

奶牛乳房炎防治技术研究进展



资料图片

□宋祥彬 刘莎莎 魏茂莲
陆庆泉 汤文利 李有志

奶牛乳房炎(BM)是一种复杂的多因素疾病,其中细菌性乳房炎占据主导地位。抗菌药因见效快、使用方便等成为防治奶牛乳房炎的主要方法,但由于缺少有效的乳房炎预警系统、高效对症的创新药物和科学精准的用药机制,造成乳汁中抗菌药物残留和细菌耐药性等问题,对生物安全、食品安全和人类健康造成极大威胁。本文简述了BM的主要致病菌及其耐药性现状,重点对BM的诊断、治疗及预防研究进展进行综述,然后提出绿色防控技术在其防控中的应用,旨在推动我国BM的绿色防治,提升乳制品质量安全,为守护人民群众“舌尖上的安全”提供支撑。

奶牛乳房炎病原及其耐药性现状

奶牛乳房炎是奶牛乳腺受到物理、化学、病原微生物等刺激,发生的以乳中白细胞数增多及乳腺组织病理变化为特征的炎症,其中细菌感染是最主要的原因。奶牛乳房炎可导致产奶量下降、牛奶品质变差,乳汁中病原体或抗菌药物残留还会危害人类的健康。根据临床表现,分为临床型乳房炎和亚临床型乳房炎,后者乳房及乳汁肉眼可见变化,又称隐性乳房炎。

据文献报道,引起奶牛乳房炎的病原微生物多达150多种,涉及细菌、病毒、支原体等,其中以细菌最为常见,有20余种。致病菌可分为传染性病原菌和

环境性病原菌,常见的传染性病原菌有金黄色葡萄球菌、无乳链球菌、停乳链球菌、牛支原体、牛棒状杆菌等;环境性病原菌有大肠杆菌、凝固酶阴性葡萄球菌、克雷伯菌、肠球菌、酵母菌等。国外相关报道指出,临床型乳房炎发病率为1%—2%,隐性乳房炎发病率为20%—40%。我国奶牛乳房炎发病率整体为20%—70%,近年来,隐性乳房炎发病率较高,为10%—60%,且大部分地区在40%以上,而临床型乳房炎发病率维持在较低水平,为8%左右。

不同地区流行的致病菌和对常用抗菌药的耐药率不同,如广东地区部分牧场主要病原菌为停乳链球菌,检出率达60.6%,且存在较高的混合感染情况。陕西省部分地区主要致病菌为凝固酶阴性葡萄球菌,对林可霉素100%耐药,对青霉素、克拉霉素等7种药物的耐药率在65.5%以上。长三角地区检出率较高的5种致病菌分别为金黄色葡萄球菌、凝固酶阴性葡萄球菌、无乳链球菌、乳房链球菌和大肠杆菌,对链霉素、青霉素、四环素具有较高的耐药性。新疆某地区牧场主要致病菌为葡萄球菌、链球菌,对头孢类、四环素类药物具有较高的敏感性。河北地区病原菌主要为凝固酶阴性葡萄球菌,检出率为36%,对青霉素高度耐药,对克林霉素、头孢噻唑和头孢氨苄也具有较高耐药性,其中部分菌株呈现万古霉素耐药性。各地区主要致病菌类型和对常用抗菌药的敏感性不同,牧场防控和用药需要有针对性,以减少耐药产生。

奶牛乳房炎的防控措施

1. 奶牛乳房炎的诊断

及时、准确地检测出奶牛乳房炎对于疫病防控至关重要。临床型乳房炎症状较为明显,易于观察诊断。兽医可通过直接观察乳房外观(局部红肿)、触摸乳房(发热及疼痛)以及检查乳汁性状(稀薄,颜色发黄、发红,甚至出现絮状物或凝块)来判断。隐性乳房炎无临床症状,需借助特定检测方法才能发现。

体细胞检查法:目前养殖场常用的检测方法较多,乳汁体细胞检查是常用手段,包括直接计数法和间接计数法。直接计数法通过特定仪器直接对乳汁中的体细胞进行计数,体细胞数量异常增加常提示乳房存在炎症。研究表明,乳汁体细胞数低于 2×10^5 个/毫升为阴性, 2×10^5 — 5×10^5 个/毫升之间为可疑,大于或等于 5×10^5 个/毫升则判定为隐性乳房炎。间接计数法如加利福尼亚乳房炎检测法(CMT),利用特定试剂与乳汁中的体细胞发生反应,根据反应后的颜色变化和凝胶状态判断体细胞数量,进而推断是否患有隐性乳房炎。

