

新城疫抗体监测在生产中的应用

杨明友 吴晓宏 谭远安

(重庆市巫山县畜牧兽医局畜牧生产站, 重庆巫山 404700)

摘要 运用 β 微量血凝抑制法检测新城疫抗体水平具有简易、快速、重复性好的优点。运用 β 微量血凝抑制法来监测不同疫苗, 不同免疫程序, 免疫不同鸡群后的抗体水平, 然后进行数据分析并比较, 从而为养殖场能选用合适的疫苗、合理的免疫程序、正确的免疫时间提供依据。

关键词 新城疫; 抗体水平; 监测; 免疫程序

近年来, 随着农村形式的好转, 养鸡业有了较快发展, 但由于免疫失时, 免疫不当和疫苗失效等多种原因, 致使鸡新城疫仍有流行。一些免疫力低下的鸡群, 遇到强毒侵袭时, 有的引起急性暴发导致大批死亡; 有的造成隐性感染而使病毒继续潜留, 这不仅给广大生产者带来损失, 也威胁着养鸡业的进一步发展。

因此, 在加强预防接种的同时, 使用一种快速、简单、可靠的监测手段来了解鸡群免疫状态和是否受病毒感染, 以便掌握疫苗确切的免疫时机, 使用合适的疫苗和正确的免疫程序。本研究运用 β 微量血凝抑制法来监测不同疫苗, 不同免疫程序, 免疫后的抗体水平, 以期合理地应用疫苗预防鸡新城疫提

供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

(1) 器材。96 孔 V 型凝集板、微量移液器、试管、试管架、1 mL 针管、平面皿、振荡器。

(2) 生理盐水、标准阳性血清: 哈尔滨兽医研究所, 生产批号: 20060125; 标准阴性血清: 哈尔滨兽医研究所, 生产批号: 20060125; 浓缩抗原: 哈尔滨兽医研究所, 生产批号: 20060215; I 系疫苗: 哈尔滨兽医研究所, 生产批号: 20060208; IV 系疫苗: 哈尔滨兽医研究所, 生产批号: 20060210。

(3) 8 倍抗原和 4 倍抗原。购买的 0.05 mL/只

收稿日期: 2010-07-27

杨明友, 男, 本科, 助理兽医师。

4.2 流产

本研究中, 1 例流产是因为冬季大雪, 妊娠牛应激引起, 2 例为注射疫苗引起的流产, 2 例为注射激素引起的流产, 其他可能为营养不足, 缺乏某些维生素、微量元素或者误食发霉、变质饲料引起的流产。

预防: 营养要全面, 尤其是维生素和微量元素要适量, 加强饲养管理, 避免应激。加强妊娠检查, 避免妊娠牛注射 PGF 类激素。

4.3 助产及难产

助产、难产发病率较高, 主要因为头胎牛难产率较高, 其次因为进行胚胎移植, 有的胎儿过大。预防: 加强巡查力度, 及时发现难产牛, 及时助产, 产犊

季节, 尤其是对头胎牛要重点观察。

4.4 卵巢囊肿

卵泡囊肿是由于发育中的卵泡上皮变性, 卵泡壁结缔组织增生, 卵母细胞死亡, 卵泡液被吸收或者增生形成。黄体囊肿是由于未排卵的卵泡壁上皮发生黄体化, 或者排卵后由于某些原因而黄体化不足, 在黄体形成空腔并储积液体而形成。病因: 运动不足, 精料过多, 牛体过肥, 维生素、矿物质不足, 大量使用生殖激素; 继发于胎衣不下、子宫炎等。预防: 营养全面, 繁殖母牛保持中等体况, 不要长期大量使用激素。

(责任编辑: 翁 丽)

的浓缩抗原,其血凝价为 5126。1 支浓缩抗原配制成 8 倍抗原的计算方法为: $2156 \times 0.05 \div 8 = 32$, 即每支浓缩抗原配制成 8 倍抗原应该加 32 mL 生理盐水。4 倍抗原同理配制。

