

# 动物园动物禽流感疫苗免疫后抗体水平检测

吴艳云<sup>1,2</sup>, 史秋梅<sup>3</sup>, 孙好学<sup>2</sup>, 汤生玲<sup>3</sup>, 何宏轩<sup>2</sup>

(1. 河南农业大学牧医工程学院, 河南 郑州 450002;

2. 中国科学院动物研究所国家野生动物疫病研究中心, 北京 朝阳 100101;

3. 河北科技师范学院动物科学系, 河北 秦皇岛 066004)

**摘要:** 为了查明现用禽流感疫苗对野生动物园珍稀动物的保护效果, 探讨合理有效的免疫方案, 应用血凝抑制试验(HI)对河北、北京、上海、河南等动物园中接种禽流感疫苗的珍稀野生动物进行禽流感抗体检测。结果表明, 在禽流感疫苗免疫后 21 d, 隶属于 2 纲 5 目 9 科 20 属 30 种(包括亚种)的 121 份血清样品中, 63.6% 的样品血凝抑制价低于  $6\log_2$ , 显然现有的疫苗不能对野生动物提供有效的保护力。

**关键词:** 野生动物; 禽流感; 血清学调查

中图分类号: S852.4

文献标识码: B

文章编号: 0529-6005(2009)03-0085-02

禽流感(AI)是由正黏病毒科 A 型流感病毒引起的禽类一种严重传染病<sup>[1]</sup>, 也是第 1 个实行全球性监测的传染病, 世界动物卫生组织(OIE)列为 A 类传染病。

1959 年以来, 全世界多次暴发高致病性禽流感, 每次都给养禽业带来惨重的损失<sup>[2]</sup>。以往人们一直认为禽流感病毒在自然界不能跨越种间屏障传播, 然而 2005 年在我国青海湖地区包括斑头雁, 棕头鸥在内几千只野鸟发生死亡<sup>[3]</sup>。野生鸟类禽流感疫情的暴发给防控高致病禽流感增加了难度。2003 年夏咸柱等<sup>[4]</sup>从老虎体内分离禽流感病毒。随后, 在国内外的一些虎群中均有流感的流行, 尤其以 2003 年~2004 年发生在泰国一些动物园的虎群的

暴发流行最为严重, 导致大批老虎死亡<sup>[5-7]</sup>。

本文就我国几个野生动物园中禽流感疫苗免疫后抗体的检测, 评估禽流感对圈养珍稀野生动物构成的潜在威胁程度, 以期对珍稀野生动物疾病预防和保护提供依据。

## 1 材料与方法

1.1 血清样品 2007 年 9 月用禽流感油乳剂灭活疫苗对河北、北京、上海、河南等地的动物园珍稀野生动物免疫接种后 21 d, 用真空采血针采集野生动物血液, 4℃静置 2 h, 5 000 r/min 离心 10 min 分离血清, 共获得 121 份血清(鸟类 85 份、灵长类 29 份、肉食类 7 份), 所有血清样品均经 56℃灭活 30 min, -20℃保存备用。

1.2 禽流感标准抗原 购自中国农业科学院哈尔滨兽医研究所(批号: 20060420)。

1.3 1%红细胞悬液 无菌采取健康鸡血并用枸橼酸钠抗凝, 经生理盐水洗涤、离心 3 次, 取红细胞按体积比用灭菌生理盐水稀释配制成 1% 红细胞悬液, 4℃保存备用。

收稿日期: 2007-10-25

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划(2006BAD06A01), 秦皇岛市科技发展计划(2005-28)

