

## 猫泛白细胞减少症病毒单克隆抗体的制备及其制备胶体金检测试纸条的应用

王莹<sup>1,2</sup>, 白晶晶<sup>3</sup>, 李玉芳<sup>3</sup>, 钱鹏<sup>1,2</sup>, 曹玉姣<sup>1,2</sup>, 陈凌燕<sup>3</sup>, 郝丽影<sup>3</sup>, 邓均华<sup>3\*</sup>, 田克恭<sup>1,2,3\*</sup> (1. 国家兽药工程技术研究中心, 河南洛阳 471000; 2. 普莱柯生物工程股份有限公司, 河南洛阳 471000; 3. 洛阳普泰生物技术有限公司, 河南洛阳 471000)

**摘要** 制备猫泛白细胞减少症病毒(FPV)单克隆抗体, 研制胶体金检测试纸条。用 FPV 临床分离株免疫 Balb/c 小鼠, 取血凝抑制(HI)效价最高的小鼠脾细胞与 SP2/0 细胞融合, 采用 HI 方法筛选获得 2 株可稳定分泌 FPV 单克隆抗体的杂交瘤细胞, 并对其用于胶体金检测试纸条进行评价。2 株杂交瘤细胞 3C3 和 4A1 株, 分泌的单克隆抗体重链亚型分别为 IgG2b、IgG2a, 轻链亚型均为 kappa; 腹水纯化后单克隆抗体 3C3、4A1 的 HI 效价分别为 1:5 120、1:10 240。用胶体金标记单克隆抗体 4A1, 单克隆抗体 3C3 作为检测线, 羊抗鼠二抗作为对照线制备的胶体金检测试纸条, 检测 FPV 病毒液的灵敏度为  $10^{3.7}$  TCID<sub>50</sub>/mL; 检测猫源其他病毒如 FHV-1、FCV 均为阴性; 批内和批间重复性检测不同含量的 FPV 结果一致; 检测 513 份临床样品, 与 PCR 的阳性符合率为 76% (71/93), 阴性符合率为 100% (420/420), 总符合率为 96% (491/513)。该研究制备的 FPV 单克隆抗体可用于 FPV 胶体金检测试纸条的生产, 用于 FPV 的现场快速检测。

**关键词** 猫泛白细胞减少症病毒; 单克隆抗体; 胶体金检测试纸条

中图分类号 S855.3 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)15-0099-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.15.025

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



**Development of Monoclonal Antibody-based Colloidal Gold Immunoassay for Detecting Feline Panleukopenia Virus**  
WANG Ying<sup>1,2</sup>, BAI Jing-jing<sup>3</sup>, LI Yu-fang<sup>3</sup> et al (1. National Research Center for Veterinary Medicine, Luoyang, Henan 471000; 2. Pulike Biological Engineering, Inc, Luoyang, Henan 471000; 3. Luoyang Putai Bio-Tech Co., Ltd., Luoyang, Henan 471000)

**Abstract** Feline panleukopenia virus (FPV) monoclonal antibodies (MAbs) were developed for the preparation of colloidal gold test strips. Balb/c mice were firstly immunized with FPV clinical strain, and then the spleen cells of the mouse with the highest hemagglutination inhibition (HI) titers were fused with myeloma cells SP2/0. Hybridoma cells 3C3 and 4A1 strains were screened by HI and chosen for the preparation of immunochromatographic test strips. The HI titers of the MAbs from purified ascites 3C3 and 4A1 are 1:5 120 and 1:10 240, and the heavy chain subtypes were IgG2b and IgG2a selectively, the light chain subtypes were both kappa. The MAb 4A1 was conjugated with colloidal gold, the 3C3 was coated on a porous nitrocellulose membrane as the detection line, and the Goat anti-rat IgG antibody was coated as the control line, respectively. The detection limit of the strip was  $10^{3.7}$  TCID<sub>50</sub>/mL and no cross-reaction occurred between FPV and other feline viruses. Intra-assay and inter-assay repeatability test results were consistent. 513 clinical samples were tested by both the test and PCR. The result showed that the positive coincidence rate of the test was 76% (71/93) with PCR, the negative coincidence rate was 100% (420/420), and the overall consistency rate was 96% (491/513). The MAbs 3C3 and 4A1 prepared in this study could be used for the preparation of colloidal gold test strip.

