

仇薪鑫, 贾燕青, 党小俊, 等. 新城疫的流行、检测及综合预防和控制技术研究进展[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(5): 1031-1040.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2025.05.021

## 新城疫的流行、检测及综合预防和控制技术研究进展

仇薪鑫<sup>1,2</sup>, 贾燕青<sup>1</sup>, 党小俊<sup>1</sup>, 张振仓<sup>1</sup>, 王雯慧<sup>2</sup>

(1. 杨凌职业技术学院动物工程学院/陕西省动物疫病防控工程技术研究中心, 陕西 杨凌 712100; 2. 甘肃农业大学动物医学院, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 新城疫(Newcastle disease, ND)是由新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV)感染家禽、野生禽类引起的一种在全世界流行的高度接触性传染病, 通常表现为呼吸系统和神经系统症状, 也会出现腹泻、抑郁等临床表现。近些年, NDV已经在大部分地区被检测发现和分离到, 对养禽业威胁极大。深入研究NDV的流行病学、疾病诊断以及综合预防和控制非常重要。本文对新城疫流行情况、检测方法以及综合预防和控制等进行了综述, 建议继续加强对水禽NDV的监测, 早期预警NDV的传播和暴发风险; 针对当前规模化养殖, 建议继续深入研究益生菌、中药制剂在改善免疫功能和抗病毒方面的作用, 为进一步做好新城疫的有效预防和控制提供科学依据。

**关键词:** 新城疫; 检测方法; 益生菌; 中药; 免疫功能

**中图分类号:** S855.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2025)05-1031-10

## Research progress on the prevalence, detection and comprehensive prevention and control technologies of Newcastle disease

QIU Xinxin<sup>1,2</sup>, JIA Yanqing<sup>1</sup>, DANG Xiaojun<sup>1</sup>, ZHANG Zhencang<sup>1</sup>, WANG Wenhui<sup>2</sup>

(1. Department of Animal Engineering/Shaanxi Engineering Research Center of the Prevention and Control for Animal Disease, Yangling Vocational & Technical College, Yangling 712100, China; 2. College of Veterinary Medicine, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** Newcastle disease (ND) is a highly contagious infectious disease caused by Newcastle disease virus (NDV) infecting poultry and wild birds worldwide, which usually manifests as respiratory and neurological symptoms. Clinical manifestations such as diarrhea and depression can also occur. In recent years, NDV has been widely detected and isolated in most areas, posing a great threat to the poultry industry. Therefore, it is necessary to continue to study the epidemiological transmission, diagnosis and comprehensive prevention and control technology of NDV. This paper provides a comprehensive review of the epidemiological status, detection methods, and integrated prevention and control strategies for ND. It is advisable to enhance the surveillance of NDV in waterfowl to facilitate early warning regarding transmission and outbreak risks. Given the current large-scale farming practices, it is essential to continue investigating the roles of probiotics and traditional Chinese medicine in enhancing immune function and antiviral responses, thereby providing a scientific foundation for more effective prevention and control measures against ND.

收稿日期: 2024-09-01

基金项目: 杨凌职业技术学院内基金项目(ZK22-70); 杨凌职业技术学院“博士+高职生”工作室基金项目(BG2023-002); 陕西省教育厅重点科学研究计划项目(24JR170); 陕西省科学技术厅一般项目(面上)(2024JC-YBMS-167); 杨凌示范区青年育种专家支持计划项目

作者简介: 仇薪鑫(1993-), 男, 陕西富平人, 博士, 副教授, 陕西省高校青年创新团队(畜禽肠道健康与高效养殖技术), 主要从事动物疫病预防和控制技术研究。(E-mail) ylyzqiuxinxin@126.com

通讯作者: 王雯慧, (E-mail) wwh777@126.com

analysis and comprehensive prevention and control technology of NDV. This paper provides a comprehensive review of the epidemiological status, detection methods, and integrated prevention and control strategies for ND. It is advisable to enhance the surveillance of NDV in waterfowl to facilitate early warning regarding transmission and outbreak risks. Given the current large-scale farming practices, it is essential to continue investigating the roles of probiotics and traditional Chinese medicine in enhancing immune function and antiviral responses, thereby providing a scientific foundation for more effective prevention and control measures against ND.

**Key words:** Newcastle disease; detection methods; probiotics; Chinese herbal medicine; immunological function

## 1 新城疫概述

新城疫(Newcastle disease, ND)属于高致病性禽类病毒性传染病,具有发病率高、死亡率高的特点,严重制约养禽业健康发展<sup>[1]</sup>。该病在世界各地都是一种必须报告的疾病,对其流行地区实行贸易限制和禁运<sup>[2]</sup>。新城疫也是世界动物卫生组织(WOAH)规定的家禽生产中需要消灭的疫病,其主要传染源为病禽和带毒禽,具有较大的潜在致病性,生物安全和疫苗接种是目前预防家禽感染这种疫病的最有效方法<sup>[2-3]</sup>。随着疫苗长时间广泛应用和规模化鸡场的生物安全水平提升,该病得到了一定程度的控制<sup>[4]</sup>。然而,近几年的流行病学监测结果显示,新城疫在免疫鸡群中仍然时有发生,而且由于多种疾病的混合发生以及疫苗产生的抗体作用,导致这种疫病的流行常呈现非典型性特征<sup>[5]</sup>。

自1926年新城疫在印度尼西亚第一次被报道以来,世界上至少发生了4次大流行,每一次大流行都伴随着新的基因型出现。第一次全球大流行于1926年至1960年在东南亚和欧洲同时开始,持续大约30年才完全停止,由新城疫病毒(NDV)Ⅱ基因型、Ⅲ基因型和Ⅳ基因型毒株引起的,鸡是本次疫病的主要感染宿主,水禽和鸟类几乎没有发病。1960-1970年第二次大流行可能起源于中东,原因是全球家禽养殖业的商业化程度提高,以及鸚鵡国际贸易的加强,这次流行主要是由NDVⅤ基因型、Ⅵ基因型毒株引起的,主要危及观赏鸟类和养殖鸟类。从1970年末到1980年发生在赛鸽中的第三次大流行被认为是由NDVⅥ基因型毒株引起的,随后蔓延到世界各地,并且由于赛鸽饲养管理相对简单而导致疫情难以控制。第四次大流行始于1980年后期,被认为是由Ⅶ基因型毒株引起的,本次流行至今仍在影响亚洲、非洲、欧洲和南美洲地区养殖业<sup>[6]</sup>。

中国第一次暴发新城疫的时间几乎与20世纪20年代的全球流行同步,但由于当时流行病学研究滞后,直到1946年才被确定为新城疫,给中国家禽养殖业造成了巨大损失,当时的代表毒株是F<sub>48</sub>E<sub>9</sub><sup>[2]</sup>。新城疫病毒的持续监测数据表明,基因型Ⅵ型和Ⅶ型是中国当前主要的流行毒株,也是导致

