

鸡传染性支气管炎的研究

Ⅱ. 利用鸡传染性支气管炎病毒在鸡胚内对B₁系新城疫病毒的干扰作用诊断鸡传染性支气管炎

辛朝安

(牧医系)

提 要

本试验利用鸡传染性支气管炎病毒 (IBV) 在鸡胚内对B₁株新城疫病毒 (NDV—B₁) 的干扰现象作为鸡传染性支气管炎 (IB) 的一种诊断方法。对其特异性、敏感性、操作方法以及对天然病例的诊断效果等几个方面的问题进行了探讨。

用IBV强毒人工发病的病鸡组织上清液接种鸡胚后10小时, 再接入一定量的NDV—B₁, 则50%以上鸡胚的尿囊液的HA滴度在1:20以下, 而仅接NDV—B₁的对照组中, 90%以上鸡胚的尿囊液的HA滴度在1:40或1:40以上, 说明IBV在鸡胚内明显地干扰了NDV—B₁, 在IBV被相应的抗血清中和之后, 这种干扰作用也随之消失。

新城疫病毒 (NDV)、鸡传染性喉气管炎病毒 (ILT) 、鸡痘病毒 (FPV)、鸡败血霉形体 (MG) 等鸡呼吸道病的病原在鸡胚内对NDV—B₁则没有这种干扰现象。

利用这种干扰现象对6个鸡场的呼吸道病的病例进行诊断试验, 结果4个鸡场为IB阳性, 2个鸡场为IB阴性, 这一结果与用病料在鸡胚内进行盲传继代及小鸡人工发病的结果是相符的。

试验证明, IBV在鸡胚内对NDV—B₁的干扰试验可以作为IB的一种诊断方法。

前 言

IB是鸡的一种潜伏期短、传播快、危害较大的疾病^{[1][8][10]}。研究一种准确、快速、简便的诊断方法, 对于IB的及时诊断, 对鸡场时常发生的几种呼吸道病的及时鉴别, 都是必要的。

自从Schalk (1931) 首次发现本病以来, 世界各地对IB的诊断问题已做了大量的研究工作并创造了多种成功的诊断方法。例如从临床症状, 病理剖检、人工发病、病毒分离及病毒对胚体的致病性作出诊断^[10]、中和试验^{[7][12]}、琼脂扩散试验^[6]、补体结合反应^[4]、间接血凝试验^[18]、荧光抗体试验^[5]、及血凝与血凝抑制试验^[14]等。

根据IBV在细胞内、鸡体内及鸡胚内对NDV的干扰作用^{[2][13][15][16]}, Raggi

• 本文是在导师邱荣禄教授的指导下完成的, 并承牧医系禽病教研室各位老师、广东省兽医研究所陈天杰同志的协助和广东省家禽研究所的赞助, 特此致谢。

(1975)(1976)^{[9][17]}在发育的鸡胚内预先接入一定量的IBV后,再接入一定量的NDV—B₁,则IBV干扰了NDV—B₁血凝素的形成,这种干扰作用又可被同源的抗IBV血清所抑制。而NDV、ILTV、FPV、CELOV等对NDV—B₁则没有此种干扰现象。所以,可以利用IBV在鸡胚内对NDV—B₁的干扰现象(以下简称为干扰试验)作为IB的一种诊断方法。

在Raggi的试验中,他是采用已知的IBV进行试验的,对于自然感染的IB病例的诊断结果如何,则未作进一步的报道。

本试验参考Raggi(1975、1976)的方法,对已知的IBV、NDV、ILTV、FPV、MG等的人工发病病例及6个鸡场的呼吸道病的病例进行诊断试验。目的在于进一步了解利用干扰试验作为IB的诊断方法的特异性、敏感性、诊断所需的时间、操作方法、判别标准以及应注意的具体事项等方面的问题,同时也从生产上协助这些鸡场及时查明所发生的呼吸道病的病原,将科研与生产结合起来。

