

本刊被中国内刊协会评选为 2014 年度全国优秀内刊

**华派**<sup>®</sup>  
HUA PAI

2015 年第 7 期 总第 14 期

<http://www.huapaisw.com>

E-mail: huapaisw@163.com

内部交流 免费赠阅

# 华派生物

(猪业版)

## H u a P a i B i o l o g i c a l

P27/【本刊特稿】

## “支肺通”新品上市

华派生物成功研制猪支原体肺炎灭活疫苗



“华派大讲堂”首次开讲

纵深推进的华派生物影响力

刘捷副省长一行到华派生物调研指导

时间分辨荧光免疫分析技术及其在兽医学中的应用

华派生物承办中国畜牧兽医学会儿生物制品学分会第四次理事会

打造中国动物疫苗第一品牌

猪圆环病毒2型灭活疫苗 (ZJ/C株)

Porcine Circovirus Type 2 Vaccine,  
Inactivated (Strain ZJ/C)

批准文号: 兽药生字 (2014) 221011088

中华人民共和国新兽药注册证书证号: (2013) 新兽药证字10号

# 圆环康

- ✓ 生产毒株 (ZJ/C) 为国内广泛流行优势毒株, 针对性更强
- ✓ 高效抗原浓缩纯化, 抗原含量高而稳定 ( $10^{8.0} \text{TCID}_{50}$  -  $10^{8.3} \text{TCID}_{50} / \text{ml}$ )
- ✓  $\beta$ -PL灭活剂, 安全、高效、灭活彻底, 无残留
- ✓ HPVG进口水质佐剂, 通针性好, 几乎无应激反应
- ✓ 免疫3周后产生坚强保护, 仔猪注射一次即可保护至出栏
- ✓ 生产成绩明显改善, 经济效益可观 (投入产出比为1:9.6)



**用了圆环康 猪群真健康**

**华派**® HUAPAI

四川省华派生物制药有限公司  
地址: 四川简阳经济开发区石盘食品医药产业园  
邮编: 641423

传真: 028-27282488  
电话: 028-27400432 27290977  
网址: [www.huapaisw.com](http://www.huapaisw.com)





卷首语 | EDITORIA

## 纵深推进的华派生物影响力

文 | 向丕元

在社会生活中，“影响”是人与人、人与事的密切联系和相互作用。而“影响力”，是指影响别人言行的一种能力，而这种能力往往对企业的生存和发展产生着举足轻重的作用。一个真正拥有影响力的企业，能够在激烈的社会竞争中充分地体现出自己的社会价值，也同时能够在激烈的竞争中生存和不断地壮大。

华派生物是一个年轻的成长型企业，如何快速有效提升华派的影响力和品牌度，确保华派生物快速稳定发展，华派团队总是不停地谋划，华派人总是不断地践行着梦想，使华派影响力逐渐向纵深推进。

今年以来，为了使华派生物在“互联网+”的浪潮中有效发挥价值传递，提升公司形象，华派生物将原公司官网升级改造，同时推出手机微网和“华派生物俱乐部”微信平台，以“三网融合”强势上线运行，深受广大客户和业内人士的高度关注和普遍赞誉。

随着华派生物产品的不断丰富和知名度的提高，越来越多的养殖集团前来考察交流。从正大集团（中国）到温氏集团，从铁骑力士到成都巨星，以及各省区代理商、规模养殖场领导和技术人员，无一例外地被华派生物的建筑体量和产能所震撼，他们都对华派生物的研发实力、品质管控和技术服务给予高度评价，对国内首条动物核酸疫苗生产线在华派生物诞生更是赞不绝口。

在营销策略和模式上，精华集团董事长、总裁谢建勇更是开创了“爆点营销”之先河。从“支肺通”上市暨华派生物（河南）第三届客户交流会到2015第四届华南（茂名）畜牧业博览会，再到“支肺通”上市暨华派生物（山东）第一届养猪企业联谊会，参与者见证了人声鼎沸、场场爆满的火热景象。华派生物的所有活动引人注目，让人目不暇接。与会活动配套的订货量更是节节攀升，超乎大家的想象。华派人发出一致的感叹：“越努力，越幸运！”。

每个人都想进步，都在影响着别人；每个企业都想发展，也在影响着别人。有些影响是微不足道的，谈不上影响力；有些影响却可以定格在人们的脑海，让人不断去思考和琢磨，甚至改变自己的行动。华派人追求的是后者，总是在千方百计的创造影响力，这种影响力不是凭空想象，也不是刻意的外在包装，而是以产品的科技含量和品质作为强硬支撑。以影响力追求自身价值和社会价值既是华派的风格，更是华派的愿望，也是全社会的期待。



(猪业版)

## 出版发行

主管单位：四川省精华企业（集团）有限公司

主办单位：四川省华派生物制药有限公司

编辑出版：《华派生物》杂志编辑部

## 顾问委员会

顾问：杨汉春 余永健 王红宁  
程安春 徐志文 颜其贵  
王 印 黄 伟 高 荣  
廖党金 王泽洲 丁庆猷  
杨晓农 魏 甬 谢 晶

编委会主任：谢建勇

## 编辑部

主 编：龚文波

副 主 编：方鹏飞

执行主编：何信群

责任编辑：徐 静 李 妍 李金海 邱文英 张丽燕  
秦运杰 严 成 曾光志 谭晓婷 罗 彪

编 审：向丕元

设计制作：四川栋力文化传媒有限公司

(电话：028-85980340 官网：www.rancmedia.com)

电 话：028-27400432

传 真：028-27282488

网 址：Http://www.huapaisw.com/

电子信箱：huapaisw@163.com

通讯地址：四川省简阳经济开发区石盘食品医药产业园

邮政编码：641423

## 友情支持单位

成都正大农牧食品有限公司

成都巨星农牧科技有限公司

四川铁骑力士牧业科技有限公司

四川优百万畜牧有限公司

新希望六和股份有限公司成都中心

华西希望特驱农牧有限公司

成都凤凰华侨农牧科技发展有限公司

四川蓝雁集团种猪场

乐山长益畜牧科技公司

眉山万家好种猪繁育有限公司

通威股份四川省春源生态养殖有限责任公司



2015年第7期 总第14期

内部交流 免费赠阅

## 免责声明

本刊郑重声明：《华派生物》为本公司内部交流刊物。刊载的文章除有特别注明以外仅代表作者个人观点，与公司立场无关。本刊所登文章、图片及部分文字的真实性、完整性、及时性本刊不作任何保证或承诺，仅供读者参考，并请自行核实相关内容。

## 版权所有·侵权必究

凡受赠本公司刊物，如有缺页、倒页、脱页，由《华派生物》杂志编辑部负责退换。

本刊赠阅以下读者：（1）国内各地区有影响力的畜禽养殖企业（业主）；（2）国内各地区代理商、经销商；（3）企业内部员工；（4）合作伙伴（友好往来）单位。



# 蓝经灵

猪繁殖与呼吸综合征活疫苗 (经典蓝耳株 CH-1R)

Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Vaccine, Live(CH-1R Strain)

批准文号:兽药生字(2011)221011063



- 高度安全不返强
- 超强免疫长保护
- 疫苗纯净低应激
- 稳定品质高含量



**华派**  
HUAPAI

**四川省华派生物制药有限公司**

Sichuan Huapai Bio-pharmaceutical Co.,LTD

地址: 四川省简阳经济开发区石盘食品医药产业园 邮编: 641423

电话: 028-27400432 27282289 传真: 028-27282488

网址: www.huapaisw.com





## P06 刘捷副省长一行到华派生物调研指导

10月21日上午，四川省副省长刘捷率省科技厅、省经信委等部门负责人就工业经济推进工作到华派生物调研，精华集团董事长、总裁谢建勇全程陪同。

### 卷首语 Editoria

- 01 纵深推进的华派生物影响力

### 图片新闻 News Pictures

- 06 刘捷副省长一行到华派生物调研指导  
08 资阳市委王荣木副书记率队调研华派生物  
10 中国畜牧兽医学会生物制品学分会第四次理事会会议在成都召开  
14 哈兽研步志高所长莅临华派生物指导工作  
16 谢建勇董事长主持召开华派生物研究生座谈会  
18 整合资源 共谋发展  
20 “华派大讲堂”首次开讲  
22 全面推进预算管理 提升企业管控水平  
24 热烈祝贺华派生物官网、微网、微信平台全新上线

### 本刊特稿 Special Topics

- 27 “支肺通”上市暨华派生物（河南）第三届客户交流会圆满落幕

### 技术交流 Technical Exchange

- 32 “支肺通”和“圆环康”联合免疫试验结果分析  
36 猪细小病毒 SC1 株培养工艺初探

- 39 猪支原体肺炎防控技术

- 41 关于猪支原体肺炎灭活疫苗的纯化效果研究

- 44 副猪嗜血杆菌的分离鉴定

### 专家论坛 Expert Forum

- 50 时间分辨荧光免疫分析技术及其在兽医学中的应用

### 团队风采 Team Sketch

- 58 团结就是力量

### 职场感悟 Workplace Apperception

- 60 责任心决定执行力  
61 快速精准服务 增强品牌认知度

### 七彩生活 Colorful Life

- 62 贺“支肺通”上市  
——记“支肺通”上市暨华派生物（河南）第三届客户交流会  
63 只是因为人群中多看了“你”一眼

### 行业资讯 Stockbreeding Information

- 64 2015 年中国动物疫苗产业依旧处于成长期





# 伪安清

## 伪狂犬病活疫苗

Pseudorabies Vaccine, Living (Strain Bartha k-61)  
批准文号: 兽药生字 (2015) 221017018

铸  
百年疫苗品质  
集先进生物科技



- 免疫原性好: gE基因自然缺失
- 病毒含量高于国家标准:  $10^{5.3}$  -  $10^{5.6}$  TCID<sub>50</sub>/头份
- 纯化毒种: 蚀斑克隆, 有效去除毒力基因
- 安全方便: 哺乳仔猪可滴鼻接种

净化伪狂犬病的利器!



四川省华派生物制药有限公司  
地址: 四川简阳经济开发区石盘食品医药产业园  
邮编: 641423

传真: 028-27282488  
电话: 028-27400432 27290977  
网址: www.huapaisw.com



# 刘捷副省长一行到华派生物调研指导

文 | 何信群 图 | 蒲泽斌



10月21日上午，四川省副省长刘捷率省科技厅、省经信委等部门负责人就工业经济推进工作到华派生物调研。刘副省长一行主要对华派生物动物疫苗研发、生产及核酸疫苗生产线进行了现场参观和调研。

精华集团董事长、总裁谢建勇介绍了华派生物公司产品布局、人员结构，以及国内首条通过验收的动物核酸疫苗生产线建设情况。调研领导一行首先参观了华派生物生产车间和质检研发中心，了解产品生产、研发与战略合作

等情况。刘副省长特别询问了华派公司博士、硕士等研发人员的工作、住房等情况，他对华派公司重视人才引进和培养，稳定高素质人才队伍，推动地方工业经济发展等工作给予肯定，并希望华派公司充分发挥人才和技术优势，将人才、技术优势转化为产品优势，为社会经济发展做出更大贡献。

随后，精华集团董事长谢建勇带领刘副省长一行现场参观了动物核酸疫苗生产车间和中央监控大厅。华派生物





▲ 四川省副省长刘捷率省科技厅、省经信委等部门负责人就工业经济推进工作到华派生物调研

公司副总经理林琳、李妍博士先后向领导们汇报了疫苗生产、核酸疫苗生产线建设、设备安装调试、自动化控制系统以及生产工艺技术等情况。调研组一行对华派生物核酸疫苗的安全、高效、绿色、环保等显著优势以及未来巨大的经济社会效益颇感认同和赞许。

陪同参加调研的还有省政府副秘书长罗治平、省科技厅厅长刘东、省经济和信息化委副主任李曙光等领导。

资阳市委书记周喜安、资阳市市长陈吉明、资阳市委副书记王荣木、简阳市委书记王宏斌、简阳市市长赵春淦等领导陪同调研。

公司副总经理吴越、聂清云和总经理助理扶海也参与了接待和陪同。

（作者简介：何信群，硕士，质检研发中心副主任、信息中心主任）

## 资阳市委王荣木副书记率队调研华派生物

文 | 本刊编辑部 图 | 袁勇



2015年10月15日上午，资阳市委副书记王荣木率领参加“资阳市工业经济暨项目现场推进会”的代表共60余人莅临华派生物公司，主要对华派生物二期技改项目——动物核酸疫苗生产线进行现场参观和调研。

华派生物公司李妍博士向与会领导汇报了核酸疫苗项目建设的基本情况。据介绍，华派生物核酸疫苗生产线已于8月27日率先通过国家行业主管部门的验收，现已进入试产阶段。核酸疫苗较传统疫苗具有更安全、高效、绿色、

环保等显著优势，未来发展潜力巨大。华派生物公司的核酸疫苗项目将建立起核酸疫苗的生产平台，引领我国疫苗行业的生产技术发生巨大变革。

与会领导对整条生产线的设施设备及自动化程度都称赞不已。王副书记听取汇报后也对华派公司的科技实力和发展战略给予了高度评价，他殷切希望华派生物公司通过自身的创新和努力，在全国全行业打响四川本土企业的名牌，为地方经济的发展做出更大的贡献。





“王副书记听取汇报后也对华派公司的科技实力和发展战略给予了高度评价，他殷切希望华派生物公司通过自身的创新和努力，在全国全行业打响四川本土企业的名牌，为地方经济的发展做出更大的贡献。”

参加调研的市领导还有资阳市市人大常委会副主任王存志、市政府副市长毛绍百、市委、市政府有关副秘书长。资阳市各县（市、区）党委或政府分管工业经济工作的负责同志、经济和信息化局局长、资阳经济开发区、成都·资阳工业发展区、雁江区工业集中发展区、简阳市工业集中发展区、安岳工业集中发展区、乐至工业集中发展区主要负责同志也参加了调研。

简阳市委书记王宏斌、精华集团董事长谢建勇全程陪

同调研。华派生物副总经理吴越、林琳、蒋林，总经理助理扶海一同参与了接待和陪同。

# 中国畜牧兽医学会生物制品学分会 第四次理事会会议在成都召开

文 | 何信群 图 | 徐静



2015年9月24-25日，中国畜牧兽医学会生物制品学分会第四次理事会会议在成都召开，有120多位来自全国各地的理事、特邀专家等出席研讨会。本次大会由四川省华派生物制药有限公司承办。

中国畜牧兽医学会生物制品学分会理事会会议由副秘书长丁家波主持，开幕式上，中国畜牧兽医学会生物制品学分会理事长陈光华致开幕词。

学术报告期间，理事长陈光华、秘书长王乐元、特邀专家邵国青、王伟峰、高艳春分别就“关于我国兽医生物制品质量标准体系及其作用的思考”、“近期规范和加强兽用生物制品评审的有关工作”、“猪病与猪瘟研发机遇”、“从事兽用生物制品行业以来的几点反思”和“兽用生物制品监管政策新变化”等专题做了精彩的报告。

会议在探讨学会发展等事宜后，大会还就如何进一步





▲ 会议开幕与研讨讲座

开展学会工作展开了热烈的讨论,并组织参观了四川省华派生物制药有限公司。会议代表对华派公司新验收的核酸疫苗生产线、综合生产车间、中央监控大厅、质检研发楼进行了参观指导,并与华派生物相关人员进行了广泛交流。









◀ 与会代表到华派生物参观指导

▲ 与会代表在华派生物愉快合影



## 哈兽研步志高所长莅临华派生物指导工作

文 | 何信群 图 | 蒲泽斌



2015年9月16日，哈尔滨兽医研究所所长步志高莅临华派生物考察指导并座谈交流。精华集团董事长、总裁谢建勇、华派生物副总经理伏刚、蒋林陪同参观、座谈。

座谈会上，车间负责人汇报了华派生物概况和核酸疫苗项目研发情况。与会人员对核酸疫苗生产线建设、设备、供给系统以及工艺技术进行了深入的探讨和交流。生产、研发、质检等部门负责人参加座谈交流。会后，精华集团

董事长谢建勇带领步所长参观了核酸疫苗生产车间和中央监控大厅。

步所长在交流中指出，华派生物的人才结构、硬件设施、产品研发、生产规模处于行业领先地位，许多技术指标达到国际水平。华派生物是民企中的代表企业，具有行业顶尖的核酸疫苗生产线，起点高、规模大，有强大的开拓精神，员工年轻、有朝气，人才队伍素质高，发展后劲强。DNA疫苗是朝阳产业，具有提高动物福利、生产工艺先进、



▲ 步志高所长在华派生物考察指导并座谈交流

成本低、效力更优等特点。

步所长表示，将继续与华派生物加强合作，在产、学、研和技术交流方面建立更加紧密的联系，并祝愿华派生物核酸疫苗项目取得新成绩。



# 谢建勇董事长主持召开 华派生物研究生座谈会

文 | 罗彪 图 | 蒲泽斌



9月22日上午，四川省华派生物制药有限公司举行了一场别开生面的“华派生物研究生座谈会”，公司硕士学历以上员工参加了座谈会，会议由精华集团董事长、总裁谢建勇先生主持并发表讲话。

谢董事长指出，高素质人才是企业发展的核心竞争力，目前华派生物发展迅速，要想后劲十足，重要任务还是要落在高素质人才身上，你们的健康成长是公司快速发展的基础，公司将提供优良的工作、生活环境，为你们搭建施