乳汁理化检查:当奶牛患隐性乳房炎时,乳腺组织代谢异常,牛奶pH值及电导率也随之发生变化。这些变化与体细胞之间存在相关性,通过测定电导率、pH值的变化来估测体细胞数的方法称为电导率法和pH值法。

分子生物学诊断:近年来,随着生物、信息等技术持续迭代,国内外学者利用分子生物学技术开发出多种检测方法,包括LAMP(环介导等温扩增技术)、多重PCR(聚合酶链式反应)等技术。罗阳等利用LAMP技术针对nuc基因(耐热核酸酶基因)建立了金黄色葡萄球菌的快速鉴定方法,最低检测浓度为 $50 \text{ fg}/\mu\text{L}$,检测灵敏度是传统PCR的104倍。王雪蓉等通过优化PCR反应体系及程序,建立了可同时扩增5种致病菌特异性条带的多重PCR检测方法,灵敏度可达到 $5 \text{ copies}/\mu\text{L}$ 。宋安基等选择大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌以及奇异变形杆菌设计合成特异性引物与探针,建立了三重TaqMan荧光定量PCR检测方法,最低检测限可达 $1 \times 10^1 \text{ copies}/\mu\text{L}$,且特异性和重复性良好。分子生物学检测技术作为病原菌检测的辅助方法,对于奶牛乳房炎的准确诊断和及时治疗十分重要。

其他诊断方法:当前,在生物技术和

信息技术为特征的新一轮农业科技革命正在孕育大的突破,学科交叉融合不断发展,科研工作者对奶牛乳腺炎的诊断也进行了大量尝试。如多位点序列分型(MLST)、脉冲场凝胶电泳(PFGE)、扩增片段长度多态性(AFLP)、随机扩增多态DNA(RAPD)等可用于致病菌株的基因分型鉴定。王晗晨等利用多位点序列分型(MLST)对55株产金黄色葡萄球菌进行检测,发现17株金黄色葡萄球菌存在9个ST型(序列型),均属于已发现的ST型,其中ST97和ST398为优势株。Abdelmegid等基于蛋白质组学分析技术,利用二维液相色谱-串联质谱法(2D-LC-MS)发现一种仅存在于金黄色葡萄球菌隐性乳房炎牛奶中的抗菌肽4,可作为一种特异性乳腺炎标志物。利用牛乳淀粉样蛋白A作为检测隐性乳房炎的生物标志物,通过酶联免疫吸附试验(ELISA)进行检测,也可作为隐性乳房炎的有效诊断方法。近红外光谱技术具有快速、低成本等优点,目前已成为农业、医疗等领域物质快速检测的主要技术手段。基于近红外光谱检测体细胞数进而对乳房炎进行分级诊疗,再通过构建检测模型来实现隐性乳房炎的快速识别及患病等级的精准诊断,有望解决乳房炎早期诊断难的瓶颈问题。

2. 奶牛乳房炎的治疗

抗菌药治疗:抗菌药仍然是目前治疗奶牛乳房炎的常用手段,近5年来,多以头孢类、青霉素类和利福昔明为主用药物。具体介绍如下:

头孢洛宁对金黄色葡萄球菌、链球菌等乳房炎常见致病菌效果显著,用于干奶期的乳房炎防治时,具有低残留的特点,产后24小时即低于检测限值,安全性高,在防治乳房炎和预防新感染方面,临床治愈率高,减少了干奶期奶牛的感染。

头孢噻吩能够对抗大肠埃希菌、葡萄球菌、链球菌等引起的乳房炎,具有对β-内酰胺酶稳定性高、毒副作用低的优点,临床使用表明能快速缓解乳房炎症状,且对干奶期隐性乳房炎有显著预防效果。

青霉素类药物有复方阿莫西林乳房炎注入剂和复方普鲁卡因青霉素乳房炎注入剂。复方阿莫西林联合用药策略能够针对不同感染类型的感染,具有较高的细菌清除率和治疗效果。复方普鲁卡因青霉素乳房炎注入剂结合了普鲁卡因青霉素和其他抗菌药物,能够有效对抗葡萄球菌、链球菌和大肠杆菌等乳房炎致病菌,临床研究

