



罗洋洋, 招丽婵, 李群辉, 等. I 群禽腺病毒血清 4 型广东株的分离鉴定及分子特性[J]. 华南农业大学学报, 2017, 38(6): 27-33.

I 群禽腺病毒血清 4 型广东株的 分离鉴定及分子特性

罗洋洋¹, 招丽婵², 李群辉², 林瑞庆¹, 翁亚彪¹

(1 华南农业大学 兽医学院, 广东 广州 510642; 2 广东温氏食品集团股份有限公司, 广东 云浮 527400)

摘要:【目的】对广东地区疑似心包积液-肝炎综合征患病鸡进行腺病毒分离鉴定并研究其分子特征。【方法】采集的病料样品, 通过鸡胚有限稀释法经 SPF 鸡胚传代分离纯化病毒, 进行致病性试验, 并对病毒的 *hexon*、*fiber-2*、*ORF19* 和 *ORF29* 基因进行 PCR 扩增, 分析其分子特征。【结果】*hexon* 基因序列分析显示此次分离的毒株为 I 群禽腺病毒血清 4 型 (命名为 WM-XC 株), SPF 鸡接种分离毒株后, 致死率达 90%, 死亡鸡只出现明显的心包积液、肝炎等变化, 肝脏病理切片可观察到明显的嗜酸性包涵体, 显示分离毒株具有致病性。*fiber-2* 基因序列同经典毒株 ON1 和 KR5 相应序列的相似性达 96.1% 和 97.0%, 与 2015 年以来国内分离的毒株序列相似性则达到 100%; *ORF29* 序列与 2013 年国内分离到的毒株 JSJ13 和 JN13 的相应序列相比存在 33 个碱基的缺失; WM-XC 分离株与 2015 年以来国内分离毒株序列相同, 但相比经典株 ON1 和 KR-5, 缺失 *ORF19* 序列。【结论】此次从广东地区分离到的血清 4 型 I 群腺病毒, 和近年国内其他地区分离的流行毒株一样, 其 *fiber-2*、*ORF19* 和 *ORF29* 基因序列与经典毒株差异明显。

关键词: 禽腺病毒; 分离鉴定; 分子特性; *hexon* 基因; *fiber-2* 基因; 致病性
中图分类号: S852.659.1 文献标识码: A 文章编号: 1001-411X(2017)06-0027-07

Isolation, identification and molecular characteristics of group I fowl adenovirus serotype 4 from Guangdong, China

LUO Yangyang¹, ZHAO Lichan², LI Qunhui², LIN Ruiqing¹, WENG Yabiao¹

(1 College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;
2 Guangdong WENS Foodstuff Group Co., Ltd., Yunfu 527400, China)

Abstract: 【Objective】To isolate and identify the pathogen causing the inclusion body hepatitis (IBH) and hydropericardium syndrome (HPS) in chicken in Guangdong Province, and study its molecular characteristics. 【Method】A virus was isolated from specific pathogen-free (SPF) chicken embryo inoculated with liver suspension from affected chickens. The virus was purified by limiting dilution method and used for pathogenicity test. *Hexon*, *fiber-2*, *ORF29* and *ORF19* genes were amplified by PCR, and analyzed for molecular characteristics. 【Result】Sequence analysis of *hexon* gene revealed the strain, named as WM-XC, belonged to group I fowl adenovirus serotype 4 (FAV-4). This isolated strain was pathogenic based on the evidence that the mortality rate of SPF chicken reached 90% after virus inoculation, the hydropericardium-hepatitis syndrome was observed, and acidophilous inclusion body was found in the pathological section of

liver. The *fiber-2* gene sequence of WM-XC had 96.1% and 97.0% similarities with the corresponding sequences of ON1 and KR-5, and had 100% similarity with *fiber-2* genes of fowl adenovirus isolates collected in China since 2015. There was a 33 bp deletion in *ORF29* gene of WM-XC compared with JSJ13 and JN13 strains isolated in 2013 in China. Similar to isolates collected in China since 2015, WM-XC lacked *ORF19* compared with classical FAdV-4 strain ON1 and KR-5. 【Conclusion】 The isolated group I FAdV-4 strain and other isolates collected in China in recent years were distinct from classical FAdV-4 strains in their *fiber-2*, *ORF19* and *ORF29* gene sequences.

