

# 鼻疽补体結合反应术式的改进探討

吉林农业大学兽医系

鼻疽补体結合反应是檢出进行性鼻疽患者有效方法，在防制鼻疽的綜合措施中，占有重要地位，但是操作复杂，不易为广大兽医人員所掌握。为了改进术式，使其簡單正确，适于广大生产实践的应用，我系自1959年11月起，进行了术式改进的試驗，已获成效，茲將試驗过程及其結果报导如下。

## 一、原 理

根据补体結合反应的基本原理以及有关資料的介紹，我們試用“感作血球用量測定”，代替原法中“溶血系和溶菌系补体測定”，因为补体效价的判定，可用两种方法进行：（1）各管血球液和溶血素的濃度相同，以逐管增量的补体进行測定，这就是目前通用的补体效价測定法，本法操作复杂，在溶血系和溶菌系的全部測定中，共需50管以上，且因各管补体量相差0.03毫升，难被一般人員所正确掌握；（2）各管补体量相同，以逐管增量的感作血球进行測定，这就是本試驗中应用的方法，本法各管的感作血球量相差0.1毫升，全部操作只需一列10管，操作簡單，不易发生差錯。

为了保持預备試驗和本試驗中补体与感作血球及抗原抗体复合物的充分結合，我們試用了冷感作（2°—6℃）、室温感作（10℃）和水温箱感作（37°—38℃）等多种方法，結果証明37°—38℃的感作方法，最为簡單有效，适于广泛推广，詳見后述。

## 二、所需成分及其准备

- （1）补体：用新鮮或干燥补体，作25—30倍稀釋（根据效价高低而定）。
- （2）溶血素：按生物制品厂标明的效价稀釋为二單位的濃度（但在我們所作的第一次和第二次試驗中，曾用四單位溶血素，詳見后述）。溶血素的效价一般在出厂一年內的变动不大，此外，即使稍有下降，亦可因“感作血球用量測定”而得校正，不致影响反应的正确性。
- （3）抗原：按生物制品厂标明的效价稀釋成工作价。
- （4）血球液：按常法作成2.5%血球悬液（但在我們所作的第一次和第二次試驗中，曾用4%血球液，詳見后述）。
- （5）标准阴、阳性血清及待檢血清：58°—60°灭能30分鐘，然后稀釋10倍后待用。
- （6）感作血球：將（2）和（4）項的二單位溶血素和2.5%血球液（或四單位溶血素和4%血球液）等量混合，置2°—6℃或10℃或37℃感作，如下述。

### 三、反 应 术 式

#### (1) 感作血球用量测定:

管 号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10 <sup>x</sup> 阴性血清	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
工作价抗元	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
25×30 <sup>x</sup> 补体	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
2°—6℃或10℃或37°—38℃感作										
感作血球液	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2
2°—6℃或10℃或37—38℃感作										
判 定	全溶	全溶	全溶	全溶	全溶	全溶	部溶	部溶	不溶	不溶

在2°—6℃或10℃或37°—38℃感作后,发生完全溶血的最大感作血球液量,即为其工作价,例如上表中的0.8毫升。

感作血球的处理,应与预备试验和本试验中所用的感作方法相同,例如预备试验和本试验中用37°—38℃水浴20分钟的感作方法,则在制备感作血球时,亦用37°—38℃20分钟。

#### (2) 本试验:

管 号	1	2	3	4
	待 检 管	血清对照管	血球抵抗对照管	抗元对照管
10 <sup>x</sup> 待检血清	0.5	1.0	—	—
生理盐水	—	—	1.5	—
工作价抗元	0.5	—	—	1.0
25—30 <sup>x</sup> 补体	0.5	0.5	—	0.5
2°—6℃或10℃或37°—38℃感作				
工作价感作血球液 (如上例的0.8毫升)	0.8	0.8	0.8	0.8
2°—6℃或10℃或37°—38℃感作				

注: (1) 另作标准阴、阳性血清的对照管; (2) 判定标准按鼻疽补体结合反应原法进行;

(3) 血球的感作可与感作血球用量测定的第一次感作同时进行,而感作血球用量测定的第二次感作可与本试验的第一次感作同时进行。

### 四、试 验 结 果

#### (1) 第一次试验

1. 待检血清: 系哈尔滨兽医生物制品厂生产(以下简称哈制)的标准血清,阳性血清为5704批号,阴性血清为5801批号,分别作成10, 20, 30, 40, 50, 75和100倍稀释后待用。

