

# 黑热病直接凝集试验进一步研究

新疆喀什地区防疫站 赵尔民 焦玲思

直接凝集试验应用于黑热病血清学诊断已初步获得满意结果〔1〕。我们对该试验的实际应用价值，又作了进一步研究，现将结果报告如下：

## 材料与方 法

一、抗原：本试验用78-4株杜氏利什曼(78年由病人骨髓穿刺物中分离)和大沙鼠利什曼(由中国医学科学院寄生虫病研究所赠予)。上述虫株在三N培养基中培养8~9天，收集鞭毛体，用无菌玻璃纤维过滤，除去琼脂，离心沉淀，弃去上清；将压积鞭毛体用0.01M pH 7.2 PBS洗涤5次，每次3000转/分，15分钟，而后按压积鞭毛体加20倍量0.25%胰酶溶液，充分混合后37°C水浴，消化15分钟，取出再离心沉淀，用0.01M pH7.2 PBS洗涤5次；最后用1%甲醛溶液配成悬液，72型分光光度计比色，波长550毫微米，光密度0.30；分装后放4°C冰箱备用。

二、试验方法：在洁净的V型孔微量滴定板上，各孔加1:25,000依文思兰 PBS (0.01M pH7.2)0.025毫升，第一孔加血清0.025毫

升；将血清由1:2稀释至1:4096；每孔加抗原悬液0.025毫升，在微型振荡器上混匀后，放室温4~6小时或4°C冰箱过夜，读取结果。以完全凝集的最后孔做为抗体滴度终点。

## 三、血清来源：

- 1.黑热病现症患者血清18份，其中骨髓涂片查到杜氏利什曼小体、病原确诊病人血清10份。骨髓涂片上未查到杜氏利什曼原虫，但症状，体征符合黑热病诊断，锑剂治疗效果良好者血清8份。
- 2.肝炎病人血清17份(采自地区传染病院住院病人)。
- 3.伤寒病人血清7份(采自传染病院)。
- 4.结核病人血清8份(采自地区结核病院住院病人)。
- 5.正常人血清13份。
- 6.有黑热病史，但已治愈后不同时间健康人血清64份。

## 结 果

13份正常人和18份黑热病人血清直接凝集试验(以下简称DA试验)结果见表1。

表1 正常人和黑热病人血清DA试验结果

血清来源	血清份数	不同滴度标本数										阳性数	阳性率(%)					
		4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048			4096				
正常人	13	6	5	1	1													
病原确诊病人	10						1	1	3	4	1						10	100.0
临床确诊病人	8							2	5	1							8	100.0

表1说明13份正常人血清DA试验抗体滴度均不超过1:64，而18份黑热病人血清抗体滴度均在1:256以上。

用不同种利什曼抗原查了同一份黑热病人血清(表2)。

表2说明，杜氏利什曼与大沙鼠利什曼(非

致病性)抗原，对黑热病人血清DA试验抗体滴度有明显差异。前者最低滴度为1:256，而后者最高仅1:64。

为观察本试验测出的抗体在黑热病治愈后维持时间之长短，用78-4株杜氏利什曼抗原，查治愈后不同时间病人血清64份(表3)。

表2 不同种利什曼抗原与黑热病人血清DA试验结果

抗 原	血清份数	不同滴度标本数											阳性数	阳性率 (%)	
		4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096			
杜氏利什曼	18						1	3	8	5	1			18	100.0
78-4株															
大沙鼠利什曼	18	2	4	8	3	1								—	—

表3 治愈后不同时间黑热病人血清DA试验结果

治愈后时间	血清份数	不同滴度标本数											阳性数	阳性率 (%)	
		4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096			
3个月内	2								2					2	100.0
1年	13		1	1	1		1	1	4		2	2		10	77.8
2年	15		1	1	3	4	3	1	2					6	40.0
3年	16		1	1	6	4	3	1						4	25.0
4年	11		1	1	2	1	1	3	1		1			6	54.5
5年~	7		1	2	1	1	1		1					2	28.6
合计	64		5	6	13	10	9	6	10		3	2		30	46.9

试验结果表明，黑热病治愈后，在数年之内，血清直接凝集抗体仍然维持在较高水平，但随着时间的延长，其滴度逐渐下降；在五年之后仍有28.6%的人，抗体滴度在1:128以上。

