

协同凝集试验对细菌性痢疾病原快速检验的研究

孔昭敏 张志英 杨永红

(乌鲁木齐军区军事医学研究所,微生物科)

目前对细菌性痢疾病原的快速检验国内已有报道,但适合于基层应用而快速准确的方法并不多见。为此,我们探讨了葡萄球菌蛋白A包被抗体的协同凝集玻片法(简称SPA法),对细菌性痢疾病原进行快速检验,实验证明该方法具有快速、敏感、特异以及不需特殊器材等特点,为基层医疗卫生单位进行“菌痢”快速诊断

提供了方便。

材 料 和 方 法

(一) 材料

参加本工作的还有刘栓奎同志,军区总医院郭静同志,空军医院佟林峰同志及乌鲁木齐铁路局中心医院、军区总医院、乌鲁木齐县人民医院提供标本,一并致谢。

1. 痢疾抗血清系武汉生物制品研究所供给。

2. 金黄色葡萄球菌 Cowan 1 株系第三军医大学赠。

(二) 方法

1. 取菌苔置三角瓶中称重(湿重),按其量加入 10 倍量生理盐水制成混悬液,加入 1.5% 福尔马林洗两次,4000 rpm 离心 30 分钟,收集菌体称重。然后,将菌体悬浮于 10 倍量的 0.02 M pH 5.9 PBS 中,置沸水浴 60 分钟,迅速冰冻,如此反复 2—3 次,用 1N HCl 调 pH 3.0,离心取上清,将沉淀溶于上述缓冲液中,再离心取上清。将两次上清合并加入 95% 乙醇,最终浓度为 70%,作用 30 分钟后 12000 rpm 离心取沉淀。将沉淀称重后用 0.01 M pH 5.9 PBS 制成 10% 菌悬液,置 4℃ 保存备用。

2. 致敏:取 SPA 与 1:1280 (为 1 单位)抗血清按 1:1 (V/V) 混合,置 37℃ 水浴结合 30 分钟后,4℃ 保存备用。

3. 标本检查:取 SPA 包被抗体悬液一滴于载玻片上,再取患者粪便与之混合,半分钟内出现明显凝集者为“卅”或“卅卅”(凝集粗大、液

体变清),一分钟左右出现凝集呈均匀颗粒状液体变清为“++”,以上均为阳性。否则为阴性。

试验结果

152 例急性痢疾患者粪便检查用 SPA 法与吡啶橙简易荧光法、艳蓝法、“SS”和“XLD”培养法进行比较,结果 SPA 法阳性明显高于培养法, $X^2 = 8.6$, $P < 0.01$; 与简易荧光法结果相似, $X^2 = 2.25$, $P > 0.05$; 而低于艳蓝法, $X^2 = 7.55$, $P < 0.01$ (见表 1)。

表 1 四种方法检出阳性结果

例数	SPA 法	荧光法	艳蓝法	SS	XLD
	+ (%)	+ (%)	+ (%)	+ (%)	+ (%)
152	108 71.1	96 63.1	132 86.8	44 28.9	84 55.2

我们认为 SPA 法简单省时,凝集块直观易于判断,简易荧光法、艳蓝法非特异染色现象的判别需一定的经验,SPA 吸附抗体后提高了反应的敏感性,当遇到相应抗原后即出现特异凝集结果直观易辨。因此,SPA 协同凝集作为“菌痢”的快速诊断是较好的方法之一。