

陈珍, 傅秋玲, 陈红梅, 等. 胰腺型、经典型鸭 1 型甲肝病毒对雏鸭的致病性差异 [J]. 福建农业学报, 2013, 28 (10): 939-942.
CHEN Z, FU Q-L, CHEN H-M, et al. Different Pathogenicity of Duck Hepatitis A Virus 1 Between Pancreatitis-type and Classical Duckling [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2013, 28 (10): 939-942.

胰腺型、经典型鸭 1 型甲肝病毒对雏鸭的致病性差异

陈 珍^{1,2}, 傅秋玲^{1,2}, 陈红梅^{1,2}, 傅光华^{1,2}, 施少华^{1,2}, 程龙飞^{1,2}, 万春和^{1,2},
林建生^{1,2}, 黄 瑜^{1,2}

(1. 福建省农业科学院畜牧兽医研究所, 福建 福州 350013;

2. 福建省畜禽疫病防治工程技术研究中心, 福建 福州 350013)

摘要: 为明确胰腺型鸭 1 型甲肝病毒 (DHAV-1) 和经典型 DHAV-1 对不同品种雏鸭的致病性, 以胰腺型 DHAV-1 和经典型 DHAV-1 分别感染 7、14、21、28、35 d 番鸭、半番鸭、樱桃谷鸭和麻鸭, 结果表明番鸭对胰腺型 DHAV-1 最易感, 半番鸭和樱桃谷鸭次之, 麻鸭最不易感; 而樱桃谷鸭对经典型 DHAV-1 最易感, 番鸭次之; 感染胰腺型 DHAV-1 的番鸭、半番鸭胰腺出血、明显发黄, 肝脏未见出血。表明胰腺型鸭 1 型甲肝病毒、经典 DHAV-1 在易感宿主、组织嗜性和特征肉眼病变上均存在明显差异。

关键词: 鸭 1 型甲肝病毒; 胰腺型; 致病性

中图分类号: S 852

文献标识码: A

Different Pathogenicity of Duck Hepatitis A Virus 1 Between Pancreatitis-type and Classical Duckling

CHEN Zhen^{1,2}, FU Qiu-ling¹, CHEN Hong-mei^{1,2}, FU Guang-hua^{1,2}, SHI Shao-hua^{1,2},
CHENG Long-fei^{1,2}, WAN Chun-he^{1,2}, LIN Jian-sheng^{1,2}, HUANG Yu^{1,2}

(1. Institute of Animal Husbandry and Veterinary, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou,
Fujian 350013, China; 2. Fujian Animal Diseases Control Technology Development Center,
Fuzhou, Fujian 350013, China)

Abstract: A duck hepatitis A virus 1 (DHAV-1), designated pancreatitis-type DHAV-1, has been isolated from Muscovy ducklings with yellow or hemorrhagic pancreas. To elucidate different pathogenicity of DHAV-1 infection between pancreatitis-type and classical ducklings, Muscovy duck, mallard duck, Cherry valley duck and Maya duck, raised for 7, 14, 21, 28 and 35 d respectively, were inoculated with pancreatitis-type and classical DHAV-1. The results showed that Muscovy duck was the most sensitive to pancreatitis-type DHAV-1, followed by mallard duck and Cherry valley duck, and the Maya duck was the lowest. However, Cherry valley duck was the most sensitive to classical DHAV-1, followed by Muscovy ducks. Hemorrhagic and yellow pancreas was detected in Muscovy duckling and mallard duckling infected with pancreatitis-type DHAV-1, but no hemorrhage in liver. The above indicated that there were obviously different pathogenicity between pancreatitis-type and classical DHAV-1 in sensitive host, and gross lesions.

Key words: Duck Hepatitis A Virus type 1; pancreatitis-type; pathogenicity

鸭 1 型甲肝病毒 (Duck hepatitis A virus type 1, DHAV-1) 主要侵害 2~4 周龄雏鸭, 发病急、

致死性强, 可引起发病鸭角弓反张等症状, 剖检以肝脏大量出血为特征^[1-6]。近年来, DHAV-1 的致

收稿日期: 2013-09-10 初稿; 2013-10-16 修改稿

作者简介: 陈珍 (1980-), 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事动物传染病研究

通讯作者: 黄瑜 (1966-), 男, 博士, 研究员, 主要从事动物传染病研究 (E-mail: huangyu_815@163.com)

基金项目: 新世纪“百千万人才工程”国家级人选科研补助资金 (NCNCMTPC-2009); 福建省自然科学基金 (2011J01113); 福建省农业科学院科技下乡“双百”行动项目 (sbmxl1302-3)

