

肉牛口蹄疫免疫抗体、3ABC 抗体、RT-PCR 核酸检测结果分析

朵玉明¹, 何彦春²

(1. 甘肃省肃南县畜牧兽医技术服务中心, 甘肃 肃南 734000; 2. 张掖市动物疫病预防控制中心, 甘肃 张掖 734000)

摘 要: [目的] 为了掌握肉牛口蹄疫免疫抗体检测结果、口蹄疫非结构蛋白 3ABC 抗体检测结果、口蹄疫 O-P 液 RT-PCR 核酸检测结果三者的相关性, [方法] 张掖市动物疫病预防控制中心对甘州区 28 头肉牛开展相关检测。 [结果] 检测结果表明: O 型口蹄疫免疫抗体合格率 28 份, 合格率 100%, 3ABC 抗体阳性 27 份, 阳性率 96.4%; 对 3ABC 抗体阳性的 27 头牛分 2 次进行实时荧光 RT-PCR 核酸检测, 被检的 27 头牛均为阴性。

关键词: 肉牛; 口蹄疫; 免疫抗体; 3ABC 抗体; RT-PCR 核酸检测

中图分类号: S823.9⁺2; S852.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-9111(2019)06-0029-02

2017 年 11 月, 张掖市动物疫病预防控制中心对甘州区 3 个肉牛养殖户临床检查健康的 28 头肉牛开展了免疫抗体检测和口蹄疫非结构蛋白 3ABC 检测, 对口蹄疫非结构蛋白 3ABC 抗体阳性牛间隔 14 d 分 2 次采集 O-P 液, 开展了口蹄疫病毒核酸 RT-PCR 检测。现就检测过程和结果分析如下, 以供广大同行参考。

1 材料与方法

1.1 样品采集

张掖市某地拟外调的肉牛共 28 头, 分属 3 户养殖户, 均为 6~8 月龄牛, 临床检查健康。注射牛口蹄疫 O 型、亚洲 I 型二价口蹄疫灭活疫苗后 21 d 采集血清样品开展 O 型口蹄疫免疫抗体和 3ABC 抗体检测。检测结果出来后对 3ABC 抗体阳性的 27 头牛分 2 次采集 O-P 液, 并开展口蹄疫病毒核酸实时荧光 RT-PCR 检测, 2 次采样间隔时间 14 d。

1.2 检测试剂

口蹄疫 O 型正向间接血凝抗原、口蹄疫非结构蛋白 3ABC 抗体检测 ELISA 试剂盒、口蹄疫病毒通用型实时荧光 RT-PCR 检测试剂盒均为中国农业科学院兰州兽医研究所生产, 批号分别为: 20170802201、20171027129 和 20170703101。

1.3 检测方法

口蹄疫 O 型正向间接血凝实验被检血清稀释

度从 (1:2) ~ (1:2048), 其余步骤按照试剂盒说明, 由张掖市动物疫病预防控制中心实验室完成检测。口蹄疫非结构蛋白 3ABC 抗体 ELISA 检测完全按照试剂盒说明书进行, 由张掖市动物疫病预防控制中心实验室和甘肃省动物疫病预防控制中心实验室同步进行检测。口蹄疫病毒核酸实时荧光 RT-PCR 检测完全按照试剂盒说明进行, 由甘肃省动物疫病预防控制中心实验室完成检测。

2 检测结果

2.1 O 型口蹄疫免疫抗体检测结果

共检测 28 份样品, 其中 2 份样品抗体效价达 2^6 , 5 份达 2^7 , 7 份达 2^8 , 6 份达 2^9 , 6 份达 2^{10} , 2 份达 2^{12} 。农业部《2017 年国家动物疫病监测与流行病学调查计划》口蹄疫监测方案规定, 正向间接血凝试验: 抗体效价 $\geq 2^5$ 判为合格, 据此判定, 28 份被检样品抗体全部合格, 合格率 100%。

2.2 口蹄疫非结构蛋白 3ABC 抗体检测结果

共检测 28 份样品, 其中阳性 27 份、阴性 1 份, 阳性率 96.4%。

2.3 口蹄疫 O-P 液 PCR 检测结果

对 3ABC 检测结果为阳性的 27 头牛分 2 次采集 O-P 液, 2 次间隔时间 14 d, 27 头牛 2 次实时荧光 RT-PCR 口蹄疫病毒核酸检测结果均为阴性。详细检查结果见表 1。

