

文献综述

鸡传染性法氏囊病研究进展

王成明 陆承平*

(南京农业大学兽医学系, 江苏 210014)

S858-315-3

鸡传染性法氏囊病(又名腔上囊炎)是鸡的主要传染病之一,其病原为鸡传染性腔上囊病毒(IBDV)。本病于1957年在美国特拉华州甘博罗地区(Gumboro)的肉鸡群中首次发现,因此又名甘博罗病。目前,在世界30多个国家均有流行。我国自1982年周蛟等报道在北京地区发病并分离到病原以来,已有上海等省市相继报道。近年来,流行有扩大的趋势,造成了巨大的经济损失,成为禽病研究的一个重点。本文将就IBDV的分类、血清型及亚型、毒力变异、疫苗应用及基因水平的研究进展作一扼要介绍。

一、分类地位

IBDV粒子呈六角形,无囊膜,直径大约55至60nm,在氯化铯中浮密度是1.32—1.33g/ml。本病毒的分类地位几经变化,曾将其划属小核糖核酸病毒科(Cho, 1969; Lunger, 1972),腺病毒科(Almeida, morria, 1973),呼肠孤病毒科(Carhorougham, 1968)。作IUDR(5-碘-2'-脱氧尿嘧啶核苷)抑制试验和吡啶橙染色证明,IBDV为双股RNA病毒。muller等(1979)进而证明,IBDV的核酸为双节段,与核酸为8—10个节段的呼肠孤病毒不同,即IBDV基因组为双股双节段RNA。据此,Dobos等^①提出将IBDV和类似的其它病毒如鱼的传染性胰坏死病毒(IPNV)、果蝇X病毒等共同成立一个新科,并命名为双RNA病毒科(Birnaviridae),获国际病毒分类委员会的认可^②。

二、病毒的血清型

直到70年代末,还只发现IBDV为一种血清型,此后McFerran等^③对从鸡、火鸡和鸭体分离的IBDV的研究表明,此病毒至少有两个血清型,认为细胞适应疫苗株G13属于血清I型,从北爱尔兰火鸡分离的TY89毒株是血清II型,Jackwood等^④在美国得到了同样的结果。IBDV I型又称鸡型,II型又称火鸡型,后者为亚临床感染。聚丙烯酰胺凝胶电泳表明^⑤,I型的SAL株的RNA小片段比II型的MO株和OH株的相应片段迁移率大,但SAL株的RNA大片段的迁移率与MO株的相应片段相似,而比OH株的相应片段小,同时发现属于I型的NC、SAL、D78、BVM、UV、株的RNA片段迁移率没有差异。此外,Kibenge等(1988)发现II型的MO株和OH株病毒多肽VPZ分子量均高于I型的SAL株的VPZ,而Dobos(1979)和Jackwood(1989)发现I型IBDV有一种比VPZ分子量大的蛋白,称之为VPX,认为这可能是VPZ的前体,而II型IBDV没有VPZ。对于VPZ的说法不同,可能是由于不同实验室实验方法的差异所致。总之,I型与II型的RNA两个节段的分子量存在着差异,主要的病毒蛋白VPZ也有所不同。

三、血清的亚型的区分

IBDV的I型和II型不能用琼脂扩散试验(A-

GP)、ELISA和荧光抗体试验区别,这表明两型有共同的型特异性抗原,分型的主要方法是病毒中和试验(VN)。Jackwood等^⑥对IBDV血清I型的8个商品疫苗株、5个野毒株和2个血清II型毒株作交叉中和试验,病毒是在鸡胚成纤维细胞(CEF)或绿猴细胞BGM—70中增殖,高免血清是用豚鼠或兔制备。抗原相关性的判定标准是:如一株病毒的20个单位抗体的血清不能中和另一株病毒的100个TCID₅₀(半数组织感染量),则两株病毒属于不同血清型,中和同一血清型病毒的100个TCID₅₀的病毒最低浓度定为1个抗体单位,抗原相关性的计算公式是:

$$R = \sqrt{\frac{\text{I株病毒和II株血清的反应滴度} \times \text{II株病毒和I株血清的反应滴度}}{\text{I株病毒和I株血清的反应滴度} \times \text{II株病毒和II株血清的反应滴度}}}$$

