

胶体金免疫层析法在布鲁氏菌病 不同流行地区的现场应用

朱明东, 杨蓉, 洪林娣, 钟春梅, 赵文宇

摘要: **目的** 验证胶体金免疫层析法(GICA)在布鲁氏菌病不同流行区现场应用的价值。**方法** 选择布鲁氏菌病不同流行区人群,采用 GICA、斑点金免疫渗滤法(DIGFA)和试管凝集试验(SAT)平行检测布鲁氏菌病人群抗体。**结果** GICA、DIGFA 和 SAT 检测重流行区、监测地区和非疫区人群抗体阳性率,3 种方法之间差异无统计学意义($P>0.05$);GICA 和 SAT 平行检测布鲁氏菌病重疫区人群抗体结果,二者阳性符合率为 94.2%。GICA 和 SAT 平行检测布鲁氏菌病非疫区人群抗体结果,二者阴性符合率为 99.6%。GICA 检测不同疫区之间人群抗体阳性率差异有统计学意义($P<0.01$)。**结论** GICA 不仅可及时快速发现患者,而且可监测疫情,反映流行程度,在布鲁氏菌病不同流行区具有较好的推广应用前景,对巩固布鲁氏菌病防治成果具有重要意义。

关键词: 布鲁氏菌病;胶体金免疫层析法;现场应用

中图分类号: R516.7

文献标识码: A

文章编号: 1003-9961(2008)05-0274-03

On-the-spot application of colloidal gold-immunochromatographic assay in various epidemic areas of brucellosis ZHU Ming-dong, YANG Rong, HONG Lin-di, ZHONG Chun-mei, ZHAO Wen-yu. Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China

Corresponding author: Zhu ming-dong, Email: zjhzzhumd@163.com

Abstract: **Objective** The study was conducted evaluate the on-the-spot performance of Colloidal Gold-Immuno-chromatographic Assay (GICA) in various epidemic areas of brucellosis. **Methods** Parallel comparison across GICA, dot immunogold filtration assay (DIGFA) and serum agglutination test (SAT) was made in different epidemic areas of brucellosis to evaluate the performance of the three methods in detecting human anti-brucella antibodies. **Results** No statistical difference was found in the positive rates of human anti-brucella antibodies in epidemic areas, surveillance areas and non-epidemic areas detected by the three methods ($P>0.05$). The positive coincidence was 94.2% between GICA and SAT when they were applied in epidemic areas, and the negative coincidence was 99.6% when applied in non-epidemic areas. The positive rates of human anti-brucella antibodies identified by GICA were statistically distinguishable across different epidemic areas ($P<0.01$). **Conclusion** Highly sensitive to potential patients, GICA can be used as a surveillance indicator of the extent to which the epidemic has prevailed. Its wide application is to be expected in different epidemic areas of burcellosis, which will contribute to the prevention and management of this disease.

Key words: brucellosis; gold-immunochromatographic assay; on-the-spot application

世界布鲁氏菌病疫情在 20 世纪 80 年代中期开始回升;中国布鲁氏菌病疫情在 1994 年开始回升,近 10 年来疫情呈逐年上升趋势,每年新发病例已达万例以上^[1-4]。人间布鲁氏菌病实验室诊断主要采用试管凝集试验(SAT)、虎红平板凝集试验(RPST)和补体结合试验(CFT)3 种免疫学方法,结合流行病学

史及临床表现确诊病例^[5]。3 种免疫学方法在确诊病例和疫情监测中起到了重要的作用,但均存在抗原、血清用量大,操作步骤复杂等缺点;且 SAT 检测速度极慢,24 h 后才能出结果;CFT 试剂稳定性差,敏感性低,在现场应用不够理想^[6,7]。近年来国内外许多学者对布鲁氏菌病的免疫诊断方法进行了大量的研究^[8-11]。作者已应用斑点金免疫渗滤法(DIGFA)研发了布鲁氏菌病诊断试剂^[12,13]。为进一步提高人畜布鲁氏菌病检测的水平和检测效果,本研究应用胶体金免疫层析法(GICA)研制快速诊断布鲁氏菌病诊断试剂,实验室研究结果具有方法简便、快速、

基金项目:浙江省科学技术厅基金资助(2006F13002)

作者单位:浙江省医学科学院,浙江 杭州 310013

作者简介:朱明东,男,浙江省人,主要从事血吸虫病免疫诊断工作

通讯作者:朱明东, Tel:0571-88215604, Email: zjhzzhumd@163.com

收稿日期:2008-02-28

微量,试剂敏感、特异、稳定等优点。为进一步验证 GICA 现场应用效果,在布鲁氏菌病不同流行地区开展了现场应用试验,现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 检测对象

