中国农业大学学报 2024,29(5):74-80
Journal of China Agricultural University http://zgnydxxb.ijournals.cn

杨燕,胡哲,郭奎,张泽楠,薛红,黄雪英,沈丹,王晓钧. 非洲马瘟病毒VP7蛋白ELISA阳性血清标准样品的初步制备[J]. 中国农业大学学报,2024,29(05):74-80.
YANG Yan, HU Zhe, GUO Kui, ZHANG Zenan, XUE Hong, HUANG Xueying, SHEN Dan, WANG Xiaojun. Preliminary preparation of African horse sickness virus VP7 protein ELISA positive serum standard[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2024, 29(05): 74-80.
DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2024.05.07

非洲马瘟病毒VP7蛋白ELISA阳性血清标准样品的初步制备

杨 燕[1] 胡 哲[1] 郭 奎[1] 张泽楠[1] 薛 红[2] 黄雪英[2] 沈 丹[2] 王晓钧[1*]
(1. 中国农业科学院 哈尔滨兽医研究所/动物疫病防控全国重点实验室,哈尔滨 150069;
2. 广州市动物卫生监督所,广州 510440)

摘 要 为制备非洲马瘟病毒VP7蛋白ELISA阳性血清标准样品,筛选一匹无常见马属动物疫病抗体的马作为靶动物,利用大肠杆菌原核表达系统制备的VP7蛋白为免疫原,将免疫原与MONTANIDE ISA35佐剂等体积混合乳化后,每两周免疫1次,共进行3次免疫,每周采集血清,检测其血清抗体ELISA效价。在血清效价高时大量采血分离血清,验证其无菌性,并将高效价血清进行冻干,参照《中华人民共和国兽药典》中的方法对该血清进行特异性检验、无菌检验、均一性评估和稳定性评估。结果表明:1)在免疫后第3周,可以检测到免疫马体内的非洲马瘟抗体。2)特异性结果显示马流感病毒、马疱疹病毒I型、马疱疹病毒II型、马疱疹病毒IV型、马动脉炎病毒、马传染性贫血病毒、马链球菌、马流产沙门菌、鼻疽伯克霍尔德氏菌、马驽巴贝斯虫和马泰勒虫抗体检测结果均为阴性。说明制备的标准血清背景干净,无常见马属动物疫病抗体。3)无菌检验结果显示酪胨琼脂培养基、胰酪大豆胨液体培养基和硫乙醇酸盐液体培养基上均无杂菌生长,说明制备的血清中无细菌和真菌等微生物污染。4)稳定性评估结果显示制备的血清在4、25和37 ℃环境下可稳定保存2个月,在−20和−80 ℃环境下可稳定保存6个月。综上,本研究成功制备了非洲马瘟病毒VP7蛋白ELISA阳性血清标准样品,该标准样品的制备为非洲马瘟的相关研究奠定理论基础。

关键词 非洲马瘟;阳性血清;ELISA;标准样品
中图分类号 S855.3 **文章编号** 1007-4333(2024)05-0074-07 **文献标志码** A

Preliminary preparation of African horse sickness virus VP7 protein ELISA positive serum standard

YANG Yan[1], HU Zhe[1], GUO Kui[1], ZHANG Zenan[1], XUE Hong[2], HUANG Xueying[2], SHEN Dan[2], WANG Xiaojun[1*]
(1. State Key Laboratory for Animal Disease Control and Prevention, Harbin Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150069, China;
2. Guangzhou Animal Health Supervision Institute, Guangzhou 510440, China)

Abstract The study aimed to prepare a positive serum standard of VP7 protein for the ELISA of the African horse sickness virus, a horse without antibodies against common equine diseases was selected as the target animal, and VP7 protein expressed by the prokaryotic expression system of Escherichia coli was used as the immunogen. The immunogen was mixed with MONTANIDE ISA35 adjuvant in equal volume and

