

## 人工感染法氏囊病病毒后鸡法氏囊组织变化的研究

俞英昉<sup>1</sup> 王安如<sup>1,2</sup> 张爽<sup>1</sup> 宋路莎<sup>1</sup> 韩德平<sup>1</sup> 马海燕<sup>1</sup> 张涛<sup>2</sup> 滕可导<sup>1\*</sup>

(1. 中国农业大学 动物医学院,北京 100193; 2. 北京农学院 动物科技系,北京 102206)

**摘要** 为建立传染性法氏囊病的动物模型,将法氏囊病病毒(IBDV)BC6/85 毒株人工感染 5 周龄的 SPF 鸡,采用组织病理学和免疫组织化学的方法,用打分的形式研究攻毒后 2~432 h,感染鸡法氏囊中病毒的定位以及法氏囊组织病变和 IBDV 免疫反应阳性细胞的变化过程。结果显示感染鸡的法氏囊与法氏囊腔中都能检测出病毒和有病理损伤的现象,且 IBDV 检出的时间迟于损伤出现的时间。法氏囊小结中 IBDV 免疫反应阳性细胞密度和损伤程度的变化趋势有一定的规律性,表现出先协同增长后有所不同的变化趋势。并在感染后期发现感染鸡法氏囊中仍能检测出病毒且有少量新生的淋巴小结。通过详细记录鸡感染 IBDV BC6/85 后的整个病程,初步建立了该毒株的动物模型,并通过打分的形式,将感染鸡法氏囊中的病毒增殖与炎症损伤两者联系起来分析,进一步探讨了该病的致病机制并为其今后的研究提供基础数据和理论依据。

**关键词** 鸡; 法氏囊病病毒; HE 染色; 免疫组织化学

**中图分类号** S 858.31; S 852.1

**文章编号** 1007-4333(2011)06-0137-07

**文献标志码** A

## Study on histology impact of chickens' bursa of fabricius after infection with infectious bursal disease virus by mark form

YU Ying-fang<sup>1</sup>, WANG An-ru<sup>1,2</sup>, ZHANG Shuang<sup>1</sup>, SONG Lu-sha<sup>1</sup>,  
HAN De-ping<sup>1</sup>, MA Hai-yan<sup>1</sup>, ZHANG Tao<sup>2</sup>, TENG Ke-dao<sup>1</sup>

(1. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100193, China;

2. Department of Animal Science and Technology, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

**Abstract** To establish the animal model of infectious bursal disease and provide the data base and basic theories of this diseases, 5 weeks old SPF chickens were infected by a IBDV strain BC6/85, histopathological and Immunohistochemical methods were used to study the change of the pathological lesions and IBDV immunoreactive positive cells in bursa of fabricius from 2 to 432 h after infection. Results showed that IBDV and pathological lesion could be observed in the chamber and follicles of the bursa of fabricius in infected chickens and the IBDV detected after lesions appearing. Both of the pathological lesion and IBDV immunoreactive positive cells in bursa of fabricius increased at the beginning and then became different because of the positive cells disappeared with the disappearances of the bursal follicles. IBDV and bursal follicles still can be detected in the bursa of infected chickens in the later period of infection. The study detail recorded the whole phases of the disease of the chickens infected IBDV strain BC6/85 and installed the preliminary animal model. Then the form of marking was used to analyze the histological bursa lesions together with the density of IBDV immunoreactive positive cells, and searched mechanism of pathogenic.

**Key words** infectious bursal disease virus; HE staining; immunohistochemistry

收稿日期: 2011-01-28 修回日期: 2011-06-13

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划(2008BADB4B07); 国家自然科学基金资助项目(30771591,30771566); 北京市自然科学基金资助项目(6082007)

