

# 禽霍乱·新城疫二联油乳剂灭活疫苗研究 报

## ——疫苗对鸭和鹅的安全性及免疫效力试验

王红琳 杨峻 邵华斌\*, 温国元 艾地云 罗玲, 罗青平, 张蓉蓉

(湖北省农业科学院畜牧兽医研究所, 湖北武汉430064)

**摘要** [目的] 为禽霍乱、新城疫二联油乳剂灭活疫苗免疫鸭和鹅等水禽提供理论依据。[方法] 将禽A型多杀性巴氏杆菌接种固体培养基收获的菌液与鸡新城疫病毒弱毒株La Sota 接种易感鸡胚收获的感染鸡胚液混合, 用甲醛溶液灭活后制备成5批二联油乳剂灭活苗, 用于鸭和鹅的安全性及免疫效力试验。[结果] 5批二联苗对鸭和鹅的安全性试验表明, 免疫鸭和鹅均未出现任何不良反应; 免疫效力试验表明, 免疫后3周, 鸭和鹅的新城疫血凝抑制抗体效价均  $4 \log_2$ , 新城疫攻毒保护率均为100%, 禽霍乱攻毒保护率为66.7%~83.3%。[结论] 该二联苗用于免疫鸭和鹅安全可靠, 免疫效果良好。

**关键词** 禽霍乱; 新城疫; 二联苗; 安全性; 免疫效力

中图分类号 S859.5 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)36-15902-02

### Study on the Inactivated Oil Emulsion Binary Vaccine against Newcastle Disease and Fowl Cholera ( )

#### ——Safety and Immune Efficacy Test of the Vaccine on Duck and Goose

WANG Hong-lin et al (Institute of Animal Husbandry and Veterinary, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan, Hubei 430064)

**Abstract** [Objective] The aim of this study is to provide theoretical basis for immunizing waterfowls (duck and goose) with the inactivated oil emulsion binary vaccine against Newcastle Disease (ND) and Fowl Cholera (FC). [Method] Bacterial liquid from solid culture media inoculated avian Pasteurella multocida (APM type A) and allantoic fluid from embryonic eggs infected with Newcastle Disease Virus (NDV) attenuated strain La Sota were mixed and inactivated by formalin to prepare 5 batches of inactivated oil emulsion binary vaccine, which were then used for the safety and immune efficacy test on duck and goose. [Result] Immunized ducks and geese didn't performed any adverse reactions in the safety test of the 5 batches of vaccine; the immune efficacy test showed that NDHI antibody titers of ducks and geese were no less than  $4 \log_2$  three weeks after inoculation, and the protection rates against NDV and APM were 100% and 66.7% - 83.3%, respectively. [Conclusion] The binary vaccine against ND and FC is safe and reliable for duck and goose, and can provide sufficient immunity protection against ND and FC.

**Key words** Fowl cholera; Newcastle disease; Binary vaccine; Safety; Immune efficacy

在完成禽霍乱(Fowl Cholera, FC)、新城疫(Newcastle Disease, ND)二联油乳剂灭活疫苗的制备、对鸡的免疫效果及安全性试验<sup>[1]</sup>和疫苗的免疫持续期及保存期试验<sup>[2]</sup>后, 针对禽霍乱和新城疫近几年来在鸭和鹅等水禽中常有发生的现象<sup>[3-5]</sup>, 用该二联苗对鸭和鹅进行安全性及免疫效力试验, 旨在为其免疫水禽提供理论依据。

### 1 材料与方 法

**1.1 二联苗** 将禽A型多杀性巴氏杆菌[Avian Pasteurella multocida (type A)], APM接种固体培养基收获的菌液与鸡新城疫病毒(Newcastle Disease Virus, NDV)弱毒La Sota株接种易感鸡胚收获的感染鸡胚液混合, 用甲醛溶液灭活后制备成二联油乳剂灭活苗, 共5批(批号为2001-01~2001-05)。二联苗抗原含量NDV  $2 \times 10^7$  HD<sub>50</sub>/ml, APM  $6 \times 10^{10}$  CFU/ml(详见报<sup>[1]</sup>)。

**1.2 效力试验攻击用强毒株及攻击量** 参照国家标准进行<sup>[6]</sup>。APM效检用强毒为C48-1株, NDV效检用强毒为北京株, 均购自中国兽药药品监察所。每只鸭/鹅肌肉注射NDV强毒北京株鸡胚毒液1ml(含 $10^5$ ELD<sub>50</sub>)、肌肉注射APM强毒C48-1株菌液1ml(含1MLD)。

