

## 用FILAROCHEK预测犬恶丝虫虫荷的研究\*

Charles H. Coutney  
(美国佛罗里达大学兽医学院传染病系)

曾启蕴  
(四川省卫生管理干部学院)

由犬恶丝虫(*Dirofilaria immitis*简称犬丝虫)引起的犬丝虫病,广泛流行于世界各地,对犬的危害殊重,人亦有受染。但有10—67%的感染犬,用浓集法查不到微丝蚴。自单克隆抗体技术用于寄生虫病的免疫诊断后,近年来,已有多种用单克隆抗体检测犬丝虫抗原的免疫试验用于临床或科研。Filarochek是1985年初生产的一种用单克隆抗体检测血清中犬丝虫表面抗原的酶联免疫吸附试剂。由于本试验的敏感性高达96.4%,特异性强,仅有1.9%的假阳性,已在美国广泛使用。但如何根据抗原的滴度来预测犬体内的虫荷,并进一步推测治疗的安全性尚未见报道。为此,将血清作等倍连续稀释来确定Filarochek的滴度及其与虫荷间的关系,取得初步结果,现报道如下。

**材料和方法** 将感染犬丝虫的犬处死后,立即自心脏采血以收集血清备用;然后仔细检查右心房、室,肺动脉及其分枝内的所有虫体和虫体片断,并按雌雄及其成熟程度计数。Filarochek试剂由Mallinckrodt公司提供。试验时,每管(除未稀释管外)先加pH7.2的磷酸缓冲液200  $\mu$ l,再于未稀释管及1.2的稀释管中各加阳性犬血清200  $\mu$ l,然后作等倍连续稀释。每管加试剂A一滴,混匀,置60—70  $^{\circ}$ C水浴箱中5—10分钟,使抗原从宿主抗体中释放出来。取出试管,每管加试剂B 1滴,混匀、冷却,各管再加入用犬丝虫成虫抗体包被的塑料小球一粒及试剂C一滴,混匀,每管插入一塑料小夹,以防冲洗时将小球冲掉。置室温中孵育20—30分钟,倾去液体,用去离子水反复冲洗4次,再将试管倒置于洁净吸水纸上,除去液体。弃去塑料小夹,每管各加入试剂D 1ml,立即各加试剂E一滴,混匀,静置5—10分钟,在试管后衬以白纸观察结果。每批血清均作有阳性及阴性血清对照。如宿主血清中有犬丝虫抗原存在,塑料小球周围将有一深蓝色环出现,即为阳性;如小球周围无蓝色环出现或仅液体变成蓝色,则为阴性;如小球周围仅有微弱的蓝色环则为可疑。以血清稀释倍数最高的阳性管作为该血清的滴度。用2为底的对数的倒数来表示其稀释倍数,如阳性只出现于未稀释管,则以0表示;如出现在1:2的稀释管,则用1表示。稀释倍数每增强一倍,加1,以此类推。如最高稀释管为可疑,则只加0.5。

统计学处理:按最小线性回归分析法将第一批109份阳性血清的数据,求出具有95%可信限的回归线,及Filarochek滴度与虫数的自然对数/犬体重(以10为底)的对数之间的回

\*本文承王正仪教授审阅,谨此致谢。

归关系。第二批75份阳性血清的结果亦是以同样方法点绘以检验这一模式的准确性。用具有 Yates 纠正的单一分类  $X^2$  检验来检查所得的75个数据点是否在第一批109份犬血清的95%可信限范围内。

**结果** 经犬体重调整过的犬丝虫虫荷对 Filarochek 的滴度有显著影响 ( $P < 0.0001$ )，此模式是合用的，能包括73%以上的 Filarochek 滴度实际观察值的变化 ( $R=0.7308$ )。图1示这一回归线及其95%的可信限。图2示第二批75份阳性血清再点绘出的这一回归线。有66个数据点(88%)在95%可信限内，有9个(12%)在95%可信限之外。这一数值与所期望的限外数(3.75)有显著性差异 ( $X^2=6.33, P < 0.025$ )。不过在这些限外点中，有4例是仅有未成熟的虫体，虫体长度仅5—10cm，导致 Filarochek 的滴度低于正常的滴度，如去掉这4例，其余5个限外点与期望数就没有明显差异。

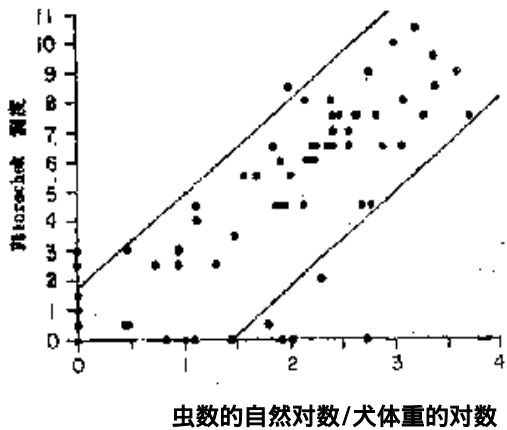
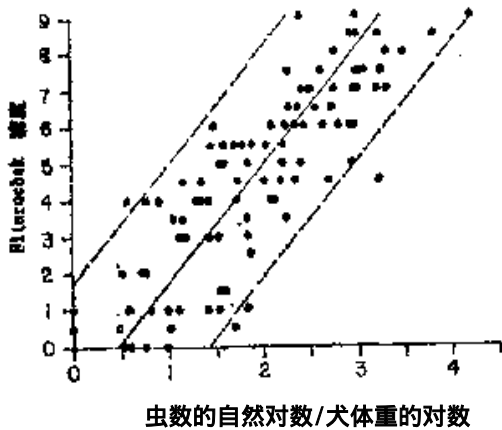