展才华的平台。

在轻松愉快的座谈会上，研究生们各抒己见，畅所欲言，积极反映工作、生活中遇到的问题、困惑，并提出了颇多良好的意见及建议。谢董事长逐一解答，并殷切希望研究生们在各自的岗位上充分发挥自己的特长，与公司共同成长、同进步。

本次座谈会的召开不仅对研究生们今后工作及努力方



向有了科学的引导，而且拉近了公司领导与员工之间的距离。研究生们深切地感受到了领导对员工的关怀，大家对未来充满信心，增强了企业凝聚力。

（作者简介：罗彪，硕士，质检研发部中心病毒疫苗组成员）

谢建勇董事长与华派生物研究生亲切座谈 ▶





## 整合资源 共谋发展

文 & 图 | 本刊编辑部



10月8日下午,华派生物总经理龚文波率领副总经理伏刚、方鹏飞、技术服务总监向丕元一行前往绵阳师范学院生命科学与技术学院访问交流,旨在整合资源,加强校企合作,提升华派生物的影响力和品牌度。

宾主双方在生科院 C1-244 会议室成功举行了校企合作座谈会。生科院游章强副院长、聂东副书记、陈希文副

院长、胡进耀副院长及生物制药专业相关教师,2012、2013 级生物制药专业研究生及本科生共 40 余人参加了座谈。

游章强副院长首先对华派生物领导一行表示热烈欢迎,对华派生物关心支持学院的发展表示衷心感谢,并介绍了学院的基本概况及发展思路。聂东副书记介绍了学院近年的学生就业情况。田徽博士重点就生物制药专业情况



▲ 华派生物总经理龚文波率队在绵阳师范学院生命科学与技术学院访问交流

作了介绍。华派生物技术服务总监向丕元向与会人员就华派生物的研发实力、产品质量控制、技术服务、企业文化等方面进行详细介绍。双方就学生实习、招聘、待遇及个人发展空间等方面交换了意见，华派生物领导还就学院领导、教师、学生关心、关注的问题进行了热烈讨论及互动交流，双方还就人才培养、实习就业、科技合作等具体细节进行了探讨，对学生们提出的有关问题进行了详细的解答。座谈会在欢愉和友好的气氛中结束。

会后，陈希文副院长带领客人参观了教学和实验的仪器设备。

此次访问交流，促进了校企间的了解和沟通，为整合校企资源、建立学生实训基地、搭建学生就业平台以及科研课题、产品研发的深度合作，实现共创共享奠定了良好基础。



## “华派大讲堂” 首次开讲

文 | 何信群 图 | 袁勇



为

有效提升华派管理团队的凝聚力和战斗力，为华派生物的发展集思广益，共谋发展，10月6日华派生物举行了“华派大讲堂”的首次开讲。

上午9时，大讲堂在华派生物全体中层领导以上人员高唱“我们是精华”的旋律声中拉开帷幕。大讲堂先后由华派公司副总经理吴越、蒋林、方鹏飞和伏刚主讲。讲座由华派生物总经理龚文波主持，公司中层以上领导共30余人聆听了此次讲座。

副总经理吴越作了题为“精益管理”的专题讲座。他列举了大量的工作实例，深入浅出地将5S-9S管理、准时化生产、看板管理、零库存管理、全面生产维护、生产线平衡设计、降低设置时间、标准化、目视管理、预算管理等管理工具运用于生产实际中。精益管理源于精益生产，其核心是各项活动运用精益思维，以最小的资源投入，创造出尽可能多的价值，为客户提供优质产品和及时服务。

副总经理蒋林就如何搞好部门管理和设备管理进行了

深入的分析和讲解。他讲到，部门是一个共同体，要用“管束”与“梳理”的办法明确各岗位的工作职责和工作标准，领导者要做到“严”、“爱”和“责任”并存，敢于担当。动力设备部的“绝对服从、立即执行、质量第一”的十二字工作要求和“团结就是力量”的队歌形成了别具特色的部门文化。

副总经理方鹏飞以“问题管理法”为主题进行了专题讲座，他说，我们的管理工作就是渐进的发现问题并解决问题，不仅要找出差距、明确问题、分解问题、设定目标、把握真相、制定对策、贯彻实施，还要评价结果和过程，巩固成果，制定出适宜的制度，做到齐心协力、迅速贯彻、永不言败，直到最后。

副总经理伏刚就“素质培养之礼仪礼节”进行了精彩的演讲。他从工作、生活的细节入手，从人们的言、行、举、止，待人接物等多个方面生动形象地讲解了素质培养的重要性，特别是他风趣幽默地分享自己的感受和体验以及现场互动将培训气氛推向高潮。

总经理龚文波在“大讲堂”结束时指出，今天的“华派大讲堂”首讲开了一个好头，每个管理者要总结工作经验，学习先进的管理方法，结合自身的生产实际和工作，站在大讲堂上与大家进行分享和交流，共同努力，共同进步，共谋发展。要把华派生物建成一流的企业，就必须打造一流的管理团队，生产一流的产品，提供一流的服务。只有把员工工作分担的“2-8定律”逐步提升为“5-5定律”，才能确保华派生物的快速、稳定发展。





# 全面推进预算管理 提升企业管控水平

文 | 何信群 图 | 黄玉琪



9月25日，华派生物举行预算管理工作推进会议，特邀著名生物制品企业张总进行专题讲解。华派生物总经理龚文波、副总经理吴越、伏刚、林琳等公司领导参与现场交流，百余名干部、员工参加培训会议。

预算推进会上，张总结合实践经验，深入浅出讲解预算管理的基本构架与预算管理的执行，分享预算管理的感受，针对预算管理中存在的问题，一一剖析。经过预算的

编制、考核和激励机制，共同达到科学化、精细化的管理控制。张总说，预算管理要结合公司的发展战略，以依据科学、编制合理、执行严格、考核有效为指导思想，以实现全员、全方位、全过程的预算管理为目标，使预算管理机制高效运行。张总提出，预算是梦想，也是手段，但不是目的。预算工作发起者为财务，实施者为班组、部门，需要全员参与。有效的执行预算管理，可以防止“两套表”和“三拍”现象出现，有效提高生产绩效，提升产品品质。



## Budget Management

与会人员提问积极，讨论热烈，纷纷表示培训受益匪浅。

该企业负责生产的韩经理结合生产实际，从生产、检验、安全库存等方面讲解了生产预算的影响因素。她说，只有全员参与，牢固树立成本意识才能使预算管理真正落地。

龚文波总经理在推进会议上强调，华派生物全面推进

预算管理，财务、销售、研发、生产、行政等各个部门要结合工作实际和特点，做好“三项费用”的合理管控，将“自上而下，自下而上”结合起来，全员参与，充分挖掘内部潜力，提高资源的利用能力，提升产品品质与市场竞争力，增强公司的内动力，促进华派生物的持续、稳定、健康发展，使华派公司成为一流的兽用生物制品企业。



# 热烈祝贺华派生物 官网、微网、微信平台全新上线

文 | 张莉



为

了响应国务院提出的“互联网+”行动计划，使华派生物在“互联网+”的浪潮中有效发挥

价值传递，提升公司形象，华派生物将原公司官网升级改版并同时推出手机微网和微信平台，“三网融合”受到广大客户和业内人士的高度关注和普遍赞誉。

升级改版后的华派生物官网，进一步增强了网站的美观性、可读性和沟通性，我们将通过官网及时发布公司最新动态、产品信息、研发进展和技术服务工作。新网站采

用鼠标滑动式翻页，版面清新直观，内容丰富紧凑。

华派生物手机微网和微信平台的推出，将更加方便与客户快捷有效地交流和沟通。华派生物微信平台命名为“华派生物俱乐部”，为关注华派生物发展的客户和朋友们打造一个开放、沟通和交流的平台，微信平台可以直达官网和微网，形成“三网融合”。欢迎业内各界人士和朋友通过微信扫描华派生物二维码订阅“华派生物俱乐部”。

# 打造中国动物疫苗 **第一品牌**

Building **the Top Brand** of the Veterinary Vaccine in China

让我们携手并进，为打造中国动物疫苗第一品牌共享  
企业发展成果！

华派生物官网：[www.huapaisw.com](http://www.huapaisw.com)

中文域名访问地址：华派生物 .com

微信平台：华派生物俱乐部

微信号：[hpsw2008](#)



微信扫一扫，关注华派

（作者简介：张莉，在读硕士，技术服务部经理）



# 支肺通

华派生物自主研制  
猪支原体肺炎灭活疫苗

## 专家观点

◆ 华派生物郑重承诺将为客户提供更加优质的产品和服务。

——精华集团董事长、总裁 谢建勇

◆ 在抗原含量、安全检测、效力检测等方面华派生物的“支肺通”都与众不同，优势突出。

——华派生物副总经理、研发中心主任 方鹏飞

◆ 与其他毒株的疫苗相比，猪圆环病毒灭活疫苗 (ZJ/C) 有着与众不同的优点，抗原含量高、灭活剂好，佐剂更优，保护率高。

——南京农业大学动物医学院院长、教授 周继勇

◆ “圆环康”可以与华派的猪瘟活疫苗（细胞源）、猪支原体肺炎灭活疫苗联合免疫，不能与蓝耳病活疫苗联合免疫。

——华派生物诊断中心主任、博士 李金海

---

## 热烈祝贺华派生物公司新品上市

---

2015年10月 中国简阳

# Exclusive 本刊特稿

## “支肺通”上市暨华派生物（河南） 第三届客户交流会圆满落幕

文 & 图 | 本刊编辑部

2015年9月17日，由四川省华派生物制药有限公司举办的“支肺通”上市暨华派生物（河南）第三届客户交流会在河南省郑州市隆重举行。精华集团董事长谢建勇、南京农业大学教授周继勇、华派生物总经理龚文波、副总经理伏刚、吴越、方鹏飞、华派生物研发团队、销售团队、河南地区合作伙伴及规模化猪场代表近500人出席本次交流会。

精华集团董事长、总裁谢建勇在致辞中首先代表精华集团、四川省华派生物制药有限公司对大家的到来表示热烈的欢迎和衷心的感谢，他郑重承诺将为客户提供更加优质的产品和服务，他说，回顾精华集团的发展史，我们创造过许多成就与辉煌，展望未来，华派将继续开拓创新，华派的明天会更精彩。

南京农业大学动物医学院院长周继勇教授做了题为《集约化养殖的管理和有效防控体系的建立》的精彩报告。周教授指出，养猪要“生得多、死的少、长得快”，精细化管理才能出好成绩。疫苗是防控体系的最后一道防线，也是最重要的防线。他说，蓝耳病活疫苗会干扰其他疫苗抗体的产生，无论是先免还是后免。与其他毒株的疫苗相比，猪圆环病毒灭活疫苗（ZJ/C）有着与众不同的优点，抗原含量高、灭活剂好，佐剂更优，保护率高。周教授在报告中强调，规模化猪场应该建立疫病监测预警体系，做到疫病可控、可防、可预测、可避免。

华派生物诊断中心主任李金海博士做了《正确选择圆环病毒疫苗及圆环康优点分析、应用效果报告》，李博士详细分析了华派生物猪圆环病毒灭活疫苗（ZJ/C株，商品





名：“圆环康”）的特点，并对猪场如何选择圆环疫苗提出了参考指标。李博士还对“圆环康”与华派其他疫苗的联合应用试验做了分析，指出“圆环康”可以与华派的猪瘟活疫苗（细胞源）、猪支原体肺炎灭活疫苗联合免疫，不能与蓝耳病活疫苗联合免疫。

在下午的“支肺通”上市启动仪式上，谢建勇董事长、龚文波总经理、伏刚、吴越副总经理、李晓军副总监、董振波经理在全场近 500 人的共同见证下，同时启动“支肺通”上市水晶球，标志着华派生物研制的猪支原体肺炎灭活疫苗成功上市。

在下午的报告中，华派生物副总经理、研发中心主任方鹏飞做了题为《国内外支原体疫苗的现状 & 支肺通的特

点及应用》的报告，详细分析了国内外猪支原体疫苗的特点。在抗原含量、安全检测、效力检测等方面华派生物的“支肺通”都与众不同，优势突出。

华派生物技术服务中心张莉经理做了《华派生物“三联四防”的应用方案及注意事项》的报告，通过大量的科学实验和论证，华派生物在国内率先提出仔猪“三联四防”防控方案，把 4 种疫苗原本需要 6 次免疫变成 3 次免疫，提高了劳动效率，减少了应激次数，增加了经济效益。张经理还例举了大量河南正在试用“三联四防”方案的规模化猪场客户，并对疫苗使用中存在的问题和误区做了分析，引起了参会人员的共鸣。

华派生物河南分公司董振波经理在总结时深情并茂地



# 华派生物（河南）第三届客户交流会



回顾他20余年的从业经历。他感谢所有合作伙伴对他个人、对华派生物的支持，感谢华派生物领导对河南分公司的指导和信任，感谢华派生物河南团队的精诚团结和辛勤工作。

在现场订货环节中，规模化猪场老板、经销商纷纷踊跃下单，现场订货量一路攀升，现场订货额大大超出了预期目标。

在晚宴上，华派生物副总经理伏刚先生上台祝酒，他祝贺“支肺通”上市暨华派生物（河南）第三届客户交流会取得圆满成功。紧接着精彩的文艺表演在阵阵掌声和觥筹交错的祝酒声中进行，节目间隙的抽奖活动更是气氛火爆，获得奖品的兴奋，没有获得奖品的期待，都同样令人激动。本次活动的主动参与企业——河南雄峰科技有限

公司、河南广安集团、河南银发牧业有限公司和四川精华动物药业有限公司的抽奖活动同样精彩，饲料、种猪、保健药物全数送出。

晚宴、抽奖、文艺表演进行到深夜，现场氛围一直停留在参与者的脑海，久久不能忘怀。当晚，对于现场的所有目击者注定是一个不眠之夜……

9月18日，华派生物还组团参加了第27届河南畜牧业交易会，在华派生物展台前人头攒动，前来咨询的顾客络绎不绝，展会上派发产品宣传资料上千份，华派生物推出的最新研发成果及产品，受到了行业内专家学者和养殖户们的广泛赞誉。





## “支肺通”上市暨华派生物（河南）第三届客户





## 交流会图集



# “支肺通”和“圆环康” 联合免疫试验结果分析

文 | 李金海 秦运杰 曾光志 张莉 方鹏飞 向丕元 罗彪 郭建宝

**摘要** 为评估“支肺通”（猪支原体肺炎灭活疫苗）和“圆环康”（猪圆环病毒2型灭活疫苗）联合免疫的效果，选择10~12日龄猪支原体和圆环病毒抗原、抗体双阴性猪50头，随机平均分成5组。于14日龄、28日龄采取单独免疫、分点同时注射和混匀后注射的方式进行免疫，并设空白对照组，“支肺通”和“圆环康”的免疫剂量均为1mL/次。单独免疫、分点同时注射和混和免疫后均无明显副反应。分别于免疫后0d、14d、21d、28d、35d和42d采血，用ELISA方法检测免疫抗体；免疫后14d，免疫组圆环病毒2型抗体和猪支原体抗体水平均极显著高于对照组（ $P<0.01$ ），单独免疫组、分点注射组和混和免疫组猪支原体和圆环病毒2型抗体水平无显著差异（ $P>0.05$ ）。由此可见，“支肺通”和“圆环康”可以联合免疫，既可以分点注射，也可以混合免疫注射。

**关键词** 猪支原体灭活疫苗；猪圆环病毒2型灭活疫苗；联合免疫；免疫效果

猪支原体肺炎，俗称喘气病，是由猪肺炎支原体引起的一种接触性、慢性呼吸道传染病。猪支原体肺炎感染常常使猪对多种细菌和病毒的易感性增高，造成混合感染，引发猪呼吸道疾病综合征，导致猪生长发育不良，造成大量饲料和人力资源的浪费，甚至诱发大批死亡，给养猪业带来巨大的经济损失。免疫接种猪肺炎支原体灭活疫苗是防控该病的重要手段之一，接种疫苗可减少肺部损伤，提高料肉比，缩短出栏时间。猪圆环病毒病2型可引起猪的多种疾病，如断奶仔猪多系统衰竭综合征（PMWS）、猪皮炎和肾病综合征（PDNS）、猪呼吸系统综合征（PRDC）、肠炎、繁殖障碍、新生仔猪的先天性震颤等，其中PMWS、PDNS和PRDC在临床上常见，对养猪业危害较大，越来越多的猪场使用疫苗预防该病。

用猪支原体肺炎和圆环病毒疫苗免疫猪群，可有效提高猪群的抵抗力，从整体上提高猪群的健康水平。猪肺炎支原体和圆环病毒疫苗的免疫时间接近，二者能否同时分点免疫或混匀免疫是养殖户十分关心的问题。本研究用华派生物生产的“支肺通”和“圆环康”疫苗开展联合应用试验，观察免疫反应，监测免疫抗体，评估二者是否有干扰，旨在为疫苗的联合免疫提供参考。

