

# 旋毛虫病的免疫诊断研究

刘光明 蔡海松 综述 宋思扬 苏文金 审校

厦门大学生物学系 (厦门 361005)

旋毛虫病的临床表现错综复杂,临床诊断较为困难,易与其它传染病相混淆。肌肉活检发现幼虫或囊包虽可确诊,但在轻度感染和感染早期往往不易检出,即使是感染晚期,因受摘取组织局限性的影响,活检阳性率也只有 50% 左右<sup>[1]</sup>,且不易被病人接受。近年来应用血清免疫学试验诊断旋毛虫病的研究进展迅速,已从简单血清沉淀试验和凝集试验发展为微量、高效和快速的免疫标记,以及具有分子水平的酶联免疫技术,这些诊断技术可用于检测宿主体内的循环抗体或循环抗原,并可望以鉴别不同的病期、新感染活动期或治疗效果的评价等。现将国内外有关研究近况综述如下。

## 1 酶联免疫吸附试验 (ELISA)

陈雅棠等<sup>[2]</sup>用 ELISA 检测 11 例旋毛虫病人血清特异抗体,阳性率为 72.72%,与献血员组和其它寄生虫病人组相比均有显著差异,表明此法具有较好的特异性和灵敏性。

Su 等<sup>[3]</sup>应用单抗亲和层析纯化抗原进行了 Dot-ELISA 检测猪旋毛虫病的研究,其敏感性与应用 ES 抗原的常规 ELISA 和 Western blot 一样,其特异性接近于 Western-blot,在对 200 份轻度感染 (0.08~4.74 条幼虫/g 膈肌)的猪血清进行 Dot-ELISA 检测时,全部阳性。在某一农场对 1960 份猪血清进行调查时,常规 ELISA 阳性 262 份 (13.4%), Dot-ELISA 阳性 16 份 (0.82%), Western-blot 阳性 15 份 (0.77%)。

Niimura 等<sup>[4]</sup>应用单抗亲和层析法从旋毛虫肌幼虫  $\alpha$  杆细胞中分离出了一种分子量为 160 kDa 的抗原,用于 ELISA 检测感染后 33~109 d 的 13 例旋毛虫病人血清中的抗体,其抗体滴度明显高于粗抗原检测到的抗体滴度。用粗抗原时与鞭虫、颚口线虫及并殖吸虫病人血清有交叉反应,而用该纯化抗原则可消除假阳性反应。

Nishiyama 等<sup>[5]</sup>对 127 份有临床症状的旋毛虫病人应用夹心 ELISA 法检测血清中循环抗原 (CAg) 时,阳性率为 29.9%,而抗体阳性率为 18.9%。在 220 份无症状的可疑病人血清中,CAg 阳性率为 21.4%,抗体阳性率为 5.0%;有临床症状而抗体阴性的血清中,CAg 阳性率为 14.6%。结果表明检测抗原比检测抗体对诊断旋毛虫病可能更有价值。

Sugane 等<sup>[6]</sup>将重组融合蛋白 (FP) 及抗  $\beta$  半乳糖苷酶-蠕虫单克隆抗体应用于 ELISA 检测,结果旋毛虫病患者血清与固定在微孔板上的 FP 及单抗发生强烈反应,而与其它蠕虫病患者血清不发生假阳性反应。使用 FP 及抗  $\beta$  半乳糖苷酶-蠕虫单克隆抗体的 ELISA 检测,比应用生化方法获得的可溶性抗原具有更高的特异性。

Mahannop 等<sup>[7]</sup>将感染性幼虫的粗制虫体抗原 (CLE) 用于 ELISA 对 3 组人群血清进行检测,其中第一组为 21 例经活检确诊为旋毛虫病人血清,第二组为 125 例感染其它寄生虫蠕虫的病人血清,第三组为 34 例无寄生虫感染的健康人血清。结果第一组中 21 份血清全部阳性,第二组中仅有 4 份血清呈阳性,而第三组无 1 例阳性。试验的敏感性和特异性分别达 100% 和 96.8%。与先前以 ES 抗原作实验结果相比较,CLE 与 ES 抗原在旋毛虫病的免疫诊断中具有相同的敏感性,虽然其特异性 (96.8%) 较 ES 抗 (100%) 低,但 CLE 具有易于制备、费用低、回收率高以及可用于早期诊断等明显优点。

