

2012年盐城地区部分规模禽场禽流感疫病监测分析与防治

纪家玉 卞红春 朱明 江苏省盐城市畜牧兽医站 (224000)

中图分类号: S858.31/.335.3, S851.31*3 文献标识码: B 文章编号: 1002-2996(2013)05-0005-03

摘要: 禽流感是禽流行性感冠的简称,是由A型流感病毒引起的一种禽类传染病。根据其致病性和毒力的不同分为高致病性禽流感(HPAI)、低致病性禽流感(LPAI)以及无致病性禽流感。HPAI因其传播快、危害大,被世界动物卫生组织定为A类传染病。2004年初,越南、泰国境内的H5N1亚型高致病性禽流感大流行已经使数十人死亡,随后传入我国,使成千上万只鸡死亡。禽流感疫情的发生越来越频繁,发病的地区也越来越多,受疫情影响的范围越来越广。禽流感在造成巨大直接和间接经济损失的同时,也威胁着人类的生命安全,已成为重大的公共卫生问题。盐城市位于苏北黄海之滨,是江苏省畜禽养殖大市和主产区。家禽业作为盐城市畜牧业的传统产业,近年来发展迅速,做好禽流感的防控工作更是重中之重。

关键词: 禽流感, 监测, 防控

1 样品来源

被检样品来自盐城市东台市、大丰市、盐都区等县(市、区)的规模禽场,其中鸡场62个,水禽场6个。这些禽场采用发酵床养殖、林下散养及笼养等多种不同的养殖方法,硬件设备、管理水平、疫苗的使用及免疫程序各不相同。被检样品主要为健康禽只的血清、咽喉/泄殖腔棉拭子以及发病的组织样品等。样品采集见表1。

表1 鸡样品采集 份

地区及样品	祖代		父母代		商品代	
	血清	棉拭子	血清	棉拭子	血清	棉拭子
东台	100	100	100	100	85	90
大丰	50	50	50	50	38	38
亭湖	110	100	80	50	20	20
盐都	120	120	50	50	50	-
阜宁	130	50	145	50	90	40
射阳	160	50	100	50	90	-
滨海	162	50	100	50	100	30
总计	832	520	625	400	473	218

表2 水禽样品采集 份

地区	血清	棉拭子
东台	10	10
大丰	10	10
亭湖	10	10
盐都	10	10
阜宁	10	10
射阳	10	10
总计	60	60

2 操作方法

2.1 血凝试验和血凝抑制试验

2.1.1 试验原理 血凝(HA)和血凝抑制(HI)试验可以用来鉴定禽流感病毒亚型,也可以用来判定疫苗免疫效果。HA和HI试验是利用某些病毒具有凝集红细胞的特性,这种特性能被特异性抗血清抑制。

因而,可以用已知病毒来检查血清中相应抗体,也可用已知血清来鉴定未知病毒。

2.1.2 结果观察 观察结果时将血凝板倾斜数十秒钟,待阴性孔内红细胞自由下滑呈泪滴状时读取结果。以出现完全抑制的血清最高稀释度的倒数为抗体的效价。在检测患者双份血清时需在同一次试验中进行,并以恢复期血清抗体效价较急性期抗体效价升高4倍或4倍以上为阳性。

2.1.3 检测结果

2.1.4 结果分析 盐城市2012年上半年共集中监测规模鸡场62户,规模水禽场6户。规模鸡场禽流感免疫抗体合格率分别为RE-4为86.9%、RE-5为86.7%,规模水禽场禽流感RE-5免疫抗体合格率为90%。结果表明,盐城市2012年上半年禽流感免疫抗体水平呈上升趋势,不同地区祖代之间、父母代之间、商品代之间抗体水平有一定差异性,但也均呈逐步上升趋势。规模水禽场的抗体水平略高,群体免疫抗体水平符合江苏省2012年监测方案中80%合格率的要求。

