

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2023.05.02

三种猪用疫苗联合免疫的可行性分析

陈昌海¹, 连拯民², 邱冬¹, 宋晓莉¹, 开妍¹, 李向东², 王相子¹, 邵坤³, 朱心访⁴

(1. 江苏省动物疫病预防控制中心, 南京 210036; 2. 扬州大学兽医学院, 江苏扬州 225009;

3. 盱眙县动物疫病预防控制中心, 江苏淮安 211700; 4. 温氏食品集团股份有限公司江苏养猪公司, 江苏淮安 223001)

[收稿日期] 2022-10-25 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2023) 05-0006-07 [中图分类号] S859.797

[摘要] 为简化免疫程序, 减少免疫次数, 降低反复多次免疫对猪只的应激, 采用三种猪用疫苗联合免疫进行可行性分析。首先将猪瘟、猪丹毒、猪多杀性巴氏杆菌病三联活疫苗与猪伪狂犬病活疫苗进行混合, 测定了混合后猪瘟病毒、伪狂犬病病毒、猪丹毒杆菌和多杀性巴氏杆菌的活性。同时, 在试验猪群中开展混合疫苗与猪圆环病毒 2 型灭活疫苗同步两点注射的联合免疫效果评价。结果显示, 三联活疫苗和猪伪狂犬病活疫苗的混合疫苗与猪圆环病毒 2 型灭活疫苗的联合免疫不会降低疫苗的免疫效果, 且能够达到较单独免疫更好的免疫效果, 表明采用三种猪用疫苗进行联合免疫是完全可行的。

[关键词] 猪瘟、猪丹毒、猪多杀性巴氏杆菌病三联活疫苗; 猪伪狂犬病活疫苗; 猪圆环病毒 2 型灭活疫苗; 联合免疫效果

Feasibility Analysis of Combined Immunization with Three Kinds of Swine Vaccines

CHEN Chang-hai¹, LIAN Zheng-min², QIU Dong¹, SONG Xiao-li¹, KAI Yan¹, LI Xiang-dong²,
WANG Xiang-zi¹, SHAO Kun³, ZHU Xin-fang⁴

(1. Jiangsu Provincial Animal Disease Control Center, Nanjing 210036, China;

2. College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China;

3. Xuyi Animal Disease Control Center, Huai'an, Jiangsu 211700, China;

4. Wenshi Food Group Co., Ltd. Jiangsu Pig Farming Company, Huai'an, Jiangsu 223001, China)

Abstract: In order to simplify the immunization procedure, reduce the frequency of immunizations, and reduce the stress response caused by multiple immunizations, three kinds of swine vaccines were used for combined immunization to carry out feasibility analysis. First, the combined classical swine fever, swine erysipelas and *Pasteurella multocida* live vaccine was mixed with swine pseudorabies live vaccine, and the activities of the combined classical swine fever virus, pseudorabies virus, and *Erysipelothrix rhusiopathiae* and *Pasteurella*

基金项目: 江苏现代农业(生猪)产业技术体系疾病防控创新团队(JATS【2021】358)

作者简介: 陈昌海, 硕士研究生, 推广研究员, 从事动物疫病防控与新技术研究推广工作。E-mail: cchai63@126.com

multocida were measured. At the same time, the evaluation of immune effect on the two - point simultaneous injection of combined vaccines and porcine circovirus type 2 inactivated vaccine was performed on pigs. The results showed that the immune effect of classical swine fever, swine erysipelas and *Pasteurella multocida* live vaccine, swine pseudorabies live vaccine and porcine circovirus type 2 inactivated vaccine was not weakened by combined immunization. And it was more effective than respective immunization of three vaccines. This indicates that the use of three swine vaccines for combined immunization is completely feasible.

