

## 紅血球凝集反应对牛肺疫診斷的研究

卢道純 吳裕祥 陈毓章 刘玉梅

(中国农业科学院兽医研究所)

应用細菌热浸液致敏过的动物紅血球,来診斷同种細菌所造成的传染性疾病,是一种新的方向,因其具有高度的敏感性及特异性。許多国家对这种方法已广泛的展开研究。在我国王凤連等<sup>[1]</sup>曾試驗以此种方法診斷結核病;但在兽医部門,有关的試驗报告仍很少見。我們曾用这种方法对牛肺疫的血清学診斷做了一些試驗与观察,也得到了一些結果,但是很不系統,內容也不够充实。近年来虽然作了一些补充,因为这项工作的主要部分系在五、六年前所作,由于时过境迁,具体条件不同,在某些必要的比較試驗很难做到,所以要很好的联貫在一起也有困难。茲就工作中的几点体会与收获加以整理分析,提出报告如下,或可能有助于从事本工作者的参考。

### 材料和方法

**致敏血球:**从健康綿羊頸靜脉采取血液經脫纤后,用生理盐水(pH 6.8—7.2)洗滌3—4次,与一定浓度的抗原(2.5%血球10毫升加抗原2毫升)在水温37—38°C中处理(每15分钟振蕩一次)2小时,取出后在离心机每分钟1500—2000轉速下按常規洗滌三次,加入生理盐水稀释,使其浓度为2.5%。

**抗原:**本試驗中所用的抗原分为两种:1)牛肺疫补体結合反应用胸水抗原(本所生物药品制造厂检0004号,在使用前于高速离心下去其沉淀物)与菌体抗原(本所保存第10、15号牛肺疫菌种,在豆湯中培养7—10日的菌体热浸出液)。这些抗原在补体結合反应試驗时,效价都是1:10。2)牛肺疫兔化胸水抗原<sup>[2]</sup>,系用牛肺疫兔化菌种继代兔体后所产生的胸水,活菌数是 $10^9-10^{10}$ 。

**血清:**供作試驗用的阳性血清,計有人工免疫的家兔血清,牛血清和自然感染牛血清;阴性血清也取自家兔和牛。家兔的免疫先后共四次,每次間隔5—7天耳靜脉或皮下注射活菌5毫升(5—7天液体培养物),然后按不同日期采取血液分离血清,血清經灭能后使用。阳性牛血清是利用制造胸水抗原和自然患病的牛,按不同間隔日期采取血液所分离的血清。

**試驗方法:**血清的稀释,是从1:10、1:20到1:80,分別注到直径1.1公分試管中各0.5毫升,加致敏血球0.1毫升;另置同稀释度的血清滴入不处理(非經致敏的)同浓度血球0.1毫升作为对照。充分振蕩后,放37—38°C水温中30分钟,取出后立即观察并記錄結果。

## 試驗結果

### 一、补体結合反应抗原所致敏的綿羊紅血球对兔、牛血清試驗

#### 1. 对家兔血清的試驗:

选择体重2—3公斤的健康家兔,在免疫注射前采血分离血清,分别与致敏的綿羊紅血球与不处理的綿羊紅血球作凝集試驗。免疫注射后再按不同間隔日期采血,分別用上述两种血球作凝集試驗,同时并置健康家兔血清若干分作对照。該試驗共使用家兔3批(17只),每批試驗結果大致相同,即:免疫前及健康对照血清与前两种血球,都不产生凝集現象;經免疫后的血清,可与致敏血球发生較明显的凝集現象,与不处理的血球也有不同程度的凝集現象出現(見表1)。

由上表可見,在試驗过程中凝集价的高低,显然是与免疫过程有关的。在初次免疫后或抗体接近于消失过程中与再次免疫时作对比,其效价一般由低升高。补体結合反应試驗在各个时期中,也有不同程度的抑制溶血現象。

