

文章编号: 1003-2843(2002)03-0314-03

“鸭传染性肿头症”病毒的分离及部分特性研究

岳华, 刘群, 汤承, 罗薇, 刘内生, 杨小农, 龙虎

(西南民族学院生命科学与技术学院, 成都 610041)

摘要: 成都地区鸭场中流行一种以发病鸭头颈肿胀为特征的传染病, 发病率、死亡率均可达到80%以上, 各种年龄、品种均易感, 危害十分严重。我们通过流行病学调查、血凝和血凝抑制试验、中和试验和临床防治试验排除了鸭瘟病毒、禽流感病毒、鸭肝炎病毒、番鸭细小病毒感染的可能性。从典型病例中分离出病毒, 在雏鸭上复制出与自然发病相同的病例; 电镜下观察了该病毒为圆形或卵圆形, 大小为50~70nm, 无囊膜; 对氯仿有抵抗, 对鸭胚的LD₅₀为8.67, 无血凝性。初步认为本病是一种新鸭病, 暂定名为“鸭传染性肿头症”。

关键词: 鸭; “传染性肿头症”病毒; 分离鉴定; 理化特性

中图分类号: S858.32

文献标识码: A

近两年来成都地区商品鸭群中流行一种以发病鸭头颈肿胀为特征的传染病, 各种年龄(最大的400日龄以上, 最小的6日龄)、各种品种(樱桃谷、天府、川麻鸭、杂交鸭等)均易感, 发病率和死亡率均可达到80%以上, 给当地养鸭业带来了极大的损失。我们通过流行病学调查、临床及实验研究, 排除了鸭瘟病毒、鸭肝炎病毒、小鹅瘟病毒感染的可能性(另文发表)。从典型病例采病料分离出了病毒, 在雏鸭上复制出与自然感染相同的病例, 对该病毒的某些理化特性进行了研究, 初步认为其可能是一新鸭病, 暂定名“鸭传染性肿头症”。

1 材料

1. 病料 病初病鸭精神沉郁, 被毛粗乱、无光; 食欲减少或废绝, 之后出现呼吸困难、流泪, 1~2天后, 所有病鸭头部明显肿胀, 鼻、眼流出浆液性或血性分泌物, 体温升高渴欲增加, 腹泻并迅速死亡。剖检可见肝脏肿胀、变性, 弥漫性出血, 消化道黏膜出血、坏死, 后期有纤维素性假膜覆盖。将自然发病鸭肝脏作为病料, 共采病料4份, 鸭鸭年龄分别为8日龄(1#)、14日龄(2#)、60日龄(3#)、250日龄(4#)。保存于-20℃冰箱备用。

2. 人工感染试验、理化特性检测用病毒: 病料感染鸭胚尿囊液, 编号为SH_n、传代后的尿囊液编号为Sn。

3. 鸭胚、鸡胚, 购自非疫区。

4. 雏鸭、雏鹅、小鸡均购自非疫区。

5. 1%鸡、鸭、鹅、山羊、绵羊红细胞自制。

6. 禽流感血凝抗原、阳性血清由哈兽研提供。

7. 番鸭细小病毒阳性血清由江苏农科院惠赠。

8. 康复鸭血清从病鸭康复后25天血液制备。

9. 待检血清20头份, 来源同8。

2 方法

1. 病毒分离

(1)病料处理: 肝脏用玻璃匀浆器匀浆后放-20℃冰箱冻融3次以上, 搅拌均匀, 置低温冷冻离心机8000r/min离心30分钟, 取上清。(2)鸭胚接种: 将处理好的4份病料分别接种鸭胚绒毛尿囊腔, 0.2ml/胚, 每个病料接种5枚, 共接种20枚, 另取5枚鸭胚绒毛尿囊腔接种生理盐水, 作为空白对照, 0.2ml/胚。

