

# O 型口蹄疫抗体金标试纸盒检测免疫动物抗体效价与攻毒保护关系

祁光宇<sup>1,2</sup>,任维维<sup>1,2</sup>,智晓莹<sup>1,2</sup>,刘西兰<sup>2</sup>,张 军<sup>2</sup>,王 宇<sup>2</sup>,梁 仲<sup>1</sup>,蒋 韬<sup>1\*</sup>

(1. 中国农业科学院兰州兽医研究所家畜疫病病原生物学国家重点实验室/农业部畜禽病毒学重点开放实验室, 兰州 730046; 2. 中农威特生物科技股份有限公司, 兰州 730046)

**摘 要:** 本研究目的在于用 O 型口蹄疫金标试纸条研究免疫动物抗体效价与攻毒保护之间的对应关系以及免疫牛抗体消长规律。用金标试纸条检测了口蹄疫 O 型疫苗质量标准规定的牛、羊和猪免疫和攻毒血清抗体效价及不同免疫程序的牛血清效价。结果显示,当牛、猪和羊免疫血清稀释 $\geq 1:8$ 时,试纸条是阳性结果,表示有 99% 的被免疫动物属于抗体水平保护范围;被检测血清稀释 $\leq 1:2$ 时,是阴性结果,表示被免疫动物抗体水平属于不保护范围;血清稀释 $1:2 \sim 1:8$ 时,是阳性结果,表示有 50% 的被免疫动物属于抗体水平保护范围。牛在首次免疫 8 周后加强免疫可以获得良好的保护率和保护时间。通过本试验确定了金标试纸条检测免疫动物抗体效价与攻毒保护之间的关系及牛加强免疫最佳的时间。

**关键词:** O 型口蹄疫;金标试纸条;抗体效价;攻毒保护;抗体消长

中图分类号:S852.659.6

文献标识码:A

文章编号:0366-6964(2011)09-1277-07

## Study on the Correlation Between Animal Immunization Antibody Titer and Protection Against FMDV Type O Challenge by Colloidal Gold Immunochromatographic Kit for Detection of the FMDV O Serology

QI Guang-yu<sup>1,2</sup>, REN wei-wei<sup>1,2</sup>, ZHI Xiao-ying<sup>1,2</sup>,

LIU Xi-lan<sup>2</sup>, ZHANG Jun<sup>2</sup>, WANG Yu<sup>2</sup>, LIANG Zhong<sup>1</sup>, JIANG Tao<sup>1\*</sup>

(1. *Key Laboratory of Animal Virology of Ministry of Agriculture/State Key Laboratory of Veterinary Etiological Biology, Lanzhou Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730046, China*; 2. *Agricultural Veterinary Biological Science and Technology Co., Ltd, Lanzhou 730046, China*)

**Abstract:** The aim of this study was to study the correlation between animal immunization antibody titer and protection against FMDV type O challenge, dynamic detections of the antibodies in cattle immunized with the FMD type O vaccine by Colloidal gold immunochromatographic kit for detection the FMDV O serology. Vaccine testing were determined with FMDV type O inactivated vaccine quality standards, the strips were used in detecting antibody titer of immunized cattle, sheep and pigs and dynamic detections of the antibodies in cattle immunized with the FMD type O vaccine were carried out. The results showed that when immune serum dilution of cattle, pigs and sheep was greater than or equal to  $1:8$ , the test strip shows positive results, then the antibody levels in 99% immunized animals were in the scope of protection; if the serum dilution was less than or equal to  $1:2$ , the test strip display negative results, then the antibody levels of immune animals were outside the scope of protection; serum dilution was between  $1:2$  and  $1:8$ ,

收稿日期:2010-12-23

基金项目:甘肃省科技厅资助;甘肃科技重大技术专项(1002NKDA037)

作者简介:祁光宇(1978-),男,辽宁省辽阳市人,助理研究员,从分子病毒学与免疫学研究,E-mail:qiguangyu0931@126.com

\* 通讯作者:蒋 韬,E-mail:pcrjiang@163.com

the test strip show positive results, then antibody levels in 50% immunized animals are in the scope of protection. In the present study, we determined the correlation between animal immunization antibody titer and protection against FMDV type O challenge. The results showed that the booster-immunization on eighth week post primary immunization was the most favorable procedure.

