

江苏农学院
科学研究资料

·2·

1956—1980年

小 鹅 瘟 研 究 文 集

江苏农学院牧医系

一九八〇年九月

前 言

我国的养鹅历史可以追溯至史前。因为鹅的生长速度快，性合群，易于管理。除了幼龄期外，可以喂青草为生，饲料问题又易于解决。所以在我国淮河以南各省几乎普遍饲有鹅群。少则十只左右的个体饲养的小群，大则几百只的大群。尽管养鹅有这许多好处，但是养鹅者所发出的呼声却是“娇鹅难养”。的确，有些年份雏鹅很容易养大，有些年份则纷纷倒毙，靡有子遗。

我们于1956年在扬州附近发现大批雏鹅死亡，曾于该年作了大量的调查研究与实验室探索。发现本地区该年所死亡的雏鹅虽然其饲养与管理方法各有不同，但都出现了相似的流行病学、症状与剖检病变，因此肯定它是一种病原所引起的传染病。在调查中获悉本病在解放以前早已存在，因无人关心，所以一直未能查出病原。在1956年，我们排除了饲养管理、气候与中毒等原因以后，在细菌分离中也查不到任何可疑的病原菌。用鸡胚作病毒分离，都未能成功，最后改用发育中的鹅胚分离病毒，发现病雏组织中含有对鹅胚能致死的微生物，可能为病毒。正乘胜作深入研究时孵鹅季节已过，鹅蛋中止生产，研究只好中断。

1957年整风反右，使研究中断了四年之久。直至1961年，才重整旗鼓。在此短短一年的时间内，证实了本病是由一种新病毒所引起，将本病定名为“小鹅瘟”，并制出了特异性血清以预防本病获得成功。1963年即用强毒作疫苗以预防母鹅的试验获得成功。简言之，小鹅瘟是由我院首先发现，并研制成功血清和疫苗，使其得以全面控制，也是我国自己独立研究成功的第一个传染病。可惜好事多磨，1966年起研究又告中止。但自此以后广东、广西、浙江、江西、安徽、湖南等省均先后运用我们的研究成果有效地控制了本病的发生。

我们才疏学浅，实验室设备又简陋不堪，只能完成以上粗枝大叶的研究，解决了在当时生产上迫切需要解决的问题。还有很多涉及到病毒本身的问题都还没有能作更深入的研究，只好留待今后再作探索。

本病在国外，直至1966年才开始第一次报导，1968—1969年间才确定病毒。因为本病是匈牙利兽医Derzsy所发现，因此定名为Derzsy氏病，其实他们的发现比我们至少要迟8—10年之久。

根据我们多年来对鹅病研究所见，小鹅瘟为鹅育雏期间的唯一大敌。雏鹅的育雏一般并不困难，除本病而外很少有大流行其他传染病发生。现在对本病既已能完全控制，当然“娇鹅难养”必将在成为历史。

控制本病这一任务，可以说业已初步完成。兹将我们历年的研究报告整理成册，留为本病在我国的研究史料吧！

方 定 一

一九八〇年九月于扬州

小 鹅 瘟 研 究 文 集

目 录

小鹅瘟的研究·····	方定一、王永坤 (1)
小鹅瘟特异防治的研究·····	
·····方定一、王永坤、江美娟、过建寅、郑玉美、周阳生 (11)	
小鹅瘟抗血清的制造方法·····	方定一、王永坤、江美娟、郑玉美、周阳生 (13)
小鹅瘟的病理解剖学研究·····	朱堃熹、林在尧、徐 璠 (16)
利用食品公司鹅群制造大量抗小鹅瘟血清及其防治效果的研究报告·····	
·····方定一、王永坤、郑玉美、周阳生、江美娟 (21)	
小鹅瘟病毒及其特异防治的研究·····	方定一、王永坤、张治国 (23)
鹅胚血清中和试验·····	方定一、王永坤 (27)
苗鹅血清保护历次试验统计·····	方定一、王永坤、周阳生 (28)
小鹅瘟种鹅免疫试验·····	方定一、王永坤、周阳生、郑玉美 (30)
小鹅瘟鹅胚绒尿液毒力的测定·····	方定一、王永坤、周阳生、郑玉美 (33)
小鹅瘟疫苗使用情况调查·····	方定一、王永坤、周阳生、郑玉美 (34)
小鹅瘟流行病学调查·····	方定一、王永坤、周阳生、郑玉美 (37)
小鹅瘟病毒反向间接血球凝集试验的初步报告·····	徐为燕、周阳生 (38)
小鹅瘟病毒的电子显微镜检查·····	徐为燕、郑玉美 (41)
抗小鹅瘟血清在江苏、浙江某些流行地区的使用效果·····	
·····方定一、郑玉美、江美娟 (42)	
· 综 述 ·	
小 鹅 瘟·····	方定一 (44)
小鹅瘟疫苗制造和检验试行规程·····	方定一、郑玉美、王永坤、周阳生 (50)
抗小鹅瘟免疫血清制造试行规程·····	方定一、郑玉美、王永坤、周阳生 (52)

小 鹅 瘟 的 研 究

(1956—1962)

方定一 王永坤*

一、前 言

1956年夏在作者等工作地区普遍发生一种小鹅疾病,成批死亡,附近四个农业社所饲养8000头小鹅,总计死亡4500头,占总数50%以上。经我们对病鹅流行情况、剖检以及微生物检查以后,虽然还没有能诊断出是什么病来,但它们在地点都出现了相同的剖检病变、流行情况和症状,因此怀疑这是一种传染病。

该病在国内外文献上尚没有看到,而我们在初步作微生物探索中也没有明确的结果。因此有深入加以研究的必要。

二、流行病学的调查

从1956年以来,我们曾对本病作多方面的调查,兹将所得资料分述如下:

1. 疾病的流行

据不完全的调查已经可见本病流行于本区域各养鹅区,确实知道有本病流行的已有十多个县市。大流行似有一定周期性,即在同一地区,很少发现有连续两年流行的情况。长则相隔5年,像我们所在地,第一次流行在1956年,第二次在1961年。至少是隔年一次,如某市第一次流行是1959年,第二次为1961年,但零星发病则可能年年都有。

