

江苏中部地区鹅副粘病毒的分离与鉴定

杜宗沛, 吴植, 徐小琴, 叶滨 (江苏畜牧兽医职业技术学院, 江苏泰州 225300)

摘要 [目的]调查江苏省泰州市某鹅场鹅大批死亡的原因。[方法]通过流行病学调查、临床诊断、病理变化、动物回归感染试验、血清学检查等对江苏省泰州市某鹅场发生的疑似鹅副黏病毒病的病料进行病原分离与鉴定。[结果]该病毒能使 SPF 鸡胚以及 10 日龄鹅和鸡全部死亡,能凝集鸡红细胞并能被 NDV 标准阳性血清所抑制,不能被禽流感病毒标准阳性血清所抑制。发病死亡与人工感染死亡的临床症状和病理变化基本一致。经电镜观察发现该病毒颗粒呈圆形,直径在 150 nm 左右,有囊膜及纤突。该分离毒株经灭活后免疫鹅群,取到良好的防治效果。[结论]该病毒为禽 I 型副黏病毒,属副黏病毒科副黏病毒属。

关键词 鹅;副黏病毒;分离;鉴定

中图分类号 S835 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)09-03901-01

Isolation and Identification of Goose-derived Paramyxovirus in Central Area of Jiangsu Province

DU Zong-pei et al (Jiangsu Animal Husbandry and Veterinary College, Taizhou, Jiangsu 225300)

Abstract [Objective] The research aimed to find out the death causes of a large number of geese in a goose farm in central areas of Jiangsu Province. [Method] The virus of the suspected disease materials by goose paramyxovirus disease in a goose farm in Taizhou City of Jiangsu Province was isolated and identified by epidemiological investigation, clinical symptom, pathological changes, animal regression infection test and serological examination. [Result] This virus was lethal to SPF chicken embryos, 10-day-old goose and chicken, which resulted in 100% mortality. This virus was able to agglutinate chicken red blood cells, but it was inhibited by newcastle disease virus antiserum. But it could not be inhibited by avian influenza virus antiserum. Pathomorphologic changes of paramyxovirus infection in goose were observed to be basically identical between naturally infected goose and artificially infected goose. The electron microscopic observation results showed that the virus granule was round and its diameter was about 120 nm, with envelope and spike. The isolated virus was inactivated and immunized geese, and good control effects were achieved. [Conclusion] This virus was avian I -type paramyxovirus, belonging to *Paramyxovirus* of Paramyxoviridae.

Key words Goose; Paramyxovirus; Isolation; Identification

鹅副粘病毒病是由鹅副粘病毒引起的一种急性、高度接触性、以肠道病变为主的新型传染病,主要表现为病死禽消化道黏膜散在性或弥漫性纤维性结痂、溃疡;胰腺和脾脏肿大,并有灰白色坏死灶。该病不仅对鹅造成较高的发病率和死亡率,同时对鸡、鸽、鹌鹑等家禽也有较强的感染性。因此,近年来鹅副粘病毒病对我国养禽业带来了巨大的威胁,已成为制约养禽业发展的主要传染病之一。基于此,笔者对江苏泰州某鹅场发生的疑似鹅副粘病毒病的病料进行病原分离与鉴定,以期对鹅副粘病毒病的诊断与防治提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验材料。病料采自江苏泰州某鹅场。无菌采集疑似鹅副粘病毒病鹅的肝脏、脾脏。SPF 鸡胚由山东家禽研究所提供。新城疫标准阳性血清、H9N2 亚型禽流感标准阳性血清,均购自中国农科院哈尔滨兽医研究所。

1.1.2 实验动物。实验动物由江苏畜牧兽医职业技术学院试验动物场提供。

1.2 方法

1.2.1 流行病学调查。根据发病情况、临床症状及病理变化进行综合分析、诊断,确定为疑似鹅副粘病毒病^[1]。

1.2.2 细菌分离。用无菌采集疑似鹅副粘病毒病鹅的肝脏、脾脏组织,接种于血琼脂平板和肉肝汤培养基。于 37℃ 下培养 48 h,检测细菌生长情况。肝脏、脾脏组织触片,用瑞

