

15株NDV地方株的分离鉴定与生物学特性^{*}

程相朝¹, 吴志明², 吴庭才¹,
李银聚¹, 张春杰¹, 李祥瑞³

(1 河南科技大学 动物科技学院, 河南 洛阳 471003; 2 河南省兽医防治站, 河南 郑州 450002;

3 南京农业大学 动物医学院, 江苏 南京 210095)

[摘要] 从1998~2002年河南省洛阳地区代表性新城疫发病禽群中分离鉴定了15株新城疫病毒(NDV), 并对其生物学特性进行了研究。结果表明, 15株NDV均呈现良好的血凝活性和特异的血凝抑制特性; 对鸡胚的致病作用可被新城疫阳性血清所抑制; 对鸡胚最小致死量的平均死亡时间(MDT), 1日龄雏鸡脑内接种的致病指数(ICP)和6周龄鸡静脉内接种的致病指数(IPD)的测定证实, LD-6-01和LR-2-00株是弱毒株, 其余均为强毒株; 弱毒株的血凝素热稳定性较好, 属慢速血凝解脱型; 强毒株的血凝素热稳定性差, 属快速或中速血凝解脱型; 所有毒株均可较好地凝集鸡和人(O型血)的红细胞, 但对其他动物的红细胞凝集性差异较大。对HI抗体为6log₂的12日龄雏鸡攻毒试验结果表明, 15个分离株中2个弱毒株可得到100%保护; 13个强毒株中, LG-1-99, LR-1-98, LD-4-01和LD-3-00得到了70%~90%的保护, 而其他9个分离株(LD-1-98, LD-2-99, LD-5-01, LD-7-02, LR-3-02, LW-1-02, LG-2-00, LA-1-99和LE-1-01)基本上得不到保护(0~20%), 但所有得不到保护的试验组鸡的发病死亡时间均明显向后推迟。

[关键词] 新城疫病毒; 分离鉴定; 生物学特性; 保护试验

[中图分类号] S858.315.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2005)08-0035-06

新城疫(New castle Disease, ND)是由新城疫病毒(New castle Disease virus, NDV)引起的一种高度接触性、急性败血性禽类传染病, 其典型特征为呼吸道、消化道粘膜出血。该病在世界范围内广泛存在, 对养禽业危害巨大。目前, 世界上已分离出致病性不同的新城疫病毒毒株数十种, 不同毒株的致病性差异很大, 一般可分为速发型毒株(Velogenic strain)、中发型毒株(Mesogenic strain)、缓发型毒株(Lentogenic strain)和无症状型毒株(A symptomatic strain)^[1~3]。在国内, 各种类型的毒株均可在不同地区分离到, 临床表现也远较传统划分复杂得多, 非典型新城疫、高抗体发病鸡群、单一神经症状的高死亡鸡群^[4]等经常出现, 给不同地区新城疫的诊断和防治带来很大困难。因此, 为探明河南省洛阳地区新城疫病毒流行株的一些基本情况, 本研究对1998~2002年洛阳地区具有代表性的ND发病禽群中的NDV进行了分离鉴定和生物学特性研究, 为更好地

做好本地区新城疫防治工作提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病料来源与背景 在1998~2002年大量临床观察资料的基础上, 分别选择蛋鸡和肉鸡不同生产阶段的代表性发病鸡群, 以及乌鸡、鸽、鹌鹑和鹅等不同禽类的代表性发病群体作为研究对象, 对其进行病毒分离鉴定和生物学特性观察。病料的主要背景资料见表1。

1.1.2 试验动物 9~10日龄鸡胚及致病性检验和回归试验用的无母源抗体雏鸡, 均由未经任何疫苗免疫过的土种鸡种蛋自孵; 攻毒试验用的母源抗体(HI效价)为6log₂的12日龄雏鸡, 筛选自当地鸡场。

1.1.3 F₄₈E₉标准强毒株和新城疫阳性血清 F₄₈E₉标准强毒株购自中国兽药监察所, 经非免疫鸡

* [收稿日期] 2004-11-30

[基金项目] 河南省青年骨干教师资助项目(2001193)

