

吴洪超, 霍宁宁, 丁航天, 等. 水貂病毒性肠炎杆状病毒载体灭活疫苗与水貂犬瘟热活疫苗混合免疫效果评价 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (3): 106-112.

WU H C, HUO N N, DING H T, et al. Evaluation of the combined immune efficacy of inactivated mink viral enteritis baculovirus vector vaccine and live mink canine distemper vaccine [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (3): 106-112.

## 水貂病毒性肠炎杆状病毒载体灭活疫苗与水貂犬瘟热活疫苗混合免疫效果评价

吴洪超<sup>1,2,3</sup>, 霍宁宁<sup>2,3</sup>, 丁航天<sup>2,3</sup>, 曹玉姣<sup>2,3</sup>, 陈亚磊<sup>2,3</sup>,  
陈云豫<sup>2,3</sup>, 王璐璐<sup>2,4</sup>, 刘玉秀<sup>2,3\*</sup>, 田克恭<sup>1,2,4\*</sup>

(1. 河南农业大学动物医学院, 河南 郑州 450000; 2. 国家兽用药品工程技术研究中心, 河南 洛阳 471003;  
3. 洛阳惠中生物技术有限公司, 河南 洛阳 471003; 4. 普莱柯生物工程股份有限公司, 河南 洛阳 471003)

**摘要:** 为评价水貂病毒性肠炎杆状病毒载体灭活疫苗 (简称 MEV 亚单位疫苗) 与水貂犬瘟热活疫苗 (简称 CDV 活疫苗) 混合免疫的效果, 本研究将两种疫苗混合后在室温静置不同时间测定犬瘟热病毒 (CDV) 含量, 并选用 30 只健康水貂随机分为 6 组进行对比试验, 其中 G1 和 G2 组免疫 MEV 亚单位疫苗稀释 CDV 活疫苗的混合疫苗, G3 组为 CDV 活疫苗单独免疫组, G4 组为 MEV 亚单位疫苗单独免疫组, G5 和 G6 组分别为 CDV 攻毒组和 MEV 攻毒组。免疫后 21 d 采血检测 CDV 中和抗体, 同时对 G1、G3、G5 组进行 CDV 攻毒; 免疫后 14 d 采血检测 MEV 血凝抑制 (HI) 抗体, 同时对 G2、G4、G6 组进行 MEV 攻毒。结果: 两种疫苗混合后在室温静置 2 h, CDV 含量无明显下降。免疫后 21 d, G1 和 G3 组 CDV 中和抗体效价达到 1:64.6~1:128.8, CDV 攻毒后混合疫苗和 CDV 活疫苗免疫组的保护率均为 100%。免疫后 14 d, G2 和 G4 组的 MEV HI 抗体效价达到 1:128~1:1024, MEV 攻毒后混合疫苗和 MEV 亚单位疫苗免疫组的保护率均为 100%。研究表明, MEV 亚单位疫苗稀释 CDV 活疫苗, 混合免疫后各疫苗的免疫效力均不受影响。

**关键词:** 水貂病毒性肠炎杆状病毒载体灭活疫苗; 水貂犬瘟热活疫苗; 混合免疫; 免疫效力

中图分类号: S858.92 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2024)03-0106-07

## Evaluation of the combined immune efficacy of inactivated mink viral enteritis baculovirus vector vaccine and live mink canine distemper vaccine

WU Hongchao<sup>1,2,3</sup>, HUO Ningning<sup>2,3</sup>, DING Hangtian<sup>2,3</sup>, CAO Yujiao<sup>2,3</sup>, CHEN Yalei<sup>2,3</sup>,  
CHEN Yunyu<sup>2,3</sup>, WANG Lulu<sup>2,4</sup>, LIU Yuxiu<sup>2,3\*</sup>, TIAN Kegong<sup>1,2,4\*</sup>

(1. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450000, China;  
2. National Research Center for Veterinary Medicine, Luoyang 471003, China;  
3. Luoyang Huizhong Biotechnology Co., Ltd, Luoyang 471003, China;  
4. Pulike Biological Engineering Inc., Ltd., Luoyang 471003, China)