表明,该药物对干奶期的隐性乳房炎有较好的治疗效果,并能显著预防新发感染。

利福昔明是安莎类抗菌药,对青霉素耐药的金黄色葡萄球菌有特效。其乳房炎注入剂在干奶期对奶牛安全性高,对体细胞数、产奶量无负面影响,能够显著减少乳房炎的病原菌感染,并减少抗菌药的用量。

中草药治疗:长期和过度使用抗菌药会导致细菌产生耐药性,降低治疗效果。耐药性细菌的出现不仅增加了疾病治疗的难度,还可能通过乳制品进入食物链,威胁人类健康。近年来,中兽药治疗奶牛乳房炎的研究不断增多。例如“乳黄消散”,其具有抗菌、抗炎、免疫调节作用,能有效抑制乳房炎细菌的生长,并减轻局部炎症。地肤通乳散通过清热解毒、利尿排毒,改善乳房的炎症反应,有助于缓解症状。公英翘芦散主要成分具有抗炎、消肿作用,促进乳房的恢复。黄芪多糖乳黄消口服液可以增强免疫力,抗炎,促进组织修复,对乳房炎的恢复有积极作用。乳痛康膏为外用制剂,具有消肿止痛、促进血液循环的效果,可减轻局部炎症。中药乳康结合多种中药的抗菌、抗炎、免疫调节作用,全面改善奶牛乳房健康。同时有学者发现了15味中药制剂,可根据各中药的性味与功能,整体发挥清热解毒、祛湿散结、促进乳房血液循环等作用,增强疗效。这些中药制剂通过抗菌、抗炎、调节免疫等多重机制,综合改善奶牛乳房炎的症状和恢复效果,不仅有效防治奶牛乳房炎,还符合国家兽用抗菌药使用减量化战略要求,为奶牛乳房炎提供了安全、有效的解决方案。

抗菌药替代治疗:引起奶牛乳房炎的致病菌多为细菌,长期使用抗菌药易导致耐药菌株的出现和乳制品药物残留等问题,亟须寻找奶牛乳房炎的替代疗法。噬菌体作为一种天然裂解细菌的病毒,具有靶向性和指数增长能力,可特异且高效地裂解细菌,有望成为抗菌药的替代品之一。陈鑫茹等筛选出2种噬菌体,对小鼠乳房炎有明显改善作用,为奶牛乳房炎防治提供了参考。许多研究表明,饲喂或乳房灌注乳酸菌和酵母菌等微生态活菌制剂对奶牛乳房炎有很好的防治效果,是替代抗菌药防治奶牛乳房炎的一种有效

选择。此外,还有免疫疗法、干细胞疗法等新型手段正在研究中。

3. 奶牛乳房炎的预防

奶牛乳房炎防控工作要坚持“防大于治,关口前移”的方针。首先,在监测阶段,通过智能化设备实时跟踪奶牛的健康状况,预防疾病发生。建立奶牛乳房炎风险评估模型,通过“互联网+”奶业大数据平台,及时准确地观测与记录奶牛的健康状况、饲喂情况以及每日的奶量产出等多方面信息;同时,引入奶牛生产性能测定(DHI)体细胞数预警系统和RFID(射频识别)技术,更有效地监控奶牛健康,使提前发现存在乳房炎高发风险的奶牛成为现实。其次,重视干奶期的乳房炎预防工作。奶牛一个产奶周期包括10个月泌乳期和2个月干奶期,其中干奶期是防治奶牛乳房炎最关键的时期。配合干奶药和乳头封闭剂,可有效降低乳房炎及新发感染风险。最后,可通过疫苗免疫降低奶牛乳房炎的感染程度和控制其发生率。目前,国内外学者已研制出金黄色葡萄球菌和大肠杆菌等传统乳房炎疫苗,可有效提高奶牛乳房炎治愈率。

奶牛乳房炎防控的相关思考

奶牛乳房炎危害大,因素多,涉及病原广,抗菌药作为传统治疗手段发挥了不可磨灭的作用,但诸如细菌耐药性和药物残留等问题也接踵而至。随着国家对食品安全、生物安全等问题愈发重视,饲料禁抗、养殖减抗等政策落地落实,针对奶牛乳房炎亟须寻求绿色防治技术。在诊断方面,早期快速准确地诊断是做好防治工作的重要前提。目前诊断方法较多,但都存在不同角度的缺点,例如低成本快速的方法存在准确率低的不足,而精度较高的方法存在成本高、操作复杂的缺点。在治疗方面,探究中西药复方配伍制剂或寻求更加高效、安全的替代产品将是未来研究的热点。

