

不同规模猪场种猪猪瘟抗体检测与猪瘟净化

修金生¹, 吴顺意², 周伦江³, 叶耀辉⁴, 俞道进¹, 陈如敬³, 王隆柏³, 张新亮¹

(1 福建农林大学动物科学院, 福建 福州 350002; 2 福建省农业厅动物疫病预防控制中心, 福建 福州 350001;

3. 福建省农业科学院畜牧兽医研究所, 福建 福州 350013; 4 福建省宁德市农业科学研究所, 福建 福安 355017)

摘要: 采用 HerdChek 猪瘟抗体检测试剂盒检测福建省 10 个不同规模养猪场的种猪血清抗体, 评价种猪群猪瘟免疫状况。结果表明: 10 个猪场种猪群猪瘟抗体平均合格率(抗体阻断率 $\geq 50\%$) 为 88.11%, 猪瘟抗体平均不合格率(抗体阻断率 $< 50\%$) 为 11.89%。随后对猪瘟抗体不合格的种猪注射猪瘟活疫苗加强免疫, 28 d 后再次检测猪瘟抗体, 10 个猪场种猪群猪瘟抗体平均合格率达到 91.44%, 比首次检测提高了 3.33 个百分点, 结合 2 次猪瘟抗体检测结果, 淘汰加强免疫后猪瘟抗体不合格的种猪; 并初步探讨了以抗体检测为基础的猪瘟净化措施。

关键词: 猪瘟; 抗体; 检测; 净化

中图分类号: S 858

文献标识码: A

Eradication and immunity evaluation on classic swine fever for pig farms of different sizes

XIU Jin sheng¹, WU Shun yi², ZHOU Lun jiang³, YE Yao hui⁴, YU Dao jin¹,
CHEN Ru jing³, WANG Long bai³, ZHANG Xin liang¹

(1. College of Animal Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China;

2. Fujian Provincial Center for Animal Disease Control and Prevention, Fuzhou, Fujian 350001, China;

3. Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Fujian Academy of Agriculture Sciences, Fuzhou, Fujian 350013, China; 4. Ningde Agricultural Science Research Institute of Fujian Province, Fu'an, Fujian 355000, China)

Abstract: To evaluate the status of the breeding pigs' immunity against classic swine fever virus (CSFV), serum samples from 10 pig farms of different sizes in Fujian were collected and tested with HerdChek CSFV-ELISA kit. The results showed that the average passing rate (i.e., antibody blocking rate $\geq 50\%$) of the pigs with sufficient antibody against CSFV on the 10 farms was 88.11%. The average unqualified (i.e., blocking rate $< 50\%$) rate was 11.89%, ranging from 5.36% to 28.63%. A booster vaccination with active vaccine was implemented on the breeding swine that failed the test. Four weeks after the vaccination, a similar test was conducted again. It showed the average passing rate had reached 91.44%, i.e., an increase of 3.33% over the rate prior to the booster vaccination. Based on the results, some preliminary measures for the CSFV eradication program is presented.

Key words: classic swine fever; antibody; detection; purification

猪瘟 (Classical swine fever, CSF) 是猪瘟病毒 (CSFV) 引起的一种猪的急性、烈性、接触性传染病, 属国际重点检疫动物疫病之一^[1-2], 也是目前危害中国养猪业发展的主要疫病之一。由于多年来实施以免疫预防为主的防制策略, 猪瘟的急性发生和大面积流行在中国已经得到有效的控制, 但近年来随着养殖业的发展, 养猪规模的扩大, 该病又有流行的迹象。目前猪瘟的流行形式发生了很大变化, 从频发大流行转变为无规律的地区性散发

性流行; 病程由急性变为慢性, 出现持续性感染、胎盘感染、新生仔猪先天性感染, 表现为死亡、免疫耐受或无明显症状的带毒猪等^[3-4], 对养猪业造成巨大的经济损失^[5]。

多年来, 我国一直采取以防为主的防制方针, 大大降低了猪瘟的感染率和发病率。但在疫苗接种面越来越大、防疫密度越来越高、免疫剂量加大和免疫次数增加的情况下, 猪瘟并没有得到彻底控制, 一些猪场的猪在不同年龄阶段不同程度地爆发

