



## 5 种马立克氏病疫苗免疫效力的对比试验

张建伟 杨彦明 周 蛟

(北京市农林科学院畜牧兽医研究所, 100081)

5855.3

5852.52

自 70 年代,研制出 HVT 冻干疫苗并用免疫预防以来,马立克氏病(MD)的发生得到了很好的控制。几年后 MD 免疫失败就开始见有报道。80 年代又分别应用了改进的二价苗,曾获得了良好的免疫效果。但维持了三四年后,MD 又呈上升趋势。I 型致弱冷冻疫苗的研制成功使 MD 的发生得到了较好的控制。但 I 型致弱疫苗需液氮保存运输,应用范围受到限制。笔者选择了几种商品疫苗结合自己的课题进行了 MD 疫苗的对比试验,其中包括,美国苏威公司生产的免疫促进素-ACM<sup>TM</sup>1(从芦荟中提取的乙酰甘露聚糖)+HVT 冻干苗,以期筛选出最适合于我国现有条件,又具有最大免疫保护效果的疫苗,在我国推广应用。

### 材料与方法

一、试验鸡 由北京实验动物研究中心购入 SPF 种蛋,在本所 SPF 孵化室孵化的混合 1 日龄雏鸡。

二、试验鸡的分组及疫苗 第 1,2,3,4,5 组为免疫组,每组为 35 只,于 1 日龄分别按疫苗使用说明免疫 BJM939 I 型致弱冷冻疫苗、HVT 冻干苗+ACM<sup>TM</sup>1、HVT+301B 冷冻二价疫苗、HVT 冻干疫苗、HVT+SB<sub>1</sub> 冻干二价疫苗。除 I 型苗外,其它疫苗均由市场购入,第 6 组 35 只,为非免疫攻毒组,第 7 组 15 只,为健康观察组。

三、攻击用强毒、攻毒日龄及剂量 攻毒用强毒株为国家级种毒 MDV 京-1 株,第 37

代冷冻血毒。除健康观察组外,其它各组攻毒日龄为 10 日龄,攻毒剂量为 10 倍稀释的冷冻血毒,每只雏鸡 0.5ml,腹腔注射。

四、鸡的饲养管理 7 组试验鸡分别安排在不同隔离器内进行,隔离器分别为由澳大利亚进口的硬质及北农大研制的软质隔离器。饲料为经钴 60 辐射的无菌饲料。饮水为盐酸处理的酸化水。

五、观察、剖检与称重 试验期内每日观察鸡的精神、健康状况,对死亡鸡只逐只剖检。试验结束时把全部存活鸡剖杀剖检,并记录 MD 肉眼病变。攻毒前死亡以及攻毒后 1 周内死亡鸡只认为是非特异性死亡,不进行结果的统计分析。

六、统计分析 56 日龄时对存活鸡只进行剖检,剖检前称重。并对母鸡体重进行校正,公式为:

校正后母鸡体重 =

$$\text{母鸡实际体重} \times \frac{\text{所有公鸡平均重}}{\text{所有母鸡平均重}}$$

试验结束后对各组体重进行方差分析。对 MD 的阳性率进行  $\chi^2$  检验。并计算保护指数。

保护指数(PI) =

$$\frac{\text{攻毒对照组 MD 阳性率} - \text{免疫组 MD 阳性率}}{\text{攻毒对照组 MD 阳性率}} \times 100\%$$

### 结果与分析

一、攻毒后第 1 只 MD 致死日龄及 MD 致死率见表 1。

表 1 攻毒后第 1 只 MD 致死日龄及 MD 致死率<sup>\*</sup>

	BJM939	HVT+ACM <sup>TM</sup> 1	HVT+301B	HVT 冻干苗	HVT+SB <sub>1</sub>	非免疫攻毒组	健康组
开始只数	35	35	35	35	35	35	15
非特异死亡只数	0	1	0	0	1	0	0
攻毒只数	35	34	35	35	34	35	·
攻毒后第一只 MD							
致死日龄	·	45	33	30	33	29	·
致死只数	·	1	1	2	3	7	·
致死率%	0	2.94	2.86	5.7	8.8	20	·

