

夏南牛犊牛口蹄疫母源抗体衰减变化试验研究

石先华¹, 王之保^{2*}, 柏中峰³, 孙昊堃², 柏中林¹, 李 静³, 孙炳燕³

(1. 泌阳县动物疫病预防控制中心, 河南 泌阳 463700; 2. 泌阳县夏南牛研究推广中心, 河南 泌阳 463700;

3. 泌阳县动物卫生监督所, 河南 泌阳 463700)

摘 要: [目的] 探讨夏南牛犊牛口蹄疫母源抗体衰减变化规律, 为犊牛口蹄疫科学适时免疫提供参考依据。[方法] 血样采集使用一次性真空采血管, 抗体检测采用液相阻断 ELISA 检测方法, 抗体效价判定依据畜牧兽医主管部门动物疫病监测方案。[结果] 母牛产后、犊牛出生当天, O 型抗体效价合格率达 100%, A 型抗体效价合格率达 92%。O 型口蹄疫第 4 周抗体合格率达 86.96%, 到第 5 周已降至 66.67%; A 型口蹄疫第 3 周抗体合格率达 75%, 第 4 周抗体合格率已降至 39.13%。牛口蹄疫 O 型疫苗抗体衰减时间稍长于 A 型。[结论] 犊牛获得母源抗体的保护: O 型口蹄疫 4 周内有较强的保护作用, A 型口蹄疫 3 周内有较强的保护作用。建议夏南牛犊牛口蹄疫首免时间在出生后 40 d 左右为宜。

关键词: 犊牛; 母源抗体; 衰减变化

中图分类号: S823

文献标识码: A

文章编号: 1001-9111(2019)03-0029-04

1 材料与方法

1.1 材料

试验牛来自泌阳县新鑫农民专业合作社饲养的夏南牛母牛和犊牛, 怀孕母牛 25 头和其对应出生的犊牛 25 头, 母牛在免疫后 15~21 d 采集血样。疫苗使用的是国家招标采购的口蹄疫 O 型、A 型双价灭活疫苗, 每头母牛注射 4 mL, 肌肉注射。

采血器材: 采样箱、真空采血管、试管架、一次性离心管、5 mL 注射器、酒精棉球、干棉球、记号笔、牛鼻钳或绳子、不干胶标签、签字笔、采样单、乳胶手套、一次性鞋帽、口罩、一次性防护服等。

检测试剂与设备: 口蹄疫 O 型抗体检测 LB-ELISA 试剂盒(新模式, 生产批号: E170604, 生产日期: 2017-06-27); 口蹄疫 A 型抗体检测 LB-ELISA 试剂盒(新模式, 生产批号: E170703, 生产日期: 2017-07-27); 试剂盒生产厂家: 洛阳莱普生信息科技有限公司。检测仪器: 美国伯腾全自动酶标仪, 型号 ELX-800。

1.2 方法

1.2.1 牛源准备

对被选母牛在产前 1 个月左右

加强免疫口蹄疫 O 型、A 型双价灭活疫苗 1 次。母牛产后采血 5 mL, 检测口蹄疫抗体效价; 犊牛出生后的第 1 天采集血样, 以后每间隔 1 周采集 1 次血样, 根据抗体衰减变化确定下次采血时间。当 O 型、A 型抗体效价 < (1: 64) 时, 视为抗体水平不合格, 停止采血。

1.2.2 血样制备 母牛采用尾静脉采血: 采血时先将 5 mL 注射器的针头换用 9 号针头备用固定牛, 使牛尾向上翘。在离尾根 10 cm 左右中点凹陷处, 先用酒精棉球消毒, 然后用换好的注射器垂直刺入约 1 cm 深, 针头触及尾骨后退出 1 mm 进行抽血, 每头牛不少于 3 mL。采血结束, 消毒并用棉球按压止血。

