

韓國人の 健康人 및 泄瀉患者의 Shigella 抗體價*

全南大學校 醫科大學 細菌學教室

河 大 有 · 鄭 善 植

=Abstract=

Shigella Antibody Titers in Korean with or Without Diarrhea

Tai-You Ha, M. D., and Sun-Sik Chung, M. D.

Dept. of Bacteriology Chonnam University Medical School.

Shigella antibodies in 50 sera from healthy persons and 110 sera from patients with diarrhea were tested using microdetermination of the indirect bacterial hemagglutination with the polyvalent antigen, and the following results were obtained.

A survey of sera collected from healthy persons revealed that 4% had positive titers, 1:64 or above, to Shig. flexneri, Shig. dysenteriae, and Shig. boydii, respectively, whereas all subjects were negative for Shig. sonnei, less than 1:64. Namely, 6 cases among the 50 subjects were positive.

Among the patients with diarrhea, positive antibody titers were demonstrated in 29.9% against Shig. flexneri, 11.9% against Shig. boydii, 7.2% against Shig. dysenteriae, and 6.4% against Shig. sonnei, respectively. Therfore, the total positive cases were 55.4% among 110 subjects.

No correlation between Shigella and Salmonella antibody titers among patients with diarrhea was found.

腸內細菌性疾患인 Shigellosis는 Salmonella 疾患과 함께 우리나라에 流行 또는 散發의 으로 蔓延하는 疾患으로 잘 알려져 있으며, 장티브스 및 Salmonellosis에 關하여는 血清學的 및 疫學的인 研究報告가 比較的 많으나 Shigellosis에 關하여는 稀少하며 특히 우리나라의 Shigella의 抗體價에 對한 報告는 찾아 볼수없다.

더욱이 Salmonella의 疫學的研究 및 臨床診斷에 血清學的方法이 널리 利用되고 있지만 Shigella의 境遇, 거의 度外視하는 傾向이 있는데, Neter等¹⁾, Neter²⁾ 및 Gotoff等³⁾은 Shigella 感染患者에서 原因菌이 分離培養되지 않은 例가 許多하다면서 血清學的方法을 補助의 으로 利用할것을 提示한바 있다.

Middlebrook等⁴⁾ 및 Keogh等⁵⁾이 細菌凝集反應보다 銳敏하고 特異性이 높은 間接血球凝集反應法을 報告한 以來 Haultalin等⁶⁾, Sever⁷⁾, Lee等⁸⁾ 및 許⁹⁾等은 簡便迅速하고 銳敏度와 特異性이 優秀하며 少量의 檢査材料로서도 實施할수있는 "Microtechnique"法을 考案, 抗原과 抗體研究에 應用하였으며, Neter¹⁾等 Haultalin等⁶⁾은 多價抗原을 使用하여 Shigella 抗體價檢索을 實施하였다.

또한 赤血球凝集反應을 實施하는데 必要한 赤血球의 formalin 處理에 依한 血球의 安定化, 粘着性除去, 抗原吸着能에 關하여 여러 研究者⁹⁻¹⁴⁾ 등이 報告한바 있다.

著者들은 多價抗原을 感作시킨 formalin 處理赤血球를 使用하여 "Microtechnique"法에 依해 Shigella 및 Salmonella의 抗體價를 調査하고 Shigella群間의 抗體價 및 Shigella와 Salmonella 抗體價間의 相互關係를 檢討한바 있어 그 結果를 報告한다.

*本論文의 要旨은 1968年 4月 24日 大韓微生物學會春 季學術大會에서 發表하였음.

實驗材料 및 方法

檢査對象 : 健康한 本校醫科大學 및 看護學校學生 그리고 陸軍將兵 50名과 本校大學病院 消化器內科 및 77陸軍病院 內科에서 取扱된 泄瀉患者 110名을 對象으로 하였다.

