

Beagle 犬免疫血清犬瘟热抗体检测

李秋波, 康纪平*, 冯晓科, 杨杰

(四川养麝研究所, 四川都江堰 611845)

摘要: 采用琼脂扩散法测定血清抗体效价, 同时采用微量细胞中和实验测定中和效价, 检测 60 份 Beagle 犬免疫血清犬瘟热(CD)抗体。结果表明 25 日龄仔犬血清母源抗体维持在较高的水平, 以后逐渐下降, 至 35 日龄(首免日)血清母源抗体水平下降 1~2 个滴度, 首免后 1 个月、3 个月、6 个月免疫抗体水平逐渐上升。根据抗体水平应选择 35 日龄首免。本试验为 Beagle 犬瘟热病预防选择疫苗和制定合适的免疫程序提供参考, 实验设定的两种免疫程序在临床上都可以使用。

关键词: Beagle 犬; 犬瘟热; 琼脂扩散法; 中和效价

中图分类号: Q95-33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7083(2010)03-0475-03

Canine Distemper Neutralizing Antibody Titer Test in Beagle Dog

LI Qiu-bo, KANG Ji-ping*, FENG Xiao-ke, YANG Jie

(Sichuan Institute of Musk Deer Breeding, Dujiangyan, Sichuan Province 611845, China)

Abstract: In this study, a canine distemper neutralizing antibody of 60 serum samples from beagles was examined by agar diffusion methods. The results showed that the maternal neutralizing antibody titer was higher in 25-day-old dogs and dropped to 1~2 antibody titer in 35-day-old dogs. The neutralizing antibody titer was gradually increased 1 month, 3 months and 6 months after the first immunization. The results suggested that the first immunization occurred at 35~40 days.

Key words: beagle dogs; canine distemper; agar diffusion methods; neutralizing antibody

Beagle 犬自 1905 年开始被用作实验动物, 现已广泛应用于人类疾病模型、药代学、药效学、毒理学、肿瘤学、免疫学、传染病学等诸多生物医学研究领域, 特别是新药临床前毒理学研究、长期毒性实验的首选动物。犬瘟热(CD)是由犬瘟热病毒(CDV)引起的犬的一种急性、传染性极强的病毒病, 在幼犬中本病的死亡率较任何其他传染病高, 造成极大的危害。在 Beagle 犬的生产中主要是通过接种疫苗使犬只获得免疫来预防该病。但由于母源抗体的干扰和使用的疫苗质量等因素, 很难确定最佳的首免时间和合适的免疫程序而导致犬的免疫失败。我们于 2007~2008 年采用琼脂扩散法(何昭阳, 1986)测定血清抗体效价, 同时采用微量细胞中和实验(殷震, 刘景华, 1997)测定中和抗体效价, 检测 Beagle 犬母源犬瘟热抗体和免疫血清犬瘟热(CD)抗体, 掌握疫苗前后抗体消长规律, 旨在为 Beagle 犬瘟热病预防疫苗的选择和免疫程序的制定提供依据。

1 材料和方法

1.1 Beagle 犬和疫苗

Beagle 犬 12 只, 雌雄各半。20 日龄仔犬体重平均为 1.00 kg, 到 7 月龄体重平均为 8~9 kg。为本研究所自繁自养, 实验动物生产许可证号: 川实动 001, 实验动物质量合格证号: 0000662。

疫苗: 自制灭活疫苗(犬瘟热 + 犬细小病毒), Intervet 小犬二联疫苗(犬瘟热 + 犬细小病毒), 批号: 713184011091, Bes 六联弱毒疫苗, 批号: 23411002。Vero 传代单层细胞。

1.2 实验分组

1.2.1 实验组 1 6 只 Beagle 犬, 雌雄各半, 使用灭活疫苗作为基础免疫(首免)后, 分别用 Intervet 小犬二联疫苗进行二免和 Bes 五联弱毒疫苗进行三免作为加强免疫。

1.2.2 实验组 2 6 只 Beagle 犬, 雌雄各半, 使用 Intervet 小犬二联疫苗作为基础免疫(首免)后, 分别用 Best 五联弱毒疫苗进行二免和三免作为加强免疫。

