

酶标葡萄球菌A蛋白ELISA法定量检测 人群血清白喉抗毒素抗体水平的研究

第四军医大学 黄其全 薛采芳 李恩善 汪美先

为配合白喉的预防及流行病学调查的实际需要，我们用酶标SpA-ELISA法定量检测了人群血清白喉抗毒素抗体水平，与间接微量血凝试验（IMH）和锡克氏试验对比，并分析了其实际应用的意义。

一、材料和方法：待检血清是214名健康青少年经白喉类毒素免疫前及免疫后10、40、90和180天五次采血共1,070份。以含白喉抗毒素抗体的混合正常人血清，其抗体含量用家兔皮内中和试验测得为2国际单位（IU）/毫升，作阳性对照血清。以IMH滴度为零及ELISA法OD值约为零的正常人血清为阴性对照血清。

用ELISA间接法检测，用1340絮状单位/毫升的精制白喉类毒素，稀释成1微克/毫升（蛋白含量）作包被抗原。酶标SpA及马抗人IgG均为自制，全部待检血清均作单一稀释度（1：25）用酶标SpA（1：16000）检测，其中154份同时加用酶标马抗人IgG作对照法检测。

试验中IMH操作方法及锡克氏试验方法均按文献。

二、结果：

1. OD值与白喉抗毒素抗体IU值的换算：用已知含白喉抗毒素抗体2IU/毫升的阳性对照血清作标准曲线。自1：25起系列稀释，各稀释度抗体含量为0.08~0.0003125IU/毫升。以各稀释度的抗毒素抗体浓度（x）与其反应OD值（y）绘制曲线，用试配法选择曲线转换公式，当 $x' = x/25$ （因血清均作1：25稀释检测）、 $y' = \lg(k - y)$, $k = 1.3195$ 时， x' 与 y' 的关系可呈直线相关。由此求出 x' 与 y' 的直线方程式。将上述数据换算式代入，即得由OD值（y）求抗毒素抗体国际单位值x的方程式：

$$x = \frac{-\lg(1.3195 - y) - 0.131437354}{30.96382739} \times 25$$

曲线拟合的相关指数 $R^2 = 0.999$ 。由上述方程计算出由OD值查抗毒素抗体浓度（IU/ml）的换算表，各待检血清白喉抗毒素抗体含量，可直接由表查出。

2. 血清抗毒素抗体临界值：本试验中当ELISA OD值=0.1，IMH滴度=1：12时，分别相当于每毫升血清中抗毒素抗体为0.037及0.031IU，因此以此OD值和滴度作为锡克氏试验阳性和阴性，以及血清抗毒素抗体保护性的临界值。

3. ELISA与IMH检测结果对比：对965份血清同时用ELISA和IMH两法进行检测，根据统计学处理两法正相关非常显著，两法相差不显著。结果见附表：

附表 ELISA和IMH两法检测值
(IU/ml)比较

标本采集时间	例数	ELISA		IMH	
		平均值	标准差	平均值	标准差
免疫前	185	0.054	0.147	0.049	0.107
免后10天	152	0.260	0.538	0.246	0.482
免后40天	202	0.256	0.493	0.244	0.451
免后90天	212	0.166	0.359	0.164	0.343
免后180天	214	0.120	0.313	0.132	0.305

4. ELISA与锡克氏试验结果对比：免疫前及免疫后40天共有388人次经两法检测，有255例两试验结果符合占65.7%。

5. 两种结合物检测结果对比：用酶标SpA和酶标马抗人IgG两种结合物同时检测154份免疫后90天采的血清，结果正相关非常显著。

6. ELISA重复性、敏感性及特异性：重复性试验对同一份阳性血清在相同试验条件下，不同批次测定共85次，各次OD值平均为0.917，标准差0.120，变异系数为13.07%。敏感性试验表明对血清中白喉抗毒素抗体最小检出量为0.00167IU较IMH敏感1.56倍，用阻断试验和各种交叉及取代试验证明ELISA法具有特异性。