陈思礼等<sup>[8]</sup>采用 PV C-ELISA 方法,对确诊的 56 例人体旋毛虫病患者和 80 例非疫区健康人及 144 例其它寄生虫病患者血清进行测定,结果显示 56 例旋毛虫病患者血清抗体均为阳性,80 例非疫区健康人血清均为阴性,144 例其它寄生虫病患者血清仅 1 例阳性。胡少良等<sup>[9]</sup>应用单克隆抗体竞争 ELISA 法检测 34 例旋毛虫病人血清,阳性检出率为 94.12%,检测 26 例其它蠕虫病人及 42 例正常人血清均无假阳性反应出现。

## 2 间接免疫酶染色试验 (IEST)

IEST 是以含旋毛虫病原的组织切片、印片或培养物涂片用作抗原,进行过氧化物酶特异免疫染色后,在光镜下检示样本中的特异性抗体。该法简单、节省抗原,判断结果不需要特殊仪器。

朱兴全等<sup>[10]</sup>将酶标记的金黄色葡萄球菌 A 蛋白 (SPA) 替代酶标记的抗体用于 IEST 中检测旋毛虫病人猪,取得了较好的敏感性和特异性。对 47 份旋毛虫阳性猪血清进行检测,阳性率为 97.87%,可检出人工感染 50 条幼虫后 28 d 的血清抗体,37 份阴性血清均无假阳性反应;10 份感染囊虫、10 份感染弓形虫及 1 份感

染蛔虫的猪血清均无交叉反应。王彦平等<sup>[11]</sup>应用组织切片 IEST 法检测 8 例旋毛虫病人血清均为阳性,而 13 例正常人、14 例囊虫病病人及 5 例华支睾吸虫病人的血清均为阴性。检测 6 份人工感染旋毛虫大鼠血清也全部呈阳性反应,5 份正常大鼠血清和 5 份正常犬血清均呈阴性反应。朱名胜等<sup>[1,2]</sup>用 IEST 方法检测感染旋毛虫豚鼠血清,阳性检出率为 97.8%。检测 35 份正常豚鼠血清,20 份血吸虫病兔血清,30 份并殖吸虫病大白鼠血清,25 份蛔虫病患者血清,12 份鞭虫病人血清,全部呈阴性反应。表明 IEST 对旋毛虫病特异性抗体的检测具有较好的敏感性和特异性。

### 3 酶联免疫印渍技术 (ELIB)

ELIB 亦称蛋白质印渍技术 (Western-blot),是由 SDS-PAGE 转移电泳和 ELISA 三项技术结合而成的一种新的免疫学方法,能识别抗原中某些特定的组分,因而较常规免疫学方法具有更强的特异性。

Arriaga 等<sup>[13]</sup>应用实验感染旋毛虫的猪血清通过 ELIB 对旋毛虫幼虫浸出物进行了分析,结果表明该浸出物中含有 5 种主要抗原,其中 4 种抗原 (MW 为 47.52 67 和 72 kDa) 与应用单抗纯化的表面抗原或杆状体抗原相一致,肌幼虫的排泄物中也含有上述 4 种抗原中的 3 种 (MW 为 52.67 和 72 kDa)。Alcantara 等<sup>[14]</sup>应用 ELIB 对旋毛虫浸出物的分析结果表明,多数旋毛虫病人可识别 8 条分子量在 38~104 kDa 之间的蛋白带,其中一些蛋白带还可被抗旋毛虫单克隆抗体及旋毛虫感染或免疫后的大鼠、小鼠、猪及兔血清所识别,提示不同种属的动物及人体均可识别旋毛虫的主要抗原决定簇。

Todorava 等<sup>[15]</sup>应用杂交 Wistar 鼠感染旋毛虫幼虫 (1000 条/只) 后第 21d 获得的鼠血清,按常规方法制备抗旋毛虫的单克隆抗体 (McAb TS3G6) 通过 ELIB 显示旋毛虫幼虫抗原与 McAb TS3G6 反应的特异性抗原组分的分子量为 76.41 和 36 kDa。结果还显示幼虫抗原和免疫复合物相关抗原与抗旋毛虫 IgG 在分子量 13~90 kDa 间均出现 11 条反应带,其中三条带的分子量为 76.41 和 36 kDa,与 McAb TS3G6 起特异反应的幼虫抗原蛋白分子量一致。

