

# 抗登革病毒单克隆抗体诊断盒的应用<sup>①</sup>

郭辉玉<sup>1,②</sup> 刘乐和<sup>1</sup> 罗瑞仙<sup>2</sup> 熊惠萍<sup>3</sup> 杨国平<sup>1</sup>

(1 中山医科大学微生物学教研室; 广州, 510089 2 广州医药卫生研究所; 3 中山医科大学附属卫生学校)

**提 要** 应用 4 株 I、II、III、IV 型登革病毒特异性单克隆抗体组成的诊断试剂盒, 用荧光抗体技术特异而敏感地鉴定了 I~IV 型登革病毒原型株和 20 个地方株的型别, 并于 1990~1993 年间广州市及佛山市登革热流行时, 对从病人血清分离的登革病毒准确而快速地进行型别鉴定。

**主题词** 抗体, 单克隆/诊断应用; 抗体, 病毒/诊断应用; 荧光抗体技术; 登革热病毒

**中图分类号** R392.11

登革热和登革出血热是东南亚地区的重要传染病之一。我国自 1978 年至今, 不断爆发流行了由登革 4 个型病毒引起的登革热和登革出血热。为了提高登革病毒型特异的诊断试剂, 解决登革病毒型别鉴定中的抗原交叉问题, 我们从建立的 90 株杂交瘤细胞株中, 筛选出 4 株分泌登革病毒型特异性单克隆抗体(McAb)的细胞株, 制备单抗组成试剂盒<sup>[1]</sup>。本文报道用这个单抗试剂盒间接免疫荧光法准确而快速地鉴定了 I~IV 型登革病毒标准株以及在国内曾流行过的登革病毒株的型别, 并于 1990~1993 年间广州市和佛山市登革热流行时, 对在现场分离的登革病毒株进行型别鉴定, 进一步证明这个单抗试剂盒的高度特异性和诊断方法的敏感、快速等优点。

## 1 材料与方 法

### 1.1 病毒株

DV<sub>1</sub> 型 85-4、85-12、85-15、85-49; DV<sub>2</sub> 型 GG-DV87-5、GH-DV 86-10、GH-DV87 为广东省及广州市于 1985~1987 年分离的地方株。DV<sub>1</sub> 型 79116、79118、Hu-2(P-16)、Hu-3、61-3(P-18); DV<sub>3</sub> 型 HD<sub>50</sub>(P18)、HDM-12、HDM38、HD81-50、HD81-22C8; DV<sub>4</sub> 型 78-35、78-42、78-56 等登革病毒中国地方分离株, 均从北京卫生部药品生物检定所获得。

### 1.2 病人血清标本

为 1990 年~1993 年广州市及佛山市登革热流

行时从现场采集的病人血清标本, 由广州市防疫站罗惠容医师赠送。

### 1.3 单克隆抗体诊断盒的组成

抗 I、II、III、IV 型登革病毒型特异性单抗诊断盒系由我们研制的抗 I~IV 登革病毒 McAb 组成。4 株单抗的杂交瘤细胞株来源分别为: DV<sub>1</sub> (3-4-7/E)、DV<sub>2</sub> (1-2-11/C)、DV<sub>3</sub> (C<sub>10</sub> A<sub>10</sub>)、DV<sub>4</sub> (3-4-2/F)<sup>[1]</sup>。抗登革病毒组特异性单抗诊断盒系由上述抗 I~IV 型登革病毒的型特异性单抗, 按一定的比例混合配成, 具有能与 I、II、III、IV 型登革病毒结合的组特异性, 而与流行性乙型脑炎病毒抗原无交叉反应。

### 1.4 荧光抗体法检测抗原

登革病毒抗原细胞片、羊抗鼠 IgG 荧光抗体等的材料与方 法参照前文报道<sup>[1]</sup>。

## 2 结 果

### 2.1 登革病毒单抗诊断盒的特异性和敏感性

为了测定登革病毒型特异性和组特异性单抗诊断盒的特异性和敏感性, 对我国不同流行地区的已知登革病毒株用间接免疫荧光法(IFA)重新进行鉴定, 并以 I~IV 型登革病毒的原株作对照。结果见表 1。结果表明, 应用登革病毒型特异性单抗诊断试剂均能特异地与各个登革病毒的地方株发生反应, 应用登革病毒型特异性单抗能快速而准确地鉴定各个

