、IHA等操作过程同文献^[1,2]所述。

结 果

一、阳性情况:本次皮试508人,男286人,女222人,年龄最小者4岁,最大者54岁。皮试阳性193人,阳性率38.0%。ELISA耳血目测共388人(皮试阳性193人,阴性195人),皮试阳性的ELISA阳性率为67.4%

(130/193),皮试阴性的为10.8%(21/195)。对皮试阳性者72例曾做白细胞计数分类,嗜酸细胞在6%以上者共43例(59.7%)。

二、静脉血清和耳血ELISA符合率的比较:对178例皮试阳性者和30例皮试阴性者,同时采取静脉血清和耳血,在现场进行了ELISA目测(表1)。

表1 静脉血清与耳血ELISA目测结果比较

皮试例数	阳性符合		阴性符合		不符合	
	例数	%	例数	%	例数	%
178(+)	128	71.9	50	28.1	0	0
30(-)	1 ^①	3.3	26	86.7	3 ^②	10.0

①IHA和CFT亦为阳性;②耳血阳性、静脉血阴性,其它试验均为阴性。

表1显示,皮试阳性者(178例)的静脉血清和耳血ELISA目测结果,其总的符合率(阳与阴)高达100%。皮试阴性者(30例)总符合率为90%,有三例不相符合,此三例均系耳血未在现场检测,血纸片标本放置较久,初步考虑耳血ELISA是假阳性。鉴于血清和耳血的符合率较高,因此在肺吸虫流行病学调查中,采用ELISA耳血目测法是较方便和可靠的。

三、五种血清学试验阳性率比较:对178例皮试阳性者的血清,曾同时以几种免疫诊断法检测,结果见表2。

表2显示,ELISA的阳性率最高,但用95%可信限衡量,ELISA、IHA、CFT三者无统计学差异,可见后二法的敏感度远较ELISA等法为低。

1 北京热带医学研究所
2 湖南省防疫站
3 湘潭地区防疫站
4 茶陵县防疫站

表 2 178例皮试阳性者血清以五法试验结果比较

方法	阳性例数	阳性% ± 标准差
酶 标 记	128	71.9 ± 3.4
间接血凝	110	61.8 ± 3.7
补体结合	126	70.8 ± 3.4
对流电泳	57	32.0 ± 3.5
琼脂扩散	32	18.0 ± 2.9

四、178例皮试阳性者血清，五种血清学试验符合率比较：基于该区肺吸虫病人多为肺外型（在痰中几乎查不到虫卵），因此，除肺吸虫皮试阳性，有生食或半生食石蟹史，有不同程度的临床症状和体征外，我们暂定三项以上血清学检查阳性者，方视为现症肺吸虫病患者。五种试验的符合率结果列表如下。

表 3 178例皮试阳性血清以五法试验符合率比较

符合项数	例数	%
五项阳性	34	19.1
四项阳性	20	11.2
三项阳性	47	26.4
二项阳性	24	13.5
一项阳性	19	10.7
五项阴性	34	19.1

表3显示：三项以上阳性符合率为56.7%；五项皆为阴性的19.1%。三项以上阳性者，对其中大部分曾给予硫双二氯酚治疗，半年后曾对25例（10例经治疗，15例未经治疗）病人进行追踪观察，结果胸透和胸片仍未发现阳性，痰和粪便检查仍未发现肺吸虫卵；各项血清学检查与半年前基本一致；唯治疗后的10例，临床症状均有不同程度的好转，如咳嗽、乏力等减轻或消失。从实验治疗的效果看，对诊断肺

外型肺吸虫患者，上述诊断标准基本上是可行的。

五、标本（阳性）滴度分布：对178例血清，除50例在1:80已为阴性未进一步稀释外，其余的128例均再行稀释，以进行终点测定，其阳性终点滴度为1:80~1:320, 68例(53.1%)；1:640~1:2560, 52例(40.6%)；1:5120~1:20480, 6例(4.7%)；≥1:40960, 2例(1.6%)。

结 语

在现场调查中，对同一受检者采集了静脉血和耳血，以ELISA快速目测，其结果不仅二者的符合率高，而且方法简便易行，易于大面积推广，但血纸片标本不宜放置过久。我们曾把血纸片置于冰箱，保存不同时间（半个月、一个月和两个月）进行检测，结果发现：放置半个月，其OD值几无变化；一个月，反应颜色有加深趋势（OD值有所增加）；两个月，反应颜色明显加深，甚至有的原为阴性亦转为阳性。随着放置时间增长，反应颜色加深的原因尚不清楚。

在肺吸虫病流行病学调查中，对肺外型肺吸虫患者，除皮试阳性，具有流行病学史和临床表现外，还必须有更多的（暂定三项）血清学方法来加以验证，才有可能确诊为现症肺吸虫病患者。

（本试验承王正仪教授支持和指导；高佩芝、胡瑞云和温艳同志参加部分工作，于此一并致谢）

参 考 文 献

1. 张月清等：中华微生物学和免疫学杂志，1（1）：54，1981。
2. 王正仪等：中华医学检验杂志，2（1）：1，1978。