

3406 中和试验法（标准草案）

1 固定病毒稀释血清法

将病毒稀释成每单位剂量含 200LD_{50} (EID_{50} 、 TCID_{50}) 或 100LD_{50} (EID_{50} 、 TCID_{50})，与等量的 2 倍系列稀释的被检血清混合，置 37°C 下作用 60 分钟（除另有规定外）。每一稀释度接种 3~6 只（枚、管、瓶、孔）实验动物、胚或细胞。接种后，记录每组实验动物、胚或细胞的存活数和死亡数或感染数或有无 CPE 的细胞瓶或孔数，按 Reed-Muench 法计算其半数保护量 (PD_{50})，然后计算该血清的中和价。该法用于测定血清的中和效价。

计算公式为：

$$\lg \text{PD}_{50} = \text{高于或等于 } 50\% \text{ 保护率的血清稀释度的对数} + \text{距离比} \times \text{稀释系数的对数}$$

表 1 中和试验结果示例

血清稀释度	死亡比 例 (CPE)	死亡数 (CPE)	存活数 (无 CPE)	累 计 结 果			
				死亡数 (CPE)	存活数 (无 CPE)	死亡比 例	保护 率 %
1:4 ($10^{-0.6}$)	0/4	0	4	0	9	0/9	100
1:16 ($10^{-1.2}$)	1/4	1	3	1	5	1/6	83
1:64 ($10^{-1.8}$)	2/4	2	2	3	2	3/5	40
1:256 ($10^{-2.4}$)	4/4	4	0	7	0	7/7	0
1:1024 ($10^{-3.0}$)	4/4	4	0	11	0	11/11	0

高于或等于 50% 保护时（上例中为 83%），血清稀释度 ($10^{-1.2}$) 的对数值为 -1.2。
稀释系数 (1/4) 的对数为 -0.60。

$$\text{距离比例} = \frac{\text{高于或等于 } 50\% - 50\%}{\text{高于或等于 } 50\% - \text{低于 } 50\%} = \frac{83\% - 50\%}{83\% - 40\%} = 0.77$$

$$\lg \text{PD}_{50} = -1.2 + 0.77 \times (-0.60) = -1.66。$$

则：该血清的中和效价为 $10^{-1.66}$ (1:45.9)，表明该血清在 1:45.9 稀释时可保护 50% 的实验动物、胚或细胞免于死亡或感染或不出现 CPE。

2 固定血清稀释病毒法

将病毒原液作 10 倍系列稀释，分装到 2 列无菌试管中，第 1 列加等量阴性血清（对照组），第 2 列加被检血清（试验组），混合后置 37°C 下作用 60 分钟（除另有规定外），然后每组分别接种 3~6 只（枚、管、瓶、孔）实验动物、胚或细胞，记录每组实验动物、胚或细胞死亡数或感染数或出现 CPE 数，按 Reed-Muench 法分别计算 2 组的 LD_{50} (EID_{50} 、 TCID_{50})，最后计算中和指数。

表 2 中和试验结果示例

病毒稀释度	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	LD_{50}	中和指数
对照组				4/4	3/4	1/4	0/4	$10^{-5.5}$	$10^{3.3}=1995$
试验组	4/4	2/4	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	$10^{-2.2}$	

$$\text{中和指数} = \frac{\text{试验组LD}_{50}}{\text{对照组LD}_{50}} = \frac{10^{-2.2}}{10^{-5.5}} = 10^{3.3} = 1995$$

资料同