

猪 O 型口蹄疫疫苗免疫抗体消长动态研究

项朝荣¹, 王儒磊², 赵建东¹, 卫陆梅¹, 卫一新¹, 惠永华²

(1. 济源市动物疫病预防控制中心, 河南济源 459000; 2. 济源市动物卫生监督所, 河南济源 459000)

摘要 [目的] 掌握猪 O 型口蹄疫疫苗免疫后的抗体消长规律。[方法] 应用猪 O 型口蹄疫灭活疫苗 1、灭活疫苗 2 和合成肽疫苗对 198 头试验猪进行至少 2 次免疫, 定期采血后用液相阻断 ELISA 检测方法测定免疫前后抗体效价。[结果] 在首次免疫时, 疫苗免疫效果受母源抗体的干扰较大; 仔猪首免后抗体很难达到完全保护 (大于 $6\log_2$) 水平, 应当缩短首免与二免的间隔时间, 尽量减少免疫空白期; 合成肽疫苗的首免效果较灭活疫苗好, 首次免疫推荐使用合成肽疫苗; 如果生猪饲养周期过长, 免疫 2 次的生猪出栏时抗体不能达到完全保护水平; 规模场试验猪的母源抗体水平低于散养户, 随着试验猪日龄的增加和免疫的加强, 规模场试验猪的免疫抗体滴度逐渐高于散养户。[结论] 该研究可为研究猪 O 型口蹄疫抗体变化和制定猪 O 型口蹄疫疫苗的免疫程序提供参考和借鉴。

关键词 猪 O 型口蹄疫; 疫苗免疫; 抗体检测; 抗体消长; 分析

中图分类号 S855 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2015)08-109-03

Dynamic Analysis of Immune Antibodies of Type O of Porcine Foot-and-mouth Disease Vaccine

XIANG Chao-rong¹, WANG Ru-lei², ZHAO Jian-dong¹ et al (1. Jiyuan Animal Disease Control and Prevention Center, Jiyuan, Henan 459000; 2. Jiyuan Animal Health Supervision Institute, Jiyuan, Henan 459000)

Abstract [Objective] The research aimed to grasp the dynamic change laws of antibody after the vaccine immunization of porcine type O foot-and-mouth disease. [Method] 198 test pigs were immunized for at least twice with inactivated vaccine, inactivated vaccine 2 and synthetic peptide vaccine of porcine type O FMD vaccine. After routine sampling, the immune antibody titer was determined by using liquid-phase blocking ELISA. [Result] In the first immunization, the interference of maternal antibody on the immune effect of the vaccine was larger. The antibody of piglets after the first immunization was difficult to achieve complete protection (more than $6\log_2$). So the interval time between the first immunization and the second immunization should be reduced and the immune blank period should be reduced as possible. The first immunization effect of the synthetic peptide vaccine was better than that of inactivated vaccines. So the synthetic peptide vaccine was recommended to be used in the first immunization. If the breeding period of pigs was too long, the antibody level of marketing pigs immunized for twice couldn't reach the complete protection level. The maternal antibody level of test pigs in large-scale pig farm was lower than that in scatter-raised farm. With the increasing age and immunization procedure of pigs, the immune antibody titer of test pigs in large-scale pig farm was gradually higher than that in scatter-raised farm. [Conclusion] The research could provide references for studying the antibody changes of porcine type O FMD and establishing the vaccine immunization program of porcine type O FMD.

Key words Porcine type O foot-and-mouth disease; Vaccine immunization; Detection of antibody; Dynamic changes of antibody

口蹄疫 (FMD) 是由口蹄疫病毒引起偶蹄动物的一种急性、热性、高度接触性传染病, 该病传播速度快, 感染率高, 对社会及国际贸易危害严重, 世界动物卫生组织 (OIE) 将其列为 A 类动物传染病之首。我国是受口蹄疫危害的国家之一, 也是世界上最大的猪肉生产国和消费国。猪口蹄疫防控是我国动物疫病防控的重中之重。为了制定科学免疫程序, 有效防控该病, 笔者对猪 O 型口蹄疫疫苗的免疫抗体消长动态进行了检测。

1 材料与方法

1.1 试验动物 试验猪为母猪免疫背景基本一致的仔猪 198 头, 选自河南省济源市 6 个生猪规模场和 9 个散养户。

1.2 试验材料

1.2.1 疫苗 疫苗购自河南省政府招标的 3 个疫苗厂家, 疫苗批号分别为: 2136002、2136012、2136034; H120742J、H120743J; 20120501、20120611、20120705。所用疫苗均由济源市畜牧局提供。

