

畜禽流行病防治丛书

CHUQIN LIUXINGBING FANGZHI CONGSHU

鸡传染性法氏囊病 及其防制

朱维正 编著



金盾出版社

JI CHUANRANXING FASHINANGBING JIQI FANGZHI

责任编辑：沈启新 封面设计：侯少民

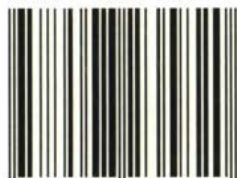


畜禽流行病防治丛书

鸡传染性法氏囊病 及其防治



ISBN 7-5082-3582-7



9 787508 235820 >



ISBN 7-5082-3582-7

S · 1191 定价：3.50 元

畜禽流行病防治丛书

鸡传染性法氏囊病及其防制

朱维正 编著

金盾出版社

内 容 提 要

本书介绍了鸡传染性法氏囊病(IBD)国内外防治方面的新观点、新技术、新经验,内容包括鸡法氏囊病概述、病原体、流行病学、症状、病理变化、诊断技术、类症鉴别、免疫抑制及防治对策等十部分。本书内容充实,资料丰富,适于畜牧兽医工作者、基层畜牧兽医人员及有关院校师生阅读参考。

图书在版编目(CIP)数据

鸡传染性法氏囊病及其防制/朱维正编著. —北京:金盾出版社,2005.6

(畜禽流行病防治丛书)

ISBN 7-5082-3582-7

I. 鸡… II. 朱… III. 鸡病-防治 IV. S858.31

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 025431 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 66882412

传真:68276683 电挂:0234

封面印刷:北京印刷一厂

正文印刷:北京四环科技印刷厂

各地新华书店经销

开本:787×1092 1/32 印张:3 字数:66 千字

2005 年 6 月第 1 版第 1 次印刷

印数:1—11000 册 定价:3.50 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 鸡传染性法氏囊病概述	(1)
第二章 病原体	(3)
一、形态	(4)
二、化学组成	(4)
三、培养	(5)
四、抗原性	(6)
五、变异性	(8)
六、IBDV 对理化因素的抵抗力	(12)
第三章 流行病学	(14)
一、传染源	(14)
二、传播途径	(14)
三、易感动物	(15)
四、流行特点	(15)
第四章 症状	(21)
附:鸭的传染性法氏囊炎	(22)
第五章 病理变化	(25)
一、眼观病变	(25)
二、病理组织学变化	(26)
三、电镜观察	(26)
第六章 诊断	(28)
一、临床—流行病学诊断	(28)
二、病理解剖学诊断	(28)
三、实验室诊断	(29)
(一)病料的电镜检查	(29)

(二)病毒的分离培养与鉴定	(30)
(三)血清学试验	(30)
1. 琼脂扩散试验(琼扩, AGP)	(30)
2. 免疫酶诊断法	(32)
3. IBD 试纸条快速诊断法	(35)
4. 葡萄球菌 A 蛋白协同凝集试验(SPA-CoA 试验)	(37)
5. 免疫微球凝集试验(CLA)	(37)
6. 反向间接血凝试验(RPHA)	(38)
7. 免疫电泳试验(CIET)	(38)
8. 免疫荧光抗体诊断法	(39)
(四)生物探针技术	(40)
1. 单克隆抗体探针	(40)
2. 核酸探针技术	(41)
第七章 类症鉴别	(43)
一、与肾病变型传染性支气管炎的鉴别	(43)
二、与非典型新城疫的鉴别	(43)
三、与包涵体性肝炎的鉴别	(44)
四、与葡萄球菌病的鉴别	(44)
五、与急性暴发的球虫病的鉴别	(44)
第八章 免疫抑制	(45)
一、IBDV 构成免疫抑制的免疫病理学基础	(45)
二、电镜观察	(46)
三、其他免疫器官的病理变化	(46)
四、组织化学和免疫学研究	(46)
五、流行病学分析	(47)
六、IBDV 免疫抑制与毒株间的关系	(48)

