

畜禽流行病防治丛书
CHUQIN LIUXINGBING FANGZHI CONGSHU

鸡传染性支气管炎 及其防治

主锡祯 王泽华 编著



金盾出版社
JINDUN CHUBANSHE

畜禽流行病防治丛书

鸡传染性支气管炎 及其防治

王锡祯 王泽华 编著

金盾出版社

内 容 提 要

鸡传染性支气管炎是鸡群多发的一种病毒性传染病,本书介绍了鸡传染性支气管炎研究的新进展、新技术和新经验。内容包括:鸡传染性支气管炎概述、病原学、流行病学、临床症状和病理变化、诊断与防治。语言通俗易懂,内容丰富实用。适于养鸡专业户、养鸡场技术人员、畜牧兽医工作者和农业院校相关专业师生阅读参考。

图书在版编目(CIP)数据

鸡传染性支气管炎及其防治/王锡祯,王泽华编著. —北京:金盾出版社,2009.6

(畜禽流行病防治丛书)

ISBN 978-7-5082-5679-5

I. 鸡… II. ①王…②王… III. 鸡病:传染病—支气管炎—防治 IV. S858.31

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 051811 号

金盾出版社出版、总发行

北京太平路 5 号(地铁万寿路站往南)

邮政编码:100036 电话:68214039 83219215

传真:68276683 网址:www.jdcbs.cn

封面印刷:北京百花彩印有限公司

彩页正文印刷:北京天宇星印刷厂

装订:北京天宇星印刷厂

各地新华书店经销

开本:787×1092 1/32 印张:3.25 彩页:4 字数:66 千字

2009 年 6 月第 1 版第 1 次印刷

印数:1~8 000 册 定价:6.00 元

(凡购买金盾出版社的图书,如有缺页、
倒页、脱页者,本社发行部负责调换)

目 录

第一章 概述	(1)
第二章 病原学	(3)
第一节 分类	(3)
第二节 形态	(3)
第三节 血凝性	(4)
第四节 干扰现象	(4)
第五节 化学组成	(4)
第六节 复制	(5)
第七节 理化特性	(5)
第八节 抗原性	(6)
第九节 培养与增殖	(7)
一、鸡胚培养与增殖	(7)
二、细胞培养与增殖	(9)
三、器官培养与增殖	(10)
第十节 致病性和在鸡体内的动态分布	(10)
第十一节 免疫	(13)
一、主动免疫	(13)
二、被动免疫	(15)
第十二节 病毒株的分类与分型	(16)
一、病毒株的分类	(16)
二、病毒株的分型	(18)
第十三节 分子生物学研究进展	(28)
一、鸡传染性支气管炎病毒基因组结构	(28)
二、鸡传染性支气管炎病毒蛋白组成	(29)

三、鸡传染性支气管炎病毒的变异机制·····	(31)
四、分子生物学诊断技术·····	(32)
第三章 流行病学 ·····	(33)
第一节 鸡传染性支气管炎的发生与传播 ·····	(33)
一、易感性·····	(33)
二、传播·····	(34)
三、发病率和死亡率·····	(35)
第二节 我国鸡传染性支气管炎发生的新情况 ·····	(36)
第三节 我国鸡传染性支气管炎发生的流行病学 新特点 ·····	(40)
一、疑似变异型鸡传染性支气管炎暴发流行·····	(41)
二、肉鸡对鸡传染性支气管炎越来越敏感·····	(43)
三、以鸡传染性支气管炎为主的二重感染或 三重感染在肉鸡群中的发生不断增多·····	(43)
四、免疫鸡群不断暴发鸡传染性支气管炎·····	(43)
第四节 鸡传染性支气管炎频发的原因分析 ·····	(44)
第五节 发病机制 ·····	(46)
第四章 临床症状和病理变化 ·····	(47)
第一节 临床症状 ·····	(47)
一、呼吸型鸡传染性支气管炎的临床症状·····	(48)
二、肾型鸡传染性支气管炎的临床症状·····	(48)
三、腺胃型鸡传染性支气管炎的临床症状·····	(48)
四、生殖型鸡传染性支气管炎的临床症状·····	(48)
五、肠型鸡传染性支气管炎的临床症状·····	(49)
六、混合型鸡传染性支气管炎的临床症状·····	(49)
第二节 病理变化 ·····	(49)
一、呼吸型鸡传染性支气管炎的病理变化·····	(50)