## 1 材料与方法

**1.1 供试疫苗** 四川省华派生物制药有限公司生产的“支肺通”（猪支原体灭活疫苗，J株），批号2015004；“圆环康”（猪圆环病毒2型灭活疫苗，ZJ/C株），批号2015003。

**1.2 试验动物** 选取10~12日龄猪支原体和圆环病毒抗原、抗体双阴性猪50头，在华派生物动物房标准猪舍饲养。

**1.3 诊断试剂** 猪支原体肺炎ELISA抗体检测试剂盒，IDEXX，批号LK880，有效期至2016.03.16；猪圆环病毒2型ELISA抗体检测试剂盒，科前生物产品，批号150606，有效期160425。

**1.4 试验分组** 将50头猪随机分为5组，每组10头。各组免疫方案详见表1。

表 1: 试验分组及免疫方案

组别	免疫疫苗及剂量		数量(头)
	一免(14日龄)	二免(首免后14d)	
I(空白)	HPVG 乳化生理盐水 2mL	HPVG 乳化生理盐水 2mL	10
II(圆环康)	圆环康 1mL	圆环康 1mL	10
III(支肺通)	支肺通 1mL	支肺通 1mL	10
IV(支+圆)	支肺通 1mL 与圆环康 1mL 分点注射	支肺通 1mL 与圆环康 1mL 分点注射	10
V(支混圆)	支肺通 1mL 与圆环康 1mL 混匀后注射	支肺通 1mL 与圆环康 1mL 混匀后注射	10

**1.5 免疫副反应观察** 免疫后 72h 内观察免疫猪的精神、采食、运动、体温等情况,对出现异常反应的猪只进行详细记录,并进行相应处理。

## 1.6 免疫抗体检测

**1.6.1 样品采集** 分别于免疫后 0d、14d(同时加强免疫)、21d、28d、35d 和 42d 前腔静脉采血,4000rpm,10min 分离血清。

**1.6.2 猪支原体抗体检测** 用猪支原体肺炎 ELISA 抗体检测试剂盒检测,该试剂盒采用间接 ELISA 方法,血清稀释倍数为 1:40,650nm 测定 OD 值,判断标准:  $S/P = \text{样品 OD 值} / \text{阳性对照 OD 值}$ ;  $S/P < 0.3$  为阴性,  $S/P > 0.4$  为阳性,  $0.3 \leq S/P \leq 0.4$  为可疑。详细操作步骤按说明书进行。

**1.6.3 猪圆环病毒 2 型抗体检测** 用猪圆环病毒 2 型 ELISA 抗体检测试剂盒检测,该试剂盒采用间接 ELISA 方法,血清稀释倍数为 1:40,630nm 测定 OD 值,判断标准:  $S/P = (S - N) / (P - N) = (\text{样品 OD 值} - \text{阴性对照 OD 值}) / (\text{阳性对照 OD 值} - \text{阴性对照 OD 值})$ ,  $S/P \geq 0.16$ , 则 PCV2 抗体阳性,  $S/P < 0.16$ , 则 PCV2 抗体阴性。

**1.7 数据统计与分析** 先分别计算 S/P 值,再用 SPSS19.0 软件的 One-Way ANOVA 方法进行统计学分析。

## 2 结果

**2.1 免疫副反应观察** 免疫注射后,各组猪的体温、食欲、精神状态均正常,未见明显免疫副反应发生。

**2.2 猪肺炎支原体抗体检测结果** 用 ELISA 抗体检测试剂盒检测各组猪肺炎支原体抗体水平,各组平均 S/P 值详见表 2。“支肺通”单独免疫组,与“圆环康”分点免疫和混匀免疫组 14d-42d,猪支原体抗体水平均极显著高于非免疫组 ( $P < 0.01$ ),三个免疫组抗体水平差异不显著 ( $P > 0.05$ )。“支肺通”免疫 14d 后,抗体阳性率为 40 ~ 50%,21d(二免后 7d)即可达 100%,详见表 3。

表 2 猪肺炎支原体抗体检测结果

组别	各组 M.hyo 抗体平均 S/P 值					
	0d	14d	21d	28d	35d	42d
I(空白)	$-0.05 \pm 0.00^a$	$-0.05 \pm 0.00^a$	$-0.02 \pm 0.05^a$	$0.01 \pm 0.04^a$	$0.04 \pm 0.07^a$	$0.10 \pm 0.17^a$
II(圆环康)	$-0.05 \pm 0.00^a$	$-0.04 \pm 0.00^a$	$-0.05 \pm 0.01^a$	$0.00 \pm 0.03^a$	$0.02 \pm 0.01^a$	$0.01 \pm 0.01^a$
III(支肺通)	$-0.04 \pm 0.00^a$	$0.45 \pm 0.25^b$	$0.95 \pm 0.07^b$	$1.15 \pm 0.18^b$	$1.26 \pm 0.14^b$	$1.26 \pm 0.18^b$
IV(支+圆)	$-0.05 \pm 0.00^a$	$0.53 \pm 0.31^b$	$0.94 \pm 0.18^b$	$1.22 \pm 0.10^b$	$1.25 \pm 0.16^b$	$1.28 \pm 0.15^b$
V(支混圆)	$-0.05 \pm 0.00^a$	$0.38 \pm 0.13^b$	$0.89 \pm 0.08^b$	$1.11 \pm 0.08^b$	$1.19 \pm 0.21^b$	$1.22 \pm 0.12^b$



表 3 猪支原体抗体阳性数统计结果

组别	各组 M.hyo 抗体阳性数					
	0d	14d	21d	28d	35d	42d
I (空白)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
II (圆环康)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
III (支肺通)	0/10	5/10	10/10	10/10	10/10	10/10
IV (支+圆)	0/10	5/10	10/10	10/10	10/10	10/10
V (支混圆)	0/10	4/10	10/10	10/10	10/10	10/10

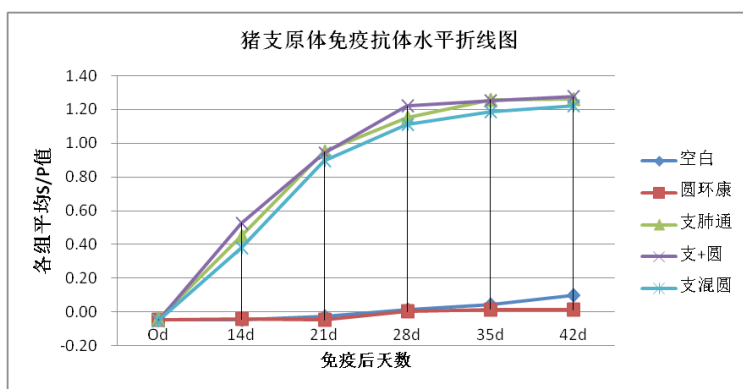


图 1 猪支原体抗体水平变化图

**2.3 猪圆环病毒 2 型抗体检测** 用 ELISA 抗体检测试剂盒检测各组猪圆环病毒 2 型抗体水平，各组平均 S/P 值详见表 4。免疫了“圆环康”的 3 个组，14d 后抗体水平均极显著高于非免疫组 ( $P<0.01$ )；混和免疫组抗体水平略低于单独免疫组和分点免疫组，经 SPSS 分析，三个免疫组抗体水平差异不显著 ( $P>0.05$ )。

表 4 猪圆环病毒 2 型抗体检测结果

组别	各组猪圆环病毒 2 型抗体平均 S/P 值					
	0d	14d	21d	28d	35d	42d
I (空白)	$0.06 \pm 0.03^a$	$0.08 \pm 0.04^a$	$0.07 \pm 0.03^a$	$0.08 \pm 0.04^a$	$0.11 \pm 0.04^a$	$0.09 \pm 0.04^a$
II (圆环康)	$0.07 \pm 0.04^a$	$0.14 \pm 0.06^b$	$0.24 \pm 0.12^b$	$0.41 \pm 0.13^b$	$0.66 \pm 0.21^b$	$0.72 \pm 0.25^b$
III (支肺通)	$0.08 \pm 0.02^a$	$0.07 \pm 0.03^a$	$0.10 \pm 0.04^a$	$0.09 \pm 0.05^a$	$0.08 \pm 0.06^a$	$0.12 \pm 0.05^a$
IV (支+圆)	$0.06 \pm 0.04^a$	$0.16 \pm 0.11^b$	$0.23 \pm 0.18^b$	$0.44 \pm 0.10^b$	$0.63 \pm 0.16^b$	$0.74 \pm 0.18^b$
V (支混圆)	$0.09 \pm 0.03^a$	$0.13 \pm 0.12^b$	$0.21 \pm 0.11^b$	$0.38 \pm 0.14^b$	$0.58 \pm 0.23^b$	$0.66 \pm 0.31^b$

表 5 猪圆环病毒 2 型抗体阳性数统计结果

组别	各组 M.hyo 抗体阳性数					
	0d	14d	21d	28d	35d	42d
I (空白)	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	0/10
II (圆环康)	0/10	2/10	8/10	10/10	10/10	10/10
III (支肺通)	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	0/10
IV (支+圆)	0/10	2/10	8/10	10/10	10/10	10/10
V (支混圆)	0/10	2/10	7/10	9/10	10/10	10/10

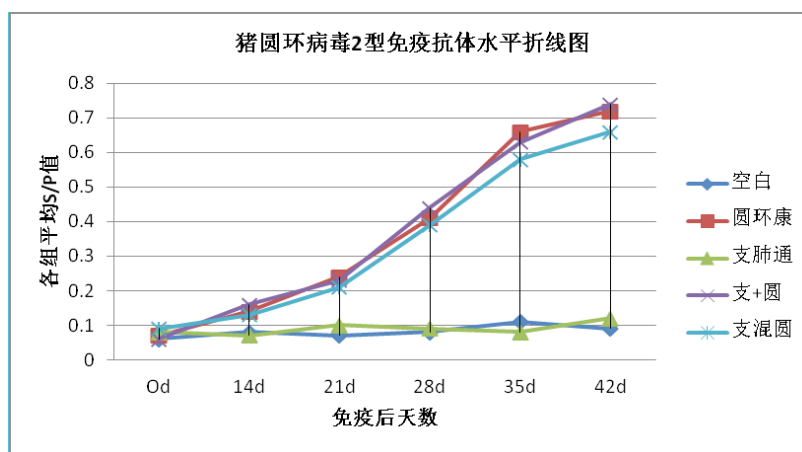


图2 PCV2 免疫抗体水平变化图

### 3 讨论

3.1 猪支原体肺炎防控和净化是当今养猪业面临的难题之一。临床上主要依靠药物控制、疫苗免疫以及改善饲养管理方式等进行防控和净化。猪支原体灭活疫苗采用肌肉注射，操作方便，不受抗菌素的影响，可有效提高猪群的健康水平和生产成绩。本试验检测结果表明，“支肺通”首免后14d，抗体阳性率即可达40%~50%，二免后7d抗体阳性率达100%，与毛春玲等（2014年）和刘海隆等（2013年）人的报道相比，“支肺通”免疫抗体水平和抗体阳性率均明显高于进口疫苗。这可能有以下几方面的原因：一是“支肺通”采用J株，免疫原性好；二是“支肺通”的抗原含量高，抗原经过有效的纯化处理；三是采用了优质水质佐剂，并且添加了分子佐剂。本次试验，没有检测细胞免疫水平，但“支肺通”采用的佐剂可有效促进机体产生细胞免疫，这也是很多试验所证实了的；血清抗体水平的测定可以有效评价群体的免疫效果。

3.2 支原体灭活疫苗和圆环病毒灭活疫苗均是免疫副反应不易控制的疫苗，华派生物经过大量的试验，成功解决了该问题，疫苗生产工艺，特别是抗原的纯化浓缩工艺做得非常好。此次试验，无论是2种疫苗单独免疫，分点同时免疫，还是混合免疫均没有免疫副反应的发生。2015年华派生物在全国免费发放10万头份的“支肺通”疫苗，从大量临床应用反馈的结果来看，“支肺通”无论是单独免疫，还是和“圆环康”联合免疫都是安全的，临床上只有极个别的猪体温有一过性的升高，不经过任何处理，12~24h内完全恢复。另一方面，由于“支肺通”和“圆环康”都采用优质的水质佐剂，混合起来不会破坏疫苗的物理性状，相互之间没有干扰，免疫抗体的检测结果也证实了这一点。

3.3 “支肺通”和“圆环康”都是灭活疫苗，按照免疫学的原理，2次免疫的抗体水平更高、更持久，大量的试验和报道均证实2次免疫（1mL+1mL）更优于2mL1次的免疫效果。实际上，按照国家公布的质量标准，“圆环康”是真正的一针型圆环疫苗，但如果和“支肺通”联合应用，采用1mL“支肺通”和1mL“圆环康”联合免疫（分点注射或混匀注射），2周后加强免疫一次的免疫方案，既没有增加免疫次数，又明显提高了免疫效果，可以构筑更加坚强的免疫保护屏障。

（作者简介：李金海，博士，研发中心副主任，诊断中心主任）



# 猪细小病毒 SC1 株培养工艺初探

文 | 徐 静 盛泽军 邱文英 张丽燕 胥燕芳 方鹏飞  
四川省华派生物制药有限公司

**摘要** 猪细小病毒繁殖需要细胞培养过程中产生的一些酶，特别是细胞分裂 S 期的酶。为了生产猪细小病毒灭活疫苗抗原，目前有报道有两种接毒方式：同步接种和细胞长至 60% 单层接种。猪细小病毒增殖会受到空病毒粒子的抑制，要求感染复数相对较低，一般在 0.1 ~ 1。疫苗中血清含量是引起应激反应的重要因素，必须控制制备半成品所用的维持液中的血清。根据以往的一些生产经验，同步接种生产的猪细小病毒的病毒含量能达到规程要求，但其血凝效价偏低。因此我们在探索猪细小病毒 SC1 株的培养工艺时采用了同步接种、细胞长至 60% 单层时的半同步接种；也摸索了维持液中血清含量对病毒含量及血凝效价的影响；温度对病毒含量和血凝效价的影响；接种量对病毒含量和血凝效价的影响。结果表明：同步接种比半同步接种的病毒含量和血凝效价高；与血清含量 5% 和 2% 的维持液相比，血清含量 1% 对病毒含量和血凝效价影响不大；感染复数为 0.25 时的病毒含量和血凝效价比感染复数为 0.5、1、2 时高。将温度控制在 33℃ 制备的抗原液的血凝效价比在 37℃ 培养的效价高，病毒含量差异不显著。因此将猪细小病毒 SC1 株的培养工艺定为同步接种；接种量为 0.25 感染复数；同步接种后 24h 将生长液更换为血清含量为 1% 的 MEM；培养温度调节至 33℃，继续培养至 80% 细胞病变时收获。按此工艺连续培养 3 批，其病毒含量都不低于  $10^{7.0}$  TCID<sub>50</sub>/ml；HA 效价达  $2^7$  以上。

猪细小病毒是引起母猪的繁殖障碍性疾病之一，疫苗接种是控制猪细小病毒引起的母猪繁殖障碍的最有效的方法，目前我国使用猪细小病毒疫苗为灭活疫苗。猪细小病毒灭活疫苗生产关键是培养出较高病毒含量和血凝效价的抗原以及控制抗原血清含量，从而提高疫苗的效力和安全性。本试验对猪细小病毒 SC1 株培养工艺进行了初探。

## 1 材料

1.1 猪细小病毒 SC1 猪 代次 F20 由四川省华派生物制药有限公司提供；MEM 购自 gibco 公司，批号：

1545697; 血清购自内蒙古金源康生物工程有限公司, 批号: 20140325; 1% 豚鼠红细胞 自制。

1.2 隔水式恒温培养箱 上海一恒科学仪器有限公司。

## 2 方法

2.1 种毒病毒含量测定 将病毒液按 10 倍系列稀释, 接种 ST 细胞测病毒悬液的组织半数感染量。

2.2 T-75 细胞瓶培养至致密单层时细胞计数 将在 T-75 细胞瓶中长至致密单层的 ST, 胰酶分散, 用细胞计数器计数。

2.3 接种量的优化 F30 代内 ST 细胞分散, 根据种毒的病毒含量和长至致密单层时细胞数量, 同步接种, 按感染复数为 2、1、0.5、0.25 接种病毒液, 37℃ 培养 24h, 然后换为含 1% 血清的 MEM, 至 80% 细胞病变时收获, 反复冻融, 保存备用。

2.4 接种时间筛选 按感染复数 0.25 接种长至 60% 单层的 ST 细胞和同步接种刚分散的 ST 细胞。60% 单层细胞在 37℃ 培养至 80% 细胞病变时收获。同步接种的细胞在 24h 换为含 1% 血清的 MEM, 至 80% 细胞病变时收获。反复冻融, 保存备用。

2.5 维持液血清含量的研究 F30 代内 ST 细胞分散后同步接种, 按感染复数 0.25 接种, 37℃ 培养 24h, 然后分别更换为含 5%、2% 和 1% 血清的 MEM, 37℃ 下培养至 80% 细胞病变时收获, 反复冻融, 保存备用。

2.6 培养温度的研究 F30 代内 ST 细胞分散后同步接种, 按感染复数 0.25 接种, 37℃ 培养 24h, 更换为含 1% 血清的 MEM, 分别在 37℃、35℃ 和 33℃ 下培养至 80% 细胞病变时收获, 反复冻融, 保存备用。

2.7 重复试验 按感染复数为 0.25、同步接种、接种后 37℃ 培养 24 小时更换为血清含量为 1% 的 MEM、培养温度调节到 33℃, 培养至 80% 细胞病变时收获, 反复冻融, 保存备用。

2.8 病毒含量测定 将收获的病毒液按 10 倍系列稀

释, 取  $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$  四个稀释度, 同步接种 ST 细胞, 测不同条件下收获的病毒悬液的组织半数感染量。

2.9 HA 测定 将收获的病毒液用 0.01mol/l、pH 7.2 的 PBS 2 倍系列稀释, 然后加 1% 的豚鼠红细胞, 同时设 PBS 对照。室温孵育 30 ~ 60 分钟, 读数。以完全血凝的最高稀释度作为该病毒液的 HA 效价。

