



匠心品质·华派生物

新流康泰

鸡新城疫、禽流感 (H9亚型) 二联灭活疫苗 (La Sota株+HN106株)

Newcastle Disease and Avian Influenza(H9 subtype) Vaccine, Inactivated
(Strain La Sota + Strain HN106)

- 加强型毒株, 针对性强
- 浓缩抗原, 免疫剂量小
- 抗原纯化, 副反应小, 可用于1日龄雏鸡免疫
- 先进的乳化工艺, 粘度低至29cp
- 禽用疫苗专用佐剂
- 甲醛含量<0.03%
- 内毒素<5EU/ml
- 有效预防鸡新城疫和H9亚型禽流感



2019年07月

华溢于表 派源于质 聚焦生物科技前沿 开启动保崭新时代

华派生物
Huapai Biological

2019年
36 2
季刊

HPBG 华派
HUAPAI BIOLOGICAL GROUP 生物集团

鼻炎康泰

献给养鸡人的爱

鸡传染性鼻炎 (A型+B型+C型) 三价灭活疫苗

- ★ 二类新兽药, 真正合法的ABC三价鼻炎苗;
- ★ 血清型全面, 对国内流行的A、B、C副鸡禽杆菌都能保护;
- ★ 保护率高, 中监所复核检验表明鼻炎康泰的攻毒保护率达到90%以上。
- ★ 副反应小, 安全性高。



扫二维码
进入官方网站



扫二维码
进入官方微信

华派生物工程集团有限公司

电话: 028-27400432 27290977
传真: 028-27282488
地址: 成都简阳经济开发区石盘食品医药产业园 网址: www.huapaisw.com

危机意识催生企业发展新动能



文/向丕元

孟子云：“生于忧患，死于安乐”。这是古人较早提出的危机意识定论。不管是个人、企业，还是社会，在其发展与进步中我们都应该胸怀危机，敬畏危机。

危机意识是一副清醒剂，它能让人在危机来临之前保持清醒头脑。昨天的辉煌并不意味着今天的成功，人在最好的时候可能是最不好的开始——“危机”往往就在这时悄悄来临。我们不能陶醉于以往的成功经验，坚守“如履薄冰”的危机意识会让我们不安于现状，持续不断地开拓创新，挑战自我，向更高的目标迈进。

对于企业而言，惟有危机意识，方能撑起企业发展的一片蓝天。微软之所以能雄霸天下，最重要的一点就是具有强烈的危机意识，比尔·盖茨的一句名言就是“我们离破产永远只有90天”。闻名于世的波音公司，为了增强员工的危机意识，别出心裁地摄制了一部模拟公司倒闭的电视片，该电视片的主要内容是在一个天空灰暗的日子里，波音公司高挂着“厂房出售”的招牌，震耳欲聋的扩音器里传来“今天是波音公司时代的终结，波音公司已关闭了最后一个车间”的通知，员工们一个个垂头丧气地离开了工厂……没想到该电视片在员工中产生了巨大震撼，强烈的危机感使员工们始终以主人翁的姿态，努力工作，不断创新，使波音公司保持了强大的发展后劲。华为创始人任正非一再强调：“10年来，我天天思考的都是失败，对成功视而不见，也没有什么荣誉感、自豪感，而是危机感。也许是这样才存活了10年。我们大家一起来想，怎样才能活下去，也许才能存活得久一些。”这些知名企业的所作所为，真正道出了在这个竞争激烈的时代，树立危机意识对于企业的发展壮大无比重要，也阐释了一个企业要想在激烈的市场竞争中永远立于不败之地，企业上下必须要有危机意识。

社会在进步，企业在发展，作为企业的员工必须跟上企业快速发展的步伐。如果企业发展了，而自己还在原地踏步，还按照原来的思维定式办事，对新的事物和

知识不能深刻的领会和接受，那么，你的存在就会成为企业发展的绊脚石，就会重复“温水煮青蛙”的故事，面临被企业淘汰的危险。“今天工作不努力，明天努力找工作”就是没有危机感导致的真实写照。

在市场经济时代，危机无处不在，无时不有，稍有懈怠，就会被别人超越，就会落在别人后面，甚至被淘汰。有了危机意识，我们才能清醒地认识到竞争对手的存在，才能不断学习和进取；有了危机意识，我们才能不断引进先进的技术，不断改善我们的管理体制；有了危机意识，我们才能多关心我们的员工，多进行员工培训，关心他们的生活和成长，留住人才，因为他们才是公司的核心竞争力；有了危机意识，我们才能去不断创新，研发更有竞争力的产品，给顾客提供更优质的服务；有了危机意识，我们才能不断开拓市场，打造新的利润增长点，从服务客户到引领客户成长。危机意识就像一座长鸣的警钟，需要不断敲打着企业每个人的心灵，它不仅要求每个人时时刻刻都要保持清醒的头脑，还要采取切切实实的行动。

自去年8月以来，一场席卷大江南北的非洲猪瘟，让养猪人欲哭无泪，覆巢之下岂有完卵。随着各地非瘟防控失守并先后沦陷，非洲猪瘟在对养猪企业造成直接经济损失的同时，也间接影响了动保企业的发展走向。非瘟疫情的爆发和流行，在没有疫苗和高效药物治疗的情况下，可以说是整个行业的系统性危机。在非瘟常态下，一些大的养殖集团开始减慢甚至停止扩张的步伐，而一些小散户则选择了快速退出市场。事实上养殖数量的锐减，已经给众多以猪用产品为主的动保企业带来了沉重压力。

华派生物如何应对非洲猪瘟这场危机，也是摆在企业管理者和员工面前不可回避的重大问题。我们应该正视现实，积极应对，及时调整发展战略，调整产品结构，调整营销模式，确保企业的可持续发展。



出版发行

主 管 主 办: 华派生物工程集团有限公司
 协 办 单 位: 四川省精华动物药业有限公司
 成都新精华药业有限公司
 重庆澳龙生物制品有限公司
 重庆永健生物技术有限责任公司
 北京华信农威生物科技有限公司
 编 编 出 版: 《华派生物》杂志编辑部

顾问委员会

顾 问: 杨汉春 程安春 周继勇
 王红宁 崔宝安 岳 华
 徐志文 王 印 黄伟坚
 黄 伟 薛家滨 丁庆猷

编 委 会 主 任: 谢建勇

编辑部

主 编: 龚文波
 副 主 编: 方鹏飞 李金海
 执 行 主 编: 杨 帅
 编 审: 向丕元
 责 任 编 辑: 于 作 张思旺 王建军
 涂奎忠 崔 舰 王美贵
 张 莉 臧 杰 徐 静
 李 妍 邱文英 郝伟伟
 设 计 制 作: 成都鑫艺高印务有限公司

电 话: 028-27400432
 传 真: 028-27282488
 网 址: [Http://www.huapaisw.com/](http://www.huapaisw.com/)
 电 子 信 箱: hpswt@163.com
 通 讯 地 址: 成都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

正大畜牧投资(北京)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
 四川永鑫畜牧养殖有限公司
 新希望六和股份有限公司
 华西希望特驱农牧有限公司
 成都旺江农牧科技有限公司
 四川齐全集团
 江苏雨润集团
 青岛康达集团
 河南雄峰科技股份有限公司
 山西新大象养殖股份有限公司



2019年第2期 总第36期
 内部交流 免费赠阅



本刊荣誉

《华派生物》被中国内刊协会评选为——
 2016年度金纽带奖
 2016年度好杂志奖
 2015年度全媒体金龙奖
 2015年度好杂志奖
 2014年度全国优秀内刊

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。

HPCG 华派
 HUAPAI BIOLOGICAL GROUP 生物集团

华派生物工程集团有限公司
 Huapai Bio-engineering Group Co., Ltd.
 地址:成都·简阳经济开发区石盘食品医药产业园
 电话:028-27400432
 网址:<http://www.huapaisw.com/>



华溢于表·派源于质

鸡新城疫、传染性支气管炎二联活疫苗 (HB1株+H120株)

Combined Newcastle Disease and Infectious Bronchitis Vaccine, Live (Strain HB1+Strain H120)

- 复合型毒株, 全面保护
- 优质SPF种蛋生产, 杜绝外源病原污染
- 抗原纯化, 安全高效
- 抗原含量高, 适用于1日龄以上鸡免疫
- 严格内控, 质量稳定



热烈祝贺华派生物顺利通过 农业农村部兽药GCP监督检查

文/向军 图/杨帅

6月13-15日，由中国兽医药品监察所检测技术研究室主任丁家波为组长、病毒室副主任李俊平及菌种保藏室副研究员蒋颖为成员的农业农村部兽药临床试验质量管理规范（GCP）监督检查专家组一行，在华派生物常务副总经理何康林、研究院院长龚文波、副院长方鹏飞和项目负责人徐静等的陪同下对我公司进行了兽药GCP监督检查。省农业农村厅兽医兽药处处长周朝华、省兽药监察所所长葛荣、省兽药监察所质量监督科科长贺超以观察员身份先后陪同参与监督检查。



在监督检查的首次会议上，专家组一行认真听取了GCP机构负责人李金海博士所做的《华派生物兽药GCP实施情况的汇报》。李博士就公司的基本情况、GCP机构设置、人员配置、设施设备、管理体系、安全与质量管理、临床试验项目和GCP机构运行情况进行了详细汇报，获得了专家组一行的充分认可，并进行了现场互动问答。



在连续紧张的核查工作中，专家组抽查了华派生物签约的临床试验猪场，对公司兽用生物制品质量评价中心实验室和实验动物中心进行了实地检查和验证，对实验室检测人员和临床试验技术人员进行了现场考核。同时对华派生物GCP机构设置及其运行情况，管理制度、程序文件、临床试验操作SOP及临床试验记录等档案文件进行了详细检查并对相关负责人进行了现场考核。



经过专家组现场监督评审，认为我公司兽药GCP机构部门设置合理，设施设备完善，管理体系完整规范，质量控制措施完备，相关记录完整，人员素质良好，能够满足兽药GCP运行条件，具有开展猪用生物制品安全性和有效性评价的能力。同时，专家组也对我公司兽药GCP机构运行中存在的问题，也提出了中肯的整改意见和建议。



末次会议上，华派生物研究院院长龚文波对专家组连日来的辛勤工作表示衷心感谢，并承诺就专家组提出的改进建议立即进行整改。龚院长表示，通过本次检查，必将进一步提升研发人员对兽药GCP的认识和理解，提高临床试验人员的水平。



华派生物猪用生物制品的安全性和有效性评价能力通过农业农村部的GCP监督检查，为公司猪用生物制品的研究和开发打下了良好基础，同时也为其他畜禽生物制品的GCP工作提供了可借鉴的经验。GCP工作监督检查的通过和运行，对于进一步规范兽药临床试验过程，提高兽药临床试验质量，提升公司兽用生物制品研发水平，具有非常重要的意义。

（作者简介：向军，硕士，华派生物研究院）



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



- 免疫原性好:gE基因自然缺失
- 病毒含量高于国家标准: $10^{6.0} - 10^{6.3}$ TCID₅₀/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

有效预防伪狂犬变异株

HPGG 华派
HUAPAI BIOLOGICAL GROUP 生物集团

华派生物工程集团有限公司
Huapai Bio-engineering Group Co., Ltd.
地址: 成都·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: <http://www.huapaisw.com>

鹅业工作委员会二届一次会员大会 在江苏常州成功召开

文图/涂奎忠

6月14-15日,由中国畜牧业协会主办,重庆永健生物技术有限责任公司特别赞助的中国鹅业工作委员会二届一次会员大会暨“立华杯”鹅业发展论坛在江苏省常州市武进假日酒店成功召开。本次大会汇集全国各地鹅业领域的顶级专家、学者和产业界精英人才近300人,大会围绕当前养鹅业的发展现状、发展趋势、饲养管理技术、环境控制技术和鹅病防控技术等问题进行了深入的交流和探讨。永健生物研究所所长张立武博士的《小鹅瘟变异情况和痛风抗体的研究进展》报告在本次大会上引起了广泛关注,会后众多养殖户同张博士进行了有效的沟通和交流。

鹅业工作委员会二届一次会员大会暨“立华杯”鹅业发展论坛合影留念





公司总经理李来旭在当晚的《永健之夜》答谢晚宴上发表了热情洋溢的讲话。他说，永健生物自2001年创办至今整整十九个春秋，永健小鹅宝伴随中国养鹅业健康发展即将20年，作为中国兽用精制蛋黄抗体的开创者、行业标准的制定者，永健生物始终坚持诚信、创新、发展的经营理念，始终坚持专业、专注绿色安全的抗体研究，始终坚持为绿色健康养殖贡献我们的力量为己任！二十年以来，公司先后获得抗体类国家新兽药证书4个，涵盖鸡、鸭、鹅三大品类，我们正在申报和已经取得临床实验的抗体新兽药近10个，包括鹅痛风、水禽软脚病、鹅副粘病毒、水禽圆环病毒、水禽腺病毒、浆膜炎大肠杆菌、转移因子、干扰素等等。

李总表示，永健生物能够每一个台阶，取得今天不菲的成绩，离不开新老朋友们的真诚合作和大力支持，感谢大家一直以来对永健生物和孚文生物的关怀厚爱与鼎力支持！祝愿大家在未来的岁月中，友情更深、事业更旺、合作共赢！



(作者简介：涂奎忠，大专，重庆永健生物市场部)

60 年的积淀

国外先进的生产技术及管理经验创造出的产品
用过方知好！



全国独此一家

猪丹毒、多杀性巴氏杆菌病二联灭活疫苗

Combined Swine Erysipelas and
Pasteurella multocida Vaccine, Inactivated

- 丹肺二联采用氢氧化铝胶方便使用，改进工艺后的铝胶佐剂纳米化，因其表面积大，粘附力强，在增加佐剂活性的同时，可提高抗原的靶向传递作用，大大降低免疫副反应，保护期更长；
- 加入最新流行毒株，对当前疫病流行更有针对性。

危害

猪丹毒是由猪丹毒杆菌引起的一种急性、热性传染病。病程多为急性败血型或亚急性的疹块型。主要侵害架子猪。猪丹毒广泛流行于世界各地，对养猪业危害很大。猪巴氏杆菌病是由多杀性巴氏杆菌引起的急性流行性或散发性和继发性传染病。又叫猪肺疫，俗称“锁喉风”或“肿脖子瘟”。急性病例为出血性败血病、咽喉炎和肺炎的病状，慢性病例主要为慢性肺炎症状，散发性发生。

产品优点

- 1、发酵罐培养 (250 亿 /ml)，抗原含量高 (800 亿 /ml)。
- 2、氢氧化铝胶佐剂，易抽取，易注射。
- 3、高度浓缩，3ml 每头份。
- 4、使用前后无需考虑抗生素。
- 5、国内仅此一家二联灭活疫苗。

免疫推荐程序

种猪：每年 3-4 次
商品猪：9-10 周免疫

发病症状



华派生物兽用生物制品质量评价中心 顺利通过CNAS现场监督评审

文图/车世雄

6月22至23日，受中国合格评定国家认可委员会（CNAS）委派，由北京检验检疫科学研究院院长马贵平、中国兽医药品监察所业务处副处长张秀英组成的CNAS评审专家组对华派生物工程集团有限公司兽用生物制品质量评价中心进行了定期监督评审。

