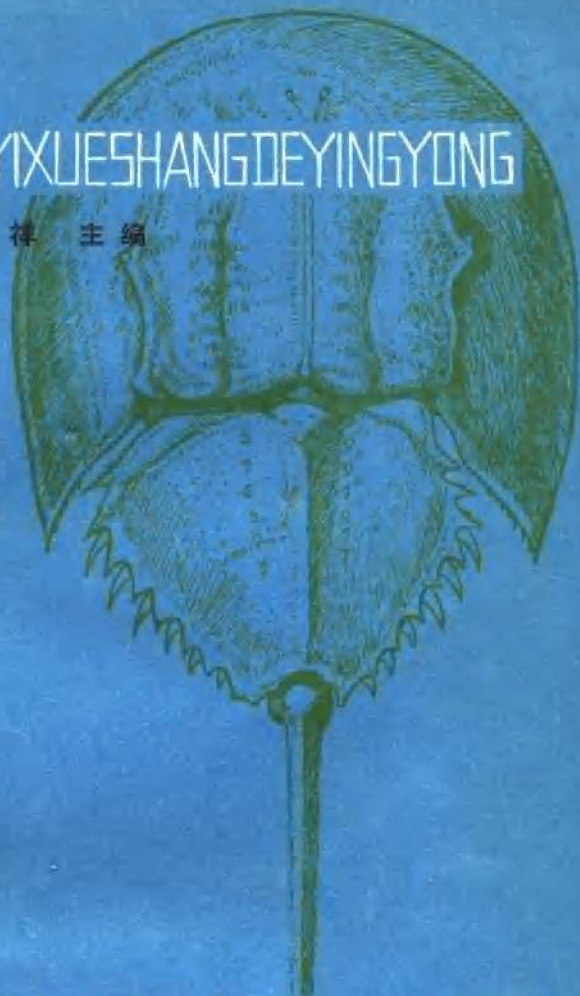


HOUSHIYANZAIYIXUESHANGDEYINGYONG

王季午 何南祥 主编



蟹试验在医学上的应用

浙江科学技术出版社

46.5

鲨试验在医学上的应用

王季午 何南祥 主编

浙江科学技术出版社

责任编辑：励慧珍

封面设计：周盛发

鲨试验在医学上的应用

王季午 何南祥 主编

*

浙江科学技术出版社出版

浙江新华印刷厂印刷

浙江省新华书店发行

开本787×1092 1/32 印张6.75 字数138,000

1983年4月第一版

1983年4月第一次印刷

印数：1—3,000

统一书号：14221·45

定 价：0.72 元

作者名单:

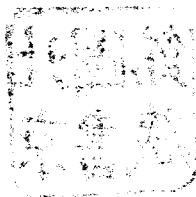
浙江医科大学: 王季午 何南祥 朱圣禾 曲韵芳

刘水渠 林舜华 马 瑶 赵忠良

吴坤荣(绘图)

第二军医大学: 余 庆 刘沪丽

上海第一医学院: 周国英



8

前 言

随着新的抗生素不断发现,许多传染病和感染性疾病得到了控制和治疗。但革兰氏阴性细菌感染的发病率却无明显下降,如弥漫性腹膜炎、化脓性胆管炎、胆道感染、肝脓肿、肾盂肾炎、感染性流产、细菌性痢疾和肺炎等仍属常见,且多伴有内毒素血症。由革兰氏阴性杆菌引起的败血症或菌血症已成为世界医学上的主要问题之一,其所致感染性休克的病死率高达20~40%,尤以绿脓杆菌、变形杆菌所致的病死率最高。近年还报道一些罕见致病的革兰氏阴性杆菌如弯曲杆菌属及肠炎耶氏菌等所引起的败血症或伴内毒素休克。重症病毒性肝炎或晚期血吸虫病肝硬化也常伴发内毒素血症。

