

关于布鲁氏菌虎红平板凝集试验若干细节问题

青岛立见诊断技术发展中心

虎红平板凝集试验（Rose Bengal test）是布鲁氏杆菌病血清学诊断的经典初筛试验。

OIE《陆生动物诊断试验与疫苗手册》规定虎红平板凝集实验的主要步骤

- (1) 试验前首先将抗原、待检血清样品及阴阳性对照血清平衡至室温（ $22\pm 4^{\circ}\text{C}$ ）。整个实验要求在室温（ $22\pm 4^{\circ}\text{C}$ ）下进行。必须将抗原及血清平衡至室温，否则会降低试验的敏感性。
- (2) 吸取 25-30 μL 血清样品至“白色背景”的瓷砖、釉或塑料材质的反应板上。
- (3) 轻柔振摇虎红抗原试剂瓶，使其均质，吸取等体积的抗原加至靠近血清样品的白色背景的反应板上。
- (4) 用洁净的玻璃或塑料棒将血清与抗原“迅速同时混匀”形成 2cm 直径的圆形或椭圆形。在 OIE 布鲁氏菌病参考实验室，使用虎红专用混匀设备，将血清和抗原混匀成圆形，一次可同时混匀 48 个血清样品。OIE 要求所有血清样品及抗原需同步混匀，并形成 2cm 直径的圆形或椭圆形。
- (5) 置 3D（圆形）或 2D（椭圆形）混匀器混匀 4min；混匀“4min 立即”观察结果。
- (6) 判定结果：白色背景、自然光下观察，严禁在任何灯光下观察，出现“肉眼可见凝集现象”者判为阳性。
- (7) 每次实验必须设置阴阳性对照血清，且 OIE 规定“阳性对照血清要求为弱阳性（+或++）”（见下图），便于弱阳性血清样本的判别以降低假阴性的误判，进而用试管凝集试验复检。

国标 GB/T18646-2002《动物布鲁氏菌病诊断技术》主要步骤

- (1) 国标中未明确规定实验环境温度；而 OIE 对环境温度严格要求。
- (2) 国标中血清及抗原加样于玻璃板上，结果判定在玻璃板上进行，并非白色

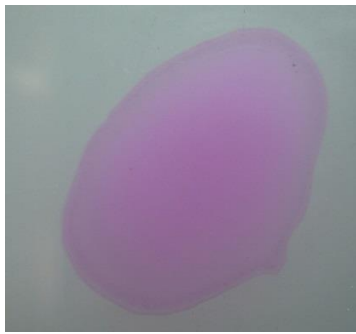
背景。

- (3) 国标中使用牙签类小棒将血清和抗原“逐个”混匀成椭圆形，一次最多只能做 10 个血清样品，而且很难做到同步混匀。
- (4) 国标规定混匀“4min 内”观察结果。
- (5) 国标中未对阴阳性血清的凝集结果进行要求，仅说明“在阴阳性血清对照实验成立的条件下，对被检血清进行判定”。

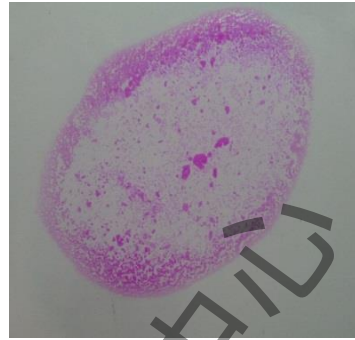
OIE 手册和国标虎红平板凝集试验的比较

| | OIE 《陆生动物诊断试验与疫苗手册》 | 国标 GB/T18646-2002 |
|------|---------------------|-------------------|
| 环境温度 | 室温 (22±4℃) | 未明确规定 |
| 反应板 | 白色背景的瓷砖，釉或塑料板 | 玻璃板 |
| 加样量 | 25-30μL | 30μL |
| 混匀方式 | 混匀成 2cm 直径的圆形或椭圆形 | 未明确规定 |
| 反应时间 | 严格的 4min | 4min 内 |
| 结果判定 | 白色背景、自然光下观察 | 未明确规定 |
| 对照血清 | 阳性对照血清为弱阳性 | 未明确规定 |

附图：下图为本中心实验图片仅供参考



-: 阴性
无凝集，呈均匀粉红色



++++: 强阳性
凝集块呈菌丛状，间液体清亮明显



+: 弱阳性
稍能查到凝集，稍有卷边形成，液体呈粉红色

++: 弱阳性
形成较明显卷边液体稍清亮

+++: 阳性
形成明显卷边，有菌丛状凝集块出现

青島立见诊断技术发展中心
提供下载 WWW.qdr Regen.com