

禽流感免疫抗体检测方法比较

郝大丽, 李 凯

(六安市裕安区畜牧局, 安徽 六安 237100)

中图分类号: S852.5⁺2

文献标识码: C

文章编号: 1004-6704(2005)01-0037-01

禽流感是由正粘病毒科流感病毒属, A 型流感病毒引起的禽类烈性传染病, 我国兽医部门将其列为一类动物疫病。随着我们国家动物防疫对禽流感的重视, 各地兽医部门对该病的免疫、监测迅速加以控制防止疫病蔓延显得尤为重要, 为了寻找到一种更为准确、实用的监测方法, 2003 年 7 月份, 我们对禽流感病毒进行了琼脂凝胶免疫扩散试验与血凝抑制试验两种监测方法的准确性研究。现将报告如下:

1 材料与方 法

1.1 材 料

禽流感琼扩抗原, 是由中国农业科学院哈尔滨兽医研究所提供的, 生产批号为: 20021030。禽流感标准阳性血清, 是由中国农业科学院哈尔滨兽医研究所提供, 生产批号为: 20030126。试验用的琼脂板及打孔器。使用的被检血清, 要求不溶血, 不腐败。用作血凝抑制试验用的 H5/H7/H9 抗原, 均是由中国农业科学院哈尔滨兽医研究所提供, 生产批号分别为 20030306、20030513、20030403。血凝抑制试验用的 H5/H7/H9 阳性血清, 均由中国农业科学院哈尔滨兽医研究所提供, 生产批号分别为 20030403、20030126、20020429。红细胞配制成 0.5% 悬液, 生理盐水, 以及实验室用的水浴锅, 96 孔 V 型微量血凝板, 50 μ L、20 μ L、80 μ L 微量移液器及移液塑料吸嘴、微量振荡器等。

1.2 方 法

禽流感琼脂扩散试验、禽流感血凝抑制试验均按照《高致病性禽流感防治技术规范》进行操作。具体步骤如下:

琼脂凝胶免疫扩散试验。在制备好的琼脂板上打孔, 加样制作后, 观察记录结果。作血凝抑制抗原的血凝效价的测定。经测定 H5 抗原的血凝效价为 1:256, H7 抗原血凝效价为 1:1024, H9 抗原血凝

效价为 1:256。并进行血清灭活。再进行各种血清型抗原血凝效价的重复测定。分别配置 8 个血凝单位和 4 个血凝单位的各种血清型的抗原。再作血凝抑制试验。

2 结果与分析

一家鹅养殖场于 45 d 前曾经全部使用禽流感 H5 疫苗进行免疫接种, 另一家鹅场于 35 d 前用禽流感 H5 和 H9 二联苗进行过免疫接种, 在 71 份被检血清中, 琼脂扩散试验结果呈现阳性结果的只有 11 份, 检出率为 15.5%; 而禽流感血凝抑制试验结果全部呈现阳性, 检出率为 100.0%。单联苗免疫的鹅血清中血凝抑制效价与二联苗免疫的鹅血清中血凝抑制效价基本处于同一水平上, 而且二联苗免疫的鹅血清中 H5 和 H9 的血凝抑制效价都比较高而且比较整齐。

试验结果说明了琼脂扩散试验在检测禽流感抗体水平上的敏感度、准确度远远小于血凝抑制试验。说明了禽流感单联苗与二联苗的免疫效果都比较理想, 多联苗中的不同血清型抗原的免疫抗体水平并不互相影响。

禽流感琼脂扩散试验在检测禽流感抗体水平上的敏感度、准确度之所以远远小于血凝抑制试验, 据我们分析具有以下几种原因: (1) 制备琼脂板时, 琼脂内糖的加入量太少, 不容易在琼脂板上打孔, 如果糖的加入量稍多则又会影响到凝集扩散速度。(2) 制备好的琼脂在浇板时如果温度高了, 其中的水份容易减少, 如果温度低了, 浇板后的琼脂则又会出现气泡。琼脂板的厚度也难以控制均一。这些因素都会影响到检测的结果。(3) 在琼脂板上打好孔作补底操作时, 稍不注意孔底补得薄或不完全均匀, 会造成所加样液从孔底渗漏; 如果孔底补得太厚又会造成加样量太少。(4) 加样时, 操作人员如果不熟练, 则很容易加过多, 造成满溢流出, 使得加样液互相污染, 影响反应结果。(5) 琼脂板的酸碱度也是影响检测结果的一个不容忽视的因素。因此在实验操作中按照要求注意控制。