

B亚群禽白血病病毒灭活疫苗的免疫效力分析

李 薛¹, 李卫华^{1,2}, 赵 鹏¹, 崔治中^{1*}, 王 鑫³, 董 宣¹

(1. 山东农业大学动物科技学院 山东省畜禽疫病防控工程技术研究中心, 泰安 271018;

2. 中国动物卫生与流行病学中心, 青岛 266032; 3. 中国农业科学院家禽研究所, 扬州 225003)

摘要: 本研究旨在制备 B 亚群禽白血病的灭活疫苗, 探索能否通过种鸡群疫苗免疫减少带毒率, 从而加快禽白血病净化。将 B 亚群禽白血病毒 SDAU09C2 株在鸡胚成纤维细胞(CEF)上连续培养复制大量病毒, 制备灭活疫苗, 用该疫苗免疫 9 只产蛋祖代鸡, 同时设未免疫种鸡对照。收取种蛋孵化, 对孵出雏鸡接种 SDAU09C2, 检测和比较有和无母源抗体鸡的病毒血症、泄殖腔 p27、抗体动态。该疫苗在所有经免疫的成年鸡(9/9)诱发抗体反应, 在三免后第 3 周产生的抗体水平最高, ELISA 检测 S/P 值在 1.69~1.89(阳性临界值为 0.4), 且维持 4 周以上后仍未下降。经过疫苗免疫过的母鸡在其抗体水平最高的前后 1 周内收集种蛋进行孵化, 其雏鸡含母源抗体阳性率的在 70%(12/17)左右。雏鸡 1 日龄攻毒, 含母源抗体的 12 只雏鸡中只有 4 只检出病毒血症, 且持续时间都很短。所有 9 只不含母源抗体的雏鸡在攻毒后 4~8 周内全部出现病毒血症, 而且在观察期内呈现持续性病毒血症。该疫苗能使全部产蛋祖代鸡产生较高水平的特异性抗体, 为雏鸡提供母源抗体, 有效预防或减缓 ALV-B 的早期感染。

关键词: B 亚群禽白血病毒; 细胞灭活疫苗; 免疫保护

中图分类号: S852.659.3

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2012)11-1788-07

Protective Effect Analysis of Inactivated Vaccine of Subgroup B Avian Leukosis Viruses in Chicken Breeder Farms

LI Xue¹, LI Wei-hua^{1,2}, ZHAO Peng¹, CUI Zhi-zhong^{1*}, WANG Xin³, DONG Xuan¹

(1. Shandong Engineering Research Center for Animal Disease Control and Prevention, College of Animal Science and Technology, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China;

2. China Animal Health and Epidemiology Center, Qingdao 266032, China; 3. Poultry Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Yangzhou 225003, China)

Abstract: To develop a inactivated vaccine against subgroup B avian leukosis viruses (ALV-B) and determine if vaccination of chicken breeders could protect young chicks from ALV-B horizontal infection at early stage and accelerate eradication progress. Chicken embryo fibroblast (CEF) cells were inoculated with SDAU09C2 strain of ALV-B and ALV-CEF was inactivated for preparation of oil-adjuvant vaccine. Eggs were collected from un-vaccinated and 9 vaccinated great parent female chickens for incubation. One-day-old chicks were bled for testing their maternal antibodies to ALV-A/B and then inoculated with ALV-B. Viremia and cloaca p27 detection dynamics were tested and compared between chick groups with or without maternal antibody to ALV. In 3 weeks after the 3rd vaccination with the inactivated vaccine, all 9 vaccinated breeders developed high antibody titers against ALV-A/B with ELISA read values of 1.69-1.89 (the positive base line was 0.4) and kept at the high titers for at least another 4 weeks. Maternal antibody was detected in 70% (12/17) of chicks from breeders with high antibody titers to ALV-A/B. Only 4 of 12 chickens with maternal antibodies developed temporary viremia and no viremia was detected in

收稿日期: 2012-04-23

基金项目: 种鸡场禽白血病防控与净化技术的集成(201203055)

作者简介: 李 薛(1988-), 男, 山东泰安人, 硕士生, 主要从事分子病毒学研究, E-mail: lixue880209@163.com

* 通讯作者: 崔治中, 博士生导师, E-mail: zzcui@sdau.edu.cn

the left 8 maternal antibody positive chickens during the whole 14 weeks after inoculation of ALV-B at 1 day of age. But the persistent viremia was detected in 2-8 weeks in all 9 maternal antibody negative chickens and the viremia persisted in the whole tested period of 14 weeks after inoculation of ALV-B. The inactivated ALV-B vaccine could induce high titer antibody reaction to ALV-B, it could provide maternal antibodies to 1-day-old chickens and protect chickens from early infection of ALV-B.

