

管远红,王海燕,傅宏庆,等. 江苏某规模猪场猪繁殖与呼吸综合征血清抗体监测及分析[J]. 江苏农业科学,2014,42(11):237-239.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.11.084

江苏某规模猪场猪繁殖与呼吸综合征 血清抗体监测及分析

管远红,王海燕,傅宏庆,王健,程汉,曹斌,王涛

(江苏农牧科技职业学院,江苏泰州 225300)

摘要:2011 年 7 月至 2013 年 6 月间按照流行病学抽样的方法对江苏省某规模猪场进行 PRRS 血清监测。每月 14 日或 15 日分别采集空怀母猪、保育猪、育肥猪的血清样品,共 2089 份,应用商品化 IDEXX 公司的 ELISA 试剂盒对 PRRS 抗体进行血清学监测。结果表明,无论是空怀母猪、育肥猪还是保育猪,抗体阳性率均较高,其中空怀母猪比保育猪和育肥猪的抗体水平更高。血清学监测结果表明,该猪场免疫程序合理,疫苗免疫效果好,免疫后抗体水平较高,且补免及时。

关键词:猪繁殖与呼吸综合征;血清学调查;抗体检测;ELISA

中图分类号: S852.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)11-0237-02

猪繁殖与呼吸综合征(porcine reproductive and respiratory syndrome, PRRS)主要引起怀孕母猪后期流产、产死胎和木乃伊胎,仔猪呼吸道症状和断奶前死亡率升高等。该病最早于 1987 年在美国被发现,随后迅速蔓延全球各养猪业发达的国家和地区(北美洲,1987 年;欧洲,1990 年;亚洲,1991 年)。该病毒于 1991 年由荷兰 Lelystad 中央兽医研究所在猪肺泡巨噬细胞中首次分离得到,并命名为 Lelystad 病毒(PRRSV 欧洲型代表株),1992 年美国研究人员在 CL2621 细胞上也分离到 PRRSV(美洲型代表株 VR2332)。我国于 1996 年由郭宝清首次分离报道该病毒,并证明为美洲型 PRRSV 感染所致^[1-2]。为明确使用 PRRS 疫苗的种猪场血清抗体消除规律,以便更好地免疫控制 PRRS 的感染,本试验用商品化的 ELISA 试剂盒对江苏某规模猪场不同日龄猪群进行了 PRRS 疫苗免疫后的血清学监测,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

被检血清样品采自江苏省某自繁自养规模猪场不同生长阶段的免疫猪群;猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体 ELISA 检测试剂盒购自 IDEXX 公司(lot:40959-W531);其他试剂均为国产分析纯试剂。

1.2 确定样本采集数量

收集该规模猪场的资料,尤其是不同生长期猪群体的大小和群体的变动情况。为准确了解猪群中 PRRS 抗体水平,根据统计学、流行病学确定试验样本抽样数为 30 份,在抽样

的过程中考虑实际操作的可性,对部分样本量进行了调整。

1.3 免疫程序

商品猪在 4 周龄时注射高致病性猪蓝耳弱毒苗 1 头份,母猪每年免疫 3 次。

1.4 血清的分离

前腔静脉无菌采集猪血 2 mL,分离血清 -70 ℃ 保存。

1.5 血清中 PRRS 特异性抗体的检测

使用 IDEXX 公司 ELISA 检测试剂盒测定 PRRS 抗体水平,具体操作按照说明书进行,测定 650 nm 处吸光度 $D_{650\text{ nm}}$ 。

结果统计和判断:阳性对照平均值减去阴性对照平均值 ≥ 0.015 ,且阴性对照平均值 < 0.015 ,试验数据有效。阴阳性判断:计算样本 D 值与阳性对照平均值之比(S/P), $S/P \geq 0.4$ 判为阳性, $S/P < 0.4$ 判为阴性。

