

测,在免疫鸡群所检血清 HI 抗体滴度参差不齐,效价低的小于或等于 $2\log_2$,效价高的大于 $7\log_2$,有的甚至达到 $12\log_2$ 。在发病后 15 d 再采样进行鸡新城疫抗体监测。具体试验操作步骤如下。

5.1 血凝试验

1) 材料与试剂。

①器材:普通天平、分析天平、普通离心机、微型震荡器、煮沸消毒器、冰箱、高压灭菌器、微量移液器、滴头、96 孔 V 型血凝反应板。

②pH 7.2 磷酸盐缓冲液(PBS)。

③1%鸡红细胞悬液。

④标准新城疫病毒抗原。

2) 血凝试验操作程序。

①取 96 孔 V 型微量反应板,用微量移液器在 1~12 孔每孔加 0.025 mL PBS。

②吸取 0.025 mL 标准新城疫病毒抗原加入第 1 孔中,吹打 3~5 次,充分混匀。

③从第 1 孔中吸取 0.025 mL 混匀的抗原加到第 2 孔,并依次进行倍比稀释到第 11 孔,最后从第 11 孔吸取 0.025 mL 弃之,设置第 12 孔为 PBS 对照。

④每孔再加 0.025 mL PBS。

⑤每孔加入 0.025 mL 体积分数为 1%的鸡红细胞悬液。

⑥振荡混匀反应混合液,室温 20~25 °C 下静置 40 min 后观察结果。

⑦结果判定。以完全凝集的病毒最大稀释度为该抗原的血凝滴度。

5.2 血凝抑制试验

1) 材料与试剂。

①器材:普通天平、分析天平、普通离心机、微型震荡器、煮沸消毒器、冰箱、高压灭菌器、微量移液器、滴头、96 孔 V 型血凝反应板。

②pH 7.2 磷酸盐缓冲液(PBS)。

③标准抗 NDV 血凝抑制抗体(血清)。

2) HI 试验操作程序。

①根据血凝试验结果配置 4 个血凝单位(4HAU)抗原。以能引起 100%血凝的病毒最高稀

倍数代表 1 个血凝单位。

②取 96 孔 V 型微量反应板,在 1~11 孔各加入 0.025 mL PBS,在第 12 孔加入 0.05 mL PBS。

③在第 1 孔加入 0.025 mL 新城疫标准阳性血清,充分混匀后移出 0.025 mL 至第 2 孔,依次倍比稀释至第 10 孔,第 10 孔弃去 0.025 mL。

④在 1~11 孔各加入 0.025 mL 含 4HAU 抗原,轻叩反应板混合均匀。室温下静置不少于 30 min,4 °C 不少于 60 min。

⑤每孔加入 0.025 mL 体积分数为 1%的红细胞悬液,轻晃混匀后,室温下静置约 40 min。

3) 结果判定。HA 效价大于等于 $5\log_2$,且标准新城疫阳性血清对其 HI 效价大于等于 $5\log_2$,判为新城疫抗体阳性。

6 防控措施

首先要严格执行综合防疫灭菌措施;二是及时进行抗体监测,了解鸡群的抗体水平来确定最佳免疫时间;三是加强免疫接种工作,应用弱毒疫苗免疫后,再用灭活苗加强免疫,以便较好地获得高效的免疫效果;四是当鸡新城疫发生时,应马上将病鸡进行隔离、淘汰,同时对全群鸡进行紧急免疫接种;对于新引进的鸡苗,首先完全隔离观察 2 周,无任何异常,确认健康后方可混群饲养。

7 体会

在对非典型鸡新城疫进行临床诊断时,要注意以下内容。

非典型鸡新城疫发病症状不明显,连续死亡;由于鸡群的免疫抗体水平参差不齐,个别免疫水平低的鸡就死亡,但鸡群没有症状;当鸡群免疫抗体水平较低时如果受到鸡新城疫病毒强毒侵袭,鸡群会突然发病,产蛋量急剧下降。在诊断过程中要避免误诊为鸡呼吸道疾病(如传染性支气管炎、传染性喉气管炎、传染性鼻炎、气囊炎、霉形体病等),另外通过排出脱落的肠黏膜、颜色呈肉红色血便误认为是球虫病造成误诊,所以在诊断过程中要认真仔细观察,多解剖一些病鸡,需要综合诊断。