[作者简介] 程相朝(1966-), 男, 河南汝州人, 教授, 博士, 主要从事动物疫病防控研究。

胚增殖复壮 2 代,HA 效价为 9lg2。新城疫阳性血 学动物疫病研究室制备。
清为 La Sota 株,HI 效价为 12lg2,由河南科技大

表 1 NDV 不同分离株的主要背景资料

Table 1 Primary information of various NDV isolates

分离株 Strains	分离地点 Isolated area	分离时间 Time	禽品种 Breeds	日龄 Days	主要背景材料 The primary information of various strains
LD-1-98	洛阳伊川 Yichuan county	1998-09	蛋鸡 Egg chicken	50	轻度肠炎和气管炎, IV 系活苗紧急接种 3 d 后死亡率达 60%, 内脏病变不典型。 With enteritis and tracheitis, the mortality amounted to 60% in 3 days after vac- cine, the internal organs pathological changes were't typical
LD-2-99	洛阳嵩县 Song county	1999-10	蛋鸡 Egg chicken	36	呈典型神经症状, 死亡率高达 40%, 剖检仅见腺胃和脑组织轻度出血, 临床治疗 效果不好。 With typical nerve symptom, the clinical treatment was ineffective and the mor- tality amounted to 40%.
LD-3-00	洛阳洛宁 Luoning county	2000-01	蛋鸡 Egg chicken	120	呼吸症状明显, 食欲降低, 死亡率 10%, 紧急预防接种效果较好。 Appetite was descent and the breath symptom was obvious, the mortality amounted to 10%, but the result of urgent vaccination was better
LD-4-01	洛阳新安 Xinan county	2001-07	蛋鸡 Egg chicken	270	产蛋率下降 20%, 蛋壳质量差, 发病率 20%, 有零星死亡, 剖检病变典型。 Producing egg rate descended 20%, the morbidity was 20%, death was frag- mentary and the organs pathological changes were typical
LD-5-01	洛阳偃师 Yianshi city	2001-09	蛋鸡 Egg chicken	180	产蛋率下降 40%, 死亡率 15%, 剖检病变不典型, 开产前未用过灭活苗。 Producing egg rate descended 40%, the mortality amounted to 15% and the or- gans pathological changes were not the typical
LD-6-01	洛阳宜阳 Yiyang county	2001-12	蛋鸡 Egg chicken	28	精神不振, 生长迟缓, 零星死亡, 剖检见有腺胃病变, 仅在 15 d 时用过新-支 H ₁₂₀ 活疫苗。 With bad spirit and grow th dilatoriness, death was fragmentary and the patho- logical changes of gland stomach could be seen.
LD-7-02	洛阳郊区 Suburban of Luo- yang	2002-03	蛋鸡 Egg chicken	86	前期有呼吸道和拉稀症状, 后期出现明显神经症状, 死亡率达 30%, 临床治疗效 果不好。 With diarrhea and dyspnea symptom in earlier and then appeared obvious nerve symptom, the death rate amounted to 30%.
LR-1-98	洛阳郊区 Suburban of Luo- yang	1998-10	肉鸡 Meat chicken	35	发病率逐渐升高, 呼吸困难, 拉黄绿稀便, 剖检呈典型内脏病变, 临床治疗效果 不好。 The morbidity goes up gradually, the internal organs patho logical changes were typical, but the clinical treatment was not good
LR-2-00	洛阳孟津 Mengjin county	2000-04	肉鸡 Meat chicken	29	生长迟缓, 精神采食不佳, 零星发病死亡, 有轻度呼吸道表现和黄绿稀便, 剖检 病变不典型。 With bad spirit, grow th dilatoriness, diarrhea and dyspnea symptom, but death was fragmentary.
LR-3-02	洛阳偃师 Yianshi city	2002-05	肉种鸡 Meat breeder	210	零星发病死亡, 病理剖检变化不典型, 产蛋量下降 20%, 经 5 倍量 IV 活苗饮水效 果不好。 Be taken bad and death was fragmentary, producing egg rate descended 20% , the clinical treatment is not good
LW-1-02	洛阳新安 Xin an county	2002-06	乌鸡 Dark- bone chicken	40	发病率达 50%, 呈典型神经症状, 死亡率 30%, 剖检内脏病变不典型, 临床治疗 效果不好。 The morbidity was 50% and mortality was 30%, nerve symptom was typical and the clinical treatment was not good
LG-1-99	洛阳郊区 Subur- ban of Luoyang	1999-05	鸽 Pigeon	30	30% 发病, 有呼吸困难和神经症状, 零星死亡, 剖检病变不典型, VI 系弱毒苗紧 急接种效果较好。 Incidence of the disease was 30% , having nerve and dyspnea symptom, but the result of urgent vaccination was better
LG-2-00	洛阳郊区 Suburban of Luo- yang	2000-12	鸽 Pigeon	50	连续数批在 30~ 50 日龄发病, 可见呼吸困难、神经症状和腺胃出血, 免疫未用 灭活苗。 Several pigeon flocks all be taken bad in 30- 50 days, having nerve and dyspnea symptom, hemorrhage could be seen in the gland stomach
LA-1-99	洛阳郊区 Subur- ban of Luoyang	1999-06	鹌鹑 Quail	38	有呼吸和神经症状, 食欲减退, 拉黄绿色稀便, 死亡率 20%, 剖检见腺胃和肠道 出血。 The appetite was descent, with diarrhea, dyspnea and never symptom, the death rate amounted to 20%.
LE-1-01	洛阳郊区 Suburban of Luo- yang	2001-11	鹅 Goose	92	散养, 在 15 和 60 d 时分别用过新-支 H ₁₂₀ 和 I 系疫苗, 发病后死亡率较高, 剖检 可见典型出血病变。 The death rate was higher, the typical hemorrhage changes could be seen in the internal organs