在发病的年份,最初出炕雏鹅往往不发生疾病,直至一经发生,则以后几批相继发病。有的地方从出炕第三批开始,有的地方是第四批开始,各地都很相似。

2. 群内疾病的发生、流行与死亡率

幼雏孵化率正常,初出壳时很健康。至3—5日龄群内开始出现病雏,此后两三天内,迅速蔓延至全群。在7—10日龄时发病率与死亡率达到最高峰。此后逐渐缓和,至15—20天时渐告平息。年龄最大的病鹅为40日龄,该鹅症状较轻但病变与雏鹅相同。该群内只发生此1头,并未蔓延。但自此以后初生雏鹅群纷纷发病死亡。

发病率在已发现疾病的雏群中约为90%以上。我们在1956年所调查和目睹的病雏群约5000余头,几乎寻不出比较正常的幼雏来。死亡率最高为100%,一般为70—80%,最低为50%。凡环境不佳,大群合并容易接触传染的,一般具有较高的死亡率,又疾病在群内发生的最初5—6天内的死亡率最高,可占发病率100%,以后死亡率渐减,并有少数自然耐过。

* 还有储静华、顾耀志、郑玉美、江美娟、刘完灿同志参加本试验工作。

三、症状观察与病理变化

多数病鹅具有相似的症状与剖检病变。最初死亡的雏鹅无症状可见突然死亡，或先有精神不佳，步态不稳，几小时以后才死亡的。以后出现的病鹅大都可见懒于行动、拒食、腹泻、泻出物为黄白色如米泔水状并混有气泡，常突然摇头身躯向后倾跌，有些口吐灰白色液体或混有食物。

发现症状以后12—48小时内即行死亡。除消化系症状外有时也可见弯头或抽搐等神经性症状。后期得病或年龄较大的鹅，所表现的症状也较轻，常为腹泻、跛行或瘫痪，以及精神和食欲上的改变，病程可延长至一星期以上，并有一部份病鹅自然康复，但生长发育不良。人工接种成年鹅后最突出的症状为瘫痪及腹泻。

剖检病变主要在消化系统。我们先后剖解将近200头病鹅，具有相类似的病变。死于最急性的尸体，病变不明显，只见十二指肠粘膜肿胀充血或出血，一般病鹅的变化如下：

嗦囊内有灰色含有气泡的液体，整个小肠粘膜肿胀充血，病程在2—3天以上的可见整条小肠形成假膜，假膜凝结成中空管状，脱落在肠腔内形如带子。或假膜被送至最后端与盲肠及直肠交界处，纠结成团，在肠管外部即可看到。肠道粘膜于脱去假膜以后遗留平滑没有粘液而较薄的肠壁，既无溃疡也无出血。直肠粘膜肿胀充血并有条状或斑状出血。胆囊略肿大，内含稀薄胆汁。脾心肺都正常。少数病例于上述病变外尚可见胰有小灰色坏死病灶，小肠壁上发现溃疡，或肝边缘有出血点。

四、病原微生物的分离

1956年当我们最初遇到本病时，将本病和一般幼畜胃肠炎相比较后，曾怀疑本病的病原菌可能是肠道菌科或梭菌属，或其他细菌性的肠炎。因此该年份在细菌分离方面的工作做得比较多些。在1961年份的工作则偏重于病毒。因此将在本节中分别加以叙述。

1. 细菌分离

1956年曾将不同地点、不同发病鹅群四批共作细菌分离22头；1961年三批共30头合计七批52头。在分离同时均曾用心血、脾、肝、胰、肾、肺及脑组织作压片，用Giemsa氏慢速染色法染色后，在显微镜下检查，结果均未发现可疑的细菌。

所有作分离的幼雏有45头为重病扑杀的雏鹅，有7头是死后4小时以内的死鹅。

分离方法，采用上述作镜检的材料接种于a.葡萄糖鲜血琼脂斜面；b.葡萄糖煮肉厌氧肉汤；c.麦康盖平面划线。

此外并采取胆囊内容物，肠出血部份粘液，假膜接种于下列培养基：d.亚硒酸钠增菌培养基；e.四磺酸钠增菌培养基；f.去氧胆脂酸钠平面，及麦康盖琼脂平面。所有在增菌培养基培养24小时以后，均再在c及f平面上划线。

兹将细菌分离结果列表一：

在52头病及死雏细菌的分离中可见实质内脏及心血均未发现任何嗜氧或厌氧菌。胆囊经增菌培养及平皿划线后所出现的菌落均为细小圆凸表面略粗糙的针尖状红色菌落，经显微镜检查均为卵圆形成堆状排列，钩取在麦康盖平面上的菌落两株，暂定名为 S_1 及 S_2 。

在肠粘液及假膜中所分离的细菌，除少数和上述相同者外，全部发现有发酵乳糖的红色

菌落（所有52例均有），以及不发酵乳糖的灰白色菌落。发酵乳糖的大型菌落具有相同的形态染色，任取四株定名为C₁、C₂、TR₁、TR₂。不发酵乳糖菌落只发现3株，经沙门氏杆菌多价血清凝集阴性后，取1株保存定名为P。

以上共有不同形态的细菌三种共计7株保存作鉴定，在形态及生化鉴定以后7株细菌的结果如下。

S₁、S₂两株：革兰氏染色，幼龄培养为阳性；不能运动卵圆形、细小成堆状排列的细菌；发酵葡萄糖、乳糖产酸不产气，能在10%胆汁中生长，不发酵果糖，肌醇，甘露醇，卫茅醇，杨苷及山梨醇，吲哚不产生，V—P试验阳性，M.R.阳性，不能利用枸橼酸，怀疑是一种肠道的球菌，品种不详。

TR₁、TR₂、C₁、C₂四株具有相似的形态与菌落特征，能运动，发酵乳糖、葡萄糖产酸产气，不发酵肌醇，吲哚阳性，M.R.阳性，V—P阴性，不利用枸橼酸钠。显然都是大肠埃希氏菌。

P株的形态较长，活泼运动，在液体培养基表面成膜状生长，液化筋胶，产生尿素酶，发酵葡萄糖产酸产气，不发酵乳糖及甘露醇，吲哚阳性，M.R.阳性，V—P试验阴性。大致为普通变形杆菌。在分离中未发现沙氏杆菌。

