

规模化肉种鸡场新城疫和禽流感带毒监测与抗体检测研究

胡北侠^{1,2}, 黄艳艳^{1,2}, 路希山³, 许传田^{1,2}, 颜世敢^{1,2}, 张伟^{1,2}, 孟斌⁴, 张秀美^{1,2}

(1. 山东省农科院畜牧兽医研究所, 济南 250100; 2. 山东省畜禽疫病防治与繁育重点实验室, 济南 250100;

3. 青岛农业大学, 青岛 266109; 4. 山东农业大学动物科技学院, 泰安 271018)

摘要:为了了解规模化养殖模式下鸡群新城疫和禽流感带毒情况和抗体滴度,从2007年9月~2008年8月,对规模化养殖场肉种鸡定期进行新城疫和禽流感带毒监测和抗体检测。每月采集鸡群气管和泄殖腔棉拭子各30份(抽检率0.3%)进行新城疫和禽流感病毒监测,每2周采集30份血样(抽检率0.3%)进行新城疫和禽流感抗体检测。研究结果显示,监测鸡群从进雏到淘汰未发现新城疫和禽流感病毒感染;从6.5周龄开始,鸡群新城疫和禽流感(H9亚型)抗体一直维持在免疫保护临界值以上,比较之下,禽流感(H5亚型)抗体上升较慢,且滴度比H9低(2~4)log₂。

关键词:肉种鸡;新城疫;禽流感;带毒监测;抗体检测

中图分类号:S852.65

文献标识码:A

文章编号:1671-7236(2009)06-0131-02

新城疫和禽流感是严重危害家禽的两种接触性、致死性病毒性疾病,病原分别是新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV)和禽流感病毒(avian influenza virus, AIV)(苏敬良等,2005)。目前,疫苗免疫是中国控制这两种疫病的主要措施之一。然而,由于疫苗免疫并不能完全消除感染,很多免疫鸡群仍然存在NDV和AIV的持续性感染和排毒,对这两种疫病的防控提出新的挑战(赵虎等,2002;成大荣等,2004;刘国华等,2007)。近年来,肉种鸡的规模化养殖迅速发展,为了严防新城疫和禽流感的发生,很多种鸡场一方面建立和完善了严格的生物安全措施,另一方面,对鸡群进行频繁的免疫接种。为了了解在这种规模化养殖模式下,鸡群的新城疫和禽流感带毒状况和抗体水平,本研究选择某养殖场一批鸡,从育雏到淘汰,进行了系统的带毒监测和抗体检测,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 试验鸡群 山东某规模化肉种鸡场,饲养规模10万羽,品种为罗斯308。

1.2 SPF鸡胚 SPF鸡胚购自山东农科院家禽研究所SPF鸡研究中心。

1.3 新城疫、禽流感抗原、标准阳性血清 新城疫、

禽流感(H5、H9亚型)抗原和标准阳性血清由哈尔滨兽医研究所提供。

1.4 带毒监测 从2007年9月开始,选定一批次鸡群,每月采集气管和泄殖腔棉拭子各30份(抽检率0.3%)。无菌处理后每份样品接种9~11日龄SPF鸡胚5枚。37℃孵化120h。弃去24h内死亡鸡胚,收集24~120h死胚、活胚尿囊液,测定HA效价。HA阳性的样品用NDV、AIV(H5和H9亚型)阳性血清进行HI试验,以鉴定病毒种类。

1.5 抗体检测 从2007年9月开始,与带毒监测选择同一批次鸡群,每2周进行翅静脉采血,每次采集30份(抽检率0.3%)进行新城疫和禽流感(H5和H9亚型)HI抗体检测。HI操作程序参考世界动物卫生组织(OIE)(2002)中介绍的方法。

2 结果

2.1 带毒监测结果 从2007年9月5日(9周龄)~2008年8月21日(58.1周龄),330份鸡气管棉拭子和330份泄殖腔棉拭子样品中未分离到新城疫和禽流感病毒(表1)。

2.2 抗体检测结果

2.2.1 肉种鸡 4.2~35.5周龄新城疫和禽流感抗体滴度 由图1可知,肉种鸡在6.5周龄之前新城疫抗体水平一直较低,从免疫程序上看,此前已于9、34日龄进行了2次ND弱毒活疫苗免疫(滴鼻、点眼),并同时于9日龄进行ND灭活苗免疫;8.7周以后新城疫抗体水平一直维持在8.0log₂以上,并保持平稳的消长曲线。从4.2周开始,禽流感病

