

番鸭呼肠孤病毒和 H9 亚型禽流感病毒共感染对番鸭胸腺免疫抑制作用

林锋强^{1,2}, 高春亮¹, 陈少莺^{1,2*}, 朱小丽^{1,2}, 程晓霞^{1,2}, 王劭^{1,2}, 陈仕龙^{1,2}, 蔡羲¹, 李兆龙¹, 马春全³, 赵佳荣³

¹福建省农业科学院畜牧兽医研究所, 福州 350013

²福建省畜禽疫病防治工程技术研究中心, 福州 350013

³佛山科技学院生命科学学院, 佛山 528231

摘要:【目的】探讨番鸭呼肠孤病毒(muscovy duck reovirus,MDRV)和 H9 亚型禽流感病毒(H9 avian influenza virus,AIV)共感染对番鸭胸腺免疫功能的影响。【方法】8 日龄番鸭人工感染 MDRV 或/和 H9 AIV,观察番鸭感染后发生率和死亡率、胸腺形态和显微结构变化,淋巴细胞增殖试验检测胸腺细胞增殖功能,RT-PCR 检测 MDRV 或 H9 AIV 在番鸭胸腺的分布。【结果】H9 AIV 感染后番鸭发病率低,无死亡;不影响胸腺的发育,胸腺病理变化不明显,但能显著抑制胸腺淋巴细胞增殖反应。MDRV 单独感染番鸭生长迟缓,发病率 80%,死亡率 50%;胸腺萎缩,出现局限性坏死灶;对番鸭胸腺细胞增殖反应的有抑制作用,差异显著。共感染组番鸭生长迟缓,发病率 90%,死亡率 70%;胸腺萎缩,淋巴细胞减少,出现局限性坏死灶;对番鸭胸腺细胞增殖反应的有抑制作用,差异极显著。共感染组在病毒检出时间和检出率上均大于单一病毒感染组。【结论】H9AIV 感染对胸腺的免疫抑制作用较弱,MDRV 感染后对胸腺的免疫抑制作用较强,MDRV 与 H9 AIV 共感染在番鸭免疫反应抑制上有协同作用。

关键词: 番鸭呼肠孤病毒, H9 流感病毒, 共感染, 胸腺, 免疫抑制

中图分类号: S852 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2011)10-1407-06

番鸭呼肠孤病毒病(Muscovy duck reovirus,MDRV)和水禽流感(Avian Influenza,AI)均是近年新出现的严重阻碍水禽饲养业健康发展的重要传染病。番鸭呼肠孤病毒病临床上以软脚为主要症状,以肝、脾表面有多量白点、肾脏肿大、出血、表面有黄色条斑为主要病理变化的传染病^[1]。通过血清学调查表明在番鸭群中广泛存在着呼肠孤病毒感染,给番鸭养殖业带了巨大的经济损失^[2]。H9N2 亚型

AIV 广泛存在于世界各地,我国 1994 年在鸡中首次发现 H9N2 亚型禽流感病毒,其后 H9N2 亚型病毒感染范围不断扩大,目前绝大部分省市都有 H9 亚型禽流感病毒流行,某些地区的养殖场 H9 亚型禽流感阳性达到 90% 以上^[3-5]。证实了禽流感,尤其是中等毒力以下的 H9N2 亚型禽流感在我国广泛存在,是目前影响我国养禽业的主要禽流感病毒亚型^[6-7]。

基金项目:福建省自然科学基金项目(2008J0061);国家自然科学基金(30771620)

