

实验室动物疫病血清学检测关键技术解析

阿米娜·毛依冬

阿克苏地区温宿县畜牧兽医技术服务中心

DOI:10.12238/as.v8i7.3135

[摘要] 实验室动物疫病血清学检测技术作为现代兽医诊断体系的重要组成部分,在动物疫病防控领域具有不可替代的作用。本文系统梳理了当前主流的血清学检测技术体系,重点阐述了酶联免疫吸附测定(ELISA)、免疫荧光技术和凝集试验三大核心技术的检测原理、操作规范及适用范围。研究表明,ELISA技术凭借其高通量、高灵敏度的特性,已成为规模化疫病筛查的首选方法;免疫荧光技术以其直观、快速的优点,在病原定位研究中展现出独特价值;而凝集试验则因其简便、经济的特点,在基层疫病监测中具有广泛适用性。通过对这些关键技术的深入解析,本文为实验室检测人员提供了系统的技术指导,有助于提升动物疫病诊断的准确性和时效性,为构建科学有效的动物疫病防控体系奠定技术基础。同时,本文还探讨了血清学检测技术在质量控制方面的关键要素,为检测结果的可靠性提供了保障。

[关键词] 动物疫病;血清学检测;实验室技术;疫病防控

中图分类号: S436.421.1+4 文献标识码: A

Analysis of Key Technologies for Serological Detection of Laboratory Animal Diseases

Amina Mao Yidong

Animal Husbandry and Veterinary Technology Service Center of Wensu County, Aksu Prefecture

[Abstract] Laboratory animal disease serological detection technology, as an important component of modern veterinary diagnostic system, plays an irreplaceable role in the field of animal disease prevention and control. This article systematically reviews the current mainstream serological detection technology system, focusing on the detection principles, operating standards, and scope of application of the three core technologies of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), immunofluorescence technology, and agglutination test. Research has shown that ELISA technology, with its high throughput and sensitivity, has become the preferred method for large-scale disease screening; Immunofluorescence technology has demonstrated unique value in pathogen localization research due to its intuitive and rapid advantages; The agglutination test, due to its simplicity and economy, has wide applicability in grassroots disease monitoring. Through in-depth analysis of these key technologies, this article provides systematic technical guidance for laboratory testing personnel, which helps to improve the accuracy and timeliness of animal disease diagnosis, and lays the technical foundation for building a scientific and effective animal disease prevention and control system. Meanwhile, this article also explores the key elements of serological testing technology in quality control, providing assurance for the reliability of test results.

[Key words] animal diseases; Serological testing; Laboratory technology; Disease prevention and control

动物疫病的有效防控是保障畜牧业健康发展和维护公共卫生安全的重要课题。在当前全球化背景下,动物疫病的传播速度和范围不断扩大,对传统诊断技术提出了更高要求。血清学检测技术因其特异性强、灵敏度高优势,已成为实验室诊断不可或缺的重要手段。该技术通过检测动物血清中的特异性抗体或抗原,能够准确反映动物群体的免疫状态和感染情况,为疫病早期预警和风险评估提供科学依据。随着分子生物学和免疫学研究

的深入,血清学检测技术不断推陈出新,检测方法的标准化和规范化程度显著提升。深入研究和完善这些关键技术,不仅有助于提高疫病诊断水平,更能为疫苗免疫效果评价和流行病学调查提供技术支持。因此,系统梳理血清学检测技术的研究进展,探讨其优化方向和应用前景,对促进动物疫病防控工作具有重要的理论和实践意义。

1 酶联免疫吸附测定(ELISA)技术

1.1 原理

酶联免疫吸附测定是一种基于抗原-抗体特异性反应的检测技术。其基本原理是将抗原或抗体固定在固相载体表面,然后加入待检样本,样本中的相应抗体或抗原会与固定的抗原或抗体结合。接着加入酶标记的抗体或抗原,形成抗原-抗体-酶标抗体复合物。最后加入底物,酶催化底物发生显色反应,通过检测吸光度值来判断样本中抗体或抗原的含量。

1.2 操作要点

在操作过程中,首先要选择合适的固相载体,如聚苯乙烯微孔板,确保其具有良好的吸附性能。包被抗原或抗体时,要注意浓度和包被条件,以保证其活性和结合能力。样本的处理也十分关键,要避免杂质的干扰。加样时要准确、均匀,避免交叉污染。酶标抗体的选择和使用量要根据实验要求进行优化。显色反应的时间和温度要严格控制,以保证显色效果的稳定性和可比性。

1.3 应用范围

ELISA技术具有灵敏度高、特异性强、操作简便等优点,广泛应用于多种动物疫病的检测,如猪瘟、禽流感、口蹄疫等。它可以用于疫病的诊断、抗体监测和疫苗免疫效果评估等方面。通过定期检测动物血清中的抗体水平,可以及时了解动物的免疫状态,为疫苗的合理使用和疫病的防控提供科学依据^[1]。