七、IBDV 疫苗株的免疫抑制性	(49)
八、法氏囊和法氏囊病与免疫抑制的关系	(50)
九、IBDV 所致免疫抑制的危害	(51)
(一)IBDV 的免疫抑制作用降低了雏鸡对多种疫苗 的免疫应答	(51)
(二)免疫抑制造成对其他病原体的易感性增高 ...	(53)
第九章 鸡传染性法氏囊病长期肆虐我国养鸡业的原因	(55)
一、变异毒株的存在	(55)
二、超强毒株的出现	(56)
三、母源抗体的影响	(56)
四、疫苗质量不佳及疫苗选择不当	(60)
五、免疫程序不合理与免疫途径和剂量不当	(60)
六、养鸡环境中被 IBDV 严重污染	(61)
七、并发症、继发症的增多	(62)
第十章 防治对策	(63)
一、加强饲养管理及卫生措施,增强鸡体抵抗力	(63)
二、做好免疫接种	(64)
(一)IBD 疫苗的种类	(64)
(二)科学免疫程序的建立	(72)
(三)免疫接种	(76)
三、加强消毒	(77)
四、搞好免疫监测	(80)
五、发生传染性法氏囊病后的措施	(80)
(一)改善饲养管理环境	(80)
(二)发病早期用高免血清或高免卵黄抗体治疗	(81)

(三)给假定健康鸡群做紧急接种	(81)
(四)用本场病鸡组织制成灭活苗给鸡接种	(82)
(五)严格进行消毒	(82)
附 录	(83)
一、传染性法氏囊病琼脂扩散试验(AGP)操作法	(83)
二、IBDV 间接 Dot-ELISA 操作法	(84)
三、IBD 高免卵黄抗体的制备方法	(85)
四、IBD 和 ND 二联高免卵黄抗体的制备	(86)
五、山羊抗鸡 IBD 高免血清的制备	(87)

第一章 鸡传染性法氏囊病概述

鸡传染性法氏囊病(Infectious Bursal Disease, IBD)是由传染性法氏囊病毒引起的鸡的一种急性接触性传染病。主要侵害雏鸡和青年鸡的法氏囊等免疫器官,破坏法氏囊中的B淋巴细胞,导致免疫抑制,使病鸡更易感染其他疫病,并对某些疫苗的免疫应答能力下降,是一种严重影响养鸡业的烈性传染病,也是国际上公认的鸡的三大疫病之一。

本病的临床特征是病鸡表现间歇性白色水样下痢,厌食,体重减轻和电解质平衡紊乱,最后因高度衰竭而死亡。同时该病毒能破坏鸡的体液免疫中枢器官——法氏囊,使其不能产生免疫球蛋白,导致免疫机能障碍(免疫不全或免疫抑制)。因此,称为传染性法氏囊病。1957年该病首次在美国特拉华州的甘保罗(Cumboro)镇发现。因此,又称甘保罗病。1962年发生于英国,根据本病有肾小管变性等肾脏病变,曾称为鸡肾变病(Avian nephrosis)。1970年Hitchner提出为了避免一病多名引起的混乱,统称为传染性法氏囊病(IBD)。以后不久,法国、德国、以色列、瑞士、前苏联、澳大利亚等国都有发生和流行。目前美、欧、亚、非和大洋洲各国都有发生,遍布于养禽业集中的国家和地区。由于鸡只的高度集中,该病的危害性更为严重。如美国鸡群的阳性率几近100%,南美洲约为90%,荷兰88%,意大利76%,德国61.5%。日本于1967年发现本病,现已蔓延至全国,有70%~80%的鸡群受到感染。我国于1979年首次在广州发现该病,1982年周蛟等在北京郊区鸡群中发现该病并分离到病原,之后全国各省、市都有陆续发生该病并分离到病毒的报道(甘孟侯等,2000),成为我国养禽业

