

口服鸭瘟弱毒苗诱导鸭局部黏膜和系统免疫中 IgA、IgM 和 IgG 发生规律研究

齐雪峰^{1,2}, 程安春^{1,2*}, 汪铭书^{1,2*}, 杨晓燕^{1,2}, 周霞^{1,2}, 陈孝跃¹

(1. 四川农业大学动物科技学院禽病防治研究中心, 雅安 625014; 2. 动物疾病与人类健康四川省重点实验室, 雅安 625014)

摘要: 为探讨鸭瘟弱毒苗诱导鸭局部黏膜和系统免疫中抗体发生的规律, 本研究将鸭瘟病毒 Cha 株弱毒苗经口免疫 20 日龄樱桃谷鸭, 60 d 内定时随机剖杀 5 只鸭, 采集血清、胆汁、气管和消化道(食道、十二指肠、空肠、回肠、盲肠和直肠)分泌液, 应用间接 ELISA 检测抗 DPV 的 IgA、IgM 和 IgG 滴度(以 Log_{10} 表示)。结果表明: ①血清中检测到 IgA、IgM 和 IgG 的时间段分别为 9-36、3-15 和 9-60 天, 滴度由高到低为 IgG、IgM 和 IgA; ②胆汁中检测到 IgA、IgM 和 IgG 的时间段分别为 6-15、9-12 和 12-36 天, 滴度由高到低为 IgA、IgG 和 IgM; ③气管中检测到 IgA、IgM 和 IgG 的时间段分别为 6-60、3-12 和 9-27 天, 滴度由高到低为 IgA、IgM 和 IgG; ④食道中检测到 IgA、IgM 和 IgG 的时间段分别为 3-60、3-27 和 9-60 天, 滴度由高到低为 IgA、IgM 和 IgG; ⑤各肠段抗体滴度由高到低及相应检测到的时间段: 十二指肠中为 IgA(3-60 天)、IgM(3-15 天)和 IgG(9-27 天); 空肠中为 IgA(6-60 天)、IgM(6-12 天)和 IgG(9-36 天); 回肠中为 IgA(9-60 天)、IgM(6-9 天)和 IgG(15-21 天); 盲肠中为 IgA(6-60 天)、IgG(12-36 天)和 IgM(6 天); 直肠中为 IgA(3-60 天)、IgG(12-21 天)和 IgM(6 天)。结果显示, 鸭瘟弱毒疫苗经口免疫鸭后, IgM 和 IgG 分别是系统免疫中体液免疫的先鋒抗体和主要抗体; IgA、IgG 和 IgM 在胆汁中存留时间短; IgA 是气管和消化道中的主要抗体。

关键词: DPV 弱毒苗; 经口免疫; 鸭; IgA; IgG; IgM; 黏膜免疫; 系统免疫

中图分类号: S852.4

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2007)08-0872-05

Regularity of IgA, IgM and IgG Antibodies in Local Mucosal and Systemic Immunity of Ducks Induced by Attenuated Duck Plague Virus Vaccine Strain Vaccinated Orally

QI Xue-feng^{1,2}, CHENG An-chun^{1,2*}, WANG Ming-shu^{1,2*},
YANG Xiao-yan^{1,2}, ZHOU Xia^{1,2}, CHEN Xiao-yue¹

(1. Avian Disease Research Center, College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Yaan 625014, China; 2. Key Laboratory of Animal Disease and Human Health of Sichuan Province, Yaan 625014, China)

Abstract: The regularity of IgA, IgG and IgM antibodies in local mucosal and systemic immunity of ducks induced by attenuated duck plague virus vaccine strain vaccinated orally were studied in this paper. Twenty-day-old Cherry Valley ducklings were vaccinated orally with attenuated duck plague virus Cha strain and every five vaccinated ducklings were killed punctually in 60 days, and DPV-specific antibodies were detected in serum, bile and the secretion from trachea and enteron (oesophagus, duodenum, jejunum, ileum, caecum and rectum) by indirect ELISA (results were presents as the log_{10} geometric mean antibody titer \pm SD). The results showed that the order of antibody titers from high to low was: ① IgG, IgM and IgA in serum, and could be detected at 9-

