

于秋良,潘百明,骆永泉,等. 猪瘟抗体的监测及其免疫程序的建立[J]. 江苏农业科学,2013,41(7):213-215.

# 猪瘟抗体的监测及其免疫程序的建立

于秋良<sup>1</sup>, 潘百明<sup>1</sup>, 骆永泉<sup>2</sup>, 梁广澄<sup>1</sup>

(1. 贺州学院, 广西贺州 542899; 2. 广西贺州市动物疫病预防控制中心, 广西贺州 542899)

**摘要:**为有效预防猪瘟发生,采用正向间接血凝试验对仔猪免疫前后的猪瘟抗体进行监测,通过分析抗体水平变化数据,制定科学合理的猪瘟免疫程序。结果表明:仔猪首次免疫的最佳时期为出生后 25~30 d,第 2 次免疫的最佳时期为首次免疫后 60~70 d。

**关键词:**猪瘟;间接血凝试验(IHA);抗体检测;免疫程序

**中图分类号:** S858.281.33 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)07-0213-02

猪瘟(classical swine fever, CSF)<sup>[1]</sup>是由黄病毒科(Flaviviridae)瘟病毒属(*Pestivirus*)的猪瘟病毒引起的一种传染病。该病的主要特征为急性、热性、接触感染性强,主要有急性、亚急性、慢性、隐性等 4 种类型。主要病理变化特点为细小管壁变性,从而引起内脏出血、梗塞、坏死。该病发病率与死亡率较高,流行广,传染性强,2005 年世界动物卫生组织(OIE)制定的《陆生动物卫生法典》将猪瘟列为法定报告的疫病之一,该病在我国被列为一类动物疫病,是我国当前猪病防制的重点。

目前世界各地还没有任何化学药物可以治愈猪瘟,防治该病主要依靠注射疫苗。在我国 c 株弱毒疫苗<sup>[2]</sup>是公认的最有效疫苗,但我国猪瘟发病率仍很高,其原因除了免疫程序错误、疫苗质量差<sup>[2-3]</sup>、操作不当等因素外,最主要是因为盲目地按照国家固定化免疫程序进行免疫。本研究对某猪场的猪瘟抗体进行了监测,并根据该猪场的母猪免疫情况及母源抗体水平和肉猪免疫后体内猪瘟抗体变化情况,制定出相应的免疫程序,以期防止猪瘟发生,给养殖业带来更好的经济效益。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物

仔猪 60 头。

### 1.2 药品与试剂

96 孔板 110<sup>0</sup>V 型医用血凝板,与血凝板大小相同的玻板盖;微量移液枪(25, 50  $\mu$ L),取液塑皿;微型振荡仪(江苏省泰州市新康医疗器械有限公司);血凝抗原(中国农业科学院兰州兽医研究所,2012.02.14);阴性对照血清、阳性对照血清(中国农业科学院兰州兽医研究所,阳性效价 1:1 024);稀释液(中国农业科学院兰州兽医研究所);待测血清(每头猪约 0.5 mL 血清);猪瘟疫苗(成都天邦有限责任公司)。

