

兽医

间接免疫荧光检测石蜡切片中鸭肿头出血症病毒及抗原定位方法的初步建立

张舍郁, 程安春, 汪铭书, 沈婵娟, 李传峰

四川农业大学动物医学院禽病防治中心

收稿日期 2006-11-8 修回日期 2007-4-10 网络版发布日期 2008-3-10 接受日期

**摘要** 【目的】建立间接免疫荧光(IFA)检测石蜡切片中鸭肿头出血症病毒(DSHDV)的方法,为DSHDV感染的实验室诊断、DSHDV在感染鸭组织细胞中的亚细胞定位和动态研究提供有效的检测手段。【方法】用差速离心纯化DSHDV,将纯化DSHDV免疫家兔制备兔抗DSHDV高免血清,并以DEAE-SephadexA-50柱层析纯化出兔抗DSHDV IgG,建立IFA检测石蜡切片中DSHDV的方法;利用建立的IFA对28日龄鸭人工感染DSHDV死亡鸭不同组织器官以及临床样品进行检测。应用PAGE电泳分析DSHDV基因组特性。【结果】IFA最佳条件为:切片在 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  柠檬酸(pH 6.0)缓冲液微波修复20 min后,以10%马血清 $37^\circ\text{C}$ 下封闭30 min,然后加入1:50的一抗 $4^\circ\text{C}$ 孵育过夜,最后加入1:100 FITC标记的含0.01%伊文斯蓝的二抗 $37^\circ\text{C}$ 孵育30 min。IFA检测DSHDV感染死亡鸭肝脏石蜡切片为阳性,而检测鸭瘟、禽流感病毒(H5N1)、鸭病毒性肝炎、鸭疫里默氏杆菌感染死亡鸭肝脏石蜡切片为阴性。IFA检测28日龄人工感染DSHDV死亡鸭的不同组织器官,心、肝、脾、胰、肺、肾、法氏囊、食管、气管、胸肌、胸腺、十二指肠、空肠、回肠、盲肠和直肠为阳性;哈德氏腺、脑、皮肤、腺胃为阴性。阳性组织中病毒抗原主要分布在细胞浆。经甲醛固定保持1~6年的临床死亡鸭的病毒分离阳性肝脏,IFA检测结果也呈阳性。DSHDV具有呼肠孤病毒特征,有10条分节段核酸,呈“334”分布。【结论】建立的检测石蜡组织切片中DSHDV抗原的IFA具有直观、特异性强的优点,应用于DSHDV在感染鸭组织细胞中的亚细胞定位具有良好效果,可用于DSHDV感染的实验室诊断、病原在鸭组织细胞中分布研究。DSHDV抗原存在感染细胞浆,肠道、肾脏、法氏囊和胸腺是DSHDV侵害的主要靶器官。

**关键词** [间接免疫荧光](#) [鸭病毒性肿头出血症病毒](#) [检测](#) [抗原定位](#)

分类号

DOI:

通讯作者:

程安春,汪铭书 [chenganchun@vip.163.com](mailto:chenganchun@vip.163.com)

作者个人主页:张舍郁;程安春;汪铭书;沈婵娟;李传峰

扩展功能

本文信息

▶ [Supporting info](#)

▶ [PDF\(709KB\)](#)

▶ [\[HTML全文\]\(0KB\)](#)

▶ [参考文献\[PDF\]](#)

▶ [参考文献](#)

服务与反馈

▶ [把本文推荐给朋友](#)

▶ [加入我的书架](#)

▶ [加入引用管理器](#)

▶ [引用本文](#)

▶ [Email Alert](#)

▶ [文章反馈](#)

▶ [浏览反馈信息](#)

相关信息

▶ [本刊中 包含“间接免疫荧光”的 相关文章](#)

▶ 本文作者相关文章

· [张舍郁](#)

· [程安春](#)

· [汪铭书](#)

· [沈婵娟](#)

· [李传峰](#)