

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2024.03.03

# 一株鸡传染性贫血病毒对不同日龄 SPF 鸡的致病性研究

陈玲<sup>1</sup>, 杨宵玥<sup>1</sup>, 荣俊<sup>2</sup>, 蒋桃珍<sup>1\*</sup>

(1. 中国兽医药品监察所(农业农村部兽药评审中心), 北京 100081; 2. 长江大学, 湖北荆州 434025)

[收稿日期] 2023-09-22 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2024) 03-0016-08 [中图分类号] S858.31

**[摘要]** 为评价鸡传染性贫血病毒 AV1550 株的致病性, 取 1 日龄、7 日龄和 14 日龄 SPF 鸡分别经胸部肌肉注射不同病毒含量的病毒液, 同时设置正常对照, 隔离饲养观察 21 d。感染后 14 d 采血测定红细胞压积, 21 d 统计死亡率、体重变化以及胸腺、骨髓、法氏囊病变情况并测定 1 日龄 SPF 鸡感染后不同组织中的病毒载量。结果表明, 1 日龄 SPF 鸡感染 AV1550 株后, 表现出精神沉郁、增重减缓、贫血等明显的临床症状, 死亡率为 53.9%; 死亡鸡或观察期结束时存活鸡剖检, 可见胸腺萎缩, 骨髓变成淡黄色; 不同剂量感染后 14 d, 均能引起红细胞压积显著下降; 21 d 时, 胸腺病毒载量最高, 可达  $10^{6.7}$  copies/mg。7 日龄 SPF 鸡感染后, 出现增重减缓, 高感染剂量 ( $100000\text{EID}_{50}$ ) 出现贫血, 部分鸡出现胸腺萎缩和骨髓病变, 但病变率低于 30%。14 日龄 SPF 鸡感染后, 不引起明显临床症状。研究证实, CAV 对 SPF 鸡的致病性具有明显的日龄依赖性, 红细胞压积降低、骨髓病变、胸腺萎缩以及胸腺病毒载量测定可作为评价 CAV 致病的指标。

**[关键词]** 鸡传染性贫血病毒; SPF 鸡; 致病性

## Pathogenicity of a Chicken Anemia Virus in SPF Chickens at Different Ages

CHEN Ling<sup>1</sup>, YANG Xiao-yue<sup>1</sup>, RONG Jun<sup>2</sup>, JIANG Tao-zhen<sup>1\*</sup>

(1. China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China; 2. Yangtze University, HuBei, Jingzhou 434025, China)

Corresponding author: JIANG Tao-zhen, E-mail: taozhen\_jiang@163.com

**Abstract:** In order to evaluate the pathogenicity of the chicken anemia virus AV1550 strain, 1-day-old, 7-day-old and 14-day-old SPF chickens were injected intramuscularly into the chest with different virus titers. At the same time, normal controls were set up and kept in isolation for 21 days. Blood was collected to measure the hematocrit on the 14th day after the challenge. Mortality, body weight changes, and lesions of the thymus, bone marrow, and bursa of Fabricius of all SPF chickens were counted, and the viral loads in different tissues of

**基金项目:** 中国兽医药品监察所兽药行业公益性重点专项“禽源制品外源病毒检验新方法 & 标准物质的研究”(GY202105); 国家重点研发计划“兽用生物制品标准物质研制”(2022YFD1800602)

**作者简介:** 陈玲, 助理研究员, 从事种毒鉴定和兽用生物制品检验工作。

**通讯作者:** 蒋桃珍。E-mail: taozhen\_jiang@163.com

1 - day - old SPF chickens were measured on the 21st day after the challenge. 1 - day - old SPF chickens infected with the AV1550 strain showed obvious clinical symptoms such as depression, slowed weight gain, and anemia, with a mortality rate of 53.9%; necropsy of dead chickens or surviving chickens at the end of the observation period showed thymus atrophy; the bone marrow turned light yellow or pink and the hematocrit was significantly reduced on 14th day after infection at different doses; the thymus virus load is the highest, reaching  $10^{6.7}$  copies/mg on the 21st day. 7 - day - old SPF chickens showed weight gain slowed down and anemia occurred at high challenge doses (100,000 EID<sub>50</sub>), some chickens developed thymus atrophy and bone marrow lesions, but the lesion rate was less than 30%. No obvious clinical symptoms were caused after infection of 14 - day - old SPF chickens. The study confirmed that the pathogenicity of CAV to SPF chickens was obviously age - dependent, and reduced hematocrit, bone marrow lesions, thymus atrophy and thymus viral load measurement could be used as indicators of CAV pathogenicity.

