

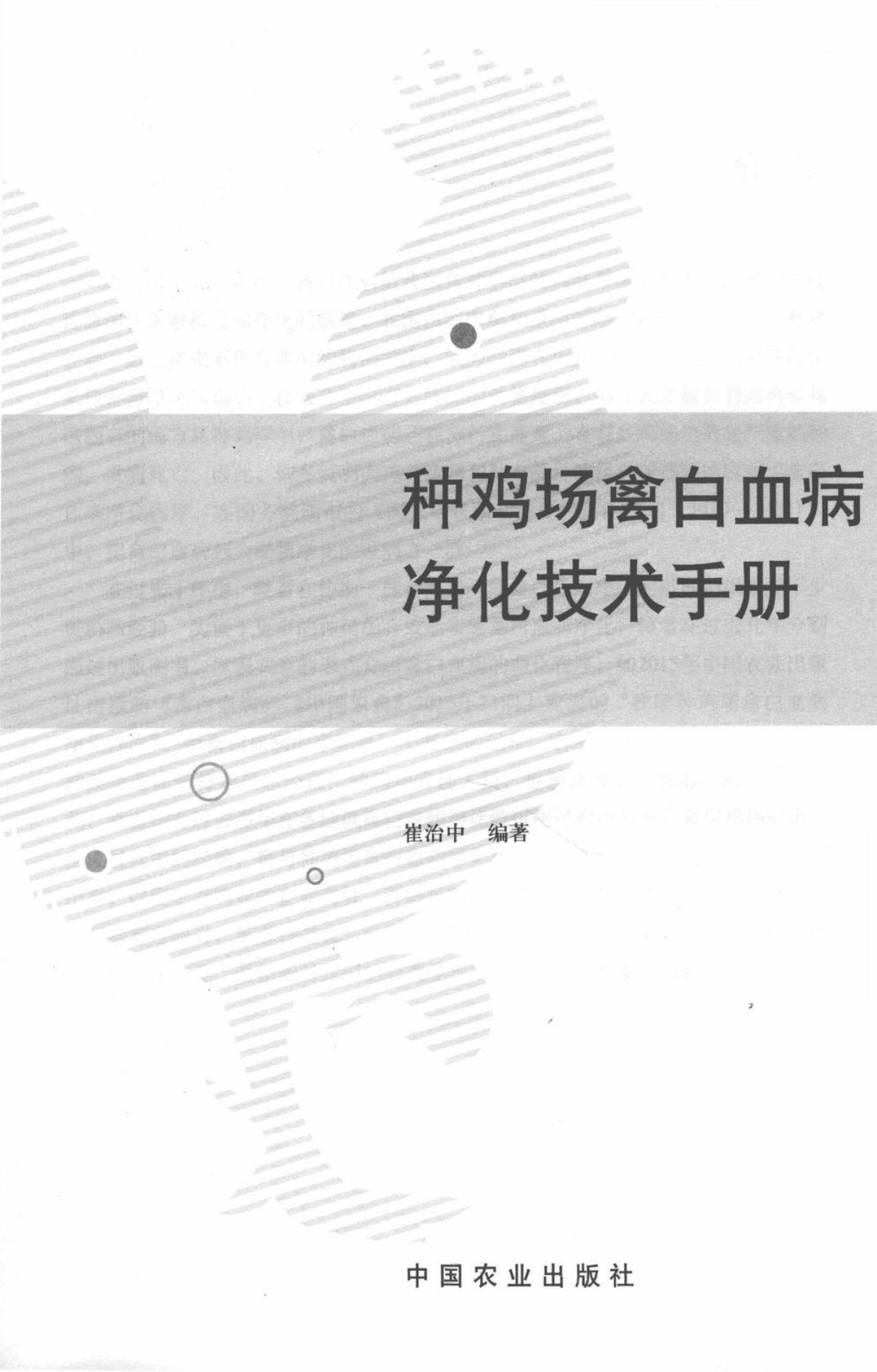
ADEP
ANIMAL DISEASE ERADICATION

种鸡场禽白血病 净化技术手册

ZHONGJICHANG QINBAIXUEBING
JINGHUA JISHU SHOUCHE

崔治中 编著





种鸡场禽白血病 净化技术手册

崔治中 编著

中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

种鸡场禽白血病净化技术手册 / 崔治中编著. — 北京: 中国农业出版社, 2018.4
ISBN 978-7-109-24022-3

I. ①种… II. ①崔… III. ①鸡病—防治—手册
IV. ①S858.31-62

中国版本图书馆CIP数据核字 (2018) 第060232号

中国农业出版社出版
(北京市朝阳区麦子店街18号楼)
(邮政编码100125)
责任编辑 刘玮

中国农业出版社印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行
2018年4月第1版 2018年4月北京第1次印刷

开本: 700mm×1000mm 1/16 印张: 6.25 插页: 6
字数: 160千字
定价: 36.00元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

A stylized silhouette of a rooster, filled with horizontal orange and white stripes. The rooster is facing right and has a prominent comb and wattle. A solid orange horizontal bar is positioned across the middle of the rooster's body, containing the title text.