1.2.3 免疫时间 两个实验组犬只的免疫时间相同, 即: 首免 35 日龄(5 周), 二免 56 日龄(8 周), 三

收稿日期: 2009-07-01 接受日期: 2009-08-09

作者简介: 李秋波(1962~), 女, 助理研究员, 主要研究方向: 实验动物疾病防治

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: kang590@163.com

免 77 日龄(11 周)。

1.2.4 两个实验组的免疫程序 详见表 1。

表 1 两个实验组的免疫程序
Table 1 Immunization procedures for the two experimental groups

实验组别	犬只首免日龄及使用的疫苗	犬只二免日龄及使用的疫苗	犬只三免日龄及使用的疫苗
实验组 1	35 日龄,灭活疫苗	56 日龄,Intervet 小犬二联疫苗	77 日龄,Best 六联弱毒疫苗
实验组 2	35 日龄,Intervet 小犬二联疫苗	56 日龄,Best 六联弱毒疫苗	77 日龄,Best 六联弱毒疫苗

1.3 实验方法

按试验设计要求,从 25 日龄开始至 7 月龄止,每只犬跟踪采集血清 5 次,分别于出生后-首免日期之间(25 日龄)、首免日(35 日龄)、首免后 1 个月、首免后 3 个月和首免后 6 个月采集血清,用琼脂扩散法测定血清抗体效价。同时采用微量细胞中和实验测定中和效价,使用细胞为 Vero 传代单层细胞,细胞复苏、冻融和传代按照常规方法进行。

2 结果

2.1 收集血清情况

分别收集了实验 1 组、实验 2 组出生后-首免日期之间(25 日龄)、首免日(35 日龄)、首免后 1 个月、3 个月、6 个月犬血清样品,依次编号为 1- I、2- I,1- II、2- II,1- III、2- III,1- IV、2- IV,1- V、2- V,共计 60 份。

2.2 检测结果

25 日龄仔犬血清母源抗体维持在较高的水平,以后逐渐下降,至 35 日龄(首免日)血清母源抗体水平下降 1~2 个滴度,首免后 1 个月、3 个月、6 个月免疫抗体水平逐渐上升。结果详见表 2、表 3 和图 1。

表 2 琼脂扩散法检测结果

Table 2 Serum samples test results by agar diffusion method	1	2	3	4	5	6	平均
1- I	1:40	1:40	1:20	1:40	1:20	1:20	1:30
1- II	1:10	1:10	1:10	1:10	1:10	1:10	1:10
1- III	1:10	1:20	1:10	1:20	1:10	1:20	1:15
1- IV	1:40	1:40	1:40	1:40	1:80	1:80	1:53
1- V	1:80	1:160	1:80	1:80	1:160	1:160	1:120
2- I	1:20	1:40	1:40	1:20	1:40	1:20	1:30
2- II	1:10	1:20	1:10	1:10	1:20	1:10	1:13
2- III	1:10	1:20	1:20	1:10	1:20	1:10	1:15
2- IV	1:80	1:80	1:80	1:80	1:40	1:40	1:66
2- V	1:80	1:160	1:80	1:40	1:160	1:80	1:100

3 结论与讨论

3.1 实验结果表明两个实验组 Beagle 犬血清犬瘟热抗体呈现如下规律性变化:25 日龄仔犬血清母源抗体维持在较高的水平,以后逐渐下降,至 35 日龄

表 3 微量细胞中和实验结果

Table 3 Serum samples test results by cells micro-neutralization test

分组编号	1	2	3	4	5	6	平均
1- I	1:20	1:20	1:10	1:20	1:10	1:10	1:15
1- II	1:5	1:5	1:10	1:5	1:5	1:10	1:6
1- III	1:5	1:10	1:5	1:10	1:10	1:10	1:8
1- IV	1:20	1:20	1:20	1:40	1:80	1:20	1:33
1- V	1:40	1:80	1:40	1:80	1:80	1:80	1:66
2- I	1:10	1:20	1:40	1:10	1:20	1:20	1:20
2- II	1:5	1:10	1:10	1:5	1:5	1:5	1:7
2- III	1:5	1:10	1:10	1:10	1:20	1:10	1:10
2- IV	1:20	1:40	1:40	1:40	1:20	1:20	1:30
2- V	1:40	1:40	1:80	1:20	1:80	1:80	1:56

