

傅光华,陈翠腾,温名根,等.我国部分地区鸭1型甲肝病毒流行株遗传变异分析[J].福建农业学报,2018,33(2):109~113.
FU G-H, CHEN C-T, WEN M-G, et al. Epidemiology and Genetic Variation of Duck Hepatitis A Virus Type 1 Circulating in Some Regions of China [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2018, 33 (2): 109~113.

我国部分地区鸭1型甲肝病毒流行株遗传变异分析

傅光华^{1,2}, 陈翠腾^{1,3}, 温名根⁴, 施少华^{1,2}, 陈红梅^{1,2}, 万春和^{1,2}, 傅秋玲^{1,2},
程龙飞^{1,2}, 刘荣昌^{1,2}, 黄瑜^{1,2,3*}

(1. 福建省农业科学院畜牧兽医研究所,福建 福州 350013; 2. 福建省禽病防治重点实验室,
福建 福州 350013; 3. 福建省畜禽疫病防治工程技术研究中心,福建 福州 350013;
4. 江西省吉安县畜牧兽医局,江西 吉安 343100)

摘要:为了解鸭群中鸭1型甲肝病毒(DHAV-1)的流行及其分子变异情况,对2015—2016年福建、广东、浙江及江西鸭群采集的327份临床样品进行检测、病毒分离鉴定、序列测定与分析。结果表明,自327份临床样品中检出DAV-1阳性样品35份,阳性率10.7%;从阳性样品中分离获得23株DAV-1,主要来自30日龄以内的麻鸭和半番鸭。对DAV-1的VP1基因分子特征及遗传变异分析,表明23株病毒VP1基因核苷酸序列同源性介于93.3%~99.9%,分属2个病毒亚群,两亚群间的遗传距离为0.06。23株临床分离株中有18株与引起雏鸭胰腺泛黄的毒株(MPZJ1206株)处于同一亚群,为目前流行的优势毒株,与国内外疫苗株核苷酸同源性在91.3%~96.2%,存在较大差异。由此可见,我国福建省及周边地区鸭群中不同DAV-1流行株之间及流行毒株与疫苗株间均存在不同程度的差异。

关键词:鸭1型甲肝病毒; VP1基因; 变异分析

中图分类号: S 852

文献标识码: A

文章编号: 1008—0384 (2018) 02—109—05

Epidemiology and Genetic Variation of Duck Hepatitis A Virus Type 1 Circulating in Some Regions of China

FU Guang-hua^{1,2}, CHEN Cui-teng^{1,3}, WEN Ming-gen⁴, SHI Shao-hua^{1,2}, CHEN Hong-mei^{1,2},
WAN Chun-he^{1,2}, FU Qiu-ling^{1,2}, CHENG Long-fei^{1,2}, LIU Rong-chang^{1,2}, HUANG Yu^{1,2,3*}

(1. Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Fujian Academy of Agricultural Sciences,
Fuzhou, Fujian 350013, China; 2. Fujian Provincial Key Laboratory for Avian Diseases Control
and Prevention, Fuzhou, Fujian 350013, China; 3. Fujian Animal Diseases Control Technology
Center, Fuzhou, Fujian 350013, China; 4. Bureau of Animal Husbandry and Veterinary Medicine
of Ji'an County of Jiangxi, Ji'an, Jiangxi 343100, China)

Abstract: The epidemic prevalence and molecular variation of duck hepatitis A virus type 1 (DAV-1) were investigated. Three-hundred-twenty-seven clinical samples collected in 2015—2016 from Fujian and surrounding provinces were used for the virus detection and isolation. Thirty-five of these samples (10.7%) were found to be positive for DAV-1. From the 35 positive specimens, 23 strains were isolated, mainly from shelducks and mule ducks of less than 30-day-old. The sequence analysis on VP1 gene of the 23 isolates showed 93.3%—99.9% homology, and the strains could be divided into 2 subgroups with a genetic distance of 0.06. Among them, 18 isolates clustered in a currently prevalent subgroup which contains the virus (MPZJ1206) causing yellowed-pancreas in ducklings. On the other hand, all 23 isolates shared merely 91.3—96.2% nucleotide sequence homology with the strain used for vaccination abroad and domestically. It appeared that genetic variations existed among the various DAV-1 strains.

