

河北省承德市接坝地区包虫病疫苗免疫效果评估

陈国亮, 李晓丽, 霍妍明, 于亚玲, 李 宁, 邱 晨, 佟虎成, 吉鸿超,
王洪涛, 张红艳, 吴海英, 段英萍, 孙一涵, 武生茂, 董佳慧, 夏 天, 袁建国
(承德市动物疫病预防控制中心, 河北承德 067000)

摘要: 为评估包虫病基因工程亚单位疫苗的安全性和免疫效果, 选取承德市接坝地区 4 个牧场 479 只 8 周龄羔羊进行免疫试验。免疫组 (308 只) 于首次免疫前、加强免疫前, 以及首次免疫后 2、6 和 9 个月, 对照组 (171 只) 于试验前和试验后 9 个月, 采集羔羊血清, 采用 ELISA 抗体检测试剂盒进行抗体检测。结果显示: 免疫疫苗后, 个别羊有轻微的免疫反应; 免疫组免疫前抗体阳性率为 2.27%, 加强免疫前抗体阳性率为 87.16%, 首次免疫后 2、6 和 9 个月的抗体阳性率分别为 99.32%、93.49% 和 86.46%; 对照组试验前抗体阳性率为 2.34%, 9 个月后抗体阳性率为 7.93%。结果表明, 包虫病基因工程亚单位疫苗能够快速诱导机体产生抗体, 并且抗体维持期较长, 9 个月后, 动物个体仍维持较高的抗体水平。因此, 该亚单位疫苗免疫效果及安全性较好, 可以在包虫病流行区推广应用。

关键词: 包虫病; 棘球蚴; 疫苗; 基因工程; 亚单位; 免疫试验

中图分类号: S851.3 文献标识码: A 文章编号: 1005-944X (2018) 08-0094-03

DOI: 10.3969/j.issn.1005-944X.2018.08.024

Immunization Effect Evaluation of Echinococcosis Vaccine in Bashang Area of Chengde City, Hebei Province

Chen Guoliang, Li Xiaoli, Huo Yanming, Yu Yaling, Li Ning, Qiu Chen, Tong Hucheng,
Ji Hongchao, Wang Hongtao, Zhang Hongyan, Wu Haiying, Duan Yingping, Sun Yihan,
Wu Shengmao, Dong Jiahui, Xia Tian, Yuan Jianguo

(Chengde Animal Disease Prevention and Control Center, Chengde, Hebei 067000, China)

Abstract: In order to evaluate the security and immune effects of the genetically engineering subunit vaccine of hydatid disease, 479 8-week-old lambs from 4 pastures in the Bashang area of Chengde City were selected and divided into 2 groups: immunization group (308 lambs) and control group (171 lambs). Then immunological experiments were carried out. For the lambs in the immunization group, serum samples were selected before the first and booster immunization and at the time of 2, 6 and 9 months after the first immunization. For the control group, serum samples were collected before the experiment and at the time of 9 months after the experiment. All these serum samples were used for antibody detection by ELISA kits. Results showed that, after vaccination, individual lambs had a slight immune response. For the lambs in the immunization group, the positive rates of the antibody before the first immunization and booster immunization were 2.27% and 87.16%, respectively; besides, at 2, 6 and 9 months after the first immunization, the rates were 99.32%, 93.49%, and 86.46%, respectively. For the control group, the antibody positive rates before and after the experiment were 2.34% and 7.93%, respectively. Results showed that, the genetically engineering subunit vaccine of hydatid disease could rapidly induce the lambs to produce antibodies, and the antibodies could last for a long time. After 9 months of immunization, the lambs still maintained high antibody levels. Therefore, the echinococcosis vaccine was safe and had good effects, and could be promoted and applied in the endemic area of echinococcosis.

