

補體結合反應作鼠疫疫鼠檢查的評價

陸品璋 蔡珠欽 劉仁漢 翁文淵

(福建省鼠疫防治所)

補體結合反應在鼠疫免疫學研究的應用曾有 Moses, Damperoff, Jaltrain, 及 Simard^[1,3]。諸氏用它來診斷人類鼠疫,但是陽性反應的顯現太遲緩(常在病愈二星期後),因而失去在臨床應用上的及時診斷的價值。Kuznetsova 和 Dobrokhtova^[2]等氏用它來測驗鼠類血液有無鼠疫抗體存在,作為是否疫鼠的鑑定;但由於鼠類血液中有抗補體現象的發生,結果不一致而未能廣泛應用。陳氏等^[3]曾擴大實驗範圍,成效顯著。目前,我們的目的,是在用鼠疫特異性血清做補體結合反應來測定那些死亡多日的死鼠,或經久保存的疫鼠材料,從而解決那些在培養或動物接種試驗所不易得到的正確反映,是否由於鼠疫而死亡的問題。

材料和操作的準備

(一)抗原:本實驗的目的乃是用已知的鼠疫特異性血清來測定動物臟器中的抗原,作為是否疫鼠的鑑定,因而採用 Larson^[3,5]的動物臟器浸出液來作為抗原。由於便於操作和工作中的安全,用熱力滅菌代替 Larson^[5] 氏的乙醚殺死的方法,這就是用臟器與鹽水的 1 與 2 之比的乳劑,經過 15 分鐘的煮沸,離心沉澱待用。

(二)鼠疫特異性血清:取成年的體重 2,000 克以上的健康家兔,每隔 5 日進行靜脈免疫注射,劑量在五次免疫過程自 0.5, 1.0, 1.5, 1.5 逐步遞增到 2.0 毫升的 Otten 氏鼠疫活菌疫苗(每毫升含菌數為 10 億)。免疫血清的凝集價測定應不低於 1:1,280 以上。測定合格的鼠疫免疫血清再經過假結核桿菌(菌株由長春鼠疫防治所分來)、鼠傷寒、大腸菌、副大腸菌和變形菌等等的吸收,即成為鼠疫特異性血清;加硫柳汞作防腐,保存待用。

(三)操作準備:在進行補體結合反應的時候,同時做好血清和溶血系統等對照,在每個材料實驗的同時用健康動物臟器的浸出液做對照。每管試驗材料全量為 0.6 毫升,即致敏感血球 0.2 毫升,補體 0.2 毫升,臟器浸出液 0.1 毫升(分 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256 等稀釋),鼠疫特異性血清(1:15 倍稀釋)0.1 毫升。凡稀釋

在 1:16 以上的管內有 ++++ 陽性的反應,作為陽性反應。與此同時並進行阿斯科里氏試驗,血液龍胆紫瓊脂平板培養和動物試驗(皮下,皮內和塗擦三種方法同時應用,動物傳至三代為陰性者作為陰性反應),以作效果比較。

實 驗 結 果

(一)腐敗材料的實驗結果:用大白鼠 33 只,經人工感染鼠疫,死亡後,全數保存於 26°C 的溫箱內,每日檢驗若干只,分 1 日,2 日,3 日,4 日,5 日,6 日,7 日,8 日,9 日,10 日,15 日和 20 日等十二組進行比較。由於本實驗把死鼠堆積在 26°C 溫箱內,經過鼠體自身發酵,溫度增加,又因密閉在箱內空氣不流通,促使鼠屍加快腐敗,因此在第 2 日取脾肝臟器培養就沒有檢出陽性,第 5 日以後改用腦脊髓和骨髓檢查,結果如表 1:

表 1 疫鼠腐敗材料用幾種檢驗方法檢查結果的比較

26°C 保存日數	疫鼠編號	培養檢查	動物試驗	補體反應	阿斯科里氏試驗
1	1	+	+	+	+
	2	+	+	+	+
	3	+	+	+	+
2	4	○	-	+	+
	5	○	+	+	+
	6	○	+	+	+
3	7	○	-	+	+
	8	○	+	+	+
	9	○	+	+	+
4	10	○	+	+	-
	11	○	-	+	+
	12	○	-	+	+
5	13	+	+	+	+
	14	○	-	+	+
	15	+	+	+	-
6	16	○	+	+	+
	17	○	-	+	+
	18	○	+	+	+
7	19	○	-	+	+
	20	○	-	+	+
	21	○	+	+	+
8	22	○	-	+	+
	23	○	-	+	+
	24	○	-	+	+
9	25	○	-	+	+
	26	○	-	+	+
	27	○	-	+	+
10	28	○	-	+	+
	29	○	-	+	+
	30	○	-	+	+
15	31	○	-	+	-
	32	○	-	+	-
20	33	○	-	+	-
檢 出 率, %		15.1	39.3	100.0	84.8