大多数家禽暴发该疫病的主要原因,而基因型为Ⅷ型、Ⅸ型和Ⅶ型的强毒株偶尔也有报道<sup>[7]</sup>。值得注意的是,鸽源新城疫病毒Ⅵ基因型毒株可引起鸽发病,但对鸡不表现出致病性,近年来在中国鸽群中分离到多株以Ⅵb基因亚型为主的毒株,该亚型毒株具有明显的宿主特异性,严重影响养鸽业发展<sup>[8-11]</sup>。Ⅶ基因型毒株主要在鸡群和鹅群流行,根据更新的NDV亚型分类标准,Ⅶ基因型毒株分为3组,分别为Ⅶ.1.1(原Ⅶb,Ⅶd,Ⅶe,Ⅶj和Ⅶl)、Ⅶ.1.2(原Ⅶf)和Ⅶ.2(原Ⅶh,Ⅶi和Ⅶk)<sup>[12]</sup>。根据Xiang等<sup>[8]</sup>的研究发现,20世纪50年代中国东部是早期基因Ⅶ型NDV的起源地,1990年前后基因Ⅶ型NDV已由中国华东地区传播至华南和西南地区,2011年以后,基因Ⅶ型NDV已在中国不同地区普遍流行,成为主要的流行毒株。

野生和家养鸟类在基因Ⅶ型NDV传播和持续性感染中发挥着重要作用,但其传播模式尚不清楚<sup>[12-13]</sup>。中国小型个体农场的生物安全环境较差,鸡和家养水禽是自由放养的,导致鸡和水禽之间的病毒传播频繁<sup>[8]</sup>。野生鸟类和水禽被认为是NDV的重要天然储存宿主,感染NDV后缺乏明显的疾病特征,并可能成为NDV向家禽传播的载体,导致不同致病性ND暴发,特别是候鸟迁徙被认为是NDV跨区域传播的主要原因<sup>[13-16]</sup>。华中地区是中国大陆候鸟迁徙的重要中转站,鸟类资源丰富,家禽养殖业发达,是野生鸟类和家禽发生接触传播的重要区域<sup>[8]</sup>。Jia等<sup>[17]</sup>从华中地区野生禽和家禽连续病毒监测中分离到140株NDV毒株,其中Ⅰ类117株,为深入分析Ⅰ类NDV的分子特征和进化动态提供了必要的基础数据,同时发现从野生鸟类和家禽中分离到的NDV具有较高同源性和相似基因序列,表明病毒在不同宿主之间具有跨物种传播能力。未来需要对多个地区活禽市场和野鸟进行新城疫持续监测,以增进对Ⅰ类病毒的了解,并预防和控制新城疫病毒新基因型的出现和暴发。目前ClassⅠNDV主要在中国东部、西南和西北地区流行。且Ⅰ型NDV一般为弱毒株,在鸡中致病力较弱,主要在野生候鸟中传播。NDV在野鸟体内连续传代可通过基因变异出现毒力增强现象,野生鸟类不断传入病毒严重威胁家禽养殖场的生物安全,因此建议规范疫苗使

用,开发新的基因型疫苗,避免交叉污染养殖环境<sup>[17-22]</sup>。

中国自2005年以来新城疫暴发次数、病例数和死亡数逐年下降,2005年发生新城疫疫情1 257起,2019年仅报告发生11起。Wang等<sup>[20]</sup>于2011-2020年在中国开展了基于风险的NDV主动监测,在全国28个省(市)进行样品采集,共分离鉴定了2 389株I类NDV,且病毒正逐渐从中国东南部向西北地区蔓延,这表明中国I类NDV 侵袭严重,并且侵袭面扩大。Jia等<sup>[17]</sup>发现家禽和野生鸟类之间的传播可以加速I类新城疫病毒毒力的进化,这可能会使弱毒力NDV 逐渐突变为强毒力NDV,并导致新基因型ND的暴发,危及农业经济。胡秀美等<sup>[21]</sup>2018-2019年从疑似感染新城疫的家禽病料中分离鉴定出13株NDV 毒株,并对F基因序列扩增分析,发现7株属于II基因型毒株,5株属于VI基因型毒株,1株属于Class I亚型毒株,表明当前中国部分地区的NDV 毒株与传统疫苗株之间存在较明显的遗传特征差异。Yu等<sup>[18]</sup>于2014-2021年利用活禽市场采集的鸽拭子进行了基于风险的动态监测,在中国12个省分离到76株鸽副黏病毒I型(PPMV-1)毒株,基于F基因全序列的系统发育分析表明,亚基因型VI.2.1.1.2.2中的PPMV-1毒株是中国鸽群中占流行优势的病毒,且8年来该病毒的变异相对较小。研究结果还明确了PPMV-1毒株在中国流行的遗传和致病性特征,扩展了对该病毒流行的认识。刘华雷等<sup>[19]</sup>于2016年从广西活禽市场的家鸭中分离到1株Class I 1c基因亚型NDV 毒株,是中国第一次检出基因VII型NDV。中国在2013-2021年野鸟流行病学调查中发现,从67个NDV 分离株中选取26株进行F基因进化分析,结果均为弱毒株<sup>[22]</sup>。刘华雷等<sup>[23]</sup>于2010-2012年,通过主动监测在全国范围分离并鉴定了6株XII基因型NDV 毒株,首次发现XII基因型毒株是2010年从广东省的鹅群中监测到的,分离出的XII基因型NDV 属于XIIb亚型,由于XIIb基因亚型毒株在中国仍存在一定流行风险,因此需要更广泛、更深入获取监测数据进行研究。

持续进行更加广泛的流行病学监测对于更好地了解NDV 的流行病学和生态学特征是必要的,并且对于检测基因VII型NDV 毒株和控制ND暴发至关重要。另外,在ND 预防和控制中,除了要做好VI基

因型毒株和VII基因型毒株等中国已经存在的基因型毒株的监测、预防和控制工作外,更要做好应对新基因型毒株出现的准备,特别是对新出现的VII基因型毒株需要开展系统的研究,进一步评估其诊断和检测方法的效力,加大对新基因型NDV 毒株的监测范围和监测力度,预测分析其流行趋势和扩散风险,对现有疫苗免疫效果进行科学评估。