## 3 结果与分析

3.1 接种量的优化 不同接种量收获的培养液病毒含量和血凝效价见表 1。从表 1 的结果可知, 当病毒接种量为 0.25 感染复数时, 在 37℃ 培养, 80% 细胞病变时收获效价较高, 可达到  $10^{7.7}$  TCID<sub>50</sub>/ml。当病毒接种量为 0.25 感染复数, 在 37℃ 培养, 80% 细胞病变时收获 HA 效价较高, 可达到  $2^8$ 。选用接种量为 0.25 感染复数, 在 37℃ 条件下培养至 80% 细胞病变时收获, 能获得较高的病毒含量和血凝效价。

表 1 不接种量条件下收获培养液中病毒含量

接种量 (感染复数)	2	1	0.5	0.25
病毒含量	$10^{6.8}$	$10^{7.0}$	$10^{7.3}$	$10^{7.7}$
血凝效价 (HA)	$2^5$	$2^5$	$2^7$	$2^8$

注: 病毒含量单位为 TCID<sub>50</sub>/ml。

3.2 接种时间的优化 在猪细小病毒灭活疫苗 (SC1 株) 病毒液生产工艺的基础上进一步地优化, 通过比较同步接种和半同步接种 (细胞长至 60% 单层接种), 两种方法接种收获的培养液病毒含量和血凝效价存在差异, 同步接种的血凝效价比半同步接种至少高 2 个滴度, 病毒含量高 1 个滴度。

表 2 不同接种方式收获的病毒液的病毒含量和血凝效价的影响

接种方法	半同步接种	同步接种
病毒含量	$10^{6.67}$	$10^{7.5}$
血凝效价 (HA)	$2^5$	$2^7$

注: 病毒含量单位为 TCID<sub>50</sub>/ml。

3.3 维持液血清含量的研究 表 3 的结果表明, 更换



为 1% 与 2%、5% 血清含量的 MEM 收获的培养液病毒含量差异不显著；更换为 1% 血清含量的 MEM 收获的培养液的 HA 效价差异不显著。由于血清含量是造成疫苗应激反应的重要因素，因此在同步接种后 24 小时，更换为血清含量为 1% 的 MEM 继续培养至 80% 细胞病变收获。

表 3 培养 24 小时后更换为不同血清浓度的 MEM 对收获的培养液的病毒含量和血凝效价的影响

维持液血清含量	5%	2%	1%
病毒含量	$10^{7.3}$	$10^{7.5}$	$10^{7.4}$
血凝效价 (HA)	$2^7$	$2^7$	$2^7$

注：病毒含量单位为 TCID<sub>50</sub>/ml。

3.4 培养温度的优化 在更换维持液后，分别在 37℃、35℃ 和 33℃ 下培养收获的培养液病毒含量和血凝效价见表 4。表 4 的结果表明在三种不同温度下培养的病毒含量差异不显著，但在 33℃ 下培养的血凝效价更高。

表 4 在更换维持液后在不同温度下培养至 80% 细胞病变收获的病毒液的病毒含量及血凝效价

接种量	0.25 感染复数		
培养温度	37℃	35℃	33℃
病变程度	80%	80%	80%
病毒含量	$10^{7.3}$ TCID <sub>50</sub> /ml	$10^{7.4}$ TCID <sub>50</sub> /ml	$10^{7.5}$ TCID <sub>50</sub> /ml
血凝效价	$2^7$	$2^8$	$2^9$

注：病毒含量单位为 TCID<sub>50</sub>/ml。

3.5 接种量为 0.25 感染复数、同步接种、接种后 37℃ 培养 24 小时更换为血清含量为 1% 的 MEM、培养温度调节到 33℃，培养至 80% 细胞病变时收获。三批培养至 80% 细胞病变的时间为 40 ~ 41h。病毒含量稳定在  $10^{7.5}$ TCID<sub>50</sub>/ml 以上，血凝效价都不低于  $2^7$ 。

表 5 连续生产 3 批的病毒含量及血凝效价

接种量	0.25 感染复数		
批次	第 1 批	第 2 批	第 3 批
80% 病变时间	41h	41h	40h
病毒含量	$10^{7.5}$ TCID <sub>50</sub> /ml	$10^{7.7}$ TCID <sub>50</sub> /ml	$10^{7.7}$ TCID <sub>50</sub> /ml
血凝效价	$2^7$	$2^8$	$2^9$

注：病毒含量单位为 TCID<sub>50</sub>/ml。

## 4 讨论与结论

适于猪细小病毒增殖的细胞有仔猪肾原代细胞、猪肾传代细胞 (PK15 和 SK) 和猪睾丸传代细胞。本文选用猪睾丸传代细胞 (ST)，该细胞购自中国典型物保藏中心，通过克隆而得。

很多资料报道猪细小病毒的增殖受到不含核酸的空病毒粒子的抑制，接毒量越大，空病毒粒子含量越多，会抑制猪细小病毒的增殖，资料报道最适猪细小病毒增殖的感染复数为 0.1，本文仅从 2、1、0.5 和 0.25 四个梯度进行了试验，结果表明以 0.25 感染复数接种，培养的猪细小病毒液病毒含量和血凝效价都较高，这与其他报道基本一致，但还需进一步摸索病毒的接毒量。

报道猪细小病毒在不同温度下相对稳定。有报道采用低温连续传代培养使猪细小病毒强毒变为猪细小病毒弱毒株。本试验在猪细小病毒培养中也采用了不同的温度来培养，发现低温 33℃ 培养的猪细小病毒液的病毒含量差异不显著，但血凝效价有所提高。这与 Bachmann 等人的报道存在差异，他们在 37、35 和 33℃ 下培养的猪细小病毒液的含量和血凝效价没差异。

异源血清是兽用疫苗引起应激反应的一个重要因素，必须尽可能将半成品抗原中的血清含量降低到最低水平，同时又不能对半成品中抗原含量产生较大的影响。因此我们在猪细小病毒培养工艺初探中采用了疫苗接种后 24 小时换维持液，维持液中的血清含量为 1% ~ 5%。从初步的结果来看，维持液血清含量在 1% 对病毒含量影响不大。这可能是因为细胞在培养 24h 后，细胞已经处于快速分裂期，此时病毒也快速繁殖，对血清中的营养物质需求较少，因此血清含量在 1% 时对病毒含量影响不大。

按同步接种、接种量 0.25 感染复数、接种后 24h 更换为血清含量为 1%，温度调节为 33℃，从致 80% 细胞病变的时间、病毒液的病毒含量及血凝效价表明该工艺稳定可靠。

(作者简介：徐静，博士，研发中心副主任)

# 猪支原体肺炎防控技术

文 | 于作 李金海  
四川省华派生物制药有限公司

猪支原体肺炎俗称猪气喘病，由猪肺炎支原体引发的一种慢性，接触性传染病。各种年龄的猪均易感，病猪主要表现为干咳、气喘和呼吸困难。病变特征是肺小叶、尖叶、中间叶和膈叶前呈“肉样”或“胰样”实变。该病是猪呼吸道疾病的主要元凶，是造成现代养猪业经济损失的重要疾病之一。

## 一、该病的危害

猪支原体肺炎在世界范围内流行，不同猪群的发病率在 38% ~ 100%。猪支原体肺炎导致猪生长发育迟缓，育肥时间延迟 7 ~ 14 天，饲料报酬明显降低。据报道，屠宰猪 30% ~ 80% 的肺病变与肺炎支原体感染有关。此外，该病常混合或继发感染其它细菌或病毒，当猪肺炎支原体与猪繁殖与呼吸综合征病毒、猪圆环病毒 2 型或猪流感病毒混合感染时，就会发生常见的猪呼吸道综合征，甚至造成猪只大批死亡，对养猪生产造成巨大危害。该病每年给我

## 二、流行特点

1. 不同品种、年龄、性别的猪均能感染。其中以乳猪和断奶猪最易发病，其次是妊娠后期和哺乳母猪，成年猪多呈隐形感染。一般发病率高、死亡率低。

2. 病猪和带菌猪是本病的主要传染源。病原通过病猪咳嗽、喘气和喷嚏时，随其分泌物排出体外，形成飞沫，经呼吸道感染。患病母猪通过哺乳的直接接触，也容易传给哺乳仔猪。

3. 本病一年四季均可发生，但在寒冷、多雨潮湿或气温骤变时较为多见。饲养管理和卫生条件是影响本病发病

率和死亡率的重要因素，尤以饲料质量差、猪舍潮湿和拥挤、通风不良等影响较大。如继发其它病原会引起临床症状加剧和死亡率升高。

## 三、致病机理

猪肺炎支原体主要感染呼吸道，破坏支气管纤毛系统和上皮细胞。猪的呼吸系统有三道防线：第一道鼻腔粘膜和鼻甲骨，第二道呼吸道粘膜纤毛系统，第三道肺泡巨噬细胞。第二道防线的作用尤为重要，其主要构成是气管、支气管内壁的纤毛系统。纤毛的功能是分泌粘液及随着呼吸节律来回摆动，粘液可粘附空气中灰尘，杀菌，同时湿润空气，所粘附的异物在纤毛的摆动下向喉头部位移动，从而把一些小异物排出体外。猪肺炎支原体会破坏支气管纤毛系统，会抑制纤毛摆动，造成纤毛萎缩甚至脱落，丧失甩动粘液的功能，或纤毛脱落无粘液分泌，使呼吸系统第二道防线崩溃，很多病原便可在

## 四、临床症状和病理变化

潜伏期一般 11 ~ 16 天。主要临床症状为咳嗽和气喘。根据病程可分为急性、慢性和隐性 3 个类型，而以慢性和隐性最多。

急性常见于新发病猪群，以仔猪、生长猪多发，病猪剧烈喘气，腹式呼吸或呈犬坐姿势，常发生痉挛性阵咳；体温一般正常，有继发感染则体温升高，食欲减少或废绝，日渐消瘦，病程约 1 周，病猪常因窒息而死，病死率较高。



慢性型常见于老疫区的架子猪、育肥猪和后备母猪。主要症状为慢性干咳，运动后或进食后最明显。体温一般不高，病程 2 ~ 3 个月，甚至半年以上。若猪抵抗力差，常继发感染。隐性型常见于老疫区的猪只。不表现明显症状，或偶见个别猪咳嗽，时好时坏。

主要病变只见于肺、肺门淋巴结和纵膈淋巴结。肺脏膨大，心叶、尖叶、中间叶及膈叶的前下缘呈淡红色或灰红色肺炎变化，像鲜嫩的肌肉一样，俗称“肉变”。随着病程的发展和加重，病变部位颜色变深，呈紫红色或灰白色带泡沫的浆性或粘性液体，半透明的程度减轻，坚韧度增加，俗称“虾肉样变”。肺门淋巴结和纵膈淋巴结显著肿大，切面隆起，湿润多汁，呈黄白色，有时边缘轻度充血。继发感染时，引起肺和胸膜的纤维索性、化脓性和坏死性病变等。

## 五、防控措施

1. 控制猪支原体肺炎必须采取综合防治措施。建立健康猪群，坚持“自繁自养”，必须引种时应加强检疫隔离，证明健康后方可并入猪群。降低猪群饲养密度，做好猪舍通风换气，加强环境卫生与消毒。尽量做到全进全出。

2. 免疫预防。疫苗免疫能显著降低猪支原体肺炎的发生率，对呼吸道综合征的预防与控制起关键性和决定性的作用，可有效提高猪群的生长速度，降低饲料消耗，具有重要的经济意义。目前，在国内市场上出售的猪肺炎支原体疫苗有弱毒疫苗和灭活疫苗。弱毒疫苗一般采用胸腔注射，不易推广，且免疫效果常受抗生素的干扰。灭活疫苗可通过肌肉注射，使用方便，且免疫时不受抗菌药物的影响，可用于哺乳仔猪和怀孕母猪。

3. 药物控制。药物治疗关键是早期用药。常用的抗生素有泰妙菌素、泰乐菌素、林可霉素、强力霉素、硫酸卡那霉素、土霉素等。抗生素只能抑制支原体生长，无法完全清除；一旦停药容易复发。只能解决暂时性问题，不能持续控制支原体及其继发感染的问题。支原体的耐药性问

题也越来越突出。

## 六、“支肺通”——中国自主研发的高品质猪支原体肺炎灭活疫苗

四川省华派生物制药有限公司研制的猪支原体肺炎灭活疫苗商品名“支肺通”，该产品研发的首席专家为中国兽医药品监察所丁庆猷老先生，华派公司也组建了强大的研发团队，攻克了支原体体外高滴度培养、抗原纯化浓缩、灭活等技术难题，选用进口水质佐剂，可诱导机体产生更好的体液免疫和细胞免疫。

“支肺通”有 8 大特点：1. 国内自主研发的第一批猪支原体肺炎灭活疫苗，采用肌肉注射，操作方便；2. 疫苗菌株为 J 株，免疫原性好，攻毒保护能力强，该菌株已在全球广泛应用；3. 培养基独特，抗原含量远高于国家标准；4. 生产工艺先进，采用生物反应器大规模培养，抗原滴度稳定，成品批间差异小；5. 采用独特的抗原纯化浓缩处理，免疫副反应小；6. 独特佐剂，专利配方，增强免疫原性，诱导高水平体液和细胞免疫；7. 免疫效果好，显著改善生产成绩；8. 自主研发配套检测 ELISA 试剂盒，方便免疫效果评估。

“支肺通”用于仔猪和种猪的免疫。仔猪 7 ~ 14 日龄肌肉注射 1 头份，2 周后二免；经产母猪 1 年 2 次；后备母猪配种前免疫 1 次，间隔 2 周加强免疫 1 次；种公猪普免，1 年 2 次。许多规模场的临床应用试验结果表明，免疫“支肺通”，可对猪群提供有效保护，显著减少呼吸道疾病的发生，显著提高日增重，育肥猪可提前 14 天左右出栏，免疫组比非免疫组平均每头增加利润 60 元。

（作者简介：于作，博士，研发中心从事动物疫苗研发工作）

# 关于猪支原体肺炎灭活疫苗的纯化效果研究

文 | 张洪 潘华柱 汤磊 黄骄 莫娇

**摘要** 为进一步研究浓缩纯化后的猪支原体肺炎灭活疫苗的效果,本研究使用一组不同孔径的滤器,将猪肺炎支原体菌液(J株,滴度 $10^9$ CCU/ml)过滤除去杂蛋白、超滤浓缩、灭活处理得到纯化浓缩的猪肺炎支原体灭活菌液,对其进行杂蛋白去除率检验、内毒素检验、无菌检验、抗原含量测定、灭活检验;并将检验合格的纯化浓缩及未纯化浓缩的猪肺炎支原体灭活菌液分别添加佐剂,乳化制成灭活疫苗,将两种疫苗进行免疫对比。结果表明:经6倍纯化浓缩的猪支原体肺炎灭活疫苗杂蛋白去除率在60%以上,抗原含量增加4倍,内毒素含量降低3倍;并且将纯化浓缩后疫苗样品免疫猪只后,支原体特异性抗体增长幅度比未纯化的疫苗显著,免疫过程中接种猪的副反应明显减小,该研究为兽用疫苗的浓缩纯化提供一定的参考。

**关键词** 猪肺炎支原体;疫苗;纯化;免疫效果

猪支原体肺炎亦称猪喘气病、猪地方流行性肺炎、霉形体肺炎,是一种高发病率、低死亡率的慢性、接触性传染病。猪肺炎支原体同猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)、猪圆环病毒2型(PCV2)或猪流感病毒(SIV)等混合感染时,常会导致猪呼吸道疾病综合征(PRDC),给养猪业造成严重的经济损失。目前控制猪支原体肺炎的主要方法是免疫预防,未经纯化的猪支原体肺炎疫苗抗原中含有大量的制苗材料类蛋白质、动物血清杂蛋白及内毒素等。疫苗中各种杂蛋白在免疫接种时容易引发动物的不良反应,同时也严重干扰疫苗抗原的免疫应答,大大减少抗体的产生率。浓缩纯化技术在兽用疫苗中的应用必然会成为疫苗发展的趋势,生产安全、高效的疫苗是华派的宗旨。本实验通过膜浓缩纯化前后猪肺炎支原体菌液的对比,显示膜浓缩纯化技术能够有效调控产品的效价,提升疫苗的品质,提高疫苗的免疫效果,降低疫苗的副反应,本实验可以为猪肺炎支原体灭活疫苗上市打下基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 菌液、主要试剂及设备 猪肺炎支原体菌液,

J株,50000 mL,效价 $10^9$ CCU/ml,菌液、疫苗样品、培养基、ELISA试剂盒由四川省华派生物制药有限公司提供;鲎试剂购自湛江安度斯生物有限公司;300K膜包的PELLICON II超滤器,3.0  $\mu$ m、0.45  $\mu$ m滤芯滤器为赛多利斯公司产品。

**1.2 实验动物** 猪肺炎支原体抗原与抗体均为阴性的14~21日龄健康断奶仔猪20头,PCV2、CSFV、PRRSV、PRV、PPV等病原检测均为阴性,试验前在四川省华派生物制药有限公司实验动物房隔离饲养1周,保证实验猪健康状况良好。

**1.3 实验设计** 将一定体积的猪肺炎支原体菌液依次通过装有3.0  $\mu$ m、0.45  $\mu$ m滤芯的滤器,主要用于除去菌液中的杂蛋白,然后用装有100K膜包的PELLICON II超滤器浓缩6倍并进行洗滤,测定滴度后灭活,将浓缩纯化与未经处理的猪肺炎支原体灭活菌液添加适宜佐剂乳化制成疫苗,记做样品1和样品2,检验合格后备用。取部分菌液稀释至 $10^8$ CCU/ml,灭活后分装(2 mL/瓶)保存于2~8℃冷库,为样品3。