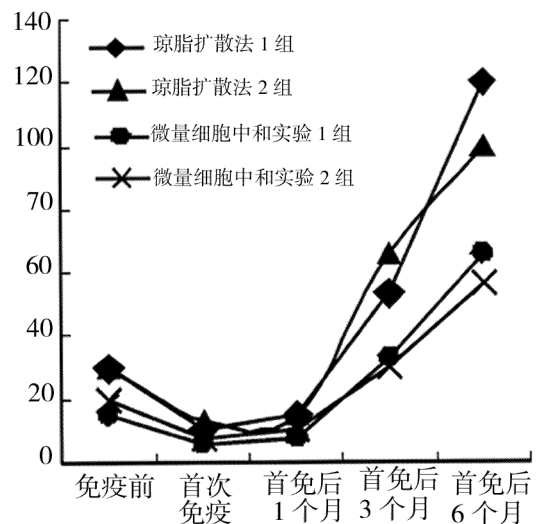


图 1 Beagle 犬血清犬瘟热抗体变化
Fig. 1 Serum antibody titers in canine distemper of beagle dogs

(首免日)血清母源抗体水平下降 1~2 个滴度,首免后 1 个月、3 个月、6 个月免疫抗体水平逐渐上升,从而获得免疫保护。因此表明两个实验组选用的疫苗和制定的免疫程序对本研究所 Beagle 犬犬瘟热病的预防是可行的。

3.2 分别用琼脂扩散法和微量细胞中和实验对两种免疫方法的犬只首免后 1 个月、3 个月和 6 个月三个时间点的血清犬瘟热抗体进行测定,结果表明,血清犬瘟热抗体效价无明显差异 ($P > 0.05$)。所以,两种方法免疫在临床上都可以使用。

3.3 据报道(殷震,刘景华,1997),预防犬瘟热使用犬瘟热弱毒疫苗,首免 6~8 周龄,二免 12 周龄。母源抗体消失后数周至首免期间可用麻疹弱毒株对仔

犬进行免疫,当幼犬达 4~6 月龄时,即可再接种犬瘟热弱毒疫苗(夏咸柱,1996)。母犬犬瘟热抗体水平很低或生后未能吃上初乳的小犬,2 周龄即可接种犬瘟热弱毒疫苗,预防条件好的或非疫区可于 8~12 周龄起,每隔 2 周重复免疫一次,连续免疫 2~3 次。本研究提出的免疫程序与上述报导存在差异,可能与犬只的品种、疫苗的选择、地区性以及犬

的饲养管理条件不同等因素有关。

4 参考文献

- 何昭阳. 1986. 动物免疫学技术[M]. 吉林农业大学.
夏咸柱. 1996. 养犬大全[M]. 吉林科技出版社.
殷震,刘景华. 1997. 动物病毒学(第二版)[M]. 北京:科学出版社.

(上接第 474 页)

肝脏,合成胆酸和胆汁胆固醇排出体外,以防止其在血管内壁形成沉淀,防止动脉粥样硬化的发生(张勇,2005)。肝脏是主要降解 LDL-C 的器官,血浆中的 LDL-C 与肝脏细胞表面的 LDL-C 受体结合才能在肝脏水解,最终产生胆固醇和脂肪酸,实验中只有 EE95-H 显示出降低 LDL-C 的活性,因此推断 EE95 可以影响该受体,但需要较高的剂量。结合肝脏系数来看,WE-M、WE-H 组大鼠的胆固醇和脂肪酸可能在肝脏有所存积,其他组变化不大,表明芫根提取物并不能显著促进肝脏中胆固醇在肝脏中的转化和降解。

由此进一步推论,芫根提取物降血脂的主要途径可能是通过激活脂蛋白酶,增加 HDL 的含量,来转运血液中的胆固醇至肝脏。芫根提取物也可能含

有某些物质在肠道与胆固醇或甘油三酯结合,从而抑制其吸收,使其通过粪便排出,达到降血脂的目的。实验结果提示,利用芫根提取物可以制备具有广阔应用前景的辅助降血脂药物,但其活性成分基础及作用机理还需进一步研究。

5 参考文献

- 甘万华,毛成芳,李元富,等. 2008. 芫根丰产栽培技术及利用价值[J]. 草业与畜牧, 12(15): 59~62.
刘尚武. 1999. 青海植物志[M]. 西宁:青海人民出版社: 418.
童红莉,田亚平,汪德清,等. 2006. 黄芪多糖对高血脂症大鼠血脂的调节[J]. 中国临床康复, 10(11): 68~70.
闻芝梅. 1998. 现代营养学(第七版)[M]. 北京:人民卫生出版社: 410~416.
张勇. 2005. 西藏藏麻降血脂减肥有效部位及减肥机理的初步研究[D]. 中国优秀硕士学位论文: 29~30.