

# 用ELISA法评定麻疹的免疫状态

李国庆<sup>1</sup> 郭可睿<sup>2</sup> 李性善<sup>1</sup> 秦耀洲<sup>1</sup> 高惠敏<sup>1</sup> 许文波<sup>2</sup> 张礼壁<sup>2</sup>

**提要** 本文报告了应用ELISA法和HI法检测麻疹流行前后85对血清的结果。表明：流行前抗体滴度 $HI < 1:2$ 、 $ELISA < 1:100$ 的22例儿童全部发病。另两例，一例 $HI < 1:2$ 、 $ELISA 1:100$ ，一例 $HI 1:2$ 、 $ELISA < 1:100$ 的儿童也发病。5例流行前抗体滴度 $HI 1:2 \sim 1:8$ 、 $ELISA 1:100 \sim 1:400$ 者，3人发病，2人隐性感染。流行前抗体滴度 $HI \geq 1:16$ 、 $ELISA \geq 1:400$ 的56例接触者既未发病，也无抗体升高。两种方法比较表明：当 $ELISA < 1:200$ 为抗体阴性时，ELISA法的灵敏度为100%，特异度为95.2%。ELISA法可以代替HI法进行麻疹的免疫状态监测。

**关键词** 酶联免疫吸附法 麻疹免疫状态 预测值

人群的麻疹抗体水平监测，对于了解群体的免疫状况，预测和预防麻疹的流行非常重要。因此，选用简便，可靠和易于推广的检测方法，对提高监测工作质量有实际意义。ELISA-IgG抗体检测法，可靠稳定，且免除了血凝抑制法对猴血球的依赖，便于基层开展监测工作。为探讨该法的抗体保护指标，本文将ELISA法同血凝抑制法进行了比较。

## 材料与方 法

一、ELISA-IgG法：采用ELISA间接法<sup>〔1〕</sup>，以 $OD \geq 2.1$ 的血清最高稀释度为其效价，分别以 $< 1:100$ 、 $< 1:200$ 为阴性。

二、血凝抑制（HI）法：用常规微量法。但以10%的猴血球处理血清，血凝素用2单位，以完全抑制血清的最高稀释度为终点。血凝抑制效价 $< 1:2$ 为阴性。血凝素由卫生部北京生物制品研究所供给（批号86-1）。

三、血清来源：血清来自河北省满城县郎村，该村1986年3~5月发生麻疹流行。病例流行前血于3月5~7日统一采集，5天后出现第一例病人，其余病人于采血后15~60天内发病。病后血分别于发病后15~65天采集。密切接触者于流行前（3月5~7日）和流行后（5月30日）分两次统一采血，均采微量耳血，标本离心后放 $-60^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存，双份血配齐后统一在

中国预防医学科学院病毒学研究所诊断中心室进行检测。

**病例**：具有发热、呼吸道卡他，有或无科氏斑，典型皮疹，双份血清的HI抗体滴度呈四倍以上升高者。

**隐性感染**：与病例密切接触的同班或同户，流行期内未发病，双份血清HI抗体滴度呈四倍以上升高者。

**未感染者**：与病例密切接触的同班或同户，流行期内未发病，双份血清HI抗体滴度无四倍升高者。

## 结 果

一、观察对象分布和感染类型分类（表1）：观察对象分布在24个居民户和该村小学一年级的两个班。共观察85人，其中病例27人，年龄1~10岁。按住户分类，一户一例者21例，一户两例者3户。按散居儿童和小学生分类，散居儿童19人，小学生8人。密切接触者58人，其中隐性感染2人，均9岁，都是学生。未感染者56人，其中儿童43人，年龄3~11岁；0~4岁组的8人与病例同户，余为病例的同班同学。成人13人，年龄24~35岁。都是病例的母亲。病

1 河北省卫生防疫站

2 中国预防医学科学院病毒学研究所



例与密切接触者有可靠的接触关系和接触时间。

表1 各类感染的居住和年龄分布

年龄组	病家 人口	学校 人口 <sup>a</sup>	病例	未感染		
				隐性 感染 <sup>b</sup>	病家	学校
0~4	26	0	18	0	8	0
5~9	16	56	8	2	0	28
10~14	5	12	1	0	0	7
15~19	1	0	0	0	0	0
20~29	13	0	0	0	6	0
30~	35	0	0	0	7	0
合计	96	68	27	2		56

a 属于病家成员计入病家人口

b 均系学校中的学生

27例病人均无麻疹病史,除2名学生(一例8岁,一例9岁)曾接种过麻苗外,余均否认接种过麻苗。该村1982年曾流行过麻疹,58例密切接触者中自然感染免疫和人工免疫者均存在。

二、观察对象的抗体分布(表2):病例流行前血清抗体滴度HI法 $<1:2$ 、ELISA法 $<1:100$ 者22例

另HI $<1:2$ ,ELISA $1:100$ 的一例;HI $1:2$ ,ELISA $<1:100$ 的一例;HI $1:2$ ,ELISA $1:100$ 的一例;HI $1:8$ 两例,其ELISA分别为 $1:100$ 和 $1:400$ 。