Key words: fowl adenovirus; isolation and identification; molecular characteristic; *hexon* gene; *fiber-2* gene; pathogenicity

禽腺病毒 (Fowl adenovirus, FAdV) 是一种无囊膜的双链 DNA 病毒, 属于腺病毒科 Adenoviridae 禽腺病毒属 *Aviadenovirus*, 根据其特异性抗原的不同, 禽腺病毒可分为 I、II 和 III 群^[1]。I 群禽腺病毒分为 5 种基因型 (A~E), 12 个血清型 (FAdV-1~FAdV-12)^[2-4]。其中基因 C 型包括血清 4 型和 10 型 (FAdV-4、FAdV-10) 病毒, 其主要临床和病理症候群为心包积水综合征 (Hydropericardium syndrome, HPS)、包涵体肝炎 (Inclusion body hepatitis, IBH) 等。心包积水-肝炎综合征 (Hydropericardium syndrome-inclusion body hepatitis, HHS) 于 1987 年在巴基斯坦卡拉奇的安卡拉地区首先报道, 故也称为安卡拉病, 之后在亚洲的印度、韩国、日本, 中东的伊朗、科威特, 美洲的墨西哥、厄瓜多尔、秘鲁、智利都发现该病^[5-7]。2015 年 6 月开始, 中国的中北部许多地区的鸡群暴发了以心包积液、肝炎为主要临床特征的安卡拉病^[8-10]。该病主要发生于 3 周龄以上的肉鸡, 包括 817、肉杂等品种, 自然发病日龄最小的为 7 日龄, 发病后 4~8 d 为死亡高峰, 病程为 8~15 d, 病死率 20%~80% 不等^[11]。发病日龄越小, 病死率越高, 鸡死亡前均正常采食, 无明显临床表现而突然倒地死亡。

本研究对广东发病鸡场病死鸡的肝脏组织内的病原分离株进行序列测定及分析, 并对其进行 SPF 鸡的感染与致病性评估, 确定该疾病的病原, 为该病的防控提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

青霉素 (031722659, 华北制药) 和链霉素 (030201517, 华北制药), 核酸抽提试剂盒 (Magen), PrimeSTAR Premix、Ex Taq Premix、loading Buffer、RNA-free H₂O、电泳仪、T-Vetor PMD19、DH-5α competent cell(大连 TaKaRa), 质粒抽提试剂盒 (OMEGA), 胶回收试剂盒 (AXYGEN), PCR 仪、凝胶

成像仪 (BIO-RAD), 离心机 (5424EI662969, 广州深华), SPF 鸡胚 (北京梅里亚维通实验动物有限公司)。

1.2 样品采集及处理

2016 年初从广东某鸡场采集疑似心包积水-肝炎综合征的病鸡肝脏, 加入青霉素和链霉素各 2 000 IU 进行研磨分装, 反复冻融 3 次后, 8 000 r·min⁻¹ 离心 5 min 取上清液备用。

1.3 病毒分离纯化及 DNA 抽提

将上清液经卵黄囊接种 7 日龄鸡胚, 每只 0.2 mL, 弃 48 h 内死胚, 连续观察 9 d, 收集死胚尿囊液, 连续 3 次传代后采用鸡胚有限稀释法^[12-14]纯化病毒。将收集的尿囊液用于 DNA 抽提, 抽提方法参照 Magen 核酸抽提试剂盒说明书。

1.4 引物设计

根据 GenBank 公布的 FAdV-4 的 *hexon*、*fiber-2*、*ORF19* 和 *ORF29* 基因序列, 分别设计了 *hexon* 的检测引物及各基因的测序引物 (表 1)。

1.5 基因的 PCR 扩增

用抽提的 DNA 作为模板, 反应体系为: Ex Taq

表 1 血清 4 型禽腺病毒特异基因扩增引物
Tab. 1 Amplification primers for specific genes of fowl adenovirus serotype FAdV-4

基因	引物序列(5'→3')
<i>hexon</i> ¹⁾	F: CTACTGCGGCACGGCTTAC R: CGGCACGACTATGGTATCTGG
<i>hexon</i>	F: CGGAATTCATGGCGGCCCTCACGCCCCGA R: AACTGCAGTTACACGGCGTTGCCTGTGGC
<i>fiber-2</i>	F: ATAGCCTTCACTGTCTCGC R: ACTCGCTTTTACGCACCC
<i>ORF29</i>	F: TAGGTAGACCAGGTAGGCA R: TCCAATAGGGTGAAGGATA
<i>ORF19</i>	F: CAACAGAATCACCCTCCC R: GCTTTGTTAGCAAGTGAA

1)为该基因检测引物, 其他为基因测序引物。

Premix 12.5 μL , 上下游引物各 1 μL , DNA 2 μL , ddH₂O 8.5 μL 。反应程序: 95 $^{\circ}\text{C}$ 10 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 30 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min。PCR 产物经 10 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的琼脂糖凝胶电泳鉴定。

