

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2018.04.03

猪唾液与血清中猪瘟抗体相关性研究

卫朝辉¹, 徐刚孺^{1,2}, 高洪¹, 严玉霖^{1*}, 曾梦颖¹, 王改菊³

(1. 云南农业大学动物科学技术学院, 昆明 650201; 2. 云南省德宏州梁河县动物卫生监督所, 云南德宏 679200;

3. 云南省德宏州梁河县动物疫病预防控制中心, 云南德宏 679200)

[收稿日期] 2017-06-05 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2018) 04-0014-05 [中图分类号] S852.65

[摘要] 为了解猪血清猪瘟抗体和相应唾液中抗体的关系, 从云南省境内 9 个不同规模的猪场, 采集 60 份唾液和对应的 180 份血液样本, 分离血清。通过 ELISA 方法对血清和唾液中猪瘟抗体水平进行检测, 并分析两者之间的 Pearson 相关。结果表明, 血清和唾液中猪瘟抗体水平之间具有显著的正相关性 ($r=0.768, P<0.05$), 因此可通过检测猪唾液抗体水平为规模化猪场相关疫病诊断以及免疫水平评估提供参考。

[关键词] 猪唾液; 猪瘟病抗体; ELISA 方法; Pearson 相关

Study on the Correlation of CSFV Antibodies between Porcine Oral Fluid and Serum

WEI Zhao-hui¹, XU Gang-ru^{1,2}, GAO Hong¹, YAN Yu-lin^{1*}, ZENG Meng-ying¹, WANG Gai-ju³

(1. College of Animal Sciences and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. Dehong County Lianghe Animal Health Inspection of Yunnan, Dehong, Yunnan 679200, China;

3. Dehong County Lianghe Centre for Animal Disease Control and Prevention of Yunnan, Dehong, Yunnan 679200, China)

Corresponding author: YAN Yu-lin, E-mail: yanyulin333@163.com

Abstract: In order to study the correlation of CSFV antibodies between oral fluid and serum, 60 oral fluid samples and 180 serum samples were collected from 9 pig feeding farms in Yunnan. The total samples were detected with indirect ELISA, a significant Pearson correlation was found between them ($r=0.768, P<0.05$). This study provided an important parameter for the diagnosis of diseases and the evaluation of immune level by detecting the antibody in oral fluid.

Key words: porcine oral fluid; antibody of CSFV; ELISA; Pearson correlation

猪瘟 (classical swine fever, CSF), 俗称“烂肠瘟”, 是由猪瘟病毒 (classical swine fever virus, CSFV) 引起的严重危害养猪业的一种高传染性、高致死性猪传染病^[1-2], 猪瘟通常会引发高热、出血综

基金项目: 国家自然科学基金 (31260594); 云南省现代农业生猪产业技术体系建设

作者简介: 卫朝辉, 硕士研究生, 从事基础兽医学研究; 徐刚孺, 高级兽医师, 从事兽医卫生防疫研究, 为共同第一作者。

通讯作者: 严玉霖。E-mail: yanyulin333@163.com

合征,具有较高的死亡率^[3],也是猪主要繁殖障碍性疾病之一。世界动物卫生组织(OIE)将其列为 A 类法定报告的传染病^[4],我国也将其列为一类动物传染病。猪瘟在我国呈现地区性散发性特点,并在猪群中存在一定隐性感染和持续性感染现象^[5]。世界动物卫生组织推荐的猪瘟抗体检测方法是 ELISA 法,因其检测方法操作简便快速、结果易于判别,使得血清学方法检测 CSFV 抗体成为目前预防和控制猪瘟大面积感染的主要手段,同时在监测流行状态和流行病学调查等方面有着重要的作用,是监测免疫猪群抗体水平的主要方法,对猪瘟疫苗免疫效果评价及免疫程序的制定具有重要指导意义。但血液样品采集具有耗时费力、对动物造成伤害、威胁采集人员安全等缺点,近年来有报道唾液样品可替代血清样品检测猪瘟抗体^[6]。为了解猪血清猪瘟抗体和相应唾液中抗体的关系,根据云南省境内某种猪场的血清猪瘟抗体和相应唾液中抗体检测数据,研究分析了血清猪瘟抗体和相应唾液中抗体水平的相关性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 检测样品 从云南省境内 9 个猪瘟疫苗免疫 1 个月以上的规模化猪场随机采集 60 份唾液样品。每个相应的猪场采集血液样品,共采集 180 份血液,实验室分离血清,-4℃保存血清。唾液采集

