

于海峰, 钱艳红, 王晓虎, 等. 禽白血病病毒磁微粒化学发光检测方法的建立与应用 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (11): 98-104.

YU H F, QIAN Y H, WANG X H, et al. Establishment and application of a magnetic particle chemiluminescence method for detection of avian leukemia virus [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (11): 98-104.

禽白血病病毒磁微粒化学发光检测方法的建立与应用

于海峰^{1#}, 钱艳红^{2#}, 王晓虎², 陈晶^{2*}, 孙靖^{3*}

(1. 深圳市绿诗源生物技术有限公司, 广东 深圳 518120;

2. 广东省农业科学院动物卫生研究所/广东省畜禽疫病防治研究重点实验室/广东省动物疫病野外科学观测研究站, 广东 广州 510640;

3. 广州医科大学实验动物中心, 广东 广州 510182)

摘要: 旨在开发一种基于磁微粒化学发光法的禽白血病病毒 (ALV) 快速检测方法, 解决 ALV 传统检测方法灵敏度低、操作复杂等问题。利用磁微粒包被抗体和吖啶酯标记技术, 建立 ALV 磁微粒化学发光检测方法, 并对其特异性、灵敏度、重复性及稳定性等进行验证, 最后用建立的方法对临床样品进行检测。结果: 该检测方法的最低检出限为 0.7 PFU/mL, 线性相关系数 $R^2 = 0.9975$, 批内和批间变异系数均小于 5%, 可在 4 °C 稳定储存; 临床样本验证显示, 胎粪、细胞上清液和蛋清与 ELISA 方法的符合率分别为 96.13%、100% 和 88.13%。本研究建立的检测方法具有操作简便、快速高效、稳定性强等优势, 为禽白血病的防控和净化提供了可靠工具。

关键词: 禽白血病病毒; 磁微粒化学发光法; 大规模检测; 净化

中图分类号: S858 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2025)11-0098-07

Establishment and application of a magnetic particle chemiluminescence method for detection of avian leukemia virus

YU Haifeng^{1#}, QIAN Yanhong^{2#}, WANG Xiaohu², CHEN Jing^{2*}, SUN Jing^{3*}

(1. Shenzhen Lüshiyuan Biotechnology Co., Ltd., Shenzhen 518120, China;

2. Institute of Animal Health, Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Guangdong Province Key Laboratory of Livestock Disease Prevention/Guangdong Provincial Observation and Research Station for Animal Disease, Guangzhou 510640, China;

3. Laboratory Animal Research Center of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510182, China)

Abstract: The aim of this study was to develop a rapid method for detection of avian leukosis virus (ALV) based on magnetic particle chemiluminescence, addressing the issues of low sensitivity and complex operation associated with traditional ALV detection methods. Using magnetic particle-coated antibodies and the acridinium ester labeling technology, an ALV magnetic particle chemiluminescence detection method was established; and its specificity, sensitivity, reproducibility, and stability were validated. Finally, the established method was used to detect clinical samples. The results showed that the minimum detection limit of this method was 0.7 PFU/mL, with a linear correlation coefficient $R^2 = 0.9975$. The intra- and inter-batch coefficients of variation were both less than 5%, and the samples tested by this method could be stably stored at 4 °C. The clinical sample validation showed that the agreement rates with the ELISA method were 96.13%, 100%, and 88.13% for feces, cell supernatant, and egg white, respectively. The detection method established in this study possessed the advantages of being easy, fast and efficient, and highly stable; which could serve as a reliable tool for prevention, control, and eradication of avian leukemia.

