

鹤鹑禽流感新城疫重组二联疫苗的免疫效果试验

曹生福¹, 韩水永¹, 俞国乔², 梁红昶¹, 杜勤侃¹, 倪柏锋², 金 彪¹, 赵 军¹, 朱凤君¹

(1. 杭州市萧山区农业局, 杭州萧山 311203; 2. 浙江省畜牧兽医局)

摘要: 试验旨在评价禽流感新城疫重组二联疫苗(rL-H5)免疫鹤鹑后的抗体效价, 为该疫苗能否应用于鹤鹑禽流感和新城疫免疫预防提供依据。经试验, rL-H5 以不同剂量经饮水或皮下注射, 分别免疫 10~40 日龄无母源抗体的鹤鹑后, 禽流感 H5、ND 免疫抗体效价水平很低, 未能有效诱导针对禽流感和新城疫的抗体反应。

关键词: rL-H5; 免疫; 抗体效价; 鹤鹑

中图分类号: S858.39 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-7307(2009)02-0007-003

鹤鹑禽流感的防治至今尚无理想的免疫方法, 因此给鹤鹑禽流感防治带来了一定困难。由于鹤鹑个体小, 饲养密度高, 饲养规模大, 一般场(户)饲养量均在 2 万~15 万羽以上; 采用肌内注射免疫或滴眼滴鼻等方式劳动强度大, 成本高, 实际生产中难以实施。因此为了提高家禽禽流感的群体防治免疫密度和质量, 特进行本试验, 现将结果报告如下。

1 试验材料和方法

1.1 试验动物 选择饲养管理条件较好的同批雏鹤鹑 2700 羽, 随机分为 14 组, 其中饮水免疫 8 组, 注射免疫 6 组。

1.2 供试疫苗 禽流感新城疫重组二联活疫苗(rL-H5 株)由哈尔滨维科生物技术开发公司生产, 批准文号兽药生字(2005)080012112。规格为每瓶 500 羽, -20℃ 以下保存, 有效期 18 个月, 简称新流苗; 新城疫疫苗(Lasota)由上海松江某生物制品厂生产, 生产批号为 050919, 规格为每瓶 500 羽。

1.3 免疫方法 饮水免疫组鹤鹑在免疫前停水 2 h, 再按不同剂量疫苗组饮水免疫, 在 2 h 内全部饮尽。注射免疫组主要经颈部皮下注射或胸肌注射免疫。试验分组情况详见表 1。

1.4 H5、ND 抗体测定 试验组鹤鹑分别在免疫后 1 周、2 周、3 周、4 周和 5 周抽样采血, 采用 HI 法检测高致病性禽流感和新城疫免疫抗体水平。

2 试验结果

2.1 免疫鹤鹑安全性观察 经长达 3 个月以上的临床观察, 结果证明鹤鹑新流苗饮水免疫剂量以 1.5 羽份、2.0 羽份、3.0 羽份到大剂量的 10 羽份、15 羽

份和 20 羽份均未发现临床不良反应, 可初步认定是安全的。

表 1 试验分组及免疫情况

组别	免疫数 /羽	免疫 日龄	疫苗 种类	免疫剂量 /羽份	免疫 途径
1	500	10	新流苗	1.5	饮水
2	500	10	新流苗	2.0	饮水
3	500	14	新流苗	2.0	饮水
4	500	14	新流苗	3.0	饮水
5	50	24	新流苗	1.0	皮下注射
6	50	24	新流苗	2.0	皮下注射
7	50	24	Q 灭活苗	0.1 ml	皮下注射
8	50	24	Q 灭活苗	0.2 ml	皮下注射
9	50	24	Q 灭活苗	0.3 ml	皮下注射
10	50	31	新流苗	2.0	胸肌注射
11	100	40	ND 弱毒苗	2.5	饮水
12	100	40	新流苗	10	饮水
13	100	40	新流苗	15	饮水
14	100	40	新流苗	20	饮水

