

# 日本血吸虫感染兔唾液中 循环抗体检测的可行性研究\*

王兆军 娄文娴 张恩英 张湘燕 薛纯良

上海第二医科大学寄生虫学教研室 上海 200025

**摘要** 目的: 探索唾液作为检测日本血吸虫循环抗体样本的可行性。方法: 建立血吸虫兔感染模型, 收集感染后不同时期、再感染及治疗后不同时期的唾液和血清, 用 ELISA 检测其中的循环抗体及其效价, 并将检测结果加以比较。结果: 唾液与血清样本检测的敏感性分别为 94.7% 与 100%, 经  $\chi^2$  检验, 两者间差别无显著性意义。唾液与血清样本检测的特异性均为 94.7%, 两者一致。结论: 唾液作为样本可用于日本血吸虫循环抗体的检测。

**关键词** 日本血吸虫 唾液 循环抗体

目前日本血吸虫病的诊断以血清学检测较为常用, 但血清的采集对受检者具有一定的损伤性, 患者不易接受。Challacombe 等<sup>[1]</sup>用放射性<sup>125</sup>I 标记 IgG 的方法, 研究证实 IgG 分子可经齿缝裂隙液 (crevicular fluid) 从血清进入唾液。Flisser 等<sup>[2]</sup>及 Feldmen 等<sup>[3]</sup>采用酶联免疫吸附试验 (ELISA)、酶联免疫转移印迹技术 (EITB) 等检测猪囊尾蚴病患者唾液中的抗体后认为, 使用唾液作为样本在囊尾蚴病的辅助诊断及流行病学调查方面具有较高的应用价值。本文以兔作为动物模型, 检测感染兔唾液中的循环抗体 (CAb), 以探索唾液作为诊断日本血吸虫病标本的可行性。

## 材料与方 法

### 材 料

- 1 实验动物 体重 3 kg  $\pm$ 200 g 的新西兰白色种兔, 由上海第二医科大学实验动物部提供。
- 2 日本血吸虫尾蚴 由中国预防医学科学院寄生虫病研究所提供。
- 3 实验试剂 2% 匹鲁卡品购自上海市瑞金医院; 经 TCA 提纯处理的日本血吸虫可溶性虫卵抗原 (SEA-TCA) 系自行制备; 羊抗兔过氧化物酶结合物购自 Sigma 公司; 邻苯二胺 (OPD) 购自 E. Merck 公司; 吡喹酮。
- 4 设备 96 孔酶标软板购自上海实生细胞生物技术公司。Bio Tek 自动酶标仪。

### 方 法

- 1 动物模型的建立 新西兰种兔 20 只分别经腹壁接种血吸虫尾蚴 100 条。接种后随机编为 1 号~20 号。10 wk 后 1 号~7 号兔再次接种尾蚴 100 条, 13 号~20 号兔以吡喹酮 200 mg/kg 胃饲进行药物治疗, 8 号~12 号兔作为对照组。
- 2 样本收集 按下法收集正常兔、感染后 10 wk、14 wk、18 wk、再感染后 4 wk、8 wk、治疗后 4 wk 及 8 wk 兔唾液与血清。20 只感染兔中 10 号兔于感染 8 wk 死亡。感染后 10 wk, 实验从余下的 19 只兔中收集到血清及唾液标本各 19 份, 在 8 号~12 号兔

中收集感染后 14 wk 的血清及唾液标本各 2 份, 在 1 号~7 号兔再感染后 4 wk 和 8 wk 分别收集血清及唾液标本各 7 份与 5 份。在 13 号~20 号兔中于吡喹酮治疗后 4 wk 和 8 wk 分别收集血清和唾液标本各 6 份和 5 份。另取 19 只正常兔血清及唾液为正常对照。

