

Q热立克次氏体的免疫学检查法

于恩庶 林金瑞 田文琪

(福建省流行病研究所, 福州)

Q热立克次氏体感染材料的检查, 通常有血清学和病原学分离等方法。病原分离需要一定设备和技术条件, 分离阳性率不是很高, 所需时间亦较长, 因此, 一般多采用血清学方法。血清标本来源, 第一是从病人和动物直接采集的。第二是把病人和动物材料接种豚鼠, 经过一定时间, 再从豚鼠采取。而血清中抗体出现亦较慢, 特别是立克次氏体量少时, 抗体效价很低, 结果不易判定。

为了克服以上的困难, 我们在实验中摸索到一种免疫学的检查方法, 即把被检材料先接种小白鼠, 俟其产生免疫后, 再用已知的Q热毒株活毒材料攻击。在适当时机杀死检查试验动物脾内立克次氏体的有无, 即可做出判定。实验结果证明这种方法的特异性和敏感性都很高, 检查手续简单, 不需要特殊设备, 技术容易掌握, 所需时间不长, 因而具有推广的有利条件。今提出初步报告, 希望同志们复试和鉴定。

实验方法和材料

1. Q热立克次氏体毒株, 有两株, 一为 Henzerling 标准株, 卫生部生物制品研究所分给的, 在卵黄囊内传代, 制成干种, 低温保存。临用时经过卵黄囊传代后使用。另一毒株为螨1株, 系从革螨分离的, 经过鉴定与Q热立克次氏体特性相符合, 保存方法同前。

2. 其他立克次氏体、病毒和细菌株, 系本所有关科室保存的。

3. 实验方法和结果判定: 取Q热和其他各种立克次氏体及细菌等感染材料, 皮下接种小白鼠, 间隔不同时间, 再用已知Q热立克次氏体感染的卵黄囊或地鼠肝脾材料, 稀释为1:10, 取0.5毫升经腹腔注射攻击。第六天杀死, 观察病变, 取脾涂片用Giemsa法和Macchiavello氏法染色, 检查立克次氏体的分布情况和数量。对照组取健康小白鼠与试验组小白鼠在同样条件下隔离饲养, 并直接用同样的Q热感染材料攻击。如果对照组的小白鼠, 脾脏内发现有大量立克次氏体, 而免疫过的小白鼠, 脾内无立克次氏体时, 即说明免疫材料内因原来含有Q热立克次氏体, 在注射后产生了免疫, 当受已知的Q热立克次氏体攻击时, 立克次氏体在这种免疫动物机体体内, 不能繁殖或很少繁殖; 反之, 若先期未接受Q热立克次氏体感染, 即无免疫力的动物机体体内, 却能大量繁殖, 从脾的涂片可以观察到。根据这些结果, 即可做出判定。

实验结果

首先取 Henzerling 株Q热立克次氏体感染的卵黄囊稀释为 10^{-1} — 10^{-10} , 每个稀释度以0.5毫升皮下注射10只小白鼠, 于第20天后, 取各个稀释度小白鼠各3只, 用同株Q热感染的地鼠脾10%悬液, 腹腔注射, 第6天杀死, 取脾涂片染色检查立克次氏体。结

果,原 10^{-1} — 10^{-8} 稀释度免疫的小白鼠脾脏内,全部未检见立克次氏体。 10^{-9} — 10^{-10} 免疫的两组鼠中,各有一只鼠的脾脏内能发现极少数的立克次氏体,而对照组的 3 只鼠都有大量立克次氏体。同批免疫鼠,于第 43 天,又进行一次试验,方法同前,攻击材料是用另外一株立克次氏体“螨 1 株”感染的卵黄囊 10 倍稀释液。结果免疫组鼠脾也没有一只发现立克次氏体,对照组鼠脾 3 只均发现立克次氏体。另有 7 只用螨 1 株免疫小白鼠同时用螨 1 株攻击,结果亦未检见立克次氏体。

上述结果是在免疫 20—43 天再感染时得到的。为了进一步查明究竟在感染后第几天能够出现这种免疫性是很重要的。为此,进行第二次试验,使同 Henzerling 株感染卵黄囊稀释 10^{-5} — 10^{-10} 的材料。每个稀释度皮下注射 10 只小白鼠,分别于第 5、10、15 天各用同株感染卵黄囊 0.5 毫升腹腔再注射攻击,6 天后杀死,取脾涂片染色检查,除 10^{-10} 倍稀释的第 5 天免疫鼠,接受攻击试验后,可以查见立克次氏体外,其他各组及对照组鼠均无立克次氏体检出。

表 1 Q 热感染后期小白鼠受攻击试验后脾内立克次氏体的检出情况

原注射材料浓度	第一次试验 (20 天后攻击)		第二次试验 (43 天后攻击)	
	攻击材料	立克次氏体检查	攻击材料	立克次氏体检查
Henzerling 株感染卵黄囊 10^{-1}	Henzerling 地鼠脾	○○○	螨 1 株卵黄囊	///
同上 10^{-2}	同上	○○○	同上	○○/
同上 10^{-3}	同上	○○○	同上	○○○
同上 10^{-4}	同上	○○○	同上	///
同上 10^{-5}	同上	○○○	同上	○○○
同上 10^{-6}	同上	○○○	同上	○○○
同上 10^{-7}	同上	○○○	同上	○○○
同上 10^{-8}	同上	○○○	同上	○○/
同上 10^{-9}	同上	○○(±)	同上	○//
同上 10^{-10}	同上	○○(±)	同上	○//
螨 1 株卵黄囊 10^{-1}	/	/	同上	○○○○ ○○○
健康鼠(对照)	同上	(+++)(+)(+)	同上	(++)(+)(+)

