

2 种猪繁殖与呼吸综合征抗体 ELISA 检测试剂盒的比较分析

王传锋, 米青婕, 皮志媛* (伊犁职业技术学院, 新疆伊宁 835000)

摘要 选取 2 种猪繁殖与呼吸综合征抗体 ELISA 检测试剂盒进行符合率、敏感性(D_{se})、特异性(D_{sp})、批内重复性(Re)比较分析,以期了解国产试剂盒与进口试剂盒在试验结果上的差异性。结果显示:通过对 45 份临床样品进行检测发现金诺试剂盒检测敏感性(D_{se})为 84%,检测特异性(D_{sp})为 100%,2 种试剂盒总符合率为 91.11%。该研究结果为实验室检测猪繁殖与呼吸综合征抗体提供了试剂盒选用参考。

关键词 猪繁殖与呼吸综合征;抗体检测;ELISA;Kappa 检验;比较

中图分类号 S85 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2023)24-0078-04

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2023.24.017

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Comparative Analysis of Two Kinds of Antibody ELISA Kit for Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome

WANG Chuan-feng, MI Qing-jie, PI Zhi-yuan (Yili Vocational and Technical College, Yining, Xinjiang 835000)

Abstract Two kinds of ELISA Kit for porcine reproductive and respiratory syndrome antibody were selected to compare the coincidence rate, sensitivity (D_{se}), specificity (D_{sp}) and in-batch repeatability (Re), in order to understand the differences of experimental results between domestic and imported kits. The results showed that the detection sensitivity (D_{se}) and detection specificity (D_{sp}) of Jinnuo kit to 45 clinical samples were 84% and 100%, respectively. The total coincidence rate of the two kinds of kits was 91.11%. The study results provided references for the selection of laboratory kits for the detection of antibodies to porcine reproductive and respiratory syndrome.

Key words Porcine reproductive and respiratory syndrome; Antibody detection; ELISA; Kappa test; Comparison

猪繁殖与呼吸综合征(PRRS)是由猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)引起的一种接触性传染病。临床表现主要以母猪出现流产、早产、死胎等现象,仔猪出现呼吸极度困难、咳嗽等症状^[1]。猪繁殖与呼吸综合征的传播速度极快,特别是在发达国家猪群密集,更容易被传染^[2]。近年来,随着我国生猪存栏量的日益增加,加上交通运输业的蓬勃发展,生猪的流通日趋快捷,这都为猪繁殖与呼吸综合征的传播与流行提供了便利条件,同时也给动物疫病防控工作提出了新的挑战。猪繁殖与呼吸综合征的流行不仅会给养猪业带来巨大的经济损失,而且会对人类健康和生态环境产生潜在威胁^[3]。借助科学的动物疫病实验室检测技术,定期监测疫病是防控 PRRS 的最有效措施。酶联免疫吸附测定(ELISA)是目前应用最普遍的一种血清学实验室检测技术,被广泛应用于疫病抗体水平的检测^[4],具有灵敏性高、特异性强、重复性好、操作简便等特点。目前,市场上已开发多种检测 PRRSV 的商品化 ELISA 试剂盒,但大部分都缺乏科学、规范的评价^[5]。为筛选适用于实验室检测的试剂盒,该研究根据《传染病诊断方法的验证原则》^[6]以及《出入境动物检疫诊断试剂盒质量评价规程》^[7]的要求,对国产和进口 PRRS 抗体 ELISA 试剂盒进行符合率、敏感性、特异性、批内重复性比较分析,以期 ELISA 试剂盒的选用提供参考。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 试剂。

1.1.1.1 金标试剂盒。进口猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体

检测试剂盒(IDEXX Q161)。

1.1.1.2 参比试剂盒。国产猪繁殖与呼吸综合征抗体 ELISA 试剂盒(金诺试剂盒 20210510)。

1.1.2 样品。

1.1.2.1 病原血清。PRRSV 血清:强阳性血清 12 份,弱阳性血清 13 份,阴性血清 20 份。

1.1.2.2 特异性验证用血清。PRRSV 病原抗体阴性且其他病原抗体阳性血清 10 份:PCV2 2 份, PEDV 2 份, PRV gE 2 份, Mhp 2 份, CSFV 2 份。