收稿日期:2008-11-10

作者简介:胡北侠(1974—),女,江苏人,硕士,研究方向:禽病诊断与防治。

通信作者:张秀美。E-mail:zxm820410@163.com

基金项目:国家十一五科技支撑计划资助(2006BAD06A16-2)。

毒 H9 抗体一直稳步上升,并维持在 $(8.5\sim 11)\log 2$ 之间,但是 H5 抗体上升较慢,一直到 10.4 周才达到 $7.7\log 2$,此前已分别进行了 2 次禽流感(H5 和

H9)灭活苗免疫。于 8.7 周出现 H5 抗体低谷,抗体滴度在免疫保护临界值($5\log 2$)以下,从免疫程序上看,应当适当提前禽流感(H5)二次免疫的日龄。

表 1 山东某肉种鸡禽流感、新城疫带毒监测结果(9~58.1 周龄)

采样时间	周龄	气管棉拭子样品中病毒监测阳性率(%)			泄殖腔棉拭子样品中病毒监测阳性率(%)		
		NDV 强毒	NDV 弱毒	AIV	ND 强毒	NDV 弱毒	AIV
2007-09-05	9	0	0	0	0	0	0
2007-10-11	15	0	0	0	0	0	0
2007-11-13	19	0	0	0	0	0	0
2007-12-10	23	0	0	0	0	0	0
2008-01-23	29	0	0	0	0	0	0
2008-03-03	35	0	0	0	0	0	0
2008-04-10	39	0	0	0	0	0	0
2008-05-15	44	0	0	0	0	0	0
2008-06-07	48	0	0	0	0	0	0
2008-07-16	53.6	0	0	0	0	0	0
2008-08-21	58.1	0	0	0	0	0	0

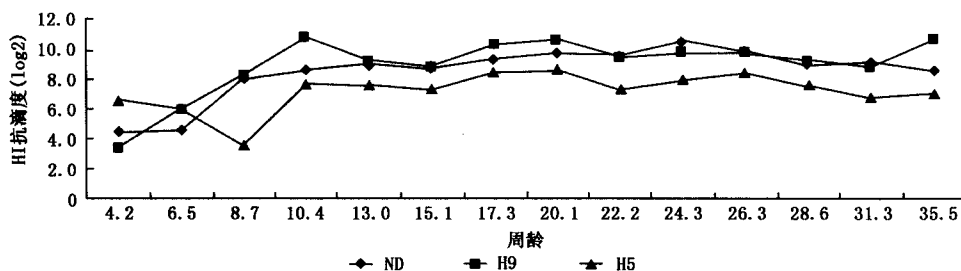


图 1 肉种鸡禽流感和新城疫抗体滴度

2.2.2 肉种鸡 37.5~61.3 周龄新城疫和禽流感抗体滴度 由图 2 可知,肉种鸡 37.5~61.3 周龄期间新城疫和禽流感的抗体滴度一直保持比较平稳的消

长曲线,由于经过多次免疫接种,抗体均维持在较高水平。从免疫程序上看,H5 和 H9 免疫次数相同,但是 H5 抗体滴度比 H9 低 $(2\sim 4)\log 2$ 。

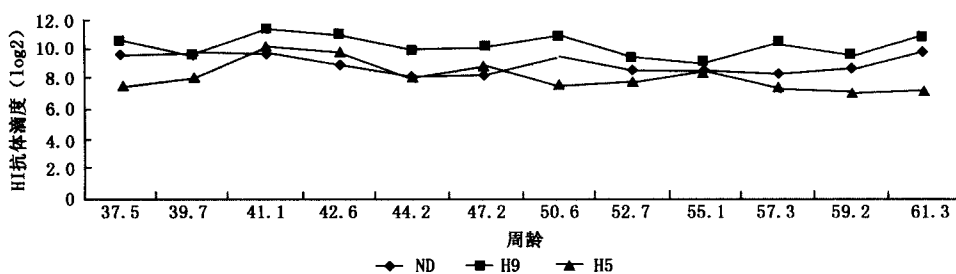


图 2 肉种鸡禽流感和新城疫抗体滴度

3 讨论

带毒监测结果显示,从 2007 年 9 月~2008 年 8 月,新城疫强毒、弱毒及禽流感(H5 和 H9 亚型)的病毒分离均为阴性,这得益于本养殖场严格、科学的生物安全措施。通过定期对鸡群进行带毒监测,可以及时对鸡群的感染状态进行评估,采取必要的措施以防制新城疫和禽流感。

抗体检测结果显示,鸡群从 10.4 周龄一直到

61.3 周龄(淘汰),新城疫和禽流感(H5 和 H9 亚型)抗体滴度均维持在抗体保护临界值以上,但是,相比之下,H5 抗体滴度较低。从免疫程序上应适当增加 H5 的免疫密度,降低新城疫和 H9 的免疫密度,通过不断的抗体检测,可对免疫程序进行科学的评估和调整,减少不必要的免疫应激,对于提高肉种鸡的生产性能具有重要的作用。