Keywords: avian leukemia virus; magnetic particle chemiluminescence; large-scale detection; purification

收稿日期: 2025-05-12; 修回日期: 2025-08-25

基金项目: 省级现代农业产业技术体系创新团队建设项目 (2024CXTD15, 2024CXTD15-01); 广东省农村科技特派员重点派驻任务项目 (KTP20240183); 广东省科技计划项目 (2023A1111110001); 2025 年绿美广东生态建设重点任务保障 (林业领域) 专项资金项目; 广州市科技计划项目 (2023B04J0137); 广东省畜禽疫病防治研究重点实验室项目 (2023B1212060040)

第一作者: 于海峰, 男, 硕士研究生, 兽医师; 钱艳红, 女, 硕士研究生。*共同第一作者

*通信作者: 陈晶, 副研究员, 主要从事动物病毒学研究, E-mail: chenjing19827@163.com; 孙靖, 实验师, 主要从事实验动物病原微生物检测相关研究, E-mail: 1375390543@qq.com。

禽白血病是由禽白血病病毒 (ALV) 引起的肿瘤性传染病, 该疾病的主要表现是多器官肿瘤、免疫抑制和继发感染, 被列为我国二类动物疫病^[1-2]。ALV 属于逆转录 RNA 病毒, 可通过垂直传播和水平传播引发鸡群恶性肿瘤, 导致其生长迟缓、产蛋量下降甚至死亡, 给大规模家禽养殖造成了巨大的经济损失^[3]。目前市场上还缺乏有效的疫苗和治疗药物, 我国对禽白血病的预防和治疗主要基于 ALV 净化计划, 通过检测剔除感染个体以实现净化效果^[4]。因此, ALV 检测是防控该病的核心环节, 早期检测能有效切断传播链, 避免病毒在养殖场内扩散, 降低经济损失。目前, 国家标准方法如 ELISA 和 PCR 存在灵敏度不足、操作烦琐或对设备要求高等局限性, 亟须开发一种高效快速、准确稳定的检测技术。

基于磁微粒的化学发光免疫测定技术是近年来发展起来的一种新兴检测技术, 该技术结合了磁微粒的高表面积特性和化学发光的高灵敏度优势, 通过将抗原/抗体固定于磁性微球表面, 增强反应接触效率, 实现杂质与目标物的快速分离, 具有高灵敏度、强抗干扰性和快速自动化等特点, 已成为疾病诊断与生物检测领域的核心工具^[5]。本研究通过优化抗体包被磁微粒和吡啶酯标记工艺, 建立了新型 ALV 检测方法, 并系统验证了其性能指标。

1 材料与方法

1.1 抗体、毒种样本

ALV p27 蛋白单克隆抗体、ALV 抗原及胎粪、细胞培养上清液和蛋清等样本, 由深圳市绿诗源生物技术有限公司提供; 鸡贫血病毒 (CAV)、传染性法氏囊病病毒 (IBDV)、网状内皮组织增生病毒 (REV)、新城疫病毒 (NDV)、禽流感病毒 (AIV)、传染性支气管炎病毒 (IBV)、减蛋综合征病毒 (EDSV) 等, 广东省农业科学院动物卫生研究所提供。

1.2 主要试剂

磁微粒、吡啶酯、赖氨酸、2-(N-吗啡啉) 乙磺酸 (MES)、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐 (EDC)、牛血清白蛋白 (BSA)、Proclin-300、Tris-HCl 和 N-羟基丁二酰亚胺 (NHS) 购自 SIGMA 公司。发光底物由深圳市绿诗源生物技术有限公司提供。

1.3 磁微粒偶联 ALV p27 蛋白单克隆抗体

取 10 mg 磁性微粒于 2 mL 离心管中, 用磁力架进行磁分离, 移除上清液, 加入 1 mL MES (0.1 mmol/L) 溶液磁分离洗涤 3 次, 用 1 mL MES 溶液重悬后, 分别加入 250 μ L EDC (4 mg/mL) 溶液和

125 μ L NHS (4 mg/mL) 溶液, 室温 (15~25 $^{\circ}$ C) 活化 30 min。反应结束后, 磁分离, 移除上清液, 再次用 MES 磁分离洗涤 3 次, 加入 125 μ g ALV 抗体, 并补加 2-(N-吗啡啉) 乙磺酸吐温缓冲液 (MEST) 至总体积为 1 mL, 摇匀后固定在混匀器上室温偶联 4 h。反应结束后, 用 MES 磁分离洗涤 3 次, 移除上清液, 加入 1 mL 1% BSA 室温封闭 4 h。最后用磷酸盐吐温缓冲液 (PBST 溶液) 磁分离洗涤 3 次, 加入 Tris-HCl 缓冲液 (含 0.1% Proclin-300) 将偶联后的磁珠重悬至 0.5 mg/mL, 2~8 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.4 吡啶酯标记 ALV p27 蛋白单克隆抗体

