

钩端螺旋体炭凝集试验的研究

IV. 炭凝集和显微镜凝集试验的比较*

鲍行豪 顾全明

(浙江省卫生防疫站, 杭州)

一、用黄疸出血群沃尔登型(赖株)钩端螺旋体炭抗原, 对 1,128 份不同来源人血清标本作了炭凝集试验, 与显微镜凝集试验比较, 发现阳性符合率(91.7%)、阴性符合率(98.4%)和总符合率(95.9%)均高。炭凝集试验和显微镜凝集试验滴度呈非常显著的正相关状态。

二、钩端螺旋体炭抗原的抗原谱是以不同菌群而异。其敏感性:(1)与血清抗体滴度有关, 两者呈正相关之势;(2)受不同血清群别的影响, 血清抗体群别不同, 敏感性略有差异。

三、炭凝集试验阳性反应率随病程的增加而增高。其阳性检出时间与检出率, 均较显微镜凝集试验早且高, 故具有一定的早期诊断意义。

四、钩端螺旋体炭抗原的炭凝集试验不能反映血清群别。

五、炭凝集试验的诊断标准: 暂定为单份血清滴度达到 1:4 以上, 或第二次血清滴度较第一次增长有 4 倍以上增长者。

目前, 显微镜凝集试验主要为钩端螺旋体病的主要血清学诊断方法^[1], 由于此法仅具有群特异性, 因而实验室必须保存和培养多群菌株, 且需一定设备条件, 因而在基层推广应用受到了限制。为了及时发现病人和查清流行情况, 极需寻找一种简便、快速、正确的血清学诊断方法。

本文使用钩端螺旋体炭抗原, 对 1,128 份不同来源的人血清进行了玻片炭凝集试验, 并与显微镜凝集试验作了比较, 获得了较为满意的结果。这对钩端螺旋体病的诊断及流行病学调查, 具有一定的实践意义。

材料与方法

一、钩端螺旋体炭抗原

本文使用黄疸出血群沃尔登型(赖株)炭抗原, 制备方法及质量鉴定参见[2]文。

二、血清来源

收集 4 个地区的“钩端螺旋体”病人(确诊钩端螺旋体病人系根据培养阳性或双份血清显微镜凝集试验阳性为标准), “肝炎”病人、正常人群(包括疫区“正常”人群)及其他发热病人等血清共 1,128 份。

三、试验方法

1. 定性初筛试验 取灭活被检血清 1 滴于清洁的载玻片上, 加钩端螺旋体炭抗原一接种环, 轻轻涂匀, 充分摇动玻片, 在强光白色背景或日光灯上方观察初步结果, 静置 5—7 分钟, 摆动玻片观察最后结果。如出现“2+”以上凝集者进一步作定量试验。

2. 玻片定量试验 见[2]文。炭凝集以“2+”为标准, 滴度达 1:4 以上, 或第二次血清滴度较第一次增长 4 倍以上者, 判为阳性。

* 钱锦玉、何天来、戚玉明参加部分工作, 承罗海波同志审阅, 特此致谢。

本文 1974 年 2 月 20 日收到。

所有被检血清均用 13 群 14 型国内标准钩端螺旋体菌株作显微镜凝集试验，以资比较。

结 果

一、炭凝集试验和显微镜凝集试验符合率比较

通过 1,128 份血清的炭凝集试验和显

微镜凝集试验比较，结果发现两者总符合率达 95.9% (1082/1128)，阳性符合率为 91.7% (387/422)，阴性符合率为 98.4% (695/706)。不同来源的血清标本总符合率亦高。“钩端螺旋体”病人符合率为 94.3%，其它人群符合率分别为 97.4%—100%。

表 1 不同来源人血清炭凝集与显微镜凝集试验符合率比较

血 清 类 别	检 验 份 数	显微镜凝集试验		炭 凝 集 试 验		两 者 符 合 数		总 符 合 (%)
		+	-	+	-	+	-	
“钩端螺旋体” 病 人	620	368 (59.4)	252 (40.6)	383 (61.8)	237 (38.2)	358 (57.7)	227 (36.6)	585 (94.3)
肝 炎 病 人	41	3 (7.3)	38 (92.7)	3 (7.3)	38 (92.7)	3 (7.3)	38 (92.7)	41 (100.0)
谷丙转氨酶 正 常 人	428	21 (4.9)	407 (95.1)	30 (7.0)	398 (93.0)	20 (4.7)	397 (92.8)	417 (97.4)
疫 区 “正 常 人”	14	4 (28.6)	10 (71.4)	4 (28.6)	10 (71.4)	4 (28.6)	10 (71.4)	14 (100.0)
发 热 其 它 病 人	25	2 (8.0)	23 (92.0)	2 (8.0)	23 (92.0)	2 (8.0)	23 (92.0)	25 (100.0)
总 计	1128	398 (35.3)	730 (64.7)	422 (37.4)	706 (62.6)	387 (34.3)	695 (61.6)	1082 (95.9)
		1128(100%)		1128(100%)		1082(95.9%)		

