

鸡志贺氏菌多价凝集抗原及其标准血清的应用

宋海霞, 李 炜, 蒋大伟, 许兰菊*, 李 凯, 潘国民, 贾文科

(河南农业大学 牧医工程学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 利用研制的鸡志贺氏菌多价凝集抗原及其标准血清, 对信阳地区 18 家鸡场的 351 份鸡待检血清进行了血清抗体检测。结果显示: 351 份被检血清中, 鸡鲍氏和痢疾志贺氏菌混合感染的抗体阳性率达 8.33%(1/12)~73.91%(17/23), 平均抗体阳性率为 44.16%(155/351)。通过与鸡志贺氏菌单价凝集抗原的检测结果相比较, 发现其吻合率高达 98.58%(346/351), 说明鸡志贺氏菌多价凝集抗原及其标准血清用于血样的检测, 具有高度的特异性, 准确可靠、方法简便快速。

关键词: 鸡志贺氏菌多价凝集抗原; 标准血清; 血清学调查; 抗体阳性率

中图分类号: S854.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2009)11-0136-03

The Application of Chicken *Shigellae* Polyvalent Antigen and Standard Serum

SONG Hai-xia, LI Wei, JIANG Da-wei, XU Lan-ju*, LI Kai, PAN Guo-min, JIA Wen-ke

(College of Animal Husbandry and Veterinary Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: In this study, chicken polyvalent antigen and its standard serum are used for serum antibody detection of 351 chicken serum which from the 18 chicken farms of Xinyang. The results showed that: the mixed infection of antibody-positive rate of *S. boydii* and the *S. dysenteriae* is 8.33%(1/12)~73.91%(17/23), the average antibody-positive rate is 44.16%(155/351). Compared with the test result of *Shigella* monovalent antigen, the rate of anastomosis up to 98.58%(346/351), which shows that chicken *Shigellae* polyvalent antigen and its standard serum have high specificity and great accuracy, and the method is simple and fast. So the diagnostic reagents and method are perfect for basic veterinary departments and chicken house to test the infection of chicken *Shigellae*, having great significance and application and dissemination value.

Key words: Polyvalent antigen of chicken *Shigellae*; Standard serum; Serological survey; Antibody positiveness

收稿日期: 2009-05-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(30671555); 河南省重点科技攻关项目(0423011600)

作者简介: 宋海霞(1985-), 女, 河南唐河人, 在读硕士研究生, 研究方向: 畜禽疫病细菌分子生物学及免疫学。

通讯作者: 许兰菊(1957-), 女, 河南兰考人, 教授, 本科, 主要从事动物病原微生物及免疫学教学和研究工作。

E-mail: xulanju11@126.com

药物相同。这可能因为地方分离菌株不同, 其耐药性也有所不同, 因此治疗方案也有差异。

参考文献:

- [1] 蔡宝祥. 家畜传染病学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [2] 王鑫, 李文刚, 孟海江, 等. 猪圆环病毒病诊断及防治研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2007, 34(4): 84~86.
- [3] 王泉. 猪圆环病毒病II型的防治[J]. 现代农业科技, 2007(14): 177.
- [4] 王宏魁, 彭志锋, 孙彦婷, 等. 猪圆环病毒复合 PCR 检测方

法的建立及应用[J]. 河南农业科学, 2009(1): 109~111.

- [5] 高利华, 王君玮, 张秀, 等. 圆环康防治猪圆环病毒 2 型感染的效果观察[J]. 河南农业科学, 2007(4): 110~112.
- [6] 蒋培红. 副猪嗜血杆菌病的诊断与防治[J]. 畜牧与兽医, 2008, 40(1): 110~111.
- [7] 王华昕. 副猪嗜血杆菌病的治疗报告 1 例[J]. 畜牧与兽医, 2008, 40(3): 108~108.
- [8] 王玲初, 黄正明, 黄琴, 等. 猪副嗜血杆菌病的诊断与防治[J]. 现代农业科技, 2008(10): 163~164.
- [9] 王俊, 郑学斌. 传染性副猪嗜血杆菌病的防治[J]. 现代农业科技, 2007(15): 172~180.