氏及革兰氏染色、镜检。

1.2.3 病毒分离。用无菌采集疑似鹅副粘病毒病鹅的肝脏、脾脏组织,研磨;加入双抗各 1 000 U/ml;再加入生理盐水制成 1:3 悬液;20℃ 下作用 2 h;4 000 r/min 离心 10 min,取上清液经尿囊腔接种 9 日龄 SPF 鸡胚 10 枚,每胚注射 0.1 ml,37℃ 下培养 24 h,弃去死亡鸡胚,72 h 后将剩余鸡胚置于 4℃ 冰箱过夜,收取尿囊液和绒毛尿囊膜置于 -20℃ 冰箱保存,作为继代种毒。采用同样方法,盲传 3 代。

1.2.4 血凝与血凝抑制试验。取第 4 代鸡胚尿囊液在 96 孔微量凝集板上与 1% SPF 鸡红细胞进行血凝试验,测定其血凝效价;用新城疫标准阳性血清和 H9N2 亚型禽流感标准阳性血清,进行血凝抑制试验^[2]。

1.2.5 病毒理化特性的测定。取第 4 代鸡胚尿囊液经 5% 氯仿在室温下处理 10 min,经 56℃ 处理 15 min,再用 pH 4 盐酸溶液处理 30 min。

1.2.6 致病性试验。取第 4 代鸡胚尿囊液,每只加 1 滴(约 0.05 ml),以滴鼻的方式接种 10 只 10 日龄的健康雏鹅、健康雏鸡和健康雏鸭;取第 4 代鸡胚尿囊液,每只加入 2 滴(约 0.1 ml),以滴鼻的方式接种 10 只 70 日龄的健康成鹅。并分别设 4 组 10 只健康对照组。

1.2.7 电镜观察。取第 4 代鸡胚尿囊液,经高速离心、超速离心后,经磷钨酸负染后进行电镜观察。

1.2.8 免疫保护试验。取第 4 代鸡胚尿囊液,经灭活后,接种 10 日龄雏鹅 10 只。设 10 只健康对照。

2 结果与分析

2.1 流行病学调查结果 最小发病为 2 日龄,最大为 55 日 (下转第 3904 页)

作者简介 杜宗沛(1962-),男,黑龙江哈尔滨人,研究员,从事动物传染病病原体的分离与鉴定。

收稿日期 2013-03-14

含量高^[5],而结缔组织较少,因此鱼类肌肉较家禽肌肉口感更为细腻。

肌纤维密度是指单位面积内的肌纤维根数。肌纤维密度越大,肌肉硬度越大。在肌纤维体积固定时,单根的纤维变小会使肌纤维的密度增大,单根纤维的表面积比率也增大,肌纤维周围的结缔组织填充物质相应增多,肌肉硬度就大。随着肌纤维的增粗,肌间结缔组织与脂肪含量增加,肌纤维密度下降。该研究与上述规律相符,随着体重的增加,肌纤维密度减小,结缔组织含量增加。

肌纤维直径是描述肌肉特征的重要参数。肌纤维直径大小主要与年龄、营养状况、品种及其增重速率和运动量等有关。肌纤维直径越小,肉质越嫩;肌纤维直径越大,肉质越硬。该试验结果表明肌纤维直径的变化规律与相关报道相符合,反映出养殖虹鳟基础日粮符合虹鳟的营养需求,营养供应均衡,体重增加稳定。

+++++

(上接第 3901 页)

龄。其中,15 日龄以内发病率和死亡率均为 100%。发病日龄越小,死亡率越高。临床症状主要表现为:流鼻涕、甩头、腹泻和头颈扭曲。剖检发现腺胃黏膜水肿增厚,有大小不等的出血点和黄白色坏死灶;肌胃角质膜下出血、坏死;腺胃与肌胃交界处及幽门处有糜烂性出血灶;肠道表面有大量散在灰黄色结痂,易剥离,剥离后见灰色坏死灶;肝脏肿大、淤血,可见大小不等的坏死灶;肾脏有出血点;脾脏和胰脏上可见大小不等的灰白色坏死灶;脑及脑膜充血^[3]。

2.2 细菌分离结果 血琼脂平板培养基未见细菌生长,肉肝汤培养基未见浑浊。触片镜检后未见细菌。

2.3 病毒分离结果 每次传代都可见胚体全身充血且出血现象十分明显。鸡胚于 30~48 h 内全部死亡。死胚尿囊液和羊水澄清透明。

2.4 血凝与血凝抑制试验结果 分离获得毒株能凝集鸡的红细胞,HA 效价为 2⁸,被凝集的鸡红细胞,室温放置 2 h 后,出现解凝现象。其血凝性能被新城疫标准阳性血清所抑制,HI 效价为 2⁷;其血凝性不能被 H₉N₂ 型禽流感标准阳性血清所抑制。