种鸡场禽白血病净化技术手册



2014年10月31日农业部于康震副部长视察北京峪口禽业实施禽流感净化检测现场时，与孙浩总裁等峪口禽业高管及山东农业大学崔治中教授等禽流感净化指导专家合影



北京峪口禽业副总裁刘长清、贾立才、兽医检测室主任黄秀英、山东农业大学崔治中教授等手持中国动物疫病预防控制中心颁发的“禽流感净化示范场”认证牌合影



中国动物疫病预防控制中心于2015年秋颁发给北京峪口禽业的“禽白血病净化示范场”的认证牌，北京峪口禽业是第一个实现禽白血病净化的自繁自养鸡场



2014年10月31日农业部于康震副部长视察北京峪口禽业孵化场对出壳雏鸡逐只采样检测胎粪禽白血病病毒p27抗原的现场（1）



2014年10月31日农业部于康震副部长视察北京峪口禽业孵化场对出壳雏鸡逐只采样检测胎粪禽白血病病毒p27抗原的现场（2）



2014年10月31日农业部于康震副部长视察北京峪口禽业孵化场对出壳雏鸡逐只采样检测胎粪禽白血病病毒p27抗原的现场（3）



2014年10月31日农业部于康震副部长视察北京峪口禽业孵化场对出壳雏鸡逐只采样检测胎粪禽白血病病毒p27抗原的现场（4）



2014年10月31日农业部于康震副部长视察北京峪口禽业孵化场对出壳雏鸡逐只采样检测胎粪禽白血病病毒p27抗原的现场（5）



2015年11月，在实现禽白血病净化第一阶段通过验收后，北京峪口禽业总裁孙浩、负责生产的副总裁周宝贵、负责疫病防控的副总裁刘长清与山东农业大学崔治中教授共同讨论协商禽白血病净化进入维持净化的第二阶段的实施方案的细节



由孙浩总裁和崔治中教授对禽白血病净化第二阶段实施方案联合签署后，刘长清副总裁与崔治中教授手持实施方案文本合影

前 言

在过去二十多年中，禽白血病给我国各种类型的鸡群带来了很大的危害。经过连续多年采取检疫和净化的措施，我国白羽肉鸡和蛋用型鸡的禽白血病得到了有效控制，近三年来不再有典型的病例发生，成为我国在近几十年内首个不使用疫苗仅采取种源净化和鸡场生物安全手段有效防控的动物疫病。但在大多数黄羽肉鸡和我国固有的地方品种鸡群中，禽白血病还在流行和蔓延，在有些鸡场仍造成严重的肿瘤、发病死亡。因此，许多黄羽肉鸡种鸡场和地方品种鸡保种场都开始启动了禽白血病净化程序。在国务院颁布的《国家中长期动物疫病防治规划（2010—2020）》中，把禽白血病列为必须净化的疫病之一。

在过去十年中，笔者在协助一些种鸡场开展禽白血病净化的过程中积累了不少资料和经验。为便于更多的种鸡场有效地实施禽白血病净化，笔者在过去几年分别通过出版图书、发表文章的形式介绍禽白血病的净化程序，如2015年中国农业出版社出版的《禽白血病》，《中国家禽》2015年23期上发表的“我国种鸡场禽白血病净化程序”。但禽白血病的净化是一个复杂的过程，它不仅涉及兽医技术人员，还涉及企业高管特别是总经理、种鸡场管理人员，也涉及政府主管部门的官员。为此，笔者结合过去多年在各地就禽白血病净化做讲座过程中与来自基层鸡场的听众交流过程中的经验，将与种鸡场禽白血病净化相关的主要问题以一问一答的形式写出来，以便于养鸡业的企业高管、种鸡场管理人员、兽医技术人员从中选择感兴趣的问题参考研讨。笔者将过去几十年实验室研究和指导鸡场预防控制禽白血病方面的经验汇集在此，希望能对我国的养鸡业预防控制禽白血病有所帮助。

