
* 国 家 课 题 *
* 《鸡败血霉形体病的防治》研究工作进展 *

课题主持人

华南农业大学畜牧兽医系教授

邝 荣 祿

1985年12月30日

鸡败血霉形体病，又称鸡慢性呼吸道病 (Chronic Respiratory Disease , CRD)，是由鸡败血霉形体 (*Mycoplasma gallisepticum* , MG) 引起的一种传染病，给世界各国包括我国的养鸡业带来严重的经济损失，至今未研制出理想的疫苗，药物防治效果也有限。

我们自承担《鸡败血霉形体病的防治》这一国家课题后，按合同书要求，进行了如下工作，取得了一些进展。

一、 药 物 防 治

根据鸡败血霉形体病常合并或继发其它细菌性感染的特点，参考国内外防治本病的经验，结合临床实践体会，配制了一种以国产强力霉素为主的复方抗菌素口服制剂——禽喘灵。

经室内试验，将禽喘灵与氯霉素、土霉素、金霉素、呋喃唑酮等几种抗菌素按常规治疗量拌料喂鸡，取鸡的血清对鸡败血霉形体、大肠杆菌、多杀性巴氏杆菌、鸡白痢沙门氏杆菌作抑菌试验，结果表明，禽喘灵对以上几种病原菌均有较强的抑菌作用。在现场试验中，从1日龄雏鸡开始，分别按禽喘灵、呋喃唑酮、土霉素、红霉素、金霉素、氯霉素和进口的利高霉素、泰牧霉素、都灵等抗菌素的规定用量和疗程，定期投药，对比观察这些药物在防治鸡败血霉形体病的效果。结果表明，禽喘灵对防治鸡败血霉形体病的作用优

于呋喃唑酮、土霉素、红霉素、金霉素、氯霉素等国产抗菌药物，也优于泰牧霉素及都灵，接近利高霉素。经广东省白云山种鸡场、广州市畜牧研究所鸡场、华南农业大学实验鸡场、珠海市食品公司鸡场、深圳市财贸鸡场在生产上试用确认其防治效果之后，现已在广东省内的许多鸡场内普遍使用。白云山兽药厂已生产出售禽喘灵。

室内和现场研究及生产场使用结果表明，禽喘灵具有如下优点：

1. 对鸡败血霉形体病有较好的防治效果，对大肠杆菌、多杀性巴氏杆菌、沙门氏杆菌感染也有一定的防治作用，适宜于生产场使用。

2. 拌料喂服，使用方便。

3. 药物均为国产，来源可靠。

4. 价格便宜，生产场认为经济上较合算。按广州市1984年6月的零售价计算，肉用仔鸡整个饲养期（56~60天）用药4次（每次3天），则每只鸡的药物费用是禽喘灵0.053元，红霉素0.16元，利高霉素0.24元。

与其它抗慢性呼吸道病药物一样，禽喘灵在长期使用之后，也可能形成抗药性，这一点值得注意。另外，禽喘灵仅能拌料投药，使用上有一定局限性。

二、菌株的分离培养

探索了不同的液体培养基、固体培养基及鸡胚接种后霉形体的生长情况，初步选择出较为合适的培养基，并从省内不同地区的几个鸡场分离到三个野外菌株。

三、种蛋热处理与抗菌素溶液浸蛋

种蛋热处理 目的是研究热处理对蛋内霉形体的灭活作用。从广东省某种鸡场购入种蛋，试验前抽验证实分离不到霉形体，将种蛋分为四组；每组60只。前三组为试验组，另一组为对照组。前三组分别在热处理前一天每只蛋接种中监所S₆菌株96小时肉汤培养物，浓度依次为原液、 10^{-2} 和 10^{-4} ，每只0.2毫升。每组抽出30只蛋放入温箱，12小时内将蛋内温度从25℃逐渐升至46℃，然后迅速降至37℃，与未加热的种蛋一起正常孵化。热处理后的第一天，每组抽出20只（其中热处理的10只）作霉形体分离。9日龄时检查鸡胚生长情况，死胚作MG分离，剖杀所有9日龄活胚，分离MG。两次试验结果表明，热处理对种蛋内的败血霉形体有灭活作用，大接种量，如原液、 10^{-2} 组仅部分灭活，小接种量则全部杀灭。由于MG感染鸡所产生的保菌蛋中，超过 10^{-2} 的含菌量实际不存在，故热处理法可考虑使用。但两

