

牛布氏菌病特异抗体的鉴别

黑龙江省农场总局防疫站 卢德威 王大勇

福建省人兽共患病研究室 严延生 姚虹 于恩庶

中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所 尚德秋 崔春槐 李兰玉

摘要 应用硝酸纤维素膜为固相的免疫斑点试验，以牛种布氏菌和O:3型小肠结肠炎耶氏菌为抗原，检查88份布病疫区牛血清，并与常规ELISA和试管凝集试验进行比较，结果表明免疫斑点试验与常规ELISA非常一致，符合率达到98%，均比试管凝集试验敏感。免疫斑点试验还能鉴别布氏菌抗体和O:9型小肠结肠炎耶氏菌抗体，是其它方法不能比的，加上方法简便、快速、稳定、容易掌握，具有在基层推广的条件，可以帮助临床诊断和流行病学调查。

关键词 布氏菌病 免疫斑点试验 小肠结肠炎耶氏菌

自1969年Ahvonen等^[1, 2]发现牛种布氏菌与O:9型小肠结肠炎耶氏菌（以下简称耶氏菌）的血清学交叉反应以来，经过许多学者的研究，提出了各种新方法，但迄今仍没有一种方法能简便快速鉴别这两种菌的交叉抗体，故目前仍以试管凝集试验为常规方法^[3, 4]。因此，错判的情况时有发生。例如，Sunaga等^[5]报告日本从中国进口13头骆驼，布病血清学检查，有5头阳性，可是从内脏和淋巴结均未分离出布氏菌，而从其中4头分离出O:9型耶氏菌，证明系耶氏菌感染，而非布氏菌感染。类似的情况在其它国家也有发生。

近年于恩庶等^[6]采用吸收试验，严延生等^[7]采用Western印迹法、潘敏楠等^[8]采用NC-ELISA法均证实了可以鉴别这两种抗体。特别是后者简便、快速、准确，可以代替常规的试管凝集试验，作为临床诊断和流行病学监测之用。本文用此法调查牛群的布病感染情况。

材料和方法

一、牛血清：从黑龙江省布病疫区采集的。

二、试管凝集试验：布氏菌抗原为卫生部生物制品研究所产品，按说明书进行试验。阳性标准为1:100+。

三、免疫斑点试验：按严延生等^[8]介绍的方法，提取O:3型耶氏菌及牛种布氏菌外膜蛋白，稀释为每毫升含蛋白量3.5毫克，在同一硝酸纤维膜条上分别点上述两种外膜蛋白，晾干，置封闭液4℃过夜。次日，将膜条与1:100倍稀释血清，置室温振荡45分钟，用0.05% Tween 20盐水洗3次，加TBS稀释的1:500兔抗牛IgG-HRP（按李成文法^[9]自行标记的酶结合物），室温振荡45分钟，再洗3次，加入二氨基联苯胺底物，显色10分钟，自来水冲洗，终止反应。有明显棕色斑点者为阳性。按表1标准判定结果。

四、常规ELISA：按常规方法进行，各种成分加量及顺序是：每孔加一种外膜蛋白0.1毫升（每毫升含0.6毫克），1:100稀释的被检血清0.1毫升，1:50兔抗牛IgG-HRP 0.05毫升，邻苯二胺底物0.05毫升，室温作用10分钟，终止反应；用DG-II型酶联仪，在波长290nm测定OD值。大于2个正常OD值为阳性。

表1 免疫斑点试验判定标准

牛种布氏菌抗原	0:3型耶氏菌抗原	结果判定
+	-	布氏菌抗体
+	+	0:9型耶氏菌抗体
-	+	0:3型耶氏菌抗体

表内+表示阳性，-表示阴性

结 果

本文共检查88份布病疫区牛血清，先用布病试管凝集试验和ELISA法检查，结果前者阳性30份，后者阳性34份，其中8份不符，见表2。两法总符合率为91%，ELISA阳性多于凝集试验。

表2 试管凝集试验和ELISA两法不符表

血清号	试管凝集试验	ELISA
查牛9	-△	+
查牛12	-	+
859牛6	-	+
巨牛4	-	+
巨牛15	-	+
巨牛20	-	+
补牛3	1:100	-
对牛5	1:100	-

