

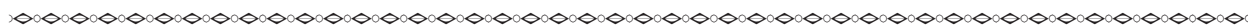
GUANGDONG JOURNAL OF ANIMAL AND VETERINARY SCIENCE

Established in march 1976(Bimonthly)

DEC.2016 Volume 41, Number 1 (Total No.185)

Main Content

- Review of Chinese Pig Production in 2015 and Its Outlook in 2016 Yu Hua, Yuan Juanjuan, et al(1)
- A Brief Analysis on the Current Bird Flu Trends and Prevention and Control Measures Han Wenge(6)
- Review on Visualizable Loop-mediated Isothermal Amplification Zeng Junhui(8)
- Acclimatisation Management of the Replacement gilts on the Large-scale Pig Farms
.....Chen Hongling, Li Zuohua, et al(11)
- Contrast Test of Different Feeding Method on the Production Performance in Dogs
..... Chen Qiong, Liao Sansai, et al(13)
- Antibody Occurrences of Porcine FMDV Type O Detected by Strip Xu Hongrui, Zhang Min, et al(15)
- Clinical Diagnosis and Treatment of New Hen Disease Guo Zhaocheng, Shi Pengfei, et al(18)
- Effect of Medicine Feed Additives on Vaccine Immune Function against Coccidiosis in Chicken
.....Wu Yueling, Wen Biao, et al(20)
- Comparative Study on the Immune Antibody Detection Test of Pig Foot-and-mouth Disease O Synthetic
Peptide Vaccine Using Different Kits Liao Meina, Yuan Min, et al(24)
- Analysis and Study on Impact of Low Temperature on Bull Sperm Hit
..... Liu Chengjun, Guo Bingquan, et al(27)
- Establishment and Application of 16S rRNA Gene-based PCR Assay for Detection of Bacillus Suhtilis
..... Li Tianzhi, Yu Xinyou, et al(30)
- Family Healthy Feeding of Pet Turtle Liu Qingshen, Zhong Zhikang, et al(34)
- A Case Discussion on the Comminuted Fracture of the Chest Waist Joint Vertebral Body of Cat
..... Li Shaochuan, Shi Dayou, et al(39)
- A Case Discussion on the Bladder Stones of Young Female Cat Xie Wenhui(42)
- The Problems of Management in the Small-scale Pig Farms During Spring Festival and Its Preventive Measures
..... Chen Yongkang, Liu Hai, et al(45)
- Study on Practice Base Construction for Innovative Undertaking of College Students in Animal Husbandry and
Veterinary Major on Campus Shi Langtao, Wu Jiabin(47)



Sponsored by: Guangdong Association of Animal Husbandry
and Veterinary Medicine, Institute of Animal
Health, Guangdong Academy of Agricultural
Sciences.

Published by: Editor Office Guangdong Journal of Animal
and Veterinary Science.

Chief Editor: JIANG Zongyong

Vice Chief Editor: SUN Yanwei

Editor Add: 135 Xianlie Dong Lu, Guangzhou P.R. China

Post Code: 510500

Tel: (020)38319211 38319957

Fax: (020)38319211

E-mail: gdxmsy@163.com gdxmsy@163.com

2015年我国生猪生产形势回顾及2016年走势研判

虞华¹, 原娟娟², 张士洲³

(1. 国家统计局盐城调查队, 江苏 盐城 224005; 2. 盐城工学院, 江苏 盐城 224000; 3. 国家统计局建湖调查队, 江苏 建湖 224700)

摘要:对于生猪养殖户来说, 2015年注定是不寻常的一年。延续了2014年走势的低迷猪价一直持续到2015年4月, 之后各地的猪价疯狂上涨, 8月份, 猪价更是有破“10”之势。高峰过后, 猪价又开始在起起落落间震荡徘徊。不过这样的徘徊并没有给养殖户带来2014年般的“心慌意乱”, 因为2015年的猪价下滑不但没有遇上玉米价格的上涨, 反而遇上了玉米及原材料价格的不断下跌。对四季度而言支撑猪价最有利的因素还是终端消费需求的逐渐升温, 南方腊肉香肠的制作、北方杀年猪备货加上元旦、春节两大日均形成趋势性支撑, 肉类制品迎来销售旺季。后市供应偏紧、消费回稳格局有望保持。由于中小规模散养户的退出, 在2016年上半年或前三季度这段时间内, 生猪供应量较少的现实不会变更, 但2016年第四季度生猪市场风险较大。值得注意的是越来越多的进口肉开始推开中国的大门。

关键词:生猪价格; 生产现状; 猪粮比价; 压缩产能; 周期性波动; 市场预期

中图分类号: S828

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2016)01-0001-05

2015年四季度以来, 尤其是11、12月份两个月生猪供应相对趋紧的态势比较明显, 主要是之前两个月的消化和去产能化的结果。11月中旬玉米价格触底开始反弹, 虽然未能从根本上解决低迷态势, 但是对短期而言总算是还有提振的作用。对四季度而言支撑猪价最有利的因素还是终端消费需求的逐渐升温, 南方腊肉香肠的制作、北方杀年猪备货加上元旦、春节两大节日均形成趋势性支撑, 肉类制品迎来销售旺季。后市供应偏紧、消费回稳格局有望保持, 元旦、春节期间生猪价格稳中有升的走势应该是行情主流。理论上看来是供应趋紧的局面, 但是由于投储和进口猪肉的冲击, 加上经济疲软终端消费提振力度有限, 短期猪价或以平稳过渡、缓慢上涨的态势运行。由于中小规模散养户的退出, 在2016年上半年或前三季度这段时间内, 生猪供应量较少的现实不会变更, 但2016年第四季度生猪市场风险较大。值得注意的是越来越多的进口肉开始推开中国的大门。

1 2015年国内生猪市场变化总体特点

2015年国内生猪价格变动经历了五个时期: 跳水探底期(1月~3月中旬), 3月15日猪价跌到了11.48元/kg; 持续上行期(3月中旬~8月

中旬), 猪价从11.48元/kg一直涨到18.37元/kg, 涨幅达到60%; 高位震荡期(8月中旬~9月上旬), 猪价基本在17.90~18.30元/kg之间震荡; 回调调整期(9月中旬~11月上旬), 2个多月时间猪价从18.08元/kg回调到15.93元/kg, 幅度为12%; 11月中旬猪价出现了南北普涨的局面, 行情止跌上涨。二十多天的时间, 北方猪价整体达到了16.2元/kg以上, 南方地区猪价普遍达到了17元/kg, 但是继续上涨动力却显得疲乏, 这段时间, 猪价并没有出现大幅上涨, 也没有大幅下跌, 市场观望情绪十分浓厚, 但行情涨势未变, 给人以不温不火的感觉, 猪价处于缓慢上涨期(11月中旬~年底)。