血凝/血凝抑制属于血清学检测的范畴。血清学检测主要应用于抗体检测、抗体监测、疾病的诊断等,其主要意义在于抗体检测可用于对免疫效果的评价,从而对疫苗的效果进行一个科学的评估,同时对禽群的免疫状态进行跟踪,以便于及时的进行疫苗的接种并制定科学合理的免疫程序。对于没有使用过某种疾病的疫苗养殖场,检测出抗体就意味着感染,对于使用过疫苗的养殖场,抗体的水平的高低也可以初步判断是否感染野毒。另外,随着一些可用于野毒感染和疫苗毒免疫的抗体鉴别诊断方法的建立,血清学检测还可用于进行疫病的清除。

2.2 免疫胶体金试验

2.2.1 试验原理 试纸由多层组成,分别为样品垫、胶体金标记抗AIV单抗膜、检测膜、吸水膜和背板等。检测膜上分别喷涂抗AIV IgG和羊抗鼠IgG。样品加入样品孔后,经过样品垫渗滤到胶体金标记抗AIV单抗膜,如果样品中含有AIV,则AIV与胶体金标记的AIV单抗结合,形成AIV—胶体金标记AIV单抗结合物。由于层析作用,结合物及未与AIV结合的胶体金标记抗AIV单抗一起往前移动,当到达检测线时,AIV—胶体金标记抗AIV单抗结合物又与

表3 禽流感 RE-4 抗体检测水平

	祖代		父母代		商品代		总计	
	阳性样本 / 总样本	阳性率 / %						
东台	90/100	90.0	91/100	91.0	78/85	91.6	259/285	90.8
大丰	44/50	88.0	45/50	90.0	35/38	91.7	124/138	89.9
亭湖	92/110	83.6	70/80	87.5	17/20	83.3	179/210	85.0
盐都	105/120	87.5	43/50	86.0	43/50	86.7	191/220	86.9
阜宁	113/130	86.9	120/145	82.8	81/90	90.0	314/365	86.1
射阳	143/160	89.3	87/100	87.0	77/90	85.0	307/350	87.5
滨海	140/162	86.4	82/100	82.0	83/100	83.0	305/362	84.3
总计	727/832	87.4	538/625	86.1	414/473	87.5	1679/1930	87.0

表4 禽流感 RE-5 抗体检测水平

	祖代		父母代		商品代		总计	
	阳性样本 / 总样本	阳性率 / %						
东台	90/100	90.0	89/100	89.0	85/95	89.5	264/295	89.5
大丰	44/50	88.0	44/50	88.0	44/48	91.7	132/148	89.2
亭湖	92/110	83.6	71/80	88.8	25/30	83.3	188/220	85.4
盐都	107/120	89.2	40/50	80.0	53/60	88.3	200/230	86.9
阜宁	113/130	86.9	120/145	82.8	91/100	91.0	324/375	86.4
射阳	140/160	87.5	87/100	87.0	85/100	85.0	312/360	86.7
滨海	140/162	86.4	82/100	82.0	83/100	83.0	305/362	84.3
总计	726/832	87.3	533/625	85.3	466/533	87.4	1725/1990	86.7

表5 全市家禽免疫抗体监测情况统计

禽别	场(户)数	免疫情况	监测血样数	免疫合格数	合格率	健康状况
鸡	62	已免	1930	1671	86.5	健康
水禽	6	已免	60	54	90.0	健康
合计	68	已免	1990	1725	86.7	/

表6 禽流感病原学检测免疫胶体金试验结果

	祖代		父母代		商品代		总计	
	阳性样本 / 总样本	阳性率 / %						
东台	0/100	0	0/100	0	1/100	1	1/300	0.3
大丰	0/50	0	0/50	0	0/48	0	0/148	0.0
亭湖	0/100	0	0/50	0	1/30	3.3	1/180	0.6
盐都	0/120	0	0/50	0	0/10	0	0/180	0.0
阜宁	0/50	0	0/50	0	1/50	2	1/150	0.7
射阳	0/50	0	0/50	0	0/10	0	0/110	0.0
滨海	0/50	0	1/50	2	0/30	0	1/130	0.8
总计	0/520	0	1/400	0.25	3/278	1.1	4/1198	0.3