**Key words** Feline panleukopenia virus; Monoclonal antibody; Colloidal gold immunoassay

猫泛白细胞减少症病毒(Feline panleukopenia virus, FPV)又称猫细小病毒(Feline parvo virus)、猫瘟病毒(Feline distemper)、猫传染性肠炎病毒(Feline infectious enteritis), 属于细小病毒科细小病毒属, 为单链 DNA 病毒, 编码 VP1、VP2 这 2 种结构蛋白, 其中 VP2 蛋白为主要衣壳蛋白, 是病毒主要的免疫保护性抗原蛋白<sup>[1-2]</sup>。FPV 感染范围较广、传播速度较快, 可感染猫科、鼬科及浣熊科动物等<sup>[3-4]</sup>; 可引发一种急性高度接触性传染病即猫泛白细胞减少症, 又称猫瘟热、猫传染性肠炎、猫细小病毒性肠炎、猫共济失调症等。猫泛白细胞减少症以高热、呕吐、脱水、白细胞严重减少和出血性肠炎为主要临床特征, 感染率可达 70%, 死亡率最高达 90%<sup>[5-8]</sup>。

目前, 猫泛白细胞减少症的检测主要依赖于病毒分离、血凝和血凝抑制试验、分子生物学诊断等<sup>[9-16]</sup>, 其中, 病毒分离耗时费力, 对细胞培养要求高, 敏感性较低、周期较长; 血

凝和血凝抑制试验不仅需要红细胞且要求红细胞必须现配现用, 操作时间较长, 临床检测时易受排泄物中杂质的干扰; 分子生物学诊断所需的试验条件要求严格, 需要专门的仪器、专业的技术人员, 代价较高, 应用受限。因此, 这些方法均没有推广开来, 难以实现兽医临床现场的应用。随着宠物猫养殖量增多及试验动物用猫的增多, 对猫的疫病预防和控制需高度重视。因此, 急需研制一种快速简便、特异性强、准确地检测猫泛白细胞减少症病毒的产品以用于临床实时诊断。

笔者利用实验室分离鉴定的 FPV 1009 株免疫小鼠制备单克隆抗体, 通过筛选获得杂交瘤细胞 3C3、4A1 株并对其进行鉴定, 然后用单克隆抗体 3C3 和 4A1 配对制备猫泛白细胞减少症病毒胶体金检测试纸条并对其进行评价, 检验其临床应用前景。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 细胞和毒株。** SP2/0 细胞由洛阳普泰生物技术有限公司保存。表达 FPV VP2 蛋白病毒样颗粒的重组杆状病毒 FPV-VP2 株、表达 FPV VP1 蛋白的重组杆状病毒 FPV-VP1 株、FPV 1009 株、猫杯状病毒(Feline calici virus, FCV) FC008 株、猫疱疹病毒 1 型(Feline herpes virus type 1, FHV-1) C-27

**基金项目** 洛阳市河洛英才计划“新型兽用生物制品研发及产业化”。

**作者简介** 王莹(1986—), 女, 河南新乡人, 高级工程师, 硕士, 从事诊断试剂研究; 白晶晶(1987—), 女, 河南巩义人, 助理工程师, 从事诊断试剂研究。王莹和白晶晶为共同第一作者。  
\*通信作者: 邓均华, 兽医师, 硕士, 从事动物疫苗和诊断试剂研究; 田克恭, 研究员, 博士, 从事动物疫病诊断和防控技术研究。

**收稿日期** 2021-01-01

株,均由国家兽用药品工程技术研究中心鉴定和保存。

**1.1.2 试验动物。**SPF级 Balb/c 雌性小鼠,购自北京维通利华实验动物技术有限公司。

**1.1.3 主要培养基、试剂和耗材。**1640 培养基购自美国 Life Technologies。HAT 混合盐、HT 混合盐、弗氏完全佐剂、弗氏不完全佐剂、PEG1500 等均购自 Sigma 公司。FPV PCR 检测试剂盒,购自北京世纪元亨动物防疫技术有限公司。小鼠单抗 Ig 类/亚类/亚型鉴定用 ELISA 试剂盒,购自洛阳佰奥通试验材料中心。BCA 蛋白定量试剂盒,购自上海碧云天生物技术有限公司。Ni<sup>2+</sup> 亲和层析填料,购自美国 GE Healthcare 公司。羊抗鼠 IgG,购自北京万域美澜科技有限公司。硝酸纤维素膜(NC 膜),购自 Millipore 公司。样品垫和 PVC 底板,购自上海金标生物科技有限公司。其他常规用试剂为国产或进口分析纯。

