

文章编号:100120580(2001)0520446202

3 种抗原 Dot2ELISA 诊断日本血吸虫病的比较³

湖北咸宁医学院寄生虫学教研室(437100) 沈定文 罗金萍 陈喜圭

摘要:目的 探讨 Dot - ELISA 快速诊断血吸虫病的实用价值。方法 利用 Dot2ELISA 分别检测 108 例日本血吸虫病人、25 例肝吸虫病人、20 例肺吸虫病人和 50 例正常人血清日本血吸虫 31/32kDa 抗原(Sj31/32)、可溶性虫卵抗原(SEA)和血吸虫成虫粗抗原(AWA)特异性 IgG 抗体,以寻找用于 Dot2ELISA 快速有效诊断日本血吸虫病的抗原。结果 108 例日本血吸虫病人血清 Sj31/322IgG、SEA2IgG 和 AWA2IgG 的检出率分别为 9216%、9414%和 9514%,平均抗体滴度分别为 1 333、1 982 和 1 850,50 例正常人和 25 例肝吸虫病人 Sj31/322IgG 均为阴性,20 例肺吸虫病人中 Sj31/322IgG 仅 1 例阳性,而正常人、肝吸虫和肺吸虫病人 SEA2IgG、AWA2IgG 均有不同程度的交叉反应。Sj31/322IgG 与 SEA、AWA 敏感性相似,但特异性明显高于 SEA 和 AWA。结论 提示 Sj31/322IgG Dot2ELISA 诊断日本血吸虫病价值优于 SEA 和 AWA。
关键词:日本血吸虫病;Dot2ELISA;Sj31/32;AWA;SEA

中图分类号:R532121 文献标识码:B

Comparison of Three Antigens in the Diagnosis of Schistosomiasis japonicum by the Dot2ELISA SHEN Dingwen, et al. Department of Parasitology, Xianning Medical College (Xianning 437100)

Abstract: Objectives To find an effective antigen applied in the diagnosis of schistosomiasis japonicum. **Methods** Dot2ELISA was used in the detection of Schistosoma japonicum 31/32kDa antigen(Sj31/32) IgG, soluble egg antigen (SEA) IgG and adult worm antigen (AWA) IgG in 108 cases of patient with schistosomiasis, 25 cases of patient with Clonorchiasis, 20 cases of patient with Paragonimiasis and 50 cases of normal human. **Results** The positive rates of Sj31/322IgG, SEA2IgG and AWA2IgG were 9216%, 9414% and 9514% respectively in 108 case of schistosomiasis, while the mean antibody titers were 1 333, 1 982 and 1 850 respectively. The Sj31/32 IgG was negative in sera of Clonorchiasis and normal person. Only one case was positive in the 20 cases of Paragonimiasis. Some nonspecific reaction were emerged by SEA and AWA with sera of normal human, Paragonimiasis and Clonorchiasis. The sensitivity of Sj31/322IgG was similar with the SEA and AWA, but the specificity was higher than that of SEA and AWA. **Conclusion** The results indicated that the value of Sj31/32 IgG in the diagnosis of schistosomiasis japonicum by Dot2ELISA might be superior to that of SEA and AWA.

Key words: schistosomiasis japonicum; Dot2ELISA; Sj31/32 AWA SEA

理论上,循环抗原的检测可反映体内活动性感染、虫负荷量及评价药物的治疗效果,目前循环抗原的检测系统特异性较差,对慢性轻度感染者敏感性不高,疗效考核的效果不理想,因而便有人转而研究特异性抗体及亚类。现有资料显示特异性抗体与血吸虫病感染和再感染密切相关^[1,2]。为了进一步探讨 Dot2ELISA 快速诊断血吸虫病的实用价值,我们比较了 Sj31/32、SEA 和 AWA 3 种抗原检测日本血吸虫病特异性抗体的特异性、敏感性。现将结果报告如下。

1 材料与方法

111 血清来源 108 例日本血吸虫病患者血清来自血吸虫病流行疫区的湖北省赤壁市赤壁镇八把刀村 1、2 组,均有明显的疫水接触史和不同程度的临床症状,kato 法粪检阳性;50 份正常人血清来自血吸虫病非疫区健康受试者;肺吸虫病人血清和肝吸虫病人血清均采自血吸虫病非疫区流行区患者,所有血清均置 -20℃ 保存备检。

