

免疫荧光菌球法快速诊断菌痢的试验

湖南省慈利县卫生防疫站 李柏桂

荧光抗体染色法快诊菌痢，国内外早已应用^{〔1~4〕}，但存在痢疾杆菌与其他肠道菌之间有交叉染色、粪便残渣的自发荧光及粪便中必须含足够的菌量方能检出阳性等问题。本文采用免疫荧光菌球法(简称荧球法)^{〔5〕}快速诊断菌痢，在实验室摸索的基础上，检测了617份菌痢病人和非菌痢病人粪便样品，同时对阳性荧光菌球做了痢疾菌分离。现将结果报告如下：

材料和方法

一、材料：

1. 荧光抗体的制备：

①菌种：F1a、F2a、F3a、F4a、F5、F6型福氏以及宋内氏痢疾杆菌，来自湖南省卫生防疫站检验科。

②抗痢疾菌免疫血清：按文献方法^{〔6〕}免疫家兔，分别制成抗F1a、F2a、F3a、F4a、F5、F6型福氏以及宋内氏7个型的免疫血清，试管凝集效价：F1~F6均为1:3,200，宋内氏为1:6,400。

③抗痢疾菌荧光抗体：将上述7种免疫血清，根据效价按比例混合后，用硫酸铵盐析法^{〔7〕}提取抗体蛋白。参考文献方法^{〔4〕}标记抗体和纯化荧光抗体。实验用稀释度为1:20。

2. 粪便：来自慈利县人民医院、中医院门诊和住院病人，保存在甘油缓冲盐水保菌液中。

3. 蛋白胨水培养基：按常规法配制。

4. 荧光光源：采用吉林浑江市光学仪器厂生产的YG-1型荧光灯。

5. 挑球器：由湖南省卫生防疫站检验科借用。

二、实验方法：

1. 标本制作：以胨水培养基1:20稀释荧光抗体，混匀后，滴在玻片的A、B两处，将待检粪便用接种环涂于A区含荧光抗体的培养基中混匀，再从A区取一环于B区混匀，然后置湿盒中37℃培养6小时，取出后荧光显微镜下低倍镜(目镜5×，物镜10×)观察。

荧球法检测时，每份粪便样品接种在S.S平皿上，经37℃培养18~24小时后，挑取可疑菌落种双扩管，然后用志贺氏菌属分型血清作玻片凝集，以此做平行检测。

2. 阳性结果判定标准：荧光菌球的亮度从强到弱，以“卅、卅、卅、+”表示，如菌球结构疏松，呈雪花状或网状，菌球的亮度在“卅”以上，发现一个荧光菌球者，即可判为阳性。

3. 荧光菌球的纯培养：在荧光显微镜下，将阳性菌球移到视野的最亮处，放下挑球器上的毛细管，在镜下一边观察一边移动毛细管口至菌球边缘后，转动注射器微调，吸取菌球。取划好3个圈的玻片，每圈内分别滴加2滴生理盐水，置显微镜下，将菌球放入第一圈生理盐水中，抽注几次，再依次按同样方法于第二、三圈中洗涤，最后将菌球放入S.S平皿中，用接种环划线；37℃培养18~24小时后，按常规法分离鉴定。

结 果

一、检出率比较：以荧球法与细菌培养(简称培养法)，同时检测44份菌痢病人和573份非菌痢病人的粪便样品。结果(附表)表明，前者检出率均高于后者。

二、两法检出效果比较：附表可见，荧球法检出阳性与培养法有较高的符合率(88.0%)。从培养法阴性的样品中，荧球法却检出16份阳性，而培养法阳性、荧球法阴性者仅3份，两

附表 荧光法与培养法对痢疾杆菌的
检出结果及符合率

组 别	粪便 份数	荧光球法		培养法		符合率	
		阳性数	%	阳性数	%	阳性数	%
菌 痢	44	28	63.6	22	50.0	20	90.9
非菌痢	573	10	1.8	3	0.5	2	66.7
合 计	617	38	6.2	25	4.1	22	88.2

