

DOI:CNKI:61-1390/S.20110810.1011.003

网络出版时间:2011-08-10 10:11:00

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20110810.1011.003.html>

# 肉鸡群中呼吸道病原体共感染情况调查

孙 静,刁有祥,刘 霞,孙 杰,李建侠

(山东农业大学 动物科技学院,山东 泰安 271018)

**[摘 要]** **【目的】**对肉鸡群中常见的呼吸道病原体共感染情况进行调查,为肉鸡呼吸道疾病的防控提供流行病学资料。**【方法】**从山东省济南、潍坊、青岛等地区采集 421 份有呼吸道症状的病(死)鸡肺脏及 160 份临床健康肉鸡的肺脏作为供检样品,用特异性核酸探针技术,对其进行 H9N2 亚型禽流感病毒(H9N2 AIV)、新城疫病毒(NDV)、传染性支气管炎病毒(IBV)、禽偏肺病毒(aMPV)、禽败血性支原体(MG)、鼻气管鸟杆菌(ORT)和大肠杆菌(*E. coli*)共感染情况的调查。**【结果】**421 份发病肉鸡肺脏中,H9N2 AIV、NDV、IBV、aMPV、MG、ORT 和 *E. coli* 的检出率分别为 53.68%,68.41%,33.49%,54.87%,57.25%,9.02%和 41.17%;且存在严重的共感染现象,共感染率高达 90.26%,单一感染和阴性个体仅占 7.36%和 2.38%;发病肉鸡群中,7 种呼吸道病原体 2 重、3 重、4 重、5 重、6 重、7 重感染的检出率分别达 19.48%,26.12%,27.32%,11.88%,4.51%和 0.95%,以 2 重、3 重和 4 重感染较为常见。而临床健康肉鸡肺脏中,H9N2 AIV、NDV、IBV、aMPV、MG、ORT 和 *E. coli* 的检出率分别为 12.50%,23.13%,5.63%,36.87%,21.88%,0%和 16.88%;呈阴性和单一感染的样品分别占 25.00%和 43.75%;多重感染样品仅占 31.25%,且主要为 2 重感染。7 种病原体中,H9N2 AIV、NDV、MG 和 *E. coli* 在肉鸡呼吸道疾病的共感染中起重要作用。**【结论】**发病肉鸡和临床健康肉鸡均存在混合感染,但以发病鸡群更为严重和复杂;呼吸道病原体多重感染是导致肉鸡呼吸道疾病日益严重的重要原因。

**[关键词]** 肉鸡;呼吸道病原体;共感染;斑点杂交

**[中图分类号]** S858.315.3

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2011)09-0029-06

## Epidemic investigation of the co-infection of avian respiratory pathogens from broiler in lung

SUN Jing,DIAO You-xiang,LIU Xia,SUN Jie,LI Jian-xia

(College of Animal Science and Technology,Shandong Agricultural University,Tai'an,Shandong 271018,China)

**Abstract:** **【Objective】**Epidemic Investigation of the Co-infection of avian respiratory pathogens from broiler in lung was performed.**【Method】**421 lung samples of broilers with respiratory symptoms and 160 lung samples of clinically healthy broilers were collected from broiler farms at Jinan,Weifang,and Qingdao in Shandong Province,and then dot blot hybridization was used to detect Avian influenza virus(AIV),Newcastle disease virus(NDV),Infectious bronchitis virus(IBV),Avian pneumovirus viruses(aMPV),*Escherichia coli*(*E. coli*),*Ornithobacterium rhinotracheale*(ORT),and *Mycoplasma gallisepticum*(MG).**【Result】**The results show that the detection rates of the seven pathogens of the 421 lung samples of broilers with respiratory symptoms are 53.68%(H9N2 AIV),68.41%(NDV),33.49%(IBV),54.87%(aMPV),57.25%(MG),9.02%(ORT),41.17%(*E. coli*) and the co-infection is very serious. The ratio of co-infection is up to 90.26% and single infection and negative is 7.36% and 2.38% respectively. The detec-

\* [收稿日期] 2011-03-20

[基金项目] 山东省科技发展计划项目(2010GNC10912)

