维普资讯 http://www.cqvip.c

第19卷5期
2004年10月

中国病毒学
VIROLOGICA SINICA

19（5）：523-525
October 2004

鸡痘的诊断与防治技术研究*

王雪鹏[1]，刘悦竹[2]，陈　蕾[1]，孙英峰[1]，常维山[1**]

（1. 山东农业大学动物科技学院，山东泰安 271018; 2. 山东明发兽药研究所，山东济南 250000）

Studies on the Technique of the Diagnosis for Fowlpox Disease

WANG Xue-peng[1]，LIU Yue-zhu[2]，CHEN Lei[1]，SUN Ying-feng[1]，CHANG Wei-shan[1**]

(1. Animal Science Technical College of Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China; 2. Shandong Mingfa Veterinary Research Institute, Jinan 250000, China)

Abstract: In this experiment the *Fowlpox virus* (FPV) antibody of two groups of chickens were tracked for 20 weeks by indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). A group of chickens were artificial infected. B group were the control of healthy chickens. The results indicated that the positive antibody rate of A group reached 95% in 4 weeks. The high level antibody could last 10 weeks. After being infected again the positive antibody rate reached 100% in two weeks. The positive antibody rate of serum of some convalescent chickens infected naturally was 44%, and which of three groups from some farms that were vaccinated with pox vaccine were 60%, 70% and 10% respectively. The chickens whose antibody was proved negative changed from positive with the method were ill after they had been infected artificially. However none of the chickens whose antibody were positive suffered from the virus after they were infected artificially. In addition, the neutralization test shown the antibody of FPV might be used to treat pox disease.

Key words: *Fowlpox virus* (FPV); Antibody; ELISA; P/N

关键词：鸡痘病毒；抗体；酶联免疫吸附试验；P/N 比值

中图分类号：S 855.3　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1003-5125(2004)05-0523-03

鸡痘是危害养鸡业发展的一种传染病，不分日龄大小均可发病，肉鸡和蛋鸡均可感染，发病期1-2周,雏鸡死亡率较高，可达5%～30%不等[1]，近年来发病率和死亡率有上升趋势，并且免疫失败的病例时有发生[2]。为了建立接种疫苗后抗体监测手段和研究感染鸡痘病毒后抗体产生规律，我们建立了间接ELISA 检测鸡痘病毒抗体的方法，进一步做了中和试验和用阳性血清治疗鸡痘的试验，报告如下。

1　材料和方法

1.1 实验材料

鸡痘病毒株（FPV-SD1、FPV-SD4）为山东省明发兽药研究所惠赠。鸡痘阳性血清由山东农业大学提供。SPF 阴性血清为山东省农科院惠赠。酶标兔抗鸡抗体购自中国联星公司，为美国Sigma 公司产品，工作浓度为 1∶15000。诊断抗原是按照参考文献[3]自己制备的。

1.2 试验动物分组及处理

选用80只1日龄商品代蛋公鸡，自养到30日龄时标记为 A 组，混合鸡痘病毒，采用翅下刺种法进行攻毒，分别在4周龄（攻毒前2d）和攻毒后1、3、4、5、6、8、10、11、14、16、18 周采集血清，在攻毒后18周时再攻毒一次，2周后采集血清，用间接 ELISA 法检测上述血清样品抗体，同时设立对照组 B 组，为在清洁环境中单独饲养的不攻毒对照组。

20日龄的海兰白商品代蛋公雏鸡36只，随机

收稿日期：2004-04-12，修回日期：2004-05-31
* 基金项目：山东省重点科技攻关项目部分内容（1999）
作者简介：王雪鹏(1980-)男，山东省巨野县人，硕士生。
** 通讯作者. Corresponding author. Tel:0538-8249169, Email:wschang@sdau.edu.cn

