

# 禽霍乱荚膜亚单位菌苗的研究

## II. 免疫效力、免疫期和产蛋量影响的初步试验

林世棠 陈月英 陈萍

(福建省农科院畜牧兽医研究所)

杨芬 齐襄 金狮 林萍

(福建省农科院电镜室) (福建省兽医生物药品厂)

### 摘 要

采用冷食盐溶液从禽多杀性巴氏杆菌C48-1(A:5)菌株细胞壁提取粗荚膜抗原,并制成荚膜亚单位苗,分别对鸡和鸭重复效检均有效。对30只鸡免疫效检8批次,有效保护率在70%(23/30)以上;对52只鸭免疫效检9批次,有效保护率为92%(48/52)。接种鸡和鸭后3个月、4个月和5.5个月分别攻毒时,均能保护60~80%。接种产蛋鸡、鸭对产蛋量无影响。田间实地初试预防效果显著,为我国首次试制成功的一种较为理想的新型抗禽霍乱无细胞亚单位苗。

### 前 言

目前,我国各地使用的几种禽霍乱菌苗均为全菌细胞苗,普遍存在的弊病是免疫有效持续期较短,有些反应较重,而且接种母禽后产蛋量明显下降<sup>[3]</sup>,影响蛋禽生产性能。我们从禽多杀性巴氏杆菌菌体细胞壁提取一种粗荚膜抗原(CCA),试验结果已证明对鸡、鸭安全性可靠,并有良好的免疫原性早已报导<sup>[1,2]</sup>。为探索经提取浓缩的荚膜抗原作为一种抗禽霍乱无细胞苗在实际使用时是否存在类似的问题,为此,我们进行了多批次的提取并制成禽霍乱荚膜亚单位苗,还在兽医生物药品厂进行了初步试产。在作亚单位苗重复效检的同时,并进一步地对有效免疫持续期和母禽产蛋量的影响等进行了试验,有关此方面的试验研究,迄今尚未见专门报道。现将我们试验结果报道于后。

### 材 料 与 方 法

**一、荚膜亚单位苗的制备** 按以前所述方法的改良法<sup>[1]</sup>进行,采用我国的禽多杀性巴氏杆菌C48-1(A:5型)强毒作为提取荚膜抗原(CCA)的菌株,在实验室制备了12批荚膜亚单位苗(简称CCA亚单位苗),在兽医生物药品厂试制了四批冻干的CCA亚单位苗。

**二、电镜检查** 提取荚膜抗原后,将沉淀的菌体细胞用负染或超薄切片作透射电镜

\* 本文于1985年6月22日收稿。

检查,观察细胞壁的荚膜脱离情况,并用正常菌体细胞作对照。

**三、蛋白质的测定** 用Lowry法进行测定〔4〕,用牛血清白蛋白作标准。

**四、荚膜亚单位苗接种** 效检和免疫持续期所用试验动物系用未接种过其他禽霍乱菌苗的8~12周龄杂交鸡和1~1.5公斤的后备蛋鸭。亚单位苗接种量按前报〔1、2〕免疫原性测定的有效免疫蛋白质剂量为基础,适当增加使用剂量,每只禽用量约为1.10~1.70mg蛋白质,用20%氢氧化铝胶为佐剂,使每0.5毫升含上述一个免疫蛋白量,以胸部肌肉或翅下皮下接种一次。接种后经15~20天的用8批苗8个试验组,用于免疫期(3个月、4个月、和5.5个月)测定的鸡和鸭各免疫5批苗,到时分别用同源强毒菌株攻击,以观察亚单位苗免疫效力的稳定性和有效免疫持续期。

另外,为了解亚单位苗在鸭群中使用后有效免疫期,我们特地从野外三地的接种鸭群购进了免疫鸭18头,分别检测了接种后5个月,5.5个月和6个月三批苗的免疫期效力。

**五、荚膜亚单位苗对母禽产蛋量影响试验** 试验分别在野外养禽场的产蛋鸡和蛋鸭群以及专业户蛋鸭群中进行,按上述接种量作一次免疫。注苗前5天或10天和注苗后10天左右专人观察记录产蛋量,以比较前后的产蛋率。另在蛋鸡群中设空白(不打苗)对照群。所有试验群在观察期间内,固定饲养员,不改变饲料和管理条件。

## 试验结果

**一、CCA亚单位苗的检查** 经细菌分离检查证明,提取的荚膜物质不含致病性菌体细胞;高速离心的沉淀物以负染色和超薄切片作电镜检查,绝大多数菌体细胞外膜已经解离。

### 二、CCA亚单位苗效力稳定性检测结果

(一)对鸡的免疫效力:用8批亚单位苗免疫30只鸡共进行了三次免疫效力检测,结果见表1。从表中看出,接种后20天三次免疫鸡攻击后实际有效保护率分别为70.8%(8/10),70%(7/10)和75%(8/10),经统计学处理,免疫效果显著。

