

1993 年以来，精华集团生物药业板块经历了精华饲料、精华药业、精华生物、华派生物的企业演变和发展历程。“红加黑”、“黄金 1 号”等有口皆碑、耳熟能详的产品，至今仍然在人们的脑海中回荡。老一辈精华人今天聊起当年这些叱咤风云的产品在行业内的影响力和震撼力，仍是津津乐道。这些都是过去成绩，更是精华的历史。

华派集团：之所向 行必远方

文 | 向丕元

好汉不提当年勇！精华集团创始人谢建勇先生 20 多年来一直酷爱动保这个行业，从不间断地思索行业的走向，把脉精华集团生物药业板块的发展，构想生物药业板块的发展蓝图。2015 年启动了他规划设想的第一步，并购重组了澳龙生物、通量药业，相关企业的并购重组仍在进行之中。

谢董事长究竟想干什么？公司管理层都有跟不上他超前思维的感觉。

随着生物药业板块所属企业的逐渐增多，如何管理？技术和人才如何匹配？这是旁观者最为担心的。原来，在谢董事长的心中早已形成了未来企业发展的架构和方向。

如今，华派生物工程（集团）有限公司应运而生。旗下拥有华派生物、澳龙生物、英博莱生物、新精华药业、通量药业 5 家子公司。按照谢董事长的设想，华派生物以生产猪用疫苗、禽用疫苗为主，澳龙生物以生产牛、羊疫苗为主，英博莱生物以研究开发兽用生物制品新产品为主，新精华药业、通量药业以研制动物保健品为主。此外，尽快组建宠物疫苗和药品的专业化生产企业也在他的谋划之中。正如谢董事长所言，这样做就是要打造好华派生物工程（集团）有限公司这艘“巨型航母”。

在 7 月 31 日集团公司半年总结会上，谢董事长提出了资产证券化、企业股东化、管理专业化、生产智能化、产品专一化的“五化”企业发展战略。在人才战略上，他提出了尽快构建 6 个平台的核心团队，即研发技术平台的核心团队、生产技术平台的核心团队、猪苗技术服务平台的核心团队、禽苗技术服务平台的核心团队、技术营销平台的核心团队和公共服务平台的核心团队。他还提出了销售人员技术化、技术人员销售化和经销商专业化的营销战略。

可以看出，华派集团发展的战略、战术和目标，谢董事长早已高瞻远瞩、成竹于胸。

纵览精华昨天的辉煌，见证华派今天的实力，华派集团：心之所向，行必远方！

出版发行

主管单位：华派生物工程（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 周继勇 王红宁
程安春 徐志文 颜其贵
王 印 黄伟坚 崔保安
高 荣 廖党金 王泽洲
丁庆猷 杨晓农 魏 甬
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 张 莉 邱文英
谭晓婷
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.rancomedia.com)

电 话：028-27400432
传 真：028-27282488
网 址：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

正大畜牧投资（北京）有限公司
成都巨星农牧科技有限公司
四川铁骑力士集团
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
成都凤凰华侨农牧科技发展有限公司
眉山万家好种猪繁育有限公司
邛崃市鞍桥养殖有限公司
四川齐全集团
成都丰丰食品有限公司
乐山嘉源农牧发展有限公司
广西春茂集团



2016年第5期 总第20期

内部交流 免费赠阅



扫描进入华派生物官网



扫描进入华派生物微信

▲ 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。



打造中国动物疫苗第一品牌
CREATE THE TOP BRAND OF VETERINARY VACCINE IN CHINA

鸡新城疫活疫苗 (HB1株)

Newcastle Disease Vaccine, Live (Strain HB1)

- 复合型新城疫毒株，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日龄雏鸡喷雾免疫
- 严格内控，质量稳定





P08 真抓实干 成就华派梦想——2016年半年工作总结会圆满召开

为认真研判和部署生物药业板块未来的发展，7月29日至31日，集团公司在花水湾温泉酒店召开了“2016年半年工作总结会”，生物药业板块各分公司中高层领导、首席科学家、博士、硕士等相关人员100余人参加了会议。各分公司中高层管理人员及研发项目负责人汇报工作。集团董事长、总裁谢建勇参会并发表重要讲话。

📁 卷首语 Editoria

- 01 华派集团：心之所向 行必远方

📷 图片新闻 News Pictures

- 06 成都市委副书记李仲彬莅临华派生物公司调研
- 07 青岛康大食品有限公司领导莅临华派生物参观考察
- 08 真抓实干 成就华派梦想
——2016年半年工作总结会圆满召开
- 10 广东省粤东地区规模猪场组团参观考察华派生物
- 12 开展安全培训 提高安全意识
- 14 邛崃众鑫兽药率团参观考察华派公司

🏢 企业文化 Enterprise Culture

- 17 管理是严肃的爱 培训是最大的福利
——华派生物企业文化建设反哺精细管理

👤 团队风采 Team Sketch

- 20 核酸疫苗大牛 卫星辉和他的华派团队

👥 技术交流 Technical Exchange

- 31 华派生物伪狂犬病研究进展
- 41 猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻耐热保护剂二联活疫苗的应用
- 48 核酸疫苗的优势与免疫机制

🗣️ 专家论坛 Expert Forum

- 52 免疫去势技术和去势疫苗

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 ($10^{8.0}TCID_{50}$ - $10^{8.3}TCID_{50}/ml$)
- ✓ β -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

成都市委副书记李仲彬 莅临华派生物公司调研

8月16日上午，成都市委副书记李仲彬一行莅临华派生物公司，对公司动物核酸疫苗生产线进行了现场参观和调研。简阳市委书记王宏斌率领简阳市相关部门领导陪同调研，精华集团董事长兼总裁谢建勇接待和介绍。

调研组一行参观了华派生物核酸疫苗生产车间和中央监控大厅，听取了谢建勇董事长对核酸疫苗车间建设及人才队伍构建情况，公司研发中心副主任李妍博士介绍了核酸疫苗的产品特点及优势。

李仲彬副书记对国内首条核酸疫苗生产线的建成并率先通过国家 GMP 验收表示充分肯定，对核酸疫苗车间的系列专有设备更是颇感兴趣并点头赞赏。李副书记还特意询问了华派公司高科技人才的引进与培养情况，他希望华派公司在引进高端人才的同时，要在留住人才，用好人才，充分发挥人才和技术优势上下功夫，要将人才、技术优势转化为产品优势，为公司企业的发展和地方经济繁荣做出应有贡献。

华派生物公司常务副总经理吴越、精华集团董事会秘书长扶海等参加接待。

（作者简介：何信群，硕士，行政办公室主任）



文 & 图 何信群

7月20日下午，青岛康大集团副董事长、青岛康大食品有限公司总经理唐斌、青岛康大食品有限公司采购总监封旭一行莅临华派生物参观考察。



青岛康大食品有限公司领导 莅临华派生物参观考察

文 黎渊
图 周浩

7月20日下午，青岛康大集团副董事长、青岛康大食品有限公司总经理唐斌、青岛康大食品有限公司采购总监封旭一行莅临华派生物参观考察，华派生物常务副总经理吴越、副总经理李来旭、聂清云、王娟，技术服务总监向丕元、禽苗技术服务副总监黎渊，经济动物疫苗事业部经理彭智对贵宾的到访进行了热情接待。

青岛康大食品有限公司在兔用疫苗产品上与华派生物愉快合作多年，这次唐总一行到访主要就开展肉鸡产业合作进行了亲切座谈和交流。唐总对双方多年的兔用疫苗合作表示非常满意，同时也表达了愿意在家禽疫苗上继续合作的期待。座谈会上，黎渊为贵宾介绍了华派生物的整体实力、禽苗体系以及战略合作方式，唐总对华派生物核酸疫苗的上市充满期待，并对核酸疫苗可

常温保存的优点赞不绝口。核酸疫苗常温保存打破了传统疫苗须低温保存的局限，可大幅减少运输及贮藏环节费用。

青岛康大食品有限公司是国家级农业产业化龙头企业、全国大型农产品加工流通企业、国家级星火外向型企业、中国肉类工业50强、中国食品工业50强。公司秉承“制造营养均衡、绿色健康食品”的企业理念，围绕肉兔、肉鸡、快餐调理食品三大产业链，生产方便即食型、安全健康型、绿色环保型和无药残、无公害、无污染等营养价值高、科技含量高、市场占有率高的绿色营养健康食品，产品畅销日、韩、欧盟、中东、北美、新加坡、马来西亚、俄罗斯、香港等20多个国家和地区。

（作者简介：黎渊，硕士，禽苗技术服务副总监）



文 何信群

图 本刊编辑部

真抓实干 成就华派梦想 ——2016年半年工作总结会圆满召开

生物药业版块2016年半年工作总结会



生物药业版块2016年半年工作总结会



为认真研判和部署生物药业板块未来的发展，7月29日至31日，集团公司在花水湾温泉酒店召开了“2016年半年工作总结会”，生物药业板块各分公司中高层领导、首席科学家、博士、硕士等相关人员100余人参加了会议。各分公司中高层管理人员及研发项目负责人汇报工作。集团董事长、总裁谢建勇参会并发表重要讲话。

29日上午，会议在全体与会人员高唱“我们是精华”的旋律中拉开序幕。集团公司董事长谢建勇先生做了精彩的开幕致辞。随后，生物药业板块各分公司相关人员分别就生产、质检、销售、技术服务、研发项目推进和财务管理等工作开展情况进行了言简意赅的报告，报告者精彩的演讲和报告赢得了与会人员的阵阵掌声。

各公司分管销售的副总经理和大区营销总监，纷纷总结销售经验和不足，采用数据分析市场走向。华派生物十多位研发项目代表，在短短的十分钟汇报时间



内浓缩提炼、精彩呈现，分别汇报了病毒类疫苗、细菌类疫苗、诊断试剂等项目进展及下一步研发方向。与会人员对研发项目推进上取得的成绩，深感骄傲和自豪，对集团的未来发展充满了信心。最后，华



派公司总经理龚文波、澳龙公司总经理伏刚、药业公司总经理何康林，分别对各公司六个核心技术平台的构建、未来3-5年的规划、现有优劣势的分析及重点工作开展情况进行了详细阐述和汇报。



30日晚上，集团公司组织了丰富多彩的联欢晚会，各分公司争相组织人员献上美妙的歌喉和优美的舞姿，抽奖环节更是激动人心，大家在欢声笑语中深深体会



到大家家庭的温暖、和谐和团队的积极与进取。

31日，精华集团董事长、总裁谢建勇对生物药业板块的战略发展与市场规划做了详细的部署和安排。谢董事长高瞻远瞩，详尽分析了目前国内外动物疫病的防控形势及公司的发展方向。带领与会人员深刻解读了国家动物疫病防控的最新政策，要求大家严格按照国家的方针政策和行业管理要求，严把产品质量关，做好产

品技术服务，重点搭建六个核心技术平台建设，建立完善管理制度和机制，充分抓好发展良机，积极做好科技人才培养和储备。谢董事长要求全体管理人员，必须提前谋划，更新观念，抢抓机遇，务实创新，学习国际国内领先企业先进的管理模式，积极开拓国际市场，为公司的发展及行业的进步作出应有的贡献。

谢董事长的讲话鼓舞人心，让参会人员对公司未来充满希望，增强了每个

精华集团董事长、总裁
谢建勇对生物药业板块的
战略发展与市场规划做了详细
的部署和安排。

人肩上的责任感与使命感！大家深信，只要我们团结一心，真抓实干、苦练内功，生物药业板块的明天一定更加美好，一定能成就华派人的梦想！

会议期间，集团公司还对上半年扎实工作，贡献比较突出的人员和团队进行了表扬和嘉奖。



广东省粤东地区规模猪场 组团参观考察华派生物

8月6日，广东省粤东地区规模猪场老板或技术人员一行43人莅临华派生物参观考察。公司副总经理李来旭、三战区营销总监李晓军、四战区营销总监洪品文、五战区营销总监曾谊等参与接待和交流。

考察团一行首先由研发中心副主任李妍博士带领参观了生产主车间监控大厅、核酸疫苗生产车间和研发楼展示大厅。客人们对华派生物洁净漂亮的厂区、先进的生产设备、一流的人才队伍和企业文化底蕴无不感到震撼和赞赏。在参观核酸疫苗车间时，考察团人员兴致勃勃，不时驻足询问，了解核酸疫苗的生产原理、工艺流程和产品优势。

随后，公司技术服务总监向丕元主持了技术交流会。向总监





研发中心副主任李妍博士向与会人员分享了核酸疫苗及病毒样颗粒疫苗的研发进展，向客人们报告了核酸疫苗和病毒样颗粒疫苗的生产原理、产品优势和免疫机制



向客人们介绍了华派生物的发展历程、研发实力、质量管控、技术服务和企业文化。一车间主任张洪详细介绍了猪圆环病毒 2 型灭活疫苗及猪支原体肺炎灭活疫苗的生产工艺和质控关键点，以及产品的优势所在，她用多个产品使用实证向客人们展示了华派生物产品在猪场运用产生的显著生产成绩和经济效益。研发中心副主任徐静博士主要介绍了伪狂犬病的防控措施，特别对如何使用华派生物的伪狂犬病活疫苗“伪安清”防控伪狂犬病毒变异株的危害做了详细讲解，并通过伪狂犬病毒广东株的攻毒保护实验数据向与会人进行了分享，他还就猪场的伪狂犬病净化提出了科学方案。研发中心副主任邱文英就如何防控仔猪产房腹泻进行了认真讲解，特别阐述了 TP 二联苗的研发进展、毒株优势、品质保证和实验证据。研发中心副主任李妍博士

向与会人员分享了核酸疫苗及病毒样颗粒疫苗的研发进展，向客人们报告了核酸疫苗和病毒样颗粒疫苗的生产原理、产品优势和免疫机制。

最后，宾主双方进行了互动交流，考察团人员提出的相关技术和产品问题，华派专家团队都进行了一一回答和解释。

会后，考察团成员纷纷表示，百闻不如一见，今天呈现在眼前的华派工厂、华派团队、华派人确实名不虚传。他们对华派生物的产品和服务深信不疑，华派生物的高端产品更是值得期待。



文 & 图 本刊编辑部

开展安全培训 提高安全意识



文 李 艳
图 万建平

为进一步提高员工安全意识和安全操作技能，预防安全事故，确保安全生产，提高工作效率，公司于8月16日下午，在行政办公楼三楼会议室举行了“安全培训”，公司全体员工参加了学习培训。

本次培训由三车间主任冯锡良主讲，培训首先从安全生产及防火防爆安全技术的基础知识展开。培训中冯主任结合实例，通过精彩演讲和播放幻灯片等方式，分析了不安全行为，警示大家在生活、工作中应承担的安全职责，提出了在岗人员必须遵守的安全规范。同时还就火场逃生自救、机械伤害、烧烫伤、触电急救等处理方法进行了生动详细、图文并茂的讲解。冯主任还用一

则“安全违章分析”的漫画，现场检验参会人员的培训效果，三车间魏强、设备动力部舒伟杰分别进行了细致的分析和解答，最后常务副总经理吴越进行了全面的补充和完善，他们都一一展示了现场培训的良好效果。

随后，三车间谢纹龙、吴瑞丰模拟为伤员，张丽君模拟为救护人员，现场演示了出血急救的应对措施和包扎方法。他们娴熟、精彩的表演和详细的同步解说赢得了参训和观摩人员的阵阵掌声。视频播放的几个典型案例分析了事故原因及事故教训，全面表达了“隐患险于明火，防范胜于救灾，责任重于泰山”的安全理念和安全培训宗旨。



最后，吴总针对安全培训的重要性进行了强调，分享了他工作中对于安全防范的心得体会，并严格要求大家在生活和工作中，务必时刻牢固树立安全意识，规范自己的安全行为，确保上下班安全。同时，为规范员工的安全操作，吴总还亲自进行了酒精灯的使用现场教学，告诫大家正确使用仪器设备，避免事故发生。

此次培训通过生动的现场讲解、案例分析、示范与互动，进一步加深和巩固了大家的安全意识。我们相信，在今后的 工作中，安全意识必将会植根于每位员工的心中，为公司发展提供有力的安全保障。

（作者简介：李艳，大学本科，行政办公室）

四川省华派生物制药有限公司



邛崃众鑫兽药率团参观考察华派公司

文 周自恒

图 万建平

8月13日，邛崃市众鑫兽药销售有限公司总经理岳晓强率领辖区客户一行19人莅临华派生物参观考察。公司技术服务总监向丕元、一战区营销经理李强等领导和专家参与接待和交流。

考察团一行首先在华派生物公司核酸疫苗车间主任李峰的带领下参观了生产主车间监控大厅、核酸疫苗生产车间和质检研发楼展示大厅。客人们对华派生物花园式的厂区、先进的生产设备、一流的人才队伍和企业文化底蕴深

受震撼。在参观核酸疫苗车间时，考察团人员兴致勃勃，纷纷咨询、提问，旨在了解核酸疫苗的免疫原理和产品优势。

公司技术服务总监向丕元主持了技术交流会。向总监首先向客人们介绍了华派生物的发展历程、研发实力、质量管控、技术服务和企业文化。然后就公司现有产品的优势和特点向客人们进行了一一介绍。特别对客人们关心的猪圆环病毒2型灭活疫苗和猪支原体肺炎灭活疫苗的联合



考察团一行首先在华派生物公司
核酸疫苗车间主任李峰的带领
下参观了生产主车间监控大厅、
核酸疫苗生产车间和质检研发
楼展示大厅。

免疫技术方案做了认真讲解和使用实证展现。向总监还就如何使用华派生物的伪狂犬病活疫苗“伪安清”有效防控伪狂犬病毒变异株的危害做了详细讲解，对如何防控仔猪产房腹泻以及华派生物即将推出的防控最新流行毒株导致仔猪腹泻的新产品——猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻耐热保护剂活疫苗（SCJY-1株+SCSZ-1Z株）的试验效果进行了分享。

最后,宾主双方进行了互动交流,深入探讨了华派生物与区域经销商如何深度合作以及邛崃市场的开发策略等关键问题。同时,考察团人员提出的相关技术、产品和服务问题,华派专家团队都进行了解惑答疑。

考察团成员在华派生物的所见所闻,增强了他们对华派公司及其产品的信心。众鑫兽药总经理岳晓强表示,华派公司让人叹服,华派实力让人折服,今天的考察诠释了“选择华派,合作愉快”的具体内涵,让人底气十足。他期盼华派生物更多的高端产品面市,并与华派生物长期合作,发展共赢。

(作者简介:周自恒,大学本科,四川业务经理)



打造中国动物疫苗第一品牌
CREATE THE TOP BRAND OF VETERINARY VACCINE IN CHINA

派力优

鸡新城疫、传染性支气管炎、禽流感（H9亚型）三联灭活疫苗
（La Sota株+M41株+WD株）

Newcastle Disease Infectious Bronchitis and Avian Influenza(H9 Subtype)
Vaccine, Inactivated(Strain La Sota+Strain M41+Strain WD)

- 加强型毒株，抗原谱广
- 浓缩抗原，免疫剂量小
- 抗原纯化，副反应小
- 先进的乳化工艺，粘度低至29cp
- 进口禽用疫苗专用佐剂
- 甲醛含量 $\leq 0.05\%$
- 内毒素 $\leq 10\text{EU/ml}$
- 批间差异小，质量稳定
- 有效期延长至18个月