鸡志贺氏菌病是由鸡志贺氏菌引起鸡的一种新发急性传染病, 主要特征为腹泻和明显的肠道病变, 幼龄雏鸡的发病率可达 100%, 死亡率为 3.84%~33.3%, 耐过鸡表现为消瘦, 生长发育缓慢^[1,2]。鸡志贺氏菌病作为鸡的一种新发传染病, 同时又和鸡白痢在流行病学及症状上具有一定的相似性, 人们对其知之甚少, 故临床上常将鸡志贺氏菌病误诊为鸡白痢或鸡球虫病等, 给该病的防治工作造成很大困难。传统的细菌培养、生化分析^[3]方法检测志贺氏菌步骤繁琐, 容易产生误差, 且一次检测完成样品项数较少; 随着微生物学、生物化学和分子生物学的不断发展, 建立了 PCR、RAPD 等技术应用于志贺氏菌的检测^[4~7], 但因其需要特殊的仪器设备不宜在基层生产单位推广应用。鸡志贺氏菌多价凝集抗原及其标准血清作为一种血清学生物诊断试剂, 只需少量的抗原和血清即可做出诊断, 并可省去单价凝集抗原繁琐的检测程序和时间, 在准确快速诊断的同时也可减少因对动物大量采血所带来的应激反应。为推广应用鸡志贺氏菌多价凝集抗原及其标准血清, 本研究对来自信阳地区不同鸡场的鸡血清进行了血清抗体检测, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 待检血清来源及处理

351 份鸡待检血清来自信阳地区具有不同程度腹泻病史的 18 家鸡场。每只鸡翼下静脉采血, 分离血清, -20℃保存, 并于检测前在 56℃条件下水浴灭活 30min。

1.2 细菌凝集抗原

鸡鲍氏和痢疾志贺氏菌多价凝集抗原(批号: 20090207), 由河南农业大学重点开放实验室研制。

1.3 标准血清

标准血清包括阳性血清和阴性血清, 主要用于试验对照。鸡鲍氏和痢疾志贺氏菌多价阳性血清, 是河南农业大学重点开放实验室由相应免疫鸡采血制备(批号: 20090203), 阴性血清是该室由非免疫鸡采血制备(批号: 20090203)。鸡鲍氏和痢疾志贺氏菌多价阳性血清和阴性血清用前均进行 56℃, 30min 灭活。

1.4 稀释液

pH7.2 的 0.5%石炭酸生理盐水按常规方法自制。

1.5 平板凝集试验方法

用制备的鸡鲍氏和痢疾志贺氏菌多价凝集抗原及其标准血清, 对待检血清进行平板凝集试验检测。

抗原与血清用前均需恢复至室温。按许兰菊的方法进行试验^[8]。

结果判定标准: “#”表示出现明显的片状凝集, 液体完全透亮(100%凝集); “+++”表示有明显大颗粒凝集, 液体几乎完全透亮(75%凝集); “++”表示有少量凝集颗粒, 液体不甚透亮(50%凝集); “+”表示液体浑浊, 有小颗粒状物(25%凝集); “-”表示液体均匀浑浊, 无凝集物。出现“#”, “+++”判为阳性, “++”判为可疑, “+”及“-”判为阴性。阳性结果的整个液滴成花斑状, 凝集片或凝集大颗粒首先出现在液滴的边缘部分, 且较明显。阴性结果的混合液仍保持原有的状态, 或变成中心部分较浓的圆点状。

1.6 待检血清调查内容

用制备的多价凝集抗原和标准血清, 按照平板凝集试验操作方法和结果判定标准, 对来自不同鸡场的 351 份待检血清进行鸡志贺氏菌感染抗体的血清学检测, 并将检测结果和张玉红等^[9]利用鸡志贺氏菌单价凝集抗原对这 351 份血清的检测结果进行比较。对上述各项检测结果数据进行统计和分析。

2 结果与分析

2.1 不同鸡场的血清抗体检测结果

在检测的信阳地区 18 家鸡场中, 鸡鲍氏和鸡痢疾志贺氏菌混合感染的抗体阳性率在 8.33%(1/12)~73.91%(17/23)之间。各鸡场平均抗体阳性率为 44.16%(155/351)。结果详见表 1。

表 1 不同鸡场的血清抗体检测结果

血清来源	鸡场编号	抗体阳性率 (%)	可疑率 (%)
信阳罗山	1	35.29(6/17)	35.29(6/17)
信阳光山	2	46.77(7/15)	13.33(2/15)
信阳光山	3	20.00(4/20)	5.00(1/20)
信阳光山	4	25.00(6/24)	16.67(4/24)
信阳光山	5	8.33(1/12)	33.33(4/12)
信阳光山	6	45.00(9/20)	10.00(2/20)
信阳光山	7	64.00(16/25)	16.00(4/25)
信阳光山	8	73.91(17/23)	13.04(3/23)
信阳光山	9	34.29(12/35)	34.29(12/35)
信阳平桥	10	56.25(9/16)	6.25(1/16)
信阳平桥	11	65.00(13/20)	15.00(3/20)
信阳平桥	12	16.67(2/12)	25.00(3/12)

