

斯氏狸殖吸虫抗原分析和血清学诊断方法的研究

张锡林 段建华 王英 况明书 黄复生

(第三军医大学基础部寄生虫学教研室,重庆 400038)

摘要 [目的] 分析斯氏狸殖吸虫囊蚴、童虫和成虫各期抗原和建立特异性抗原的斯氏狸殖吸虫病血清学诊断方法。[方法] 用 SDS-PAGE 分离斯氏狸殖吸虫的各虫期抗原,经免疫印迹识别成虫期特异性诊断抗原。采用电洗脱技术分离 10~30 kDa 蛋白组分,建立纯化抗原的 dot-ELISA 血清学诊断斯氏狸殖吸虫病。[结果] 斯氏狸殖吸虫病患者血清与成虫抗原的 10~30 kDa 显示较多免疫识别带,主带为 22、24 和 26 kDa。与血吸虫病和华支睾吸虫病患者血清的交叉反应带出现于 60~90 kDa。斯氏狸殖吸虫成虫 10~30 kDa 抗原的 dot-ELISA 与成虫粗抗原的 ELISA 检测 28 例疑似病人血清,两法阳性率间差异无显著性。而检测 38 例感染其它吸虫和肺部疾病患者血清,粗抗原的 ELISA 交叉反应率为 13.2% (5/38)。[结论] 斯氏狸殖吸虫成虫 10~30 kDa 抗原的 dot-ELISA 为斯氏狸殖吸虫病高度特异和敏感的血清学诊断方法。

关键词: 斯氏狸殖吸虫, 抗原, 免疫印迹, 血清学诊断

中图分类号:R383.233 文献标识码:A

并殖吸虫的种类较多,由于虫体在人体内寄生的适应性不同,感染后可导致不同的临床症状^[1]。该病的确诊仍以痰和粪便中检获虫卵为病原学诊断依据。但并殖吸虫病的早期或亚临床感染阶段以及斯氏狸殖吸虫引起的肺外型斯氏狸殖吸虫病常难于查见病原体,由于临床症状复杂,易与其它寄生虫病和非寄生虫病混淆,需要高度敏感和特异的血清学诊断方法。我们用免疫印迹法分析斯氏狸殖吸虫的虫体可溶性抗原,检测出高度特异性的抗原组分,将 SDS-PAGE 结合电洗脱方法分离并纯化出成虫的特异性抗原,建立部分纯化抗原的 dot-ELISA,并用于斯氏狸殖吸虫病的血清学诊断。

材料与方法

1 动物感染和斯氏狸殖吸虫抗原的制备

采集兴文县溪蟹,从中分离出斯氏狸殖吸虫囊蚴。经腹腔感染雄性家犬(200 个囊蚴/只)2 只和 Wistar 大鼠(50 个囊蚴/只)10 只。感染后 60 和 90 d,动物采血处死,检获成虫和童虫。用 0.01 mol/L PBS(pH7.2)提取成虫、童虫和囊蚴的可溶性抗原。测定其蛋白质含量,分装后置 -20℃ 保存备用。

2 实验血清

斯氏狸殖吸虫病患者血清共 20 份,为附属医院住院和门诊病人。年龄 5~56 岁,男性 14 例,女性 6 例,均有生食或半生食溪蟹史,其中 11 例有游走性包块体征。并殖吸虫抗原皮试和 ELLSA 皆为阳性。用作免疫印迹试验探针的血清,为其中 3 例游走性包块经活检和病理切片证实的斯氏狸殖吸虫病

患者,且 ELISA 的抗体滴度在 1:320 以上。对照组血清共 39 例,其中采自湖北省江陵县粪检血吸虫虫卵阳性的急性血吸虫病患者血清 13 份和粪检华支睾吸虫卵阳性者血清 6 份;健康人血清 20 份,均无生食溪蟹史,斯氏狸殖吸虫抗原 ELISA 检测均为阴性。

