

斑疹伤寒血清流行病学的某些技术问题

陈 渊 明

(云南省流行病学研究所)

廖 子 书

(贵州省卫生防疫站)

林 德 刚

(四川省卫生防疫站)

罗 信 义

(四川省古蔺县卫生防疫站)

安 清 武

(四川省泸州医学院)

斑疹伤寒血清流行病学的调查一般采用补体结合试验方法,但由于此法与判定阳性标准有差异,调查结果难以比较。为了统一其标准,并结合间接血凝试验用于血清流行病学调查及斑疹伤寒接种后效果的考核等问题,作了如下研究。

材 料 与 方 法

一、补体结合试验

1. 抗原: 普氏立克次体全抗原, 实用效价 1:8。由成都生物制品研究所供给。

2. 血清: 1980 年 1—3 月采自流行区, 56℃ 灭活后置冰箱保存至 4 月。

3. 溶血素和补体: 均用 2 个单位。

4. 稀释液: ① pH 7.2 巴比妥酸盐缓冲液, ② 钙镁生理盐水, ③ 中性生理盐水。均按常规法配制。

5. 试验方法: 试验时, 血清自 1:5 开始稀释。抗原、血清及补体各 0.2ml, 溶血素 0.4ml。抗原抗体复合物与补体结合的方式分别采用“冷结合”(4℃ 冰箱过夜)和“热结合”(37℃ 水浴 30 分钟)两种方法。

二、间接血凝试验

1. 血凝抗原制备: 斑疹伤寒疫苗(由成都生物制品研究所供给)按文献[1]的方法制备, 其中透析液改为 pH 6.0 磷酸缓冲盐水。抗原效价为 1:4。

2. 1% 致敏红血球制备: 取 2 个单位抗原

4ml 于刻度沉淀管中, 加 0.1ml 经 pH 7.2 缓冲盐水洗涤 3 次的压积(2000 转/30 分)绵羊红血球, 混匀后放 37℃ 水浴致敏 1 小时, 振摇数次。取出离心, 弃上清液, 再加入 pH 7.2 磷酸缓冲盐水 10ml。

3. 被检血清的处理: 血清来源同上。血清灭活后按 1:10 稀释, 加入原血清量二分之一的洗涤绵羊红血球, 放 37℃ 水浴中吸收 1 小时以除去非特异血凝素。然后离心或置 4℃ 冰箱过夜, 使其自行沉淀, 取上清用缓冲盐水倍比稀释(自 1:50 开始)。

4. 试验方法: 取不同稀释度血清各 0.4ml, 其中分别加入 1% 致敏红血球 0.1ml, 混匀后置 37℃ 水浴中静置 2 小时观察结果。同时以被检血清加 1% 正常红血球、稀释液加 1% 致敏红血球及阳性和阴性血清为对照。

试 验 结 果

一、不同结合法的补体结合试验的敏感性比较

取云南省镇雄县已知阳性和阴性血清 25 份, 分别作“冷结合”及“热结合”的补体结合试验, 结果 25 份血清中“冷结合”阳性者 24 份, 阳性率为 96%; “热结合”阳性者 21 份, 阳性率为 84%。其中“冷结合”较“热结合”滴度增高 2 倍者有 4 份, 增高 4 倍者 19 份, 增高 8 倍者 1 份。二者均为阴性者 1 份。另有 3 份血清在“冷结合”时出现轻度抗补体; 而“热结合”则否。表明“冷结合”较“热结合”为敏感。但少数血清容易出现抗补体现象。

表1 不同稀释液对补体结合试验结果的比较

稀释液	阳性数	阳性率 (%)	滴 度 分 布								阳性
			—	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	
生理盐水	56	69.1	25	16	9	12	10	5	3	1	1:18.11
钙镁盐水	58	71.6	23	18	11	13	8	6	2		1:15.56
巴比妥缓冲液	55	67.9	26	20	12	12	8	2	1		1:12.54

注: 三种不同稀释液阳性率显著性测定 $\chi^2 = 0.27$, $p > 0.05$

二、不同稀释液对补体结合试验结果的影响

选用贵州省纳雍县流行区人群血清 81 份, 每份血清分别用不同稀释液作倍比稀释, 并以“热结合”法进行试验。结果见表 1。

由表 1 看出, 上述三种稀释液无论在阳性率或几何平均滴度方面均无显著差异。但从阳性率来看, 以钙镁盐水最高, 生理盐水质次之。从几何平均滴度看, 以生理盐水最高, 钙镁盐水质次之。两者兼顾仍以生理盐水为宜。

