

间接荧光抗体试验用于疟疾血清流行病学调查和考核防治效果的报告

云南澜沧县卫生防疫站 陈 灿 胡继成

云南澜沧县原属高疟区，通过20多年防治，疟疾年发病率已降至万分之五以下。为了解疟疾流行动态，评价疟疾防治效果，预测疟疾是否有复燃或爆发的可能性，我们于1981年10~12月对原超高度疟区进行一次血清流行病学调查。

一、调查对象：

1. 调查点有下列三种：一是原超高度流行的勐朗坝，已基本消灭疟疾达20年；二是原超高度流行的上允坝，已基本消灭疟疾达8年；三是原超高度流行的芒红坝，已基本消灭疟疾达15年。

2. 对可疑村寨进行疟疾流行病学调查，了解疟疾病灶的存在与否。

3. 对疑似疟疾病例进行判定，以预测疟疾是否有复燃或爆发的可能性。

二、材料和方法：

1. 抗原片：采用云南省疟疾防治研究所生产的食蟹猴疟原虫洗涤全虫抗原血片。

2. 标记物：采用云南省疟疾防治研究所生产的羊抗人IgG工作单位1:8的稀释度。试验结果以“+”以上为阳性，1:20作为最低阳性稀释度。

3. 血标本：自耳垂取血，涂制直径1.2厘米的圆圈滤纸干血滴，待干后放入干燥剂的塑料袋中，带回置冰箱保存，以待测试。在采血标本的同时还作厚薄血膜片，镜检疟原虫，作为比较。

三、试验步骤：

1. 浸泡干血滴：用20孔有机玻璃反应板，将干血滴滤纸剪碎放入各孔，然后加入0.01M pH7.0的PBS液0.2ml，使成1:20稀释度，置冰箱过夜。测试时每份血清再进行倍比稀释（从1:20~1:40，待镜检阳性时再稀释至最终滴度），同时设阳性及阴性对照。

2. 次日将抗原片袋从冰箱内取出回暖半小时，开封后将每张抗原片用腊笔划分若干格，同时贴胶布编号。然后将不同稀释度的血清对号顺序加一滴于抗原片上，置湿盒内，放入温箱（37°C）作用半小时。取

出用0.01M pH7.0的PBS液洗涤，再放入上液中浸泡5分钟，取出晾干。

3. 在已致敏的抗原片各格中分别加入一滴1:20稀释的羊抗人IgG荧光抗体，置于湿盒，放入温箱（37°C）作用半小时，取出用PBS液洗涤，再放入上液中浸泡5分钟，取出晾干。滴以0.01M pH8.0的缓冲甘油溶液一小滴，复以盖片，用5×10或5×40倍数于暗室镜检。光源使用超高压汞灯荧光光源，配合普通生物显微镜使用。结果以几何平均滴度的倒数表示。

四、试验结果：1981年10月对基本消灭疟疾20年的原超高度疟区的勐朗坝的老亢寨、热水塘、坡脚三个居民村寨的1~15岁儿童共调查304人，血检全为阴性，间接荧光抗体试验亦全为阴性。11月在上允坝的芒角居民村寨的学龄儿童调查142人，血检全为阴性，间接荧光抗体试验亦全为阴性。白糖厂调查159人，血检验阳性恶性疟原虫1人，原虫率0.63%，间接荧光抗体试验阳性1人，抗体滴度1:40，GMRT阳性3.98，总的GMRT为1.45。12月对芒红坝调查，重点抽查南果河居民村寨165人，血检验阳性间日疟原虫2人，原虫率1.21%，间接荧光抗体试验阳性17人（10.3%），抗体滴度1:20为11人；1:40为2人；1:80为1人；1:160为3人。GMRT阳性34.28，总的GMRT为14.42。另外检查了芒红坝的河边寨、下玻六、芒翁山等居民点疑似疟疾病例共16人，血检验阳性10人，全为间日疟，原虫检出率62.5%。间接荧光抗体试验阳性12人（75%），抗体滴度1:40为3人；1:80为7人；1:160及320各1人。GMRT阳性79.43，总的GMRT为47.37。