3 免疫印迹检测

由 SDS-PAGE、转移电泳和酶联免疫试验 3 项技术组成。SDS-PAGE 按 Laemmli 的方法^[2],采用不连续系统进行垂直平板电泳。每槽加各虫期可溶性抗原 50 μl。浓缩胶浓度为 3%,分离胶浓度为 10%。室温下电泳约 4 h。泳毕取出凝胶,除作考马斯亮蓝和氨银染色外,即按 Towbin 的方法作转移电泳^[3]。电泳至硝酸纤维膜(NC 膜,0.45 μm)。转移温度 4℃,在电压 50 V,电流 300 mA 条件下转移过夜。转移后的 NC 膜加封闭液室温封闭 2 h,洗涤凉干,然后切成 0.5 cm 宽的小条与 1:50 稀释的各感染血清,37℃ 孵育 2 h 或 4℃ 过夜、洗涤,加入酶标羊抗人 IgG,孵育 2 h,洗涤。加底物 DAB 液显色,水洗终止反应后观察结果。

4 斯氏狸殖吸虫成虫 10~30 kDa 蛋白组分的分离

参照桂明等的方法^[4],作适当修改。常规 SDS-PAGE 分离蛋白组分。斯氏狸殖吸虫成虫可溶性抗原经 10% 分离胶电泳分离后,切下标准分子量蛋白带和 1 条样品的凝胶,其余凝胶置室温下待用。将标准蛋白和 1 条样品作电转泳于 NC 膜,氨基黑快速染色。该过程于 3 h 内完成,以 NC 膜上标准蛋

白区带的分子量为参照,切取 10~30 kDa 水平的凝胶,切碎后置于电洗脱槽(北京六一仪器厂产品)的阴极端,加入 pH 8.3 Tris-glycine 缓冲洗脱液(含 0.025% SDS),电压 50 V,置 4℃,洗脱过夜,而后收集阳极底层液,经透析与浓缩而制备成 10~30 kDa 斯氏狸殖吸虫成虫抗原(*P. s.-Ag*)。将分离的 10~30 kDa 斯氏狸殖吸虫成虫抗原与标准蛋白,斯氏狸殖吸虫成虫抗原于 10% SDS-PAGE 中电泳。将一部分凝胶作考马斯亮蓝染色,另一部分凝胶经电转印后,与斯氏狸殖吸虫病患者血清进行酶免疫转移印迹试验,鉴定分离抗原的纯度和抗原性。

5 10~30 kDa 斯氏狸殖吸虫抗原的 dot-ELISA

主要参照 Hawkes 等的方法^[5],将 NC 膜置于微量血凝板上,用试管底部逐个压成凹盘,然后将 NC 膜置于 0.01 mol/L PBS (pH7.4) 中平衡 60 min,取出用滤纸压干。在每盘中央滴加 2 μl (约 11.4 ng) 的 10~30 kDa 斯氏狸殖吸虫成虫抗原,室温干燥。置于含 10% 小牛血清的 PBS 液中振荡封闭 2 h,洗涤,凉干。4℃ 保存备用。检测过程:在已吸附抗原的每一个盘内滴加不同稀释度的待检血清 20 μl, 37℃ 湿盒孵育 30 min,缓冲液洗涤,凉风吹干;加酶标羊抗人 IgG,如上法孵育和洗涤,最后用 DAB 显色,观察结果。每份待检血清作 6 个滴度,从 1:40~1:1 280,并同时作阴性对照和阳性对照。以斑点显棕色反应来判断结果。

结 果

1 斯氏狸殖吸虫囊蚴、童虫和成虫抗原的电泳分析结果

虫体抗原经 SDS-PAGE 及氨银染色可见一复杂的蛋白带谱。分析考马斯亮蓝染色结果(图 1),囊蚴抗原有 15 条蛋白带,其中有 5 条蛋白带染色深,且稳定。分子量分别为 15、24、55、65 和 70 kDa。童虫和成虫抗原均显示 20 余条蛋白带。经光密度扫描显现 20 余个大小不等的峰。其相对迁移率为 0.09~0.94,分子量范围为 13.5~96.2 kDa 间。童虫抗原有 8 条主带染色深且宽,分子量分别为 15、17、24、26、40、65、67 和 80 kDa。而成虫抗原的主带亦染色深且宽,分子量分别为 17、22、24、26、40、60、67 和 95 kDa。童虫和成虫抗原经电泳后,蛋白带在 10~40 kDa,区带的位置、宽度及染色深浅较相似,其相似的主带有 17、24、26 和 40 kDa 蛋白

