

五种动物疫病诊断方法研究进展

邱 杨¹, 赵 丽¹, 卢小雨^{2*}, 刘建丽¹, 兰文生², 王 伟¹, 陈进会¹

(1. 东莞出入境检验检疫局, 广东东莞 523072; 2. 深圳出入境检验检疫局, 广东深圳 518045)

摘 要:高致病性动物疫病对人畜危害严重, 需要采取紧急、严厉的强制预防、控制或扑灭措施。疫病暴发前的科学合理的预防、疫病暴发时及时准确的诊断是防控这类疫病不可缺少的重要环节。论文综合概述了新城疫、口蹄疫、猪流感 H1N1 亚型、猪瘟、高致病性猪蓝耳病 5 种主要高致病性动物疫病的诊断方法研究进展。

关键词:高致病性动物疫病; 诊断; 进展

中图分类号: S854.4

文献标识码: A

文章编号: 1007-5038(2012)12-0156-05

根据农业部于 2008 年 12 月 11 日公布的动物疫病名录, 动物疫病分为一、二、三类。其中一类动物疫病具有高致病性, 主要有 17 种, 分别是口蹄疫、猪水

疱病、猪瘟、非洲猪瘟、高致病性猪蓝耳病、非洲马瘟、牛瘟、牛传染性胸膜肺炎、牛海绵状脑病、痒病、蓝舌病、小反刍兽疫、绵羊痘和山羊痘、高致病性禽流感、

收稿日期: 2012-07-11

基金项目: 质检公益性行业科研专项项目(201110036); 东莞市高等院校科研机构 and 医疗卫生单位科技计划项目(201010810110)

作者简介: 邱 杨(1960-), 女, 山东沂南人, 高级兽医师, 本科, 主要从事动物、动物产品及动物源性食品的检验检疫。

* 通讯作者

- [14] Koczura R, Mokracka J, Kaznowski A. The *Yersinia* high-pathogenicity island in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from polymicrobial infections [J]. *Pol J Microbiol*, 2012, 61(1): 71-73.
- [15] 胡 静. 耶尔森菌强毒力岛的水平转移机制[J]. 国外医学: 流行病学传染病学分册, 2002, 29(3): 167-170.
- [16] Schuber T, Darlu P. Role of intraspecies recombination in the spread of pathogenicity islands within the *Escherichia coli* species [J]. *PLoS Pathog* 2009, 5(1): e1000257.
- [17] 卢 珊, 任志鸿. 携带 HPI 毒力岛的大肠杆菌的毒力基因分析 [J]. 中国人兽共患病学报, 2007, 23 (7): 639.
- [18] Miethke M, Marahiel M A. Siderophore-based iron acquisition and pathogen control [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2007, 71, 413-451.
- [19] Garenaux A, Caza M, Dozois C M, et al. The ins and outs of siderophore mediated iron uptake by extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* [J]. *Vet Microbiol*, 2011, 153: 89-98.
- [20] Paauw A. Yersiniabactin reduces the respiratory oxidative stress response of innate immune cells [J]. *PLoS ONE*, 2009, 4(12): e8240.
- [21] Miller M C, Fetherston J D, et al. Reduced synthesis of the Ybt siderophore or production of aberrant Ybt-like molecules activates transcription of yersiniabactin genes in *Yersinia pestis* [J]. *Microbiology*, 2010, 156: 2226-2238.

Progress on the HPI of Pathogenic *Escherichia coli*

ZANG Ya-ting, YAN Yu-lin, GAO Hong, GAO Li-bo, ZHAO Ru, LI Xiang-feng, SHAO Zhi-yong, LU Qin, CUI Yan-yan

(College of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan, 650201, China)

Abstract: The high-pathogenicity island(HPI) is first found in *Yersinia*, which is also found in pathogenic *Escherichia coli* for horizontal gene transfer. HPI has become a hot topic in basic medicine and life science. With further studies, there is a very intimate relationship between HPI and human and animals. Current research discovered that siderophore and bacterial virulence has a very important relation. This review described the pathogenic *Escherichia coli* high-pathogenicity island: the basic characteristics, the epidemiological characteristics, the acquisition for HPI and the relationship between HPI and pathogenicity.