的一大灾害,造成巨大的经济损失。由于广大禽病工作者研究和采取了积极的防制措施,使本病的疫情得到初步控制并使疫情处于稳定状态。但随着养禽业的大发展和大小型养鸡场的建立,同时由于引种工作的紊乱,多渠道大量引进种鸡和种蛋,未经严格检疫、消毒和隔离饲养,再加上养鸡场不能根据雏鸡母源抗体的消长情况适时选用疫苗接种,导致本病又出现广泛流行。此外,自 1990 年以来,各地大量超强毒株(李德山等,1991;刘爵等,2000;王文科等,1994;Cao et al,1998)的发现和分离鉴定,使得我国成为鸡传染性囊病研究的热点地区,欧盟和中国专门设立了 IBDV(传染性法氏囊病毒)合作研究项目。近几年,IBD 的研究取得了重要的进展。

第二章 病原体

本病的病原体为传染性法氏囊病毒(Infectious bursal disease virus, IBDV),属于双股 RNA 病毒科(Birna viridae)病毒,无囊膜,为 20 面体对称,有单层衣壳,粒子直径为 55 ~ 60 纳米,除完整病毒粒子外,还常见有空衣壳。在感染细胞内,病毒常呈晶格状排列(图 2-1)。以往曾将其归于呼肠孤病毒科,并曾作为分类地位未定的病毒。1973 年当人们认识到该科成员

