

早期快速诊断流脑方法的探讨

刘功云¹ 张雪萍¹ 王思一¹ 范子文¹ 史俊华¹ 曹赛珍²
王冠湘² 肖转模³ 乔付本⁴ 高彩娥⁴ 朱芳衡⁵

我们最近用葡萄球菌A蛋白(SpA)协同凝集试验(简称协凝CoA),检测流脑患者微量末梢血作早期诊断流脑的探讨,以期用几滴血即能达到早期快速诊断的目的,从而建立一种特异性和敏感性强、采血方便、易于推广的流脑诊断方法,现将工作报告如下:

标本处理:分别采取临床确诊为流脑患者(72例)、非流脑患者(37例)及正常人(20例)的耳垂或手指血4滴,加至1毫升牛肝汤内;静脉抗凝血1毫升加到4毫升牛肝汤内;置37°C、10%CO₂条件下培养5小时。取上层液0.2毫升,加10%SpA菌稳定液进行吸收,取吸收过的上层液作CoA试验。脑脊液不需肝汤培养,经吸收后即可作试验。

SPA菌稳定液制备:将金黄色葡萄球菌No1800株接种于克氏瓶琼脂培养基,于37°C培养18~24小时,用生理盐水洗下菌苔,再用生理盐水洗2次,然后以含0.5%甲醛的0.01M pH7.4的PBS制成10%SpA菌悬液,在室温下作用3小时或过夜。置80°C水浴中,加热30分钟,随时摇动,迅速冷却,再用PBS洗三次,最后制成10%SpA菌悬液,即为SPA菌稳定液。

流脑抗血清致敏SPA菌试剂的制备:取脑膜炎球菌A群和B群高效价抗血清(事先经56°C水浴箱中30分钟灭能)0.1毫升,分别加10%SpA菌稳定液1毫升,充分混匀,置37°C作用30分钟,不时摇动(置冰箱过夜亦可),然后以4000转/分离心20分钟,弃上清,沉淀物用PBS洗二次,制成1%SpA菌悬液,即为A群和B群抗血清致敏SpA菌试剂(简称A-SpA菌或B-SpA菌试剂)。

玻片CoA试验:取A-SpA菌或B-SpA菌试剂各一滴,分别滴于玻片上,再分别滴加处理过的流脑和非流脑患者及正常人的标本一滴,迅速混匀,观察结果。并用已知抗原作阳性对照;另外分别用未致敏的SPA菌悬液、正常兔血清致敏的SpA菌及盐水、肝汤作阴性对照,2分钟内观察结果,如菌体凝集成较大

颗粒或小颗粒,液体透明者为阳性结果,并与反向间接血凝试验(RPHA)对比以观察其敏感性。

CoA检测流脑患者微量血72例,66例为阳性,阳性率达91.7%,其他细菌性脑膜炎,结核性脑膜炎、腮腺炎病毒脑膜炎及正常人共57例,仅2例葡萄球菌脑膜炎呈弱阳性,其余均为阴性。说明CoA法检测流脑患者微量血的特异性是良好的。

为了观察CoA检测微量血的敏感性,我们又做了CoA及RPHA二种方法的实验对比。经配对卡方检验结果为 $\chi^2=6.23$ $P<0.05$,说明CoA检测流脑微量血的敏感性显著高于RPHA。亦用二法检测了流脑患者静脉血,结果二法具有高度显著性差异($\chi^2=7.0$ $P<0.01$)。CoA法的敏感性亦显著高于RPHA法。对脑脊液的检测,二法无差异($\chi^2=0.667$ $P>0.05$)。检测流脑微量血GMT(几何平均滴度)的结果,CoA为5.92, RPHA为1.434,经配对t检验, $t=8.66$ $P<0.01$ 。进一步表明前法检测微量血的敏感性优于后者。

在实验中,我们发现CoA检测微量血的检出率与采血时间有一定关系,一般在发病1~2天内采血阳性检出率最高,而且凝集颗粒出现快而清晰,数日后阳性逐渐减弱。这一现象还有待今后继续观察,进一步总结经验。这对正确指导采样、提高检出率,以达早期诊断极为重要。

通过本文显示了用CoA法检测微量血以诊断流脑,具有特异性和敏感性高的优点,与检测脑脊液的结果相近。而且采血方便、用量少、出现结果较传统方法快、实验操作简便、不需特殊仪器。故易于推广,可作为早期快速诊断流脑的一种值得研究的方法。

1 南京铁道医学院微生物学教研室

2 南京市传染病院

3 镇江市第一人民医院

4 泗洪县防疫站

5 南京市第一人民医院