当前,虽然新城疫对养鸡业仍然构成威胁,但随着中国对该疫病全面免疫预防和控制策略的不断深入,加上养禽业发展规模化程度日益提高,中国新城疫的流行得到了较好的控制,但野生禽类、水禽群体和环境中存在病毒污染,在局部地区仍呈现地方流行特点,疫苗接种鸡群发生的病例多为轻症和散发型,可能是免疫功能衰竭所致,非典型新城疫病症和免疫带毒现象长期存在<sup>[7]</sup>。流行毒株和疫苗株的抗原差异也导致了非典型新城疫病症的长期存在,这对传统疫苗的预防和控制是一个挑战。主流基因型NDV 的规模呈相对稳定的趋势,活禽交易可能在病毒传播中起重要作用,NDV 在家禽之间的迁移潜力最大,并从家禽向野生鸟类扩散。监测发现,家禽中NDV 强毒株带毒率呈逐年下降趋势,鸽群中NDV 强毒株带毒率较高,水禽中NDV 强毒株带毒率逐年明显下降。NDV 的多基因型毒株可共循环感染并引起暴发,而长期免疫压力下的“轻症新城疫”也可能为病毒的进化提供条件,使病原具有多样性,个别地区还出现了新的基因型毒株<sup>[24-25]</sup>。因此,继续研究NDV 在家禽中的流行病学传播及其进化动态,可以更好地了解NDV 进化和遗传学特征,并早期预警新基因型NDV 的出现。

## 2 新城疫病毒检测方法

NDV 的快速诊断对早期发现疫病和制订控制措施具有重要意义,检测方法一般包括病毒分离、血清学检测(如血凝试验和血凝抑制试验、酶联免疫吸附试验、病毒中和试验、免疫荧光技术、免疫胶体金技术)、分子检测(如逆转录聚合酶链反应、实时定量PCR、环介导等温扩增)等<sup>[26]</sup>。结合目前最新的研究成果本文对各种检测方法进行比较说明。

### 2.1 病毒分离

病毒分离是新城疫诊断的传统金标准,这对于预测和控制ND 的流行以及疫苗和药物开发非常重要。NDV 可以通过接种至SPF 鸡胚、鸡胚成纤维细

胞(CEF)、鸡胚肾细胞(CEK)进行分离。需要无菌采集濒死动物的脾脏、脑、肺脏等组织或采集感染初期的呼吸道分离物(鼻咽拭子),添加一定量抗生素(青霉素100~500 IU和链霉素100~500 IU)的无菌生理盐水,剪碎、研磨混合后,离心取上清液,得到接种样品。对接种样品进行无菌检验,然后接种至9~10日龄的SPF鸡胚绒毛尿囊腔或CEFs,如接种的是SPF鸡胚,收集死亡超过24h的鸡胚尿囊液进行病毒鉴定;如接种的是CEFs,则置于37℃培养皿中培养,若出现细胞病变效应(CPE),在接种24~48h,通过电镜观察将颗粒状巨细胞快速从单层分离,然后收集细胞液进行病毒鉴定。现实情况是,病毒分离比较费力和耗时,不太适合在临床试验中对大量样品进行检测。

## 2.2 血清学检测方法

NDV入侵禽类机体时能够引起免疫应答反应,淋巴组织中的B细胞在抗原物质的刺激下增殖并转化为浆细胞,浆细胞产生与同源抗原结合的免疫球蛋白。抗原抗体相互作用的关系是检测NDV的重要依据。血清学检测方法具有高度特异性和敏感性,在NDV早期发现和诊断方面尤为重要。目前,已建立了大量检测NDV的血清学方法,并提出了一些常用的检测策略,如血凝试验和血凝抑制试验(HA-HI)、酶联免疫吸附试验(ELISA)、中和抗体试验(NT)、免疫荧光试验(IFA)和免疫胶体金技术(GICT)等。

## 2.3 分子检测方法

由于NDV与其他同类病毒之间存在交叉反应,影响NDV血清学检测结果。因此,临床实际应用中需要建立分子水平的诊断方法来实现快速诊断和不同毒株的差异分析。

## 2.4 NDV检测方法的研究成果

Ji等<sup>[27]</sup>建立了以Fenobody为捕获抗体,RANbody为检测抗体的夹心ELISA检测方法,可以检测不同的II类NDV(LaSota、F<sub>48</sub>E<sub>9</sub>和Sx10),但不能检测I类NDV,具有较好的特异性。Wang等<sup>[28]</sup>成功研制出HIV-Luc病毒,用于评价NDV的中和抗体。Li等<sup>[29]</sup>以胶体金标记的HN单抗为反应物,建立了一种免疫层析条检测方法,结果显示在出现临床症状和出现大体病变之前,在感染组织中检测NDV,其对NDV感染诊断的敏感性和特异性分别为83.3%和100.0%。

Jestin等<sup>[30]</sup>首次成功建立了RT-PCR方法来鉴定NDV。Yi等<sup>[31]</sup>基于核衣壳蛋白(NP)基因序列设计了一对与3种NDV病原体高度同源的引物,并建立了红细胞吸附偶联RT-PCR检测方法,该方法灵敏度较高,适用于不同类型样品中NDV的检测。曹军平等、王珂等均建立了可区分新城疫病毒强毒株和弱毒株的RT-PCR检测方法<sup>[32-33]</sup>。Wang等<sup>[34]</sup>建立了一种逆转录重组酶辅助扩增横流试纸和实时荧光逆转录重组酶辅助扩增方法,用于鸡新城疫病毒的检测;Liu等<sup>[35]</sup>建立了一种qRT-PCR方法,可以现场快速检测NDV,在野外条件下采用便携式TCOR4平台进行qRT-PCR检测。徐敏丽等<sup>[36]</sup>基于SYBR Green I嵌合荧光技术建立的检测方法能够特异性扩增NDV强毒株,用于临床毒株的检测方法与序列测定结果一致,可作为大规模监测NDV强毒株的方法和工具。吴旭锦等<sup>[37]</sup>对新城疫病毒国标RT-PCR诊断方法进行改进和优化,建立了一种灵敏度高、特异性好,能直接从组织病料中进行目的基因检测的NDV套式RT-PCR(nest RT-PCR, RT-nPCR)方法。Wise等<sup>[38]</sup>针对NDV F基因和M基因片段设计了3对引物和探针,并建立了qRT-PCR检测方法检测NDV。王素春等<sup>[39]</sup>针对新城疫病毒M基因序列,建立了能够快速检测新城疫病毒的实时荧光RT-PCR检测方法,具有耗时短、特异性好、敏感性高的优点。梅力等<sup>[40]</sup>以NDV F基因为靶基因,构建了NDV微滴式数字PCR方法,但需要精密仪器,对人员操作要求较高,检测时间较qPCR更长,不能实现高通量检测。Zhang等<sup>[41]</sup>建立了同时检测禽流感病毒、新城疫病毒和鸭坦布苏病毒的三重实时PCR检测方法,应用效果较好。Zhang等<sup>[42]</sup>建立了一种同时快速检测速发型、中发型新城疫病毒和H5亚型禽流感病毒的多重实时PCR方法,实现了同时鉴别诊断不同毒力的毒株。

