

我国兽用基因工程疫苗商品化进展

邓秋红, 丁春宇*, 刘玉倩, 王占锋, 郑杰

(北京华都诗华生物制品有限公司, 北京 102600)

[收稿日期] 2012-12-25 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2013) 06-0059-05 [中图分类号] S859.797

[摘要] 对1991-2012年在我国获得注册并取得产品批准文号的兽用基因工程疫苗进行了分类总结, 分析了我国兽用基因工程疫苗商品化现状和存在的主要问题, 展望了兽用基因工程疫苗的发展前景。

[关键词] 兽用基因工程疫苗; 商品化; 进展

Advance in Commercialization of Animal-use Gene Engineering Vaccines in China

DENG Qing-hong, DING Chun-yu*, LIU Yu-qian, WANG Zhan-feng, ZHENG Jie

(Beijing Ceva Huadu Biological Co., Ltd, Beijing 102600, China)

Abstract: All animal-use gene engineering vaccines which had been registered and authorized to be manufactured between 1991 and 2012 in China were classified and summarized in this article. The current situation

作者简介: 邓秋红, 执业兽医师, 从事兽用生物制品新产品注册工作。

通讯作者: 丁春宇。E-mail: David.Ding@ceva-huadu.com

- [11] Shen J Z, Yang C Y, Wu C M, *et al.* Identification of the major metabolites of quinocetone in swine urine using ultra-performance liquid chromatography/electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2010, 24: 375-383.
- [12] Wu H X, Yang C Y, Wang Z H, *et al.* Metabolism profile of quinocetone in swine by ultra-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*, 2012, 37(2): 141-154.
- [13] 张桂君, 贺利民, 颜丹丹, 等. 喹烯酮在鸡体内的代谢及药物动力学研究[J]. *动物医学进展*, 2011, 32(6): 64-67.
- [14] 张丽芳. 饲料中喹烯酮的检测方法与鸡粪中喹烯酮及其代谢物的鉴定研究. 硕士学位论文[D]. 北京: 中国农业科学院, 2006.
- [15] 李勇. 鸡体内兽药喹烯酮代谢组学方法建立及应用[D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2008.
- [16] 杨春燕, 冯培生, 张素霞. 喹烯酮在大鼠体内代谢产物的研究[C]//中国畜牧兽医学会兽医药理学分会第十次研讨会论文摘要集, 2009: 71.
- [17] 李剑勇, 李金善, 徐忠赞, 等. 喹烯酮在猪组织中的残留研究[J]. *动物医学进展*, 2004, 25(4): 117-120.
- [18] 李剑勇, 李金善, 赵荣材, 等. 喹烯酮在鸡食用组织中的残留研究[J]. *动物医学进展*, 2008, 29(4): 34-37.
- [19] 杨莉, 艾晓辉, 袁科平, 等. 高效液相色谱法对鱼体肌肉组织中喹烯酮及其代谢物残留量的同时检测[J]. *分析测试学报*, 2010, 29(4): 372-375.
- [20] 王林, 丁煊中, 钟家林, 等. HPLC检测猪血浆和尿液中的喹烯酮及其主要代谢物[J]. *中国畜牧兽医*, 2011, 38(12): 52-56.
- [21] Zhang J H, Li M, Li L X, *et al.* Investigation of the ultrasound effect and target analyte selectivity of dispersive liquid-liquid microextraction and its application to a quinocetone pharmacokinetic study[J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1268: 1-8.
- [22] 胡桂敏. 喹烯酮在鲤体内的药代动力学及残留研究[D]. 武汉: 华中农业大学图书馆, 2008.
- [23] 张丽芳, 薛飞群, 刘元元, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定鸡组织中的喹烯酮残留标示物[J]. *分析测试学报*, 2006, 25(5): 63-65.
- [24] 徐英江, 任传博, 田秀慧, 等. 超高效液相色谱-串联质谱测定水产品中的卡巴氧、喹烯酮、乙酰甲喹及其代谢物[J]. *分析测试学报*, 2011, 30(10): 1133-1137.
- [25] 王霄畅, 张丽芳, 薛飞群, 等. 采用高效液相色谱-串联质谱法检测鲫鱼组织3-甲基喹噁啉-2-羧酸残留量[J]. *中国兽医学*, 2007, 37(08): 718-720.
- [26] 黄玲利, 范盛先, 肖爱国, 等. 喹烯酮在猪体内的残留研究[C]. *中国畜牧兽医学会2004学术年会暨第五届全国畜牧兽医青年科技工作者学术研讨会论文集(下册)*, 2004: 23-26.
- [27] FDA. Guidance for industry: Studies to evaluate the metabolism and residue kinetics of veterinary drugs in food-producing animals: Metabolism study to determine the quantity and identify the nature of residues(mrk)[S]. *VICH GL46*, 2011.

