

# 受体破坏酶在流感病毒血清抗体检测中的应用

屈微, 李康生

(汕头大学医学院微生物学及免疫学教研室, 广东 汕头 515041)

[摘要] 目的: 检测受体破坏酶(RDE)对人血清及鸡血清中非特异性抑制素的清除作用。方法: 常规制备正常人、鸡以及流感病毒感染者的血清各 30 份, 应用血凝抑制试验, 测定 RDE 处理前后人及鸡血清抗体效价的变化。结果: 30 份正常鸡血清在 RDE 处理前后其抗体效价均 < 10; 30 份正常人血清, 处理前有 5 份抗体效价是 20, 12 份 10, 处理后 30 份抗体效价均 < 10。30 份感染者血清使用 RDE 处理后抗体效价均有不同程度降低。结论: 鸡血清中非特异性抑制素含量低, RDE 处理与否对其作用不大。而人血清中的非特异性抑制素会对实验结果造成影响。因此进行流感病毒血清抗体检测时特异性鸡抗血清可不用 RDE 处理, 而人血清需 RDE 处理, 以确保实验结果的准确性。

[关键词] 受体破坏酶; 非特异性抑制素; 血凝抑制试验; 抗体效价

[中图分类号] Q93-3 [文献标识码] A [文章编号] 1007-4716(2005)01-0015-03

受体破坏酶供应商: 广州健仑生物科技有限公司

## The Application of Receptor Destroying Enzyme in the Detection of Serum Antibody of Influenza Virus

QU Wei, LI Kang-sheng

(Department of Microbiology and Immunology, Shantou University Medical College, Shantou 515041, China)

[Abstract] Objective: To determine the elimination effect of receptor destroying enzyme(RDE) on nonspecific inhibitor in human sera and chicken sera. Methods: Preparing 30 normal human sera and 30 normal chicken sera and 30 sera derived from the persons infected by influenza virus. By using hemagglutination inhibition assay, the difference of antibody titers could be detected before and after treated with RDE. Results: All the antibody titers of 30 normal chicken sera were less than 10 before and after treated with RDE. Before treated with RDE, the antibody titers of 5 in 30 normal human sera were 20, other 12 sera were 10, while all the titers turned to be less than 10 after treated with RDE. All the antibody titers of 30 infected human sera decreased after treated with RDE. Conclusion: The nonspecific inhibitor in chicken sera is so low that the treatment of RDE may be bypass. The nonspecific inhibitor in human sera does influence the experiment result. So before testing the antibodies to influenza virus, it will be unnecessary for specific chicken sera treated with RDE, whereas human sera should be treated with RDE for ensuring the accuracy of experiment results.

[Key Words] receptor destroying enzyme; nonspecific inhibitor; hemagglutination inhibition; antibody titer

多数禽类及人血清中都存在非特异性血凝抑制素, 它们是游离在血清中类似 RBC 表面受体的唾液酸残基。能与 RBC 表面受体一起竞争性地被病毒表面的血凝素识别和结合<sup>[1]</sup>。在进行血凝抑制测定前, 需先将非特异性抑制素从待测血清中去除干净, 才能真实准确地检测出血清中抗体效价。受体破坏酶(receptor destroying enzyme, RDE), 是流感监测、血清学诊断和血清流行病学研究中常用的一种试剂, 常用于去除人及多数禽类血清中的非特异性抑制素<sup>[1]</sup>。我们经过一段时间的实验摸索, 证明鸡血清中非特异性抑制素含量不高, 用 RDE 处理与否对血凝抑制试验(hemagglutination inhibition, HI)

结果影响不大, 而人血清中的非特异性抑制素会对实验结果造成干扰。因此, 在流感病毒血清抗体检测时, 制备的特异性鸡抗血清可不用 RDE 处理, 对于待检的人血清需用 RDE 进行处理。现将实验报道如下。

收稿日期: 2004-11-19

基金项目: 广东省自然科学基金(04020239); 广东省教育厅自然科学基金项目(202038)

作者简介: 屈微(1981-), 女, 内蒙古扎兰屯市人, 在读硕士生。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

血清：由市场随机购买正常鸡 30 只，抽取静脉血液后制备血清；随机抽取正常人及流感病毒感染者的静脉血液各 30 份制备血清；病毒：Qa/ST/1 469/2 004、Dk/ST/3 667/2 004 及 Dk/ST/1 126/2 003 (实验室保存)；PBS(CALBIOCHEM, 美国和加拿大)：10 mmol/L, pH 7.4；RDE(SEIKEN, 日本)；鸡血：新鲜鸡 RBC, PBS 常规洗涤 4 次后，配制成 0.5% 悬液，置于 4 ℃ 冰箱保存备用。