二、肾型鸡传染性支气管炎的病理变化·····	(50)
三、生殖型鸡传染性支气管炎的病理变化·····	(50)
四、肠型鸡传染性支气管炎的病理变化·····	(50)
五、混合型鸡传染性支气管炎的病理变化·····	(50)
六、腺胃型鸡传染性支气管炎的病理变化·····	(51)
第五章 诊断 ·····	(53)
第一节 临床诊断 ·····	(53)
一、流行病学特点·····	(53)
二、临床症状·····	(53)
三、病理变化·····	(54)
第二节 实验室诊断 ·····	(55)
一、病毒的分离鉴定·····	(55)
二、血清学诊断·····	(57)
三、分子生物学诊断·····	(62)
第三节 鉴别诊断 ·····	(69)
一、与鸡新城疫的鉴别诊断·····	(70)
二、与禽流感的鉴别诊断·····	(70)
三、与鸡传染性喉气管炎的鉴别诊断·····	(73)
四、与鸡马立克氏病的鉴别诊断·····	(74)
五、与鸡传染性病毒性腺胃炎的鉴别诊断·····	(75)
六、与鸡支原体病的鉴别诊断·····	(75)
七、与鸡传染性鼻炎的鉴别诊断·····	(76)
八、与霉菌性肺炎的鉴别诊断·····	(77)
九、与白色念珠菌病的鉴别诊断·····	(78)
十、与鸡肌胃糜烂的鉴别诊断·····	(79)
十一、与鸡网状内皮组织增生症的鉴别诊断·····	(79)

第六章 预防与治疗	(80)
第一节 预防措施	(80)
第二节 免疫接种	(82)
一、疫苗的种类.....	(82)
二、疫苗的使用方法.....	(84)
三、各类型鸡传染性支气管炎的免疫程序.....	(85)
第三节 治疗	(87)
一、高免血浆治疗.....	(87)
二、干扰素治疗.....	(88)
三、中西医结合治疗.....	(89)
参考文献	(93)

第一章 概 述

鸡传染性支气管炎(Avian infectious bronchitis, IB)是由冠状病毒科(Coroharivldae)、冠状病毒属(Coronavirus)的鸡传染性支气管炎病毒(Avian infectious bronchitis virus, IBV)引起的一种急性、高度接触传染性呼吸道传染病,其特点是病鸡咳嗽和气管发生啰音。病毒主要伤害雏鸡的呼吸系统和泌尿生殖系统,造成蛋鸡产蛋量下降,鸡蛋品质下降,雏鸡严重死亡,还可引起鸡的增重和饲料报酬降低,混合感染引发气囊炎可使肉鸡在加工过程中被淘汰,所造成的生产效益损失通常比死亡损失还要大。本病的高度传染性 & 鸡传染性支气管炎病毒的多种血清型使免疫预防复杂化和预防成本增加。据笔者多年实践观察,发现肉杂鸡或三黄鸡等的发病日龄提前至 1~3 日龄,病程延长至 3~4 周,临床病型增多,症状变化多样,病理变化也有很大差异,雏鸡的发病率和病死率均大大增高。本病已成为严重危害养鸡生产的杀手,是今后鸡病防治中的重中之重。

本病又称喘息病(Gasping disease)、小鸡支气管炎(Chick bronchitis)、禽传染性支气管炎。1930 年,在美国北达科他州首先见到一种引起雏鸡死亡的呼吸道疾病。1931 年 Schalk 等首次报道了本病,最初认为鸡传染性支气管炎主要是雏鸡的一种疾病,但后来发现本病在育成鸡和产蛋鸡群也普遍存在。1937 年 Beaudete 等成功地在鸡胚上培养出了鸡传染性支气管炎病毒。1956 年 Jungherr 报道了鸡传染性支气管炎病毒康涅狄格(Connecticut)型与马萨诸塞(Massachusetts)型属于不同

