

# 广州地区 207 株乙型溶血性链球菌血清学分群 及对药物敏感性试验

刘守芝 杨芳娣 郭荣同

(广州市卫生防疫站)

乙型溶血性链球菌能引起急性咽炎、扁桃腺炎、猩红热和化脓性疾病等。也是继发风湿热和肾炎的主要病因。为了给链球菌所致疾病的防治工作提供科学依据,我们对广州地区 207 株乙型溶血性链球菌进行了血清学分群和药物敏感试验,现将试验结果报道如下:

## 材 料 和 方 法

### 一、菌株

1. 分群鉴定菌株共 207 株,自咽喉部分离所得。其中健康儿童带菌者 114 株,猩红热患者 54 株,猩红热接触者 28 株,非猩红热流行地区健康带菌者 11 株,菌株在血清分群鉴定前用 5% 绵羊血液肉汤保存。

2. 标准菌株: 冷冻干燥菌种有 A、B、C、D、E、F、G、M 8 个菌群。由四川成都生物制品研究所供给。

### 二、免疫原的制备

将标准菌株分别接种于 0.2% 葡萄糖肉汤 10 毫升,37℃ 培养 18 小时左右,吸取培养物 2 毫升,转种于 200 毫升含 0.2% 葡萄糖和 5% 牛血清的肉汤内,37℃ 培养 24 小时,离心沉淀,

弃去上清液,用生理盐水洗沉淀物两次,沉淀物用 pH7.2 磷酸盐缓冲生理盐水稀释成 20 亿/毫升菌悬液,于 56℃ 水浴中加温 1 小时半,并按 0.25% 加入石炭酸防腐。

### 三、链球菌免疫血清的制备

将制成的免疫原,分别注射于体重 2 公斤无自然抗体的家兔,每周连续注射 4 天,每天静脉注射一次,然后休息 3 天,共四周。第一周每次注射 0.5 毫升,第二周每次 1 毫升,第三周每次 2 毫升,第四周每次 3 毫升。在最后一次注射经一周后取耳血测试。如血清效价已达到 1:100 以上,于次日由兔股动脉放血,分出血清,56℃ 加温 30 分钟,用 1:10000 硫柳汞防腐。如血清效价不高,则须补加免疫(可从 1 毫升开始)。

### 四、血清学分群鉴定(用沉淀反应)

1. 沉淀原的制备: 将菌株接种于绵羊血小板,35℃ 培养 18—24 小时,选择典型菌落,转种于 5% 牛血清肉汤,37℃ 培养 18—24 小时,吸取培养液 0.2 毫升于 30 毫升马丁氏肉汤,37℃ 培养 24 小时。离心沉淀,弃去上清液,用生理盐水洗沉淀一次。沉淀加 1 毫升 1/20N 盐

酸制成悬液,在100℃水浴中加温15分钟,离心沉淀,弃去沉渣,在上清液内加入溴麝香草酚蓝(B.T.B)指示剂一滴,随即用1/5N NaOH中和由黄色变为浅蓝绿色,此液即为沉淀原。

2. 沉淀试验: 将分群诊断血清,加入直径2—3毫米沉淀管内,沿管壁徐徐加入用生理盐水稀释为1:10的沉淀原,30分钟内,于血清和沉淀液面交界处出现白色环,示为阳性。

五、乙型溶血性链球菌药物敏感性试验

选自猩红热患者和接触者、健康儿童带菌者分离得到的菌株各10株(30株菌均属A群乙型溶血性链球菌)与13种抗菌药物(青霉素、氯霉素、新霉素、四环素、金霉素、链霉素、土霉素、卡那霉素、合霉素、呋喃妥因、痢特灵、磺胺嘧啶、红霉素)做药物敏感性试验。用纸片法测定,敏感度判定标准按实用临床检验介绍的方法<sup>[4]</sup>。

另外,健康儿童带菌者的菌株与中药(白花蛇舌草、板蓝根、上清喉片、杜灭芬喉片)做药物敏感性试验。用试管稀释法测定,敏感度判定标准:不敏感<1:1;低度敏感1:1—1:4;中度敏感1:8—1:32;高度敏感>1:64。

结果与讨论

一、207株乙型溶血性链球菌的血清分群结果(见表1)

由表1看出,健康儿童带菌者中分离的114株乙型溶血性链球菌,经血清分群,属A群者有59株占51.76%,说明少年儿童所带致病性链球菌较高。对儿童预防链球菌感染及继发风湿热和肾炎是非常重要的工作。