隐性感染者2例,HI均为 $1:8$ ,ELISA均为 $1:400$ 。HI $\geq 1:16$ ,ELISA $\geq 1:1600$ 无感染发生。

表2

85例观察对象两种抗体分布(滴度倒数)

	HI										GMT	ELISA						GMT
	$<2$	2	4	8	16	32	64	128	256	512		$<100$	100	400	1600	6400	25600	
病例	23	2		2							1.2	23	3	1			58.3	
隐性感染				2							8.0			2			400.0	
未感染					5	10	16	11	12	2	83.0			2	17	24	13	5250.2

三、HI法和ELISA法的相关性:将两种方法的流行前抗体值做直线相关分析,相关系数为0.83, $P<0.0005$ ,呈高度正相关,表明两法的一致性很好。

四、ELISA法的灵敏度、特异度和预测值:分别以ELISA $<1:100$ 、 $<1:200$ 为抗体阴性标准,进行灵敏度、特异度和预测值比较(表3,4):当ELISA $<1:100$ 为阴性时,灵敏度为95.7%,特异度为98.4%,阳性预测值为95.7%,阴性预测值为98.4%。表明ELISA法可以代替HI法进行人群麻疹抗体水平监测。将ELISA $<1:200$ 为抗体阴性时,则灵敏度稍有提高(100.0%),特异度变化不大,(95.2%)。由于ELISA $<1:200$ 者中包含了部分HI $\geq 1:2$ 者,即在构成中HI $<1:2$ 者比例下降,阳性预测值降为88.5%,相反阴性预测

值提高到100%。以 $<1:200$ 为阴性标准,可以提高监测结果的可靠性。

表3 ELISA $<1:100$ 为抗体阴性时的灵敏度、特异度、预测值

ELISA( $<1:100$ )	HI( $<1:2$ )		合计
	+	-	
+	22	1	23
-	1	61	62
总数	23	62	85

$$\text{灵敏度} = \frac{22}{22+1} \times 100\% = 95.7\%$$

$$\text{特异度} = \frac{61}{1+61} \times 100\% = 98.4\%$$

$$\text{阳性预测值} = \frac{22}{22+1} \times 100\% = 95.7\%$$

$$\text{阴性预测值} = \frac{61}{1+61} \times 100\% = 98.4\%$$



表4 ELISA < 1:200为抗体阴性时的灵敏度、特异度、预测值

ELISA (<1:200)	HI (<1:2)		合计
	+	-	
+	23	3	26
-	0	59	59
总 数	23	62	85

$$\text{灵敏度} = \frac{23}{23+0} \times 100\% = 100\%$$

$$\text{特异度} = \frac{59}{3+59} \times 100\% = 95.2\%$$

$$\text{阳性预测值} = \frac{23}{23+3} \times 100\% = 88.5\%$$

$$\text{阴性预测值} = \frac{59}{0+59} \times 100\% = 100\%$$

### 讨 论

血凝抑制法是国内目前通用的监测人群麻疹免疫状态的方法。一般认为,HI抗体 < 1:2者,在接触传染源后可发生显性感染, ≥ 1:2即可免于发病。但也有部分作者报告抗体在 1:2~1:8时也有少量显性感染发生 [2, 3]。ELISA 法的抗体临界滴度目前还无统一规定,国外文献报告的也不同 [4, 5], 这与所用的抗原质量有关。本次观察的27例病例中的23例 (85.2%) 发病前HI抗体 < 1:2, 2例 1:2, 2例 1:8。ELISA IgG抗体23例 < 1:100, 3例 1:100, 1例 1:400, 表明HI抗体 < 1:2的确反映了机体的易感性, 而ELISA < 1:100亦同。HI 1:2~1:8, ELISA 1:100~1:400的儿童接触传染源后有部分发病, 两例病前HI抗体 1:8者, ELISA抗体分别为 1:100和 1:400, 均有肯定的麻苗接种史, 但因血清量少, HI试验未能重复。

隐性感染的HI临界滴度: 文献报道为 1:2~1:8, 也有高达 1:32 或 1:64者 [3, 6]。由于该村是计划免疫工作较差地区, 流行前低抗体水平者很少, 仅有二例隐性感染者, 因此难以对隐性感染者接触前的抗体分布情况进行分析。二例隐性感染者HI抗体均为 1:8, ELIS

IgG 抗体均为 1:400, 经调查都曾有麻苗接种史, 表明HI 1:8和ELISA 1:400时, 可以引起隐性感染。

未感染者的抗体临界值: HI 法为 1:16, 与文献报道的一致 [6]。未感染者的ELISA IgG抗体除2例 1:400外, 其余54例 (96.4%) 均 ≥ 1:1600, 表明ELISA IgG抗体 1:1600可以完全保护, 与HI 1:16相当。