带。而在 40~100 kDa 间蛋白带在位置上差异较大,主带中除 67 kDa 蛋白带外,其余各带均不同。

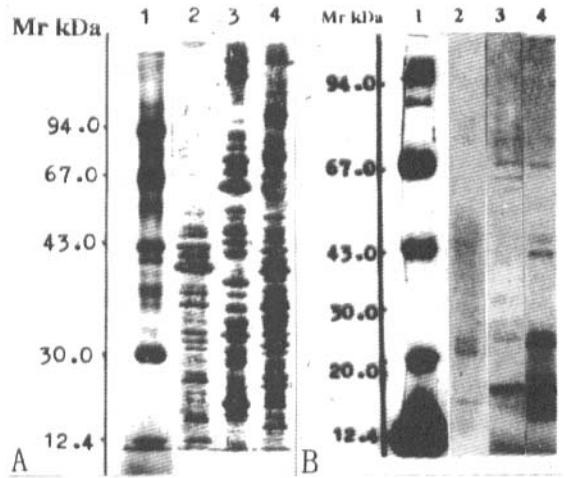


图 1 SDS-PAGE 分离斯氏狸殖吸虫体可溶性抗原的结果 (A 氨银染色结果:1 标志物 2 囊蚴抗原 3 童虫抗原 4 成虫抗原 B 考马斯亮蓝染色结果:1 标志物 2 囊蚴抗原 3 童虫抗原 4 成虫抗原)

Fig.1 Fractionation of soluble antigens of *P. skrjabini* by SDS-PAGE (A Silver staining: Lane 1 Marker Lane 2 Antigen of metacercariae Lane 3 Antigen of larvae Lane 4 Antigen of adult worms B Coomassie brilliant blue staining: Lane 1 Marker Lane 2 Antigen of metacercariae Lane 3 Antigen of larvae Lane 4 Antigen of adult worms)

2 免疫印迹法检测结果

在 NC 膜上的成虫抗原组分与斯氏狸殖吸虫病患者血清产生免疫反应,使抗原性多肽在 NC 膜上显现棕黄色的区带(图 2)。斯氏狸殖吸虫病患者血清的显色带在 35 kDa 以下有较多的区带,但分子量为 22、24 和 26 kDa 的 3 条蛋白带显深棕色,各带间清晰。感染日本血吸虫病和華支睾吸虫病患者的血清与 NC 膜的斯氏狸殖吸虫成虫抗原在 30 kDa 以下未出现反应,但在 60~90 kDa 间出现交叉带。健康者血清未出现反应的蛋白带。然后将斯氏狸殖吸虫成虫的 22、24、和 26 kDa 3 条蛋白带作为诊断抗原,检测斯氏狸殖吸虫患者血清,全部显阳性反应(表 1),而检测日本血吸虫病血清 13 份,華支睾吸虫病患者 4 例和健康者血清 20 份,均未出现条带。

3 纯化的 10~30 kDa 斯氏狸殖吸虫成虫抗原 dot-ELISA 检测结果

首先检测分离的 10~30 kDa 斯氏狸殖吸虫成虫抗原的纯度,经 SDS-PAGE 后,考马斯亮蓝染色仅在 10~30 kDa 出现蛋白区带(图 3)。其位置、条带数与标准分子量蛋白和未纯化的成虫抗原

相一致。免疫印迹检测证实纯化的 10~30 kDa 成虫抗原与狸殖吸虫病患者血清在 10~30 kDa 有较多的反应带，分子量为 22、24 和 26 kDa 的 3 条蛋白带显深棕色，各带间清晰。该结果均与成虫可溶性抗原相同。

表 1 斯氏狸殖吸虫成虫 22~30 kDa 抗原与不同吸虫病患者及健康者血清的免疫印迹检测结果
Table 1 Results of immunoblot using 10~30 kDa antigens of *P. skrjabini* and sera from patients infected with different trematodes

血清	例数	阳性例数	阴性例数
Serum	No. cases	No. positive cases	No. negative cases
斯氏狸殖吸虫患者 <i>Paragonimiasis skrjabini</i>	20	20	0
日本血吸虫患者 <i>Schistosomiasis japonica</i>	13	0	13
华支睾吸虫患者 <i>Clonorchiasis</i>	4	0	4
健康人 <i>Healthy individuals</i>	20	0	20

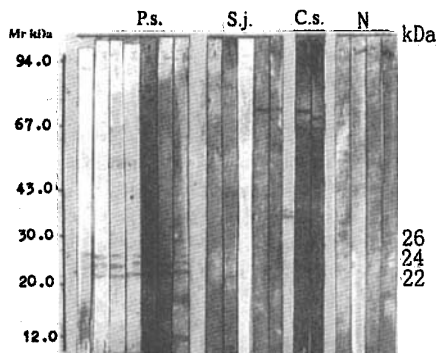


图 2 免疫印迹法检测不同吸虫感染血清对斯氏狸殖吸虫成虫抗原的反应结果 (P.s. 为斯氏狸殖吸虫病患者血清 S.j. 为日本血吸虫病患者血清 C.s. 为华支睾吸虫病患者血清 N 健康人血清)

