

## ALV-J 人工感染鸡病毒血症和抗体反应动态

孙贝贝, 崔治中, 张青婵, 娄本红

(山东农业大学动物科技学院, 山东泰安 271018)

**摘要:** 【目的】了解 J 亚群白血病毒 (ALV-J) 感染鸡后抗体反应和带毒排毒的规律, 以便为制定鸡群中 ALV-J 感染的预防控制和净化措施提供可靠的流行病学依据。【方法】1 日龄和 49 日龄 SPF 鸡分别通过注射、口服和接触感染 ALV-J, 对各感染组的病毒血症、泄殖腔排毒及抗体反应进行动态检测。【结果】不同日龄感染 ALV-J 后的病毒血症和抗体的动态有很大差异。1 日龄 SPF 鸡注射感染 ALV-J 后, 自 2 周起开始可检出泄殖腔 p27 抗原和病毒血症。注射感染组有 71% (5/7) 鸡在 26 周内持续带毒排毒, 其中有 3 只鸡在感染后 45 周仍带毒排毒。其中一只鸡在 16 周时产生一过性抗体, 另两只鸡完全没有抗体。口服感染组仅 11% (1/9) 鸡呈持续带毒排毒, 44% (4/9) 鸡仅呈短暂性带毒排毒, 且自第 8 周起即可检测到较高的抗体水平。同笼接触组既不带毒排毒, 也无抗体水平, 表明未发生传染。49 日龄 SPF 鸡即使注射攻毒后, 在 19 周内的 5 次检测中, p27 抗原和病毒血症均为阴性。攻毒后 1 周开始出现抗体反应并维持一段时间。49 日龄 SPF 鸡经口服和接触感染, 病毒血症和泄殖腔 p27 均为阴性, 也无抗体反应。【结论】1 日龄 SPF 鸡感染 ALV-J 很容易发生免疫耐受, 感染鸡持续带毒排毒而不产生抗体; 49 日龄 SPF 鸡感染后, 1 周可产生高水平的抗体, 但不带毒排毒。不同接种方式对 ALV-J 感染的动态有很大影响, 注射感染诱发的病毒血症和耐受性病毒血症显著高于口服感染。

**关键词:** 禽 J 亚群白血病毒; p27 抗原; 病毒血症; 抗体

## Dynamics of Viremia and Antibody Responses in Chickens Inoculated with ALV-J

SUN Bei-bei, CUI Zhi-zhong, ZHANG Qing-chan, LOU Ben-hong

(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong)

**Abstract:** 【Objective】 To understand the dynamics of viremia, virus shedding and antibody responses in chickens inoculated with avian leukosis virus subgroup J (ALV-J) and provide essential epidemiological data for prevention and eradication of ALV-J infection. 【Method】 Viremia, virus shedding and antibody response were successively measured after inoculation with ALV-J strain HN0001 intraperitoneally, orally or in contact in SPF chickens at 1 day and 49 days. 【Result】 The dynamics of viremia and antibody responses were very different in chickens inoculated with ALV-J at different ages. Viremia and p27 in cloaca swabs started to be detected from the 2nd week after inoculation with ALV-J at 1-day-old. In the group inoculated intraperitoneally with ALV-J, 71% (5/7) continuously demonstrated viremia and p27-shedding. Viremia and virus shedding lasted for at least 45 weeks in 3 chickens. Among them, only 1 chicken showed transient antibody reaction at 16-week-old, another 2 were in tolerant viremia without any antibody reactions. In the group inoculated orally with ALV-J, 11% (1/9) demonstrated persistent viremia and p27-shedding but no antibody response, 44% (4/9) showed transient viremia or p27-shedding, and then antibody responses from 8-week-old. No control bird kept in contact with inoculated birds in the same isolators demonstrated viremia or p27-shedding, and also no antibody responses. It indicated there was no horizontal infection. In chickens intraperitoneally inoculated with ALV-J at 49-day-old, neither viremia nor p27-shedding were detected in 5 separate testing during the 19th week after inoculation, but antibody reaction started to be detected 1 week after inoculation. In the orally inoculated chickens or the contacted control chicken, all samples were negative in

收稿日期: 2009-01-14; 接受日期: 2009-07-28

基金项目: 国家公益性行业 (农业) 科研专项经费资助项目 (200803019)

作者简介: 孙贝贝 (1984-), 女, 山东乳山人, 硕士研究生, 研究方向为动物病毒学。通信作者崔治中 (1944-), 男, 江苏江阴人, 教授, 博士, 研究方向为家禽免疫学。Tel: 0538-8241560; E-mail: zzcui@sdau.edu.cn

viremia, p27-shedding and antibody reactions. 【Conclusion】 Inoculation with ALV-J at 1-day-old easily induced immune tolerance, chickens inoculated demonstrated persistent viremia or p27-shedding, but no antibody reactions. Chickens inoculated with ALV-J at 49-day-old, antibody could be detected 1 week after inoculation, but no viremia and p27-shedding were detected. Inoculation routes significantly influenced the dynamic variety of ALV-J inoculation, intraperitoneally injection induced higher viremia levels and increased percentages with tolerant viremia when compared to oral inoculation.