Key words: avian leukosis virus subgroup B; cells inactivated vaccine; immune protection

禽白血病是引起禽类产生肿瘤的主要疫病之一,其病原是反转录病毒科 α 反转录病毒属的禽白血病病毒(Avian leukosis virus, ALV)。根据病毒囊膜糖蛋白的抗原结构、病毒宿主范围及在细胞培养上不同毒株之间的相互干扰作用,将 ALV 分为 A~J 10 个亚群,其中 A、B、C、D、E 和 J 6 个亚群存在于鸡群中^[1]。A、B 和 J 亚群为鸡群中引发肿瘤的主要外源性 ALV,而在鸡群中较少见由 C、D 亚群外源性 ALV 引发的肿瘤,E 亚群病毒为内源性白血病病毒,对鸡的致病性很低或无致病。在 20 世纪 80 年代以前,A、B 亚群 ALV 是引起鸡群淋巴性白血病和各种类型肿瘤的 2 类病毒,但在 80 年代中期,国际大型种鸡公司已基本消除了鸡群中 A、B 亚型 ALV 的感染。但在 1989 年,Payne 等发现了一种主要引起鸡的骨髓样细胞瘤的新型病毒^[2-3],即 J 亚群禽白血病病毒。从 20 世纪 90 年代起,J 亚群禽白血病在白羽肉鸡中广泛流行,给肉鸡业造成了很大的经济损失。经过几十年的防制和净化措施,国际上多数大型种鸡公司已基本净化了 ALV-J 感染。在过去的十年里,中国对 J 亚群 ALV 的流行状况已出现大量报道,最初该病毒主要在引进的国外白羽肉用型种鸡中出现^[4-7],随后发现 ALV-J 在中国蛋用型鸡、南方三黄鸡和纯地方品系中也开始引发骨髓样细胞瘤并广泛流行^[8-11]。

由于近几十年来中国从未在全国范围内进行对 ALV 的净化措施,中国鸡群特别是地方品系中极可能存在外源性 ALV 的感染。近几年,鸡白血病/血管瘤病例屡见不鲜,鸡白血病已经成为危害中国养鸡业的重要疫病之一。朱美真等^[12]在山东某地方品系分离到 1 株 A 亚群禽白血病病毒,赵冬敏等^[13]在中国地方品系芦花鸡中分离到 B 亚群禽白血病病毒,说明中国鸡群中存在 A、B 亚群禽白血病病毒的感染。

在国外禽白血病净化过程中仅仅提到了免疫监测手段,从未提到疫苗免疫的途径,说明当今世界并无可用的禽白血病疫苗可用,本研究在世界上首次

成功制备了 ALV-B SDAU09C2 株的细胞灭活苗,并成功引起免疫成年产蛋鸡产生抗体,且能保护其不受 B 亚群禽白血病病毒的感染。通过免疫成年鸡能为其雏鸡提供母源抗体,能明显延迟攻毒后病毒血症和棉拭子排毒阳性出现的时间,缩短病毒血症和棉拭子排毒阳性持续的时间,明显减低病毒血症和棉拭子排毒的 S/P 值,从而避免雏鸡 B 亚群禽白血病病毒的早期感染,加快了禽白血病的净化进程。

1 材料与方法

1.1 病毒和病毒的扩增

ALV-B SDAU09C2 株是由山东农业大学动物科技学院家禽肿瘤病实验室于 2009 年从山东某芦花鸡场分离所得^[13]。将 ALV p27 抗原阳性的 SDAU09C2 的细胞上清接种于 20 瓶新长成的单层 CEF 上,在细胞培养皿中盲传 3 代后(最后 1 次传代传至含有盖玻片的 6 孔板上),用 pH=6.8 小牛血清浓度为 0.5% 的维持液维持 5 d,取细胞上清液用 ALV-p27 抗原试剂盒(IDEXX 公司)检测 ALV-p27 抗原,剩余上清保存于 -70 °C 用于病毒含量检测,攻毒。收集带毒细胞,盖玻片上的细胞用于 IFA 检测,其他的用于疫苗制备。

1.2 间接免疫荧光试验(IFA)