病特点有所改变, 出现新的病理特征, 2005 年法国学者 Guérin 等自表现胰腺炎的番鸭中分离到鸭 1 型甲肝病毒, 剖检发病鸭肝脏和肾脏无明显肿大出血病变^[7], 这些变化打破了传统思维, 引起对 DHAV-1 致病性的多样性和变异性的关注。

自 2011 年 9 月以来, 我国福建、浙江、上海、广东等地相继出现 10~30 日龄雏番鸭、半番鸭以胰腺发黄、出血(俗称胰腺炎)为特征的疫病, 其发病率为 10%~30%, 病死率达 25%~40%。我们对患该病的雏番鸭病例开展了病原学研究, 并对已分离到病毒进行蚀斑纯化、血清中和试验、基因组测序与分析、红细胞凝集试验和动物致病性试验等一系列相关研究, 结果发现该病毒对鸡红细胞、鸭红细胞、绵羊红细胞的无血凝活性, 可被鸭 1 型甲肝病毒高免血清部分中和; 核苷酸序列与鸭 1 型甲肝病毒同源性较高, 与鸭 1 型甲肝病毒相关, 但剖检病死雏番鸭表现为胰腺发黄出血、坏死, 肝脏稍肿大, 未见出血; 这与经典的鸭 1 型甲肝病毒所致的特征病变—病死鸭表现角弓反张、肝脏肿大出血和肾脏肿大出血^[1,3~6]等明显不同。鉴于该病毒主要引起胰腺病变, 我们将分离毒暂定名为胰腺型鸭 1 型甲肝病毒^[8~9]。

为明确胰腺型鸭 1 型甲肝病毒对不同品种雏鸭的致病性及其病变特征, 用本实验室分离、鉴定和保存的胰腺型鸭 1 型甲肝病毒 MPZJ1206 株和经典型鸭 1 型肝病毒 FJ1007 株分别感染不同日龄的不同品种雏鸭, 从而建立病毒感染的动物模型, 为今后研究其发病机制、确定病理学诊断提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 毒株和试验动物

胰腺型鸭 1 型甲肝病毒 MPZJ1206 株和经典型鸭 1 型甲肝病毒 FJ1007 株由本实验室分离、鉴定和保存。雏番鸭、半番鸭、樱桃谷鸭和麻鸭购自福州、三明等地健康鸭场, 经检测 DHAV-1 抗体为阴性, 并隔离饲养。

1.2 方法

1.2.1 胰腺型和经典型 DHAV-1 鸭胚半数致死量(ELD₅₀)的测定^[10] 胰腺型鸭 1 型甲肝病毒 MPZJ1206 株和经典的鸭 1 型甲肝病毒 FJ1007 株病毒液分别用灭菌 PBS 做 10 倍系列稀释, 将 $10^{-10} \sim 10^{-1}$ 每稀释度按每胚 0.1 mL 剂量接种 5 枚 10 日龄 DHAV-1 抗体阴性鸭胚, 37℃ 孵育, 弃 24

h 内死亡胚, 继续孵育并观察结果, 按 Reed-Meunch 法计算 ELD₅₀。

1.2.2 胰腺型和经典 DHAV-1 对同一日龄的不同品种雏鸭的致病性试验 取 7 d 健康番鸭、半番鸭、樱桃谷鸭和麻鸭各 40 羽, 随机平均分为 2 组以分别接种胰腺型和经典型鸭 1 型甲肝病毒, 腿部肌肉接种病毒量为 $10^4 \text{ ELD}_{50} \cdot \text{羽}^{-1}$ 。其中每个品种鸭留 5 羽作为空白对照, 对照组雏鸭肌注无菌 PBS 缓冲液 0.5 mL · 羽⁻¹。各试验组动物进行隔离饲养, 连续观察 14 d, 每天观察各组动物的临床症状和死亡情况, 对死亡鸭进行剖检观察病理变化, 并采集肝脏、胰腺和脾脏等进行病毒的再分离、鉴定。

1.2.3 胰腺型 DHAV-1 对不同日龄雏番鸭的致病性试验 取 7、14、21、28、35 d 的健康番鸭各 20 羽, 通过肌注途径接种病毒, 病毒接种量为 $10^4 \text{ ELD}_{50} \cdot \text{羽}^{-1}$; 其中每个日龄鸭留 5 羽作为空白对照, 对照组雏鸭肌注无菌 PBS 缓冲液 0.5 mL · 羽⁻¹。各试验组动物进行隔离饲养, 连续观察 14 d, 每天观察各组动物的临床症状和死亡情况, 对死亡鸭进行剖检观察病理变化, 并采集肝脏、胰腺和脾脏等进行病毒的再分离、鉴定。