1.1.3 仪器与设备。酶标仪(深圳雷杜 RT-6000)、96 孔自动洗板机(山东博科 BK-9622)、微量移液器(德国 Eppendorf)、电热恒温培养箱(天津泰斯特 DH124D)。

1.2 试验方法

1.2.1 符合率的测定。按照 ELISA 试剂盒的操作说明书对 45 份临床样品进行检测,以 IDEXX 试剂盒检测结果为金标准,按照《传染病诊断方法的验证原则》^[6]中规定的方法对检测结果进行统计,分别计算金诺试剂盒的检测敏感性(D_{se})和检测特异性(D_{sp})。采用 Kappa 统计学方法,计算金诺试剂盒检测结果的 Kappa 值,从而评价检测结果的符合率。当 Kappa 值为 0.81~1,说明 2 种试剂盒完全符合;当 Kappa 值为 0.61~0.80,说明 2 种试剂盒检测结果高度符合;当 Kappa 值为 0.41~0.60,说明 2 种试剂盒检测结果中度符合;当 Kappa 值为 0.21~0.40,说明 2 种试剂盒检测结果比较符合;当 $0 < \text{Kappa 值} \leq 0.20$,说明 2 种试剂盒检测结果轻度符合;当 $\text{Kappa 值} \leq 0$,说明 2 种试剂盒检测结果不符合。计算方法见表 1。

$$\text{检测敏感性}(D_{se}) = a / (a+c) \times 100\%$$

$$\text{检测特异性}(D_{sp}) = d / (b+d) \times 100\%$$

$$P_o = (a+d) / (a+b+c+d)$$

$$P_e = [(a+c) / (a+b+c+d)] \times [(a+b) / (a+b+c+d)] + [(b+d) / (a+b+c+d)] \times [(b+d) / (a+b+c+d)]$$

基金项目 新疆维吾尔自治区科技厅地州科学基金项目(2021D01F02);伊犁州科研创新平台动物疫病检测重点实验室建设项目。

作者简介 王传锋(1982—),男,安徽淮南人,副教授,硕士,从事预防兽医学研究。* 通信作者,讲师,硕士,从事预防兽医学研究。

收稿日期 2023-01-02

$$d) / (a+b+c+d)] \times [(c+d) / (a+b+c+d)]$$

$$Kappa = (P_o - P_e) / (1 - P_e)$$

Kappa 值应大于等于 0.6, Kappa 值越接近 1.0, 符合率越高。

表 1 Kappa 值计算方法

Table 1 Calculation method of Kappa value

试剂盒种类 Kit kinds	IDEXX 试剂盒 IDEXX kit		
	阳性 Positive	阴性 Negative	合计 Total
金诺试剂盒 Jinnuo kit	阳性 Positive <i>a</i>	阴性 Negative <i>b</i>	$p_1 = a+b$
	阴性 Negative <i>c</i>	阳性 Positive <i>d</i>	$q_1 = c+d$
	合计 Total $p_2 = a+c$	合计 Total $q_2 = b+d$	$a+b+c+d$
	符合率 阳性符合率	符合率 阴性符合率	总符合率
	Coincidence rate		

1.2.2 敏感性检测。将不同来源的强阳性血清 2 份, 弱阳性血清 1 份, 进行 1×、2×、4×、8×、16×、32×、64×、128× 倍稀释后, 再用不同试剂盒进行检测。每个血清、每个稀释度进行单孔检测。根据检测结果, 比较 2 种试剂盒检测抗体的最低检测限, 比较 2 种试剂盒的检测敏感性。

1.2.3 特异性检测。选取常见猪病各病原 (PEDV、CSFV、PCV2、PRV gE、Mhp) 抗体阳性血清 10 份, 每份血清样品做单孔检测, 根据检测结果, 判定试剂盒是否与其他病原标准阳性血清有交叉反应。