## 1.2 方法

**1.2.1 单克隆抗体的制备及鉴定。**

**1.2.1.1 小鼠免疫。**将 FPV 1009 株病毒液作为免疫原,按 200 μL/只的量皮下多点免疫 4~6 周龄雌性 Balb/c 小鼠,首次时与弗氏完全佐剂等体积乳化,后续免疫时与弗氏不完全佐剂等体积乳化。免疫间隔时间为 14 d。于三免后采集小鼠血清,用血凝抑制试验(HI)测定血清的 HI 抗体效价。选择 HI 抗体效价最高的小鼠进行细胞融合,于融合前 3 d 腹腔注射 FPV 1009 株病毒液 200 μL 进行超免。其中,血凝抑制试验按《中国兽药典》附录操作,先进行红细胞凝集试验即 HA 试验,根据结果制备 8 单位抗原,再对待检样品进行红细胞凝集抑制试验即 HI 效价测定。

**1.2.1.2 杂交瘤细胞株的制备。**

(1)细胞融合。无菌分离超免小鼠的脾细胞,将其与 SP2/0 细胞混合后,按常规方法进行细胞融合。将融合后的细胞滴加至提前铺有饲养细胞的 96 孔细胞板中,于 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 条件下静置培养。

(2)杂交瘤细胞的筛选及亚克隆。当细胞长至孔底面积 1/3~1/2 时,取上清用血凝抑制试验(HI)进行检测。用有限稀释法对 HI 阳性的孔进行亚克隆,经过 4 次筛选和 3 次克隆,筛选出杂交瘤细胞上清阳性率为 100%的杂交瘤细胞,优选阳性杂交瘤细胞进行扩大培养及细胞冻存。

**1.2.1.3 单克隆抗体的制备、纯化。**选择生长状态良好的 Balb/c 小鼠,按 0.5 mL/只的剂量腹腔注射无菌液体石蜡。将杂交瘤细胞悬浮,再对小鼠腹腔注射。待小鼠腹部明显膨大、行动困难时采集腹水,以 10 000 r/min 离心 10 min,收集上清即为单克隆抗体。将其用 Protein G 亲和层析法分别纯化,获得纯化后的单克隆抗体,并用 BCA 试剂盒进行含量测定。

**1.2.1.4 单克隆抗体的鉴定。**①亚类鉴定。按照亚类鉴定试剂盒说明书进行单克隆抗体亚类鉴定。②HI 效价测定。按照血凝抑制试验(HI)测定单克隆抗体的 HI 抗体效价。③特异性鉴定。用 FPV 1009 株、FCV FC008 株、FHV-1 C-27 株制备 IFA 抗原板,分别按常规方法进行 IFA 检测,同时分别设置加阳性血清、PB 缓冲液(0.01 mol/L, pH 7.4)作为阳

性对照、阴性对照,用于测定单克隆抗体的特异性。④单克隆抗体识别蛋白的鉴定。将重组杆状病毒 FPV-VP2 株、重组杆状病毒 FPV-VP1 株转染 Sf9 细胞培养,待细胞明显病变后用 80%冷丙酮固定,作为 IFA 抗原板,将单克隆抗体作为一抗,同时设置阳性对照、阴性对照,按照常规方法进行间接免疫荧光 IFA 检测。结果判定:正常对照细胞孔无特异性荧光、阳性对照孔中细胞出现黄绿色荧光时试验成立,样品孔若观察到黄绿色荧光判为阳性,否则为阴性。

**1.2.2 胶体金检测试纸条的制备及评价。**

**1.2.2.1 胶体金检测试纸条的制备。**用柠檬酸三钠还原法制备胶体金溶液,将 0.01% 氯金酸溶液加热煮沸后加入 1.8 mL 1%柠檬酸三钠溶液,制备成胶体金,冷却至室温后用蒸馏水恢复至 100 mL。用 0.1 mol/L K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 调节胶体金溶液的 pH 至 8.0,匀速搅拌后将单克隆抗体 4A1 按 18 μg/mL 加于胶体金溶液中进行标记,搅拌后逐滴加入适量的 10% BSA,匀速搅拌 30 min。于 2~8 ℃ 静置 2 h 后,4 ℃、2 000 r/min 离心 30 min,沉淀用 1/10 体积的含 1% BSA 的 PBS 缓冲液溶解,即为金标单克隆抗体 4A1,将其喷涂后制备成金标垫;将单克隆抗体 3C3(包被浓度为 1.5 mg/mL)和羊抗鼠 IgG(包被浓度为 2 mg/mL)喷涂在硝酸纤维素膜上分别作为检测线和质控线。将样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜和吸水垫黏贴于底板上,即为 FPV 胶体金检测试纸条。

