

苯酚在兽医生物制品检测中的应用

常维山 牛钟相 朱瑞良 柴家前 唐珂心 徐海花
山东农业大学, 山东泰安 271000
收稿日期: 1997- 09- 29

摘 要 作者们发现可以用低浓度苯酚作为破乳剂将油乳剂疫苗中水相分离出来, 利用后者在体外进行免疫学测定。应用这个方法发现市售减蛋综合症疫苗中的血凝价为 2^{10} , 市售卵黄抗体中新城疫病毒血凝抑制价和抗法氏囊病病毒抗体价分别为 $2^7 \sim 2^9$ 和 $2^5 \sim 2^7$ 。
关键词 苯酚; 生物制品; 质量监测

苯酚作为蛋白质变性剂已在环境消毒和分子克隆中广泛使用。本研究利用低浓度苯酚的表面活性作用, 在不影响被处理样品生物活性的前提下, 使油乳剂疫苗和高免卵黄液破乳, 分离出水相进行免疫学检测, 为此类生物制品的质量监控, 创造了有利条件, 现将研究内容报告如下。

1 材料和方法

1. 1 液体苯酚 将市售苯酚加热融化后, 加入 1/ 10 体积的蒸馏水, 可使苯酚在室温下处于液体状态, 便于使用。
1. 2 油乳剂疫苗的破乳 按 2. 5% (V/V) 浓度将液体苯酚加入到待测油乳剂疫苗样品

中, 剧烈振荡混匀后, 3000r/min, 离心 10 分钟, 留取下层水溶液, 待检。同时, 用正丁醇破乳^[1], 作为对照。

1. 3 卵黄液的破乳 首先将市售苯酚与生理盐水配制成 3. 2% (V/V) 的苯酚溶液, 然后按 3 : 1 的比例与卵黄液混合, 振荡混匀, 3000r/min, 离心 10 分钟。留取上清液待检。同时, 利用氯仿和聚乙二醇破乳^[2], 作为对照。

1. 4 疫苗中抗原浓度的检测 采用微量血凝试验^[3], 检测市售新城疫疫苗、减蛋综合症疫苗中的抗原含量。

1. 5 卵黄液中抗体含量的测定 采用微量血凝抑制试验, 检测市售高免卵黄抗体中抗新城疫病毒血凝抑制抗体滴度^[4], 用琼脂扩散沉淀试验检测抗法氏囊病病毒抗体滴度。

2 结果与分析

2. 1 抗原含量 油乳剂疫苗水相中血凝物质的检测结果见表 1。经 t 检测, 两种破乳剂处理所得水相中血凝物质含量无显著差异 ($P > 0. 05$)。

表 1 几种油乳剂疫苗中血凝抗原的检测结果

破乳剂	新城疫疫苗(进口)	新城疫疫苗(国产)	减蛋综合症疫苗	新减二联疫苗	新肾二联疫苗	统计
苯酚	2 ⁸	2 ¹	2 ¹⁰	2 ⁹	2 ⁰	5. 6 ± 4. 72
正丁醇	2 ⁸	2 ¹	2 ¹⁰	2 ¹⁰	2 ⁰	5. 8 ± 4. 92

表 2 不同厂家卵黄抗体中血凝抑制抗体含量

破乳剂	1	2	3	4	5	6	统计
苯酚	2 ⁷	2 ⁸	2 ⁹	2 ⁷	2 ⁸	2 ⁷	7. 8 ± 0. 84
氯仿	2 ⁸	2 ⁹	2 ⁹	2 ⁸	2 ⁸	2 ⁸	8. 4 ± 0. 55
聚乙二醇	2 ⁷	2 ⁸	2 ⁸	2 ⁷	2 ⁷	2 ⁷	7. 40 ± 0. 55

2. 2 卵黄中抗新城疫抗体检测结果 分别对不同厂家送检卵黄抗体进行抗体检测结果

见表 2。经方差分析, 三种处理方法总体平均值间无显著差异 ($P > 0. 05$)。

2. 3 卵黄抗体中抗传染性法氏囊病病毒抗体效价 不同厂家卵黄抗体中抗传染性法氏囊病病毒抗体效价, 见表 3。经方差分析, 三种处理方法平均值间无显著差异 ($P > 0. 05$)。

表3 不同厂家卵黄抗传染法氏囊病毒抗体浓度

破乳剂	1	2	3	4	5	6	统计
苯酚	2 ⁵	2 ⁶	2 ⁷	2 ⁵	2 ⁶	2 ⁵	5.67 ± 0.82
氯仿	2 ⁵	2 ⁷	2 ⁷	2 ⁶	2 ⁵	2 ⁶	6.0 ± 0.89
聚乙二醇	2 ⁵	2 ⁶	2 ⁶	2 ⁴	2 ⁵	2 ⁵	4.83 ± 0.41

3 讨 论

目前国内生产油乳剂疫苗和高免卵黄抗体的厂家较多,又缺乏规范化管理,质量也不均一。由于油乳剂疫苗中的油相物质和卵黄抗体中脂类物质的存在,使免疫学检测无法进行或影响实验结果,造成此类生物制品的质量监控难以进行。本研究通过破乳剂的使用,使油相和水相分离,方便了实验室免疫学检测的进行。研究发现,苯酚作为破乳剂,具

有使用方便、价格低廉、对待检测样品活性无影响的特点,建议推广使用。实验中发现国产新城疫油苗水相无血凝活性,可能与疫苗的制备工艺有关,实验证明,新城疫病毒的血凝素在 60℃ 处理 10 分钟即可失去血凝活性,故血凝试验不宜用作此类疫苗的监测。

参考文献

- 1 Cajavec S, et al. Avian disease, 1996, 40(1) 193 ~ 201
- 2 易序权,黎杰虹,魏爱兰等. 中国家畜传染病, 1989, 2 9 ~ 15
- 3 刘宝全,孙惠兰,李俊宝等. 兽医免疫学实验指导. 上海科学技术出版社, 1985, 5 1 ~ 5
- 4 王惠民,徐燕军,善付浩等. 中国兽医科技, 1992, 22(3) 22 ~ 24

Application of Phenol in Detection of the Antibody Titers of the Oil Emulsion and the Yolk Antibody

CHANG Weishan, NU Zhongxiang, CHAI Jiaqian, TANG Kexin, XU Haihua
Shandong Agricultural University, Taian 271018

Abstract The authors found that 2% phenol may be used as a demulsifier to separate the water phase out from the oil emulsion vaccine and then using the water phase for immunological assay in vitro. With this method they demonstrated the titer of haemagglutinin in commercial EDS 76 vaccine was 2¹⁰, the haemagglutination inhibition titer for Newcastle virus and the titer of antibody against the infectious bursa disease virus in commercial yolk antibodies preparation were 2⁷ ~ 2⁹ and 2⁵ ~ 2⁷ respectively.

Key Words Phenol, Demulsifier, Oil emulsion vaccine, Antibody titer

用紫外分光光度法测定氟甲喹含量

聂 严 马玉叶
中国兽药监察所 北京 100081
收稿日期: 1997- 10- 31

摘 要 作者应用 NaOH(0.1mol/L)为溶液溶解氟甲喹可溶性粉,并以紫外分光光度法测定其含量,结果与容量法无显著性差异。

关键词 氟甲喹; 紫外分光光度法

氟甲喹是近年来进口注册的一种新型的