取 500 μ L ALV p27 蛋白单克隆抗体 (浓度 2 mg/mL) 于洁净玻璃瓶中, 加入 20 μ L 吡啶酯溶液 (浓度 5.0 mmol/L), 避光室温反应 2 h。反应结束后, 加入 10% (m/V) 赖氨酸室温封闭 1 h, 之后将标记抗体溶液装入透析袋内, 置于 pH 值为 7.4 的 0.05 mmol/L 的 PBS 透析液中, 室温 (15~25 $^{\circ}$ C) 透析 12~16 h, 中间换液 2~3 次。最后, 取出透析后的 ALV p27 蛋白单克隆抗体溶液, 用 PBS 缓冲液 (0.01 mmol/L, pH=7.4) 按照 1:1 000 稀释, 加入 0.02% Proclin-300 混匀后经 0.22 μ m 滤器过滤, 无菌分装, 于 2~8 $^{\circ}$ C 保存。

1.5 校准品及质控品的制备

校准品 1/质控品 1: 取浓度为 0.01 mmol/L, pH 值为 7.4 的 Tris-HCl 缓冲液, 加入 BSA、Proclin-300, 使其最终浓度分别为 5% 和 0.1%。

校准品 2: 用含 5% BSA、0.1% Proclin-300 的 0.01 mmol/L Tris-HCl 缓冲液稀释 ALV 抗原, 使其最终浓度为 200 μ g/mL。

质控品 2: 用含 5% BSA、0.11% Proclin-300 的 0.01 mmol/L Tris-HCl 缓冲液稀释 ALV 抗原, 使其最终浓度为 500 μ g/mL。

1.6 化学发光免疫分析的操作方法

按照全自动化学发光免疫分析仪操作说明, 放入制备好的磁微粒偶联 ALV 抗体和吡啶酯标记 ALV 抗体, 设置加入待检样本体积为 10 μ L, 磁微粒偶联 ALV 抗体体积为 100 μ L, 加入 100 μ L 吡啶酯标记 ALV 抗体, 37 $^{\circ}$ C 孵育 10 min。洗涤 4 次后, 加入 100 μ L 化学发光底物, 37 $^{\circ}$ C 孵育 10 min。最后读取化学发光免疫分析仪检测的相对发光强度 (RLU) 值。

1.7 ALV 磁微粒化学发光检测方法的优化

按照 1.6 方法步骤分别对待检样本的体积、抗原抗体孵育时间及加入化学发光底物后孵育时间进行优化。待检样本的体积分别设置为 10、25、50 和 100 μ L; 抗原抗体孵育时间分别设置为 2.5、5、10 和 15 min; 加入化学发光底物后孵育时间分别设置为

2.5、5、10 和 15 min。在对其中一个条件进行优化时，其余条件保持相同，通过读取化学发光免疫分析仪检测的阳性和阴性抗原样本的 RLU 值，计算并比较其比值，确定 ALV 磁微粒化学发光检测方法的最优条件。

1.8 临界值的确定

用建立的方法对 412 份背景已知的临床样本进行检测，使用 GraphPad Prism 10.1.1 版软件对检测样本化学发光值进行统计，通过绘制 ROC 曲线进行分析，以 Youden 指数为指标确定 ALV 磁微粒化学发光检测方法的临界值。

1.9 特异性测试

用 3 个不同批次生产的检测试剂对 CAV、IBDV、REV、NDV、AIV、IBV、EDSV 等禽常见病原进行检测，每种病原样本重复检测 3 次，计算 S/CO 平均值并进行结果判定，其中 S/CO=待检样品化学发光值/化学发光值临界值。

1.10 灵敏性测试

将 ALV 抗原浓度稀释为 0~280 PFU/mL，同时用本研究建立的检测方法和市售 ELISA 试剂盒进行检测，不同浓度的 ALV 抗原重复检测 3 次，分别计算 S/P 及 S/CO 平均值，比较两者的灵敏性，其中 S/P 为待检样本吸光度值与阳性对照吸光度的比值。

