

多价单克隆抗体检测血吸虫循环 抗原现场诊断血吸虫病的价值

孙乐平 刘韵娟 洪青标 高智慧

黄铁昕 周晓农 吴中兴

江苏省血吸虫病防治研究所(无锡 214064)

提要 采用多价单克隆抗体 Dot-ELISA 试验,检测了血吸虫病流行区居民血清 219 份,并以单克隆抗体 Dot-ELISA、环卵沉淀试验和粪检作为对照。结果:多价单抗 Dot-ELISA、单克隆 Dot-ELISA、DGS-COPT 和粪便孵化阳性检出率分别为 20.6%、31.1%、36.1%、11.4%。多价单抗 Dot-ELISA 检出率明显低于 DGS-COPT,两法总符合率为 80.8%,25 例粪阳病人 3 种血清学方法检出率分别为 52.0%、88.0%、100.0%。提示:多价单抗 Dot-ELISA 阳性检出率仍处于较低水平,其敏感性并未提高。

关键词 单克隆抗体 循环抗原 诊断 日本血吸虫病

利用单克隆抗体 Dot-ELISA 试验诊断血吸虫病是近期发展起来的一种新技术,具有较高的特异性,加上操作简便,不需复杂仪器,肉眼观察的优点,已在现场查病中得到了广泛的应用^[1,2]。由于单克隆抗体对被其检测的抗原具有单一的抗原决定簇,导致了在现场诊断血吸虫病检出率较低,使这一技术的进一步应用受到了一定的限制。利用几种单克隆抗体组合成多价单克隆抗体,并制成诊断试剂盒,旨在不影响特异性的前提下,提高其敏感性。为了解多价单克隆抗体试剂盒在现场血吸虫病诊断中的价值,我们在南京市八卦洲七里村进行了现场应用。

材料和方法

1 多价单克隆抗体诊断试剂盒 由四川省医学科学院寄生虫病防治研究所提供,3 种单克隆抗体为:抗肠相关 CAA 单抗 3B11E3 和 3B10E8,与抗虫卵糖蛋白的单抗 3G4A4。3 种单抗免疫球蛋白均属 IgM。操作方法按说明书,用取样环将待测血清点至 N. C 膜上的小方格中,37℃干燥 0.5h,将点样膜

浸于吐温-PBS 中封闭 10min,不时摇动,然而倾去封闭液,再加 1:1 000 稀释的多价单抗酶结合物,作用 10min,倾去酶结合物,用吐温-PBS 洗 3 次,每次 2min,加 DAB 与 4-氯-1-萘酚的底物溶液 3—5min 后水洗终止反应,结合参考血清,以斑点颜色呈灰兰色为阳性。

2 单克隆抗体诊断试剂盒 由中国预防医学科学院寄生虫病研究所生产,单克隆抗体为抗 3D8A 血吸虫肠相关趋阴极抗原。采用 Dot-ELISA 直接法^[3]。具体操作按说明书进行。结果观察以产生棕色斑点为阳性反应。

3 DGS-COPT 双面胶纸条由苏州医学院寄生虫病教研室生产,规格 50×23mm,孔径 16mm,厚度 150μm。采用 DGS-COPT 72h 法^[4],环沉率≥3%为阳性。

4 虫卵抗原 由本所免疫诊断组提供。

5 病原检查 采用尼龙纱袋粪便集卵孵化法,以孵化出毛蚴为阳性。

6 试验现场 选择南京市八卦洲七里

村。该村属血吸虫病中度流行地区,居民患病率在 10% 左右。本研究受试对象为沿江的常住村民共 219 人,年龄 5—60 岁。

结 果

1 现场应用检出率的比较 共检查 219 人,多价单抗 Dot-ELISA 检出阳性 45 人,阳性率 20.6%;单抗 Dot-ELISA 检出阳性 68 人,阳性率 31.1%;DGS-COPT 检出阳性 79 人,阳性率 36.1%;尼龙袋集卵孵化检出阳性 25 人,阳性率 11.4%。多价单抗 Dot-ELISA 与其它 3 种方法检出率均有显著差异(χ^2 分别为 6.31、13.00、6.80, $P < 0.05$)。单抗 Dot-ELISA 和 DGS-COPT 阳性检出率基本一致($\chi^2 = 1.24$, $P > 0.05$)。

2 3 种血清学试验阳性检出率符合情况 共检测血清 219 份,多价单抗 Dot-ELISA 和单抗 Dot-ELISA 双阳 42 例,双阴 148 例,总符合率 86.8%。多价单抗 Dot-ELISA 阳性,而单抗 Dot-ELISA 阴性 3 例;多价单抗 Dot-ELISA 阴性,而单抗 Dot-ELISA 阳性 26 例,两法检出结果差异非常显著($\chi^2 = 16.69$, $P < 0.01$)。多价单抗 Dot-ELISA 和 DGS-COPT 双阳 41 例,双阴 136 例,总符合率 80.8%。多价单抗 Dot-ELISA 阳性,而 DGS-COPT 阴性 4 例,多价单抗 Dot-ELISA 阴性,而 DGS-COPT 阳性 38 例,两法检出结果亦有非常显著差异($\chi^2 = 25.93$, $P < 0.01$)。

3 25 例粪阳病人的血清学检出阳性符合情况 219 人经粪孵检出阳性的 25 人中,单抗 Dot-ELISA 检出 22 人,阳性率 88.0%;多价单抗 Dot-ELISA 阳性检出 13 人,阳性率 52.0%;DGS-COPT 检出 25 人,阳性率 100.0%。