2 结果与分析

2.1 胰腺型和经典 DHAV-1 的 ELD₅₀ 测定结果

胰腺型 DHAV-1 MPZJ1206 株和经典 DHAV-1 FJ1007 株接种 10 d 鸭胚后, 每天观察 3 次, 统计鸭胚的死亡数量。按照 Reed-Meunch 法计算出胰腺型 DHAV-1 MPZJ1206 株的 ELD₅₀ 为 $10^{-4.68} \cdot \text{mL}^{-1}$, 经典 DHAV-1 FJ1007 株的 ELD₅₀ 为 $10^{-4.5} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.2 胰腺型和经典 DHAV-1 人工感染雏鸭的临床症状与肉眼病变的差异

番鸭、半番鸭、樱桃谷鸭和麻鸭感染胰腺型 DHAV-1 MPZJ1206 株和经典 DHAV-1 FJ1007 株后连续观察 14 d, 每天观察各组动物的临床症状, 各组感染鸭在接种后 2~3 d 出现精神沉郁, 厌食。感染胰腺型 DHAV-1 MPZJ1206 株的试验鸭并未出现典型的角弓反张临床症状, 且肝脏未见病理变化, 仅见胰腺出血和胰腺泛黄(图 2); 感染经典 DHAV-1 FJ1007 株的实验鸭出现典型的角弓反张临床症状, 肝肿大、出血, 但胰腺未见病变(图 1、表 1)。采集鸭病死鸭的肝脏、胰腺和脾脏等进行病毒分离, RT-PCR 鉴定为 DHAV-1。

表1 胰腺型和经典 DHAV-1 感染致死雏鸭的临床症状与肉眼病变差异

Table 1 Different clinical symptoms and lesions between pancreatitis-type and classical DHAV-1 infection in ducklings

病毒株	角弓反张	致死雏鸭的临床症状与肉眼病变					
		肝肿大	肝出血	肾肿大	肾出血	胰腺出血	胰腺泛黄
MPZJ1206 株	—	—	—	—	—	+	+
FJ1007 株	+	+	+	+	+	—	—

注: +表示出现, -表示未出现。



图1 FJ1007株经典型鸭1型甲肝病毒致死雏鸭肝脏出血

Fig. 1 Hemorrhagic liver of dead ducklings infected with FJ1007 strain



图2 MPZJ1206株胰腺型鸭1型甲肝病毒致死雏鸭胰腺严重泛黄

Fig. 2 Yellow or/and hemorrhagic pancreas of dead ducklings infected with MPZJ1206 strain

注: 1. 病死鸭胰腺发黄; 2. 病死鸭胰腺发黄、出血; 3. 对照健康鸭胰腺。

2.3 胰腺型和经典 DHAV-1 对同日龄的不同品种雏鸭的致病性差异

胰腺型 DHAV-1 MPZJ1206 株和经典 DHAV-1 FJ1007 株以相同感染量分别经腿部肌注途径接种 7 日龄的雏番鸭、雏半番鸭、樱桃谷雏鸭和雏麻鸭, 后连续观察 14 d, 观察并统计死亡。从表 2 可知, 相对于经典 DHAV-1 而言, 雏番鸭和雏半番

鸭对胰腺型 DHAV-1 更加易感, 但樱桃谷雏鸭明显表现出对胰腺型 DHAV-1 的感染惰性, 致死率仅 10%, 远低于经典 DHAV-1 60% 的致死率。

表2 胰腺型和经典 DHAV-1 对的不同品种雏鸭的致病性结果

Table 2 Pathogenicity of pancreatitis-type and classical DHAV-1 in different duck species

鸭品种	胰腺型 DHAV-1			经典 DHAV-1		
	感染 鸭数	致死 鸭数	致死率 /%	感染 鸭数	致死 鸭数	致死率 /%
雏番鸭	20	7	35	20	3	15
雏半番鸭	20	5	25	20	2	10
雏麻鸭	20	0	0	20	2	10
樱桃谷雏鸭	20	2	10	20	12	60

