

# 禽安卡拉病研究进展

常超越, 吴同垒\*, 李蕴玉, 张建文, 张召兴, 张志强, 贾青辉, 李佩国\* (河北科技师范学院河北省预防兽医学重点实验室, 河北秦皇岛 066004)

**摘要** 安卡拉病由禽腺病毒 C 群 IV 血清型病毒引起, 临床上患病鸡以心包积液和肝炎为典型病理变化。近些年, 我国不同省份都有病例报道, 发病和死亡情况不尽相同, 对养禽业造成巨大的经济损失。安卡拉病毒有垂直和水平 2 种传播方式, 可感染多种品系鸡群。结合国内外研究, 总结了目前安卡拉病毒的生物学特性、流行病学、诊断技术及其防治措施, 以期为科学研究和临床应用提供重要的参考。

**关键词** 安卡拉病; 腺病毒; 研究进展

中图分类号 S858.31 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)33-0100-03

## Research Progress of Fowl Ankara Disease

CHANG Chao-yue, WU Tong-lei\*, LI Yun-yu, LI Pei-guo\* et al (Hebei Key Laboratory of Preventive Veterinary Medicine, Hebei Normal University of Science & Technology, Qinhuangdao, Hebei 066004)

**Abstract** Fowl Ankara Disease (FAD for short) was caused by Fowl Aviadenvirus (FAV for short) species C, Strain serotype 4. The typical clinical pathological changes of diseased chickens were pericardial effusion and hepatitis. In recent years, the related cases were reported from different provinces in China, and the incidence and death were different. FAD caused huge economic loss to the poultry industry. FAV was able to be transmitted by vertical and horizontal ways, and infected a variety of flocks. Combined with the latest research at home and abroad, the virus' biological characteristics, epidemiology, diagnosis technology and prevention and control methods were summarized to provide the important reference for further research and clinical application.

**Key words** Ankara disease; Fowl Aviadenvirus; Research progress

禽腺病毒(FAV)是腺病毒属的成员, 可引起许多对家禽生产产生重要影响的疾病<sup>[1]</sup>。1987 年在巴基斯坦靠近卡拉奇的安卡拉地区发现一种由腺病毒引起禽心包积液和肝炎为典型病理变化的疾病——心包积水综合征(Hydropericardium syndrome, HPS), 又称安卡拉病、安哥拉病(ADV)、荔枝病、心包积水肝炎综合征(HHS), 经鉴定病原为禽腺病毒 4 型(FAV-4)。该病毒可导致家禽, 尤其是肉鸡心包积水、严重肝炎, 引起较高的死亡率; 同时, 可引起免疫抑制, 造成机体对疫苗的免疫应答失败, 继发新城疫、大肠杆菌病等疫病, 加剧病情发展, 这是导致高死亡率的原因。总之, FAV-4 给养鸡业带来了严重的危害。笔者从 FAV-4 的病原学、安卡拉病的流行病学、检测方法及其防治等方面的研究进展进行综述, 为其科学研究和疾病临床提供重要的参考。

## 1 安卡拉病原学

安卡拉病毒为腺病毒科禽腺病毒属(I 亚群禽腺病毒)禽腺病毒 C 群血清 IV 型(Fowl adenovirus serotype IV, FAV-4)。FAV-4 病毒粒子无囊膜, 呈球形, 20 面体对称结构, 直径 70~90 nm, 线状的双股 DNA 与核蛋白形成直径 60~65 nm 的髓芯, 被包裹于衣壳内。有 12 个五邻体(Penton)、240 个六邻体(Hexon)和纤突蛋白(Fiber1 和 Fiber2)<sup>[2]</sup>, 五邻体和纤突的头节区可与细胞表面的病毒受体结合, 在病毒感染细胞过程中起着非常重要的作用。资料显示, Hexon 蛋白是最主要的衣壳蛋白, 包括位于病毒里面的保守片断和突出在病毒表面的变异环, 含有特异的中和抗原决定基<sup>[3]</sup>, 也是

