

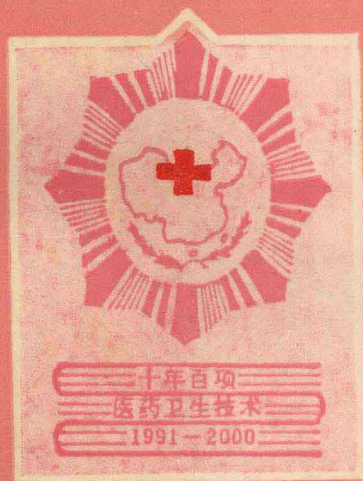
《十年百项重大医药卫生技术丛书》

(·91—2)

诊断血吸虫病 的二种好方法

严自助 (中国预防医学科学院寄生虫病研究所)

吴福东 (江西省寄生虫病防治研究所)



中华人民共和国卫生部科技司
华夏出版社

中国疾病预防控制中心
中国疾病预防控制中心
中国疾病预防控制中心

诊断血吸虫病 的二种好方法

【中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所 王惠芳 等】

【摘要】目的：探讨诊断血吸虫病的新方法。方法：应用改良的



中国疾病预防控制中心
中国疾病预防控制中心
中国疾病预防控制中心

《十年百项重大医药卫生技术丛书》

('91-2)

诊断血吸虫病的二种好方法

严自助

(中国预防医学科学院寄生虫病研究所)

吴福东

(江西省寄生虫病防治研究所)

中华人民共和国卫生部科技司

华夏出版社

(京)新登字 045 号

《十年百项重大医药卫生技术丛书》

(’91-2)

诊断血吸虫病的二种好方法

严自助 吴福东

*

华夏出版社出版发行

(北京东直门外香河园北里4号)

新华书店经销

北京市人民文学印刷厂印刷

*

787×1092 毫米 32 开本 1.75 印张 37 千字 插页 1

1993 年 8 月北京第 1 版 1993 年 8 月北京第 1 次印刷

印数 1—2700 册

ISBN7-5080-129-X/R·122

定价:2.70 元

推广科技成果
提高健康素质

一九九三年五月 吴阶平



普及科学技术，改善

卫生状况，提高健康水平。

陈敏章

九三年六月

《十年百项重大医药卫生技术丛书》

(编委会名单)

- 主 编** 陈敏章(卫生部部长)
- 副主编** 秦新华(卫生部科技司副司长)
郭建模(中国残联副理事长)
- 编 委** 陈敏章 秦新华 郭建模
王秀峰(卫生部科技司成果处处长)
毕可展(卫生部科技司成果处干部)
刘晓波(卫生部科技司成果处干部)
王智钧(华夏出版社总编)
毕晓峰(华夏出版社编审)
林承云(康艺音像出版社副总编)

编辑出版说明

为了彻底改善全国农村与基层的卫生状况,迅速提高人民的健康素质,实现 2000 年人人享有卫生保健的宏伟目标,卫生部从 1991 年起实施“十年百项”科技成果推广计划,在 1991~2000 年十年期间,每年从全国重大医药卫生科技成果中,精心选出十项适合全国农村与基层推广项目,经卫生部部长亲自审定后向全国农村与基层推荐,并颁发有关文件对每项技术推广的要求、内容、范围、方式、时效做出具体规定。

为配合“十年百项”科技成果推广计划的顺利实施,我们将陆续编辑出版《十年百项重大医药卫生技术丛书》,一项技术编一本书,共 100 种图书,10 年出齐。请每项成果的创造者、获奖者担任作者,每一分册都要求充分体现科学实用、通俗易懂的特色。《丛书》由卫生部部长陈敏章任主编,卫生部科技司副司长秦新华、中国残联副理事长郭建模任副主编;由卫生部科技司成果处及华夏出版社联合组成编委会负责编辑出版的组织工作。

《丛书》在编辑出版过程中除得到卫生部、中国残联有关部门的重视与支持外,还得到社会各界的广泛关注与热情赞助,在此一并感谢。

《十年百项重大医药卫生技术丛书》

编 委 会

1993 年 2 月 15 日

序

血吸虫病是一种严重危害人体健康的寄生虫病。它广泛流行于热带及亚热带的 74 个国家和地区。血吸虫病在我国流行已有 2000 余年历史。解放后经过近 40 年的努力,血吸虫病的防治工作成绩卓著,为世人所瞩目。近年来由于种种原因,局部地区的疫情有所回升,因而防治工作的任务仍很艰巨。血吸虫病传统的诊断方法是粪便检查。由于粪便检查费时、费力、漏检率高,有些病人得不到及时的诊断以致到了晚期才被发现,严重地影响了身体健康。因此提高诊断血吸虫病技术水平,及时发现病人,成为血吸虫病防治中的关键之一。近年来,随着免疫学研究的进展和高新技术的引进,一方面现有的免疫试验的敏感性和特异性不断提高,方法更加简易、实用;另一方面新的免疫学试验经过不断的探索,脱颖而出。其中最为突出的是中国预防医学科学院寄生虫病研究所的“单克隆抗体免疫试验检测循环抗原诊断血吸虫病”和江西省寄生虫病防治研究所的“间接血凝试验诊断血吸虫病”两项成果。前者采用了特异性单克隆抗体检测循环抗原,具有病原诊断意义,方法也很简易、经济,代

