

七彩山鸡新城疫病毒的分离鉴定与免疫保护试验

刘振湘 (湖南环境生物职业技术学院, 湖南衡阳 421005)

摘要 用 SPF 鸡胚从疑似七彩山鸡新城疫病鸡群中分离到一株病毒, 进行 HA 及 HI 试验以及病毒中试验。结果表明, 血凝作用可被 NDV 阳性血清所抑制, 而不能被 AIV (H9 亚型)、EDS76 所抑制, 经 ND 标准阳性血清处理的病料接种的鸡胚未见死亡, 证明分离毒为 NDV。动物回归试验表明, 分离毒肌肉注射非免疫七彩山鸡能使之发病、死亡, 出现与自然病例一致的症状与病变, 但肌注 SPF 鸡只感染, 不出现临床症状。其生物学特性 NHAT 为快、HOT 为 8 min、ICPI 为 1.73、IVPI 为 1.45、MDT 为 44 h。表明该七彩山鸡 NDV 分离株与鸡 F₄₈E₉ 株在生物学特性上表现出不同的特性。用分离毒株制成油乳剂灭活疫苗, 分别以分离毒株和 Lasota 株的灭活苗免疫广西麻鸡和七彩山鸡, 进行疫苗免疫效果比较和交叉免疫保护试验。结果表明, 分离毒株灭活苗免疫组鸡各个时期所产生的 HI 抗体效价和 Lasota 灭活苗免疫组鸡的抗体效价相差明显, 各组的升降规律也基本一致; Lasota 灭活苗免疫七彩山鸡对分离毒株的攻击只能 80% 保护。而其他各免疫组的无论是对分离毒株还是 F₄₈E₉ 株的攻击均能 100% 保护。说明 NDV 不同毒株之间的毒力和抗原性存在一定的差异。

关键词 新城疫病毒; 七彩山鸡; 分离; 鉴定; 生物学特性; 免疫保护试验

中图分类号 S852.65 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)24-11558-03

Isolation Identification and Protective Immunity Test of Newcastle Disease Virus from Pheasant

LIU Zhen-xiang (Hunan Environmental Biological Polytechnic, Hengyang, Hunan 421005)

Abstract By using SPF chicken embryo, a strain of disease virus was isolated from suspected pheasants Newcastle Disease. The results of the HA and HI tests and HIV test showed that the Hemagglutination could be inhibited by NDV positive serum, but not AIV (H9 subtypes) and EDS76. There was no death of inoculation chicken embryo treated by ND standard positive serum, which proved isolated virus was NDV. Animal regression test showed that the isolated virus injected through muscular could enable non-immune pheasant the incidence of death, and symptoms and lesions appeared consistent with natural cases. However, intramuscular injection of SPF could only make chickens infected, but no clinical symptoms. Its biological characteristics were that NHAT faster, HOT for 8min, ICPI for 1.73, IVPI for 1.45, MDT for 44 h, which indicated that the pheasant NDV isolated strains and chicken F₄₈E₉ strain showed different characteristics on biological characteristics. Guangxi chicken and pheasant were immunized by using inactivated vaccine which produced by isolated virus and Losota strain for immune effect comparison and cross-protective immunity test. The results showed that HI antibody titer generated by isolated virus and Losota inactivated immune chicken have no significant difference, and each group's movements are basically the same; losota inactivated vaccine immunized pheasant from the attack of isolated virus strain for only 80%, While the other immune groups whether to against isolated virus strain or F₄₈E₉ stain could be up to 100%. It indicated that virulence and antigenic of various NDV stains existed differences.

Key words Newcastle Disease Virus; Pheasant; Isolation; Identification; Biological characteristic; Protective immunity test