**Key words:** avian leukosis virus of subgroup J (ALV-J); antigen p27; viremia; antibody

## 0 引言

【研究意义】鸡 J-亚群白血病毒 (avian leukosis virus of subgroup J, ALV-J) 最早是从肉鸡中分离鉴定出的鸡白血病毒的一个新的亚群。ALV-J 不同于经典的 A、B、C、D、E 亚群, 它的靶细胞为骨髓细胞, 引起骨髓细胞瘤病<sup>[1]</sup>。【前人研究进展】中国在 1999 年首先有白羽肉鸡中 ALV-J 感染的报道并分离到病毒, 并证明这一病毒感染在白羽肉鸡的父母代种鸡群或商品代肉鸡的现象非常普遍<sup>[2-4]</sup>。近几年来, 又进一步发现, ALV-J 已传播到蛋用型鸡<sup>[5-6]</sup>及中国不同地区的某地方品系中<sup>[7-9]</sup>。显然, ALV-J 的感染已在中国鸡群中有了广泛的传播。为了控制和预防 ALV-J, 国际上大型肉用型种鸡公司已在过去十多年中花巨资对种鸡群的 ALV-J 感染开展了系统的净化工作, 已把 ALV-J 的感染率降低到了非常低的程度。因此, 近几年来, 依靠进口祖代鸡为种群来源的白羽肉用型种鸡群已很少发现 ALV-J 感染及其引起的肿瘤。但是, 中国自繁自养的地方品系鸡群中的 ALV-J 感染却日趋严重, 如不采取相应的预防控制和净化措施, 势必会进一步给中国养鸡业带来更大损失。而这一净化工作必须要由中国种鸡公司自己完成。虽然在过去几十年中, 国际大型养鸡公司已在 ALV 净化方面积累了丰富的经验, 并提出了 3 种不同净化方案的建议。中国不同类型鸡群如何实施净化, 还没有成熟经验。在剔除阳性鸡时必须结合多种方法, 同时检测血液、泄殖腔, 以排除假阴性<sup>[10]</sup>。鸡 ALV-J 感染鸡后, 其病毒血症、抗体反应及排毒带毒的动态与毒株、感染量及鸡年龄密切相关<sup>[11-12]</sup>。因此, 为了避免在制定有效的预防控制和净化措施时的盲目性, 必须要阐明每一品系鸡与相关流行毒株感染时这一流行病学特点。迄今为至, 中国在这方面还缺乏系统的研究。【本研究切入点】不同日龄 SPF 鸡人工接种 ALV-J 地方分离株 HN0001 作为实验模型, 了解感染后病毒血症、排毒和抗体反应的变化规律。【拟解决的关键问题】本研究将接种血浆样品后的 CEF 细胞单层覆盖软琼脂, 并采用 ALV-J

特异性单抗做间接免疫荧光反应, 确定每一个传染性病毒形成的蚀斑, 以此对病毒血症准确定量。这有助于阐明病毒血症的动态, 再结合 ELISA 检测泄殖腔 P27 的量以及血液中抗体的滴度, 掌握 ALV-J 感染后抗体反应和带毒排毒动态变化与感染年龄和感染途径的关系, 以便为制定对 ALV-J 感染的预防控制和净化措施提供流行病学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 病毒

ALV-J 分离株 HN0001 由山东农业大学动物科技学院预防兽医学实验室于 2000 年从河南某肉用型父母代种鸡场肿瘤患病鸡分离到<sup>[4]</sup>, 每 0.1 ml CEF 细胞上清液中含有  $10^{3.05}$  个 TCID<sub>50</sub>。

### 1.2 试验动物

1 日龄 SPF 鸡及 SPP 鸡胚购自济南赛斯家禽科技有限公司。

### 1.3 SPF 隔离器

名称为禽用正/负压隔离器, 规格为 2 000 mm×830 mm×1 800 mm, 生产厂家为黑龙江灵鼠科技开发有限责任公司

### 1.4 试验鸡分组、感染、饲养

1 日龄 SPF 鸡 30 只, 随机分成 3 组。第一组 10 只, 每只腹腔注射 0.2 ml ALV-J 感染细胞培养上清液; 第二组 10 只, 每只口服 0.2 ml ALV-J 感染细胞培养上清液; 第三组 10 只, 与一二组同笼接触感染。一、二、三组鸡于同一隔离罩内饲养。

49 日龄 SPF 鸡 7 只随机分成 3 组。第四组 3 只, 每只肌肉注射 0.5 ml ALV-J 感染细胞培养上清液; 第五组 3 只, 每只口服 0.5 ml ALV-J 感染细胞培养上清液; 第六组 1 只, 同笼接触感染。第四、五、六组于同一隔离罩内饲养。

### 1.5 病毒血症的检测

1.5.1 病毒蚀斑的培养 1 日龄感染的 3 个组中分别随机取出 6 只鸡, 做好标记, 并于攻毒后 1、2、3、4、6、8、10、12、16 周龄分别无菌采集抗凝血接种鸡胚

成纤维细胞 (CEF) 检测病毒血症, 49 日龄感染的鸡于攻毒后 1、3、5、9 周分别无菌采集抗凝血接种鸡胚成纤维细胞 (CEF) 检测病毒血症。所采血液均 4℃ 放置。将每次各组所采抗凝血分离出的血浆样品用在 4℃ 预冷的 DMEM (GIBCO BRL) 营养液进行 25 倍稀释, 接至含 CEF 单层的 24 孔板上, 每孔 120 μl, 每份样品接 2 孔, 同时每块板设阴性对照。于 37℃ 吸附 2 h, 弃去血浆稀释液, 用含 15% 小牛血清的 DMEM 营养液与 2% 的低熔点琼脂溶液 (在 45℃ 下预孵) 按 3:1 的比例混合后覆盖细胞单层, 37℃ 培养 4 d<sup>[13]</sup>。

**1.5.2 间接免疫荧光试验 (IFA)** 培养 4 d 后取出细胞板, 去掉软琼脂, 1×PBS 洗涤 1 次, 固定液 (丙酮: 乙醇 (95%)) = 3:2 固定 8 min 后, 1×PBS 洗涤 3 次。用 ALV-J 的特异单克隆抗体 JE9<sup>[14]</sup> (1:500 稀释) 作第一抗体。每孔 200 μl, 37℃ 45 min, 1×PBS 洗涤 3 次后, 均分别用 FITC 标记的羊抗鼠 IgG 抗体 (SIGMA 公司, 1:100 稀释) 作为第二抗体。每孔 200 μl, 37℃ 45 min, 1×PBS 洗涤 3 次后, 加 50% 甘油覆盖, 置荧光显微镜 (NIKON DXM1200F) 下观察计数病毒蚀斑。

