

对炭疽阿斯可利试验效果的检验

第四军医大学 过祥豹 李良寿 汪美先

阿斯可利氏试验(Ascoli test)(以下简称阿氏试验)是一种检出炭疽杆菌耐热性菌体多糖抗原成分的传统血清学环状沉淀反应,数十年来,用于腐败组织的炭疽追索诊断和皮毛制品的检验。许多国家和单位把该试验定为皮张检疫的重要依据,许多教科书也推荐该法作为炭疽检验较理想的血清学试验。但近年来在我们的实验研究中发现,阿氏试验的特异性和敏感性均存在问题,需要重新加以评价。

一、阿氏试验的特异性不强,敏感性不高: 经过329份皮毛和组织标本的检验,可见皮毛标本阿氏试验阳性率远较培养法为低,相差非常显著。正常组织标本阿氏试验就有28.4%的假阳性。病理组织阿氏试验和培养的阳性率表面上无大差别,但经统计学处理两试验关系不密切。阿氏试验和培养两法在皮毛和炭疽组织标本中的总符合率均较低,仅52.8和57.9%(表1、表2)。

表1 各种标本阿氏试验和培养法的阳性率

	皮毛标本	炭疽组织	正常组织
阿氏试验 ^① (%)	24.1 ^②	66.4	28.4 ^④
培养试验 (%)	62.0	61.4	0.0
总符合率 (%)	52.8	57.9 ^③	71.6

①炭疽沉淀素血清用苏联和我国哈尔滨兽医生物制品所出品,效价1:2万~5万。②与培养试验阳性率对比 T=6.159,相差非常显著。③阿氏试验和培养试验关系不密切 $\chi^2/P=1.115/0.25 < P < 0.3$ 。④假阳性。

二、特异性不强主要原因是类属抗体: 我们曾试图以吸收试验去除炭疽沉淀素血清对蜡样杆菌的交叉成分,但结果不论用菌液、菌粉或可溶性抗原,都没有成功。当抗原用量大时,交叉和特异抗体均被去除;用量小时,交叉抗体未被去除,和特异性抗体效价没有差别。

将作阿氏试验用的炭疽沉淀素血清结合荧

表2 阿氏试验和培养法结果对比

阿氏试验	皮毛标本			炭疽组织			正常组织		
	+	-	和	+	-	和	+	-	和
细菌 +	21	46	67	60	26	86	0	0	0
培养 -	5*	36	41	33	21	54	23	58	81
和	26	82	108	93	47	140	23	58	81

*其中三份内蒙皮毛,阿氏试验阳性,反复分离和动物接种,仅分离出蜡样杆菌,作炭疽沉淀素荧光染色,交叉严重,制成菌体抗原,再作阿氏试验,均呈阳性。

光素FITC,对炭疽杆菌菌种和自然界分离的其它需氧芽胞杆菌作免疫荧光染色检查。309株其他需氧芽胞杆菌中,呈“++”以上交叉染色者有83株(占26.8%),其中主要是蜡样杆菌(表3)。

表3 炭疽沉淀素荧光抗体染色结果

检查	株数	荧光强度			
		≥++	++	+	-
炭疽杆菌	257	257	0	0	0
%		100	0	0	0
其他需氧	309	27	56	108	118
芽胞杆菌	%	8.7	18.1	35.0	38.2

将炭疽沉淀素荧光抗体用蜡样杆菌菌液或它的可溶性抗原吸收后,再染色检查,吸收效果不明显。又将前述经吸收后的炭疽沉淀素血清再和荧光素结合,进行染色检查,差别仍不显著。由于炭疽杆菌与其他需氧芽胞杆菌(尤其是蜡样杆菌)存在类属的菌体抗原成分,这是阿氏试验特异性不强的主要原因。

有关阿氏试验特异性不强的问题,一些学者[1~4]曾有过报道。Michel等[5]和高木静雄等[1]分别用琼脂扩散试验证实,炭疽杆菌和蜡样杆菌、葡萄球菌存在共同抗原成分。Osterhout等[6]和Davis[7]指出:炭疽杆菌的菌体多

糖抗原是非特异性的,它和14型肺炎球菌多糖和人类血型A物质有交叉反应。后者可能说明炭疽沉淀素血清和一些正常动物组织有反应的原因(表2)。我们用免疫荧光法证明了炭疽沉淀素血清的非特异性,Dowdle等^[8]和呼市商检局^[9]也有类似报道。

