

鸡新城疫、禽流感(H9 亚型)二联油乳灭活疫苗免疫后备鸽抗体水平研究

林明星¹ 余见栋¹ 吴志远²

1.浙江省平阳县畜牧兽医管理中心,浙江平阳 325400;2.浙江省平阳县农业农村局 浙江平阳 325400

摘要 为了解鸡新城疫、禽流感(H9 亚型)二联油乳灭活疫苗对后备鸽的免疫效果,对比不同免疫程序下的抗体消涨情况,本研究开展鸡新城疫、禽流感(H9 亚型)二联油乳灭活疫苗免疫后备鸽抗体水平试验。试验结果显示:二联灭活疫苗对鸽体表现出良好的抗原性和免疫效果,在生产实际中可将此疫苗运用于鸽场的日常免疫;为保持更高的 HI 抗体滴度,以确保能够完全抵御强毒的攻击,在生产实际中首次免疫建议至少进行 2 次以上免疫。

关键词 后备鸽;新城疫;禽流感;灭活疫苗;抗体水平

鸽新城疫又称鸽瘟或鸽 I 型副黏病毒(Pigeon paramyxovirus I, PPMV-I)病,是一种由禽 I 型副黏病毒引起的、流行于鸽群的高度接触性急性传染病,且普遍存在于各种鸽群(肉鸽、信鸽和赛鸽)中^[1]。该病主要以肠炎、严重腹泻和神经症状为特征,传播迅速,发病率和死亡率高,常给鸽场造成严重的经济损失。由于鸽属珍稀家禽,市场对鸽专用的鸽副黏病毒疫苗需求量较少,同时根据鸽 I 型副黏病毒与鸡新城疫病毒同为副黏病毒,有相似的免疫原性,据杨秀环等^[2]报道,用鸡的新城疫弱毒疫苗和灭活疫苗对鸽进行免疫,可有效预防和控制鸽新城疫的感染和传播。生产上常借用鸡新城疫疫苗进行免疫预防。禽流感是由 A 型流感病毒(Avian influenza virus, AIV)引起的一种以禽类感染为主的传染性疾病^[3],根据其不同的致病性可分为低致病性禽流感和高致病性禽流感。在我国,低致病性禽流感以 H9 亚型为主,具有流行范围广、传播能力强、感染发病率高等特点。据相关资料显示,H9 亚型禽流感可引发禽类呼吸道感染、产蛋量等生产性能下降,继发其他疫病,严重的还会导致急性全身致死性疾病^[4]。禽流感不仅感染多种家禽及鸟类,严重危害养禽业的发展,还可以跨越种属屏障直接感染人^[5],具有重

要的经济和公共卫生意义。大量研究^[6]和实践证明,应用疫苗的免疫接种可有效预防和控制这 2 种疾病的发生与流行,但鸽体对这些疫苗免疫应答的系统研究报道较少。为探讨鸡新城疫、禽流感(H9 亚型)二联油乳灭活疫苗对鸽的免疫效果,对比不同免疫程序下的抗体消涨情况,笔者开展了疫苗不同免疫程序对鸽免疫效果试验,免疫后定期检测其血清抗体的效价,了解血清抗体消长规律及其相互关系,以为制定科学的免疫程序提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1)试验动物。试验鸽为 60 日龄后备鸽,未进行新城疫疫苗免疫、临床健康的美国白羽王鸽高代杂交种,共 24 对(48 只)。

2)试验疫苗。鸡新城疫、禽流感(H9 亚型)二联油乳灭活疫苗,购自青岛易邦生物工程有限公司。

3)主要试剂。血凝抑制试验用鸡新城疫、禽流感(H9 亚型)病毒抗原及标准阳性血清,购自青岛易邦生物工程有限公司、哈尔滨兽医研究所,经 HA 试验检测效价后,配成 4 个血凝单位抗原备用;红细胞悬液按常规方法制备,用 PBS 配成 1%鸡红细

胞悬液,4 ℃保存备用;阿氏液、磷酸盐缓冲液(PBS),按相关方法自行配制,4 ℃冰箱保存备用。

4)仪器设备。96 孔 V 型微量板、微量移液器(配滴头)、微型震荡器、温箱等。

1.2 方法

1)分组及免疫。后备鸽采血检测其新城疫和禽流感原有抗体水平后,将整个试验鸽群分成 A、B 组,每组 24 只,每对 1 笼,常规饲养。A 组采用鸡新城疫、禽流感(H9 亚型)二联油乳灭活疫苗 0.4 mL 肌注免疫,隔 21 d 加强免疫 1 次;B 组采用鸡新城疫、禽流感(H9 亚型)二联油乳灭活疫苗 0.4 mL 肌注免疫 1 次。

