

吴旭锦, 朱小甫, 尹宝英, 等. 鸽源血清4型禽腺病毒分离鉴定及免疫原性分析[J]. 山西农业科学, 2025, 53(3): 128-134.

WU X J, ZHU X F, YIN B Y, et al. The isolation, identification and immunogenicity investigation of serum type 4 avian adenovirus from pigeons[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2025, 53(3): 128-134.

doi:10.3969/j.issn.1002-2481.2025.03.16

鸽源血清4型禽腺病毒分离鉴定及免疫原性分析

吴旭锦, 朱小甫, 尹宝英, 郑红青, 翁茂洋

(咸阳职业技术学院 咸阳市动物疫病分子生物学诊断技术研究重点实验室, 陕西 咸阳 712000)

摘要:为研究鸽源禽腺病毒病原的致病性及其灭活苗的保护效果,通过采集临床样品,采用LMH细胞接种传代分离病毒、PCR检测及序列分析鉴定病毒,测定分离毒株的半数组织细胞感染量(TCID₅₀),制备油乳剂灭活苗,免疫SPF鸡后每7d采血量测定禽腺病毒抗体水平。结果表明,病料接种LMH细胞4代后细胞病变出现规律性,序列测定表明,分离毒株为血清4型禽腺病毒,将获得的病毒命名为XAYB2022株。TCID₅₀测定结果为每毫升10^{-6.1}。发病死亡鸡病理检查肝脏、肾脏、心包以及肺脏均有典型变化。灭活苗免疫结果表明,抗体在第4周达到顶峰,质量浓度为14.266 ng/L,随后抗体质量浓度缓慢下降,16周时抗体质量浓度为5.471 ng/L,此时攻毒抗体仍能够完全保护。综上所述,成功分离到鸽源禽腺病毒流行毒株,该毒株制备的灭活苗显示出良好的保护效果。

关键词: 鸽源; 禽腺病毒; 灭活苗; 血清4型; 抗体

中图分类号: S852.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-2481(2025)03-0128-07

The Isolation, Identification and Immunogenicity Investigation of Serum Type 4 Avian Adenovirus from Pigeons

WU Xujin, ZHU Xiaofu, YIN Baoying, ZHENG Hongqing, WENG Maoyang

(Xianyang Polytechnic Institute, Key Laboratory of Animal Epidemic Disease Diagnostic

Laboratory of Molecular Biology in Xianyang City, Xianyang 712000, China)

Abstract: In order to study the pathogenicity of avian adenovirus pathogens derived from pigeons and the protective effect of inactivated vaccines, in this study, clinical samples were collected, processed, LMH cells were used for inoculation and passage to isolate the virus, and PCR was used for detection, sequence analysis, and identification of the virus. The half histocyte infection volume(TCID₅₀) of the isolated strain was determined. Inactivated vaccine in oil emulsion was formulated. SPF chickens were immunized with the vaccine followed by blood collection every 7 days to measure the antibody level against avian adenovirus. The results showed that cytopathic effects appeared consistently after 4 generations of LMH cell inoculation, sequence analysis showed that the isolated virus was serum type 4 avian adenovirus, and it was named as XAYB2022 strain. The TCID₅₀ value obtained was 10^{-6.1}/mL. Pathological examination revealed characteristic alterations in liver, kidney, pericardium, and lung tissues in the infected chicken. Immunization with the inactivated vaccine demonstrated that antibody levels peaked at week 4 with a mass concentration of 14.266 ng/L before gradually declining to 5.471 ng/L at week 16 while still providing full protection against challenge antibodies. In conclusion, an avian adenovirus strain of pigeon origin was successfully isolated and an inactivated vaccine prepared from this strain showed good protective effect.

Keywords: pigeon-origin; avian adenovirus; inactivated vaccine; serum type 4; antibody

禽腺病毒(Fowl adenovirus, FAdV)可感染鸽、鸡、鸭、鹅等禽类,给我国养禽业造成了重大损

收稿日期: 2024-09-07

基金项目: 咸阳职业技术学院科研基金(2023KJB07)

作者简介: 吴旭锦, 教授, 博士, 主要从事动物疫病诊断与防治研究, E-mail: yaoyuanwxj@163.com

通信作者: 朱小甫, 教授, 硕士, 主要从事动物疫病诊断与防治研究, E-mail: zhuxiaofu2004@aliyun.com

失^[1-2]。此病毒具备多重传播途径,涵盖消化道、呼吸道以及直接接触方式,主要传播方式是通过泄殖腔排毒扩散^[3]。多项研究发现,我国鸡群中主要流行4、8 a/b和11血清型,表现为心包积液泡涵体肝炎综合征^[4-5]。

