

精制锡克氏毒素人群使用效果观察及 三种方法测定白喉抗毒素比较

肖锡岭¹ 崔元德² 刘彩³ 吴新兰¹ 姜瑞香¹
阎喜明¹ 齐殿军¹ 史翠凤¹ 裴少全² 李朋飞²

提要 我们发现精制白喉毒素十分稳定,用这种毒素制备的锡克氏毒素,其中和白喉抗毒素的能力恒定,符合英国药典(1980)规定,并显著地低于原制锡克氏毒素的中和力,又因其中无“类毒素”成分,故其ST的敏感性大为提高。用这种精制锡克氏毒素进行人群观察结果表明,锡克氏阳性反应及阴性反应与标准动物法测得的对应人血白喉抗毒素单位符合率分别为96.67%及90%,且无过敏反应发生。其假阳性反应与混合反应皆明显地低于用陈旧原毒素制备的锡克氏毒素。我们结果还证明,iHA试验的敏感性低于ST和动物测定,iHA试验与动物测定结果的符合率为68.33%,与ST的符合率为70.47%。

关键词 精制锡克氏毒素 白喉抗毒素 间接血凝试验

多年来国内外报道证明,锡克氏试验不但对监测人群白喉免疫状态有可靠效果,而且对检测人们对白喉蛋白是否过敏亦有肯定价值。其缺点是:1.国内锡克氏毒素多用陈旧原白喉毒素配制,所含“类毒素”成分过多故中和抗毒素能力偏强,试验敏感性偏低;且不同生产单位生产的不同批号的锡克氏毒素所含“类毒素”成分多少不等,故其中和抗毒素的能力亦异,这必然影响使用结果,容易造成混乱与偏差。2.偶有过敏反应。为克服上述缺点,我们用精制白喉毒素和无抗原性的缓冲液配成锡克氏毒素(下简称精制锡克氏毒素),与陈旧原白喉毒素配成的锡克氏毒素进行人群使用对比观察,同时以标准家兔皮内法及间接血凝试验测定对应人血白喉抗毒素单位与之比较。今将结果报道如下。

材料和方法

一、精制锡克氏毒素试验液和对照液:为精制白喉毒素(2400Lf/mgPN)及0.1%明胶甘油硼酸盐缓冲液配成,含0.2MLD/ml,对照液配法相同,仅精制毒素须经85℃25分钟

加热以破坏其毒性。批号为8527。

二、原制锡克氏毒素试验液和对照液:为陈旧原白喉毒素及0.1%蛋白胍硼酸盐缓冲液配成,含0.2MLD/ml,对照液毒素经85℃25分钟灭活。批号为8501。

三、锡克氏试验:按常规进行皮内注射,于第2、3、4日各观测反应一次,按下述标准判定。

- 1.阳性反应:对照侧无反应,毒素侧红肿反应直径为10mm或以上、第4日仍未消退者。
- 2.阴性反应:两侧均无反应,或反应在10mm以下者。
- 3.假阳性反应:两侧均有10mm或以上的反应,但在第3、4日消退者。
- 4.混合反应:两侧均有10mm或以上的反应,对照侧反应在第3、4日消退,毒素侧反应在第4日仍未消退者。

观察对象:为锡克氏阳性率较高13~19岁的中学生及部分成年人。

四、间接血凝试验按:常规,以0.016iHAu/ml为阳性判定界限。

五、动物法单位测定:按1/5000Lr家兔

1. 卫生部长春生物制品研究所 2. 辽宁省朝阳地区卫生防疫站 3. 辽宁省凌源县卫生防疫站

皮内中和试验法，此为标准的白喉抗毒素测定法，以0.01iu/ml为阳性判定界限。

试验结果

一、二种锡克氏毒素中和力比较：

将标准抗毒素(10iu/ml, 检定所发)稀释到一定浓度，加等量的锡克毒素37℃中和60分钟，后分别注射家兔皮内0.2ml, 第3日判定。结果如表1。

表1 二种锡克氏毒素中和力(结合力)比较

抗毒素单位 (iu/ml)	家兔皮内红肿反应(mm)		家兔皮内红肿反应(mm)	
	精制 8527	原制 8501	精制 8527	原制 8501
1/75	—, —	—, —	—, —	—, —
1/125	12×12, 15×15	—, —	—, —	—, —
1/15	—, —	—, —	—, —	—, —
1/25	—, —	12×12, 14×15	—, —	—, —

