

口蹄疫抗体免疫层析试纸的临床 应用及性能评价

杨苏珍¹, 杨继飞¹, 李清州², 卢清侠¹, 万 博¹, 鲍登克¹, 刘运超¹, 柴书军¹, 张改平^{1*}

(1. 河南省农业科学院 农业部动物免疫学重点开放实验室/河南省动物免疫学重点实验室, 河南 郑州 450002;

2. 河南省农业科学院 农业经济与信息研究中心, 河南 郑州 450002)

摘要: 为评价前期研制的猪口蹄疫 O 型抗体检测试纸的临床应用效果, 检测了 162 头份口蹄疫病毒(FMDV)多肽疫苗免疫猪血清和 87 头份灭活疫苗免疫猪血清, 并与 UBI FMDV 抗体检测 ELISA 和美国 BioXL FMDV 抗体检测 ELISA 做平行对比试验。结果显示, 试纸与 2 种 ELISA 方法的符合率分别为 95.06% 和 96.55%。说明该试纸可以用于猪 FMDV O 型抗体的临床检测, 为评价口蹄疫疫苗免疫效果提供了快速、简便的方法。

关键词: 口蹄疫病毒; 免疫层析试纸; ELISA

中图分类号: S852.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2012)10-0148-05

Clinical Application and Evaluation of the Immunochromatographic Strip for Detecting Antibodies against Swine Foot-and-mouth Disease Virus

YANG Su-zhen¹, YANG Ji-fei¹, LI Qing-zhou², LU Qing-xia¹, WAN Bo¹,
BAO Deng-ke¹, LIU Yun-chao¹, CHAI Shu-jun¹, ZHANG Gai-ping^{1*}

(1. Henan Provincial Key Laboratory of Animal Immunology/Key laboratory of Animal Immunology of the Ministry of Agriculture, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China; 2. Agricultural Economy and Information Research Center, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: To evaluate the clinical application effects of the immunochromatographic strips for detecting antibodies against swine foot-and-mouth disease virus(FMDV), a total of 162 sera samples from the FMDV-peptide vaccine immunized pigs and 87 samples from the FMDV inactivated vaccine immunized pigs were detected by the immunochromatographic strips and FMDV antibody detecting ELISA kits provided by UBI or BioXL simultaneously. The results showed that the agreement rate of the strip with the two ELISA kits was 95.06% and 96.55%, respectively. This suggests that the strip can be used for detecting FMDV clinical serum samples and displays rapid and simple features.

Key words: FMDV; immunochromatographic strip; ELISA

口蹄疫(foot-and-mouth disease, FMD)是由口蹄疫病毒(foot-and-mouth disease virus, FMDV)引起的牛、猪、羊等多种偶蹄动物感染的一种高度接触

性传染病^[1-4]。由于该病传播迅速、发病率高,往往造成大流行,而且严重影响国内、国际贸易,耗费大量人力、物力和财力,造成巨大的经济损失^[5-8]。发

收稿日期: 2012-04-20

基金项目: 农业部公益性行业专项(201203039); 河南省农业科学院科技发展专项(2011-196-64)

作者简介: 杨苏珍(1980-), 女, 河南开封人, 助理研究员, 博士, 主要从事动物疫病免疫机制的研究。

E-mail: yang-suzhen@163.com

* 通讯作者: 张改平(1960-), 男, 河南内黄人, 研究员, 博士, 博士生导师, 主要从事动物免疫学研究。

E-mail: zhanggaiping2003@yahoo.com.cn

展中国家预防和控制口蹄疫流行的方法主要以疫苗免疫为主^[9-13],因此,评价疫苗免疫后抗体产生水平十分重要。河南省动物免疫学重点实验室建立了猪 O 型口蹄疫抗体检测试纸条,通过实验室试验和中试生产检验,证实该试纸特异性强、敏感性高。为进一步验证该试纸的临床应用效果,采用口蹄疫合成肽疫苗和灭活疫苗分别免疫猪 162 头份和 87 头份,采用试纸检测抗体水平,并与 2 种商品 ELISA 做平行对比试验,评估该试纸的临床应用效果。