曾婷婷等<sup>[43]</sup>将分子信标引入LAMP反应体系,建立了鉴别不同毒力NDV的可视化双重荧光RT-LAMP方法。Wu等<sup>[44]</sup>建立了一种多重LAMP和横向流动试纸同时可视化检测传染性支气管炎病毒和新城疫病毒。Huang等<sup>[45]</sup>研制了一种新型电化学免疫传感器,用于NDV的定量检测,该免疫传感器具有良好的重复性、选择性、稳定性和超高灵敏度,具有较大的应用潜力。

多重荧光定量PCR检测方法可以利用一次反

应同时检测、鉴别多种病原体,在临床混合感染的诊断上具有独特优势和很高的实用价值<sup>[46]</sup>。该方法可分为荧光染料法和荧光探针法,荧光染料法主要使用的是 SYBR Green I 染料,该染料无法与单链 DNA 结合,游离状态下不发荧光信号,但它可以与双链 DNA 结合并发出荧光信号,信号强度与 DNA 分子总数目成正比。但 SYBR Green I 存在荧光度低、稳定性差等缺点,因而出现了 SYBR Green ER、Power SYBR、Eva Green TM 等一些改良染料。荧光探针法(TaqMan 技术)是高度特异的定量 PCR 技术,核心是利用 Taq 酶的 3'→5' 外切酶活性,切断探针,产生荧光信号<sup>[46]</sup>。TaqMan 技术能够准确、可靠地进行定量检测,因此被广泛应用于人类及动植物细菌、病毒检测<sup>[47]</sup>。鉴于混合感染现象增加,敏感、特异和高通量检测方法是当前动物疾病检测中急需的,多重连接探针扩增技术在病原微生物的高通量检测领域显示出良好的应用前景<sup>[48]</sup>。周莹珊等<sup>[49]</sup>建立了一种多重连接探针扩增技术(MLPA),能够快速区分 AIV H9 亚型、AIV H7 亚型、AIV H5 亚型、NDV、禽偏肺病毒(aMPV)、禽传染性支气管炎病毒(IBV)和禽传染性喉气管炎病毒(ILTV)等 7 种禽呼吸道疾病病毒。张曼等<sup>[50]</sup>建立了区分禽流感病毒(AIV)、NDV 和安卡拉病毒的多重 PCR 检测方法。冯林<sup>[51]</sup>2020 年建立了 H9N2 AIV、IBV 和 ILTV TaqMan 三重荧光定量 PCR 检测方法,并取得了较好的临床应用效果。奉彬等<sup>[52]</sup>建立了鉴别 NDV 与其他禽类病毒(细小病毒、禽流感病毒)的多重 PCR 方法。郑鸣等<sup>[53]</sup>基于 AIV *HN* 基因和 NDV *F* 基因设计特异性探针,成功建立了 AIV 和 NDV 双重环介导间接 PCR 检测方法,适用于临床上 2 种病原的快速鉴别诊断。由此可见,TaqMan qRT-PCR 方法为临床症状相似病原微生物间准确鉴定提供了有力支持。

### 3 新城疫的综合预防和控制

《国家动物疫病强制免疫指导意见(2022-2025 年)》明确要求省级农业农村部门可根据辖区内动物疫病流行情况,对新城疫等疫病实施强制免疫<sup>[54]</sup>。ND 给全世界家禽业造成了严重的经济损失,就目前的预防和控制措施而言,不仅要通过适当的疫苗免疫,也要结合严格的生物安全控制措施才能有效阻止 NDV 感染和传播。

#### 3.1 扑杀

WOAH 针对新城疫制定的《陆生动物卫生法典》建议扑杀感染和可能存在接触史的动物,适当处置尸体和所有动物产品,实行隔离和限制运输。事实证明,大多数无 ND 的国家或地区通过扑杀、紧急消毒的办法阻断了疫情。

#### 3.2 生物安全管理措施

严格的生物安全管理措施和良好的卫生习惯是预防和控制 ND 传播的关键。生物安全管理主要通过隔离、卫生控制和行动控制 3 个方面实现。隔离感染疫病动物和风险动物,限制野生鸟类与家禽接触,严格清洁消毒相关设施和运输车辆,严格管理和控制车辆、人员、家禽及产品的流动。研究结果表明,野生禽类在 ND 的传播过程中发挥着重要作用,也是家禽感染的主要传染源,因此,规模化养禽场要重点关注野生鸟类携带 NDV 传入风险。

开展流行病学监测也是预防 ND 的重要手段之一,有助于早发现并及时采取预防和控制措施。王静静等<sup>[7]</sup>在 2016-2019 年随机从中国 23 个省(自治区、直辖市)采样,通过采集口咽和泄殖腔拭子、野生鸟粪便和环境样本进行 NDV 检测,结果表明,中国 Class I NDV 污染覆盖面广、感染宿主范围较广,需要加强防范。Xiang 等<sup>[8]</sup>研究了 II 类 NDV 在中国的进化和传播动态,特别是基因 VII 型 NDV 毒株,结果显示,东部和华南地区 II 类 NDV 基因型多样性最高,华东地区可能是中国基因 VII 型 NDV 的起源地,而鸡是基因 VII 型 NDV 的主要感染宿主。

#### 3.3 疫苗接种

ND 疫苗主要包括活疫苗、灭活疫苗和载体疫苗,使用最广泛的是活疫苗 B1 和 LaSota 株,对家禽致病性较低,可产生有效的保护性免疫应答。B1 和 LaSota 疫苗均能在呼吸道产生较强的免疫反应,B1 一般作为首免疫苗。还有一种主要在肠道引起免疫反应的活疫苗 VG-GA 株。群体活疫苗主要接种途径是饮水免疫和喷雾免疫,个体主要是点眼、滴鼻等。灭活疫苗由于制备过程中为了增强免疫原性,经常加有佐剂,会影响鸡肉的品质,因此不适用于肉鸡。灭活疫苗主要在蛋鸡和赛鸽中广泛使用,可通过肌肉注射和皮下注射等途径接种。目前有一些重组疫苗因为存在各种缺陷未进行大规模应用,如 HVT 载体疫苗产生免疫反应时间较长<sup>[55]</sup>。NDV 具有高度传染性且复制迅速,需要强大的免疫反应完

全阻断病毒的复制和传播,因此只能通过活疫苗和先天免疫、细胞免疫和体液免疫共同实现。B1 和 LaSota 疫苗虽能减轻感染鸡的临床症状,降低死亡率,但不能完全阻断病毒的复制和传播,也不具有区分受感染鸡和疫苗接种鸡的遗传标记,影响 NDV 的群内清除。世界范围内当前流行 NDV 毒株属于 V 基因型至 VII 基因型毒株,与生产主流疫苗的毒株存在基因差异<sup>[56]</sup>。已经有研究人员利用反向遗传学开发出基因型匹配的 ND 活疫苗,但基因型匹配疫苗研究和生产需要较高的实验条件和大量的成本和时间,因此研究进展缓慢。综合来看,现有疫苗不能完全阻止病毒感染和传播,开发更加高效的新型 ND 疫苗十分重要<sup>[57]</sup>。