试 验 材 料

(一) 试验用种毒

1. IBV—MF₄E₄(1980年1月9日),这是农业部兽医生物药品监察所提供的Massachusetts型的IBV强毒株,其CEID₅₀为 $10^{-6.37} \times 0.1\text{ml}$; 2. NDV—F₄E₈(1978年7月12日),这是广东省生物药厂提供的NDV强毒,该毒以 10^{-6} 稀释后肌肉注射1ml,可使被接种的敏感鸡全部发病死亡; 3. ILTV(586),这是美国新泽西州威兰(Vineland)公司制造的擦肛强毒疫苗,气管内接种对鸡的半数感染量(CID₅₀)为 $10^{-3.5} \times 0.1\text{ml}$; 4. FPV₋₁₀₂(1978年1月3日),这是农业部兽医生物药品监察所提供的FPV强毒,以 10^{-2} 稀释后静脉内接种,每鸡0.2ml,可使被接种的敏感鸡全身发痘; 5. MG₅₆F₇(1981年1月30日),这是农业部兽医生物药品监察所提供的MG强毒株,对敏感鸡有致病力; 6. NDV—B₁(1981年6月15日),这是南京兽医生物药品厂生产的新城疫Ⅱ系疫苗。按Raggi(1975)^[17]的方法接种10日龄鸡胚后收取尿囊液作为本论文各试验用的NDV—B₁毒种,按Raggi(1975)^[17]的方法,测定该NDV—B₁的CEID₅₀为 $10^{-6.13} \times 0.1\text{ml}$ 。

(二) 试验用鸡胚

从广州市种苗公司购进的发育正常的10日龄白来航鸡的鸡胚。

(三) 试验鸡

1. 实验室的试验鸡,用作IBV、NDV、ILTV、FPV、MG人工发病、制取正常血清和正常组织上清液的试验鸡是华南农学院鸡场的1日龄星布罗鸡,隔离饲养到4周龄时使用,这些试验鸡不接种疫苗,饲料中添加0.08%的土霉素直至试验结束,用作HA测定时采血的鸡则是华南农学院鸡场的成年来航鸡公鸡。

2. 生产鸡场被检鸡:被检鸡W来自广州市白云山机械化养鸡场的有呼吸道病的25日龄星布罗雏鸡3只;被检鸡S来自广州市三元里公社养鸡场的有呼吸道病的30日龄星布罗雏鸡3只;被检鸡D来自佛山市东方鸡场的有呼吸道病的26日龄白洛克雏鸡2

只,被检鸡C来自佛山市张槎公社海口大队养鸡场的有呼吸道病的15日龄星布罗雏鸡2只;被检鸡G来自韶关市九鱼塘鸡场的有呼吸道病的6日龄新浦东雏鸡2只;被检鸡N来自南海县食品公司种鸡场的有呼吸道症状的14日龄Arbor Acres雏鸡2只。

(四) 正常血清及正常组织上清液

取上述4周龄健康鸡,采血后分离血清,经56℃30分钟灭活后,置-20℃冰箱内作为正常血清备用,又将采血后的鸡扑杀,取气管、支气管、肺和肾等组织,置研钵内按1:5比例加入生理盐水后充分研磨和离心,离心后每毫升上清液中加入青霉素1万单位和链霉素10毫克,置4℃冰箱中作用2小时,再经无菌检验后分小瓶,置-20℃冰箱中,作为正常组织上清液备用。

(五) 正常鸡胚尿囊液

取发育正常的12日龄鸡胚,收取尿囊液作为正常鸡胚尿囊液备用。

(六) 抗IBV高免血清

按Braune (1965)^[5]的方法,用IBV—MF₄E₄接种6周龄星布罗鸡制取高免血清,该血清对IBV—MF₄E₄的中和指数大于4(常用对数值)。

方法与结果

试验一 利用干扰试验对IBV人工发病病例的诊断试验

(一) IB被检病料的准备:将IBV—MF₄E₄作10⁻¹稀释后,接种试验12只,接种途径为气管内注射,接种量为每鸡0.2毫升,接种后18~36小时,被接种的鸡出现气管罗音,于接种后第3、5、7、9天分别剖杀病鸡2只,取气管、支气管、肺、肾作为被检病料,正常对照组健鸡4只,于气管内接入生理盐水0.2毫升,观察1周末见发病。(试验一、试验二同时进行,故仅设一个健康对照组)。