Key words: duck hepatitis A virus type 1; VP1 gene; variation analysis

收稿日期: 2017—10—25 初稿; 2018—02—03 修改稿

作者简介: 傅光华(1977—),男,博士,主要从事动物病毒分子生物学研究

* 通讯作者: 黄瑜(1965—),男,博士,研究员,硕士生导师,主要从事动物传染病研究(E-mail: hangyu_815@163.com)

基金项目: 福建省自然科学基金项目(2015J01113); 福建省科技计划项目——省属公益类科研院所基本科研专项(2015R1023-3); 现代农业(水禽)产业技术体系建设专项(CARS-42); 福建省农业科学院青年英才计划项目(YC2015-13)

鸭甲肝病毒(duck hepatitis A virus, DHAV)为小 RNA 病毒科 Picornaviridae 禽肝病毒属 *Avihepatovirus* 成员, 是引起水禽发生病毒性肝炎的重要病原, 为严重危害养鸭业健康发展的重要病毒之一, 主要包括 DHAV-1、DHAV-2 和 DHAV-3 等 3 种基因型^[1-2], 其中 DHAV-1 为传统的血清 1 型鸭肝炎病毒, DHAV-2 和 DHAV-3 分别为近来报道的台湾型鸭肝炎病毒^[3]和韩国型鸭肝炎病毒^[4], 不同基因型的病毒间基因组同源性在仅为 73% 左右^[4-5]。该病毒最早由 Levine 和 Fabricant 于 1949 年在美国纽约长岛的北京鸭中分离获得。黄均建等于 1963 年首次报道了该病在我国鸭群中的发生^[6], 王平等^[7]于 1980 年从患病的北京雏鸭中分离获得该病毒, 随后郭玉璞等^[8]研究证实该病毒的血清型为鸭肝炎病毒 1 型。流行病学研究表明, 我国鸭群中流行的鸭肝炎病毒以 DHAV-1 主^[9-10], 该病毒在水禽流行过程中不断发生变异。林世堂等^[11]在 1996 年从混合感染的病例中分离到 1 株与经典鸭 1 型肝炎病毒血清型存在差异的毒株, 陈建红等^[12]、何冉娅等^[13]对不同地区流行的毒株分析发现, 鸭肝炎病毒已发生变异, 存在抗原变异毒株。我国防治该病的主要措施是采用弱毒疫苗和灭活疫苗进行预防, 然而临幊上常出现免疫失败现象。为了解近两年来我国福建省及周边地区鸭群中 DHAV-1 临幊流行毒株的变异情况, 本研究对 2015—2016 年间临幊采集的样品进行病原分离鉴定和遗传变异分析, 明确当前鸭群中鸭 1 型甲肝病毒的流行状况及病原的变异情况, 为今后制定该病的综合防控措施提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 样品的来源及处理

样品为 2015—2016 年间福建、广东、浙江及江西等不同地区送检的病例样品, 共计 327 份, 样品来源见表 1。采集的样品经磨碎后与含抗生素的 0.01 mol·L⁻¹ 磷酸缓冲盐溶液 (PBS, pH 7.2) 按 1:3 的比例制成悬浮液, 将上述组织悬浮液冻融 3 次后, 保存于 -80℃ 备用。

1.2 材料试剂

SPF 鸡胚购自北京梅里亚维通实验动物技术有限公司。AMV 反转录酶、RNase Inhibitor 购自大连宝生物技术有限公司, 病毒 RNA 提取试剂盒、RT-PCR 扩增试剂盒购自北京全式金生物技术有限公司; DNA 聚合酶购自 Thermo 生物技术有限公司。

1.3 引物设计与合成

参照文献[14]提供的引物进行 DHAV-1 检测,

VP1 基因扩增引物参照 GenBank 发表的该病毒衣壳蛋白基因序列 (GQ130377、JX390982 及 DQ249299 等) 进行设计, 上游引物 VP1F: 5'-CAG TTT ACY GCC CCA CTC TAT-3', 下游引物 VP1R: 5'-TGG CTT CCA CCT CCT CTT CAT-3', 该对引物间的理论跨幅为 699 bp, 引物由福州博鸿生物技术有限公司合成。

