

应用羧化胶乳凝集试验诊断人、畜布鲁氏菌病的研究

鲁齐发¹ 王晓英¹ 郝宗宇² 宋桂梅³ 张 伟¹
郭宝岚¹ 李兰玉¹ 冯立忠⁴ 严泽民⁵ 张殿柱⁶

摘要 应用以化学交联法制备的布鲁氏菌16M 抗原-羧化胶乳制剂的羧化胶乳凝集试验(LAT)、试管凝集试验(SAT)、虎红平板凝集试验(RBPT)以及酶联免疫吸附试验(ELISA)、半胱氨酸凝集试验(CYT),对在四省布鲁氏菌病疫区收集的部分人、畜血清中布氏菌抗体进行对比检测。结果表明, LAT 较之 RBPT 具有更高的特异性; 与 SAT 相比, 无论阳性或阴性符合率均较一致。另外, LAT 可检测血清中 IgG、IgM 两类布氏菌特异性抗体。因而本试验对人、畜布病的诊断具有特异、敏感和简便的优点, 更宜在基层推广应用。

关键词 布鲁氏菌病 羧化胶乳凝集试验 抗布鲁氏菌免疫球蛋白 G、M 抗体

Study on Carboxylated Latex Agglutination Test for Serodiagnosis of Human and Animal Brucellosis Lu Qi-fa, Wang Xiao-ying, Hao Zong-yu, et al. Institute of Epidemiology and Microbiology, Chinese Academy of Preventive Medicine, Beijing 102206

A carboxylated latex agglutination test was developed for detecting antibodies in sera from 372 human and animal brucellosis. Of which 94 sera from human was detected by ELISA. The latex was chemical-linked with *B. melitensis* 16M and extracted with 5% NaCl. Comparing with RBPT in detecting antibodies with brucellosis, the LAT was more stable and specific; the positive or negative results detected by LAT were consistent with those by SAT and ELISA.

LAT may detect both IgG and IgM antibodies to *Brucella* in Human and animal. It is concluded that LAT is stable, specific, sensitive and practicable for the serodiagnosis of brucellosis.

Key words Brucellosis Carboxylated latexagglutination test IgG and IgM antibodies to brucella

为了进一步验证 LAT 在诊断人、畜布鲁氏菌病(布病)上的实用性,我们通过协作,分别从河南、黑龙江、山西及青海四省现场点获得了各类型布病患者、监测点人群以及布鲁氏菌(布氏菌)感染的羊、牛等血清372份,应用 LAT 等5种血清学方法进行了检测和对比分析,进一步说明 LAT 在人、畜布病血清学诊断上具有很高的实用意义,宜于推广应用。现将主要结果分述如下。

材料与方法

一、待检血清的收集:

1. 布病病人血清:此包括急性、慢性期

布病患者及部分恢复期患者的血清,主要来源于河南、黑龙江省部分布病疫区。大部分患者具有发热(主要是不规则发热及低热)、关节疼痛、乏力等症状。

2. 布氏菌感染羊、牛等血清:主要来源于河南、山西及黑龙江等省部分布病疫区及国营农场,并且从部分牛中曾分离出牛种布氏菌。

1 中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所 102206 北京市 2 河南省地方病防治研究所 3 黑龙江省卫生防疫站 4 山西省卫生防疫站 5 青海省地方病防治研究所 6 青海省兽医总站

本项研究为国家自然科学基金资助项目

3. 布病疫区监测点人群血清：从山西省布病疫区监测点人群采集，这些人员无疑似布病的临床表现。

二、检测方法：

1. LAT：所用羧化聚苯乙烯胶乳、1-乙基-3-(3-二甲氨基-丙基) 碳二亚胺盐酸盐(EDC) 及6-氨基己酸均购自军事医学科学院。布氏菌16M 蛋白抗原及布氏菌16M 抗原-胶乳制剂由本所布病室按常规制备^[1]，检测方法及其判定结果见文献 [2]。

2. 其他血清学方法：SAT、RBPT、ELISA 及 CYT 均按常规操作及判定结

果^[3]。

结 果

一、对人、畜布病血清检测结果的比较：对从河南、黑龙江及山西三省部分布病疫区获得的共计372份人、畜血清，经用 LAT、RBPT 及 SAT 三种方法检测的结果见表1。从人、畜血清的阳性率而言，布氏菌感染的牛、羊，三种方法的检查结果基本一致。但从总体上看，RBPT 的阳性率 (33.32%) 高于 SAT (27.96%) 及 LAT (29.83%)，LAT 与 SAT 的结果较为一致。

表1 三省人、畜布病血清学试验结果

省 份	血清来源	血清份数	SAT		RBPT		LAT	
			+	%	+	%	+	%
河南省	布病患者	162	50	30.86	65	40.12	54	33.32
	布氏菌感染羊	42	27	64.29	28	66.67	29	69.04
	市售猪	47	0		2	4.26	2	4.26
山西省	监测点人群	82	3	3.66	6	7.32	4	4.88
	布氏菌感染牛	12	12	100.00	12	100.00	12	100.00
黑龙江	布病患者	27	12	44.44	11	40.74	10	37.04
合 计		372	104	27.96	124	33.32	111	29.83