2 免疫荧光技术

2.1 原理

免疫荧光技术是利用荧光物质标记抗体,当标记的抗体与相应抗原结合后,在荧光显微镜下可以观察到荧光信号,从而实现对抗原的检测。根据标记方式的不同,可分为直接免疫荧光法和间接免疫荧光法。直接免疫荧光法是将荧光素直接标记在特异性抗体上,而间接免疫荧光法是先让未标记的特异性抗体与抗原结合,再用荧光标记的二抗进行检测。

2.2 操作要点

在操作时,样本的制备要保证细胞或组织的完整性,以利于抗原的暴露和抗体的结合。荧光标记抗体的浓度和孵育时间要根据实验情况进行调整,以获得最佳的荧光信号。封片时要避免产生气泡,以免影响观察效果。荧光显微镜的使用要熟练掌握,包括光源的调节、滤光片的选择等,以确保能够清晰地观察到荧光信号^[2]。

2.3 应用范围

免疫荧光技术具有快速、直观的特点,能够在细胞或组织水平上检测抗原的存在和分布。它在病毒感染性疾病的诊断中应用较为广泛,如狂犬病、新城疫等。通过检测病毒抗原在组织中的定位,可以深入了解病毒的感染机制和病理变化,为疫病的研究和防控提供重要信息。

3 凝集试验

3.1 原理

凝集试验的核心机制,在于颗粒性抗原如细菌、红细胞等,与对应抗体相遇后,在适宜条件下会发生特异性结合,进而形成肉眼可辨的凝集物。依据抗原特性及试验方法差异,该技术可分

为直接凝集试验和间接凝集试验。直接凝集试验是将颗粒性抗原与抗体直接混合,通过抗原抗体间的特异性结合引发凝集;间接凝集试验则先将可溶性抗原吸附于载体颗粒表面,再与相应抗体发生反应,实现原本不可见的抗原抗体反应可视化^[3]。

3.2 操作要点

凝集试验的准确性与操作细节紧密相关。抗原和抗体的浓度配比是关键因素,只有经过细致优化,才能观察到显著的凝集现象。反应过程中,温度和时间的把控同样重要,一般选择在室温或37℃环境下孵育,促使抗原抗体充分结合。在结果判读时,需谨慎区分特异性凝集与非特异性凝集。非特异性凝集可能因样本杂质、pH值失衡等因素引发,干扰检测结果,因此对反应体系的纯净度和环境条件的严格控制必不可少。

3.3 应用范围

凝集试验凭借操作简便、成本低廉的优势,在细菌感染性疾病检测领域占据重要地位,尤其适用于布鲁氏菌病、鸡白痢等病症的诊断。作为疫病初步筛查的有效手段,该技术在基层实验室和现场检测中极具实用性。通过测定动物血清中的凝集抗体水平,能够快速、高效地判断动物是否感染目标病原菌,为疫病防控争取宝贵时间,对保障畜牧业健康发展具有重要意义^[4]。

4 血清学检测技术的质量控制

4.1 试剂质量控制

血清学检测试剂作为获取准确结果的核心要素,其质量优劣对检测的成败起着决定性作用。选择试剂时,必须优先考虑具备正规生产资质、良好市场口碑和严格质量管控体系的厂家。这些厂家在原材料采购、生产工艺、质量检验等环节都遵循严格标准,能够最大程度保证试剂的稳定性和可靠性。以酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂为例,优质厂家生产的试剂在抗体抗原的纯度、特异性等方面表现更为出色,从而减少非特异性反应,提高检测结果的准确性。

试剂的保存和使用同样不容忽视。不同类型的试剂对储存条件要求各异,如部分试剂需低温冷藏,有些则对湿度和光照敏感。任何违背储存条件的行为,都可能导致试剂活性降低、变质,进而影响检测结果。使用时,操作人员务必严格按照说明书规定的流程进行操作,包括试剂的配制比例、使用期限等细节。

在使用前,对试剂进行全面的质量评估至关重要。外观检查是最基础的环节,观察试剂是否存在变色、浑浊、沉淀等异常现象,一旦发现问题,应立即停止使用。稳定性评估则需在试剂规定的储存条件下,定期检测其性能指标,判断试剂在储存过程中是否保持稳定。灵敏度检测也是关键步骤,通过使用已知浓度的标准样本,检测试剂能否准确识别并给出相应的检测信号,以此判断试剂对目标物质的检测能力。

此外,定期对试剂进行校准和比对也是保证试剂质量的重要手段。通过与标准试剂或权威机构认定的参考方法进行比对,及时发现试剂性能的细微变化,确保其始终处于最佳工作状态。在实际工作中,可采用不同批次的同类型试剂进行平行检测,分

析检测结果的差异,从而评估试剂批次间的稳定性,为试剂的选择和使用提供更可靠的依据。

4.2 仪器设备质量控制

血清学检测离不开各类精密仪器设备,如酶标仪、荧光显微镜、高速离心机等,它们的性能稳定与否直接关系到检测结果的可靠性。仪器设备的定期维护和校准是保证其正常运行的基础。以酶标仪为例,其光路系统、检测系统等关键部件会随着使用时间的增加而出现性能衰减,定期的清洁、校准能够及时发现并纠正这些问题,确保仪器的吸光度准确性。对于荧光显微镜,定期检查其光源强度、物镜分辨率等指标,及时更换老化部件,才能保证观察到的荧光信号真实可靠^[5]。