(责任编辑: 李文平)

of animal – use gene engineering vaccine commercialization and its main problems were analyzed, and the future prospects of animal – use gene engineering vaccine were also evaluated.

Key words: animal – use gene engineering vaccines; commercialization; progress

疫苗的应用是控制动物传染病的有效手段。按照制备工艺水平可以将疫苗分为传统疫苗和新型疫苗。传统疫苗也称为常规疫苗^[1]主要是指是通过人工方法或自然筛选获得减毒或无毒的活的病原微生物制成的生物制剂(活疫苗)或者通过理化方法将病原微生物灭活制成的生物制剂(灭活疫苗)。传统疫苗的应用为我国动物疫病的防控作出了巨大贡献,目前依然是我国控制动物传染病的主要手段。但是随着畜禽饲养规模的增加和饲养方式的变化,在动物疫情日渐复杂以及新病原和变异株的不断出现的新形势下,传统疫苗在生产和应用过程中的局限性愈来愈明显:有些病原不适宜用常规法培养,很难用传统技术制备疫苗;有些病原灭活条件严格,灭活不当会人为造成疫病流行;有些减毒的病原存在毒力返强或与田间野毒发生重组的风险;疫苗在田间的免疫效果受母源抗体影响严重;有些疫苗需多次接种,应激反应大且人工耗时费力。

为弥补传统疫苗的缺陷,生物学技术应用成果被逐步引入到疫苗设计领域,人们可以利用分子生物学技术对病原微生物的基因组进行改造,降低其致病性,提高其免疫原性;或者根据疫病防控需要,通过基因重组技术将不同病原的抗原性基因插入到载体中,制成联苗或多价苗。这种以基因组操作技术为基础的基因工程疫苗代表了新型疫苗的开发方向,主要集中在以下 7 类^[2]:①将病原抗原性基因插入到载体利用原核或真核表达系统获得的生物合成性亚单位疫苗;②以某些病毒或细菌为外源基因载体的活载体疫苗;③通过基因组突变、缺失或插入的基因缺失疫苗;④质粒 DNA 疫苗;⑤合成肽疫苗;⑥转基因植物可食疫苗;⑦抗独特型抗体疫苗。经过几十年的摸索与发展,基因工程疫苗的研制取得丰硕的成果,有些已经投入生产进入市场,具有非常广阔的应用前景。

1 我国兽用基因工程疫苗的发展概况

从上世纪 80 年代到如今,我国科研工作者一直致力于动物基因工程疫苗的研究与开发,疫苗研究种类涉及亚单位疫苗、重组活载体疫苗、基因缺失疫苗和 DNA 疫苗等;涉及的病原涵盖禽流感病毒、禽传染性喉气管炎病毒、鸡传染性法氏囊病毒、鸡马立克氏病病毒、猪瘟病毒、口蹄疫病毒、猪

圆环病毒 2 型、猪传染性胸膜肺炎放线杆菌、猪肺炎支原体等。1991 年,仔猪腹泻大肠杆菌 K88/K99 二价基因工程疫苗研制成功并首次实现商品化,标志着我国兽用基因工程疫苗的研究与生产迈入了新阶段;2005 年,禽流感、新城疫重组二联活疫苗研制成功并获批生产,标志着我国在高致病性禽流感防控技术方面继续走在世界领先行列。

目前在我国获得注册并取得产品批准文号的兽用基因工程疫苗多达 30 多个品种;保护对象涉及羊、牛、猪、禽;生产企业有哈尔滨维科生物技术开发公司、北京华都诗华生物制品有限公司等 22 家国内外生产厂,其中国外生产厂有 3 家^[3];防控目标覆盖鸡衣原体病、鸡传染性喉气管炎病、禽流感(H5、H9 亚型)、鸡法氏囊病、口蹄疫、猪大肠杆菌病、猪伪狂犬病、猪圆环病毒病、猪胸膜肺炎和羊棘球蚴病等;疫苗种类涵盖基因工程亚单位疫苗、基因工程重组活载体疫苗和基因缺失苗等。高校科研院所与生物制品企业联合研究以及农业部组织研制是基因工程疫苗开发的主要模式。