Key words: pathogenic *Escherichia coli*; HPI; gene

新城疫、鲤春病毒血症和白斑综合征。高致病性动物疫病以传播迅速、发病率高、病死率高等特点给养殖业造成严重威胁和危害,甚至对人类健康与生命安全造成危害。高致病性动物疫病给全球养殖业造成巨大的经济损失,特别是新城疫、口蹄疫、猪流感 H1N1 亚型、猪瘟、高致病性猪蓝耳病等疫病频发,给防控带来很大的挑战。

随着我国与世界各国贸易往来不断增加,国内畜禽及其产品流通渠道增多,动物疫病传播途径和机会变得更多,疫病传播的速度变得更快。重大动物疫病不断发生,新的动物疫病不断出现,再加上人类生活方式的不断改善以及动物饲养环境的变化,动物疫病变得更加复杂和多样化,这些使得重大动物疫病给人类造成了更大的威胁。因此,准确诊断对这些疫病的防控有重大意义。本文对 5 种主要高致病性动物疫病诊断方法的研究进展进行了概述。

1 临床及病理诊断

1.1 临床症状诊断

临床症状诊断是通过比对患病病畜与典型征候间的相似程度所做出的初步或疑似诊断。一般为临床检查,系统检查血、尿、粪等常规化验,必要时还可用其他特殊检查方法。例如,鸡感染新城疫病毒的潜伏期为 2 d~15 d,平均 7 d,病鸡表现为呼吸困难、腹泻、排绿色粪便,采食量减少,甚至停止,精神不振,产蛋量下降,同时出现软皮蛋、薄壳蛋、沙壳蛋和小型蛋。若临床出现典型新城疫症状可做出疑似诊断。

1.2 病理学诊断

病理学诊断是指对多例患传染病死亡的畜禽尸体进行剖检,查看其病理变化,通过对比患病病畜剖检情况与典型剖检情况的相似程度所做出的初步或疑似诊断;或取病料送检,进一步做病理组织学诊断。例如,高致病性猪蓝耳病的剖检情况为病猪胸腔、腹腔内有大量黄色积液和纤维性渗出物,呈现多发性浆液纤维索性胸膜炎和腹膜炎。肺脏水肿,呈斑驳状到褐色大理石样病变;肺间质增宽,间质性肺炎病变明显。淋巴结,特别是腹股沟淋巴结和肺门淋巴结明显肿大。部分病死猪肾脏肿大,呈褐色或土黄色,质地较脆,有淤血现象;脾脏肿大、质脆;个别猪有消化道病变,主要表现为胃黏膜大面积充血,出血^[1]。若剖检情况与典型高致病性猪蓝耳病剖检情况相似,即可做出疑似诊断。

虽然临床症状诊断和病理学诊断可以对患病动物方便快速的做出初步或疑似诊断,但在疫病的潜伏期较难准确判断,并且许多高致病性疫病存在许多类似的临床症状,如与口蹄疫有类似症状的疫病有水疱性口

炎(VS)、猪水疱病(SVD)、猪水疱疹(SVE)等,不易直接做出临床诊断,可疑病料必须借助实验室检测才能进行确诊。

2 实验室诊断方法

2.1 病原生物学诊断

病原生物学诊断技术诊断疫病的主要方法是病原微生物的分离鉴定,根据分离得到的样本的形态或理化性质来进行诊断。如病毒分离鉴定是诊断口蹄疫(FMD)的最可靠的方法,主要应用细胞培养和动物接种来分离病毒^[2]。又如从待检病料样品中分离和培养猪流感病毒(SIV)在检测宿主范围和致病机理的研究及疫苗生产等方面都很重要^[3]。同时也有许多报道通过病毒分离鉴定了猪流感病毒的亚型。唐续等^[4]在 2009 年报道分离了一株猪流感病毒并鉴定其为 H1N1 亚型毒株。