对盖玻片上的细胞,用冷的丙酮:无水乙醇(体积比 6:4)固定液固定 5 min,将 1:500 稀释的 ALV-A 单因子血清(由于禽白血病的 A、B 亚群 gp85 同源性很高,所以 A 亚群单因子血清对 B 亚群禽白血病病毒也有中和作用)^[14]加到固定好的载玻片上,37 °C 孵育 45 min,1×PBS 洗涤 3 次,加上 1:120 稀释的 FITC 标记的羊抗鼠荧光抗体(Sigma 公司),37 °C 作用 45 min,1×PBS 洗涤 3 次,加 1 滴 50% 甘油于盖玻片上,在荧光显微镜下观察结果。

1.3 病毒定量

取预先冻存于 -70 °C 的细胞上清 100 μ L 作连续的 10 倍稀释,每个稀释度的病毒液接种 8 个铺有

DF-1 细胞的细胞孔,在 37 ℃,5%CO₂ 条件下培养 9 d 后,检测上清液中是否含有 ALV-p27,按 Reed-Muench 的方法测定 TCID₅₀。

1.4 细胞灭活疫苗的制备

将收集的带毒细胞用 PBS 稀释至 5 mL,用体积比为 0.2% 的甲醛,在 37 ℃ 培养箱内作用 24 h,将灭活的细胞与 MONTANIDE ISA 775 VG (佐剂) 体积比为 2.6 : 7.4 进行充分乳化,制备出 ALV-B 细胞灭活疫苗。

1.5 实验动物及其分组、免疫、攻毒

9 只成年祖代鸡多点注射制备的细胞灭活疫苗 1 mL (约含细胞 1 000 万左右),未注射疫苗 9 只成年祖代鸡作为对照。在免疫过的成年产蛋鸡抗体水平最高时,分别从免疫组和未免疫组随机抽取 4 只免疫过的成年鸡和 4 只未免疫成年鸡进行攻毒,肌肉多点注射 SDAU09C2 1 mL (TCID₅₀ 为 10^{4.6} · 0.1 mL⁻¹),每周采抗凝血、非抗凝血、棉拭子进行检测。在免疫过的成年产蛋鸡抗体水平最高时收集种蛋 (包括无抗体对照组) 进行孵化。孵出雏鸡 33 只,其中有抗体鸡的种蛋孵出的雏鸡 17 只,无抗体鸡的种蛋孵出的雏鸡 16 只。将雏鸡分为 4 组,一组为有抗体鸡的种蛋孵出的 13 只雏鸡,1 日龄腹腔攻毒;二组为确定含母源抗体雏鸡 4 只,腹腔注射 PBS (目的是看母源抗体消长规律);三组为无抗体鸡的种蛋孵出的 13 只雏鸡,1 日龄腹腔攻毒;四组为无抗体鸡的种蛋孵出的 3 只雏鸡,腹腔注射 PBS,作为对照。每周采抗凝血、非抗凝血、棉拭子进行检测。

1.6 成年鸡 ALV-A/B 特异性抗体检测

5 只 35 周龄成年鸡经过 4 次免疫,每只鸡多点注射 (胸部肌肉、颈部皮下注射) 1 mL 灭活苗 (约 1 000 万细胞),每周采非抗凝血 0.5 mL;4 只免疫成年鸡出现高水平抗体攻毒后和 4 只对照成年鸡攻毒后,每周采非抗凝血 0.5 mL,分离血清,用 IDEXX 公司的 Avian Leukosis Virus Antibody Test Kit 检测,具体方法见试剂盒说明书。

1.7 成年鸡病毒血症和棉拭子排毒特异性 p27 抗原检测

未攻毒前采抗凝血 0.5 mL,离取血浆接种 DF1 细胞,用于病毒血症检测,采棉拭子用于检测排毒。攻毒后,每周采棉拭子、采抗凝血 0.5 mL,用 IDEXX 公司的 Avian Leukosis Virus Antigen Test Kit 检测,具体方法见试剂盒说明书。

1.8 雏鸡 ALV-A/B 特异性抗体检测

1 日龄采非抗凝血 0.3 mL,分离血清,检测母源抗体。攻毒后,每周采非抗凝血 0.3 mL,分离血清,用 IDEXX 公司的 Avian Leukosis Virus Antibody Test Kit 检测,具体方法见试剂盒说明书。

1.9 雏鸡病毒血症和棉拭子排毒特异性 p27 抗原检测

1 日龄采抗凝血 0.5 mL,离取血浆接种 DF1 细胞,用于病毒血症检测,采棉拭子用于检测排毒。攻毒后,每周采棉拭子、采抗凝血 0.5 mL,用 IDEXX 公司的 Avian Leukosis Virus Antigen Test Kit 检测,具体方法见试剂盒说明书。

