

五株弓形体抗原的免疫扩散初步分析

陈兆云

(福建省卫生防疫站, 福州)

摘要 用双向免疫扩散试验法分析不同来源的弓形体抗原成份。实验结果, 可将 5 株虫种分为三种类型。

关键词 弓形体抗原; 免疫扩散试验; 成份分析

目前, 国内外对弓形体抗原分型问题尚未解决, 这直接影响弓形体病的流行病学、病原学和防治的深入研究。为了探索弓形体的抗原组成, 对抗原成份作了分析实验。现将初步结果报道如下, 供参考。

材料和方法

(一) 实验虫株

株号	来源
NZ1	人
NF2	兔
NG3	兔
NK4	兔
NA5	猪

(二) 抗原制作

将冷冻保存虫株作小白鼠腹腔注射 4 天后发病, 以无菌生理盐水洗下腹腔滋养体, 离心沉淀, 用盐水洗三次, 加 0.25% 胰蛋白酶溶液置于 37℃ 水浴中消化 10 分钟, 用盐水洗涤, 离心一次, 以冻融法和超声波打碎法制成抗原液, 冷冻保存待用^[1,2]。

(三) 兔免疫血清制备

用弓形体感染小白鼠的急性期腹水滋养体免疫家兔, 至血清效价达 1:1024 以上即放血分离血清, 加防腐剂后放在 -20℃ 贮存备用^[3]。以弓形体 1—5 号虫株抗原分别免疫制备抗体 S1—5 号。

(四) 琼脂糖凝胶板制备

琼脂糖以 Tris 缓冲液配成 1% 浓度, 在水

浴中溶化后, 每片玻璃片加琼脂糖液 5ml, 待凝固后打孔加样品^[4]。

(五) 实验步骤^[4,5]

1. 将抗原、抗体以无菌操作手续分别滴入凝胶板孔内。

2. 玻片加样后, 移至平皿内, 底垫湿纱布, 放置 37℃ 24—48 小时。

3. 及时记录实验结果和拍片, 或把标本染色保存^[6]。

实验结果

(一) 五株弓形体抗原与抗体所形成的沉淀线

5 株抗原与抗体所呈现的沉淀线中 S1、S2 和 S5 的沉淀线多数只有一条; S3、S4 多数呈双线。5 株抗原中, NZ1、NF2、NA5 三株较近似; NG3 和 NK4 较接近(见表 1)。

表 1 五株弓形体抗原与抗体所形成的沉淀线

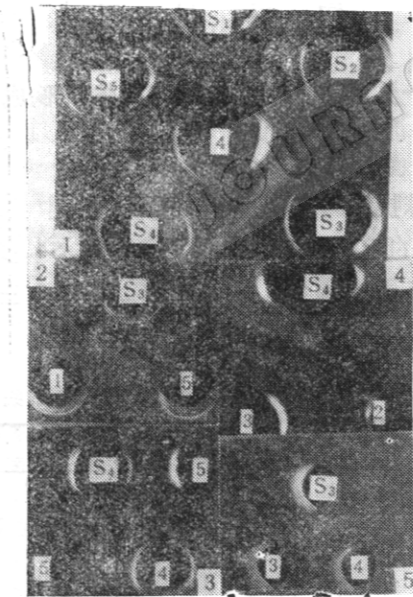
抗原号	免疫抗体				
	S1	S2	S3	S4	S5
NZ1	+	+	++	++	+
NF2	+	+	++	++	+
NG3	+	+	+	+++	+
NK4	++	+	++	+++	++
NA5	+	+	+	+	+