三、既往患者血清补体结合抗体水平测定

采自贵州省纳雍县流行区既往患者血清

94 份(包括 1978 年 28 份, 1979 年 66 份)以“热结合”法作补体结合试验, 结果阳性 63 份, 阳性率 67%, 结果见表 2。

从表 2 结果看, 几何平均滴度显著性测定: $t = 0.419$, $p > 0.5$ 。从发病时间与抗体水平和分布以及阳性率的关系无明显差别。

四、流行区正常人群血清补体结合抗体水平测定

在流行区采集的未经斑疹伤寒疫苗预防注射的正常人血清 405 份, 以“热结合”法作补体结合试验。结果阳性率平均为 42.7%, 其中镇雄县阳性率最高, 昭通次之。结果见表 3。

表2 94 份既往患者血清补体结合抗体水平测定

发病时间	检验数 (份)	阳性数 (份)	阳性率 (%)	滴 度 分 布									阳 性 GMT
				—	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	
1978年3—12月	28	20	71.4	8	7	1	2	6	4				1:19.3
1979年1—12月	66	43	65.2	23	12	4	10	9	3	3	1	1	1:21.7
合 计	94	63	67.0	31	19	5	12	15	7	3	1	1	

表3 流行区正常人群血清补体结合抗体水平测定

流行地区 (县)	检查数 (分)	阳性数 (分)	阳性率 (%)	滴 度 分 布							
				<1:5	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320
毕节	105	35	33.3	69	15	6	9	5			
昭通	248	103	41.5	145	65	15	12	4	7		
镇雄	52	35	67.3	17	4	6	7	9	6	3	
合计	405	173	42.7	231	84	27	28	18	13	3	

表4 94份既往患者血清血凝抗体水平测定

发病时间	检查数 (份)	阳性数 (份)	阳性率 (%)	滴 度 分 布								阳性 GMT
				—	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	
1978年3—12月	28	18	64.3	10		7	5	4	2			1:207.8
1979年1—12月	66	40	60.6	26	4	9	6	9	7	3	2	1:298.9
合 计	94	58	61.7	36	4	16	11	13	9	3	2	

表5 流行区正常人群血清血凝抗体水平测定

地区 (县)	检查数	阳性数	阳性率 (%)	滴 度 分 布								
				—	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400
毕节	105	17	16.2	83	5	7	8	2				
昭通	276	105	38	153	18	41	23	20	8	6	7	
镇雄	52	25	48.1	27		2	4	8	4	4	1	1
叙永	110	12	10.9	88	10	7	3	2				
古蔺	107	6	5.6	97	4	3	1	2				
合计	650	165	25.4	448	37	60	39	34	12	10	8	1
百 分 构 成 比				68.9	5.7	9.2	6.0	5.2	1.8	1.5	1.2	0.15

注:以 $\geq 1:100$ 统计阳性率

五、既往患者血凝抗体水平测定

94份既往患者血清用“热结合”法作补体结合试验。结果1978年和1979年的阳性率分别为64.3%及60.6% ($\chi^2=0.11$, $p>0.05$),几何平均滴度为1:207.8及1:298.9 ($t=1.252$, $p>0.05$),二者无显著性差异。但一年以内发病者有少数血清血凝抗体滴度可达到1:1600以上。结果见表4。

94份既往患者自发病至采血时间,最短为3个月,最长为2年。其中有5份血清血凝滴定在1:1600—3200之间,这是近期感染的结果。

六、流行区正常人群血清血凝抗体水平测定

流行区未经斑疹伤寒疫苗预防注射的正常人血清650份,间接血凝试验阳性者165份,阳

性率25.4%。其中31份血凝滴度 $\geq 1:800$,占血清总数4.77%,属近期感染。在1:400以下者占95.23%。结果见表5。表5说明,血凝抗体滴度在1:800或1:1600以上才有诊断价值。