第一作者: 俞英昉, 硕士研究生, E-mail: 754282046@qq.com

通讯作者: 滕可导, 教授, 主要从事动物组织胚胎教学及科研工作, E-mail: kedao@cau.edu.cn

传染性法氏囊病(IBD)是一种重要的禽类免疫抑制疾病,我国从1979年开始有该病发生和流行的报道<sup>[1]</sup>。传染性法氏囊病主要损伤法氏囊中的IgM<sup>+</sup> B淋巴细胞,并可诱发全身性炎症,使雏鸡对多种疾病的免疫应答能力下降,对养鸡业造成严重的危害<sup>[2]</sup>。前人研究<sup>[2-4]</sup>表明雏鸡感染传染性法氏囊病毒(IBDV)后有2~3 d的短暂潜伏期,7~10 d进入急性期,并可持续6~8周之久,但仅仅是对该病的笼统病程报道,而没有一个详细的组织病理和病毒数量变化作为参数,用于该病动物模型的建立。根据该病毒毒株的毒力强弱不同,感染雏鸡后所产生的病变过程也有所不同,因此,本研究用IBDV BC6/85人工感染5周龄的SPF鸡,详细记录鸡感染IBDV BC6/85后的整个病程中法氏囊组织病变和IBDV免疫反应阳性细胞的变化过程,通过对人工感染IBDV BC6/85后鸡法氏囊组织变化的研究来建立初步的IBDV感染动物模型并探讨该病的致病机制,旨在为该病的防治提供基础数据和理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

SPF鸡(白来航小公鸡)购自北京梅里亚维通试验动物技术有限公司,IBDV标准毒株BC6/85株(CVCC AV7株)(雏鸡的半数感染量为 $10^{5.0}/0.05$  mL<sup>[5]</sup>)购自中国兽医药品监察所,IBDV单克隆抗体由哈尔滨兽医研究所赠送。

### 1.2 试验方法

试验设攻毒组和对照组,攻毒组以21或35日龄SPF鸡73只,IBDV点眼攻毒,隔离器中饲养,分别在攻毒后2、4、8、12、24、36、48、72、144、216、360和432 h处死,每个时间点各2~8只鸡,取法氏囊,以生理盐水冲洗干净,放入20%(体积分数)甲醛中固定24 h,修块、常规脱水、透明、浸蜡和石蜡包埋,制成4  $\mu$ m厚石蜡切片。对照组SPF鸡49只,用生理盐水点眼,每个时间点各2~8只鸡,其他操作同上。

### 1.3 切片HE染色方法

石蜡切片经二甲苯,95%、85%、70%和50%(均为体积分数)酒精逐级脱蜡,在苏木精液中浸染10 min,蒸馏水冲洗,盐酸-乙醇溶液分色(镜检控制分色程度),自来水蓝化15 min,入蒸馏水,经50%、70%、85%和95%酒精逐级脱水,在伊红溶液中浸

染2 min,常规脱水、透明、中性树胶封固。

### 1.4 法氏囊IBDV免疫组织化学染色方法

切片石蜡切片经二甲苯,95%、85%、70%和50%酒精逐级脱蜡PBS浸洗2 min 3次;3%(体积分数)H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>室温孵育10~15 min,PBS浸洗2 min 3次;滴加正常兔血清工作液,室温湿盒孵育30 min;倾去血清,滴加1:500(体积比)小鼠抗IBDV单克隆抗体工作液(阴性对照:以PBS代替一抗),在湿盒中孵育,4  $^{\circ}$ C过夜。PBS浸洗2 min 3次,滴加1:100(体积比)过氧化物酶标记兔抗小鼠IgG,室温湿盒孵育1 h。PBS浸洗2 min 3次;滴加DAB显色液,室温显色5~10 min,镜检控制显色程度;蒸馏水冲洗以终止反应;将切片于Ehrlich酸性苏木精液复染1 min;蒸馏水冲洗后盐酸-乙醇溶液分色,镜检控制分色程度;用自来水蓝化15 min;浸入蒸馏水,常规脱水、透明、中性树胶封片。

### 1.5 HE染色损伤分级

根据文献<sup>[6]</sup>对法氏囊损伤分级:0分为没有损伤,正常的法氏囊;1分为1%~25%的囊小结有组织损伤;2分为26%~50%的囊小结表现出组织损伤,囊小结出现坏死;3分为51%~75%的囊小结组织损伤,囊小结坏死;4分为76%~100%的囊小结组织损伤,细胞增生,法氏囊囊肿,囊小结坏死。