2 结果

2.1 接种 ALV-B SDAU09C2 的 CEF 的感染状态

为了保证疫苗中含有足够的抗原,将 ALV-B 感染的 CEF 做连续传代,每次在平皿中都加入一盖玻片,每代细胞在培养 5 d 时,取出盖玻片用 ALV-A 单因子血清做 IFA,在传至第 3 代的细胞,IFA 检测绝大多数细胞细胞质中有绿色荧光、细胞核无荧光 (图 1),证明几乎所有细胞都已感染 ALV-B。此时收集细胞上清液,用 p27 抗原检测试剂盒检测,ELISA 检测 S/P 值高至 2.138 (0.2 为阳性临界值) 对上清液进一步检测,含 10^{4.6} · 0.1 mL⁻¹ TCID₅₀。

2.2 祖代成年鸡接种细胞灭活疫苗后的抗体反应动态

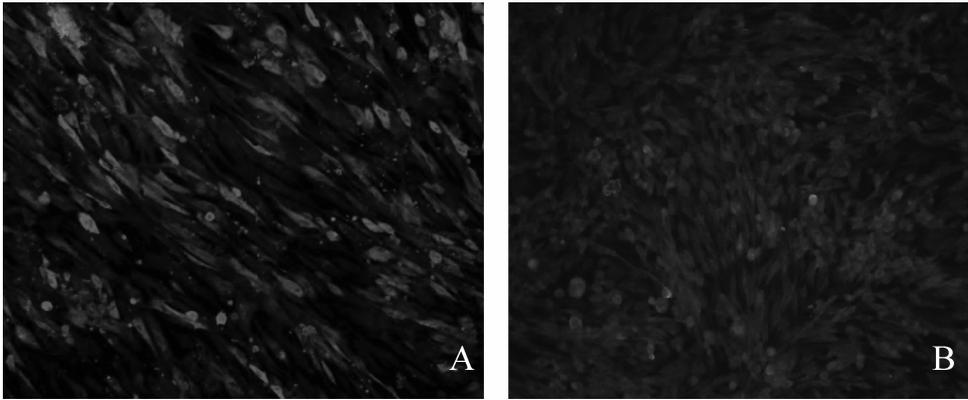
免疫 9 只 35 周龄成年鸡 (5 只祖代鸡用于疫苗免疫后抗体检测,另外 4 只成年鸡用于免疫保护试验),每只鸡多点注射 1 mL 灭活疫苗 (约 1 000 万细胞)。每周采非抗凝血 0.5 mL,ELISA 检测特异性抗体。未免疫前抗体全为阴性,第 1 次免疫 9 只成年祖代鸡全为阳性,S/P 在 0.430 ~ 1.088 (阳性临界值为 0.4);第 2 次免疫抗体较高阳性水平能维持 4 周,S/P 在 0.630 ~ 1.473;第 3 次免疫后第 3 周抗体水平最高 S/P 在 1.69 ~ 1.89,阳性约维持 4 周;第 4 次免疫抗体水平不再升高 (图 2)。对照组一直未出现 ALV-B 特异性抗体阳性。

2.3 经免疫种鸡攻毒后的排毒和病毒血症动态

2.3.1 特异性抗体反应动态 4 只免疫过的鸡 (编号为图 3A 中的 158、225、179、161) 攻毒后,抗体水平先在 4 ~ 5 周下降,然后显著上升,并在观察期内一直保持阳性 (图 3A);未免疫组 4 只鸡 (编号为图 3B 中的 144、165、223、262) 攻毒后,其中 2 只鸡抗体

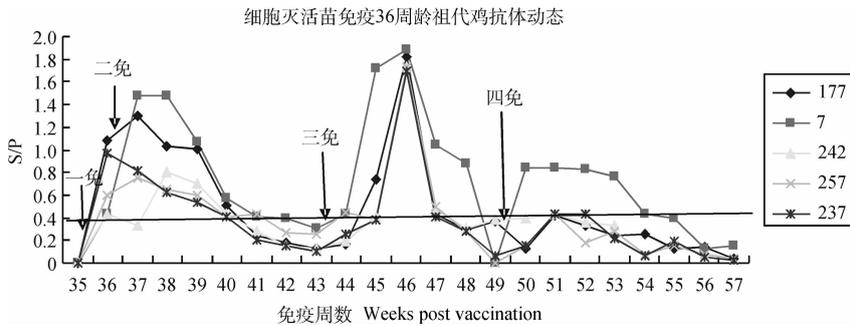
水平一直为阴性,另外 2 只鸡从第 4 周起一直保持抗体水平阳性,但其 S/P 值较有抗体组要低一些(图