2. 病毒的分离

1956年曾作七次的病毒分离，连同1961年3次，1962年3次，共计13次。计用鸡胚158个，鹅胚56个。所得结果相同。兹详述如下：

先后选取病重雏鹅10头，分别采取心血，实质脏器作1：3乳液，肠内容物滤液，肠内容物离心沉淀的上清液每毫升加青霉素1000单位和链霉素2毫克。分别接种于7—9天的鸡胚绒尿囊和12—14天鹅胚的绒尿囊。结果如下表：

鹅胚于接种心血、肝、脾、脑、肠管及假膜材料以后，初次死亡的时间为96小时左右。但该项材料对鸡胚无害。凡用赛兹氏E—K、囊氏N滤器过滤的材料。不问对鹅胚及鸡胚，均无致死能力。

凡死亡的鹅胚均经无菌检查证明无菌。鹅胚病变一致而明显。包括：绒尿膜增厚，间或见有灰白色针尖状小点。鹅胚全身充血，翅尖、趾、胸部毛孔、颈、喙旁均有较严重的出血点。肝充血及边缘出血，心脏、后脑出血，头部及两胁均略有水肿。

死亡的鹅胚C—A液能连续在鹅胚内继代，产生相同的病变，所有死亡的胚均经培养证

表一 七批雏鹅的细菌分离结果(共52头)

* 培养基	a	b	c	d	e	f	备 注
心 血	0	0	0				未发现细菌
脾	0	0	0				"
肝	0	0	0				"
胰	0	0	0				"
肾	0	0	0				"
肺	0	0	0				"
脑	0	0	0				"
胆 囊			21	16	16	11	只一种菌落形态
十二指肠粘液			52	23	24	16	共三种菌落形态
假 膜			52	26	26	13	"

说明：* 培养基a、b、c、d……依上文序列，代表不同的培养基，并包括经增菌培养后划线在内。

栏中数字系出现细菌的次数，未填数字表示未经分离。

表二

十三头病鹅病毒分离结果

病鹅号码	地点	(年 月 日)	采用材料	处理方法	剂量	鸡胚数	鹅胚数	结 果	毒株名称
1 2 3 4 5	扬州	56.5.15	肝、脾、脑	1:3悬液	0.5	10	0	无变化	
6 7	"	56.5.29	心 血	加抗凝剂	"	10	0	"	
"	"	"	肠管及假膜	滤过1:50液	"	20	5	"	
"	"	"	"	加抗菌素	"	0	5	死亡3只	未保留
"	"	56.6.5	鹅胚C—A液	"	"	10	5	只鹅胚死亡	未保留
8 9	"	61.5.15	脾、肝、心血混合	1:3悬液	"	10	10	"	S.Y.系
"	"	"	肠管及假膜	滤过EK	"	20	10	无变化	
10	"	61.6.20	肝、脾	"	"	4	4	"	
10	扬州	61.6.20	肝、脾	1:10悬液	"	6	6	鹅胚全死亡	未保留
11	泰州	62.6.28	肝	1:5悬液	"	0	4	全部死亡	"
11	"	"	脾	"	"	0	4	全部死亡	S.T.系
11	"	"	肠及内容	1:20澄清 加抗生素	"	0	4	"	
12	邵伯	62.5.2	肠及内容	"	"	4	2	鹅胚死亡	
12	"	"	肝	1:5悬液	"	4	2	"	未保留
12	"	"	脾	"	"	0	2	"	S.S.系
13	无锡	62.5.18	肠及内容	1:3澄清 加抗生素	"	0	3	"	SW系

* “滤过”指用囊氏N滤器，滤过EK指用赛兹E—K号滤碟。

明无菌。

3. 细菌与病毒的人工接种试验

细菌人工接种于鹅的试验先后进行两次，计1956年一次和1961年一次。1956年所用菌株为S₁、S₂、C₁、C₂及P五株。1961年用TR₁及TR₂两株大肠杆菌，采用幼雏一律系初孵1—2日龄，活泼健康。

所有细菌均系在肉汤内培养24小时的液体培养物。口服组系用该肉汤培养0.5毫升滴入口中；注射组则一律皮下或肌肉注射0.5毫升。每组10头或15头不等，并用未经接种的雏鹅15头作为对照。结果见表三：

从表三中可见不问接种细菌和对照组都发生了小鹅瘟，可见1956年和61年所采用的试验鹅本来已经被感染，因此出现了相似的死亡率。且发病和死亡的时间都是参差不齐，因此可以肯定所有发病和接种的雏鹅与细菌无关。

人工接种病毒的试验结果则和上述情形有所不同，我们采用的病毒系在1961年5月所分离的SY系病毒。在1956年所分离的病毒，因没有鹅胚所以即告断种无法比较。该病毒共经鹅胚二代培养的C—A液，接种日期距采毒期5天。雏鹅亦为向当地采购，和细菌试验者同一来源。结果见表四。

所有试验的病鹅其症状和病变均与小鹅瘟相同，细菌及病毒分离结果也同。接种组与对照组都同样发病，但和表三细菌组有所不同。在讨论中再作分析。

我们采取了两项补救办法后再作试验，为了使病鹅混入试验鹅的机会减少起见，把试验鹅的总数减少；为了避免在流行地区采购鹅只起见，我们又采用泰州的雏鹅作为试验。因该地于1959年发生过大流行；1961年即无本病发现。

表三

七株细菌对雏鹅人工感染试验结果

菌株	种类	来源	接种方法及剂量	鹅数	发病数	死亡数	死亡率	备 注
S ₁	球状菌	56年肠道	口服及皮下注射培养物0.5毫升	10	7	7	70	病变与症状和天然发病同,死亡时间不齐。
S ₂	"	56年胆囊	口服0.5毫升	5	4	4	80	
S ₂	"	"	皮下注射0.5毫升	5	1	1	20	
C ₁	大肠菌	56年肠道	口服及肌肉注射0.5毫升	10	8	8	80	
C ₂	"	"	"	10	8	8	80	
TR ₁	"	61年肠道	皮下0.5毫升	5	3	3	60	
TR ₁	"	"	口服0.5毫升	5	3	3	60	
TR ₂	"	"	皮下0.5毫升	5	4	4	80	
TR ₂	"	"	口服0.5毫升	5	2	2	40	
P	变形杆菌	56年肠道	皮下0.5毫升	5	4	4	80	
P	"	"	口服0.5毫升	5	4	4	80	
对照	"		不接种	15	11	11	73.3	共三组合计13头发病及死亡时间参差不齐

