

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2017.5.01

# 不同新城疫疫苗对贵州三穗麻鸭的免疫效果比较

胡焱<sup>1</sup>, 嵇辛勤<sup>1,2</sup>, 阮涌<sup>1,2</sup>, 赵佳福<sup>1,2</sup>, 雷云<sup>1</sup>, 段志强<sup>1,2\*</sup>, 刘秀梵<sup>3\*</sup>

(1. 贵州大学动物科学学院, 贵阳 550025; 2. 贵州大学高原山地动物遗传育种与繁殖省部共建教育部重点实验室, 贵阳 550025; 3. 扬州大学农业部畜禽传染病学重点开放实验室, 江苏扬州 225009)

[收稿日期] 2016-11-23 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2017) 05-0001-06 [中图分类号] S855.3

**[摘要]** 为探讨不同新城疫(ND)疫苗对贵州三穗麻鸭的免疫效果,选用NDI系活疫苗(CS2株)、IV系灭活疫苗(LaSota株)和重组基因VII型NDV灭活疫苗(A-VII株)分别对三穗麻鸭进行免疫实验,检测疫苗最小免疫剂量、免疫鸭的抗体滴度和消长规律,以及病毒感染免疫鸭后的排毒情况。结果显示,活疫苗CS2株、灭活疫苗LaSota株、灭活疫苗A-VII株的最小免疫剂量分别为1.0 mL/只、0.5 mL/只和0.2 mL/只;3种疫苗2次免疫要高于1次免疫产生的抗体滴度,但各免疫组不同免疫次数鸭的抗体滴度均在第60天达到高峰,其中以灭活疫苗A-VII株1次或2次免疫诱发的抗体滴度最高(分别为7.5log<sub>2</sub>和8.1log<sub>2</sub>),并且抗体持续期长,在免疫后第150天抗体水平仍能达到免疫保护要求;对免疫鸭的排毒检测发现,活疫苗CS2株免疫后的鸭持续排毒,灭活疫苗LaSota株免疫后的鸭排毒量少且时间短,而灭活疫苗A-VII株免疫后的鸭未检测到排毒。试验结果表明,重组基因VII型NDV灭活疫苗(A-VII株)在免疫剂量、免疫次数、免疫鸭的抗体滴度和持续时间,以及抑制免疫鸭排毒方面均明显优于传统ND疫苗。

**[关键词]** 新城疫病毒;三穗麻鸭;新城疫疫苗;免疫效果

## Comparison of the Immune Effect of Different Newcastle Disease Vaccines on Sansui Sheldrake Ducks in Guizhou Province

HU Yan<sup>1</sup>, JI Xin-qin<sup>1,2</sup>, RUAN Yong<sup>1,2</sup>, ZHAO Jia-fu<sup>1,2</sup>, LEI Yun<sup>1</sup>, DUAN Zhi-qiang<sup>1,2\*</sup>, LIU Xiu-fan<sup>3\*</sup>

(1. College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction in the Plateau Mountainous Region, Ministry of Education, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 3. Key Laboratory of Animal Infectious Diseases of Ministry of Agriculture, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

Corresponding author: DUAN Zhi-qiang, E-mail: zqduan@gzu.edu.cn; LIU Xiu-fan, E-mail: xfliu@yzu.edu.cn

**Abstract:** To explore the immune effect of different Newcastle disease (ND) vaccines on Sansui Sheldrake ducks, ND live vaccine (CS2 strain), inactivated vaccine (LaSota strain) and recombinant genotype VII inactivated vaccine (A-VII strain) were used to inoculate 7-day-old ducks. The minimum immune dosage of

