

快大型商品肉鸡禽流感母源抗体的监测及禽流感 - 新城疫重组二联活疫苗配合禽流感灭活疫苗免疫鸡只的效果观察

林永坚, 关建新, 袁海峰, 李瑞亭

(江门市动物防疫检疫站, 江门 529000)

摘要:测定江门地区某大型种鸡场所产快大型肉鸡苗禽流感 H5 亚型和新城疫母源抗体水平的衰减变化情况。当禽流感 H5 母源抗体滴度的平均值接近 $5\log_2$ 时, 将饲养的 600 只雏鸡随机分为 A、B、C、D 4 个组。根据快大型肉鸡的生长特点, 合理制定禽流感疫苗的免疫程序, 不同组别的鸡群选用不同的免疫方式将禽流感 - 新城疫重组二联活疫苗与禽流感灭活疫苗配合使用。通过测定各组鸡只产生免疫抗体的效价和免疫抗体合格率, 评定各种免疫方式的优劣性。

关键词:鸡; 禽流感; H1 试验; 抗体滴度; 免疫程序

中图分类号: S858.31

文献标识码: B

文章编号: 1671-7236(2007)11-0099-03

禽流感 (avian influenza, AI) 是由 A 型流感病毒引起的一种从呼吸系统到严重的全身败血症等多种症状的禽类烈性传染病。禽流感病毒 (avian influenza virus, AIV) 是负链 RNA 病毒, 在病毒分类学上属于正粘病毒科 (orthomyxoviridae) 的 A 型流感病毒属 (*influenzavirus aegens*)。正粘病毒科还包括了 B 型流感病毒属和 C 型流感病毒属, 其中 A 型流感病毒能够感染人、猪、马和禽类; C 型流感病毒主要感染人和猪; 而 B 型流感病毒仅感染人类。

目前, 我国使用的禽流感疫苗主要是 H5 亚型的禽流感灭活疫苗。根据江门市动物防疫检疫站多年来对江门地区家禽禽流感疫苗免疫效果的监测情况分析, 禽流感灭活疫苗需要二次免疫才能取得较好的免疫效果。禽流感 H5 亚型油佐剂灭活疫苗对产蛋鸡群能造成较为严重的应激反应, 注苗后 3~5 d 出现产蛋量下降, 下降幅度一般在 5%~10%, 严重的产蛋量下降达 20% 左右。另一方面, 为减少疫苗成分对禽肉的影响, 要求家禽在禽流感灭活疫苗免疫后, 经过 1 个月的吸收期才可上市出售。因此, 养殖户对 60 日龄左右上市出售的快大型商品肉禽只进行一次禽流感灭活疫苗的注射, 禽流感灭活疫苗

在快大型商品肉鸡和种用鸡的应用具有一定的使用局限性和负面影响。

禽流感 - 新城疫重组二联活疫苗是以新城疫 LaSota 弱毒病毒为载体, 将禽流感 H5 的 HA 基因片段插入到 LaSota 载体中制作的疫苗, 是更为新型的负链 RNA 病毒活载体疫苗, 其生产技术在国际上具有领先水平。但按照该疫苗的使用说明, 经试验, 在实际生产中单独使用该疫苗所取得的免疫效果并不理想。

为了进一步了解和掌握禽流感 - 新城疫重组二联活疫苗在生产实践中与禽流感灭活疫苗联合使用的效果, 我们以快大型商品肉鸡苗作为试验对象, 监测鸡群免疫前的抗体水平变化。为了达到田间试验的效果, 试验鸡只的饲养采用普通的上笼养殖方式。根据该类鸡的生长特点和禽流感 - 新城疫重组二联活疫苗与禽流感灭活疫苗各自的免疫特性, 制定 3 种不同的免疫程序, 分别用于 3 组试验鸡群中。分析使用不同免疫程序免疫后抗体的产生时间、平均滴度、免疫合格率和维持时间等重要参数, 综合评价这 3 种免疫程序的优劣, 以便为禽流感预防和控制工作提供参考信息。

