

用标记SpA染色试剂与尿液协同凝集反应 快速诊断伤寒病的研究

淄博市卫生防疫站 张店区卫生防疫站 利津县卫生防疫站
阳信县卫生防疫站 惠民地区卫生防疫站 淄博市传染病医院

我们设计制备了伤寒诊断血清-标记SpA美蓝染色试剂与尿液做玻片法协同凝集反应(简称协同凝集反应),用以诊断伤寒病。总结如下:

材料与方法

一、材料:

1. 标准菌种: 有蛋白A的金黄色葡萄球菌 Cowan1(国家统一编号: 26111)、无蛋白A的葡萄球菌 Wood46(国家统一编号: 26107)及常见肠杆菌科代表菌株11属23株^[1]。均由卫生部药品生物制品检定所供给。

2. 地方菌种: 伤寒沙门氏菌34号、乙型副伤寒沙门氏菌49号、鼠伤寒沙门氏菌53号、得比沙门氏菌71号。

3. 诊断用血清: 卫生部成都、北京、兰州生物制品研究所供给。

4. 自制伤寒诊断血清: 以34号伤寒沙门氏菌, 照常规方法制备抗原和免疫家兔6次, 每次间隔7天, 末次免疫后7~10天放血, 分离血清再分别进行吸收试验, 除去血清中共有的非特异性抗体成分, 测定效价备用。

5. 肥达氏反应抗原: 卫生部成都生物制品研究所提供。

6. 标本来源: 自伤寒流行地区的病人(指肥达氏反应、血液及粪便培养至少一项阳性和流行病学、临床症状证实者); 对照组有学生38人, 住院或门诊病人42人, 病人家属74人, 共计154人。

7. SpA稳定液的制备: 见文献^[1]。

讨五育。阳信合县由莫重阳直系派大洪前听
于越大单果成。阳信合县派大洪前听于

8. 特异性抗体标记SpA美蓝溶液染色试剂的方法: 取稳定液10毫升, 4000rpm离心30分钟, 弃上清液, 再用PBS缓冲液离心洗涤一次, 用PBS缓冲液恢复原量后加入伤寒诊断血清, 摆匀置37℃温箱作用20~30分钟, 加入美蓝染色5~10分钟, 用前法离心弃上清液, 再以PBS缓冲液洗涤一次, 配成2%(V/V)菌悬液, 即为标记SpA染色试剂, 加NaN₃防腐, 置4℃冰箱保存备用。

二、方法:

1. 尿液标本的处理: 取SpA稳定液0.4毫升加入洁净的华氏管内, 3000rpm离心10分钟, 弃上清液后, 再吸取待检尿液0.3毫升, 充分振摇混匀, 置37℃温箱作用5~10分钟, 目的是吸收非特异性物质, 以提高特异性^[2], 然后以4000rpm离心10~15分钟, 上清尿液备做协同凝集反应。

2. 协同凝集反应: 先用取菌环取标记SpA染色试剂于玻片上, 再取等量吸收后的尿液立即混合均匀, 不断转动, 在5分钟内观察记录结果, 依据凝集的速度和颗粒性状记录卅、卅、廿、十、一。

3. 血液与粪便培养及肥达氏反应均照常规方法进行。

4. 特异性试验: 以无SpA的26107菌株分别标记自制伤寒诊断血清及市售伤寒诊断血清; 另用有SpA的26111菌株标记正常兔血清, 和自制伤寒诊断血清、市售伤寒(O₉、Vi、Hd)诊断血清试剂, 分别与伤寒沙门氏菌、病人尿液和肠杆菌科代表菌(11属23株)做协同凝

集反应。协同凝集试验阳性病人尿液做定量试验：取吸收后的尿液以等渗盐水做倍比稀释： $1:2 \sim 1:32$ ，再与标记SpA染色试剂做协同凝集反应。

结 果

1. 192例伤寒病人尿液标本与标记SpA染色试剂做协同凝集反应，其结果与肥达氏反应、血液培养、粪便培养的阳性结果有非常显著的差异(附表)。

附表 协同凝集反应和肥达氏反应
细菌培养阳性结果比较

试验方法	标本数	阳 性	
		数	%
协同凝集反应	192	185	96.35
肥达氏反应	175	152	86.86
血液培养	132	46	34.85
粪便培养	188	42	22.34

$$\chi^2 = 10.828 \quad P < 0.001$$

2. 90例伤寒病人的流行病学资料分析：发病最早呈现协同凝集反应阳性者是1天，最迟85天，其中1~10天31例，11~20天24例，21~30天14例，31~60天17例，71天以上4例。

3. 在对照组中，SpA协同凝集反应阳性2人，其中1人是住院发烧待查的病人，经肥达氏反应验证：H为 $1:320$ ±，O为 $1:160$ ±，另1人是门诊病人，因无住址未能做验证，其他152人全为阴性。

4. 117例与自制伤寒诊断血清-标记SpA染色试剂做玻片法协同凝集反应阳性的尿液标本，同时以成都生物制品研究所生产的54种沙门氏菌属诊断血清中O₉、Vi、Hd分别标记SpA染色试剂做协同凝集反应，鉴定尿液中可溶性抗原结果：O₉阳性109例(93.16%)、Vi阳性107例(91.45%)、Hd阳性106例(90.60%)。

5. 对58例由血液和粪便标本检出伤寒沙门氏菌与SpA试剂做协同凝集反应、肥达氏反应的结果分析：SpA试剂协同凝集反应阳性57例(98.28%)、肥达氏反应阳性48例(82.76%)。