收稿日期: 2019-07-03 修回日期: 2019-07-12

作者简介: 朵玉明 (1965—), 男, 甘肃肃南人, 高级畜牧师, 主要从事基层畜牧技术推广与动物疫病防控工作。

表 1 检测结果

血清号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
抗体	2 ⁷	2 ⁹	2 ⁸	2 ⁷	2 ⁶	2 ¹⁰	2 ⁷	2 ⁷	2 ⁸	2 ⁸	2 ⁸	2 ⁸	2 ⁶	2 ⁹
3ABC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PCR(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PCR(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血清号	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
抗体	2 ⁹	2 ¹⁰	2 ⁸	2 ⁹	2 ¹⁰	2 ¹⁰	2 ⁹	2 ⁷	2 ¹²	2 ⁸	2 ¹²	2 ¹⁰	2 ¹⁰	2 ⁹
3ABC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
PCR(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PCR(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

3 讨 论

(1)正向间接血凝试验具有操作简单,检测速度快,试剂价格低等特点,用来检测 O 型口蹄疫免疫抗体时和液相阻断 ELISA 试验结果相差不大。按照口蹄疫正向间接血凝试验试剂盒操作说明,被检血清最高稀释至 1:2⁹。根据多年来的检测经验,口蹄疫灭活苗首次免疫牛后 3 周用正向间接血凝试验检测抗体,合格血清抗体滴度一般集中在(1:2⁵)~(1:2⁷)之间,个别可达 1:2⁹,抗体合格率一般在 65%~75%之间。二次加强免疫后,抗体效价和免疫合格率显著上升。本次试验中的牛为 6~8 月的犊牛,均为首次免疫。为进一步掌握免疫抗体滴度,特意将血清稀释至 1:2¹²,结果抗体滴度大于 1:2⁹有 8 份,占 28.6%,抗体滴度达 1:2¹²有 2 份。从抗体检测结果分析,部分被检样品抗体滴度超高,应该不是疫苗后产生的免疫抗体,可能是口蹄疫病毒隐性感染所致。

(2)口蹄疫非结构蛋白 3ABC 抗体检测结果是判断动物是否有口蹄疫病毒感染的可靠方法^[1]。本次

试验中,被检的 28 份样品中有 27 份样品呈阳性,且省、市动物疫病预防控制中心检测结果一致。从检测结果判断,27 头阳性牛曾隐性感染过口蹄疫病毒。

(3)采集 O-P 液进行口蹄疫病原学检测是口蹄疫检测技术规范中规定的方法。徐春志等^[2]报道,26 份口蹄疫病毒非结构蛋白抗体阳性的奶牛中,9 份奶牛 O-P 液样本显示口蹄疫病毒核酸阳性,经血清型鉴别均为 O 型口蹄疫病毒。本次试验中分 2 次对 3ABC 抗体检测结果阳性的牛采集 O-P 液进行实时荧光 RT-PCR 检测,2 次结果均为阴性。从理论上来说,被检测牛 3ABC 非结构蛋白抗体检测结果阳性则表明感染过口蹄疫病毒,按照口蹄疫病毒特性,病毒在反刍动物咽喉部可存活很长时间。本次检测中 2 次检测结果均为阴性,是口蹄疫病毒已经消失还是其他原因,有待进一步研究。

参考文献:

[1] 朱咏梅,朱来华,郑小龙,等. 口蹄疫非结构蛋白研究进展[J]. 中国动物检疫,2011,28(5):83-86.
[2] 徐春志,方英,蔺俐仲,等. 奶牛口蹄疫病毒隐性感染状况调查及 RT-PCR 检测[J]. 畜牧与兽医,2015,47(9):84-87.

Analysis of FMD Antibody,3ABC Antibody and RT-PCR Nucleic Acid Detection Results in Beef Cattle

DUO Yu-ming¹, HE Yan-chun²

(1. The Technical Service Center of Animal Husbandry and Veterinary, Sunan County, Sunan, Gansu 734000;
2. Zhangye Animal Disease Prevention and Control Center, Zhangye, Gansu 734000)

Abstract: [Objective] In order to master the correlation among the detection results of foot and mouth disease (FMD) immune antibody, FMD nonstructural protein 3ABC antibody and FMD O-P solution RT-PCR nucleic acid, [Method] Zhangye animal disease prevention and control center carried out the relevant detection on 28 beef cattle in Ganzhou district. [Result] The results showed that the qualified rate of O-FMD antibody was 28, the qualified rate was 100%, the positive rate of 3ABC antibody was 27, the positive rate was 96.4%; 27 cattle with 3ABC antibody positive were detected by real-time RT-PCR twice, and all 27 cattle were negative.

Key words: beef cattle; foot and mouth disease; immune antibody; 3ABC antibody; RT-PCR nucleic acid detection