

斑疹伤寒血清学诊断的研究

I. 斑疹伤寒立克次氏体红血球致敏性物质 (ESS) 的血凝试验在临床诊断上的研究*

李在连 朱玉瓏 耿文瑾

(山东医学院微生物学教研组) (山东医学院附属医院化验室)

陈克忠 徐振泉 萧 珙 苏儒珍

(山东医学院附属医院内科)

Chang 氏^[1]及 Chang 氏与其同人^[2]首先从斑疹伤寒普氏立克次氏体卵黄囊培养物中提出一种称为“红血球致敏性物质 (Erythrocytes Sensitizing Substance, 简称 ESS)”, 此物质的理化性质属于耐热性耐碱性多醣质, 可以使羊血球及人类“O”型红血球致敏, 致敏的红血球与抗血清或患者血清可出现红血球凝集反应, 初步效果较为满意。以后又进行了对落磯山斑点热组疾病的研究^[3]。但此后文献中未见有更多的报告。我们在今年1—6月份, 参照 Chang 氏原则, 从普氏立克次氏体鼠肺疫苗中提取 ESS, 与 36 份临床确诊之斑疹伤寒患者血清及 233 份非斑疹伤寒患者及正常血清进行试验, 初步观察也得到相似的结果, 特将试验分析如下。

一、材料与方 法

1. 斑疹伤寒立克次氏体 ESS 提取法

取斑疹伤寒普氏立克次氏体鼠肺疫苗 (中央生物制品研究所出品) 9 份, 加 2 N 之 NaOH 1 份, 置 100°C 水浴中加热 30 分钟, 冷却后移置透析袋中, 以磷酸盐缓冲液 (Na_2HPO_4 0.81 克, KH_2PO_4 1.04 克, NaCl 6.8 克, H_2O 1000 毫升, pH 6.8) 在冰箱透析过夜, 收集 ESS 备用。

2. 红血球致敏法

取普氏立克次氏体 ESS 2 毫升, 加洗涤三次之“O”型红血球 0.1 毫升, 37°C 水浴 1 小时, 每 15 分钟摇匀一次, 离心, 弃去上清液, 再用磷酸盐缓冲液洗二遍, 留血球, 加 10 毫升盐水稀释, 使成 1% 之红血球悬液备用。

3. 操作方法

(1) 取试管 10 支, 将血清稀释于 0.2 毫升盐水中, 然后再加致敏红血球 0.05 毫升, 加抗原后各管血清含量应为 1:50—1:25,600。

(2) 放置 37°C 水浴箱 2 小时后取出, 移置冰箱 (4°C) 过夜, 观察结果, 血凝结果及观察法与一般常法相似。

本文 1962 年 7 月 26 日收到。

* 本文得到我院微生物学教研组荆永志主任的审阅与指正, 特此表示感谢。

表 1 临床确诊斑疹伤寒患者的血清学反应比较表

患者姓名	性别及年龄	发病天数	血清学反应 (效价)		
			外斐二氏反应 (OX ₁₉)	立克次氏体补体结合反应	普氏立克次氏体 ESS 血球凝集
于 ○ 奎	男 64	10	1:40	1:40(-)	1:50(-)
		12	1:40	1:640	1:6400
		18	1:320	1:640(NEP)	1:6400 (NEP)
		24	1:40	1:640	1:25,600
陈 ○ 英	女 55	10	1:80	1:640	1:400
		12	1:80	1:640	1:1,600
		17	1:40(-)	1:640	1:3,200
李 ○ 崑	男 31	5	1:80	1:40(-)	1:800
		9	1:320	1:640	1:3,200
		14	1:320	1:640	1:3,200
		28	1:80	未做	未做
王 ○ 恩	男 43	7	1:640	1:640	1:800
		17	1:640	1:640	1:3,200
		87	1:80	1:640	1:3,200
王 ○ 鑄	男 27	7	1:40	1:640	1:800
		14	1:80	未做	1:3,200
		18	1:40	1:640	1:3,200
		23	1:80	1:640	未做
韓 ○ 祥	男 17	11	1:40(-)	1:640	1:400
		14	1:160	1:640	未做
		18	1:80	1:640	1:800
高 ○ 声	男 31	7	1:40	1:640	1:200
		14	1:80	1:640	1:1,600
王 ○ 岭	男 15	5	1:40(-)	未做	未做
		11	1:80	1:640	未做
		101	1:40(-)	1:640	1:3,200
王 ○ 兰	女 21	7	1:80	1:640	1:400
		13	1:80	1:640	未做
		21	1:80	1:640	未做
张 ○ 泽	男 21	15	1:640	1:160	1:50
		21	1:320	1:640	1:400
王 ○ 起	男 21	5	1:160	1:640	1:400
		9	1:80	1:640	1:400
王 ○ 生	男 32	4	1:40(-)	1:40	1:50(-)
		8	1:40	1:640	1:400
		15	1:40	AC	1:100
		24	1:40	1:320	1:400
刘 ○ 生	男 32	6	1:40(-)	1:40(-)	1:400
		10	1:160	1:320	未做
		13	1:40	AC	未做
刘 ○ 修	男 34	8	未做	1:640	1:400
		13	1:160	1:160	1:3,200
馬 ○ 琴	女 30	3	1:160	1:640	未做
		10	1:80	1:80	1:400
王 ○ 义	男 6	90	1:320	1:640	1:3,200
靳 ○ 江	男 23	7	1:40	1:640	1:400
黄 ○ 栋	男 24	22	1:320	1:640	1:1,600
王 ○ 善	男 22	8	1:40	1:640	1:400