2.2 血清学诊断

2.2.1 酶联免疫吸附试验 酶联免疫吸附试验(ELISA)的基本原理是将抗原或者抗体吸附于固相载体,在载体上进行免疫酶反应,通过底物显色后用肉眼或者分光光度计判定结果。作为一种免疫诊断技术,ELISA 自 20 世纪 70 年代初问世以来发展十分迅速,已被广泛用于生物学和医学的各个领域,并且随着技术进步,学者们在不断改进传统 ELISA 的同时,还将 ELISA 技术与单克隆抗体(MAb)、PCR、生物素-亲和素(biotin-avidin)系统、Dot-blot 等技术相结合,产生了多种新型 ELISA 技术^[5]。孙元等^[6]利用杆状病毒表达的猪痘病毒(CSFV)重组 E2 蛋白作为包被抗原,辣根过氧化物酶标记的 E2 蛋白中和性单克隆抗体作为竞争抗体,建立了一种用于检测 CSFV 中和抗体的重组 E2 蛋白竞争抑制 ELISA(CI-ELISA)方法。Ma L N 等^[8]通过对比超过 100 篇 ELISA 用于 FMD 诊断及抗原分析的文献中 ELISA 的灵敏度和特异性,发现抗体捕获竞争性 ELISA 有更高的特异性,而 RT-PCR ELISA 有较高的灵敏度。

2.2.2 血凝及血凝抑制试验 血凝(HA)及血凝抑制(HI)试验在新城疫和猪流感等的诊断中有一定的应用。由于 NDV 病毒粒子囊膜上的血凝素能凝集鸡和多种动物的红细胞,出现所谓红细胞凝集现象(HA),而 NDV 作为抗原进入鸡体后产生的抗血凝素抗体又能抑制此凝集现象的发生(HI),所以 HA 和 HI 试验可以应用于对 NDV 进行定性和定量检测。而猪流感病毒(SIV)颗粒表面的 HA 蛋白具有识别并吸附红细胞表面受体的结构。同时,HA 蛋白的抗体与该蛋白受体的特异性结合能够抑制 HA 蛋白与红细胞受体的结合,故而在猪流感的诊断中血凝试

验也是常用的方法之一。

2.2.3 免疫过氧化酶单层细胞试验 免疫过氧化酶单层细胞试验(IPMA)可用于诊断高致病性猪蓝耳病和猪流感等疫病。目前欧洲国家广泛应用 IPMA 诊断高致病性猪蓝耳病,其敏感性和特异性都比较好,可用于 PRRSV 的病毒鉴定及血清抗体检测。该技术也可用于检测猪血清中的 SIV 抗体,其特点是特异性强,可检出感染 3 d 后的抗体效价。谭斌等^[9]建立了一种检测猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)血清抗体的免疫过氧化物酶单层细胞试验(IPMA),并组装成 PRRSV-IPMA 抗体检测试剂盒,该试剂盒检测 PRRSV 抗体具有较高的特异性和敏感性。

常用的中和试验有两种方法,即固定血清-稀释病毒法(病毒中和试验)和固定病毒-稀释血清法(血清中和试验),在猪流感、高致病性猪蓝耳病和口蹄疫等的诊断中都有一定的应用。血清中和试验(SN)是较敏感、特异的血清学方法,但只有抗体与病毒上的表面抗原相对应,特别是与吸附到宿主细胞上的病毒表面抗原相对应时才能取得确切的试验结果^[10]。SN 在研究应用中较广泛,但其存在操作复杂、时间较长(1周左右)等缺点,故较少用于临床进行疾病早期诊断。而病毒中和试验(VN)是世界动物卫生组织(OIE)推荐的检测口蹄疫病毒抗体的标准方法。VN 的优点是既可以鉴定抗原,又可以对血清抗体进行定量测定,缺点是需要培养单层细胞或饲养实验动物^[11]。