1.1 2015年猪价明显高于2014年

2015年全国生猪出场价格平均每千克为15.04元, 比2014年的13.05元高1.99元, 上涨幅度为15.2%; 比2013年的14.74元高0.30元, 上涨幅度为2%。其中8月份均价最高, 达18.17元/kg; 3月份均价最低, 仅11.69元/kg(图1)。12月30日猪价为16.55元/kg, 这个价位是近3年最高的。2015年全国猪肉批发价格平均每千克为20.77元, 比2014年的19.66元高1.11元; 比

2013年的22.17元低1.40元。其中:8月份均价最高,达24.41元/kg;3月份均价最低,仅17.48元/kg(图2)。

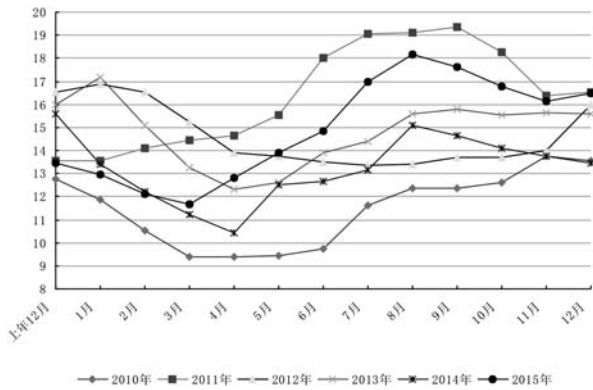


图1 2010年以来全国生猪月度平均出场价格走势(元/kg)

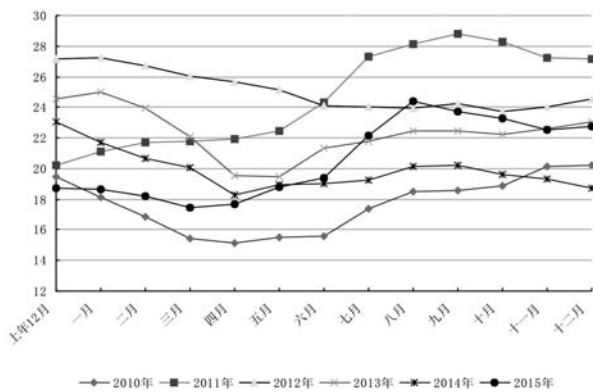


图2 2010年以来全国猪肉月度平均价格走势(元/kg)

1.2 2015年猪粮比价平均达6.68:1,养猪上半年亏下半年赚

2015年1~5月各月全国猪粮比价均在盈亏平衡点以下,平均为5.37:1,猪粮比在6月初重返盈利区间,6月底猪粮比回升到6.52:1,7月底猪粮比已回升到7.47:1。大部地区生猪养殖效益水平达到500~800元/头,进入高盈利区间。8月中旬后猪价高位震荡回落并未影响猪粮比,主要原因是玉米价格下调上托了猪粮比,10月底猪粮比已达到8.33:1。监测资料显示:2015年全国平均猪粮比价为6.68:1,比2014年的5.36高1.32个点,高24.6%,其中:1月份比价为5.58:1;2月份比价为5.21:1;3月份比价最低,为4.96:1;4月份比价为5.34:1,5月份比价为5.77:1,6月份比价为6.13:1,7月份比价为7.06:1,8月份

比价为7.69:1,9月份比价为7.89:1,10月份比价最高,为8.20:1,11月份比价为8.15:1,12月份比价为8.14:1(图3)。

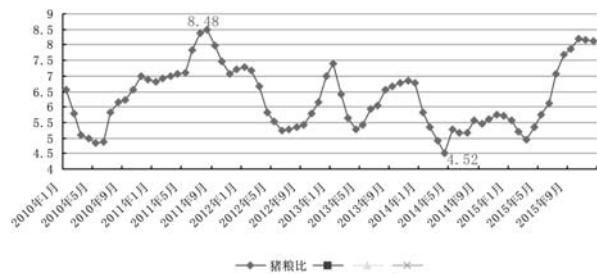


图3 2010年以来猪粮比价变化图

1.3 生猪存栏波浪式回升,能繁母猪存栏继续减少

国家统计局统计调查数据显示,2015年9月底生猪存栏44683万头,同比减少4%。2015年农业部公布的10、11月份4000个监测点生猪存栏信息显示,10月生猪存栏较上月增加0.3%,比2014年同月下降10.3%,其中,能繁母猪存栏较上月减少0.1%,较2014年同月减少13%;11月生猪存栏较上月减少0.7%,比2014年同月下降10%(图4),其中,能繁母猪存栏较上月减少0.6%,较2014年同月下降12.4%,已经连续22个月低于《生猪调控预案》中下降5%的预警值,能繁母猪存栏2013年9月份以来连续28个月下滑,降至近5年的最低点(图5)。值得关注的是生猪存栏在连续4个月回升后,11月份出现减少,对元旦、春节生猪市场价格形成一定支撑。

1.4 玉米跌破托市价格后探底回升,豆粕价格仍呈跌势探底状态

据国家统计局数据,2015年1~10月,全国配合饲料总产量共计12677.77万吨,同比增长2.17%;其中:10月份达1449.64万吨,同比增长2.96%;2015年1~10月,全国混合饲料产量共计

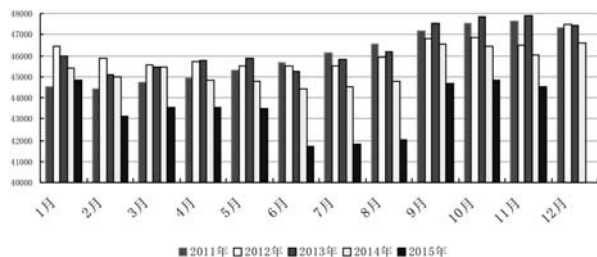


图4 2011年以来各月全国生猪存栏数比较(万头)

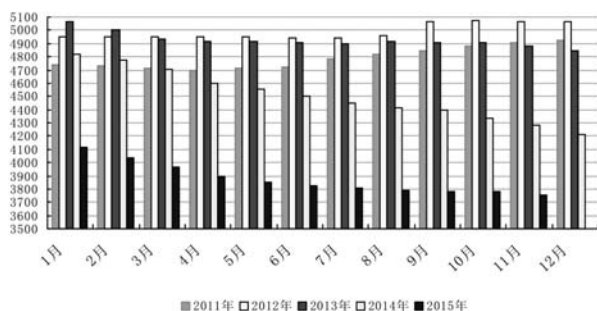


图 5 2011 年以来各月全国能繁母猪存栏数比较 (万头)