表 1 样品来源

Table 1 Sources of specimens

序号	省份	主要来源地	样品类型	样品数
1	福建	福州、莆田、漳州、三明、福清、南平、宁德	肝脏及脾脏等	187
2	广东	清远、湛江、广州、惠州	肝脏及脾脏等	65
3	浙江	金华、宁波、湖州	肝脏及脾脏等	42
4	江西	南昌、南城、吉安	肝脏及脾脏等	33
		总计	肝脏及脾脏等	327

1.4 临床样品的检测及病毒分离鉴定

采集的临床样品按常规方法进行匀浆离心处理后, 以含双抗无菌 PBS 缓冲液 (pH 7.2) 进行 1:3 稀释, 反复冻融 3 次后, 取上清用病毒 RNA 提取试剂盒提取样品中的 RNA, 参照试剂盒操作说明书进行。提取获得的 RNA 样品参照文献[12]的方法进行 DHAV-1 检测, 随后参照文献[14]的方法对 DHAV-1 阳性样品进行病毒分离纯化, 阳性尿囊液经纯化后保存于 -80℃ 备用。

1.5 VP1 基因的 RT-PCR 扩增

将已鉴定为 DHAV-1 阳性的鸡胚尿囊液参照病毒 RNA 提取试剂盒的操作说明进行病毒基因组 RNA 提取, 参照 RT-PCR 扩增试剂盒提供的方法进行病毒基因组 cDNA 第一链的合成及 PCR 扩增, PCR 产物纯化回收后送福州博鸿生物技术有限公司测序。

1.6 序列分析

测序结果经 Lasergene 7.0 软件进行拼接编辑后, 用 MegAlign 程序进行序列位点差异及同源性分析; 采用 PHYLIP 软件包中的 DNADIST 程序 (Kimura 2-parameter 方法) 计算遗传距离; 使用 MEGA 5.1 软件包中 NJ 程序 (Neighbor-Joining 方法) 构建系统进化树, 进化树的置信度由 Bootstrap 法检验, 域值为 70%, 共 1 000 次循环。

2 结果与分析

2.1 病毒的检测及分离鉴定

参照文献 [14] 提供的 DHAV-1 RT-PCR 检

测方法，在327份临床样品中检测到35份DHAV-1阳性样品，阳性率为10.7%，将这些阳性样品接种9日龄SPF鸡胚后，收集所有鸡胚尿囊液并进行RT-PCR检测。检测结果经1%琼脂凝胶电泳结果显示，从23份尿囊液成功检测到DHAV-1，回收纯化扩增产物进行测序表明，所有23份阳性样品均为DHAV-1，其中2015年分离到19株，2016年分离到4株，总分离率为7.03%。不同品种的鸭均有感染，20株来源于30日龄以内的麻鸭、半番鸭、番鸭及樱桃谷鸭，这些雏鸭多表现为肝肿大、出血，其中FZ12SD-0413、MH10MD-0515和YT15MD-0411病毒感染的雏鸭主要剖检病变为胰腺泛黄，但肝脏出血病变不明显；其余的3株病毒分别来源于167日龄的半番种鸭24日龄半番鸭胚及雏鹌鹑，可见DHAV-1感染主要还是以30日龄雏鸭为主，同时还可感染鹌鹑等。毒株的详细信息见表2。

表2 分离毒株信息
Table 2 Information on isolated viruses

毒株名称	宿主	日龄/d	采集年份	主要剖检病变
FQ12SD-0111	麻鸭	12	2015	肝肿大出血
FQ10SD-0119	麻鸭	10	2015	肝肿大出血
FQ20SD-0131	麻鸭	20	2015	肝肿大出血
FZ12SD-0413	麻鸭	12	2015	胰腺泛黄
CL26SD-0426	麻鸭	26	2015	肝肿大出血
CL12SD-0425	麻鸭	12	2015	肝、肾肿大出血
CL12SD-0506	麻鸭	12	2015	肝肿大出血
MH07SD-0701	麻鸭	7	2015	肝肿大出血
MH09SD-0409	麻鸭	9	2015	肝出血
FQ06SD-0412	麻鸭	6	2015	肝、肾肿大出血
FZ10SD-0703	麻鸭	10	2015	肝、肾肿大出血
MH10MD-0515	半番鸭	10	2015	胰腺泛黄
GT15MD-0312	半番鸭	15	2015	肝出血
MH08MD-0409	半番鸭	8	2015	肝出血
YT15MD-0411	半番鸭	15	2015	胰腺泛黄
MH08MD-0417	半番鸭	8	2015	肝肿大出血
FZ167MD-0517	半番鸭	167	2016	肝出血、肾肿大
ZZ02MD-0617	半番胚	24	2016	—
GT30MD-0228	番鸭	30	2015	肝出血
GD20MD-0301	番鸭	20	2016	肝出血
SD23CD-0825	樱桃谷鸭	23	2015	肝、脾肿大出血
FZ10CD-0514	樱桃谷鸭	10	2016	肝出血
JH51Gu-0307	鹌鹑	未知	2015	肺脏出血、脑膜炎