\* (1)第 1 只致死日龄为攻毒后算起的死亡日龄。

(2)MD 阳性判定为有一内脏有典型 MD 肉眼病变即判定为 MD 阳性。

在本次试验中除了 BJM939 组外,其它免疫组和攻毒组均出现了 MD 所致的死亡,第 1 只 MD 致死日龄表现的早晚顺序为非免疫攻毒组 → HVT 冻干疫苗组 → HVT+301B → HVT+SB<sub>1</sub> → HVT+ACM<sup>TM</sup>1 组。致死率各组虽有不同,但可能不能说明实际情况。在

试验结束前曾对各组濒死死亡鸡只进行了剖杀,这些阳性鸡未计算入致死鸡数内。

二、各组鸡 MD 病变结果 见表 2。

从表 2 结果发现,MDV 京-1 株对性腺的致肿瘤作用均高于其它器官。I 型致弱疫苗组没有阳性鸡,说明 BJM939 具有很强的保护力,并可预防 MD 强毒的致肿瘤作用。

HVT+ACM<sup>TM</sup>1 组与 HVT+301B 冷冻二价苗组的预防肿瘤形成作用优于 HVT 冻干苗组和 HVT+SB<sub>1</sub> 冻干二价苗。HVT 冻干苗

和 HVT+SB<sub>1</sub> 冻干二价苗组优于非免疫攻毒组。

表 2 各组所致内脏病变比较<sup>\*</sup>

	BJM939		HVT+ACM <sup>TM</sup> 1		HVT+301B		HVT 冻干苗		HVT+SB <sub>1</sub>		非免疫攻毒		健康	
	剖杀只数	MD+MD+%	剖杀只数	MD+ MD+%	剖杀只数	MD+ MD+%	剖杀只数	MD+ MD+%	剖杀只数	MD+ MD+%	剖杀只数	MD+ MD+%	剖杀只数	MD+ MD+%
肝脏	35	0	34	4 11.8	35	1 2.9	35	5 14.3	34	5 14.7	35	26 74.3	15	0 0
肾脏		0		3 8.8		1 2.9		6 17.1		5 14.7		30 85.7		0 0
生殖腺		0		7 20.5		10 28.6		24 68.6		22 64.2		33 94.3		0 0
脾脏		0		4 11.8		1 2.9		1 2.9		2 5.9		21 60		0 0
腺胃		0		2 5.9		3 8.6		8 22.9		10 29.4		25 71.4		0 0
空肠 V		0		1 2.9		0 0		10 28.6		12 35.3		12 34.3		0 0
心脏		0		0 0		0 0		1 2.9		4 11.8		3 8.6		0 0

\* MD 阳性判定标准如表 1

三、各组疫苗的免疫效力 见表 3。

表 3 各试验疫苗的免疫效力对比<sup>\*\*\*</sup>

	开始鸡数	非特异死亡鸡数	攻毒鸡数	MD <sup>+</sup> 鸡数 <sup>(1)</sup>	MD <sup>+</sup> %	保护指数 <sup>(2)</sup>
BJM939	35	0	35	0 <sup>a</sup>	0	100
HVT+ACM <sup>TM</sup> 1	35	1	34	9 <sup>b</sup>	26.5	73.5
HVT+301B	35	0	35	10 <sup>b</sup>	28.6	71.4
HVT 冻干苗	35	0	35	26 <sup>c</sup>	74.3	25.7
HVT+SB <sub>1</sub>	35	1	34	24 <sup>c</sup>	70.6	29.4
非免疫攻毒组	35	0	35	35 <sup>d</sup>	100.0	0
健康组	15	0	0	0 <sup>ab</sup>		

\* (1) MD 阳性判定标准如表 1

(2) 同一横行内角标相同表示差异不显著,不同表示差异显著或极显著

由表 3 结果可见, BJM939 保护指数为 100%, 效果最好。HVT+ACM<sup>TM</sup>1 组与 HVT+301B 冷冻二价苗组的保护指数分别为 73.5% 和 71.4%, 差异不显著。各疫苗免疫组与非免疫攻毒组相比差异均极显著。HVT 冻干苗组与 HVT+SB<sub>1</sub> 冻干二价苗组的保护指数相似, 二者无显著差异, 这两组疫苗的保护率均极显著低于 BJM939、HVT+ACM<sup>TM</sup>1 和 HVT+301B 冷冻二价疫苗组。尽管如此, HVT 冻干苗组和 HVT+SB<sub>1</sub> 冻干二价苗组的保护指数均极显著高于非免疫攻毒对照组, 有一定的预防 MDV 京-1 株的