多價抗原 : NCDC의 Dr. Ewing으로부터 分讓받아 本教室에서 每月 繼代培養하여 保管하고 있는 Shigella flexneri 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 4a, 4b, 5, 6, X 및 Y 등 12株, Shigella dysenteriae 1~7等 7株, Shigella boydii 1~7等 7株, Shigella sonnei 1等 1株 및 Salmonella O₉:₁을 各各 普通平板寒天培地에 24時間培養後 集菌하여 食鹽水에 20mg/ml의 도록 浮游하여 各菌株의 浮游液을 同量씩 混合한後 食鹽水로 3回遠心洗滌하고, 100°C에 1時間加熱하여 約 3000rpm로 30分 遠沈한 上清液을 各群의 抗原으로 供試하였다.

赤血球 : 3人에서 採取한 O型 赤血球를 混合하여 食鹽水로 3回遠心洗滌하여 packed RBC를 2.5%의 도록 食鹽水에 浮游하였다.

赤血球의 formalin處理 : 2.5%赤血球浮游液에 formalin(USP)이 6%의 도록 混合하여 37°C에 20時間處理한 다음 0.9% 食鹽水를 原量의 3倍量을 加하여 3回遠心洗滌하여, 다시 食鹽水로 2.5%赤血球浮游液을 만들었다.

抗原感作 : Chun等¹³⁾의 方法에 準하였다. 即 抗原과 formalin 處理赤血球浮游液을 同量混合하여 37°C에 2時間振盪하면서 感作시킨 다음 遠沈하여 얻은 赤血球를 食鹽水로 3回洗滌한後 原量의 媒液에 浮游시켜 使用하였으며 數個月 4°C에 保管해도 安定하였다.

Microtiter hemagglutination technique 및 成績判定 : Wasserman試驗管에 血清을 倍數稀釋하여 原血清 및 各稀釋血清을 10Wells가 있는 Boerner slide microscope (57×

Table 1. Shigella hemagglutinin titers in normal personnel.

Antibody Antigen*	Hemagglutinin titers (reciprocals)									No. of sera
	0	2	4	8	16	32	64	128	156	
Shig. dysenteriae	26(52)**	14(28)	3(6)	1(2)	2(4)	2(4)	2(4)	.	.	50
Shig. flexneri	27(54)	12(24)	4(8)	2(4)	1(2)	2(4)	1(2)	1(2)	.	50
Shig. boydii	30(60)	8(16)	4(8)	2(4)	3(6)	1(2)	2(4)	.	.	50
Shig. sonnei	33(66)	12(24)	1(2)	1(2)	2(4)	1(2)	.	.	.	50

* Formalin-treated human r. b. c. coated with Shigella extract.

** Number in parentheses indicates per cent.

Table 2. Shigella hemagglutinin titers in patients with diarrhea

Antibody Antigen*	Hemagglutinin titers (reciprocals)										No. of sera
	0	2	4	8	16	32	64	128	250	512	
Shig. dysenteriae	39	44	13	2	3	0	5	2	0	2**	110
Per cent	35.5	40.0	11.8	1.8	2.7	0	4.6	1.8	0	1.8	100.0
Shig. flexneri	10	5	9	13	20	20	23	8	2	0	110
Per cent	9.1	4.6	8.2	11.8	18.2	18.2	20.9	7.2	1.8	0	100.0
Shig. boydii	28	25	15	12	14	3	6	7	0	0	110
Per cent	25.4	22.7	15.7	10.9	12.7	2.7	5.5	6.4	0	0	100.0
Shig. sonnei	51	28	9	1	4	10	5	0	0	2	110
Per cent	46.4	25.4	8.2	0.9	3.6	9.1	4.6	0	0	1.8	100.0

* Formalin-treated human R. B. C. coated with Shigella extract.

** The organism was isolated from one of two cases.

108mm, Arthur S Lapine & Co.)의 Well에 0.2ml pipette 로 0.1ml씩 加하고 다시 抗原 1滴(0.05ml)를 加해서 잘 混合한다음 증발을 防止하기 爲해 硝子板으로 덮고 37°C 에 10~20分 放置하여 Well의 Central bottom의 狀態 및 凝集塊의 크기에 따라서 反應結果를 決定하였으며, 結果 判定이 어려울때는 弱擴大鏡下에서 判定하였다. 그리고 抗體價는 抗原液에 依한 稀釋은 無視하고 當初의 食鹽 水에 依한 血清의 稀釋度로 抗體價도 決定하였다.