1.2.4 批内重复性的测定。选取猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体阳性血清 6 份、阴性血清 2 份, 共 8 份样品进行检测, 每个试剂盒每个样品做单孔检测, 重复同一批次的 3 次检测。根据检测结果的 S/P 值, 分别计算 2 种试剂盒 S/P 值的变异系数。

2 结果与分析

2.1 检测敏感性、特异性及符合率 选择采集不同时期的血清, 通过对 45 份临床样品进行检测, 2 种试剂盒 PRRSV 抗体检测结果见表 2, 金诺试剂盒与 IDEXX 试剂盒的比较见表 3。由表 2~3 可知, 与 IDEXX 试剂盒相比, 金诺试剂盒检测敏感性 (D_{sc}) 为 84%, 检测特异性 (D_{sp}) 为 100%; 2 种试剂盒总符合率为 91.11%, $P_o = 0.911$, $P_e = 0.496$, $Kappa = 0.824$, 说明 2 种试剂盒检测完全符合。

表 2 2 种试剂盒 PRRSV 抗体 ELISA 检测结果

Table 2 Test results of PRRSV antibody ELISA by two kinds of kits

血清来源 Origin of serum	序号 No.	编号 Number	IDEXX 试剂盒 IDEXX kit			金诺试剂盒 Jinnuo kit		
			OD 值 OD value	S/P	结果 Result	OD 值 OD value	S/P	结果 Result
202109	1	1102	0.639	1.101	+	0.799	0.660	+
	2	1105	0.647	1.116	+	0.659	0.512	+
	3	1106	0.553	0.940	+	0.575	0.424	+
	4	1096	0.541	0.917	+	0.622	0.473	+
	5	1095	0.471	0.786	+	0.605	0.455	+
	6	1094	0.461	0.767	+	0.445	0.286	-
	7	1091	0.437	0.722	+	0.468	0.310	-
	8	1087	0.792	1.389	+	0.771	0.631	+
	9	1086	0.794	1.392	+	0.848	0.712	+
	10	1810	1.258	2.264	+	1.673	1.585	+
	11	1816	1.309	2.360	+	1.546	1.451	+
	12	1817	0.469	0.782	+	0.557	0.405	+
	13	1864	0.802	1.408	+	0.841	0.705	+
	14	1911	0.971	1.725	+	0.940	0.810	+
	15	1917	0.317	0.497	+	0.341	0.176	-
202101	16	253	0.510	0.859	+	0.884	0.750	+
	17	260	1.504	2.726	+	1.811	1.731	+
	18	263	1.347	2.431	+	1.681	1.593	+
	19	265	1.534	2.782	+	1.792	1.711	+
	20	272	0.599	1.026	+	1.152	1.034	+
	21	287	0.537	0.910	+	0.916	0.784	+
	22	288	1.024	1.824	+	1.535	1.439	+
202103	23	881	0.060	0.014	-	0.063	-0.118	-
	24	0817	0.044	-0.016	-	0.069	-0.112	-
	25	1215	0.045	-0.014	-	0.074	-0.106	-
	26	1217	0.057	0.008	-	0.120	-0.058	-
	27	1143	0.046	-0.012	-	0.082	-0.098	-
	28	1255	0.052	-0.001	-	0.063	-0.118	-
	29	1265	0.050	-0.005	-	0.075	-0.105	-
	30	1272	0.062	0.018	-	0.095	-0.084	-
	31	1282	0.048	-0.008	-	0.092	-0.087	-
	32	111	0.046	-0.012	-	0.069	-0.112	-
	33	030	0.051	-0.003	-	0.071	-0.109	-
202105	34	033	0.044	-0.016	-	0.063	-0.118	-
	35	532	1.615	2.934	+	1.961	1.889	+
202201	36	518	0.793	1.391	+	0.605	0.455	+
	37	576	0.612	1.051	+	0.529	0.375	-
金诺自带 Jinnuo serum	38	标品 1	0.140	0.164	-	0.165	-0.010	-
	39	标品 2	0.131	0.147	-	0.150	-0.026	-
	40	标品 3	0.130	0.146	-	0.169	-0.006	-
	41	标品 4	0.134	0.153	-	0.174	-0.001	-
	42	质 1	0.079	0.050	-	0.094	-0.085	-
	43	质 2	0.076	0.044	-	0.094	-0.085	-
	44	质 3	0.076	0.044	-	0.096	-0.083	-
	45	质 4	0.091	0.072	-	0.100	-0.079	-

