

禽霍乱油乳剂灭活苗 (T J株) 的研制与应用*

柏良 王英珍 张 健 鄢明华 夏树立

(天津市农业科学院畜牧兽医研究所, 天津 300112)

赵殿齐

(大港油田团泊洼第二养鸡场, 天津)

赵元青

(天津市静海县畜牧兽医站)

摘 要 从天津地区某些发病鸡场分离的 20 余株禽多杀性巴氏杆菌中筛选 4 株 (T J 株) 作为制苗用菌种, 制成油乳剂灭活苗, 进行物理性状检验与安全性、免疫性试验。用实验室制备的禽霍乱油乳剂灭活苗 (T J 株) 对大港、静海等发病鸡场进行免疫接种, 完全控制了禽霍乱的流行。

关键词 蛋鸡 多杀性巴氏杆菌 禽霍乱 油乳剂灭活苗

禽霍乱 (Fowl Cholera) 是多杀性巴氏杆菌引起的一种接触传染性烈性传染病, 该菌抗原结构复杂, 根据菌体抗原可分为 16 个血清型, 其荚膜抗原又可分为 4 个血清型, 我国致病性禽多杀性巴氏杆菌以 5: A 最多。禽霍乱的发病率和死亡率甚高, 在疫区由于康复带菌鸡的存在, 使本病常呈地方性流行。目前市场虽有多种禽霍乱疫苗出售, 但由于血清型不同和其它诸多原因, 免疫效果不甚理想。

近年来, 在天津地区某些鸡场先后暴发多起禽霍乱, 曾使用弱毒苗、组织灭活苗、蜂胶苗免疫, 重复应用多种抗生素治疗, 均未控制该病流行。本课题组从发病鸡场病死鸡分离到多株禽霍乱病原菌, 用其制备禽霍乱油乳剂灭活苗 (T J 株), 并进行免疫效果和安全性等试验。在发病鸡场免疫 16 8 万只蛋鸡, 控制了本病流行, 获得满意效果。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 制苗和攻毒用菌种 从所鉴定的禽多杀性巴氏杆菌中选出 T J1、T J5、T J6、T J8 共四株菌。

1.1.2 试验用鸡 1 月龄和 2 月龄巴布考克雏鸡, 购于天津某鸡场。

1.1.3 培养基 马丁肉汤, 1% 血清裂解血马丁肉汤, 3% ~ 4% 裂解血马丁琼脂。

1 1 4 试剂 7号白油(杭州炼油厂产),硬酯酸铝,司班-80,吐温-80(天津天大化工厂产)。

1 2 方法

1 2 1 制苗菌液的制备

1 2 1 1 将所筛选的四株菌分别接种于马丁肉汤中,置 37°C 下培养 20h,作为种子液接种于马丁琼脂平板上(含 3%~4% 鸡血)或马丁肉汤中(含 1% 血清裂解血), 37°C 下培养 24h。

1 2 1 2 固体培养物用生理盐水洗下菌苔,制成菌悬液,加 0.3%~0.4% 甲醛,液体培养物按 0.1%~0.2% 量直接加入甲醛,在 37°C 下灭活 24h。

1 2 1 3 上述菌液经检验无菌生长后,用麦氏比浊法进行细菌计数,随后置 4°C 冰箱保存备用。

1 2 2 油乳剂灭活苗的制备

1 2 2 1 水相:按 4% 将吐温-80加入灭活菌液中混合均匀;油相:将 7号白油,司本-80,硬酯酸铝按适当比例混合,15磅高压灭菌 20min。

1 2 2 2 水相、油相按一定比例,在胶体磨中混合乳化,并加适量防腐剂,制成油乳剂苗。

1 3 油乳剂灭活苗的检验

1 3 1 物理性状检验 对制备好的灭活苗,进行物理性状(乳剂型,粘稠度,稳定性)等检查,检验合格后进行安全性、效力检验。

1 3 2 安全性检验 将不同批次无菌检验合格的灭活苗按 1m l /只剂量,肌肉或颈部皮下接种 1月龄雏鸡。观察 2周,检查鸡注射部位和全身反应情况。

1 3 3 效力检验 用 2~3月龄健康鸡,以三批灭活苗颈部皮下或肌肉注射 0.5m l /只, 0.25m l /只,每种剂量注射 5只鸡,在同等条件下饲养三周后,连同对照鸡只,注射致死量分离菌,观察 2周。

1 3 4 毒性试验 取 95021, 95031, 95041三批苗,每批苗用 1日龄迪卡雏鸡 12只,皮下注射 0.5m l /只,另设对照组(1日龄迪卡雏鸡 12只),同等条件下饲养,任其自由采食与饮水。每日观察雏鸡一般健康状况,包括活动、采食、饮水、发病情况,每隔 1d称重 1次,观察灭活苗对雏鸡生长的影响。

2 结果与分析

2 1 安全性试验

用 95021, 95031, 95032, 95041四批灭活苗进行安全性试验,结果见表 1。从表 1可以看出,四批注射灭活苗的鸡均无不良反应,表明所制灭活苗具有良好的安全性。

2 2 效力试验

95021, 95031, 95041三批灭活苗的免疫效力试验结果列于表 2。从表 2看出:鸡在免疫 3周后攻击致死量苗,免疫注射 0.5m l 剂量(一个免疫剂量)的鸡,保护率为 100%;免疫注射 0.25m l 剂量(半个免疫剂量)的鸡,保护率为 60% 以上,未免疫鸡攻毒后全部死亡。

