

標準康氏試驗之技術

Reuben L. Kahn 原著

顧德鴻譯

華東軍區
第三野戰軍
後勤衛生部印行

標準康氏試驗之技術

一九五〇年十月

目 錄

I	器械準備	
	試管 抗原稀釋管 吸管 試管架 康氏振搖器	
	水浴箱 沉澱器.....	(1)
II	試藥準備	
	抗原 血清 生理食鹽水.....	(2)
III	實際試驗	
	甲 一般血清慣例檢查	
	1. 試驗前之準備	
	血清加熱 抗原懸液之準備.....	(2)
	2. 康氏試驗進行之步驟	
	康氏抗原懸液之加法 加入病人血清 振搖	
	三分鐘 加鹽水 觀察.....	(4)
	3. 觀察結果之方法.....	(5)
	4. 康氏試驗結果之記錄	
	強陽性(++++) 陽性(+++) 弱	
	陽性(++) 可疑(+) 可疑(±)	
	陰性(±) 陰性(-).....	(6)
	5. 解釋觀察之結果.....	(9)
	6. 補充試驗之方法	
	第一種試驗法 第二種試驗法.....	(9)
	7. 補充試驗之結果及其報告法.....	(10)
	乙 康氏血清定量試驗	
	1. 原理.....	(13)

2. 何種血清可做定量試驗.....	(13)
3. 稀釋血清之方法.....	(13)
4. 實際試驗.....	(14)
5. 結果之看法.....	(14)
6. 報告定量結果之方法.....	(14)
丙、脊髓液之康氏試驗	
1. 濃縮球蛋白溶液之製備.....	(15)
2. 抗原懸液之製備.....	(15)
3. 實際試驗.....	(16)
4. 報告結果之方法.....	(16)
IV 康氏抗原製造法	
1. 材料.....	(16)
2. 製造之步驟.....	(17)
3. 加胆脂素.....	(17)
V 康氏抗原效價之滴定	
1. 試驗方法.....	(18)
2. 解釋滴定之結果.....	(19)
VI 康氏抗原之敏感性及特異性測定.....	(20)

康氏試驗 Kahn Test

康氏試驗乃用於診斷梅毒之用，其試驗結果極為準確，幾與華氏反應（Wassermann Reaction）相同，且其方法簡便，故在小實驗室內亦可應用。

I 器械準備

玻器——所用玻器務須做到化學上的清潔，即不含酸或鹼，而且需要乾燥，至於玻器的消毒並不重要。

1. 康氏試驗管——長 7.5 cm. 口徑 1 cm. 每一個血清標本，需要三支試管。
2. 康氏抗原稀釋管——長 5.5 cm.，口徑 1.5 cm. 平底。
3. 1 c.c. 吸管——有 0.01 c.c. 刻度，乃用以吸病人血清用。
4. 0.2 c.c. 或 0.25 c.c. 吸管——需有 0.001 c.c. 刻度，乃用以量取稀釋抗原用。
5. 5 c.c. 或 10 c.c. 吸管——乃用以振搖後加鹽水用。

上列三種吸管務須刻度精確，且刻度到頭，專為血清檢查之用。

6. 試管架——金屬管架，3 吋寬，11.5 吋長，2.75 吋高，分上中下三層，上中二層各有三排孔，每排十孔，每孔 0.5 吋直徑，中間一排的孔較前排凸出 0.5 吋。
7. 康氏振搖器——其速度為每分鐘 275 次至 285 次，振搖距離為 1.5 吋（若無此器，可用手搖代之，但速度及振搖距離須符合上述之規定，結果亦同）。
8. 能保持 56 °C 之水浴箱一具。
9. 沉澱器——每分鐘約 2000—3000 轉之速度（最好用電沉澱