管理是严肃的爱 培训是最大的福利

——华派生物企业文化建设反哺精细管理

文 | 向丕元



走进花园式的华派生物厂区，浓郁的文化气息扑鼻而来。置身其中，你能轻易感受到这个充满活力的高新技术企业不仅富有思想和精神，更具有激情和魅力，仰慕之情和探究之心油然而生。

公司成立7年多来，华派人把“华溢于表，派源于质”的企业文化软实力视为决定经营管理成败的核心基因之一。领导团队以身作则，全员共同参与，围绕“打造中国动物疫苗第一品牌”的发展目标，在经营管理、人才建设、学习培训和制度建设方方面面，践行、营造、积淀和提炼属于华派生物自己的企业文化。

华派人的人才观

在信息大爆炸时代，知识日新月异，技术飞速发展，不学习就跟不上时代和行业发展步伐，甚至会被淘汰。为了更新员工的观念，提高员工的技能水平，提升管理层的综合能力，公司在人才的培养上下了很大功夫。

集团董事长谢建勇自有他的人才观。在2015年9月22

日谢建勇主持召开的研究生座谈会上，他指出，人才是企业持续发展最宝贵的资源，也是企业发展的核心竞争力，我们必须加强对人才的培养。公司将为研究生们提供良好的生活和工作环境，培养有用、能用、实用的人才，坚持“能力比知识重要，责任比能力重要”的理念，发挥主人公精神，奉行公司利益高于一切！

经过7年多的实践与总结，300多人的华派生物团队逐渐探索出了“专业的人做专业的事，人尽其才，才尽其用”的用人理念。

华派人的学习观

华派生物管理层始终坚持“员工成长，企业发展”的以人为本原则，加强对员工的培训和企业文化建设。公司从管理层到普通员工，都逐步把学习和培训视为每个人生活中必不可少的一部分，营造了积极健康、浓厚的现代高新技术企业文化氛围。

公司非常重视员工的学习培训，要求各个部门做到“年

初有计划、年中有执行、年末有总结”的学习培训机制。从2015年开始，公司坚持每季度举行一次“华派大讲堂”，凡中层以上干部自选题目，轮流演讲，演讲内容涵盖企业管理、企业文化、团队精神和职场感悟等。每位演讲者都十分珍惜这个交流学习的机会，每次演讲都做好充分的课件准备。他们把自己当成企业的主人，借助大讲堂与同事们探讨和分享管理经验，让大家充分享受这种学习形式带来的“干货盛宴”，并且在公司传递积极进取、力争上游的正能量。除了大讲堂，公司还定期举办兽药GMP知识竞赛、“无菌操作实践大比武”等活动，通过这些活动不断地提高全体员工的专业技能和水平。

华派人的制度观

坚持制度管理人 管理层摒弃传统落后的“人管人”陋习，推崇“制度才是真正的老板”，建章立制，让每个人的行为都在制度的约束之中，不因人而异，一视同仁。在公司内部的文化墙上，随处可见华派人新观念、新理念的标语；公司的管理制度编辑成册，员工人手一份，便于学习。通过这些宣传和学习，让先进的现代企业管理制度和新理念充实到员工们的工作、学习和生活中，成为员工们的行为准则。其实，管理制度就是企业文化的雏形，通过长时间的积淀和提炼，坚守制度就变成了员工的自然习惯，进而形成企业的专有文化甚至企业精神。

如今，员工们已经把管理当成严肃的爱，把培训当成最大的福利。通过公司管理层的共同努力，管理人员的素质明显提高，管理水平明显增强。在华派人和各团队的不懈努力下，公司发展也取得了有目共睹的显赫成绩。现在，华派建有国内第一个“兽用核酸及亚单位疫苗工程实验室”，拥有中国第1条通过GMP验收的核酸疫苗生产线，已获得新兽药证书8个，其中二类新兽药证书1个、三类新兽药证书7个。在现有产品的工艺更新中，华派不断对产品进行浓缩、纯化研究，在尽量减少副反应、提高产品效价和做好技术服务上得到了越来越多客户的赞誉。经过短短

7年多的发展，公司已成为国内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。

用制度把关品质 质量是企业的生命，华派将疫苗生产的每个环节都纳入制度管理，用制度和标准把控品质。首先，公司严格按照GMP要求和产品规程进行生产，实行产品质量的全程监控。其次，企业内控标准高于国家标准，确保疫苗品质稳定，批间差异甚微。第三，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和外源病毒污染。第四，公司严格执行批检批签发制度，不合格产品绝不出厂。

畜禽养殖是一个系统工程，生物制品的使用只是畜禽生产过程中的某些环节，做好养殖场的系统管理才能确保生产效益。华派深知养殖户与疫苗生产企业之间的相互依存关系，不仅着眼于公司自身的成长与发展，更以养殖场的利益为出发点，为养殖场提升效益做好最大化服务。为此，公司组建了强大的技术服务团队。公司动物疫病监测诊断中心是通过省农业厅验收并授予资质的动物检疫指定实验室，聘请了行业专家为公司的技术顾问，配备了6台流动现场检测技术服务车及配套设施、设备和技术人员，完全能够为客户的科学、健康养殖精准解决实际问题，提供更多的增值服务。

华派人坚信，企业文化是打造百年企业的长寿基因。只有建设好自己的企业文化，才会使基业常青，在文化设计上迈出的每一小步，都可能带来企业变革上的巨大进步。华派生物通过企业文化建设的深入开展，改善了企业的管理，更新了员工的思想观念，提高了员工的竞争意识，激发了企业员工的积极性和集体主义精神，增强了企业的凝聚力。

“华溢于表，派源于质”，这是华派人永远坚守的核心价值观，也是华派生物发展的原动力。我们与众不同，不仅在于外表的光华，更在于华派的人品和华派匠人潜心研制的产品品质。可以预见，随着核酸疫苗、亚单位疫苗等高端产品的投产上市，必将使华派品牌插上腾飞的翅膀，迈入动物疫苗品牌的先进行列，成为行业的领头羊。



打造中国动物疫苗第一品牌
CREATE THE TOP BRAND OF VETERINARY VACCINE IN CHINA

华克优

鸡传染性法氏囊病活疫苗 (NF8株)
Infectious Bursal Disease Vaccine, Live (Strain NF8)

- 优选毒株毒力适中, 免疫原性好, 保护率高
- 优质SPF种蛋生产, 杜绝外源病原污染
- 抗原含量高, 无需加量使用
- 严格内控, 质量稳定



核酸疫苗大牛

卫星辉和他的华派团队

平凡的人，干着平凡的事，有如细流，聚集，奔腾，最终汇入伟大的海洋。

——题记

文 潘华柱



华派核酸疫苗团队刚成立之初仅有3人，肩负着车间设计的使命来到了香港，与专家团队研讨了7天7夜后，最初厂房的设计图跃然纸上。

“世界级的！”专家团队核心人物——卫星辉博士推了一下眼镜框，大家舒心一笑。

这一张图纸将原本陌生的命运轨道交错在一起。卫博士也因这张图纸，走进了华派核酸疫苗团队。

而交错这张命运网络的推动者正是他——谢建

勇，华派生物董事长兼总裁，在反复审阅核酸车间图纸后，沉思片刻，淡定而语：“集先进生物科技，铸百年疫苗品质，你们放手干吧！”

拿着这份图纸，不到半年，核酸车间矗立而起，不到一年，以全国第一家的身份，一次性通过了农业部GMP静态验收。

这其中，有肯定，有质疑。肯定的是团队的艰苦付出，质疑的是短时间内软硬件能否胜任？定制硬件能否适用？能否生产出合格的产品？



毕竟实验室技术成熟不代表生产工艺的可行，生产工艺的可行不代表能大规模批量化生产。核酸疫苗团队在卫博士的带领下，顶住压力，一头扎进工艺的摸索之中。

第一次验证 10 升生物反应器，后期发现供氧能力不足，下罐后检查通气孔径比设计要求小了一半，直接导致气孔堵塞。当时生物反应器厂家要一周以后来解决这个问题，核酸疫苗团队驱车 400 公里，找到加工点，一天内将问题解决，第二天再次验证时，顺利通过。

第一次验证百升级生物反应器，凌晨 3 点，Ph 控制系统出现故障，酸碱控制完全失效，检查了两个小时，锁定在了控制线上，紧接着再次准备，连续作战，验证完成后已是第二天凌晨 5 点。

第一次验证吨位级生物反应器的时候，温控系统超温严重，眼看还有 12 个小时即可完成收获，却因温控问题可能导致前功尽弃。大家齐心协力搬来 200L 的大冰桶，从罐体夹套支路并入管道，通过蠕动泵做循环给罐体降温，经过 12 个小时的奋战，顺利完成收获。

… …

太多的第一次，太多的意外，太多的碰壁，核酸团队

每次迎难而上，因为我们相信，解决问题只有一个办法——迎上去。

通过半年的努力，核酸工程菌扩增项目基本完成，为百克级核酸（质粒）生产推开了大门。随后，一系列的问题接踵而来：

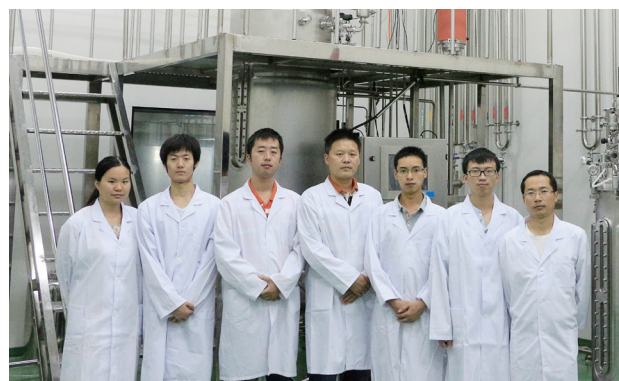
如何将工程菌里的目标质粒提取出来？

如何保证提出来质粒的活性？

如何最大限度地回收菌体质粒？

如何降低工程菌等系统带入的内毒素？

… …



核酸疫苗车间



项目带头人：卫星辉博士
生产技术总监

1997 年获得香港大学生物化学博士学位。毕业后于香港领先基因公司任科学研究员，2000 年于香港主板上市公司长江生命科技公司任项目经理，2004 年于香港格兰柏生物科技有限公司任总经理十年。2016 年加盟华派生物公司，任华派生物生产技术总监。

等等，一系列的问题摆在了我们面前时，卫博士带领团队一次又一次走出困境。

华派人的梦想有如星辉闪烁，所以他走进了华派人的梦。

卫星辉，研究核酸疫苗大规模生产已有 20 个年头，在禽用核酸疫苗上面，突破百克级生产规模的全球第一人。“华派现在的生产规模是全球最大，比全球最大都大好多倍，我们已经翻越顶峰，其他小问题还会怕吗？！”卫博士如是说。

也许 20 年走过的路太过曲折，太过坎坷，太过艰险，

当华派核酸疫苗一次又一次遇到困难时，卫星辉淡然的笑容里，除了一份泰然，别无它物。

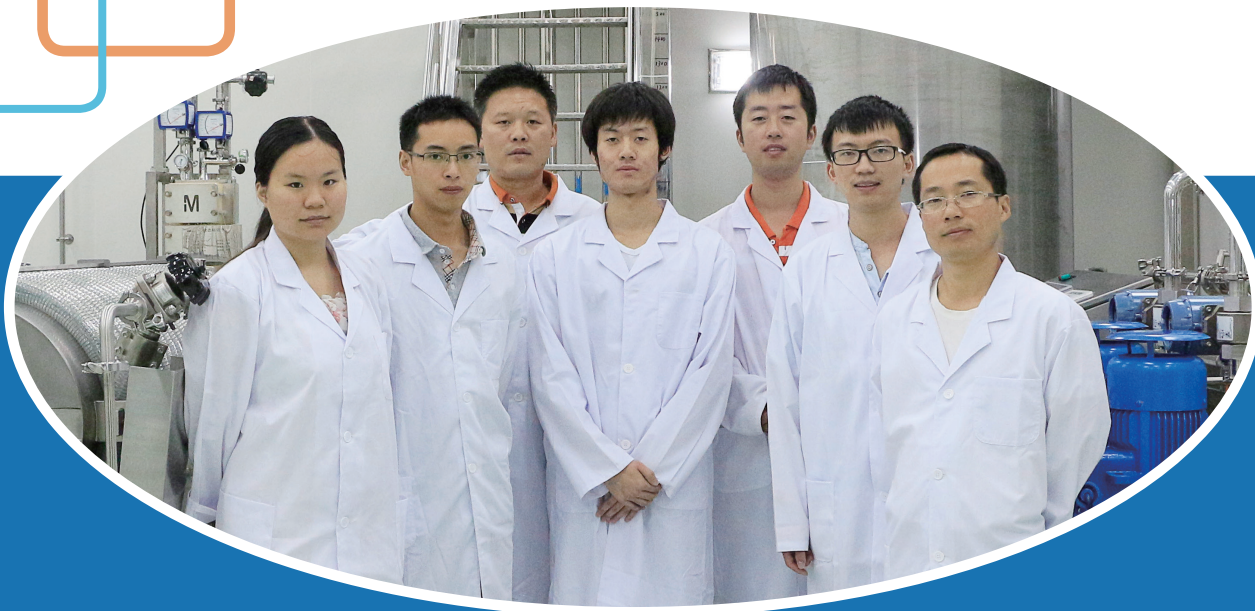
“很好，我们明确这条路走不通，走不通的路都走完了，剩下的路再走走，就是我们想要的。”

超螺旋不达标，质粒回收率低，内毒素是否超标……等等问题扑面而来的时候，他带领着华派人，考究工艺的每个关键点，规避风险，翻过一个又一个技术上的险峰，解决一个又一个难题。

随后，核酸生产线做了二次软硬件上改动，迎来了第一次核酸疫苗试生产，此时团队扩增到 10 人。



生产技术团队



全新的设施、全新的设备、全新的技术、全新的人员，毫无悬念，第一次试生产以失败告终。十多项生化检查指标当中，仅因一项不达标，导致最后的检验报告上，盖上了“不合格”三个字。临门一脚可惜射在了门框上。

此时的核酸疫苗团队对质疑声越来越敏感，在这个最关键的环节，就差一步本可以做到完美，但上天没有如此眷顾。

沉默，没有过多解释，核酸疫苗团队相信，唯一的解释只有最终的结果。

在卫博士带领下，反复研究了第一次试生产失败的原因后，第二次试生产如期而至。

经历过失败和挫折后的核酸疫苗团队多了一份淡然和自信。第二次试生产最终产品十多项生化指标检测合格后，这一切似乎在意料之中，也在意料之外。

奋战一年，核酸疫苗生产线成功完成核酸疫苗试制。

紧接着，核酸疫苗团队交上了第三次试生产的合格答卷，至此，在核酸疫苗团队两年的不懈努力下，完成了核酸疫苗从无到有的转变。

乘风破浪会有时，再大的困难，华派人不怕，平凡心，做平凡事，化解种种困难。

直挂云帆济沧海，苍洋之上，满天星辉，闪耀着华派人不平凡的梦想，星空之下，华派生物这艘巨型航母，劈风斩浪。



（作者简介：潘华柱，硕士，核酸疫苗车间副主任）

招聘

一、公司简介

华派生物工程（集团）有限公司是集兽用生物制品、兽药生产、研发、经营和技术服务于一体的新型科技型生物工程集团公司。

公司旗下拥有华派生物、澳龙生物、新精华药业、通量药业等多个生物疫苗、兽药企业。集团总部位于成都市简阳经济开发区石盘食品医药产业园。

华派生物工程（集团）有限公司现有员工 620 余人，大专及以上学历 350 余人，其中国内知名专家 2 人，博士 8 人，硕士 60 人。同时，集团还与中国兽医药品监察所、中国农科院哈尔滨兽医研究所、中国农科院兰州兽医研究所、中国农业大学、华南农业大学、华中农业大学、四川农业大学、四川省畜牧兽医研究院等国内 10 余所高等院

校及国家多个科研单位合作，为产品的研发和升级换代提供了强有力的保障。

集团现有猪用、牛用、羊用、禽用各类生物制品、兽药产品百余种，拥有新药证书 10 个，专利 12 个，国家产品生产批准文号 300 余种。集团公司在全国设有 20 多个办事处及营销分公司，拥有众多品牌销售网点，形成了幅射全国强大的营销网络和技术服务体系。

华派生物集团为打造中国生物制品行业第一品牌，整体布局已经具备规模，集团正不断发展壮大，尤其澳龙生物、新精华药业的发展需要众多专业人士，现面向社会大量高薪招聘以下职位，公司诚邀广大优秀人才的加盟。

二、招聘计划

(具体信息见附表)

三、公司福利

- 1、研究生及以上学历,在本公司工作3年以上,工作积极、成绩优秀者,公司可有偿赠送住房一套,限面积80-90平米;夫妻二人同到公司就职,最大可享受一套商品住房,限面积100-120平米。
- 2、本科学历人员,在本公司工作3年以上,本公司购买住房,在享受最低优惠价的基础上,公司再给10万元购房补贴。
- 3、免费提供工作餐及宿舍。
- 4、社保基金、节日福利、年终奖。
- 5、丰富的培训机会和晋升空间。

四、应聘须知

1、应聘时间:2016年9月15日—12月30日

2、联系方式:

公司地址:成都市简阳经济开发区石盘食品医药产业园

联系人:

扶先生:1052666974@qq.com 何女士:494604161@qq.com

车先生:35979559@qq.com 杨女士:478302249@qq.com

联系电话:028-27282488

只要你是人才,给你足够空间!
华派生物工程(集团)有限公司诚邀您的加盟!