**1.2.2.2 胶体金检测试纸条的评价。**①特异性检验。用试纸条分别检测 FPV、FCV FC008 株、FHV-1 C-27 株以及样品处理液。②灵敏度检验。用试纸条分别检测 FPV (10<sup>5.5</sup> TCID<sub>50</sub>/mL)病毒液及其稀释液。③重复性检验。用不同批的试纸条以及同一批的多个试纸条分别检测 FPV 病毒液的灵敏度以及 FCV、FHV-1、样品处理液。④与 PCR 方法的比较。用试纸条对收集到的多家宠物医院的猫拭子或粪便样品 513 份进行检测,并用 FPV PCR 方法(按照商品化试剂盒操作说明书完成)进行复核检测。

## 2 结果与分析

**2.1 单克隆抗体的制备及鉴定** 三免后取小鼠血清 HI 效价最高(为 1:5 120)的小鼠进行超免,之后取其脾细胞与骨髓瘤细胞 SP2/0 进行细胞融合、筛选,通过细胞生长状态、细胞上清效价优选出 2 株阳性杂交瘤细胞并进行扩大培养及细胞冻存,将其命名为杂交瘤细胞 3C3、4A1。经 HI 效价测定,杂交瘤细胞 3C3、4A1 细胞上清的 HI 效价分别为 1:32、1:64。用小鼠腹水法分别制备腹水并纯化,经聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)检测,电泳后的凝胶经考马斯亮蓝染色,单克隆抗体 3C3、4A1 均在约 55 和 25 kD 分别出现明显的蛋白条带;染色后的凝胶经凝胶成像仪扫描,经软件分析纯度分别为 87%、92%。用 BCA 蛋白定量试剂盒测得单克隆抗体 3C3、4A1 的蛋白含量分别为 4.0、3.8 mg/mL。用亚类鉴定试剂盒测定单克隆抗体 3C3、4A1 的重链亚型分别为 IgG2b、IgG2a,轻链亚型均为 kappa。用血凝抑制试验测得纯化后单克隆抗体 3C3、4A1 的 HI 效价分别为 1:5 120、1:10 240。用 IFA 方法测定单克隆抗体的特异性,结果见图

1. 由图 1 可知,单克隆抗体 3C3、4A1 仅与 FPV 反应为阳性,与 FHV-1、FCV 反应均为阴性。表明单克隆抗体 3C3、4A1 仅与猫泛白细胞减少症病毒发生反应,与猫源其他病毒反应均为阴性。