* 通信作者。Tel: +86-591-87884914; E-mail: chensy58@163.com

作者简介:林锋强(1976-),男,福建福州人,副研究员,硕士,主要从事畜禽传染病和分子生物研究。E-mail: lfq1976@163.com

收稿日期:2011-03-25;修回日期:2011-06-22

近年来研究发现番鸭呼肠孤病毒为免疫抑制性病毒,感染后引起水禽免疫器官坏死或萎缩等病变,对免疫功能有抑制作用^[8-9]。而且研究也发现 H9 型流感病毒能引起鸡和鸭的免疫抑制^[10-11]。近年来在临床上发现 MDRV 的感染引起的番鸭死亡病例中能检测到 H9 亚型 AIV 病毒的存在,表明临床上存在番鸭呼肠孤病毒和 H9AIV 的合并感染,而且发病和死亡均高于 MDRV 感染或 H9AIV 感染。因此探讨 MDRV 和 AIV 共感染情况下胸腺形态和功能变化过程,为今后番鸭呼肠孤病毒病和水禽流感临床免疫预防程序的制定奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 病毒株:番鸭呼肠孤病毒强毒 MW9710 株和 H9 AIV 均由本室分离、鉴定并保存。

1.1.2 试验动物:1 日龄雏番鸭购自莆田广东温氏家禽有限公司,未免疫任何疫苗。

1.1.3 主要试剂和仪器:RPMI-1640 购自 Gibco 公司;胎牛血清购自 Hyclone 公司;ConA 购自 sigma 公司,用 RPMI-1640 配成 1mg/mL,冷冻保存备用。MTT 购自 sigma 公司,用 RPMI-1640 配成 5 mg/mL,冷冻保存备用。淋巴细胞分离液购自上海恒信化学试剂有限公司;二甲基亚砜(DMSO)购自上海化学试剂研究所;ELX800UV 酶标仪为 Bio-tek 产品。

1.2 试验分组及设计

170 羽 8 日龄番鸭分为对照组(30 羽)、H9 AIV 组(30 羽)、MDRV(1:50)(50 羽)、MDRV + AIV 组(60 羽)。对照组注射 0.2 mL Hank's;H9 AIV 组感染量为原液 0.3 mL(口服原液 0.2 mL + 腿肌注射原液 0.1 mL);MDRV 组按 1:50 稀释病毒 0.2 mL/羽腿肌注射,MDRV + AIV 组同上剂量同时感染 MDRV 和 H9AIV 病毒。攻毒后各组番鸭隔离饲养。每组取 10 羽每天观察并记录各组发病死亡情况;其余番鸭进行以下各项指标测定。

1.3 病毒感染对胸腺重量的影响

各组番鸭在感染后 7 d 和 14 d 称量体重、胸腺的重量,计算器官指数。

1.4 病毒感染对胸腺组织学结构的影响

感染后 5 d、7 d、10 d 无菌采集胸腺,称重后以 10% 福尔马林固定、石蜡切片、H. E 染色,观察病理组织学变化。

1.5 病毒感染对胸腺细胞增殖功能的影响

将无菌采集的胸腺放入已盛有 Hank's 液的平皿中,用灭菌剪刀、镊子剥去被膜;剪碎后,移入灭菌 50 mL 离心管中;加入 4 mL 的胰酶,轻轻晃动离心管,使组织和胰酶充分混匀,37°C 水浴作用 30 min,每隔 10 min 摇匀一次;消化完毕之后,过 200 目筛网,收集组织细胞悬液,3000 × g,离心 10 min;弃上清,Hank's 液洗 3 次,加入 2 mL 淋巴细胞培养液重悬细胞,台酚蓝染色计数,调整细胞浓度为 5 × 10⁶ 个/mL。试验孔每孔加 50 μL 细胞悬液和 50 μL 40 μg/mL ConA,对照孔加 50 μL 细胞悬液和 50 μL RPMI 1640 完全培养基,均设 3 个重复,并设 RPMI 1640 空白孔。40°C,5% CO₂ 培养 60 h。培养结束前 3 h,各孔加入 10 μL MTT。培养结束后 2000 × g 离心 10 min,倾去上清液,加入 150 μL DMSO 溶液反应 20 min,酶标仪检测各孔 OD₅₇₀ 值。用刺激指数(SI)评价组间差异性。SI 计算方法:

$$SI = \frac{\text{试验孔 } OD_{570} \text{ 平均值} - \text{空白孔 } OD_{570} \text{ 平均值}}{\text{对照孔 } OD_{570} \text{ 平均值} - \text{空白孔 } OD_{570} \text{ 平均值}}$$