**Key words:** chicken anemia virus; SPF chickens; pathogenicity

鸡传染性贫血是由鸡传染性贫血病毒(chicken anemia virus, CAV)引起的,雏鸡感染后主要临床表现为精神沉郁、鸡冠苍白等贫血症状,红细胞压积降低,剖检可见胸腺萎缩、骨髓颜色为黄色或粉色<sup>[1]</sup>。根据国际病毒分类委员会 2022 年发布的最新病毒分类报告,鸡传染性贫血病毒重新命名为 *Gyrovirus chickenanemia*,属于指环病毒科(*Anelloviridae*)陀螺病毒属(*Gyrovirus*)<sup>[2]</sup>。影响 CAV 致病性的主要因素包括感染途径、日龄、感染剂量和宿主的免疫状态<sup>[3]</sup>。已有研究表明,用 CAV 进行实验室人工感染时,通过肌肉注射途径比口服感染引起的感染鸡的症状更明显<sup>[4-5]</sup>。本研究通过肌肉感染的方式,比较不同感染剂量对 1 日龄、7 日龄和 14 日龄 SPF 鸡的致病性,以进一步确定感染日龄和感染剂量与 CAV 致病性之间的相互关系。

CAV 感染的主要靶细胞是造血细胞和淋巴细胞前体细胞,感染后致使骨髓中的造血细胞受损,红细胞和骨髓细胞数量急剧减少。T 淋巴细胞也是 CAV 的主要靶点,影响下游的适应性免疫<sup>[6]</sup>。CAV 的致病性主要体现为对骨髓、胸腺、脾脏和法氏囊等免疫器官的损伤。本研究采用经过系统鉴定的 1 株鸡传染性贫血病毒种毒 AV1550 株开展试验<sup>[7]</sup>,比较不同剂量的 CAV 对不同日龄 SPF 鸡的致病作用,同时采用实验室建立的荧光定量 PCR 方法评价感染鸡不同组织病毒载量与病理学变化

之间的关系,为鸡贫血病毒致病性评价指标的确定和参考毒株的选定提供实验支撑。

## 1 材料与方法

1.1 CAV 毒株 AV1550 来源于国家兽医微生物菌(毒)种保藏中心,病毒含量为  $10^{5.3}$  EID<sub>50</sub>/0.2 mL。

1.2 SPF 鸡 1 日龄、7 日龄和 14 日龄 SPF 鸡均购自北京勃林格殷格翰维通实验动物有限公司。

1.3 感染 1 日龄、7 日龄和 14 日龄 SPF 鸡共分为 13 组,其中感染组每组 10 ~ 15 只,正常对照组每组 7 ~ 10 只。所有鸡感染途径均为胸部肌肉注射,1 日龄 SPF 鸡每组每只鸡的感染剂量分别为 20000、10000、5000、1000 EID<sub>50</sub>/0.1 mL,7 日龄和 14 日龄 SPF 鸡每组每只的感染剂量分别为 100000、10000 和 1000 EID<sub>50</sub>/0.1 mL。雏鸡感染后隔离饲养观察 21 d。具体分组见表 1。

1.4 临床症状观察及体重监测 感染后观察 21 d。感染当日及试验结束时对所有鸡称重,比较增重情况。观察期内每日观察临床症状。

1.5 红细胞压积检测 感染后 14 d 采血进行红细胞压积检测。

1.6 剖检和病理学检测 观察期内死亡鸡随时剖检,试验结束时对所有存活鸡剖检,分别观察胸腺、法氏囊、骨髓等肉眼病理变化,并对胸腺、法氏囊称重。取胸腺、法氏囊、骨髓用甲醛溶液固定后按常规方法制备组织切片,观察组织病理学变化。

表 1 试验分组及样品采集时间表

Tab 1 Experimental grouping and sample collection schedule

日龄	剂量 (EID <sub>50</sub> ) 和感染数量	试验操作		
		感染当日	感染后 14 d	感染后 21 d
1 日龄	1000 (12 只)	称重	测定红细胞 压积	称重、剖检、测定组织 载量、病理切片
	5000 (12 只)			
	10000 (13 只)			
	正常对照 (10 只)			
	20000 (15 只)			
7 日龄	1000 (11 只)	称重	测定红细胞 压积	称重、剖检
	10000 (10 只)			
	100000 (11 只)			
	正常对照 (8 只)			
14 日龄	1000 (10 只)	称重	测定红细胞 压积	称重、剖检
	10000 (10 只)			
	100000 (10 只)			
	正常对照 (7 只)			

