

鈣剂減輕納嘎宁副作用在 家畜苏拉病防治上的应用价值

郑策平 雷振声

目前能用于防治家畜锥虫病的化学药品为数不多，其中比較常用的且一般認為效力較好的有納嘎宁 (Наганин)、納嘎諾 (Naganol)、安錐疾硫酸甲基 (Antrycide methyl sulphate)、安錐疾預防盐 (Antrycide pro-salt) 和安錐波 (Antrypol) 等。納嘎宁是苏联用于治疗 and 預防家畜锥虫病的特效药，是一种合成的尿素化合物，分子式为 $C_{51}H_{34}O_{23}N_6S_6Na_6$ 。納嘎宁粉稍带蔷薇色，易吸收空气中的水分，遇潮湿則变成粘块，遇光則分解改变原色，故須装于密封瓶中并保存在暗处，易溶于生理盐水（特别是加热时）而呈浓茶色，有时放葡萄酒味。唯此剂有体温上升、蹄皮炎、肌肉震顫、疝痛、直腸炎、臀部麻痺、肺水肿、心脏扩张等副作用。我中南部队使用的結果也証明此药对馬騾的副作用很大，如荨麻疹、腹下浮肿、蹄冠压痛、跛行、肛門糜烂、食欲減損、心悸

亢进及一时性的体温輕度上升等，特以沉重的跛行发生，致使納嘎宁在苏拉病的防治上很难广泛应用于部队，成为一个亟待解决的問題。

兽医大学曾在納嘎宁（体重1公斤0.012克）溶液中賦加0.5—1%阿拉伯胶进行納嘎宁副作用的減輕試驗，結果虽能使副作用減輕一些，但同时也使納嘎宁的預防效力略有減低（由30—35日減为22日）。

本所为了研究解决家畜苏拉病防治中应用納嘎宁发生副作用的問題，曾由临床科賈清汉主任、賈全福和姚智庵等同志作了鈣剂与納嘎宁混合注射以減輕納嘎宁副作用的試驗，此后又由我們作了鈣剂与納嘎宁混合注射对藥物疗效的影响試驗，以及馬匹用大量納嘎宁与鈣剂混合注射的試驗与觀察。茲将三次試驗的經過和結果总结如下。

一、鈣剂对納嘎宁副作用的減輕試驗

1. 試驗方法

利用从鼻疽检疫研究剩余的馬匹中挑选出来的外貌健康的馬23匹，分成五組。这些馬匹在試驗开始前都进行了健康检查，認為合格。

納嘎宁以生理盐水配成10%溶液，按体重1公斤0.012克靜脉注射，例如馬的体重为250公斤，注射納嘎宁液30毫升，

体重为300公斤則注射納嘎宁液36毫升。

鈣剂液由安鈉咖15.0，葡萄糖30.0，盐化鈣30.0，生理盐水300.0配成。

第一組馬五匹，仅靜脉注射納嘎宁液。

第二組馬五匹，納嘎宁液与鈣剂液混合注射，鈣剂液每馬20毫升。

第三組馬五匹，先注射納嘎宁液，然后每馬注射鈣剂液20毫升。

第四組馬五匹，每馬先注射鈣剂液20

毫升，然后注射納嘎宁液。

牛用納嘎宁后不認副作用，推想納嘎宁混入牛血清內可能降低馬匹对納嘎宁的敏感性，故第五組馬三四各以納嘎宁液与牛血清50毫升混合注射进行观察。

2. 試驗結果

按照上述分組办法进行試驗观察的結果如表 1。

表 1. 納嘎宁副作用減輕試驗結果表

組別	一				二				三				四				五						
	51	97	102	136	224	3	40	57	82	216	29	59	90	171	272	4	17	58	144	283	105	181	220
馬	出現日期		注后5天	注后4天	注后4天									注后5天				注后4天					
	消失日期		注后8天	注后10天	注后11天									注后13天				注后8天					
駝行者	程 度		輕	重	重									中				中					
	出現日期		注后3天	注后4天	注后5天				注后3天					注后3天	注后5天			注后4天			注后5天		
紅門藥	消失日期		注后10天	注后15天	注后7天				注后12天				注后10天	注后12天				注后13天			注后6天		
	程 度		重	重	輕				重			中	輕	中				中			輕		
合 計	駝行者3匹 紅門藥者2匹				紅門藥者2匹				駝行者1匹 紅門藥者3匹				駝行者1匹 紅門藥者1匹				紅門藥者1匹						
	駝行者3匹 紅門藥者2匹				紅門藥者2匹				駝行者1匹 紅門藥者3匹				駝行者1匹 紅門藥者1匹				紅門藥者1匹						

駝行程 度：輕——步行中不明显，跑步时能看出；

中——步行中可以看出；

重——步行中四肢強拘，虽鞭打亦不能跑步。

駝行程 度：輕——駝行皮肤稍裂，細看时才能看出；

中——駝行皮肤腫脹显明；

重——駝行皮肤腫脹范围較大，附有灰白色粘液。

注：以上第一試驗系由本所臨床研究科賈清漢主任和賈全福、姚智慶同志等所做

第一組單純注射納嘎寧的五匹馬中有三四于注射后第4天和第5天出現程度不同的跛行，于注射后第8、10、11天消失。这三匹出現跛行的馬匹中有两匹在注射后第3、4天出現肛門糜爛症状，于第10、15天消失。

第二組納鈣混合注射的五匹馬中，三匹毫不認副作用，只有两匹在注射后第3天和第5天出現肛門糜爛症状，于第7天、第12天消失。

第三組先注射納嘎寧后注射鈣劑的五匹馬中，仅有一匹于注射后第5天出現跛行症状，第12天消失；有三匹于注射后3—5天发生肛門糜爛，注射后6—12天消失。

第四組先注射鈣劑后注射納嘎寧的五匹馬中有一匹于注射后第4天出現跛行症状，第8天消失。同一匹馬于注射后第4天出現肛門糜爛症状，第13天消失。

第五組納嘎寧与牛血清混合注射的三匹馬均未发生跛行，只有一匹于注射后第5天出現肛門糜爛症状，第6天消失。

3. 小 結

(一) 单独注射納嘎寧而不賦加任何藥品，可能有3/5的馬匹发生跛行，2/5的馬匹发生肛門糜爛症状。

(二) 从这次試驗結果来看，納嘎寧和鈣劑混合注射可以減輕納嘎寧的副作用，給扩大納嘎寧实际应用范围带来了可能性。但是否因此減低了納嘎寧的預防和治疗效力，尚不得知，有进一步試驗研究的必要。

(三) 納嘎寧和牛血清混合注射虽未发生跛行症状，但第二次注射有发生过敏反应的可能，且多数馬匹应用納嘎寧时需要大量的牛血清，故不适于实际应用。

二、鈣劑和納嘎寧混合注射对藥物疗效的影响

根据第一試驗証明鈣劑和納嘎寧混合注射，可以有效地減輕納嘎寧的副作用，特别是严重的跛行症状。但由于試驗馬都不是錐虫病馬，只單純地作了藥物副作用的減輕試驗，故納嘎寧加入鈣劑以后是否将使納嘎寧的治疗效果也相对的減弱，則不得而知。因此，繼續上一試驗，进一步做了納嘎寧和鈣劑混合注射是否減低藥物疗效的試驗和观察。

