

微量凝集试验在军团病流行病学调查中的应用

赵季文¹ 徐萃瑜¹ 龚 炼² 陈家伟²

1985年6月我们建立了军团病微量凝集试验(MAT)方法^[1]。于同年9月,在广州和粤北乐昌地区,对部分人群用MAT及PHA法进行了血清流行病学调查,结果表明微量凝集试验在军团病流行病学调查中有其实用价值。

材料和方法

一、材料

1. 菌体抗原^[1]: 将Lp1~6型标准菌种,各接种在LCVB琼脂,35℃烛缸培养4天,菌苔混悬于pH6.4的1%福尔马林PBS中,4℃过夜。离心弃上清液,加适量pH6.4 PBS,使OD值0.68(420nm),加福尔马林最终浓度为0.5%。

2. 被检血清: 广州地区我们调查了广州铁路分局养路工及高中学生,在乐昌地区调查了大瑶山隧道施工人员。均采静脉血分离血清,检测Lp抗体。

3. 磷酸缓冲液(PBS): 0.01M pH7.2 PBS作稀释血清标本用,0.01M pH6.4 PBS作稀释菌体抗原用。

二、方法

1. 微量凝集试验^[1]: 被检血清经56℃30分钟灭活后,在V型微量板用pH7.2 PBS倍比稀释,每孔血清量为0.025毫升。每孔滴入抗原量0.025毫升,混匀后置37℃4小时。再放4℃冰箱2小时,在灯光上判定结果,滴度 $\geq 1:16$ 判为阳性。

2. 间接血凝试验: 见文献^[2]。

结 果

一 广东地区各型嗜肺性军团菌感染状况:

1 广州地区调查结果: 132份健康人群MA抗体的分布表明,广州地区以Lp3型抗体阳性率和GMT最高, $\geq 1:64$ 为1.52%。Lp6型抗体次之,其他型则较低(表1)。

表 1 132份血清MA1~6型抗体检测结果

菌型	MA抗体滴度(倒数)							GMT	阳性率(%)
	2	4	8	16	32	64			
1	24	66	39	2	0	1	0	2.26	0.76
2	5	61	50	14	2	0	0	3.03	1.52
3	3	23	32	29	33	10	2	6.91	34.09
4	13	74	38	5	2	0	0	2.48	1.52
5	4	57	48	17	5	1	0	3.33	4.55
6	5	37	48	33	9	0	0	4.08	6.82

养路工Lp3、5、6型抗体阳性率均比高中生高。男性Lp1~6型抗体GMT与女性无明显差别。

2. 乐昌地区调查结果: 检测111份血清Lp1、3、6型抗体水平,结果各型抗体阳性率无明显差别($\chi^2=2.41, P>0.05$)。6型比1型抗体GMT高($F=3.11, P<0.05$),但阳性率不比1型高(表2)。

二、MA与PHA检测Lp1型抗体水平的比较:

从表3看出,两法检测Lp1型抗体阳性

1 南京铁道医学院流行病学教研室

2 广州铁路局中心卫生防疫站

表 2 MA 试验检测111份血清Lp1、3、6型抗体的结果

型别	MA抗体滴度(倒数)								GMT	阳性率(%)
	-	2	4	8	16	32	64	128		
Lp1	13	31	40	16	9	1	1	0	3.62	9.91
Lp3	14	12	46	27	10	1	0	1	4.39	10.81
Lp6	0	14	69	22	4	2	0	0	4.59	5.41

率无明显差别($\chi^2=0.023, P>0.05$), 而 MA 抗体的 GMT 稍高于 PHA ($t=2.91, P<0.01$)。

表 3 两种方法检测347份血清Lp1型抗体水平的结果

方法	抗体滴度(倒数)						GMT	阳性率(%)
	<4	4	8	16	32	64		
PHA	171	96	56	18	6	0	3.54	6.92
MA	74	155	95	20	2	1	4.61	6.63

三、MA 与 PHA 检测 Lp1 型抗体滴度的比较: 两种方法同时检测 572 份血清标本, 滴度基本一致者(完全相同或相差一个滴度)为 88.46%, 广州与乐昌两地观察结果也相同(表 4)。

表 4 两法检测572份血清Lp1型抗体的结果

地区	滴度相同(%)	差一个滴度(%)	差二个滴度(%)	合计
广州	98(43.56)	104(46.22)	23(10.22)	225
乐昌	153(44.09)	151(43.52)	43(12.39)	347
合计	251(43.88)	255(44.58)	66(11.54)	572

四、两法检测 Lp1 型抗体不符合情况的比较: 我们分析了 347 份血清的两种方法检测结果(阳性及阴性)的不符合情况, 两者均阳性 8 份, 均阴性 324 份。MA 阳性而 PHA 阴性者 15 份; PHA 阳性而 MA 阴性者 16 份。说明两者结果不符合情况基本相同。

讨 论

一、对广东地区军团病感染状况的认识: 最近文献报告从冷却塔水中分离出三株 Lp1 型菌株^[3]。但人群中自然感染 Lp 资料未见报道。本调查表明, 广东地区部分健康人群中可

能存在着各型 Lp 感染, 呈现感染多型性特征。但不同地区各有其主要型别, 如广州地区以 3 型为主(阳性率高达 34.09%), 6 型次之; 而粤北 1、3、6 型均较高, 这与李宁等^[4]报告南京地区以 Lp5 型为主, 未发现 3 型感染的结果不相一致。Helms 等^[5]检测 517 人嗜肺 Lp1~4 型 MA 抗体, 以 3 型最高($\geq 1:16$ 为 34%), 这与广州检测结果相近似。据近来报道, 军团菌有 22 个种及 33 个血清型, 对于嗜肺军团菌型别的分布还有待于研究。