2.2 H5、ND 母源抗体 HI 效价检测 从未经免疫的 7 日龄鹤鹑中随机采集血样 18 羽份, 经 HI 法检测 H5、ND 母源抗体 HI 效价, 结果平均效价为 0, 阳性率 0%, 检测结果见表 2。

2.3 免疫后 H5 抗体 HI 效价检测 试验组鹤鹑分别在免疫后 1 周、2 周、3 周、4 周和 5 周抽样采血, 经 HI 法检测 H5 抗体 HI 效价变化, 结果详见表 3。

2.4 免疫后 ND 抗体 HI 效价变化 试验组鹤鹑免疫后 1 周 ND 抗体 HI 平均效价为零或很低, ND 抗体阳性率为 0%, 其中 ND 免疫组在免疫后第 4 周 ND 抗体阳性率为 6.7%。结果详见表 4。

收稿日期: 2008-07-08

表 2 H5、ND 母源抗体 HI 效价

采血日龄	H5 HI 抗体			ND HI 抗体		
	样品数/羽份	平均效价/log2	阳性率/%	样品数/羽份	平均效价/log2	阳性率/%
7	18	0.0±0.0	0	18	0.0±0.0	0

注: H5、ND HI 效价均以 $\geq 3\log_2$ 为阳性。下同。

表 3 免疫后 H5 抗体 HI 效价变化情况

组别	首免 日龄/d	首免后 1 周		首免后 2 周		首免后 3 周		首免后 4 周		首免后 5 周	
		样品数 /羽份	阳性率 /%	样品数 /羽份	阳性率 /%	样品数 /羽份	阳性率 /%	样品数 /羽份	阳性率 /%	样品数 /羽份	阳性率 /%
1	10	/	/	16	0	5	0	5	0	20	0
2	10	/	/	15	0	5	0	5	0	20	0
3	14	20	0	15	6.7	/	/	20	0		
4	14	20	0	15	0	/	/	20	0		
5	24	5	0	5	0	11	0	10	0	10	0
6	24	5	0	5	0	9	0	10	0	10	0
7	24	5	0	10	10.0	10	10.0	10	0	10	0
8	24	/	/	10	20.0	10	20.0	10	20.0	10	10.0
9	24	/	/	10	30.0	10	0	10	0	10	20.0
10	31	10	10.0	10	0	10	0	10	10.0		
11	40	17	0	15	0	15	0	15	0		
12	40	18	0	15	0	15	0	15	0		
13	40	16	0	15	0	15	6.7	15	0		
14	40	15	0	15	0	15	0	15	0		

表 4 免疫后 ND 抗体 HI 效价变化情况

组别	首免 日龄/d	首免后 1 周		首免后 2 周		首免后 3 周		首免后 4 周		首免后 5 周	
		样品数 /羽份	阳性率 /%	样品数 /羽份	阳性率 /%	样品数 /羽份	阳性率 /%	样品数 /羽份	阳性率 /%	样品数 /羽份	阳性率 /%
1	10	/	/	16	0	5	0	5	0	20	0
2	10	/	/	15	0	5	0	5	0	20	0
3	14	20	0	15	6.7	/	/	20	0		
4	14	20	0	15	0	/	/	20	0		
5	24	5	0	5	0	11	0	10	0	10	0
6	24	5	0	5	0	9	0	10	0	10	0
7	24	5	0	10	0	10	0	10	0	10	0
8	24	/	/	10	0	10	0	10	0	10	0
9	24	/	/	10	0	10	0	10	0	10	0
10	31	10	0	10	0	10	0	10	0		
11	40	17	0	15	0	15	0	15	6.7		
12	40	18	0	15	0	15	0	15	0		
13	40	16	0	15	0	15	0	15	0		
14	40	15	0	15	0	15	0	15	0		