1.6 病毒在胸腺中的分布

感染后 1 d、3 d、7 d、14 d、21 d、28 d,每组分别随机选取 3 羽鸭无菌采集胸腺组织,加无菌 PBS (0.01 mol/L, pH7.2) 剪碎研磨后制成 10% 悬液,冻融 3 次后,4000 × g 离心 20 min,上清用双抗(1000 IU/mL)处理后,TRIzol 试剂提取病毒 RNA。根据建立的 RT-PCR 方法对样品进行检测^[8],根据中华人民共和国农业行业标准 NY/T 772-2004 对样品检测 H9 AIV。在 1% 琼脂糖凝胶板,以 60 V/cm 的条件电泳。以 100 bp DNA 梯度 Marker 的分子量为参照物,用凝胶成像系统观察、摄像记录结果。结果判定,以出现约 300 bp 特异扩增条带为 MDRV 阳性,以出现约 732 bp 特异扩增条带为 H9AIV 阳性,未出现任何扩增条带为阴性。

1.7 数据处理

所有数据以平均值 ± 标准误表示,组间差异性用 t-test 软件分析,P < 0.05 表示差异显著,P < 0.01 表示差异极显著。

2 结果

2.1 番鸭发病和死亡情况

从表 1 可知,健康对照组在整个试验观察期内均无异常反应;AIV 感染组仅个别番鸭一过性轻微

发病,表现为精神差、不爱动,无死亡;MDRV 感染组的发病率为 80%,死亡率为 50%,表现为软脚、不能站立、毛松、缩颈、拉稀、食欲下降;而共感染组发病率为 90%,死亡率为 70%,临床表现与 MDRV 组相似。表明 MDRV 和 H9AIV 共感染提高了感染番鸭的发病率和死亡率,加重了病情。

表 1 不同感染方式对番鸭发病率和死亡率的影响

Table 1 Effect of different infection ways on the morbidity and mortality rate

Group	Number of inoculated ducks	Number of dead ducks	Morbidity	Number of ill ducks	Mortality
Control	10	0	0	0	0
AIV group	10	1	10%	0	0
MDRV group	10	8	80%	5	50%
Co-infection group	10	9	90%	7	70%

2.2 病毒感染对胸腺形态发育的影响

从表 2 看出,AIV 组番鸭体重和胸腺器官指数与健康对照组比较差异不显著。MDRV 组 PI 7 d 时番鸭体重显著下降 ($P < 0.05$),胸腺胸腺器官指数下降明显,严重萎缩,与健康对照组和 AIV 组差异极显著 ($P < 0.01$);而 PI 14 d 时,胸腺器官指数与健康对照组和 AIV 组比较差异不显著。共感染组

PI 7 d 时番鸭体重显著下降 ($P < 0.05$),番鸭胸腺器官指数下降明显,严重萎缩,与健康对照组和 AIV 组差异极显著 ($P < 0.01$),与 MDRV 组差异显著 ($P < 0.05$);而 PI 14 d 时,与其余三组差异显著 ($P < 0.05$)。表明 H9AIV 感染番鸭胸腺的发育影响不大,MDRV 严重影响胸腺的发育,引起胸腺萎缩,共感染组对胸腺更为严重,而且持续时间长。

表 2 不同感染方式对番鸭胸腺器官指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 2 The effect of of different infection ways on index of muscovy ducks bursa

