

# 绵羊副睾种布氏菌试管凝集和补结反应抗原制备方法

中国医学科学院流行病学微生物学研究所 王庆禧 李秀峰

为了开展我国绵羊副睾种布病的血清学调查,我们首次在我国成功地制备了对绵羊副睾种布病诊断用的试管凝集和补结反应抗原,其制备方法如下:

**1. 试剂:** ①Menzel's 缓冲盐溶液: 在100毫升0.05M碳酸钠中溶解0.5克氯化钠和0.5克苯酚制成A液; 在100毫升0.1M碳酸氢钠中溶解0.5克氯化钠和0.5克苯酚制成B液, 然后, 将1.5个体积A液和8.5个体积B液混合, 相应的pH值为8.9即可。②Vorenal 钠缓冲盐水: 85克氯化钠, 5.75克巴比妥, 3.75克巴比妥钠, 2.036克硫酸镁, 0.294克无水氯化钙。将巴比妥溶解在300毫升蒸馏水中, 其余各成分溶解在1,500毫升蒸馏水中。此两种溶液混合并补加蒸馏水至2,000毫升, 置4°C冰箱保存。③0.04%的凝胶溶液: 在1,000毫升蒸馏水中加热溶解400毫克凝胶粉。④5倍Vorenal钠缓冲盐水: 一份Vorenal钠缓冲盐水加四份0.04%的明凝溶液。

**2. 抗原制备:** ①试管凝集反应抗原: 将37°C 10%二氧化碳培养的绵羊副睾种布氏菌63/290用蒸馏水洗下。60°C水浴加热1小时, 20,000g离心15分钟, 沉淀菌体用蒸馏水洗2次, 末次用Menzel's液制成400亿/毫升的菌悬液, 冰箱保存, 用时20倍稀释。②补结反应抗原: 63/290培养物, 用0.3%福尔马林盐水洗下, 500g离心10分钟, 取上部的菌悬液, 10,000g离心15分钟, 沉淀的菌体用0.15M NaCl洗2次, 末次再用该液制成10%的菌细胞悬液, 110°C高压20分钟, 10,000g离心20分钟, 上清在4°C条件下, 用100个

体积的Vorenal透析26小时, 测定效价达1:80。

**3. 抗原的特异性检查:** ①试管凝集反应抗原: 400亿/毫升的抗原用Menzel's液1:20稀释, 按常规试管凝集反应操作和判定结果, 我们检查了我们室、农林部中监所和WHO制备的粗糙型布氏菌血清, 其效价分别为1:800, 1:1600和1:100, 但对光滑型牛种布氏菌544A和104M、羊种布氏菌16M和M5、猪种布氏菌1330S和S<sub>2</sub>的抗血清(标准抗原试管凝集反应效价均在1:320以上)均为阴性(效价1:50以下)。因此, 我们初步认为我们制备的绵羊副睾种布氏菌试管凝集反应抗原具有较好的特异性。②补结反应抗原: 我们制备的粗糙型绵羊副睾种布氏菌可溶性补结反应抗原, 在粗糙型布氏菌阳性血清中测定, 其效价为1:80, 在检查时用二个单位, 即用1:40的。其他各成分的使用同常规光滑型布氏菌补结反应方法。但其稀释用Vorenal液。操作程序和判定结果均按常规光滑型布氏菌补结反应方法进行。我们同样检查了我们室、农林部中监所和WHO制备的粗糙型布氏菌血清, 其效价分别为1:40, 1:20和1:5, 而对光滑型布氏菌104M、16M、M5、1330S和S<sub>2</sub>的抗血清均为阴性(光滑型布氏菌可溶性补结抗原检查时效价均在1:20以上), 但对光滑型牛种布氏菌A544的抗血清效价却达到1:10(光滑型布氏菌可溶性补结反应检查时效价为1:40)。出现这种交叉现象是与文献已报道的资料基本相一致的。因此, 我们制备的粗糙型布氏菌补结反应抗原具有一定的特异性, 可以用于粗糙型布氏菌血清的检查。

## 中华流行病学杂志

(双月刊)

第4卷 1983年 第4期

规定出版日期: 每逢双月10日

· 编辑者 ·

中华流行病学杂志编辑委员会  
(北京昌平流字五号)

· 出版者 ·

中 华 医 学 会  
中国医学科学院 流行病学 微生物学 研究所

· 发 行 者 ·

总发行者: 北京报刊发行局  
订 阅 处: 全国各地邮局

· 印 刷 者 ·

河北省香河县印刷厂