犊牛采用颈静脉采血: 将犊牛保定好, 使其头部稍前伸, 并稍偏向对侧, 对颈静脉局部进行剪毛、消毒, 看清颈静脉后, 采血者用左手拇指或食指与中指, 在采血部位稍下方, 压迫静脉血管、使之充盈、怒张。如果不剪毛时用手触摸, 感觉圆滑、有弹性即是血管, 另一手执采血针头, 与皮肤成 45° 角。由下方向上方用力刺入皮肤与血管内, 见有血液流出后即可采集血样, 每头牛不少于 3 mL。采血结束, 消毒

收稿日期: 2019-01-12 修回日期: 2019-01-26

基金项目: 河南省现代农业产业技术体系建设专项资金资助项目(Z-2013-08-01)

作者简介: 石先华(1982—), 女, 河南泌阳人, 兽医师, 主要从事动物疫病防控和技术推广工作。

* 通讯作者: 王之保(1964—), 男, 河南泌阳人, 高级兽医师, 主要从事肉牛生产研究和技术推广工作。

并用棉球按压止血。当使用真空血管采血失败时,使用 5 mL 塑料注射器采血。

分离血清:将采集的牛全血倾斜 45°角,放置室温静置 1 h 后,以 4 000 r/min 离心全血 5 min,取上清液,并用记号笔对每份样品进行标记,备用待检。

1.2.3 检测方法 采用国家标准 GB/T 18935—2003 中的液相阻断 ELISA 检测方法,对制备的牛血清样品进行 O 型、A 型口蹄疫抗体检测。

1.2.4 判定标准 根据抗体试剂盒说明书的判定标准:病毒抗原对照 4 孔,去掉最高和最低 OD 值,计算剩余两孔的平均值 OD 值,再除以 2,即得 50% 对照值,该值为临界值,表示阻断 50% 反应的对照 OD 值。待检样品 OD 值 > 临界值,判为阴性;待检样品 OD 值 ≤ 临界值,判为阳性。O 型口蹄疫抗体效价 ≥ (1: 128),判为阳性;抗体效价 ≤ (1: 64),判为阴性;抗体效价在 (1: 64) ~ (1: 128) 时判为可疑。可疑样品需复测,复测抗体效价 ≥ (1: 128),判为阳性,抗体效价 < (1: 128) 判为阴性。

ELISA 抗体效价与免疫动物攻毒保护关系:牛、羊抗体效价 ≥ (1: 128),99% 以上保护;抗体效价在 (1: 22) ~ (1: 90) 之间,50% 保护;抗体效价 ≤ (1: 16),不保护。A 型口蹄疫试验标准同 O 型口蹄疫检测标准。

依据《2017 年河南省动物疫病监测与流行病学调查计划》(豫牧医[2017]22 号)文件,口蹄疫血清学监测、用液相阻断 ELISA 试验抗体效价 ≥ (1: 64),判为抗体合格;抗体效价 < (1: 64),判为抗体不合格。存栏家畜的抗体合格率 ≥ 70% 时判定为群体免疫合格。

2 结果与分析

2.1 检测结果

从表 1 看出,从检测的 25 头份母牛血样中,在试验条件下母牛产后 O 型抗体效价合格率达 100%,A 型抗体效价合格率达 92%。

表 1 母牛口蹄疫 O 型、A 型抗体检测结果分析

疫苗类型	监测时间	O 型抗体			A 型抗体		
		样品数	合格数	合格率/%	样品数	合格数	合格率/%
O 型、A 型双价灭活疫苗	产后当天	25	25	100	25	23	92

从表 2 及犊牛 O 型、A 型口蹄疫母源抗体衰减变化(图 1)可以看出,25 头犊牛从出生第 1 天开始对其采血,以后每间隔 1 周采血 1 次对抗体进行检测,各检测了 156 份次。O 型口蹄疫第 4 周抗体合格率达 86.96%,第 5 周、第 6 周抗体合格率逐步降低至 66.67%,31.25%,依据(豫牧医[2017]22 号)

文件规定的抗体效价评判标准,已是群体免疫不合格。

A 型口蹄疫第 3 周时抗体合格率达 75%,第 4 周降低至 39.13%,第 5 周抗体合格率已为 0。依据(豫牧医[2017]22 号)文件,第 4 周时已是群体免疫不合格。