**Key words:** Foot and mouth disease type O; colloid gold immunochromatography assay; antibody titer; protection against challenge; dynamic changes of antibody titer

世界动物卫生组织(OIE)将口蹄疫列为必须报告疾病,我国将其列为一类传染病,并定为强制免疫病种<sup>[1-2]</sup>。O型口蹄疫病毒分布最为广泛,对国际畜产品贸易和我国畜牧业的健康发展已经构成严重威胁<sup>[3]</sup>。在20世纪七、八十年代,国内外许多实验室就验证了口蹄疫疫苗免疫动物血清抗体效价与攻毒保护具有相关性<sup>[4-5]</sup>。确定免疫动物抗体效价与保护力的关系,对于田间动物的免疫状况评价具有重要意义。目前还未见到用胶体金免疫层析法建立口蹄疫血清抗体效价与攻毒保护之间的关系报道,建立能检测免疫动物血清与攻毒保护之间的关系的免疫层析法是本试验的创新点。作者通过金标试纸条和LPB-ELISA 2种方法测定牛、猪和羊抗体滴度血清,确定了O型口蹄疫抗体金标检测试纸条检测免疫动物血清的抗体效价与攻毒保护的对应关系,并用确定的判断标准,对不同免疫程序下的牛进行抗体水平监测、研究其免疫抗体水平的动态变化,旨在了解和掌握畜群口蹄疫免疫接种效果,为制定最佳的免疫程序提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验用疫苗与毒株

免疫用牛、猪和羊口蹄疫O型灭活疫苗为中农威特生物科技股份有限公司生产,攻毒用口蹄疫O型毒株为疫苗同源强毒株,由兰州兽医研究所分离、鉴定并保存。

### 1.2 阴性血清样品

181份血清从未注射过疫苗的无口蹄疫地区采集。其中包括82份牛血清、34份羊血清、65份猪血清。

### 1.3 攻毒保护试验用动物

60头6月龄以上、45头体质量25 kg以上的猪和30只1岁以上羊作为攻毒保护动物,在免疫前用LPB-ELISA进行了检测,均为口蹄疫O型抗体阴性。

### 1.4 抗体消长试验用动物

在甘肃省口蹄疫非疫区挑选51头0.5~3岁牛,LPB-ELISA检测O型口蹄疫抗体均为阴性。

### 1.5 O型口蹄疫抗体金标检测试纸条(GICA)操作步骤及判定标准

O型口蹄疫抗体检测试纸条20080609批为本实验室制备,检验合格。O型口蹄疫抗体液相阻断ELISA试剂盒(LP-B-ELISA)购于兰州兽医研究所。

1.5.1 待检样品的处理 将待检血清100  $\mu$ L用专用稀释液作倍比系列稀释,分别稀释1:2、1:4、1:8、1:16、1:32、1:64 6个稀释度。

1.5.2 样品检测 将O型口蹄疫抗体金标检测试纸条插入到每个稀释度样品中。注意将试纸条有标志线的一端插入待检样品中,样品液面不可超过标志线。当液体全部浸湿硝酸纤维素膜后,取出试纸条,平放于干净的桌面上,5~10 min内观察结果。

1.5.3 试纸条结果判定标准 阳性:质控带与检测带都出现清晰可见红色条带。血清中的抗体水平越高,检测带红色带颜色越深(++:强阳性清晰可见的红色;+:肉眼可见的红色)。阴性:只有质控带出现清晰可见红色条带。可疑:质控带出现一条颜色清晰可见的红色线,而在检测带出现一条颜色很浅,若隐若显的红色带(±)。无效:质控带不出现红色条带。详见图1。

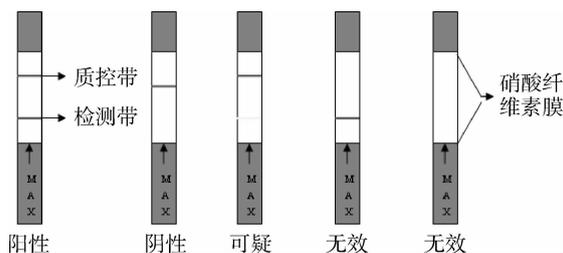


图1 金标试纸条的结果判定标准  
Fig. 1 Determination criteria of Gold standard test strip

## 1.6 阴性血清

用 O 型抗体检测试制条(GICA)和 VNT 测定了抗体滴度(表 1)。GICA 测定 Log<sub>10</sub> 滴度均没有超过 0.3±,最高抗体滴度为 0.3,GICA 测定抗体滴度 93%小于或等于 0.3+;将阴性血清最高滴度 0.3(Log<sub>10</sub>)作为阴阳性判定的临界值,以显色强度的差异(T)统计并确定判定标准为:0.3±1T;GICA 抗体滴度在 0.3±~0.3+时为可疑,小于等于 0.3-为阴性,大于等于 0.3+为阳性。