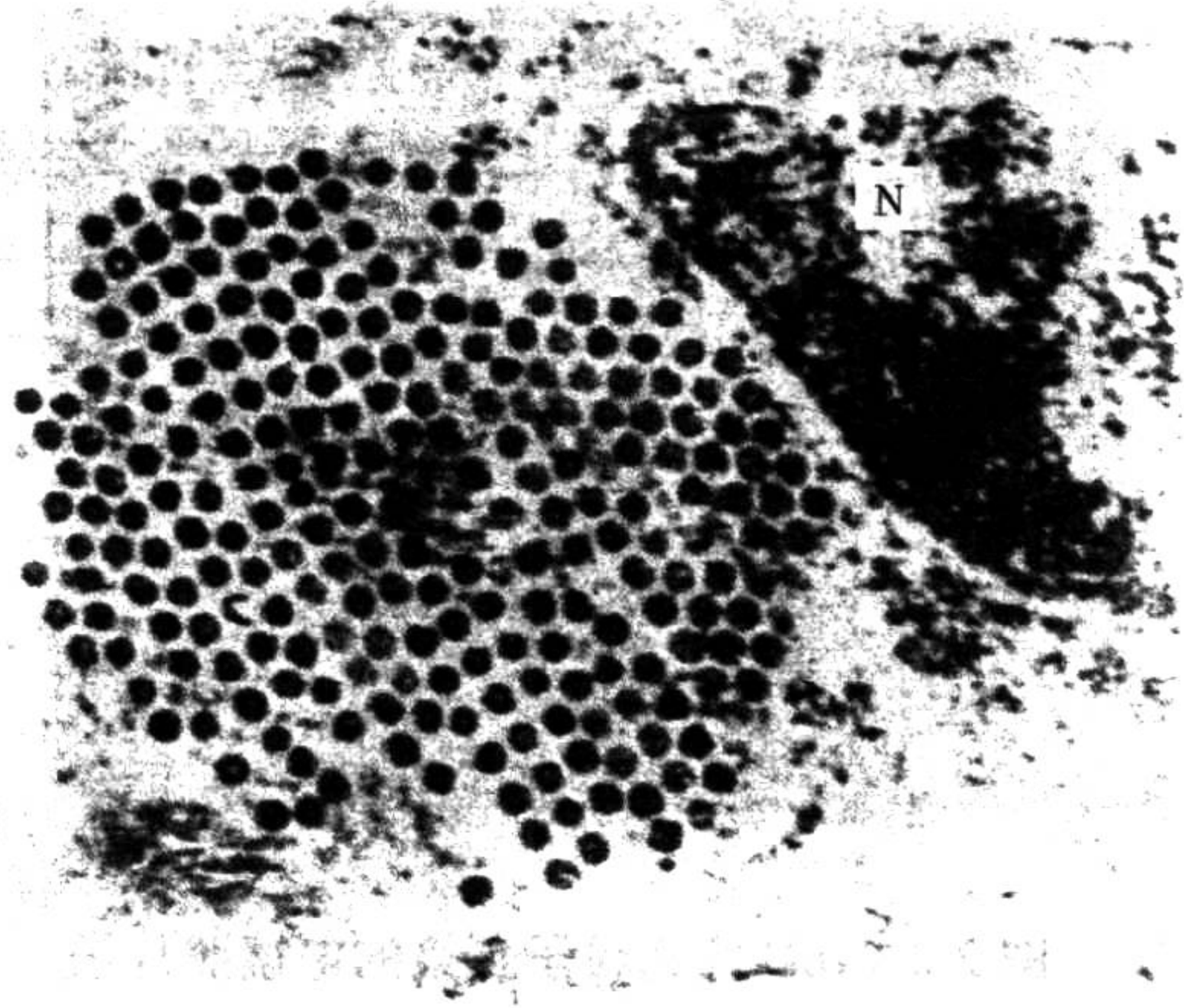


图 2-1 传染性法氏囊病毒——结晶状排列,N 为细胞核

中的传染性胰坏死病毒和传染性法氏囊病毒在形态上很相似,尤其是它们的基因组都有双股双节段 RNA 后,建议设立一个新科。1984 年正式命名为双 RNA 病毒科。在 1995 年国际病毒分类委员会(ICTV)的第六次报告中,将双 RNA 病毒科分设 3 个属,传染性法氏囊病毒为禽双 RNA 病毒的代表种。

该病毒以无特征性的双层衣壳而区别于呼肠孤病毒。

一、形态

本病毒是单层衣壳、无囊膜的病毒粒子,呈 20 面体立体对称,直径 55 ~ 65 纳米(图 2-2),衣壳对称呈斜状。除完整的病毒粒子外,还常见有空衣壳,在感染细胞内病毒常见晶格状排列(图 2-1)。