攻击作用。

四、各组剖杀时体重的比较 见表 4。

以上体重为 56 日龄剖杀时空腹体重, 其中对母鸡体重进行了性别校正, 以消除各组母鸡数量不同和母鸡体重不同的影响, 校正后母鸡体重计算公式为:

校正后母鸡体重 =

$$\text{母鸡实际体重} \times \frac{\text{所有公鸡体重平均值}}{\text{所有母鸡体重平均值}}$$

将各组体重进行方差分析, 并将检验结果列于表 5。

表 4 各试验疫苗组 56 日龄体重比较 单位: 只·克

	BJM939	HVT+ACM <sup>TM</sup> 1	HVT+301B	HVT 冻干苗	HVT+SB <sub>1</sub>	非免疫攻毒组	健康组
剖杀时只数	34	31	34	29	31	24	15
平均数 X	700.74	741.39	741.62	770.55	761.74	601.17	803.87
标准差 S	89.39	80.23	75.87	83.21	74.81	102.17	62.86

表 5 各组体重方差分析显著性比较<sup>\*</sup>

组别	健康组	HVT 冻干苗	HVT+SB <sub>1</sub>	HVT+301B	HVT+ACM <sup>TM</sup> 1	BJM939	非免疫攻毒组
平均体重	803.87 <sup>a</sup>	770.55 <sup>ab</sup>	761.74 <sup>abc</sup>	741.62 <sup>bcd</sup>	741.39 <sup>bcde</sup>	700.74 <sup>def</sup>	601.17 <sup>e</sup>

\* 平均体重栏内角标有相同字母表示差异不显著, 除了 HVT+SB<sub>1</sub> 组与 BJM939 组为差异显著外, 其它各组若无相同角标表示差异极显著。

表4和表5结果表明,各免疫组56日龄体重均极显著高于非免疫攻毒组。健康组的平均体重最高,该组与HVT冻干苗组和HVT+SB<sub>1</sub>冻干二价苗组56日龄体重差异不显著。HVT冻干苗、HVT+SB<sub>1</sub>冻干二价苗、HVT+301B冷冻二价苗和HVT+ACM<sup>TM</sup>1组间的体重无显著性差异。BJM939组56日龄体重5HVT+301B冷冻二价苗、HVT+ACM<sup>TM</sup>1间也无显著差异,与其它疫苗免疫组相比差异极显著。

### 讨论与小结

一、攻毒后的第1只MD致死日龄及致死率 本次对比试验中我们采用了比先前普遍做法较早的攻毒日龄,即10日龄。从致死日龄上分析,BJM939疫苗效果最好,其次为HVT+ACM<sup>TM</sup>1组,这可能与ACM<sup>TM</sup>1作为免疫促进素,协助HVT病毒尽快激活机体免疫系统有关。免疫系统处于敏感状态,在HVT疫苗存在下,迅速产生体液和细胞免疫,从而该组在抵抗强毒攻击及致死日龄方面表现了优越性。各组致死率不尽相同,这与我们对濒死亡鸡只剖杀有关。HVT+ACM<sup>TM</sup>1组与HVT+301B冷冻二价苗组相同,这与我们对(濒)临死亡鸡只剖杀有关。HVT+CAM<sup>TM</sup>1组与HVT+30/B冷冻二价苗组相同,这与我们对濒死亡鸡只剖杀有关。HVT+CAM<sup>TM</sup>1组与HVT+301B冷冻二价苗组相当。这两组在致死率上均优于HVT冻干苗和HVT+SB<sub>1</sub>冻干二价苗组。

二、各试验疫苗的免疫保护效果和抑制内脏肿瘤形成作用 由于BJM939为I型致弱疫苗并且是细胞结合性的,因而其免疫保护效果最好。10日龄攻毒的保护指数达100%。另一保护效果较好的为HVT+ACM<sup>TM</sup>1和HVT+301B冷冻二价苗。保护指数分别为73.5%和71.4%。HVT+ACM<sup>TM</sup>1组的保护效果显著高于HVT冻干苗和HVT+SB<sub>1</sub>冻干二价苗,而与HVT+301B冷冻二价苗相当。说明了ACM<sup>TM</sup>1具有很强的促进免疫效果的作用。此次试验中除BJM939外,其余疫苗均购自不同公司,有些疫苗效果较差是因为疫苗质量问题,还是我们所购疫苗在购入前因运输、保存不当达不到所需蚀斑数量而效果较差,尚不清楚。本次试验还证实了我所分离的MDV京-1株强毒的毒力的确很强,能使100%的非免疫鸡发病,其毒力可与国际上公认的vvMDV毒力相当。