热休克蛋白与寄生虫感染的关系

王强,李勉,张龙现

(河南农业大学牧医工程学院,郑州 450002)

摘要:近年来热休克蛋白(heat shock proteins, HSPs)在寄生虫感染、治疗和预防中的意义已引起广泛关注,成为最活跃的研究领域之一。作者就热休克蛋白家族及其在寄生虫感染中的作用作一综述。

关键词:热休克蛋白;种类;寄生虫

中图分类号:S855.9

文献标识码:A

文章编号:1671-7236(2009)06-0133-04

热休克蛋白(heat shock proteins, HSPs)是机体细胞在应激原条件诱导下,激活 HSPs 基因,高效表达、高度保守的多肽类蛋白质家族。HSPs 作为分子伴侣,参与其他蛋白质的折叠、转运、合成等过程,与细胞内其他肽类蛋白质结合,参与细胞抗损伤、修复和热耐受过程,其在多种疾病过程中的重要作用已被大量证据证实(Snoeckx 等,2001)。大多数 HSPs 在正常和应激条件下都具有识别非天然蛋白的能力,能够刺激机体产生先天免疫和后天获得性免疫(Javid 等,2007)。在受到热休克或暴露于其他形式环境压力时,许多细胞内蛋白会发生部分或全部变性,此时 HSPs 可识别暴露于变性蛋白表面的疏水区域,协助它们进行重新折叠,或将无法恢复的蛋白质转移给蛋白质降解系统,使之降解,从而避免细胞进一步受到伤害。除此以外,在受到感染和发生自身免疫性疾病时,HSPs 可作为重要抗原被免疫系统识别,因此其在医学和兽医学方面的作用

日益受到重视。

1 HSPs 家族

HSPs 目前尚无明确分类标准,根据其分子量大小和氨基酸序列相似性不同,Carper 等(1987)将 HSPs 分为以下几个家族:低分子量家族、中等分子量家族(如 HSP65)、HSP70 家族、HSP90 家族和 HSP110 家族,每个家族又有多个成员,其主要成员及功能特点如表 1 所示。另外,根据诱导方式不同,分子质量为 34、75、78、94 及 170 ku 的 HSPs 又称为葡萄糖调节蛋白(glucose-regulated proteins, GRPs)。大部分热休克蛋白的序列、基因结构尚不清楚,其家族成员之间在遗传学和生物学上没有相关性。随着对 HSPs 种类及生物学功能研究的进一步深入,新的 HSPs 分子将会不断归入不同 HSPs 家族中,其分类会更趋完善。

2 HSPs 作用机制

HSPs 的转录调节主要靠热休克转录因子(heat shock factor, HSF)。HSPs 调节机制研究的重要突破是 1975 年 Cooper 等利用一影响高温下蛋白质合成的无突变株发现,在 *E. coli* 中存在一种含量很低的 32 ku 蛋白质 σ_{32} ,由它参与构成的 RNA 酶全酶能识别热休克基因启动子,编码 σ_{32} 的基因为 *rpoH*。试验证明,HSPs 的诱导依赖于 *rpoH* 基因产物合成量(Brundel 等,2008)。另外,*ropD*(编码

收稿日期:2009-01-07

作者简介:王强(1984—),男,四川人,硕士生,研究方向:分子寄生虫。

通信作者:张龙现,教授,主要从事人畜共患原虫生物学研究。

Tel: 0371-63555689, E-mail: zhanglx8999@Yahoo.com.cn

基金项目:科技部自然资源平台项目(2005DKA21104)。

参 考 文 献

- 1 Saif Y M 主编.苏敬良,高福,索勋译.禽病学[M].第 11 版.北京:中国农业出版社,2005,65~93.
- 2 世界动物卫生组织(OIE)著.哺乳动物、禽、蜜蜂 A 和 B 类疫病诊断试验和疫苗标准手册[M].农业部畜牧兽医局译.第 1 版.北京:中国农业科学技术出版社,2002.
- 3 刘国华,韩海英,马秀霞,等.免疫鸡群禽流感的发病特点及抗体

检测与带毒状况观察[J].中国兽医杂志,2007,43(10):28~29.

- 4 成大荣,徐建生,朱丽华,等.免疫蛋鸡携带新城疫病毒的调查研究[J].动物医学进展,2004,25(1):101~102.
- 5 赵虎,文其乙,吴艳涛,等.免疫鸡群中新城疫强毒感染流行趋势[J].中国兽医杂志,2002,38(2):10~11.
- 6 靳月生,等.蛋鸡重组高致病性禽流感 H5N1(Re21+Re24)二价灭活疫苗免疫效果的评价[J].中国畜牧兽医,2008,35(7):92~93.