**基金项目:** 教育部"促进与美大地区科研合作与高层次人才培养项目"(教外司美[2014]2029号);贵州省省校合作计划项目(黔科合LH字[2014]7669号)

**作者简介:** 胡焱,硕士研究生,从事家禽疫病免疫机理研究。

**通讯作者:** 段志强, E-mail: zqduan@gzu.edu.cn; 刘秀梵, E-mail: xfliu@yzu.edu.cn

vaccines, the dynamic regularity of antibody titers, and the virus shedding of immunized ducks were evaluated. Results showed that the minimum immune dosage of three vaccines was 1.0 mL, 0.5 mL and 0.2 mL, respectively. Although the antibody level induced by the vaccines with two immune times was higher than one immune time, the antibody titer of immunized ducks all reached a peak at 60 days post-immunization. However, both one and two immunization times of A-VII strain vaccine induced the highest antibody titer than other vaccines, which were  $7.5\log_2$  and  $8.1\log_2$ , respectively. Meanwhile, the antibody persistent period of A-VII strain vaccine reached 150 days, which could still provide immunoprotection. Virus shedding experiment indicated that A-VII strain vaccine could absolutely suppress the virus shedding. These results demonstrated that recombinant genotype VII NDV inactivated vaccine (A-VII strain) is superior to the traditional ND vaccines in the aspects of the immune dosage, the immunization time, the titer and persistent period of antibody, and the inhibition of virus shedding.

**Key words:** Newcastle disease virus; Sansui Sheldrake duck; Newcastle disease vaccine; immune effect

自 1926 年首次确认新城疫 (Newcastle disease, ND) 以来, 经过世界范围内的四次大流行, ND 宿主范围明显扩大, 迄今为止能自然或人工感染的禽类已超过 250 多种<sup>[1]</sup>。水禽被认为是新城疫病毒 (Newcastle disease virus, NDV) 的天然储存宿主, 不同基因型的 NDV 均可从水禽中分离<sup>[2]</sup>。我国自 1997 年 7 月以来多个省份相继出现了鹅群和鸭群感染 NDV 并发病死亡<sup>[3-4]</sup>, 且呈扩大流行趋势, 改变了“传统一般认为 NDV 对水禽不致病”的观点。分子流行病学调查结果表明, 感染并导致水禽发病死亡的主要是基因 VII 型 NDV 强毒株<sup>[5-6]</sup>。有研究表明, 虽然有些 NDV 强毒株对家鸭的致病力不强, 但是人工感染鸡或鹅后能造成严重的发病和死亡<sup>[7-9]</sup>。因此, 要警惕家鸭携带的强毒 NDV 向鸡群或鹅群传播而对养殖业造成的威胁和损失。

三穗麻鸭是我国地方四大蛋系名鸭品种之一, 目前三穗麻鸭产业已成为贵州省特色优势产业。本实验室前期对贵州省三穗麻鸭群进行了 NDV 流行病学调查和致病性研究, 发现三穗麻鸭中主要流行基因 VII d 亚型 NDV, 虽然这些分离株对鸡致病力强而对鸭不致病, 但鸭在感染后的较长时间可通过喉头或泄殖腔向体外排毒<sup>[10]</sup>, 这与国内研究结果相一致<sup>[7-8]</sup>。我国当前控制鸡群和鹅群感染 NDV 的主要措施是 ND 疫苗免疫, 但是否有必要对鸭群进行 ND 疫苗免疫尚存

在争议。鉴于目前贵州省三穗麻鸭的规模化养殖不断扩大, 且感染强毒 NDV 的三穗麻鸭可持续向环境排毒, 有造成其它禽群接触感染的危险, 因此有必要对三穗麻鸭群进行 ND 疫苗的免疫接种。本研究选取国内常用的 ND I 系活疫苗 (CS2 株)、IV 系灭活疫苗 (LaSota 株) 和新型基因 VII 型 NDV 灭活疫苗 (A-VII 株) 分别对三穗麻鸭进行免疫实验, 检测疫苗最小免疫剂量、免疫鸭的抗体滴度和消长规律, 以及强毒 NDV 感染免疫鸭后的排毒情况, 旨在为生产上有效防控 ND 提供科学的参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 毒株 基因 VII 型鸭源 NDV 强毒株 Duck/China/Guizhou/ZY/2014 (简称 ZY 株)<sup>[10]</sup> 由本实验室保存。将 ZY 株接种 10 日龄 SPF 鸡胚, 收集 24 h 后死亡鸡胚尿囊液保存备用。