### 1.6 IBDV阳性细胞密度计算

Oladele等<sup>[7]</sup>将IBDV阳性细胞的密度在40倍镜下分为0~3分,每个视野<5个阳性细胞为0分;5~50个为1分;50~150为2分;>150为3分。每个法氏囊随机选取有阳性囊小结的视野5个,阳性囊小结为在10倍镜下100个囊小结中有阳性细胞的囊小结的个数。阳性细胞密度总分值=阳性鸡/% $\times$ 阳性囊小结/% $\times$ 阳性细胞分值。

### 1.7 统计计算

用SAS 8.0软件中的成组法 $t$ 检验计算, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

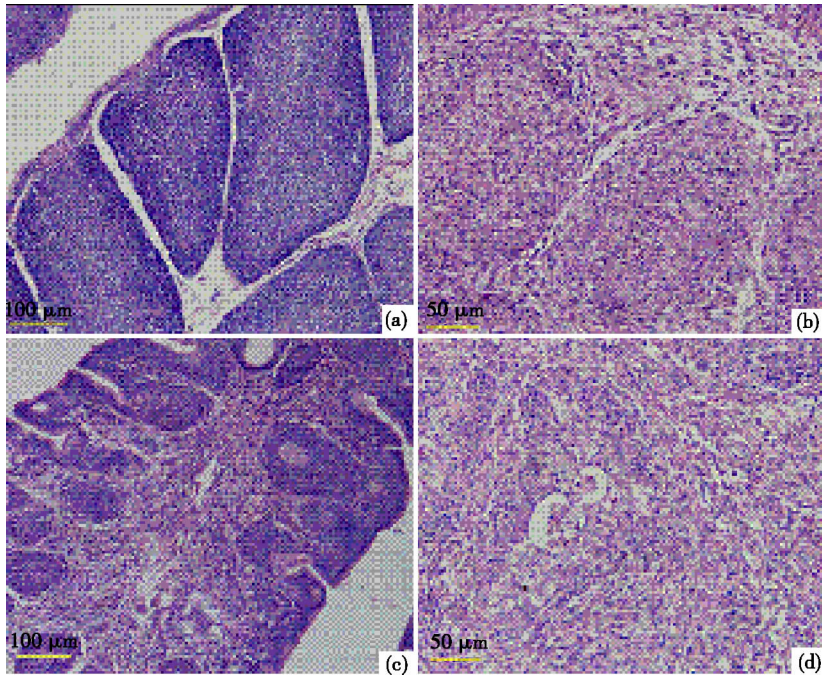
## 2 结果与分析

### 2.1 感染鸡法氏囊损伤的组织学观察

切片HE染色显微观察发现(图1),攻毒后0~24 h法氏囊结构完整,36 h囊小结髓质区的细胞数量明显减少;攻毒后48 h,囊小结中出现大量嗜性粒细胞,并有少量空泡产生;攻毒后72 h,囊小结结构明显改变,充满固缩了的细胞残屑和囊状空腔;攻毒后144和216 h,囊小结中的细

胞几乎完全消失，呈中央有粉红色团块的蜂窝状结构，间质中的结缔组织增生，法氏囊的小结相关上皮有缺损；攻毒后 360 和 432 h，法氏囊皱襞面积明显减小，大部分为结缔组织间质，皱襞黏膜上皮

呈指状凹陷，同时，出现少量的淋巴小结，但此小结没有上皮细胞层(为损伤的囊小结)，与对照组和鸡胚中刚生成的囊小结都有所不同。对照组皆没有发现法氏囊组织损伤的现象。



(a)攻毒后 2 h ;(b)攻毒后 72 h ;(c)攻毒后 144 h ;(d)攻毒后 432 h。

图 1 攻毒后法氏囊的组织病理变化(HE 染色)

Fig. 1 Histopathology of the Bursae after infection (HE staining)