[作者简介] 孙 静(1986—),女,山东潍坊人,在读硕士,主要从事禽病学研究。E-mail:lqsunjing2004@163.com

[通信作者] 刁有祥(1962—),男,山东胶州人,教授,博士,博士生导师,主要从事禽病学研究。E-mail:yxdiao@163.com

tion rate of dual infection, triple infection, quadruple infection, quintuple infection, sextuple infection and sevenfold infection is 19.48%, 26.12%, 27.32%, 11.88%, 4.51%, and 0.95% respectively, and among which the detection rate of the dual infection, triple infection, quadruple infection is higher than the others. The results show that the detection rate of the seven pathogens of 160 lung samples of clinically healthy broilers is 12.50% (H9N2 AIV), 23.13% (NDV), 5.63% (IBV), 36.87% (aMPV), 21.88% (MG), 0% (ORT), 16.88% (*E. coli*) and single infection and negative are 43.75% and 25.00% respectively, the ratio of co-infection is only 31.25%. In the seven pathogens, H9N2 AIV, NDV, MG, and *E. coli* play an important role in the incidence of respiratory disease in broiler. 【Conclusion】 The co-infection of the respiratory pathogen of broiler is universal, but the co-infection is more serious in broilers with respiratory symptoms. The co-infection of the respiratory pathogen of broiler is one of the most important epidemiologic factors of the rising incidence in respiratory disease.

**Key words:** broiler; respiratory pathogen; co-infection; dot blot hybridization

呼吸道疾病因会导致高死亡率或发病鸡生长迟缓、胴体降级甚至废弃等,而成为危害肉鸡养殖业的重要疾病<sup>[1-2]</sup>,复杂的病原学因素是肉鸡呼吸道疾病难以防治的重要原因<sup>[3-5]</sup>,肉鸡常见的呼吸道病原体包括:H9N2 亚型禽流感病毒(Avian influenza virus, H9N2 AIV)、新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV)、传染性支气管炎病毒(Infectious bronchitis virus, IBV)、禽偏肺病毒(Avian Pneumovirus viruses, aMPV)、大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)、鼻气管鸟杆菌(*Ornithobacterium rhinotracheale*, ORT)和禽败血性支原体(*Mycoplasma gallisepticum*, MG)。这些病原体既可以单独感染,也可以与其他 1 个或多个病原体混合感染,使商品肉鸡发病;而当 2 种或 2 种以上的病原体同时或先后感染时,可产生协同致病作用,其症状也比单一病原体所致疾病更为严重<sup>[6]</sup>。高璐等<sup>[7]</sup>研究表明,H9N2 AIV 与 *E. coli* 混合感染时,肉鸡的临床症状和死亡率明显高于两者单独感染。近几年,鸡群中呼吸道病原体多重感染的现象已经相当普遍,由此在很多鸡群中所造成的损失占到全部疾病所造成损失的一半以上,给养鸡业带来了严重威胁。为了解肉鸡肺脏中呼吸道病原体的共感染情况,本研究以从山东省部分地区采集的 421 份有呼吸道症状的病(死)肉鸡肺脏和 160 份临床健康肉鸡肺脏为供检样品,利用核酸探针技术,进行 H9N2 AIV、NDV、IBV、aMPV、MG、ORT 和 *E. coli* 多重感染情况的调查,以期对肉鸡呼吸道疾病的防控提供流行病学资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 供检样品

421 份有呼吸道症状病(死)肉鸡的肺脏样品和

160 份临床健康肉鸡肺脏样品,采自山东省的青岛、济南、潍坊等市。

### 1.2 试剂

硝酸纤维素膜(NC 膜),购自美国 Pall 公司;DIG Nucleic Acid Detection Kit,购自 Roche 生物工程公司;DNA Marker,购自大连宝生物工程有限公司;Tris 碱、SDS、EDTA,均购自美国 Sigma 公司;其他试剂均为国产分析纯。

### 1.3 探针

试验所用地高辛标记核酸探针由山东农业大学禽病学研究室提供。其中,H9N2 AIV 探针标记的为山东 2009 年分离株 HA 基因的特异性片段 PCR 产物,NDV 探针标记的为 NDV F48E9 株 F 基因的特异性片段 PCR 产物,IBV 探针标记的为 M41 株 M 基因的特异性片段 PCR 产物,aMPV 探针标记的为 B 型 F 基因的特异性片段 PCR 产物,ORT 探针标记的为 SD01 株(山东农业大学预防兽医系禽病学研究室分离并保存)16S RNA 基因的特异性片段 PCR 产物,MG 探针标记的为 16S RNA 基因的特异性片段 PCR 产物,*E. coli* 探针标记的为 16S RDNA 基因的特异性片段 PCR 产物。上述核酸探针均可最低检测到 1 pg 特异性核酸。