血清型。1962 年 Wiuterfield 等从患肾损伤而感染呼吸道症状的病鸡中分离出鸡传染性支气管炎病毒变异株,定名为鸡传染性支气管炎病毒 T 株。近几年,在欧洲分离到 1 株鸡传染性支气管炎病毒变异株即 739 / B(Gough, 1992)。

鸡传染性支气管炎分布于全世界,从 20 世纪 50 年代开始,美国除最早鉴定的马萨诸塞型外,还有几个血清型。马萨诸塞型于 20 世纪 40 年代在欧洲分离到。在欧洲和澳大利亚还分离到许多与北美洲不同的血清型。即使免疫过的鸡群仍会暴发鸡传染性支气管炎,从暴发群分离出来的毒株往往与疫苗的血清型不同。目前,本病在美国、加拿大、英国、法国、德国、意大利、比利时、南斯拉夫、荷兰、日本、朝鲜、俄罗斯、印度等均有发生,我国于 1972 年在广东省首次报道,1982 年邝永禄又首次报道肾型鸡传染性支气管炎,1988 年以后,广东、江苏、上海、北京、新疆、甘肃等地相继发生本病的流行,1991 年以来,在全国各地相继发生了肾型、呼吸型、腺胃型、生殖型等多种类型的鸡传染性支气管炎。

第二章 病原学

第一节 分类

传染性支气管炎病毒属冠状病毒科。该科有 2 个属,即冠状病毒属和凸隆病毒属,鸡传染性支气管炎病毒和火鸡冠状病毒及至少 9 种哺乳动物病毒归为冠状病毒属。鸡传染性支气管炎病毒的蛋白序列和抗原性与火鸡冠状病毒有很大差别,火鸡冠状病毒更接近于某些哺乳动物的冠状病毒。目前还未发现禽凸隆病毒。

第二节 形态

鸡传染性支气管炎是冠状病毒科、冠状病毒属中的一个代表种。鸡传染性支气管炎病毒粒子略呈球形,直径为 80~120 纳米,有时呈多形性。在鸡胚尿囊液制备的负染标本中,见到囊膜上有许多梨状凸起,呈放射状排列,凸起长约 20 纳米,末端呈球形,凸起之间有较宽的间隙。这种凸起易从病毒粒子上脱落。将鸡胚尿囊液中的病毒放置 4~18 小时,再做负染标本,就常看到梨状凸起的大量失落。核衣壳由形成螺旋结构的核糖核蛋白构成,呈长颈瓶样。

第三节 血凝性

未经处理的鸡传染性支气管炎病毒不能凝集鸡红细胞，但是鸡胚尿囊液中的病毒经 1% 胰蛋白酶或乙醚在 37℃ 处理 3 小时之后，则能凝集鸡红细胞。一般认为，这是由于正常的鸡胚尿囊液中有一种能吸附病毒或红细胞表面血凝素的抑制物，它能阻止病毒吸附红细胞，用胰蛋白酶或乙醚处理后，这种抑制物遭到破坏，因而发生红细胞凝集作用。这种反应是非特异性的，至今还不能证实特异性抗血清的血凝抑制作用。Cunningham 氏(1966)用 DEAE 柱层析法从感染性病毒中分离出血凝素，直径为 60~70 纳米，这种血凝素由 51% 的脂质和少量碳水化合物以及 RNA 所组成。

第四节 干扰现象

鸡传染性支气管炎病毒能干扰鸡新城疫病毒在雏鸡、鸡胚和鸡胚肾细胞培养物内的增殖，而鸡脑脊髓炎病毒则又能干扰鸡传染性支气管炎病毒在鸡胚内的增殖。有人认为，鸡传染性支气管炎病毒能与鸡体内的败血性支原体(*Mycoplasma gallisepticum*)和鸡嗜血杆菌(*Haemophilus gallinarum*)呈现协同作用。

