

动物狂犬病流行病学及疫苗

褚颖, 郭霄峰

华南农业大学兽医学院, 广州 510642

摘要: 狂犬病是由弹状病毒科, 狂犬病病毒属的狂犬病病毒引起的一种人畜共患病, 临床表现为中枢神经系统感染疾病。大部分温血动物都易受感染, 除南极洲外该疾病在全世界范围内普遍存在。狂犬病疫苗的免疫接种以及注射免疫球蛋白, 是人类预防狂犬病的唯一经批准的有效方法。为了更好地了解动物狂犬病及其在人类和家畜狂犬病中的作用, 本文回顾了2008至2018年动物狂犬病的流行情况。为评价现有疫苗的适用性以及制定根除狂犬病的正确战略, 需要对动物狂犬病的流行现状及其疫苗研究进展有一个全面的认识。

关键词: 狂犬病; 狂犬病病毒; 宿主; 疫苗

中图分类号: R186 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6966(2018)11-1112-05

狂犬病是由狂犬病病毒(Rabies virus, RABV)引起的, 以恐水、怕风、畏光、呼吸吞咽困难、狂躁、多汗等临床症状为特征的急性致死性脑脊髓炎, 一旦有症状出现, 几乎100%致死, 大部分温血动物都易受感染。狂犬病已有数千年的历史, 是已记载的最古老的人畜共患疾病。狂犬病广泛分布于除南极洲以外的所有大陆^[1], 但该疾病在发展中国家是最大的负担, 狂犬病每年导致约59 000人死亡, 特别是在亚洲和非洲^[2]。由于目前使用的风险评估系统不充分且效率低下, 致使畜牧业和野生动物部门往往无法做到对动物狂犬病进行系统监测和报告。狂犬病将继续在世界各地, 特别是贫困国家中存在^[3]。数十年的公共教育以及针对宠物和牲畜的疫苗接种计划大大减少了人类和家畜的狂犬病病例^[4], 但对狂犬病的控制目前仍然是世界卫生组织优先考虑的任务之一。随着狂犬病病毒基因型变异, 目前人用和动物用狂犬病疫苗毒株已不能提供针对所有种类狂犬病病毒的有效保护, 因此, 为评价现有疫苗的适用性以及制定根除狂犬病的正确战略, 需要对动物狂犬病的流行现状及其疫苗研究进展有一个全面的认识, 作者拟从这方面加以综述。

1 动物狂犬病的流行现状

狂犬病病毒的自然宿主为野生动物, 可以感染所有陆生动物, 但敏感程度不同。研究表明, 野生动物狐、狼、豹、浣熊、臭鼬、猫鼬、鼠、部分食虫与吸血蝙蝠以及家养动物犬、猫等作为狂犬病病毒的宿主和传染源具有非常重要的流行病学意义^[5]。RABV在自然界中的毒种保存是通过易感动物间的传播而实现, 但该

病的传播多发生在同种动物间。当这个过程进行时, 宿主动物体内的RABV通过感染、扩散和增殖后, 再将子代病毒传递到易感动物。美国的一项研究表明, 狂犬病病毒属的7个基因型, 通常在各自的4种宿主中生存, 然而, 狂犬病病毒突变体跨种传播在其他哺乳动物也可能发生^[6]。RABV主要在狂犬病动物咬伤时通过唾液传播。然而当接触受感染动物的黏膜或破损的皮肤中流出的新鲜、潮湿的唾液或粘液时, 也可能发生传播^[7]。动物的易感性也因动物种类、遗传组成、动物年龄、毒株和病毒的剂量及接触途径而有所差异^[8]。全球的陆生食肉动物广泛存在RABV, 其他基因型狂犬病病毒在非飞行物种中很少检测到。所有的哺乳动物都易受到感染, 但是几乎没有物种可以作为该疾病的长期储存宿主。在研究狂犬病病毒发展的历史过程中发现, RABV的宿主已成功的从翼手目(如:蝙蝠)转到了食肉目(如陆生食肉哺乳动物)^[9]。在最近十几年里, 人们开始致力于研究RABV在宿主动物群中的分布规律, 并根据RABV的感染情况, 进行了基因序列同源性比对, 在此分类阐述:

1.1 家养动物狂犬病的流行现状 目前在狂犬病流行较为严重的国家和地区, 家养动物的狂犬病是人类受到感染的主要威胁。在许多的发展中国家, 家犬是RABV的主要储存宿主, 在病毒的传播链上起到了重要作用。而其他家畜(猫、猪、黄牛、山羊、绵羊、水牛和驴等)则作为病毒的二次传播媒介, 传播由犬或野生动物携带的RABV。据全国狂犬病监测数据显示, 2010-2011年我国人狂犬病发病例中, 犬作为首要的传染源, 占93.7%; 其次是猫, 占4.6%; 其他的传染

源分别为马、猪、鼠和松鼠等^[10]。

根据2000年世界卫生组织全球疫苗研究论坛的报道,亚洲发展中国家有超过30亿人受狂犬病威胁,并且每年超过3万人死亡,这意味着每15 min就有一个亚洲人死亡。值得注意的是,在狂犬病导致的人类死亡中,有40%为15岁以下的儿童^[11]。

在非洲,儿童和贫困农民的死亡率最高。狂犬病在非洲传播的最重要原因是犬的数量以及城市化发展。在欧洲大陆,尽管狂犬病仍然存在,但大多数欧洲国家的人狂犬病病例已经消失,这很可能是由于在动物(特别是犬)身上实施了疫苗接种政策^[8]。在一些亚洲和非洲国家,犬屠宰场被认为是狂犬病流行病学的重要危险因素。

因此,控制犬的狂犬病,特别是流浪犬是预防人类狂犬病的首要任务。狂犬病引起了严重、持久的社会和经济负担,在那些贫困的发展中国家表现得尤其明显^[12]。

1.2 野生动物狂犬病的流行现状 RABV在野生动物中的传播,包括陆生食肉动物和蝙蝠,这个过程使病毒持续保存直到释放后传播给人类和家畜。对于不同毒株的RABV,主要的野生动物储存宿主具有地域性。病毒在这些动物间的传播过程中,狂犬病的传染和病毒的变异都处在动态变化的状态。虽然多数野生动物保持的病毒循环链有明显的地域性,但如同犬的狂犬病一样,人类在运输野生动物时造成的野生动物狂犬病传播打破了此规律,导致病毒不断传播。

目前国内报道的野生动物狂犬病和野生动物相关的人畜狂犬病病例数量有所增加,特别是在中国东南和东北地区,大多数发生在最近10年。这些病毒也在野生动物中被分离或检测到,包括蝙蝠、中国鼬獾、浣熊、黑线姬鼠、鹿、田鼠和狼^[13]。在美国大陆控制狂犬病是一项挑战,因为存在多种野生动物宿主,它们是这种病毒独特变体的宿主,因此,每年在美国报告的所有实验室确认的动物狂犬病病例中超过90%发生在野生动物中^[7]。

除了MOKV和IKOMA病毒(这两种病毒的储存宿主仍未得到确认),蝙蝠被认为是狂犬病病毒的储存宿主,特别是在美洲。2014年,在美国报道的动物狂犬病病例中蝙蝠占29.1%,浣熊占32.4%^[14]。2015年,美国疾病预防控制中心发布的狂犬病监测报告确认了来自50个州的5508例动物狂犬病确诊病例。总体而言,患病动物中25%的病例是臭鼬,在提交狂犬病检测的4857只臭鼬中,有28%呈阳性,略低于2010年平均水平^[7]。

1.3 不同动物狂犬病病毒糖蛋白序列分析 狂犬病病毒基因组为单股不分节段的负链RNA,病毒基因组的5个结构基因(N、P、M、G、L)分别编码5个结构蛋白(核蛋白、磷蛋白、基质蛋白、糖蛋白和转录酶蛋白)^[15]。糖蛋白(glycoprotein, G)作为狂犬病病毒重要的结构蛋白,能够介导病毒侵入宿主细胞。由于G蛋白存在狂犬病病毒抗原表位、毒力相关区域及糖基化位点,在狂犬病病毒的致病性和毒力等方面起到关键作用。因此选择G蛋白对狂犬病病毒进行分析,对监测毒株抗原性、毒力变异具有重要意义。野生动物、家养动物的RABV G基因的开放阅读框(ORFs)长度为1575个核苷酸,编码524个氨基酸,国内对于RABV的研究结果与以上发现基本一致^[16],见图1。

