

鸡传染性鼻炎研究进展*

孙惠玲 张培君 陈小玲 苗得园 龚玉梅 陈 葵
(北京市农林科学院畜牧兽医研究所 北京 100097)

摘 要 鸡传染性鼻炎是由副鸡禽杆菌引起的一种鸡急性上呼吸道感染病。本文从鸡传染性鼻炎的病原学、诊断和防治三个方面进行了综述,介绍了国内副鸡禽杆菌新出现的血清型以及给疾病的预防和控制带来的影响,并对鸡传染性鼻炎诊断和疫苗的使用提出建议。

关键词 鸡传染性鼻炎 副鸡嗜血杆菌 诊断 防治

鸡传染性鼻炎是由副鸡禽杆菌(*Avibacterium paragallinarum*)引起的一种鸡急性上呼吸道感染病。1932年 De Blicke 初次分离到了该病的病原体,最初命名为鸡嗜血红蛋白鼻炎芽孢杆菌,在后来很长一段时间内称之为副鸡嗜血杆菌,Blackall^[1]于2005年将之重新命名为副鸡禽杆菌。

目前鸡传染性鼻炎在世界许多地方都有发生和流行。该病单独发生时,可引起蛋鸡产蛋量下降,育成鸡生长发育受阻和淘汰率增加,死亡率一般不高,摩洛哥的调查结果0.7%~10%,而在泰国该病是2月龄以下和6月龄以上鸡只的通常死因,在印度,该病是死亡率略低于沙门菌感染的第二大细菌性疾病^[2]。国内也有个别死亡率高达40%的报道,但与鸡毒支原体病、鸡痘、传染性支气管炎、传染性喉气管炎并发时,会使症状加重、病程延长和死亡率增加,肉鸡发生该病时会引起严重的肉质下降,死淘率增加,对肉鸡的感染在南非和美国的部分地区较为严重,造成很大的经济损失。

1 病原学

副鸡禽杆菌是细小的革兰氏阴性杆菌,细菌长约1~3 μm,宽0.4~0.8 μm,无鞭毛,不形成芽孢,毒力菌株往往具有荚膜。在临床病料及固体培养基上的细菌菌体形态较规则,呈明显的小杆状,而在液体培养基或老龄培养物中,本菌会发生形态上的变异。

副鸡禽杆菌对营养的要求较为苛刻,在普通培养基上不生长,大部分分离株需要在培养基中添加还原型NAD(NADH),但对南非发现的许多NAD非依赖性菌株来说,NAD并不是其必需的营养成分^[3,4]。同样,对部分菌株而言,鸡血清对其生长有促进作用,但并非必需,试验结果表明,牛血清在某种程度上可以代替鸡血清。该菌兼性厌氧,但在固体培养基上接种时需要厌氧环境或3%~10%的CO₂。在固体培养基上生长16~24 h后,可形成针尖大小(直径0.3 mm左右)圆形,灰白色半透明、凸起的菌落,毒力菌株菌落在45°斜射光下会产生蓝灰色的荧光,但培养基上体外传代时,荧光会逐渐减弱或消失,并且菌落会逐渐变大。在巧克力琼脂平板上与饲养菌(生长过程中可释放V因子的其它细菌,如葡萄球菌)交叉划线,除NAD非依赖性菌株外,都会出现卫星现象。

副鸡禽杆菌的两个血清分型方案(Page和Kume)都是基于血凝抑制试验建立起来的。目前有关该菌血清分型的方法中,至今仍以1962年Page建立的方法应用最广,Page将副鸡禽杆菌分为A、B、C 3种血清型。Kume根据血凝抑制试验(HI)将副鸡禽杆菌分为3个血清群7个血清型,血清群各有3个血清型,群有1个型,其中血凝抑制试验所用抗原是处理过的。其、、群相当于Page A型、C型和B型。

我国首先由冯文达^[5]于1987年在北京分离到引起鸡传染性鼻炎的致病菌,经鉴定为A型副鸡

收稿日期 2012-06-21

* 基金项目 国家自然科学基金(30871867)

禽杆菌。1995年林毅^[6]报道在一个发病鸡场分离到A、C型。2003年和2005年,国内陆续有B型副鸡禽杆菌的报道^[7,8]。近几年来,从国内分离到的多数为B型副鸡禽杆菌(未报道)。

2 诊断

目前,副鸡禽杆菌的检测有方法细菌分离鉴定、PCR技术,检测副鸡禽杆菌特异性抗体的有血清平板凝集试验、血凝抑制试验、间接酶联免疫吸附试验、阻断酶联免疫吸附试验等方法。根据这些检测的结果可对鸡传染性鼻炎做出准确的诊断。