### 1.3 试验方法

拟用正向间接血凝试验法<sup>[4]</sup>进行试验,其步骤如下:(1)加稀释液。在血凝板上第 1 排至第 6 排的第 1 孔至第 9 孔,第 7 排的第 1 孔至第 4 孔、第 6 孔至第 7 孔,第 8 排的第 1 孔至第 12 孔上各加稀释液 50  $\mu$ L。(2)稀释待测血清。取 1 号待测血清 50  $\mu$ L 加到第 1 排第 1 孔,并用塑皿插入孔,右手拇指轻压弹簧 1~2 次混匀。为避免产生过多气泡,再从该孔取出 50  $\mu$ L 放入第 2 孔,直至第 9 孔,混匀后取出 50  $\mu$ L 舍弃,此时第 1 排第 1 孔至第 9 孔待测血清的稀释度分别为 1:2、1:4、1:8、1:16、1:32、1:64、1:128、1:256、1:512。取 2 号血清加入第 2 排,取第 3 号血清加入第 3 排,均按照上述方法稀释。每取 1 份血清须更换 1 次塑皿。(3)稀释阴性对照血清。在血凝板上的第 7 排第 1 孔加阴性血清 50  $\mu$ L,并对其进行倍比稀释,至第 4 孔混匀后从该孔取出 50  $\mu$ L 舍弃,此时阴性血清的稀释度分别为 1:2、1:4、1:8、1:16。第 6 孔至第 7 孔稀释液为对照。(4)稀释阳性对照血清。在血凝板上的第 8 排第 1 孔加阳性血清 50  $\mu$ L,对其进行倍比稀释,到第 12 孔混匀后取 50  $\mu$ L 舍弃,此时阳性血清的稀释度为 1:2<sub>(1)</sub>~1:4 096<sub>(12)</sub>。(5)加血凝抗原。分别在待测各孔、阴性对照血清各孔、阳性对照血清各孔加血凝抗原 25  $\mu$ L。(6)振荡混匀。将血凝板置于微量振荡仪上 1~2 min,待其充分混匀后盖上玻板,在室温或 37  $^{\circ}$ C 下静置 1.5~2.0 h,判定结果。(7)结果判定标准。移去玻板,将血凝板放在白纸上,在观察到阴性对照血清第 4 孔、稀释液对照孔均无凝集或仅出现少量凝集,阳性对照血清 1~12 孔均出现“++”或“+++”凝集的情况下,再去观察待测血清组,以呈“++”凝集的最大稀释倍数为该份血清的抗体效价。例如 1 号待检血清 1~5 孔呈现“++”或“+++”凝集,第 6 孔至第 7 孔呈现“++”凝集,第 8 孔呈现“+”凝集,第 9 孔无凝集,那么就可判定该份血清的猪瘟抗体效价为 1:128。猪瘟抗体效价  $\geq 5\log_2$ (等价于  $\geq 1:32$  出现“++”凝集)时为合格。

### 1.4 免疫程序设计方案

1.4.1 仔猪免疫前猪瘟抗体的检测 随机选取 60 头同日龄、已进行猪瘟免疫(一年两免)的母猪所产仔猪,并进行分组编号:A1~A10、B1~B10、C1~C10、D1~D10、E1~E10、F1~F10。分别于仔猪 5、10、15、20、25、30 日龄时抽取其血

收稿日期:2013-01-07

基金项目:广西自然科学基金(编号:2010GXNSFA013104)。

作者简介:于秋良(1968—),女,广西贺州人,实验师,从事微生物学实验教学及研究工作。E-mail:823705186@qq.com。

通信作者:潘百明,教授,从事微生物学教学和生物技术应用研究。E-mail:pby5170@163.com。

液,然后离心取上层血清,进行抗体检测,以确定第1次最佳免疫时间。

1.4.2 仔猪免疫后猪瘟抗体的检测 根据第1次最佳免疫时间进行免疫,分别在免疫后10、20、30、40、50、60、70 d抽取试验仔猪血液,然后离心取上层血清检测抗体。根据检测结果确定第2次免疫最佳时间。