(二) 不同发病阶段IB病鸡的诊断试验

1. 接种IBV后第3天所采病料的诊断试验:(1)该病料在第1代鸡胚接种时对NDV—B₁的干扰试验。①被检病料组织上清液的制备:将被检病料置灭菌研钵内,按1:2.5的比例加入生理盐水,充分研磨后以3000转/分离心15分钟,取上清液,每毫升加入青霉素1万单位和链霉素10毫克,于4℃冰箱内作用2小时,然后分成3等份,第1份加入等量的生理盐水,第2份加入等量抗IBV高免血清,第3份加入等量正常血清,于室温下作用1小时后作为接种鸡胚的材料。②干扰试验:取10日龄鸡胚40只,分成4组,每组10只。第1组接入被检组织上清液,第2组接入被检组织上清液与抗血清混和物,第3组接入被检组织上清液与正常血清混和物,第4组接入正常组织上清液。接种量为每胚0.1毫升,接种途径为尿囊腔(以下各试验接种量,接种途径均相同)。接种后继续于37℃恒温箱内孵育。10小时后,于同一接种部位每胚各接入10⁻⁴稀释的NDV—B₁0.1毫升,接种后继续孵育,于接种NDV—B₁后36小时,将所有鸡胚取出,置4℃冰箱内冷冻4小时,逐个收取尿囊液并逐个测定其HA滴度。另取10日龄鸡胚4只,每胚接入被检组织上清液0.1毫升,孵育36小时后收取尿囊液,经无菌检验后作为第2代鸡胚接种的材料(简称IBV—CEF₁)。(2)该被检病料在第2代鸡胚接种时

对NDV—B₁的干扰试验: 取10日龄鸡胚20只, 分2组, 每组各10只。第1组每胚接入IBV—CEF₁各0.1毫升, 第2组每胚各接入正常鸡胚尿囊液0.1毫升, 接种后继续孵育, 10小时后于同一接种部位各接入10⁻⁴稀释的NDV—B₁0.1毫升, 于接入NDV—B₁后36小时, 将鸡胚取出, 冷冻, 逐个收取尿囊液并测定其HA滴度。

2、对接种IBV后第5、7、9天所采病料的诊断试验: 除被检病料改变及被检病料不加血清处理外, 其余方法及步骤与第3天所采病料的试验相同。

(三) IBV—CEF₁致病力测定: 接种材料为IBV—CEF₁, 被接种的鸡是4周龄的试验鸡, 接种途径为气管内注射, 接种量为每鸡0.2毫升, 对照组4周龄试验鸡4只, 每鸡于气管内接入正常鸡胚尿囊液0.2毫升, 接种后隔离饲养, 观察1周看是否有IB的症状出现。

(四) 结果: 按照Raggi (1975) [17]叙述的方法, IBV在鸡胚内对NDV—B₁的干扰试验的判别标准为: NDV—B₁对照组(先接入正常组织上清液或尿囊液, 后接入NDV—B₁的10只鸡胚), 其尿囊液的HA滴度在1:40或1:40以上的胚数应在9/10以上; 被检组(先接入被检组织上清液或被检尿囊液, 后接种NDV—B₁的10只鸡胚): 1.若HA滴度在1:20以下的胚数为5/10以上, 判为NDV—B₁受干扰, 被检物中IBV阳性。2.若HA滴度在1:20以下的胚数少于5/10, 判为NDV—B₁不受干扰、被检物中IBV阴性。

根据上述判别标准: ①接种IBV后3天所采病料在第1代及第2代鸡胚接种时, NDV—B₁受到干扰。但被检病料上清液和抗IBV高免血清的混和物对NDV—B₁却没有干扰作用, 见表1; ②接种IBV后5天所采病料在第1代及第2代鸡胚接种时, NDV—B₁均受到干扰, 见表2; ③接种IBV后7天所采病料在第2代鸡胚接种时, NDV—