(4) 0.5% 红细胞悬液。0.5% 的红细胞悬液的制备过程要求无菌纯净,应采集 3~4 只健康成年鸡的血液,放入生理盐水中混匀,以 3 000 r/min 的速度离心 3 次,同时用生理盐水充分洗涤,去净血浆、白细胞、血小板等其他成分后,再行配制。凡出现溶血现象的不能使用,使用时应充分振荡均匀(但不可用力振荡,防止红细胞破碎),否则影响与病毒的凝集,使判断失误。

(5) 待检鸡蛋。对产蛋鸡进行监测时可以用破壳蛋、畸形蛋、软壳蛋进行检测。处理的方法为:取试管先加入 1 mL 生理盐水,然后把鸡蛋打到平面皿中,用 1 mL 针管吸取蛋黄 1 mL 加入到试管中,混合摇匀等待检验。

(6) 待检血清。监测鸡群抗体水平的时候,每群鸡按 1% 的比例随机采样,用 1 一次性针管翅静脉采血 2~3 mL,然后放入试管中,用胶布标明鸡群,待血凝固析出血清以 1 000 r/min 离心 5 min,即可取血清进行检测。

(7) 灭能油乳剂苗。以 94% 的 7 号白油加 6% 的司本-80 为油相,以 96% 经福尔马林灭活的 IV 系弱毒苗(种毒由西安市畜牧兽医中心提供)尿囊液加 4% 吐温-80 为水相,并在油相中加入 2% 的硬脂酸铝做稳定剂,然后油相 3 份加水相一份的比例,在 1 000 r/min 下乳化 2 min 制成油包水乳剂灭能苗。

1.2 方 法

(1) β -微量血凝抑制。先取生理盐水 0.05 mL 加入到第 1 孔,再取 0.05 mL 8 倍抗原加入第 2 孔,再取 0.05 mL 4 倍抗原加入 3 至 12 孔。

用微量移液器吸取 0.05 mL 待检血清(待检蛋黄)于第 1 孔,挤压 5 次混匀后吸 0.05 mL 于第 2 孔,依次倍比稀释至 12 孔,最后弃去 0.05 mL。置室温(18~20 °C 作用 20 min)。

用微量移液器吸取 0.05 mL 红细胞悬液于各孔中,振荡 1 min 混匀,室温下静置 30 min,判断结果。

(2) 免疫方法。IV 系苗作 1:1000 稀释,每只雏鸡滴眼或者滴鼻 1~2 滴;I 系苗和油乳剂苗皮下或

者肌肉注射,雏鸡 0.2 mL/只,成年鸡 0.5 mL/只。

1.3 结果判定标准

以完全抑制血球凝集的最大稀释度为该血清的 HI 滴度,如以 2 为底的对数(\log_2)表示,其中 HI 滴度与平板上出现的最高空数一致。

以 $4\log_2$ 为界, $4\log_2$ 以前为低效价, $4\log_2 \sim 10\log_2$ 为最好效价,再高可能是强毒感染。

2 结 果

2.1 不同疫苗的免疫效果的比较

选择 50 只抗体水平在 $4\log_2 \sim 5\log_2$ 的 5 月龄开产蛋鸡分成 2 组,每组 25 只。一组注射灭能油乳剂苗,另外一组注射 I 系苗。从检测结果来看,免疫后都获得了较高的抗体水平。但是使用灭能油乳剂苗的试验组,根据统计分析可以看出,其个体抗体水平的差异较小,其总体的作用效果要高于 I 系苗的同期作用效果(表 1)。所以选择合适的疫苗可以提高免疫效果。

2.2 不同的免疫程序效果的效果比较

不同的免疫程序产生的免疫应答不同,所以就会产生不同的抗体水平。选 45 只鸡分成 3 组,每组 15 只。第 1 组在 7 日龄用灭能乳剂苗和 VI 系苗进行免疫。第 2 组在 1~3 日龄用 VI 系免疫;12 日龄用 VI 系和灭能乳剂苗免疫。第 3 组在 7 日龄用 IV 系免疫;14 日龄用 IV 系苗和灭能乳剂苗免疫。