方法:以圈为单位,将经过高压灭菌的棉线用铁丝固定在猪圈的适当位置,利用猪的好奇心,让其自由咀嚼,经 10~30 min 后,待棉线湿透后,收集到密封袋中带回实验室。把棉纱绳上的唾液挤入 10 mL 离心管中,待检测。

1.1.2 检测试剂盒 猪瘟病毒 ELISA 抗体检测试剂盒购于 IDEXX 股份有限公司。

1.2 方法

1.2.1 抗体水平检测 待检血清和唾液采用 ELISA 方法检测 CSFV 抗体具体操作按照产品使用说明书进行。

1.2.2 数据处理与分析 猪瘟抗体水平检测数据用阻断率(%)表示,阻断率=(1-S/N)×100%(S=样品孔 OD_{450nm} 值,N=阴性对照孔平均 OD_{450nm})。检测结果判断标准为:CSFV 抗体阻断率≥40% 为阳性;阻断率<40%为阴性。相应血清抗体阻断率算平均阻断率,数据采用 SPSS19.0 进行统计分析,运用 Pearson 相关性分析(双侧)猪唾液与血清中猪瘟抗体相关性。

2 结果与分析

2.1 CSFV 血清抗体水平检测结果 CSFV 抗体阻断率平均值为 35.63%,离散度为 14.51%,阳性率为 37.50%(表 1)。

2.2 CSFV 唾液抗体水平检测结果 CSFV 抗体阻断率平均值为 33.53%,离散度为 13.58%,阳性率为 35.40%(表 2)。

表 1 CSFV 血清抗体水平检测结果

Tab 1 Result of antibody of CSFV in serum of pigs				
样品数/份	阳性率/%	平均阻断率/%	标准差	离散度/%
180	37.50	35.63	17.32	14.51

表 2 CSFV 唾液抗体水平检测结果

Tab 2 Result of antibody of CSFV in oral fluid of pigs				
样品数/份	阳性率/%	平均阻断率/%	标准差	离散度/%
60	35.40	33.53	16.42	13.58

2.3 CSFV 抗体阻断率与唾液抗体水平的相关性

表 3 结果显示,CSFV 抗体阻断率与相应猪唾液抗体的皮尔逊相关系数为 0.768,呈显著正相关($P<0.05$)。

2.4 CSFV 抗体阻断率与唾液抗体水平的线性回归关系

由表 4、表 5 以及图 1 可得出 CSFV 抗体阻断率 (Y , 单位:%) 与相应猪唾液抗体 (X , 单位:%) 的回归方程: $Y=1.092X+1.535$, $r^2=0.590$ 。

表 3 CSFV 抗体阻断率与唾液抗体水平的相关性

Tab 3 Correlation between antibody of CSFV in oral fluid and serum of pigs

阻断率	唾液	
	皮尔逊系数(r)	显著性(P)
血清	0.768 *	0.016

*表示在 0.05 水平(双侧)上显著相关

表 4 回归系数计算

Tab 4 Regression coefficient calculation

模型 1	非标准化系数		标准系数	t	Sig.
	B	标准误差			
常量	1.535	9.271	/	0.167	0.872
猪唾液猪瘟抗体阻断率	1.092	0.345	0.768	3.171	0.016

表 5 回归显著性检验

Tab 5 Regression test

模型 1	平方和	df	均方	F	Sig.
回归	598.387	1	598.387	10.053	0.016
残差	416.676	7	59.525		
总计	1015.063	8			