5275.37 万吨,同比增长 0.35%;其中:10 月份达 552.43 万吨,同比减少 11.59%。玉米是畜牧养殖业的主要饲料来源之一,10 月下旬至 11 月中旬全国玉米平均价格一度跌破托市价格,每千克仅为 1.95 元。受国家临储收购政策的支撑及产区出现大范围雨雪天气影响,用粮及贸易企业玉米到货量明显缩减,局部地区农户出现惜售心理,有效供应趋紧,用粮企业库存偏低,补库需求集中释放,玉米价格探底回升出现上涨态势,11 月 25 日玉米价格已回升至 2.013 元/kg。2015 年全国玉米价格平均每千克为 2.28 元,比上年的 2.43 元低 0.15 元。其中:6 月均价最高,为 2.42 元/kg;11 月均价最低,为 1.98 元/kg。年内最高价位与最低价位相差 0.475 元。豆粕的下跌并不全是豆粕自身的问题,这与国内宏观经济大环境密不可分,近期贵金属、工业品等都走出了新低,加上国内资金上的多油空粕操作,也进一步压制了豆粕价格。另一方面,2015 年南美和美国大豆的丰收,使上述地区的出口竞争进一步加剧,运费下跌的利好,拉低了压榨企业的采购成本,导致我国大豆进口激增。海关数据显示,2014/2015 年度我国大豆进口量达到 7836 万吨,较上年度增加 800 万吨,增幅达 11.4%。而据最新船期预估,11 月我国大豆到港预报 114 船共计 720 万吨,12 月我国大豆到港预期为 780 万吨。随着进口大豆的集中到港,压榨企业在尚有利润的情况下,仍将维持高开机率。随着工厂开机率的提高,豆粕的供应量也将水涨船高。近期国内豆粕市场始终保持弱势小幅震荡走势,短期内继续下跌空间已有限,经过震荡整理后预计仍有上涨动力。2015 年全国豆粕价格平均每千克为 3.02 元,比上年的 3.80 元便宜 0.78 元。其中:1 月均价最高,为 3.34 元/kg;12 月均价最低,为 2.82 元/kg。年内最高价位与最

低价位相差 0.676 元(图 6)。

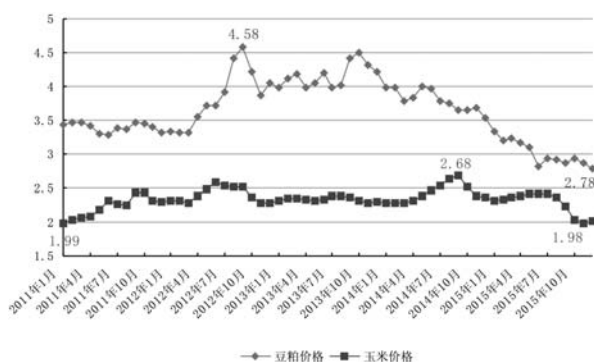


图 6 2011 年以来全国豆粕、玉米价格走势图 (元/kg)

1.5 猪价走强导致补栏积极性较高,仔猪供应难以赶上补栏节奏

2015 年猪价的走强也带动了仔猪价格一路走高,尽管猪价长期调整,但养殖利润持续处于历史高位,加之目前宏观经济疲软,多数行业盈利不佳等多方面的原因,导致仔猪补栏积极性较高。而母猪存栏低位,今年 5~7 月份,配种母猪数量有限,基数有限,导致产仔率有限,仔猪数量处历年来低位,供不应求,导致仔猪价格上涨,即便是年底,全国多数地区标重仔猪价格仍售 500 元以上,部分地区甚至达到 600 元以上。对于冬季仔猪来说,是个比较偏高的年份。农业部统计监测资料显示:2015 年农村集贸市场仔猪平均每千克为 27.06 元,比上年的 23.05 元高 4.01 元。其中:2 月均价最低,为 19.21 元/kg;9 月均价最高,为 34.49 元/kg(图 7)。

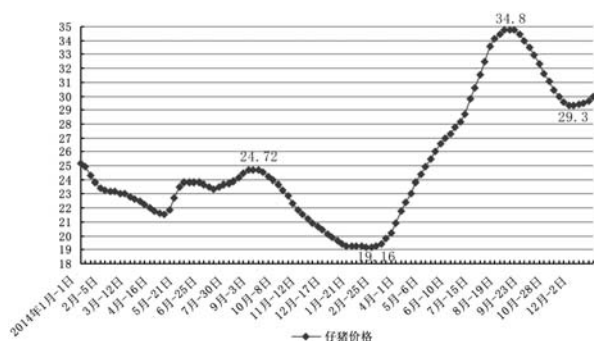


图 7 2014 年 1 月以来全国农村集贸市场仔猪价格走势图 (元/kg)

2 近期猪价上涨原因分析

2016 年元旦前三天,猪价再次开启上涨,全

国生猪均价整体呈现上涨行情, 南北方猪价普遍上涨。2016 年 1 月 5 日全国生猪平均出场价格每千克已突破 17 元, 1 月 12 日已达到 17.73 元, 外三元成功“破 9”, 达到 18.04 元, 土杂猪也达到了 17.38 元。此轮上涨主要是由于市场上缺猪所致, 市场大猪猪源减少, 加之南方腌制腊肉正处高峰期, 市场供不应求, 价格才不断攀升。虽然整体行情涨势不改, 但是受到天气、供应和博弈的影响, 猪价呈现震荡调整、涨跌互现的态势。

3 2016 年猪价整体走势: 供应端仍偏紧, 高位震荡调整仍有小涨空间

2015 年需求端较往年有一定的下滑, 但市场对需求鼎盛期依旧有期盼。12 月和 1 月历来是年内需求旺季, 也是年内屠宰量偏大的时期。根据农业部发布的数据显示, 4000 家规模厂屠宰量自 2015 年 9 月份开始节节攀升, 10 月份屠宰量为 1817 万头, 11 月份屠宰量已升至 1892 万头, 但比 2014 年 11 月减少 4.1%。因需求缓慢回升, 而生猪供应量偏低, 难以跟上需求, 导致猪价企稳回升, 白条肉价格也逐步企稳回升。12 月 25 日全国白条肉批发价格达 22.76 元 /kg, 反映了需求缓慢