2.2 感染鸡法氏囊损伤程度打分

根据 1.5 的打分方法计算感染鸡 0~432 h 法

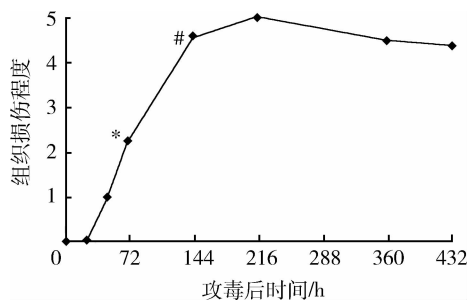
氏囊的损伤程度,统计数据如表 1 所示,变化趋势见图 2。结果显示攻毒后 36~48 h 法氏囊出现轻微损

表 1 IBDV 攻毒后鸡法氏囊损伤程度

Table 1 Scores of Histopathological lesions of the bursa of Fabricius after infect IBDV

损伤程度/分	攻毒后时间/h												
	2	4	8	12	24	36	48	72	144	216	360	432	
0	2	2	4	4	4	1	1	3					
1						3	2	1					
2							1	1			1		
3												1	
4									2			1	
5								3	3	4	5	3	
平均	0	0	0	0	0	0.75±0.5	1.00±0.8	2.25±2.4	4.60±0.5	5.00±0.0	4.50±1.2	4.40±0.9	

注：法氏囊损伤程度：0 分没有损伤；1 分 1%~25%的囊小结有细胞损伤；2 分 26%~50%的囊小结组织损伤；3 分 51%~75%的囊小结组织损伤；4 分 76%~100%的囊小结组织损伤，细胞增生，囊肿；5 分 100%的囊小结组织损伤，完全失去囊结构，上皮增厚并折叠，囊组织纤维化。平均分计算方法=总分值/总只数，分/只。平均分用 Mean±SD 表示。



\*为攻毒后72 h感染鸡法氏囊损伤程度与对照组相比有显著差异( $P < 0.05$ ), #为攻毒后144 h感染鸡法氏囊损伤程度与攻毒后72 h相比有显著升高( $P < 0.05$ )

图2 IBDV攻毒后鸡法氏囊平均损伤程度

Fig. 2 Curve graph of histopathological lesions of the bursa of Fabricius after infect IBDV

伤(0.7分,1分);攻毒后72 h,50%的感染鸡囊小结损伤程度小于1级,37%高达5级,但攻毒后144~432 h都没有出现这种损伤程度均匀分布的情况。攻毒后72 h感染鸡法氏囊损伤程度与对照组相比有显著差异( $P < 0.05$ ),攻毒后144 h感染鸡法氏囊损伤程度与攻毒后72 h相比有显著升高

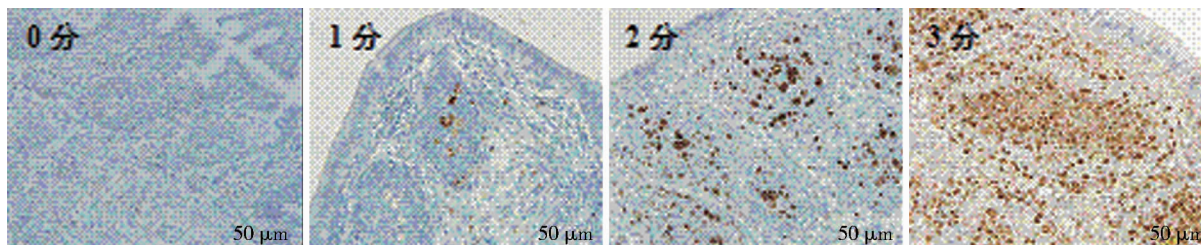
( $P < 0.05$ ),说明攻毒后72~144 h感染鸡法氏囊损伤程度急剧上升,进入感染的急性期;攻毒后216 h是峰值,但攻毒后216、360和432 h与前一时间点都没有显著差异( $P < 0.05$ ),且都保持较高的损伤程度。