Key words: echinococcosis; hydatid cyst; vaccine; genetically engineering; subunit; immunoassay

基金项目: 承德市科学技术研究与发展计划 (第一批) 项目 (201702B010)

通信作者: 袁建国

包虫病是棘球蚴病的俗称，是棘球绦虫的中绦期，寄生于羊、牛等家畜及多种野生动物和人的肝、肺等器官内引起的人兽共患寄生虫病，为我国优先防治的二类动物疫病。河北省承德市接坝地区特殊的饲养管理方式及气候条件为该病的流行提供了有利条件。包虫病危害严重、防治困难。保护易感动物，对中间宿主进行免疫，是防治包虫病的重要措施^[1]。为了评估包虫病基因工程亚单位疫苗在该地区应用的安全性和免疫效果，进行了本试验。

1 材料与方法

1.1 试验对象

选择接坝地区4个牧场（编号A、B、C、D）8周龄左右羔羊，共479只。牧场饲养方式为自然放牧。

1.2 试验分组

将每场的羔羊随机分组：免疫组308只、对照组171只（表1）。免疫组除注射疫苗外，其他条件与对照组完全一致。

牧场	各牧场试验羔羊分组情况		单位：只
	免疫组	对照组	合计
A	82	50	132
B	78	44	122
C	46	23	69
D	102	54	156
合计	308	171	479

1.3 试验疫苗

羊棘球蚴（包虫）病基因工程亚单位疫苗（主要成分为羊棘球蚴EG95抗原），由重庆澳龙生物制品有限公司生产，批号为2017013-1，生产日期为20171114，有效期为1年。

1.4 免疫程序与方法

8周龄左右进行首次免疫，首次免疫后间隔1个月加免1次。按照疫苗瓶签注明的头份，用疫苗专用稀释液稀释，颈部皮下注射1 mL/只。

1.5 安全性评价

免疫后对免疫羔羊的精神状态及注射部位局部变化等进行仔细观察，持续2 d，确定有无疫苗反应及反应的轻重程度。

1.6 抗体检测

免疫组分别于首次免疫前、加强免疫前，首次免疫后2、6和9个月，对照组分别于试验前和试验后9个月，全部采血收集血清，用羊棘球蚴（包虫）病ELISA抗体检测试剂盒（批号20180110）进行检测，按照试剂盒说明书进行操作及阴阳性判定。

2 结果

2.1 疫苗安全性

免疫组个别羊有轻微的疫苗反应，表现为精神萎靡，食欲减退，注射部位轻微肿胀，但很快恢复正常。

2.2 免疫效果检测

免疫组：首次免疫前平均抗体阳性率为2.27%，1个月后（加强免疫前）平均抗体阳性率上升到87.16%；首次免疫后2、6和9个月的抗体阳性率分别为99.32%、93.49%和86.46%。对照组：首次免疫前抗体阳性率（感染抗体）与免疫组近似，为2.34%，9个月后，抗体阳性率上升至7.93%（表2）。4个牧场免疫效果检测具体结果见表3。

检测时间	免疫组			对照组		
	检测数/只	阳性数/只	阳性率/%	检测数/只	阳性数/只	阳性率/%
首次免疫前	308	7	2.27	171	4	2.34
加强免疫前	296	258	87.16			
免疫后2个月	296	294	99.32			
免疫后6个月	292	273	93.49			
免疫后9个月	288	249	86.46	164	13	7.93

采用SPSS 22.0软件，对试验开展9个月后4个牧场对照组的羊包虫病感染抗体阳性率进行卡方检验，发现P值均大于0.05，无显著性差异。

3 分析与讨论

免疫羊虽对本疫苗有轻微的免疫应激反应，但这可能是因抓羊和免疫注射刺激导致的，因此可以认为疫苗的免疫副作用较小。本研究为了验证疫苗的安全性及免疫效果，选择了8周龄左右的羔羊。这是因为此阶段羔羊感染包虫病的概率较低，有利于正确评价疫苗的免疫效果^[2]。因本级实验室不具备做虫卵攻击试验的条件，所以本次试验以抗体滴度来验证疫苗的保护效果。有报道称，抗体滴度高

