

# 用酶联免疫吸附试验进行疟疾血清流行病学调查

王捷\* 韩萌\* 章幼妹\* 李鸿儒# 柳坚# 林翠芬## 杨霞##

用体外培养的恶性疟原虫制成可溶性抗原,以辣根过氧化物酶抗人IgG的结合物作第二抗体,对海南岛的恶性疟和间日疟病人进行酶联免疫吸附试验(ELISA)得到比较满意的结果(1982)[1]。

自Voller等(1974)推荐ELISA方法用于疟疾后[2],Voller等(1976、1980)用此法先后做了血清流行病学的观察[3,6]。但对不同流行区的调查研究尚无报道。因此我们用ELISA方法进行了这方面的工作。

## 材料及方法

**调查地点及范围** 在海南岛南部山林地形的疟区进行的。除了现症疟疾病人的血样是从当地门诊病人采集外,流行病学部分则是选取现在流行和发生过爆发流行但已被控制的两种类型地区。根据人口数选择1~4个自然村进行全村居民普查,然后分成不同的年龄组加以统计。每次每类地区调查200~400人。

**血样及调查内容** 采用直径为12cm的滤纸干血滴的方法。实验前用pH7.4的PBS浸泡血滴,使成1:100的浸出液,再作倍比稀释,连续4个稀释度。此外,并用玻片制成厚、薄血膜片,镜检原虫统计原虫率。

**ELISA试验:**

1. 抗原 为恶性疟原虫培养物的可溶性抗原。原虫的培养方法及抗原制备方法与我们1982年报告的相同[1]。

2. 试验操作方法及步骤 按世界卫生组织介绍的ELISA方法进行[4]。酶结合物为抗人IgG-HRP。酶反应后用微量分光光度计于波长

492nm读取光密度值以表示抗体浓度,阳性阈值为0.4。每次实验均设有参考阳性和参考阴性的血样作为对照。

3. 实验数据的处理 为了使历次的实验结果便于比较,每一样品所测得的光密度值均按下列公式加以校正。

$$\text{校正的光密度值} = \frac{\text{检测样品的光密度值}}{\text{参考阳性样品的光密度值}} \times 1.0$$

## 调查结果

### 一、现症病人的抗体水平

为了了解不同年龄疟疾急性发作病人的抗体水平,对因急性发作就诊并经原虫确诊的257例疟疾病人的干血滴,作ELISA测定后按年龄分组统计。结果发现所有各年龄组急性发作病人的抗体水平均较高,而且与年龄有关。其中2岁以下年龄组的水平最低,以后逐渐上升,至16岁以上的年龄组即达最高水平(图1)。

### 二、不同疟疾流行区居民抗体的检测结果

1. 现在仍在流行的地区 为一个较大的自然村,是以微小按蚊和大劣按蚊为传播媒介的恶性疟为主的山林流行区,当地居民以农业为主,兼种橡胶等经济作物。疟疾的发病率虽经历年防治已有下降,但由于防治措施不力,以及不少居民有携带儿童上山进行开垦、耕种、