Denoya 等<sup>[16]</sup>将肝片吸虫可溶性虫卵抗原 (SEA) 应用于免疫印渍试验中,发现旋毛虫病患者血清与其分子量在 80~91 kDa 之间的一些蛋白带发生假阳性反应。结果表明旋毛虫病患者血清可与肝片吸虫 SEA 的某些成分发生交叉反应。

### 4 间接荧光抗体试验 (IFAT)

本法的优点是制备一种荧光标记的抗体,可以用

于多种抗原、抗体系统的检查。Kamiya 等<sup>[17]</sup>试用干燥幼虫作抗原,通过 IFAT 检测 8 例旋毛虫病患者血清、20 份健康人血清。结果表明,在干燥幼虫与病人血清一起孵育的沉淀物上可检测到荧光,而干燥幼虫与健康人血清孵育则无荧光。Kehayov 等<sup>[18]</sup>用感染旋毛虫的豚鼠肌肉作冰冻切片,以及两种针对旋毛虫幼虫可溶性抗原的单克隆抗体 (McAb 3G6 和 McAb 3E10) 应用于 IFAT 检测,证实与 McAb 3G6 相应的抗原位于旋毛虫幼虫的杆状体和角质层,而与 McAb 3E10 相应的抗原位于旋毛虫幼虫的整个体表及四周的囊壁。

王中全等<sup>[19]</sup>应用旋毛虫幼虫冰冻切片抗原,通过 IFAT 观察了旋毛虫病人阿苯达唑治疗后血清抗体水平的变化。结果治疗后抗体阳性率及抗体滴度均比治疗前明显升高。从治疗后 1 个月抗体水平开始下降,至治疗后 4 个月时抗体转阴率已达 75%。

### 5 间接红细胞凝集试验 (IHA)

朱名胜等<sup>[12]</sup>用 IHA 方法检测感染旋毛虫豚鼠血清,阳性率为 100%。检测 35 份正常豚鼠血清,20 份血吸虫病兔血清,30 份肺吸虫病大白鼠血清,25 份蛔虫病人血清和 12 份鞭虫病人血清,除 1 例肺吸虫病大白鼠血清出现交叉反应外,其余均为阴性。结果表明操作简便的 IHA 法具有较高的敏感性和特异性,适用于旋毛虫病的诊断。

### 参考文献

- 1 Au ACS, et al. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1983, 77: 412
- 2 陈雅棠,等.重庆医科大学学报,1986,11: 87
- 3 Su XZ, et al. J Parasitol, 1991, 77: 76
- 4 Niimura M, et al. Jap J Parasitol, 1992, 41: 287
- 5 Nishiyama T, et al. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1992, 86: 292
- 6 Sugane K, et al. J Immunological Methods, 1994, 168: 55
- 7 Mahannop P, et al. Int J Parasitol, 1995, 25: 87
- 8 陈思礼,等.中国人兽共患病杂志,1996,12(1): 62
- 9 胡少良,冯瑞元.中国人兽共患病杂志,1994,5: 160
- 10 朱兴全,年炳亨.中国人兽共患病杂志,1988,4(2): 50
- 11 王彦平,等.中国寄生虫学与寄生虫病杂志,1992,10: 71
- 12 朱名胜,等.中国寄生虫病防治杂志,1996,9: 128
- 13 Arriaga C, et al. Exp Parasitol, 1989, 69: 363
- 14 Alcantara P, et al. Int J Parasitol, 1993, 23: 657
- 15 Todorava V K, et al. Parasitol Res, 1993, 79: 86
- 16 Denoya BA, et al. Epidemiology & Infection, 1996, 116: 323
- 17 Kamiya H. Hap J Parasitol, 1982, 31: 401
- 18 Kehayov I, et al. Parasitol Res, 1991, 77: 72
- 19 王中全,等.中国人兽共患病杂志,1995,11: 21

(收稿: 1996-12-13 修回: 1997-04-14)