

黑热病人免疫诊断试验的观察

新疆维吾尔自治区卫生防疫站 柴君杰 李宝山 王伟 刘占娥
喀什地区卫生防疫站 赵尔民 衣马木

黑热病人具有高滴度体液抗体，但对这种抗体的性质、动态及持续时间等问题尚未见报导。为此，我们研究了几种常用血清学方法并用于测定黑热病人体液抗体，得到了较好的结果〔1,2〕，并已用于临床血清学诊断。在此基础上，进一步观察了黑热病人血清抗体的性质、动态和持续时间。兹将结果报告如下。

材料与方法

为了观察现患黑热病人血清抗体，系在锑剂治疗前、后短时期内采血。为了观察抗体持续时间，采取了对已往住院的患者进行回顾性调查的方法。

黑热病人：系喀什、阿图什地区平原型黑热病人。均经骨髓穿刺查到利杜体而确诊。

治愈黑热病人：系本地区经住院治愈的病人。其中1978年以前的病人均经骨髓穿刺确诊，1979年的病人系根据两种血清学方法检查的结果确诊。

血清学试验：其中补体结合试验，直接凝集试验、间接血凝试验及间接免疫荧光抗体试验，均按已报告的方法进行〔1,2〕。

二巯基乙醇(2-ME)试验：在1:2稀释的待试血清中，加入等量0.2M 2-ME PBS溶液，紧塞橡皮塞，振摇混合后，在37°C水浴中处理1小时。然后取掉橡皮塞，继续水浴10分钟，使2-ME蒸发。经处理的血清与未处理的血清同时进行血清学试验。

结 果

黑热病人的抗体动态：黑热病人在治疗前，完成一个锑剂疗程后和恢复期的血清的补体结合试验、间接血凝试验和直接凝集试验的结果见表1、2、3。病人血清补体结合抗体滴度随

表1 锑剂治疗前后黑热病人血清补体结合试验结果

检查时间	检查人数	补体结合抗体滴度分布						
		<32	32	64	128	256	512	≥1024
治疗前	13	—	2	2	—	3	3	3
一个疗程后*	5	1	—	1	—	2	1	—
一个疗程后 2个半月	10	5	1	1	1	—	1	1

* 注：斯锑黑克6天疗法一疗程后第2天，距前次检查7天，下同。

表2 锑剂治疗前后黑热病人血清间接血凝试验结果

检查时间	检查人数	间接血凝抗体滴度分布					
		<16	16	32	64	128	≥256
治疗前	15	—	—	—	2	—	13
一个疗程后	11	1	—	—	1	—	9
一个疗程后 2个半月	12	1	1	—	1	2	7

表3 锑剂治疗前后黑热病人血清直接凝集试验结果

检查时间	检查人数	直接凝集抗体滴度分布						
		<128	128	256	512	1024	2048	≥4096
治疗前	5	—	—	—	1	3	—	1
一个疗程后	3	—	—	—	1	2	—	—
一个疗程后 2个半月	5	—	—	1	1	—	3	—

着疾病的治愈有降低的趋势，但间接血凝和直接凝集抗体滴度则没有明显的下降。

痊愈后的黑热病人的血清抗体调查：检查96例痊愈的黑热病人治愈后不同时期血清补体结合试验结果证明有7例阳性，其中抗体滴度1:32者2例，1:64者5例。

81例间接血凝试验结果, 79例间接免疫荧光抗体试验结果以及81例直接凝集试验结果分别见表4、5、6。

表4 黑热病人治愈后不同时期血清间接血凝试验结果

治愈后时间	检查人数	间接血凝抗体滴度				阳性率 (%)
		<16	16	32	≥64	
6个月内	6	3	—	1	2	50.0
7~12个月	15	3	—	2	10	80.0
2年	18	7	3	3	5	61.0
5年	37	16	8	4	9	56.8
5年以上	5	4	1	—	—	20.0
合计	81	33	12	10	26	59.2

表5 黑热病人治愈后不同时期血清间接免疫荧光抗体试验结果

治愈后时间	检查人数	间接免疫荧光抗体滴度								阳性率 (%)
		<16	16	32	64	128	256	512	≥1024	
6个月内	3	—	—	—	—	—	1	—	2	100.0
7~12个月	11	6	—	—	3	—	1	1	—	45.5
2年	15	3	3	—	—	2	2	1	4	81.2
5年	33	16	8	2	3	1	1	—	2	51.6
5年以上	2	—	1	—	—	—	1	—	—	50.0
不详	15	6	5	1	2	—	—	1	—	60.0
合计	79	31	17	3	8	3	6	3	8	60.0

表6 黑热病人治愈后不同时期血清直接凝集试验结果

治愈后时间	检查人数	直接凝集抗体滴度							阳性率 (%)
		<128	128	256	512	1024	2048	≥4096	
6个月内	3	—	—	—	—	1	—	2	100.0
7~12个月	11	7	1	—	—	2	1	—	36.4
2年	16	12	1	1	—	2	—	—	25.0
5年	33	26	1	4	1	1	—	—	21.2
5年以上	2	1	—	—	1	—	—	—	—
不详	16	12	3	—	—	—	1	—	25.0
合计	81	58	6	5	2	6	2	2	28.4

