

灭活蜂胶菌对种鸡大肠杆菌病的防治效果

王国栋, 鄢素贞, 靳国旺 (安阳工学院生物与食品工程学院, 河南安阳455000)

摘要 河南某种鸡场饲养4.5万只种鸡, 发生大肠杆菌病。从68只病死鸡脏器中分离到27株大肠杆菌, 对其中10株大肠杆菌进行了鉴定和分型, 结果表明:90.9%大肠杆菌为O₇₈, 9.1%大肠杆菌为O₇₄。将O₇₈、O₇₄制成灭活蜂胶苗, 免疫该场青年鸡, 发现使用安全、效果好, 免疫后的180d保护率仍达到100%。免疫过的鸡群因大肠杆菌病的死亡率低于1%~5%, 产蛋率平均高5%~10%。

关键词 种鸡大肠杆菌; 自家疫苗; 效果观察

中图分类号 S852.3 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)28-08905-02

Control Effect of Inactivated Propolis Vaccine on Colibacillosis in Breeder Chicken

WANG Guo-dong et al (College of Biology and Food Engineering, Anyang College of Technology, Anyang, Henan 455000)

Abstract Colibacillosis occurred in a breeder-chicken farm of Henan province with 45 thousand breeding chickens. 27 strains of *E. coli* were isolated from the viscera of 68 diseased or dead chickens, among which 10 strains were identified and serotyped. The results showed that 90.9% of *E. coli* was serotyped of O₇₈ and 9.1% of *E. coli* were serotyped of O₇₄. Both O₇₈ type and O₇₄ type were made into inactivated propolis vaccine which was used to immunize young chicken in this farm. It was found that this vaccine was safe to use with good effects and its protection rate still reached 100% after the chicken had been immunized for 180 days. In the chicken flock that had been immunized the mortality of colibacillosis was below 1%~5% and the average laying rate was 5%~10% higher than CK.

Key words Colibacillosis in breeder chicken; Self-developed vaccine; Effect observation

河南某种鸡场饲养4.5万只父母代种鸡, 品种为罗曼。育雏以平养为好。转入鸡舍后, 大肠杆菌病时有发生, 特别是在产蛋高峰期, 大肠杆菌病发生尤为严重。鸡群死亡率高达9.5%, 产蛋率下降10%~20%。采用带鸡消毒与口服抗生素的方法后^[1], 均没有收到明显的效果。

蜂胶是一种天然物质, 具有抗菌、抗病毒、增强机体免疫功能等作用, 同时具有广泛的生物活性和药理作用。蜂胶可保持抗原性, 增强吞噬细胞的能力, 促进抗体产生, 提高机体免疫力。蜂胶制剂易于注射, 吸收快, 注射部位不出现组织损伤和难以消除的硬结, 弥补了矿物油佐剂在注射部位出现肉芽肿、硬结的缺陷。为此, 笔者研制了大肠杆菌灭活蜂胶苗。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病料。取种鸡场不同日龄的68只病死鸡的肝脾。

1.1.2 菌种。从病死鸡的68份病料中分离O₇₈、O₇₄。

1.1.3 培养基。麦康凯琼脂培养基、营养琼脂培养基、普通琼脂培养基、厌气肉肝汤培养基。

1.1.4 试验鸡。非免疫鸡, 由实验室非免疫种蛋自行孵化。根据试验需要, 将非免疫鸡饲养至所需日龄。

1.1.5 蜂胶。蜂胶购自中国农业科学院蜜蜂研究所。参考姜平介绍的方法^[2], 配制的蜂胶溶液放置于4℃以下保存, 备用。

1.1.6 大肠杆菌标准血清。购于中国兽医药品监察所。

1.2 方法

1.2.1 细菌分离。无菌采取病死鸡的肝脾, 接种于麦康凯琼脂培养基上, 经37℃、18~24h培养, 挑取单个菌落, 作纯分离培养, 然后染色镜检作生化试验和血清分型, 确定10株大肠杆菌中90.9%为O₇₈, 9.1%为O₇₄。