新城疫是危害我国养禽业的重要传染病, 新城疫病毒 (NDV) 可引起多种禽鸟发生急性、败血性传染病^[1]。已从多种禽鸟, 如鸭、鹅、鸡、鸽、麻雀、鸚鵡等体内分离到 NDV^[2-6]。也有报道从病七彩山鸡体内分离到 NDV^[7]。2008 年 4 月, 湖南某野生动物救护中心饲养的七彩山鸡发生一起疑似新城疫的疫情。对此, 笔者进行了病毒分离鉴定, 并对其进行了生物学特性测定。把分离的新城疫病毒制成疫苗和常规 Lasota 疫苗进行免疫保护试验, 旨在探讨免疫预防措施, 为科学制定七彩山鸡新城疫的综合防控措施提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料 病料来源: 湖南长沙地区某野生动物救护中心病死七彩山鸡的脑、肝脏、脾脏等组织。SPF 鸡胚和鸡: SPF 种蛋购于北京梅里亚维通实验动物技术有限公司, 自行孵化至所需日龄 SPF 鸡 (9 日龄 SPF 鸡胚和 1 日龄 SPF 雏鸡), 饲养环境严格隔离和消毒。试验鸡: 七彩山鸡由长沙某特禽养殖场提供非免疫七彩山鸡, 经 HI 试验 ND 抗体阴性; 健康广西麻鸡由衡阳某养殖场提供。抗 NDV 阳性血清: NDV 阳性血清、EDS76 阳性血清、AIV (H9 亚型) 阳性血清、阴性血清均购于中国兽药监察所。1% 红血球和生理盐水: 按常规自制。毒株: 新城疫标准毒 F₄₈E₉ 和 Lasota, 购于中国兽药监察所。主要试剂: 白油、硬脂酸铝、司班-80、吐温-80。

1.2 方 法

1.2.1 病毒的分离培养。①病料的处理。无菌采集病死七彩山鸡的肝脏、脾脏、肾脏、肺脏等组织分别研磨后按 1:5 加入无菌生理盐水, 再加双抗 (青、链霉素), 使其终浓度为 2 000 IU/ml, 置 4 °C 冰箱过夜, 3 500 r/min 离心 10 min, 取上清液于 4 °C 10 000 r/min 30 min 离心纯化后, 无菌取其上清液保存备用, 同时随机取 10 只病鸡血液, 离心取血清备用。②病毒的培养。取 9~10 日健康 SPF 鸡胚, 接种上述备用上清液于尿囊腔, 每组 5 枚, 另设 2 枚接种无菌生理盐水做对照, 置 37 °C 温箱培养, 每日照蛋 2 次, 弃去 24 h 内死亡胚, 收集 24~120 h 死亡鸡胚与活胚于 4 °C 冰箱过夜, 次日收取尿囊液, 盲传 3 代, 测定 HA 价, 效价在 2⁴ 以上者判为阳性, 冻存备用。

1.2.2 鸡胚中和试验。取 ND 阳性血清与等量 100 倍稀释分离毒, 置室温作用 30 min 后, 接种 5 枚 SPF 鸡胚, 同时接种 5 枚不加血清的病毒液, 0.2 ml/枚, 继续培养至 120 h。弃去 24 h 内死亡胚, 收获 24~120 h 死亡胚及活胚的尿囊液, 做 HA 测定。

1.2.3 血凝 (HA) 和血凝抑制 (HI) 试验。按常规微量法进行。对收取的各代尿囊液进行血凝试验, 检测有无血凝性, 对有血凝性的测定 NDV 阳性血清、AIV (H9 型) 阳性血清、EDS76 阳性血清及阴性血清的血凝抑制活性。

1.2.4 病毒理化特性鉴定。①氯仿敏感性试验。按文献 [8] 进行。向病毒液内加入分析纯的氯仿, 使其最终浓度为

作者简介 刘振湘 (1971 -), 男, 湖南耒阳人, 副教授, 从事动物传染病的教学与科研工作。

收稿日期 2009-04-14

4.8%,置4℃振荡混合10 min。随后用500 r/min的速度离心5 min,然后吸取上层液体,滴定病毒感染力。对照病毒液可加入终浓度为4.8%的生理盐水,同样处理和滴定。氯仿处理病毒液的滴度比对照病毒液下降2个对数以上者,判为对氯仿敏感。②耐酸性试验。按文献[8]进行,取病毒液1 ml加0.1 mol/L HCl调pH值为3.0,置37℃温箱2 h,用无菌NaHCO₃溶液调pH值为7.2,同时设生理盐水对照。与氯仿敏感试验同法接种培育,收获尿囊液测HA价。

