

斑疹伤寒血清学诊断的研究

II. 斑疹伤寒立克次氏体红血球致敏性物质 (ESS)血凝试验的进一步观察

李在连 朱玉瓏 耿文瑾

(山东医学院微生物学教研组, 济南) (山东医学院附属医院化验室, 济南)

陈克忠 徐振泉

(山东医学院附属医院内科, 济南)

关于斑疹伤寒普氏立克次氏体鼠肺疫苗 ESS 的血凝试验在临床诊断上的评价, 我们已作了初步报告^[1], 并选为斑疹伤寒常规实验室诊断的血清学试验之一。一年来, 又对抗原的稳定性、敏感性与特异性; ESS 血凝试验与补体结合反应的关系及对一些典型患者血清学反应的动态作了长期观察。试验结果说明了 ESS 血凝的优点。

材料及方法

材料 (1) 过期的及未过期斑疹伤寒普氏立克次氏体鼠肺疫苗(卫生部生物制品研究所出品)。

(2) 标准的斑疹伤寒普氏及莫氏立克次氏体补体结合反应抗原(卫生部生物制品研究所出品)。用此抗原做补体结合反应及提取 ESS, 与疫苗抗原作对照试验。

(3) 斑疹伤寒及非斑疹伤寒血清及其他材料。

方法 (1) ESS 抗原的提取法除了采取原法^[1]外, 还试用与比较了与 NaOH 相当量(2N)的盐酸中和法代替透析的步骤。

(2) 红血球致敏法及血凝试验与原法^[1]同, 本文从略。

(3) ESS 血凝试验与补体结合反应的关系的探讨, 是根据以下原则进行的: (1) 将 ESS 抗原(未致敏红血球者), 作 1:3—1:48 的稀释与 1:10—1:640 稀释的斑疹伤寒患者血清做 5 组补体结合反应。(2) 将标准普氏立克次氏体补体结合抗原作 1:3—1:48 的稀释与 1:10—1:640 的斑疹伤寒血清作 5 组补体结合反应。(3) 将患者血清经 ESS 致敏的红血球吸收后再照以上试验原则做(1)及(2)两组补体结合反应。详细方法参看改良 Citron 氏梅毒补体结合试验之抗原定量滴定法^[2], 但冰箱结合时间改为 8 小时。此外, 用吸收及未吸收的患者血清分别做血凝试验以与补体结合反应对比。

试验结果

经过长期观察, 从疫苗及标准补体结合抗原中提取的 ESS, 属耐碱性多糖物质, 耐热、耐贮存, 对外界影响因素相当稳定, 在冰箱中保存 4 星期完全不影响其敏感性与特异性。但 ESS 致敏的红血球, 则只能连用两天, 因为即使保存冰箱中亦易引起溶血。

我们曾试验以 2N 盐酸中和法代替提取后之透析的步骤, 以期简化并推广此试法, 发

现若用中和法必须严格掌握 pH 值的准确性,只要多加一点盐酸都将影响红血球的脆性,因而常在致敏水浴阶段或致敏后洗涤阶段,甚至做血清试验中的水浴阶段发生溶解。故我们认为仍然以透析法更为恰当。从浓度上来看,疫苗中所得之 ESS 已足应用,虽然疫苗抗原中立克次氏体的含量比标准的补体结合抗原低数倍,但用后者所提取之 ESS 进行血凝试验时,表现的敏感性与特异性和从疫苗中提取者极相似(见表 1)。

表 1 疫苗抗原与标准的普氏及莫氏抗原 ESS 血凝效价的比较

血清号	疫苗 ESS 抗原	普氏 ESS 抗原	莫氏 ESS 抗原	血清号	疫苗 ESS 抗原	普氏 ESS 抗原	莫氏 ESS 抗原
1	1:800	1:800	1:800	7	1:400	1:400	1:800
2	1:200	1:400	1:400	8	1:200	1:400	1:400
3	1:50(-)	1:50(-)	1:50(-)	9	1:800	1:400	1:400
4	1:1600	1:1600	1:1600	10	1:1600	1:1600	1:1600
5	1:800	1:800	1:800	11	1:400	1:800	1:400
6	1:50(-)	1:50(-)	1:50(-)	12	1:800	1:800	1:800