表1 接种IBV后第三天所采病料的干扰试验结果

采病料时间	接鸡胚代次	组别	接种材料	HA 滴度		干扰试验结果	
				等于或高于	低 于	NDV—B ₁	被检物中
				1:40	1:20	受干扰否	有无 IBV
第 三 天	第 一 代	1	被检病料(先)NDV—B ₁ (后)	0/10 ^a	10/10	干扰	IBV + ^b
		2	被检病料+免疫血清(先)NDV—B ₁ (后)	9/10	1/10	不干扰	IBV -
		3	被检病料+正常血清(先)NDV—B ₁ (后)	1/10	9/10	干扰	IBV +
		4	正常组织上清液(先)NDV—B ₁ (后)	10/10	0/10	不干扰	IBV -
	第 二 代	被检	被检病料第一代鸡胚分离物(先)NDV—B ₁ (后)	0/10	10/10	干扰	IBV +
		对照	正常鸡胚尿囊液(先)NDV—B ₁ (后)	10/10	0/10	不干扰	IBV -

a. 分母为接种鸡胚总数, 分子为该项胚数; b. + 阳性 - 阴性。

B₁才受到干扰,见表2;④接种IBV后9天所采病料在第1代,第2代鸡胚接种时,对NDV—B₁均无干扰作用,见表2;⑤IBV—CEF₁致病力试验结果是:接种IBV—CEF₁的4只试验鸡均于接种后18—36小时出现气管罗音,继而出现咳嗽等IB症状。对照组观察1周末见异常。

表2 接种IBV后第五、七、九天所采病料的干扰试验结果

采病料时间	接鸡胚代次	组别	接种材料	HA滴度		干扰试验结果		
				等于或高于1:40	低于1:20	NDV—B ₁ 受干扰否	被检物中有无IBV	
第五天	第一代	被检	被检病料(先)	NDV—B ₁ (后)	4/10 ^a	6/10	干扰	IBV + ^b
		对照	正常组织上清液(先)	NDV—B ₁ (后)	10/10	0/10	不干扰	IBV -
	第二代	被检	被检病料第一代鸡胚分离物(先)	NDV—B ₁ (后)	1/10	9/10	干扰	IBV +
		对照	正常鸡胚尿囊液(先)	NDV—B ₁ (后)	9/10	1/10	不干扰	IBV -
第七天	第一代	被检	被检病料(先)	NDV—B ₁ (后)	9/10	1/10	不干扰	IBV -
		对照	正常组织上清液(先)	NDV—B ₁ (后)	9/9 ^c	0/9	不干扰	IBV -
	第二代	被检	被检病料第一代鸡胚分离物(先)	NDV—B ₁ (后)	1/10	9/10	干扰	IBV +
		对照	正常鸡胚尿囊液(先)	NDV—B ₁ (后)	9/10	1/10	不干扰	IBV -
第九天	第一代	被检	被检病料(先)	NDV—B ₁ (后)	9/10	1/10	不干扰	IBV -
		对照	正常组织上清液(先)	NDV—B ₁ (后)	10/10	0/10	不干扰	IBV -
	第二代	被检	被检病料第一代鸡胚分离物(先)	NDV—B ₁ (后)	10/10	0/10	不干扰	IBV -
		对照	正常鸡胚尿囊液(先)	NDV—B ₁ (后)	9/10	0/10	不干扰	IBV -

a. 分母为接种鸡胚总数,分子为该项的胚数; b. +为阳性 -为阴性; c. 中途死一胚。

试验二 NDV、ILT V、FPV、MG等对NDV—B₁的干扰试验

(一) 方法: 分别用NDV、ILT V、FPV、MG、强毒接种试验鸡、发病后采集病料并按实验一的方法检验这些病毒在鸡胚内对NDV—B₁的干扰情况。对正常鸡胚尿囊液、正常组织上清液、正常血清、生理盐水等在鸡胚内对NDV—B₁的干扰情况也进行测定。

