

某规模化猪场猪伪狂犬 gE 和 gB 抗体的检测与分析

戴爱玲, 凌明发, 黄思琼, 李晓华, 杨小燕*

(龙岩学院生命科学学院, 福建省预防兽医学与生物技术重点实验室, 福建龙岩 364000)

摘要 [目的] 了解龙岩市某规模化猪场猪伪狂犬野毒感染状况和免疫抗体水平。[方法] 采用 ELISA 法对 2010~2013 年该场采集的种猪和育肥猪群的血清样品共 1 217 份进行猪伪狂犬野毒(gE)抗体和免疫(gB)抗体检测。[结果] 种猪与育肥猪猪伪狂犬野毒总样品阳性率分别为 13.5% 和 28.4%, 其中 60~100 日龄的育肥猪总样品阳性率为 5.2%, 100~210 日龄的总样品阳性率为 42.1%; 种猪伪狂犬免疫抗体总样品阳性率分别为 92.2%, 60~160 日龄的育肥猪猪伪狂犬免疫抗体阳性率呈波动变化, 血清样品总阳性率为 50%。[结论] 该猪场育肥猪群野毒感染率较种猪群高, 且 100 日龄以后的育肥猪群野毒感染率较高, 种猪群的免疫抗体水平高于育肥猪群, 80~130 日龄育肥猪免疫抗体水平较低。

关键词 猪伪狂犬病; ELISA; gE/gB 抗体

中图分类号 S852.4 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2014)32-11324-02

Detection and Analysis of gE/gB Antibodies against Porcine Pseudorabies in a Large-scale Pig Farm

DAI Ai-ling, LING Ming-fa, HUANG Si-qiong, YANG Xiao-yan* et al (Fujian Key Laboratory of Preventive Veterinary Medicine and Biotechnology, College of Life Sciences of Longyan University, Longyan, Fujian 364000)

Abstract [Objective] The purpose was to understand the infection situation of porcine pseudorabies virus and the level of immune antibody against pseudorabies virus in a large-scale pig farm of Longyan. [Method] 1217 blood serum samples from breeding pigs and fatten pigs of the large-scale pig farm were collected during 2010-2013. The level of gE and gB antibodies of porcine pseudorabies virus were detected by using ELISA. [Result] The positive rate of antibody against porcine pseudorabies virus in breeding pigs and fatten pigs were 13.5% and 28.4% respectively. The positive rate of antibody against porcine pseudorabies virus in 60-100 day-old fatten pigs was 5.2%, and the positive rate of antibody against porcine pseudorabies virus in 100-210 day-old fatten pigs was 42.1%. The positive rate of antibody against porcine pseudorabies virus in breeding pigs was 92.2%. The positive rate of antibody against porcine pseudorabies virus in 60-160 day-old fatten pigs showed waving changes and the total positive rate of serum samples was 50%. [Conclusion] The infection rate of porcine pseudorabies virus in fatten pigs was higher than that in breeding pigs. And the infection rate of porcine pseudorabies virus in fatten pigs above 100 day-old was higher. And the immune antibody level of breeding pigs was higher than that in fatten pigs. And the immune antibody level of 80-130 day-old breeding pigs was lower.

Key words Porcine pseudorabies; ELISA; gE/gB antibody

猪伪狂犬病(Pseudorabies, PR)是由伪狂犬病病毒(Pseudorabies virus, PRV)引起的一种高度接触性传染病。种猪主要表现为繁殖障碍,母猪可产死胎、木乃伊胎和流产;对仔猪危害最严重,死亡率可达100%;成年猪危害不严重,一般为隐形感染,主要表现为呼吸系统综合症状,整体生产性能变差^[1]。PRV感染会引起机体免疫抑制,而且猪体可长期带毒和排毒,容易并发感染其他疾病^[1]。2012年7月,笔者所在研究所监测发现福建省龙岩市某规模化猪场的育肥猪出现PR野毒明显转阳的现象,为此,笔者对该猪场2010年~2013年送检血清样品的PR野毒抗体和免疫(gB)抗体的检测数据进行分析,旨在掌握猪群伪狂犬野毒感染状况和免疫抗体的水平,为该场猪伪狂犬病的有效防控提供参考。