1 材料和方法

1.1 仪器

M550 型酶标仪购自 Bio-Rad 公司,ELx50 型洗板机购自 Bio-Tek 公司。

1.2 试纸条和 ELISA 试剂盒

猪 O 型 FMDV 抗体检测试纸由河南省动物免疫学重点实验室研制、组装,用质控血清检验,该试纸的特异性、敏感性、稳定性以及保质期均符合质量标准;UBI FMDV VP1 抗体检测 ELISA 试剂盒购自上海优耐特生物医药有限公司;FMDV O 型抗体间接 ELISA 试剂盒为美国 BioXL 公司产品。

1.3 血清样品

162 头份 FMDV 多肽疫苗免疫猪血清由河南新大牧业有限公司和河南周口某养猪场提供,由上海申联生物有限公司生产的猪 O 型 FMDV 多肽疫苗免疫,编号为 T1—T162;87 头份灭活疫苗免疫猪血清由正阳县某养猪场提供,由中国农业科学院兰州兽医研究所中农维特生物有限公司生产的猪 O 型 FMDV 灭活疫苗免疫猪血清,编号为 M1—M87。

1.4 方法

多肽疫苗免疫猪血清用试纸和 UBI FMDV VP1 抗体检测 ELISA 试剂盒同步检测,对比其符

合率;灭活疫苗免疫猪血清用试纸和美国 BioXL ELISA 试剂盒同步检测,对比其符合率。

1.4.1 试纸检测方法及其结果判定 撕开铝箔袋,将检测试纸平放桌面上,取生理盐水作 1:100 稀释的猪血清 150 μ L,滴入试纸卡的加样孔中,静置 5~10 min 观察结果。只在质控线(C)处上出现 1 条紫红色线,而检测线(T)处不出现色线的判为阴性;在质控线(C)处和检测线(T)处各出现 1 条肉眼可见的紫红色线的判为阳性;在质控线(C)处不出现紫红色线的判为无效。

1.4.2 FMDV VP1 抗体检测 ELISA 试剂盒检测

按说明书操作方式进行。阳性对照样品的 OD₄₅₀ 平均值 \times 0.23 作为临界值,被检样品的 OD₄₅₀ 值 \geq 临界值的判为阳性,即 O 型口蹄疫疫苗免疫合格,被检样品的 OD₄₅₀ 值<临界值的判为阴性,即 O 型口蹄疫疫苗免疫不合格或无免疫。

1.4.3 美国 BioXL ELISA 试剂盒检测 按说明书操作方式进行。阴阳性对照样品和被检样品的 OD₆₃₀ 值减去空白对照的 OD₆₃₀ 值为 A 值,样品 A 值大于 0.4 的判为阳性,样品 A 值在 0.2~0.4 的判为可疑,样品 A 值小于 0.2 的判为阴性。

2 结果与分析

2.1 O 型口蹄疫多肽疫苗免疫猪血清检测结果

O 型 FMDV 多肽疫苗免疫猪血清检测结果见表 1。从表 1 可以看出,162 份 O 型 FMDV 多肽疫苗免疫猪血清,试纸和 UBI ELISA 试剂盒 2 种方法检测均为阳性的血清为 124 份,均为阴性的血清为 30 份,试纸检测阴性而 ELISA 检测为阳性的血清 5 份,试纸检测阳性而 ELISA 检测为阴性的血清有 3 份,即试纸和 ELISA 检测结果相同的血清有 154 份,2 种方法检测结果不同的血清有 8 份,二者的符合率为 95.06%(154/162)。

表 1 O 型口蹄疫多肽疫苗免疫猪血清检测结果

编号	试纸	ELISA	编号	试纸	ELISA	编号	试纸	ELISA
T1	阳性	(+)1.612	T55	阳性	(+)1.699	T109	阳性	(+)0.885
T2	阴性	(-)0.086	T56	阴性	(-)0.086	T110	阳性	(+)1.654
T3	阳性	(+)1.852	T57	阴性	(-)0.159	T111	阳性	(+)1.725
T4	阳性	(+)1.761	T58	阴性	(+)0.398	T112	阴性	(-)0.213
T5	阳性	(+)1.043	T59	阳性	(+)0.414	T113	阴性	(-)0.147
T6	阳性	(+)1.285	T60	阳性	(+)1.315	T114	阳性	(+)1.391
T7	阳性	(+)0.999	T61	阳性	(+)1.550	T115	阳性	(+)1.543
T8	阴性	(-)0.086	T62	阳性	(+)1.947	T116	阳性	(+)1.704
T9	阳性	(+)0.764	T63	阳性	(+)2.054	T117	阳性	(+)1.569
T10	阴性	(+)0.398	T64	阳性	(+)2.061	T118	阳性	(+)1.454
T11	阳性	(+)1.698	T65	阳性	(+)2.062	T119	阳性	(+)2.087
T12	阳性	(+)1.087	T66	阳性	(+)0.404	T120	阳性	(+)1.428
T13	阳性	(+)1.967	T67	阳性	(+)1.806	T121	阳性	(+)1.467