同源病毒的R值定为1, R>0.8,为同一亚型。结果发现,15株病毒中,MO、OH株属于血清II型,其它属于I型的13株病毒可分为6个亚型。Rosales(1989)和Ismail(1990)的研究也证明IBDV I型存在着差异。

李树根、毕英佐等^⑦将广东地区1BD免疫鸡群的病鸡腔上囊处理后,接种10日龄SPF鸡胚,回归24日龄IBD非免疫鸡和28日龄获得免疫鸡,并进行交叉中和试验。结果表明,分离的6株均属于I型,但与D78、TAD、BV、Lukeet、和CJ等弱毒疫苗株的抗原性不同,属于不同亚型。

朱爱国等^⑧从江苏、广东、山东、浙江、内蒙5省、自治区分离到11株IBDV,并适应CEF,产生明显的细胞病变。对这11株病毒和另外6株疫苗毒及参考毒进行抗原相关性研究,结果表明,17株IBDV均属I型,其中3个商品疫苗株分属于3个亚型,14个分离株及另外的疫苗株分属于5个亚型,总共分为8个血清亚型。17株的R值为0.13至1.19,但RNA片段迁移率没有发现差异。

四、疫苗应用

IBD疫苗可分为两大类,其中一类毒力较强,适用于含有中等或较高水平母源抗体的鸡群,但是对低母源抗体或无母源抗体的雏鸡有毒力;另一类疫苗毒力弱,安全性好,但产生抗体能力差,对带有母源抗体的雏鸡不能产生免疫力。目前所使用的活疫苗种类很多,大体可以分为三类即:高毒型,如初代的2512毒株,J—1毒株;中毒型:德国的鸡胚制造的Culm、BJ836、Lukert细胞弱疫苗,IBD-B₂苗;低毒型:D78、PBG98、LKT、LZD228。许多学者认为,IBD的免疫效果除了与抗原性及毒株的毒力差异有关外,还与疫苗的免疫原性,尤其是雏鸡的母源抗体滴度有关。Wyeth等(1990)认为,带有母源抗体的一日龄雏鸡口服油乳剂灭活苗,7周龄仍有90%的保护率,如与

* 校对者

鸡传染性法氏囊病毒生物学与分子结构

张显升 谢庆阁* 但秉成*

(中国农业科学院中兽医研究所, 兰州 730050)

S858.315.3

鸡传染性法氏囊病 (IBD) 又称甘博罗病, 首先由 Cosgrove (1962) 在美国特拉华州的甘博罗地区发现, 并对此病做了详细的描述^①。据报道这种疾病几乎遍及世界上所有的国家^②。

IBD 是雏鸡的一种高度接触性传染病^③, 能引起雏鸡的免疫抑制, 破坏腔上囊中 B 淋巴细胞的形成, 以腔上囊肿大、肾脏损害为特征。IBDV 对消毒剂有很强的抵抗力。患病鸡对埃希氏大肠杆菌、腺病毒、沙门氏杆菌、鸡球虫等更易感, 死亡率增加, 而且对马立克疫苗、新城疫疫苗等接种的反应能力降低。发病率通常为 100%, 死亡率为 5—35%。

本文就 IBDV 的生物学特性及分子结构作一综述。

一、鸡传染性法氏囊病毒生物学特性

IBD 活疫苗配合使用, 并无更佳效果。Giambrano 等 (1990) 测定 3 种活疫苗对 3 株不同亚型的 IBDV 的保护率, 发现每种疫苗对不同亚型的毒株的保护率有明显差异, 没有一种疫苗能对 3 个亚型的毒株提供 80% 以上的保护率。李树根、毕英佐等^④的研究表明 5 种常用的 IBD 活疫苗 (TAD、D78、BV、Lwkeet、CJ) 对 6 株血清亚型的疫苗的最高平均保护系数不超过 78%, 最低平均保护系数只有 51%。

Box 等^⑤用法氏囊源和鸡胚源灭活苗免疫火鸡后, 用 AGP、中和试验 (VNT) 和 ELISA 测定其产生的抗体, 发现法氏囊源疫苗的免疫效果明显优于鸡胚源灭活苗, 法氏囊源免疫的火鸡后代的被动免疫保护期比鸡胚源疫苗长 9 天。

