

改良于氏環狀沉澱試驗的初步報告

李在連

(山東醫學院細菌學科)

梅毒血清反應，在臨床診斷上，是起了它一定的作用的，但是由於許多因素的影響、生物性假陽性以及技術上的錯誤等關係，往往可以使病者遭受到許多不應有的損失，使臨床的診斷走了許多彎路！

沉澱試驗及補體結合反應，如康氏反應、華氏反應等方法，廣泛的被應用作為梅毒診斷的佐證。事實證明在設備條件許可之下，採用兩種以上的試法，是比較僅僅應用康氏反應來得可靠和合理的。為了補救單做康氏反應的缺點，于氏^[1] (1952)曾倡用環狀沉澱試驗與康氏反應、華氏反應等配合應用，希望能提高梅毒血清診斷的效果。

環狀沉澱試驗^[1,2,3]，乃于氏於1921年所發見，是使用新鮮牛心肌的酒精浸漬液作為抗原，與病人血清在小試管中作環狀試驗。經過卅二年來的臨床試驗證明，這種試驗的特殊性較高，就是說不容易有生物性假陽性的結果；但是，相反的，這種試驗的敏感性比較低，也就是說，可能有假陰性的結果，尤其是治療之後或其他情況之下較常呈現這種現象。為了補救這個缺點，我們曾在抗原的製造上作了一些研究和試驗，已經得到初步成功。改良的抗原，得以糾正舊法抗原敏感性過低的缺陷，並且仍然不失其特殊性較高的優點。現將所改良的抗原製造的方法、滴度的選擇及試驗方法介紹於後，並將與其他試驗所作的比較做出初步報告，希望諸同道指正。

改良于氏環狀沉澱試驗

(一) 抗原的製備

1. 取新鮮牛心，除去脂肪、血管、結締組織等，用絞肉機絞碎，很薄的勻攤於玻璃板上，用電扇吹乾後刮下，研磨成粉末備用。
2. 秤取牛心粉 30 克，置燒瓶內加無水醋酸 100 毫升，用錫紙包裹之棉塞塞

緊，置室溫下 5 天，每天搖盪數次使其脫脂。

3. 脫脂期滿，取出過濾，棄去濾液。並把已脫脂之牛心粉涼乾。

4. 將涼乾之牛心粉置一乾淨三角燒瓶中加化學純酒精 250 毫升，以錫紙包裹之塞子緊塞瓶口，放置於室溫中 10 日，每日搖盪數分鐘。

5. 期滿後過濾，並靜置室溫中 2—3 天，必要時可再過濾一次。

6. 將新製之抗原進行滴定，以確定其滴度。

(二) 抗原之滴定法

1. 取中等大的 (150×17 毫米) 玻璃試管 5 個，分別標明 1:10, 1:20, 1:40, 1:60, 1:80 等記號，按下表所列劑量分別加入鹽水，並用 1 毫升吸管依照下表所列劑量吸取抗原，將吸管尖端插至管底，用口迅速將抗原吹入管內，使抗原與鹽水很快的混合呈清澈的稀釋液即可。(每當稀釋一種滴度時，都必須更換一乾淨吸管)。

表 1 抗 原 稀 釋 表

試 管 號	1	2	3	4	5
鹽 水	3.6	3.8	3.9	5.9	7.9
抗 原	0.4	0.2	0.1	0.1	0.1
稀 釋 度	1:10	1:20	1:40	1:60	1:80

2. 取潔淨小試管 (75×6 毫米) 10 支，排成兩列，依次標明 1:10, 1:20, 1:30 等記號，於第 1 排各管中，加入已滅活之陽性梅毒血清約 0.15 毫升；於第 2 排之各管中加入陰性血清約 0.15 毫升。

3. 用毛細管吸取 1:80 之抗原加入第 1, 2 排之第 5 管血清上，然後吸取 1:60 之抗原加於第 1, 2 排之第 4 管血清上，依次加入抗原至第 1 管，所加之抗原量與血清量相等，並須沿着管壁徐徐加入，避免衝散或重疊現象，使保持極其清晰的接觸面。

4. 靜置室溫中，每 3, 5, 10, 20, 60 分鐘及 2 小時觀察一次並詳為記錄如下表所例：

5. 滴度的確定可按照反應時間的迅速、抗原稀釋後是否清晰透明、抗原與血清間的反應界限是否明顯、反應強度如何作為決奪，如下例應確定之滴度為 1:40。

表 2

試 管 號	1	2	3	4	5
陽 性 血 清	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
抗原0.15毫升	1:10	1:20	1:40	1:60	1:80
結 果	±	+	+	+	±
反 應 時 間	慢	20 分鐘	5 分鐘	10 分鐘	15 分鐘
抗原液及界限	渾濁、不明顯	乳白、較明顯	清澈、明顯	清澈、明顯	清澈、明顯

(三) 試驗方法

1. 血清：須用淺黃色透明的正常血清，若稍微溶血而血清仍然透明者還可試用。若溶解赤血球過多，血清已變紅濁，或血清呈乳白色且渾濁不透明，皆不適用。未用前先在 56°C 水箱內滅活 30 分鐘。

2. 抗原稀釋：按照以上方法滴定的結果，如滴度為 1:40，檢驗標本為 20 份，應稀釋 4 毫升，即先加鹽水 3.6 毫升，然後吸取抗原 0.4 毫升，插入管底迅速用力吹出，使呈清液。

3. 作法：取潔淨小試管（75×6 毫米），排列試管架上，用毛細吸管或吸取已加熱之血清約 0.15 毫升沿管壁加入小試管內，再用另一毛細管取同量已稀釋之清澈透明抗原，由加入血清處慢慢加在血清上面，務使兩液交界十分清楚，如稍有混合，交界不清楚者均須重作。