1.1.2 试验动物 SPF 鸡胚购自北京梅里亚维通实验动物技术有限公司; 1 日龄健康三穗麻鸭购自贵州省三穗县兴绿洲农业发展有限公司。

1.1.3 试验疫苗 鸡 ND 活疫苗 (CS2 株) (批准文号: 兽药生字 (2016) 150132073, 商品化疫苗中病毒含量为  $10^{5.5} \text{EID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ )、鸡 ND 灭活疫苗 (LaSota 株) (批准文号: 兽药生字 (2015) 150132241, 灭活前病毒含量为  $10^{9.1} \text{EID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ )、重组 NDV 灭活疫苗 (A-VII 株) (批准文号: 兽药生字 (2015) 150132231,

灭活前病毒含量为  $10^{8.5}$  EID<sub>50</sub>/0.1 mL) 购自青岛易邦生物工程有限公司。

1.1.4 抗原血清 鸡新城疫血凝抑制(HI) 试验用抗原、鸡新城疫 HI 试验用阳性血清购自中国兽医药品监察所。

## 1.2 方法

1.2.1 疫苗免疫鸭的最小免疫剂量试验 将 1 日龄雏三穗麻鸭 40 只按相同饲养管理条件饲养至 7 日龄, 随机抽取 20 只采血作首次免疫前新城疫 HI 抗体水平检测。采血后随机将 40 只雏鸭分成 4 组, 10 只/组, 分别用 3 种 ND 疫苗按不同剂量(CS2: 0.5 mL、1.0 mL、1.5 mL; LaSota: 0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL; A-VII: 0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL) 进行颈部皮下注射, 对照组不免疫。免疫后 21 d, 连同对照组采血分离血清, 测定 HI 抗体效价。

1.2.2 疫苗免疫鸭的免疫持续期比较试验 将 3 种 ND 疫苗按最小免疫剂量通过颈部皮下注射方式分别免疫 10 只 7 日龄雏鸭, 2 周后加强免疫 1 次, 各免疫组同时设 10 只不做加强免疫, 仅监测 HI 抗体效价消长规律。另设 10 只作为不免疫对照。分别在免疫后的 14、21、28、60、90、120、150 d 采血, 测定 HI 抗体效价。

1.2.3 免疫鸭的攻毒试验 将 3 种 ND 疫苗按最小免疫剂量通过颈部皮下注射方式分别免疫 10 只 7 日龄雏鸭, 2 周后各组选择 5 只鸭加强免疫 1 次, 另外 5 只鸭不加强免疫, 同时设 5 只不免疫鸭作为对照。在免疫后第 21 天, 以 0.5 mL ZY 株新鲜病毒尿囊液原液分别对各组鸭进行腿部肌肉注射, 在攻毒后的第 3、5 和 7 天分别采集鸭的喉头和泄殖腔拭子, 处理后接种 10 日龄 SPF 鸡胚分离病毒, 检测免疫鸭的排毒情况。

## 2 结果与分析

2.1 疫苗对鸭的最小免疫剂量测定 按照 ND 疫苗使用说明书, 用不同剂量疫苗经颈部皮下注射免疫后 21 d, 均可诱导雏鸭产生不同程度的抗新城疫 HI 抗体, 疫苗免疫剂量与 HI 抗体水平呈现正相关; 在相同的疫苗免疫剂量(0.5 或 1.0 mL) 时, LaSota 组、A-VII 组产生的抗体滴度显著高于 CS2 组 ( $P < 0.01$ )