1 材料与与方法

1.1 血清来源 血清全部来源于龙岩市某存栏400多头母猪的规模化猪场,被检血清均为随机采集,种猪为能繁母猪和公猪,育肥猪为60~210日龄,该猪场猪群均免疫过PRV-gE基因缺失疫苗,种猪用某品牌进口疫苗每年免疫3~4次,肌注2头份/头,育肥猪在65~70日龄免疫,肌注1头份/头。

基金项目 福建省区域科技重大项目(2009N3013);龙岩市科技项目(2013LY07)

作者简介 戴爱玲(1969-),女,福建永定人,高级实验师,硕士,从事生猪疫病诊断与防制研究。*通讯作者,教授,硕士生导师,从事预防兽医学方面的教学与科研工作。

收稿日期 2014-10-08

1.2 猪伪狂犬病抗体检测试剂盒 HerdChek PRV-gE和HerdChek PRV-gB抗体检测试剂盒,由美国IDEXX公司生产,购自北京爱德士生物科技有限公司。

1.3 主要器材 Thermo Scientific Varioskan Flash酶标仪、Thermo Scientific Heraeus Pico 17离心机、Thermo Scientific Finnpi-pette F1单道移液器(HH39997, 20~200 μl; HH39905, 100~1 000 μl)、Thermo Scientific Finnpi-pette F1多通道移液器(5~50 μl)等。

1.4 检测方法 猪伪狂犬PRV-gI和PRV-gB抗体的具体操作步骤参照试剂盒说明书进行,PRV-gB抗体的检测只针对PRV-gI抗体阴性的猪。

1.5 结果判定 当阴性对照 OD_{650} 值减去阳性对照 OD_{650} 的平均值大于或等于0.3才有效。S/N值小于或等于0.6,样品判定为阳性;S/N值介于0.6与0.7之间,判定为可疑,需要重新检测;S/N值大于0.7,判定为阴性。S/N值=样品的 OD_{650} /阴性对照的平均 OD_{650} 值。

2 结果与分析

2.1 猪伪狂犬野毒抗体检测情况

2.1.1 种猪PRV野毒抗体检测结果。由表1可知,该猪场2010年种猪PR野毒感染较为严重,第三季度的感染率升至44.8%。2011年至2012年上半年猪群野毒感染控制较好,阳性率控制在0.9%~8.0%。2012第三季度和2013年第二季度猪群野毒感染率有所上升,分别为23.1%和10.1%。

表 1 不同时间种猪 PRV 野毒抗体检测结果

检测时间	样品总数//份	阳性样品数//份	gE 抗体阳性率//%
2010 年第一季度	31	6	19.4
2010 年第二季度	67	13	20.9
2010 年第三季度	29	13	44.8
2011 年第一季度	65	3	4.6
2011 年第二季度	25	2	8.0
2011 年第三季度	68	4	5.9
2012 年第一季度	106	1	0.9
2012 年第三季度	121	28	23.1
2013 年第二季度	30	3	10.0
合计	542	73	13.5

2.1.2 育肥猪 PRV 野毒抗体检测结果。由表 2 可知,2010 年和 2011 年该猪群育肥猪群野毒感染率较低,而 2012 年第三季度开始猪群野毒感染率明显上升,特别是第四季度感染率达到 89.8%,感染压力大,而 2013 年开始野毒感染率出现下降,第一季度和第二季度的野毒感染率分别为 9.2% 和 17.3%。

表 2 不同时间育肥猪 PRV 野毒抗体检测结果

检测时间	样品总数//份	阳性样品数//份	gE 抗体阳性率//%
2010 年第三季度	71	4	5.6
2011 年第三季度	85	0	0
2012 年第三季度	189	25	13.2
2012 年第四季度	157	141	89.8
2013 年第一季度	98	9	9.2
2013 年第二季度	75	13	17.3
合计	675	192	28.4