收稿日期: 2006-07-10

基金项目: 国家科技攻关重大项目(2004BA901A03); 教育部“新世纪优秀人才支持计划”项目(NCET-04-0906); 四川省重点建设学科项目(SZD0418)

作者简介: 齐雪峰(1977-), 男, 蒙古族, 内蒙古赤峰人, 博士生, 主要从事家禽黏膜免疫研究工作

* 通讯作者: 程安春, 汪铭书, Tel(Fax): 0835-2885774, E-mail: chenganchun@vip.163.com

60, 3-15 and 9-36 days respectively; ② IgA, IgG and IgM in bile, and could be detected at 6-15, 12-36 and 9-12 days respectively; ③ IgA, IgM and IgG in trachea, and could be detected at 6-60, 3-12 and 9-27 days respectively; ④ IgA, IgM and IgG in oesophagus and could be detected at 3-60, 3-27 and 9-60 days respectively; ⑤ The antibody titers in intestines from high to low and the period of time when the antibodies could be detected were respectively as follows: IgA(3-60 days), IgM(3-15 days) and IgG(9-27 days) in duodenum; IgA(6-60 days), IgM(6-12 days) and IgG(9-36 days) in jejunum; IgA(9-60 days), IgM(6-9 days) and IgG(15-21 days) in ileum; IgA(6-60 days), IgG(12-36 days) and IgM(6 days) in caecum; IgA(3-60 days), IgG(12-21 days) and IgM(6 days) in rectum. Data presented here indicated that IgM was produced firstly and IgG was the most important antibody in systemic immunity, and IgA, IgG and IgM preserved in the bile to be short, and IgA was the most important antibody in trachea and enteron after the duckling were vaccinated orally with attenuated duck plague virus strain.

Key words: attenuated duck plague virus strain; oral vaccination; ducklings; IgA; IgG; IgM; mucosal immunity; systemic immunity

鸭瘟(Duck plague, DP)是由疱疹病毒科中的鸭瘟病毒(Duck plague virus, DPV)引起的常见于鸭、鹅、天鹅等水禽的一种高度致死性传染病,在世界各养鸭地区都有分布,其预防和控制对于水禽养殖业的发展具有重要意义^[1]。自发现 DP 以来,对 DPV 弱毒疫苗的研究和应用做了大量的研究工作,并且实践证明 DPV 弱毒疫苗是预防 DP 的有效生物制剂。现在关于 DPV 弱毒苗免疫发生机理的研究资料主要集中于检测血清中 IgG 含量与免疫保护力的关系,忽略了特异性黏膜免疫及其他免疫球蛋白在抵抗 DPV 感染中的作用,难以全面揭示 DPV 弱毒疫苗免疫保护机理^[2~4]。本实验室在成功制备鸭 IgA、IgM、IgG 免疫球蛋白及其相应酶标记二抗的基础上,建立了检测抗 DPV 特异性 IgA、IgM 和 IgG 的间接 ELISA 方法,利用该法对 DPV 弱毒口服免疫鸭不同时间血液、胆汁、气管和消化道中抗 DPV 特异性 IgA、IgM 和 IgG 变化规律进行了监测,以期弄清口服鸭瘟弱毒苗诱导鸭抗体介导的局部黏膜免疫和系统免疫发生规律,进一步阐明鸭瘟弱毒苗免疫机理提供了重要的试验数据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 DPV 弱毒疫苗 DPV Cha 弱毒株,为本实验室保存。

