

細菌性痢疾患者大便中凝集素的检查

甄应中 張金鑒 楊永年*

(河南医学院微生物学教研组, 郑州)

引 言

自 Davies (1922)^[1] 发现痢疾患者大便粘液中有凝集抗体的存在以来, 许多作者对它有不同的看法。有人认为痢疾大便抗体的出现较早又有特异性^[2-8], 有人不同意。关于痢疾大便抗体在病人大便中的出现率过去的实验结果也颇不一致^[11-3, 10, 11]。我们自 1955 年起对痢疾大便抗体的出现率及其特异性作了一些试验, 兹报告其结果如下。

材料及方法

大便抗体标本的制备 大便取得后放在冰箱中 24 小时以内或者立刻用生理盐水作 1:5 稀释, 在乳钵中充分研磨, 3000 转/分离心沉淀 30 分钟, 吸取上清液。个别材料 1 次沉淀不能得到清晰的上清液时, 则再沉淀 2—3 次, 如此取得的透明上清液充作大便抗体, 立即应用或者加热 56°C 30 分钟后保存于冰箱备用。

抗原的制备 在本试验中所用的抗原有志贺氏本型菌、宋内氏菌、福氏菌 1a、2a、3、4a、5、6 和变种 x、y。全部菌种均系卫生部药品生物制品检定所取来之捷克菌种, 其中各型福氏痢疾菌都用中国医学科学院所制备的因子血清进行鉴定, 证实无误。作玻片凝集用的抗原, 均为 24 小时普通琼脂斜面培养的活菌(有时也用甲醛处理的死菌)。

方法 乃是各型及各种菌液的玻片凝集反应。

結 果

一、一般结果

共计检查大便 422 份, 其中 264 份为临床诊断属于细菌性痢疾患者各病期的大便; 55 份是恢复期患者; 25 份为临床诊断属于肠炎或腹泻患者; 21 份是非肠胃病患者; 54 份是半年以上未曾患过痢疾的健康人的大便。

对每份大便都同时做了分离培养, 方法为直接把大便标本接种在远藤或胆盐琼脂平皿, 然后按一般方法进行检定, 结果见表 1。

此外, 不同性状大便的凝集反应检查结果没有太大的差异; 含血粘液大便 76 份, 阳性率为 94.7%; 肉眼上不含血而只有粘液的大便 114 份, 阳性率亦为 94.7%; 无显著粘液存在的大便(一部分为粥状, 一部分为成形) 74 份, 阳性率为 75.6%。

发病后在不同日期采取病人大便观察凝集反应的结果见表 2。

* 试验所用之大便、材料及其培养结果, 部分是开封市卫生防疫站和本教研组临床细菌检验室供给; 福氏因子血清是中国医学科学院细菌学系赠; 特此致谢。
本文为中国微生物学会 1963 年学术年会转稿。

表 1 422 人次不同临床诊断的患者与健康人的大便检查结果

临床诊断	检查人次	凝集结果		培养结果	
		人 次	%	人 次	%
痢疾	264	236	89.4	86	32.7
恢复期患者	55	18	32.7	0	0
肠炎或腹泻	28	16	57.1	0	0
非肠胃病患者	21	3	14.3	0	0
健康人	54	2	3.7	0	0

表 2 发病不同日期的大便检查结果

发病日期 (天)	结果	检查人次	凝集反应阳性		培养阳性	
			人 数	%	人 数	%
1		14	12	85.7%	11	78.6%
2		9	8	88.9%	3	33.3%
3		4	3	75.0%	2	50.0%
4		7	6	85.7%	0	0
5		7	3	42.8%	0	0
6		2	1	50.0%	0	0
7		3	1	33.3%	0	0
8		10	5	50.0%	3	30.0%
9		4	2	50.0%	1	25.0%
10		3	1	33.3%	1	33.3%
11—20		21	10	50.0%	1	4.50%
21天以上		6	2	33.3%	1	16.7%
总数平均%		90	49	53.3%	23	25.6%