## 1.7 组织病毒载量测定

1.7.1 荧光定量 PCR 引物设计与合成 参照 NCBI 数据库中 CAV 的基因序列, 利用 SnapGene 进行引物设计, 引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成(表 2)。

表 2 PCR 扩增的引物序列

Tab 2 Primer sequences for PCR amplification

引物名称	引物序列(5' - 3')	扩增片段长度/bp
CAV F	ACCACCTGAAGCGACTTC	123
CAV R	GCAGCCTCACACTATACG	

1.7.2 阳性标准质粒的构建及反应体系的建立 提取 CAV 的模板, 利用引物 CAV F/R 进行常规 PCR 扩增, 扩增程序为: 预变性 95 °C 1 min; 变性 95 °C 10 s, 退火 52 °C 20 s, 延伸 72 °C 20 s, 35 次循环; 72 °C 延伸 5 min。将 PCR 产物回收后连接至 T 载体, 转化到感受态细胞中, 提取质粒并测序鉴定。用紫外分光光度计测定质粒的浓度, 按照拷贝数计算公式计算质粒拷贝数: 拷贝数 (copy/μL) = 阿伏伽德罗常数 (copy/mol) × 质粒浓度 (ng/μL) × 10<sup>-9</sup> / (载体片段长度 (bp) + 片段大小 (bp) ×

660), 阿伏伽德罗常数值为 6.02 × 10<sup>23</sup>。

荧光定量 PCR 扩增程序为: 预变性 95 °C 1 min, 变性 95 °C 10 s, 退火 52 °C 20 s, 延伸 72 °C 20 s, 40 次循环。

1.7.3 标准曲线的建立 将计算得到的标准质粒浓度依次稀释至 1 × 10<sup>8</sup>、1 × 10<sup>7</sup>、1 × 10<sup>6</sup>、1 × 10<sup>5</sup>、1 × 10<sup>4</sup>、1 × 10<sup>3</sup>、1 × 10<sup>2</sup>、1 × 10<sup>1</sup> ng/μL, 每个标准品设置 2 个重复, 采取优化好的反应体系与扩增程序进行绝对荧光定量 PCR 反应, 以相应的 C<sub>t</sub> 值为纵坐标, 梯度稀释的标准品浓度的对数值为横坐标绘制标准曲线。

1.7.4 组织采集和处理方法 1 日龄 20000 EID<sub>50</sub> 感染组和正常对照组在感染后 14 d 和 21 d, 取 5 只鸡剖杀, 采集血液、胸腺、脾脏、肝脏和法氏囊组织。剪取各组织 0.2 g (血液不处理) 于 1.5 mL 离心管中, 按照 1:5 的比例加入 0.05 mol/L pH 7.4 的 PBS 缓冲液 1 mL, 通过高通量冷冻研磨仪震荡研磨, 50 Hz, 4 °C, 研磨 90 s, 停 120 s, 反复研磨 5 次。通过酚提法进行组织 DNA 的提取后, 采用荧光定量 PCR 方法计算组织中的病毒载量。