(表 1)。有研究表明, 免疫家禽的 ND 血清 HI 抗体效价与攻毒保护呈正相关, 当血清 HI 抗体效价不低于 1:32 时, 可判定为免疫保护<sup>[11]</sup>。通过疫苗最小免疫剂量试验结果可以看出, CS2 组、LaSota 组、A-VII 组使用剂量分别为 1.0、0.5 和 0.2 mL/只时, 只可达到免疫保护, 为疫苗的最小免疫剂量。

表 1 新城疫疫苗免疫雏鸭的最小免疫剂量测定结果

Tab 1 The minimum immune dosage of ND vaccines tested in ducks

试验分组	免疫剂量 /mL	试验数量 /只	HI 抗体检测结果/log <sub>2</sub>	
			免疫前	免疫后 21 d
CS2	0.5	10	均 ≤ 2	3.6 ± 1.4
	1.0	10	均 ≤ 2	5.1 ± 1.5
	1.5	10	均 ≤ 2	5.4 ± 1.7
LaSota	0.2	10	均 ≤ 2	4.2 ± 1.4
	0.5	10	均 ≤ 2	5.4 ± 1.6 <sup>a</sup>
	1.0	10	均 ≤ 2	6.1 ± 1.3 <sup>b</sup>
A-VII	0.2	10	均 ≤ 2	5.3 ± 1.4
	0.5	10	均 ≤ 2	6.2 ± 1.2 <sup>a</sup>
	1.0	10	均 ≤ 2	6.8 ± 1.5 <sup>b</sup>
对照组	/	10	均 ≤ 2	均 ≤ 2

/表示不免疫。HI 抗体滴度为免疫鸭的抗体平均数(表示为  $\bar{x} \pm s$ )。字母 a 和 b 表示  $P < 0.01$

/ indicate nonimmunity. The mean value of antibody titer was shown in  $\bar{x} \pm s$ . Letters a and b indicate  $P < 0.01$

2.2 疫苗对鸭的免疫持续期测定 由表 2 结果可见, 3 种 ND 疫苗免疫 7 日龄雏鸭后(CS2 组和 LaSota 组按最小免疫剂量, A-VII 组使用与 LaSota 组相同的免疫剂量), 从 14 d 至 150 d 不同疫苗免疫产生的抗体水平整体呈先上升后下降的趋势, 并且疫苗 2 次免疫要高于 1 次免疫所产生的抗体滴度; 各免疫组不同免疫次数的鸭在第 60 天抗体滴度达到高峰, A-VII 组产生的抗体滴度明显高于 CS2 组和 LaSota 组 ( $P < 0.01$ ), 但 LaSota 组和 CS2 组之间的抗体滴度差异不显著 ( $P > 0.05$ )。从 3 种疫苗的免疫效果和抗体持续期来看, A-VII 组 1 次或 2 次免疫雏鸭后在第 60 天产生的平均抗体效价最高, 分别为 7.5 log<sub>2</sub> 和 8.1 log<sub>2</sub>, 并且在免疫后的第 150 天平均抗体水平仍维持在 1:32 左右, 免疫效果明显优于 CS2 组和 LaSota 组。

表 2 新城疫疫苗免疫雏鸭的免疫持续期试验结果

Tab 2 The persistent period of ND antibody in different vaccine-immunized ducks

试验分组	免疫剂量 /mL	免疫数量 /只	免疫次数	免疫后不同时间 HI 抗体效价/log2							
				免疫前	14 d	21 d	28 d	60 d	90 d	120 d	150 d
CS2	1.0	10	1	均≤2	3.8±1.1	4.5±1.4	5.2±1.7	6.0±1.6	5.1±1.2	4.3±1.1	3.6±1.2
		10	2	均≤2	4.4±0.8	4.8±0.9	5.7±1.2	6.3±1.5	5.4±1.1	4.8±1.3	4.1±1.0
LaSota	0.5	10	1	均≤2	4.3±1.3	5.0±1.8	5.8±1.4	6.4±1.1 <sup>c</sup>	5.6±1.4	5.1±1.4	4.6±1.9
		10	2	均≤2	4.5±1.5	5.2±1.6	6.1±1.2	6.8±1.9 <sup>c</sup>	6.0±1.5	5.5±1.5	4.9±1.0
A-VII	0.5	10	1	均≤2	4.6±1.5	5.8±1.4	6.4±1.8	7.5±1.6 <sup>a</sup>	6.3±1.3	5.6±1.1	5.1±1.2
		10	2	均≤2	4.5±1.3	6.2±1.1	7.1±1.2	8.1±1.2 <sup>b</sup>	7.0±1.5	6.2±1.6	5.5±1.6
对照	/	10	/	均≤2	均≤2	均≤2	均≤2	均≤2	均≤2	均≤2	均≤2