**1.3 供试鸭、鹅** 为湖北省农业科学院畜牧兽医研究所养禽场的江南麻鸭和四川白鹅, 隔离条件下饲养, 按试验设计要求入试, 入试前新城疫血凝抑制(NDHI)抗体效价应  $2$

$\log_2$ , 禽霍乱琼扩(AGP)抗体检测为阴性。

**1.4 5批二联苗对鸭和鹅的安全性试验** 用30只60日龄鸭/鹅进行安全性试验, 每只鸭/鹅胸部肌肉注射二联苗2ml(2倍使用剂量), 每批疫苗免疫接种6只。观察14d, 应不出现由疫苗引起的任何局部和全身不良反应, 且全部健活, 判为合格。

**1.5 5批二联苗对鸭和鹅的免疫效力试验** 用88只90日龄鸭/鹅进行免疫效力试验, 分为5个疫苗免疫组(每组16只, 共80只)和1个非免疫对照组(8只)。免疫组每只鸭/鹅胸部肌肉注射疫苗1ml。免疫后3周, 5个免疫组各取10只、对照组取5只, 每只鸭/鹅分别采血, 分离血清, 进行NDHI抗体效价测定, 免疫组抗体效价应  $4 \log_2$ , 对照组应  $2 \log_2$ ; 同时进行NDV强毒攻击保护率测定, 免疫组保护率应为100%。另外, 5个免疫组各取6只, 对照组取3只鸭/鹅进行APM强毒攻击保护率测定, 免疫组保护率应  $60\%$ 。

### 2 结果与分析

**2.1 5批二联苗对鸭和鹅的安全性试验** 30只供试鸭/鹅免疫接种后, 观察14d均未出现由疫苗引起的任何局部和全身不良反应, 且全部健活。5批疫苗对鸭/鹅的安全性试验全部判为合格。

**2.2 5批二联苗对鸭和鹅的免疫效力试验** 免疫3周后, 5个免疫组鸭(表1)和鹅(表2)的NDHI抗体效价均  $4 \log_2$ , 对照组均  $2 \log_2$ ; 5批二联苗NDV强毒攻击保护率均为100%。5个免疫组鸭APM强毒攻击保护率除1批二联苗(批号为2001-03)为66.7%外, 其余4批的保护率均为83.3%; 5个免疫组鹅APM强毒攻击保护率除2批二联苗(批号为2001-01, 2001-03)为66.7%外, 其余3批的保护率均为83.3%, 全部符合要求。

基金项目 湖北省科技厅十一五重大攻关项目(2006AA202A05)。

作者简介 王红琳(1966-), 女, 江苏海安人, 兽医师, 从事畜禽传染病预防研究。\* 通讯作者。

收稿日期 2008-10-10

### 3 结论

(1) 5 批禽霍乱、新城疫二联油乳剂灭活疫苗对 60 日龄鸭和鹅 2 倍使用剂量的安全性试验结果表明:鸭和鹅均未出现由疫苗引起的任何局部和全身不良反应,且全部健活。证明该二联苗用于免疫水禽(鸭、鹅)安全可靠,无任何毒副作用。

(2) 5 批二联苗对 90 日龄鸭和鹅的免疫效力试验结果表明:免疫后 3 周,5 个免疫组鸭、鹅的 ND H 抗体效价均

4 log<sub>2</sub>, 对照组均 2 log<sub>2</sub>;免疫组 NDV 攻毒保护率均为 100%, APM 攻毒保护率为 66.7%~83.3%。说明该二联苗免疫鸭和鹅等水禽,能获得较好的禽霍乱和新城疫免疫效果。

(3) 在水禽免疫的研究中,关于副粘病毒和禽多杀性巴氏杆菌目前只有相关单价疫苗的免疫效果报道<sup>[7-8]</sup>。该研究为禽霍乱、新城疫二联油乳剂灭活疫苗免疫鸭和鹅等水禽提供了理论依据,其临床应用效果有待于田间试验的进一步验证。