2 我国商品化兽用基因工程疫苗应用现状及情况分析

根据国家兽药基础查询系统^[3]和农业部发布的公告,对 1991 – 2012 年获得新兽药注册并取得产品批准文号的兽用基因工程疫苗进行了梳理,按靶动物分类总结如下:

2.1 牛羊用基因工程疫苗 相对猪和禽,牛羊的养殖规模较小,研发力量的投入相对也比较少。已获注册的牛羊用基因工程疫苗见表 1。

2.2 猪用基因工程疫苗 目前有 9 种猪用基因工程苗获得注册^[3],防控目标涵盖了口蹄疫、猪大肠杆菌病、猪伪狂犬病、猪圆环病毒病、猪胸膜肺炎等 5 种对养猪业危害大且化药治疗效果不佳的疾病(表 2)。随着人类对猪肉消费品质要求的提高以及猪疫病形势的复杂化,猪病防治重视程度不断提升,猪用基因工程疫苗的研发逐渐成为热点,基因工程疫苗的单应用或与传统疫苗的配合使用已成为养猪业的健康发展的重要保障。此外,猪苗市场的优势价位和基因工程苗能实现成本控制的特点也促使企业倾向于投资猪用基因工程疫苗的开发。

表 1 牛羊用基因工程疫苗

编号	品名	工艺核心	研制单位	获得新兽药证书时间	生产单位
1	羊棘球蚴(包虫)病基因工程亚单位疫苗 ^[4]	用羊棘球蚴(包虫)基因工程菌株接种培养基进行增值后,对细菌进行灭活、破碎,提取保护性抗原 EG95,并与免疫佐剂 Quil A 混合后经冷冻真空干燥而成。	中国农业科学院生物制品工程技术中心	2007 年	重庆澳龙生物制品有限公司
2	口蹄疫 O 型、亚洲 I 型二价灭活疫苗(空衣壳复合型) ^[5]	用牛源性口蹄疫 O 型 ONXC 株和 Asia1 型 JSL 株分别接种 BHK21 细胞,收获细胞培养液,经 BEI 灭活,与重组家蚕杆状病毒高效表达的口蹄疫 Asia1/JSL/06 毒株的 P1-2A3C 空衣壳抗原按一定比例混合后,与油乳剂混合乳化制成。	农业部组织	2008 年	中农威特生物科技股份有限公司