以aG毒株(GenBank登录号GQ412744)作为参考序列,笔者将野生动物和家养动物狂犬病病毒的G基因进行比对,用Mega 4.0软件进行序列比对,邻接法(neighbor-joining, NJ)构建系统进化树。这些病毒分别分离自狼(wolf)、貉(raccoon dog)、浣熊(raccoon)、绵羊(sheep)、牛(cattle)、猪(pig)、鼠(mouse)、犬(dog)、鹿(deer)、猫(cat)、蝙蝠(bat)、狐狸(fox),见图2。

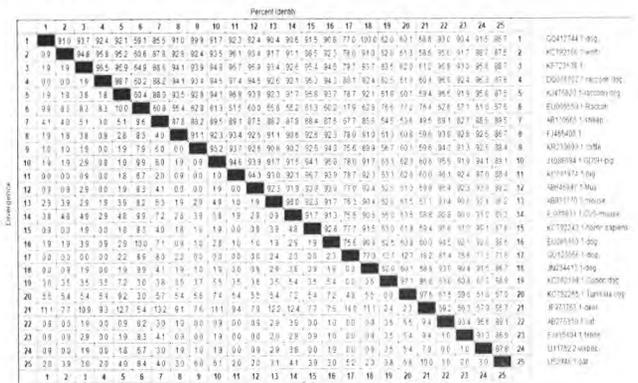
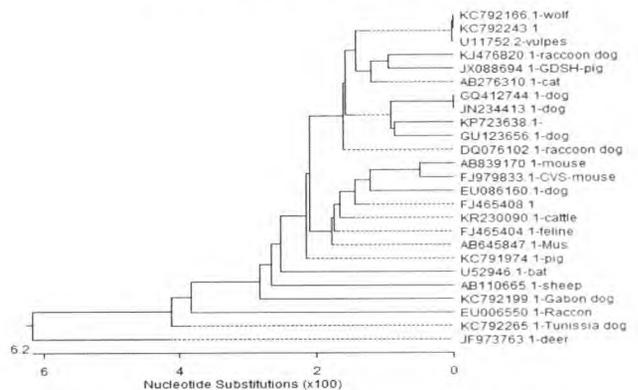


图1 不同动物的狂犬病病毒与参考毒株G基因推导氨基酸序列的同源性比对



注:分离自人的狂犬病病毒G基因序列(KC792243.1)为内对照

图2 不同动物的狂犬病病毒与参考毒株G基因的进化树

经过比较发现,25个所检测的不同动物狂犬病病毒G蛋白氨基酸序列,氨基酸同源性55.2%~98.7%。另外除鹿的狂犬病病毒以外,其他病毒均聚集在一个大的分支下,表明感染鹿的狂犬病病毒与其他动物的亲源性较远。在所比较的犬狂犬病病毒中,国内犬狂犬病病毒均属于同一分支,而与国外相比较时同源性差距较大,表明国内外犬狂犬病的毒株亲源性较远。通过比较野生动物和家养动物狂犬病病毒G基因序列可以发现,感染不同动物的狂犬病病毒之间可能存在交叉。

2 动物狂犬病疫苗研究进展

在美国、西欧等发达国家,犬和野生动物的狂犬病已成功得到控制,因此,人间狂犬病极少发生。这充分说明,在资源充足的条件下,狂犬病完全可以根除。据不完全统计,每年因狂犬病造成的经济损失达86亿美元^[17]。动物疫苗的施用对防控人间狂犬病至关重要。当前大部分国家所用的兽用狂犬病疫苗主要有2种,即灭活疫苗和基因工程疫苗。随着生物和分子生物学技术的发展,多肽疫苗、mRNA疫苗、活载体疫苗及植物疫苗等新型狂犬病疫苗已经逐渐走进研究者的视野。