中和抗体的靶标。

FAV-4 病毒粒子可通过平均孔径为 0.1 μm 的滤膜, 病毒的酸碱耐受度为 pH 3~10。与其他腺病毒相比, FAV-4 可耐受 60℃ 30 min 或 50℃ 1 h, 但 60℃ 1 h 或 80℃ 10 min 或 100℃ 5 min 可迅速灭活。另外, 5% 氯仿或 10% 乙醚可破坏病毒, 使其失去感染性<sup>[4]</sup>。

## 2 流行病学

1987 年安卡拉病在巴基斯坦安卡拉地区首次被发现并命名, 在短短 1 年内, 该病迅速传播到巴基斯坦地区的多数肉仔鸡群。1989 年墨西哥的 Queretaro 州暴发该病, 其他 5 个州的肉鸡饲养区于 1990 年广泛发生该病。1994 年, 印度德里地区发生该病, 随后智利、伊拉克和秘鲁也出现该病。近几年, 我国各省市相继报道了部分养殖场的死亡及发病情况, 常英<sup>[5]</sup>报道了辽宁省北镇市曹屯牧业海兰褐商品蛋鸡 3 万只, 其中, 55 日龄海兰褐商品蛋鸡 15000 只, 感染安卡拉病毒, 死亡 6500 只, 死亡率为 43.3%; 于可响等<sup>[6]</sup>报道山东部分地区不同养殖场中, 从病死的 10~30 日龄的肉鸡、30~80 日龄的蛋鸡、20~60 日龄的麻鸡的肝脏、脾脏和法氏囊等病料组织中分离到 10 株血清 4 型腺病毒, 对 SPF 鸡均有很强的致病性; 陈珍等<sup>[7]</sup>报道从福建省某鸡场死亡的 22 日龄的肉鸡体内分离到腺病毒 4 型, 死亡率为 28.3%。此外, 吉林、河北、山东、江苏、安徽、海南等地均有安卡拉病流行的相关报道。

FAV-4 有水平传播和垂直传播 2 种方式, 传播能力较强。从感染鸡群的品系来看, 该病多发生于肉鸡, 然而近几年感染宿主扩大到肉种鸡、蛋鸡、麻鸡、白羽肉鸡、三黄鸡、土鸡等品种, 但尚无其他种属感染安卡拉病的报道。该病潜伏期较短, 一般少于 2 d, 3~5 周龄鸡突然死亡, 死亡率高达 80%<sup>[8]</sup>, 持续 1 周左右, 以后死亡数量开始减少, 病程

**基金项目** 河北省现代农业产业技术体系蛋鸡产业创新团队岗位项目(HBCT2013090203)。

**作者简介** 常超越(1991—), 女, 唐山乐亭人, 硕士研究生, 研究方向: 动物疾病微生物及其防控。\* 通讯作者, 吴同垒, 讲师, 博士, 从事动物疫病防控技术研究; 李佩国, 讲师, 博士, 从事病原微生物与免疫研究。

**收稿日期** 2017-09-21

9 ~ 15 d<sup>[9]</sup>。

一直以来,禽腺病毒被认为是一种继发性地病原,即需要其他因素的协助才可引起发病,比如饲养环境的改变、鸡群有免疫抑制病等。但是,从目前的报道和研究看,FAV-4 可以原发性地感染鸡群并引起大量的死亡,这也是近几年人们重视该病和病原的重要原因<sup>[10]</sup>。

### 3 诊断方法

**3.1 临床诊断** 发病初期首先发生在长势良好的鸡只,发病快,死亡迅速,来不及表现临床症状。剖检病死鸡可见心脏肿大,心肌松弛,心包内有大量淡黄色积液,内含有胶冻样物质,个别鸡的黄色积液可达 10 ~ 15 mL;肺脏淤血、出血和水肿;腺胃与肌胃交界处有出血斑;肝脏肿大、色暗、充血、破裂质脆,且肝脏表面有不同程度的出血或坏死,有的呈火山口状;个别鸡肾脏肿胀苍白,且严重的有尿酸盐沉积;有时可见胸腺和法氏囊萎缩。

