

免疫胶体金诊断技术在兽医临床上的应用

王明利 张 浩*

北京农业职业学院畜牧兽医系, 北京 102442

摘要 随着现代医学水平的不断发展,免疫胶体金诊断技术已经应用在临床医学中,这项技术关键点以胶体金为示踪标志物,利用抗原与抗体结合反应诊断结果的一类新的免疫标记技术。免疫胶体金技术具有操作简单、方便快捷、结果容易判断等特点,在兽医临床上被广泛应用,能有效提高疾病诊断的检出率与准确率。本文通过对免疫胶体金技术的基本原理、优点和兽医临床上的应用的阐述,说明了免疫胶体金诊断技术在兽医临床的应用前景。

关键词 胶体金诊断技术;兽医临床;应用

免疫胶体金诊断技术与 ELISA 检测方法比较类似,起初在血清和尿液检测中运用。样品检测整个过程需要 5~10 min。胶体金技术是国外医学研究人员在酶标免疫法的基础上,用胶体金替代酶作标志物,抗原抗体结合的免疫学检测方法,并利用此项技术成功研制了检测人类艾滋病(AIDS)病毒抗体的试剂盒^[1],为人类有效检测艾滋病(AIDS)病毒做出巨大贡献。随着医学技术的深入发展,免疫胶体金技术的应用领域更加广泛,如妊娠试验、各种传染病检测。目前这项技术在兽医临床诊断上应用也比较广泛。

1 免疫胶体金诊断技术的基本原理

免疫胶体金技术(GICT)以胶体金为示踪标志物应用于抗原抗体的一项标记技术,为免疫学领域的新技术^[2]。随着纳米技术的不断发展,人们发现了胶体金,并广泛应用于医学、分子学、生物学和免疫学等各个学科。胶体金指在维生素 C、鞣酸等还原剂的作用下,将氯金酸(HAuCl_4)聚合成特定大小的颗

粒,这些颗粒在静电作用下形成稳定的胶体状物质。胶体金技术基本原理:把微孔滤膜作为载体,包被已知的抗原或抗体,滴入的待测样品经微孔膜的渗滤作用或毛细管虹吸作用,样品中的抗原或抗体与微孔滤膜包被的抗体或抗原结合,再通过胶体金标记物反应形成红色的线或点^[3],呈阳性,无此现象为阴性。

2 免疫胶体金诊断技术的优点

1)免疫胶体金诊断技术操作简单,检测只需要试剂盒或试纸条,无需其他设备和试剂,样品前处理简单或无需做前处理,样品多样化,血清、组织液、粪便和尿液等均可。

2)免疫胶体金诊断技术方便快捷,反应一般只需 5~10 min 出结果,而其他方法,如 ELISSA 需要 1~2 h,PCR 需要时间最长。因方便快捷且不受场地约束,该技术适合基层和现场。快速特异但不影响灵敏度,试验证明灵敏度可达到 1 ng/mL 或更低水平^[4]。

收稿日期:2020-07-13

基金项目:北京农业职业学院科技研发推广项目(XY-YF-17-09);北京市特色高水平骨干专业群项目-动物医学专业群项目-技术平台与社会服务建设项目(PXM2020-157102-000060)

* 通讯作者

王明利,男,1965年生,讲师。

3) 免疫胶体金诊断技术使用成本低, 检测不需要特殊设备和试剂。结果判定直观, 阴性、阳性结果显色明显, 通过肉眼很容易判断。

4) 免疫胶体金诊断技术具有特异性; 应用范围广阔, 在不同的检测条件下仍可运用; 可以同时检测多个项目内容, 提高样品的利用率, 尤其样品难以获得的情况下, 优势更加显著。

5) 胶体金标记理化性质稳定, 试剂盒或试纸条保存时间长, 在 4 ℃ 的冷藏条件下可以存放 2 年以上, 无信号衰减现象。

6) 由于胶体金为红色, 不需要添加着色试剂, 省去酶标致癌底物, 降低对试验人员的危害及工作环境污染, 安全环保, 符合构建环保型社会的要求。

3 免疫胶体金技术在兽医临床上的应用

由于免疫胶体金技术具有以上诸多优点, 因此被广泛应用在兽医临床疾病诊断中, 主要包括 2 个方面的内容: 一是用于抗体的检测, 二是用于病原的检测。

3.1 应用免疫胶体金技术检测抗体

在抗体检测过程中, 免疫胶体金诊断的基本原理为相应的抗原包被在硝酸纤维素膜(NC 膜)上, 用胶体金标记相应抗原, 如果检测样品为阳性, 那么样品中的抗体与 NC 膜上的抗原或金标抗原结合发生反应, 出现红色线条或点, 如样品为阴性, 则没有上述现象出现。