### 1.4 肉鸡肺脏总核酸的提取及定量

1.4.1 RNA 的提取 根据文献[8]的方法,向 5 mL EP 管中加入 1 mL Trizol,置于碎冰中预冷;取约 0.1 g 肺脏组织,置于 Trizol 中,冰浴匀浆 30 s 后插到冰上,待澄清后转移到预冷的 1.5 mL EP 管中,振荡,静置 5 min;加入 200  $\mu$ L 氯仿,振荡 15 s,室温放置 10 min;4  $^{\circ}$ C 下 12 000 g 离心 15 min,将上清转移至另一个 EP 管中;加入 500~600  $\mu$ L 异丙醇,上下颠倒混匀,室温静置 10 min;4  $^{\circ}$ C 下 12 000

g 离心 10 min,弃上清;加入 1 mL 体积分数 75%乙醇,洗涤 RNA 沉淀;4 ℃下 7 500 g 离心 5 min,弃乙醇,吹干,用 20 μL DEPC 水重悬,置-80 ℃冻存备用。

1.4.2 DNA 的提取 根据文献[8]的方法,取肺脏组织 0.1 g,经液氮研磨后放入 1.5 mL 离心管中,加入 0.5 mL DNA 抽提缓冲液(100 mmol/L NaCl, 10 mmol/L Tris-Cl(pH8.0),0.25 mmol/L EDTA (pH8.0),质量分数 0.5% SDS)和终质量浓度为 100 μg/mL 的蛋白酶 K,52 ℃消化过夜,加入等体积的苯酚/氯仿/异戊醇混合溶液[V(苯酚):V(氯仿):V(异戊醇)=25:24:1]抽提 1 次;将上层水相转移到另一个 1.5 mL 离心管中,加入 1/10 体积的醋酸钠(3 mol/L,pH5.5)和 2 倍体积的无水乙醇,混匀后于-20 ℃冷却 2 h 以上;再 12 000 g 离心 10 min 以沉淀 DNA,经体积分数 70%乙醇漂洗后,于室温下自然干燥;最后溶解于 20 μL 缓冲溶液(10 mmol/L Tris-Cl(pH8.0),1 mmol/L EDTA (pH 8.0))中,于-20 ℃冻存备用。

1.4.3 样品核酸的定量 参照文献[8]所介绍的方法,在 8 g/L 琼脂糖凝胶板中加入适量溴化乙锭,用 60 ng/μL 的 DL2000 Marker 倍比稀释作对照。取各样品的核酸(DNA 或 RNA)1 μL 点到板上,待吸收后,用凝胶成像系统估计样品中的核酸含量,以确定所提样品的核酸含量大于 0.2 μg/μL。

1.5 斑点杂交

1.5.1 点 样 将 7 张 6.3 cm×6.3 cm 的硝酸纤维素膜(NC 膜)划格(0.7 cm×0.7 cm),并作好标记。在 7 张膜上,依次点 2 μL 含有 H9N2 AIV、NDV、IBV、aMPV、ORT、MG 和 *E. coli* 核酸的提取物作阳性对照,同时在 7 张膜上各点 2 μL SPF 鸡相

应组织的 RNA 或 DNA 作阴性对照。将点样的 NC 膜在变性液饱和的双层滤纸上变性 10 min,再在中和液饱和的双层滤纸上中和 5 min,然后于室温下自然干燥,最后在 80 ℃下烘烤 2 h 以固定核酸。

1.5.2 杂交反应 将 NC 膜放入预杂交液(5×SSC,质量分数 0.2% SDS,质量分数 2% Blocking Reagent)中,于 42 ℃反应 1 h,期间不断摇动 NC 膜。将探针于沸水中变性 10 min,取出后立即置冰冻的无水乙醇中冷却 5 min。将变性的探针倒入预杂交液中,充分混匀即成杂交液,使 NC 膜在其中于 42 ℃杂交过夜;之后将 NC 膜放入洗液 I (2×SSC,质量分数 0.1% SDS)中室温下洗涤 2 次,每次 15 min;再于洗液 II (0.5×SSC,质量分数 0.1% SDS)中 68 ℃下洗涤 2 次,每次 15 min;在 12 mL washing buffer 中稍微漂洗 1~5 min,再于 12 mL 1×Blocking 溶液中封闭 30 min;之后将 NC 膜与 12 mL Digoxiaenin 抗体反应 30 min;再用 washing buffer 洗膜 2 次,每次 15 min;将 NC 膜在适量检测缓冲液中平衡 2~5 min,在适当大小的容器中加入 10 mL 缓冲液 III 和 100 μL 显色底物(NBT 和 BCIP 混合物),将 NC 膜放入其中显色 30 min,加入 TE Buffer(pH8.0)终止显色反应。

