

固相放射免疫分析法在流脑人群抗体监测及临床血清学诊断的应用研究

陈贤辉¹ 胡 真¹ 柔玉莲¹ 王健夫¹ 杨天英² 张巧云³ 朱宝兰² 黄曼瑜³

摘要 报导固相放射免疫分析法(SPRIA)在健康人群A群流脑血清APS-IgG抗体水平的监测、A群流脑菌多糖菌苗免疫持久性的观察以及临床血清学诊断的应用结果。同IHA、BCA和ELISA等常用的流脑抗体测定方法比较。SPRIA具有更好的特异性和敏感性，而且可以精确定量。显示SPRIA在流脑防治和科研工作中良好的实用价值。

关键词 流行性脑脊髓膜炎 固相放射免疫分析法(SPRIA) 血清学诊断

在流脑的疫情监测、预测、菌苗效果评价以及临床血清学诊断等方面，都需要可靠的血清学检测方法。国内自70年代以来，先后推广使用间接血凝试验(IHA)、酶联免疫吸附试验(ELISA)和杀菌力试验(BCA)等方法，在此期间国外已相继建立了能定量检测流脑抗体的多种放射免疫测定法^[1~4]。1985年，中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所建立了固相放射免疫分析法(SPRIA)，可以定量检测各类A群流脑特异抗体^[5]。我们自1986年以来，应用SPRIA开展流脑监测点健康人群血清APS-IgG抗体的监测、流脑A群多糖菌苗免疫持久性的观察和临床血清学诊断等方面的应用研究，并比较了SPRIA和其他血清学检测方法的应用效果。现将结果报告如下。

材料和方法

一、血清标本：

1. 1986年从各流脑监测点采集健康人群血清标本。
2. 1988~1989年，从河南郑州市、唐河县和柘城县采集流脑A群多糖菌苗接种者和流脑患者病后不同时间的血清标本。
3. 1986~1988年，从广州市传染病院和始兴医院采集流脑现患病人血清标本。

二、流脑A群多糖菌苗：分别由北京生物制品研究所和兰州生物制品研究所提供。

三、试验方法：

1. SPRIA试剂由中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所提供，按文献介绍的方法测定^[5]。健康人群以血清IgG抗体 $>2\mu\text{g}/\text{ml}$ 者为阳性，并作为血清抗体临界保护水平的指标。流脑现患病人以恢复期血清抗体呈4倍增长或 ≥ 4 倍正常值($5\mu\text{g}/\text{ml}$)者，作为血清学诊断阳性的指标。

2. IHA、ELISA和BCA，均按常规或文献介绍的方法进行^[6~8]。健康人群血清以IHA和ELISA滴度1:4为阳性，BCA滴度1:6为阳性，并认为已达临界保护水平；流脑现患病人血清，以恢复期抗体呈4倍增长以上者为阳性。

结 果

一、流脑监测点健康人群血清抗A群多糖(APS)IgG抗体水平：应用SPRIA检测七省、市各监测点健康人群血清的APS IgG抗体水平，综合统计的结果表明，健康人群血清抗体水

1.中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所 102206
北京 2.河南省卫生防疫站 3.广东省卫生防疫站 参加工作的还有北京市、江苏、辽宁、四川、安徽等省市卫生防疫站

平随年龄组的增大而增加。1~16岁以上各年龄组的抗体GM为 $9.89\sim16.91\mu\text{g}/\text{ml}$, 相当于一般正常人群($5\mu\text{g}/\text{ml}$)的2~3倍; 抗体达到保护水平者($>2\mu\text{g}/\text{ml}$)占83.32%~96.67%, 与正常人群基本一致^[9]。监测点人群血清APS抗体水平较高的原因, 显然与其中部分人群接种过A群多糖菌苗有关(表1)。

表1 流脑监测点健康人群血清抗APS抗体水平

年龄组 (岁)	例数	菌苗接种 (%)	血清抗体GM ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	保护水平 ($>2\mu\text{g}/\text{ml}$) (%)
1~5	117	80.34	9.89	82.32
6~10	678	48.38	11.52	92.90
11~15	192	79.16	13.56	96.67
16岁以上	162	6.17	16.91	94.18