1.6 病毒对鸡胚致病力的测定

3~7 倍稀释的 F8 代病毒经卵黄囊接种 7 日龄 SPF 鸡胚, 每枚胚接种 0.2 mL, 每个梯度 5 枚, 设立 PBS 对照组。弃 48 h 内死胚, 观察 3~10 d 各组鸡胚死亡情况, 计算其鸡胚半数致死量 (ELD₅₀)、鸡胚半数感染量 (EID₅₀) 和平均死亡时间 (MDT)。

1.7 动物回归试验

40 只 1 日龄 SPF 鸡饲养于隔离器中, 21 日龄时分为 4 组, 每组 10 只, 1~3 组为攻毒组, 第 4 组为空白对照。选择 F8 代纯化的病毒, 攻毒组剂量分别为 10⁵ EID₅₀、10⁴ EID₅₀、10³ EID₅₀。观察 10 d, 记录其发病率及死亡率, 采集具有典型症状鸡只的心脏和肝脏, 用质量分数为 4% 的甲醛溶液固定, HE 染色观察心脏和肝脏的病理学病变。再采集典型发病鸡只的肝脏, 对病毒进行再分离和 PCR 鉴定。

1.8 基因克隆与测序

以确定为阳性的病毒 DNA 为模板, 分别扩增 *hexon*、*fiber-2*、*ORF19* 和 *ORF29* 基因。产物经琼脂糖凝胶电泳鉴定, 切胶回收后连接至 T 载体 PMD19, 16 $^{\circ}\text{C}$ 连接 4 h, 经蓝白斑筛选, 阳性克隆送上海生工测序。

2 结果与分析

2.1 疑似样品 PCR 鉴定

以 *hexon* 基因引物扩增的产物经琼脂糖凝胶电泳可见约 480 bp 大小的条带, 与预期大小相符 (图 1), 初步鉴定此分离毒株为血清 4 型禽腺病毒,

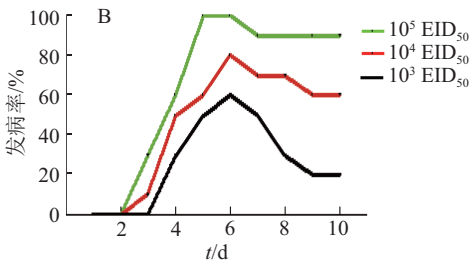
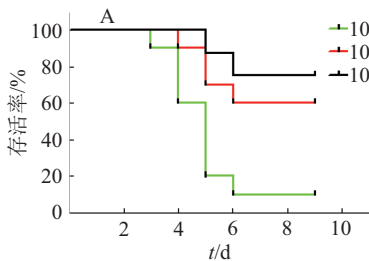


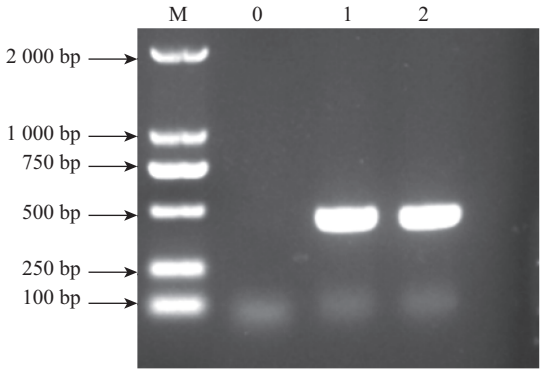
图 2 WM-XC 毒株不同攻毒剂量的存活率与发病率

Fig. 2 Survival and morbidity proportions of chickens inoculated with strain WM-XC at different doses

2.4 基因序列的扩增及分析

2.4.1 *hexon* 基因序列分析 WM-XC 分离株的 *hexon* 基因同 2015 年国内分离的 CHJSXZ、CHSDDZ、CHSXCZ、CHAHBZ、CHHNJZ 以及 2016 年印度分离的 B1-7 毒株的序列相似性达

