

反向被动血凝抑制法用于流行性出血热血清抗体分型的试验

福建省卫生防疫站 李贤凤 徐雄 李世清 徐冰凌

提要 本文报告了用反向被动血凝抑制 (RPHI) 法进行流行性出血热血清抗体分型的实验结果。用该法共检查福建以EHF野鼠型为主和家鼠型疫区患者恢复期病人血清58份, 发现前者A型34份 (94.44%), 后者R型22份 (100%), 证明了RPHI法与HI法对EHF血清抗体分型的结果是一致的。证实RPHI在临床诊断上的敏感性与特异性, 可用于该病的血清抗体分型并具有实用价值。该病用本法进行抗体分型, 国内外尚未见报道。

关键词 反向被动血凝抑制 出血热 分型

流行性出血热 (EHF) 患者血清分型通常用中国灰鹅血球进行血凝抑制试验^[1]。该法手续复杂, 并且需要新鲜的鹅血球, 这样影响了在基层的推广应用。我们将反向被动血凝抑制法 (RPHI) 用于出血热患者血清分型试验, 获得与常规血凝抑制法 (HI) 相同的结果。这一方法操作简便, 易于掌握, 试剂来源容易, 可以在基层卫生单位推广应用, 具有一定的实用价值。用该法进行出血热血清抗体分型, 国内外尚未见报道。现将试验结果报告如下。

材料与方 法

一、材料:

1. 反向血球: 用EHF单克隆抗体McAb25-1致敏醛化绵羊红血球冻干而成, 由中国医科院基础所生产, 在有效期内使用。
2. 血凝素: A和R血凝素, 系中国医科院基础所生产。
3. 血清: 采自福建省EHF野鼠型为主疫区周宁、古田县, 家鼠型疫区永春、莆田、闽侯、长乐、平潭、邵武、建阳、三明、泰宁等县市患者恢复期血清。
4. 血凝板和稀释液: 血凝板为12×8孔有机塑料板, 稀释液为pH7.2PBS。

二、方法:

1. 反向被动血凝抑制试验: 将出血热A血凝素和R血凝素分别从1:20稀释至1:2560, 每孔0.025ml, 各孔加1:20被检血清0.025ml, 在微型振荡器振荡3分钟后置37℃孵箱中抑制20分钟, 加1%反向血球悬液, 每孔0.025ml, 如上振荡后置于37℃1小时判定结果。每次试验均分别对两型血凝素用阴性血清作对照, 以阳性血清与对照血清相比所抑制的倍数作为分型依据。

2. 间接荧光抗体试验 (IFAT): 按参考文献^[2]进行。

3. 型别判定标准: 与阴性对照血清相比, 对一种血凝素抑制4倍者为阳性。所抑制倍数A血凝素>R血凝素者为A型血清, R血凝素≥A血凝素者为R型血清。

结 果

一、用RPHI与IFAT检测EHF患者血清抗体的比较: 福建各地EHF恢复期患者血清共采集61份, 用IFAT和RPHI检测, 两法均检出阳性者58份, 阳性率均为95.08%, 两法每份的结果相符。另检查非出血热患者血清17份均为阴性。这表明RPHI亦有较高的敏感性和特异性。

二、福建不同类型疫源地 EHF 患者血清

RPHI试验GMT比较：福建不同类型疫源地地区EHF患者血清RPHI试验阳性58份。其中野鼠型为主疫区患者血清36份，其GMTA型(A > R) 36份对A血凝素为1:274.31，对R血凝

素为1:59.07；家鼠型疫源地患者血清22份，对R血凝素GMT为1:120.49，对A血凝素为1:75.11(表1,2)。

三、福建不同疫源地类型患者血清RPHI

表1 野鼠型为主疫区EHF患者血清RPHI分型的效价

血清份数	血清抑制效价倒数														
	R-血凝素							A-血凝素							
	<20	20	40	80	160	320	GMT	<20	20	40	80	160	320	640	GMT
4	4									1	3				
4		4										1	1	2	
13			13							1*	2	2	5	3	
10				10						1*		1	2	6	
3					3									3	
2						2								2	
36	4	4	13	10	3	2	59.07		1	2	5	4	8	16	274.31

注：*为R型

表2 家鼠型疫区EHF患者血清RPHI分型的效价

血清份数	血清抑制效价倒数															
	R-血凝素							A-血凝素								
	<20	20	40	80	160	320	640	GMT	<20	20	40	80	160	320	640	GMT
3			3								3					
5				5							2	3				
13					13							6	7			
1							1								1	
22			3	5	13		1	120.49			5	9	7		1	75.11

