

对比羊布鲁氏菌病不同血清学检测方法的检测结果

马红霞

同心县疾病预防控制中心检验科 751300

【摘要】目的 比较不同血清学检测方法检测羊布鲁氏菌病的结果。**方法** 收集 150 头疑似感染布鲁氏菌病的羊，均为 2020 年 3 月至 2022 年 10 月各乡镇上报的羊，采用 ELISA (cELISA) 抗体检测、试管凝集实验 (SAT) 和虎红平板凝集实验 (RBT) 分别进行布鲁氏菌检测，比较不同检测方式的检测结果。**结果** 以上三种诊断方式的诊断符合度均比较高，Kappa 值 > 0.78，RBT 敏感度、假阳性率均较高，cELISA 敏感度、特异度均较高，Kappa 值 > 0.86。**结论** 对于疑似感染布鲁氏菌病的羊，先采用 RBT 检测进行筛选，再应用 cELISA 可尽早确诊，为治疗提供指导依据。

【关键词】 布鲁氏菌病；血清学检测

【中图分类号】 R378.5

【文献标识码】 A

【文章编号】 1002-3763 (2023) 02-039-02

布鲁氏菌病属于一种乙类传染病，主要由布鲁氏菌感染引发，可人畜共患，极大的威胁着人民的身心健康，同时还对畜牧业的发展造成了威胁。有数据显示，全球每年布鲁氏菌病的发病人数都在 50 万以上，染疫的家畜是主要的传染源，会直接传染给人或者其他健康的动物^[1]。目前实验室对布鲁氏菌病的诊断方式较多，PCR 检测和细菌培养耗时比较长，并且对环境的要求较高，应用受限。血清学检测方式相对来说比较实用，当布鲁氏菌侵入机体后，会对机体内的抗体造成刺激，因此可通过血清学检测血液中的特异性抗体水平进一步明确布鲁氏菌的感染情况^[2]。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 150 头疑似感染布鲁氏菌病的羊，均为 2020 年 3 月至 2022 年 10 月各乡镇上报的羊。

1.2 方法

采用不同的血清学方法进行布鲁氏菌检测：采集所有羊只的血清，将其分成均等的 3 份，做好标记，将其治置于 -20℃ 的环境下保存备用。（1）虎红平板凝集实验 (RBT)：将样品、血清以及抗原的温度均恢复至室温，检验人员将抗原和血清充分的混合均匀，采用吸管吸取 25 μL 后滴在反应板上，然后采用移液器吸头将血清和抗原快速的混合均匀，将其尽可能涂成圆形，放置在自然光下进行观察，保证此项操作在 4 分钟之内完成，如果肉眼可见出现凝聚则判断为阳性，反之为阴性。（2）试管凝集实验 (SAT)：检验人员取石碳酸 (0.5%) 和氯化钠溶液 (10%) 长期混合后作为稀释液，取 4 支干净的凝集试管，做上 1、2、3、4 标记，分别加入稀释液

920 μL+80 μL 血清、500 μL 稀释液 +1 号管混合液 500 μL、500 μL 稀释液 +2 号管混合液 500 μL、500 μL 稀释液 +3 号管混合液 500 μL，然后从 4 号管中去掉 500 μL，加入 500 μL 试管凝集抗原，各试管混合后放置在 37℃ 的恒温箱内孵育，将时间控制在 18 ~ 24 小时之间，如果 1:50 稀释度试管中出现“++”以上凝集，则判定为阳性，如果 1:25 稀释度试管中出现“++”以上凝集，则判定为可疑，如果未出现凝集则判定为阴性；（3）ELISA (cELISA) 抗体检测：取出 cELISA 试剂盒置于室温下使其恢复到室温温度，采用 1x 洗涤液洗涤（1 次）拍干，分别取血清和阴阳对照 50 μL 加入至 ELISA 板中，再加入单克隆抗体 50 μL，将其置于 37℃ 的恒温箱中孵育，将时间控制在 30 分钟左右，再用 1x 洗涤液洗涤（3 次）拍干，加入 100 μL 羊抗鼠酶标抗体，继续孵育 30min，再用 1x 洗涤液洗涤（3 次），加入 50 μL 底物液，避光放在室温下 15min，再加入 50 μL 终止液，15 分钟内采用酶标仪对 OD_{450nm} 进行检测。如果 PI ≥ 30%，则为阳性，如果 < 30% 则为阴性。

1.3 观察指标

比较不同检测方式的检测结果。

1.4 统计学分析

采用 SPSS25.0 软件，P<0.05 提示存在统计学差异， χ^2 检验 (n, %)，采用 Kappa 一致性评测方式不同检测结果的一致性进行评测，Kappa 系数越高，提示其一致性越强。