在此期间专家组从实验管理体系、运行情况符合性、能力确认等方面对我中心全部要素及已获认可的技术能力进行了全面评审。通过体系文件评审、运行情况核查，评审专家组认为评价中心质量管理体系能够正常运行并持续改进，质量活动处于受控状态。同时专家组采用现场实验、现场演示、现场提问、记录报告查阅、仪器设备配置核查等方式从管理人员、技术人员、设施环境、依据标准、仪器设备、测量溯源及内部校准、质量控制情况等方面现场评审，对中心5个检测对象的32个检测项目全部予以确认。专家组一致认为，我中心高度重视认可标识管理并能正确使用；能从管理和技术方面遵守认可规定，持续加强能力建设，维持CNAS认可资格；授权签字人能认真履行义务，在授权范围内签发报告，保证了检测报告的质量。



CNAS是国家认证认可监督管理委员会批准设立并授权的国家认可机构。华派生物工程集团有限公司兽用生物制品质量评价中心本次通过评审专家组定期监督评审，表明本中心在兽用生物制品检测、动物疫病抗原抗体检测等5大类32个项目41个标准方法上获得认可的检测能力再次得以确认，中心可继续为公司或社会各界提供前述检测服务，可继续在认可的范围内使用CNAS国家实验室认可标志和ILAC国际互认联合标志。

华派生物工程集团有限公司兽用生物制品质量评价中心主要从事兽用生物制品的研发、评价检测以及动物疫病抗原抗体的检测。评价中心由管理部、质检研发部、诊断中心三个部门组成，现有54名工作人员，其中博士4人，硕士29人。评价中心实验楼建筑面积共计6200m²，其中试验场地4400m²，另配套有2949.4m²的实验动物中心，配备有生物安全柜、高速冷冻离心机、超低温冰箱、荧光定量PCR仪、荧光显微镜、二氧化碳培养箱、酶标仪、凝胶成像系统、SPF鸡隔离器、IVC小鼠笼等仪器设备。

在本次现场监督评审末次会议上，华派生物常务副总经理何康林对评审组专家辛勤工作以及所提出的宝贵意见和建议表示衷心的感谢，同时要求中心根据评审意见进一步改进工作方法，提高工作质量。何总表示，集团公司将以此次评审为契机，不断改进完善实验室质量管理体系、提升检测能力，以专业的技术为集团公司、客户和社会提供优质、高效服务，切实落实评价中心“科学安全、公正可信、高效准确”的质量方针。



（作者简介：车世雄，大学本科，华派生物董事长助理兼人事行政中心主任）

缅怀一代伟人 传扬红岩精神

——记中共重庆永健生物技术有限责任公司党支部主题党日活动

文图/永健生物党支部



6月29-30日,为庆祝中国共产党建党98周年,中共重庆永健生物技术有限责任公司支部委员会组织全体党员赴广安邓小平故里、华蓥山开展了“缅怀一代伟人,传扬红岩精神”主题党日活动。

6月29日,全体党员参观了邓小平缅怀馆、邓小平故居陈列馆,一同回顾了小平同志作为一代伟人,以博大的胸怀、实事求是的精神放眼世界,促进改革开放,让中国社会发生翻天覆地变化的艰辛历程。随后,同志们来到邓小平铜像广场,面对党旗,由宣传委员张思旺同志带领全体党员一起重温入党誓词,庄重严肃、铿锵有力地进行了宣誓,并表达了对小平同志的无限怀念和感恩之情。同志们一致表示,一定要继承和发扬邓小平理论的精髓,牢记为人民服务的使命和担当,进而充分发挥共产党员的先锋模范带头作用。



6月30日上午,全体党员来到了华蓥山红色旅游景区,一到景区门口,大家立刻被“双枪老太婆”的巨型雕像吸引,纷纷拿出手机拍照留影。紧接着,大家沿着华蓥山的游击小道,走进游击队员的栖身之处,切身感受革命先烈艰苦奋斗的生存和斗争环境,铭记先烈们不朽的革命精神。



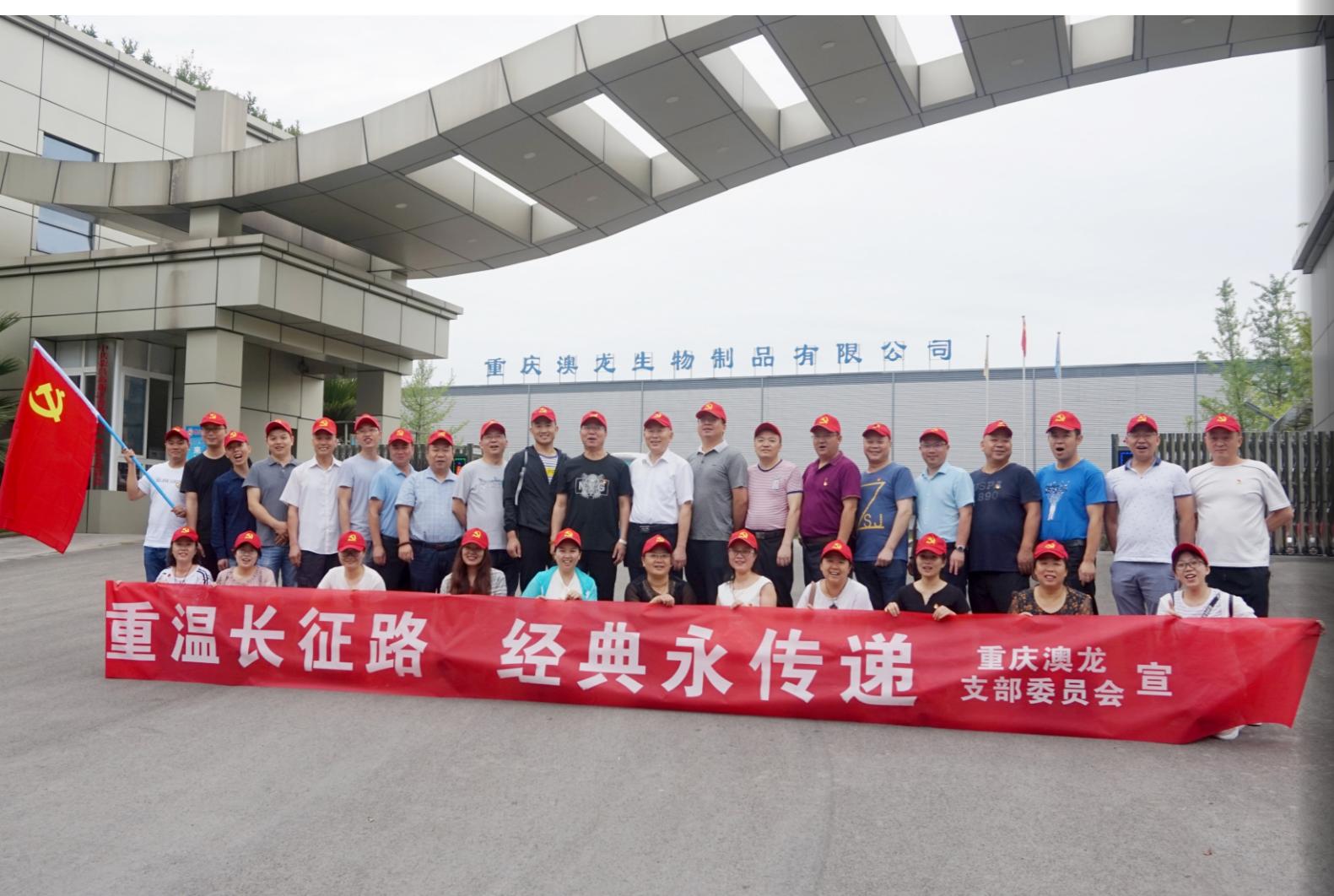
通过本次活动,增强了公司党支部成员之间的凝聚力和战斗力,激励了我们要牢记党的光荣历史,弘扬党的优良传统,从而提高了党员队伍的党性认知。此次主题党日活动对于全体党员来说,使大家接受了一次红色革命的心灵洗礼,使得同志们对党的历史有了更加鲜活、深刻的认识,让我们党支部全体党员的肩头有了更加强烈的责任感和使命感。不忘初心,牢记使命,让我们为实现中华民族伟大复兴的中国梦作出更多的贡献!

重温长征路 经典永传递

——中共重庆澳龙生物党支部开展红色教育主题党日活动

文/刘菲 图/王美贵

为了隆重纪念中国共产党成立98周年，更好地发挥党员先锋模范作用，激励公司党员继承和发扬党的优良传统和作风，动员党外优秀员工靠拢和加入党组织，6月29-30日，公司全体党员、党员发展对象、入党积极分子等共32人，开展了“重温长征路 经典永传递”红色教育主题党日活动。



我们一行先后参观了四渡赤水纪念馆和遵义会址纪念馆。组织支部党员面对党旗，重温入党誓词，回想当年入党宣誓时的庄严承诺和奋斗决心。重走红军长征路，加深我们对党史的认识，体验长征精神带给我们的震撼。



这种内容丰富，形式多样，寓教于乐的革命传统教育活动，不仅增进了大家的团队意识和进取精神，而且增强了团队的凝聚力和战斗力，让我们不忘初心，牢记使命，勇往直前。

长征已成为中华民族前仆后继追求光明与理想的象征，长征精神更是革命先辈为后人留下的最宝贵的精神财富，是中华民族百折不挠、自强不息的民族精神的最高体现，是保证我们革命和建设事业从胜利走向胜利的强大精神力量。艰苦奋斗、勇往直前、团结协作的长征精神应该在我们每个队员的心目中留下深深烙印，每个员工在企业建设和发展中更要去践行和落实长征精神。

本次红色教育主题党日活动返回途中，大家充满收获的喜悦，一致认为，这是一次“红色之旅”、“教育之旅”和“团结之旅”。



（作者简介：刘菲，大专，重庆澳龙生物党支部书记）



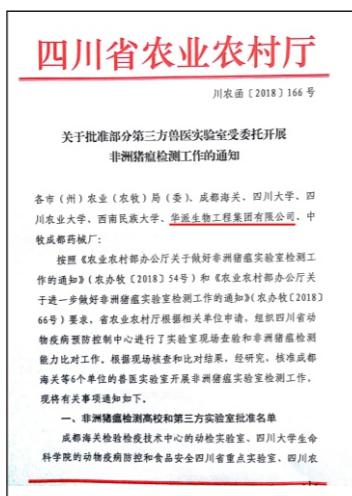
文/向丕元

非瘟无情，华派有爱。

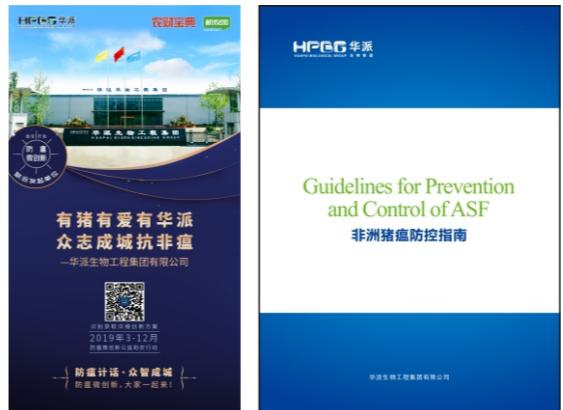
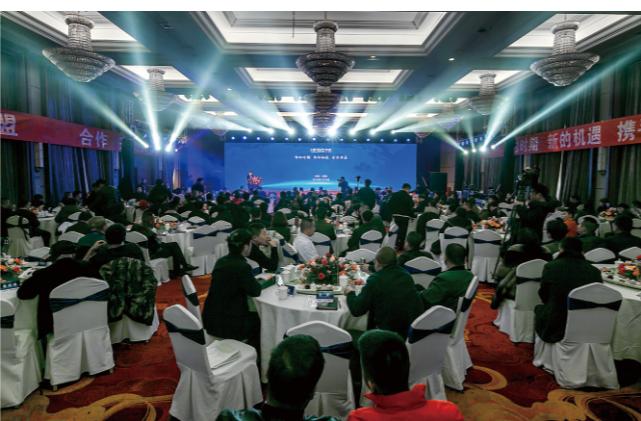
面对非洲猪瘟的灾难性冲击，华派生物作为养猪产业的保护者和服务商，正视现实，主动作为，积极应对，为养猪人出谋划策，在抗击非瘟的战斗中我们一直在行动，一直在努力……

2018年10月22日，华派生物工程集团有限公司专门印发了《防范非洲猪瘟的规定》文件，从自身做起，确保生产环境和产品安全。

2018年12月29日，华派生物兽用生物制品质量评价中心被四川省农业农村厅批准为第三方非洲猪瘟检测资质，为广大养猪企业提供实验室建设和运行的技术支持。



2019年1月15日，华派生物工程集团有限公司在规模化养殖客户创新联盟大会上，特邀行业专家为与会人员宣讲非洲猪瘟防控知识，以开阔视野，提升技术水平。



2019年3月21日，华派生物作为《农财宝典》新牧网“防瘟微创新”公益助农行动的联合发起单位，提出并分享了“做好基础免疫和疫病监测，织密织牢生物安全网”的防控方案，深受养猪人的欢迎与肯定。

2019年4月上旬，华派生物集团董事长谢建勇组织有关行业专家、规模猪场技术人员和公司技术骨干汇编印发了《非洲猪瘟防控指南》一书，为养猪人提供了防控非洲猪瘟可借鉴的参考蓝本。



2019年4月24日，华派生物作为协办单位，组团参加了中国农科院组织召开的“非瘟形势下生猪产业论坛”，技术服务总监李金海博士代表华派生物在大会上分享了“非瘟形势下猪场疫病综合防控措施”的技术讲座，受到了与会专家的充分肯定。



从2019年5月开始，华派生物选派技术专家，陆续推出了“抗击非瘟 健康养殖”系列微课讲座，旨在鼓舞养殖客户战斗士气，传递非瘟防控正能量，传授防控科学方法和实操技术，取得了事半功倍的防控效果，深受广大受众点赞和好评。

不管非瘟疫情的困扰会有多大，不管来自四面八方信息描述的何等严重，也不管行业里充斥着的各种悲观甚至绝望的声音，我们始终坚信这是一场持久战，始终坚信胜者为王乃是今后猪业发展的主旋律!所以，我们养猪人不能坐以待毙!更不能恐慌和焦虑，而要自主创新、积极自救、科学复产。

破“囊”金三角 防“非”保健康



第1种情况：

受到威胁，但周边都处于正常稳定状态的猪场：

- 1、不恐慌，积极面对，防控外来车和卖猪车，控制猪场人员流动。
- 2、每天对猪舍用浓戊二醛或者酸性干粉消毒剂消毒，每天一次，喷湿为原则。
- 3、离猪场一公里设消毒点，彻底消毒。
- 4、每吨饲料、每吨饮水添加：派维特400g+肝康宁500g+热感清500g，每月连续添加15天。



第2种情况：

本场稳定，但已处于疫情包围的猪场

- 1、对猪场门口进行严格消毒并封闭，防止动物进出，开展灭鼠，灭蝇，灭蚊工作。
- 2、减少外界人员，车辆，物品的接触。
- 3、每吨饲料、每吨饮水添加：派维特800g+肝康宁1000g+热感清1000g，直至疫情危险解除！



第3种情况：

处在疫区当中，本场出现不明原因发病及死亡

- 1、第一时间无害化处理发病猪（不要治疗，宁可错杀）。
- 2、停止转群和母猪配种工作，物理隔离繁殖区和育肥区。
- 3、大群无发病症状猪只，每吨饲料、每吨饮水添加：派维特1600g+肝康宁2000g+热感清2000g。
- 4、严密关注猪群发病蔓延情况，如果用药7-10天，仍控制不住发病，死亡率无明显下降，建议放弃治疗。