\* 中国预防医学中心寄生虫病研究所(上海)。世界卫生组织疟疾、血吸虫病、丝虫病合作中心

# 海南行政区寄生虫病研究所

\*\* 海南黎族苗族自治州卫生防疫站

\*\* 本研究得到联合国开发计划署/世界银行/世界卫生组织热带病研究培训特别规划的部分支持和世界卫生组织疟疾行动计划M2/181/162的补助。



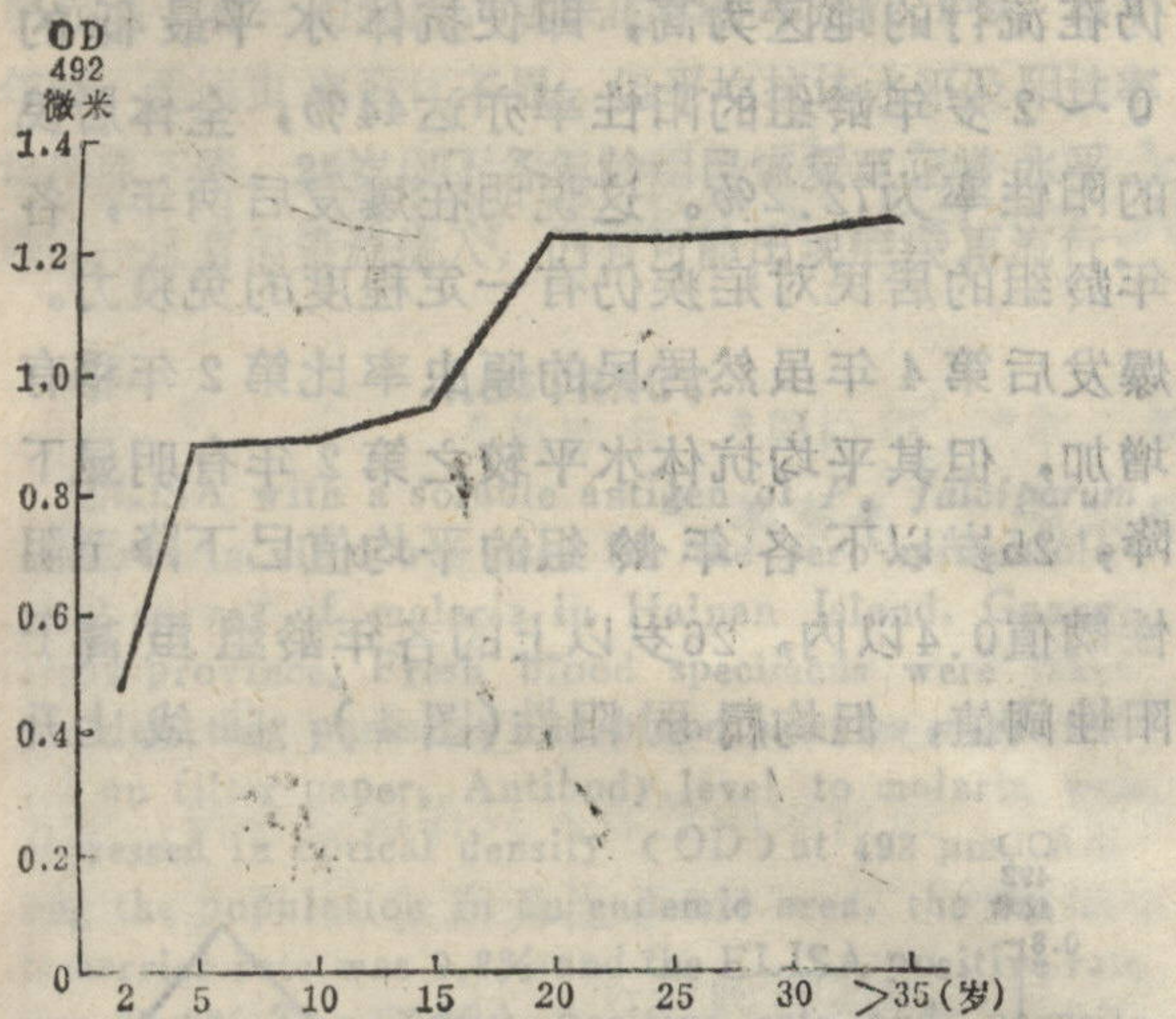


图1 急性发作疟疾病人的平均抗体水平

收割和砍柴等劳动并作短期居留的习惯以及两种传疟蚊种野生野栖的习性，因此每年仍有一定程度的流行，原虫率在10~25%之间。

于1979年6月即流行季节的早期对当地的世界居民193人进行了血检和ELISA。原虫率为9.84%，不同年龄组的原虫率为0~20.0%，全体居民的ELISA阳性率为35.2%，不同年龄组的ELISA阳性率为12.5~100%。各年龄组居民的平均抗体水平见图2。