表四

SY病毒对雏鹅人工感染试验结果

接种方法及剂量	鹅数	发病数	潜伏期(天)	死亡数及日期	死亡率
口服0.1毫升	5	5	3	接种后6天内全部	100
注射0.1毫升	5	5	4	"	100
对 照	5	5	4、5及6	接种后8天共死3头	60

第二次病毒接种试验共分四组进行,所用病毒均为SY株在鹅胚三代的培养液,其处置及结果见表五。

表五

SY病毒对不同地区雏鹅的人工感染试验

小鹅来源*	头数	接种方法及剂量	死亡数*	死亡率(%)	备 注
扬州	3	皮下0.1毫升	3	100	第4天全部死亡
	2	对照组	0	0	未死亡
泰州	5	皮下0.5毫升	2	40	第4天死亡2头
	5	对照组	0	0	未死亡

* 所有试验鹅均系出壳第2—3日龄。

死亡的鹅的症状、剖验及微生物分离都和天然病鹅相同。

五、对本病毒特性的研究

1. 病毒的鸡胚培养的研究

初次分离的病毒只能在鹅胚内生长,对鸡胚无致死能力。鹅胚于接种病鹅脾或肝乳液0.5毫升以后,在96小时左右死亡。在鹅胚第三代通过的4个胚死亡时间大大缩短,2个在

48小时，2个在36小时即行死亡。吸取绒尿液作鸡胚通过试验，所用鸡胚均经孵化7天，以绒尿液0.5毫升注入鸡胚绒尿囊，结果4卵中共死亡2卵，时间为接种后96小时。该鸡胚培养的C—A液即可连续通过鸡胚继代。通过八代以后的C—A液对鸡胚致死的时间为36小时，在以后连续通过中，致死时间都固定在36小时左右不再变化。

鸡胚的病变基本上和鹅胚相同，经测定鸡胚第八代C—A液所含病毒的浓度，如以最小鸡胚致死量来表示，为 10^{-8} 毫升，接种 10^{-8} 毫升9日龄鸡胚4个，其死亡时间为72—96小时。

用本病毒，鹅胚一代及鸡胚八代通过的病毒接种于鸭胚及鸽胚的C—A囊并无变化。

2. 病毒对鹅及其他动物的致病力测定

所用动物系4月龄的鹅体重3—6斤，初生雏鸡、小白鼠、兔、成年鸭、鸽等。所用病毒为鹅胚第三代培养C—A液。接种法、剂量及结果见表六。

表六 SY株病毒对不同动物人工感染试验

动物名称	头数	接种方法及剂量	结 果
鹅体重3—6斤	14	肌肉注射C—A液0.2毫升	2头于接种后3及5天发生跛行及瘫痪
初生雏鸡	10	"	无变化
初生雏鸡	4	脑内注射……0.02毫升	2头第5天发生神经症状出现症状后2—3天死亡
小白鼠20日龄	10	"	无变化
小白鼠20日龄	10	脑内注射……0.02毫升	有4只第6天发生神经症状出现症状后3天死亡
成年兔	2	肌肉注射0.5毫升	无变化
成年鸭	2	"	无变化
成年鸽	2	"	无变化

* 所有接种病毒的均经接种雏鹅引起典型疾病而死亡。

3. C—A滤过液鸡胚接种试验

用SY鸡胚第八代通过的C—A液，经赛兹氏E—K滤碟过滤的滤液，接种于9日龄鸡胚C—A囊0.5毫升，共10个，另用未加过滤的同样C—A液，用10, 100, 1000, 10,000, 100,000, 1,000,000, 10,000,000以及100,000,000倍肉汤稀释液接种于鸡胚作为对照，每组四只。结果对照组于接种后36、48、72及96小时纷纷死亡，而接种滤液的10卵无变化。

4. 病毒抵抗力的试验

SY第八代鸡胚通过病毒，每毫升加青霉素1000单位或链霉素5毫克或土霉素1毫克，以之接种于鸡胚C—A囊各2个。结果均于36小时左右死亡，在病鹅的治疗试验中，曾试用不同剂量的S.G.S.D.大蒜酊、土霉素、金霉素和合霉素作为治疗，结果并无显著疗效。

SY株第三代鹅胚通过液，置-7℃冰箱内10个月，接种于鹅胚4个，剂量为0.5毫升，结果鹅胚仍然死亡，但死亡期较原来病毒为长，计96—112小时。在0℃用真空抽气干燥的鹅胚绒尿膜，在真空中-7℃中贮存10个月以后，对鹅胚的致死时间和原来未经处理的绒尿膜并无不同。

SY株第八代鸡胚培养C—A液，在pH7.0的缓冲液1倍稀释后，经37℃3天，对鸡胚即无致死能力。

5. 病愈血清对病毒的中和能力

在一个月前曾发生疾病的鹅群中任选鹅4只, 采取静脉血各5毫升, 俟其凝固采取其血清加以混合。

用SY株病毒第三代鹅胚C—A液, 及第一代鸡胚C—A液。

雏鹅用1961年本区炕坊最后孵出的第一天雏鹅10头分为三组: 第一组、第二组各先注射上述血清1—1.5毫升, 于第一组肌肉接种三代鹅胚C—A液0.1毫升, 第二组为一代鸡胚培养C—A液0.1毫升, 并用第三组注射三代鹅胚C—A液0.1毫升, 不注射血清作为对照, 结果见表七。

表七 病愈血清对SY病毒的中和试验

组别	头数	注射血清量	注射下述病毒0.1毫升	结 果
1	3	1 毫升	鹅胚 C—A液	观察 8 天无死亡
2	3	1.5 毫升	鸡胚 C—A液	观察 8 天无死亡
3	4	对 照	鹅胚 C—A液	在 5 天内死亡 2 头

6. 其他试验

我们先后用培养病毒的C—A膜括下制成标本, 用giemsa氏, machiaullis⁽²⁾氏等方法染色, 在显微镜下观察, 结果未发现任何可疑的包涵体或原基小体。

用C—A膜括下制成压制标本, 在位相差显微镜下作未染色观察, 结果与上相同。

我们曾用SY株鹅胚及鸡胚1—3代的培养C—A液, 根据 Hirst 氏流感病毒的方法⁽²⁾对鸡、兔、豚鼠、锦羊、小白鼠、鹅等红血球悬液作凝集试验, 均未获得结果。