续表 1 不同鸡场的血清抗体检测结果

血清来源	鸡场编号	抗体阳性率 (%)	可疑率 (%)
信阳平桥	13	46.88(15/32)	12.50(4/32)
信阳平桥	14	46.15(6/13)	15.38(2/13)
信阳平桥	15	45.00(9/20)	20.00(4/20)
信阳平桥	16	42.86(6/14)	0.00(0/14)
信阳平桥	17	54.55(12/22)	9.09(2/22)
信阳平桥	18	45.45(5/11)	27.27(3/11)
平均		44.16(155/351)	34.18(60/351)

2.2 不同区域的血清抗体检测结果

信阳地区不同县市的检测结果显示:检测的 3 个县市均存在感染情况,抗体阳性率在 35.29%(6/17)~48.13%(77/160)。结果详见表 2。

表 2 不同区域血清抗体检测结果

血清来源	鸡场数	阳性率(%)	可疑率(%)
信阳罗山	1	35.29(6/17)	35.29(6/170)
信阳光山	8	41.28(72/174)	18.39(32/174)
信阳平桥	9	48.13(77/160)	13.75(22/160)
平均		44.16(155/351)	34.18(60/351)

2.3 鸡志贺氏菌多价凝集抗原和单价凝集抗原检测结果比较

本次检测结果与张玉红等^[9]鸡志贺氏菌单价凝集抗原的检测结果显示,二者的吻合率达 98.58%(346/351),仅有 5 份血清(占 1.42%)的检测结果显示不太吻合,疑与待检血清被反复冻融有关。

3 讨论

1) 本研究应用鸡志贺氏菌多价凝集抗原及其标准血清对来自信阳地区不同鸡场的鸡血清进行了血清抗体检测。结果显示,不同鸡场中鸡志贺氏菌感染的抗体阳性率达 8.33%(1/12)~73.91%(17/23),平均抗体阳性率为 44.16%(155/351),表明鸡志贺氏菌的感染较为严重。因此,建议应高度重视鸡志贺氏菌病,采取积极措施以减少该病给养

鸡业造成的经济损失。

2) 本次检测使用的为鸡志贺氏菌多价凝集抗原,与单价凝集抗原相比,仅需要少量的抗原和血清即可检测出是否感染鸡志贺氏菌,提高了检测的速度。且检测结果与鸡志贺氏菌单价凝集抗原的检测结果显示相比较,吻合率高达 98.58%(346/351),这说明多价凝集抗原检测结果具有较高的可靠性。其中检测结果不太吻合的 5 份血清(占 1.42%),均是鸡志贺氏菌鲍氏或痢疾单价凝集抗原检测为阳性,而多价凝集抗原检测为阴性的情况,其细微差异是否因血清在检测过程中反复冻融造成抗体效价减低,有待进一步证明。

参考文献:

[1] 许兰菊,臧为民,康相涛,等.鸡志贺氏菌病的病原鉴定[J].畜牧兽医学报,2004,35(40):420—423.

[2] 许兰菊,王川庆,胡功政,等.鸡志贺氏菌病在我国发现及其病原特性研究[J].中国预防兽医学报,2004,26(4):281—286.

[3] 郑幸福,江智辉,周良君,等.生化快速检测法鉴定沙门菌和志贺菌[J].现代预防医学,2005,32(5):495—503.

[4] 盘宝进,韦梅良,汪文龙,等.应用聚合酶链反应快速检测试纸试验猴沙门氏菌和志贺氏菌[J].现代农业科技,2007(13):167—168,170.

[5] 杨露,陈陆,许兰菊,等.RAPD 技术在志贺氏菌及沙门菌鉴别中的应用[J].河南农业大学学报,2007,41(1):68—72.

[6] 吴平芳,石晓路,郑琳琳,等.改良分子信标——实时 PCR 快速检测志贺菌[J].中国卫生检验杂志,2006,16(4):394—395.

[7] 韩华忠,谢晓红,沈莉.多重聚合酶链反应技术快速检测志贺菌、副溶血性弧菌[J].上海预防医学杂志,2007,19(3):127—128.

[8] 许兰菊,王川庆,马水锋,等.鸡志贺氏菌感染的血清流行病学调查[J].中国兽医学报,2005,25(6):594—596.

[9] 张玉红,张光辉,许兰菊,等.河南省鸡志贺氏菌病和鸡白痢的血清流行病学调查[J].河南农业科学,2007(12):105—108.