和许多病毒一样, IBD 高免血清和高免卵黄抗体有一定的预防和治疗作用。Sonsini (1989) 报道, IBDV 发病鸡隔天服用左旋咪唑能明显提高其增长率。

五、毒力变异

近年来 IBD 的流行出现了一些新的特点, 如发病日龄偏大, 季节性不明显, 全年均有发生, 除群养鸡外, 散养鸡也有发病, 更重要的是在部分地区出现强毒株。近几年来, 在我国及英国、土耳其、南非等国都发现了以高发病率和死亡率为特征的强毒株。1988 年英国某鸡场的 35—40 日龄肉鸡群暴发 IBD, 死亡率高达 30%, 在一些后备母鸡中高达 70%; 甚至在 18 周龄以上的后备母鸡死亡率也高达 70%。

六、基因方面的研究

1989 年 Spies 等^⑥译解了 IBDV 核酸基因的较大的 A 片段序列, 主要包含两个开放阅读框架 (ORF), 即从第 96 到 3132 个核苷酸的大 ORF 和第 62 到 497 个核苷酸的小 ORF。1990 年, Kiberge^⑦测定了 IBDV 核苷酸序列, 并同 IPNV 核酸结构进行了比较, 研究证实 A 片段包含两个部分重叠的 ORF, 不同毒株的序列非常相近, 而和 IPNV 的 VP2、VP3、VP4 序列的同源系数为 40%、37%、21%。

IBDV 属于双股 RNA 病毒^⑧。此类病毒还有: 鱼传染性胰腺坏死性病毒 (Infectious Pancreatic Virus of Fish, IPNV), 樱蛤病毒 (Tellina Virus, TV), 牡蛎病毒 (Oyster Virus, OV), 果蝇 X 病毒 (Drosophila X Virus, DXV)^⑨。此类病毒的基因组均由 2 个片段的双股 RNA 组成, 称为 A 片段 (大片段), B 片段 (小片段)。分子量在 2.6×10^6 — 2.2×10^6 之间。病毒无囊膜、二十面体对称、衣壳由 32 个直径为 12nm 的壳粒组成, 电镜观察病毒粒子的直径为 58—60nm。

IBDV—RNA, 在硫酸铯梯度中的浮密度为 1.62g/ml, 可以抵抗胰液 RNase 的处理。在氯

* 审校者

Jackwood (1990) 和 Davis 等 (1990) 研制了核酸探针, 他们以 IBDV 双股 RNA 基因组的两个片段为模板制备了放射性同位素和生物素标记的 cDNA 探针, PAGE 电泳测定其大小约 200—1500 个核苷酸, 经测定探针具有很高的敏感性和特异性。

Spies 等^⑩证实了 IBDV 内的一种多功能酶 P90 存在, P90 至少具有 3 种酶的活性, 即 RNA 依赖的 RNA 聚合酶、鸟苷转移酶、甲基转移酶活性。

综上所述, 近年来对 IBDV 的研究取得了重要进展, 尤其是对其分类地位、毒株抗原性差异及毒力变异的新认识彻底修正了过去的模糊概念, 为 IBD 的防制提供了可靠的依据, 核酸蛋白结构分析, 核苷酸序列测定, 核酸探针制备等方面研究的深入, 对 IBDV 的认识更上一层楼, 提高到分子水平。

主要参考文献

- ① Box, P. et al., Proceedings of the Western Poultry Disease Conference, 1988, 37, 21—24
- ② Brown, F. Intervirology, 1986, 25, 141—143
- ③ Davis, V. S. Avian Diseases, 1990, 6, 385—389
- ④ Dobos, P. et al., J. Virol., 1979, 32 (2), 593—605
- ⑤ Jackwood, D. H. et al., Avian Diseases, 1987, 31, 766—770
- ⑥ Jackwood, D. J. et al., Avian Diseases, 1985, 29 (4), 1184—1194
- ⑦ Kiberge, F. SB. et al., Journal of Gen. virol., 1990, 71 (3), 569—577
- ⑧ McFerran, J. B. et al., Avian pathol., 1980, 9, 395—430
- ⑨ Spies, V. et al., Nucleic Acids Research, 1989, 17 (19)
- ⑩ Spies, V. et al., Journal of Gen. virol., 1990, 71, 977—981
- ⑪ 朱爱国. 南京农业大学硕士研究生论文, 1991