1.2.2 检测试剂 口蹄疫液相阻断 ELISA 检测试剂, 批号为 2012102901, 购自中国农业科学院兰州兽医研究所。

1.3 试验场地 动物免疫接种试验在各养殖场内完成, 血

清学试验在济源市动物疫病预防控制中心实验室完成。

1.4 试验方法 198 头试验猪分为 3 大组、9 小组, 第 1 大组的 72 头规模场试验猪分别用猪 O 型口蹄疫灭活疫苗 1、灭活疫苗 2 和合成肽疫苗进行 2 次免疫, 第 2 大组的 72 头规模场试验猪分别用猪 O 型口蹄疫灭活疫苗 1、灭活疫苗 2 和合成肽疫苗进行 3 次免疫, 第 3 大组的 54 头散养户试验猪分别用猪 O 型口蹄疫灭活疫苗 1、灭活疫苗 2 和合成肽疫苗进行 3 次免疫, 免疫方法与免疫剂量按照疫苗说明书进行。试验猪从 10 日龄开始每月开展 1 次抗体检测, 跟踪抗体的消长规律。

1.5 数据处理及结果判定 FMD 抗体效价与保护性关系通常以 3 个区带来表述^[1], 小于 $3\log_2$ 时为敏感带 (易受感染), $3\log_2 \sim 6\log_2$ 时为灰色带 (不完全保护或部分保护), 大于 $6\log_2$ 时为保护带 (完全保护)。

2 结果与分析

2.1 试验猪疫苗免疫前后抗体消长变化 从表 1 可以看出, 10 日龄 9 个试验组的平均抗体滴度全部处于保护带; 37 日龄 (首免), 8 个试验组的平均抗体滴度仍处于保护带; 68 日龄 (首免后 31 d, 二免), 只有 1 个试验组的平均抗体滴度处于保护带, 甚至有 1 个试验组的平均抗体滴度处于敏感带; 99 日龄 (二免后 31 d) 时, 7 个试验组的平均抗体滴度处于保护带, 2 个试验组的平均抗体滴度处于灰色带; 125 日龄 (二免后 57 d, 部分组三免) 时, 9 个试验组的平均抗体滴度

全部处于保护带;150日龄(部分组二免后82d,部分组三免后25d)时,9个试验组的平均抗体滴度全部处于保护带。

表1 不同日龄试验猪抗体的平均滴度变化

养殖类型	免疫次数	疫苗厂家	平均抗体滴度//log ₂					
			10日龄	37日龄(一免)	68日龄(二免)	99日龄	125日龄(三免)	150日龄
规模场	3	灭活疫苗1	7.06	6.06	2.22	4.94	6.82	7.97
		灭活疫苗2	7.83	5.85	3.76	6.50	7.54	7.59
规模场	2	合成肽疫苗	6.67	6.26	5.65	8.87	10.00	9.47
		灭活疫苗1	7.58	6.96	3.90	6.98	7.71	6.30
		灭活疫苗2	7.25	6.31	3.88	6.50	7.61	6.32
散养户	3	合成肽疫苗	7.38	6.73	3.55	8.88	8.56	7.78
		灭活疫苗1	8.00	6.53	4.59	6.91	6.75	6.96
		灭活疫苗2	8.53	8.06	4.18	5.41	6.95	7.67
		合成肽疫苗	9.00	8.83	6.39	6.53	8.56	9.37

2.2 不同疫苗厂家抗体消长的比较 从图1可以看出,10日龄和37日龄未免疫疫苗时,3组试验猪平均抗体滴度基本一致;首免后31d,3组试验猪平均抗体滴度均有所下降,但下降幅度差异较大,其中合成肽疫苗免疫猪抗体滴度下降幅度最小,不到1个滴度,灭活疫苗1免疫猪抗体滴度下降幅度最大,约4个滴度;此后几次检测,合成肽疫苗免疫猪抗体滴度一直高于灭活疫苗免疫猪。

