

鸡传染性法氏囊病高免卵黄抗体液的研制

王志杰

(西昌学院 四川西昌 615013)

摘要:为防治鸡传染性法氏囊病毒地方性毒株所致的疾病,进行了高免卵黄抗体的制备、安全检验、保存期试验、鸡体内消长试验、治疗试验,为应用高免卵黄抗体防治鸡传染性法氏囊病取得了可参考性资料。

关键词:鸡传染性法氏囊病;卵黄抗体;防治

中图分类号:S858.31

文献标识码:B

文章编号:1008-4169(2004)02-0051

鸡传染性法氏囊病 (Infectious bursal disease 总称IBD),是由传染性法氏囊病毒侵害幼鸡免疫系统的一种急性接触性传染病。1957年首次发生于美国特拉华州的冈博罗,所以又称为冈博罗病。目前已遍布于世界养鸡业发达的国家和地区,也是我国近几年来严重威胁养鸡业的重要疾病之一,一方面死亡率、淘汰率增加,另一方面导致免疫抑制,使多种疫苗对鸡的免疫应答下降,致使免疫失败,造成巨大的经济损失。为了探索防治IBD的有效措施,我们进行了IBD高免卵黄抗体液的研究,获得了满意的结果,报告如下。

1 材料和方法

1.1 试验用IBD强毒,抗原、阳性血清

1.1.1 攻毒用强毒

用标准IBDV Bc6/85株感染易感鸡,采集有病变法氏囊IBD荧光抗体法诊断为阳性,匀浆后,经AGP检测效价为1:8或以上,低温保存备用。

1.1.2 检测用抗原和阳性血清

系本室制备,经中监所购入的IBD标准抗原、阳性血清分别标定合格后配成工作浓度;分装,低温保存。

1.2 IBD油佐剂灭活苗的制备

从发病鸡群采集病料,选择荧光抗体诊断(IBD荧光抗体系本室制造)为阳性,用标准阳性血清,抗原进行免疫琼脂扩散试验(简称AGP)效价在8倍以上的新鲜法氏囊悬液,作为制苗材料,经甲醛灭活加适量的油佐剂(本室制备),制成IBD地方毒株油佐剂囊组织灭活苗(简称IBD灭活苗)。通过安全试验、效力试验,无菌检验及物理性状检验合格后,供免疫产蛋鸡用。

1.3 IBD高免卵黄液的制备

1.3.1 产蛋鸡群的免疫和效价测定

先后选择A(106只罗斯商品代)、B(42只罗斯商品代)、C(61只罗斯商品代)三群开产的健康母鸡,用自制IBD灭活苗,进行三次免疫,剂量分别为每只鸡1ml、2ml和3ml。注苗前和注苗后每隔10~20日收集免疫鸡群的新鲜蛋10枚,分离卵黄,用AGP法测定卵黄抗体效价,当10枚蛋蛋黄IBD的平均效价达512倍或以上时,收集高免蛋;供制备卵黄抗体用。

1.3.2 高免卵黄抗体液的制备

将高免蛋浸泡在0.1%的次氯酸钠溶液中10分钟,取出凉干,再逐个用75%酒精棉球擦拭蛋壳,在无菌间内分离蛋黄加入与蛋黄等量的生理盐水,按总量1,000ml加入10%的石炭酸溶液1ml,放入捣碎机内充分搅拌后;经双层消毒的铜丝网过滤。分装于消毒瓶内,加盖,密封,置低温下保存,每批随机留样5瓶,供安全试验,效价测定及无菌检验。

1.4 IBD高免卵黄抗体液的安全检验

1.4.1 本动物试验

选择20~30日龄IBD抗体阴性健康鸡6只分两组,分别皮下注射待检卵黄抗体液1ml/只和2ml/只,隔离饲养观察5天,观察记录试验鸡全身和局部反应。

1.4.2 无菌检验

取各瓶待检卵黄抗体液0.2ml,分别接种于普通琼脂斜面、血液琼脂斜面和厌氧肉肝汤各1管。放在37℃培养3日后,涂片、镜检判定有无细菌生长。

1.5 IBD卵黄抗体液保存期试验

将1,200ml效价为9Log₂(512倍)的新鲜卵黄抗体液分装于600个灭菌青霉素瓶内,密封,分成6组,每组100瓶。第1~5组分别存放于-20℃,0℃,4℃、

收稿日期:2004-04-13

本文得到何学谦副教授的悉心指导,在此谨致谢意!