猪瘟，甚至有的猪场在使用疫苗后猪瘟仍不断发生。研究发现，猪场带毒猪持续排毒，是猪瘟在猪场持续发生的根源。另外，免疫抑制性因素，如猪繁殖与呼吸综合征病毒 (PRRSV)、猪伪狂犬病毒 (PRV)、猪圆环病毒 (PCV-2) 及日粮中霉菌毒素等，也会严重损害猪的免疫系统，导致免疫失败^[6]。研究表明，受 PRRSV 感染的无特定病原 (SPF) 的猪接种猪瘟疫苗，猪瘟抗体水平明显低于无感染 PRRSV 的对照猪^[7]。

为了研究猪瘟净化的程序和方法，确保猪瘟疫苗免疫效果，选取福建省 10 个不同规模猪场的种猪，逐头采血，分离血清，用 IDEXX 公司的 HerdChek 猪瘟抗体检测试剂盒测定抗体水平，对猪瘟抗体不合格的种猪加强接种 1 次猪瘟疫苗，4 周后再检测猪瘟抗体，对第 2 次猪瘟抗体检测不合格的种猪进行淘汰，实行猪场猪瘟净化计划。

1 材料与方法

1.1 血清来源与数量

采集福建省 10 个不同规模猪场 (编号 A~J) 种猪血样共 4602 份，按常规方法分离血清并置 -20℃ 冰箱保存，待测。

1.2 试剂与仪器

HerdChek 猪瘟抗体检测试剂盒 (CSFV Ab) 购自北京爱德士元亨生物科技有限公司；德国 Eppendorf 移液器；美国宝特公司 ExL800 酶标仪；恒温箱水浴锅；PICO17 离心机。

1.3 操作步骤与判定标准

将待检血清样品和猪瘟抗体检测试剂盒恢复到室温 (18~25℃)，血清样品用稀释液作 1:2 稀释后，按照产品说明书要求进行孵育和操作。设 2 孔阴性血清和 2 孔阳性血清对照。阴性对照的平均 $OD_{450} > 0.50$ ，阳性对照的阻断率 $\geq 50\%$ ，检测结果判定为有效；通过计算每个样品的阻断率判定 CSFV 抗体水平，猪瘟抗体阻断率 $\geq 50\%$ 时，检测结果为合格^[8]。

1.4 加强免疫试验

对猪瘟抗体检测不合格的所有种猪，肌肉注射猪瘟兔化弱毒脾淋苗 2 头份 (1200RID·头份⁻¹)，4 周后采血，按常规方法分离血清，用同样的方法再次检测猪瘟抗体。

2 结果与分析

2.1 不同规模猪场种猪群猪瘟抗体检测结果

检测结果显示 (表 1)，10 个规模化猪场种猪

的猪瘟抗体合格率皆在 70% 以上，平均合格率为 88.11%。其中 D 场的种猪猪瘟抗体合格率最高 (94.64%)；G 场的种猪猪瘟抗体合格率最低 (71.37%)；E 场与 F 场的猪瘟抗体合格率均低于 80%。结果表明，不同规模猪场种猪猪瘟抗体的整齐度存在差异。统计不同存栏数的规模猪场种猪猪瘟抗体合格率，结果见表 2，存栏数超过 500 头母猪的猪场种猪猪瘟抗体合格率最高 (91.13%)；猪场规模越小，种猪猪瘟抗体的合格率越低。

表 1 不同规模猪场种猪猪瘟抗体检测结果

Table 1 CSFV antibody tests on pig farms of different scale

猪场编号	存栏总数	样本数量	合格样本数	合格率 (%)
A	835	835	715	85.63
B	577	577	536	92.89
C	619	619	574	92.73
D	541	541	512	94.64
E	331	331	248	74.92
F	464	464	412	90.15
G	241	241	172	71.37
H	323	323	286	88.54
I	539	539	498	92.39
J	132	132	102	77.27
合计	4602	4602	4055	88.11