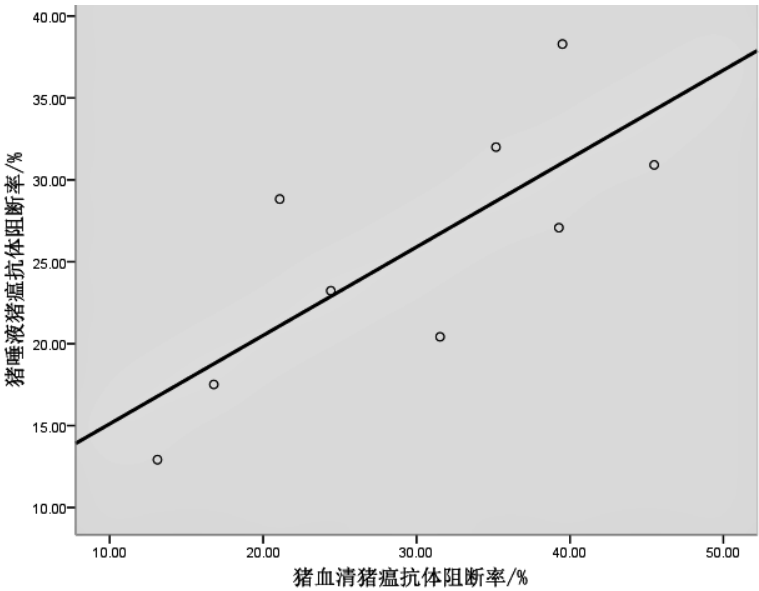


图 1 CSFV 抗体阻断率与唾液抗体水平的线性回归关系

Fig 1 Linear regression relationship of antibody of CSFV in oral fluid and serum of pigs

3 讨 论

猪瘟血清抗体的检测对于 CSFV 疫病诊断、免疫效果的评估和免疫时机的选择都具有重要的指导意义,是目前兽医实验室诊断使用较多的方法。抗体阻断率与血清中的中和抗体效价成正相关,阻断率越高,表明中和抗体水平越高^[7]。抗体阳性率代表检测血清中中和抗体阻断率在 40% 以上的个体占所检全体的比例,抗体阳性率越高,表明猪群的疫苗免疫效果越好。离散度=标准差/平均阻断率×100%。离散度越低,表明猪群个体的抗体水平整齐度好,免疫效果越好;反之,说明个体的抗体水平差异较大,免疫效果不好,离散度最好控制在 15% 以内^[7]。试验数据显示,猪瘟血清抗体阻断率平均值为 35.63%,离散度为 14.51%;抗体阳性率为 37.50%;CSFV 唾液抗体阻断率平均值为 33.53%,离散度为 13.58%,阳性率为 35.40%,说明猪瘟血清抗体及相应的唾液抗体整齐度较好。抗体的阳性率检测结果表明样品收集猪场的猪群疫苗免疫效果需要加强。试验进一步探讨了猪血清中抗体阻断率与唾液中抗体阻断率的相关性,结果发现两者的皮尔逊相关系数为 0.768。相关系数绝对值大于 0.3,可以视为相关性^[8]。因此,两者之间呈现显著正相关($P<0.05$)。根据试验数据及相关性推测,当唾液中抗体阻断率高于 35% 时,可判为猪瘟阳性。试验的样本数量有限,初步探究出了猪血清中抗体阻断率与唾液中抗体阻断率的相关性,两者进一步的相关性还需进一步试验研究。

唾液的采集方法简便,可减少动物应激,是评估猪群实时健康动态的良好工具^[9],但不是所有检测血清抗体的试剂盒都可以用来检测唾液样品,需要选用敏感性较高的 ELISA 试剂盒提高唾液中猪瘟抗体与血清中相应抗体的符合率^[10]。推广唾液

在兽医检测中的运用还有许多问题需要完善,例如唾液中抗体滴度低于血清中抗体滴度;唾液中抗体主要以分泌型的 IgA 为主,而血液中主要以 IgG 为主,有研究发现,唾液中 IgA 抗体检测的灵敏性要高于 IgG 抗体的灵敏性^[11-12]。目前商品化的 ELISA 检测试剂盒主要针对血清中的 IgG 抗体,因此开发针对分泌型 IgA 的 ELISA 检测试剂盒将有利于唾液中抗体的检测。