七、预防接种前后人群间接血凝抗体水平的变化

1979年于叙永、古蔺两县随意选217名中学生进行斑疹伤寒疫苗全程免疫(疫苗为成都生物制品研究所出品)。免疫前后分别抽取静脉血,分离血清存放于4℃冰箱备用。所有血清于末次注射后5—7天采集,并在15天内进行血凝试验。结果于免疫后血凝抗体阳性率或几何平均滴度均有明显增高。说明目前所使用的斑疹伤寒灭活疫苗可产生程度不同的血凝抗体。预防接种后约45%血凝抗体增长1倍以上,最高达16倍,见表6。

表6 人群免疫前后血凝抗体水平测定

	阳性数	阳性率 (%)	滴 度 分 布							阳性 GMT	人群 GMT
			—	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600		
免疫前	32	14.7	185	14	10	4	4			1:95.8	1:30.5
免疫后	109	50.2	108	40	37	16	9	5	2	1:111.4	1:53

表7 补体结合试验和血凝试验血清配对比较

采血时间	补体结合试验								间 接 血 凝 试 验										
	阳性数	阳性率 (%)	滴 度						人群 GMT	阳性数	阳性率 (%)	滴 度						人群 GMT	
			—	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80				—	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800		1:1600
免疫前	42	52.5	38	12	12	15	3		1:5.6	7	8.6	73	3	2		2			1:26.4
免疫后	76	95.0	4	2	16	11	30	17	1:26.3	39	48.8	41	12	15	7	2	1	2	1:61.93

为评价血凝试验作为疫苗效果考核方法的意义,我们随机抽样选取 80 名免疫前后血清作补体结合试验(“冷结合”法)及间接血凝试验。结果(见表 7)血凝试验阳性率明显低于补体结合试验,由此可见,血凝试验不宜作为疫苗效果的考核方法。

讨 论

1. 补体结合试验中的“冷结合”、“热结合”法各有利弊,“冷结合”法敏感性高,特异性差;而“热结合”法则相反。有文献^[2]报道,斑疹伤寒的补体结合试验以“冷结合”为宜,蜱媒斑热以“热结合”最好,Q 热则不分“冷结合”和“热结合”,其结果都一样。通过本试验证明补体结

合试验是斑疹伤寒血清流行病学调查的唯一有效方法。

2. 本试验所用的三种稀释液对补体结合试验无明显影响,但从阳性率及几何平均滴度看,仍以生理盐水为最好,钙镁盐次之。

3. 血凝试验虽属特异、快速和简便的血清学检验方法,但其敏感性及特异性均明显低于补体结合试验,因此不宜作为斑疹伤寒疫苗效果的考核方法。其阳性标准尚有分歧,待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 李在连等:微生物学报,9(1): 71,1963.
- [2] Леви, М. И. и др.: Вopr. Вирuсол. 4: 456, 1959.