收稿日期:2023-08-24
基金项目:十四五国家重点研发计划(2021YFD1800500)
第一作者:杨燕(ORCID:0000-0002-3862-2003),硕士研究生,E-mail:2799573561@qq.com
通讯作者:王晓钧(ORCID:0000-0003-4521-4099),研究员,主要从事病毒与宿主天然免疫相互作用机制及马属动物传染病的防控策略研究,E-mail:wangxiaojun@caas.cn

emulsified, and then the horse was immunized once every 2 weeks for a total of 3 immunizations, and serum was collected to detect the serum antibody titer by ELISA. When the serum potency was highest, a large amount of blood was collected to isolate the serum and verify its sterility, and the high valence serum was lyophilized. The specificity, sterility, uniformity and stability of the serum were tested according to the methods in the Veterinary Pharmacopoeia of the People´s Republic of China. The results showed that: 1) Antibodies against African horse sickness could be detected in the immunized horse in the third week after immunization. 2) The specificity results showed that antibodies against equine influenza virus, equine herpesvirus type I, equine herpesvirus type II, equine herpesvirus type IV, equine arteritis virus, equine infectious anemia virus, equine streptococcus, equine Salmonella abortus, Burkholderia pseudomallei, Babesia caballi and Theileria equi were all negative. The prepared standard serum had a clean background and no common equine pathogenic antibodies. 3) There was no growth of stray organisms on the case peptone agar medium, tryptic soy peptone liquid medium and thioglycolate liquid medium, indicating that the prepared serum was free from microbial contamination such as bacteria and fungi. 4) The stability test results showed that the prepared serum can be stably stored for 2 months at 4, 25 and 37 ℃ and for 6 months at -20 and -80 ℃. In conclusion, this study successfully prepared positive serum standard of VP7 protein for the ELISA of the African horse sickness virus, which laid a theoretical foundation for related research on African horse sickness.

Keywords　African horse sickness; positive serum; ELISA; standard samples

非洲马瘟(African horse sickness,AHS)是由非洲马瘟病毒(African horse sickness virus,AHSV)引起的一种急性或亚急性的虫媒传染病,通过库蠓等吸血昆虫传播[1],可感染所有的马属动物,致死率高达95%[2],被WOAH(World Organisation for Animal Health,WOAH)列为A类动物疫病,一经发现需上报扑杀[3]。非洲马瘟主要分布在非洲撒哈拉沙漠以南地区,偶尔也在非洲北部、中东和欧洲发生,呈季节性流行,在温热,潮湿季节多发。2020年,首次在东南亚国家(泰国和马来西亚)发现非洲马瘟疫情[4-5],此次非洲马瘟疫情,累积死亡马超200匹,对当地马属动物产业造成严重经济损失,而目前非洲马瘟在亚洲的流行情况尚不清楚。我国从未发生过非洲马瘟,被WOAH认定为无疫国,但云南省临近泰国,其温暖潮湿的环境以及大量的库蠓为AHS在我国暴发提供了条件[5]。

非洲马瘟病毒属于呼肠孤病毒科环状病毒属[6],病毒表面无囊膜[7],RNA基因组被包裹在病毒核心颗粒内,核心颗粒由2个主要蛋白VP3和VP7,以及3个次要蛋白VP1、VP4和VP6构成[8]。其中VP7是内衣壳蛋白,有较好的免疫原特性,文献报道的非洲马瘟血清学检测方法大部分基于此蛋白[9-10]。

目前,非洲马瘟抗体检测方法ELISA常被用于大规模血清学初筛,当前商品化非洲马瘟ELISA试剂盒仍依赖进口,而进口试剂盒价格昂贵,货期较长,亟须建立准确,便捷的ELISA检测方法,研发出国产的非洲马瘟商品化试剂盒。而阳性血清在抗体检测方法中至关重要,但我国目前尚无标准化、商品化的非洲马瘟阳性血清供应。本研究采用纯化的VP7蛋白免疫马匹制备AHSV阳性血清,并对其进行质量检验,制备了一批标准阳性血清用以标定AHSV ELISA检测方法,解决国内AHSV血清学诊断无标准阳性血清的实际问题。

