

鸡传染性支气管炎疫苗对雏鸡的多重免疫研究^{*}

杨增岐¹, 张淑霞¹, 赵余放¹, 潘 瑞¹,
姜艳芬¹, 贺玉胜², 刘建鹏²

(1 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨陵 712100; 2 榆林市畜牧兽医中心, 陕西 榆林 719000)

[摘 要] 将200只1日龄健康雏鸡随机分为6组, 第1~5组分别用H₁₂₀、H₅₂和B二价油佐剂灭活苗进行单独或多重组合的免疫接种, 于接种后每隔7d测1次HI抗体, 并于第73天用肾型BV强毒攻击, 观察各组的保护率, 第6组不免疫作为对照。结果显示, H₁₂₀弱毒苗单独免疫组、H₁₂₀+B二价油佐剂灭活苗组、H₁₂₀+H₅₂弱毒苗组、B二价油苗1次免疫组和B二价油苗2次免疫组的保护率分别为57.1%、85.8%、67%、83.3%和80%, 非免疫对照组保护率为50%。试验结果表明, H₁₂₀与H₅₂弱毒苗对肾型BV的保护力弱, H₁₂₀+B二价油佐剂灭活疫苗与B二价油佐剂灭活苗1次和2次免疫均可获得对肾型BV较高的保护率, 且H₁₂₀与B二价油佐剂灭活苗同时免疫可获得长时间的保护性抗体。

[关键词] 鸡传染性支气管炎; 弱毒疫苗; 油佐剂灭活疫苗; HI抗体

[中图分类号] S858.312.5⁺2

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2002)04-0101-04

鸡传染性支气管炎(Avian Infectious Bronchitis, IB)是由鸡传染性支气管炎病毒(Infectious Bronchitis Virus, IBV)引起的鸡的急性高度接触性呼吸道和泌尿生殖道传染病^[1~3]。主要侵害鸡的呼吸系统、消化系统、生殖系统、泌尿系统^[4], 引起呼吸困难、肠炎、肾炎及产蛋鸡产蛋数量和质量下降, 导致雏鸡死亡或发育不良, 以咳嗽、喷嚏、发出气管锣音为特征。各种年龄的鸡都易感染, 以2~4周龄的鸡发病最为严重^[5]。国内目前多采用H₅₂、H₁₂₀两种弱毒苗防治本病, 许多科研单位曾先后研制出许多IBV弱毒苗和灭活苗^[6,7]。但由于IBV血清型多且存在有变异株, 不同的血清型毒株疫苗间仅有部分免疫保护作用或无交叉免疫保护作用, 常引起免疫失败^[7~10]。因此, 国内常见有免疫鸡群暴发IB的报道。肾型IB的出现也为本病的防治带来了很大的困难^[8]。

西北农林科技大学禽病研究室分离鉴定了陕西省地方肾型株^[11], 对其血清型进行了研究, 研制出B二价油佐剂苗, 通过生产应用证实效果很好^[12]。本试验的目的主要是检测B二价油苗免疫鸡后抗体水平的变化与保护情况, 并与H₁₂₀和H₅₂的效果进行比较, 为该苗的进一步推广应用和免疫程序的制定提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 疫苗 H₁₂₀, 鸡新城疫LaSota系与鸡传染性支气管炎H₁₂₀二联活疫苗, 南京药械厂生产, 批号9726-3; H₅₂, 鸡新城疫LaSota系与鸡传染性支气管炎H₅₂二联苗, 黑龙江省生物制品一厂生产, 批号9619; B油苗, 为本室研制的B肾型地方毒株与支气管炎型M₄₁株二价油佐剂灭活疫苗。