将20头仔猪随即分为4组(表1),分别免疫样品1、



2、3，每头仔猪肌注 1 mL；组 4 为对照组，每头实验猪肌肉注射无菌生理盐水 1 mL。免疫后逐日观察 7 天，测直肠体温，分别于免疫后 1 d、3 d、5 d、7 d、10 d、14 d、21 d、28 d 采血，用 ELISA 方法检测猪肺炎支原体特异性抗体。

表 1 试验设计  
Table 1 Experimental design

分组	处理方式	免疫途径及剂量
灭活疫苗（J 株）样品 1	纯化浓缩处理后灭活菌液 + 佐剂	肌注 1mL
灭活疫苗（J 株）样品 2	未处理灭活菌液 + 佐剂	肌注 1mL
灭活菌液（J 株）样品 3	未处理灭活菌液	肌注 1mL
对照	无菌生理盐水	肌注 1mL

**1.4 无菌检验、内毒素检测与杂蛋白去除率的测定** 分别用硫乙醇酸盐培养基 (TG)、酪胺琼脂培养基 (GA)、葡萄糖蛋白胨培养基 (GP) 按照中国兽药典一部进行无菌检验；采用细菌内毒素检测标准试剂定性检测菌液中内毒素的含量范围；将浓缩纯化的猪肺炎支原体灭活菌液用紫外分光光度计检测杂蛋白去除率。

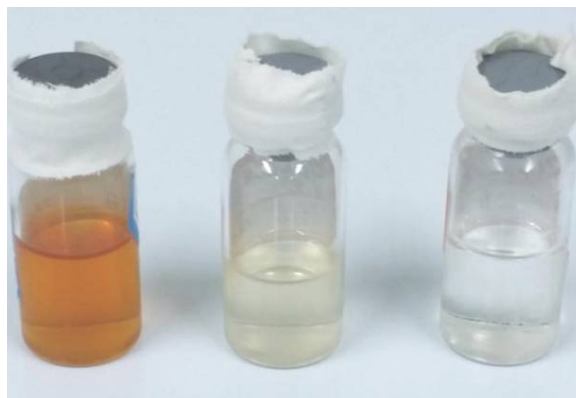
**1.5 活菌滴度的测定** 采用 CCU 法，将菌体悬液用培养基做 10 倍系列稀释，在 37℃ 条件下振荡培养，观察 15 日，以确定活菌滴度。

**1.6 血样采集** 分别于免疫后 1 d、3 d、5 d、7 d、10 d、14 d、21 d、28 d 采血，分离血清，检测抗体效价。

**1.7 猪肺炎支原体特异性抗体的检测** 按 ELISA 试剂盒说明检测猪肺炎支原体特异性抗体。当  $OD_{450nm} \geq 0.3$  时为阳性， $OD_{450nm} < 0.28$  时为阴性。

## 2 结果

**2.1 无菌检验、内毒素与杂蛋白去除率的检测** 将猪肺炎支原体菌液经过连续预过滤、超滤浓缩，杂蛋白去除率高达 60% 以上，内毒素比未处理的灭活菌液降低 3 倍以上（表 2），纯化效果明显（图 1），无菌检验和灭活检验合格。



Non-concentrated      Concentrated      Filtrate  
图 1 菌液纯化效果  
Figure 1 Purification effect

表 2 灭活菌液内毒素、杂蛋白去除率检测结果  
Table 2 Detection of endotoxin and impurity protein removal rate

组别	内毒素范围 (EU/mL)	杂蛋白去除率 (%)
未处理	>10	—
处理	<2.5	60.15%

**2.2 活菌滴度的测定** 纯化浓缩 6 倍的猪肺炎支原体菌液滴度为未浓缩纯化菌液的 4 倍，未能达到理论值  $6 \times 10^9$  CCU/mL。

表 3 活菌滴度检测结果  
Table 3 Detection results of vialbe content

组别	活菌滴度 (CCU/mL)
未处理	$10^9$
处理	$4 \times 10^9$

**2.3 抗体增长的变化** 免疫接种后第 10d，抗体水平增长明显，第 21 d 除对照组外其余 3 组的  $OD_{450nm}$  均  $>0.3$ 。组 1 出现抗体阳性的时间比组 2、组 3 提前了 4 d ~ 5 d，并且增长速度明显大于组 2、组 3（图 2），表明经过浓缩纯化的疫苗免疫效果显著提高，可能与抗原含量多有直接关系。

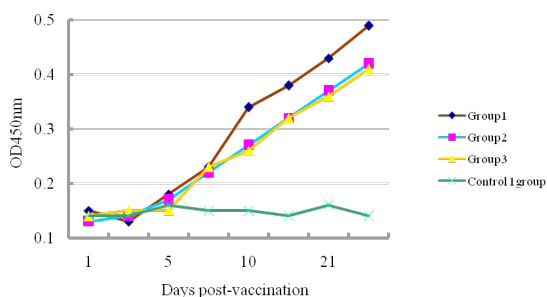


图2 ELISA方法检测猪肺炎支原体特异性抗体水平  
Fig.1 Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* specific antibody levels by ELISA

**2.4 临床症状** 在整个测温周期中组 1 与对照组实验猪的体温比较平稳,没有异常波动,饮食与精神状态均良好;而组 2、组 3 实验猪的平均体温在免疫后 1 d ~ 3d 有明显的波动,产生了一过性热反应,然后很快趋于正常并且保持平稳,在此期间猪的食欲有所下降,个别精神有一定程度的低迷。组 2、组 3 实验猪的体温变化与在免疫灭活疫苗的过程中相似(图 3)。组 2、组 3 免疫的样品均未经浓缩纯化处理,而经过浓缩纯化的样品免疫就可以避免产生类似现象。这可能与样品中的杂蛋白以及内毒素含量多少有关。

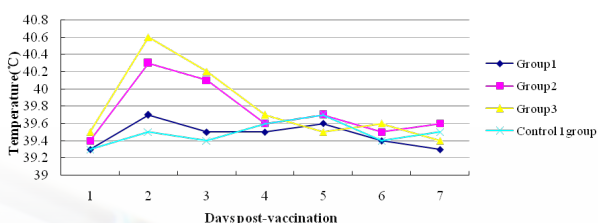


图3 免疫后各组实验猪平均体温变化表  
Fig.3 Average body temperature curve of pigs after vaccination

### 3 讨论

本实验通过两种疫苗样品免疫效果的比对,表明浓缩纯化的疫苗能够更快地促使猪只产生抗体,并且免疫后的副反应明显降低;虽然纯化浓缩后的菌液滴度有所提高,但实验猪没有明显的副反应,表明浓缩纯化的疫苗安全有效。

在菌液的纯化、浓缩过程中,菌液的滴度并没有按照理论滴度递增,表明在浓缩纯化的过程中支原体可能有部分损失。试验中支原体的损失可能与实验器材中支原体菌液残留有关。抗原经过浓缩纯化可以有效去除杂蛋白。根据抗原的滴度选择合适的浓缩倍数,可以有效地调控抗原含量,减少批次间的差异。

本研究表明兽用疫苗采用膜浓缩纯化比较合理,能够较好的控制疫苗的质量,同时本研究可以为兽用疫苗的浓缩纯化提供一定的参考。

参考文献略。

(作者简介:张洪,硕士,灭活疫苗车间副主任)





# 副猪嗜血杆菌的分离鉴定

文 | 谭晓婷

四川省华派生物制药有限公司

**摘要** 从 1 例疑似副猪嗜血杆菌病患猪的肺脏中分离到 1 株革兰氏阴性细小杆菌，经生化试验和 PCR 鉴定，确定分离到 1 株副猪嗜血杆菌；对其进行血清型分型并进行药敏试验，经琼脂扩散试验表明分离株为血清型 5 型；药敏试验结果表明：分离株对氟苯尼考、诺氟沙星、菌必治、强力霉素、利福平、环丙沙星、四环素、阿奇霉素敏感，对复方新诺明、洁霉素、青霉素、氨苄西林、庆大霉素、丁胺卡那、阿莫西林耐药。

**关键词** 副猪嗜血杆菌；分离鉴定；药敏试验

副猪嗜血杆菌病是由副猪嗜血杆菌 (*Haemophilus parasuis*, HPS) 在一定条件下引起的猪多发性浆膜炎、胸膜炎、多发性关节炎和脑膜炎的疾病。HPS 是存在于猪上呼吸道系统的一种常在菌，体质状况良好的猪的鼻腔内也可以通过采集鼻拭子，通过鼻拭子分离到此菌，但是却不引起宿主产生任何的临床症状。可以影响 2 周到 4 月龄的青年猪，主要在断奶后和保育阶段发病，通常见于 5-8 周龄的猪，发病率一般约 10%-15%，严重时死亡率可达 50%。目前，我国副猪嗜血杆菌的发病率逐年递增，显现出一定的地区流行性。天气骤冷、长途运输以及猪群拥挤都会引起副猪嗜血杆菌病的急性暴发。并群也是该病发生的重要原因，如在不同畜群中混养，或在猪群中引入新种猪。一些饲养方式如对小猪实行早期断奶等，使得副猪嗜血杆菌强毒在猪体内早期定居和猪群中的传播，改变了猪群中副猪嗜血杆菌的流行病学特征。HPS 血清型复杂，目前已知 15 个血清型，但全国各地流行的血清型不尽相同，且各型之间缺乏交叉保护，因此分离 HPS 地方菌株，了解其流行血清型和耐药性，对预防和控制 HPS 有着重大的临床意义。

## 1. 材料与方法

### 1.1 病料

疑似患病猪临床症状出现呼吸困难、关节肿大、消瘦、跛行等症状。剖杀后采集的病料主要是肺脏、关节积液、心包积液、

胸腔积液、腹腔积液。

## 1.2 主要试剂

胰蛋白大豆琼脂 (Tryptic soy agar, TSA) 培养基、胰蛋白大豆肉汤 (Tryptic soy broth, TSB) 培养基购自碧迪医疗器械 (上海) 有限公司;

革兰氏染液、微量生化鉴定管、药敏纸片购自杭州微生物试剂有限公司;

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD) 购自中国医药集团上海化学试剂公司;

犊牛血清购自杭州四季青生物有限公司;

2×Taq masterMix 购自天根生化科技 (北京) 有限公司。

## 1.3 细菌的分离纯化

用酒精棉球灼烧肺脏表面消毒后, 剪取肺脏深层组织接种 TSA 固体培养基中; 或者吸取新鲜的关节积液、心包积液、胸腹腔积液进行接种 TSA 固体培养基。接种划线后, 置于 37℃ 隔水式恒温培养箱中培养 36–48h; 挑取疑是菌落划线接种到 TSA 固体培养基进行纯化和扩大培养。

## 1.4 细菌的染色镜检

挑取上述纯培养菌落涂片, 进行革兰氏染色镜检, 观察细菌形态特征。

## 1.5 生化鉴定

在无菌操作台上, 用接种环分别挑取上述可疑菌的单菌落, 水平划线于无 NAD 绵羊鲜血平皿上, 再挑取金黄色葡萄球菌垂直于水平线划线, 37℃ 培养 24–48h, 看是否有“卫星生长现象”, 同时观察是否具有溶血现象。取具有“卫星生长现象”且不溶血的单菌落纯培养后接种于氧化酶试纸、接触酶试纸、吲哚试纸、硝酸盐还原、葡萄糖、蔗糖、果糖、甘露醇、蜜三糖、乳糖、尿素和吲哚等微型生化鉴定管, 观察实验结果。

## 1.6 PCR 鉴定

将疑似菌落进行 PCR 鉴定, 鉴定体系及程序如下:

根据 Oliveira 等<sup>[1]</sup>的研究合成引物, 该引物由英潍捷基 (上海) 贸易公司合成。目的条带大小为 821bp:

上游引物: 5′-GTGATGAGGAAGGGTGGTGT-3′

下游引物: 5′-GGCTTCGTCACCCTCTGT-3′

反应总体积为 18 μl: 上游引物 1 μl, 下游引物 1 μl, DNA 模板 2 μl, 2×Taq PCR Master Mix 9 μl, ddH<sub>2</sub>O 5 μl, 总体积 18 μl;

反应程序: 95℃ 预变性 5min; 95℃ 30s、55℃ 30s、72℃ 45s, 30 个循环; 72℃ 延伸 10min。

取 6 μl PCR 产物与加到浓度为 1% 的琼脂糖凝胶的点样孔中, 80V 电泳 30min 后置于凝胶成像系统内观察条带。

## 1.7 分离株血清学分型

### 1.7.1 分型抗原的制备

将待定型副猪嗜血杆菌接种于 TSA 固体培养基, 在 TSA 固体培养基连续复壮两次后, 再挑单接种到 TSA 上进行扩大培养, 用 pH7.4 的 PBS 把细菌洗脱下来, 10000r/min 离心 2min, 弃上清, 估计细菌沉淀的体积, 并用 pH7.4 的 PBS 重悬细菌 (细菌与 PBS 比例为 1: 9), 将细菌重悬液移入干净灭菌的试管内, 121℃ 处理 2 个小时, 处理后 10000r/min 离心 10min, 取上清, 即为热稳定抗原。

### 1.7.2 琼脂扩散试验确定血清型

取 pH7.4 的 PBS 30ml, 加入 0.3g 琼脂糖, 在微波炉中加热使其溶化, 倒入平板内后放入 4℃ 冰箱使其凝固, 即为 1% 琼脂平板; 凝固后用打孔器进行打孔, 用酒精灯加热封底; 琼脂平板中央空加入热稳定抗原, 周围空加入分型阳性血清, 每孔以加满为宜; 加样后, 放入湿盒内于 37℃ 恒温箱中孵育 24 小时后, 观察结果; 以抗原与抗体孔之间出现清晰的白色沉淀线为阳性, 反之为阴性。

## 1.8 药敏试验

药敏试验根据 NCCLS (美国临床标准委员会) 推荐的 K-B 琼脂法进行。

本实验所选药物分为 10 大类, 共计 20 种。所选药物



包括：青霉素、阿莫西林、菌必治、恩诺沙星、先锋霉素 V、氯霉素、四环素、红霉素、利福平、林可霉素、庆大霉素、丁胺卡那霉素、强力霉素、四环素、氟苯尼考、环丙沙星、诺氟沙星、复方新诺明、阿奇霉素、头孢噻肟。药敏实验结果按照 NCCLS 2013 版进行判定。

## 2 结果

### 2.1 临床症状及剖检情况

病猪的主要临床症状表现为消瘦、呼吸困难，被毛粗乱无光泽，关节肿大，四肢无力或跛行，精神萎靡不振，皮肤苍白或发红，食欲下降，生长缓慢，发育不良。剖检可见心包积液、并开始出现副猪典型的“绒毛心”症状，腹股沟淋巴结肿胀。关节肿大，关节腔内有大量渗出液，并有胶冻样物质。



图 1 心包炎



图 2 关节炎

### 2.2 菌落形态

分离的细菌在 TSA 培养基（加入无菌 NAD 和小牛血清）上 37℃ 培养 24-48 小时，可形成灰白色半透明、边缘整齐光滑、直径大小约为 0.5mm 菌落。

### 2.3 革兰氏染色结果

取上述菌落进行革兰氏染色并镜检，可见细菌为革兰阴性细小杆菌，呈多形性，以纤细杆状者居多，也见短杆状或长丝状，如图 3。



图 3 HPS 革兰氏染色镜检 (10 × 100)

### 2.4 生化实验结果

将疑似菌株接种在没有添加 NAD 并用金黄色葡萄球菌划线的固体培养基上，可以观察到“卫星现象”，将疑似菌落接种于含有 NAD 的鲜血平板，没有出现溶血现象。

将疑似菌株接种于生化鉴定管，37℃ 培养 48h 后，结果为氧化酶试验阴性，吲哚试验阴性，接触酶试验阳性，鸟氨酸脱羧酶阳性，硝酸盐还原试验阳性，可发酵葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、果糖，不发酵乳糖、甘露醇、蜜三糖，尿素试验阳性。结果符合副猪嗜血杆菌的生化特性。

### 2.5 PCR 鉴定结果

根据 Oliveira 等的研究合成引物，引物目的条带大小为 821bp。将该菌落进行 PCR 鉴定，PCR 产物经 80V、30min 电泳后，在凝胶成像仪中观察结果。该菌落的 PCR 产物出现了与阳性对照一样大小的条带，均为 821bp，见图 4：