续表 1 O 型口蹄疫多肽疫苗免疫猪血清检测结果

编号	试纸	ELISA	编号	试纸	ELISA	编号	试纸	ELISA
T14	阳性	(+)1.321	T68	阳性	(+)1.912	T122	阳性	(+)1.549
T15	阳性	(+)0.791	T69	阳性	(+)2.174	T123	阳性	(+)1.817
T16	阳性	(+)1.987	T70	阳性	(+)1.562	T124	阴性	(-)0.301
T17	阴性	(-)0.168	T71	阳性	(+)1.336	T125	阳性	(+)2.135
T18	阳性	(+)2.051	T72	阳性	(+)1.507	T126	阴性	(-)0.156
T19	阳性	(+)1.741	T73	阴性	(-)0.214	T127	阴性	(-)0.086
T20	阳性	(+)0.961	T74	阴性	(-)0.076	T128	阴性	(-)0.157
T21	阴性	(+)0.697	T75	阳性	(+)1.654	T129	阳性	(-)0.143
T22	阳性	(+)1.062	T76	阳性	(+)1.725	T130	阳性	(+)0.888
T23	阳性	(+)2.111	T77	阳性	(+)1.880	T131	阳性	(+)1.413
T24	阳性	(+)1.924	T78	阳性	(+)1.659	T132	阴性	(-)0.098
T25	阳性	(+)1.087	T79	阳性	(+)1.837	T133	阳性	(+)1.866
T26	阳性	(+)1.521	T80	阳性	(+)1.738	T134	阳性	(+)0.672
T27	阳性	(+)2.201	T81	阳性	(+)2.014	T135	阳性	(+)1.738
T28	阳性	(+)1.638	T82	阴性	(-)0.187	T136	阳性	(+)1.748
T29	阴性	(-)0.249	T83	阳性	(+)1.941	T137	阳性	(+)1.772
T30	阳性	(+)0.924	T84	阳性	(+)1.791	T138	阳性	(+)1.839
T31	阳性	(+)0.426	T85	阳性	(+)1.643	T139	阳性	(+)1.510
T32	阴性	(-)0.173	T86	阳性	(+)0.909	T140	阳性	(+)1.835
T33	阴性	(-)0.208	T87	阳性	(+)1.838	T141	阳性	(+)1.509
T34	阳性	(+)0.405	T88	阳性	(+)1.691	T142	阳性	(+)2.013
T35	阳性	(-)0.301	T89	阳性	(+)1.410	T143	阳性	(+)1.873
T36	阳性	(+)1.827	T90	阳性	(+)1.697	T144	阳性	(+)2.583
T37	阳性	(+)1.352	T91	阳性	(+)2.049	T145	阳性	(+)1.814
T38	阳性	(+)1.034	T92	阳性	(+)1.225	T146	阳性	(+)1.744
T39	阳性	(+)0.827	T93	阴性	(-)0.141	T147	阳性	(+)2.119
T40	阳性	(+)1.683	T94	阴性	(-)0.153	T148	阳性	(+)0.693
T41	阳性	(+)2.164	T95	阴性	(-)0.098	T149	阳性	(+)1.658
T42	阳性	(+)1.300	T96	阳性	(+)1.838	T150	阳性	(+)0.912
T43	阴性	(-)0.092	T97	阳性	(+)2.114	T151	阳性	(+)1.972
T44	阳性	(+)0.691	T98	阴性	(-)0.079	T152	阳性	(+)0.718
T45	阳性	(+)1.437	T99	阴性	(-)0.205	T153	阳性	(+)1.267
T46	阴性	(-)0.158	T100	阳性	(+)1.697	T154	阴性	(-)0.145
T47	阳性	(-)0.323	T101	阴性	(-)0.251	T155	阴性	(+)0.392
T48	阳性	(+)1.037	T102	阳性	(+)1.114	T156	阳性	(+)1.056
T49	阳性	(+)0.761	T103	阳性	(+)1.907	T157	阴性	(-)0.073
T50	阳性	(+)1.521	T104	阳性	(+)1.773	T158	阳性	(+)1.947
T51	阴性	(-)0.173	T105	阳性	(+)2.092	T159	阳性	(+)2.054
T52	阴性	(-)0.158	T106	阳性	(+)1.909	T160	阳性	(+)2.061
T53	阴性	(+)0.372	T107	阳性	(+)1.516	T161	阳性	(+)2.062
T54	阳性	(+)0.798	T108	阳性	(+)2.049	T162	阳性	(+)1.912