2)样品收集。2 组试验鸽于免疫后第 1 周、第 3 周、第 5 周、第 7 周、第 9 周、第 11 周、第 13 周、第 17 周、第 21 周、第 25 周分别进行翅下静脉采血,每组抽取 10 羽,每羽采血 1 mL,血液样品于室温放置 30 min 后,再置 4 ℃冰箱中 30 min,室温下 4 000 r/min 离心 5 min,收集上清液于一新 EP 管中。

3)检测方法。严格按照《GB/T 16550-2008 新城疫诊断技术》《GB/T 18936-2003 禽流感诊断技术》规范采用血凝(HA)和血凝抑制(HI)试验(微量法)检测。每次检测的抗体滴度以 log₂ 值表示,得出不同时段抗体水平的平均滴度。

4)结果判定。新城疫、禽流感 HI 抗体滴度 ≥ 5log₂ 判定为免疫合格。

2 结果与分析

2.1 新城疫

以不同的免疫方式接种鸡新城疫、禽流感(H9

亚型)二联油乳灭活疫苗后抗体消长情况见表 1,后备鸽产生的新城疫抗体滴度从 2log₂~9log₂ 不等。

在免疫前及免疫后第 1 周、第 3 周、第 5 周、第 7 周、第 9 周、第 11 周、第 13 周、第 17 周、第 21 周、第 25 周分别采血进行新城疫 HI 抗体滴度测定。A 组相应的 HI 抗体滴度平均值为 0.13log₂、4.83log₂、7.50log₂、8.42log₂、8.75log₂、7.67log₂、7.25log₂、6.78log₂、6.27log₂、6.09log₂、5.73log₂,其中抗体合格率在第 1 周达 75%,第 3 周开始均为 100%,结果显示 A 组试验后备鸽在免疫 1 周后,新城疫抗体水平显著上升,经二次免疫后抗体滴度在第 7 周达峰值 8.75log₂ 后逐渐下降,至第 25 周抗体滴度平均值为 5.73log₂,抗体合格率为 100%,免疫保护期可达 180 d 以上,且均匀度佳。B 组相应的 HI 抗体滴度平均值为 0.17log₂、4.22log₂、6.67log₂、6.36log₂、6.83log₂、5.42log₂、5.27log₂、4.43log₂、3.92log₂、3.80log₂、3.40log₂,其中抗体合格率分别为 56%、100%、91%、100%、83%、73%、52%、42%、30%、20%,结果显示 B 组试验后备鸽在免疫 1 周后,新城疫抗体水平显著上升,在第 3~7 周曲折达峰值 6.83log₂ 后逐渐下降,至第 13 周抗体滴度平均值降至免疫合格线(5log₂)以下,同时抗体合格率小于 70%,免疫抗体保护期约 90 d。

2.2 禽流感

以不同的免疫方式接种鸡新城疫、禽流感(H9 亚型)二联油乳灭活疫苗后抗体消长情况见表 2,后备鸽产生的禽流感 HI 抗体水平从 2log₂~10log₂ 不等。

在免疫前及免疫后第 1 周、第 3 周、第 5 周、第 7 周、第 9 周、第 13 周、第 17 周、第 21 周、第 25 周

表 1 各试验组新城疫抗体检测结果(log₂)

组别	数值类别	时间										
		免疫前	第 1 周	第 3 周	第 5 周	第 7 周	第 9 周	第 11 周	第 13 周	第 17 周	第 21 周	第 25 周
A	平均滴度	0.13±0.37	4.83±2.30	7.50±0.96	8.42±0.64	8.75±0.43	7.67±0.85	7.25±0.60	6.78±0.86	6.27±0.86	6.09±0.79	5.73±0.75
	合格率/%		75	100	100	100	100	100	100	100	100	100
B	平均滴度	0.17±0.28	4.22±2.82	6.67±0.94	6.36±1.23	6.83±1.07	5.42±1.44	5.27±1.21	4.43±1.69	3.92±1.38	3.80±0.98	3.40±1.11
	合格率/%		56	100	91	100	83	73	52	42	30	20

分别采血进行禽流感 HI 抗体滴度测定。A 组相应的 HI 抗体滴度平均值为 3.50log₂、7.42log₂、9.25log₂、9.83log₂、9.58log₂、9.08log₂、8.09log₂、8.09log₂、8.00log₂、7.91log₂, 其中抗体合格率维持在 92% 以上水平。结果显示 A 组试验后备鸽在免疫 1 周后, 禽流感的抗体水平显著上升, 经二次免疫后抗体水平在第 5 周达峰值 9.83log₂ 后逐渐下降, 至 25 周抗体滴度平均值为 7.91log₂, 抗体合格率为