## 1.7 口蹄疫 O 型疫苗免疫牛、猪和羊金标试纸条检测抗体效价与攻毒保护关系

**1.7.1 牛血清样品** 2007—2008 年试验牛血清 45 份,牛口蹄疫 O 灭活疫苗效力检验牛免疫后 21 d 采集血清(血清由中农威特生物科技股份有限公司提供)。用检测试纸条和 LPB-ELISA 测定了所有免疫牛样品的抗体滴度,分析了 2 种方法测定的抗体滴度与免疫牛保护的关系。疫苗效力检验采用我国牛口蹄疫 O 型灭活疫苗质量标准测定<sup>[6]</sup>。将待检疫苗分为 1 头份、1/3 头份、1/9 头份 3 个剂量组,进行颈部肌肉注射,免疫后 21 d 用同源强毒 10 000 ID<sub>50</sub> 攻毒,舌面注射 2 点,观察 10 d,免疫牛仅在舌面出现水泡或溃疡,而其他部位无病变时判为保护,除舌面以外任一部位出现典型口蹄疫水泡或溃疡时判为不保护。

**1.7.2 猪血清样品** 2007—2008 年试验猪血清样品 36 份,猪口蹄疫 O 型灭活疫苗效力检验猪免疫后 28 d 采集血清(血清由中农威特生物科技股份有限公司提供),用检测试纸条测定样品的抗体滴度,同时用 LPB-ELISA 测定了样品的抗体滴度。疫苗效力检验采用我国猪口蹄疫 O 型灭活疫苗质量标准测定<sup>[7]</sup>,将待检疫苗分为 1 头份、1/3 头份、1/9 头份 3 个剂量组,每一剂量组分别于耳根后肌肉注射,接种 28 d 后,每头猪耳根后肌肉注射 1 000 ID<sub>50</sub> 的猪口蹄疫 O 型病毒强毒,免疫后 28 日用同源强毒 1 000 ID<sub>50</sub> 攻毒,观察 10 d。免疫猪出现任何口蹄疫症状即判为不保护。

**1.7.3 羊血清样品** 2007—2008 年试验羊血清样品 30 份,羊口蹄疫 O 灭活疫苗效力检验羊免疫后 21 d 采集血清(血清由中国农业科学院兰州兽医研究所病毒室提供)。用检测试纸条测定了所有免疫羊样品的抗体滴度,同时用 LPB-ELISA 测定了样品的抗体滴度。疫苗效力检验采用我国牛口蹄疫 O 型灭活疫苗质量标准测定<sup>[6]</sup>。免疫后 21 d

用同源强毒 10 000 ID<sub>50</sub> 攻毒,观察 10 d。免疫羊出现任何口蹄疫症状即判为不保护。

## 1.8 牛抗体消长规律血清样品

将 51 头份随机分为 3 组,每组 17 头。用牛口蹄疫 O 型灭活疫苗免疫,第 1 组只免疫一次,第 2 组在第 1 次免疫后 2 周加强免疫一次,第 3 组在第 1 次免疫后 8 周加强免疫一次,免疫剂量均为 2 mL,免疫方法按使用说明书。所用动物在第 1、2、3、4、5、6、7 月采血测定抗体效价。抗体测定方法为 O 型口蹄疫金标检测试纸条检测方法,检测的效价值均以 Log<sub>10</sub> 血清稀释数的对数表示。

## 2 结果

### 2.1 阴性血清检测方法判定标准的确定

用 O 型抗体检测试纸条(GICA)和 VNT 测定了抗体滴度,结果见表 1。GICA 测定抗体滴度 93%≤0.3+;将阴性血清最高滴度 0.3(Log<sub>10</sub>)作为阴阳性判定的临界值,以显色强度的差异(T)统计并确定判定标准为(0.3)±1T;GICA 抗体滴度在 0.3±~0.3+之间时为可疑,小于等于 0.3-为阴性,大于等于 0.3+为阳性。