目 录

前言

第一章 种鸡场禽白血病防控和净化技术方案 (version 4.0) 1

第一节 原种鸡场核心群外源性ALV的净化 2

- 一、我国不同类型原种鸡场核心群净化ALV的迫切性和长期性 2
- 二、原种鸡场核心群外源性ALV的净化规程和操作方案 2
- 三、小型自繁自养黄羽肉鸡或地方品种核心种鸡群净化的过渡性方案 7
- 四、核心群ALV净化过程中种蛋选留、孵化出雏及育成过程中的注意事项 7
- 五、实施净化程序中外源性ALV检测技术的选择和改进 10

第二节 祖代或父母代种鸡场禽白血病感染的防控 11

- 一、选择净化的种源引进鸡苗 11
- 二、定期检测和监控引进种群的感染状态 13
- 三、预防横向感染维持种鸡群净化状态 14

第三节 种鸡场要有科学合理的繁育和饲养管理制度 15

- 一、核心种鸡群的鸡舍应完全封闭 15
- 二、引进种鸡前必须做最严格的ALV检疫 15
- 三、不同来源的种蛋在孵化和出雏时必须严格分开 17

第四节 严格防止使用外源性ALV和其他免疫抑制性病毒污染的疫苗 17

- 一、外源性ALV污染疫苗对种鸡群的危害性 17
- 二、需要特别关注的疫苗 18
- 三、对疫苗中外源性ALV污染的检测方法 18
- 四、对疫苗中其他免疫抑制性病毒的检测方法 20

