

禽/衣/原/体/病/的/感/染/状/况/调/查

杨 利, 何 诚, 杨 琪, 雷 鸣, 刘 伟, 张 畅
(中国农业大学动物医学院, 北京 海淀 100094)

中图分类号: S852. 67 文献标识码: B 文章编号: 0529-6005(2007) 04-0041-01

河北某种鸭场发生疫病, 主要症状为初期流泪, 眼结膜潮红, 眼周羽毛潮湿, 腹泻, 粪便淡绿、稀薄如水, 随着病情发展, 眼泪变为黏稠状及脓性分泌物, 有些眼球被灰色的分泌物覆盖, 病鸭消瘦。剖检病变为大部分病鸭有肝周炎, 脾肿大。综合临床症状、剖检变化、流行病学调查, 初步怀疑该病由衣原体引起。为此, 我们进行了病原学及血清学方面的诊断。试验结果介绍如下。

1 材料与方法

1. 1 被检病料、血清的采集和处理 204 份血清均从鸡的翅静脉采集, 每份 0. 5 ~ 1 ml, 自然凝固后分离血清。

1. 2 诊断试剂 衣原体间接血凝(IHA) 诊断试剂盒(购自中国农业科学院兰州兽医研究所), 衣原体 IHA 诊断抗原: 批号 050525; 德国 R-Biopharm AG Darmstadt 公司生产的用于检测禽衣原体的竞争酶联免疫吸附试剂盒(购自必发分析系统销售北京有限公司); 自制的抗酸染色试剂; 英国 DakoCytomation 公司的荧光抗体诊断试剂盒。

1. 3 诊断仪器 酶标仪; 荧光显微镜。

1. 4 操作步骤 分别按照衣原体间接血凝诊断试剂盒、RIDASCREEN Chlamydia psittaci 试剂盒(由德国 R-Biopharm AG Darmstadt 公司生产的检测禽衣原体的竞争酶联免疫吸附试剂盒)、英国 DakoCytomation 公司的荧光抗体诊断试剂盒说明书进行; 抗酸染色按照染色程序进行。

1. 5 结果判定 间接血凝诊断试剂盒的判定标准为: 首先观察阴性对照孔和稀释液对照孔均无凝集, 阳性对照组各孔均凝集。在对照孔成立的条件下, 观察各待检血清孔, 被检血清 1 ~ 16 孔发现“+ +”及以上凝集者为阳性, 1 ~ 4 孔发现“+ +”及以下者为阴性。

竞争酶联免疫吸附法判定标准为: 加样完成后, 通过酶标仪在 450nm 处测其吸收值。然后计算各个孔的抑制百分数:

抑制百分数(%) = 100 - (样品吸收值 × 100 / 阴性对照吸收平均值)

注: (1) 阴性吸收值必须 0. 7, ± 0. 15 左右。如若不在此范围则忽略。(2) 如果各值均不在此范围内

则重复实验。

如果上述条件符合, 结果判定如下: 抑制百分数小于 20% 则为阴性。抑制百分数 20% 则为阳性。阳性对照的抑制百分数应 阴性对照的 40%

抗酸染色的判定: 是在绿色的背景下, 可以看到红色的包涵体。

荧光抗体诊断的判定: 在荧光显微镜下可以看到规则的亮绿色的荧光。

2 结果

本次样品采自河北及其周边地区的十几个养禽场的 200 多份血清, 其中 6 份送检病料抗原检测的阳性率为 83. 3%; 通过 IHA 检测 104 份河北种鸭场的种鸭血清阳性率为 50%; 通过 RIDASCREEN Chlamydia psittaci 试剂盒检测来自不同的禽场采集的疑似病禽的 54 份血清, 阳性率为 52%, 检测来自表面健康禽的 52 份血清, 阳性率为 23%。见表 1 ~ 5。

表 1 6 只送检活病鸭的包涵体检测结果

染色方法	被检活病禽(只)	阴性	阳性	阳性率(%)
荧光抗体	6	1	5	83. 3
抗酸染色	6	2	4	66. 7

表 2 送检鸭血清的 IHA 的检测结果

	被检血清(份)	阴性	可疑	阳性	阳性率(%)
大种鸭	69	26	6	37	53. 6
小种鸭	35	18	2	15	42. 8
合计	104	44	8	52	50

表 3 河北鸭场 IHA 阳性率高的鸭血清复检结果
RIDASCREEN Chlamydia psittaci 试剂盒复检结果

	被检活病禽(份)	阴性	阳性	阳性率(%)
大种鸭	20	11	9	45
小种鸭	10	7	3	30
合计	30	18	12	40

表 4 采集不同的鸡场、鸭场的疑似病禽血清的
RIDASCREEN Chlamydia psittaci 试剂盒检测结果

	被检血清(份)	阴性	阳性	阳性率(%)
河北保定(肉鸡)	9	4	5	55. 6
河北辛集(蛋鸡)	9	4	4	44. 4
昌平(种蛋鸡)	9	6	3	33. 3
滨州(种蛋鸡)	9	5	4	44. 4
内蒙古(种鸭)	9	2	7	77. 8
河北管厅(肉鸡)	9	4	5	55. 6
合计	54	26	28	52

