

被动血凝试验用于麻疹免疫及血清学诊断

血凝抑制(HI)试验为测定麻疹抗体最常用的方法,用以检测麻疹感染或评价疫苗效果,其方法简单可靠重复性好。但此法评价较长时间自然感染或接种疫苗后的免疫状况缺乏敏感性。有报道自然感染或成功的疫苗接种经16年后其效价低于1:8分别为15%,和36%另有报道经16年后50%以上疫苗接种者已监

测不到(HI)抗体。中和试验(NT)较HI法敏感,但较麻烦。ELISA法敏感性与NT法相当,显示的免疫状态可靠,但有人报道ELIA法可测定的保护性抗体模式不稳定,不能用于评价免疫状态。已有文献报道经戊二醛固定猴血球,麻疹血凝素致敏的PHA(被动血凝)法测定麻疹抗体是敏感而特异

的,本文报告最近改良的绵羊红血球作 PHA 试验不仅敏感性与 NT 相当,且血清经 疏基乙醇 (ZME) 处理可以用来诊断新近麻疹感染。

材料与方 法

PHA 试验,戊二醛固定绵羊红血球,加等量 10g/dl 丹宁酸于 37℃ 经 30 分钟处理,致敏用适当浓度的吐温 80 与乙醚于 37℃ 处理麻疹抗原 60 分钟,置 V 型微量板孔内,待测血清用 0.2% 正常免疫血清磷酸盐缓冲液 (pH 7.4),由 1:8 开始连续二倍稀释,于每孔加入等量 0.5% 致敏红血球悬液并保育二小时,试验终点采用部分凝集的血清最高稀释度,依对照模式读取。本试验和本文其它试验的血清滴度均用稀释的倒数表示。凡 1:16 以上的为 PHA 阳性,小于 1:8 为阴性,1:8 为可疑。每次设阴性对照。安瓶中的致敏红血球于 4℃ 环境中至少可保持 6 个月。

HI 试验:加热灭活待检血清,经高岭土处理后用非洲绿猴血球吸收,HI 按常规微量法进行,等于 1:8 或大于 1:8 为阳性。

ZME 处理:经高岭土处理,猴血球吸收后或未经以上处理的血清均稀释成 1:8,尔后与等量 0.2% ZME 磷酸盐缓冲液混合,于 37℃ 培育 1 小时,再把经 ZME 处理的血清稀释成 1:16。

结 果

致敏血球表面病毒蛋白与抗体、介质、凝集素复合体起反应,多克隆或单克隆抗体都直接与血凝蛋白有效凝集致敏红血球,但它不与 NP、P、F 和 M 等蛋白起反应,因此 PHA 试验与 HI 试验相类似,适合于抗麻疹病毒血凝蛋白抗体的测定。

不同来源的血清样品同时作了 PHA 与 HI

试验,结果 19 名未接种麻疹疫苗也无感染的儿童血清全呈阴性。而感染后第 5 周采得的血清 PHA 试验滴度高出 HI 试验滴度 1—32 (GM 6.5) 倍,接种疫苗者或以往感染过麻疹的健康者 PHA 滴度比 HI 滴度高 4—32 (GM 11.7) 倍。

初期 PHA 与 HI 滴度高比率提示存在 1gM 抗体,因 1gM 的复合效价有高效凝集效应。检测 ZME 对抗体滴度的影响,早期血清抗体滴度下降,PHA 为 (4~128) 倍,比 HI (只多 8 倍) 大得多,提示前者早期抗体 IgM 活性比后者大得多,有些血清尽管 PHA 滴度下降显著而 HI 滴度没有改变,提示这些血清 IgM 抗体数量不是主要的。感染后期采集血清经 ZME 处理滴度不变。

19 份健康血清,大多数为学龄儿童,其中 9 人数年前接种过麻疹疫苗,而其余 10 人没有疫苗接种史可能为自然感染的,经 PHA 与 NT 检测全部阳性,但 19 份中有 2 份经 HI 检测呈阴性 (<1:8),有 4 份为 1:8 阳性,全部自然感染或接种疫苗 PHA 与 NT 滴度持续时间都比 HI 长,PHA 滴度比 NT 滴度约高 4 倍,比 HI 滴度约高 15~16 倍。

讨 论

虽然 HI 与 PHA 试验测定的抗体特性相似,但仍有列两方面差异,其一、经 PHA 测定的抗体比经 HI 的抗体在体内维持的时间长得多,PHA 比 HI 更需要抗体亲和抗原特性,其二、PHA 试验诊断比 HI 优,PHA 抗体上升早于 HI 抗体,发病的第一周 PHA 法经常测得阳性而 HI 法仍阴性。文献记述 PHA 与 HI 滴度之比少于 1 为近期感染,而比例大于 1 为既往感染。

(J Clin Microbiol 26 (4):636—639 1988 / 曹元其 摘译 杭长寿 校)