第二章 禽白血病净化过程中改进的检测技术 23

第一节 如何比较和选择不同供应商的ALV_{p27}抗原ELISA检测试剂盒 24

第二节 用IFA提高对细胞培养中ALV感染的检测灵敏度 28

第三节 用IFA检测鸡血清ALV抗体 34

- 一、IFA与ELISA检测血清抗体的相关性 34
- 二、用IFA检测血清ALV抗体 36

三、IFA在判定血清ALV抗体效价中的应用..... 37

第四节 种公鸡精液中外源性ALV的分离培养技术及其应用 38

第五节 北京峪口禽业ALV净化示范场验收合格后维持方案的建议 40

第三章 禽白血病防控疑难问题解答 43

1. 什么是禽白血病? 44

2. 禽白血病在鸡群中流行时带来的经济损失有多大? 44

3. 我国养鸡业在禽白血病防控上的经验教训是什么? 45

4. 禽白血病病毒属于什么病毒, 它的形态特点是什么? 45

5. ALV基因组的基本结构是什么? 45

6. ALV病毒粒子内有哪些酶和蛋白质成分? 46

7. ALV在细胞内是如何复制的? 46

8. ALV有哪些实验室宿主系统? 47

9. ALV有哪些亚群, 是根据什么确定的? 47

10. ALV亚群与致病性有什么关系? 47

11. 我国鸡群中已确定有哪些亚群的ALV? 48

12. 什么是复制缺陷型病毒? 48

13. 什么是内源性禽白血病病毒? 48

14. 什么是外源性ALV? 49

15. 内源性ALV-E有致病性吗? 50

16. 细胞染色体基因组的这些内源性白血病病毒的 ev 位点能产生游离病毒吗? ... 50

17. 内源性ALV对禽白血病的诊断和检测会有什么干扰作用? 50

18. 为什么慢羽鸡都带有可以产生游离病毒的内源性ALV-E? 51

19. 外源性ALV的不同毒株的致病性相同吗? 51

20. 什么是急性致肿瘤性ALV? 51

21. 急性致肿瘤性ALV可能有哪些肿瘤基因? 52

22. 哪些因素会影响ALV感染鸡后的致病性? 52

23. 鸡的哪些基因影响对ALV的易感性或抵抗力? 52

24. ALV在外界环境中抵抗力大小如何? 53

25. 在鸡群中和鸡群间ALV是如何传播的? 53

26. ALV的横向传播有什么特点? 53

27. ALV垂直感染是怎么发生的, 有什么特点? 54

28. 什么是ALV-E的遗传性感染? 55

29. 公鸡在ALV传播中起着什么样的作用? 55

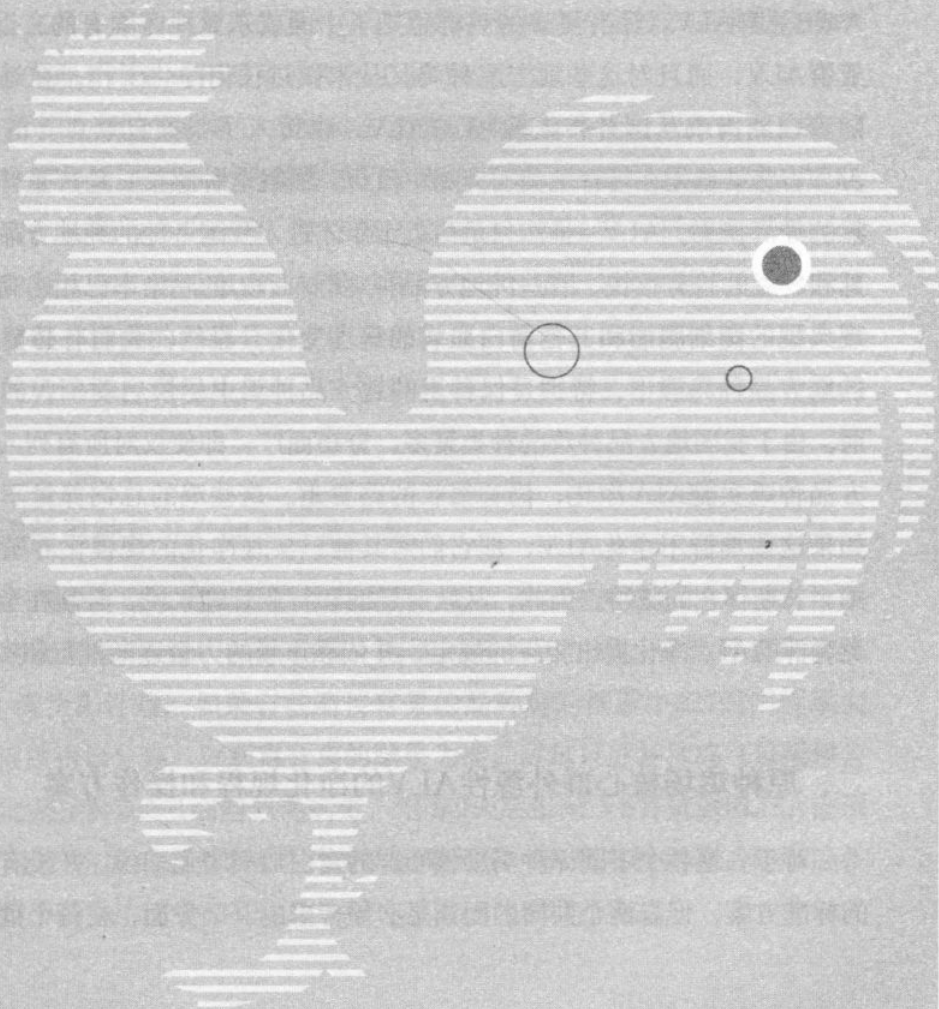
30. 蚊虫能传播ALV吗?	56
31. 鸡群感染ALV后会造成什么样的致病作用?	56
32. ALV感染鸡后诱发的最特征性病变是什么?	56
33. ALV可以诱发哪些不同类型组织的肿瘤?	56
34. 除了禽白血病外, 鸡群还有哪些不同病毒引起的肿瘤病?	57
35. 除了造成肿瘤死淘外, ALV感染对鸡群还有什么危害?	57
36. 什么年龄的鸡对ALV最易感?	57
37. 早期感染和成年以后感染对鸡有何影响?	57
38. 什么是持续性病毒血症?	58
39. 什么是一过性(短暂性)病毒血症?	59
40. 什么是免疫耐受性感染?	59
41. 根据抗体和病毒血症状态, ALV感染鸡群中有几种不同感染状态?	59
42. 近二十年来禽白血病在我国鸡群中发生的基本态势是怎样的?	59
43. 我国ALV-J的来源是什么?	60
44. ALV-J是怎么传进我国蛋鸡群中的?	60
45. ALV-J是怎么传进我国黄羽肉鸡和地方品种鸡群的?	61
46. 我国白羽肉鸡场J亚群白血病的发生和控制经历了哪些阶段?	61
47. 我国蛋用型鸡场J亚群白血病的发生和控制经历了哪些阶段?	62
48. 我国黄羽肉鸡和地方品种鸡群中J亚群白血病的发生和控制现状如何?	62
49. 当前我国黄羽肉鸡和地方品种鸡中流行的主要是什么亚群的ALV?	63
50. 为什么现在仅仅从黄羽肉鸡和地方品种鸡分离到K亚群? 说明什么?	63
51. ALV-K的致病性怎样?	63
52. 如何防控鸡群禽白血病?	63
53. 为什么现在没有预防禽白血病的有效疫苗? 将来呢?	64
54. 为什么我国种鸡群必须尽快实施白血病净化?	64
55. 种鸡场实现白血病净化后有什么直接经济效益和市场价值?	64
56. 怎样鉴别诊断禽白血病?	65
57. 如何才能对肿瘤病鸡做出确切的鉴别诊断?	65
58. 如何实施对鸡群(场)ALV感染状态的鉴别诊断?	66
59. 病理组织切片检测对禽白血病临床病例的鉴别诊断很重要吗?	67
60. 对肿瘤病鸡, 在分离到ALV时为什么同时还要做病理组织检测?	67
61. 对病理组织检测判定为肿瘤的病鸡为什么同时还要做病毒分离?	67
62. 为了确定鸡群(场)是否有ALV感染, 哪种检测方法最可靠?	67
63. 胎粪和蛋清样品中p27检测的假阳性反应是从哪里来的? 其他组织样品中也有吗?	68