$\chi^2 = 7.58, P < 0.01$

种检测方法有非常显著差异 ($\chi^2 = 7.58, P < 0.01$), 表明前法检出效果明显优于后法。

三、荧光菌球的证实: 荧光法阳性的38份样品, 经挑取菌球进行纯培养鉴定, 有30份被证实为痢疾菌, 占79.0%, 且其菌型一致。表明此法的检测结果基本可靠。

讨 论

从细菌培养法阳性的样品中, 荧光法检验时3份阴性, 说明该法尚有不足之处。此现象可能与以下因素有关: ①制备荧光抗体菌株的抗原性与被检样品中菌的抗原性之间有差异; ②痢疾杆菌的抗原性变异, 亦可能是荧光法出现假阴性的原因之一。如117号样品, 培养法检出为未定型株, 而荧光法为阴性, 这方面有待进一步研究。

摘 要

本文采用免疫荧光菌球法检测44份痢疾病人和573份非痢疾病人粪便样品, 与培养法的阳性符合率为88.2%, 检出效果优于细菌培养法 ($P < 0.01$)。本法具有快速、敏感、较特异等优点, 具有一定的实用价值。

ABSTRACT

Forty-four samples of feces obtained from patients with bacillary dysentery and 573 from patients without bacillary dysentery were examined for immunofluorescence of bacterial ball and routine cultivation methods in parallel. The rate of coincidence with positive results was 88.2%. The result of the examination was satisfactory. It was found to possess the advantage of yielding rapid diagnosis, being sensitive and relatively specific.

参 考 文 献

1. Thomasom BM et al: Appl Microbiol, 13: 605, 1965.
 2. 上海生物制品研究所菌苗室诊断用品组: 应用荧光抗体法对痢疾志贺氏菌及沙门氏菌快速诊断的初步小结, 内部资料, 1975.
 3. Thomasom BM et al: Appl Microbiol, 15: 912, 1967
 4. 59175部队: 荧光显微术, 内部资料, 1975.
 5. 上海市科研协作组: 免疫荧光新技术——荧光菌球法介绍内部资料, 1975.
 6. 上海市卫生防疫站: 卫生防疫检验 (细菌检验), 33, 1979.
 7. 韩澄源: 间接血凝技术, 第一版, 36, 科学出版社, 1979.
- (承湖南省防疫站和广州军区军事医学研究所支援器材; 慈利县人民医院陈启理、刘本驰、张桂欣和县中医院张媛、田新、李淑英协助收集粪便样品, 一并致谢)

广西桂平白沙公社脊髓灰质炎流行调查

玉林地区卫生防疫站

桂平县卫生防疫站

白沙公社卫生院

1980年9月~1981年3月, 白沙公社发生了脊髓灰质炎流行。此次流行共发生病例70例, 发病率为10.47/万, 死亡3例。病人分布于14个大队, 占全公社大队的73.68% (14/19)。发病年龄最小5个月, 最大4岁, 男女比例为1.9:1, 发病率随年龄增加而降低。11~12月为发病高峰。左下肢瘫痪33例 (47.15%), 右下肢瘫痪26例 (37.15%), 双下肢瘫痪11例 (15.71%), 重度7例 (10.0%), 中度39例 (55.71%),

轻度24例 (34.29%)。70例患者中有66例 (94.3%) 无疫苗史, 其中有27.27% 因年龄太小未服苗引起发病, 非全程服苗4例 (5.71%)。造成流行的主要原因是计划免疫工作不落实, 服苗质量差, 服苗率低。应急服苗等综合措施对控制流行起到较大作用。建议今后除加强农村卫生网的管理外, 每年6~7月份应在疫区范围内对2岁以下儿童进行一次补服疫苗工作。

(钟福华 整理)