

简报

螢光抗体在鼠疫杆菌快速检查中的应用

白常乐 趙 彬 賈明和

(中国医学科学院流行病学微生物学研究所, 北京)

Carter 等^[1]指出, 用螢光抗体可以从混合培养物中检出少量的鼠疫杆菌。Winter 等^[2,3]认为螢光抗体染色是鼠疫快速诊断的重要方法之一。为了探索用螢光抗体从感染鼠疫的动物脏器中检查鼠疫杆菌的价值, 我們对于螢光抗体染色方法和培养方法进行了比較。

按照常规方法用弱毒鼠疫杆菌 EV 株免疫家兔, 制出滴度为 1:1280 的免疫血清。用半飽和硫酸鉍方法^[4]进行盐析, 提取 γ -球蛋白, 用异硫氰酸螢光素按照 Coons 与 Kaplan^[5] 方法, 并参照 Кабанова^[4] 方法进行結合。每 100 毫克球蛋白加 5 毫克螢光素。按 Кабанова^[4] 方法用小白鼠肝粉吸收未結合的螢光素。結合后的螢光血清的凝集滴度为 1:640。

涂片标本用乙醚和酒精等量混合液固定 30 分钟, 用螢光抗体染色 30—40 分钟, 再用 pH 7.0 磷酸盐緩冲液洗 10—15 分钟。干燥后用 Reichert 螢光显微镜检查。

用鼠疫螢光抗体检查了 8 株鼠疫杆菌培养物涂片, 結果都看到明显的黃綠色螢光。检查了 6 株伪結核杆菌的涂片, 发现其中有 1 株也出現黃綠色螢光。检查过的其它細菌(包括牛型、羊型和猪型布魯氏菌各 1 株、土拉菌 2 株、变形杆菌 2 株、大腸杆菌和葡萄球菌各 1 株)都未呈現螢光反应。Carter^[1]曾报导, 制备鼠疫螢光抗体的免疫血清的凝集滴度高于 1:1280 时, 可与伪結核杆菌发生交叉反应。Синицкий 等^[6]发现多数伪結核杆菌株, 甚至个别的大腸杆菌株也可与鼠疫螢光抗体发生不同程度的交叉反应。Winter 与 Moody^[7] 用鼠疫杆菌的特异性抗原(Fractin I) 免疫家兔获得了滿意的螢光抗体。我們的試驗中, 从免疫血清中提取 γ -球蛋白以前, 未用伪結核杆菌进行吸收, 因

此, 与一株伪結核杆菌出現了交叉反应。

选用了不同来源的鼠疫杆菌株感染了豚鼠。当动物死亡后, 取肝和脾制成压片标本, 进行了螢光抗体染色和一般染色检查, 同时并进行了鼠疫杆菌培养。20 只經人工感染后死亡的豚鼠的脏器鼠疫杆菌培养和螢光抗体染色检查都得到阳性結果, 但用一般染色方法检查仅得到 17 例阳性。在螢光显微镜下, 动物細胞虽然也呈現一定程度的自然螢光, 但是与鼠疫杆菌的螢光并不难区别。

为了探討用螢光抗体检查腐敗脏器中的鼠疫杆菌的可能性, 我們用弱毒鼠疫杆菌 EV 株感染了小白鼠(在感染前 4 小时給小鼠肌内注射醋酸皮質素 4 毫克)。將死亡小鼠的尸体放于 37℃, 經不同時間后取脏器用螢光抗体染色检查, 同时并进行了补体結合反应和用抑制变形杆菌的培养基进行了鼠疫杆菌培养检查。試驗結果見表 1。

从表中可以看到, 小白鼠死后放于 37℃ 20 小

表 1 螢光抗体分离培养和补体結合反应
检查腐敗小白鼠脏器結果

小白鼠号	腐敗時間 (小时)	不同方法的检查結果		
		螢光	培养	补体結合
2	14	++	(+)	1:4
3	16	++	(+)	1:32
5	20	++	(-)	1:4
7	43	+	(-)	1:16
9	55	+	(-)	1:16
10	62	-	(-)	1:16

注: “++”黃綠色螢光; “+”螢光极弱; “-”无螢光;
“(+)”分离出鼠疫杆菌; “(-)”未分离出鼠疫杆菌。

本文 1963 年 2 月 8 日收到。

时,还可利用螢光抗体从脏器中检出鼠疫杆菌。螢光抗体方法在敏感度上比培养方法为优,但不如补体結合反应。

以上試驗結果說明,螢光抗体方法可以作为一种輔助方法用于鼠疫杆菌的检查中。这种方法有較好的灵敏度,可以在两小时內得到結果。但是,为了提高其特异性,本文所用的抗体制备方法还需改进。

参 考 文 献

[1] Carter, C. H. & Leise, J. M.: *J. Bact.*, **76**:

152, 1958.

[2] Winter, C. C. & Moody, M. D.: *J. Infect. Dis.*, **104**: 281, 1959.

[3] Moody, M. D. & Winter, C. C.: *J. Infect. Dis.*, **104**: 288, 1959.

[4] Кабанова, Е. А., Глубокина, А. И.: *Ж.М.Э.И.*, 1958(1): 5.

[5] Coons, A. H. & Kaplan, M. H.: *J. Exper. Med.*, **91**: 1, 1950.

[6] Синицкий, А. А., Дьяков, С. И. и др.: *Ж.М.Э.И.*, 1960(11): 35.

[7] Winter, C. C. & Moody, M. D.: *J. Infect. Dis.*, **104**: 274, 1959.