**Abstract:** This study was to evaluate the combined immune efficacy of inactivated mink viral enteritis baculovirus vector vaccine (referred to as MEV subunit vaccine) and live mink canine distemper vaccine (referred to as CDV live vaccine). Here, MEV subunit vaccine was used to dilute CDV live vaccine. The diluted mixed vaccine was left at room temperature to determine the canine distemper virus (CDV) titer at different time points. The results showed that the CDV titers did not reduce within 2 hours post-dilution. Then, 30 healthy mink were obtained and randomly divided into six groups for the experiment. 10 minks in Group 1 and Group 2 were immunized with the mixed vaccine. 5 minks in Group 3 were immunized with the live CDV vaccine. 5 minks in Group 4 were immunized with the MEV subunit vaccine. Group 5 and Group 6 were the CDV and MEV challenged group, respectively. At 21 days after immunization, blood samples were collected from the

收稿日期: 2023-03-17; 修回日期: 2024-01-04

基金项目: 中原学者田克恭科学家工作室项目

第一作者: 吴洪超, 男, 博士研究生

\* 通信作者: 刘玉秀, 副研究员, 研究方向: 宠物及毛皮经济动物疫苗, E-mail: qingqingyuxiu1@163.com; 田克恭, 研究员, 研究方向: 动物疫病诊断及防控技术, E-mail: vetvac@126.com。

animals to detect CDV neutralizing antibody. Groups 1, 3 and 5 were challenged with the CDV virus. At 14 days after immunization, blood samples were collected to detect MEV HI antibody. Groups 2, 4 and 6 were challenged with the MEV virus. The results showed that the titer of the CDV neutralizing antibody was 1 : 64.6-1 : 128.8 in Groups 1 and 3 at 21 days after immunization. After CDV challenging, the protection rate was 100% in both the mixed vaccine group and the live CDV vaccine group. The titer of the MEV HI antibody was 1 : 128-1 : 1 024 in Groups 2 and 4 at 14 days after immunization. The protection rate against MEV challenge was 100% in both vaccine groups. These results indicated that MEV subunit vaccine could be used to dilute CDV live vaccine, and the immune efficacy of each vaccine was not affected by combined vaccination.

**Keywords:** inactivated mink viral enteritis baculovirus vector vaccine; live mink canine distemper vaccine; combined vaccination; immune efficacy

犬瘟热是由副黏病毒科麻疹病毒属的犬瘟热病毒 (canine distemper virus, CDV) 引起的急性、高度接触性传染病<sup>[1]</sup>。水貂、狐狸、貉等毛皮经济动物和犬对该病毒易感, 本病已广泛存在于包括我国在内的所有毛皮动物养殖国家, 对毛皮经济动物养殖业威胁极大<sup>[2]</sup>。患病水貂表现为呼吸道、消化道症状, 还伴随鼻镜干燥、足垫增厚、皮屑等症状。水貂病毒性肠炎是由水貂肠炎病毒 (mink enteritis virus, MEV) 感染引起的高度接触性传染病, 发病水貂主要表现为精神不振、食欲减退、腹泻、呕吐等<sup>[3-4]</sup>, 该病具有较高的发病率和死亡率<sup>[5]</sup>。

水貂犬瘟热和水貂病毒性肠炎是对水貂危害最大的两种传染病<sup>[6]</sup>, 临床上常以接种疫苗作为主要防控措施, 对于水貂犬瘟热活疫苗和水貂病毒性肠炎疫苗的免疫, 已被列入养殖场的常规免疫计划<sup>[7]</sup>。临床上常采用不同时间接种以上两种疫苗, 或者在同一时间、不同部位接种疫苗, 并且具有良好的免疫效果<sup>[8]</sup>, 但是频繁抓取或者多次注射, 给水貂群造成多次应激, 导致死淘率增加, 同时也增加了人工成本。然而水貂病毒性肠炎灭活疫苗与水貂犬瘟热活疫苗混合后同时免疫, 是否出现相互干扰而影响免疫效果, 还需比较研究。

为了减少水貂群的应激次数, 节省人工, 同时使疫苗更加符合临床实际应用, 本研究用水貂病毒性肠炎杆状病毒载体灭活疫苗 (简称 MEV 亚单位疫苗) 稀释水貂犬瘟热活疫苗 (简称 CDV 活疫苗), 稀释后室温静置不同时间测定 CDV 含量, 以及对水貂免疫, 综合评价混合免疫的效果, 为这两种病原的疫苗免疫程序优化提供试验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

MEV JL 株、CDV HL001 株、CDV 单克隆抗体、MEV 单克隆抗体、Vero 细胞, 均由普莱柯生物工程股份有限公司保存; MEV 亚单位疫苗和 CDV 活疫苗, 均由洛阳惠中生物技术有限公司制备; CDV 胶体金检测试纸条购自洛阳普泰生物技术有限公司;