进一步检查早期患者,发现受试病人 11 例中,有 7 人在 10 天以内抗体消失,2 人在 15 天以内消失,又 2 人在 24 天以内消失。

二、痢疾大便抗体的特异性试验

为观察大便抗体有无特异性,选择数种主要肠道杆菌对痢疾大便抗体进行了交叉凝集反应试验。

1. 痢疾大便抗体对主要肠道杆菌的交叉凝集反应试验

选出 65 份对痢疾抗原呈现阳性凝集反应的大便上清,对我组保存之菌种伤寒杆菌 1 株,甲、乙、丙型副伤寒杆菌各 1 株进行在玻片上做凝集反应试验,试验的结果见表 3。

表 3 65 份对痢疾抗原凝集阳性的大便上清对沙门氏杆菌及 30 份阳性大便对大肠和副大肠杆菌的凝集反应

菌 型	阳 性 反 应		菌 型	阳 性 反 应	
	例 数	百 分 率		例 数	百 分 率
伤寒杆菌	13	20%	副伤寒杆菌丙	5	7.7%
副伤寒杆菌甲	2	3%	大肠杆菌(5株)	8	26.6%
副伤寒杆菌乙	2	3%	副大肠杆菌(5株)	3	10%

此外选出 30 份对痢疾抗原呈阳性凝集之大便上清,对我组保存之大肠杆菌菌株(No. 1、2、3、4 及 5)及副大肠杆菌 5 株(No. 6、7、8、9 及 10), 另行做了玻片凝集试验,其结果见表 3。

2. 用非特异性凝集菌对痢疾大便抗体的吸收试验

为进一步明了凝集痢疾抗原之抗体究竟是否系一种特异性抗体, 又进行以非特异性凝集菌对痢疾大便抗体作了凝集素吸收试验。

以对沙门氏杆菌呈凝集反应之 13 份中之 4 份痢疾大便抗体吸收试验作为代表,其试验结果见表 4。

表 4 与沙门氏杆菌呈交叉凝集反应之大便上清吸收试验结果

大便上清 编号	吸收前的凝集反应						吸收菌	吸收后的凝集反应					
	F2a	F3	BTH	P. A	P. B	P. C		F2a	F3	BTH	P. A	P. B	P. C
No. 5	++++	++++	+++	+	+	-	BTH	++++	++++	-	-	-	-
No. 6	++++	++++	++	-	++	-	BTH	++++	++++	-	-	+	-
No. 7	++++	++++	+++	-	-	++	BTH	++++	++++	-	-	-	±
No. 9	++++	++++	+	-	-	+++	P. C	++++	++++	+	-	-	-

注：“-”无凝集现象；“+”、“++”分别为弱和中等凝集，悬液混浊；“+++”强凝集；“++++”强凝集，透明液中有大凝片。

对大肠与副大肠杆菌呈凝集反应之 8 份痢疾大便抗体吸收试验结果见表 5。

表 5 与大肠杆菌、副大肠杆菌呈交叉凝集反应之大便上清吸收试验结果

大便上清 编号	吸收前凝集反应										吸收菌	吸收后凝集反应											
	F3	1	2	3	4	5	6	7	8	9		10	F3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
57019	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	1,10	+++	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57036	++	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-	2	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57052	+++	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	4	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57054	+++	++	-	-	++	-	-	-	-	-	-	1,4	+++	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57092	+++	++	-	-	++	++	-	-	-	-	+++	1,4,5,10	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57095	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57096	++	++	-	-	-	-	-	++	-	-	++	1,7,10	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57080	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注：表中 1、2、3、...10 前的 5 株是大肠杆菌后 5 株是副大肠杆菌的编号。

三、大便中痢疾抗体的型特异性

1. 为明了病人大便中抗体同病人自己大便中出现的细菌, 即自体细菌之间的特异性关系, 以及同其它类型痢疾杆菌的非特异性凝集关系, 进行下面的“型特异性的观察”。

选出大便培养阳性并经鉴定为福氏菌的病人 12 例及志贺氏本型菌痢疾的病人 1 例, 就其大便上清进行对自体菌同型的保存菌种, 以及其它类型的保存菌种做了玻片凝集反应试验, 其结果见表 6。