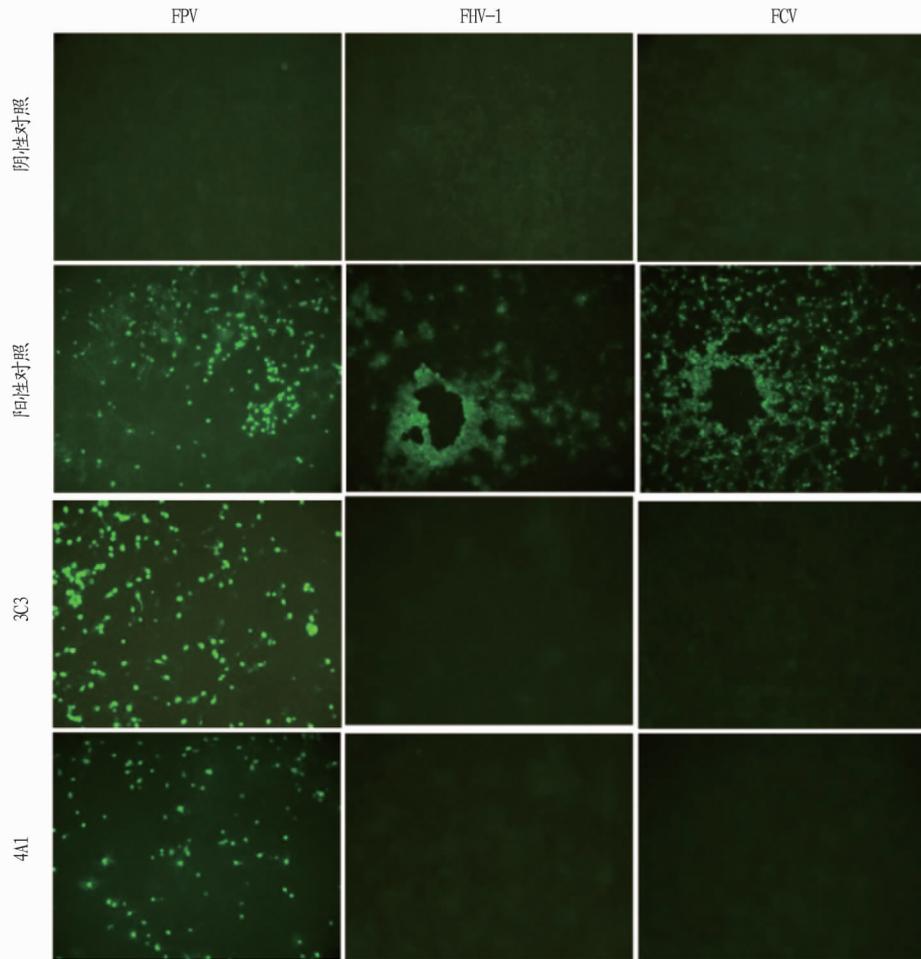
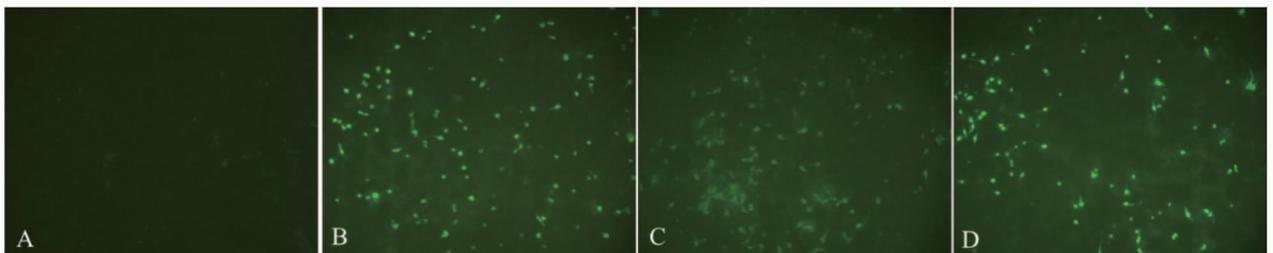


图 1 IFA 鉴定单克隆抗体 3C3、4A1 与 FPV、FHV-1、FCV 的反应结果(100×)

Fig. 1 Reaction result of monoclonal antibodies 3C3,4A1 identified by IFA with FPV, FHV-1 and FCV

2.2 单克隆抗体识别蛋白的鉴定 用 IFA 方法测定单克隆抗体与重组杆状病毒 FPV-VP2 株、重组杆状病毒 FPV-VP1 株的反应性,结果表明,单克隆抗体 3C3、4A1 仅与 FPV-VP2

株均出现特异性荧光(图 2),与 FPV-VP1 株反应则为阴性(结果未呈现),且单克隆抗体 3C3 反应较弱。表明单克隆抗体 3C3、4A1 均识别 FPV VP2 蛋白。



注:A. 阴性对照(pCAGGS 空质粒),B. 阳性对照(小鼠阳性血清),C. 单克隆抗体 3C3,D. 单克隆抗体 4A1

Note: A. Negative control(empty pCAGGS plasmid), B. Positive control(mouse positive serum), C. Monoclonal antibody 3C3, D. Monoclonal antibody 4A1

图 2 单克隆抗体与重组 FPV VP2 蛋白的 IFA 反应结果(100×)

Fig. 2 Reaction result of monoclonal antibodies 3C3,4A1 identified by IFA with recombinant FPV VP2 protein

2.3 胶体金检测试纸条的制备及鉴定 将单克隆抗体 4A1 用胶体金标记后喷涂以制备金标垫,将单克隆抗体 3C3 和羊抗鼠 IgG 喷涂在硝酸纤维素膜上分别作为检测线和质控线,将样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜和吸水垫黏贴于底板上,裁