2.2 流行毒株衣壳蛋白分子特征分析

测序结果表明（表3），所获得的23株病毒

VP1基因核苷酸序列同源性在93.3%~99.9%，氨基酸序列同源性介于94.4%~100%，与GenBank中登录的DHAV-1的VP1基因核苷酸同源性介于91.3%~99.7%，其中与2012年的DHAV-1毒株（MPZJ1206）同源性最高，核苷酸同源性达到99.7%；与我国现用疫苗株CH60 VP1基因核苷酸同源性介于94.1%~96.2%，推导氨基酸同源性在95.3%~98.5%，而与DHAV-2和DHAV-3毒株的VP1基因的核苷酸同源性仅分别在64.9%~67.2%和65.9%~70.2%。

表3 不同DHA V毒株VP1基因序列同源性分析

Table 3 Homology analysis on VP1 gene of DHA V isolates

基因型	毒株名称(分离年份)	序列同源性/%	
		核苷酸	氨基酸
DHAV-1	本研究分离株(2015~2016)	93.3~99.9	94.4~100
	FZ05(2005)	91.3~93.7	95.8~97.6
	ZJ(2007)	91.8~95.1	93.5~96.3
	03D(2005)	93.5~95.6	95.3~98.6
	LQ57(2011年前)	93.5~95.9	94.9~97.2
	H(1993)	92.7~95.4	95.8~98.1
	FJ1220(2012)	94.4~99.6	95.3~100
	GD(2012)	94.4~99.6	95.8~99.5
	MPZJ1206(2012)	94.3~99.7	94.9~99.5
	FJ1407(2014)	93.9~99.3	94.9~99.5
	JX1405(2014)	93.9~99.3	94.9~99.5
	Du/CH/LGD/111239(2011)	94.1~99.2	94.4~98.1
	Du/CH/LGD/111238(2011)	94.3~99.0	94.4~97.6
	A66(2006年前)	94.0~96.2	95.3~98.5
	CH60(2000)	94.1~96.2	95.8~98.5
	C80(2006年前)	94.1~96.4	95.8~99.0
DHAV-2	90D(1990)	64.9~67.1	68.9~71.2
	04G(2004)	65.1~67.2	69.2~72.5
DHAV-3	Du/CH/LJS/90905(2009)	67.3~70.2	75.7~78.2
	G(1999)	67.1~70.1	75.7~78.2
	AP03337(2004)	65.9~69.0	75.2~78.3

基于VP1基因的分子遗传进化关系分析表明，现有DHA V毒株形成了4个不同的亚群（图1），本研究所获得23株病毒分属2个不同的亚群，两亚群间的遗传距离为0.06，其中FZ10SD-0703、FQ10SD-0119、MH09SD-0409、CL12SD-0506和MH07SD-0701等5株病毒与2005年前台湾地区分离的03D株构成了DHA V-1c进化亚群，其余18株病毒则与Du/CH/LGD/111239、GD及FJ1220等毒株构成一个大的进化亚群DHA V-1a。毒株溯

源发现，该亚群的毒株均为 2010 年以后分离的毒株，其中毒株 MH10MD-0515、FZ12SD-0413 和 YT15MD-0411 与该亚群的 MPZJ1206 一样，均引起感染鸭表现胰腺泛黄，不同毒株间的亲缘关系极近，遗传距离仅为 0.01，而国内外疫苗株 5886、CH60、和 C80 等则处于 DHAV-1b 和 DHAV-1d 等不同的进化亚群中。