### 3.4 单克隆抗体技术

单克隆抗体(Monoclonal antibody, mAb)被定义为能够将抗原结合到特定表位的糖蛋白<sup>[58]</sup>。Köhler 和 Milstein 最早发现并创立了单克隆抗体技术,对生物学有着深远影响<sup>[58]</sup>。最初,免疫球蛋白是通过重组 DNA 技术使用哺乳动物细胞从杂交瘤中产生的。尽管其具备更大生化相似性、更高稳定性和更高表达水平等优势,被认为是能够大规模生产 mAb 的表达系统,但使用哺乳动物细胞意味着需要更长的生产周期,这会产生更高的成本。目前,主要用于 mAb 生产的表达系统是大肠杆菌,因为生产快、成本更低,被广泛用于科学研究和生物制药行业<sup>[59]</sup>。在兽医领域单克隆抗体主要应用于免疫诊断试剂开发、抗原表位分子解析、疫苗的保护性免疫试验、传染性疾病的免疫治疗等方面,也可作为定位和靶向动物肿瘤的工具<sup>[60]</sup>。

单克隆抗体技术常被用于新城疫治疗和诊断方面的研究。王赛楠<sup>[61]</sup>以 NP 蛋白单抗 1E3 为基础,建立双抗夹心 ELISA 方法,可快速区分 NDV 强毒株和弱毒株,为 ND 快速诊断和防疫决策提供了一种重要工具。任亭亭等<sup>[62]</sup>利用一株与疫苗株 LaSota 存在显著抗原性差异的强毒株 PI/CHINA/SD/2012/167 制备成油乳剂疫苗对小鼠进行免疫制备单克隆抗体,用 ELISA 检测抗体对该强毒株及疫苗株 LaSota 的反应性,为 NDV 的临床鉴别检测技术提供了研究基础。金忠元<sup>[63]</sup>通过研究 NDV,筛选获得了 NDV 单抗 V-CTD,并鉴定了单克隆抗体 5C5 可识别 V 蛋白的线性抗原表位,这为 NDV V 蛋白的功能研究提供了研究基础。董靖<sup>[64]</sup>制备出一株稳定

分泌抗 M 蛋白单克隆抗体的细胞株,并发现病毒感染产生的 M 蛋白呈点状分布于细胞核周围以及细胞核内,M 蛋白进入细胞核依赖于自身的 NLS 序列,为今后深入研究 NDV M 蛋白进入细胞核的作用提供了基础。刘青<sup>[65]</sup>通过研究制备了 3 株抗鸡 CTLA-4 蛋白的单克隆抗体,发现抗鸡 CTLA-4 单克隆抗体能够提高 LaSota 株疫苗的免疫效果。王明睿等<sup>[66]</sup>通过制备 NDV NP 蛋白的单克隆抗体,建立了一种可定量检测新城疫病毒中 NP 抗原含量的双抗体夹心 ELISA 检测方法。

### 3.5 益生菌对家禽免疫功能的影响和新城疫的预防和控制研究

Fuller<sup>[67]</sup>于 1989 年给出了益生菌最恰当的定义,它是一种活微生物制剂,能维持动物肠道内菌群生态平衡并对机体产生有益作用,不包括死菌及代谢产物。益生菌近年来已广泛应用于动物养殖行业,除了自身的抑菌功能外,有些益生菌会产生有益的代谢产物,包括乳酸、丙酸、细菌素等。乳酸、丙酸等属于挥发性脂肪酸,可抑制肠道病原菌生长,促进肠道营养吸收;细菌素大多属于水溶性多肽类物质,据研究乳酸菌可产生对革兰氏阳性菌有抑制作用的细菌素,并产生一些酶,能够降解肠道黏膜上皮细胞的特异性糖类,阻止病原菌和毒素的吸附和入侵。益生菌能通过对细胞免疫、体液免疫及胃肠道局部免疫系统产生促进作用,进而提高机体的免疫功能。益生菌的代谢产物(多肽、蛋白质等)可以作为抗原物质刺激肠道,促进免疫器官生长发育<sup>[68]</sup>。

研究表明鸡消化道内的菌群包括两部分,一部分是有益菌群,另一部分是潜在致病菌群,两者处于平衡状态时可维持鸡的肠道健康。正常菌群通过竞争排斥和产生部分代谢物来增强肠道抗病力。用益生菌制剂对有结肠炎的小鼠进行饲喂,结果发现其结肠上皮细胞屏障功能有明显改善,肠黏膜中的促炎性细胞因子(TNF- $\alpha$ 、TNF- $\gamma$ )表达下调。黄海等<sup>[68]</sup>利用复合益生菌与肠道病毒进行体外试验,结果发现复合益生菌对肠道病毒有一定杀灭作用。王占锋等<sup>[69]</sup>研究了几株益生菌体外抗 NDV 作用,结果发现益生菌可直接破坏 NDV,阻断 NDV 感染细胞,抑制 NDV 增殖。李伟娜<sup>[70]</sup>从健康仔鸡新鲜粪便中鉴定筛选出 6 株对 NDV 有明显抑制作用的菌株,并研究了不同 pH 值、不同胆盐处理后这 6 株菌株在体外抗病毒作用。邵悦<sup>[71]</sup>研究了雏鸡的局部

黏膜免疫组织和局部体液产生 IgA、IgM、IgG 的细胞数量和产生含量的变化,揭示了益生菌的应用和 NDV 强毒株对局部黏膜的体液免疫变化规律,益生菌不仅可以促进局部黏膜组织生长发育,增强细胞增殖和分化功能,还可促进雏鸡消化道、呼吸道局部黏膜的体液免疫功能,增强对接种疫苗后的免疫应答效应,同时,通过促进 IL-7 mRNA 表达,增强了鸡体对 NDV 强毒株的抵抗力。

Gu 等<sup>[72]</sup>研究了蜡样芽孢杆菌 PAS38 对肉仔鸡脾脏的免疫调节机制,经过脾脏和组织学切片相对重量比较发现,蜡样芽孢杆菌 PAS38 可明显促进免疫器官发育,主要参与炎症反应的基因表达明显下调。Meher 等<sup>[73]</sup>通过研究日本鹌鹑接种新城疫疫苗和补充维生素 C、益生菌和抗生素生长促进剂后抗体滴度和淋巴器官重量的变化,结果发现添加维生素 C 和益生菌可提高日本鹌鹑对 NDV 的抗体效价。Gonmei 等<sup>[74]</sup>分别从印度阿萨姆邦土鸡盲肠和空肠分离出两株罗伊氏乳杆菌,研究其单独饲喂和与益生菌联合饲喂对 NDV 的免疫作用,结果发现单独饲喂和联合饲喂均能刺激宿主的体液和细胞免疫反应,显著提高 NDV 抗体水平。