第五节 化学组成

传染性支气管炎病毒粒子含有 4 种病毒特异性蛋白，即纤突(S)蛋白、膜(M)蛋白、糖蛋白和核衣壳(N)蛋白。另外，

第四种蛋白(小膜蛋白)被认为与病毒囊膜有关。S 蛋白含有 2 种糖多肽, S_1 蛋白和 S_2 蛋白(分别约 520 个和 625 个氨基酸)各由 2~3 个拷贝组成。血凝抑制和大多数中和抗体由 S_1 蛋白诱导。M 蛋白的 225 个氨基酸大多数嵌在病毒膜内或在内膜表面, 只有约 10% 的氨基酸暴露在病毒的外表面。N 蛋白环绕于单股正链 RNA 基因组上(核糖核蛋白), 基因组由 27 500 个核苷组成, 全系列已经被克隆和测定, 纯化的病毒制备物中总含有宿主细胞的多肽。 S_2 蛋白难于测定, 部分 N 蛋白可能丢失或降解。

第六节 复制

鸡传染性支气管炎病毒在胞质中复制, 通过不连续转录机制形成 6 条信使 RNA, 从而能够出现重组株。在内质网膜而不是在细胞膜出芽形成病毒粒子。虽然 S 蛋白可通过网状结构迁移到细胞表面, 但 M 蛋白却不能。病毒粒子从细胞中释放出来的机制尚不清楚。在 37℃ 条件下培养病毒, 感染后 3~4 小时就开始出现新病毒, 12 小时细胞内病毒量达到最多。

第七节 理化特性

鸡传染性支气管炎病毒粒子含单股 RNA, 对 RNA 酶敏感。5-溴脱氧尿核苷和 5-氟脱氧尿核苷不能抑制病毒增殖, 因而证明传染性支气管炎病毒的核心内含 RNA, 而不是 DNA。鸡传染性支气管炎病毒有 14~16 种多肽, 其中 4 个是糖基化的。鸡传染性支气管炎病毒的蔗糖浮密度为 1.12~

1.14 克/毫升。鸡传染性支气管炎病毒对酒精、乙醚、氯仿、胆盐和其他脂溶剂敏感。用乙醚或吐温-80 破坏病毒粒子,不能使其像副黏病毒那样释出核蛋白片段——核衣壳。

病毒的热稳定性随毒株的不同而异。例如,新分离毒株在 56℃ 条件下,15~30 分钟即被灭活,而适应于鸡胚的毒种可在此温度中存活 3 小时以上。鸡胚尿囊液中加入 20% 马血清,可提高病毒对热的稳定性。水中的病毒最少可在室温下存活 24 小时。1 摩氯化镁溶液可以提高病毒在 50℃ 条件下的稳定性。病毒在低温保存下稳定。鸡胚尿囊液和细胞培养液中的病毒,可在 -60°~-30° 条件下活存几个月。冻干真空密封的病毒,在低温下可存活 24 年,但在 37℃ 条件下存放 6 个月则可完全灭活。将含病毒组织置于 50% 甘油盐水中,也能良好保存。

鸡传染性支气管炎病毒虽被认为是对乙醚敏感的病毒,但 Petek 和 Corazzola(1958 年)认为 20% 乙醚只能降低病毒的滴度,而不能使其完全灭活。0.2% 去氧胆酸钠溶液在室温下作用 10 分钟,即能完全灭活鸡胚尿囊液中的病毒。鸡传染性支气管炎病毒有抵抗胰蛋白酶的作用,40 毫克/毫升的胰蛋白酶溶液,在 37℃ 条件下作用 1 小时,不影响病毒的感染性。

1% 煤酚皂溶液、0.01% 高锰酸钾溶液、70% 酒精和 1% 甲醛溶液均可在室温条件下几分钟内杀死病毒,但 1% 石炭酸溶液在室温下作用 1 小时,仍不能灭活病毒。

