



猪瘟病毒抗体 ELISA 检测国家级能力验证结果与分析

徐璐¹, 夏应菊¹, 张乾义¹, 张雯雯², 王震¹, 李翠¹, 邹兴启¹,
朱元源¹, 徐嫻¹, 王兆¹, 赵启祖^{1*}, 王琴^{1*}

(1. 中国兽医药品监察所, 国家/OIE 猪瘟参考实验室, 北京 100081; 2. 农业农村部规划设计研究院, 北京 100125)

摘要: 猪瘟疫苗免疫是我国猪瘟防控的核心, 猪瘟病毒抗体 ELISA 检测是进行免疫效果评价的最常用手段。中国兽医药品监察所国家/OIE 猪瘟参考实验室(以下简称: 参考实验室)承担了国家认证认可监督管理委员会(以下简称“认监委”)组织的 A 类能力验证项目“猪瘟诊断检测技术”(CNCA-19-A01), 全面考察和评价我国动物疫病检测机构对猪瘟病毒抗体的检测能力。参考实验室负责制备检测样品, 并进行随机编号。向每个参试实验室发放 4 份待检盲样, 由其采用 ELISA 方法对各盲样进行定性判断, 并向参考实验室提供检验结果及原始检验报告。出现“不满意”结果的单位可参加补测 1 次, 若补测结果仍为“不满意”, 则表明该实验室暂不具备该参数的检测能力。参加本次能力验证猪瘟病毒抗体检测的实验室共有 103 家, 初测满意率为 92.23%, 初测和补测的总体满意率为 100%。此次能力验证结果表明, 参加此次能力比对试验的猪瘟检测机构均能够提供正确的检测结果, 可以满足猪瘟病毒抗体监测的需求。通过本次能力验证项目查找出了存在的问题, 参试单位可以及时纠正错误, 进一步提升猪瘟抗体的检测能力。

关键词: 猪瘟; 免疫; 抗体; ELISA; 能力验证

中图分类号: S851.34; S854.43

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2020)09-2250-07

Analysis of National Proficiency Testing Program for Classical Swine Fever Virus Antibody Detection by ELISA

XU Lu¹, XIA Yingju¹, ZHANG Qianyi¹, ZHANG Wenwen², WANG Zhen¹, LI Cui¹,
ZOU Xingqi¹, ZHU Yuanyuan¹, XU Yuan¹, WANG Zhao¹, ZHAO Qizhu^{1*}, WANG Qin^{1*}

(1. National/OIE Reference Laboratory for Classical Swine Fever, China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China; 2. Academy of Agriculture Planning and Engineering, Beijing 100125, China)

Abstract: Vaccination is the key strategy to prevent and control classical swine fever in China. Detection of vaccine-induced antibody by ELISA is the main method to assess the efficacy of vaccination. In order to evaluate the ability of individual laboratories for antibody detection against classical swine fever virus, Certification and Accreditation of the People's Republic of China organized the national proficiency testing program "Diagnostic Techniques for Classical Swine Fever" (CNCA-19-A01). The National/OIE Reference Laboratory for Classical Swine Fever (NR-LCSF) that affiliated to China Institute of Veterinary Drug Control is responsible for the implementation of the program. Positive and negative samples were prepared and numbered randomly.

收稿日期: 2020-02-20

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFD0500702); 国家级能力验证项目(CNCA-19-A01)

作者简介: 徐璐(1979-), 女, 吉林长春人, 副研究员, 硕士, 主要从事猪瘟诊断技术研究, Tel: 010-61255400; E-mail: xulu777_ivdc@163.com

* 通信作者: 王琴, 主要从事动物病毒学研究, E-mail: wq551@vip.sina.com; 赵启祖, 主要从事动物病毒学研究, E-mail: zhaoqizu@163.com

Each participant received 4 different samples, and then the samples were tested according to their selected ELISA methods. All participants should submit their test results and the original reports to NRLCSF. If the results is unsatisfied, the participant will have another chance to retest. If the result is still unsatisfied, the participant will be considered unqualified for CSFV antibody detection. One hundred and three institutions participated this program. The accurate rate is 92.23% (95/103) for the first round of test, and 100% for the first and second tests. This result demonstrated that all participate laboratories provide competence for the detection of CSFV antibody and they could meet the requirement for CSFV diagnosis and surveillance. This proficiency testing program could help participants to investigate the reason for disagreement and implement their deficiencies.