注:所用 ELISA 试剂盒为 UBI FMDV VP1 抗体检测 ELISA 试剂盒。

2.2 O 型口蹄疫灭活疫苗免疫猪血清检测结果

O 型口蹄疫灭活疫苗免疫猪血清检测结果见表 2。从表 2 可以看出,87 份 O 型 FMDV 灭活疫苗免疫猪血清,试纸和美国 BioXL ELISA 试剂盒 2 种方法检测均为阳性的血清为 84 份,均为阴性的血清为

0 份,试纸检测阴性而 ELISA 检测为阳性的血清 3 份,试纸检测阳性而 ELISA 检测为阴性的血清有 0 份,即试纸和 ELISA 检测结果相同的血清有 84 份,2 种方法检测结果不同的血清有 3 份,二者的符合率为 96.55%(84/87)。

表 2 O 型口蹄疫灭活疫苗免疫猪血清检测结果

编号	试纸	ELISA	编号	试纸	ELISA	编号	试纸	ELISA
M1	阳性	(+)1.283	M30	阳性	(+)0.953	M59	阳性	(+)1.628
M2	阳性	(+)0.833	M31	阳性	(+)0.578	M60	阳性	(+)0.987
M3	阳性	(+)1.704	M32	阳性	(+)1.647	M61	阳性	(+)1.060
M4	阴性	(+)0.429	M33	阳性	(+)1.302	M62	阳性	(+)1.259
M5	阳性	(+)1.031	M34	阴性	(+)1.131	M63	阳性	(+)1.189
M6	阳性	(+)1.349	M35	阳性	(+)0.969	M64	阳性	(+)1.479
M7	阳性	(+)0.802	M36	阳性	(+)1.341	M65	阳性	(+)1.193
M8	阳性	(+)1.492	M37	阳性	(+)1.160	M66	阳性	(+)1.150
M9	阳性	(+)1.370	M38	阳性	(+)0.479	M67	阳性	(+)0.947
M10	阳性	(+)1.313	M39	阳性	(+)0.655	M68	阳性	(+)1.168
M11	阳性	(+)1.362	M40	阳性	(+)0.693	M69	阳性	(+)1.018
M12	阴性	(+)0.400	M41	阳性	(+)1.595	M70	阳性	(+)1.152
M13	阳性	(+)1.828	M42	阳性	(+)1.057	M71	阳性	(+)1.295
M14	阳性	(+)1.197	M43	阳性	(+)1.243	M72	阳性	(+)1.069
M15	阳性	(+)1.220	M44	阳性	(+)0.957	M73	阳性	(+)1.143
M16	阳性	(+)0.985	M45	阳性	(+)0.696	M74	阳性	(+)0.926
M17	阳性	(+)1.401	M46	阳性	(+)1.152	M75	阳性	(+)0.483
M18	阳性	(+)1.797	M47	阳性	(+)0.611	M76	阳性	(+)0.809
M19	阳性	(+)0.841	M48	阳性	(+)1.457	M77	阳性	(+)0.519
M20	阳性	(+)1.305	M49	阳性	(+)1.350	M78	阳性	(+)0.593
M21	阳性	(+)1.560	M50	阳性	(+)1.873	M79	阳性	(+)0.409
M22	阳性	(+)1.197	M51	阳性	(+)1.161	M80	阳性	(+)0.404
M23	阳性	(+)1.554	M52	阳性	(+)1.262	M81	阳性	(+)0.852
M24	阳性	(+)1.307	M53	阳性	(+)1.574	M82	阳性	(+)0.658
M25	阳性	(+)1.210	M54	阳性	(+)0.955	M83	阳性	(+)0.457
M26	阳性	(+)1.428	M55	阳性	(+)1.213	M84	阳性	(+)0.404
M27	阳性	(+)1.371	M56	阳性	(+)1.370	M85	阳性	(+)0.825
M28	阳性	(+)0.947	M57	阳性	(+)1.409	M86	阳性	(+)0.806
M29	阳性	(+)1.662	M58	阳性	(+)1.257	M87	阳性	(+)0.637