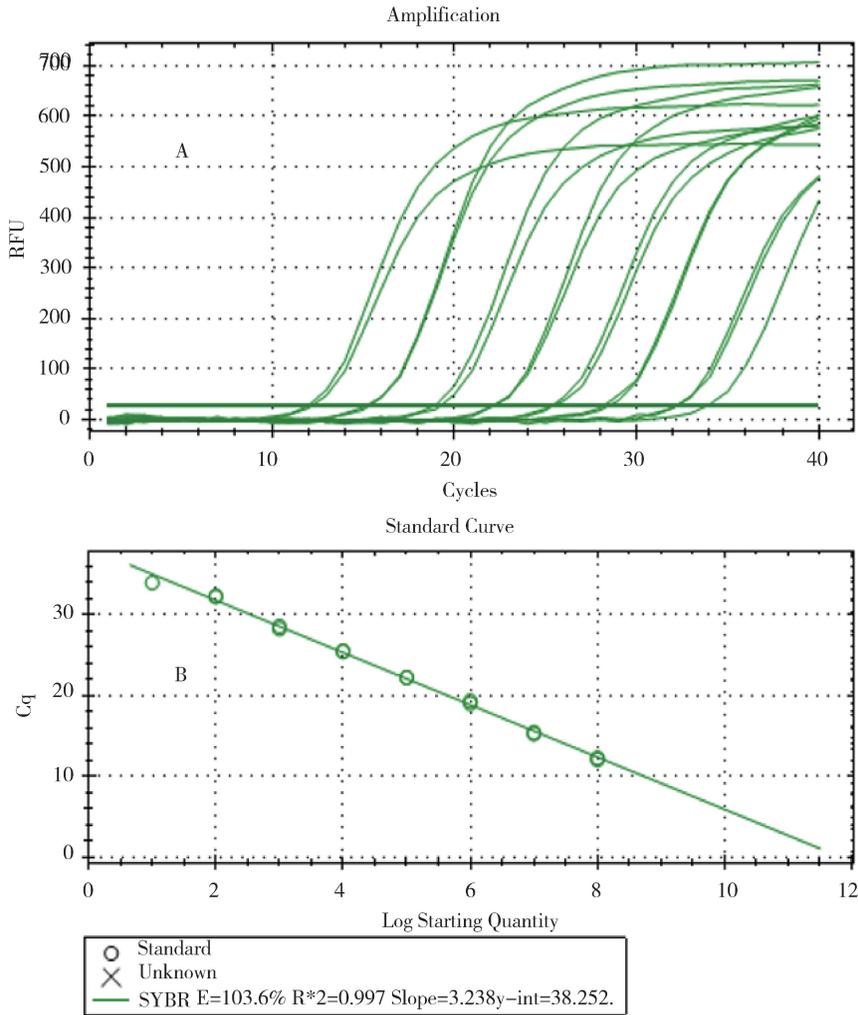
1.8 统计学分析 本研究采用 GraphPad Prism 7.04 进行统计学分析, T-test 用于不同组别的差

异性分析。

## 2 结果与分析

2.1 实时荧光定量 PCR 标准曲线 用本研究建立的荧光定量 PCR 方法对浓度分别为  $1 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^5$ 、 $1 \times 10^4$ 、 $1 \times 10^3$ 、 $1 \times 10^2$ 、 $1 \times 10^1$

ng/ $\mu$ L 的标准质粒进行扩增,并以标准质粒拷贝数的对数为横坐标,以 2 次的  $C_t$  平均值为纵坐标绘制标准曲线。病毒拷贝数公式为  $Lg(N) = (38.252 - C_t)/3.238$ ,  $R^2 = 0.997$ ,  $E = 103.6\%$ ,说明各质粒浓度之间具有良好的线性关系(图 1)。



A:CAV 实时荧光定量 PCR 扩增曲线;B:CAV 实时荧光定量 PCR 标准曲线。

A: Real-time PCR amplification curve of CAV; B: Standard curve of CAV real-time PCR.

图 1 CAV 实时荧光定量 PCR 标准曲线的建立

Fig 1 Establishment of CAV real-time quantitative PCR standard curve

## 2.2 临床症状及体重变化

2.2.1 临床症状 1 日龄 SPF 鸡感染后主要表现为精神沉郁、采食减少和鸡冠苍白等症状。

2.2.2 死亡率 感染剂量为 10000EID<sub>50</sub>时,1 日龄 SPF 鸡死亡率达 53.9%,死亡时间多出现在感染后 16~20 日;7 日龄低剂量感染组(1000EID<sub>50</sub>)有 1

只鸡死亡,其余感染剂量均未出现死亡;14 日龄 SPF 鸡均无死亡。

2.2.3 增重情况 感染剂量为 10000 和 5000EID<sub>50</sub>时,1 日龄感染组 SPF 鸡 21 d 时,体重显著降低;7 日龄和 14 日龄 SPF 鸡感染后,与正常对照相比,体重无显著差异(表 3)。