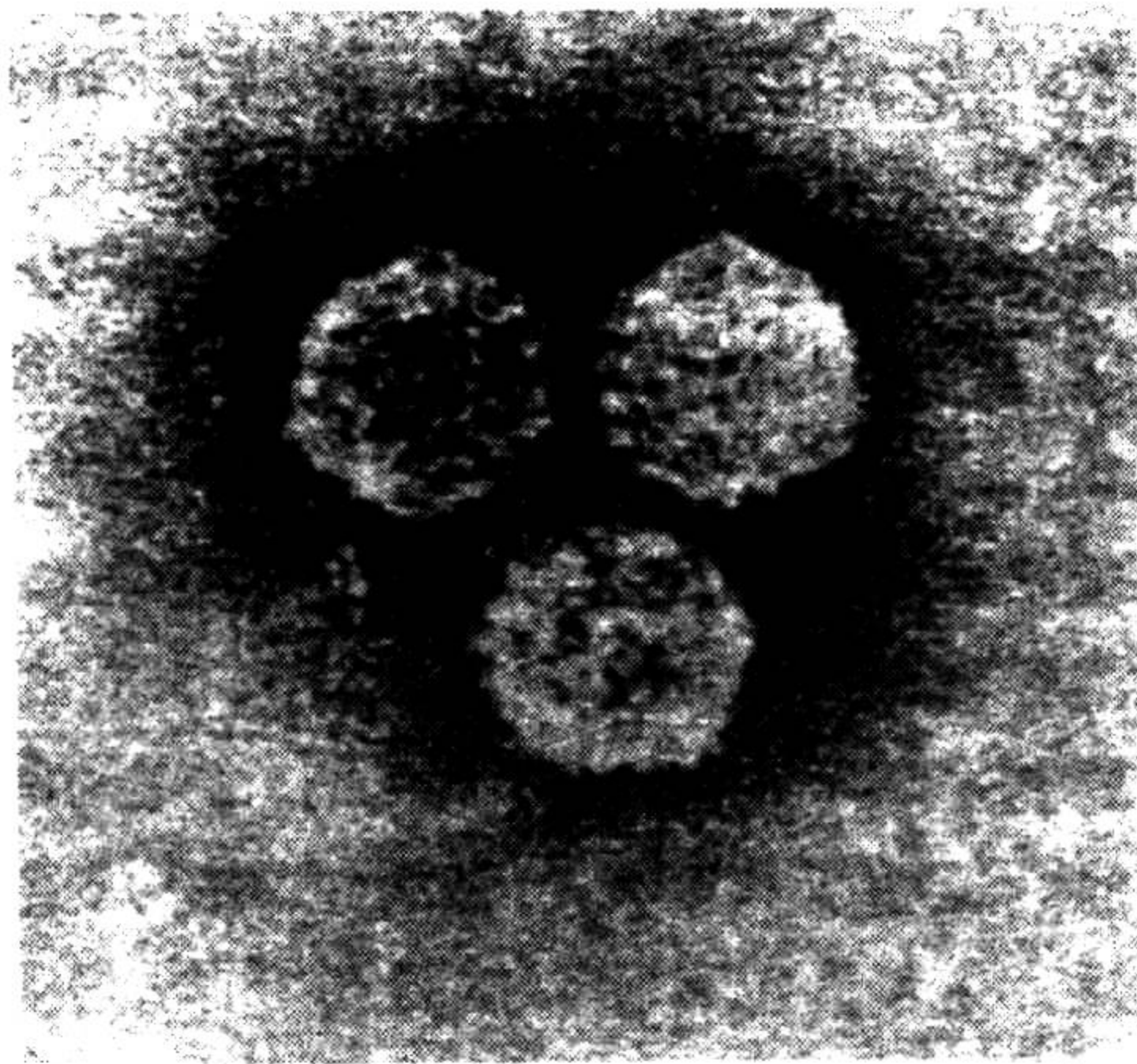


图 2-2 IBD 病毒粒子负染的电镜照片

二、化学组成

IBDV 血清 I 型病毒有 4 种结构多肽,即 VP_1 , VP_2 , VP_3 , VP_4 (Dobos, 1979), 其分子量分别为 90KD, 41KD, 32KD 和 28KD,其中 VP_2 和 VP_3 是病毒的主要结构蛋白,在血清 I 型病毒中分别占 51%和 40%;而 VP_1 和 VP_4 分别占 3%和 6%,是病毒的次要蛋白。除此之外,还有附加蛋白质 VP_x ,被认为

是 VP₂ 的前体,它是不具感染性的缺陷抗原的主要多肽。Jackwood (1985)等报道了两个血清 II 型病毒株有 VP_x 而没有 VP₂,应用琼扩、荧光抗体和 ELISA 试验发现,IBDV 带有共同的群抗原。而 VP₂ 和 VP₃ 两种多肽都含有决定群抗原的抗原决定簇。只有 VP₂ 具有型特异的抗原,经常发生变异的部位主要在 VP₂ 的超变区。VP₂ 是由 490 个氨基酸和 1 个超变区组成。经典株与变异株之间的差异性就在于这个超变区上的氨基酸序列。该区域的变化构成了抗原漂移的主要原因。

已知 I 型病毒至少有 6 个亚型,进行中和试验时,亚型之间只有一定程度的交叉,可以通过交叉中和试验进行鉴定。近年来在接种标准株疫苗而免疫失败的鸡群中分离到了 IBDV 超强毒(vv IBDV)和变异株(Variant),鉴定出的强毒分离物可引起与炎症或水肿无关的法氏囊损害,这些抗原性和病原性变异毒株的扩散蔓延,使得 IBD 的防制复杂化。

