

文章编号: 1002-2694(2005)09-0776-03

# DIGFA、ELISA 与 IHA 平行检测血吸虫病流行区居民血清抗体的应用价值<sup>\*</sup>

陈军虎<sup>1</sup>, 闻礼永<sup>1\* \* \*</sup>, 张剑锋<sup>1</sup>, 陆绍红<sup>1</sup>, 俞丽玲<sup>1</sup>, 丁建祖<sup>1</sup>, 沈丽英<sup>1</sup>,  
汪天平<sup>2</sup>, 张世清<sup>2</sup>, 陈更新<sup>3</sup>, 叶 昀<sup>4</sup>, 周晓农<sup>5</sup>, 郑 江<sup>5</sup>

**摘 要:**目的 探讨斑点金免疫渗滤法(DIGFA)、酶联免疫吸附试验(ELISA)与间接红细胞凝集试验(IHA)在日本血吸虫病流行区平行检测居民血清抗体的应用价值。**方法** 采用 DIGFA、ELISA 和 IHA 平行检测粪检血吸虫虫卵阳性血清、健康人群及其它 3 种寄生虫感染人群血清、血吸虫病流行区居民血清,并对检测结果进行统计分析。**结果** DIGFA、ELISA 和 IHA 检测 100 例粪检血吸虫虫卵阳性血清的敏感性均为 96.0%;检测 188 例健康人群及其它 3 种寄生虫感染人群血清的特异性分别为 98.9%、96.8%和 97.3%;平行检测血吸虫病流行区居民血清抗体的阳性率分别为 9.35%(102/1091)、11.54%(125/1083)和 11.00%(120/1091),检测结果在统计学上无显著性差异( $P>0.05$ )。**结论** DIGFA、ELISA 和 IHA 敏感性高、特异性强,交叉反应少,平行检测血吸虫病流行区居民血清抗体的阳性检出率较为符合。

**关键词:**斑点金免疫渗滤法;流行区;日本血吸虫;抗体;应用价值  
**中图分类号:**R532.2 **文献标识码:**A

## Application of DIGFA, ELISA and IHA for the parallel detection of serum antibodies to *Schistosoma japonicum* of population in epidemic area of schistosomiasis

CHEN Jun-hu, WEN Li-yong, ZHANG Jiang-feng, LU Shao-hong, YU Li-ling, DING Jian-zu, SHEN Li-ying,  
WANG Tian-ping, ZHANG Shi-qing, CHEN Geng-xin, YE Yun, ZHOU Xiao-nong, ZHENG Jiang

(Institute of Parasitic Diseases, Zhejiang Academy of Medical Sciences, WHO Collaborating Center  
for Research on Helminthiasis, Hangzhou 310013, China)

**ABSTRACT:** To explore application values of detection serum antibodies to *Schistosoma japonicum* of population in epidemic area of schistosomiasis by means of DIGFA, ELISA and IHA, these method of tests were used in parallel to detect the presence of anti-*S. japonicum* antibodies in the fecal eggs positive patients with schistosomiasis and patients with paragonimiasis, ancylostomiasis and ascariasis as well as the healthy individuals in non-epidemic area and the inhabitants of the epidemic area. It was found that the sensitivities of these three methods for the detection of Anti-*S. japonicum* antibodies in 100 cases of egg-positive patients were all to be 96.0% (96/100), and the specificities of them as demonstrated in 188 cases of healthy individuals and other three parasitic infections were 98.9% (186/188), 96.8% (182/188) and 97.3% (183/188) respectively. The positive rates of antibodies from inhabitants in epidemic area were 9.35% (102/1091), 11.54% (125/1083) and 11.00% (120/1091) respectively. No obvious difference was found among the results of these three methods. It is concluded that DIGFA, ELISA and IHA all show high sensitivity and specificity with a low rate of cross-reaction, and are suitable for the detection of anti-*S. japonicum* antibodies in the epidemic area.

**KEY WORDS:** Dot immunogold filtration assay; schistosomiasis epidemic area; *Schistosoma japonica*; antibody; application value

在血吸虫病流行区,IHA、ELISA 等血清免疫学诊断方法已在现场得到使用,而斑点金免疫渗滤法(Dot immunogold filtration assay, DIGFA)是近年来发展起来的以胶体金为标记的快速斑点结合试验,已成功地用于旋毛虫病、肺吸虫病<sup>[1-2]</sup>等寄生虫病的检测。本所于 90 年代后期建立起检测日本血吸

虫抗体的 DIGFA 并制成试剂盒<sup>[3]</sup>,受到基层单位

\* 国家“十五”攻关课题(No. 2001BA705B08)  
\* \* 通讯作者:  
**作者单位:**1、浙江省医学科学院寄生虫病研究所,世界卫生组织蠕虫病研究合作中心,杭州 310013;  
2、安徽省血吸虫病防治研究所;  
3、安徽省贵池区血防站;  
4、安徽省东至县血防站;  
5、中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所