图1 Filarochek 滴度与经犬体重调整过的虫荷之间的相互关系。用109个数据点绘出的回归线(实践)及其中95%可信限的上界与下界(虚线)。有些数据点是重叠的, 帮不能见到全部的数据点。

图2 用第二批75个数据点再点绘图1所示回归线模式的95%可信限(有些数据点也是重叠的)。

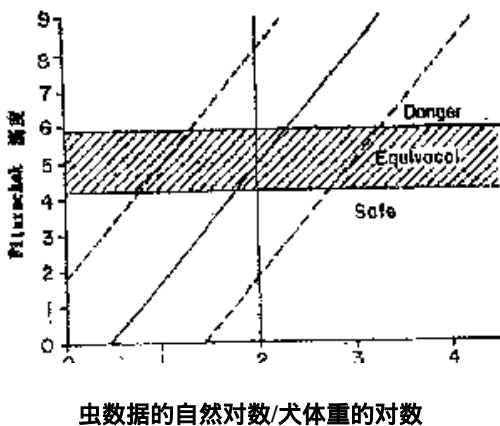


图3 根据图1所示的回归模式绘出的安全、可疑及危险的区带。

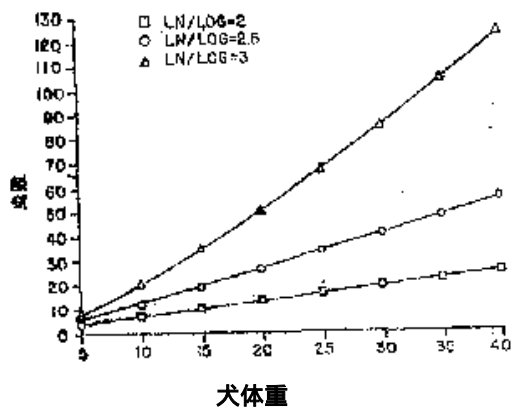


图4 由犬体重及虫数的自然对数(LN)/犬体重(以10为底)对数值(LOG), 绘制的一组估计虫荷的曲线。

**讨论** 由Filarochek滴度制出的预测模式适合于预测犬体内犬丝虫虫荷的范围。这一预测虫荷方法，对推测治疗后犬体内肺动脉栓塞的危险性，可能很有用。从图3可大致看出安全、可疑及危险的滴度。根据这一数值，滴度在 $2^4$ (即1:16)或以下，很可能该犬仅有很低的虫荷，因此治疗后引起肺动脉栓塞的危险性小；反之，如滴度在 $2^6$ (即1:64)或以上，就很有可能引起治疗后的反应；而滴度在 $2^5$ (即1:32)为可疑。因而在作Filarochek滴度时，仅需作 $2^4$ 、 $2^5$ 及 $2^6$ 三个稀释度作为治疗前预测的部分依据，然后再结合临床资料以决定是否可以用药物治疗，或者延缓，或在治疗的同时使用大量的抗凝剂，以防肺动脉栓塞。

以上数值的选择是依据图4给予的理论上的体重与虫荷之比的曲线，并用虫数的自然对数/犬体重的(以10为底)对数截止值“2”而得来的，选择“2”为截止值，是因为这一图形非常稳定，大约一条20公斤重的犬，相应应有13条虫子。如选“2.5”和“3”，则有不太稳定的截止值，致使一条20公斤重的犬，相应应有26条及50条虫子。

这一估计方法，不适用于未成熟虫体，这些小虫体大概仅分泌很少的抗原，导致Filarochek滴度明显低于所期望的滴度。不过，这些未成熟虫体，对治疗犬丝虫的药物Thiacetarsamide相对来说不敏感，不像成熟虫体那样容易引起肺动脉栓塞。所以滴度虽偏低，对治疗前的预测不会产生多大影响。

以上研究只能预测患犬在治疗时是否安全，决不意味该犬的治疗效果。“截止值”的选择是基于尸检的虫数。下一步将通过治疗大量的患犬以确定治疗后引起肺动脉栓塞的准确度，以证实Filarochek滴度的这一预测值的可靠性。

在对人丝虫病或其他寄生虫病治疗时，如能参考这一预测虫荷的模式，摸索一些方法以推测治疗的安全性将有一定意义。

### 参 考 文 献

- payan, H.M.1978 Human infection with *Dirofilaria*. In: Arch Dermatology. 114: 593—594.
- Otto. G.F. 1978 The significance of microfilariaemia in the diagnosis of heartworm infection. In: Proceedings of the Heartworm Symposium'77, Morgan, H.C.; Otto, G.F.; Jackson, R.F.; and Courtney, C.H. (editors), Veterinary Medicine Publishing Inc., Bonner Springs, KS.22—30.
- Ely, M.L.and Courtney, C.H.1987 Sensitivity and specificity of Filarochek Heartworm Antigen Test and Dirotest Heartworm Antibody Test for Immunodiagnosis of Canine Dirofilariasis. J.Amer Anim Hosp Asso 23(4): 367—371.
- Sall J.P.1982 The REG Procedure, In: SAS User's Guide: Statistics, Ray, A.A.(editor), Cary, N.C.,SAS Institute Inc.,39—83.
- Blair, L.S.et al.1984 Efficacy of thiacetarsamide in experimentally infected dogs at 2, 4, 6, 12, or 24 months post-infection with *Dirofilaria immitis*. In: Proceedings of the Heartworm symposium'83, Morgan, H.C.; Otto, G.F.Jackson, R.F.; Jachowski, L.A.; and Courtney, C.H.(editors), Veterinary Medicine Publishing Company, Edwardsville, KS, 130—133.