对 24 孔板中每个孔的 IFA 结果进行观察, 如果有几个显示特异性荧光的细胞聚集在一起则视为 1 个病毒蚀斑, 分别计数每个孔中特异性荧光的病毒蚀斑数 (PFU/孔), 再根据以下公式计算 (PFU/ml):

$$\text{PFU/ml} = \frac{\text{每孔病毒蚀斑数(PFU/孔)}}{\text{每孔加入血清样品稀释液的量(ml/孔)} \times \text{稀释倍数}}$$

## 1.6 ALV 特异性 p27 抗原的检测

1 日龄鸡于攻毒后 1、2、3、4、5、6、8、10、12、16、26 周龄分别采集泄殖腔棉拭子, 49 日龄鸡于攻毒后 1、3、5、9、19 周分别采集棉拭子。用 IDEXX 公司的 Avian Leukosis Virus Antigen Test Kit, 具体方法见试剂盒说明书。

## 1.7 ALV-J 特异性抗体的检测

1 日龄 SPF 鸡于攻毒后 1、2、3、4、5、6、8、10、12、16、26 周龄分别常规采血 0.2~0.5 ml, 分离血清。49 日龄 SPF 鸡于攻毒后 1、3、5、9、19 周分别常规采血 0.5 ml, 分离血清。用 IDEXX 公司的 Avian Leukosis Virus Antibody Test Kid-Subgroup J 检测, 具体方法见试剂盒说明书。

## 2 结果与分析

### 2.1 1 日龄攻毒鸡的病毒血症、排毒和抗体反应动态

**2.1.1 病毒血症的动态** 不同感染方式对病毒血症水平和动态影响很大, 注射组的病毒血症水平在 6 周后与口服组差异显著 (表 1)。注射组检测的 6 只鸡均出现病毒血症, 且有 4 只鸡在 2 周时即显示病毒血症, 且在较高水平持续 16 周以上 (图 1-A)。而口服组经检测的 6 只鸡中只有 1 只呈现持续性的病毒血症, 2 只呈现短暂的病毒血症, 剩余 3 只在 16 周内 8 次检测中均未检测出病毒血症 (图 1-B)。同罩内接触感染的鸡均没有出现病毒血症 (图 1-C), 与注射组差异极显著。在 45 周龄时, 注射组仍有 3 只鸡检测到病毒血症, 而口服组和接触组均未检测到病毒血症。

**2.1.2 泄殖腔 P27 抗原的检出动态** 不同感染方式对泄殖腔排毒的动态影响也很大。从 S/P 值方面看, 注射组 p27 的 S/P 值明显高于口服组, 接触感染组 p27 的检测一直为阴性。根据对泄殖腔棉拭子中 p27 抗原的检测判断, 注射组经检测的 7 只鸡中, 有 5 只 (71.4%) 可检出 p27 阳性, 其中 4 只呈持续性排毒 (图 2-A)。而口服组连续检测的 9 只鸡中, 只有 1 只持续性检出高水平的 p27, 另有 3 只仅一过性排毒, 在 8 周后不再检出, 其余 5 只不排毒 (图 2-B)。同罩饲养接触感染的 9 只鸡没有一只鸡排毒 (图 2-C)。在 45 周龄时, 注射组仍有 3 只鸡从泄殖腔检测到高水

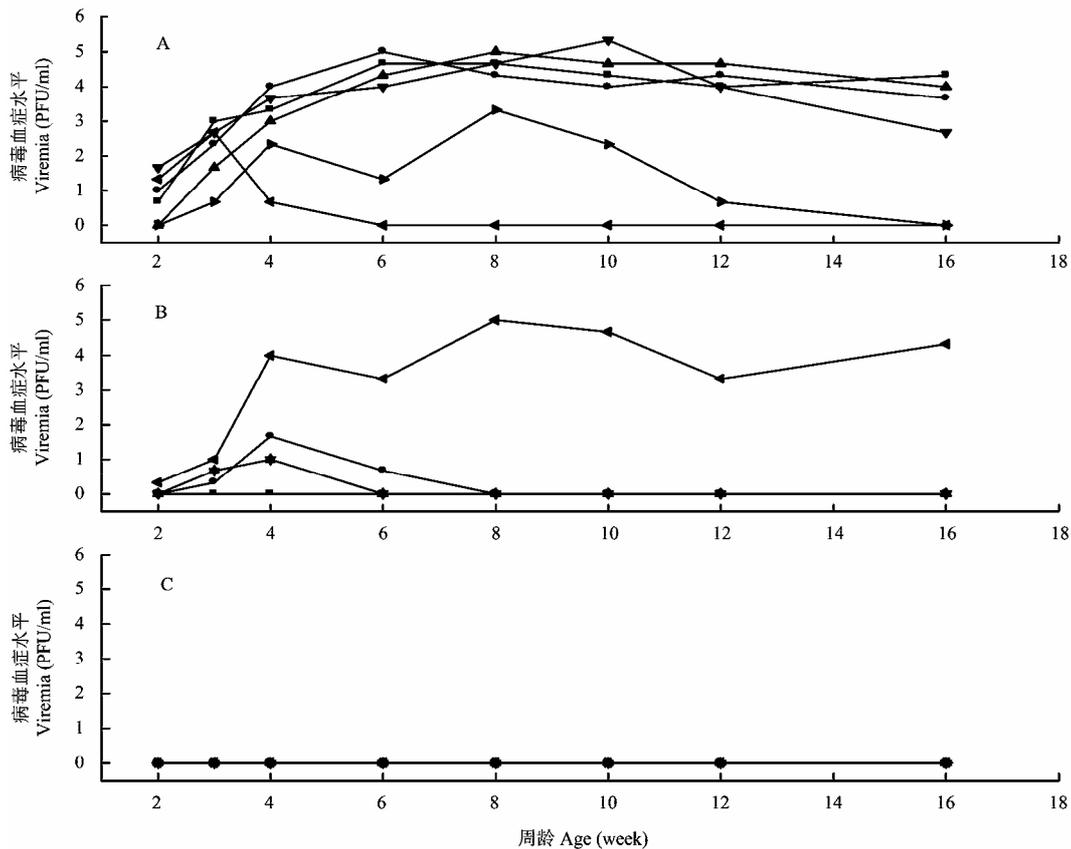
表 1 1 日龄 SPF 鸡感染后的病毒血症的动态 ( $\bar{X} \pm s$ , n=6)