表 3 金诺试剂盒与 IDEXX 试剂盒的比较

Table 3 Comparison between Jinnuo kit and IDEXX kit

试剂盒种类 Kit kinds	IDEXX 试剂盒 IDEXX kit			
	阳性 Positive	阴性 Negative	合计 Total	
金诺试剂盒 Jinnuo kit	阳性	21	0	21
	阴性	4	20	24
	合计	25	20	45
符合率 Coincidence rate//%	84	100	91.11	

2.2 敏感性分析 根据表 2 检测结果,选取不同 S/P 值的 3 份阳性血清进行 1×、2×、4×、8×、16×、32×、64×、128× 倍比稀释。选择 2 种试剂盒进行检测,比较 2 种试剂盒的检测敏感

性。结果显示:2 种试剂盒的抗体检测结果与稀释度成正比,详见表 4。

表 4 IDEXX 与金诺试剂盒检测敏感性的比较

Table 4 The detection sensitivity comparison between IDEXX kit and Jinnuo kit

血清来源 Origin of serum	稀释倍数 Dilution ratio	IDEXX 试剂盒 IDEXX kit			金诺试剂盒 Jinnuo kit		
		OD 值 OD value	S/P	结果 Result	OD 值 OD value	S/P	结果 Result
532	1×	1.615	2.934	+	1.961	1.889	+
	2×	1.488	2.696	+	1.721	1.636	+
	4×	1.333	2.405	+	1.538	1.442	+
	8×	1.075	1.920	+	1.317	1.208	+
	16×	0.781	1.368	+	0.921	0.790	+
	32×	0.535	0.906	+	0.617	0.468	+
	64×	0.336	0.532	+	0.429	0.269	-
	128×	0.215	0.305	-	0.279	0.111	-
518	1×	0.793	1.391	+	0.605	0.455	+
	2×	0.577	0.985	+	0.431	0.271	-
	4×	0.338	0.536	+	0.268	0.099	-
	8×	0.212	0.300	-	0.177	0.003	-
	16×	0.135	0.155	-	0.152	-0.024	-
	32×	0.091	0.072	-	0.102	-0.077	-
	64×	0.067	0.027	-	0.086	-0.094	-
	128×	0.059	0.012	-	0.083	-0.097	-
576	1×	0.612	1.051	+	0.529	0.375	-
	2×	0.330	0.521	+	0.306	0.139	-
	4×	0.209	0.294	-	0.190	0.016	-
	8×	0.140	0.164	-	0.135	-0.042	-
	16×	0.099	0.087	-	0.109	-0.069	-
	32×	0.071	0.035	-	0.086	-0.094	-
	64×	0.060	0.014	-	0.079	-0.101	-
	128×	0.054	0.003	-	0.077	-0.103	-

强阳性血清样品(血清编号 532) IDEXX 和金诺试剂盒的最高稀释倍数分别为 64× 和 32×; 阳性血清样品(血清编号 518) IDEXX 和金诺试剂盒的最高稀释倍数分别为 4× 和 1×; 弱阳性血清样品(血清编号 576) IDEXX 和金诺试剂盒的最高稀释倍数分别为 2× 和未检出; IDEXX 试剂盒的检测敏感性高于金诺试剂盒(表 5)。