1. 試驗材料和方法

(一) 藥物：①納嘎寧用量按体重每公斤0.012克計算，配成1%生理盐水溶液，100°C水浴灭菌30分鐘；因試驗小鼠体重在24—27克，每个小鼠均皮下注射0.03毫升。②鈣劑液：安納咖5克，葡萄

糖10克，氯化鈣10克，精制食盐0.9克，蒸餾水100毫升，配成后于100°C水浴灭菌30分鐘；每只小鼠皮下注射量0.03毫升。

(二) 試驗动物和試驗法：小白鼠24只，分成8組，每組3只。第I、II、III組于注射毒血后12小时（血液中未发现錐虫时）开始注射藥物。第I組單純注射納嘎寧液0.03毫升。第II組注射納鈣混合液（納嘎寧液0.03毫升加鈣劑液0.03毫升）0.06毫升。第III組用納嘎寧液0.03毫升，鈣劑液0.03毫升，同时分別注射于左右两腹側，并于藥物注射后24小时均以同样剂量和注射法再注射一次。第IV、V、VI組則于注射毒血后血液中发现錐虫时，才开始藥物注射，其注射法和剂量与第

I、II、III組相同。第IV組为对对照组，不治疗。第V組为藥物对对照组，不注射錐

虫。具体分組和注射法分列于下：

区 分	組 別							
含虫毒血注射量 (毫升)	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.07	1
藥 物 注 射 量 (毫升)	納0.03	納0.03 鈣0.03	混合液 納0.03 鈣0.03	分側注 納0.03	納0.03 鈣0.03	混合液 納0.03 鈣0.03	分側注 納0.03 鈣0.03	对 照 納0.03 (藥物对照)
	毒血注射后12小时开始注射			血液中出现錐虫时注射				

注：1. 表中“納”是1%納嘎宁生理盐水溶液，“鈣”是鈣剂液。

2. 藥物注射均于第一次注射後24小时作第二次注射，先后共注射藥物两次。

3. 第VIII組为对組不治疗，第V組为藥物对对照组不注射錐虫。

2. 試驗結果

苏拉病小鼠藥物治疗試驗結果如表2。

表2 試驗結果，凡注射納嘎宁，納鈣混合液或納鈣分側注射等治疗的小鼠，观察十天均无死亡，且精神活泼，毫无病征。只是第III組于藥物注射后血液中仍发现錐虫，并于第二次藥物注射后完全消失，小鼠亦恢复健康。就是血片未証明錐虫以前（毒血注射后12小时）注射藥物，以后亦未发现（如I、II組）。血液中出现錐虫（毒血注射后24小时）时注射藥物治疗，以后血液中錐虫即行消失（如V組10号，12号及VI組VII組等），仅第VIII組11号小鼠錐虫消失較慢，即毒血注射后24小时血片检查 $600\times$ 扩大每个視野可見1—2个錐虫（此时第一次藥物注射），48小时达30—40个錐虫（此时第二次藥物注射），72小时减为1—2个錐虫，92小时完全消失。由此証明納嘎宁对苏拉病的治疗作用，不致因鈣剂混合注射而减弱。

毒血对对照组（VIII）中20号和21号小鼠于12小时和36小时被咬死，血片检查未发现錐虫，其余一只（19号）于毒血注射后48小时始发现錐虫（ $600\times$ 扩大每个視野

1—2个），72小时50—60个，96小时达100个以上，至106小时死于錐虫病。

藥物对对照组（V組）因注射較晚，納嘎宁已經陈旧，注射以后48小时逐漸呈现精神不好，运动不活泼，被毛逆立不光泽，穹背嗜眠，呈輕度麻痹症状，经过3—6天死亡。

3. 討 論

根据此次試驗証明納嘎宁（剂量0.012克/每公斤体重）和鈣剂混合注射，不致减低納嘎宁对苏拉病的治疗效力。但这只是小鼠的實驗結果，在大动物是否一致，还須作进一步的証明。

按苏联規定納嘎宁对苏拉病治疗剂量为每公斤体重0.01—0.015克，由于副作用过大，目前我們只能用0.012克，是比較小的剂量。但苏拉病的治疗剂量要求比較严格，就是錐虫可因治疗剂量不够而获得对納嘎宁的耐藥性，造成以后的治疗困难。因此，苏拉病治疗时，宁以使用較大的剂量为宜。根据此次試驗結果，給今后在苏拉病治疗上使用較大的剂量带来了可能性。但是提高納嘎宁治疗剂量的同时，鈣剂的用量應該增加多少才使病畜不发生副

作用，而又保持納嘎寧最有效的治療作用，亟待今后在蘇拉病馬治療實踐中總結出這個答案。

第Ⅱ組中11號小鼠血中錐蟲消失較慢的原因，可能是因為機體各方面的素因關係，也可能是技術操作上發生差錯的結果，但也只占本組的1/3，同時最後也恢復了健康。

毒血對照組雖然20號和21號中途被咬死，但19號終因錐蟲病死亡。而且Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ各組也是發現錐蟲後才開始藥物注射，故證明毒血能發病，對照是正確的。

藥物對照組經過3—5天死亡，重要

原因為納嘎寧液是陳旧的，毒力較強，故納嘎寧液應當臨時新配，與文獻介紹相符。

4. 小結

納嘎寧按體重每公斤0.012克的劑量和鈣劑液等量混合注射治療蘇拉病馬可減輕納嘎寧副作用，不致發生跛行，同時也不致減弱納嘎寧對蘇拉病的治療效力，故可在部隊病馬中先作重點試用。同時也有必要以較大量（0.012—0.015克/每公斤）的納鈣混合液作治療試驗。

納嘎寧液應用新鮮的溶液，就是現用現配。

三、馬騾用大量納嘎寧和鈣劑液混合注射的試驗

根據第一試驗知道納嘎寧0.012克/每公斤加鈣劑液混合注射，可以不致發生跛行；第二試驗更證明納鈣混合注射，不致減弱納嘎寧對蘇拉病的療效。但在錐蟲病治療時為了不給錐蟲在機體內形成耐藥性的機會，以採用大量藥物治療為宜。故在納鈣混合注射可以減輕納嘎寧副作用的基礎上進行納嘎寧極量和鈣劑等量或倍量混合注射試驗，觀察納嘎寧副作用發生的情況，為今后應用大量納嘎寧治療馬蘇拉病創造經驗。

1. 試驗方法

（一）應用本所破傷風免疫停止注射的馬8匹，馬來因陽性馬2匹共10匹，分作五組照下列方法注射：

（1）納嘎寧按體重每公斤0.015克：

①加鈣劑液倍量靜脈注射馬2匹。

②加鈣劑液等量靜脈注射馬2匹。

（2）納嘎寧按體重每公斤0.014克：

③加鈣劑液等量靜脈注射馬3匹。

④加鈣劑液倍量靜脈注射馬2匹。

⑤加鈣劑液等量靜脈注射，並脊髓腔注射納嘎寧0.1%溶液20毫升，馬1匹。

（二）注射前每馬作一般臨床檢查，特別注意心臟和運動器官，注射後每天檢查體溫、呼吸、脈搏、心臟及運動等一次，必要時下午再檢查一次。

2. 試驗結果

（一）試驗結果如表3。

（二）納嘎寧按每公斤體重用0.015克加鈣劑液等量或倍量，一般都呈現食欲稍減，體溫輕度上升，程度不同的跛行，肛門糜爛，陰莖稍腫等症狀。跛行症狀重的1/4，三星期消失，輕的2/4，8—11天消失，不發跛行的1/4。一般以加倍量鈣劑液的症狀較輕。