表3 4个牧场的免疫抗体阳性率检测结果

分组	首次免疫前	加强免疫前	首次免疫后			
			2个月	6个月	9个月	
A场	免疫组	2.44 (2/82)	80.68 (68/79)	100 (79/79)	93.67 (74/79)	85.90 (67/78)
	对照组	2.00 (1/50)				8.33 (4/48)
B场	免疫组	2.56 (2/78)	82.67 (62/75)	98.67 (74/75)	93.33 (70/75)	84.72 (61/72)
	对照组	4.55 (2/44)				9.52 (4/42)
C场	免疫组	4.35 (2/46)	86.36 (38/44)	100 (44/44)	93.18 (41/44)	84.09 (37/44)
	对照组	4.35 (1/23)				9.09 (2/22)
D场	免疫组	0.98 (1/102)	91.84 (90/98)	98.98 (97/98)	93.62 (88/94)	89.36 (84/94)
	对照组	0 (0/54)				5.77 (3/52)

注：括号内数字为阳性数量/检测数量，单位为只

低与疫苗保护强弱之间存在明显正相关关系^[3]。因此，抗体滴度能够反映出疫苗的保护效果。

免疫抗体检测结果显示，免疫后抗体阳性率快速直线上升，加强免疫后1个月内，仍继续上升，但幅度变小，免疫9个月后，仍保持较高的抗体水平（图1），说明疫苗能快速诱导羊机体产生免疫保护抗体，且加强免疫后，能维持较长时间。根据试剂盒说明，样品OD值介于0.3~0.6之间，判为

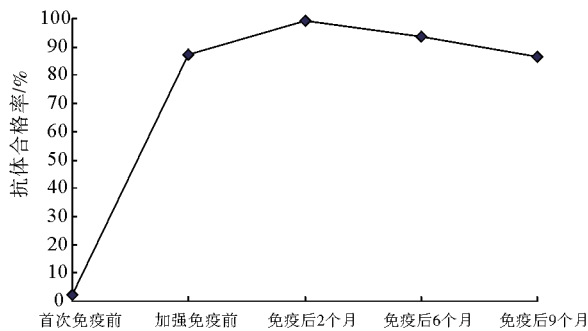


图1 抗体合格率变化趋势

保护力低。免疫组加强免疫前的抗体合格率虽然达到了87.16%，但抗体水平较低的样品占到55%，所以首免后间隔1个月进行加强免疫十分必要。

对照组在试验开展9个月后，包虫病感染抗体阳性率上升为7.93%，与前期所做流行病学调查数据相符^[4]。4个牧场对照组包虫病感染抗体阳性率无显著差异，说明本研究做到了试验对象选定及分组的随机性。

本研究结果表明羔羊免疫后可以获得应有的保护，但由于时间有限，未能形成程序化的免疫程序，这有待今后继续研究。

4 结论

试验数据显示，该包虫病基因工程亚单位疫苗具有良好的安全性和免疫效果，按照疫苗说明书中的免疫程序对羔羊群进行免疫，9个月后动物个体仍维持较高的抗体水平。试验结果表明，该疫苗对羊包虫病具有较好保护力，可以在包虫病流行区推广应用。

参考文献：

- [1] 张壮志, 石保新, 张文宝, 等. 绵羊包虫病基因工程疫苗(Eg95)免疫试验[J]. 中国人兽共患病学报, 2008, 24(3): 252-256.
- [2] 康强, 吐尔洪, 古努尔, 等. 包虫病基因工程疫苗免疫效果试验研究[J]. 新疆畜牧业, 2003(3): 29-30.
- [3] 朱兴全, 窦兰清, 史晓红, 等. 细粒棘球绦虫排泄分泌抗原研究-六钩蚴排泄分泌抗原的免疫原性[J]. 中国兽医科技, 1991, 21(9): 6-9.
- [4] 李晓丽, 陈国亮, 霍妍明, 等. 承德市接坝地区包虫病流行病学调查[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018(8): 107-109.

(责任编辑: 朱迪国)