表 1 GICA 和 VNT 测定抗体滴度

Table 1 GICA and VNT detect the antibody titer against FMDV type O

方法	抗体滴度	比例(181 份)/%
Methods	Log <sub>10</sub> antibody titer	Percentage
VNT	0.3	75.1
	0.6	11.11
	0.9	7.1
	1.2	6.69
	0.3-	75.3
GICA	0.3±	13.73
	0.3+	3.08
	0.6+	7.89

### 2.2 口蹄疫 O 型疫苗免疫牛、猪和羊金标试纸条和 LPB-ELISA 检测抗体效价与攻毒保护关系

分别对 45 头牛和 30 只羊进行口蹄疫 O 型疫苗效力检验,在免疫 21 日攻毒前血清用金标试纸条测定了抗体效价,统计了免疫牛、羊抗体效价与攻毒牛、羊发病与保护的对应关系;对 36 头猪口蹄疫 O 型灭活疫苗效力检验猪免疫 28 日攻毒前血清用金

标试纸条测定了抗体效价,统计了免疫猪抗体效价与攻毒猪发病与保护的对应关系。表 2、3 和图 2、3 分别显示了免疫牛、羊用 10 000 ID<sub>50</sub> 同源强毒攻毒后发病和保护牛、羊在金标试纸条检测抗体效价各个范围内的分布,由图 2 和 3 可见,GICA 抗体效价到  $\geq 1:8$  (阳性) 时,用同源强毒 10 000 ID<sub>50</sub> 攻毒,免疫牛和羊全部保护;GICA 抗体效价在 1:2 (阴性) 时,用同源强毒 10 000 ID<sub>50</sub> 攻毒,免疫牛和羊全部发病,属于不保护范围;GICA 抗体效价在 1:2~1:8 时,用同源强毒 10 000 ID<sub>50</sub> 攻毒,有发病的牛和羊,

也有保护的牛和羊。表 4 和图 4 显示了免疫猪用 1 000 ID<sub>50</sub> 同源强毒攻毒后发病和保护猪在金标试纸条检测抗体效价各个范围内的分布。由图 4 可见,GICA 抗体效价到  $\geq 1:8$  (阳性) 时,用同源强毒 1 000 ID<sub>50</sub> 攻毒,免疫猪全部保护;GICA 抗体效价在 1:2 (阴性) 时,用同源强毒 1 000 ID<sub>50</sub> 攻毒,免疫的猪全部发病,属于不保护范围;GICA 抗体效价在 1:2~1:8 时,用同源强毒 1 000 ID<sub>50</sub> 攻毒,有发病的猪,也有保护的猪;在国际上将这一效价范围称为“灰色区”,统称为 50% 保护效价范围。

表 2 金标试纸条和 LPB-ELISA 检测攻毒前 45 份免疫牛血清抗体效价

Table 2 Detected the 45 serum antibody titers of immune bovine before FMDV type O challenge by GICA and LPB-ELISA

血清效价 (GICA) Serum titer	1:2 (阴性) (Negative)	1:2 (阳性) (Positive)	1:4 (阳性) (Positive)	1:8 (阳性) (Positive)	1:16 (阳性) (Positive)	1:32 (阳性) (Positive)	1:64 (阳性) (Positive)	
发病数 Incidence	2	9	5					
没发病数 Protection		7	9	6	3	2	2	
血清效价 (LPB-ELISA) Serum titer	$<1:16$		$1:16 \sim 1:128$				$\geq 1:128$	
发病数 Incidence	2			14				
没发病数 Protection				15			14	

表 3 金标试纸条和 LPB-ELISA 检测攻毒前 30 份免疫羊血清抗体效价

Table 3 Detection of the 30 serum antibody titers of immune sheep before FMDV type O challenge by GICA and LPB-ELISA

血清效价 Serum titer (GICA)	1:2 (阴性) (Negative)	1:2 (阳性) (Positive)	1:4 (阳性) (Positive)	1:8 (阳性) (Positive)	1:16 (阳性) (Positive)	1:32 (阳性) (Positive)	1:64 (阳性) (Positive)	
发病数 Incidence	2	5	4					
没发病数 Protection		3	7	4	2	2	1	
血清滴度 (LPB-ELISA) Serum titer	$<1:16$		$1:16 \sim 1:128$				$\geq 1:128$	
发病数 Incidence	2			9				
没发病数 Protection				10			9	