Key words: classical swine fever virus; vaccination; antibody; ELISA; proficiency testing

* **Corresponding authors:** WANG Qin, E-mail: wq551@vip.sina.com; ZHAO Qizu, E-mail: zhaoqizu@163.com

猪瘟疫毒(classical swine fever, CSF)是由猪瘟疫毒(classical swine fever virus, CSFV)引起的严重危害养猪业的重大传染病,是世界动物卫生组织(OIE)规定的必需报告的疫病。我国虽然经过多年有效防控,但猪瘟疫毒仍是严重危害我国养猪业重大传染病之一^[1]。由于我国猪瘟疫疫苗实行普免政策,因此,在我国对猪瘟疫抗体的检测主要用于免疫效果评估。而一些欧美国家并不使用猪瘟疫疫苗作为防控手段,因此,对于海关等进出口检验检疫单位可以采用猪瘟疫抗体的检测作为猪瘟疫感染诊断的手段之一。国务院办公厅颁布的《国家中长期动物疫病防治规划(2012—2020年)》中,将猪瘟疫列为16种优先防治和重点防范的动物疫病之一。农业农村部部长每年发布的动物疫情监测计划中,也将猪瘟疫列为国家强制检疫的动物疫病之一,其中猪瘟疫抗体是检测的主要内容。可以说,猪瘟疫抗体的检测能力直接影响到国家动物疫病防治的总体目标。

为全面考察动物疫病检测机构对猪瘟疫病毒抗体的检测能力,中国兽医药品监察所国家/OIE猪瘟疫参考实验室(以下简称:参考实验室)承担了国家认证认可监督管理委员会(以下简称“认监委”)组织的A类能力验证项目“猪瘟疫诊断检测技术”(CNCA-19-A01)^[2]。能力验证的结果是相关检验检测机构猪瘟疫病毒抗体检测能力的客观反映,旨在了解国内猪瘟疫病毒抗体检测技术整体水平,帮助检验检测机构发现问题,提高检验能力。

1 材料与方法

1.1 比对样本的制备

待检样品包括4份,分别标记为E、F、G和H。采用国家标准方法《猪瘟疫病毒阻断ELISA抗体检测

方法》(GB/T 34729—2017)(以下简称“阻断ELISA”)和《猪瘟疫抗体间接ELISA检测方法》(GB/T 35906—2018)(以下简称“间接ELISA”)进行检测,E样本抗体阻断率大于90%,为强阳性样本;F样本阻断率50%~70%,弱阳性样本;G和H为阴性,阻断率小于30%。所有样品经过真空冷冻干燥处理,均呈乳白色至白色疏松团块,加稀释液后可迅速溶解。对所有样品进行三位随机编号,编号为S* * *。

1.2 样品的均匀性和稳定性检验

待检样品为真空冻干样品,可在-20℃条件下长期稳定保存。对能力验证样品进行均匀性和稳定性检验^[3]。随机抽取E和F样品各10份,G、H样本各4份,由2名技术人员按照“阻断ELISA”和“间接ELISA”国家标准进行均匀性检验;从各样本中各随机抽取20支,分为两组,一组放置于4℃冰箱,另一组放置于37℃温箱中,分别于7、15和21d各取出2支,按照上述两个国家标准进行稳定性检验。

1.3 检测方法和评价原则

各实验室可自由选择ELISA方法对每份样品中的猪瘟疫抗体进行定性检测。检测样品全部符合预期结果,评价为“满意”。出现1个或1个以上样品与预期结果不符,则评价为“不满意”。若出现“不满意”结果,参试单位可申请补测一次。若补测结果仍为“不满意”,则表明该实验室暂不具备该参数的检测能力。