不同日龄雏鸡在灭能乳剂苗免疫的同时采用弱毒苗一次与二次免疫效果比较:7 日龄一次组在 20 日龄下降到 $4.1\log_2$,35 日龄上升到 $6.0\log_2$ 。二次活苗免疫组,尤其是 7 日龄 IV 系苗滴眼,至 14 日龄再次用 IV 系苗滴眼同时注射灭能苗组:免疫后抗体上升快,到 35 日龄已达 $7\log_2$,明显高于一次免疫组(表 2)。可见,选择合适的免疫程序,可以提高免疫效果。

2.3 不同 HI 抗体水平雏鸡灭能乳剂苗免疫前后抗体水平比较

随机抽取 45 只雏鸡,先测其抗体水平,然后注射灭能乳剂苗,在测其抗体水平。不同的抗体滴度的鸡用灭能苗后抗体的变化不完全一样,但是从均值来看,免疫后的抗体上升快慢,与免疫前 HI 滴度水平呈负相关(表 3)。可见选择合适的抗体水平进行免疫,可以大大提高免疫效果。

表 1 成年鸡注射新城疫灭能乳剂苗和 I 系苗的抗体水平比较

组别	鸡龄/月	鸡数/只	疫苗	免疫量	免疫前抗体水平	免疫后不同天数 HI 抗体(log2)		
						7 d	14 d	21 d
1	5	25	灭能苗	0.5	4.8±1.20	8.0±1.21	9.2±0.94	8.3±1.48
2	5	25	I 系苗	0.5	4.8±1.15	6.2±1.30	8.1±1.48	7.4±1.86

表 2 不同日龄雏鸡采用不同免疫程序的效果比较

序号	免疫程序	试验鸡数/只	不同日龄鸡群的 HI 抗体水平(log2)		
			20 d	27 d	35 d
1	7 日龄: IV 系+ 灭能苗	15	4.1±0.51	4.8±1.15	6.0±1.21
2	1~3 日龄: IV 系	15	5.1±1.48	5.8±1.37	6.5±0.57
	12 日龄: IV 系+ 灭能苗				
3	7 日龄: IV 系	15	5.2±0.88	5.9±1.05	7.0±0.47
	14 日龄: IV 系+ 灭能苗				

表 3 雏鸡灭能乳剂苗免疫前后 HI 抗体水平比较

免疫前 HI 抗体(Log2)	鸡数/只	免疫后不同天数的 HI 水平(log2)	
		14 d	24 d
4	9	7.0	6.0
5	9	4.5	6.2
6~8	9	3.8	6.3
9~10	9	3.4	5.4
11	9	3.0	3.2

2.4 不同母源抗体雏鸡免疫后抗体水平的比较

选择 10 只母源抗体在 5.5 log2 左右的雏鸡为第 1 组,选者 10 只母源抗体 4.3 log2 左右雏鸡为第 2 组。2 组都在 7 日龄注射灭能乳剂苗进行免疫。

通过监测结果和统计分析可以看出:第 2 组的免疫效果明显高于第 1 组,第 2 组的抗体水平上升快,而且个体间的抗体水平差异小(表 4)。可见,母源抗体的水平影响免疫的效果,要提高免疫效果,应该选者合适的母源抗体水平的进行免疫。

表 4 不同母源抗体的雏鸡使用灭能乳剂苗效果的比较

序号	鸡数/只	免疫日龄/d	免疫前抗体	免疫后不同天数 HI 抗体水平(log2)	
				10 d	20 d
1	10	7	5.5	3.51±0.92	5.2±0.98
2	10	7	4.3	5.1±0.88	6.9±0.65

