维普资讯 http://www.cqvip.com

285-287

第24卷 第3期 重庆医科大学学报 Vol.24 No.3
1999 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1999

加样抽滤法斑点免疫试验诊断包虫病

传染病寄生虫病研究所 余登高* 刘约翰 王小根

R532.320.4
R446.62

提 要 本文应用加样抽滤法斑点免疫实验检测包虫病人血清抗体诊断包虫病。在以羊包囊液1:10和血清1:400稀释度进行试验时,36例包虫病患者血清的阳性率为97.2%;35例其他疾病患者血清和40例正常人血清的假阳性率分别为5.7%和0%。结果提示此法诊断包虫病具有较高的敏感性与特异性和较好的实用性。

关键词 包虫病;斑点免疫试验
中图分类号 R446.62; 4532.32

加样抽滤法 抗体

斑点免疫结合法(Dot－Immunbinding Assay)是一种新的酶免疫检测方法。以硝酸纤维素膜为固相载体进行抗原与抗体的免疫反应,用于包虫病血清学诊断虽有报道[1]阳性率为92.9%但该法诊断包虫病的敏感性和特异性仍有待提高。最近我们应用加样抽滤法斑点免疫试验检测36例包虫病患者血清,35例其他疾病患者和40例健康人血清,进行对比,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 **抗原** 羊包囊液由新疆地方病防治所提供,存放于－40°C备用。

1.2 **试验血清** 包虫病患者血清36例。其中细粒棘球蚴病18例、多房性棘球蚴病18例。其他疾病35例,包括肺吸虫病10例、重型肝炎8例、肝硬化2例、流行性出血热5例、阿米巴痢疾5例、细菌性痢疾5例。正常健康人血清40例。

1.3 **加样抽滤板** 天津有机玻璃厂出品。

1.4 **酶标记马抗人IgG辣根过氧化物酶标记马抗人IgG结合物** 北京生物制品研究所生产。

1.5 **硝酸纤维素膜**Schleicher&Schull 西德产品。

1.6 **洗涤液** TBS－吐温20溶液。

1.7 **底物** 盐酸联苯胺—过氧化氢溶液。

加样抽滤斑点免疫试验将经过TBS缓冲液浸泡过的普通滤纸两层铺在抽滤板上,再将TBS浸泡过1h的硝酸纤维素膜铺在滤纸上,对准定位孔盖上加样板。加压抽掉水份。然后每孔加1:10稀释的包囊液25ul,室温放置1h后抽干。每孔加1%的牛血清白蛋白50ul封闭,振摇5min,室温放置15min。弃去并拍干封闭液后分别加入不同稀释度待检血清,标准阳性与阴性血清,每孔50ul。振摇3分钟后室温放置1h,弃去拍干。用0.5%TBS—吐温20溶液洗3次,每次振摇5分钟,最后一次10分钟,同上法拍干。每也加1:2000稀释的酶结合物;振摇5分钟,室温置1h。同上法洗涤。加底物每孔50ul,振摇5min,室温放置30min后用TBS洗3次。肉眼观察结果:阴性"—",为无色或极浅蓝褐色。阳性"＋",为浅蓝色斑点,"＋＋"为蓝色斑点,"＋＋＋"为深蓝色斑点。每次试验均设标准阳性,阴性和空白对照。

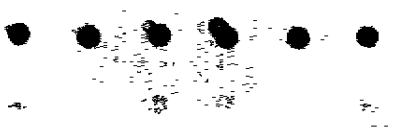


图1 不同包虫病人血清1:200稀释与正常人血清1:200稀释结果

2 结果

2.1 **各种类型血清不同稀释度抽滤法斑点免疫实验检测** 结果见表1

包虫病人血清与羊包囊液抗原能发生强烈的显色反应,血清稀释度为1: 400时,36例包虫病患者的阳性率为97.2%;35例其他疾病患者的假阳性率为5.7%,仅2例重型肝炎患者血清羊包囊液抗原有交叉反应;40 例健康人血清的假阳性率为0%。包虫病人组血清阳性率显著高于其余两组($P<0.05$)。

2.2 **不同抗原浓度的检测结果** 用TBS将抗原稀释或不同浓度,从1:5、1:10、1:15、1:20、1:25、1:30分别点样。用同一份包虫病人血清(1:400)和结合物(1:2000)进行反应。结果表明1:10稀释的抗原溶液所获得斑点着色最深。

* 男,1950－04出生,主管技师

维普资讯 http://www.cqvip.com

2.3 **不同浓度酶结合物的检测结果** 抗原稀释度1:10时,用1:500 1:1000 1:1500 1:2000稀释的酶结合物进行检测结果表明稀释度为1:2000时斑点着色较深。故全部试验采用1:2000稀释度的酶结合物。