禽腺病毒可分为I、II、III等3个群,I群禽腺病毒近年来流行面广,导致养禽场死淘率显著上升。I群禽腺病毒可分为A、B、C、D、E等5个种,根据交叉中和试验结果,每个种内病毒进一步分为12个血清型,其中,FAdV-4是目前流行的主要血清型。FAdV-4病毒为非折叠的二十面体结构,病毒粒子大小在70~90 nm,有252个壳粒,包含240个不在顶点的六邻体(hexon)壳粒和12个五邻体顶点壳粒^[6],其中,表达六邻体蛋白的Hexon基因是首选的病毒分型基因。鸽源禽腺病毒(Pigeon adenovirus, PAdV)作为一种广泛存在于鸽群的病原体,对养鸽业造成的危害不容忽视。随着赛鸽、肉鸽养殖业的兴起,鸽群传染病逐渐受到关注,尤其是针对鸽源禽腺病毒的研究逐渐增多^[7-10],但在鸽源禽腺病毒疫苗免疫以及免疫后抗体水平变化方面的研究尚属空白。本试验以分离的鸽源禽腺病毒为研究对象,制备鸽源禽腺病毒灭活苗,进行免疫试验并测定抗体水平,以期为防控鸽源腺病毒感染提供参考。

1 材料和方法

1.1 试验材料

1.1.1 病料来源 2022年9月,在陕西西安某赛鸽公棚发生1起疑似腺病毒感染病例,该群赛鸽为戴盔鸽,32日龄,精神不振,呕吐,拉灰绿色稀粪。剖检病死鸽可见,肝脏肿大,表面有出血斑;肺脏稍肿胀,有散在出血点;心包有少量淡黄色积液;脾脏表面有坏死区域;肾脏肿胀呈花斑状;肠道黏膜弥漫性出血。采集病死鸽的肝脏、脾脏及肺脏组织样品,冷冻保存备用。

1.1.2 SPF鸡胚与SPF鸡 从北京梅里亚维通实验动物技术有限公司购买SPF鸡蛋,孵化后在SPF鸡隔离器中饲养,用于免疫试验与攻毒试验。

1.1.3 主要试剂与仪器 DNA、RNA提取试剂、*rTaq* DNA聚合酶(5 U/ μ L)、dNTP(各成分均为2.5 mmol/L)等购自宝生物工程(大连)有限公司;LMH细胞由咸阳市动物疫病分子生物学诊断技术研究重点实验室保存;禽腺病毒抗体酶联免疫

分析试剂盒为凡科维生物科技有限公司产品。PCR仪(2720型)购自美国应用生物系统公司;高速冷冻离心机(5424R)购自德国艾本德公司;全自动凝胶成像系统(GeneGenius)购自英国SYNGENE公司。

1.1.4 检测引物 参照文献[11]由生工生物工程(上海)有限公司合成如下检测引物:上游引物FAdV-F:5'-CACTTACGAGTGGGTCCTCAGA-3'(19935-19956);下游引物FAdV-R:5'-CCGGTGTGCGTTAACAACG-3'(20684-20667)。用超纯水稀释至20 μ mol/L,该引物扩增长度为750 bp。

1.2 试验方法

1.2.1 病料处理与常见病原核酸检测 取5 g左右的病料组织,加入20 mL灭菌生理盐水剪碎,组织研磨器中研碎为混悬液,12 000 g离心5 min,取上清液-70 $^{\circ}$ C保存备用。参照咸阳市动物疫病分子生物学诊断技术研究重点实验室建立的检测方法^[12-14],合成新城疫、禽流感、支原体、衣原体检测引物,同时用1.1.4禽腺病毒检测引物按照其扩增体系和扩增程序进行PCR或RT-PCR检测。

1.2.2 病毒分离 组织病料上清液加入双抗,至终浓度含青霉素、链霉素各2 mg/mL,室温静置30 min。待平皿中LMH细胞生长铺满约70%时,弃去生长液,用汉克氏液清洗3次,接入处理好的病料上清液1 mL,置于37 $^{\circ}$ C、5%CO₂孵育1 h。孵育结束后弃去病料上清液,加入维持液继续培养,定期观察细胞病变。细胞长满后收毒并继续传代5次。收获的病毒液反复冻融3次后置-70 $^{\circ}$ C保存。

1.2.3 传代病毒PCR检测 对收获的病毒液进行病毒PCR检测。取第3、4、5代病毒液各100 μ L置于1.5 mL EP管中,加入DNA提取试剂600 μ L,混匀后4 $^{\circ}$ C静置裂解10 min,再加入600 μ L -20 $^{\circ}$ C保存的无水乙醇,混匀后静置10 min,在冷冻离心机中4 $^{\circ}$ C环境下12 000 r/min离心10 min,弃上清,加入1 mL -20 $^{\circ}$ C保存的70%乙醇清洗后弃去液体,瞬时离心用移液器吸取残留的乙醇并弃去,倒置EP管干燥DNA,用50 μ L 8 mmol/L NaOH溶液吹打溶解管底DNA,即得DNA模板。PCR反应体系:DNA模板2.0 μ L,10 \times Buffer 2.5 μ L,dNTP 1.0 μ L,FAdV-F、FAdV-R各0.5 μ L,*rTaq* DNA聚合酶0.5 μ L,超纯水18.0 μ L。反应条件:95 $^{\circ}$ C进行5 min的初始预变性;进入循环阶段后94 $^{\circ}$ C下变性40 s,58 $^{\circ}$ C下退火45 s,72 $^{\circ}$ C下使DNA链