从表 1 可看出, ESS 抗原不具有型的特异性,两种抗原所得血凝效价无何区别。通过吸收试验,我们获得了与 Chang 同样的结果,即 ESS 抗原仅具组的特异性。如要做血清分型,可用立克次氏体特异抗原做补体结合试验,根据对两型抗原反应效价的不同而判定。

我们对许多患者在患病期间与恢复后的长期观察,发现在抗体效价动力学上, ESS 抗体出现早、维持时间长、在疾病的急性活动性期间抗体效价特别高。从以下 20 例斑疹伤寒病人在不同时期内同时进行 ESS 血凝、补体结合及外斐二氏反应 3 项血清学试验之平均抗体效价统计表 2 中,突出的表现了 3 者有极其显著的差异。

表 2 20 份斑疹伤寒血清进行 ESS 血凝、补体结合及外斐反应的平均效价及最高效价

效价 \ 项目	ESS 血凝试验	补体结合反应	外斐二氏反应
抗体平均效价	1:2,200	1:540	1:180
抗体最高效价	1:25,600	1:1,280	1:640

此外,从王××及李××两例典型斑疹伤寒患者的血清反应动态,也可以看出此 3 种血清反应的特点(图 1,图 2)。ESS 抗体在患病的早期迅速上升并达最高峰,且在长时期内维持有诊断价值的效价水平。患者抗体效价最高峰维持的时间有两种类型:有的持续 2—4 周,有的则为 8—10 周,继之出现急剧下降期。一般在发病后第 12 周均在 1:800—1:400 左右,再后则平稳的下降,于第十四月次仍达 1:100—1:200。根据临床观察,在急性期抗体以最大速度上升,高峯维持时间之长短与病情有关。至于疗效与抗体效价的下降有否较为恒定的规律性问题,有待今后观察证实。

补体结合反应抗体出现稍晚,效价顶峯维持约 12 周,较恒定,然后渐下降,到第 14 月次效价一般与 ESS 抗体相似。外斐反应的稳定性较差,有的在愈后很久表现效价上升。外斐反应的另一缺点是有诊断意义的效价出现晚,而有的非斑疹伤寒患者的效价却不低。

曾对 1 个愈后 3 年的血清进行试验,此时 ESS 血凝阴性;补体结合反应 1:20 阴性;外斐反应为 1:40。病后两年内 ESS 抗体及补体结合抗体普遍下降至阴性或接近 1:50。

检查 247 份非斑疹伤寒患者血清中包括 20 例血培养阳性及肥达氏反应阳性的典型伤寒血清。加上次报告^[1] 总共 507 例血清中, 1:10 阳性者占 9 份,无诊断价值。仅 1 例

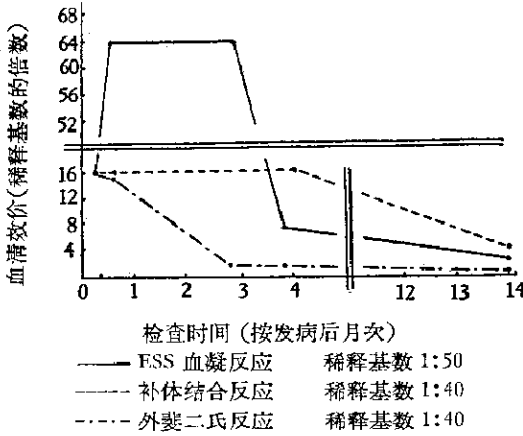


图1 患者王××的血清学反应动态曲线

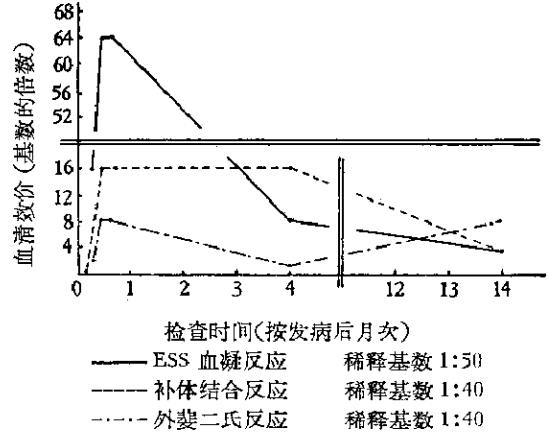


图2 患者李××的血清学反应动态曲线

蜘蛛膜下腔出血患者王××的血清呈1:200阳性, 3次检查均如是。经追询病案, 据患者主诉, 我们认为该患者可能于去春患有斑疹伤寒, 迄今ESS抗体尚未全消失之故(表3)。