表 2 猪用基因工程疫苗

编号	品名	工艺核心	研制单位	获得新兽药证书时间	生产单位
1	仔猪大肠杆菌病 K88/K99 双价基因工程灭活疫苗 ^[6]	用基因工程技术构建的大肠杆菌 C600/PTK8899 菌株接种于适宜培养基培养,收获含 K88、K99 二种纤毛抗原,灭活后,冷冻真空干燥制成。	中国科学院上海生物工程中心	1991 年	上海海利生物药品有限公司
2	仔猪大肠杆菌病 K88-LTB 双价基因工程活疫苗 ^[7]	用基因重组技术构建成功的含 K88-LTB 大肠埃希氏菌抗原的菌株,接种于适宜培养基,收获培养物浓缩后,经冷冻真空干燥制成。	军事医学科学院生物工程研究所	1991 年	中牧实业股份有限公司江西生物药厂
3	猪伪狂犬病活疫苗(SA215 株) ^[8]	本品为三基因缺失疫苗(TK、gI、gE 基因)缺失的伪狂犬病病毒 SA215 株接种 SPF 鸡胚成纤维细胞,收获细胞培养物,经冷冻干燥制成。	四川农业大学、四川华神农大动物保健药品有限公司	2003 年	四川华神兽用生物制品有限公司
4	猪圆环病毒 2 型杆状病毒载体灭活疫苗 ^[9]	用表达猪圆环 2 型 ORF2 基因修饰杆状病毒,接种于 SF+细胞,收获并无菌过滤细胞培养物,经灭活后,加适宜佐剂混合制成。	勃林格殷格翰动物保健(美国)有限公司	2009 年	勃林格殷格翰动物保健(美国)有限公司
5	猪胸膜肺炎放线杆菌亚单位灭活疫苗 ^[10]	用猪胸膜肺炎放线杆菌 APP1-L-452、APP HV169、APP HV143 和 APP2 株接种适宜培养基培养,收获培养物,进行适当处理,获得 1 种外膜蛋白(OMP)和 3 种类毒素(ApxI、ApxII 和 ApxIII),加入 DL-a-维生素 E 佐剂后,与甲醛溶液混合制成。	英特威国际有限公司	2012 年	英特威国际有限公司
6	猪口蹄疫 O 型合成肽疫苗 ^[11]	用固相多肽合成技术在体外人工合成含有口蹄疫病毒主要抗原位点的多肽,并连接人工合成的可激活辅助性 T 细胞短肽,加油佐剂混合乳化制成。	中牧实业股份有限公司、申联生物医药(上海)有限公司	2004 年	申联生物医药(上海)有限公司
7	猪口蹄疫 O 型合成肽疫苗(多肽 2570+7309) ^[12]	用固相多肽合成技术在体外分别人工合成含有口蹄疫病毒主要抗原位点的多肽 2570 和 7309,并分别连接人工合成的可激活辅助性 T 细胞短肽,加油佐剂混合乳化制成。	农业部组织	2009 年	申联生物医药(上海)有限公司等
8	猪口蹄疫 O 型基因工程疫苗 ^[13]	用人工构建的表达 O 型口蹄疫病毒免疫活性肽的大肠杆菌,接种事宜培养基培养,收获培养物,提取抗原,加矿物油佐剂混合乳化制成。	复旦大学、上海市农业科学院畜牧兽医研究所农	2005 年	/
9	公猪异味控制疫苗 ^[14]	用人工合成的促性腺激素释放因子(GnRF)的类似物与白喉类毒素的结合物和乙基二乙胺右旋糖苷佐剂混合配制而成。控制公猪胴体的异味。	辉瑞澳大利亚有限公司	2010 年	辉瑞澳大利亚有限公司

2.3 禽用基因工程疫苗 禽用基因工程疫苗的种类最多,包括了单苗和联苗,防控目标涵盖了鸡衣原体病、鸡喉气管炎病、鸡传染性法氏囊病、禽流感(H5、H9)等对家禽养殖经营效益影响大的疾病;商

品化的基因工程苗均为 2005 年后取得新兽药证书的产品,产品工艺较为成熟,产品质量比较稳定。表 3 统计了除高致病性禽流感疫苗以外的其余 6 种禽用基因工程疫苗的商品化情况。

表 3 禽用基因工程疫苗

编号	品名	工艺核心	研制单位	获得新兽药 证书时间	生产单位
1	鸡衣原体病基因工程亚单位疫苗 ^[15]	用基因工程菌种 <i>E. coli</i> - CpsMOMP 发酵生产并提取纯化的免疫抗原成分鸸鹋热衣原体主要外膜蛋白 (MOMP) 加油佐剂乳化制成。	中国人民解放军军事医学科学院微生物流行病学研究所、北京市兽医生物药品厂	2006 年	北京华都诗华生物制品有限公司
2	鸡传染性喉气管炎重组鸡痘病毒基因工程疫苗 ^[16]	用表达鸡传染性喉气管炎病毒 gB 基因的重组鸡痘病毒接种鸡胚成纤维细胞培养,收获细胞培养物,加适宜稳定剂,经冷冻真空干燥而成。	中国农业科学院哈尔滨研究所	2005 年	哈尔滨维科生物技术开发公司等
3	鸡新城疫、传染性支气管炎、禽流感 (H9 亚型)、传染性法氏囊病四联灭活疫苗 (La Sota 株 + M41 株 + YBF003 株 + S - VP2 蛋白) ^[17]	用鸡新城疫病毒 La Sota 株、传染性支气管炎病毒 M41 株、A 型禽流感病毒 H9N2 株,分别接种易感鸡胚培养、收获感染胚液、超滤浓缩,灭活;鸡传染性法氏囊病毒系用表达 IBDV VP2 蛋白的大肠杆菌基因工程菌 <i>E. coli</i> BL21/pET28a - VP2 经过发酵培养、诱导表达、菌体破碎、离心去除菌体碎片、提纯、灭活残留细菌;将四种抗原按适当比例混合后,加矿物油佐剂混合乳化制成。	青岛易邦生物工程有限公司	2011 年	青岛易邦生物工程有限公司
4	鸡新城疫、传染性支气管炎、传染性法氏囊病三联灭活疫苗 (La Sota 株 + M41 株 + S - VP2 蛋白) ^[18]	核心工艺技术同上。	青岛易邦生物工程有限公司	2011 年	青岛易邦生物工程有限公司
5	鸡传染性法氏囊病病毒火鸡疱疹病毒载体活疫苗 (vHVT - 013 - 69 株) ^[19]	用表达传染性法氏囊病病毒 VP2 蛋白的重组火鸡疱疹病毒 vHVT - 013 - 69 株接种鸡胚成纤维细胞培养,收获细胞培养物,加入冷冻保护液制成。	梅里亚精选大药厂	2010 年	江西梅里亚动物保健有限公司等
6	鸡传染性法氏囊病基因工程亚单位疫苗 ^[20]	用能表达鸡传染性法氏囊病病毒 VP2 蛋白的重组大肠杆菌 <i>E. coli</i> BL21/pET28a - VP2 株经过发酵培养、诱导表达、菌体破碎、离心去除菌体碎片、经甲醛溶液灭活残留细菌后,加入矿物油佐剂混合乳化制成。	长江大学、青岛易邦生物工程有限公司、浙江易邦生物技术有限公司	2007 年	青岛易邦生物工程有限公司