<http://xuebao.scau.edu.cn>



M: DL2000 DNA Marker; 0: 阴性对照; 1: 阳性对照; 2: WM-XC。

图 1 疑似样品 PCR 扩增产物

Fig. 1 PCR product of suspected sample

命名为 WM-XC 毒株。

2.2 病毒对鸡胚的致病力

接种 0.2 mL WM-XC 毒株鸡胚的 EID₅₀ 为 10⁻⁵、ELD₅₀ 为 10⁻⁴, MDT 为 206 h。

2.3 动物回归试验

发病死亡曲线显示 (图 2), 攻毒剂量为 10⁵ EID₅₀ 时, 攻毒后第 6 天鸡群全部发病, 病死率达到 90%; 攻毒剂量为 10⁴ EID₅₀ 时, 攻毒后第 6 天发病率为 80%, 病死率为 40%, 攻毒剂量为 10³ EID₅₀ 时, 攻毒后第 6 天发病率达到 60%, 病死率降到 20%。人工感染 3 d 后开始发病并可伴随死亡, 第 5、第 6 天为发病高峰, 7 d 后开始逐渐耐过。临床症状可见心脏包心、有积液, 肝脏又明显出血、坏死, 肾脏出现尿酸盐沉积 (图 3)。病理组织学结果 (图 4) 显示: 心肌纤维较稀疏、可见较多淋巴细胞浸润, 肝细胞变性坏死, 有炎性细胞浸润, 可见嗜酸性小体。攻毒动物进行病毒再分离, PCR 鉴定为血清 4 型 I 群腺病毒阳性。

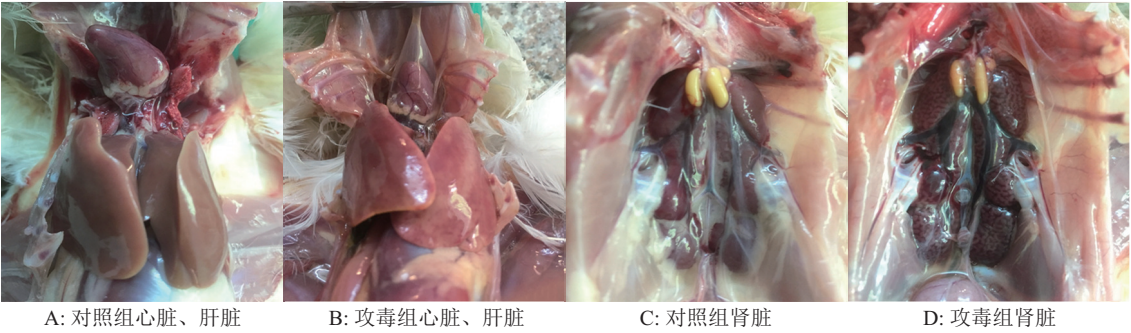


图 3 WM-XC 毒株感染 SPF 鸡后心脏、肝脏和肾脏的肉眼病变

Fig. 3 Gross lesions in heart, liver and kidney from SPF chicken infected with strain WM-XC

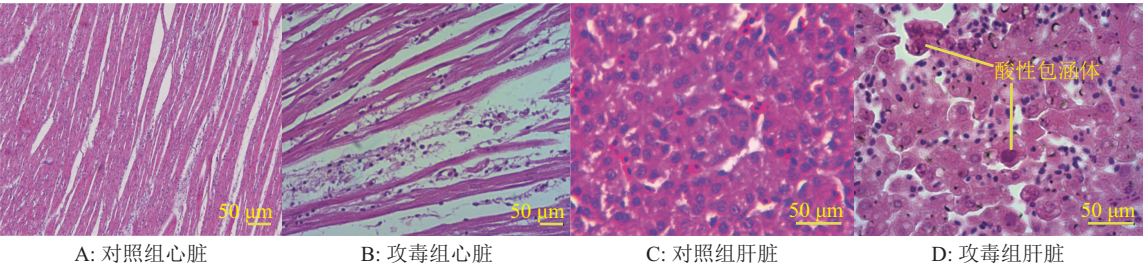


图 4 WM-XC 毒株感染 SPF 鸡后心脏和肝脏的病变 (HE 染色)

Fig. 4 HE staining for heart and liver from SPF chicken infected with strain WM-XC