表 2 犊牛口蹄疫 O 型、A 型抗体检测结果分析

监测周期	O 型抗体			A 型抗体		
	样品数	合格数	合格率/%	样品数	合格数	合格率/%
第 1 天	25	25	100	25	23	92
第 1 周	25	25	100	25	23	92
第 2 周	25	25	100	25	22	88
第 3 周	24	23	95.83	24	18	75
第 4 周	23	20	86.96	23	9	39.13
第 5 周	18	12	66.67	18	0	0
第 6 周	16	5	31.25	16	0	0

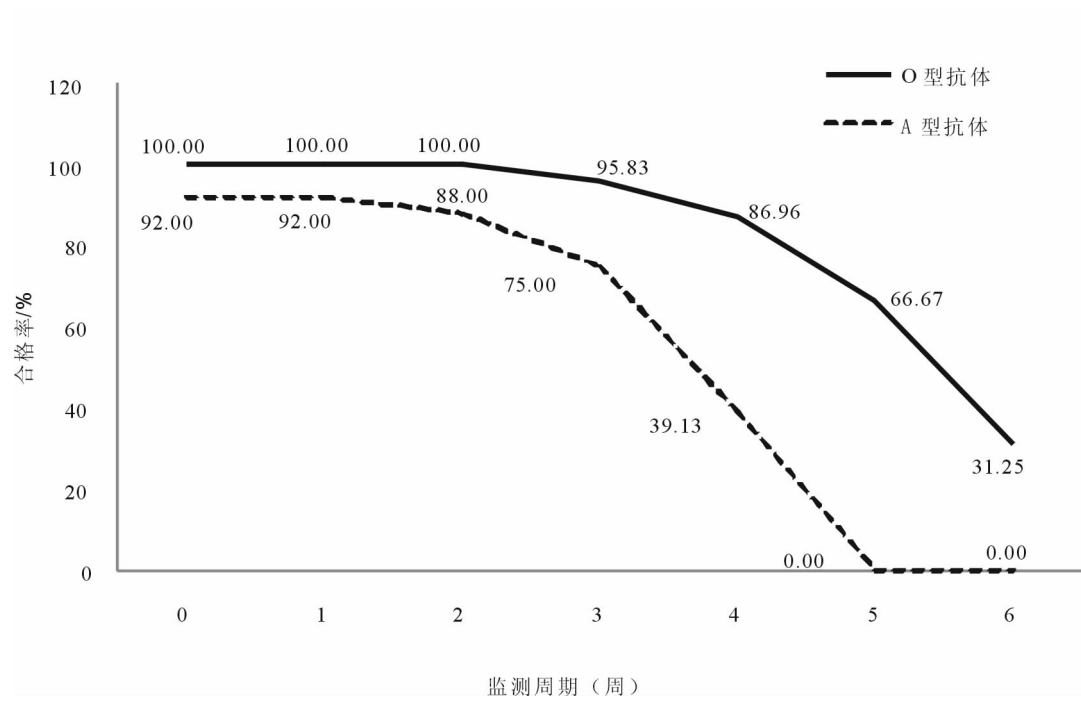


图 1 犊牛 O 型、A 型口蹄疫母源抗体衰减变化

2.2 结 论

试验结果表明:犊牛 O 型口蹄疫获得母源抗体 4 周内有较强的保护作用,A 型 3 周内有较强的保护作用。犊牛出生后第 1 天采血抗体效价与母牛产后抗体效价基本一致,口蹄疫 O 型抗体效价衰减时间稍长于 A 型。

2.3 讨 论

本次试验由于样品数量较少,且局限于 1 个规模养牛场,同时犊牛出生时间也不一致,可能影响检测结果。本次试验数据也可能不具有普遍性。

抗体衰减变化过快,原因有待进一步探讨。从图 1 可以看出,O 型口蹄疫第 4 周、第 5 周、第 6 周抗体合格率分别为 86.96%、66.67%、31.25%,每周降幅依次为 20.29 和 35.42 个百分点,尤其是第 5 周至第 6 周 7 d 之内抗体效价由 6 头不合格降至 11 头不合格。A 型口蹄疫第 3 周时抗体合格率达 75%,至第 4 周时突然降低至 39.13%,第 5 周时降为 0,衰减速度过快。分析原因有可能是采样和检测原因,也有可能是犊牛个体差异原因,具体是何种原因还有待进一步探讨。