分型比较：家鼠型EHF疫源地的患者恢复期血清用RPHI检查，阳性22份，均为R型；野鼠型EHF为主的疫源地地区检查患者恢复期血清阳性36份，其中34份为A型(94.44%)，2份为R型(5.56%)。

四、福建省两型EHF患者血清RPHI法抑制倍数比较：福建两型疫区(野鼠型为主疫区和家鼠型疫区)EHF恢复期患者血清，对A血凝素和R血凝素抑制试验的倍数，A型36份中，A为R4倍者最多，占16份(44.44%)，次为

等于R8倍者9份(25%)，R型22份中，A与R相等者最多，占14份(63.64%)，其次为R等于A2倍者8份(36.3%)。试验表明，野鼠型血清抗体对A血凝素的抑制较敏感。

五、反向被动血凝抑制与血凝抑制试验检查患者血清比较：EHF患者IFAT阳性血清随意取20份均作血凝抑制试验与反向被动血凝抑制试验，进行EHF患者血清分型比较，两法结果一致，4例患者血清均为A型，16例患者血清均为R型。

讨 论

一、RPHI的敏感性和特异性及早期诊断效果：RPHI可检测EHF特异性总抗体（即IgM、IgG等）可作早期诊断。邢峥等证实早期EHF病人血清抗体检出率以RPHI和MacELISA较高，第2~3病日，前者达80%，后者70%，而IFAT较低（40%）〔4〕。严玉辰等用RPHI与IFAT法检测出血热恢复期患者血清抗体，阳性符合率为97.3%〔1〕。我们用这两种方法试验阳性符合率为100%，表明RPHI有较高的敏感性和特异性。尤其是该法不但可用于出血热患者晚期IgG血清抗体的诊断，而且可作早期IgM的诊断。

二、RPHI可用于出血热患者血清分型及检测感染来源：出血热McAb可分为组特异性、型特异性及株特异性三种类型，A25-1的McAb是具有组特异性的〔2〕。将其致敏于绵羊红血球后则亦具组特异性，A或R型血清可分别抑制A或R血凝素，故可用于出血热患者血清的分型。我们用此法检测出血热患者血清型别，与HI比较结果一致。我们检测家鼠型疫源地患者血清22份均为R型（家鼠型），野鼠型为主的疫源地患者血清36份，A型（野鼠型）34份（94.44%）。从这个结果看，本法可用于检测患者的感染来源，这对防治工作有一定的意义。

三、RPHI的优越性：RPHI操作简便，容易掌握，无需特殊仪器，符合经济效益和社会效益，容易在基层推广应用。

四、血清型的判定标准：每批RPHI试验均应有阴性血清作对照，与对照相比抑制某一

血凝素在4倍以上者则判为阳性。被检血清抑制血凝素 $R \geq A$ 者判为R型，而被检血清抑制血凝素 $A > R$ 者则判为A型。这种判定标准已为不同来源出血热毒株的免疫血清HI试验所证实〔1〕。

Differentiation of the Type of EHF Antibodies by RPHI Li Xianfeng, et al., Fujian Provincial Hygiene and Epidemic Prevention Station, Fuzhou

This article reports the use of for differentiation of the type of EHF antibodies. A total of 58 convalescent-phase sera from EHF patients in natural foci of predominant Apodemus type of EHF and in those of Rattus type of EHF were examined. In the former 34/36 (94.44%) belonged to Apodemus type, and in the latter 22/22 (100%) belonged to Rattus type. Both RPHI and HI obtained the same result in differentiation of the type of EHF antibodies. RPHI possesses sensitivity and specificity in EHF diagnosis, and may be used for differentiation of the type of EHF antibodies.

Key words RPHI EHF Differentiation of EHF antibodies

参 考 文 献

1. 严玉辰, 等. 血凝抑制试验用于肾综合征出血热病人血清分型的研究. 中华流行病学杂志 1986; 7(3): 135.
2. 宋干, 等. 血清学诊断. 流行性出血热防治手册, 第一版. 北京: 人民卫生出版社, 1987: 199~225.
3. 陈伯权, 等. 流行性出血热病毒单克隆抗体在病原学研究中的应用. 全国流行性出血热防治工作座谈会资料汇编. 1983: 43~46.
4. 邢峥, 等. MacELISA, RPHI和IFAT用于流行性出血热早期诊断的比较. 病毒学报 1988; 4(4): 342.