这种现象同间接血凝抗体水平变化相类似。

为了解DA试验测出的抗体性质，用现症病人血清二巯基乙醇(以下简称2-ME)处理前后做本试验(表4)。

表4 现症病人血清2-ME处理前后直接凝集试验结果

血 清	血清份数	不同滴度标本数											阳性数	阳性率 (%)	
		10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240			
2-ME处理前	5						1	1	3					5	100.0
2-ME处理后	5							1	2	2				5	100.0

结果表明，现症黑热病人血清在2-ME处理前后直接凝集抗体滴度无明显变化。

血清抗体水平，以及他们之间的关系，用同批血清同时做直接凝集试验和间接血凝试验(表5)。

为了解用不同血清学方法检出的黑热病人

表5 黑热病人血清直接凝集和间接血凝试验结果

试验名称	血清份数	不同滴度标本数											阳性数	阳性率 (%)	
		4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096			
直接凝集	18							1	3	8	5	1		18	100.0
间接血凝	15			2	2	1	2			8				15	100.0

试验结果，两种试验都呈阳性，但直接凝集试验抗体滴度略高于间接血凝。

份，结核病人血清8份进行试验(表6)。

为了解本试验的特异性，用同批杜氏利什曼抗原查肝炎病人血清17份，伤寒病人血清8

由表6看出，除1份肝炎病人血清呈低度阳性外，其余各种病人血清全部呈阴性。

表 6

几种病人血清DA试验结果

血清来源	血清份数	不同滴度标本数										阳性数	阳性率(%)	
		4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048			4096
肝炎病人	17			7	7	2	1						1	5.9
结核病人	8	1	5	2									—	—
伤寒病人	8		1	1	6								—	—

### 讨 论

一、关于临界滴度：Allain(1974)等把本试验临界滴度定为1:64。据我们观察，正常人本试验血清滴度均低于1:32，而黑热病人血清均在1:256以上；但极少数肝炎病人血清出现低度阳性(1:128)。为增强本试验的特异性，提高诊断的准确性，临界滴度定为1:128为宜。

二、特异性和敏感性：用杜氏利什曼78-4株前鞭毛体抗原查正常人血清13份，反应滴度均在1:32以下，而18例黑热病人血清反应则都在1:256以上。同时用同批抗原查结核病人和伤寒病人血清，反应滴度都在1:32以下，只有个别少数肝炎病人血清呈现低度阳性(低度交叉)外，其他无交叉凝集。证明本试验在黑热病诊断应用中特异性强。

用同批血清同时做直接凝集和间接血凝试验，两种试验结果都呈阳性。但直接凝集试验血清反应滴度高于间接血凝，说明敏感度高。

杜氏利什曼和非致病性沙鼠利什曼抗原，对黑热病人血清直接凝集试验反应滴度有显著差异，前者全部阳性，而后者均为阴性，其血清学方面的有关问题有待进一步研究。

三、关于直接凝集试验测出的抗体性质和维持时间：Vattuoni等用二巯基乙醇试验在美洲锥虫病人中证实直接凝集试验测出的抗体为IgM，该抗体在急性期病人血清中浓度

高；而且对急性期和早期病人有较高的诊断意义。我们对5份现症黑热病人血清，在二巯基乙醇处理前后做直接凝集试验，血清抗体滴度无明显变化。因而，认为黑热病直接凝集试验测出的抗体性质为IgG。

对64份治愈后不同时间黑热病人血清做直接凝集试验，4年后有54.5%(6/11)呈阳性，5年后仍有28.6%(2/7)的血清呈阳性，而且反应滴度较高，说明黑热病直接凝集试验测出的抗体在体内维持时间较长。

### 小 结

一、本试验操作简单，设备要求不高，特异性强，敏感度高，适于在基层广泛开展。

二、可用于不同种利什曼虫株抗原性差异的研究。

三、本试验测出的抗体性质为IgG，在黑热病后维持时间较长。

### 参 考 文 献

1. 柴君杰等：黑热病血清学诊断方法的研究，内部资料，1979。
2. Allain DS et al; Amer J Trop Med & Hyg, 24:232 1975.
3. 新疆自治区防疫站：利什曼直接凝集试验进一步研究，内部资料，1979。
4. 新疆自治区防疫站、喀什地区防疫站：黑热病免疫性质的研究，内部资料，1977。
5. 新疆自治区防疫站、喀什地区防疫站：黑热病人体液抗体与皮内反应，内部资料，1979。