DMEM 培养基购自 Gibco 公司; 新生牛血清购自 PAN 公司; RT-PCR 和 PCR 相关试剂购自北京全式金生物技术有限公司; FITC 标记羊抗鼠 IgG 购自 Sigma 公司。

4~5 月龄健康水貂, 均购自洛阳市周边水貂养殖场。未接种水貂犬瘟热疫苗和水貂病毒性肠炎疫苗, 采集眼鼻拭子和肛拭子经 RT-PCR/PCR 检测, CDV 和 MEV 核酸均为阴性, 免疫前采血分离血清, 采用血清中和试验测定 CDV 抗体为阴性, 采用血凝抑制试验测定 MEV 抗体为阴性。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 不同稀释液稀释 CDV 活疫苗后病毒含量测定

将 MEV 亚单位疫苗充分摇匀, 用注射器抽取 10 mL 注入 CDV 活疫苗瓶中完全溶解, 轻轻混匀。将充分混匀的混合疫苗在室温 (25 ℃) 静置 0、2 h 分别取样测定 CDV 含量。同时取 CDV 活疫苗用稀释液按同样方法稀释, 稀释后的 CDV 活疫苗在室温 (25 ℃) 静置 0、2 h 分别取样, 用 DMEM 培养液做 10 倍系列稀释, 取  $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$  4 个稀释度, 与 Vero 细胞同步接种 96 孔细胞培养板, 每个稀释度接种 6 孔, 0.1 mL/孔, 同时设正常细胞对照 6 孔, 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 4 d, 用冷丙酮固定细胞, 以 CDV 单克隆抗体为一抗, FITC 标记羊抗鼠 IgG 为二抗, 置荧光显微镜下观察每个稀释度出现特异性荧光染色的细胞孔数。按 Reed-Muench 法计算半数荧光抗体感染剂量 (50% Fluorescent antibody infectious dose, FAID<sub>50</sub>)。

#### 1.2.2 动物分组及免疫

将 30 只健康水貂, 随机分为 6 组, 每组 5 只, 分组及免疫试验设计见表 1。

#### 1.2.3 CDV 免疫效力评价

第 1、3、5 组水貂, 分别在免疫前和免疫后 21 d 采血, 分离血清, 按《中国兽药典》附注方法测定 CDV 中和抗体效价。免疫后 21 d 用 CDV 强毒攻毒, 每只滴鼻 2 mL、腹腔注射 4 mL ( $10^{5.5}$  FAID<sub>50</sub>/mL), 攻毒后观察 21 d, 每日观察水貂的临床表现, 包括精神状态、食欲、粪便、眼鼻分泌物、鼻镜、足垫等,

攻毒后 7~14 d 采集眼鼻拭子, 用 CDV 胶体金试纸条检测排毒情况。攻毒对照水貂眼鼻拭子检测为 CDV 阳性, 且出现精神不振、食欲减退、排稀便或粘便, 眼鼻分泌物, 鼻镜干燥或足垫增厚时, 判为发病; 免疫水貂眼鼻拭子检测为 CDV 阴性, 且不出现以上任意临床表现时, 判为保护。

表 1 动物分组及试验设计

组别	处理	免疫剂量/ (mL·只 <sup>-1</sup> )	动物数量/只
G1	混合疫苗	1	5
G2	混合疫苗	1	5
G3	CDV 活疫苗	1	5
G4	MEV 亚单位疫苗	1	5
G5	CDV 攻毒对照	1	5
G6	MEV 攻毒对照	1	5

攻毒后 21 d 处死水貂, 采集肺脏, 经 10% 福尔马林固定, 制备切片, HE 染色后显微镜下观察肺脏病理变化, 另取制备的切片进行免疫组化检测, 切片用马血清封闭后, 滴加 CDV 单克隆抗体, 37 °C 孵育 30 min, PBS 洗涤后滴加 HRP 标记的羊抗鼠 IgG, 37 °C 孵育 1 h, PBS 洗涤后滴加 AEC 显色液显色, 用苏木精复染后封片, 普通光学显微镜下观察。

#### 1.2.4 MEV 免疫效力评价

第 2、4、6 组水貂, 分别在免疫前和免疫后 14 d 采血, 分离血清, 按参考文献 [9-10], 并适当改进来测定 MEV 血凝抑制 (HI) 效价。免疫后 14 d 用 MEV 强毒攻毒, 每只灌胃感染水貂肠炎病毒 JL 株病毒液 15 mL ( $10^{6.5}$  FAID<sub>50</sub>/mL)。攻毒后连续观察 14 d, 并记录水貂的临床表现, 包括精神状态、食欲、粪便等。同时在攻毒前和攻毒后 3~7 d 采集粪便, 测定粪便中 MEV 的血凝 (HA) 效价。攻毒对照水貂出现精神不振、食欲减退, 排稀便、黏便、血便等肠炎症状, 粪便中病毒 HA 效价不低于 1:128 时, 判为发病; 免疫水貂不出现以上任意表现时, 判为保护。