(二)鸭的免疫效力:用9批亚单位苗免疫52只鸭进行了两次免疫力效检,试验结果也从表1中看出,接种后15天对免疫鸭第一次效检攻击结果,实际有效保护率达100%(16/16),第二次效检时的实际有效保护率为85%(32/36),试验结果表明:CCA亚单位苗对鸭有坚强的免疫力。

**三、CCA亚单位苗免疫持续期检测结果** 在实验室对免疫3个月后检验三批苗共16只,攻毒结果平均有效保护率为68.7%,5.5个月检验两批苗共10只,有效保护率为70%(见表2)。

对鸭免疫4个月的3批苗(10只)和5.5个月的2批苗(14只)分别攻毒结果,免疫4个月的鸭有效保护率平均为80%,免疫5.5个月的有效保护率平均为71.1%(见表3)。

从表2和表3中看出,鸡、鸭一次接种本亚单位苗后,经5.5个月攻毒时,仍保持同近期效检时相似的良好免疫力。

同样,对野外鸭群免疫期抽检结果,5~5.5个月期鸭均获得60%的有效保护率,

6个月期鸭有效保护率为100%，表明CCA亚单位苗对生产鸭群的免疫持续期的效果同实验室是相似的。

**四、CCA亚单位苗对产蛋率影响结果** 亚单位苗对一大群产蛋鸡(530只)和三群产蛋鸭(2005只)接种后,对其产蛋量试验观察结果详见表4。从表中看出,除专业户的蛋鸭群免疫后10天,日平均产蛋率稍下降外(下降0.63%),而其他三个试验群日平均产蛋率均高于免疫前。

## 小 结 与 讨 论

一、在实验室和生物药品厂从禽霍乱多杀性巴氏杆菌C48-1(A:5)菌株细胞壁提取荚膜抗原,制成的荚膜亚单位苗免疫鸡和鸭均有效。16批次中对鸡免疫效检8批次,有效保护率累计为70%(23/30),对鸭免疫效检9批次,有效保护率累计为92%(48/52),经多批次重复效检试验表明,CCA亚单位苗免疫效果良好,稳定性可靠。

二、在实验室检测了9批亚单位苗10个试验组的免疫持续期,经不同免疫时间攻击结果,鸡和鸭接种后持续5.5个月仍可获得60~80%保护率。对野外免疫鸭抽查结果与实验室的测定效果基本一致。看来,亚单位苗要明显优于灭活苗和弱毒苗,其原因可能是由于亚单位苗比上述两种全菌细胞苗在免疫接种后能给禽体提供更多的免疫原性较好的膜蛋白物质。可见,禽类一次接种抗禽霍乱亚单位苗后,在体内能产生维持较长时间的抗体水平,得以保持良好的抗感染效果。

三、CCA亚单位苗另一个优点是接种产蛋禽安全性可靠、对产蛋量无明显影响,只有在接种时因抓捕禽只和注苗时的刺激,有2~3天短暂性产蛋量稍下降。但在接种后第3~4天产蛋量即开始恢复或回升。观察结果表明,不论是注苗的产蛋禽抑或是不注苗的对照群均对产蛋率的上升无多大影响,因此,本亚单位苗在产蛋期或偶然暴发禽霍乱流行时的蛋禽群,均可进行免疫接种。

表1 CCA亚单位苗对鸡和鸭效检结果(15~20天)

试验次数	鸡						试验次数	鸭						
	批号	免疫量(mg/只)		攻击结果				批号	免疫量(mg/只)		攻击结果			有效保护率(%)
		蛋白	多糖	菌数(个)	存活/试验	死亡/对照			有效保护率(%)	蛋白	多糖	菌数(个)	存活/试验	
1	CCA81	1.320	0.156	21	3/4	2/2	1	CCA101	1.743	0.303	10	4/4	100	
	CCA81-1	1.460	0.080	20	2/3	2/2		CCA141	1.398	0.332	10	4/4		4/4
	CCA82	1.401	0.108	20	3/4	3/4		CCA182	2.150	0.350	8/8			
2	CCA83	1.275	0.186	25	2/3		2	CCA184	1.117	0.160	23	4/6	85	
	CCA84	1.230	0.180	25	2/3	2/2		CCA183	1.061	0.183	6/6			
	CCA85	1.391	0.150	20	3/4			CCA186	1.525	0.235	5/6			
3	CCA187	1.600	0.0740	20	5/5	4/5	CCA188	1.172	0.163	23	6/6	3/4		
	CCA188	1.500	0.0410	20	3/5		CCA189	1.025	0.170	6/6				
							CCA10	1.267	0.227	5/6				