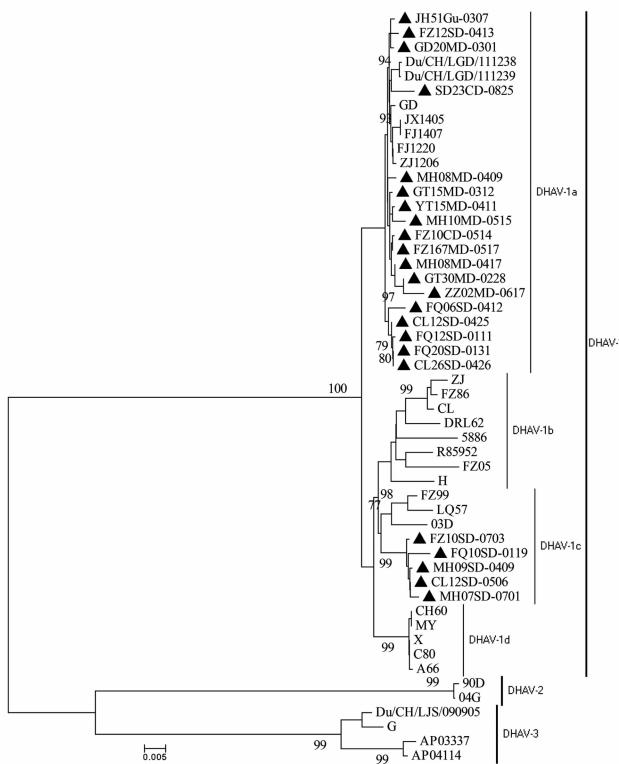


图 1 鸭 1 型甲肝病毒 VP1 基因遗传进化分析

Fig. 1 Phylogenetic analysis on VP1 gene of DHAV-1

注：图中树结处的阿拉伯数字为自举检验置信值（1 000 次重复），低于 70 的数值未显示；黑三角（▲）标注的毒株为本试验扩增的毒株。

VP1 基因编码氨基酸序列在不同进化亚群间存在较大差异（图 2），如 2010 年以来新出现的 DHAV-1a 进化亚群的毒株其 178 位至 190 位氨基酸序列为 178-STALSRGSNGVIP-190，而 DHAV-1d 亚群的毒株 178-STTLSRGSNGVIP-190；DHAV-1c 亚群 2010 年分离的毒株 178-STTPSRKSNDVIP-190；DHAV-1b 亚群的毒株其 178 位至 192 位氨基酸序列变异较大，存在 3 种氨基酸模式。另外，除 DHAV-1c 进化亚群毒株的 VP1 蛋白第 3 位氨基酸为苏氨酸（Thr），其他 3 个亚群毒株的 VP1 蛋白第 3 位氨基酸均为丝氨酸（Ser）。

病毒基因亚型	代表毒株	氨基酸序列 (178~190aa)
		ST**SR*SN*VIP
DHAV-1a	MPJZJ1206	· · <u>AL</u> · <u>G</u> · <u>G</u> · · ·
	FJ1407	· · <u>AL</u> · <u>G</u> · <u>G</u> · · ·
	111239	· · <u>AL</u> · <u>G</u> · <u>G</u> · · ·
	GD20MD0301	· · <u>AL</u> · <u>G</u> · <u>G</u> · · ·
	FQ12SD0111	· · <u>AL</u> · <u>G</u> · <u>G</u> · · ·
	FQ20SD0131	· · <u>AL</u> · <u>G</u> · <u>G</u> · · ·
	GT30MD0228	· · <u>AL</u> · <u>G</u> · <u>G</u> · · ·
DHAV-1b	DRL62	· · <u>TS</u> · <u>G</u> · <u>D</u> · · ·
	5886	· · <u>TS</u> · <u>G</u> · <u>D</u> · · ·
	R85952	· · <u>TP</u> · <u>GR</u> · <u>D</u> · · ·
	FZ05	· · <u>TP</u> · <u>GR</u> · <u>D</u> · · ·
	FQ10SD0119	· · <u>TP</u> · · <u>K</u> · <u>D</u> · · ·
	FZ10SD0703	· · <u>TP</u> · · <u>K</u> · <u>D</u> · · ·
	CL12SD0506	· · <u>TP</u> · · <u>K</u> · <u>D</u> · · ·
DHAV-1c	FQ10SD0119	· · <u>TP</u> · · <u>K</u> · <u>D</u> · · ·
	MH09SD0409	· · <u>TP</u> · · <u>K</u> · <u>D</u> · · ·
	CL12SD0506	· · <u>TP</u> · · <u>K</u> · <u>D</u> · · ·
DHAV-1d	A66	· · <u>TL</u> · · <u>G</u> · <u>G</u> · · ·
	C80	· · <u>TL</u> · · <u>G</u> · <u>G</u> · · ·
	CH60	· · <u>TL</u> · · <u>G</u> · <u>G</u> · · ·

