

抗凝剂对布氏杆菌病检测结果的影响

蒙文娟

广西壮族自治区融水县动物疫病预防控制中心, 广西融水 545300

摘要 为了解血浆、血清对布氏杆菌病虎红平板凝集试验检测结果是否有影响, 试验取 20 只成年羊的颈静脉血, 分别进行了虎红平板凝集试验和试管凝集试验, 结果发现: 血清样品布氏杆菌病 RBPT、SAT 的检测结果均为阴性; 血浆样品布氏杆菌病 RBPT 的检测结果均为阳性, SAT 的检测结果均为阴性。

关键词 虎红平板凝集试验; 试管凝集试验; 布氏杆菌病; 血浆; 血清

在融水县 2013 年家畜布氏杆菌病血清流行病学调查中, 某乡镇送检的猪、牛、羊血样出现了在虎红平板凝集试验检测中 100% 为阳性、试管凝集试验中 100% 为阴性的现象。针对这两种试验结果的差异, 笔者经过分析, 怀疑是该乡兽医站技术人员使用含肝素钠的真空采血管采样造成的。为进一步了解是否因抗凝剂对布氏杆菌病虎红平板凝集试验结果造成了假阳性, 即血浆、血清对布氏杆菌病虎红平板凝集试验检测结果是否有影响, 笔者进行了以下对比试验。

1 材料与方法

1.1 采样材料

一次性 PE 注射器(无抗凝剂)、真空采血管(含肝素钠)和静脉采集管。

1.2 被检血清

某羊场 20 只成年羊, 采用颈静脉采血。

血清样品(A01-A20): 用一次性 PE 注射器从羊只颈静脉处抽取血液 5 mL, 常温静置 2 h 自然凝固, 经离心沉淀, 取上清液并编号。

血浆样品(B01-B20): 用真空采血管从羊只颈静脉处抽取血液 5 mL, 离心沉淀, 取上清液并编号。

将分离好的血清和血浆样品于 -4 °C 冷藏保存, 次日检测。

1.3 诊断液

布鲁氏菌病标准阳性血清、阴性血清, 布鲁氏

菌病虎红平板凝集抗原, 以及布鲁氏菌病试管凝集抗原均购自青岛易邦生物工程有限公司。

1.4 虎红平板凝集试验(RBPT)

取被检样品 30 μL 分别置于洁净玻璃片上, 各加布氏杆菌病虎红平板凝集抗原悬液 30 μL, 搅拌均匀至直径大小为 1 cm, 然后摇动 1~2 min, 于 4 min 内在黑色背景下观察结果。阴、阳性血清对照试验成立, 即当阴性血清对照不凝集、阳性血清对照出现凝集时, 方可对被检样品进行判定。结果判定标准: “++++”, 凝集块呈菌丛状, 凝集块间液体明显清亮; “+++”, 凝集反应较强; “++”, 形成较明显卷边, 凝集块间液体稍清亮; “+”, 稍有凝集, 稍有卷边形成, 凝集物间液体呈红色; “-”, 无凝集, 呈均匀粉红色。将 4 min 内出现肉眼可见的凝集现象判为阳性(+), 无凝集现象、呈均匀粉红色者判为阴性(-)。对出现阳性反应的需作试管凝集试验检测。

1.5 试管凝集试验(SAT)

被检血清样品分别作 1:25、1:50、1:100、1:200 稀释, 同时设阴、阳性血清对照, 阴性血清的稀释和加抗原的方法与被检血清相同; 阳性血清需稀释到原有滴度, 加抗原的方法与被检血清相同。

将 0.5 mL 1:20 稀释的抗原加入已稀释好的各血清管中, 并振摇均匀, 置 36~37 °C 作用 24 h, 取出观察结果并记录。

结果判定标准: 按各试管上层液体清亮度判读。“++++”, 菌体完全凝集, 100% 下沉, 上层液体

100%清亮;“+++”,菌体几乎完全凝集,上层液体 75%清亮;“++”,菌体凝集显著,液体 50%清亮;“+”,凝集物有沉淀,液体 25%清亮;“-”,凝集物无沉淀,液体均匀浑浊。以产生 50%凝集的血清最大稀释度为受检血清的效价。待检血清在 1:50(++)以上为阳性,1:25(+)为可疑。

2 结果与分析

血清样品 A01-A20 分别进行布氏杆菌病 RBPT、布氏杆菌病 SAT 的检测结果:20 份均为阴性、20 份均为阴性;血浆样品 B01-B20 分别进行布氏杆菌病 RBPT、布氏杆菌病 SAT 的检测结果为:20 份均为阳性、20 份均为阴性。

3 讨论

1)本试验中,血浆样品在布氏杆菌病 RBPT 检测中 100%呈阳性、而在 SAT 检测中 100%呈阴性的原因,可能是由血清与血浆中的部分差异成分与虎红平板凝集抗原发生非特异性凝集反应造成的。血浆和血清的主要区别是血浆含有纤维蛋白原和少量凝血因子,而血清不含纤维蛋白原和较多的凝血

产物^[1]。

2)虽然本次试验进行对比检测的样品数量不多,但 RBPT 检测出现 100%阳性率、SAT 检测出现 0%阳性率的试验结果,对我们的检测工作具有一定的提示意义。今后在布氏杆菌病检测中应避免使用含抗凝剂的材料进行血液采集,避免对养殖户和检测工作造成影响。

3)布氏杆菌病的血清学诊断方法种类较多,每种方法的准确率都不是 100%,我们在实际检疫中应使用两种或两种以上的方法相互佐证,最后再做出诊断。

4)布氏杆菌病是一种人畜共患病,主要采取的防治措施是检疫净化。布氏杆菌病的防控除了做好日常监测、引种家畜的隔离观察、消毒、抽样检测等综合措施,还应该严格检疫操作步骤,尽量做到少误差、零错误,这样才能消除传染源、切断传播途径,最终保护人们的健康和养殖业的可持续发展。

参 考 文 献

[1] 血浆在血液是如何代谢的? [J]. 健康必读,2013(11):14.
http://www.cqvip.com/QK/81485A/201311/48470070.html

夏季养鹅注意事项

- 1)降低饲养密度。夏季,鹅最适宜的饲养密度为 6~7 只 /m²。
- 2)做好降温。鹅舍温度不宜超过 26 ℃,保持通风透气,同时地面上撒 1 cm 厚的细沙;舍外活动场搭遮阳凉棚;天气炎热时,向鹅舍周围地面喷洒凉水,并用凉水对鹅体进行喷雾。
- 3)圈牧结合。30 日龄至翼羽长出前,要充分利用夏季早晚气温较低的时间,选择草质好、草量足的地方放牧。其余时间则圈养,适当补喂糠麸、稻谷、玉米等精料;尤其在肉鹅背部、腹部绒毛开始脱换新羽时,更要注意补喂优质精料,以免影响其生长发育;一般每天补饲 2~3 次,每次 8~9 成饱为宜。
- 4)疫病预防。雏鹅出壳后严格按程序免疫,由经免疫的种母鹅产蛋孵出的雏鹅,出壳 24 h 内可直接注射小鹅瘟疫苗;来源不明种蛋孵出的雏鹅,出壳 24 h 内先注射高免血清,7 日龄再注射小鹅瘟疫苗。搞好环境卫生,建立定期消毒制度;垫草要经常暴晒、更换,防止发霉;要注意各种营养成分的科学搭配,讲究科学饲养;同时,还应注意适当活动,让鹅多下水游泳以增强体质,减少疾病的发生。

来源:农民日报