1.2.2 致病力试验。取36日龄健康鸡30只, 随机分成6组, 每组5只。取5株大肠杆菌(5-1、5-6、5-9、5-10和

1-1, 接种于肉汤培养基, 经37℃培养20h后, 每只鸡肌肉注射1ml肉汤培养基。每只对照鸡注射1ml灭菌肉汤培养基。观察12d。

1.2.3 菌液制备。取对鸡有较强致病力的O₇₈中的5-1、5-6号和O₇₄中的1-1号3株菌, 分别接种于营养琼脂培养基, 37℃培养24h后, 用无菌生理盐水洗下菌苔, 然后用灭菌4层纱布过滤于灭菌瓶中, 按比浊计数法计数后, 将菌液稀释到所需菌量, 3株菌等量混合, 加入浓度为0.3%甲醛溶液, 37℃灭活24h, 期间每隔4h振荡1次。

1.2.4 灭菌检验。将灭活24h的菌液接种于普通琼脂、厌气肉肝汤中, 37℃培养48h后观察细菌生长情况。

1.2.5 疫苗制备^[3]。在经检验合格的灭活大肠杆菌混合菌液中, 加入蜂胶提取液, 使终浓度为每毫升菌液中含蜂胶10ng, 充分混匀。

1.2.6 安全性试验。将制备好的疫苗肌肉接种10只7日龄非免疫鸡, 接种量1ml/只; 同时, 肌肉接种10只140日龄的种鸡, 接种量2.5ml/只。观察免疫接种后反应, 观察期20d。

1.2.7 免疫剂量试验。选50只7日龄非免疫鸡, 均分5组, 即第1组注射疫苗0.2ml/只, 第2组注射疫苗0.25ml/只, 第3组注射疫苗0.3ml/只, 第4组注射疫苗0.4ml/只, 第5组不免疫作为对照组。另选50只140日龄非免疫种鸡, 均分5组, 即第1组注射疫苗0.4ml/只, 第2组注射疫苗0.5ml/只, 第3组注射疫苗0.6ml/只, 第4组注射疫苗0.7ml/只, 第5组不免疫为对照组。免疫21d后, 用分离株攻毒, 7日龄鸡、140日龄种鸡分别口服20亿、30亿/只, 观察20d。

1.2.8 免疫效力产生期与免疫期试验。取60只7日龄非免疫鸡, 随机分成2组, 即第1组颈部皮下注射灭活蜂胶苗0.3ml/只, 第2组不进行疫苗免疫作为对照组。免疫后7、14、42d, 疫苗免疫组和对照组随机各抽取10只, 每只仔鸡口服分离毒株20亿。另取100只14日龄非免疫种鸡, 随机分成2组, 即第1组胸肌注射蜂胶灭活苗0.6ml/只, 第2组不进行疫苗免疫作为对照组。免疫后7、14、120、150d, 疫苗免疫组和对照组随机各抽取10只, 每只种鸡口服分离毒株30亿, 观

察20 d。

2 结果与分析

2.1 致病力试验结果 表1 表明,在接种5 株分离菌肉汤培养物后4~7 d 开始发病,症状与自然病例症状相同。所有鸡中可见与自然病例相同的病变,对照组均健活。这表明5 株大肠杆菌对鸡均有较强的致病力,尤其是5-1、5-6、1-1。

表1 5 个分离株接种鸡的致病力结果

菌株	发病期	发病数	死亡数	健康数	发病率 %	死亡率 %
5-1	4	5	5	0	100	100
5-6	5	5	5	0	100	100
5-9	7	5	3	2	100	60
5-10	7	4	3	1	80	60
1-1	5	5	5	0	100	100
对照	-	0	0	5	0	0

