

用血凝抑制实验对卵黄抗体和血清抗体监测结果的比较

□ 史彩红 (山西省运城市稷山县畜牧兽医局 043200)

血清学监测有利于科学的监测疫苗接种方案的效果,预测接种时间及疾病的诊断。基层工作者已将其列入重要工作日程,但采血工作极为繁重且不容易被群众接受。因此,为验证卵黄抗体及血清抗体监测结果的相符性,用血凝抑制实验(HI)对卵黄及血清进行新城疫及禽流感H9抗体监测。

1 材料

1.1 主要仪器

96孔微量反应板、微量移液器、滴头、5ml的一次性注射器、青霉素瓶、常用玻璃器皿。

1.2 试剂

生理盐水、新城疫血凝抗原、标准阴、阳性血清(由中国兽药监察所提供)、禽流感H9血凝抗原、标准阴性血清(由哈尔滨兽医研究所提供)、1%鸡红细胞悬液。

1.3 待检样品

在不同区域随机选取20份血清,并捡拾对应鸡的鸡蛋,对应编号,做待检血清和待检鸡蛋。

2 方法

2.1 凝集(HA)试验

用微量法检测抗原的凝集价,将完全血凝的抗原的最高稀释倍数做为一个血凝单位。

2.2 血凝抑制(HI)试验

用血凝试验结果配制4单位抗原,作为HI试验的工作量抗原。

2.2.1 待检血清

①用微量移液器在96孔微量反应板的1~16孔加入0.025ml生理盐水,第

17孔加0.05ml生理盐水。

②用微量移液器吸取0.025ml待检血清加入第1孔,充分混匀,吸取0.025ml至第2孔,依次倍比稀释至第15孔,从第15孔吸0.025ml弃掉,换滴头。如此在第2至8排分别倍比稀释待检血清。

③用微量移液器在每排第1~16孔加入4单位工作量抗原0.025ml在微量振荡器上振荡约1分钟,恒温箱37℃静置20分钟。

④用微量移液器每孔加入0.025ml1%鸡红细胞,在微量振荡器上振荡约1分钟,于恒温箱37℃静置20分钟,观察并记录结果。

2.2.2 待检鸡蛋

①先准备一排青霉素小瓶,按照鸡蛋编号一一对应编号,每瓶加生理盐水1ml,将待检鸡蛋打至平皿内,用一次性注射器吸取卵黄1ml至青霉素瓶内,充分振荡混匀。

②用微量移液器在微量反应板的1~16孔加0.025ml生理盐水,第17孔加0.05ml生理盐水。

③用微量移液器吸取0.025ml卵黄

于第2孔内,从第2孔开始倍比稀释,依次至第15孔,从第15孔吸取0.025ml弃掉,换滴头。如此在第2至8排分别倍比稀释待检鸡蛋。

④以后步骤同血清检测的③、④。

3 结果

血凝(HA)试验结果 本抗原的凝集价为1:256,则4单位工作量抗原为1:64倍稀释。

由试验结果可知:表1中卵黄的平均凝集抑制价为10.1,血清的平均抑制价为10.45;表2中卵黄的平均凝集抑制价为7.9,血清的平均抑制价为7.95。用血凝抑制实验测得的结果:卵黄抗体稍低于血清中抗体。采用生物统计学方法进行差异显著性分析,二者之间的差别在统计学上无显著意义($p>0.05$)。

4 小结

血清和卵黄抗体的血凝抑制抗体水平相差不大,完全能够用卵黄代替血清进行监测,这种卵黄抗体监测方法方便快捷,可大大减轻采血工作量,且容易被群众接受,适于基层监测。

血凝抑制(HI)试验结果

表1 新城疫抗体监测结果(log2)

卵黄	11	12	12	9	9	10	10	12	10	10	10	10	9	9	10	8	10	11	10	10
血清	11	10	10	12	10	11	12	10	10	13	10	9	11	9	10	8	10	12	11	10

表2 禽流感H9抗体监测结果(log2)

卵黄	7	10	8	5	7	9	5	8	9	8	8	6	10	10	9	9	10	8	7	5
血清	9	7	8	10	6	8	4	8	9	7	6	6	10	9	10	10	10	9	7	6