### 2.3 IBDV免疫组化阳性细胞在法氏囊中的定位

感染鸡法氏囊切片IBDV免疫组化染色后,在显微镜下观察可见到棕黄色的阳性信号,而阴性对照没有棕黄色的染色。阳性信号在囊小结皮质,髓质和间质中都有分布,多为片状或点状的细胞碎片(只有攻毒后48 h能观察到阳性信号在完整细胞中)。囊小结上皮破损后,在进入囊腔的囊小结组织碎片中也能观察到IBDV阳性信号。

### 2.4 法氏囊中IBDV免疫组化阳性细胞密度

根据1.6中的打分标准结合显微镜观察,将IBDV阳性细胞密度大致分为0~3分,如图3所示。所得各时间点法氏囊中IBDV免疫组化阳性细胞密度分值见表2。结果发现在感染鸡中,从攻毒后48 h开始检测到病毒,之后所有感染鸡只囊小结



40倍镜下阳性细胞被分为0~3分,<5个阳性细胞为0分,5到50个为1分,50到150为2分,>150为3分。

图3 法氏囊IBDV免疫组化阳性细胞打分示例

Fig. 3 Schematic of bursa IBDV immunoreactive positive cell score

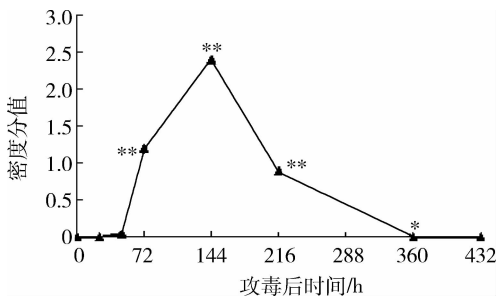
表2 法氏囊IBDV免疫组化阳性细胞密度

Table 2 Density score of bursae IBDV immunoreactive positive cell

指标	攻毒后时间/h					
	48	72	144	216	360	432
阳性鸡百分率/%	0.5	1.0	1.0	1.0	阳性信号	
阳性囊小结数百分率/%	0.07	0.48	1.00	0.60	零星出现	
阳性细胞个数分值	1.0	2.5	2.4	1.5		
总平均分	0.035±0.0	1.340±0.2	2.400±0.5	0.900±0.3		

注:阳性鸡百分率/%=(测出阳性细胞的鸡的个数/总鸡数)×100;阳性囊小结数为100个囊小结中有IBDV阳性细胞的囊小结×100%;阳性细胞个数为40倍镜下单位视野的阳性细胞总数打分(0~3分),每只鸡取5个标本,每个标本取5个视野。总平均分=阳性鸡百分率×阳性囊小结数百分率×阳性细胞个数分值。总平均分用Mean±SD表示。

中都测出病毒。攻毒后 48 h, 法氏囊囊小结有 7% 为阳性囊小结, 但阳性囊小结中的阳性细胞数较高 (1 分), 攻毒后 72 h 阳性囊小结中的阳性细胞数达到最高值 (2.5 分), 攻毒后 144 h 阳性囊小结数达到最高 (100%)。此外, 攻毒后 72 h 感染鸡阳性细胞密度也有较大的个体差异 (具体数据未给出)。由图 4 可见, 感染鸡法氏囊 IBDV 免疫组化阳性细胞密在攻毒后 72 h 与攻毒后 48 h 相比有极显著的升高 ( $P < 0.01$ ), 攻毒后 144 h 病毒含量达到峰值, 且与攻毒后 72 h 相比有极显著的升高 ( $P < 0.01$ )。攻毒后 216 h 与 144 h 相比有极显著的降低 ( $P < 0.01$ ), 攻毒后 360 和 432 h 与攻毒后 216 h 相比有显著的降低 ( $P < 0.05$ ), 即 144~216 h 的下降幅度大于 216~432 h。此外, 将图 2 与图 4 比较发现, 攻毒后 144 h 前, 感染鸡法氏囊损伤程度与阳性细胞数一致增长, 之后, 损伤程度一直保持较高水平, 而阳性细胞数逐渐减少直至消失。



