

卓国荣,周红蕾,张 斌,等. 泰州地区犬血清弓形虫抗体间接血凝与胶体金试纸对比调查研究[J]. 江苏农业科学,2013,41(7):211-212.

# 泰州地区犬血清弓形虫抗体间接血凝与胶体金试纸对比调查研究

卓国荣<sup>1,2</sup>, 周红蕾<sup>1,2</sup>, 张 斌<sup>1,2</sup>, 贺生中<sup>1</sup>, 王传锋<sup>1</sup>, 郑晓亮<sup>1</sup>

(1. 江苏农牧科技职业学院宠物科技学院, 江苏泰州 225300; 2. 江苏农牧科技职业学院泰爱牧宠物医院, 江苏泰州 225300)

**摘要:**运用间接血凝与胶体金试纸 2 种方法对比调查了泰州地区宠物医院就诊犬、宠物市场销售犬与农村家养土犬血清弓形虫抗体阳性率,并对 2 种方法检测结果进行分析比较。结果表明,泰州地区宠物医院就诊犬、宠物市场销售犬、农村家养土犬、总样本血清间接血凝检测阳性率分别为 9.63%、4.71%、10.00%、8.21%,胶体金试纸检测阳性率分别为 10.37%、4.71%、11.67%、8.93%,数据显示泰州地区土犬与宠物医院就诊犬弓形虫抗体阳性率较高,胶体金试纸检测敏感性高于间接血凝法,但两者差异不显著。

**关键词:**犬;血清;弓形虫抗体;间接血凝;胶体金试纸;调查研究

**中图分类号:** S858.292 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)07-0211-05

弓形虫病是由刚地弓形虫引起的以孕妇(畜)流产、弱胎、畸胎、死胎和儿童(幼畜)生长受阻、死亡等为特征的一种人畜共患病<sup>[1]</sup>。该病广泛存在于世界各地,弓形虫宿主范围广泛,人和犬为其中间宿主,都存在一定的感染率,据报道统计,我国不同地区、不同年份犬血清弓形虫抗体阳性率在 1.75%~46.67% 不等<sup>[2-6]</sup>;另有调查表明,养犬与人弓形虫感染存在直接的联系;犬的弓形虫感染可以明显增加人感染弓形虫的机会<sup>[6-9]</sup>;感染患犬是人畜共患弓形虫病的重要传染源之一。目前,国内外学者已建立多种检测弓形虫抗原或抗体的方法,如病原学检测、间接血凝检测、间接免疫荧光试验、酶联免疫吸附试验、PCR 检测、胶体金试纸检测等。鉴于弓形虫病具有重要的公共卫生意义,选择合适的方法检测弓形虫感染直接关系到人和动物的健康。因此,本研究在 2011 年 7 月至 2012 年 6 月期间采用间接血凝与胶体金试纸 2 种方法对比调查泰州地区犬血清弓形虫抗体阳性率,以期引起宠物饲养者重视,并对今后检测与防治犬弓形虫病提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 主要试剂与材料** 弓形虫抗体间接血凝(IHA)检测试剂盒:诊断抗原、标准阳性血清、标准阴性血清(稀释液,批号 20110529,购自中国农业科学院兰州兽医研究所。

弓形虫抗体胶体金试纸条:批号 JL101212,广州健仑生物科技有限公司生产。

110°V 型血凝板,10~100  $\mu$ L 可调移液器,加样头,微型振荡器,恒温培养箱。

**1.1.2 血清样本** 280 份血清样本随机采集于江苏省泰州市泰爱牧宠物医院就诊宠物犬、泰州市宠物市场销售犬与泰州地区农村家养土犬,其中采集宠物医院就诊犬血清 135 份,采集宠物市场犬血清 85 份,采集农村土犬血清 60 份,所采集血清分装后登记、编号、标记。