表1 鸭的免疫效力试验

Table 1 The results of immune efficacy test on ducks

组别 Group	日龄 d Age	数量 只 Number	免疫剂量 rh Immunizing dose	ND H 抗体 xlog <sub>2</sub> ND H antibody titer		NDV 攻毒保护率 % (保护数 攻毒数) Protection rate against NDV (Protective number/ challenge number)	APM 攻毒保护率 % (保护数 攻毒数) Protection rate against APM (Protective number/ challenge number)
				免疫前 Before immunization	免疫后3周 3 weeks after immunization		
2001-01	90	16	1	2	4.2 (4~5)	100 (10/10)	83.3 (5/6)
2001-02	90	16	1	2	4.6 (4~5)	100 (10/10)	83.3 (5/6)
2001-03	90	16	1	2	4.2 (4~5)	100 (10/10)	66.7 (4/6)
2001-04	90	16	1	2	4.4 (4~5)	100 (10/10)	83.3 (5/6)
2001-05	90	16	1	2	4.8 (4~5)	100 (10/10)	83.3 (5/6)
对照组 Contrl group	90	8	-	2	2	0 (0/5)	0 (0/3)

表2 鹅的免疫效力试验

Table 2 The results of immune efficacy test on geese

组别 Group	日龄 d Age	数量 只 Number	免疫剂量 rh Immunizing dose	ND H 抗体 xlog <sub>2</sub> ND H antibody titer		NDV 攻毒保护率 % (保护数 攻毒数) Protection rate against NDV (Protective number/ challenge number)	APM 攻毒保护率 % (保护数 攻毒数) Protection rate against APM (Protective number/ challenge number)
				免疫前 Before immunization	免疫后3周 3 weeks after immunization		
2001-01	90	16	1	2	4.4 (4~5)	100 (10/10)	66.7 (4/6)
2001-02	90	16	1	2	4.2 (4~5)	100 (10/10)	83.3 (5/6)
2001-03	90	16	1	2	4.6 (4~5)	100 (10/10)	66.7 (4/6)
2001-04	90	16	1	2	4.2 (4~5)	100 (10/10)	83.3 (5/6)
2001-05	90	16	1	2	4.4 (4~5)	100 (10/10)	83.3 (5/6)
对照组 Contrl group	90	8	-	2	2	0 (0/5)	0 (0/3)

### 参考文献

- [1] 邵华斌,杨峻,刘泽文,等.禽霍乱、新城疫二联油乳剂灭活疫苗研究 I 报[J].湖北农业科学,2006(5):647-649.
- [2] 邵华斌,杨峻,刘泽文,等.禽霍乱、新城疫二联油乳剂灭活疫苗研究 II 报[J].湖北农业科学,2007(3):433-435.
- [3] 耿金华,蔺月英.鸡、鸭、兔巴氏杆菌病交叉感染的诊治[J].畜牧与兽医,1995(4):177-178.
- [4] 李康然.水禽疾病的一些新问题[J].广西畜牧兽医,2000(2):40-43.
- [5] WANG HL, YANG J, SHAO HB, et al. Studies on the inactivated oil emulsion binary vaccine against Newcastle Disease and Fowl Cholera( )—Safety and immune efficacy test of vaccine on duck and goose[J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9(5):106-108.
- [6] 中华人民共和国农业部. 中华人民共和国兽用生物制品质量标准 2001 年版[M]. 北京:中国农业出版社,2001:57-58,62-63.
- [7] 凌明亮. 鹅巴氏杆菌油乳剂灭活疫苗的研制与应用效果[J]. 畜牧兽医科技信息,2005(3):33-34.
- [8] 李文良,冯太兰,戴亚斌,等. 鸡新城疫疫苗对鹅副粘病毒病免疫效果观察[J]. 中国预防兽医学报,2008(6):478-481.
- [9] 李广生. 镰孢菌 F2 毒素对培养软骨细胞的影响[J]. 生物化学与生物物理进展,1993,20(5):364-368.
- [10] 杨建伯. 镰孢菌 F2 毒素致鸡雏关节软骨病变观察[J]. 中国地方病学杂志,1994,13(1):1-2.
- [11] GUIDO F, WOLFGANG D. Relevance of airborne fungi and their secondary metabolites for environmental[J]. Occupational and Indoor Hygiene Arch Microbiol, 2003, 179:75-82.
- [12] ABDULRAHMANS A. Viable airborne fungi in Riyadh, Saudi Arabia[J]. Aerobiologia, 1999, 15(2):121-130.
- [13] PENG HY, WANG YL, SUN LJ, et al. Quantitative study on the Fusarium in chicken house environment[J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9(5):102-105.
- [14] HSCHER G, MULLER T, SCHWALBE R, et al. Exposure to airborne fungi, MOC and mycotoxins in bio-waste handling facilities[J]. Int J Hyg Environ Health Res, 2000, 203:97-104.
- [15] MA Y, LI J, WANG B, et al. Study on the quantity dynamic changes of heterobacteria and vibrios in larvae industrialized culture system[J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9(2):116-121.

(上接第 15901 页)