\*\* 表示与前一时间点相比有极显著差异 ( $P < 0.01$ );  
\* 表示与前一时间点相比有显著差异 ( $P < 0.05$ )。

图 4 法氏囊 IBDV 免疫组化阳性细胞曲线图

Fig. 4 Curve graph of density of bursa IBDV immunoreactive positive cell

### 3 讨论

#### 3.1 感染鸡法氏囊的损伤程度和 IBDV 阳性细胞密度变化过程分析

1) 变化过程相同处。试验结果表明感染鸡法氏囊的损伤程度和 IBDV 阳性细胞密度在攻毒后 72 h 都有较大的个体差异, 这可能与鸡只个体的抵抗能力强弱有关。但是在其他时间点的分值都比较集中, 说明鸡只自身的抵抗能力只能在感染早期对病毒起到抑制作用, 在此时间点饲喂增强机体抵抗力的药物可能对治疗该病有较好的效果。

本研究发现攻毒后 72~144 h 是感染鸡法氏囊

损伤程度增长速度最快的时期, 并且, 也是法氏囊病毒含量增加速度最快的时期, 这可能是病毒与炎症之间相互促进的作用所造成的。虽然攻毒后 216 h 感染鸡法氏囊的损伤程度也有所增高, 但与攻毒后 144 h 相比没有显著差异。并且, 感染鸡法氏囊中的病毒含量在攻毒后 216 h 与 144 h 相比有极显著的下降。因此, 病毒含量的急剧下降可能是攻毒后 144~216 h 损伤程度增长减慢的原因, 进一步说明了该病毒的增殖与组织炎症的产生有密切联系, 是协同增长的。

2) 变化过程不同处。通过观察攻毒后 36 h 的法氏囊组织切片, 可发现囊小结髓质区的细胞数量明显减少, 皮质区仍保持完整。但感染鸡的法氏囊在攻毒后 36 h 并没有检测出 IBDV 免疫组化阳性细胞, 最早在攻毒后 48 h 才检测出阳性细胞。这种病毒的检出迟后于组织损伤出现的现象, 可能是免疫组化试验灵敏度不够引起的。造成免疫组化灵敏度下降的原因可能是在感染早期, 病毒在细胞内部增殖, 抗体不易渗透进入细胞内部而造成的。然而, 在感染的急性期, 用免疫组化方法能在法氏囊的细胞碎片中检测出大量的病毒; 在攻毒后 360 和 432 h, 虽然法氏囊中的病毒含量很少, 但也能发现零星的阳性信号。证明阳性信号在破损的细胞中容易被检测, 与笔者先前的观点吻合, 认为可能是细胞的某些成分阻碍了抗体的进入。

本研究发现感染鸡法氏囊中 IBDV 免疫组化阳性细胞密度从攻毒后 144 h 开始有显著的下降。但是, 感染鸡囊小结的损伤程度在攻毒后 144、216、360 和 432 h 没有显著的变化, 一直保持着较高的损伤程度。这与之前病毒与炎症的协同增长的趋势恰恰相反。通过 HE 染色切片显微镜观察发现, 在攻毒后 216、360 和 432 h 感染鸡法氏囊中有大量破损的细胞和细胞丢失所产生的空泡。尤其是攻毒后 360 和 432 h 法氏囊严重萎缩, 囊小结多数被结缔组织替代, 因此, 机体可能是通过持续剧烈的炎症, 使含有病毒的组织损伤, 细胞破损, 进而将病毒与其所在的细胞一起消除, 从而抵抗病毒对机体的侵入。王安如等<sup>[8]</sup>通过电镜观察发现感染后囊小结中有较多细胞凋亡的现象。1998 年, 马晓雨等<sup>[9]</sup>也发现 IBDV 病毒感染后小鸡脾脏 B 淋巴细胞凋亡增加的现象。可以认为在持续的组织损伤中可能存在较多的细胞凋亡现象, 并且机体可通过细胞凋亡将病毒消除; 有学者<sup>[10-11]</sup>也提出过相似的观点, 认



