

鸡传染性喉气管炎活疫苗生产工艺的改进

—— 鸡胚绒毛尿囊膜渗透法接种应用实验

滕 颖, 李淑兰

(黑龙江省生物制品一厂, 哈尔滨 150069)

摘 要: 采用鸡胚绒毛尿囊膜渗透法给鸡胚接种病毒, 收获感染的鸡胚绒毛尿囊膜制备鸡传染性喉气管炎活疫苗, 相比于传统的人工气室绒毛尿囊膜接种法和尿囊腔接种法可降低鸡胚的早死亡率, 提高鸡胚利用率, 降低生产成本, 提高单产量。

关键词: 鸡传染性喉气管炎活疫苗; 鸡胚绒毛尿囊膜

中华人民共和国兽用生物制品规程中(2000年版)鸡传染性喉气管炎活疫苗制造及检验规程规定, 采用SPF鸡胚接种病毒, 收获鸡胚的绒毛尿囊膜制备疫苗, 规程中接种方法有两种, 一是鸡胚尿囊腔接种法, 另一种是人工气室接种法, 生产实践证明, 这两种方法都有它的不足之处, 鸡胚绒毛尿囊膜接种法需做人工气室, 其工艺烦琐不易掌握, 不适用大批量生产, 而且死亡率高。采用鸡胚尿囊腔接种法虽接种方法简单, 但接种鸡胚后有30%左右病变不明显。这样含毒量就有所差异, 鸡胚的利用率降低了, 我们采用鸡胚绒毛尿囊膜渗透法来接种鸡胚, 结果96h鸡胚病变明显改变, 照蛋器下观察, 血线增粗, 痘斑明显增多, 这种方法提高了鸡胚的利用率弥补了人工气室及尿囊腔接种的不足。

1 材料和方法

1.1 材 料

1.1.1 生产用种毒 鸡传染性喉气管炎K317株冻干种毒, 由中国农业部兽药监察所提供, 制备成生产种病毒。

1.1.2 SPF鸡胚 SPF鸡胚由济南赛斯家禽科技有限公司提供。

1.1.3 生理盐水 配制0.85%生理盐水。

1.2 方 法

1.2.1 鸡胚接种, 选用健康的10日龄SPF鸡胚, 然后将鸡胚分为三组, 按规程要求分别注毒, 第1组采用鸡胚尿囊腔接种法每胚注毒量为0.1mL, 第2组采用人工气室绒毛尿囊膜接种, 每胚0.2mL。第3组试验组, 采用绒毛尿囊膜渗透法接种, 每胚接种0.2mL。接种方法如下: 气室涂碘消毒打孔, 使针头直接刺入鸡胚尿囊膜中, 针头进入气室中2/5注射种毒液, 种毒直接接触尿囊膜使尿囊膜感染, 绒毛尿囊膜接种情况。

死胚 时间(h)	尿囊腔 120枚	人工气室 120枚	尿囊膜渗透 120枚
24	6	10	0
48	5	4	0
72	5	7	2
96	4	3	2

1.2.2 孵化观察 参照《规程》接种后置于36.5~37.5℃静置孵化, 每24h照胚一次, 死胚弃掉, 96h活胚照检病变明显冷却待解, 无菌收获, 检验后在-20℃保存。

1.2.3 病毒含量的测定 将3种方法接种后收获的尿囊膜分别研磨成组织液, 然后按规程要求分别作10倍稀释取10⁻⁵、10⁻⁶滴度经人工气室绒毛尿囊膜接种10日龄SPF鸡胚每胚0.2mL, 24h检死胚弃掉, 96h冻胚待解, 解剖观察绒毛尿囊膜的病变, 计算EID₅₀/0.2mL。结果EID₅₀8.4/0.2mL。

2 结 果

接种组别	早死率(%)	活胚率(%)	病变
鸡胚尿囊腔	17	83	膜增厚
人工气室绒毛尿囊膜	20	80	膜增厚有痘斑
绒毛尿囊膜渗透法	3.3	96.7	膜增厚有痘斑 水肿明显

2.1 病毒含量测定

三种接种方法收获绒毛尿囊膜EID₅₀/0.2mL检测结果差异有所区别。尿囊腔接种约在EID₅₀5.5/0.2mL符合《规程》规定与标准, 人工气室接种EID₅₀5.6/0.2mL, 绒毛尿囊膜渗透法接种成品冻干苗检测EID₅₀分别是105.5、105.83、106.17达到《规程》规定的标准, 绒毛尿囊膜接种的在配苗比例上还可以扩大。

3 讨 论

3.1 从鸡胚感染情况来看, 证实了鸡喉气管炎K317株是嗜膜性很强的病毒, 绒毛尿囊膜接种最为敏感。

3.2 绒毛尿囊膜渗透法明显优于原有的尿囊腔接种和人工气室绒毛尿囊膜接种法, 绒毛尿囊膜渗透接种病变明显, 膜增厚有痘斑和水肿形成。

3.3 鸡胚绒毛尿囊膜渗透法易于操作, 提高了鸡胚利用率和单产量, 是一种比较实际的接种法。

