

牛羊口蹄疫自然感染血清学调查

扎西措

青海省共和县廿地乡畜牧兽医站,青海共和 813000

摘要 2012–2016 年,采用逐年应用间接法(3ABC-I-ELISA)试验对牛血清 680 份、羊血清 680 份进行了口蹄疫自然感染检测,以期掌握青海共和县口蹄疫自然感染情况。试验结果表明,检出牛血清阳性 69 份,阳性率为 10.15%;羊血清阳性 52 份,阳性率为 7.65%。

关键词 牛;羊;口蹄疫;自然感染;间接法试验

口蹄疫是一种高度接触性传染病,传播迅速,可形成世界性大流行,对养殖业和国际畜产品、贸易具有严重负面影响^[1]。为全面掌握青海省共和县口蹄疫自然感染情况,笔者于 2012–2016 年对共和县牛羊进行口蹄疫病毒非结构蛋白 3ABC 抗体检测调查,现将检测结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1)待检血清。采自共和县各别乡镇牛血清 680 份、羊血清 680 份(动物全血,待血液凝固后,4 000 r/min 离心 10 min,收集上清液或待自然凝固析出血清,要求无溶血)。

2)诊断试剂。口蹄疫病毒非结构蛋白 3ABC 抗体检测(间接法):抗原包被板、25 倍 PBS 浓缩洗涤液、100 倍浓缩 HRP 酶标记二抗、阳性对照血清、阴性对

照血清、底物溶液(单组分,不需稀释)、终止液、一次性封板膜,均由青海省动物疫病预防控制中心提供。试剂生产厂家:中国农业科学院兰州兽医研究所。

3)仪器。量程为 0.5 ~ 10 μL、10 ~ 200 μL 和 1 ~ 10 mL 的精准单道移液器、50 ~ 300 mL 的多道移液器、自动洗板机、37 °C 恒温孵育箱、酶标仪、血清稀释板,计时器、V 底型加样槽、量筒、200 μL 规格均一的吸头、蒸馏水、吸水纸等。

1.2 方法

1)试剂配制。

①洗涤液(PBST)。将试剂盒配备的 25 倍浓缩洗涤液恢复至室温(20 ~ 25 °C),并摇匀,使沉淀溶解,然后用蒸馏水 1 : 25 倍稀释即可。

②工作浓度的酶标抗体。将 100 倍浓缩的酶标抗体按 1 : 100 比例稀释于血清稀释液中混匀即可(工作浓度的酶标抗体不可贮存,现配

收稿日期:2017-12-30

扎西措,女,1983 年生,本科,兽医师。

参 考 文 献

[1] 殷裕斌,程泽信,覃立胜.宜昌白山羊的生态环境、生态特征及开发利用[J].家畜生态,2000,21(1):30-32.

[2] 张年,陈明新,索效军,等.宜昌白山羊种质特性及其利用[J].湖北农业科学,2009,48(11):2789-2791.

[3] 李助南,向寿隆.波尔山羊 × 宜昌白山羊 F1 代杂种羊生产性能的测定[J].安徽农业科学,2008,36(16):6778-6779.

[4] 毛德柱.不同营养浓度对全舍饲山羊生长发育的影响[J].中国草食动物,2004(2):15-17.

[5] 金海,赵启南,李长青.建立放牧肉羊经济杂交新模式的探索——半轮回杂交[J].畜牧与饲料科学,2017,38(1):21-23.

[6] 陈明新,李晓锋,张坚中,等.三峡库区山羊经济杂交组合筛选试验[J].中国草食动物,1999(5):14-17.

[7] 关昕,赵凤立,陈宁,等.肉羊三元杂交组合筛选试验报告[J].现代畜牧兽医,2008(1):12-14.

[8] 徐小波,王公金,于建宁,等.湖羊、小尾寒羊与肉用杜泊羊杂交试验[J].内蒙古农业科技,2009(2):49-50,95.

[9] 许开云,董伟,李晓燕,等.湖寒杂交 F1 代与小尾寒羊生长性能比较研究[J].中国畜牧兽医,2016,43(7):1766-1773.

[10] 朱银城,张云,唐蜜,等.湖羊引种试验研究[J].湖北畜牧兽医,2016,37(8):9-10.

现用)。

2)样品处理。在血清稀释板上将待检血清和阳性、阴性对照用血清稀释液 1 : 21 倍稀释(120 μL 血清稀释液加血清 6 μL)。

3)操作步骤。

①在血清稀释板上将待检血清和阳性、阴性对照用血清稀释液 1 : 21 倍稀释 (120 μL 血清稀释液加血清 6 μL),阴、阳性对照血清平行加两孔,混匀,按次序转移至 ELISA 板上,每孔 100 μL,用封口膜封口,37 °C 结合 30 min。

②取掉封口膜,每孔加满洗涤液,洗涤 5 次,最后 1 次拍干。

③加入工作浓度的酶标抗体,每孔 100 μL,用封口膜封口,37 °C 结合 30 min。

④取掉封口膜,每孔加满洗涤液,洗涤 5 次,最后 1 次拍干。

⑤每孔加入 100 μL 底物,封口膜封口,37 °C

避光作用 10 ~ 15 min。

⑥每孔加入 100 μL 终止液。

⑦轻轻摇振混匀,测定波长 450 nm 吸光度 (OD_{450nm} 值)。

⑧阳性对照平均 OD 值应 > 0.6;阴性对照平均 OD 值应 < 0.2。

⑨结果计算:样品效价 = (OD 样品 - OD 阴性) ÷ (OD 阳性 - OD 阴性)。

4) 判定标准。效价 < 0.2, 为阴性; 效价介于 0.2 ~ 0.3 之间为可疑;效价 > 0.3 为阳性。可疑和阳性样品应进行复测,复测仍为可疑或者阳性,则判为抗体阳性。

2 结果与分析

检测牛血清共 680 份,阳性数 69 份,阳性率为 10.15%;检测羊血清共 680 份,阳性数 52 份,阳性率为 7.647%(表 1)。

表 1 2012-2016 年口蹄疫病血清学检测结果

年份	牛			羊		
	检测数/份	阳性/份	阳性率/%	检测数/份	阳性/份	阳性率/%
2012	160	7	4.38	160	9	5.63
2013	160	7	4.38	160	6	3.75
2014	180	27	15.00	180	33	18.33
2015	90	12	13.33	90	2	2.22
2016	90	16	17.78	90	2	2.22
合计	680	69	10.15	680	52	7.65

3 讨 论

检测结果显示,共和县连续 5 年均出现了阳性,2014 年阳性率呈现高峰期,比往年有所上升,主要原因:一是不同的检测试剂检出的阳性率有高低偏差;二是牛羊中仍存在口蹄疫隐性带毒的可能,

需引起重视^[2]。

参 考 文 献

[1] 张绍贤.家畜传染病学[M].北京:中国农业出版社,1995.
 [2] 陆承平.兽医微生物学[M].北京:中国农业出版社,2001.