1　材料与方法

1.1　材料

非洲马瘟抗体阴性马,马流感抗体检测试剂盒和马链球菌抗体检测试剂盒为法国ID. Vet公司产品,非洲马瘟病毒cELISA抗体检测试剂盒、马动脉炎病毒ELISA抗体检测试剂盒为西班牙英吉纳公司产品,马流产沙门氏菌抗体检测试剂盒、马传染性贫血抗体检测试剂盒为国生生物公司产品,马驽巴贝斯虫抗体检测试剂盒和马泰勒虫抗体检测试剂盒为美国VMRD公司产品,支原体检测试剂盒为碧云天公司产品,酪胨琼脂培养基和胰酪大豆胨液体培养基为hopebio公司产品,硫乙醇酸盐液体培养基为oxoid公司产品,MONTANIDE ISA35佐剂为法国赛比克公司产品,纯化的VP7蛋白为本实验室前期制备保存。

1.2 免疫采血

用商品化试剂盒和实验室建立方法对免疫靶动物进行筛选，共计从23匹马中筛选出一匹马流感、马腺疫、马疱疹病毒I型感染、马疱疹病毒II型感染、马疱疹病毒IV型感染、马流产沙门菌病、马驽巴贝斯虫病、马泰勒虫病、马病毒性动脉炎、马传染性贫血和马鼻疽11种常见马属动物疫病抗体阴性马，用MONTANIDE ISA35佐剂乳化VP7蛋白，蛋白浓度为2 mg/mL，$V_{佐剂}:V_{蛋白}=1:1$，随后用乳化后VP7蛋白进行免疫，免疫方案如表1。

表1 阳性血清制备免疫方案

Table 1 Positive serum preparation immunization program

免疫次数 Number of immunization	免疫时间 Immunization time	免疫方法 Immunization method
第一次	首次免疫	马匹肌肉注射乳化后的VP7蛋白1 mg
第二次	首免后2周	马匹肌肉注射乳化后的VP7蛋白1 mg
第三次	二免后2周	马匹肌肉注射乳化后的VP7蛋白1 mg

首免后，每周均进行无菌采血，3 000 r/min离心30 min，分离血清，并监测免疫后血清抗体效价变化，选择稀释8倍后ELISA检测依旧为阳性的血清制备标准阳性血清，放置于－20 ℃冷冻保存备用。

1.3 阳性血清的检验

1.3.1 特异性检验

按照《中华人民共和国兽药典》中的方法检测阳性血清中是否存在细菌、真菌、支原体和外源病毒抗体[11]。

1.3.2 效价检测

用英吉纳非洲马瘟病毒cELISA抗体检测试剂盒检测1.2中的血清抗体效价。选择高效价的血清作为阳性血清。

1.4 阳性血清冻干

在制备的血清中加入冻干稳定剂并混匀，按照0.5 mL/支进行分装，真空冷冻干燥。将冻干血清作为非洲马瘟病毒VP7蛋白ELISA阳性血清标准样品。

1.5 冻干血清检验

1.5.1 物理性状

随机抽取3支冻干阳性血清样品，观察颜色和性状，再打开安瓿瓶加入PBS溶解，记录溶解情况。

1.5.2 无菌检验

随机抽取3支冻干阳性血清样品，按文献方法[11]进行。

1.5.3 冻干前后血清效价检验

随机抽取冻干前后各3支阳性血清，用英吉纳非洲马瘟病毒cELISA抗体检测试剂盒检测其效价，并进行效价比较。

1.5.4 冻干血清均一性评估

随机抽取规定数量的样品，按文献方法[11]进行。

1.5.5 冻干血清稳定性评估

随机抽取规定数量的样品分别放置于4、25和37 ℃，在第1、2、3、4、8周检测其效价并记录，以验证其运输稳定性。随机抽取规定数量的样品分别放－20和－80 ℃冰箱，在1、2、3、4、5和6个月检测其效价并记录验证其运输稳定性，以验证其长期稳定性（表2）。