攻毒后 14 d 处死水貂, 采集小肠, 经 10% 福尔马林固定, 制备切片, HE 染色后显微镜下观察小肠病理变化, 另取制备的切片进行免疫组化检测, 切片用马血清封闭后, 滴加 MEV 单克隆抗体, 37 °C 孵育 30 min, PBS 洗涤后滴加 HRP 标记的羊抗鼠 IgG, 37 °C 孵育 1 h, PBS 洗涤后滴加 AEC 显色液显色, 用苏木精复染后封片, 普通光学显微镜下观察。

取采集的粪便样品作为待检样品进行血凝试验。

在微量血凝反应板的 1~12 孔各加入 PBS (0.015 mol/L, pH 值 6.5) 25  $\mu$ L, 取待检样品 25  $\mu$ L 加入第 1 孔, 混匀, 从第 1 孔吸取混合液 25  $\mu$ L 加入第 2 孔, 混匀后吸取 25  $\mu$ L 到第 3 孔, 依次 2 倍系列稀释至第 11 孔, 弃去 25  $\mu$ L, 第 12 孔为红细胞对照; 吸取 1% 猪红细胞悬液加入各孔, 每孔 25  $\mu$ L; 轻轻振荡混匀, 2~8 °C 作用 90 min 后观察结果; 在红细胞对照成立 (红细胞完全不凝集) 的条件下, 以使红细胞 100% 凝集的样品最高稀释倍数作为待检样品的 HA 效价。

## 2 结果与分析

### 2.1 CDV 含量测定

经不同稀释液稀释的混合疫苗和 CDV 活疫苗, 在室温 (25 °C) 放置 0、2 h 取样测定 CDV 含量。结果显示, 复溶后的混合疫苗和 CDV 活疫苗放置 2 h 内, CDV 含量无明显下降, 结果见表 2。

表 2 CDV 含量测定结果

样品	FAID <sub>50</sub> /mL	
	室温放置不同时间	
	0 h	2 h
混合疫苗	5.00	4.75
CDV 活疫苗	5.25	4.75

### 2.2 CDV 免疫效力评价

CDV 中和抗体检测结果见图 1。由图 1 发现免疫后 21 d, G1 和 G3 组的 CDV 中和抗体效价达到 1:64.6~1:128.8。表明 MEV 亚单位疫苗稀释 CDV 活疫苗而成的混合疫苗和 CDV 活疫苗免疫后, 均能刺激水貂产生良好的 CDV 中和抗体。

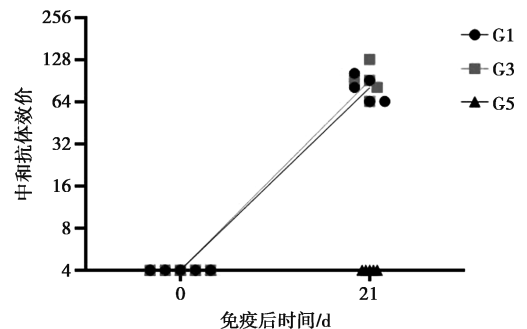


图 1 水貂血清 CDV 中和抗体检测结果

免疫后 21 d 进行 CDV 攻毒, 结果显示, 混合疫苗和 CDV 活疫苗单独免疫组的保护率均为 100%, 结果见表 3 和图 2。HE 染色显示, G1 和 G3 组水貂的肺脏均未见明显病理变化, 见图 3A、B, 对照组水貂肺脏可见肺泡隔增厚, 上皮细胞增生, 大量巨噬细胞

小灶性浸润，见图 3C 箭头所示。免疫组化检测发现，G1 和 G3 组水貂的肺脏均为 CDV 阴性，见图 3D、E，对照水貂的肺脏为 CDV 阳性，见图 3F。表