#### 2. 对人工接种牛血清試驗

利用人工接种制造补体結合反应材料用的牛只,按不同間隔日期采血检查,結果表明,接种牛血清可以与致敏的紅血球发生凝集,絕大多数不能同未經处理的血球产生凝集現象;虽有少数发生了凝集,但其滴度也很低。健康牛血清則不能和上述任何血球发生凝集(見表2)。

由上表可見,凝集价的产生,系在注射后5天左右,大約可維持一周,个别情况也有4天即消失的(如43号牛),消失后即不再重复出現,如第40号牛观察到30天,再采血作試驗时,虽在1:10的稀释度,仍然是阴性反应。

在本表所見到的凝集現象与免疫兔血清試驗的結果比較,其所出現的反应大致相同,即:出現反应期都不太长,很快即有下降的傾向;两种血清与不加处理血球所表現的凝集現象則有明显的区别,在免疫兔的血清有凝集反应,在牛血清中虽有出現反应的,但为数較少,凝集价也很低。本工作共利用牛11批,总数为44头。但因采血期不够固定,每批检查的次数也不相等(見表3),更主要的是不能作长期观察(因制造抗原所限),因之对其出現的頻度不能全面掌握。在本試驗中表明,有凝集反应出現的占32头(72.73%),无反应牛12头(27.27%),其中試驗牛中1—7批,仅作一次检查的占多数,如果同样也做多次检查,或可能有更高的反应率出現。

#### 3. 抑制凝集試驗

利用前項部分牛血清作1:10、1:20……1:320的稀释,取各种稀释液各0.5毫升,先与牛肺疫苗热浸液0.2毫升在37—38°C水浴中处理30分钟,然后再加入已致敏的綿羊紅血球0.1毫升,同时并以不經处理的血清为对照进行試驗,結果表明:阳性血清因已与所加入的抗原結合,不再与致敏的血球发生凝集現象,而对照血清,則表示出很明显的凝集現象。

用免疫兔血清,以同样方法作抑制試驗时,其結果表現不好(見表4)。

### 二、牛肺疫兔化胸水所致敏的綿羊紅血球对牛血清的試驗

#### 1. 对自然感染牛血清試驗

表 1 免疫家兔血清試驗成績

凝集程度 批別 兔号	試血時間及血清稀釋																			
	免疫前				第一次				第二次				第三次				第四次			
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:10	1:20	1:40	1:80	1:10	1:20	1:40	1:80	1:10	1:20	1:40	1:80	1:10	1:20	1:40	1:80
第一批	1				(8) 卅 卅 - -				(14) 卅 卅 + -				(21) 卅 卅 - -				(25) 卅 卅 ±			
	2				卅 卅 卅 -				卅 卅 卅 -				卅 卅 卅 卅				卅 卅 卅 卅			
	3				卅 - - -				卅 卅 卅 -				卅 卅 + -				卅 卅 卅 -			
	4				- - - -				卅 卅 - -				死亡				卅 + - -			
	5	- - - -			(5) 卅 卅 卅 -				(9) 卅 卅 卅 -				(20) 卅 卅 卅 卅				(32) 卅 - - -			
	6	(- - - -)			↓(卅 卅 + -)				(卅 卅 卅 -)				(卅 卅 卅 卅)				(卅 - - -)			
第二批	15	⊖ - - -			(12) 卅 卅 卅 卅 -				(24) 卅 + - -				(31) 卅 卅 卅 + -							
	16	(- - - -)			卅 卅 卅 卅 -				卅 + - -				↓(卅 - - -)							
	17	⊖ - - -			⊕ 卅 卅 卅 -				↓ 卅 卅 卅 -				卅 卅 卅 卅 +							
	18	(- - - -)			⊕ 卅 卅 卅 +				卅 - - -				卅 + - - -							
	19	- - - -			卅 卅 卅 +				卅 卅 - -				卅 卅 + + -							
20	(- - - -)			⊕ + - -				+ - - -				⊕ 卅 卅 + -								
对照	I	- - - -			- - - -				- - - -				- - - -							
	II	(- - - -)			(- - - -)				(- - - -)				(- - - -)							
	III	- - - -			- - - -				- - - -				- - - -							
第三批	21	- - - -			(8) ↓ 卅 卅 卅 卅				(15) 卅 卅 + -				(18) 卅 卅 卅 卅				(23) 卅 卅 卅 卅			
	22	(- - - -)			卅 卅 + -				卅 + - -				卅 卅 卅 卅				卅 卅 + +			
	23	- - - -			卅 + - -				- 卅 卅 -				卅 卅 卅 +				卅 卅 卅 +			
	24	(- - - -)			卅 + - -				- - - -				卅 卅 卅 +				卅 卅 卅 +			
	25	- - - -			卅 + - -				卅 + - -				卅 卅 - -				卅 卅 - -			
对照	IV	- - - -			- - - -				- - - -				- - - -				- - - -			
	V	(- - - -)			(- - - -)				(- - - -)				(- - - -)				(- - - -)			