长期以来认为内毒素是革兰氏阴性细菌菌血症发病原理和临床表现的一个重要因素。因此,国内外学者都致力于内毒素的研究,包括结构、生物学性质、抗原活性以及检测内毒素的方法等。迄今已知内毒素存在于菌体的细胞壁,只有当菌体自溶或用人工方法使细菌裂解后才释放出来。其主要成分为脂多糖,在动物中引起的反应在革兰氏阴性杆菌败血症病人中都可见到,包括发热、白细胞减少、低血压、休克等。在发生革兰氏阴性细菌感染时,特别是菌血症或败血症,病人血循环中即存在着内毒素血症。注射用的药品如污染了内毒素被输入机体,亦可引起内毒素血症。小剂量内毒

素，能提高机体单核吞噬细胞系统功能，增强机体对内毒素的耐受性，大剂量则可损害机体，以至产生休克。

以往有多种检测内毒素的生物学试验，但都不够灵敏，很少有其临床实用价值。1968年 Levin 与 Bang 发现鲎血变形细胞 (*Amebocyte*) 溶解物可与微量内毒素形成凝胶状物质，说明鲎试验 (*Limulus lysate test*) 阳性与革兰氏阴性细菌内毒素之间有着密切关联。鲎试验的灵敏度很高，能测出皮克 (pg)/ml 的微量内毒素，但该试验不能判断是何种革兰氏阴性菌形成的内毒素，且有少数革兰氏阳性细菌感染亦可呈假阳性反应；此外，鲎试验对病毒性热原及内源性热原则并不灵敏。但鉴于鲎试验方法具有简便、快速，一次可检测多份样品，对革兰氏阴性细菌内毒素高度灵敏，且可作半定量测定等优点，因而仍不失为检测革兰氏阴性细菌内毒素的有效手段。迄今国内外已广泛应用于脑脊液、尿液及血液中内毒素的检测，对前两者的临床应用价值已基本肯定，而对血液检测的评价尚有争议。此外，鲎试验在药品、食品和水质中检测致热原也已广为应用。美国药品食品管理局 (FDA) 批准用鲎试验代替家兔热原试验，以检测医疗器械和部分医用溶液中的热原质。美国药典第20版(1980)在细菌内毒素项内详细介绍了鲎试验。

鲎 (*Limulus*) 为一类栖身于沿海的大型节肢动物，在分类学上属于肢口纲、剑尾目。已知现存的有3属5种，但目前只采到4种，即中国鲎、美洲鲎、马来群岛鲎(马六甲鲎)和东南亚鲎(暹罗鲎)。中国鲎又称东方鲎，俗称马蹄蟹，分布于浙江、福建、广东、广西及台湾省沿海。鲎的血液中含含有极少数蓝蛋白的原蓝细胞 (*Cyanoblast*) 外，约99%为

变形细胞。鲎试验就是利用这种变形细胞溶解物作为试剂，以检测细菌内毒素的一种新的、有效的生物学试验方法。

当前世界上鲎试验的应用范围日趋广泛，有关这方面的内容，在我国仅散见于为数不多的医学文献中。本书编写的目的是介绍鲎试验在医学上应用的进展，以及结合我们的实践体会，介绍鲎试验检测内毒素的方法，供广大卫生科技人员工作中参考。本书主要内容有：鲎细胞溶解物的制备和鉴定，鲎试验的基本原理以及在临床、药物、液体、生物制品和卫生学上的应用等。鉴于鲎试验与内毒素密切相关，本书也以较大篇幅介绍内毒素的生物活性、内毒素免疫以及内毒素血症。在推广使用鲎试验过程中，迫切需要研制并供应灵敏度相对稳定的鲎试剂，确定统一的测试方法，摒除影响鲎试验检测结果的因素，使之在医药学等方面的应用更具价值。

我们希望本书为普及鲎试验在医学上的应用方面能起一点交流和促进作用。由于我们水平所限，如有不妥甚至错误之处，恳请批评指正。

在本书编写过程中，承杭州大学生物系董聿茂教授审阅第一章；浙江医科大学传染病研究所刘克洲助理研究员、杨鸿椿技师提供资料与热情帮助，在此一并致谢。

王季午

1982. 9.