明 MEV 亚单位疫苗稀释 CDV 活疫苗后，不影响 CDV 疫苗的免疫效力。

表 3 CDV 免疫效力评价结果

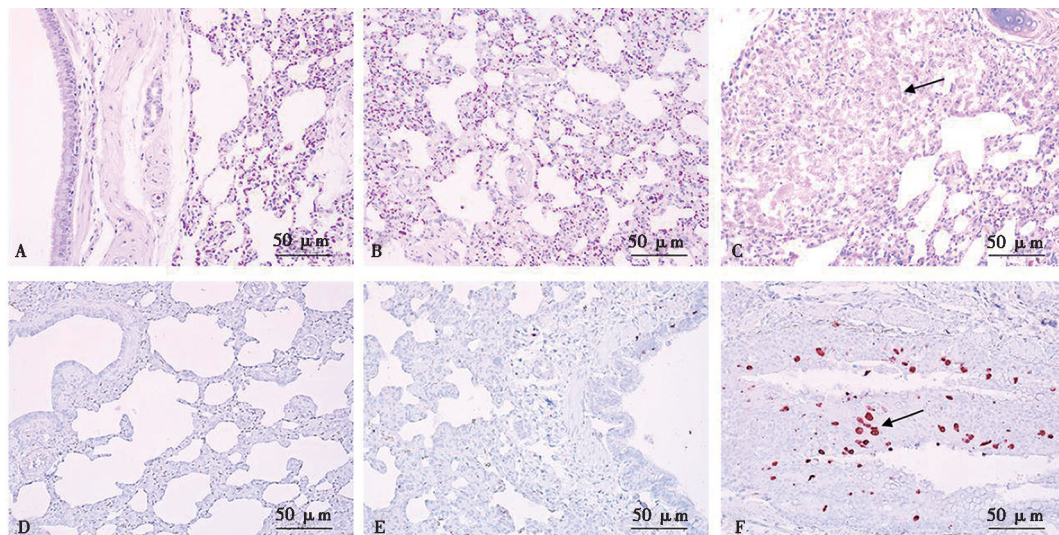
组别	水貂编号	临床观察	胶体金试纸检测结果	结果判定	保护率/%
G1	1	未见异常	-	保护	100
	2	未见异常	-	保护	
	3	未见异常	-	保护	
	4	未见异常	-	保护	
	5	未见异常	-	保护	
G3	11	未见异常	-	保护	100
	12	未见异常	-	保护	
	13	未见异常	-	保护	
	14	未见异常	-	保护	
	15	未见异常	-	保护	
G5	21	精神不振，食欲减退，眼黏性分泌物，鼻镜干燥，鼻黏性分泌物，足垫增厚	+	发病	0
	22	精神不振，食欲减退，眼黏性分泌物，鼻镜干燥，鼻黏性分泌物，足垫增厚	+	发病	
	23	精神不振，食欲减退，眼黏性分泌物，鼻镜干燥，鼻黏性分泌物	+	发病	
	24	精神不振，食欲减退，眼黏性分泌物，鼻镜干燥，鼻黏性分泌物	+	发病	
	25	眼黏性分泌物，鼻镜干燥，鼻黏性分泌物	+	发病	

注：“+”表示 CDV 阳性，“-”表示 CDV 阴性。



A. G1 组水貂未见异常；B. G3 组水貂未见异常；C. G5 组水貂眼睛黏性分泌物、鼻镜干燥。

图 2 CDV 攻毒后临床观察



A~C. G1、G3、G5 组肺脏 HE 染色；D~F. G1、G3、G5 组肺脏免疫组化检测。箭头表示肺脏病理变化及免疫组化阳性处。

图 3 CDV 攻毒后肺脏 HE 染色和免疫组化检测结果

### 2.3 MEV 免疫效力评价

MEV HI 抗体检测结果见图 4, 发现免疫后 14 d, G2 和 G4 组的 MEV HI 抗体效价达到 1 : 128 ~ 1 : 1 024。表明 MEV 亚单位疫苗稀释 CDV 活疫苗而成的混合疫苗和 MEV 亚单位疫苗免疫后, 均能刺激水貂产生良好的 MEV HI 抗体。

免疫后 14 d 进行 MEV 攻毒, 结果显示, 混合疫苗和 MEV 亚单位疫苗免疫水貂的保护率均为 100%,

结果见表 4、表 5 和图 5。HE 染色显示, G2 和 G4 组水貂的空肠均未见明显病理变化, 见图 6A、B, 对照组水貂的空肠可见黏膜上皮细胞肿胀变性、脱落, 见图 6C。免疫组化检测发现, G2 和 G4 组水貂的空肠均为 MEV 阴性, 见图 6D、E, 对照水貂的空肠为 MEV 阳性, 见图 6F。表明 MEV 亚单位疫苗稀释 CDV 活疫苗后, 不影响 MEV 疫苗的免疫效力。