**3.2 动物回归试验及病理组织切片** 病毒腹腔接种 1 日龄 SPF 鸡,接种鸡可出现不同程度死亡。袁万哲等<sup>[11]</sup> 利用含有安卡拉病毒的尿囊液接种鸡后,复制出与自然发病相同的临床症状,出现典型的心包积液、肝炎等特征,病理组织切片也符合该病的特征;梁广成等<sup>[12]</sup> 利用肌肉注射方式接种 3 周 SPF 鸡,待鸡发病死亡后,取肝脏切片染色后也发现相同病变。SPF 鸡接种试验是诊断安卡拉病的有效手段,同时证明该病毒可以原发性地引起鸡的死亡。

感染安卡拉病毒死亡鸡只肝脏病理切片染色后,显微镜观察到许多灶形、凝固性坏死区,肝索排列紊乱,肝血窦显著增宽,充血出血,肝细胞明显减少,部分肝细胞出现脂肪变性,部分肝细胞核溶解,可见嗜碱性核内包涵体,此为腺病毒的特征性病理变化。另外,心、肺和肾脏中也有一定的组织学病变。

**3.3 病毒分离鉴定** 病毒分离鉴定通常有 2 种方法,即鸡胚分离和细胞分离,病毒分离后上电镜观察。

**3.3.1 鸡胚分离。** 临床剖检和 PCR 鉴定阳性的病死鸡,取肝脏研磨,过滤除菌后,采取绒毛尿囊膜方法接种 6 ~ 9 日龄 SPF 鸡胚,0.1 mL 每胚。37 °C 孵育箱孵化 24 h 后观察鸡胚,剔除死胚,5 d 后将剩余胚胎全部置于 4 °C 过夜。次日收取尿囊液并冻存,同时观察鸡胚可见绒毛尿囊膜呈灰白色云雾状且有不同程度的增厚;鸡胚发育不良,皮肤出现明显的出血点。取部分鸡胚研磨制成悬液,同鸡胚尿囊液一起进行 PCR 鉴定,阳性则证明该病毒从鸡胚内成功复制并分离。

**3.3.2 细胞分离。** 多数禽腺病毒可以在鸡胚中增殖,在鸡胚肾细胞、鸡肾细胞和鸡肝胚细胞上生长<sup>[13]</sup>,周斌等<sup>[14]</sup> 用鸡胚肾细胞培养禽腺病毒江苏分离株,结果感染病毒后表现出很强的聚集性,形成细胞团或成束状,最后脱落,其核内存在大量典型的晶格状排列,大小为 70 ~ 80 nm 的腺病毒颗粒。富强等<sup>[15]</sup> 将禽腺病毒 I 型和腺病毒 III 型使用鸡胚细胞和鸡胚肾细胞培养制备的抗原效价作比较发现两者无明显差异。由此可证明腺病毒可以通过细胞培养分离得到。

将感染安卡拉病毒的鸡胚尿囊液负染后经透射电子显

显微镜下观察病毒形态结构,可见球形、无囊膜的病毒粒子。同时将发病死亡鸡肝制成切片,也可观察到呈 20 面体的病毒颗粒,呈星状分布,具有腺病毒粒子的典型结构。

**3.4 分子生物学方法** FAV-4 是 DNA 病毒,利用 PCR 方法可以简单、快速、敏感的进行诊断,通常取病鸡的肝脏或心包积液,提取基因组后进行 PCR。设计引物选取的基因常常是 *hexon* 基因,全长 2 800 多碱基。袁万哲等<sup>[16]</sup> 根据 *hexon* 基因核苷酸序列,设计引物,取提取的 DNA 扩增后得到 *hexon* 基因的部分片段,测序分析表明与国际参考毒株 FadV-4 ON1 的 *hexon* 基因序列具有较高的同源性。王龙等<sup>[17]</sup> 对吉林株腺病毒扩增出的 *hexon* 基因进行系统进化树构建,该毒株与 FAV-4 处于同一分支。陈珍等<sup>[7]</sup> 从福建一批 22 日龄肉鸡的组织中提取核酸并扩增出与印度分离株核苷酸同源性高达 99.4% 的 *hexon* 基因片段。研究表明,PCR 方法敏感性高、快速,但需要相关仪器,只适用于实验室检查,而不能广泛应用于临床。

