

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2023.02.03

猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻二联活疫苗 耐热保护技术的研究

赵玉龙^{1,2}, 何平有^{1,2}, 刘明超^{2,3}, 刘涛^{1,2,3}, 焦玉兰^{1,2,3*}

(1. 瑞普(保定)生物药业有限公司, 河北保定 071000; 2. 河北省兽医生物技术创新中心, 河北保定 071000;

3. 河北农业大学动物医学院, 河北保定 071000)

[收稿日期] 2022-08-12 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2023) 02-0012-06 [中图分类号] S852.65

[摘要] 疫苗保护剂及其冻干工艺是影响疫苗效果的重要因素,对疫苗保存、运输及免疫效果有很大影响。为提高疫苗质量,在常规保护剂(明胶、蔗糖)基础上添加卡波姆、聚乙二醇和聚乙烯吡咯烷酮等基质,组成新型保护剂,分别在病毒液保存和疫苗冻干过程添加,并评价其病毒保护效果。结果表明:在半成品病毒液储存时加入 10% 新型保护剂,可使半成品保存期由原来的 2 个月延长至 12 个月。采用新型保护剂制备的猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻二联活疫苗,溶解性显著优于常规保护剂活疫苗,保存期由原来 -20℃ 保存 18 个月提高到 2~8℃ 保存 36 个月,且病毒活性及攻毒保护效力均优于原工艺产品,实现了储运过程中疫苗的冷藏储运,提升了疫苗的应用效果。

[关键词] 猪传染性胃肠炎;猪流行性腹泻;二联活疫苗;耐热保护技术

Study on Heat-resistant Protection Technology of Swine Transmissible Gastroenteritis and Porcine Epidemic Diarrhea Combined Live Vaccine

ZHAO Yu-long^{1,2}, HE Ping-you^{1,2}, LIU Ming-chao^{2,3}, LIU Tao^{1,2,3}, JIAO Yu-lan^{1,2,3*}

(1. Ringpu (Baoding) Biological Pharmaceutical Co., Ltd., Baoding, Hebei 071000, China; 2. Hebei Veterinary Biotechnology Innovation Center, Baoding, Hebei 071000, China; 3. Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei 071000, China)

Corresponding author: JIAO Yu-lan, E-mail: 013307600@163.com

Abstract: Vaccine protective agent and its lyophilized process are important factors affecting vaccine efficacy, which have great influence on vaccine preservation, transportation and immune efficacy. In order to improve the quality of the vaccine, carbomer, polyethylene glycol, polyvinylpyrrolidone and other matrices were added on the basis of the conventional protective agents to form new protective agents, which were added respectively during the process of venom preservation and vaccine lyophilization, and then its protective effect on the virus was evaluated. The results showed that the storage time of semi-finished venom could be extended from 2 months to 12 months by adding 10% new protective agent. The combined live vaccine of porcine infectious gastroenteritis and porcine

作者简介: 赵玉龙,高级兽医师,从事兽用生物制品研究。

通讯作者: 焦玉兰。E-mail:013307600@163.com

epidemic diarrhea prepared with the new protective agent has a significantly better solubility than the conventional protective agent live vaccine. At the same time, the shelf life of the vaccine was extended from 18 months at -20°C to 36 months at $2\sim 8^{\circ}\text{C}$, and the virus activity and virus-fighting protective efficacy are better than the original process products, which realizes the cold storage and transportation of vaccines during storage and transportation, and improved the effectiveness of the vaccine.

Key words: porcine infectious gastroenteritis; porcine epidemic diarrhea; combined live vaccine; heat-resistant protection technology

猪传染性胃肠炎(Transmissible gastroenteritis of swine, TGE)和猪流行性腹泻(Porcine epidemic diarrhea, PED)是常见的主要侵袭猪肠道的高度接触性传染病,常发生在冬春季,是猪的常见病,尤其对仔猪危害严重^[1-2],临床表现为哺乳仔猪的急性肠炎、呕吐、腹泻和高死亡率^[3]。