2.5 巫山花竹坪鸡场新城疫抗体水平的监测

为了更好的监测新城疫,提高产蛋率,巫山花竹坪鸡场定期对鸡场的蛋鸡进行新城疫抗体水平的监测。通过对新城疫抗体水平的监测了解蛋鸡新城疫抗体的水平的高低,从而确定是否需要进行一次的新城疫免疫;同时也可以通过抗体水平的监测,了解预防免疫达到的实际效果。

通过监测结果来决定是否需要进行新的免疫。

如果新城疫抗体总体水平低于 4log2 或者接近 5log2,则需要进行新一次的新城疫免疫;如果抗体总体水平高于 6log2,则不需要进行免疫。如果抗体的总体水平高于 10log2 以上,则需要对鸡群进行仔细检测,看是不是强毒感染。通过监测结果来了解免疫效果。可以通过了解抗体保持水平的高低,时间的长久来确定免疫效果。

表 5 鸡场新城疫抗体水平分布

品种	不同 HI 抗体水平(log2) 鸡只分布频数/只											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
产蛋鸡	0	3	9	21	40	28	4	3	4	2	1	2
青年鸡	0	2	3	14	13	19	2	0	4	3	7	2

表 5 是鸡场的一次抽样监测结果,通过结果可以看出鸡群的抗体水平集中在 4~6log2 之间,抗体水平接近 5log2,需要进行免疫来提高抗体水平。以预防新城疫的发生。

表 6 是通过 IV 系饮水进行免疫后 1 个月,抽样鸡群的抗体水平分布。从表中可以看到鸡群抗体水平集中在 6log2~9log2,经过免疫后鸡群保持着较高的抗体水平,近期不需要进行免疫,免疫达到了很好的效果。

表 6 进行免疫一个月后抗体水平分布

品种	不同 HI 抗体水平(log2) 鸡只分布频数/只											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
产蛋鸡	0	0	0	2	4	1	55	35	10	5	3	2
青年鸡	0	0	0	3	2	19	14	13	10	3	5	0

3 讨 论

(1) 从试验结果可以看出免疫后鸡群的抗体水

平与使用疫苗种类,免疫的方法,免疫前抗体水平等有关。所以要提高免疫效果,就应该选者合适的疫苗,使用正确的免疫方法,选者合适的免疫时机进行免疫。运用 β 微量血凝抑制法监测新城疫抗体水平,能发现防疫中的问题并进行及时补救;也可以使我们掌握确切的免疫时机避免重复和失误;也可以为制定合理的免疫程序,改良免疫方法提供不可缺少的手段。

(2) 关于新城疫免疫的误区,在试验的过程中,发现不少的养殖场对新城疫的免疫常常有些误区,以致影响了免疫的效果,导致新城疫的流行。第一:关于首免日龄。有人主张根据雏鸡新城疫母源抗体水平,在 7~12 日龄进行首免,但是根据国内的新城疫疫情,此时首免已晚。因为新城疫母源抗体的半衰期为 4.5 天,7 日龄时新城疫母源抗体已经逐渐消失^[1],此时首免一般需要 7 天左右鸡只才能建立完善的免疫保护,以致在首免至建立完善的免疫力的 7~14 日龄期间因母源抗体消失而存在一个极度危险的免疫空白期,如果遇到新城疫病毒袭击,定会发生新城疫。虽然有的鸡场在此日龄首免获得成功,但是这里隐藏着爆发新城疫的极大潜在危险。第二:关于新城疫免疫失败问题。有的鸡场出现新城疫免疫的失败,就片面的认为是疫苗不行,随即采取更换疫苗的简单方法,而不追究导致免疫失败的详细原因。其实,影响免疫的因素很多,除疫苗,接种日龄,接种方法外,还有免疫抑制性疾病的存在,鸡舍及环境消毒卫生等因素也有关^[2]。即使再好的疫苗也会因疫苗的贮存和使用不当而出现免疫失败。