註: + 表示陽性結果; - 表示陰性結果; ○ 表示變形菌生長瀰蔓。

(二)保存材料的實驗結果：據記載 Берлин 和 Бошева^[1] 二氏用無作用油脂做鼠疫材料保存(將 2—3 立方厘米的小塊臟器組織放入於含有 30—40 毫升的上述油脂的廣口玻璃瓶中),在夏季保存可達數週之久。而在我們實驗中未能達到如此良好的結果,嘗於保存二天後的材料進行培養檢驗,菌落大為減少;在動物接種時亦未能引起致病,是否由於實驗動物臟器體積小(1 × 1 厘米)以及整日放置於高溫的溫箱內易於腐敗所致尙待研究。據于氏口述,用 30% 甘油緩衝鹽水保存鼠疫材料的效價優於無作用油脂保存法,因此,這次實驗用 30% 甘油緩衝鹽水保存液、氯化鈣乾燥保存法、及無作用油脂保存法等同時進行比較。人工感染荷蘭猪 6 頭,死亡後,將臟器細檢證明鼠疫細菌生長,切成 1 × 1 厘米小塊,上述各種保存方法各 6 瓶,放入 28°C 溫箱內,每隔 3, 6, 9, 12, 15 和 18 日後取出做補體結合反應、阿斯可里氏試驗和培養以及動物接種等方法檢查其結果如表 2:

表 2 三種保存法與檢出率比較

保存方法和 保存日數	乾 燥 保 存 法						30% 甘油緩衝鹽水						無作用性油保存法					
	3	6	9	12	15	18	3	6	9	12	15	18	3	6	9	12	15	18
腐敗情況	乾	乾	乾	乾	乾	乾	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
培養檢查	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-
動物接種	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
補體結合反應	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
阿斯可里氏試驗	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(三)阿斯可里氏試驗與補體結合反應的敏感性：表 2 所示的補體結合反應與阿斯可里氏試驗的陽性檢出率均較培養、動物接種試驗為佳;但補體結合反應與阿斯可里氏試驗二者之間的敏感性的比較,未能顯明地表示出來。因此,將實驗剩餘的臟器浸出液,在同等倍數稀釋下做二者之間的敏感性試驗如表 3:

表 3 補體結合反應和阿斯可里氏試驗的敏感性比較

保存方法和 保存日數		阿 斯 可 里 氏 試 驗							補 體 結 合 反 應						
		1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
30% 甘油 保存法	6 天	++++	++++	++++	++++	++	-	-	++++	++++	++++	++++	++++	+++	-
	12 天	++++	++++	++++	+++	-	-	-	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-
	15 天	++++	++++	++++	++++	++	-	-	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-
	18 天	++++	++++	++++	++++	+++	-	-	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
氯化 鈣	3 天	++++	++++	-	-	-	-	-	++++	++++	++++	++++	+++	-	-
	9 天	++++	++++	++++	+++	-	-	-	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	18 天	++++	++++	++++	-	-	-	-	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
無作用 油脂	3 天	++++	++++	-	-	-	-	-	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++
	12 天	++++	++++	-	-	-	-	-	++++	++++	++++	++++	+++	-	-
	18 天	++++	++++	++++	++++	++	-	-	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

結 論

(一)在 33 只經人工感染鼠疫的大白鼠,經過不同時間的腐敗,用各種方法檢查,所得結果乃是補體結合反應最為敏感,檢出率為 100%,阿斯可里氏試驗次之,為 84.8%,動物接種又次之,為 39.3%,培養檢查為最低,只有 15.1%。

(二)腐敗時間不同的陽性檢出當中,更顯著地可看到補體結合反應的優越性。

(三)三種鼠疫材料保存方法的效果,從培養、動物接種檢驗的檢出率到第 9 天以後都是陰性,而阿斯可里氏試驗和補體結合反應雖保存到 18 日之久,還是檢出陽性反應。

參 考 文 獻

- [1] Wu-lien-teh: *Plague*, p. 109, 1936.
- [2] R. Pollitzer: *Bull. Hlth. Org.*, p. 165—226, 1952.
- [3] T. H. Chen, et al.: *Jour. Imm.*, **68**: 147—158, 1952.
- [4] S. C. Seal: *Jour. Imm.*, **71**: 167—76, 1953.
- [5] C. Larson: *Jour. Imm.*, **66**: 249, 1951.
- [6] Берлин & Боцева: 衛生部譯叢, 蘇聯“疑似鼠疫材料的儲存和運送法規”。

COMPLEMENT FIXATION TEST FOR THE DETECTION OF PLAGUE INFECTED RATS

(SUMMARY)

LUH, P. C., TSAI, C. C., LIU, J. H., and WANG, V. Y.

By the use of known specific and absorbed plague antiserum, it has been possible to detect the plague antigen in the tissues of decomposed rats by means of the complement fixation test even 20 days after the death of the animal. The method was found to be slightly superior than the well known precipitation test, and far superior to cultural methods even after the employment of preserving fluid.