2.2 无菌检验 将灭活的菌液接种于普通琼脂、厌气肉肝汤中,发现均无细菌生长。

2.3 安全检验 7 日龄、140 日龄种鸡注射疫苗后,7 日龄鸡出现短时间精神委顿,食欲下降,1 d 后恢复正常;140 日龄鸡精神沉郁4~6 h 后恢复正常。注射部位无异常。

2.4 免疫剂量试验 表2 表明,7 日龄鸡注射疫苗0.3 ml/只,种鸡注射疫苗0.6 ml/只,均可获得较强的免疫力。所以,免疫剂量为仔鸡0.3 ml/只、种鸡0.6 ml/只。

表2 免疫剂量试验结果

组别	7 日龄组		140 日龄组	
	剂量 ml/只	保护率 %	剂量 ml/只	保护率 %
1	0.20	80	0.4	80
2	0.25	90	0.5	100
3	0.30	100	0.6	100
4	0.40	100	0.7	100
5	0	0	0	0

2.5 免疫效力产生期与免疫期试验 表3、4 表明,无论是仔鸡还是种鸡接种疫苗7 d 后就可产生保护力,14 d 保护率达100%,免疫期可持续150 d 以上。

表3 7 日龄免疫后保护率 %

免疫后的天数 d	7 日龄	对照组
7	70	0
14	100	0
24	100	0

表4

140 日龄免疫后保护率

%

免疫后的天数 d	140 日龄	对照组
7	70	0
14	100	0
90	100	0
120	100	0
150	100	0

2.6 大群应用效果 将研制的8 万头份灭活蜂胶苗免疫鸡群,每批鸡在70~80 日龄和100~120 日龄各免疫一次,每次颈部皮下或胸肌注射0.6 ml/只。临床观察,发现效果良好。为了进一步证实疫苗的免疫效果,将免疫30、90、120、150、180 d 的鸡进行攻毒试验,每组5 只,每只注射培养24 h 的肉汤液0.6 ml,发现全部保护。

用大肠杆菌灭活蜂胶苗免疫过的鸡群产蛋率高5%~10%,死亡率低于1%~5%。从病例解剖上看,免疫与未免疫鸡群病死鸡的心包、气囊和肝脏等病理变化差异很大。前者大肠杆菌病病变很小,后者极为严重。

3 小结与讨论

由于血清型的不同,从该地区分离出的大肠杆菌用于另一个地区免疫的效果差^[4]。所以,利用该场分离出有优势血清(O₇₈和O₇₄)的大肠杆菌制备灭活蜂胶苗。研究表明,该苗安全,能有效抵制大肠杆菌的攻击,免疫7 d 后可产生保护作用,室内动物试验14 d 保护率达100%,免疫期5 个月以上。给该场青年鸡免疫两次,平均产蛋率提高5%~10%,死淘率低于1%~5%。多数资料报道,仔鸡和青年鸡多发大肠杆菌病,而该场产蛋鸡多发。饲养环境条件差,如鸡舍结构不合理、饲养密度大、通风不良、氨气浓度过高,易导致上呼吸道纤毛失去运动性^[5],从而使大肠杆菌易通过呼吸道感染。因此,对该病采取免疫接种防治措施时,应加强饲养管理,注意通风换气,提高疫苗免疫效果。

参考文献

- [1] 杨汉青,JIANG H M,吴清民,等.鸡源大肠杆菌对氟 诺酮类药物的多重耐药性[J].畜牧兽医学报,2003,34(4):398-404.
- [2] 姜平.兽医微生物制品[M].2 版.北京:中国农业出版社,2003:55-57.
- [3] 欧阳素贞,王双山,张福良,等.肉鸡大肠杆菌多价灭活蜂胶苗的研制[J].中国兽医学报,2005(3):253-254.
- [4] 司有祥,冯涛,陈庆普.鸡大肠杆菌多价灭活油乳疫苗的研究与应用[J].中国预防兽医学报,2002(1):59-62.
- [5] B.W 卡尔尼克.禽病学[M].11 版.高福,苏敬良,译.北京:中国农业出版社,1999:158-172.