参考文献:

- [1] 刘 坤, 兰邹然, 姜 平, 等. 猪瘟病毒分子生物学及检测技术研究进展[J]. 动物医学进展, 2012, 33(10):99-104.
Liu K, Lan Z R, Jang P, *et al.* Progress on molecular biology and diagnostic technique of classical swine fever virus [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2012, 33(10):99-104.
- [2] 陈博言. 兽医传染病学(第 6 版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2015.
Chen P Y. Veterinary infectious diseases (VI) [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2015.
- [3] Shen H Y, Wang J Y, Dong X Y, *et al.* Genome and molecular characterization of a CSFV strain isolated from a CSF outbreak in South China[J]. Intervirology, 2013, 56(2):122-133.
- [4] 蔺星辉, 周 红, 童泽鑫, 等. 猪瘟病毒血清抗体间接 ELISA 检测方法的建立[J]. 中国兽医科学, 2017, 47(01):9-15.
Lin X H, Zhou H, Tong Z X, *et al.* Development of an indirect ELISA for the detection of antibody against classical swine fever virus[J]. Chinese Veterinary Science, 2017, 47(1):9-15.
- [5] 陆欣然, 华思红, 樊钰莹, 等. 猪瘟病毒石门株 NS3 蛋白的原核表达及其抗体检测间接 ELISA 的建立[J]. 动物医学进展, 2017, 38(4):28-34.
Lu X R, Hua S H, Fan Y Y, *et al.* Prokaryotic expression of NS3 protein in classical swine fever virus Shimen strain and establishment of indirect ELISA for antibody detection [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2017, 38(4):28-34.
- [6] 张建国, 李 慧, 陈长宁, 等. 仔猪口蹄疫母源抗体变化趋势的研究[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2014(4):44-45.

Zhang J M, Li H, Chen C N, *et al.* Study on the change trend of maternal antibody of FMD in piglets [J]. Chinese Abstract of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2014(4) :44-45.

[7] 李彩虹, 何子双. 猪瘟与猪蓝耳病血清抗体水平检测及相关性分析[J].黑龙江畜牧兽医, 2016(6) :135-136.

Li C H, He, Z S.Detection of serum antibody level in CSFV and PRRSV and its correlation analysis [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2016(6) :135-136.

[8] 孙逸敏. 利用 SPSS 软件分析变量间的相关性[J].新疆教育学院学报, 2007, 23(2) :120-123.

Sun Y M.Using SPSS software to analyze the correlation between variables[J].Journal of Xinjiang Education Institute, 2007, 23(2) :120-123.

[9] Prickett J R, Cutler S, Kinyon J M, *et al.* Stability of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and antibody in swine oral fluid[J].Journal of Swine Health and Production, 2010, 18(4) :187-195.

[10] 卫秀于, 沈 强, 李守刚, 等. 猪口腔液与血清中猪瘟、蓝耳病、口蹄疫、伪狂犬抗体检测结果比较[J]. 畜牧与兽医, 2016, 48(9) :156-157.

Wei X Y, Shen Q, Li S G, *et al.* Comparison of antibody test results between porcine oral fluid and serum of CSFV, PRRSV, FMD and PRV [J].Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2016, 48 (9) :156-157.

[11] 位玉玲, 李沛东, 于少芳, 等. 猪群口腔液与血液中 PRRSV 和 PCV2 感染的病原和抗体消长规律调查[J].畜牧与兽医, 2017, 49(1) :80-85.

Wei Y L, Li P D, Yu S F, *et al.* Investigation on pathogen and antibody dynamics of PRRSV and PCV2 infection in oral fluid and serum of pigs[J].Animal Husbandry &Veterinary Medicine, 2017, 49 (1) : 80-85.

[12] Spakova Lazutka J, Sereika A, Lelesius V R, *et al.* Saliva as an alternative specimen for detection of Schmallenberg virus-specific anti-bodies in bovines[J].BMC Vet Res, 2015, 11:237.

(编 辑:李文平)