表了血吸虫病诊断试验的方向；后者敏感、简易、快速，是目前血吸虫病检查中应用最广泛、最经济的方法。该两项成果在 1991 年 3 月国家科委和卫生部举办的“血吸虫病防治新技术、新成果评估会”上得到专家们的一致好评，获得推广证书。此后又被卫生部列为 1991 年度首批面向农村和基层推广的十项重大医药卫生技术之一。为了更好地推广这两项技术，使其在血吸虫病检查、诊断中发挥更大的作用，特将该两项技术的有关资料和推广应用中的粗浅体会编写成册，以供从事血吸虫病防治的科技人员、临床检验人员和医学院校的师生们参考，并请提出批评与建议，以资改进。

本分册分别介绍该两项技术的基本原理、试验方法、操作技术、影响因素、注意事项以及应用价值等，力求达到具有科学性、先进性，并能突出重点，通俗易懂，便于读者学习和掌握。

目 录

I、诊断血吸虫病的新方法

——单克隆抗体免疫试验检测循环抗原

诊断血吸虫病 1

(中国预防医学科学院寄生虫病研究所)

严自助

II、检测血吸虫病的另一种好方法

——间接血凝试验技术 29

(江西省寄生虫病防治研究所)

吴福东

I 诊断血吸虫病的新方法

——单克隆抗体免疫试验检测循环抗原

诊断血吸虫病 1

(中国预防医学科学院寄生虫病研究所)

严自助

一、前言	2
二、单克隆抗体斑点酶联试验的原理	5
三、单克隆抗体制备原理及酶结合物的制备	6
四、血吸虫循环抗原概述	8
五、Dot-ELISA 操作方法及注意事项	9
六、Dot-ELISA 检测循环抗原主要技术指标与 应用价值	11
七、本项技术与国内外相关技术的比较	18
八、推广应用及效益	22
九、参考文献	25
十、附录	26

一、前 言

血吸虫病是由寄生于人体及其他一些哺乳动物静脉血管里的血吸虫引起的。血吸虫的幼虫叫尾蚴,是侵袭人体的生活史阶段。尾蚴经皮肤入侵后在体内移行,最后定居于门静脉及其分支的血管里。成熟的血吸虫雌雄虫交配产卵。虫卵逆血流进入肠壁微血管。成熟虫卵内的毛蚴不断分泌排泄一些抗原物质,在肠壁形成嗜酸性溃疡。溃疡破裂,虫卵落入肠腔随粪便排出体外所以多年来血吸虫病的诊断主要依靠粪便检查,即在粪便中找到虫卵或孵出毛蚴。此外虫卵沉积在肠壁,用直肠活组织检查法在肠壁组织中找到活的或近期变性虫卵也可作为诊断依据。但是随着病程的发展,肠壁纤维化,致使虫卵无法进入肠腔,影响了虫卵的检出。此外粪检方法烦琐,影响因素很多,大规模普查时,漏检率很高,又易污染环境,很不受欢迎。

血吸虫的幼虫在宿主体内移行,发育至成熟产卵,机体产生一系列免疫应答反应。其中体液免疫反应就可产生大量抗体,利用这一原理即又发展了众多的免疫血清试验。如环卵沉淀试验、间接血凝试验、酶联免疫吸附试验和间接荧光抗体试验等。其中环卵试验和间接血凝试验已广泛用于血吸虫病普查和临床诊断。但是抗体的检测取决于宿主的年龄、营养和免疫状态,常常不能反映宿主的虫荷数。当血吸虫被杀灭后,抗体持续存在很长时间,给血吸虫病治疗效果的考核、防治工作的评价带来许多困难。例如在查病方案中,对环卵沉淀试验不