目前,疫苗免疫仍是防控该类疫病的主要手段^[4]。市场化的猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻二联弱毒冻干活疫苗,其毒力稳定、安全,对仔猪免疫效力确实^[5],但在疫苗生产和使用中仍存在一些问题:一是半成品病毒液保存时间短(-20°C 保存期仅2个月);二是冻干活疫苗保存条件高(需在 -20°C 保存,保存期18个月),疫苗储运过程不稳定,影响免疫效果^[6]。疫苗保护剂的成分及其制备、冻干工艺是影响疫苗效果的重要因素,对疫苗保存、运输及免疫效果有很大影响,本研究拟开发一种新型病毒保护剂,提高对病毒保护效果,提升疫苗质量。

本试验通过在常规保护剂(明胶、蔗糖)基础上添加卡波姆、硫酸锌、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮等基质,组成新型保护剂,分别在病毒液保存和疫苗冻干过程添加,通过对病毒液保存效果和疫苗常规检验以及病毒含量、安全性、免疫攻毒保护效果及耐老化试验等项目的对比研究,评价了新型保护剂病毒保护效果。

1 材料

1.1 病毒液 疫苗毒株为猪传染性胃肠炎病毒(TGEV)HB08株、猪流行性腹泻病毒(PEDV)ZJ08株。猪传染性胃肠炎半成品病毒液500 mL、猪流行性腹泻半成品病毒液500 mL,均由瑞普公司生产部提供。

1.2 疫苗保护剂成分 蔗糖、聚乙二醇购自天津市科密欧化学试剂有限公司;明胶、聚乙烯吡咯烷酮、卡波姆、硫酸锌购自默克公司。

1.3 试验动物 5日龄猪传染性胃肠炎和猪流行性腹泻病毒抗体阴性健康仔猪,购自河北省某养殖场。

2 方法

2.1 疫苗制备

2.1.1 保护剂的制备 试验用新型保护剂配方:10%明胶、50%蔗糖、5%卡波姆、1%硫酸锌、5%聚乙二醇、5%聚乙烯吡咯烷酮;常规保护剂配方:10%明胶、50%蔗糖。

2.1.2 病毒液制备 猪传染性胃肠炎半成品病毒液、猪流行性腹泻半成品病毒液均由瑞普公司生产部按照《中华人民共和国农业部公告第2323号》(下文简称《公告2323号》)半成品操作规程制备,病毒含量符合公告质量标准。

2.1.3 配苗、分装及冻干 按表1分组及操作方法进行配苗、分装及冻干。

2.2 保护剂保存及冻干效果评估

2.2.1 新型保护剂对病毒液保存效果的影响 按照表2分组方法进行病毒液保存效果试验。

2.2.2 冻干活疫苗常规项目及纯净性检验 按照《中华人民共和国兽药典2020年版三部》(下文简称《中国兽药典》)标准进行检验。

2.2.3 冻干活疫苗效力检验(病毒含量测定) 按照《公告2323号》标准进行检验。

2.2.4 冻干活疫苗免疫攻毒保护试验(测定攻毒保护效果) 按表3分组方法进行攻毒保护试验。

2.2.5 冻干活疫苗安全试验 按表4分组方法进行安全试验。

表 1 疫苗分装、冻干试验操作

Tab 1 Experimental operating method of loading and lyophilization

组别	病毒液保存	配苗分装	冻干
NLV	病毒液和保护剂按照 10:1 比例添加后置 -20 ℃ 冻存	-20 ℃ 取出用于冻干的病毒液,融化后加入冻存剩余的 9/10 保护剂,再按照病毒液与保护剂 1:1.2 的比例充分混合,分装后冻干	同一冻干机中采用同一冻干程序冻干。每瓶分装量 2 mL,每组配方分别冻干 3 批,每批次 300 瓶。
CLV	病毒液置 -20 ℃ 冻存	-20 ℃ 取出用于冻干的病毒液,按照病毒液与保护剂 1:1.2 的比例充分混合,分装后冻干	

NLV 代表新型保护剂疫苗组;CLV 代表常规保护剂疫苗组

表 2 病毒液保存效果试验

Tab 2 Experiment on preservation effect of disease venom

组别	病毒液	保护剂	病毒液病毒含量/ (TCID ₅₀ · mL ⁻¹)			
			0 个月	2 个月	4 个月	12 个月
NVF	TGEV 病毒液 PEDV 病毒液	病毒液: 保护剂 10:1				
CVF	TGEV 病毒液 PEDV 病毒液	不添加保护剂				