## 2 结果与分析

### 2.1 仔猪免疫前猪瘟抗体检测

猪瘟母源抗体的存在,一方面能使新生仔猪避免早期感染,但另一方面却又在很大程度上干扰仔猪的猪瘟疫苗免疫效果,造成免疫失败。所以,要根据仔猪体内母源抗体情况确

定仔猪最佳首免时间。

从表1可知,在抗体效价方面,5日龄仔猪的 $9\log_2$ 逐渐降低,30日龄仔猪体内的母源抗体效价低于 $5\log_2$ 。仔猪体内抗体效价呈现日趋减弱的趋势,这可能与仔猪体内母源抗体与母猪体内的抗体水平呈正比有关。当仔猪体内的抗体效价降至 $5\log_2 \sim 6\log_2$ <sup>[5-7]</sup>时,仔猪通过吮吸免疫母猪初乳获得的被动性免疫已不具有保护作用,此时对仔猪进行首次免疫能最大化地发挥疫苗免疫效果,既能避免母源抗体的干扰,又能维持血清抗体效价。因此根据仔猪免疫前母源抗体变化规律,确定仔猪首免最佳时间为仔猪出生后25~30d,这与有关专家建议的28~35日龄进行猪瘟弱毒苗首免的结论基本相符。

表1 仔猪免疫前抗体检测结果

| 日龄<br>(d) | 采样数<br>(头) | 抗体效价( $\log_2$ ) |   |   |   |    |    |    |    |    |    | 所采取抗体<br>效价( $\log_2$ ) |
|-----------|------------|------------------|---|---|---|----|----|----|----|----|----|-------------------------|
|           |            | 0                | 1 | 2 | 3 | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  | 9  |                         |
| 5         | 60         | 0                | 0 | 0 | 0 | 9  | 3  | 3  | 3  | 3  | 39 | 9                       |
| 10        | 60         | 0                | 0 | 0 | 1 | 8  | 4  | 3  | 3  | 35 | 6  | 8                       |
| 15        | 60         | 0                | 0 | 0 | 1 | 8  | 4  | 2  | 39 | 5  | 1  | 7                       |
| 20        | 60         | 1                | 0 | 0 | 1 | 7  | 6  | 6  | 38 | 1  | 0  | 7                       |
| 25        | 60         | 1                | 0 | 0 | 1 | 7  | 7  | 36 | 5  | 3  | 0  | 6                       |
| 30        | 60         | 1                | 0 | 1 | 4 | 10 | 43 | 1  | 0  | 0  | 0  | 5                       |

### 2.2 仔猪免疫后猪瘟抗体检测

由于仔猪首次接种疫苗后机体产生相应的抗体,在抗体未降至一定水平而过早接种与上次抗原性质相同的疫苗,结果部分疫苗被体内残留的部分抗体中和,致使猪只免疫力低而导致免疫失败。由于记忆性免疫细胞的存在,与第1次免疫相比,第2次免疫产生抗体的速度更快,所以在抗体效价降至 $4\log_2$ 以下时进行第2次免疫。此时,抗体效价也在保护

值之内,使机体在有效产生记忆性免疫的同时,大大减少疫苗的使用成本。

由表2可知,注射猪瘟疫苗后10d,猪体内抗体效价高达 $8\log_2$ ,说明猪体内已经产生免疫应答。随着时间推移,猪体内抗体效价逐渐降低。首免后60d,仔猪体内的抗体效价低于 $4\log_2$ ,有必要对仔猪进行第2次免疫。因此,首免后60~70d是第2次免疫最佳时期。

表2 仔猪免疫后抗体检测结果

| 日龄<br>(d) | 采样数<br>(头) | 抗体效价( $\log_2$ ) |   |   |    |    |    |    |    |    |   | 所采取抗体效价<br>( $\log_2$ ) |
|-----------|------------|------------------|---|---|----|----|----|----|----|----|---|-------------------------|
|           |            | 0                | 1 | 2 | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  | 9 |                         |
| 10        | 60         | 0                | 0 | 0 | 1  | 4  | 1  | 4  | 3  | 41 | 6 | 8                       |
| 20        | 60         | 1                | 0 | 0 | 1  | 3  | 6  | 8  | 40 | 1  | 0 | 7                       |
| 30        | 60         | 1                | 0 | 0 | 3  | 1  | 7  | 47 | 1  | 0  | 0 | 6                       |
| 40        | 60         | 1                | 0 | 0 | 4  | 1  | 8  | 46 | 0  | 0  | 0 | 6                       |
| 50        | 60         | 1                | 0 | 1 | 3  | 2  | 12 | 41 | 0  | 0  | 0 | 6                       |
| 60        | 60         | 1                | 0 | 1 | 3  | 2  | 52 | 1  | 0  | 0  | 0 | 5                       |
| 70        | 60         | 1                | 0 | 4 | 12 | 43 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 | 4                       |