由表 3 可知,2010~2013 年 60~100 日龄的育肥猪群 PRV 野毒感染率分别为 5.5%、0%、0% 和 9.3%,而 100~210 日龄的育肥猪群 PRV 野毒感染率分别为 5.7%、0%、57.2% 和 20%。由此可见,100~210 日龄猪群野毒感染率高于 60~100 日龄的猪群。

表 3 不同日龄育肥猪 PRV 野毒感染率 %

年份	60~100 日龄	100~210 日龄
2010 年	5.5(2/36)	5.7(2/35)
2011 年	0(0/40)	0(0/45)
2012 年	0(0/56)	57.2(166/290)
2013 年	9.3(11/118)	20(11/55)
合计	5.2(13/250)	42.1(179/425)

2.2 猪伪狂犬免疫抗体检测情况

2.2.1 种猪 PRV 免疫抗体检测结果。由表 4 可知,2012 年 2 月和 4 月检测的种猪群 PRV 免疫抗体阳性率达到 100.0%,而 7 月免疫抗体降低至 77.5%。2013 年 2 月和 5 月抽检,PRV 免疫抗体阳性率为 100.0% 和 78.9%。

2.2.2 不同日龄育肥猪群 PRV 免疫抗体检测结果。由表 5 可知,随着日龄的增大,2012~2013 年育肥猪群 PRV 免疫抗体阳性率从 60 日龄的 62.5% 下降到 90~100 日龄的 31.6%,而 120~130 日龄免疫抗体阳性率由 33.3% 上升至 130~160

日龄的 72.7%。

表 4 种猪 PRV 免疫抗体检测结果

检测时间	样品数//份	阳性样品数//份	gB 抗体阳性率//%
2012-02	61	61	100.0
2012-04	45	45	100.0
2012-07	40	31	77.5
2013-02	35	35	100.0
2013-05	38	30	78.9
合计	219	202	92.2

表 5 不同日龄育肥猪 PRV 免疫抗体检测结果

日龄//d	样品数//份	阳性样品数//份	gB 抗体阳性率//%
60	8	5	62.5
70~80	16	10	62.5
80~90	40	15	37.5
90~100	19	6	31.6
120~130	12	4	33.3
130~160	33	24	72.7
合计	128	64	50.0

3 结论与讨论

目前,我国用于预防 PRV 的疫苗主要是 gE 基因缺失的疫苗,这种疫苗的使用可以通过血清学方法区分免疫猪和自然感染猪^[2]。配套使用 PRV gI 抗体检测试剂盒能够快速、方便、准确检测 PR 野毒抗体,从而评估猪群 PR 野毒感染状况。Herdchek 猪伪狂犬病 gB 抗体检测试剂盒也是一种极其敏感的 PRV 全抗体检测方法,非常微量的抗体水平就能够产生阳性结果。此次检测的 Herdchek 猪伪狂犬病 gB 抗体猪群均为 PR 野毒抗体阴性猪群,因此 gB 抗体水平能够反映疫苗免疫效果。

PR 野毒感染检测结果表明,该规模化猪场种猪群野毒感染状况呈波动变化,在 2010 年野毒感染比较严重,2010 年第一、二、三季度 PR 野毒感染率分别为 19.4%、20.9% 和 44.8%。猪场采取加强免疫与淘汰带毒猪等措施后,野毒感染状况明显好转,2011 年种猪群野毒感染率均在 8% 以下。但是,2012 年第三季度检测时发现野毒感染率明显上升,种猪 PR 野毒感染率达到 23.1%;2013 年出现下降,第一季度和第二季度 PR 野毒感染率分别为 9.2% 和 17.3%。同时检测育肥猪的 PR 野毒感染情况发现 2012 年第三季度、第四季度感染率分别为 13.2% 和 89.8%。2010 年~2013 年不同日龄育肥猪 PR 野毒感染检测结果表明 100~210 日龄猪群的野毒感染率要明显高于 60~100 日龄。