次热处理均使孵化率降低10%，必须继续试验，加以改进。

抗菌素溶液浸蛋 主要试验孵化前抗菌素溶液浸蛋对蛋内霉形体的杀灭效果。方法是将176只种蛋分成四组，每组44只，其中三组为试验组，余下一组为对照组。每组又分成二小组，分别经卵黄囊内接种 10^{-2} 和 10^{-4} 稀释的MG S₆培养物0.1毫升。浸蛋的前一天下午进行种蛋接种，接种后在室温放置过夜，次日上午进行药物处理。种蛋在恒温箱预热至37℃（卵黄囊内温度）后，立即放进4℃的800 ppm的抗菌素（三个试验组分别用枝原净、红霉素、氯霉素）溶液中，对照蛋浸入4℃的蒸馏水中，浸泡30分钟。抹干后孵化12天。第七天至第十一天每天照蛋一次，死胚放4℃保存作MG培养检查之用。不受精蛋淘汰，不作培养检查。结果以枝原净效果最好， 10^{-2} 组的18只受精蛋中只有3只蛋检出霉形体，阳性分离率为17%； 10^{-4} 组为18%；红霉素组分别为29%与47%；氯霉素组与对照组同为50%。试验说明抗菌素溶液浸蛋能杀灭蛋内败血霉形体，其中以枝原净效果最好。

四、血清学诊断方法的研究

在我国，目前通常在生产场检查鸡群感染MG的情况，均是抽取鸡血释出血清，以各生物制品厂制造出售的MG平板抗原进行血清平板凝集试验来确定。此法确实可行。为了比较各种血清学诊断

方法的优劣，我们进行了血清平板凝集试验和血凝抑制试验对鸡群 M G 感染诊断效果比较的研究。方法是用血清平板凝集试验（SPAT）和血球凝集抑制试验（HIT）对来自广州、深圳市郊四个鸡场共 125 份血清样本进行测定，以确定鸡群中鸡败血霉形体（MG）感染情况。结果表明两者有一定的相关关系，且鸡群的 SPA 阳性一般高于 HI 阳性率。试验结果还出现血清样本 SPA 反应阴性而 HI 反应阳性或可疑的现象。我们认为，在缺乏条件进行病原分离培养的情况下，用 SPA 和 HI 反应一起确定鸡群 MG 感染状况是必要的和可靠的。尤其在 SPA 阳性率和 SPA 滴度不很高时，用包括 HI 试验在内的多种血清学方法核实鸡群是否阳性，意义就更大。

五、大肠杆菌灭活菌苗的研究

从实验室诊断国营或专业户的送检病例以及到生产现场处理疫情中证实，慢性呼吸道病（CRD）经常继发或并发大肠杆菌病，从而使死亡率大大增加。据今年 5~7 月份在深圳某鸡场调查，上槽后期死亡的鸡只大部分有这两个病存在。以一栋槽鸡舍饲养 7,500 只为例，后期每天死亡 20~30 只，每天损失数百元。考虑及此，我们开展了大肠杆菌灭活菌苗的研制。从种鸡场（雏鸡、后备母鸡、种公母鸡）及肉鸡场（雏鸡、中鸡、槽鸡）分离 16 个