2. 补体: 为我系自制干燥补体,稀释25倍应用。

3. 抗元: 哈制,按规定效价稀释成200倍。

4. 溶血素: 哈制,标明效价为6,000倍,经测定为6,400倍,稀释为1,600倍,即四单位备用。

5. 血球液: 系按常法制成的4%血球悬液。

6. 感作方法：血球的感作以及感作血球用量测定和本試驗中的感作，均分別用 $2^{\circ}-6^{\circ}\text{C}$ 16—18小时和 $10^{\circ}\text{C}$ 16—18小时二組进行。

7. 另將上述血清按鼻疽补体結合反应原法（以下簡稱原法）进行对照测定。

8. 結果：以同一阴、阳性血清的不同稀釋度按上述二种感作方法和原法测定，結果如下：

血清种类	术式	血清稀釋度						
		$10^{\times}$	$20^{\times}$	$30^{\times}$	$40^{\times}$	$50^{\times}$	$75^{\times}$	$100^{\times}$
阴性血清	原法	—	—	—	—	—	—	—
	$2^{\circ}-6^{\circ}\text{C}$ 感作	—	—	—	—	—	—	—
	$10^{\circ}\text{C}$ 感作	—	—	—	—	—	—	—
阳性血清	原法	井	井	井	井	井	+	—
	$2^{\circ}-6^{\circ}\text{C}$ 感作	井	井	井	井	井	井	—
	$10^{\circ}\text{C}$ 感作	井	井	井	井	井	井	井

註：井表示完全不溶血，—表示完全溶血。下同。

9. 小結：根据上表結果，新法在檢出率上与原法基本相符，甚至高于原法。

## (2) 第二次試驗

应用4%血球液，由于血球濃度太高，在溶血程度的判定上增加了困难，故再进行这一試驗，借以探索是否可以应用2.5%血球液代替4%血球液。另外，鑑于本試驗中 $2^{\circ}-6^{\circ}\text{C}$ 和 $10^{\circ}\text{C}$ 16—18小时的感作方法难在一般条件，特别是我国南方地区实施，故在这次試驗中試加 $28^{\circ}\text{C}$ 的感作方法。

1. 待檢血清：承第一次試驗所用的同批号阴、阳性血清，阳性血清作成10, 20, 30, 40, 50, 75, 150和200倍稀釋后待用，阴性血清只作10倍稀釋。

2. 抗元和补体：同前。

3. 溶血素：同前，但稀釋为二單位濃度和四單位濃度两种。

4. 血球液：按常法作成4%及2.5%两种血球悬液。

5. 感作血球：作成二單位溶血素+2.5%血球液和四單位溶血素+4%血球液两种，前者簡稱二單位感作血球，后者簡稱四單位感作血球。

6. 感作方法：分別用 $2^{\circ}-6^{\circ}\text{C}$ 16—18小时、 $10^{\circ}\text{C}$ 16—18小时以及 $28^{\circ}\text{C}$ 16—18小时等三組进行。但在感作血球制备过程中，发现 $28^{\circ}\text{C}$ 感作組在感作18小时后呈现严重的溶血变質，故即廢棄。

7. 結果：如下表：

感作血球种类	术式	血清稀釋度										
		阳性血清										阴性血清 $10^{\times}$
		$10^{\times}$	$20^{\times}$	$30^{\times}$	$40^{\times}$	$50^{\times}$	$75^{\times}$	$100^{\times}$	$150^{\times}$	$200^{\times}$		
二單位感作血球	$2^{\circ}-6^{\circ}\text{C}$ 感作	井	井	井	井	井	+	×	—	—	—	
	$10^{\circ}\text{C}$ 感作	井	井	井	井	井	井	井	井	—	—	
四單位感作血球	$2^{\circ}-6^{\circ}\text{C}$ 感作	井	井	井	井	井	+	+	—	—	—	
	$10^{\circ}\text{C}$ 感作	井	井	井	井	井	井	井	井	—	—	

8. 小結：根据上表結果，应用二單位感作血球与四單位感作血球是一致的，为了便于判定，我們認為二單位感作血球比較适用。

## (3) 第三次試驗

为了探求更为簡便有效的感作方法，特别是使其适于广大生产实践的应用，故又在这次試驗中試用多

种感作温度和感作時間进行比较。

1. 待檢血清、补体和抗原：均同第二次試驗。
2. 感作血球：按前法作成二單位感作血球。
3. 感作方法：分10℃ 4小时、10℃ 6小时、10℃ 18小时和37℃ 20分鐘等四种方法进行。
4. 結果：如下表：

术式	血清稀釋度										阴性血清 10 <sup>×</sup>
	阳性血清										
	10 <sup>×</sup>	20 <sup>×</sup>	30 <sup>×</sup>	40 <sup>×</sup>	50 <sup>×</sup>	75 <sup>×</sup>	100 <sup>×</sup>	150 <sup>×</sup>	200 <sup>×</sup>		
10℃ 4小时	井	井	井	井	+	-	-	-	-	-	-
10℃ 6小时	井	井	井	井	卅	+	-	-	-	-	-
10℃ 18小时	井	井	井	井	井	卅	井	+	-	-	-
37℃ 20分鐘	井	井	井	+	-	-	-	-	-	-	-