① 卫生部“七五”生物技术攻关专题资助课题;

② 第一作者, 1930 年出生, 男, 教授

登革病毒地方株的型别。各型单抗在高稀释度的情况下,登革各型病毒均获得了阳性结果,型别之间没有交叉反应,表明了单抗的高度特异性和敏感性。

## 2.2 登革病毒单抗诊断盒的应用

1990~1993年期间,在登革热流行区广州市采集病人血清标本,经微量细胞培养后,用登革病毒型特异性 McAb 间接免疫荧光法鉴定病毒,均获得了快速特异的结果(表2)。

表1 型特异 McAb 与各型病毒株的反应

毒株	组特异 McAb	型特异 McAb 滴度 <sup>1)</sup>				判定 型别
		DV <sub>1</sub> (3-4-7/E)	DV <sub>2</sub> (1-3-11/C)	DV <sub>3</sub> (C <sub>10</sub> A <sub>10</sub> )	DV <sub>4</sub> (3-4-2/F)	
DV <sub>1</sub> (Hawaiian)	+	1:2560	<1:10	<1:10	<1:10	DV <sub>1</sub>
Hu-2(P-16)	+	1:2560	<1:10	<1:10	<1:10	DV <sub>1</sub>
Hu-3	+	1:1280	<1:10	<1:10	<1:10	DV <sub>1</sub>
61-3(P-18)	+	1:1280	<1:10	<1:10	<1:10	DV <sub>1</sub>
79116	+	1:1280	<1:10	<1:10	<1:10	DV <sub>1</sub>
79118	+	1:2560	<1:10	<1:10	<1:10	DV <sub>1</sub>
85-4	+	1:2560	<1:10	<1:10	<1:10	DV <sub>1</sub>
85-15	+	1:2560	<1:10	<1:10	<1:10	DV <sub>1</sub>
85-49	+	1:1280	<1:10	<1:10	<1:10	DV <sub>1</sub>
DV <sub>2</sub> (New Guinea C)	+	<1:10	1:2560	<1:10	<1:10	DV <sub>2</sub>
GH-DV86-10	+	<1:10	1:640	<1:10	<1:10	DV <sub>2</sub>
GH-DV87	+	<1:10	1:640	<1:10	<1:10	DV <sub>2</sub>
GG-DV87-5	+	<1:10	1:640	<1:10	<1:10	DV <sub>2</sub>
GG-DV87-6	+	<1:10	1:1280	<1:10	<1:10	DV <sub>2</sub>
DV <sub>3</sub> (H-87)	+	<1:10	<1:10	1:10240	<1:10	DV <sub>3</sub>
HD <sub>50</sub> (P18)	+	<1:10	<1:10	1:5120	<1:10	DV <sub>3</sub>
HDM-12	+	<1:10	<1:10	1:5120	<1:10	DV <sub>3</sub>
HDM-38	+	<1:10	<1:10	1:2560	<1:10	DV <sub>3</sub>
HD81-50	+	<1:10	<1:10	1:5120	<1:10	DV <sub>3</sub>
HD81-22C8	+	<1:10	<1:10	1:10240	<1:10	DV <sub>3</sub>
DV <sub>4</sub> (H <sub>241</sub> )	+	<1:10	<1:10	<1:10	1:5120	DV <sub>4</sub>
78-56	+	<1:10	<1:10	<1:10	1:2560	DV <sub>4</sub>
78-35	+	<1:10	<1:10	<1:10	1:2560	DV <sub>4</sub>
78-42	+	<1:10	<1:10	<1:10	1:1280	DV <sub>4</sub>