欢迎。为评价 DIGFA、ELISA 和 IHA 诊断日本血吸虫病的价值,本研究应用这 3 种方法对安徽省血吸虫病流行区居民血清抗体进行平行检测。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 试剂盒 DIGFA 试剂盒:由浙江省医学科学院寄生虫病研究所研制并提供;ELISA 试剂盒:由浙江省医学科学院寄生虫病研究所研制并提供;IHA 试剂盒:由安徽省血吸虫病防治研究所研制并提供。

1.1.2 日本血吸虫可溶性抗原 从人工感染血吸虫的家兔肝脏取得虫卵,经反复淘洗纯化后,研成粉末,用生理盐水配制成 1%溶液,在-20℃和 37℃反复冻融 3 次,冷浸 3d,超声粉碎,高速离心。测蛋白含量后,-20℃冰箱保存备用。

1.1.3 血清样本 100份粪检日本血吸虫虫卵阳性血清,采自江西省血吸虫病流行区;体检健康人群血清 154 例,采自杭州市城区;肺吸虫病患者血清 13 例,钩虫感染患者血清 11 例,蛔虫感染患者血清 10 例,采自浙江省农村;1091 例血吸虫病流行区居民血清,采自安徽省贵池区和东至县。

1.2 方法

1.2.1 DIGFA 方法

1.2.1.1 抗原固相膜的制备 将血吸虫可溶性虫卵抗原 2 μl(约 30 ng)点样于硝酸纤维素膜(孔径为 0.65 μm),室温干燥,-20℃冰箱保存备用。

1.2.1.2 金标结合物的制备 兔抗人 IgG 由本实验室采用等量多点免疫法免疫家兔取得抗血清,辛酸法分离纯化而得,双扩散效价为 1:64 以上。胶体金溶液根据柠檬酸三钠还原法<sup>[4]</sup>,获得橙色胶体金溶液,用 0.1mol/L 碳酸钾调至 pH 8.2。然后确定每毫升胶体金所需最少 IgG 用量,将胶体金与 IgG 按比例混匀,加适量 PEG,高速离心纯化,备用。

1.2.1.3 试剂盒组装 试剂盒中含测定板<sup>20</sup>只,测定盒按文献<sup>[4]</sup>描述制作;试剂盒中放有一瓶金标抗体结合物(A 液),2 瓶洗脱液(B 液)。每批试剂盒备有质控板 2 块。

1.2.1.4 操作流程 按文献<sup>[4]</sup>介绍进行。在金标测定板上先加一滴 B 液,再加 50 μl 待测血清,然后加一滴 B 液,再加一滴 A 液,最后加一滴 B 液洗涤。

1.2.1.5 结果判断 目测斑点色泽接近质控阳性血清者为“+”,色泽与阳性者血清一致者为“++”,色泽深于标准阳性者为“+++”,仅留白色或粉色背景者为阴性。

1.2.2 ELISA 方法 按常规方法进行<sup>[5]</sup>

1.2.3 IHA 方法 按常规方法进行<sup>[6]</sup>。

2 结果

2.1 三种方法平行检测阳性血清的结果比较 DIGFA、ELISA、IHA 平行检测粪检血吸虫虫卵阳性血清的敏感性均为 96.0%(96/100)(见表 1)。

表 1 DIGFA、ELISA、IHA 平行检测粪检血吸虫虫卵阳性血清的结果

Table.1 Results of parallel experiment for detection of anti-schistosoma antibody in egg-positive patients by DIGFA, ELISA and IHA

方法 Method	例数 No. Cases	阳性数 No. Positive	阳性率(%) Positive rate
DIGFA	100	96	96.0
ELISA	100	96	96.0
IHA	100	96	96.0

2.2 三种方法平行检测健康人群及其它 3 种寄生虫感染人群血清的结果比较 DIGFA、ELISA、IHA 检测健康人群的特异性分别为 99.4%(153/154)、96.8%(149/154)和 96.8%(149/154),经卡方检验,DIGFA、ELISA、IHA 三者之间在统计学上均无显著性差异( $P>0.05$ )。平行检测 13 例肺吸虫病人血清,仅 DIGFA 出现 1 例交叉反应;检测 11 例钩虫感染病人血清,仅 ELISA 出现 1 例交叉反应;检测 10 例蛔虫感染病人血清均未见交叉反应(见表 2)。

2.3 三种方法平行检测血吸虫病流行区居民血清抗体的结果比较 DIGFA、ELISA、IHA 检测血吸虫病流行区居民的阳性率分别为 9.35%(102/1091)、11.54%(125/1083)和 11.00%(120/1091)。经卡方检验,DIGFA、ELISA 和 IHA 的检测结果在统计学上均无显著性差异( $P>0.05$ )(见表 3)。