Table 1 Viremia dynamics at different intervals after inoculation with ALV-J in different routes at the age of 1 day (PFU/ml)

	2 周 2 weeks	4 周 4 weeks	6 周 6 weeks	8 周 8 weeks	10 周 10 weeks	12 周 12 weeks	16 周 16 weeks
注射组 Injected group	0.78±0.7Aa (0~1.7)	2.83±1.2Aa (0.6~4)	3.22±2.1Aa (0.3~5)	3.67±1.9Aa (0.6~5)	3.44±1.9Aa (0.3~5.3)	3.11±1.8Aa (0~4.7)	2.50±1.9Aa (0~4.3)
口服组 Oral group	0.33±0.7a (0~1.6)	1.39±1.5 a (0~4)	0.78±1.3b (0~3.3)	0.89±2.0a (0~5)	0.78±1.9b (0~4.7)	0.72±1.8b (0~4.3)	0.56±1.4b (0~3.3)
接触感染组 Contact group	0.00 B	0.00 B	0.00 B				

同一周龄同列注不同小写字母者, 差异显著 ( $P < 0.05$ ), 有相同字母者差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 有不同大写字母者, 差异极显著 ( $P < 0.01$ ), 括号中数据表示病毒血症数值变化范围

Different capital letters indicate that the differences were very significant ( $P < 0.01$ ). The different small letters indicate that the differences were significant ( $P < 0.05$ ). The same letters indicate the differences were not significant ( $P > 0.05$ ) The numerics in the parentheses are ranges of viremia levels in each group



A 为注射组, B 为口服组, C 为接触感染组, 单位均为 PFU/ml。图中各条线均代表每组中每只鸡的病毒血症动态曲线

A is injected group, B is oral group, C is contact group, unit is PFU/ml. Each line in all groups represents viremia dynamics for each chicken individual in all groups

图 1 1 日龄 SPF 鸡攻毒后的病毒血症的动态

Fig. 1 Dynamics of viremia after inoculation at 1-day SPF chicken

平的抗原, 而口服组和接触组抗原检测均为阴性。

**2.1.3 特异性抗体反应动态** 在 1 日龄注射 ALV-J 的鸡呈现严重的免疫耐受, 仅 1 只鸡自 16 周产生特异性抗体反应, 还有 1 只鸡在 26 周时产生低水平的抗体反应 (图 3-A)。在检测的口服感染的 9 只鸡中, 有 3 只自 8 周出现较好的抗体反应, 1 只鸡产生短暂轻微的抗体反应, 其余鸡也没有产生抗体反应 (图 3-B)。接触感染的鸡不仅没有出现病毒血症反应或排毒, 在 4 个月内也没有呈现抗体反应 (图 3-C), 表明没有被感染。在 45 周龄时, 口服组仍有 2 只鸡检测到高水平的抗体, 而注射组和接触组抗体检测均为阴性。

**2.1.4 不同个体病毒血症、p27、抗体之间的关系** 1 日龄攻毒后, 不同个体在不同时期病毒血症、p27、抗体之间对应关系呈现多样化, 出现 5 种不同组合的表现, 即 V+ p27+ Ab+, V+ p27+ Ab-, V+ p27- Ab-, V- p27- Ab- 和 V- p27- Ab+ (表 2)。由表 2 可见, 1 日龄 SPF 鸡感染 ALV-J 后, 不论是注射法还是口服法,