附表：招聘计划

序号	招聘岗位	岗位职责	任职要求	薪酬待遇	招聘数量
1	研发	1. 负责集团产品研发，能独立操作和承接课题项目。 2. 负责产品实验室研制及相关产品工艺优化。	1. 硕士及以上学历。 2. 中兽药制剂、化学制剂、宠物和经济小动物、临床兽医、预防兽医、生物工程等相关专业。 3. 临床经验丰富，在企业有多年产品研发经验的人员或大学相关科研经验教授。	年薪：30—50万特殊人才： 50—120万/年。	博士 5 人 硕士 15 人
2	鸡胚苗	负责鸡胚苗的生产及工艺优化。	1. 本科及以上学历。 2. 精通鸡胚组织苗的全部生产工艺，5年以上工作经验。 3. 吃苦耐劳、踏实肯干。	年薪 15 万元以上	4 人
3	生 细胞制备	细胞制备、传代，抗原制备及其他辅助工作。	1. 本科及以上学历。 2. 微生物、生物工程、兽医相关专业，有细胞培养、生物反应器操作经验优先。 3. 精通细胞苗的生产工艺，能独立进行细胞悬浮培养，5年以上工作经验。 4. 吃苦耐劳、踏实肯干。	年薪 20 万元以上	6 人
4	产 细菌线	负责细菌发酵及培养，蛋白纯化。	1. 本科及以上学历。 2. 微生物、生物工程、兽医、罐体设备相关专业，有无菌操作、生物反应器操作经验。 3. 精通细菌发酵、培养基调整的生产工艺，能独立组织菌苗生产，5年以上工作经验。 4. 吃苦耐劳，踏实肯干。	年薪 15 万元以上	10 人

5	技 术 团 队	浓缩 纯化	负责浓缩、纯化设备的操作， 生产工艺优化，质量检测。	<ol style="list-style-type: none"> 1. 本科及以上学历。 2. 微生物、生物工程、化学、罐体设备相关专业，有纯化设备操作、无菌操作、生物反应器操作经验优先。 3. 精通疫苗浓缩、纯化生产工艺，5年以上工作经验。 4. 吃苦耐劳，踏实肯干。 	年薪 15 万元以上	4 人
6		乳化	负责乳化罐的操作，设备的 维护，乳化工艺优化。	<ol style="list-style-type: none"> 1. 本科及以上学历。 2. 微生物、生物工程、化学、罐体设备相关专业，有无菌操作、乳化罐体设备操作经验优先。 3. 精通疫苗多种乳化剂的乳化工艺，5年以上工作经验。 4. 吃苦耐劳，踏实肯干。 	年薪 10 万元以上	4 人
7		冻干	负责冻干机的操作及日常维 维护保养。	<ol style="list-style-type: none"> 1. 本科及以上学历。 2. 机电、罐体设备相关专业，精通疫苗冷冻真空干燥工艺，熟悉设备日常维护保养，5年以上工作经验。 3. 男性，能值夜班，吃苦耐劳，踏实肯干。 	年薪 10 万元以上	4 人
8		车间 主任 、副 主任	<ol style="list-style-type: none"> 1. 在生产副总经理的领导下负责生产车间各项管理工作。 2. 组织实施生产部下达的生产计划，全面完成生产任务。负责车间员工的日常管理。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 本科及以上学历。 2. 生物工程、生物技术、动物医学、兽医相关专业，有较强的专业知识和良好的道德素养，较强的组织能力和管理能力。 3. 工作积极、认真负责，具有相关管理经理人员。 	年薪 20—30 万元	3 人

9	生产副总	<ol style="list-style-type: none"> 1. 全面负责公司生产技术、生产车间的管理工作。 2. 组织拟定公司生产计划和实施细则，掌握生产进度，协调各生产车间的材料及人力分配。 3. 负责公司安全生产及安全教育工作，安全事故的应对与处理。 4. 全面负责生产人员的管理工作。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 本科及以上学历，生物、畜牧兽医、动物科学等相关专业。 2. 卓越的生产管理经验，丰富的生产现场工艺及品质控制技能。 3. 优秀的组织能力、管理能力和团队领导能力。 	薪酬面议	1人
10	营销代表	有相关行业工作经验，能适应长期出差。	<ol style="list-style-type: none"> 1. 大专及以上学历，畜牧兽医等相关专业。 2. 有相关行业营销工作经验，熟悉市场。 3. 较强的沟通能力和团队意识，吃苦耐劳，踏实稳重。 	基本工资 + 考核工资 + 提成 20—30 万以上	30—50 人
11	省区经理	在大区经理的领导下，负责省区销售的推广工作，销售队伍的组建、管理工作。	<ol style="list-style-type: none"> 1. 本科及以上学历，畜牧兽医相关专业。 2. 相关行业从业经验，3 年以上养殖场工作经历人员优先。 3. 较强的协调能力和团队意识。 	15—50 万 + 提成	10 人
12	战区经理（禽苗、猪苗）	在销售副总的领导下，负责区域销售的推广工作，销售队伍的组建、管理工作，完成公司下达的销售任务。	<ol style="list-style-type: none"> 1. 本科及以上学历，畜牧兽医相关专业。 2. 有 3 年以上相关行业营销工作经验，熟悉市场并拥有网络客户和终端客户资源。 3. 较强的团队意识、管理能力、公关能力和专业技能，年龄 40 岁以内。 	年薪 30 万元以上 + 提成	5 人
13	市场副总监	负责市场调研、产品规划，大型会议筹划，标书制作，内勤管理，包装和宣传等。	<ol style="list-style-type: none"> 1. 本科及以上学历，文秘、市场营销相关专业。 2. 具有 5 年以上行业工作经验。 3. 优秀的写作和沟通能力，年龄 40 岁以内。 	年薪 20 万元以上	1 人

14	技术 服务 团 队	技术 营销 人员 (禽 疫苗、 牛羊 苗)	<ol style="list-style-type: none"> 负责公司产品及疫病防控方案的营销工作，并提供售后服务。 接受长期出差或驻场服务。 能开展小型技术会议授课，撰写技术文章。 	<p>本科及以上学历，畜牧兽医相关专业。</p> <p>有3年以上相关行业营销工作经历，熟悉市场并拥有网络客户和终端客户资源，3年以上养殖场技术管理或服务经验人员优先。</p> <p>3. 较强团队意识和沟通能力，吃苦耐劳，年龄35岁以内。</p>	年薪20—30 万元以上	若干
15		专家 技术 服务 人员 及禽 苗技 术总 监、 副总 监	<ol style="list-style-type: none"> 充分了解疾病和产品知识，使自身成为行业内具有影响力的专家。 参与制定公司疫病防控方案，为专业刊物撰写技术文章。 利用现场拜访、疾病诊断、专家服务、各种研讨会等机会和资源，推广公司疫病防控方案。 培训公司业务员和经销商等客户，为小型产品推广会议授课。 	<ol style="list-style-type: none"> 本科及以上学历，畜牧兽医相关专业。 在大型养殖场具有5年以上工作经历或大学具有相关经验的教师。 较强组织能力、管理和团队领导能力，年龄45岁以内。 	年薪20—40 万元以上	10人
16	信息平 台管 理经 理	<ol style="list-style-type: none"> 负责集团官网及微信平台的日常管理及维护工作，适时更新集团新闻、动态信息、产品信息、技术交流文章等。 集团刊物稿件及图片素材的征集、审核、定稿工作。 负责集团网络应用及服务器的日常维护。 	<ol style="list-style-type: none"> 本科及以上学历，通信、电子、计算机、信息工程相关专业。 具有3年以上相关工作经验。 接受过系统化管理培训或学习，具有较强的文字功底。 	年薪10—15 万	2人	

17	人事经理	<ol style="list-style-type: none"> 负责协助完成集团人力资源管理日常工作。 根据集团经营发展规划，制定并执行人力资源规划。 人员供给需求分析，制定招聘计划并实施。 管理制度的编制与修订。 负责集团培训方案的制定、实施与考核。 集团绩效管理与薪酬福利的规划与核算。 集团有关员工工关系、劳动法规的管理。 	<ol style="list-style-type: none"> 本科及以上学历，人力资源管理、心理学相关专业。 具有3年以上人力资源管理工作经验，熟悉并精通人力资源管理各工作模块的流程及管理。 熟悉国家、地区劳动人事政策法规，企业关于合同管理、薪金制度、用人机制、保险福利待遇和培训政策方针。 具有良好的学习能力和文案写作能力，熟练操作办公软件及相关人事管理软件。 良好的人际关系处理能力、沟通协调、团队领导力及亲和力，较强的抗压力。 	年薪 10-15 万	2 人
18	行政办公室主任	<ol style="list-style-type: none"> 负责协助完成集团行政部日常管理工作。 负责建立和完善行政后勤管理的各项规章制度，并负责监督、执行与追踪。 全面负责行政部与其他部门间的协调工作，配合各部门做好各项服务工作。 负责集团办公物资管理、各类接待、会务管理安排的相关工作。 负责集团各类资质证件的申办、管理工作。 负责实施集团企业文化建设，各类员工活动的策划、组织实施。 	<ol style="list-style-type: none"> 本科及以上学历，工商管理、行政管理相关专业。 具有5年以上企业行政工作经验，其中3年以上管理岗位经验。 有较强的人际沟通能力、组织协调能力及团队合作能力。 具有较好的公文写作水平及语言、文字表达能力。 执行力强，做事踏实严谨、细心，工作具有原则性，较强抗压力。 	年薪 10-15 万	2 人

技术交流 Technical Exchange

华派生物伪狂犬病研究进展

文 | 徐静 盛泽军 汪谦 秦运杰 方鹏飞 李金海 向丕元

摘要: 华派生物就 2009 年前分离的野毒与 2015 年分离野毒毒力对比、基因序列比较、相同血清对 2009 年前分离的野毒和 2015 年分离的野毒的中和能力比较；活疫苗、灭活疫苗接种次数及接种的先后顺序研究、采用不同免疫程序的猪场的 gB ELISA 抗体监测以及实际发生伪狂犬病猪场的免疫程序调查；采用不同稀释液稀释 Bartha-k61 活疫苗免疫效果比较；以 PRV 2013 年流行毒株构建的 gE 和 TK 双基因缺失株与 Bartha-k61 弱毒株的免疫原性比较；Bartha-k61 弱毒疫苗接种攻毒保护试验研究得出：1) 当前流行毒株毒力比 2009 年分离的流行毒株毒力增强；2) 尽管 2012 年后流行毒株的毒力都增强，但华中、华东、华北流行毒株基因序列同源性更高，与广东分离的流行毒株基因序列同源性相对较低；3) 采用先接种活疫苗再接种灭活疫苗的免疫效果更佳；4) 猪场发生严重的伪狂犬病主要是由于免疫程序不当引起的；5) 采用专用稀释液稀释伪狂犬病活疫苗能有效提高免疫效果，提高对伪狂犬病当前流行毒株的保护率；6) 当前流行毒株构建的双基因缺失疫苗免疫原性并不比 Bartha-k61 好。在这些基础研究的基础上，华派生物提出了行之有效的伪狂犬病控制、净化措施。

引言

伪狂犬病是由伪狂犬病病毒引起，伪狂犬病病毒可感染多种家畜和野生动物。被感染的动物表现表现出不同的临床症状，比如发热，奇痒（猪除外）、繁殖障碍、脑膜炎。猪是自然宿主，伪狂犬病可感染不同日龄的猪，引起新生仔猪死亡和神经症状，引起生长猪呼吸道疾病，引起妊娠母猪繁殖障碍，这给养猪业造成巨大的损失。

除美国、波兰等国家已经根除了伪狂犬病外，伪狂犬病仍在很多养猪国家流行。伪狂犬病病毒与其他疱疹病毒一样，能引起持续感染，一旦感染，在受到应激时，可排毒。因此，潜伏感染对猪场来说更为重要，在伪狂犬病野毒净化中更值得关注。

在过去几十年，一直采取活疫苗或灭活疫苗来控制伪狂犬病，在我国采用 Bartha-k61 弱毒活疫苗控制伪

狂犬病。Bartha-k61 为自然缺失 gE 基因，不表达 gE 蛋白，不产生 gE 抗体，可监测 gE 抗体确诊是否有野毒感染。Bartha-k61 弱毒活疫苗是当前控制伪狂犬病最为有效的手段。

然而，据报道，从 2012 年初开始，在我国华南、华中、华东、华北等地陆续爆发伪狂犬病，在接种过 Bartha-k61 弱毒疫苗的猪场也发生，该病可引起生长猪死亡率在 10-50%。

四川省华派生物制药有限公司作为一家研发、生产、销售一体的兽用生物制品企业，也对当前伪狂犬病、伪狂犬病疫苗、伪狂犬病免疫程序和控制措施进行了多方面研究，现将研究进展与大家分享，期望在伪狂犬病控制方面能为大家提供参考。

一、强毒株研究

1.1 将 15 头 49 ~ 56 日龄阴性猪 (gB ELISA 抗体阴性，中和抗体小于 1:2) 随机分为 3 组，5 头 / 组。第 1 ~ 2 组为攻毒组，第 3 组为对照组。第 1 组滴鼻 SE 株 2.0ml，第 2 组滴鼻 GD-82 株 2.0ml，第 3 组未接种作为对照，接种后隔离饲养。在接种前 3 天和接种后 5 天内每日上下午各测温 1 次，在接种后第 3 天采集鼻拭子，用于病毒分离，接种后每日上下午观察临床症状、饮水、采食情况并记录。

1.2 将 15 头 150 ~ 160 日龄阴性猪 (gB ELISA 抗体阴性，中和抗体小于 1:2) 随机分为 3 组，5 头 / 组。第 1 ~ 2 组为攻毒组，第 3 组为对照组。第 1 组滴鼻 SE 株 2.0ml，第 2 组滴鼻 GD-82 株 2.0ml，第 3 组未接种作为对照，接种后隔离饲养。在接种前 3 天和接种后 5 天内每日上下午各测温 1 次，在接种后第 3 天采集鼻拭子，用于病毒分离，接种后每日上下午观察临床症状、饮水、采食情况并记录。

表 1 不同毒株、经滴鼻攻毒 49 ~ 56 日龄仔猪结果

组别	临床症状			发病数 *	死亡数 **	死亡时间 (攻毒后)	病毒分离 阳性数
	体温升高及食欲下降	呼吸道症状	神经症状				
SE 滴鼻	4/5	4/5	2/5	4/5	1/5	第 9 日	4/5
GD-82 滴鼻	5/5	0/5	5/5	5/5	5/5	第 5-7 日	4/5
未攻毒对照	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		0/5

表 2 不同毒株经滴鼻攻毒 150-160 日龄育肥猪结果

组别	临床症状			发病数 *	死亡数 **	死亡时间 (攻毒后)	病毒分离 阳性数
	体温升高及食欲下降	呼吸道症状	神经症状				
SE 滴鼻	1/5	1/5	0/5	1/5	0/5		1/5
GD-82 滴鼻	5/5	5/5	3/5	5/5	3/5	第 9-12 日	3/5
未接种对照	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		0/5

注：* 发病标准为：1) 体温比基础体温高至少 1℃及精神食欲下降至少 3 日；2) 咳嗽、喘气、呼吸急促、打喷嚏等至少一项呼吸道症状；3) 出现转圈、撞墙、肌肉震颤、划水、流涎中至少一项为出现神经症状，出现这 3 项中任意两项则为发病。

** 死亡标准为：倒地，驱赶后仍不起，认为濒临死亡，进行处死。

从表 1 和表 2 的结果来看，GD-82 株对 49 ~ 56 日龄抗体阴性的猪致死率为 5/5，SE 株对 49 ~ 56 日龄猪致病率 4/5，致死率 1/5；GD-82 株对 150 ~ 160 日龄猪致病率 5/5，致死率为 3/5，SE 株对 150 ~ 160 日龄猪致病率为 1/5，

致死率为 0/5。SE 株为 2009 年在四川分离的野毒株，含 gE 和 TK 基因，GD-82 为 2015 年分离自广东的野毒株，也含 gE 和 TK 基因。从对两种日龄猪的毒力来看，GD-82 株毒力明显强于 SE 株。

2.GD-82 株与其他毒株主要基因序列比较

图 1 不同毒株之间 gD 基因序列比较

		Percent Identity							
		1	2	3	4	5	6		
Divergence	1	█	98.9	98.8	98.8	98.8	98.8	1	BarthagD.seq
	2	1.1	█	99.3	99.3	99.3	99.3	2	GDgD.seq
	3	1.3	0.7	█	100.0	100.0	100.0	3	HeN1gD.seq
	4	1.3	0.7	0.0	█	100.0	100.0	4	HNBgD.seq
	5	1.3	0.7	0.0	0.0	█	100.0	5	JS-2012gD.seq
	6	1.3	0.7	0.0	0.0	0.0	█	6	TJgD.seq
		1	2	3	4	5	6		

图 2 不同毒株之间 TK 基因序列比较

		Percent Identity							
		1	2	3	4	5	6		
Divergence	1	█	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	1	Bartha tk.seq
	2	0.3	█	99.6	99.6	99.6	99.6	2	GD tk.seq
	3	0.3	0.4	█	100.0	100.0	100.0	3	HeN1 tk.seq
	4	0.3	0.4	0.0	█	100.0	100.0	4	HNB tk.seq
	5	0.3	0.4	0.0	0.0	█	100.0	5	JS2012 tk.seq
	6	0.3	0.4	0.0	0.0	0.0	█	6	TJ tk.seq
		1	2	3	4	5	6		

图 3 不同毒株之间 gl 基因序列比较

		Percent Identity						
		1	2	3	4	5		
Divergence	1	█	96.8	96.6	96.7	96.8	1	GD gl.seq
	2	3.3	█	99.8	99.9	99.8	2	HeN1 gl.seq
	3	3.5	0.2	█	99.9	99.8	3	HNB gl.seq
	4	3.4	0.1	0.1	█	99.9	4	JS-2012 gl.seq
	5	3.3	0.2	0.2	0.1	█	5	TJ gl.seq
		1	2	3	4	5		

图 4 不同毒株之间 gG 基因序列比较

		Percent Identity							
		1	2	3	4	5	6		
Divergence	1		99.2	99.1	99.1	99.1	99.1	1	Bartha gG.seq
	2	0.8		99.1	99.1	99.2	99.1	2	GD gG.seq
	3	0.9	0.9		100.0	99.9	100.0	3	HeN1gG.seq
	4	0.9	0.9	0.0		99.9	100.0	4	HNB gG.seq
	5	0.9	0.8	0.1	0.1		99.9	5	JS2012 gG.seq
	6	0.9	0.9	0.0	0.0	0.1		6	TJ gG.seq
		1	2	3	4	5	6		

图 5 不同毒株之间 gE 基因序列比较

		Percent Identity							
		1	2	3	4	5	6		
Divergence	1		97.9	97.7	97.7	97.7	97.9	1	GD gE.seq
	2	2.1		99.8	99.8	99.1	99.7	2	HeN1 gE.seq
	3	2.3	0.2		100.0	99.3	99.8	3	HNB gE.seq
	4	2.3	0.2	0.0		99.3	99.8	4	JS-2012 gE.seq
	5	2.4	0.9	0.7	0.7		99.3	5	Min A gE.seq
	6	2.1	0.3	0.2	0.2	0.7		6	TJ gE.seq
		1	2	3	4	5	6		

注：Bartha-k61 为当前使用最广的弱毒疫苗株，GD 株为华派生物分离的野毒株，HeN1、HNB、JS-2012、TJ 这四株为 2012-2014 年从华中、华北、华东分离的野毒株。

从图 1 可以看出，Bartha-k61 毒株 gD 基因序列与其他毒株之间同源性较低，都在 98.8-98.9% 之间，其次是 GD 株与其它 4 株之间同源性在 99.3，其它 4 株的序列同源性为 100%。

从图 2 可以看出，GD 株 TK 基因与其它 5 株的序列同源性相对较低，除 Bartha-k61 外，其余 4 株 TK 基因序列同源性为 100%。

从图 3 可以看出，GD 株与其它 4 株的 gI 基因序列同源性较低，仅为 96.6-96.8 之间，另四株 gI 基因序列同源性为 99.8-99.9。

从图 4 可知，Bartha-k61 的 gG 基因与其它 5 株之间同源性在 99.1-99.2%，GD 株 gG 基因与其它 5 株序列同源性为 99.1-99.2%，另外 4 株之间的序列同源性为 99.9-100%。

从图 5 可知，GD 株 gE 基因序列与其余 5 株的序列同源性仅为 97.7-97.9%，而 MinA 株与其它 4 株之间序列同源性在 99.1-99.3%，而另外 4 株之间的序列同源性为 99.7-99.8%。

从 5 个基因的序列比较来看，从华东、华北、华中分离的 PRV 野毒株成一族，同源性最高。这四株的 gE 基因与 MinA 株 gE 基因序列同源性较高，这 4 株的 gE 基因可能来自 MinA 株。GD 株与另外 4 株野毒株序列同源性相对较低，自成一族。这结果说明当前华中、华北、华东流行的伪狂犬病毒株与广东流行的伪狂犬病毒株存在差异。