1.1.2 实验动物 20 日龄樱桃谷鸭,购自雅安地区非 DP 疫苗区,经 ELISA 检测 DPV 抗体为阴性,PCR 检测血液 DPV 阴性。

1.1.3 DPV 抗原 为 DPV 弱毒接种鸭胚成纤维细胞收获的细胞毒,经差速离心纯化,由本实验室制备。

1.1.4 相关免疫球蛋白 鸭 IgA(IgM、IgG)、兔抗鸭 IgA(IgM)的 IgG,均为 SDS-PAGE 电泳纯,由本实验室制备。

1.1.5 酶标二抗 HRP 标记兔抗鸭 IgA(IgM)的 IgG 型结合物为本实验室制备,HRP 酶标试剂盒(cat. no. 80220)为美国 ADI 公司产品,HRP 标记羊抗鸭 IgG 的 IgG 型结合物为美国 KPL 公司产品。

1.1.6 其他试剂 包被液(cat. no. 50-84-00)、封闭液(cat. no. 50-61-01)、稀释液(cat. no. 50-61-01)、底物(cat. no. 50-62-00)、终止液(cat. no. 50-85-01)为美国 KPL 公司产品,96 孔酶标板为美国 FALCON 产品。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组及处理 实验鸭 100 只随机分成免疫组和对照组,每组 50 只。免疫组经口给予 1 个免疫剂量 DPV 弱毒。分别于免疫后第 1、3、6、9、12、15、21、27、36、60 天随机从两组中各取 5 只鸭进行采样。

1.2.2 肠道分泌液的采集 参照文献^[5]进行。分别采集十二指肠、空肠、回肠和直肠,在 PBS(40 mmol/L, pH7.2)液中去除去与浆膜连接的组织 and 脂肪,然后将其剖开,剪成 1 cm 肠段置 5 mL 含有 100 μg/mL 胰蛋白酶的 PBS 液中,混合物用旋涡振荡仪振荡混匀,4 ℃ 8 000 r/min 离心 20 min 收集上清;上清用 50%饱和硫酸铵(用 PBS 配制)沉淀 2

h, 4℃ 20 000 r/min 离心 30 min, 沉淀溶解于 5 mL PBS 并透析, -20℃ 冷冻保存。盲肠剪成 1 cm 肠段放进 5 mL PBS 中冲洗, 混合液经 4℃ 650 r/min 离心 10 min, 10 000 r/min 离心 6 min, 上清于 -20℃ 冷冻保存。

1.2.3 食管和气管分泌液的采集 将食管和气管取下剪成 1 cm 长, 用 5 mL PBS 清洗; 3 500 r/min 离心, 上清 -20℃ 保存。

1.2.4 胆汁和血清的采集 胆汁经 10 000 r/min 离心 6 min, 上清 -20℃ 冻存; 鸭颈静脉采血并分离血清, -20℃ 冻存。

1.2.5 DPV 特异性 IgA、IgM 和 IgG 滴度测定 采用间接 ELISA 对免疫组和对照组鸭血清、胆汁、气管和消化道分泌液中 DPV 特异性 IgA、IgM 和 IgG 的滴度进行测定, 经 SPSS10.0 软件对数据分析证实, 不同样品工作浓度时所测 OD₄₀₅ 值与其 ELISA 效价倒数以 10 为底数的对数之间一定的相关性, 故便于不同种类抗体滴度的比较, 检测结果均以 Log₁₀ 平均值 ± SD 表示。每个肠段、食管和气管均为每 1 cm 组织所含相应抗体的 ELISA 滴度; 胆汁和血清均为 0.1 mL 所含相应抗体的 ELISA 滴度。

2 结果

DPV 弱毒疫苗口服免疫鸭的血清、胆汁、气管和消化道分泌液中均可检测到抗 DPV 的特异性 IgG、IgM 和 IgA, 其滴度及其分布详细情况见表 1。非免疫对照组鸭相应样品中均未检测到抗 DPV 的特异性抗体。

