

# Q 热立克次氏体免疫学检查法的进一步研究

于 恩 庶

(福建省流行病学研究所,福州)

应用免疫学的方法,检查Q热立克次氏体已证实具有很高的敏感性。它比常用的血清学方法补体结合试验能检出更少量的立克次氏体,而且得出的结果快。更大的特点是,做一次检查可以了解感染过程,有助于区别感染的早期或晚期,或辨别现症感染或过去感染,这是血清学方法所不能比拟的。

前文<sup>[1]</sup>报告了应用免疫学方法检查Q热立克次氏体获得了较理想的结果。本文继续研究下述三个有关的问题:(1)小白鼠受Q热感染材料注射后,第几天即能产生免疫以及有否干扰现象。(2)本法与补体结合试验的比较。(3)鉴别感染的早期和恢复期的可能性问题。

## 材 料 和 方 法

- 1.立克次氏体毒株为 Henzerling 株,系鸡胚卵黄囊传代的 II 相毒株。
- 2.补体结合试验采用总量 1 毫升,37℃ 作用半小时的试验方法。抗原用 Henzerling II 相株感染的卵黄囊,以乙醚处理,高速离心浓缩的常规方法制备。本试验共使用两批抗原,一批用 1:4,另一批用 1:8,均经过滴定。
- 3.免疫学检查法同前文<sup>[1]</sup>,唯注射被检材料后的攻毒时间有改变,根据实验目的来决定。一般分次日攻毒和 2 周左右攻毒,前者检查被动免疫,后者检查自动免疫。结果的判定以试验组鼠在攻毒后未检见立克次氏体,而对照组鼠能检见大量立克次氏体为阳性。

## 实 验 结 果

### 一、小白鼠受Q热感染后开始产生免疫的时间

方法是取Q热感染卵黄囊材料制成

10<sup>-5</sup> 悬液,分装 7 管,保存于 -18℃ 左右冰箱,每天取出一管注射小白鼠,连续 7 天。至第 8 天对上述 7 组鼠和对照健康鼠同时用大量 Q 热卵黄囊材料 (10<sup>-1</sup>) 攻毒,6 天后杀死,取脾检查立克次氏体。试验

表 1 小白鼠感染后产生免疫的时间

试验 次数	感染至攻 毒时天数	鼠号及脾涂片立克次氏体数			
		1	2	3	4
I	7	-	-	-	-
	6	-	-	-	-
	5	+	+	-	-
	4	++	+	-	-
	3	+	+	+	+
	2	++	++	+	+
	1	+	+	+	+
	对照	++	++	+	+
II	7	-	-	-	-
	6	+	-	-	-
	5	-	-	-	-
	4	+++	+++	++	+
	3	+++	+++	+++	++
	2	+++	+++	++	+
	1	+++	+++	++	+
	对照	++++	+++	++	-

注:“-”表示立克次氏体阴性;  
“+、++、+++”代表检见立克次氏体的程度,以下各表同此。  
以上每一符号代表一只动物。

本文 1964 年 8 月 12 日收到。

反复进行两次,结果相同,即在接种后第 5 天即开始有免疫产生,第 7 天形成了强固免疫,不能检见立克次氏体。接种后 4 天内未见任何抵抗作用,说明与干扰现象无关。

二、本法与补体结合试验检查结果的比较

取 Q 热感染卵黄囊不同稀释度的材料注射豚鼠和小白鼠。14 天后小白鼠用大量 Q 热材料攻击,6 天后杀死,涂片检查立克次氏体,两次试验所用的注射材料稀释至  $10^{-9}$ — $10^{-10}$  免疫的小白鼠,仍不能检见立克次氏体的即免疫学检查法为阳性。而豚鼠于接种后 3 周采血,做补体结合试验尚为阴性,至 6 周采血检查,  $10^{-3}$ — $10^{-7}$  悬液注射的豚鼠才转为阳性,  $10^{-8}$  以上稀释悬液注射的豚鼠仍为阴性。这个结果与免

疫学检查法相比,相差一百多倍,并且出现阳性的时间也慢。

三、对感染早期和恢复期血液材料的检查

1. 感染早期豚鼠血液材料的检查 曾经先后进行四次试验。使用 Q 热卵黄囊

表 3 感染早期豚鼠血液的免疫学方法检查结果

试验次数	豚鼠号	Q 热感染量卵黄囊	感染至检查时天数	免疫学检查法 (2 周攻毒)				
I	1	$10^{-1}$	5	-	-	-	-	-
	2			-	-	-	-	-
	3			-	-	-	-	-
	4			-	-	-	-	-
	5			-	-	-	-	-
	6			-	-	-	-	-
	7			-	-	-	-	-
	8			-	-	-	-	-
	9			-	-	-	-	-
	10			-	-	-	-	-
	对照			+	+	+	+	+
II	1	$10^3$	7	-	-	-	-	-
	2			-	-	-	-	-
	3			-	-	-	-	-
	4			-	-	-	-	-
	5			-	-	-	-	-
	6			-	-	-	-	-
	7			-	-	-	-	-
	8			-	-	-	-	-
	9			-	-	-	-	-
	10			-	-	-	-	-
	对照			++	++	++	++	++
III	1	$10^{-1}$	7	-	-	-	-	-
	2			-	-	-	-	-
	3			-	-	-	-	-
	4			-	-	-	-	-
	5			-	-	-	-	-
	对照			+++	+++	+++	++	
IV	1	$10^{-2}$	10	-	-	-	-	-
	2			-	-	-	-	-
	3			-	-	-	-	-
	4			-	-	-	-	-
	5			-	-	-	-	-
	对照			+++	++	++	+++	