2.3 特异性分析 用 2 种试剂盒对 PEDV、CSFV、PCV2、PRVgE、Mhp 病原共 10 份阳性血清进行检测,每种病原各 2 份血清。结果显示:PRRSV 抗体全部呈阴性,均无交叉反应,说明金诺试剂盒和 IDEXX 试剂盒特异性良好,具体见表 6。

2.4 批内重复性分析 用相同批次的 IDEXX 试剂盒和金诺试剂盒对 6 份猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体阳性血清和 2

份阴性血清(血清编号分别为 811 和 111) 进行 3 次重复检测。结果显示:2 种试剂盒重复性较好,阴性血液样本 S/P 值均小于 0.4。每种试剂盒进行 3 次重复检测,阳性血清样品 S/P 值整体一致(图 1)。

表 5 2 种试剂盒检测敏感性的比较

Table 5 The detection sensitivity comparison between the two kinds of kits

试剂盒种类 Kinds of kits	血清阳性最高稀释倍数 Seropositive highest dilution		
	532	518	576
IDEXX 试剂盒 IDEXX kit	64×	4×	2×
金诺试剂盒 Jinnuo kit	32×	1×	—

表 6 IDEXX 与金诺试剂盒检测特异性的比较

Table 6 Comparison of the detection specificity between IDEXX kit and Jinuo kit

血清来源 Origin of serum	序号 No.	编号 Number	IDEXX 试剂盒 IDEXX kit			金诺试剂盒 Jinnuo kit		
			OD 值 OD value	S/P 值	结果 Result	OD 值 OD value	S/P 值	结果 Result
PEDV 阳性 PEDV positive	3	410	0.058	-0.007	-	0.083	-0.132	-
	4	406	0.048	-0.008	-	0.083	-0.097	-
CSFV 阳性 CSFV positive	9	776	0.067	0.027	-	0.089	-0.090	-
	10	773	0.060	0.014	-	0.081	-0.099	-
PCV2 阳性 PCV2 positive	1	321	0.048	-0.008	-	0.069	-0.112	-
	2	913	0.048	-0.008	-	0.073	-0.107	-
PRV gE 阳性 PRV gE positive	5	0543	0.050	-0.005	-	0.070	-0.111	-
	6	0554	0.055	-0.012	-	0.080	-0.136	-
Mhp 阳性 Mhp positive	7	1	0.045	-0.014	-	0.071	-0.109	-
	8	3	0.043	-0.018	-	0.075	-0.105	-

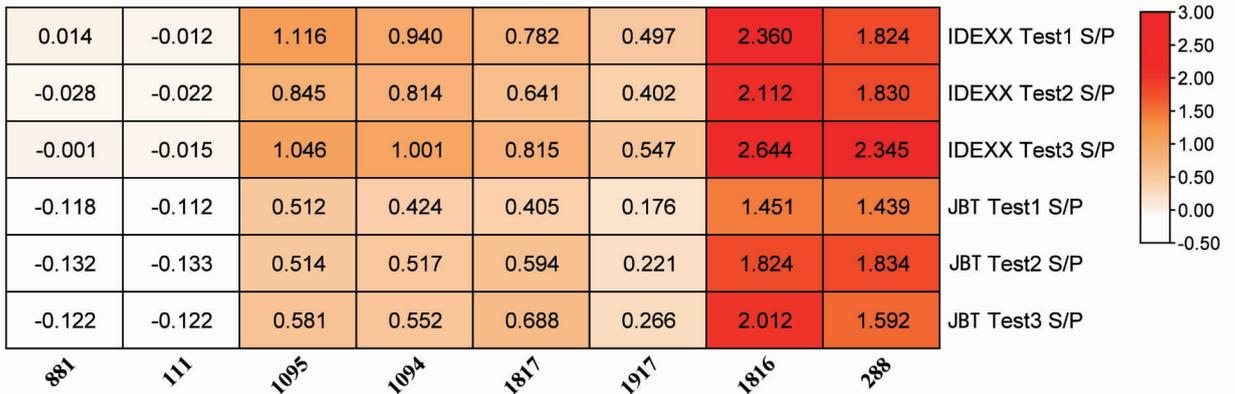


图 1 2 种试剂盒重复性检测热图分析

Fig.1 Heat map analysis of repeatability detection of two kinds of kits

阳性样品的 IDEXX 试剂盒和金诺试剂盒 3 次检测的 S/P 值变异系数平均值分别为 13.05% 和 15.85%，说明 IDEXX 试剂盒批内重复性均较好，金诺试剂盒批内重复性不如 IDEXX 试剂盒(表 7)。