注:所用 ELISA 试剂盒为美国 BioXL FMDV 抗体检测 ELISA 试剂盒。

3 讨论

传统的 FMD 血清学检测方法主要有病毒中和试验(VNT)^[6]、液相阻断酶联免疫吸附试验(LPBE)^[14]、固相竞争酶联免疫吸附试验(SPCE)^[15]。尽管这些方法具有特异、敏感等优点,但它们需要特殊的仪器设备和专业技术人员。同时,这些方法还需要病毒的参与,存在病毒灭活不全和逃逸的隐患,加之检测成本较高,因此没有在广大基层推广使用,更不适合在农户中推广使用。免疫层析是出现于 20 世纪 80 年代初期的一种独特的免疫分析方式,它是在免疫渗滤的基础上建立的一种简单快速的免疫学检测技术。基于该技术的免疫层析快速诊断试纸将胶体金标记技术、免疫检测技术和层析分析技术等多种方法有机结合在一起,具有

便捷、快速、准确和无污染等特点,不需要借助于任何仪器设备和专门的技术人员,因此被广泛应用于医学检测和临床诊断,成为目前进行快速诊断的主要方法之一。近 10 a 来,胶体金免疫层析技术已经被广泛应用于药品残留、环境污染、疫病诊断、食品安全等领域。禽流感、蓝耳病、法氏囊抗原或抗体检测试纸已有报道。河南省动物免疫学重点实验室利用抗原抗体特异结合原理结合膜免疫层析技术,建立了猪 O 型口蹄疫抗体检测免疫层析试纸。为进一步分析该试纸的实际应用效果,本研究通过检测口蹄疫多肽疫苗和灭活疫苗免疫猪血清,同时对比商品 ELISA 试剂盒,对比试验结果显示,该试纸和商品试剂盒检测结果基本一致,具有较高的特异性和敏感性,能够应用于猪 O 型口蹄疫抗体的临床检测,为口蹄疫的预防和控制提供了简便快速的检测方法。

参考文献:

- [1] Kitching R P. Foot-and-mouth disease; current world situation[J]. Vaccine, 1999, 17: 1772-1774.
- [2] 杨苏珍, 李清州, 张改平, 等. 口蹄疫诊断技术研究进展[J]. 河南农业科学, 2009(10): 36-38.
- [3] 倪卫忠, 孙泉云. 动物对口蹄疫病毒的免疫应答及口蹄疫疫苗的质量评估[J]. 现代农业科技, 2008(16): 273-274.
- [4] 杨苏珍, 张改平, 鲍登克, 等. O 型口蹄疫病毒 VP1 蛋白的原核表达及功能鉴定[J]. 华北农学报, 2009, 24(6): 11-14.
- [5] 刘颖, 冉多良, 马扬. 正向间接血凝试验监测家畜 O 型口蹄疫抗体[J]. 现代农业科技, 2007(19): 181-182.
- [6] 韩惠瑛, 师汇, 左光明. 口蹄疫流行原因分析与我国防控措施[J]. 山西农业科学, 2007, 35(3): 76-78.
- [7] Paek S H, Lee S H, Cho J H, *et al.* Development of rapid one-step immunochroma-tographic assay [J]. Methods, 2000, 22(1): 53-60.
- [8] 刘新生, 王永录. 口蹄疫病毒株 AF/72 结构蛋白 VP1 克隆及其 T 细胞表位预测[J]. 华北农学报, 2010, 25

(5): 28-32.