用 2% 匹鲁卡品液 50  $\mu$ l 涂布于兔口腔粘膜以刺激唾液分泌, 10 min 后收集唾液 3 ml~5 ml。唾液经 -4 $^{\circ}$ C, 15 000 g 离心 30 min 后, 取上清, -20 $^{\circ}$ C 保存待用。从兔耳静脉取血 2 ml 按常规法分离血清, -20 $^{\circ}$ C 保存待用。

3 样本检测 用 96 孔酶标板包被 SEA-TCA 抗原。洗涤后用 0.2% BSA 封闭。洗涤后加入唾液样本原液或血清样本 (1:100), 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h, 洗涤后, 加羊抗兔过氧化物酶结合物 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h, 洗涤后, 加入底物 OPD 显色, 加 2 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 终止反应。Bio Te K 自动酶标仪用 490 nm 波段读取 OD 值。

4 统计学处理 用 SAS 软件包进行唾液与血清两样本率的比较, 计算 P 值。

## 结 果

### 1 不同时期同步的唾液与血清样本检测 CAb 结果比较

正常兔、感染兔唾液与血清 CAb 的检测结果见表 1。统计学处理唾液与血清的敏感性间差别无显著性意义 ( $P > 0.05$ )。

### 2 各组各时期样本 CAb 平均效价的比较

本实验将上述所收集的样本倍比稀释测定效价, 结果见表 2。

## 讨 论

本实验比较了相同处理、相同时期的血吸虫感染兔模型的血清及唾液样本中 CAb 的检测结果, 并以正常兔血清及唾液标本的检测结果作为对照。

\*“九五”国家科技攻关专题基金资助及上海市科委自然科学基金资助项目 No. 954119010

表明两类样本经 ELISA 检测所得的阳性结果极为接

表 1 感染兔唾液、血清 CAb 检测结果  
Table 1 Result of detecting CAb in saliva and serum from infected rabbits

组别 Group	检测兔数 No. of rabbits detected	阳性数 No. positive (%)	
		唾液 Saliva	血清 Serum
正常 Normal	19	1 (5.3)	1 (5.3)
感染后 10 wk 10 wk pi	19	18 (94.7)	19 (100)
感染后 14 wk 14 wk pi	2	2 (2/2)	2 (2/2)
再感染后 4 wk 4 wk post reinfection	7	7 (7/7)	7 (7/7)
再感染后 8 wk 8 wk post reinfection	4	4 (4/4)	4 (4/4)
治疗后 4 wk 4 wk post treatment	6	6 (6/6)	6 (6/6)
治疗后 8 wk 8 wk post treatment	5	5 (5/5)	5 (5/5)

表 2 不同时期唾液与血清样本 CAb 平均效价  
Table 2 Mean CAb titre in the saliva and serum at different time periods

组别 Group	检测样本数 No. of samples detected	平均效价 Mean titre	
		血清 Serum	唾液 Saliva
感染后 10 wk 10 wk pi	19	1 2 758.31	1 12.2
再感染后 4 wk 4 wk post reinfection	7	1 2 539.84	1 11.88
再感染后 8 wk 8 wk post reinfection	4	1 2 111.21	1 4
治疗后 4 wk 4 wk post treatment	6	1 1 425.43	1 28.50
治疗后 8 wk 8 wk post treatment	5	1 317.48	1 24.25

近。仅在感染后 10 wk 时血清检测为 19 只阳性，而唾液阳性数为 18 只。但经 SAS 软件比较后表明两者差异无显著性意义。在正常对照中，兔血清及唾液中均出现一阳性，推测可能是由于该兔体内存在交叉抗体所致。Challacombe 等<sup>[1]</sup>在实验中以放射性<sup>125</sup>I 标记的 IgG 注入恒河猴体内，30 min 后标记物便出现于口腔唾液内，显示唾液中的 IgG 可及时地反映体内 IgG 的存在。本实验以唾液作为标本检测抗日本血吸虫的抗体其敏感性及其特异性与血清标本无显著性差异。且感染后、重复感染及感染治疗后，唾液中的抗体检测结果与血清一致。