1.2 方 法

1.2.1 病毒的分离与增殖 采集典型发病禽的喉
气管和脑组织, 剪碎、研磨, 用无菌生理盐水制成悬
液, 并加入青霉素和链霉素各 2 000 IU/mL, 通过尿

囊腔途径接种于 10 日龄鸡胚, 接种量 0.2 mL/枚,
37 继续孵化, 每天照蛋 2 次, 观察、记录鸡胚死亡
情况, 收取 24 h 后死亡及 96 h 时未死亡胚的尿囊
液和羊水, 进行血凝性测定, 并连续传代数次。

1.2.2 病原体的鉴定 病原体的鉴定采用血凝(HA)试验、血凝抑制(HI)试验和中和试验,按文献[5]的方法进行。

1.2.3 病毒致病性检验 MDT(鸡胚最小致死量的平均死亡时间)、ICPI(1 日龄雏鸡脑内接种的致病指数)和 NPI(6 周龄鸡静脉内接种的致病指数)等病毒致病性检验参照文献[5, 6]的方法进行。

1.2.4 动物回归试验 将分离株尿囊液分别经口、鼻、肌肉接种于 10 只 12 日龄雏鸡(无新城疫母源抗体),0.2 mL/只,同时设对照组。正常饲喂,逐日观察试验鸡发病、死亡情况。同时无菌采取各组死亡鸡的气管、脑组织制成悬液,分别接种 5 枚 10 日龄鸡胚,观察鸡胚死亡情况。

1.2.5 高母源抗体雏鸡的攻毒试验 将分离株尿囊液经口、鼻、肌肉分别接种 10 只新城疫母源抗体(HI 效价)为 $6\log_2$ 的 12 日龄雏鸡,0.25 mL/只。同时设空白对照组和无母源抗体攻击 $F_{48}E_9$ 组,正常饲喂,逐日观察试验鸡发病、死亡情况。

1.2.6 NDV 血凝谱的测定 用灭菌生理盐水稀释各分离毒株的尿囊液,根据病毒血凝效价的测定结果,稀释成 4 个血凝单位,每种 0.025 mL,分别加体积分数 0.5% 鸡、猪、牛、山羊、绵羊、马和人(O 型血)的红细胞悬液 0.025 mL,混合后室温作用 30~60 min,分别观察各毒株对不同动物红细胞的作用结果^[7]。

1.2.7 NDV 血凝解脱及血凝素热稳定试验 将 NDV 各分离株分别按文献[5]的方法测定其对鸡红细胞的凝集价(HA),读数后振荡,使红细胞悬浮,4 过夜,读数后再悬浮,并于 2 h 后读 HA 值。第 1 次悬浮过夜后不凝集者为“快速解脱”,第 2 次悬浮 2 h 后不凝集者为“中速解脱”,仍凝集者为“慢速解脱”。将上述病毒液以 2 000 r/min 离心 10 min,取上清液 0.5 mL 装于小试管中,分别置 56℃ 水浴 1, 3, 5, 10, 30, 60 min 后立即冷却,测定经过处理后的 HA 值,不凝集者证明血凝素消失^[7]。