1.1.2 试验鸡 由西北农林科技大学畜牧场提供12日龄尼克红公鸡200只, 未进行疫苗注射。

1.1.3 BV-HA抗原 用BV-M₄₁株和陕西省地方肾型株制备的BV-HA双价抗原, HA≥2⁸。

1.1.4 BV强毒 本室分离鉴定的陕西省地方肾型株(F_u株)。

1.2 试验方法

1.2.1 试验鸡分组与免疫接种 将200只12日龄雏鸡随机分成6组, 第1~5组各34只, 分别为H₁₂₀组、H₁₂₀+B油苗组、H₁₂₀+H₅₂组、B油苗1次免疫组和B油苗2次免疫组, 第6组30只为非免疫接种对照组。各组鸡分别隔离饲养, 按常规方法管理。

免疫接种情况如下: 1组, 14日龄H₁₂₀活苗滴鼻1羽份/只; 2组, 14日龄H₁₂₀活苗滴鼻1羽份/只,

^{*} [收稿日期] 2002-01-24

[基金项目] 杨陵农业科技开发基金项目(96JK-13)

[作者简介] 杨增岐(1963-), 男, 副教授, 硕士, 主要从事动物传染病学与兽医生物制品学方面的教学与研究。

同时肌注 B 油苗 0.3 mL/只; 3 组, 14 日龄 H₁₂₀ 活苗滴鼻 1 羽份/只, 40 日龄用 H₅₂ 口腔滴饮 1 羽份; 4 组, 于 14 日龄肌注 B 油苗 0.3 mL/只; 5 组, 分别于 14 和 28 日龄 2 次肌注 B 油苗 0.3 mL/只; 6 组不做免疫接种。

1.2.2 抗体检测 分别于免疫后 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77 d 采血。分离血清, 用微量 HI 试验检测其抗 BV 抗体, 求平均值, 结果用 log₂ 表示。参考李德山等^[13]报道的方法进行。

1.2.3 攻毒试验 将上述 6 组鸡在 70 日龄时分别随机分为数量相等的 2 组, 其中一组用于攻毒, 另一

组继续测 HI 抗体, 分群饲养, 在鸡翅膀上逐只编号。于第 73 日龄时对攻毒组全部采血, 测定其 HI 抗体, 然后攻 B 强毒, 方法为滴鼻、点眼、气管注射, 每只鸡 0.6 mL ($3 \times 10^{5.5}$ ELD₅₀)。攻毒后, 每天观察鸡的临床症状, 解剖病死鸡, 并记录发病与死亡情况及病理变化。

2 结果与分析

将免疫后各组鸡 HI 抗体效价检测结果列于表 1, 攻毒试验结果列于表 2。

表 1 各组鸡免疫后 HI 抗体效价($\bar{x} \pm S$, log₂)

Table 1 HI antibody titers of chickens in each groups after innoculation

免疫后时间/d Days after innocu- lation	组 别 Groups					对照 Control
	1	2	3	4	5	
7	5.00±0.63	3.50±1.22	5.00±0.63	4.00±0.89	4.00±0.89	3.17±0.75
14	4.33±0.75	6.33±0.52	4.33±0.75	2.83±0.75	2.83±0.75	0.33±0.58
21	2.83±0.98	7.66±1.21	2.83±0.98	4.00±0.63	5.16±1.17	0.20±0.45
28	5.16±0.98	8.16±0.98	3.83±0.74	4.66±1.03	6.00±1.09	0.25±0.50
35	4.83±1.17	7.00±1.10	9.50±0.89	4.33±0.51	5.50±1.05	0.50±0.58
42	4.00±0.89	6.83±0.75	8.00±0.89	4.00±0.58	5.16±0.98	0.20±0.45
49	3.50±0.75	5.44±0.88	6.00±0.86	3.83±0.75	4.50±1.22	0.38±0.06
56	3.00±0.63	5.22±0.67	5.43±0.78	3.50±0.55	4.00±1.00	0.50±1.20
63	2.83±0.75	4.63±0.52	5.14±0.90	-	4.00±0	0.33±0.82
70	2.60±0.55	4.50±0.55	5.00±0.63	-	-	0.28±0.76
77	2.40±0.55	4.00±0.63	4.80±0.84	-	-	0.33±0.82