1 试验材料和方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验动物 试验用快大型商品肉鸡由江门某种鸡场提供。

1.1.2 疫苗 鸡传染性支气管炎 H120 株活疫苗,

修回日期: 2007-09-25

作者简介: 林永坚 (1978 -), 男, 兽医师, 主要从事动物防疫检疫、兽医卫生监督工作。

通讯作者: 关建新 (1963 -), 女, 高级兽医师。

批号为 050211。鸡痘活疫苗,批号为 0601。鸡传染性法氏囊病中等毒力活疫苗,批号为 0513。鸡新城疫活疫苗(系),批号为 0516。禽流感-新城疫重组二联活疫苗(R1-H5 株),批号为 200601。重组禽流感病毒灭活疫苗,批号为 2006156。

1.1.3 标准阳性抗体 标准阳性抗体购自哈尔滨兽医研究所。

1.1.4 HI 试验标准抗原 AFH5 抗原和新城疫抗原,分别购自哈尔滨兽医研究所,配成 4 个单位抗原使用。

1.1.5 红细胞悬液 根据《高致病性禽流感诊断技术》(GB/T 18936-2003)的血凝(HA)和血凝抑制(HI)试验和新城疫检疫技术规范(GB 16550-1996)的国家标准的规定,配成 1%鸡红细胞悬液,4℃保存备用。

1.2 试验方法

1.2.1 试验鸡只常规免疫程序 于 4、8、11 和 28 日龄分别对全群鸡只进行鸡传染性支气管炎 H120 株活疫苗免疫,点眼滴鼻 2 头份;翼膜刺种鸡痘活疫苗 1 头份;饮水口服鸡传染性法氏囊病中等毒力活疫苗 2 头份和肌肉注射鸡新城疫活疫苗(系)2 头份。

1.2.2 试验鸡禽流感 H5 和新城疫母源抗体测定 分别在 1、4、8、11 和 15 日龄,按常规方法随机采集 20 只小鸡的血清样品。因经采血的小鸡生长发育较差,为排除对免疫应答的不良影响,经采血的小鸡不列入免疫试验组。采血后当天测定血清样品禽流感 H5 和新城疫的抗体滴度。

1.2.3 试验鸡的分组及处理 于禽流感-新城疫重组二联活疫苗免疫前 5 d,取 500 只没采血的健康小鸡随机分为 A、B、C、D 4 组(A、B、C 为试验组,D 组为空白对照组),每组 125 只。A 组 15 日龄初次免疫,点眼滴鼻禽流感-新城疫重组二联活疫苗 2 羽份。于 28 日龄二次免疫,肌肉注射 0.5 ml 重组禽流感病毒灭活疫苗。B 组 15 日龄初次免疫,肌肉注射禽流感-新城疫重组二联活疫苗 1 羽份。于 28 日龄二次免疫,肌肉注射 0.5 ml 重组禽流感病毒灭活疫苗。C 组 15 日龄点眼滴鼻禽流感-新城疫重组二联活疫苗 2 羽份,同时肌肉注射 0.3 ml 重组禽流感病毒灭活疫苗。D 组为空白对照组,不作禽流感疫苗免疫,只作常规疫苗的免疫。

1.2.4 禽流感疫苗免疫后各组鸡抗体变化规律的测定 各试验组鸡只按 1.2.3 方法应用疫苗免疫。

4 组鸡只于 15、26 日龄各采集 15 份血样;二次免疫后,于 33、39、45 和 72 日龄各采集 15 份血样。每次采样后按常规分离血清并当天按 1.2.2 的检测方法测定禽流感 H5 和新城疫抗体。

1.2.5 抗体水平检测方法 根据《高致病性禽流感诊断技术》(GB/T 18936-2003)的血凝(HA)和血凝抑制(HI)试验和新城疫检疫技术规范(GB 16550-1996)的国家标准进行检测。每次采血后当天分离血清,并进行检测,测定血清样品的抗体滴度(HI 价),结果的判定以完全抑制血凝的最高稀度为终点,以 \log_2 表示。