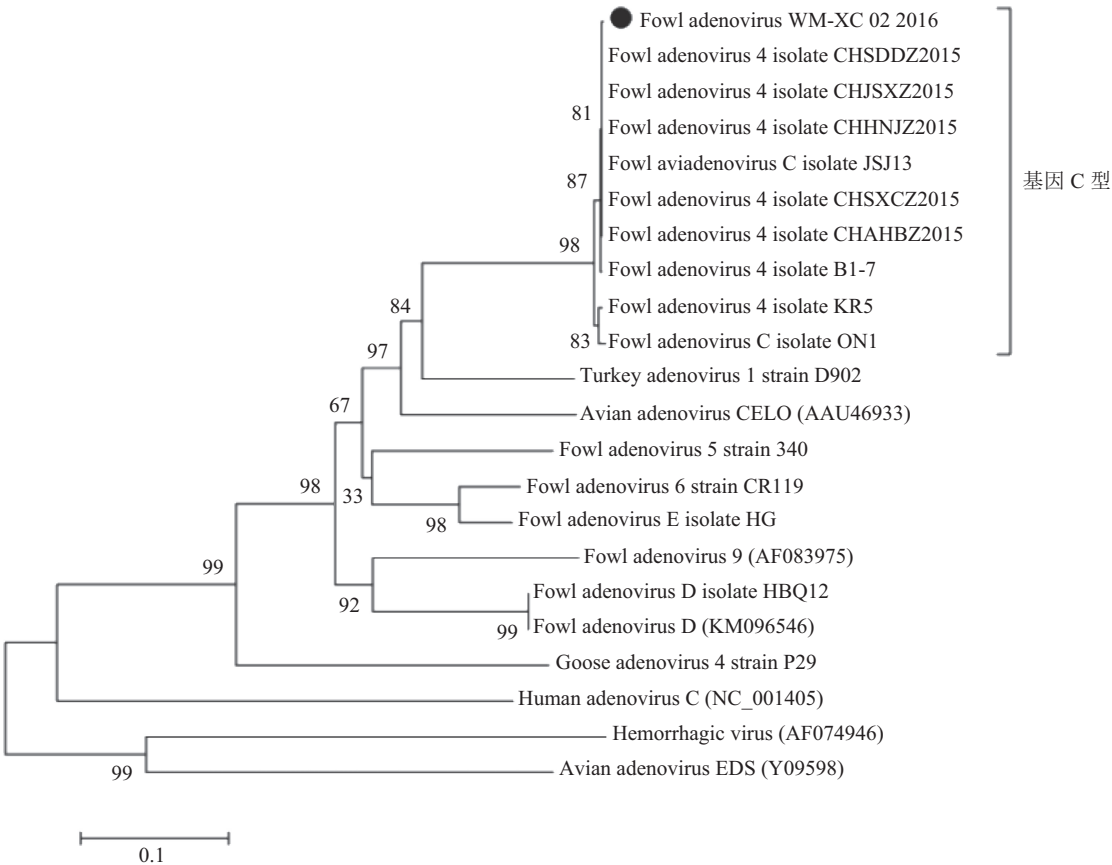


图 5 基于 *hexon* 基因的禽腺病毒血清 4 型系统演化树

Fig. 5 Phylogenetic tree of FAdV-4 based on *hexon* gene

同经典毒株 B1-7、及 CHJSXZ、CHSDDZ、CHSXCZ、CHAHBZ、CHHNJZ 处于同一分支。

2.4.2 *fiber-2* 基因序列分析 WM-XC 分离株的 *fiber-2* 基因与经典毒株 ON1 和 KR5 的序列相似性达 96.1% 和 97.0%, 与 2015 年我国中北部分离的毒株序列相似性达 100%。*fiber-2* 基因的遗传进化分析结果 (图 6) 显示, 分离毒株与 JSJ13、CHJSXZ、CHSDDZ、CHSXCZ、CHAHBZ 和 CHHNJZ 处于同一分支, 进一步证明了分离到的腺病毒为 FAdV-C 血清 4 型。

2.4.3 *ORF29* 和 *ORF19* 基因序列分析 WM-

XC 分离株的 *ORF29* 基因同 2015 年国内分离的毒株 CHSDDZ、CHSXCZ、CHJSXZ、CHAHBZ、CHHNJZ、HLJFAd15 以及 2016 年分离的 HB1510 序列相同, 但与 JSJ13 和 JN13 相比却有 33 个碱基的缺失, 而 2011 年加拿大分离的经典毒株 ON1 和美国分离株 NC015323.1 中该基因碱基缺失却达到 66 个 (图 7)。此外, 我们还发现 WM-XC 分离株未能扩增出 *ORF19*, 与 2011 年加拿大分离的 ON1 和 NC015323.1、2012 年澳大利亚分离的 KR-5、以及 2016 年印度分离的 B1-7 毒株相比表现为 *ORF19* 基因缺失。