根据鸡传染性鼻炎的临床症状和发病特点即可做出初步诊断,临床症状包括面部浮肿、流鼻涕、有的鸡只流眼泪。但临床上有一些其它病原微生物可以引起与该病类似的症状,如鸡毒支原体病、慢性禽霍乱、禽流感、鼻气管炎、杆菌感染等。此外,由于发病鸡日龄及易感性的不同、感染菌株毒力的差异、与其它病原菌的混合感染等因素,使该病在临床上的表现更为复杂。因此,进一步的实验室检查确诊往往是十分必要的。

除了病原的分离鉴定,国内有PCR和ELISA检测方法的研究报道。PCR方法可以检测所有副鸡禽杆菌菌株(无论NAD依赖与否)结果均产生0.5 kb的特异性片段。该方法特异性好、敏感性高,在检测副鸡禽杆菌的DNA样品时,最小检测量可达到10~12 g,对单个菌落样品的检测敏感性可达到10⁴倍稀释^[9]。此外,PCR方法在检测临床病料时也具有其它方法无法比拟的优势,对临床采集的棉拭子样品的检测特异性好,通常细菌的分离鉴定对采集样品的时间要求较为严格,而PCR对棉拭子样品的检测由于无需活性菌落,要求相对要低一些。试验结果表明,PCR对可疑病料的检出率是细菌分离鉴定的2~3倍。PCR对棉拭子样品检测的敏感性也很高,棉拭子样品稀释10³倍时,仍能检测出。PCR在鸡传染性鼻炎的诊断中发挥了极大的作用,此方法在国际上被广泛采用,被认为是鸡传染性鼻炎诊断的金标准。PCR方法唯一的缺点是不能区分血清型。目前有利利用多重PCR进行血清分型的报道,但由于该实验室能收集到的菌株有限,只验证了5株A型、2株B型和3株C型副鸡禽杆菌^[10],该方法的可靠

性和在血清分型中的价值还有待于进一步验证。

在血清学方法中,除常规的血清平板凝集试验、琼脂双向扩散试验和血凝抑制试验,还建立了间接ELISA和A、C型副鸡禽杆菌特异性单抗的阻断ELISA。间接ELISA的特异性达到100%,敏感性也比HI试验高。适用于临床血清样品鸡传染性鼻炎抗体的检测^[11]。阻断ELISA的敏感性和特异性均较高,而且此方法建立在A、C型副鸡禽杆菌特异性单抗的基础上,可以达到对临床血清样品的分型^[12]。此外,还建立了检查血清抗体和A、C型副鸡禽杆菌特异性抗原的两种Dot-ELISA方法,检测血清抗体的Dot-ELISA对人工感染及临床病鸡的检出率为80%^[13]。在型特异性单抗基础上建立的检测型特异性抗原的Dot-ELISA可用于检测分离菌的血清型^[14]。国内有鸡传染性鼻炎阻断ELISA试剂盒的报道,研究表明试剂盒的特异性和敏感性均较好,批次间的差异率在10%以内,4℃可保存10个月以上^[15]。

有可疑病例时,应立即采集病料进行细菌的分离鉴定和PCR检测,如果投药治疗后则不易采用细菌分离鉴定,但短期内采集的病料可以用PCR方法检测,病料应采用低温储存和运输,以免造成病原菌的死亡和崩解而造成漏检;尽可能采用多个诊断方法结合以做出准确诊断,因目前规模化鸡场普遍使用鸡传染性鼻炎疫苗进行免疫,因此,血清学检测如果没有发病前后的对比,则只能作为一个辅助的诊断方法来使用。另外,因国内近几年来分离到的多数为B型副鸡禽杆菌,原有的建立在A、C型副鸡禽杆菌特异性单抗基础上的分型方法需要进一步完善。

3 防治

副鸡禽杆菌对多种抗生素敏感,但因菌株的不同对抗生素的敏感性也有差异。因此,临床上应选择敏感的抗生素2~3种联合应用,以增加治疗效果。但是由于在临床上,尤其是规模化大型鸡场暴发此病后,整个鸡群的发病时间前后不一,药物应用时细菌可产生抗药性,并且在停止使用时本病可能会复发,使治疗效果受到了一定的限制。因此,本病的防治还应以预防为主,采取综合性的生物安全措施,对减少本病的发生和损失都有重要意义。

鸡传染性鼻炎是一种呼吸道传染病,目前主要靠灭活疫苗来控制。灭活疫苗的免疫效果可能与所激发的黏膜抗体高度相关。由于环境和评价方法的不尽一致,鸡传染性鼻炎灭活疫苗对野外鸡群的免疫效力可能会得出略有差异的结果,但是灭活苗对鸡传染性鼻炎的防治效果可以肯定。