为这种细胞凋亡的现象可能是机体抵抗病毒的一种方法。

### 3.2 IBDV 在感染鸡法氏囊中的侵染路径

研究结果发现攻毒后 0~24 h 法氏囊不存在明显的损伤。攻毒后 36 h, 囊小结的髓质区的细胞数量明显减少, 但是皮质区域未有明显的损伤, 这与前人研究结果<sup>[12]</sup>一致, 认为 IBDV 首先损伤的是髓质中幼稚型的 B 淋巴细胞。并且, Vervelde 等<sup>[13]</sup>观察到, 病毒感染后 24 h, 病毒 VP2 抗原存在于皮髓质交界处, 随后病毒进入皮质和髓质及邻近的滤泡。在电镜下曾发现皮髓质交界处有较多的微血管<sup>[8]</sup>, 猜测病毒可能是通过微血管进入囊小结中的; 也有多篇文章认为 IBDV 可经过血液传播, 如 Muller 等<sup>[14]</sup>报道口腔感染 IBDV 病毒, 可经血液循环进入法氏囊并在此大量复制。另有研究<sup>[15]</sup>认为该病毒是首先定位在法氏囊淋巴组织中, 并在其中进行复制后大量病毒释放入血流, 再随血流进入其他器官组织, 从而引起全身性的病变; 并且, 还发现单个阳性囊小结中病毒的增长快于阳性囊小结个数的增长的现象, 猜测病毒可能通过皮髓质交界处的微血管进入囊小结后, 先侵入髓质然后通过不断增殖再侵入皮质, 最后通过皮质中的毛细血管将病毒传入下一个囊小结中的。但这种假设还没有相关的报道, 还需要作进一步的试验来论证。

同时, 本研究除在法氏囊实质中发现病毒, 在法氏囊腔中也发现了 IBDV 阳性细胞。并且由于在解剖结构上法氏囊与泄殖腔相通, 因此, 笔者认为病毒可以通过法氏囊囊腔进入泄殖腔并随粪便一起排出体外。病毒可能通过这样的方式不断释放到环境中, 若不消毒干净, 又再次影响鸡群, 这种鸡群的反复发作的现象国内外都有较多的报道<sup>[16-18]</sup>。并且, 恢复期和未发病的带毒鸡只都可能通过这种方式向体外排毒, 造成鸡群的长期带毒和反复感染。

### 3.3 攻毒后 360 和 432 h 法氏囊中新生小结的形态学分析

攻毒后 360 和 432 h 对照组的法氏囊中的囊小结完整, 皮髓质的交界清晰; 攻毒组的法氏囊萎缩, 大部分为结缔组织并出现少量新生的淋巴小结。但此小结没有皮髓质交界处的上皮细胞层, 且小结中央有网状内皮系统未能清除的淡粉红色的蛋白胶状物, 与对照组的囊小结有明显的差别, 认为此时的“囊小结”应是免疫应答而产生的次级淋巴组织, 而不是原有囊小结的恢复。前人也有相似的观点, 如

Okoye<sup>[19]</sup>在研究感染后 81 d 的法氏囊结构后认为被破坏的法氏囊滤泡不可能恢复到退化前的正常状态。

### 3.4 用打分形式衡量损伤程度和 IBDV 阳性细胞密度的优点

阳性细胞密度用打分形式统计很少, 多是用单位面积的个数或阳性灰度值等精细数值。但根据观察发现法氏囊组织中都是单个细胞破碎后所形成的阳性细胞碎片, 没有细胞形态且难以精确计算个数, 因此用打分形式可能更加科学。

虽然感染鸡法氏囊损伤程度的打分方法已有多篇文献<sup>[20-22]</sup>报道过, 但主要是用于大规模疫苗或药物中对法氏囊保护力的评价, 而根据其损伤程度的分值用于该病致病机制的研究还很少。将法氏囊损伤程度和阳性细胞密度用打分方式表示, 可以进行两者的对比和分析, 有利于该病病理变化和致病机制的研究。