表7 全市家禽免疫胶体金试验结果情况统计

禽别	场(户)数	免疫情况	监测血样数	阳性数	阳性率
鸡	62	已免	1138	2	0.2
水禽	6	已免	60	2	3.3
合计	68	已免	1198	4	0.3

检测线上的另一个 AIV 单抗结合,形成胶体金标记抗 AIV 单抗—AIV—单抗(双抗体夹心)复合物,因而出现胶体金沉积,出现红色检测线。其他未与 AIV 结合的多余的胶体金标记抗 AIV 单抗则运行到对照线,与对照上的羊抗鼠 IgG 结合,形成胶体金标记抗 AIV 单抗—羊抗鼠 IgG 复合物,因而也出现一条红线。因此,无论样品中是否含有 AIV,对照线总能与胶体金标记抗 AIV 单抗膜中多余的胶体金标记抗 AIV 单抗结合,出现对照红线。如果样品中有 AIV,则同时出现检测线。

2.2.2 结果观察 样品加入后室温下水平放置 20~30 min 内判定结果。阳性:试纸在 C 和 T 区位置出现平行的红色线“||”。阴性:试纸在 C 区出现一条红色线“|”。无效:试纸不出现任何线。

2.2.3 检测结果(见表6)

2.2.4 结果分析

本次共集中监测规模鸡场 62 户,规模水禽场 6 户。规模鸡场禽流感免疫胶体金试验阳性率为 0.2%,规模水禽场免疫胶体金试验阳性率为 3.3%。结果表明,盐城市 2012 年上半年家禽禽流感病原学检测有少量阳性情况存在,但禽流感病原学检测免疫胶体金试验只能用于禽流感疫病检测的初筛。在采样数量较大的情况下使用该办法,由于操作方便快捷,肉眼于 10 min 内可判定结果,很快可以初步筛选出阳性样品。因为该办法的特异性不高,存在样品假阳性的可能,筛选的阳性样品需要用病毒分离、PCR 等方法作进一步的确认。

2.3 禽流感病毒 RT-PCR 检测

2.3.1 试验原理 利用离心柱内硅基质膜提取 RNA,在反转录酶的作用下,以 RNA 为模板,以引物为起点合成与 RNA 模板互补的 cDNA 链。在 TaqDNA 聚合酶的作用下,经高温变性、低温退火、中温延伸的循环,使特异 DNA 片段的拷贝数放大一倍。经过 35 次循环,最终使扩增 DNA 片段放大了数百万倍。将扩增 DNA 片段进行电泳,经染

色后,在紫外灯照射下,肉眼可见到 DNA 片段的扩增带。

2.3.2 结果观察 阳性对照出现 330bp 扩增带,阴性对照无带出现(引物带除外)时,实验结果成立。被检样品出现 330bp 扩增带为禽流感病毒阳性,否则为阴性。

2.3.3 检测结果 由禽流感病原学检测免疫胶体金试验初筛出来的 4 份阳性样品经过禽流感病毒 RT-PCR 检测结果均为阴性。

2.3.4 结果分析 禽流感病毒 RT-PCR 检测较禽流感病原学检测免疫胶体金试验特异性和敏感性都

绿壳蛋鸡慢性呼吸道病继发大肠杆菌病的诊治

宋娟¹ 唐和燕²

1. 贵州省福泉市农村工作局动物疫病预防控制中心; 2. 福泉市农村工作局饲草饲料工作站 (550599)
中图分类号: S858.315.1², S852.62 文献标识码: C 文章编号: 1002-2996(2013)05-0007-01

鸡慢性呼吸道病又称鸡败血支原体感染,是由鸡败血支原体引起的鸡和火鸡发生的一种慢性呼吸道传染病。主要表现为呼吸道症状,如气管炎、气囊炎等,以咳嗽、气喘、流鼻涕和呼吸啰音为特征。病状发展缓慢,病程较长,在鸡群中可长期蔓延。2012年4月,福泉市一个规模养殖场育雏25日龄后的绿壳蛋鸡苗,在发放给农户散养后几天内相继发生鸡精神不振、伸脖子、张嘴呼吸、咳嗽、稀粪和死亡的现象。经诊断为鸡慢性呼吸道病继发大肠杆菌感染,采取综合治疗措施后,病情得到控制。