延伸 45 s,上述循环共进行 35 次;最后 72 °C 下再充分延伸 7 min 结束。取适量 PCR 产物电泳后成像观察。

1.2.4 基因序列分析 在获取了 PCR 产物的基础上,通过凝胶电泳回收与纯化,提取高质量的目标 DNA 片段。将纯化后的产物送至生工生物工程(上海)有限公司进行测序。将获得的序列与 GenBank 数据库中已存储的不同血清型禽腺病毒序列进行全面的比对分析,绘制进化树,确定分离毒株血清型。

1.2.5 TCID₅₀测定 10 倍梯度稀释病毒液,取 10⁻¹~10⁻⁸共 8 个稀释梯度,接种微量板 LMH 细胞孔,每孔 100 μL,每个梯度做 12 孔,连续 7 d 观察细胞病变情况。采用 Reed-Muench 法计算出 TCID₅₀。

1.2.6 攻毒试验 SPF 鸡饲养至 20 日龄,试验分为 2 组进行:攻毒组 10 只鸡,每只鸡通过肌肉注射方式接种 0.2 mL 的病毒液;对照组 5 只鸡,每只鸡肌肉注射 0.2 mL 生理盐水。持续观察并记录了 10 d 内试验鸡的临床表现,包括行为变化、体征异常等。对于在观察期间发病或死亡的鸡只,进行解剖检查,观察并记录其内部的病理变化,进一步分析病毒对鸡体的影响。

1.2.7 灭活疫苗的制备 将上述收获的 100 mL 病毒液加入体积分数为 0.3% 的甲醛,37 °C 灭活处理 12 h,获得失活的病毒液。接种至 SPF 鸡胚中,盲传 2 代后采用 PCR 技术进行扩增检测,评估是否有病毒残余增殖的迹象。将抗原与预先灭菌的吐温-80 按照一定比例混合,形成水相;同时,将白油与司盘 80 预先混合并灭菌后,作为油相。利用高压均质机对这两相进行 3 次混合与剪切处理,确保其充分乳化,最终制备成稳定的灭活疫苗制剂。

1.2.8 免疫试验与腺病毒抗体定量检测 15 只 20 日龄 SPF 鸡分成免疫组 10 只、对照组 5 只。试验前采血分离血清,-70 °C 保存。免疫组腿部肌肉注射 0.2 mL 灭活疫苗,对照组腿部肌肉注射 0.2 mL 灭菌生理盐水,试验开始后每 7 d 逐只采血分离血清,直至第 16 周,血清均在 -70 °C 保存。采用禽腺病毒抗体酶联免疫分析试剂盒检测抗体质量浓度。

1.2.9 免疫后攻毒试验 免疫后 16 周采血完成后,免疫组每只鸡肌肉注射 0.2 mL 病毒液,连续 2 周观察鸡只状态。

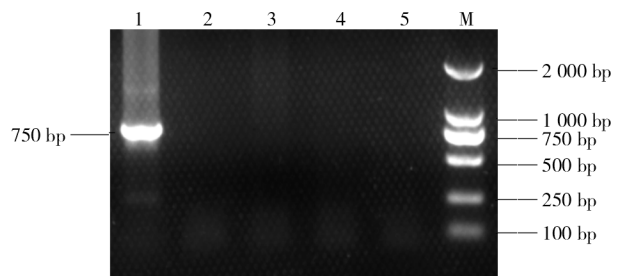
1.3 数据分析

数据利用 Microsoft Excel 2022 进行处理,采用 PS 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 病毒分离与 Hexon 基因序列分析

新城疫、禽流感、衣原体、支原体、禽腺病毒等 PCR/RT-PCR 检测结果(图 1)表明,病料中新城疫、禽流感、衣原体、支原体等均为阴性,禽腺病毒为阳性。



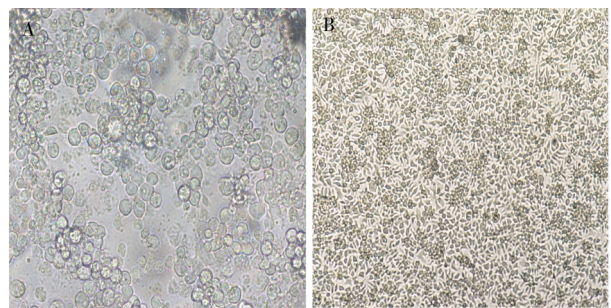
M. DL2000 DNA 相对分子质量标准; 1. 禽腺病毒; 2. 新城疫; 3. 禽流感; 4. 衣原体; 5. 支原体