表3 505例非斑疹伤寒及正常人血清的ESS血凝试验结果

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	反应结果	病名	例数	反应结果
肝炎	96	—	伤寒	20	—
妊娠	97	—	风湿热	2	—
梅毒	15	—	痢疾	2	—
癩	3	—	肺炎	1	—
不孕	23	—	结核	15	—
各种肿瘤	10	—	肝脓疡	3	—
正常人	130	—	发烧原因不明	2	—
蜘蛛膜下腔出血	1	1:200			
其他	85	—			

从确诊斑疹伤寒的所有患者的血清学反应结果中可见, 血凝抗体与补体结合性抗体的动态颇有近似之处。虽然两者的效价有很大悬殊, 推断两者有可能属于同一抗原抗体系统, 其效价之所以不同, 或与试验方法有直接关系。为此, 我们同时用ESS抗原与立克次氏体抗原和阳性血清作补体结合反应并与ESS血凝试验作比较(表4)。

表4 斑疹伤寒血清用两种抗原作补体结合反应及与ESS血凝试验比较

血清* (1:10—1:640)	补体结合反应				普氏立克次氏体 ESS血球凝集反应		
	△普氏立克次氏体 补体结合反应抗原		普氏立克次氏体 ESS抗原				
未吸收	1:160—1:320	阳性	1:10—1:640	阴性	1:800	阳性	
用ESS 血球吸 收(次)	1	1:80—1:160	阳性	1:10—1:640	阴性	1:100	阳性
	2	1:40—1:80	阳性	1:10—1:640	阴性	1:50	阳性

* 血清每组分5排, 各用1:3—1:48五种浓度的抗原进行试验。

△ 表中乃1:3—1:12稀释抗原所出现的反应结果。

从以上实例中看出,两者并非同一系统,ESS 抗原不能用于补体结合试验。ESS 血凝抗原及抗体乃一独立的抗原抗体反应系统。但经 ESS 致敏的血球吸收后的血清,补体结合反应效价亦有相应低落的情况看来,或可认为补体结合抗体与普氏立克次氏体 ESS 血凝抗体之间有某些近似之处。故两者的抗体效价亦相接近。

讨 论

斑疹伤寒立克次氏体含有复杂的抗原结构。除了有能产生中和抗体的毒素外,尚有不耐热的型特异性抗原。易溶于水、具有组特异性的可溶性抗原(S 抗原)及耐热的组特异性抗原,能与变形杆菌 OX₁₉ 菌株起类属反应者亦为组特异性抗原。Chang 氏^[3]首先用加稀碱煮沸的方法从斑疹伤寒普氏立克次氏体分离出 1 种可以致敏红血球的物质,简称 ESS。用此物质致敏的红血球可与免疫血清出现间接血凝反应。证明了此种物质亦仅具组特异性,但 ESS 抗体与引起 OX₁₉ 及立克次氏体凝集的抗体不同^[4]。Downs 氏^[5]证实了用感染立克次氏体小白鼠组织所制备的抗原可抑制 ESS 血凝的出现,且考的松可使这种干扰抗原的数量增多。也证明了可用血凝抑制反应测定游离的抗原,而为检出微量的抗原提供了 1 种敏感的方法。

我们的临床应用与观察证明了利用过期的或未过期的疫苗代替卵黄囊抗原而取得 ESS,收到了同样效果。疫苗中提取的 ESS 无论对室温与冰箱都较稳定,特别是在 4—8°C 的冰箱中可保存 4 周以上,使我们有可能 1 次提取后保存冰箱中,随时应用。在没有透析袋的实验室,可以利用玻璃纸包扎后透析。故可能推广作为诊断斑疹伤寒的特异性的常规试验。至于无法获得疫苗或过期疫苗的地区,可以从卫生部生物制品所购买补体结合抗原以提取 ESS。