猪瘟和猪蓝耳病混合感染的诊治

2007年9月,慈溪市某猪场发生以高热,皮肤红疹、咳嗽、气喘为主要临床特征的疾病,发病率高,死亡率高,对猪场造成极大损失。畜主曾用强力霉素、支原净、氟苯尼考、磺胺类等药物治疗无效。经笔者结合流行病学、临床症状、剖检病变和实验室诊断,确诊为猪瘟和猪蓝耳病混合感染,并继发感染大肠杆菌、变形杆菌。

1 发病情况

该猪场于2007年9月从外地购入平均体重45 kg肉猪249头,引进后第2 d猪群开始发病,先后死亡20头,发病率为30%~40%。

畜主曾用强力霉素、支原净、氟苯尼考、黄芪多糖、磺胺类等药物治疗无效。采血样5份、病料(肺、肝、肾、脾、腹股沟淋巴)2份,送实验室检测。在检测结果尚未确定前,治疗原则为抗病毒、抗菌消炎、加强消毒,但病情迅速蔓延,15 d后发病率达70%~80%。

2 临床症状

病猪体温40.5~41.5℃,全身皮肤出现红疹,耳朵、腹下、臀部、肛门周围皮肤发紫。呼吸急促,部分腹泻或便秘,精神沉郁,后肢无力,行走摇晃,3~5 d后死亡。

3 剖检病变

喉头、气管充血、出血,肺出血,肝硬变,呈黄色,肾肿大紫红色,花斑状,肾表面有小出血点,全身淋巴结出血,腹股沟淋巴结出血、水肿,肠道出血。

4 实验室诊断

4.1 细菌培养 采集肺、肾、淋巴结组织等进行新鲜血平板细菌培养,分离,经ATB检测结果为大肠杆菌、变形杆菌。

4.2 PCR检测 采集血液分离血清,进行猪蓝耳病、猪瘟PCR检测。检测结果,猪蓝耳病、猪瘟均为阳性。

5 防治措施

5.1 加强消毒 按传染病防控措施进行严格消毒,全场每日消毒2次,及时更换消毒池消毒液,严禁外来人员、车辆随意进入畜舍。

5.2 紧急免疫 猪瘟活疫苗进行紧急免疫,10头份/只,一猪一针头,健康猪先注射。计划在猪瘟免疫1周后,用蓝耳病疫苗进行紧急免疫。

5.3 药物治疗 饲料和饮水中添加电解多维、葡萄糖等,增强猪体抗病力。

采用上述防治措施,3周后猪群逐渐康复。整个病程长达1个月,发病率80%,死亡率29%。

该猪场由外地购入猪只,由于免疫情况不明,免疫效果不确实,经长途运输应激,使猪只抵抗力下降,结果引起发病。故应谨慎引种,尽可能从防疫条件较好的规模场引猪,以防疫病传播。有条件的养殖场(户)应加强自繁自育,做好各种疫苗的免疫预防工作,特别是猪瘟和猪蓝耳病的免疫,以有效防制病毒入侵。

李央群,张翔,芦吉,王立明

(慈溪市畜牧兽医技术推广中心 315300)

3 分析讨论

3.1 经试验 禽流感新城疫重组二联活疫苗免疫鸭鹌未发现不良反应,饮水免疫剂量从1.5羽份、2.0羽份、3.0羽份到大剂量的10羽份、15羽份和20羽份均未发现临床不良反应。

3.2 禽流感新城疫重组二联活疫苗对鸭鹌免疫效果不佳。 无论饮水、肌注或皮下注射免疫,禽流感H5、ND免疫抗体HI效价水平很低。主要原因:一是鸭鹌可能对该疫苗株不敏感,难以产生足够的免

疫源而刺激抗体产生。二是免疫途径可能不适合,有待进一步研究探讨免疫途径。三是禽流感新城疫重组二联活疫苗质量有待改进提高,可能由于重组中的新城疫株毒力太低,不能在鸭鹌体内产生足够数量的免疫源。

3.3 试验结果初步表明,禽流感新城疫重组二联活疫苗不宜作为鸭鹌的禽流感免疫用疫苗。为避免禽流感防控工作中的重大损失,保证禽流感防控工作的顺利进行,有关部门应引起重视。