目 录

前 言

第一章 中国鲎	(1)
一、世界鲎的分类和分布	(1)
二、鲎的形态和结构	(4)
三、鲎的活动期	(16)
四、鲎的繁殖与发育	(16)
第二章 鲎试剂的制备和鉴定	(19)
一、鲎试剂的制备	(19)
二、鲎血细胞的体外培养	(28)
三、鲎试剂的鉴定	(33)
四、鲎试剂的保存	(34)
第三章 内毒素和鲎试剂蛋白凝固反应的机理	(38)
一、内毒素和鲎试剂之间蛋白凝固反应的基本原理	(38)
二、参与内毒素和鲎试剂蛋白凝固反应的因子	(39)
三、研究鲎试剂生化性质的实验方法——鲎试剂成分分离和检测方法	(49)
第四章 内毒素的分子结构与毒性作用	(58)
一、内毒素的分子结构与功能	(58)
二、内毒素的生物活性与毒性作用	(69)

第五章 内毒素免疫	(77)
一、内毒素的抗原性	(77)
二、机体对内毒素的免疫应答	(81)
三、内毒素对免疫系统的作用	(85)
四、机体的抗内毒素免疫	(92)
五、内毒素在防治革兰氏阴性菌感染中的应用	(95)
第六章 内毒素血症	(99)
一、内毒素血症的含义	(99)
二、内毒素血症的诱因	(100)
三、内毒素血症的病理生理学表现	(105)
四、临床表现	(110)
五、治疗	(113)
六、预后	(116)
七、预防	(117)
第七章 鲎试验方法	(118)
一、试管法	(118)
二、比浊法	(123)
三、比色法	(124)
四、微量玻片染色法	(126)
五、干固法	(128)
六、毛细管法	(129)
七、小珠鲎试验法	(130)
八、发色基质法(产色底物法)	(131)
九、荧光测定法	(139)
十、放射性碘标记凝固蛋白原的鲎试验法	(142)

第八章 鲎试验在临床诊断上的应用	(147)
一、鲎试验用于革兰氏阴性细菌败血症和内毒素血症的检测	(148)
二、鲎试验用于革兰氏阴性细菌脑膜炎的诊断	(157)
三、鲎试验用于尿路感染的诊断	(162)
第九章 鲎试验在检测药物制品热原方面的应用	
.....	(169)
一、概述	(169)
二、鲎试验方法和结果判断	(171)
三、应用和评价	(173)
第十章 鲎试验在卫生学中的应用	(181)
一、鲎试验用于水质卫生检查	(181)
二、鲎试验用于食品卫生的监测	(183)
第十一章 鲎凝集素的特性和生物活性	(188)
一、鲎凝集素的一般特性	(188)
二、鲎凝集素的分离和化学特性	(189)
三、鲎凝集素的生物活性	(192)
第十二章 内毒素对非脊椎动物血液凝固的影响	
.....	(194)
一、鲎	(194)
二、蟹奴	(195)
三、美洲蟹祖	(196)
四、大沼虾及其他非脊椎动物	(196)
参考文献	(197)

第一章 中 国 鲎

中国鲎又名东方鲎鱼、三刺鲎，俗称马蹄蟹，是鲎的一种。鲎是一类古老的动物，隶属节肢动物门 (*Arthropoda*) 有螯肢亚门 (*Chelicerata*) 肢口纲 (*Merostomata*) 剑尾目 (*Xiphosura*)。本目动物均为海产，远在中生代的泥盆纪即已出现，并且繁盛一时，现在大多数种类已灭绝。现代的中国鲎在近四亿年的漫长过程中，其形体基本无变化，故称为“活化石”。

