

不同母源抗体水平雏鸡 IBD 免疫程序的探讨*

曹永长 毕英佐 朱基美 何 洁

(华南农业大学动物科学系, 广州, 510642)

摘要 采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测了 1d 龄石岐杂雏鸡的 IBD 母源抗体, 根据不同母源抗体水平的高低, 将 1d 龄石岐杂雏鸡的 IBD 母源抗体分为高、中、低 3 种水平. 针对每个 IBD 母源抗体水平的雏鸡设计了 3 种不同的 IBD 双价苗的免疫程序. 用 ELISA 检测免疫前后 IBD 抗体的动态变化, 并于 23d 龄时用 IBD 强毒对雏鸡进行攻毒. 结果说明, 不同母源抗体的雏鸡, 其 IBD 的最佳免疫时机是不同的. 作者建议使用 IBD 双价苗免疫石岐杂雏鸡时, 可根据 1d 龄鸡群 IBD 母源抗体的平均 ELISA 滴度, 用公式“最佳接种日龄 = $(\overline{\text{抗体滴度}} - 34.64) / 2.82 + 1$ ”预测最佳首免日龄. 作者最后提出了一个控制石岐杂肉鸡 IBD 流行的方法.

关键词 传染性囊病; 母源抗体; 免疫程序

中图分类号 S852.52

传染性囊病 (IBD) 是一种急性的、高度接触传染的病毒性疾病, 主要引起鸡的法氏囊损伤和免疫抑制. 广大禽病工作者为控制 IBD 的流行, 进行了不懈的努力, 但 IBD 仍然是威胁养鸡业的严重疾病之一. 特别是变异株和超强毒株的存在 (李树根等, 1991; 李德山等, 1991; Van Den Berg et al, 1991a), 为 IBD 的防治带来很大的困难. 在目前的条件下, 控制 IBD 主要靠使用疫苗. 而使用疫苗控制 IBD 的关键是采用合理的免疫程序. 母源抗体水平不同的鸡群, 其 IBD 的免疫程序也不同. 我们采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测 1d 龄石岐杂雏鸡 IBD 母源抗体, 根据母源抗体高低制定 IBD 的免疫程序, 以此来指导养鸡生产, 收到了良好的效果. 这里报导的是我们为制定双价苗** 的免疫程序而进行的几次试验.

1 材料与方法

1.1 材料

根据种鸡的 IBD 免疫状况, 选 3 种有代表性的雏鸡, 分别于 1d 龄时颈静脉采血, 用 ELISA 检测血清中 IBD 抗体 (Marquardt et al, 1980). 根据 1d 龄 IBD 抗体的 ELISA

1995-10-11 收稿

* 本文是国家八五攻关课题《鸡传染性法氏囊病的防治技术研究》的一部分.

** 周蛟等, 1994. 鸡传染性二价活疫苗的研究. 第三届优质肉鸡的改良生产及发展研讨会论文集.

台北, 53-59

滴度 (ELISA Titer, 简称 ET) 确定雏鸡 IBD 母源抗体水平. ET 低于 2000 的为低母源抗体雏鸡的代表, 超过 5000 的为高母源抗体雏鸡的代表, 3500 左右的则作为中母源抗体的代表.

1.2 试验处理

每个母源抗体水平的雏鸡均分为 4 组, 隔离饲养, 各组饲养条件一致, 除 IBD 疫苗以外, 其它疫苗免疫程序相同. IBD 疫苗为北京农林科学院畜牧兽医研究所提供的 IBD 双价苗. 第 1 2 3 组采用不同的 IBD 免疫程序, 第 4 组均为对照组, 不进行 IBD 免疫. 免疫方案如表 1 所示.