### 3.6 中药对家禽免疫功能的影响和对新城疫的预防和控制研究

许多中药可作为免疫增强剂使用,能够刺激鸡体免疫系统,提高免疫细胞的生长及抗体产生。近年来,中药在家禽病毒性疾病的预防和控制中应用广泛,特别是在用免疫方法抑制病毒病的预防和控制中有很好的效果<sup>[75]</sup>。

研究表明,中药可以通过直接作用于病毒,影响病毒吸附和增殖过程,也可以通过调节干扰素明显增加机体的抗病毒能力。例如一些中药(金银花和黄芪等)能够显著提高抗氧化酶活性,增强机体抗氧化功能,达到保护免疫细胞,促进免疫器官发育的效果。孙波等<sup>[76]</sup>以黄芪多糖为材料研究其对免疫肉鸡生长性能、肉鸡肠道菌群和鸡体免疫功能的影响,结果发现黄芪多糖能够促进肉鸡肠道有益菌繁殖,抑制肠道有害菌繁殖,提高免疫肉鸡的 NDV 抗体水平。华诗卉等<sup>[77]</sup>将黄芪、紫锥菊、当归等中药组方添加至雏鸡日粮中,试验结果显示 NDV 抗体水平显著提高,同时促进了鸡免疫器官的发育,刺激鸡脾淋巴细胞增殖,促进 IL-4 和 TNF- $\alpha$  的分泌。靳二辉等<sup>[78]</sup>研究了中草药(黄芪、金银花、枸

杞)作为添加剂在鸡日粮中发挥的作用,结果发现不同剂量的中药添加剂可以促进肉鸡免疫器官的发育,提高鸡体的血清免疫球蛋白、细胞因子和 NDV 抗体水平,增强了鸡体的免疫功能。Wang 等<sup>[79]</sup>研究并鉴定了对新城疫病毒具有抗病毒作用的中草药,结果表明对 NDV 抑制作用最强的 5 种中草药分别为藿香、野菊花、知母、黄芪、黄芩,设计的两种配方能够提高血清 IgY 滴度,降低发病率。Jia 等<sup>[80]</sup>研究了中药黄芩苷体外抗新城疫病毒的活性,采用 MTT 法研究了黄芩苷的细胞毒性和抗病毒活性,结果显示,黄芩苷对鸡胚成纤维细胞(CEF)的最大安全质量浓度为  $1 \times 2 \text{ mg/mL}$ 。黄芩苷可直接杀伤 NDV,抑制 NDV 对 CEF 的感染,阻断细胞内 NDV 增殖。抑制了 NDV 感染的 CEF 的凋亡和 NDV 的扩散,证明黄芩苷具有很强的抗新城疫病毒活性,并具有作为抗病毒药物成分的潜力。

## 4 展望

综上所述,新城疫仍是严重威胁禽类健康的传染病之一,暴发和流行后可造成巨大经济损失,同时危及野生鸟类健康。近年来在中国虽然没有大面积的疫病发生,但研究发现各种养殖环境和野生环境中病毒污染严重,存在野生禽类和家禽互相传播增大的风险,并且呈现病毒在不同宿主之间具有溢出性、弱毒株向强毒株进化的特点,新城疫也常常呈非典型症状长期存在于禽类群体中。因此,持续开展 NDV 的流行病学监测仍具有重要意义,特别需要加强对野生禽类和水禽群体的监测。同时研究部分益生菌、中草药在提高鸡群免疫水平和抗病毒作用上的潜在价值。

### 参考文献:

- [1] 陈溥言. 兽医传染病学[M]. 北京:中国农业出版社,2015.
- [2] DU J T, XIA J, LI S Y, et al. Evolutionary dynamics and transmission patterns of Newcastle disease virus in China through Bayesian phylogeographical analysis [J]. PLoS One, 2020, 15 (9): e0239809.
- [3] GANAR K, DAS M, SINHA S, et al. Newcastle disease virus: current status and our understanding [J]. Virus Research, 2014, 184:71-81.
- [4] 仇薪鑫. 高抗体水平下种鸡场新城疫自净化技术的初步研究 [D]. 杨凌:西北农林科技大学,2017.
- [5] 高晓敏. 2018-2020 年我国新城疫病毒分子流行病学及针对流行毒株的新疫苗研制 [D]. 扬州:扬州大学,2021.