112 抗原制备

11211 Sj31/32 参照沈定文等的方法^[3],利用制备型 SDS PAGE 和电渗析方法自日本血吸虫成虫分离纯化,常规 ELISA 确定其免疫活性,抗原浓度为 0.122mg/ml。

11212 SEA 取人工感染日本血吸虫尾蚴 42d 的家兔肝脏,常规分离血吸虫卵,冰冻干燥后研磨,经 PBS 浸提,超声粉碎,4℃ 10000g 离心后上清液即为 SEA,蛋白浓度为 10mg/ml。

11213 AWA 取日本血吸虫成虫超声粉碎成匀浆,反复冻融 3 次,离心后取上清液,蛋白含量为 118mg/ml,分装置 -20℃ 保存备用。

113 血清检测 采用 Dot2ELISA 法^[4]

11311 试剂 硝酸纤维素膜(NC,孔径 0.125μm, Schleicher & Schuell 产品);封闭液为 1%BSA 的 TBS 缓冲液;HRP2 羊抗人 IgG(华美生物工程公司产品,批号 GRH6101);底物为 3,3',5,5'-四氨基联苯胺(DAB, Sigma)。

11312 操作方法 用 3 个等大大头针柄,分别蘸取经稀释的 Sj31/32、SEA 和 AWA 再分别印滴在预先经双蒸水浸泡后吹干的 NC 膜的小格上,凉干后置于封闭液中,室温封闭 2h,凉干备用。待测血清用封闭液作倍比稀释,浓度范围是 1:20~1:20480,每小格中加 2μl,室温 30min 后 TBS 洗涤 3 次,分别加酶结合物(30min)和底物 DAB(15min),水洗中止反应。每批均同时设立阳性和阴性对照,同一份血清均重复试验。

11313 结果判断 肉眼观察,如出现棕黄色斑点即为阳性,无棕黄色斑点出现或接近无色者判为阴性,NC 膜置暗处凉干后保存。

114 统计学处理 抗体检出率以百分率(%)表示,² 检验;抗体滴度的比较利用 t 检验。

2 结果

211 3 种抗原检测的敏感性 3 种抗原 Dot2ELISA 检测结果如表 1 所示,阳性率间无显著性差异(² = 2.161, P > 0.105),表明 3 种抗原检测日本血吸虫病血清抗体敏感性相近。

212 3 种抗原检测特异性比较 Sj31/32 Dot2ELISA 检测 50 例正常人和 25 例肝吸虫病人,血清抗体均为阴性,20 例肺吸虫病人中仅 1 例出现阳性,而 SEA 和 AWA 均有不同程度的交叉反应,结果见表 2,表明 Sj31/32 特异性高于 SEA 和 AWA。

表 1 3 种抗原 Dot2ELISA 检测日本血吸虫病敏感性比较

抗原	血吸虫病血清例数	阳性例数	阳性率(%)
Sj31/32	108	100	9216
SEA	108	102	9414
AWA	108	103	9514

3 湖北省教委重点课题资助(94A063)

213 试验重复性 在同一条件下 Dot2ELISA 对各份血清进行重复试验,结果一致。

214 血清抗体滴度的比较 日本血吸虫病人血清 3 种抗体滴度均显著低于非血吸虫病人和正常人相应抗体滴度,差异有极显著性意义($P < 0.01$),结果见表 3。

3 讨论

建立快速、简便、实用的诊断方法是日本血吸虫病防治措施的重要组成部分,特异性纯化抗原可提高免疫诊断的敏感性和特异性。粪便病原学检查虽是血吸虫病确诊的依据,但对低感染流行区慢性患者敏感性低,易于漏诊,研究并发展免疫诊

断方法和试剂便成为血吸虫病诊断的关键。Dot2ELISA 操作简便,诊断快速,具有一定的实用价值,适合于基层大规模的流行病学调查和诊断。

表 2 3 种抗原 Dot2ELISA 检测特异性比较

血清来源	检测例数	阳性例数		
		Sj31/32	SEA	AWA
正常人	50	0	1	2
肝吸虫病	25	0	4	4
肺吸虫病	20	1	2	3
合计	95	1	7	9

表 3 血清抗体滴度(平均滴度)比较

抗体类型	血吸虫病	正常人	肝吸虫病	肺吸虫病
Sj31/32IgG	1 20 ~ 1 2560(1 333)	0	0	1 20 ~ 1 40(1 32)
SEA2IgG	1 20 ~ 1 5120(1 982)	1 20 ~ 1 20(1 20)	1 20 ~ 1 80(1 50)	1 20 ~ 1 80(1 56)
AWA2IgG	1 20 ~ 1 5120(1 850)	1 20 ~ 1 40(1 25)	1 20 ~ 1 160(1 140)	1 20 ~ 1 160(1 148)