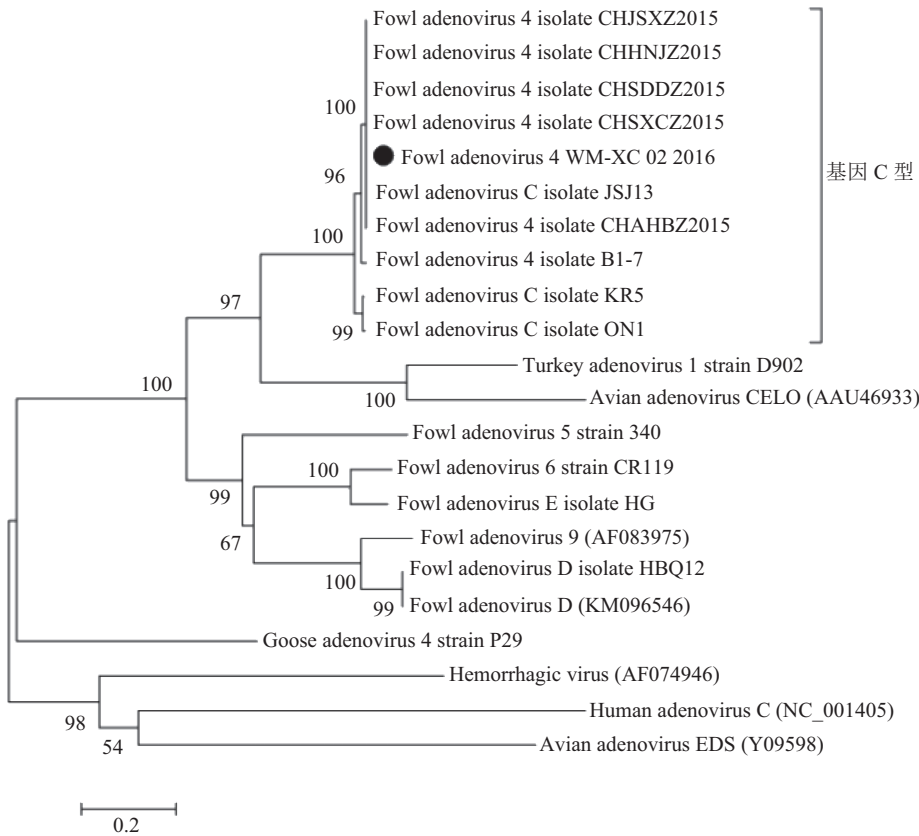
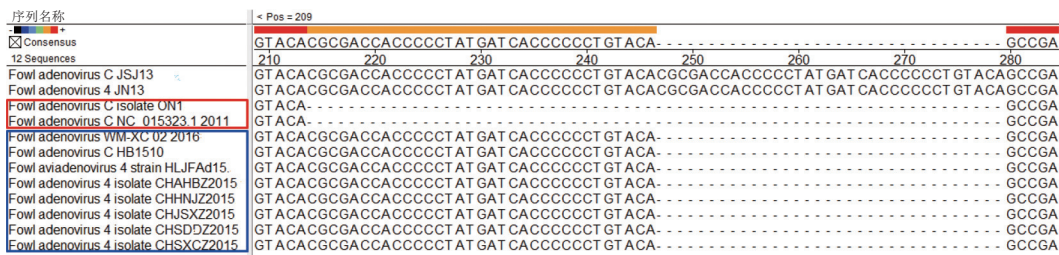


图 6 基于 *fiber-2* 基因的禽腺病毒血清 4 型系统演化树
Fig. 6 Phylogenetic tree of FAdV-4 based on *fiber-2* gene



红色方框内为 2011 年加拿大分离的经典毒株 ON1 和美国分离株 NC015323.1; 蓝色方框内为国内分离株。

图 7 *ORF29* 基因变异区域
Fig. 7 Variable region of *ORF29* gene

3 讨论与结论

I 亚群的禽腺病毒对禽类的致病性大多还未完全明确^[15], 引起的主要疾病为包涵体肝炎 (IBH) 和心包积液综合征 (HPS)^[16-17]。据有关报道^[15, 18], I 亚群的禽腺病毒所有的 12 种血清型都可引起包涵体肝炎, 然而大部分 HPS 是由 FAdV-4 引起的, 主要表现是心包腔内积累的透明液体以及肝炎、肾炎。本研究从广东发病鸡场分离到 1 株引起心包积液-肝炎综合征的病原, 经 PCR 检测及六邻体序列分析确定该病原为禽腺病毒血清 4 型。动物回归试验可复制出心包积液和包涵体肝炎, 肝脏组织病理切片可见炎性细胞浸润和嗜酸性的包涵体, 采取发病典型鸡只的肝脏进行病毒再分离和 PCR 鉴定, 验证了此次分离到的血清 4 型禽腺病毒为引起该疾病的病原。