(二) 结果: 上述各病毒及正常血清等在鸡胚内对NDV—B₁均无干扰作用, 见表3。

试验三 利用干扰试验对生产场被检鸡的诊断试验

(一) 对被检鸡W的诊断试验

1. 干扰试验: (1) 被检鸡W病料组织上清液的制备, 除被检病料改变外, 制备方法与试验一相同; (2) 被检病料组织上清液的第1代鸡胚接种, 取10日龄鸡胚5只, 每胚接入被检组织上清液0.1毫升, 36小时后将鸡胚取出, 冷冻, 收取尿囊液, 混合, 经无菌检验后作为第2代鸡胚接种时的材料用(简称W—CEF₁); (3) 观察被

表 3 NDV、ILTV、FPV、MG人工发病后所采病料的干扰试验结果

接种鸡胚 代次	接种材料	HA 滴度		NDV—B ₁ 是否受干扰
		高于或 等于 1:40	低 于 1:20	
第一代	NDV人工发病后所采的病料 (先) NDV—B ₁ (后)	10/10 ^a	0/10	不受干扰
第二代	该病料的第一代鸡胚分离物 (先) NDV—B ₁ (后)	10/10	0/10	不受干扰
第一代	ILTV人工发病后所采的病料 (先) NDV—B ₂ (后)	9/10	1/10	不受干扰
第二代	该病料的第一代鸡胚分离物 (先) NDV—B ₁ (后)	9/9	^b 0/9	不受干扰
第一代	FPV人工发病后所采的病料 (先) NDV—B ₁ (后)	10/10	0/10	不受干扰
第二代	该病料的第一代鸡胚分离物 (先) NDV—B ₁ (后)	9/10	1/10	不受干扰
第一代	MG人工发病后所采的病料 (先) NDV—B ₁ (后)	9/10	1/10	不受干扰
第二代	该病料的第一代鸡胚分离物 (先) NDV—B ₁ (后)	9/10	1/10	不受干扰
第 一 代	正常组织上清液 (先) NDV—B ₁ (后)	10/10	0/10	不受干扰
	正常鸡胚尿囊液 (先) NDV—B ₁ (后)	10/10	0/10	不受干扰
	正常血清 (先) NDV—B ₁ (后)	9/10	1/10	不受干扰
	生理盐水 (先) NDV—B ₁ (后)	10/10	0/10	不受干扰

a. 分母为接种鸡胚总数, 分子为该项的胚数; b. 中途死亡胚。

检病料在第2代鸡胚接种后对NDV—B₁的干扰情况。取10日龄鸡胚20只, 分成2组, 每组10只, 第1组于尿囊腔内接入被检病料的第一代鸡胚分离物W—CEF₁, 每胚0.1毫升, 第2组每胚接入正常鸡胚尿囊液0.1毫升, 10小时后于同一接种部位每胚各接入10⁻⁴稀释的NDV—B₁0.1毫升。在接入NDV—B₁后36小时, 将鸡胚取出, 冷冻, 逐个收取尿囊液并逐个测定其HA滴度。

2. W—CEF₁人工发病试验: 被接种的试验鸡4只, 每只气管内注射W—CEF₁各0.2毫升。正常对照的试验鸡4只, 每鸡于气管内接入正常鸡胚尿囊液0.2毫升, 接种后隔离饲养, 观察7天, 看有无IB的症状出现。

3. 被检病料组织上清液在鸡胚内的盲传继代试验: 取该病料的第一代鸡胚分离物W—CEF₁, 接种10日龄鸡胚6只, 每只接入0.1毫升。于接种后36小时, 将其中2只鸡胚取出, 冷冻后收取尿囊液作为下一代鸡胚接种的材料用。剩下的4只鸡胚继续孵育, 中途如有死亡者, 随时取出置入冰箱中, 于接种后第7天, 未死的鸡胚也取出, 连同已死亡的鸡胚一起剖检, 观察是否有IB的病变。正常对照鸡胚4只, 每胚接入正常尿囊液0.1毫升, 然后继续孵育, 在接种后第7天将鸡胚取出, 剖检以观察正常胚体的发育情况。

