

鸡传染性囊病二价活疫苗攻击保护效果的观察^{*}

刘 爵 刘有昌 姚炜光 周 蛟 王 平
(北京市农林科学院畜牧兽医研究所, 北京 100081)

摘 要 使用 SPF 雏鸡进行了鸡传染性囊病二价活疫苗攻击保护效果的观察。14日龄免疫 2000TCID₅₀剂量的二价苗或 BJ836单价苗,免疫后 14d(28日龄)分别用不同剂量(1:1 1:10 1:100)的标准I 型强毒株 CJ801株或标准变异株强毒 1084A 株进行攻击,攻击后 5d剖杀观察。二价苗免疫组能抵抗极高剂量(1:1)的 CJ801株及高剂量(1:10)的 1084A 株的攻击,但不能抵抗极高剂量(1:1)的 1084A 株攻击。BJ836疫苗免疫组能抵抗高剂量(1:10)的 CJ801株及低剂量(1:100)的 1084A 株的攻击,但不能抵抗极高剂量(1:1)的 CJ801株及高剂量(1:10)的 1084A 株的攻击。结果表明该二价苗抵抗标准I 型强毒或变异株强毒的攻击效果均显著优于常规I 型单价疫苗。

关键词 鸡传染性囊病二价活疫苗 BJ836中毒力疫苗 攻击保护效果

鸡传染性囊病 (IBD)是由病毒引起的一种主要侵害 3~ 12周龄的雏鸡和青年鸡的高度接触性传染病,造成感染鸡的法氏囊损伤,破坏 B 淋巴细胞分化形成,引起免疫抑制,给养鸡业带来严重的危害^[1]。近年来法氏囊病病毒超强毒株 (vv IBDV)和血清亚型或变异株的出现,使本病的防制更为困难,用传统的I 型疫苗仅能对变异株感染提供较低程度的保护^[2,3],这使得人们去研制广谱多价疫苗来用于该病的防制。我们实验室开展了含有标准I 型中毒力株 BJ836和I 型变异株 BK 912的二价活疫苗的研究,BJ836中毒力疫苗是我所研制生产的商品疫苗^[4],已在生产实践中广泛推广应用,具有良好的免疫防制效果。本试验旨在通过这两种疫苗免疫 SPF 雏鸡攻击不同剂量的标准I 型强毒和变异株强毒,观察攻击保护效果的差异。现将试验结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 疫苗

鸡传染性囊病 839二价活疫苗,本所研制生产,批号为 9601,毒价为 $10^{6.5}$ TCID₅₀/0.1mL
鸡传染性囊病 BJ836中毒力疫苗,本所研制生产,批号为 96013,毒价为 $10^{6.75}$ TCID₅₀/0.1mL

1997-07-31收稿。
^{*} 国家科委“八五”科技攻关项目。

免疫剂量均为每只鸡 0.2 ml 含 2000 TCID₅₀ 免疫途径为点眼口服。

1.2 攻击强毒

CJ801, 本所分离鉴定的中国标准 I 型强毒株^[5], 使用 F15 代囊毒, 毒价为 10^{6.56} EID₅₀ / 0.2 ml。1084A, 从美国引进的标准 I 型变异株强毒, 使用 F3 代囊毒, 毒价为 10^{6.16} EID₅₀ / 0.2 ml。攻击剂量为 1∶1、1∶10 及 1∶100 倍稀释, 每只鸡 0.2 ml 途径为点眼口服。

1.3 SPF 雏鸡

购自北京市实验动物中心的无 19 种病原的 SPF 来航鸡种蛋, 在净化环境中孵化, 健康空白对照鸡饲养于正压隔离器中, 免疫接种或攻击后饲养于负压隔离器中, 饲料经⁶⁰Co 辐射消毒, 饮用水经盐酸酸化处理。

1.4 试验设计及分组

14 日龄 SPF 雏鸡 231 分成 3 组, 即 A、B、C 组。A 组 101 只鸡免疫二价活疫苗, B 组 106 只鸡免疫 BJ836 疫苗, C 组 24 只鸡作为非免疫对照。14 日龄免疫, 28 日龄进行攻击, 攻击后 5 d 剖杀观察, 称体重, 囊重。同时于攻击前和攻击后 5 d 每试验组随机采集 8 只鸡血液分离血清测定 IBD 中和抗体。非免疫对照组作相同处理。具体试验设计与分组见表 1。