NVF 代表添加新型冻干保护剂病毒液组;CVF 代表未添加任何保护剂常规病毒液组

表 3 攻毒保护试验

Tab 3 Challenge protection experiment

组别	动物类别	动物数量	疫苗免疫	攻毒	判定标准
NLV	健康易感母猪 所产的 5 日龄 抗体阴性仔猪	5 头/组	肌肉注射 TGEV 疫苗 1 头份	口服 1000 × MID/mL 的 TGEV 组织强毒 (V - HB08 株)	观察 7 日,攻 毒对照仔猪 应至少 4 头 发病,免疫仔 猪应至少 4 头保护。
		5 头/组	肌肉注射 PEDV 疫苗 1 头份	口服 1000 × MID/ml 的 PEDV 组织强毒 (V - ZJ08 株)	
CLV		5 头/组	肌肉注射 TGEV 疫苗 1 头份	口服 1000 × MID/mL 的 TGEV 组织强毒 (V - HB08 株)	
		5 头/组	肌肉注射 PEDV 疫苗 1 头份	口服 1000 × MID/ml 的 PEDV 组织强毒 (V - ZJ08 株)	
NC		5 头/组	肌注灭菌生理盐水	口服 1000 × MID/mL 的 TGEV 组织强毒 (V - HB08 株)	
		5 头/组	肌注灭菌生理盐水	口服 1000 × MID/ml 的 PEDV 组织强毒 (V - ZJ08 株)	

NLV 代表新型保护剂疫苗组;CLV 代表常规保护剂疫苗组;NC 代表攻毒对照组

表 4 安全试验

Tab 4 Experimental operating method of safety inspection

组别	动物类别	动物数量	攻毒方式	攻毒剂量	判定标准
NLV	健康易感母猪所产的 5 日龄抗体阴性仔猪	2 头/组	肌肉注射	10 头份/mL	连续观察 14 日,仔猪均应无不良反应。
CLV		2 头/组			
CK		2 头/组		1 mL 灭菌生理盐水	

NLV 代表新型保护剂疫苗组;CLV 代表常规保护剂疫苗组;CK 代表空白对照组

2.2.6 冻干活疫苗耐老化试验 冻干后各组疫苗随机抽取 30 支,分别置 37 ℃ 保存 15 d,分别测定病毒含量。原来 -20 ℃ 保存改为 2 ~ 8 ℃ 保存,常规保护剂冻干活疫苗和新型保护剂冻干活疫苗保存 0、6、12、24 和 36 个月,分别测定病毒含量。

2.2.7 冻干活疫苗保存期试验 疫苗保存条件由

3 结果与分析

3.1 病毒液添加新型保护剂冻存效果验证 如表 5 所示,未添加保护剂的病毒液 -20 ℃ 仅保存 2 个月。添加新型保护剂的病毒液在 -20 ℃ 保存 12 个月后,病毒含量均无明显变化,TGEV 病毒含量仅下降 0.34 个滴度,PEDV 病毒含量仅下降 0.54 个滴度。

3.2 冻干后常规项目及纯净性检验结果 如表 6 所示,两种冻干保护剂活疫苗,物理性状、真空度、剩余水分和无菌检验结果均符合《中国兽药典》质量标准。在溶解性方面新型冻干保护剂活疫苗明显优于常规保护剂活疫苗。

3.3 冻干活疫苗效力试验(病毒含量测定) 如表 7 所示,新型保护剂活疫苗 TGEV 部分效力较常规保护剂活疫苗高 0.43 个滴度,PEDV 部分效力高 0.6 个滴度。

表 6 常规项目及纯净性检测结果

Tab 6 Routine tests and purity test results				
疫苗类别	冻干后物理性状	真空度	剩余水分	无菌检验
NLV	海绵状疏松团块,易与瓶壁脱离,加稀释液后迅速溶解	合格	合格	—
CLV	海绵状疏松团块,易与瓶壁脱离,加稀释液后充分摇晃后溶解	合格	合格	—

NLV 代表新型保护剂疫苗组;CLV 代表常规保护剂疫苗组;“—”表示无菌检验为阴性

表 7 效力试验结果

Tab 7 Effectiveness test result			TCID ₅₀ /mL
疫苗类别	效力检验结果		
	TGEV	PEDV	
NLV	10 ^{6.86}	10 ^{6.66}	
CLV	10 ^{6.43}	10 ^{6.06}	