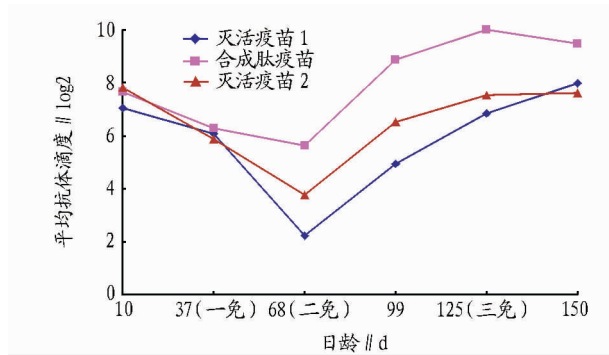


图1 不同厂家疫苗免疫试验猪的抗体滴度变化

2.3 不同免疫次数的抗体消长比较 从图2可以看出,10日龄、37日龄、68日龄、99日龄和125日龄,2组试验猪平均抗体滴度基本一致;150日龄,免疫3次试验猪抗体滴度较25d前略有上升,免疫2次试验猪抗体滴度较25d前明显下降。

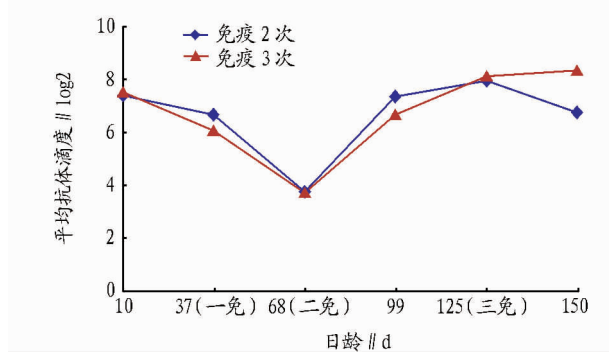


图2 不同免疫次数试验猪的抗体滴度变化

2.4 不同养殖类型抗体消长的比较 从图3可以看出,10日龄、37日龄未免疫疫苗和68日龄首免后31d,散养户平均抗体滴度略高于规模场;99日龄、125日龄和150日龄,随着试验猪的生长和免疫次数增多,规模场平均抗体滴度略高于散养户。

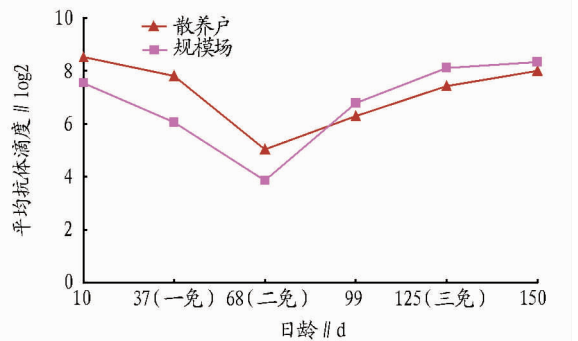


图3 不同养殖类型试验猪的抗体滴度变化

3 讨论

(1)该试验结果表明,仔猪首免后抗体下降明显,说明在首次免疫时疫苗免疫效果受母源抗体干扰较大。据报道,母源抗体可从细胞免疫和体液免疫2个方面对疫苗免疫产生干扰^[1],其作用机理主要是加速抗原物质的清除、对弱毒疫苗起中和作用、母源抗体对特异性抗原位点的“封闭”而阻止抗原位点与机体免疫相关细胞上的抗原受体结合等,从而导致免疫系统不能对抗原物质产生反应。因此,在猪O型口蹄疫免疫中应重视母源抗体对疫苗的干扰作用,选择合适的时机进行疫苗免疫。在实际生产中,当母源抗体降至不完全保护水平时,对疫苗免疫效果的干扰较小,此时是接种疫苗的最佳时机。该试验结果表明,仔猪经过1次免疫抗体很难达到完全保护水平,二免后抗体能达到完全保护水平且有效抗体持续时间长。魏孔福等^[2]2007年报道的O型口蹄疫疫苗免疫牛抗体消长动态的LPB-ELISA检测结果也表明,畜群经过1次免疫不能获得良好的保护率,只有在二免后进行加强免疫,才能达到预期目的。首免后至二免有效抗体产生以前仔猪处于免疫空白期,因此在生产中要适当缩短首免与二免间隔时间,尽量减少免疫空白期。

(2)该试验结果表明合成肽疫苗免疫效果受母源抗体的干扰较灭活疫苗小,这与王文娟等^[3]报道的猪O型口蹄疫灭活疫苗与合成肽疫苗免疫抗体水平的比较结果一致。猪O型口蹄疫合成肽疫苗是仅含免疫决定簇组分的小肽,由于不是全病毒,母源抗体对其干扰作用相对较小,首免后抗体滴度明显高于灭活疫苗。由于首免基础好,加强免疫后抗体滴度仍高于灭活疫苗。因此,仔猪首免使用合成肽疫苗可以达到较好的免疫效果,首次免疫推荐使用合成肽疫苗。