- [9] 莫丽娜, 肖开鹏, 张运, 吴殿军. 口蹄疫的防控[J]. 现代农业科技, 2009(16): 315-316.
- [10] 丁伯良, 马吉飞, 李志荣. 天津市养殖小区动物防疫问题的调查报告[J]. 天津农业科学, 2007, 13(3): 1-4.
- [11] 袁丽, 郭凤英. 春季猪口蹄疫病的发生与防治[J]. 现代农业科技, 2011(5): 347-348.
- [12] 刘加邦, 律秀岩, 吴金柱, 等. 预防奶牛口蹄疫流行的具体措施[J]. 天津农业科学, 1999, 5(4): 30-31.
- [13] 帅起义. 微生态制剂对猪免疫应答及生长性能的影响[J]. 山西农业科学, 2011, 39(11): 1210-1212.
- [14] Chenard G, Miedema K, Moonen P, *et al.* A solid-phase blocking ELISA for detection of type O foot-and-mouth disease virus antibodies suitable for mass serology[J]. J Virol Met, 2003, 107: 89-98.
- [15] Araujo J P, Montassier H J, Pinto A A. Liquid-phase blocking sandwich enzyme linked immunosorbent assay for detect ion of antibodies against foot and mouth disease virus in water buffaloesera[J]. Am J Ve Res, 1996, 57(6): 840-843.

(上接第 144 页) 在细菌间互相传播和扩散^[6], 细菌的多重耐药相当普遍, 导致抗菌药治疗效果差。本次调查发现, 50 株大肠杆菌对 16 种药物的敏感率存在较大差异, 且不同猪场大肠杆菌的耐药谱不同, 表明仔猪黄痢大肠杆菌存在广泛的耐药性, 且以多重耐药为主, 这与其他地区的报道结果一致^[2-3, 5, 7, 13]。在治疗仔猪黄痢时, 建议猪场最好结合药敏试验筛选敏感药物进行治疗。

参考文献:

- [1] 陆承平. 兽医微生物学[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2001: 215-217.
- [2] 王秀梅, 蒋红霞, 廖晓萍, 等. 猪源致病性大肠杆菌的血清型、毒力基因及抗菌药耐药性的调查[J]. 中国农业科学, 2010, 43(19): 4109-4115.
- [3] 秦四海, 段晓玲. 规模化养猪场仔猪黄痢病原菌血清型检测及其药敏试验[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2008, 36(10): 43-47.
- [4] 孙广力, 孙刚, 李书华, 等. 黑龙江省规模化养猪场大肠杆菌病血清型流行病学调查[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2004(7): 90-91.
- [5] 刘梦元, 吴斌, 刘建杰, 等. 规模化猪场大肠杆菌的耐药

性监测及血清流行病学调查[J]. 中国兽医学报, 2004, 24(1): 16-18.

- [6] 雷连成, 江文正, 韩文瑜, 等. 致病性大肠杆菌的耐药性监测[J]. 中国兽医杂志, 2001, 37(1): 12-13.
- [7] 曹翠萍, 宁海强, 孙丽, 等. 中药对大肠杆菌抑制作用及耐药性诱导作用的研究[J]. 西南农业学报, 2007, 20(5): 1101-1104.
- [8] 田国宝, 王红宁, 黄勇, 等. 规模化猪场大肠杆菌耐药性和血清型变化趋势[J]. 中国兽医杂志, 2007, 43(10): 31-33.
- [9] 王红琳, 熊忠良, 周绍凤, 等. 湖北省仔猪致病性大肠杆菌血清型鉴定[J]. 动物医学进展, 2002, 23(3): 68-69.
- [10] 陈一兵, 苗晓青, 高崧, 等. 猪腹泻病例分离大肠杆菌的血清型分布[J]. 中国兽医杂志, 2008, 44(9): 36-38.
- [11] 傅彩霞, 郑瑞峰, 郭峰, 等. 北京部分地区仔猪大肠杆菌病血清型调查[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2012(3): 79-80.
- [12] 谢永平, 杨威, 陈泽祥, 等. 广西地区猪大肠杆菌血清型调查及耐药性检测[J]. 广西农业科学, 2010, 41(4): 380-382.
- [13] 王自然. 中药组方对猪大肠杆菌病的抑菌及临床治疗试验[J]. 中国兽医杂志, 2006, 42(2): 33-34.