100%, 免疫保护期可达 180 d 以上, 且均匀度佳。B 组结果相应的 HI 抗体滴度平均值为 3.57log₂、6.60log₂、8.58log₂、8.18log₂、7.00log₂、6.00log₂、5.61log₂、5.91log₂、5.70log₂、5.70log₂, 其中抗体合格率分别为 90%、100%、100%、100%、83%、83%、82%、80%、80%。结果显示 B 组试验后备鸽在免疫 1 周后, 禽流感的抗体水平显著上升, 在第 3 周达峰值 8.58log₂ 后逐渐下降, 至第 13 周降至 6log₂ 以下。

表 2 各试验组禽流感(H9)抗体检测结果(log₂)

组别	数值类别	时间									
		免疫前	第 1 周	第 3 周	第 5 周	第 7 周	第 9 周	第 13 周	第 17 周	第 21 周	第 25 周
A	平均滴度	3.50±1.41	7.42±1.80	9.25±0.72	9.83±0.37	9.58±0.49	9.08±0.64	8.09±0.88	8.09±0.79	8.00±1.04	7.91±0.79
	合格率/%		92	100	100	100	100	100	100	100	100
B	平均滴度	3.57±1.58	6.60±1.85	8.58±0.86	8.18±1.11	7.00±0.82	6.00±1.58	5.61±1.86	5.91±1.50	5.70±1.42	5.70±1.62
	合格率/%		90	100	100	100	83	83	82	80	80

3 讨 论

本研究使用鸡新城疫、禽流感(H9 亚型)二联油乳灭活疫苗对后备鸽群进行免疫试验, 免疫后 7 d 产生抗体, 单次免疫 B 组新城疫、禽流感抗体在免疫后第 3~7 周达峰值分别为 6.83log₂、8.58log₂, 抗体合格率为 100%; A 组 21 d 加强免疫后激发机体产生更高抗体水平, 新城疫、禽流感抗体分别在免疫后第 7 周和第 5 周达峰值 8.75log₂、9.83log₂, 抗体合格率为 100%。通过分析免疫抗体水平可知, 在试验中不同免疫程序下鸽体对二联油乳灭活疫苗具有良好的免疫反应, 二联油乳灭活疫苗能诱导出较高的新城疫和禽流感免疫抗体, 表现出良好的抗原性和免疫效果, 这与丁卫星等^[7]研究结果相符。鸽型副黏病毒病与鸡新城疫病同为副黏病毒, 有相似的免疫原性, 可交叉免疫。有研究^[8]显示, 使用鸡新城疫活疫苗免疫鸽易因种间差异、个体、日龄和疫苗毒力等造成免疫不稳定。针对种鸽存栏期长、雏鸽自然孵化需哺喂、同舍乳鸽日龄差异大、乳鸽母源抗体参差不齐等现状, 同时乳鸽免疫接种活疫苗其免疫效果易受母源抗体影响, 而应用灭活疫苗影响较小。同时鸽场一旦使用弱毒疫苗, 易发生病毒

扩散, 导致鸽场疾病迁延不断。根据本试验对鸽场使用灭活疫苗的免疫效果监测分析表明, 灭活疫苗免疫后, 抗体效价高、合格率高、整齐度好、免疫保护期长, 试验中运用的鸡新城疫、禽流感二联油乳灭活疫苗为成熟的灭活疫苗^[9], 对鸽安全稳定, 具有无病毒扩散、不污染环境等优点, 有利于鸽场新城疫疫病的净化, 适于养鸽场推广应用。

单达聪等^[10]研究报道, 抗体效价上升的速度受免疫间隔时间的影响, 免疫间隔 14 d 的抗体水平明显高于免疫间隔 7 d, 其原因可能是免疫间隔时间过短时, 鸽体完成初次免疫识别与应答等一系列生理生化反应的时间不足, 导致二次免疫应答机制受阻, 甚至导致免疫抑制。本试验中 A 组二次免疫间隔时间为 21 d, 取得了较好的免疫效果。据杨秀环等^[2]报道, 使用鸡新城疫活疫苗和灭活疫苗联合免疫乳鸽及成鸽, 乳鸽、成鸽针对鸡源和鸽源新城疫强毒分别攻毒后抗体保护临界值为 5log₂ 和 4log₂; 白军等^[11]、李新生等^[12]研究发现, 使用鸡新城疫、禽流感(H9 亚型)二联油乳剂灭活疫苗免疫的 SPF 鸡, 当新城疫 HI 抗体效价达到 4log₂ 时, 攻毒保护率为 80% 以上, 当抗体水平 ≥ 5log₂ 时, 攻毒保护率为 100%; 当禽流感 HI 抗体效价达到 5log₂ 时,