2.4 高致病性禽流感系列基因工程苗 高致病性禽流感对家禽养殖经营效益和人类健康的影响巨大,是 OIE 规定的 A 类动物疫病。我国是养禽大国,对高致病性禽流感的有效控制不仅可以保障家禽养殖的经济效益,对保障全球公共卫生安全也具有极其重要的意义。从首次报道发生禽流感疫病以来,国家对禽流感疫病的防控高度重视,由农业部牵头组织包括中国农业科学院哈尔滨兽医研究所在内的科研机构进行相关疫苗的研发,指定哈尔滨维科生物技术开发公司、青岛易邦生物工程有限公司、乾元浩生物股份有限公司等 8 家企业定点生产,对疫苗质量严格监管,在全国推行强制性免疫。目前已有 15 种高致病性禽流感基因工程疫苗获得注册并批准生产^[3],分别是重组禽流感病毒灭活疫苗 (H5N1 亚型,Re - 1 株)^[16],禽流感重组鸡痘病毒载体活疫苗 (H5 亚型)^[16],重组禽流感病毒灭活

疫苗 (H5N1 亚型,Re - 6 株)^[21],重组禽流感病毒 H5 亚型二价灭活疫苗 (H5N1,Re - 6 株 + Re - 4 株)^[21],禽流感、新城疫重组二联活疫苗 (rLH5 - 6 株)^[21],禽流感 (H5 + H9) 二价灭活疫苗 (H5N1 Re - 6 株 + H9N2 Re - 2 株)^[21],重组禽流感病毒灭活疫苗 (H5N1 亚型,Re - 5 株)^[22],禽流感、新城疫重组二联活疫苗 (rLH5 - 5 株)^[22],重组禽流感病毒灭活疫苗 (H5N1 亚型,Re - 4 株)^[23],重组禽流感病毒灭活疫苗 (H5N1 亚型,Egy/PR8 - 1 株)^[24],重组禽流感病毒 H5 亚型二价灭活疫苗 (H5N1,Re - 1 株 + Re - 4 株)^[25],禽流感、新城疫重组二联活疫苗 (rL - H5 株)^[26],重组禽流感病毒 H5 亚型二价灭活疫苗 (H5N1,Re - 5 株 + Re - 4 株)^[27],禽流感 (H5 + H9) 二价灭活疫苗 (H5N1 Re - 5 株 + H9N2 Re - 2 株)^[27] 和禽流感 (H5 + H9) 二价灭活疫苗 (H5N1 Re - 1 株 + H9N2 Re - 2 株)^[28]。