Key words: combined classical swine fever, swine erysipelas and *Pasteurella multocida* live vaccine; swine pseudorabies live vaccine; porcine circovirus type 2 inactivated vaccine; combined immune effect

猪伪狂犬病(Porcine pseudorabies, PR)是由伪狂犬病毒(Pseudorabies virus, PRV)引起的家畜和野生动物的一种急性传染病,感染母猪表现流产、死胎、弱仔、木乃伊胎等繁殖障碍症状^[1]。猪瘟(Classical swine fever, CSF)是由猪瘟病毒(Classical swine fever virus, CSFV)感染引起的一种具有高度传染性的烈性传染病,是世界动物卫生组织必须通报的疾病之一^[2]。CSFV 能够感染仔猪和成年猪,并引起严重的临床症状,对养猪业威胁巨大,在我国被列为重点防控的二类疫病^[3]。猪圆环病毒病(Porcine circovirus disease)是由猪圆环病毒 2 型(Porcine circovirus type 2, PCV2)引起猪的多种疾病的总称,包括断奶仔猪多系统综合征、猪呼吸道疾病综合征、猪皮炎与肾病综合征,幼龄仔猪先天性震颤以及怀孕母猪繁殖障碍等^[4-5];自 2000 年左右传入中国以来^[6-7],在我国猪群中广泛传播,临床上出现了 CSFV 与 PCV2 以及其他病毒混合感染的现象^[8]。猪丹毒(Swine erysipelas)是由猪丹毒杆菌引起的一种猪的急性、热性、败血性传染病,主要表现为急性型呈败血症症状,亚急性型在皮肤上出现紫红色疹块,慢性型为非化脓性关节炎和疣状心内膜炎。猪多杀性巴氏杆菌病(Swine pasteurellosis)是由多杀性巴氏杆菌引起的急性流行性或散发性和继发性传染病,又叫猪肺疫,俗称“锁喉风”或“肿脖子瘟”。急性病例为出血性败血症、咽喉炎和肺炎的病状,慢性病例主要为慢性肺炎症状,散发性发生。猪丹毒和猪肺疫这两种细菌病常与猪瘟、猪伪狂犬病混合或继发感染,对我国养猪业产生了严重影响。

疫苗的免疫接种对猪伪狂犬病、猪瘟、猪丹毒、猪巴氏杆菌病和猪圆环病毒病这几种传染病的防控极为重要^[9]。在生产实践中,猪圆环病毒病在猪群中比较普遍,对猪只免疫系统造成抑制;猪伪狂犬病会导致母猪流产,仔猪出现神经症状;猪瘟也会产生繁殖障碍和免疫抑制,因此免疫三种疫苗对猪病防控具有极其重要意义。临床上常将猪瘟、猪丹毒、猪巴氏杆菌病制成三联活疫苗(猪三联活疫苗),推荐免疫时间为断奶半个月以上的猪接种 1 次,断奶后 2 个月左右再接种 1 次。猪伪狂犬病也主要以弱毒活疫苗为主,而应用最广泛的猪圆环病毒 2 型疫苗为全病毒灭活苗。临床上需要进行多种疫苗免疫,为减少猪只免疫应激和免疫暴露,疫苗联合免疫具有很强的必要性。本试验评价研究了猪伪狂犬病活疫苗和猪瘟、猪丹毒、猪多杀性巴氏杆菌病三联活疫苗以及猪圆环病毒 2 型灭活疫苗的联合免疫效果。

1 材料与方法

1.1 主要材料和试剂 猪伪狂犬病活疫苗(Bartha - k61 株),广东温氏大华农生物科技有限公司生产(批号 20201605);猪瘟、猪丹毒、猪多杀性巴氏杆菌病三联活疫苗(细胞源 + G4T10 株 + EO630 株),中牧实业股份有限公司江西生物药厂生产(批号:2101009);猪圆环病毒 2 型灭活疫苗(CP08 株)购于扬州优邦生物制品有限公司(批号:21160310)。猪源特异性抗体由实验室保存,FITC 标记的兔抗猪二抗购于 Sigma 公司。猪瘟病毒单抗竞争 ELISA 抗体检测试剂盒购于兰州普研生物科技有限公司(批号:20211130140);

猪伪狂犬病毒 gE 阻断 ELISA 抗体检测试剂盒(批号:CE2021112101)、猪伪狂犬病毒 gB 竞争 ELISA 抗体检测试剂盒(批号:TE210902)、猪圆环病毒 2 型间接 ELISA 抗体检测试剂盒(批号:CE2021010901)均购于洛阳莱普生信息科技有限公司;多杀性巴氏杆菌抗体 ELISA 试剂盒(批号:1PMAB21108)购于韩国迈迪安(MEDIAN)科技有限公司;猪瘟病毒特异性抗血清购自中国兽医药品监察所。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 本研究所使用的细胞为实验室保存的 PK-15 细胞和 Vero 细胞。分别从液氮中取出保存的细胞,于 37 ℃ 水浴锅中快速解冻,将解冻后的细胞冻存液转移至 15 mL 离心管,1000 r/min 室温离心 5 min,弃去上清,加入适量的 DMEM (10% FBS 和 1% PBS)将细胞悬浮均匀,于细胞培养箱培养。复苏的细胞培养 24 h 后进行细胞传代,连续传代 2~3 次后,细胞活性状态恢复至最佳生长状态。