讨 论

1 在血吸虫病现场查病工作中,COPT

是目前应用最广泛的方法之一,在不同流行程度地区均可应用^[5],单克隆抗体 Dot-ELISA 试验在不同流行程度地区应用价值不一致,在流行程度较重地区其检测效果与 DGS-COPT 相似。我们用多价单抗 Dot-ELISA 和单抗 Dot-ELISA、DGS-COPT 3 种血清学方法检测中度流行地区现场血清。多价单抗 Dot-ELISA 阳性检出结果明显低于单抗 Dot-ELISA 和 DGS-COPT。粪阳病人 3 种血清学方法检出率显示本次所用多价单抗 Dot-ELISA 阳性检出率较低,其敏感性较单价单抗无明显提高。

2 由于单克隆抗体对靶抗原的表位依赖性很强,选择优势表达表位的单克隆抗体作探针尤为重要,又由于中国大陆不同地区存在着不同血吸虫品系^[6],如果某地生产的单克隆抗体也存在着地域的差异,那么也就有可能导致在某一地区检出率很高,而在另一地区则检出率较低。因此,提示我们在选择单克隆抗体试剂盒查病时,应预先做好平行试验,或选择地域相近的单克隆抗体试剂盒。

参 考 文 献

- 1 严自助,等. 中国血吸虫病防治杂志 1990,2 (2): 39
- 2 严自助,等. 中国血吸虫病防治杂志 1992,4 (6): 335
- 3 严自助,等. 中国血吸虫病防治杂志 1991,3 (4): 211
- 4 殷水龙,等. 江苏医药 1981,7(3): 44
- 5 叶嘉馥,等. 江苏医药 1985,11(8): 15
- 6 罗 雅,等. 中国血吸虫病防治杂志 1992,4 (5): 257

1993 年 7 月 13 日收稿 1995 年 1 月 19 日修回

(编辑:秦时君)

FIELD APPLICATION OF MULTI-MONOCLONAL ANTIBODY DOT-ELISA FOR DETECTION OF CIRCULATING ANTIGEN OF *SCHISTOSOMA JAPONICUM*

Sun Leping, Liu Yunjuan, Hong Qingbiao, Gao Zhihui,

Huang Yixing, Zhou Xiaonong, Wu Zhongxing

Jiangsu Institute of Schistosomiasis Control (Wuxi 214064)

ABSTRACT

The multi-monoclonal antibody Dot-ELISA for diagnosis of schistosomiasis japonica were evaluated in the field, and compared with three other methods: monoclonal antibody Dot-ELISA, DGS-COPT and fecal examination. A total of 219 residents from endemic areas were examined by these four methods, and the positive detection rate was 20.6%, 31.1%, 36.1% and 11.4%, respectively. The rate of positive detection in multi-monoclonal Dot-ELISA was significantly lower than that of DGS-COPT and their coincidence rate was 80.8% ($P < 0.01$). When 25 cases with positive fecal examination were detected with these 3 sero-immuno tests, the positives rate was 52.0%, 88.0% and 100.0% respectively. Therefore, it showed that this multi-monoclonal antibody Dot-ELISA method had no benefit over the monoclonal method. It was indicated that multi-monoclonal antibody Dot-ELISA did not improve its sensitivity of the test although more monoclonal antibody were combine in the test.

Key words: monoclonal antibody, circulating antigen, diagnosis, schistosomiasis japonica

吡喹酮治疗脑型血吸虫病 17 例

熊振模 沈玉芳 蔡贤容 严银兰 沈菊芳

江西省彭泽县血吸虫病防治站 (332700)

脑型血吸虫病已日渐减少,现就 10 年来,我们治疗的 17 例患者情况报道如下。

一般资料

17 例中,男 10 例,女 7 例。职业:农民 11 例,职工 2 例,学生 4 例。年龄最大的 56 岁,最小的 12 岁。病程最长 7 年,最短 1 个月。

临床资料

头痛、头昏 14 例,剧烈头痛 3 例,呕吐 3 例。癫痫样大发作 12 例,小发作 5 例。发作时意识语言障碍 12 例,口角歪斜 6 例,肢体麻木 4 例,手指震颤 4 例,瞳孔不等大 2 例,偏瘫 2 例,肝左叶增大 9 例,脾肿大 1 例,病理反射阳性 5 例。

诊 断

17 例中均有癫痫样症状发生,其中有接触疫水史和皮试、IHA 阳性 7 例;粪检阳性、有接触疫水史和皮试、IHA 阳性 2 例;CT 诊断、有接触疫水史和皮

试、IHA 阳性 4 例;CT 诊断 1 例;脑血管造影和皮试、IHA 阳性 1 例;CT 诊断后开颅 1 例,开颅 1 例。

吡喹酮治疗

以每 kg 体重 120mg 的总剂量,6d 分服为 1 疗程治疗的有 14 例,6d 疗法双疗程(中间隔 3d)3 例。在服药期间 7 例出现四肢抽搐,1 例右手抽搐多次。17 例同用苯安英钠,2 例加用安定、鲁米那、利眠宁等。

随 访

随访 6 例,其中服用苯安英钠,半年未再发作。另 2 例坚持服用苯安英钠 1 年,随访 2 年,亦未发作。还有 2 例手术治疗者,1 例术后 1 年曾有癫痫样小发作,第 2 年多次小发作,年底死于心衰。另 1 例手术 1 年后小发作 3 次,第 2 年小发作及大发作各 1 次,持续用苯安英钠 2 年,症状消失。

1993 年 6 月 25 日收稿 1994 年 4 月 27 日修回

(编辑:李国新)