### 1.2 方法

用弓形虫抗体间接血凝(IHA)试剂盒与胶体金试纸条平行对比检测所采集的 280 份犬血清样本。

**1.2.1 弓形虫抗体间接血凝(IHA)检测试剂盒检测方法** 在 96 孔、110°V 型血凝板上,用移液器加稀释液 75  $\mu$ L/孔,每个待检样品加 8 孔。每块板上均设标准阳性、阴性血清对照,其中阳性对照加 8 孔,阴性对照加 4 孔。取相应的血清 25  $\mu$ L,加入第 1 孔,混匀后取出 25  $\mu$ L 加入第 2 孔并混匀,同样自第 2 孔取出 25  $\mu$ L 加入到第 3 孔中混匀,以此方法进行稀释。待检血清样品和标准阳性血清稀释至第 7 孔,并自第 7 孔中弃去 25  $\mu$ L,标准阴性血清稀释至第 3 孔,并自第 3 孔中弃去 25  $\mu$ L。每排的最后 1 孔为稀释液对照。最后,每孔均加入 25  $\mu$ L 诊断液,将反应板置于微量振荡器上振荡 2 min 取下,盖上同样大小的洁净玻璃板,静置于 37 °C 恒温培养箱中,2~3 h 后观察结果。以 50% 红细胞凝集(++) 的最高稀释倍数判定为该血清的凝集价(效价)。在阳性对照血清滴度不低于 1:1 024(第 5 孔“++”),阴性对照孔血清除第 1 孔允许存在前带现象(+)外,其余各孔及稀释液对照孔均为“-”的前提下,对待检血清进行判定,否则重做。血清抗体效价 $\geq$ 1:64 者判为阳性;效价 $\leq$ 1:64 者判为阴性。

**1.2.2 弓形虫抗体胶体金试纸条检测方法** 在检测卡的加样孔内加入 100  $\mu$ L 待检血清样品。将检测卡平放于桌面上,在室温下静置 5~20 min 内判定结果。超过 20 min 的结果只能作为参考。

结果判定方法见图 1。

阳性:在观察孔内,检测线区(T)及对照线区(C)同时出现紫红色线。弓形虫抗体滴度越高,检测线(T)颜色越深。

弱阳性:在观察孔内,检测线区(T)及对照线区(C)同时

收稿日期:2012-12-23

基金项目:江苏农牧科技职业学院青年基金(编号:QN201114)。

作者简介:卓国荣(1980—),男,湖北襄阳人,硕士,讲师,研究方向为小动物疾病与小动物影像技术。E-mail:55165688@qq.com。

通信作者:贺生中,博士,教授,研究方向为宠物医学。E-mail:1213430488@qq.com。

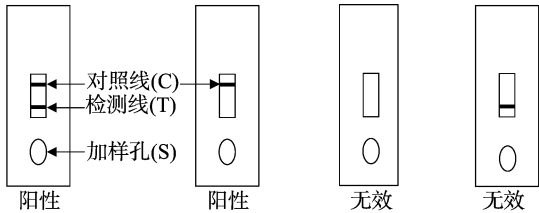


图1 胶体金试纸条检测结果判断示意

出现紫红色线,但检测线区(T)出现的颜色很浅。

阴性:在观察孔内,只有对照线区(C)出现1条紫红色线。

失效:在观察孔内,对照线区(C)和检测线区(T)都不出现紫红色线;或仅检测线区(T)出现紫红色线。

2 结果与分析

2.1 2种方法平行检测血清结果

对所采集的280份犬血清样本进行检测,采用间接血凝法检测的阳性数为23份,阳性率为8.21%。胶体金试纸检测的阳性数血清25份,阳性率为8.93%;结果表明,胶体金试纸的敏感性更好,但差异不显著。结果见表1。

表1 弓形虫间接血凝与胶体金试纸条对样本检测的结果

检测方法	样本数 (份)	阳性数 (份)	阳性率 (%)
弓形虫间接血凝	280	23	8.21
胶体金试纸条	280	25	8.93

2.2 2种方法平行检测血清结果符合率

IHA试剂盒检测出阳性血清23份,阴性血清257份;胶体金试纸条法检测出阳性血清25份,阴性血清255份。2种方法检测总符合率为99.29%(278/280),其中阳性和阴性符合率分别为92.00%(23/25)和99.22%(255/257)。此外,IHA试剂盒与试纸条法对标准阳性血清和标准阴性血清检测的结果均为阳性和阴性,两者的符合率为100%(表2)。

表2 弓形虫间接血凝与胶体金试纸条对样本检测的符合率

样本	阳性符合率 (%)	阴性符合率 (%)	总符合率 (%)
280份血清	92.00 (23/25)	99.22 (255/257)	99.29 (278/280)
标准阳性血清	100		100
标准阴性血清		100	100

