

# 兽医科技信息

1

总第 217 期

1 月 25 日

中国农业科学院哈尔滨兽医研究所



简 述

## 哈兽研所禽流感研究最新进展

在农业部畜牧兽医局的领导与大力支持下,经批准,中国农科院哈尔滨兽医研究所于 1995 年开展了禽流感防制的研究,新组建的禽流感研究中心在病原分离、分型鉴定、疫病诊断、单抗研制和分子克隆等方面均取得一定进展,为“九五”期间深入开展此病研究打下良好基础。

**病原分离:**该所的禽流感研究中心积极配合农业部组织和领导全国禽流感疫情普查,除提供全部所需的检测试剂和技术外,还多次派人赴现地调查、采集病料和确证疫情,并做了大量实验室病毒分离鉴定工作。研究结果表明,我国鸡群中除有 H<sub>5</sub>N<sub>2</sub> 亚型禽流感病毒流行外,还存在 H<sub>1</sub>N<sub>6</sub> 和 H<sub>1</sub>N<sub>5</sub> 两种新禽流感病毒亚型的流行,特别是 H<sub>1</sub>N<sub>5</sub> 亚型从鸡群中的成功分离在世界上尚属首次。毒力测定结果表明,所分离的这 2 株新禽流感病毒均属低致病力毒株。

**病毒分型:**禽流感病毒型别众多复杂,迅速建立病毒分型鉴定体系是我国禽流感防制的必要基础和当务之急,为此,在农业部的大力支持下,禽流感研究中心与国际兽疫局和联合国粮农组织的禽流感参照实验室开展了国际合作,现已初步建立起禽流感毒型鉴定技术,并研制出了我国自己的 H<sub>2</sub>、H<sub>3</sub> 和 H<sub>5</sub> 亚型分型血清。

**疫病诊断:**为积极配合我国的禽流感疫情普查,该中心对所建立的琼脂凝胶免疫扩散法(AGID)作了进一步完善,特别对诊断抗原和抗血清的制造和检验作了改进,使该诊断法更加稳定可靠,同时开展了禽流感酶联免疫吸附试验(ELISA)和病毒中和试验诊断法的研究,已确定 2 种方法的主要参数,并初步建立了这 2 种诊断技术。

**单抗研制:**为提高禽流感病毒分型鉴定试剂的准确性和可靠性及降低生产成本和简化生产工艺,此中心还开展了抗禽流感病毒单克隆抗体(McAb)的研制,已用纯化的 H<sub>1</sub> 和 H<sub>5</sub> 亚型病毒免疫 balb/c 小鼠,进行了 3 次细胞融合,淋巴细胞杂交瘤的筛选和 McAb 的鉴定正在进行之中。

**分子诊断和分子克隆:**禽流感病毒毒型众多,变异性极强,难以进行有效的免疫预防,因此分子诊断和监测技术就成为跟踪疫情动向,有效防止疫病大爆发的最紧迫和最关键技术。自 1959 年以来,世界各地包括近年来在美国(1983)和墨西哥(1995)爆发的禽流感均由 H<sub>5</sub> 或 H<sub>7</sub> 亚型病毒所引起,因此通过 H<sub>5</sub> 和 H<sub>7</sub> 亚型禽流感病毒的分子诊断来预测和分析疫情动向,从而及时扑灭高致病性毒株的流行是我国禽流感防制研究中的核心。有鉴于此,本中心开展了禽流感分子诊断技术的研究,已初步建立 H<sub>5</sub> 和 H<sub>7</sub> 亚型特异性禽流感病毒反转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)诊断法和核酸探针诊断法,并已利用 RT-PCR 技术成功地获得了 H<sub>5</sub> 和 H<sub>7</sub> 亚型病毒的血凝素(HA)全基因,这为在分子水平上进行 H<sub>5</sub> 和 H<sub>7</sub> 亚型病毒毒力的分析、测定以及基因工程多价疫苗的研制奠

定了基础。还开展了利用 RT-PCR 技术扩增和克隆禽流感病毒核蛋白(NP)基因的研究。由于核蛋白为型特异性(而非亚型特异性)的抗原,同时又具有免疫保护性,故这一工作为诊断抗原生产成本的降低和生产工艺的简化以及覆盖面广的新型基因工程疫苗的研制开辟了新途径。