### 3.3 免疫牛平均抗体消长

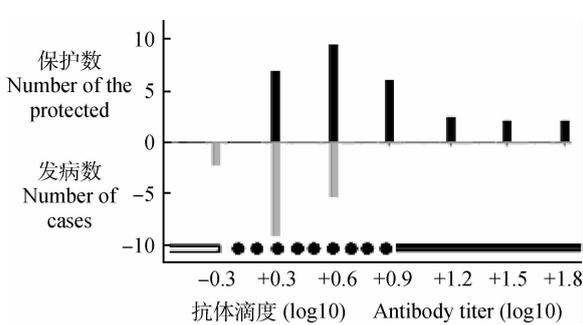
一组组的牛平均抗体效价在 90 多天后处于 50% 保护区;二组第 2 周后进行加强免疫,牛平均抗体效价在 150 多天后处于 50% 保护区;而在一免

后第 8 周进行加强免疫,抗体水平大大提高,明显高于保护抗体水平,且保护时间和抗体水平高于一组和二组的免疫牛平均抗体水平。详见表 5、6。

表 4 金标试纸条和 LPB-ELISA 检测攻毒前 36 份免疫猪血清抗体效价

Table 4 Detected the 36 serum antibody titers of immune pig before FMDV type O challenge by GICA and LPB-ELISA

血清效价	1 : 2	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64
Serum titer	(阴性)	(阳性)	(阳性)	(阳性)	(阳性)	(阳性)	(阳性)
(GICA)	(Negative)	(Positive)	(Positive)	(Positive)	(Positive)	(Positive)	(Positive)
发病数 incidence	3	6	5				
没发病数 Protection		3	8	4	3	3	1
血清滴度							
(LPB-ELISA)	<1 : 16			1 : 16~1 : 64			≥1 : 64
(Serum titer)							
发病数 Incidence	3			11			
没发病数 Protection				9			13



空条表示发病; 实心圆表示部分保护; 实条表示完全保护。图 3、4 同

Empty bars indicate the incidence; solid circle represents the part of the protection; solid bars indicate the incidence is complete protection. The same in Figure 3 and Figure 4

图 2 金标试纸条检测 45 头免疫牛抗体效价与同源强毒攻毒保护/发病分布

Fig. 2 Detected the 45 serum antibody titers of immune bovine with homologous virulent virus challenge protection/disease distribution by GICA

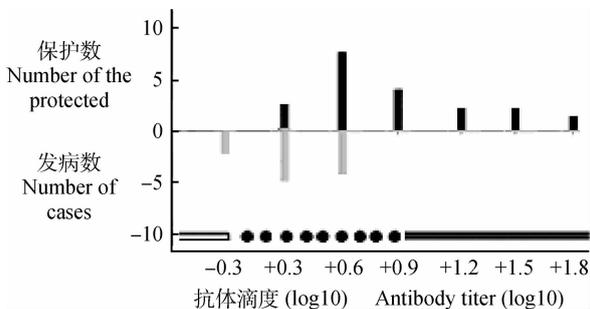


图 3 30 头免疫羊金标试纸条检测抗体效价与同源强毒攻毒保护/发病分布图

Fig. 3 Detected the 30 serum antibody titers of immune sheep with homologous virulent virus challenge protection/disease distribution by GICA

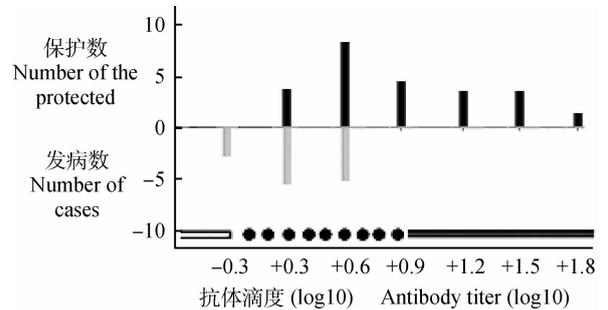


图 4 36 头免疫猪金标试纸条检测抗体效价与同源强毒攻毒保护/发病分布

Fig. 4 Detected the 36 serum antibody titers of immune pig with homologous virulent virus challenge protection/disease distribution by GICA

