

# 鸡传染性喉气管炎研究概况

杨春条<sup>1</sup> 王 劭<sup>2</sup> 邵金龙<sup>3</sup> 洪江庭<sup>3</sup>

(1 厦门市动物防疫监督所 361009; 2 福建省农业科学院畜牧兽医研究所 350003;

3 厦门市同安区畜牧兽医站 361100)

中图分类号:S858.31

文献标识码:A

文章编号:1003-4331(2007)02-0050-03

鸡传染性喉气管炎(Infectious laryngotracheitis, ILT)是鸡的一种病毒性呼吸道传染病,可引起死亡和产蛋下降而造成严重的经济损失。严重感染时病鸡呼吸困难、喘气、咳出血样黏液,而且死亡率高。在养鸡业发达的地区,温和型感染逐渐增多,表现为黏液性气管炎、窦炎、结膜炎、消瘦和低死亡率。传染性喉气管炎病毒(Infectious laryngotracheitis virus, ILTV)是SPF鸡群中应该净化的病原。

在多数国家已经证实有喉气管炎存在,而且仍然是易感鸡群,特别是大鸡群的一种严重疾病。我国自50年代以来大部分地区有不断发生的报道,多呈地方流行性,并且发病的日龄有提前的趋势。最早发病可见20~40日龄,给养鸡业造成严重损失,是集约化养鸡场的重要疫病之一<sup>[1]</sup>。

## 1 病原

喉气管炎病毒属疱疹病毒科的 - 疱疹病毒亚科<sup>[2]</sup>。该病毒在分类学被确定为 Gallid herpesvirus 1,其基因组是双股线性DNA分子,浮密度为1.704 g/cm<sup>3</sup>,分子量为100×10<sup>6</sup>,具有疱疹病毒的一般形态特征。在细胞核内呈散在或结晶状排列,无囊膜的核衣壳直径约100 nm。衣壳为二十面立体对称,并由162个长形空心的壳粒组成。胞浆内带囊膜成熟病毒粒子直径195~250 nm,在核衣壳的外围绕以不规则囊膜,囊膜表面的分界膜含有纤突<sup>[3-4]</sup>。

本病毒对脂溶剂、热以及各种消毒剂均敏感,ILTV经乙醚处理24 h后,即失去传染性。ILTV在55℃经10~15 min即被破坏。生理盐水中的病毒于室温下经90 min灭活。在甘油-盐水中病毒的存活期较长:37℃存活7~14 d,22℃14~21 d,4℃100~200 d。气管黏液内的病毒,在直射日光下经6~8 h灭活;但在黑暗的房舍内可存活110 d。鸡尸体气管组织中的病毒经37~44 h,绒毛尿囊膜中的病毒经25~5 h,即被破坏。ILTV在冻干或-20~-60℃条件下,能长期存活。3%甲酚和1%苛性钠可在1 min内使病毒迅速灭活。

本病毒呈现高度的宿主特异性,只能在鸡胚(包括野鸡胚)及其细胞培养物内良好增殖。人工感染

试验只能用鸡或野鸡。多采取气管分泌物或气管、肺组织悬液,作经鼻、点眼或气管内接种,能引起典型发病。但静脉或腹腔途径接种时,发病不规律。

## 2 流行病学

### 2.1 发病动物、品种、日龄 ILTV有明显的宿主特性

鸡是其主要宿主,野鸡、山鸡和孔雀易感。火鸡、鹌鹑、燕子、八哥、珍珠鸡和乌鸦以及大鼠、小鼠、豚鼠、家兔等均有抵抗力。鸡的感受性与性别、年龄、品种无关,一般多发生于成鸡,呈散发。

2.2 发病季节 由于病毒对高温的抵抗力弱,因此夏季发病少,秋、冬及早春季节发病多。

2.3 潜伏期、病程 感染ILTV后一般在6~12 d出现临床症状。人工或经气管内感染的潜伏期较短,为2~4 d。病程因个体的不同而有差异,有的数日内恢复,有轻微的呼吸道症状则1周左右恢复。

2.4 发病率、病死率 本病严重流行时能够引起90%~100%的发病率,死亡率从5%到70%不等,平均为10%~20%。在英国、澳大利亚、美国和新西兰报道过温和型流行,发病率为5%,死亡率很低(0.1%~2%)。