作者简介: 吴艳云(1979-), 女, 硕士生, 主要从事野生动物疫病研究

通讯作者: 何宏轩, E-mail: hehx@ioz.ac.cn

以看出 Re-4 株抗原与 Re-1 株抗原具有一定的交叉性, 这一点在 2.2 的大量试验数据中得到了印证: 对于 428 份仅免疫过 Re-1 株疫苗的鸡只血清, Re-4 株抗原检测结果并非 0, 而是比 Re-1 株抗原平均低了  $2^{5.9}$  ( $5.9\log_2$ ), 这一结果与国家参考实验室的 64 倍( $2^6$ )抗原性差距的结论吻合。我们在实验室检测过程中也应注意到这种交叉性对试验结果的影响。Re-1 株抗体效价高可能会导致 Re-4 株抗体效价的“虚高”, 反之亦然。所以, 我们在禽流感抗体水平检测的过程中应将二者结合起来分析。

3.2 敏感性试验中: 从 Re-4 株标准阳性血清各稀释度检测结果看, Re-4 株抗原具有较好的敏感性, 能准确的检测出各稀释度的抗体效价。应用 Re-4

株抗原对鸡只免疫抗体水平进行跟踪监测, 能很好的反映鸡只 Re-4 株抗体消长规律, 具有良好的敏感性。

3.3 Re-4 株疫苗免疫抗体消长跟踪试验中, 通过一次免疫, 鸡只在免后 2 周内产生了达到保护的免疫抗体水平( $\geq 4$ ), 在 3~4 周时达到最高峰( $2^{7.7}$ ), 且能维持到 5 周甚至更长, 说明该疫苗具有良好的免疫原性, 并且免疫保护时间非常理想。由于本试验主要研究 Re-4 株抗原的敏感性和特异性, 所以未进行二免的相关试验。

3.4 由于本试验缺乏不同诊断试剂间的横向比较, 所以仅能从一定程度上反映 Re-4 株抗原的特异性和敏感性, 而不能作为对该抗原的最终评价。

1.4 血凝抑制试验(HI)<sup>[8]</sup> 血清样品经 56℃ 30 min 灭活后,按常规方法于 96 孔“V”型板上进行 HI 试验。同时设生理盐水阴性对照和 AIV 阳性抗血清对照。

## 2 结果

对国内几个野生动物园中的珍稀野生动物免疫禽流感疫苗 21 d 后,禽流感抗体的检测结果见表 1。

表 1 动物园珍稀野生动物禽流感抗体滴度调查

| 动物种类  | 样品数 | HI 滴度( $\log_2$ )       |
|-------|-----|-------------------------|
| 雉科    |     |                         |
| 绿孔雀   | 4   | 3(1); 5(2); 6(1)        |
| 原鸡    | 3   | 7(2); 5(1)              |
| 白鹇    | 2   | 3(2)                    |
| 蓝鹇    | 4   | 2(3); 3(1)              |
| 蓝马鸡   | 2   | 8(2)                    |
| 褐马鸡   | 1   | 7(7)                    |
| 珍珠鸡   | 3   | 4(2); 5(1)              |
| 白腹锦鸡  | 2   | 6(2)                    |
| 红腹锦鸡  | 3   | 4(2); 6(1)              |
| 雉鸡    | 7   | 2(4); 3(3)              |
| 黑颈长尾雉 | 2   | 8(2)                    |
| 花尾榛鸡  | 5   | 4(3); 5(2)              |
| 斑尾榛鸡  | 6   | 8(5); 5(1)              |
| 鸭科    |     |                         |
| 大天鹅   | 2   | 7(2); 5(1)              |
| 小天鹅   | 5   | 3(2)                    |
| 瘤鸭    | 10  | 2(3); 3(1)              |
| 鸳鸯    | 3   | 8(2)                    |
| 鹤科    |     |                         |
| 丹顶鹤   | 5   | 6(1); 4(4)              |
| 黑颈鹤   | 3   | 5(1); 3(2)              |
| 白鹤    | 2   | 4(1); 6(1)              |
| 秧鸡科   |     |                         |
| 普通秧鸡  | 6   | 8(6)                    |
| 白喉斑秧鸡 | 3   | 5(2); 6(1)              |
| 蓝胸秧鸡  | 2   | 4(1); 5(1)              |
| 猩猩科   |     |                         |
| 猩猩    | 5   | 5(3); 7(2)              |
| 白眉长臂猿 | 3   | 2(3)                    |
| 猴科    |     |                         |
| 猕猴    | 8   | 7(3); 5(5)              |
| 红面猴   | 3   | 4(3)                    |
| 疣猴科   |     |                         |
| 金丝猴   | 10  | 8(3); 5(2); 4(5)        |
| 食肉目   |     |                         |
| 猫科    |     |                         |
| 东北虎   | 5   | 3(5)                    |
| 熊科    |     |                         |
| 东北棕熊  | 2   | 4(2)                    |
| 总计    | 121 | 63.6% HI 滴度 < $6\log_2$ |