器，否則用手搖沉澱器代之）。

II 試藥準備

1. 抗原——滴定康氏抗原，準備應用。

保存康氏抗原之方法

(a) 保存在已用化學方法清潔及乾燥之瓶中，蓋須蓋緊，若蓋有漏氣，使抗原內酒精蒸發，其敏感度改變，同時可使胆脂素分離。

(b) 康氏抗原應保存在室溫內，不可保存在冰箱及溫箱內，盛抗原之瓶應置入於紙盒內，以避日光。

(c) 抗原不能與橡皮塞或軟木塞接觸，因酒精能溶解它，須用良好之錫箔紙 (Tin foil) 保護之。

2. 血清

(1) 試驗之血清，須完全無細胞及其他顆粒存在。

(2) 抽取病人之血液須完全無菌之技術，放血之試管須用化學清潔法乾燥及滅菌，在血未凝固前切不可搖動以免溶血。

(3) 用木杆將血塊與試管分離，木杆用過一次後決不可再用，若血塊不收縮，可用一分鐘 2000—3000 轉速度沉澱 5—10 分鐘，若血清在沉澱後仍不澄清，可再沉澱之。

(4) 血清可直接倒入另一試管內，或用毛細吸管吸取之，再放入另一試管內。

3. 生理食鹽水——0.9% 氯化鈉 (化學純淨) 蒸溜水溶液，用前須過濾，可不必消毒，但鹽水內須清潔，無顆粒沉澱物見才可應用。

III 實際試驗

甲、一般血清慣例檢查

一般血清慣例檢查試驗乃三管試驗。每管中含有不同比例之血

清和抗原懸液。當抗原和抗體之濃度恰當時最易發生沉澱，因此用大量中量和小量之抗原與每一個血清混合，因為血清中可能含有大量中量和小量之抗體，因此用三種不同比例之血清和抗原懸液，可能發生極敏感之沉澱結果，雖然抗原是中等敏感度，但有極強之特異性。

下表乃表示康氏試驗可能發生四種不同程度之沉澱反應：

標準康氏試驗

	第一管 (前)	第二管 (中)	第三管 (後)
血清與抗原懸液之比例	3:1	6:1	12:1
抗原懸液c.c.	0.05	0.025	0.0125
血清c.c.	0.15	0.15	0.15

先用手振搖10秒鐘，放在台上經5—7分鐘，再用康氏振搖器振搖三分鐘。若無此器，可用手振搖之，其速度約近每分鐘275次至285次，搖一分鐘後，可稍休息一下再搖。

鹽水(0.9%)c.c.	1.0	0.5	0.5
--------------	-----	-----	-----

用手振搖，使其混合均勻後檢查結果：

解釋下列四種不同之沉澱反應之結果

三管均陰性	—	—	—
三管均陽性	冊	冊	冊
祇少量抗原懸液呈陽性	—	++	冊
祇大量抗原懸液呈陽性	冊	++	—

1. 試驗前之準備

(1) 血清加熱——當血清加熱56°C半小時後，應再檢查血清內有否顆粒。假使存在，須再沉澱使之澄清，血清加溫後，如

經過2—24小時才做康氏反應，則必需又加溫一次， 56°C 10分鐘，若24小時以上，則需再加溫15分鐘。

(2) 抗原懸液之準備——此懸液最好在血清加溫將要取出前準備。抗原與鹽水按照其價混合。例如其價為1 c.c. 之抗原加1.2 c.c. 之生理鹽水，其混合法如下：