文图/本刊编辑部

1 永健生物一季度营销工作会议在安徽合肥召开

4月11日，来自全国各省区的永健营销经理们齐聚合肥酷啡酒店，参加永健生物2019年第一季度营销工作总结大会。本次会议以“全力迎战 激扬猪年 精耕细作 规范运营”为主题。公司总经理李来旭以“健康未来”专题分享了行业现状、趋势及对策，并提出了“增销量 夯基础 树品牌”的九字方针，要求大家认清自己，明确发展目标，建立营销核心动力并强化执行力。紧接着，营销总监王志会为大家分享了新时期动保行业的八大方向；三大战区司令分别就各自区域的情况及分管的相关工作进行了总结和部署；市场部就营销工作中存在的问题及具体的要求进行了分析和强调；最后是各个区域就市场情况、下季度目标任务分解、行动措施计划及建议等各抒己见，畅所欲言。



2 第五届中国鹅产业发展联合会在安徽全椒成功召开

4月12-14日，由重庆永健生物参与协办的第五届中国鹅产业发展联合会在安徽省全椒县齐云山庄成功召开。大家就鹅产业中的难点和热点问题进行了充分的讨论与交流，来自全国的养鹅专业合作社、鹅业工作者以及联合会员150余人参加了本次大会。永健生物总经理李来旭在本次大会上就小鹅瘟的防治做了专题报告，李总强调，永健生物专注小鹅瘟的研究超过20年，永健小鹅宝也深受广大养殖户的信任与喜爱，但近年来我们发现小鹅瘟的毒株和毒力均发生了变化，建议广大养殖户除了关注抗体效价外，还需重视病料检测。永健生物已同中国家禽研究所达成了战略合作，为广大养殖企业提供病料检测、毒力测试和菌毒分离培养等，为家禽行业的健康养殖保驾护航。



3 着力打造营销精英团队 永健生物岗前培训圆满结束

5月6日，永健生物营销工作特别会议在公司会议室召开，华派集团董事长、总裁谢建勇亲临现场，对营销人员提出具体要求。永健公司通过公开竞聘，从近20名应聘营销人员中筛选6人加盟永健营销团队，并于6月10-12日在永健生物会议室进行新入职人员岗前培训。公司从企业发展战略、发展历程、企业文化、研发动态、抗体生产工艺、抗体质量标准、重点产品、营销政策等方面对新进人员进行了系统地培训讲解。



4 贵州养殖场客户到访华派生物参观交流

6月11日，来自贵州省养猪场的合作伙伴在省总代理的带领下，一行9人到访华派生物参观交流。华派生物营销副总监张莉向客人们介绍了集团公司总体情况，技术服务总监李金海博士作了声情并茂的专题报告，并进行现场答疑。营销总监李晓军全程陪同并作交流。





联合免疫优势

猪瘟活疫苗（细胞源）

Classical Swine Fever Vaccine, Live (Tissue Culture Origin)
批准文号: 兽药生字(2015)230241004



»» 猪瘟首免 (断奶日龄)

使用澳龙高含量、高纯度猪瘟苗，
有效对抗田间慢性猪瘟带毒现象，
构筑猪场第一道健康防线！

»» 猪瘟二免 (55~60日龄)

使用澳龙猪瘟、猪丹毒、猪多杀性巴
氏杆菌病三联活疫苗，一针防三病，
构筑猪场第二道健康防线！

强强联合 +
构筑猪场健康防线！



纳米稀释效果好

无抗养殖更高效

科学配伍含量高

每头份含猪瘟兔化弱毒≥15000RID；

猪丹毒杆菌GC42弱毒活菌数≥7亿；

猪多杀性巴氏杆菌EO630弱毒菌≥3亿。

--- 一针防三病 经济又省事 ---
澳联康 | 猪瘟、猪丹毒、猪多杀性
巴氏杆菌病三联活疫苗
批准文号: 兽药生字(2014)230241016



重庆澳龙生物制品有限公司

CHONGQING AULEON BIOLOGICALS CO.,LTD.

地址: 重庆市荣昌区昌州街道园区四支路5号

电话: 023-46761801 023-46763211

传真: 023-46761801 邮编: 402460

[Http://www.aolongbt.com](http://www.aolongbt.com)



猪乙型脑炎活疫苗

Swine Epidemic Encephalitis Vaccine, Live

批准文号: 兽药生字(2015)230241080



四季防乙脑
首选澳龙造



- 1、采用猪专用的新克隆毒株，毒力稳定，免疫原性好。
- 2、病毒含量 $\geq 10^{6.5} \text{ TCID}_{50}/\text{头份}$ ，低剂量免疫即可达到理想的免疫效果。
- 3、原代地鼠肾细胞培养，质量可靠，使用安全，大剂量免疫不会造成怀孕母猪流产、不会引起公猪睾丸炎。
- 4、专用稀释液改善机体免疫应答状态，免疫增效。





抢抓国际市场机遇 为企业发展注入新动力

文图/杨帅

为了让动保产品能够顺利进入埃及市场，4月8-10日埃及农业部疫苗实验部官员穆罕默德博士（Dr. Mohamed）、埃及农业部兽医总局官员哈立德博士（Dr. Khalid）、埃及卫生部生物制品检验部加里卜博士（Dr. Gharib）等一行4人到访华派生物工程集团有限公司总部进行验收核准工作。华派生物集团希望通过此次验厂机遇，扩大国际贸易，提升公司国际影响力和竞争力，为企业高质量发展注入新的动力。华派生物常务副总经理何康林、首席专家吉传义博士、生产总监张继东全程陪同。集团董事长兼总裁谢建勇出席验收核准的首次和末次会议并接受简阳电视台记者的采访。



在为期三天的现场验收核准工作中，埃及专家们仔细听取介绍，对照车间结构平面图实地查看核酸疫苗、灭活疫苗和活疫苗生产线，通过对质检研发中心、原辅材料仓库、成品冷藏（冻）库、制水中心、冻干机房等硬件设施设备的考察，对华派生物的车间生产流程和产品质量把控有了全方位了解，并给予了高度评价。



面对简阳电视台记者的采访，埃及农业部疫苗实验部穆罕默德博士异常兴奋地告诉记者：“今天，我们代表团代表埃及政府到华派集团进行疫苗进口生产厂家的现场验收。华派生物是中国一流的动物疫苗生产企业，拥有常规的活疫苗、灭活疫苗以及DNA疫苗生产线，所有这些疫苗都是在规范的GMP车间生产的。特别是我们刚刚查验的具有世界领先水平的核酸疫苗生产线，不管是设备还是生产管理、质量控制，都给我们留下了深刻印象，简直太棒了！”



4月10日上午10:30，本次验收核准工作末次会议在行政楼三楼大会议室进行。会议由华派生物首席专家吉传义博士主持并负责翻译工作。首先，穆罕默德博士对华派生物各方面的设施设备、人员配置以及产品质量把控方面给予了充分肯定，并表示受益匪浅，不虚此行。随后，哈立德博士对存在的缺陷项进行了一一陈述，华派生物参会人员认真聆听并做记录。



会上，华派集团董事长兼总裁谢建勇对此次埃及专家们的到访和辛勤付出表示衷心感谢，承诺在最短的时间内对埃及专家指出的缺陷项进行修正和完善，并希望埃及政府部门官员及专家经常到华派生物指导工作。

“这次埃及农业部和卫生部组织专家到我公司进行实地的考察及验收，助推公司的生物疫苗和动物药品出口到埃及以及埃及周边国家，对进一步提高华派的品牌建设和产品质量起到了十分重要的推进作用，极大地提升了我们在中东国家的市场声誉和影响力，乃至在世界动保市场上的知名度。”谢董事长向记者表示。

谢董事长强调，“华派生物将在动保行业持续发力，针对国际市场要求，不断合理加大科研投入，优化生产结构，提升产品质量，生产出更多优质、安全、高效的动保产品。下一步将按照埃及专家组所提出的要求，严格把控产品质量，针对中东市场，我们将开发适用于中东市场的一些产品，做好我们的动物疫苗，为人类的健康和全球动物防疫体系的健康持续发展做出我们应有的贡献。”

此次华派生物接受埃及农业部及卫生部专家组的到厂验收，为企业在新的转型升级期，提供了进一步拓宽国际市场的大好机遇。



(作者简介：杨帅，硕士，《华派生物》执行主编）



猪丁型冠状病毒S1基因的原核表达

文|陈奕帆 贺大芳 邱文英 王德 邹瑶

摘要: 本研究以构建猪丁型冠状病毒 (PDCoV) S1基因原核表达载体为目的。采用RT-PCR从PDCoV临床分离毒株SCMS中扩增出S1基因，并将其插入到pET28a(+)表达载体中，构建重组质粒pET28a-S1。pET28a-S1经酶切、测序鉴定正确后，转入 $E. coli$ BL21(DE3)中，利用IPTG进行诱导表达。经SDS-PAGE电泳分析证实PDCoV的S1基因获得了表达，且最佳表达条件为19℃、IPTG终浓度1.2mmol/L、诱导表达12小时。以上研究结果为建立PDCoV间接ELISA检测方法奠定了基础。

关键词: 猪丁型冠状病毒；S1基因；原核表达；最佳诱导表达条件

猪丁型冠状病毒 (porcine deltaconoravirus, PDCoV) 是近年发现的一种新型猪肠道病病原，主要感染猪的小肠，尤其是空肠和回肠部位，能引起严重的萎缩性肠炎^[1]。PDCoV与猪流行性腹泻病毒、猪传染性胃肠炎病毒同属冠状病毒，临床发病症状相似，主要为呕吐、水样腹泻和脱水，对于PDCoV的鉴别诊断需要借助实验室手段。PDCoV引起仔猪的死亡率约为30%~40%^[2]。

PDCoV属于套式病毒目冠状病毒科冠状病毒属，病毒粒子呈球形或椭圆形等多形性，囊膜上有冠状棘突，除棘突外，病毒颗粒直径约为80~160nm^[2]。该病毒基因组为单股正链RNA，全长约25.4kb，是目前已知冠状病毒中基因组最小的^[3]。基因组构成和排列顺序为5'UTR-ORF1a-ORF1b-S-E-M-N-3'UTR^[4]。

PDCoV S蛋白是该病毒的纤突蛋白，主要参与病毒与宿主细胞的吸附和融合，同时也是诱导宿主产生中和抗体的主要抗原分子^[5]。在病毒成熟过程中，S蛋白被蛋白酶切割成S1和S2。S1区域影响病毒与宿主细胞的识别与结合，也包含了病毒主要的中和表位，而S2区域主要作用是影响病毒与细胞的融合。本研究利用原核表达系统构建了表达PDCoV SCMS株S1蛋白的重组菌pET28a-S1/BL21。

1 材料和方法

1.1 载体和菌株

表达载体pET28a(+)、 $E. coli$ DH5 α 和 $E. coli$ BL21(DE3)由华派生物质检研发中心保存。

1.2 毒株、细胞和阳性血清

PDCoV SCMS毒株由华派生物质检研发中心分离、鉴定及保存；ST细胞由华派生物质检研发中心保存；PDCoV阳性猪血清由华派生物质检研发中心制备及保存。

1.3 主要试剂

T4 DNA Ligase和限制性内切酶BamHI、Xhol购自TaKaRa公司；质粒小提试剂盒、通用型DNA纯化回收试剂盒、病毒基因组DNA/RNA提取试剂盒均购自天根生化科技有限公司。

1.4 PDCoV病毒液的制备

将保存的第25代PDCoV SCMS株细胞毒按照5%接毒量接种于ST单层细胞，37℃培养，当细胞病变率达到80%时，将病毒液反复冻融三次，收获病毒液。

1.5 引物的设计与合成

根据PDCoV SCMS毒株S1基因序列及GenBank中公布的PDCoV CHN-HG-2017株序列 (GenBank登录号MF095123) 设计一对特异性引物，并分别在上、下游引物中加入BamHI和Xhol酶切位点。引物由上海英潍捷基有限公司合成，序列见表1。

表1 引物序列

| 名称 | 序列 (5'-3') | 酶切位点 |
|-----|--------------------------------|-------|
| S1F | CGCGGATCCATGCAGAGAGCTCTATTGATT | BamHI |
| S1R | GGCCTCGAGAAAGAGAAAATGCAGATGGT | Xhol |

1.6 PDCoV总RNA的提取及S1基因的RT-PCR扩增

取200 μ l病毒液，参照试剂盒说明书用病毒基因组DNA/RNA提取试剂盒进行总RNA的提取。采用PrimeScript RT reagent Kit合成病毒cDNA，以cDNA为模板扩增S1基因片段。PCR扩增体系为：反转录产物 (cDNA) 1 μ l，2 \times Taq PCR Master Mix 12.5 μ l，上下游引物各1 μ l，ddH₂O 9.5 μ l。反应程序为：95℃，5min；95℃，45s；56℃，30s；72℃，2.5min；30个循环；72℃，10min。反应结束后，对PCR产物进行核酸电泳鉴定。

1.7 重组质粒pET28a-S1的构建与鉴定

S1基因片段和pET28a(+)载体用限制性内切酶BamHI、Xhol酶切处理后，用T4 DNA Ligase将S1基因片段连接至pET28a(+)载体。将连接产物转化 $E. coli$ DH5 α ，转化后菌液涂布在LB(含有50 μ g/ml卡那霉素)固体培养基上，37℃培养过夜。挑取单菌落接种于LB(含有50 μ g/ml卡那霉素)液体培养基，37℃振荡培养过夜，用S1F/S1R引物进行菌液PCR初步鉴定。初步鉴定正确后，采用质粒小提试剂盒提取质粒，进一步用限制性内切酶BamHI、Xhol对重组质粒进行双酶切和测序鉴定，阳性质粒命名为pET28a-S1。

1.8 重组菌pET28a-S1/BL21的获得

将鉴定正确的重组质粒pET28a-S1转化至 $E. coli$ BL21(DE3)，然后将转化后菌液涂布在LB(Kan+)固体培养基上，37℃培养过夜。

1.9 S1 重组蛋白的诱导表达及鉴定

挑取LB(Kan+)固体培养基上单菌落，接种于1ml LB(Kan+)液体培养基，37℃振荡培养5小时，将培养的菌液按1:100的比例加入到100ml的LB(Kan+)液体培养基中，待其OD_{600nm}达到0.6~0.8的范围时，加入IPTG溶液，使其终浓度为1.0mmol/L，在37℃诱导，同时设置空载体诱导表达对照组。将诱导表达后的菌液进行4℃，

5000r/min离心10min，离心结束后弃去上清液，加入50ml的PBS洗涤菌体，重复一次洗涤过程，加入20ml的PBS重悬菌体。重悬后的菌液在冰浴条件下进行超声破碎，功率为20%，工作4s，间歇8s，破碎15min。取破碎后样品进行SDS-PAGE电泳，分析目的蛋白表达情况。以PDCoV阳性猪血清为一抗，HRP标记的羊抗兔IgG为二抗，对重组蛋白进行Western-blot鉴定。

1.10 S1蛋白可溶性鉴定

诱导表达后的pET28a-S1/BL21菌液经超声破碎处理，取破碎后样品1ml，在4℃条件下，12000r/min离心30min，分离上清和沉淀，沉淀用相同体积的PBS溶液重悬，取上清和沉淀分别进行SDS-PAGE电泳分析。

1.11 S1蛋白表达条件优化

1.11.1 不同诱导时间目的蛋白的表达

当培养的pET28a-S1/BL21菌液OD_{600nm}达到0.8时，加入IPTG，使IPTG终浓度达到1.0mmol/L，在37℃条件下分别诱导表达6小时、12小时。诱导表达后的菌液经超声破碎，进行SDS-PAGE电泳分析。