本文利用 Dot2ELISA 分别检测了日本血吸虫病、肝吸虫病、肺吸虫病以及正常人血清 Sj31/32、SEA 和 AWA 特异性 IgG 抗体,结果 3 种抗体的阳性检出率相近,分别为 9216%、9414% 和 9514%,而利用 Sj31/32 Dot2ELISA 正常人和肝吸虫病人未见阳性,肺吸虫病人中仅 1 例阳性,SEA 和 AWA Dot2ELISA 则出现不同程度的交叉反应,结果表明 3 种抗原检测抗体敏感性相似,但 Sj31/32 的特异性高于 SEA 和 AWA。

Sj31/32 存在于血吸虫成虫肠道,雌虫含量明显高于雄虫,针对 Sj31/32 的特异性抗体在感染血吸虫病患者中出现较早,往往早于虫卵的排出^[6],因此将 Sj31/32 用于 Dot2ELISA 可早期、快速、特异的诊断日本血吸虫病,其现场应用价值正在研究之中。

作者简介:沈定文(1966 -),男,湖北赤壁人,副教授,硕士,主要从事血吸虫病免疫学和分子生物学研究。

参 考 文 献

11 Grogan JL ,et al. Antischistosome IgG4 and IgE responses are affected differentially by chemotherapy in children versus adults. J Infect Dis , 1996 ,173 (7) :1242.

21 Grogan JL ,et al. Anti2schistosome IgG4 and IgE at 2 years after chemotherapy:infected versus uninfected in dividuals. J Infect Dis , 1997 ,176 (7) :1344.

31 沈定文,等. 日本血吸虫成虫 31/32kDa 蛋白的纯化及保护性免疫力的研究. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志,1993 ,11 (4) :241.

41 李允鹤. 寄生虫病免疫学及免疫诊断. 江苏:江苏科学技术出版社, 1991 :367.

51 Evengard B ,et al. Early antibody responses in human schistosomiasis. Clin Exp Immunol ,1990 ,80 (1) :69.

(2000205215 收稿 蔡天德编校)

文章编号 :100120580(2001)0520447201

关于保健食品的探讨

锦州市卫生防疫站(121001) 杨 华 赵文武

中图分类号:R15414 文献标识码:B

我国已颁布了《保健食品管理办法》和《食品广告管理办法》,法规上明文规定“禁止宣传疗效作用”,然而目前市场上和广告中仍存在此类问题。为使消费者辨明是非,提高认识,本文就此作一初步探讨。

保健食品存在的意义 (1)在食品中几乎没有一种称得上理想的营养完全的食品,而且通过加工、储藏、运输等环节食品营养又有所损失。因此,在国家推行平衡膳食的同时,强化、调配、研制出更多的适合人体需的保健食品,作为平衡膳食政策的补充,对提高人民健康水平具有一定意义。(2)降低营养缺乏病的发生。如为预防婴幼儿佝偻病在消毒奶中加维生素 A 及 D,为预防地方性甲状腺肿在食盐中加碘等等。以往的一些营养缺乏病正在大幅度减少。(3)食品与某些疾病的关系。尽管癌瘤的病因至今尚未确定,但是大量的研究表明,膳食的脂

类、维生素 A、C、E、微量元素硒、碘、膳食纤维等营养因素与癌瘤的发生密切相关。

保健食品存在的问题 虽然保健食品对人民健康有着重要意义,但是,目前市场上的保健食品现状令人担忧,存在着诸多混乱现象:(1)乱加药:主要是往食品中加入中药,例如人参麦乳精、鹿茸糖等。鹿茸本是壮阳药,让儿童食用这种食品,是一种犯罪行为。(2)更改配方:申报保健食品时的配方和实际生产保健食品的配方不一致。主要是一些厂家在申报保健食品时所提供的配方无药物成分,而生产时却加入药物。(3)乱宣传:有些厂家不按卫生部批准的保健食品说明书内容宣传,而是大宣传,什么“青春美容”、“返老还童”、“抗癌疗癌”等。(4)日常监测困难:主要是保健食品的保健功能检验和毒性检验。这两项检验只在申报保健食品时由卫生部指定的检验机构去做,而一般的卫生监督机构不能做此项目检验,这就给一些厂家更改配方提供了方便。

综上所述,应该认为保健食品是客观存在,对现有的问题,希望有关部门引起关注,要在加强法制和科学管理的的基础上,鼓励和引导保健食品走上依法科学开发的轨道。

(2000205215 收稿 董建群编辑 蔡天德校对)