1.1.1 布鲁氏菌病流行区 山西省大同市天镇县陆家湾镇,选择 6~60 岁人群为检测对象。

1.1.2 布鲁氏菌病监测地区 浙江省绍兴市原属布鲁氏菌病流行区,于 1995 年达到国家布鲁氏菌病控制标准,1996 年转入巩固监测。选择该地区的重点人群为布鲁氏菌病检测对象。

1.1.3 布鲁氏菌病非流行区 浙江省龙游县湖镇上范村,选择 6~60 岁人群为检测对象。

1.2 检测试剂

1.2.1 GICA 和 DIGFA 诊断试剂 由浙江省医学科学院研制生产。

1.2.2 SAT 诊断试剂 由中国预防医学科学院流行病学和微生物学研究所提供(现中国疾病预防控制中心传染病预防控制所)。

1.3 检测方法

1.3.1 样本采集 填写人间布鲁氏菌病实验室检查登记表,抽取静脉血液,分离血清,在实验室同等条件下,采用 GICA、DIGFA 和 SAT 进行检测。

1.3.2 GICA 操作方法 在加样孔内加入待检血清 10 μ l,待渗入后,加入生理盐水 100 μ l,3 min 后观察结果。检测线和质控线均出现红色为阳性;检测线无色,质控线出现红色为阴性。

1.3.3 DIGFA 操作方法 按浙江省医学科学院朱明东等报道^[12]。在吸附有抗原的小盒中央孔膜上加洗涤液(PBS 含 0.1%吐温-20)2 滴(100 μ l);待渗入后,加受检血清 1 滴(25 μ l);待渗入后,速加洗涤液 1 滴(50 μ l);待渗入后,加胶体金标记抗体;待渗入后,加洗涤液 2 滴(100 μ l)。观察结果,如在膜上显现红色斑点。结果为阳性,否则为阴性。

1.3.4 SAT 实验方法 按使用说明书操作。

1.4 统计学分析 将 GICA、DIGFA 及 SAT 检测结果数据应用 SPSS 软件进行统计学分析。

2 结果

(1)GICA、DIGFA 和 SAT 检测流行区、监测地区和非疫区人群抗体阳性率分别为 35.38%、9.29%、1.21%、32.50%、7.24%、0.40%和 32.25%、6.55%、0.80%。3 种方法之间检测结果差异无统计学意义($P>0.05$)。

(2)GICA 和 SAT 平行检测布鲁氏菌病重疫区人群抗体,结果二者阳性率分别为 35.38%和 32.25%,阳性符合率为 94.2%。GICA 和 SAT 平行检测布鲁氏菌病非疫区人群抗体,结果二者阳性率分别为 1.21%和 0.80%,阴性符合率为 99.6%。

(3)GICA 检测布鲁氏菌病重疫区、监测地区、非疫区人群阳性率分别为 35.38%、9.29%和 1.21%,在布鲁氏菌病不同疫区人群 GICA 检测结果阳性率差异有统计学意义($P<0.01$)。见表 1。

表 1 布鲁氏菌病不同疫区人群的检测结果
Table 1 Test results of people from different epidemic areas of brucellosis

区域	GICA			DIGFA			SAT		
	检查数	阳性数	阳性率(%)	检查数	阳性数	阳性率(%)	检查数	阳性数	阳性率(%)
重疫区	390	138	35.38	400	130	32.50	400	129	32.25
监测区	280	26	9.29	290	21	7.24	290	19	6.55
非疫区	248	3	1.21	251	1	0.40	251	2	0.80

3 讨论

目前中国布鲁氏菌病诊断标准主要依据是流行病学接触史、临床症状与体征和实验检查^[5]。人间布鲁氏菌病实验室检测最常用的是 SAT,已证实它确实具有敏感性高、特异性高等优点,在布鲁氏菌病检测工作中发挥了很大的作用,但也存在不尽人意之处,如操作步骤繁琐,血清用量大,需要器械多,检测速度慢,现场使用受到限制。本研究应用 GICA、DIGFA 和 SAT 检测流行区、监测地区和非疫区人群抗体结果,3 种方法之间检测结果差异无统计学意义($P>0.05$);GICA 和 SAT 平行检测布鲁氏菌病重疫区和非疫区人群,二者阳性符合率为 94.2%。阴性符合率为 99.6%。表明 GICA 与 DIGFA 和 SAT 相比同样具有试剂敏感、特异外,血清用量更少(10 μ l),操作更为简便,具有现场可操作性,更适合于布鲁氏菌病的流行病学调查及现场应用。本研究应用 GICA 检测布鲁氏菌病重疫区、监测地区、非疫区人群阳性率分别为 35.38%、9.29%和 1.21%。在布鲁氏菌病不同疫区人群 GICA 检测结果阳性率差异有统计学意义($P<0.01$),表明 GICA 可监测疫情,反映流行程度,在布鲁氏菌病不同流行区具有较好的推广应用前景,对巩固布鲁氏菌病防治成果具有重要意义。