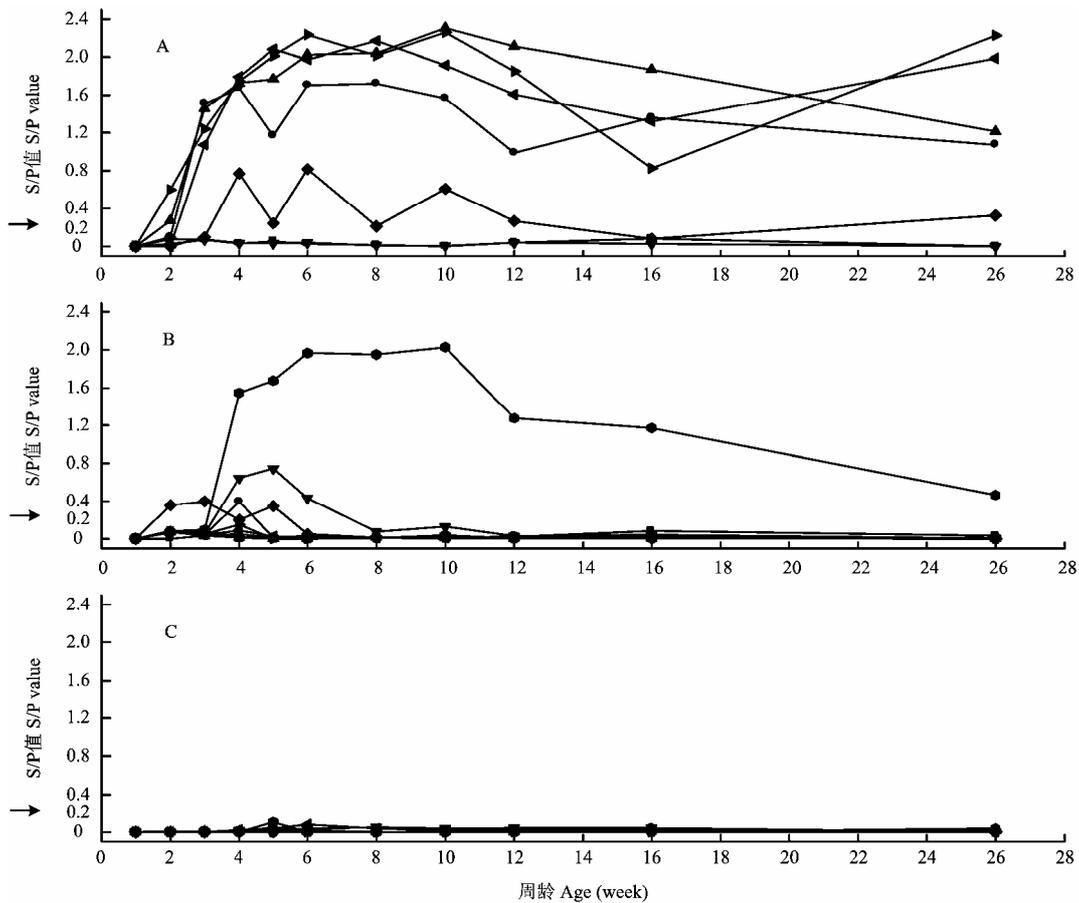
大多数鸡均表现病毒血症但不产生抗体反应 (V+Ab-)。口服感染也只有少数鸡只产生抗体反应但不表现病毒血症。然而, 注射感染有 1 只于 16 周在出现病毒血症的同时, 出现抗体反应。

## 2.2 49 日龄攻毒后病毒血症及抗体反应动态

**2.2.1 病毒血症的动态** 49 日龄人工接种 ALV-J 后的 9 周内, 无论是注射感染、口服感染还是接触感染均未检测出病毒血症。

**2.2.2 群特异性抗原 P27 的检测动态** 49 日龄人工接种 ALV-J 后的 19 周内, 无论是注射感染、口服感染还是接触感染, p27 的检测均一直为阴性。

**2.2.3 特异性抗体的检出动态** 攻毒后 19 周内连续检测了 5 次, 注射组 3 只鸡分别从接种后 1 周、3 周和 9 周抗体开始呈现阳性并一直保持阳性, 到 19 周仍有 1 只检测到高水平的抗体 (图 4-A)。但口服感染组的 3 只鸡和接触感染组 1 只鸡一直为阴性 (图 4-B, C)。表明, 49 日龄鸡, 人工注射感染后, 很快



A 为注射组, B 为口服组, C 为接触感染组, 图中箭头指示处为临界值, 根据 IDEXX 试剂盒要求, 高于 0.2 为阳性, 低于 0.2 为阴性。图中各条线均代表每组中每只鸡泄殖腔 p27 抗原的动态曲线  
 A is injected group, B is oral group, C is contact group, the arrow is critical value, according to IDEXX Avian Leukosis Virus Antigen Test Kit, >0.2 is positive, <0.2 is negative. Each line in all groups represents dynamics of cloaca swab p27 for each chicken individuals in all groups

图 2 1 日龄 SPF 鸡攻毒后泄殖腔 p27 抗原的动态  
 Fig. 2 Dynamics of p27 antigen after inoculation at 1-day SPF chicken

表 2 病毒血症、p27、抗体之间的关系

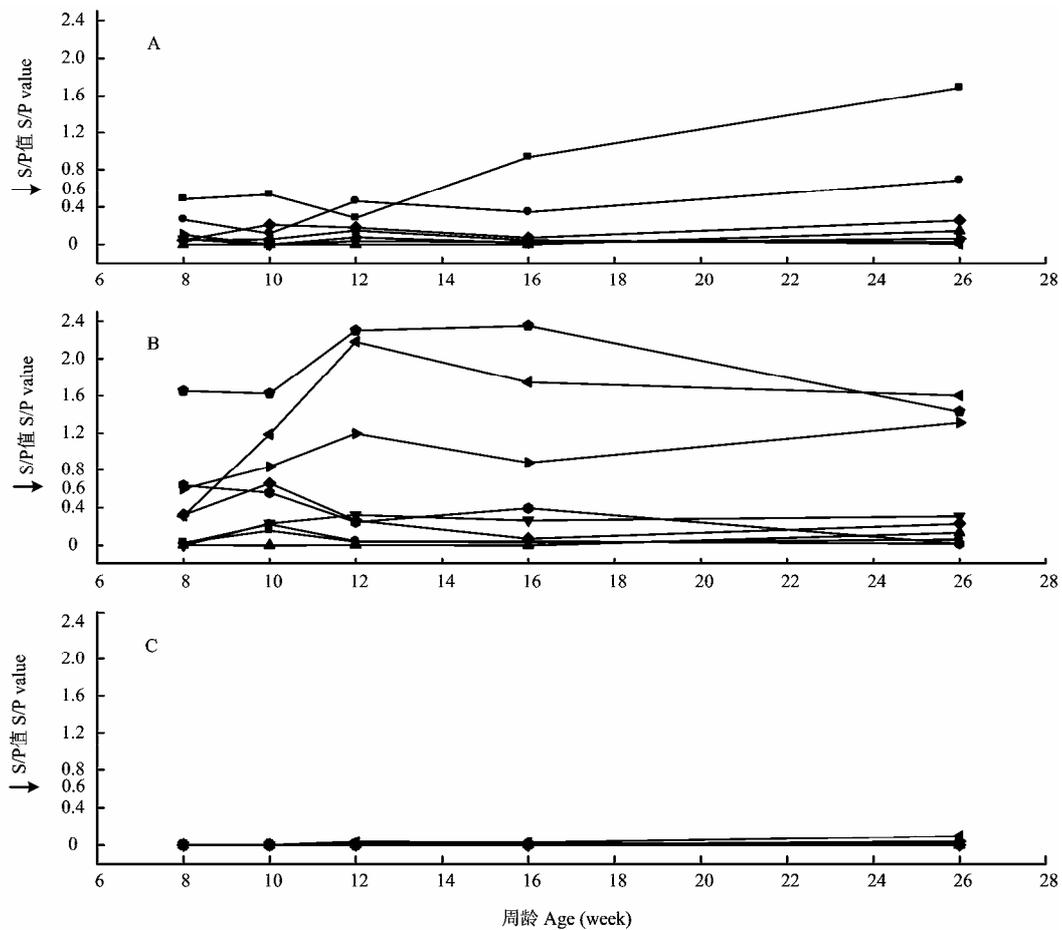
Table 2 The relationship between viremia, p27 and antibody