剪后制成 FPV 胶体金检测试纸条。

将 FPV、FHV-1、FCV 以及样品处理液分别用试纸条进行特异性检验,结果见图 3。由图 3 可知,试纸条仅能检测 FPV,检测猫源其他常见病毒均为阴性,表明试纸条特异性良好。

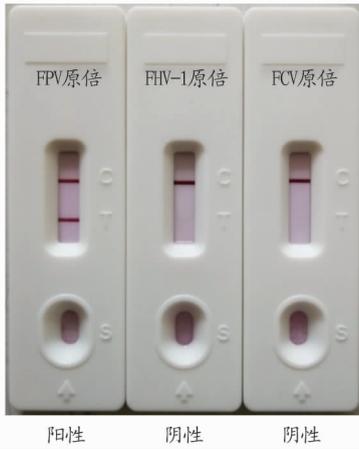


图3 试纸条的特异性结果

Fig. 3 Specific results of test strips

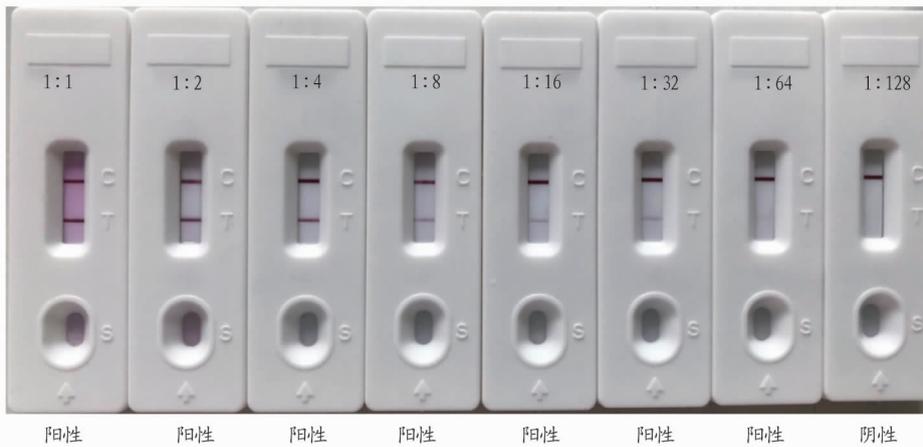


图4 试纸条对FPV的灵敏度检测结果

Fig. 4 Sensitivity results of test strip to FPV

表1 PCR与试纸条检测临床样品复核结果的比较

Table 1 Comparison of PCR and test strips for rechecking clinical samples

试纸条检测结果 Test strip result	PCR 结果 PCR result		合计 Total
	阳性 Positive	阴性 Negative	
阳性 Positive	71	0	71
阴性 Negative	22	420	442
合计 Total	93	420	513

### 3 结论与讨论

目前,在世界范围内,猫作为试验动物在医学、生物学等试验和动物疾病模型研究中的应用越来越广泛,在某些试验中,如药理学、血压相关试验、疾病诊断、营养学相关研究、肿瘤学、解剖学等研究中功不可没<sup>[17]</sup>。中国农业科学院哈尔滨兽医研究所和国家动物疾病防控中心、美国俄亥俄州立大学的病毒学家研究发现新冠病毒猫体内可有效复制且复制率较高,幼猫更为严重,因此可考虑将猫作为测试新冠病毒疫苗和药物评估的模型动物<sup>[17-20]</sup>。猫作为试验动物,虽然应用越来越广泛,但由于检测试剂缺乏,用作试验的猫多数为未经严格检测的宠物猫、捕获的野猫或中华田园猫,国内目前尚未见有开展试验用猫的检测报告,安全隐患突显。为了

用试纸条检测 FPV ( $10^{5.5}$ TCID<sub>50</sub>/mL) 病毒液及其稀释液进行灵敏度检验,结果见图4。由图4可知,试纸条检测 FPV 病毒液的灵敏度为  $10^{3.7}$ TCID<sub>50</sub>/mL (对应 1:64 稀释液)。

将不同批的试纸条以及同一批的多个试纸条分别检测 FPV 病毒液的灵敏度,以进行重复性检验,结果表明,灵敏度一致,且检测同一样品的显色程度一致;检测 FHV-1、FCV 及样品处理液的结果均为阴性,表明试纸条的重复性良好。