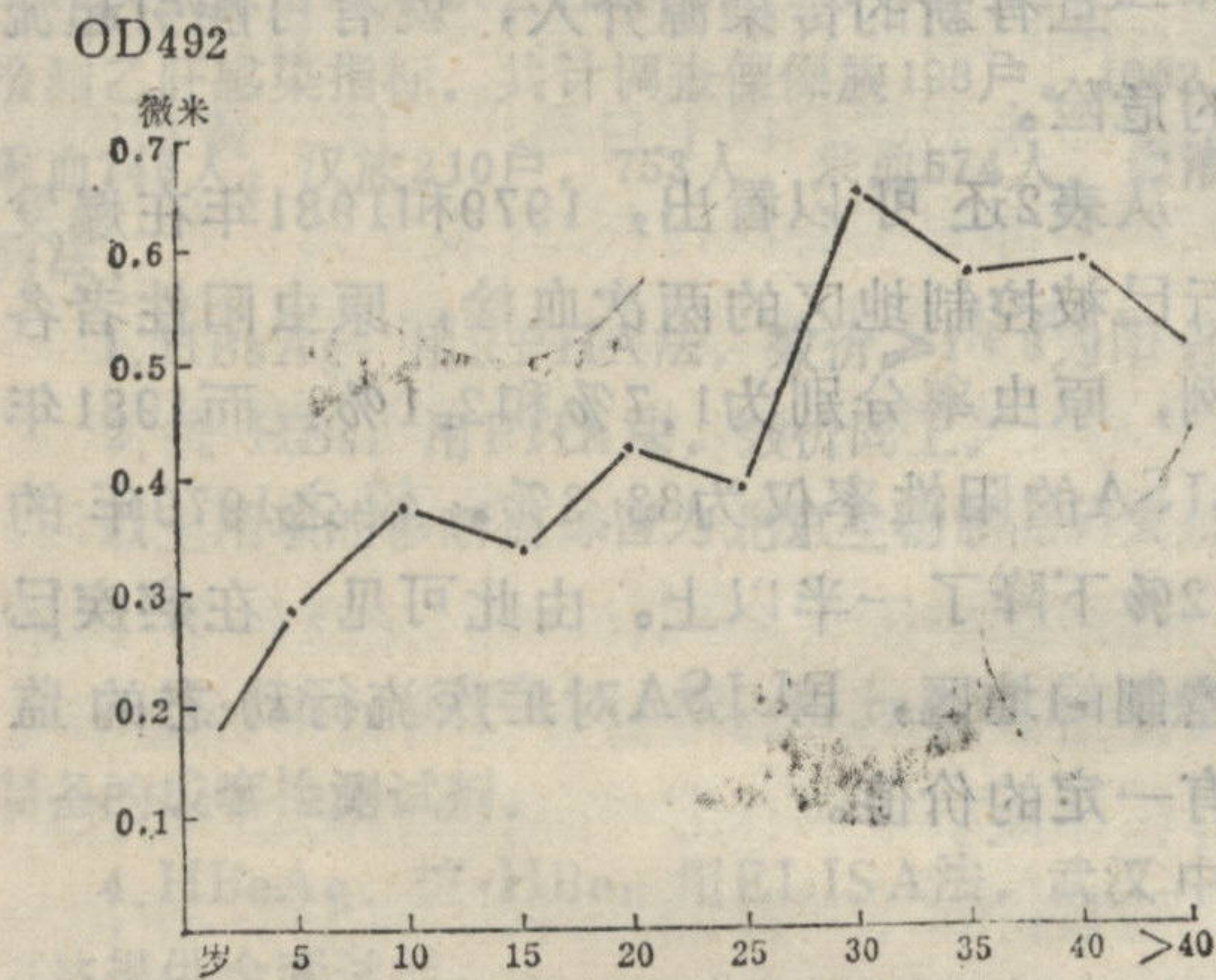


图2 现在流行区居民的平均抗体水平

2. 流行已被控制的地区 这一类地区系由4个分散于山林间的自然村组成，居民多数从事农业。当地系以微小按蚊和大劣按蚊为媒介的高疟区。多年来经过较系统的防治，疟疾已得到控制。1974~1976年已连续3年血检未查