以 ELISA < 1:100为抗体阴性标准, 其灵敏度, 特异度和预测值可以满足监测要求, 说明ELISA < 1:100是可以代替HI < 1:2指标的。HI抗体与ELISA抗体成分不同, 本次观察中也有5例病人呈现两者不一致的抗体测定结果, 因此将ELISA < 1:200做为抗体阴性指标似更为恰当。尽管因易感者中的 HI < 1:2又ELISA < 1:100者的构成相对减少而降低了阳性预测值, 但可以避免将部分 HI 1:2或稍高于 1:2的易感者被排除到保护对象之外的机会, 即提高了阴性预测值, 从而使对群体易感状况的估计更为可靠。

#### A Study on Measles Immune Status by ELISA Li Guoqing, et al., Hebei Sanitary and Anti-epidemic Station

Both ELISA and HI tests have been used to test 85 paired sera collected shortly before and after a measles epidemic. Results showed that 22 children whose pre-exposure antibody titers were < 1:2 by HI and < 1:100 by ELISA contracted measles subsequently and other 2 children, one < 1:2 by HI and 1:100 by ELISA, one 1:2 by HI and < 1:100 by ELISA contracted too. 3 of 5 children whose pre-exposure antibody titers ranged from 1:2 to 1:8 by HI and 1:100 to 1:400 by ELISA, contracted the disease and 2 of them developed a subclinical infection. The antibody titers of 56 persons with pre-exposure was 1:16 by HI and ≥ 1:400 by ELISA neither contracted measles nor displayed an antibody enhancement. The comparison between the two tests showed that when the antibody titer of ELISA < 1:200



was regarded as a negative mark, the sensitivity of this test was 100% and specificity was 95.2%. The ELISA can be used in place of HI test for immune status surveillance against measles.

**Key words** ELISA Measles immune status Predictive value

### 参 考 文 献

1. 郭可睿, 等. ELISA法测定麻疹抗体的优越性. 中华微生物学和免疫学杂志 1986; 6(4): 218.
2. 徐福根, 等. 麻疹感染的血凝抑制抗体临界滴度. 中华流行病学杂志 1983; 4(2): 83.
3. 李性善, 等. 一起农村麻疹爆发流行的血清学研究. 中华流行病学杂志 1986; 7(1): 39.
4. Neumann PW, et al. Comparison of Measles

Antihemolysin Test, Enzyme-Linked immunosorbent Assay, and Hemagglutination Inhibition Test with Neutralization Test for Determination of immune status. J Clin Microbiol 1985; 22(2): 296.

5. Martin BK, et al. Comparison of Enzyme-Linked immunosorbent Assay for Acute Measles with Hemagglutination Inhibition, Complement Fixation, and Fluorescent-Antibody Methods. J Clin Microbiol 1981; 14(2): 147.
6. 戴德生, 等. 麻疹再感染研究. 中华流行病学杂志 1981; 2(3): 165.
7. 钱宇平主编, 流行病学. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 71.
8. 芦天林, 等. 用ELISA和HI检测麻疹抗体的比较. 山西卫生防疫 1986; 3: 42.

## 从死胎部分脏器内分离出流行性出血热病毒

安徽省淮南市卫生防疫站 朱向秀 高 聪 赵代玲 邵佳佳 桂其云 刘薇娜 刘 坤

我们于1985年2月获得一个从流行性出血热(下简称出血热)孕妇手术取出的死胎, 死胎不存在母体血液和产道污染, 从出血热病毒抗原检查阳性的部分脏器内分得了出血热病毒。

患者死后诊断为出血热.EHF、V、IgG 1:40(+)，白细胞出血热抗原检查(+)。

手术取出的是一正常发育的男性死胎, 体表光滑, 体长30cm、体重2000克。其内脏除有充血、渗血外, 余无特殊病变。冷冻切片检查: 肺、脾、心、膈肌、肾、肝、脑、支气管纤毛上皮细胞及白细胞IFA检查(+~++)，肾上腺IFA检查(-)。

取肺、脾、心、肾、肝、脑等组织, 用199液(pH7.4~7.6)制备成20%悬液, 2000转/分沉淀

20分钟, 上清液用微型滤器除菌过滤。取各种滤液1毫升, 分别感染VeroE6细胞, 37℃接触2小时, 再用灭菌Hanks液洗去感染标本, 加入含2%小牛血清的Eagle液, 37℃培养, 每隔2天换液一次, 培养14天传代, 并同时制备抗原片进行IFA检查。

结果从脾、肺、脑中分得了三株病毒, 经A113株(黑线姬鼠株)、Ms株(黄鼬株)、C8株(猫株)等免疫血清和出血热患者高效价血清IFA检查, 有50%以上细胞浆内出现荧光颗粒, 荧光亮度(++)。与呼肠病毒免疫血清, 正常兔血清、健康人血清IFA为阴性。同步传代的正常VeroE6细胞IFA阴性。因此, 认为这次从死胎肺、脾、脑内分得的病毒是出血热病毒。