	2 周 2 weeks	4 周 4 weeks	6 周 6 weeks	8 周 8 weeks	10 周 10 weeks	12 周 12 weeks	16 周 16 weeks	备注 Remarks
V+ p27+Ab+	0.00%(0/18)	0.00%(0/18)	0.00%(0/18)	0.00%(0/18)	0.00%(0/18)	0.00%(0/18)	5.56%(1/18)	注射组 Injected group
V+ p27+ Ab-	16.7%(3/18)	45.8%(5/18)	45.8%(5/18)	37.5%(5/18)	45.8%(6/18)	45.8%(5/18)	37.5%(5/18)	注射组+口服组 Injected group+oral group
V+ p27 - Ab-	16.7%(4/18)	20.8%(5/18)	12.5%(3/18)	4.17%(1/18)	0.00%(0/18)	0.00%(0/18)	0.00%(0/18)	注射组+口服组 Injected group+oral group
V - p27 - Ab-	66.7%(11/18)	33.3%(8/18)	41.7%(10/18)	45.8%(11/18)	45.8%(11/18)	45.8%(12/18)	50.0%(11/18)	接触感染组+口服组 Contact group+oral group
V- p27- Ab+	0.00%(0/18)	0.00%(0/18)	0.00%(0/18)	4.17%(1/18)	4.17%(1/18)	4.17%(1/18)	4.17%(1/18)	口服组 Oral group

产生特异性抗体反应, 但很难产生可检测到的病毒血症和排毒。口服和接触感染, 均检测不到抗体反应。

### 3 讨论

本研究通过比较 ALV-J 中国分离株 HN0001 以不



A 为注射组, B 为口服组, C 为接触感染组, 图中箭头指示处为临界值, 根据 IDEXX 试剂盒要求, 高于 0.6 为阳性, 低于 0.6 为阴性。图中各条线均代表每组中每只鸡抗体反应的动态曲线

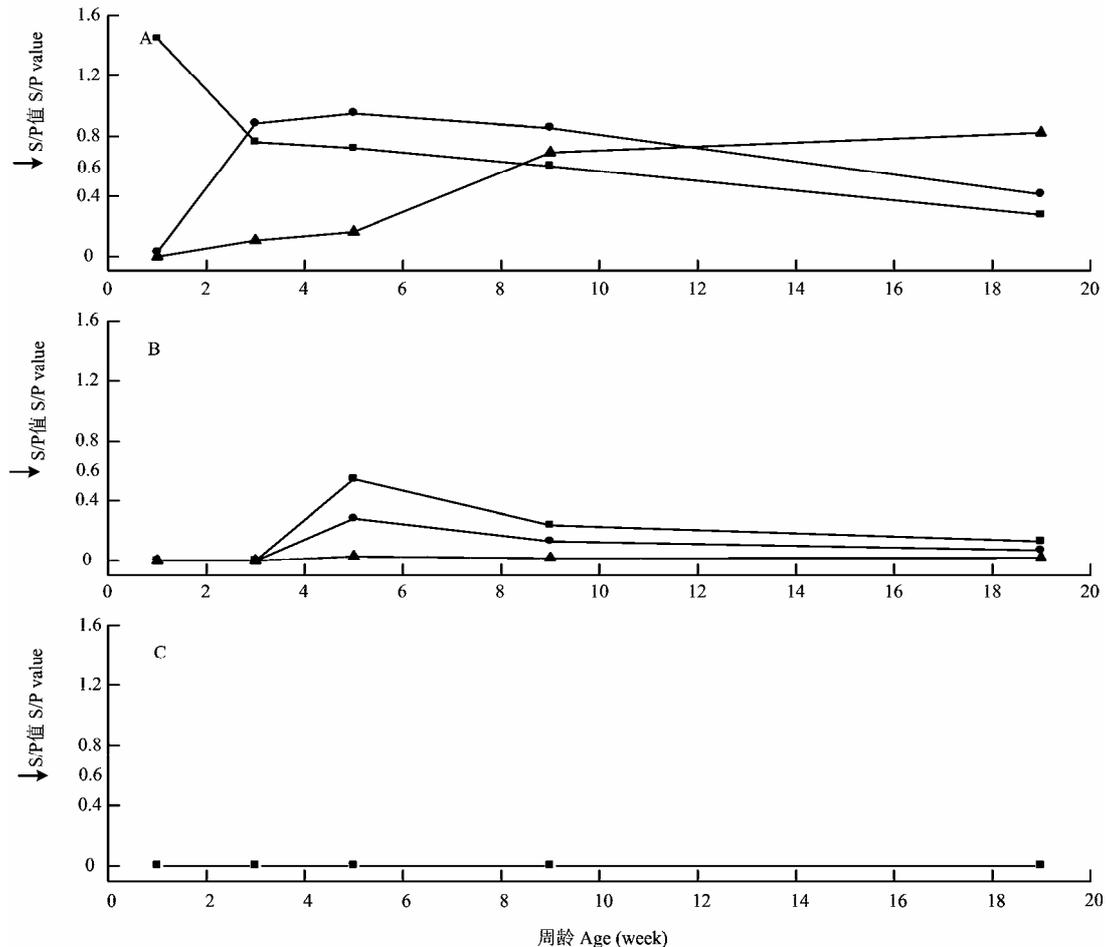
A is injected group, B is oral group, C is contact group, the arrow is critical value, according to IDEXX Avian Leukosis Virus Antibody Test Kit-Subgroup J,  $>0.6$  is positive,  $<0.6$  is negative. Each line in all groups represents antibody dynamics for each chicken individual in all groups