### survival of SPF chickens

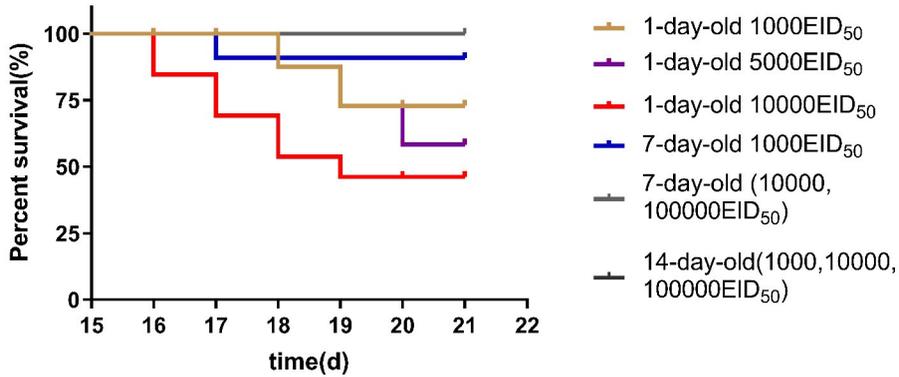


图 2 不同日龄 SPF 鸡感染后存活率曲线

Fig 2 Survival of SPF chicken in different ages

表 3 不同日龄鸡感染后 21 d 体重统计表

Tab 3 Weight of SPF chicken of different ages at 21 days post – inoculation

组别和 样本数量	感染后 21 d 体重/g *				
	正常对照	100000 组别(EID <sub>50</sub> )	10000	5000	1000
1 日龄感染组 (n = 6 ~ 12)	160.3 <sup>a</sup>	/	110.6 <sup>b</sup>	146.7 <sup>b</sup>	163.5 <sup>a</sup>
7 日龄感染组 (n = 8 ~ 11)	238.1 <sup>a</sup>	224.6 <sup>a</sup>	227.3 <sup>a</sup>	/	264.2 <sup>a</sup>
14 日龄感染组 (n = 7 ~ 10)	395.8 <sup>a</sup>	409.3 <sup>a</sup>	385.2 <sup>a</sup>	/	403.6 <sup>a</sup>

\* n 表示样本数量。不同的字母(a,b)表示差异显著(P<0.05)

\* data only include the weight of live chicken at 21 days post – inoculation. Different letters(a,b) indicate significant differences(P<0.05)

2.3 红细胞压积 与正常对照相比,1 日龄 SPF 鸡感染后 14 d 红细胞压积均显著降低;7 日龄 SPF 鸡采用 100000 EID<sub>50</sub> 剂量感染时,感染后 14 d 红细胞压积显著降低,而低剂量感染组(10000 和 1000 EID<sub>50</sub>)则红细胞压积没有明显降低;14 日龄 SPF 鸡无论高剂量或低剂量感染,其 14 d 红细胞压积均无变化(表 4)。

表 5 不同日龄鸡感染后 21 d 剖检后胸腺、法氏囊和骨髓病变比例

Tab 5 Lesion ratio of thymus, bursa and marrow at 21 days post – inoculation

剂量(EID <sub>50</sub> )	胸腺萎缩比例			法氏囊萎缩比例			骨髓病变比例		
	1 日龄感染	7 日龄感染	14 日龄感染	1 日龄感染	7 日龄感染	14 日龄感染	1 日龄感染	7 日龄感染	14 日龄感染
100000	/	2/10	1/10	/	0/10	0/10	/	3/10	1/10
10000	11/13	3/10	0/10	5/13	2/10	0/10	12/13	3/10	0/10
5000	9/12	/	/	3/12	/	/	7/12	/	/
1000	8/12	2/11	0/10	2/12	0/11	0/10	8/12	2/11	1/10
正常对照	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

骨髓病变:颜色黄白色;胸腺和法氏囊病变:萎缩、体积明显变小

Marrow lesion: light yellow, Thymus and bursa lesion: atrophy, with significantly smaller in size

表 4 不同日龄鸡感染后 14 d 红细胞压积统计表(n = 7)

Tab 4 Record of erythrocyte packed cell volume at 14 days post – inoculation (n = 7)

组别	感染后 14 d 红细胞压积				
	正常对照	100000 EID <sub>50</sub>	10000 EID <sub>50</sub>	5000 EID <sub>50</sub>	1000 EID <sub>50</sub>
1 日龄感染组	34% <sup>a</sup>	/	17% <sup>b</sup>	22% <sup>b</sup>	25% <sup>b</sup>
7 日龄感染组	33% <sup>a</sup>	21% <sup>b</sup>	25% <sup>b</sup>	/	28% <sup>a</sup>
14 日龄感染组	33% <sup>a</sup>	29% <sup>a</sup>	29% <sup>a</sup>	/	30% <sup>a</sup>

不同的字母(a,b)表示差异显著(P<0.05)