五、讨论：应用间接荧光抗体试验技术，对澜沧不同情况的原超高度疟区进行疟疾血清流行病学调查，血清学调查结果与血检疟原虫结果相一致。在发病率、原虫率低的情况下，血清学调查比采用访问疟史和血检原虫的方法简便易行，且在分析疟疾流行趋势和考核防治效果方面也较灵敏。在防疟后期监测管

理工作中，采用间接荧光抗体试验技术与传统流行病学调查方法结合使用，可以及时准确地判断疟疾流行

状况及考核防治措施的效果，间接荧光抗体试验测定作为一种辅助工具是有一定实用价值的。

关于乙型病毒性肝炎消毒指标和方法的初步研究

辽宁省卫生防疫站

张慧贤 由莲香

消毒是防止乙肝传播的一项重要措施。但由于HBV尚未分离培养成功，对乙肝消毒效果的考核缺乏直接的依据，另外，由于污染物上的HBV被消毒液大量稀释，用RPHA法测定HBsAg灵敏度不够，若用固相放射免疫法其灵敏度亦有一定限度，且要求较高技术和设备条件，难以普及。本文试图通过枯草杆菌黑色变种芽孢、4001蜡样杆菌芽孢与HBsAg对热、碘酊、次氯酸钠和碱性戊二醛的抗力比较，初步研究芽孢菌作为乙肝消毒间接指标的意义，为现场消毒效果考核提供依据。

材料和方法

一、试验用微生物：

枯草杆菌黑色变种芽孢：简称枯黑。

4001蜡样杆菌芽孢：简称蜡样（上述两菌种均由军事医学科学院赠给。按常规法制备菌液，原液于冰箱保存备用）。

HBsAg阳性血清：用RPHA法测定滴度为1：256～1：512。

二、消毒药物：

碘酊：按常规法配制。2%碘酊2毫升用40%硫代硫酸钠0.125毫升作中和剂。

次氯酸钠：原液有效含量是4.0%（碘量法），1%次氯酸钠2毫升用80%硫代硫酸钠0.125毫升作中和剂。

碱性戊二醛：原液有效含量是22%（亚硫酸钠结合法），试验时用0.3%碳酸氢钠稀释pH7.5以上。

2%碱性戊二醛加40%亚硫酸钠0.125毫升做中和剂。

三、抗热力试验法：将枯黑、蜡样菌悬液用蒸馏

水稀释成 10^7 个/毫升；HBsAg原血清1：20稀释，均制成2毫升菌管和血清管若干支，分别进行高压、干烤和湿热100°C处理后用冷水终止加热。从菌管取0.5毫升接种肉汤管中，于37°C培养72小时后记录结果；血清管用RPHA法测定滴度。从未经加热的菌管和血清管取样按上法培养试验作为对照。

四、碘酊杀菌试验：将碘酊对倍稀释成四种浓度，分别加入等量的 2×10^7 /毫升枯黑、蜡样和HBsAg原血清0.1毫升，经5、10、15和20分钟后，用硫代硫酸钠中和10分钟后，按抗力试验法分别试验和对照。

五、次氯酸钠和碱性戊二醛杀菌试验法：基本与碘酊杀菌试验相同，只改换相应消毒剂和中和剂。

结 果

一、热力杀菌效果：高压112°C20分钟、干热150°C2小时后，枯黑、蜡样和HBsAg全部致死或灭活；湿热100°C蜡样30秒即死，枯黑5分钟死亡。而HBsAg经35分钟抗原性始被破坏。

二、碘酊的杀菌效果：蜡样对碘酊最敏感，0.0625%5分钟致死。其次是HBsAg，0.25%5分钟破坏抗原性。枯黑抗碘力略高于HBsAg，需0.5%5分钟致死。

三、次氯酸钠的杀菌效果：枯黑与HBsAg抗氯能力相近，均是0.25%5分钟致死，蜡样抗力略强，需0.5%5分钟。

四、碱性戊二醛杀菌效果：HBgAg对碱性戊二醛最敏感，0.5%5分钟破坏抗原性，其次是蜡样1%10分钟致死，而枯黑则需2%10分钟死亡。