

# 禽流感抗体检测方法的应用

李 坚 袁明龙 刘 雁 王美娟 ( 上海市青浦区畜牧兽医站 201700 )

禽流感(AI)是由A型流感病毒(AIV)引起的一种禽类的感染和疾病综合征。该病是世界动物卫生组织(OIE)规定的A类传染病,我国列为一类动物疫病。禽流感的流行给世界养禽业造成极大危害和巨大经济损失,同时也成为影响人类公众卫生健康的危险。对于禽流感的防控,在实际养殖生产中,运用实验室血清学抗体检测方法,及时掌握禽群的禽流感抗体水平动态,提高对疫病的监控能力,并对于加强指导生产,提供合理免疫程序至关重要。我区的养禽业具有养殖数量大、流动性大的特点,近几年来我站利用禽流感抗体检测方法,为我区养禽业健康发展提供可靠的技术指导。

## 1 近三年我区 AI 抗体检测情况

2002 年共监测 19074 羽(未免),结果全部为阴性。2003 年共监测 14410 羽,其中 11674 羽(未免),结果全部为阴性;2736 羽(H5 已免),结果 2080 羽为阳性,阳性率 76.02%。2004 年在全区大防疫后的监测,全部强制免疫,共监测 8153 羽,结果 5980 羽为阳性,阳性率 73.35%。

## 2 依据监测结果,合理指导生产

2.1 2002 年对禽群未实行免疫,结果全部为阴性,说明未有 AIV 感染。

2.2 2003 年我市推行 AIH5 自愿免疫,到年底实行强制免疫。一些小规模养户免疫效果不佳,经我们及时组织人员调查发现他们未使用农业部指定生产厂生产的疫苗,而是使用外来疫苗,有的是上门推销送货的廉价的非正规厂商生产的,有的根本就无生产厂,使用后只能产生低抗体水平,不能起到有效的保护作用。对于这些养户我们加强宣传力度,强制使用农业部指定疫苗,再次加强免疫,防患于未然。

2.3 2004 年全区大防疫,使用的全部为农业部指定疫苗,监测结果大部分属于正常,但也显示了存在的问题。(1)个别养户饲养的禽群出现抗体离散度较大情况,调查后发现是由于注射时方法不当、剂量不足或漏注而导致产生抗体不均匀,并非 AIV 所致。(2)产生的抗体水平低,特别是肉鸭。肉鸭第一次免疫在 2 周内注射的,在 2 周后产生的抗体低,未能达到保护水平,有的因母源抗体的影响而未能产生抗体。而肉鸭第一次免疫在 2 周后(约 3 周)注射的,在 2 周后产生的抗体能达到保护水平。(3)一次免疫后,品种不同,产生的抗体维持时间长短不同,给实际生产带来了困难,何时进行加强免疫难以掌握。

2.4 对于厂家的参考免疫程序只能作为参考,我区根据大防疫后的监测实际情况,果断做出了首次免疫由 2 周推迟到 3 周的改变,避免了母源抗体的干扰作用和雏禽免疫机制的影响。目前,根据本区实际情况,对不同品种、不同来源的母源抗体的消长规律进行抗体跟踪检测,研究建立合理的免疫程序。

## 3 不断提高检测技术,提供可靠、准确的依据

在对几万份血清检测中发现,AI 血清学抗体检测方法在实际临床诊断及生产中应用虽只是常规的血凝试验(HA)与血凝抑制试验(HI),但试验中的某些因素就能影响整个检测结果,造成对诊断及对生产的错误指导。因此提高检测技能,即提高了对 AI 临床诊断的准确性、可靠性,同时作为适

时免疫的重要手段,能避免免疫失败、免疫空档及重复免疫造成的损失。

3.1 传统检测方法与国家标准方法的比较:对 AI 的血凝试验(HA)与血凝抑制试验(HI),国家标准在 2003 年时已颁布,但在绝大多数基层实验室仍采用传统方法,虽然原理相同,但国家标准方法经过大量科学试验,改良了许多试验中存在的因素,使试验更精确,反应更充分可靠,见表 1。在相同实验条件,用同一批血清,两种方法试验产生的抗体水平差异并不显著( $P > 0.05$ ),但国家标准方法的反应结果稳定性、清晰度大大减少了判定结果时的主观因素,增强了实验的客观性。

表 1 传统检测方法与国家标准方法的主要区别

检测方法	抗原的配制	反应时间	反应结果 稳定性、清晰度	对照反应
传统	用生理盐水	短	一般	生理盐水对照 有时不成立
国家标准	专门配备的 PBS	长、充分	好	PBS 对照始终成立

3.2 不同来源红细胞对抗原效价的影响:不同来源公鸡的红细胞对 AIH5 亚型抗原效价的差异性有时很大,因此用不同的红细胞就应检测此种来源红细胞对抗原的效价,否则造成配制的工作抗原效价过低或过高,从而使测得的血清抗体水平过高或过低。若配制的工作抗原效价过低,则使测得的血清抗体滴度比实际测得偏低;若配制的工作抗原效价过高,则使测得的血清抗体滴度比实际测得偏高。

3.3 温度对实验结果的影响:实验温度一般要求在 20~25℃,若环境温度过高,可置 4℃ 环境下,但低于 4℃ 时红细胞有时会发生自凝现象。

3.4 抗原与抗体作用时间的影响:反应时间应严格按照国家标准要求,反应时间过短会出现凝集不完全,过长则出现洗脱现象。

3.5 96 孔 V 型板清洗的影响:反应板未洗净,板上残留物对下次试验的影响相当严重,在相同实验条件,同一批血清,清洁板与有污染板试验比较证明,试验产生的抗体差异非常显著( $P < 0.01$ )。因此,洗板时应冲洗干净,用 1% 稀盐酸浸泡数小时后,再用清水冲洗干净,高温烘干备用,下次实验前必须用棉签蘸取 95% 酒精每孔进行清洗,才能保证上次实验的残留物彻底清除,完全消除了反应板上影响试验的干扰因素。

## 4 小结

禽流感已经给我国养禽业造成巨大损失,我国的各级政府、社会各界对禽流感的防制高度重视,目前我国的禽流感防制研究工作在全面有效开展,且接近国际先进水平。但 AIV 一直严重威胁着养禽业发展及人类的健康,尤其是我国现有的养殖条件所限,更应加大对禽流感的防制力度。在研究敏感快速的检测方法的同时,禽流感的血清学抗体检测方法仍是目前条件下最重要的监测方法,对禽流感的早期发现、对实际生产的指导作用不容忽视。科学运用禽流感抗体检测方法对我国禽流感的防控体系的建立提供切实的技术保障。