/表示不免疫。HI 抗体滴度为免疫鸭的抗体平均数(表示为  $\bar{x}\pm s$ )。字母 a 和 b 表示  $P<0.01$ , 字母 c 表示  $P>0.05$

/ indicate nonimmunity. The mean value of antibody titer was shown in  $\bar{x}\pm s$ . Letters a and b indicate  $P<0.01$ , letter c indicate  $P>0.05$

2.3 免疫鸭的排毒情况检测 对 3 种疫苗按不同免疫次数免疫鸭后第 21 天进行攻毒,检测免疫鸭的排毒情况。由表 3 可以看出,CS2 组不同免疫次数的鸭在第 3、5 和 7 天鸭喉头和泄殖腔均存在排

毒现象,并且排毒率高;LaSota 组的个别免疫鸭喉头和泄殖腔存在排毒;A-VII 组的免疫鸭不出现排毒。作为对照组,不免疫的鸭感染 NDV 后喉头和泄殖腔排毒率最高。

表 3 免疫鸭攻毒后的排毒情况检测

Tab 3 Detection of the virus shedding of immunized ducks

试验分组	免疫次数	免疫剂量/mL	攻毒数量/只	攻毒剂量/mL	喉头棉拭			泄殖腔棉拭		
					第 3 d	第 5 d	第 7 d	第 3 d	第 5 d	第 7 d
CS2	1	1.0	5	0.5	2/5	3/5	3/5	3/5	2/5	2/5
	2		5	0.5	2/5	2/5	2/5	1/5	2/5	1/5
LaSota	1	0.5	5	0.5	1/5	2/5	1/5	1/5	1/5	0/5
	2		5	0.5	1/5	1/5	0/5	1/5	0/5	0/5
A-VII	1	0.5	5	0.5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	2		5	0.5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
对照	/	/	5	0.5	5/5	4/5	3/5	4/5	4/5	3/5

/表示不免疫

/ indicate nonimmunity

### 3 讨论与小结

越来越多的研究表明,水禽在 NDV 进化、传播和维持过程中发挥了重要作用<sup>[2, 12-13]</sup>。2001 年 Gould 等<sup>[14]</sup>首次报道了澳大利亚当地水禽中的无致病性 NDV 毒株经过 30 年在鸡群中的循环感染变成了强毒株;2002 年 Yu 等<sup>[15]</sup>和 2015 年 Meng 等<sup>[16]</sup>分别将水禽中分离的 NDV 弱毒株通过在鸡的气囊或脑内连续传代,短时间就产生了强毒 NDV。以上结果说明,水禽中无致病性的 NDV 在自然条件下可以通过陆生禽类传播而

产生强毒,只是相比人工感染需要更长的时间。水禽作为 NDV 的天然储存宿主,其感染发病和排毒情况也受到关注。目前研究证实我国流行的基因 VII 型 NDV 是主要病原,在家鹅中已成为地方流行,对家鸭的毒力也在逐渐增强,并且感染鸭群可长期向环境中排毒而感染其它鹅群或鸡群<sup>[8, 10]</sup>。因此,加强对鸭源 NDV 的遗传进化研究和疫苗防控是保障家禽健康养殖的一个重要方面。