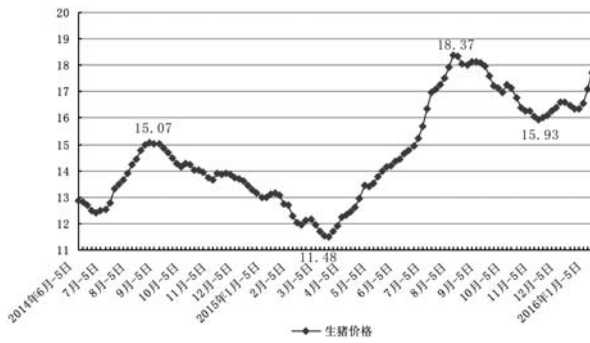


图 8 2014 年 6 月以来全国生猪价格变化图 (元/kg)

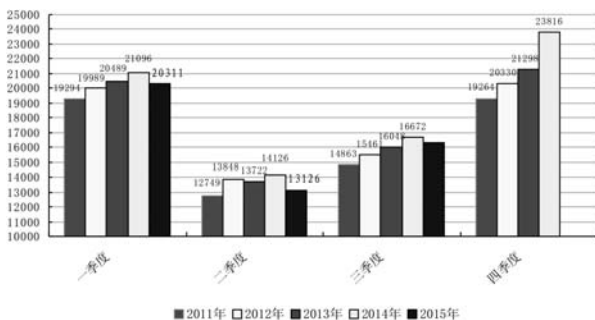


图 9 2011 年以来各季度全国生猪出栏数比较 (万头)

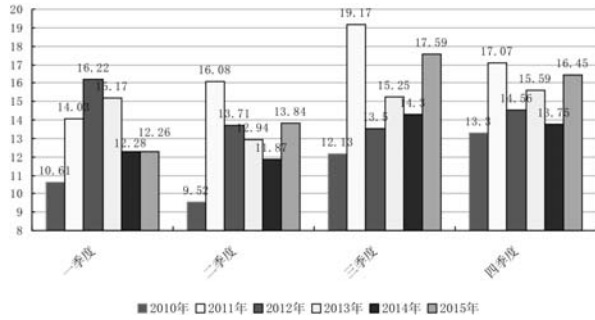


图 10 2010 年以来各季度全国生猪出栏价格比较 (元/kg)

好转的事实。从目前的猪价涨势和需求潜力来看, 经过 11~12 月相对集中的出栏, 春节前的生猪出栏压力相对减小, 但生猪消费的价格和数量走向平衡的趋势没有改变, 元旦、春节等节气的拉动消费作用在缩减。春节前, 两股人流退出城市, 猪肉消费是造成猪市平淡的关键因素。2016 年 1 月 20 日左右首先是学校放寒假的时间点, 很大部分学生、老师将回乡过年, 缩减了学校食堂消费这一用肉大户。另外, 猴年春节为 2 月 8 日, 按照往年惯例, 年前 15~20 天是返乡高峰期, 大批城市务工人员将回老家过农历年, 减少了另一批城市猪肉消费主力军。城市猪肉消费量得不到保证, 行情也难得到提升。因此, 2016 年春节期间, 猪价总体或保持平稳小幅上涨的势头, 17 元 /kg 的价位便已达到预期, 切不可过度压栏。建议养殖户保持合理的出栏节奏, 合理调整猪群结构。同时加强饲养管理, 提高仔猪成活率, 天冷猪群易闹五号病、呼吸及肠胃病, 养猪户要多巡栏, 预防疫情的发生。

随着生猪产能不断收缩, 2016 年度生猪供应端萎缩较重, 预计 2016 年生猪出栏量将下降到 6.15 亿头, 而 2014 年为 7.35 亿头, 减少 1.2 亿头。尽管随着经济发展及膳食结构改善, 猪肉需求相对平稳, 增幅有限。由于生猪出栏急剧下降, 加之生猪生理周期的影响, 预计生猪供应短期难以改善, 供需偏紧的程度加剧, 对猪价起支撑作用, 不出意外的话, 2016 年全年或维持高位, 生猪平均出场价格可能略高于 2015 年, 猪价在 15~17 元 /kg 区间震荡的可能性较大, 生猪养殖利润也将维持高位, 头均盈利保持在 300~500 元, 对生猪行业可谓利好, 因为盈利增加, 有利于行业发展和产业恢复, 2015 年 8 月到 2016 年年底将有望

是“最好的时代”。2015 年补栏之所以会低于预期,是因为 2014 年养猪行业被伤了元气。对于现有养猪人来说,刚刚过去的超长亏损期导致其元气大伤,因此 300~500 元的头均盈利堪称养猪业的最佳盈利状态。这样的盈利至少持续一年以上才可能重启补栏。现在是生猪市场最为理想的状态,这个理想状态时间或会保持 12~18 个月,在 2016 年上半年或前三季度这段时间内,生猪供应量较少的现实不会变更,但 2016 年第四季度生猪市场风险较大。值得注意的是,越来越多的进口肉开始推开中国的大门,据海关统计,2015 年 1~10 月,中国进口猪肉 59.9 万吨,比去年同期增加近 30%,进口平均价为 12.3 元/kg,相比同期国内 20.45 元/kg 的均价,巨大的成本差异让国内的生猪业“压力山大”。相比本土猪肉产量,59.9 万吨微不足道,约为国产猪肉总量的 1%左右,主要影响在心理层面,增加了食品企业的议价筹码。2015 年 8 月份,郑州和漯河口岸通过审核,成为

中国内陆地区首批肉类进口指定口岸,年吞吐能力达到 40 万吨。包括双汇在内,河南境内有 47 家企业拥有肉类进口权,意味着内陆地区能够通过该口岸进口国外的廉价猪肉。进一步从渠道上打通了进口肉入境的关节。在进口肉的数量和渠道双重压力下,2016 年的中国生猪业仍需要重点关注成本的降低、效率的提升,养殖结构也将进一步调节,较高效率的集团和家庭农场模式将成为主流。

“供给侧改革”热词的出现,是继“新常态”一词之后的另一大现象,标志着官方今后相当长一段时间内的政策指导思想与逻辑变化。农业作为历来最容易被政策驱动的传统行业,毫无疑问将受到这一思想的影响。养猪业不是缺产品,而是缺好产品;一方面是饲料、兽药、种猪等领域产能过剩,另一方面好产品依然供不应求。这场轰轰烈烈的“供给侧改革”,将在各行各业展开,而震荡中的中国养猪业,也将被它刷新。

《广东畜牧兽医科技》(双月刊) ISSN 1005-8567

(1976 年创刊,大 16 开本,正文 52 页)