表2 不同温度下冻干血清稳定性的评估

Table 2 Evaluation of the stability of lyophilized serum at different temperatures

稳定性评估 Stability assessment	储存温度/℃ Storage temperature	检测时间 Testing time
运输稳定性 Transportation assessment	4 25 37	第1、2、3、4和8周
长期稳定性 Long term assessment	－20 －80	第1、2、3、4、5和6月

2　结果与分析

2.1　阳性血清的制备

如表 3 所示，经多种检测方法筛选到一匹无多种常见马属动物疾病抗体的马，按免疫程序免疫后试验马均未出现局部和全身不适。如图 1 所示，血清中非洲马瘟 ELISA 效价随着免疫次数的增加呈递增的趋势，3 次免疫后（第 6 周）效价可达到 1 024，此后的一周（第 7 周）效价下降到 512，并维持到第 10 周，在第 7 周时大量采集马血，制备冻干阳性血清。经多种方法验证制备的阳性血清中常见马属疫病抗体均为阴性（表 3）。

表 3　免疫动物体内疫病抗体的检测

Table 3　Detection of antibodies to common diseases in immunized animals

疫病 Disease	检测方法 Detection method	结果 Result
马疱疹Ⅰ型感染	ELISA	阴性
马疱疹Ⅱ型感染	ELISA	阴性
马疱疹Ⅳ型感染	ELISA	阴性
马动脉炎	ELISA	阴性
马腺疫	ELISA	阴性
马传染性贫血	ELISA	阴性
马流产沙门菌病	ELISA	阴性
马鼻疽	补体结合试验/ELISA	阴性
马驽巴贝斯虫病	ELISA	阴性
马泰勒虫病	ELISA	阴性
马流感	ELISA/HI	阴性

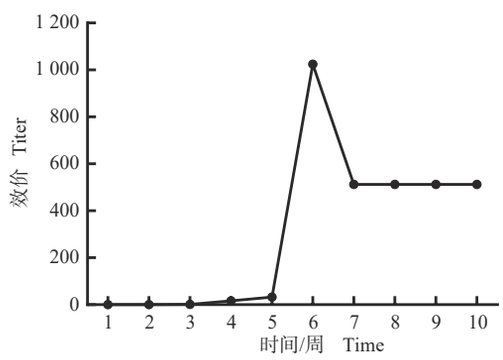

图 1　免疫后血清效价监测

Fig. 1　Post-immunization seroprevalence monitoring

2.2　物理性状

随机抽取冻干血清 3 支，观察其物理性状为淡黄色团块，易与瓶壁脱离。打开安瓿瓶加入 0.5 mL PBS，静置 10 min，溶解后血清呈淡黄色透亮液体。此结果表明冻干阳性血清的物理性状为淡黄色团块状，能溶解于 PBS 溶液。

2.3　无菌检验

随机抽取 3 支冻干阳性血清分别命名为 S1、S2 和 S3 进行检测，在培养基上均无细菌或真菌生长，此结果表明冻干阳性血清无菌检验结果符合规定。

2.4　冻干前后效价检验

为检验冻干技术对标准物质效价是否有影响，并确定冻干后第 0 天效价，选取冻干前 3 支血清命名为 B1～B3、冻干第 0 天阳性血清 3 瓶分别命名为 A1～A3，用英吉纳非洲马瘟病毒 cELISA 抗体检测试剂盒进行检测，步骤按照试剂盒说明书进行。此结果如表 4 所示，这表明冻干前后血清效价并未发生明显变化，均为 256。

表 4　冻干前后阳性血清效价变化

Table 4　Changes in serum potency before and after lyophilization

类型 Type	编号 Number	效价 Titer
冻干前 Before lyophilization	B1	256
	B2	256
	B3	256
冻干后 After lyophilization	A1	256
	A2	256
	A3	256