表3. 馬匹大量納噁寧鈣注射液混合注射反應症狀檢查記錄表

區分 馬號	注射劑量和鈣注射液混合量	食欲	呼吸	脈搏	體溫	跛行	蹄冠	肛門變異	浮腫	粘膜
275	0.015克/kgm. 鈣注射液倍量	正常	14—25	38—50	37.5°—39.1°C	輕→中→消 5、6→11天	正常	雄 結 3—10天	陰筒稍腫 2—6天	潮紅充血
306	0.015克/kgm. 鈣注射液倍量	稍減 2—6日	14—32	36—46	37.3°—38°C	正 常	正常	2—12天	陰筒稍腫 4—7天	潮紅充血
1	0.015克/kgm. 鈣注射液等量	稍減 3—7日	12—36	30—34	37°—38°C	強拘→輕 3→8天	正常	2—12天	陰筒稍腫 4—9天	潮紅充血
310	0.015克/kgm. 鈣注射液等量	減損 5—16	12—52	28—80	37.5°—39.7°C	輕→重→消 3→7→21天	正常	正 常	母 馬	潮紅充血
313	0.014克/kgm. 鈣注射液等量	稍減 2—9	13—50	44—78	37.7°—39.1°C	強拘→輕→重→消 3→5→7→9天	正 常	4—12天	陰筒稍腫 3—9天	潮紅充血
377	0.014克/kgm. 鈣注射液等量	稍減 2—8	12—40	32—56	37.5°—38°C	強拘→輕 7→10	正常	正 常	正 常	潮紅充血
330	0.014克/kgm. 鈣注射液等量 0.1%納噁寧20毫升腦脊液腔注射	減損 2—16	14—32	56—106	38°—39.5°C	強拘→重→解拘 3→5→16天	癰爛 7天	5—13天	陰筒腹下稍腫 2—8天	潮紅充血
282	0.014克/kgm. 鈣注射液倍量	減損 4—15	14—32	50—88	38°—38.7°C	輕→重→中→消 5→7→8→9	癰爛 6天	正 常	陰筒及后肢腫 3—7天	潮紅充血
紅	0.014克/kgm. 鈣注射液倍量	正 常	13—16	44—60	37.3°—38.2°C	正 常	正常	3—13天	正 常	潮紅充血
380	0.014克/kgm. 鈣注射液等量	稍減 2—7	13—27	33—72	37.5°—37.9°C	強拘→輕→消 7→8→9天	正常	正 常	陰筒四肢腫大 2—6天	潮紅充血

- 附 1. 所有注射馬于注射後食欲普遍減少，一般在2—7天為多，占試驗馬80%，正常的20%。
 2. 陰筒浮腫較普遍，多於2—4天發生，經過3—9天消失。占77%強，正常的22%強。
 3. 跛行症狀亦較普遍，多發生於5—10天，以後逐漸消退，占試驗馬80%，正常的20%。
 4. 蹄冠癰爛者20%。
 5. 一般體溫輕度上升，結膜初現潮紅，后期充血不潔。

記

(三) 納嘎寧按体重每公斤用0.014克加鈣劑液等量或倍量, 一般反应为食欲稍减。体温微升的2/5, 正常的3/5。輕度的跛行占3/5, 不发跛行的1/5, 重跛行1/5, 第6天发现, 第13天消失(此馬注射前曾抽出脑脊髓液10毫升, 可能对机体的抵抗力有所減輕)。又310号于第3天发现强拘, 連續注射鈣劑两次, 数天内不現增重, 以无药停止注射直到第7天始增重, 故鈣劑液对跛行症状, 有抑制和減輕的作用。肛門不糜烂的2/5, 輕度的1/5, 重的2/5。浮肿主要为阴筒占3/5, 其中380号馬于注射后第2日发生阴茎阴筒浮肿, 阴茎不能縮入阴筒而悬垂腹下, 龟头肿大如大人拳大, 发光泽。于第2、3日連續注射鈣劑液各一次, 至第4日即剩微肿, 阴茎亦縮入阴筒內, 第5日消退。足見鈣劑液的消炎作用。其次不发浮肿的2/5。

(四) 納嘎寧按体重每公斤用0.014克和鈣劑液等量混合注射, 并以0.1%納嘎寧脑脊髓腔內注射20毫升。反应較重, 第4天发现跛行, 逐日增重, 全身大汗, 食欲减退, 蹄冠肛門均糜烂。反应期間起立困难, 发生很多褥創, 且因系馬來因阳性馬, 故于4月24日解剖(有鼻疽病变)。

3. 討論和小結

通过此次試驗, 初步認為納嘎寧按体

重每公斤0.014—0.015克作治疗注射的同时, 用較大量(100毫升)的鈣劑液混合或分別注射都可減輕納嘎寧的副作用, 特別是跛行症状发生后, 仍用鈣劑液逐日注射約2—4次, 有抑制和減輕跛行症状的作用, 对其他浮肿也有消炎的效果。但据此次試驗观察, 納嘎寧副作用的发现, 好象和机体的抵抗力有着一定的关系, 如“紅馬”是营养較好的幼齡健馬, 它在試驗过程中除肛門糜烂外, 不現其他症状(0.014克/kgm加鈣劑液倍量)。又如330和282号都是馬來因阳性馬, 机体抵抗力較弱, 故反应亦較重(282号注射前抽出10毫升脑脊髓液, 330号脑脊髓腔內还注入0.1%納嘎寧20毫升, 也是使反应增重的原因之一)。

其次, 这次試驗均系用非錐虫病馬, 当錐虫病馬治疗时用此剂量(0.014—0.015克/kgm), 是否反应更重, 还待今后繼續試驗。

今后, 假使用大量的納嘎寧治疗馬蘇拉病, 应于注射同时和連續2—4日用大量(100毫升)鈣劑靜脉注射为宜。同时納嘎寧的用量还必須按照病畜健康情况, 酌量增减, 一般比較衰弱的病畜于大量注射后反应是較大的(如282号和330号)。

四、总 結

上述試驗完全証明了鈣劑和納嘎寧的混合注射或分別注射时可以有效地減輕納嘎寧的副作用, 同时不致減弱納嘎寧对蘇拉病的防治效力。就是单用納嘎寧每公斤体重0.012克时, 发生跛行的3/5, 肝門糜烂的2/5, 加鈣劑20毫升混合注射时不发生跛行, 肛門糜烂2/5。

鈣劑減輕納嘎寧副作用的机制, 在于鈣劑各种有效成份对病畜机体抵抗力的增强和消炎作用, 这是因为鈣劑是以氯化鈣、葡萄糖和安鈉伽配成的一种等渗溶液, 根据藥理学的的作用, 鈣能增强机体的生活机能和对有害物質的抵抗力, 又能使毛細血管緊縮, 因而限制炎性渗出物的产生,