NLV 代表新型保护剂疫苗组;CLV 代表常规保护剂疫苗组

表 8 攻毒保护及安全试验结果

Tab 8 Challenge protection and safety test results		
疫苗类别	免疫攻毒保护结果	安全试验结果
NLV	9.67/10	无疫苗引起的任何不良反应
CLV	8.33/10	
对照组	0/10	—

NLV 代表新型保护剂疫苗组;CLV 代表常规保护剂疫苗组;“—”代表未测

表 5 病毒液保存效果试验结果

Tab 5 Experimental results of preservation effect				TCID ₅₀ /mL
病毒液类别	of disease virus content			
	0 月	2 月	4 月	
NVF - T	10 ^{7.57}	10 ^{7.43}	10 ^{7.3}	10 ^{7.23}
CVF - T	10 ^{7.43}	10 ^{6.67}	10 ^{5.8}	10 ^{4.67}
NVF - P	10 ^{7.57}	10 ^{7.5}	10 ^{7.23}	10 ^{7.03}
CVF - P	10 ^{7.3}	10 ^{6.97}	10 ^{5.73}	10 ^{5.07}

NVF 代表添加新型保护剂病毒液组;CVF 代表未添加任何保护剂常规病毒液组;T 表示 TGEV,P 表示 PEDV

3.4 冻干活疫苗免疫攻毒保护试验、安全试验结果 如表 8 所示,新型保护剂疫苗保护效果优于常规保护剂。新型保护剂活疫苗可提供 9.67/10 保护,常规保护剂活疫苗免疫攻毒保护为 8.33/10;对照组 0/10 保护。

3.5 冻干活疫苗耐老化试验结果 如表 9 所示,新型保护剂活疫苗 37 ℃ 保存 15 d,其 TGEV 部分病毒含量降低 0.8 个滴度,PEDV 部分病毒含量降低 0.9 个滴度;而常规保护剂活疫苗病毒含量迅速下降,37 ℃ 保存期不足 5 d。

表 9 耐老化试验结果(37 ℃ 保存)

Tab 9 Results of aging resistance				TCID ₅₀ /mL
疫苗类别	0 d	5 d	10 d	15 d
NLV - T	10 ^{6.73}	10 ^{6.5}	10 ^{6.17}	10 ^{5.93}
NLV - P	10 ^{6.67}	10 ^{6.37}	10 ^{6.07}	10 ^{5.77}
CLV - T	10 ^{6.43}	10 ^{5.1}	10 ^{4.17}	10 ^{3.23}
CLV - P	10 ^{6.07}	10 ^{4.97}	10 ^{3.97}	10 ^{2.83}

NLV 代表新型保护剂疫苗组;CLV 代表常规保护剂疫苗组;T 代表 TGEV,P 代表 PEDV

3.6 冻干活疫苗保存期试验结果 如表 10 所示, 新型耐热保护剂活疫苗 2 ~ 8 ℃ 保存 36 个月, TGEV 部分病毒含量降低 0.3 个滴度, PEDV 部分病毒含量降低 0.5 个滴度, 且病毒含量高于农业部公告质量标准 (≥5.0 lg(TCID₅₀/头份)), 在冷藏条件下保存期可长达 36 个月; 常规保护剂活疫苗 2 ~ 8 ℃ 保存期仅为 6 个月。

表 10 保存期试验结果(2 ~ 8 ℃保存)
Tab 10 Retention period experiment results

疫苗类别	TCID ₅₀ /头份				
	0 个月	6 个月	12 个月	24 个月	36 个月
NLV - T	10 ^{6.73}	10 ^{6.77}	10 ^{6.63}	10 ^{6.57}	10 ^{6.43}
NLV - P	10 ^{6.67}	10 ^{6.5}	10 ^{6.57}	10 ^{6.37}	10 ^{6.17}
CLV - T	10 ^{6.43}	10 ^{5.83}	10 ^{4.7}	10 ^{4.17}	—
CLV - P	10 ^{6.07}	10 ^{5.43}	10 ^{4.73}	10 ^{4.13}	—