### 3.5 血清学技术

**3.5.1 免疫荧光法。** 实时荧光定量 PCR 技术可对待检样品实现定量检测。国内外运用该技术检测分型禽腺病毒已较普遍。文艳玲等<sup>[18]</sup> 根据 6 邻体基因的保守序列设计引物,建立了检测 I 群禽腺病毒荧光定量 PCR 检测方法,结果显示,该方法可检测到每个反应相当于  $1 \times 10^2$  个拷贝的标准品 DNA,不与非 I 群禽腺病毒发生交叉反应,并且用同样的方法检测 3 份 I 群禽腺病毒细胞培养物,结果均为阳性,检测的病毒含量为  $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^8$  拷贝/ $\mu$ L。此方法特异、定量、重复性好,可以用于临床检测,但其过程繁琐,需要一定的操作技术。

**3.5.2 琼脂扩散法。** 抗原和抗体可在琼脂凝胶中扩散,并由近及远形成浓度梯度,当抗原、抗体的特异性互相对应时,便可相互结合形成抗原-抗体复合物,分子量相应增加,颗粒增大,故在琼脂凝胶中不再扩散,在抗原、抗体比例合适的位置形成白色可见的沉淀线,此种沉淀反应称为琼脂扩散法 (AGP)。张中秋等<sup>[19]</sup> 用鸡腺病毒 I 型接种 9 日龄鸡胚尿囊腔,直接采用感染鸡胚尿囊液制备琼扩反应抗原,用该抗原对人工感染鸡腺病毒抗体进行检测。这种方法快速、简便、易于操作,但敏感性较差,检出率不高,但是可以通过检测多个血清型来提高敏感性。

**3.5.3 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 法。** 标准化的夹心 ELISA 法可用于检测 FAV-4 感染的鸡的各种组织,即肝脏、脾脏、黏液囊、胸腺和肾脏中的禽腺病毒 I 组抗原-心包积水综合征 (IBH-HPS)。陈天鹭<sup>[20]</sup> 用纯化的 Fiber2 重组蛋白作为包被抗原,建立了检测 FAV-4 抗体的间接 ELISA 方法。与 AGP 法测试相比,该测定法更敏感,并且更具体<sup>[21]</sup>,操作简便,特异性好,敏感性强,无需复杂的温度和条件设定,是一种可以广泛推广应用的检测技术。

## 4 防治

目前,该病并无很好的治疗药物,鸡安卡拉病所导致的心包积液、肺水肿、肝炎的症状,易采用支持疗法,通过保肝

通肾、止血、增强抵抗力、清热解毒及加强消毒等方法,可以很好地控制疫病发展。从目前的文献报道,总结出鸡安卡拉病的常用防治方法。

**4.1 紧急免疫接种** 把该场病鸡的肝组织匀浆经超声处理后用福尔马林灭活制成灭活苗,进行紧急接种能有效降低死亡率。此方法在巴基斯坦早已广泛应用,并取得显著效果<sup>[22]</sup>;或者紧急接种卵黄抗体(采集康复鸡群的鸡蛋制备)治疗,也可以取得理想的效果<sup>[23]</sup>。

**4.2 中药防治** 从中医上讲,该病肝毒郁结不能疏泄,肾虚无力,饮溢心包,心阳陷水。治疗原则应为:泄肝毒,温肾阳,护心脉,利水道。陈秋鹏等<sup>[24]</sup>研制出以莪术、栀子、杜仲、丹参、芍药、牵牛子等为主要成分的“加味扶正散”,在安卡拉病的治疗中取得了良好的疗效,可供参考。