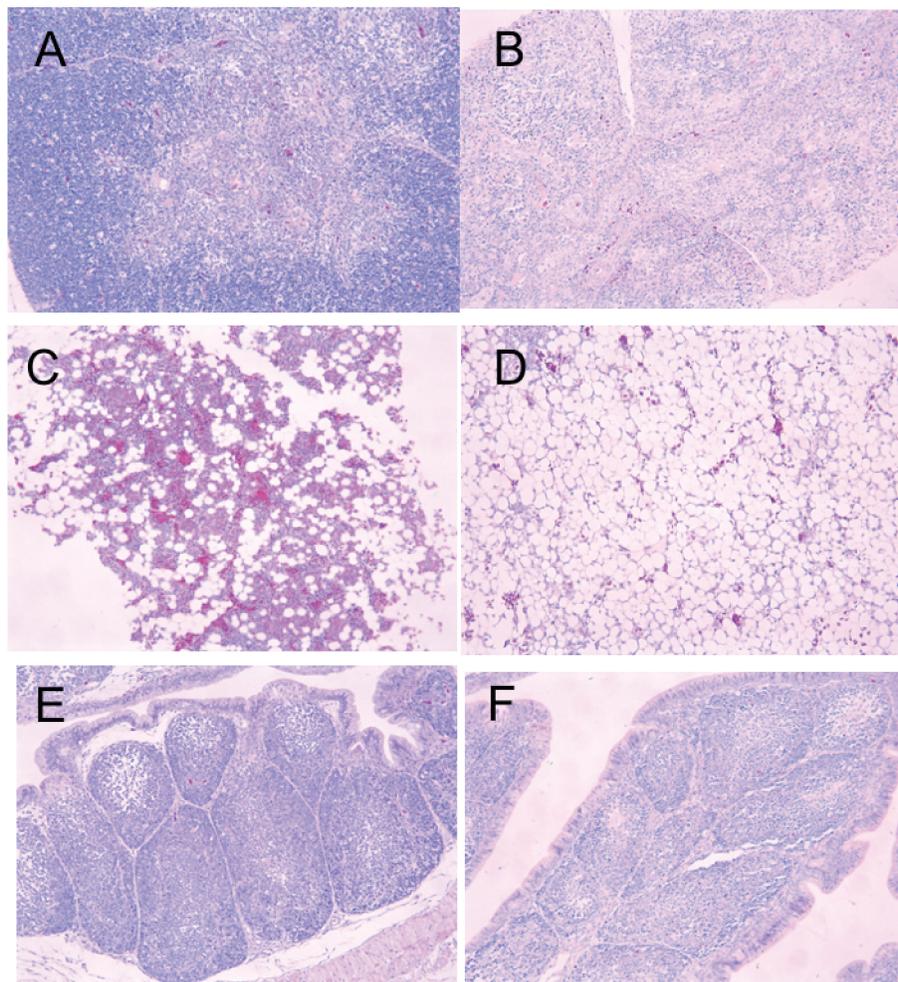
Different letters (a,b) indicate significant differences(P<0.05)

2.4 骨髓、胸腺和法氏囊大体病变和组织学病理变化

2.4.1 大体病理变化 1 日龄 SPF 鸡感染后死亡鸡或 21 d 存活鸡剖检时,多表现为胸腺萎缩,骨髓稀薄,呈黄白色或乳白色,而出现法氏囊明显萎缩的鸡只比例较低;7 日龄和 14 日龄 SPF 鸡感染后 21 d,胸腺和法氏囊出现萎缩的鸡只显著低于 1 日龄 SPF 鸡。详细结果见表 5。

2.4.2 组织病理学变化 感染剂量为  $10000EID_{50}$  时,1 日龄 SPF 鸡感染后 21 d,病变胸腺内小叶皮质与髓质界限不清,皮质区淋巴细胞数量明显减少

(图 3B),病变骨髓几乎无造血细胞和红细胞(图 3D),病变法氏囊组织中淋巴滤泡体积变小、数量减少(图 3F)。



A 正常胸腺, B CAV 感染鸡胸腺; C 正常骨髓, D CAV 感染鸡骨髓; E 正常法氏囊, F CAV 感染鸡法氏囊

A normal thymus, B thymus infected with CAV; C normal marrow, D marrow infected with CAV; E normal bursa, F bursa infected with CAV

图 3 1 日龄 SPF 鸡感染 ( $10000EID_{50}$ ) 后 21 d 组织切片 (10X)

Fig 3 Histopathology section of 1 - day - old SPF chicken at 21 days post - inoculation (10X)

