

子宫及配种攻毒布鲁氏菌后 S₂苗对怀孕母猪的保护力试验

张见麟 陆士良

阎守教 徐 敏

(中国预防医科院流行病学研究所)

(新疆自治区兽医防疫总站)

朱鹤赐 王学智 郭新堂

郝立广 陈志明

(新疆石河子地区兽医站)

(新疆石河子地区132团畜牧科)

摘 要

本文报道了用临床学、细菌学、血清学及病理组织学方法研究了通过子宫及配种途径攻毒布鲁氏菌后S₂苗对孕猪的保护力,结果表明当用10⁶强毒攻毒后,其实际综合保护力可达70.24%。本研究为用菌苗防制猪布病打下了基础。

关键词 布鲁氏菌, S₂苗, 保护力试验

在我国南方,特别是广东、广西严重流行猪布鲁氏菌病。国外尚无用菌苗预防猪布病^[1、2]的报道。国内S₂苗对牛羊免疫效果已肯定并已大面积推广应用,但其对猪布病的效果尚有争议,因此迫切需要研究S₂苗对猪的保护力。猪布病的流行主要是通过配种途径传播,我们承担了世界卫生组织“通过子宫配种途径攻毒研究S₂苗对孕猪的保护力”的课题。经过二年努力,获得了成功,现报告如下。

材 料 与 方 法

一、试验猪 所用公猪为新疆石河地区土杂种性成熟公猪,在无布病猪场中选取,母猪为性成熟处女母猪,也在无布病场中选取。所有试验猪,均事先经试管凝集反应检查为阴性者。免疫组20头,对照组19头。

二、菌苗 为兰州兽药厂生产,批号*212, *206,溶化后活菌计数,实际每次每头免疫母猪600亿活菌,共二次口服,间隔1个月。

*本工作系世界卫生组织资助项目。

** 本项试验还有唐润英、占一帆、郭宝岚、吐尔尼沙、孙悦、陈明理和肖其生等参加部分工作,一并致谢。

*** 本文于1989年12月27日收稿。

三、配种及攻毒 由农业部中监所提供的猪种第3生物型毒株S₁₂，先在实验室通过小动物复壮后，在现场又通过母猪再复壮一次，活菌计数，稀释成50万菌/ml，冷藏保存。在配种同时攻毒，将菌液2ml（即含100万活菌）通过人工授精管输入母猪子宫。母猪在免疫后3~5个月攻毒。

四、攻毒株的分离及鉴定 收集流产胎儿、胎衣、阴道分泌物及内脏等材料，用含10~20单位/ml万古霉素及5单位/ml多粘菌素B和放线菌酮0.1mg/ml的选择性培养基（基础培养基为2% Oxoid Tryptose 蛋白胨琼脂）直接涂抹。可疑菌株进行布氏菌及分种型鉴定，以确定是否为免疫菌抑或攻毒菌，免疫菌S₂为猪种第1生物型，攻毒菌S₁₂为猪种第3生物型。

五、血清学反应 免疫前、免疫后及怀孕攻毒后产后不同时间对二组动物进行试管凝集反应（SAT）、2ME反应检查。抗原用黑龙江兽药厂生产的批号为8802抗原，方法按常规进行。

六、病理学检查 对免疫组及对照组攻毒后4~6个月剖杀试验母猪，将淋巴结、肝、子宫和胎盘等器官用10%福尔马林固定，石蜡切片，苏木素伊红染色，镜检。

七、毒力测定 将菌苗免疫组及对照组攻毒后分离到的代表性菌株，用纯系小鼠C57/BL进行毒力测定，并对照参考菌株，用LD₅₀表示。

研究结果

一、怀孕攻毒后母猪生产情况 从表1可见免疫组在攻毒后流产率仅为5%即19/20，基本全都正产；而对照组19头则流产12头，流产率达63%。对照组活存小猪数尚不及免疫组的1/2。

二、免疫保护力 攻毒后孕猪免疫保护力主要根据布氏菌分离培养结果，少数根据临床流产及高效价血清学结果综合判定该母猪是否感染。分离出的布氏菌经过鉴定，确认为攻毒株者才统计在内。结果见表2。从表2可见二组感染情况经统计学卡方测验 $P < 0.01$ ，有明显差异，综合保护%为75；但由于对照组感染%为84.2，将其换算成100%感染时，实际保护力则为70.24%。

表1 攻毒后母猪生产统计

	免疫组	对照组
受攻毒母猪数	20	19
正产母猪数	19	7
流产母猪数	1	12
流产率(%)	5	63
活存小猪数	117	50

表2 攻毒后孕猪免疫保护力

	免疫组		对照组	
	试验头数	感染头数 %	试验头数	感染头数 %
综合保护力	20	5 25	19	16 84.2
换算后保护力(%)	70.24			

三、菌种鉴定 为确定二个组猪中分离到布氏菌的性质，用常规方法及四大群噬菌体进行了菌型鉴定证明，无论从免疫组或对照组猪中分离出的布氏菌均为猪种第3生物型，与攻毒株B、Suis 12及标准猪种第3生物型参考菌株B、Suis 686完全一致。（表