注:括号里的数字代表珍稀野生动物检测只数。哺乳纲动物的血清样品分别采自河北省秦皇岛野生动物园和河南省郑州动物园。其中秦皇岛野生动物园的血清样品分别是猩猩 3 份、白眉长臂猿 2 份、猕猴 5 份、红面猴 2 份、金丝猴 6 份,剩余的哺乳纲动物的血清样品采自河南省郑州动物园

隶属于 2 纲 5 目 9 科 20 属 30 种(包括亚种)的 121 份血清样品中,鸟类组、灵长类组、肉食类组血凝抑制价低于  $6\log_2$  的所占比例分别为 57.7% (49/85)、72.4% (21/29)、100% (0/7)。

## 3 讨论

目前,疫苗免疫仍然是防制禽流感暴发的主要措施。保护率是评判一种疫苗的免疫效果最好指标之一,在本试验中采用血凝抑制试验(HI)对国内几家动物园中的免疫禽流感油乳剂灭活疫苗的野生动物进行禽流感抗体调查。结果表明,63.6% 的野生动物的禽流感抗体水平低于  $6\log_2$ ,而且同一物种产生抗体水平不均一,不能完全对野生动物提供有效的保护。

通过此次调查,针对现有的疫苗不能完全提供有效的保护这一现状,我们要及时采取有效的措施来加强动物园珍稀野生动物的安全性。对于外来野鸟飞入动物园内部停靠的地点应加强消毒工作,这样有利于防止野鸟携带禽流感病毒而造成动物园内的珍稀野生动物受到感染的威胁。另一方面,应加强动物园野生动物的疫病监测,并将检测结果及时通报,这样有利于整个动物园中对于疫病的防御和控制。

## 参考文献:

- [1] 甘孟侯. 禽流感[M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 1995: 16-19.
- [2] Jong M, Hien T. Avian influenza A (H5N1) [J]. Journal of Clinical Virology, 2006, 35(1): 2-13.
- [3] Jinhua Liu, Haixia xiao, Fumin Lei, et al. Highly pathogenic H5N1 influenza virus infection in migratory birds [J]. Science, 2005, 309(5738): 1206.
- [4] 夏咸柱, 高玉伟, 扈荣良, 等. 通过病毒分离鉴定和基因检测首次发现虎流感 [J]. 中国兽医学报, 2003, 23(2): 107-110.
- [5] Keaw charoen J, Oraveerakul K, Kuiken T, et al. Avian influenza H5N1 in tigers and leopards [J]. Emerging Infectious Diseases, 2004, 10(12): 2189-2191.
- [6] Amonsin A, Payungporn S, Theamboonlers A, et al. Genetic characterization of H5N1 influenza A viruses isolated from zoo tigers in Thailand [J]. Virology, 2006, 344(2): 480-491.
- [7] Thanawongnuwech R, Amonsin A, Tantilertcharoen R, et al. Probable tiger to tiger transmission of avian influenza H5N1 [J]. Emerging Infectious Diseases, 2005, 11(5): 699-701.
- [8] 殷震, 刘景华. 动物病毒学[M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 1997: 704-734.
- [9] Sugaya N, Nerome K, Ishida M, et al. Efficacy of inactivated vaccine in preventing antigenically drifted influenza type A and well matched type B [J]. Journal of the American Medical Association, 1994, 272(14): 1122-1126.