一、世界鲎的分类和分布

鲎在世界上现存 3 属 5 种。仅分布于北美、中美和东南亚沿海一带。

(一) 美洲鲎 (*Limulus Polyphemus Linne*) 产于北美东海岸。

1. 特征：腹甲的后角延长，后刺在后方变得短，尾剑呈三棱状，稍短。第一胸肢形成钩角，其作用如颚。第六对胸肢的第四节的末端内缘具有一个可活动的刺。

2. 栖息地：北自近加拿大的梅茵州的沿岸(波士顿附近，伍兹侯耳，德拉韦湾)。南面经过墨西哥湾的尤卡坦半岛的广大海岸线。分布很广(图 1—1)。

(二) 中国鲎 (*Tachypleus tridentatus Leach*) 产于

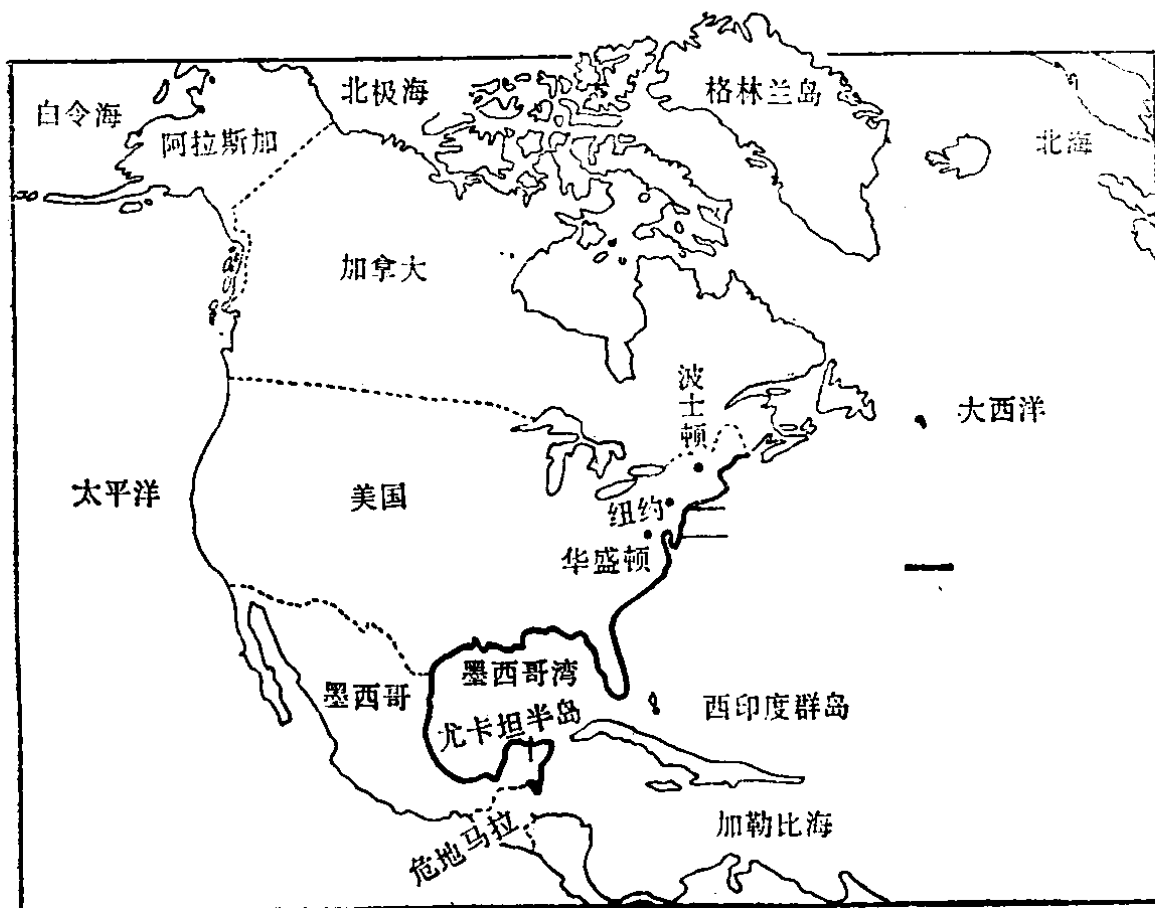


图 1—1 美洲鲨的栖息区域

中国南部沿海（福建、广东、浙江沿海）和日本。

1.特征：腹甲的后角较长。缘刺大致等长。雄性头胸甲的前缘左右凹入。雌性腹甲的后端有 3 个刺。生殖盾的内叶端节连合为一块。

2.栖息地：中国南部沿海（福建、广东、浙江、台湾）、北部湾、日本的濑户内海一带、北九州和长崎。

（三）马来群岛鲨（马六甲鲨 *Tachypleus gigas* Müller）产于南洋。

1.特征：腹甲的后角延长得不大，缘刺大致等长。腹甲的后端只有一个刺，生殖盾的内叶端节左右连合为一块。

2.栖息地：马六甲、东印度沿岸、马来西亚。

(四) *Tachypleus hoeveni* (Pocock) 产于南洋。

1.特征：雌雄头胸甲的前缘左右都呈现一样的弧形。腹甲的后端只有1个刺。生殖厓的内叶末节左右连合为一，上下重迭愈合。

2.栖息地：马来半岛。

(五) 东南亚鲎(*暹罗鲎*, *Carcinoscorpius rotundicauda*, Latreille) 产于南洋。

1.特征：在最后的第六对胸肢的第四节末端内缘具有可动刺。尾剑长，呈圆柱状。腹甲的缘刺雌雄都短。第二、三对最长。在雄性，向后逐渐变短；在雌性则急剧变短。厓的内叶左右连合为一。雄性的胸肢的顶端呈完全钳状。双指同

