

猪口腔液检测应用的研究进展

孙泉云 夏炉明 朱九超

上海市动物疫病预防控制中心, 上海 201103

摘要 近十几年来,国内外动物医学界对猪口腔液的研究报道日渐增多和深化,表明口腔液可作为血清样品的替代品、评估猪应激和整体健康状况的生物标记物和特定传染病的诊断样品,为猪口腔液在疫病诊断、检测和健康状态分析等方面的推广应用提供良好的前景。

关键词 猪;口腔液;检测;应用

口腔液由唾液和来源于机体循环系统的渗出液组成。唾液是由大小唾液腺分泌的混合液体,无色无味近于中性(pH 6.6~7.1),其中水分约占99%,其余成分主要是具有生物效能的黏液素、淀粉酶、溶菌酶、脂肪酶、富脯氨酸糖蛋白等^[1]。除了唾液,口腔液中还包含从分布于口腔黏膜和齿龈组织的毛细血管流经并形成的血清渗出液。虽然人类和家畜(犬、猫、猪、马和反刍动物)的唾液腺在数量、结构、位置和大小上存在差异,但均至少具有3对大唾液腺和许多小唾液腺。马和猪的大唾液腺包括腮腺、颌下腺和舌下腺,反刍动物则含有腮腺、颌下腺、单孔舌下腺和多孔舌下腺等4对大唾液腺,犬和猫也有4对大唾液腺,分别是颞骨腺、下颌腺、颌下腺和舌下腺。在口腔内,唾液及其成分与润滑、抗微生物活性、清洁、形成食丸、咀嚼、消化、品味、补充矿质和发声等重要功能密切相关。值得注意的是,口腔液的组成成分受采集方法、采集器械、采集地点、采集时间等影响。

迄今为止,口腔液研究已经在灵长类动物(主要是人类)和啮齿类动物有广泛和深入的报道,但在家畜中关注度不高。已有的研究发现,反刍动物的口腔液成分中碳酸酐酶水平很高但淀粉酶含量低,这与其反刍代谢功能相关联^[2];猪口腔液成分中脂蛋白含量很高,淀粉酶含量则低^[3]。近十几年来,国内外动物医学界对猪口腔液的研究报道日渐增多和深化,将为猪口腔液在分析、检测等方面的推

广应用提供良好的前景。

1 口腔液可作为猪血样的替代样品

采用口腔液来取代血清样品具有以下优势:一是采集口腔液安全简便、成本低廉、效率高且可满足多量采样;二是无需专业人员或专业培训即可远程遥控采集,并可快速获取数据,在实施国家性或区域性动物疫病根除或净化计划时尤为适合;三是具有实际可行性,采集口腔液不会扰乱猪场日常生产性安排和引发动物不良应激,且可连续采样,尤其适用于富含脂肪组织而难以采集血样的猪群、生性凶猛而难以驾驭的生产公猪群。同时,口腔液采集也符合动物福利原则。

2 口腔液可作为评估猪应激和整体健康状况的生物标记物

猪口腔液中的皮质醇可充作评估猪应激的标记物,在生产实践中得到重视和推广。不同于血样采集可干扰皮质醇组成,口腔液被认为是猪应激研究的最佳体液样品^[4]。猪口腔液皮质醇分析已经全面应用于猪群运输、不同环境、不同饲养条件(如不同饲养密度、不同日粮组成、打耳标、采血等)下的应激研究。除了皮质醇,口腔液中IgA、 α -淀粉酶活性、IL-18和嗜铬粒蛋白A的含量增减变化也可作为评价猪群应激压力的指标。

感染、手术、创伤等外来刺激可迅速诱发动物

机体产生以防御为主的非特异性反应(也称急性期反应),造成参与反应的急性期蛋白(APP,包括 C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白 A 等)浓度急速增加,检测急性期蛋白可用于猪临床或亚临床疾病的鉴定、防治效果的评价、应激压力和猪群整体健康状态的评判^[5]。Gutierrez 等^[6]采集猪繁殖和呼吸综合征(PRRS)野外和人工感染条件下的猪只口腔液,检测口腔液中的急性期蛋白、结合珠蛋白、C 反应蛋白和血清淀粉样蛋白 A 的含量,并确定了临界值以区分健康猪群和患病猪群。在北美许多猪场开展的猪群健康监控计划中成功采用猪口腔液中急性期蛋白筛查,从而取代了血清样品普查,方便快捷。另外,也有报道将育肥猪从猪场运送至生猪屠宰场过程中,检测猪口腔液中血清淀粉样蛋白 A 含量变化可准确掌控猪群的应激状况。