绿色防治技术在奶牛养殖中具有重要的潜力和价值,推动绿色防治技术的广泛应用与发展,不仅有助于提高奶牛的健康水平和生产性能,也为实现养殖业的可持续发展提供了保障。

(作者单位:山东省饲料兽药质量检验中心/山东省畜产品质量安全监控与新兽药创制重点实验室)

□张保海 黄琼 杨彩虹 李珂珂
何妍萍 王吉成 姚学萍 曹随忠

奶牛乳房炎是奶牛养殖中造成经济损失最严重的疾病之一,通常是由病原微生物刺激乳腺组织而引起的一系列炎症反应,根据奶牛在生产中是否有乳房红肿、乳汁异常等症状,将奶牛乳房炎分为临床型乳房炎和隐性乳房炎;根据病原菌寄生的环境及传播途径,又将奶牛乳房炎分为环境性乳房炎和传染性乳房炎。目前临床设计的疫苗主要针对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、链球菌等奶牛乳房炎常见致病菌,还有一些病原菌虽感染率低,但往往也能引发较为严重的炎症。目前乳房炎疫苗种类多为弱毒疫苗、亚单位疫苗、核酸疫苗和荚膜多糖-蛋白偶联疫苗等,但多数疫苗仅停留在临床试验阶段,能够大范围推广应用的商品化疫苗还较为欠缺,亟须科研人员研究解决。

疫苗研究进展

1. 大肠杆菌疫苗

大肠杆菌属革兰氏阴性菌,兼性厌氧菌,广泛存在于人和动物的肠道,自然环境中也存在一定数量的菌群,其常见抗原O、K、H。田崇瑜等构建大肠杆菌基因缺失灭活疫苗,免疫小鼠后采集血清测定抗体效价,并根据抗体水平将小鼠分组后用大肠杆菌强毒株进行攻毒,达到最低保护力抗体水平。经对奶牛皮下注射此疫苗,与对照组相比,均可产生一定的保护力。Liu等构建大肠杆菌外膜蛋白A纳米颗粒(NP-OmpA)疫苗,对小鼠进行口服免疫后,通过肝脏和肾脏病理切片评估疫苗的安全性,使用qRT-PCR检测(一种分子生物学技术)免疫相关基因表达,ELISA(酶联免疫吸附试验)检测抗血清滴度,结果显示NP-OmpAs

对小鼠肝脏和肾脏是安全的,抗血清滴度显示该疫苗对大肠杆菌具有免疫识别作用。Quiroga等利用奶牛乳腺炎源大肠杆菌蛋白脂质体构建疫苗,对小鼠皮下接种疫苗,接种后雌性交配,产后5—8天用大肠杆菌感染,感染2天后切下小鼠乳房,评估疫苗的有效性、安全性以及产生的免疫反应,结果显示与未接种疫苗的动物相比,接种疫苗的小鼠表现出轻微的临床症状和较低的乳腺细菌载量。与对照组相比,疫苗接种诱导血液和乳腺中针对大肠杆菌的IgG、IgG1和IgG2a(免疫球蛋白)水平升高,显示出较少的炎症浸润和组织损伤,证明疫苗安全有效。还有研究表明,大肠杆菌疫苗利用纳米颗粒与脂质体技术,可使疫苗抗原递送效率提升3—5倍。如NP-OmpA纳米颗粒通过20—50纳米的粒径优化,实现了口服后肠道黏膜的高效摄取,蛋白质脂质体则通过模拟细菌膜结构,增强了抗原递送细胞的识别效率。通过多表位嵌合策略、优化佐剂等方法可以有效提升疫苗的抗体水平。