1.11.2 不同诱导剂浓度下目的蛋白的表达

当菌液OD_{600nm}达到0.8时，加入诱导剂IPTG至终浓度分别为0.2mmol/L、0.5mmol/L、1.0mmol/L、1.2mmol/L、1.5mmol/L后，在37℃条件下以最佳诱导时间诱导表达。诱导表达后的菌液经超声破碎，进行SDS-PAGE电泳分析。

1.11.3 不同诱导温度下目的蛋白的表达

当菌液OD_{600nm}达到0.8时，分别在19℃、37℃条件下，以上述选择的最佳诱导时间和IPTG浓度诱导表达。诱导表达后的菌液经超声破碎处理，进行SDS-PAGE电泳分析。

2 结果

2.1 S1基因的扩增

利用RT-PCR方法扩增出PDCoV SCMS的S1基因，PCR产物经1%的琼脂糖凝胶电泳分析与预期大小一致，约为1.7kb（图1）。



图1 S1基因RT-PCR扩增结果

1: S1基因扩增产物；2: DL2000 DNA Marker；3: 阴性对照

2.2 重组质粒pET28a-S1鉴定

挑取6个单菌落摇菌培养，将其依次命名为1号菌液、2号菌液、…、6号菌液。利用菌液PCR初步鉴定，结果显示均得到一条与目的片段S1基因大小一致的电泳条带（图2）。采用质粒小提试剂盒提取3号质粒，进一步用限制性内切酶BamHI、Xhol对质粒进行双酶切鉴定，琼脂糖凝胶电泳结果显示有两条电泳条带，大小约为1.7kb、5.3kb，与预期相符（图3）。将3号质粒送生物公司测序，测序结果与PDCoV SCMS毒株的S1基因碱基序列一致，证明3号是阳性质粒pET28a-S1。

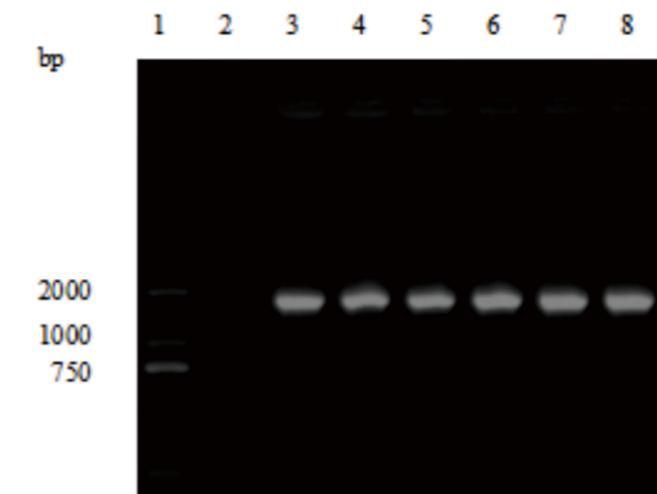


图2 菌液PCR鉴定结果

1: DL2000 DNA Marker；2: 阴性对照；3~8: 1~6号菌液

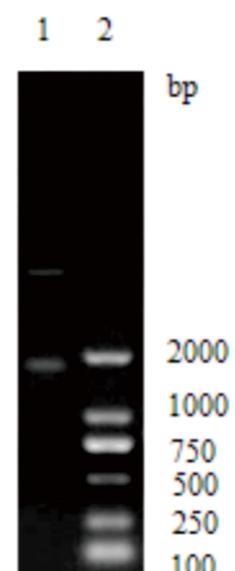


图3 重组质粒酶切鉴定结果

1: BamHI和Xhol酶切质粒；2: DL2000 DNA Marker

2.3 重组菌种的诱导表达和鉴定

诱导pET28a-S1/BL21表达后,超声破碎重组表达菌,经SDS-PAGE电泳,考马斯亮蓝染色后可明显观察到pET28a-S1/BL21表达了与预期大小相符的蛋白(图4)。Western-blot结果证实该蛋白可与抗PDCoV阳性血清发生特异性反应,该蛋白是S1蛋白(图5)。

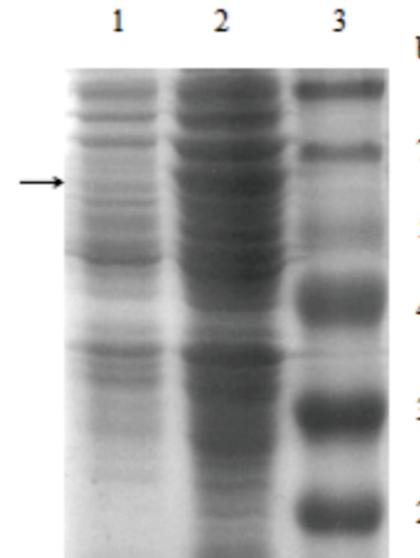


图4 重组菌种的表达结果

1: 空载体对照; 2: pET28a-S1/BL21诱导表达; 3: 蛋白标准分子量

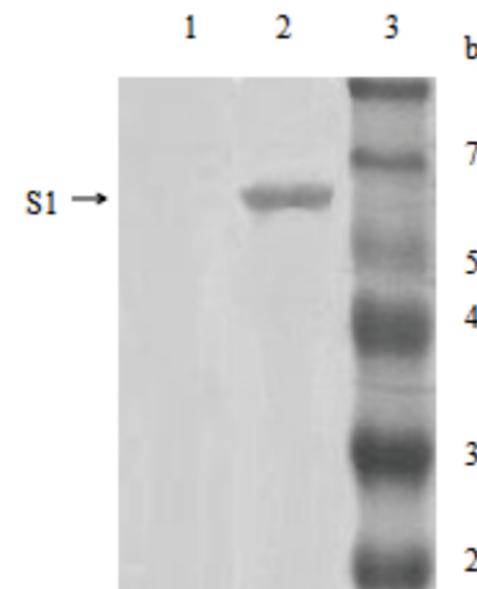


图5 Western-blot结果

1: 空载体对照; 2: pET28a-S1/BL21诱导表达; 3: 蛋白标准分子量

2.4 S1蛋白可溶性鉴定

分离超声破碎后的菌液上清和沉淀,分别进行SDS-PAGE电泳分析,结果表明目的蛋白主要以包涵体形式进行表达(图6)。

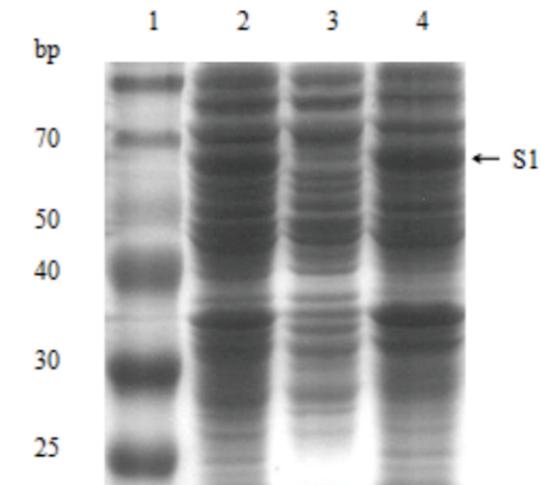


图6 S1蛋白可溶性鉴定结果

1: 蛋白标准分子量; 2: 超声破碎后全菌; 3: 上清; 4: 沉淀

2.5 S1蛋白表达条件优化

2.5.1 不同诱导时间目的蛋白的表达

SDS-PAGE分析结果显示,诱导表达12小时的目的蛋白表达量要高于6小时(图7)。

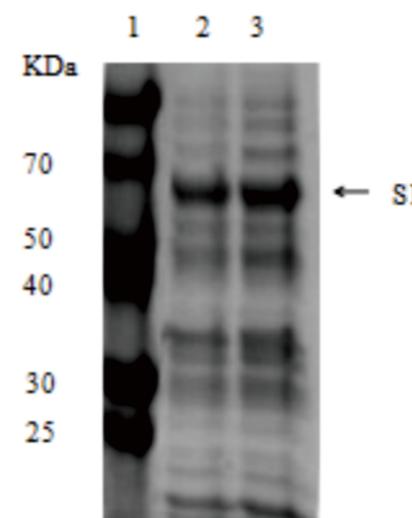


图7 不同诱导时间目的蛋白的表达结果

1: 蛋白标准分子量; 2: pET28a-S1/BL21诱导表达6小时; 3: pET28a-S1/BL21诱导表达12小时

2.5.2不同诱导剂浓度下目的蛋白的表达

以37℃为诱导温度, 不同浓度的IPTG分别诱导12小时, 5组不同浓度IPTG诱导后均有目的蛋白表达, 除1.5mmol/L外, 在0.2mmol/L-1.2mmol/L的浓度范围内, PDCoV S1蛋白的表达量随着IPTG浓度增大而增高(图8)。诱导PDCoV S1蛋白表达的IPTG最佳浓度为1.2mmol/L。

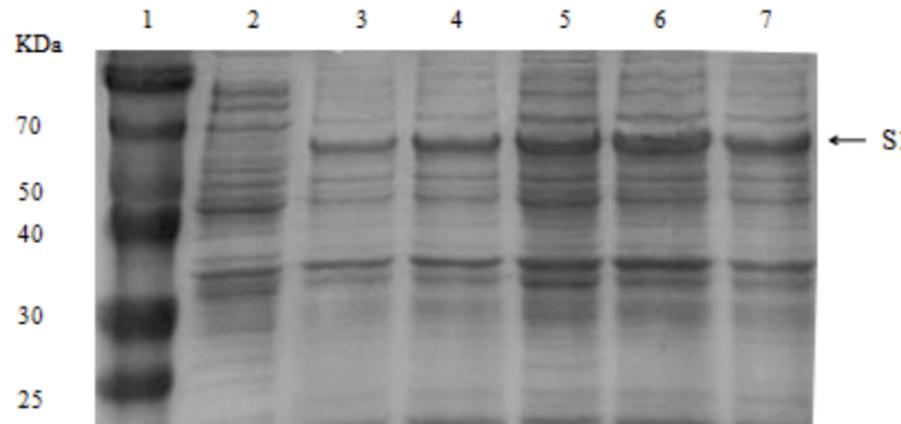


图8 不同诱导剂浓度下目的蛋白的表达结果

1: 蛋白标准分子量; 2: 空载体对照; 3: 0.2 mmol/L IPTG;
4: 0.5 mmol/L IPTG; 5: 1.0 mmol/L IPTG; 6: 1.2 mmol/L IPTG; 7: 1.5 mmol/L IPTG

2.5.3不同诱导温度下目的蛋白的表达

在最佳IPTG浓度和最佳诱导时间下, 分别以19℃、37℃诱导目的蛋白表达, SDS-PAGE结果显示在19℃条件下目的蛋白表达量更多(图9)。

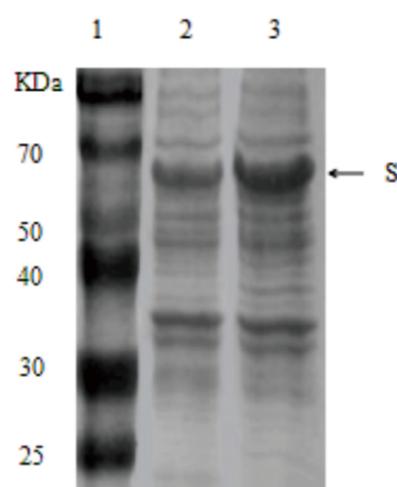


图9 不同诱导温度下目的蛋白的表达结果

1: 蛋白标准分子量; 2: 37℃诱导表达; 3: 19℃诱导表达



3 结论及讨论

国内的一些流行病学调查结果显示PDCoV在中国大陆的流行已较为普遍, 检测率高达30%, 对养猪业的威胁不容忽视^{[6][7][8]}。在流行病学调查时发现, PDCoV与其它猪肠道病病原混合感染的现象也较为常见。Marthaler等检测了293个样品, PDCoV的检出率为30% (89/293), 与轮状病毒的混合感染率高达58% (52/89)^[9]。吴美洲等人对我国三个省10个猪场的64份样品进行了检测, PDCoV的检测率为23.4%, 与PEDV混合感染率为6.4%^[10]。PDCoV作为一种新型病原, 由于其对养猪业的危害较大, 人们越来越重视对PDCoV的研究。

S蛋白位于PDCoV表面, 是重要的结构蛋白, 抗原位点及变异区主要存在于S1区域, 能诱导机体产生相应的中和抗体。大肠杆菌表达系统是目前应用最广泛的外源蛋白表达系统, 具有遗传背景清楚、培养操作简单、生长繁殖快、成本低廉、表达量高等优点^[11]。本研究构建了pET28a-S1重组质粒, 并转化至 *E. coli* BL21 (DE3) 中, 经IPTG诱导表达后, 成功表达出以包涵体的形式存在的PDCoV S1蛋白, 为建立PDCoV间接ELISA检测方法奠定了基础。

参考文献

(略)

(作者简介: 陈奕帆, 大学本科, 华派生物研究院猪病毒性腹泻项目组)

中国第一个兽用抗体国家标准的制订者

中国第一个兽用抗体新兽药证书拥有者

中国第一家精制蛋黄抗体GMP通过企业

最早拥有精抗工业化生产技术的知识产权

永健生物 · 抗体专家

助推中国家禽业健康发展二十年

中国精制蛋黄抗体工业化生产的开创者

在研、注册中产品

- 重组 α -干扰素
- 番鸭细小病毒精制蛋黄抗体
- 新流法、新流法腺精制蛋黄抗体
- 鸭鹅肝脾坏死综合症精制蛋黄抗体
- 鸭鹅浆膜炎、大肠杆菌二联精制蛋黄抗体
-

重庆永健生物技术有限责任公司
HEALTH-FOREVER BIOTECH CO., LTD CHONGQING

销售热线 023-46751888 46786069

猪传染性胃肠炎病毒 (SCJY-1株) 微载体悬浮培养工艺研究

文 | 吕亮

摘要: 通过优化细胞罐培养条件, 细胞接种密度, 微载体浓度, 病毒接种比例及病毒收获时间, 用微载体悬浮培养ST细胞来增殖猪传染性胃肠炎病毒 (TGEV, SCJY-1株), 以获得高效价的病毒滴度。细胞密度以 6.0×10^5 个/mL接种5g/L的微载体, 培养24h进行补液, 培养48小时换液, 按1%培养体积接种TGEV低代次种毒, 并于接毒后2小时进行流加维持液, 18h进行收毒, 可获得最佳增殖效果。在7L反应器中进行9批培养试验, 其稳定性和重复性比较好, TGEV的增殖效价均不低于 $10^{7.2}$ TCID₅₀/mL。

关键词: ST细胞; 微载体; 悬浮培养; 猪传染性胃肠炎病毒

猪传染性胃肠炎(transmissible gastroenteritis of swine, TGE)是由猪传染性胃肠炎病毒 (TGEV) 引起猪的一种高度接触性肠道疾病, 可导致仔猪发生严重的呕吐、腹泻与脱水, 死亡率可达100%。OIE将其列为B类动物疫病。TGE病毒属于冠状病毒科冠状病毒属。电镜负染观察, TGE病毒粒子呈圆形、椭圆形或多边形。病毒直径为90–200nm。核酸为单股RNA, 分子量为 6.8×10^6 Da。我国已成功研制出猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻二联灭活疫苗、活疫苗, 以及正研制的三联苗等, 因而提高病毒效价是疫苗生产中非常重要的一个环节。