图 2 DHAV-1 不同基因亚型毒株 VP1 蛋白 178~190 位氨基酸序列

Fig. 2 Sequences of 178–190 amino acids of VP1 proteins from viruses of different subgenotypes

3 讨论

鸭甲肝病毒基因型复杂且高度变异,自被发现以来一直是雏鸭养殖防控的重点,是严重危害养鸭业健康发展的重要传染病病原。现有调查研究表明,我国鸭群流行的鸭肝炎病毒以 DHAV-1 为主,DHAV-3 日渐增多^[9-10],这 2 种病毒均主要侵害 3 周龄内的雏鸭,其中以北京雏鸭、樱桃谷雏鸭最易感,发病率高达 70%,病死率高达 60%,病死鸭主要临床特征多为呈角弓反张和肝脏肿大、出血,这些特征为临床快速诊断该病的重要依据^[1-2,5]。此外,DHAV-1 感染雏鸭还可以引起不同的临床症状及病理变化。2005 年法国学者 Guérin 等^[15]发现 DHAV-1 感染的雏番鸭胰腺发黄、脑膜出血,但其肝脏无眼观出血病变。2011 年 9 月,我国浙江省金华等地区和福建省莆田等地区 7~30 日龄雏番鸭发生以胰腺发黄为特征的疫病,发病率 10%~30%,病死率 25%~40%,发病鸭多表现为胰腺发黄、胰腺上皮细胞严重变性和坏死,完全不同于引起典型肝炎的 DHAV-1(称为肝型 DHAV-1)所致的肝脏严重出血、肝细胞严重变性和坏死的特征病变。至今,浙江、福建、广东等 6 省(市、自治区)的雏番鸭和雏半番鸭均有发生此病^[16]。鸭群中流行的鸭甲肝病毒基因型和致病型的复杂性极大影响了该病的有效防治。因此实时开展该病的流行病学调查,掌握该病的流行现状,是有效控制该病的重要举措。

措。本研究对2015—2016年间临床病例中DHAV-1的感染情况进行调查,从收集的327份临床样品中分离鉴定出23株DHAV-1,感染率为7.03%(23/327),感染宿主中雏麻鸭较多(11/23),其次是半番鸭。另外,23株病毒中,有3株病毒分别来源于167日龄的半番种鸭、24日龄半番鸭胚及发病的雏鹌鹑,尽管类似感染病例报道较少,但这也提示我们在监测该病毒在雏鸭中流行的同时,也需要适当关注该病毒在其他家禽中的感染情况,病毒在自然界长期的遗传演化过程中其感染的宿主日龄范围、家禽品种及感染途径都可能在发生变化。

VP1基因是小RNA病毒的最重要的抗原编码基因,包含序列高度可变区,是病毒发生抗原变异的核心区域,分析DHAV-1临床流行毒株VP1的分子特征及变异情况,对了解DHAV疫病的流行特征、病原的分子变异规律、疫苗的筛选以及诊断抗原的研制具有重要的指导意义^[3-4]。本研究对2015—2016年所分离的23株DHAV-1的VP1基因进行了序列分析,结果表明,23株病毒包含2个亚群,除了5株与2005年台湾地区分离株03D处于同一亚群,其余18株病毒(包括3株分离自表现胰腺泛黄的雏鸭临床样品的毒株)与其他2010年以来的分离株共同构成了一个进化分支,核苷酸同源性均在97%以上。23株病毒的VP1基因核苷酸序列同源性为93.3%~99.9%,与现用的国内外疫苗株(如5886、CH60、C80和X)的VP1基因核苷酸同源性在91.3%~96.2%,推导氨基酸同源性为92.3%~97.5%。VP1蛋白氨基酸差异主要在羧基端的178位至190位氨基酸的差异。这一区域的氨基酸残基在不同亚群内高度保守,是不同亚群病毒的分子标记,可作为不同DHAV-1亚群快速检测的候选靶基因。由此可见,鸭群中流行的毒株之间,以及流行毒株与疫苗株之间存在不同程度的差异,VP1作为病毒的主要抗原蛋白及与宿主互作的蛋白,这些氨基酸位点的差异可能会影响到病毒的抗原性及细胞受体结合活性^[17]。因此,应尽快开展流行毒株与疫苗株之间的抗原保护性分析,对现有疫苗的有效性进行评估,对疫苗的抗原性进行优化,为该病的有效防控奠定坚实基础。