近年来,ND 疫苗在世界范围内的广泛使用

较好地控制了鸡群 ND 的发生,但水禽 ND 免疫还未受到重视。为研究不同 ND 疫苗对贵州三穗麻鸭的免疫效果,本实验选用国内常用的 ND I 系活疫苗(CS2 株)、IV 系灭活疫苗(LaSota 株)和新型基因 VII 型 NDV 灭活疫苗(A-VII 株)分别对三穗麻鸭进行免疫,发现 3 种疫苗均能诱导鸭产生较高的抗体滴度,但重组 NDV 灭活疫苗(A-VII 株)所需的免疫剂量低,1 次或 2 次免疫诱发的抗 ND HI 抗体滴度最高,并且抗体持续期长,在免疫后第 150 天抗体滴度仍能达到免疫保护要求。在免疫禽群排毒研究方面,国内外研究表明:常用的疫苗株 LaSota、Mukteswar、V4 等虽然诱导产生的抗体能保护家禽,但不能防止免疫禽群中病毒的感染复制和排毒,当使用与流行株一致的 NDV 疫苗株才能显著降低免疫家禽的强毒感染率和排毒量<sup>[17-18]</sup>。本研究对 3 种 ND 疫苗免疫鸭后进行排毒检测,发现活疫苗 CS2 株免疫后的鸭喉头和泄殖腔持续排毒,灭活疫苗 LaSota 株免疫后的鸭排毒量少且时间短,而灭活疫苗 A-VII 株免疫后的鸭未检测到排毒。原因可能是由于 CS2 株诱导鸭产生的抗体水平低,并且与 NDV 流行株 ZY 株的遗传距离远,存在抗原性差异所致。这与 Miller 等<sup>[17]</sup>研究结果“当疫苗株与攻毒株为同一基因型时,疫苗株能有效减少禽体内病毒的携带量,并且疫苗株与流行毒株的遗传距离相近时,其诱导的免疫保护效果较为理想”相符。综上所述,重组 NDV 灭活疫苗(A-VII 株)对贵州三穗麻鸭在免疫剂量、免疫次数、免疫后的抗体滴度和持续时间,以及抑制免疫鸭排毒方面均明显优于传统 ND 疫苗,这对选择合适的 ND 疫苗在贵州省鸭群中进行推广应用以及控制 NDV 在家禽中的流行提供了理论依据。