以后每一代鸡胚盲传继代的方法与上述方法相同, 在胚体已出现IB病变时, 则不再继代。如胚体未见IB的病变, 则盲传继代到第5代为止。

(二) 对被检鸡S、被检鸡D、被检鸡C、被检鸡G、被检鸡N的诊断试验: 除被检病料改变外, 其余方法和步骤与对被检鸡W的诊断试验相同。

(三) 结果: 被检鸡W、S、D、C的病料在第二代鸡胚接种时, 对NDV—B₁均有

明显的干扰作用,呈IBV阳性。以上各个病料的第一代鸡胚分离物接种试验鸡后,被接种的试验鸡发病的潜伏期及症状也与IB相符。这些病料在鸡胚内盲传继代后,也可使胚体出现IB的病变,见表4。

被检鸡G、N的病料在第二代鸡胚接种后,对NDV—B₁无干扰作用,病料的鸡胚分离物接种试验鸡后不发病,在胚体内盲传五代,胚体也未见有IB的病变,均呈IBV阴性,见表4。

表4 被检鸡W、S、D、C、G、N的诊断结果

被检鸡代号	接种鸡胚代次	干 扰 试 验				被检物中 有无IBV	人工 发病 试验	鸡胚盲传 继代试验
		接种材料	HA高于 或等于 1:40	HA低于 1:20	NDV—B ₁ 受干扰否			
W	第二代	该病料的第一代鸡胚分离物(先) NDV—B ₁ (后)	1/10	9 ^a /10	受干扰	IBV + ^b	发病 ^c 4/4	第二代鸡胚 有IB病变
S	第二代	该病料的第一代鸡胚分离物(先) NDV—B ₁ (后)	0/10	10/10	受干扰	IBV +	发病 4/4	第三代鸡胚 有IB病变
D	第二代	该病料的第一代鸡胚分离物(先) NDV—B ₁ (后)	1/10	9/10	受干扰	IBV +	发病 3/4	第二代鸡胚 有IB病变
C	第二代	该病料的第一代鸡胚分离物(先) NDV—B ₁ (后)	1/9	8/9 ^b	受干扰	IBV +	发病 3/4	第三代鸡胚 有IB病变
G	第二代	该病料的第一代鸡胚分离物(先) NDV—B ₁ (后)	10/10	0/10	不受干扰	IBV -	不发病	第五代鸡胚 仍无IB病变
N	第二代	该病料的第一代鸡胚分离物(先) NDV—B ₁ (后)	9/10	1/10	不受干扰	IBV -	不发病	第五代鸡胚 仍无IB病变

a. 分母为接种鸡胚总数,分子为该项的胚数; b. +阳性; -阴性; c. 分母为接种鸡总数,分子为发病鸡数; d. 中途死亡一胚。

讨 论

(一) 关于干扰试验的特异性: 从试验一、二、的结果表明,除IBV外,其它一些引起鸡呼吸道病的病原如NDV、ILT_V、FPV、MG等在鸡胚内对NDV—B₁均无明显的干扰作用,而IBV这种干扰作用又可以被同源免疫血清所抑制。这一结果与Raggi^[17]的试验结果是相符的。另外据报道,CELOV,流感病毒等在鸡胚内对NDV—B₁也没有明显的干扰作用^{[3][8]}。从试验三的结果还可看到,利用干扰试验对6个鸡场的呼吸道病例的诊断结果与人工发病、鸡胚盲传继代的结果也是一致的。由此可知,干扰试验的特异性是比较强的。

(二) 关于干扰试验的敏感性: 从试验一、三的结果可以说明,在人工感染后7天内或天然感染IBV后不久所采的病料,在第2代鸡胚接种时,对NDV—B₁的干扰作用就可以达到IBV阳性的判别标准。此外Raggi^[8]用7个IBV毒株(代表多个血清型)所进行的干扰试验证明,在鸡胚内先接入不足1个CEID₅₀的IBV,10小时后再接入