2 结果

2.1 样品的均匀性和稳定性

两名检验人员分别采用阻断ELISA试剂盒和间接ELISA试剂盒同时进行均匀性检测,结果见表1。稳定性检测结果见表2。

表 1 均匀性检验结果

Table 1 Homogeneity test result

样品 Sample	检测方法 Method	操作人 1 Operator 1		操作人 2 Operator 2		%
		范围 Range	变异系数 CV	范围 Range	变异系数 CV	
E	阻断 ELISA Blocking ELISA	93.5~95.6	0.50	93.6~95.4	0.40	
	间接 ELISA Indirect ELISA	93.0~100.7	2.30	19.9~22.6	3.70	
F	阻断 ELISA Blocking ELISA	68.6~71.9	1.70	60.3~72.3	4.30	
	间接 ELISA Indirect ELISA	97.0~107.6	3.10	19.3~52.0	6.40	

表 2 稳定性检验结果

Table 2 Stability test result

检测方法 Method	样本 Sample	4 °C 保存时间/d Days of storage at 4 °C			37 °C 保存时间/d Days of storage at 37 °C			CV
		7	14	21	7	14	21	
		阻断 ELISA Blocking ELISA	E	94.52	94.69	94.73	94.41	
间接 ELISA Indirect ELISA	F	69.40	68.66	73.35	70.71	70.46	68.76	2.5
	G	-2.20	0.48	0.95	6.59	2.59	4.78	/
	H	-1.98	5.55	0.52	8.44	-3.50	4.44	/
间接 ELISA Indirect ELISA	E	108.03	108.16	104.34	103.23	101.51	104.21	2.5
	F	26.81	28.41	27.16	26.04	26.02	28.10	3.7
	G	5.59	7.09	6.00	5.76	6.35	1.73	/
	H	1.69	1.76	6.38	1.79	6.36	8.09	/

从表 1 和表 2 中可以看出,采用两种不同的 ELISA 方法进行均匀性和稳定性检测,均匀性检验变异系数最高为 6.40%,稳定性检验变异系数最高为 3.70%,均小于 15%。阴性样本全部为阴性。因此,说明制备的血清样本的具有良好的均匀性和稳定性。

2.2 参试实验室的地理和行业分布

报名参加本次能力验证项目的单位共计 103 家。从行业分布来看,包括出入境检验检疫机构(海关)34 家,动物疫病预防控制机构 22 家,其他检测机构、科研院所 47 家;从地域分布上看,参加单位遍布我国 27 个省/自治区/直辖市,除贵州、宁夏、青海、西藏、香港、澳门、台湾等 6 地,基本覆盖我国全境。因此,本次能力项目能够基本上反映我国猪瘟病毒抗体检测能力的整体水平。

2.3 初测及补测结果

在初测过程中,有 95 家单位的检测结果为“满意”,8 家为“不满意”,总体满意率为 92.23%;其中 65 家自愿参加单位的初测满意率为 90.77%,38 家具有 CMA 资质单位的初测满意率为 94.74%。从结果可以看出,有 CMA 证书单位的初测满意度高于自愿参加单位。8 家“不满意”结果单位参加了补测,补测满意率为 100%。

3 能力验证结果技术分析

3.1 检测方法及标准的引用

本次能力验证项目未限定检测方法。目前,市场上用于猪瘟抗体的 ELISA 试剂盒有很多,并且已有两个相应的国家标准颁布。本次能力验证中,99%以上单位均选择了商品化 ELISA 试剂盒。近

80%单位选择阻断 ELISA 作为抗体检测方法,其次是间接 ELISA 方法。从出现“不满意”检测结果的分布来看,8 个单位中有 5 个采用了阻断方法,3 个采用了间接方法。从总体的检测结果看,选择方法的差异不是影响检验结果的关键因素。

目前已经对外发布的猪瘟病毒抗体 ELISA 检

测方法包括:国家标准《猪瘟抗体间接 ELISA 检测方法》(GB/T 35906—2018)、《猪瘟病毒阻断 ELISA 抗体检测方法》(GB/T 34729—2017)和《猪瘟诊断技术》(GB/T 16551—2008),以及行业标准《古典猪瘟检疫规程》(SN/T 1379—2010),同时,还有 OIE 诊断手册中的相应检测方法(表 3)。