注：合格样本数指猪瘟抗体阻断率 $\geq 50\%$ 的样本数。

表 2 不同规模猪场间猪瘟抗体合格率

Table 2 Qualified CSFV antibody rates among different scale pig farms

母猪存栏量 (头)	猪场数	样本总数	合格样本数	合格率 (%)
100~300	2	373	274	73.46
300~500	3	1118	946	84.62
> 500	5	3111	2835	91.13

2.2 猪瘟抗体不合格种猪加强免疫后猪瘟抗体检测结果

试验结果显示 (表 3)，种猪加强免疫前猪瘟抗体平均不合格率为 11.89%，其中最高为 28.63%；加强免疫后猪瘟抗体平均不合格率为 8.56%，比加强免疫前降低了 3.33 个百分点，其中最高为 25.73%。结果表明，不同规模猪场猪瘟抗体不合格种猪加强免疫后抗体不合格率均有不同比例的下降，其中以 A 场和 E 场下降的幅度最大，加强免疫后猪瘟抗体不合格率分别降低了 6.94%

和 6.65%，而 D 场的下降幅度最小，仅为 0.74%。结果表明，加强免疫可以适当提高规模化

场猪瘟抗体的合格率，为制定猪瘟淘汰计划奠定基础。

表 3 加强免疫前后种猪猪瘟抗体检测结果

Table 3 CSFV antibody tests on breeding pigs before and after booster vaccination

猪场	样本总数	加强免疫前不合格样本数	加强免疫前不合格率(%)	加强免疫后不合格样本数	加强免疫后不合格率(%)
A	835	120	14.37	62	7.43
B	577	41	7.11	33	5.72
C	619	45	7.27	31	5.01
D	541	29	5.36	25	4.62
E	331	83	25.08	61	18.43
F	464	52	11.21	42	9.05
G	241	69	28.63	62	25.73
H	323	37	11.46	26	8.05
I	539	41	7.61	27	5.01
J	132	30	22.73	25	18.94
合计	4602	547	11.89	394	8.56

3 讨 论

规模化猪场稳定生产与持续发展是以种猪的健康稳定为前提，猪场猪瘟控制的好坏直接关系到整个种猪群的健康状况。种猪群携带猪瘟病毒或机体免疫受到抑制，猪瘟抗体水平低下，会造成仔猪先天性感染猪瘟或新生仔猪得不到母源抗体的充分保护，很容易感染包括猪瘟在内的各种病原，成为猪场的隐患。免疫注射操作方法不规范，也会直接影响猪瘟疫苗的免疫效果。因此，在临幊上，通过严格检测每一头种猪的猪瘟抗体水平，评估其猪瘟免疫保护力，淘汰、清除第二次猪瘟抗体水平不合格的种猪，从源头上降低猪瘟感染风险，是预防、控制、消灭、净化猪瘟最有效的手段之一。

目前，常见的猪瘟抗体检测方法主要包括病毒中和试验(SN)、间接血凝抑制(IHA)和酶联免疫吸附试验(ELISA)。病毒中和试验能直接反映猪只对猪瘟病毒感染的抵抗力，中和抗体水平代表了猪群的保护力。但是，病毒中和试验操作复杂、技术含量高，不适用于临幊上大规模地评估猪群的抗体水平。IHA 在临幊上具有快速、简便、廉价的优点，但其特异性和稳定性均不如 ELISA，ELISA 能做到准确定量测定猪瘟抗体水平。IDEXX 公司生产的猪瘟抗体 ELISA 试剂盒包被抗原是针对能诱导机体产生中和抗体并激发保护性免疫应答的 E 蛋白，所采用的单抗是针对猪瘟 E2 蛋

白的单抗，检测的猪瘟抗体与中和抗体高度相关，相关系数达到 0.863，与猪瘟全抗体之间的相关性较差^[9-10]，同时还可以排除牛黏膜腹泻病毒诱导产生的抗体干扰。当血清中和抗体滴度达到 1:32 时，猪就能抵抗猪瘟病毒的感染，说明抗体水平合格。HerdChk ELISA 抗体阻断率为 50% 时与血清中和抗体滴度 1:32 相当^[8]。故本试验选用抗体阻断率为 50% 作为判定种猪猪瘟抗体合格的标准。