Fig. 2 Immunoblot analysis of the soluble antigens of adult *P. skrjabini* with sera of patients with: P.s. *Paragonimiasis skrjabini*, S.j. *Schistosomiasis japonica*, C.s. *Clonorchiasis* N *Healthy control*

4 斯氏狸殖吸虫纯化抗原 dot-ELISA 和粗抗原 ELISA 检测结果的比较

4.1 敏感性比较 两种方法对当地 28 例疑诊为斯氏狸殖吸虫病患者血清的检测结果的总符合率为 96.4% (27/28)。经卡方检验两法的检出率间差异无显著性 ($\chi^2=0.09$, $P>0.05$)。其中 20 例病人确诊为斯氏狸殖吸虫病患者。因此两试验的敏感性均为 100%，而粗抗原 ELISA 出现 1 例假阳性，其假阳性率为 3.8%。

4.2 特异性比较 检测其它吸虫病和肺部疾病 (肺结核、支气管扩张和肺炎) 患者 38 例的血清，结果显示经斯氏狸殖吸虫粗抗原 ELISA 检测日本血吸虫病患者血清 3 例、华支睾吸虫病患者血清 1 例、支气管扩张患者血清 1 例出现交叉反应，而

10~30 kDa 斯氏狸殖吸虫纯化抗原 dot-ELISA 未出现交叉反应，其特异性为 100%。而斯氏狸殖吸虫成虫粗抗原 ELISA 的特异性为 86.8%、交叉反应率为 13.2%。对两种方法的检测结果经卡方检测表明，两者间差异具有显著性意义 ($\chi^2=6.475$, $P<0.05$)。

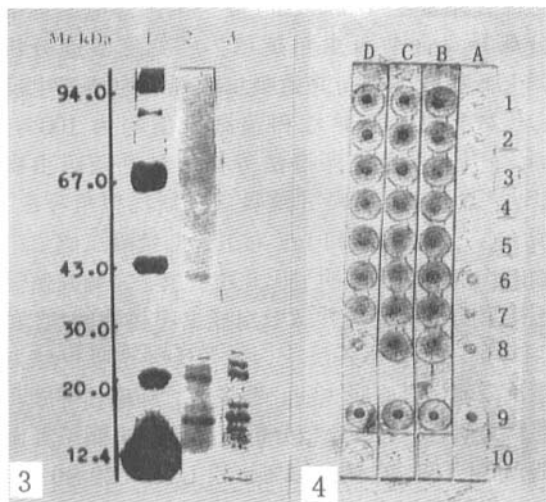


图 3 考马斯亮蓝染色显示 10~30 kDa 斯氏狸殖吸虫成虫抗原的位置 (1 标志物 2 成虫可溶性抗原 3 10~30 kDa 成虫抗原)

图 4 10~30 kDa 斯氏狸殖吸虫成虫抗原的 dot-ELISA 检测结果 [A 阴性反应结果 B、C 和 D 阳性反应结果 1~8 为反应滴度 (1:10~1:1 280) 9 和 10 阳性和阴性对照]

Fig. 3 Pattern of purified 10~30 kDa antigens of adult *P. skrjabini* stained with Coomassie brilliant blue (Lane 1 Marker Lane 2 Soluble antigen of adult worms Lane 3 10~30 kDa of adult antigen) Fig. 4 Result of dot-ELISA with purified 10~30 kDa antigen of adult *P. skrjabini* [Lane A Result of negative reaction Lanes B, C and D Result of positive reaction Nos. 1~8 Reactive titer (1:10~1:1 280) Nos. 9 and 10 positive and negative reaction]

讨论

并殖吸虫病是一种常见和重要的人兽共患寄生虫病。其肺外型并殖吸虫病，临床症状复杂，且不易查见病原体，因此常被误诊，迫切需要敏感和特异的血清学诊断方法。在常用的抗原检测抗体的系统中，诊断用抗原的特性乃是影响检测效果的关键因素，因此国内外学者愈来愈注重对并殖吸虫抗原的研究，分析其组成和特性，以提高血清学诊断的水平。