第八节 抗原性

已经报道的鸡传染性支气管炎病毒血清型有马萨诸塞

(Massachusetts)、康涅狄格(Connecticut)、霍尔泰(Holte)、格兰(Gray)、JMK、衣阿华 97(Iowa97)、衣阿华 609(Iowa 609)、特拉华 2868(Delaware 2868)、特拉华 2897(Delaware 2897)、SE17、克拉克 333、佛罗里达(Florida)和阿肯色 99(Arkansas 99)等 13 个。Hopkin(1974 年)应用固定量病毒和不同量血清的交叉中和试验,对 19 个蚀斑纯化的毒株进行比较研究,结果将其分为 7 个血清型,即马萨诸塞型、康涅狄格型(佛罗里达、克拉克 333、阿肯色 99)、佐治亚型(Georgia)、SE17 型、特拉华型(JMK、霍尔泰、格兰)、衣阿华 97 型、衣阿华 609 型和新罕布什尔(New Hampshire)型。另外,还有第八个血清型,即澳大利亚 T 株。有人认为鸡传染性支气管病毒就只有马萨诸塞和康涅狄格两个主要血清型,其他可能都是一些变异型。用乙醚处理和氯化铯密度梯度离心分层的病毒悬液,在免疫琼脂扩散试验中至少可以测出 3 种不同的可溶性抗原(免疫琼脂扩散板上有 3 条沉淀线),1 种存在于病毒粒子内,其余 2 种分布于病毒的表面。

第九节 培养与增殖

传染性支气管炎病毒可在鸡胚内、器官培养的鸡胚气管以及来自鸡和鸡胚的多种细胞培养物内生长。初代分离以鸡胚较好。

一、鸡胚培养与增殖

传染性支气管炎病毒在发育中的鸡胚中生长良好。鸡传染性支气管炎病毒病料首次接种 9~11 日龄鸡胚的特征是孵化至第十九天,有 90% 鸡胚存活,少数鸡胚矮小化。随着传

代次数增加,鸡胚死亡率和矮小化个体增加。至第十代时,大多数鸡胚发育受阻,孵化至第二十天,死亡率可达 80%。

病毒接种几天后就可看到鸡胚特征性变化。照蛋时只见矮小胚轻微运动。从气室端打开可见鸡胚蜷成球形,脚变形压在头上,羊膜增厚并粘连在胚体上。

卵黄囊收缩,卵黄膜也容易被撕裂,尿囊液通常增多。鸡传染性支气管炎感染鸡胚内脏的一致病变是中肾含有尿酸盐,这种病变似乎与胚胎发育受阻有关,并不是传染性支气管炎所特有的。鸡胚接种非致死性传染性支气管炎病毒的另一病变是羊膜及附近覆盖着矮小胚的尿囊膜增厚,这种病变通常在接种后第三天就可以发现。这同样不是特征性的,因为接种缓发型新城疫病毒(NDV)的鸡胚也能出现类似病变。

Loomis 等对感染 M_{41} 株鸡胚的显微病变进行了研究,他们发现接种病毒后第六天,肝脏充血并出现血管套袖部分坏死;所有肺脏均有炎症变化,其特征是充血、细胞浸润和支气管囊腔中有浆液性渗出物;肾脏可见间质性肾炎,伴有水肿;远曲小管膨胀并有肾小管管型;肾小球无变化;绒毛尿囊膜和羊膜水肿,未发现包涵体。

为使鸡传染性支气管炎病毒别但泰(Beaudette)株经尿囊腔接种后达到最大感染滴度,有人曾对鸡胚日龄、孵育温度及时间进行广泛的研究并做了详尽的综述。10~11 日龄鸡胚接种约 10^7 EID₅₀ 鸡传染性支气管炎病毒,于 37℃ 和 32℃ 条件下分别孵育 12 小时和 24 小时,尿囊液中病毒达到高峰并且其滴度相近,绒毛尿囊膜中的病毒滴度高于尿囊液。在 37℃ 和 32℃ 条件下孵育时,病毒分别在 24 小时和 48 小时开始引起鸡胚死亡,42℃ 孵化可导致鸡胚早期死亡(12 小时),而且病毒滴度较低。在另一项研究中,一株鸡胚适应代次较