20℃、37℃温度条件下,第六组为反复凉融组(-20℃冻结,取出融化,再冻结),以上材料供下列项目试验。

1.5.1 定期观察,记录各组卵黄抗体液的物理性状。

1.5.2 定期测定各组卵黄抗体液的AGP效价,每组每次测3个样品,求其平均值

1.5.3 各组卵黄抗体存放35天时,进行保护试验,选36日龄IBD易感鸡35只,分成7组,均用IBDV强毒攻击,每只鸡用10倍稀释的囊毒皮下注射1ml,同时,前6组鸡分别注射在不同条件保存35天的卵黄抗体液1ml/只,第7组为对照组。隔离饲养。观察并记录各组鸡的发病数和死亡数。

1.6 IBD卵黄抗体在鸡体内消长的测定

选择IBD抗体阴性36日龄健康鸡6只编号。每只鸡注射效价为 8Log_2 的IBD卵黄抗体1ml;注射后0.5、1、2、……7天,由翅静脉采血分离血清。用AGP法测定IBD抗体效价。

1.7 治疗试验

卵黄抗体液对人工发病鸡不同病期的治疗试验,选60日龄IBD易感鸡100只,分成5组,每组20只,分别接种IBDV强毒(5倍稀释的囊毒)0.6ml/只,隔离饲养,于接种后分别于1、2、3、5天对第1、2、3、4组鸡用卵黄抗体液肌注1.0ml/只进行治疗,第5组为对照,观察并记录各组鸡的发病数和死亡数。

2 结果

2.1 共制备990115,990211,990305,990320等四批IBD地方毒株佐剂灭活苗,经安全试验、效力试验,无菌检验及物理性状测定,符合我国有关佐剂灭活苗的相应指标。

2.2 三群开产母鸡在免疫前用AGP法测定IBD抗体效价(血清及卵黄)均为0,经两次免疫后抗体效价呈直线上升达 2^{10} - 2^{11} 后缓慢下降,在第二次免疫后6个星期,进行第三次免疫,抗体效价又升到 2^{10} - 2^{11} ,以后又缓慢下降,经6-7星期下降至 2^8 - 2^9 (见图1)。

2.3 先后制IBD卵黄抗体液34批,其中抽检的三批样品,通过实验鸡做安全试验,结果注射不同剂量的卵黄抗体的试验鸡,均安全无恙,而且注射局部吸收良好,未见炎性反应,其中7批样品分别做了无菌检验,均未见细菌生长。

2.4 被检的卵黄抗体液,在不同温度条件下保存81天,IBD抗体效价未见明显下降(见表1),但保存在20-37℃条件下较长时间的卵黄抗体容易出现絮状沉淀。在20-37℃条件下,保存一个星期的样品便开

始出现少量絮状沉淀,以后逐渐增多;在-20℃冻结保存的卵黄抗体液,融化后有少量凝块上清液显得粘稠些。随着保存期延长或反复冻融,这种现象愈加明显,根据初步的试验结果认为新制的卵黄抗体液置4℃条件下保存为宜,若需保存时间较长,亦可冻结保存,但不宜反复冻融。

2.5 攻毒保护试验 在不同条件下保存35天的卵黄抗体液,均能使易感鸡有效地抵御强毒攻击(表2)。

2.6 IBD血清抗体阴性鸡注射卵黄抗体液后12小时,IBD血清抗体转阳率为66.7%,1天后达100%。并能持续到第6天。从第八天血清抗体全部转为阴性(表3)

2.7 IBD卵黄抗体液对人工病鸡不同期的治疗都显示出明显的疗效,但早期治疗比晚期治疗效果(见表4)。

3 讨论与小结

3.1 从IBD高免卵黄抗体在鸡体内的消长规律,及人工发病鸡和自然发病鸡治疗试验的结果可以看出,足量的卵黄抗体进入鸡体后12小时,便能发挥特异性治疗预防作用,并能维持5-7天。这说明采用高效价IBD卵黄抗体对IBD发病早期的治疗或疫区的紧急预防,效果是确实的。

3.2 尽管我们对在不同条件下,保存35、81天的卵黄抗体攻毒保护试验及所测的抗体效价,未见差异。在没有得到更多的实验数据证明以前仍建议将所制卵黄抗体置低温下保存为宜。

3.3 实验证明:用IBD地方毒株制备的囊组织油佐剂灭活苗,免疫产蛋鸡不散毒,安全,用苗量少,免疫鸡产生的抗体效价高,持续时间长、中和地方毒株针对性强,是保证所制卵黄抗体在防治IBD临床应用中取得良好效果的重要条件。

参考文献:

- [1]王明俊.兽医生物制品学[M].北京:中国农业出版社,1997,647-654.
- [2]蔡宝祥.家畜传染病学[M].北京:中国农业出版社,2001,321-323.
- [3]甘肃农业大学.兽医微生物学[M].北京:中国农业出版社,1994,152-154.
- [4]甘肃农业大学.兽医微生物学实验指导[M].北京:农业出版社,1980,27-30.
- [5]林永祯.畜禽传染病学[M].四川:四川科学技术出版社,1999,306-308.