2.5 传染源 病毒在感染鸡体内仅存在于呼吸器官及眼结膜。在发病耐过的鸡群中,有少数鸡可成为带者,并可排出病毒,从而使感染过本病的鸡场年年发病。曾从耐过鸡群查出带毒鸡是用康复鸡的气管拭子材料接种的易感鸡,有资料报道发现在流行后达16个月之久的鸡群仍有带毒者。但在实践中查出带毒者是较为困难的,因为耐过鸡群中仅有个别鸡带毒。

2.6 传播途径 自然感染的途径为呼吸道,传染方式是病鸡的直接接触。使用被污染的设施与垫料能引起机械性传播。目前还未证实ILTV能够存在于蛋的内部或外表而经蛋传播。

## 3 临床症状

3.1 急性型(喉气管型) 主要成年鸡发生,传播迅速,短期内全群感染。病鸡精神沉郁,羽毛松乱,鸡冠发绀,食欲减少或废绝,有时排绿色粪便。患鸡初期流出浆液性或黏液性泡沫状鼻液,眼流泪。随后

表现为特征性的呼吸道症状,呼吸时发出湿性音,咳嗽。病鸡蹲伏,每次吸气时头和颈部向前向上,张口尽力吸气。严重病例高度呼吸困难、痉挛、咳嗽、咳出带血黏液,污染喙角、颜面及头部羽毛,打开鸡口腔,将其喉头用手向上顶,可见喉头周围有泡沫状液体,喉头出血,喉头被血液或纤维蛋白凝块堵塞。病程一般为10~14 d,康复后的鸡可能成为带毒者,产蛋鸡的产蛋量下降约12%。

3.2 温和型(眼结膜型) 主要为30~40日龄鸡发生。病初眼角积聚泡沫性分泌物,流泪,眼结膜炎,不断用爪抓眼,眼睛轻度充血,眼睑肿胀和黏连,严重的失明。病后期角膜浑浊、溃疡,鼻腔有分泌物。病鸡生长迟缓,偶见呼吸困难死亡率5%。

#### 4 病理变化

4.1 剖检病变 剖检病变主要在呼吸器官,喉头和气管有特征性变化。成鸡气管黏膜全部或局部出血,特别是气管轮部出血,表现为针尖大、鲜红色出血点或是弥漫性出血。有的病例气管黏膜呈白色肥厚,有的带有酪状渗出物,在喉头和气管表面形成管套,并易于剥离。一般在发病初期气管黏膜主要为变白肥厚。幼、中雏的渗出物中血液较少,常因不能咳出逐渐形成干酪物。鼻腔有黏液状半透明鼻汁,有时混有血液,如波及眶下窦时,窦中可充满白色干酪物,肉鸡常出现结膜炎,有时眼睑稍肿胀。蛋鸡卵泡呈树枝状充血,严重者则可见暗红色出血斑点。肺可见到支气管炎,约占发病鸡的1/3,炎症很少波及周围组织,因此,肉眼见不到什么病变。产卵鸡的卵巢有时可出现软卵泡、出血卵泡,但不能从卵巢及卵泡中分离到病毒,因该部的病变是由高烧或继发性感染所致。

4.2 显微病变 显微镜下的变化随病程的不同而异。本病的特征性组织学变化,主要是在气管黏膜上皮细胞中形成核内包涵体。重症病例的气管切片,用苏木紫伊红染色,可见到黏膜上皮细胞增生,黏膜表面及下层嗜酸性细胞浸润,黏膜上皮及软骨间的皮下组织水肿,肉眼可见出血。增生性的上皮细胞排列不规则,容易脱落,在病的初期易于在细胞核内见到本病特征性的包涵体。包涵体呈圆形或卵圆形,嗜酸性着染,周围可见光晕。

电镜研究表明,细胞病变最早出现于病毒衣壳形成期间的上皮细胞核中,病毒衣壳通过核膜出芽,获得脂质囊膜并在胞浆空泡中聚集成团。

#### 5 实验室诊断

由于其他呼吸道病原能够引起相似的临床症状

和病变,所以LT的确诊需要借助实验室诊断。只有严重急性病例出现高死亡率和咳血时才能根据临床症状确诊。目前实验室诊断主要是病毒分离、酶联免疫吸附试验、核酸探针、聚合酶链式反应等。

5.1 病原分离和鉴定 病料的采取应为死后不久的气管分泌物及肺,经过处理,接种鸡胚肝、鸡胚肾组织培养细胞,其中鸡胚肝细胞最敏感。或者接种发育鸡胚、健康鸡进行分离。可用电镜直接检查气管分泌物的病毒,或用鸡胚肝、鸡胚肾、鸡肾细胞培养物做电镜观察病毒。