### 1.2 方 法

血清的制备：将人及鸡血液于室温下静置 4~5 h, 4 ℃ 冰箱中放置 1 h 后，离心 3 000 r/min, 吸取上清液即为所需血清。血清的处理：将每管血清均分成两管，其中一管与 RDE 按 1:4 比例配制(1 容量血清加 4 容量 RDE)，另一管则用 PBS 代替 RDE。

将上述血清管置于 37 ℃ 水浴 16~18 h 后，移至 56 ℃ 水浴 30 min 以去除残留的 RDE，取出后冷却，放置 -20 ℃ 保存待用。血清的鉴定：用 HI 方法检测。在 96 孔板第一排加入配制好的血清各 50 μL, 其它各孔加入 25 μL PBS, 倍比稀释, 25 μL 已知病毒的 4 个血凝单位抗原加至各孔，混匀，室温下静置 40 min, 再加 0.5% 鸡 RBC 50 L, 30 min 读取结果。阴性对照为 50 μL PBS 加 50 μL 0.5% 鸡 RBC。

## 2 结 果

正常鸡血清测定结果，RDE 处理前 30 份鸡血清抗体效价均 < 10, RDE 处理后 30 份鸡血清抗体效价亦均 < 10(表 1)。正常人血清测定结果，RDE 处理前有 5 份血清抗体效价为 20, 12 份 10, RDE 处理后 30 份血清抗体效价均 < 10(表 2)。感染者血清测定结果，RDE 处理后 30 份血清抗体效价均发生不同程度降低(表 3)。

表 1 RDE 处理前、后正常鸡血清抗体效价的比较

Table 1 Comparison of the antibody titers of 30 normal chicken sera before and after treated with RDE

血清序号	RDE 处理前血清抗体效价	RDE 处理后血清抗体效价	血清序号	RDE 处理前血清抗体效价	RDE 处理后血清抗体效价
1	< 10	< 10	16	< 10	< 10
2	< 10	< 10	17	< 10	< 10
3	< 10	< 10	18	< 10	< 10
4	< 10	< 10	19	< 10	< 10
5	< 10	< 10	20	< 10	< 10
6	< 10	< 10	21	< 10	< 10
7	< 10	< 10	22	< 10	< 10
8	< 10	< 10	23	< 10	< 10
9	< 10	< 10	24	< 10	< 10
10	< 10	< 10	25	< 10	< 10
11	< 10	< 10	26	< 10	< 10
12	< 10	< 10	27	< 10	< 10
13	< 10	< 10	28	< 10	< 10
14	< 10	< 10	29	< 10	< 10
15	< 10	< 10	30	< 10	< 10

受体破坏酶供应商：广州健仑生物科技有限公司

表 2 RDE 处理前、后正常人血清抗体效价的比较

Table 2 Comparison of the antibody titers of 30 normal human sera before and after treated with RDE

血清序号	RDE 处理前血清抗体效价	RDE 处理后血清抗体效价	血清序号	RDE 处理前血清抗体效价	RDE 处理后血清抗体效价
1	20	< 10	16	10	< 10
2	20	< 10	17	10	< 10
3	20	< 10	18	< 10	< 10
4	20	< 10	19	< 10	< 10
5	20	< 10	20	< 10	< 10
6	10	< 10	21	< 10	< 10
7	10	< 10	22	< 10	< 10
8	10	< 10	23	< 10	< 10
9	10	< 10	24	< 10	< 10
10	10	< 10	25	< 10	< 10
11	10	< 10	26	< 10	< 10
12	10	< 10	27	< 10	< 10
13	10	< 10	28	< 10	< 10
14	10	< 10	29	< 10	< 10
15	10	< 10	30	< 10	< 10

表 3 RDE 处理前、后感染者血清抗体效价的比较

Table 3 Comparison of the antibody titers of 30 infected human sera before and after treated with RDE