制定详细、规范的操作规程是确保仪器正确使用的关键。操作规程应涵盖仪器的开机准备、参数设置、样本检测、关机维护等全流程操作步骤,并对可能出现的问题及解决方法进行详细说明。同时,要对操作人员进行系统的培训,使其熟悉仪器的工作原理、性能特点和操作规范,通过实际操作演练和考核,确保操作人员能够熟练、准确地使用仪器。

为及时发现仪器设备存在的潜在问题,还需定期对仪器的性能进行全面检测和评估。除了常规的准确性、精密度检测外,还应根据仪器的特点进行针对性的性能测试。例如,对于高速离心机,要检测其转速准确性、离心力稳定性以及温控系统的可靠性;对于自动生化分析仪,需评估其加样系统的准确性、反应杯的清洁度等指标。一旦发现仪器性能出现异常,应立即停止使用,进行故障排查和维修,必要时联系厂家技术人员进行处理,确保仪器恢复正常性能后再投入使用。

4.3 人员操作质量控制

在血清学检测过程中,操作人员的专业素质和操作技能是影响检测结果的重要人为因素。即使拥有优质的试剂和先进的仪器设备,如果操作人员操作不当,同样无法获得准确可靠的检测结果。因此,对操作人员进行系统、全面的培训是质量控制的重要环节。培训内容不仅要涵盖血清学检测技术的基本原理、操作流程,还要包括质量控制的重要性和具体要求,使操作人员深刻认识到质量控制在工作中的关键作用。

建立严格的考核制度是确保操作人员具备熟练操作技能的有效手段。考核应包括理论知识和实际操作两部分,理论考核主要检验操作人员对检测技术原理、质量控制要点等知识的掌握程度;实际操作考核则通过模拟真实检测场景,评估操作人员的操作规范性、熟练度以及应对突发问题的能力。只有通过严格考核的人员才能上岗操作,并且要定期进行复训和考核,确保操作人员的技能水平始终保持在较高水准。

在实际操作过程中,操作人员必须严格遵守实验室的各项规章制度和操作规程。从样本的采集、处理到试剂的配制、加样,再到仪器的操作和结果的分析,每一个环节都要做到严谨细

致。例如,在样本采集时,要严格按照规定的方法和时间进行操作,避免样本受到污染或发生变质;在试剂配制过程中,要准确称量和稀释试剂,确保试剂浓度符合要求;在仪器操作时,要认真核对各项参数设置,避免因参数错误导致检测结果不准确。同时,要保持良好的工作习惯,如实记录检测过程中的各项数据和信息,以便后续的追溯和分析。

血清学检测技术的质量控制是一项系统而复杂的工作,需要从试剂、仪器设备和人员操作等多个方面进行全方位的把控。只有每个环节都做到严格规范、精益求精,才能确保血清学检测结果的准确性和可靠性,为疾病诊断、医学研究等提供有力的支持。随着检测技术的不断发展和进步,质量控制体系也需要持续优化和完善,以适应新的检测需求和挑战^[6]。

5 结论与展望

5.1 结论

实验室动物疫病血清学检测关键技术在于动物疫病的诊断、防控和研究中发挥着重要作用。酶联免疫吸附测定、免疫荧光技术、凝集试验等各有其特点和优势,适用于不同的检测需求。通过严格的质量控制,可以提高检测结果的准确性和可靠性。

5.2 展望

随着科技的不断发展,血清学检测技术也在不断创新和完善。未来,可能会出现更加灵敏、特异、快速、简便的检测方法,如新型的免疫传感器技术、基于纳米技术的检测技术等。同时,自动化检测设备的应用也将提高检测效率和标准化程度。加强血清学检测技术的研究和应用,不断提升实验室检测水平,将为动物疫病的有效防控和畜牧业的可持续发展提供更加有力的技术支持。

参考文献

- [1]韩笑.动物检疫中血清学检测的质量控制要点[J].中国畜牧业,2024,(11):125-126.
- [2]沈虹宇,安赛男.基于创新能力培养的“细胞生物学实验”教学改革与探索[J].科技风,2025,(13):69-71.
- [3]毕玉霞,方磊涵.动物防疫与检疫技术[M].化学工业出版社,2023.07.258.
- [4]袁肇华.谈奶牛“布检”的几个问题[J].中国奶牛,1988,(01):53-55.
- [5]宋宁,胡朝军,张蜀澜,等.2013年全国229家实验室抗核抗体谱结果比对分析[J].临床检验杂志,2015,33(07):542-546.
- [6]孙保,王牟平,丁向彬,等.化学发光免疫分析法及其在动物健康养殖中的应用[J].动物医学进展,2025,46(04):126-130.

作者简介:

阿米娜·毛依冬(1985--),女,维吾尔族,新疆温宿县人,大学本科,高级兽医师,研究方向:动物传染病防控、诊断。