某规模化猪场细小病毒病的血清学调查

翟少钦^{1,2}, 付文贵²

(1. 重庆渝西希望动物保健药业有限公司技术部, 重庆 荣昌 402460; 2. 重庆市畜牧科学院, 重庆 荣昌 402460)

中图分类号: S858.285.3

文献标识码: B

文章编号: 0529-6005(2007)04-0042-01

猪细小病毒病(PPV)自 1966 年发现以来一直是引起猪繁殖障碍的主要疾病之一。该病主要引起母猪流产、产死胎、胎儿木乃伊化等,而母猪通常缺乏临床症状。我们近年来经常遇到一些出现死胎或胎儿木乃伊化等现象,为了弄清猪场感染猪细小病毒的情况,我们做了本次调查。

1 材料与方法

1.1 被检血清 采自某规模化猪场,共 235 份,其中经产猪 62 份,后备猪 173 份。

1.2 细小病毒乳胶凝集诊断试剂盒 由华中农业大学病毒实验室研制,内含细小病毒乳胶凝集抗原、标准阳性、阴性血清和稀释液等。

1.3 乳胶凝集试验及判定标准

1.3.1 乳胶凝集试验 取被检血清、阳性血清、阴性血清和稀释液各 8 μ l,分别置于乳胶凝集玻板上,各加乳胶抗原 8 μ l,用牙签混匀、搅拌并摇动 1~2 min,于 3~5 min 内观察,并记录结果。

1.3.2 结果判定 “++++”为大量的凝集块,颗粒聚于液滴边缘,液体完全透明,即 100% 凝集;

“+++”为出现明显的凝集颗粒,液体几乎完全透明,即 75% 凝集;“++”为有可见的凝集颗粒,液体不甚透明,即 50% 凝集;“+”为液体混浊,有少量的凝集颗粒,即 25% 凝集;“-”为液体均匀浑浊,无凝集现象。被检血清以出现 “++”凝集者判为阳性。阳性血清加抗原反应呈 “++++”;阴性血清加抗原反应呈 “-”。

2 结果

2.1 235 份被检血清的结果 在规模化猪场的 235 份被检血清中有 77 份血清为阳性,阳性率为 32.76%。

2.2 经产猪与后备猪的检测结果 62 份经产猪的血清中,有 24 份为阳性,阳性率为 38.71%;173 份后备猪的血清中,有 53 份为阳性,阳性率为 30.63%。

3 小结

3.1 本试验用乳胶凝集法对该猪场血清学进行了初步调查,结果表明,细小病毒病的阳性率为 32.76%,证实了近年来该猪场有细小病毒病的感染。

3.2 从检测的结果看,经产猪与后备猪的阳性率之间没有显著的差异。

收稿日期: 2005-07-10

表 5 随机采集表面健康鸡场、鸭场以及 SPF 鸡场的血清 ELISA 检测结果

	血清(份)	阴性	阳性	阳性率(%)
河北白洋淀(种鸭)	10	9	1	10
北京(肉鸡)	8	6	2	22.2
天津(肉鸡)	9	7	2	22.2
北京大兴(鸭场)	10	7	3	30
SPF 鸡	15	13	2	13.3

3 小结与讨论

3.1 我们在检测送检病料中,发现阳性率很高,就从河北附近的地区采集了一些怀疑为衣原体感染禽的血清,使用德国 R-Biopharm AG Darmstadt 公司生产的用于检测禽衣原体的竞争酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒做了检测,检测结果(见表 4)表明,衣原体有较高的感染率。可能与规模化养禽业的不断发展、引种、禽类产品调动比较频繁及疫病的检疫工作没有到位有关。

3.2 我们采用了不同的检测方法。病原检测采用了荧光抗体诊断试剂盒和抗酸染色法(见表 1),荧光抗体诊断法是被国外广泛认可的方法,其特异性和敏感性都较好。通过多次的试验表明,抗酸染色法是目

衣原体初步诊断中最好的染色方法;血清学检测中,在初次诊断中使用了 IHA 诊断试剂盒(见表 3),同时,我们引进了德国 R-Biopharm AG Darmstadt 公司生产的用于检测禽衣原体的竞争酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒(见表 2),通过试验结果比较可见, IHA 的阳性结果偏高,可能是由于 IHA 是针对猪的衣原体开发的诊断试剂盒,我们将其应用在禽的诊断上,出现了许多的假阳性,因此,我们推荐用于检测禽衣原体的竞争酶联免疫吸附试剂盒来检测衣原体的感染状况。

3.3 为了了解外表健康禽的感染状况,外表健康禽的抗体阳性率也是较高(见表 5)。本次还采集了部分 SPF 鸡的血清,结果仍有抗体呈阳性的,这启示我们,疫苗的应用可能会造成衣原体的广泛传播。当然,目前没有做病原的分离,因此不能下定论,只是本次试验的血清学结果,给我们的一个思考方向,进一步的试验才能说明我们猜测的可靠性。

3.4 由于禽衣原体没有可用的疫苗,药物治疗效果又不是很理想,养禽场一旦传入很难根除,养禽场应该建立健全的饲养管理、卫生消毒制度;严格检疫,采取综合生物安全措施杜绝该病原的传入。