目前,国际上普遍认为,能使鸡马立克氏病的预防减少率达70%即认为此疫苗为较好的有效疫苗。本试验中的BJM939、HVT+ACM<sup>TM</sup>1以及HVT+301B冷冻二价疫苗均达到了以上水平。其中BJM939和HVT+301B冷冻二价疫苗均为细胞苗,需液氮保存、运输,而HVT+ACM<sup>TM</sup>1疫苗由HVT

冻干苗及ACM<sup>TM</sup>1免疫促进素组成,其中HVT为冻干苗,ACM<sup>TM</sup>1促进素可常温保存,所以从方便运输及贮存方面考虑,在我国推广应用HVT+ACM<sup>TM</sup>1疫苗尤为必要,此疫苗可充当冷冻二价疫苗使用。

各组疫苗在预防内脏肿瘤形成方面也表现了不同程度的效果。BJM939组由于在试验期内无肿瘤形成,因而效果最好。HVT+ACM<sup>TM</sup>1疫苗能比其它疫苗显著降低性腺的肿瘤形成。肝脏、肾脏、脾脏的肿瘤发生率表现为HVT+301B冷冻二价疫苗优于其它疫苗。导致不同疫苗对不同脏器肿瘤形成抑制作用差异的原因尚待进一步研究。

三、不同疫苗对鸡生长发育的影响 试验结果显示了各疫苗免疫组56日龄体重均极显著高于攻毒对照组。表明了用疫苗免疫鸡只由于抵抗了MD的发生,从而有效地保证了鸡只的健康,促进了鸡只的生长发育。如果把体重的结果与各组疫苗的免疫效果相比会发现有趣的现象,即保护指数高的组别其体重似乎较低,而保护指数低的组别其平均体重则较高。造成这一现象的原因可能与试验条件有关。试验分别安排在单独的隔离器内进行,由于隔离器小,后期饲养密度大,疫苗免疫效果越好,试验期内死亡鸡数就没有或较少,与免疫效果差的组相比鸡群密度就大,结果导致影响采食和饮水,从而影响生长发育。因此,为更深入研究各种疫苗对鸡只生长发育的影响,甚至对饲料消耗的影响,尚需进行饲养试验。

通过对本试验结果的分析,可初步得出如下结论:1. BJM939 I型致弱冷冻疫苗效果优于其它疫苗,但尚处于研究阶段,需加速商品化进程;2. HVT+ACM<sup>TM</sup>1疫苗的免疫保护效果与HVT+301B冷冻二价苗相当。HVT+ACM<sup>TM</sup>1疫苗的免疫效果显著好于HVT冻干苗和HVT+SB<sub>1</sub>冻干二价苗;3. HVT+ACM<sup>TM</sup>1疫苗和HVT+301B冷冻二价疫苗能在免疫后10日龄抵抗强毒的攻击;4. 各疫苗免疫组均显著地保证了鸡只的生长发育;5. 我们认为在交通不便、条件较差的鸡场,HVT+ACM<sup>TM</sup>1疫苗可充当双价冷冻疫苗的替代品。

### 参考文献

- [1] Purchase, H. G., World Poultry Science Journal, 1976, 29: 238~250
- [2] Schat, K. A. et al., Avian Pathology, 1982, 11: 593~605
- [3] Powell, P. C., World Poultry Science Journal, 1987, 42: 205~218
- [4] Shien, H. K., Japanese Association on Marek's Disease, Osaka, Japan, 1988, 419~429
- [5] Zanella, A., Development Biology, 1982, 52: 29~37
- [6] Rispens, B. H. et al., Avian Disease, 1972, 16: 108~125
- [7] 周 蛟等, 北京农业科技, 1980, (1): 20~29
- [8] Witter, R. L., Avian Disease, 1983, 27: 113~132