2 结果与分析

2.1 病毒的分离与传代

各试验病料分别在鸡胚上传 3 代,除 LD-6-01 和 LR-2-00 2 个病料在 72 h 观察期内仅死亡 20%~30% 外,其余各病料接种鸡胚均在 60 h 内全部死亡,其中 80% 的鸡胚在 48 h 内死亡。

2.2 病毒的鉴定

2.2.1 HA 及 HI 试验 HA 和 HI 试验结果表明,

以上各病料分离与传代试验中的所有死亡胚和存活胚尿囊液均具有血凝性,其中,第 1 代尿囊液 HA 效价稍低,各病料平均在 $7\log_2\sim 8\log_2$; 2 代、3 代尿囊液 HA 效价各病料平均在 $9\log_2\sim 10\log_2$ 。各病料之间所测结果无明显差异。分离毒株的这种血凝性能被 HI 效价为 $12\log_2$ 的 La Sota 株 ND 阳性血清完全抑制。

2.2.2 中和试验 与 HI 效价为 $12\log_2$ 的 La Sota 株 ND 阳性血清混合作用后的各分离株尿囊液接种鸡胚,至 120 h 接种的 8 枚鸡胚均全部健活。而与 ND HI 效价为阴性的健康鸡血清混合后的尿囊液接种鸡胚,至 72 h 时除 LD-6-01 和 LR-2-00 2 个病料分别只有 2 枚死亡外,其他各病料所接种鸡胚全部死亡。

2.3 病毒致病性检验结果

依据致病性检验结果可将 15 个地方株分为 3 类,其中 LD-6-01 和 LR-2-00 为弱毒株(MDT 在试验稀释倍数下未测出结果; ICPI<0.5; NPI 为 0 和 0.04); LD-1-98, LD-2-99, LD-3-00, LD-4-01, LD-5-01, LD-7-02, LR-3-02, LW-1-02, LG-2-00, LA-1-99 和 LE-1-01 为速发型强毒株(MDT<60 h; ICPI>1.6; NPI 在 2~3); LR-1-98 和 LG-1-99 为中发型强毒株(60 h<MDT<90 h; $0.8<ICPI<1.5$; NPI 分别为 1.35 和 1.81)。MDT, ICPI 和 NPI 的具体测定结果见表 2。

表 2 NDV 各分离株 MDT, ICPI 和 NPI 测定结果

Table 2 Results of MDT, ICPI and NPI induced by NDV isolated strains			
毒株 Strains	MDT/h	ICPI	NPI
LD-1-98	52.8	1.69	2.36
LD-2-99	50.4	1.73	2.40
LD-3-00	55.2	1.63	2.20
LD-4-01	57.6	1.64	2.48
LD-5-01	45.6	1.80	2.69
LD-6-01	—	0.25	0
LD-7-02	43.2	1.86	2.84
LR-1-98	67.2	1.48	1.81
LR-2-00	—	0.29	0.04
LR-3-02	52.8	1.70	2.58
LW-1-02	45.6	1.79	2.60
LG-1-99	72.0	1.43	1.35
LG-2-00	55.2	1.63	2.16
LA-1-99	55.2	1.68	2.18
LE-1-01	52.8	1.71	2.36

2.4 动物回归试验结果

将各分离株尿囊液分别接种 10 只 12 日龄无新

城疫母源抗体雏鸡后,在 60 h 内,LD-6-01 和 LR-2-00 株接种组雏鸡未发生死亡,LR-1-98 和 LG-1-99 株接种组雏鸡死亡了 6 只,其他各毒株接种组雏鸡死亡数均在 8 只以上。到 120 h 时,除 LD-6-01 和 LR-2-00 株接种组雏鸡分别死亡 2 只和 3 只,LG-1-99 和 LA-1-99 株接种组雏鸡分别存活 1 只外,其他各试验组雏鸡全部死亡。各分离株所致发病雏鸡的临床表现和死亡鸡的病理变化与病料来源禽群的发病表现基本一致。将各毒株致死鸡脑组织悬液分别接种 5 枚 10 日龄鸡胚后,除 LD-6-01 和 LR-2-00 株接种鸡胚仅在 120 h 内死亡 1 枚,LR-1-98 和 LG-1-99 株接种鸡胚分别有 1 枚在 60 h 后死亡外,