M. DL2000 marker, DNA relative molecular weight standard; 1. Adenovirus; 2. Newcastle disease virus; 3. Avian influenza virus; 4. Chlamydia; 5. Mycoplasma

图 1 病料 PCR/RT-PCR 检测

Fig.1 PCR/RT-PCR detection of pathogenic materials

利用 LMH 细胞系进行连续接种与传代培养,随着代数的递增,至第 4 代时,观察到细胞病变效应(CPE)展现出了一种明显的规律性(图 2)。细胞病变主要表现为变圆、聚团、脱落,当细胞病变并脱落达到 90% 时,收获病毒溶液,将该病毒命名为 XAYB2022 株。

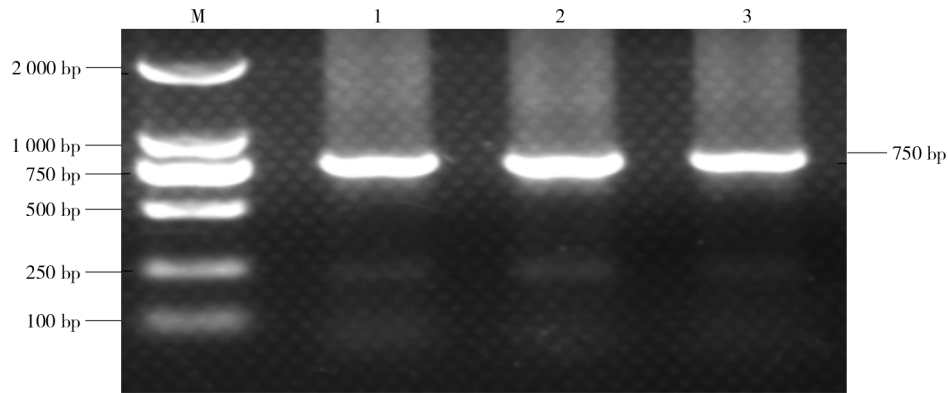


A. 出现病变的细胞(400×); B. 正常细胞(200×)
A. Diseased cells(400×); B. Normal cells(200×)

图 2 病毒传代 LMH 细胞病变

Fig.2 Pathological changes of LMH cells after virus passage

检测收集的 3~5 代细胞传代病毒液, 发现 3 代病毒液均为禽腺病毒阳性, 表明病毒在细胞中成功增殖(图 3)。



M. DL2000 DNA 分子质量标准; 1. 第 3 代病毒液; 2. 第 4 代病毒液; 3. 第 5 代病毒液
M. DL2000 Marker, DNA relative molecular weight standard; 1. Virus solution at passage 3; 2. Virus solution at passage 4; 3. Virus solution at passage 5

图 3 细胞分离病毒 3~5 代代 PCR 检测
Fig.3 PCR detection of virus isolated from cells after 3 to 5 passages

DNAstar 软件比较分析显示(图 4), 在构建的 *Hexon* 基因进化树中, XAYB2022 株与我国近几年鸡群 FAdV-4 流行毒株 KU245540、MN102413 等亲缘关系最为密切, 共同构成了一个进化分支。

同源性比较结果表明(图 5), XAYB2022 株 *Hexon* 基因与参比的 FAdV-4 流行毒株同源性在 99.3%~99.9%, 而与其他基因型的禽腺病毒相比, 同源性偏低。

