

one cases of convalescence sera of the patients with HFRS were examined in Zhoulin. The results indicated a positivity rate of 90.48%. The antibodies kept on for a long time and in one case it was maintained to 9 Years. 172 healthy human sera from both the endemic and non-endemic areas were examined, no Latent infection was found.

参 考 文 献

1. 陈化新: 流行性出血热流行病学几个问题基本情况, 内部

资料, 1981

2. 李贤凤等: 中华预防医学杂志, 15(2): 100, 1981
3. 陈化新: 中华流行病学杂志, 3(4): 193, 1982
4. Lee H W et al: J Infect Dis, 137(3): 298, 1978
5. 高守一: 中华流行病学杂志, 2(4): 284, 1981
6. 李钟铎等: 中华预防医学杂志, 14(3): 137, 1980
7. 严玉辰等: 中华流行病学杂志, 3(4): 197, 1982
8. Brammer—Korvenkontio M et al: J Infect Dis, 14: 313, 1980
9. Chumakov M P et al: Lancet, 2: 690, 1980

应用ELISA法检测钩体病患者血清中IgG、IgM抗体

侯林浦¹ 郭长生³ 李雪英² 王枢群³

用ELISA检测钩端螺旋体病(简称钩体病)患者血清抗体与常规显凝、血凝比较, 有方法简便、敏感特异的优点。我们曾用改进的快速法缩短了ELISA中包被和孵育时间。为了进一步提高方法的敏感性, 我们旨在除去血清中IgG的竞争包被抗原的作用, 而比较了用SpA吸收IgG或用抗体沉淀IgG以及用PEG分段等方法, 结果看出在用ELISA检测钩体病患者血清抗体时将常规应用的标记过氧化物酶的抗人IgM一种结合物改用酶标记的抗人IgM和抗人IgG两种结合物。可以提高检测钩体病患者血清抗体的敏感性, 现将结果报告如下:

一、材料:

1. 抗原: 黄疸出血群沃尔登型钩端螺旋体 70091 株超声波裂解抗原。包被抗原浓度按蛋白量计算为 60 μ g/ml。

2. 待检血清: 8 份钩体病人混合血清和 8 份钩体病人血清, 系湖南省卫生防疫站黄端雯医生所赠。均从 1:100 稀释度开始对倍稀释, 进行检测。

3. 阴性血清: 72 份健康献血员混合血清。

4. 结合物: 用 Wilson 氏改进的过碘酸盐法制备的马抗人 IgM 和马抗人 IgG 辣根菜过氧化物酶结合物。工作滴度为 1:1600。

5. 固相载体、包被液和洗涤液: 均按文献(中华医学检验杂志, 4(1): 30, 1981)。

6. 稀释液: pH7.4 的 PBS 内含 0.05% Tween20 和 4% 分子量为 6000 的聚乙二醇。

7. 底物系统: H_2O_2 -OT (21.2mg 正联甲苯胺溶于 1ml 二甲基甲酰胺中, 加 0.2M pH3.7 的醋酸盐缓冲液至 100ml。最后加入 H_2O_2 液 50 μ l。

二、方法:

1. ELISA 快速法: 用 0.05M pH9.6 碳酸盐缓冲液稀释抗原, 每孔用 0.2ml 包被, 于 37°C 经 5~10 分钟后甩去抗原, 用洗涤液洗 3 次, 每次 30 秒, 加入待测血清, 放 37°C 孵育 5~10 分钟后甩去并洗 3 次, 然后加入结合物于 37°C 孵育 5~10 分钟, 甩去液体并洗 3 次, 加入底物于室温孵育 5 分钟后于波长 650nm 测 OD 值, 以 72 份健康献血员混合血清作阴性对照 (1:100, 1:200, 1:400 三个稀释度)。待测血清标本 OD 值超过阴性标本 OD 值 2.1 倍者判为阳性。

2. 聚乙二醇分段法: 待检血清作 1:10 稀释后加等体积的 14% PEG (分子量为 6000), 混匀后于 4°C 过夜, 经 8000rpm 离心 15 分钟后去上清用 7% 的 PEG 溶液悬浮沉淀后再离心去上清, 最后将沉淀溶于与血清原量相同的稀释液中, 稀释成 1:100 后作对倍稀释进行 ELISA 快速法检测。

3. 免疫沉淀 IgG 法: 将马抗人 IgG 血清作 1:400 稀释后与待检血清等量混合于 37°C 孵育 30 分钟后, 离心取上清, 按要求稀释进行 ELISA 快速法检测。