二、LAT、RBPT 与 SAT 符合率的比较：为了进一步探讨上述两种平板凝集试验在检测人、畜血清布氏菌抗体与 SAT 的符合程度，现将三种试验的检测结果另行统计于表2。从表2结果可知，LAT 与 SAT 的阳性、阴性符合率分别为 92.31% (96/104)、94.40% (253/268)；RBPT 与 SAT 的阳性、阴性符合率分别为 83.65% (87/104)、86.19% (231/268)。我们分别对 SAT 与 LAT 以及 SAT 与 RBPT 进行了统计学处理。

表2 LAT、RBPT 与 SAT 符合情况比较

	LAT			RBPT		
	+	-	合计	+	-	合计
SAT						
+	96	8	104	87	17	104
-	15	253	268	37	231	268
合计	111	261	372	124	248	372

SAT 与 LAT 的相关性： $\chi^2 = 264.96$ ， $P < 0.01$ ；其差异性： $\chi^2 = 1.56$ ， $P > 0.05$ ；

SAT 与 RBPT 的相关性： $\chi^2 = 161.36$ ， $P < 0.01$ ；其差异性： $\chi^2 = 6.68$ ， $P < 0.01$ 。

经统计学处理，结果清楚地说明，LAT、RBPT 与 SAT 均高度相关，但 SAT 与 LAT 的差异性明显低于 SAT 与 RBPT，LAT 与 SAT 的检测结果更较为一致。

三、其他血清学试验结果：为了解 LAT 检测的抗体类型，我们对部分布病患者及布氏菌感染牛血清分别做了 ELISA (检测 IgG 型抗体) 及 CYT 的对比观察。检查结果表明，在94份布病患者血清中，LAT 与 ELISA 的阳性率分别为 21.28% (20/94) 及 24.47% (23/94)，说明此两种试验的阳性率基本一致；对从疫区获得的12份布氏菌感染的牛血清，用 0.2mol/L 半胱氨酸盐酸盐处理前及处

理后,分别用LAT检测,其结果均为阳性反应,说明LAT可检测布氏菌IgG类抗体。

讨 论

一、关于LAT对人、畜布病血清学诊断的意义:有资料表明, RBPT可用于布氏菌感染的人、牛、羊、猪及鹿等的检测,但由于所用的抗原,其制备方法不尽相同,未标化,检测对象有异,检测结果与SAT结果的吻合率存在一定的差异^[4]。本次我们用SAT、RBPT及LAT对共计372份布氏菌感染的人、畜血清检查结果表明, LAT与SAT的符合率(92.31%)明显高于RBPT与SAT的符合率(83.65%)。加之, LAT与RBPT同属平板凝集试验,同样具备检测方便、出结果快速等优点,因此, LAT更宜在基层推广应用。

二、关于LAT检测布氏菌抗体的免疫球蛋白类型:据文献资料表明, SAT主要检测的是布氏菌IgM类抗体,其次是IgG₂类抗体; CYT则是检测IgG类抗体^[4]。本次我们对部分布病患者及布氏菌感染的牛血清抗体检测的对比结果清楚地说明, LAT除与SAT具有很高的符合率外,对布氏菌感染牛血清,在用半胱氨酸盐处理前及处理后,分别用LAT检查均为阳性,说明LAT除能检测布氏菌IgM类抗体,也可用于检测布氏菌IgG类抗体,也进一步证实LAT用于人、畜布病血清学诊断,其特异性及敏感性均可。

三、关于用化学交联法制备布氏菌抗原-胶乳制剂的稳定性:最早我们用LAT检测

人、畜布病血清抗体,是采用常规物理吸附法制备的布氏菌抗原-胶乳制剂进行检测的。据结果表明,这种制剂无论保存在常规或普通冰箱(4℃)条件下,均易失活,其稳定性较差。其后,我们用化学交联法制备布氏菌抗原-羧化胶乳制剂,对布氏菌感染牛、慢性期布病患者以及布氏菌感染的小鼠、豚鼠及家兔血清抗体检测均获得较好结果^[1]。在此基础上,我们将此批抗原制剂保存在普通冰箱条件下,至少在一年的时间里,多次与不同感染状态的人、畜血清进行检测,均获得了相应的一致结果,表明这种抗原制剂具有良好的稳定性。

这里尚需说明一点,现我们制备的布氏菌抗原胶乳制剂,是用高盐提取的布氏菌16M蛋白性抗原与羧化胶乳化学交联而成的,因此除具备保存期长、稳定等优点外,随着制备的布氏菌抗原质量的提高,对用LAT检测的效果还可进一步提高。

参 考 文 献

- 1 鲁齐发, 王晓英, 郭宝岚, 等. 一种用于人畜布鲁氏菌病诊断的羧化胶乳凝集试验. 中华流行病学杂志, 1992, 13(5):291.
- 2 鲁齐发, 王晓英, 郭宝岚, 等. 胶乳凝集试验应用于布鲁氏菌病诊断的研究. 中华流行病学杂志, 1989, 10(5):295.
- 3 姜顺求主编. 布鲁氏菌病防治手册. 北京: 人民卫生出版社, 1984. 33~35.
- 4 刘秉阳主编. 布鲁氏菌病学. 北京: 人民卫生出版社, 1989. 217~226.

(收稿: 1994-06-14 修回: 1994-07-15)