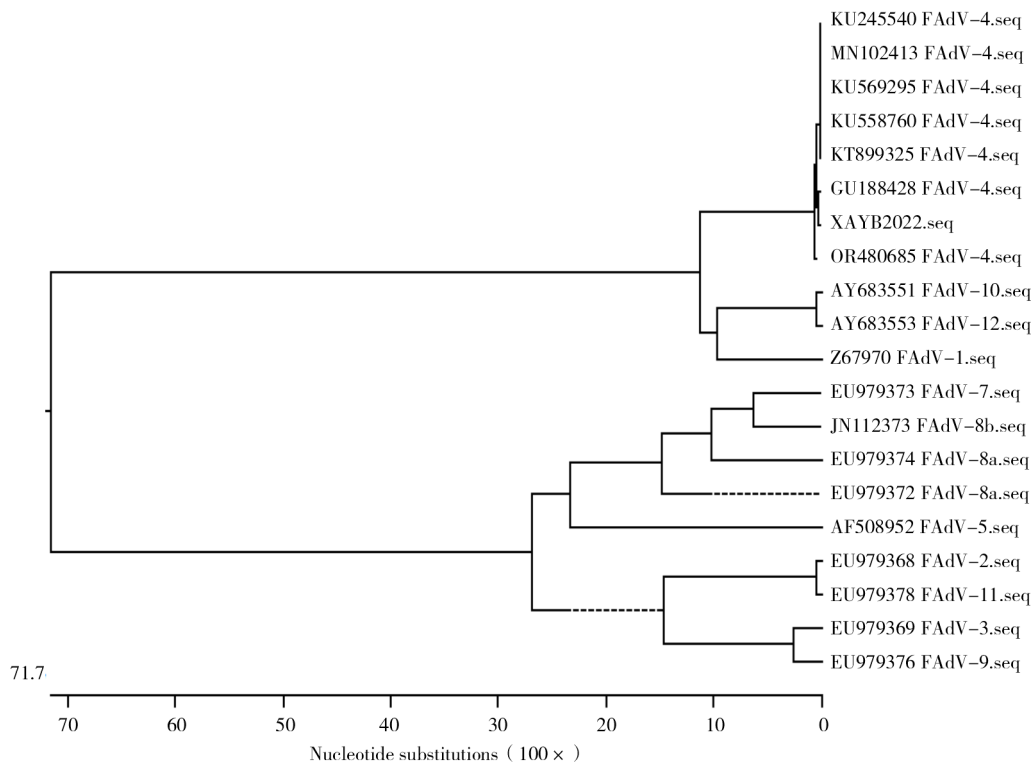


图 4 *Hexon* 基因进化树
Fig.4 *Hexon* gene phylogenetic tree diagram

		同源性 Percent Identity																					
分支 Divergence		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
	1	■	35.6	35.8	65.4	65.8	68.5	68.1	67.6	64.9	65.6	35.8	68.4	36.1	35.9	36.1	36.1	35.9	36.2	36.1	35.1	1	AF508952 FAdV-5.seq
	2	149.7	■	99.1	36.9	36.8	39.6	37.3	38.6	36.1	37.1	82.4	36.4	82.0	81.9	82.0	82.0	82.0	82.0	82.1	82.8	2	AY683551 FAdV-10.seq
	3	148.7	0.9	■	37.1	36.8	40.0	37.5	38.6	36.1	37.3	82.9	36.4	82.5	82.4	82.5	82.5	82.5	82.5	82.7	83.3	3	AY683553 FAdV-12.seq
	4	46.4	142.6	142.3	■	75.4	72.2	70.2	71.0	76.1	99.0	38.6	68.5	38.8	38.6	38.8	38.8	38.8	39.2	38.8	39.0	4	EU979368 FAdV-2.seq
	5	46.2	147.5	148.1	29.9	■	70.7	68.7	68.0	95.1	75.9	38.2	68.5	38.3	38.2	38.3	38.3	38.3	38.5	38.3	38.2	5	EU979369 FAdV-3.seq
	6	41.1	127.4	125.3	34.9	37.5	■	86.3	82.6	69.8	71.8	39.6	81.0	39.8	39.6	39.8	39.8	39.8	40.0	39.8	39.5	6	EU979372 FAdV-6.seq
	7	41.8	140.1	139.1	38.2	41.1	15.1	■	83.3	68.6	69.5	37.5	88.5	37.6	37.5	37.6	37.6	37.6	37.8	37.6	37.3	7	EU979373 FAdV-7.seq
	8	42.7	134.6	135.0	37.0	42.5	20.1	18.9	■	66.9	70.8	39.3	81.0	39.6	39.5	39.6	39.6	39.6	40.0	39.6	38.3	8	EU979374 FAdV-8a.seq
	9	47.8	153.1	153.7	29.0	5.1	38.9	40.9	44.3	■	76.2	37.6	68.1	37.8	37.6	37.8	37.8	37.8	38.0	37.8	37.8	9	EU979376 FAdV-9.seq
	10	46.1	140.8	140.4	1.0	29.1	35.5	39.4	37.3	28.7	■	38.8	68.3	39.0	38.8	39.0	39.0	39.0	39.3	39.0	39.2	10	EU979378 FAdV-11.seq
	11	147.0	20.1	19.4	130.3	133.6	126.2	136.3	127.7	136.8	128.9	■	37.5	99.2	99.1	99.2	99.2	99.2	98.9	99.3	79.2	11	GU188428 FAdV-4.seq
	12	41.1	145.4	145.7	41.4	41.3	22.1	12.5	22.0	41.7	41.7	135.3	■	37.5	37.4	37.5	37.5	37.2	37.3	37.7	35.8	12	JN112373 FAdV-8b.seq
	13	145.1	20.6	19.9	129.1	132.4	125.1	135.5	125.9	135.5	127.8	0.8	135.6	■	99.9	100.0	100.0	100.0	99.7	99.9	79.1	13	KT899325 FAdV-3.seq
	14	146.2	20.8	20.1	130.3	133.6	126.2	136.7	127.1	136.8	128.9	0.9	136.6	0.1	■	99.9	99.9	99.9	99.6	99.7	78.9	14	KU245540 FAdV-4.seq
	15	145.1	20.6	19.9	129.1	132.4	125.1	135.5	125.9	135.5	127.8	0.8	135.6	0.0	0.1	■	100.0	100.0	99.7	99.9	79.1	15	KU558760 FAdV-4.seq
	16	145.1	20.6	19.9	129.1	132.4	125.1	135.5	125.9	135.5	127.8	0.8	135.6	0.0	0.1	0.0	■	100.0	99.7	99.9	79.1	16	KU569295 FAdV-4.seq
	17	146.5	20.6	19.9	129.1	132.4	125.1	135.5	125.9	135.5	127.8	0.8	137.9	0.0	0.1	0.0	0.0	■	99.9	99.9	79.1	17	MN102413 FAdV-4.seq
	18	144.5	20.7	19.9	127.2	131.5	124.3	134.5	124.0	134.5	125.9	1.1	137.0	0.3	0.4	0.3	0.3	0.1	■	99.6	78.9	18	OR480685 FAdV-4.seq
	19	145.1	20.5	19.8	129.1	132.4	125.1	135.5	125.9	135.5	127.8	0.7	134.6	0.1	0.3	0.1	0.1	0.1	0.4	■	79.2	19	XAYB2022.seq
	20	152.2	19.6	18.9	130.1	135.9	129.2	139.1	139.2	138.9	128.6	24.5	151.0	24.7	24.9	24.7	24.7	24.7	24.9	24.5	■	20	Z67970 FAdV-1.seq