Detection time (post infection days)	Group	Body weight	Bursa / body weight (%)
PI 7 d	Control	152.56 ± 16.88 ^a	0.482 ± 0.036 ^A
	AIV group	150.23 ± 19.87 ^a	0.472 ± 0.039 ^A
	MDRV group	124.89 ± 12.26 ^b	0.198 ± 0.022 ^B
	Co-infection group	122.56 ± 16.56 ^b	0.148 ± 0.026 ^{Bc}
PI 14 d	Control	180.64 ± 17.55 ^a	0.312 ± 0.028 ^a
	AIV group	178.87 ± 12.68 ^a	0.272 ± 0.022 ^a
	MDRV group	152.25 ± 14.67 ^b	0.281 ± 0.017 ^a
	Co-infection group	143.61 ± 8.72 ^b	0.232 ± 0.032 ^b

^{a, b, c}: Means with the different letter were significant at the $P < 0.05$ level (a, b, c) or $P < 0.01$ (A, B, C) level, with the same letter or no letter were significant at the $P > 0.05$ level in the same row.

2.3 病毒感染对胸腺组织损伤对比

AIV 感染过程中,胸腺病理变化不明显,仅仅出现轻微的淋巴细胞坏死。MDRV 感染组出现较小的局限性坏死灶,部分雏番鸭第 7、10 d 的坏死灶中可见少量单核细胞浸润 (图 1)。共感染组接种后 1-10 天,胸腺病理变化基本相同,以淋巴细胞减少、坏死为主,尤其在皮质区、皮质和髓质的交界处减少最多 (图 2)。

2.4 番鸭胸腺 T 淋巴细胞增殖功能的变化

从表 3 看出,3 种不同感染方式各组番鸭胸腺中 T 淋巴细胞刺激指数均明显低于健康对照组,其中 AIV 组与健康对照组差异显著 ($P < 0.05$);

MDRV 组和共感染组胸腺 T 细胞刺激指数明显低于 AIV 感染和对照组,差异显著 ($P < 0.05$),但 MDRV 组和共感染组间差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.5 不同感染方式对 MDRV 在番鸭胸腺的分布的影响

MDRV 组在 PI3d 后在胸腺中检测到病毒;而共感染后在 PI1d 已能检测到病毒。MDRV 组番鸭检出病毒高峰期 PI3d-PI14d,共感染组番鸭检出病毒高峰期 PI3d-PI21d。在 PI28d 后,MDRV 组和共感染组均不能检测到病毒。因此共感染组在病毒检出时间和检出率上均大于 MDRV 组 (见表 4)。

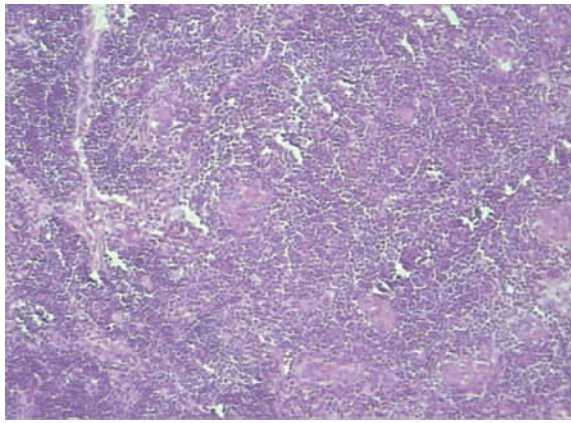


图1 MDRV 组胸腺出现小的坏死灶 HE(100 ×)
Fig.1 Necrotic foci on thymus in MDRV group(100 ×).