- [6] 刘华雷,王志亮. 新城疫的流行历史与现状[J]. 中国动物检疫,2015,32(6):1-4.
- [7] 王静静,于晓慧,蒋文明,等. 2016-2019 年我国 I 类新城疫病原学监测与遗传进化分析[J]. 中国动物检疫,2020,37(11):1-5.
- [8] XIANG B, CHEN L B, CAI J C, et al. Insights into genomic epidemiology, evolution, and transmission dynamics of genotype VII of class II Newcastle disease virus in China[J]. Pathogens, 2020, 9(10):837.
- [9] 罗瑶瑶,王静静,王云平,等. 2014-2017 年我国部分地区 10 株鸽副黏病毒的分布及其分子特征[J]. 中国兽医学报,2018,38(10):1883-1886,1931.
- [10] 钱晶,刘雪,王玮,等. 鸽新城疫病毒 VI-HZ 株的分离鉴定及其遗传进化分析[J]. 中国兽医学报,2022,42(4):651-656.
- [11] 裴育,孙雅丽,赵焯,等. 4 株鸽新城疫病毒的基因组序列与致病性分析[J]. 病毒学报,2022,38(2):402-414.
- [12] DIMITROV K M, ABOLNIK C, AFONSO C L, et al. Updated unified phylogenetic classification system and revised nomenclature for Newcastle disease virus[J]. Infection, Genetics and Evolution, 2019, 74:103917.
- [13] RAHMAN A U, HABIB M, SHABBIR M Z. Adaptation of Newcastle disease virus (NDV) in feral birds and their potential role in interspecies transmission[J]. The Open Virology Journal, 2018, 12:52-68.
- [14] 杨少华,黄庆华,崔宁,等. 野生鸟类新城疫病毒分离株的生物学特性和系统发育分析[J]. 中国兽医学报,2022,42(3):452-456.
- [15] ELFATAH K S A, ELABASY M A, EL-KHYATE F, et al. Molecular characterization of velogenic Newcastle disease virus (subgenotype VII. 1.1) from wild birds, with assessment of its pathogenicity in susceptible chickens[J]. Animals, 2021, 11(2):505.
- [16] KARAMENDIN K, KYDYRMANOV A. Cormorants as a potentially important reservoir and carrier of Newcastle disease virus on the Asian Continent[J]. Frontiers in Veterinary Science, 2021, 8:648091.
- [17] JIA L J, LIANG B L, WU K, et al. Circulation, genomic characteristics, and evolutionary dynamics of class I Newcastle disease virus in China[J]. Virulence, 2022, 13(1):414-427.
- [18] YU X H, LUO Y Y, WANG J J, et al. A molecular, epidemiological and pathogenicity analysis of pigeon paramyxovirus type 1 viruses isolated from live bird markets in China in 2014-2021[J]. Virus Research, 2022, 318:198846.
- [19] 刘华雷,吕艳,王静静,等. 国内新出现的基因 7 型 I 类新城疫病毒的分离与鉴定[J]. 中国兽医学报,2016,36(12):1997-2000.
- [20] WANG J J, YU X H, ZHENG D X, et al. Continuous surveillance revealing a wide distribution of class I Newcastle disease viruses in China from 2011 to 2020[J]. PLoS One, 2022, 17(3):e0264936.
- [21] 胡秀美,仇微红,梁昭平,等. 2018-2019 年我国部分地区新城疫病毒的 F 基因序列分析[J]. 养禽与禽病防治, 2021(1):2-7.
- [22] 冯朝阳. 山东省一株新城疫病毒强毒株的分离鉴定及致病性研究[D]. 泰安:山东农业大学,2024.
- [23] 刘华雷,吕艳,王静静,等. 我国新出现基因 XII 型新城疫病毒的分布及特性[J]. 中国动物检疫,2017,34(9):1-3,18.
- [24] 孙化露,毕云英,于泽坤,等. 1 株基因 VII 型新城疫病毒的生物学特性研究及全基因组序列分析[J]. 中国畜牧兽医,2018,45(10):2840-2848.
- [25] MENG C C, QIU X S, YU S Q, 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.
- [26] MAO Q, MA S M, SCHRICKEL P L, et al. Review detection of Newcastle disease virus[J]. Frontiers in Veterinary Science, 2022, 9:936251.
- [27] JI P P, ZHU J H, LI X X, et al. Fenobody and RANbody-based sandwich enzyme-linked immunosorbent assay to detect Newcastle disease virus[J]. Journal of Nanobiotechnology, 2020, 18(1):44.
- [28] WANG B, WANG B, LIU P X, et al. Package of NDV-pseudotyped HIV-Luc virus and its application in the neutralization assay for NDV infection[J]. PLoS One, 2014, 9(6):e99905.
- [29] LI Q M, WANG L, SUN Y N, et al. Evaluation of an immunochromatographic strip for detection of avian avulavirus 1 (Newcastle disease virus)[J]. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 2019, 31(3):475-480.
- [30] JESTIN V, JESTIN A. Detection of Newcastle disease virus RNA in infected allantoic fluids by in vitro enzymatic amplification (PCR)[J]. Archives of Virology, 1991, 118(3/4):151-161.
- [31] YI J Z, LIU C Q. Detecting Newcastle disease virus in combination of RT-PCR with red blood cell absorption[J]. Virology Journal, 2011, 8:202.
- [32] 曹军平,胡新岗,吴双,等. 荧光定量 RT-PCR 检测中、强毒力新城疫病毒方法的建立及验证[J]. 中国动物检疫,2012,29(4):32-36.
- [33] 王珂,袁乾亮,尹仁福,等. 强、弱毒力新城疫病毒双重荧光定量 RT-PCR 检测方法的建立[J]. 中国兽医学报,2017,37(1):1-6,17.
- [34] WANG W J, WANG C G, BAI Y, et al. Establishment of reverse transcription recombinase-aided amplification-lateral-flow dipstick and real-time fluorescence-based reverse transcription recombinase-aided amplification methods for detection of the Newcastle disease virus in chickens[J]. Poultry Science, 2020, 99(7):3393-3401.
- [35] LIU L, BENYEDA Z, ZOHARI S, et al. Assessment of preparation of samples under the field conditions and a portable real-time RT-PCR assay for the rapid on-site detection of Newcastle disease virus[J]. Transboundary and Emerging Diseases, 2016, 63(2):245-250.
- [36] 徐敏丽,于江,逯璐,等. 新城疫强毒特异性反转录荧光定量 PCR 检测方法的建立与应用[J]. 山东农业科学,2021,53