表 4 MEV 免疫效力评价结果

组别	水貂编号	临床观察与检测结果	HA 效价	结果判定	保护率/%
G2	6	未见异常	<1 : 8~1 : 16	保护	100
	7	未见异常	<1 : 8~1 : 8	保护	
	8	未见异常	<1 : 8	保护	
	9	未见异常	<1 : 8~1 : 8	保护	
	10	未见异常	<1 : 8~1 : 32	保护	
G4	16	未见异常	<1 : 8~1 : 8	保护	100
	17	未见异常	<1 : 8~1 : 8	保护	
	18	未见异常	<1 : 8~1 : 16	保护	
	19	未见异常	<1 : 8~1 : 32	保护	
	20	未见异常	<1 : 8~1 : 8	保护	
G6	26	精神不振, 食欲减退, 排稀便、黏便	1 : 128~1 : 2 048	发病	0
	27	食欲减退, 排黏便	1 : 64~1 : 512	发病	
	28	精神不振, 食欲废绝, 排稀便、黏便	1 : 64~1 : 2 048	发病	
	29	食欲减退, 排稀便、黏便	1 : 8~1 : 256	发病	
	30	精神不振, 食欲减退, 排稀便、黏便	1 : 64~1 : 1 024	发病	

表 5 攻毒前后水貂粪便中水貂肠炎病毒 HA 效价测定结果

组别	水貂编号	攻毒后时间/d					
		0	3	4	5	6	7
G2	6	<1 : 8	1 : 16	<1 : 8	<1 : 8	<1 : 8	<1 : 8
	7	<1 : 8	<1 : 8	1 : 8	1 : 8	<1 : 8	<1 : 8
	8	<1 : 8	<1 : 8	<1 : 8	<1 : 8	<1 : 8	<1 : 8
	9	<1 : 8	<1 : 8	1 : 8	<1 : 8	<1 : 8	<1 : 8
	10	<1 : 8	1 : 32	1 : 8	1 : 16	1 : 8	<1 : 8
G4	16	<1 : 8	1 : 8	<1 : 8	<1 : 8	<1 : 8	<1 : 8
	17	<1 : 8	1 : 8	<1 : 8	<1 : 8	<1 : 8	<1 : 8
	18	<1 : 8	1 : 8	1 : 16	1 : 8	1 : 8	<1 : 8
	19	<1 : 8	1 : 8	1 : 32	1 : 8	<1 : 8	<1 : 8
	20	<1 : 8	<1 : 8	1 : 8	1 : 8	1 : 8	<1 : 8
G6	26	<1 : 8	1 : 128	1 : 2 048	1 : 2 048	1 : 256	1 : 256
	27	<1 : 8	1 : 512	1 : 128	1 : 128	1 : 64	1 : 64
	28	<1 : 8	1 : 1 024	1 : 2 048	1 : 2 048	1 : 512	1 : 64
	29	<1 : 8	1 : 16	1 : 256	1 : 256	1 : 32	1 : 8
	30	<1 : 8	1 : 512	1 : 1 024	1 : 1 024	1 : 256	1 : 64