使炎症局限化，甚至停止发展，同时由于鈣能夺取水分，使組織致密而产生收斂消炎作用的結果。葡萄糖是机体的良好营养剂，并能促进机体的解毒作用，故靜脉注射高渗葡萄糖液，能显著增高血液的渗透压，因而夺取組織的水分，同时把組織內的排泄物带进血液，而从肾脏排出。葡萄糖除有利尿作用外，对血內未排淨的蛋白代謝有毒产物也是良好的解毒剂。所以葡萄糖是机体的营养剂，也是消炎解毒剂，对苏拉病畜在治疗时減輕納嘎宁副作用和解除錐虫毒素的中毒作用都是有着重要意义的。安鈉咖是大脑皮質的兴奋药，具有强心利尿和旺盛代謝机能的作用。所以鈣剂的作用不仅在于它能消炎解毒，而且也在它能确实增强机体的抵抗力，鼓舞机体的生活机能，而促进疾病的治愈机轉。

鈣剂能減輕納嘎宁的副作用是无可置疑的，但是也有一定的限度，同时也必須結合机体抵抗力的强弱来斟酌納嘎宁的用量。根据第三試驗，我們認為在早期治

疗而机体抵抗力較强的病畜，在連續2—4次大量（100毫升）注射鈣剂条件下，納嘎宁的用量可以按每公斤体重用0.014克，如果机体抵抗力較弱的就必须酌量减少納嘎宁的用量。〔作者注：目前錐虫病治疗，采用納嘎宁和其他药剂交互注射的办法，在納嘎宁（每公斤体重馬用0.012克，駱駝用0.03克）注射同时注射鈣剂100毫升，必要时連續注射2—3次（对衰弱病畜），不但沒有納嘎宁副作用发生，而且疗效也很确实。此外用納嘎宁作預防注射时，亦应加鈣剂以防止副作用发生〕。

目前用的鈣剂处方为盐化鈣10克，安鈉咖5克，葡萄糖30克，精制食盐0.9克，蒸餾水100毫升，一次注射。但当連續注射至第三次注射时，常把盐化鈣減为6克，安鈉咖減为3克。

納嘎宁溶液以現配現用为宜。

参加本文第二、第三两次試驗工作的还有刘俊华、霍时德、李伯英、陈玉英、楊起等五同志，特此注明。

参 考 文 献

1. 楊清山譯：兽医通訊，1952.2:29。
2. 兽医通訊編輯室：兽医通訊、1952.1:11。
3. 中南兽医处：軍馬苏拉病研究工作的总结报告（1953）。
4. 吉川政市，山泽幸悅，刘文多：兽医通訊，1953.2:26—30。
5. 兽医大学：錐虫病研究总结报告（1953）。
6. Б. М. Олнвков 著，于海寬等譯：家畜感染創的治疗，1954，160—161。
7. П. Г. Меньшаков 著，叶家齐等譯：兽医药理学，1955，305，191。
8. Н. В. Вершинин 著，张为式等譯：药理学，1954，269—270，224。

（本文曾載“研究資料匯編”第1輯，軍馬研究所，1956；集編時曾作部分修改）

液体錐虫抗原制造的研究*

郑策平

一、引言

根据近几年来各地报导的疫情，家畜錐虫病在我国各省流行地区是广泛的，疫情是严重的。每年城乡牲畜遭受此种灾害所造成的直接和間接的經济損失是相当严重的。尤以目前我們国家正处于大規模的經济建設与現代化的国防建設时期，此种損失更不容忽视。因此，为了迎接农业合作化运动高潮，搞好城乡牲畜的卫生保健工作，如何在全国各地疫区进行及时的有效的預防措施，以防止牲畜錐虫病的发生与传播，实为我全国兽医科学工作者当前的严重任务之一。

已經許多学者先后研究証明水牛、黄牛和駱駝都是苏拉病的主要带虫者。虻类蝇类是进行机械传播的媒介者，馬騾是苏拉病的易感动物。馬騾苏拉病的发生，往往以这些带虫者和媒介者为主要因素。因此，每年在虻蝇季节到来之前，检查出所有已被感染而又为潜伏性的牲畜，以根絕疫源，实为苏拉病預防措施上的重要环节。

錐虫病的診斷，以血液中証明錐虫为最确实。但錐虫出現于血流中常无一定，实验証明，当牲畜血流中出現錐虫而又消失以后，牲畜不显任何临床症状而轉为潜伏性阶段，实行补体結合反应診斷，常常可以检出阳性的牲畜。故补体結合反应在目前还是錐虫病的比較确实的補助診斷法之一。苏联已經广泛用以診斷馬的媾疫和苏奥魯病，南洋群島各国、印度、非洲和美

洲各地也用于牲畜錐虫病的診斷。

补体結合反应在錐虫病診斷上具有显著的特异性，这是众所公認的事实。但此种补体結合反应的特异性是否能够充分表现在对該錐虫病的診斷上，就完全在于錐虫抗原品質的优劣。故获得質体純优，特异性强的錐虫抗原，是保証补体結合反应成功的先决条件。

关于錐虫抗原的制造，早在1907年即有許多研究者企图用錐虫感染的动物脏器和組織等浸出液作为抗原，用于錐虫病补体結合反应診斷，但結果缺乏特异性，无实用的价值。Levaditi 和 Mutermilch, Zwick, Watson⁽¹⁾ 諸氏曾先后制成純淨的錐虫浸出液，作为补体結合反应的抗原。

苏联 Вышелесский 氏, Руженцев 氏及其他作者⁽²⁾ 应用以純淨錐虫制成的抗原作补体結合反应，树立了良好的范例；从而广泛地应用于牲畜錐虫病的診斷，且經 Авессаломов⁽²⁾ 氏进一步制成了干燥的錐虫抗原。

我国制造錐虫抗原，尚未見諸文献記載。1952年曾由苏联专家 M. M. 伊瓦諾夫同志⁽³⁾ 介紹了苏联液体錐虫抗原的制造法，但未能确实制成，对牲畜錐虫病的补体結合反应診斷，一时无法进行。本所为

* 在本文的試制过程中曾先后参加試驗研究工作的还有刘俊华、李伯英、雷振声、霍时德等同志，特此注明。

了解决性畜錐虫病的診斷問題，便根据苏联的錐虫抗元制造法进行了下列各項的試驗研究。

二、錐虫抗元制造法

从历史的回顧，我們知道錐虫抗元制造的历史发展过程，曾經許多学者采用各种不同的方法，进行了多方面的研究。虽然多半为媯疫的材料，而苏拉病的研究材料只屬少数。但由于錐虫病的补体結合反应呈类屬反应，目前在抗元制造上所采用的方法，尚未証明两者間有那些严格的差异性。Mohlar, Eichhorn, Traum 和 Buck⁽⁴⁾用感染媯疫而死的白鼠脾脏振荡成盐水悬匀液为抗元；Anglaitner 和 Danek⁽¹⁾用感染媯疫的白鼠血液作煮沸浸出液，但結果不一致，且抗元性亦不能持久；Dahmen 用水浸出液和酒精浸出液，并主张用犬代替大白鼠来制抗元；Schäfer⁽⁵⁾氏曾用15%脏器的水浸出液和20%酒精浸出液等作抗元，結果很好并推賞5%醚酒精的錐虫浸出液；Bessermans⁽⁵⁾氏主张用甘油抗元，并謂加甘油的抗元虽有强抗补体作用，但比之其他方法却可提高4—5%的检出率。

Zwick⁽¹⁾⁽⁴⁾氏用高度感染的大白鼠血液，远心分离出錐虫，按1:9的比例加0.5%石碳酸生理盐水或生理盐水，振荡48小时远心分离，吸取上清液为补体結合反应的錐虫抗元。冰箱保存，有效期限为一个月，若用10%甘油0.1%蚁醛保存，有效期可达6—8星期。