参考文献:

- [1] KNOWLES N J, HOVI T, HYYPIA T, et al. Family Picornaviridae [A]. In Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, 2012: 855—880.
- [2] SAIF Y M. 禽病学 [M]. 苏敬良, 高福, 索勋, 译. 12版. 北京: 中国农业出版社, 2012: 431—443.
- [3] TSENG C H, TSAI H J. Molecular characterization of a new serotype of duck hepatitis virus [J]. Virus Res, 2007, 126 (1—2): 19—31.
- [4] KIM M C, KWON Y K, JOH S J, et al. Recent Koren isolates of duck hepatitis virus reveal the presence of a new geno-and serotype when compared to duck hepatitis virus type 1 type strain [J]. Arch Virol, 2007, 152 (11): 2059—2072.
- [5] WANG L, PAN M, FU Y, et al. Classification of duck hepatitis virus into three genotypes based on molecular evolutionary analysis [J]. Virus Genes, 2008, 37(1): 52—59.
- [6] 黄均建. 小鸭病毒性肝炎研究 [M]. 上海: 上海农业科学院畜牧兽医研究所, 1963.
- [7] 郭玉璞, 潘文石. 北京病毒性肝炎血清型的初步鉴定 [J]. 中国兽医杂志, 1984, 10 (11): 2—3.
- [8] 王平, 潘文石, 胡寿文, 等. 北京小鸭病毒性肝炎的研究——(一) 诊断和防治 [J]. 北京大学学报: 自然科学版, 1980, 16 (1): 57—76.
- [9] LIU G Q, WANG F, NI Z, et al. Genetic diversity of the VP1 gene of duck hepatitis virus type 1 (DHV-1) isolates from southeast China is related to isolate attenuation [J]. Virus Research, 2008, 124 (11): 1—5.
- [10] FU Y, PAN M, WANG X, et al. Molecular detection and typing of duck hepatitis A virus directly from clinical specimens [J]. Vet Microbiol, 2008, 131 (3/4): 247—257.
- [11] 林世棠, 黄瑜, 黄纪铨, 等. 一种新的鸭传染病研究 I. 流行情况与初步诊断 [J]. 中国预防兽医学报, 1996, 18(4): 14—17.
- [12] 陈建红, 张济培, 司兴奎, 等. 标准鸭肝炎1型血清对鸭肝炎野毒株的免疫保护试验 [J]. 中国兽医学报, 2001, 21 (3): 231—234.
- [13] 何冉娅, 于森, 张玉玲, 等. 2007~2009年华南地区鸭肝炎病毒流行病学调查及分离株的VP1基因变异分析 [J]. 中国动物传染病学报, 2010, 18 (1): 7—17.
- [14] TSENG C H, KNOWLES N J, TSAI H J. Molecular analysis of duck hepatitis virus type 1 indicates that it should be assigned to a new genus [J]. Virus Research, 2007, 123 (2): 190—203.
- [15] GUERIN J L, ALBARIC O, NOUTARY V, et al. A duck hepatitis virus type I is agent of pancreatitis and encephalitis in Muscovy duckling [C]//Proceedings of the 147th American Veterinary Medicine Association/50th American Association of Avian Pathologists Conference, 14—18 July 2007, Washington, DC, USA, Abs 4585.
- [16] 傅光华, 陈红梅, 黄瑜, 等. 雏番鸭胰腺型鸭1型甲肝病毒分离鉴定及VP1基因分析 [J]. 福建农业学报, 2012, 27 (9): 945—950.
- [17] KIM M C, KWON Y K, JOH S J, et al. Molecular analysis of duck hepatitis virus type 1 reveals a novel lineage close to the genus parechovirus in the family Picornaviridae [J]. J Gen Virol, 2006, 87 (11): 3307—3316.

(责任编辑:张梅)