NLV 代表新型保护剂疫苗组; CLV 代表常规保护剂疫苗组; T 代表 TGEV, P 代表 PEDV; “—”代表未测

4 结论与讨论

高效价的半成品病毒液是生物制品稳定生产的基础。多年的生产实践证明, -20 ℃ 左右低温保存的猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻半成品的效价保存期仅为 2 个月, 对后期成品生产及质量影响很大。近年来本课题组试图查阅文献, 寻找解决办法。所阅文献多为 -20 ℃ 以下保存, -15 ℃ 及以上保存的研究鲜有报道。本试验通过在半成品保存环节添加新型冷冻保存液, 使半成品保存期在 -15 ℃ ~ -18 ℃ 环境下由原来的 2 个月延长到 12 个月, 确保实现常温化苗, 提升了病毒稳定性和活性、为生产调度赢得了时间。

选用合适的保护剂对疫苗的质量和长期保存的稳定性至关重要^[7]。市场上现有的腹泻二联活疫苗通常为蔗糖、明胶等保护剂, 组方简单、保护功能差, 2 ~ 8 ℃ 可以冷藏运输、但 -15 ℃ 以下保存期是其两倍^[8], 说明其冷藏保存稳定性尚待进一步研究。

本研究在原有明胶、蔗糖基础上添加了 PEG、聚乙烯吡咯烷酮等基质, 可有效减小病毒在冻干

过程中冻干损失, 较常规保护剂提升了 0.4 ~ 0.6 个滴度, 大分子冷冻保护剂与小分子冷冻保护剂联合使用, 显著提升了病毒活性与稳定性。同时, 医药级 PEG^[9-10] 和聚乙烯吡咯烷酮溶解性能良好, 可与多种药物相溶, 提高生物利用度。聚乙烯吡咯烷酮还具有优异的热稳定性, 在医药、食品等领域被广泛应用^[11]。本试验保护剂中通过添加 PEG 和聚乙烯吡咯烷酮, 充分利用了二者优异的溶解性和热稳定, 加速了疫苗溶解度, 保护了病毒的抗原性, 提高了产品在保存和使用中的稳定性。

本研究在组方中添加 PEG、卡波姆和硫酸锌等制备的疫苗具有良好的耐热效果, 在 2 ~ 8 ℃ 环境保存 36 个月, 效价仅下降 0.3 个滴度。研究者认为, 卡波姆与 PEG 对冠状病毒具有良好的保护作用, 二者在冻干过程中可形成独特的双层结构, 包裹在病毒表面形成一种天然屏障, 有效阻隔冷冻过程冰晶对病毒囊膜的损伤, 另一方面内侧的疏水区结构与病毒嵌合增加病毒自身的稳定性, 有效保存病毒的活性。李晏^[12]表明卡波姆作为一种高分子聚合物, 可促进冷冻干燥过程中的升华, 使悬浮于耐热保护剂中的病毒在冷冻干燥过程中能保持存活状态; 硫酸锌也具有增强病毒自身稳定性的功能。侯若鑫等^[13-14]表明锌是机体多种酶的重要组成成分和激活因子, 能够参与细胞内信号传导和代谢增殖, 在细胞生长、免疫功能和营养代谢等生理或病理过程中起着关键作用。

综上所述, 本试验在半成品病毒液储存时加入含卡波姆等基质的新型保护剂, 可有效延长半成品保存期, 保证半成品病毒在常温状态下生物学活性的维持, 实现了常温直接融化疫苗半成品, 生产工序更简化, 且降低了能耗。同时降低了病毒保存和冻干过程中的损伤, 采用新型保护剂制备的猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻二联活疫苗, 实现了储运过程中疫苗冷藏保存, 提升了疫苗运输过程中的稳定性; 且保存期由原来 -20 ℃ 保存 24 个月延长到 2 ~ 8 ℃ 保存 36 个月。

参考文献:

- [1] 王春蕾. 关于猪流行性腹泻临床症状、诊断及防治措施的相关探讨[J]. 中国动物保健, 2022, 24(03): 11, 13.
Wang C L. Study on clinical symptoms, diagnosis and prevention of porcine epidemic diarrhea [J]. China Animal Health, 2022, 24(03): 11, 13.
- [2] 殷震, 刘景华. 动物病毒学(第二版)[M]. 北京: 科学出版社, 1997: 681-690.
Yin Z, Liu J H. Animal virology (2nd Ed.) [M]. Beijing: Science Press, 1997: 681-690.
- [3] 陈恩秋. 猪传染性胃肠炎与流行性腹泻的流行病学、临床症状及防控[J]. 现代畜牧科技, 2021(1): 108-109.
Chen E Q. Epidemiology, clinical symptoms, prevention and control of porcine transmissible gastroenteritis and epidemic diarrhea [J]. Modern Animal Science and Technology, 2021, (1): 108-109.
- [4] 马晓晔. 猪流行性腹泻、传染性胃肠炎的预防[J]. 中国畜禽种业, 2021, 17(12): 122-123.
Ma X Y. Prevention of epidemic diarrhea and transmissible gastroenteritis in swine [J]. China Livestock and Poultry Seed Industry, 2021, 17(12): 122-123.
- [5] 马晓晔. 猪流行性腹泻、传染性胃肠炎疫苗的推广与应用[J]. 畜禽业, 2021, 32(12): 56-57.
Ma X Y. Promotion and application of porcine epidemic diarrhea and transmissible gastroenteritis vaccine [J]. Animal and Poultry Industry, 2021, 32(12): 56-57.
- [6] 金京勋, 罗琦, 顾超男, 等. 动物用冻干活疫苗及其制备工艺[J]. 吉林畜牧兽医, 2022, 43(01): 128, 130.
Jin J X, Luo Q, Gu C N, *et al.* Freeze-dried live vaccine for animal use and its preparation process [J]. Jilin Animal Science and Veterinary Medicine, 2022, 43(01): 128, 130.
- [7] 谭长江, 孟宇航. 兽用疫苗耐热冻干保护剂的研究进展[J]. 中国畜禽种业, 2011, 7(6): 16-18.
Tan C J, Meng Y H. Research progress of heat-resistant lyophilized protective agents for veterinary vaccines [J]. China Livestock and Poultry Seed Industry, 2011, 7(6): 16-18.
- [8] 质量标准(2017版)生物制品卷[S]. 320-321.
Quality Standards for Veterinary Drugs (2017 edition) Biological Products[S]. 320-321.
- [9] 李小梅, 刘威, 左小青, 等. 医药级聚乙二醇 400 的合成及精制[J]. 化学与粘合, 2022, 44(01): 88-90.
Li X M, Liu W, Zuo X Q, *et al.* Synthesis and purification of pharmaceutical grade polyethylene glycol 400 [J]. Chemistry and Adhesiveness, 2022, 44(01): 88-90.
- [10] Polymer Research; Findings from Jamia Millia Islamia reveals new findings on polymer research (amphiphilic nature of polyethylene glycols and their role in medical research) [J]. Chemicals & Chemistry, 2020.
- [11] 韩慧芳, 崔英德, 蔡立彬. 聚乙烯吡咯烷酮的应用[J]. 精细石油化工进展, 2003(11): 43-48.
Han H F, Cui Y D, Cai L B. Application of polyvinylpyrrolidone [J]. Progress in Fine Petrochemical Industry, 2003 (11): 43-48.
- [12] 李晏, 杨延莉, 邹豪, 等. 卡波姆及其在药剂学上的应用[J]. 解放军药学学报, 2018, 18(2): 91-95.
Li Y, Yang Y L, Zou H, *et al.* Application of carbopom in pharmaceuticals [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Sciences, 2018, 18(2): 91-95.
- [13] 侯若鑫, 龙静, 彭灿, 等. 乳酸锌和硫酸锌对猪肠上皮细胞锌转运载体和屏障功能影响的比较研究[J]. 动物营养, 2022, (04): 26-2635.
Hou R X, Long J, Peng C, *et al.* Effects of zinc lactate and zinc sulfate on zinc transporter and barrier function in porcine intestinal epithelial cells [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2022, 34(04): 2626-2635.
- [14] 王铨, 陈浩, 万蒙, 等. 包被纳米氧化锌对断奶仔猪生长性能、抗氧化酶活性及血清生化和免疫指标的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2020, 56(02): 117-121, 126.
Wang Y, Chen H, Wan M, *et al.* Effects of coated zinc oxide nanoparticles on growth performance, antioxidant enzyme activities and serum biochemical and immune indices of weaned piglets [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2020, 56(02): 117-121, 126.

(编辑:李文平)