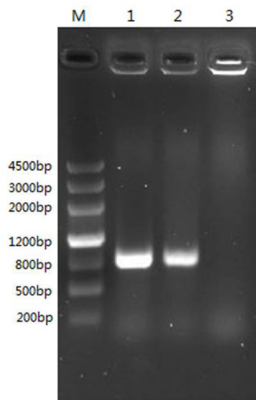


图 4 HPS 分离株的 PCR 鉴定结果  
M: Marker III; 1: 阳性对照; 2: 分离株; 3: 阴性对照

### 2.6 血清型分型结果

该菌株经纯化后制备其热稳定抗原，采用琼脂扩散试验方法进行血清学分型，确定为血清型 5 型，琼扩试验沉淀线如下（图 5）：

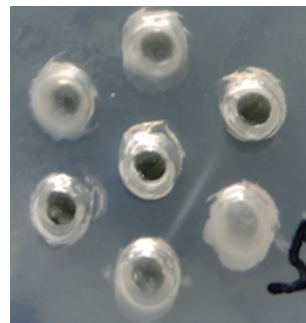


图 5 琼扩试验沉淀线

## 2.7 药敏试验结果

进行药敏试验,结果表明分离的副猪嗜血杆菌对氟苯尼考、诺氟沙星、菌必治、强力霉素、利福平、环丙沙星、四环素、阿奇霉素敏感,对复方新诺明、洁霉素、青霉素、氨苄西林、庆大霉素、丁胺卡那、阿莫西林耐药。

表 1 副猪嗜血杆菌药敏结果

药物名称	敏感性	药物名称	敏感性	药物名称	敏感性
氨苄西林	R	洁霉素	R	红霉素	I
庆大霉素	R	丁胺卡那	R	复方新诺明	R
强力霉素	S	菌必治	S	氟苯尼考	S
恩诺沙星	I	青霉素	R	四环素	S
利福平	S	环丙沙星	S	诺氟沙星	S
阿莫西林	R	头孢噻肟	I	阿奇霉素	S
先锋霉素 V	I				

注:“S”表示细菌对药物敏感;“I”表示细菌对药物中度敏感;“R”表示耐药。

## 3 讨论

副猪嗜血杆菌在病猪发病后及时采用抗生素进行治疗可显著降低其死亡率。因此开展病原菌的分离鉴定,进行药敏实验,筛选出敏感药物,对临床控制和治疗该病能起到重要的作用。如果猪场出现副猪嗜血杆菌病,应根据副猪嗜血杆菌本身的特性以及本场的用药史加以综合考虑,选取适合的药物对患病猪只进行治疗。另外,除了对患病猪只进行药物治疗以外,还应对全群进行抗生素饲喂,以预防该病的大规模爆发,造成经济损失。

目前,很多科研人员已经研制出针对副猪嗜血杆菌病的疫苗,这是目前防治该病的另一种有效途径。大量报道表明,通过接种疫苗,可以避免该病的大规模爆发。但是目前市面上所售的商品化疫苗,通常只能针对少数的流行性血清型,不能有效避免猪群遭受其他血清型的感染。另外,由于各个饲养场流行的血清型不同,并且该菌有一部分血清型不能分型,因此商业化疫苗也不能很好的满足每个饲养场的需求。

实际生产中,对于该病预防是关键,一方面要加强对

猪场的卫生管理,做好猪场的环境卫生消毒工作;另一方面,要加强对猪只的饲养管理,并尽量减少各种对猪只的应激因素;最后,做好多种疾病的联合防控工作,在副猪嗜血杆菌爆发的猪场,分离鉴定副猪嗜血杆菌,了解本场副猪嗜血杆菌的血清型,选择符合本场血清型的疫苗对猪群进行免疫,能在很大程度上控制本病的暴发。

(作者简介:谭晓婷,硕士,研发中心细菌疫苗组成员)





# 四川省华派生物制药有限公司

## 招聘启事

四川省华派生物制药有限公司，直属于四川省精华企业集团，是一家集兽用生物制品研发、生产、销售和技术服务于一体的高新技术企业。公司先后投资 3.6 亿元，在四川省简阳经济开发区食品医药产业园建成了具有国内领先水平的 16 条生产线（含 2 条细胞悬浮培养生产线和 1 条核酸疫苗专用生产线）。公司占地面积 130 亩，建有质检研发中心、行政办公中心、动物疫病监测诊断中心、实验动物中心等配套设施，四川省发展和改革委员会 2015 年批复的“兽用核酸及亚单位疫苗工程实验室”项目也正在建设之中。公司已成为国内猪、鸡、鸭、兔、牛羊五大类畜禽疫苗主要生产供应商，疫苗产品达 30 余种，年生产能力达 200 亿头（羽）份。

公司以“打造中国动物疫苗第一品牌”为发展目标，先后与中国农业大学、浙江大学、哈尔滨兽医研究所、兰州兽医研究所等知名高等院校、科研院所进行深度的战略合作。华派生物坚持自主研发与联合研发相结合，努力开创我国高品质动物疫苗研发、生产之路。

公司坚持质量取信客户，确保疫苗品质稳定，批间差异更小；公司外源病毒污染控制独树一帜，郑重承诺所有活疫苗产品绝无支原体 and 等外源病毒污染。公司坚持“集先进生物科技，铸百年疫苗品质”的发展战略，力求为客户创造价值，实现共创共享共赢的终极目标。

公司现有员工 260 余人，其中博士 5 人，硕士 30 余人。因公司发展需要，现面向社会公开招聘以下人员：  
具体见附件。

应聘人员请于 10 月 20 日前，将个人简历（要求附上具体身高）发送至我公司邮箱：1831465311@qq.com

联系人及电话：林 琳 13981928168

李 艳 15983242184 028-27282488





附件：

支原体生产线人员招聘计划

岗位	人数	要求	职责说明
粗洗	1 人	本地中年人，大专及以上学历，男士优先，不怕脏，不怕累，勤劳务实肯干，动作麻利，心细，高中学历。	负责生产中所有物品的洗涤、污物的处理。
精洗	1 人	本地中青年，本科及以上学历，勤劳务实肯干，动作麻利，心细，用心。	负责生产物品的进一步洗涤、包扎、分类拣灭菌物品等。
配液	1 人	本地青年，本科及以上学历，化学、生物工程及行业相关专业，心细务实，踏实肯干。	负责所有溶液的配制，要能熟练操作配液罐。
灭菌	1 人	本地中青年，本科及以上学历，机电、设备相关专业，用心、务实、肯干。	负责整条生产线的洁净物品、污物的灭菌。
培养基制备	2 人	本地中青年，本科及以上学历，心细、务实，用心、肯干，动作麻利，不怕脏和累。	负责牛心汤等培养基的制备，要能熟练操作罐体设备。
发酵及灭活	5 人	本地青年优先，本科及以上学历，硕士优先考虑，有细胞培养经历、无菌操作经验、生物反应器操作经验优先，微生物、生物工程、罐体设备及相关专业，大专以上学历，能吃苦耐劳、踏实肯干、用心上进、积极乐观，男身高 1.72 米以上，女 1.6 米以上，男 4 女 1。	负责种子制备，菌液发酵工艺优化及扩大，菌液灭活工艺优化，种子及菌液的质量检验和把控，培养基的配方优化工艺，生物反应器的操作及维护保养。能值夜班。
纯化及灭活	2 人	本地青年优先，本科及以上学历，硕士优先考虑，有纯化设备操作经验、无菌操作经验、生物反应器操作经验优先，微生物、生物工程、罐体设备及相关专业，大专以上学历，能吃苦耐劳、踏实肯干、用心上进、积极乐观，男身高 1.72 米以上，女 1.6 米以上，男 2。	负责 PBS 溶液配制罐的操作、纯化设备的操作，纯化工艺优化，质量检测。能值夜班。
配苗	3 人	本地中青年，本科及以上学历，硕士优先考虑，有无菌操作经验、乳化罐体设备操作经验、分装设备操作经验优先，大专以上学历，能吃苦耐劳，踏实肯干，用心上进，男身高 1.72 米以上，女 1.6 米以上，男 2 女 1。	负责转苗、配苗，水相罐、油相罐、乳化罐的操作，分装设备的操作与维护，乳化工艺优化。

注：所有岗位人员须五官端正，身体健康，无传染病。公司可提供免费食宿。







## 时间分辨荧光免疫分析技术 及其在兽医学中的应用

王泽洲<sup>1</sup> 吴俊清<sup>2</sup> 张永宁<sup>1</sup> 章健<sup>2</sup> 吴宣<sup>1</sup> 吴冠英<sup>2</sup> 殷贵如<sup>1</sup> 徐静<sup>3</sup> 李金海<sup>3</sup>

(1. 四川省动物疫病预防控制中心, 成都, 610041; 2. 成都微瑞生物科技有限公司, 成都, 610041; 3. 四川省华派生物制药有限公司)

时间分辨荧光免疫分析 (time-resolved fluoroimmunoassay, TRFIA) 是利用免疫反应的高度特异性和采用具有独特荧光特性的镧系元素作抗原 (或抗体) 示踪标记物, 并与高灵敏度的时间分辨荧光测定技术相结合, 建立起来的一种新型非放射性微量分析技术。它克服了放射免疫 (RIA) 有效期短和对环境和人体有放射性危害、酶联免疫分析法 (FIA) 的不稳定性、化学发光免疫分析 (CLIA), 易受环境干扰以及电化学发光免疫分析 (ECLIA) 价格过高等缺点, 具有特异性强、灵敏度高, 标记物制备方便、储存时间长, 无放射性污染, 检测重复性好, 操作流程短, 标准曲线范围宽, 不受样品自然荧光干扰, 应用范围广泛等优点<sup>[1-3]</sup>。该方法是超微量检测领域中一项新兴的检测技术, 已广泛应用于生命科学、医学、生物学、化学等各领域, 本文就 TRFIA 相关理论及其在兽医学中的应用作简要介绍。

## 1. TRFIA 的原理和优势

### 1.1 TRFIA 的反应原理

TRFIA 是 20 世纪 70 年代末 Wallac 公司 Soini 和 Kojola 创立的一种非放射性标记免疫分析技术，它是利用镧系元素，如铕 (Eu)、铽 (Tb)、钐 (Sm) 和镝 (Dy) 的三价稀土离子及其螯合物作为示踪物，代替荧光物质、酶、同位素、化学发光物质，标记抗体、抗原、激素、多肽、蛋白质、核酸探针及生物细胞等，在一定的反应体系（目前常用的有抗原抗体反应，生物素亲和素反应、核酸探针杂交反应、靶细胞与效应细胞的杀伤反应等）发生反应后，用时间分辨荧光免疫分析检测仪测定反应产物中的特异荧光强度。与相对应的标准荧光曲线比对，判断反应体系中分析物的浓度，从而达到对待测物进行定量分析的目的<sup>[4,5]</sup>。目前常用的反应模式有双位点夹心法和竞争法<sup>[6]</sup>。生物素亲和素系统 (BAS) 的引入，更丰富了 TRFIA 的反应模式，主要包括双位点多层夹心法（适于蛋白质类大分子化合物检测），固相抗原竞争法（适合半抗原的检测）、固相抗体竞争法，固相第二抗体竞争法等检测方法。

### 1.2 TRFIA 的优势

TRFIA 能够继放免、酶标、化学发光，电化学发光之后成为一种更新、更灵敏的检测方法，主要取决于镧系元素及其螯合物作为标记物的独一无二的理化特性，其优势有以下几点：

一是镧系元素离子螯合物荧光寿命长，其衰变时间为传统荧光的  $10^3 \sim 10^6$  倍（表 1）<sup>(7)</sup>。由于镧系元素螯合物荧光为 60 ~ 900us，而样本中蛋白质荧光为 1 ~ 10ns，普通荧光免疫中荧光团为 1 ~ 100ns。在用时间分辨荧光仪测量荧光时，可以适当的延迟一段时间，待其它物质的荧光衰变后再测量，所测的便是镧系离子螯合物标记物的特异性荧光，即通过 TRFIA 技术，最大限度地克服来自样品、试剂的自然本底寿命荧光及散射光的干扰，极大地提高检测的灵敏。

表 1 一些常见荧光团的寿命

Tab.1. Lifetime of some Fluorescent Materials

荧光团 Fluorescent Materials	荧光寿命 (ns) Lifetime
非特异荧光背景 No-particular fluorescence back ground	1 ~ 10
人血清白蛋白 Haman serum albumin	4.1
球蛋白 Globin	3.0
细胞色素 C Cytochrome C	3.5
异硫氰酸荧光素 (FITC) FITC	4.5
丹磺酰氯 Dansylchloride	14
镧系螯合物 Lanthanide chelate	$10^3 \sim 10^6$

二是激发光和发射光的 Stokes 位移大，如铕 (Eu)：发射光为 613nm，激发光为 340nm，其 stokes 位福为 273nm（表 2），而普通荧光物质的 stokes 位移最多也只有几十 nm，这表明在某一波长测定样品荧光时可以通过滤波片或分光计消除激发光和散射光的干扰<sup>[8]</sup>。

三是镧系元素离子螯合物的荧光特异性强，其激发光谱带宽 (300 ~ 500nm)，而发射光谱带窄 ( $615 \pm 5\text{nm}$ )，可使仪器调整在极窄的波长范围内测定荧光信号，从而极大地降低了来自背景光的各种干扰<sup>[9]</sup>。

表 2 镧系离子激发光、发射光和 stokes 位福

Tab2 The Excitation and Emission Spectra and stokes shift

镧系离子 螯合物 (a) Lanthanide chelate	药激发光 波长 (nm) Exctation band	药发射光 波长 (nm) Emission band	Stokes 位移 (nm) Stokes shife
Eu-( $\beta$ -NTA) <sub>3</sub>	340	613	273
Sm-( $\beta$ -NTA) <sub>3</sub>	340	600	260
Tb-(PTA) <sub>3</sub>	295	490/543	195/248
Dy-(PTA) <sub>3</sub>	295	573	278

a)NTA:  $\beta$  萘酰三氟丙酮；PTA: 三甲基乙酰三氟丙酮

四是标记物体积很小（为原子标记），标记后不会影响被标记物的空间主体结构，既保证了被检测物质的稳定性，又可实现多位点标记，使一个试剂盒能够同时检测两



种或多种检测项目。标记物稳定,就可以对标记物进行多次激发,通过对每次激发的荧光信号累加后取平均值的办法可大大减少偶然误差产生,提高检测准确度。镧系离子标记物可保存 1 ~ 2 年,克服了同位素、酶标等不稳定的缺点。

五是利用镧系离子荧光寿命长的特点。采用高灵敏的时间分辨荧光分辨技术,经延时、门宽选择、排除背景荧光干扰,极大地提高信噪比,其灵敏度大大地超过了放射性同位素所能达到的极限(表 3),是目前最有发展前途的一项微量检测方法。

表 3 几种标记免疫法测量精度

Tab 3 Precision of several Label Immunoassay

分析法 Assays method	检测极限 (mol/孔) Detection limit
酶联免疫 (EMIT)	$10^{-9}$
放射免疫 (RIA)	$10^{-12}$
化学发光 (CLIA)	$10^{-15}$
电化学发光 (ECLIA)	$10^{-18}$
时间分辨荧光 (TRFIA)	$10^{-19}$

### 1.3 常用螯合剂

现常用的螯合剂有(1)多胺多羧类螯合剂,如乙二胺四乙酸(EDTA),二乙三胺四乙酸(DTTA)和二乙三胺五乙酸(DTPA),主要用于液相测定体系,又称为解离一增强镧系荧光免疫分析。(2)菲罗琳类螯合剂,如 7-二(氯磺酰基苯基)-1,10-菲罗琳-2,9-二羧酸(BCPDA),主要用于 Cyber Fluoro 体系。(3)水杨酸类螯合剂,如 DTPA-pAS-Tb(pAS-对苯基水杨酸)。(4) $\beta$ -二酮类螯合剂,如噻吩甲酰,三氟丙酮(TTA)、三甲基乙酰三氟丙酮(PTA)等。(5)联吡啶类螯合剂。

### 1.4 镧系离子标记方法<sup>[2]</sup>

(1)一步标记法,又称为直接标记法,先将稀土离子与螯合剂结合,再与抗原或抗体结合。简要步骤为取 10mg 纯化的抗体,加入相应量的 Eu-N<sup>2</sup>-[p-异硫氰酸-苄基]-二乙三胺乙酸(Eu<sup>3+</sup>-DTTA),用 NaOH 调 PH 值至 9.0,4℃反应过夜。反应液上 Sephadex

G-50,280nm 下收集蛋白峰,测出 Eu<sup>3+</sup> 浓度,计算标记率。加入 BSA 至 1mg/ml, 0 ~ 4℃保存。

(2)两步标记法,将抗体 IgG 先与螯合剂结合,再与镧系离子螯合。取 1mg 纯化好的抗体,加入 260ug 二乙三胺五乙酸(DTP)(IgG: DTPA=1: 200),用 NaOH 调 PH 值到 7.0,置高速混匀器上混匀 1 分钟,室温下继续反应 30 分钟。用 50mM 的柠檬酸(PH6.0)透析反应液,去除多余的 DTPA,取 25-30ul EuCl<sub>3</sub>(33mmol/L)加入已透析的 IgG-DTPA 中,室温反应 30 分钟。反应液上 Sephadex G-50,280nm 下收集蛋白峰,测定 Eu<sup>3+</sup> 浓度,计算标记率,0 ~ 4℃下保存。

(3)双标记及多标记 TRFIA: 根据各镧系离子的荧光寿命不同及波长差异很大的特点,可以对多种标记的镧系离子的荧光同时进行测量。多标记荧光免疫分析,是在一种统一的反应体系中有两种或两种以上的待测物与相应特异性配体进行结合反应,引入两种或两种以上相对应的镧系离子的标记物质后,通过时间分辨的荧光测量,将各种待测物的结果计算出来<sup>[10,11]</sup>。Eu<sup>3+</sup> 和 Sm<sup>3+</sup>; Tb<sup>3+</sup> 和 Eu<sup>3+</sup> 是两对常用可双标记分析的镧系离子。