2.3 不同来源犬血清弓形虫抗体阳性比率

在280份不同来源犬血清样本中,宠物医院就诊犬、宠物市场销售犬、农村家养土犬血清样本数分别为135、85、60份,用弓形虫间接血凝试剂盒检测阳性数分别为13、4、6份,阳性率分别为9.63%、4.71%、10.00%;用胶体金试纸条检测阳性数分别为14、4、7份,阳性率分别为10.37%、4.71%、11.67%。结果表明,在2种检测方法中,农村家养土犬血清弓形虫抗体阳性率均最高,宠物医院就诊犬血清弓形虫抗体阳性率次之,宠物市场销售犬阳性率最低(表3)。

表3 不同来源犬血清弓形虫抗体阳性比率

血清来源	样本数 (份)	间接血凝试剂盒		胶体金试纸条	
		阳性数 (份)	阳性率 (%)	阳性数 (份)	阳性率 (%)
宠物医院就诊犬	135	13	9.63	14	10.37
宠物市场销售犬	85	4	4.71	4	4.71
农村家养土犬	60	6	10.00	7	11.67

3 结论

弓形虫病是一种世界范围内的人兽共患病,宿主范围广泛,人及大多数动物感染率都较高<sup>[1]</sup>。弓形虫是人类优生的大敌,是当今新生儿致畸的四大病因之一。目前,尚没有商品化的疫苗用于预防人弓形虫感染,只能采取卫生防御的措施;而作为弓形虫中间宿主的犬可将其传播给人类,因此,监测犬弓形虫感染情况,对于阻止弓形虫由犬传播给人有重要的公共卫生意义。

在本次研究中,间接血凝与胶体金试纸条的检测结果显示没有明显差异,只有2份(0.71%)为二者结果完全不同,且其中1份血清胶体金试纸显示为弱阳性。在这2种方法中,胶体金试纸条检测方法更灵敏,并且操作简单快速,适合宠物医院或者家庭对单个样本的快速检测,将是今后应用趋势。

本次调查泰州地区犬的弓形虫感染率为8.93%,尤其是土犬感染率高达11.67%,此结果高于上海青浦地区犬弓形虫病的血清学调查结果<sup>[10]</sup>。因此,泰州地区养犬者要提高预防意识,不给犬喂食生肉、生蛋或含有弓形虫包裹的动物脏器组织,弓形虫病的动物或可疑动物尸体必须销毁或无害化处理。犬场禁止养猫或防止猫、犬接触,处理好猫粪,保持环境清洁卫生,定期消毒,必要时采取药物预防。

参考文献:

[1]于恩庶.弓形虫病学[M].福州:福建科学技术出版社,1992:125-127.  
[2]崔君兆,郭宁贞,黄丽将,等.广西人、畜弓形体抗体的发现[J].广西卫生,1979(3):19-20.  
[3]陈义民,李观娣,金兆庆,等.甘肃某农场人、畜弓形体病的调查和病原分离[J].中国兽医科技,1982,10(4):26-28.  
[4]刘国栋,蔡增林,全理华,等.辽宁部分地区人畜弓形体血清抗体的检测[J].中国人兽共患病杂志,1986,4(3):36-38.  
[5]吕元聪,崔君兆,郑挺,等.犬弓形虫病的流行病学监测[J].广东畜牧兽医科技,1994,19(1):10-12.  
[6]陈昌源.家养宠物与人群弓形虫感染情况的研究[J].中国人兽共患病杂志,2001,17(1):76-78.  
[7]傅斌,赵玉强,杨宝金,等.山东省弓形虫病流行病学调查研究[J].中国寄生虫病防治杂志,1995,8(3):205-207.  
[8]魏梅雄,赵惠芬,张述义,等.上海市宠物犬及部分犬主弓形虫感染的调查[J].中国兽医寄生虫病,1998,6(4):19-21.  
[9]陈海婴,肖红茂,曾小军,等.南昌地区人群弓形虫血清流行病学研究[J].中国寄生虫病防治杂志,2005,18(6):435-438.  
[10]刘雁,李坚,袁明龙.上海青浦地区犬弓形虫病血清学调查与分析[J].现代农业科技,2009,7(2):201-204.