图 3 1 日龄攻毒后抗体的动态

Fig. 3 Dynamics of antibody after inoculation at 1-day SPF chicken

同途径感染不同日龄 SPF 鸡后病毒血症、抗体反应和排毒动态, 结果发现, 1 日龄 SPF 鸡在腹腔接种 ALV-J HN0001 株后, 大多数都在 26 周内几乎不产生抗体反应, 而表现为持续的耐受性病毒血症, 而且在泄殖腔也持续性排毒 (图 1-A、2-A、3-A)。这一结果与 ALV 垂直传播后的表现规律一致<sup>[14, 15]</sup>。但同是 1 日龄鸡, 如果口服同样剂量 HN0001 株病毒, 只有 1 只鸡表现为持续的耐受性病毒血症, 且持续在泄殖腔排毒, 其余多数鸡在产生一过性病毒血症后出现抗体反应, 同时也不在排毒 (图 1-B、图 2-B、图 3-B)。这显示出在同日龄以不同途径感染 ALV-J 后的结局是显著不同的 (图 1、图 2、图 3)。本试验中, 虽然有 1 只鸡曾短暂地同时呈现病毒血症和抗体反应 (V+ Ab+)(表

2), 但所有已呈现持续稳定抗体反应的鸡, 都不再呈现病毒血症和排毒。这表明, 在净化程序中, 应考虑保留抗体持续阳性的种鸡。此外, 所有同一隔离罩内饲养的 SPF 鸡, 在连续 26 周的饲养期中, 不仅没有检出病毒血症 (图 1-C), 也没有检出泄殖腔排毒 (图 2-C), 而且也没有一只出现抗体反应 (图 3-C)。这说明在这一特定毒株和特定品系 SPF 鸡的条件下, 即使同一隔离罩饲养, 也没有产生横向感染。但是 Witter 等报道经垂直感染的雏鸡出壳后可在孵化厅内及运输箱中造成显著横向传播<sup>[16]</sup>。对这一差异可能的解释是, 在  $1.5 \text{ m}^2$  隔离罩内饲养 30 只雏鸡的密度显著低于在 0.15 米的运输箱中装满 80~100 只鸡的密度。但也可能的是, 先天性垂直感染的雏鸡在出壳后就已开始



A 为注射组, B 为口服组, C 为接触感染组, 图中箭头指示处为临界值, 根据 IDEXX 试剂盒要求, 高于 0.6 为阳性, 低于 0.6 为阴性。图中各条线均代表每组中每只鸡抗体反应的动态曲线

A is injected group, B is oral group, C is contact group, the arrow is critical value, according to IDEXX Avian Leukosis Virus Antibody Test Kit-Subgroup J,  $>0.6$  is positive,  $<0.6$  is negative. Each line in all groups represents antibody dynamics for each chicken individual in all groups

图 4 49 日龄 SPF 鸡攻毒后抗体的动态

Fig. 4 Dynamics of antibody after inoculation at 49-day SPF chicken

排毒, 而在本研究中, 1 日龄 SPF 鸡接种病毒后两周才只有少数鸡排毒, 到 3 周才到排毒高峰期。而此时, 鸡对 ALV-J 的易感性已大大下降。因为早就有报道, ALV A 和 B 亚型对鸡的感染有明显的年龄依赖性, 在最初的 1~21 d 内, 随着年龄增长, 鸡对 ALV 感染的抵抗力也明显增加<sup>[15, 17-18]</sup>。为此, 本研究又比较了更大日龄 SPF 鸡对 ALV-J 的易感性。结果表明, 49 日龄鸡对 ALV-J 的易感性确实下降得非常明显。即使增加了 1.5 倍的感染剂量, 不论是注射还是口服感染的鸡, 在感染后 19 d 内没有检出病毒血症和泄殖腔排毒。由于本试验所用鸡的数量有限, 这结果还不足以做出在 49 日龄感染不会带毒排毒的结论, 但至少说明其排

毒的可能性非常低。这一比较结果对生产实践有重要的指导意义。本试验结果表明, 为了预防和控制 ALV-J 在鸡群内的传播, 控制垂直传播及出壳后最初几天的传播时最重要, 也是最关键的。

## 4 结论

1 日龄 SPF 鸡感染 ALV 后会发生严重的免疫耐受, 患鸡持续带毒排毒而不产生抗体; 49 日龄 SPF 鸡感染后, 在 1~2 周内即可产生高水平的抗体, 而不带毒排毒。不同病毒接种方式对 ALV-J 的感染后的带毒排毒和抗体反应动态有很大影响, 注射感染比口服感染更容易诱发持续性免疫耐受和病毒血症。