(a) 用1 c.c. 或2 c.c. 吸管吸取1.2 c.c. 鹽水，放在康氏抗原稀釋管內。

(b) 吸1 c.c. 抗原加入另一康氏抗原稀釋管內，用錫紙包之軟木塞蓋緊。

(c) 用鹽水倒入抗原管內，愈快愈好，不必等完全倒乾即將抗原管反倒入鹽水管內，如此反覆混合12次（即整個六次來回）使其完全混合。

(d) 抗原懸液混合後，放在桌上等待10分鐘後應用，若混合後超過30分鐘即不能應用。

2. 康氏試驗之步驟

(1) 康氏抗原懸液之加法——將康氏抗原懸液稍加振搖，使其均勻，然後吸取0.05, 0.025及0.0125 c.c. 加於一二三排試管內。當用吸管加入試管內時，須將吸管尖端插至底部加入，以免附着管壁不能與加入血清混合，康氏試管架有三十孔，每排10孔，先各加0.05 c.c. 於第一排試管內，後各加0.025 c.c. 於第二排試管內，最後各加0.0125 c.c. 於第三排試管內。

(2) 加入病人血清——當康氏抗原加入試管後，愈快加入不動性血清愈好，每管加入0.15 c.c. 之血清（即一病人血清加入一二三排之三試管內），加入後用手振搖，使其混勻，靜置桌上五分鐘至7分鐘（不得少於3分鐘，不得超過10分鐘）。

對照——在試驗時應同時先作三對照試驗，一用已知陽性血清，一用已知陰性血清，一用鹽水代替血清。

(3) 振搖三分鐘——當加入病人血清又靜放桌上5—7分鐘

後，可放入康氏振搖器內，振搖三分鐘，其速度每分鐘為275次至285次。若無此種器械，可用手振搖代之，搖一分鐘後可稍休息一下再搖。

(4) 加入鹽水——振搖後隨即加入1 c.c. 鹽水於第一排試管內(含有抗原懸液 0.05 c.c. 者)，加完後接續加入第二排及第三排各管內 0.5 c.c. 鹽水(含有抗原懸液 0.025 c.c. 及 0.0125 c.c. 者)。

(5) 觀察——加後將架用手振搖使其混勻，立刻作一次檢查結果記錄。待十五分鐘又作第二次觀察，又記錄之。

康氏試驗血清和對照管應加之物簡明表

試管	1	2	3
血清：抗原	3：1	6：1	12：1
抗原懸液 c.c.	0.05	0.025	0.0125
血清(不動性) c.c.	0.15	0.15	0.15
振搖 3分鐘，加鹽水 c.c.	1.0	0.5	0.5
抗原對照——試管	1	2	3
抗原懸液 c.c.	0.05	0.025	0.0125
鹽水 c.c.	0.15	0.15	0.15
振搖 3分鐘，加鹽水 c.c.	1.0	0.5	0.5

3. 觀察結果之方法——須靠近窗前，將窗之上部用黑布遮蓋，且由觀察者背部來之光線須設法遮蔽。凡康氏試驗陰性之血清呈現透明，強陽性有粗大之顆粒，即不舉起試管亦可看到。鹽水對照管須透明，決不可有顆粒存在。

若為弱反應，須將試管舉起在眼之前上部數吋處，將管傾斜，使管內液體成一薄層，觀察有無細小之顆粒存在。觀察後，依

照下列各種不同沉澱反應記錄反應之結果：

++++ (4+) 顯明清楚之顆粒在透明之液體中，不將試管由架上舉起亦可看清。

+++ (3+) 有明顯之顆粒，但比較 (4+) 管較不清。

++ (2+) 細小顆粒，液體呈混濁，需要每一試管分別檢查才能看清。

+(1+) 更小之顆粒在混濁液體中，將試管傾斜并振搖之才能看清。

± (D) 在混濁液體中微微能看到顆粒。

-(O) 液體澄清透明，無顆粒存在，亦不混濁。

4. 康氏試驗結果之記錄

、 康氏試驗結果報告強陽性 Positive (++++)

血清 號碼	第一次檢查結果			第二次檢查結果		
	第一管	第二管	第三管	第一管	第二管	第三管
1	++++	++++	++++	++++	++++	++++
2	++++	++++	++++	++	++++	++++
3	+++	++++	++++	+++	++++	++++
4	++++	++++	+++	++++	++++	+++
5	++++	++++	++	++++	++++	++
6	++++	++++	+	++++	++++	+
7	++++	++++	-	++++	++++	-