注:“-”表示未测定。Note:“-”indicated no test in the table

表 2 攻毒后各组鸡的发病、死亡与保护情况

Table 2 Status of incidence, mortality and protection of chickens in each group after challenged with virulent BV

组别 Groups	攻毒鸡数 Challenged number of chickens	发病数 Number of incidence	发病率/% Moridity	死亡数 Number of mortality	死亡率/% Mortality	保护率/% Protective rate
1	7	7	100	3	42.9	57.1
2	7	3	43	1	14.2	85.8
3	6	3	50	2	33.3	66.7
4	6	3	50	1	16.7	83.3
5	5	2	40	1	20.0	80.0
对照 Control	6	6	100	3	50.0	50.0

由表 1 和表 2 可以看出, 用 H₁₂₀ 弱毒苗免疫, 血清抗体在免疫后第 21 天开始上升, 第 28 天达高峰值 5.16 log₂, 抗体水平高峰值不高, 抗体水平在 3 log₂ 以上维持时间短(28 d 左右), 对地方肾型强毒的保护作用弱, 保护率为 57.1%。用 B 油佐剂灭活苗免疫, 血清抗体在免疫后第 14 天开始上升, 第 28 天达高峰值 4.66 log₂, 抗体水平高峰值不高, 抗体水平在 3 log₂ 以上维持时间短(38 d 左右), 但对地方肾型强毒的保护作用强, 保护率为 83.3%。将 H₁₂₀ 弱毒苗与 B 油佐剂灭活苗联合应用免疫后, 免

疫效果良好, 血清抗体在免疫后第 7 天开始上升, 第 28 天达高峰值 8.16 log₂, 抗体水平高峰值高, 与前两组高峰值差异显著($P < 0.05$), 抗体水平在 3 log₂ 以上维持时间长(70 d 以上), 对地方肾型强毒的保护作用强, 保护率为 85.8%。

3 讨论

1) 肾型 B 的发生与流行情况与支气管炎型 B 有所不同, 从传染性支气管炎的免疫机制上来讲, 肾型 BV 疫苗与支气管炎型 BV 疫苗免疫机制也不

相同^[14]。应用油乳剂灭活苗免疫产生的循环抗体高,但产生的局部免疫弱,而气管是BV的前靶器官,气管中的特异性抗体是抗BV保护免疫的重要因素,所以单独应用B油苗效果不好,本次试验也证实了这一点。应用BV弱毒苗免疫首先在鸡的上呼吸道产生局部免疫,随之在血液中产生全身免疫,在早期细胞介导的免疫是明显的^[15]。应用H₁₂₀弱毒苗,虽然可以产生较高的抗体,但因BV不同血清型的出现,对肾型B的保护作用较弱,而鸡气管内的免疫保护作用依赖于从血液循环转来的抗体而非局部分泌的抗体。因此,将弱毒苗与B油佐剂灭活苗联合应用可产生高的循环抗体,H₁₂₀弱毒苗免疫后在鸡上呼吸道产生局部免疫,是抗BV感染的呼吸屏障,同时B油苗中含有BV地方肾型株,对地方肾型强毒具有良好的保护作用,对肾脏有很好的保护,对产蛋鸡的产蛋影响小,所以用H₁₂₀+B油苗免疫效果较为理想,可望为肾型BV油佐剂灭活苗在生产实践中推广应用提供理论依据。

2) 从H₁₂₀+B油佐剂灭活苗与H₁₂₀+H₅₂两组免疫结果可以看出,虽然H₁₂₀+H₅₂组获得的HI抗体水平比H₁₂₀+B油佐剂灭活苗组高,但两组的保护率差异极显著($P < 0.01$),说明H₁₂₀+B油佐剂灭活苗对肾型传染性支气管炎的保护作用强,而