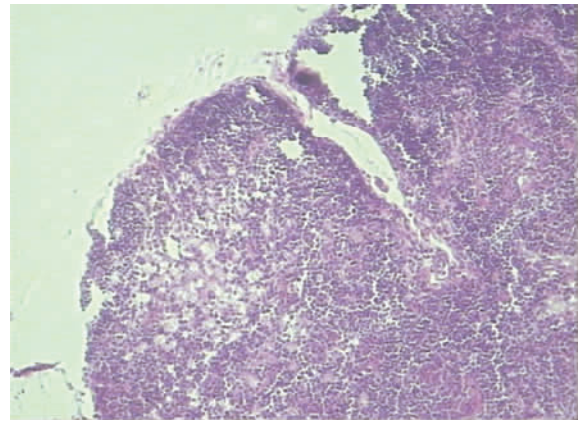


图2 共感染组胸腺出现淋巴细胞坏死 HE(100 ×)
Fig.2 Lymphocyte necrosis on thymus in co-infection group(100 ×).

表3 不同感染方式对番鸭胸腺 T 细胞增殖功能的变化($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

Table 3 The effect of of different infection ways on T lymphocytes proliferation in the thymus

Group	Detection time (post infection days)			
	PI 7d	PI 14d	PI 21d	PI 28d
Control	1.55 ± 0.15 ^{a*}	1.65 ± 0.12 ^a	1.83 ± 0.17 ^c	1.95 ± 0.16 ^a
AIV group	1.29 ± 0.12 ^b	1.36 ± 0.1 ^b	1.49 ± 0.13 ^b	1.66 ± 0.14 ^b
MDRV group	1.10 ± 0.08 ^a	1.05 ± 0.09 ^b	1.26 ± 0.11 ^b	1.55 ± 0.12 ^b
Co-infection group	1.00 ± 0.03 ^a	1.00 ± 0.05 ^b	1.10 ± 0.09 ^a	1.25 ± 0.05 ^b

* : Means with the different letter were significant at the $P < 0.05$ level (a ,b ,c) or $P < 0.01$ (A ,B ,C) level ,with the same letter or no letter were significant at the $P > 0.05$ level in the same row.

表4 MDRV 感染组和共感染组番鸭胸腺中 MDRV 病毒分布

Table 4 MDRV distribution on the thymus in MDRV-and co-infection group

Group	Detection time (post infection days)						
	PI1d	PI3d	PI7d	PI10d	PI14d	PI21d	PI28d
MDRV group	0/3	2/3	3/3	2/3	2/3	1/3	0/3
Co-infection group	1/3	3/3	3/3	2/3	2/3	2/3	0/3

表5 AIV 组和共感染组番鸭胸腺 H9 AIV 病毒分布

Table 5 H9 AIV distribution on the thymus in AIV-and co-infection group

Group	Detection time (post infection days)						
	PI1d	PI3d	PI7d	PI10d	PI14d	PI21d	PI28d
AIV group	0/3	1/3	3/3	2/3	2/3	0/3	ND
Co-infection group	1/3	2/3	3/3	2/3	2/3	2/3	0/3

3 讨论

近年来流行病学调查表明 MDRV 在我国番鸭饲养过程中普遍存在,番鸭常发生其他细菌或病毒的继发感染或并发感染,而且会常规疫苗的免疫效果不佳,产生的原因是番鸭呼肠孤病毒导致番鸭免

2.6 不同感染方式对 H9AIV 在番鸭胸腺分布的影响

H9AIV 组番鸭在 PI3d 后在胸腺中检测到病毒;而共感染组番鸭在 PI1d 已能检测到病毒。H9AIV 组番鸭检出病毒高峰期为 PI7d-PI14d,共感染组番鸭检出病毒高峰期为 PI3d-PI21d。在 PI21d 后,H9AIV 组番鸭不能检测到病毒;而共感染组在 PI28d 后才不能检测到病毒。因此共感染组在病毒检出时间和检出率上均大于 AIV 组(表5)。

疫功能下降。本研究认为番鸭呼肠孤病毒感染后番鸭表现胸腺萎缩,造成重大损伤,导致 T 淋巴细胞增殖功能下降。T 细胞增殖功能降低的可能原因有:(1)番鸭感染 MDRV 后 IL-2 (interleukin-2) 含量降低。IL-2 对 T 细胞的活化极为关键,经 IL-2 的诱导,大部分 T 细胞上调其 IL-2R 的表达,并短暂分泌 IL-2,通过级联放大作用,使 T 细胞活化。T 细胞活