免疫印迹技术可将虫体粗抗原分离成各单一的抗原区带，不仅能区别产生特异性反应和无反应的抗原成分，尚能测定其分子量。故免疫印迹谱将反映抗体对抗原的识别状况和感染者或动物体内血清抗体的动态变化，以提高免疫诊断的特异性和敏感性。在并殖吸虫病方面，Suglyama 等^[6]首先用免

疫印迹法分析卫氏并殖吸虫成虫和幼虫抗原显示 27 kDa 蛋白带为特异性诊断抗原。Selmenda 等^[7]表明 8 kDa 蛋白带具有抗原特异性, 并用于诊断 45 例卫氏并殖吸虫病患者血清有 43 例阳性, 210 例其它寄生虫或非寄生虫感染血清仅 1 例血吸虫病患者血清为阳性。认为该法具高特异性 (99%) 和敏感性 (96%)。Wongkham 等^[8]采用等电聚焦电泳分离异盘并殖吸虫粗抗原。经免疫印迹分析 31.5 kDa 抗原区带与并殖吸虫病患者血清产生反应。其敏感性、特异性和预测价值均为 100%。Kong 等^[9]采用免疫印迹法分析 3 种并殖吸虫病 (卫氏并殖吸虫、宫崎并殖吸虫和斯氏狸殖吸虫) 血清 IgG、IgG 亚型和 IgE 对卫氏并殖吸虫成虫粗提物的识别。结果表明卫氏并殖吸虫、宫崎并殖吸虫感染者血清对卫氏并殖吸虫成虫粗提物的 32 和 35 kDa 蛋白带显示强反应, 而斯氏狸殖吸虫感染血清反应弱。其它吸虫病、绦虫病、肺癌和健康者对照均为阴性。IgG 亚型分析为并殖吸虫病患者血清的 IgG4 (32/40 例, 83%) 和 IgG1 (29/40 例, 73%) 主要识别 32 和 35 kDa 蛋白带; 83% (33/40 例) 并殖吸虫病血清的 IgE 与卫氏并殖吸虫成虫粗提物的 32 和 35 kDa 蛋白带起反应, 而对照组均为阴性。我们用免疫印迹技术分析斯氏狸殖吸虫各期虫体抗原, 以感染血清识别出特异性抗原, 并用于免疫诊断并殖吸虫病, 结果表明免疫印迹法为并殖吸虫病特异且敏感的血清学诊断方法。但免疫印迹法操作复杂, 影响因素多, 并需特殊仪器设备, 限制了该技术的推广应用。我们将免疫印迹术的 SDS-PAGE 与电洗脱技术相结合, 分离出 10~

30 kDa 斯氏狸殖吸虫成虫抗原, 制备成 dot-ELISA 的诊断试剂盒。这样 1 次分离能作近 200 人份的检测, 如将免疫印迹技术综合 DNA 重组技术, 合成特异性抗原并研制成诊断试剂盒, 将促进血清学诊断方法的标准化, 提高诊断的特异性和敏感性, 降低成本, 具广泛应用价值。

参 考 文 献

- [1] Xu Zhi-Biao. Studies on clinical manifestations, diagnosis and control of Paragonimiasis in China. *Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth*, 1991, 22: 345~348.
- [2] Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the Bacteriophage T4. *Nature (London)*, 1970, 227: 680~685.
- [3] Towbi H, Staehelin T, Gordon J. Electroforetic transfer of protein from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci*, 1979, 76: 4350~4354.
- [4] 桂明, Ruppel A, 石佑恩. 日本血吸虫和曼氏血吸虫成虫 31/32 kDa 蛋白的纯化及在诊断中的作用. *中国血吸虫病防治杂志*, 1993, 5: 140~144.
- [5] Hawkes R, Niday E, Gordon J. A dot-Immunobinding assay for monoclonal and other antibodies. *Anal Biochem*, 1982, 119: 142~147.
- [6] Sugiyama H, Sugimoto M, Akasaka K. Characterization and localization of *Paragonimus westermani* antigen stimulating antibody formation in both the infected cat and rat. *J Parasitol*, 1987, 73: 363~367.
- [7] Selmenda SB, Madaison SE, Jong EC. Diagnosis of paragonimiasis by immunoblot. *Am J Trop Med Pub Hlth*, 1988, 35: 469~471.
- [8] Wongkham C, Maleewong W, Intapan P. Partially purified antigens of *Paragonimus heterotremus* for serodiagnosis of human paragonimiasis. *Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth*, 1994, 25: 176~180.
- [9] Kong Y, Ito A, Yang HJ. Immunoglobulin G (IgG) subclass and IgE responses in human paragonimiasis caused by three different species. *Clin Diagn Lab Immunol*, 1998, 5: 474~478.