二、炭凝集试验与显微镜凝集试验滴度的关系

试验表明：炭凝集试验阳性率与显微镜凝集试验滴度两者呈正相关之势（表 2）。显微镜凝集试验滴度在 1:200 的血清，炭凝集试验有 82.7% 为阳性；显微镜凝集试验滴度在 1:400 及 1:800 以上血清，炭凝集试验分别有 94.7% 和 100% 阳性；而 1:100 以下低滴度血清，炭凝集试验阳性率也较低（50%—10%）。

三、炭凝集和显微镜凝集试验滴度的比较

对 387 份不同显微镜凝集试验滴度标本，比较了玻片定量炭凝集试验滴度（表

表 2 炭凝集阳性率与显微镜凝集试验滴度关系

显 微 镜 凝 集 试 验 滴 度	检 验 份 数	炭 凝 集 试 验 阳 性 数	炭 凝 集 试 验 阳 性 率 (%)
1:25600	16	16	100.0
1:12800	60	60	100.0
1:6400	67	67	100.0
1:3200	60	60	100.0
1:1600	66	66	100.0
1:800	37	37	100.0
1:400	38	36	94.7
1:200	52	43	82.7
1:100	50	25	50.0
1:50	26	5	19.2
1:25	20	2	10.0

3），发现两者呈非常显著的正相关状态 ($r = 0.8802, df = 385, T, 0.01 = 0.148$)。

表 3 炭凝集试验和显微镜凝集试验滴度的关系

血清份数 炭凝集滴度	显微镜凝集滴度										计
		1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800	1:25600	1:51200	
1:4	34	18	1	9	3						53
1:8	9	14	26	9	3						61
1:16		2	10	30	20	6	1				69
1:32		2		24	24	34	6				90
1:64				3	11	20	27	3			64
1:128					2	6	21	10			39
1:256						1	4	3	2		10
1:512							1				1
计	43	36	37	66	60	67	60	16	2		38.7

四、炭凝集试验用于“钩端螺旋体病”人血清学诊断结果

比较了 470 例“钩端螺旋体”病人双份血清的诊断结果(表 4)，炭凝集试验阳性检出率为 69.6%，显微镜凝集试验为 68.1%，两者无显著差别。且总符合率达 96.8%。

表 4 470 例“钩端螺旋体”病人双份血清检验结果

病例数	显微镜凝集试验		炭凝集试验		两者符合数	
	+	-	+	-	+	-
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
470	320 (68.1)	150 (31.9)	327 (69.6)	143 (30.4)	316 (67.2)	139 (29.6)
计	470(100%)	470(100%)			455(96.8%)	

五、不同病程(日)钩端螺旋体病人炭凝集与显微镜凝集试验检出率比较

统计 226 例确诊为钩端螺旋体病人的不同病程(日)血清标本，对二种法检出率作一比较。结果表明(表 5)，阳性反应率因病程不同而有增长。病程 3 日以内，炭凝集试验阳性率为 22.9%，显微镜凝集试验为 10.2%；4—7 日，分别增至 72.5% 和 41.3%；8—14 日，炭凝集试验阳性率达 92.8%，而显微镜凝集试验则为 71.5%。阳性反应出现时间炭凝集试验比显微镜凝集试验为早，而阳性反应率也以前者为高。

表 5 确诊病人不同病(日)炭凝集与显微镜凝集试验阳性率比较

病程 (日)	总例数	炭凝集试验		显微镜凝集试验	
		阳性例数	阳性率%	阳性率数	阳性率%
1	26	1		0	
2	42	7	22.9	3	10.2
3	50	19		9	
4	32	20		7	
5	21	16		8	
6	12	10		7	
7	15	12		11	
8—14	28	26	92.8	20	71.5
计	226	113	50.0	65	28.7

六、炭凝集试验对显微镜凝集试验阳性病人不同血清群抗体的检出情况

361 份显微镜凝集抗体滴度，在 1:400 以上的不同血清群标本，用黄疸出血群沃尔登型(赖株)炭抗原，测定其对不同血清群抗体的敏感性，结果表明(表 6)，沃尔登