表 1 免疫方案

母源抗体水平	组别	试验鸡数	免疫程序
低	1	50	1d, 1倍, 皮下注射; 8d, 1倍, 点嘴; 15d, 1.5倍, 饮水
	2	50	⁽¹⁾ 1d, 1倍, 皮下注射; 8d, 1倍, 点嘴; 15d, 1.5倍, 饮水
	3	50	8d, 1倍, 点嘴; 15d, 1.5倍, 饮水
	4	50	对照组, 不免疫
中	1	50	1d, 1倍, 皮下注射; 8d, 1倍, 点嘴
	2	50	8d, 1倍, 点嘴; 15d, 1.5倍, 饮水
	3	50	13d, 1倍, 点嘴; 20d, 1.5倍, 饮水
	4	50	对照组, 不免疫
高	1	50	分别于 7 14 21d 点嘴口服, 均为 1 倍剂量
	2	50	分别于 14 21d 点嘴口服, 均为 1 倍剂量
	3	50	对 21d 点嘴口服, 1 倍剂量
	4	50	对照组, 不免疫

(1) 低母源抗体雏鸡第 2 组首免用一种温和性的 IBD 活疫苗.

1.3 血清 IBD 抗体水平检测

分别于第 1 7 14 21 28 35d 龄时, 每组随机抽取 15~ 20 只鸡, 颈静脉或翼静脉采血, 常规分离血清, - 20℃ 冰箱保存. 试验结束后, 统一采用 ELISA 系统进行 IBD 抗体检测 (曹永长等, 1995).

1.4 攻毒保护试验

低母源抗体雏鸡每组取 20 只鸡, 中母源抗体雏鸡和高母源抗体雏鸡每组分别取 10 只和 40 只鸡, 于第 23d 龄时用 10 倍稀释的 IBD 强毒株的囊毒攻毒, 每只鸡 0.1mL. 低母源抗体雏鸡和中母源抗体雏鸡攻毒所用毒株分离自广东新兴县, 高母源抗体雏鸡攻毒所用毒株分离自广州郊区. 观察发病情况, 统计各组发病数和死亡数, 计算各组发病率和死亡率.

2 结果

2.1 抗体水平的变化

抗体水平用 ET 表示, 同时用协同变异百分率 (简称 CV) * 表示鸡群抗体水平的整齐

* 协同变异百分率 = (标准差 ÷ 平均数) × 100%
©1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

度. 各试验组鸡的母源抗体及免疫后血清抗体水平的变化如表 2所示.

表 2 不同母源抗体雏鸡 IBD抗体的变化

母源抗体水平	日龄	第 1组		第 2组		第 3组		第 4组	
		ET	CV (%)	ET	CV (%)	ET	CV (%)	ET	CV (%)
低	1	1444	47. 4	1557	39. 1	1470	42. 4	1346	37. 9
	7	1216	26. 5	1067	24. 8	1069	14. 4	1047	29. 6
	14	895	14. 5	805	19. 4	716	17. 3	706	34. 0
	21	616	39. 3	517	40. 5	561	20. 1	452	9. 2
	28	1535	37. 2	1303	44. 0	1271	59. 1	257	21. 3
	35	4137	34. 3	2887	30. 0	2408	45. 0	268	24. 4
中	1	3778	23. 6	3361	27. 8	3758	22. 4	3496	26. 4
	7	2006	38. 3	1870	36. 4	2193	28. 1	2179	37. 9
	14	1239	41. 4	1141	42. 8	1023	39. 5	1379	44. 3
	21	607	44. 3	989	46. 4	1194	37. 6	732	47. 4
	28	826	50. 7	2187	61. 3	1318	25. 3	597	42. 4
	35	1740	38. 9	3238	39. 5	4560	17. 4	451	18. 9
高	1	5053	27. 6	5053	27. 6	5053	27. 6	5053	27. 6
	7	2787	34. 3	2461	35. 8	2675	31. 5	2590	34. 8
	14	1534	24. 5	1543	30. 1	1662	35. 2	1442	29. 3
	21	854	44. 2	788	43. 5	765	47. 2	805	39. 2
	28	639	47. 1	1301	39. 9	916	39. 4	462	21. 3
	35	2799	38. 2	3012	26. 7	2375	41. 3	327	17. 2