幸运的是,狂犬病是一种可精确防控的人兽共患传染病。根据WHO的标准,人或动物免疫后血清中的中和抗体滴度达到或超过0.5 IU/mL,可为人类和动物提供保护。目前,感染狂犬病的犬是人类狂犬病高发病率的主要原因,因此,为犬接种疫苗已被证明是预防人类狂犬病最具成本效益的策略。据世界卫生组织报道,犬只的免疫覆盖率达到70%以上即可有效阻断狂犬病病毒在犬群中的传播,从而预防人间狂犬病。

2.1 重组减毒活载体疫苗 狂犬病病毒重组疫苗是指应用DNA重组技术,借助载体对狂犬病病毒的免疫原基因进行重组表达而研制的疫苗。由于重组体只保留了狂犬病病毒中具有免疫作用的基因,因此这种疫苗不具有发生狂犬病的潜在危险。反向遗传学技术的发明彻底改变了对RABV以及其他负链RNA病毒的研究,这极大地促进了业界对这些病毒特性的了解及针对各种病原体的新型疫苗的开发^[18]。近年来狂犬病病毒减毒株、嵌合病毒及DNA疫苗等相关领域的研究得到极大发展,取得很多研究成果^[19]。

重组病毒载体疫苗即嵌合疫苗,是以不同的病毒作为载体,将狂犬病病毒的G基因插入到载体病毒基因中。目前报道的有:牛痘病毒载体、金丝雀痘病毒

载体、腺病毒载体、疱疹病毒载体等^[20]。

腺病毒载体介导的干扰RNA具有很强的抗病毒潜力,特别是对抗狂犬病。这是通过开发编码siRNA的腺病毒载体(rAdV)(复制缺陷型)靶向聚合酶(L)和核蛋白(N)基因来实现,结果发现siRNA在BHK-21细胞中能抑制狂犬病病毒^[21]。基于腺病毒重组狂犬病疫苗的开发方兴未艾,科学家们比较了重组腺病毒和牛痘病毒系统,结果发现牛痘载体在一个大型野生动物疫苗接种项目中被成功用于浣熊的狂犬病免疫,而基于rRVGP的腺病毒疫苗接种的浣熊也在试验中获得了保护^[22]。最近的另一项研究表明,以腺病毒为载体的狂犬病疫苗可能比基于牛痘病毒载体的狂犬病疫苗对浣熊的免疫更有效^[23]。然而这两种疫苗都不适合斑纹臭鼬的免疫,因此,适用于抗狂犬病免疫的合适重组载体仍是一个争论问题。另外由rLEP-G重组病毒制备的灭活疫苗可用于小鼠和犬的狂犬病免疫,其产生的中和抗体水平显著高于LEP衍生疫苗^[24]。表达rRVGP的副痘病毒重组体用于小鼠、犬和猫的狂犬病免疫,能够诱导高水平的中和抗体并在脑内攻毒后为小鼠提供良好的保护^[25]。未估计免疫后体内产生的重组蛋白的量,但病毒剂量和中和抗体之间的直接相关性表明rRVGP的滴度对于保护性免疫应答的发展是重要的。另一项研究表明,犬疱疹病毒作为鼻内接种后rRVGP表达的活载体,比商业的狂犬病灭活疫苗产生更高的抗狂犬病中和抗体滴度^[26]。对于广泛的兽医免疫,基于痘病毒的狂犬病疫苗被认为是非常有前途的,并且已经被多次提出,尤其是浣熊痘病毒^[27]。近20年来的研究表明,这种rRVGP病毒载体系统已被用于为红狐、浣熊、郊狼和臭鼬免疫,对于在欧洲部分地区消除狂犬病以及在美国显著降低狂犬病发病率至关重要^[28]。

国内有研究在狂犬病病毒弱毒株Hep-Flury株全基因组的伪基因区域(G与L之间)插入一个G基因,构建了携带双G基因的全长感染性克隆,成功获得狂犬病病毒Hep-Flury-dG嵌合病毒,结果表明,Hep-Flury-dG株和rHep-Flury株比较,其致病性降低、免疫原性显著提高^[29]。

研究人员发现低剂量表达rRVGP的重组新城疫病毒可在一年多的时间内保护犬免受狂犬病病毒街毒的感染,这表明接种重组新城疫病毒载体疫苗可诱导犬对狂犬病病毒产生持久的保护性免疫^[30]。