### 2.3 猪免疫前后抗体变化规律

各猪场免疫状态不尽一致,仔猪的母源抗体消长规律也不尽相同,所以各猪场要建立免疫抗体检测制度,掌握母源抗体消长规律,制定适合本猪场的免疫程序。根据图1中直观的母源抗体消长规律,可以制定出符合该养猪场的猪瘟免疫程序。

## 3 结论

确定仔猪猪瘟疫苗首免日龄的目的在于消除母源抗体干扰,提高疫苗的免疫保护效果,使仔猪获得后期坚强抗体保护。本研究根据仔猪母源抗体的消长规律,确定仔猪首免时间为仔猪出生后25~30d。对仔猪进行首次免疫后,其体内抗体形成不同于母源抗体的消长规律,根据该消长规律,确定

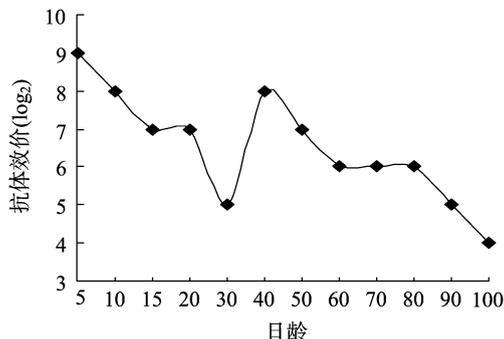


图1 仔猪的母源抗体变化规律

首免后60~70d是第2次免疫最佳时期。

王可,蔡中峰,楚惠民,等. 山东省济宁青山羊种质资源调查与分析报告[J]. 江苏农业科学,2013,41(7):215-217.

# 山东省济宁青山羊种质资源调查与分析报告

王可<sup>1</sup>,蔡中峰<sup>2</sup>,楚惠民<sup>3</sup>,崔绪奎<sup>1</sup>,黄庆华<sup>1</sup>

(1. 山东省农业科学院畜牧兽医研究所/山东省畜禽疫病防治与繁育重点实验室,山东济南 250100;

2. 山东省菏泽市畜牧工作站,山东菏泽 274000; 3. 山东省济宁市农业科学院,山东济宁 272031)

**摘要:**济宁青山羊是我国乃至世界珍贵的裘皮用山羊品种,以其高繁殖力、轻柔薄暖的青猾皮和味美鲜嫩的肉质而著称。本文对山东省境内济宁青山羊的种质资源进行了调查,并对其产业发展进行了评价与分析。

**关键词:**山东省;济宁青山羊;种质资源;调查;分析

**中图分类号:** S827.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)07-0215-03

济宁青山羊是我国优良的裘皮用羊品种之一,以“青猾皮”闻名于世,具有早熟多胎、全年发情、裘皮轻薄美观、肉质鲜美等特点。自20世纪90年代,由于受青猾皮市场衰退和自身体格小、生长速度缓慢缺点的限制,青山羊存栏数量急剧减少,使该品种的生存与保护受到严重威胁。笔者针对目前青山羊产业存在的严重问题,在山东省境内开展系统的调查研究,以期为该品种资源的保护和开发利用提供依据。

## 1 调查方法

本次调查是在前期文献调研的基础上,结合济宁青山羊的生物学特性和生态特性,依靠当地畜牧主管部门,以研究人员深入到各个县(市)为主的方法,组织实地调查、拍照,并对规模化青山羊养殖场进行重点考察。