2. 人工感染试验

收稿日期: 2002-03-28

作者简介: 岳华(1963-), 女, 河南睢县人, 西南民族学院生命科学与技术学院副教授。

(1)雏鸭感染试验: 8日龄雏鸭分成5组, 每组10只, 分别皮下接种感染鸭胚尿囊液和生理盐水, 0.5ml/只, 逐日观察记录。(2)雏鹅感染试验: 5日龄雏鹅分为两组, 每组5只, 接种SH1, 方法和剂量同(1)。(3)蛋鸡感染试验: 20日龄罗曼商品蛋鸡肌肉注射SH1, 1ml/只。(4)鸡胚感染试验: 8日龄鸡胚绒毛尿囊腔接种SH1, 0.2 ml/胚。

3. 对鸭胚半数致死量测定: 在8日龄鸭胚上, 按文献[1]进行。
4. 与番鸭细小病毒阳性血清中和试验: 在8日龄鸭胚上, 按文献[1]进行。
5. 血凝性检测: 常规微量血凝试验检测SH1、SH2、SH3、SH4的血凝性。
6. 康复血清治疗试验: 选择一临床上具有典型症状发病鸭群, 该鸭群为樱桃谷肉鸭, 1100只, 8日龄发病, 随机分成两组, 一组300只(康复血清量有限), 于发病后第3d肌肉注射康复血清1ml/只, 另800只病鸭口服双氟沙星。
7. 禽流感血凝抑制试验: 按哈尔滨兽研所提供方法对待检血清进行检测。
8. 禽流感琼脂扩散试验: 按哈尔滨兽研所提供方法对待检血清进行检测。
9. 氯仿敏感试验: 感染致死鸭胚尿囊液为被检病毒材料, 按文献[1]进行。
10. 病毒粒子的形态观察: SH1、SH2、SH3、SH4用饱和硫酸铵粗提, 再用150G葡聚糖凝胶低压层析, 纯化病毒, 磷钨酸负染, 常规电镜观察。

3 结果

1. 病原分离 鸭胚接种病料(1#、2#、3#、4#)后继续孵化, 于接种后2~6d死亡, 致死率80%(16/20), 对照组健活。感染鸭胚全身弥漫性出血, 胚肝肿胀呈土黄色或深褐色, 表面有出血斑。收集感染致死鸭胚尿囊液, -20℃冰箱保存, 共分离到4株病毒, 编号为SH1、SH2、SH3、SH4, 其中SH1继续在鸭胚上传代至第三代, 编号为S3。

2. 人工感染试验结果

(1)雏鸭感染试验 各感染试验组在接种SH1、SH2、SH3、SH4后第3d发病, 至第8d全部死亡, 致死率为100%(40/40), 空白对照组雏鸭全部健活。感染病鸭临床症状和病理变化与自然感染病例相似。(2)雏鹅感染试验 接种SH1尿囊液后观察至第10d, 全部健活。(3)蛋鸡感染试验 罗曼蛋鸡接种SH1, 观察至第30d, 未见异常, 全部健活。(4)鸡胚感染试验 鸡胚接种SH1尿囊液后观察至出壳, 未见死亡, 出壳雏鸡全部健活。取感染后第5d的尿囊液, 盲传至第3代, 未见感染。