其余各组接种鸡胚在 60 h 内均全部死亡。

2 5 高母源抗体雏鸡的攻毒试验结果

由表 3 可见,具有 6log₂ 母源抗体的 12 日龄雏鸡在接受各分离株攻击时,其保护率可明显分为 3 类,第 1 类属于完全保护组,包括 LR-2-00 和 LD-6-01,保护率为 100%;第 2 类属于基本保护组,包括 LG-1-99,LR-1-98,LD-4-01,LD-3-00 和 F48E9,保护率在 70%~90%;第 3 类属于基本不能保护组,包括 LE-1-01,LA-1-99,LG-2-00,LW-1-02,LR-3-02,LD-7-02,LD-5-01,LD-2-99 和 LD-1-98,保护率在 0~20%。

表 3 NDV 各分离株对高母源抗体雏鸡的攻毒试验结果

Table 3 Chicken with high material antibody challenged by NDV isolated strains

毒株 Strains	试验鸡数 Tested number	日龄 Days	母源抗体效价 Material antibody	72 h 内死亡数量 Dead in 72 h	72~144 h 发病死亡数 Dead between 72 to 144 h	保护率/% Protection rate
LD-1-98	10	12	6log ₂	5	5	0
LD-2-99	10	12	6log ₂	5	4	10
LD-3-00	10	12	6log ₂	1	2	70
LD-4-01	10	12	6log ₂	1	1	80
LD-5-01	10	12	6log ₂	6	4	0
LD-6-01	10	12	6log ₂	0	0	100
LD-7-02	10	12	6log ₂	7	3	0
LR-1-98	10	12	6log ₂	0	1	90
LR-2-00	10	12	6log ₂	0	0	100
LR-3-02	10	12	6log ₂	4	5	10
LW-1-02	10	12	6log ₂	8	2	0
LG-1-99	10	12	6log ₂	1	1	80
LG-2-00	10	12	6log ₂	4	4	20
LA-1-99	10	12	6log ₂	4	4	20
LE-1-01	10	12	6log ₂	6	3	10
F48E9	10	12	6log ₂	0	1	90
F ₄₈ E ₉	10	12	0	10	0	0

2 6 NDV 血凝谱的测定结果

由表 4 可见,在血凝谱测定中,各分离株均可凝集鸡和人(O 型血)的红细胞;牛和山羊的红细胞分别有 11 株能发生凝集;能凝集猪红细胞的毒株最少,在 15 株中只有 5 株,其次为马和绵羊的红细胞,在 15 株中均只有 7 株能发生凝集。各毒株中,LD-5-01 株能凝集全部 7 种试验动物的红细胞;LD-2-99,LD-7-02,LR-3-02 和 LE-1-01 株能分别凝集 6 种不同试验动物的红细胞;LD-1-98,LR-1-98,LW-1-02 和 LA-1-99 株能分别凝集 5 种不同动物的红细胞;而 LD-6-01 和 LR-2-00 只能凝集鸡和人(O 型血)的红细胞。

2 7 NDV 血凝解脱及血凝素热稳定试验结果

在各分离株的血凝解脱试验中,LD-7-02,LD-5-01,LA-1-99,LG-2-00,LR-3-02 和 LG-1-99 6 株属于快速解脱型,在第 1 次悬浮过夜后均不再发生凝集;LD-1-98,LD-2-99,LD-4-01,LD-3-00,LR-1-98,LW-1-02 和 LE-1-01 7 株属于中速解脱型,在第 2 次悬浮 2 h 后不再发生凝集;LD-6-01 和 LR-2-00 2 株则属于慢速解脱型,在第 2 次悬浮 2 h 后仍可发生凝集。在血凝素热稳定性试验中,LD-6-01 和 LR-2-00 2 株血凝素热稳定性较好,在 56℃ 水浴处理 60 min 后仍然具有血凝性;其他各毒株的血凝性均在 56℃ 水浴 3~10 min 后消失,表明其血凝素热稳定性较差。

表 4 NDV 分离株血凝谱试验结果

Table 4 Results of hemagglutination spectrum of erythrocyte induced by NDV isolated strains

毒株 Strains	对不同动物红细胞凝集情况 Results of erythrocyte hemagglutination to different animals						
	鸡 Chicken	猪 Swine	牛 Cattle	山羊 Goat	绵羊 Sheep	马 Horse	人(O 型血) Human
LD-1-98	+	-	+	+	-	+	+
LD-2-99	+	+	+	+	-	+	+
LD-3-00	+	-	+	-	+	-	+
LD-4-01	+	-	+	-	+	-	+
LD-5-01	+	+	+	+	+	+	+
LD-6-01	+	-	-	-	-	-	+
LD-7-02	+	+	+	+	+	-	+
LR-1-98	+	-	+	+	+	-	+
LR-2-00	+	-	-	-	-	-	+
LR-3-02	+	+	+	+	-	+	+
LG-1-99	+	-	-	+	+	-	+
LG-2-00	+	-	+	+	-	-	+
LW-1-02	+	-	+	+	-	+	+
LA-1-99	+	-	-	+	+	+	+
LE-1-01	+	+	+	+	-	+	+