见原虫。1977年有较多的居民到附近地区修建水库，因人口流动，导致6月份有3个自然村突然出现了疟疾爆发，当时在两个自然村抽样血检的原虫率分别为45.7%(37/81)及64.7%(11/17)，而在前一个村查到原虫的37例病人中，有30例还查见了恶性疟原虫配子体。经采取消灭媒介和治疗病人的综合措施后，很快控制了疟疾的爆发。

爆发后的第2年和第4年，即1979年6月及1981年5月先后进行了两次调查。第一次血检的原虫率为1.7%(6/363)，不同年龄组的原虫率为0~4.3%；全体居民ELISA的阳性率为72.2%(262/363)，不同年龄组的阳性率为44.0~100%。第2次调查时的原虫率稍高于第1次，为2.1%(6/282)，不同年龄组的原虫率为0~3.9%；但全体居民的ELISA阳性率已下降至33.3%(94/282)，各年龄组的ELISA阳性率为15.8~85.7%(附表)。两次检测的不同年龄组居民平均抗体水平如图3。

附表 流行控制区居民ELISA阳性率和原虫率

| 年龄组   | 爆发后第2年 |               |            | 爆发后第4年 |               |            |
|-------|--------|---------------|------------|--------|---------------|------------|
|       | 人数     | ELISA 阳性数 (%) | 原虫 阳性数 (%) | 人数     | ELISA 阳性数 (%) | 原虫 阳性数 (%) |
| 0~    | 25     | 11(44.0)      | 1(4.0)     | 38     | 6(15.8)       | 1(2.6)     |
| 2.1~  | 58     | 36(62.1)      | 0          | 46     | 14(30.4)      | 1(2.2)     |
| 5.1~  | 81     | 58(71.6)      | 3(3.7)     | 77     | 18(23.4)      | 3(3.9)     |
| 10.1~ | 61     | 39(63.9)      | 1(1.6)     | 54     | 15(27.8)      | 1(1.9)     |
| 15.1~ | 23     | 17(73.9)      | 1(4.3)     | 11     | 5(45.5)       | 0          |
| 20.1~ | 21     | 19(90.5)      | 0          | 9      | 5(55.6)       | 0          |
| 25.1~ | 20     | 16(80.0)      | 0          | 10     | 6(60.0)       | 0          |
| 30.1~ | 14     | 13(92.9)      | 0          | 7      | 6(85.7)       | 0          |
| 35.1~ | 16     | 16(100.0)     | 0          | 12     | 9(75.0)       | 0          |
| 40.1~ | 44     | 37(84.1)      | 0          | 18     | 10(55.6)      | 0          |
| 共 计   | 363    | 262(72.2)     | 6(1.65)    | 282    | 94(33.3)      | 6(2.13)    |

讨 论

从图2可以看出，至今疟疾仍在流行地区的居民ELISA平均抗体水平以0~2岁组最低，以后缓缓上升，25岁以下各年龄组除个别外均低于阳性阈值0.4的光密度值，26岁以上各组



的抗体水平均较高,其间虽有波动,但不明显。各年龄组的ELISA阳性率与平均抗体水平的分布趋势基本一致,二者均随年龄的增加而上升。总的看来,成年人组的原虫率则比低年龄组的低,而ELISA的阳性率则相反:以0~5岁、6~20岁和21岁以上分别加以统计,则居民ELISA的抗体水平和原虫率形成一截然相反的曲线(图3)。这和吴氏等(1974)的结果