1.2.5 病毒生物学特性测定。①病毒血凝解脱及血凝素稳定性试验。将分离毒株、Lasota株用标准方法分别测定其对鸡红细胞的凝集价(HA),读数后振荡,使红细胞悬浮,4℃过夜,读数后再悬浮,再于2 h后读HA值。洗脱速度分为“快速”、“中速”、“慢速”。第1次悬浮过夜后不凝集者为“快速解脱”,第2次悬浮2 h不凝集者为“中速解脱”,仍凝集者为“慢速凝集”。将上述分离病毒以1 500~2 000 r/min离心10 min,取上清液0.5~1.0 ml,装于小试管中,置56℃水浴中1、3、5、10、30、60 min,立即冷却后测定经过处理的HA值,不凝集者证明血凝消失^[3]。②1日龄雏鸡脑内注射致病指数(ICPI)测定。按文献[4]方法进行,将分离株鸡胚尿囊液以生理盐水稀释10倍,脑内注射出壳后24~36 h的SPF雏鸡8只,0.05 ml/只,同时设4只对照(其中2只脑注射生理盐水各0.05 ml/只),隔离观察饲养8 d,记录正常、发病与死亡鸡的每日累计数,正常鸡积分为0、发病为1、死亡为2,最后计算6周龄鸡静脉注射致病指数(ICPI)。ICPI=(8 d累计发病数×1+8 d累计死亡数×2)/8 d累计鸡只总数。③IVPI测定。按文献[4]方法进行,将分离毒株鸡胚尿囊液以生理盐水稀释10倍,翅静脉接种6周龄SPF鸡10只,0.1 ml/只,同时设4只对照(其中2只静脉注射生理盐水各0.1 ml),隔离观察饲养10 d。记录正常、发病、麻痹与死亡鸡的每日累计数,正常鸡积分为0、发病为1、麻痹为2、死亡为3,最后计算IVPI。IVPI=(10 d累计发病数×1+10 d累计麻痹数×2+10 d累计死亡数×3)/10 d累计鸡只总数。

1.2.6 最小致死量病毒致死鸡胚的平均时间(MDT)测定。按文献[4]方法,将分离株尿囊液以生理盐水分别稀释成10⁻¹~10⁻⁹,每个稀释分别接种9日龄SPF鸡胚8个,每胚0.1 ml,置37℃继续孵化,于接种后24 h第1次照蛋,弃去死亡胚,以后每天照蛋2次,记录胚胎死亡时间,取尿囊液测定HA效价,持续7 d,最后计算MDT。MDT=(X小时死亡胚数×X小时+Y小时死亡胚数×Y小时...)/死亡胚总数。

1.2.7 动物回归试验。①人工感染七彩山鸡试验。将分离毒株鸡胚尿囊液1:10稀释,肌肉注射5只经HI试验ND抗体阴性的非免疫七彩山鸡0.5 ml/只,观察30 d,记录发病、死亡情况,30 d时对未发病鸡采血清测定抗体,确定是否感染,设生理盐水注射对照组。②人工感染鸡试验。将分离毒株鸡胚尿囊液1:10稀释,肌肉注射42日龄SPF鸡5只,0.5 ml/只,观察30 d,记录发病、死亡情况,30 d时对未死亡鸡采血清测定抗体,确定是否感染,设生理盐水注射对照组。

1.2.8 疫苗制作。参照文献[9]的方法,取Lasota和分离毒株按生物制品规程,分别制成油乳剂灭活苗。

1.2.9 免疫保护试验。参照文献[10]的方法进行。①试

验方案。取8日龄健康广西麻鸡90只分成3组,分别是第1、3、5组。取8日龄七彩山鸡60只分成2组,分别是第2、4组。第1组30只,免疫Lasota油乳剂灭活苗,颈部皮下注射0.2 ml/只;第2组30只,免疫Lasota油乳剂灭活苗,颈部皮下注射0.2 ml/只;第3组30只,免疫由分离毒株制成的油乳剂灭活苗,颈部皮下注射0.2 ml/只;第4组30只,免疫由分离毒株制成的油乳剂灭活苗,颈部皮下注射0.2 ml/只。第5组30只,颈部皮下注射生理盐水0.2 ml/只,作为空白对照组。②抗体监测。分别于免疫前和免疫后第7、14、21、28、35、42天检测新城疫后各组试验鸡的HI抗体动态变化。③交叉攻毒试验。免疫后21、28、35 d,5组鸡每组取10只鸡,分别随机分为2组,5只/组,分别用分离毒株和标准毒F48E9进行肌肉注射攻击,3次攻毒剂量均为尿囊液稀释10³·0.2 ml/只,攻毒后连续观察14 d,分别记录各组试验鸡发病死亡及免疫保护情况,以无临床症状及典型病变作为保护标准,比较不同免疫组鸡在不同时间,攻击不同强毒株后的具体差异。