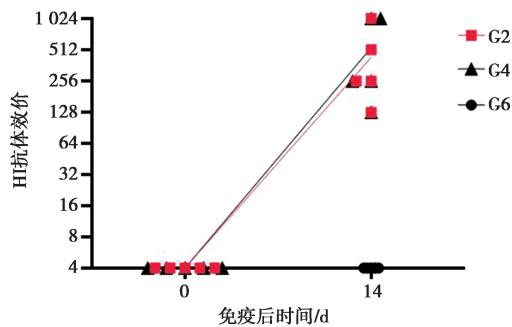
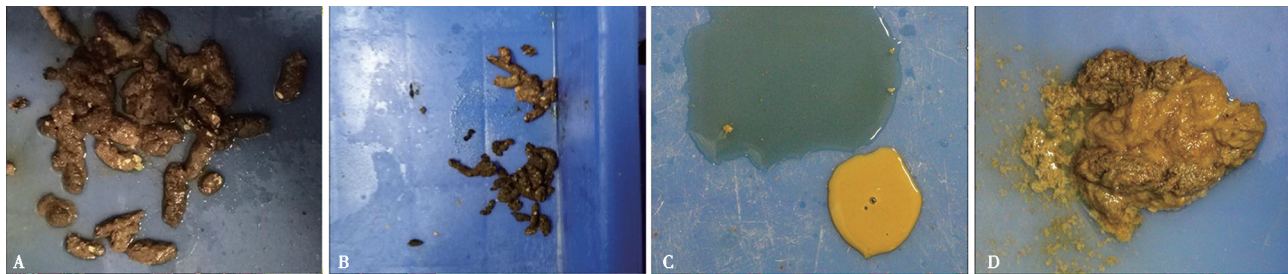
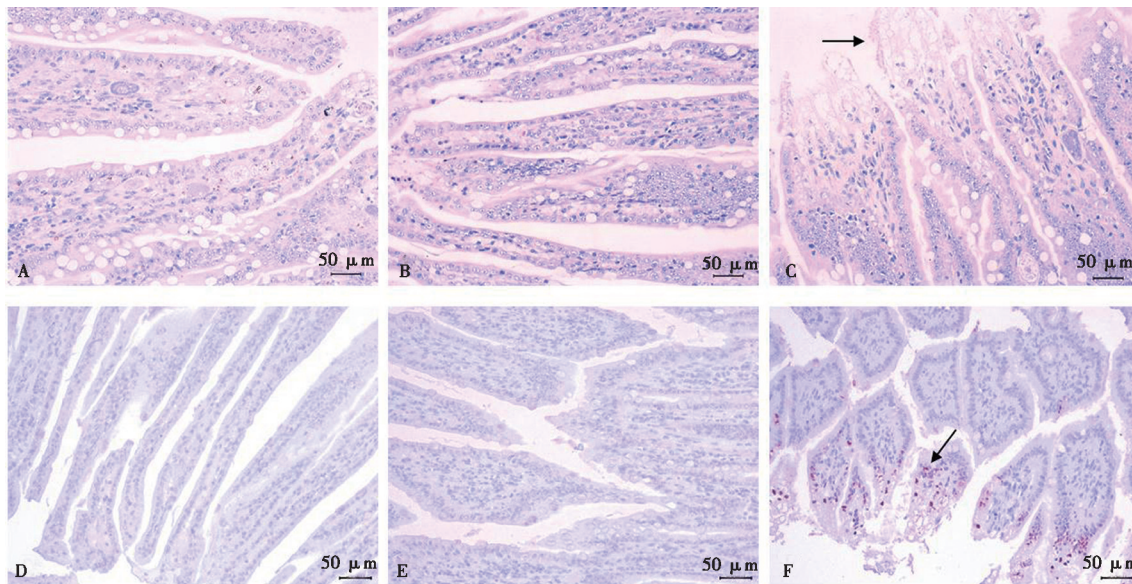


图4 水貂血清 MEV HI 抗体检测结果



A、B. G2、G4组水貂粪便未见异常；C、D. G6组水貂排稀便、黏便。

图5 MEV 攻毒后临床观察



A~C. G2、G4、G6组空肠 HE 染色；D~F. G2、G4、G6组空肠免疫组化检测。箭头表示空肠病理变化及免疫组化阳性处。

图6 MEV 攻毒后空肠 HE 染色和免疫组化检测结果

### 3 讨论

CDV 和 MEV 是危害水貂养殖业的两大病原，给水貂养殖业带来巨大损失<sup>[11-15]</sup>，主要采用接种疫苗进行预防，目前临床上已经将 CDV 疫苗、MEV 疫苗纳入养殖场的常规免疫程序中。早期免疫程序中，将

两种疫苗在不同时间接种，或者在同一时间、不同部位注射，从而达到防疾病的目的，但是该免疫程序仍有优化的空间。

为了减少水貂群的免疫应激次数，降低防疫成本，优化水貂群免疫程序，本研究使用 MEV 亚单位疫苗稀释 CDV 活疫苗，混合后在室温静置 2 h 检测

CDV 含量无明显下降, 为临床上混合疫苗的使用提供时间保证。罗国良等<sup>[16]</sup>研究显示水貂细小病毒性肠炎灭活疫苗稀释犬瘟热活疫苗, 在 25 ℃ 条件下存放 5 h 内对 CDV 含量无明显影响, 与本文的研究结果相近。临床实际情况下, 犬瘟热活疫苗复溶后 2 h 内即可用完, 本文未检测两种疫苗混合后室温保存 2 h 或更长时间的 CDV 含量, 但是两种疫苗混合后 2 h 内 CDV 含量无明显下降, 可以满足临床使用。