维普资讯 http://www.cqvip.c

分成四组，每组9只，第Ⅰ组直接用病毒悬液采用点眼、滴鼻、翅下刺种的方法攻毒，0.2mL/只；第Ⅱ组用中和的病毒悬液（把提纯的病毒1∶1000稀释，取稀释好的病毒悬液2.5mL，加抗鸡痘阳性血清2.5mL，37℃反应2h。）采用点眼、滴鼻、翅下刺种的方法攻毒，0.4mL/只；第Ⅲ组，在19日龄时，肌肉注射鸡痘阳性血清，0.5mL/只，20日龄时采用和第Ⅰ组同样的方法攻毒。

1.3 抽检样品

第一组为某鸡场曾在60日龄人工接种鸡痘弱毒疫苗的125日龄的血清样品10份；第二组为某鸡场在35日龄和105日龄分别刺种鸡痘弱毒疫苗，170日龄的血清样品10份；第三组鸡群为曾于35日龄和105日龄分别刺种鸡痘弱毒疫苗的350日龄的产蛋母鸡血清样品10份；第四组为自然感染康复后1个月的鸡群血清样本10份。

1.4 攻毒试验

利用匀浆的鸡痘尿囊膜做接种物，对第三组鸡群进行翅下刺中和点眼攻毒。

1.5 间接ELISA

按照参考文献[3]操作和判定结果。

2 结果

2.1 人工感染后抗体消长规律

试验鸡群（A组）在人工感染后有典型的鸡痘出现，间接ELISA法检测出A组鸡群各个阶段的抗体水平，用OD_{450nm}表示，并计算出P/N值，判定P/N值≥2.1为阳性，计算出阳性率（见表1）。

表1 A组在攻毒后各阶段的抗体水平（OD_{450nm}值）和阳性率（%）

Table 1 Antibody level of a group after artificial infection

Time(weeks)	0	1	3	4	5	6	8	10	11	14	16	18	20
Average of OD_{450nm}	0.254	0.220	0.463	0.491	0.524	0.521	0.464	0.495	0.460	0.354	0.351	0.301	0.654
Positive rate	0	16	79	95	90	90	78	56	53	35	36	25	100

由表1可以看出，在攻毒后第四周抗体阳性率达到高峰95%，高峰持续4周左右，在第10周下降到56%，第18周为25%，再次攻毒后抗体阳性率为100%。

间接ELISA法检测出B组鸡群各个阶段的抗体水平，结果显示抗体水平逐渐下降，并且全为阴性。

2.2 中和试验中各组鸡发病的时间与发病情况

由表2可以看出，没有被中和或提前注射阳性血清的第Ⅰ组，首先发病，并且在发病的第2天发病率就达到78%（7/9），最高达到100%（9/9）。而被血清中和和提前注射血清的第Ⅱ组和第Ⅲ组，发病比第Ⅰ组晚，并且发病率低，在发病第二天只有11%（1/9）和22%（2/9），最高达到33%（3/9）。

表2 中和试验中各组的发病情况

Table 2 Pathological changes of every group in neutralization tests

Group	6d	7d	8d	9d	14d	15d	16d	30d
Ⅰ	0/9	2/9	7/9	9/9	8/8	7/7	6/7	0/6
Ⅱ	0/9	0/9	1/9	3/9	2/9	1/8	1/8	0/8
Ⅲ	0/9	0/9	2/9	3/9	1/8	1/8	1/8	0/8

2.3 抽检样品ELISA检测

结果见表3。

表3 抽检样品ELISA检测结果的判定

Table 3 The results of ELISA in the samples

Groups	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Survived group
Positive rate(%)	60(6/10)	70(7/10)	10(1/10)	44(4/9)

2.4 第二次攻毒后抗体增长情况

A组鸡群在第二次攻毒时，血清抗体为阳性的鸡群和血清样品为阴性的鸡群，攻毒后机体反应不同（见表4）。

表4 二次攻毒后抗体增长倍数

Table 4 Increasing multiple of antibody after second

Chick	Samples	Increasing multiple of antibody			
		2	4	8	16
Negative antibody	10	0/10	1/10	3/10	6/10
Positive antibody	10	0/10	0/10	0/10	0/10