### 3 讨论

目前预防和控制 FMD 的主要方法依然是疫苗免疫接种,通过免疫接种提高畜群整体抗体水平是预防口蹄疫的重要手段。抗体水平监测是对免疫效果的直观评估,免疫动物血清抗体越高,保护率越高。各实验室由于存在着疫苗抗原有效含量、试验动物的个体状况、攻毒剂量及途径上的不同,所以抗体滴度与保护率有所差别。马军武等建立了 O 型液相阻断 ELISA 方法,可准确检测血清抗体水平,并具有良好的敏感性、快速诊断性和可重复性<sup>[8]</sup>。胶体金免疫层析技术(gold immunochromatographic assay, GICA)是 20 世纪 90 年代发展起来的一种新型体外诊断技术<sup>[9]</sup>,该诊断方法具有快速简便、无需仪器、结果准确等优点。通过 2 种方法的比较,确定金标试纸条的血清抗体效价与攻毒保护的相关性,这是对其他检测方法的有益的补充。

表 5 免疫牛、猪、羊同源强毒攻击呈现敏感、不完全保护、保护的滴度范围

Table 5 The scope of protection of the titer after FMDV type O challenge in bovine, pigs, sheep

试验 Method	动物 Animal	敏感 Sensitive	不完全保护 (50%) No fully protection	保护 (99%) Protection
GICA	牛	$\leq 1:2-$	$(1:2+) \sim (1:8-)$	$\geq 1:8+$
GICA	羊	$\leq 1:2-$	$(1:2+) \sim (1:8-)$	$\geq 1:8+$
GICA	猪	$\leq 1:2-$	$(1:2+) \sim (1:8-)$	$\geq 1:8+$
LPB-ELISA	牛	$< 1.2(1:16)$	$1.2(1:16) \sim 2.1(1:128)$	$\geq 2.1(1:128)$
LPB-ELISA	羊	$< 1.2(1:16)$	$1.2(1:16) \sim 2.1(1:128)$	$\geq 2.1(1:128)$
LPB-ELISA	猪	$< 0.9(1:8)$	$0.9(1:8) \sim 1.8(1:64)$	$\geq 1.8(1:64)$

敏感表示免疫动物全部发病;不完全保护表示免疫动物即有发病的也有不发病的;保护表示免疫动物全部保护

Sensitive indicate the incidence; No fully protection represents incidence of some immunized animals; Protection indicate immunized animals are not disease

表 6 免疫牛平均抗体消长结果统计表

Table 6 Dynamic detections of the average antibodies in cattle after being immunized with the FMD type O vaccine

组别 Group	指标 Parameter	数值 Value							
一次免疫组 One time immunized group	免疫时间/月 Months	0	1	2	3	4	5	6	7
	免疫数 Immunized animals	17	17	17	17	17	17	17	17
	效价( $\log_{10}$ ) Titer	0.30	1.26	1.03	0.96	0.7	0.56	0.43	0.65
	免疫时间/月 Months	0	1	2	3	4	5	6	7
二次免疫组 Two times immunized group	免疫数 Immunized animals	17	17	17	17	17	17	17	17
	效价( $\log_{10}$ ) Titer	0.30	2.24	1.93	1.55	1.27	1.06	0.71	1.0
	免疫时间/月 Months	0	1	2	3	4	5	6	7
	免疫数 Immunized animals	17	17	17	17	17	17	17	17
三次免疫组 Three times immunized group	效价( $\log_{10}$ ) Titer	0.30	1.13	0.89	1.98	1.43	1.32	1.23	1.16
	免疫时间/月 Months	0	1	2	3	4	5	6	7
	免疫数 Immunized animals	17	17	17	17	17	17	17	17
	效价( $\log_{10}$ ) Titer	0.30	1.13	0.89	1.98	1.43	1.32	1.23	1.16

在背景试验中,当试纸条检测结果 0.3 一时,两种方法检测血清的符合率 99.42%,只有 1 份血清被误检,这可能由于试验过程中产生的误差导致的。免疫胶体金技术具有高的特异性和好的稳定性<sup>[10]</sup>,这些特点使试纸方法对阴性血清具有 ELISA 相似的检出率。

用 O 型口蹄疫抗体检测胶体金试纸条分别检测了 45 头牛、36 头猪和 30 只羊不同剂量免疫的攻

毒/保护试验抗体滴度,对比了金标试纸条和 LPB-ELISA 法对免疫动物同源强毒攻击时呈现敏感、不完全保护、保护的滴度范围。通过上述探索性的试验确定了 O 型口蹄疫金标检测试纸条检测牛、猪和羊抗体效价与保护力的关系。金标试纸条与 LPB-ELISA 检测出阴性血清的动物攻毒后都发病;在检测牛血清时,金标试纸法检测免疫合格的血清比 LPB-ELISA 少 1 份,检测猪血清少 1 份,检测羊血

