

患虫病患者尿液中特异性 IgG 抗体的检测

哈尔滨医科大学寄生虫学教研室 哈尔滨 150086

王凯慧 李雅杰 徐之杰 赵世英

囊虫病的免疫学诊断具敏感性高,特异性强等优点,已被广泛应用。其中 ELISA 与其它免疫学方法相比有交叉反应小,假阳性低的特点,而更为实用。然而检测样品多采用血清和脑脊液,后者取样时,患者痛苦不易接受。尿液中抗体检测尚未见报道,因此作者用 ELISA 间接法检测囊虫病患者尿液中的特异性抗体,以探讨其应用价值。

材料

1 检测样品

囊虫病患者新鲜尿液和血清各37份(均为同一病人),尿液均为早晨空腹时收集,取自本校附属医院囊虫病患者,包括脑型、皮肤型、混合型,均经过CT或MRI、免疫学或病理检查确诊。健康人对照34份取自我校学生。华支睾吸虫病患者尿液和血清15份,均为虫卵阳性者。

2 囊尾蚴囊液抗原(Ag)制备

新鲜猪囊尾蚴,无菌操作收集囊液,超速离心沉淀,取上清液装入透析袋中,置无菌生理盐水内透析,4℃冰箱过夜,取其少量经稀释后测蛋白含量,其余分装-20℃保存。

3 酶标抗体

辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗人 IgG(购自

军事医学科学院流行病学研究所,批号96 2)

4 酶标测定仪 DG- I 型(产地:南京华东电子管厂)。

方法

1 方陈滴定确定各要素用量

得出包被用抗原最适浓度为10 mg/ml;尿最合适为原液;血清稀释度为1:100酶标抗体稀释度为1:400。

2 尿中抗体测定

包被反应板 将稀释的抗原200 ml/孔加样,置于4℃过夜,次日,用PBS缓冲液洗3次,5 min/次,甩干;用0.2%小牛血清封闭30 min(37℃)洗涤3次。加200 ul 尿液或血清孔中,37℃孵育30 min 洗涤(条件同上)。

加酶标抗体 用0.2%小牛血清按1:400稀释,加200 ul/孔,37℃水浴30 min,洗涤。加底物200 ul/孔,避光置于室温40 min,终止反应:每孔加2 mol/L H₂SO₄ 50 ul 测OD值,大于对照组 X ± 2S 为阳性标准。

3 测血清 IgG 抗体 方法同上。

结果

表1 ELISA 法对血清和尿液检测结果比较

检测例数	尿液 阳性例数(%)	OD 值 X ± S	血清 阳性例数(%)	OD 值 X ± S
健康人对照	0	0.327 ± 0.021	0	0.364 ± 0.018
囊虫病患者	16(43.2)	0.409 ± 0.024	34(92.0)	0.487 ± 0.015
华支睾吸虫病患者	0	0.082 ± 0.027	2(6.0)	0.144 ± 0.021

讨论

从实验结果可以看出 尿中抗体检出率43.2%,虽然阳性率远低于血清的92%,但与血中检测抗体结果符合率达100%,与正常对照组有明显差异(P < 0.05),无交叉反应,由此证明尿中确有特异性 IgG 抗体。

尿液为血液的超滤液,但是蛋白含量明显少于血浆。正常血浆蛋白量为50—80 ul/L^[1],尿中可以检测出特异性 IgG,原因可能是:1 IgG 约占免疫球蛋白75%,分子量较小(15—16 KD),为单体结构,因此易穿过毛细血管壁和胎盘进入组织液和胎儿循环;IgG 的等电点为7.2仅带少量负电荷;而其它抗

体等电点为PH5-5.5^[2],带大量负电荷;因此 IgG 比其它许多等分子量的蛋白更易通过滤过膜,而且在终尿中,分子量小于4万的蛋白大部分被重吸收,从而提高了 IgG 在终尿蛋白的含量。某些寄生虫病患者如曼氏血吸虫病,有的伴有免疫复合物肾病,2 造成肾小球基底膜的操作,使其通透性增大。囊尾蚴病是否存在上述现象,有待进一步研究。

参考文献

- 1 王淑娟等,现代实验诊断学手册。
- 2 陶义训.免疫学和免疫学检验.第1版.北京:人民卫生出版社,1989:74

1997年9月22日收稿 1998年1月4日修回

(编辑:任燕芬)