2 结果与分析

2.1 样本数量的确定

按照统计学的方法计算出的样本数进行采集,共采集血样 2 089 份(表 1),制备血清, -70 ℃ 保存备用。

2.2 样品检测

使用 IDEXX 公司 ELISA 检测试剂盒对 2 089 份不同时期、不同阶段猪群中血清样品的 PRRS 抗体水平进行测定,结果(图 1、图 2、图 3)发现,总的阳性率很高,平均达 90% 以上。保育猪的 PRRS 抗体阳性率在 85.7% ~ 100% 之间,育肥猪的 PRRS 抗体阳性率在 76.7% ~ 96.4% 之间、空怀母猪的 PRRS 抗体阳性率 96.3% ~ 100%。其中,育肥猪 PRRS 抗体阳性率相对较低,且整齐度也较差;空怀母猪的 PRRS 抗体阳性率较高,阳性值也较高,整齐度好(数据未显示)。

3 小结和讨论

自从 PRRS 出现以来,国内外建立了许多 PRRS 抗体检测方法和检测试剂盒^[3-8],并对其进行了评价,其中 IDEXX 公司生产的 PRRS 抗体检测试剂盒应用最广泛,因此笔者选

收稿日期:2014-04-24

基金项目:江苏省泰州市科技支撑计划(农业)(编号:TN1102);江苏农牧科技职业学院基金(编号:YB201103)。

作者简介:管远红(1978—),男,江西玉山人,硕士,讲师,主要从事兽医医药理教学与科研工作。E-mail:10844006@qq.com。

通信作者:王海燕。E-mail:wanghyyz@hotmail.com。

表 1 猪血清样品的采集份数和时间

采样时间 (年-月)	保育猪			育肥猪			种母猪		
	样本数	阳性数	阴性数	样本数	阳性数	阴性数	样本数	阳性数	阴性数
2011-07	30	26	4	30	27	3	28	28	0
2011-08	30	28	2	30	25	5	28	27	1
2011-09	30	28	2	30	26	4	28	27	1
2011-10	30	26	4	30	27	3	29	29	0
2011-11	29	28	1	30	28	2	27	27	0
2011-12	30	27	3	30	26	4	28	28	0
2012-01	30	27	3	29	27	2	26	26	0
2012-02	30	28	2	30	25	5	28	28	0
2012-03	30	30	0	30	28	2	27	26	1
2012-04	31	30	1	31	26	5	28	28	0
2012-05	30	28	2	30	26	4	27	27	0
2012-06	29	27	2	30	28	2	26	26	0
2012-07	31	28	3	28	25	3	28	28	0
2012-08	28	24	4	28	27	1	26	26	0
2012-09	31	28	3	30	23	7	27	26	1
2012-10	30	30	0	30	26	4	28	28	0
2012-11	29	27	2	30	27	3	26	26	0
2012-12	30	27	3	30	26	4	28	27	1
2013-01	30	28	2	30	27	3	28	28	0
2013-02	30	30	0	30	26	4	27	27	0
2013-03	30	28	2	28	23	5	26	26	0
2013-04	30	29	1	30	28	2	28	27	1
2013-05	30	30	0	30	26	4	27	27	0
2013-06	30	28	2	30	27	3	28	28	0