二、流脑A群多糖菌苗的免疫持久性:

1. 应用SPRIA、ELISA和BCA三种方法, 平行测定菌苗免疫后3个月(35例)和1年以上(67例)的7~12岁儿童的血清抗体。结果表明, 免疫后两个时间的血清抗体水平和阳性率, 三种方法的结果不尽相同。SPRIA的抗体GM分别为 $16.55\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 $15.54\mu\text{g}/\text{ml}$, BCA的抗体GMT, 免后3个月为19.50, 一年后降至8.34。ELISA的抗体GMT分别为8.00和7.36, 始终保持较低的水平。SPRIA对两次血清的阳性率均为100%, 而BCA和ELISA则分别为97.1%~91.0%和85.7%~89.6%。三种检测方法的阳性率差别显著($P<0.05$)。

2. A群多糖菌苗免疫后1~4年的血清抗体水平消长情况。应用SPRIA对菌苗免疫后1~4年的血清抗体进行回顾性血清学调查。结果表明, 低年龄组免疫后的抗体水平较低而稳定, 高年龄组的抗体水平虽然较高, 但逐年有所下降。从表2的结果也可看出, 两组高于保护水平($>2\mu\text{g}/\text{ml}$)的抗体, 均至少可维持4年。

3. 连续菌苗接种对血清抗体水平的影响: 应用SPRIA, 测定连续2年接种菌苗者59人的血清抗体, GM为 $6.52\mu\text{g}/\text{ml}$; 连续3年以上接

表2 流脑A群多糖菌苗免疫后不同时间的血清抗体水平

(年)	免后时间		1~7岁		8~16岁	
	例数	抗体GM($\mu\text{g}/\text{ml}$)	例数	抗体GM($\mu\text{g}/\text{ml}$)	例数	抗体GM($\mu\text{g}/\text{ml}$)
1	10	1.40	19	18.39		
2	21	4.66	7	13.47		
3	24	5.33	33	11.69		
4	18	4.62	38	9.33		

种者72人, 血清抗体GM为 $7.84\mu\text{g}/\text{ml}$ 。结果表明, 菌苗连续接种并不能使血清抗体水平明显升高, 而且连续接种的次数不同, 其抗体水平也无明显差别。提示短期内重复菌苗接种, 其意义可能不大。

三、流脑患者病后不同时间血清抗体水平消长情况的观察结果: 应用SPRIA测定流脑患者病后1~5年的血清抗体水平, 结果表明(表3), 患者病后5年内的血清抗体稳定于 $8\sim10\mu\text{g}/\text{ml}$ 之间。如同菌苗免后的情况一样, 小年龄组的抗体水平低于大年龄组。不同的是, 大年龄组的抗体水平较为稳定。提示菌苗接种与自然感染后的血清抗体消长情况, 可能有所不同。

表3 流脑患者病后不同时间的血清抗体水平

(年)	病后时间		1~7岁		8~16岁	
	例数	抗体GM($\mu\text{g}/\text{ml}$)	例数	抗体GM($\mu\text{g}/\text{ml}$)	例数	抗体GM($\mu\text{g}/\text{ml}$)
1	5	6.98	8	10.32		
2	12	8.04	17	10.95		
3	15	6.95	22	10.74		
4	26	7.85	33	11.47		
5	15	11.09	44	9.92		

四、SPRIA在流脑临床血清学诊断中的应用效果: 应用SPRIA、IHA、BCA和ELISA四种方法, 平行测定10例经血清学诊断为“乙脑”的患者、26例A群流脑患者和94例临床诊断为流脑患者的双份血清抗体, 以评价各种方法的特异性和灵敏度。结果表明, 四种方法检测乙脑患者的双份血清, 其抗体水平很低, 且

恢复期血清抗体均无出现4倍增长者。其中SPRIA检测的抗体GM分别只有 $1.69\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 $1.88\mu\text{g}/\text{ml}$, 说明四种检测方法均有良好的特异性。对26例证实为A群流脑患者的血清抗体检测结果, 四种方法的阳性检出率均在80%以上, 其中SPRIA和BCA的阳性率分别高达96.15%和92.30%。对94例临床诊断为流脑的患者双份血清检测结果, 显示SPRIA比其他方法具有更高的灵敏度(表4)。