2 结果与分析

2.1 肉鸡肺脏中 7 种呼吸道病原体的斑点杂交

由表 1 肉鸡肺脏样品中 7 种病原体的检测结果可以看出,421 份发病肉鸡肺脏样品中,NDV 的检出率最高,为 68.41%,ORT 的检出率最低,为 9.02%;160 份临床健康肉鸡肺脏样品中,除 aMPV 检出率较高(36.87%)外,其余病原体的检出率均较低。图 1 为部分样品的斑点杂交显色结果。

| 表 1 肉鸡肺脏中 7 种呼吸道病原体的斑点杂交结果                                                                              |                                            |                         |                                   |                         |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
| Table 1 Detection results of seven respiratory pathogens from broiler in lung by dot blot hybridization |                                            |                         |                                   |                         |
| 病原体<br>Pathogen                                                                                         | 感染鸡<br>Broilers with respiratory infection |                         | 健康鸡<br>Clinically healthy broiler |                         |
|                                                                                                         | 检出数<br>No.                                 | 检出率/%<br>Detection rate | 检出数<br>No.                        | 检出率/%<br>Detection rate |
| H9N2 AIV                                                                                                | 226                                        | 53.68                   | 20                                | 12.50                   |
| NDV                                                                                                     | 288                                        | 68.41                   | 37                                | 23.13                   |
| IBV                                                                                                     | 141                                        | 33.49                   | 9                                 | 5.63                    |
| aMPV                                                                                                    | 231                                        | 54.87                   | 59                                | 36.87                   |
| MG                                                                                                      | 241                                        | 57.25                   | 35                                | 21.88                   |
| ORT                                                                                                     | 38                                         | 9.02                    | 0                                 | 0                       |
| <i>E. coli</i>                                                                                          | 207                                        | 41.17                   | 27                                | 16.88                   |