注: NEP = 未稀释至终点效价; AC = 抗补体。

4. 試驗項目

我們对 36 份斑疹伤寒血清同时进行了外斐二氏反应、补体結合、ESS 致敏紅血球之凝集試驗及肥达氏反应。补体結合反应乃应用普氏立克次氏体鼠肺疫苗作为抗原,經測定結合力与抗补体效价后,采取改良 Citron 氏梅毒补体結合反应的試驗方法。对照组血清仅作 ESS 血凝單項試驗,目的在于观察 ESS 血凝試驗的特异性。外斐二氏反应的最終稀釋度为 1:640,补体結合反应亦为 1:640,而 ESS 血凝稀釋度则为 1:25,600。

二、試驗結果

用 19 例临床确诊斑疹伤寒患者血清 36 份,作外斐二氏反应,立克次氏体补体結合反应及 ESS 血凝試驗的对比結果見表 1,表 1 表明:在抗体效价动力学上,抗 ESS 抗体的出現時間虽与凝集及补体結合性抗体相似,但若从有诊断意义的效价来看,則以抗 ESS 抗体出現最早,而且效价高,維持的時間长。在发病的 5—7 天,用 ESS 血凝及补体結合試驗就可确诊,而此时外斐二氏反应效价往往只不过 1:40—1:80。在 19 例中有 5 例患者外斐二氏反应效价一直在 1:40—1:80 之間,但 ESS 血凝效价却为 1:400—1:3,200,說明了外斐二氏反应的敏感性远遜于 ESS 血凝試驗。只有一例在第 15 天,外斐反应效价高于 ESS 血凝。在敏感性上,ESS 血凝效价多半比外斐二氏反应高 10—640 倍。

我們还检查了 233 例非斑疹伤寒及正常人血清的 ESS 抗体效价(表 2),結果在 1:10—1:160 的稀釋度中均呈阴性。配合对典型斑疹伤寒患者系統的临床观察与其他血清反应結果的对比,我們初步认为 ESS 血凝效价在 1:50 以上便有诊断价值。

表 2 233 例非斑疹伤寒及正常人血清的 ESS 血凝試驗結果

不发热的非斑疹伤寒血清				发热的非斑疹伤寒血清		
病名	例数	反应結果	病名	例数	反应結果	
肝 炎	40	—	风 湿 热	2	—	
妊 娠	46	—	痢 疾	2	—	
梅 毒	5	—	肺 炎	1	—	
額 癩	3	—	結 核	2	—	
正 常 人	130	—	发烧原因不明	2	—	

三、討 論

斑疹伤寒的早期临床症状与許多传染病很相似,而且由于立克次氏体不易培养,故病因学的确定诊断存在一定困难。在血清学反应方面,一般多采用外斐二氏反应,条件較好的实验室,还同时应用立克次氏体凝集及补体結合反应作为特异性的血清学诊断。关于各种血清学反应的評价,近 20 年来文献中有过許多报导,特別肯定了特异性抗原的凝集及补体結合反应的可靠性^[9-10]。

由于在一般試驗室中不易自制立克次氏体抗原,多年来 Chang 氏試驗未能推广。我們利用鼠肺疫苗或过期的鼠肺疫苗,解决了这个困难。同时,发見利用疫苗提取 ESS 的主要优点是:(1)純度好;(2)抗原含量丰富;(3)可以省略鸡胚培养之繁复过程;(4)制备簡便。特别是我們曾試用 1955 及 1956 年过期鼠肺疫苗也得到同样滿意結果,这一点有