1 发病情况与症状

规模养殖场于2012年4月购进绿壳蛋鸡苗5000羽,在鸡舍中分三层育雏,鸡苗育雏脱温25日龄后,发放到9个农户家散养,白天放鸡在林下自由采食,晚上回鸡舍。由于气温下降、转群等应激因素,7d后,部分鸡精神沉郁、有轻微呼吸道症状、零星死亡,而后病情加重。病鸡离群闭目,排灰白色、绿色的稀粪,死鸡数量每天呈现上升趋势。发病期间一直在使用抗病毒药配合呼吸道药进行治疗,效果不好。9户共死亡鸡1100只,死亡率为22%(1100/5000)。

查看规模养殖场养殖档案,本批鸡苗在1日龄时进行了马立克氏疫苗免疫,7日龄进行了鸡新城疫免疫,到农户手中还没有进行任何免疫。

病鸡开始流浆液性和黏液性鼻涕,打喷嚏。随后出现咳嗽,伸脖子,张嘴呼吸,有呼噜声,病鸡食欲不振,逐渐消瘦。到后期有的病鸡眼睛肿胀、流眼泪。染病后鸡群采食减少,聚集成堆或闭眼呆立,排白色粪便。

2 临床剖检和实验室诊断

取5只病鸡解剖,鼻腔、气管支气管和气囊中含有粘液性渗出物,气管内有干酪样物,气囊有不同程度混浊、增厚、水肿,有1只病鸡肝表面有一层黄白的纤维素膜。

(接上页)

高。规模禽场在使用免疫胶体金试验初步筛选后,再将阳性样品送有关部门进行RT-PCR检测。

3 结论

禽场一旦发生禽流感疫病将给盐城市乃至全省

取病鸡喉气管分泌液涂片,革兰氏染色后镜检,发现中等大小、两端钝圆的G⁻阴性杆菌。将病料接种在普通琼脂平板培养基上,置37℃温箱中培养24~48h,形成无色菌落。综合以上临床症状、病理剖检和实验室诊断结果,确诊该鸡场病鸡患支原体继发大肠杆菌病。

3 治疗

(1)对本病应采取综合性防治措施。可治疗本病的药物很多,但较难根治,病鸡治愈后大多成为带菌者向周围排出病菌。

(2)用药:可迪(泰乐)100g,双黄连100g混水500kg,分上下午集中饮水。饲料用恩诺沙星4~6g/kg+扶正解毒散2g/kg拌料,连用3~5d。死亡鸡逐渐减少,病情得到控制。

(3)每天清扫鸡舍的粪便,并用1:400的百毒杀消毒液喷雾消毒。并在林下场地用20%的生石灰水消毒。

(4)将精神不振的病鸡从群中分离出来,单独照料。及时清除死亡的鸡,进行深埋处理(加入生石灰)。

4 预防

支原体和大肠杆菌都是条件性致病微生物,当鸡场管理不善和有应激因素等诱因时,可能发生支原体病继发大肠杆菌病,因此预防工作显得更为重要。

(1)加强鸡群的饲养管理,降低饲养密度,控制好鸡舍温湿度,保持良好的通风;

(2)有条件的可以进行鸡支原体疫苗的免疫接种和药物预防工作:1周龄接种鸡支原体冻干苗,灭活苗7~15日龄雏鸡颈部皮下注射0.2mL,成鸡0.5mL。

(3)转群及免疫前后添加氨基多维、金维素等抗应激药物。

(4)加强鸡舍消毒。定期对鸡舍、环境进行彻底清扫、清洗、消毒,消毒药要有2~3种交替使用。

养禽业带来巨大的经济损失,有效防控AIV病毒尤为重要。禽场要在防止疫苗污染、垂直传播和二次感染上严格加强AIV的防控,做好禽场的净化工作。同时,规模禽场要做好日常的检测、监测工作,以提高整个禽场的抗病能力。