2.4 胰腺型鸭 DHAV-1 对不同日龄雏番鸭的致死性

7、14、21、28、35 d 的健康番鸭通过肌注途径接种 DHAV-1 MPZJ1206 株, 隔离饲养并连续观察 14 d。从表 3 可知, 7 d 雏番鸭对 DHAV-1 最敏感, 感染后出现精神窘困, 食欲下降等症状, 致死率高达 40%; 14 d 番鸭抵抗力明显提高, 仅有 15% 的致死率; 28 d 之后番鸭对 DHAV-1 不敏感 (表 3)。采集病死鸭肝脏、胰腺和脾脏等进行病毒分离, RT-PCR 鉴定为 DHAV-1。

表3 胰腺型 DHAV-1 对不同日龄雏番鸭的致病性结果

Table 3 Pathogenicity of pancreatitis-type DHAV-1 in Muscovy ducks with different ages

日龄(d)	7	14	21	28	35	同日龄 对照鸭
感染番鸭数/羽	20	20	20	20	20	各 5
致死番鸭数/羽	8	3	1	0	0	0
致死率/%	40	15	5	0	0	0

3 讨论

众所周知, 经典型鸭1型甲肝病毒感染临床特

征主要表现为病死鸭表现角弓反张、肝脏肿大、出血和肾脏肿大、出血^[1,3-6]。而从本研究结果发现胰腺型鸭 1 型甲肝病毒致死雏鸭的特征病变为胰腺出血、发黄，未见肝脏病变，这与经典鸭 1 型甲肝病毒感染致死鸭特征病变存在明显差异。

通过以相同感染量的胰腺型鸭 1 型甲肝病毒、经典鸭 1 型甲肝病毒对 7 日龄不同品种雏鸭的致病性试验发现，两者对不同品种雏鸭的致死率存在较大差异，前者对雏番鸭致死率最高为 35%，其次为雏半番鸭，表明雏番鸭、雏半番鸭对其较易感，而樱桃谷雏鸭、雏麻鸭对其不易感；而经典的鸭 1 型甲肝病毒却对樱桃谷雏鸭致死率最高，为 60%，提示樱桃谷雏鸭对其最易感，而雏番鸭、雏半番鸭对其相对较不易感。可见，不同品种雏鸭对胰腺型鸭 1 型甲肝病毒、经典鸭 1 型甲肝病毒的易感性存在明显差异。

通过胰腺型鸭 1 型甲肝病毒对 7~35 d 不同日龄雏番鸭的致病性试验，从结果可见随着雏番鸭日龄的增长，病毒对雏番鸭的致死率明显降低，从 40% 降为 0，表明随着雏番鸭日龄的增长其对胰腺型鸭 1 型甲肝病毒的易感性明显降低。

参考文献：

- [1] SAIF Y M. 禽病学 [M]. 第 12 版. 苏敬良, 高福, 索勋, 译. 北京: 中国农业出版社, 2005 : 431—443.
- [2] 郭玉璞, 蒋金书. 鸭病 [M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1988: 30—31.
- [3] 苏敬良, 黄瑜, 贺荣莲, 等. 新型鸭肝炎病毒的分离及初步鉴定 [J]. 中国兽医科技, 2002, 32 (1): 15—16.
- [4] 黄安国, 蒋玉雯, 白安斌, 等. 新型鸭肝炎病毒的分离与初步鉴定 [J]. 广西畜牧兽医, 2003, 19 (5): 198—199.
- [5] TSENG C H, TSAI H J. Molecular characterization of a new serotype of duck hepatitis virus [J]. Virus Res, 2007, 26 (1—2): 19—31.
- [6] KIM M C, KWON Y K, JOH S J, et al. Recent Korean isolates of duck hepatitis virus reveal the presence of a new geno-and serotype when compared to duck hepatitis virus type 1 type strains [J]. Arch Virol, 2007, 152 (11): 2059—2072.
- [7] GUERIN J L, ALBARIC O, NOUTARY V, et al. A duck hepatitis virus type I is agent of pancreatitis and encephalitis in Muscovy duckling. In: Proceedings of the 147th American Veterinary Medicine Association/50th American Association of Avian Pathologists Conference [C] //Washington DC, USA, 2007, Abs 4585.
- [8] 傅光华, 陈红梅, 黄瑜, 等. 雏番鸭胰腺型鸭 1 型甲肝病毒分离鉴定及 VP1 基因分析 [J]. 福建农业学报, 2012, 27 (9): 43—45.
- [9] 林曦. 家畜病理学 [M]. 中国农业出版社, 2000: 170—172.
- [10] 殷震, 刘景华. 动物病毒学 [M]. 科学出版社, 1997: 279—280.

(责任编辑: 张 梅)