图5 Hexon 基因同源性比较结果
Fig.5 Comparison results of hexon gene homology

2.2 免疫原性分析

10^{-6.1}/mL。

从表 1 可以看出, XAYB2022 株的 TCID₅₀ 为

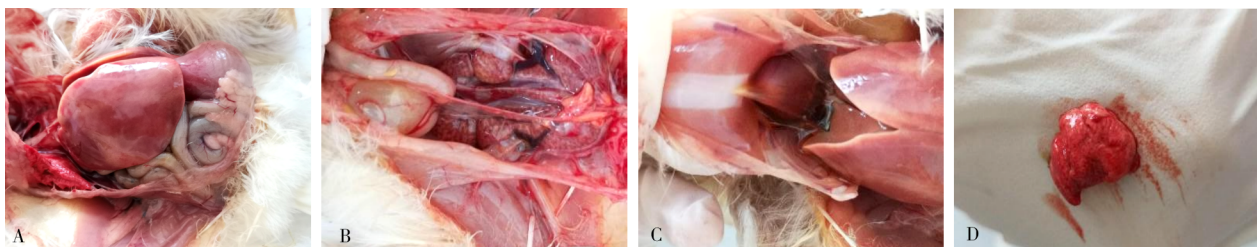
表 1 TCID₅₀测定数据统计

Tab.1 Statistics of TCID₅₀ measurement data

病毒稀释度 (对数表示) Virus dilution (Ex- pressed in logarithm)	接种孔数 Number of in- oculated wells	病变孔数 Number of wells with le- sions	病变比例/% Lesion ratio	病毒稀释度 (对数表示) Virus dilution (Ex- pressed in logarithm)	接种孔数 Number of in- oculated wells	病变孔数 Number of wells with le- sions	病变比例/% Lesion ratio
-1	12	12	100	-5	12	12	100
-2	12	12	100	-6	12	11	91.7
-3	12	12	100	-7	12	1	8.3
-4	12	12	100	-8	12	0	0

病毒接种 2 d 后逐渐发病, 表现为精神不振, 头颈下垂, 食欲废绝, 粪便白色、石灰水样。第 3 天陆续死亡, 直至第 6 天攻毒组 10 只鸡全部死亡。剖检病死鸡发现肝脏肿胀, 边缘变钝, 颜色土黄,

有出血点(图 6-A); 肾肿胀隆起, 输尿管中有大量白色尿酸盐聚集, 呈斑驳状(图 6-B); 心包充满淡黄色透亮积液(图 6-C); 肺充血淤血(图 6-D)。对照组均正常存活。



A. 肝脏; B. 肾脏; C. 心脏; D. 肺脏
A. Liver; B. Kidney; C. Heart; D. Lung

图 6 攻毒死亡鸡病理变化
Fig.6 Histopathological changes in infected chickens

连续监测16周禽腺病毒抗体水平(图7),灭活疫苗免疫后1周即有抗体产生,至第4周血清抗体达到14.266 ng/L,即本次试验抗体的峰值,随后抗体浓度逐步下降,直至试验结束的16周,抗体质量浓度为5.471 ng/L。