腺病毒的主要结构蛋白为六邻体和五邻体蛋白。其中六邻体是主要的衣核蛋白, 含有型、群、亚群特异性抗原决定簇, 用六邻体基因 *hexon* 作引物可将病毒的 A~E 种区分开来, 并且定位到种内特定的血清型, 此次分离的毒株即通过六邻体鉴定为 4 型。有研究表明, 五邻体上的 Fiber 蛋白具有受体结合位点, 对病毒吸附到宿主细胞具有非常重要的作用^[19-20], 且 FAdV-4 的 *fiber-2* 重组蛋白能够有效地阻碍鸡心包积液-肝炎综合征的侵害^[21]。*fiber-2* 的序列分析表明 WM-XC 分离株与 ON1 和 KR5 具有 96.1% 和 97.0% 的序列相似性, 而与 2015 年我国中北部分离的毒株序列相似性却高达 100%。

另有研究报道, 近期国内分离的毒株存在 *ORF29* 和 *ORF19* 的变异情况^[22-23], 2015 年以来国内分离的毒株 CHSDDZ、CHSXCZ、CHJSXZ、CHAHBZ、CHHNJZ、HLJFAd15 和 HB1510 相比 2013 年分离的毒株 JSJ13 和 JN13 在 *ORF29* 序列上存在 33 个碱基的缺失^[24], 而本研究分离到的广东株 WM-XC 也存在着同样的缺失, 但与 2011 年加拿大分离的经典毒株 ON1 和 NC015323 相比却有 66 个碱基的缺失^[24], 不过 *ORF29* 碱基的缺失是否能够导致 FAdV-4 毒力、宿主适应性及致病性的改变尚不清楚。值得注意的是, 此次广东分离的毒株同近年来国内分离的 CHSDDZ、CHSXCZ、CHAHBZ、CHHNJZ、HLJFAd1、HB1510、JSJ13 均缺失 *ORF19*^[22]。动物回归试验结果显示此次分离的毒株具有高致病性 (攻毒剂量为 10^5 EID₅₀ 时, 病死率可达到 90%)。但这种高致病性是否是由于 *ORF29* 和 *ORF19* 的变异导致的, 亦或是其他区域

的变异引起的尚需进一步研究。

根据国内有关研究报道^[25-27], 2015 年以来心包积水-肝炎综合征主要流行于我的中北部地区, 如河南、河北和山东, 而华南地区鲜见此病的报道。本研究的广东分离株 WM-XC 为华南地区报道的 FAdV-4 分离株, 对其主要的 *hexon*、*fiber-2*、*ORF29* 和 *ORF19* 基因进行分析发现该毒株同 2015 年以来的国内分离株相似性极高, 同经典毒株的变异位置也相同。由此推测, 华南地区 FAdV-4 的流行可能是由北部地区疫情扩散导致的。

国内流行的 FAdV-4 与以前国外流行的毒株存在一定的变异是确定的, 但由于高致病性 FAdV-4 毒力基因的位置及其在国内大范围流行的因素还未确定, 所以对国内 FAdV-4 进行大范围的流行病学调查以及遗传进化分析显得很有必要, 筛选差异毒株对于腺病毒致病性及宿主适应性的研究具有重大意义, 将为以后疫苗毒株的筛选及 FAdV-4 的防控提供理论与技术支撑。

参考文献:

[1] ZSAK L, KISARY J. Grouping of fowl adenoviruses based upon the restriction patterns of DNA generated by BamHI and HindIII[J]. Intervirology, 1984, 22(2): 110-114.

[2] MATCZUK A K, NICZYPORUK J S, KUCZKOWSKI M, et al. Whole genome sequencing of fowl aviadenovirus A: Acausative agent of gizzard erosion and ulceration, in adult laying hens[J]. Infect Genet Evol, 2017, 48: 47-53.

[3] LI C, LI H, WANG D, et al. Characterization of fowl adenoviruses isolated between 2007 and 2014 in China[J]. Vet Microbiol, 2016, 197: 62-67.

[4] HOWELL J, MACDONALD D W, CHRISTIAN R G. Inclusion body hepatitis in chickens[J]. Can Vet J, 1970, 11(5): 99-101.

[5] KIM J N, BYUN S H, KIM M J, et al. Outbreaks of hydropericardium syndrome and molecular characterization of Korean fowl adenoviral isolates[J]. Avian Dis, 2008, 52(3): 526-530.

[6] KIM M S, LIM T H, LEE D H, et al. An inactivated oil-emulsion fowl adenovirus serotype 4 vaccine provides broad cross-protection against various serotypes of fowl adenovirus[J]. Vaccine, 2014, 32(28): 3564-3568.

[7] JOUBERT H W, AITCHISON H, MAARTENS L H, et al. Molecular differentiation and pathogenicity of aviadenoviruses isolated during an outbreak of inclusion body hepatitis in South Africa[J]. J S Afr Vet Assoc, 2014, 85(1): 1058.