表 2 微量 Q 热材料用补体结合试验和免疫学方法检查结果的比较

试验次数	Q 热卵黄囊稀释倍数	注射豚鼠补体结合试验		免疫学检查法 (脾涂片立克次氏体数)				
		3 周	6 周					
I	$10^{-3}$	—	1:10	-	-	-	-	-
	$10^{-4}$	—	1:20	-	-	-	-	-
	$10^{-5}$	—	1:10	-	-	-	-	-
	$10^{-6}$	—	1:10	-	-	-	-	-
	$10^{-7}$	—	1:5	-	-	-	-	-
	$10^{-8}$	—	—	-	-	-	-	-
	$10^{-9}$	—	—	-	-	-	-	-
	$10^{-10}$	—	—	-	-	-	-	-
	$10^{-11}$	—	—	++	++	++	++	
	$10^{-12}$	—	—	++	++	+++	++	++
	对照	—	—	++	+++	++	+++	+
II	$10^{-5}$	—	未做	-	-	-	-	-
	$10^{-6}$	—	未做	-	-	-	-	-
	$10^{-7}$	—	未做	-	-	-	-	-
	$10^{-8}$	—	未做	-	-	-	-	-
	$10^{-9}$	—	未做	-	-	-	-	-
	$10^{-10}$	—	未做	-	-	-	++	
	$10^{-11}$	—	未做	+++	++	+++	++	
	$10^{-12}$	—	未做	+++	+++	++	+++	
	对照	—	未做	++	+++	++	+++	

$10^{-1}$ — $10^{-5}$  悬液注射豚鼠, 5—10 天内采血注射小白鼠, 7—15 天后用大量立克次氏体攻击, 结果均未检见立克次氏体, 即免疫学检查法阳性。

2. 感染晚期豚鼠血液材料的检查 第 1 次试验先用 Q 热卵黄囊材料  $10^{-5}$ — $10^{-10}$  悬液注射 12 只豚鼠, 3 周后采血, 每个稀释度注射的 2 只豚鼠血液合并后注射 8 只小白鼠, 一半于次日攻毒, 一半于 2 周后攻毒。结果前者各组鼠均能检见立克次氏体, 但较对照组鼠大为减少; 后者各组鼠检出的立克次氏体数与对照组一样多。

第 2 次试验方法同上, 唯 Q 热材料为  $10^{-3}$ — $10^{-10}$ , 采血时间为接种后第 6 周, 结果同前。

3. 感染早期和晚期家兔血液的检查 先使用 5 只家兔, 注射 10% Q 热卵黄囊悬液, 接种后 7 天采血, 注射小白鼠, 2 周后攻毒。结果 2 只阳性, 3 只阴性。为了查明感染早期家兔血液与豚鼠不同, 有的出现阴性结果的原因, 另取 5 只家兔, 注射同样材料, 接种后 8 天采血, 做以下三方面检

- 查:
- (1) 分离血清, 做补体结合试验检查血中有否抗体产生。
  - (2) 注射豚鼠, 目的在于检查血中有无立克次氏体存在。方法是在接种后 3 周和 6 周采血做补体结合试验来判定, 如果有立克次氏体, 应使豚鼠感染产生抗体。
  - (3) 注射小白鼠, 分次日和 2 周攻毒, 目的在检查被动免疫和自动免疫。

结果, 所有 5 只感染家兔第 8 天血清的补体结合试验均为阴性。第 8 天血液注射小白鼠, 18 天攻毒, 有 1 只 4 号兔有免疫力, 余 4 只均无免疫力。第 8 天血液注射豚鼠, 于接种后 46 天采血检查补体结合试验, 只有 4 号家兔呈阳性, 余均阴性, 这个结果与小白鼠免疫学检查法完全一致, 亦说明只有 4 号兔血中尚有立克次氏体, 余 4 只兔血中的立克次氏体已经消失或者很少, 不能形成免疫和抗体。

又从感染后 49 天, 再从家兔采血, 血清做补体结合试验呈阳性(1:80), 全血注射小白鼠, 一半于次日攻毒, 4 只家兔均证

表 4 豚鼠感染晚期血液免疫学检查结果

感染至检查时	Q 热感染量	免 疫 学 检 查 法							
		次 日 攻 毒				2 周 攻 毒			
3 周	$10^{-5}$	±	±	—	—	++	++	++	+
	$10^{-6}$	—	±	—	—	+	+	+	+
	$10^{-7}$	++	+	+	±	+++	++	++	+
	$10^{-8}$	+	+	+	+	++	+	+	+
	$10^{-9}$	+	+	+	+	++	++	+	+
	$10^{-10}$	++	+	+	+	+++	+++	+++	+
	对照	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	+
6 周	$10^{-3}$	++	±	±	±	++++	++++	++	++
	$10^{-4}$	+	+	±	±	++++	++++	+++	+++
	$10^{-5}$	+	±	±	—	++++	+++	+++	+++
	$10^{-6}$	++	++	+	+	++++	+++	+++	+++
	$10^{-7}$	+++	++	+	±	++++	+++	+++	+++
	$10^{-9}$	+++	+	+	+	++++	++++	++++	++
	$10^{-10}$	++	++	+	+	++++	++++	++++	++
	对照	++++	+++	+++	++	++++	++++	++++	+++

