

两种奶牛结核病检测方法 与 PPD 检测符合率比较

石 琴, 袁立岗, 蒲敬伟, 沙 丽, 柳 炜

(新疆生产建设兵团第十二师畜牧兽医工作站, 新疆乌鲁木齐 830009)

摘 要: 对新疆某规模化奶牛场的 2 106 头奶牛用 PPD 进行普检, 共检出结核病阳性牛 26 头; 随机采集 20 头阴性牛和 26 头阳性牛抗凝血和全血, 进行牛结核 γ -干扰素 ELISA 试验和胶体金检测, 然后将检测结果与 PPD 检测结果进行比对。结果显示: 3 种方法检测均为阳性的 16 份, 均为阴性的 10 份, 总符合率为 57%。PPD 和 γ -干扰素 ELISA 相比, 均为阳性的 23 份, 阳性符合率为 88%(23/26), 均为阴性的 11 份, 阴性符合率为 55%(11/20); PPD 和胶体金检测相比, 均为阳性的 19 份, 阳性符合率为 73%(19/26), 均为阴性的 19 份, 阴性符合率为 95%(19/20)。结果表明: 3 种检测方法的符合率较低; 每种检测方法各有优缺点, γ -干扰素 ELISA 敏感性较高, 而胶体金特异性较高。因此, 在实际操作中应根据需要, 合理选择相应检测方法。

关键词: 奶牛结核病; PPD; γ -干扰素; 胶体金; 符合率

中图分类号: S855.2 文献标识码: B 文章编号: 1005-944X(2018)10-0087-03

DOI: 10.3969/j.issn.1005-944X.2018.10.023

Comparative Analysis on the Coincidence Rates between PPD and Two Other Methods in Cow Tuberculosis Detection

Shi Qin, Yuan Ligang, Pu Jingwei, Sha Li, Liu Wei

(Animal Husbandry and Veterinary Stations of 12th Division of Xinjiang Production and Construction Corps,
Urumuqi, Xinjiang 830009, China)

Abstract: In this study, using the PPD method, 2 106 cows in a large-scale dairy farm in Xinjiang were tested, a total of 26 cows were detected tuberculosis (TB) positive. Then whole blood derived from 20 TB-negative cows and 26 TB-positive cows were randomly collected to carry out γ -interferon ELISA test and colloidal gold test. Then the detection results were compared with PPD method. According to the comparative results, there were 16 samples detected TB-positive and 10 samples detected negative by both three methods, the detection coincidence rate was 57%. For the comparison between PPD and γ -interferon method, 23 samples were detected TB-positive, with a positive coincidence rate of 88% (23/26); 11 samples were detected TB-negative, with a negative coincidence rate of 55% (11/20). For the comparison between PPD and colloidal gold test, 19 samples were detected positive, with a positive coincidence rate of 73% (19/26), 19 samples were detected negative, with a negative rate of 95% (19/20). As a conclusion, the coincidence rates among the three methods for TB detection were relatively low. Each method had its advantage and disadvantage, such as the sensitivity of γ -interferon ELISA test was highest, while colloidal gold test possessed the highest specificity. Hence, the detection method should be reasonable selected on the basis of actual requirements and needs.

Key words: cow tuberculosis; PPD; γ -interferon; colloidal gold test; coincidence rate

牛结核病是由牛型结核分支杆菌引起的一种人兽共患传染病, 奶牛最易感, 水牛、黄牛、牦牛、鹿等多种动物也易感。世界动物卫生组织 (OIE)

基金项目:新疆生产建设兵团第十二师科技专项 (NYJH2013010)

将其列为必须报告的动物疫病, 我国将其列为二类动物疫病。奶牛结核病是奶牛养殖中每年必检的动物疫病。我国规定的奶牛结核病检测方法有牛型结核分支杆菌 PPD 皮内变态反应试验 (GB/T 18645-