1)间接免疫荧光法

表2 免疫荧光法鉴定从病人血清分离的病毒

病毒来源	抗登革病毒 McAb 反应 <sup>1)</sup>				判定 型别
	DV <sub>1</sub> (3-4-7/E)	DV <sub>2</sub> (1-3-11/C)	DV <sub>3</sub> (C <sub>10</sub> A <sub>10</sub> )	DV <sub>4</sub> (3-4-2/F)	
陈××	+	-	-	-	DV <sub>1</sub>
叶××	+	-	-	-	DV <sub>1</sub>
彭××	-	-	-	+	DV <sub>4</sub>
谢××	-	-	-	+	DV <sub>4</sub>
陈××	-	-	-	+	DV <sub>4</sub>
宋××	-	-	-	+	DV <sub>4</sub>
李××	-	-	-	+	DV <sub>4</sub>
陆××	-	-	-	+	DV <sub>4</sub>
梁××	-	-	-	+	DV <sub>4</sub>

1)间接免疫荧光法

### 3 讨 论

由登革病毒引起的登革热是一种危害人民健康的急性传染病,对本病的流行病学调查以及本病流行时对病原的确定,均需快速准确进行病原学诊断。但由于登革病毒型别之间以及与其他黄病毒之间有共同抗原存在,故用血清学方法进行病毒鉴定时,常遇到交叉反应的问题。采用上述由抗 I ~ IV 型登革病毒型特异的单抗组成诊断盒,可以很好地解决这个交叉反应的问题。实验证明,本诊断盒能够特异而敏感地鉴定登革病毒的 4 个原型株和 20 个地方株的型别。同时本诊断盒经 1990~1993 年广州市及佛山市登革热流行现场应用时,对从病人血清用蚊传代细胞分离的毒株均能准确而快速地进行分型鉴定,为登革热的病原诊断和流行病学研究提供了特异的诊断试剂和快速简便的诊断方法。

此外,我们还应用单克隆抗体亲和层析法纯化

了登革病毒 I 型原株(NGC)和海南地方株(GH-DV87)的非结构蛋白 NS<sub>1</sub> 双体。用这种 NS<sub>1</sub> 双体免疫小鼠可以保护动物耐受脑内致死量 I 型登革病毒的攻击;用以制成 NS<sub>1</sub> 抗原条酶联免疫法可以检测登革热病人血清中的 IgG 和 IgM 型抗登革病毒 NS<sub>1</sub> 抗体。为登革热的血清学诊断和疫苗研制提供另外的方法。其实验结果于另文报道<sup>[2]</sup>。

### 参 考 文 献

- 1 郭辉玉,刘乐和,罗瑞仙,等. 抗登革病毒 I ~ IV 型特异性单克隆抗体的研制. 中山医科大学学报,1995,16(增刊):6
- 2 许琳,陈焕辉,郭辉玉. 登革病毒非结构蛋白 NS<sub>1</sub> 的纯化、鉴定及其在临床检测应用的研究. 中山大学学报(自然科学版),1995,38(2):125

(1995-04-14 收稿 1995-06-29 修回)

## APPLICATION OF MONOCLONAL ANTIBODY DIAGNOSTIC KIT AGAINST DENGUE VIRUSES

Guo Huiyu<sup>1</sup> Liu Lehe<sup>1</sup> Luo Ruixian<sup>2</sup> Xiong Huiping<sup>3</sup> Yang Guoping<sup>1</sup>

(1 Department of Microbiology, Sun Yat-Sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510089

2 Medical and Health Research Institute of Guangzhou;

3 The Affiliated health School of Sun Yat-Sen University of Medical Sciences)

Four prototype strains and 20 local isolate of dengue viruses were specifically and sensitively identified by the diagnostic kit prepared from 4 type-specific anti-dengue type I, II, III and IV virus monoclonal antibodies. Precise and rapid virus typing was also successfully performed on the viral isolates from patients' sera in Guangzhou and Fusan city during the 1990~1993 dengue fever outbreaks.

**Subject headings** antibodies, monoclonal/diagnostic use; antibodies, viral/diagnosis; fluorescent antibody technique, dengue virus