2.2.4 免疫荧光技术 免疫荧光技术又称荧光抗体技术,其原理是将不影响抗原抗体活性的荧光色素标记在抗体(或抗原)上,与其相应的抗原(或抗体)结合后,在荧光显微镜下呈现出一种特异性荧光。免疫荧光技术又可分为直接法和间接法,其在新城疫、猪瘟、高致病性猪蓝耳病、猪流感等的诊断中都有一定的应用。王元^[12]利用 PRRSV 单克隆抗体 1D12 作为一抗,建立了在冰冻切片中快速检测 PRRSV 抗原的免疫荧光方法,该方法可用于 PRRSV 感染的实验室快速诊断。免疫荧光技术的主要特点是特异性强、敏感性高、速度快,许多国家已将它作为执行猪瘟消灭计划的法定诊断试验^[13]。但其非特异性染色问题尚未完全解决,结果判定的客观性不足,技术程序也比较复杂,且需要荧光显微镜,设备较昂贵。

2.3 分子生物学诊断方法

2.3.1 聚合酶链反应 聚合酶链反应(PCR)因其具有简便、快速、灵敏度高、特异性强等特点,已成为最为广泛地应用于诊断重大疫病的分子生物学技术之一。核酸探针技术是利用核苷酸碱基顺序互补的原

理,用特异的基因探针即识别特异碱基序列(靶序列)的有标记的一段单链 DNA(或 RNA)分子,与被测定的靶序列互补,以检测被测靶序列的技术。因为每一种病原都具有独特的核酸片段,通过分离和标记这些片段就能制备出探针,用于疾病的诊断等研究。吕翠等^[23]以地高辛(DIG)标记猪流感病毒 M 基因的保守片段制成核酸探针,该核酸探针特异性强、敏感性高,最低能检出约 5 pg 的 H3 亚型 SIV RT-PCR 产物。核酸探针技术具有特异性强、准确可靠等优点,但需要合成核酸探针,诊断费用较高。应用 RT-PCR 已成功测定了多株 CSFV 的全基因序列,为猪瘟致病机理、免疫机制、检测防控提供了坚实的基础^[13]。薄清如等^[14]分别建立了 FMDV 群、O 型和 Asia1 型特异性实时荧光 RT-PCR 检测方法,设计了 FMDV 的 3D、VP3 和 3C 区域的引物和探针,结果是 3 种 FMDV 实时荧光定量 RT-PCR 方法均具有良好的特异性,可以很好地将 FMDV 与传染性牛鼻气管炎病毒、猪传染性胃肠炎病毒、赤羽病病毒和猪呼吸系统冠状病毒区分。Lurchachaiwong W 等^[15]对比了用于快速检测 PRRSV 的传统 RT-PCR 方法和基于传统 RT-PCR 建立的两新方法(一种使用嵌合荧光法,另一种使用探针化学法),结果显示两种方法都能用于 PRRSV 的快速检测,其灵敏度分别为 10^4 copies/ μ L 和 10^3 copies/ μ L。陈坚等^[16]在保守区域设计一对引物,并优化 RT-PCR 反应条件,建立了一种可检测出多种亚型猪源流感病毒的 RT-PCR 方法,且该方法具有高特异性和敏感性,适用于 SIV 的诊断和推广。Leifer I 等^[17]描述了一种以 NS5A 区域为模板的新型 CSFV rRT-PCR 系统,该方法能在不依赖 5' 非编码区的前提下提供对 CSFV 基因组的可靠检测。Zhang L 等^[18]阐述了一种快速、灵敏、精确的半套式 RT-PCR 用于诊断区分新城疫强毒和无毒毒株。

2.3.2 基因芯片 基因芯片的基本原理是将大量已知序列的寡聚核苷酸探针固定在玻璃等支持物上,然后与待测样本的 DNA 或 RNA 进行杂交,通过检测每个探针分子的杂交信号强度进而获取样品分子的数量和序列信息。该法可以同时完成对样品中多个序列的检测和分析。由于其具有的高通量、高集成、微量化、自动化、污染少、可多基因多标本平行检测等特点而被广泛应用于病原分型和疾病诊断。杨忠萃等^[19]开发了可同时区分 H5、H7、H9 亚型血凝素及 N1、N2 神经氨酸酶亚型的 DNA 芯片诊断技术,该方法可以快速诊断禽流感病毒的部分亚型。叶芬等^[20]建立猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)、猪瘟病毒(CSFV)和猪圆环病毒 2 型(PCV-2)基因芯片快速检