5.2 酶联免疫吸附试验(ELISA) ELISA主要是将抗原(或抗体)吸附于固相载体上,在载体上进行免疫酶染色,最后底物显色用肉眼或分光光度计判定结果的一种检测方法,具有快速、敏感、简便、易于标准化等优点。York等建立了生物素标记ELISA及单克隆抗体的抗原捕捉ELISA等方法,使ELISA更敏感。国内吴红专等建立了检测LT抗体的间接酶联免疫吸附试验<sup>[5]</sup>,提高了检测的特异性和准确性,为鸡场监测LT疫情、防治治病奠定了基础。

5.3 核酸探针技术 近年来核酸探针已广泛应用于病毒感染的检测,它比传统的血清学方法更为敏感特异。LTV的主要抗原基因gB基因位于LTV DNA的EcoR 3.0kb片断中,其编码的糖蛋白对LTV感染的鸡有明显的保护作用。郭雪峰将插有LTV糖蛋白B(gB)基因的重组阳性质粒pLgB,经EcoR酶切后,用地高辛标记,获得LTVgB基因的核酸探针。该gB基因核酸探针能检出0.01 μg的LTV核酸<sup>[6]</sup>。LTV TK基因是非必需基因,然而它是-疱疹病毒的一个毒力基因,吴红专等应用地高辛标记LTV TK基因制备探针,经斑点杂交显色后,探针同LTV的TK基因PCR产物及毒株均呈阳性紫色斑点,可用于LTV和其它呼吸道疾病的鉴别诊断<sup>[7]</sup>。LTV gp60基因与其它-疱疹病毒无同源性,是LTV的一段独特的基因。它对病毒的生长和增殖非常必要。张秀美等将gp60基因的PCR扩增片段插入SK质粒的BamH / EcoR位点,用DH52大肠杆菌转化克隆基因。用DIG标记重组的靶基因,建立了LTV gp60基因核酸探针,该探针与LTV DNA呈阳性,最低检出量为20ng,适用于LTV感染的临床诊断<sup>[8]</sup>。

5.4 聚合酶链式反应(PCR) PCR广泛应用于LTV的鉴定及临床诊断,并在方法上不断改进和提高,扩增的目的片段主要是针对在其基因组DNA上目前鉴定的基因有TK基因、gB基因、gP60基因等。

TK基因虽然是非必需基因,但是 ILTV 的毒力基因之一,它的保守性较强,欧美株间仅相差3个连续的核苷酸。不同毒株之间的 gB 基因序列高度同源,十分保守。很少发生变异。它编码的糖蛋白复合物位于病毒粒子表面,是病毒感染所必需的主要免疫糖蛋白,也是该病毒的主要保护性抗原基因。gP60 基因编码的 60KD 糖蛋白与其它疱疹病毒没有同源性,是从 ILTV 感染鸡血清中识别出的一种主要蛋白,是 ILTV 特有的。黄庚明等选择 ILTV 保守 TK 基因的蛋白编码区域,设计并合成了一对外引物和一对内引物,建立并优化了检测鸡传染性喉气管炎病毒 DNA 的套式 PCR 法,套式 PCR 法能检测出 ILTV 感染后的非免疫鸡胚和 SPF 鸡胚绒毛尿囊膜研磨液中的被稀释了 105 倍的病毒(约 1fg 的 ILTV DNA)<sup>[9]</sup>。刘加波等根据 ILTV TK 基因的核苷酸序列设计并合成 1 对引物,用该引物对 4 株不同的 ILTV 进行 PCR 扩增,能检出 10 pg 的 ILTV DNA<sup>[10]</sup>。张秀美等根据已知的鸡传染性喉气管炎病毒(ILTV) gp60 基因设计引物,对 ILTV 的 PCR 诊断方法进行研究,对 12 个田间样品的阳性检测率明显高于病毒分离方法<sup>[11]</sup>。张七斤等以 ILTV DNA 为模板,设计引物对 ILTV gB 基因进行 PCR 扩增,可用于 ILTV 感染的检测<sup>[12]</sup>,以及 LT 与其他传染病的混合感染和呼吸道传染病的鉴别诊断。