2. 金黄色葡萄球菌疫苗

金黄色葡萄球菌属革兰氏阳性菌,呈葡萄串状排列,常常通过皮肤和口咽部侵入机体,定植于乳腺上皮细胞,当奶牛的乳腺组织遭受损伤时,会引发隐性或慢性乳房炎。金黄色葡萄球菌有多个毒力因子,包括荚膜多糖、黏附素等,这些毒力因子在金黄色葡萄球菌入侵机体过程中起到关键作用,同时也是疫苗开发的候选抗原。Bea等选择金黄色葡萄球菌铁代谢相关的脂蛋白(Sic)作为候选抗原,设计了能引起B细胞和T细胞表达的序列,构建了C端带有蛋白纯化的氨基酸、N端带有佐剂的虚拟疫苗,通过Protparam(蛋白质参数分析工具)预测疫苗构建体的理化性质和免疫特性

并进行评估比较,得到疫苗可增加免疫细胞群和细胞因子的反应结果。不同脂蛋白候选抗原疫苗构建体具有相似的理化和免疫学特性,但显示出不同的免疫应答。韩先乐等利用金黄色葡萄球菌Trap蛋白基因构建表达质粒,经体外诱导表达后纯化,与弗氏佐剂混合制备疫苗,对小鼠进行肌肉免疫后检测细胞因子和测定血清抗体,结果表明小鼠产生了细胞免疫和体液免疫。二免后使用原毒株攻毒,做器官组织涂片和病理切片,检测到细菌对小鼠器官的损伤和值显著低于空白组。Soltan等利用金黄色葡萄球菌分泌蛋白磷脂酰肌醇醇酸二酯酶(Ple),设计了Ple蛋白的抗原表位,经体外诱导表达验证了其免疫原性,在注射免疫小鼠试验中也验证了疫苗的保护有效性。以上研究表明,通过反向疫苗筛选保护抗原,可以提高抗原设计的精准性,提高抗原表位覆盖率。

3. 链球菌疫苗

引起奶牛乳房炎的链球菌主要包括无乳链球菌、停乳链球菌、乳房链球菌和化脓链球菌,系革兰氏阳性菌,其中无乳链球菌是奶牛乳房炎的重要病原菌,也是人兽共患病病原,可引发新生儿和鱼类败血症、脑膜炎等。李松建等构建了由IgG、FcRn(一个关键生物学机制)介导无乳链球菌保护性表面抗原蛋白(Sip)的融合蛋白Fc-Sip,并与佐剂混合制成Fc-Sip亚单位疫苗,经免疫干奶前15天奶牛,对比免疫前后乳中细菌数、测定血清抗体滴度验证了疫苗具有降低乳中体细胞数的作用,并促进奶牛免疫反应。无乳链球菌疫苗研究较多的还有荚膜多糖疫苗、荚膜多糖结合疫苗和蛋白疫苗,但目前都在临床试验阶段,还没有应用到生产上。杨启昱等、王汉青等分别构建了无乳链球菌、停乳链球菌和乳房链

球菌3-磷酸甘油酯酰基酶(GapC)蛋白,通过免疫小鼠后测定IgG抗体水平、预测筛选抗原表位。经验证其具有较好的抗原性,对小鼠的免疫保护率高达76%,未来可作为制备亚单位疫苗的候选抗原。以上研究以GapC、Sip等保守蛋白为核心,整合Sip的α-螺旋结构域与GapC的酶活性中心表位,构建多价亚单位疫苗,预计可覆盖90%以上奶牛源链球菌血清型。基于FcRn(新生儿Fc受体)介导的抗原递呈,未来可设计“多功能融合蛋白”N端融合链球菌表面蛋白(如Sip),以及C端融合TLR4(机体免疫系统中一种重要的模式识别受体)激动剂(如脂多糖类似物),实现“抗原递送——模式识别受体激活”的协同效应。

4. 其他疫苗

除了大肠杆菌、金黄色葡萄球菌及链球菌等常见致病菌外,还有一些病原菌也可引起奶牛乳房炎,如克雷伯氏菌、化脓性链球菌及支原体等。这些病原菌虽在乳房炎病例中占比相对较小,但一旦感染往往会引发较为严重的炎症反应,对奶牛的健康和生产性能造成不同影响,进而给养殖户带来经济损失。对于这类病原菌的疫苗研究,目前国内外部分处于试验研究阶段。崔琦使用从乳样中分离的克雷伯氏菌MrdK基因构建重组质粒,并在体外诱导表达,在MrdK蛋白与奶牛乳腺上皮细胞作用后,用克雷伯氏菌进行黏附,经对奶牛上皮细胞进行间接免疫荧光检测后发现克雷伯氏菌黏附显著降低,从而为探究重组蛋白疫苗对细菌的黏附性提供重要参考。目前支原体疫苗几乎都是灭活疫苗,加入完全弗氏佐剂并免疫奶牛后,与对照组相比,虽然免疫效果不显著,但感染后病程时间显著缩短,对预防炎症有一定的作用。未来,可进一步探索基因工程、合成