菌株，经致病性测定选取6个致病力最强的菌株供制苗用。以改进的营养肉汤将各菌株作等量培养，24小时测定其CFU（菌落形成单位），加入一定比例的福尔马林灭活48小时（过程中检查灭活情况数次），按一定比例加入氢氧化铝生理盐溶液即成灭活菌苗。我们对此苗的最小免疫剂量、最大安全量、免疫产生时间和免疫持续期进行了测定。该场几个月来使用此菌苗超过10万只剂量，证明安全有效，控制了大肠杆菌病的发生，受到场领导和技术人员的欢迎，要求每月供应32,000只剂量。广州某鸡场亦约请为他们研制此种灭活苗。由于大肠杆菌血清型多，自家菌苗效果才理想。从深圳某场分离到的6个制苗用的菌株，今年9月份中监所鉴定，3株属O型（其中1株为O₇₈，2株为O₆₅），其余3株用他们现有124种大肠杆菌O型血清均未对上，有待进一步鉴定。

六、MG菌苗的研制

与美国同行的教授专家们合作培养成功温度诱变株（Temperature-Sensitive Mutant）TS₁₀₂。这一变异株（菌苗）是由美国MG S₆菌株经低温培育诱变而成的。血清学试验证实，用此菌苗滴鼻免疫刚孵出的小鸡会产生对抗S₆野毒株的抗体。将TS₁₀₂的24~48小时肉汤培养物0.1毫升（含 3.0×10^7 菌落形成单位）经鼻免疫1日龄雏鸡，2或

3周后用强毒株行气囊攻击, 试验组气囊损害分别为3/13 (23%) 和4/15 (26%), 对照组则分别为10/25 (60%) 和17/22 (77%)。说明免疫鸡只获得保护远较对照组为高。因此, 这个变异株可作为预防鸡感染MG的一种有效而安全的菌苗。(研究结果已写成论文, 发表于《Avian Diseases》, Vol.27, No.3, 803~812, 1983)。

另一变异株TS₁₀₀, 以 3.3×10^4 、 3.3×10^5 、 3.3×10^6 、及 3.3×10^7 菌落形成单位免疫新生雏鸡, 3周龄时以强毒株行气囊攻击, 结果气囊损害相应为9/16 (56%)、9/19 (47%)、9/19 (47%) 及3/13 (23%), 而对照组则高达13/14 (92%)。试验证明, 其保护剂量少于 3.3×10^4 菌落形成单位, 新出壳幼雏免疫后, 再行传染性囊病、传染性支气管炎免疫接种, 或传染性支气管炎与新城疫两者结合的免疫接种, 并作切除法氏囊或胸腺的免疫抑制处理, 对气囊损害的产生并无影响。TS₁₀₀ 免疫的鸡, 传染性支气管炎免疫接种使败血霉形体从鼻腔传至气管, 但不到达气囊。试验证明, 败血霉形体低温诱变株是一种安全的菌苗。(论文发表于《Avian Diseases》, Vol.28, No.1, 131—138, 1984)。

七、免疫机制的探讨

在MG感染的研究中，TS变异株菌苗和其它菌苗的保护机制迄今未明（Hayatsu等，1974，1975；Fabricant，1977；Cunningham等，1978；Lam等，1983）。我们用实验检验了胸腺和法氏囊在免疫接种鸡产生抵抗力中的作用。方法是：新孵出的小鸡，在24小时内用外科手术除去胸腺或法氏囊。翌日，切除胸腺或法氏囊的试验鸡以及未作外科处理的对照鸡，均用TS₁₀₀ 0.1毫升经鼻免疫。免疫后3周，每组抽出5只采血和扑杀，证实无一产生气囊损害，表明即便鸡只处于免疫抑制状态，所用免疫原还是安全的，不引起任何损害。此外其余鸡只以S₆强毒株行气囊攻击，攻击后7天，所有鸡采血和解剖。结果是：以TS₁₀₀免疫后用S₆攻击的未作任何外科手术处理的20只小鸡中有3只（15%）产生气囊损害，而未免疫的未作外科处理的21只小鸡中有10只（47%）有气囊损害。两组间的差异是显著的（ $P < 0.05$ ）。切除法氏囊并行免疫接种的鸡则有半数（12/24，50%）产生气囊损害，切除法氏囊但不行免疫接种的鸡也如此（9/18，50%）。未切除胸腺的16只免疫鸡中有3只（16%）、未切除胸腺的20只非免疫鸡中有17只（85%）有气囊损害。在胸腺切除组，非免疫对照鸡19只中有