2002) 和外周血 γ -干扰素体外释放检测 (GB/T 32945-2016)。PPD 检测费用低、敏感度高, 但操作繁琐、费事费力。 γ -干扰素 ELISA 检测试剂盒是外周血 γ -干扰素体外释放检测法在实际中的应用, 与胶体金检测方法同为通过采集牛血液进行牛结核病实验室检测的方法, 操作相对简单。本试验先通过 PPD 进行牛结核病普检, 然后对检测结果再通过 γ -干扰素和和胶体金方法进行复检, 然后对比这 2 种检测方法与 PPD 检测方法的符合率, 以探讨各种检测方法的优缺点, 为实际操作提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 采样地点

新疆乌鲁木齐市近郊两个规模化奶牛场, 共计存栏 2 106 头。

1.2 检测试剂

提纯牛型结核菌素: 哈药集团生物疫苗有限公司生产; 牛结核 γ -干扰素 ELSIA 检测试剂盒: 青岛瑞尔生物技术有限公司生产; 牛结核病抗体胶体金检测卡: 深圳市绿诗源生物技术有限公司生产。

1.3 检测方法

先对规模化奶牛场的 2 106 头奶牛用 PPD 进行普检, 对第 1 次检疫的阳性牛和可疑牛过 60 d 后进行复检, 如果仍为阳性, 则判为结核病阳性牛。采集全部结核病阳性牛和部分阴性牛 (随机采集) 抗凝血和全血进行牛结核 γ -干扰素 ELISA 试验和牛结核病胶体金检测, 并对结果进行分析。

1.3.1 牛型结核菌素皮内变态反应 (PPD)

按照国家标准《动物结核病诊断技术》(GB/T 18645-2002) 进行操作, 分别于注射前和注射后 12、24 和 72 h 测量皮肤厚度, 并计算出皮厚差, 按照国家标准判断结果。

1.3.2 牛结核 γ -干扰素 ELISA 试验 采集抗凝血, 8 h 内送实验室, 按照说明书进行检测。

1.3.3 牛结核病胶体金检测 将检测卡恢复至室温后, 从密封铝箔袋内取出, 放置于干燥平稳桌面上, 用所配吸管吸取待检测血清 3 滴, 加入检测卡加样孔中, 15 min 内判读结果。阴性: C 线显红色

条带, T 线不显红色条带; 阳性: C、T 线均显红色条带; 无效: C 线与 T 线均无红色条带出现或者 C 线无红色条带出现, 但 T 线有红色条带出现。

2 结果

用 PPD 皮内变态反应试验, 对 2 个牛场 2 106 头奶牛进行普检, 对检疫阳性和可疑牛经过复检, 确诊 26 头牛为结核病阳性牛。阳性牛未表现明显临床症状。

采集 26 头阳性牛抗凝血、全血, 分离血清, 同时在 2 个牛场随机采集结核病检疫阴性牛血清 20 份, 共计 46 份, 进行牛结核 γ -干扰素 ELISA 检测和牛结核病胶体金检测。 γ -干扰素 ELISA 检测检出阳性 32 份、阴性 14 份, 胶体金检测检出阳性 20 份、阴性 26 份 (表 1)。

表 1 3 种方法的牛结核病检测结果

编号	PPD	γ -干扰素		胶体金	编号	PPD	γ -干扰素		胶体金
		牛型	禽型				牛型	禽型	
1	+	+	-	+	24	+	+	-	+
2	+	+	-	+	25	+	+	-	+
3	+	+	-	+	26	+	+	-	+
4	+	-	+	+	27	-	-	+	-
5	+	+	-	+	28	-	-	-	-
6	+	+	-	+	29	-	-	-	+
7	+	+	-	-	30	-	+	-	-
8	+	+	-	-	31	-	+	-	-
9	+	+	-	+	32	-	+	-	-
10	+	-	+	+	33	-	-	-	-
11	+	+	-	-	34	-	-	-	-
12	+	+	-	-	35	-	-	-	-
13	+	+	-	+	36	-	-	-	-
14	+	+	-	+	37	-	-	-	-
15	+	+	-	+	38	-	-	-	-
16	+	+	-	-	39	-	-	-	-
17	+	+	-	+	40	-	-	+	-
18	+	-	+	+	41	-	+	-	-
19	+	+	-	-	42	-	+	-	-
20	+	+	-	+	43	-	+	-	-
21	+	+	-	-	44	-	+	-	-
22	+	+	-	+	45	-	+	-	-
23	+	+	-	+	46	-	+	-	-