表 7 2 种试剂盒批内重复性的比较

Table 7 Comparison of in-batch repeatability of the two kinds of kits

试剂盒种类 Kinds of kits	样品种类 Sample kinds	编号 No.	S/P ₁	S/P ₂	S/P ₃	平均值 Average	标准差 Standard deviation	变异系数 Coefficient of varia- tion//%	变异系 数绝对值 Absolute coefficient of varia- tion//%	CV 平均值 CV average %
IDEXX 试剂盒 IDEXX kit	阴性样品	881	0.014	-0.028	-0.001	-0.005	0.021	-420.000	420.000	-225.62
		111	-0.012	-0.022	-0.015	-0.016	0.005	-31.250	31.250	
	阳性样品	1095	1.116	0.845	1.046	1.002	0.141	14.069	14.069	
		1094	0.940	0.814	1.001	0.918	0.095	10.391	10.391	
		1817	0.782	0.641	0.815	0.746	0.092	12.371	12.371	
		1917	0.497	0.402	0.547	0.482	0.074	15.317	15.317	
		1816	2.360	2.112	2.644	2.372	0.266	11.210	11.210	
		288	1.824	1.830	2.345	2.000	0.299	14.937	14.937	
金诺试剂盒 Jinnuo kit	阴性样品	881	-0.118	-0.132	-0.122	-0.124	0.007	-5.645	5.645	7.33
		111	-0.112	-0.133	-0.122	-0.122	0.011	-9.016	9.016	
	阳性样品	1095	0.512	0.514	0.581	0.536	0.039	7.238	7.238	
		1094	0.424	0.517	0.552	0.498	0.066	13.356	13.356	
		1817	0.405	0.594	0.688	0.562	0.144	25.651	25.651	
		1917	0.176	0.221	0.266	0.221	0.045	20.370	20.370	
		1816	1.451	1.824	2.012	1.762	0.286	16.222	16.222	
		288	1.439	1.834	1.592	1.622	0.199	12.289	12.289	

3 讨论

目前商品化检测试剂盒众多,但质量评估方法并不完善,只能在使用时通过主观判断或者简单的数据对比来评估

试剂盒的检测效果^[8]。阮周曦等^[9]利用 4 种 ELISA 试剂盒开展猪繁殖与呼吸综合征抗体水平监测和免疫效果评估,结(下转第 85 页)

7月份高温以后自行脱落。调查发现水温在 27℃ 以上时鲢鳙鱼鳃丝寄生的中华湖蛭数量明显减少,仅 2~4 条/尾。中华湖蛭成虫背面深褐色,腹面灰白,与鱼鳃颜色较为相似,而且寄生在鳃瓣之间,不容易被发现。寄生处鱼鳃表皮组织受到破坏,出现发白、溃烂的现象,有的鱼鳃甚至出现空洞,引起贫血和继发感染,影响鲢鳙鱼正常生长。