## 2 调查结果

### 2.1 产地与分布

济宁青山羊主要分布于山东省西南地区的济宁、菏泽等地,潍坊地区也有少量分布。济宁市辖区内的中心产区主要有嘉祥、梁山、金乡、任城、鱼台、汶上等县(区)。菏泽市辖区内的8县1区均有分布,其中以曹县、单县、郓城、鄄城、牡丹区、定陶、成武等7县(区)数量较多、质量较好。单县1997年还被中国特产评审委员会命名为“中国青山羊之乡”。

收稿日期:2012-12-17

基金项目:山东省现代农业产业技术体系羊产业创新团队项目(编号:SATS-201226-3)。

作者简介:王可(1971—),女,博士,研究员,主要从事羊分子育种研究。E-mail:sduwangke@163.com。

## 参考文献:

- [1]农业部畜牧兽医司. 中国动物疫病志[M]. 北京:科学出版社,1993:280-290.
- [2]冒海银,杨鹏,王健. 我国猪瘟发生的原因及防控措施[J]. 养殖技术顾问,2010(10):157-158.
- [3]刘旗,宋昕文,和东来. 规模养猪场猪瘟免疫失败的原因及应对措施[J]. 中国猪业,2010,5(9):30-31.

### 2.2 生物学特性

青山羊性情温顺、比较合群,灵巧好动、喜欢爬高,对环境的适应性强,耐粗饲、采食性广、采食量大,对疾病有较强的耐受能力,抗逆性良好。

### 2.3 体型外貌

青山羊体格较小,有“狗羊”之称,头部上宽下窄,具有短角,额稍突出,多有淡青色白章。公羊额部有较长卷毛,公母羊颞下均有胡须,颈部稍短呈水平。青山羊鬃甲不高,背腰平直,胸部宽深适中,肋骨开张良好,十字部稍高,尻微倾斜,尾小上举,四肢短粗结实<sup>[1]</sup>。

### 2.4 被毛分型

具有典型的“四青一黑”的特征,即背毛、角、蹄、唇均为青色,前膝为黑色。被毛细长亮泽,由黑白二色毛混生而成青色,故称之为青山羊。根据被毛中黑白二色毛所占比例,分为正青色(黑毛数量占30%~50%)、粉青色(黑毛数量占30%以下)、铁青色(黑毛数量占50%以上)3种基本颜色<sup>[2]</sup>。按照毛被的长短和粗细,可分为4个类型,即细长毛(毛长在10cm以上者)、细短毛,粗长毛、粗短毛。其中以细长毛为多数,且品质较好。

### 2.5 体尺体重

近年来,由于经济类型的转变(裘用型转向肉用型),人们对青山羊的选育方向也发生了改变,青山羊体型和体重较过去偏大。司俊臣测定青山羊成年公羊体重为(24.33±1.74)kg,成年母羊体重为(20.22±0.67)kg<sup>[3]</sup>。而济宁地区2007年测定成年公羊体重为(27.19±3.21)kg,成年母羊体重为(22.15±2.24)kg<sup>[4]</sup>,2010年在菏泽地区测定成年公羊、母羊体重分别为(25.13±2.13)、(20.82±2.63)kg<sup>[2]</sup>,均比1999年的数据有所增加。济宁青山羊成年公羊、母羊主要体尺指标见表1。

[4]曲恒溢,霍岩. 间接血凝试验检测猪瘟的方法[J]. 养殖技术顾问,2011(4):123.

[5]蒋祖凯. 猪瘟病的几种免疫程序[J]. 养殖技术顾问,2011(9):176.

[6]杨林,孙刚,赵春秦,等. 一种母猪猪瘟免疫程序的研究[J]. 黑龙江畜牧兽医,2004(10):47.

[7]黄卫平,王强. 凉山规模化猪场仔猪猪瘟免疫程序的制定[J]. 四川畜牧兽医,2012(1):25-27.