NDV—B₁, 则IBV对NDV—B₁的干扰作用就可以达到IBV阳性的判别标准, 可见干扰试验的敏感性是比较高的。

(三) 关于干扰试验的其它优点: 1. 从试验三可以看到, 在收到被检病料后 4~5 天内, 就可以对正在发生的IB作出诊断; 2. 该试验所需要的主要实验设备及操作程序均比较简单, 适宜于基层诊断室的使用; 3. 用NDV—B₁的血凝价作为判别标准, 较容易掌握, 一般情况下误差不大。

(四) 关于干扰试验的主要缺点及应注意的事项: 1. 从试验一及Raggi (1975) 的实验结果可以看到, 对于感染IBV 7天以后所采的病料, 诊断结果就不准确了, 因为在一般情况下, 感染IBV 7天以后, 从鸡体上分离IBV是比较困难的^[11]; 2. 在使用干扰试验诊断IB时, 如再设一个对照组, 以抗IBV免疫血清抑制被检物中的IBV对NDV—B₁的干扰作用, 则结果更准确, 但由于存在多个血清型的IBV, 所以, 必须准备多个血清型的抗IBV免疫血清。就目前而言, 这种要求对于一般基层诊断室来说是有困难的, 在一般生产性的诊断中, 可以省去这一对照组, 而附加一个人工发病试验或鸡胚致病性试验。这样, 结果也是准确的, 操作也比较简便; 3. 在新近使用过IB疫苗的鸡场, 即使干扰试验诊断为IB阳性, 为了区别疫苗株或野外强毒株, 也必须做人工发病试验来加以鉴别。

(五) 有待进一步探讨的问题: 从试验一、试验三的结果表明, 含有IBV的被检病料, 在第2代鸡胚接种时, 对NDV—B₁的干扰作用就可以达到IBV阳性的判别标准了。一般认为, 野外的IBV材料在初次接种于鸡胚时, IBV在鸡胚内的生长是良好的^[10]。因此, 在使用干扰试验诊断IB时, 用被检病料在第2代鸡胚接种时对NDV—B₁的干扰情况作为判别标准是可行的。但是, 是否有一些IBV毒株需要更高代次的鸡胚接种后对NDV—B₁才有明显的干扰作用呢? 尚待进一步探讨。

(六) 综上所述, 虽然干扰试验还有某些不足之处及有待进一步探讨, 但它仍然具有特异性强、敏感性高, 快速和简便等优点, 可以作为IB的一种诊断方法并在使用中不断加以完善的。

参 考 文 献

- [1] 南京农学院, 1980, 传染性支气管炎, 《家畜传染病学》352—351。
- [2] Beard, C.W. 1967. Infectious bronchitis virus interference with Newcastle disease virus in monolayers of chicken kidney cells. *Avian Diseases*. 11: 399-406.
- [3] Beard, C. W. 1980. Avian influenza. in: *Isolation and Identification of Avian Pathogens*. (S. B. Hitchner, Editor.) Second Edition: 67-69.
- [4] Bracewell, C. D. 1973. A direct complement fixation test for infectious bronchitis virus using heatinactivated chicken sera. *Vet. record*, 1973. (92) No. 17: 452-452.
- [5] Braune, M. O., and R. F. Gentry. 1965. Standardization of the fluorescent antibody technique for the detection of avian respiratory Viruses. *Avian Diseases*. 9: 535-545.
- [6] Chubb, R. C., and R.B. Cumming. 1971. The use of the gel diffusion precipitin technique with avian infectious bronchitis nephritis viruses. *Aust. Vet. J.* 47: 496-499.