2.4 **细粒棘球蚴与多房性棘球蚴病人血清抽滤法斑点免疫实验检测。**

结果见表2。

3 讨论

以羊包囊液为抗原的加样抽滤法斑点免疫试验检测包虫病血清抗体的血清浓度以1:400为宜,敏感性高达97.2%,与Zheng报告相似(92.3%)[1]。此外,本试验的特异性也较高。采用1:400 血清稀释度作为斑点免疫试验与其他疾病病人交叉反应率(假阳性率)为5.7%。2例重肝炎患者血清假阳性反应可能与患者血清中存在能与羊肝包囊液中某些蛋白发生反应有关[3]。包虫病人血清中,有1例呈假阴性反应是该病人腹部仅有一个单纯性包囊,可能与其产生抗体水平较低有关[5]。邻苯二胺作反应底物时其呈色反应的产物为可溶性。因此,在硝酸纤维素膜上斑点颜色较浅。本次应用盐酸联苯胺为底物,生成的产物为不可溶性,形成蓝色斑点与硝酸纤维素膜的白色背景形成鲜明对比。因此在过氧化物酶进行加样抽滤斑点免疫试验中,底物以盐酸联苯胺较为宜。细粒棘球蚴与多房球蚴病人血清抗体水平的观察中,我们发现多房棘球蚴病人抗体水平明显高于细粒棘球蚴病。此与文献报道一致。加压抽滤法斑点免疫试验诊断包虫病不仅具有敏感性高,特异性强,标本量少,而且方法简便,斑点集中形成一点。有利于目测替代比色,结果可靠,检测时间短,便于基层单位推广应用。

参 考 文 献

1.Zheng GY.et al. Am J Trop Med Hyg 1986;35:812
2.Kagan IG et al. J Immunol 1960;84:635
3.郑光宇,等. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 1988;6(2):87
4.郑光宇,等. 上海免疫学杂志 1987;7(1):25
5.赵荣乐,等. 中华医学杂志 1987;67(6):324

(收稿日期 1998－11－25)

表1 不同稀释度血清抽滤法斑点免疫试验检测结果

分 组	例 数	血清稀释度				
		1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600
A健康人	40	2*(5%)**	1(2.5%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)
B非包虫病人	35	3(8.5%)	2(5.7%)	2(5.7%)	0(0%)	0(0%)
C包虫病	36	36(100%)	35(97.2%)	35(97.2%)	34(94.4%)	31(86%)

* 阳性例数 ΔA－C $x^2=72.09$ $P<0.01$ B－C $x^2=59.55$ $P<0.01$ ** 阳性率

表2 两型包虫病人抽滤法斑点免疫试验结果

组 别	例 数	血清稀释度				
		1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600
细粒棘球蚴	18	18*(100%)**	17(94.4%)	17(94.4%)	17(94.4%)	14(77.7%)
多房棘球蚴	18	18(100%)	18(100%)	18(100%)	17(94.4%)	17(94.4%)

* 阳性例数 ** 阳性率

维普资讯 http://www.cqvip.com

Adding Specimen and Aspirating Filter Dot-immunoassay for diagnosis of echinococcosis

Yu Dengao, et al
Research institute of infectious and parasitic diseases, college of clinical medicine.

Adding specimen and aspirating filter Dot- immunoassay was used for diagnosis of echinococcosis,When sheep cystic fluid and human serum were diluted into ratios of 1:10 and 1: 400 , 36 cases from echinococcosis patients were detected (a positive rate was 97.2%) as well as 35 cases of other diseases and 40 cases o healthy sabjects (false rates were 5.7% and 0%, respectively). These results showed that this method was higher in sensitivity, specificity and practicability.

KEY WORDS Echinococcosis; Dot-immunoassay

287-289

几种检测幽门螺杆菌血清抗体法的比较

24
R378.99
R446.62

临床学院消化内科 王 立* 黄天禄 赵旭东 杨志邦 王丕龙

提 要 本文报道了两种用于检测HP血清抗体的快速试纸法,52例经涂片染色及尿酶试验证实HP感染的阳性抗血清,及20份未检测出HP感染者的阴性抗血清,分别用国产及进口试纸法测定。其特异性及敏感性分别为70.1%,76.0%;90%,96.5%。进口试纸法的特异性及敏感性均优于国产($P<0.05$)。试纸法测定时间较普通ELISA法短,且方法简单。本组试验显示试纸法检测HP血清抗体具有简便宜行,快速,可靠,灵敏及特异之优点,尤其以进口试纸法更具有其优越性。可广泛用于门诊病人或进行流行病学调查。

关键词 HP; 血清抗体检测法; ELISA
中图分类号 R573.1

幽门螺杆菌.

自1983年幽门螺旋杆菌(HP)被发现以来,日益受到人们的重视。HP感染的个体,体内产生相应的抗体,这为临床诊断提供了一实验基础。本文比较了几种测定抗HP抗体的方法。以期寻找到一种快速,敏感,准确,方便的血清学诊断法。

1 对象及方法

1.1 标本来源 本院胃镜室检查者72例,男54例,女18例。年龄(23～63)平均39.4岁。经胃镜检查,在胃窦距幽门1～2cm处,取2～3块胃粘膜组织,分别行尿素酶试验及涂片。同时抽取肘静脉血3ml,分离血清在-20°C保存待检。

1.2 粘膜涂片及尿素酶试验 均采用常规方法,两种结果均为阳性者,则诊断HP为阳性。反之,HP就为阴性。若只有一种试验结果阳性,则不纳入本研究。

1.3 ELISA测定法 HP抗原包被微板。检测方法详见文献报道[1],试剂盒由我校微生物教研室提供。测定其OD值,OD值为0.6以上者为阳性,0.5以下者为阴性。

1.4 进口试纸法 试纸由美国BioAge制药有限公司提供。方法严格按照说明书操作,5分钟后读取结果。在测试区内出现红线和蓝线者为阳性,如仅出现蓝线者为阴性。

1.5 国产试纸法 其试剂盒由福建三强生物化工有限公司提供。方法严格按照说明书操作,10分钟后观察其结果。如见其粉红色斑点者为阳性,未出现粉红色斑点者为阴性。

1.6 统计学分析 采用四表格确切概率法对相关数据进行统计处理。

2 结果

* 女,1960-02出生,主治医师