除上述方法外,还可用中和试验、琼脂扩散试验或间接免疫荧光等方法检测鸡血清中 ILTV 抗体。

## 6 预防

6.1 一般预防 由于野毒感染或接种疫苗造成某些鸡成隐性带毒者。因此,最主要的是避免接种疫苗鸡或康复鸡与易感鸡混养。种鸡群混养时,应特别注意掌握鸡群的全部病史。执行完善的生物安全措施可避免易感鸡因污套的设备或建筑而受到感染。

实施产地检疫和防止受到潜在污染的工作人员、饲料、设备和鸡流动等卫生措施是成功地防制喉气管炎的关键。对啮齿动物与狗应加以控制。应该认识庭院散养和供晨览的禽群也构成威胁并加以防范。为控制 LT 的暴发,最有效的办法是快速诊断、制订免疫程序,搞好预防与控制相结合。暴发疾病前免疫不仅可以控制病毒传播,还能缩短病程。采取合适的生物安全措施能够防止 ILTV 的传播。ILTV 很容易被消毒剂 and 热灭活,因此,鸡舍内在两批鸡间进行彻底的清扫消毒能够有效地防止 ILTV。

6.2 免疫预防 疫苗接种是易感鸡群产生抵抗力

的良好方法。由于接种疫苗能使鸡带毒,因此建议仅在该病流行地方应用。与相关的管理机构接触,选用合格的疫苗及使用合理程序。如弱毒疫苗,目前使用的弱毒疫苗多为通过鸡肾或鸭肾细胞继代致弱病毒所制成的疫苗,接种方法主要为滴鼻或点眼,由于制苗用的毒株多具有一定的残留毒力,因此,在疫苗接种后可引起少数鸡出现轻微的呼吸道反应,结膜潮红、流泪或轻微的呼吸道症状,如无其他病原微生物的混合感染,接种疫苗后的反应在 1~2 d 内即可消失,接种鸡可获得良好的免疫力。1 个月龄以内幼雏接种时免疫期持续的时间较短,在 2~3 个月龄时须再接种 1 次,保护力可达 9 个月以上,如在 2~3 个月龄 1 次免疫时,免疫期可达 6 个月以上。由于本病传播慢、疫苗接种后免疫力的产生较快,因此,在鸡场内某一鸡群发生本病时,其他鸡群如能立即采取疫苗接种措施可控制本病的蔓延<sup>[3]</sup>。

## 参考文献

- [1] 许伟琦,孙泉云,刘红. 鸡传染性喉气管炎的研究进展[J]. 中国动物检疫,1997,14(4):33-35.
- [2] 朱庆虎,李军民. 鸡传染性喉气管炎病毒研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医,1999(8):37-39.
- [3] 陈光华. 鸡传染性喉气管炎防制研究进展[J]. 中国兽药杂志,1998,32(1):46-48.
- [4] 于力,张绍杰,童光志. 传染性喉气管炎病毒的分子生物学研究进展[J]. 中国兽医科技,1996,26(11):18-21.
- [5] 吴红专,贺东生,陈峰,等. 间接 ELISA 对免疫鸡群中传染性喉气管炎抗体的检测[J]. 中国兽医科技,1999,29(1):25-26.
- [6] 郭雪峰. 鸡传染性喉气管炎病毒 gB 基因核酸探针的研究[J]. 华南农业大学学报,1997,18(3):105-109.
- [7] 吴红专,刘福安. 禽传染性喉气管炎病毒 TK 基因狄高辛探针的研究[J]. 中国兽医学报,1998,18(5):424-426.
- [8] 张秀美,徐苏云. 鸡传染性喉气管炎病毒 gp60 基因核酸探针的研究[J]. 山东农业科学,2000(1):16-18.
- [9] 黄庚明,辛朝安. 运用套式 PCR 检测传染性喉气管炎病毒核酸[J]. 中国病毒学,2001,16(3):265-269.
- [10] 刘加波,谢芝勋. 应用聚合酶链反应扩增鸡传染喉气管炎病毒 TK 基因的研究[J]. 中国兽医科技,2000,30(4):10-12.
- [11] 张秀美,艾武,王莉莉,等. 鸡传染性喉气管炎病毒 PCR 诊断方法的研究[J]. 山东农业科学,1999(6):13-15.
- [12] 张七斤,刘思伽,红梅,等. 鸡传染性喉气管炎病毒 gB 基因的扩增及酶切分析[J]. 中国兽医科技,2003,33(8):19-22.