2.5 病毒载量 1 日龄 SPF 鸡感染后 14 d 和 21 d,无论胸腺萎缩与否,均含较高的病毒载量,21 d 时病毒最高载量可达  $10^{6.7}$  copies/mg,脾脏中的病毒载量低于胸腺。而肝脏、法氏囊和全血中都能检测出病毒核酸(图 4)。

### 3 讨论与结论

贫血是鸡感染 CAV 后最主要的特征性临床症状,感染后 14 ~ 16 d 最为明显,红细胞压积降为 6% ~ 27%<sup>[3]</sup>。AV1550 毒株感染 1 日龄 SPF 鸡后

14 d,不同感染剂量都能引起红细胞压积显著降低,高剂量感染组 ( $10000EID_{50}$ ) 红细胞压积降为 13%;1 日龄 SPF 鸡感染 CAV 后其他症状还包括死亡,一般出现在感染后 12 ~ 28 d,本研究中不同感染剂量的 SPF 鸡 21 d 时死亡率为 25.0% ~ 53.9%;增重减缓,高剂量和中剂量感染组 ( $10000$ 、 $5000 EID_{50}$ ) 存活鸡 21 d 时体重显著低于正常对照;剖检后胸腺显著萎缩、骨髓颜色偏黄、变浅,高剂量感染组 ( $10000 EID_{50}$ ) 还出现法氏囊萎缩。

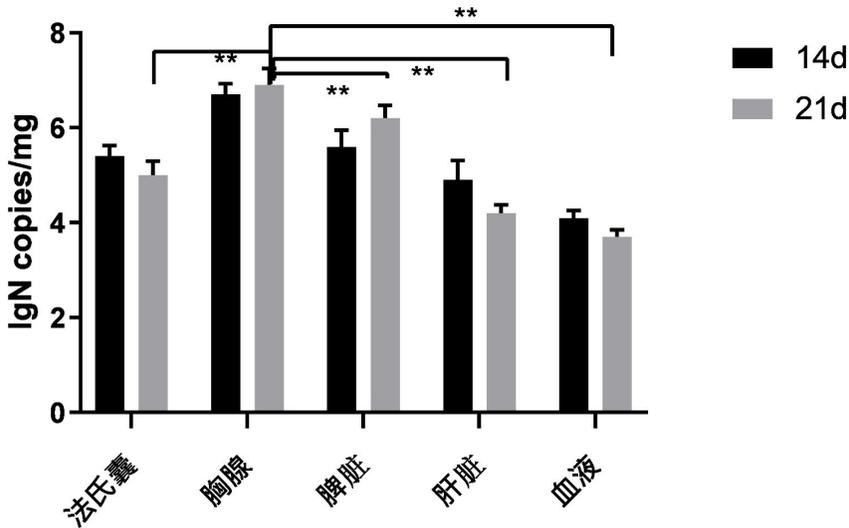


图 4 全血、法氏囊、胸腺、脾脏和肝脏病毒载量 (IgN copies/mg) (标注 \* \* 所指差异显著或者极显著)

Fig 4 Viral loads (Ig) in whole blood, bursa, thymus, spleen and liver

SPF 鸡对 CAV 有明显的年龄抵抗力<sup>[3]</sup>。CAV 感染 1 日龄 SPF 鸡后,会出现明显的临床症状,如死亡、增重减缓、贫血等;剖检后,出现胸腺和骨髓明显萎缩(病变率超过 80%),红细胞压积降低。CAV 感染 7 日龄 SPF 鸡后,不引起死亡和增重减缓,仅在高感染剂量(100000EID<sub>50</sub>)时,出现贫血;剖检后,胸腺和骨髓病变率不超过 30%。CAV 感染 14 日龄 SPF 鸡后,除个别鸡外,几乎不引起任何临床症状和剖检病理变化。

用本实验室建立的荧光定量方法,对感染鸡不同组织中的病毒进行检测,结果显示感染后 21 d 胸腺中的病毒载量最高,为 10<sup>6.7</sup> copies/mg。该结果与其他研究结果<sup>[8-9]</sup>一致。骨髓是 CAV 感染的主要组织之一,但由于骨髓样品量少,不便于精准定量,本研究未测定骨髓中的病毒载量。Alsharari M<sup>[10]</sup>比较了 CAV 在感染鸡体后第 6、13 和 28 天,病毒在胸腺、脾脏、骨髓和法氏囊中的分布情况,发现胸腺中的病毒载量均高于骨髓。虽然低剂量感染组骨髓和胸腺剖检观察无明显肉眼病理变化,但胸腺病毒载量仍染较高,表明胸腺病毒载量测定可以作为 CAV 感染发病的判定指标。