着更大意义,从而为过期疫苗开辟了有价值的利用途径,使得 ESS 血凝试验有可能作为临床常规血清学检验而推广。

Chang 氏发现,5 例斑疹伤寒患者的 ESS 抗体效价比外斐氏反应高 60—127⁺ 倍;138 例非斑疹伤寒血清中仅一例流行地区的受检者出现阳性,其他均为阴性。5 例外斐氏反应阴性之 Brill's 症亦呈阳性反应。文献中还有不少资料证明血凝反应的敏感性^[11,12],我们的试验也证明了这一点。我们检查了斑疹伤寒血清 36 份,对照血清 233 份,得到了与 Chang 氏相似的结果,患者在发病的 5—7 天抗 ESS 抗体效价就达到有诊断意义的高度,初步认为 ESS 血凝试验可以作为斑疹伤寒血清学诊断的常规试验之一,它比外斐氏反应效价高 10 倍至几百倍,也多半比补体结合反应效价高,且此三种试验方法的效价在同一病期中就有很明显的差异。此外,233 份对照血清单独的进行了 ESS 血凝反应,证明了在 1:10—1:160 的稀释度中均未发现假阳性反应,即 ESS 血凝反应具有比补体结合反应更高的特异性与敏感性。

必须指出,我们的研究工作也存在一些缺点的,首先是缺少对立克次氏体的分离工作,而仅靠临床指征与立克次氏体特异补体结合反应及外斐氏反应而确诊。但配合以临床及流行病学资料进行分析,对于本试验的价值问题,当不至有很大的怀疑。

最后,就外斐二氏反应的效价来看,似乎比其他文献报告略低,是否与地区性有关或其他因素,今后将继续探讨。

四、小 结

本文对斑疹伤寒 ESS 血凝试验的初步结果进行了分析。我们从普氏立克次氏体鼠肺疫苗中提取 ESS 抗原以致敏“O”型红血球,与患者血清进行血凝试验,表现很高的敏感性与特异性,提高了斑疹伤寒血清学诊断的阳性率。特别是对过期疫苗的利用,更具实际意义,解决了在一般试验室中不易自制立克次氏体抗原的困难,使 ESS 血凝试验有可能在临床检验中得到推广。

参 考 文 献

- [1] Chang, Shin-man: *J. Immunology*, 70:212, 1953.
- [2] Chang, Shin-man, Snyder, J. C. and Edward, S. Marray: *J. Immunology*, 70:215, 1953.
- [3] Chang, Shin-man, Edward, S. Marray and Snyder, J. C.: *J. Immunology*, 73:8, 1954.
- [4] 李再连:微生物学报, 2(1):85—93, 1954.
- [5] 谢少文、林霞:免疫学丛刊, 2(1):58, 1952.
- [6] Zarafonitis, C. T. D. et al: *J. Immunology*, 52:198, 1945.
- [7] Liu, W. T. et al: *Chin. med. J.*, 66:130, 291, 1948.
- [8] 王美芳、尹延盛、赵九如:免疫学丛刊, 2(1):49, 1952.
- [9] 余覆主编:医学微生物学,人民卫生出版社, 371, 1959.
- [10] Rivers, T. M., Horsfall, F. L., Jr.: *Viral and Rickettsial Infections of Man*, 3rd ed., 811, London Pitman Med. Publ., 1959.
- [11] 林飞翥、章苔生、李庆贵:上海第一医学院学报, 3:161, 1957.
- [12] Neter, E.: *Bact. Rev.*, 20:166, 1956.

STUDIES ON THE SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF TYPHUS FEVER

I. STUDIES OF HEMAGGLUTINATION TEST WITH THE ERYTHROCYTE SENSITIZING SUBSTANCE OF TYPHUS RICKETTSIA IN CLINICAL DIAGNOSIS

LI, T. L., CHU, Y. L., KANG, W. C., CHEN, K. C.,
HSU, C. C., HSIAO, K. AND SU, Y. C.
(*Shantung Medical College, Tsinan*)

Making use of the hemagglutination method first described by S. M. Chang in 1953, an erythrocyte sensitizing substance was obtained from the mouse lung vaccine which contains numerous *R. prowazeki*. Group O erythrocytes were sensitized with this substance, and sera of 36 typhus patients were examined for hemagglutinating antibodies. It was found that positive agglutinating reaction was given by all these 36 clinically diagnosed cases, with the titre ranging from 1:50 to 1:25,600. On the other hand, none of the sera from 233 non-typhus patients and normal persons serving as controls, showed positive reaction in serum dilution of 1:50. When compared with the results obtained by the Weil-Felix reaction and by the complement fixation test, hemagglutination test appears to be of higher sensitivity and of greater specificity. Thus the practical value of the hemagglutination test in serological diagnosis of typhus fever is clearly evident.