H₁₂₀+H₅₂对肾型传染性支气管炎的保护作用弱。这一点与许多学者报道的一致^[6,12,14]。

3) 在母源抗体较高($7 \log_2$)的情况下,进行几种疫苗的免疫,从免疫抗体形成情况看出,免疫后检测到BV HI效价较晚。在母源抗体高的情况下,由于一定数量抗原的进入,使母源抗体部分被中和,其HI效价迅速下降。由抗体变化可看出,H₁₂₀弱毒苗,B油苗,H₁₂₀+B油苗组的抗体水平下降时间程度都不相同。H₁₂₀弱毒苗组在免疫后第21天抗体水平下降至 $2.83 \log_2$ 后,血清抗体才开始上升。B油苗组在免疫后第14天,血清抗体水平下降至 $2.83 \log_2$ 后开始上升。H₁₂₀+B油苗组在免疫后第7天,血清抗体值是 $3.5 \log_2$,与母源抗体值 $3.17 \log_2$ 差异不显著,然后就开始上升。上述结果表明,高的母源抗体对H₁₂₀活苗影响较大,对单独接种油佐剂灭活疫苗影响较小,而用H₁₂₀+B油苗接种可较好地克服母源抗体对雏鸡免疫应答的影响。

在H₁₂₀弱毒苗首免后,抗体水平逐渐下降,H₅₂弱毒苗二次免疫后抗体水平迅速提高,故抗体水平高的雏鸡首次免疫不宜过早,但首先作为基础免疫是必要的,在基础免疫的基础上加强免疫要根据免疫检测的结果而定。

[参考文献]

- [1] 殷震,刘景华. 动物病毒学[M]. 北京: 科学出版社, 1984: 622-630.
- [2] 徐宜为. 最新禽病与防治[M]. 北京: 中国农业出版社, 1993: 165-174.
- [3] 郭玉璞. 家禽传染病诊断与防治[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1994: 28-32.
- [4] 张七斤, 张银银, 李锐, 等. 鸡肾型传染性支气管炎病毒的分离鉴定[J]. 中国兽医杂志, 1995, 21(4): 8-9.
- [5] 刘尚高, 甘孟候, 曹澍泽. 鸡肾型传染性支气管炎流行特点报告[A]. 中国畜牧兽医学会禽病学分会第六次学术讨论会论文集[C]. 广州: 广州出版社, 1992: 356.
- [6] 陈昌海, 程雷, 徐正军, 等. 鸡新城疫—传染性支气管炎—减蛋综合征三联油乳剂苗的研制及应用[J]. 中国预防兽医学报, 2000, 22(5): 327-331.
- [7] 杨奇伟, 付朝阳, 武志强. 鸡传染性支气管炎肾型弱毒株J9的免疫原性试验[J]. 中国预防兽医学报, 2000, 22(2): 92-95.
- [8] 房海, 陈翠珍, 沈萍, 等. 鸡肾病变型传染性支气管炎病毒分离与免疫的研究[J]. 中国预防兽医学报, 2000, 22(6): 428-432.
- [9] 江国托, 王永坤, 丛华, 等. 鸡传染性支气管炎病毒(BV)与新城疫病毒(NDV)在SPF鸡胚上的相互干扰作用[J]. 中国兽医杂志, 1994, (8): 5-6.
- [10] 张云甫, 吴金, 张君, 等. 鸡传染性支气管炎(肾型HK株)活疫苗的研究[J]. 中国兽药杂志, 2000, 34(2): 3-5.
- [11] 杨增岐, 赵余放, 张淑霞, 等. 鸡传染性支气管炎病毒的分离鉴定[J]. 中国兽医科技, 1996, (6): 5-7.
- [12] 杨增岐, 赵余放, 李云岗, 等. B肾型与支气管炎型二价油佐剂灭活苗的制备及其免疫效果评价[J]. 中国畜禽传染病, 1997, (3): 8-10.
- [13] 李德山, 武志强. 鸡传染性支气管炎HA和HI试验方法的研究[J]. 中国畜禽传染病, 1992, (5): 23-25.
- [14] 江国托, 王永坤. 肾型鸡传染性支气管炎疫苗免疫机制初探[J]. 中国禽传染病, 1994, (4): 54-58.
- [15] 李德山, Gavangh D. 鸡传染性支气管炎冠状病毒的结构蛋白分析及胰酶对纤突蛋白的影响[J]. 中国畜禽传染病, 1991, (3): 44-48.