参考文献

- [1] Shang DQ. The cause and phenomenon of reprevallent on brucellosis [J]. Chinese journal of control of endemic disenesacs, 2001, 16 (1):29-34. (in Chinese)

- 尚德秋. 布鲁氏菌病再度肆虐及其原因[J]. 中国地方病防治杂志, 2001, 16(1):29-34.
- [2] Shang DQ. The cause and phenomenon of reprevallent on brucellosis [J]. Chinese Journal of Control of Endemic Disenaces, 2001, 16(2):100-104. (in Chinese)
尚德秋. 布鲁氏菌病再度肆虐及其原因[J]. 中国地方病防治杂志, 2001, 16(2):100-104.
- [3] Shang DQ. The development of brucellosis [J]. Chinese Journal of Control of Endemic Disenaces, 2004, 19(4):204-212. (in Chinese)
尚德秋. 布鲁氏菌病研究进展[J]. 中国地方病防治杂志, 2004, 19(4):204-212.
- [4] Xu WM, Shi SF, Yang Y, et al. Investigation of first Brucellosis in Zhejiang province [J]. Chinese Journal of Control of Endemic Disenaces, 2005, 20(3):170-171. (in Chinese)
徐卫民, 施世锋, 杨洋, 等. 浙江省首例布鲁氏菌病调查[J]. 中国地方病防治杂志, 2005, 20(3):170-171.
- [5] The Health Ministry of The People's Republic of China, GB15988-1995, Diagnostic criteria and principles of control for brucellosis [S]. Beijing:China Standard Publishing House, 1995. (in Chinese)
中华人民共和国卫生部. GB15988-1995 布鲁氏菌病诊断标准及处理原则[S]. 北京: 中国标准出版社, 1995.
- [6] Shang DQ. Laboratory diagnosis, non-specific reaction and difference of brucelliasis [M]. Beijing: Ocean Publishing House, 1995. (in Chinese)
尚德秋, 主编. 布鲁氏菌病实验诊断与非特异性反应及其鉴别[M]. 北京: 海洋出版社, 1995.
- [7] Fang WX. Comparison of diagnostic methods for Brucellosis [J]. China Journal of Animal Quarantine, 2006, 23(6): 31-33. (in Chinese)
范伟兴. 几种布鲁氏菌病血清学诊断方法的比较研究[J]. 中国动物检疫, 2006, 23(6):31-33.
- [8] Lu QF, Zhang W, Hao ZY, et al. Study on double antigens sandwich Enzyme Immunoassay for detection of *brucella* specific antibodies in human and animals [J]. Chinese Journal of Epidemiology, 1999, 20(2): 118-121. (in Chinese)
鲁齐发, 张伟, 郝宗宇, 等. 双抗原夹心酶免疫试验对人畜布鲁氏菌病抗体检测的研究 [J]. 中华流行病学杂志, 1999, 20(2): 118-121.
- [9] Wang L, Ma GZ. The research for diagnosing brucellosis patients with PCR technology [J]. Chinese Journal of Control of Endemic Disenaces, 2004, 19(2): 65-67. (in Chinese)
王丽, 马国柱. PCR 技术用于布鲁氏菌病的诊断研究[J]. 中国地方病防治杂志, 2004, 19(2):65-67.
- [10] Qiu CQ, Cao XA, Yang CH, et al. Study on rapid detection technique of DNA in *Brucella abortus* from dairy cows with Brucellosis [J]. Chinese Journal of Veterinary Science and Technology, 2005, 35(2): 85-89. (in Chinese)
邱昌庆, 曹小安, 杨春华, 等. 乳牛布鲁氏菌病病原 DNA 快速检测技术的研究[J]. 中国兽医科技, 2005, 35(2):85-89.
- [11] Cao XK, Tao YX, Han S, et al. The application of dot immunogold filtration assay in the detection of serum alpha-fetoprotein [J]. Shanghai Journal of Immunology, 1991, 11(3): 154. (in Chinese)
曹锡坤, 陶义训, 韩松, 等. 滴金免疫测定法在检测血清甲胎蛋白中的应用[J]. 上海免疫学杂志, 1991, 11(3):154.
- [12] Zhu MD, Xu WM, Hong LD, et al. A dot immunogold filtration assay for rapid brucellosis diagnosis [J]. Chinese Journal of Endemiology, 2006, 25(3): 326-327. (in Chinese)
朱明东, 徐卫民, 洪林娣, 等. 斑点金免疫渗滤法快速诊断布鲁氏菌病的研究[J]. 中国地方病学杂志, 2006, 25(3):326-327.
- [13] Xu WM, Zhu MD, Wang H, et al. Establishment and application of dot-immunogold filtration assay in antibody detection for brucellosis [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2006, 16(1): 17-18. (in Chinese)
徐卫民, 朱明东, 王衡, 等. 快速检测布鲁氏菌抗体的滴金免疫测定法的建立及应用 [J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(1): 17-18.