流行区内无黑热病史的健康人血清抗体调查:在流行区内选择未患过黑热病的健康人(其中包括皮内反应阴性者17例和阳性者20例),

采取血清, 进行直接凝集试验和间接血凝试验, 结果表明, 皮内反应阳性者血清直接凝集抗体滴度均在1:16以下, 间接血凝抗体<1:2, 与皮内反应阴性者血清学检查结果相同。说明流行区内无黑热病史的健康人均不能检出血清直接凝集抗体和间接血凝抗体。

黑热病人血清2-ME试验: 43例黑热病人的血清经2-ME处理前后均进行直接凝集试验。血清处理前抗体滴度在256~4096之间, 处理后没有降低。19例病人血清处理前间接血凝抗体滴度在256~2048之间, 处理后也没有影响。

血清抗体与皮内反应的关系: 对73例治愈的病人进行皮试和血清间接血凝抗体滴定(见表7)。间接血凝抗体与皮内反应没有明显关系。

讨 论

我们曾用几种血清学方法证明了平原型黑热病人具有高滴度的特异性血清抗体。但是, 使用不同的血清学方法检出的抗体在性质上是不同的。补体结合抗体在疾病治愈后即逐渐下降, 因此, 黑热病人血清中的补体结合抗体可能属于IgM型抗体。由于补结抗体的这种性质, 除用来进行临床诊断外, 还可考虑做为估计预后效果的指标。Pampiglione等〔3〕在意大利一次黑热病流行中发现6例血清补结抗体阳性无症状病例, 在肝组织活检中有多发性上皮样肉芽肿的病理改变。他们认为在流行区内可以用补结试验来检出不显性感染。我们没有做这方面的观察, 隐性感染是否伴有短时间补结抗体出现, 尚不了解。而且随治愈后时间的延长有降低趋势。既往治愈病人中的利什曼素皮内反应阴性和阳性者中, 间接血凝抗体的阳

表7 治愈黑热病人皮内反应与间接血凝抗体关系

皮内反应结果	检查人数	间接血凝抗体滴度				抗体阳性率(%)
		<16	16	32	≥64	
+	54	21	9	6	18	61.1
-	19	7	3	3	6	63.2

性率和抗体滴度均没有明显差别。在流行区内无黑热病史而皮内反应阳性的健康人虽然被认为是经过了杜氏利什曼原虫隐性感染，但他们的血清中检不出抗体。这就说明只有患过黑热病的人在痊愈后，于部分人的血清中才遗留特异性抗体。可以认为，血清抗体的存在，是感染发展成为临床疾病的一种表现。而黑热病人在患病期间尽管具有高水平血清抗体，但病人若不予治疗绝大部分不免死亡，表明血清抗体没有保护作用。这些现象显示“免疫偏离”可能在黑热病致病机制中具有一定意义，而高滴度的抗体又可能具有“封闭因子”的作用。

关于黑热病血清流行病学的资料甚少，至今国内外均使用利什曼素皮内反应做为流行病学研究的方法[4,5,6]。皮内反应只能在一定程度上表示感染率水平。而血清抗体的测定则可反映一定时期内患病率的水平。从而为利用这些方法进行黑热病血清流行病学的研究提出了依据。应用滤纸片进行微量血的血清学检查的发现又为大规模现场调查提供了实际的可能性[7]。

黑热病人血清经2-ME处理后，直接凝集抗体和间接血凝抗体的滴度没有变化，表明这两种抗体均系对2-ME不敏感的抗体或IgG型抗体。这种抗体在治愈后长期持续存在的原因尚不清楚。在黑热病病后皮肤带虫调查中发现，

5例带虫者血清间接血凝抗体阳性。因而这种病后抗体持续存在的现象是否与健康带虫有关？值得研究。

本次观察的结果显示病后间接血凝抗体的持续存在与皮内反应的阳转无关。黑热病人在治愈后皮内反应阳转表示机体细胞免疫的建立。因而可以设想用间接血凝方法测出的抗体成份没有抑制细胞免疫功能的作用。而在病程中滴度很高，治愈后即行降低的补结抗体是否能抑制细胞免疫功能？尚须作进一步观察。

小 结

黑热病人血清补体结合抗体在治愈后逐渐降低以至消失，而间接血凝抗体，间接免疫荧光抗体和直接凝集抗体在治愈后2个半月内没有明显下降。对治愈的病人进行回顾性血清学调查结果表明，间接血凝抗体和间接免疫荧光抗体在治愈后5年内阳性率维持在50%以上。讨论了血清抗体在黑热病免疫病理学上的可能作用以及这种抗体长期持续存在的可能原因。提出了这两种血清学方法在黑热病血清流行病学研究中应用的可能性。

(参加本项工作的尚有：董强 左新平 张文林 何邵新 焦玲恩等同志)

参 考 文 献

1. 柴君杰等：黑热病间接血凝试验的初步研究，内部资料，1979。
2. 柴君杰等：黑热病血清学诊断方法的研究，内部资料，1979。
3. Pampiglione S et al: Trans Roy Soc Trop Med & Hyg, 68: 447, 1974.
4. Pampiglione S et al: ibid, 69: 60, 1975.
5. Fuller GK et al: Annal Trop Med & Parasitol, 70: 147, 1976.
6. 上海寄生虫病研究所等：利什曼素皮内反应试验及其实用价值的探讨，内部资料，1979。
7. 管立人等：寄生虫病防治研究简报，6: 39, 1979。