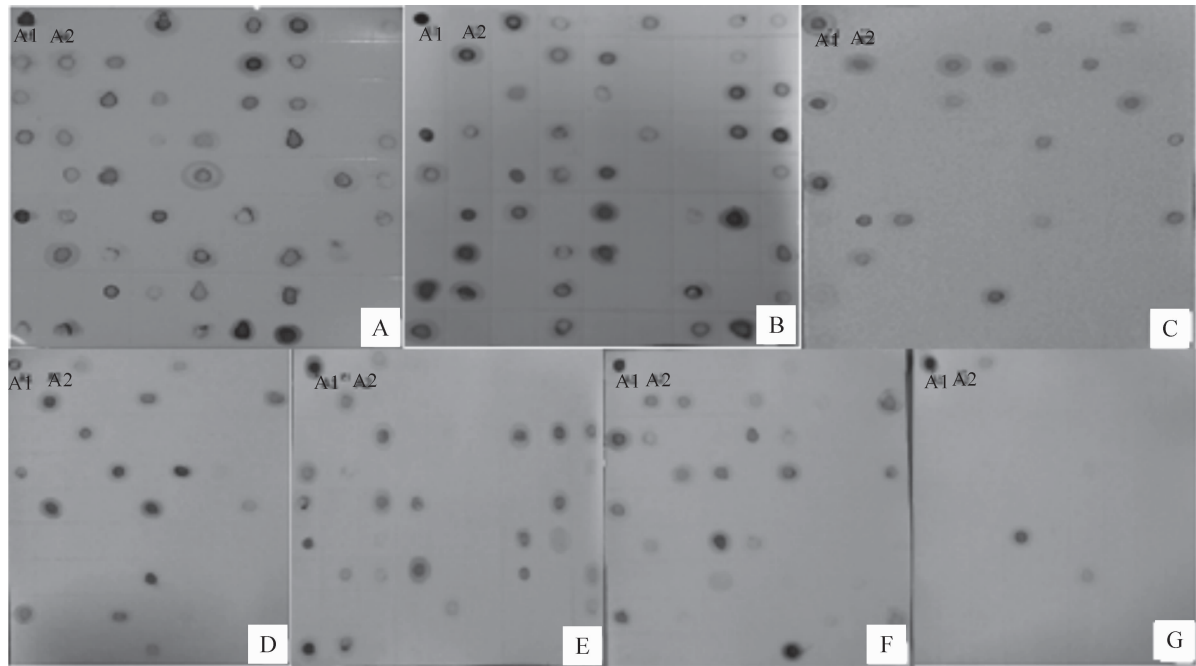


图 1 肉鸡肺脏中 7 种呼吸道病原体斑点杂交的部分结果

A—G. 依次为 MG,NDV,IBV,*E. coli*,H9N2 AIV,aMPV 和 ORT;A1. 阳性对照;A2. SPF 鸡组织作阴性对照

Fig. 1 Detection results of seven respiratory pathogens of some samples by dot blot hybridization

A—G. MG,NDV,IBV,*E. coli*,H9N2 AIV,aMPV and ORT, respectively;A1. Positive control;A2. Negative control

2.2 肉鸡肺脏中 7 种病原体的共感染情况

从表 2 可以看出,421 份发病肉鸡肺脏组织中,7 种病原体均未检出的样品比例为 2.38%;单一感染的样品比例为 7.36%;混合感染的阳性病料总计 380 份,阳性率高达 90.26%,其中 4 重感染、3 重感染所占比例较高,分别为 27.32%和 26.12%,说明

呼吸道病原体的协同致病作用主要是以 3 种或 4 种病原体的相互作用为主。160 份临床健康肉鸡肺脏样品中,7 种病原体均未检出的样品有 40 份,所占比例为 25.00%;单一感染的样品为 70 份,占样品总数的 43.75%;混合感染阳性率仅为 31.25%,且主要是 2 重感染(21.25%)。

表 2 肉鸡肺脏中 7 种呼吸道病原体的多重感染结果

Table 2 Results of the detection rate of co-infection of the seven pathogens from broiler in lung

| 类型<br>Type                | 感染鸡<br>Broiler with respiratory infection |                         | 健康鸡<br>Clinically healthy broiler |                         |
|---------------------------|-------------------------------------------|-------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
|                           | 检出数<br>No.                                | 检出率/%<br>Detection rate | 检出数<br>No.                        | 检出率/%<br>Detection rate |
| 阴性 Negative infection     | 10                                        | 2.38                    | 40                                | 25.00                   |
| 1 重感染 Single infection    | 31                                        | 7.36                    | 70                                | 43.75                   |
| 2 重感染 Dual infection      | 82                                        | 19.48                   | 34                                | 21.25                   |
| 3 重感染 Triple infection    | 110                                       | 26.12                   | 15                                | 9.38                    |
| 4 重感染 Quadruple infection | 115                                       | 27.32                   | 1                                 | 0.62                    |
| 5 重感染 Quintuple infection | 50                                        | 11.88                   | 0                                 | 0                       |
| 6 重感染 Sextuple infection  | 19                                        | 4.51                    | 0                                 | 0                       |
| 7 重感染 Sevenfold infection | 4                                         | 0.95                    | 0                                 | 0                       |
| 总混合感染 Total co-infection  | 380                                       | 90.26                   | 50                                | 31.25                   |

不同病原体共感染的检测结果见表 3。从表 3 可以看出,2 重感染中,以 H9N2 AIV + NDV、H9N2 AIV + *E. coli* 和 NDV + MG 的组合较为常见;3 重感染中,以 H9N2 AIV、NDV 与 *E. coli* 或 MG 及 aMPV 与 NDV 的组合较为常见;4 重感染

中,以 H9N2 AIV、NDV、MG 与 aMPV、*E. coli* 5 种病原体的组合较为常见;5 重、6 重感染主要是除 ORT 之外的 6 种病原体之间的组合。由此可以看出,H9N2 AIV、NDV、*E. coli* 和 MG 对肉鸡呼吸道疾病的发生具有重要影响。