3. LD50的测定 按Kärbe法^[2]计算, S3的LD50=8.67。

4. 中和试验 番鸭细小病毒阳性血清不能中和SH1。

5. 血凝试验 4株病毒均不凝集鸡、鸭、鹅、山羊、绵羊的红细胞。

6. 康复血清治疗试验 300只病鸭注射后仅在24h内死亡1只, 其余病鸭完全康复, 对照组800只治疗4d, 共死亡640只, 死亡率高达80%。

7. 血凝抑制试验 20头份待检血清与禽流感血凝抗原作血凝抑制试验, 均为阴性。

8. 琼脂扩散试验 20头份待检血清与禽流感琼扩抗原作琼扩试验, 均为阴性。

9. 氯仿敏感试验 S3用氯仿处理后鸭胚的感染滴度不变。

10. 病毒粒子形态 结果见图1。



图 1

4 讨论与小结

1. 从不同年龄自然病例中分离出4株病毒,均在8日龄雏鸭上复制出与自然感染相同病例,致死率为80%,证明所分病毒是“鸭传染性肿头症”的病原。

2. 该病毒对鸭胚的LD₅₀达8.67,电镜下圆形或椭圆形,无囊膜,对氯仿有抵抗,不凝集鸡、鸭、鹅、绵羊、山羊的红细胞,对小鸡、雏鹅无致病性。

3. 本病出现的头颈肿大、消化道粘膜出血、坏死和纤维素性假膜覆盖等病变,在临床和病理解剖学变化上与鸭瘟相很相似,但两者在流行病学和病原特性上两者有明显差异,如在鸭瘟病例中,仅有部分病鸭头颈肿大,而“鸭传染性肿头症”病鸭头颈肿胀普遍存在;从发病年龄来看,鸭瘟以成年鸭多发,雏鸭较少发病^[2],而“鸭传染性肿头症”在各种年龄、品种当中发病率、死亡率均非常严重,几乎无差异,雏鸭似乎更常见;从病原特征上讲,鸭瘟属疱疹病毒科成员,具有囊膜,对氯仿敏感,而“鸭传染性肿头症”病毒无囊膜。根据上述差异,可排除鸭瘟感染。

4. 禽流感病毒是鸡、火鸡、鸭和鹌鹑等多种家禽和鸟类的病原,有血凝性;家禽中火鸡和鸡最易感,而家鸭和野鸭感染流感病毒均无症状^[3]。我们在流行病学调查中发现与“鸭传染性肿头症”发病鸭群混养鸡群未发病,所分离“鸭传染性肿头症”病毒无血凝性,复鸭血清与禽流感抗原血凝抑制试验和琼扩试验均阴性,人工感染对小鸡、鸡胚、雏鹅无致病性等,足可排除禽流感。

5. 鸭肝炎是雏鸭的一种急性病毒性传染病,以肝脏肿大和出血为特征^[4],与雏鸭“传染性肿头症”的肝脏肿胀、出血等病理变化相似,但鸭肝炎病毒大小为20~40nm^[5],雏鸭最易感,成年鸭多为隐性感染,而各种年龄段的鸭均可感染、发生“鸭传染性肿头症”,且用鸭肝炎高免卵黄抗体治疗无效,因此,可排除鸭肝炎。

6. 番鸭细小病毒病是由番鸭细小病毒感染引起的以腹泻、喘气和软脚为主要症状的新疫病,在临床表现上,气喘和软脚与“鸭传染性肿头症”有相似之处,但易感动物除雏番鸭外,未见其他动物感染发病的报道^[3]。我们用“鸭传染性肿头症”病毒与番鸭细小病毒阳性血清进行的中和试验结果表明,该病毒对鸭胚的致病性不被番鸭细小病毒血清中和,说明“鸭传染性肿头症”与番鸭细小病毒感染无关。

7. “鸭传染性肿头症”康复血清治疗试验显示,康复鸭血清对患病雏鸭的治愈率达99.3%,说明该病毒可刺激机体产生中和抗体,这为本病的免疫防治提供了重要参考。

综合上所述,作者认为成都地区发生的“鸭传染性肿头症”是一种新鸭病。

参考文献:

- [1] 殷震,刘景华. 动物病毒学(第二版)[M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [2] 刘秀梵. 兽医流行病学原理[M]. 北京: 农业出版社, 1993.
- [3] 甘孟侯. 中国禽病学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
- [4] B W 卡尔尼克. 禽病学(第十版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
- [5] Russ U. Virusbologische Untersuchungen bei der Entenhepatitis. Zentralbl Veterinaemed, 1959, 6: 209-248.

Isolation and characterization of duck "infectious swollen head" virus

YUE Hua, LIU Qun, TANG Cheng, LUO Wei, LIU Nei-sheng, YANG Xiao-nong, LONG Hu
(College of Life Science & Technique, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041)

Abstract: An infectious disease of duck with the characteristic of "swollen head" broke out in Chengdu recently. Both morbidity and mortality were high. In this study, four strains of "duck infectious swollen head" virus were isolated from swollen head duck, some biological characters of the virus were studied. Such virus is rounded or oblong in shape. It is 50~70nm in size. It has no out-membrane, It can resist chloroform. It's LD₅₀ is 8.67 etc. The authors believe that it is a new virus disease in duck.

Key words: duck; "duck infectious swollen head" virus; isolation and characterization