3. 中和抗体比较

随机选 118 份血清，其中 108 份为接种 PRV 疫苗后 14 ~ 42 日采集的血清，10 份血清来自未接种疫苗的 PRV gB ELISA 抗体阴性猪。取 50 μ l 血清，在 96 孔微量培养板中进行用不含血清的 MEM 进行 2 倍系列稀释，稀释至 28，每份血清做 2 个重复，分别将 PRVGD-82 株和 SE 株病毒稀释成 2000TCID₅₀/ml，每孔加入稀释好的病毒 50 μ l，并设病毒对照、MEM 对照，放置 37°C 作用 60min，再加入细胞悬液 100 μ l，37°C 5%CO₂ 培养箱 4 ~ 5 天，观察细胞病变，以完全抑制细胞病变的血清最高稀释度为该血清的中和抗体效价，中和抗体效价以 log₂ 表示。

表 3 相同血清对不同毒株的中和抗体效价比较

中和 GD-82 与 SE 效价相同的	26 份
中和 GD 大于 SE 的	3 份
中和 SE 大于 GD 的	89 份

表 4 PRV gB ELISA 抗体阴性血清对不同毒株的中和抗体效价

中和抗体效价	2 ⁰	2 ¹	$\geq 2^2$
GD-82 株	9 份	1 份	0
SE 株	1 份	0 份	9 份

注：GD-82 株是本公司 2015 年从广东分离的野毒株，SE 株是本公司 2009 年从四川分离的野毒株。

从血清对两株病毒的中和抗体效价比较结果来看，血清对 SE 株的中和能力显著高于对 GD-82 株的中和能力。从 gB ELISA 抗体阴性血清对两株病毒的中和抗体效价比较来看，即使 gB ELISA 抗体阴性的血清仍有 9 份对 SE 株的中和能力不小于 1:4，对 GD-82 株的中和能力都不大于 1:2，这也说明为什么 SE 株仅对 49-56 日龄猪部分致病，死亡率仅为 1/5，对 150-160 日龄的猪不致病；GD-82 株对 49 ~ 56 日龄全发病，全死亡，对 150 ~ 160 日龄猪全发病，部分致死。

从对不同日龄猪的致病性、序列分析比较以及血清对两个毒株的中和能力比较结果来看，GD 株为伪狂犬病毒强毒株；当前华中、华北、华东流行的伪狂犬病毒株与广东流行的伪狂犬病毒株存在差异。

二、免疫程序研究

1. 不同疫苗组合研究

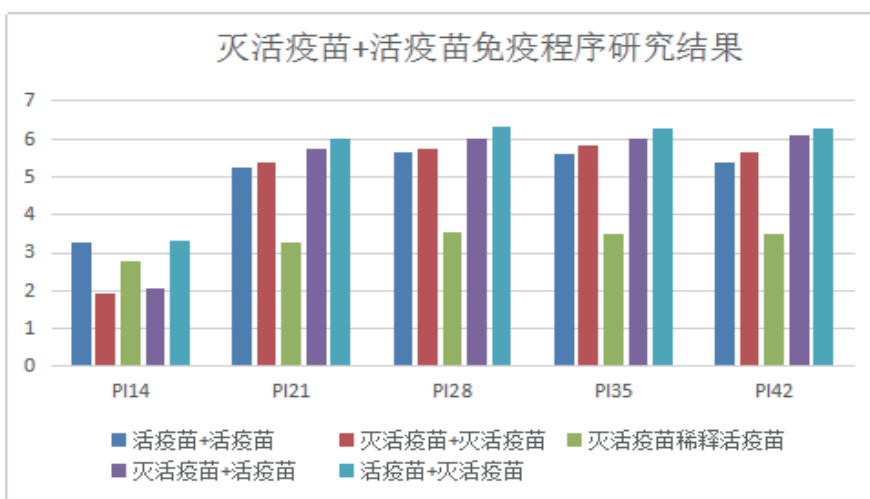
通过预试验研究，将灭活疫苗与活疫苗进行不同组合免疫，以评价各种不免疫方式优劣。组合情况为：灭活疫苗 + 活疫苗、活疫苗 + 活疫苗、灭活疫苗 + 灭活疫苗、活疫苗 + 灭活疫苗、灭活疫苗稀释活疫苗。

36 头 21 日龄 gB ELISA 抗体阴性仔猪随机分为 6 组，6 头 / 组，第 1 ~ 5 组为疫苗接种组，第 1 组在 21 日龄每头接种灭活疫苗 1ml，第二组每头接种活疫苗 1 头份，第 3 组每头接种活疫苗 1 头份，第四组每头接种活疫苗 1 头份，第 5 组用灭活疫苗稀释活疫苗，1 头份 / ml，每头接种 1ml。第 6 组作为对照组，接种华派生物专用稀释液— 1ml。间隔 14 日，第一组每头接种活疫苗 1 头份，第二组接种活疫苗 1 头份，第三组接种灭活疫苗 1ml，第 4 组接种灭活疫苗 1ml，第 5 组接种 1ml 华派专用稀释液—，第 6 组接种华派专用稀释液— 1ml。从首免后 14 日开始，间隔 7 日采血 1 次，测其中和抗体。除第 5 组外，其他组活疫苗皆用华派专用稀释液— 稀释。

表 5 灭活疫苗、活疫苗免疫程序研究

组别	PI14	PI21	PI28	PI35	PI42
活疫苗 + 活疫苗	3.27	5.21	5.65	5.60	5.34
灭活疫苗 + 灭活疫苗	1.92	5.38	5.74	5.83	5.65
灭活疫苗稀释活疫苗	2.75	3.24	3.53	3.48	3.46
灭活疫苗 + 活疫苗	2.04	5.70	6.0	5.98	6.10
活疫苗 + 灭活疫苗	3.31	5.97	6.32	6.26	6.25

图 6 灭活疫苗、活疫苗免疫程序研究结果



从表 5 和图 6 的结果可知，在首免后 14 日，接种活疫苗的中和抗体几何平均值达 3.27 以上；接种灭活疫苗的中和抗体仅为 2.0 左右，接种灭活疫苗稀释活疫苗的中和抗体达 2.8 左右。从这一结果可知，在猪场紧急接种时最好选专用稀释液一稀释伪狂犬活疫苗接种。猪场在正常免疫情况下，可采用专用稀释液一稀释活疫苗，二免时接种伪狂犬病活疫苗或灭活疫苗。

2. 猪场 gB ELISA 抗体监测

我们采集了 3 个采用不同免疫程序的场的样品，用 gB ELISA 抗体方法监测其抗体。第 1 个场仔猪的免疫程序为 1-3 日龄滴鼻，以后不接种，采血日龄为 56 ~ 60 日龄，样品数量为 20 份；第二个场仔猪的免疫程序为 45 日龄接种，以后不接种，采血日龄为 60 ~ 65 和 90 ~ 100 日龄各 20 份；第 3 个场仔猪免以程序为 45 日龄首免，70 ~ 75 日龄二免，采血日龄 60 ~ 65 和 90 ~ 100 日龄各 20 份。

表 6 三个猪场 gB ELISA 抗体监测结果

猪场	采样日龄 (日)	阳性率	阴性	可疑
猪场一	56 ~ 60	5/20	6/20	9/20
猪场二	60 ~ 65	19/20	1/20	0/20
	90 ~ 100	3/20	16/20	1/20
猪场三	60 ~ 65	20/20	0/20	0/20
	90 ~ 100	18/20	2/20	0/20

从表 6 的结果可知，猪场一 1 ~ 3 日龄滴鼻，在 56 ~ 60 日龄时用 gB ELISA 检测，其阳性率已降到 25%，猪

场二 45 日龄接种，在 60 ~ 65 日龄时其阳性率达 95%，但到 90 ~ 100 日龄时，其阳性率降到 15%；猪场三采用 45 日龄首免，75 日龄二免，在 60 ~ 65 日龄和 90 ~ 100 日龄采集的血样的阳性率分别为 100% 和 90%。这样的结果说明免疫程序对 gB ELISA 抗体阳性率影响很大。

3. 猪场发病实证

猪场一：能繁母猪 100 头，自繁殖自养，饲料外购。临床症状描述：2014 年 10 月该猪场在保育阶段（56-60 日龄）大约 80% 猪出现呼吸道症状，死亡率在 70%。剖解发现，胆囊肿大、肝脏土黄色、心包积液，间质性肺炎，脑膜充血出血，剖解的部分猪喉头出血。经调查，该猪场伪狂犬病疫苗母猪采用跟胎接种，仔猪不接种伪狂犬病疫苗。根据这一情况，采母猪、产房仔猪、保育中后期仔猪血清，进行伪狂犬病 gB 和 gE ELISA 抗体检测。根据检测结果和临床症状，确证该猪场在保育中期感染伪狂犬病野毒。

猪场二：临床症状描述：2014 年 02 月该猪场在育肥中期（100 日龄）大约 20% 猪出现呼吸道症状，死亡率在 8%。剖解发现，肝脏土黄色、有白色坏死点，间质性肺炎，剖解的部分猪喉头出血。经调查，该猪场伪狂犬病疫苗母猪采用跟胎接种，小猪 45 日龄接种 1 次。根据这一情况，采保育中期、育肥前期和育肥后期猪血清，进行伪狂犬病 gB 和 gE ELISA 抗体检测。根据检测结果和临床症状，确证该猪场在育肥中期感染伪狂犬病野毒。

猪场三：临床症状描述：2014 年 05 月该猪场在保育阶段（56 ~ 60 日龄）大约 50% 猪出现呼吸道症状，死亡率在 20%。剖解发现，胆囊肿大、肝脏土黄色、心包积液，间质性肺炎，脑膜充血出血，剖解的部分猪喉头出血。经调查，该猪场伪狂犬病疫苗母猪采用跟胎接种，小猪仅在 3 日龄滴鼻，然后不再接种伪狂犬病疫苗。根据这一情况，采母猪、产房仔猪、保育前期、保育中后期仔猪血清，进行伪狂犬病 gB 和 gE ELISA 抗体检测。根据检测结果和临床症状，确证该猪场在保育中期感染伪狂犬病野毒。

这三个猪场的实证说明免疫程序不合理造成在保育中后期和育肥中期抗体水平低下，此时生物安全防护措施不严，引入野毒，导致猪场发病。

从我公司灭活疫苗、活疫苗接种的免疫程序研究结果、三个未发病猪场伪狂犬病 gB ELISA 抗体监测结果、三个发生伪狂犬病的猪场的原因来看，猪场育肥猪可采用 45 日龄首免，70 ~ 75 日龄二免。首免时最好采用华派专用稀释液一稀释活疫苗，二免时可用活疫苗，也可用灭活疫苗；不建议为了减少接种次数，用灭活疫苗稀释活疫苗，这不能有效提高中和抗体水平。

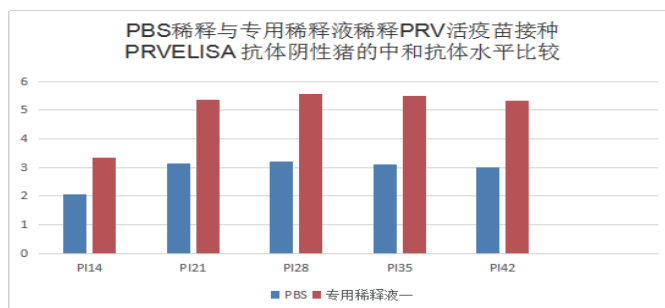
三、不同稀释液免疫效果比较（PBS、专用稀释液）

21 头 21 日龄 gB ELISA 抗体阴性仔猪随机分为 3 组，7 头 / 组，第 1-2 组为疫苗接种组，第 1 组在 21 日龄每头用 PBS 稀释的伪狂犬病活疫苗 1 头份，第二组每头接种用专用稀释液稀释的活疫苗 1 头份，第 3 组作为对照组，接种华派生物专用稀释液 1ml。间隔 14 日，接种相同稀释液稀释的疫苗和剂量。在首免后 14 日开始，间隔 7 日采血 1 次，至首免后 42 日。采用中和抗体法评价其免疫效果。

表 7 不同稀释液稀释伪狂犬病 Bartha-k61 活疫苗后的免疫效果（中和抗体以 log2 对数表示）

	PBS	专用稀释液一
PI14	2.1	3.3
PI21	3.1	5.3
PI28	3.2	5.7
PI35	3.1	5.5
PI42	3.0	5.3

图 7 不同稀释液稀释 PRV 活疫苗免疫效果比较柱状图



从表 7 和图 7 的结果可知，用 PBS 作为稀释液，在首免后 28 天左右达最高，大约 23.2，用专用稀释液一稀释，首免后 14 日的中和抗体水平都达到 23.3，在首免后 28 天中和抗体水平达 25.7。在首免后 14 日，专用稀释液一的中和抗体水平是用 PBS 稀释的 3 倍；在首免后 28 日，其中和抗体水平是用 PBS 稀释的 5.5 倍。这结果说明有必要采用专用稀释液稀释伪狂犬病活疫苗。

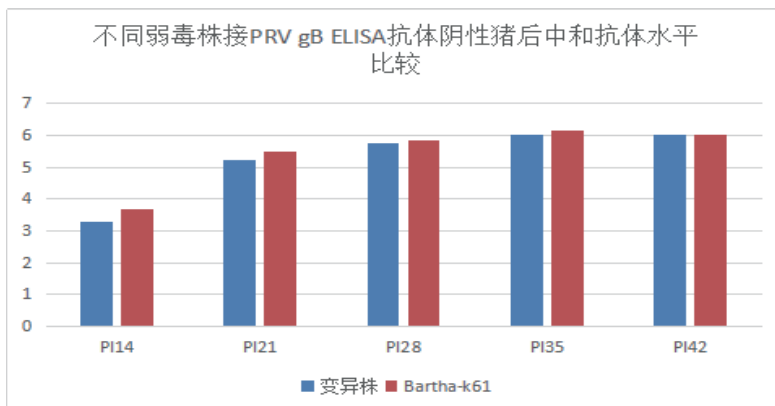
四、变异株双基因缺失疫苗与 Bartha-k61 免疫原性比较

21 头 21 日龄 gB ELISA 抗体阴性仔猪随机分为 3 组，7 头 / 组，第 1-2 组为疫苗接种组，第 1 组在 21 日龄每头用专用稀释液稀释的伪狂犬病 Bartha-k61 病毒液 1ml($10^{6.5}TCID_{50}$)，第二组每头接种用专用稀释液稀释的活 PRV 变异株双基因缺失株病毒液 1ml($10^{6.5}TCID_{50}$)，第 3 组每头接种用专用稀释液 1ml 间隔 14 日，接种相同稀释液稀释的疫苗和剂量。在首免后 14 日开始，间隔 7 日采血 1 次，至首免后 42 日。采用中和抗体法评价其免疫效果。

表 8 不同 PRV 弱毒活疫苗株免疫原性比较

	变异株	Bartha-k61
PI14	3.3	3.7
PI21	5.2	5.5
PI28	5.8	5.9
PI35	6.0	6.1
PI42	6.0	6.0

图 8 不同 PRV 弱毒活疫苗株免疫原性比较柱状图



从表 8 和图 8 的结果可知, PRV 变异株双基因缺失株与 Bartha-k61 株从首免后 14 天到首免后 42 天, 其中和抗体水平相当。从这一结果来看, 变异株双基因缺失对另一变异野毒株的中和抗体效价并不比 Bartha-k61 对另一变异野毒株的高。换句话说, 变异株双基因缺失疫苗对另一变异野毒株的保护能力并不比 Bartha-k61 对另一变异野毒株的保护能力高。

五、Bartha-k61 疫苗接种后对 GD-82 株攻毒保护研究

21 头 21 日龄 gB ELISA 抗体阴性仔猪随机分为 3 组, 7 头 / 组, 第 1 组为疫苗接种组, 第 1 组在 21 日龄每头用 PBS 稀释的伪狂犬病 Bartha-k61 疫苗 1 头份, 第二组每头接种用专用稀释液一稀释的伪狂犬病 Bartha-k61 疫苗 1 头份, 第 3 组每头接种用专用稀释液一 1ml, 间隔 14 日在接种 1 次。在接种后 28 日攻毒, 攻毒后隔离饲养。在接种前 3 天和接种后 5 天内每日上午下午各测温 1 次, 在接种后第 3 天采集鼻拭子, 用于病毒分离, 接种后每日上午下午观察临床症状、饮水、采食情况并记录。对各组未死亡的猪, 在攻毒后 21 日每组放入 5 头、49-56 日龄 gB ELISA 抗体阴性猪与其同居感染, 在同居后每日观察, 在同居后 28 日采同居感染的猪测其 gE ELISA 抗体。

表 9 以不同稀释液稀释伪狂犬病活疫苗 (Bartha-k61) 的攻毒效果比较

组别	临床症状			发病数	死亡数	病毒分离阳性数	同居感染
	体温升高及食欲下降	呼吸道症状	神经症状				
专用稀释液组	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7	0/5
PBS 组	3/7	2/7	0/7	2/7	0/7	2/7	5/5
未接种对照	7/7	7/7	7/7	7/7	7/7	4/7	

注: * 发病标准为: 1) 体温比基础体温高至少 1℃及精神食欲下降至少 3 日; 2) 咳嗽、喘气、呼吸急促、打喷嚏等至少一项呼吸道症状; 3) 出现转圈、撞墙、肌肉震颤、划水、流涎中至少一项为出现神经症状, 出现这 3 项中任意两项则为发病。

** 死亡标准为: 倒地, 驱赶后仍不起, 认为濒临死亡, 进行处死。

从表 9 的结果可知, 专用稀释液稀释伪狂犬病活疫苗在攻毒后发病数为 0/7, 死亡数 0/7, 病毒分离阳性数为 0/7, 攻毒后同居感染为 0/5, 从这一结果来看, 专用稀释液稀释伪狂犬病活疫苗能 100% 的保护 GD-82 株野毒攻击。以 PBS 稀释伪狂犬病活疫苗在攻毒后发病数为 2/7, 病毒分离阳性数为 2/7, 5/5 同居感染, 这一结果说明以 PBS 稀释伪狂犬病活疫苗不能提供 100% 的保护。这也说明不是 Bartha-k61 弱毒疫苗不能预防野毒攻击, 只是因为当前的伪狂犬病活疫苗的稀释液不能有效提高该毒株的免疫效果。

根据我们当前的研究结果说明当前猪场流行的伪狂犬病野毒毒力确实增强, 不但能致死 49 ~ 56 日龄的小猪, 而且能致死 150 ~ 160 日龄的生长育肥猪。血清对 2009 年以前流行的野毒株的中和能力与对 2013 年以后流行的野毒株的中和能力减弱, 阐明了 2009 年流行的野毒株对保育以后的猪不致死, 只引起呼吸道疾病, 而当前流行的野毒株能引起育肥猪死亡。同时当前流行的野毒株引起的临床症状与 2009 年流行的野毒株引起的临床症状存在差异, 这是我们在诊断时必须注意的。



从我们对流行毒株构建的双基因缺失疫苗与 Bartha-k61 的免疫原性比较，以及用不同稀释液稀释 Bartha-k61 的攻毒保护试验的结果来看，Bartha-k61 能有效抵抗 PRV 变异毒株攻击；PRV 变异株双基因缺失后若不采用好的稀释液也不能抵抗变异株的攻击。