實驗成績

健康人의 Shigella抗體價: 健康人의 抗體價檢査結果는 第1表와 같다. 被檢血清 50例中 Shig. dysenteriae에 對한 抗體價는 26例 (52%)가 零이며, 22例 (44%)가 2~

32倍이고 나머지 2例(4%)가 64倍이었다. Shig. flexneri 에 對한 抗體價는 27例(54%)가 零이며, 21例(42%)가 2~32倍이고 各各 1例(2%)가 64 및 128倍이었다. Shig. boydii에 對한 抗體價는 30例(60%)가 零이며 18例(31%)가 2~32倍이고 나머지 2例(4%)가 64倍이었다. Shig. sonnei에 對한 抗體價는 33例(66%)가 零이었으며, 17例 (44%)가 2~32倍이고 64倍 또는 그 以上은 없었다.

泄瀉患者의 Shigella抗體價: 泄瀉患者에 對한 抗體價를 檢査하여 第2表와 같은 結果를 얻었다. 即 Shig. flexneri에 對한 抗體價는 10例(9.1%)가 零이고, 67例 (39%)가 2~32倍이었으며, 33例(29.9%)가 64倍 또는 그 以上이었다. Shig. boydii에 對한 抗體價는 28例(25.4%)가 零이었으며 69例(62.7%)가 2~32倍이고, 13例

Table 3. Significant Shigella antibody titers.

Antigen	Titer		
	1:64	1:128 or more	1:64 or more
Normal			
Shig. dysenteriae	2(4)	.	2(4)
Shig. flexneri	1(2)	1(2)	2(4) 6(12)
Shig. boydii	2(4)	.	2(4)
Shig. sonnei	.	.	.
Patients with diarrhea			
Shig. dysenteriae	5(4.6)	4(3.6)	9(7.2)
Shig. flexneri	23(20.9)	10(9.0) 21(19)	33(29.9) 62(55.4)
Shig. boydii	6(5.5)	7(6.4)	13(11.9)
Shig. sonnei	5(4.6)	2(1.8)	7(6.4)

* Number in parentheses indicates per cent.

Table 4. Salmonella (9,12) hemagglutinin titers in patients with diarrhea.

Antigen	Hemagglutinin titers (reciprocals)						No. of sera
	32	64	128	256	512	1024	
Human R. B. C. coated with H901 extract	14	29	46	18	3	0	110
Per cent	12.7	26.4	41.8	16.4	2.7	0	100.0

(11.9%)가 64倍 또는 그 以上이었다. Shig. sonnei에 對한 抗體價는 51例(46.4%)가 零이며, 52例(47.2%)가 2~32倍이었으며, 9例(8.2%)가 64倍 또는 그 以上이었다.

泄瀉患者의 Salmonella O(9,12)抗體價: Salmonella의 抗體價는 後記할 Shigella抗體價와 相互關係를 檢査하고자 하는 것이었기 때문에 正常人의 抗體價는 檢査치 않았으며 泄瀉患者의 抗體價만을 測定하였는데, 그 結果

Table 5. The correlation between Shigella flexneri and Salmonella O(9,12) hemagglutinin titers in patients with diarrhea

	Salmonella typhi hemagglutinin titer	Shigella hemagglutinin titers									No. of sera
		0	2	4	8	16	32	64	128	256	
	32	3(21.4)	1(7.1)	1(7.1)	2(14.3)	4(28.6)	3(21.4)	0	0	0	14(12.7)
	64	4(13.8)	2(6.9)	3(10.3)	4(13.8)	6(20.7)	4(13.8)	3(10.3)	2(6.9)	1(3.5)	29(26.4)
	128	1(2.2)	1(2.2)	3(6.5)	5(10.9)	7(15.2)	11(23.9)	12(26.1)	5(10.9)	1(2.2)	46(41.8)
	256	1(5.6)	1(5.6)	2(11.1)	2(11.1)	2(11.1)	2(11.1)	7(38.9)	1(5.6)	0	18(16.4)
	512	1(33.3)	0	0	0	1(33.3)	0	1(33.3)	0	0	3(2.7)
No. of sera		10(9.1)	5(4.5)	9(3.2)	13(11.8)	20(18.2)	20(18.2)	23(20.9)	8(7.3)	2(1.8)	110

Note: Number in parenthesis indicates per cent. Titers are expressed as the reciprocals of serum dilution.