表 6 炭凝集试验对显微镜凝集试验阳性不同血清群抗体检出情况

显微镜凝集试验	黄疸出血	爪哇	犬热	秋季热	澳洲	波摩拿	流感伤寒	合计
血清份数	265	9	33	34	4	7	9	361
炭凝集试验阳性数	265	9	31	33	0	7	9	354
阳性率%	100.0	100.0	93.9	97.1	0	100.0	100.0	99.2

表 7 不同人群血清抗体测定比较

血清份数 炭凝集滴度	显微镜凝集滴度	1:25(-)	1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	总计
1:1(-)	346								346
1:1	41	1		3	1				46
1:2	5	3		12	11	1			32
1:4				1	10	17	5		33
1:8						2	1	2	5
总计	392	4	16	22	20	6	2		462

型(赖株)炭抗原对黄疸出血、爪哇、波摩那及流感伤寒群抗体能 100% 检出；对犬热及秋季热群仅有少数遗漏；而澳洲群抗体则未被检出。

七、炭凝集试验测定人群免疫水平的结果

对 462 份不同人群血清标本抗体测定结果表明(表 7)，炭凝集试验滴度在 1:2 以上的有 70 份，1:1 的有 46 份。而显微镜凝集试验滴度在 1:50 以上 66 份，1:25 的 4 份。可以看出滴度较高的标本，两法基本一致。

讨 论

用黄疸出血群沃尔登型(赖株)钩端螺旋体炭抗原的炭凝集试验，对 1,128 份不同来源人血清标本作了检查，并对 470 例“钩端螺旋体”病人作了血清学诊断，均与显微镜凝集试验作比较。发现具有高的阳性符合率，阴性符合率及总符合率。两者对“钩端螺旋体”病人的检出率相一致。

在炭凝集与显微镜凝集试验滴度的比较研究中，发现两者呈非常显著的正相关状态。

对不同病程血清标本炭凝集和显微镜凝集试验检出率比较中证明，两种方法阳性反应率随病程增长而增高。还发现炭凝集试验检出抗体时间要较显微镜凝集试验为早，而阳性反应率也较高。对其相差的

原因尚待进一步研究。

钩端螺旋体炭抗原的抗原谱是以不同菌群(型)而异。波摩那型(罗株)炭抗原可以概括国内 13 群 14 型的抗原性，故具有属特异性。但其敏感性受不同群血清的影响，对爪哇、拜伦及豕群的凝集滴度较低。而黄疸出血群沃尔登型(赖株)炭抗原虽对拜伦、澳洲、豕及蚕耗 4 群抗体不呈交叉反应，然而，在试验中有 4 份显微镜凝集试验达到诊断标准的澳洲群标本，炭凝集未能检出。这显然是与所使用炭抗原群别有关。可能是本文中出现 1% 左右漏检率的部分原因。

至于炭凝集试验是否可用于流行病学免疫水平调查，从 462 份不同人群标本的检查比较来看(表 7)，炭凝集试验抗体滴度的变化与血清中显微镜凝集试验抗体存在有关。因此，本法同显微镜凝集试验一样，能够反映出人群抗体水平，可试用于人群免疫水平的流行病学调查。然而滴度低的标本(显微镜凝集滴度 1:25 以下)，炭凝集试验有更高的反应率，是反映炭凝集试验对微量抗体具有更高的敏感性抑或特异性不强，有待进一步研究。

参 考 资 料

- [1] Gochenour W. S. et al.: *Amer. J. Pub. Health*, 43: 405, 1953.
- [2] 鲍行豪、顾全明：微生物学报，14(2): 203—208, 1974。

STUDIES ON CARBON AGGLUTINATION TEST FOR *LEPTOSPIRA*

IV. COMPARISION BETWEEN CARBON AGGLUTINATION TEST AND MICROSCOPIC AGGLUTINATION TEST

PAO HSING-HAO AND GUO QUAN-MING

(*Hygienic and Anti-infectious Disease Station Cheking Province, Hangchow*)

1. Human sera 1,128 specimens from different sources were examined by the carbon agglutination test (CAF) with leptospiral carbon antigen and by microscopic agglutination test (MAT). The conincidece rate (positive, 91.9%, negative, 98.4%, and total 95.9%) between these two test methods were high. This suggest that CAT may also be used for the serodiagnosis of leptospirosis.

2. The sensitivity of CAT was related to 2 factors: the titre of antiserum

and the serogroups of the Leptospira.

3. CAT may also be used for the detection of the antibody level among the population for an epidemiological investigation, but for the identification of the types infection.

4. A titre of 1:4 may be considered to be a minimal titre for diagnosis, and if the titre of the second specimen is four-fold that of the first, a definite diagnosis of leptospirosis may be made.