得不将治疗后 3 年,环沉率 $\geq 3\%$ 者定为治疗对象。

血吸虫寄生于宿主的门静脉的血管中,它不断分泌、排泄一些抗原物质进入宿主循环。如检测这些虫源性抗原,则能达到病原诊断的目的。但由于虫源性抗原的含量甚少,检测方法不够敏感,缺乏高效价单特异性的抗体而始终不能满意,只能停留于实验室阶段。80 年代起,细胞杂交瘤技术问世,为循环抗原的检测开创了新的局面。国内外各寄生虫学研究机构相继研制了各种类型的血吸虫单克隆抗体,分别用于夹心法 ELISA、放射免疫试验或被动血凝试验以检测循环抗原。笔者自 1985 年起研制了血吸虫成虫肠相关抗原、虫卵可溶性抗原及成虫表面膜抗原等高效价的单克隆抗体,首创用直接法斑点酶联试验(Dot-ELISA)检测循环抗原诊断血吸虫病,获得了比较满意的结果。并于 1990 年 6 月通过成果鉴定,确认本项研究技术先进、设计合理、达到国际先进水平,是迄今能用于现场的最为理想的血吸虫病诊断试验。1991 年 3 月本项研究参加国家科委及卫生部召开的“血吸虫病防治新技术、新成果评估会”,被确认为技术先进、实用性较强,建议在血吸虫病防治试点区扩大范围应用,并获得推广证书。1991 年 5 月本项研究被卫生部公布为首批面向农村和基层推广的十项重大医药卫生技术之一。荣获卫生部科技进步三等奖、上海市科技进步二等奖和国家级科技进步三等奖。本项研究参加过 5 次国内外大型学术交流会,已引起国内外学者和世界卫生组织官员的浓厚的兴趣。本项研究的论文和有关资料已被健康报、医药论坛信息、中国血吸虫病防治杂志、中国预防医学科学院学报刊登或转载。本项技术的试剂盒已研制成功,批量生产达 30 万人份。应用覆盖面已达湖南、湖北、江西、安徽、江

苏、浙江、四川和云南 8 个流行省,除用于血吸虫病的诊断、普查,还用于科研和培训,迅速提高了我国血吸虫病诊断技术水平,产生了很好的社会效益和经济效益。

严自助

二、单克隆抗体斑点酶联试验的原理

这是一种酶联免疫吸附试验。用已知的抗体来检测病人血清中的血吸虫循环抗原。即用抗血吸虫肠相关抗原的单克隆抗体、血吸虫成虫表面膜抗原或虫卵可溶性糖蛋白抗原的单克隆抗体标记过氧化物酶后,与滴在纤维膜上受检者的血清起反应。如血清中有血吸虫循环抗原,则单克隆抗体就能特异地捕捉到相应的抗原而形成抗原抗体复合物。标记在单克隆抗体上的酶遇到底物时,催化其水解、氧化或还原反应而在纤维膜上呈现棕色的斑点(图 1-1)。血清中抗原越多,斑点色泽越浓;如果受检者血清中没有血吸虫循环抗原,则单克隆抗体不能与相应的抗原相结合而在洗涤过程中连同标记在抗体上的过氧化物酶一起被除去,反应即被中断,因而不能生成棕色的斑点,或仅在纤维膜上留下血清的痕迹。

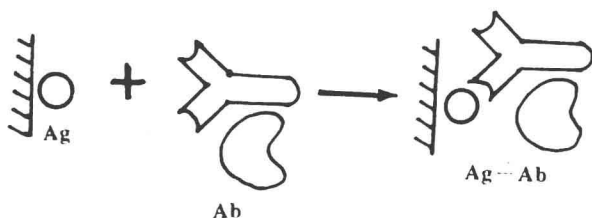


图 1-1 单克隆抗体斑点酶联试验原理

三、单克隆抗体制备原理及酶结合物的制备

在血吸虫病斑点酶联试验中,最重要、最关键的试剂是单克隆抗体酶结合物。即先制备特异性的血吸虫单克隆抗体,然后标记过氧化物酶,使其成为酶结合物。什么是单克隆抗体?怎样制备单克隆抗体?它具有何种特性?

由单个细胞培养形成细胞系所分泌的抗一种抗原决定簇的抗体叫作单克隆抗体。它是由 80 年代发展起来的淋巴细胞杂交瘤技术产生的。这种单克隆抗体具有高度均一,抗体结构、氨基酸顺序、特性都是一致的特性。在不同时间细胞培养过程中所分泌的抗体都能保持同样的结构和功能,因而能无限复制。为单克隆抗体酶结合物的大量生产、试剂盒的研制提供了保证。

根据免疫学原理,当一种外来物质进入哺乳动物身体时,机体产生免疫应答反应,通过机体免疫系统的协调作用产生抗体。在哺乳动物脾脏中有上百万的淋巴细胞,各有识别不同抗原决定簇的能力。一种抗原进入后,可以产生抗各种不同的决定簇的抗体。要把各种抗体分开几乎是不可能的。这种多克隆抗体容易制备,但有交叉反应和不易标准化的缺点。单克隆抗体是由脾脏淋巴细胞与骨髓瘤细胞杂交,通过多次克隆化筛选而形成的细胞系分泌的。这种杂交瘤细胞系具有双亲细胞的遗传特征,即既能分泌抗某个抗原决定簇的抗体,又能在体外大量繁殖。由于经过多次克隆化,这种细胞系分泌的抗体具有高度的特异性和均一性、并能无限复制,克服了多克隆抗体所存在的缺点。