由表4可以看出第二次攻毒前抗体为阳性的鸡只，攻毒后抗体未升高，第二次攻毒前抗体已转为阴性的鸡只，攻毒后抗体全部有明显生高，均转为阳性。

2.5 免疫鸡群攻毒结果

大多数抗体已转为阴性的350日龄的产蛋母鸡，攻毒后鸡群有80%（8/10）出现典型鸡痘。

3 讨论

传统的FP血清学诊断方法主要为ID实验，但

维普资讯 http://www.cqvip.com

阳性检测率很低[4]。近年来，许多学者在进行 FP 成份分析或免疫实验时采用 ELISA 检测鸡痘抗体[5~8]，本文结果表明，间接 ELISA 方法特异、敏感，重复性好，并且简便迅速，并且已经被国际兽医局认可[8]。

抗体水平较高的鸡群攻毒后，没有明显的鸡痘症状，可见，鸡群感染鸡痘康复后，对鸡痘野毒有明显的抵抗作用，与有关报道相符合[1]。试验组阳性率下降到25%时，再次攻毒，从抗体增长倍数表中可以看出，攻毒前阳性的样本，抗体增长不明显，而攻毒前阴性的样本，抗体增加显著，都在 4 倍以上，并且主要集中在 16 倍，可以判定为隐性感染；而弱毒疫苗免疫 280d 后抗体转为阴性的鸡群，有80%出现了典型的鸡痘症状，说明人工免疫后 40 周，鸡群已失去免疫保护。所以，对养殖鸡群应根据抗体情况及时进行免疫才能有效预防鸡痘发生。

本研究人工感染组均有典型的鸡痘出现，发病后，用间接 ELISA 检测了抗体产生情况，结果表明：在攻毒后第四周抗体阳性率达到高峰 95%，高峰持续四周左右，在第十周下降到 56%，第十八周为25%，再次攻毒后就表现为阴性感染，当阳性率为10%时攻毒就有 80%发病，所以在实际生产时应在阳性率为 25%（OD_{450nm} 平均值为 0.301）以上时加强一次免疫。

在中和试验中可以看出，提前注射抗鸡痘阳性血清的一组发病率明显比直接攻毒的一组低，同时中和试验组的发病率也低，说明阳性血清有预防鸡痘的作用，在实际生产中为阻止雏鸡暴发鸡痘，可考虑提高母源抗体减少雏鸡发病的可能性。

送检样品的检测结果也显示，养殖场在进行了鸡痘疫苗免疫接种抗体阳性率达不到 100%,且在接种后 2-3 个月，抗体阳性率即降至 70%以下。提示我们在鸡痘流行地区，鸡痘流行前应进行一次加强免疫。

参考文献

[1] 殷 震，刘景华. 动物病毒学（第二版）[M]. 北京：科学出版社，1997. 955-959, 325-329.

[2] 常维山，孙淑红，王雪鹏，等. 实验鸡群暴发鸡痘并发细菌感染的诊断报告[J]. 中国禽业导刊, 2003（24）：27.

[3] 王雪鹏，李建亮，常维山，等. 用间接 ELISA 检测鸡痘病毒抗体的研究[J]. 中国兽医科技，2003，（11）：8-11.

[4] 徐春厚，吴 陵，邵 红，等. 琼脂扩散试验法检测鸡痘病毒抗原及血清抗体[J]. 黑龙江畜牧兽医，1997，（1）：25-26.

[5] 徐春厚，孙 力，于春生，等. 用 PPA-ELISA 检测鸡痘病毒抗体的研究[J]. 中国畜禽传染病, 1997, (6): 33-35.

[6] Howie R. Comparison of tow commercial enzyme-linked immunosorbent assays(ELISA)for infectious bursal disease virus[J]. Can Jcomp Med, 1981, 45(1):51-55.

[7] Marquardt W W. An indirect enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) for measuring antibodies in chinkens infected with infectious bursal disease virus[J]. Avian Dis, 1980, 24: 375-385.

[8] 国际兽医局. 哺乳动物、禽和蜜蜂 A 类和 B 类疾病诊断试验和疫苗标准手册[R]. 北京：农业部畜牧兽医局，1996, 553.