三、讨论：以往的各种血清学方法中待检血清均需作系列稀释才能换算出其所含白喉抗毒素抗体的IU值，操作复杂。本文探讨了用标准血清制备标准曲线，

求出回归方程的定量算法,待检血清单一稀释度反应的OD值,只要代入方程,就可换算出其所含白喉抗毒素抗体的国际单位值,减少了工作量,提高了实验的稳定性和可重复性。

本试验结果提示酶标SpA-ELISA法检测人血清白喉抗毒素水平与IMH一致性良好,并观察到其敏感性略高于IMH,重复性明显优于IMH,而且操作简便,非特异性影响因素少,血清用量小,用前不需

预处理,结果判定客观及试剂稳定,故更适用于大规模检测。

酶标SpA具有使用范围广泛,性质稳定,特异性强等特点,与马抗人IgG比较,说明酶标SpA可取代第二抗体应用于ELISA中,值得推广应用。

(西安市防疫站侯瑞兰,本校王海涛,陈莉等同志参加部分工作,特此致谢)

一起蜡样芽胞杆菌食物中毒爆发

湖北省沙市市卫生防疫站 朱全组

1981年8月8日,我市发生一起1091人因吃米粉引起的食物中毒。经调查和病原学鉴定,证明是由蜡样芽胞杆菌所引起的,现报告如下。

一、流行特征:1981年8月7日我市某米粉厂生产并出售了一批米粉,8月8日上午七时半,某厂首次报告67名职工夜餐吃米粉中毒。九时左右,相继有12个单位报告有中毒病例发生,发病达到高峰,共838人,当日内发病达1091人。患者最小年龄1岁零两个月,最大75岁。全市禁止食用某厂剩余米粉后,发病人数停止增加。

二、临床表现:潜伏期最短1小时,最长8小时,其中76.86%的病人集中在1~2小时之间发病。临床症状为起病急,多数先有恶心、胃部不适,继而呕吐、头晕、心慌、四肢无力及浮肿,呕吐者占发病总数的84.27%,腹泻占13.86%,发热($38^{\circ}\text{C}\sim 39^{\circ}\text{C}$)占14.54%。病程最短者一天,长者6天,平均1.5天。病重住院121例,经补液等对症治疗,无一例死亡,

三、细菌学检验与卫生学调查:于发病后四小时赴现场采集早餐剩余米粉16份,患者呕吐物14份,大便2份,共32份样品。将样品加10倍量灭菌盐水研磨,再把研磨物经普通琼脂平板和蛋黄平板18~24小时培养,挑取可疑菌落涂片染色镜检,为革兰氏阳性大杆菌,芽胞多位于菌体中部,呈短链排列。剩米粉16份,阳性16份;呕吐物14份,阳性14份;大便2份未检出。米粉芽胞杆菌数量为每克 8.5×10^5 个。在米粉厂米池、磨浆、出浆、出粉、发售等处采集空气样5份,检出蜡样芽胞杆菌2份;米池、磨桶、传送带、刮刀等设备上采样11份,检出3份。检出的蜡样芽胞杆菌作培养观察和生化试验,其特性与从呕吐物,剩余米粉中检出者相同。

从流行病学和卫生学调查可判定,此次中毒为某米粉厂8月7日下午生产的一批受到蜡样芽胞杆菌污染的米粉所致。

(湖北省沙市市卫生防疫站检验科参加了部分工作)

一起钩端螺旋体病爆发流行的调查

湖北省公安县卫生防疫站 曾宪章

既往我县未见有钩体病病例报告。1982年7月末至8月初,爆发了一次本病流行,现将结果报告如下:

此次爆发流行地点为新田大队,流行方式为稻田型。共发病85例(38.04%),死亡2例,病死率为2.7%。临床表现以流感伤寒型为主计50例,占病人总数58.8%;其次是肺出血型,有35例占41.17%。少数病人小便有少许白血球和管型,全部病人均有下疫水双抢史。急性期病人血培养查出钩端螺旋体,为黄疸出

血群、黄疸出血型。

通过对疫区及时采取相应预防措施,灭鼠和对下疫水双抢未发病劳动力采取必要预防治疗措施和个人防护等综合办法,对控制发病收到满意效果。

(参加调查还有万曙光、田友和、陈仲华、陈启荣。钩体病病原体和血清学鉴定由荆州地区防疫站检验科微生物室协助,特此致谢)