有学者通过基因敲除使RABV的磷酸化蛋白基因缺失,从而构建重组RABV活疫苗。这种疫苗与传统的减毒活疫苗相比,也可以诱导机体产生长时间的保

护性抗体。但是基因重组减毒疫苗也存在着潜在的危险,比如基因突变的减毒活疫苗会与自然存在的野毒株发生重组,或者已敲除的基因会重新发生基因修补,从而出现毒力增强的现象。

2.2 兽用弱毒口服疫苗 在欧洲,SAG 2、SAD Bern和SAD B19等狂犬病病毒株被用于野生动物口服免疫以控制狂犬病^[31]。重组犬腺病毒II型疫苗是通过对犬类进行口服免疫而开发出的一种持久的抗狂犬病病毒疫苗,该疫苗具有较好的免疫原性^[32]。目前的疫苗替代品中,基于植物的疫苗为生物制药生产提供了较低的成本。植物细胞可作为表达亚单位疫苗的宿主,用于制备口服制剂或肠胃外制剂。口服制剂在安全性和接受性方面是最有吸引力的免疫方法^[33]。在斯里兰卡,通过补充口服疫苗的方法,使家庭犬获得的疫苗接种覆盖率从63%增加到78%^[34]。在土耳其伊斯坦布尔的调查发现,疫苗接种覆盖率增加了18%~21%,总体疫苗接种率达到74%~84%^[35]。通过口服、肌内、皮内和气溶胶途径免疫吸血蝙蝠时,发现重组痘苗病毒载体狂犬病病毒糖蛋白(vaccinia-rabies glycoprotein, V-RG)具有免疫原性。口服相对较高的疫苗剂量后,获得了对狂犬病病毒较高的保护率。将V-RG浓缩悬浮液与中性凡士林混合,通过背部注射免疫一群蝙蝠,并与其他未接种疫苗的蝙蝠一起饲养,结果81%(17/21)蝙蝠存活,还能免受狂犬病病毒强毒的攻击^[36]。

尽管弱毒活疫苗价格比灭活疫苗低廉,而且可以通过口服途径免疫接种,然而弱毒活疫苗在动物体内增殖时,其残留毒力或致病性突变有时会致使接种动物发病。因此,WHO不推荐弱毒活疫苗经非口服途径免疫接种动物。

2.3 其他疫苗 目前研究人员正在探索增强疫苗免疫效力的各种新方法如载体疫苗、脂肽疫苗、质粒DNA疫苗等。此外,通过研究新的乳剂(水包油)、Toll样受体激动剂、细胞因子、CpG寡核苷酸和其他材料,以补充铝盐疫苗佐剂的不足^[37,38]。

2013年,报道了三价单链Fv(scFv50AD1-Fd)的产生,它可以识别狂犬病病毒糖蛋白,并遗传融合至T4噬菌体纤蛋白的三聚化结构域,称为foldon(Fd)。由多价性引起的亲合力的增加以及较高的生物活性使得三价scFv50AD1-Fd构建体成为狂犬病保护的重要试剂。此抗体工程方法可以作为设计用于被动免疫疗法的新一代抗狂犬病的策略^[39]。

对于RABV G蛋白在转基因植物中的表达,科学家们做了许多的探索,在胡萝卜和玉米中获得了成

功。通过喂饲编码RABV G蛋白转基因玉米,免疫羊获得了免疫保护^[40]。

综上,狂犬病防控的关键还是加强对犬只的管理、扩大犬只的免疫覆盖率、危险人群暴露前免疫、加大狂犬病防控知识宣传普及、暴露后及时的免疫接种和注射免疫球蛋白。唯此,人间狂犬病方能消灭。