2 结果

2.1 试验鸡禽流感 H5 和新城疫母源抗体检测结果 从表 1 可见,该试验鸡群的母源抗体中新城疫的平均滴度和抗体合格率要比禽流感 H5 高。其中,15 日龄是两种母源抗体滴度变化的转折点,抗体的平均滴度和抗体的合格率急剧下降。在 26 日龄时,禽流感 H5 抗体的平均滴度已下降到 1.3 \log_2 ;抗体的合格率也为 0。因此,选择 15 日龄进行禽流感-新城疫重组二联活疫苗的接种较为合适。

表 1 试验鸡禽流感和新城疫母源抗体在不同日龄的 HI 抗体滴度及合格率

| 日龄 | 检测数量 | 禽流感 H5 抗体 | | 新城疫抗体 | |
|----|------|----------------------|------------|----------------------|------------|
| | | 平均滴度 (\log_2) | 合格率 (%) | 平均滴度 (\log_2) | 合格率 (%) |
| 1 | 20 | 5.2 | 65 | 8.8 | 100 |
| 4 | 20 | 5.4 | 80 | 8.8 | 100 |
| 8 | 20 | 4.6 | 55 | 6.9 | 100 |
| 11 | 20 | 5.2 | 65 | 6.6 | 100 |
| 15 | 20 | 5.2 | 70 | 6.5 | 100 |
| 26 | 15 | 1.3 | 0 | 3.3 | 7 |

2.2 各组免疫后禽流感 H5 和新城疫抗体检测结果 从表 2 可见,采用禽流感-新城疫重组二联活疫苗和重组禽流感病毒灭活疫苗联合使用,都可使试验鸡只体内产生禽流感抗体。而且不同种免疫程序所产生禽流感 H5 抗体的速度和产生抗体的量有所不同。

A 组和 B 组在 15 日龄进行禽流感-新城疫重组二联活疫苗首免后,在 15~33 日龄这一时间段内,禽流感抗体水平一直处于下降的状态,抗体的合格率也维持在 0 的水平。A、B 两组使用重组禽流感病毒灭活疫苗免疫后 5 d(即 33 日龄),该两组鸡只体内开始产生抗体,且产生的速度较快(经过 5 d,即

在 39 日龄时 A、B 两组鸡只禽流感 H5 抗体的平均滴度分别达到 5.2 和 6.3 log₂; 抗体的合格率也分别达到 60 %和 66.7 %)。此后, 禽流感 H5 抗体的

平均滴度还有所上升, 到 72 日龄时, A、B 两组的禽流感抗体的平均滴度分别为 8.2 和 7.2 log₂; 抗体合格率分别为 90 %和 80 %。

表 2 试验鸡的禽流感 H5 抗体的平均滴度及合格率日龄

| 日龄 | 检测数量 | A 组 | | B 组 | | C 组 | | D 组 | |
|----|------|-----------------------------|------------|-----------------------------|------------|-----------------------------|------------|-----------------------------|------------|
| | | 平均滴度 (log ₂) | 合格率 (%) | 平均滴度 (log ₂) | 合格率 (%) | 平均滴度 (log ₂) | 合格率 (%) | 平均滴度 (log ₂) | 合格率 (%) |
| 15 | 20 | 5.2 | 70.0 | 5.2 | 70.0 | 5.2 | 70.0 | 5.2 | 70.0 |
| 26 | 15 | 3.1 | 20.0 | 2.1 | 0.0 | 2.0 | 0.0 | 1.3 | 0.0 |
| 33 | 15 | 0.3 | 0.0 | 0.7 | 0.0 | 5.2 | 66.7 | 0.2 | 0.0 |
| 39 | 15 | 5.0 | 60.0 | 6.3 | 66.7 | 5.9 | 75.0 | 0.0 | 0.0 |
| 45 | 15 | 9.2 | 100.0 | 8.3 | 93.3 | 4.7 | 60.0 | 0.0 | 0.0 |
| 72 | 10 | 8.2 | 90.0 | 7.2 | 80.0 | 5.8 | 70.0 | 0.0 | 0.0 |