伪狂犬免疫(gB)抗体检测表明种猪群的抗体阳性率明显要高于育肥猪,种猪抗体阳性率为 77.5%~100.0%;育肥猪免疫抗体阳性率出现较为明显的波动,60~80 日龄的阳性率为 62.5%,80~130 日龄的阳性率为 30.0%~40.0%,130~160 日龄的免疫抗体阳性率为 72.7%,可能与该猪场在 65~70 日龄采取免疫某进口猪伪狂犬病疫苗有关。种猪由于采取每年 3~4 次普免猪伪狂犬病疫苗,免疫抗体水平较高,同时野毒感染率也较低,但是育肥猪在 80~130 日龄免疫抗

(下转第 11375 页)

2 结果与分析

2.1 不同种源地引种朝鲜黄杨试验指标分析 由表 2 可知,在 7 个指标上,3 个种源地引种幼苗表现存在差异。在年高生长量、年地径生长量、枝下高、冠型 4 个指标上沈阳种源幼苗表现最好,指标均值分别为 14.75 cm、2.02 mm、39.83 cm 和 1.93;当年枝径、分枝数、冻害率 3 个指标上丹东种源幼苗表现最好,对应均值分别为 2.52 mm、13.67 个和 16.39%。冻害率来看,丹东和沈阳种源表现较好,大连种源幼苗 41.52% 枝条受冻害,表现最差。

表 2 不同种源地引种幼苗主要指标统计

种源	年均高生长//cm	年均地径生长//mm	当年枝径//mm	分枝数//个	枝下高//cm	冻害率//%	冠型
沈阳	14.75 ± 0.15	2.02 ± 0.02	1.46 ± 0.06	10.50 ± 0.38	39.83 ± 0.61	24.46 ± 0.99	1.93 ± 0.16
丹东	12.90 ± 0.12	1.64 ± 0.03	2.52 ± 0.09	13.67 ± 0.43	23.37 ± 1.19	16.39 ± 1.28	3.23 ± 0.18
大连	8.96 ± 0.36	0.90 ± 0.08	1.95 ± 0.06	11.73 ± 0.55	30.50 ± 0.67	41.52 ± 0.97	2.43 ± 0.11

2.2 防寒与否对引种幼苗影响分析 高寒地区冬季低温是限制植物分布和成功引种的主要因子,也是培育和繁殖幼苗的主要影响因素。对 3 个种源幼苗进行防寒试验,对高寒地区朝鲜黄杨引种和幼苗繁殖栽培技术进行了探索。方差分析表明,防寒与否对 3 个种源地引种朝鲜黄杨幼苗的冻害率和当年枝径影响显著 ($P = 0.000 < 0.05$, $P = 0.004 < 0.05$),对分枝数影响不显著 ($P = 0.130 > 0.05$)。可见,防寒处理可显著降低朝鲜黄杨冻害,增加当年生枝条枝径生长。

表 3 防寒与否不同引种幼苗主要指标统计

指标	平均值	标准差
不防寒冻害率//%	26.770	1.645
防寒冻害率//%	19.300	1.519
不防寒枝径//mm	1.940	0.109
防寒枝径//mm	2.080	0.116
不防寒分枝数//个	12.360	0.325
防寒分枝数//个	11.880	0.371

注:各指标样本数均为 25。

3 结论

沈阳、丹东、大连 3 个种源地 4 年生朝鲜黄杨幼苗种源

(上接第 11325 页)

体水平很低,基本处于免疫空白期。笔者认为此阶段猪群免疫效果不确实与此次调查的 100 日龄以上的猪群 PR 野毒感染率高有一定关系。周绪斌等^[3]报道随着日龄的增长,猪体内母源抗体逐渐消失,120 日龄左右基本消失,保护力也消失。vannier 等研究发现疫苗免疫常常不能阻止病毒的增值和感染的发生^[4]。尽管该猪场在 2011 年种猪群的 PR 野毒感染率控制在 10% 以下的水平,育肥猪未检出 PR 野毒感染血清学反应阳性猪,但并没有彻底根除 PR 野毒感染。尤晓婷等^[5]运用免疫组织化 SABC 染色法证明了 PRV 有明显的嗜神经性,在猪体不再排毒后表现为潜伏感染后,在大脑等神经组织仍可见阳性细胞。因此,2012 年第三季度该猪场猪群 PR 野毒感染率明显上升,是否与同期监测的种猪免疫抗体阳性率只有 77.5%,免疫保护力不足,猪场本身潜伏感染的 PR 野毒出现大量增殖和排毒,或者与感染伪狂犬病毒变