1.5 IBD 中和抗体测定

采用微量细胞固定病毒稀释血清法, CJ801 细胞毒作为病毒抗原, 在鸡胚成纤维细胞上进行。

表 1 试验分组与 SPF 鸡数 (只)

攻击病毒	剂量	二价活疫苗 免疫组 (只)	BJ836 疫苗 免疫组 (只)	非免疫组 (只)
CJ801	1∶1	20	20	0
	1∶10	20	20	0
	1∶100	12	12	9
1084A	1∶1	17	22	0
	1∶10	20	20	0
	1∶100	12	12	9
非攻击		0	0	6

2 结果与分析

二价苗免疫后 14 d 对标准 I 型强毒株 CJ801 的攻击表现出良好的免疫保护效果, 极高剂量 (1∶1 稀释) 攻击组 20 只鸡中仅 3 只鸡法氏囊出现病变, 各个攻击组平均囊体比与对照组之间无显著性差异 ($P > 0.05$), 攻击后中和抗体 (GMT) 均维持较高的水平。对 1∶10 和 1∶100 倍稀释的变异株强毒 1084A 的攻击均表现良好的攻击保护效果, 1∶10 稀释攻击组仅有 10% (2/20) 鸡表现一定程度的法氏囊病变, 其平均囊体比与相应的对照组之间无统计学差异 ($P > 0.05$), 但极高剂量病毒 (1∶1) 攻击鸡有 41.1% (7/17) 出现法氏囊病变, 主要表现法氏囊明显萎缩, 攻击组平均囊体比与对照组之间存在着显著性差异 ($P < 0.05$), 攻击后抗体滴度下降 (表 2 和表 3)。

BJ836 疫苗免疫后 14 d 对 1∶10 和 1∶100 倍稀释的标准 I 型强毒株 CJ801 的攻击保护效果良好, 高剂量 (1∶10) 攻击鸡只有 10% (2/20) 表现法氏囊病变, 其平均囊体比与对照组之间无显著性差异 ($P > 0.05$), 攻击后抗体滴度上升, 而极高剂量 (1∶1) 攻击鸡 45% (9/20) 出现法氏囊病变, 表现出血、黄色化、质硬等, 其平均囊体比与对照组之间表现显著性差异 ($P < 0.05$), 导致抗体显著下降。免疫鸡对 1∶1 和 1∶10 倍稀释的变异株强毒 1084A 攻击的抵抗力较差, 分别有 64% (15/22) 和 50% (10/20) 免疫攻击鸡出现法氏囊病变, 主要表现法氏囊显著变小萎缩、质硬、色黄、粘膜或浆膜有出血点等, 其平均囊体比与对照组之间具有显著性差异 ($P < 0.05$); 但攻击前后抗体滴度变化不大; 1∶100 倍稀释攻击组表现良好的保护效果, 只有 16.7% (2/12) 的攻击鸡出现法氏囊病变, 攻击组平均囊体比与对照组之间无显著性差异。

($P>0.05$), 攻击前后中和抗体滴度变化不大 (见表 2和表 3)

表 2 疫苗免疫后攻击 CJ801毒株的致病性及抗体水平变化

试验组	疫苗	攻击病毒 (稀释度)	攻击后平均囊 体比 ^A $\bar{X}\pm SD$	中和抗体滴度 (GM T) ^B		病变鸡数 检查鸡数 ^C
				攻击前	攻击 5d后	
1	二价苗	CJ801(1∶1)	4.98±1.3 ^a	3073	6131	3/20
	BJ836	CJ801(1∶1)	2.18±0.97 ^b	6978	4108	9/20
	—	—	6.13±0.46 ^a	<2	<2	0/6
2	二价苗	CJ801(1∶10)	4.74±1.85 ^a	3073	8660	2/20
	BJ836	CJ801(1∶10)	4.45±1.84 ^a	6978	6683	4/20
	—	—	6.13±0.46 ^a	<2	<2	0/6
3	二价苗	CJ801(1∶100)	5.19±1.65 ^a	3073	7432	0/12
	BJ836	CJ801(1∶100)	4.97±1.21 ^a	6978	7645	0/12
	—	CJ801(1∶100)	3.93±1.54 ^b	<2	632	9/9
	—	—	6.13±0.46 ^a	<2	<2	0/6