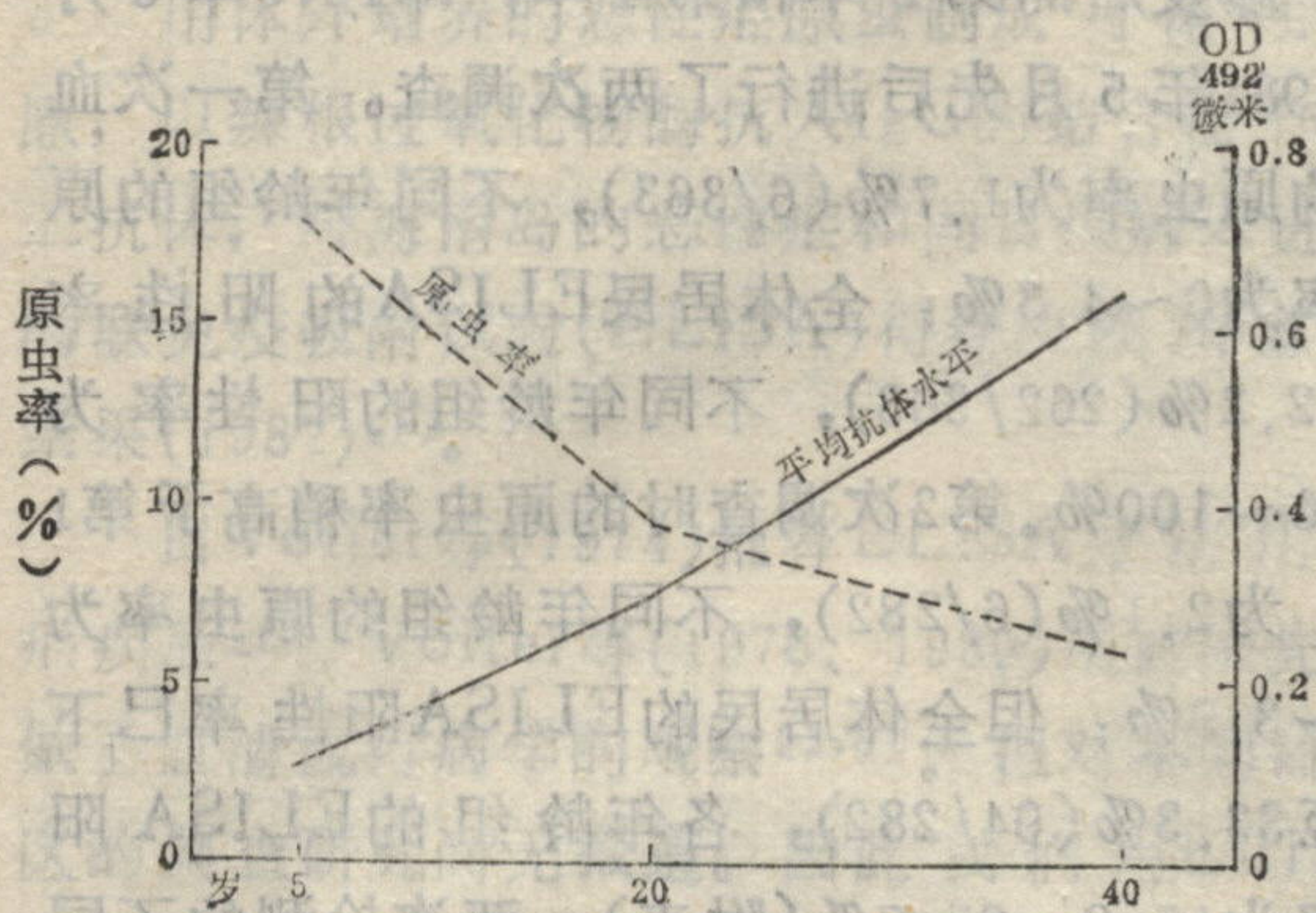


图3 疟疾流行区居民抗体水平和原虫率的关系

颇为一致<sup>[5]</sup>。充分说明居民的抗体水平和原虫率间的密切关系。由于疟区居民的抗体水平随着年龄的增加而上升,而原虫率则因年龄的增加而下降,似乎又可表明居民的抗体水平在某种程度上又可反映居民对疟疾的免疫力。因而用ELISA方法进行疟疾血清流行病学调查,测出的抗体水平对于了解居民对疟疾的免疫力似有一定的参考意义。此外,在这两类地区进行调查时还发现在2岁以下的婴儿中,有的虽出现原虫血症,但ELISA的抗体水平很低,与成年患者呈明显的对照。这说明婴儿对疟疾感染的免疫反应能力比成人为低。Voller等(1980)认为这是婴儿时期的免疫系统的发育还不够成熟和完善,或在疟疾时发生免疫抑制现象的结果<sup>[6]</sup>。

从流行已被控制地区两次检测的结果来看,爆发后第2年的平均抗体水平亦以2岁以下的年龄组为低,但仍在ELISA的阳性阈值以上,以后缓缓上升,至20岁的年龄组就到达较高的抗体水平(附表)。ELISA阳性率比目前

仍在流行的地区为高,即使抗体水平最低的0~2岁年龄组的阳性率亦达44%,全体居民的阳性率为72.2%。这说明在爆发后两年,各年龄组的居民对疟疾仍有一定程度的免疫力。爆发后第4年虽然居民的原虫率比第2年稍有增加,但其平均抗体水平较之第2年有明显下降,25岁以下各年龄组的平均值已下降至阴性阈值0.4以内,26岁以上的各年龄组虽高于阳性阈值,但均属弱阳性(图4),曲线上升