由表 1 可见, 鸭瘟弱毒疫苗免疫鸭后, 机体不同部位抗 DPV 的各类特异性抗体的产生时间、滴度、维持时间均存在自身特点: ①血清: IgM 检出时间最早(第 3 天), 于第 9 天达到高峰后迅速下降并于第 21 天消失; IgG 于第 9 天检测到, 是免疫后 12-60 天血清中滴度最高、维持时间最长的抗体, IgA 滴度最低; ②胆汁: 抗体滴度从高到低依次为 IgA、IgG 和 IgM。IgA 于第 6 天检测到, 12 天达到滴度高峰, 随即迅速下降并于 21 天消失; IgG 于第 12 天检测到, 于 21 天达到高峰, 其滴度介于 IgA 和 IgM 之间; IgM 是胆汁中滴度最低、维持时间最短的抗体; ③气管和消化道: IgA 滴度最高、维持时间最长、最早于免疫后第 3 天或第 6 天检测到, 并于 21-27 天

达到高峰, 至测定结束(第 60 天)时依然维持较高水平; IgM 最早检出时间与 IgA 检出时间相似, 于 6-9 天达到滴度高峰后陆续消失, 滴度介于 IgG 和 IgA 之间; IgG 检出时间最晚, 抗体滴度最低。

3 讨论

3.1 DPV 弱毒经口免疫鸭诱导鸭肠道、呼吸道和胆汁中的 IgA、IgM 和 IgG 发生规律与鸭抗 DPV 感染的关系

在有关 DP 的研究和防治实践中, 缺乏黏膜免疫和系统免疫与鸭抗 DPV 感染关系的系统研究资料, 通常以血清中抗 DPV 特异性 IgG 抗体水平这样一个系统免疫中最容易检测的指标作为评价 DPV 弱毒疫苗免疫效果的方法之一^[2,6], 但未探讨黏膜免疫在鸭抗 DPV 感染中发挥的作用, 而黏膜免疫是存在于动物机体的系统免疫之外的、与外界相通的腔道黏膜表面的独特的免疫系统, 它对通过黏膜入侵机体的病原体具有非常强大的防御能力, 而 IgA 是黏膜免疫主要的体液免疫效应因子, 在黏膜免疫反应中发挥着非常重要的作用^[7]。呼吸道和消化道是自然条件下 DPV 感染鸭的最主要途径^[1,8], 消化道黏膜上皮细胞和淋巴细胞是 DPV 感染鸭的主要靶细胞^[3,9,10]。本研究结果表明, 在气管和消化道, 抗 DPV 的 IgA 是 DPV 弱毒疫苗口服免疫鸭后产生时间最早、滴度最高、维持时间最长的免疫球蛋白(表 1), 因而 DPV 弱毒疫苗口服免疫诱导鸭产生的抗 DPV 的 IgA 介导的黏膜免疫, 在抗 DPV 感染中发挥了最为重要的作用。

肠黏膜上皮细胞(Intestinal epithelial cell, IEC)具有抗原递呈功能, 因此, 口服免疫 DPV 弱毒疫苗能使 DPV 直接通过 IEC 很快激活 MIS 并产生免疫应答, 同时 IEC 还可通过产生分泌片并与 DPV 特异性的 IgA 结合形成 SIgA, 然后进入肠腔, 这是 DPV 弱毒免疫鸭后能够迅速在消化道分泌液中产生特异的、高滴度的 IgA 抗体的原因之一; 另一方面, 许多试验都证明在黏膜位点的刺激能使局部和黏膜表面远端都产生抗原特异性 IgA, 这种 IgA 产生的内在联系被命名为共同黏膜免疫系统(CMIS)^[11], 此理论能够解释 DPV 弱毒疫苗经口免疫鸭后, 也能够呼吸道分泌液中检测到高水平的 DPV 特异性 IgA 抗体这一现象。

表 1 DPV 弱毒口服免疫鸭不同时间血清、胆汁、气管和消化道中 IgG、IgM 和 IgA 的 ELISA 滴度

Table 1 ELISA antibody titer of IgG, IgM and IgA in serum, bile, trachea and enteron in ducks orally vaccinated with duck plague virus attenuated strain