64. 为什么不提倡采集泄殖腔棉拭子作为检查p27抗原的主要样品? 68
65. 泄殖腔棉拭子检测p27会漏检外源性ALV感染鸡吗? 69
66. 为什么对种鸡在开产初期及留种前既要采血分离病毒又要检测
蛋清中的p27? 69
67. 为什么要强化种公鸡的精液检测? 69
68. 为什么对公鸡采血做了病毒分离后还要检测精液? 70
69. 如何检测精液中的ALV感染? 70
70. 如何利用精液进行病毒分离? 70
71. 如何从市场上选择质量好的ELISA-ALVp27抗原检测试剂盒? 70
72. 不同试剂盒检测胎粪的结果经常不一致, 如何取舍? 71
73. 同一个体不同方法检测 (PCR、抗体检测、病毒分离、棉拭子检测等)
结果不一致, 如何处理? 71
74. 在实施种鸡场ALV净化过程中最需要解决的问题是什么? 72
75. 要实现种鸡场核心群净化, 必须实施的检测和淘汰净化的具体步骤
是什么? 72
76. 在一个种鸡场核心群启动净化程序时, 从上述步骤的哪一步开始较好? 73
77. 在刚开始启动净化检测的鸡场, 为什么不建议先从雏鸡胎粪检测
这一步开始? 73
78. 为什么在ELISA检测前要在液氮中冻融胎粪? 74
79. 为了组织好雏鸡胎粪检测p27这一步, 有什么更多的建议? 74
80. 为什么在孵化到18天时, 要把同一只母鸡的胚放在同一只出雏袋里出雏? 74
81. 对出壳袋有什么技术要求? 74
82. 为什么在处理完每只母鸡后代雏鸡后都要更换手套或在消毒水中洗手? 75
83. 如果用消毒液洗手, 应该用什么消毒剂? 75
84. 为什么在给雏鸡出壳后注射疫苗时, 对每一只母鸡的后代都要更换针头? 75
85. 为什么雏鸡出壳后经胎粪p27检测阴性的同一只母鸡后代都应在一个
笼中隔离饲养? 75
86. 对育雏阶段的隔离笼有什么技术要求? 75
87. 为什么选择6~8周龄做第一次采血分离病毒? 76
88. 为什么要将6~8周龄后选留的鸡单笼饲养或小群饲养? 76
89. 为什么选择开产初期采血分离病毒? 76
90. 为什么在留种前还要采血分离病毒? 76
91. 为什么在收集种蛋前还要检测蛋清 (精液) p27抗原? 76
92. 如果核心群经过检测淘汰后, 选留母鸡的数量不足以保持遗传多样性
怎么办? 77