* 一个“+”号, 表示沉淀线一条。

黄桂森, 林金瑞负责血清和抗原制备, 王灵岚摄影, 特此致谢。

(二) 各株弓形体抗原与抗体之间的异同关系

弓形体抗原 NK4 对抗体 S1—5 可呈现一条共同的沉淀线, 5 株弓形体抗原所免疫的抗体均含有弓 4 抗体。S1、S2 和 S5 抗体相近, 呈双线吻合, 而 S1 另有一条线; S2 与 S3 除有相似的沉淀线外, 另有一条呈刺状, 为部份不相同。S3 与 S4 呈双线相似, 一线不相同。S4 与 S5 呈双线吻合, 但 S4 又多呈一条线(图 1)。弓形体抗原 1、5 号对 S3 抗体, 抗原成份相似(图 2)。弓形体 4、5 号抗原对抗体 S4, 除有一条共同沉淀线外, 弓 4 又多 2 条线(图 3)。抗原 3、2 号对抗体 S4, 能出现一条共同沉淀线, 弓 3 抗原又多一条线(图 4)。弓 3、4 抗原对抗体 S3, 结果有一条共同沉淀线, 弓 4 抗原又多一条(图 5)。由此可见, 五株弓形体抗原分为三型: 弓 1、2、5 号为一型, 弓 3 和弓 4 分别为二型和三型。



			②	S3	④	S4
	S1			1	5	3 2
①	S5	4	S2	③	S4	③ S3
	S4		S3		5 5	3 4
					4	

图 1—5 弓形体双向免疫扩散试验

抗原号: 1、2、3、4、5 抗体号: S1、S2、S3、S4、S5

讨 论

对弓形体抗原成份的研究, 这不仅有助于实验敏感和特异的检测方法, 而且对于菌苗的研制也有裨益。迄今, 由于弓形体抗原难于分型, 对人和动物的传染源追查不易获得准确结果, 因而致使弓形体病的防治研究工作造成许多困难。

从表 1 实验结果可见, 五株弓形体抗原与免疫血清多数呈交叉反应, 表明有共同抗原成份存在。有 4 株抗原与抗体 S1、S2、S5 反应较弱, 多数只呈现一条沉淀线; 而抗体 S3、S4 与多数抗原可呈现双线反应。由图 1—5 的沉淀线反映得知, 5 株抗原成份除有一致的成份还有相异的成份存在。初步可将 5 株抗原分为三型。这无疑对今后血清学分型等研究是很有价值的。

Kasper 等自弓形体孢子体中发现两种膜蛋白抗原, 分子量分别为 67000 和 25000 道尔顿, 但在滋养体中则无此抗原。而滋养体中的 P₃₀ 膜蛋白抗原, 在孢子体中却没有发现。作免疫沉淀试验, 弓形体免疫血清不能识别孢子体抗原^[7]。Ogata 等^[8]用免疫酶联试验法检测虫体胞浆, 结果发现三种可溶性抗原: TPM₃、TPM₁₉ 和 TPM₆ 的分子量均为 43000 道尔顿。兔的抗弓形体血清与 TPM₃、TPM₁₉ 抗原能起反应; 弓形体病患者抗弓形体血清只能与 TPM₃ 抗原起反应。Patricia 等用单克隆抗体蚀斑试验作三株兔弓形体滋养体抗原分析, 结果蚀斑阳性数分别为 88%、14% 和阴性。用蛋白印迹试验, 结果 RH 株分子量为 39000 和 26000, P 株为 54000, C 株为 88000 和 25000^[9]。

琼脂糖双向扩散试验曾作过肠道菌抗原分析实验^[10]。它具有辨别力强、肉眼可见、简便、无需特殊设备和基层易于开展等特点, 故现在实验室仍有用于单克隆抗体鉴别试验。5 株弓形体抗原实验结果, 抗原成份比较复杂, 必须经过进一步吸收提纯才能解决虫株抗原的分型问题。

(下转第 336 页)

参 考 文 献

1. 于恩庶主编: 弓形体病, 第 225 页, 人民卫生出版社, 1982。
2. 黄桂森等: 中国人兽共患病杂志, 5: 59, 1986。
3. 于恩庶等: 微生物学报, 5(3): 223, 1957。
4. 陈兆云: 微生物学通报, 3: 38, 1983。

5. 陈兆云等: 微生物学通报, 6: 255, 1985。
6. 陈兆云等: 微生物学通报, 1: 39, 1986。
7. Kasper LH et al.: *J. Immunol.*, **132** (1): 443. 1984.
8. Ogata K et al.: *Infect. Immunol.*, **43** (3): 1047. 1984.
9. Patricia L et al.: *Infect. Immunol.*, **55**(3): 778. 1987.