目前国内使用ST细胞制备猪传染性胃肠炎病毒大部分采用转瓶技术, 这些技术在规模化生产细胞和病毒时人员配备多、劳动强度高、批间质量差别较大, 难于进行标准化生产的质量控制。而应用生物反应器系统和微载体培养ST细胞繁殖TGEV具有批间差异小, 均一性好, 病毒效价更高, 细胞产量更高, 便于检测、控制和取样, 生产规模容易放大, 不易染菌等优点。细胞悬浮培养技术是当前国际上生物制品生产的大趋势, 利用生物反应器微载体悬浮培养ST细胞增殖TGEV技术优于传统的转瓶培养技术, 更为我国猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻二联疫苗的制备提供品质保障。本试验确定并探讨TGEV在ST细胞微载体Cytodex 1上的悬浮培养工艺, 为进一步放大培养提供试验数据与重要参数。

1 材料与方法

- 1.1 细胞 ST细胞为华派生物工程集团有限公司质检研发中心保藏细胞株, 再由车间繁殖并冻存。
- 1.2 毒株 TGEV (SCJY-1株) 为华派生物工程集团有限公司质检研发中心保藏毒种。

1.3 试剂 细胞培养基MEM购自GIBCO公司，新生牛血清购自金源康生物科技公司，胰蛋白酶购自Invitrogen公司，用无Ca²⁺、Mg²⁺离子的磷酸盐缓冲液、及0.02% EDTA配制0.2%浓度的胰蛋白酶溶液，调整pH值至7.2~7.4，经0.22μm液体过滤膜过滤除菌，4℃冷藏备用。

1.4 微载体Cytodex 1 购自GE公司。用无Ca²⁺、Mg²⁺离子的磷酸盐缓冲液室温浸泡至少3 h后洗涤3次，加入微载体体积2/3的磷酸盐缓冲液经121℃高压蒸汽灭菌40min，冷却后储于4℃密封待用。使用前一天用无血清MEM液洗涤2~3次，加入含2%血清的MEM浸泡过夜，做好无菌验证。

1.5 反应器处理、组装以及各种气体的需求 将反应器玻璃罐置通风处，取少量的硅化液加入到玻璃罐中，润湿所有可能接触到微载体的容器表面，将多余的硅化液从器皿中倒出，30分钟后，用95%的乙醇洗涤3次，然后将其晾干，用注射用水彻底地冲洗。罐子的组装应遵循合理，方便及良好的气密性，搅拌桨的调整应保证转数低，进气管道应有良好的分散性。氧气、二氧化碳、压缩空气管道安装，应使用专用气管进行组装，避免漏气、爆管。

1.6 生物反应器细胞培养 连续5个批次用4.5~5×10⁵/mL浓度的ST细胞接种于齐志7L生物反应器中进行微载体培养。培养体积为5L，控制pH在7.2，温度为37℃，溶氧(DO)值设为40%，搅拌速度为40r/min。每天取样检测细胞数量。

1.7 细胞密度的测定 均匀吸取微载体培养样品，自然沉淀后去除上清，经结晶紫溶液于37℃染色60min后获得游离细胞核，用细胞计数板进行染色核的计数。

1.8 病毒增殖与收获

1.8.1 病毒接种 连续4罐使用不同接毒比例(1%和0.1%)。倒置显微镜下观察，细胞在微载体上已长成致密单层时，弃去营养液。将5mL病毒液加入3L微载体细胞悬液中，混匀后，缓慢升温2小时后，然后流加维持液至终体积为5L，设置温度为35℃，搅拌速度为40 r/min。

1.8.2 收毒 镜下观察，微载体上细胞出现病变，圆缩并有少量脱落，溶液中可见少量游离的细胞，病变细胞达60%时收毒。收集抗原液，并反复冻融三次。

1.9 病毒含量测定 将不同时间段收获的病毒液用无血清MEM细胞培养液作10倍系列稀释，取10⁻⁵、10⁻⁶、10⁻⁷、10⁻⁸ 4个稀释度，分别接种至已长成良好单层、弃去细胞培养液的96孔ST细胞培养板中，每个稀释度接种8孔，每孔0.2mL，同时设阴性对照组及阳性对照孔0.2mL。置37℃、5% CO₂培养箱中培养，逐日观察接毒后细胞与空白对照细胞形态，连续观察3~4d，记录细胞病变孔数。按Reed-Muench法计算TCID₅₀。

2 试验方式与结果

2.1 相同的细胞接种浓度对ST细胞在Cytodex 1上生长的结果

分别用4.5~5×10⁵/mL的细胞浓度接种7L生物反应器，观察发现，在接种8h后，95%细胞贴附上微载体，并开始伸展；24h后细胞生长速度加快。随着细胞增殖速度增加，营养物质的消耗也随之增加，在培养48h进行换液，以便维持良好的细胞形态及细胞增长速率。培养至72h细胞密度达3×10⁷/mL。

2.2 ST细胞在微载体Cytodex 1上增殖TGEV

2.2.1 根据已优化的培养工艺，在7L反应器中完成了ST细胞微载体悬浮培养及TGEV增殖的全过程。ST细胞在微载体上持续培养及接毒后16h、18h的形态如图1所示。

2.2.2 ST细胞以1mL 5×10⁵个的初始密度接种于7L生物反应器中，细胞在微球表面均匀生长，培养24h补液，48h通过换液操作获得较高的生长速率，表现在其耗碱量和耗氧量持续增加，说明细胞生长代谢旺盛。培养至72h细胞在微载体上生长致密，即开始按1%和1%培养体积接入TGEV进行增殖，接毒后15小时获得的病毒效价最高达到10^{7.2}TCID₅₀/mL，18h获得的病毒效价最高达到10^{7.57}TCID₅₀/mL。对上述工艺共进行9批培养验证，其中有4个批次为不同接毒比例，在7L反应器中可获得稳定的细胞生长及病毒增殖效果(表1)，病毒滴度稳定在10^{7.2}~10^{7.57}TCID₅₀/mL左右，比转瓶生产效价要高。

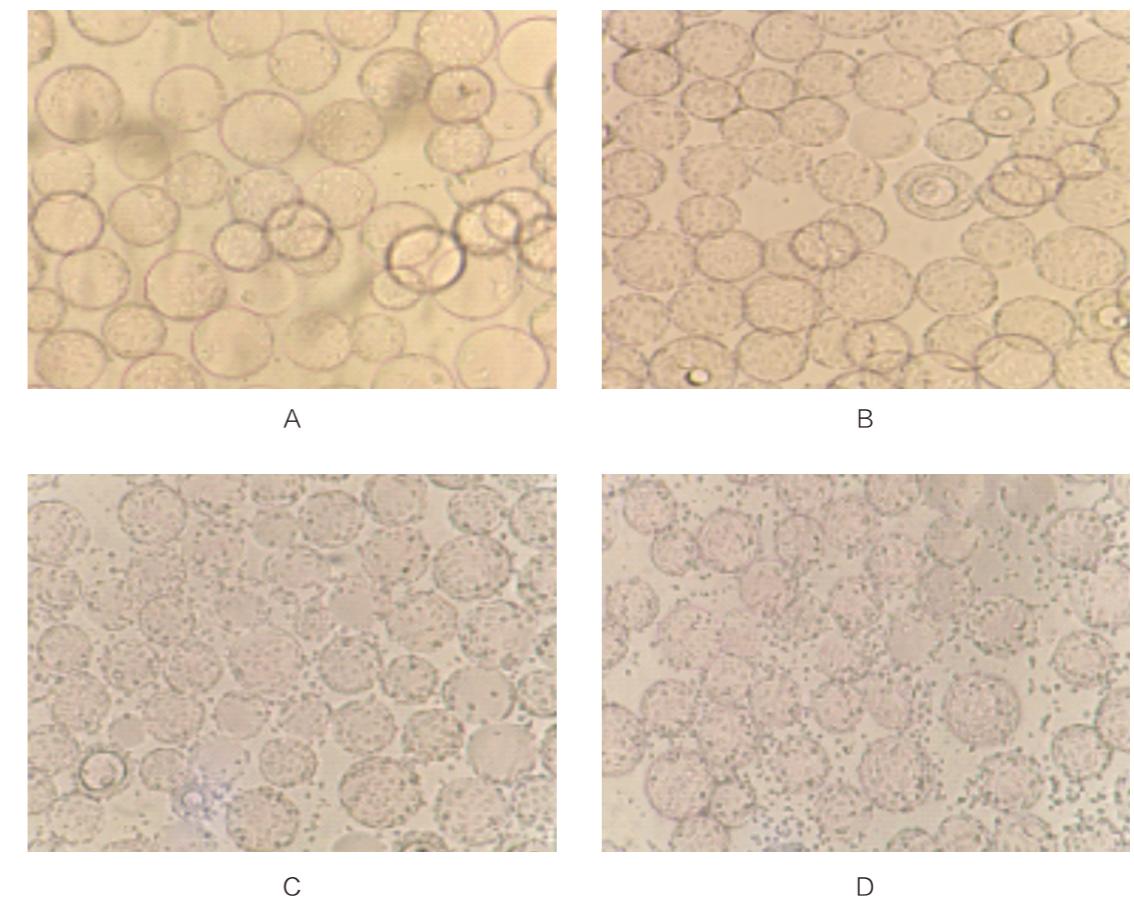


图1 7L生物反应器中ST细胞微载体悬浮培养及TGEV增殖形态

A: ST细胞培养24h; B: ST细胞培养48h; C: ST细胞接毒后16 h; D: ST细胞接毒后18h。

表1 7L生物反应器中不同批次ST细胞但接种密度相同及TGEV增殖结果

| 批次 | 接毒时细胞密度 (×10 ⁷ /mL) | TGEV滴度(接毒后18h) (TCID ₅₀ /mL) |
|----|-----------------------------------|--|
| 04 | 3.1 | 10 ^{7.2} |
| 05 | 3.2 | 10 ^{7.3} |
| 06 | 3.2 | 10 ^{7.5} |
| 07 | 3.2 | 10 ^{7.57} |
| 08 | 3.4 | 10 ^{7.4} |

2.3 TGEV接毒比例和收获时间的确定,如表2所示

不同的接种比例对TGEV增殖效价的影响结果如表2所示。过高或过低的接种比例都会使TGEV增殖时间不同,恰当的接毒比例可以使病变时间延长,得到最佳的收获时间。接毒比例为0.1%时可以获得最高效价的TGEV,达到 $10^{7.57}$ TCID₅₀/mL。此外各批次试验结果均显示,接毒后18h的病毒效价均高于接毒后15h的病毒效价,说明病毒接种后18h可以作为病毒的最佳收获时间。1%接毒,时间太短,收获过程不容易控制,病毒自溶快,病毒含量不易维持高的状态。

表2 不同接种比例对TGEV增殖效价的影响

| 接种比例 | 体积 | TGEV效价 (TCID ₅₀ /mL) | |
|------|----|---------------------------------|-------------|
| | | 接种后15h | 接种后18h |
| 1% | 5L | $10^{7.2}$ | $10^{7.0}$ |
| 1% | 5L | $10^{7.3}$ | $10^{7.1}$ |
| 1% | 5L | $10^{7.1}$ | $10^{7.4}$ |
| 1% | 5L | $10^{7.0}$ | $10^{7.57}$ |

3 结果与讨论

在培养的细胞数量上,ST细胞与微载体的接触及黏附效果取决于搅拌速率、细胞密度及微载体浓度,气体进入的控制量,及细胞的整个状态好坏,这些方面控制好,都可以达到较好的培养效果。本试验中,ST细胞初始密度1mL 5×10^5 个细胞在5g/L的Cytodex 1微载体上可获得比较均一的细胞分布,细胞贴壁充分,并预留了一定的生长空间,细胞增殖密度和细胞存活率均获得很好的水平。关键是ST细胞在整个悬浮培养中注意营养的供给,并保证细胞的贴附能力,并且细胞培养至24小时补液,至48h进行换液可以去除代谢副产物的积累,防止细胞脱落,有利于细胞生长更加致密,是最佳的悬浮培养换液方式。本试验还表明接毒量的多少容易关系着收获时间更易掌控。

本试验主要目的是对应用7L生物反应器培养ST细胞增殖TGEV在既定参数下的病毒效价情况进行比较和优化,最终确定参数分别为:以 5×10^5 cells/mL以上细胞密度接种、5g/L的微载体浓度、24小时补液、培养48h进行换液、以1%培养体积接毒、达到细胞数后再接毒,18h左右进行收毒的培养工艺。本试验利用生物反应器和微载体培养ST细胞生产TGEV,为后续生产制备TGEV的工艺放大疫苗提供了参考依据和参数,具有很大的应用价值和潜力。

参考文献

(略)

(作者简介: 吕亮, 大学本科, 华派生物三车间副主任)





鸡鼻炎三价灭活疫苗工艺浅谈

文|肖志强 黄骄 张洪

鸡传染性鼻炎是由副鸡杆菌引起的急性呼吸道传染病，是一种危害鸡、火鸡和山鸡等家禽和野禽的接触性传染病，可使育成鸡生长发育不良和产蛋鸡产蛋明显下降。该病在世界许多地方都有发生和流行，发病率和死亡率通常在10~30%，多发生于寒冷潮湿的季节。一旦某地区的鸡群发生鸡鼻炎副鸡嗜血杆菌感染，该病就会成为地方性疾病，很难彻底根除，并且经常反复爆发该病，因此给养鸡业造成很大经济损失。

副鸡杆菌含有很多株型，根据的Apg血清学分型可将其分为A、B、C三个型。在国内分离出A型菌株的报道最多，其次是C型和B型。三价的灭活疫苗对鸡传染性鼻炎具有更稳定和更广谱的预防作用，因此该疫苗是养殖户预防此病的首选。由于副鸡杆菌在宿主体外不易培养和存活，其大规模生产较难，也更需要对该工艺质量严格把控，层层把关。针对该情况，本文将对生产工艺中质量关键控制点及优化进行阐述，并为生产出安全、高效、稳定的优质疫苗奠定良好基础。

1 培养基选择

副鸡杆菌的生长条件较为苛刻，在普通的培养基上难以生长。目前培养副鸡杆菌生长的培养基主要有鸡血清肉汤培养基、半合成培养基和胰蛋白胨大豆肉汤培养基等，市场上也有副嗜血杆菌成品培养基。在大规模生产

工艺中，成本和培养效果无疑是培养基选择的重要因素。鸡血清鸡肉汤培养基的培养效果是较好的，但其配方中的酵母液、鸡肉汤制备方法复杂繁琐、成本较高且品控不易把握。而半合成培养基效果次于前者，但其培养效果不错且配置简便。因此利用鸡血清鸡肉汤培养基制备种子，而将半合成培养基用于罐体高密度发酵。这样通过鸡血清鸡肉汤培养基对种子优化，可以使后期发酵的质量得以保证。

同样鸡血清和辅酶I也是培养副鸡杆菌不可或缺的重要成分。目前发现培养基中的鸡血清和辅酶I用量越足，副鸡杆菌的长势越好。但两者成本依然较高，因此种子培养基含10%的鸡血清和0.005% NAD，而上罐培养基中血清和辅酶I分别采用5%和0.002%的用量。

2 菌种质量控制

副鸡杆菌非常脆弱，尤其是在宿主体外培养的副鸡杆菌，4℃最多保存几天，室温下保存1~2天，37℃不超过1天。种毒在冻干制备过程中也易衰亡，因此采用平皿划线法对复苏的冻干菌种进行优化是十分必要的。挑选在平皿上新长出的典型菌落用于下一级种子传代，菌落直径大小约0.5mm左右为宜。平皿菌落可保存至2~8℃，不宜超过三天。而种子在传代过程中尽量迅速接种传代，低温或常温放置均容易衰亡。