4.5.6及7號之血清發生呈“帶現象”Zone phenomenon，乃強陽性之反應，因此報告為 Positive (++++)。

陽性 Positive (+ + +)

血清 號碼	第一次檢查結果			第二次檢查結果		
	第一管	第二管	第三管	第一管	第二管	第三管
1	+++	++++	+++++	-	++++	+++++
2	++	++++	+++++	-	+++	+++++
3	±	++++	+++++	-	++++	+++++
4	+	++++	+++++	±	+++	+++++

弱陽性 Positive (+ +)

血清 號碼	第一次檢查結果			第二次檢查結果		
	第一管	第二管	第三管	第一管	第二管	第三管
1	±	++++	+++++	-	+++	+++++
2	-	++	+++++	-	+	+++++
3	-	+++	+++	-	++	++++
4	±	+++	+++	-	+	+++

可疑 Doubtful (+)

血清 號碼	第一次檢查結果			第二次檢查結果		
	第一管	第二管	第三管	第一管	第二管	第三管
1	-	+	++++	-	+	+++
2	-	-	+++	-	-	++
3	-	++	++	-	+	++
4	-	+	++	-	+	++

可疑 Doubtful (±)

血清 號碼	第一次檢查結果			第二次檢查結果		
	第一管	第二管	第三管	第一管	第二管	第三管
1	—	±	++	—	±	++
2	—	—	++	—	—	++
3	—	+	++	—	—	+
4	—	+	++	—	+	+
5	—	—	++	—	—	+

陰性 Negative (±)

血清 號碼	第一次檢查結果			第二次檢查結果		
	第一管	第二管	第三管	第一管	第二管	第三管
1	—	—	++	—	—	—
2	—	—	++	—	—	±
3	—	+	+	—	—	+
4	—	+	+	—	±	+
5	—	+	+	—	+	+
6	—	±	+	—	±	+

陰性 Negative (—)

血清 號碼	第一次檢查結果			第二次檢查結果		
	第一管	第二管	第三管	第一管	第二管	第三管
1	—	+	+	—	+	—
2	—	±	+	—	—	+
3	—	±	+	—	±	±
4	—	±	±	—	±	±
5	—	—	+	—	—	+
6	—	—	±	—	—	±

5. 解釋觀察之結果

(1) 血清內所含之抗體不太強時，三管中並不完全顯現沉澱反應。常為第三管反應最強，第一管反應最弱，乃病人體內具有抗體量不多，故最合適與較小量之抗原管發生反應，顯現明顯之沉澱，第二管祇顯弱反應，而第一管則變為陰性。

(2) 若病人體內含有極強之抗體，則三管均可顯現+++ (4+)之結果，實際上每管內所含抗原懸液量不同，因此三管亦可顯不同之反應，常為第一管較第二管為強，第三管反應更弱或為陰性，由此可知病者體內含抗體量頗高，若其血清與抗原較多之一管顯現更強之反應。

(3) 在上述 (B) 之情形，雖第二管和第三管祇顯現弱反應，第一管顯現強反應，可能病人體內抗體量過高之故，需要做一補充試驗 (Supplementary test) 以確定之，再作報告。

6. 補充試驗之方法：

(1) 第一種試驗法

在此試驗，血清與抗原懸液之比例為2:1和1:1

	第一試管	第二試管
抗原懸液c.c.	0.025	0.025
血清c.c.	0.025	0.05
振搖三分鐘		
加鹽水c.c.	— 0.3	0.3

若所得結果二管均為陽性或祇第二管發生陽性，則報告為強陽性 Positive (++++)。

(2) 第二種試驗法

在此試驗血清用鹽水稀釋至1:5, 1:10, 及1:20, 其稀釋之血清與抗原懸液之比例為15-1, 其試驗法如下：

	第一試管	第二試管	第三試管
抗原懸液c.c.	0.01	0.01	0.01

稀釋血清c.c. 0.15 (1—5) 0.15 (1—10) 0.15 (1—20)