3 个不同种源引种幼苗在 7 个调查指标上差异程度是引种试验的重要参考。方差分析结果表明,3 个不同种源地的朝鲜黄杨在年高生长量、年地径生长量、当年枝径、分枝数、枝下高、冻害率、冠型 7 个生理生态指标上差异显著 ($P = 0.000 < 0.05$)。由此可见,朝鲜黄杨种源变异明显,为引种提供了重要来源和可能性。结合表 2 数据,沈阳、丹东 2 个种源幼苗在试验中表现较好,其中沈阳种源最好;大连种源幼苗在 7 个主要指标上全部表现最差,特别是在冻害率上与其余 2 个种源相比差异较大,不适宜在高寒地区引种栽培。

变异显著,为引种提供了变异来源和选择的可能。

沈阳、丹东、大连 3 个种源地 4 年生朝鲜黄杨幼苗在年高生长量、年地径生长量、当年枝径、分枝数、枝下高、冻害率、冠型 7 个生理生态指标上差异显著。沈阳种源表现最好,丹东种源次之,大连种源表现最差。结合冻害率数据,大连种源朝鲜黄杨不适宜在高寒地区引种栽培。

防寒与否对 3 个种源地引种朝鲜黄杨幼苗的冻害率和当年枝径影响显著,对分枝数影响不显著。防寒处理可显著降低朝鲜黄杨冻害,增加当年生枝条枝径生长。

参考文献

- [1] 房伦革,姚国年,王永祥. 朝鲜黄杨育苗技术[J]. 辽宁林业科技,2004(1):43-44.
- [2] 孙丽华,宋刚,云兴福. 黄杨碳水化合物含量与耐寒性关系的研究[J]. 内蒙古农业大学学报,2008(1):44-47.
- [3] 田国行,赵天榜,董慧英,等. 河南黄杨属植物的研究[J]. 北京林业大学学报,2004(2):74-78.
- [4] 赵剑颖,宋晓莉,杨蕊,等. 4℃胁迫过程中大叶黄杨和北海道黄杨叶片抗寒生理生化指标的变化[J]. 北京农学院学报,2010(4):57-61.
- [5] 张培,徐福元,卢克诚,等. 黄杨苗圃除草剂筛选试验[J]. 南京林业大学学报,2000(9):49-52.

异毒株有关,还有待于对该猪场送检病例进行进一步研究。

猪伪狂犬病仍是危害目前规模化猪场的重要传染病,引起种猪繁殖障碍、仔猪的神经症状和高死亡率以及生长育肥猪的呼吸道病综合征。虽然目前我国的免疫预防水平相当高,技术也比较成熟,但该病并没有被彻底根除,仍给猪场带来严重的经济损失。因此,加强免疫预防,定期进行猪伪狂犬(gE/gB)抗体的检测,制定适合本场猪群的免疫程序和控制(净化)方案仍是预防和控制猪伪狂犬病的最根本措施。

参考文献

- [1] 陈博言. 兽医传染病学[M]. 北京:中国农业出版社,2006:218-220.
- [2] 徐灵龙,苗得园,杜希珍,等. 规模化猪场母猪群 PRV 抗体的血清学调查[J]. 猪业科学,2010(2):72-74.
- [3] 周绪斌,秦云,丹尼,等. 2007 年规模化猪场伪狂犬病野毒血清流行病学系统检测与分析[J]. 猪业科学,2008(10):84-90.
- [4] 王科文,赵福相,王国军,等. 猪伪狂犬病免疫研究进展[J]. 养猪,2010(6):54-56.
- [5] 龙晓婷,刘俊磊,郭洪,等. 伪狂犬病毒在潜伏感染猪体内的组织分布[J]. 畜牧兽医学报,2008,39(5):645-651.