2 结果与分析

2.1 病毒HA和HI试验 病鸡肝上清液HA为2⁰,血清HI效价均在2^{6~7}。将病料组织上清液接种鸡胚盲传3代,结果鸡胚均在24~36 h后全部死亡,鸡胚全身充血出血,尤其以头部明显,收集尿囊液测HA效价,结果均在1:2⁶~1:2⁸。将分离毒株和Lasota素株配成4个单位的抗原与同一份标准ND阳性血清、EDS76阳性血清、AIV(H9亚型)阳性血清、阴性血清和病鸡血清测HI,结果ND阳性血清和病鸡血清效价分别为2⁷和2¹¹,而不被AIV(H9亚型)、EDS76阳性血清所抑制,表明该毒可被ND标准阳性血清和病七彩血清抑制,说明所分离毒株为NDV。

2.2 鸡胚中和试验 经ND标准阳性血清处理的病料接种的鸡胚未见死亡,HA效价为2⁰,接种未经处理病料的鸡胚于28~36 h后全部死亡,HA效价为2⁷,也证明分离毒株为NDV。

2.3 病毒理化特性鉴定 由表1可知病毒经氯仿处理后HA价下降2^{4~7},以酸处理后几乎完全丧失血凝活性,表明该病毒对氯仿和酸敏感。

表1 病毒理化特性鉴定结果

Table1 The identification result of physical and chemical characteristics of virus

处理 Treatment	死亡时 间//h Death time	尿囊液 HA价 HA titers of allantoic fluid	胚体病变数 Embryos lesion
氯仿+病毒 Chloroform and virus	48~72	2 ^{4~6}	2
病毒+生理盐水 Virus and normal saline	49~79	2 ^{10~11}	5
生理盐水+氯仿 Normal saline and chloroform	健活	2 ⁰	0
HCl+病毒 HCl and virus	健活	2 ^{0~1}	0
生理盐水+病毒 Normal saline and virus	60~75	2 ^{8~10}	5

2.4 分离 NDV 毒株的生物学特性 结果见表 2。

表 2 分离毒株的生物学测定结果

Table 2 The biological determination result of isolated virus strain

菌株 Strain	NHAT	HOT min	ICPI	IVPI	MDT h
F ₄₈ E ₉ 株 F ₄₈ E ₉ Strain	慢 slow	30	1.92	2.58	47
分离毒株 Isolated virus strain	快 Fast	8	1.73	1.45	44

注: NHAT 为病毒对红细胞凝集解脱时间(快、中、慢); HOT 为红细胞凝集素的耐热时间(56℃, min)。

Note: NHAT. Time of virus extricated and agglutinated red cell (fast, moderate, slow); HOT. Heat tolerance time of red cell coagulation (56℃, min)。

2.5 动物回归试验 将分离毒株鸡胚尿囊液稀释后接种非免疫七彩山鸡, 结果试验组均在 3 d 后发病, 表现与自然病例相似的临床症状, 接种 10 d 后血清 HI 效价为 2^{8~10}, 对照组血清 HI 为 2⁰。分离毒株鸡胚尿囊液稀释后肌肉注射 42 日龄 SPF 鸡, 饲养 30 d 未见发病和死亡, 测定血清 HI 抗体均为阳性, 即接种鸡均感染, 对照组血清 HI 为 2⁰。

2.6 免疫情况及免疫后抗体变化 分别接种 2 种疫苗和生理盐水的 5 组 8 日龄健康广西麻鸡和健康七彩山鸡在疫苗免疫后, 鸡外观、食欲均正常, 疫苗接种部位无红肿现象。分别在免疫后 7、14、21、28、35、42 d 采血, 检测新城疫病毒抗体, 结果见表 3。