表 3 肉鸡肺脏中不同病原体共感染的部分检测结果

Table 3 Results of the detection of part of co-infection with different pathogens from broiler in lung

| 混合感染组合<br>Co-infection       | 检出率/%<br>Detection rate | 混合感染组合<br>Co-infection                   | 检出率/%<br>Detection rate |
|------------------------------|-------------------------|------------------------------------------|-------------------------|
| H9N2 AIV+NDV                 | 4. 47                   | H9N2 AIV+NDV+ <i>E. coli</i> +aMPV       | 4. 47                   |
| H9N2 AIV+ <i>E. coli</i>     | 3. 95                   | H9N2 AIV+NDV+MG+ <i>E. coli</i>          | 3. 95                   |
| NDV+MG                       | 3. 16                   | H9N2 AIV+NDV+IBV+aMPV                    | 3. 42                   |
| H9N2 AIV+NDV+ <i>E. coli</i> | 4. 44                   | H9N2 AIV+NDV+MG+aMPV                     | 3. 68                   |
| NDV+MG+aMPV                  | 2. 89                   | NDV+ MG+IBV+aMPV                         | 2. 89                   |
| NDV+MG+ <i>E. coli</i>       | 2. 63                   | NDV+ MG+aMPV+ <i>E. coli</i>             | 2. 63                   |
| NDV+IBV+aMPV                 | 2. 63                   | H9N2 AIV+NDV+aMPV+MG+ <i>E. coli</i>     | 4. 21                   |
| H9N2 AIV+NDV+MG              | 2. 37                   | H9N2 AIV+NDV+IBV+aMPV+ <i>E. coli</i>    | 3. 16                   |
| IBV+aMPV+MG                  | 2. 11                   | H9N2 AIV+NDV+IBV+aMPV+MG+ <i>E. coli</i> | 3. 42                   |

3 讨 论

近几年,关于鸡群呼吸道病原体混合感染的报道逐渐增多。Roussan 等<sup>[9]</sup>研究表明,在肉鸡呼吸道发病现场,存在 NDV、IBV、H9N2 AIV 和 aMPV 之间的混合感染。Ahmed 等<sup>[10]</sup>报道,在肉鸡呼吸道病例中检测到 NDV 和 AIV 的混合感染。本研究对采自山东省不同地区的具有呼吸道症状的病死肉鸡和临床健康肉鸡的肺脏样品,进行了 H9N2 AIV、NDV、IBV、aMPV、MG、ORT 和 *E. coli* 共感染情况的调查,结果显示,临床健康肉鸡和发病肉鸡虽然都存在呼吸道病原体的共感染,但发病鸡群的共感染情况更为严重和复杂;在发病肉鸡肺脏样品中,7 种呼吸道病原体共感染的总阳性率高达 90. 26%,且主要为 3 重、4 重感染;而临床健康肉鸡肺脏样品中,7 种呼吸道病原体共感染的总比例仅为 31. 25%,且主要为 2 重感染。由此可见,不同呼吸道病原体共感染是目前肉鸡呼吸道疾病越来越复杂的重要流行病学因素之一。

在呼吸道发病肉鸡群中,2 重、3 重、4 重和 5 重感染的检出率分别为 19. 48%,26. 12%,27. 32%和 11. 88%,表明严重的呼吸道疾病多为 2 种或 2 种以上呼吸道病原体共感染。共感染如此严重和普遍的主要原因,与呼吸道病原体之间协同致病有一定关系。Feng 等<sup>[11]</sup>研究表明,肉鸡感染 H9N2 AIV 后,可致机体对疫苗的应答机能下降,进而使 NDV 和 IBV 免疫失败,从而使鸡群易感染 NDV 或 IBV;高璐等<sup>[7]</sup>研究表明,鸡体在受到 H9N2 AIV 的作用后,气管黏膜层上皮纤毛脱落,肌层和浆膜层可见不同程度的淋巴细胞浸润,鸡的呼吸系统受到损害,使 *E. coli* 对宿主的入侵速度加快。国外学者证实,鸡感染 NDV 后,所产生的气管分泌物可以被 MG 用来进行增殖,而且与 NDV 共感染时,MG 在机体内的定殖时间更长<sup>[12]</sup>;Kleven 等<sup>[13]</sup>证实,发生共感染

时,MG 可以阻抗 ORT 和 *E. coli* 在体内的清除,尤其是在上呼吸道的清除。MG 除继发感染外,还可作为第一病原体,因为其抗原具有多变性,使其易逃避或者抑制机体的免疫应答而建立一个慢性和持续性的感染<sup>[14]</sup>,从而为病毒性或细菌性病原体的入侵创造条件。