化受抑制, T 细胞功能必然降低。有研究表明雏番鸭感染 MDRV 后 5 - 25 d, 外周血 IL-2 含量都极显著低于对照组 ($P < 0.01$), 感染后 15 d 达到最低值^[12]。(2) MDRV 感染后, 引起胸腺损伤, 使正在成熟的病毒特异性 T 细胞被清除, 免疫细胞功能减弱。有研究表明番鸭感染 MDRV 后胸腺都受到不同程度的损伤。陈少莺等对 MDRV 感染番鸭的超显微和超微结构研究表明, 感染鸭胸腺间质中成纤维细胞, 血管周细胞、内皮细胞都出现病变。实质中胸腺细胞排列稀疏, 淋巴细胞坏死和凋亡, 数量明显减少, 镜下可见大部分淋巴细胞坏死。可见番鸭感染 MDRV 后, 其胸腺的实质和间质都有不同程度的损伤^[13-14]。陈志胜等研究表明番鸭呼肠孤病毒可引起胸腺淋巴细胞的凋亡, 淋巴细胞的凋亡现象主要在早期, 随日龄的增加凋亡细胞逐渐减少。这种早期的淋巴细胞凋亡是胸腺等免疫器官淋巴细胞缺失和萎缩的主要原因^[15]。

H9N2 禽流感病毒能造成雏鸡免疫抑制, 已有较多报道。陈义平等(2002)报道 H9 亚型禽流感病毒人工感染罗曼蛋鸡, 胸腺未出现病变^[16]。袁建琴等(2008)通过 H9 亚型禽流感病毒对鸡免疫器官影响的研究试验, 表明在人工感染的普通蛋鸡免疫器官中胸腺均未出现病变^[17]。李静萍等(2008)报道了 H9N2 亚型禽流感病毒人工感染樱桃谷肉鸭可以引起鸭胸腺明显的病理组织变化, 表现出不同程度的水肿、出血、淤血、淋巴细胞溶解、坏死等一系列病变, 导致感染鸭免疫抑制^[11]。林祥梅等应用 TUNEL 法对鸡感染鸭源 H9 流感病毒后的细胞凋亡进行研究, 结果表明鸡在接种 AIV 后 3 d, 胸腺发生明显的细胞凋亡^[18]。谷长勤等应用透射电镜法和 TUNEL 法两种细胞凋亡检测方法, 对 H9N2 亚型 AIV 感染蛋鸡后其体内免疫器官的细胞凋亡研究表明胸腺细胞染色质固缩并凝结成块, 聚集在核膜周边, 细胞质浓缩、大量空泡形成等较典型的凋亡形态学改变^[10]。本研究表明番鸭感染 H9 亚型禽流感病毒胸腺病理变化不明显, 仅仅出现轻微的出血, 淋巴小结中少量淋巴细胞坏死, 核碎裂。这可能与 H9 亚型禽流感病毒对不同种属宿主的易感性不同有关。

禽流感已引起社会的广泛关注, 水禽与禽流感的暴发密不可分^[19]。番鸭呼肠孤病毒也是继禽流感发生后又一在南方各省发生的水禽传染病。这两种病毒均有一定的免疫抑制能力。本研究从番鸭呼肠孤病毒和 H9 亚型禽流感病毒共感染对番鸭胸腺胸腺细胞免疫方面入手, 探讨 MDRV 和低致病力 AIV 共感染番鸭对细胞免疫应答的影响。研究表明 MDRV 的感染导致胸腺萎缩, 胸腺细胞增殖功能下

降, 破坏细胞免疫功能, 番鸭产生细胞免疫抑制, 而且 AIV 感染加重了 MDRV 的病理发生过程, 对胸腺的损伤作用更为明显, 进一步阐明 MDRV、AIV 及以上两种病毒共感染番鸭对细胞免疫抑制机理, 为水禽流感和 MDR 的防治提供重要的理论依据。