注：1. ( ) 内的数字系指注射后日数  
 2. ⊖ 内的卅、卅等配号系补体结合反应结果  
 3. ( ) 内的卅、卅、- 等配号系未經致敏血球的反应结果  
 4. 表内的 ⊕ 配号系第一次接种后的再接种配号  
 5. 凝集程度凡达100%的用卅；75%用卅；50%用卅；25%用+ 等配号表示。完全没有反应的用- 配号表示。

表 2 免疫牛血清試驗成績

牛 号	試 驗 期 間 及 凝 集 程 度															
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:10	1:20	1:40	1:80	1:10	1:20	1:40	1:80	1:10	1:20	1:40	1:80
34	(6)				(10)				(13)							
	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-				
	(卅	+	-	-)	(-	-	-	-)	(-	-	-	-)				
	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-	卅	卅	卅	卅				
	(卅	-	-	-)	(-	-	-	-)	(-	-	-	-)				
35	(卅				(卅				(卅							
	卅				卅				卅							
36	(卅				(卅				(卅							
	卅				卅				卅							
37	(卅				(卅				(卅							
	卅				卅				卅							
38	(2)				(5)				(10)				(10)			
	+	-	-	-	卅	卅	+	-	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-
39	(卅				(卅				(卅				(卅			
	卅				卅				卅				卅			
40	(卅				(卅				(卅				(卅			
	卅				卅				卅				卅			
41	(卅				(卅				(卅				(卅			
	卅				卅				卅				卅			
42	(2)				(5)				(9)				(12)			
	卅	-	-	-	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-	-	-	-	-
43	(卅				(卅				(卅				(卅			
	卅				卅				卅				卅			
44	(卅				(卅				(卅				(卅			
	卅				卅				卅				卅			
45	(卅				(卅				(卅				(卅			
	卅				卅				卅				卅			
对	1	-	-	-	-	-	-	-								
	2	(-	-	-	-)	(-	-	-	-)							
	3	(-	-	-	-)	(-	-	-	-)							
照	38								-	-	-	-				
	39								(-	-	-	-)				
	46								(-	-	-	-)	-	-	-	-
	47								(-	-	-	-)	-	-	-	-

注：本表中所有記号同表 1

在自然条件下感染的牛肺疫病牛及健康对照牛，经过长期間的試驗观察，結果表明，以牛肺疫兔化胸水致敏过的綿羊紅血球为抗原做凝集反应和补体結合反应試驗所得到的結果，基本是一致的。至于两种試驗对不同牛血清反应出現的先后和消失的早晚，虽有时期的不同，但由于試驗本身性质的不一样，看来还是符合血清学抗体消长規律的。如表 5

表 3 免疫牛血清試驗成績

批 别	检 查 头 数	反 应 区 别		計
		阳 性 数	阴 性 数	
1	4	4	0	4
2	1	1	3	4
3	1	1	4	5
4	1	5	0	5
5	1	0	2	2
6	4	4	0	4
7	2	4	0	4
8	3	4	0	4
9	4	2	2	4
10	4	4	0	4
11	4	3	1	4
計		32 72.73%	12 27.27%	44