彭宜等<sup>[15]</sup>、刘华雷等<sup>[16]</sup>、孙晴等<sup>[17]</sup>的流行病学调查结果显示,我国肉鸡呼吸道疾病的主要病原体是 H9N2 AIV、NDV、*E. coli* 和 MG。本次调查结果显示,无论在发病肉鸡中还是在临床健康肉鸡中,NDV 的检出率均较高,这可能与我国大量使用 NDV 活疫苗有关。高崧等<sup>[18]</sup>研究证实,常规免疫剂量的 NDV、IBV 疫苗株与野毒株一样,在产生免疫应答的同时,会对呼吸道上皮细胞造成一定程度的损害,从而促进其他呼吸道病原体在呼吸道的感染。除 NDV 外,MG 的单一检出率也较高,这可能是因为 MG 能垂直传播。贾丽艳等<sup>[19]</sup>研究表明,部分厂家生产的 NDV 疫苗中带有 MG,也增加了 MG 的感染率。在国内报道较少的 aMPV 在供试发病肉鸡及临床健康肉鸡肺脏样品中均有较高的检出率,虽然单一的 aMPV 感染仅能造成轻微的或者不明显的临床症状,但 aMPV 感染会对呼吸道造成损伤,从而促使 NDV、MG、ORT 或 *E. coli* 在呼吸道定植,最终导致严重的临床症状和高死亡率<sup>[20]</sup>。

本次调查结果显示,临床健康鸡群中也存在呼吸道病原体感染和共感染现象。在受到应激或其他不良刺激因素作用时,鸡体抵抗力下降,其自身所带病原体会大量繁殖,同时还可继发或并发其他病毒和细菌,可能会迅速发展成为死淘率较高的严重呼吸道疾病,对肉鸡养殖业有潜在威胁。因此,对呼吸道疾病应采取综合性的防制措施,要做好种鸡群 MG 的净化工作,以防止其对商品鸡的影响;加强饲养管理,搞好环境卫生,注意通风,严格消毒,降低应激反应,提高机体抵御呼吸道感染的能力;在此基础