二、对 MA 方法的评价: 目前检测 Lp 抗体主要有 IFA、ELISA、PHA 及 MA 等方法^[6,7]。前两种方法虽然特异性、敏感性都很好, 但需要设备条件, 操作技术较复杂, 许多单位不能开展。PHA 方法虽较简单, 但影响因素多, 双醛化血球不易制备, 每次试验都要当天致敏血球, 测定少量标本, 尤其致敏几个型别的抗原深感麻烦。而 MAT 有简易、经济、快速、特异、敏感和重复性好等优点, 适合于基层医疗、防疫部门使用。

摘 要

本文报告了应用微量凝集试验在广东地区现场进行军团病血清流行病学研究的结果。调查表明, 广东地区存在不同型别的嗜肺军团菌感染。广州以 Lp3 型抗体阳性率最高(34.09%), 6 型次之(6.82%), 其他型别较低。乐昌地区 1、3、6 型阳性率分别为 9.91%、10.81% 和 5.41%。MA 与 PHA 比较, 两者抗体阳性检出率相同, 抗体滴度符合率为 88.46%。初步认为 MA 具有简单、经济、敏感、特异、快速等优点, 是一种适合于基层单位进行军团病诊断及血清流行病学调查的有效工具。

Application of Microagglutination Test of Legionellosis in Epidemiological Study Zhao Jiwen, et al. Department of Epidemiology, Nanjing Railway Medical College, Nanjing

This paper reports the results of a serological survey of infection with Legionella in Guang Dong Province by using microagglutination. It was found that there are several serogroups of L. pneumophila

infections in Guang Dong Province.

In Guang-Zhou the positive rate in antibodies against Lp 3 appears the highest (34.09%), Lp6 the next (6.82%), and the others (Lp1, 2, 4, 5) are relatively lower. In Le-chang District, the positive rates of antibodies against Lp1, 3, 6 were 9.91%, 10.81% and 5.41%, respectively. In comparison with PHA, MA was found to be equal in sensitivity and specificity. The rate of coincidence was 88.46%. However, MA assay presents a lot of advantages: rapid, simple, economic and specific. It seems to be a quite effective tool for use in epidemiologic survey of Legionellosis in China.

参 考 文 献

1. 赵季文, 徐萃瑜. 军团病微量凝集试验的研究. 南京铁道医学院学报 1985;4(2):61.
2. 赵季文, 徐萃瑜. 军团病血凝试验及其在抗体检测上的应

- 用. 铁道医学 1984;12(5):257.
3. 唐英春, 等. 从空调系统冷却塔水中分离出军团病杆菌. 中华流行病学杂志 1985;6(4):193.
4. 李宁, 等. 南京地区成人血中嗜肺性军团病杆菌抗体水平调查. 中华流行病学杂志 1984;5(4):193.
5. Helms CM, et al. Background Prevalence of Microagglutination Antibodies to Legionella Pneumophila Serogroups 1,2,3, and 4. Infect Immun 1980;30:602.
6. Edson DC, et al. Prevalence of Antibodies to Legionnaires' Disease: a seroepidemiologic survey of Michigan residents using the hemagglutination test. Ann Intern Med 1979;90(2):691.
7. Stanek G, et al. Indirect Immunofluorescence Assay (IFA), Microagglutination Test (MA) and Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay (ELISA) in Diagnosis of Legionellosis. Zbl Bakt Hyg 1 Abt Orig A 1983;255:108.

在七天内一户发生三例流行性出血热

安徽省阜阳县卫生防疫站 钱经远 张东亮 戴亚安

阜阳县伍明区张某一家五口人, 于1985年11月20~26日七天内先后三人发生流行性出血热。杨某, 女, 61岁, 农民; 张某, 男, 18年, 农民, 杨某之子; 李某, 女, 21岁, 农民, 杨某之女。病后恢复期血清中均检出出血热特异性IgG抗体, 其滴度均为1:1280, 临床确诊为轻型流行性出血热。

该户三人在同一潜伏期内发病, 经家访及回顾性调查, 该村为湖洼地貌, 1985年室内鼠密度调查为24%, 其中褐家鼠占60.9%, 带病毒率11.2%, 高于其它鼠种。该地历来是出血热高发地区。该户居住破旧简易草房, 位于村庄中心, 全家均睡木板床。室内卫生条件较差, 鼠洞、鼠粪随处可见。三人中除1例两手冻伤破溃, 并于发病前一个月用手拿过老鼠有直接接触史外, 其余两例无外伤史及接触史。从室内捕

捉到一只小家鼠, 经间接免疫荧光检测抗原阳性。

流行性出血热传播途径尚不够明确, 目前认为与呼吸道气溶胶传播、破损皮肤感染、经消化道食入病毒和虫螨传播等方式有关。但仍存在着不同认识和意见。由于我们缺乏病原学的依据和实验传播观察, 本组病例传播途径尚不能肯定。根据3例患者几乎同时发病, 符合呼吸道传播发病特点, 且病家室内被鼠粪严重污染, 有形成尘埃颗粒的条件, 除1例有接触史及皮肤破损有可能感染外, 设想最大可能感染于同一疫源灶一鼠排泄物污染尘埃形成气溶胶颗粒吸入传播。但也可能有其它传播方式的参与。因而, 预防中除室内外灭鼠, 还应注意室内清扫时要洒水、戴口罩, 避免与鼠接触以及加强防鼠措施等。