C 组在 15 日龄使用禽流感 - 新城疫重组二联活疫苗滴眼滴鼻免疫接种的同时肌肉注射重组禽流感病灭活疫苗。从表 2 可见在 15 ~ 26 日龄这段时间, C 组鸡只体内的抗体滴度处于下降的状态。但在 26 ~ 33 日龄的时间段, 鸡只体内禽流感 H5 抗体的平均滴度迅速上升, 33 日龄时达到 5.2log₂; 抗体合格率达到 66.7 %。以后禽流感 H5 抗体的平均滴度还有所上升, 在 72 日龄时禽流感 H5 抗体平均滴度为 5.8log₂, 抗体合格率为 70 %。

3 试验结果分析

通过该试验鸡群禽流感 H5 母源抗体是从 15 日龄开始下降到一个临界值, 即在这一临界值的日龄以后禽流感 H5 母源抗体将逐渐失去保护力。根据快大型商品肉鸡一般在 60 日龄左右出栏的饲养特点, 将禽流感 - 新城疫重组二联活疫苗的初次免疫时间设定在 15 日龄是比较合适的。

A、B 两组在初次免疫使用禽流感 - 新城疫重组二联活疫苗后到二次免疫这段时间, 鸡只体内不能产生体液免疫, 试验反映出来的禽流感 H5 抗体是母源抗体, 但在鸡只体内产生免疫记忆。在二次免疫肌肉注射重组禽流感病灭活疫苗后, 鸡只体内能立即作出反应, 并在 10 d 的时间内产生较高的抗体滴度, 最后在 45 日龄达到高峰, 并能维持在一个较高的水平直到鸡只出栏。

C 组在 15 日龄同时使用禽流感 - 新城疫重组二联活疫苗和重组禽流感病灭活疫苗, 通过两者的协同作用, 使鸡只在 26 日龄时开始产生人抗体, 在 39 日龄达到高峰, 平均滴度为 5.9log₂。虽然其禽流感 H5 抗体滴度比 A、B 组的抗体滴度低, 但已达到农业部规定 70 %的免疫合格率, 对鸡群产生较好

禽流感免疫保护。

4 结论和讨论

通过 3 种免疫程序的试验比较, 3 种免疫程序都能产生人工免疫抗体, 能适合快大型商品肉鸡的免疫使用。A、B 组产生的抗体水平较高, 但要 33 日龄时鸡只体内的体液免疫才出现反应, 禽流感 H5 抗体平均滴度才出现回升。C 组免疫后产生的禽流感 H5 抗体平均滴度能达到 5log₂ 的水平, 抗体合格率也能达到 70 %, 符合我国农业部鸡群免疫合格率为 70 %的要求。其中 C 组免疫程序使鸡只产生抗体的速度最快。通过试验, 认为在 3 种免疫程序中, 在 15 日龄首免滴眼鼻 2 头份重组二联苗同时肌肉注射 0.3 ml 重组禽流感病灭活疫苗的免疫程序最好。

C 组免疫程序的优点有: C 组的免疫程序疫苗的使用成本最低。两种疫苗在同一次免疫中完成, 减少反复抓捕对鸡只的应激。免疫后免疫应答的响应速度快, 减少免疫的空白期, 保证鸡只体内有充足的抗体, 并能在快大型商品肉鸡出栏前维持在一个较高的水平。通过该免疫程序免疫的鸡只, 能更有效地抵御禽流感病毒的侵袭。该免疫程序初次免疫使用点眼滴鼻的方式进行免疫, 疫苗可刺激哈德尔氏腺, 产生免疫应答效应。其分泌的抗体汇合于呼吸道粘膜分泌物中, 参与上呼吸道的局部免疫应答, 在眼和上部呼吸道局部免疫占有十分重要的位置。在幼雏免疫方面, 它对禽流感 - 新城疫重组二联活疫苗可发生强烈的应答反应, 并且不受母源抗体的干扰。因此, 经过初次免疫的鸡只可以产生局部的免疫, 同时经重组禽流感病毒灭活疫苗的注射免疫后可产生体液免疫。