攻毒保护率为 80% 以上,当抗体水平 $\geq 6\log_2$ 时,攻毒后保护率为 100%。本试验中以抗体效价 $\geq 5\log_2$ 判定为免疫合格。通过 2 组不同免疫程序下后备鸽新城疫、禽流感的免疫抗体跟踪监测,A 组首免后 7 d 产生抗体,21 d 加强免疫后激发机体产生更高抗体水平,新城疫抗体在免疫后第 7 周达峰值后逐渐下降,至免疫后 25 周在 $5\log_2$ 以上;禽流感在免疫后第 5 周达峰值后逐渐下降,至免疫后 25 周在 $7\log_2$ 以上,抗体合格率均达 100%。B 组经一次免疫,免疫后 7 d 产生抗体,新城疫抗体在免疫后第 3~7 周曲折达峰值后逐渐下降,至第 13 周降至 $5\log_2$ 以下,抗体合格率仅为 52%;禽流感在免疫后第 3 周达峰值后逐渐下降,至第 13 周降至 $6\log_2$ 以下,抗体合格率仅为 80%。从结果中可以看出,A 组首免后隔 21 d 进行二免的鸽群,新城疫与禽流感抗体水平和整齐度均显著高于只进行一次免疫的 B 组鸽群,免疫后 6 个月仍可维持高抗体水平,可有效抵抗新城疫和禽流感的感染;只进行单次免疫的 B 组,新城疫抗体保护期仅维持了 90 d,禽流感抗体也在免疫 90 d 后降至 $6\log_2$ 以下。在实验室条件下,HI 抗体滴度在 $5\log_2$ 时攻毒保护率为 80% 以上,并不能 100% 抵御病毒的攻击,同时考虑到现在复杂的养殖环境和禽群个体的差异,建议在实际生产中应尽量保持更高的 HI 抗体滴度,以确保能够完全抵御强毒的攻击。据此建议鸽场在实际生产中首次免疫至少进行 2 次以上的疫苗免疫。本试验为新城疫、禽流感疫苗在实际应用过程中选择与运用提供了试验依据,为更加有效预防新城疫和禽流感奠定了基础。

参 考 文 献

- [1] 单达聪,于肖寒,计峰,等.幼龄鸽新城疫母源抗体消长规律的研究[J].中国家禽,2019,41(1):65-67.
- [2] 杨秀环,白如念,李志衍,等.鸡新城疫疫苗免疫鸽血清抗体水平与攻毒保护关系初步研究[J].养禽与禽病防治,2010(9):11-14.
- [3] 栗新,胡祖余,吴昌宏,等.肉鸽使用 H₉ 亚型禽流感疫苗免疫效果和性能变化分析[J].家禽科学,2014(2):9-11.
- [4] 陈坤永,翁良树,张祥解,等.种鸽免疫禽流感疫苗 HI 抗体水平消长规律的研究[J].养禽与禽病防治,2004(7):12-13.
- [5] 邹永新,李剑荣,刘思伽,等.鸽禽流感与新城疫疫苗免疫母鸽抗体消长规律及其相互关系的探讨 [J]. 广东畜牧兽医科技,2005(5):32-34.
- [6] 江兴华,陈玉文,赵华娥,等.鸡新城疫、禽流感(H9N2 HP 株)二联灭活疫苗在商品蛋鸡和商品肉鸡上的免疫效果[J].黑龙江畜牧兽医,2017(4):128-130.
- [7] 丁卫星,王荣谈,孙明昌,等.鸡新城疫疫苗预防鸽 I 型副黏病毒病的免疫研究[J].上海农业学报,2014,30(1):72-74.
- [8] 江斌,林琳,吴胜会,等.不同免疫程序下鸽新城疫抗体水平测定与分析[J].福建畜牧兽医,2020,42(2):7-9.
- [9] 刘长清,黄秀英,李成山,等.鸡新城疫(基因 VII 型)、禽流感(H9 亚型)二联灭活疫苗(aSG10 株+G 株)在蛋鸡上的安全性及免疫效果研究[J].中国兽医杂志,2019,55(2):116-120.
- [10] 单达聪,于肖寒,计峰,等.首免日龄、免疫间隔与疫苗组合对幼鸽新城疫血凝抑制抗体效价的影响 [J]. 黑龙江畜牧兽医,2020(9):101-103.
- [11] 白军,刘淑红,焦铁军,等.鸡新城疫、禽流感(H9 亚型)二联油乳剂灭活疫苗免疫效力试验[J].动物医学进展,2013,34(3):58-61.
- [12] 李新生,彭志领,李燕,等.鸡新城疫、传染性支气管炎和禽流感(H9)联合免疫血清学效力与攻毒保护关系[J].中国兽医学报,2014,34(6):869-873.

【责任编辑:胡 敏】