通过对斑疹伤寒患者的长期观察及对 505 例对照血清的分析,我们认为 ESS 血凝具备有敏感性高、特异性好、及技术设备简单易行的特点。斑疹伤寒患者从患病的早期(5—7 天)即出现高效价的抗体,且迅速升高,根据病情不同,高峯维持在 2—10 周之间,继以急剧下降,在病后第 14 月次仍达 1:100—1:200 之间。结合临床指征可以看出,在疾病进行期间,抗体效价最高,随后下降,未发现有效价回升者。

特别值得注意,其敏感性并不影响反应的特异性,不但阳性反应足以确诊斑疹伤寒,而阴性反应在排除斑疹伤寒的诊断上更有价值,可以免除反复做外斐反应一时难以断定的缺点。此外,ESS 血凝抗体呈稳定的下降,只表现在下降的初期较快与后期缓慢,其间尚未发现有不规则的波动现象。一般 ESS 抗体在两年内渐次消失,三年后的 1 例血清已呈阴性,所维持时间与补体结合反应相似。在我们观察的一些患者血清反应中,外斐反应的波动性较大,如我们所选的患者李××的抗体动态曲线中,于第 4 个月外斐反应抗体又开始上升。也有的患者表现了外斐反应的不规律现象。

在对照组中,仅患者王××呈 1:200 阳性反应,我们进行了复查与追询病历,所得结果如下:(1) 3 次试验,效价均在 1:200,无上升倾向,补体结合亦为阳性 1:40。(2) 虽然目前无斑疹伤寒的指征,但该患者乃来自去年斑疹伤寒的流行区,主诉在流行季节曾持续廿多天发烧、并有头痛、皮疹等症状。因此我们认为此例血清不应该作为假阳性处理,而可能属于病愈之后抗体未完全消失的特异反应。此外,我们亦未发现回忆反应与疫苗

反应的病例,这可能与检查的血清还不够多有关。

Chang 研究指出^[4], ESS 抗原不出现补体结合反应与沉淀反应, ESS 抗体亦与凝集素及 OX₁₉ 抗体不同。用未吸收及吸收血清做补体结合试验,同样证实了 ESS 血凝与补体结合反应不属于同一抗原抗体反应系统。但补体结合抗体与血凝的抗体反应型式颇为近似。

小 结

本文报告了斑疹伤寒 ESS 血凝试验的进一步观察结果,对试验的敏感性与特异性及患者对 ESS 血凝、补体结合及外斐反应的血清学动态作了分析。

参 考 文 献

- [1] 李在连等: 微生物学报, 9:71, 1963。
- [2] 李在连: 微生物学报, 2:85, 1952。
- [3] Chang, Shin-man, Snyder, J. C. and Marry, E. S.: *J. Immunol.*, 70:215, 1953.
- [4] Chang, Shin-man, Marray, E. S. and Snyder, J. C.: *J. Immunol.*, 73:8, 1954.
- [5] Downs, C. M. et al.: *J. Immunol.*, 75:35, 1955.

STUDIES ON THE SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF TYPHUS FEVER

II. FURTHER OBSERVATIONS ON HEMAGGLUTINATION TEST WITH ESS OF TYPHUS *RICKETTSIA*

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

In a previous report, it was found that hemagglutination test with the erythrocyte sensitizing substance of *Rickettsia prowazeki* isolated from the mouse lung vaccine has practical value in clinical serological diagnosis. We have continued this observation for a year on the serological reaction of typhus and other patients.

It was found that the high titre ESS-hemagglutination antibody appeared earlier (from 5th to 7th day after onset) and rose sharply to a high titre in cases of typhus fever, which might last from 2 to 10 weeks. After that, it declined rapidly, and totally disappeared in the course of two years.

The complement fixing antibodies developed a little later in the course of the disease, and its titre was also lower, but as a whole, the reaction curve was similar to that of the above. A positive Weil-Felix reaction with significant diagnostic titre appeared the latest but in some patients it lasted for one year after recovery.

Among 505 sera from non-typhus cases, only one from that of a patient coming from an endemic area showed ESS-hemagglutination to the titre of 1:200, which apparently was a non-specific reaction. Thus ESS-hemagglutination test appears to be of great sensitivity and specificity in the series of cases studied.