2 结果

以上三种诊断方式的诊断符合度均比较高，Kappa 值 > 0.78，RBT 敏感度、假阳性率均较高，cELISA 敏感度、特异度均较高，Kappa 值 > 0.86。见下表 1：

表 1：不同检测方式结果比较

检测方式	布鲁氏菌病实际感染情况满意		假阳性	假阴性	一致性	Kappa 值	特异度	敏感度
	+	-						
RBT (n=150)	+	19	0	0.00%	98.67%	0.78	98.67%	90.487%
	-	2	129					
SAT (n=150)	+	19	2	1.57%	97.33%	0.80	99.33%	90.48%
	-	2	127					
cELISA (n=150)	+	21	2	1.57%	98.67%	0.87	100.00%	100.00%
	-	0	127					

3 讨论

通过本次分析后发现，在进行羊布鲁氏菌病检测时，所使用的三种血清学检测方式中，RBT 检测方式操作最简单，但是这种检测结果极易受到溶血、交叉反应、时间等因素的影响而出现假阳性。导致诊断医师无法对野毒感染抗体、免疫抗

体进行准确的区分，因此其在布鲁氏菌病的检测中应用受限。相比较而言，SAT 法对感染初期所产生的抗体敏感度较高，特异性比较强，但是相对来说检测耗费的时间比较长，从开始检测到结果出来一般在 20 个小时左右，并且对其检测结果进

(下转第 42 页)

表 2: 病毒载量和 CD4+T 淋巴细胞水平的关系 [n (%)]
单位: (个 / μ l)

病毒载量 (拷贝 / ml)	< 50	50-199	200-399	≥ 400
< 10^3	0	1 (1.3)	2 (2.5)	0
10^3	0	2 (2.5)	2 (2.5)	0
10^4	1 (1.3)	3 (3.8)	12 (15.0)	2 (2.5)
10^5	5 (6.3)	13 (16.3)	10 (12.5)	1 (1.3)
10^6	20 (25.0)	4 (5.0)	2 (2.5)	0

细胞计数分层的各组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明 CD4+T 淋巴细胞水平与机会性感染病原菌的种类密切相关。CD4+T 淋巴细胞水平会对机会性感染的发生率造成影响, 其中在 CD4+T 淋巴细胞 50-100 (个 / μ l) 组中, 隐球菌脑膜炎和口腔念珠菌感染的比例最高, 提示 CD4+T 淋巴细胞 < 100 (个 / μ l) 的患者中, 隐球菌脑膜炎和口腔念珠菌感染发生率较高; AIDS 晚期, 常见口腔念珠菌感染、感染性腹泻、细菌性肺炎、耶氏肺孢子菌肺炎等机会感染, 且病情复杂, 诊断困难。此外, 研究结果还显示, 病毒载量最低为 7.5×10^2 拷贝 / ml, 最高为 4.1×10^7 拷贝 / ml; 对病毒载量结果进行检验, 显示病毒载量对数值与 CD4+T 淋巴细胞值呈负相关 ($P < 0.05$); 病毒载量值较小时, CD4+T 淋巴细胞数较高; 病毒载量值较大时, CD4+T 淋巴细胞数明显下降, 这与相关研究报道的结果基本一致^[6]。其机制与下列因素有关: HIV-1 感染可造成 CD4+T 淋巴细胞损伤; 胞内 HIV-1 病毒复制对细胞自身蛋白合成表达造成干扰; CD4+T 淋巴细胞数明显减少前, 患者就已经出现了免疫功能缺陷。体内 HIV-1 的复制数量通过 HIV-1 病毒载量可

(上接第 39 页)

行判断时也很容易受到一些主观因素的影响, 如果为小规模布鲁氏菌病检测尚可应用, 但是如果为大批量检疫检测, 则不适合使用 SAT 检测法。cELISA 在进行结果判定时一般根据最后一步颜色的深浅程度进行定性判断或者定量判断, 这种检测方式对机体内抗体的敏感度比较高, 目前也被认定是进行牛羊布鲁氏菌病感染情况检测的金标准^[3]。

本次研究结果显示, 以上三种诊断方式的诊断符合度均比较高, Kappa 值 > 0.78 , RBT 敏感度、假阳性率均较高, cELISA 敏感度、特异度均较高, Kappa 值 > 0.86 。说明不同的血清学诊断方式有着各自的优缺点, 在进行牛羊布鲁氏菌

(上接第 40 页)