明有被动免疫;一半于 14 天攻毒,均无免疫力。

表 5 家兔感染早晚期血液检查结果比较

家兔 号	早期血液(8天)			晚期血液(49天)		
	家兔 补体	注射豚 鼠补体	免疫学 检查法 (2周攻毒)	家兔 补体	免疫学检查法	
					次日 攻毒	2周 攻毒
1	—	—	—	1:80	+	—
2	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	1:80	+	—
4	—	1:20	+	1:80	+	—
5	—	—	—	1:80	+	—

## 讨 论

前文<sup>[1]</sup>证明了小白鼠在受 Q 热感染后第 5 天即出现了免疫力,本文继续研究了比这更短的时间的这个问题。结果判明,在感染后 4 天以内没有免疫力,第 5 天才开始产生免疫,第 7 天达到强固免疫,这个结果同时否定了干扰现象的作用。

豚鼠在 Q 热感染早期,血液里有立克次氏体存在,而在抗体尚未产生时注射小白鼠,可以产生自动免疫,而不能产生被动免疫。在晚期血液里,如果抗体已经产生,而立克次氏体很少或消失时,注射小白鼠,则不能产生自动免疫,而能产生被动免疫。本文试验证实了这种自动免疫在豚鼠是从感染后第 5 天开始产生的,可以继续相当长的时间,我们用小白鼠免疫学方法检查,7 个月仍能证明,当然这不是极限。被动免疫在注射后即出现,不能维持太久时间,我们证实注射后 14 天检查时,已经不存在了。根据产生了这些免疫的性质,可以判明被检材料中是否有 Q 热立克次氏体或者抗体;间接推论感染的早晚期或属过去感染,看来是可能的。为此,要求一份材料注射小白鼠时,应分为两批攻毒,一批为当天或次日,一批为两周后。如果次日攻毒为阴性,两周攻毒为阳性,说明感染正在立

克次氏体血症期,可以考虑为感染的早期。反之次日攻毒为阳性,两周后攻毒为阴性时,说明材料中已有抗体,可以认为系感染的晚期或属过去感染。

家兔对 Q 热立克次氏体是不敏感的<sup>[2]</sup>,我们以大量 Q 热立克次氏体注射 10 只家兔,于感染后早期(8—10 天)采血,用免疫学方法检查,只有 3 只阳性。对 5 只家兔血注射豚鼠,只有 1 只出现补体结合抗体。但家兔在感染晚期均能出现很高滴度抗体,用免疫学方法可以检查出来。

## 结 论

1. 小白鼠受 Q 热立克次氏体感染后,第 5 天开始产生免疫,至第 7 天达到强固的程度,但未证明有干扰现象。

2. 不同浓度的 Q 热立克次氏体,注射小白鼠,做免疫学检查;同时注射豚鼠,以后取血做补体结合试验,结果证明免疫学检查法较补体结合试验为敏感,而且在 2—3 周内即可得到结果。而补体结合试验在同一期间内一般尚不能出现阳性,特别是当立克次氏体数少时,更是如此。

3. Q 热感染早期,当血中有立克次氏体时,注射小白鼠产生自动免疫;到感染晚期血中出现抗体,立克次氏体量很少或消失时,注射小白鼠产生被动免疫。在进行免疫学检查法时,应当考虑不同的免疫性质,改变攻毒时间,对于区别感染的早期和晚期有帮助,而补体结合试验需要检查早晚期双份血清,方能做出判定。

## 参 考 文 献

- [1] 于恩庶、林金瑞、田文琪:微生物学报,10: 64—67, 1964.
- [2] Zdrodovskū, P. F. and Golinevich, E. Il.: *The Rickettsial Diseases, Q Fever* (Translated from Russian), 372—423, 1960.

## FURTHER STUDIES ON THE IMMUNOLOGICAL METHOD FOR THE DETECTION FOR *COXIELLA BURNETI*

YU EN-SHU

(Fukien Research Institute of Epidemic Diseases, Foochow)

A previous communication has reported an immunological method for the detection of *C. burnetii* with good results. This note presents progress in further studies of this method, when its sensitivity over that of the complement fixation test both in time and in detecting smaller amounts of the *Rickettsia* was demonstrated.

The results of the present experiments also

showed that by selecting a suitable time following the experimental infection in mice, guinea pigs and rabbits, infection with *C. burnetii* could be detected and distinguished by means of the immunological method both during the acute and also during the convalescent stages. The possible application of such a method deserves further exploration.