7. 血清预防及治疗试验

①抗血清的制备, 挑选成年母鹅(1年龄)若干头, 肌肉接种通过鸡胚20代的SY株病毒C—A液各0.2毫升。观察10~12天无不良反应, 再肌肉接种SY株全毒鹅胚C—A液0.5毫升, 10天以后, 颈静脉放血致死采取血清, 经无菌检验后加0.5%石碳酸作为防腐剂贮存冰箱备用。

②预防试验共二批, 第一批雏鹅300头, 在无锡北塘家禽养殖场作试验。该场于1962年有本病流行, 死亡率为70—80%, 我们将同批头出炕3天的雏鹅分成两组, 每组150头。试验组每鹅注射抗血清0.5毫升, 对照组不注射血清。混合在一群内饲养, 观察20天, 结果注射血清组共死亡20头, 对照组在同期内死亡119头。

表八 第一次血清预防试验结果

组 别	鹅数	血清注射量	20天内死亡数	死亡率	保护数	保护率
试验组	150	皮下0.5毫升	20	13.3	130	86.7
对照组	150	不注射	119	79		

第二批试验亦在同场举行, 计同炕雏鹅200头。用同一血清作试验。试验组150头, 对照组50头, 结果见表九。

③在发病场的紧急预防试验

本试验用同一血清在扬州进行共二次, 第一次为1962年3月28日, 某场共购入雏鹅1000头,

于第4—5日发现死亡，以后3—4天内大批发病，总计死亡250头。在注射血清之日，估计还有很多在潜伏期的雏鹅。将余下的鹅750头，分成两组，第一组共300头皮下注射上述抗血清各0.5毫升，第二组450头各注射免疫鹅的枸橼酸全血1毫升。注射后3天内陆续死亡60头，以后即停止死亡，尚余690头，保护率为92%。第二次700头在同年5月1日来场第三天后，即发现疾病，至第五天已死51头。所余649头全部注射抗血清各0.5毫升，观察9天共死亡103头，保护率为84.1%，本试验未用对照组。

表九

第二次血清预防试验结果

组 别	鹅数	血清注射量	20天内死亡数	死亡率	保护数	保护率
试验组	150	皮下1毫升	34	22.7	116	77.3
对照组	50	不注射	34	68		

六、讨 论

1. 关于本病病原问题的讨论

根据本文第四节病原微生物的分离看来，在病死鹅的实质脏器及心血内部没有分离到任何细菌。在肠道及胆囊共分离得三种细菌。在52个病例中都曾分离到大肠杆菌。只有21例在胆囊内出现球菌，在其他地方出现球菌的病例更少，可见球菌，不像病原菌。而变形杆菌共只发现3次更加不像，但是所有温血动物的肠内业经证实都有大肠杆菌，究竟大肠杆菌是否病原菌，必须根据人工对幼雏的试验来作判断。

在第四节人工感染表三的结果看来，所有接种上述三种细菌的雏鹅和未经接种的对照组都同样发病，具有相似的死亡率。其发病时间极不一致，如和接种病毒的相对照则更加明显（接种病毒的雏鹅在第4天发病至第5第6天全部死亡）。因此，我们认为接种细菌的雏鹅本身就有问题。但当地本年有该病流行，很难得到可靠的雏鹅。从表三中依然可以看出接种细菌以后，对鹅的影响极微，因此初步认为不是这些细菌所能引起的。

让我们再来看病毒的分离（见表二），1956年拟通过鸡胚C—A囊接种的方法分离病毒都告失败。但在第三批用鹅胚C—A囊接种以后，鹅胚即告死亡。1961年也有同样情形。可见患病鹅的肠管、假膜、肝、脾、心血中存在有某些不能在培养基上生长而能使鹅胚致死的微生物。这些微生物也不能在鸡胚内生长。该种微生物也不能用一般染色的方法，在显微镜下观察到（见第五节病毒特性的研究6）。我们不妨称这些微生物为病毒。

要肯定它们是发生小鹅瘟的病毒至少要证明它们的特异致病力，或要使病愈的鹅血清内含有对病毒有中和能力的抗体。以第四节3病毒接种雏鹅的第一个试验中（见表四）可以看到接种病毒的鹅在6天内全部死亡，死亡率为100%。而对照组5头8天后死亡3头，死亡率为60%。对照组所以也发生死亡的原因，和接种细菌的相同。但已经可以看出病毒能使小鹅在相同的时间内发病与死亡和对照组显然不同。如果我们再看第二次接种试验的结果（见表五），则接种病毒的两组发病率与死亡率各为100%及40%，而对照组则为0%。因此可以肯定病毒具有明显的致病力。

那末试验鹅发生的疾病是否就是原来的小鹅瘟呢？可从病愈鹅血清对接种病毒的鹅发生了保护力来说明（见第五节表七）。当然这里很缺乏一组正常鹅血清的中和对照组，但在流行

的年份,正常鹅很难觅到,因此未作对照,不能不说是缺陷。但从人工发病鹅的症状剖检以及病毒的鹅胚分离中曾得到和天然疾病相同的结果。如果用柯赫氏三大原则来衡量的话,小鹅瘟的病原体,是我们所分离到的病毒这一假定,可以得到证实。

2. 关于病毒性质问题的讨论

我们翻阅过有关文献,未发现有类似本病毒的报导。因为在国外很少有饲养大批鹅群,所以对鹅的疾病的有关的资料极少。在水禽中只看到荷兰 Gansan 氏 1952⁽³⁾发现了鸭瘟,在国内也有疑似鸭瘟的发现(黄1959)⁽⁴⁾。此外在美国也发现了雏鸭肝炎(Levine 1950)⁽⁵⁾这些都是病毒性的水禽急性死亡的疾病。虽然没有在鹅发生传染的报告,但也不是不可能的,尤其是雏鸭肝炎,以急性方式发生于2—3星期大小的雏鸭,它们对其他动物没有易感性,这些都和我们所分离的病毒相似。但首先应当指出这是一种雏鸭的肝炎应该原先在雏鸭中流行,而传染给鹅只是在鸭发现本病以后才有可能。而有很多发病的禽场,同时也饲养雏鸭,雏鸭并未发病而只发生于鹅,可见不像是雏鸭肝炎。至于鸭瘟也有同样情形,在发生本病时,在本区域内尚未发现鸭瘟。