生物学等前沿技术在疫苗研发中的深入应用,如对克雷伯氏菌还可挖掘更多关键抗原基因,优化重组蛋白疫苗设计,针对化脓性链球菌和支原体,尝试开发多联多价疫苗以提高疫苗广谱性,同时探索新型佐剂和免疫增强剂与现有疫苗的协同作用,提升疫苗免疫效果,为奶牛乳房炎的防控提供更多解决方案。

近年来,研究人员发现引起奶牛乳房炎的病原往往不是单一菌株,而是存在多种病原体共同感染,单价疫苗往往已经无法满足生产需求,新的多价疫苗研究方向也随之显现。Shah等制备牛源性金黄色葡萄球菌、结缔组织链球菌和大肠杆菌多价灭活疫苗,与不同佐剂混合后对小鼠、兔、犊牛进行肌肉注射免疫,同时攻毒验证疫苗保护力,结果显示血清抗体效价显示在兔体内引发体液免疫,犊牛青等制备牛源无乳链球菌和金黄色葡萄球菌荚膜多糖蛋白结合疫苗,用不同浓度免疫小鼠,结果显示结合疫苗免疫效果显著高于单一疫苗。

小结与展望

引起奶牛乳房炎的病原微生物种类繁多,临床型乳房炎往往都是多种病原菌共同作用的结果,生产中大多采用抗菌药物进行治疗,但抗菌药物的不当使用会造成细菌耐药,进而引发公共卫生安全。目前,国外已经有可用于奶牛乳房炎防控的商品化疫苗,但国内针对奶牛乳房炎的疫苗大多还停留在临床试验阶段,缺少真正可用于实际生产的商品化疫苗。随着研究的深入,未来的疫苗研究不仅仅是针对某一个病原菌或者一种病原菌的某一血清型,而是制备多价疫苗,或者制备组合疫苗,这样可以获得使用价值更高的疫苗。

奶牛乳房炎疫苗研究进展

随着构建的疫苗在宿主体内的进一步研究显示,金黄色葡萄球菌铁调节脂蛋白有助于提高对该菌引起的乳房炎的预防。在筛选疫苗候选抗原时,既要考虑候选抗原蛋白的稳定性和广泛性,还要考虑病原菌致病机理以及感染过程中某些调节蛋白发挥的作用。反向疫苗也是一种先进的方法,该方法可用于识别针对金黄色葡萄球菌在体内的多种微生物的新候选疫苗,在针对有多个血清型等复杂情况时,利用反向疫苗可以设计出安全高效的疫苗。核酸疫苗因其工艺简单、成本较低,在以后的疫苗制备中也将发挥重要作用,如利用CRISPR-Cas9技术(一种精准的基因编辑技术)敲除无乳链球菌的荚膜多糖合成基因(如cpsE)与免疫逃逸因子(如Lmb蛋白),构建温度敏感型减毒菌株,实现在37℃乳腺组织中有限复制,可诱导长效记忆免疫(记忆B细胞存活期延长至180天)。此外开发乳腺黏附靶向疫苗,利用壳聚糖纳米颗粒(粒径50—100纳米)负载Fc-Sip/GapC抗原(两种关键疫苗成分的组合),通过鼻腔或乳头管递送,可诱导局部IgA(免疫球蛋白A)抗体及乳腺组织驻留记忆B细胞。该系模拟链球菌黏附素与乳腺上皮细胞受体的相互作用,使抗原在泌乳期乳腺组织滞留时间延长至96小时,可解决传统注射疫苗对黏膜感染保护不足的难题。由此可见,疫苗抗原表位的选择、制备方式、递送系统革新以及佐剂的选择,都将成为未来制备疫苗的重要参考,也将进一步提高疫苗免疫对机体的保护力。

(张保海 黄琼 杨彩虹 李珂珂 何妍萍 王吉成单位:甘肃省武威市畜牧兽医总站;姚学萍 曹随忠单位:四川农业大学动物医学院)