CN 44-1243/S

主管单位:广东省农业科学院

主办单位:广东省畜牧兽医学会、广东省农业科学院动物科学研究所、广东省农业科学院动物卫生研究所

订 价:每期定价 10 元,全年 60.00 元(含平寄邮费)。

订 阅 方 式:本刊实行自办发行。读者可通过银行汇款至本刊编辑部。

(1) 开户银行:农行广州市五山支行;

(2) 收款人全称:广东省农科院彩田农业科技信息中心;

(3) 帐号:44-056901040003081

注 意 事 项:汇款时请注明订阅份数、邮政编码、详细收刊地址、单位名称、收件人姓名、电话等相关资料,以免误投。

地 址:广州市天河区五山金颖路 31 号《广东畜牧兽医科技》编辑部(邮编:510640)

电 话:020-38319957、020-38319211、020-38319958

E-mail: gdxmsy@163.com、gdxmsykj@163.com

欢迎订阅

欢迎投稿

欢迎刊登广告

浅析当前禽流感发生趋势与防控措施

韩文格

(河北飞龙家禽育种有限公司, 河北 石家庄 050091)

摘要: 由于禽流感毒株不断发生变异, 致使新的毒株发展趋势是上升的, 给我们的防控工作带来很大的压力。为此必须时刻掌握当前禽流感的发展动态, 为更好的制定防控措施打下理论基础。

关键词: 毒株; 变异; 危害; 防控

中图分类号: S851.3

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2016)01-0006-02

1 新毒株的威胁

2013年出现一个新的流感毒株 H5N1 与 2011 年的区别不大, 目前在曾注射 -6 苗的鸡群中发现此毒株, 说明曾注射 -6 苗的鸡群在抗体滴度还可以的情况下, 自然可以被一个新的毒株感染。今年这个毒株流行情况比去年多, 所以说这个毒株在北方是一个新的毒株, 属于散发的, 主要在山东胶东半岛流行。

鸡群注射 -6 苗后若再被感染损害较小, 说明 -6 苗对流感的保护性还较好。正因为免疫大量 -6 疫苗才阻断了这种病的流行性发展, 所以说 -6 苗对 2.3.2 支系病毒的防控是有效的, 可用来防控目前新的病毒, 但最好应在尚未出现流行只处于散发的时候使用。

2015 年的新毒株发展趋势是上升的, -7、H5N2、H5N8 并存, 若想把它控制住, 最好用 -6 这种苗, 否则会出现问题。在 2013~2014 年我们分离到了大量的 2.3.4 新毒株, 现在 2.3.4 在南方是主要影响因素, 是造成禽流感爆发的主要外源, H5N8 南方在鸡身上爆发较严重, 虽然南方影响不大, 但比北方流行大得多, 而且占有趋势在 2015 年来看是向北传的, 目前安徽、浙江、江苏等地均出现 H5N8。

禽流感的发生具备以下三个特点: 有传染性; 最常见的死亡曲线, 由低到高再到低; 一定有产蛋率下降。剖检可见内脏(心、肝、肺、胰、肾)一定出

血, 内脏不出血就不是流感, 一定有生殖道病变, 卵巢坏死、子宫有病变。2.3.4(H5N1、H5N8)上毒力最强, 死亡最快, 特殊表现为腺胃肌胃分界处幽门上出血和水肿。

2 世界性禽流感流行的压力

H5N8 最早在水禽中发现, 今年才在鸡身上发现, 而且已在日本、韩国、英国、荷兰、美国、加拿大等国家亦有发现, 所以说这是个超国际问题, 在过去是没有的, 目前已蔓延至水禽、火鸡、鸡当中。2015 年世界卫生组织定为禽流感年, 指的就是 H5N8 即 2.3.4 上的问题, 是造成我国和全世界的主要问题。我国主要在鸭身上有, 美国和台湾一部分是 H5N8, 大部分是 H5N2, 亦有鸡发病。

在 2014 年 7 月才推出 -7 苗, 在 7 分支上的流感今年也是散发的, 今年发现 7 分支上 H5N2 一个强毒变弱的, 本身还属于强毒株, 所以应小心。新的变化主要在商品鸡上, 不注射 H5 的鸡发病后, 刚发病时死亡几只, 5 天之内所有鸡只全部死亡。60~70 日龄的蛋鸡如果不免疫, 造成的死亡大约为 2%, 前后共影响 20 天。

3 H9 的危害

H9 一般靠近距离接触传播, 传播速度比较慢, 传播面积小, 相对来说对鸡群影响较小, H9 也在发生变化, 在江苏、安徽、浙江等地发现有变化毒株, 在生产上发病率突增且毒性有增强趋势, 说明病情有所抬头。如果选择 2011 年以后生产的疫

苗可以预防,应随时关注变化情况。疫苗要求的抗体滴度在 210 以上,好的疫苗免到 210 以上这是最基本的,对于保护种鸡或祖代鸡也没问题。

大部分商品肉鸡场养不好鸡,均归结到 H9N2 上,方向感是错的,原因在于商品肉鸡饲养时间短,做 H9 免疫时无论怎么免,用什么苗免,怎么调整都会留几天空白期,鸡群没有抵抗力,所以鸡群感染 H9N2 感染是很正常的、天经地义的。我们没有办法解决感染这个问题,无论生物安全怎么好,都不管用。

在肉鸡发生疾病的诱因中大肠杆菌占 30%,饲养管理占 30%,免疫一次 H9N2 是为了 30 天以后鸡群不发生流感。随着鸡群日龄的增长,饲养密度越来越大,累计的问题也越来越多,健康状况变差,抵抗力降低,这些都是我们管理者应该重视的问题。

4 H7 的发生

H7 传播与 H5 一样快,但致病力比 H5 低得多,比 H9 高,不同毒株在临床上表现有差异,有些毒株死亡多些,有些毒株死亡少些。其传播会越来越快,影响范围也会越来越大,今后 H7 对鸡的影响会明显增多,感染后给鸡群造成的死亡率在 3%~8%,个别达 20%,产蛋率下降 20%~30%,诊断介于 H9 和 H5 之间,剖检症状卵泡象 H9,继续成熟,有非常明显的出血,气管出血,肝、脾、心脏、胰脏、腺胃出血与 2.3.4 一样。当我们发现 H9 时应小心,因为其可以潜伏,H7 也可以潜伏,不表现但分离时能分离到 H9 和 H7,H9 感染鸡群内脏不出血,而 H7 内脏有出血表现,死亡率高、产蛋率下降,卵泡充血似感染 H9。