## References

- [1] Payne L N, Brown S R, Bumstead N, Howes K, Frazier J A, Thouless M E. A novel subgroup of exogenous avian leucosis virus in chickens. *Journal of General Virology*, 1991, 72: 801-807.
- [2] 杜 岩, 崔治中, 秦爱建, Silva R F, Lee L F. 鸡的 J 亚群白血病毒病的分离及部分序列比较. *病毒学报*, 2000, 16(4): 341-346.
- Du Y, Cui Z Z, Qin A J, Silva R F, Lee L F. Isolation of subgroup J avian leukosis viruses and their partial sequence comparison. *Chinese Journal of Virology*, 2000, 16(4): 341-346. (in Chinese)
- [3] Cui Z Z, Du Y, Zhang Z, Silva R. Comparison of Chinese field strains of avian leukosis subgroup J viruses with prototype strain HPRS-103 and United States strains. *Avian Diseases*, 2003, 47(4): 1321-1330.
- [4] 张 志, 崔治中, 赵宏坤. 我国 2000~2001 年 J 亚群白血病毒分离株 gp85 基因的序列比较. *中国兽医学报*, 2003, 23(1): 25-27.
- Zhang Z, Cui Z Z, Zhao H K. Sequence Analysis of envelope glycoproteins (gp85) of Chinese isolates of J avian leukosis viruses in the period of 2000-2001. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2003, 23(1): 25-27. (in Chinese)
- [5] 徐筱蕊, 董卫星, 余春明, 冯小宇, 李 宁, Lee L F, Li M X. 用 ALV-Jgp85 单克隆抗体证明蛋鸡存在 J 亚群禽白血病. *畜牧兽医学报*, 2005, 36(3): 269-271.
- Xu B R, Dong W X, Yu C M, Feng X Y, Li N, Lee L F, Li M X. Occurrence of ALV-J in egg-type chickens certified by monoclonal antibody against ALV-Jgp85. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2005, 36(3): 269-271. (in Chinese)
- [6] 王 辉, 崔治中. 蛋鸡 J 亚群白血病毒病的分离鉴定及序列分析. *病毒学报*, 2008, 24: 369-375.
- Wang H, Cui Z Z. The identification and sequence analysis of ALV-J isolated from layers. *Chinese Journal of Virology*, 2008, 24: 369-375. (in Chinese)
- [7] 成子强, 张 利, 刘思当, 张玲娟, 崔治中. 中国麻鸡中发现禽 J 亚群白血病毒. *微生物学报*, 2005, 45(4): 584-587.
- Cheng Z Q, Zhang L, Liu S D, Zhang L J, Cui Z Z. Emerging of avian leukosis virus subgroup J in a flock of Chinese local breed. *Acta Microbiologica Sinica*, 2005, 45(4): 584-587. (in Chinese)
- [8] 李 艳, 崔治中, 孙淑红. 黄羽肉鸡 J 亚群白血病毒病的分子生物学特性和致病性. *病毒学报*, 2007, 23(3): 207-211.
- Li Y, Cui Z Z, Sun S H. Molecular biology and pathogenicity of subgroup J avian leukosis virus isolated from Yellow Chickens. *Chinese Journal of Virology*, 2007, 23(3): 207-211. (in Chinese)
- [9] Sun S, Cui Z. Epidemiological and pathological studies of subgroup J avian leukosis virus infectious in Chinese coccal "yellow" chicken. *Avian Pathology*, 2007, 36: 221-226.
- [10] Malkinson M, Banet-Noach C, Davidson I, Fadly A M, Witter R L. Comparison of serological and virological findings from subgroup J avian leukosis virus-infected neoplastic and non-neoplastic flocks in Israel. *Avian Pathology*, 2004, 33(3): 281-287.
- [11] Pandiri A R, Reed W M, Mays J K, Fadly A M. Influence of strain, dose of virus, and age at inoculation on subgroup J avian leukosis virus persistence, antibody response, and oncogenicity in commercial meat-type chickens. *Avian Disease*, 2007, 51(3): 725-732.
- [12] Witter R L, Bacon L D, Hunt H D, Silva R E, Fadly A M. Avian leukosis virus subgroup J infection profiles in broiler breeder chickens: association with virus transmission to progeny. *Avian Disease*, 2000, 44(4): 913-931.
- [13] 孟珊珊, 崔治中, 孙淑红. REV 和 ALV-J 共感染鸡病毒血症及抗体反应的相互影响. *中国兽医学报*, 2006, 26(4): 363-366.
- Meng S S, Cui Z Z, Sun S H. Interaction of viremia and antibody in chicken's coinfecting with REV and ALV-J. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2006, 26(4): 363-366. (in Chinese)
- [14] 秦爱建, 崔治中, Lee L, Aly F. 抗 J 亚群白血病毒囊膜糖蛋白特异性单克隆抗体的研制及其特性. *畜牧兽医学报*, 2001, 32(6), 556-562.
- Qin A J, Cui Z Z, Lee L, Aly F. Development and characterization of monoclonal antibodies to subgroup J avian leukosis virus. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2001, 32(6): 556-562. (in Chinese)
- [15] Mays J K, Pandiri A R, Fadly A M. Susceptibility of various parental lines of commercial white leghorn layers to infection with a naturally occurring recombinant avian leukosis virus containing subgroup B envelope and subgroup J long terminal repeat. *Avian Disease*, 2006, 50(3): 342-347.
- [16] Witter R L, Fadly A M. Reduction of horizontal transmission of avian leukosis virus subgroup J in broiler breeder chickens hatched and reared in small groups. *Avian Pathology*, 2001, 30: 641-654.
- [17] Maas H J, de Boer G F, Groenendal J E. Age related resistance to avian leucosis virus III. Infectious virus, neutralizing antibody, and tumours in chickens inoculated at various ages. *Avian Pathology*, 1982, 11: 309-327.
- [18] Rubin H, Fanshier L, Cornelius A, Hughes W F. Tolerance and immunity in chickens after congenital and contact infection with an avian leucosis virus. *Virology*, 1962, 17: 143-156.