1.2.2 猪瘟病毒滴度检测 分别取猪伪狂犬病活疫苗(按说明书稀释)和猪瘟、猪丹毒、猪多杀性巴氏杆菌病三联活疫苗(按说明书稀释)以及两种疫苗混合后 1 h 和 2 h 样品,做 10 倍梯度稀释。取稀释后的猪伪狂犬病活疫苗和混合疫苗,分别使用 0.22 μm 的滤器过滤后,使用 PK-15 细胞悬液稀释过滤后的猪三联活疫苗和混合疫苗,并分别接种 96 孔板,用于测定猪瘟病毒滴度。所有样品的每个稀释度做 8 个重复,每孔 100 μL,置于 37 ℃ 含有 5% CO₂ 培养箱中培养 4 d 后,弃去上清,用甲醛固定,加入猪瘟病毒特异性抗血清作用 1 h, PBST 洗板后加入 FITC 标记的二抗,作用 1 h,洗板后在荧光显微镜下逐孔观察判读绿色荧光,使用 Reed-Muench 法计算病毒 TCID₅₀。

1.2.3 伪狂犬病毒滴度检测 将上述经过滤的猪三联活疫苗和混合疫苗接种培养有 Vero 细胞的 96 孔板,用于测定伪狂犬病毒滴度,每个稀释度做 8 个重复,每孔 100 μL,置于 37 ℃ 含有 5% CO₂ 培养箱中培养 4 d 后,观察细胞病变情况,使用 Reed-

Muench 法计算病毒 TCID₅₀。

1.2.4 猪丹毒杆菌和猪多杀性巴氏杆菌活性检测 将稀释的猪瘟、猪丹毒、猪多杀性巴氏杆菌病三联活疫苗和混合疫苗室温孵育 1 h 和 2 h 后,10 倍梯度稀释,将稀释液(未经 0.22 μm 的滤器过滤)涂布血平板,于 37 ℃ 培养后计算菌落数量。

1.2.5 试验猪群的免疫接种 试验选择 65 日龄猪,试验前由该猪场按其规定的免疫程序分别在 1 日龄免疫猪伪狂犬病活疫苗,14 日龄免疫猪支原体肺炎灭活疫苗和猪繁殖与呼吸综合征活疫苗,21 日龄免疫猪圆环病毒灭活疫苗、猪瘟活疫苗和猪伪狂犬病活疫苗(混合)分边免疫,50 日龄分边免疫猪繁殖与呼吸综合征活疫苗、猪圆环病毒 2 型灭活疫苗。将 80 头猪分为 4 组,每组 20 头,联合免疫组(试验组)使用猪伪狂犬病活疫苗和猪瘟、猪丹毒、猪多杀性巴氏杆菌病三联疫苗混合疫苗(混合后 1 h 内完成免疫注射)与猪圆环病毒 2 型灭活疫苗同时分点注射免疫;其余 3 组(对照组)分别为猪伪狂犬病活疫苗和猪瘟、猪丹毒、猪多杀性巴氏杆菌病三联疫苗以及猪圆环病毒 2 型灭活疫苗的单免疫组。本试验所免疫疫苗完全符合该猪场后续免疫程序,只改变试验组的疫苗注射方式(多种疫苗联合免疫)。

1.2.6 猪群免疫后生产性能的监测 免疫接种后,观察并分别记录各组免疫猪的体温变化、采食情况、精神状态的表现;同时,记录所有受试猪的生长状态,并计算其死淘率和相对增重情况。试验开始时,65 日龄受试猪群的 10 头猪平均体重为 20.5 kg;试验结束时,共 155 d,每组随机选 10 头猪称重,取平均值,再按 155 d 计算平均日增重。