为反映唾液中 CAb 的水平是否与血清中 CAb

变化一致，本实验尚检测了不同模型各时期的抗体滴度情况。陈家旭等<sup>[4]</sup>曾报道以 100 条尾蚴感染的兔血清中 CAb 水平在感染 10 wk 呈现高峰，12 wk ~ 14 wk 后下降，22 wk ~ 38 wk 下降至较低水平。本实验中由于感染兔死亡等原因致使样本量减小，未能统计单一感染组 14 wk 及 18 wk 的 CAb 的平均滴度。然而由表 2 可见，再感染组 4 wk 及 8 wk 的平均血清抗体滴度 (1 2 539.8, 1 2 111.2) 与单一感染组 10 wk 的水平 (1 2 758.3) 相接近，而治疗后 4 wk 及 8 wk 的平均血清抗体滴度水平 (1 1 425.4, 1 317.5) 则较单一感染组 10 wk 的水平呈下降趋势。这一结果与陈家旭等报道的重复感染可增高宿主体内的 CAb 水平相符合。在再感染组 8 wk 存活的 4 只兔，抗体滴度个体差异较大 (1 1, 1 32, 1 8, 1 1)。可能是由于其中滴度为 1 1 的两兔对匹鲁卡品反应较其它兔敏感，短时间内即分泌较多唾液，使其唾液中抗体滴度较低，从而使整个组的抗体水平较低。结合表 1 和表 2 的结果，我们认为唾液中可检出抗血吸虫的抗体，唾液中 CAb 水平低于血清，但其敏感性与血清无差异，而特异性与血清一致。由于唾液收集较为容易而且无损伤性，唾液作为日本血吸虫病的诊断样本可能具有一定的实用价值，值得进一步在感染者中研究。

参 考 文 献

- 1 Challacombe S J, Russelle M W, Jane H. Passage of intact IgG from plasma to the oral cavity via crevicular fluid. Clin Exp Immunol 1978;34 417 ~ 422
- 2 Flisser A, Plsnvstyr A, Correa E et al. New Approaches in the diagnosis of *Taenia solium* cysticercosis and taniais. Ann Parasitol Hum Comp 1990;65 95 ~ 98
- 3 Feldman M, Plancarte A, Sandoval M et al. Comparison of two assays (EIA and EITB) and two sample (saliva and serum) for the diagnosis of neurocysticercosis. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1990;84 559 ~ 562
- 4 陈家旭,李允鹤. 日本血吸虫感染动物血清中循环抗体 (CAb) 及循环抗原 (CAg) 水平的动态研究. 中国人兽共患病杂志 1994; 10 12 ~ 14

1998 年 12 月 4 日收稿 1999 年 3 月 24 日修回  
(编辑:李雅卿)

STUDIES ON THE FEASIBILITY OF DETECTING CIRCULATING ANTIBODIES IN SALIVA OF SCHISTOSOMA JAPONICUM INFECTED RABBITS\*

WANG Zhaojun, LOU Wenxian, ZHANG Enying, ZHANG Xiangyan, XUE Chunliang

Department of Parasitology, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200025

ABSTRACT

**AIM:** To investigate the feasibility of detecting anti-*Schistosoma japonicum* antibodies in saliva. **METHODS:** Saliva and serum samples of 5 infected, 7 reinfected and 8 treated rabbits were collected at different times periods. The CAb in saliva and serum was detected by using ELISA. **RESULTS:** The sensitivity of ELISA was 94.7% for saliva and 100% for serum. The specificity of ELISA was 100% for both saliva and serum. **CONCLUSION:** Saliva can be used to detect circulating antibodies for the diagnosis of schistosomiasis japonica.

Key words: *Schistosoma japonicum*, saliva, antibody

\* Supported by the grant of the Ninth Five-Year Key Research Project of China and the Natural Science Foundation of Shanghai (No. 954119010)