1.11 线性拟合曲线的绘制

将稀释浓度为 0~280 PFU/mL 的 ALV 抗原与建立方法实际检测浓度进行对比，计算标准偏差并绘制线性拟合曲线，标准偏差 = 已知抗原浓度 - 检测抗原浓度。

1.12 重复性测试

选择高、中、低浓度样本 3 份，其中高浓度为强阳性样本，中浓度为弱阳性样本，低浓度为阴性样本，分别用同批次生产的试剂和 3 个不同批次生产的试剂进行检测，每个浓度样本重复检测 20 次，并计算其 RLU 平均值、标准差和变异系数 (CV)。

1.13 稳定性测试

将建立方法不同组分分别置于 37 °C 和 2~8 °C 的恒温恒湿环境中。置于 37 °C 储存 28 d，在第 0、7、14 和 28 天时对浓度为 0、0.7、1.75、3.5、10.5 PFU/mL 的 5 个 AIV 抗原样本进行检测；置于 2~8 °C 储存 180 d，在第 0、7、14、28、60 和 180 天时对浓度为 0、0.7、1.75、3.5、10.5 PFU/mL 的 5 个 AIV 抗原样本进行检测，统计检测结果，并计算 RLU 平均值、标准差和 CV。

1.14 临床样本检测

用本研究建立的检测方法和市售 ELISA 检测试

剂盒同时对胎粪、细胞培养上清液和蛋清等 1 267 份临床样本进行检测，统计两者的检测结果，并计算符合率。

2 结果与分析

2.1 ALV 磁微粒化学发光检测方法的初步建立

按照全自动化学发光免疫分析仪操作说明，放入制备好的偶联磁微粒和吡啶酯标记抗体，根据 ALV 阴/阳性抗原样本 RLU 和 P/N 值，确定了待检样本的体积为 50 μL，抗原抗体孵育时间为 10 min，加入化学发光底物后孵育 5 min 时检测效果最好。

2.2 临界值的确定

图 1 结果显示，当 Youden 指数取最大值 0.917 时，对应的曲线下面积 (AUC) 为 0.994，显著性水平 $P < 0.000 1$ ，敏感性为 98.50%，特异性为 93.20%，此时本方法的最佳 RLU 临界值为 14 493.5。因此，本检测方法最终确定 14 493.5 作为判定标准的 RLU 临界值，以判定待检样品的阴阳性，即当待测样本的 RLU $\geq 14 493.5$ 时，判定为阳性；当待测样本的 RLU $< 14 493.5$ 时，判定为阴性。

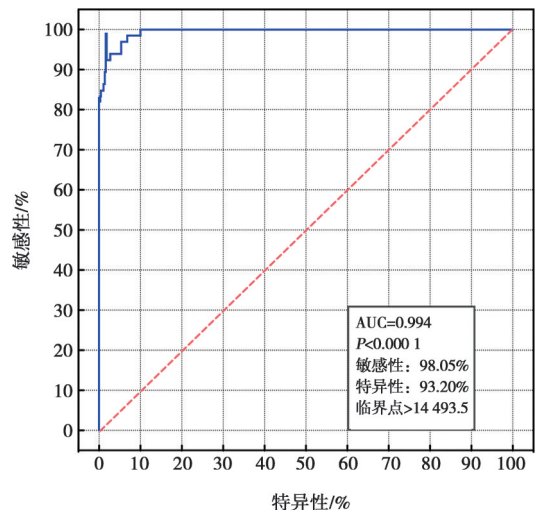


图 1 ROC 曲线

2.3 特异性

用 3 个不同批次建立的 ALV 磁微粒化学发光检测方法对其他禽常见病原进行检测，结果显示，CAV、IBDV、REV、NDV、AIV、IBV、EDSV 检测结果均为阴性 (表 1)，表明该检测方法与其他禽常见病原无交叉反应，特异性较好。

表1 ALV磁微粒化学发光检测方法特异性检测分析

种类	S/CO值	判定结果
CAV	0.015	-
IBDV	0.018	-
REV	0.040	-
NDV	0.014	-
AIV	0.021	-
IBV	0.036	-
EDSV	0.025	-
阴性对照	0.037	-
ALV	11.837	+