- (8):112-118.
- [37] 吴旭锦,朱小甫.新城疫国标 RT-PCR 诊断方法的优化与应用[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2015,43(3):27-31.
- [38] WISE M G, SUAREZ D L, SEAL B S, et al. Development of a real-time reverse-transcription PCR for detection of Newcastle disease virus RNA in clinical samples[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004, 42(1):329-338.
- [39] 王素春,孙亚伟,樊擎莹,等.新城疫病毒实时荧光 RT-PCR 检测方法的建立与应用[J].*中国动物检疫*,2020,37(1):74-78.
- [40] 梅力,王英超,吴迪,等.1种检测新城疫病毒的微滴式数字 PCR 方法[J].*畜牧兽医学报*,2020,51(12):3187-3192.
- [41] ZHANG X Y, YAO M, TANG Z H, et al. Development and application of a triplex real-time PCR assay for simultaneous detection of avian influenza virus, Newcastle disease virus, and duck Tembusu virus[J]. *BMC Veterinary Research*, 2020, 16(1):203.
- [42] ZHANG Z J, LIU D, HU J, et al. Multiplex one-step real-time PCR assay for rapid simultaneous detection of velogenic and mesogenic Newcastle disease virus and H5-subtype avian influenza virus[J]. *Archives of Virology*, 2019, 164(4):1111-1119.
- [43] 曾婷婷,谢丽基,谢芝勋,等.一种可视化双重荧光 RT-LAMP 方法鉴别不同毒力新城疫病毒[J].*中国兽医学报*,2021,41(10):1902-1908.
- [44] WU X, SONG Z X, ZHAI X W, et al. Simultaneous and visual detection of infectious bronchitis virus and Newcastle disease virus by multiple LAMP and lateral flow dipstick[J]. *Poultry Science*, 2019, 98(11):5401-5411.
- [45] HUANG J L, XIE Z X, HUANG Y H, et al. Electrochemical immunosensor with Cu(I)/Cu(II)-chitosan-graphene nanocomposite-based signal amplification for the detection of Newcastle disease virus[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1):13869.
- [46] 张若楠,于雷,王钊,等.多重荧光定量 PCR 在动物检测中的应用[J].*山东畜牧兽医*,2020,41(4):75-78.
- [47] 王玉倩,薛秀花.实时荧光定量 PCR 技术研究进展及其应用[J].*生物学通报*,2016,51(2):1-6.
- [48] 王雨萌,周柯,邵春艳,等.多重连接探针扩增技术(MLPA)在病原微生物检测与疾病诊断中的应用[J].*农业生物技术学报*,2021,29(10):2031-2042.
- [49] 周莹珊,陈琳,周柯,等.禽呼吸道7种病毒多重连接探针扩增检测技术的建立与应用[J].*中国兽医学报*,2020,40(12):2311-2315,2319.
- [50] 张曼,韩飞. AIV、NDV 和安卡拉病毒多重 PCR 检测方法的建立及应用[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2018,46(2):1-6,14.
- [51] 冯林. H9N2 AIV、IBV 和 ILTV TaqMan 三重荧光定量 PCR 检测方法的建立和应用[D].扬州:扬州大学,2020.
- [52] 奉彬,谢芝勋,邓显文,等.鸡新城疫病毒、鸡细小病毒和禽流感病毒三重 PCR 检测方法的建立及应用[J].*南方农业学报*,2019,50(11):2576-2582.
- [53] 郑鸣,郭宏伟,李华玮,等. H9N2 亚型禽流感病毒和新城疫病毒混合感染环介导间接 PCR 鉴别方法的建立与评估[J].*中国兽医学报*,2019,39(6):1085-1090.
- [54] 农业农村部.国家动物疫病强制免疫指导意见(2022-2025年)[EB/OL].(2022-01-07)[2024-09-01].[https://zwfw.moa.gov.cn/govpublic/xmsyj/202201/t20220107\\_6386445.htm](https://zwfw.moa.gov.cn/govpublic/xmsyj/202201/t20220107_6386445.htm).
- [55] PALYA V, KISS I, TATÁR-KIS T, et al. Advancement in vaccination against Newcastle disease; recombinant HVT NDV provides high clinical protection and reduces challenge virus shedding with the absence of vaccine reactions[J]. *Avian Diseases*, 2012, 56(2):282-287.
- [56] MILLER P J, DECANINI E L, AFONSO C L. Newcastle disease: evolution of genotypes and the related diagnostic challenges[J]. *Infection, Genetics and Evolution*, 2010, 10(1):26-35.
- [57] 辛巴·K·塞姆奥.禽病毒学:当前研究状况及未来发展趋势[M].北京:中国农业出版社,2021.
- [58] SANTOS-NETO J F, OLIVEIRA F O, HODEL K V S, et al. Technological advancements in monoclonal antibodies[J]. *The Scientific World Journal*, 2021, 2021:6663708.
- [59] 高吉,何娟,王庆文,等.单克隆抗体技术的诞生、现状和展望[J].*科学通报*,2020,65(Z2):3085-3090.
- [60] 吴芷静.单克隆抗体技术在畜禽疾病诊断中的应用[J].*中国畜禽种业*,2022,18(3):58-60.
- [61] 王赛楠.区分鸡新城疫病毒强弱株单抗的制备及双抗夹心 ELISA 方法的建立和应用[D].郑州:河南农业大学,2021.
- [62] 任亭亭,李仕超,詹媛,等.新城疫基因型差异性单克隆抗体的制备及鉴定[C]//中国畜牧兽医学学会兽医公共卫生学分会.中国畜牧兽医学学会兽医公共卫生学分会第五次学术研讨会论文集.上海:中国畜牧兽医学学会兽医公共卫生学分会,2016.
- [63] 金忠元.新城疫 LaSota 疫苗株 HN 蛋白优势 B 细胞表位及 V 蛋白单克隆抗体的研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2020.
- [64] 董靖.新城疫病毒 M 蛋白单克隆抗体制备及核定位研究[D].合肥:安徽农业大学,2020.
- [65] 刘青.鸡 CTLA-4 单克隆抗体的制备及其生物学特性研究[D].扬州:扬州大学,2022.
- [66] 王明睿,钟建平,李睿,等.新城疫病毒核蛋白单克隆抗体的制备及双抗体夹心 ELISA 的初步建立[J].*中国人兽共患病学报*,2017,33(6):481-485,512.
- [67] FULLER R. Probiotics in man and animals[J]. *Journal of Applied Bacteriology*, 1989, 66(5):365-378.
- [68] 黄海,张清敏,徐建设,等.复合益生菌体外抑菌杀病毒作用研究[J].*中国微生态学杂志*,2009,21(1):30-31,35.
- [69] 王占锋,张萍,付文卓,等.几株益生菌的体外抗新城疫病毒作用[J].*微生物学报*,2010,50(12):1664-1669.
- [70] 李伟娜.鸡肠道益生菌抗 NDV 株的筛选及益生菌模拟胃肠条件下的变化研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2012.
- [71] 邵悦.益生菌对 ND 免疫雏鸡局部黏膜体液免疫及 IL-7 mRNA 表达的影响[D].哈尔滨:东北农业大学,2011.
- [72] GU X X, ZHANG J, LI J J, et al. Effects of *Bacillus cereus* PAS38 on immune-related differentially expressed genes of spleen in broilers[J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2020, 12(2):425-

- 438.
- [73] MEHER M M, JAHAN N, AFRIN M. Assessment of antibody titer and lymphoid organs weight following Newcastle disease vaccination and feed-supplementation of vitamin-C, probiotics and antibiotic-growth-promoters in Japanese quails[J]. *Macedonian Veterinary Review*, 2021, 44(2):129-137.
- [74] GONMEI G, SAPCOTA D, SAIKIA G K, et al. Studies on immune response to Newcastle disease virus in broiler chickens fed with *Lactobacillus reuteri* PIA16 isolated from the gut of indigenous chicken of Assam, India [J]. *Veterinary World*, 2019, 12(8):1251-1255.
- [75] 宋 依,李敬双,安 妮,等. 中药对 vMDV 型强毒诱发的免疫抑制鸡免疫增强作用的研究[J]. *饲料研究*, 2016, 39(24):6-10,30.
- [76] 孙 波,陈 静,吴 娟,等. 黄芪多糖对免疫抑制肉鸡生长性能、肠道菌群及免疫功能的影响[J]. *中国畜牧兽医*, 2014, 41(8):101-106.
- [77] 华诗卉,周柏汝,张延龙,等. 黄芪、紫锥菊、当归等中药组方对鸡免疫功能的影响[J]. *饲料工业*, 2021, 42(13):24-27.
- [78] 靳二辉,陈耀星,周金星,等. 黄芪、枸杞、金银花等中草药复方制剂对肉鸡免疫器官发育及免疫功能的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2017, 48(6):1128-1139.
- [79] WANG M, YU Y, BRAD K, et al. The screening and evaluation of herbs and identification of herbal combinations with anti-viral effects on Newcastle disease virus [J]. *British Poultry Science*, 2016, 57(1):34-43.
- [80] JIA Y, XU R G, HU Y C, et al. Anti-NDV activity of baicalin from a traditional Chinese medicine *in vitro* [J]. 2016, 78(5):819-824.

(责任编辑:黄克玲)