DOI:10.16016/j.1000-5404.1985.01.025

个案与短篇

健康家兔血清中总补体量的正常值

何礼芳 董奎微 陈 朴 黄云辉

（免疫学研究室）

近来，发现补体含量的变化与许多疾病有关。为探讨免疫复合物病的发病机理，在建立急性实验性血清病动物模型时，我们曾观察了免疫家兔循环免疫复合物（CIC）和血清中总补体量的动态变化[1]，血清中总补体量在免疫复合物(IC)形成时期急骤下降，是判断动物血清病的一项重要指标。同时我们用CH_{50}试验测定了225只健康家兔血清中总补体量正常值范围，现报告如下。

材料与方法

一、pH7.4巴比妥缓冲盐溶液（VBS液）

巴比妥钠5.1g，氯化钠44.5g，氯化钙 42.5mg，氯化镁 250mg，加去离子水至 1000ml，溶解后放 4 ℃冰箱保存，用时取VBS原液 1 份加去离子水 4 份，放 4 ℃冷却备用。

二、4%绵羊红细胞(SRBC)

将用Alsever氏液保存于 4 ℃的SRBC，用前以pH7.4VBS液按常规洗涤 3 次，先用10倍于SRBC压积的VBS液洗 2 次，每次以2500转/分，离心 5 分钟，第 3 次以 2500转/分，离心10分钟，以压积SRBC配 4 %悬液，用721型分光光度计波长545nm测光密度值，为使SRBC悬液标准化，每次试验固定标准管50%溶血时其光密度值为0.2左右，若光密度值大于或小于0.2时，再加入稍许 4 %SRBC或pH7.4VBS液。

标准管配制是取 4 %SRBC0.2ml，加去离子水2.2ml，再加pH7.4VBS液2.4ml = 100%溶血管，从100%溶血管中取 3 ml加VBS液 3 ml = 50%溶血管，然后测其光密度值。

三、32单位溶血素

将已知效价的溶血素（兔抗羊红细胞抗体），用pH7.4VBS液稀释成32单位。

四、2%致敏SRBC

把4%SRBC悬液与32单位溶血素等量混匀，置37℃水浴箱作用15分钟。

五、被测血清

将我校动物房饲养的健康家兔耳静脉取血，即时分离血清，放－40℃保存。

六、血清总补体溶血活性测定(CH_{50}试验)

取冻存于－40℃保存的正常兔血清0.2ml，按Mayer氏和余滨等方法[2][3][4]，我们稍加改进，即用pH7.4VBS液作一系列倍比稀释（1:2、1:4、1:8、1:16……），每管加 2 % 致敏SRBC 0.2ml，放37℃水浴箱30分钟，每管再加入冷却的 VBS 液 2 ml终止反应，以3000转/分，离心5分钟，取各管上清于721型分光光度计545nm波长，以pH7.4VBS液作为空白校正透光率为100%，检测试验管光密度值，测定溶血时所释放的血红蛋白量与50%溶血标准管相比较，求出50%溶血的补体值。试验系分批进行，每次试验所配制的50%溶血标准管的光密度值稍有差异，故每次试验都应重新配制50%溶血标准管，以当天标准管结果为准计算该次试验结果，按下式计算血清中每毫升补体含量（单位）。

$$\text{血清中每毫升补体含量（单位）} = \frac{1}{\text{血清用量}} \times \text{稀释倍数}$$

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

结 果 与 讨 论

健康家兔血清中总补体量用CH_{50}试验测定结果见表和图。从图中的频数分布可看到健康家兔血清中总补体含量呈偏态分布，故其正常值的上下限不宜用正态分布法来处理，而采用百分位数法[5]计算正常值。本文对225只健康家兔血清中总补体含量95%正常值范围为63～204u/ml，均数为117.2u/ml，标准差为36.64，仅提供从事基础理论和临床医学研究的同道们参考。

本试验是根据补体能使兔抗羊红细胞抗体（溶血素）与SRBC接触后，经37℃水浴作用30分钟可产生溶血，用CH_{50}试验测定家兔血清中总补体量。由于抗原和抗体相互结合要适当的比例才能出现明显可见的反应，试验时选用一定量的32单位溶血素与2%致敏SRBC以及兔血清相互作用后，恰能获得与50%溶血标准管光密度相近数据的血清稀释度，溶血的程度与补体量成正比，当50%溶血时其溶血度与补体量的关系最敏感，所以常用50%溶血度作为观察结果的终点。

血清中补体的溶血活性与许多因素有关，由于补体性质很不稳定，极易受温度、缓冲液的pH、钙镁离子量、SRBC量等因素的影响，尤以温度更为明显，补体经56℃作用30分钟后，其活性基本丧失，故在采集动物血液时应及时分离血清，一般血液放室温不宜超过2小时，常因采集标本和贮藏不当使补体活性下降，为防止血清中补体活性的降低通常应将血清置－70℃冻存，因条件所限置－40℃冻存30天内亦无不良影响。此外，在试验中操作应仔细，稀释血清时必须取量准确，血清应新鲜无污染，遇天气温度太高时应在冰浴中进行，所用溶聚应放4℃预先冷却，否则对补体活性有一定影响。

表 225只健康家兔血清中总补体量测定结果

CH_{50}单位/毫升	60—	80—	100—	120—	140—	160—	180—	200—	合计
家兔只数	39	34	65	42	10	16	12	7	225

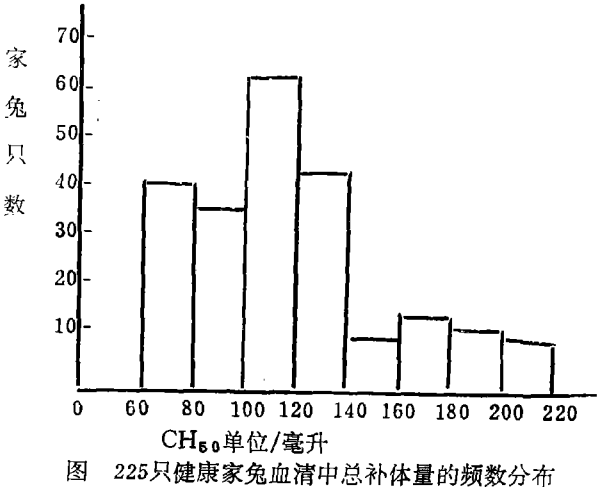


图 225只健康家兔血清中总补体量的频数分布

参 考 文 献

1. 何礼芳等：聚乙二醇沉淀-补体消耗试验检测家兔循环免疫复合物。第三军医大学学报 1984；6(2)：189—191

2. Mayer MM：in Kabat and Mayer "Experimental Immunochemistry" 2nd Ed. Springfield Illinois Charles C Thomas 1961, p. 133

3. 余濒等：50%溶血试验（简称CH_{50}）测定血清中总补体活性。《临床免疫技术》，上海科学技术出版社，1982，第118页

4. 任振环：人血清总补体活性（CH_{50}）的测定。汪美先主编《免疫学基础》，陕西科学技术出版社，1981，第237页

5. 郭兴国、尹全焕：百分位数法。《医用统计方法》，第三军医大学，1982，第196页

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net