注：S/CO \geq 1检测结果为阳性，即“+”代表检出；S/CO $<$ 1检测结果为阴性，即“-”代表未检出。下同。

2.4 灵敏性

将ALV抗原进行稀释，分别用本研究建立的检

测方法和市售ELISA试剂盒进行检测，按照各自的临界值进行阴阳性判定。结果显示，本研究建立的检测方法最低检出限为0.7 PFU/mL（表2），ELISA试剂盒的最低检出限为10.5 PFU/mL，表明本研究建立的检测方法灵敏性更好。

2.5 绘制线性拟合曲线

通过对比建立的检测方法，实际检测浓度与AIV抗原稀释浓度，计算两者浓度偏差，结果显示，两者浓度较为一致（表3）。根据检测浓度和化学发光值绘制线性拟合曲线，其线性范围覆盖0.7~280 PFU/mL，回归方程为 $y=1\,318.3x+7\,115$ ， $R^2=0.9975$ （图2），表明本研究建立的检测方法能够定量检测且结果较为准确。

表2 ALV磁微粒化学发光检测方法灵敏性检测分析

样品浓度/ (PFU·mL ⁻¹)	市售ELISA试剂盒		ALV磁微粒化学发光检测方法	
	S/P值	判定结果	S/CO值	判定结果
280	3.951 1	+	113.660	+
70	2.382 2	+	31.585	+
35	1.093 3	+	16.730	+
10.5	0.266 7	+	6.901	+
3.5	0.000 5	-	3.762	+
1.75	0.004 8	-	2.201	+
0.7	0.011 3	-	1.095	+
0	0.007 0	-	0.054	-
N	0.012 3	-	/	/
P	0.994 6	+	/	/

注：S/P \geq 0.2检测结果为阳性，即“+”代表检出；S/P $<$ 0.2检测结果为阴性，即“-”代表未检出；N、P分别为市售ELISA试剂盒中的阴性对照和阳性对照。

表3 AIV抗原已知浓度与检测浓度比较分析

样本编号	已知抗原浓度/ (PFU·mL ⁻¹)	检测抗原浓度/ (PFU·mL ⁻¹)	标准偏差/ (PFU·mL ⁻¹)	判定结果
S0	0	0.012	-0.012	-
S1	0.7	0.674	0.026	+
S2	1.75	1.701	0.049	+
S3	3.5	3.423	0.077	+
S4	10.5	10.302	0.198	+
S5	35	35.217	-0.217	+
S6	70	69.692	0.308	+
S7	280	281.105	-1.105	+

注：+表示阳性，-表示阴性。

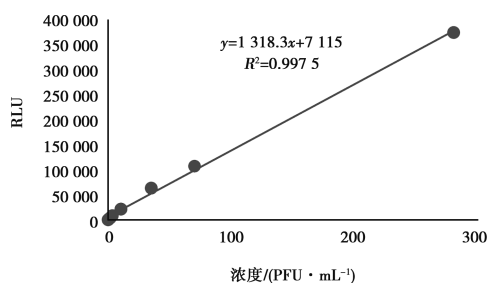


图2 AIV 抗原检测浓度与发光值的线性拟合曲线

2.6 重复性

对建立的检测方法进行批内和批间重复性检测。结果显示，该检测方法批内 CV 为 0.50% ~ 4.94% (表 4)，批间 CV 为 0.50% ~ 4.94% (表 5)，批内及批间 CV < 5%，表明本研究建立的检测方法具有良好的重复性。

表 4 ALV 磁微粒化学发光检测方法批内重复性测试分析

样品类型	S/CO 值 (n = 20)					平均值	标准差	CV/%
高浓度 (强阳性)	15.522	15.506	15.450	15.379	15.522	15.50	0.077 8	0.50
	15.492	15.596	15.382	15.424	15.622			
	15.520	15.514	15.605	15.443	15.377			
	15.615	15.447	15.483	15.612	15.493			
中浓度 (阳性)	3.649	3.535	3.624	3.561	3.542	3.57	0.046 9	1.31
	3.548	3.600	3.531	3.651	3.595			
	3.547	3.504	3.592	3.475	3.507			
	3.524	3.584	3.577	3.614	3.553			
低浓度 (阴性)	0.010	0.010	0.009	0.009	0.010	0.010	0.000 477	4.94
	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010			
	0.010	0.010	0.009	0.009	0.009			
	0.010	0.009	0.010	0.009	0.010			