## 参考文献:

- [1] Ganar K, Das M, Sinha S, *et al.* Newcastle disease virus: current status and our understanding [J]. *Virus Research*, 2014, 184: 71-81.
- [2] 刘秀梵. 家养水禽在 A 型流感病毒和新城疫病毒进化和疾病流行中的作用[J]. *中国家禽*, 2007, 29(15):1-7.  
Liu X F. The Role of Domestic waterfowl in the evolution and prevalence of influenza a virus and Newcastle disease virus [J]. *China Poultry*, 2007, 29(15):1-7.
- [3] 刘华雷, 郑东霞, 孙承英, 等. 1997-2005 年中国水禽新城疫分子流行病学特点分析[J]. *畜牧兽医学报*, 2009, 40(1): 145-148.  
Liu H L, Zheng D X, Sun C Y, *et al.* Molecular epidemiology analysis of Newcastle disease outbreaks in waterfowl during 1997 to 2005 in China [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2009, 40(1):145-148.
- [4] 丁 壮, 尹仁福, 薛 聪, 等. 新城疫流行病学新特点及鹅源新城疫防控策略[J]. *中国兽医学报*, 2015, 35(1):159-168.  
Ding Z, Yin R F, Xue C, *et al.* The epidemiology characteristics of Newcastle disease and the prevention and control strategies of geese Newcastle disease virus [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2015, 35(1):159-168.
- [5] Liu X F, Wan H Q, Ni X X, *et al.* Pathotypical and genotypical characterization of strains of Newcastle disease virus isolated from outbreaks in chicken and goose flocks in some regions of China during 1985-2001 [J]. *Archives of Virology*, 2003, 148(7): 1387-1403.
- [6] Qin Z M, Tan L T, Xu H Y, *et al.* Pathotypical characterization and molecular epidemiology of Newcastle disease virus isolates from different hosts in China from 1996 to 2005 [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2008, 46(2):601-611.
- [7] 吴焕荣, 刁有祥, 李宏梅, 等. 鸭源副黏病毒的致病性试验 [J]. *中国兽医学报*, 2011, 31(1):36-39.  
Wu H R, Diao Y X, Li H M, *et al.* Pathogenicity of duck paramyxovirus [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2011, 31(1):36-39.
- [8] 伊 惠, 胡北侠, 杨少华, 等. 基因 VII 型新城疫病毒对鸭和 SPF 鸡致病性比较研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2013, 44(12): 1982-1988.  
Yin H, Hu B X, Yang S H, *et al.* Pathogenicity comparison of Newcastle disease virus isolates of genotype VII in ducks and SPF chickens [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2013, 44(12):1982-1988.
- [9] 鲁爱玲, 刁有祥, 崔京腾, 等. 鸭源新城疫病毒对鹅的致病性试验 [J]. *中国兽医学报*, 2014, 34(8):1239-1243.  
Lu A L, Diao Y X, Cui J T, *et al.* Pathogenicity of duck Newcastle disease virus for geese [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2014, 34(8):1239-1243.
- [10] 段志强, 许厚强, 稽辛勤, 等. 贵州省鸭源新城疫病毒强毒株的遗传变异分析及致病性研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2016, 47(8):1623-1634.  
Duan Z Q, Xu H Q, Ji X Q, *et al.* Genetic variation and pathoge-

- nicity analysis of virulent Newcastle disease viruses isolated from ducks in Guizhou province [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2016, 47(8):1623-1634.
- [11] 张春杰, 李婉涛, 程相朝, 等. 雏鸡新城疫母源抗体与首免日龄关系的再探讨[J]. *河南农业科学*, 2002, (8):41-43.  
Zhang C J, Li W T, Cheng X C, *et al.* Re-discussion on the relationship between the levels of ND maternal HI antibody and the first immunization age [J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2002, (8):41-43.
- [12] 刘秀梵, 胡顺林. 新城疫病毒的进化及其新型疫苗的研制[J]. *中国兽药杂志*, 2010, 44(1):12-18.  
Liu X F, Hu S L. Evolution of Newcastle disease virus and the development of novel vaccines[J]. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2010, 44(1):12-18.
- [13] 胡顺林, 刘秀梵. 新城疫病毒的进化[J]. *生命科学*, 2016, 28(3):295-302.  
Hu S L, Liu X F. The heredity and evolution of Newcastle disease virus [J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2016, 28(3):295-302.
- [14] Gould A R. Virulent Newcastle disease in Australia: molecular epidemiological analysis of viruses isolated prior to and during the outbreaks of 1998-2000 [J]. *Virus Research*, 2001, 77(1):51-60.
- [15] Yu S Q, Noriko K, Hiroshi I, *et al.* Generation of velogenic Newcastle disease viruses from a nonpathogenic waterfowl isolate by passaging in chickens [J]. *Virology*, 2002, 301(2):206-211.
- [16] Meng C, Qiu X, Yu S, *et al.* Evolution of Newcastle disease virus quasispecies diversity and enhanced virulence after passage through chicken air sacs [J]. *Journal of Virology*, 2015, 90(4):2052-2063.
- [17] Miller P J, Afonso C L. Antigenic differences among Newcastle disease virus strains of different genotypes used in vaccine formulation affect viral shedding after a virulent challenge [J]. *Vaccine*, 2007, 25(41):7238-7246.
- [18] Hu S L, M H L, Liu X F, *et al.* A vaccine candidate of attenuated genotype VII Newcastle disease virus generated by reverse genetics [J]. *Vaccine*, 2009, 27(6):904-910.

(编辑:李文平)