参考文献

- [1] Roy S, Herwaldt BL, Shadomy SV, et al. Infectious Diseases Related to Travel[M]. CDC Health Information For International Travel, 2012: 1-5.
- [2] Fooks AR, Banyard AC, Horton DL, et al. Current status of rabies and prospects for elimination[J]. Lancet, 2014, 384(9951): 1389-1399.
- [3] Banyard AC, Horton DL, Freuling C, et al. Control and prevention of canine rabies: The need for building laboratory-based surveillance capacity[J]. Antiviral Research, 2013, 98(3): 357-364.
- [4] Blanton JD, Dyer J, Mcbrayer J, et al. Rabies surveillance in the United States during 2011[J]. Journal of the American Veterinary Medical Association, 2012, 241(6): 712-722.
- [5] Song M, Tang Q, Rayner S, et al. Human rabies surveillance and control in China, 2005-2012[J]. BMC Infectious Diseases, 2014, 14(1): 1-9.
- [6] Mollentze N, Biek R, Streicker DG. The role of viral evolution in rabies host shifts and emergence[J]. Current Opinion in Virology, 2014 (8): 68-72.
- [7] Birhane MG, Cleaton JM, Monroe BP, et al. Rabies surveillance in the United States during 2015[J]. Journal of the American Veterinary Medical Association, 2017, 250(10): 1117.
- [8] Singh R, Singh KP, Cherian S, et al. Rabies-epidemiology, pathogenesis, public health concerns and advances in diagnosis and control: a comprehensive review[J]. Veterinary Quarterly, 2017, 37(1): 212.
- [9] Badrane H, Tordo N. Host switching in Lyssavirus history from the Chiroptera to the Carnivora orders[J]. Journal of Virology, 2001, 75(17): 8096-8104.
- [10] Song M, Tang Q, Rayner S, et al. Human rabies surveillance and control in China, 2005-2012[J]. BMC Infectious Diseases, 2014, 14(1): 1-9.
- [11] Yousaf MZ, Qasim M, Zia S, et al. Rabies molecular virology, diagnosis, prevention and treatment[J]. Virology Journal, 2012, 9(1): 50.
- [12] Totton SC, Wandeler AI, Zinsstag J, et al. Stray dog population demographics in Jodhpur, India following a population control/rabies vaccination program[J]. Preventive Veterinary Medicine, 2010, 97(1): 51-57.
- [13] Zhang J, Jin Z, Sun GQ, et al. Analysis of rabies in China: transmission dynamics and control[J]. PLoS One, 2011, 6(7): 20891.
- [14] Monroe BP, Yager P, Blanton J, et al. 2016 Rabies surveillance in the United States during 2014[J]. J Am Vet Med Assoc, 2015(248): 777-788.
- [15] Albertini AA, Ruigrok RW, Blondel D. Rabies virus transcription and replication[J]. Adv Virus Res, 2016(79): 1-22.
- [16] Ming P, Yan J, Rayner S, et al. A history estimate and evolutionary analysis of rabies virus variants in China.[J]. Journal of General Virology, 2010, 91(3): 759.
- [17] Hampson K, Coudeville L, Lembo T, et al. Estimating the global burden of endemic canine rabies[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2015, 9(4): 3709.
- [18] Pfaller CK, Cattaneo R, Schnell MJ. Reverse genetics of Mononeg-