[8] NIU Y J, SUN W, ZHANG G H, et al. Hydropericardium syndrome outbreak caused by fowl adenovirus serotype 4 in China in 2015[J]. J Gen Virol, 2016, 97(10):

- 2684-2690.
- [9] ZHANG T, JIN Q, DING P, et al. Molecular epidemiology of hydropericardium syndrome outbreak-associated serotype 4 fowl adenovirus isolates in central China[J]. Virol J, 2016, 13(1): 188.
- [10] ZHAO J, ZHONG Q, ZHAO Y, et al. Pathogenicity and complete genome characterization of fowl adenoviruses isolated from chickens associated with inclusion body hepatitis and hydropericardium syndrome in China[J]. PLoS One, 2015, 10(7): e133073.
- [11] DE HERDT P, DUCATELLE R, LEPOUDRE C, et al. An epidemic of fatal hepatic necrosis of viral origin in racing pigeons (*Columba livia*)[J]. Avian Pathol, 1995, 24(3): 475-483.
- [12] 智海东, 杨志, 解生亮, 等. 鸡包涵体肝炎病毒 CELOV 株的鉴定研究[J]. 中国兽药杂志, 2009, 43(1): 6-9.
- [13] PURCHASE H G. 禽病原分离与鉴定实验手册: 第 3 版[M]. 唐桂运, 译. 北京: 北京农业大学出版社, 1993: 140-143.
- [14] 姜北宇, 赵继勋, 张国中, 等. 禽流感 H9 亚型病毒 WD 株毒种的纯化研究[J]. 中国兽药杂志, 2006, 40(8): 1-4.
- [15] SAIF Y M. 禽病学: 第 12 版[M]. 苏敬良, 译. 北京: 中国农业出版社, 2005: 236-246.
- [16] NICZYPORUK J S. Phylogenetic and geographic analysis of fowl adenovirus field strains isolated from poultry in Poland[J]. Arch Virol, 2016, 161(1): 33-42.
- [17] MITTAL D, JINDAL N, TIWARI A K, et al. Characterization of fowl adenoviruses associated with hydropericardium syndrome and inclusion body hepatitis in broiler chickens[J]. Virusdisease, 2014, 25(1): 114-119.
- [18] OJKIC D, NAGY E. The complete nucleotide sequence of fowl adenovirus type 8[J]. J Gen Virol, 2000, 81(7): 1833-1837.
- [19] LOUIS N, FENDER P, BARGE A, et al. Cell-binding domain of adenovirus serotype 2 fiber[J]. J Virol, 1994, 68(6): 4104-4106.
- [20] SCHACHNER A, MAREK A, GRAFL B, et al. Detailed molecular analyses of the hexon loop-1 and fibers of fowl aviadenoviruses reveal new insights into the antigenic relationship and confirm that specific genotypes are involved in field outbreaks of inclusion body hepatitis[J]. Vet Microbiol, 2016, 186: 13-20.
- [21] SCHACHNER A, MAREK A, JASKULSKA B, et al. Recombinant FAdV-4 fiber-2 protein protects chickens against hepatitis-hydropericardium syndrome (HHS)[J]. Vaccine, 2014, 32(9): 1086-1092.
- [22] VERA-HERNANDEZ P F, MORALES-GARZON A, CORTES-ESPINOSA D V, et al. Clinicopathological characterization and genomic sequence differences observed in a highly virulent fowl aviadenovirus serotype 4[J]. Avian Pathol, 2016, 45(1): 73-81.
- [23] 汪凯, 蔡骁垚, 叶建强, 等. 新型鸡心包炎-包涵体肝炎病毒的分离及鉴定[J]. 中国动物传染病学报, 2016, 24(4): 1-6.
- [24] YE J, LIANG G, ZHANG J, et al. Outbreaks of serotype 4 fowl adenovirus with novel genotype, China[J]. Emerg Microbes Infect, 2016, 5: e50.
- [25] 牛登云, 沈元, 王蕊, 等. 2015 年我国 I 群禽腺病毒分子流行病学调查[J]. 中国家禽, 2016, 38(9): 65-68.
- [26] 李晓林, 王相芹, 罗济冠, 等. I 群禽腺病毒的分离鉴定及其致病性研究[J]. 中国动物检疫, 2016, 33(8): 86-89.
- [27] 于可响, 黄兵, 凌红丽, 等. 山东省血清 4 型禽腺病毒的分离鉴定[J]. 中国动物传染病学报, 2016(5): 1-5.

【责任编辑 庄 延】