1.2.7 免疫猪群的抗体变化监测 免疫前 0 d、免疫后 14 d、28 d、60 d 和 90 d 分别对 4 组试验猪群进行采血,每组每次采 15~20 头猪血清样品,保存待检。分别用猪瘟病毒单抗竞争 ELISA 抗体检测试剂盒、猪伪狂犬病毒 gE 阻断 ELISA 抗体检测试剂盒、猪伪狂犬病毒 gB 竞争 ELISA 抗体检测试剂盒、多杀性巴氏杆菌抗体 ELISA 试剂盒、猪圆环病毒 2 型间接 ELISA 抗体检测试剂盒检测相应的抗

体,并对检测结果进行统计学分析,评价不同免疫方式的免疫效果。

2 结果与分析

2.1 混合疫苗中猪瘟病毒滴度分析 室温条件下,将稀释的猪伪狂犬病活疫苗和猪瘟、猪丹毒、猪多杀性巴氏杆菌病三联疫苗混合后,感染 PK-15 细胞,通过间接免疫荧光方法检测猪瘟病毒的 TCID₅₀,进而分析两种疫苗混合对猪瘟病毒滴度的影响。结果如表 1 所示,两种疫苗混合后 1 h 内,猪瘟病毒滴度没有明显降低 ($P > 0.05$);混合后 2 h,病毒滴度稍有降低 ($P > 0.05$),但是差异不显著。

2.2 混合疫苗中伪狂犬病毒滴度分析 通过上述相同的方法,将稀释的混合疫苗感染 Vero 细胞,观察细胞病变情况,测定伪狂犬病毒的 TCID₅₀,进而分析两种疫苗混合对伪狂犬病毒滴度的影响。结果如表 2 所示,两种疫苗混合后 1 h 内,伪狂犬病毒滴度没有明显的降低 ($P > 0.05$);混合后 2 h,伪狂犬病毒滴度稍有降低 ($P > 0.05$),但是差异不显著。

2.3 混合疫苗中猪丹毒杆菌和猪多杀性巴氏杆菌活性分析 为进一步分析混合疫苗中猪丹毒杆菌和多杀性巴氏杆菌的活性变化,将室温孵育 1 h、2 h 的混合疫苗和未混合的三联疫苗梯度稀释后,涂布血平板,37 °C 培养,计算菌落总数。结果如表 3 所示,两种疫苗混合后 1 h 内,活菌总数没有明显的降低 ($P > 0.05$);混合后 2 h,活菌总数稍有降低 ($P > 0.05$),但是差异不显著。

表 1 猪瘟病毒滴度检测结果

分组	病毒滴度/(TCID ₅₀ · mL ⁻¹)
未混合	10 ^{3.5}
混合 1 h	10 ^{3.37}
混合 2 h	10 ^{2.54}

表 2 伪狂犬病毒滴度检测结果

分组	病毒滴度/(TCID ₅₀ · mL ⁻¹)
未混合	10 ^{3.83}
混合 1 h	10 ^{3.9}
混合 2 h	10 ^{3.01}

表 3 疫苗中活菌总数检测结果

分组	活菌含量/(CFU · mL ⁻¹)
未混合	9.23 × 10 ⁸
混合 1 h	9.56 × 10 ⁸
混合 2 h	8.81 × 10 ⁸

2.4 联合免疫对猪群生产性能的影响 混合疫苗联合免疫后,在试验期间对不同免疫组猪群的精神状态、采食情况、体温、增重情况、死淘率等个体状态和生产性能进行检测和记录,以分析联合免疫方式对猪群个体状态和生产性能的影响。结果如表 4 和表 5 所示,联合免疫猪的个体状态和生产性能均表现正常,与单独免疫组无明显差异,未出现异常的应激状况和死淘情况。

表 4 免疫后 5 d(70 日龄)各组猪只育肥至中期的状态表现

Tab 4 Performance of fattening to mid stage in each group of pigs at 5 days (70 days old) after immunization

组别	免疫后 5 d(70 日龄)			育肥至中期	
	精神状态	采食情况	体温异常	采食情况	健康状况
联合免疫组	良好	正常	无	正常	良好
猪伪狂犬病活疫苗免疫组	良好	正常	无	正常	良好
猪三联活疫苗免疫组	良好	正常	无	正常	良好
猪圆环病毒 2 型灭活疫苗免疫组	良好	正常	无	正常	良好