略)。

四、分离菌株的毒力测定 (LD₅₀) 除对照组231株毒力为 2.0×10^8 外, 其他无论从免疫组或对照组母猪所分离菌株毒力与攻毒株B、Suis 12及标准猪3型S₀₀₀相似, 均在 $4 \sim 6 \times 10^8$ 间; 而免疫菌株S₂则毒力较弱, LD₅₀为 22.36×10^8 。

五、血清学检查 用试管凝集试验 (SAT) 及2ME (2 巯基乙醇) 试验 检查了实验猪的血清学反应, 结果见表3。从表3可见服苗后97天免疫母猪引起低效价的凝集素, 这些凝集素是苗苗所致, 攻毒后30~75天特别是产后或流产后有上升, 但未免疫对照比免疫组高出数倍。

表3 血清学反应检查结果 (几何平均滴度)

测定时间	免疫组		对照组	
	SAT	2ME	SAT	2ME
服苗前	(-)/20		(-)/19	
服苗后97天	12.6 ^a /18 ^b			
攻毒后30~75天	25.6/20		96.4/19	
产后或流产后	192/16	21.6/15	955.6/19	57.6/14

a. 几何平均滴度; b. 检查母猪数。

六、病理学检查 从病理组织学检查可见对照组病变明显, 而免疫组基本正常, 或只有轻微变化。如检查13头免疫母猪淋巴结, 组织正常者为10头; 而对照7头无1头正常, 可见嗜酸性细胞浸润及生发中心变大。所检查8头免疫猪标本7头属正常; 而对照组10头, 无1正常而均有明显子宫内膜间质炎。检查10头免疫组母猪胎盘, 正常者为6头, 而对照组查5头, 无1头正产, 大部份有嗜酸性细胞浸润。检查9头免疫组肝脏全部正常, 而对照母猪9头中, 肝细胞肿胀者有8头, 并有1头嗜酸性细胞性肝炎。

讨 论

控制猪布病, 国内外均采用检疫屠宰方法。但在我国农村个体家庭承包为主的体制下及目前我国的经济水平要大量屠宰病猪尚不易推行。如广西自1952年后就有猪布病流行, 每年检疫, 但检出阳性猪只能少量屠宰, 大部份阳性猪继续存在, 因此至今不能根除此病的流行。所以亟须发展一种能保护猪的布氏菌苗。S₂苗对牛羊免疫力已肯定, 并已作常规在北方大面积应用; 其对母猪的保护力, 广西兽医所、中监所等进行了一些研究, 皮下攻毒效果尚好。但猪布病流行主要通过性交配种传播, 他们通过猪交配攻毒的结果表明, 免疫组与对照组感染率却相近^[8]。因此S₂苗对猪的保护力如何尚存在争议, 长期未得解决, 影响了此苗在猪中大面积推广应用。这次我们用数量较多的试验母猪, 用100万强毒菌通过子宫直接攻毒, 证明免疫及对照二组感染率有显著区别。在对照组感染率84.2%的情况下, 免疫组感染率为25%, 75%的孕猪受到保护, 修正后保护力仍达70.24%。临床流产率免疫组仅5%, 而对照组则为63%, 存活猪仔数也为对照组的2.3倍。其他血清学、病理学等研究结果也基本一致。因此本研究为大面积推广应用S₂苗预防猪布病打下了基础。下一步须解决的是免疫持续时间的问题。

参 考 文 献

- [1] Joint FAO/WHO Expert committee on brucellosis, Six report technical report series 740, P.77, 1986, World Health Organisation, Geneva.
- [2] Abide Lopez-Merino, 1989. Swine brucellosis in Latin American in the monograph "brucellosis: clinical and laboratory aspects." Edited by Edward J. Young and Michael J. Corbel, 156.
- [3] 中监所等, 1978, 猪布氏菌2号苗对猪牛羊的免疫试验。农业部中监所, 研究报告汇编(第5辑), 35。

IMMUNOLOGICAL EFFICIENCY OF S2 VACCINE
AGAINST THE CHALLENGE OF VIRULENT STRAIN
OF BRUCELLA BY INTER-UTERUS ROUTE

Zhang Jianlin et al.

(*Institute of Epidemiology & Microbiology, Chinese
Academy of Preventive Medicine, Beijing, China*)

Abstract

The immunological efficiency of S2 vaccine against the challenge of virulent strain of *B. suis* biotype 3 by inter-uterus route, using clinical, bacteriological, serological and pathological methods, was studied. The data show that the comprehensive immunological efficiency was 70.24% after the challenge of 10^8 viable organisms of virulent strain of *brucella*. This paper provides a method to control the swine brucellosis by using vaccine.

Key words *Brucella*, S2 vaccine, Immunological efficiency