4组低母源抗体雏鸡 1d龄 IBD母源抗体水平均在 1500左右,个体之间差异较大. 21d龄前, 各组鸡的 IBD抗体都在平稳下降, 21d龄时达到最低点, 之后, 各试验组 IBD抗体在 28d龄时有所上升, 但 35d龄时各组鸡抗体水平差异较大, 第 1组最高, 第 2组次之, 第 3组最低. 而第 4组在整个试验期间 IBD抗体水平一直下降, 21d龄以后均低于 500.

4组中母源抗体雏鸡 1d龄 IBD母源抗体在 3300~ 3800之间. 除第 4组抗体一直下降以外, 其余 3组 IBD抗体变化趋势是一致的. 21d龄时 3组抗体均下降到最低点, 28d龄已有所上升, 但各组水平不同, 第 2组最高, 达到 2187, 而第 1组低于 1000. 35d龄时第 3组最高, 第 1组最低.

4组高母源抗体雏鸡来自同一鸡群, 1d龄 IBD母源抗体为 5053. 对照组抗体水平一直下降, 28d龄以后低于 500. 1~ 21d龄, 各组 IBD抗体水平变化趋势一致. 28d龄时, 第 2 3组有所上升, 但第 1组还继续下降. 35d龄时 3组均超过 2000.

2 2 攻毒保护结果

不同水平母源抗体雏鸡均在 23d龄攻毒, 5d后剖杀全部攻毒鸡. 根据临床症状和解剖病变判定鸡只是否患传染性囊病. 各组发病和死亡情况如表 3所示. 从表中可以看出, 各免疫组和对照组发病率没有差别, 均为 100%, 而死亡率则相差较大, 所有免疫组和死亡率均低于对照组. 低母源抗体雏鸡第 1 2组死亡率最低, 为 5%; 中母源抗体雏鸡第 1 2组死亡数均为 0, 而高母源抗体雏鸡则是第 2组死亡率最低, 为 12. 5%.

表 3 不同母源抗体雏鸡攻毒保护结果

母源抗体水平	组别	攻毒鸡数	发病鸡数	发病率 / (%)	死亡鸡数	死亡率 / (%)
低	第 1组	20	20	100	1	5
	第 2组	20	20	100	1	5
	第 3组	20	20	100	2	10
	第 4组	20	20	100	7	35
中	第 1组	10	10	100	0	0
	第 2组	10	10	100	0	0
	第 3组	10	10	100	1	10
	第 4组	10	10	100	3	30
高	第 1组	40	40	100	11	27. 5
	第 2组	40	40	100	5	12. 5
	第 3组	40	40	100	13	32. 5
	第 4组	40	40	100	16	40. 0

3 讨论

3.1 IBDV 主要侵害 3~ 28周龄的雏鸡和青年鸡. 我们在临床中发现, 广东近年 IBD 常发于 18~ 28d龄. 所以我们选择在 23d龄进行攻毒. 攻毒试验结果表明, 无论母源抗体水平高低, 当用强毒攻毒后, 除一部分因感染 IBD而死亡外, 所有试验鸡的法氏囊在 5d内都萎缩, 发病率为 100%. 攻毒后发病率如此之高, 主要的原因是, 攻毒时 IBD抗体水平低, 不能抵抗强毒的攻击. 本试验表明, 14~ 28d龄是雏鸡 IBD抗体相对较低的时期, 这段时间雏鸡最易受到 IBD野毒的侵袭. 在 IBD母源抗体和疫苗免疫抗体之间有一个免疫空白期, 这个空白期既能感染强毒又对疫苗不起良好反应, 而且这一时期长短变化很大, 这时感染强毒可是致命性的或亚临床性的 (Van Den Berg et al, 1991b). 因此在肉鸡饲养早期, 应加强禽舍和周围环境的消毒, 减少环境中野毒的数量, 降低感染压. 现在广东很多养禽场坚持鸡体喷雾消毒, 这一措施成为控制 IBD的一项必不可少的措施.