目前普遍认为世界范围内的 CAV 分离株的致病

性没有显著差异。Yuasa 和 Imai<sup>[11]</sup>将 11 个分离株在 MSB1 上传代 12 代后,通过感染 7 日龄和 14 日龄 SPF 鸡来比较致病性差异。研究结果表明感染 7 日龄 SPF 鸡时,11 个分离株毒力差异不大,而 14 日龄感染鸡均未能诱发病变。Li 等<sup>[12]</sup>从 30 个 CAV 临床分离株中选择两个不同基因亚型的毒株,在相同实验条件下比较致病性,发现两个毒株的致病性差异不大。以相同剂量腹腔内感染 1 日龄 SPF 鸡,都能引起胸腺萎缩和骨髓黄染,死亡率分别为 20% 和 30%。

我国鸡群中 CAV 感染普遍,也给养禽业带来较大的经济损失,但目前国内尚没有商品化的鸡传染性贫血疫苗,而疫苗研发的挑战之一是因为难以建立疫苗免疫效果的科学评判指标。本研究通过测定 CAV AV1550 毒株在不同感染剂量时对不同日龄 SPF 鸡的致病性,尽管结果表明 CAV 对 SPF 鸡的致病性具有明显的日龄依赖性,不同日龄鸡感染后临床症状差异较大,但 7 日龄以内鸡可通过红细胞压积、胸腺病毒载量作为科学评价 CAV 感染发病的指标。

#### 参考文献:

[1] Fatoba A J, Adeleke M A. Chicken anemia virus: A deadly

- pathogen of poultry[J]. *Acta Virol*, 2019, 63(1): 19–25.
- [2] The ICTV Report on Virus Classification and Taxonomy. March 2023. From: <https://ictv.global/taxonomy>.
- [3] Swayne D E, Boulianne M, Logue C M, *et al.* Diseases of Poultry[M]. 14th edition. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2020;284–320.
- [4] 王林, 陈浩, 崔治中. 1 株鸡传染性贫血病毒野毒株对不同日龄 SPF 鸡的致病性[J]. *中国兽医学报*, 2010, 30(02): 188–191.
- Wang L, Chen H, Cui Z Z. Pathogenicity of a chicken infectious anemia virus field isolate in SPF chickens at different ages[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2010, 30(02): 188–191.
- [5] Santen V L, Joiner K S, Murray C, *et al.* Pathogenesis of chicken anemia virus; comparison of the oral and the intramuscular routes of infection[J]. *Avian diseases*, 2004, 48(3): 494–504.
- [6] Adair B M. Immunopathogenesis of chicken anemia virus infection[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2000, 24(2–3): 247–255.
- [7] 陈玲, 宋亚芬, 张兵, 等. 一株鸡传染性贫血病毒的分离鉴定及其致病性研究[J]. *中国兽药杂志*, 2020, 54(04): 17–23.
- Chen L, Song Y F, Zhang B, *et al.* Isolation, Identification and Pathogenicity of a Chicken Infectious Anemia Virus[J]. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2020, 54(04): 17–23.
- [8] Tan J, Tannock G A. Role of viral load in the pathogenesis of chicken anemia virus[J]. *Journal of General Virology*, 2005, 86(5): 1327–1333.
- [9] Yang M, Yang Q, Bi X, *et al.* The Synergy of Chicken Anemia Virus and Gyrovirus Homsa 1 in Chickens[J]. *Viruses*, 2023, 15(2): 515.
- [10] Alsharari M M L, Islam A F, Walkden – Brown S W, *et al.* Tissue distribution and shedding profiles of Chicken Anaemia Virus in specific pathogen – free and commercial broiler chickens [C]//Proceedings of the Australian Poultry Science Symposium. University of Sydney, 2015.
- [11] Yuasa N, Imai K. Pathogenicity and antigenicity of eleven isolates of chicken anaemia agent (CAA)[J]. *Avian Pathology*, 1986, 15(4): 639–645.
- [12] Li Y, Yan N, Wang Y, *et al.* Molecular evolution and pathogenicity of chicken anemia virus isolates in China[J]. *Archives of Virology*, 2021, 166: 439–449.

(编辑:侯向辉)