另外在种子液体培养基传代过程中，为保证菌种的活力，可通过测生长曲线和对应的菌液吸光值，找准菌液浓度增长最快的时候进行接种。然而该菌在指数生长期的时间很短，需要细心把控。

3 发酵控制

3.1 接种量

接种量是影响细菌发酵的重要因素，增大接种量可以明显缩短种子液对培养基的适应过程，从而较快进入对数生长期，缩短延滞期。但增加接种比例也有一定范围，接种量过大时，会过度消耗培养基中的营养成分，同时产生大量的抑制细菌继续增长的代谢产物。同时，较大的接种量也意味着制备种子的工作量的加大。我们通过实验发现，副鸡杆菌的培养采用1%的接种比例可提高活菌平台期活菌数目。

3.2 溶氧

副鸡杆菌属于兼性厌氧菌，在固体培养基培养时一般需要厌氧环境或5~10%的CO₂，液体培养时无须厌氧或CO₂环境，但需振荡培养。但不同血清型的副鸡杆菌震荡和需氧的条件有一定差异。A型在培养时，可静止培养，而B型和C型静止生长极其缓慢。在副鸡杆菌A、B、C型发酵罐通空气培养时，溶氧量和搅拌速度开得越大，其生长的速度越快，但其平台期的活菌浓度并未有很大提高。

3.3 pH

副鸡杆菌培养的最适pH在6.9~7.6之间。但发酵后期随着代谢产物以及次级代谢产物的增多，pH可能降至6.5左右，会影响细菌的生长。当培养环境偏酸时，补氢氧化钠调节pH，可显著改善其生长状况。

4 活菌计数

由于副鸡杆菌本来脆弱易衰亡，在发酵液进行CFU活菌计数时，常温或低温的稀释液以及固体培养基平皿导致细菌死亡，因此在稀释液平皿使用时，应将其放置37℃预热，另外预热亦可减少由平皿培养基表层水分导致的菌落不能分开生长。

5 浓缩纯化

目前，副鸡杆菌主要通过离心的方式进行浓缩，然而副鸡杆菌B型培养菌液活菌数已经超过配苗的菌数要求，C型菌液活菌数也接近其配苗标准，因此在考虑成本以及有效抗原损耗的情况下，在以后的工艺优化中可考虑是否取消浓缩，并对纯化工艺进一步改进和验证。

参考文献

(略)

(作者简介：肖志强，硕士，华派生物一车间菌苗组)



塞内卡病毒A *VP1*基因原核表达及蛋白纯化

文|贺大芳 陈奕帆 邱文英 邹瑶 王德

摘要: 本试验以猪塞内卡病毒A(SVA) *VP1*基因为研究对象, 利用基因重组技术构建原核表达载体pET-28a(+)-VP1。重组质粒转化 *E. coli* BL21(DE3)后经1 mmol/L异丙基β-D-硫代半乳糖苷(IPTG)在37℃条件下诱导6h, 后经15%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶电泳进行检测。结果: SVA *VP1*基因能在BL21(DE3)中成功表达, 融合蛋白相对分子质量约36kDa; 表达的融合蛋白以可溶性蛋白和包涵体两种形式存在, 以包涵体为主要存在形式。以上研究结果为后续SVA VP1蛋白的免疫原性的研究及塞内卡病毒病抗体ELISA方法的建立奠定了基础。

关键词: 塞内卡病毒, *VP1*基因, 原核表达, 蛋白纯化

猪塞内卡病毒A (Senecavirus A, SVA)易感染动物。猪是该病毒重要传染源, 其能通过多种途径排出病毒, 如唾液、粪便、水疱皮等, 在康复的动物组织中也能检测到该病毒核糖核酸。SVA可引起猪出现水疱性变化和新生仔猪死亡, 成年猪感染通常呈亚临床感染, 引起繁殖母猪和公猪鼻吻和冠状带、蹄部出现水疱样病变, 偶见腹泻症状。SVA易感动物较广泛, 不仅不同年龄猪均易感, 研究者还在其他动物如人、苍蝇、牛和鼠等的血清中发现了SVA中和抗体, 表明SVA能感染的动物种类可能较多。SVA能适应不同的细胞系, 可利用猪睾丸细胞 (SK-RST)、猪肾细胞 (PK-15) 和幼仓鼠肾细胞 (BHK-21)、人肺癌细胞 (NCI-H1299) 等对SVA进行分离。

SVA是小RNA病毒, 是塞内卡病毒属(Senecavirus)的唯一成员。它的基因组全长为7.2 kb, 包括5'非编码区、一个开放阅读框及3'非编码区, 其功能如同mRNA, 编码病毒聚蛋白。SVA颗粒呈典型的二十面体对称, 直径27nm左右, 外表面点缀着VP1、VP2和VP3伸出的肽环, 且VP1和VP3是主要的抗原表位。其中, VP1是能够显著诱导细胞发生早期和晚期凋亡, 并且能够促进凋亡蛋白Caspase3、Caspase8及Bax蛋白和mRNA水平的上调, 且VP1核苷酸易发生变异, 是抗原变异的关键结构蛋白, 因此VP1是重要的抗原位点。

因此, 本研究以SVA *VP1*基因为目的片段构建的原核表达载体在大肠杆菌中进行了诱导表达, 并经过纯化获得较高纯度的蛋白, 为后续SVA VP1蛋白的免疫原性的研究及塞内卡病毒病抗体ELISA方法的建立奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

SVA *VP1*基因序列 [参考GenBank中收录的SVA-001(DQ641257)的基因组序列*VP1*基因, 大小为788bp。] 由英维捷基(上海)贸易有限公司合成; pET-28a(+)载体由本实验室保存; SVA高免血清由本实验室自制。

1.2 主要试剂

E. coli DH5 α 和BL21(DE3)感受态细胞购自天根生化科技(北京)有限公司; T4连接酶、限制性内切酶

*Bam*H和*Xho*I购自宝生物工程(大连)有限公司; 2×Taq Mix、质粒小提取试剂盒、DNA胶回收试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司; HRP标记的山羊抗猪IgG抗体购自KPL公司。

1.3 试验方法

1.3.1 *VP1*基因的扩增

参考GenBank中收录的SVA-001(DQ641257)的基因组序列的*VP1*基因合成的序列为目的片段, 并以此序列为模板设计1对引物, 正向引物加入*Bam*H酶切位点, F:5'-CGCGGATCCTACCGTGAAACTCGGGCTATTACCA-3'; 反向引物加入*Xho*I酶切位点R:5'-CCGCTCGAGAAGCTTGGAGCGCCCCCA-3', 加下划线部分即为引入的酶切序列, 引物的合成由英维捷基(上海)贸易有限公司合成。以合成的*VP1*基因序列为模板进行PCR扩增, 反应体系为: 2×Taq Mix 12.5 μ L, dNTP Mix 1.0 μ L, 上下游引物各1.0 μ L, 模板2.0 μ L, ddH₂O补足至25 μ L。PCR反应程序为: 94℃ 5 min, (94℃ 30 s, 53℃ 45 s, 72℃ 1 min) 35个循环, 72℃ 10 min。PCR产物用1%琼脂糖凝胶进行电泳检测。

1.3.2 重组质粒的构建

利用胶回收试剂盒将*VP1*基因扩增片段纯化回收, 利用*Bam*H和*Xho*I进行双酶切, 同时用*Bam*H和*Xho*I双酶切pET-28a(+)载体, 酶切结束电泳后切胶回收。两种酶切产物按照适宜比例, 利用T4连接酶在16℃过夜连接, 连接产物经热击法转化至*E. coli* DH5 α 感受态细胞, 涂布含卡那霉素的平板, 37℃过夜培养, 挑取单个菌落进行菌落PCR鉴定。鉴定呈阳性的菌落经扩大培养后, 质粒小提试剂盒提取质粒, 再进行*Bam*H和*Xho*I双酶切鉴定, 酶切鉴定正确的克隆送成都擎科梓熙生物技术有限公司进行测序验证, 测序验证正确的重组质粒命名pET-28a(+)–VP1。

1.3.3 重组质粒pET-28a(+)–VP1的诱导表达

取成功构建的pET-28a(+)–VP1重组质粒转化至*E. coli* BL21(DE3)感受态细胞, 涂布于含卡那霉素抗性的LB平板, 37℃过夜培养。分别挑取3~5个单菌落于含卡那霉素抗性的液体LB培养基中, 37℃、180r/min培养12~16h, 以此为种子液。种子液按照体积比1:100转接到含卡那霉素抗性的液体LB培养基中, 当菌液的OD_{600nm}值在0.8~1.0时, 加入终浓度为1mmol/L的IPTG, 在37℃、180r/min进行诱导表达, 诱导6h。诱导后菌液经4℃、5000r/min离心收集菌体。菌体用PBS缓冲液重悬后冰浴超声破碎, 裂解液进行离心后分别收集上清和沉淀, 对其进行SDS-PAGE凝胶电泳检测, 上样量为15 μ L, 考马斯亮蓝染色后分析重组VP1蛋白表达情况。

1.3.4 重组VP1蛋白的纯化及复性

经小量表达验证成功的克隆, 扩大培养后进行大量诱导, 收集大量诱导表达菌体后, 用PBS缓冲液重悬, 冰浴超声破碎, 离心收集包涵体沉淀。包涵体沉淀经包涵体洗涤液洗涤后用8M尿素溶解, 再4℃、12000r/min离心25min。上清移至透析袋中, 依次经6M、4M、2M、1M、0.5M、0.2M尿素透析复性。纯化的每个步骤后都进行SDS-PAGE电泳, 分析纯化后重组蛋白的纯度和表达量。

1.3.5 纯化后VP1蛋白Western blot鉴定

取纯化复性后的VP1蛋白, 经SDS-PAGE分离后, 转移至PVDF膜, 用含50g/L脱脂奶粉溶液的PBST常温封闭2h; 加入SVA高免血清(1:2000稀释), 4℃孵育过夜; TBST洗涤3次后加入HRP标记的山羊抗小鼠IgG(1:50000稀释), 室温孵育2h; TBST洗涤3次后ECL显影。

2 结果

2.1 *VP1*基因的PCR扩增

经PCR法扩增出788bp的*VP1*基因序列, 扩增产物大小与预期相符(图1), 表明本研究成功克隆到SVA *VP1*基因。

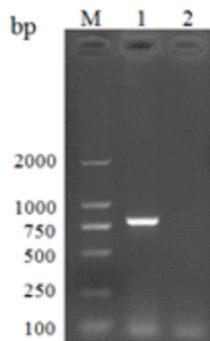


图1 VPI基因PCR扩增结果

M: DL2000 DNA Marker; 1: VPI基因的PCR产物; 2: 阴性对照

2.2 原核表达载体的构建与验证

将VPI的PCR产物和载体pET-28a(+)分别用限制性内切酶BamHI和Xhol进行双酶切，酶切产物经T4连接酶连接，热击转化至DH5 α 感受态细胞中。挑取菌落PCR验证为阳性的单菌落（图2），提取的重组质粒经双酶切验证（图3）后送生物公司经载体pET-28a(+)的T7-Terminal引物测序。测序结果表明该序列与GenBank中收录的SVA-001(DQ641257)的基因组序列的VPI基因序列的相似性为100%，且编码框插入正确。

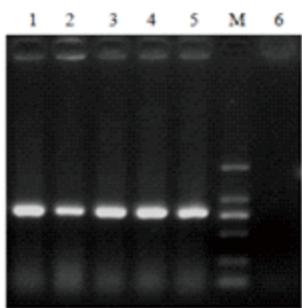


图2 单菌落PCR验证

M: DL2000 DNA Marker;
1~5: VPI 基因;
6: 阴性对照

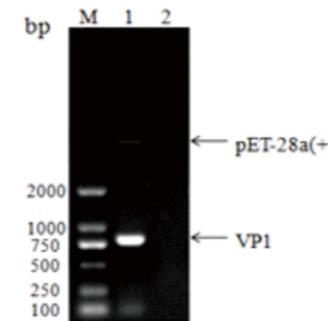


图3 重组质粒pET-28a(+)–VPI双酶切鉴定

M: DL2000 DNA Marker;
1: pET-28a(+)–VPI经BamHI和Xhol双酶切产物;
6: 阴性对照

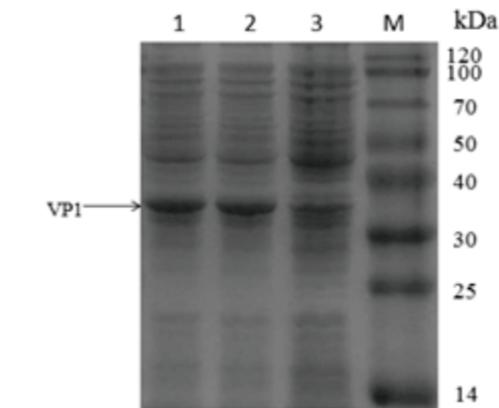


图4 VPI蛋白表达产物SDS-PAGE电泳

M: 蛋白Marker; 1: 细菌裂解沉淀; 2: 总菌体; 3: 细菌裂解上清

2.4 VPI蛋白的纯化

将超声波裂解后的菌液沉淀用包涵体洗涤液洗涤3次后，用8M尿素溶解可得到纯度较高的VPI蛋白（图5）。再依次经6M、4M、2M、1M、0.5M、0.2M尿素进行透析复性，得到纯度为80%以上、浓度为400 μ g/ml的VPI蛋白。

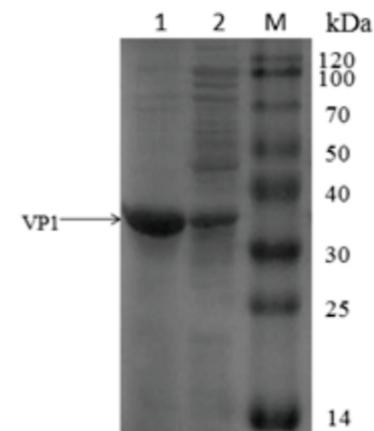


图5 VPI蛋白纯化SDS-PAGE电泳图

M: 蛋白Marker; 1: 纯化后VPI蛋白; 2: 纯化前VPI蛋白

2.3 重组VPI基因的原核表达及可溶性分析

利用鉴定为阳性的BL21(DE3)/ pET-28a(+)–VPI原核表达菌株进行原核诱导表达，加入终浓度为1mmol/L IPTG，37℃下诱导表达6h。菌体经过离心重悬，超声破碎后进行SDS-PAGE电泳。结果（图4）：BL21(DE3)/ pET-28a(+)–VPI菌成功表达出预期36kDa大小的特异性蛋白条带，且超声裂解后菌液及离心后的上清和沉淀的电泳结果表明，表达的VPI蛋白主要以包涵体形式存在。

2.5 纯化后VPI蛋白Western blot分析

Western blot检测结果表明，纯化后的VPI蛋白可与SVA高免血清发生特异性结合，出现一条大小与SDS-PAGE中VPI蛋白一致的条带（图6），表明该条带为VPI蛋白。