2 3 毒性试验

用 95021, 95031, 95041三批疫苗对 1日龄迪卡鸡进行毒性试验。结果表明,上述三批疫苗对雏鸡无毒性反应,雏鸡生长发育未受明显影响。

| 表 1 四批禽霍乱油乳剂灭活苗 (T J株) 安全性试验 | | | | | 表 2 三批禽霍乱油乳剂灭活苗 (T J株) 效力试验 | | | |
|--------------------------------|------|----|----------|------|-----------------------------|----|------|-----------|
| 菌苗批号 | 注射剂量 | 鸡数 | 注射部位反应 | 全身反应 | 疫苗批次 | 鸡数 | 注射剂量 | 成活数 / 攻毒数 |
| 95021 | 1m l | 5 | 正常, 吸收良好 | 无* | 95021 | 5 | 0 5 | 5/5 |
| 95031 | 1m l | 5 | 正常, 吸收良好 | 无 | | 5 | 0 25 | 3/5 |
| 95032 | 1m l | 5 | 正常, 吸收良好 | 无 | 95031 | 5 | 0 5 | 5/5 |
| 95041 | 1m l | 5 | 正常, 吸收良好 | 无 | | 5 | 0 25 | 3/5 |
| * 个别鸡在注射后 1~ 2d 稍有减食现象, 但很快恢复。 | | | | | 95041 | 5 | 0 5 | 5/5 |
| | | | | | | 5 | 0 25 | 4/5 |
| | | | | | 对照组 | 5 | | 0/5 |

| 表 3 禽霍乱油乳剂灭活苗 (T J株) 对雏鸡生长发育试验 | | | | | | | |
|--------------------------------|------------|----|----|----|-----|-----|-----|
| 菌苗批号 | 注射后雏鸡重 (g) | | | | | | |
| | 2d | 4d | 6d | 8d | 10d | 12d | 14d |
| 95021 | 30 | 38 | 48 | 72 | 82 | 96 | 106 |
| 95031 | 34 | 42 | 53 | 70 | 84 | 92 | 108 |
| 95041 | 31 | 41 | 49 | 62 | 74 | 90 | 104 |
| 对照组 | 32 | 40 | 50 | 75 | 85 | 100 | 110 |

2 4 应用效果观察

将研制的禽霍乱油乳剂灭活苗 (T J株) 应用于曾有禽霍乱病史或正在发生禽霍乱的四个鸡场, 共免疫伊沙褐、海赛克斯、海兰 3 个品种的青年鸡与产蛋鸡共 16 8 万羽份。免疫接种后, 鸡只无不良反应, 在一个月内控制了发病鸡群禽霍乱的流行。

3 结论与讨论

3 1 关于安全性试验

试验结果表明, 四批禽霍乱油乳剂灭活苗按 1m l 剂量 (2 个免疫剂量) 注射 1 月龄雏鸡, 其注射部位吸收良好, 无明显肿胀现象, 个别鸡在注射后 1~ 2d 稍有减食, 但很快恢复正常, 大多数鸡无异常反应, 证明所制禽霍乱油乳剂灭活苗 (T J株) 对鸡是安全的。

3 2 关于效力试验

经三批禽霍乱油乳剂灭活苗 (T J株) 免疫的鸡, 攻毒后存活率 1 个免疫剂量为 100%; 1/2 个免疫剂量为 60% ~ 80%; 对照鸡全部死亡。根据“中华人民共和国农业部标准 (NY 140-87) 禽霍乱油乳剂苗制定及检验试行规程”, 给 5 只灭活苗免疫鸡攻击致死量强毒苗, 存活 3 只以上为合格。这表明, 禽霍乱油乳剂灭活苗 (T J株) 免疫力较强, 完全符合部颁标准。

3 3 关于毒性试验

禽霍乱油乳剂灭活苗 (T J株) 毒性试验结果表明, 对雏鸡无明显毒性反应, 对雏鸡生长也无影响, 是一种安全有效的灭活苗, 对今后控制天津地区禽霍乱的流行将起到重要的作用。

禽霍乱是严重困扰养鸡业发展的大敌, 由于其血清型较复杂, 市场出售的疫苗又难以控制本病, 因此急需适合本地区的免疫效果好、价格低廉的地方疫苗。T J 株禽霍乱油乳剂灭活苗填

补了天津地区该项禽用生物制品的空白,对促进天津地区养鸡业发展将起到积极的作用。

参 考 文 献

- 1 徐宜为主编.最新禽病与防治.北京.中国农业科技出版社,1993.354~357
- 2 王红宁,廖德曳,张化贤,等.雉鸡禽霍乱的诊断及病原血清型鉴定.中国兽医杂志,1995.21(2):17~18
- 3 吴增坚,吴连清,朱琴亚,等.禽霍乱油乳剂灭活菌苗的研究.畜牧与兽医,1996.28(4):149~151

Studies on Preparation and Application of Oil Emulsion Inactivated Vaccine(TJ Strain) Against Fowl Cholera

Ding Boliang Wang Yingzhen Zhang Jian Yan Minghua Xia Shuli

(Tianjin Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, 300112)

Zhao Dianqi

(Second Poultry Farm of Tuanbowang of Dagang, Tianjin)

Zhao Yuanqing

(Jinghai Station of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Tianjin)

Abstract Four *Pasteurella multocida* strains(TJ strains) were selected from more than twenty *Pasteurella multocida* strains which were isolated from poultry farms of Tianjin region during the outbreak of fowl cholera and were used to develop an oil emulsion inactivated vaccine. The prepared inactivated vaccine was tested for physical properties and for safety and immunity. The oil emulsion inactivated vaccine(TJ strains) against fowl cholera was inoculated to more than one hundred thousand layers on affected poultry farms in Dagang and Jinghai region of Tianjin. The inactivated vaccine was proved to be very effective in preventing and controlling the fowl cholera.

Key words *Pasteurella multocida*; Fowl cholera; Oil emulsion inactivated vaccine; Poultry Layer