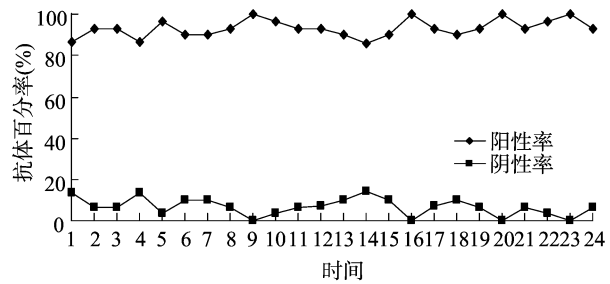


图1 保育猪抗体阳性率

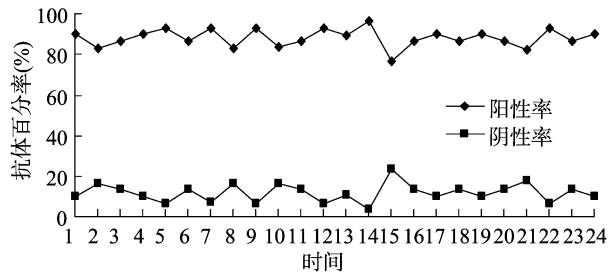


图2 育肥猪抗体阳性率

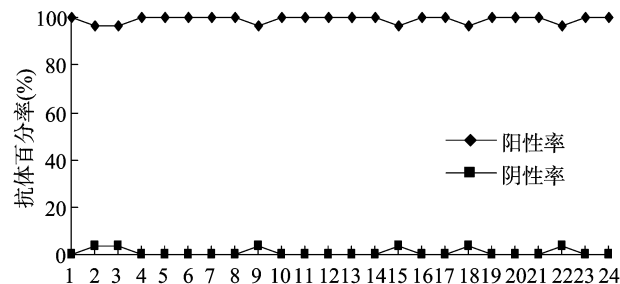


图3 空怀母猪抗体阳性率

怀母猪的抗体水平比保育猪和育肥猪更高。结果表明,该猪场免疫程序合理,免疫后抗体水平较高,且补免及时。

在采样过程中,样本数量虽然可以通过统计学、流行病学方法,按照一定的置信度和群体大小来确定,然而在实际操作过程中非常困难,一些不可预测因素影响,如动物在生产环节中的不同阶段、采样随机性和可实现性、动物捕捉的难度等都会有一定的影响。例如,本试验最初设计对种公猪进行血清采样,但是由于种公猪的种用特征、性情暴躁、獠牙对操作者的危险性等评价,最终决定放弃,而仅对部分精液进行了采集和检测(数据未发表)。流行病学调查在实际操作中会有很多因素影响采样量和置信度,应予以校正或者评价。

在养猪生产实践中,PRRS 疫苗免疫后的效果评价非常重要,以此作为参考进行免疫程序的制定和修订,能更好地控制 PRRS 的感染。但是,由于 IDEXX 公司的商品化试剂盒成本非常高,很多养殖户和养殖企业无法负担高昂的检测和监测成本,因此加强国产试剂盒的研发和应用势在必行。

择了可信度相对较高的 IDEXX 公司生产的试剂盒。大量的研究表明,PRRS 自传入我国后在国内的蔓延范围非常广泛,包括国内的土种猪感染率都很高^[9-12]。在我国自繁自养的种猪群中类似调查还比较少,也没有连续的监测。

本研究共采集了江苏省某规模猪场不同类型的猪血清 2 089 份,应用 ELISA 法检测 PRRS 抗体,结果发现抗体阳性率很高,在 90% 以上,不同种类猪群之间没有明显差异,不同时间差异也不明显,偶尔出现抗体水平稍低的月份。其中空

王改玲,王明成,薛永康,等.母猪子宫内膜炎病原菌的鉴定及治疗[J].江苏农业科学,2014,42(11):239-240.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.11.085

母猪子宫内膜炎病原菌的鉴定及治疗

王改玲,王明成,薛永康,杜蒙娟,李恩中

(黄淮学院生物工程系,河南驻马店 463000)

摘要:为了明确母猪子宫内膜炎的病原菌以及敏感药物,对某规模养猪场患子宫内膜炎母猪进行了病原学检测、敏感药物筛选、临床治疗试验,结果表明,病原菌主要为大肠杆菌、链球菌和葡萄球菌;这3种细菌对头孢噻唑钠、左氧氟沙星、环丙沙星均高度敏感,对诺氟沙星、培氟沙星均低度敏感;利用敏感药物进行治疗,取得了满意的治疗效果。

关键词:母猪;子宫内膜炎;生化试验;药敏试验;治疗

中图分类号:S852.6 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2014)11-0239-02

母猪子宫内膜炎是规模化种猪场导致母猪繁殖障碍的主要疾病之一。该病除会引起子宫内膜的炎症和损伤外,还会影响受精及胚胎的生长发育和着床,甚至会引起胎儿死亡而发生流产^[1]。此病多发于产后,部分未配种的后备母猪也可能发生,患猪繁殖能力下降,有的母猪因此而屡配不孕,被迫淘汰,使养殖业蒙受较大的经济损失。