表 3 “猪瘟病毒抗体 ELISA”参数检测方法采标情况统计表

Table 3 Standards used for detection of CSFV antibody

检测方法 Detection method	初测 First test		补测 Second test	
	数量 Number	比例/% Ratio	数量 Number	比例/% Ratio
猪瘟诊断技术(GB/T 16551—2008) Diagnostic techniques for classical swine fever(GB/T 16551—2008)	45	43.69	4	50
猪瘟病毒阻断 ELISA 抗体检测方法(GB/T 34729—2017) Blocking ELISA method to detect antibody against classical swine fever virus (GB/T 34729—2017)	30	29.13	2	25
猪瘟抗体间接 ELISA 检测方法(GB/T 35906—2018) Indirect ELISA method to detect antibody against classical swine fever virus(GB/T 35906—2018)	5	4.85	1	12.50
古典猪瘟检疫规程(SN/T 1379—2010) Quarantine protocol for classical swine fever(SN/T 1379—2010)	6	5.83		
陆生动物诊断试验及疫苗手册(OIE) Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals	1	0.97		
自建 SOP Laboratory developed test	1	0.97		
试剂盒说明书 Protocol from commercial kit	6	5.83	1	12.50
未说明 No statement	9	8.74		

通过对检测方法和采标情况的统计分析表明,现有的猪瘟抗体 ELISA 诊断方法能够满足猪瘟检测需求,有 83.5%的单位选择了国家或行业标准,说明已经颁布的国家和行业标准能够为猪瘟抗体检测提供有力的技术支撑。

3.2 检测试剂的选择

参加初测的 103 家单位中,有 102 家采用了商品化试剂盒,1 家采用自研方法;选择进口试剂盒的有 79 家,占 76.7%,涉及 11 个品牌;23 家采用国产试剂盒,涉及 12 个品牌,占 22.3%。虽然试剂盒品牌众多,但是进口试剂盒中有 81%的试剂盒为同一品牌,集中度高;国产试剂盒中,有近 30%试剂盒为同一品牌,说明检测市场对各品牌的认可度存在很大差异。

3.3 “不满意”原因技术分析

在 8 家初测结果“不满意”的单位中,选择进口试剂盒有 3 家,选择国产试剂盒的有 5 家。补测时,1 家单位(CNCA-19-A01-44)未更换试剂盒品牌和批次;另 2 家单位未更换试剂盒品牌,只更换了另外一个批次产品;另外 5 家单位更换了试剂盒品牌。8 家单位中有 3 家在补测同时提交了自查报告,在此基础上,组织单位对各单位出现错误的原因进行了分析和判断(表 4)。

4 讨论

实施猪瘟疫苗全面免疫是我国防控猪瘟的重要手段。针对猪瘟病毒抗体检测主要用于猪瘟疫苗的免疫效果评价,而对于一些不免疫猪瘟疫苗的国家

表 4 “不满意”原因分析

Table 4 Analysis for the reasons of unsatisfied results

实验室编号 No. of participant	自查报告原因分析 Reason analysis by self-inspection	国家猪瘟参考实验室分析 Analysis by NRLCSF
CNCA-19-A01-44	/	未更换试剂、批号和检验员,可能是初测时操作失误所致 The batch of kit and operator were the same in the first and second tests. The incorrect operation might contribute to the wrong results
CNCA-19-A01-46	检测试剂不稳定 Poor quality reagent	检测试剂质量问题 Poor quality reagent
CNCA-19-A01-48	/	试剂未更换,更换了检验员,可能是检验员操作失误所致 The batch of kit did not changed, but the operator was changed in the second test. The unqualified operator in the first test may be the reason
CNCA-19-A01-54	/	更换试剂盒后结果满意,可能是试剂盒质量问题 The participant changed another brand of kit. The poor quality kit may be the reason
CNCA-19-A01-82	试剂盒保存不当 Improper storage of kit	更换试剂盒后结果满意,可能是试剂盒质量问题 The participant changed another brand of kit. The poor quality kit may be the reason
CNCA-19-A01-97	/	更换检验员和试剂盒,可能是试剂盒质量问题或/和检验员操作问题 The participant changed operator and kit. The poor quality kit or the unqualified operator may be the reason
CNCA-19-A01-110	/	更换检验员和试剂盒批次,可能是检验员操作失误或 该批次试剂盒质量问题 The participant changed operator and another batch of the same brand of kit. The poor quality kit or the unqualified operator may be the reason.
CNCA-19-A01-117	检验员未认真阅读 指导书,检验项目错误 The operator did not read the instructions carefully and mistook CSFV with African swine fever virus in the first test	质量管理体系存在问题 The management system has some defects