犊牛何时首免为宜,要因场、因势而定。据刘贺报道:犊牛 O 型口蹄疫 80 日龄首免为宜^[1]。根据笔者的试验,夏南牛犊牛口蹄疫首免时间在 40 日龄

左右为宜,最长不宜超过 60 日龄。犊牛何时首免口蹄疫疫苗,各养殖场户要根据具体情况而定:首先要考虑母牛的免疫时间;其次要考虑犊牛的个体差异和体质状况,最关键的是免疫之前一定要对群体犊牛的抗体水平进行检测,小于或等于国家规定的临界值时必须免疫。

关于免疫程序,有待进一步探讨。根据《2017 年河南省动物疫病强制免疫计划》的要求,对所有牛、羊、骆驼、鹿进行 O 型和亚洲 I 型口蹄疫免疫,对所有奶牛和种公牛进行 A 型口蹄疫免疫,严格按照说明书,操作规程进行操作。免疫程序:90 日龄左右犊牛进行初免,所有新生家畜初免后,间隔 1 个月后进行 1 次强化免疫,以后每隔 4~6 个月免疫 1 次。

据郭爱珍等《肉牛常用免疫程序》^[2],犊牛 3 月龄免疫牛口蹄疫疫苗,免疫期 6 个月。根据笔者的试验数据,结合生产实践,建议夏南牛犊牛口蹄疫首免时间在 40 d 左右为宜,注射疫苗剂量 2 mL/头,在 60 日龄加强免疫 1 次,注射疫苗量 2 mL/头,以后每隔 4~5 个月免疫 1 次。同时建议在夏南牛主产区对肉牛实施口蹄疫 O 型、A 型双价苗免疫。

关于 O 型与 A 型口蹄疫疫苗抗体衰减不一致的问题,笔者仅对数据分析,与疫苗质量无关。

参考文献:

- [1] 刘贺. O 型口蹄疫疫苗免疫牛抗体消长动态规律[J]. 畜牧与兽医, 2016, 48(10): 100-102.
- [2] 郭爱珍, 殷宏, 张继瑜, 等. 肉牛常见病防制图册[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2013.

Experimental Study on Attenuation Change of Maternal Antibody of Xia'nan Calf

SHI Xian-hua¹, WANG Zhi-bao^{2*}, BO Zhong-feng³,

SUN Hao-kun², BO Zhong-lin¹, LI Jing³, SUN Bing-yan³

(1. Center of Animal Disease Prevention and Control in Biyang, Biyang, He'nan 463700;

2. Center of Xia'nan Cattle Research and Extension in Biyang, Biyang, He'nan 463700;

3. Institute of Animal Hygiene Supervision in Biyang, Biyang, He'nan 463700)

Abstract: [Objective] To investigate the variation of maternal antibody attenuation for foot – and – mouth disease in Xia'nan calf, and to provide reference for scientific and timely immunization against foot – and – mouth disease in calf. [Method] Blood samples were collected by one – time vacuum blood vessel collection, antibody detection was performed by liquid phase blocking ELISA method, and antibody titer was determined according to animal disease surveillance program of animal husbandry and veterinary authorities. [Results] The qualified rate of O – type antibody and A – type antibody was 100% and 92% respectively on postpartum cow and calf birth day. The qualified rate of antibodies against foot – and – mouth disease type O reached 86.96% in the fourth week and 66.67% in the fifth week. The qualified rate of antibodies against foot – and – mouth disease type A reached 75% in the third week and 39.13% in the fourth week. The attenuation time of antibody of type O vaccine was slightly longer than that of type A vaccine. [Conclusion] Protection of calves against mother – derived antibodies: Type O had a strong protective effect within four weeks and a strong protective effect within three weeks. It is suggested that the first immunization time of foot – and – mouth disease in Xia'nan calves should be around 40 days after birth.

Key words: calf; maternal antibody; attenuation change