11只(57%)、免疫鸡22只中有6只(27%)有气囊损害。上述数字说明,摘除胸腺并不改变疫苗的保护作用,但摘除法氏囊则使疫苗的保护作用消失。这些结果表明,疫苗诱导的抵抗力是法氏囊依赖淋巴细胞所介导的。论文已发表于《Veterinary Microbiology》, 9(1984)509—514。

八、今后工作和存在问题

今后工作：

1. 进行 T S₁₀₀ 和 T S₁₀₂ 两种菌苗在我国条件下使用的效果、安全性和免疫持续期的研究。这两个菌苗是在美国研制成功的，当时试验使用 S P F（无特定病原体）雏鸡。我国养鸡业生产中，为了防治各种疾病的发生，实际上从雏鸡起已不断使用各种抗菌药物。在这种情况下，接种菌苗后至免疫力产生期间如给雏鸡投喂抗菌药物，结果对免疫力产生何种影响等等问题都必须加以深入研究。

2. 采取综合措施使 C R D 阳性场净化。

存在问题：

仪器设备不足：低温（—60℃至—70℃）冰箱以供保存种毒之用；荧光显微镜，以荧光抗体技术鉴定各种霉形体。

*
* 附录一 已完成的论文 *
*

1. 热处理对种蛋内 M G 灭活效能观察

古飞霞 丘振芳 辛朝安 林绍仪 谭振国

2. 热处理对种蛋内 M G 灭活效能观察

林树茂 辛朝安 丘振芳 林绍仪 谭振国

3. 热处理对蛋内 M G 灭活效能的观察

宋立 丘振芳 辛朝安 林绍仪 谭振国

4. 鸡的霉形体的分离、培养与观察

陈子召 刘福安

5. 鸡的霉形体的分离与培养观察

李韶峰 刘福安

6. 抗菌素溶液浸蛋对种蛋内败血霉形体的灭活作用

黄好兴 谭振国 林维庆

7. 血清平板凝集试验和血凝抑制试验对鸡群 M G 感染诊断效果
比较

梁少东 林维庆

8. Immunization of Chickens with Temperature-Sensitive Mutants of *Mycoplasma gallisepticum*

K.M.Lam, Weiqing Lin, R.Yamamoto
and T.B.Farver

«Avian Diseases», Vol.27, No.3,
803—812, 1983

9. Further Studies on the Immunization of Chickens with Temperature-Sensitive *Mycoplasma gallisepticum* Mutant

K.M.Lam and Weiqing Lin

«Avian Diseases», Vol.28, No.1,
131—138, 1984

10. Resistance of Chickens Immunized Against *Mycoplasma gallisepticum* is Mediated by Bursal Dependent Lymphoid Cells

K.M.Lam and Weiqing Lin

«Veterinary Microbiology»
9(1984) 509—514

附录二 参加本课题研究的工作人员名单

主持人：邝荣禄

药物防治：辛朝安 丘振芳 林绍仪 谭振国

菌株分离及培养特性观察：谭振国 刘福安 李韶峰

陈子召 林维庆 戚丹英

种蛋处理：谭振国 辛朝安 丘振芳 林绍仪

林维庆 古飞霞 林树茂 宋立

黄好兴

血清学诊断方法：梁少东 林维庆

大肠杆菌灭活菌苗：林维庆

M G 菌苗：林维庆

免疫机制：林维庆

附录三 工作人员所属单位

华南农业大学畜牧兽医系：

邝荣禄（教授）	刘福安（副教授）
辛朝安（助教）	丘振芳（讲师）
林绍仪（讲师）	林维庆（讲师）

华南农业大学畜牧兽医系养禽与禽病防治专业：

八四届毕业生：古飞霞 林树茂 宋立

李韶峰 陈子召

八五届毕业生：黄好兴 梁少东

硕士研究生：戚丹英

广东省家禽科学研究所：谭振国（见习研究员）