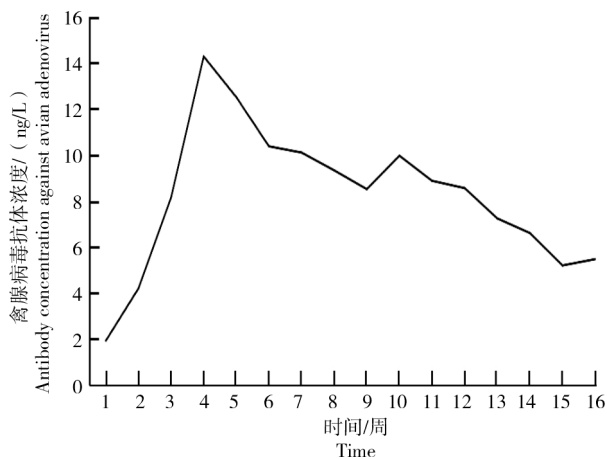


图7 灭活疫苗免疫后禽腺病毒抗体水平

Fig.7 Antibody level of avian adenovirus after inactivated vaccine immunization

免疫试验结束后攻毒,连续观察2周鸡只无任何异常表现,表明在腺病毒抗体浓度为5.471 ng/L的情况下,仍能保护鸡只不发病。

3 结论与讨论

2015年,我国多地鸡群暴发了禽腺病毒感染,养鸡业经济损失巨大^[12-14]。2016年后,国内禽腺病毒的研究报道增长迅猛,学术界对禽腺病毒感染高度关注。2017年后对鸽群腺病毒感染报道亦逐渐增加,现已证实,鸽腺病毒感染成为鸽群重要的病毒病之一^[15-16]。本研究从西安市赛鸽公棚疑似禽腺病毒感染病例样品中进行了常见病原的检测与病毒的分离,发现本次病例为单一的禽腺病毒感染;采用LMH细胞传代分离,出现了典型的细胞病变特征,结果与刘兆洁等^[4]、田甜^[17]分离培养研究结果基本一致。通过PCR检测3~5代分离毒株培养液,均扩增出了清晰的禽腺病毒特异性条带,证实成功分离出了鸽源禽腺病毒,命名为XAYB2022株。

由于目前无法获得SPF鸽,研究尝试从商品鸽中筛选禽腺病毒抗体阴性鸽,结果发现,市售商品鸽腺病毒抗体阳性率极高,难以筛选出试验用动物,因此,研究采用SPF鸡为试验动物,进行分

离毒株的回归试验。攻毒结果发现,试验组10只鸡6d内全部死亡,剖检肝脏、心脏、肾脏,发现典型的病理变化,其病理表现与杨志远等^[18]描述基本一致。病理切片检查证实,肝脏、肺脏与心肌均有明显的病理组织学变化,表明分离的鸽源禽腺病毒毒株对鸡有很强的致病性。此外,研究对XAYB2022株Hexon基因进行了测序分析,发现该毒株与我国近年鸡群分离的FAdV-4流行毒株高度同源,同源性在99.3%~99.9%,提示该鸽源毒株极可能源自鸡群流行毒株。梯度稀释病毒接种LMH细胞,测定出分离株的TCID₅₀为10^{-6.11}/mL,其效价滴度比田甜^[17]分离的鸽源毒株TCID₅₀10^{-5.5}/mL稍高,比鹅源毒株TCID₅₀10^{-6.667}/mL效价稍低。采用分离毒株制备了油佐剂灭活苗,单次注射免疫并连续采血,ELISA方法定量测定禽腺病毒抗体水平,结果表明,至第4周血清抗体达到抗体的峰值14.266 ng/L,随后抗体浓度逐步下降,至16周时抗体浓度为5.471 ng/L,攻毒试验证实此时的抗体水平仍能完全保护鸡只不发病。有关禽腺病毒抗体水平消涨以及与免疫保护之间的关系尚未见到类似报道,该研究为临床禽腺病毒的免疫保护提供了数据参考。

参考文献:

- [1] 艾笑扬,李杨,陈帝斯,等. 2022年湖北I群禽腺病毒流行病学调查及分离鉴定[J]. 中兽医学杂志,2023(1):73-75,78. AI X Y, LI Y, CHEN D S, et al. Epidemiological investigation and isolation and identification of group I fowl adenovirus in Hubei in 2022[J]. Chinese Journal of Traditional Veterinary Medicine, 2023(1):73-75,78.
- [2] 田甜,刘琳敏,路文彬,等. 2015—2022年我国部分地区I群禽腺病毒分子流行病学调查[J]. 中国兽医科学,2023,53(1):57-63. TIAN T, LIU L M, LU W B, et al. Molecular epidemiological survey of fowl adenovirus group I in some areas of China from 2015 to 2022[J]. Chinese Veterinary Science, 2023,53(1):57-63.
- [3] 韦悠,邓显文,谢芝勋,等. 血清4型禽腺病毒水平感染SPF鸡的致病性研究[J]. 畜牧与兽医,2023,55(5):56-62. WEI Y, DENG X W, XIE Z X, et al. Pathogenicity of SPF chickens horizontally infected with fowl adenovirus serotype 4[J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2023, 55(5):56-62.
- [4] 刘兆洁,许芬芬,李雨泽,等. 2021—2022年我国部分地区I群禽腺病毒的分离鉴定及Hexon基因序列分析[J]. 中国家禽,2024,46(5):38-45. LIU Z J, XU F F, LI Y Z, et al. Isolation, identification, and hexon gene sequence of group I fowl adenovirus in some parts of China from 2021 to 2022[J]. China Poultry, 2024, 46(5):