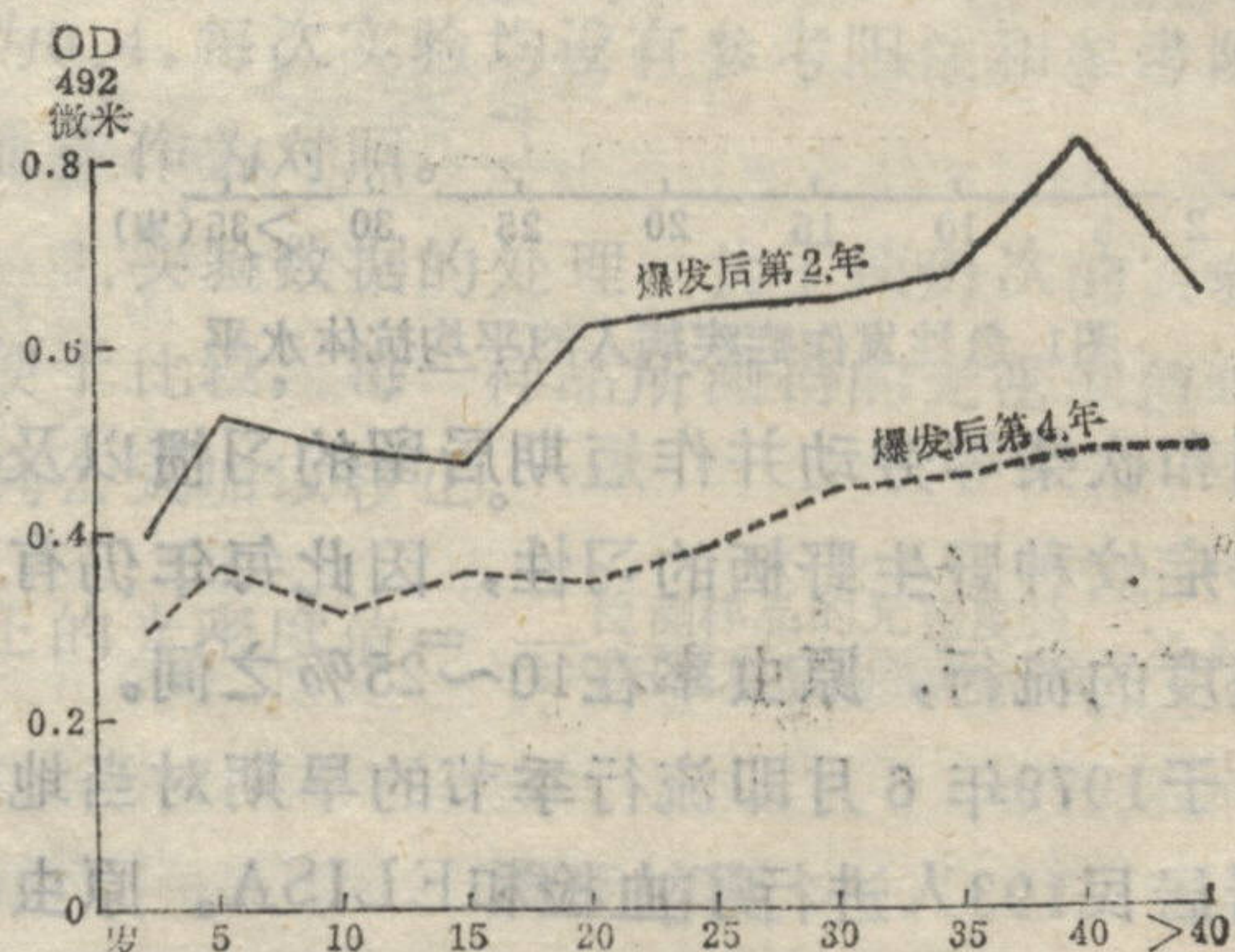


图4 疟疾控制区居民的平均抗体水平

极为缓慢。从这一情况来看,全体居民的抗体水平虽高于非流行区,但对疟疾的免疫力已极低。一旦有新的传染源介入,就有可能引起流行的危险。

从表2还可以看出,1979和1981年在爆发流行已被控制地区的两次血检,原虫阳性者各6例,原虫率分别为1.7%和2.1%;而1981年ELISA的阳性率仅为33.3%,较之1979年的72.2%下降了一半以上。由此可见,在疟疾已被控制的地区,ELISA对疟疾流行动态的监测有一定的价值。

### 摘 要

用ELISA对海南岛疟疾仍在继续流行和爆发流行已被控制的两类地区的居民进行了血清流行病学的调查,在前者的原虫率为9.8%,ELISA的阳性率为35.2%。若按不同年龄组统计,则居民的抗体水平和原虫率出现一截然相反的图案,表明二者有着密切的联系。在后一类地区,爆发后的第2年,ELISA的阳性率



明显高于前一类地区,居民的阳性率达72.2%;第4年时,虽原虫率变化不显,但平均抗体水平及阳性率均明显下降,25岁以下各年龄组已恢复至正常水平,表明一旦有传染源输入,仍有可能出现疟疾再流行。

### ABSTRACT

ELISA with a soluble antigen of *P. falciparum* cultured in vitro was used for the sero-epidemiological survey of malaria in Hainan Island, Guangdong province. Fresh blood specimens were taken for detecting parasites and blood samples were tested on filter paper. Antibody level to malaria was expressed in optical density (OD) at 492 nm. Among the population in an endemic area, the parasite-carrier rate was 9.8% and the ELISA positive rate was 35.2%. The ELISA positive rate and parasite-carrier rate in different age groups ran in divergent ways. In an area where malaria was well controlled after an outbreak in 1977, the results of a sur-

vey in 1979 indicated that the ELISA positive rate amongst population was 72.2%. In 1981, the parasite-carrier rate changed from 1.7% to 2.1%, the ELISA positive rate and the malaria antibody level among the population decreased significantly. It is believed that once the source of malaria infection was introduced, another outbreak might occur.

