

应用猪瘟荧光抗体对猪瘟自然病例的诊断

李东成 肖俊杰 赵余放 寇改霞

(西北农学院畜牧兽医系)

摘 要

在用自制的猪瘟荧光抗体检查猪瘟强毒人工感染猪取得圆满结果的基础上,进行了检查猪瘟自然病例的研究,并以部分自然病例的病料进行猪瘟兔体交互免疫试验,证实该荧光抗体为一种特异性强、检出率高的制品。另外确定,猪只在接种兔化猪瘟弱毒疫苗12天后,其病料即不再对猪瘟荧光抗体诊断产生干扰现象。

我们于1979年制成猪瘟荧光抗体,并用该荧光抗体对猪瘟强毒人工感染猪病料进行检查,取得了满意的结果。为了证实该荧光抗体能否实际应用于猪瘟自然病例的诊断,探明兔化猪瘟弱毒疫苗接种后对猪瘟荧光抗体诊断的影响,进行了本研究。

一、材料和方法

1. 猪瘟荧光抗体

先后制成猪瘟荧光抗体(冻干制品)9批,均用于疑似猪瘟自然病例和猪瘟兔化弱毒疫苗接种猪的检查。

2. 被检病料

①先后接到(或自采)“高温病”病料54份,这些病料中大多数采自症状、病变不典型,难以定性的病猪;②怀疑为弓形体病病料4份;③临床诊断为猪水肿病和食盐中毒病料各1份;④大肠杆菌病(败血型)病料2份;⑤气喘病(人工感染)病料2份。

以上病料来自西安市、宝鸡市、铜川市和岐山、千阳、眉县、凤翔、扶风、武功、户县、三原、礼泉、富平、兰田、渭南、洛南等13个县。

大多数病料为扁桃体,少数为淋巴结或脾脏。

3. 兔化猪瘟弱毒疫苗免疫接种猪

取40日龄未接种过任何疫苗的健康幼猪17头,每头肌肉接种兔化猪瘟弱毒反应免脾脏1:50稀释液1ml,4日后,陆续扑杀,采取扁桃体备检。对注苗后5—13日这一阶段的猪还做了重复试验。

4. 荧光抗体诊断方法

不论外检病料和从接种过兔化猪瘟疫苗的猪采取的材料,均按《猪瘟荧光抗体的制

造和在人工感染猪瘟病例的应用》(见前文)所述的方法进行检查。

二、结 果

1. “高温病”病料54份,猪瘟荧光抗体诊断结果为阳性41份,阴性12份,疑似1份。

疑似弓形体病料4份,用猪瘟荧光抗体诊断为阳性。

临床诊断为猪水肿病的病料1份,用猪瘟荧光抗体诊断为阳性。

临床诊断为食盐中毒的病料1份,猪瘟荧光抗体诊断为阴性。

大肠杆菌病(败血型)和猪气喘病病料,用猪瘟荧光抗体诊断,均为阴性结果。

2. 对荧光抗体诊断为阳性病料19份,阴性病料3份进行猪瘟兔体交互免疫试验,二者基本相符,符合率为90.9%,但荧光抗体诊断方法的检出率高于兔体交互免疫法,见下表。

序号	材料来源	猪瘟荧光 抗体检查 结果	兔体交互 免疫检查 结果	备 注
1	西农兽医院1号	+	+	临床诊断为水肿病
2	西农兽医院2号	+	+	
3	西农兽医院5号	+	+	
4	西农兽医院8号	-	-	临床诊断为食盐中毒
5	西农兽医院9号	+	+	
6	富平1号	+	+	
7	富平2号	+	+	
8	富平3号	+	+	
9	扶风县1号	+	+	(大猪)
10	宝鸡市渭滨区	+	+	
11	华阴农场	-	-	
12	西农兽医院6号	+	-	采取病料时尸体已稍腐败
13	三原炮校	-	-	
14	三原西阳公社西北队	+	+	该5份病料的兔体交
15	三原安乐公社共官一队	+	±	互免疫资料系陕西省
16	三原安乐公社安乐一队	+	+	畜牧兽医总站所提供
17	三原鲁桥六队	+	+	
18	眉县	+	+	
19	岐山县	+	+	该5份病料的兔体交互免
20	宝鸡市金台区	+	+	疫资料系宝鸡地区畜牧兽
21	宝鸡市渭滨区	+	+	医工作站所提供
22	千阳县	+	+	

3. 注射兔化猪瘟弱毒疫苗的猪只, 在注苗后12天内, 其扁桃体亦可出现阳性结果, 见下表。

注射疫苗后距扑杀 采料的天数		第 五 天	第 七 天	第 九 天	第 十 天	第 十 一 天	第 十 二 天	第 十 三 天	第 十 五 天	第 十 七 天	第 二 十 天
第一次荧光抗 体试验	+	2头	2头	2头	1头		1头				
	-					1头		1头			
第二 次 试 验	+	1头									
	-					1头		1头	1头	1头	2头