和地区来说,猪瘟抗体检测可以作为非免猪群猪瘟感染的诊断依据^[4-6]。对猪瘟抗体检测能力的评价,不仅关系到我国进出口生猪、猪肉及其制品的猪瘟检测能力,更关系到我国基层猪瘟防控效果评价的整体水平。因此,组织针对猪瘟抗体检测的能力验证项目具有极其重要的意义。

能力验证是利用实验室间指定检测数据的比

对,确定实验室从事特定测试活动的技术能力^[7]。通过能力验证,可以判断和监控实验室的技术能力,持续改进质量管理体系,同时也是实验室外部质量控制有效的方式。能力验证作为重要的外部质量评价活动,寻求并参加能力验证是合格评定机构的责任和义务^[8]。全国共有 39 家单位取得了认监委颁发的检验检测机构资质认定证书,具有猪瘟抗体检

测能力参数。除 1 家机构外,其余 38 家都参加了此次能力验证项目。另有 65 家自愿参加单位参与此项目。所有参加单位覆盖了我国 27 个省/自治区/直辖市,涵盖海关、动物疫病控制机构和其他检验机构及科研院所等多个领域,具有广泛的代表性和全面性,能够较为全面地反映我国猪瘟抗体检测能力水平。国家级能力验证是确保实验室维持较高的校准和检测水平而对其能力进行考核、监督和确认的一种验证活动,是多种外部质量控制方法之一。通过能力验证项目的实施,不仅能够给对检测机构的检测能力进行全面评估,为相关主管部门政策制定提供可靠的依据,更是各个检测实验室进行自我能力评价,改进机构内部质量管理体系的有效措施之一。因此,很多检验检测机构都会积极参加国内外各类能力验证活动,从而提高实验室的检测能力和管理水平^[9]。2012—2018 年,农业农村部每年都会组织全国省级兽医系统实验室检测能力比对活动,旨在加强兽医实验室管理,评价和提高实验室管理水平和技术能力^[10-12]。结果显示,近 3 年(2016—2018 年)的准确率分别为 98.8%、99.3%、98.7%,保持了较高的检测水准,这说明各省实验室检测质量体系比较稳定,同时,也说明兽医实验室考核和检测能力比对在提升实验室能力建设方面发挥了重要作用。

5 结 论

此次能力验证结果表明,猪瘟抗体检测作为一项常规的检测项目,绝大多数检测机构均能够提供正确的检测结果。对于个别检测结果出现错误的单位,通过查找原因也能及时纠正错误,获得“满意”结果。因此,各检测机构应进一步完善和严格执行质量管理体系,从制度层面保证检验质量,同时,加强基础理论和实操培训,提高检验员、复核员素质,确保检验过程的准确性。建立和完善机构内部的质量控制体系,对采购的诊断试剂进行严格的供应商评价,每批产品需进行内控样品检验,合格后方可投入使用。最后,严把审核关,加强对复核员和审核人的培训,提高责任意识,切实发挥审核的作用,把好检验的每一道关卡!

参考文献 (References):