从表1可见，8527批精制锡克氏毒素符合英国药典规定^[1]，即等量的锡克毒素与1/75iu/ml白喉抗毒素的中和液，注射家兔皮内0.2ml(含抗毒素1/750iu)无反应；等量的锡克氏毒素与1/125iu/ml白喉抗毒素的中和

表3

锡克氏试验结果与人血抗毒素单位动物法测定结果比较

锡克氏试验 反应	抗毒素单位 (iu/ml)									计	符合率(%)
	<0.01	0.01	0.03	0.06	0.12	0.24	0.48	0.96			
S(+)	29		1							30	96.67
S(-)	6	6	13	5	8	15	4	3		60	90.00

从表3可见，用精制锡克氏毒素进行锡克氏试验，其阳性反应、阴性反应与人血抗毒素单位符合率均高，分别为96.67%及90%。

四、人血白喉抗毒素单位动物法测定结果与间接血凝法测定结果比较：如表4。

从表4可见，二者的总符合率为68.83%，且动物法的敏感性显著地高于间接血凝试验法(P<0.001)。

经统计学计算，二者相关系数r=0.5334, r(70)0.001=0.380, 故二者的相关性有显著意义。

液，注射家兔皮内0.2ml(含抗毒素1/1250iu)呈阳性红肿反应。而用陈旧原白喉毒素配制的8501批锡克氏毒素，其中和白喉抗毒素的能力则为精制品8527批的五倍。

二、二种锡克氏毒素液人群使用对比观察：结果如表2。

表2 二种锡克氏毒素液人群使用结果比较

锡克氏毒素	被试人数	阴性人数(%)	假阳性人数(%)	混合反应人数(%)	过敏反应人数
精8527	1049	688(65.59)	13(1.24)	25(2.38)	0*
原8501	842	443(52.61)	28(3.33)	50(5.94)	1
χ^2		32.47	9.07	15.01	7.956
P		<0.001	<0.01	<0.001	<0.01

* 观察人数为12932人次

从表2可见，即使在锡克氏试验阴性率较高的情况下，精制锡克氏毒素的假阳性反应与混合反应亦皆显著地低于原制锡克氏毒素(P<0.01~0.001),且未出现过敏反应(P<0.01)。

三、锡克氏试验(精8527批)结果与人血抗毒素单位动物法测定结果比较：如表3。

表4 人血白喉抗毒素动物法与间接血凝试验测定结果比较

间接血凝试验 动物测定	iHA(-)	iHA(+)	iHA(-)	iHA(+)	计
	iu(-)	iu(+)	iu(+)	iu(-)	
人数	30	23	23	1	77
符合率(%)	38.96	29.87			68.83
不符合率(%)			29.87	1.30	31.17
iHA(-)iu(+); iHA(+)iu(-) $\chi^2=22.76, P<0.001$					

五、人血间接血凝单位与锡克氏试验结果(精8527批)比较：如表5。

从表5可见，二者总符合率为70.47%，且

表5 人血间接血凝单位与锡克氏试验反应结果比较*

	iHA(+)	iHA(-)	iHA(-)	iHA(+)	计
	ST(-)	ST(+)	ST(-)	ST(+)	
人数	172	229	139	29	569
符合率(%)	30.22	40.25			70.47
不符合率(%)			24.43	5.1	

$$iHA(-)ST(-); iHA(+)ST(+) \chi^2 = 83.69, P < 0.001$$

*间接血凝单位以0.016iHA_u/ml为阳性判定界限。

锡克氏试验(精8527批)的敏感性明显地高于间接血凝试验($P < 0.001$)。

讨 论

用精制白喉毒素配制锡克氏毒素,国内尚无报道,我们结果证明有如下优点:

1.精制毒素较原毒素稳定,可制备出中和力(亦称结合力)恒定的锡克氏毒素。我们82年制备的825批精制标准白喉毒素,原毒力为50MLD/Lf,现仍为50MLD/Lf。据报道^[2],这是因为精制毒素经透析工序,已经除掉了参加自然类毒化过程不可缺少的、原毒素液中存在的可透析因子,自然类毒化不能发生所致。精制毒素确是制备中和力恒定的锡克氏毒素的理想材料,1983~87年制备的各批精制锡克氏毒素,其中和力皆符合英国药典规定^[1],证明了这点。而7323批陈旧原白喉标准毒素,原毒力亦为50MLD/Lf,但至1977年毒力已急剧下降至10MLD/Lf,现又下降至2.5MLD/Lf,十多年来毒力下降20倍,但Lf/ml并未下降,其中“类毒素”成分逐年增多,每个MLD中和抗毒素的能力逐年增强,8501批原制锡克氏毒素的中和力竟达到精制锡克氏毒素的五倍。这说明用陈旧原白喉毒素制备质量稳定的制剂是不可能的。

2.因精制毒素已除掉绝大部分菌体蛋白,故配成锡克氏毒素进行锡克氏试验,其假阳性反应与混合反应皆明显地低于原制锡克氏毒素。因而如仅为监测人群免疫状态,可以考虑免去对照,一次注射一次观测即可,对基层人员省去很多劳力,值得商量后执行。

3 无过敏反应发生。据报道^[3],这是因为缓冲液中无蛋白胨成分之故。

4.精制锡克氏毒素的中和力符合英国药典规定^[1],并显著地低于原制锡克氏毒素,且其中无“类毒素”成分,故其锡克氏试验敏感性大为提高,锡克氏试验阳性反应及阴性反应与对应人血抗毒素单位符合率均高,分别为96.67%及90%,明显地高于国内70%且稍高于国外80~90%的报道^[4~5]水平。因此建议部颁规程补充锡克氏中和力及其界限的规定,以使该种制剂标准化,减少锡克氏试验误差。

此外,锡克氏试验的敏感性高于间接血凝试验,与近期报道^[6,7]一致;二者符合率为70.47%,接近或高于一些报道^[4,6~7]。

An Observation on the Effect of Purified Schick Toxin in Field Use and the Comparison of Three Methods for Detection of Diphtheria Antitoxin Level Xiao Xiling, et al., Changchun Institute of Biological Products, Ministry of Public Health, Changchun, etc.

The purified diphtheria toxin was found to be very stable. The ability of the Schick toxin prepared from it for neutralizing diphtheria antitoxin was constant and coincided with the requirement of British Pharmacopoeia(1980). Using the Schick solution we found that the corresponding rate between Schick test and rabbit intradermal neutralization test was 90-96.67% in healthy individuals and no generalized urticarial reactions occurred. Because there was no "toxoid" in it, the sensitivity of the ST was increased. Its false positivity and combined reaction were significantly lower than those of the Schick toxin prepared from "aged" crude diphtheria toxin. Therefore, if our aim was only to define the sensitivity of population to diphtheria or to compare the antigenic potency of different diphtheria toxoids, the control test may be omitted.

Our result showed that the sensitivity of IHA test was lower than that of Schick test and animal test. The corresponding rates between IHA test and animal test, IHA test and ST were 68.83% and 70.4% respectively.