三、讨 论

1. 虽然病猪的扁桃体、脾脏、淋巴结等检验材料均可用作猪瘟荧光抗体诊断, 但其它脏器材料容易腐败 (尤其是在温暖季节), 从而影响诊断; 扁桃体不易腐败, 且荧光细胞出现的早, 消失的迟, 假如设计出活体采取扁桃体的器械, 又便于活体取材, 既可用于死后诊断, 又可用于生前诊断, 因而扁桃体是猪瘟荧光抗体诊断的一种理想病料。这个结果与国外资料³一致。

2. 随着猪瘟病程的延长, 扁桃体隐窝上皮细胞脱落加剧, 仅留薄层细胞, 甚至全部脱落, 但隐窝周围的淋巴小结中的细胞荧光仍清晰可辨, 因此, 对病程长的病例, 在出现隐窝上皮完全脱落的情况下, 可根据隐窝周围的淋巴小结内有无荧光细胞作出判断。

3. 急性猪瘟病猪, 其病料切片组织结构较为完整, 荧光亮度也较强; 慢性病猪的荧光亮度较弱。

4. 用盛装冰块的冰瓶寄送病料最为适宜。我们曾接到以干冰作为冷冻剂寄送的病料数份, 用荧光抗体诊断发现细胞荧光亮度减弱, 而背景的荧光亮度增强。看来, 以干冰作为冷冻剂寄送材料, 不利于荧光抗体诊断。病猪尸体已经腐败时, 其病料不利于荧光抗体诊断。寄送病料时必须将扁桃体和它脏器分别装入不同器皿。

5. 查阅文献资料, 关于猪只接种兔化猪瘟弱毒疫苗后, 扁桃体内是否出现荧光细胞, 说法不一, 有的认为只在接种后 5—6 天的扁桃体冰冻切片中发现了荧光细胞¹, 有的认为在接种后 5—9 天的扁桃体冰冻切片中可发现荧光细胞², 有的则认为接种兔化猪瘟弱毒疫苗的猪, 其扁桃体冰冻切片中未发现特异性荧光⁴。我们发现注射兔化猪瘟弱毒疫苗后 5—9 天内采取的扁桃体均可规律地发现隐窝上皮内有荧光细胞, 不过荧光亮度一般较弱 (荧光亮度为 +—++), 10 天以后, 荧光细胞的出现即不再规律, 但从 13 天起, 扁桃体冰冻切片内即不再发现荧光细胞。这项观察结果, 与国外资料²基本相符。

6. 注射兔化猪瘟弱毒疫苗后, 在一定阶段内可干扰猪瘟荧光抗体诊断。因此, 在

进行猪瘟荧光抗体诊断时应注意了解疫苗接种情况,对注射兔化猪瘟弱毒疫苗12天以内猪只的病料,在报告诊断结果时,必须慎重。

7. 新冻干的猪瘟荧光抗体稀释成使用浓度后,在普通冰箱内保存1个月,效价未见明显下降,这一点有利于在基层推广。至于未稀释的冻干产品的有效保存期仍在继续观察中。

8. 临床诊断怀疑为弓形体病的4份病料中,有2份病料采自用磺胺类药物(该药物对弓形体病有效)多次治疗的病猪,这个事实本身就可说明该2头猪所患疾病并非弓形体病,而猪瘟荧光抗体诊断为阳性,说明该猪患猪瘟无疑。另2份弓形体病料,其病猪的治疗史不详,我们也没有进行弓形体的检验,虽经猪瘟荧光抗体证实其患有猪瘟,但是否还有弓形体混合传染,暂下定论。临床诊断为水肿病的病料,经用猪瘟荧光抗体诊断和猪瘟兔体交互免疫试验,均证实有猪瘟病毒感染,是否也患有水肿病,我们也未进行这方面的检验,未能证实,是一遗憾。但通过上述情况,至少可以说明在临床症状和病理剖检均与弓形体病或水肿病资料十分符合的情况下,不考虑猪瘟是错误的,有必要用猪瘟荧光抗体诊断,予以证实。

9. 曾用成都兽医生物药品厂生产的7918批抗猪瘟血清制做猪瘟荧光抗体三批(第一批制做时有省畜牧兽医总站陆惠恩等同志参与)。经试用,效价可达 $16\times$,且无非特异性荧光干扰,这就为今后生产猪瘟荧光抗体提供了方便条件。

四、结 论

1. 猪瘟荧光抗体可用于猪瘟自然病例的诊断,是一种快速、准确、灵敏、简便的诊断方法。

2. 猪只注射兔化猪瘟弱毒疫苗12天后,即不再对猪瘟荧光抗体诊断产生干扰。

主要参考资料

1. Torlone, V. (1970), "Demonstration in pigs of the attenuated lapinized Chinese strain of Swine fever Virus, by immunofluorescence", 《Veterinary Bulletin》, Vol. 41, P. 45

2. H. W. Dunne, (1973), "Hog Cholera (European Swine Fever)", 《Advances in veterinary Science and Comparative medicine》, Vol. 17

3. Akiyoshi Kawamura, (1977), "Hog cholera virus", 《Fluorescent antibody techniques and their applications》, P. 194-195

4. 王燕昌等, (1980), "应用荧光抗体法诊断猪瘟的研究, I、对人工感染猪瘟猪扁桃体冰冻切片荧光抗体法诊断的研究", 《家畜传染病》, 第2期。