

## 酶联免疫吸附试验检测人体肝吸虫抗体

李学信 李 瑛

酶联免疫吸附试验(Enzyme linked immunosorbent Assay, Elisa)是一种较新的标记抗原或抗体方法。我们于1980年5月运用这一免疫学检验技术,测定人肝吸虫抗体。兹将尝试结果报告如下。

### 材料与方 法

#### 一、ELISA方法:

试验材料:辣根过氧化物酶, RZ = 2.5-3.0, 批号791276, 上海生化所东风试剂厂出品。酶标记抗IgG用戊二醛二步交联法, 由本教研室制备, 批号8004, 用前须稀释。底物邻苯二胺(OPD), 系Germany出品。肝吸虫粗抗原、血吸虫及杜利计曼原虫抗原, 由本院寄生虫学教研室提供或转赠。待检血清用聚乙烯管自受检者耳垂采集, 离心后获得。载体用聚苯乙烯反应板100×45毫米(10×4孔), 上塑三厂出品。

检查方法:间接法。首先用包被缓冲液将抗原稀释成10微克/毫升, 于反应板内每孔加入0.1毫升进行包被。洗涤, 加入一系列稀释度待检血清, 孵育。洗涤, 加入经稀释后的酶标记抗IgG。洗涤, 加入底物呈现显色反应, 再加入终止液以终止反应, 30分钟后用肉眼观察并用721型分光光度计检测光密度(OD)值, 记录结果。

结果判断:凡肉眼观察有黄色反应(+)出现者, 并经检测OD值(血清1:128稀释度), 在0.2及以上者, 判断为阳性; 反之判为阴性。

#### 二、虫卵检查法:

定性采用加藤氏法, 每例三送三检, 每次粪检涂片二张。虫卵计数系用Stoll's方法。

#### 三、皮内试验方法:

皮试法选用1:2000粗制肝吸虫抗原, 于左侧前臂屈侧正中作一直径0.5厘米大小皮丘, 15分钟后观察记录结果。若皮丘扩大至0.8厘米及以上者, 则判为阳性; 反之则判为阴性。另在右侧前臂相对应部位作万分之一硫柳汞盐水对照, 若皮丘扩大至0.8厘米及以上者, 则判为对照性。

### 检测结果

全部受检对象, 为本市郊区一小学, 该地区无血吸虫病流行。对受检对象采用粪检、皮试和ELISA三种方法的自身对照试验。结果如下:

一、ELISA法测定不同受检对象, 血清OD值水平:

阳性病人组OD均值范围为1.42—0.53, 而粪检阴性对照组OD均值范围为0.26—0.03, 两组OD均值在各种稀释度

相差均较大。以1:128稀释度为例,阳性病人组 OD值均值为0.53,粪价照对阴性组OD均值为0.03,两组经秩和检验,发现有非常显著的区别(H=106.5, n-m=0, P<0.01)。见图1。

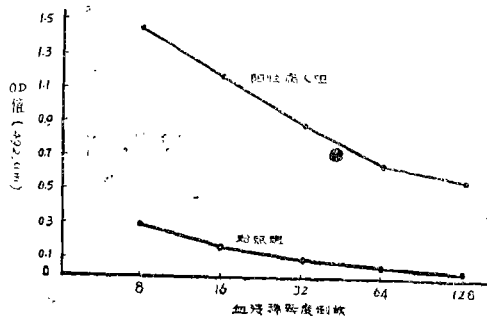


图1. 不同受试者ELISA法OD均值曲线

二、以粪检为背景,看ELISA法及皮试法检出情况:

表1: 粪检与ELISA法检出情况

粪检法	ELISA法		合计
	+	-	
+	17	0	17
-	1	54	55
合计	18	54	72

表2: 粪检法与皮试法检出情况

粪检法	皮试法		合计
	+	-	
+	15	2	17
-	25	30	55
合计	40	32	72

三、剂量反应曲线:

在检测中,我们用Stoll's方法进行虫卵计数时,发现虫卵的排出量与其血清OD值大小呈正比,经Spearman,s等级相关检验,二者呈高度正相关( $r=0.71, \varphi_s > \varphi_s 0.01, tr > t(15) 0.01, P < 0.01$ )。作指数曲线配合,回归方程为  $\hat{y} = -0.4533 + 0.3895 \lg 10^x$ 。剂量反应曲线见图2。

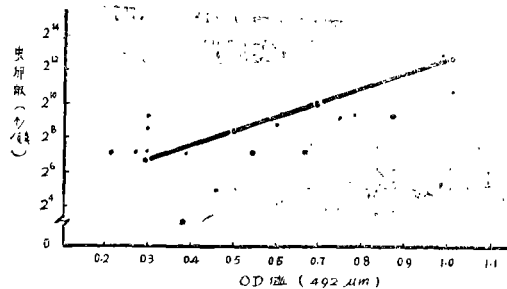


图2. 肝吸虫病人血清OD值与虫卵数的剂量反应曲线

酶联免疫吸附试验检测人体肝吸虫抗体,具有一定的综合诊断意义。这一免疫学检验技术并不复杂,且受检者易于接受,较有实用价值。由于检测例数较少,有待于在今后的重复检测中对这种新方法进行深入探讨。

(辛崇平、仲召军、王月民、于鸣娟、陈玉林等同志参加这一实验的现场调查工作。)