注: A. 囊 体比 (B/B)指囊重÷体重×1000 B. 指 8只鸡的中和抗体几何平均滴度。
C. 病变鸡指肉眼可见法氏囊病特征性病变鸡, 如法氏囊出血, 水肿, 黄色化, 质硬, 萎缩等。
D. 试验数据右上角字母表示与对照组之间的显著性差异 ($P<0.05$)。

表 3 疫苗免疫后攻击 1084A 毒株的致病性及抗体水平变化

试验组	疫苗	攻击病毒 (稀释度)	攻击后平均囊 体比 $\bar{X}\pm SD$	中和抗体滴度 (GM T)		病 变鸡数 检查鸡数
				攻击前	攻击 5d后	
4	二价苗	1084A (1∶1)	3.36±1.71 ^b	3073	2175	7/17
	BJ836	1084A (1∶1)	1.84±1.58 ^b	6978	3756	15/22
	—	—	6.13±0.46 ^a	<2	<2	0/7
5	二价苗	1084A (1∶10)	4.75±1.86 ^b	3037	2699	2/20
	BJ836	1084A (1∶10)	3.19±1.76 ^b	6978	4532	10/20
	—	—	6.13±0.46 ^a	<2	<2	0/7
6	二价苗	1084A (1∶100)	5.12±1.71 ^a	3073	3758	0/12
	BJ836	1084A (1∶100)	4.83±1.25 ^a	6978	7345	0/12
	—	1084A (1∶100)	2.23±1.17 ^b	<2	163	9/9
	—	—	6.13±0.46 ^a	<2	<2	0/7

3 结论与讨论

近年来, 尽管在鸡群中普遍使用了各种各样的 IBD 疫苗进行免疫接种, 但因为超强毒株和血清亚型株或变异株^[6-9]的出现使该病的防治更为复杂, 这些血清亚型株与常用I 型弱毒疫苗的抗原相关性仅为 10%~70%, 是引起免疫失败的主要原因之一。因此, 在有变异株或血清亚型存在的地区, 使用二价或多价疫苗对 IBD 野毒株免疫的覆盖较宽, 能提供较好的交叉保护作用^[10]。目前美国 Select公司已有商品化的广谱多价 IBD 疫苗^[11]用于生产并具有良好的防治效果。

Rosenberger等^[12]发现经典疫苗株不能有效地保护健康鸡免受变异株的攻击, 对具有血清I 型疫苗病毒母源抗体的鸡, 仍能感染变异株, 而用变异株制备的疫苗能够提供相应保护。

本试验发现免疫 2000TC ID₅₀二价活疫苗能保护鸡抵抗极高剂量 (1: 1)的标准I 型强毒株 CJ801 及高剂量 (1: 10)的变异强毒 1084A 的攻击,但不能抵抗极高剂量 (1: 1)的 1084A 株的攻击;免疫 2000TC ID₅₀BJ836疫苗能保护鸡抵抗高剂量 (1: 10)的标准I 型强毒株 CJ801 及低剂量 (1: 100)的变异株强毒 1084A 的攻击,但对极高剂量 (1: 1)的 CJ801株及高剂量 (1: 10)的变异株 1084A 的攻击保护效果差。该二价苗是由中毒力的标准I 型疫苗 BJ836和变异株疫苗株 BK 912按适当比例研制而成,而 BJ836疫苗为标准I 型单价苗,疫苗所含毒株的差异尤其是二价苗中含有一定量的变异株,导致攻击保护效果出现明显差异,与 Ismail等^[3]报道的试验结果一致。用标准I 型毒株作为病毒抗原测定免疫 IBD 中和抗体,二价苗免疫后其中和抗体滴度 (GMT)并不高,比 BJ836疫苗免疫抗体滴度低,但其攻击保护效果则明显优于 BJ836单价苗,进一步表明了标准I 型株和变异株之间存在着显著的抗原差异性。