攻毒试验的另一个结论是, 虽然发病率相同, 但各组死亡率相差较大, 和不接种疫苗的对照组相比, 各免疫组的临床死亡率大大降低了. 其中低母源抗体雏鸡以第 1 2组最低, 均为 5%, 中母源抗体雏鸡第 1组和第 2组没有死亡, 高母源抗体雏鸡第 2组死亡率最低, 为 12. 5%, 而未经免疫的对照组的死亡率则在 30%~ 40% 之间. 上面我们强调了早期环境消毒的重要性, 但是, 由于 IBD病毒对消毒剂和环境因素具有高度抵抗性, 从而使致病毒株在污染的房舍内普遍存在. 所以, 对有母原抗体的雏鸡来说, 在早期选择适当的时机进行 IBD免疫是必要的. 虽然本试验采用的几种免疫程序, 都不能使雏鸡在 23d龄时面对强毒的攻击得到完全保护, 但如果选择最佳时机接种, 则可以使雏鸡的死亡率降到最低. 如果加上早期严格的环境消毒、多次反复的免疫接种等措施, 则有可能最大限度地控制 IBD 的发生.

3.2 高水平的母源抗体在一定时期内可以使雏鸡得到一定程度的保护 (Van Den Berg et al, 1991b). 但不论有多高, 雏鸡 IBD母源抗体都以一定的半衰期平稳下降, 2~ 3周以后, 母源抗体将不能有效地保护雏鸡免受 IBD强毒的侵袭 (Solano et al, 1986; Tsukamoto et al, 1995). 所以对雏鸡进行 IBD免疫, 使其尽早获得主动免疫是当务之急. 但免疫成功与

否,与接种疫苗时 IBD 母源抗体高低有很大关系. 如果接种疫苗时母源抗体太高,将对主动免疫造成干扰 (Solano et al, 1986; Tsukamoto et al, 1995; Van Den Berg et al, 1991b; Wood et al, 1981). 如果接种疫苗时间太晚,则母源抗体消失,雏鸡得不到保护. 所以选择适当的时机接种 IBD 疫苗是 IBD 免疫成功的关键.

自从 Marquardt 等 (1980) 建立检测 IBD 抗体的间接 ELISA 方法以来,现已普遍使用 ELISA 系统评价鸡群的 IBD 抗体水平. 不同母源抗体的雏鸡,其 IBD 免疫的最佳时机是不同的,目前普遍采用“平方根”公式预测小鸡 IBD 首免日龄 (Lasher et al, 1994). 在用双价苗免疫石岐杂雏鸡时,我们采用下列公式预测 IBD 的最佳首免日龄:

$$\text{最佳接种日龄} = (\sqrt{ET} - 34.64) / 2.82 + 1$$

其中“ET”为单个鸡群 1d 龄的母源抗体的 ELISA 滴度,一般是在单个鸡群中选取 20 个左右样品,采用美国 IDEXX 公司生产的 ELISA 试剂盒进行检测 (曹永长等, 1995). 按上述公式,母源抗体为 1500 3400 5000 的雏鸡,首免最佳接种日龄分别为 2 8 14d 龄. 本试验中,3 种不同母源抗体水平的雏鸡,分别以 1d 龄 (低母源抗体雏鸡)、8d 龄 (中母源抗体雏鸡) 和 14d 龄 (高母源抗体雏鸡) 进行首免的免疫效果最好,这与上述预测是基本一致的.