4. SpA 吸收 IgG 法: 将 130 μ l 10% 的 SpA 菌悬液 10,000rpm 离心 10 分钟后去上清, 加入 400 μ l 1:100 稀释的待检血清, 搅匀后于 37°C 作用半小时, 再离心, 取上清, 作对倍稀释后进行 ELISA 快速法检测。

5. 双结合物法: 此法是将 ELISA 快速法中只用马抗人 IgM 结合物改为使用马抗人 IgM 及马抗人 IgG 两种结合物, 其加入方法可以是分别加入 (即先加入

(转 332 页)

1 中日友好医院 (北京)

2 山西省雁北地区卫生防疫站

3 中国预防医学中心流行病学微生物学研究所

在血清流行病学调查中,我们调查了3个非流行点,其中广东省连山壮族瑶族自治县人群抗体没查出阳性,广西自治区的南宁市和桂林市分别为10%和7.2%。说明广东连山自治县交通不便人群少与外界接触,登革病毒尚未传入。

在流行区,我们检查了不同年龄、不同性别人群抗体阳性率,结果其差别均无显著意义。但是有的资料^[2]认为本病的女性感染率高于男性,并且主要侵犯儿童。我们的调查结果说明,在同一个地区感染率的高低与性别、年龄无关,而是由人群与媒介蚊虫接触的机会多少所决定的。

摘 要

通过对广东和广西省区部分地区登革病毒感染的血清流行病学调查,得知处于登革热流行当年的海南地区临高县的人群抗体阳性率为74%。而两年前(1978年)曾发生过本病流行的佛山地区海南县人群抗体阳性率为50.4%。而从未发生过本病流行的广东省连山壮族瑶族自治县在其人群中没查到抗体。但同属于非流行区的广西自治区的南宁市和桂林市人群抗体阳性率却有10%和7.2%。

在同一个流行区、不同年龄和不同性别人群的抗体阳性率尚未看出显著性差别。

流行当年的病人抗体阳性率为100%。而两年前患过本病者的抗体阳性率只有52%。

(接329页)

马抗人IgM结合物孵育洗涤后再加马抗人IgG结合物),也可以将两种结合物混合后一次加入,经孵育洗涤后加底物显色测定。

6.显微凝集试验:按常规方法进行。

三、结果:

1.六种方法对钩体病人混合血清检测比较:共检测了8份血清,每份血清均同时用6种方法进行检测,结果可见ELISA检出钩端螺旋体病患者血清抗体较常规显凝法敏感。为了用ELISA快速法检测患者IgM抗体,采用了三种去除血清中IgG抗体的方

ABSTRACT

There had been 3 epidemics of dengue fever which occurred in Guangdong Province, China in recent years. The last one in a large out-break occurred in the coastal area of Hainan Island in 1980.

We have carried out seroepidemiological survey of dengue virus infection in some areas of Guangdong and Guangxi Provinces by means of immunofluorescence test from May to September 1980. The results are as follows: Seventy four percent of the population in Lingao County of Hainan Island, where dengue fever occurred in 1980, had antiden-gue virus antibody and 50.4% of the population in Nanhai County of Foshan region, where this disease occurred in 1978, gave positive results, whereas, the positivity rate of this antibody among population in Lianshan Zhuang and Yao Autonomous County where this illness had never occurred.

The positive rate among population of different age and sex in the same epidemic area showed no statistically significant difference.

The positive rate in patients the 1980 epidemic was found to be 100% while that in persons who had contracted this illness in 1978 was only 52%.

参 考 文 献

- 1.黄中兴等:中华医学杂志, 62: 605, 1982
- 2.广东省卫生防疫站:广东卫生防疫资料, 75页, 1980

(本工作承广东省卫生防疫站、佛山地区防疫站、海南县防疫站、连山县防疫站、广西壮族自治区卫生防疫站、南宁市防疫站、来宾县防疫站、桂林市防疫站、海南地区防疫站、临高县防疫站、临高县新盈公社卫生院及东英公社卫生院、调楼公社卫生院、儋县防疫站等单位大力协助采集试验标本,在此表示感谢)

法,结果并未能提高检测IgM抗体的敏感性;而采用双结合物法即同时检测IgM和IgG抗体则可以提高其敏感性。

2.对在不同病期采集的钩体病患者血清检测IgM、IgG抗体的比较:将实验室留存的8份病人血清用ELISA快速法分别检测其血清中IgG、IgM和IgM+IgG抗体。检测IgM+IgG抗体采用两种方法,一是先加马抗人IgM结合物孵育洗涤后再加马抗人IgG结合物;另一是将两种结合物混合后加入。结果可见,检测IgM抗体的敏感性高于检测IgG抗体,而以检测IgM+IgG抗体敏感性最高。