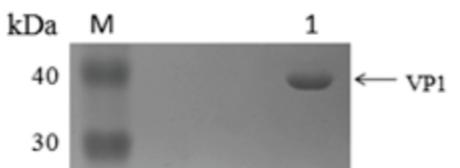
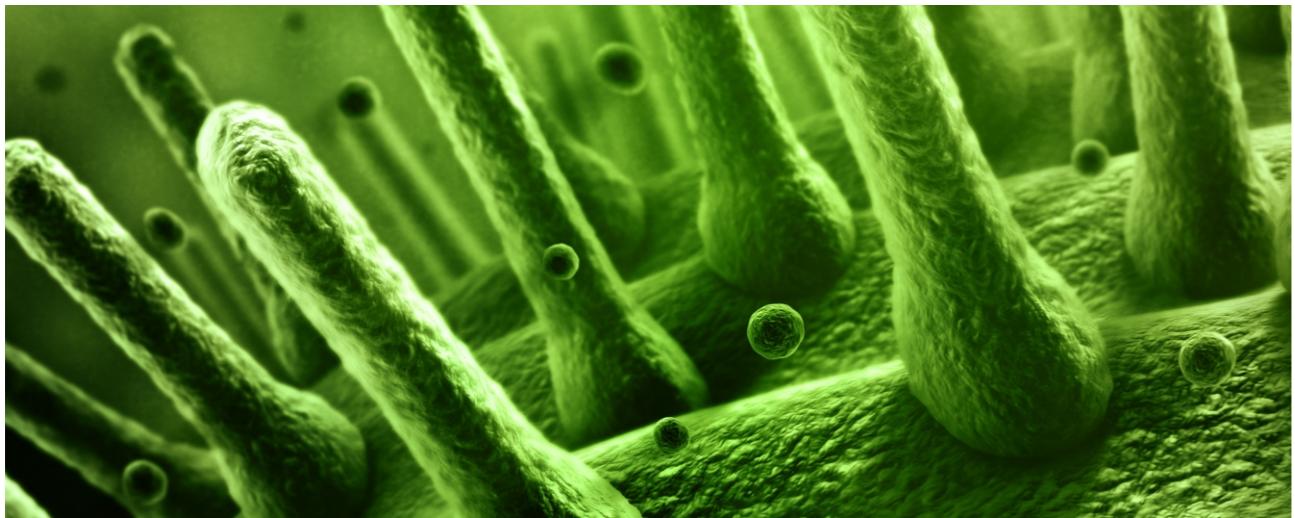


图6 纯化后VP1蛋白Western blot分析
M: 蛋白Marker; 1: 纯化的VP1蛋白

3 讨论

近几十年来关于SVA的大量研究发现, SVA已发生变异, 致病性逐渐增强。并且VP1基因也表现出明显差异, 但这些变异是不是导致毒株致病性增强的原因还有待研究。有研究表明, 诱导机体产生中和抗体的抗原具有构象依赖性, 因此VP1蛋白空间构象与其功能有着重要联系。作为SVA最重要的结构蛋白, VP1蛋白在病毒感染和自然免疫中都发挥着重要作用, 故而获得有活性的高质量的VP1蛋白对于进一步研究SVA诊断及其防治显得尤为重要。

大肠杆菌表达系统能表达外源蛋白, 具有方法简单、蛋白表达量高、蛋白易纯化、成本低等优点, 胰岛素等生物制品都能在大肠杆菌中表达, 其中以BL21(DE3)为应用最广泛的表达宿主。pET系列的载体采用噬菌体T7启动子, 目的基因克隆到载体上, 可以实现目的基因的高效表达, 但目标蛋白主要以包涵体形式表达。包涵体是没有生物活性的蛋白, 是蛋白表达过程中肽链部分折叠的中间体聚合形成的, 其复性效率较低, 除了与复性过程性质相关外, 还与蛋白质本身特性有关。

目前关于SVA的研究主要是流行病学、临床症状和病原学等方面, 其诊断技术主要集中在病原学诊断和血清学诊断, 其防治技术仍处于探索阶段。因此, 本试验起以pET-28a(+)为表达载体, 构建了重组质粒pET-28a(+)–VP1并于原核表达系统BL21(DE3)表达了重组蛋白, 以为后续VP1蛋白的功能研究, SVA诊断方法研究以及疫苗的开发奠定基础。本研究结果显示, VP1蛋白主要以包涵体的形式进行表达, 与各文献报道一致。本试验经洗涤, 尿素溶解及复性过程得到了高纯度的VP1蛋白, 为后续研究奠定了基础。

参考文献

(略)

(作者简介: 贺大芳, 硕士, 华派生物研究院)



再谈鸭鹅“肝脾坏死综合症”

文/李阁

近年来, 在肉鸭、番鸭、半番鸭和肉鹅养殖过程中发生了一种以肝脾出血, 后期脾脏出现不规则坏死或整个脾脏坏死为特征的传染病, 该病多在3~15日龄发生, 30日龄内均易感, 长期以来困扰着广大养殖户。由于对该病缺乏正确的认识, 大部分临床兽医工作者常误诊为病毒性肝炎, 使用鸭肝抗体治疗不能有效控制病情。永健生物三年前通过多次临床病料收集及实验室检测诊断, 锁定该病是由番鸭呼肠孤病毒或鹅呼肠孤病毒引起的一种烈性传染病, 发病率可高达100%, 死亡率可高达95%以上。

病雏表现精神沉郁, 羽毛松乱, 两翅下垂, 全身震颤, 喙抵地, 排黄色或绿色稀粪, 有的表现不明显, 一旦出现症状即往往已是疾病的中后期。急性死亡病例体况良好, 有的死前角弓反张, 病程1~3天, 耐过的发育缓慢, 由于脾脏受损, 抗病能力极差。

2016年3月, 永健生物药物研究所成功研制出针对该病的特效产品, 只需在发病前三天注射一针, 轻松搞定由呼肠孤病毒引起的肝脾坏死病。

我们通过研究表明, 适当比例的牛磺酸配合维生素等物质能明显增强机体免疫功能, 促进机体对抗病毒诱生干扰素, 提高免疫反应, 促进抗体生成, 增强细胞代谢、促进肝脾细胞DNA、RNA合成, 减轻肝脾毒性物质引起的病变, 增强肝脏解毒功能, 保护肝脾细胞。“脾益健”采用特殊工艺制备, 按注射液的标准严格优化生产, 显著提高牛磺酸等物质的生物活性, 有效增强产品疗效, 安全可靠, 无毒副作用。“脾益健”产品说明如下:

【功能特点】 扶正固本, 保肝抗炎, 促进非特异性和特异性免疫, 诱导机体产生干扰素, 促进抗体生成。对番鸭、半番鸭、白鸭和肉鹅等临床型肝脾坏死综合症的预防或早期治疗有良好的控制作用。

【推荐用法】 1~5日龄雏鸭或雏鹅每只0.5~1.0ml, 5日龄以上鸭鹅每只1.0~2.0ml, 重症者24小时可重复用药一次。治疗时配合“金冠喉味”、“聚能核肽”等使用, 疗效更佳。此病临床感染多样化, 集约化养殖或花肝病发生严重地区可同“番鸭康”配合或交叉使用, 或遵医嘱。

【注意事项】 长久贮存有沉淀析出, 摆匀后使用, 不影响使用效果。

【包装规格】 250ml*60瓶/件。

(作者简介: 李阁, 硕士, 重庆永健生物技术服务总监)



工业化悬浮细胞培养是建立在规模反应器基础上的、具有特定悬浮体系、能够实现全程自控的管道化、全密闭的细胞培养及抗原生产模式，是当前国内、国外生物制品生产的主流模式和首要选择，是先进生产力的代表。它与传统转瓶工艺相比，具有全方位的、无可比拟的巨大优势，是当下兽用生物制品企业转型升级甚至脱胎换骨的必经之路，是企业获得新生的利器！

随着产品的进一步开发和生产工艺的不断摸索，全悬浮培养模式将覆盖动物疫苗中绝大多数产品的生产，具有非常广阔的应用前景。之所以如此，是由它的巨大优势所决定的。

全悬浮细胞培养与传统转瓶工艺相比，有如下诸方面的显著优势：

1、质量高度可控

生物反应器悬浮培养的最大优势是通过精确有效的工艺控制在获得较大产量的同时能更好地提升或保证产品质量。

生物反应器培养系统是一个完全密闭的罐-管培养系统，在自动控制下，可以做到全程全自动、无开放的操作，包括从清洗、灭菌、进液、接种、接毒、在线监测、培养条件适时调节与控制，直至到收获培养物的全部过程，都可以全部在自动、密闭的状态下完成。只要各项培养的控制参数设定科学、合理，培养全程都将按预设的目标运行，产品质量就很少受外界或人为因素影响。而传统的转瓶培养则在细胞及病毒培养环节需要多次开放，污染很难

控制，若牵涉到收毒时的合瓶，则污染比例会进一步扩大。因为人工操作，质量的瓶间差异也很大，在规模化生产中质量和污染尤难控制。

2、显著的规模效应

全悬浮细胞不同于传统贴壁细胞的最大特点就是，细胞生长不依赖任何支持物表面，在培养液中呈自由悬浮状态生长，其特点决定了悬浮细胞的培养规模极易放大，只受反应器容积大小的影响而很少受厂房大小的限制。

比如：1个较小的500L或1000L的反应器产能可以与500个或1000个转瓶相匹敌，而500或1000个转瓶在各环节的操作和周转所需要配套的功能区面积总和可能是10倍于悬浮工艺。悬殊之大，可见一斑！因此，悬浮培养具有转瓶难以企及的优势。

3、高效价、高产出

悬浮细胞的反应器培养完全可以达到很高的密度，有些细胞在培养密度接近1700万个/ml左右的情况下，其形态和活率不受明显影响。细胞在高密度的情况下接入病毒，其增殖后病毒含量也很高，在实际生产中有些病毒效价可达到 $10^{9.0}$ TCID₅₀/ml以上。如此高效价的抗原为配制高品质疫苗打下了坚实基础。

4、低劳动强度、低人力成本、高工作效率

反应器培养与转瓶工艺相比，从“清洗、准备、灭菌到细胞培养、病毒接种与收获”的一系列工作，其工作量与工作强度有天壤之别。就如上面的例子，运行一个每日1000个转瓶的生产系统，“清洗、包扎准备、灭菌、周转”最少需要10人；细胞扩增工序最少需要10人；毒液收获最少需要10人；还有液体准备和逐瓶检验等工作，30人的工作团队很难胜任。而反应器培养工艺却可以由6个熟练工人轻松完成。简单一比，优劣自现！

5、显著的成本优势

目前市售的血清价格一般在1.5元/ml左右，低血清悬浮细胞培养基价格普遍在30元/L左右，低血清悬浮培养基按3%加入血清，实际成本约70元/L；转瓶培养基按10%加入血清，实际成本约165元/L左右。在生产实际中，两者成本比是1:2.5倍。悬浮培养抗原的直接成本仅为转瓶抗原的40%，再加上节约的人工成本，悬浮培养的抗原成本可能仅为转瓶培养抗原的1/3。成本优势，一目了然！

6、便于抗原纯化

在从反应器中收获抗原时，在线连接除细胞碎片的离心或其他过滤、澄清设备可一次性去除细胞碎片。对于活疫苗抗原，可在除细胞碎片后直接用于配苗或在线连接浓缩设备，将抗原浓缩后存放；对于灭活疫苗抗原，将毒液灭活后再进行洗滤或浓缩存放，在配苗前将抗原用PBS按比例稀释，使抗原杂质含量更少、更纯粹。

7、可短时间内迅速组织生产，及时满足供货

由于生物反应器培养系统可在短期内迅速扩大规模，缩短生产周期，所以基本无需过早提前生产，可在用户有购买意向或对市场有相对准确的预判后再在短期内组织生产，不但可避免发生库存积压或供货不足，还可以为客户提供较长效期的疫苗。

比较以上各重点环节，悬浮培养工艺具有广泛而巨大的优势，近几年发展较好的动物疫苗生产企业正在全力进行悬浮工艺转化，大干快上、加快布局，抢占行业制高点。

疫苗产品的竞争，实质上是企业建立在核心技术基础之上的质量之争，谁在未来掌握了生物反应器疫苗生产技术以及生产平台，提高了效力和安全性，生产出优质、高效、均一、稳定的疫苗产品，谁就占领了核心竞争力，谁就将会在下一轮行业发展中掌握市场主动权。

华派生物拥有通过国家GMP验收的细胞毒悬浮培养活疫苗生产线、灭活苗生产线各1条，通过近年来的工艺摸索和实践，目前已有圆环病毒、伪狂犬病毒、猪流行性腹泻病毒等产品采用细胞毒悬浮培养，产品纯净、抗原含量高、品质稳定、免疫效果好，深受广大客户的肯定和信赖。

（作者简介：王晓龙，大专，华派生物生产技术副总监）

重培养 定职级 促发展

——重庆澳龙生物员工职级评定考试顺利举行

文图/王奥丹

为加快公司高级技能人才培养，提高员工专业素质，充分调动技术人员工作积极性，提高生产效率和工作质量，有力推动公司整体发展，重庆澳龙生物制品有限公司特制定了员工职级评定考试方案。本次职级评定考试将分岗位、分批次的进行闭卷笔试和现场实操。

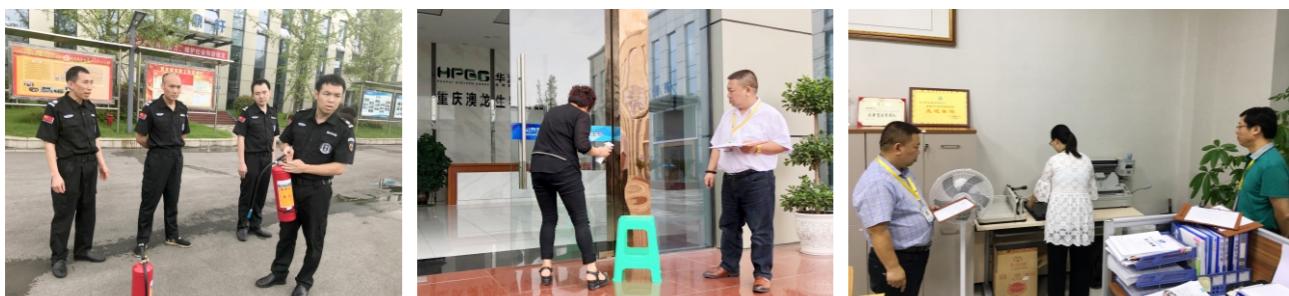


5月16日15:00，首场关于生产、质量、研发体系的职级评定闭卷考试在重庆澳龙生物大会议室进行，参加考试人数达80余人。该体系评级评定的实操考试将分成初级、中级、高级三个等级陆续进行，其中5月14-25日进行了为期12天的高级实操考试。



第二场关于行政、财务、采购、营销内勤体系的职级评定闭卷考试于5月23日15:00举行，共有30余名该体系员工参加考试。

6月18日和19日下午，分别进行了行政后勤和行政助理专场实操考试。澳龙生物总经理伏刚、常务副总经理林琳、总经理助理兼行政人事部长王美贵等进行实操考试现场评分。



本次职级评定考试为规范员工技能等级考核评定工作，促进技术工人不断学习业务知识、提高技术水平起到了重要的推动作用，促进员工更好地完成生产任务、实现自身的价值和发展。

（作者简介：王奥丹，大学本科，重庆澳龙生物行政助理）



年轻人：开创多维生活 畅享精彩人生

文/杨帅

生活的意义是什么？庄子说：“人生天地之间，若白驹过隙，忽然而已。”如若一生平平淡淡，碌碌无为，你只算得上活过，而不是真正的生活。可能你会说，过得舒服就行，但作为年轻人的我们，如果在该努力奋斗的年纪选择了舒适和安逸，那么，你必将在该享受人生的时候还在为生活的琐碎和劳碌奔波。你可想过这样的人生？