结节, 癌周围出现较多的肝病背影。小肝癌的肝细胞癌中单个癌结节 ($r \leq 2\text{cm}$), 两个癌结节 ($r \leq 3\text{cm}$), 在患病期间患者无任何临床症状, 镜下检查小肝癌瘤结节大部分都呈球形, 边界较为清楚, 切面较为均匀, 无任何出血和坏死现象。临床研究证明, 我国的小肝癌标准: 单个癌结节 ($r \leq 3\text{cm}$), 两个癌结节 ($r \leq 3\text{cm}$)^[1]。

目前, 随着医学技术的不断发展, 腹腔镜微创技术的不断引进临床, 使临床上治疗胆肝肝癌患者积累了大量的临床价值。相对于传统的开腹手术, 微创手术对患者的创伤较小, 术后患者恢复的时间较短, 术后进食的时间短, 可有效减少患者对腹腔内脏的暴露和水分的蒸发, 对患者的腹腔脏器刺激性较小, 胃肠功能恢复较快, 大大减轻患者的疼痛, 可明

以反映出来, 其与 CD4+T 淋巴细胞数可以独立预测 HIV-1 型 AIDS 患者的疾病进程。因此, 了解 CD4+T 淋巴细胞数和病毒载量的变化能够进一步掌握抗病毒的具体疗效。

总之, CD4+T 淋巴细胞计数减少, HIV-1 型 AIDS 患者机会性感染的发病率就会增加, CD4+T 淋巴细胞计数可作为提高患者生存率的评估指标。

参考文献

[1] 邓敏, 丁初辉, 宣华等. HBV 携带者外周血 CD4+ CD25+ CD127 low/- 调节性 T 淋巴细胞表达与病毒载量及肝脏病理的相关性 [J]. 中华临床感染病杂志, 2022, 7(5):437-440, 454.
[2] 李强, 李杰, 桑锋等. HIV 感染者和 AIDS 患者外周血 T 淋巴细胞活化亚群与病毒载量的相关性 [J]. 中国全科医学, 2021, 19(8):869-872.
[3] 张茹蕙, 游晶, 杨微波等. HIV / AIDS 合并 HBV / HCV 感染病毒载量水平及与 T 淋巴细胞相关性的探讨 [J]. 重庆医学, 2021, 45(7):912-914.
[4] 陈霖, 刘佳, 卞成蓉等. 慢性丙型肝炎患者外周血 CD4+CD25+ 调节性 T 细胞与病毒载量和肝功能损害的相关性研究 [J]. 军事医学, 2022, (8):649-651.
[5] 缪希莉, 梅四清, 高贵民等. 无症状 HIV 感染者外周血 T 细胞亚群含量、PD-1/PD-L1 表达量与病毒载量的关系 [J]. 海南医学院学报, 2021, 22(15):1656-1659.
[6] 李强, 刘真, 桑锋等. 人类免疫缺陷病毒 1 感染者外周血 CD8+T 淋巴细胞表面 CD38 和人类白细胞抗原 DR 表达的研究 [J]. 中国全科医学, 2020, 18(36):4428-4432.

病诊断中, 应结合具体情况选择最为适合的检测方式。

总之, 对于疑似感染布鲁氏菌病的羊, 先采用 RBT 检测进行筛选, 再应用 cELISA 可尽早确诊, 为治疗提供指导依据。

参考文献

[1] 王斌, 王淑芳, 白天俊, 等. 布鲁氏菌病不同血清学检测方法结果分析 [J]. 中国牛业科学, 2021, 47(6):63-65.
[2] 陈关雄, 倬华林, 鲁丽芝, 等. 山羊布鲁氏菌病不同血清学检测方法的比较 [J]. 中国动物检疫, 2019, 36(5):74-76, 98.
[3] 王维, 沈艳, 范亚楠, 等. 布鲁氏菌病不同血清学检测方法的比较 [J]. 中国畜禽种业, 2022, 12(7):52-54.

显改善患者的生活质量, 另外, 腹腔镜在切除方面具有一定的凝固和止血功能, 可有效减少患者的创面出血量, 最大程度上提高患者的治疗效果^[2]。

综上所述, 采用腹腔镜肝切除术治疗非边缘部位小肝癌患者疗效显著, 可有效的缩短患者的进食时间和住院时间, 减少患者的术中出血量, 降低患者的术后并发症发生率, 为该病患者的治疗提供较为科学的临床价值。

参考文献

[1] 刘宇斌. 腹腔镜肝切除术治疗老年非边缘部位小肝癌的临床价值 [J]. 中国老年学杂志, 2021, 33(23):5870-5871.
[2] 周兵, 汪正伟, 牛坚等. 腹腔镜与开放性肝切除术治疗小肝癌的近期疗效比较 [J]. 中国普通外科杂志, 2022, 22(7):862-866.