- [1] 王 琴,涂长春. 猪瘟[M]. 北京:中国农业出版社,2015.
- [2] WANG Q, TU C C. Classical swine fever[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2015. (in Chinese)
- [2] 中国国家认证认可监督管理委员会. 认监委关于开展 2019 年国家级检验检测能力验证工作的通知[Z/OL]. 国认监[2019]6 号. (2019-04-02) [2020-06-23]. http://www.cnca.gov.cn/xxgk/gwxx/2019/201904/t20190402_57124.shtml. Certification and Accreditation Administration of the People's Republic of China. CNCA Notification on carrying out 2019 national proficiency testing program [Z/OL]. CNCA [2019] No. 6. (2019-04-02) [2020-06-23]. http://www.cnca.gov.cn/xxgk/gwxx/2019/201904/t20190402_57124.shtml. (in Chinese)
- [3] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL003: 2018 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南[Z/OL]. (2018-03-01) [2020-06-23]. <https://www.cnas.org.cn/images/rkgf/sysrk/rkzn/2018/03/01/6AD0487CD9466EB2847302550173B283.pdf>. China National Accreditation Service for Conformity Assessment. CNAS-GL003: 2018 Guidance on Evaluating the Homogeneity and Stability of Samples Used for Proficiency Testing[Z/OL]. (2018-03-01) [2020-06-23]. <https://www.cnas.org.cn/images/rkgf/sysrk/rkzn/2018/03/01/6AD0487CD9466EB2847302550173B283.pdf>. (in Chinese)
- [4] BLOME S, MOß C, REIMANN I, et al. Classical swine fever vaccines—State-of-the-art[J]. *Vet Microbiol*, 2017, 206:10-20.
- [5] BROWN V R, BEVINS S N. A review of classical swine fever virus and routes of introduction into the United States and the potential for virus establishment[J]. *Front Vet Sci*, 2018, 5:31.
- [6] World Organization for Animal Health. Classical Swine Fever (Infection with Classical Swine Fever Virus)[M]//World Organization for Animal Health. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Paris: OIE, 2019.
- [7] 中国国家认证认可监督管理委员会. 实验室能力验证实施办法[Z/OL]. 2006 年第 9 号公告[Z]. (2016-03-16) [2020-06-23]. http://www.cnca.gov.cn/bsdt/ywzl/jyjcggl/sysnyzzl/zcyjszlzx/201603/t20160316_48320.shtml. Certification and Accreditation Administration of the People's Republic of China. Implementation measures for proficiency testing[Z/OL]. CNCA [2006] No. 9. (2016-03-16) [2020-06-23]. http://www.cnca.gov.cn/bsdt/ywzl/jyjcggl/sysnyzzl/zcyjszlzx/201603/t20160316_48320.shtml.

- cnca. gov. cn/bsdt/ywzl/jyjcjggl/sysnlyzsl/zcyjszlxz/201603/t20160316_48320. shtml. (in Chinese)
- [8] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL002: 2018 能力验证规则[Z/OL]. (2018-03-01) [2020-06-23]. <https://www.cnas.org.cn/images/rkgf/sysrk/rkgz/2018/03/01/291AB789D8DC7BF39BDA51919F052BE2.pdf>.
- China National Accreditation Service for Conformity Assessment. CNAS-GL002: 2018 Rules for Proficiency Testing [Z/OL]. (2018-03-01) [2020-06-23]. <https://www.cnas.org.cn/images/rkgf/sysrk/rkgz/2018/03/01/291AB789D8DC7BF39BDA51919F052BE2.pdf>. (in Chinese)
- [9] 任敏红, 依力哈木·尔西丁, 王兴华, 等. 能力验证在检测实验室质量管理中的应用[J]. 中国检验检疫, 2019, 27(2):58-60, 23.
- REN H M, YILIHAMU E X D, WANG X H, et al. The application of proficiency testing in management control of laboratory[J]. *China Inspection Body & Laboratory*, 2019, 27(2):58-60, 23. (in Chinese)
- [10] 邴国霞, 董昕欣, 刘 伟, 等. 2016 年全国省级兽医系统实验室检测能力比对结果分析[J]. 中国兽医杂志, 2017, 53(9):109-111.
- BING G X, DONG X X, LIU W, et al. Analysis of proficiency testing results of provincial veterinary laboratory in 2016[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2017, 53(9):109-111. (in Chinese)
- [11] 邴国霞, 董昕欣, 刘 伟, 等. 2017 年全国省级兽医系统实验室检测能力比对结果分析[J]. 中国兽医杂志, 2018, 54(5):118-119.
- BING G X, DONG X X, LIU W, et al. Analysis of proficiency testing results of provincial veterinary laboratory in 2017[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2018, 54(5):118-119. (in Chinese)
- [12] 邴国霞, 金 萍, 刘 伟, 等. 2018 年全国省级兽医系统实验室检测能力比对结果分析[J]. 中国兽医杂志, 2019, 55(2):131-133.
- BING G X, JIN P, LIU W, et al. Analysis of proficiency testing results of provincial veterinary laboratory in 2018 [J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2019, 55(2):131-133. (in Chinese)

(编辑 白永平)