书 刊 评 介

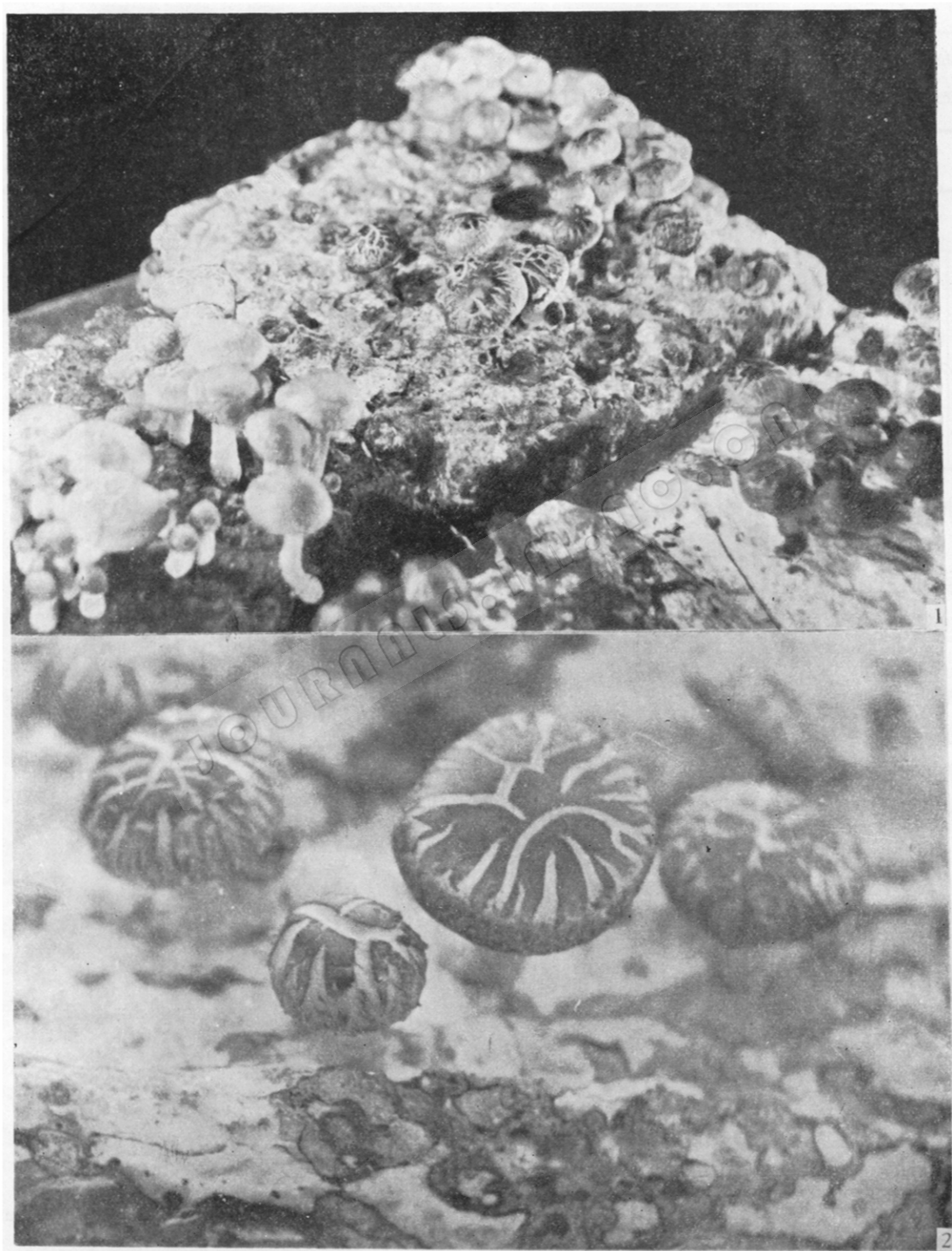
Wörterbücher der Biologie. Mikrobiologie <生物学辞典: 微生物学> G. Müller 著,第 1 版, Gustav Fischer 出版社,1980 年,德文。

本书收集并详细解释了在当代微生物学的重要著作中新形成的和经典的专有名词 2500 余条,涉及普通微生物学、工业微生物学、医学微生物学、粮食微生物学、植物病理微生物学和微生物分类学等学科。对于微生物学的各学科都是有用的工具书。插图 159 幅,25 个表,504 页。