表 5 ALV 磁微粒化学发光检测方法批间重复性测试分析

样品类型	S/CO 值			平均值	标准差	CV/%
	批次 1	批次 2	批次 3			
高浓度 (强阳性)	22.411	23.882	23.671	23.321	0.649	2.8
中浓度 (阳性)	11.950	12.727	12.356	12.344	0.317	2.6
低浓度 (阴性)	0.490	0.485	0.491	0.489	0.002	0.5

2.7 稳定性

将建立的 ALV 磁微粒化学发光检测方法组份分别置于 37 °C 和 2~8 °C，对其稳定性进行测试。检测结果显示，在 37 °C 储存条件下，28 d 内检测结果的

CV 均小于 5% (表 6)，较为稳定。在 2~8 °C 储存条件下，180 d 内检测结果的 CV 均小于 3% (表 7)，较为稳定，表明该检测方法可在 2~8 °C 条件下长期保存。

表6 37℃储存条件下ALV磁微粒化学发光检测方法稳定性测试分析

抗原浓度/ (PFU·mL ⁻¹)	RLU值				平均数	标准差	CV/%
	0 d	7 d	14 d	28 d			
0	1 342	1 335	1 350	1 358	1 346.25	8.613	0.64
0.7	5 285	5 425	5 068	4 890	5 167.00	204.339	3.96
1.75	9 343	9 624	8 985	8 467	9 104.75	432.276	4.75
3.5	64 252	61 992	61 286	58 903	61 608.25	1 907.806	3.10
10.5	107 803	104 274	101 575	98 975	103 156.75	3 272.035	3.17

表7 2~8℃储存条件下ALV磁微粒化学发光检测方法稳定性测试分析

抗原浓度/ (PFU·mL ⁻¹)	RLU值						平均数	标准差	CV/%
	0 d	7 d	14 d	28 d	60 d	180 d			
0	1 342	1 315	1 315	1 320	1 298	1 287	1 312.833	17.315	1.32
0.7	5 285	5 325	5 358	5 090	5 189	5 052	5 216.500	115.690	2.22
1.75	9 343	9 454	9 185	9 496	9 086	9 577	9 356.833	173.374	1.85
3.5	64 252	63 652	63 456	62 589	61 789	62 135	62 978.833	873.835	1.39
10.5	107 803	109 134	109 875	104 687	111 423	103 243	107 694.167	2 875.214	2.67

2.8 临床样本符合率

用建立的方法与市售ELISA检测试剂盒对1 267份临床样本进行检测,结果显示,胎粪样本与ELISA方法的阳性符合率为98.36%,阴性符合率为95.88%,整体符合率为96.13%(表8)。细胞上清液样本与ELISA方法的整体符合率为100%(表9)。蛋清样本与ELISA方法的阳性符合率为96.83%,阴性符合率为87%,整体符合率为88.13%(表10)。

表8 胎粪样本不同检测方法比较

检测方法		ELISA检测		
		阳性	阴性	合计
ALV磁微粒化学 发光检测	阳性	60	22	82
	阴性	1	512	513
	合计	61	534	595

表9 细胞上清液样本不同检测方法比较

检测方法		ELISA检测		
		阳性	阴性	合计
ALV磁微粒化学 发光检测	阳性	5	0	5
	阴性	0	229	229
	合计	5	229	234

表10 蛋清样本不同检测方法比较

检测方法		ELISA检测		
		阳性	阴性	合计
ALV磁微粒化学 发光检测	阳性	61	50	111
	阴性	2	325	327
	合计	63	375	438