Table 6.

The correlation between *Shigella flexneri* and *Shigella dysenteriae* hemagglutinin titers in patients with diarrhea

		Shigella flexneri hemagglutinin titer									No. of sera
		0	2	4	8	16	32	64	128	256	
Shig. dysenteriae hemagglutinin titers	0	8(20.5)	5(12.8)	5(12.8)	5(12.8)	4(10.8)	7(17.9)	4(10.3)	0	1(2.6)	39(35.5)
	2	2(4.5)	0	2(4.5)	7(15.9)	9(20.5)	4(9.1)	16(36.4)	4(9.1)	0	44(40.0)
	4	0	0	0	0	4(30.8)	4(30.8)	2(15.4)	3(23.1)	0	13(11.8)
	8	0	0	0	0	0	1(50)	0	1(50)	0	2(1.8)
	16	0	0	1(33.3)	0	0	1(33.3)	0	0	1(33.3)	3(2.7)
	32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	64	0	0	1(20)	2(40)	2(40)	0	0	0	0	5(4.5)
	128	0	0	0	0	1(50)	0	1(50)	0	0	2(1.8)
	256	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	512	0	0	0	1(50)	0	1(50)	0	0	0	2(1.8)
No. of sera		10(9.1)	5(4.5)	9(8.2)	13(11.8)	20(18.2)	20(18.2)	23(20.9)	8(7.3)	2(1.8)	110

Notes: Number in parenthesis indicates per cent. Titers are expressed as the reciprocals of serum dilution.

는 第4表와 같으며 21例(19.1%)가 256배 또는 그 이상이었으며, 89例(80.9%)가 128배 또는 그 이상이었다.

Shigella와 Salmonella抗體價의 關係: Shigella抗體價와 Salmonella抗體價間의 相互關係를 比較하고자 抗體價가 높은 Shig. flexneri와 Salmonella O(9,12) 抗體價를 比較해 봤는데 第5表와 같이 11例(23.9%)에서 Shigella抗體價가 32배, Salmonella抗體價는 128배이었으며, 12例(26.1%)에서 Shigella抗體價가 64배이고 Salmonella抗體價는 128배이었으며, Shigella抗體價가 零인 例에서도 Salmonella抗體價가 256배 또는 512배인 例가 있어서 Shigella와 Salmonella抗體價間에는 職關性이 없음을 알 수 있었다.

Shigella群에 있어서의 抗體價의 關係: Shigella群間의 抗體價의 關係를 알고져 Shig. dysenteriae와 Shig. flexneri間의 抗體價의 關係를 比較해본 結果 第6表와 같이 Shig. dysenteriae抗體價가 零인 例에 있어서도 Shig. flexneri의 그것은 32倍以上이 12例(30.8%)이어서 Shigella의 各群間에 있어서의 抗體價는 어떤 聯關性이 없음을 알 수 있었다.

考 按

Neter等¹⁾, Neter²⁾, Gotoff等³⁾, Haltalin等⁶⁾, Lee等⁸⁾, Chun等¹³⁾, Havlik等¹⁴⁾ 및 Young等¹⁷⁾은 Shigella의 抗原과 抗體의 研究 및 疫學의 研究에 間接赤血球凝集反應을 利用하였으며 Neter等¹⁾, Neter²⁾, Haltalin等⁶⁾ 및 Havlik等¹⁴⁾은 Shigellosis의 診斷, 特別 이미 排菌치 않아 分離培養이 不可能한 患者의 診斷에 血清學的方法을 利用할 것을 提案하였다.