**2.4 与 PCR 方法的比较** 用试纸条对收集到的多家宠物医院的临床样品 513 份进行检测,并用 FPV PCR 方法进行复核检测。结果见表1。由表1可知,试纸条检出阳性 71 份、阴性 442 份;PCR 检出 93 份阳性(其中 22 份阳性为试纸条检测为阴性的样品)、420 份阴性,阳性符合率为 76% (71/93)、阴性符合率为 100% (420/420),总符合率为 96% (491/513)。

保证试验时试验猫的质量水平、提高试验的准确度,为了保障养猫人的人身健康和安全,国家兽用药品工程技术研究中心诊断试剂团队一直致力于宠物诊断试剂的开发。

虽然国内外早有 HA/HI、ELISA、病毒分离方法,但这些方法不利于进行临床的实时检测。该研究将 FPV 临床分离株免疫 Balb/c 小鼠,取小鼠血清 HI 效价最高的小鼠融合后,取其脾细胞与 SP2/0 细胞融合,通过筛选和亚克隆获得杂交瘤细胞 3C3、4A1,制备腹水后用 Protein G 亲和层析法纯化获得纯化单克隆抗体 3C3、4A1,纯度均  $\geq 87\%$ 、蛋白含量均  $\geq 3.8$  mg/mL,经鉴定仅与 FPV 均发生特异性反应,与猫源其他病毒反应均为阴性,均识别 VP2 蛋白,HI 效价分别为 1:5 120 和 1:10 240。经 IFA 方法鉴定,单克隆抗体 4A1 与重组杆状病毒 FPV-VP2 株的反应较强,而单克隆抗体 3C3 的反应稍弱,推测单克隆抗体 4A1 识别的是重组杆状病毒 FPV-VP2 株暴露的抗原表位,而单克隆抗体 3C3 识别的 FPV VP2 表位在 FPV 全病毒和重组 FPV VP2 蛋白中暴露情况或蛋白构象可能存在差异。

制成 FPV 胶体金检测试纸条,经检测灵敏度为  $10^{3.7}$ TCID<sub>50</sub>/mL,特异性强,重复性良好;检测临床样品与 PCR 的阳性符合率为 76% (71/93)、阴性符合率为 100%

(420/420)、总符合率为 96%(491/513)。由于试纸条本身的灵敏度不及 PCR 方法,无法检测到相对较低的丰度,而该试纸条检测 PCR 阳性的 93 份阳性中有 22 份为阴性,且这 22 份样品的 PCR 条带较弱,故未检出。

综上所述,该研究制备了猫泛白细胞减少症病毒单克隆抗体,进一步研制出 FPV 胶体金检测试纸条,检测快速、简便、准确,在临床上具有很好的应用前景,有一定的经济和社会价值,并为把控试验动物猫的质量水平、提高试验的准确度奠定了基础。

#### 参考文献

- [1] AN D J, JEONG W, JEONG H Y, et al. Phylogenetic analysis of feline panleukopenia virus (FPLV) strains in Korean cats[J]. Res Vet Sci, 2011, 90(1):163-167.
- [2] 殷震,刘景华. 动物病毒学[M]. 2 版. 北京:科学出版社, 1997:1145-1172.
- [3] JIAO C C, ZHANG H L, LIU W, et al. Construction and immunogenicity of virus-like particles of feline parvovirus from the tiger[J]. Viruses, 2020, 12(3):1-8.
- [4] DIAO F F, ZHAO Y F, WANG J L, et al. Molecular characterization of feline panleukopenia virus isolated from mink and its pathogenesis in mink[J]. Vet Microbiol, 2017, 205:92-98.
- [5] 扈荣良. 现代动物病毒学[M]. 北京:中国农业出版社, 2014:758-773.
- [6] 亢文华,赵凤龙,郝霖雨,等. 猫泛白细胞减少症病毒的研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2008, 35(9):108-111.
- [7] 辛光洁,王威,孙连志. 猫泛白细胞减少症病毒的血凝及血凝抑制试验检测[J]. 吉林畜牧兽医, 2010, 31(6):9-10, 12.
- [8] 温肖会,邱杰,吕殿红,等. 广州市部分区域猫泛白细胞减少症流行现状调查[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(17):120-122, 237.
- [9] 刘碧涛,任常宝,张晓战,等. 猫细小病毒的分离与鉴定[J]. 动物医学

进展, 2013, 34(9):124-127.