2.5 国内兽用基因工程疫苗应用现状分析 我国在兽用基因工程疫苗的研究开发和成果转化方面已经取得可喜的成就,不同种类的基因工程疫苗相继获得新兽药证书并投入生产,成为动物疫病防控手段的新生力量。取得新兽药证书的兽用基因工程疫苗有 65% 可查询到批签发记录^[3],其中禽用基因工程苗比例最高,其次是猪用基因工程苗,说明基因工程疫苗的应用已经成为我国动物疫病防控手段的重要组成部分。但是与欧美等发达国家相比,目前我国实现商品化的兽用基因工程疫苗种类仍显单一,防控目标涵盖范围比较狭窄。国外的经验表明,高新技术只有通过资本市场的商业运作才能加速产业化进程,而国内兽用生物制品企业对研发资金的投入相对较少,研发能力较薄弱,与科研院所成果共享、合作研究的联合程度较低,加之基因工程疫苗安全评价和注册审批过程复杂,诸多原因使得兽用基因工程疫苗从实验室走向商品化应用的进程缓慢。

3 展 望

基因工程疫苗以其安全性好、质量均一、生产成本低、适合开发多价苗和联苗等诸多优点,成为新型疫苗的研究焦点和开发方向,也是现代养殖模式动物疫情复杂形势下较为理想的疫病防控工具。目前已上市的兽药基因工程疫苗已经在禽流感、口蹄疫、猪伪狂犬病、猪圆环病毒病、禽法氏囊病等对畜禽养殖业危害大的疫病防控中广泛使用并发挥了重要作用,成为传统疫苗的有效补充甚至替代品,中国畜禽养殖量大,安全高效的疫苗需求旺盛,为基因工程苗的应用提供了广阔的市场空间。随着我国生物制品市场对外开发程度的扩大,中外合作交流程度的加深,借助国外先进的科研技术和开发经验,我国兽用基因工程疫苗的研究和开发必将取得更大的成就。如何提高基因工程疫苗的免疫效力达到或超过常规疫苗的免疫保护效果,以及如何改进工艺降低生产成本以期实现规模化生产,是

今后我国科研工作者所面临的重要任务。此外,完善和优化生物制品生产企业与科研院所联合开发机制、建立健全自主知识产权法律法规保护体系、改进和提高基因工程疫苗安全评价和注册评审效率,也是加速兽用基因工程疫苗产业化进程的重要条件。

参考文献:

- [1] 童光志,王云峰. 动物基因工程疫苗原理与方法[M]. 北京: 化学工业出版社,2009:1-20.
- [2] 宁宜宝. 兽用疫苗学[M]. 北京: 中国农业出版社,2008:1-27,138-146.
- [3] 国家兽药基础查询系统 [http://sysjk. ivdc. gov. cn:8081/cx/\[DB/OL\]](http://sysjk.ivdc.gov.cn:8081/cx/[DB/OL]).
- [4] 农业部公告第 865 号[Z]. 2007.
- [5] 农业部公告第 1017 号[Z]. 2008.
- [6] 农业部文件(1991)农牧字第 38 号[Z].
- [7] 农业部文件(1991)农牧字第 14 号[Z].
- [8] 农业部公告第 297 号[Z]. 2003.
- [9] 农业部公告第 1316 号[Z]. 2009.
- [10] 农业部公告第 1818 号[Z]. 2012.
- [11] 农业部公告第 437 号[Z]. 2004.
- [12] 农业部公告第 1215 号[Z]. 2009.
- [13] 农业部公告第 469 号[Z]. 2005.
- [14] 农业部公告第 1449 号[Z]. 2010.
- [15] 农业部公告第 752 号[Z]. 2006.
- [16] 农业部公告第 461 号[Z]. 2005.
- [17] 农业部公告第 1532 号[Z]. 2011.
- [18] 农业部公告第 1661 号[Z]. 2011.
- [19] 农业部公告第 1348 号[Z]. 2010.
- [20] 农业部公告第 865 号[Z]. 2007.
- [21] 农业部公告第 1735 号[Z]. 2012.
- [22] 农业部公告第 1005 号[Z]. 2008.
- [23] 农医药便函[2006]328 号[Z].
- [24] 农办医[2011]30 号[Z].
- [25] 农业部公告第 819 号[Z]. 2007.
- [26] 农业部公告第 804 号[Z]. 2007.
- [27] 农业部公告第 1016 号[Z]. 2008.
- [28] 农业部公告第 796 号[Z]. 2007.

(责任编辑:李文平)