5. 小結：根据上表結果，四种感作方法同样都能檢出30倍稀釋的阳性血清，10℃ 18小时感作方法尚能檢出50倍稀釋的阳性血清，可能是长期感作过程中，补体发生部分破坏的結果。与原法补体結合反应相比，在檢出率上以37℃ 20分鐘、10℃ 4小时及10℃ 6小时的感作方法最为相近（參見第一次試驗結果），但以37℃ 20分鐘感作方法最为簡便。

#### (4) 第四次試驗

在肯定37℃ 20分鐘的术式（以下簡称新法）以后，特采集本校实习馬血清 10分（a-j）、長春市屠宰場送檢馬血清 14分（301—314）及吉林省兽医研究所控制的鼻疽馬血清 39分（除上述編号以外的其他編号）进行原法与新法的檢出率比較試驗，結果如下表：

稀釋倍数 血清檢号	原法		新法		稀釋倍数 血清檢号	原法		新法	
	10 <sup>×</sup>	20 <sup>×</sup>	10 <sup>×</sup>	20 <sup>×</sup>		10 <sup>×</sup>	20 <sup>×</sup>	10 <sup>×</sup>	20 <sup>×</sup>
3	井	井	井	井	54	井	井	井	井
4	井	井	井	井	61	井	井	井	井
11	井	卅	井	卅	67	井	井	井	卅
23	井	井	井	井	69	-	-	-	-
24	井	+	井	+	73	井	井	井	井
25	井	井	井	卅	78	井	井	井	井
26	井	井	井	井	80	井	井	井	井
27	-	-	-	-	87	+	-	井	+
28	-	-	-	-	95	井	井	井	卅
31	井	+	井	卅	96	-	-	-	-
32	卅	井	卅	+	102	井	-	+	+
36	井	井	井	井	108	井	井	井	卅
37	卅	-	井	+	110	井	井	井	井
40	井	井	井	井	113	井	井	井	井
48	井	井	井	井	114	井	井	井	井
53	井	井	井	井	127	井	井	井	井

血清檢号	原 法		新 法		血清檢号	原 法		新 法	
	10 <sup>×</sup>	20 <sup>×</sup>	10 <sup>×</sup>	20 <sup>×</sup>		10 <sup>×</sup>	20 <sup>×</sup>	10 <sup>×</sup>	20 <sup>×</sup>
141	井	井	井	井	310	-	-	-	-
150	井	井	井	井	311	-	-	-	-
152	井	井	井	井	312	-	-	-	-
202	-	-	-	-	313	-	-	-	-
223	井	井	井	井	314	-	-	-	-
228	-	-	-	-	a	-	-	+	-
270	L	-	-	-	b <sub>1</sub>	-	-	-	-
301	-	-	-	-	c	-	-	-	-
302	-	-	-	-	d	-	-	-	-
303	-	-	-	-	e	-	-	-	-
304	-	-	-	-	f	-	-	-	-
305	-	-	-	-	g	-	-	-	-
306	-	-	-	-	h	-	-	-	-
307	-	-	-	-	i	-	-	-	-
308	-	-	-	-	j	-	-	-	-
309	-	-	-	-					

## 五、結 論

根据上述試驗結果，不論应用阴、阳性血清或待檢血清，新法在檢出率上均与原法相符，但新法操作簡單，易为广大兽医人員所掌握，操作時間亦可縮短。

在适当調整感作時間以后，应用2°—6℃、10℃或37°—38℃的感作方法，可以获得同样的檢出率，但以37°—38℃水温箱感作20分鐘頂为簡便，且与原法最相符合。

新法的操作原理适用于各类补体結合反应，包括牛肺疫、布氏杆菌病等的补体結合反应以及人医所用的华氏反应等等，是否可在實踐中取而代之，尙待今后試驗。

本試驗中所作临床待檢血清的头分不多，有待今后繼續进行，亦希国内有关單位試用比較，并将結果告知我們，以便最后肯定，并在全国範圍内取代原法。

## 参 考 文 献

1. П.А.Триленко: Диагностика инфекционных абортів крупного рогатого скота; Сельхозгиз, 1956, 120—135, 237—248.
2. Studies on contagious ovine pleuropneumonia with special reference to the complement-fixation test; part I, III, VI; The British vet. g. vol. 112. №1, №3, №4. 1956.
3. 在冰箱中进行馬鼻疽补体結合反应，中国兽医杂志1958年第一期30頁。