表1 不同存放条件下卵黄中IBD抗体的变化 (Log₂)

时间(天)	存放条件					
	-20℃	0℃	4℃	20℃	37℃	反复冻融
0	9.5	9.5	9.5	9.5	9.5	9.5
3				9	9.17	10
6				10	9.17	9.75
9				9	9.33	8.5
12				9	9	8.5
15	10	10	10.5	9.5	9	10
18				9.5	8.5	0.5
21				8.75	8.67	8.5
24				9.5	9	9
27				8.75	9	9
30	10	9.5	9.5	9.5	9	9.5
33				9.5	9	9
36				9.5	9	9
39				9.5	9	9
42				8.5	9	9
45	10	10	10	9	8.5	9.5
48				9.5	8.5	9.5
51				10	9	9.5
54				9.5	8.5	9
60	9.5	9.5	10	10	8.5	9
72				9.5	9.5	9
81	10	10	10	9.5	9	9

表2 不同温度条件下存放35天的卵黄液对攻毒鸡的保护试验

组别	鸡数(只)	攻毒量(ml/只)	注射卵黄液量(ml/只)	发病数(只)	死亡数(只)
-20℃	5	0.6	1.0	0	0
0℃	5	0.6	1.0	0	0
4℃	5	0.6	1.0	0	0
20℃	5	0.6	1.0	0	0
37℃	5	0.6	1.0	0	0
反复冻融	5	0.6	1.0	0	0
对照	5	0.6		5	2

表3 IBD卵黄抗体注射鸡体后在体内消长规律

时间(天)	存放条件(Log ₂)						阳性率(%)
	-20℃	0℃	4℃	20℃	37℃	反复冻融	
0	—	—	—	—	—	—	0
0.5	—	0	0	0	0	—	66.7
1	1	1	1	1	1	0	0.67
2	2	2	1	1	1	1	1.33
3	1	1	1	1	0	1	0.83
4	0	1	1	0	0	0	0.33
5	0	0	0	0	0	0	0
6	0	1	0	0	0	0	0.17
7	0	0	0	—	0	0	83.3
8	—	—	—	—	—	—	0
9	—	—	—	—	—	—	0

表4 IBD高免卵黄抗体射对IBD人工病例的治疗试验

组别	鸡总数(只)	发病数(只)	发病率(%)	死亡数(只)	死亡率(%)	显著性检验
1天	20	5	25	0	0	P<0.01
2天	20	13	65	0	0	P<0.01
3天	20	16	80	1	5	P<0.01
4天	20	19	95	3	15	P<0.01
5天	20	20	100	8	40	P<0.01

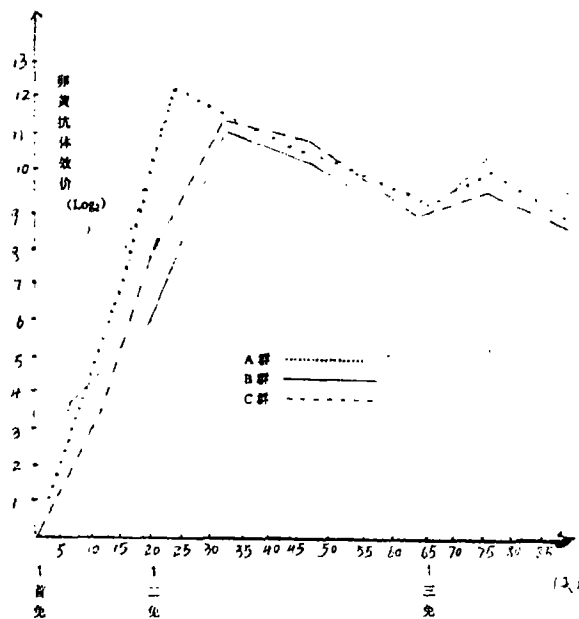


图1 免疫产蛋鸡(A、B、C三群)卵黄抗体效价曲线

(下转 69 页)

Folk Songs——A Cradle for Modern Vernacular New Poems

He Qin-ying

(Sichuan University, Chengdu, Sichuan, 610041)

Abstract: The inherent popularity and mass character of folk songs open up an ever-changing path for poetry. This paper strives to give a glimpse of the important role folk songs played in the development of vernacular new poems and then remind the contemporary poetry circle not to forget to learn from folk songs. The author, by doing this, also wishes to pay some due attention to common people's lives, to people's appreciation of beauty, and lead poetry into people's heart.

Key Words: Folk Songs; Concern of Humanity; Development of Poetry

(责任编辑:吴建萍)

(上接 54 页)

Research on Highly Immune Yolk Antibody liquid for Chicken Infectious Bursa of Fabricius

Wang Zhijie

(Xichang College, Xichang, Sichuan 615013)

Abstract: In order to prevent and treat diseases caused by infectious Bursa of Fabricius, we made an experiment of highly immune yolk antibody liquid's preparation, safety test, preservation period, its increase and decrease in chicken's body and healing effect. Some referential results are obtained in this experiment.

Key Words: Infectious Chicken Bursa of Fabricius; Yolk Antibody; Prevention and Treatment

(责任编辑:蔡光泽)