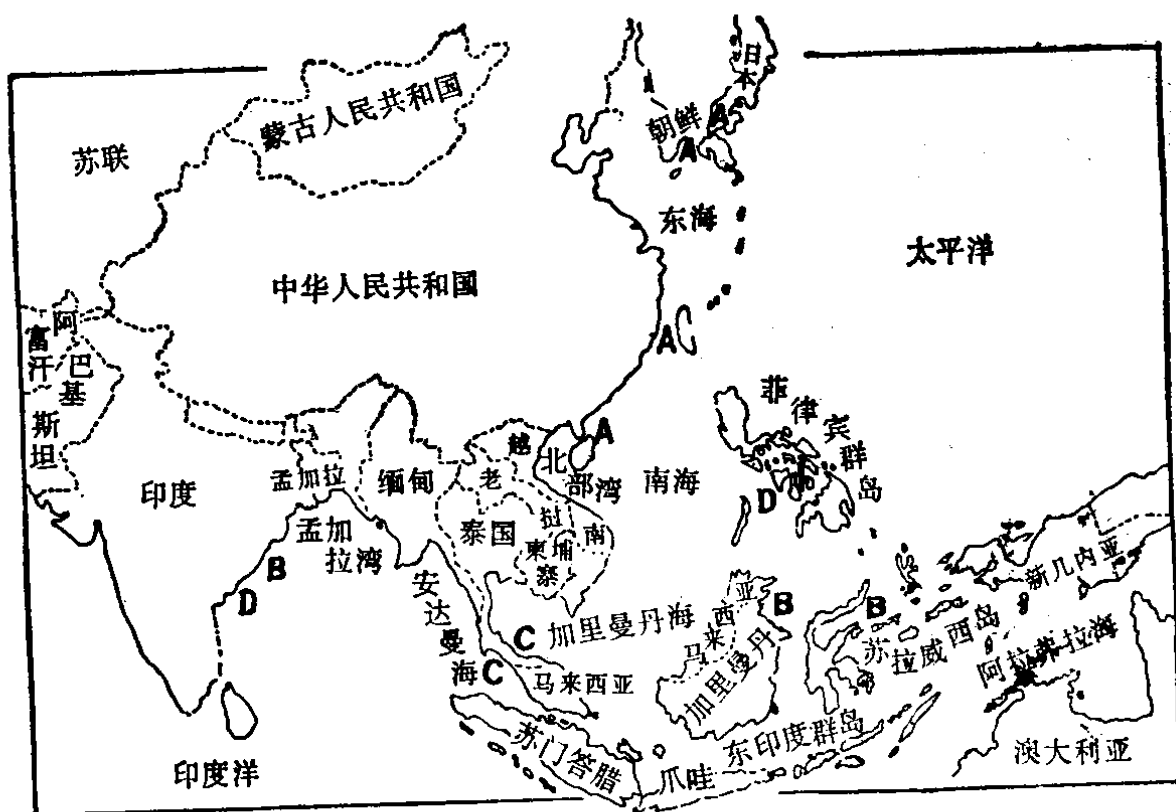


图 1—2 鲎在东南亚沿海的栖息区示意图

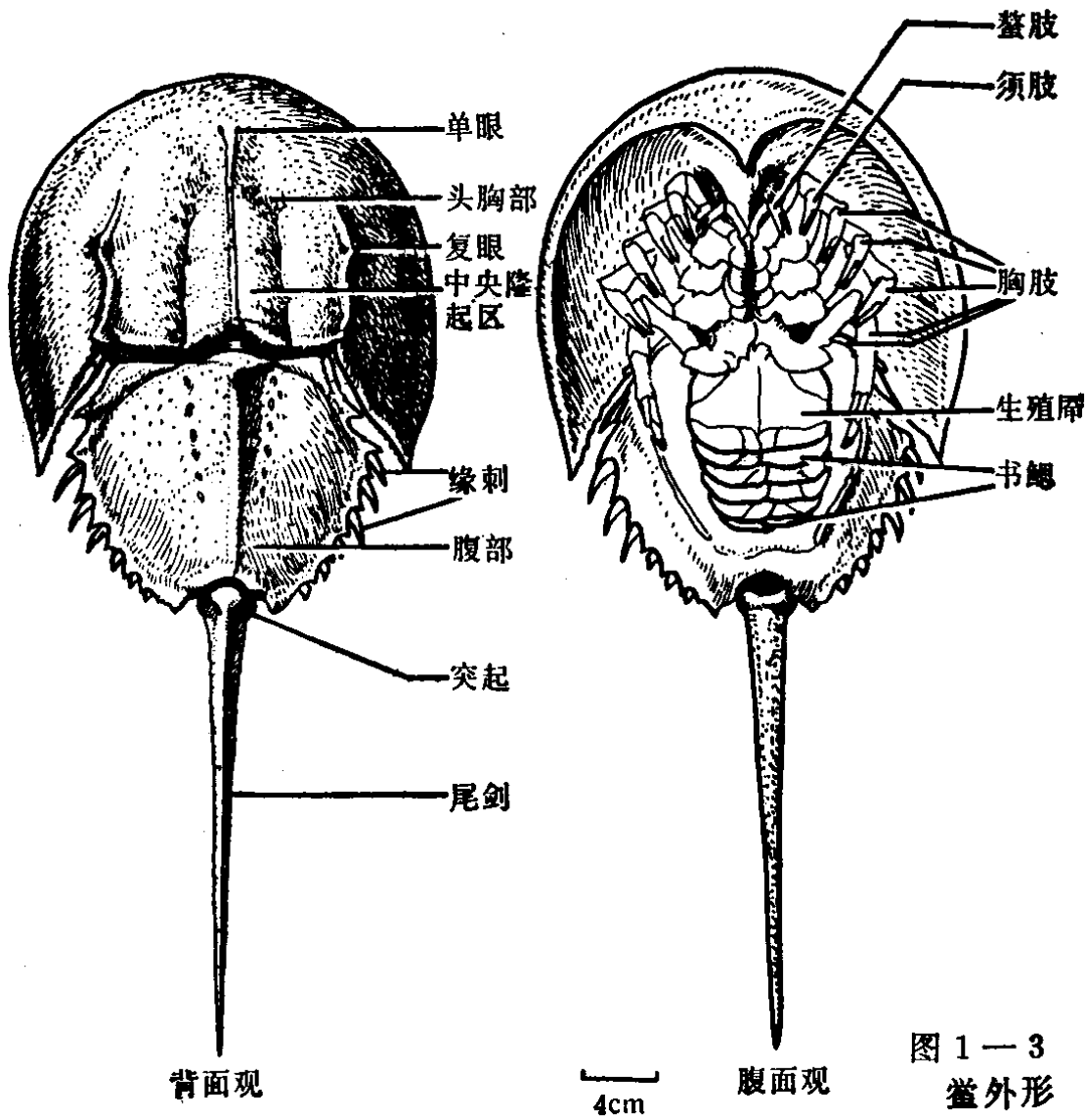
A、中国鲎 B、马来群岛鲎 C、*T. hoeveni* D、东南亚鲎

样细长。

2. 栖息地：东印度、马来西亚、越南、菲律宾群岛（图 1—2）。

二、鲎的形态和结构

（一）外形 鲎的身体上面覆盖坚硬的厚甲，体形似瓢，体色棕褐。体分头胸、腹及尾剑三部分。各部分皆以关节相连。身体很大，头胸部和腹部约为30厘米左右，尾剑为30厘米左右，合计体长可达60厘米左右（图 1—3）。