参考文献

- [1] 胡奇林, 陈少莺. 番鸭呼肠孤病毒病研究进展. 福建畜牧兽医 (*Fujian Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*), 2004, 26 (增刊): 7-9.
- [2] Kuntz-Simon G, Blanchard P, Cherbonnel M, Jestin A, Jestin V. Bachelovirus-expressed muscovy duck reovirus σC protein induces serum neutralizing antibodies and protection against challenge. *Vaccine*, 2002, 20: 3113-3122.
- [3] 毕英佐. H9N2 亚型禽流感的流行现状和防治措施. 家禽科学 (*Poultry Science*), 2007, (11): 1-5.
- [4] 郭雪峰, 廖明, 辛朝安. H9N2 亚型禽流感病毒的致病特性研究. 华南农业大学学报 (*Journal of South China Agricultural University*), 2001, 22 (7): 70-72.
- [5] Perez DR, Lim W, Seiler JP, Guan Y, Peiris M, Shortridge KF, Webster RG. Role of quail in the interspecies transmission of H9 influenza a to adaptation from ducks to chickens. *Journal of Virology*, 2003, 77 (5): 3148-3156.
- [6] 吴海燕, 李明义, 范根成, 王述柏, 单虎, 刘拂晓. 33 株 H9N2 亚型禽流感病毒分离株分子流行特点的研究. 中国动物检疫 (*China Journal of Animal Quarantine*), 2010, (6): 31-33.
- [7] Ge FF, Zhou JP, Liu J, Wang J, Zhang WY, Sheng LP, Xu F, Ju HB, Sun QY, Liu PH. Genetic evolution of H9 subtype influenza viruses from live poultry markets in Shanghai, China. *Journal of Clinical Microbiology*, 2009, 47 (10): 3294-3300.
- [8] 祁保民, 陈晓燕, 吴宝成, 姚金水, 张红雷. 番鸭呼肠孤病毒诱导的细胞凋亡观察. 畜牧兽医学报 (*Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*), 2010, 41 (4): 495-499.
- [9] 王金溪, 吴宝成, 李国平. 番鸭呼肠孤病毒诱导免疫抑制机制的初步研究. 中国兽医科学 (*Veterinary Science in China*), 2009, 39 (9): 769-773.
- [10] 谷长勤, 罗玲, 胡薛英, 张万坡, 周诗其, 程国富. H9N2 亚型禽流感病毒诱导蛋鸡免疫器官细胞凋亡的动态变化. 中国兽医学报 (*Chinese Journal of Veterinary Science*), 2008, 28 (1): 12-14.
- [11] 李静萍, 盖晋宏, 魏锁成, 胡庆平. H9N2 亚型禽流感病毒对鸭免疫器官的组织学影响. 西北民族大学学报 (*Journal of Northwest University for Nationalities*), 2008, 29 (3): 56-58.
- [12] 王金溪, 赵丽娟, 苏凤, 吴宝成, 李国平. 番鸭呼肠孤病毒 B3 株感染对雏番鸭细胞免疫功能的影响. 福建农林大学学报 (*Journal of Fujian Agriculture and Forestry University*), 2009, 38 (4): 380-383.
- [13] 陈少莺, 胡奇林, 程晓霞, 陈仕龙, 江斌, 林天龙, 林锋