年轻人不能沉浸在享受之中，要适时跳出舒适的圈子，不时给自己一剂猛药，练就过硬的本领，这样才不会轻易被生活中的困难险阻所压倒。有人说，成年人的世界里没有“容易”二字，事实的确如此。谁都是经历了蹒跚学步、脚踏实地，才能终将健步如飞。我们要一路学着坚强和忍耐，学着冷静地跟一切不如意对抗，另外，还要多留意生活的一些细节，因为有时让我们痛苦的，往往不是难以逾越的高山大海，而是脚底下的那一捧细沙。

针对开创多维的生活方式，与大家分享一些拙见：

1、规律作息，强健体魄

俗话说“年轻就是资本”，但不要因为年轻就可以肆意地挥霍，毕竟“身体是革命的本钱”。所以，我们要在安排好工作和生活的前提下，尽量早睡早起，规律作息。每天留给自己1小时的锻炼时间，清醒头脑，强健体魄。这样才有“本钱”尽情地享受美好的人生。

2、学无止境，提升竞争力

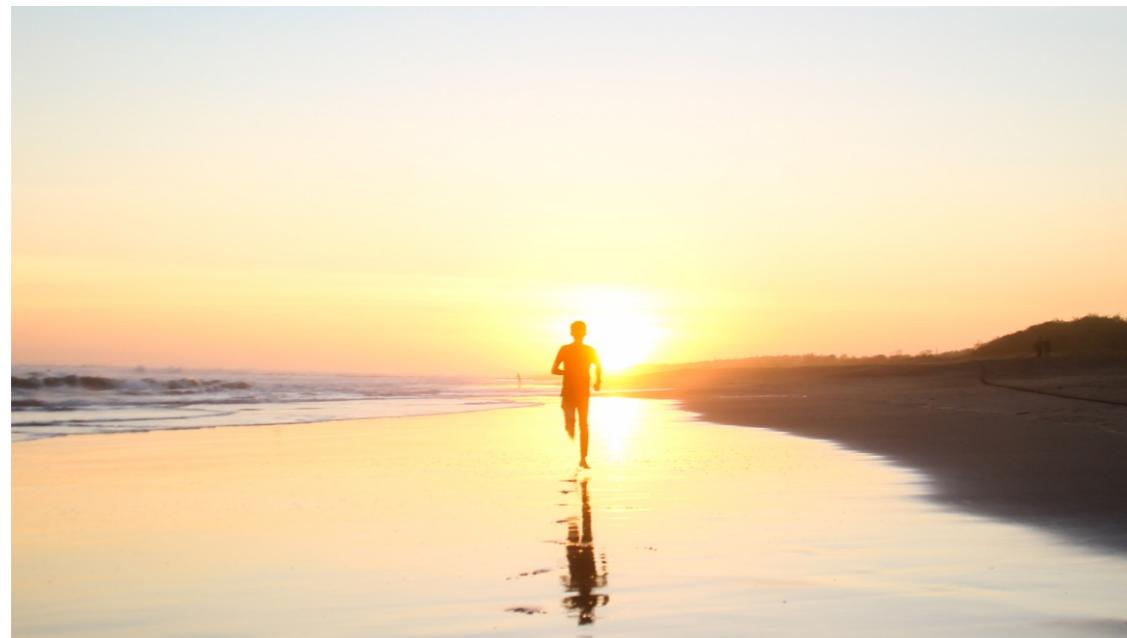
不要放过任何给自己“充电”的机会，努力学习专业知识，增强业务能力，从而提升竞争力和不可替代力。工作上遇到问题，要虚心请教，及时弥补自身的不足，笃定前行。千万不要坐以待毙亦或敷衍了事，除非你甘愿被这个处处充满挑战和“杀机”的社会所淘汰，选择平庸地过活。

3、培养兴趣，摆脱乏味

人生本应是多维且多彩的，年轻人不能被“几点一线”的生活模式所束缚，还应该有丰富的业余生活。着重培养1-2个兴趣，比如：书法、绘画、朗诵、读书……这些不仅能让你的生活充实而有意义，还能有效缓解你的压力和烦恼，凝神领悟生活真谛，静心细品人生百态。

4、增加阅历，提高激情

这个世界有太多值得我们寻味的地方，旅行就是对大千世界探索和实践的极佳方式。对于大多数长期在都市打拼的人们来说，旅行能够舒缓心情，让你跳出安排满满的工作圈，去感受大自然的美丽风光，领略不一样的人文民俗，既能放松身心，又能开阔视野。同样地，短暂的缓解还能提高你的工作激情，适当的劳逸结合才是工作和生活的最佳搭配。



5、陪伴家人，爱惜父母

生命是有限的，我们更应该合理安排自己的生活。孩提时代，是家人用无私的爱陪伴着我们，但当我们“自以为是”地认为要努力工作为家人和自己创造富裕生活的同时，却忽略了他们最想要的仅仅是希望你身体健康、一切顺利。节假日时，他们会默默地守在电话旁等待你的一声问候，当期盼已久的你归来时，他们的脸上会露出久违的笑容。父母在，人生尚有来处；父母去，人生只剩归途。多陪伴家人，也要多爱惜自己。

人生总有美好的风景让你驻足，总有远方的目标给你动力，总有精彩的未来值得期许。请记住：大多数人都向往简单的生活，但简单不代表单一和平淡。开创好属于自己的多维生活，这样你的人生才会流光溢彩。

(作者简介：杨帅，硕士，《华派生物》执行主编)



用了圆环康 猪群真健康 用了支肺通 养猪好轻松



- 抗原高含量、高纯度，相同进口水质佐剂；
- 产品安全、高效、稳定，使用方便；
- 有效提高猪群健康度，降低全程发病率和死淘率；
- 有效提高平均日增重和饲料转化率。

10-14日龄 圆环康1ml+支肺通1ml混合免疫；
24-28日龄 圆环康1ml+支肺通1ml混合免疫。



华派生物工程集团有限公司
Huapai Bio-engineering Group Co., Ltd.
成都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：<http://www.huapaisw.com>

农业农村部关于稳定生猪生产保障市场供给的意见

各省、自治区、直辖市农业农村（农牧、畜牧兽医）厅（局、委），新疆生产建设兵团农业农村局，中国动物疫病预防控制中心、中国兽医药品监察所、中国动物卫生与流行病学中心，中国农业科学院各有关研究所，各有关高校、科研单位：

根据当前非洲猪瘟防控实际，结合区域化管理要求，我部依法指定了国家非洲猪瘟相关实验室（以下简称“相关实验室”）。为加强相关实验室管理工作，现就有关事项通知如下。

一、明确相关实验室职责分工

国家非洲猪瘟参考实验室主要承担非洲猪瘟疫情最终诊断、基础与应用研究，参与诊断试剂评价及技术标准的制修订、防控政策措施实施效果评估，为国家防控策略提供对策建议等工作。国家非洲猪瘟专业实验室主要承担非洲猪瘟基础与应用研究，参与诊断试剂评价及技术标准的制修订、防控政策措施实施效果评估等工作。国家非洲猪瘟区域实验室主要承担非洲猪瘟基础与应用研究，参与区域非洲猪瘟监测与流行病学调查工作以及防控政策措施实施效果评估，为国家特别是区域防控决策提供对策建议，承担所在区域内实验室诊断技术咨询、培训、指导等。区域实验室在相关实验活动结束后，应当按照规定及时将菌（毒）种和样本就地销毁或者送交保藏机构保管。

二、进一步加强相关实验室管理

各相关实验室及实验室所在单位要按照《病原微生物实验室生物安全管理条例》等有关法律法规和我部相关规定开展非洲猪瘟病毒实验工作。一经发现疑似或确诊非洲猪瘟疫情，应立即按照规定报告。各相关实验室在使用具有知识产权的菌（毒）种和样本时，应当经原提供者或持有人的同意。

各级畜牧兽医主管部门要切实履行好对相关实验室的监管职责，对相关实验室实验活动实行全程监管。一是加强非洲猪瘟病毒相关实验活动初审，把好审批关。对未经批准从事非洲猪瘟病毒相关实验活动的，要依法严肃查处，对由此产生的科研成果均不予认可。二是督促落实非洲猪瘟病毒相关实验活动承诺制度和报告制度。三是定期组织开展考核评估和监督检查，督促各相关实验室加强内部管理，制定并严格落实生物安全管理、安全防护、感染控制和生物安全应急预案等规章制度。

国家对相关实验室实行动态管理。我部将根据非洲猪瘟防控实际和实验室检查评估结果，调整相关实验室名单。鼓励各相关实验室创新管理体制，积极推动合作共享与开放交流，强化信息平台共享。

三、规范相关实验室中英文名称

“国家非洲猪瘟参考实验室”英文名称为：“National African Swine Fever Reference Laboratory”。

“国家非洲猪瘟专业实验室（实验室所在地城市名称）”英文名称为：“National African Swine Fever Para-reference Laboratory (Located City)”。

“国家非洲猪瘟区域实验室（实验室所在地城市名称）”英文名称为：“African Swine Fever Regional Laboratory of China (Located City)”。

上述实验室英文名称中，“African Swine Fever”可缩写为“ASF”。

农业农村部办公厅
2019年4月22日

本刊编辑部摘自农业农村部官网（www.moa.gov.cn）

就网传“今珠多糖可防治非洲猪瘟”，农业农村部有关负责人表示开展非洲猪瘟防控科研必须依法依规确保生物安全

【农业农村部讯】近日，网络传播所谓“今珠多糖可以防治非洲猪瘟”，引起社会各界高度关注。农业农村部对此高度重视，有关司局及时责成海南省农业农村厅迅速调查核实相关情况，如存在违法违规行为，要迅速依法查处。6月12日下午，媒体报道“海南省农业农村厅发布海南南药研究团队有关研究进展情况”后，农业农村部多次与海南省农业农村厅取得联系，督促其尽快调查核实并报告相关情况。

截至目前，农业农村部尚未受理过任何针对非洲猪瘟病毒的预防治疗药物或疫苗，所谓“可以防治非洲猪瘟的今珠多糖注射液”，没有申请兽药注册，有关企业更未取得《兽药生产许可证》。按照《兽药管理条例》规定，完成新兽药（中兽药、化学药品）实验室阶段研究，拟开展临床试验的，其研制单位必须向省级畜牧兽医行政管理部门提交备案材料进行备案。据了解，海南南药研究团队及相关企业迄今并未向海南省农业农村厅提出新兽药临床试验备案申请。根据有关生物安全管理规定，用非洲猪瘟病毒开展有关药物的实验研究，必须向农业农村部提出高致病性病原微生物实验活动审批并获得批准。农业农村部从未收到有关单位的上述申请。在没有使用非洲猪瘟病毒开展动物实验数据的情况下，报道所称“今珠多糖可有效防治非洲猪瘟”缺乏科学依据。

自非洲猪瘟疫情发生以来，农业农村部始终积极支持、鼓励国内外所有合法合规的科研机构和企业开展非洲猪瘟防控技术研究工作；同时，任何单位开展非洲猪瘟防控技术和产品研发，都必须遵守《病原微生物实验室生物安全管理条例》《兽药管理条例》等法规规章相关规定，确保生物安全。对依法依规开展防控科研、产品安全有效质量可控的，农业农村部将依法积极做好新兽药评审和审批工作；对罔顾生物安全、违法违规开展所谓科研工作的，或缺乏科学依据、夸大宣传炒作而干扰非洲猪瘟防控大局的，农业农村部将会同有关省份农业农村部门依法坚决查处。农业农村部要求各地农业农村部门要不折不扣地贯彻落实党中央国务院关于非洲猪瘟防控和稳定生猪生产的决策部署，依法行政，履职尽责。

本刊编辑部摘自农业农村部官网（www.moa.gov.cn）



农业农村部：“六项措施”稳定生猪生产，保障猪肉供给

6月26日，农业农村部举行新闻发布会，介绍保障粮食安全和农产品供给有关情况，并回答记者提问。发布会上，农业农村部新闻发言人、办公厅主任广德福表示，农业农村部将通过落实非洲猪瘟强制扑杀补助政策、优化调整生猪调运措施、引导鼓励补栏增养等方式防控非洲猪瘟疫情，稳定生猪生产、保障猪肉供给。同时，落实种猪场和大型规模养殖场贷款贴息政策，帮助企业度过难关。

会上，有记者提问：受非洲猪瘟等因素影响，目前生猪产能情况如何？农业农村部将采取什么样的措施促进生猪生产恢复，保障猪肉供给？

广德福介绍，自去年8月非洲猪瘟疫情发生以来，农业农村部坚决贯彻落实党中央、国务院决策部署，坚持疫情防控和稳定生猪生产两手抓、两手硬。千方百计稳定生猪生产，制定下发稳定生猪生产、保障市场供给的意见，督促落实非洲猪瘟强制扑杀补助政策，优化调整生猪调运措施，畅通种猪、仔猪调运渠道，加强生猪生产定点跟踪监测和趋势研判。引导鼓励补栏增养，通过专家解读和舆论引导，传递积极信号，稳定行业预期。为缓解猪肉供应紧张局面，农业农村部一方面积极促进生猪生产恢复，另一方面推动肉类结构调整，引导增加禽肉等替代品生产。

猪肉供应相对偏紧，鼓励养殖场户补栏增养

受非洲猪瘟疫情、养殖成本上升、前期生猪价格周期性下行等多种因素的影响，我国生猪和能繁母猪存栏同比降幅超过20%，养殖信心显得有些不足。

下一步，农业农村部将认真贯彻落实党中央、国务院部署要求，继续抓好稳定生猪生产各项工作，千方百计稳定生猪基础产能，稳定和恢复生产，增加市场供给。

落实这六项措施

一是强化信息引导。加强生猪生产定点监测和市场价格调度，科学研判市场形势，及时发布动态信息，多渠道宣传解读利好预期，增强养殖场户信心，鼓励养殖场户补栏增养。

二是落实扶持政策。督促各地落实好稳定生猪生产发展的调出大县奖励、非洲猪瘟疫情防控专项补助经费等政策措施，抓紧落实种猪场和大型规模养殖场贷款贴息政策，帮助企业渡过难关。针对非洲猪瘟强制扑杀补助政策发放机制，尽快兑现到场到户，完善生猪政策性保险，落实好生猪规模养殖场用地政策。

三是发展标准化规模养殖。以养殖场生物安全和粪污资源化利用为重点，继续创建一批高水平的生猪标准化示范场，切实发挥示范带动效应，引导有条件的中小养殖户发展现代家庭牧场。

四是加强技术服务。组织专家和技术人员深入养殖一线，推广品种改良、分段饲养、节本增效等高效实用饲养技术，帮助养殖场户解决技术难题。

五是加快推进畜禽粪污资源化利用。督促指导畜牧大县落实好整县推进畜禽粪污资源化利用项目，支持养殖场户完善粪污处理设施条件，提升粪污资源化利用的能力和水平，进一步降低生猪养殖的成本。

六是做好非洲猪瘟疫情防控。继续强化监测排查、疫情处置、调运和屠宰环节监管、餐厨废弃物管理，严禁泔水喂猪。抓好分区防控，加快推进东南区试点，及时发现问题，总结推广经验。

杨帅摘编自农业农村部官网（www.moa.gov.cn）

华派生物战略合作企业 铁骑力士——高效养猪服务专家

- ★ 世界先进的加系种猪
- ★ 育种技术与国际同步
- ★ 安全有效的管理体系
- ★ 专业周到的客户服务