93. 在上面检测净化步骤中, 为什么没有提到血清抗体的检测? 77
94. 如何确保细胞培养分离病毒结果的可靠性? 77
95. 为什么要保证细胞培养能维持到接种样品后9天? 78
96. 在净化到一定程度, 是否可以调整ELISA检测p27抗原时判定阳性的s/p值? 78
97. 达到什么标准后原种鸡场核心群可以停止上述严格的净化检测程序? 79
98. 种鸡场核心群进入净化维持期后该执行和实施哪些相关措施? 79
99. 暂时没有条件做细胞培养分离病毒的育种公司可以开展净化吗? 79
100. 祖代种鸡场如何预防控制禽白血病? 79
101. 为什么要高度关注选用的弱毒疫苗中有无外源性ALV污染? 80
102. 需要特别关注哪些疫苗的外源性ALV的检测? 80
103. 如何检测疫苗中的外源性ALV污染? 80
104. 单一的PCR技术检测外源性ALV可靠吗? 81
105. 单纯的p27检测判定疫苗中有无外源性ALV污染可靠吗? 82
106. 为了净化ALV, 种鸡场建设和饲养管理方面还有什么特殊要求? 82
107. 在种鸡核心群连续净化过程中, 每个世代种鸡病毒血症和血清p27阳性率平行下降吗? 82
108. 按照严格的检测净化方案, 需要几个世代才能实现净化? 82
109. 判断一个核心种鸡群是否实现净化需要参考哪些检测指标? 83
110. 为什么血清抗体检测不能作为判断鸡群实现ALV净化的指标? 83
111. 哪些因素可能诱发鸡群血清中出现较高ALV抗体的假阳性反应? 84
112. 为什么某些遗传背景的鸡群或个体会产生ALV抗体假阳性反应? 84
113. 如何推测或判定血清ALV抗体的假阳性反应? 84
114. ELISA检测鸡血清抗体呈现阳性, 但间接免疫荧光分析 (IFA) 为阴性, 如何判定? 85
115. ELISA检测鸡血清抗体呈现阴性, 但免疫荧光分析 (IFA) 为阳性, 如何判定? 85
116. 当鸡群背景阳性率较高时如何制订净化程序? 85
117. 在中国最经济有效的净化方案有哪些? 86
118. 如果鸡群净化效果已达到病毒分离阳性率小于0.5%, 如何进一步做好净化? ... 86
119. 在一个核心种鸡群实现ALV净化后还需要继续检测吗? 86

第一章

种鸡场禽白血病防 控和净化技术方案 (version 4.0)



第一节 原种鸡场核心群外源性ALV的净化

一、我国不同类型原种鸡场核心群净化ALV的迫切性和长期性

不同类型不同品系原种鸡场核心群的外源性ALV净化，是预防禽白血病最基本、最重要的一环。经过近二三十年的努力，目前国际上保留下来的不同品系的白羽肉用型种鸡群或蛋用型种鸡群都已基本净化了各种亚群的外源性禽白血病。但即使如此，这些育种公司仍然通过抽检的方法继续监控核心群中是否会出现新的外源性禽白血病病毒感染。

但在我国，全国各地还饲养着不同品种的地方品种鸡及培育的黄羽肉用型鸡和蛋用型鸡。由于历史原因，我国自繁自养的这些鸡群大多都不同程度感染了经典的A或B亚群ALV，还有更多的鸡群感染了中国或东亚地区固有的、近几年发现的K亚群ALV，而且对这些地方品种鸡又从未做过任何净化工作。在过去二十年中，随着白羽肉鸡从国外传入的J亚群ALV，也传入了我国自繁自养的许多鸡群中。ALV-J感染首先在培育型黄羽肉鸡中流行，而且这种感染日趋严重并且已经造成明显的经济损失。ALV-J虽然只是最近十年才进入我国各地的纯地方品种鸡，但其蔓延和发展的趋势很快，有些纯地方品种鸡群ALV-J的感染率已相当高，且也开始表现典型的髓细胞瘤和其他禽白血病的病理变化。显然，我们有必要在一些有价值的地方品种鸡群中，特别是保种用的地方品种鸡中尽快启动ALV的全面净化。然而，由于我国地方品种鸡的种类繁多、分布面广，即使仅对所有列入品种名录的地方品种鸡实施ALV净化，仍有很长的路要走。这些鸡的总饲养量不算大，但是，如果这些鸡群不净化ALV，那它们对其他已实现净化的规模化养殖场来说，又是一个长期存在的威胁。因此，从政府层面和行业管理来说，必须在全国范围内对各类鸡群的ALV净化提出相应的规定，并依靠市场的力量逐渐推行和实施。

二、原种鸡场核心群外源性ALV的净化规程和操作方案

对于各地各个不同原种鸡场核心群的禽白血病净化来说，并没有一个完全相同的标准方案，但有两个共同的因素是必须考虑的，一方面，在每个世代要尽最大可