三、培 养

鸡胚接种是培养传染性法氏囊病毒最好的手段,应选用无母源抗体的鸡胚进行病毒分离。5~7 日龄鸡胚做卵黄囊接种,9~11 日龄鸡胚则做绒毛尿囊膜或尿囊腔接种。实践证明,绒毛尿囊膜接种途径最为敏感。将含毒材料接种于绒毛尿囊膜,鸡胚通常在感染后 4~6 天死亡,感染鸡胚发育阻滞、水肿和出血,肾出血、充血,肝脏可能发生斑点状坏死和出血斑。绒毛尿囊膜一般没有明显损害。在病毒的早期传代中,鸡胚液中病毒含量非常低,而鸡胚(包括内脏)和绒毛尿囊膜中有大量病毒。在接种后 4~5 天,一般每克组织中含毒量可达 $10^4 \sim 10^5$ EID₅₀,而尿囊液中含量很低。经尿囊腔、卵黄囊和绒毛尿囊膜 3 种接种途径对含毒量的比较发现,经尿囊腔

接种的途径其病毒复制量最低,所产生的病毒滴度比绒毛尿囊膜途径要低 1.5~2 个数量级的鸡胚半数感染量(EID_{50}),卵黄囊途径介于两者之间。

通过绒毛尿囊膜(CAM)接种鸡胚,很容易分离和培养 IBDV 变异株,但通常不会致死鸡胚。由 IBDV 变异株引起的鸡胚病变与标准株有差异,通常表现为肝脏坏死和脾脏肿大,在用新分离毒株接种时,鸡胚液中含毒量很少,当在鸡胚中多次传代后,鸡胚液中的含毒量增多,但病毒同时逐渐降低对鸡的毒力。

尽管鸡胚接种是分离 IBDV 最好的方法,但 IBDV 也可适应在鸡胚成纤维细胞(CEF)上增殖,在鸡胚上适应的 IBDV 可在鸡胚成纤维细胞上增殖,并产生细胞病变。可利用蚀斑测定或微量滴定技术进行细胞培养物适应毒的定量分析,比鸡胚接种法更敏感。IBDV 也能在鸡胚法氏囊细胞、肾细胞中增殖,产生细胞病变和形成蚀斑。对 IBDV 敏感的非鸡源性细胞包括火鸡胚细胞、鸭胚细胞、兔肾细胞(PK-13)、猴肾细胞(Vero)和幼素领猴肾细胞(BGM-70)等。Jackwood 等(1987)比较了 3 个哺乳动物细胞系 MA-104、Vero 和 BGM-70 对于 IBDV 血清 I 型和 II 型及血清 I 型变异株的几个毒株的生长情况,病毒在 3 个细胞系内均能生长。BGM-70 细胞的病变最明显。BGM-70 细胞培养的中和滴度可与鸡胚成纤维细胞相比。

四、抗原性

IBDV 有 2 个血清型,即 I 型和 II 型。Jackwood 等(1987)应用交叉保护试验研究表明,I 型和 II 型病毒在抗原性上是不同的,但用荧光抗体法无法区分,说明两者有相关抗原。从鸡分离到的病毒及疫苗毒株为血清 I 型,从火鸡分离到的为

血清Ⅱ型。据报道,Ⅰ型IBDV对火鸡无致病性,而对鸡有致病力;Ⅱ型病毒对鸡和火鸡不致病或只有很弱的致病力。两个血清型病毒抗原的相关性小于10%。因此,交叉保护力很低,体内有血清Ⅱ型病毒的抗体仍然可以受到血清Ⅰ型病毒的感染。由于血清Ⅱ型病毒没有毒力,所以不能证明血清Ⅰ型的免疫是否能保护血清Ⅱ型的病毒的攻击。第一株血清Ⅱ型的分离物来源于火鸡,当时认为这个型是宿主特异性的。但是后来的研究表明,从鸡中也能分离到血清Ⅱ型的病毒,在火鸡和鸡中,血清Ⅱ型IBDV的抗体是普遍存在的。