血清序号	RDE 处理前 血清抗体效价	RDE 处理后 血清抗体效价	血清序号	RDE 处理前 血清抗体效价	RDE 处理后 血清抗体效价
1	640	< 10	16	320	20
2	640	20	17	320	20
3	640	320	18	320	40
4	640	160	19	320	20
5	640	< 10	20	320	20
6	640	< 10	21	320	< 10
7	640	< 10	22	320	10
8	640	20	23	320	40
9	640	20	24	180	10
10	640	20	25	180	20
11	640	80	26	180	10
12	320	< 10	27	180	20
13	320	20	28	80	20
14	320	< 10	29	80	20
15	320	20	30	80	20

受体破坏酶供应商：广州健仑生物科技有限公司

### 3 讨论

在检测流感病毒血清抗体时，血清一般需经 RDE 处理，以去除其中的非特异性抑制素。经 RDE 处理过的正常血清，如检测其抗体效价 < 10，则说明 RDE 已将血清中的非特异性抑制素完全清除，即 1:5 稀释处理后的血清不再出现血抑反应<sup>[2]</sup>。从本次实验结果可知，鸡血清中非特异性抑制素含量低，用 RDE 处理与否对 HI 试验结果影响不大。而用 RDE 处理特异性抗血清会造成抗体效价的降低<sup>[3,4]</sup>。故建议在进行 HI 试验前特异性鸡抗血清可不用 RDE 处理，这既可以节省试剂和时间，又可以保证实验结果的准确性。

流感病毒感染者的血清用 RDE 处理后部分抗体效价下降幅度很大，最高者由 640 降至 10 以下。这一结果除考虑非特异性抑制素的原因外，还考虑 RDE 是否对人血清中的特异性抗体存在破坏作用，但 RDE 是否对特异性抗体有此作用还需进一步的实验证明。因而目前在进行 HI 试验前感染者待检血清尚需用 RDE 处理，以消除非特异性抑制素的干扰。在对感染禽流感的患者血清检测时，中和抗

体试验、ELISA 等对抗体的敏感性及准确性均要高于 HF<sup>[5]</sup>。因此在条件允许的情况下，对于感染禽流感的患者检测最好选用中和抗体试验或 ELISA，以力求结果的真实准确。

#### 参考文献：

- [1] 郭元吉. 流行性感冒病毒及其实验技术[M]. 北京：中国三峡出版社，1997. 12, 117.
- [2] 黄祯祥. 医学病毒学基础及实验技术[M]. 北京：科学出版社，1990. 685.
- [3] Y Guan, KF Shortridge, S Krauss, et al. H9N2 influenza viruses possessing H5N1-like internal genomes continue to circulate in poultry in southeastern China[J]. J of Virol, 2000, 74(20): 9372-9380.
- [4] Robert GW, Yi G, Malik P, et al. Characterization of H5N1 Influenza Viruses That Continue To Circulate in Geese in Southeastern China[J]. J of Virol, 2002, 76(1): 118-126.
- [5] Thomas R, Robert AA, Jean HP, et al. Detection of Antibody to Avian Influenza A(H5N1) Virus in Human Serum by Using a Combination of Serologic Assays[J]. J of Clinical Microbiology, 1999, 37(4): 937-943.

# 受体破坏酶在流感病毒血清抗体检测中的应用

作者: [屈微](#), [李康生](#), [QU Wei](#), [LI Kang-sheng](#)  
作者单位: [汕头大学医学院微生物学及免疫学教研室, 广东, 汕头, 515041](#)  
刊名: [汕头大学医学院学报](#)  
英文刊名: [JOURNAL OF SHANTOU UNIVERSITY MEDICAL COLLEGE](#)  
年, 卷(期): 2005, 18(1)

## 参考文献(5条)

1. THOMAS R;Robert AA;Jean HP [Detection of Antibody to Avian Influenza A\(H5N1\)Virus in Human Serum by Using a Combination of Serologic Assays](#)[外文期刊] 1999(04)
2. Robert GW;Yi G;Malik P [Characterization of H5N1 Influenza Viruses That Continue To Circulate in Geese in Southeastern China](#)[外文期刊] 2002(01)
3. Y Guan;KF Shortridge;S Krauss [H9N2 influenza viruses possessing H5N1-like internal genomes continue to circulate in poultry in southeastern China](#)[外文期刊] 2000(20)
4. 黄祯祥 [医学病毒学基础及实验技术](#) 1990
5. 郭元吉 [流行性感冒病毒及其实验技术](#) 1997

友情链接：[www.jianlun.com](http://www.jianlun.com)

受体破坏酶产品：<http://jianlun.com/Product/2914854412.html>

**受体破坏酶供应商：广州健仑生物科技有限公司**