Multi-vaccinated study of chickens inoculated with avian infectious bronchitis vaccines

YANG Zeng-qi¹, ZHANG Shu-xia¹, ZHAO Yu-fang¹, PAN Rui¹,
JIANG Yan-fen¹, HE Yu-sheng², LIU Jian-peng²

(1 College of Animal Sciences and Technology, Northwest Sci-Tech University of

Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Animal and Veterinary Medical Centre of Yulin City, Yulin, Shaanxi 719000, China)

Abstract: 200 one-day-old chicks were divided into 6 groups. Group 1-5 were inoculated lonely or multiply with Avian Infectious Bronchitis (IB) vaccines which including attenuated Virus of H₁₂₀ and H₅₂ strain as well as bivalent oil emulsion inactivated Vaccine (OEV). Group 6 was not inoculated as control. Anti-IB antibody titers of the 6 groups of chickens were tested by hemagglutination inhibition (HI) test once a week after inoculation. Chickens were challenged with virulent IB at the 73th day after inoculation. The protective rates of the 6 groups were observed. The results showed that the protective rates of H₁₂₀ lonely inoculated group, H₁₂₀+IB OEV group, H₁₂₀+H₅₂ group, IB OEV inoculated one time and two times group as well as control group were 57.1%, 85.8%, 67%, 83.3%, 80% and 50%, respectively. The protective rate of H₁₂₀ and H₅₂ strain was lower than IB OEV. Although chickens inoculated with H₁₂₀+IB OEV, IB OEV one time and two times all got higher protective rate, chickens inoculated with H₁₂₀ strain and IB OEV simultaneously could get longer protective period than the other two groups.

Key words: Avian infectious bronchitis; attenuated vaccine; oil emulsion inactivated vaccine; HI antibody

欢迎订阅 2003 年《陕西林业科技》

《陕西林业科技》是由陕西省林学会、西北农林科技大学林科院和陕西省林业研究中心合办的综合性林业科技刊物,被《中国林业文摘》、“中国林业文献数据库”、“中国学术期刊综合评价数据库”等多家权威数据库和文摘期刊固定转载和收录。多次被评为陕西省优秀科技期刊,并加入《中国学术期刊(光盘版)》、《中国期刊网》。

《陕西林业科技》主要刊登育苗、造林、森林经营、经济林、林业经济、调查设计、森林保护、林副产品深加工与利用、木材加工、花卉栽培等方面的科研论文、试验报告、经验总结以及实用技术介绍,国内外林业发展趋势和动态、译文、信息等,具有较强的指导性、技术性、知识性、实用性,是林业科研、教学工作者及广大林业战线职工和果农必不可少的参考资料。

《陕西林业科技》为公开发行刊物,国内统一刊号:CN 61-1092/S,国际标准刊号:ISSN 1001-2117。季刊,每期定价 6.00 元,全年 24.00 元,自办发行。愿意订阅者,请将款汇至《陕西林业科技》编辑部,亦可通过“全国非邮发报刊联合发行部”(地址:天津市大寺泉集北里别墅 17 号;邮编:300385)征订,本刊代号 6923。欢迎订阅,欢迎赐稿。

诚征广告客户:

收费标准:封二、封三 3 000 元/次,封四 4 000 元/次;正文:整版 500 元,1/2 版 300 元,1/4 版 200 元,1/8 版 100 元。若有特殊要求和刊登全年广告,价格另议。

编辑部地址:陕西杨凌西北农林科技大学林院校区

邮编:712100 电话:(029) 7098734 E-mail:Slkj@nw.suaf.edu.cn

开户银行:陕西省杨凌农行 账号:881001250