从猩红热病人中分离的54株菌,经血清分群,属A群者有53株,占98.1%。从猩红热接触者分离的28株菌中,属A群者占85.7%。说

表1 207株乙型溶血性链球菌的血清分群

菌株来源	菌株数	A		D		G		未定群	
		株数	%	株数	%	株数	%	株数	%
猩红热患者	54	53	98.1	1	1.8				
接触者	28	24	85.7	1	3.5	2	7	1	3.5
非流行地区健康带菌者	11	3	27.3			8	72.7		
健康儿童带菌者	114	59	51.76	14	12.28	41	35.96		

表2 分离自猩红热患者和接触者的20株菌对抗菌药物的敏感性测定

药名	高度敏感				中度敏感				耐药			
	患者		接触者		患者		接触者		患者		接触者	
	株数	%	株数	%	株数	%	株数	%	株数	%	株数	%
青霉素	9	90	9	90	1	10	1	10	0	0	0	0
氯霉素	7	70	8	80	1	10	2	20	2	20	0	0
新霉素	0	0	0	0	0	0	0	0	10	100	10	100
四环素	0	0	0	0	3	30	3	30	7	70	7	70
金霉素	0	0	0	0	1	10	0	0	9	90	10	100
链霉素	0	0	0	0	2	20	0	0	8	80	10	100
土霉素	0	0	0	0	7	70	1	10	3	30	9	90
卡那霉素	0	0	0	0	1	10	0	0	9	90	10	100
合霉素	2	20	2	20	7	70	8	80	1	10	0	0
呋喃妥因	4	40	1	10	6	60	7	70	0	0	2	20
痢特灵	0	0	0	0	0	0	0	0	10	100	10	100
磺胺嘧啶	0	0	0	0	0	0	0	0	10	100	10	100
红霉素	10	100	7	70	0	0	1	10	0	0	2	20

表 3 分离自健康儿童带菌者的 10 株菌对药物敏感性的测定

药 名	高度敏感		中度敏感		低度敏感		耐 药	
	株数	%	株数	%	株数	%	株数	%
青霉素 G 钾	8	80	2	20			0	0
红霉素	10	100	0	0			0	0
呋喃妥因	10	100	0	0			0	0
周效磺胺	1	10	0	0			9	90
长效磺胺	1	10	0	0			9	90
上清喉片	3	30	7	70	0	0	0	0
白花蛇舌草	0	0	1	10	9	90	0	0
板蓝根	0	0	3	30	7	70	0	0

明猩红热患者和接触者在流行地区是重要的传染源。采取有效的防治措施是控制本病流行的重要环节。

## 二、30 株乙型溶血性链球菌的药物敏感性试验结果(见表 2、3)

从表 2、3 说明, 30 株乙型溶血性链球菌对青霉素、红霉素最敏感, 对呋喃妥因、氯霉素、合霉素次之, 绝大多数菌株对磺胺类药物耐药, 这一结果与国内外文献报道一致<sup>[2]</sup>。目前对乙型链球菌所致疾病的治疗, 仍以青霉素为主。健康儿童带菌者的 10 株菌, 对中药上清喉片最敏感, 对板蓝根和白花蛇舌草次之, 该试验初步证明了中药对乙型溶血性链球菌有一定的抑菌作用。根据中药药源广、价廉、副作用小等特点, 在疾病防治工作中很有推广价值。

## 几 点 体 会

1. 用磷酸盐缓冲液稀释免疫原, 可减少自

凝现象。

2. 免疫前, 应测定兔血清中是否有自然抗体, 免疫期间应注意观察兔健康情况(饮食、体温、体重)。

3. 免疫时, 因注射次数较多, 注射一定要从耳静脉远端开始, 以后接前次部位依次注射。注意保护耳静脉近端的流通性。

4. 在血清效价达到要求后, 应在次日给兔放血, 放血前数小时停止喂食, 以免血清混浊, 影响沉淀反应结果。

5. 沉淀反应时, 应用毛细吸管将沉淀原缓慢加入沉淀管内, 使沉淀原重叠于分群诊断血清上, 两液交界面清晰。

## 参 考 文 献

- [1] 上海市立医学化验所: 实用临床检验, 上海科学技术出版社, 697—710, 1965。
- [2] 刘玘昌等: 中华医学杂志, 49:153, 1963。