测体系。该基因芯片检测方法和 PCR/RT-PCR 检测方法符合率高达 92%,表明该检测技术能够用于临床病料的检测及快速诊断 PRRSV、CSFV 和 PCV-2 感染。杨若松等^[21]建立猪瘟病毒(CSFV)、高致病性猪蓝耳病病毒(PRRSV)、猪圆环病毒 2 型(PCV-2)及猪细小病毒(PPV)的基因芯片检测方法,对临床 150 份样品的检测结果显示,该方法具有良好的特异性、敏感性和重复性。王建东等^[22]完成了口蹄疫病毒基因芯片的制备。这些研究为基因芯片在高致病性动物疫病的应用奠定了基础。

2.4 其他诊断方法

2.4.1 逆转录-环介导等温扩增技术 逆转录-环介导等温扩增技术(RT-LAMP)是近几年才使用的一种新方法。LAMP 是 2000 年开发的一种新颖的恒温核酸扩增方法,其特点是针对靶基因的 6 个区域设计 4 种特异引物,利用一种链置换 DNA 聚合酶在等温条件(63℃左右)保温 30 min~60 min,即可完成核酸扩增反应。相较于传统 PCR,其具有以下优点,扩增效率高,特异性强,灵敏度高,成本低,大大缩短反应时间。秦智锋等^[24]建立了 FMDV RT-LAMP 的检测方法,作者设计了 6 条针对 FM2DV 3D 基因的 8 个位点的特异性引物,从 RNA 的提取到检测仅需要 75 min。其优点是程序简单、灵敏度和特异性高,适合现场检测,缺点是 FMDV RNA 抽提过程要在特定实验室进行。Yin S H 等^[25]建立了 CSFV RT-LAMP 的检测方法,该 RT-LAMP 检测方法具有比 RT-PCR 更高的灵敏性,且与其他相关猪病毒没有交叉反应出现。

2.4.2 生物传感器 生物传感器是指由一种生物敏感部件和转换器紧密结合,对特定种类化学物质或生物活性物质具有选择性和可逆响应的分析装置。其中 DNA 传感器是目前生物传感器中报道最多的一种,用于临床疫病诊断是 DNA 传感器的最大优势,它可以帮助动物卫生工作者从 DNA、RNA、蛋白质及其相互作用层次上了解疾病的发生、发展过程,有助于对疾病的及时诊断和治疗。国外已经有研究报道将生物传感器应用于口蹄疫的诊断检测。王海静^[26]建立了一种应用 SPR 生物传感器快速检测 H5 亚型禽流感病毒和 A 型流感病毒的方法,该方法具有快速、敏感、特异等特点。Wang R H 等^[27]研究了一种便携式阻抗生物传感器,用于检测禽流感,这种阻抗生物传感器技术比 rRT-PCR 具有更高的灵敏度和特异性,且检测所用时间少于 1 h。

2.4.3 纳米技术 纳米技术是指在纳米尺度下对物质进行制备、研究和工业化以及利用纳米尺度物

质进行交叉研究和工业化的一门综合性技术体系。将纳米技术应用到动物重大疫病诊断研究中,是现代科学应用的新发展。张鑫宇等^[28]针对非洲猪瘟病毒(ASFV)p72 基因序列,制备了特异性纳米金标记探针。PCR 扩增出的 p72 基因中的 651 bp 保守核酸序列,变性后与上述生物素探针及标记纳米金探针进行杂交,杂交产物加入吸附链霉亲和素的酶标板,银染增强法对纳米金标记探针进行信号放大。结果表明,制备的纳米金探针经银染放大后,在酶标板中形成肉眼可见的黑色沉淀,可有效检测扩增出的 p72 基因,检测核酸浓度达到 10 fmol/L,可用于 ASF 快速诊断。目前荧光实时定量 PCR 技术中使用的引物是通过荧光染料进行标记,但荧光染料稳定性差、检测光谱范围小。纳米材料制成的发光物具有光谱范围广、稳定性好等优点。金、银纳米粒子标记物,在加入了荧光染料后,可以更方便的看到特定受体和蛋白发生反应。由于纳米标志物在同一光谱下可以有多种荧光,所以可以同时标记多个探针,对样品同时进行多种核酸检测,大大提高了检测的效率。