四、一年多来我们已将制成的CCA亚单位苗先后在福建、广东一些禽场或历来有

禽霍乱流行场以及专业户的鸡、鸭群中试用了将近5万余只,根据初步实地使用结果证明,CCA亚单位苗抗禽霍乱病的预防效果是成功的。大量区域性试验仍在继续进行中。

五、迄今,我国兽医生产用苗,均系有菌细胞苗,还未见无细胞苗的报导,荚膜亚单位苗研究成功,不仅为我国兽医疫苗研究和生产开辟了一条新途径,而且将为我国增添新一代的兽医生物制品。

表2 CCA亚单位苗对鸡免疫持续期测定结果

亚单位苗批次	免疫量 (mg/只)		免疫期 (月)	攻毒后		对照 死亡数/ 试验数	有效保护率 (%)
	蛋白质	多糖		菌数(个)	保护数/ 试验数		
CCA 8	1.462	0.095	3	20	3/5	4/4	68.7
CCA81-3	1.565	0.061	3	20	4/5		
CCA183	1.323	0.165	3	20	4/6		
CCA82	1.421	0.177	5.5	15	3/4	2/2	70
CCA83	1.275	0.186	5.5	15	4/6		

表3 CCA亚单位苗对鸭免疫持续期测定结果

亚单位苗批次	免疫量 (mg/只)		免疫期 (月)	攻毒后		对照 死亡数/ 试验数	有效保护率 (%)
	蛋白质	多糖		菌数(个)	保护数/ 试验数		
CCA 4	1.530	0.094	4	15	2/3	3/3	80
CCA 5	1.440	0.060	4	15	4/4		
CCA83	1.215	0.186	4	15	2/3		
CCA141	2.150	0.350	5.5	20	6/7	6/7	74.9
CCA182	1.414	0.135	5.5	20	5/7		
CCA8510-1	0.850	0.076	5	20	3/5	2/2	60*
CCA8510-2	1.100	0.116	5	20	3/5		
CCA853	1.500	0.171	6	20	3/3		
CCA18	0.500	0.150	5.5	35	3/5	5/5	60*

\*野外专业户鸭群接种后抽检结果

表4 CCA亚单位苗对产蛋率的影响

试验场	免疫		日平均产蛋数(个)			日产蛋下降率 (%)
	禽类	只数	免疫前	以免疫前为100	免疫后 和免疫前比值	
种鸡场	红波罗	530	315 (10天)	100	316 (10天)	100.4 +0.4
	红波罗	538	317 (10天)	100	335.5 (10天)	105.8 +5.8
蛋鸭场	闽黑鸭	291	210 (6天)	100	257.7 (10天)	122.4 +22.4
	闽黑鸭	614	417.1 (6天)	100	461.7 (10天)	110.6 +10.6
专业户	闽黑鸭	1100	821.2 (5天)	100	816 (10天)	99.4 -0.6

“+”号表示产蛋率上升。

## 参 考 文 献

- [1] 林世棠等, 1984, 家畜传染病. 3: 11~14.  
[2] 林世棠等, 1984, 兽医科技杂志. 12: 17~21.  
[3] 郑明, 1984, 兽医药品通讯. 4: 14~21.  
[4] Lowry, O. H. et al, 1951, J. Biol. 193, 268.

STUDIES ON THE CAPSULAR SUBUNIT VACCINE  
AGAINST FOWL CHOLERA  
II. POTENCY TEST, DURATION OF IMMUNITY OF VACCINE  
AND ITS EFFECT ON EGG PRODUCTION IN HENS AND DUCKS

Lin Shitang, Chen Yueying, Chen Ping

(*Research Institute of Animal and Veterinary Sciences,  
Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou*)

Yang Su, Qi Xiang

(*Department of Electron Microscopy, Fujian Academy  
of Agricultural Sciences, Fuzhou*)

Jin Shi, Lin Ping

(*Fujian Factory of Veterinary Bioproducts  
and Pharmaceuticals, Fuzhou*)

## Summary

A subunit vaccine against fowl cholera, which is an crude capsular antigens extracted from C48-(A:5) strain of *Pasteurella multocida* with a cold saline solution, has been produced. The results of experiment showed that chickens and ducks vaccinated (i. m. or s. c.) with 0.5ml of vaccine which contained 1.1-2.0mg of protein could resist the challenge of a virulent strain of *Pasteurella multocida*. In several tests, the rates of protection in vaccinated chickens and ducks were from 70% to 100%. It was found that the rate of protection could maintain above 70% in 3, 4 and 5.5 months after vaccination. There was no significant difference in the rate of egg production between the vaccinated and non-vaccinated hens and ducks.