3 讨论

本研究利用 DIGFA、ELISA 与 IHA 同步检测粪检血吸虫虫卵阳性血清的敏感性均达到 96.0%;检测健康人群血清的特异性相似,分别为 98.9%、96.8%和 97.3%;检测 34 例肺吸虫、钩虫及蛔虫感染病人血清,仅 DIGFA 和 ELISA 各出现 1 例交叉反应。应用 DIGFA、ELISA 和 IHA 平行检测血吸虫病流行区居民的血清抗体,3 种方法的检测结果在统计学上均无显著性差异。结果表明 DIGFA、ELISA 和 IHA 敏感性高、特异性强,交叉反应少,平行检测血吸虫病流行区居民血清抗体的阳性检出率较为符合。

由于 IHA 价格较低,常用于血吸虫病流行区人

表 2 DIGFA、ELISA、IHA 平行检测健康人群及其他寄生虫感染人群血清的结果

Table.2 Results of parallel experiment for detection of anti-schistosoma antibody in sera of healthy individuals and other parasitic patients by DIGFA, ELISA and IHA

血清来源 Source of serum	例数 No. Cases	DIGFA		ELISA		IHA	
		阳性数 No. Positive	阳性率(%) Positive rate	阳性数 No. Positive	阳性率(%) Positive rate	阳性数 No. Positive	阳性率(%) Positive rate
健康人群 Healthy individuals	154	1	0.6	5	3.2	5	3.2
肺吸虫病人 Paragonimiasis	13	1	7.7	0	0	0	0
钩虫感染 Ancylostomiasis	11	0	0	1	9.1	0	0
蛔虫感染 Ascariasis	10	0	0	0	0	0	0
合计 Total	188	2	1.1	6	3.2	5	2.7

健康人群 DIGFA、ELISA; $\chi^2=2.7196, P=0.0991$ ;DIGFA、IHA; $\chi^2=2.7196, P=0.0991$ ;  
ELISA、IHA; $\chi^2=0.4350, P=0.5096$

合计 DIGFA、ELISA; $\chi^2=2.0435, P=0.1529$ ;DIGFA、IHA; $\chi^2=1.3101, P=0.2524$ ;  
ELISA、IHA; $\chi^2=0.0936, P=0.7596$

表 3 DIGFA、ELISA、IHA 平行检测血吸虫病流行区居民血清抗体的结果

Table.3 Results of parallel experiment for detection of anti-schistosoma antibody in schistosomiasis epidemic area by DIGFA, ELISA and IHA

方法 Method	例数 No. Cases	阳性数 No. Positive	阳性率(%) Positive rate
DIGFA	1091	102	9.35
ELISA *	1083	125	11.54
IHA	1091	120	11.00

DIGFA、ELISA 之间; $\chi^2=2.7946, P=0.0946$ ;DIGFA、IHA 之间; $\chi^2=1.6248, P=0.2024$ ;  
ELISA、IHA 之间; $\chi^2=0.1602, P=0.6890$

\* DIGFA、IHA 试验后,有 8 份血清已经用完,未能进行 ELISA 试验。

群普查,但其存在操作时间较长的缺点;ELISA 在血吸虫病诊断中也已逐步推广应用,但其操作步骤较多,并需要相应的仪器设备以及受环境(温度等)影响较大,目前仅限于有条件的实验室开展,很难推广到基层单位和现场使用;与 ELISA 和 IHA 法比较,DIGFA 检测血吸虫抗体的敏感性和特异性相

似,但 DIGFA 方法简便,数分钟内即可得出结果,不需要特殊仪器设备以及不受环境(温度等)影响。此外尚有试剂稳定,结果可以长期保存的优点。胶体金具有高电子密度的特性,能在相应配体区大量聚集,形成肉眼可见的红色斑点,反差很强,结果容易判断,大大提高了检测的敏感性和特异性,非常适合血吸虫病诊断和血清流行病学调查,特别是在临床快速诊断和基层现场查病方面更具有优越性。

参考文献:

[1]刘英杰,刘云,王耀华,等.应用斑点金免疫渗滤法检测旋毛虫病  
患者血清 IgG[J].中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2003,21(6):  
342-344.

[2]丁建祖,王越,陈军虎,等.斑点金免疫渗滤法检测肺吸虫抗体的  
评价[J].中国人兽共患病杂志,2003,19(1):89-90.

[3]沈丽英,干小仙,丁建祖,等.血吸虫抗体金标免疫诊断试剂盒的  
研制[J].中国公共卫生,2000,16(3):244.

[4]沈丽英,干小仙,丁建祖,等.幽门螺杆菌抗体金标免疫诊断试剂  
盒的研制[J].中国卫生检验杂志,1999,9:168-170.

[5]张素娥,汤益,屠乐鸣,等.酶联免疫吸附试验质控方法的探讨  
[J].中国血吸虫病防治杂志,1990,2:39-40.

[6]吴福东,谢治民,袁斯蛟,等.间接血凝试验诊断血吸虫病的研究  
[J].中国血吸虫病防治杂志,1991,3:138-141.

收稿日期:2004-12-10;修回日期:2005-02-05