3B)。从试验结果看出,免疫后的成年祖代鸡再次感染该病毒时,与对照组相比能够增强其免疫反应。



A 是接种 ALV-B SDAU09C2 株的 CEF 细胞的 IFA 结果,B 是未感染 ALV-B 的空白 CEF 细胞 IFA
Fig. A show IFA result of CEF cell vaccinated ALV-B SDAU09C2, Fig. B show IFA negative control result of CEF cell

图 1 接种了 SDAU09C2 株 ALV-B 的 CEF 细胞 IFA (×100)
Fig. 1 The IFA of CEF inoculated with ALV-B strain SDAU09C2 (×100)



图中 177、7、242、257、237 为鸡的编号,下图同
The numbers 177, 7, 242, 257, 237 were the code of chickens. The same as below

图 2 ALV-B 灭活疫苗免疫祖代鸡后抗体动态
Fig. 2 The antibody dynamics after vaccination with inactivated ALV-B vaccine

2.3.2 泄殖腔 p27 抗原的检出动态 4 只免疫过的鸡攻毒后,棉拭子特异性 p27 抗原一直为阴性,且 S/P 值几乎为 0;未免疫组 4 只鸡攻毒后,棉拭子特异性 p27 抗原虽然也一直为阴性,但 S/P 值已达到 0.182,接近阳性临界值。

鸡 ELISA 检测母源抗体,其中抗体阳性有 12 只,其 S/P 在 0.616~0.843。母源抗体的消长规律:4 只含母源抗体鸡通过连续抗体 ELISA 检测可知,母源抗体能持续 1 周左右。含母源抗体组攻毒后,仅有 1 只鸡在 14 周出现抗体反应,而不含母源抗体组攻毒后,因早期感染产生严重的免疫耐受,从而一直未出现抗体阳性。

2.3.3 病毒血症的动态 4 只免疫过的鸡攻毒后,每周采集血浆接种 DF1 培养 9 d 后,p27 ELISA 检测 S/P 值几乎为 0;未免疫组 4 只鸡攻毒后,病毒血症虽然也一直为阴性,但 S/P 值已达到 0.186,接近阳性临界值。

2.4.2 母源抗体对雏鸡攻毒后泄殖腔 p27 抗原检出动态的影响 1 日龄 ELISA 检测母源抗体阳性的 12 只雏鸡攻毒后,只有 4 只第 9~10 周泄殖腔棉拭子 P27 出现短暂阳性,最多持续 2~3 周,且 S/P 值均不高(与不含母源抗体组相比),最高也只有 0.43,略高于阳性的最低值(图 4A),其余 8 只在整个 14 周检测期内泄殖腔 P27 均为阴性。与此相反,

2.4 母源抗体对雏鸡的保护作用
2.4.1 母源抗体对雏鸡攻毒后特异性抗体反应动态的影响 在产蛋种鸡抗体水平最高的前后 1 周内收集种蛋进行孵化,共孵出雏鸡 17 只,1 日龄雏