禽流感是鸡的、类烈性传染病,在我国鸡群中流行只是近3年的事。1995年墨西哥的禽流感爆发仅上半年就造成2700万只鸡的直接损失。我国目前虽尚无高致病力毒株的流行,但由于流感病毒复杂多变,低致病力株可能在几个月内迅速变为高致病力毒株,从而造成巨大经济损失,故对禽流感的防制决不可掉以轻心。我国以前将禽流感当作国外病,目前该病对我国的养禽业已构成了重大现实威胁,因此“九五”期间全面开展对本病的防制研究已势在必行,为使我国的禽流感研究更顺利和更富有成效,并有一个较高的起点,开展广泛的国际合作和引进国际先进的禽流感防制技术是十分必要的和可能的,国家应对禽流感的防制研究作重点投入,将其列入国家和部门的“九五”计划中,中国农业科学院哈尔滨兽医研究所作为国家级科研单位,拥有高水平的兽医生物技术国家重点实验室和 SPF 实验动物中心,拥有先进设备和优秀人才,定能也应当为我国的禽流感防制研究做出应有的贡献。

(中国农业科学院哈尔滨兽医研究所 于康震副研究员 供稿)



## 引起鸡呼吸道疾病的因子

美国佐治亚大学家禽医学系 S. H. Kleven 博士就可引起鸡呼吸道疾病的各种因子作了概述。

1、直接因子——病原微生物类:鸡败血支原体、滑液囊支原体、鹤鹑支原体、新城疫病毒、传染性支气管炎病毒、呼肠病毒、腺病毒、流感病毒、传染性喉气管炎病毒、鸡痘病毒、大肠杆菌、传染性鼻炎菌(副鸡嗜血杆菌)、禽霍乱菌(多杀性巴氏杆菌)、衣原体、隐孢子虫。2、间接因子——损害鸡免疫系统而加重呼吸道病的严重程度:传染性法氏囊病毒、鸡贫血病毒、马立克氏病强毒株、某些呼肠病毒株、黄曲霉毒素。3、环境因子——免疫接种不当,空气和垫料质量差,饲养密度过大,舍温太高。

(朱其太 供稿)



## 用单抗 ELISA 试剂盒检测鸡新城疫

扬州大学农学院畜禽传染病实验室吴红专等,在研究单抗夹心 ELISA 和单抗 PEG-ELISA 的基础上,建立了快速诊断鸡新城疫的单抗 ELISA 试剂盒。用其检测疑有 NDV 强毒感染的鸡群中采集泄殖腔棉拭样品 3024 份,共检出阳性 1240 份,临床有典型病状的鸡群采集样品 364 份,检出阳性 302 份,从有其他疾病的鸡群采集样品 154 份,检出混合感染阳性 29 份,从假定健康群中采样 123 份,SPF 鸡群采样 21 份,均未检出阳性。随机对其中 303 份样品进行分离病毒,有效的 283 份样品中,阳性 223 份,阴性 60 份,阳性符合率为 100%(223/223),阴性符合率为 96.7%(58/60)。结果表明,此法特异性强,灵敏度高,快速,重复性好,在现地应用倍受欢迎。

(赵继红 供稿)

## 用三种方法检测公牛精液中 BHV-1 的效果比较

加拿大的 J. Q. Xia 等人比较了几种检测试验感染公牛精液中 BHV-1 的方法。给 2 头 18 月龄 3HV-1 血清学阴性公牛经包皮试验接种 BHV-1,用病毒分离、斑点-印迹杂交和 PCR 检测精液中的 BHV-1,用病毒中和试验监测,于接种后 10 天首次检出抗体,从接种后 4~40 天采集的精液,用 PCR 结合 Southern 印迹杂交均为阳性,用斑点-印迹杂交、病毒分离和溴乙锭染色的 PCR,只在 4 天时呈阳性,结果表明,在发生可测的抗体前,公牛就已在精液中开始排毒,试验证实,经包皮接种 BHV-1 不能从鼻拭子中回收病毒,用 Southern 印迹杂交的 PCR 是所用三种方法中最敏