4. 結果觀察：半小時後由背光處仔細查看，如在兩液交界處呈現白色環狀沉澱即為陽性反應。每隔半小時觀察 1 次，2 小時後仍不呈沉澱者即為陰性反應。

改良于氏環狀沉澱試驗與其他梅毒血清試驗之比較

改良于氏環狀沉澱試驗與華氏及康氏反應，我們初步做了一些對照試驗。在 1,135 份的標本中，于氏環狀沉澱試驗與華氏及康氏反應，陽性陰性完全相符者為 1082 份；治療以後，華氏及康氏反應呈弱陽性或疑似，于氏試驗呈陰性者 18 份，即在治療之後，尤其比較長期治療之後，于氏反應的敏感性較低，詳細結果參看下表：

表 3 改良于氏沉澱試驗與其他梅毒血清試驗之比較

標本類別 反應結果 試驗項目	162 份梅毒強陽性血清及 787 份陰性正常血清標本		151 份經過治療後之梅毒血清標本			35 份假陽性血清標本	
	陽 性	陰 性	中等陽性	弱 陽 性 或 疑 似	陰 性	陽 性	陰 性
華氏反應	162	787	92	18	41	35	—
康氏反應	162	787	92	18	41	35	—
于氏反應	162	787	92	—	59	—	35

此外，我們將于氏試驗之新舊兩種抗原也做了對比試驗。從下表所得結果中可以看出，新抗原的陽性率比舊抗原高，尤其在治療後的反應中更為顯著。

表 4 于氏沉澱試驗改良法與舊法之比較

試驗方法 標本數目	標本數目	華氏康氏反 應呈陽性者	改良于氏反 應呈陽性者	于氏舊法呈 陽性者	華氏康氏陽 性者佔%	改良于氏法 陽性者佔%	于氏舊法呈 陽性者佔%
未 治 療	162	162	162	137	100	100	84.6
已 治 療	110	110	92	58	100	83.6	52.7

總 結

1. 于氏沉澱反應的特殊性較高，不容易出假陽性的結果，在臨床診斷上具有一定的價值，但是由於它的敏感性較低的缺點，以及技術操作上的掌握不夠細緻等，往往可以產生假陰性的結果。在這方面我們曾於抗原的製備方面加以努力的改進，現在已經得到初步的成功，證明了以脫脂的牛心粉浸出液作為抗原，比新鮮的牛心肌浸出液抗原，不僅提高了滴度，也提高了敏感性，而且仍不失其特殊性。

2. 過去于氏反應的抗原製造過程中，沒有滴定抗原的結合力，這是一個極大的缺點，因着牛心肌所含抗原量的不同，機械的採用 1:10 的滴度，是會影響試驗的後果的，有些地方根據舊法製造抗原，所以不都能得到很好的結果，和沒有進行抗原的滴定是很有關係的。

3. 在脫脂方面，我們認為應用無水醋酮是比較合宜的，因為醋酮的用量小，手續也簡單。脫脂時間最少 3 天，最多不得超過 5 天。

4. 我們初步認為用酒精浸漬 10 天比較合宜，一般的滴度可達到 1:100 仍能呈現陽性，而以 1:40—1:80 為合適。假若滴度太高，臨用時配製量多，較難得到清澈之液體。

5. 過去舊法抗原稀釋後認為必須清澈透明與鹽水無異者方為合用。改良之新抗原我們在滴定時是選擇反應時間最快、反應結果最強、液體較為澄清的滴度，在該種滴度下往往有極淡的乳色光輝，這樣亦仍可選用而對結果無妨礙。但總應當避免選用乳白濶濁者，以免影響結果的觀察。

6. 本抗原之反應速度，當抗原加入血清上層後最早在 3 分鐘就開始呈現陽性，而弱陽性之血清則反應較慢，一般在半小時後均能出現。但經過治療之血清偶可在 1 小時後出現陽性。

7. 在發出報告單上，于氏沉澱試驗只以陽性(+)或陰性(-)的記號表示。

8. 因設備上的限制，不能做華氏反應的醫院，採取于氏反應對於梅毒血清診斷有很大的幫助，能以糾正康氏反應的缺點，區別生物性假陽性反應。我們除了在各方面繼續努力以求改正外，希望諸同道多多提供寶貴的意見。

本文承謝少文、黃翠芬、于復新、荆永蕊教授指正，特此致謝。

參 考 文 獻

- [1] 于復新、張同信：診斷梅毒血清各法之比較。齊魯醫刊，10(3)，1930年7月。
- [2] 于復新：梅毒反應百分率及血製分類的統計。華東衛生，1(4)，1951年6月。
- [3] 于復新：實驗診斷學。202—203，1952。
- [4] 于復新：單做康氏反應的缺點及其補救的辦法——環狀沉澱試驗法的應用。內科學報，1952年第7期。

PRELIMINARY STUDY ON A MODIFICATION OF YU RING TEST FOR SYPHILIS

LI TSAI-LIEN

Department of Bacteriology, Shantung Medical College, Tsinan

Yu ring test for syphilis has the advantage of great specificity, but it has the disadvantage of being less sensitive than the common serological tests for the diagnosis of syphilis. In an attempt to improve its sensitivity, the method of preparation of antigen, and the method of its titration have been modified so that the reaction now appears in a few minutes and completes in 30 minutes. In the original method, reaction only begins to appear in one hour's time. Preliminary comparative study between the original, modified, and various other common serological tests showed that a greater sensitivity of the modified test has been achieved without sacrifice of specificity.