- 强, 朱小丽, 程由铨. 番鸭呼肠孤病毒病雏番鸭实质器官超微结构研究. *中国兽医学报* (*Chinese Journal of Veterinary Science*), 2006, 26 (6): 662-664.
- [14] 陈少莺, 胡奇林, 江斌, 程晓霞, 林天龙, 陈仕龙, 李怡英, 程由铨. 番鸭肝白点病病理学研究. *福建农业学报* (*Fujian Journal of Agricultural Sciences*), 2002, 17 (4): 220-222.
- [15] 陈志胜, 马春全, 卢玉葵, 肖静芸. 番鸭呼肠孤病毒诱导雏番鸭免疫器官细胞凋亡的研究. *中国预防兽医学报* (*Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*) 2005 27 (6): 457-458.
- [16] 陈义平, 吴力力, 万洪全, 许益民, 王宝安, 朱坤熹. 实验性感染 H9 亚型禽流感病毒对鸡免疫机能及免疫器官的影响. *中国兽医学报* (*Chinese Journal of Veterinary Science*), 2002, 22 (2): 153-154.
- [17] 袁建琴, 高斌战, 梁新华. H9 亚型禽流感病毒对鸡免疫器官影响的研究试验. *兽药市场指南* (*Today Animal Husbandry and Veterinary Medicine*) 2008, 12: 39-40.
- [18] 林祥梅, 赵增连, 陈万芳. 鸭源流感病毒人工感染鸡后诱导的细胞凋亡. *北京农学院学报* (*Journal of Beijing Agricultural College*), 2000, 15 (2): 28-33.
- [19] Lu X, Renshaw M, Tumpey TM, Kelly GD, Hu-Primmer J, Katz JM. Immunity to influenza A H9N2 viruses induced by infection and vaccination. *Journal of Virology* 2001, 75 (10): 4896-4901.

Immunosuppression effect of co-infection with MDRV and H9 AIV on thymus in muscovy ducks

Fengqiang Lin^{1, 2}, Chunliang Gao¹, Shaoying Chen^{1, 2*}, Xiaoli Zhu^{1, 2},
Xiaoxia Cheng^{1, 2}, Shao Wang^{1, 2}, Shilong Chen^{1, 2}, Xi Cai¹,
Zhaolong Li¹, Chunquan Ma³, Jiarong Zhao³

¹ Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Fujian Academy of Agriculture Sciences, Fuzhou 350013, China

² Fujian Animal Diseases Control Technology Development Center, Fuzhou 350013, China

³ College of life Science, Foshan University, Foshan 528231, China

Abstract: [Objective] To study the immunosuppression effect on the thymus of muscovy ducks after infected with muscovy duck reovirus (MDRV) and H9 influenza virus (AIV). [Methods] After 8-day-old birds were infected with MDRV or H9 AIV, or both, the morbidity and mortality were totaled, the morphology and ultra-structure of the thymus were observed, proliferation ability of thymus cell were detected and the virus distribution were detected by RT-PCR. [Results] After H9 AIV infection, The morbidity was low (10%) and without death. No obvious pathological change was observed on the thymus, whereas the proliferation ability of thymus cell was obviously suppressed. After MDRV infection, The birds grew slow, the morbidity was 80% and mortality was 50%. Thymus was atrophy appearing local necrosis and proliferation ability of thymus cell was obviously suppressed. After co-infection with MDRV and H9 AIV, the birds grew even slower growth. The morbidity was 90% and mortality was 70%. The thymus was atrophy appearing the lymphopenia and local necrosis and proliferation ability of thymus cell was also more obviously suppressed than MDRV infection. Virus duration time and detection ratio in co-infection group were more than in AIV and MDRV group. [Conclusion] H9 AIV could lead to minor immunosuppression and MDRV could cause serious immuno-suppression. H9 AIV could aggravate the immunosuppression of thymus after co-infected with MDRV, so MDRV and H9 AIV infection had synergic effect on immunosuppression of the thymus.

Keywords: Muscovy duck reovirus (MDRV), H9 AIV, co-infection, thymus, immunosuppression

(本文责编:王晋芳)

Supported by Natural Science Foundation of Fujian Province (2008J0061) and by the National Natural Science Foundation of China (30771620)

* Corresponding author. E-mail: chensy58@163.com

Received: 25 March 2011 / Revised: 22 June 2011