表 5 受试猪在整个试验期间的死淘率及生长情况

Tab 5 Death rate and growth of tested pigs during the whole test period

组别	试验开始猪头数	试验结束猪头数	死淘率/%	试验结束平均体重/kg	平均日增重/g
联合免疫组	20	20	0	85.8	725.6
猪伪狂犬病活疫苗免疫组	20	20	0	86.0	727.8
猪三联活疫苗免疫组	20	20	0	85.7	724.4
猪圆环病毒 2 型灭活疫苗免疫组	20	20	0	85.7	724.4

2.5 联合免疫的免疫效果评价 受试猪群免疫前 0 d、免疫后 14 d、28 d、60 d、90 d 分别采血,检测猪伪狂犬、猪瘟、猪多杀性巴氏杆菌病以及猪圆环病毒病的抗体水平,分析联合免疫与各自单独两种方式免疫后,抗体阳性率随时间变化情况。猪伪狂犬病抗体在免疫后 14 d 达到了峰值,试验组的猪伪狂犬抗体阳性率在免疫后 28 d 内高于对照组 ($P < 0.05$) (图 1);猪多杀性巴氏杆菌病抗体在免疫后 28 d 达到了峰值,试验组的猪多杀性巴氏杆菌抗体

阳性率整体高于对照组 ($P < 0.05$) (图 2);猪瘟抗体在 14 ~ 60 d 整体呈上升趋势,试验组在免疫后 28 ~ 90 d 的猪瘟病毒抗体阳性率峰值能够达到比对照组更高的水平 ($P < 0.05$) (图 3);试验组的猪圆环病毒 2 型抗体阳性率能够长时间保持较对照组更高的水平且在免疫后 14 d 和免疫后 60 d 高于对照组 ($P < 0.05$) (图 4)。但是由于目前未有猪丹毒杆菌疫苗免疫效果评价的商品化试剂盒,因此无法对猪丹毒杆菌的抗体水平进行监测。

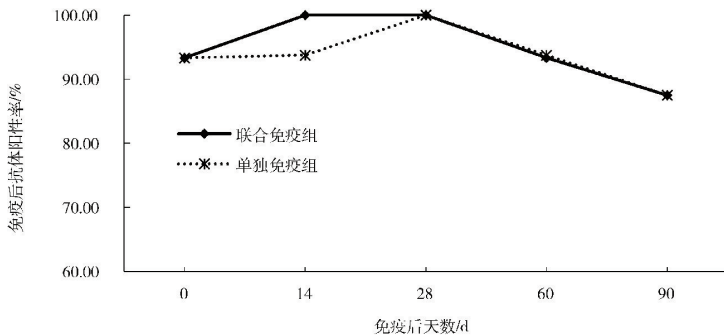


图 1 联合免疫组和单独免疫组猪伪狂犬病抗体阳性率比较分析

Fig 1 Comparative analysis of the positive rate of pseudorabies in pigs immunized with combined immunization group and single immunization group

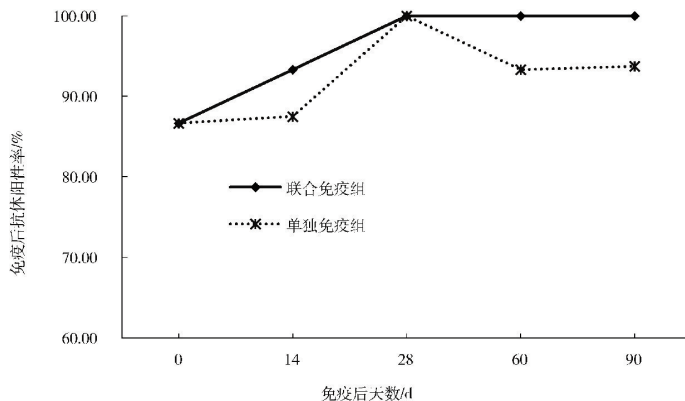


图 2 联合免疫组和单独免疫组多杀巴氏杆菌病抗体阳性率比较分析

Fig 2 Comparative analysis of positive rate of *Pasteurella multocida* in combined immunization group and single immunization group