样品 Samples	抗体 Antibodies	免疫后时间 Time after immunity									
		第 1 天	第 3 天	第 6 天	第 9 天	第 12 天	第 15 天	第 21 天	第 27 天	第 36 天	第 60 天
血清 Serum	IgG	—	—	—	2.27±0.04	2.46±0.02	2.96±0.03	3.72±0.02	3.55±0.5	3.73±0.04	3.67±0.01
	IgM	—	1.73±0.01	2.79±0.05	3.09±0.01	2.36±0.03	1.79±0.03	—	—	—	—
	IgA	—	—	—	1.31±0.02	1.72±0.03	2.12±0.04	1.98±0.03	1.83±0.04	1.63±0.03	—
胆汁 Bile	IgG	—	—	—	—	1.40±0.02	1.54±0.07	2.14±0.05	1.63±0.02	1.47±0.05	—
	IgM	—	—	—	1.40±0.01	1.23±0.06	—	—	—	—	—
	IgA	—	—	1.77±0.05	2.63±0.03	3.54±0.04	1.65±0.01	—	—	—	—
气管 Trachea	IgG	—	—	—	1.15±0.05	1.2±0.05	1.23±0.06	1.45±0.02	1.17±0.04	—	—
	IgM	—	1.39±0.02	1.78±0.03	1.82±0.03	1.41±0.03	—	—	—	—	—
	IgA	—	—	1.55±0.03	1.79±0.01	2.21±0.05	2.46±0.03	3.08±0.02	3.12±0.04	2.99±0.03	2.52±0.06
食道 Esophagus	IgG	—	—	—	1.06±0.05	1.24±0.02	1.42±0.05	1.96±0.05	1.72±0.06	1.51±0.01	1.12±0.05
	IgM	—	1.39±0.03	2.11±0.05	2.36±0.05	1.82±0.03	1.52±0.02	1.33±0.01	1.46±0.06	—	—
	IgA	—	1.48±0.02	1.88±0.02	1.99±0.02	2.56±0.02	2.96±0.02	3.19±0.03	3.14±0.03	3.09±0.01	2.75±0.01
十二指肠 Duodenum	IgG	—	—	—	1.16±0.05	1.15±0.03	1.73±0.06	1.55±0.02	1.21±0.04	—	—
	IgM	—	1.40±0.01	1.84±0.04	2.15±0.01	1.46±0.03	1.42±0.05	—	—	—	—
	IgA	—	1.86±0.01	2.16±0.04	2.59±0.02	2.95±0.04	3.33±0.02	3.49±0.05	3.37±0.05	3.29±0.03	3.07±0.04
空肠 Jejunum	IgG	—	—	—	1.10±0.01	1.41±0.03	1.62±0.06	1.41±0.02	1.24±0.03	1.10±0.01	—
	IgM	—	—	1.47±0.04	1.70±0.01	1.36±0.05	—	—	—	—	—
	IgA	—	—	1.92±0.01	2.09±0.02	2.17±0.04	2.50±0.05	2.81±0.01	2.41±0.03	2.17±0.06	2.14±0.04
回肠 Ileum	IgG	—	—	—	—	—	1.46±0.01	1.08±0.03	—	—	—
	IgM	—	—	1.54±0.03	1.45±0.03	—	—	—	—	—	—
	IgA	—	—	—	1.20±0.04	2.14±0.02	2.17±0.03	2.28±0.02	2.26±0.02	2.07±0.04	2.15±0.02
盲肠 Caecum	IgG	—	—	—	—	1.17±0.01	1.34±0.02	1.57±0.03	1.31±0.04	1.31±0.03	—
	IgM	—	—	1.46±0.04	—	—	—	—	—	—	—
	IgA	—	—	1.57±0.05	2.01±0.03	2.39±0.07	2.25±0.05	2.39±0.02	2.20±0.07	2.10±0.05	1.93±0.02
直肠 Rectum	IgG	—	—	—	—	1.32±0.03	1.58±0.02	1.16±0.05	—	—	—
	IgM	—	—	1.56±0.01	—	—	—	—	—	—	—
	IgA	—	1.53±0.03	1.63±0.07	1.89±0.03	2.11±0.02	2.07±0.04	2.02±0.01	1.79±0.04	1.89±0.07	1.65±0.03