不含母源抗体组的 9 只雏鸡攻毒后,都在第 2~6 周后分别出现棉拭子排毒阳性,持续 8~9 周。且 S/P

均比较高,最高的是 B4,其 S/P 值为 1.312,一般在 0.565~1.312,显著高于阳性最低值(图 4B)。

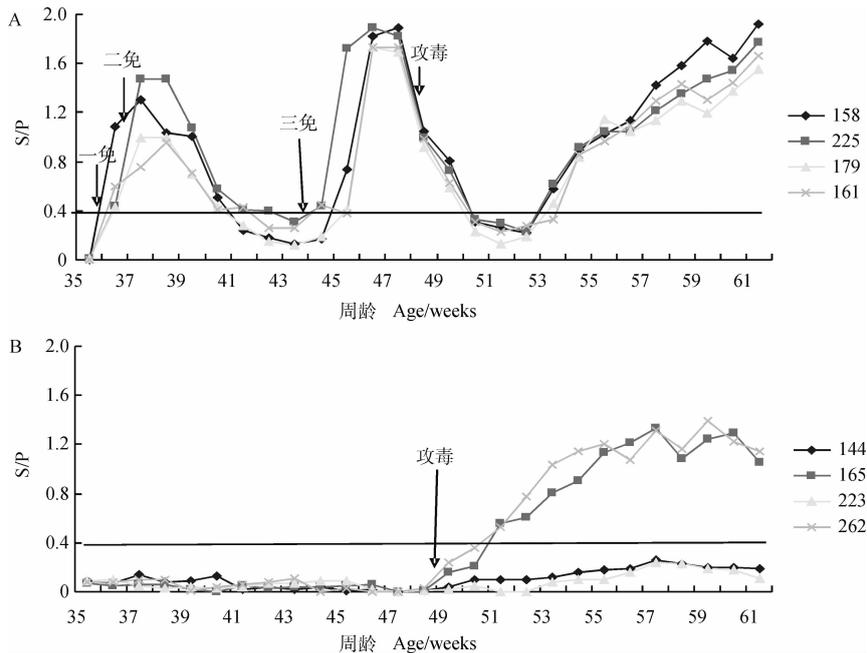


图 A 为有抗体成年鸡攻毒后抗体反应动态图 B 为无抗体成年鸡攻毒后抗体反应动态

Fig. A is the antibody dynamics of having antibody and vaccinated subgroup B avian leukosis virus chickens. Fig. B is the antibody dynamics of not having antibody and vaccinated subgroup B avian leukosis virus chickens

图 3 成年祖代鸡攻毒后抗体反应动态

Fig. 3 The antibody dynamics of vaccinated subgroup B avian leukosis virus chickens

2.4.3 母源抗体对雏鸡攻毒后病毒血症动态的影响 攻毒前采血,病毒分离全为阴性,攻毒后前 3 周不论有或无母源抗体组均未检出病毒血症。无母源抗体鸡攻毒后,从 4 周起开始检出病毒血症,然后比例逐渐增加,在第 8 周时所有 9 只鸡全部检出病毒血症。含母源抗体组攻毒后,12 只中只有 4 只鸡检出病毒血症,最早也在 7 周后才被检出,而且病毒血症都是一过性的,最多持续 4 周,而其他 8 只鸡在连续观察的 14 周内始终未检出病毒血症(表 1)。

3 讨论

近几年,中国各地鸡场在鸡群开产后发生白血病/血管瘤的病例报道增多,病毒分离鉴定表明,白血病/血管瘤主要由 J 亚群禽白血病病毒引起,但同时也有由 A、B 亚群禽白血病病毒感染引起的。虽然 A 和 B 亚群在 20 世纪 80 年代是鸡群中最为常见的 ALV,但由于在 1987 年以后国际上大型种鸡公司已基本实现了 ALV 净化,此后少有关于 A 亚群或 B 亚群白血病的病例报道。美国不久前报道了从马立克氏病疫苗中分离到 ALV-A^[15-17],但有关

B 亚群白血病分离株的报道已过去多年。近几年来作者实验室相继从芦花鸡、地方品系鸡的种蛋中分离到 ALV-B^[13,18],说明中国地方品系的种鸡中存在 ALV-B 的感染。根据作者实验室近十年的流行病学调查,其中 A、B 亚群禽白血病病毒在群体的感染率在 47.9% 左右,个体的感染率在 3.4% 左右,而且大部分为祖代鸡群和父母代鸡群,说明中国种鸡群中还存在比较严重的 ALV-A、B 的感染。

对禽白血病的防控,目前国内外都无有效疫苗。禽白血病主要是垂直传播,防控主要要靠原种鸡群的彻底净化。禽白血病净化的国际金标准:对核心鸡群每只鸡分别在 10 周龄和 24 周龄左右至少 2 次采血分离病毒。采集的血浆接种 DF-1 细胞,连续培养 9 d 后检测培养上清液中有无 p27 抗原,凡阳性者全部淘汰。对保留的核心群种鸡的下一代所有出壳鸡,检测胎粪中的 p27,淘汰所有阳性鸡。如此反复^[19]。禽白血病的净化是个十分复杂的过程,而且这至少要经过 4~5 个世代。在每轮检测淘汰过程中,不可能将所有的鸡全部检测出来,因此不可能将带毒鸡全部淘汰,很容易造成遗漏。这少量的漏