Haltalin等⁶⁾은 單價 및 多價抗原으로 急性 및 回復患者의 Shigella赤血球凝集素를 Microtiter determination하여 抗體가 64배 또는 그 이상이면 Shigella感染을 意味한다고 主張하였으며, Havlik等¹⁴⁾은 抗體價가 50배이면 暗示的이고 100倍以上이면 陽性이라고 報告하였는데, 本實驗 結果를 보면 第3表에서와 같이 正常人에 있어서 Shigella抗體價는 Shig. sonnei를 除外하고는 Shig. dysenteriae, Shig. flexneri, 및 Shig. boydii에 있어서 各各 2例 即 總 6例(12%)가 有意한 抗體價를 나타냈는데, 이 結果는 1959年 美國 Buffalo에서 Shig. sonnei에 起因한 dysentery가 流行했을 때 泄瀉하지 않은 사람의 73%에서 不顯性 感染患者를 診斷할 수 있었으며 細菌培養陰性患者 63名中 約 60%에서 有意한 抗體價를 보았다는 Neter等²⁾의 疾病流行地域의 健康人 819名의 Shig. flexneri 抗體價가 37%에서 128배이었다는 Young等¹⁷⁾의 結果에 比하면 低率이었는 데 우리나라에 Shigellosis가 不斷히 蔓延하고 있다고 알려져 있는 點을 考慮하면 興味있었다.

泄瀉患者에 對한 有意한 抗體價(64배 또는 그 이상)는 第3表에서 보는바와 같이 Shig. flexneri 33例(29.9%), Shig. boydii 13例(11.9%), Shig. dysenteriae 9例(7.2%) 및 Shig. sonnei 7例(6.4%)로써 總 62例(55.4%)이었으며 Shig. flexneri, Shig. boydii, Shig. dysenteriae, Shig. sonnei 順으로 높았는데 本結果를 1952~1953年の 우리나라에 있어서의 Shigella分離率, Shig. flexneri 91%, Shig. dysenteriae 6.4%, Shig. sonnei 2.3% 및 Shig. boydii 0.5%란 全¹⁹⁾의 報告 및 1961~1963年の 大邱地方에 있어서의 分離率, Shig. flexneri 80%, Shig. dysenteriae 5.8%, Shig. boydii 5.1% 및 Shig. sonnei 4.3%란 安等²⁰⁾의 報告와 比較檢討하면 分離率

높은 Shig. flexneri에 대한 항체價가亦是 높음을 엿볼 수 있었다. 또한 本實驗結果 泄瀉患者血清 110例中 62例(55.4%)가 有意한 抗體價를 나타내어 Neter等⁹⁾의 泄瀉患者 127名을 對象으로한 成績 73%에 比하면 低率이었다.

그리고 泄瀉小兒患者 127名中 73%가 有意한 抗體를 保有하고, 中 86%에서 培養陽性이었으나, 反對로 泄瀉을 하지 않은 小兒 45名中 73%는 抗體價測定으로 Shigellosis를 診斷할 수 있었지만 42%만이 細菌培養陽性이었으며 더군다나 細菌培養陰性患者 63名中 60%에서 血清學的 診斷을 할 수 있었다는 Neter等¹⁰⁾의 報告, 및 顯性 또는 不顯性感染이 있던 地域에서는 抗體價가 높았다는 Young等¹⁷⁾의 報告 그리고 正常人에 있어서보다 泄瀉患者에 있어서 抗體價가 높은 著者의 本實驗結果로 미루워 簡便迅速한 血清學的方法을 Shigellosis의 診斷 및 疫學的 調査에 적어도 補助的으로 利用할 수 있음을 알 수 있었으며 Shigella各群間 및 Shigella와 Salmonella 抗體價間에 密接한 聯關性이 없다는點은 더욱 Shigellosis의 診斷 및 疫學的 調査에 血清學的方法의 利用度를 높여 주는 結果인 것으로 思料되었다.

結 論

1967年 4月부터 9月까지 健康人 50名, 泄瀉患者 110名을 對象으로 Shigella 및 Salmonella 抗體價를 多價抗原을 使用하여 簡易赤血球凝集反應에 依하여 測定하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1) 健康人血清 50例中 Shigella에 對한 有意한 抗體價는 Shig. dysenteriae, Shig. flexneri, 및 Shig. boydii에서 各各 2例로서 總 6例(12%)이었으며, Shig. sonnei에 對한 그것은 全然 없었다.