1. 头胸部 (*Cephalothorax*): 又称前躯 (*prosoma*), 头胸部呈马蹄形, 背面隆起, 腹面凹陷。腹面有七对胸肢。第一对很短, 分 3 节, 为螯肢, 称为钩角 (*Chelicera*), 其作用如颚。第二对长、大, 由 6 节组成, 称为须肢(脚须, *pedipalp*), 幼体末 2 节钳状。成体雌雄异形, 雌者末 2 节仍为螯状, 而雄者须肢的末端却变为弯钩状, 交尾时借以抱持雌体; 其余 4 对为胸肢, 位于口的两侧, 基节常有倒刺, 可以嚼碎食物, 故称颚肢。4 对胸肢的前 3 对末 2 节亦呈钳状, 而第六对胸肢末端具有复杂的构造, 适于在沙土内掘出深洞并适于在沙土上爬行。第七胸肢仅有 1 节, 比第一胸肢还短, 其功能不明 (图 1—4)。

头胸甲的侧面有一对复眼, 沿背部中线前缘之后有一对单眼。在头胸甲还有一对 4 叶的基节腺 (*coxal gland*), 用以排泄。

2. 腹部 (*abdomen*): 又称后躯 (*opisthosoma*), 略似六角形, 两侧有可活动的倒刺。腹部下面的凹处有 6 对板状腹肢, 彼此重迭并左右相接于腹中线。第一对左右愈合成扁平叶状体, 盖住生殖孔, 故又称生殖盾 (*genital operculum*)。其余 5 对板状腹肢的外肢节内侧都有 150~200 页薄片状的书鳃 (页鳃, 叶鳃, *book-gill*), 其内有血管网, 可进行气体交换。故腹肢既司呼吸又司游泳。

3. 尾剑 (*telson*): 尾剑是身体后端的一根尖而长的尾状刺, 似剑, 三棱状, 其横切面为三角形。尾剑向后逐渐变细, 前端尖锐。尾剑四周有很多细刺。特别是背棱的刺断断续续很显著。尾剑的长大致等于头胸部和腹部的总长, 能自由转动, 当腹面朝上, 背面贴地时, 常用此尾使身体翻转过