注：○ 代表一只鼠,用脾涂片,立克次氏体阴性。

(+)—(++) 代表脾涂片,检见立克次氏体的程度,下表同此。

/ 表示未做检查。

表 2 Q 热感染早期小白鼠接受 Q 热攻击试验后脾内立克次氏体的检出情况

原注射材料	注射后至攻击时的间隔		
	5 天	10 天	15 天
Q 热卵黄囊 10^{-5}	○○○○	○○○	○○○
同上 10^{-6}	○○○○	○○○	○○○
同上 10^{-7}	○○○○	○○○	○○○
同上 10^{-8}	○○○○	○○○	○○○
同上 10^{-9}	○○○○	○○○	○○○
同上 10^{-10}	(+)(+)(±)(±)	○○○	○○○
对照组	(+)(+)(+++)(+)	(+)(+)(+)	(+++)(+++)(+)

討 論

利用免疫学方法检查Q热感染材料,还是新的尝试。从初步结果看来,是很理想的,有很大的实用前途。我们曾经使用这种方法检查一些动物材料(兔、鸭和奶牛犊等材料),其结果和补体结合试验是一致的。我们认为这种方法有下述一些特点:

1. 本法是相当敏感的,即使原来含有微量立克次氏体的被检材料(Q热卵黄囊 10^{-8} 倍)免疫动物,在攻击试验中仍有阻止Q热立克次氏体在体内繁殖的能力,从脾内不易检出立克次氏体。

2. 本法的特异性问题,我们检查了一些在Q热病原材料检查时有可能遇到的病原体,包括有两种立克次氏体(恙虫病、斑疹伤寒)、两种病毒(乙型脑炎和森林脑炎)、6种细菌(鼠疫、假结核、白色葡萄状球菌、溶血性链球菌、副伤寒甲、鼠伤寒)和一种钩端螺旋体,均未发现交叉免疫关系。再从过去的资料,都说明Q热立克次氏体的免疫性是特异的。本试验还研究了非特异性死亡的动物脏器腐败后能否产生交叉免疫问题,其研究的目的是要澄清因有时用某些腐败材料检查Q热时,可能出现的免疫现象,结果也是阴性。

3. 本法检查全部过程为11—12天。这比一般应用病原分离和血清学方法所需要的時間都短。例如病原分离,常用鸡胚多次传代,再通过豚鼠检查抗体,才能判定^[1],所需時間是相当长的。血清学方法比较简单些,快些,但多数需要三周以上,特别是感染的立克次氏体量很少时,抗体出现得更慢,效价亦低,由感染动物试验已经证实。临床上亦得到相似的结果。根据德国研究者的资料,观察12例实验室感染病例,发病第一周补体结合试验均为阴性,第二周只有一例阳性,三周后大多数才能变为阳性^[2]。又Lennete, Clark等1952年研究85例Q热患者,补体结合试验第一周9%阳性,第二周65%阳性^[1]。这说明在发病两周后,补体结合试验很多是阴性的。

4. 本法所需材料不多,一般化验室都能具备。主要困难是毒株供应问题,在较小化验室传代保存毒株是比较困难的。若能在一个中心检验室制备干种,分发各需用单位,临用时打开干种,稀释后即直接用于攻击,就更方便了。但是安全问题必须充分注意,防止实验室感染。

5. 本法在临床诊断上,可能也是有用的,希望通过阳性病例,加以证实。

結 論

应用Q热免疫学的原理,提出一种Q热立克次氏体检查的新方法,初步结果很理想。表现在敏感性和特异性都很高。检查时间短,全部过程只有11—12天即可完成。所用材料不多,技术操作简单,一般实验室均可做到。

参 考 文 献

- [1] Syrucek, L. et al: Isolation of *Coxiella burnetii* from human placenta, *J. of Hyg. Epid. Microbiol. and Immunol.*, II. 1, 29—35, 1958.
- [2] Zdrovovsku, P. F. and Golinevich, E. H.: The Rickettsial Diseases. Q fever, (translated from Russian), 372—423, 1960.

AN IMMUNOLOGICAL METHOD FOR DETECTING *COXIELLA BURNETI* FROM INFECTED MATERIALS

YU EN-SHU, LIN CHIN-RUI AND TIEN WEN-CHI

(Fukien Research Institute of Epidemic Diseases)

A simple and rapid method for examining the infected materials of *Coxiella burneti*, based upon the principle of protection, is described. It can be considered to be more sensitive than the other methods for the detection of Q fever infection.

Using this method, the result can be obtained within 12 days, while those by other methods, including complement fixation test and cultivation, are usually negative in the same period.