振搖三分鐘

加鹽水c.c. 0.5 0.5 0.5

其結果只要一管發生沉澱現象，即可報告為陽性。

若此二種補充試驗均為陰性反應，而原來標準康氏試驗之結果為與一般所顯現之反應相反，仍可報告為弱陽性或可疑之結果。

若三管所得之結果完全相同，例如±±±；+++；++++者，必需觀察加入病人之血清是否澄清。若澄清者須作上述之補充試驗。若補充試驗之結果為陽性，可報告陽性；若其結果與標準試驗相同或為陰性，則仍可報告為弱陽性或可疑，此可能為非特效反應之一種。

7. 補充試驗之結果及其報告法

康氏試驗結果報告為強陽性 Positive (++++)

第一種及第二種補充試驗均為陽性

血清 號碼	第一次檢查結果			第二次檢查結果		
	第一管	第二管	第三管	第一管	第二管	第三管
1	++++	++++	+++	+++	+++	+++
2	++++	+++	++	++++	+++	++
3	++++	+++	—	++++	—	—
4	++++	+	—	++++	—	—
5	+++	+++	+++	+++	+++	+++
6	++	++	++	++	++	++
7	++	—	—	++	—	—
8	+	+	+	+	+	+
9	+	—	—	+	—	—
10	±	±	±	±	—	±
11	±	—	—	±	—	—

陽性 Positive (+ + +)

第一種及第二種補充試驗均爲陰性

血清 號碼	第一次檢查結果			第二次檢查結果		
	第一管	第二管	第三管	第一管	第二管	第三管
1	++++	+++	+++	+++	+++	+++
2	++++	+++	++	++++	+++	++
3	+++	+++	+++	+++	+++	+++

弱陽性 Positive (+ +)

第一種及第二種補充試驗均爲陰性

血清 號碼	第一次檢查結果			第二次檢查結果		
	第一管	第二管	第三管	第一管	第二管	第三管
1	++++	++	++	+++	++	++
2	++++	+	+	++++	+	+
3	++++	+++	±	++++	+++	±
4	+++	+++	++	+++	+++	—

可疑 Doubtful (+)

第一種及第二種補充試驗均爲陰性

血清 號碼	第一次檢查結果			第二次檢查結果		
	第一管	第二管	第三管	第一管	第二管	第三管
1	++++	+	±	+++	+	+
2	+++	++	±	+++	—	—
3	+++	±	—	+++	±	—
4	++	++	++	++	++	++

可疑 Doubtful (±)

第一種及第二種補充試驗均為陰性

血清 號碼	第一次檢查結果			第二次檢查結果			
	第一管	第二管	第三管	第一管	第二管	第三管	
1	++	++	+	++	++	±	9
2	++	++	—	++	+	—	7
3	++	—	—	++	+	—	5

陰性 Negative (±)

第一種及第二種補充試驗均為陰性

血清 號碼	第一次檢查結果			第二次檢查結果			
	第一管	第二管	第三管	第一管	第二管	第三管	
1	++	±	±	++	±	±	4
2	++	±	±	++	—	—	4
3	++	±	—	++	—	—	4
4	++	—	—	++	—	—	4

陰性 Negative (—)

第一種及第二種補充試驗均為陰性

血清 號碼	第一次檢查結果			第二次檢查結果			
	第一管	第二管	第三管	第一管	第二管	第三管	
1	+	+	±	+	±	±	3
2	+	±	±	+	—	—	2
3	±	±	±	±	—	—	—
4	±	—	—	±	—	—	—

乙 康氏血清定量試驗

最近對於康氏血清定量試驗已廣泛採用，特別用於研究梅毒治療之後的血清反應，比較其治療之結果如何。至於康氏試驗血清定量法