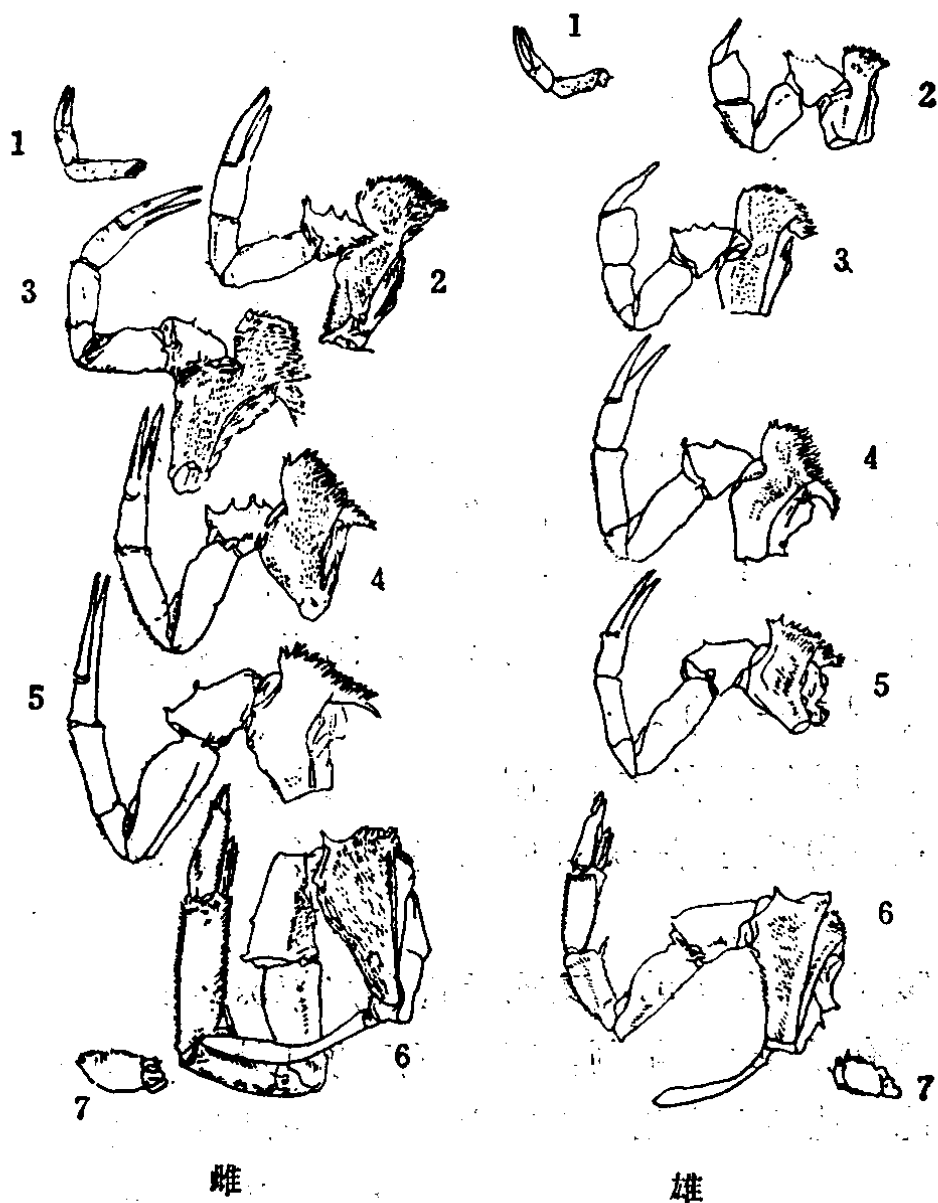


图 1—4 鲨的胸肢

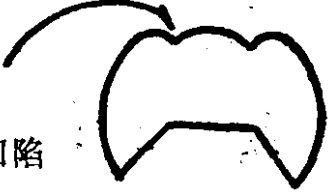
来。雌鲨与雄鲨的尾剑不同，雄鲨的尾剑笔直延伸，而雌鲨的尾剑的尖端部呈针或箭翎样上翘。

4.雌雄成体外形的区别见图 1—5 和表 1—1。

5.中国鲨与其他鲨的比较：世界鲨可分为 5 种，但目前只采到 4 种，即中国鲨、美洲鲨、马来群岛鲨（马六甲鲨）和东南亚鲨（暹罗鲨）。

（1）从形态特征上比较：中国鲨与美洲鲨属大型。而

表1—1 雌雄成体外形区别表

	雌	雄
大小（同年龄）	大	小
头胸甲的前缘	圆形 	凹陷 
第2、3胸肢之爪	钳	尖锐的1只钩爪
腹甲侧刺	第4、5、6对脱落	6对全部存在
位于头胸部腹面前端的正中线的刺一根	尖锐，长突出	短，向下方不突出
生殖厓的生殖孔	大，为排卵孔	小，为排精孔

马来群岛鲨和东南亚鲨属小型。中国鲨的背甲与尾剑的长度大致相等；美洲鲨的背甲几乎是其尾剑的一倍；而南洋鲨（马来群岛鲨和东南亚鲨）的背甲明显短于其尾剑（见图1—6）。

从图1—7来看，四种鲨中，雌鲨与雄鲨的尾剑的横切面和生殖厓，其形态均相同。而其他如背甲，中国鲨雄性的则隆起得很厉害，突起和刺多，前缘左右两个凹陷也很明显。而美洲雄鲨的背甲却无突起和刺，全体平滑。前缘凹陷也不清楚。南洋雄鲨的背甲均较扁平。

四种鲨的雄鲨的第二对胸肢、第三对胸肢和雌鲨的腹甲上的缘刺皆因与交配行为有关而存在着差异。中国鲨的雌性