Reynolds和Schoening氏叙述(Watson法)⁽⁴⁾，当感染大白鼠血液中充斥錐虫时（多在3—4日）从頸靜脉（或頸动脉）采血至死，血液加等量的0.2%枸橼酸鈉蒸餾水；枸橼酸鈉防止血液凝固，蒸餾水溶解血球。滤过，远心分离（3000轉）而

得錐虫。用50%甘油生理盐水作悬匀液，即成抗元。保存于冰箱甚至冰結状态，有效期为几星期至一个月。經Kelser用以診斷媯疫和苏拉病，結果很滿意。

Kelser 氏⁽⁴⁾曾用改良的Bonacchi氏培养基培养桔西氏錐虫作成一种抗元用于补体結合反应（診斷南美 Chagas 氏病）。就是人工培养7—10天，用远心沉淀分离錐虫，然后加等量或倍量的50%甘油生理盐水作成悬匀液，保存于冰箱。

苏联的錐虫（媯疫）抗元制造法，根据M. M.伊瓦諾夫⁽³⁾和Я. Р. Коваленко等⁽²⁾記載，系用高度感染的狗（血液中虫数达100个以上/600×扩大的視野）从頸动脉放血，血液加2%枸橼酸鈉生理盐水的倍量，以防凝固。然后，远心分离取得純淨的錐虫，并反复用生理盐水洗2—3次，按1:9比例加0.5%石碳酸生理盐水，振荡48小时，远心分离，吸取上清液即为抗元，分装于小瓶中，保存于2—10℃有效期为四个月⁽⁶⁾，保存得当可延长到8—12个月或在一年以上⁽³⁾。保存期間，每20天須測定抗元效价一次⁽⁶⁾。

本所錐虫（苏拉）抗元制造法，最初是按照苏联的方法。但試制几次，抗元效价都不能达到应用的要求。后来經過不断的摸索試驗，結合我們現有的物質和技术条件加以变更，才制出抗元效价比較高的錐虫抗元，而用于馬和駱駝錐虫病的补体結合反应診斷。今将制造过程分述如下：

1. 制造抗元用的狗須完全健康，新購回的狗除作一般疾病检查外，并須作压滴血片检查血絲虫。最好隔离喂养7—10天，

以便观察；同时进行灭蝇、灭蚤；并可使狗熟悉环境，趋于安定；且可稍事改善狗的营养。

2. 锥虫种接种于小白鼠或大白鼠，数量视注射狗多少来决定，一般注射一只狗需用小白鼠7—10个或大白鼠一个的血液。于注射后约经3—4日，鼠血中锥虫达100个以上时（ $600\times$ 扩大的视野），从心脏穿刺采血，加2%枸橼酸钠生理盐水（约1:1），以防血液凝固，集中于试管中混合均匀，镜检虫数和活力。如果 $600\times$ 扩大每一视野有50个锥虫以上，且运动活泼，即可注射于狗。

3. 注射时狗先戴口络，由助手一人提起狗的两后肢作翻转变倒立固定。腹部剪毛，涂以碘酒，插入针头徐徐将虫种血液注入10—15毫升于腹腔。注射后须注意饲养管理，尤于体温升高时更要多给饮水。

4. 注射后第二天开始从耳翼边缘静脉采血作压滴血片，以 $600\times$ 扩大镜检观察虫数。一般约经3—5天，血液中锥虫即可达到每一视野100个以上（实际上于濒死时最好），即由颈动脉行全身放血。血液用橡胶管导入盛有2%枸橼酸钠生理盐水的球瓶（容量1000毫升）中，至血液量相当于枸橼酸钠生理盐水 $1/2$ 量为止（即血液1、枸橼酸钠盐水2），并充分摇匀（注意狗血粘稠，容易粘成一团，故最少要按1:2加枸橼酸钠生理盐水）。

5. 用二层纱布将血液滤入采血筒（1000毫升），再以虹吸管分注于离心沉淀管内，并平衡两管，使其全量完全一致。以每分钟2000转速度离心沉淀4—5分钟，开始要慢，徐徐加快速度为宜。离心沉淀后红血球沉于管底，血浆在上清液内，锥虫集积于中间层白色的白血球面上。此时用吸管吸去上清，再用带胶皮乳头的毛细吸管，吸出白色的锥虫薄膜，注

于消毒试管中。上清集中于另一球瓶中，作压滴标本镜检，如果虫数不多，即可倒入消毒水而废弃之。血球沉渣第一次不吸弃，再加入血液离心分离，吸出虫膜后，即将血球沉渣倒于另一球瓶中，集中起来，最后镜检，如虫体不多，注入消毒液，消毒后废弃。

6. 全部血液第一次分离完毕，即将虫膜血液集中起来，轻轻摇匀分注于离心沉淀管内，照上述手续离心分离之。然后将纯白色的锥虫层吸出注于干净试管中，混有血液的锥虫注于另一管中。照此方法反复洗涤，直至锥虫沉淀层不含血球时，以每分钟3000转速度离心沉淀30分钟，吸去上清，加入生理盐水再离心分离。这样反复2—4次，最后吸除上清，吸出锥虫沉淀，按1:9加入明胶缓冲液（苏联方法加0.5%石碳酸生理盐水），混合于装有相当抗原量 $1/4$ 玻璃珠的厚质振荡瓶中，连续振荡48小时（注意振荡时室温最好不超过 $10-12^{\circ}\text{C}$ ）。

〔附〕明胶缓冲液制法：〔1〕*〔1〕第一液：——硼酸12.5克加N/1NaOH溶液100毫升和蒸馏水25毫升；俟硼酸溶解后，加入蒸馏水使全量为1000毫升。（2）第二液：——蒸馏水250毫升滴加纯盐酸8.4毫升，混匀，以蒸馏水补足全量为1000毫升。（3）取第一液61.2毫升和第二液6.38毫升，混匀，共为125毫升。然后加入食盐3.2克（0.64%），明胶0.1克（0.02%）及蒸

〔注〕（1）当大批注射狗时，如果有患苏拉病的苏拉病马，则采病马血液（每个 $600\times$ 扩大的视野须有20—30以上锥虫），每只狗腹腔注射80—100毫升，一般经3—4天即可全身放血；（2）狗于注射后亦可每天早晚各检查体温一次，至体温升高到 39.5°C 以上，始作血片检查，这样可以减少经常检查血片的麻烦手续。

* 明胶缓冲液是照唐氏液（Canought sol.）处方中的第一液和第二液的用量作了增减以使溶液的pH值成为7.2。

馏水375毫升。100°C加热溶化明胶，校正反应为pH 7.2—7.4（此时如pH值过高可用第二液校正，过低则用第一液校正），用滤纸（或脱脂棉球）滤清，分装每瓶为100毫升（视需要来决定），高压蒸汽（15磅压力下）灭菌30分钟，最后pH为7.3—7.5。

7. 无菌操作吸出抗原注于干热灭菌过的远心沉淀管内，管口盖以消毒的石蜡纸，用橡皮圈扎住，进行远心沉淀至抗原呈微乳浊色为止（根据作者初步经验，相当于Mc Farland氏比浊管第一、二号的乳浊色浓度即可。但须无不均匀的现象或不碎的粗块）。