2.5　均一性评估

随机抽取 10 支冻干血清，依次命名为 U1、U2、U3、U4……U10，用英吉纳非洲马瘟病毒 cELISA 抗体检测试剂盒进行检测，每份样品重复测试 2 次，检测 BP 值结果见表 5。采用单因子方差分析法对检测结果进行均一性评估，根据单因子方差分

析，统计量F=样品间平方和/样品内平方和。当F小于$F_{0.05}$的临界值（3.02）时，即认为样品内和样品间无显著性差异，样品是均匀的。检验结果如表6所示，$F<3.02$，这表明冻干阳性血清均一性较好。

表5 冻干阳性血清ELISA检测BP值

Table 5 BP values of lyophilized positive serum ELISA assays

重复数 Repeat number	样品编号 Sample numble									
	U1	U2	U3	U4	U5	U6	U7	U8	U9	U10
1	0.997	0.943	0.908	0.935	1.008	0.923	0.982	1.045	0.953	1.043
2	0.986	0.945	0.955	0.947	1.112	1.05	0.997	0.989	0.937	0.982

表6 冻干阳性血清均一性分析

Table 6 Uniformity analys of lyophilized positive serum

方差来源 Source of variance	自由度 Degree of freedom	平方和 Sum of square	均方 Mean square	F
样品间 Between samples	9	0.030 9	0.003 4	1.867 9
样品内 Within samples	10	0.018 4	0.001 8	

2.6 稳定性评估

随机抽取45支冻干阳性血清用于运输稳定性评估，将其放置于4、25及37 ℃，储存1、2、3、4和8周；随机抽取36支冻干阳性血清用于长期稳定性评估，将其放置于－20和－80 ℃冰箱，放置1、2、3、4、5和6个月。储存到期后，将冻干阳性血清取出，使用英吉纳非洲马瘟病毒cELISA抗体检测试剂盒检测血清效价，检测2次取平均值，如表7所示，在不同温度下放置8周，效价稳定在256；在－20和－80 ℃温度下放置6个月，效价仍为256，该结果表明冻干阳性血清的运输稳定性及长期稳定性较好。

表7 冻干血清在不同温度下和不同保存时间ELISA效价检测

Table 7 ELISA potency of lyophilized serum at different temperatures and different rentention time

保存温度/℃ Preservation temperature	保存时间/周 Retention time								
	1	2	3	4	8	12	16	20	24
4	256	256	256	256	256	N/A	N/A	N/A	N/A
25	256	256	256	256	256	N/A	N/A	N/A	N/A
37	256	256	256	256	256	N/A	N/A	N/A	N/A
-20	256	256	256	256	256	256	256	256	256
-80	256	256	256	256	256	256	256	256	256

注：N/A：未开展检测。

Note：N/A：Not applicable.

3 讨　论

当前用于诊断非洲马瘟的方法主要有病原学和血清学两大类。我国是非洲马瘟无疫国，无非洲马瘟病原，病原学检测方法并不适用于疫情的监测。在血清学方法中，ELISA 适用于大规模血清学初筛，而在 ELISA 方法研发中，标准阳性血清作为诊断的阳性标准，对整个方法的建立至关重要。

在 ELISA 中，阳性对照血清和阴性对照血清的质量直接关系到诊断结果的准确性，因此制备 ELISA 阳性血清标准样品对于血清国家参考品的标定及阳性对照血清的生产均具有十分重要的意义。当前已有多个研究机构开展动物病原阳性血清的制备研究，如高金源等[12]采用常见猪病毒抗体阴性仔猪制备了猪轮状病毒 G5 型阳性血清，可用于猪轮状病毒活疫苗或其联苗检验；王秀丽等[13]制备了沙门菌马流产凝集试验阳性血清国家参考品，对于抗原国家参考品、血清国家参考品的标定以及诊断抗原和对照血清的生产均具有十分重要的意义；李晶梅等[14]用鸡制备猪丁型冠状病毒（PDCoV）阳性血清，制备的阳性血清可用于 IFA 检测 PDCoV，且不与猪瘟病毒、猪伪狂犬病毒和猪细小病毒等病原反应，特异性良好。

