

25只, 东方田鼠1只和普通鼯鼠1只。在这516只兽肺冰冻切片中, 用IFAT发现5只黑线姬鼠(东北亚种)自然携带HFRS病毒抗原。

在太阳公社本病病后11年的患者血清中仍然存在较高滴度(>1:320)HFRS抗体。

太阳公社健康人群171份血清中查出两人存在HFRS抗体。

### ABSTRACT

In Nov. 1981, 227 heads of *Rattus norvegicus*, 98 of *Mus musculus* 149 of *Apodemus agrarius*, 25 of *Micromys minutus* and one of *Microtus fortis* were captured in Taiyang Commune, Yianji County, Jilin Province. Their lung samples were made frozen-thin

sections and tested with IFAT. The results showed that five of *A. agrarius mantohuticus* carried HFRS-antigen. Furthermore, 172 samples of sera from the same commune were tested for HFRS-antibody Antibody with titre higher than 1:320 was found in one Person who had suffered from HFRS 11 years before. The results of 171 samples of sera from healthy Persons were in the great majority i.e. 169/171 negative.

### 参 考 文 献

1. 陈化新等: 中华流行病学杂志, 3(4): 193, 1982.
2. 严玉辰等: 中国医学科学院学报, 4(2): 67, 1982.
3. 李泽林等: 中华流行病学杂志, 4(4): 205, 1983.
4. 严玉辰等: 中华流行病学杂志, 3(4): 197, 1982.
5. Lee HW et al: J Inf Dis 137(3): 298, 1978.

## 几种用于ELISA的酶标记抗体制备方法和稀释液比较

侯林浦<sup>1</sup> 李之桂<sup>1</sup> 李爱芳<sup>1</sup> 郭长生<sup>1</sup> 禹惠兰<sup>1</sup> 毛富荣<sup>2</sup>

酶联免疫吸附试验法(ELISA)由于具有敏感、特异、简便、便宜、易于自动化操作、不需贵重仪器、适于现场及大量标本的检测等特点, 因此在流行病学调查中是一项非常有用的技术。制备良好的结合物和选择适合的稀释液可以降低非特异性反应, 提高ELISA方法的敏感性。为此我们用以下四种方法制备了过氧化物酶兔抗人IgG结合物: ①按1974年Nakane等报告的过碘酸盐法, 简称原法。②按1981年骆加理等报告的方法, 简称快速法。③按1978年Wilson等报告的方法, 简称Wilson法。④我们对Wilson法稍作改进, 即首先将5mg的辣根过氧化物酶溶于pH9.6 0.05M碳酸盐缓冲液1.25ml中, 加入25%戊二醛0.1ml, 37°C放2小时。再加入0.1M过碘酸钠0.25ml室温下30分钟, 用pH4.4, 1mM醋酸盐缓冲液透析过夜后加入0.2M pH9.5碳酸盐缓冲液25μl, 并与1ml抗体合并室温搅拌2~3小时。然后加入4mg/ml的硼氢化钠0.125ml, 于4°C放2小时。再用等体积饱和硫酸铵沉淀纯化。这方法简称“改进法”。

用上述四种方法制备的结合物, 所用酶量、抗体量相同, 并使所得结合物体积相同, 为比较结合物质量, 重复三次试验。将四种方法制备的结合物均作1:25,600稀释进行检测。阳性标本检测值减去阴性值后用“改进法”制备的结合物OD值为0.44, Wilson

法为0.35, 原法为0.25, 快速法为0.18。测定四种方法制备的结合物的比值(403mμOD/280mμOD)和酶结合率, “改进法”制备的结合物其比值为0.3, 酶结合率为76.9%, Wilson法的比值为0.28, 结合率为71.2%, 原法比值为0.25, 酶结合率为52.3%, 快速法比值为0.13, 酶结合率为27.8%, 通过质量比较可以看出我们的改进法制备的用于ELISA的酶标抗体较好。

我们用间接法检测钩体病人血清中IgM抗体比较了以下四种稀释液: ①常规应用的含0.05% Tween 20的pH7.4的磷酸盐缓冲液(PBST)。②在上述PBST中加入4%的分子量为6,000的聚乙二醇。③在常规用的PBS.T中加入0.5M NaCl。④在常规应用的PBS.T中加入0.01%的NaN<sub>3</sub>。

以常规用的PBS.T为标准与其它三种稀释液进行了比较, 结果显示在稀释液中加入聚乙二醇后阳性及阴性标本的OD值均有提高, 因而不能提高阳/阴比值。加入NaN<sub>3</sub>后阳性及阴性标本OD值均有下降, 也不能提高阳/阴比值。而加入NaCl后的OD值阳性标本虽有下降, 但阴性标本下降更明显, 因而提高了阳/阴比值, 故可提高敏感性。

- 1 中国医学科学院流行病学微生物学研究所
- 2 云南省德宏州(芒市)卫生防疫站