收稿日期: 1999-11-30

(编辑: 李雅卿)

ANALYSIS OF PAGUMOGONIMUS SKRJABINI ANTIGEN AND ITS APPLICATION IN SERODIAGNOSIS

ZHANG Xi-lin, DUAN Jian-hua, WANG Ying, KUANG Ming-shu, HUANG Fu-sheng

(Department of Parasitology, Third Military Medical University, Chongqing 400038)

Abstract [Objective] To analyse the soluble antigens of different developmental stages of *Pagumogonimus skrjabini* and develop a specific and sensitive serodiagnostic method for pagumogonimiasis. [Methods] The soluble antigens of *P. skrjabini* of various stages were separated by SDS-PAGE. The specific antigen of the adult fluke was recognized immunologically by immunoblot assay. The protein bands between 10~30 kDa purified by SDS-PAGE and electrophoretic elution were used in dot-ELISA. [Results] Using dot-ELISA, the soluble antigens of adult were recognized by sera infected with *P. skrjabini*. More reactive bands appeared at 10~30 kDa, but major protein bands were at 22, 24 and 26 kDa. However, using sera from patients infected with other trematodes including schistosome and *Clonorchis*, cross-reaction bands appeared within 60 to 90 kDa. When compared with ELISA of crude adult antigens for detecting 28 suspected patients, there was no significant difference between the two methods. The sera of 38 patients with other diseases were also detected by the two tests. No cross-reaction occurred with the purified adult antigen dot-ELISA while

13.2% (5/38) of the sera cross-reacted in ELISA of crude adult antigens. [Conclusion] Dot-ELISA using 10~30 kDa antigen might be a specific and sensitive serodiagnostic method for diagnosing pagumogonimiasis.

Key Words: *Pagumogonimus skrjabini*, antigen, immunoblot, serodiagnosis

文章编号:1000-7423(2000)-05-0281-01

快速免疫色谱测试卡诊断恶性疟

(1 云南省玉溪市卫生防疫站, 玉溪 653100; 2 云南省疟疾防治研究所, 思茅 665000;
3 云南省玉溪市元江县卫生防疫站, 元江 653100; 4 云南省新平县嘎洒镇卫生院, 新平 653400)
范波¹ 张再兴² 温润生³ 马恒清⁴ 张文祥³ 马信文³

中图分类号:R531.32 文献标识码:A

快速、准确和简便诊断疟疾, 研究和完善新的诊断及方法, 全面评价其敏感性、特异性和实用性, 是当前疟疾研究的重点课题之一^[1]。快速免疫色谱测试卡诊断 (ICT) 检测恶性疟富组蛋白 II (HRP-II) 的持续时间和转阴时间, 国内文献报道较少^[2,3]。为了解 ICT 检测疟疾的效果, 于 1999 年 4~9 月在云南省元江和新平两个高疟县, 对 ICT 卡检测发热病人的疟疾阳性率、敏感性、特异性及恶性疟 HRP-II 的持续时间和转阴时间进行观察。

1 材料与方法

1.1 材料 ICT 卡系澳大利亚 Austcard 公司产品, 代码为 ML02 012378。

1.2 镜检方法 对元江县卫生防疫站和新平县嘎洒卫生院门诊 4~9 月发热病人各涂制厚薄血膜 1 片, 按《疟疾防治手册》的镜检方法^[4]检查厚血膜 100 视野。并用 ICT 卡进行检测, ICT 卡的操作方法和结果判断按使用说明书进行。

1.3 观察恶性疟富组蛋白 II 持续时间和转阴时间的方法

镜检恶性疟原虫阳性者, 每日进行 1 次 ICT 卡检测及镜检, 直至疟原虫转阴停止镜检; ICT 卡的 1 号和 2 号红色线完全消失为转阴, 1 号和 2 号线变淡后红色再次变深, 继续镜检疟原虫至 1 号和 2 号红色线全部消失。从诊治之日起, 观察全过程为恶性疟 HRP-II 的持续时间, 疟原虫转阴至 ICT 卡检测转阴为 HRP-II 转阴时间。