## 参 考 文 献

- [1] 周蛟, 刘福致, 陈丽勇. 北京地区鸡传染性法氏囊病病原分离[J]. 中国兽医杂志, 1982, 7(3): 25-26
- [2] Müller H, Islam M, Raue R. Research on infectious bursal disease—the past, the present and the future[J]. Veterinary Microbiology, 2003, 97(12): 153-165
- [3] Kim I J, Gagic M, Sharma J M. Recovery of antibody-producing ability and lymphocyte repopulation of bursal follicles in chickens exposed to infectious bursal disease virus[J]. Avian Dis, 1999, 43(3): 4-13
- [4] Vasconcelos A C, Lam K M. Apoptosis induced by infectious bursal disease virus[J]. J Gen Virol, 1994, 75 (5): 1803-1806
- [5] 冯忠武. 中国兽医菌种目录[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 20-30
- [6] Silke rautenschlein, Georg von Samson Himmelstjerna, Christine Haase. A comparison of immune responses to infection with virulent infectious bursal disease virus (IBDV) between specific pathogen free chickens infected at 12 and 28 days of age [J]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 2007, 115(12): 251-260
- [7] Oladele O A, Adene D F, Obi T U, et al. Comparative susceptibility of chickens, turkeys and ducks to infectious bursal disease virus using immunohistochemistry[J]. Vet Res Commun, 2008, 3(2): 101-108
- [8] 王安如. 传染性法氏囊病实验模型的建立及大蒜油抗病毒作用的初步研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2009
- [9] 马晓丽, 毛炳宇, 赵晖, 等. 传染性法氏囊病毒对鸡脾脏 B 淋巴细胞的影响[J]. 山东农业科学, 1998, 23(1): 17-18

- [10] 单金岚,吴显智.病毒感染T细胞活化诱导的细胞死亡[J].国外医学免疫学分册,1998,21(2):71-74
- [11] 孙小玲,刘亚刚,刘娣琴.细胞凋亡与病毒感染[J].西南民族大学学报:自然科学版,2005,21(3):42-45
- [12] 马晓丽,孙建民,赵晖,等. IB DV 感染鸡法氏囊的组织学研究[J].河北大学学报:自然科学版,1996,5(11):32-40
- [13] 刘爵,韦莉,姚炜光.传染性法氏囊病病毒超强毒感染 SPF 鸡免疫器官中 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞动态分布[J].中国兽医学报,2002,22(1):15-18
- [14] Muller H, Scholtissek C, Becht H. The genome of infectious bursal disease virus consists of two segments of double-stranded RNA [J]. Virology, 1979, 31(5):585-589
- [15] 高以明,朱坤熹,吴力力.鸡传染性法氏囊病的病理学研究 I. 淋巴器官病理组织学变化的发展规律 II. 病原在体内主要器官内的分布[J].中国家禽,1998,20(2):6-9
- [16] Jagdev M Sharma, In-Jeong Kim, Silke Rautenschlein, et al. Infectious bursal disease virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression [J]. Developmental and Comparative Immunology, 2000, 24(9):223-235
- [17] Okoye J O A, 叶春华. 鸡传染性法氏囊病[J]. 江西畜牧兽医杂志, 1987, 2(5):10-11
- [18] 邓博文. IB D 引起家禽免疫抑制的作用机理及其防治[J]. 畜牧兽医科技信息, 2007, 3(1):7-8
- [19] 高以明,朱坤熹. 鸡传染性法氏囊病的病理学研究[J]. 中国家禽, 1998, 20(2):6-9
- [20] Ming Kun Hsieh, Ching Ching Wu, Tsang Long Lin. Priming with DNA vaccine and boosting with killed vaccine conferring protection of chickens against infectious bursal disease [J]. Vaccine, 2007, 25(9):5417-5427
- [21] Sachin Kumar, Yadvinder S Ahi, Shardul S Salunkhe, et al. Effective protection by high efficiency bicistronic DNA vaccine against infectious bursal disease virus expressing VP2 protein and chicken IL-2[J]. Vaccine 2009, 27(3):864-869
- [22] Silke Rautenschlein, Christine Haase. Differences in the immunopathogenesis of infectious bursal disease virus (IBDV) following in ovo and post-hatch vaccination of chickens [J]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 2005, 106(9):139-150

(责任编辑:苏燕)