三、敏感性不高是由环状沉淀试验方法所决定:我们检查67份培养阳性的皮毛标本,有46份阿氏试验呈阴性(表2),阴性原因是标本中炭疽杆菌数目较少,提取的抗原成分,不足以被沉淀素血清所检出。Hailer等^[10]和Hausam^[4]也有相似报道。环状沉淀试验能测定最低抗原或抗体含氮量需 $3\mu\text{g}$ (间接血凝试验为 $0.001\mu\text{g}$),是目前血清学试验中敏感性最低的一种方法^[11]。

四、阿氏试验的结果判断应该慎重:如上所述,阿氏试验阳性的不一定是炭疽标本;而阴性的也不一定都不是炭疽标本。前者因炭疽沉淀素血清特异性不强,能与其他细菌或物质发生交叉,后者因环状沉淀试验法敏感性不高,难以检出少量炭疽抗原。所以阿氏试验的检测意义是极其相对的,对其结果的判断应十分慎重。在教学工作中,不应过份强调阿氏试验的优越性。由炭疽沉淀素反应为基础而建立起来的如炭疽菌体荧光抗体^[8,9,12],炭粉凝集试验^[13]等,似也应考虑到炭疽沉淀素血清的问题同样给予正确对待。皮毛等标本检验的准确判定应以细菌培养法代替阿氏试验。国家和有关单位应修订法规,不宜以阿氏试验阳性作为判断病皮的唯一依据。较理想的方法是将皮毛一律经过环氧乙烷消毒,再以培养法检查消毒效果。

摘 要

检查炭疽皮毛108份,培养阳性率为62%,阿斯科利试验阳性率仅24.1%;正常组织81份,阿氏试验有28.4%的假阳性;炭疽组织标本140份,阿氏试验和培养结果总符合率仅57.9%,两者关系不密切。说明阿氏试验的敏感性不高,特异性不强。特异性不强因炭疽沉淀素血清中含有类属抗体,与蜡样杆菌等发生

交叉反应,并经免疫荧光法证明且吸收试验难以去除。敏感性不高因环状沉淀法是血清学中敏感性最低者,难以检出微量抗原。故判断阿氏试验结果应十分慎重,在教学、科研和检验工作中如何正确对待阿氏试验,本文提出了一些看法。

ABSTRACT

108 samples of diseased animal skin & fur were tested, it was found that 62% were positive for *Bacillus anthracis* by cultivation, but only 24.1% positive by Ascoli test. There were 28.4% false positive results with normal animal tissues by Ascoli test. In 140 samples of anthrax animal tissues, it was found that 57.98% correlation was found between Ascoli test and bacterial cultivation and such relationship was not close. These results revealed that Ascoli test possessed low sensitivity and specificity. The cause of low specificity of Ascoli test was that there were common antibodies in the diagnostic precipitin serum, they might react with antigens of *Bacillus cereus* thus eliciting cross reactions. This was also proven by fluorescent antibody technic and the cross reacting antibodies could not be removed by absorption test. The background of low sensitivity by ring precipitation method seems to be that the sensitivity of precipitin test in serology being the lowest of all, it could not detect out minute amount of antigen. So interpretation of the results of Ascoli test should be very careful. Our view point about the value of Ascoli test used in research, diagnosis, and instruction in Microbiology is pointed out.

参 考 文 献

1. 高木静雄等:日本细菌学杂志,9:885,1954; 10:13, 1955; 11:229,1956; 17:330,1962
2. Seidel G: *Lebensmitteltierarzt*, 7:21, 1956, from Brown ER: *J Bact*, 75:499, 1958
3. Jensen J et al: *Zbl Bakt I Orig*, 159:494, 1953
4. Hausam w: *Zentralbl Bakt*, 155:352, 1950, abstracted from *Bull Hyg*, 26:917, 1951
5. Michel C et al: *Bull Acad Vet Fr*, 45:391, 1972
6. Osterhout S: *Zinsser Microbiology*, 17th ed, p807, 1980
7. Davis et al: *Microbiology*, 2nd ed, p821, 1973
8. Dowdle WR et al: *J Inf Dis*, 108:125, 1961
9. 中华人民共和国呼和浩特商品检验局: *卫生研究*, (3): 244, 1975
10. Hailer E et al: *Ztschr Hyg*, 131:443, 1950, abstracted from *Bull Hyg*, 26:772, 1951
11. 中国医学科学院首都医院基础医学组: *免疫学讲义*, 143页, 1974
12. 过祥豹等: *解放军医学杂志*, 5:347, 1980
13. 王世若等: *微生物学报*, 19:109, 1979

(1982年12月9日收稿 1983年3月17日修回)