低的毒株(鸡胚传 20~30 代),在 37℃ 条件下,不管接种量大小,于 24~30 小时病毒达到了最高滴度。一般情况下,接种 10^3 气管培养感染量或 10^4 EID₅₀ 37℃ 孵育 36~40 小时,病毒可接近最高滴度。通常情况下不用火鸡胚来繁殖鸡传染性支气管炎病毒。然而有证据表明,一些毒株(别但泰株和 M₄₁ 株)已经适应于在火鸡胚中生长。

二、细胞培养与增殖

用于鸡传染性支气管炎病毒研究的单层细胞培养中,鸡胚肾细胞(CEK)和鸡肾细胞(CK)最为成功。Gillette 曾对鸡传染性支气管炎对鸡胚肾细胞的适应性进行了探讨和综述。尽管在第一代后经过染色就可看到蚀斑,但不同毒株在鸡胚肾细胞中出现广泛的细胞病变和达到最高滴度所需要的传代次数不同,有些毒株在鸡胚中传代可促进对鸡胚肾细胞的适应,蚀斑大小和形态也因毒株而异。多数毒株在 40℃ 条件下培养比在 37℃ 条件下培养形成的蚀斑大。

传染性支气管炎病毒在鸡胚肾细胞或鸡肾细胞中的潜伏期为 3~4 小时,根据感染量的大小,在 14~36 小时培养液中病毒的滴度达到最高。传染性支气管炎病毒在鸡胚肝细胞(CEL)和在鸡胚肾细胞培养中的滴度相近。鸡胚中病毒滴度比鸡肾细胞或鸡胚肾细胞培养中高 10~100 倍,因此也比鸡胚肝细胞更敏感。在 pH 为 6~9 的条件下,别但泰株在鸡肾细胞中的最高滴度相近,随着 pH 的增高,病毒释放加快,失活也加快。病毒滴度达到最高的最佳 pH 为 6.5。

传染性支气管炎病毒在鸡胚和鸡肾细胞中传代后,可以在鸡胚成纤维细胞中增殖,但滴度要比在鸡肾细胞中增殖要低得多。当培养液中有胰酶存在时可形成蚀斑。鸡传染性支

气管炎病毒别但泰株可在其他禽和哺乳动物的原代胚肾细胞内增殖,但生长不良。传染性支气管炎病毒别但泰株、M₄₁株、衣阿华 97 株已经适应于非洲绿猴肾细胞(Vero)系。在另一个研究中,10 个毒株中有 2 株可在乳仓鼠肾细胞(BHK-21)系中生长,但却不能在子宫颈癌细胞(HeLa)系中生长。

传染性支气管炎病毒别但泰株在接种鸡肾细胞后 6 小时形成合胞体。18~24 小时后,合胞体中核数可达 20~40 个或更多,同时合胞体形成空泡,核出现萎缩。鸡肾细胞中的合胞体变圆、脱落,而接种非洲绿猴肾细胞系适应的传染性支气管炎病毒别但泰株时,非洲绿猴肾细胞中的合胞体有许多核痕,并能在溶液中存留较长时间。

三、器官培养与增殖

Darbyshire 综述了鸡传染性支气管炎病毒在气管及其他组织器官培养中的增殖情况。取 20 日龄胚的气管环,单个培养于旋转培养管中,在接种鸡传染性支气管炎病毒后,3~4 天就可在低倍显微镜下观察到纤毛运动停止。已经证明气管培养是传染性支气管炎病毒分离、毒价测定和血清分型十分有效的方法,因为野毒不需要适应就可以生长并引起纤毛运动停止。

第十节 致病性和在鸡体内的动态分布

传染性支气管炎病毒能够在呼吸道、肠道、肾脏和输卵管中复制。通常不论分离株来自何种组织,都感染鸡的呼吸道并在气管产生特征性病变。可是已经证明至少有 1 株肾病变鸡传染性支气管炎病毒毒株(澳大利亚 T 株)在育成鸡中极