△≤1:50

这88份牛血清用免疫斑点试验检查，与ELISA一样，也有34份阳性，这两个试验只有两份不符，总符合率达98%，见表3。

表3 ELISA与免疫斑点试验符合率

	免疫斑点试验		合计
	+	-	
ELISA +	33	1	34
ELISA -	1	53	54
合计	34	54	88

在试管凝集试验阳性($\geq 1:100$)的30份血清中，ELISA和免疫斑点试验各有两份阴性。另外2份血清试管凝集试验和ELISA均阳

性，但用免疫斑点试验测定，不是布氏菌感染，而是0:9型耶氏菌感染，见表4。

表4 三种方法检查结果比较

血清号	试管凝集	ELISA(1:200)	免疫斑点试验
巨牛2	1:800	+	布氏菌抗体
巨牛8	1:800	+	布氏菌抗体
巨牛19	1:800	+	布氏菌抗体
巨牛1	1:400	+	布氏菌抗体
巨牛9	1:400	+	布氏菌抗体
巨牛11	1:400	+	布氏菌抗体
巨牛13	1:400	+	布氏菌抗体
巨牛14	1:400	+	布氏菌抗体
巨牛5	1:200	+	布氏菌抗体
巨牛10	1:200	+	布氏菌抗体
巨牛16	1:200	+	布氏菌抗体
和牛1	1:200	+	布氏菌抗体
和牛2	1:200	+	布氏菌抗体
和牛4	1:200	+	布氏菌抗体
和牛7	1:200	+	布氏菌抗体
859牛8	1:200	+	布氏菌抗体
补牛2	1:200	+	布氏菌抗体
补牛6	1:200	+	布氏菌抗体
补牛9	1:200	+	0:9型耶氏菌抗体
补牛3	1:100	-	其他菌感染
补牛4	1:100	+	0:9型耶氏菌抗体
补牛7	1:100	+	布氏菌抗体
补牛10	1:100	+	布氏菌抗体
补牛11	1:100	+	布氏菌抗体
巨牛3	1:100	+	布氏菌抗体
巨牛12	1:100	+	布氏菌抗体
巨牛17	1:100	+	布氏菌抗体
859牛11	1:100	+	布氏菌抗体
对牛5	1:100	-	其他菌

讨 论

ELISA是目前检查布氏菌抗体非常敏感的方法，滴度高。根据Hurvell等(1979)所做的结果，以牛种布氏菌为抗原，其抗体滴度可达1:300 000，用0:9型耶氏菌为抗原，亦可达到1:70 000的滴度，比凝集试验高30~100倍，但也不能区别与0:9耶氏菌的交叉抗体。本文所做的试验结果也证明这一点。

免疫斑点试验除2份外，均与ELISA结果一致，其符合率达98%。同时发现凝集试验和ELISA检查，判为布氏菌抗体的2份血清，经免疫酶斑点试验证实，系O:9型耶氏菌抗体之误判。以前报告两份人血清布病试管凝集试验1:50可疑阳性，一份猪血清1:100阳性，经免疫斑点试验证明为O:9型耶氏菌抗体，而非布氏菌抗体。本文进一步肯定免疫斑点试验具有简便、快速以及高度敏感和特异的优点，可以代替试管凝集试验作为临床诊断和流行病学监测的常规方法。

An Identification of Special Antibodies for Brucellosis Lu De-Wei, et al., Sanitary and Anti-Epidemic Station of General Bureau-State Farm of Hei Leng Jiang province

Appling antigens of *B. abortus* and *Y. enterocolitica* O:3, detection 88 sera of cattle in foci of Brucellosis was carried out by Dot-ELISA on nitrocellulose filter paper, and compared with conventional ELISA and SAT. The results showed that coincident rate of Dot-ELISA and ELISA was 98%. Their sen-

sitivity was more than SAT. In contrast with others, the Dot-ELISA could differentiate *Brucella* antibody from antibody to *Y. enter.* O:9. In addition, the method is a simple, Speed, stable, and very easy. The procedure could help clinical diagnosis and epidemiological investigation.

Key words *Brucella Y. enterocolitica*
Dot-ELISA

参 考 文 献

1. Ahvonen P, et al. Acta Med Scand 1969; 165: 121.
2. Ahvonen P, et al. Acta Path Microbiol Scand 1969; 75: 291.
3. 于恩庶. 耶氏菌病和弯曲菌病. 福建科技出版社, 1986: 25~30.
4. 朱龙荃. 中国地方病防治杂志 1988; 3(5): 282.
5. Sunaga Y, et al. Jap J Vet Sci 1983; 45(2): 282.
6. 于恩庶, 等. 中国地方病杂志 1985; 4(2): 201.
7. 严延生, 等. 中国人兽共患病杂志 1988; 4(1): 10.
8. 严延生, 等. 中华微生物学免疫学杂志 1987; 7(1): 61.
9. 李成文. 免疫化学技术. 上册. 军事医学科学院微生物流行病研究所, 1987: 128~131.

靖安县十七年法定报告传染病疫情分析

江西省靖安县卫生防疫站

周治仕

一、疫情统计：十七年（1971~1987年）共报告传染病16种，病例报告总数24191例，死亡报告总数166例。

1.发病报告较多的年度依次为：1978年（3069例）、1981年（2394例）、1975年（2164例）、1977年（2014例）。死亡报告较多的年度依次为：1978年（18例）、1976年（18例）、1972年（16例）、1977年（15例）、1975年（11例）。

2.发病报告较多的月份依次为：8月（4100例）、9月（3195例）、7月（3176例）、4月（2450例）、10月（2418例）。

3.发病报告较多的病种依次为：痢疾（9137例）、麻疹（5254例）、疟疾（3136例）、肝炎（3135例）。

流感（1917例）。死亡报告较多的病种依次为：痢疾（50例）、乙脑（23例）、流脑（22例）、狂犬病（19例）、钩体（17例）。

二、疫情分析结果：

1. 主要肠道传染病，历年均维持在较高水平，并多次出现发病高峰。痢疾在夏秋季的发病数显著增多。
2. 计免控制的疾病及呼吸道传染病，出现逐年降低的趋势。白喉、脊髓灰质炎连续七年无新发病例，麻疹、百日咳、流感的发病数逐年显著下降。
3. 自然疫源性及虫媒性疾病的发病数有升有降。狂犬病、流行性出血热的发病数逐渐上升，钩体病、疟疾的发病数近年显著下降。