至于其他特性方面更加和上述病毒有显著的不同。

首先是雏鸭肝炎初次分离,可以用鸡胚培养,而本病毒则不能。鸭瘟病毒初次分离应在鸭胚绒尿囊内培养而本病毒不能在鸭胚内培养。此外,我们也曾用小鹅瘟抗血清和鸭瘟作中和试验,也证明了它们抗原性上的不同。为此,我们认为小鹅瘟病毒不同于鸭瘟,也不同于小鸭肝炎,是一种新的病毒。

3. 关于流行病学问题的讨论

在流行病学方面,需要讨论的,第一是该病在大鹅中是否会流行?第二是为什么出现周期性的流行。

首先讨论第一个问题。该病既然流行于小鹅,而流行面很广,大鹅必然会接触到病原体。在我们所看到的病鹅,只有1头40日以上的年龄,而在群内没有发生第2头,只是使以后进来的雏鹅大量发病死亡。因为该年为流行本病的一年,该年的鹅大都应有很高的易感性,但年龄在40日以上者几百头中只发生1头,可见大鹅具有抵抗力。在人工接种病毒的14头大鹅中,也只有2头发生瘫痪的症状(表六)。

既然大鹅很少发生本病,那末小鹅的病原从何而来?推测起来在大鹅中必然有带毒者存在。可能把病毒通过蛋壳、用具、炕坊而传给雏鹅,这些都是留待今后解决的问题。

第二,本病出现了一定程度的周期性,在大流行之后有一段间歇时间,至少是一年,长则五年。造成这些现象的原因,不外由于(1)小鹅易感性的不同,(2)病毒的毒力不同或(3)环境因素的影响。当然任何疾病的流行都离不开环境因素的影响,因此我们暂时不谈第(3)点。

根据我们调查研究的结果恐以小鹅的易感性为主要原因。本地区在1961年发生大流行时我们分离到病毒SY株,它的毒力应该是很强。我们所接种的本地小鹅13头(见表四及表五),全部死亡,也可以证明其毒力的强大。但当我们以同株病毒接种于泰州来的小鹅5头(见表五),只死了2头,而接种量大于扬州的雏鹅五倍,很明显泰州的雏鹅在该年份具有强大的抵抗力。因为该市在去年流行过本病,据了解今年育雏率很高。同样的病毒对在疾病发生过的地区的雏鹅表现出不同的致病力,这只能用雏鹅易感性的不同,才能加以解释。

所以应该是在发生大流行之后,母鹅均可能被隐性感染,带毒者较多,免疫力也很强大,可从1961年发病群内的鹅血清能够中和病毒的试验,得到证明(见表七)。这些免疫力

可以通过鹅卵传给幼雏，这些幼雏虽然接触病毒机会比较多(因为隐性感染或带毒母鹅多)，但仍然不致发生流行。第三年的情形可能不是如此了。第二年雏鹅得病少或没有，成年以后带毒者也渐减少，所以该年易感性的雏鹅也相应增加，但是否发生流行要看传染的环境来决定了。因此在大流行的年份，首先出炕的雏鹅虽然易感性很高，由于成年鹅带毒者稀少，也可能不发生流行，但既然有这许多有高度易感性的雏鹅，难保在长时期内不致传入疾病，因此在以后几批中如有一批发病则相继而来造成大量死亡了。

在流行年份如流行很早，疾病传播面大，使很多成年鹅在当年就成为具有特异免疫力的带毒者，则用它们的卵来孵化的最后一批雏鹅的死亡率也可以减小。本区1961年5月初就流行本病，到7月5日后一批雏鹅出炕，该批鹅就具有较高的成活率。如拿我们人工接种的不同时期的鹅作比较就可看出。在表四、五中人工接种的雏鹅13头，系在5月下旬出炕的，接种后全部死亡，在表七所列的鹅系7月5日出炕共4头，接种后只死亡2头。可见流行末期所产的卵，在孵化后可能具有较强的抵抗力。由于我们所做的雏鹅数量不多，还有待于进一步证实。

4. 关于本病的防治问题的讨论

今后对本病的究研，无疑的应着重在防治问题。由于本病发生于初生幼雏，死亡率最高的时间，约在孵出后10天之内，所以不可能用疫苗使其产生主动免疫。况且本病对大鹅还未发现有较大的损失，所以也不必对大鹅作疫苗注射，使其建立较长期的免疫力。

根据本病的特点，其免疫的方式，似乎应该采用被动免疫或者利用病毒间的拮抗现象进行防制。

被动免疫有两种方式，一是制造抗血清给雏鹅注射，一是通过母体传递将免疫力传给幼雏。

制造抗血清可在流行年份，在鹅群屠宰前注射减毒C—A培养液，在屠宰时采取其血清。

雏鸭肝炎都是这样制造抗血清来免疫的⁽⁶⁾。抗血清不独可能预防，也可能作为初期治疗的用处。这些留待以后再作研究。更简便的方法为免疫母鹅，使其将免疫力传给幼雏。根据我们所得的不完全资料，用这种方法可能会获得成功，当然还有待于作更多的试验研究来证实我们的推测。

根据病毒对鸡胚已初步获得适应，我们正在把它在鸡胚连续继代，在通过31代以后，发现他们已不能杀死鹅胚⁽⁷⁾，很可能对小鹅的致病力也大为减弱，此时就可能用来免疫雏鹅。虽然主动免疫的产生需要十多天或者在初生雏中不能产生，但也可能对强毒具有拮抗作用，在短时间内能抵抗强毒的再传染。

在我们所做的血清预防试验中，不论在无锡或扬州都得到了明确的效果，证明今后可以到生产实践中加以应用。

我们目前在大江南北已分离到4株病毒，虽然在毒力方面各有不同，但对雏鹅的致病症状和剖检看来没有发现它们的不同。在抗原方面尚未能作出详细的比较；但从用本地SY株病毒作抗原，所制出的抗血清在江南预防应用中得到交互保护的效果(见表八)。可见它们具有相类似的抗原性。目前据私人通讯获悉该病恐普遍存在于各大规模养鹅的地区，在这些不同地区的病毒是否有交互免疫的作用，应进一步用试验加以明确。

小鹅瘟特异防治的研究

方定一 王永坤 江美娟 过建寅*

郑玉美 周阳生

一、已往研究情况(略)