注：阳性栏中数字，系虽在多次检查中，凡出現1次以上反应的，均按1分計算

表 4 血球凝集抑制試驗

区 别	未 处 理 血 清						人 工 处 理 血 清					
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320
34号牛血清	卅	卅	卅	卅	卅	—	—	—	—	—	—	—
35号牛血清	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	—	—	—	—	—
36号牛血清	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	—	—	—	—	—
37号牛血清	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	—	—	—	—	—
42号牛血清	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	—	—	—	—	—
43号牛血清	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	—	—	—	—	—
1号兔血清	卅	卅	卅	卅			卅	卅	—	—		
2号兔血清	卅	卅	卅	卅			卅	卅	卅	+		
3号兔血清	卅	卅	卅	—			卅	卅	—	—		

中的7、8号試驗牛，它的凝集素明显地表示出是先期出現于补体結合性物质的。其它的虽出现在同一时期，可能是由于采血的間隔較长，因而表現不出其先后。凝集素出現最短期間是1—1.5月(5、11号牛)，最长可达5个月(2号牛)或更长一些。不論反应出現期間的长短与效价的高低，从病理組織学和細菌学上的驗証，它的符合程度还是很高的。和病牛长期飼养在一起的1、4号两头牛，用前两种血清学試驗，都一直呈現阴性反应，經過解剖、培养等观察，也不能証明是牛肺疫病牛。2、5、6、7、8、9、10、11、及12号牛，在剖检后的病理学观察和細菌学試驗，都証明是牛肺疫阳性牛；这和生前血球凝集試驗結果是一致的。从这些試驗牛的长期观察中表明，用致敏过的綿羊紅血球所做的凝集試驗，来检查牛肺疫和健康牛的血清，除3号牛以外，沒有发现非特异性反应，也沒有发现过漏检的情况。这种結果和补体結合反应互相比較，虽不能在同一时期出現反应，但通过长期間的观察，綜合来看，还是完全相符合的。

## 2. 不同 pH 值的稀释液对血球凝集的关系

表5 試驗牛血

牛 号 碼	1 天				15 天				30 天			
	1:20	1:40	1:80	1:160补	1:20	1:40	1:80	1:160补	1:20	1:40	1:80	1:160补
1	+	-	-	- ⊖	卅	+	-	- ⊖				⊖
2	-	-	-	- ⊖	卅	卅	卅	卅 ⊕	卅	卅	卅	卅 ⊕
3	卅	卅	卅	+	卅	+	+	- ⊕	卅	卅	卅	+
4	-	-	-	- ⊖	-	-	-	- ⊖	-	-	-	- ⊖
5	-	-	-	- ⊖	-	-	-	- ⊖	卅	卅	卅	卅 ⊕
6	-	-	-	- ⊖	-	-	-	- ⊖	-	-	-	- ⊖
7	+	-	-	- ⊖	卅	+	-	- ⊖	卅	卅	卅	卅 ⊕
8	+	-	-	- ⊖	卅	+	-	- ⊖	卅	卅	卅	卅 ⊕
9	卅	卅	卅	+	卅	+	-	- ⊕				
10	-	-	-	- ⊖	+	-	-	- ⊖	卅	卅	卅	卅 ⊕
11	+	+	-	- ⊖	卅	卅	+	+	卅	卅	卅	卅 ⊕
12	-	-	-	- ⊖	-	-	-	- ⊖	卅	卅	卅	卅 ⊕

注: 1. 表內記号同表1  
 2. 病解, 系指病理解剖及病理組織檢查  
 3. 菌檢, 系指細菌培养

利用八种不同 pH 值的生理盐水为稀释液, 作血球的致敏处理与血清的稀释并进行凝集反应試驗, 其結果是用低值(pH 3 以下)的稀释液所做的凝集試驗时, 血球都呈现溶血現象; 对阳性血清的試驗, 以 pH 6、7、8、9 表现的凝集价比較显著, 超过此范围时, 似有减弱的傾向, 因此认为在这个試驗里, 稀释液的 pH 范围, 应该确定为 6—9。同时, 也观察对阴性血清并不出現非特异性反应。其詳細結果如下表:

表 6 不同酸硷度和凝集反应的关系

酸硷度	2 号 阳 性 血 清						4 号 阳 性 血 清						0 号 阴 性 血 清					
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320
3	溶血	溶血	溶血	溶血	溶血	溶血	溶血	溶血	溶血	溶血	溶血	溶血	溶血	溶血	溶血	溶血	溶血	溶血
4	+	+	+	-	-	-	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	卅	卅	卅	卅	+	-	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-	-	-
6	卅	卅	卅	卅	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-
7	卅	卅	卅	卅	卅	+	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-
8	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-
9	卅	卅	卅	卅	卅	+	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-
10	卅	卅	卅	卅	+	-	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-	-

3. 不同菌量所致敏的血球与凝集的关系。

用 0.1—2.5 毫升牛肺疫兔化胸水(每毫升含菌数 $10^9-10^{10}$ )的不同含菌量, 分别与 2.5% 的健康綿羊紅血球 10 毫升致敏后, 再和已知的阴性或阳性血清做凝集試驗, 其初步結果看出: 用 1.5 毫升兔化胸水量所致敏的血球为抗原时, 凝集現象最为明显; 但因血清的不同, 凝集价出現的范围也不一致, 如 2 号牛血清, 在少量胸水致敏的血球, 比之大量时为强; 6 号牛血清却出現相反的結果。不过这两种阳性血清与致敏抗原凝集反应的 适中量, 均为 1.5 毫升胸水中所含的菌数。对于阴性血清, 抗原含菌量的多少并不产生影响。詳見表 7:

4. 致敏时间与凝集反应的关系

清 学 比 較 表

60 天				90 天				120 天				150 天				病 解	菌 检
1:20	1:40	1:80	1:160补	1:20	1:40	1:80	1:160补	1:20	1:40	1:80	1:160补	1:20	1:40	1:80	1:160补		
-	-	-	⊖				⊖	-	-	-	⊕	-	-	-	⊖	-	-
卅	卅	+	⊕	卅	卅	卅	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-
卅	卅	+	⊖	+	-	-	⊕	卅	+	-	⊖	-	-	-	⊖	-	-
-	-	-	⊖	-	-	-	⊖	-	-	-	⊖	-	-	-	⊖	-	-
卅	+	-	⊕	-	-	-	⊕	-	-	-	⊖	-	-	-	⊖	+	+
-	-	-	⊖	-	-	-	⊖	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+
卅	卅	+	⊕													+	+
卅	卅	+	⊕	+	-	-	⊕									+	+
卅	卅	卅	⊕	卅	卅	卅	+									+	+
卅	卅	卅	⊕	-	-	-	⊕	-	-	-	⊖	-	-	-	⊕	+	+
																+	+

表 7 不同含菌量致敏的血球与凝集的关系

胸水量 (ml)	2 号 阳 性 血 清						6 号 阳 性 血 清						阴 性 血 清					
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320
0.1	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1.0	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1.5	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-	-	-	-	-
2.0	卅	卅	卅	卅	卅	+	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-	-	-	-	-
2.5	卅	卅	卅	卅	+	+	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-	-	-

表 8 致敏时间与凝集反应的关系

致 敏 时 間	阳 性 血 清 稀 释 倍 数					
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320
15 分	+	+	-	-	-	-
30 分	卅	卅	+	-	-	-
60 分	卅	卅	卅	卅	卅	+
90 分	卅	卅	卅	卅	卅	卅
120 分	卅	卅	卅	卅	卅	卅
150 分	卅	卅	卅	卅	卅	+
180 分	卅	卅	卅	卅	卅	卅
240 分	卅	卅	卅	卅	+	+