Key Words Purified Schick toxin Diphtheria antitoxin IHA

参 考 文 献

1. Schick test toxin. In: British Pharmacopoea. II. London: Cambridge, 1980: 864~865.
2. Agner K. Studies on Peroxidative detoxication of purified diphtherid toxin. J Exper Med 1950; 92(4): 337.
3. Pappenheimer A M JR. The Schick test. 1913~1958. Int Arch Allergy. 1958; 12(1~2): 35.
4. 汪玉兰, 等. 应用间接血凝法测定吸附白类免疫后人群的免疫水平. 武汉生物制品研究所30年科研成

果汇编. 1982: 67~68.

5. Smith GR. Topley and Wilson's principles of bact virol and immunity. III. 7th. London: Edward Arnold. 1983: 81~82.
6. 程明洁, 等. 测定白喉毒素抗体三种试验方法的比较. 中华流行病学杂志 1984; 5(1): 55.
7. 钱中夏, 等. 白喉毒素抗体水平测定的三种方法比较. 中国公共卫生 1986; 5(2): 37.

(本工作承蒙凌源县防疫站协助, 辽宁省防疫站何永革同志支持, 本文经李惠发副教授审阅, 一并表示感谢)

六安市三所幼儿园儿童携带空肠弯曲菌的调查报告

安徽省六安地区卫生防疫站

丁业荣 董新安 丁以惠 刘国生 韩开林 李朝阳 卫天章 杨侃

空肠弯曲菌作为急性腹泻病的病原菌已受到普遍关注。为了了解城市儿童在不同季节里的带菌规律及其感染来源, 我们于1985年4月至12月对本市三所幼儿园儿童进行了调查, 现报告如下。

一、调查对象

六安市区城南、地委和市委幼儿园儿童, 近期有腹泻史的幼师, 空肠弯曲菌携带者的家庭成员, 饲养的家禽畜、鸟类等。

二、方法

分别在春季(4月初)、夏季(6月底)、秋季(9月)、冬季(12月)收集儿童新鲜粪便标本, 在2小时内送检。空肠弯曲菌的分离、培养和鉴定按山东省卫生防疫站王瑞增方法进行。

三、结果与分析

1. 本次检查幼儿园儿童1142人次, 年龄在2~8岁之间, 检出阳性带菌者61人次, 平均阳性率为5.34%。结果表明各年龄组儿童均可带菌, 以4岁以上组带菌率最高, 但不同年龄组儿童带菌差异无统计学意义($\chi^2=2.069$ $df=2$ $P>0.05$)。

1142名儿童, 男孩582人, 女孩560人, 带菌率分别为5.15%和5.54%, 带菌与性别无明显差异($\chi^2=0.0819$ $df=1$ $P>0.05$)。

2. 通过一年四季的调查, 结果提示城市儿童携带

空肠弯曲菌具有明显的季节性。春季带菌率最高为8.52%, 秋、冬季次之, 分别占6.23%和4.26%, 夏季带菌率最低为2.36%, 儿童不同季节的带菌率有显著性差异($\chi^2=11.066$ $df=3$ $P<0.05$)。结果与陈静译自“(日)感染症杂志56小, 1983”的报道颇为近似, 国内也有报告本菌感染可呈春季高发(南京: 许新强), 这可能与儿童的活动频率、接触污染物的机会有关。

3. 冬季同时对14名带菌儿童的家庭成员49人进行了检查, 其中2名成人检出空肠弯曲菌; 8名近期有腹泻史的幼师均未检出本菌。

检查了带菌儿童家庭饲养的家禽、畜、鸟类39份, 其中鸡肛拭子35份, 阳性23份, 检出率高达65.71%, 猫肛拭子2份、画眉粪便2份, 各检出1株空肠弯曲菌。家禽畜和家养鸟平时多在庭院内外活动, 粪便污染环境的机会极多, 虽然未能对人和动物分离菌作型别鉴定, 但他们作为传染源的可能性是存在的。带菌儿童平时在一起学习、活动, 家庭成员中也存在带菌者, 故不排除其相互间接触传染。

4. 药敏试验表明, 空肠弯曲菌对氯霉素、庆大霉素敏感, 而对红霉素、新霉素等8种药物均不同程度耐药。