## 2、TRFIA 在兽医学中的应用

TRFIA 技术在国外已被广泛应用于临床检测,双标记、三标记、四标记等多标记物不断被开发出来。国内近年逐步得到重视,已有八十多种商品化试剂在临床检验中广泛应用<sup>[8]</sup>。TRFIA 专门用于兽医上的还很少见,但用于食品安全检测及人畜共患病检测的则可通用。

### 2.1 在真菌毒素检测中的应用<sup>[12]</sup>

真菌毒素(Mycotoxins)是由产毒真菌(主要为曲霉属、青霉属及镰孢属)在适宜的环境条件下产生的具有很强毒性的二级代谢产物,它主要对食品、农作物及饲料等污染严重,当这些被污染的农产品被人和动物摄入后会产生很多疾病,被世界卫生组织(WHO)的癌症研究机构(IARC)划为 I 类致癌物或 2B 类致癌物,严重威胁着人

表 4 主要真菌毒素及 TRFIA 检测  
Tab 4 Main Mycotoxins and detection of TRFIA

主要真菌毒素 Mycotoxins	限量 Limited of Mycotoxins	TRFIA		参考文献
		灵敏度 Sensitivity	测量范围 Measuring range	
黄曲霉毒素 (AF) Aflatoxin(AFB <sub>1</sub> )	大米 / 食用油 ≤ 10 ug/kg, 其它 ≤ 5ug/kg	0.01 ug/kg	0.01 ~ 100ug/kg	[14]
赭曲霉毒素 ( ochratoxin,OTA )	谷物 ≤ 5ug/kg, 谷物制品 ≤ 3ug/kg, 干鲜 果品 ≤ 10ug/kg ( 欧盟 )	0.02ug/L	0.02 ~ 400ug/L	[15]
伏马菌素 (FB) (Fumonisin FB <sub>1</sub> )	谷物 ≤ 2mg/kg ( FDA ), 饲料 ≤ 5mg/kg( 欧盟 )	0.05ng/ml	1.0 ~ 1000ng/ml	[16]
T2 毒素 ( T-2 toxin )	GB21693-2008 ≤ 1mg/kg( ≤ 1ppm)	0.2ug/L	0.2 ~ 500ug/L	[17]
玉米赤霉烯酮 (F2) ( Zearalenone, ZEN )	GB13078.2-2006, 饲料和玉米 ≤ 500ppb	0.2ng/ml,	0.2 ~ 200ng/ml	[18]
脱氧雪腐镰刀菌烯醇 ( Deoxynivalenol,DON )	食用小麦、玉米、猪饲料: ≤ 1000ug/kg	0. 007ng/ml	0.007 ~ 100ng/ml	[19]

类和动物的生命与健康<sup>[13]</sup>。当前真菌毒素主要有：黄曲霉毒素、赭曲霉毒素，伏马菌素，T-2 毒素，展青霉素，玉米赤霉烯酮和脱氧雪腐镰刀菌烯醇等。

对真菌毒素的检测，目前常用 TLC 法，HPLC 法等，但不同程度地存在着样品前处理过程复杂，毒性大，所需时间长等缺点。由于其它荧光物质，色素，结构类似物对检测产生干扰，必须通过液—液萃取进行处理，操作烦琐，有机试剂用量大，提取效率低，环境污染严重。ELISA 灵敏快速，但属于定性或半定量的方法。TRFIA 检测真菌毒素（表 4），灵敏度高，检测范围宽，重复性、稳定性好，所需时间短，分析系统高度自动化，是一种简便、快速、经济、稳定，可进行大批量的样品检测方法。

## 2.2 在兽药残留检测中的应用

兽药残留是指食用动物在应用兽药（包括药物添加剂）后，蓄积或储存在细胞、组织或器官内，或进入泌乳动物的乳或产蛋家禽的蛋中的药物原型及其有毒理学意义的代谢物和药物杂质。动物性食品中的兽药残留问题已成为国内外学者广泛关注的热点。如果养殖者出于经济利益的驱动，无视国家有关规定，过量使用或滥用兽药，或不遵守

休药期规定，甚至使用违禁兽药等，则会严重危害人类健康，还会导致微生物耐药性、生态环境毒性等一系列的危害<sup>[20,21]</sup>。兽药残留也成为国际贸易中的非关税性贸易壁垒，引起国际社会和各国政府的高度重视，纷纷采取措施对兽药残留进行严格监控。

兽药残留分析由于具有待测物质浓度低，浓度差异大，样品基质复杂，干扰物质多，兽药残留种类及代谢产物多样等特点，要求其测定技术应具有灵敏度高，线性范围宽，特异性强，高通量等特点。目前常用方法有酶免疫分析法（EIA），荧光免疫分析法（FIA），胶体金免疫分析法（CGIA），微生物学分析法，气相色谱（GC），高压液相色谱（HPLC），色谱—质谱联用等方法。但这些方法都存在样品前处理复杂，费时费力费钱。TRFIA 是随着免疫分析和化学分析的发展而形成的一种新的检测方法，对兽药残留的检测具有灵敏度高、特异性好、检测时间短、安全、样品前处理简单方便、具有很好的应用前景。Bacigalup 等<sup>[22]</sup>用 Eu<sup>3+</sup>-BCPDA 标记单抗兔 IgG，建立了不同脂肪含量的生牛奶中氨基青霉素的 TRFIA，其灵敏度为 1ng/mL；宓晓黎等<sup>[23]</sup>建立了 TRFIA 检测环丙沙



星, 检测灵敏度 0.002ug/L, 比 ELISA 的灵敏度高了 3 个数量级。李丽华等<sup>[24]</sup>建立 TRFIA 检测环丙沙星, 检测线为 0.5ug/L, 线性范围 ( $IC_{20} \sim IC_{80}$ ) 为 1.14 ~ 28.85ug/L, 该法可满足蜂蜜和牛奶中环丙沙星的检测。王超等<sup>[25]</sup>建立了 TRFIA 检测莱克多巴胺 (RAC), 灵敏度为 0.01ng/mL, 可应用到食品检测。樊晓博等<sup>[26]</sup>建立 TRFIA 检测盐酸克伦特罗, 灵敏度为 0.02ug/L, 样品回收率为 91% ~ 101%, 具有较好的可操作性。赵莉莉等<sup>[27]</sup>采用 TRFIA 技术建立了恩诺沙星快速检测方法; 朱海等<sup>[28]</sup>用镧系离子荧光纳米颗粒标记呋喃唑酮代谢物单抗, 采用竞争模式制备了呋喃唑酮代谢物免疫层析试纸条, 其灵敏度达到 1.0ng/ml, 可满足相关检测要求。郭艳宏等<sup>[29]</sup>利用反相微乳技术建立了 TRFIA 检测牛奶中氯霉素和氯霉素琥珀酸盐同步检测, 简便快速, 特异性好。

### 2.3 在寄生虫病检测中的应用

TRFIA 在寄生虫病的诊断检测, 主要用在人的人畜共患寄生虫病中, 既可用于人的检测, 则可用于动物检测, 在不久的将来, 会有动物寄生虫病诊断检测 TRFIA 出现。车宏莉等<sup>[30]</sup>对日本血吸虫进行荧光抗体研究, De Jonge 等<sup>[31]</sup>用 TRFIA 定量检测血吸虫阳性循环抗原 (CAA), 共检测下限是 ELISA 的 10 倍, 其线性范围超出 ELISA 100 倍。Aceti 等<sup>[32]</sup>用 TRFIA 诊断包虫病 (棘球蚴病), 与 ELISA 相比, TRFIA 的阳性检出率达 95.1%, 高于 ELISA 法的 81.4%, 在定位囊肿的敏感性方面, TRFIA 也较 ELISA 高。Bacigalupo 等<sup>[33]</sup>BCDPA 标记的链霉素和素的 TRFIA 与已经商业化的自动酶联免疫荧光检测 (VIDAS) 和自动化学发光酶免疫分析 (BEIA) 比较检测特异性 IgG 的区别, 在高浓度和低浓度的特异性 IgG 的批内和批间变异系数分别为 3.4%、7.4% 和 9.2%、8.1%。在检测刚地弓形虫特异性 IgM 时, 78 份样品中的敏感性和特异性均可达 100%。Kapel 等<sup>[34]</sup>用夹心法 TRFIA 检测抗隐孢子虫抗体, 结果显示: 重复性和特异性均很好, IgA、IgM 和 IgG 的批内变异系数仅为 5.1%、



4.6% 和 5.8%, 同样的粪便样本批内变异系数也只有 9.4%, 10.5% 和 12.2%, 特异性为 100%, 敏感性分别为 83%、67%、33%。

### 2.4 在致病微生物检测中的应用

TRFIA 已广泛应用于人多种传染病的诊断和研究, 包括甲肝病毒 (HAV)、乙肝病毒 (HBV)、脑炎病毒、流感病毒、呼吸道合胞病毒、软状病毒、免疫缺陷病毒

及出血热病毒等<sup>[2]</sup>, Yu等运用TRFIA技术测定苹果汁中大肠杆菌O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>的数量,最低检测量达到10<sup>1</sup> CFU/mL,并且当大量的大肠杆菌K-12共存时,也不含影响大肠杆菌O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>的检测灵敏度。用TRFIA检测动物致病性细菌和病毒的研究还在初期起步阶段,相信不久将有产品商业化面世。

### 3. 结语

TRFIA是近些年新兴起来的一种超微量快速免疫检测技术,它集合了酶标记技术、放射标记技术和同位素标记技术的优点,具有灵敏度高、特异性强、稳定性好、无污染,且测定范围宽,试剂盒寿命长,操作简单和非放射性等优点,越来越受到各领域科研工作者的关注,应用范围也已渗入多个领域。国外已有多种商品化试剂推出,国内在医学方面已开展多项检测并成功地应用到临床。在兽医领域对兽药残留、真菌毒素等方面正逐步得到重视和应用,相信在不久的将来,TRFIA将成为动物病毒病、细菌病等致病微生物的微量检测重要手段。

### 参考文献

- [1] 李振甲、陈洋藻等编著的《时间分辨荧光分析技术与应用》,1996年2月科学出版社出版。
- [2] 沈健,林德球,徐杰,时间分辨荧光免疫分析技术研究现状及进展,生命科学,2004,16(1):55-59;
- [3] 邓传欢,吴英松,徐劲,时间分辨荧光免疫分析技术在寄生虫病诊断中的应用,热带医学杂志,2010,10(1):111-114;
- [4] Soni E, Kojala H, Time-resolved fluorometer for lanthanide chelates: a new generation on nonisotopic immunoassays. Clin Chem, 1983, 29: 65-68.
- [5] Niu C G, Liub J, Qin P I et al, A novel bifunctional europium chelate applied in quantitative determination of human immunoglobulin G using time-resolved fluoroimmunoassay [J]. Analytical Biochemistry, 2011, 409(2): 244-248;
- [6] 抗建峰, 吴英松, 李明, 时间分辨荧光免疫分析的研究进展及应用, [J], 热带医学杂志, 2004, 4(3): 340-343
- [7] XU youg-yuan A new Ultrasensitive Immunoassay. Shanghai Immunology Journal 1989.9: 211.
- [8] 田振, 郭用义, 贾雅丽, 时间分辨荧光免疫分析及其在临床检测中的应用, 微生物学报, 2002, 11(4): 290-294;
- [9] 乐爱平, 万腊根, 时间分辨荧光技术在检验医学中的发展现状, 江西医学检验, 2003, 21(3): 191-193
- [10] 秦秋平, 多标记时间分辨荧光免疫分析及其应用, 标记免疫分析与临床, 1994, 4: 233-236
- [11] Henmila I, Holttinen S, Pettersson K, et al, Double-label time-resolved immunofluorometry of lutropin and follitropin in serum, Clin chem. 1987, 33: 2281-2283
- [12] 王坤, 侯玉泽, 胡晓飞等, 时间分辨荧光免疫分析技术在真菌毒素的应用, 中国免疫学杂志, 2013, 29(2): 197-201
- [13] Schatymayz G, Zehner F, Taubel M et al, Microbiological procedures for deactivating mycotoxins [J]. Molecular Nutrition of Food Research, 2006, 50(6): 543-551
- [14] 黄飏, 陶文沂, 张莲芬 et al: 黄曲霉毒素 B1 的高灵敏时间分析荧光免疫分析 [J], 核技术, 2006, 29(4): 295-300
- [15] 黄飏, 时瑾, 朱岚 et al, 赭曲霉毒素的时间分析荧光免疫分析法的建立及其考核 [J], 标记免疫分析与临床, 2008, 15(3): 174-177



- [16] 张珏, 朱岚, 陈蕴, et al. 伏马毒素 B1 时间分辨荧光免疫分析微量检测方法的建立[J], 环境与健康杂志, 2009, 26 ( 012 ) : 112-115.
- [17] 杨润琳, 计融, 江涛 et al. T-2 毒素的高灵敏时间分辨荧光免疫分析[J], 食品与机械, 2010. 26( 001 ): 74-76
- [18] 马智鸿黄飏, 屠蕾 et al. 应用生物素—链霉素和素的时间分辨荧光免疫分析检测玉米赤霉烯酮[J]. 江苏农业学报, 2009; 25 ( 2004 ) : 905-909.
- [19] 周彬, 高雷, 金坚 et al. 纳米均相时间分辨荧光免疫法检测脱氧雪腐镰刀菌烯醇方法的建立[J], 食品工业科技, 2010; 31 ( 8 ) : 338-342
- [20] 岳振峰, 食品中兽药残留检测指南[M], 北京: 中国标准出版社, 2010
- [21] 高洁, 苗红, 兽药残留检测技术研究进展, 食品安全质量检测学报, 2013, 4 ( 1 ) : 11-18
- [22] Bacigalupo M A, Meroni G. Secundo F. et al. Time-resolved fluoroimmunoassay for Quantitative determination of ampicillin in cow milk samples with different fat contents [J], Talanta, 2008. 77(1): 126-130
- [23] 密晓黎, 黄丽俊: 环丙沙星时间分辨荧光免疫分析方法[J], 中国兽医学报, 2011, 33 ( 8 ) : 1192-1195
- [24] 李丽华, 白瑞樱, 孙远明等, 环丙沙星时间分辨荧光免疫分析方法的建立与应用[J], 食品科学, 2012, 33 ( 8 ) : 216-220
- [25] 王超, 李克雄, 时间分辨荧光免疫分析测定莱克多[J], 中国食品卫生杂志, 2011. 23(5): 438-441.
- [26] 樊喆博, 杨金易, 高秀杰等, Eu<sup>3+</sup> 标抗原盐酸克伦特罗的时间分辨荧光免疫检测[J], 食品科学, 2010, 31 ( 20 ): 307-310
- [27] 赵莉莉, 黄飏, 恩诺沙星时间分辨荧光免疫分析方法的建立[J] 食品科学, 2011, 32 ( 10 ) : 110-114
- [28] 朱海, 范放, 吕敬率, 等, 呋喃唑酮代谢物荧光纳米颗粒免疫层析法的建立[J], 畜牧与饲料科学, 2009, 30 ( 6 ) : 32-34
- [29] 郭艳宏, 李飞, 邹明强, 等, 用于检测氯霉素类残留物的荧光免疫检测试纸条的研究[J], 化学试剂, 2010, 32 ( 6 ) 496-498.
- [30] 车宏莉, 汪世平, 吴争鸣, 等, 基于磁性纳米颗粒的日本血吸虫抗体荧光免疫分析[J], 分析化学, 2008, 36 ( 11 ) : 1455-1459
- [31] De jonge N. Boerman O C, Deelder A M, Time-resolved immune of luorometric assay (TR-FIA) for the detection of the schistosoma circulating anodic antigen [J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1989, 83(5): 659-663
- [32] Aceti A, Pennica A, Teggi A, et al. The serological diagnosis of human hydatid disease by time-resolved fluoroimmunoassay [J]. J Infect, 1991, 22(2): 125-141
- [33] Bacigalupo M A, Bayyini P, Farina L, et al. Evaluation of three immunoassays for detection of Toxoplasma-specific immunoglobulin G and M [J]. Eur J Clin Chem. Clin Biochem, 1996, 34(6) 503-505
- [34] Kapel N, Meillet D, Buraud M, et al, Determination of anti-Cryptosporidium coproantibodies by time-resolved immunofluorometric assay [J], Trans R Soc Trop Med Hyg, 1993, 87(3): 330-332
- ( 作者简介: 王泽洲, 博士, 四川省动物疫病预防控制中心二级岗位研究员, 享受国务院特殊津贴专家 )



集先进生物科技  
铸百年疫苗品质

# 精制高效 猪瘟活疫苗 (细胞源)

Classical Swine Fever Vaccine, Live (Tissue Culture Origin)

批准文号: 兽药生字(2014)221011004



- 严格控制外源病毒  
(无PRV, PRRSV, PPV, BVDV, PCV1, PCV2)
- 先进工艺, 特制营养液
- 专为控制“亚临床猪瘟感染”设计制造
- 超高标准: 每头份含RID  $\geq 15000$ 个
- 无支原体感染

无需加量

1 头份轻松搞定!