8. 远心沉淀后将抗原吸出混合于干热

灭菌三角瓶中，并于混合均匀后吸出样品，测定抗原效价，其余抗原保存于冰箱中。

9. 抗原测定效价后，即加等量的灭菌（15磅30分钟连续两次）纯甘油（苏联方法系加0.5%石碳酸作防腐剂），用力振荡，混合均匀，然后分装于中性安瓿中，每瓶10毫升（最好按检疫时每次用量来决定装瓶的容量），贴签注明批号、制造日期和效价。

10. 抗原保存于冰箱中（最好低温冰箱内冰结状态保存），每30天测定效价一次。

三、試制經過

锥虫抗原的試制工作是从1954年下半年开始的。怎样制出有效的锥虫抗原，解决疫区检疫的问题，是当时大家所最担心的问题之一。

最初照苏联锥虫抗原制造法⁽²⁾⁽³⁾一连做了五次，结果全归失败，因而根据可能使抗原无效的原因进行了分析和一系列的试验研究。

（一）振荡时由于磨擦而产生的热力测定

首先考虑到温度对抗元性影响的问题，因为，生物制品工作者都很熟悉，每种制剂都显明地标注着“保存于冷暗处”，就是制品要避热，避光保存。这是因为一般抗原抗体对热和光的影响比较敏感的缘故。那么，锥虫抗原在振荡时玻璃珠和瓶壁的磨擦必然会产生一定的热力，这种磨擦热也可能是致弱抗原效价的一个直接因素。便接连进行了5次的温度测定，就是振荡开始时测定水温一次，振

荡2—4小时后再测水温，结果温度只升高1.5—2°C（玻璃珠的直径16毫米）。如果用较小的玻璃珠（如直径6—8毫米），则磨擦热只能达到0.5°C。这样，由于振荡而产生的热，绝不至使抗原归于无效。

（二）振荡强度对抗元效力的影响

锥虫抗原是一种有机物质和无机物质混合而成的悬匀液，属于一种胶体性的溶液。抗原特异性的强弱与锥虫沉淀物本身是否洗涤干净，虽有着直接的关系；而锥虫体成分中具有抗原性的粒子在悬匀液中能否发挥它底特异性，就是振荡时是否振荡得极碎，成为最小的能够充分发挥抗原性的微粒，也是决定抗原性强弱的关键之一。据日本添川氏⁽⁷⁾等研究，不振荡的抗原，抗补体作用强，抗原特异性远不如振荡的抗原高。同时根据作者初步经验，当分离抗原时，容易沉淀的抗原效力较低，难于沉淀的抗原效力较高。这种容易沉淀的抗原，可能是因为锥虫体没有被振荡的

极碎,較粗的顆粒比較不安定,容易受到各种因素的影响而发生沉淀;同时锥虫体既然沒有被振蕩得极碎,則锥虫体的有效成分,便不能完全游离出来,因为減弱了抗原的特异性,所以抗原要充分振蕩是完全正确的。根据作者初步經驗認為抗原必須振蕩40小时以上(最多48—56小时),每分鐘的振蕩速度以150—200次为适宜;过慢恐振蕩不足,过快則容易磨落玻璃成分而影响抗原效价。

(三) 引起抗原 pH 变化的因素

由于我們振蕩抗原时所用的玻璃瓶和玻璃珠都是普通玻璃,經過強力振蕩后,

常常把平滑的瓶壁和玻璃珠的表面都变成許多紋条的污翳,显然是玻璃珠表面和瓶壁在經過強力振蕩之后,由于磨擦而发生了一些減損。因此,抗原液中也摻入了不少的各种玻璃成分;而玻璃成分又都是各种金屬盐类,則抗原液 pH 值的提高是必然的。当然,对玻璃器具的自然侵蝕作用,也应当注意。但必須指出,自然侵蝕作用是一种慢性过程,強力振蕩是一种急剧过程。那么,抗原在24小时的振蕩过程里被摻入玻璃成分而提高 pH 值的来由,振蕩作用是远远超过自然侵蝕作用的,从下列比較表来看,就很明白了。

表 1 強力振蕩和自然侵蝕对溶液 pH 值的提高作用的比較試驗表

瓶号	玻 璃 瓶		玻 璃 珠		蒸餾水	处 理 法	pH 值变化		处理后顏色	备 考
	名 称	厂 名	量	厂 名			处理前	处理后		
1	振蕩瓶	华东玻璃	25克	华东玻璃	100毫升	室温 26°C, 靜置浸漬24小时, 其中曾以每分鐘 160 次速度振蕩 6 小时	5.8	6.5	水呈輕度乳濁色, 靜置后瓶底沉有一薄层白粉, 同上, 但乳濁色較深, 瓶底白粉多些	pH 值用电 pH 計測定
2	振蕩瓶	华东玻璃	25克	普通玻璃	100毫升		5.8	6.6		
3	300毫升三角瓶	普通玻璃	25克	普通玻璃	100毫升		5.8	7.4		
4	振蕩瓶	华东玻璃	25克	华东玻璃	100毫升	室温 26°C, 靜置浸漬24小时, 不振蕩	5.8	6.0	清亮	
5	振蕩瓶	华东玻璃	25克	普通玻璃	100毫升		5.8	6.2	清亮	
6	300毫升三角瓶	普通玻璃	25克	普通玻璃	100毫升		5.8	6.2	清亮	

表 1 結果是 1、2、3 瓶的 pH 值提高到 6.5—7.4, 且水呈輕乳浊色, 沉淀后瓶底有一层白粉; 而 4、5、6 瓶的 pH 值提高到 6.0—6.2, 水是清亮的。其次, 同样的瓶子(国产硬質) 1 和 4 的 pH 值比較是 1 号瓶(振蕩过的) pH 值由 5.8 提高到 6.5 (+0.8), 4 号瓶(不振蕩的) pH 值由 5.8 提高到 6.2 (+0.5); 普通玻璃悬殊更甚, 3 号瓶(振蕩过的) pH 值 5.8 提高到 7.4 (+1.7), 而 6 号瓶(不振蕩的) pH 值只从 5.8 提高到 6.2 (+0.5)。同时上表的振蕩時間只是 6 小时, 如果 24

小时, 則两者将更悬殊。由此可知, 在目前国产玻璃的条件下, 抗原 pH 值提高是由于玻璃成分的摻入; 而在 48 小时振蕩过程里使玻璃成分摻入的作用, 以振蕩作用最强(如 1、2、3 号瓶), 自然侵蝕作用比較輕微(如 4、5、6 号瓶)。

其他关于 pH 值測定的結果如下:

(1) 用厚壁球磨瓶和粗玻璃珠(直径約 16 毫米), 洗淨后充分干燥, 加入測定了 pH 值为 5.1 的蒸餾水 100 毫升(淹沒玻璃珠), 振蕩 12 小时, 蒸餾水变为乳浊液, 經靜置数小时后, 吸上清測其 pH