3.3 国内外普遍采用给种鸡接种 IBD 疫苗,使雏鸡获得母源抗体,从而使雏鸡在早期得到保护 (Vosten et al, 1985). 这一方法在 IBD 超强毒出现之前是合适的. 在 IBD 超强毒出现之前,流行的 IBD 毒株不引起大的死亡,雏鸡早期感染致病毒株以后,以亚临床感染为主,主要造成 2~3 周龄以内雏鸡的免疫抑制. 也就是说,如果在 2~3 周之内保护雏鸡不被感染,那么,IBD 就不会对生产造成很大的损失. 根据本试验的结果,高母源抗体可以持续到 2~3 周. 其他研究者的结果也证实了这一点 (Solano et al, 1986; Van Den Berg et al, 1991b).

然而,高 IBD 母源抗体虽然能在早期对雏鸡提供一定程度的保护,但给 IBD 疫苗的早期免疫造成严重干扰 (Tsukamoto et al, 1995; Van Den Berg et al, 1991b). 一般家禽生产企业都不具备进行 IBD 抗体定量检测的条件,这给制定合理的 IBD 免疫程序带来很大困难. 最新的研究结果表明,IBD 母源抗体不能抵抗超强毒的攻击 (Tsukamoto et al, 1995; Van Den Berg et al, 1991b). 目前我国 IBD 的流行情况很复杂,除了经典的血清 I 型毒以外,还有超强毒 (李德山等, 1991) 和变异株 (李树根等, 1991),有时是超强毒和变异株同时存在 (李锋等, 1994),IBD 的流行常常造成雏鸡的大量死亡. 所以,用高母源抗体来保护雏鸡免受 IBD 侵袭的方法,在目前的情况下,对我国是不合适的.

为了更好地控制 IBD 的流行,我们建议在石岐杂肉鸡生产中,采取以下两项措施来控制 IBD 的流行. 一是在肉用石岐杂种鸡中取消 IBD 油乳剂灭活疫苗的免疫,二是在子代鸡中采用 1d 龄皮下注射接种 1 头份温和型 IBD 活疫苗或者 0.5 头份 IBD 双价苗,随后用 IBD 双价苗进行 2 次左右的重复免疫. 在肉用父母代种鸡的免疫程序中取消 IBD 油乳剂灭活疫苗行免疫接种. 的免疫,可以使子代鸡的母源抗体处在较低水平,有利于子代鸡用中等毒力疫苗在早期进据报道,比利时用这一方法解决了母源抗体的干扰问题 (Lasher et al, 1994).

1d 龄注射免疫接种,IBD 疫苗不会被母源抗体所中和. 荧光标记抗体染色试验表明,在注射免疫接种后第 1 2 3 4 周,在法氏囊、脾、胸腺等器官的组织中发现了 IBD 病毒. 而饮水或滴眼免疫无法做到这一点. 通过 1d 龄注射接种 IBD 疫苗以后,分布在组织中的疫苗病毒不断排出体外,在环境中形成对野毒的优势. 另一方面,在雏鸡母源抗体较低的情

况下,可以使雏鸡产生主动免疫,从而制止野毒的高浓度积聚.两个方面共同作用的结果,减少了环境中野毒的积聚,降低了感染压,这样为后续的第二、第三次免疫提供了成功的机会.

本文中,我们在低母源抗体雏鸡中采用了 1d 龄皮下注射接种 IBD 的方法,从抗体的产生和强毒攻毒保护的结果来看,效果都是比较理想的.广东温氏食品集团公司采用这一方法获得了很好的效果.该公司是广东省最大的肉鸡生产基地之一,年产肉鸡 2500 多万只.他们在控制 IBD 方面采取了两条与众不同的措施:一是所有石岐杂种鸡不接种 IBD 油乳剂灭活疫苗,二是在肉用子代鸡中全部使用 IBD 双价苗免疫,免疫程序为:1d 龄接种 MD 疫苗的同时皮下接种 1 头份 IBD 弱毒疫苗或 0.5 头份 IBD 双价苗,然后分别于 8d 龄和 15d 龄用 IBD 双价苗饮水免疫.由于采用了这些措施,1995 年在一个老养殖区将 IBD 的发病率(发病鸡群占总鸡群数的百分率)控制在 2.76%,而在另一个养殖区则控制在 1.45%^{*}.