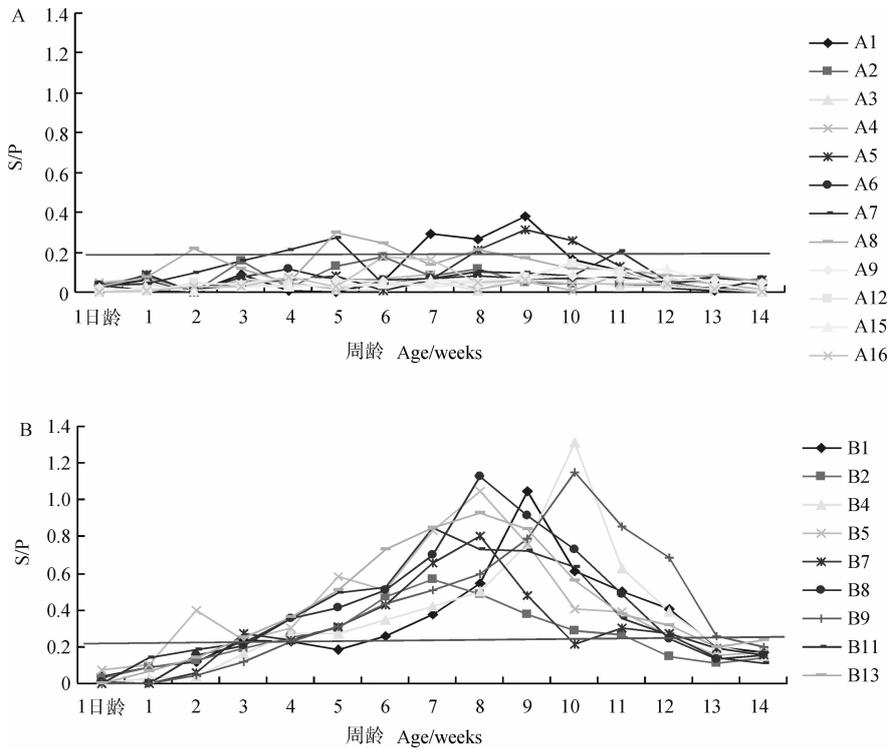


图 A 含母源抗体雏鸡的检出动态;图 B 不含母源抗体雏鸡的检出动态

Fig. A. Chickens with maternal antibody to ALV-B; Fig. B. Chickens without maternal antibody to ALV-B

图 4 母源抗体对 1 日龄雏鸡接种 ALV-B 后泄殖腔 p27 抗原检测动态的影响

Fig. 4 Influence of maternal antibody on detection rates of cloaca swab p27 in chickens with or without maternal antibody after challenge with ALV-B in 1-day-old chicks

表 1 母源抗体对雏鸡 1 日龄攻毒后病毒血症动态的影响

Table 1 Influence of maternal antibody on the viremia dynamic after challenge of ALV-B in 1-day-old chicks

编号 No.	周龄 Age/weeks													
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
含母源抗体攻毒组	A1	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	
	A2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	A3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	A4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	A5	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	
	A6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	A7	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
	A8	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	
	A9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	A12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	A15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	A16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	不含母源抗体攻毒组	B1	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		B2	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		B4	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		B5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B7		-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
B8		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
B9		-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
B11		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
B13		-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

十为 p27 检测阳性, - 为 p27 检测阴性。根据 IDEXX 试剂盒要求, 高于 0.2 为阳性, 低于 0.2 为阴性

+ stand for positive, - stand for negative. According to IDEXX Avian Leukosis Virus Antigen Test Kit, >0.2 is positive, <0.2 is negative

检的带毒鸡,不仅会垂直传到下一代,还可能在下一世代的雏鸡扩大传播。因此,禽白血病的净化是个长期且持续的过程。

本研究制备的 ALV-B 细胞灭活疫苗,不仅能够使开产成年鸡 100% 产生特异性抗体,保护免疫过的种鸡不受 B 亚群禽白血病病毒感染,至少不再有病毒血症,降低垂直传播的概率。而且,在抗体水平最高时收集种蛋,其孵化出的小鸡,多数都有母源抗体。本研究证明,与没有母源抗体的雏鸡相比,具有特异性母源抗体的雏鸡在人工接种 B 亚群禽白血病病毒后,发生病毒血症和从泄殖腔棉拭子检出 p27 的比例低得多,出现时间也晚得多,且持续的时间很短,不会发生持续性病毒血症和排毒,从而可加快净化进程。由于每个世代的核心种鸡群一般是在开产后 6~10 周,在 1~2 周内采集种蛋做 1~2 次孵化供选种用,因此种鸡对 ALV-B 的高抗体水平只要能维持在 4 周以上就足够了。研究表明,经 3 次免疫后,种鸡对 ALV-B 的高抗体水平足以维持在 4 周以上。因此,应用次灭活疫苗免疫核心种鸡群,能使核心种鸡群在选种的 1~2 周内保持 ALV-B 的高抗体水平,从而保证雏鸡的母源抗体阳性率,有效控制雏鸡前期的横向传播和早期感染,对禽白血病的净化具有重要意义。