表4 四种方法对临床诊断为流脑的患者血清学
诊断敏感性的比较

方 法	例 数	第二相抗体增长倍数			阳 性 检 出 率 (%)
		不 增 长	2 倍 增 长	>4 倍 增 长	
①IHA	94	20	7	67	71.27
②ELISA	94	13	10	71	75.53
③BCA	94	11	8	75	79.78
④SPRIA	94	2	0	92	97.68

① : ④ $\chi^2=18.38$, $P<0.005$ ① : ② $\chi^2=0.38$, $P>0.05$
 ② : ④ $\chi^2=13.13$, $P<0.005$ ② : ③ $\chi^2=0.76$, $P>0.05$
 ③ : ④ $\chi^2=8.40$, $P<0.005$ ① : ③ $\chi^2=2.45$, $P>0.05$

讨 论

一、关于健康人群血清抗体水平的监测问题: 由于脑炎球菌的隐性感染或其他异种共同抗原的刺激, 正常人群血清中普遍含有抗A群流脑菌多糖抗原(APS)的抗体, 此种抗体具有杀菌活性。因此, 检测人群的血清抗体水平, 可以了解该人群对流脑菌的易感性, 这对于流脑的疫情预测和菌苗的合理使用, 都具有重要意义^[10]。七十年代, 国外已把防止流脑菌感染和发病所需的最低血清抗体水平, 定为总特异抗体 $2\mu\text{g}/\text{ml}$ ^[11,12], 其中IgG抗体约为 $1.5\mu\text{g}/\text{ml}$, 相当于杀菌抗体滴度1:6~1:8^[9,13]。1985年我们在国内首次建立了可以定量检测流脑各类特异抗体的固相放射免疫分析法, 对北京地区正常人群血清流脑特异IgG抗体检测时发现, 出生后5~10个月, 抗体降至最低点(GM $0.47\mu\text{g}/\text{ml}$, n=16), 以后逐渐

升高, 至16岁以后平均可达 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ 左右。其中 $\geq 1.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 者占94.8%~100.0%^[9]。我们对各监测点健康人群血清抗体的监测结果表明, 1~16岁以上各年龄组的抗体水平随年龄的增加而升高。特异IgG抗体GM为 $9.89\sim 16.91\mu\text{g}/\text{ml}$, 为上述正常人群血清抗体水平的2~3倍。原因显然同其中部分人群已经接种过流脑多糖菌苗有关, 这从一个侧面反映菌苗接种的有效性。值得注意的是, 1~5岁年龄组抗体达到保护水平者($\geq 2\mu\text{g}/\text{ml}$), 只占80%左右, 不难估计其中未经菌苗接种者的抗体水平可能更低。提示该年龄组人群对流脑菌仍有较高的易感性, 应予密切关注。

二、关于菌苗的免疫持久性和复种问题: 国内外多数研究资料证明, A群多糖菌苗对3岁以下的婴幼儿的免疫效果较差, 一般只维持半年, 对4~5岁以上人群的免疫效果, 一般则可维持2~3年或3~4年^[13,14]。但国外也有人报道, 13岁人群经A群多糖菌苗接种后, 其血清抗体水平明显高于对照组达8~10年之久^[14]。我们应用SPRIA检测结果, 则证明菌苗免后抗体水平升高, 至少可维持4年, 免后5年以上的情况, 尚有待今后进一步观察。

一般认为, 菌苗复种可以提高血清抗体水平, 但我们对连续2~3年接种过菌苗者的血清抗体检测结果, 发现其抗体水平并无明显升高, 而且连续接种的次数不同, 其抗体水平也无显著差别。该地区的流行病学资料证明, 在菌苗普种后3年内未复种者, 流脑发病率率为 $1.14/10$ 万, 连续复种者发病率率为 $2.74/10$ 万($\chi^2=0.84$, $P>0.25$)。提示在短期内重复接种的意义可能不大。