四川省华派生物制药有限公司  
地址: 四川简阳经济开发区石盘食品医药产业园  
邮编: 641423

传真: 028-27282488  
电话: 028-27400432 27290977  
网址: www.huapaisw.com





#### 身边人身边事

## 团结就是力量

文 | 郑权 图 | 何信群

华派设备动力部是一支团结、友爱的团体。该部门坚持华派公司副总经理蒋林提出的“绝对服从、立即执行、质量第一”的十二字观念，全体人员不怕苦、不怕累，认真及时地做好设备维护保养及各项保障工作。

就像华派设备动力部的队歌《团结就是力量》唱的那样，“团结就是力量，这力量是铁，这力量是钢，比铁还硬比钢还强……”面对任务，勇往向前，绝不含糊。这就是设备动力部钢铁般的精神。

在一个公司不是设备动力部要多忙才表现了它的价值，个人认为设备不是维修出来的，是保养出来，设备的使用寿命及故障率不是全靠设备动力人员进行维护保养，而是靠全体人员，特别要靠操作人员的规范操作、日常维护和保养。

（作者简介：郑权，动力设备部副部长）



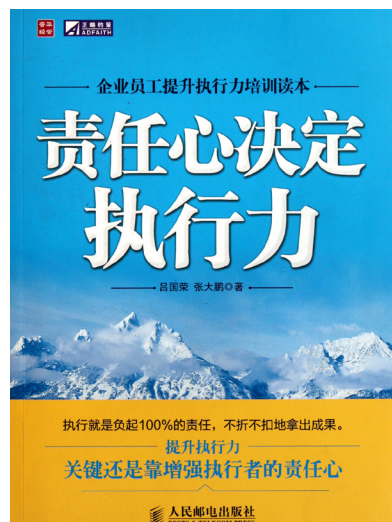
# Team Power





# 责任心决定执行力

文 | 钟娅男



之前看到过一本书，书名是《责任心决定执行力》。书中提到：执行力源于责任心，责任心决定执行力。责任心是前提、是基础；执行力是保障、是关键。

每一次会议，领导们都会提到责任心与执行力，足见得这两者的重要性。一个企业从日常运转到高速发展都是要靠高效的执行力来保证。执行力从哪里来？前提就是责任心。责任心体现在日常工作的点点滴滴，很开心我所在的团队中不乏责任心、执行力强的人。

班组的一件小事让我记忆犹新。那天清晨，刚进操作单元准备去看细胞，一位同事站在温室门口盯着控制面板，这位同事平时的任务之一是负责温室转瓶机以及温度的巡视和记录。原来他发现温室的温度突然偏高，告诉我后，我让他想办法降温并保持温室温度在标准水平，交代了几句后我就去观看细胞。不一会他就告诉我温室温度已降到正常，大家一起开始了当天的工作。当上午所有工作都完成大家先后离开，我在巡视检查时看到这位同事又站在温

室门口，问他怎么还没出去啊？他回答：我担心温度再升上来，想再多等十分钟看看它是不是稳定了。后来得知当天下午这位同事又再次多次观察确认温室温度是否稳定。

多么小的一件事，却让我一直感动着，这不就是责任心与执行力的体现吗？

这只是我们身边发生的一件非常小的事情，在我们这个小团队中大家责任意识很强，安排的工作都尽心尽责的完成。作为公司普通职员，大多数的时间都是在做一些“小事”，如果每个人能把自己所在岗位的每一件小事做好、做到位，就可以做到“1+1 > 2”的效果。

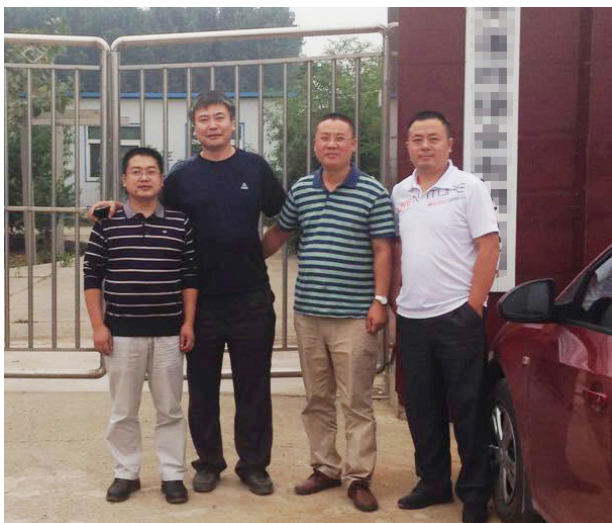
只要每一位华派人都将责任心与执行力完美的结合，“华派梦”将不再是梦。

（作者简介：钟娅男，三车间细胞班班长）

## 员工心语

# 快速精准服务 增强品牌认知度

文 | 李金海



2015年9月27日,据山东省区经理吴海生反映,山东泰安肥城某规模猪场今年5月以来一直使用华派圆环康疫苗,9月23日国内某厂家的检测诊断中心对在该场采集血清样品40份进行抗体检测,圆环病毒2型的抗体均为阴性,问这是什么原因?

我接到电话的第一反应是产品不可能有问题的,一定在其他方面出了问题,华派生物十分重视产品品质,每一批疫苗均要进行严格的成品、半成品检验,检验合格后才能出厂,而且按照当前圆环病毒的流行情况,不可能出现抗体全部阴性的“怪事”。公司领导得知该情况后,要求我立即到山东了解具体情况,查明原因。

9月28日中午,我和吴海生风尘仆仆的赶到山东泰安,第一时间和当地的经销商一起赶到现场。和规模场老总交流后,我们决定现场采集样品进行检测。对4个群体,随机采样30份血样(后备母猪5份,妊娠中期母猪5头,42日龄保育猪10头,142日龄育肥猪10头),每份一

式二份。9月29日,送山东省畜禽疫病防治与繁育重点实验室(山东省农业科学院畜牧兽医研究所)进行检测,经第三方检测,所采集的30份样品,猪圆环病毒2型抗体阳性率100%,且抗体水平非常整齐。

检测结果表明,华派生物生产的猪圆环病毒2型灭活疫苗,产品品质高,免疫效果确实。9月29日晚,我们立即连夜把检测报告送到客户的手中,并对检测结果进行了详细讲解,客户切实感到我们服务的快速准确,增强客户对华派公司的信心和产品的认同。此外,为了进一步了解该场猪群的免疫状况,华派公司还为该客户进行了猪瘟、猪伪狂犬等抗体的第三方检测,真正为客户解决问题,提供增值服务。

华派生物秉承“服务就是营销,客户就是上帝”的服务理念,组建高素质的服务团队,构建完善的技术服务体系。通过此次技术服务,充分体现了此项工作的重要性,只有为客户提供高品质的疫苗产品,快速、精准的技术服务,切实为客户创造更多价值,才能获得客户的认同,华派生物才能迅速发展壮大。

(作者简介:李金海,博士,研发中心副主任,诊断中心主任)





# 贺“支肺通”上市

——记“支肺通”上市暨华派生物（河南）第三届客户交流会

文 | 董振波

似曾相识  
却终未见你双眸  
似曾相知  
你的好也只是出自  
他人之口

秋月当头  
深夜终有深深叹愁  
为谁轻叹  
为谁消瘦  
你知否  
你知否  
解我之忧  
只能药酒

药后  
依旧一年秋冬愁  
乙未的九月  
正值初秋  
你悄悄的走来  
轻轻的向我招手  
我们从此相念  
长相厮守

以后  
以后  
以后的深夜  
何来叹愁  
我们静静的相守  
正视美丽  
告别骨感  
不再黄花瘦

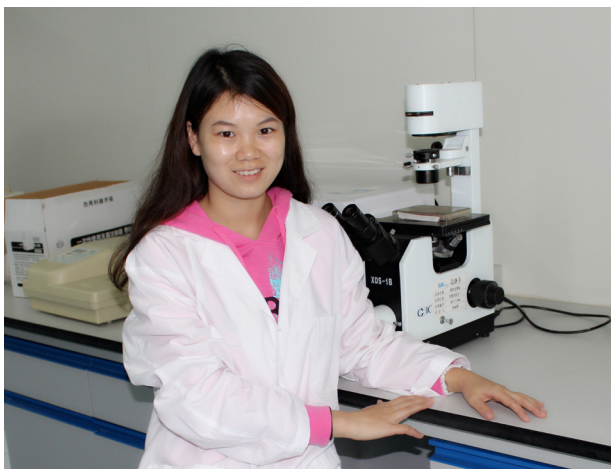
风韵的我  
青春永留  
感谢有你  
是你  
支撑我的信念  
肺腑之言不休  
通向幸福的彼岸  
有你  
何忧

（作者简介：董振波，河南省区业务  
经理）



# 只是因为人群中多看了“你”一眼

文 | 朱冬梅



2015年2月的一个下午，四川的天空一如既往的灰蒙蒙，天空中没有半点太阳的痕迹，我们匆忙的行驶在成简快速通道上，窗外的世界一点一点的向后涌去，忙碌的工人和重型修路车也慢慢的消失在眼底。“快看，那就是华派生物”坐在身边的男友着急的给我指着公司的方向。

这是我第一次见到华派生物，却又不是第一次听人说起她。记得还在华农读研的时候，就经常听男友跟我说起，这个充满生命力富有创造力的生物制品公司——四川省华派生物制药有限公司，也是在他的影响下让我在招聘信息漫天飞舞，大家为选择工作而焦头烂额的时候，义无反顾的选择了华派。

就在毕业后的一周，我拖着大包小包的行李来到了华派门口，第一次那么近距离的看着华派，我便喜欢上了这里，愉快的心情让我很快就适应了公司的新环境，不论是宿舍食堂，还是部门的新同事们，都让我感到满心欢喜。到华派的第一周，便步入了紧张的工作中，陆续的又来了很多新同事，每每聊起我们的新环境，大家对她的称赞都是有过之而无不及。这一切仿佛就在昨天，可时间却已经在我们指尖溜走了三个多月。

在华派的三个多月，我们目睹了领导们英姿飒爽的风采，感受到了同事们之间的团结友爱，体验到了工作的多姿多彩。记得2015年8月27日那一天，华派生物通过了中国首家核酸疫苗生产线静态GMP验收，在完成兽药GMP认证签字仪式时，“热烈祝贺华派生物核酸疫苗生产线顺利通过GMP验收”的横幅崛起，热烈的掌声充斥着整个会场，在场的每一个华派人都难以抑制心中的喜悦之情，那一刻，大家欢笑着相拥，那一刻，时间仿佛停止了下來，也是那一刻，让我们这些新来的员工们第一次目睹了华派气宇轩昂的风采。

工作中，我们在实验室之间忙碌的穿梭，在操作台旁仔细的聆听师兄师姐们的教诲，在动物房满腔热血的挥洒汗水，偶尔也会拿起那已干枯的木枝，在门前的小山坡上看着羊群慢慢地移动，静静地感受着华派这个富有生命力创造力的企业带给我们的所有惊喜。学习上，部门领导组织了统一培训，针对试验要求制定了详细周密的培训计划，师兄师姐们不厌其烦的给我们讲解。考核时，严部长一路随行，他严谨的作风深深地影响了我们，为我们在以后的工作上树立了一个好榜样。生活中，公司给了我们无微不至的关怀，在蚊虫横行的夏天给我们配置灭蚊器，在宿舍给我们安衣柜，装纱窗。在我们提出需求的时候，第一时间提出解决方案，这一切我们都看在眼里记在心里。

在未来的十年、二十年，我相信华派生物会以她独特的风格和严谨的作风，在中国动物疫苗产业中发挥特长，跻身于中国兽药领先品牌中。作为华派的一员我感到骄傲，感到自豪，我坚信华派能给我更好的发展平台，也相信选择华派是我们一生不悔的选择！

（作者简介：朱冬梅，硕士，研发中心细菌疫苗组成员）



# 2015 年中国动物疫苗产业 依旧处于成长期

动物疫病不仅导致动物大范围减产、生病、甚至死亡，给养殖者带来巨大的直接经济损失，近年来更是大量感染人类，威胁人类生命健康。如大家最为熟知的 H5N1 亚型禽流感，从 2003 年到 2013 年 10 年间，共 602 人感染，死亡率近 60%；2013 年在我国爆发的 H7N9 亚型禽流感共造成 136 人感染，45 人死亡。

根据联合国粮农组织（FAO）和国际动物卫生联合会（IAHA）的调查研究，近几十年来超过 70% 的人类新发传染病来源于动物，75% 的动物疫病可以传染给人类，所以动物疫病不仅严重拖累养殖业发展，更是人类生命和公共安全的一大威胁。根据《国家中长期动物疫病防治规划（2012-2020）》，我国优先防治和重点防范的动物疫病有 29 种，其中优先防治的国内一类动物疫病有 5 种，包括口蹄疫（A 型、亚洲 I 型、O 型）、高致病性禽流感、高致病性猪蓝耳病、猪瘟、新城疫。

优先防治的国内动物疫病（16 种）

一类动物疫病（5 种）：口蹄疫（A 型、亚洲 I 型、O 型）、高致病性禽流感、高致病性猪蓝耳病、猪瘟、新城疫

二类动物疫病（11 种）：布鲁氏菌病、奶牛结核病、狂犬病、血吸虫病、包虫病、马鼻疽、马传染性贫血、沙门氏菌病、禽白血病、猪伪狂犬病、猪繁殖与呼吸综合征（经典猪蓝耳病）

重点防范的外来动物疫病（13 种）

一类动物疫病（9 种）：牛海绵状脑病、非洲猪瘟、绵羊痒病、小反刍兽疫、牛传染性胸膜肺炎、口蹄疫（C 型、SAT1 型、SAT2 型、SAT3 型）、猪水泡病、非洲马瘟、H7 亚型禽流感。

未纳入病种分类名录、但传入风险增加的动物疫病（4 种）：水泡性口炎、尼帕病、西尼罗河热、裂谷热。

目前，发达国家大都采用“疫区扑杀为主、接种疫苗预防为辅”的防疫模式，但我国由于养殖规模化程度仍较

低，而且大规模扑杀模式相关的经常性补偿机制尚未形成，所以预计未来较长时间内都将采用“接种疫苗预防为主、疫区扑杀为辅”的防疫政策，成为动物疫苗需求增长的现实基础。

动物疫苗属于动物保健品范畴，动物保健品行业是指和动物健康和动物安全相关产业的总和，主要包括药物饲料添加剂和兽药两大类，其中的兽药包括兽用化学药品（简称化药）和兽用生物制品（简称生药），兽用化学药品主要用于治疗动物疾病，而兽用生物制品以免疫和预防为主，主要为动物疫苗，其它还包括血清制品、诊断制品等，根据中国兽药协会统计，2012 年我国生物制品市场规模 88.88 亿元，其中动物疫苗 83.8 亿元，占比 94.29%，所以基本可以将兽用生物制品和动物疫苗等同。

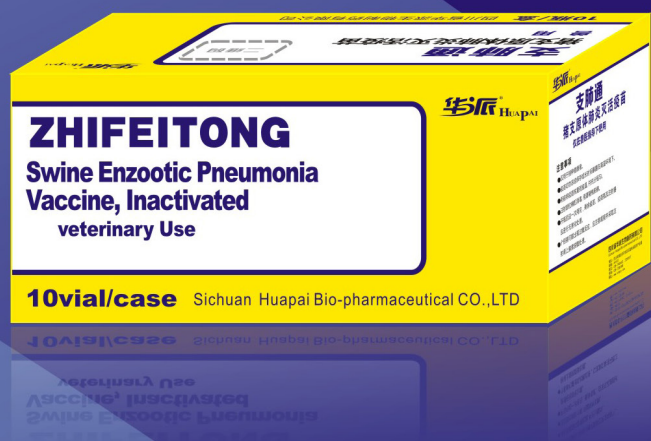
2013 年国际动物保健品市场规模为 230 亿美元，市场构成中，化学药品占 62%，生物制品占 26%，化药约为生药 2.4 倍。2012 年，我国国产兽药市场总规模为 401.14 亿元，其中化学药品 312.26 亿元，生物制品 88.88 亿元，化药约为生药 3.5 倍。

中国产业信息网发布《2015-2020 年中国动物疫苗市场深度调查及投资战略咨询报告》指出：总的来看，我国兽药市场规模约为世界总规模的 30% 以上，但在构成上化药产品占比过高，这与我国防疫意识不足、养殖环境恶劣、政府招采苗压制市场价格等因素相关，未来随着防疫意识的不断提升和市场苗的逐步放开，生物制品将迎来更大的市场空间，2012 年动物疫苗市场规模为 83.8 亿元，2008 年以来平均增速 19%，以此增速，2014 年其市场规模约 126 亿元，而根据我们测算，其长期市场规模将增至约 320 亿元，加上外资进入的壁垒较高（需和国内企业合资建厂），国内生物制药企业仍有充足的成长空间。

（本刊编辑部摘编自猪 e 网网站）

# ZHIFEITONG

## Swine Enzootic Pneumonia Vaccine, Inactivated



# 支肺通

## 猪支原体肺炎灭活疫苗

### 产品特点：

- 国内第一批猪支原体肺炎灭活疫苗
- J株免疫原性好，攻毒保护能力强
- 精心研制独特培养基，抗原含量高
- 生物反应器大规模培养，灭活前抗原滴度稳定，成品批间差异小
- 抗原经纯化处理，免疫副反应小
- 独特佐剂，专利配方，增强免疫原性，诱导高水平细胞免疫
- 免疫后显著改善生产成绩





# 猪支原体肺炎 ELISA 抗体 检测试剂盒

仅供兽医诊断使用

- 灵敏度高
- 特异性好
- 高稳定性
- 简单易操作



四川省华派生物制药有限公司  
Sichuan Huapai Bio-pharmaceutical Co., LTD

公司地址: 四川简阳经济开发区石盘食品医药产业园  
联系电话: 028-27400432 27282289

网 址: www.huapai-sw.com

邮编: 641401  
传真: 028-27282488