— 被检样本 OD 值 ≤ 阴性样本 OD 值; 各样本中抗 DPV 特异性 IgA、IgM 和 IgG 的滴度以 Log_{10} 平均值 ± SD 表示

—, OD value of detected sample ≤ OD value of negative sample; And data of duck anti-DPV IgA, IgM, IgG antibody were presented as the log_{10} geometric mean antibody titer ± SD

消化道黏膜固有层是最大的黏膜效应位点,可分离到大量淋巴细胞,其中 20%~40% 是 B 细胞,而 B 细胞中有 70%~80% 分泌 IgA,15%~20% 分泌 IgM,分泌 IgG 的细胞最少^[12],黏膜分泌液中的 IgG 主要来源于血清^[13],这一特点在本试验得到了验证,即消化道分泌液中抗 DPV 特异性抗体滴度从高到低依次为 IgA、IgM 和 IgG,其中 IgG 检出时间最晚、滴度最低,IgM 检出时间最早、滴度介于 IgG 和 IgA 之间,呼吸道亦表现类似特征。

付俊俐等切除小鼠胆囊可使小鼠肠道分泌的

IgA 减少,说明胆囊在小鼠 MIS 中具有特殊的作用^[14]。本研究检测到胆汁中的 IgA 于第 12 天达到滴度高峰,随即迅速下降,但胆囊在鸭体中的免疫学意义并不清楚,其作用机制尚待进一步研究。

3.2 DPV 弱毒经口免疫鸭诱导鸭血液中的 IgA、IgM 和 IgG 发生规律与鸭抗 DPV 感染的关系

通常 IgM 和 IgG 都是系统免疫中体液免疫的主要抗体,其中 IgM 是抗病原微生物感染的先锋抗体,在抗感染早期发挥着重要作用;IgG 是血液中含有最高的抗体,是抗感染的主要抗体。因此疫苗在

免疫动物后,能否在最短时间内激活机体系统免疫功能,产生抗原特异性 IgM 抗体,在对疾病的紧急预防中显得尤为重要;而能否刺激机体产生高效价和维持时间长的抗原特异性 IgG 抗体,是评价一种疫苗质量的重要标准之一。本试验结果显示,DPV 弱毒口服免疫鸭后,血清中 IgM 检出时间最早(第 3 天),并于第 9 天达到高峰;随着 IgM 抗体滴度的降低,IgG 抗体滴度逐渐上升并于 21 天达到较高水平,至 60 天检测结束时依然保持较高滴度,血清中 DPV 特异性 IgM 和 IgG 发展规律呈现典型的双峰现象,说明 IgM 抗体在 DPV 感染早期发挥着重要作用,IgM 滴度下降时,IgG 滴度却上升,并维持较长时间,较好地发挥了免疫接力棒的作用,而 IgA 在血清中出现时间晚,滴度较其它两种抗体低,不是血清中的主要抗体。因此 IgM 和 IgG 是 DPV 弱毒疫苗免疫鸭所诱导的系统免疫中抵抗 DPV 的主要抗体,是 DPV 感染突破黏膜免疫后的重要防线。

临床观察到 DPV 弱毒疫苗经口免疫可有效避免母源抗体的干扰,而获得更好免疫效果,但一直缺乏有力的证据^[15,16],本研究结果显示气管和消化道中 IgG 含量最低,而母源抗体主要是 IgG,此结果在一定程度上很好地解释了这一现象。

临床和实验室证实 DPV 弱毒疫苗是预防控制鸭瘟有效的生物制剂,其产生免疫力速度是所有家禽疫苗中最快的,免疫鸭后 3 天即有 40% 以上鸭能够抵抗 DPV 强毒的攻击^[1,15~17]。程安春等从弱毒对强毒干扰作用的角度解释了 DPV 弱毒疫苗快速产生免疫保护的机制^[4,18];本研究从黏膜免疫和系统免疫的角度对其进行了解释。