近年来,河南省汝南县某规模养殖场,连年发生此病,且有逐步蔓延的趋势,繁殖母猪发病率高达20%以上。该养殖场使用多种方案治疗,在临床上都没有取得满意的治疗效果,

因此笔者开展了患病母猪的病原鉴定和敏感药物筛选。

1 材料与方法

1.1 试验动物

试验动物为汝南县某规模养殖场24头患子宫内膜炎母猪。

1.2 试验方法

1.2.1 病原菌的分离 患病母猪外阴部用消毒液洗净后,用无菌输精管插入子宫腔,注入生理盐水20 mL,并立即回抽,将所得液注入无菌试管待检,共采集病料24份,在制备好的鲜血琼脂平板上进行划线分离,37℃培养24 h后,根据在培养基上生长情况、菌落特征和革兰氏染色后镜检,得到46株细菌(37.5%的母猪为单一细菌感染,其他为混合感染)。这些菌株中阴性杆菌21株(I),阳性球形链状菌13株(II),阳性球形菌11株(III),其他细菌菌株1株。

1.2.2 细菌菌株纯培养 挑取单个菌落在加入含血清的营养肉汤中37℃培养24 h,得到相应的菌种液,以备生化试验、

收稿日期:2014-02-17

基金项目:河南省自然科学基金(编号:122300410007);河南省科学技术重点研究项目(编号:13B230129)。

作者简介:王改玲(1976—),陕西富平人,女,博士,讲师,主要从事微生物与免疫的教学和科研工作。Tel:(0396)2853880;E-mail:wgl939@126.com。

通信作者:李恩中,博士,副教授,主要从事动物生理学的教学和科研工作。Tel:(0396)2853043;E-mail:enzhongli@163.com。

参考文献:

- [1]郭宝清,陈章水,刘文兴,等.从疑似PRRS流产胎儿分离PRRSV的研究[J].中国畜禽传染病,1996(2):3-7.
- [2]陈博文,孙颖杰,罗长保,等.猪繁殖和呼吸系统综合征的血清学检测及病毒的分离和鉴定(初报)[J].中国兽医杂志,1996,22(5):6-8.
- [3]Albina E, Leforban Y, Baron T, et al. An enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies to the porcine reproductive and respiratory syndrome virus [J]. Ann Rech Vet, 1992, 23: 167-176.
- [4]Yahara Y, Ohkubo Y, Kariwa H, et al. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and immunofluorescent antibody (IFA) test for the detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) antibody in pigs from conventional farms [J]. The Journal of Veterinary Medical Science, 2002, 64(7): 583-588.
- [5]Seuberlich T, Tratschin J D, Thür B, et al. Nucleocapsid protein-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection and differentiation of antibodies against European and North American porcine reproductive and respiratory syndrome virus [J]. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 2002, 9(6): 1183-1191.
- [6]冷章明.基于猪繁殖与呼吸综合征病毒N蛋白及抗原表位的间接ELISA检测方法的建立[D].武汉:华中农业大学,2013.
- [7]吴忆春.猪繁殖与呼吸综合征病毒重组M蛋白间接ELISA抗体检测方法的建立及应用[J].中国畜牧兽医,2013,7(7):51-55.
- [8]孙晶.猪繁殖与呼吸综合征病毒基因工程双标记疫苗株ELISA鉴别诊断方法的建立[D].北京:中国农业科学院,2013.
- [9]刘沫飞,李蕾,郑辉,等.2010—2011年我国五省PRRSV分离株ORF5基因遗传变异分析[J].动物医学进展,2012,33(12):6-11.
- [10]黄伟坚,卢桂娟,陈樱,等.南方三省猪繁殖与呼吸综合征病毒分子流行病学调查研究[J].中国预防兽医学报,2007,29(2):150-154.
- [11]陈光明,刘玉华,金彩莲,等.泰州地区外表健康猪群猪繁殖与呼吸综合征血清学调查[J].江苏农业科学,2012,40(10):196-197.
- [12]王小敏,何孔旺,周忠涛,等.猪繁殖与呼吸综合征病毒变异株的分离鉴定及遗传变异分析[J].华北农学报,2014,1(1):232-238.