必须指出, 全部 13 例病人中, 有 4 例的大便抗体对自体菌未发生凝集, 但对于和自体菌同型的保存菌种却皆能呈现凝集。此问题尚待今后对分离菌施以加热或在人工培养基

上传代之后再重行加以试验,或可得以阐明。

表6 大便抗体凝集反应的型特异性检查

大便编号	菌型	患者自体菌苗型	自体菌	F1a	F2a	F3	F4a	F5	F6	Fx	Fy	志贺本型
019		F2a	++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
002		F1a	+++	+++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+++	+++
020		F3	+++	+++	+++	+++	+	+	++	-	+++	-
042		F2a	-	++	+++	++	-	-	-	-	-	-
029		F2a	+++	++++	++++	++++	+++	+++	+++	+++	++++	++
052		F1b	++++	++++	++++	++++	+++	++++	+++	++++	++++	-
053		Shiga	-	++++	++++	++++	+++	+++	+++	+++	++	+++
066		F2a	-	++	++	+	+	++	+	-	-	++
088		Fy	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-
090		F2a	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
095		Fy	++++	++++	+++	+++	++++	++++	++	-	++++	++++
016		F2a	++	+++	++	++	+	++	+++	++	+++	++
111		F1a	+++	+++	++	+++	-	++	++	+	+++	+

由上面的实验结果可知福氏菌痢疾大便中的抗体对大部分福氏菌各亚型皆呈交叉反应,特别在 F1、F2 及 F3 三者之间尤其如此,这可能因此等菌皆含有较多种共同抗原成分所致。由表中结果也可看到凡能凝集志贺本型菌的福氏菌病人大便,一般能凝集全部福氏亚型菌。而志贺本型痢疾大便 1 例也能凝集福氏菌的全部各亚型。此种组与组之间发生的交叉反应现象,尚无法加以解释。一般了解,志贺本型菌同福氏菌之间并无抗原之共同性,对感染也无交叉免疫性。由此可以推论,本实验中出现的组间交叉反应,很可能由于病人以前曾患过不同组的痢疾感染或潜伏感染。由于有此种情况,用检查大便抗体的方法便不适于直接充作鉴定痢疾类型之用。

2. 型特异性抗体的吸收试验

对福氏菌病人 9 例及志贺本型菌病人 1 例的大便,分别用 F1a、F2a 及 F3 进行吸收试验,以观察大便抗体的型特异性。在表 7 所列出的是有代表性病人 3 例的试验结果。

表7 型特异性抗体的吸收试验

大便上清 编号	自体 菌型	吸收前凝集反应			F1a 吸收后之结果			F2a 吸收后之结果			F3 吸收后之结果		
		F1a	F2a	F3	F1a	F2a	F3	F1a	F2a	F3	F1a	F2a	F3
57019	F2a	+++	+++	+++	-	-	+++	-	-	+++	-	-	-
57054	Shiga	++++	++++	++++	-	+++	+++	-	-	+++	+++	+++	++
57108	F1a	++	+++	+++	-	-	-	-	-	+++	-	-	-

由表 7 可知,感染某一型痢疾时,在大便中出现对自体菌抗体的同时,尚出现对其它型菌的共同抗体。采用一般的吸收试验方法难以证明此等抗体具有严格的型特异性。

四、大便抗体的耐热性

选出 18 份对痢疾杆菌呈阳性凝集的大便上清,分别用 56°C 30 分钟、65°—70°C 30 分钟、80°C 30 分钟、100°C 5 分钟、100°C 10 分钟进行了加热试验。结果和 Кабэн 的结果^[2]

不同,在 56℃30 分钟时已经有较轻微的影响;65°—70℃30 分钟时大部分失去凝集力,或者原为强阳性者变为弱阳性;80℃30 分钟时,18 分材料中只有 1 分呈可疑凝集,其它均完全失掉凝集力;100℃5 分钟和 10 分钟时,大便上清绝大部分发生凝固,一部分变混,将混浊液和凝固后所剩之液体经沉淀后再作凝集试验,皆呈现阴性反应。由此可见,大便抗体的耐热性和一般血清抗体大致相等。