三、关于流脑临床血清学诊断的标准问题: 流脑患者的血清抗体, 一般在发病一周后开始升高。测定血清抗体可以得到特异性诊断的结果, 具有追溯诊断和流行病学诊断的意义。目前国内常用的几种血清学诊断方法, 都以恢复期血清抗体有4倍增长作为阳性诊断的标准, 但是, 由于个体间免疫反应性的差异或

者发病日期不准确，以致有时二相抗体水平很高，仍未达到4倍增长的要求。国内曾报道16例流脑患者发病第3天的BCA滴度GMT为2.48，第7天为74.66，但第3天时有2例的血清抗体分别已达1:64和1:128^[15]。显然其二相抗体难以有4倍增长。我们的检测结果也有类似情况，例如有1例的急性期血清抗体已高达422.3μg/ml，而恢复期（距第一次采血7天后）为1448.5μg/ml。二相抗体水平如此之高，即使未达4倍增长，但作出阳性诊断应不成问题。由此看来，在第一相抗体水平明显升高的基础上，要求二相抗体再有4倍以上的增长才能作出诊断，有时难以达到，而且也不太合理。鉴于以上情况，我们将正常人群血清抗体的平均水平（5μg/ml）作为“正常值”，凡恢复期血清抗体有4倍增长或两相血清任何一相的抗体水平≥4倍正常值者，均可诊断为阳性。据此标准，对26例有细菌学证据的A群流脑患者血清检测结果，25例的恢复期血清均>90μg/ml，约为“正常值”的20倍以上，阳性检出率达96.15%；94例临床诊断为流脑的患者的恢复期血清，抗体在22.59~240μg/ml以上者92例（97.87%）。其中89例的抗体均在30μg/ml以上。测定10例乙脑患者血清中的流脑A群特异IgG抗体，两相GM分别只有1.69μg/ml和1.88μg/ml，显示SPRIA在流脑临床血清学诊断中具有良好的敏感性和特异性以及上述诊断标准的可行性。

以上各项研究结果初步说明，SPRIA同其他几种常用血清学方法相比，具有更好的敏感性和特异性，而且可以精确定量和易于标准化，在流脑的防治和科研工作中具有良好的实用价值。

Application of SP-RIA in the Antibody Surveillance and Serologic Diagnosis of Epidemic Cerebrospinal Meningitis Chen Xianhui, et al., Institute of Epidemiology and Microbiology, Chinese Academy of Preventive Medicine, Bei-

jing, 102206

This paper reports the effectiveness of SP-RIA in the antibody surveillance on population, the observation of immune persistence after vaccination with Group A Neisseria meningococcal capsular polysaccharide vaccine, as well as its use in the serological diagnosis of Neisseria meningitis. In comparison with other assays used presently, SP-RIA might be better and more sensitive for quantitative assay of the antibody. The results showed the practical value of SP-RIA in the study of epidemiology and serology of epidemic cerebrospinal meningitis.

Key words Neisseria Meningitis
SP-RIA Serologic diagnosis

参 考 文 献

- 1 Makela PH, et al. Polysaccharide Vaccines of Group A Neisseria meningitidis and Haemophilus influenzae Typb: A Field Trial in Finland. *J Infect Dis*, 1977, 136: S43.
- 2 Brandt BL, et al. A radioactive antigen-binding assay for Neisseria meningitidis polysaccharide antibody. *J Immunol*, 1972, 108: 913.
- 3 Zollinger WD, et al. Analysis of parameters affecting the solid phase RIA quantitation of antibody to meningococcal antigens. *Ibid*, 1976, 117: 1788.
- 4 Gruss AD, et al. A method for a RIA using microtiter plates allowing simultaneous determination of antibodies to two non crossreactive antigens. *Immunochemistry*, 1978, 15: 777.
- 5 王健夫, 陈贤辉等. 定量检测A群脑膜炎奈氏菌荚膜多糖抗体的固相放射免疫分析法, 中国免疫学杂志, 1987, 3(2): 73.
- 6 刘勤, 等. 应用ELISA检测A群流脑菌多糖抗原的IgM和IgG抗体. 中华微生物学和免疫学杂志, 1982, 2(5): 316.
- 7 杨天英, 等. 用ELISA测定流脑A群抗体的研究. 全国流行性脑脊髓膜炎防治学术会议资料汇编, 1983, P184.
- 8 全国流脑杀菌抗体标准化研究协作组, 流脑杀菌抗体测定操作细则(试行). 全国流行性脑脊髓膜炎科研防治论文集, 1986, P116.
- 9 王健夫, 陈贤辉等. 应用固相放射免疫分析法定量检测A群脑膜炎奈氏菌荚膜多糖抗体. 中国公共卫生, 1987, 6(6): 362.