注：“+”为凝集，“-”为不凝集。
Note: “+” is hemagglutination, “-” is not hemagglutination

3 讨 论

新城疫病毒的HN 糖蛋白既具有神经氨酸酶活性,又具有血凝活性,通过HN 蛋白与特定动物红细胞表面的相应受体结合,可使红细胞发生凝集,据此特性,再结合抗血清的特异性抑制作用所建立的血凝(HA)和血凝抑制(HI)试验已成为新城疫诊断的常规方法。本研究利用HA 和HI 试验,结合血清中和试验、动物回归试验等对选自 15 个典型发病禽群的病料进行了病毒的分离与鉴定,最后所有分离株全部被确认为新城疫病毒。

衡量新城疫病毒强弱的常规方法是进行新城疫病毒的MDT、ICPI和NPI^[1,5,6]测定。本研究对 15 个地方分离毒株的测定结果表明,15 个地方分离毒株中,除LD-6-01 和LR-2-00 株是标准的弱毒株外,其余各毒株均为强毒株,其中LD-1-98,LD-2-99,LD-3-00,LD-4-01,LD-5-01,LD-7-02,LR-3-02,LW-1-02,LG-2-00,LA-1-99 和LE-1-01 等 11 株属于速发型强毒株;而LG-1-99 和LR-1-98 为中发型强毒株。本研究所测定的致病指数与我国NDV 标准强毒株F_{48E9}的有关指数(MDT 为 48 12 h,ICPI 为 1.81,NPI 为 2.42)^[8]相比,11 个速发型强毒株中LD-7-02,LD-5-01 和LW-1-02 3 株的MDT 和NPI 值较高,而ICPI 值相当;其他各株除LD-4-01 和LR-3-02 的NPI 值稍高外,其余各对应值均稍低;与李慧姣^[9]测定的 12 株NDV 的毒力相比,

也有部分速发型强毒株的数值偏低;但与近年来有关野毒株的测定结果^[10,11]相比,各相应指数则基本保持一致。NDV 各分离株血凝谱的试验结果表明,新城疫各毒株均可凝集鸡和人(O 型血)的红细胞,能凝集猪红细胞的毒株最少,其次为马和绵羊,并且以速发型强毒株凝集的红细胞动物种类相对最多,弱毒株则相对较少。在血凝解脱和热稳定性试验中,弱毒株的血凝解脱时间最长,血凝素热稳定性也最好;而各类强毒株均属于快、中速解脱型和血凝素热稳定性较差者,其中在速发型和中速发型毒株之间似乎无明显的规律性区别。

在对无母源抗体雏鸡所做的动物回归试验和 6log₂ 母源抗体雏鸡所进行的攻毒试验中,各组间显示出较大的差异。动物回归试验中,13 个强毒株中有 11 个可使雏鸡在 120 h 内全部发病死亡(LG-1-99 和LA-1-99 株致死率为 90%),而且 2 个弱毒株LR-2-00 和LD-6-01 也可使雏鸡的 20%~30% 死亡,这与骆春阳等^[12]指出 ICPI<0.5 的毒株接种鸡后不发生致死的报道不一致,其原因是否与目前流行的NDV 弱毒株的毒力增强有关,尚待进一步探讨。在攻毒试验中,6log₂ 母源抗体除对 2 个弱毒株完全保护外,在 13 个强毒株中,有 4 株(LG-1-99,LR-1-98,LD-4-01 和LD-3-00)得到了基本保护(保护率在 70%~90%);而另外 9 株基本上得不到保护(保护率在 0~20%);但F_{48E9} 在 6log₂ 的情况下得到了 90% 的保护。程相朝等^[13]在其他试验中也曾