本研究按照 WOAH 研究标准、中国兽药典和国家计量技术规范制备了非洲马瘟病毒 VP7 蛋白 ELISA 阳性血清标准样品。为保证产品质量，本研究采取了以下措施：一是免疫原的选择，*S7* 基因在 AHSV 9 个型中高度保守[15]，本研究选取了 AHSV *S7* 基因作为靶基因，进而用该基因编码的 VP7 蛋白免疫马制备了阳性血清，其可用于 9 个型的诊断；二是对免疫靶动物进行了筛选，选择一匹没有常见马属动物疫病抗体的马进行免疫，保证了制备的 AHSV 阳性血清的纯净性；三是对冻干血清进行了均一性评估，保证了冻干血清的均一性；四是对冻干血清进行了稳定性评估，提供了其保存期的监测数据。标准样品在 4、25 和 37 ℃的加速老化试验中显示出良好的稳定性，保质期试验结果显示，本研究制备的标准样品可在 −20 及 −80 ℃条件下稳定保存 6 个月，可广泛应用于实验室的 ELISA 检测中，以满足我国非洲马瘟病毒 ELISA 方法建立及检测需求。

4 结　论

本研究用非洲马瘟 VP7 重组蛋白与 MONTANIDE ISA35 佐剂混合后免疫马后获得非洲马瘟病毒 VP7 蛋白 ELISA 阳性血清，对阳性血清进行冻干以及冻干后检验，成功制备出 ELISA 效价为 256，无菌检验、均一性评估及稳定性评估均合格的非洲马瘟病毒 VP7 蛋白 ELISA 阳性血清标准样品。本研究将有助于非洲马瘟血清学检测方法的建立，为进一步研究非洲马瘟诊断技术及试剂盒研发奠定理论基础。

参考文献　References

[1] Carpenter S, Mellor P S, Fall A G, Garros C, Venter G J. African horse sickness virus: History, Transmission, and Current status[J]. *Annual Review of Entomology*, 2017, 62:343-358

[2] Zientara S, Weyer C T, Lecollinet S. African horse sickness[J]. *Revue Scientifique et Technique* (*International Office of Epizootics*), 2015, 34(2):315-327

[3] Wilson A, Mellor P S, Szmaragd C, Mertens P P. Adaptive strategies of African horse sickness virus to facilitate vector transmission[J]. *Veterinary Research*, 2009, 40(2):16

[4] King S, Rajko-Nenow P, Ashby M, Frost L, Carpenter S, Batten C. Outbreak of African horse sickness in Thailand, 2020[J]. *Transboundary And Emerging Diseases*, 2020, 67(5):1764-1767

[5] 朱建波，董国栋，杨振兴，肖雷. 非洲马瘟在东南亚的暴发及其对云南马属动物的威胁[J]. 云南畜牧兽医，2021(2):18-21
Zhu J B, Dong G D, Yang Z X, Xiao L. Outbreak of African horse sickness in Southeast Asia and its threat to equids in Yunnan [J]. *Yunnan Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2021(2): 18-21 (in Chinese)

[6] Maclachlan N J, Guthrie A J. Re-emergence of bluetongue, African horse sickness, and other orbivirus diseases[J]. *Veterinary Research*, 2010, 41(6):35

[7] Dennis S J, Meyers A E, Hitzeroth I I, Rybicki E P. African horse sickness: A review of current understanding and vaccine development[J]. *Viruses*, 2019, 11(9):844

[8] Williams C F, Inoue T, Lucus A M, Zanotto P M, Roy P. The complete sequence of four major structural proteins of African horse sickness virus serotype 6: evolutionary relationships within and between the orbiviruses[J]. *Virus Research*, 1998, 53(1):53-73