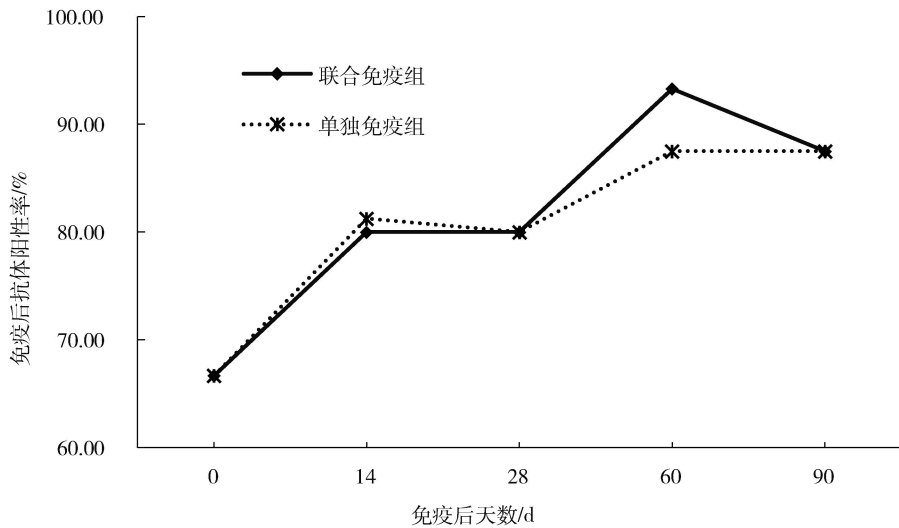


图 3 联合免疫组和单独免疫组猪瘟抗体阳性率比较分析

Fig 3 Comparative analysis of csf positive rate between combined immunization group and single immunization group

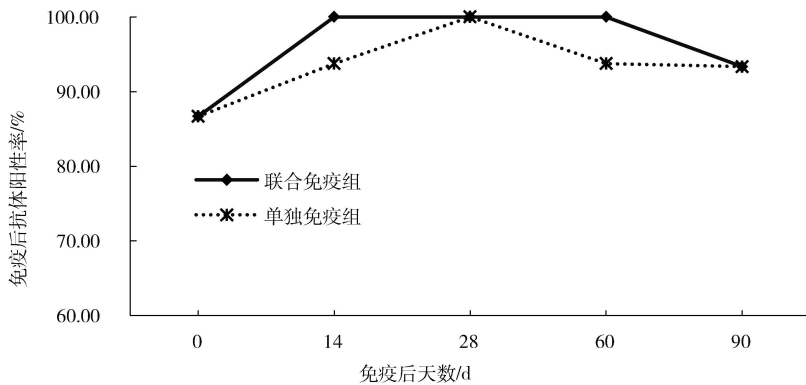


图 4 联合免疫组和单独免疫组猪圆环病毒 2 型抗体阳性率比较分析

Fig 4 Comparative analysis of the positive rate of porcine circovirus type 2 in combined immunization group and single immunization group

3 讨论

本研究通过评价猪伪狂犬病活疫苗与猪瘟、猪丹毒、猪多杀性巴氏杆菌病三联活疫苗的混合对疫苗活性的影响,发现两种疫苗的活性在混合后 1 h 内不会降低,混合后 2 h 稍有下降,因此在临床免疫过程中,混合疫苗需要在 1 h 内注射完成,室温长时间放置可能会降低疫苗的免疫效果。进一步通过对不同免疫方式受试猪的免疫安全性,免疫后生产性能的比较分析,以及免疫后各病种抗体水平的检测,证明了猪伪狂犬病活疫苗与猪瘟、猪丹毒、猪多杀性巴氏杆菌病三联活疫苗混合再与猪圆环

病毒 2 型灭活疫苗同步两点联合免疫技术的科学性与可行性。为猪伪狂犬病、猪瘟、猪丹毒、猪多杀性巴氏杆菌病以及猪圆环病毒病的免疫提供了一种实用的免疫技术,解决了因生猪病种多导致免疫工作量大、周期长、效率低、质量差等难题,转变了生猪过去三种疫苗分三个阶段免疫的传统免疫方式,使生猪免疫工作转变为三种疫苗二种混合同步联合两点免疫一次完成,降低了防疫劳动强度,减少了工作量,缩短了免疫周期,减少了免疫应激反应次数,降低了疫病发生风险,尤其是在当前非洲猪瘟防控的背景下,更需要最大程度减少人与猪接