观察了部分毒株和 F_{48E9} 对高母源抗体雏鸡的攻毒试验, 显示出同样的结果, 这与新城疫抗体传统的最低保护值^[14]的概念已极不适应。新城疫高母源抗体雏鸡不能抵抗新城疫流行株感染的原因, 可能与缺乏必要的局部免疫力有关, 但最关键的可能在于病毒本身抗原性的变化。虽然 NDV 只有一个血清型, 但多年来巨大的免疫压力为抗原的变异提供了一个理想的环境。刘华雷等^[15]曾通过大量的分析认为, 目前中国大部分鸡群中的免疫失败与新的 NDV 基因 VII 型的攻击有关, 从而提示本试验所分离的毒株中, 很可能有基因 VII 型等新的毒株存在, 因此造成了常规免疫高母源抗体雏鸡大批死亡。但在免疫鸡攻毒试验中, H₁ 效价为 6log₂ 的试验雏鸡虽不能完全抵抗 LE-1-01, LA-1-99, LG-2-00, LW-1-02, LR-3-02, LD-7-02, LD-5-01, LD-2-99 和 LD-1-98 等毒株的攻击, 但这几个试验组鸡的发病死亡时间与对照组相比却明显推迟, 并且部分毒株试验组的死亡率也不同程度降低了 10% ~ 30%, 结合前面的中和试验(12log₂ 的 ND 阳性血清可完全抑制各分离毒株对鸡胚的致病作用)结果, 说明这些毒株的抗原性并

没有发生根本性改变, 可能仅仅是抗原的特异性有所变化, 以及得到保护所需要的抗体阈值要求更高^[13]的缘故。这提示在目前的 ND 免疫中, 应在 I 系、IV 系等常规活疫苗免疫的基础上, 再配合使用含有新的流行株的灭活疫苗, 才有可能取得更加理想的效果。

根据过去几十年新城疫流行情况来看, 我国所出现的新城疫均以嗜内脏型较为普遍^[16], 常以内脏器官败血症病变和消化道出血性乃至坏死性病变为特征, 神经症状只在流行的后期或慢性病例中才有可能出现; 而且在出现神经症状的同时亦常有不同程度的消化道症状, 剖检时亦可见有不同程度的内脏(尤其是消化道)出血、坏死等病变; 另外, 其死亡率往往较低, 病程较长。而本研究所分离到的部分毒株发病急、死亡快、死亡率高, 仅表现单一神经症状, 内脏、消化道多无典型眼观病变; 有些则主要影响生产性能, 而不出现明显的病理变化。这些情况也见于近年来的其他相关报道中^[4, 13, 17], 这说明目前新城疫的流行日益复杂, 在一个地区往往会有多种基因型和不同致病特点的多种毒株共存。

[参考文献]

- [1] Calnek B W, John B H, Charles B W, et al Disease of Poultry[M]. Tenth ed Ames low: Iowa University Press, 1997. 541- 562
- [2] 胡子信, 张歧蜀, 门常平. 鸡新城疫免疫防治研究进展[J]. 北京农学院学报, 1996, (11): 115- 123
- [3] Taylor J, Edbauer C, Rey-Semelonge A, et al Newcastle disease virus fusion protein expressed in a fowl pox virus recombinant confers protection in chickens[J]. J Virol, 1990, 64: 1441- 1450
- [4] 胡 钧, 王文成, 苗玉和. 新城疫病毒野毒株的分离及其致病新特点[J]. 中国预防兽医学报, 2000, 22(3): 174- 176
- [5] 殷 震, 刘景华. 动物病毒学[M]. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 1997. 351- 355
- [6] 郑明珠. 家畜传染病实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001. 107- 111
- [7] 丁 壮. 新城疫病毒 HN 蛋白的克隆、序列分析、表达及其重组蛋白的免疫原性研究[D]. 长春: 中国人民解放军军需大学, 2001.
- [8] 范根成, 朱万光, 王永玲, 等. 新城疫病毒强毒株的分离与鉴定[J]. 中国兽医学报, 1999, 19(2): 114- 117.
- [9] 李慧姣. 我国新城疫病毒分离株生物学特性的研究[J]. 病毒学报, 1985, 1(4): 354- 359
- [10] 管 宇, 沈志强, 刘吉山, 等. NDV sdb2-s99 分离株的生物学特性及其 F 基因的克隆与序列分析[J]. 中国预防兽医学报, 2002, 24(6): 442- 445.
- [11] 梅双双, 杨润德. 鸡新城疫强毒株的分离及生物学特性鉴定[J]. 中国预防兽医学报, 2002, 24(5): 365- 368
- [12] 骆春阳, 刘立人. 免疫雏鸡群新城疫流行特点与特征性病理变化的研究[J]. 江苏农学院学报, 1982, 3(1): 48- 50
- [13] 程相朝, 张春杰, 李银聚, 等. 新城疫野毒株与 F_{48E9} 强毒株对不同抗体水平雏鸡的感染试验[J]. 中国兽医科技, 2002, 32(6): 24- 25
- [14] 孟凡生, 魏寿元, 密家自, 等. 鸡新城疫监测技术的应用与回顾[J]. 中国畜禽传染病, 1994, (5): 43- 44
- [15] 刘华雷, 王永坤, 王维巍, 等. 中国部分地区新城疫病毒的分子流行病学研究[J]. 扬州大学学报, 2001, 4(1): 35- 40
- [16] 李金璋. 鸡病[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1993. 11- 12
- [17] 程相朝, 张春杰, 李银聚, 等. 鸡新城疫嗜神经野毒株的分离鉴定及致病性试验[J]. 中国兽医杂志, 2002, 38(9): 17- 18