清相同,可能是金标试纸条对不同性质、不同动物的血清的灵敏度有所差异,同时是由于胶体金免疫层析法的半定量特性决定的<sup>[11]</sup>,在一定范围检测的显色强度不会改变,但当超过一定的范围,显色强度改变明显,但对血清的性质判定不会受干扰。用金标试纸条法确定了不同免疫动物的抗体效价与攻毒发病与保护的对应关系,使对免疫动物免疫状况的判定简单、快速,利于对口蹄疫的防控和诊断,是可以对免疫效果进行快速、直观评估的方法。

在确定免疫与攻毒保护的条件下,用 O 型口蹄疫抗体金标检测试纸条对 3 种不同免疫程序下牛的抗体进行了检测,一免后 3 组免疫牛平均抗体水平不高,需要进行加强免疫。在第 1 周和 8 周加强免疫后的牛,其平均抗体效价大幅度提高,处于敏感状态的动物明显减少,其中第 8 周进行加强免疫组牛,在第 210 天处于 99% 的保护区范围。在第 8 周对牛进行加强免疫是合理可行的,这与魏孔福<sup>[12]</sup>用 O 型口蹄疫疫苗免疫牛抗体消长动态的 LPB-ELISA 检测的结果基本一致,这说明本试验中确定的攻毒/保护试验的稀释度是较为准确可行的。从而为了解和掌握畜群口蹄疫免疫接种效果、制定相应的免疫程序提供了快速诊断科学的方法。

#### 4 结 论

用金标试纸条检测了口蹄疫 O 型疫苗质量标准规定的牛、羊和猪免疫和攻毒血清抗体效价及不同免疫程序的牛血清效价。通过研究 O 型口蹄疫金标检测试纸条检测牛、猪和羊抗体效价与保护力的关系,确定了金标试纸条检测免疫动物抗体效价与攻毒保护之间的关系及牛加强免疫最佳的时间。

#### 参考文献:

[1] 世界动物卫生组织. 哺乳动物、禽、蜜蜂 A 类和 B 类疾病诊断试验和疫苗标准手册[M]. 农业部畜牧兽医局,译. 北京:中国农业科学技术出版社,2002.

- [2] 农业部畜牧兽医局. 一、二、三类动物疫病释义[M]. 北京:中国农业出版社,2004.
- [3] 于永忠,赵磊,于力,等. O 型口蹄疫病毒单克隆抗体的制备及生物学特性分析[J]. 黑龙江畜牧兽医,2009,4:1-4.
- [4] VAN BEKKUM J G. Correlation between serum antibody level and protection against challenge with FMD. Report of the meeting of the research group of the standing technical committee for the European commission for the control of FMD[D]. FAO Brescia, 1970, 1969:38.
- [5] SUTMÖLLER, P, VIEIRA A. The relationship of neutralising antibody titers for foot-and-mouth disease virus and the protection of cattle[J]. *Bol Cenm Pan-ao Fieore Aftosa*, 1980, 57:39-40.
- [6] 农业部 300 号令. 牛口蹄疫 O 型灭活疫苗质量标准[S].
- [7] 农业部 336 号令. 猪口蹄疫 O 型灭活疫苗质量标准[S].
- [8] 马军武,刘湘涛,胡弘博,等. 液相阻断 ELISA 检测口蹄疫病毒抗体方法的建立[C]//中国畜牧兽医学学会口蹄疫学分会第九次全国口蹄疫学术研讨会论文集. 兰州:中国畜牧兽医学学会口蹄疫学分会,2003:364-368.
- [9] TANAKA R, YUHI T, NAGATANI N, et al. A novel enhancement assay for immunochromatographic test strips using gold nanoparticles[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2006, 385(8):1414-1420.
- [10] 祁光宇,王宇,蒋韬,等. 胶体金免疫层析技术在动物源性食品中的应用[D]. 东北农业大学学报,2010,41(4):156-160.
- [11] CHANDLER J, GURMIN T, ROBINSON N. The place of gold in rapid test[J]. *IVD Technol*, 2000,6:37-49.
- [12] 魏孔福,张峰,马军武,等. O 型口蹄疫疫苗免疫牛抗体消长动态的 LPB-ELISA 检测[J]. 中国兽医科学,2007,37(09):787-790.

(编辑 白永平)