值即升高到8.6(指示剂为麝香草酚蓝),同时沉淀为白色的細末(玻璃成分)。

(2) 国产硬質燒瓶和普通玻璃珠,照上法試驗結果, pH 值亦从5.1升到8.6(指示剂为麝香草酚蓝),蒸餾水也是变成乳白浊色。

(3) Pyrex 燒瓶和普通玻璃珠照上法試驗,振蕩6.5小时, pH 值从6.2升到6.9(12小时計算可能升到7.6)。

从上述的測定結果来看,用普通玻璃珠和玻璃瓶振蕩抗原至48小时,抗原的 pH 值很容易受到不断磨損和侵蝕下来的各种玻璃成分的影响而改变,以至提高到

强鹼性域,使抗原的分散系統里的分散內相变为不稳定,而被沉淀析出;抗原特异性即因之减弱,以至損失殆尽。另外 Pyrex 燒瓶,質体較硬,对磨擦較有抵抗力,則掺入抗原液中的玻璃成分也相对的减少,对抗元液 pH 值提高也是較少的(注意:这是 Pyrex 燒瓶和普通玻璃珠的試驗結果,Pyrex 玻璃珠因缺現品,未作試驗)。故玻璃瓶和玻璃珠的質体不好是直接使抗原 pH 提高的主要因素。在振蕩抗原时应应用硬質中性的玻璃器具是非常必要的。关于抗原的 pH 值对抗元效价的影响,从表2可見一般。

表2 錐虫抗原的 pH 值和效价关系的比較表

批 号	稀 释 液	pH 值	效 价	附 記
抗原1批	0.5%石碳酸生理盐水	9.6(麝香草酚蓝)	无	麝香草酚蓝測定界最高为9.6
2	0.5%石碳酸生理盐水	8.3(酚紅)	无	
7	生理盐水	7.4(酚紅)	40×	完全阻止溶血
7	明胶緩冲液	7.2(酚紅)	180×	完全阻止溶血

由表2測定結果看来,錐虫抗原的 pH 值,以弱鹼性域抗原效价最好。故抗原液的 pH 值向鹼性域升高,势必将使抗原性相对地逐漸减弱,以至无效。

(四) 0.5%石碳酸对抗元效价的影响

由于几次用 0.5% 石碳酸生理食盐水

做稀释液的抗原效价都是不高,甚或无效,因而引起注意。当时考虑到苏联用的石碳酸和食盐都是化学純的物品,而国产石碳酸和食盐的質体都赶不上苏联的水平,从这一出发点做了下列的比較試驗如表3:

表3 0.5%石碳酸对錐虫抗原效价影响的比較試驗

批 数	动物	純錐虫量	抗 元 稀 释 液	抗原量	效 价	附 注
5	狗	2.7毫升	0.5%石碳酸生理盐水	27毫升	5 × #	完全阻止溶血
5	狗	6 毫升	生理盐水	60毫升	15 × #	完全阻止溶血
5	狗	2 毫升	0.5%石碳酸明胶緩冲液	20毫升	5 × #	完全阻止溶血
5	狗	2 毫升	0.5%石碳酸磷酸盐緩冲液	20毫升	5 × +	大部溶血

注:石碳酸是中华科学企业公司产品, C.P.; 食盐为华北制药厂石家庄工厂出品,注射用。

表3 抗原是从狗一次全身放血洗得錐虫12.7毫升,分別用四种不同的稀释液作成的四种抗原。振蕩時間(48小时)、速

度(150—200次)和室温(10°C左右)是一致的(在一个振蕩器上);且測定效价的方法、時間和要素也都是完全同样的

(一次测定的)。结果以生理食盐水加石碳酸和不加石碳酸的抗原效价有着显著的差别。加石碳酸的又以生理食盐水和明胶缓冲液较好。故知石碳酸是影响抗原效价不高的主要因素之一。也证明了我们在目前能够买到的所谓精制的石碳酸都不适于做锥虫抗原的防腐剂之用。

(五) 稀释液对抗元效价的影响

上面已经提到锥虫抗原是锥虫体成分

中具有抗原性的微粒悬浮于稀释液中的一种胶体性溶液。无论保持有效成分的均匀性或充分地发挥微粒的抗原性，稀释液都有着决定性的意义。同时考虑到我们所用的玻璃器具都不是硬质中性的，为了使抗原 pH 值不致过大地受到因振荡而磨损下来的玻璃成分的影响而减弱抗原效价，使用了几种具有缓冲性的溶液作为抗原的稀释液进行比较试验。结果如表 4：

表4 稀释液对锥虫抗原效价影响的比较试验表

批 数	动物	纯 锥 虫 量	稀 释 液	抗 元 量	抗元 pH 值	抗 元 效 价
6	狗	2 毫升	生理食盐水	20 毫升	7.4(酚红)	40#
6	狗	1 毫升	明胶缓冲液	10 毫升	7.2(酚红)	160#
6	狗	1 毫升	林格氏液	10 毫升	7.3(酚红)	40#

从表 4 的结果看来，便具体证明了稀释液本身的各种因素，对抗元效价的影响最大。如具有缓冲作用而又为微胶态溶液的明胶缓冲液和生理盐水与林格氏液，虽然都在弱碱性域(7.2—7.4)，但抗原效价则以明胶缓冲液最高。又如第三表中同样具有缓冲作用的明胶缓冲液和磷酸盐缓冲液也是以明胶缓冲液的抗原效价较好。这些结果都具体证明了明胶缓冲液在本质上比其他稀释液具有善于保持和发挥锥虫抗原特异性的作用。也就是明胶缓冲液用作锥虫抗原的稀释液，具有它一定的优越性。

(六) 防腐剂和保存温度对抗元效价的影响

照苏联原来的制造法是用 0.5% 石炭酸作防腐剂的，当时由于国产石炭酸不能用，就必须同时解决抗原防腐剂的问题。Bessermans 氏曾推荐用甘油作锥虫抗原

的防腐剂的优越性。Kelser 亦用 50% 甘油盐水作人工培养的锥虫抗原的防腐剂，效期为一个月。其次苏联的溶血素用甘油保存，溶血素是血清蛋白，锥虫抗原是细胞物质，既可保存溶血素，则保存锥虫抗原也许没有问题。因此，便用明胶缓冲液抗原加等量甘油(鹿印)后，再测定效价，并作了本试验。结果不但没有抗补体作用，而且抗原效价也没有丝毫变异，在本试验反应中也很正常。便初步认为 50% 甘油可用作锥虫抗原的防腐剂。

关于各种防腐剂的比较试验及其在不同温度中对抗元效价的影响，初步结果如表 5：

(1) 表 5 中六种抗原是一次洗出的锥虫分作六份，其他制造操作和测定操作均系同时进行，各种条件也是完全一致的。# 表示完全阻止溶血，并附以 (+) (-) 号表示强弱。

表5 各种防腐剂及4°C保存期間对抗元效价影响的比較試驗

抗 元 号	稀 释 液	防 腐 剂	第一次測定		第二次測定		第三次測定		第四次測定		第五次測定	
			日 期	結 果	日 期	結 果	日 期	結 果	日 期	結 果	日 期	結 果
1	明胶緩冲液	不加(对照)	8/III55	120×#	1/IV55	80-×#	11/IV55	60×#	25/IV55	20×#	13/V55	20×#
2	明胶緩冲液	50%美制甘油	8/III55	120×#	1/IV55	100×#	11/IV55	100×#	25/IV55	40×#	13/V55	40-×#
3	明胶緩冲液	50%新中甘油	8/III55	120-×#	1/IV55	100×#	11/IV55	80×#	25/IV55	40×#	13/V55	40-×#
4	明胶緩冲液	0.02%硫柳汞	8/III55	60×#	1/IV55	20-×#	11/IV55	20-×#	25/IV55	10×#	13/V55	10×#
5	明胶緩冲液	10%鹿印甘油和0.2%蚊醛	8/III55	20×#	1/IV55	10×#	11/IV55	10×#	25/IV55	10×#	13/V55	10-×#
6	明胶緩冲液	2%硼酸	8/III55	40×#	1/IV55	20×#	11/IV55	20-×#	25/IV55	10×#	13/V55	10-×#