从我们对免疫程序的研究表明，猪场发生严重的伪狂犬病主要是由于免疫程序不合理引起的。结合我们当前不同疫苗接种的先后顺序以及接种次数，当前猪场育肥猪应采用 45 日龄首免，70 ~ 75 日龄二免，首免时接种活疫苗，并且采用专用的稀释液，二免时最好用灭活疫苗才能有效保护。

六、PRV 综合防控措施

1. PRV 诊断

- a. 临床观察，猪只发病日龄，现场剖解，发现疑似症状；
- b. 根据猪场免疫程序，采样；
- c. 实验室检测 gB、gE ELISA 抗体，进行确诊。

2. PRV 防控

2.1 生物安全措施及管理 严格引种检疫，一旦检测出 gE ELISA 抗体阳性后备母猪坚决淘汰；在外购买精液的猪场严格对精液进行 PCR 检测，检测出 PRV 野毒的精液的种猪场的精液坚决不购买；对本场的公猪定期检测，一旦检测出 gE ELISA 抗体阳性，坚决淘汰。

2.2 PRV 控制措施 疫苗接种调整免疫程序：种猪每年接种 4 次，2 头份 / 次，活疫苗与灭活疫苗交替使用，活疫苗 + 专用稀释液。发病猪场：商品仔猪 3 日龄滴鼻，用华派专用稀释液将活疫苗稀释成 1 头份 / ml，每个鼻孔各滴 0.5ml，45 日龄接种 1 头份活疫苗，70 ~ 75 日龄接种灭活疫苗 1ml；未发病猪场商品仔猪：45 日龄接种 1 头份活疫苗，70 ~ 75 日龄接种灭活疫苗 1ml。

2.3 PRV 野毒净化措施 对种猪的 gE 阳性率超过 10% 的猪场，种猪每年接种 4 次，2 头份 / 次，活疫苗与灭活疫苗交替接种；商品仔猪 3 日龄滴鼻，用华派专用稀释液将活疫苗稀释成 1 头份 / ml，每个鼻孔各滴 0.5ml，45 日龄接种 1 头份活疫苗，70 ~ 75 日龄接种灭活疫苗 1ml。种猪每 6 个月监测 1 次 gE ELISA 抗体，在 gE 阳性率低于 10% 时，对全群种猪逐头检测，将 gE 阳性的母猪集中饲养，公猪直接淘汰；进入后备的母猪采用活疫苗与灭活疫苗交替接种 4 次，进入种群前检测 gE ELISA 抗体，gE 阳性的后备母猪不能进入种群。

（作者简介：徐静，博士，研发中心副主任）



猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻 耐热保护剂二联活疫苗的应用

文 | 邱文英 方鹏飞 张丽燕 郭建宝 胥燕芳 孙继海 邱春霞

摘要: 为了确定猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻耐热保护剂二联活疫苗 (SCJY-1 株 +SCSZ-1 株) 对当前 PEDV 流行毒株是否具有保护力, 我们用专用稀释液将该疫苗稀释后免疫接种母猪, 并采用 2015 年至 2016 年从全国各地分离到的猪流行性腹泻病毒强毒株进行攻毒试验。试验结果表明免疫母猪所产仔猪可有效抵抗 PEDV 流行毒株的攻击, 猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻耐热保护剂二联活疫苗 (SCJY-1 株 +SCSZ-1 株) 可保护猪群免受 PEDV 流行毒株之害。

关键词: T-P 耐热活苗; 猪流行性腹泻; 流行毒株; 攻毒保护

猪流行性腹泻病毒是一种冠状病毒, 主要引发以腹泻和呕吐以及脱水等为主要病症的高接触性、高传染性肠道疾病。猪只日龄越小, 感染猪流行性腹泻病毒后发病率及死亡率越高。出生 1 周龄仔猪的发病率有及死亡率高达 90% 以

上。母猪感染猪流行性腹泻病毒后, 可使产房内仔猪大面积感染, 从而造成严重的经济损失。当前猪流行性腹泻出现新的流行特点, 猪流行性腹泻病毒流行毒株与传统毒株之间发生一定的遗传变异, 毒力有所增强。为了评价四川省华派生物制药有限公司生产的猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻耐热保护剂二联活疫苗 (SCJY-1 株 +SCSZ-1 株) 对当前流行的猪流行性腹泻病毒强毒株的保护效果, 我们使用疫苗免疫接种母猪, 分别免疫后的不同时间点对母猪血清的中和抗体效价及 ELISA 抗体效价, 并使用 2015 年至 2016 年期间从全国各地分离到的猪流行性腹泻病毒对免疫所产仔猪进行攻毒保护试验, 以期从各个方面评价疫苗的实际使用效果。试验结果表明母猪在产前 21~28 日免疫接种 1 头份猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻耐热保护剂二联活疫苗 (SCJY-1 株 +SCSZ-1 株), 其所产仔猪可通过母源抗体获得坚强的被动免疫效果, 仔猪可有效抵抗当前流行的猪流行性腹泻病毒强毒株的攻击。

1 材料

1.1 疫苗 猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻耐热保护剂二联活疫苗 [(SCJY-1 株 + SCSZ-1 株), 以下简称为 T-P 耐热活苗], 试 2015002、试 2015005、试 2016001 批, 由四川省华派生物制药有限公司试生产、保管及供应。

1.2 专用稀释液 T-P 耐热活苗专用稀释液 (含免疫增强因子), 由四川省华派生物制药有限公司研发中心制备及供应。

1.3 PEDV 病料 2015 年至 2016 年采集自四川、重庆、广东、云南等不同省份, 由四川省华派生物制药有限公司诊断中心鉴定及供应。

1.4 试验动物 妊娠母猪, 来自规模化养殖场, 并由养殖场代为饲养及管理。

1.5 PED IgG 抗体 ELISA 检测试剂盒 购自 Biovet 公司。

1.6 PCR 特异性引物 由四川省华派生物制药有限公司诊断中心设计, 并送往立菲生物科技有限公司合成。

2 生物安全事项

剩余的疫苗及用过的器皿均采用高温消毒, 动物攻毒试验地点为四川省华派生物制药有限公司负压试验动物房。

3 方法

3.1 试验动物及分组 选取 40 头产前 21~28 日母猪, 随机分为 2 组, 每组 20 头, 一组为试验组, 免疫接种疫苗; 另一组作为对照组。

3.2 疫苗接种 使用专用稀释液将 T-P 耐热活苗稀释成 1 头份/ml, 试验组共 20 头母猪, 每头免疫接种 1ml 疫苗; 对照组每头母猪免疫接种 1ml 生理盐水。母猪接种疫苗后使其自然产仔, 仔猪出生后让其充分吮吸母乳。

3.3 中和抗体效价测定 母猪免疫前、免疫后第 14 日、生产时、产后 3 日、断奶后 7 日分别采血测定 PED 中和抗体效价。用 MEM 将血清分别作 4 倍倍比系列稀释, 取 1:16、1:64、1:256、1:1024 稀释度, 与等量稀释至 $2 \times 10^{3.0}$ TCID₅₀/ml 病毒混合均匀, 37℃ 中和 1 小时, 取 100 μL 加入至长满单层后的 Vero 细胞中。37℃、5%CO₂ 条件下培养并观察结果。

3.4 ELISA 抗体效测定 母猪免疫前、免疫后第 14 日、生产时、产后 3 日、断奶后 7 日分别采血分离血清, 使用 Biovet 的猪流行性腹泻 IgG 抗体 ELISA 检测试剂盒。

3.5 PEDV 病料鉴定

3.5.1 PEDV 病料的处理 采集发病仔猪小肠及小肠内容物, 加入 PBS 制成 20% 的组织悬液。加入 1% 青霉素和链霉素处理悬液后, 将悬液于 4℃、3000r/min 离心 30min 收集上清液用于后续试验。

3.5.2 PEDV 病料的 PCR 鉴定 分别使用猪传染性胃肠炎、猪轮状病毒、猪伪狂犬病毒、猪蓝耳病毒及猪瘟病毒特异性引物对 PEDV 病料进行 PCR 鉴定。其余病毒 PCR 检测为阴性的 PEDV 病料方可用于后续试验。

3.5.3 PEDV 病料外源病毒检测 按现行《中国兽药典》附录进行检验, 无外源病毒病料方可用于后续攻毒试验。

3.6 攻毒保护试验 选取经鉴定仅为猪流行性腹泻病毒感染的 PEDV 病料 HZ、NJ、CQ、GD、YN 作为攻毒用病料。仔猪出生第 3 天及断奶后第 7 天, 分别从免疫母猪所产仔猪及未免疫母猪所产仔猪中各随机选取 10 头 (每窝最多不超过 2 头) 仔猪在进行攻毒试验。攻毒试验组别设置见表 1。

表 1 PEDV 病料攻毒试验

组别	病料编号	3 日龄攻毒		断奶后 7 日攻毒	
		免疫组仔猪 (头)	对照组仔猪 (头)	免疫组仔猪 (头)	对照组仔猪 (头)
A	HZ	10	10	10	10
B	NJ	10	10	10	10
C	CQ	10	10	10	10
D	GD	10	10	10	10
E	YN	10	10	10	10

4 结果

4.1 母猪接种后临床症状及产仔情况 免疫组母猪接种疫苗后 20/20 食欲、精神状况正常，无局部炎性反应及全身不良反应出现。免疫组母猪及对照组母猪接种后临床症状及产仔情况见表 2。免疫组母猪在平均产仔率、平均存活率及平均出生重与对照组母猪无显著差异。结果表明猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻耐热保护剂二联活疫苗 (SCJY-1 株 +SCSZ-1 株) 对母猪接种安全。

表 2 母猪接种后临床症状及产仔情况

组别	临床症状	平均产仔数 (头)	平均成活率 (%)	平均初生重 (kg)
试验组	20/20 无不良反应	12.0	96.7	1.30
对照组	20/20 无不良反应	11.4	96.5	1.27

4.2 PED 中和抗体效价测定结果 免疫组母猪在免疫后第 14 日及断奶后 7 日血清中和抗体效价达到 1:64 以上；母猪生产时及产后 3 日时 PED 中和抗体效价达到最高，结果见图 2。试验结果表明母猪在产前 21~28 日免疫接种 1 头份猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻耐热保护剂二联活疫苗 (SCJY-1 株 +SCSZ-1 株)，其在生产时及产后 3 日抗体效价达到最高，这有利于仔猪通过母源抗体获得更多的被动保护力，能更有效地抵抗猪流行性腹泻病毒强毒的攻击。

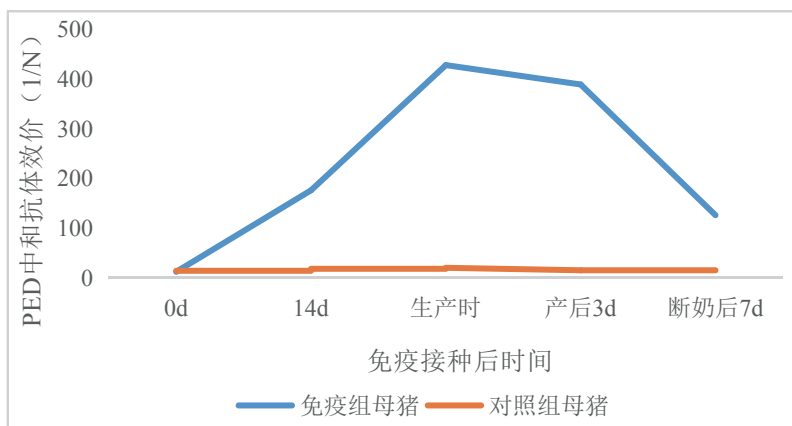


图 2 PED 中和抗体效价测定结果

4.3 ELISA 抗体效价测定结果 免疫组母猪在免疫接种疫苗后第 14 日至断奶后 7d, 其血清中 IgG S/P 值均大于 0.4, ELISA 检测结果判定为阳性, 其中母猪生产时及断奶时 S/P 值最高, 结果图 3。

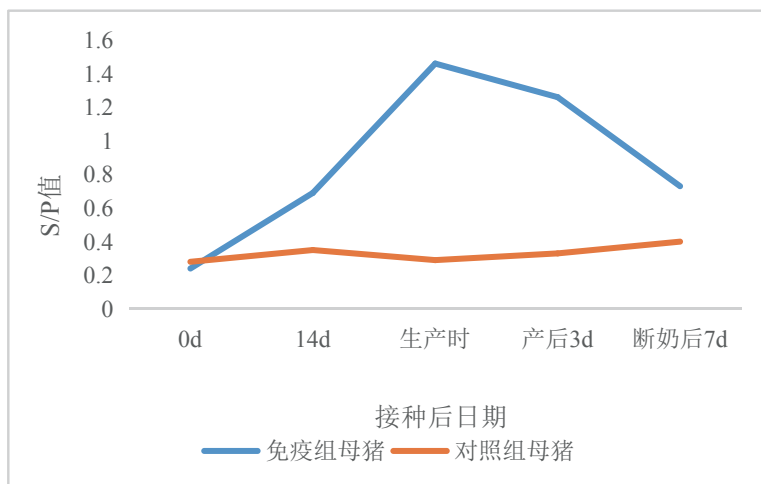


图 2 PED 中和抗体效价测定结果

4.4 中和抗体效价与 ELISA 抗体效价相关性 中和抗体效价是血清抗体可以中和病毒粒子的能力大小的反应, 因此中和抗体效价能更好地反应动物免疫接种动物后的效果。但是由于中和抗体效价测定过程需要使用细胞及指示用毒, 且检测过程相对繁杂、检测时间较长, 而 ELISA 抗体测定时操作简便、快速, 因此对于养殖户来说测定动物免疫接种后的血清中 ELISA 抗体效价更为可行。在试验过程中我们分别测定了中和抗体效价与 ELISA 抗体效价, 结果表明中和抗体效价较高时, ELISA 抗体效价较高; 中和抗体效价较低, ELISA 抗体效价相对较低; 但是中和抗体效价与 ELISA 抗体效价不完全呈正相关关系。图 5 是节选其中 2 头免疫母猪的中和抗体效价与 ELISA 抗体效价相关性分析结果。

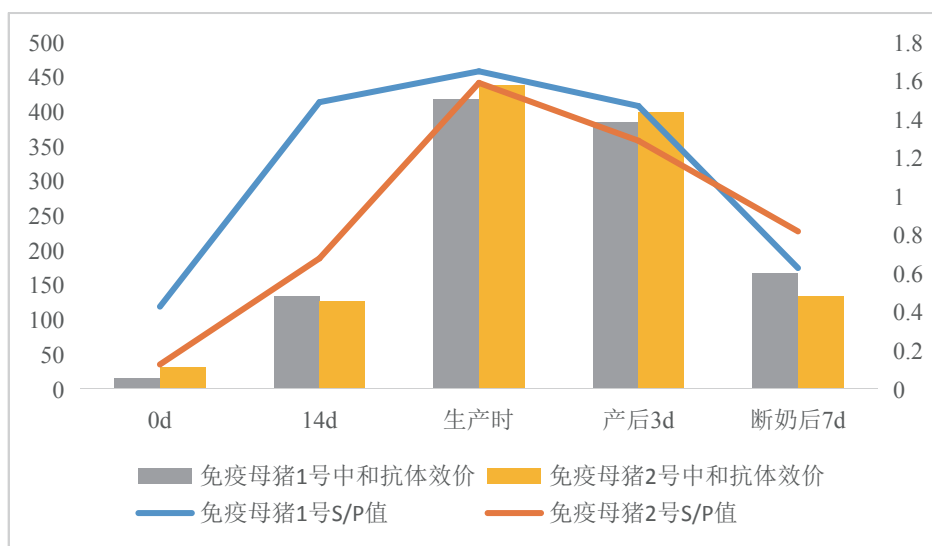


图 4 免疫母猪中和抗体效价与 ELISA 抗体效价相关性结果

4.5 PEDV 流行毒株攻毒保护试验 分别使用 2015 年至 2016 年期间从全国各地分离到的 PEDV 流行性毒株对免疫母猪所产仔猪进行攻毒保护试验。试验结果见表 3 及表 4。结果表明, 从不同省份分离到的 PEDV 流行毒株对未免疫母猪所产 3 日龄仔猪的发病率均为 100%, 免疫母猪所产 3 日龄仔猪的攻毒保护率均不低于 80%, 免疫母猪所产 3 日龄仔猪可有效抵抗当前 PEDV 流行毒株的攻击; PEDV 流行毒株对未免疫母猪所产断奶 7 日龄仔猪的发病率均大于 80%, 免疫母猪所产断奶 7 日龄仔猪对 PEDV 流行毒株的攻毒保护率均大于 80%。攻毒试验结果证实母猪免疫接种猪传染性胃肠炎、流行性腹泻病毒耐热保护二联活疫苗 (SCJY-1 株 +SCSZ-1 株) 后, 其所产仔猪可有效抵抗 PEDV 流行毒株的攻击, 且这种保护力可持续至断奶后 7 日。

表 3 PEDV 流行毒株对 3 日龄仔猪攻毒保护试验结果

毒株	免疫母猪所产 3 日龄仔猪			对照母猪所产 3 日龄仔猪		
	试验数(头)	保护数(头)	保护率	试验数(头)	保护数(头)	保护率
HZ	10	10	100%	10	0	0%
MSJX	10	10	100%	10	0	0%
NJ	10	9	100%	10	0	0%
CQ	10	10	100%	10	0	0%

表 4 PEDV 流行毒株对断奶 7 日仔猪攻毒保护试验结果

毒株	免疫母猪所产断奶 7 日仔猪			对照母猪所产断奶 7 日仔猪		
	试验数(头)	保护数(头)	保护率	试验数(头)	保护数(头)	保护率
HZ	10	9	90%	10	1	10%
MSJX	10	10	100%	10	2	20%
NJ	10	10	100%	10	0	0%
CQ	10	10	100%	10	2	20%
GD	10	10	100%	10	0	0%
YN	10	10	100%	10	1	10%

4 结果

当前部分地区猪流行性腹泻呈爆发趋势, 猪流行性腹泻病毒毒力也有所增强, 这可能与目前流行的 PEDV 强毒株与传统的猪流行性腹泻病毒毒株相比出现了一定的遗传变异有关。因此使用当前流行的 PEDV 强毒株对猪流行性腹泻类疫苗进行评估是十分必要的。

为了对四川省华派生物制药有限公司生产的猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻耐热保护剂二联活疫苗 (SCJY-1 株 +SCSZ-1 株) 的实际使用效果进行评估, 我们随机选取养殖场养殖的产前 21~28 日的母猪免疫接种 T-P 耐热活疫苗,



这样更能说明疫苗在实际生产过程的使用效果。母猪免疫接种后，使用 2015 年至 2016 年期间从全国各地采集分离到多株 PEDV 强毒株，选择其中几株仅鉴定仅为 PEDV 感染的病毒株对免疫母猪所产仔猪进行攻毒保护试验，试验结果证实母猪免疫接种猪传染性胃肠炎、流行性腹泻病毒耐热保护二联活疫苗（SCJY-1 株 + SCSZ-1 株）后，其所产仔猪可有效抵抗 PEDV 流行毒株的攻击，且这种保护力可持续至断奶后 7 日。