- avirales: How they work, new vaccines, and new cancer therapeutics [J]. *Virology*, 2015; 479-480.
- [19] 邹剑, 俞永新. 狂犬病病毒减毒株的研究及应用进展[J]. *中国人兽共患病学报*, 2012, 28(3): 293-297.
- [20] Hicks DJ, Fooks AR, Johnson N. Developments in rabies vaccines. [J]. *Clinical & Experimental Immunology*, 2012, 169(3): 199-204.
- [21] Sonwane AA, Dahiya SS, Saini M, et al. Inhibition of rabies virus multiplication by siRNA delivered through adenoviral vector in vitro in BHK-21 cells and in vivo in mice[J]. *Research in Veterinary Science*, 2012, 93(1): 498-503.
- [22] Brown LJ, Rosatte RC, Fehlner GC, et al. Immune response and protection in raccoons (*Procyon lotor*) following consumption of baits containing ONRAB®, a human adenovirus rabies glycoprotein recombinant vaccine[J]. *Journal of Wildlife Diseases*, 2012, 48(4): 1010-1020.
- [23] Fehlnergardiner C, Rudd R, Donovan D, et al. Comparing ONRAB® AND RABORAL V-RG® oral rabies vaccine field performance in raccoons and striped skunks, New Brunswick, Canada, and Maine, USA[J]. *J Wildl Dis*, 2012, 48(1): 157-167.
- [24] Tao L, Ge J, Wang X, et al. Generation of a recombinant rabies Flury LEP virus carrying an additional G gene creates an improved seed virus for inactivated vaccine production[J]. *Virology Journal*, 2011, 8(1): 454.
- [25] Amann R, Rohde J, Wulle U, et al. A new rabies vaccine based on a recombinant ORF virus (parapoxvirus) expressing the rabies virus glycoprotein[J]. *Journal of Virology*, 2013, 87(3): 1618-1630.
- [26] Xuan X, Tuchiya K, Sato I, et al. Biological and immunogenic properties of rabies virus glycoprotein expressed by canine herpesvirus vector[J]. *Vaccine*, 1998, 16(9): 969-976.
- [27] Hu L, Ngichabe C, Trimarchi CV, et al. Raccoon poxvirus live recombinant feline panleukopenia virus VP2 and rabies virus glycoprotein bivalent vaccine[J]. *Vaccine*, 1997, 15(12): 1466-1472.
- [28] Jacobs BL, Langland JO, Kibler KV, et al. Vaccinia virus vaccines: past, present and future[J]. *Antiviral Research*, 2009, 84(1): 1-13.
- [29] Liu X, Yang Y, Sun Z, et al. A recombinant rabies virus encoding two copies of the glycoprotein gene confers protection in dogs against a virulent challenge[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): 87105.
- [30] Ge J, Wang X, Tao L, et al. Newcastle Disease Virus-Vectored Rabies Vaccine Is Safe, Highly Immunogenic, and Provides Long-Lasting Protection in Dogs and Cats[J]. *Journal of Virology*, 2011, 85(16): 8241.
- [31] Singh R, Singh KP, Cherian S, et al. Rabies - epidemiology, pathogenesis, public health concerns and advances in diagnosis and control: a comprehensive review[J]. *Veterinary Quarterly*, 2017, 37(1): 212.
- [32] Xiang ZQ, Greenberg L, Ertl HC, et al. Protection of non-human primates against rabies with an adenovirus recombinant vaccine[J]. *Virology*, 2014(450): 243-249.
- [33] Rosales MS, Salazar JA. Immunological aspects of using plant cells as delivery vehicles for oral vaccines[J]. *Expert Review of Vaccines*, 2014, 13(6): 737-749.
- [34] Perera MA, Harischandra PA, Wimalaratne O, et al. Feasibility of canine oral rabies vaccination in Sri Lanka—a preliminary report[J]. *Ceylon Medical Journal*, 2000, 45(2): 61.
- [35] Vos A, Aylan O. Oral vaccination campaigns of dogs against rabies [R]. *Proceedings of the Seventh SEARG meeting, Ezulwin*, 2003-05-12.
- [36] Almeida M, Martorelli L, Aires CR, et al. Vaccinating the vampire bat *Desmodus rotundus* against rabies[J]. *Virus Research*, 2008, 137(2): 275-277.
- [37] Yang DK, Ha HK, Kyung WL, et al. The present and future of rabies vaccine in animals[J]. *Clinical & Experimental Vaccine Research*, 2013, 2(1): 19-25.
- [38] Montaner AD, Nichilo AD, Rodriguez JM, et al. IMT504: A New and Potent Adjuvant for Rabies Vaccines Permitting Significant Dose Sparing[J]. *World Journal of Vaccines*, 2012, 2(4): 182-188.
- [39] Turki I, Hammami A, Kharmachi H, et al. Engineering of a recombinant trivalent single-chain variable fragment antibody directed against rabies virus glycoprotein G with improved neutralizing potency [J]. *Molecular Immunology*, 2014, 57(2): 66-73.
- [40] Loza RE, Rojas AE, Lopez J, et al. Induction of a protective immune response to rabies virus in sheep after oral immunization with transgenic maize, expressing the rabies virus glycoprotein[J]. *Vaccine*, 2012, 30(37): 5551-5556.

收稿日期: 2018-10-22