### 参 考 文 献

- 1.王捷等:中国医学科学院学报,4(5),319,1982
- 2.Voller A et al: Bull WHO, 51(2):209, 1974
- 3.Voller A et al: Trans Roy Soc Trop Med Hyg, 70(2):98, 1976
- 4.世界卫生组织赴中国讲学小组:酶标记免疫吸附试验操作讲义,1978
- 5.吴开琛等:中华预防医学杂志,13(3):129, 1979
- 6.Voller A et al: Bull WHO, 58(3):429, 1980

(海南黎族苗族自治州卫生防疫站韩梅芳、庄锦心同志参加部分现场工作;寄生虫病研究所周铭贤同志供给疟原虫种,一并致谢)。

## 傈僳族乙型肝炎病毒感染的流行病学调查

刘正乐\* 叶梅君# 白筠仙\*\* 余倩# 万朝敏\* 王俊# 刘衡川# 钟世明## 卿素华\*\*\*

傈僳族人口约40余万,多数聚居在四川、云南交界的山区或丘陵地区。为摸清该族乙肝的流行情况,1982年12月~83年2月,我们去傈僳族聚居地,四川省德昌县金沙公社进行了乙肝的流行病学调查,并选毗邻汉族聚居地乐跃公社作为对照,询问病史,采血检测乙肝感染指标。共计调查傈僳族198户,1062人,采血745人;汉族210户,753人,采血574人。血液检测法:

1. HBsAg: 用RPHA法,效价 $\geq 1:8$ 为阳性。

2. 抗-HBs: 用PHA法,效价同上。

以上两项的诊断血清皆为北京生物制品研究所生产。

3. 抗-HBc: 用ELISA法,用上海市传染病院制备的成套检测试剂。

4. HBeAg、抗-HBe: 用ELISA法,武汉中心血站提供全套试剂。

5. HBsAg亚型: 用ID法,系用北京生物制品研究所和四川医学院医学检验教研室制备的参考抗体和抗原。

调查结果:

1. 乙肝现患: 傈僳族16例(1.51%), 汉族18例(2.39%)。

2. HBsAg和抗-HBs阳性率, 傈僳族前者平均为

9.80% (73/745), 后者平均为9.66% (72/745); 汉族前者平均为7.49% (43/574), 后者平均为13.94% (80/574); 两族之间无显著差异(前者比 $P>0.05$ 后者比 $P<0.05$ )。两族中HBsAg阳性者男与女之比以及不同年龄(14岁以下及以上)的比较均无显著差异。

3. 抗-HBc阳性率: 傈僳族平均为48.72%, 随年龄增长, 阳性率呈升高趋势。

4. 乙肝血清流行率: 即HBsAg、抗-HBs、抗-HBc阳性率的总和, 傈僳族平均为51.41%。

5. HBeAg和抗-HBe阳性率: 傈僳族前者为28.77% (21/73), 后者为36.99% (27/73)。

6. HBsAg亚型分布: 对傈僳族HBsAg阳性者73例中检测34例。能分出型别者21例, 均为adr亚型。

我国文献尚无傈僳族乙型肝炎病毒感染的流行病学报道, 本调查结果表明, 傈僳族HBsAg携带率(9.80%)和乙肝血清流行率(51.41%)和全国各地调查结果相接近(8.83%和50.0%)。本次检测对HBeAg的亚型如C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>、C<sub>3</sub>等, 因无检测试剂故未作, 有待今后进一步补充探讨。

\*四川医学院临床流行病学教研室 \*四川医学院医学检验教研室\*\*四川凉山州第二人民医院儿科 \*\*四川省德昌县卫生防疫站\*\*\*四川省德昌县血防站