此前的大量数据表明当血清中和抗体效价大于 1:32 时，可有效抵抗 PEDV 强毒的攻击。但是攻毒试验涉及生物安全问题，需要在具有资质的负压实验动物房进行，而中和抗体效价测定过程中涉及细胞培养及指示用毒，检测时间长且需要较专业的检测人员进行检测。因此对养殖户而言，使用 ELISA 抗体检测试剂盒评价疫苗接种效果更为便捷和可行。在对猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻耐热保护剂二联活疫苗（SCJY-1 株 + SCSZ-1 株）使用效果的评价中，我们分别采用了中和抗体效价测定、ELISA 抗体效价测定以及攻毒保护试验，并对 ELISA 抗体效价测定结果与中和抗体效价测定结果相关性进行分析。相关

性结果表明 ELISA 抗体效价测定结果与中和抗体效价测定结果并不完全呈正相关关系，因此 ELISA 抗体效价测定结果仅是猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻耐热保护剂二联活疫苗（SCJY-1 株 + SCSZ-1 株）的辅助评价手段，该方法并不完全替代中和抗体效价测定法及攻毒保护试验法，ELISA 中和抗体效价的高低并不能完全说明免疫猪是否能抵抗 PEDV 流行毒株的攻击。

目前猪流行性腹泻的发病率有所上升，且其发病的季节性特征正在弱化，该病呈爆发型发病，猪场一旦有猪只感染该病毒将在猪群中迅速传播发病，目前还没有治疗该疾病的特效药物，因此免疫接种疫苗并制定合理的接种程序是预防和控制猪流行性腹泻最经济且最有效的方法。

（作者简介：邱文英，硕士，研发中心主任）



打造中国动物疫苗第一品牌
CREATE THE TOP BRAND OF VETERINARY VACCINE IN CHINA

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





核酸疫苗的优势与免疫机制

文 | 李妍

摘要: 核酸疫苗作为一种新型基因工程疫苗,因其能诱导机体产生更全面的保护性免疫,且具有安全、存储运输方便等优势而备受人们的关注与青睐。核酸疫苗是指将含有编码某种抗原蛋白基因序列的质粒载体作为疫苗,以使机体产生针对该抗原的保护性免疫应答。本文就核酸疫苗的优势、与传统疫苗间的比较、诱导免疫的机制等方面进行了概述。以使广大读者对核酸疫苗有深入的了解,也为核酸疫苗在畜牧生产实际中的进一步研究和应用提供有益参考。

关键词: 核酸疫苗; 质粒 DNA; 免疫保护; 畜禽

疫苗的发展史与生物技术的进步密切相关。传统的减毒疫苗、灭活疫苗做为第一代疫苗,对畜禽疫病的防控发挥了巨大的作用。而随着现代生物学技术特别是基因工程技术的不断发展,更为安全的亚单位疫苗等第二代疫苗陆续上市并被人们所接纳。但这些疫苗仍存在着诸多不完善之处,如减毒、灭活疫苗的潜在致病性和亚单位疫苗诱导免疫反应的不完全性,迫使着人们继续寻找更为理想的安全高效的疫

苗。

1990年 Wolff 等给小鼠肌肉注射纯化的 DNA 或 RNA 重组表达载体,发现载体上的基因能在局部肌肉细胞内持续数月甚至终生表达,且没有检出注射的外源核酸与宿主染色体整合。1991年 William 等发现将外源基因输入体内,其表达的产物可诱导免疫应答。1993年 Ulmer 等直接给小鼠肌肉注射含有编码甲型流感病毒核蛋白的重组质粒 DNA,可有效保护小鼠抵抗不同亚型、分离时间相隔 34 年的不同流感病毒的攻击。随后大量的动物实验研究都证明在合适的条件下, DNA 接种后既能产生细胞免疫又能引起体液免疫。1994年世界卫生组织 (WHO) 将其正式统一命名为核酸疫苗 (nucleic acid vaccine)。1995年 4 月,美国纽约科学院召开了会议专门研讨核酸疫苗,并称之为疫苗学的新纪元。

核酸疫苗是指将含有编码某种病原的保护性抗原蛋白基因序列的质粒 DNA 作为疫苗,免疫动物后质粒 DNA 在体内细胞中自动翻译出抗原蛋白,从而使机体产生针对该抗原的保护性免疫应答。抗原蛋白在体内表达并诱导免疫应答的过程与自然感染过程相似,因此能刺激机体产生全面的体

液免疫和细胞免疫应答，兼具预防和治疗的作用。既克服了灭活疫苗和普通的亚单位疫苗的缺点，同时又避免了弱毒苗潜在的危险性和重组病毒疫苗的免疫原复杂性。核酸疫苗具有许多潜在的优势，它的诞生给基因治疗和免疫学领域带来了不可估量的前景，开创了疫苗学研究的新纪元。核酸疫苗以其特有的可诱导机体产生全面的免疫应答，对不同亚型的病原体具有交叉防御作用，以及安全、高效、便捷等优点被誉为“第三代疫苗”。

1 核酸疫苗的优势

1 灭活疫苗、弱毒活疫苗是基于动物细胞或组织培养的病毒，再将其用灭活剂（甲醛或 β -丙内酯）灭活或加保护剂冻干而制成的疫苗。灭活疫苗免疫以诱导体液免疫为主。弱毒活疫苗虽能在机体内复制增殖，同时刺激体液免疫和细胞免疫，但存在毒力返强或与野毒重组等风险。传统的亚单位疫苗是利于体外表达系统如工程菌、酵母、杆状病毒等表达病毒的保护性抗原蛋白，再将蛋白纯化后与佐剂乳化而成。它以诱导体液免疫为主，安全性高是亚单位疫苗的显著优势，但病原蛋白在体外表达系统中的折叠与修饰不易控制。核酸疫苗是利用工程菌对质粒 DNA 进行大量繁殖扩增，再将质粒提取纯化而制成疫苗。其免疫后在机体内翻译表达抗原蛋白，直接刺激体液免疫和细胞免疫。

那么与传统的弱毒活疫苗、灭活疫苗、亚单位疫苗相比，核酸疫苗主要具有如下的八大优势：

1.1 激发机体全面的免疫应答 核酸疫苗免疫接种后抗原蛋白在宿主细胞内自动翻译表达，直接与组织相容性复合物 MHC I 类或 II 类分子结合，递呈给免疫系统，同时激起细胞免疫和体液免疫应答。并且抗原蛋白在体内的表达折叠较体外表达的蛋白更近似天然的病毒蛋白，同时其在体内抗原递呈的过程也与病毒的自然感染非常

相似，因此能刺激产生更强烈持久的免疫应答。

1.2 免受母源抗体干扰 母源抗体的干扰对常规疫苗免疫尤其是弱毒活疫苗的免疫影响巨大，是临床上常见的导致免疫失败的主要原因之一。因此在免疫程序的制定上，养殖场需定期监测母源抗体的水平及变化趋势，而这也是目前一些养殖场所忽视的，只能依靠经验或照搬别人的免疫程序。而免疫核酸疫苗，质粒 DNA 需进入机体细胞中才能表达抗原蛋白，再经加工处理后直接递呈给免疫细胞。母源抗体的干扰作用只能局限于对细胞外的病毒抗原，对细胞内的质粒 DNA 则束手无策。因此核酸疫苗免疫不受母源抗体的干扰，即使用核酸疫苗非常便于免疫程序的制定。

1.3 同种异株交叉保护 具有更广泛的交叉保护作用 是核酸疫苗的最大优势之一。病毒的变异进化，不同亚型混合感染或交替流行给疫病的防控带来极大的压力。而核酸疫苗免疫能产生对不同亚型病原体的交叉保护性免疫应答。

1.4 联苗的未来 为了减少动物的免疫次数和免疫应激，减轻养殖场的免疫劳动力，多联苗的使用一直是大家所期待追求的。核酸疫苗只需将不同病原的抗原质粒 DNA 同时导入工程菌中进行生产，即可获得多种病原的 DNA 核酸联苗，实现一针防多病。

1.5 制备工艺快捷，批产量大批间差异小 核酸疫苗质粒依靠在工程菌内进行指数级扩增，每批次产量大。且经过提取纯化，能显著提升质粒 DNA 的含量及纯度，与常规传统疫苗相比，生产工艺快捷，生产过程更易质控。

1.6 安全性高 首先核酸疫苗仅仅是病原体某种抗原的基因片段，而不是整个病原体的基因组，在生产过程中不涉及任何活毒，非常安全。其次核酸疫苗不涉及感染性因子，免疫后无因毒力返强或毒力残留而引发疫病的危险，也不含任何灭活剂，因此不会引起对机体的不

良反应。

1.7 易吸收、应激反应极低 核酸疫苗生产出来是类似于水样的状态，也可以干燥成小颗粒，使用前再溶解。传统疫苗免疫后要求在体内缓慢释放，以持续的刺激免疫系统。而核酸疫苗免疫后能立即被机体吸收，进入细胞，并启动抗原蛋白的表达刺激免疫系统，因此核酸疫苗极易吸收。另一方面，传统疫苗免疫给机体注入大量的异源的病毒蛋白成分，难免会引起动物机体的应激，而核酸疫苗在体内只是小分子的 DNA，进入细胞后才表达出抗原蛋白，其所引起的应激反应极低甚至不引起应激。

1.8 贮存、运输方便 核酸疫苗的质粒 DNA 化学性质非常稳定，不惧高温，不需要冷藏设备，便于贮存和运输，因此对于边远地区的使用也较为方便。

附表 几种不同疫苗间的比较

疫苗种类	优势	不足
弱毒活疫苗	抗原成分齐全； 免疫剂量小； 能同时刺激细胞免疫和体液免疫；能快速产生免疫保护，持续期长。	毒力返强或与野毒重组突变，引发疾病； 需加保护剂冻干，若处理或储存不当则病毒滴度显著降低； 不利于疫病的净化； 母源抗体干扰严重。
灭活疫苗	以刺激体液免疫为主； 注射安全，不会引起动物发病。	细胞免疫较差； 免疫剂量大，常需要二次免疫； 灭活剂残留的危害； 生产过程中可能涉及强毒，有散毒的风险。
传统亚单位疫苗	生产过程及注射使用都非常安全； 以刺激体液免疫为主； 无任何灭活剂残留； 成分单一，生产质控容易。	蛋白质的空间折叠及修饰不易控制； 细胞免疫较差。
核酸疫苗	同时刺激产生体液免疫及细胞免疫； 不受母源抗体的干扰； 较广泛的交叉保护作用； 安全性高； 生产快捷，批产量大批间差异小； 运输存储方便。	需对 DNA 进行密码子优化或启动子优化，以进一步提升蛋白的表达效率。

2 核酸疫苗诱导免疫应答的机制

核酸疫苗接种后，质粒 DNA 进入细胞核，利用胞内的 RNA 聚合酶启动转录，产生的 mRNA 在胞浆中与游离的核糖体结合，翻译表达成内源性抗原蛋白。其中一部分结合到泛肽上，经蛋白酶，降解为多肽，与 MHC I 类分子结合，再进入高尔基体，最终递呈于细胞膜表面，诱发 CD₈⁺ 细胞毒性 T 细胞的免疫应答。另一部分蛋白抗原从分泌它们的抗原递呈细胞的细胞膜上进入 MHC II 类型途径，抗原蛋白在溶酶体中水解，产生多肽，与 MHC II 类分子结合形成 MHC 异聚体被呈递到细胞膜表面，与 CD₄⁺ T 细胞反应，使其分泌细胞因子，促进 B 细胞介导的体液免疫应答。而有一部分抗原多肽被直接递呈给 B 细胞，使 B 细胞活化，产生特异性抗体，诱发体液免疫应答。另外，递呈后的 CD₄⁺ 限制性 T 细胞 (Th) 被

活化增殖可产生多种细胞因子，进一步促进和强化体液免疫和细胞免疫。

3 畜禽核酸疫苗的研制进展

核酸疫苗发展时间虽较短，但其显著优势已吸引大量的研究学者们的关注。畜禽用核酸疫苗的研究非常活跃，但大部分还处于试验室阶段。以禽用病毒核酸疫苗的研制相对较多，而免疫后的靶动物能很好地抵抗野毒的攻毒实验。其中如新城疫、禽流感、传染性法氏囊病、传染性支气管炎、鸡马立克氏病、鸭肝炎、番鸭细小病毒等核酸疫苗都得到了较为深入的研究。而大动物（如猪、牛、羊）用核酸疫苗的研制则起步时间较晚，在研的包括猪圆环 2 型病毒（PCV2）、猪呼吸与繁殖综合症病毒、猪流感病毒、猪伪狂犬病毒、猪细小病毒、牛病毒性腹泻 / 粘膜病毒、小反刍兽疫、羊痘病毒、羊传染性脓疱病毒等一系列核酸疫苗，多数免疫保护试验已在小鼠模型上完成，而靶动物的相关实验数据仍在积累中。

4 展望

核酸疫苗已在免疫学及预防医学等方面显示出巨大潜能，人用核酸疫苗方面迄今已有 10 余种被美国 FDA 批准进入非临床和临床试验，如 HIV 的核酸疫苗。畜禽用病毒核酸疫苗虽只有十多年的发展历程，但已成为疫苗研究领域中的热点之一，并获得了迅速的进步，它的研究具有深远意义，可用于细菌、病毒、寄生虫等多种疾病的防治。核酸疫苗较传统疫苗具有安全、高效、多价性、储存运输方便等显著的优势，未来它将对疾病的防治及畜牧业的健康发展起到划时代的作用，引领着整个疫苗行业的变革。

参考文献：

（略）

（作者简介：李妍，博士，研发中心副主任）





免疫去势技术和去势疫苗

文 | 吉传义



摘要: 手术去势是传统畜牧业的生产技术之一, 俗称“阉割”或“去雄”, 乃是通过手术摘除睾丸来控制动物性发育, 从而改良动物行为, 改善肉质, 利于增重。免疫去势技术通过“疫苗”注射替代手术, 刺激小、操作简易、适合规模生产, 可避免手术去势造成的出血、感染、死亡和应急, 提高牧业经济效益, 改善动物福利, 受到国际社会的普遍重视。然而, 早期研制的去势疫苗, 一次免疫注射去势效应并不明显, 持续时间短, 需要进行两次以上的重复注射, 以及生产成本高等, 是目前制约去势疫苗推广

应用的关键因素。建立去势效果评价量化体系及其与免疫动物体内 LHRH 抗体水平的相关关系, 亦是制定疫苗效力检验标准从而保证疫苗质量和去势效果的关键。促黄体素释放激素重组抗原去势疫苗是一种以激素免疫中和技术替代传统手术去势的新型兽用生物制品, 已获得农业部颁发的生产应用《安全证书》, 产品安全等级 I 级。大量的实验室研究及中间试验结果表明, 该疫苗制品生产和使用安全, 工艺先进, 质量稳定, 产品优质高效。用以免疫家畜家禽, 可激发产生高效价的 LHRH 抗体, 通过对高位性激

素 LHRH 的持续中和效应，有效抑制动物性腺轴发育，一次注射即可在抑制外观性征、性行为、性激素、性腺性器官发育等各方面达到四个月的去势效果。本文着重以鸡促黄体素释放激素重组抗原去势疫苗实验室制品在商品肉鸡的去势效果为例，探讨疫苗免疫去势替代手术“阉割”的应用前景。

关键词：阉割 公猪臊味 (boar taint) 动物福利 激素免疫中和技术 免疫去势 促黄体素释放激素 (LHRH) 重组抗原 LHRH 抗体 性征 睾丸 卵巢 睾酮 雌二醇 阉鸡

去势术是一项古老的畜牧业生产技术，主要针对雄性动物，俗称“阉割”或“去雄”，在夏朝甲骨文《夏小正》中即有明确记载，沿用数千年。所谓“阉割”，即在公畜性成熟前，通过手术摘除睾丸来控制其性发育，用以防止公畜性成熟后的打斗等攻击性行为，使其性情温顺，便于管理使役，防止家畜自交乱配，同时可防止肉品中的膻臊味，改善口感和风味，而且能降低能量消耗，利于增重。从西周开始，去势术逐步普及运用于传统畜牧业生产，并有专门从事家畜手术去势的专职兽医。母畜的手术去势始于明朝，即通过手术摘除卵巢来改善动物的生长发育和经济性能，俗称“挑花”。

一、动物去势国际现状及替代途径研究进展

手术去势在西方亦有传统记载，去势动物还有专门的名称，如古罗马记载中，称去势猪 (emasculated pig) 为 barrow，去势鸡为 capon。鉴于动物福利的原因，去势术在西方一直存在争议，因而，其应用在欧美并不普遍，甚至受到不同程度的抵制。据欧盟委员会 2008 年 12 月 18 日指令 (2008/120/EC)，自 2012 年 1 月 1 日起，公猪手术去势必须在麻醉和长效镇痛条件下进行 (图 1)，并明确在 2018 年之前应全面停止公猪阉割去势。但由于公猪性成熟后打斗 (图 2)、消费者对公猪臊味的反感等突出问题，饲养者利益、消费者权益与动物福利之间的矛盾日趋尖锐。除“阉割”外，传统去势亦有采用夹骗、扎骗、火骗、捶骗等机械或化学药物注射的方法，但均无可避免地对动物造成很强的应激和伤害。因此，寻求和尝试简易温和的其他替代去势技术途径已成为国际社会普遍关注的热门课题，已经尝试或正在研究的替代方式包括，低臊味品种选育，低苯丙氨酸饲料饲养和提早出栏，高清洁级饲养管理，动物繁殖的性别控制 (雄性不育) 等等，以期解决诸如公猪臊味 (boar taint) 和高含量内源性性激素等食品卫生质量等方面的尖锐问题，但由于相关技术可行性和实用性等方面的原因，均无法替代传统的手术去势技术。



图 1、动物福利要求在麻醉和长效镇痛条件下进行手术去势
左，仔猪吸入性麻醉仪器；右，规范的手术去势



图 2、性成熟公猪因打斗、爬跨等造成伤害，并严重影响生长及其他经济性能，包括公猪臊味（boar taint）与高含量的内源性肉品性激素等食品卫生质量方面的问题

近三十多年的研究发现，用动物性腺组织、性激素或高位调控因子等制成“去势疫苗”免疫动物，可以激发动物产生性发育过程相关因子的抗体，并显示不同程度的去势效应。其中，尤以用促黄体素释放激素 LHRH（又名，促性腺激素释放激素 GnRH）做成的疫苗效果确凿、明显，有望成为手术去势的替代途径。按生产工艺途径，去势疫苗主要分为合成肽疫苗和基因工程重组抗原疫苗两类。与传统手术去势相比，免疫去势以疫苗注射替代“阉割”，具有刺激小、操作简易、适合规模生产等许多优势，可避免手术去势造成的出血、感染、死亡、减食、减重，提高畜牧业经济效益，改善动物福利。

