

SPA协同凝集试验快速诊断流脑的研究

中国药品生物制品检定所 高思明 叶人邦 丁绍卿

提要 本文采用协同凝集(COA)试验的方法检查流行性脑脊髓膜炎病人脑脊髓液(CSF)、血清、尿液中的A群脑膜炎奈瑟氏菌多糖抗原。共检测CSF 195份,血清214份,尿69份。其中从CSF或血液分离培养出A群脑膜炎奈瑟氏菌病人的标本阳性率分别是:CSF 81.2%;血清64.6%;尿50.0%。而分离培养出B群脑膜炎奈瑟氏菌、肺炎链球菌等病人的CSF、血清、尿标本则全部阴性。证明了COA试验具有良好的敏感性与特异性。COA有快速、简便的优点,而且不需要特殊的仪器设备。

关键词 协同凝集试验 流行性脑脊髓膜炎

协同凝集(Co-agglutination)试验已成功用于脑膜炎奈瑟氏菌的分群和流行性脑脊髓膜炎(简称流脑)病人的脑脊髓液(CSF)内脑膜炎奈瑟氏菌多糖抗原的快速诊断。我国对150多株脑膜炎奈瑟氏菌分群以及可溶性多糖抗原的检测也都得到理想的结果^[1~6]。

本文报告了用兔抗A群脑膜炎奈瑟氏菌诊断血清包被在含有丰富A蛋白的Cowan I株金黄色葡萄球菌上,制成SPA-血清试剂,检测流脑病人CSF、血液、尿液中的多糖抗原,而且用细菌培养作为平行对比试验。

材料和方法

病人标本: 1984~1986年北京儿童医院、山东省德州地区和河南省卫生防疫站、四川医学院附属医院、成都市传染病院惠赠的细菌性脑膜炎病人的CSF标本195份(其中培养出A群脑膜炎奈瑟氏菌的69份,培养出肺炎链球菌、白色葡萄球菌、流感嗜血杆菌、黄色奈瑟氏菌以及B群脑膜炎奈瑟氏菌的23份);血清标本214份(其中从79例患者的CSF中培养出A群脑膜炎奈瑟氏菌菌株,1例培养出白色葡萄球菌菌株);尿标本69份(其中从14例患者的脑脊液中培养出A群脑膜炎奈瑟氏菌菌株,1例培养出白色葡萄球菌菌株)。

标本的处理(除去非特异性凝集的假阳性

反应):

CSF: 置80℃水浴10分钟后,3000rpm离心5分钟,取上清用于试验。

血清: 取血清0.3~0.4ml置56℃水浴30分钟灭活后,移入1ml经3000rpm离心20分钟弃上清的SPA菌体的试管中混匀,置37℃水浴30分钟,3000rpm离心20分钟取上清用于试验。

尿液: 取5ml尿液滴加无水乙醇20ml边加边摇,置4℃1小时,3500rpm离心20分钟,弃上清,加PBS 0.5ml混匀,置80℃10分钟,3000rpm离心5分钟取上清用于试验。

SPACOA试剂的制备,敏感性和特异性检查均按本实验室方法进行^[4]。采用Cowan I株金黄色葡萄球菌〔CMCC(B)26111〕制备试剂,其敏感度能测出多糖抗原5ng/ml。健康家兔血清包被的SPA及1%SPA菌悬液为阴性对照试剂。

结果

从患者的CSF标本中分离培养出A群脑膜炎奈瑟氏菌的69份CSF标本、79份血清标本、14份尿标本,进行了SPACOA试验,结果见表1。

从表1看出,细菌培养确诊的流脑患者的69例CSF其SPACOA试验阳性56例,阳性率81.2%;79例血清中阳性者51例,阳性率

表1 从CSF中培养出A群脑膜炎奈瑟氏菌的不同标本的SPACOA试验结果

年度	CSF			血 清			尿 液		
	份数	阳性数	阳性率(%)	份数	阳性数	阳性率(%)	份数	阳性数	阳性率(%)
1984	43	35	81.4	36	25	69.4	6	3	50.0
1985	15	10	66.7	40	24	60.0	5	2	40.0
1986	11	11	100.0	3	2	66.7	3	2	66.7
合计	69	56	81.2	79	51	64.6	14	7	50.0

64.6%；14例尿标本阳性7例，阳性率50%。

患者的培养出A群脑膜炎奈瑟氏菌的同一份CSF标本进行SPACOA试验阳性率较高，试验结果见表2。

表2 同一份CSF标本细菌培养和 SPACOA 试验的结果

年度	培养出A群菌	SPACOA阳性	阳性率(%)
1984	12	11	91.7
1986	11	11	100.0
合计	23	22	95.7

表2结果证明了23份培养出A群脑膜炎奈瑟氏菌的CSF标本的SPACOA试验阳性22份，阳性率95.7%，证实了SPACOA试验的敏感性。

只根据临床症状和体征而没有病原学及其他特异性检查诊断为“流脑”的CSF103份，血清134份，尿液54份，其SPACOA试验结果见表3。

表3结果表明，只根据病人临床症状和体征诊断为“流脑”患者的CSF、血清及尿标本SPACOA试验阳性率较低。

表3 临床诊断为“流脑”病人的CSF、血清、尿标本的COA试验结果

年度	CSF			血 清			尿 液		
	份数	阳性数	阳性率(%)	份数	阳性数	阳性率(%)	份数	阳性数	阳性率(%)
1984	58	16	27.6	94	42	44.7	8	1	12.5
1985	37	12	32.4	38	8	21.1	43	10	23.2
1986	8	2	25.0	2	0	0	3	0	0
合计	103	30	29.1	134	50	37.3	54	11	20.4