本试验已证实,该传染性囊病二价活疫苗抵抗标准I 型强毒或变异株强毒的攻击效果均显著优于常规I 型单价活疫苗。因此该二价苗在我国广大地区尤其是变异株或血清亚型株严重存在的地区必将有更为广泛的应用前景。

参 考 文 献

- 1 Calnek BW, et al Diseases of Poultry (ninth edition). Iowa USA, 1991, 648~ 663
- 2 Jack DJ, Saif YM. Antigenic diversity of infectious bursal disease viruses. Avian Dis 1987; 31: 766~ 770
- 3 Ismail NM, Saif YM. Immunogenicity of infectious bursal disease viruses in chickens. Avian Dis 1991; 35: 460~ 469
- 4 李汉秋,等. 鸡传染性囊病 BJ836弱毒株培育的研究. 中国兽医杂志, 1987; 6: 2~ 4
- 5 周蛟,等. 北京地区鸡传染性囊病病原的电镜鉴定. 中国兽医杂志, 1982; 7: 26~ 28
- 6 李树根,等. 几种常用弱毒疫苗对鸡传染性法氏囊病血清I 型病毒亚型毒株的免疫效果观察. 中国畜禽传染病, 1991; (5): 7~ 11
- 7 朱爱国,等. 鸡传染性法氏囊病病毒血清亚型的研究. 中国畜禽传染病, 1992; 4: 1~ 4
- 8 张七斤,等. 内蒙古地区鸡传染性法氏囊病病毒分离株亚型的鉴定. 见: 中国畜牧兽医学会禽病学分会第六次学术讨论会论文集, 1992; 20~ 22
- 9 刘爵,等. 鸡传染性囊病病毒分离株的血清亚型初步分析. 见: 国家攀登计划基础研究系列专著. 兽医科学卷 1, 1997; 43~ 46
- 10 Gianfranco JJ Poultry Digest 1987; 46: 116~ 120
- 11 Louise Dufour-zavala Ken Rudd Jerry Champan Select Laboratories Inc January 11, 1994
- 12 Rosenberger JK, et al Use of infectious bursal disease virus variant vaccine in broilers and broiler breeders. In Proceedings of the 36th Western Poultry Diseases Conference California 1987, 105~ 109

Observation of Efficacy of Bivalent Live Infectious Bursal Disease Vaccine Against Virulent IBD Viruses

Liu Jue Li Youchang Yao Weiguang Zhou Jiao Wang Ping

(Beijing Institute of Animal Husbandry and Veterinary Sciences Beijing Municipal

Academy of Agricultural and Forestry Sciences Beijing 100081)

Abstract An observation of efficacy of bivalent live IBD vaccine was conducted using SPF chicks. The chicks were vaccinated at 14 days of age with the bivalent vaccine and a live intermediate strain BJ836 vaccine and challenged 14 days later at different doses ($1:1$, $1:10$ or $1:100$) of either a standard serotype I virulent IBDV strain CJ801 or a virulent variant of IB-DV strain 1084A. The vaccinated group with the bivalent vaccine acquired complete protection against the challenges by the very high dose ($1:1$) of strain CJ801 and the high dose ($1:10$) of strain 1084A, but had poor protection against the challenges by the very high dose ($1:1$) of strain 1084A. The vaccinated group with the BJ836 vaccine acquired complete protection against the challenges by the high dose ($1:10$) or strain CJ801 and the low dose ($1:100$) of strain 1084A, but had poor protection against the challenges by the very high doses ($1:1$) of strain CJ801 and the high dose ($1:10$) of strain 1084A. This showed that the bivalent vaccine had significantly better protection against the challenges of standard serotype I virulent IB-DV strain and virulent variant IBDV strain in comparison with conventional type I IBD vaccines.

Key words Bivalent live IBD vaccine; Live intermediate strain BJ836 vaccine; Protection