口腔液成分(尤其是其中的蛋白质)的改变可反映猪群的健康状态。Gutierrez 等^[6]通过对健康猪群和发病猪群口腔液蛋白质组学的比较分析,发现发病猪群口腔液中的脂蛋白、脂蛋白 I、双头胃蛋白酶抑制剂、腺甙脱氨酶、结合珠蛋白、S100-A12、S100-A8、S100-A9 和 α -淀粉酶的含量高于健康猪群,存在显著差异。

3 口腔液可作为特定传染病的诊断样品

在近 10 年内,猪口腔液样品已经广泛应用于许多疫病的 PCR 方法检测病原或 ELISA 等方法测定抗体,以评估猪群的实时健康动态。Corthier^[7]最早报道了采集感染猪瘟病毒的试验猪口腔液以检测猪瘟抗体,随后许多学者相继报道了利用猪口腔液检测猪大肠杆菌病、传染性胸膜肺炎、猪传染性胃肠炎、猪繁殖和呼吸综合征、口蹄疫、猪伪狂犬病、A 型流感、猪空肠弯曲菌病、链球菌病等猪传染病的抗体或抗原,以确认猪群感染状况。

某些猪传染病的病毒血症在感染猪出现临床症状前已经存在于猪口腔液中,因此可采用猪口腔

液作为口蹄疫等传染病处于潜伏期或亚临床阶段的病原学检测,从而早期揭露感染^[8]。同理,某些细菌性传染病,如螺旋菌引起的胃溃疡,通常要尸检后方能观察到病变,也可采集猪口腔液进行 PCR 检测而提前确诊。

免疫猪的病毒血症、细菌定植、细菌/病毒排出状况是评价疫苗效果的重要参数,因此通过对猪口腔液样品中特定微生物种类的定性检测,可核查链球菌病、猪瘟等疫苗的有效性,并可比较疫苗毒株(菌株)与流行毒株(菌株)的匹配和吻合比例,从而为科学评价疫苗提供技术依据。

参 考 文 献

- [1] KAUFMAN E, LAMSTER I B. The diagnostic applications of saliva-A review[J]. Crit Rev Oral Biol Sci, 2002(13): 197-212.
- [2] ANG C S, BINOS S, KNIGHT M I, et al. Global survey of the bovine salivary proteome: integrating multidimensional pre-fractionation, targeted and glycol-capture strategies[J]. J Proteom Res, 2011(10): 5059-5069.
- [3] GUTIERREZ A M, NOBAUER L, SOLER L, et al. Detection of potential markers for systemic disease in saliva of pigs by proteomics: a pilot study[J]. Vet Immunol Immunopathol, 2013(151): 73-82.
- [4] PARROT R F, MISSON B H, BALDWIN A. Salivary cortisol in pigs following adrenocorticotrophic hormone stimulation: Comparison with plasma levels[J]. Br Vet J, 1989(145): 362-366.
- [5] MURATA H. Stress and acute phase protein response: an inconspicuous but essential linkage[J]. Vet J, 2007(173): 473-474.
- [6] GUTIERREZ A M, NOBAUER L, SOLER L, et al. Use of saliva for haptoglobin and C-reactive protein quantifications in porcine respiratory and reproductive syndrome affected pigs in field conditions[J]. Vet Immunol Immunopathol, 2009(132): 18-23.
- [7] CORTHER G. Swine fever: influence of passive immunity on pig immune response following vaccination with a live virus vaccine (Thiverval strain)[J]. Ann Rech Vet, 1976(7): 361-376.
- [8] MORIOKA K, FUKAI K, YOSHIDA K, et al. Foot-and-mouth disease virus antigen detection enzyme-linked immunosorbent assay using multisertype-reactive monoclonal antibodies [J]. J Clin Microbiol, 2009(47): 3663-3668.