3 讨论

禽白血病是由ALV引起的禽类多种肿瘤性疾病的统称,可引起宿主的肿瘤性疾病和免疫抑制,该病在世界各地广泛流行,对我国养禽业造成了巨大的损失^[6]。尽管我国已实施ALV净化计划,但病毒变异和混合感染问题仍威胁着养殖业的安全,地方鸡群中禽白血病流行仍较为普遍^[7]。王美菊等^[8]对天水市2020—2021年采样的24个规模鸡场进行病原学检测,结果显示,24个规模鸡场中阳性为18个,480份样品中阳性为203份,样品阳性率达42.29%。王建等^[9]为了解江苏常州地区肉鸡ALV感染情况,采集了该地区2019年7—12月、2020年1—4月肉鸡血清样本1 257份,结果显示,ALV总阳性率为18.14%。因此,未来仍需持续优化检测技术以应对病毒变异,巩固养殖业生物安全防线。

本研究为了实现对禽白血病的准确快速检测,成功建立了ALV磁微粒化学发光检测方法,该方法采

用 Fe_2O_3 磁性纳米粒子与有机高分子材料复合而成的磁微粒作为固相载体, 其具有较大的比表面积, 从而大幅度提高了包被抗体的利用率和抗原捕获效率, 降低成本、减少废弃物的排放。结合吡啶酯直接发光体系, 避免了酶催化的环境干扰, 增强了检测的特异性和灵敏度。对本研究建立方法的性能进行测试, 结果显示, 其最低检测浓度可以达到 0.7 PFU/mL, 优于传统 ELISA 方法 (最低检出限 10.5 PFU/mL); CAV、IBDV、REV、NDV、AIV、IBV、EDSV 无交叉反应; 操作时间缩短至 15 min, 能够满足对大量样本的快速检测; 稳定性测试证实其在冷链条件下的长期适用性。此外, 配套仪器可同时实现多项目联检, 提高了检测效率, 为基层实验室和养殖场提供了实用便捷工具, 随着技术的不断优化和普及, 磁微粒化学发光法有望成为禽白血病检测的主流方法, 为禽白血病的防控和净化提供有力支持。

4 结论

本研究成功建立了 ALV 磁微粒化学发光检测方法, 最低检出限可达 0.7 PFU/mL, 检测浓度和化学发光值间的线性相关系数 $R^2 = 0.9975$, 与多种常见禽类病原无交叉反应, 可在 4 °C 长期储存, 批内和批间 $CV < 5\%$ 。该方法操作简单、灵敏度高、结果准确稳定、成本低、用时短, 可有效提高检测效率, 不但为鸡场对该病的诊断提供快速简便的方法, 同时也适

合地区禽白血病的净化监控。

参考文献:

- [1] 苏晓月, 吕转平, 沈亚安, 等. 禽白血病病毒抗体间接 ELISA 检测方法的建立与应用 [J]. 家畜生态学报, 2025, 46 (1): 64-69.
- [2] LI J, ZHANG Z, ZHANG Z, et al. Rapid detection of avian leukemia virus using CRISPR/Cas13a based lateral flow dipstick [J]. Front Vet Sci, 2024, 11: 1424238.
- [3] XU Z, MA X, WANG X, et al. Rapid and sensitive visual detection of avian leukosis virus by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification combined with a lateral flow immunochromatographic strip assay [J]. Arch Virol, 2024, 169 (5): 94.
- [4] 董明奇. 禽白血病的诊断技术研究进展 [J]. 畜牧兽医科技信息, 2023 (5): 36-39.
- [5] CHEN C, LIANG H, PENG F, et al. Determination of echinococcosis IgG antibodies using magnetic bead-based chemiluminescence immunoassay [J]. J Immunol Methods, 2023, 520: 113513.
- [6] 刘经宇, 刘睿衡, 李彤, 等. 禽白血病检测与防控的研究进展 [J]. 中国家禽, 2025, 47 (5): 123-131.
- [7] 孙羽, 蒋向君, 董燕萍, 等. 禽白血病的流行趋势及防控措施 [J]. 畜牧业环境, 2024 (19): 73-74.
- [8] 王美菊, 马萍. 天水市规模养鸡场禽白血病流行病学调查 [J]. 畜牧兽医杂志, 2023, 42 (2): 51-52, 55.
- [9] 王建, 孙彤, 孙竹筠, 等. 江苏常州地区禽白血病血清学调查研究 [J]. 中国动物传染病学报, 2022, 30 (1): 185-189.