由表 3 可知, 在免疫接种 14 d 后, 各试验组鸡的血清中 HI 抗体效价逐步上升, 与对照组相比此后各个时期差异显著。至第 28 天时, HI 抗体达到峰值, 之后趋于平稳。在接种后第 42 天各免疫组还具有较高的 HI 效价。而对照组鸡的 HI 母源各抗体效价随日龄增加逐步下降, 至第 35 天时已完全消失。同时可见, 分离株灭活苗免疫组鸡各个时期所产生的 HI 抗体效价和 Lasota 灭活苗免疫组鸡的抗体效价相差不明显, 各组的升降规律也基本一致。至接种第 42 天时, 虽然 HI 效价开始下降, 但二者大于 6log₂。

表 3 免疫后不同时期各组抗体效价

Table 3 The antibody titers in different periods after immunity log₂

组别 Group	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d	42 d
1	6.40	6.75	7.0	7.50	6.25	6.00
2	5.80	6.00	6.5	7.25	6.25	6.00
3	6.25	6.80	7.0	8.00	6.75	6.40
4	6.00	6.25	6.5	7.50	6.75	6.50
5	6.00	4.50	2.6	1.50	0	0

注: 第 1、2 组为灭活苗免疫, 第 3、4 组为分离毒灭活苗免疫, 第 5 组为对照。

Note: The first and second group are inactivated vaccine, the third and fourth group are isolated inactivated vaccine, the fifth group is control group。

2.7 交叉攻毒试验 由表 4 可见, 第 2 组在疫苗接种后第 21 天、第 28 天、第 35 天, Lasota 灭活苗免疫七彩山鸡对分离毒株的攻击只能 80% 保护。而其他各免疫组的无论是对分离毒株还是 F₄₈E₉ 株的攻击均能 100% 保护。第 5 组用 F₄₈E₉ 株进行攻毒全部不能保护。

表 4 疫苗免疫鸡的保护效力比较

Table 4 Protection efficacy comparison of vaccine

组别 Group	感染毒株 Infected strain	免疫后不同日龄攻毒保护率//%		
		Protective rate of different days old after immunity		
		21 d	28 d	35 d
1	分离毒株 Isolated strain	100	100	100
	F ₄₈ E ₉ 株 F ₄₈ E ₉ Strain	100	100	100
2	分离毒株 Isolated strain	80	80	80
	F ₄₈ E ₉ 株 F ₄₈ E ₉ Strain	100	100	100
3	分离毒株 Isolated strain	100	100	100
	F ₄₈ E ₉ 株 F ₄₈ E ₉ Strain	100	100	100
4	分离毒株 Isolated strain	100	100	100
	F ₄₈ E ₉ 株 F ₄₈ E ₉ Strain	100	100	100
5	F ₄₈ E ₉ 株 F ₄₈ E ₉ Strain	0	0	0

3 讨论

(1) 试验分离的七彩山鸡病毒能凝集鸡的红细胞, 并可被特异的 ND 标准阳性血清和病七彩山鸡血清所抑制, 而不被 AIV (H9 亚型)、EDS76 阳性血清所抑制, 结合 ND 阳性血清中和试验和分离毒株的回归试验结果, 证明分离毒株为 NDV。该毒盲传 3 代后 HA 达到 2^{6~8}, 说明病毒增殖快, 在 HI 试验中, 病七彩山鸡血清能特异地抑制鸡新城疫病毒的血凝, 说明该毒株与鸡 NDV 同源。在理化特性上表现为对氯仿和酸敏感。

(2) 目前判定 NDV 毒力的指标主要有 NHAT、HOT、ICPI、IVPI、MDT 等, 一般认为强毒力株的 MDT 为 40~60 h, ICPI 为 1.6~2.5, IVPI > 1, NHAT 为慢, HOT 为 15~20 min。中等毒力株的 MDT 为 60~90 h, ICPI 为 0.6~1.5, IVPI 为 0~0.8, NHAT 为快, HOT 为 5 min^[11]。分离 NDV 的生物学特性 NHAT、HOT、ICPI、IVPI、MDT 分别为快(相当于中低毒力株)、8 min(相当于中低毒力株)、1.73(相当于强毒力株)、1.45(相当于中毒力株)、44 h(相当于强毒力株)。F₄₈E₉ 的生物学特性分别为 NHAT 慢、HOT 30 min、ICPI 1.92、IVPI 2.58、MDT 47 h。说明该七彩山鸡 NDV 分离株与鸡 F₄₈E₉ 株在生物学特性上表现出不同的特性。

