

禽疫病监测微量血凝抑制试验中常见问题及应对措施

王秀英¹, 包月茹¹, 李真伍¹, 胡雪峰¹, 李小野¹, 郭小满²

(1. 吉林省梨树县畜牧兽医工作总站; 2. 梨树县动物检疫监督站 136500)

梨树县是国家无规定动物疫病区, 畜牧业大县, 全县猪、牛、羊、禽年饲养量发展到 285 万头、65 万头、40 万只和 4000 万只。我县是动物疫病监测县, 我们运用微量血凝抑制试验对全县高致病性禽流感 and 鸡新城疫进行疫病监测, 为全县动物防疫工作提供了科学依据, 为防控高致病性禽流感和鸡新城疫发挥了积极、重要的作用。微量血凝抑制试验是实验室中简便、快捷、灵敏、准确且最常用的血清学诊断方法, 用来监测免疫群体的抗体水平, 对免疫结果做出判定; 对未免疫群体是否被病毒感染及感染何种亚型病毒进行诊断。但在实际操作中由于一些因素影响及某些不规范操作, 影响试验的精确性。下面就谈谈我们检验室在大量的微量血凝抑制试验中遇到的问题及应对措施。

1 微量血凝抑制试验中容易出现的问题

1.1 受检血清中抗体效价由于多种因素而发生偏差影响试验结果。

1.2 凝集与沉淀呈跳跃式出现。

1.3 凝集与沉淀眼观不明显, 无法判定结果。

2 出现问题的原因及解决办法

2.1 受检血清腐败变质, 受到污染, 使血清抗体发生变化, 影响结果的准确性。受检血清应无溶血、无污染, 血清应随送随检, 未检的血清应在 4℃ 冰箱中保存, 要力求新鲜。

2.2 检验用的阿氏液和缓冲液配制时间过长, pH 值发生变化, 使凝集和沉淀不明显, 判定不准确。所以, 阿氏液和缓冲液要现用现配, 浓度和酸碱度要准确。

2.3 红细胞液的采集、洗涤、配制、使用过程中, 由于人为因

素造成血凝抑制滴度发生变化, 使试验结果出现误差。因此, 红细胞采集应注意防止污染, 洗涤时要尽量抽净白细胞膜, 配制的红细胞浓度要准确。红细胞悬液要用多少取多少, 使用前一定要摇匀, 保证每一孔中加入的浓度准确一致。

2.4 在使用微量移液器滴加液体时, 有时会将滴头与凝集板孔相接触, 造成污染, 并导致各孔之间液体数量和浓度发生变化。尤其是在加入红细胞悬液时, 孔内已有稀释液、抗原、血清等, 如果滴头接触到孔内混合液, 会造成各个孔内液体相互污染。所以, 在往凝集孔中加样时, 一定要保持移液器滴头与凝集板孔间的距离, 以保证每个凝集孔内液体数量和浓度准确。

2.5 利用多道移液器倍比稀释时, 由于操作不当, 容易产生气泡致液体数量、浓度不准确。使用时应将多道移液器滴头插入孔底, 混匀液体, 操作时应保持一定方向, 防止形成气泡。

2.6 凝集板静置时间不够, 室内温度过高或过低影响试验结果。凝集板不能随时取放, 应静置到规定时间后再看结果, 实验室要保证室温在 20℃ 左右, 防止室温过低引起红细胞自凝。

2.7 微量血凝板、滴头、盛液盒及盛装实验用药品、液体的器皿清洗不干净, 对试验结果有很大影响。因此, 清洗时要严格按清洗程序清洗, 微量血凝板、滴头清洗后再用蒸馏水冲洗 2~3 次, 在 37℃ 温箱中烘干备用, 其它器皿也应在清洗消毒后用蒸馏水冲洗 2~3 次, 烘干备用。

影响微量血凝抑制试验结果的因素很多, 因此, 在试验中一定要耐心细致, 严格按程序操作, 排除各种干扰因素, 发现问题及时解决, 才能获得精确的检验结果。

该病有效防治带来困难。

3.2 目前预防大肠杆菌的疫苗, 多采用多价苗, 虽适用范围广, 但由于血清型覆盖很有限, 效果不确定而常造成免疫失败。建议有条件的肉鸡场最好采用自家灭活苗, 这样效果可靠, 更适用于血清型复杂的地区。

3.3 国内外进行预防鸡大肠杆菌的各种类型疫苗研究, 取得了一定进展, 血清型鉴定结果显示, 大肠杆菌多种致病血清型的存在, 给防控工作增加了难度。而优势血清型的确定, 可用相应血清型制备疫苗, 并为最大限度的控制该病提供了条件。

通过以上的研究可以看出, 致肉鸡大肠杆菌病原菌的流行病学具有极其复杂的特征, 这也是肉鸡大肠杆菌病难以采取针对性预防的关键所在。因此, 定期对鸡场的致肉鸡大

肠杆菌进行分离鉴定, 选用具有针对性的菌株作为抗原制备菌苗, 配以敏感的药物治疗和良好的卫生措施, 才能收到较好的防治效果。

参考文献

- [1] 刘宝全. 兽医生物制品学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997.
- [2] 李敬堂, 张敬礼. 鸡大肠杆菌病及其防治的进展[J]. 河南职业技术学院学报, 1999, (3): 58-60.
- [3] 崔保安, 卢中华, 毛春生, 等. 河南省主要致病性鸡埃希氏大肠杆菌血清分型初探[J]. 中国畜禽传染病, 1992, (6): 6-7.
- [4] 习有祥, 李久芹, 陈庆普. 山东省鸡大肠杆菌的分离鉴定[J]. 中国预防兽医学报, 2002, (1): 21-23.
- [5] 朴范泽, 汪广荫, 孙肖文, 等. 鸡致病性大肠埃希氏菌的血清型鉴定[J]. 家畜传染病, 1986, (4): 1-2.
- [6] 甘肃农业大学. 兽医微生物学实验指导[M]. 北京: 农业出版社, 1991.