(3) 该试验结果表明, 试验猪二免后 82 d 抗体仍处于保护带, 但灭活疫苗组的抗体已接近保护带与灰色带的临界线, 与及时进行三免的试验猪相比, 平均抗体低将近 2 个滴度。在实际生产中, 如果生猪饲养周期过长, 免疫 2 次的生猪出栏时抗体不能达到完全保护水平。因此, 饲养周期超过 180 d 的生猪, 应在二免后 60 d 再免疫 1 次猪 O 型口蹄疫疫苗。

(4) 不同养殖类型的比较结果表明, 规模场试验猪母源抗体水平低于散养户, 仔猪母源抗体水平与母体特异抗体水平呈正相关^[1], 此次选取的试验猪母猪免疫背景基本一致, 规模场可能因为母猪批量免疫, 免疫效果不如散养户。在试验过程中规模场和散养户试验猪的疫苗免疫全部由试验人员亲自完成, 免疫日龄和免疫剂量一致, 随着试验猪日龄的

增加和免疫的加强, 规模场试验猪免疫抗体滴度逐渐高于散养户, 这可能与规模场的饲养管理水平较高有关, 有待进一步研究。

(5) 由于受条件限制, 此次试验采样检测间隔时间较长, 只能粗略掌握试验猪疫苗免疫前后抗体消长规律, 下一步将不断完善研究数据, 探索更详细的抗体变化规律, 更好为养殖场户的猪 O 型口蹄疫免疫提供参考和指导。

参考文献

- [1] 高世杰, 窦永喜, 程爱华, 等. 母源抗体对猪口蹄疫疫苗免疫应答的影响[J]. 中国兽医学报, 2011, 31(1): 45-48.
- [2] 魏孔福, 祁淑芸, 林密, 等. O 型口蹄疫疫苗免疫牛抗体消长动态的 LPB-ELISA 检测[J]. 中国兽医科学, 2007, 37(9): 787-790.
- [3] 王文娟, 邓红江, 王群英, 等. 猪 O 型口蹄疫灭活疫苗与合成肽疫苗免疫抗体水平检测[J]. 中国兽医杂志, 2013, 49(11): 41-42.
- [4] 吴珊珊, 胡昌江, 吕非非, 等. 一测多评法测定黄柏中 5 种生物碱[J]. 中成药, 2014, 36(1): 130-134.
- [5] 曹玺珉, 吴昊, 张晋, 等. 黄连黄柏提取液中 3 种生物碱的原位生成离子液体微萃取及 HPLC 测定[J]. 应用化学, 2013, 30(12): 1489-1493.
- [6] 张凡, 史辑, 赵佳丽, 等. HPLC 法测定两种黄柏及其炮制品中黄柏内酯和黄柏酮[J]. 中成药, 2011, 33(4): 634-637.
- [7] 祝晨鑫, 林朝晨. 黄柏药材薄层色谱特征鉴别研究[J]. 广东药学, 2004, 14(1): 8-9.
- [8] 刘龙先, 杨晔, 张园. 黄柏软胶囊质量标准研究[J]. 中药材, 2005, 28(7): 617-619.
- [9] 谢梦婷, 王晓青, 毋福海. 毛细管电泳法同时测定清肺抑火丸中盐酸小檗碱、盐酸黄柏碱、苦参碱含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(13): 113-116.
- [10] 杨广德, 贺浪冲, 杜鹃, 等. 高效毛细管电泳法测定黄柏中盐酸小檗碱和盐酸巴马汀[J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(17): 1343-1345.
- [11] 何青云, 张永康, 颜文斌, 等. 超临界二氧化碳萃取黄柏挥发油工艺[J]. 食品工业科技, 2012, 33(3): 217-219.
- [12] 回瑞华, 侯冬岩, 李铁纯, 等. 黄柏挥发性化学成分分析[J]. 分析化学, 2001, 29(3): 361-364.
- [13] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 214:99.
- [14] 李卫彬, 阳文辉, 黄锁义. DNS 法测定黄柏中总糖的含量[J]. 右江民族医学院学报, 2008, 30(1): 13-14.
- [15] 牛和平, 张桂香, 刘敏, 等. 三江平原地区黄柏微量元素含量分析[J]. 现代化农业, 1995(2): 22.
- [16] 蔡卫家, 徐显贵. 黄柏药材的红外光谱鉴别[J]. 中国药业, 2011, 20(20): 34.
- [17] 达日茂玛仁巴·罗布桑朝日嘎. 金钊注释集[C]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1988: 784.
- [18] 帝玛尔·丹增彭措. 晶珠本草[M]. 上海: 上海科技出版社, 1986: 949.
- [19] 张冠英, 董瑞娟, 廉蓬. 川黄柏、关黄柏的化学成分及药理活性研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(10): 812-821.
- [20] 张博, 张婷, 王树春. 黄柏的化学成分、质量分析方法及药理作用研究[J]. 现代医药卫生, 2013, 29(10): 1505-1507.
- [21] 刘文涓. 浅谈黄柏的临床应用[J]. 中国医学工程, 2011, 19(10): 170-171.
- [22] HU Y M, SU G H, YE W C, et al. Quality assessment of Cortex Phellodendri by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization mass spectrometry[J]. Biomedical Chromatography, 2010, 24: 438-453.
- [23] 熊敏. 黄柏化学成分分析及药理作用研究[J]. 亚太传统医药, 2014, 10(14): 34-35.
- [24] SU R H, KIM M, YAMAMOTO T, et al. Antifeeding coustuticals of Phellodendron Chinese against Reticulitermes speratus[J]. J Pesticide Sci, 1990, 15(4): 567-572.
- [25] 苏荣辉, 金武祚, 中岛修平, 等. 黄皮树果实中的酰胺类化合物[J]. 植物学报, 1994, 36(10): 817-820.