[9] 郑小龙，朱来华，王群，艾军，邓明俊，肖西志，梁成珠，姜帆，于业锋. 非洲马瘟 VP7 蛋白多克隆抗体的制备及 IgM 捕获 ELISA 检测方法的建立[J]. 中国动物检疫，2014, 31(5):70-73
Zheng X L, Zhu L H, Wang Q, Ai J, Deng M J, Xiao X Z, Liang C Z, Jiang F, Yu Y F. Preparation of polyclonal antibody against protein VP7 of African horse sickness virus and development of IgM capture enzyme-linked immunosorbent assay for detecting African horse sickness [J]. *China Animal Health Inspection*, 2014, 31(5):70-73 (in Chinese)

[10] 潘佳亮. 非洲马瘟病毒 VP7 蛋白的原核表达及其间接 ELISA 方法的建立[D]. 哈尔滨：东北农业大学，2013

Pan J L. Development the indirect ELISA based on the prokaryotic expression of VP7 gene of African sickness virus[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2013 (in Chinese)

[11] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典-三部[S]. 北京:中国农业出版社, 2020
Chinese Veterinary Pharmacopoeia Committee. Veterinary Pharmacopoeia of the People's Republic of China, the third Volume[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2020 (in Chinese)

[12] 高金源, 高月异, 邓永, 王兆, 秦义娴, 李翠, 吴华伟, 薛青红. 猪轮状病毒阳性血清(G5型)制备及初步鉴定[J]. 中国兽药杂志, 2023, 57(5):1-5
Gao J Y, Gao Y Y, Deng Y, Wang Z, Qin Y X, Li C, Wu H W, Xue Q H. Preparation and preliminary identification of positive serum (G5) [J]. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2023, 57(5):1-5 (in Chinese)

[13] 王秀丽, 魏财文, 张媛, 彭国瑞, 李建, 辛凌翔, 张一帜, 蒋玉文. 沙门菌马流产凝集试验阳性血清国家参考品的制备及标定[J]. 中国兽医杂志, 2019, 55(5):26-30
Wang X L, Wei C W, Zhang Y, Peng G R, Li J, Xin L X, Zhang Y Z, Jiang Y W. Preparation and calibration of positive sera national reference for salmonella abortus-equi for agglutination test [J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2019, 55(5):26-30 (in Chinese)

[14] 李晶梅, 张飞雁, 王焕君, 柏娇, 于义娟, 王碧群, 朱薇, 郑良益, 李婷婷, 冯钊, 石宝兰, 漆世华, 谢红玲. 一种鸡抗猪丁型冠状病毒阳性血清的制备方法[J]. 中国兽药杂志, 2022, 56(9):22-28
Li J M, Zhang F Y, Wang H J, Bai J, Yu Y J, Wang B Q, Zhu W, Zheng L Y, Li T T, Feng Z, Shi B L, Qi S H, Xie H L. Preparation of positive porcine delta coronavirus serum by chicken[J]. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2022, 56(9):22-28 (in Chinese)

[15] Roy P, Mertens P P, Casal I. African horse sickness virus structure[J]. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 1994, 17(3/4):243-273

责任编辑:秦梅

第一作者简介: 杨燕,兽医硕士,就读于中国农业科学院哈尔滨兽医研究所。主要研究方向为动物传染病病原学与流行病学。

通讯作者简介: 王晓钧,研究员,博士生导师。国家首届优秀青年基金获得者。兼任动物疫病防控全国重点实验室副主任、国家马传染性贫血参考实验室主任、国家马鼻疽参考实验室主任、世界动物卫生组织(WOAH)专家、WOAH马传染性贫血参考实验室主任、全国病毒学专业委员会青年病毒学委员会副主任委员、中国畜牧兽医学会马学分会副理事长、中国马业协会理事、全国动物卫生标准委员会委员等职。一直从事马属动物传染病及慢病毒病研究。主要研究方向为病毒与宿主天然免疫相互作用机制及马属动物传染病的防控策略。近年来在*Science Advances*, *Autophagy*, *PLOS Pathogens*, *JVI*和*JBC*等国际著名同行评议期刊发表SCI科研论文70余篇,主编参编专著7部。获得中国农业科学院杰出科技创新奖等奖项4项,主持科技部、农业农村部和国家自然基金项目多项。