4 结 论

首次制备了可用的 B 亚群禽白血病的灭活苗,该疫苗能使全部产蛋祖代鸡产生较高水平的特异性抗体,并且能通过卵黄抗体为雏鸡提供母源抗体保护,可以抵抗 ALV-B 的早期感染,可以有效控制 B 亚群禽白血病的发展,在核心种鸡群中应用后可加快 B 亚群禽白血病的净化的进程。

致谢:本项目为国家公益性行业(农业)科研专项种鸡场禽白血病防控与净化技术的集成(# 201203055) 经费资助。

参考文献:

- [1] SAIF Y M, FADLY A M, GLISON J R, et al. Disease of poultry[M]. 12th ed. Blackwell Publishing Ames, 2008:514-568.
- [2] PAYNE L N, BROWN S R, BUMSTEAD K, et al. A novel subgroup of exogenous avian leukosis virus in chickens[J]. *J Gen Virol*, 1991, 72: 801-807.
- [3] PAYNE L N, HOWES K, GILLESPIE A M, et al. Host range of Rous sarcoma virus pseudo type RSV (HPRS-103) in 12 avian species: support for a new avian retrovirus envelope subgroup, designated J[J]. *J Gen Virol*, 1992, 73: 2995-2997.
- [4] FADLY A M, SMITH E J, Isolation and some characteristics of a subgroup J-like avian leukosis virus associated with myeloid leukosis in meat-type chickens in the United States[J]. *Avian Dis*, 1999, 43: 391-400.
- [5] 杜 岩, 崔治中, 秦爱建, 等. 鸡的 J 亚群白血病病毒的分离及部分序列比较[J]. *病毒学报*, 2000, 16: 341-346.
- [6] CUI Z Z, DU Y, ZHANG Z, et al, Comparison of Chinese field strains of avian leukosis subgroup J viruses with prototype strain HPRS2103 and United States strains[J]. *Avian Dis*, 2003, 47: 1321-1330.
- [7] 张 志, 崔治中, 赵宏坤, 等. 商品代肉鸡 J 亚群禽白血病的病理及病毒分离鉴定[J]. *中国兽医杂志*, 2002, 38: 6-8.
- [8] XU B, DONG W, YU C, et al. Occurrence of avian leukosis virus subgroup J in commercial layer flocks in China[J]. *Avian Pathol*, 2004, 33: 13-17.
- [9] 王 辉, 崔治中. 蛋鸡 J 亚群白血病病毒的分离鉴定与序列分析[J]. *病毒学报*, 2008, 24: 369-375.
- [10] SUN S H, CUI Z Z. Epidemiological and pathological studies of subgroup J avian leukosis virus infectious in Chinese local "yellow" chicken[J]. *Avian Pathol*, 2007, 36: 221-226.
- [11] 成子强, 张 利, 刘思当, 等. 中国麻鸡中发现禽 J 亚群白血病[J]. *微生物学报*, 2005, 45: 584-587.
- [12] 朱美真, 吴玉宝, 崔治中. 山东地方品系鸡中一株 ALV-A 的分离鉴定[J]. *中国传染病学报*, 2009, 17 (4): 31-35.
- [13] 赵冬敏, 张青婵, 崔治中. 芦花鸡中 B 亚群禽白血病病毒的分离与鉴定[J]. *病毒学报*, 2010, 26: 53-57.
- [14] 张恒, 李传龙, 崔治中. 禽白血病 A 亚群病毒 gp85 的单因子血清制备及其特异性鉴定[J]. *微生物学报*, 2010, 933:150-155.
- [15] SILVA R F, FADLY A M, TAYLOR S P. Development of a polymerase chain reaction to differentiate avian leukosis virus (ALV) subgroup; detection of an ALV contaminant in commercial Marek's disease vaccines[J]. *Avian Dis*, 2007, 51: 663-667.
- [16] ZAVALA G, CHENG S. Detection and characterization of avian leukosis virus in Marek's disease vaccines[J]. *Avian Dis*, 2006, 50: 209-215.
- [17] BARBOSA T, ZAVALA G, CHENG S. Molecular characterization of three recombinant isolates of avian leukosis virus obtained from contaminated Marek's disease vaccines[J]. *Avian Dis*, 2008, 52: 245-252.
- [18] 武专昌, 朱美真, 崔治中. 二株 B 亚群禽白血病病毒全基因组序列及其在细胞上的复制性比较[J]. *病毒学报*, 2011, 27: 447-455.
- [19] 崔治中. 禽白血病及其鉴别诊断和预防控制[J]. *中国家禽*, 2010, 8: 1-12.