Burrows^[13a] 及 Koshland^[13b] 曾证明霍乱大便抗体是一种球蛋白,其产生与来源和血清抗体球蛋白相同。痢疾大便抗体可能同霍乱大便抗体是同样性质的球蛋白,尚待今后作进一步的观察。

讨 论

用本文报告的方法检查痢疾患者大便上清,其 1:5 的稀释液对痢疾抗原在 264 分材料中有 89% 在玻片上呈显明的凝集反应。唯同时对伤寒、副伤寒及大肠杆菌也分别出现不同高低阳性率的非特异性凝集,但其凝集现象不甚显著。此外非痢疾性的病人大便中也出现对痢疾的抗体,而且其出现阳性率有的还相当高。此等非特异性凝集反应是否限制了大便抗体对痢疾诊断上的实际应用,是值得讨论的问题。

关于这些非特异性凝集反应的现象曾有种种不同的解释。Burrows^[13a] 报告,健康人的大便对霍乱弧菌呈 1:2—1:5 的低度凝集^[13b],该氏等又证明对动物或志愿者皮下接种福氏痢疾或伤寒菌苗之后,在其血清及大便中皆出现对霍乱弧菌之非特异性抗体。Barksdale 与 Ghoda^[9] 报告,许多痢疾患者大便皆对 1 株代表性大肠杆菌呈高度非特异性凝集。该氏等又发现 1 例确无痢疾的糜烂性大肠炎病人大便中出现有对痢疾抗原的凝集抗体,此抗体可被由病人分离之大肠菌全部吸收掉。

在本文报告中,54 个健康人的大便中,仅有 2 人在 1:5 的稀释对痢疾抗原呈阳性凝集。此外也有可能因为某些人在过去曾有过痢疾的潜伏感染,当发生肠胃病时,因回忆反应而引起了抗体的增加。Felsen 与 Wolarsky^[14] 曾经指出肠胃病人中有许多是患过痢疾感染的人。此外本文报告中的非痢疾性肠胃病人(肠炎或腹泻)仅系根据临床诊断,并未曾调查其过去与当时是否确属无痢疾感染,因此在此种所谓非痢疾病人出现之高度凝集反应现象,尚不能否定系因过去的感染。

经过各种吸收试验,初步证明痢疾大便中确有特异性抗体的出现,其出现时间较早,阳性率也较高。如果能够改进方法,可能试用于痢疾的早期诊断,特别是在细菌培养阴性时,充作诊断的参考。

总 结

对临床诊断为痢疾患者的大便 264 份进行培养检查和以大便进行对各型痢疾杆菌检查凝集反应的结果可总结如下:

1. 264 份大便的痢疾杆菌分离培养阳性率平均为 33.3%。大便对痢疾抗原的凝集反应阳性率平均为 89.4%。
2. 按发病后不同日期分析检查的结果,发病 1—4 天培养阳性率为 40.4%,凝集反应阳性率为 83.8%。发病后 5—10 天培养阳性率为 14.7%,凝集反应阳性率为 43.2%。发

病后 11—21 天以上者培养阳性率为 10.1%，凝集反应阳性率为 41.1%。

3. 痢疾大便对伤寒杆菌及副伤寒杆菌甲、乙、丙的凝集反应最高阳性率为 20%。对 5 株大肠杆菌和 5 株副大肠杆菌的凝集反应最高阳性率为 26.7%。各该菌可将大便上清中的非特异性抗体吸收掉，但不影响对痢疾抗原的特异性抗体。

4. 痢疾恢复患者的 55 分大便对痢疾抗原的凝集阳性率为 32.7%，培养阳性率为 0%。临床诊断为腹泻和肠炎病人大便 28 份，有 57.1% 凝集痢疾抗原。其他病人大便 21 份，14.3% 凝集痢疾抗原。健康人大便 54 份，有 3.7% 凝集痢疾抗原。