- [7] Fabricant, J. 1951. Studies on the diagnosis of Newcastle disease and infectious bronchitis. IV. The use of the serum-neutralization test in the diagnosis of infectious bronchitis. *Cornell Vet.* 41 : 68-80.
- [8] Gordon, R.F. 1977. Infectious bronchitis, in: *Poultry Diseases*, (R.F. Gordon, Editor.) First Edition. 106-112.
- [9] Hector Hidalgo and L.G. Raggi. 1976. Identification of seven isolants of infectious bronchitis virus by interference with B-1 isolant of Newcastle disease virus. *Avian Diseases*. 20 : 167-172.
- [10] Hofstad, M. S. 1978. Avian infectious bronchitis, in: *Diseases of Poultry*. (M. S. Hofstad, Editor.) Seventh Edition. 487-503.
- [11] Hofstad, M.S., and H.W. Yoder. 1976. Avian infectious bronchitis virus distribution in tissues of chicks. *Avian Diseases*. 10 : 230-239.
- [12] Hopkins, S.R. 1974. Serological comparisons of strains of infectious bronchitis virus using plaque purified isolants. *Avian Diseases*. 18 : 231-239.
- [13] Luginbuhl, R.E., and E.L. Jungherr. 1953. Simultaneous titration of Newcastle disease and infectious bronchitis viruses in embryonating eggs. *Poultry Sci.* 32 : 911-912.
- [14] Lukert, P.D. 1980. Infectious bronchitis, in: *Isolation and Identification of Avian Pathogens*. (S.B. Hitchner, Editor.) Second Edition 70-72.
- [15] Raggi, L.G. and G.G. Lee. 1963. Infectious bronchitis interference with growth of Newcastle disease virus. I. Study of interference in chicken embryos. *Avian Diseases*. 7 : 106-123.
- [16] Raggi, L.G. and G.G. Lee. 1964. Infectious bronchitis Virus interference with growth of Newcastle disease virus. II. Interference in chickens. *Avian Diseases*. 8 : 471-480.
- [17] Raggi, L.G. and P. Pignattelli. 1975. Identification of infectious bronchitis virus by interference with the B-1 isolant of Newcastle disease. *Avian Diseases*. 19 : 334-342.
- [18] Vasington, P.J., N.C. Laffer, A.P. Holst, and H.M. Devolt. 1963. Preliminary studies on the technique of passive haemagglutination with the infectious bronchitis virus of chickens. *Poultry Sci.* 42 : 634-636.

STUDIES ON INFECTIOUS BRONCHITIS IN THE CHICKEN

I. USING THE INTERFERING ACTION OF INFECTIOUS BRONCHITIS
VIRUS WITH THE B-1 STRAIN OF NEWCASTLE DISEASE
VIRUS IN EMBRYONATING CHICKEN EGGS TO DIAGNOSE
INFECTIOUS BRONCHITIS.

Xin Chaoan

(Department of Animal Husbandry and Veterinary Medicine)

SUMMARY

In the present study the interfering action of infectious bronchitis virus (IBV) with the B-1 strain of Newcastle disease virus (NDV-B1) in embryonating chicken eggs (ECE) was used as a method to diagnose infectious bronchitis (IB). Here the author explored the specificity, sensitivity, method employed and the diagnostic effects on the field cases, etc.

The tissue suspension of the diseased chicken, which had been experimentally challenged with IBV, was inoculated into ECE. After 10 hours the eggs were reinoculated with a certain amount of NDV-B1. As a result, more than 50% of ECE had a HA titer of less than 1:20. But in the control inoculated with NDV-B1 alone, more than 90% of ECE had a HA titer of 1:40 or more. These results showed a clear interference of IBV with NDV-B1 in ECE. It was also shown that the Interfering action could be reversed by neutralizing IBV with Homologous immune serum.

The pathogens of the respiratory diseases such as NDV, infectious laryngotracheitis Virus (LTV), fowl pox virus (FPV) and Mycoplasma gallisepticum (MG) had no such interference in ECE.

This interference test was employed to diagnose the respiratory diseases on 6 poultry farms. Four farms were positive to IB, while two farms were negative to IB. These results were in accordance with those obtained from "blind" passages in ECE and experimentally challenged chicks.

It is proven that the interference test can be used as a method to diagnose IB.