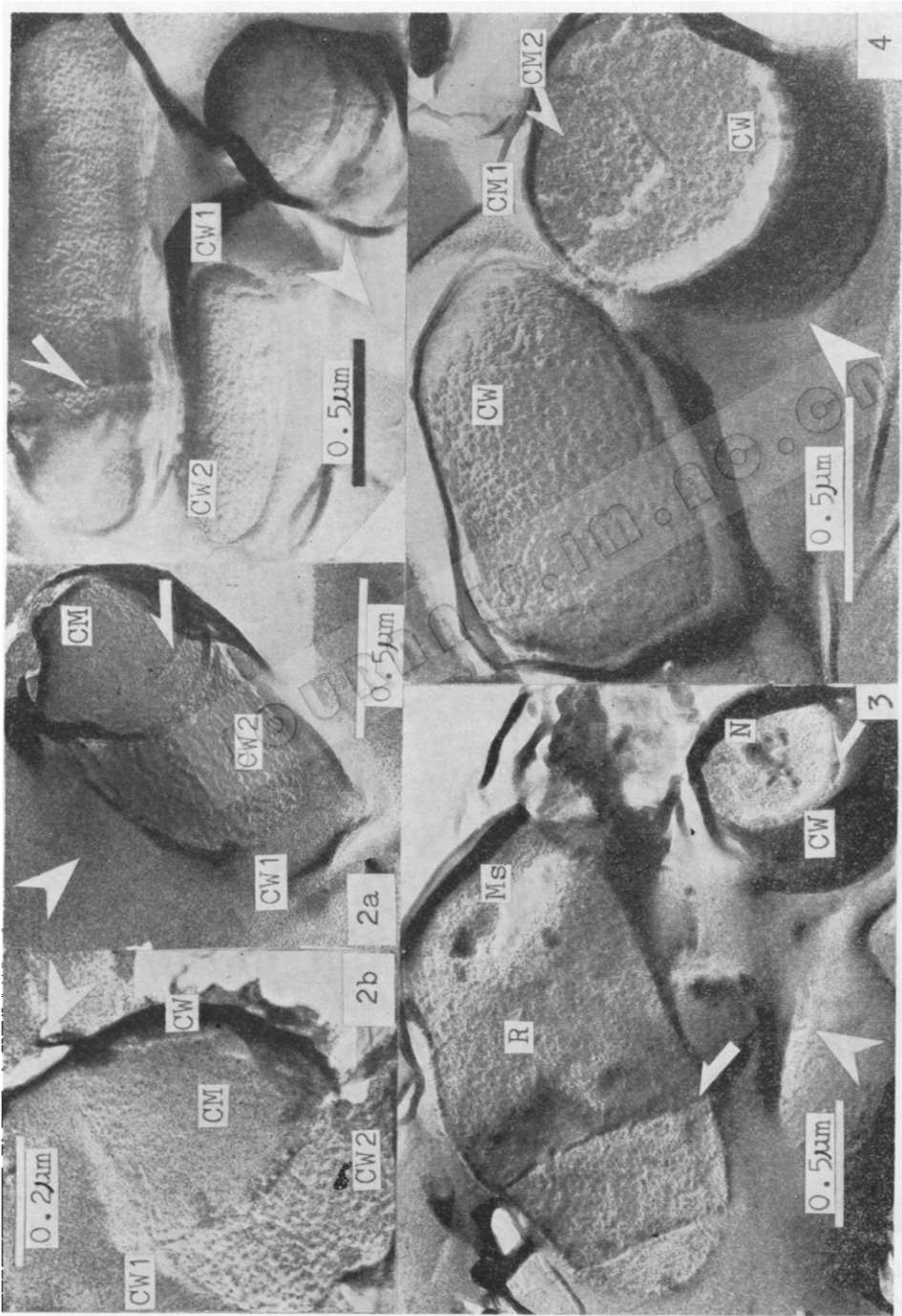
(王修垣供稿)



1. 感染颗粒体病毒发病的赤松毛虫, 以腹足倒挂于松叶上。左上角为死虫, 呈典型的倒V字型
2. 赤松毛虫颗粒体病毒包涵体, 15000×
3. 经碱处理后, 在包涵体内部显露出杆状病毒粒子。30000×



1.室内代料栽培时,杂树锯末培养基上的菌块及花菇生长情况 2.室内代料栽培的花菇



北京棒杆菌 (*Corynebacterium pekinensis*) AS 1.563 冰冻刻蚀电子显微照片(尖尾箭头示喷涂方向)