(3) 试验应用分离株灭活苗免疫组鸡各个时期所产生的 HI 抗体效价和 Lasota 灭活苗免疫组鸡的抗体效价相差不明显, 各组的升降规律也基本一致。但试验中用来检测所有血清 HI 抗体的工作抗原均为 Lasota 株抗原, 据有关试验表明^[12], 对应用新城疫分离株灭活苗免疫鸡的 HI 效价较低。同一份血清因使用不同的工作抗原进行滴定, 其 HI 抗体效价可能存在 1~2 个滴度的差异。试验中的分离株灭活苗组的实际 HI 抗体效价可能要高于试验所测得的数值, 这样 2 组间就会出现一定的差异, 具体尚有待于以后做进一步的测定比较。

(4) 动物回归试验中, 该分离毒株对七彩山鸡能引起与自然病例相似的临床症状, 而不能引起广西麻鸡出现临床症状。交叉攻毒试验中分离毒株灭活苗免疫的各组鸡, 接种后不同时期、具有不同 HI 抗体水平及不同日龄试验鸡所进行的攻毒试验结果可以看出, 无论是对于 F₄₈E₉ 标准强毒株还是分离株毒的攻击, 在 HI 抗体效价为 6log₂ 以上时, 均能

(下转第 11582 页)

重分别下降 8.33%、10.71%、13.46%、14.29%，平均下降 11.70%，表现出负生长；但是，体长、眼径基本无变化，体高则稍有减少。对照组的体重分别增加 6.00%、6.25%、8.33%、13.33%，平均为 8.48%；但是体高、眼径基本无变化，体长涨幅较小，都在 2 mm 左右。

由于饥饿，鱼体的一些外部形态特征产生特定的变化，外形发生萎缩，身体消瘦，体小，身体显得不匀称。

2.2 饥饿条件下草金鱼的行为变化 饥饿使鱼行为变化显著。试验组主要表现为游泳速度和对刺激的反应率变化。在停止喂食后的 1 周内，试验组鱼的觅食行为还较积极，反应率也很正常，与对照组鱼无较大差异。在停止喂食 10 d 以后，试验组鱼的觅食行为开始不太积极，与对照组鱼在行为上的差异开始显著，反应率也开始下降。

饥饿也使鱼不能适应较低含氧量的水环境。同一时间换水，饥饿鱼总比非饥饿鱼提前表现出缺氧的现象。同时，饥饿还使鱼吞食气泡，少动，反应迟钝。

3 结论与讨论

鱼类摄食后，鱼体内各器官发育完善，身体各项机能处于最佳状态，而饥饿的鱼体内各器官由于得不到充足的养分，体内各项机能均处于衰退状态，且呈现出广泛的组织学衰退，特别是消化道和附属腺体^[5]。因此，饥饿鱼的平均巡游速度一般低于摄食鱼类，持续活动水平降低。

生物体内糖的主要功能是供给机体生命活动所需要的能量，而脂肪的主要功能是贮存和供给能量。长期禁食的鱼，体内得不到充足的能量供应，只能通过动用鱼体自身内贮存的能量来维持生命活动，作为主要贮能物质的糖原、

脂肪和蛋白质在饥饿过程中将会被逐渐消耗。脂肪和糖原是主要的贮能物质，饥饿状态下主要消耗这两种物质，而对蛋白质的利用较少，而且一般是在脂肪被大量消耗以后，而饥饿的鱼由于不再从食物中得到碳水化合物，其糖异生作用明显提高，因此鱼体逐渐变得消瘦。

饥饿的鱼体内贮存的能量被大量消耗，因此必须减少运动量，从而减少由于运动所带来的体能的消耗。这也是鱼对饥饿状态的一种适应。

饥饿引起的营养不良间接影响鱼的神经系统，使其反射活动降低，神经萎缩，酶的活性显著降低，因而降低了鱼的反应率。

由于每次换水的间隔为 2 d，且所换新水中有 20% 的旧水，使得水中很容易产生浮游生物，鱼也可以以此为食饵，为自己补充能量。因此，虽然试验组停止喂食，鱼也并非完全饥饿，这影响了试验中致死临界期的测定，延长了鱼的生存时间。由于水中产生的这些浮游生物并不能提供鱼体生存生长所需用的全部营养及能量，因此对于其形态及行为变化并不造成影响。