在10例肥达氏反应阴性中：血液和粪便培养同时阳性2例，血液培养阳性4例，粪便培养阳性4例，其中有1例SpA协同凝集反应也是阴性。

6. 选30例协同凝集反应阳性的病人尿液标本做定量玻片法协同凝集反应，效价均在 $1:8 \sim 1:16$ 之间。

7. 敏感性和特异性测验结果：以标记SpA染色试剂做玻片法协同凝集试验，每毫升含200万个菌呈现“+”，400万个菌呈现“++”，800万个菌以上呈现“+++”。

8. 标记SpA染色试剂与不染色的标记SpA试剂做平行协同凝集试验结果：在强阳性反应时，两者无明显差异，但在较弱的阳性反应时，染色SpA试剂就显得比不染色的SpA试剂特别清晰和易辨别，因此提高了判定结果的效能。

讨 论

伤寒沙门氏菌是细胞内寄生菌，虽然能刺激机体产生体液和细胞免疫，但由于肥达氏反应是检测有抗原刺激机体后产生的抗体，而且方法又欠敏感，故多数病人需15天左右，抗体才可能达到阳性界线。

由于免疫作用而使侵入人体内的伤寒沙门氏菌裂解，即源源不断释放出可溶性抗原游离在血液中，并通过肾小球过滤到尿液中，如遇有标记在载体上的特异性抗体时，即迅速发生结合。SpA协同凝集反应是直接由尿液中检测可溶性抗原，又加方法特敏感，即使含量较少，亦能呈现可见的协同凝集反应阳性结果。

在实验过程中发现有部分正常人和相当数量的非伤寒病人的尿液与SpA菌发生不同程度的非特异性协同凝集反应，经试用SpA菌膏吸收除去这种物质后，即可消除干扰。

在192例试验组中，有7例SpA协同凝集反应阴性者，其中1例是在粪便中检出伤寒沙门氏菌，确诊为伤寒病人（此例肥达氏反应也不出现凝集），其它6例都是根据肥达氏反应达到阳性界限确诊的伤寒病人。

（陈玉堂 温芳莲 执笔）

摘要

本文报告1981~1982年,对经血液、粪便细菌培养和肥达氏反应阳性诊断的192例伤寒病人,采用SpA菌膏吸收代替离心沉淀除去尿液中非特异性凝集物质法,与诊断血清标记SpA加美蓝染料的试剂做玻片法协同凝集反应,从中获得阳性185例,符合率为96.35%和清晰易辨的满意结果。并做了154例对照试验,建立了一个取材方便、操作简易、结果快速、敏感特异、适合流行病学调查和临床诊断伤寒病的新方法,并具有明显的经济效益。

ABSTRACT

Urine samples were taken from 192 patients with

typhoid fever diagnosed by blood and faeces cultures and Widal reaction. Urine from which non-specific agglutinin had been absorbed by SpA pellet was mixed on a slide with diagnostic antiserum labelled with SpA and dyed with methylene blue. Coagglutination was observed.

Positive reaction was found in 185 samples with a coincidence rate of 96.35%. Thus a simple and sensitive procedure for epidemiological survey and clinical diagnosis was established.

参考文献

- 温芳莲等: 快速诊断伤寒病的染色SpA新方法, 内部资料, 1982
- 周惠民: SpA试剂与脑脊液协同凝集反应的方法, 内部资料, 1980

乙型肝炎表面抗原胎内传播的调查

山东省章丘县卫生防疫站 章丘县医院

为了探讨乙肝抗原携带者的母婴传播, 我们对引产妇及其引产儿做了乙肝表面抗原检测。

材料与方法: 冻干HBsAg诊断血球及血清; 引产妇静脉血(母血); 引产儿心血(胎血); 引产妇子女末梢血。用反向间接血凝法(RPHA)检测HBsAg。部分母血及胎血用固相放射免疫法(SPRTA)复检。

结果: 检测母血472例, HBsAg阳性24例, 阳性率5.1%。24例母血HBsAg阳性的胎儿中, 检测胎血12例, 全部阴性。检测胎血的12位母亲中有子女共

11人, 其中3例HBsAg阳性, 阳性率27.3%。对24份HBsAg阳性母血, 12份HBsAg阴性胎血用SPRTA复检, 结果24例母血HBsAg全部阳性, 12例胎血HBsAg全部阴性。

本文作者对怀孕4~6个月HBsAg阳性孕妇的引产儿作了HBsAg检测, 结果12例胎血全部阴性。同时以上母亲的11个子女HBsAg阳性率(27.3%)远高于当地一般儿童的检出率(3.12%), 说明母亲HBsAg阳性对其子女的传播意义重大, 但HBsAg胎内传播的可能性不大, 可能是产后传播的。

流行性腹泻流行病学及临床特征的调查

山东潍坊市卫生防疫站 陈效贤

山东潍坊市(原为地区)近年来先后发生过多起“流行性腹泻”的爆发流行。本病常呈现爆发, 发病率可高达54%, 其续发率27.5%。城镇、农村、平原、山区均有流行。传播方式似以日常生活接触, 粪-口传播为主, 每年以6~8月为发病季节高峰。多侵犯较大儿童及成人。青壮年的发病率为18~20%。临床表现以低热或不发热、厌食、疲乏无力、腹胀和腹泻为主, 80%

为黄水样便, 病程短, 有自限性。6种肠道菌细菌培养均为阴性。流行病学、临床特征提示本病可能由诺瓦克病毒所引起。试用香薷合剂(香薷、藿香、苡米、滑石)治疗, 有明显疗效, 三日内治愈率为98.9% (对照46.8%, $\chi^2=180$, $P<0.001$), 平均治愈日数1.6天(对照3.6天)。能迅速改善症状, 缩短病程。