5 防控措施

禽流感对生产危害越来越大,对抵抗力差的人群也有感染,活鸡在市场上也具备传染危害。目前感染人的 H5N6、H5N1 是流行毒株,对人的感染开始增加,影响我们的销售形式,应正确宣传严加防控。

5.1 重视候鸟问题

最近几年由于流感发生频繁、危害严重,各个养殖场的生物安全意识有很大的提高,对进出场卫生消毒等工作落实也较具体,但较少关注野鸟的存在,认为是外界因素,人为不好控制。殊不知野生候鸟多在流感的侵袭、传播、扩散以及新病毒的形成上起着越来越大的作用。鸡舍周围有无野生鸟来回串,鸡场周围有无水域、树林给野鸟提供栖息的环境,这些都是防控禽流感时最容易忽视的问题应加以重视。

5.2 做好免疫接种

目前 -6、-7、-8 疫苗都已制备,用它们在饲养第 3 天,第 24~25 天和开产前做基础免疫,确保 H5 抗体在 28 以上,H9 抗体在 210 以上。这样做好基础免疫才能保证产蛋期不感染禽流感。

当发现周边鸡场有禽流感流行时,及时对本场所有的鸡只进行禽流感疫苗的紧急免疫接种。接种所用的疫苗一定选用有资质的大厂家研制的新流行毒株疫苗,最好选用 2~3 个场家的疫苗且交叉使用。在产蛋期每两个月接种一次 H5,每三个月接种一次 H9 和新城疫。

目前 7 分支苗免疫保护效果均有效,流行起来是散发的。目前禽流感处于多变时期,新毒株还会出现,但变成新东西的可能性较低,所以明年流感的防控压力较小,如果用 2.3.2 株一般没问题。

5.3 加强饲养管理

传染病的流行一般都是发生在容易感染的鸡群中,所以增加鸡群体质是关键。首先应严格按照科学的饲养模式,培育出体重、骨骼、均匀度都达标的高质量鸡群。其次使用优质的全价饲料,在不同的季节、不同的阶段使用相应的饲料配方,在充分满足营养的前提下,既可以避免夏季和产蛋后期营养过剩,又能防止冬天和产蛋高峰期的营养不足,这样才能保证鸡群体质良好,增加对疾病的抵抗力。

可视化环介导等温扩增技术研究进展

曾军辉

(贵港市动物疫病预防控制中心, 广西 贵港 537100)

摘要: 环介导恒温扩增技术(LAMP)因扩增效率高设备简单极具应用价值,但其产物易污染环境致假阳性限制了其推广应用。LAMP产物分析技术经历了开放式凝胶电泳,封闭式显色,到免疫薄膜层析显色发展历程,污染问题逐步得到解决。

关键词: 可视化; 环介导等温扩增; 研究进展

中图分类号: S851.3

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2016)01-0008-03

Review on Visualizable Loop-mediated Isothermal Amplification

Zeng Junhui

(Animal disease prevention and control center of Guigang City, Guigang Guangxi 537100, China)

Abstract: Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) has great value due to its high DNA amplification efficiency and requiring simple device, but its amplicons contamination can easily caused false positive what limit its application. Amplicons analysis of LAMP has undergone development process: open-gel electrophoresis, closed-illustrate, lateral flow dipstick, the contamination problem is gradually solved.

Keywords: Visualizable; Loop-mediated isothermal amplification; Review

环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)技术是日本学者 Notomi 等^[1]2000年建立核酸扩增技术,该技术能在恒温条件实现滚环扩增,扩增效率是PCR 10-1000倍^[2-3],应用3对特异引物组合扩增,敏感性和特异性都比PCR高,与巢式PCR相当^[4],且实验设备要求低,仅需一台恒温水浴锅就可以完成整个试验过程,特别适用于基层检验。另一方面,由于LAMP扩增效率极高(达 10^9 个拷贝)^[5],易产生气溶胶污染造成假阳性等问题也成为阻碍该技术应用的瓶颈,这也是该技术诞生以来仍停留在科研上,实际检测中应用较少的原因。各国研究者在LAMP产物检测和处理方面进行了卓有成效的改进,产物分析从开放式发展到封闭式,从最初的凝胶电泳到化学试剂显色,到最新的免疫薄膜层析技术,LAMP技术逐步实现了封闭式可视化,基本解决了产物检测导致污染的难题,更趋于稳定可靠便捷,其应用价值发生了质的提升。

1 开放式产物分析

即LAMP扩增完成后打开反应管盖对进行产物分析,经历了凝胶电泳法和管内荧光染料法两个阶段。

1.1 凝胶电泳法

LAMP技术开发之初其扩增产物是用琼脂糖凝胶电泳检测的^[1],反应结束后,开盖取反应产物在琼脂糖凝胶电泳,经溴化乙锭等荧光物质染色后,在紫外线下观察呈现梯状条带。但很快发现开盖、取液、电泳等步骤不可避免地产生大量的气溶胶,很容易污染实验环境造成后续检测假阳性,使相关检测项目难以为继。所以现今除了某些特殊的研究,一般较少采用电泳方法检测LAMP扩增结果。由于LAMP产物凝胶电泳结果是梯状条带,不能从电泳图中辨别特异性扩增。解决的办法是由引物中引入酶切位点,扩增产物用相应的内切酶消化后再进行凝胶电泳,有特定条带出现者判为特异性扩增^[6]。

1.2 管内荧光染料法

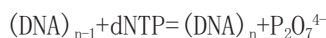
某些荧光染料如 SYBR Green I、Gene Finder、Pico Green 等，能非特异性地结合到 DNA 双链后在紫外线照射下会发出明亮的绿色荧光，或在白光下由原来的暗橘黄色变为绿色荧光。此类染料不能在反应前加入 LAMP 体系中，否则会抑制反应，一般在 LAMP 反应结束后加入，观察反应前后的颜色变化来判断扩增产物的有无。该方法避免了核酸电泳步骤，实现了可视化，检测敏感性与凝胶电泳法相当^[7]，但仍要在反应结束后开盖加入荧光染料，造成管内气溶胶逸出污染环境，加样吸咀接触反应液后也可造成严重的污染。食品致病细菌检测行业标准较多采用 LAMP 法，均是反应完毕后开盖加入 SYBR Green I 显色^[8]，由于没有从根本上解决开盖导致气溶胶污染问题，往往导致一些检测假阳性频出，工作难以为继。为了避免开盖操作，曹以诚等^[9]发明了一种环介导等温扩增反应管，该反应管管盖的下底面设置有用以放置 SYBR Green I 等指示剂的腔体，管盖的下底面正对腔体处设置有用以刺破腔体的尖锐体。该新型反应管能够有效防止荧光染料影响环介导恒温核酸扩增反应，同时避免反应产物气溶胶逸出污染环境。Tao 等^[10]在反应体系内加入内部含有荧光染料的微晶石蜡，较低的恒温反应条件不会使其融化，从而起到封闭体系的作用，待反应结束后升温 95℃ 使其融化释放荧光染料，从而判读结果。