对分离培养出其它细菌的CSF、血清及尿标本共25份，其中包括分离培养出肺炎链球菌的CSF14份，流感嗜血杆菌的CSF1份，黄色奈瑟氏菌的CSF1份，白色葡萄球菌的CSF、血清及尿各1份和B群脑膜炎奈瑟氏菌的CSF6份进行SPACOA试验，结果全部阴性，这表明SPACOA试验特异性较强。

讨 论

引起脑脊髓膜炎的病原菌常见的是脑膜炎奈瑟氏菌、肺炎链球菌、流感嗜血杆菌以及葡

萄球菌、链球菌、大肠埃希氏菌等^[7,8]。流脑的临床症状及体征和其他细菌性脑膜炎无显著区别，因此进行特异性快速诊断对临床治疗措施的制定极为重要。流行性脑脊髓膜炎是我国冬春季常见的急性呼吸道传染病，发病率和病死率都较高，严重危害人民健康，因此早期诊断病人对降低病死率和控制疾病流行具有重要意义。我们利用协同凝集试验的方法检查病人CSF、血清和尿中的脑膜炎奈瑟氏菌抗原，证明该方法简单，出结果快，而且特异性和敏感性均令人满意。

影响SPACOA试验的重要因素之一为采集标本时间,在发病1~2日内(即菌血症期和出现脑膜刺激症时)采集标本及时进行细菌培养和SPACOA试验均会得到较高的阳性率。必要时标本可保存在-20℃以下。若保存时间过长或保存方法不当及长途运输均会降低阳性率。

于80℃下处理10分钟的CSF尚有少数仍与阴性对照试剂出现非特异凝集反应,所以需要进一步处理。若用10%SPA菌体吸收会得到满意结果⁽³⁾。尿标本中因含多糖抗原量较低,用乙醇浓缩抗原后测定可得到较好结果。

Rapid Diagnosis of Epidemic Cerebrospinal Meningitis by Co-agglutination Gao En-ming, et al., National Institute for the control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing

Group A meningococcus polysaccharide antigen from cerebrospinal fluid (CSF), serum and urine were detected by Co-agglutination (COA) method. In total 478 samples, CSF, sear and urines 195, 214, and 69 samples wrer detected respectively. COA positive rate of CSF were 81.2%, serum were 64.6% and urine were 50%, in the patients from whom group A bacteria were isolated, but the samples from which group B meningococcus, penumococcus or other isolates positive showed negative in COA.

A good sensitivity and specificity of COA method have been proved in this paper. The advantages of COA method were rapid, simple and could be easily performed in ordinary laboratory conditions.

Key words Co-agglutination Epidemoic

cerebrospinal meningitis

参考文献

1. Thirumoorthi MC, et al. Comparison of staphylococcal coagglutination, latex agglutination and counterimmunoelectrophoresis for bacterial antigen detection. *J Clin Microbiol* 1979; 9: 28.
2. Olcen P. Serological methods for rapid diagnosis of haemophilus influenzae, Neisseria meningitidis and Streptococcus penumoniae in cerebrospinal fluid: A comparison of Co-agglutination, immunofluorescence and immunoelectrosmophoresis. *Scan J Infect Dis* 1978; 10: 283.
3. Eldridge J. Serological grouping of meningococci and detection of antigen in cerebrospinal fluid by coagglutination. *Med Lab Science* 1978; 35: 63.
4. 丁绍卿, 等. 协同凝集试验和玻片凝集试验对脑膜炎奈瑟氏菌分群比较. *中华微生物学和免疫学杂志* 1981; 1: 329.
5. 张颖悟, 等. 特异性抗体致敏葡萄球菌对脑膜炎球菌分群的研究. *中华流行病学杂志* 1980; 1: 111.
6. Zimmerman SE, et al. Indetification and grouping of Neisseria meningitidis directly on agar plates by coagglutination with specific antibodycoated protein A-containing staphylococci. *J Clin Microbiol* 1978; 7: 470.
7. Morton N, et al. Bacterial meningitis—A review of selected aspects, general clinical features, special problems and unusual meningeal reactions mimicking bacterial meningitis. *N Engl J Med* 1965; 272: 725.
8. Fraser DW, et al. Bacterial meningitis in bern-alillo county, new mexico; a comparison with three other american populations. *Amer J Epidemiol* 1974; 100: 29.

(1987年8月5日收稿, 1989年8月修回)