参考文献

- [1] 宁昭彬,何学福.鱼类饥饿研究现状[J].动物学杂志,1998,33(1):48-51.
- [2] 钱周兴,徐永清,方一峰.饥饿对鱼类的影响[J].生物学通报,2006,41(6):9-11.
- [3] 王吉桥,毛连菊,姜静颖,等.鲤、鲢、鳙草鱼苗和鱼种饥饿致死时间的研究[J].大连水产学院学报,1993,8(2):58-65.
- [4] 姚泰.生理学[M].上海:复旦大学出版社,1978:107-210.
- [5] YUFERA M,PASCUAL E,POLO A,et al.Effect of starvation on the feeding ability of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) [J].J Exper Mar Biol Ecol,1993,169(2):259-272.

(上接第 11560 页)

100% 的被保护。传统 Lasota 疫苗免疫的各组鸡，接种后不同时期、具有不同 HI 抗体水平及不同日龄试验鸡所进行的攻毒试验结果可以看出，对于 F₄₈E₉ 标准强毒株的攻击，在 HI 抗体效价为 6log₂ 以上时，均能 100% 的被保护。但试验分离毒株攻毒第 2 组鸡只有 80% 被保护，说明传统 Lasota 疫苗与分离毒株疫苗对当前发生的 NDV 都有一定保护性，但保护性存在差异。这说明了 NDV 不同毒株间的毒力和抗原性有一定的差异。而且从病毒的生物学特性来看，分离毒株的毒力并不比标准毒 F₄₈E₉ 株强，这也可说明分离毒株产生了一定的变异。这些都有待于从分子水平上对 2 株病毒的核酸序列的蛋白质的氨基酸顺序进行研究同源性后方能进一步说明^[13]。

通过免疫攻毒试验证明分离毒株的抗原性并未发生质的变化，但分离毒株与 Lasota 株的免疫原性可能存在一定的差异。这种差异究竟是由于分离毒株抗原性的某些变异还是分离株灭活苗的免疫效力优于 Lasota 灭活苗，还有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 张振兴.特禽饲养与疾病防治[M].北京:中国农业出版社,2001:302-303.
- [2] 朱维正.新编兽医学[M].北京:金盾出版社,1994:380-381.
- [3] 范根成,朱万兴,王永玲,等.新城疫强毒株的分离与鉴定[J].中国兽医学报,1999,19(2):114-117.
- [4] 陈昌海,程雷,严建刚.鸽新城疫病毒的分离及其生物学特性测定[J].中国预防兽医学报,1999,21(2):98-99.
- [5] 沈志强,刘吉山,李峰,等.新城疫病毒山东强毒株的分离与鉴定[J].中国预防兽医学报,2002,24(2):130-132.
- [6] 王新卫,王岩,张建武.新城疫野毒株的分离鉴定[J].郑州牧业工程高等专科学校学报,2001,21(2):81-83.
- [7] 刘振湘.七彩山鸡新城疫病毒的分离及生物特性测定[J].中国兽医学报,2003,23(4):318-319.
- [8] 殷震,刘景华.动物病毒学[M].2版.北京:科学出版社,1997:334-335.
- [9] 姜北宇,刘月焕,景小冬.鸡新城疫强毒株的分离鉴定与 LaSota 株灭活疫苗效力比较试验研究[C].中国畜牧兽医学学会禽病学分会第十一次学术研讨会论文集,2002:88-94.
- [10] 王玉珠,李庆锁,李占雷,等.鸡新城疫强度株的分离鉴定与免疫保护试验[J].河北农业大学学报,2007,30(3):75-78.
- [11] 甘孟侯.中国禽病学[M].北京:中国农业出版社,2000:8-23.
- [12] HARVEY WESTBURY. Commentary newcastle disease virus: an evolving pathology[J].Avian Pathology,2000,30:5-11.
- [13] 李梅,张菊仙,魏志文.云南省鸽新城疫病毒的分离与鉴定[J].中国预防兽医学报,2001,23(3):191-193.