

卓国荣,狄和双,卢 炜,等. 不同检测方法分析泰州地区猫血清中弓形虫抗体[J]. 江苏农业科学,2013,41(10):190-191.

不同检测方法分析泰州地区猫血清中弓形虫抗体

卓国荣^{1,2}, 狄和双¹, 卢 炜¹, 刘俊栋¹, 张 鸿¹, 王传锋¹

(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:运用胶体金试纸与间接血凝 2 种方法对比,调查了泰州地区宠物医院就诊猫、宠物市场销售猫、农村家养土猫血清弓形虫抗体阳性率,对 2 种方法检测结果进行分析比较。分析结果,泰州地区宠物医院就诊猫、宠物市场销售猫、农村家养土猫及总样本血清胶体金试纸检测阳性率分别为 18.95%、17.65%、30.77%、21.40%,间接血凝检测阳性率分别为 17.89%、17.65%、26.92%、20.00%,表明泰州地区家养土猫弓形虫抗体阳性率最高,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:猫;血清;弓形虫抗体;间接血凝;胶体金试纸

中图分类号: S852.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)10-0190-02

弓形虫病是由刚地弓形虫引起的以孕妇(畜)流产、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^[1]。该病广泛存在于世界各地,弓形虫宿主范围广泛,猫为弓形虫的终末宿主,人为中间宿主,人和猫都存在一定的感染率,据报道,我国不同地区、不同年份猫血清弓形虫抗体阳性率在 4.00%~44.89% 不等^[2-9];调查表明,养猫与人弓形虫感染存在直接联系;猫弓形虫感染可以明显增加人感染弓形虫的机会^[9-10];感染猫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。本研究于 2012 年 1—12 月采用胶体金试纸与间接血凝 2 种方法,调查泰州地区猫血清弓形虫抗体阳性率,以期引起宠物爱好者的重视,并为检测与防治猫弓形虫病提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂与材料 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。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(批号和稀释液,批号 20110529,购自中国农业科学院兰州兽医研究所)。110°V 型血凝板,10~100 μL 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 215 份血清样本随机分别采集自泰州市泰爱牧宠物医院就诊猫、泰州市宠物市场销售猫、泰州地区农村家养土猫,其中宠物医院就诊猫血清 95 份,宠物市场销售猫血清 68 份,农村土猫血清 52 份,采集血清分装后登记、编号、标记。

1.2 方法

用胶体金试纸条与弓形虫抗体间接血凝(IHA)试剂盒平行对比检测所采集的 215 份猫血清样本。

1.2.1 动物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 μL 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 结果只能作参考。

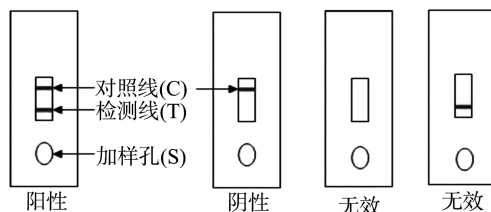


图1 胶体金试纸条检测结果

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。

无效: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。

1.2.2 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,用移液器每孔加稀释液 75 μL,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 μL,加入第 1 孔,混匀后取出 25 μL,加入第 2 孔并混匀,同样自第 2 孔取出 25 μL 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 μL,标准阴性血清稀释至第 3 孔,并自第 3 孔中弃去 25 μL。每排的最后 1 孔为稀释液对照。最后,每孔均加入 25 μL 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

收稿日期:2013-03-28

基金项目:江苏省泰州市科技发展规划(指导性)(编号:2012126 号)。

作者简介:卓国荣(1980—),男,湖北襄阳人,硕士,讲师,研究方向为宠物医学。E-mail:55165688@qq.com。

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 1:1024(第 5 孔“++”),阴性对照孔血清除第 1 孔允许存在前滞现象(+)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≥1:64 者判为阳性;效价≤1:64 者判为阴性。

2 结果与分析

2.1 2 种方法平行检测血清

对所采集的 215 份猫血清样本进行检测,采用胶体金试纸检测的阳性数血清 46 份,阳性率为 21.40%;间接血凝法检测的阳性数为 43 份,阳性率为 20.00%。结果表明,胶体金试纸的敏感性更好,但 2 种检测方法差异不显著(表 1)。