据表 1 的检测结果统计, PPD 和 γ -干扰素 ELISA 检测相比, 均为阳性的 23 头, 阳性符合率为 88% (23/26), 均为阴性的 11 头, 阴性符合率为 55% (11/20)。PPD 和胶体金检测相比, 均为阳性的 19 头, 阳性符合率为 73% (19/26), 均为

阴性的19头,阴性符合率为95%(19/20)。

3 讨论

PPD(牛型结核菌素皮内变态反应)是国际推荐的牛结核病诊断方法。其优点是对人员的专业水平要求低(一般经过简单培训就能操作^[2]),所需仪器设备简单(仅需要卡介苗注射器和游标卡尺),结核菌素抗原便宜,检疫费用较低,易于在基层推广;缺点是该方法操作步骤多、繁琐,费时费力,容易出现非特异性反应,人为因素影响大,重复性差。

γ -干扰素ELISA试验主要是通过检测牛感染牛分支杆菌后,机体通过细胞免疫产生的高水平IFN- γ 含量的多少,来反映机体是否感染结核病^[3]。其优点是操作相对简单、敏感性高,可检测出早期感染牛,可以区分牛分支杆菌和副结核或禽分支杆菌感染,而且重复性好,易于标准化;缺点是采血后必须在8h内进行^[4],试剂盒价格贵,成本高,需要酶标仪,且对操作人员专业技术要求高,不利于在基层推广使用。

抗体胶体金检测法是对血清或血浆中牛结核分支杆菌抗体进行检测,操作简便(仅需采血分离血清)、快速(15min内即可出结果),敏感性和特异性高,适合于在基层推广;缺点是试剂盒较贵,检测成本较高。

3种方法检测均为阳性的16份,均为阴性的10份,总符合率并不高,仅为57%,说明每种检测方法各有优缺点。 γ -干扰素ELISA试验和PPD

比较,阳性符合率最高(88%),说明其敏感性较高,可用于结核病早期感染的检测。胶体金和PPD比较,阳性符合率为73%,阴性符合率为95%,说明特异性较高,可用于引种时的快速检疫。

4 结论

通过检测结果的对比,可以发现这3种方法符合率较低,每种检测方法各有优点:PPD试剂最便宜,费用低,适合奶牛场结核病普检; γ -干扰素ELISA试验敏感性较高,仅需抗凝血就可以进行检测,适合实验室诊断和结核病的早期诊断;胶体金检测特异性较高,操作方便快捷,可以用于外购牛的结核病快速诊断。PPD仍为我国牛结核病检疫国家标准,其它检测方法都是辅助手段,因此在实际操作中,可以根据实际情况进行相应检测方法的选择。

参考文献:

- [1] 张喜悦,孙明军,范伟兴.牛结核病的传播与控制[J].中国动物检疫,2017,34(7):70-73.
- [2] 石琴,袁立岗,蒲敬伟,等.2种监测方法在奶牛结核病检疫中的应用[J].畜牧与兽医,2017,49(1):119-120.
- [3] 杨显超,吴秀娟,李凯航,等.皮试法与ELISA法在奶牛结核病检测中的对比试验[J].上海畜牧兽医通报,2015(2):10-12.
- [4] 徐继鹏,刘建文. γ -干扰素检测技术对奶牛结核病检疫的初步应用[J].中国动物保健,2013(2):33-35.

(责任编辑:朱迪国)