- [10] 邱薇,夏咸柱,范泉水,等. 动物园猫瘟热净化的新手段——聚合酶链式反应[J]. 中国兽医杂志, 2001, 37(5):14-15.
- [11] 刘维全,范泉水,江禹,等. 肉食兽细小病毒通用 PCR 诊断技术的建立[J]. 中国兽医学报, 2001, 21(3):249-251.
- [12] 王翀,刘大飞,刘春国,等. 同时检测猫细小病毒、杯状病毒、疱疹病毒 1 型多重 PCR 方法的建立[J]. 中国预防兽医学报, 2014, 36(1):31-33.
- [13] 亢文华,赵凤龙,郝霖雨,等. 猫泛白细胞减少症的研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2008, 35(8):112-116.
- [14] WANG Z H, WANG X J, HOU S H. Development of a recombinase polymerase amplification assay with lateral flow dipstick for rapid detection of feline parvovirus[J/OL]. J Virol Methods, 2019, 271[2020-10-24]. https://doi.org/10.1016/j.viromet.2019.113679.
- [15] AWAD R A, KHALIL W K B, ATTALLAH A G. Epidemiology and diagnosis of feline panleukopenia virus in Egypt; Clinical and molecular diagnosis in cats[J]. Vet World, 2018, 11(5):578-584.
- [16] RAHEENA K P, PRIYA P M, MANI B K, et al. Comparison of different diagnostic test to detect feline panleukopenia virus among cats in Kerala, India[J]. Indian J Animal Res, 2017, 51(2):347-349.
- [17] 刘明慧,袁宝,陈健,等. 猫实验动物标准化的研究进展及探讨[J]. 吉林畜牧兽医, 2015, 36(2):29-30, 32.
- [18] MALLAPATY S. Coronavirus can infect cats-dogs, not so much[J/OL]. Nature, 2020-04-01[2020-10-24]. https://www.nature.com/articles/d41586-020-00984-8. DOI: 10.1038/D41586-020-00984-8.
- [19] SHI J Z, WEN Z Y, ZHONG G X, et al. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and different domestic animals to SARS-coronavirus-2[J/OL]. 2020-03-30[2020-10-24]. https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.03.30.015347v1.
- [20] ZHANG Q, ZHANG H J, HUANG K, et al. SARS-CoV-2 neutralizing serum antibodies in cats: A serological investigation[J/OL]. 2020-04-01[2020-10-24]. https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.04.01.021196v1.

(上接第 98 页)

近,拟合度更高,但在 3 周龄以后,随时间的变化 Bertalanffy 曲线与实测值越来越接近,更能反映  $F_1$  代的生长发育趋势。Logistic 模型的拟合效果最差,与赵中利等<sup>[10]</sup>结果相同。前期多数明显大于实测值,虽然逐渐贴近实测值,但拟合效果没有其它 2 种模型好。

#### 参考文献

- [1] 金香淑,金京实,刘臣,等. 吉林地方芦花鸡纯系选育研究[J]. 农业与技术, 2010, 30(5):45-46.
- [2] 金香淑,张芳毓,赵忠利,等. 吉林黑鸡遗传资源调查研究[J]. 农技服务, 2014, 31(12):120, 119.
- [3] 刘臣,金香淑,刘革新,等. 吉林地方芦花鸡的选育进展[J]. 吉林农业

科学, 2010, 35(6):46-48.

- [4] 张华杰,张芳毓,赵中利,等. 鸡性连锁矮小基因的研究进展及应用现状[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2017(4):104-106.
- [5] 唐燕飞,巨晓军,章明,等. 瑶鸡生长发育规律、屠宰性能及肉质评价的研究[J]. 中国畜牧杂志, 2020, 56(6):39-44.
- [6] 谭玉文,朱学农,章逸,等. 宁都黄鸡 3 种生长曲线拟合的比较分析[J]. 中国畜牧杂志, 2019, 55(8):59-61.
- [7] 张权,李德辉. 新广黄鸡生长曲线的拟合分析[J]. 安徽农业科学, 2019, 47(13):88-89, 131.
- [8] 杨晓志,张玲,顾文婕,等. 低海拔地区藏鸡生长曲线拟合与分析[J]. 现代农业科技, 2018(23):222-223, 225.
- [9] 张华杰,张芳毓,赵中利,等. 吉林地方黑鸡生长曲线拟合与比较分析[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2017(2):71-72, 288.
- [10] 赵中利,李欣,张芳毓,等. 吉林芦花鸡生长发育规律研究[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(6):71-72, 116.