研究结果证明 A、B、C 三型均具有不同程度的致病力,三者的灭活菌体不存在型间交叉免疫,但是存在型内交叉免疫。目前国际上普遍使用的灭活的副鸡禽杆菌疫苗绝大多数都包含了 Page 血清型 A 和 C。这是因为一直以来认为 Page 血清型 B 不是一个真正的血清型,并且有学者认为 A 和 C 型疫苗可以提供对 B 型的交叉保护。然而,最近的研究表明 Page 血清型 B 是一个真正的血清型。国内外陆续分离到一些 Page 血清型 B 的菌株,我国也分别在大连和北京分离到了致病性的 Page 血清 B 型菌株^[7,8]。在国际上影响较大的几个疫苗公司开始提供包含 A、B、C 3 种血清型的三价疫苗。

目前用于预防鸡传染性鼻炎的疫苗均为灭活苗,尚未有成功的弱毒疫苗或其它种类的活疫苗投入使用,被列入 2010 中国兽药典《兽药使用指南》中经农业部批准注册的国内制品有 3 种,分别是:鸡传染性鼻炎 A 型油乳剂灭活疫苗,鸡传染性鼻炎(A 型+C 型)、新城疫二联油乳剂灭活疫苗;鸡毒支原体病、鸡传染性鼻炎(A 型+C 型)二联油乳剂灭活疫苗。进口制品包括德国罗曼动物保健有限公司的二价(A 型+C 型)铝胶灭活疫苗,印度尼西亚美迪安有限公司的三价(A 型+B 型+C 型)铝胶灭活疫苗;英特威国际有限公司的三价(A 型+B 型+C 型)油乳剂灭活疫苗。还有一类是进口产品但由国内生产的二价(A 型+C 型)铝胶灭活疫苗^[16]。当然,今后还会有更多的鸡传染性鼻炎疫苗问世,国内就有三价(A 型+B 型+C 型)油乳剂灭活疫苗研制的报道,其中制苗用的 A 型和 B 型菌株均采用了国内分离株^[17]。

在使用疫苗的过程中,出现一个新的问题,即疫苗中应用的菌株问题。研究曾发现,即使使用的疫苗包含了流行血清型的灭活菌株,但是仍然存在免疫后感染的现象,在进一步的研究中,分离到了该型的变异株^[18]。津巴布韦^[19]和南非^[20]的研

究中也发现了这个问题。这样就使副鸡禽杆菌灭活疫苗的使用陷入一个更为复杂的局面,即对着各地流行的菌株,疫苗公司需要研制出包含该菌株的菌苗。因此,在选择和使用疫苗时,最好对本地区流行的菌株进行鉴定以确定血清型和菌株特性,从而选择相应血清型的疫苗;由于副鸡嗜血杆菌抗原多样性和变异株的出现,疫苗菌株最好选用抗原性良好的与本地分离株最为接近的菌株。

参考文献:

- 1 Blackall P J, Christensen H, Beckenham T *et al.* Reclassification of *Pasteurella gallinarum* [Haemophilus] paragallinarum, *Pasteurella avium* and *Pasteurella volantium* as *Avibacterium gallinarum* gen. nov., comb. nov., *Avibacterium paragallinarum* comb. nov., *Avibacterium avium* comb. nov. and *Avibacterium volantium* comb. Nov[J]. Int J Syst Evol Microbiol 2005, 55: 353-362.
- 2 Blackall P J, Matsumoto M, Yamamoto R. Infectious Coryza [M]// Calnek B W, Barnes H J, Beard C W *et al.* Diseases of Poultry. 10th Edn. Ames: Iowa State University Press, 1997, 179-190.
- 3 Horner R F, Bishop G C, Haw C. An upper respiratory disease of commercial chickens resembling infectious coryza, but caused by a V-factor independent bacterium[J]. Avian Pathol, 1992, 21: 421-427.
- 4 Mouahid M, Bisgaard M, Morley A J *et al.* Occurrence of V-factor (NAD) independent strains of *Haemophilus paragallinarum*[J]. Vet Microbiol, 1992, 31: 363-368.
- 5 冯文达. 北京鸡传染性鼻炎病原菌的分离鉴定[J]. 微生物学通报, 1987, 5: 216-219.
- 6 林毅, 张道永, 王文贵. 鸡传染性鼻炎的病原分离鉴定及防制[J]. 中国兽医科技, 1995, 25(1): 20-21.
- 7 Zhang P, Miao D, Sun H *et al.* Infectious coryza due to *Haemophilus paragallinarum* serovar B in China[J]. J Aus Vet, 2003, 81: 96-97.
- 8 孙惠玲, 苗得园, 王艳平, 等. B 型副鸡嗜血杆菌北京株的分离与鉴定[J]. 中国兽医杂志, 2005, 41(2): 28-29.
- 9 Chen X, Miflin J K, Zhang P *et al.* Development and application of DNA probes and PCR test for *Haemophilus paragallinarum*[J]. Avian Dis, 1996, 40: 398-407.
- 10 Sakamoto R, Kino Y, Sakaguchi M. Development of a multiplex PCR and PCR-RELP method for serotyping of *Avibacterium paragallinarum*[J]. Vet Med Sci, 2012, 74(2): 271-273.

11~20 略, 需要者可索取。