(3) 关于免疫鸡群抗体水平不同的原因,运用 β 微量血凝抑制法检测新城疫抗体水平可以清楚的说明鸡群新城疫的免疫情况,实际上,鸡只机体在新城疫抗原的刺激下产生血凝抑制抗体,而 HI 抗体水平与免疫力有一定的相关性,但却不能指实际的免疫状况。一般认为高度,持久,一致的 HI 的水平可以有效防新城疫的发生。然而不仅不同鸡群之间的 HI 抗体水平,且同一群不同个体之间的 HI 抗体水平也有相当大的差异,为病毒的侵袭造成可乘之机,致使发生非典型新城疫,给鸡群带来一定的损失^[3]。

首先,免疫程序不合理,不科学。有的养殖场所采用的免疫程序中新城疫疫苗的首免放在 5~7 日龄母源抗体较高时进行,更有甚者把传染性法氏囊

病的免疫放在第 1 次免疫,对免疫器官的抑制作用很大,影响免疫应答的产生^[5]。

其次,疫苗的选者不当。正常鸡群首免时不应该采用中等毒力或中强毒力的疫苗,而且所使用的疫苗应该来源于正规厂家,而且在有效期内的疫苗。

第三,操作失误。如对 1 周龄以内的雏鸡用新城疫弱毒苗进行免疫时,规定只能滴鼻,点眼,而有人却采用了注射免疫,结果雏鸡残留的母源抗体把大部分的疫苗病毒中和了,又没有产生局部免疫^[4]。

第四,各种疫苗的相互干扰。各种疫苗的接种时间相近或同时使用,使抗原之间出现排他性反应,导致竞争性干扰,引起免疫记忆应答紊乱,降低了免疫效果^[1]。

第五,免疫前后应激因素的干扰。如饲养管理条件的突变,环境条件的恶劣,寄生虫的感染,营养不良,转群等不良应激作用,使鸡产生免疫应答的能力减弱^[10]。

第六,母源抗体的影响。母源抗体是从母体获得被动性免疫抗体。它对外部病原有一定的防御能力,但也有阻碍疫苗接种产生免疫力的作用,所以接种疫苗最好选在母源抗体完全消失之后才获得最佳效果,或者根据 HI 抗体水平的消长情况来选者疫苗接种时间^[9]。

(4) 关于合理的免疫程序的建立,运用 β 微量血凝抑制法检测新城疫抗体水平的过程中发现合理的免疫程序可以获得较好的免疫效果,但是不合理的免疫程序不但没有较好的免疫效果,而且有时候还会损害鸡群的正常免疫力。所以建立合理的免疫程序是非常重要的。

免疫后鸡群的抗体水平除与使用的疫苗,免疫的方法和免疫前抗体水平等有关外,还与鸡群的本身的健康状况,有无其它疾病的流行,以及饲养管理和鸡场的布局等条件有关^[7]。而这些因素往往是可以变化的,所以很难预言在各种情况下某种疫苗和免疫程序都有 100% 的效果^[8]。另外,由于免疫过的鸡在抗体衰落后遇强毒侵袭可能耐过而在体力产生极高的抗体水平,所以在病毒污染的鸡群中会出现持续一定时间的高水平抗体,而且个体差异很大,这就增加了免疫的困难。因此,用固定不变的免疫程序有时候不能获得预计的免疫效果,只有增加免疫的监测,定期检查鸡群的 HI 抗体水平,摸清免疫反应的规律,结合考虑当地的实际情况,才能制出合

理的免疫程序。同时还应该考虑以下几点: ①低日龄免疫时, 免疫器官发育不全, 抗体产生有限, 应适时加强免疫; ②根据本地发病的情况注意疫苗的选者, 如疫苗的毒力、疫苗的种类等; ③活疫苗与灭活疫苗应该搭配使用^[6]。

(5) 关于影响鸡新城疫血凝抑制试验的因素, 在本试验的过程中, 用 β 微量血凝抑制法检测新城疫抗体水平会出现这样的问题: 测量同一血清的抗体水平时, 有的会出现几个不同的结果。这是因为虽然 β 微量血凝抑制法简单、快速, 但是影响因素甚多。