5. 对于痢疾大便中出现特异性抗体及非特异性抗体的现象，以及大便抗体在实际应用的价值，作了简单的讨论。

参 考 文 献

- [1] Davise, M. D.: *Lancet*, (11):1009—1012, 1922.
- [2] Предеченский и Мороз: *Ж.М.Э.И.*, (7):3—11, 1940. (引自 *F.S.E.B.M.*, 70:543, 1949) 5:6, 1941. (引自防治医学 1:28, 1951)
- [3] Скочко: *Ж.М.Э.И.*, (3):59—62, 1942.
- [4] Ямпольский, Горобукел Аронина: *Педиатрика*, 5:13—18, 1944.
- [5] Harrison, D. E. Banvard, J.: *Science*, 106:188—189, 1947.
- [6] Kasai: *Jap. J. Exp. Med.*, 24:129, 1954.
- [7] Kasai: *Jap. J. Exp. Med.*, 26:9, 1956.
- [8] Kasai: *Jap. J. Exp. Med.*, 27:145, 1957.
- [9] Barksdale Ghoda: *J. Infect. Dis.*, 89:35, 41, 47, 1951.
- [10] 井上泰夫: 日本传染病学会杂志, 28:430, 1955.
- [11] 费嵩、张淑莲: 中华新医学报, 3:612, 1952.
- [12] Кабж, И. И.: *Вопросы эпидемиологии профилактики и клиники кишечных инфекций*, 1954.
- [13] Burrows, W. et al.: *J. Inf. Dis.*, a) 79:168, 1946. b) 81:261, 1947.
- [14] Koshland Burrows: *J. Immunol.*, 65:93, 1950.

THE OCCURRENCE OF COPRO-ANTIBODY IN DYSENTERY PATIENTS

ZHEN YING-CHUNG, CHANG CHIEN-JIEN AND YANG YUNG-NIEN

(Department of Microbiology, Honan Medical College, Chenchow)

Samples of feces taken from cases of bacillary dysentery were examined by slide agglutination test for the presence of copro-antibody against *Sh. flexneri*, *Sh. boydii*, and *Sh. sonnei* as well as against certain strains of *Salmonella*, Paracolon and *Esch. coli*. At the same time, cultural examination by means of S-S agar and Endo medium was simultaneously made. The following results were obtained and analyzed.

1. Among the 264 samples of feces from dysentery patients tested, positive results were obtained in 89.4% by agglutination as compared with only 32.7% by culture.

2. Out of 76 fecal samples with blood and mucus, 94.7% showed positive agglutination as compared with 32.1% by culture; out of 114 samples with mucus without blood, 94.7% were positive by agglutination and 27.1% positive by culture; and out of 74 samples of soft or formed stools, 75.6% were positive by agglutination and 13.5% by culture.

3. Among the fecal samples taken 1—4 days, 5—10 days, and 11—21 days respectively after the onset of the disease, positive agglutination was demonstrated in 83.8%, 43.2% and 41.1% as compared with positive cultures in 40.4%, 14.7% and 10.1% respectively. It was also found that the copro-antibody both appeared and disappeared earlier than those in the blood serum.

4. Among those fecal samples which were positive for copro-antibody to various types of dysentery bacilli, 20% were also positive with *Salmonella* antigen, and 26.7% with colon-paracolon antigen, but the reaction with the latter antigens appeared to be weaker. These non-specific reactions could, however, be completely removed by adsorption with the corresponding antigens leaving the antibodies to the *Shigella* unaffected.

5. A series of agglutination tests with *Shigella* antigens was also carried out in a number of control persons. Thus, among 28 fecal samples taken from patients suffering from gastro-enteritis but non-dysentery in character, 21 samples from patients not suffering from gastroenteritis, and 54 samples from normal individuals gave rather high non-specific reactions as follows: 57.1%, 14.3%, and 3.7% respectively.

6. A brief discussion on these nonspecific reactions was made.