为了评价 MEV 亚单位疫苗和 CDV 活疫苗混合免疫的效果, 本研究筛选 CDV 抗原、MEV 抗原、CDV 抗体、MEV 抗体均为阴性的健康水貂, 进行混合疫苗的免疫效果评价。CDV 和 MEV 的免疫效力, 均采用血清学方法和免疫攻毒方法进行评价, 结果混合使用的效果与 MEV 亚单位疫苗单独使用、CDV 活疫苗单独使用的效果相当, 均能诱导产生高滴度的抗体效价。CDV 攻毒后免疫水貂未出现犬瘟热的临床表现, 眼鼻拭子中未检测到 CDV 抗原, 剖检后肺脏未见明显病理变化, 免疫组化检测为 CDV 抗原阴性; MEV 攻毒后免疫水貂未出现病毒性肠炎的临床表现, 粪便样品对猪红细胞的凝集效价远低于对照组, 剖检后空肠未见明显病理变化, 免疫组化检测为 MEV 阴性, 表明混合免疫后可产生对 CDV、MEV 良好的保护效果。

综上, MEV 亚单位疫苗稀释 CDV 活疫苗, 混合免疫后各组的免疫效力均不受影响, 从而为此两种疫苗的联合使用提供试验依据, 为其推广应用奠定基础。

## 参考文献:

- [1] APPEL M J. Canine distemper virus in virus infections of carnivores [M]. New York: Appel M J, 1987: 133-159.
- [2] RIKULA U, PÄNKÄLÄ L, JALKANEN L, et al. Distemper vaccination of farmed fur animals in Finland [J]. *Prev Vet Med*, 2001, 49 (1/2): 125-33.
- [3] ZHANG Q M, WANG Y P, JI Q, et al. Selection of antiviral peptides against mink enteritis virus using a phage display peptide library [J]. *Curr Microbiol*, 2013, 66 (4): 379-384.
- [4] REYNOLDS H A. Some clinical and hematological features of virus enteritis of mink [J]. *Can J Comp Med*, 1969, 33 (2): 155.
- [5] HUNDT B, BEST C, SCHLAWIN N, et al. Establishment of a mink enteritis vaccine production process in stirred-tank reactor and wave bioreactor microcarrier culture in 1-10 L scale [J]. *Vaccine*, 2007, 25 (20): 3987-3995.
- [6] 程世鹏, 吴威, 闫喜军. 毛皮动物主要传染病免疫失败原因分析及防控措施 [J]. *特产研究*, 2004, 26 (4): 4.
- [7] 石英男, 王玉田, 郭俊林, 等. 1 起水貂犬瘟热的诊断与防控 [J]. *畜牧与兽医*, 2006 (9): 46.
- [8] VACEK I, LAWSON K F, GREGG W A. An attenuated mink enteritis virus and its use in a trivalent vaccine: studies on safety and antigenicity [J]. *Can Vet J*, 1977, 18 (11): 301-308.
- [9] JIN H L, XIA X Z, LIU B, et al. High-yield production of canine parvovirus virus-like particles in a baculovirus expression system [J]. *Arch Virol*, 2016, 161 (3): 705-710.
- [10] 吴洪超, 王凌霄, 霍宁宁, 等. 新生水貂肠炎病毒母源抗体消长规律及其亚单位疫苗免疫效果研究 [J]. *中国畜牧兽医*, 2020, 47 (11): 3705-3712.
- [11] 闫喜军, 柴秀丽, 吴威, 等. 水貂肠炎细小病毒分离鉴定 [J]. *畜牧与兽医*, 2007 (3): 52-53.
- [12] 王兆学, 毕可东. 水貂犬瘟热的诊断及蜂胶组织灭活疫苗的研制与应用 [J]. *畜牧与兽医*, 2008, 40 (5): 79-81.
- [13] 周保琨, 江欣, 宋晓明, 等. 1 例水貂犬瘟热病毒和绿脓杆菌混合感染的诊治 [J]. *畜牧与兽医*, 2015, 47 (5): 112-114.
- [14] 王建科, 易立, 许红丽, 等. 水貂肠炎病毒 LN-10 分离株的分离鉴定 [J]. *中国预防兽医学报*, 2012, 34 (6): 440-443.
- [15] 王媛, 秦晓冰, 单虎. 山东地区水貂病的流行病学调查 [J]. *畜牧与兽医*, 2013, 45 (4): 86-88.
- [16] 罗国良, 王振军, 冯二凯, 等. 水貂犬瘟热活疫苗与水貂细小病毒性肠炎灭活疫苗制备及其联合免疫效果研究 [J]. *特产研究*, 2019, 41 (1): 22-25.