影响 β 微量血凝抑制法的因素有: 抗原、温度、红细胞悬液、抗原与抗体作用时间、稀释液的 pH 值、试验器材等^[11]。

要使检测结果准确就需要尽量避免各种因素的影响, 所以就要求抗原、红细胞悬液的配制需要准确; 抗原和抗体的作用时间和温度应该有一定范围; 加样的量应该准确; 试验器材在使用前应该洗干净等等。还要求必须严格执行操作规程, 不断实践, 掌握要领, 才能得出接近鸡群实际免疫状况的正确数据, 将误差缩小到最低限度^[12-13]。

参 考 文 献

[1] 范根成, 马长新, 王永茂, 等. 鸡新城疫疫苗免疫时应注意的事项[J]. 养禽与禽病防治, 2000(4): 13-14.

[2] 冯元璋. 新程疫免疫的误区[J]. 养禽与禽病防治, 2000(4): 14.
 [3] 李克. 浅谈免疫鸡群 ND HI 参差不齐的原因及对策[J]. 养禽与禽病防治, 2000(4): 16.
 [4] 李国富, 朱明艳, 崔尚金. 新城疫流行特点及提高防疫效果的对策[J]. 畜牧兽医科技信息, 2004(11): 25-27.
 [5] 赵灵燕, 吕才火, 朱小璐, 等. 鸡新城疫不同免疫程序的比较研究[J]. 浙江畜牧兽医, 2005(5): 5-6.
 [6] 王帮胜, 夏侯明. 非典型性新城疫的发生原因及防控措施[J]. 安徽畜牧兽医, 2005(9): 35-36.
 [7] 杨均伟, 潘茹芳. 大型鸡场新城疫免疫程序的确定[J]. 中国家禽, 2003, 23(3): 25.
 [8] 梅文华, 钟友苏, 徐红. 鸡新城疫免疫程序及免疫程序效果的调查[J]. 贵州畜牧兽医, 2003, 27(3): 17.
 [9] 温清萍, 李玉娥, 张险朋. 影响鸡新城疫抗体水平监测的因素及分析[J]. 畜牧兽医科技信息, 2005(1): 39-40.
 [10] 孙艳霞, 李秀萍, 郭范林, 等. 产蛋鸡新城疫抗体水平监测数据与分析[J]. 畜禽业, 2003(8): 29.
 [11] 王洪亮. 影响鸡新城疫血凝抑制试验的因素[J]. 河北畜牧兽医, 2003, 19(7): 34.
 [12] 黄文忠. 鸡新城疫血凝抑制试验(HI)的影响因素[J]. 中国家禽, 2000, 22(5): 29.
 [13] 肖艳娟, 张勇, 方永胜, 等. 微量血凝抑制试验操作中常见问题及解决方法[J]. 防检技术, 2004(1): 25.

(责任编辑: 魏利平)

10 月暴雨对海南生猪影响严重

2010 年 10 月初海南大暴雨持续 8 天, 降雨主要集中在东南沿海地区, 海口、琼海、文昌、定安、万宁等地区; 10 月 14 日以来海南除西部地区外, 继续普降大到暴雨, 海口、文昌、定安、琼海、万宁、澄迈、屯昌等市县城区不同程度出现积水内涝情况。

海南岛年生猪出栏量达到 450 万头左右, 仅占我国生猪年出栏量的 0.7% 左右, 对我国生猪市场的影响较小, 但对岛内的生猪市场影响较大。

海南岛的生猪养殖集中在北部的儋州市和澄迈县、定安县, 东部的文昌市、琼海市、万宁市等地区。儋州市、澄迈县和万宁市生猪年出栏量分别为 56.7 万头、22.6 万头和 33.9 万头, 仅这三市(县)生猪年出栏量占海南生猪出栏量的比例超过 25%, 再加上定安、文昌、琼海等, 生猪出栏量占海南岛生猪出栏量的比例已经超过 50%, 将对岛内目前和后期的生猪供应造成一定的影响。

(摘自: 中国畜牧兽医信息网)