3 展望

近几年来重大动物疫病的防控研究已有了很大突破。在诊断方面,传统诊断方法得到不断改进,新的诊断技术不断产生,其中血清学和分子生物学诊断技术已经成为重大动物疫病诊断方法之一,而在这两种诊断方法中,ELISA、PCR 成为检测疫病病原的主要方式。同时新技术如基因芯片技术也逐渐成熟并广泛应用于疫病诊断。但是从以上所述可以看出,有的方法灵敏度不高、特异性不强,有的方法检测时间过长,有的方法成本偏高,有的方法则需要特殊的实验环境或需要特殊的仪器设备。因此,找到一种快捷、方便、廉价、高效、操作性强的检测方法依然是今后研究的热点。

当前,纳米技术正成为各国科技界所关注的焦点。纳米材料的特殊结构决定了它的特殊性能,它可以产生四大效应,即小尺寸效应、量子效应(含宏观量子隧道效应)、表面效应和界面效应,从而表现出许多优异性能和全新的功能。虽然纳米技术在动物重大疫病诊断研究中的应用时间不长,但由于纳米材料理化性质的奇特性,它的应用潜力非常大。纳米技术作为一项新兴技术将在动物医学中发挥积极的作用,在动物疫病研究和应用上也将产生新的突破。

参考文献:

[1] 池海蓬,于 闯,赵 崇,等.高致病性猪蓝耳病现场诊断及预

- 防措施[J]. 现代畜牧兽医, 2009(8):15.
- [2] 刘明, 徐娜, 李志勇, 等. 口蹄疫诊断技术的研究进展[J]. 生物技术通报, 2010(5):70-73.
- [3] 李国娟, 柳纪省, 李宝玉, 等. 猪流感的诊断技术研究进展[J]. 生物技术通报, 2010(6):75-79.
- [4] 唐续, 杨焕良, 鄢明华, 等. 一株人源 H1N1 亚型猪流感病毒的进化分析与生物学特性研究[J]. 中国预防兽医学报, 2012, (4):270-273.
- [5] 库大亮, 李冬. 酶联免疫吸附试验在口蹄疫诊断中的研究进展[J]. 中国农学通报, 2011, 27(29):27-32.
- [6] 梁冰冰, 孙元, 彭伍平, 等. 猪瘟病毒中和抗体竞争抑制 ELISA 检测方法的建立[J]. 中国兽医科技, 2008(11):957-961.
- [8] Ma L N, Zhang J, Chen H T, et al. An overview on ELISA techniques for FMD [J]. *Virology*, 2011(8):419.
- [9] 谭斌, 刘长明, 危艳武, 等. PRRSV-IPMA 抗体检测试剂盒的研制及其应用[J]. 中国兽医科学, 2006(11):880-884.
- [10] 杨鹏辉, 杨璐芳. 流感病毒呼吸道粘膜感染免疫防御机制的研究进展[J]. 国际免疫学杂志, 2006, 29(5):305-309.
- [11] 武刚, 王洪梅, 刘晓, 等. 口蹄疫诊断技术研究进展[J]. 家畜生态学报, 2011, 32(3):100-105.
- [12] 王元. PRRSV NVDC-JXA1 株膜基质蛋白单克隆抗体的研制及冰冻切片免疫荧光技术快速检测 PRRSV 抗原[D]. 新疆乌鲁木齐:新疆农业大学, 2009.
- [13] 叶芬, 蔡家利. 猪瘟诊断方法的研究进展[J]. 四川畜牧兽医, 2010(9):28-30.
- [14] 薄清如, 罗宝正, 杨素, 等. 荧光 RT-PCR 鉴别诊断 O 型和 Asia1 型口蹄疫病毒方法的建立[J]. 农业生物技术学报, 2009, 17(1):24-28.
- [15] Lurchachaiwong W, Payungporn S, Srisatidnarakul U, et al. Rapid detection and strain identification of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) by real-time RT-PCR[J]. *Lett Appl Microbiol*, 2008(46):55-60.
- [16] 陈坚, 刘业兵, 张磊, 等. 猪流感 RT-PCR 诊断方法的建立[J]. 中国兽药杂志, 2009, 43(11):17-20.
- [17] Leifer I, Blome S, Beer M, et al. Development of a highly sensitive real-time RT-PCR protocol for the detection of classical swine fever virus independent of the 5' untranslated region[J]. *J Virol Meth*, 2011(171):314-317.
- [18] Zhang L, Pan Z M, Geng S Z, et al. Sensitive, semi-nested RT-PCR amplification of fusion gene sequences for the rapid detection and differentiation of Newcastle disease virus[J]. *Res Vet Sci*, 2010, 89:282-289.
- [19] 杨志苹, 王秀荣, 石霖, 等. 区分禽流感病毒亚型诊断基因芯片的构建[J]. 中国动物检疫, 2008, 25(10):29-32.
- [20] 叶芬, 蔡家利, 王显, 等. 猪瘟、猪圆环病毒病和猪繁殖与呼吸综合征寡核苷酸芯片诊断方法的建立与初步应用[J]. 中国兽医学报, 2011(10):1395-1399.
- [21] 杨若松, 姜金庆, 张志, 等. 4 种猪群常见病毒基因芯片检测方法的建立与应用[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2012, 40(3):34-38.
- [22] 王建东, 郭建宏, 杨春生, 等. 基因芯片技术及口蹄疫病毒基因芯片研究进展[J]. 动物医学进展, 2007, 28(8):37-40.
- [23] 吕翠, 马小明, 尹燕博, 等. 猪流感病毒 M 基因核酸探针的制备与应用[J]. 华北农学报, 2009, 24(1):87-92.
- [24] 秦智锋, 毕英佐, 曾少灵, 等. 口蹄疫病毒 RT-LAMP 检测方法的建立[J]. 中国预防兽医学报, 2008, 30(5):375-378.
- [25] Yin S H, Shang Y J, Zhou G Q, et al. Development and evaluation of rapid detection of classical swine fever virus by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP)[J]. *J Biotechnol*, 2010, 146:147-150.
- [26] 王海静. 应用 SPR 生物传感器快速检测 A 型流感病毒研究[D]. 河北石家庄:河北师范大学, 2010.
- [27] Wang R H, Lin J H, Lassiter K, et al. Evaluation study of a portable impedance biosensor for detection of avian influenza virus [J]. *J Virol Meth*, 2011, 178:52-58.
- [28] 张鑫宇, 孙怀昌, 刘文俊, 等. 非洲猪瘟病毒 p72 基因的纳米金探针研究[J]. 扬州大学学报:农业与生命科学版, 2011, 32(1):55-58.

Progress on Diagnostic Techniques of Five Kinds of Animal Epidemics

QIU Yang¹, ZHAO Li¹, LU Xiao-yu², LIU Jian-li¹, LAN Wen-sheng², WANG Wei¹, CHEN Jin-hui¹

(1. Dongguan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Dongguan, Guangdong, 523072, China;

2. Shenzhen Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shenzhen, Guangdong, 518045, China)

Abstract: Highly pathogenic animal epidemics are harmful to human and livestock, and need to be prevented, controlled and exterminated urgently and strictly. Thus scientific and reasonable prevention before the outbreak of disease, timely and accurate diagnosis, rapid and effective treatment in the outbreak are the indispensable part of controlling these epidemics. The paper summarized current research progress on diagnostic techniques of five main highly pathogenic animal epidemics. The five main highly pathogenic animal epidemics include Newcastle disease, foot-and-mouth disease, swine influenza, classical swine fever and highly pathogenic porcine blue ear disease.

Key words: highly pathogenic animal epidemics; diagnosis; progress