(下转第 46 页)

Study on preventing and curing colibacillosis in egg chickens by using self-made compound recipe of Chinese herbal medicine

QIN Si-hai

(College of Agriculture and Forestry, Linyi Normal University, Linyi, Shandong 276003, China)

Abstract: Susceptibility test, effective dosage test, safety test, clinical therapeutic and preventive test and comparative therapeutic test with western medicine were all done by using self-made compound recipe of Chinese herbal medicine in colibacillosis of egg chickens. Results indicated: It was very safe to use this recipe, which is moderately sensitive to *E. coli* in drug susceptibility test. It was more effective in curing colibacillosis of chickens (the effective power 88.3%), when effective adding dose was 10 g/kg in chicken feeds, especially when drug combination with Chinese medicine and western medicine the curative rate were 96.7%. Statistical analysis was significantly different ($P < 0.05$) between drug combination and single treatment with traditional Chinese medicine or western medicine. To prevent the incidence of colibacillosis in chickens in clinic using the self-made compound recipe was more effective than other western medicine and statistical analysis was significantly different ($P < 0.05$). It's safe even to use eight multiple effective dosage of the compound recipe, there were no grouping abnormality and pathological changes.

Key words: egg chickens; colibacillosis; compound recipe of Chinese herb medicine; Western medicine

(上接第 40 页)

Abstract ID: 1671-9387(2005)08-0035-EA

Isolation and identification of new castle disease virus of 15 strains and their biological characteristics

CHENG Xiang-chao¹, WU Zhiming², WU Ting-cai¹, LI Yijun¹,
ZHANG Chun-jie¹, LI Xiang-rui³

(1 College of Animal Science Tech, Henan University of Science Tech, Luoyang, Henan 471003, China;

2 Henan Veterinary Prevention and Control Station, Zhengzhou, Henan 450002, China;

3 College of Veterinary Medicine, Nanjing Agriculture University, Nanjing, Jiangsu 210095, China)

Abstract: Representative NDV strains collected during 1998- 2002 in different parts of Luoyang area were isolated, and their biological characteristics were identified and studied. The results showed that 15 NDV strains were hemagglutination (HA) active and hemagglutination inhibition (HI) active, and the pathogenicity to chicken embryo could be inhibited by ND positive serum. By means of the test of mean death time (MDT) of chicken embryo, intracerebral pathogenicity index (ICPI) of 1-day-old chicken and intravenous pathogenicity index (IVPI) in 6-week-old chicken, LD-6-01 and LR-2-00 strains were verified to be lentogenic strains, their hemagglutinin were stable to heat and belonged to slow type of hemagglutinating-free; the other strains were all virulent, their hemagglutinin were not stable to heat and belonged to fast type of hemagglutinating-free. 15 NDV strains were able to agglutinate chicken and human erythrocytes, but, their ability of agglutinating the erythrocytes of sheep, goat, swine, horse and cow were different. Challenged by 2 lentogenic NDV strains, the chickens with 6log₂ HI antibody obtained 100% protection, the same chickens challenged by LG-1-99, LR-1-98, LD-4-01 and LD-3-00 strains obtained 70% - 90% protection, and the same chickens only obtained 0- 20% protection after challenged by other 9 virulent strains. But the pathogenic and death time were postponed obviously in all the unprotected chickens.

Key words: NDV; isolate; biological characteristic; protection experiments