2.5 病毒的理化特性

2.5.1 分离获得毒株对氯仿敏感。取第 4 代鸡胚尿囊液经 5% 氯仿在室温下处理 10 min,即将分离获得毒株完全灭活。

2.5.2 分离获得毒株对热不敏感。56 ℃ 下处理 15 min,不能完全灭活。

2.5.3 分离获得毒株对酸不敏感。经 pH4 盐酸溶液处理 30 min,不能完全灭活。

2.6 致病性试验结果 取第 4 代鸡胚尿囊液,接种 10 只 10 日龄的健康雏鹅、健康雏鸡,陆续出现精神萎靡、流鼻涕、甩头、腹泻和头颈扭曲等症状,发病率和死亡率均为 100%,剖检结果与临诊死亡病例相同。健康对照组全部存活。健康雏鸭组与 70 日龄的健康成鹅组表现出轻微临床症状,无死亡。

该试验中虹鳟个体较小,虹鳟肌肉结缔组织含量较少,肌纤维密度较大,因此其口感细腻,肉质鲜美。此外,虹鳟高度不饱和脂肪酸特别是二十二碳六烯酸和二十碳五烯酸含量非常高,肉味鲜浓,口感嫩活,是进行鱼类养殖的理想品种。

参考文献

- [1] 孙兴旺,朱文锦,杜建刚,等.虹鳟养殖技术研究[J].淡水渔业,1999(5):23-25.
- [2] RIVERO J L,TALMADGE R J,EDGERTON V R. Fibre size and metabolic properties of myosin heavy chain-based fibre types in rat skeletal muscle[J]. Journal of Muscle Research and Cell Motility,1998,19:733-742.
- [3] JOHNSTON I A. Muscle development and growth in fish:potential implications for flesh quality[J]. Aquaculture,1999,177:99-115.
- [4] 谭丽勤,欧茶海,李润泉,等.60~90 日龄腾冲雪鸡肌纤维特性研究[J].云南农业大学学报,2000,15(4):46-49.
- [5] 刘丽,余红心,肖维,等.鱼肉品质的研究进展[J].内陆水产,2008(8):9-12.

2.7 电镜观察结果 在电镜下,病毒颗粒呈圆形,有囊膜,有纤突,直径在 150 nm 左右。

2.8 免疫保护试验结果 接种 15 d 后进行攻毒。经接种灭活的第 4 代鸡胚尿囊液的雏鹅全部存活。对照组全部死亡。

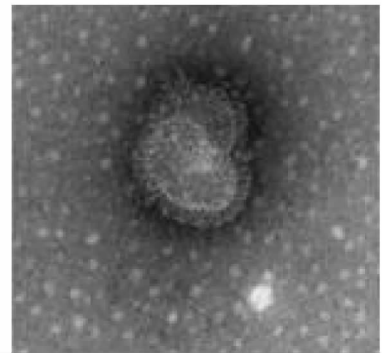


图 1 鹅副粘病毒的电镜观察结果

3 小结

笔者从病料中分离到 1 株病毒,结果表明该病毒能使 SPF 鸡胚和 10 日龄鹅、鸡全部死亡;能凝集鸡红细胞,HA 效价为 2⁸,被凝集的鸡红细胞室温放置 2 h 后,出现解凝现象。并能被 NDV 标准阳性血清所抑制,HI 效价为 2⁷。不能被禽流感病毒标准阳性血清所抑制。该病毒对氯仿敏感,而对热和酸不敏感。该病毒对雏鹅和雏鸡的致病性较强;发病率和死亡率均为 100%。对健康雏鸭与 70 日龄以上健康成鹅致病性弱。电镜下病毒颗粒呈圆型,直径 150 nm 左右,有囊膜及纤突;用该分离毒株经灭活后免疫鹅群取到良好的防治效果。该病毒从形态、结构及对雏鹅、雏鸡的致病性上与新城疫病毒都极为相似,说明该病毒属禽 I 型副粘病毒,鹅副粘病毒。

参考文献

- [1] 杜宗沛.动物传染病[M].北京:中国林业出版社,2012.
- [2] 黄银云,胡新岗.禽病防治[M].北京:中国农业出版社,2012.
- [3] 杜宗沛.动物疫病[M].北京:中国农业出版社,2012.