由于 LHRH 是一种小分子的半抗原，不仅本身不具备免疫原性，直接注射不能刺激动物产生抗体，必须将 LHRH 与抗原性强的载体蛋白偶联，或通过基因工程表达生产与免疫载体融合的重组抗原，方能激发免疫去势效应。然而，LHRH 作为自身抗原组分，即使经过上述免疫载体的改造和优化，再辅以良好的免疫佐剂，免疫动物后所产生的抗体仍然以针对载体蛋白抗原为主，相反，发挥免疫去势效应的 LHRH 抗体在免疫动物血清总抗体中所占的比，通常都相当低。另外，由于动物体内持续产生新的 LHRH 激素，会不断消耗 LHRH 抗体，因而，用于免疫去势的疫苗制品必须能够持续产生足够高效价抗体，方足以保证一定的免疫去势有效期。一次免疫注射去势有效性不够，且持续时间短，需要进行两次以上的重复注射，以及生产成本高等等，是目前制约去势疫苗市场化的关键因素。以国际上唯一注册上市的相关产品合成肽去势疫苗“公猪异味消除疫苗（异普克，Improvac）”为例，生猪出栏一个月之前必须进行二免，才能达到消除性气味（公猪骚味）的目的，在二免之前，动物仍保持未去势状态，表现攻击、爬跨行为以及交配繁殖能力。从综合经济性能指标看，尚不能满足替代传统手术去势的市场要求。目前，国际生猪传统去势现状及替代途径技术经济指标的基本情况，如表 1 所示。

表 1、国际生猪去势替代途径技术经济现状

方法	优势	劣势
麻醉后手术去势	操作快 现成仪器 减少育肥猪攻击行为 消除性气味	成本高 术后依然疼痛 由于需要麻醉气体，存在安全风险
长镇痛手术去势	操作快 现成仪器	非政府组织不支持 很难证明止痛效果
麻醉和长镇痛情况下进行手术去势	操作快 现成仪器 降低因去势造成的痛苦 减少育肥猪攻击行为 消除性气味	非政府组织不支持 成本高 由于需要麻醉气体，存在安全风险
免疫去势	操作快 不需要特殊仪器 不造成痛苦和不适 消除性气味	需要多次免疫注射 二免之前动物表现攻击性，仍然保持未去势状态
全（不去势）动物生产	无需去势 肉品价值高产量高 得到非政府组织大力支持 仅生产母猪	养猪产业不支持 育肥猪异常行为（攻击和爬跨） 性气味大
性控精液	无需去势	技术不成熟，成本高
遗传选择	选育无性气味品种	短期内很难成功 技术不成熟，成本高 理论上可行性不高 成功可能性不大

二、促黄体素释放激素基因工程重组抗原去势疫苗

促黄体素释放激素基因工程重组抗原去势疫苗系用重组大肠杆菌发酵培养，经特殊工艺获取高度纯化的 LHRH 重组蛋白作为抗原，再加佐剂而成的新型兽用生物制品。疫苗对雄性及雌性动物均为有效，但鉴于猪和鸡等畜禽不同 LHRH 分子的结构特点，所用疫苗生产菌株各有其针对性，分别适用于猪和鸡等不同动物种类的免疫去势。相关研究从上世纪八十年代末即开始启动，在我国著名兽医免疫学家南京农业大学杜念兴教授的带领下，率先在实验室尝试使用“合成肽去势苗”在新西兰兔进行免疫去势获得成功。继而，针对免疫有效性、规模生产工艺及生产成本等方面的关键制约性因素，由南京农业大学吉传义教授针对不同动物促黄体素释放激素结构特点以及突破自身免疫耐性的免疫学原理研究设计，通过一系列技术创新研究，构建和筛选了适合疫苗生产的重组大肠杆菌候选菌株，相关成果获得多项国家发明专利。

相关技术产品由成都瑞盛高科技股份有限公司经过十几年的研究孵化，建立健全了生产检验和安全质量控制等相关技术体系，并与四川省华派生物制药有限公司合作，在 GMP 生产条件下进行中间试制，完成了使用途径、剂量、保存期、有效期及抗体水平与去势效果等相关研究，充分验证了产品规模生产应用的安全性和去势有效性。通过基因安全监测、急性毒性试验、药代动力学试验、肉品品质分析及肉品的灵长类饲喂试验等安全评价研究，证实促黄体素释放激素重组抗原去势疫苗在生产和应用中对人、动物和环境安全，获得农业部颁发的生产应用《安全证书》，产品安全等级 I 级，是一种高产、优质、高效、低成本、而且安全性高、无任何毒、副作用、无残留、无潜在危害的兽用生物制品。

实验室试验和中间试制结果表明，本产品生产和使用安全，重组表达和蛋白提取工艺先进、质量稳定，产品检验和质量控制技术体系可靠，高产高效安全优质。蛋白表达由乳糖诱导，生产过程不涉及任何有毒或有害物质；蛋白纯化则采用生理性诱导蛋白分泌释放获得高纯度的蛋白抗原（如图 3 所示），既避免了细菌裂解工艺给蛋白纯化带来的麻烦，简化了半成品纯化工艺，更避免了细菌成分的污染。成品为水性乳剂，粘度小，便于注射，易于吸收，对动物刺激小，免疫效力强，可激发相当于国际同类产品十倍以上的 LHRH 抗体水平，一次注射即可保证三个月以上的去势有效期。

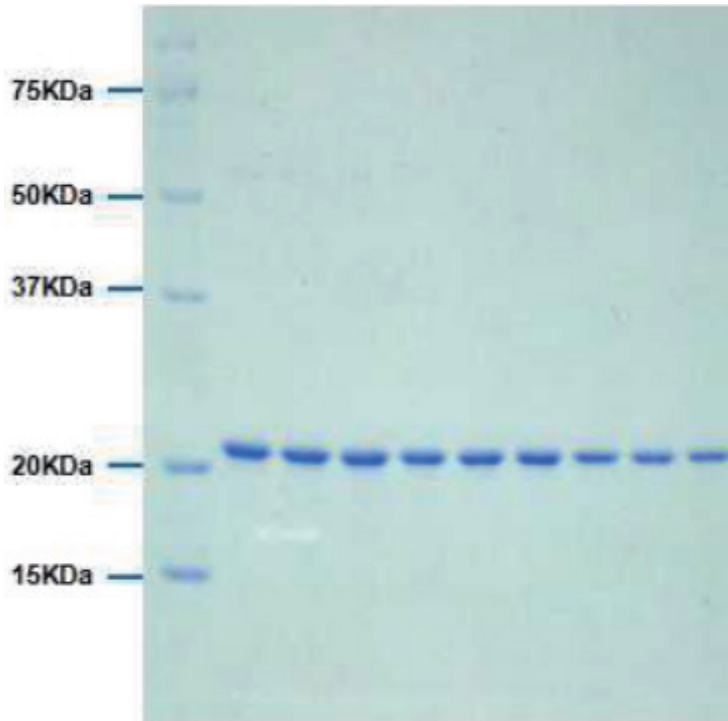
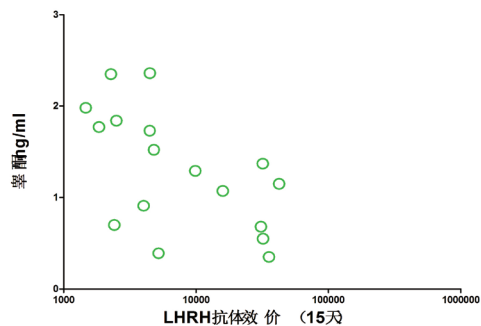
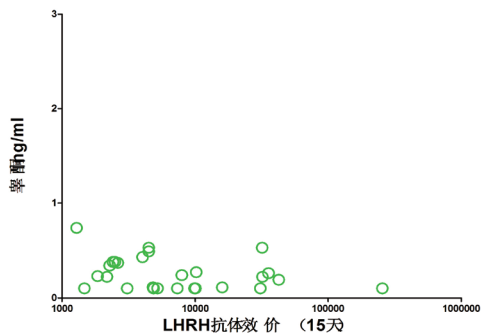


图 3、不同批次中间试制半成品蛋白 SDS-PAGE 电泳染色图片显示高纯度的重组 LHRH 抗原

三、免疫去势效果评价技术体系与疫苗免疫效力质量控制

建立疫苗免疫去势效果评价量化体系及其与免疫动物体内 LHRH 抗体水平的相关关系，是制定疫苗效力检验标准从而保证疫苗质量和去势效果的关键；迄今为止，国际上尚缺乏规范疫苗免疫去势效果评价量化体系的相关研究，在抗体水平和去势效果相关性研究的试验和分析方法上也亟待突破。

以商品肉鸡为试验模型，用最小免疫剂量及低于临界剂量的促黄体素释放激素重组抗原去势疫苗制品免疫九斤黄及青脚麻等商品肉鸡，在免疫后不同时间观察外观性征和性行为，测定免疫血清中睾酮及雌二醇含量，最终扑杀检查睾丸和卵巢的重量，综合评价去势效果，同时测定血清中的 LHRH 抗体水平，以期研究 cLHRH 抗体与免疫去势效应参数的对应关系，结果表明，免疫血清中的 LHRH 抗体效价与免疫后期鸡血清中的性激素含量及睾丸重量等均呈现典型的负相关，亦即，血清中抗体效价越高，睾酮（图 4）和雌二醇（图 5）含量及睾丸重量（图 6）越低；但由于动物血清睾酮和雌二醇含量的时间波动性，睾丸重量与抗体效价的相关性更为稳定，与相关性分析结果相符。因此，以免疫后四个月免疫鸡睾丸重量低于“去势有效性睾丸重量低限”为依据，按所对应的抗体效价几何平均值来制定疫苗效力检验标准，可以充分支撑免疫后三个月的去势有效期，有利于疫苗免疫去势效果的质量控制。



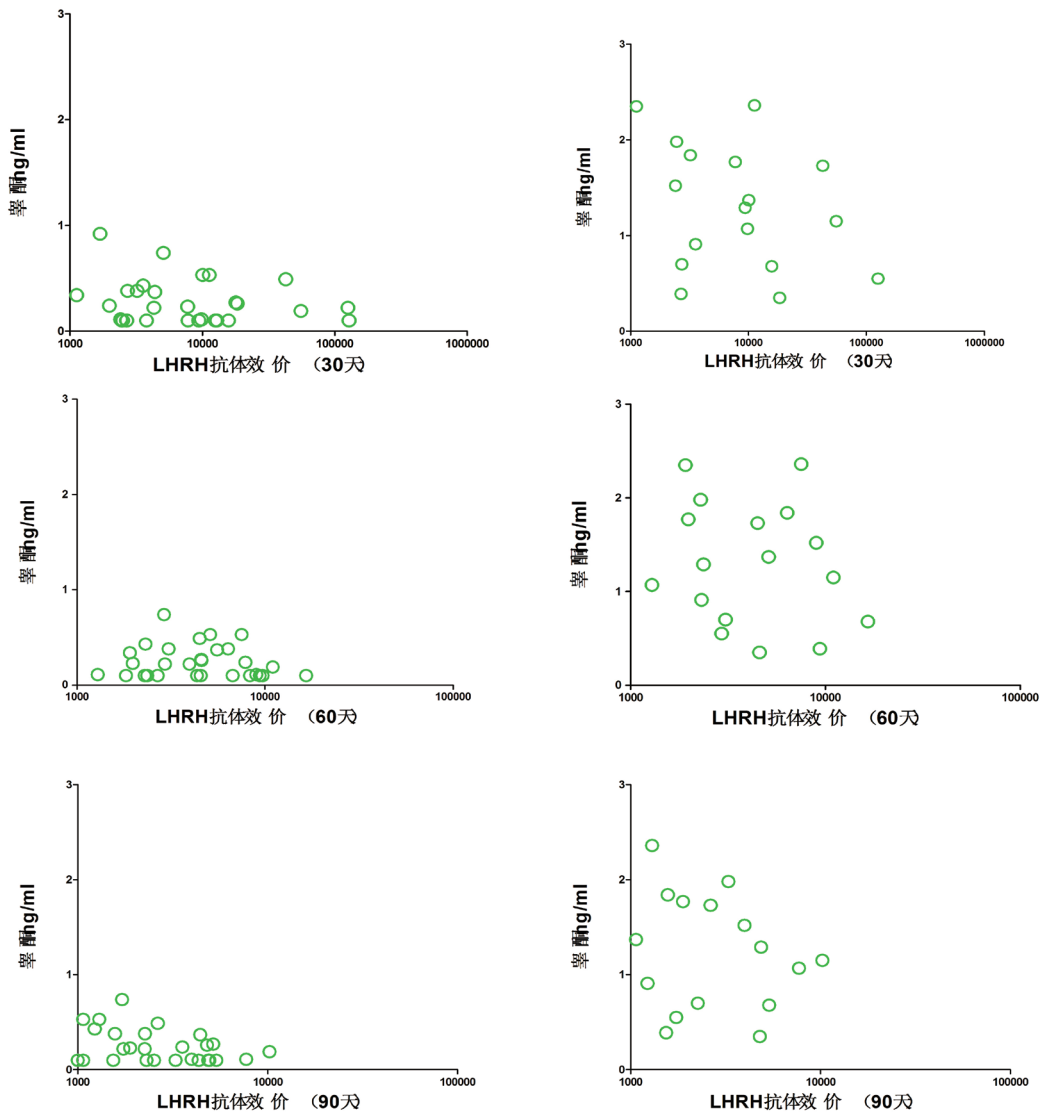
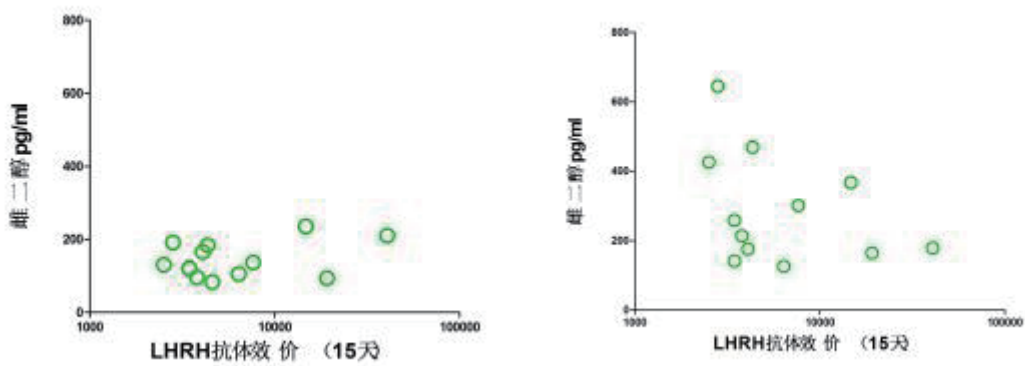


图 4、免疫后 15 天、30 天、60 天及 90 天血清抗体效价与免疫后 90 天及 105 天血清睾酮含量均呈现一定程度的负相关，但不同时间及不同个体的血清睾酮含量差异很大



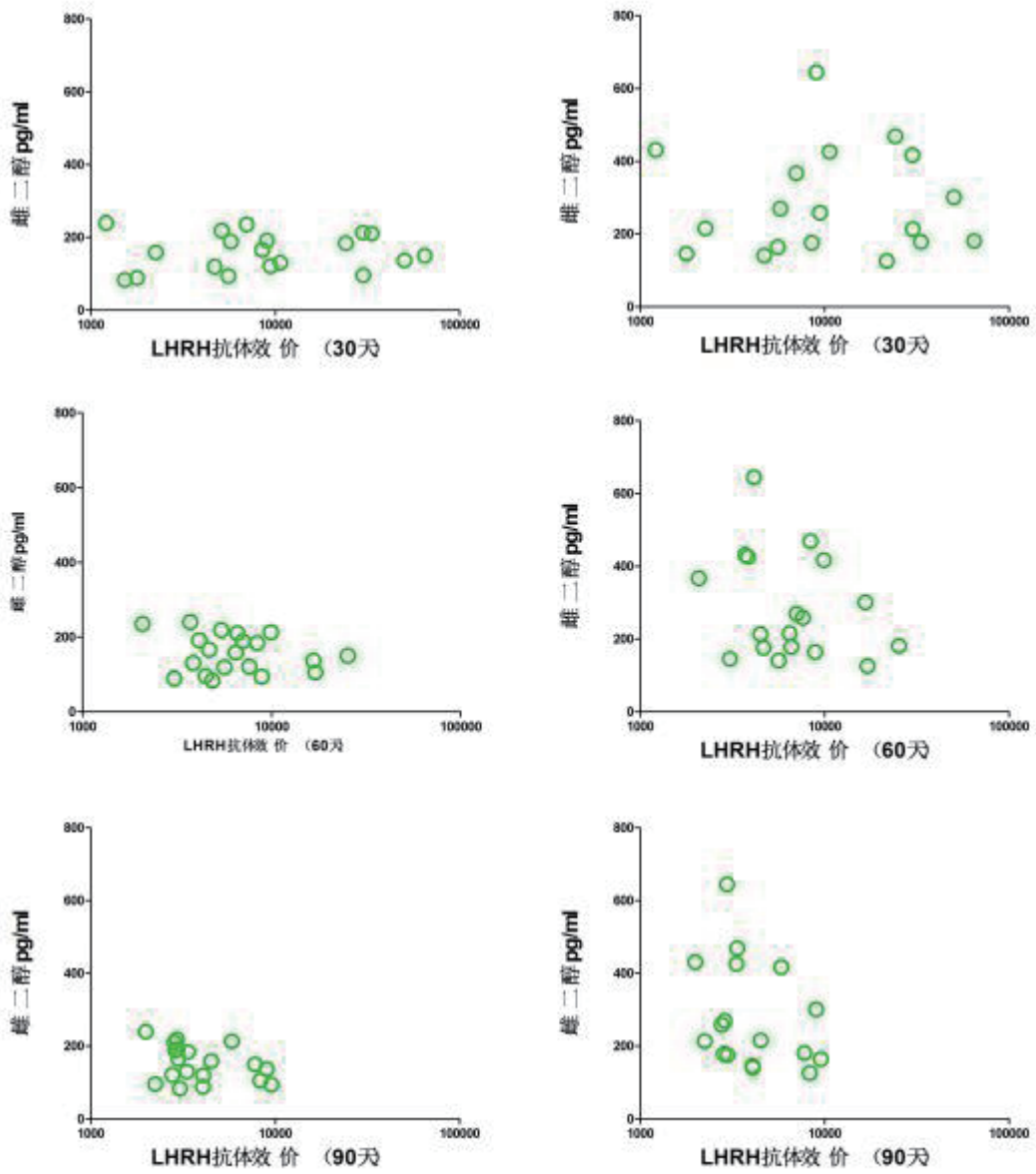
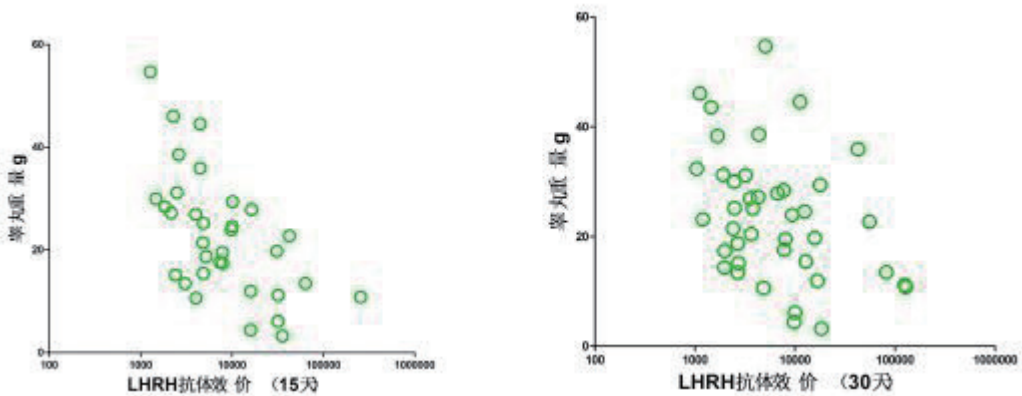