大水面鱼类的寄生虫防控一直是渔业病害防控中的难点。有关鱼蛭的药物防控报道较少,唐毅等^[6]对宽体金线蛭 (*Whitmania pigra*) 幼体的急性毒性试验结果表明,宽体金线蛭幼蛭对伊维菌素、苯扎溴铵、戊二醛敏感,而对高锰酸钾、聚维酮碘、二氧化氯不敏感。洪万树等^[7]研究发现单独使用 1 mg/L 敌百虫、100~200 mg/L 福尔马林或者二者混合使用对大弹涂鱼 (*Boleophthalmus pectinirostris*) 寄生鱼蛭的杀灭效果较好,而硫酸铜对其无明显杀灭作用,且高浓度硫酸铜会使宿主产生不适反应。王永波等^[8]认为 1 mg/L 的敌百虫和福尔马林对石斑鱼 (*Epinephelus* sp.) 鱼蛭的杀灭效果有限,0.05 mL/L 阿维菌素可以有效杀灭石斑鱼鱼蛭。敌百虫作为一种有机磷酸杀虫剂,因其高效、低毒、低残留性而被广泛用于水产养殖类寄生虫的防治,但其长期使用仍会对鱼体造成一定的毒害作用,会产生鱼体残留和水质污染等问题^[9-10]。另外,王永波等^[8]发现南美白对虾 (*Penaeus vannamei*) 可以摄食 1~4 cm 的鱼蛭,石斑鱼和虾苗混养可以一定程度上防止鱼蛭的暴发。

有别于池塘或小水体鱼蛭的用药,对水库鲢、鳙鱼寄生的中华湖蛭防控,从经济和可操作的角度来看,将鲢、鳙鱼进行短时间浸浴的效果最好。为了保证鱼产品的安全性,笔者建议使用 400.00 mg/L 川楝子、100.00 mg/L 生石灰浸浴 1 h 进行杀虫后清水暂养,一般虫体会死亡脱落。川楝子所含的川楝素对寄生虫肠肌产生兴奋、麻痹的作用,最终导致虫体能量不足,附着能力降低,继而被驱离于体外^[11]。王高学

(上接第 81 页)

果显示 4 种试剂盒的 Kappa 值均大于 0.90,但不同试剂盒的检测时长有差异,在检测工作中应根据具体情况合理选择试剂盒。

该试验检测结果表明,从敏感性来看,与金诺试剂盒相比,IDEXX 试剂盒更加灵敏,金诺试剂盒检测敏感性 (D_{sc}) 为 84%,检测特异性 (D_{sp}) 为 100%,特异性良好;总符合率为 91.11%, $P_o = 0.911$, $P_e = 0.496$, $Kappa = 0.824$,说明 2 种试剂盒特异性高度一致,IDEXX 试剂盒敏感性高于金诺试剂盒。

多年来,ELISA 检测方法被广泛应用于实验室的多种检测项目^[10]。能否刺激机体产生有效的免疫保护都需要进行免疫效果的评估,采取积极有效的评估方法对于检验猪场的疫苗免疫效果十分重要。实验室可从检测目的、检测成本及试剂盒操作流程简化程度等方面综合考虑,选择相应的试剂盒。该试验旨在了解 2 种 PRRSV 抗体检测试剂盒的检测效果,为从事相关检测工作的科研人员提供数据支持和理论依据,从而更好地为临床检测工作服务。

等^[12]研究 22 种植物提取液以及川楝素等化合物对金鱼指环虫的杀灭效果,发现川楝素对指环虫的杀灭作用最强。王大鹏等^[13]研究发现将刺激隐核虫 (*Cryptocaryon irritans*) 包裹置于浓度 60 mg/L、由苦楝树叶和其他几味中草药制成的复方药剂中浸浴 4.0~4.5 h,可彻底将虫体杀灭。生石灰的作用机理是通过提高水体 pH 来杀灭水体中的寄生虫或细菌等,最终在水中形成 $CaCO_3$,因而它是无残留、绿色环保的水产常用药物之一^[14]。虽然川楝子、生石灰等短时间浸浴对中华湖蛭具有较好的杀灭效果,但无法对库区感染中华湖蛭的鲢鳙鱼进行防控。因此,今后仍需要进一步研究中华湖蛭绿色安全的生态防控技术,实现长期和有效控制。