1.4 对照 选择玉溪市无疟县红塔区两年内未到过疟区的居民 86 人为对照。

2 结果与讨论

2.1 ICT 卡与镜检疟疾阳性情况 ICT 卡与镜检发热病人 745 例, 男、女性疟原虫阳性率分别为 28.9% 和 26.0%, 经 χ^2 检验, 两者间差异无显著性意义 ($\chi^2=0.85, P>0.05$)。ICT 卡检测疟疾阳性 189 例, 阳性率为 25.4%, 镜检疟原虫阳性 169 例, 阳性率为 22.7%, 经 χ^2 检验, 两者间差异无显著性意义。ICT 卡与镜检符合率为 90.0%, 其敏感性、特异性和正确指数分别为 90.4%、96.4% 和 0.95, 假阴性率为 9.6%, 假阳性率为 3.6%。

2.2 ICT 卡检测与镜检疟原虫的情况 ICT 卡检测疟原虫阳性的 151 例, 间日疟、恶性疟和混合感染分别占 78.2%、19.9% 和 2.0%。ICT 卡检测与镜检间日疟和恶性疟差异无显著性意义 ($\chi^2=1.38$ 和 0.02, P 值均 >0.05)。ICT 卡检测间日疟、恶性疟和混合感染的特异性分别为 96.9%、99.8% 和 3/3。ICT 卡与镜检诊断疟原虫符合情况见表 1。

2.3 恶性疟富组蛋白 II 持续及转阴情况 共观察恶性疟 HRP-II 28 例, 恶性疟的 HRP-II 持续时间最长的为 26 d,

最短的为 3 d, 平均为 8.1 d, S 为 1.08; 转阴时间最长为 11 d, 最短为 2 d, 平均 4.6 d, S 为 0.2。诊断前患病时间最长的 56 d, 最短的 3 d, 平均 10.3 d。28 例恶性疟 3 例出

表 1 ICT 卡与镜检疟原虫符合情况

镜检疟原虫阳性 虫种	例数	ICT 卡检测结果		ICT 卡对照 阳性	符合率 (%)
		阳性	阴性		
间日疟原虫	135	118	17	0	87.0
恶性疟原虫	31	30	1	0	96.8
混合感染	3	3	0	0	3/3
阴 性	576	20	556	86	96.5

现疟原虫复燃, 复燃率为 10.7%。本次采用 ICT 卡检测发热病人的疟原虫阳性、敏感性、特异性和正确指数与文献^[5]报道的基本一致。ICT 检测恶性疟阳性的同时出现间日疟阳性的为 69.8%, ICT 检测恶性疟阳性 53 例, 镜检查出疟原虫的 34 例, 其中检出配子体的 21 例, 恶性疟原虫平均密度为每视野 4.6 个, 其中 12 例平均每视野仅达 0.64 个, 3 例术前病程为 10~56 d, 按疟疾治疗 3~11 次。本次按恶性疟正规治疗, 第 3 天镜检未见疟原虫, ICT 卡 1 号线红色减退, 2 号线转阴, 第 15 天 1 号线红色再次加深, 疟原虫密度为 0.24 个/视野, 未查见配子体。恶性疟 HRP-II 在体内平均持续 4.6 d; ICT 卡检测恶性疟阳性中的 35.8%, 镜检未见恶性疟原虫, 其原因是原虫被消灭后 HRP-II 未与原虫同时消失。在高疟区推广使用 ICT 卡检测发热病人, 具有简便、快速、敏感性和特异性高的特点, 起到早期诊断和及时治疗的作用。

参 考 文 献

- [1] 卫生部疟疾专家咨询委员会. 1997 年全国疟疾形势. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1998, 16: 161~163.
- [2] 祝卫东, 汤林华, 郑香, 等. 两种方法检测富组蛋白 II 诊断恶性疟的比较. 中国寄生虫病防治杂志, 1999, 12: 9~11.
- [3] 祝卫东, 汤林华, 郑香, 等. 快速免疫色谱测试法诊断恶性疟的初步观察. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1998, 16: 94~96.
- [4] 卫生部地方病防治局编. 疟疾防治手册. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 165~170.
- [5] 郑香, 汤林华, 许永湘, 等. 快速免疫色谱测试卡诊断恶性疟间日疟的效果评价. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1999, 16: 235~236.

收稿日期: 2000-03-31

(编辑: 李雅卿)