为了证实由于綿羊血球致敏时间的不同在凝集价上所产生的差别，曾利用兔胸水和綿羊紅血球在 37°C 水溫中采取不同時間致敏，并以此为抗原与阳性血清进行凝集反应試驗，結果表明：致敏 30 分钟以下的，虽能和阳性血清发生凝集，但很微弱；如超过四小时，其凝集現象，并不因为延长了致敏的时间而出現更高的凝集价。同时，也清楚地看到

120分钟左右所致敏的血球不仅是凝集价高,凝集现象的产生也比较迅速。因此,我们认为致敏血球时,最适当的时间是在120分钟左右。下面就是用阳性血清与不同时间所致敏的血球试验结果。见表8。

## 讨论和结论

1. 用牛肺疫菌热浸液致敏过的绵羊红血球,可与该菌免疫的家兔血清和牛血清发生凝集。此种现象与陶义训氏<sup>[8]</sup>所作的有关细菌多醣体可以吸附于动物红血球与相应抗原的抗体发生凝集的报告是相符合的。

对人工接种牛血清的试验,虽未能象大西敏夫氏<sup>[8]</sup>对伤寒血清所做的血球凝集反应效价高于菌体抗原所做的凝集反应的结果,但是在本试验中很清楚地观察到用致敏的血球做试验时,所产生的凝集现象却是十分显著和易于辩识的,也就是优于用菌体抗原做试验的。至于人工接种牛血清的反应率低于对家兔血清的试验结果(72.73%:100%),而且其反应出现持续期也短,一般仅能维持一周左右,这是否与急性感染有关;因条件所限,未作其它有关对照试验,所以对抗体表现的规律,还不能得到恰当的结论。

试验表明:致敏过的绵羊红血球,不与健康家兔及健康牛血清发生凝集现象(保存期较长或腐败的除外),不加处理的绵羊红血球(非致敏者),同样不与健康家兔血清和健康牛血清呈现凝集现象,但能同免疫过的家兔血清和接种过的个别牛血清产生凝集(低于致敏血球对同血清所做的试验)。这种凝集现象的产生,显然是与接种有关的。

牛肺疫补体结合反应阳性血清,如与补体结合反应抗原先在37—38°C水温中处理,则不复与肺疫菌浸液所致敏过的血球发生凝集(见表4)。这说明了血球抗原复合物,不能再结合抗体抗原复合物,因而不产生凝集现象。这种补体结合性物质可以左右致敏血球的凝集。所以我们初步认为在本试验中所见到的凝集现象,很少可能是非特异性的。但对兔血清的试验结果,很不能令人满意;是否因为免疫兔血清中有与抗原可结合的抗体以外,尚含有与羊血球可结合的其他成分存在,所以虽经加抗原处理后,仍能同所加入的致敏血球发生凝集所致。这种推测,还有待进一步的试验加以证实。在第一表的试验中,凡经过免疫的兔血清都普遍的能与非致敏血球产生凝集,这个现象产生的原因,也很可能是同上述情况相同的。至于抗体与致敏血球作用过程中凝集现象出现的规律与程度等,则需待进一步的试验阐明。

2. 用牛肺疫兔化弱毒菌种继代兔产生的胸水为抗原,所致敏的绵羊红血球和自然感染的牛肺疫阳性血清做凝集试验,则可以观察到有较长时间(5个月以上)的抗体出现情况。这是否由于抗原的不同(补体结合反应用抗原和兔胸水抗原),因没有做比较试验,还得出什么结论。在观察自然患牛血清的凝集试验过程中,和补体结合反应试验结果的关系,基本上也符合其他血清学上的反应规律。

根据试验中的观察,少数健康牛血清在1:10稀释时,也可以出现轻微的反应(表5中的1号牛血清、4号牛血清在规定的时间内检查也曾出现过),可以认为是属于正常反应的。所以在实验时,最小稀释倍数不应低于1:10,如两次在1:20以上发生凝集(50%以上凝集程度),可看成是阳性反应。不过确定有关判定的标准,尚须通过大批健康牛血清的观察和积累更多的资料。