上,还要制订科学的免疫程序,积极开展 ND、IB、AI、MG 等疫苗的免疫接种,以控制肉鸡呼吸道疾病的发生,降低因此造成的危害。

## [参考文献]

- [1] Mersha, Tamiru N, Samuel B T. Occurrence of concurrent infectious diseases in broiler chickens is a threat to commercial poultry farms in Central Ethiopia [J]. Trop Anim Health Prod, 2009, 41: 1309-1317.
- [2] 蔡宝祥. 鸡多病因呼吸道病的流行动态 [J]. 中国家禽, 2010, 32(2): 1-7.  
Cai B X. The epidemic dynamics of the multicausal multicausal respiratory disease in chickens [J]. China Poultry, 2010, 32(2): 1-7. (in Chinese)
- [3] Malik, Y S, Patnayak D P, Goyal S M, et al. Detection of three avian respiratory viruses by single-tube multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction assay [J]. Vet Diagn Invest, 2004, 16: 244-248.
- [4] Matthijs M G R, Ariaans M P, Dwars R M, et al. Course of infection and immune responses in the respiratory tract of IBV infected broilers after superinfection with *E. coli* veterinary [J]. Immunology and Immunopathology, 2009, 127: 77-84.
- [5] Vandekerchov D, De Herdt P, Laevens H. Significance of interactions between *Escherichia coli* and respiratory pathogens in layer hen flocks suffering from colibacillosis-associated mortality [J]. Avian Pathology, 2004, 33(3): 298-302.
- [6] 刘秀梵. 鸡多病因呼吸道病及其防制对策 [J]. 动物科学与动物医学, 2001, 18(2): 4-7.  
Liu X F. The prevention and control of multicausal respiratory disease [J]. Animal Science & Veterinary Medicine, 2001, 18(2): 4-7. (in Chinese)
- [7] 高璐, 胡仁莉, 刘秀梵, 等. SPF 鸡人工感染禽源大肠杆菌、H9 亚型禽流感病毒后的体液免疫应答和死亡率分析 [J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(9): 899-902.  
Gao L, Hu R L, Liu X F, et al. The mortality rate and immune efficacy of chickens inoculated intratracheally with lowly virulent *E. coli* and/or MPAIV [J]. Animal and Veterinary Sciences, 2006, 37(9): 899-902. (in Chinese)
- [8] 萨姆布鲁克 J, 弗里奇 E F, 曼尼阿蒂斯 T. 分子克隆实验指南 [M]. 3 版. 金冬雁, 黎孟枫, 侯云德, 等译. 北京: 科学出版社, 2003: 27-67.  
Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular cloning: A laboratory manual [M]. 3rd ed. Jin D Y, Li M F, Hou Y D, et al translation. Beijing: Science Press, 2003: 27-67. (in Chinese)
- [9] Roussan D A, Haddad R, Khawaldeh G. Molecular survey of avian respiratory pathogens in commercial broiler chicken flocks with respiratory diseases in Jordan [J]. Poultry Science, 2008, 87(3): 444-448.
- [10] Ahmed A, Khan T A, Kanwal B, et al. Molecular identification of agents causing respiratory infections in chickens from southern region of pakistan from October 2007 to February 2008 [J]. Int J Agric Biol, 2009, 11: 325-328.
- [11] Feng Q, Diao Y X. The effects of H9N2 influenza A on the immune system of broiler chickens in the Shandong Province [J]. Transboundary and Emerging Diseases, 2011, 58(2): 145-151.
- [12] Ganapathy K, Bradbury J M. Pathogenicity of *Mycoplasma imitans* in mixed infection with infectious bronchitis virus in chickens [J]. Avian Pathology, 1999, 28: 229-237.
- [13] Kleven S H. Mycoplasmas in the etiology of multifactorial respiratory disease [J]. Poultry Sci, 1998, 77: 1146-1149.
- [14] Bradbury J. Poultry mycoplasmas: sophisticated pathogens in simple guise [J]. British Poultry Science, 2005, 46(2): 125-136.
- [15] 彭宜, 张伟, 薛峰, 等. 2006—2008 年华东地区家禽不同 HA 亚型低致病性禽流感的病原学监测 [J]. 中国人兽共患病学报, 2009, 25(2): 119-121.  
Peng Y, Zhang W, Xue F, et al. Etiological examination on the low pathogenicity avian influenza viruses with different HA subtypes from poultry isolated in eastern China from 2006 to 2008 [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2009, 25(2): 119-121. (in Chinese)
- [16] 刘华雷, 王志亮, 吴延功, 等. 2005 年中国新城疫病毒分子流行病学研究 [J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(12): 1340-1344.  
Liu H L, Wang Z L, Wu Y G, et al. The investigation on the molecular epizootiology of Newcastle disease virus isolated from China in 2005 [J]. Animal and Veterinary Sciences, 2006, 37(12): 1340-1344. (in Chinese)
- [17] 孙晴, 尹逊河, 李同树, 等. 鸡毒支原体的分离鉴定及 AA 肉种鸡场慢性呼吸道病的流行状况分析 [J]. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2007, 38(3): 391-393.  
Sun Q, Yin X H, Li T S, et al. Isolation and identification of MG and analyse of CRN in AA broiler farm [J]. Journal of Shandong Agricultural University: Natural Science, 2007, 38(3): 391-393. (in Chinese)
- [18] 高崧, 彭大新, 焦新安, 等. 几种病毒与禽病原性大肠杆菌的人工联合感染试验 [J]. 中国兽医学报, 2001, 21(4): 334-337.  
Gao S, Peng D X, Jiao X A, et al. Experimental infection of chickens with different viruses and pathogenic *Escherichia coli* of chickens origin [J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2001, 21(4): 334-337. (in Chinese)
- [19] 贾丽艳, 逯晓敏, 张映, 等. 两步 PCR 法检测鸡新城疫疫苗中鸡毒支原体污染的研究 [J]. 山西农业大学学报: 自然科学版, 2008, 28(3): 316-319  
Jia L Y, Lu X M, Zhang Y, et al. Study on the detection of MG contamination in live vaccines by Two-step-PCR [J]. Journal of Shanxi Agric Univ: Nat Sci Ed, 2008, 28(3): 316-319. (in Chinese)
- [20] Turpin E A, Perkins L E, Swayne D E. Experimental infection of turkeys with avian pneumovirus and either New-castle disease virus or *Escherichia coli* [J]. Avian Dis, 2002, 46: 412-422.