**4.3 规范免疫程序,提高机体抵抗力** 我国大多数鸡场仍未将安卡拉病纳入免疫程序,继而鸡体缺乏免疫保护,导致疫情蔓延扩散较快,因此,制定科学免疫程序,做好种鸡场腺病毒的净化及防控工作是目前预防该病的主要措施,但也要慎重选择使用 SPF 蛋制作的疫苗<sup>[25]</sup>。近年来,疫苗污染受到广泛关注,安卡拉病毒可垂直传播,所以可通过感染腺病毒的疫苗把病毒传染给健康鸡,从而激活鸡身上潜在的腺病毒,促使其发病。为确保疫苗质量,要加强对疫苗的检测力度,防止因接种污染疫苗而造成的外源性感染。因此,养殖户在购买疫苗时,一定要选择正规厂家的优质疫苗。另外,要从严格净化腺病毒的种鸡场购进种蛋或鸡苗,同时加强对免疫抑制性疾病,如 IBD、MD、ND、AI(包括 H5、H9)、IB 等的免疫,确保免疫效果,旨在提高母源抗体保护性。在免疫过程中严格注意消毒,避免交叉污染。

**4.4 加强饲养管理,减少应激** 安卡拉病病毒可通过污染饲料、饮水及其他用具进行水平传播,加强鸡舍内外及周围环境的消毒,注重生物安全。定期添加提高免疫力的抗病毒药物,如黄芪多糖、板蓝根类,以有效抵抗该病感染和防止继发其他细菌性感染,切忌添加增加肝肾代谢负担的抗生素类。由于心包积液导致氧气供应不足是造成死亡的直接原因,因此降低饲养密度、增加负压通风、提供足够的氧气可以有效降低死亡率。实践证明,早期控制得当,可有效遏制疫病蔓延,虽不能消灭该病,但可将总死亡率控制在 5% 以内,极大降低经济损失<sup>[26]</sup>。

## 6 展望

FAV-4 是引起禽安卡拉病,即心包积液-肝炎综合征(Hydropericardium-hepatitis syndrome, HHS)的主要病原。病毒可在鸡胚肾细胞和肝细胞内增殖,并产生鸡胚和细胞病变,通过感染试验能够进行病毒分离。安卡拉病毒可经胚胎垂直传播,也可随饮水、粪便、空气流通等水平传播,传播速度快,发病急,死亡率高。随着养殖业的发展壮大,安卡拉逐渐在我国蔓延,给养鸡业造成了严重的经济损失。目前,安卡拉病的诊断技术仍停留在 PCR、荧光抗体检测、琼脂扩散实验等方法,敏感性高,但耗时长,且市面上并无有效的治疗药物及疫苗等生物制剂,只能依靠自制灭活苗或卵黄抗体进

行紧急治疗,但制作条件非一般养殖户所能达到。此方法既不能从根本上治愈此病,也不能广泛应用于养殖业,且存在散毒、免疫应激等危害。因此,为了减轻安卡拉病给家禽生产带来的经济损失,建立实用、低成本、高效的 ELISA 检测方法,研制胶体金试纸条等快速检测方法,以及疫苗的开发和抗病毒药物的研制成为今后相关研究的重要方向。