二、试验材料及方法

我们用鸡胚化病毒及鹅胚培养的病毒对成年鹅进行免疫以制造抗血清。

1. 抗原的种类及性质

a. 全毒鹅胚培养的病毒——苏农SY株。该病毒系1961年从扬州病鹅肠道内容物内所分离。苏农ST株系1962年从泰州病鹅脾脏内所分离。苏农SW株系1962年从无锡病鹅肠道内所分离。以上3株在对鹅胚的病变上和抗原性上都相类似，都在鹅胚内连续通过5代以上。

鹅胚在接种0.2毫升稀释10倍的绒尿液以后，经48小时死亡(初次分离为72-96小时)。病变为：绒尿膜轻度水肿，整个胚体充血、出血，尤以颈、翅尖、爪为甚。腹部毛孔丘状出血，后脑出血、肝严重充血、出血。

培养液对雏鹅(3-10龄)具有强大致病能力，不论口服或注射可使其在4天后发病，2天内死亡。

对成年鹅(须该年并未流行地区的鹅)有相当致病力，每鹅肌肉注射鹅胚培养液0.1毫升，可使1/4鹅发生两腿瘫痪并泻痢症状而死亡。每鹅注射 10^{-2} 稀释0.2毫升时可使3-5%发病死亡。均有肠炎病变。未发病鹅有显著的精神上和食欲上的改变并体重下降。

b. 鸡胚化减毒病毒。系用Y株病毒通过鸡胚绒尿囊30代减毒而成。该病毒对鹅胚及鸡胚具有类似的致病力。

对幼鹅仍有相当毒力，但不能使成年鹅发病，每头注射0.2毫升后无任何不良反应，也不影响产卵。

2. 血清鹅的选择：血清鹅的体重应在4市斤以上，系健康而无任何传染病的菜鹅。

3. 免疫方法：以新收获的无菌鸡胚化减毒病毒的绒尿囊培养液，每鹅皮下或肌肉注射0.2毫升。观察10-12天，无不良反应。

10-12天后用全毒鹅胚绒尿囊培养液每头再注射0.5毫升。观察10-15天无任何反应。

4. 采血及分离血清：于免疫两次后10-15天内进行全采血。采血前12小时不供任何饲料，但给以充分饮水。采血前将颈部羽毛拔去，并涂上5%碘酊。然后用蘸有5%石炭酸的布将鹅裹住留出头及颈部，用无菌剪刀在右边颈部上三分之一处皮肤剪开破口，并使颈静脉血管充分暴露。剪断血管，将血流入无菌量筒或玻璃缸。使之凝固析出血清。将析出的血清用无菌吸管吸出放入无菌瓶内。在凝血上再加无菌压铁经12-24小时再用上法吸出血清。然后在血清内加入石炭酸为防腐剂，使含有的最后浓度为0.5%的石炭酸(化学纯)，或加入

注* 无锡市兽医站工作。本试验曾得到无锡市北塘家禽繁殖场同志大力支持，特此致谢。

1/10,000乙基硫代水杨酸钠,加入之后充分振荡混合,密封瓶口静置冷暗处(4-15℃)待用。在急用情况下则不加防腐剂。

5. 血清的无菌安全效力试验;

无菌试验,用普通琼脂及厌氧肉肝汤各一管,分别接种血清0.2毫升。在37℃中培养3日检查无菌生长。安全试验用1-10日的雏鹅5-10只,每只皮下注射血清1毫升,观察10天应无任何反应。

血清用于已发病的小鹅群,每只皮下注射0.5毫升,其保护率应在75%以上,而对照组的死亡率应在75-80%左右。用1-10日雏鹅5-10只,每只皮下注射0.5毫升,能抵抗 0.2×10^{-4} 稀释的尿囊液强毒注射而对照组全部死亡。

三、试验的结果

无锡市家禽繁殖场,前后共孵6批小鹅,从第一批开始即陆续发生小鹅瘟已有大批死亡。总计从第1-4批共有雏鹅1500只,因本病而死亡的有1300只,占86.6%。因此于第5、6两批进行保护试验,第一次试验批于5月17日出炕,第5天已有小鹅发病死亡,当天选择300只小鹅分成两组,每组150只,一组为血清组,每只皮下注射血清0.5毫升,另一组150只为对照组。注射血清后,混群在一起饲养,加以观察。到出炕20天之后,血清组共死亡20只,保护86.7%。而对照组死亡了119只,死亡率79.3%(见表)。第二次试验批于5月17日出炕,第4天已有小鹅发病死亡。当天选择了200只小鹅,分二组,血清组150只,每只皮下注射1毫升,对照组50只不注射血清,观察15天。血清组只死亡34只,保护率为77.4%。而对照组死亡36只,死亡率占72%(见表)。

抗小鹅瘟血清预防试验结果

实验地点	组别	数量 (只)	血清剂量 及部位 (毫升)	发病死亡时间 (指从出炕天数)						保护率 %	备 考
				6 10	11 15	16 20	21 以上	小 计	死亡 率%		
无锡北塘	试验组	150	皮下0.5	0	9	2	0	20	13.3	86.7	
	对照组	150	/	8	8	2	5	0	119	79.3	
家禽繁殖场	试验组	150	皮下1	3	4	0	0	0	34	22.6	因血清冻结后发生沉淀故加倍剂量
	对照组	50	/	3	4	2	0	0	36	72	
本院牧场	试验组	300	皮下0.5	/	/	6	0	60	8	92	用高度免疫后21天的2只种鹅血清进行注射
	"	450	皮下全血1	/	/	6	0	60	8	92	
	"	649	皮下0.5	4	8	4	0	15	103	15.7	

我院牧场饲养的第一批1000只小鹅该批是本市凤凰桥炕坊于3月28日第一批孵出的小鹅,于12天发病至第16天已死亡250只。将剩下的750只分两组用血清和全血注射。计血清注射的共300只,每只胸部皮下注射0.5毫升,全血注射的450只胸部皮下注射1毫升,注射后3天即停止出现新病例,9天后剩下的小鹅还有690只,只死亡60只,其保护率为92%(见表)。第二批700只小鹅从同炕坊来,于5月1日出炕,第三天已有部份开始发病死亡,到第5天死亡51只。将剩下的649只,每只胸部皮下注射血清0.5毫升,观察到第29天,剩下556