参 考 文 献

- 李树根,毕英佐,林英华,等. 1991. 鸡传染性法氏囊病血清 I 型亚型毒株的分离. 中国畜禽传染病, 5: 7~11
- 李 锋,曲立新,幸桂香. 1994. 近年来鸡 IBD 超强毒和变异株在国内外 IBD 流行中的地位. 中国畜禽传染病, 1: 57~61
- 李德山,武志强,陈冠春,等. 1991. 鸡传染性法氏囊病超强毒株的分离和初步鉴定. 中国畜禽传染病, 6: 3~7
- 曹永长,毕英佐,朱基美. 1995. 用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 评价小鸡 IBD 免疫程序. 中国兽医杂志, 21 (11): 9~10
- Lasher H N, Shae S M. 1994. Infectious bursal disease. World's Poult Sci Journal, 50 (July): 133~168
- Marquardt W W, Johnson R B, Odenwald W F, et al. 1980. An indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for measuring antibodies in chickens infected with infectious bursal disease virus. Avian Diseases, 24: 375~385
- Solano W, Giambrone J J, Williams J C, et al. 1986. Effect of maternal antibody on timing of initial vaccination of young white leghorn chickens against infectious bursal disease virus. Avian Diseases, 30: 648~652
- Tsukamoto K, Tanimura N, Kakita S, et al. 1995. Efficacy of three live vaccines against highly virulent infectious bursal disease virus in chickens with or without maternal antibodies. Avian Diseases, 39: 218~229
- Van Den Berg T P, Gonze M, Meulemans G. 1991a. Acute infectious bursal disease in poultry: isolation and characterization of a highly virulent strain. Avian Pathology, 20: 133~143
- Van Den Berg T P, Meulemans G. 1991b. Acute infectious bursal disease in poultry: protection afforded by maternally derived antibodies and interference with live vaccination. Avian Pathology, 20: 409~421
- Vosten A C, Lotticken D, Van Dijk P M, et al. 1985. The use in practice of inactivated oil emulsion

* 曹永长等. 1996. IBD 双价苗的现场免疫效果. 中国兽医杂志, 22 (7) 待刊

vaccine against infectious bursal disease in broiler breeder and its influence on the progeny: a comparative field trial. *The Veterinary Quarterly*, 7: 91~ 111

Wood G W, Muskett J C, Thornton D H. 1981. The interaction of live vaccine and maternal antibody in protection against infectious bursal disease. *Avian Pathology*, 10: 365~ 373

STUDIES ON THE IMMUNIZATION PROGRAMME OF IBD VACCINES IN CHICKENS WITH DIFFERENT LEVELS OF MATERNAL ANTIBODIES AGAINST IBDV

Cao Yongchang Bi Yingzuo Zhu Jimei He Jie

(Dept. of Ani. Sci., South China Agr. Univ., Guangzhou, 510642)

Abstract

The maternal antibodies against infectious bursal disease virus (IBDV) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in day-old Shiqiza broilers, then the broilers were divided into three groups according to the levels of maternal antibodies and each group allocated three different immunization programmes. The antibodies against IBDV were also measured by ELISA before and after vaccinations. All the broilers were challenged with virulent IBDV strains at 23 days of age. The results showed that the optimal vaccination time was different for the broilers with different levels of maternal antibodies.

The following formula “Optimum age for vaccination = $(\sqrt{\text{ELISA titre} - 34.64}) / 2.82 + 1$ ” was suggested to predict the optimum age for first vaccination of IBDV vaccines. For the control of IBD in Shiqiza chickens, it was suggested that oil emulsion inactivated IBDV vaccines should not be used in parent broilers, while the progeny be vaccinated with live IBDV vaccines at the age of 1 day and by drinking water with IBDV vaccines at 8 and 15 days of age.

Key words infectious bursal disease; maternal antibody; immunization programme