参考文献

- [1] 刘建康,谢平.揭开武汉东湖蓝藻水华消失之谜[J].长江流域资源与环境,1999,8(3):312-319.
- [2] 杨潼.关于湖蛭属及其一新种的记述[J].水生生物学报,1987,11(3):268-273.
- [3] 肖凌.水蛭 DNA 鉴定、活性多肽分离及其作用机制的研究[D].武汉:湖北中医药大学,2015.
- [4] 刘冉,曹志会,赵月,等.PFOA 和 PFOS 对大型蚤急性毒性试验研究[J].安全与环境工程,2015,22(4):51-55,74.
- [5] 杨潼.中国动物志:环节动物门 蛭纲[M].北京:科学出版社,1996:97-100.
- [6] 唐毅,吴荣华,袁渊,等.六种常用渔药对宽体金线蛭的急性毒性试验[J].淡水渔业,2019,49(3):78-82.
- [7] 洪万树,张其永.大弹涂鱼寄生蛭治疗实验研究[J].水产科学,2000,19(2):7-10.
- [8] 王永波,符书源,李丙顺,等.池塘养殖石斑鱼鱼蛭病防治实验[J].热带生物学报,2011,2(1):59-62.
- [9] 徐维娜,张鑫,刘文斌.敌百虫对异育银鲫 (*Carassius auratus gibelio*) 毒性及其影响因素的研究[J].农业环境科学学报,2007,26(S1):68-71.
- [10] ABUBAKAR M,ALI H,ALI SHAD S, et al. Trichlorfon resistance: Its stability and impacts on biological parameters of *Bactrocera zonata* (Diptera: Tephritidae) [J]. Applied entomology and zoology, 2021, 56(4): 473-482.
- [11] 孙睿雷,王荻,刘红柏.中草药防治淡水鱼小瓜虫病的研究进展[J].生物技术通讯,2015,26(2):301-304.
- [12] 王高学,程超,陈安良,等.22 种植物提取物及其 6 种化合物对鱼类指环虫的杀灭研究[J].西北植物学报,2006,26(12):2567-2573.
- [13] 王大鹏,何安尤,谢达祥,等.龙胆石斑刺激隐核虫病防治技术研究[J].水产科技情报,2013,40(1):22-26.
- [14] 周彤彤,常国亮,吴楠,等.生石灰对中华绒螯蟹消化酶活性及免疫功能的影响[J].淮阴师范学院学报(自然科学版),2015,14(1):56-59.

参考文献

- [1] 马思续,崔春晓,张留君,等.不同包被抗原检测 PRRS 抗体间接 ELISA 方法的建立[J].中国兽医学报,2018,38(6):1082-1087.
- [2] 佟秀英,陈国峰.猪繁殖与呼吸综合征免疫学分析[J].中国畜牧业,2023(14):50-51.
- [3] 吴君英,韦林.规模化猪场猪繁殖与呼吸综合征的诊断与防控[J].北方畜牧业,2023(6):39-40.
- [4] 官家明,施开创,陈汉忠,等.猪繁殖与呼吸综合征病毒检测技术研究进展[J].动物医学进展,2013,34(8):88-92.
- [5] 李乃果,贾松涛.不同进口蓝耳病病原抗体 ELISA 检测试剂盒比较及应用浅析[J].中国猪业,2019,14(5):82-84.
- [6] OIE. Principles and methods of validation of diagnostic assays for infectious diseases[M]//World Organisation for Animal Health. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Paris: OIE, 2013.
- [7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 出入境动物检验检疫试剂盒质量评价规程: SN/T 2435—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [8] 高登军,刘国民,陈广林,等.不同品牌试剂盒检测猪口蹄疫 O 型、A 型抗体水平对比评估[J].兽医导刊,2023(1):35-37.
- [9] 阮周曦,杨俊兴,黄韞,等.4 种检测猪繁殖与呼吸综合征抗体间接 ELISA 试剂盒的比较[J].中国口岸科学技术,2020(6):40-45.
- [10] 李燕红,王敏,夏晓.ELISA 检测过程中影响因素及应对策略[J].人人健康,2019(22):250-251.