只，死亡103只，其保护率为84.3%

我们也曾用抗血清对已经发生本病的雏鹅进行治疗，效果不够理想。只在发病初期在注射大量血清（1毫升）后只有部份可以耐过。

四、小 结

1. 小鹅瘟是流行于出壳3—15天龄左右的雏鹅群中的一种急性败血症的传染病，死亡率一般在50—80%以上，20日龄以上的小鹅较少发生，大鹅群未发现有流行。

2. 血清对已发病的小鹅群有较高的保护作用。用免疫血清0.5毫升胸部皮下注射或免疫全血胸部皮下注射1毫升，应有72—92%的成活率，而对照组死亡率为在80%左右。

3. 血清对已经感染上本病的小鹅治疗作用效果不够理想。病情较轻或者刚感染上本病的小鹅则还有一定效果，但用量要加大到2—4毫升。

4. 制造血清时，先将鸡胚化病毒作基础免疫注射，对大鹅没有显著反应，对产卵也无影响，以后如再用强毒作高度免疫注射，可免除不良反应，并能达到高度免疫的目的。

5. 血清的安全试验：用5—10只，1—10日龄的雏鹅，每只皮下注射1毫升，观察10天应无任何反应。保护试验：1—10日龄10只雏鹅，血清0.5毫升皮下注射之后抵抗 0.2×10^{-4} 强毒注射，而未经注射血清的对照组10只在4—10日内全部死亡。

（1963年4月脱稿油印）

小鹅瘟抗血清的制造方法

方定一 王永坤 江美娟 郑玉美 周阳生

血清鹅的选择

血清鹅可以利用汰淘的种鹅或菜鹅。鹅必须外表健康并无其他传染病，最好是预先经巴氏杆菌病免疫，从外地购回或经长途运输的鹅必须观察5—10天后无疾病表现才算合格。

小鹅瘟的种毒

（一）来源：我院目前有苏农的扬州、无锡、邵伯、泰州等4株鹅胚强毒，4株病毒均从毒鹅的大便、肠粘膜以及肝脾而得到的，除了强毒之外，我室还有鸡胚化的弱毒。均可供给各单位制造血清时之用。

（二）种毒的标准：

1. 种毒的毒力：

a、强毒：目前我们有苏农扬州株已通过鹅胚8代，无锡、泰州、邵伯等株均已通过鹅胚4~5代不等，4株鹅胚毒对孵化12~14天发育正常的鹅胚经绒毛尿腔接种，每只0.3~0.4毫升。除了无锡株初次分离之外其他各株在不同代数，均能使其在2~4天之内死亡。以 10^{-1} 的鹅胚尿囊液（苏农株和无锡株作过实验）口服或皮下肌肉注射初生（1~15天）的雏鹅，每只0.2毫升均在4~8天内发病死亡，具有典型小鹅瘟的病变。而对12~14天龄鹅胚其最小致死量为 0.2×10^{-9} ，对大鹅可有部份致死。其症状是两腿瘫痪，两翅下垂，不易行走，食欲

减少，并有腹泻，经过一星期左右死亡或恢复。

b、鸡胚化毒：苏农扬州株已通过鸡胚42代。最初两代鸡胚通过中其死亡规律不定，以后各代较有规律。对孵化正常10~12天发育正常的鸡胚经尿囊腔接种0.2毫升，均在2~3天内死亡。用鸡胚尿囊液（在21代之后）口服及皮下肌肉注射初生（1~15天龄）雏鹅每只0.2毫升，其死亡数不超过半数。鸡胚化尿囊液毒（21代之后）对大鹅无致病力，也无不良反应，对产蛋也无影响。

2. 鹅胚和鸡胚的病变是相同的：

孵化正常的12~14天鹅胚，尿囊腔接种后4~6天内死亡。孵化10~12天的鸡胚尿囊腔接种后2~4天内死亡。死亡的鹅胚、鸡胚呈全身充血并伴有出血点，特别是头部和腹部皮肤的毛细孔和翅、足尖或鹅胚胎儿蹼为显著。全身皮下呈水肿，特别是下颌部、头部、腹部、翅、足两侧之间和丘脑严重出血斑块、肝脏出血、斑块呈红黄相间样的变化，心脏也有个别出血点。

种毒的保存

a、鹅胚尿囊液的强毒：以通过鹅胚用它的尿囊液和绒尿膜或者通过小鹅（1~15天龄）的肝、脾作种毒继代保存。

b、鸡胚化的弱毒：以不断通过鸡胚来减弱其毒力，用鸡胚的尿囊液或绒尿膜作种毒继代保存。

尿囊液和绒尿膜在-4℃左右至少能存活9个月，可能更长。绒尿膜胚体和肝、脾用普通温度真空内能存活一年以上。种毒在继代作抗原或保存过程中均必须经细菌学检验阴性。

免疫注射

（一）基础免疫：用鸡胚化病毒（在21代以上者），每鹅胸部皮下或肌肉注射原尿囊液0.1~0.3毫升均可，须无任何反应。如有个别反应必须等恢复后才能作第二次注射*。

（二）高度免疫：在基础免疫后10日，可注射一次强毒，如鹅胸部皮下或肌肉注射0.5~1.0毫升。高度免疫鹅如不立即扑杀采血必须于采血前10天重注射同量强毒。

采 血

（一）在高度免疫注射后10~15天均可采血。采血前的鹅必须喂食正常精神良好。采血前12小时不喂料，并充分给予饮水。采血时先将颈部羽毛拔乾淨，涂上5%碘酊。其后将鹅用湿布包裹全身，只让其伸出颈部。

（二）用无菌的剪刀在颈部上三分之一右边皮肤剪破一个缺口，使之充分暴露出颈部动脉血管，用无菌镊子分离血管，然后剪断血管放入无菌的量筒或玻璃缸内，使之自然凝固。

（三）采血筒应贴有标签，注明日期。

分离血清

（一）将已凝固的血液中加入无菌的压铁，使血清逐渐析出，经12~24小时后用吸管或导尿管吸出血清放入无菌瓶内。如采血是在气温较高并有污染的可能应立即放入冰箱内（4℃

*鸡胚毒已在文化革命中遗失，目前初步免疫均用通过鹅胚毒，每成年鹅的用量为 10^{-2} 毫升的C-A培养，并未任何反应。病毒通过鹅胚15代以上即不能致死雏鹅成为弱毒。