在試驗中长期(5个月以上的)和牛肺疫病牛处于同一条件下飼养的健康牛有16.6% (2/12)可以不遭受传染,不仅在血清学上可以說明这一問題,就是在細菌培养上也可以得到証实。如从血清学上观察健康牛和病牛的同居感染,在这个試驗中看到,最短期間需要15天(表5中的2、7、11号牛),最长的是30天(表5中的5、10、12号牛),至于更長期間6个月以上是否可以感染,从这里还得不到答案。这些期間的計算只是根据同群3、9号牛发病的日子算起的;另外关于潜伏期如何,也无据可考。

同群飼养的3号牛在試驗过程中,补体結合反应試驗呈現阳性和連續两次疑似反应,凝集試驗,也在不同期間陸續反应阳性;但在病理解剖上,却没有看到牛肺疫病变。看来血清学反应的出現,应属于非特异性反应,这是值得进一步研究的問題。但在这一批試驗牛中,最先发病且具有較典型症状的是3、9两号牛,同时由于用补体結合反应的結果,也确诊了是牛肺疫病牛,以后又相继感染了其它牛只。至于在細菌培养呈現阴性,很可能是由于距发病時間較長細菌不易分离出来,但在解剖学观察也失去了病变的存在,的确是一个比較难于理解的問題。

3. 做为本試驗用的致敏血球,其致敏時間的长短,抗原血球間浓度的大小以及稀釋液的pH等,都直接影响到凝集的敏感性。通过我們的有关試驗认为,致敏時間从60—180分钟,都可以得到較为滿意的結果,但以120分钟更为恰当;在抗原血球互相間的浓度关系上,以每10毫升2.5%的綿羊紅血球添加1.5毫升的牛肺疫兔化胸水,可以出現高度的凝集价,且对阴性血清,也不发生任何不良影响;稀釋液的pH范围以6.0—9.0为合适。这与大西敏夫<sup>[4]</sup>氏所提出的报告,似有相同之处。

### 参 考 文 献

- [1] 王凤連、謝少文: 1956, 結核病紅血球凝集反应, 中国微生物学会第二届全国会员代表大会論文摘要。
- [2] 中国农业科学院兽医研究所未发表資料。
- [3] 陶义訓: 1955, 紅血球凝集試驗在传染病研究中的应用, 中华医学杂志, 4, 469。
- [4] 大西敏夫: 1955, 伤寒菌浸液血球凝集反应, 日本传染病学会杂志, 28, 285:29, 21。

## ИЗУЧЕНИЕ РЕАКЦИИ ГЕМОАГГЛЮТИНАЦИЕЙ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПЕРИПНЕВМОНИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Лу Дао-чунь, У Юй-сян, Чень Юй-чжан, Лю Юй-мэ

Резюме

1. Культурным настоем возбудителя перипневмонии крупного рогатого скота и жидким экссудатом грудной полости кроликов, пассажированных лапинизированным штаммом перипневмонии крупного рогатого скота можно сенсibilизировать эритроциты здоровых овец при 37 ~ 38°C в течение 120 минут. Антиген и эритроциты (2,5%) смешивались в соотношении 1,5:10. рН рабочего разжидителя было в пределах 6,0 ~ 9,0.

2. При использовании полученных сенсibilизированных эритроцитов здоровых овец и сывороток животных, иммунизированных культурами перипневмонии крупного рогатого скота и естественно зараженных, может происходить явление гемоагглютинации.

3. В течение 5 месяцев наблюдения были получены довольно хорошие результаты, наблюдающиеся при реакции связывания комплемента, при исследовании реакции гемоагглютинации эритроцитами овец, сенсibilизированными жидким экссудатом грудной полости кроликов, пассажированных лапинизированным штаммом перипневмонии крупного рогатого скота, и испытуемыми сыворотками крови от 12 животных (10 положительных и 2 отрицательных по данному заболеванию).