检测结果可以看出，不同规模猪场种猪猪瘟抗体合格率均存在差异，规模越小的猪场，种猪猪瘟抗体合格率越低。种猪猪瘟抗体合格率超过 90% 的猪场仅为 40%，而猪场的猪瘟抗体合格率要求在 90% 以上^[11]，说明 60% 的规模化猪场的猪瘟抗体相对不稳定。分析猪瘟不稳定猪场种猪猪瘟抗体不合格的原因可能有：疫苗免疫操作不当造成抗原量不足以诱导猪体产生免疫应答反应；疫苗保存、运输不当造成疫苗失效；免疫程序制定不合理或疫苗接种期间在猪的日粮中添加高浓度药物；存在免疫抑制性疾病（如混合感染 PRRSV、PRV、PCV 或饲喂发霉饲料等）造成猪体免疫功能受损而失去对疫苗的免疫应答能力，以及母猪慢性或持续性感染疾病导致疫苗不能有效激发机体产生特异性免疫应答反应^[12]。为了排除人为和疫苗自身的因素，针对首次检测猪瘟抗体不合格的所有种猪，加强接种 1 次猪瘟兔化弱毒脾淋苗 2 头份 (1 200 RID · 头份⁻¹)，结果表明不同规模猪场种猪猪瘟抗体合

格率均有不同程度的提高, 但每个猪场仍存在一定比例的猪瘟抗体阻断率低于 50% 的种猪, 认为可能属于种猪自身因素 (猪瘟带毒或免疫抑制) 造成免疫失败有关。由于携带猪瘟病毒的种猪会不断地排毒成为传染源, 存在爆发猪瘟的隐患; 由于免疫受抑制的种猪, 本身没有足够的猪瘟抗体, 母乳中的母源抗体不足以保护其后代, 新生仔猪免疫保护不足而成为易感猪。故应淘汰猪瘟抗体不合格种猪, 才能保证整个猪群的健康。

参考文献:

- [1] 崔尚金. 猪瘟流行现状的分析与思考 [J]. 南方养猪, 2006 (4): 6- 9.
- [2] 郑建波, 李永福. 猪瘟的诊断与防治 [J]. 畜牧兽医科技信息, 2007 (2): 28- 30.
- [3] 陈西钊, 叶春艳, 蒋进, 等. 猪瘟抗体监测及免疫效果分析 [J]. 中国农业科学, 2002, 35 (4): 457- 459.
- [4] 周绪斌, 赵亚荣, 许秀梅, 等. 规模化猪场猪瘟的净化与防制 [J]. 养猪, 2006 (3): 44- 46.
- [5] 解跃雄, 邹国伟, 冯俊仙. 猪瘟综述 [J]. 猪业科学, 2006 (3): 19- 21.
- [6] 代广军, 蔡雪辉, 苗连叶, 等. 规模化养猪高热病等流行疫病防控新技术 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2008: 44- 45.
- [7] HU ALI, HA NCHUN YANG. Infection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus suppresses the antibody response to classical swine fever virus vaccination [J]. Veterinary Microbiology, 2003, 95: 295- 301.
- [8] 李维诚. IDEXX ELISA 法在猪瘟之控制与应用 [J]. 台湾中心大学学报, 2000, 8: 23- 30.
- [9] 苗得园. Herdcheck 猪瘟抗体 ELISA 试剂盒在猪瘟控制中的应用 [J]. 中国兽医杂志, 2006, 42 (11): 50- 51.
- [10] 张险朋, 潘杰, 温清萍, 等. 猪瘟间接血凝试验与 ELISA 试验结果的相关性探讨 [J]. 中国畜牧兽医, 2007, 34 (6): 89- 90.
- [11] 杜希珍, 高丽娜, 赵海山, 等. 规模化猪场母猪群猪瘟抗体血清学调查 [J]. 猪业科学, 2009, 26 (6): 86- 88.
- [12] 黄诚华. 浅谈猪瘟免疫失败的原因 [J]. 福建畜牧兽医, 2006, 28 (3): 57- 58.

(责任编辑: 林海清)