以往普遍认为在血清Ⅰ型间无抗原性差异。1984年,在美国马里兰州的7日龄仔鸡中分离到称为Md株的血清Ⅰ型分离物,虽然仔鸡有高滴度的抗IBDV抗体,但法氏囊病变明显,病毒中和试验表明Md株与某些疫苗毒株和野毒株不同。Rosenberger等(1985)分离到的4株血清Ⅰ型IBDV的抗原性与标准株不同,Mc Ferran等(1980),Saif等(1987)的研究表明,几个野毒株与Bursa-Vac-M疫苗毒株仅有30%的相关性。Jackwood等(1987)的研究表明,血清Ⅰ型各毒株间存在明显的抗原性差别,经交叉中和试验与统计分析后将IBDVⅠ型分为6个亚型,每个亚型可认为是一组毒株,可用血清学方法或用交叉保护试验与同一血清型的其他毒株相区别。Rosenberger(1987)报道过血清Ⅰ型的变异株,当时使用疫苗毒株经常不能保护变异株的攻击,这些变异株在抗原上与标准Ⅰ型分离物有差别。Jackwood和Saif应用中和试验对8个血清Ⅰ型的商品疫苗株、5个血清Ⅰ型的野毒株、2个血清Ⅱ型野毒株进行了鉴别,曾辨别出13个血清Ⅰ型毒株中的6个亚型,其中1个亚型包括了变异株的所有亚型。

五、变 异 性

IBDV 的变异包括抗原型的变异和毒力的变异。IBDV 属双股 RNA 病毒科,其基因由双股双节段 RNA 构成,它的肽链容易裂解并重新组装成新的基因组,因而决定了这种病毒容易发生变异。这种现象,早在 1980 年国外就已发现在血清 I 型病毒内部有的毒株和疫苗株只有 30% 交叉反应。现已查明,IBDV 的 4 种结构蛋白中,能诱发中和抗体的抗原决定簇位于 VP₂ 上。VP₂ 是由 490 个氨基酸和 1 个超变区组成,经典株与变异株之间的差异性就在于这个超变区上的氨基酸序列。位于超变区上的氨基酸可以避免不同株抗体的中和作用。因此,变异株对经典株疫苗诱导产生的中和抗体具有耐受力。这就是说,用经典株血清 I 型弱毒苗免疫的鸡,不能抵抗变异株病毒的攻击。美国在 1984 年、1985 年相继发现有与 I 型和 II 型明显不同的毒株。1987 年 Jackwood 对 7 个血清 I 型商品苗毒株和 5 个血清 I 型野毒株用交叉中和试验,以 Kapikian 病毒血清型分类标准检测它们的抗原相关性,发现这 12 株分属血清 I 型中的 6 个亚型。血清亚型毒对鸡表现为急性临床感染,发病率高,死亡率也高,法氏囊前期肿大,但很快萎缩。如美国的 E 株,感染第八天法氏囊为原体积的 1/3。河南郑州野毒感染鸡,第三天囊指数为 1.7,第八天则为 0.58。而早期 I 型毒感染第三天囊指数为 3.9,是原来郑毒的 1.7 的 2.2 倍。我国广州动植物检疫所报道(1990),从广东地区肉鸡群中分离到 6 个毒株,用交叉中和试验证实,它们分属 6 个不同亚型。随后南京农业大学从 6 个省分离到 13 株,证实分属 4 个血清亚型。另外 3 株血清 I 型弱毒(Lukert, B-2, Tad)和 1 株标准强毒又分属 4 个血清亚型,说明流行于