- 38-45.
- [5] 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,2016,46(2):157-160.
YUAN W Z, LI Y B, WANG J C, et al. Preliminary studies on chicken pericardial effusion and hepatitis syndrome[J]. Chinese Veterinary Science, 2016, 46(2): 157-160.
- [6] 庞洪泽,袁万哲,杨宇晴,等.禽腺病毒概述[J].动物医学进展,2020,41(7):125-129.
PANG H Z, YUAN W Z, YANG Y Q, et al. Progress on fowl adenovirus[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2020, 41(7): 125-129.
- [7] 邢安琪,于晓慧,彭真奇,等.2021—2022年我国部分地区市场交易鸽群腺病毒检测及遗传进化分析[J].中国动物检疫,2022,39(9):42-46,96.
XING A Q, YU X H, PENG Z Q, et al. Detection and genetic evolution analysis of adenovirus in pigeons for trading in China from 2021 to 2022[J]. China Animal Health Inspection, 2022, 39(9): 42-46, 96.
- [8] 李春英,谢华艳,黄凤梅,等.鸽群主要疫病流行现状及防控[J].广西农学报,2022,37(3):27-30.
LI C Y, XIE H Y, HUANG F M, et al. Epidemic status and prevention and control of main diseases among pigeons[J]. Journal of Guangxi Agriculture, 2022, 37(3): 27-30.
- [9] 习硕,赵蕾,史爱华,等.我国部分地区鸽腺病毒病的血清学调查[J].中国家禽,2022,44(6):117-120.
XI S, ZHAO L, SHI A H, et al. Serological investigation of pigeon adenovirus disease in some regions of China[J]. China Poultry, 2022, 44(6): 117-120.
- [10] 史磊波.西安周边地区鸽I型腺病毒感染情况调查及可视化LAMP检测方法的建立[D].杨凌:西北农林科技大学,2021.
SHI L B. Investigation of infection of pigeon type I adenovirus in Xi'an surrounding areas and establishment of visual LAMP detection method[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2021.
- [11] 朱小甫,吴旭锦,高睿,等.I群禽腺病毒套式PCR检测方法的建立与应用[J].中国动物传染病学报,2019,27(3):74-77.
ZHU X F, WU X J, GAO R, et al. Development and application of nested pcr for detection of fowl adenovirus group I [J]. Chinese Journal of Animal Infectious Diseases, 2019, 27(3): 74-77.
- [12] 朱小甫,吴旭锦,李怡婷,等.鸡毒支原体与滑液囊支原体双重PCR检测方法的建立与应用[J].动物医学进展,2021,42(6):31-35.
ZHU X F, WU X J, LI Y T, et al. Establishment and application of duplex PCR method for detection of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synovialum*[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2021, 42(6): 31-35.
- [13] 朱小甫,吴旭锦.利用M基因鉴别新城疫病毒中强毒株与弱毒株RT-nPCR方法的建立[J].中国动物传染病学报,2017,25(5):21-25.
ZHU X F, WU X J. Establishment of Rt-NPCR method for identification of velogenic and lentogenic Newcastle disease virus strains by using M gene[J]. Chinese Journal of Animal Infectious Diseases, 2017, 25(5): 21-25.
- [14] 朱小甫,杨萍,吴旭锦.H9亚型禽流感病毒DJ15株的分离与鉴定[J].陕西农业科学,2016,62(5):66-67.
ZHU X F, YANG P, WU X J. Isolation and identification of the H9 subtype avian influenza virus DJ15 strain[J]. Journal of Shaanxi Agricultural Sciences, 2016, 62(5): 66-67.
- [15] 刘璐,王晨,张丹,等.山西中部4型禽腺病毒遗传进化及其分离毒株致病性分析[J].山西农业科学,2022,50(4):591-597.
LIU L, WANG C, ZHANG D, et al. Analysis of genetic evolution of avian adenovirus type 4 from central Shanxi province and pathogenicity of isolated strain of the adenovirus[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2022, 50(4): 591-597.
- [16] 李琳,杨金生,赵寒冬,等.血清4型禽腺病毒的分离鉴定及动物回归试验[J].家禽科学,2023(1):8-11.
LI L, YANG J S, ZHAO H D, et al. Preliminary isolation, identification and animal regression test of fowl aviadenovirus serotype 4[J]. China Poultry Science, 2023(1): 8-11.
- [17] 田甜.不同禽源I群禽腺病毒的分离鉴定及其致病性研究[D].保定:河北农业大学,2023.
TIAN T. Isolation, identification, and pathogenicity study of avian adenovirus group I from different avian sources[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2023.
- [18] 杨志远,周雨婷,林健,等.新发鸽腺病毒A型感染的病理变化[J].中国农业科学,2023,56(8):1615-1616.
YANG Z Y, ZHOU Y T, LIN J, et al. Pathological changes of a novel pigeon adenovirus type A infection[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2023, 56(8): 1615-1616.