(上接第 39 页)

载, 近年来对黄柏的药理作用报道逐渐增多, 虽其植物来源不甚相同, 但经临床证实均有良好的药理作用, 故黄柏作为一种来源广泛的中药材, 有着良好的发展前景。

表 2 黄柏的药效活性及其物质基础

序号	药效活性	药效物质基础
1	降血糖作用	小檗碱 ^[24]
2	降血压作用	小檗碱 ^[24]
3	肠管的影响, 使肠管张力及振幅均增强	黄柏酮、柠檬苦素、小檗碱 ^[24]
4	免疫抑制作用, 减轻炎症损伤	黄柏碱、木兰花碱 ^[25]
5	抗菌作用	黄柏煎剂、水浸出液或乙醇浸出液 ^[25]
6	抗溃疡作用	不含小檗类生物碱的黄柏水溶性成分 ^[26]
7	抗氧化作用	黄柏生品、清炒品、盐炙品、酒炙品水提取物和醇提取物 ^[26]
8	抗痛风作用	黄柏生品、盐制品 ^[26]
9	抗病毒作用	黄柏水提取液 ^[27]
10	抗肿瘤作用	黄柏水提取液 ^[27]
11	前列腺渗透作用	小檗碱 ^[28]
12	昆虫拒食作用	黄柏中的小檗碱盐酸盐、巴马亭的氢碘酸盐、Kihadanin A、黄柏内酯、苦楝子酮、N-methylflindersine ^[29]
13	杀灭家蝇的作用	异丁基酰胺类化合物 ^[30]

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志第四十三卷第二分册[M]. 北京: 科学出版社, 1997: 99-103.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 251-252.
- [3] 甘晓冬, 戴克敏. 中药黄柏种及变种的鉴定[J]. 上海医科大学学报, 1990, 17(1): 57-60.
- [4] 李峰, 贾彦竹. 黄柏的临床药理作用[J]. 中医药临床杂志, 2004, 16(2): 191.
- [5] 李行诺, 翟文丰, 周孟宇, 等. 黄柏化学成分研究[J]. 浙江工业大学学报, 2012, 40(3): 244-246.
- [6] 刘仁俊. 黄柏化学成分及药理作用浅谈[J]. 中国中医药现代远程教育, 2011, 9(13): 83-84.
- [7] DU X, ZHANG X R, XU B S. The research development on chemical composition and quality control of Cortex phellodendri chinensi[J]. Chinese Journal of the Practical Chinese with Modern Medicin, 2007, 22(20): 2018-2019.
- [8] 王季. 黄柏有效部位的化学成分的研究[J]. 黑龙江医药, 2014, 27(2):