大量研究证明, 在动物诸多疾病的抗体检测中, 应用免疫胶体金技术符合率、灵敏度和特异性都比较好。刘志科等^[5]选择了 195 份鸡血清, 采用胶体金试纸条进行鸡白痢沙门氏菌的检测, 结果为 28 份阳性样品, 再用平板凝集试验做相应的检测, 检测到阳性样品 27 份, 两者的阳性符合率为 96.43%; 同时把利用试纸条检出的 44 份鸡白痢阴性样品, 用平板凝集试验做了检测, 结果均为阴性, 符合率达到 100%。郭健等^[6]报道, 采用该方法筛查动物布鲁菌病和结核病, 对采集的 387 份鹿血清和 206 份牛血清进行检测, 与平板凝集试验方法相比, 鹿血清阳性符合率 94%, 阴性符合率为 97%, 总符合率为 96%; 牛血清阳性符合率 100%, 阴性符合率为 96%, 总符合率为 96%, 得出两种方法符合较好的结论。李耀磊等^[7]采用胶体金技术对肉豆蔻等 19

种药材进行黄曲霉毒素 B₁ 测定, 与液相色谱法比较整体符合率为 83.7%, 结论一致。可见, 胶体金诊断技术在动物疾病诊断中, 具有较高的符合率、灵敏度和特异性, 该技术在兽医临床诊断上具有重要的应用价值。

3.2 应用免疫胶体金技术检测病原

在病原检测过程中, 免疫胶体金诊断技术基本原理为硝酸纤维素膜(NC 膜)和胶体金分别包被抗特定病原的 2 种抗体, 若被检样品为阳性, 样品中的抗原与 NC 膜上的抗体和金标抗体结合发生反应, 在 NC 膜上形成可见红色的线或点, 如果样品为阴性, 没有上述现象。

大量研究证明, 采用胶体金标诊断技术进行动物病原检测, 检出率较高。宁官保等^[8]建立鸡毒支原体病毒的胶体金免疫层析法, 对山西太谷某鸡场 35 只病鸡 95 份咽分泌物的培养物进行了检测, 测出阳性 32 份, 平板凝集试验测出阳性 33 份。用胶体金技术和平板凝集试验 2 种方法对已经确诊的 60 份阴性样口进行检测, 结果全部为阴性, 未检出阳性。阳性符合率为 91.43%, 总符合率为 96.84%。王中立等^[9]研究建立犬细小病毒胶体金免疫层析法, 采集犬粪便为待测样品, 数量 120 份, 检测结果与血凝试验结果比较, 如果效价在 1:40 以上, 试纸条检测均为阳性, 并与犬传染性肝炎病毒(ICHV)和犬瘟热病毒(CDV)没有交叉反应。试纸条存放 6 个月, 检测结果的重复率为 100%。王爱华等^[10]利用鸡减蛋综合症病毒胶体金免疫法检出浓度约为 1.35 g/mL 纯化的鸡减蛋综合症病毒。程安春等^[11]利用胶体金探针法检测鸡减蛋综合症病毒抗原, 检出最小量为 0.117 2 g/mL; 采用胶体金探针法对人工感染的 50 只鸡进行测定, 其中从咽喉部、卵巢和输卵管峡部采集到的样品, 阳性率均为 100%, 粪便样品的阳性率为 92%。试验结果显示, 检出率较高且具备良好的特异性, 在兽医临床上具有较高的应用价值。

4 结语

综上所述, 免疫胶体金诊断技术具有操作简单、方便快捷、检测成本低、样品利用率高、结果易于研判、检出率高、稳定性和特异性强等优点, 特别适合于基层、现场、大批量检测和大面积普查等, 在兽医临床诊断中具有广阔的应用前景。