参考文献:

- [1] Sandhu T S, Shawky S A. Duck virus enteritis (duck plague)[A]. Saif Y M, Barnes H J, Glisson J R, *et al.* Diseases of Poultry[M]. 11th ed. Ames: Iowa State University Press, 2003. 354~363.
- [2] 程安春,汪铭书,廖德惠,等. 酶联免疫吸附试验检测鸭瘟抗体的研究与应用[J]. 四川农业大学学报, 1997, 15(3): 379~384.
- [3] Shawky S. Target cells for duck enteritis virus in lymphoid organs[J]. Avian Pathology, 2000, 29: 609~616.
- [4] 程安春,汪铭书,刘菲,等. 鸭瘟病毒弱毒株在免疫雏鸭体内的分布和排毒规律[J]. 中国兽医学报, 2005, 3(25): 231~233.
- [5] Zigterman G J W J, Van de Ven W, Van Geffen C, *et al.* Detection of mucosal immune responses in chickens after immunization or infection[J]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 1993, 36: 191~281.
- [6] 汪铭书,崔恒敏,程安春,等. 鸭瘟鸭病毒性肝炎二联弱毒疫苗的研究Ⅲ. 二联苗免疫鸭后抗体消长规律的测定[J]. 四川农业大学学报, 1996, 14(1): 124~127.
- [7] Tomasi T B, Zigelbaum S. The selective occurrence of gamma-1A globulins in certain body fluids [J]. J Clin Invest, 1963, 42: 1 552~1 560.
- [8] 程安春,汪铭书,汪开毓,等. 现代禽病诊断和防治全书[M]. 成都: 四川大学出版社, 1997. 295.
- [9] Shawky S, Schat K A. Latency sites and reactivation of duck enteritis virus [J]. Avian Disease, 2002, 46(2): 308~313.
- [10] Islam M R, Khan M A H N A. An immunocytochemical study on the sequential tissue distribution of duck plague virus [J]. Avian Pathology, 1995, 24: 189~194.
- [11] Mestecky J, Michalek S M, Moldoveanu Z. Routes of immunization and antigen delivery systems for optimal mucosal immune responses [J]. Behring Inst Mitt, 1997, 98: 33~34.
- [12] Rudzik O, Clancy R L, Pery D Y, *et al.* Repopulation with IgA-containing cells of bronchial and intestinal lamina propria after transfer of homologous Peyer's patches and bronchial lymphocytes [J]. J Immunol, 1975, 114: 1 599~1 603.
- [13] Russell P H. Newcastle disease virus; virus replication in the Harderian gland stimulates lacrimal IgA; the yolk sac provides early lacrimal IgG [J]. Vet Immunopathol, 1993, 37: 151~163.
- [14] 付俊俐,王卫星,郭素菊. 胆囊切除术后肠道菌群及 SIgA 含量的研究[J]. 临床外科杂志, 2005, 13(2): 95~97.
- [15] 程安春,汪铭书,崔恒敏,等. 鸭瘟鸭病毒性肝炎二联弱毒疫苗的研究Ⅵ. 二联疫苗对雏鸭早期最佳免疫途径的研究[J]. 四川农业大学学报, 1997, 15(2): 263~269, 295.
- [16] 范存军,谭诗文. 鸭瘟弱毒苗对雏鸭的饮水免疫试验 [J]. 中国畜禽传染病, 1996, 1: 13.
- [17] 殷震,刘景华. 动物病毒学[M]. 第 2 版. 北京: 科学出版社出版, 1997. 456, 990, 1 073~1 079.
- [18] 程安春,汪铭书,刘菲,等. PCR 在鸭瘟临床诊断和免疫及致病机理研究中的初步应用[J]. 病毒学报, 2004, 20(4): 391~397.