表 1 不同检测方法对猫血清样本检测结果比较

检测方法	样本数 (份)	阳性数 (份)	阳性率 (%)
胶体金试纸条	215	46	21.40
弓形虫间接血凝	215	43	20.00

2.2 2 种方法平行检测血清结果符合率

胶体金试纸条法检测出阳性血清 46 份,阴性血清 169 份;IHA 试剂盒检测出阳性血清 43 份,阴性血清 172 份。2 种方法检测总符合率为 98.60%(212/215),其中阳性和阴性符合率分别为 93.47%(43/46)和 98.26%(169/172);试纸条法与 IHA 试剂盒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%。

2.3 不同来源猫血清弓形虫抗体阳性比率

在 215 份不同来源猫血清样本中,宠物医院就诊猫、宠物市场销售猫、农村家养土猫血清样本数分别为 95、68、52 份,不同来源血清用胶体金试纸条检测阳性数分别为 18、12、16 份,阳性率分别为 18.95%、17.65%、30.77%;不同来源血清用弓形虫间接血凝试剂盒检测阳性数分别为 17、12、14 份,阳性率分别为 17.89%、17.65%、26.92%。结果表明,在 2 种检测方法中,农村家养土猫血清弓形虫抗体阳性率均最高,宠物医院就诊猫血清弓形虫抗体阳性率次之,宠物市场销售猫阳性率最低(表 2)。

表 2 不同来源猫血清弓形虫抗体阳性比率

血清来源	样本数 (份)	胶体金试纸条		间接血凝试剂盒	
		阳性数 (份)	阳性率 (%)	阳性数 (份)	阳性率 (%)
宠物医院就诊猫	95	18	18.95	17	17.89
宠物市场销售猫	68	12	17.65	12	17.65
农村家养土猫	52	16	30.77	14	26.92

3 讨论

弓形虫病是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^[1]。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,还缺乏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;弓形虫终末宿主的猫可将其传播给人类^[11],危害较大,监测猫弓形虫感染情况,对阻止弓形虫由猫传播给人有重要的公共卫生意义。

本研究中,胶体金试纸条与间接血凝的检测结果显示没有明显差异,但胶体金试纸条检测方法更为灵敏,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。

本次调查泰州地区猫的弓形虫感染率为 21.40%,家养土猫感染率高达 30.77%,明显高于泰州地区犬弓形虫 8.93% 的感染率,表明泰州地区猫的弓形虫感染更严重,应引起泰州地区养猫者(尤其是农村土猫饲养者)高度的预防意识,猫作为终末宿主,可以从粪便中排出大量具有感染性的卵囊,人一旦接触易于被感染,处理好猫粪,不给猫喂食生肉,尽量圈养,保持环境清洁卫生,定期进行消毒,定期给猫吃预防弓形虫药物,可减少人感染弓形虫机会。

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]陆 琴,黄爱民. 上海地区门诊猫弓形虫感染的血清流行病学调查[J]. 中国人兽共患病杂志,1997,13(2):28-69.

[3]黄绍明,周秋平,崔 克,等. 海口地区宠物犬猫弓形虫的感染情况分析[J]. 中国热带医学,2008,8(8):1462-1462,1392.

[4]孙 霞,李瑞花,孙海岩,等. 北京及周边地区宠物犬猫弓形虫感染情况的调查[J]. 黑龙江畜牧兽医,2009,7(14):110.

[5]谢桂萍,耿艺介,张仁利,等. 深圳市家养猫和犬弓形虫感染及相关因素调查[J]. 中国热带医学,2010,10(9):1075-1077.

[6]何忠平,王宜祥,尤卫民,等. 浙江省实验用猫弓形虫感染情况检测[J]. 浙江畜牧兽医,2010,35(3):36.

[7]陈 杰. 上海市宠物犬,猫的弓形虫病流行病学研究[D]. 上海:上海交通大学,2010.

[8]崔丽丽,于咏兰,刘 帅,等. 北京地区犬猫弓形虫病流行病学调查[J]. 中国兽医杂志,2012,48(3):7-10.

[9]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):76-77.

[10]孙秀芬,姜渊贵,刘鹏志,等. 2006 年青岛市城区部分饲养宠物者弓形虫感染情况调查[J]. 预防医学论坛,2007,13(2):133-134.

[11]卓国荣,丁明星. 犬和猫的弓形虫病[J]. 动物医学进展,2007,28(7):118-119.