## 参考文献

- [1] JOUBERT H W, AITCHISON H, MAARTENS L H, et al. Molecular differentiation and pathogenicity of Aviaadenoviruses isolated during an outbreak of inclusion body hepatitis in South Africa[J]. Journal of the South African veterinary association, 2014, 85(1): 1058.
- [2] SAIF Y M, 苏敬良, 高福, 等. 禽病学[M]. 11 版. 北京: 中国农业出版社, 2005.
- [3] 杨新忠. 腺病毒的检测与鉴别技术简介[J]. 山东畜牧兽医, 2014(12): 27-30.
- [4] AFZAL M, MUNEE R, STEIN G. Studies on the aetiology of hydropericardium syndrome (Angara disease) in broilers[J]. Vet Rec, 1991, 128(25): 591-593.
- [5] 常英. 浅谈安卡拉病毒[J]. 畜牧兽医科技信息, 2016(5): 105.
- [6] 于可响, 黄兵, 凌红丽, 等. 山东省血清 4 型禽腺病毒的分离鉴定[J]. 中国动物传染病学报, 2016(5): 1-5.
- [7] 陈珍, 施少华, 黄瑜, 等. 禽腺病毒 4 型的分离与初步鉴定[J]. 福建农业学报, 2016, 31(10): 1020-1023.
- [8] ASTHANA M, CHANDRA R, KUMAR R. Hydropericardium syndrome: Current state and future developments[J]. Archives of virology, 2013, 158(5): 921-931.
- [9] FADLY A M, WINTERFIELD R W. Isolation and some characteristics of an agent associated with inclusion body hepatitis, hemorrhages, and aplastic anemia in chickens[J]. Avian Dis, 1973, 17(1): 182-193.
- [10] 刘典佐. 心包积液-肝炎综合征的防治[J]. 中国动物保健, 2015(10): 49-50.
- [11] 袁万哲, 李玉保, 王建昌, 等. 鸡心包积液-肝炎综合征的初步研究[J]. 中国兽医科学, 2016(2): 157-160.
- [12] 梁广成, 高巍, 谢泉, 等. 一株高致病性血清 4 型禽腺病毒的分离与鉴定[J]. 中国家禽, 2016, 38(19): 25-28.
- [13] 智海东, 王云峰, 解生亮, 等. 禽腺病毒感染及其诊断[J]. 畜牧兽医科技信息, 2010(6): 1.
- [14] 周斌, 郑其升, 刘华雷, 等. 禽腺病毒江苏分离株的细胞培养特性[J]. 南京农业大学学报, 2005, 28(2): 140-143.
- [15] 富强, 翟新验, 卢胜明. 3Rs 原则的应用实例: 用鸡胚肝细胞替代鸡肾细胞培养禽腺病毒[J]. 实验动物科学与管理, 2003, 20(3): 54-56.
- [16] 袁万哲, 张姗, 陈萍, 等. 禽腺病毒 4 型 PCR 检测方法的建立与应用[J]. 中国动物检疫, 2016(5): 72-74.
- [17] 王龙, 刘学辉, 刘畅. 一例肉鸡安卡拉病毒病的诊治[J]. 家禽科学, 2016(8): 33-34.
- [18] 文艳玲, 谢志勋, 王莹, 等. 群禽腺病毒 SYBR Green 荧光 PCR 检测方法的建立[J]. 中国兽医科学, 2008, 38(9): 753-756.
- [19] 张中秋, 肖戎芳, 李启红. 禽腺病毒琼扩抗原制备方法的研究[J]. 中国畜禽传染病, 1988(3): 53-54.
- [20] 陈天馨. 血清 4 型禽腺病毒 GX2013 毒株的生物学特性鉴定和检测方法的建立[D]. 扬州: 扬州大学, 2016.
- [21] BALAMURUGAN V, KATARI J M, TIWARI A K, et al. Development of sandwich elisa for the detection of fowl adenovirus 4 associated with hydropericardium syndrome in experimentally infected chicken[J]. Acta Virol, 2001, 45(2): 95-100.
- [22] ROY P, KOTEE SWARAN A, MANICKAM R. Efficacy of an inactivated oil emulsion vaccine against hydropericardium syndrome in broilers[J]. Vet Rec, 1999, 145(16): 458-459.
- [23] 单玉平, 李锋, 辛崇兴, 等. 浅谈蛋鸡安卡拉病的综合防控[J]. 畜牧兽医科技信息, 2016(7): 111-112.
- [24] 陈秋鹏, 何海平, 陈志跃. 中兽医辨证治疗鸡“安卡拉病”[J]. 中兽医学杂志, 2015(6): 52-53.
- [25] 王玉锋, 雷亚非. 禽安卡拉病毒病的诊断与防治[J]. 养殖与饲料, 2016(9): 85-86.
- [26] 李伟娟, 王丹. 林间放养麻鸡安卡拉病及大肠杆菌病混合感染的诊治[J]. 现代畜牧科技, 2016(8): 4-5.