注：鹿印甘油是日本貨；美制甘油是美国 Bakars C. P. Analyzed Glycerin。

(2) 从第一次測定結果来看，錐虫和明胶緩冲液都是一种分作六份，加以不同的防腐剂，振荡后便得出不同效价的抗元，具体証明防腐剂对抗元效价有着重要的影响。同时也証明了甘油是一种較好的錐虫抗元的防腐剂，因为它的抗元效价和純抗元完全一致。另外甘油的純度对抗元效价也有一定的影响。虽然国产新中甘油略差于美制甘油，但相差甚微，故新中甘油可以用作錐虫抗元的防腐剂。

(3) 从上表第一、二測定結果来看，所有抗元都在4°C冰箱中保存，其中加甘油保存的抗元(2、3、5、)效价降低較慢，不加防腐剂或其他防腐剂的抗元效价降低較快。

(4) 第三、四次測定結果，效价降低較快，和前两次的結果不符合，是否因当时經常整天停电，冰箱温度忽升忽降有所影响，或阳性血清效价降低，或測定时某些操作的差誤均屬可能。

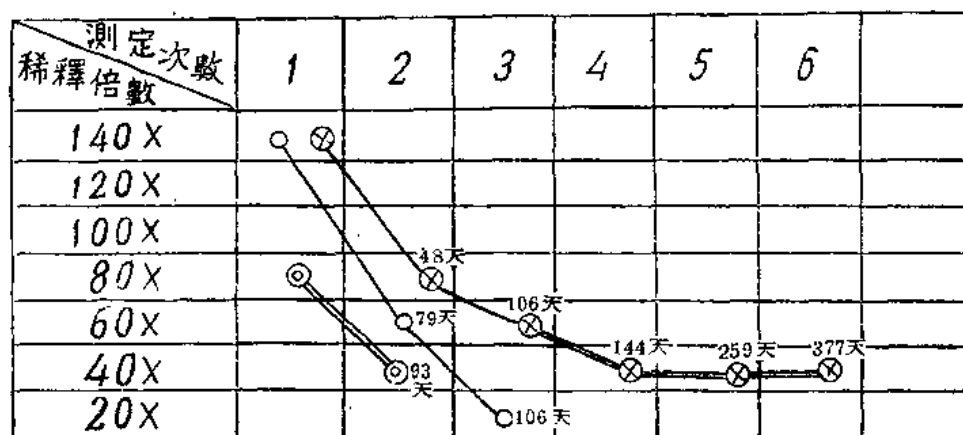
表6 各种防腐剂和37°C保存对于抗元效价影响的比較表試驗

抗 元 号	稀 释 液	防 腐 剂	第一次測定		第二次測定		第三次測定		第四次測定		附 記
			日 期	結 果	日 期	結 果	日 期	結 果	日 期	結 果	
1	明胶緩冲液	不加(对照)	1/IV55	80-×#	11/IV55	20×#	25/IV55	10×#	13/V55	无效	第一次測定后放入37°C保存
2	明胶緩冲液	50%美制甘油	1/IV55	100×#	11/IV55	20×#	25/IV55	20×#	13/V55	20×#	
3	明胶緩冲液	50%新中甘油	1/IV55	100×#	11/IV55	20×#	25/IV55	20×#	13/V55	20-×#	
4	明胶緩冲液	0.02%硫柳汞	1/IV55	20-×#	11/IV55	5×#	25/IV55	无效	13/V55	无效	
5	明胶緩冲液	10%鹿印甘油和0.2%蚊醛	1/IV55	10×#	11/IV55	5×#	25/IV55	5×#	13/V55	5×#	
6	明胶緩冲液	2%硼酸	1/IV55	20×#	11/IV55	5×#	25/IV55	无效	13/V55	无效	

表6的試驗是为了便于在南方較热的地方进行补体結合反应检疫时保存抗元而作的。根据这一試驗具体表现出甘油对錐虫抗元防腐的优越性(2、3、5)，同时甘油抗元(如表六之2、3效价为100×#)

在37°C下，抗元的效价虽有所降低，但其抗元性可保存約达一个半月。假使原始抗元效价更高，則保存效期也将更加延长。这样，便解除了南方天气較热时检疫，邮寄抗元的顧虑。

表7 液体锥虫抗原的效期测定



注：(1) ×为第三批抗原；○为第四批抗原；⊙为第九批抗原。

(2) 注明天数表示保存经过的天数。

(3) 单线为4—10°C保存的抗原；双线为冰结状态保存的抗原。

甘油防腐的液体锥虫抗原在20×以下有抗补体作用，故最好不用。

从表7可以看出抗原效期一般在四个月左右，而以普通冰箱保存的效价降低较快，在冰结状态保存的效价极其稳定，故锥虫抗原以冰结状态保存为宜。

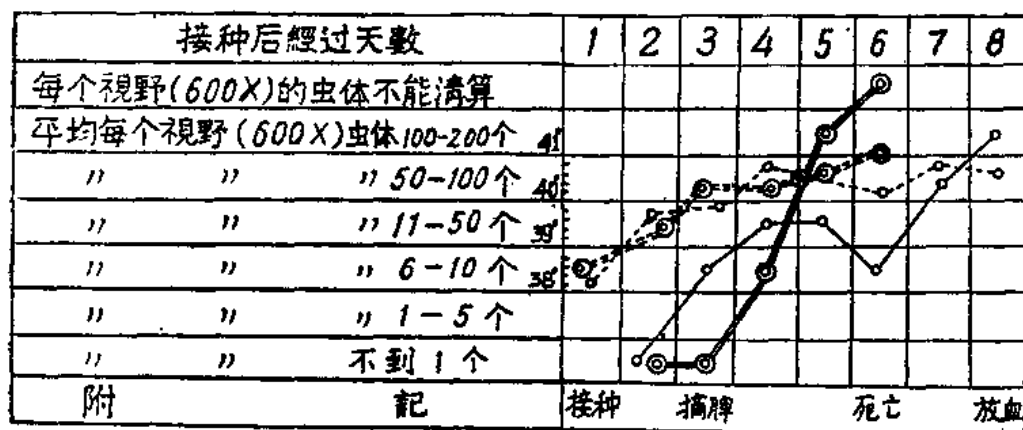
(七) 增虫试验与实用意义

锥虫抗原制造过程中常常遇到的困难，是血液中的锥虫数忽多忽少，不易掌握；特别是初从动物分离的虫株，毒力较

弱，往往虫数还没有达到采血的要求，便骤然减少了。这样的情况，根据作者初步经验，不但血液中的锥虫在洗涤时容易粘团，而且抗原的效价也往往较弱。Mas-saglia等⁽¹⁾氏谓锥虫从患畜血液中消失是因脾脏产生的锥虫溶解素(Trypanolytic Substances)在血液达到相当的浓度。

苏联专家M. M.伊瓦诺夫氏⁽²⁾介绍，摘出狗的脾脏，可使血液中的虫数达到合乎采血的标准。根据这些理论，我们曾先后几次做了摘出脾脏的增虫试验。

表8 接种后第三天摘除脾脏后的增虫比较表



图例：虚线表示体温；实线表示虫数消长情况；⊙摘了脾脏。