触和降低生产成本,而能够达到一针多防的联合免疫方式可以在保持免疫效果的同时优化免疫程序,降低疫病风险和养殖成本,提高了工作效率。

科学实施免疫抗体监测,是掌握疫苗免疫效果的重要手段。不同种类的疫苗,免疫抗体产生时间、达到免疫合格率的时间和抗体维持时间不尽一致,因而应根据疫苗免疫后抗体监测结果确定某个时间段开展免疫效果监测最合适。本次三种疫苗联合免疫效果评价结果表明,猪伪狂犬病活疫苗与猪三联活疫苗混合再与猪圆环病毒 2 型灭活苗联合同步二点免疫,在免疫后 14 ~ 90 d 开展免疫效果同步评估,伪狂犬病毒 gB 抗体、猪瘟抗体、猪多杀性巴氏杆菌病抗体、猪圆环病毒病抗体都达到国家有关规定个体免疫抗体合格率 70% 的标准要求^[10]。研究结果显示联合免疫的抗体阳性率几乎均高于单独免疫组,这可能与联合免疫组同时注射不同类型的疫苗更容易激发猪只的免疫有关,联合免疫中的细菌毒株可能发挥了免疫佐剂的作用。在不影响免疫动物产生抗体的前提下,联合免疫能够在一定程度上优化猪群的免疫程序。因此,为简化免疫程序,达到一针多防的免疫效果,两种或两种以上疫苗的联合免疫以及多联疫苗的使用将成为临床免疫的趋势。

参考文献:

- [1] 陈溥言. 兽医传染病学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2015.
Chen P L. *Veterinary Infectious Diseases* [M] Beijing: China Agricultural Publishing House, 2015.
- [2] Luo Y, Li S, Sun Y, *et al.* Classical swine fever in China: a minireview [J]. *Vet Microbiol*, 2014, 172(1/2): 1-6.
- [3] Zhou B. Classical swine fever in China - an update minireview [J]. *Front Vet Sci*, 2019, 6: 187.
- [4] Huang Y L, Pang V F, Lin C M, *et al.* Porcine circovirus type 2 (PCV2) infection decreases the efficacy of an attenuated classical swine fever virus (CSFV) vaccine [J]. *Vet Res*, 2011, 42(1): 115.
- [5] Opriessnig T, Karuppanan A K, Castro A, *et al.* Porcine circoviruses: current status, knowledge gaps and challenges [J]. *Virus Res*, 2020, 286: 198044.
- [6] 芦银华, 华修国, 陈德胜, 等. 猪圆环病毒 2 型分离毒株全基因组的克隆及序列分析 [J]. *病毒学报*, 2003 (1): 42-46.
Lu Y H, Hua X G, Chen D H, *et al.* Cloning and Sequence Analysis of the Whole Genome of Porcine Circovirus Type 2 Isolates [J]. *Journal of Virology*, 2003 (1): 42-46
- [7] 郎洪武, 张广川, 吴发权, 等. 断奶猪多系统衰弱综合征血清抗体检测 [J]. *中国兽医科技*, 2000(3): 3-5.
Lang H W, Zhang G C, Wu F Q, *et al.* Detection of serum antibodies against multisystemic asthenia syndrome in weaning pigs [J]. *China Veterinary Science and Technology*, 2000(3): 3-5
- [8] Chen N, Huang Y, Ye M, *et al.* Co-infection status of classical swine fever virus (CSFV), porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and porcine circoviruses (PCV2 and PCV3) in eight regions of China from 2016 to 2018 [J]. *Infect Genet Evol*, 2019, 68: 127-135.
- [9] 陈昌海, 连拯民, 王相子, 等. 猪瘟病毒-猪圆环病毒 2 型疫苗联合免疫效果的评价 [J]. *畜牧与兽医*, 2022, 54(02): 119-123.
Chen C H, Lian Z M, Wang X Z, *et al.* Evaluation of the combined immune effect of classical swine fever virus and porcine circovirus type 2 vaccine [J]. *Livestock and Veterinary Medicine*, 2022, 54(02): 119-123.
- [10] 农业农村部关于印发国家动物疫病监测与流行病学调查计划(2021-2025)的通知[Z]. 北京: 农业农村部, 2021.
Notice of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs on Printing and Distributing the National Animal Disease Monitoring and Epidemiological Investigation Plan (2021-2025) [Z]. Beijing: Ministry of Agriculture and Rural Affairs, 2021.

(编辑:李文平)