图5、免疫后15天、30天、60天及90天血清抗体效价与免疫后105天雌二醇含量呈现负相关，但与免疫后90天雌二醇含量没有明显相关关系



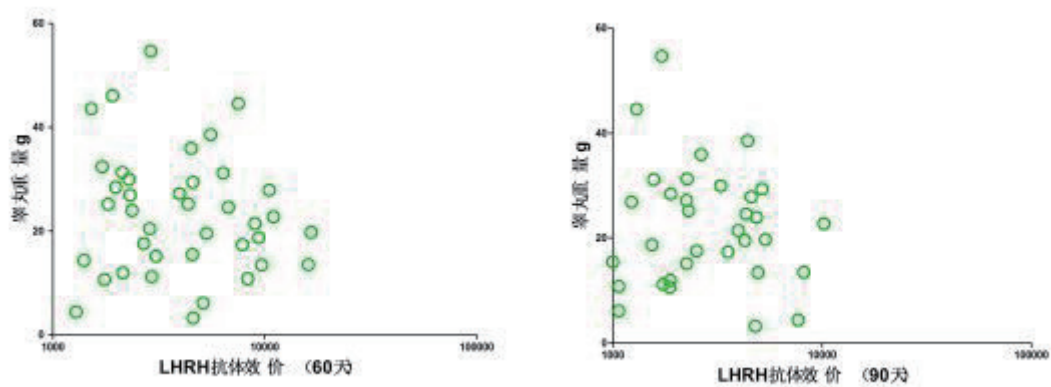


图 6、低剂量鸡促黄体素释放激素重组抗原去势疫苗免疫后 15 天、30 天、60 天及 90 天抗体效价与免疫后 120 天睾丸重量的显示抑制效应关系（负相关），相关关系符合 log (inhibitor) vs. Response 模式

四、鸡促黄体素释放激素重组抗原去势疫苗的免疫去势效果

用鸡促黄体素释放激素重组抗原去势疫苗实验室制品免疫肉鸡，在公鸡外观性征和睾丸发育方面均显示非常直观的去势抑制效应，与非免疫对照公鸡相比，可谓一目了然，如图 7 所示。

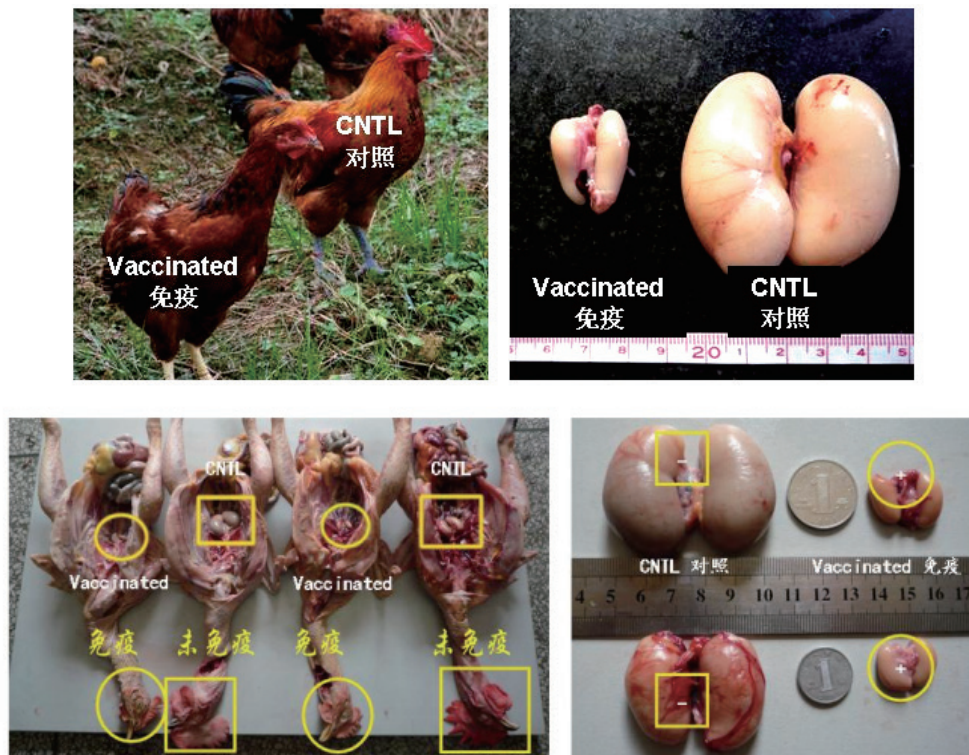


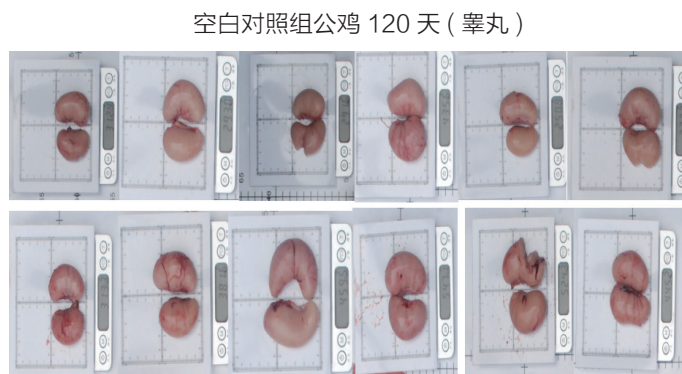
图 7、鸡促黄体素释放激素重组抗原去势疫苗对公鸡的外观性征及睾丸发育的直观抑制效应

大量试验研究结果表明，以鸡促黄体素释放激素重组抗原去势疫苗于 15-20 日龄免疫九斤黄、青脚麻及乌骨鸡等商品肉鸡，一次注射即显示确凿的免疫去势效应，免疫有效期可达四个月。免疫去势的公鸡不表现明显的性行为，羽毛黯淡

不鲜亮，鸡冠和髯垂小，色泽变淡（参见图 8），性格温和，不打鸣或叫声嘶哑，难辨雌雄；相反，与免疫鸡平行饲养的未去势公鸡，在性成熟后均表现出明显的外观性征和性行为，羽毛鲜亮，争食、斗殴、打鸣。性成熟后期（免疫后 120 天）对睾丸进行剖检和称重，可见免疫公鸡睾丸发育受到抑制，体积小、重量轻，参见图 9，其重量明显低于非免疫对照组，经统计分析，两者差异极显著（部分实验数据分析结果如图 10 所示）。尽管免疫母鸡的外观去势效果不如公鸡直观，但对照母鸡相比仍显示非常明显的差异，尤其在性成熟后期（免疫后 120 天），可见对照母鸡鸡冠发红，为下蛋前表现，而免疫母鸡鸡冠相对较小，色泽也比较淡，参见图 11。剖检可见免疫母鸡卵巢发育明显受阻，参见图 12。



图 8、九斤黄免疫公鸡与对照公鸡鸡冠和髯垂的直观差异



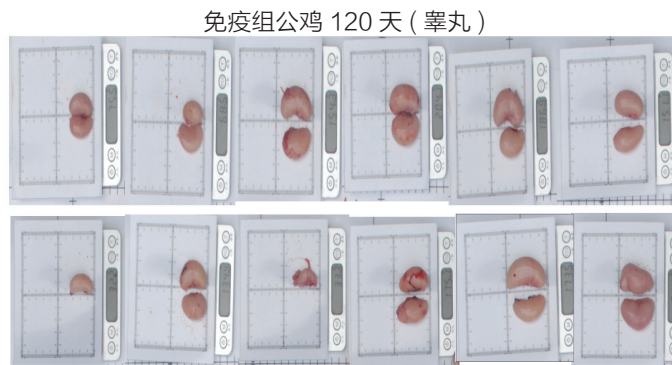


图 9、九斤黄免疫公鸡与对照公鸡睾丸称重对比试验 (外观大小差异明显)

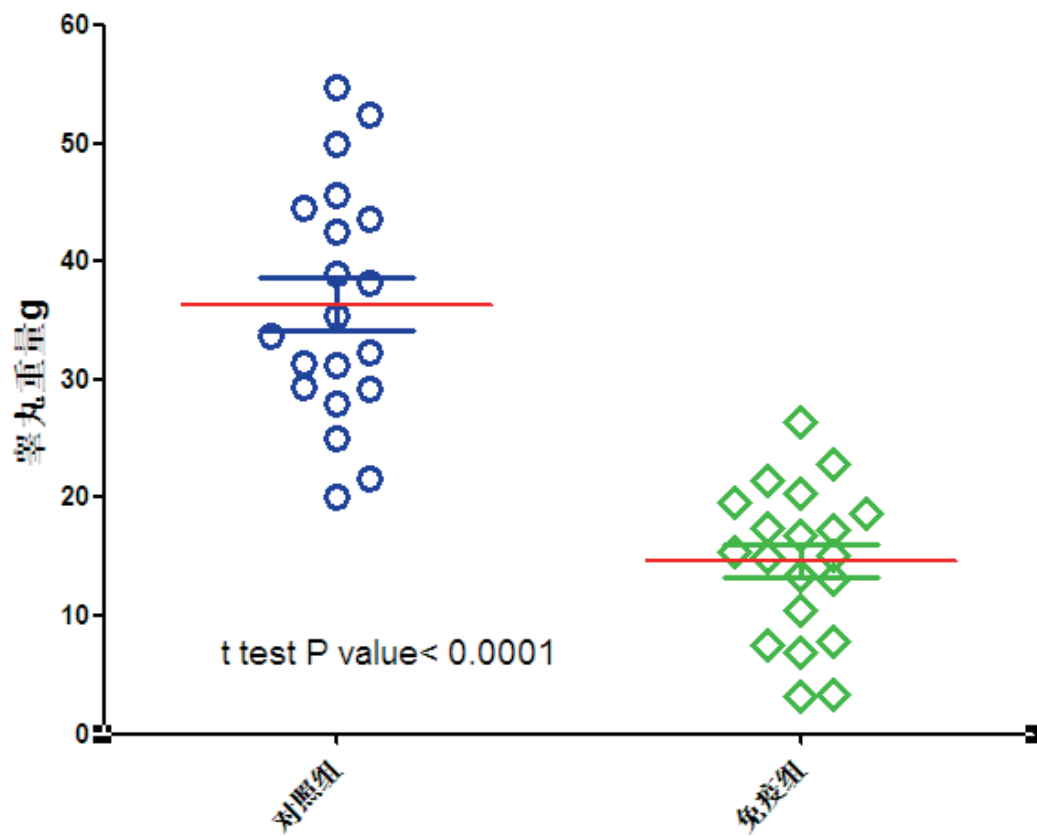


图 10、免疫后 120 天免疫公鸡与对照公鸡 (九斤黄) 睾丸重量呈现极显著差异, 经 t 检验, $P < 0.0001$

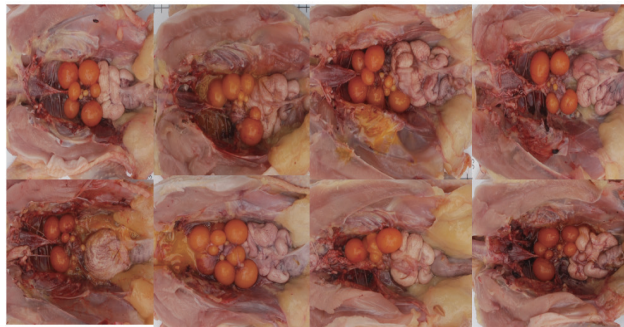


免疫组母鸡 (120 天)



图 11、九斤黄免疫母鸡的鸡冠和髯垂的大小和色泽与对照母鸡的外观差异

空白对照母鸡卵巢 (120 天)



免疫母鸡卵巢 (120 天)

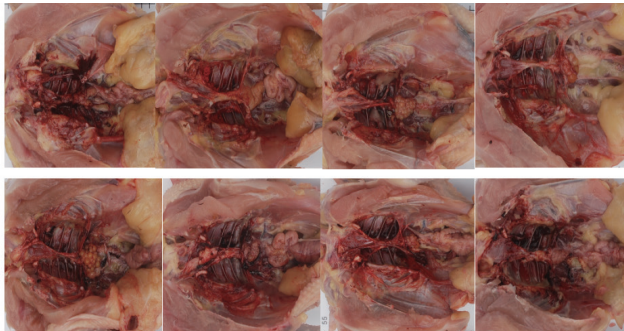


图 12、去势苗免疫九斤黄母鸡卵巢发育受阻，与对照母鸡相比差异明显

五、猪促黄体素释放激素重组抗原去势疫苗的去势效果

与鸡去势疫苗相似，猪促黄体素释放激素重组抗原去势疫苗实验室制品一次注射即可显示直观而确凿的去势效应（参见图 13 和图 14），对外观性征、性行为、性激素、性腺性器官发育等均呈现去势水平的抑制，不仅能有效去除公猪骚味、改善肉质，对增重和饲料报酬亦显示不同程度的促进和提高效应。



图 13、猪促黄体素释放激素重组抗原去势疫苗在商品肉猪的外观去势效应
左、疫苗免疫公猪（免疫后 120 天）；右、非免疫对照公猪



图 14、猪促黄体素释放激素重组抗原去势疫苗在商品肉猪的外观去势效应
左、非免疫对照母猪；右、疫苗免疫母猪（免疫后 120 天）

除“公猪异味去除疫苗”以外，目前国际上还没有其他商品化的去势疫苗产品。然而，由于“公猪异味去除疫苗”只适用于公猪，二免前免疫公猪仍然保持未去势状态，表现为爬跨、攻击性行为、以及同圈母猪怀孕等不良反应，尚不能满足去势市场需求。猪促黄体素释放激素重组抗原去势疫苗真正具备替代手术去势的推广应用潜力，技术经济性能及市场优势不言而喻。

综上所述，促黄体素释放激素重组抗原去势疫苗生产工艺及质控体系先进，产品安全、优质、高效；一次注射即可在抑制外观性征、性行为、性激素、性腺性器官发育等各方面发挥确凿而持久的综合去势效果。鉴于免疫去势刺激小、操作简易，可避免手术去势造成的出血、感染、死亡和应激，提高牧业经济效益，改善动物福利，广泛推广应用后可普遍降低肉食品内源性性激素水平，因此，用促黄体素释放激素重组抗原去势疫苗替代传统手术去势，可望产生十分重大的经济和社会效应。

（作者简介：吉传仪，博士，教授，华派生物首席科学家）

华派生物战略合作企业

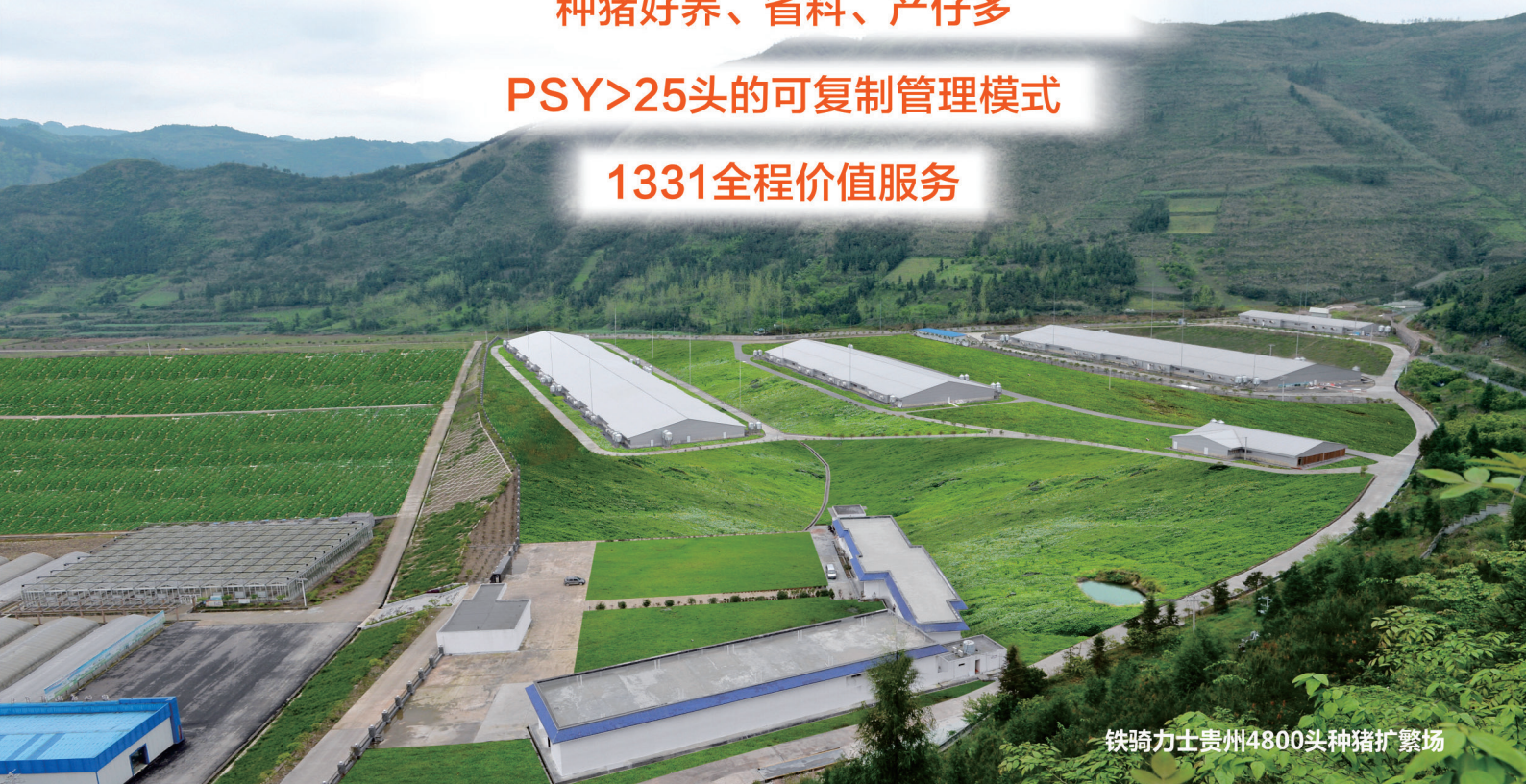
铁骑力士 高效养猪服务专家

猪场建设成本节约40%，人均效率提高50%

种猪好养、省料、产仔多

PSY>25头的可复制管理模式

1331全程价值服务



铁骑力士贵州4800头种猪扩繁场



铁骑力士牧业科技
TIEQILISHI ANIMAL HUSBANDRY SCIENCE & TECHNOLOGY

首批国家核心育种场

服务专线 **0816-2821818**

www.tqlsgroup.com

四川铁骑力士牧业科技有限公司
地址：四川绵阳农业科技示范园区
销售电话：0816-2821860

北京铁骑力士牧业科技有限公司
地址：河北省涿州东城坊镇
销售电话：0312-3791296

江西铁骑力士牧业科技有限公司
地址：江西丰城市丽村镇
销售电话：0795-6561668

贵州铁骑力士牧业科技有限公司
地址：贵州省铜仁茶店镇
销售电话：0856-5325688