2) 泄瀉患者에 있어서의 Shigella 抗體價는 Shig. flexneri (29.9%), Shig. boydii (11.9%), Shig. dysenteriae (7.2%), Shig. sonnei (6.4%)의 順으로 有意한 抗體價가 높았으며 總 62例(55.4%)가 有意한 抗體價를 保有하고 있었다.

3) Shigella와 Salmonella의 抗體價間에는 聯關性이 없었다.

References

- 1). Neter, E. Westphal, O., Luderitz, O. and Gorzynski, E. A. 1956. : *The bacterial hemagglutination test for the demonstration of antibodies to Eaterobacteriaceae.* Ann. N.Y. Acad. Sci., 66:141-143.
- 2). Neter, E. 1962. : *Epidemiologic and immunologic studies of Shigella sonnei dysentery.* Amer. J. Public Health. 52:61-67
- 3). Gotoff, S. P., Lepper, M. H., and Fielder, M. A. 1963: *Antibody response as an adjunct in the inves-*

- igation of an outbreak of Shigellosis. Am. J. Hyg. 78:261-266.
- 4). Middlebrook, G., and Dubos, R. J. 1948. : *Specific serum agglutination of erythrocytes sensitized with extracts of tubercle bacilli.* J. Exp. Med. 88:528
- 5). Keogh, E. A., North, F. A. and Warburton, M. F. : 1948. *Adsorption of bacterial polysaccharide to erythrocytes.* Nature. 191:687-688
- 6). Haltain, K. C., Matteck, B. M. and Nelson, J. D. 1966. : *Microdetermination of Shigella hemagglutinin in human and rabbit sera with monovalent and polyvalent antigens.* J. Immunol., 97:517-524,
- 7). Severe, J. L. 1962: *Application of a microtechnique to viral serological investigations.* J. Immunol., 88:320-329
- 8). Lee, M. R., Lkari, N. S. and Branche, W. D. Jr. 1966: *Microtiter bacterial hemagglutination technique for detection of Shigella antibodies.* J. Bacteriol. 91:463
- 9). 許東燮 1966. : 赤血球의 安定化 및 簡易赤血球凝集反應에 關한 研究. 現代醫學. 5:325-337
- 10). Flick, J. A. 1948. : *Use of formalin-treated red cells for the study of influenza A virus hemagglutinating activity.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 68:448-450
- 11). McKenna, J. M. 1957. : *A stable preparation of antigensensitized erythrocytes.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 95:591-593
- 12). Ingraham, J. S. 1958. : *The preparation and use of formalinized erythrocytes with attached antigens of haptens to titrate antibodies.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 99:452-456
- 13). Czizmas, L. 1960. : *Preparation of formalinized erythrocytes.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 103:157-160
- 14). Park, H. K. 1961. : *Toxoplasma hemagglutination test using alcohol-formalin fixed sensitized lyophilized erythrocytes.* Arch. Ophthalmol., 65:184-191
- 15). Chun D. and Park, B. 1956. : *Demonstration of Shigella flexneri antigens by means of hemagglutination test.* J. Inf. Dis., 98:82-87
- 16). Havlik, J., Kott, B. and Potuznik, V. J. 1959. : *J. Clin. Pathol.*, 12:440, (Cited from J. Immunol. 97: 571-524, 1966)
- 17). Young, V. M., Lee, M. R., Branche, W. C. Jr., and Kenton, D. M. 1967. : *Shigella flexneri antibody levels in healthy subjects from various regions of the United states.* Anor. J. Publ. Health. 57:2104-2110,

18). Neter, E. and Dunphy, D. 1957. : *The duration of the hemagglutinin response in the serum of children with Shigellosis and Salmonellosis. Pediatrics.*, 20: 78-81.

19). 全鍾暉1959. : 腸內病原菌 特히 Shigelia, Salm-

onella族 및 病原原虫類에 關한 臨床的研究, 서울論文集 (1959)p. 2.

20). 安斗洪, 全鍾暉1963. : 大邱地方에서 分離한 *Salmonell* 및 *Sgiagella*에 對하여, 中央醫學: 5:249-254.