- 10 胡真. 流行性脑脊髓膜炎的菌苗预防. 全国流行性脑脊髓膜炎防治学术会议资料汇编, 1983, P347.
- 11 Lepow ML, et al. Persistence of antibody following immunization of children with Group A and C meningococcal polysaccharide vaccine. Pediatrics, 1977, 60: 673.
- 12 Geld R, et al. Kinetics of antibody production to Group A and Group C meningitis polysaccharide vaccines administered during the first six years of life. J Infect Dis, 1979, 140: 690.
- 13 胡真. A群脑膜炎菌多糖菌苗接种后免疫反应性及流行病学效果四年观察. 全国流行性脑脊髓膜炎科研防治论文集, 1986, P153.
- 14 Makela PH: Group A meningococcal polysaccharide Vaccine (A review). Antonie Van Leeuwenhoek, J Microbiology, 1986, 52(3): 219.
- 15 许新强, 等. 流行性脑脊髓膜炎抗体与发病关系的研究. 全国流行性脑脊髓膜炎科研防治论文集, 1986, P123.

(收稿: 1993-03-26 修回: 1993-06-28)

一起小学校内的甲型肝炎爆发流行

顾冰¹ 吕作芝¹ 宋淑香² 何志强¹ 周德水¹ 刘丹¹ 佟伟¹ 付志夫¹

1991年10月8日至1992年1月3日, 大连市大同小学发生甲型肝炎病人78例。经临床、血清学诊断、水源检测及流行病学调查, 证实为一起甲型肝炎爆发流行。现将调查结果报告如下。

流行概况: 大连市大同小学有小学生850名, 临时中学生400名, 共28个班级。校内设水井一口, 井深30米, 水深25米, 其直径平均为1.5米。此水主要用于学生洗手、清扫等用, 但也常被学生饮用。在井的西侧不足10米处为本校化粪池, 地势较高。

全校共发生甲型肝炎78例, 发病率为6.24%, 中学发病率为10.25%, 小学发病率为4.25%; 男性发病68例, 占发病总数的87.18%, 女性10例, 占12.82%; 病例分布于23个班级。首发病例为中学14岁男孩, 发病时间为1991年10月8日。自10月19日起发现第二例病人, 并在15天内迅速增加为8例, 形成第一个发病高峰, 此后20余天内只有散在病例发生。至11月28日进入第二个发病高峰, 发病例数达58人, 整个流行过程历时85天,

临床特征: 78例患者中, 发热占51.28%、乏力占

75.64%、恶心占87.18%、厌油占55.13%、纳减占85.90%、呕吐占61.54%、腹胀占28.21%、溏便占21.79%、肝区不适占50.00%, 尿黄占87.18%、巩膜黄染占61.54%、肝大占33.33%。无死亡病例。

实验室检验: 78例患者中, SGPT增高者为100%, TTT增高者占80.77%, 黄疸指数增高者占92.31%。对73名患者做抗-HAV IgM检测, 阳性者70例, 阳性率为95.89%。

井水HAV检测: 浓缩井水将所提取的核酸在中国预防医学科学院病毒研究所肝炎组和肠道组协助下, 分别做了甲肝病毒核酸分子杂交试验, 结果均为可疑; PCR试验结果为阳性。

爆发原因分析: 首例病人发病后, 与其密切接触的8人陆续发病, 形成第一个发病高峰, 而后由于这8个人的粪便排入化粪池污染水源, 又形成了第二个发病高峰, 构成一起小学校内的甲型肝炎水型爆发流行。

1.大连市卫生防疫站, 116021; 2.大连市西岗区防疫站