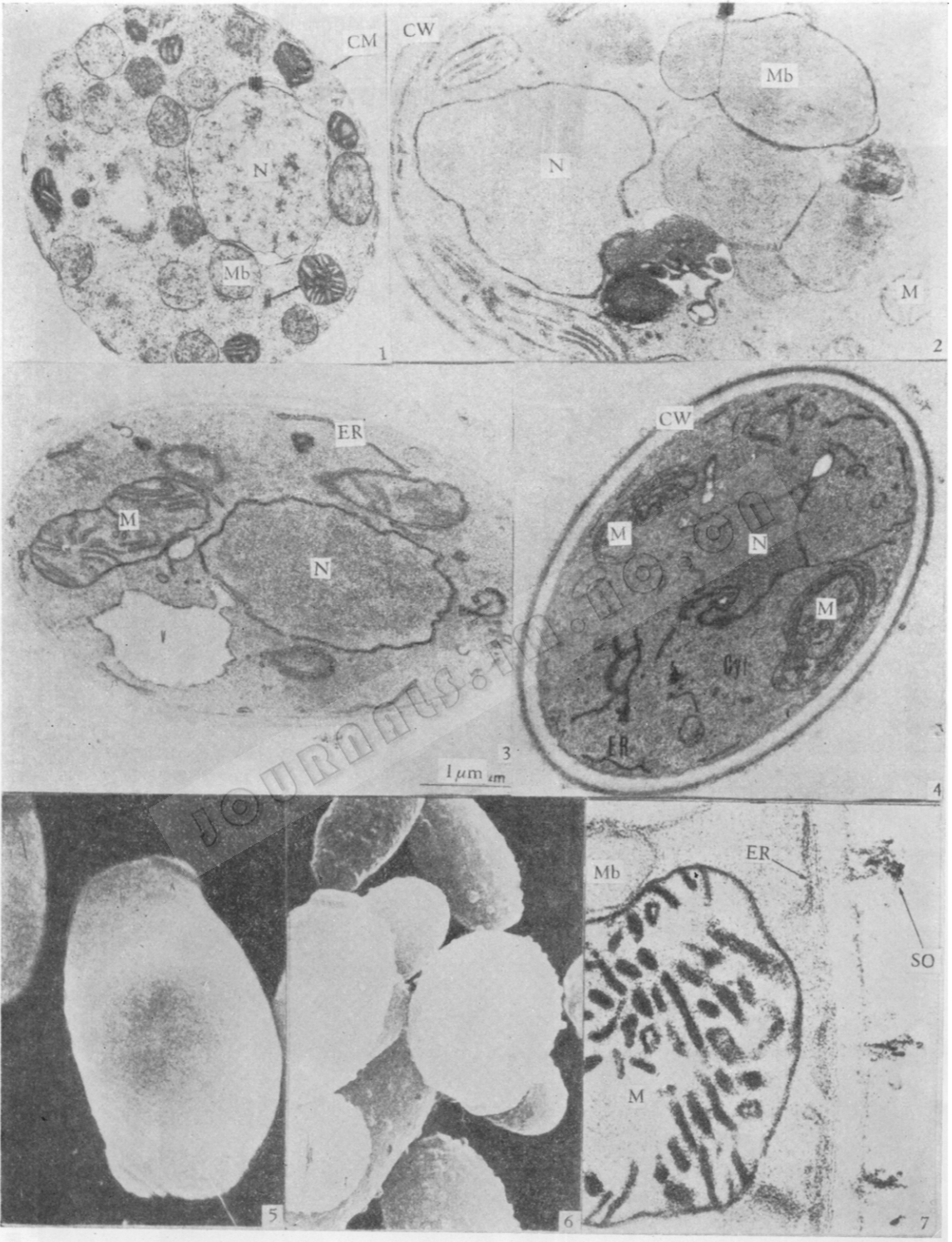
1. 菌体包被物外层 (CW1) 剥离后露出细胞粗糙表面 (CW2), 箭头指分裂初期细胞壁分隔痕迹, 右下方为细胞分裂断面, 可见新形成的细胞壁 (40000×);

2a. 菌体包被物不同层次的断面。细胞质外膜 (CM) 裸露, 可见细胞分裂后分隔痕迹(箭头所指), 并可见细胞壁断面(44000×);

2b. 高倍放大之 2a (90000×)

3. 菌体之纵模断面。左箭头指多细胞形态特征, 右箭头指细胞膜, 可见核膜体(R), 间体(Ms), 核区(N)(35000×);

4. 处于分裂部位的横断面, 可见多层次断面、新形成的细胞壁(CW'), 平滑的外膜外表面(CM1)和有突起的外膜内表面(CM2)(56000×)。



ER——内质网 Mb——微体，M——线粒体 So——疣状突起 N——细胞核，

- 1.以正烷烃为碳源培养 16 小时的热带假丝酵母细胞 (24000×); 2.以甲醇为碳源培养的克勒克氏酵母 No 2201 的细胞(28000×); 3.胶红酵母细胞 (30000×); 4.通气培养的啤酒酵母呼吸缺陷株细胞 (24000×); 5.表面光滑的热带假丝酵母细胞(14000×); 6.表面有疣状突起的热带假丝酵母 (10000×); 7.热带假丝酵母细胞的超薄切片(90000×)。