2 封闭式产物分析

即从反应到结果判定整个过程都不须要打开反应管盖，是预防扩增子污染最主要和最有效的措施。“封闭式产物分析”经历了浊度法，钙黄绿素 (Calcein) 染料法和羟基萘酚蓝 (HNB) 法。

2.1 浊度法

LAMP 反应过程溶液中发生 2 个基本反应：

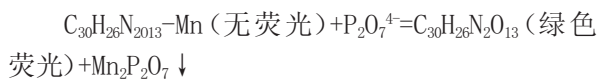


在 LAMP 反应进行时，随着核酸的大量生成，同时产生副产物焦磷酸根，焦磷酸根与镁离子生成难溶的白色混浊物—焦磷酸镁，使反应液呈白色混浊，混浊度与扩增强度呈正相关，扩增完成后观察反应管的白色混浊(也可离心后观察沉淀)，肉眼观察即可判断扩增与否，完成检测，但浊度特别是低浊度的观察结果受个人因素影响较大，离心后观察结果有一定程度的改善。浊度法敏感性与

凝胶电泳法相当^[11]。为消除肉眼观察的误差，现在已研制出专用的 LAMP 浊度测定仪，仪器采集波长 400 nm 处浊度数据，自动生成扩增曲线，根据扩增曲线就可判断扩增强度，浊度与模板数呈正相关，可实现 LAMP 实时定量检测。浊度仪测定法是目前 LAMP 唯一能实现实时定量测定的方法，在食品安全监测和感染程度评估方面有较强的实用性。Han F 等^[12]用定量 LAMP 能准确测定生蠓中的剧毒弧菌数量，浊度与剧毒弧菌浓度呈现良好的线性关系。

2.2 钙黄绿素 (Calcein) 染料法

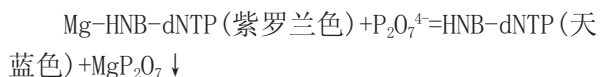
钙黄绿素溶于水呈黄色而有绿色荧光，与金属离子络合后荧光淬灭呈橙红色无荧光，是测定钙、铜、锰等金属元素常用的指示剂。LAMP 引入钙黄绿素作为指示剂，反应前加入无荧光的钙黄绿素-Mn²⁺ 络合物，反应过程中产生的焦磷酸根离子能抢夺钙黄绿素-Mn²⁺ 络合物中的 Mn²⁺ 形成更稳定的焦磷酸锰，使钙黄绿素荧光得以恢复，体系中钙黄绿素浓度 90 μM 荧光强度最大^[13]。反应方程式如下：



结果白光下观察橙红色变成带荧光的黄绿色来判断扩增与否，或在紫外灯下观察是否有黄绿色荧光产生来判断扩增有无。在钙黄绿素显色体系中使用的锰离子，能使 LAMP 反应效率降低约 1/10^[14]，还能使聚合酶 (Bst) 发生错配，错配率达 0.8%^[15]，产物不利于后续酶切、指纹图谱等分析。此外，钙黄绿素属弱荧光指示剂，阴阳色差较小也是降低其检测敏感性的原因之一。

2.3 羟基萘酚蓝 (HNB) 法

HNB 是一种金属离子指示剂，对 LAMP 反应无干扰。反应前，HNB 与 dNTP 和 Mg²⁺ 形成较复杂的络合物 Mg-HNB-NTP，呈紫罗兰色，反应过程中 DNA 合成大量生成的副产物焦磷酸根抢夺 Mg-HNB-NTP 中的 Mg²⁺ 生成难溶的 MgP₂O₇，解离出来的 HNB-NTP 络合物呈天蓝色，相关反应方程式如下：

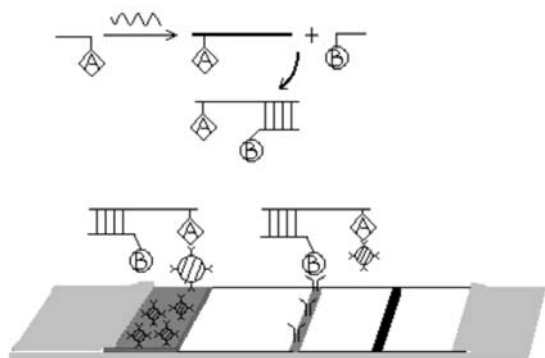


凭目测反应前后颜色的变化就可判断检测结果。这种紫罗兰色到天蓝色的颜色变化色差明显，容易分辨，不同的观测者可客观地分辨出来。

HNB 对 LAMP 反应无干扰。HNB 为非荧光染料,在自然光或白光下观察结果,较其它荧光染料法简单便捷,Yang BY^[16]等应用该法检测人肠道星状病毒,最低能检出 3.6 copy/ul,其敏感性与凝胶电泳法相当。Motoki Goto^[14]等研究表明 LAMP 使用 HNB 比使用钙黄绿素高敏感性 10 倍。

3 免疫薄膜层析显色法

LAMP 与一种侧向流动的薄膜层析技术(lateral flow dipstick,LFD)联合,即 LAMP-LFD 技术,可使 LAMP 结果检测变得更加简单并且可视化。其原理是在恒温扩增反应体系中,其中一条引物用半抗原 A 标记(简称 A),扩增时,产物被 A 标记;设计一条特异性探针,探针序列与扩增物片段序列碱基互补,进行特异性杂交。将探针用半抗原 B 标记(简称 B),将抗 B 抗体包被于胶体金颗粒表面;将抗 A 抗体固定于硝酸纤维膜上形成检测线。当存在特异性扩增时,由标记引物和探针的引入,A 和 B 同时标记上扩增产物,而形成 A- 扩增物-B 杂交物,该杂交物与抗 A 抗体包被的胶体金颗粒特异结合,形成红色的复合物,该复合物在溶液中通过毛细现象沿纤维膜向上流动至抗体 A 检测线条,与线条上的抗体 A 特异结合,从而滞留在检测线上,形成肉眼可见的有色线条,此为阳性;当特异性扩增物不存在时,不能形成肉眼可见的有色线条,此为阴性。原理示意图如下:



检测试纸封装在防污染封闭式核酸快速检测盒内,该装置高度密封,使用过程不需打开反应管盖,反应结束后直接将反应管放入密封盒中,根据试纸条的显色即可判读结果,从而使得检测的整个过程都在物理封闭条件下完成,降低了扩增物外泄的可能性。Sun YL^[17]等比较 LAMP-LFD、LAMP、PCR 等方法检测犬瘟热病毒的敏感度 AMP-LFD、

LAMP 相当,均为 10^{-1} TCID₅₀/ml,远高于 PCR 的 10^2 TCID₅₀/ml。Yiyue Ge^[18]等用 LAMP-LFD 检测 H7N9 禽流感病毒,最低检出 10 个拷贝的合成 RNA,敏感性远高于荧光 RT-PCR,临床特异性达 100%。

参考文献:

- [1] Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, et al. Loop-mediated Isothermal Amplification of DNA [J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28 (12): 63.
- [2] Lei Pan, Lijuan Zhang, Desheng Fan, et al. Rapid Simple and Sensitive Detection of Q Fever by Loop-Mediated Isothermal Amplification of the htpAB Gene [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, May 2013, 7 (5): e2231.
- [3] 彭宜, 谢芝勋, 刘加波等. 禽流感病毒 RT-LAMP 检测技术的建立 [J]. *动物医学进展*, 2012, 33 (12): 43-46.
- [4] Jaymin C. Patel, Jenna Oberstaller, Maniphet Xayavong, et al. Real-Time Loop-Mediated Isothermal Amplification (RealAmp) for the Species-Specific Identification of *Plasmodium vivax* [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (1): e54986.
- [5] Dhama K, Karthik K, Chakraborty S, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA (LAMP): a new diagnostic tool lights the world of diagnosis of animal and human pathogens: a review [J]. *Pak J Biol Sci*, 2014 Jan 15, 17 (2): 151-66.
- [6] James HE, Ebert K, McGonigle R, et al. Detection of African swine fever virus by loop-mediated isothermal amplification [J]. *J Virol Methods*, 2010 Mar, 164 (1-2): 68-74.
- [7] Pedro Fernández-Soto, Prosper Obolo Mvoulouga, Jean Paul Akue, et al. Development of a Highly Sensitive Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Method for the Detection of *Loa loa* [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (4): e94664.
- [8] 郑文杰, 刘伟, 张宏, 等. SN/T 2754. (1-15)-2011, 出口食品中致病细菌环介导恒温扩增 (LAMP) 检测方法 [S]. 北京: 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 2011.
- [9] 曹以诚, 陈洵, 郭庆辉, 等. 一种用于环介导等温扩增技术的反应管及其使用方法: 中国, 201220378379 [P]. 2010-05-26.
- [10] Zhi-Yong Tao, Hua-Yun Zhou, Hui Xia, et al. Adaptation of a visualized loop-mediated isothermal amplification technique for field detection of *Plasmodium vivax* infection [J]. *Parasit Vectors*, 2011, 4: 115.
- [11] Daisuke Hayasaka, Kotaro Aoki, Kouichi Morita, et al. Development of simple and rapid assay to detect viral RNA of tick-borne encephalitis virus by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification [J]. *Virology*, 2013, 10: 68.
- [12] Han F1, Wang F, Ge B. Detecting potentially virulent

规模化猪场后备母猪的驯化管理

陈红玲, 黎作华, 万春燕, 周绪斌*

(新疆天康畜牧生物技术股份有限公司, 新疆 乌鲁木齐 830032)

摘要: 后备猪的驯化管理是猪场生产流程中的重要环节, 也是关系到猪场获取良好经营效益的核心, 因而在猪场生产中做好后备猪的驯化管理尤为重要。笔者根据实际生产经验总结及相关资料论述, 分别从驯化的概念和目的、驯化的重要性、驯化的方法及驯化结果的评估等几个方面做一阐述, 希望对广大读者有所帮助。

关键词: 规模化; 猪场; 后备母猪; 驯化

中图分类号: S815.4

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2016)01-0011-02

近年来, 随着我国养猪业不断趋向于规模化、集约化发展, 越来越多的猪场为了满足规模不断扩大的需要, 每年都需引进相应数量的后备种猪以完成合理的母猪群结构和补栏目标。然而, 要获得母猪群的最佳胎龄结构和繁殖性能, 除了要做好后备母猪的引进和隔离工作之外, 还要重点做好隔离期间的驯化管理。

1 驯化的概念和目的

驯化, 原指将野生动物驯养成家畜的过程。这里所述后备猪的驯化(Acclimatisation), 是指将新引进的猪群提前接触本场病原微生物(包括疫苗接种)和环境的过程, 以便在与本场基础母猪混群前就产生抵抗某些疾病的能力^[1-2]。

后备猪的隔离和驯化往往是同时进行的, 隔离的目的是保护本场内猪群的健康, 免受外来猪群携带病原微生物的侵入, 而驯化的目的则是保护新引进的猪群, 让其提前接触场内的特定病原微生物以及正确的疫苗接种, 使其在隔离期间就能产生抗体(并预留一定的排毒期和康复时间), 避免其并群后在本场猪群内大量排毒。

2 驯化的重要性

很多猪场重视后备猪的隔离而忽视了驯化, 结果是新引进的猪群突然暴露于本场的微生物环境后而产生各种不适应, 表现为新引进的猪群发病, 同时可能导致一胎猪流产、死胎、木乃伊胎的增多或者是一胎猪分娩的仔猪发病率、死亡率升高等情况。以上这些问题的出现, 均与后备母猪的

驯化管理没有做好密切相关, 可见做好后备猪的驯化管理在猪场生产中极其重要。

3 驯化的方法

驯化的方法一般包括饲喂接触、呼吸接触、疫苗接种、血清驯化、胎盘或病料驯化以及诱情公猪或淘汰母猪驯化等方法^[3-5]。

3.1 饲喂接触

收集健康老母猪或者种公猪的粪便喂给后备母猪(喂3次/周), 从进场后第2~3周开始, 至少喂3周左右。方法是将粪便投在栏面上, 然后将饲料放在粪便上面, 使用的必须是新鲜的粪便。主要针对细小病毒、轮状病毒和大肠杆菌等的驯化。

3.2 呼吸接触

采用公猪或母猪鼻对鼻接触, 从进场后第3~4周开始, 至少持续3周左右。驯化的病原有支原体、巴氏杆菌、副嗜血杆菌、PRRS(猪繁殖与呼吸障碍综合症, 俗称蓝耳病)等。

3.3 疫苗接种

需要疫苗接种驯化的有, 猪瘟, 细小, 乙脑, 猪丹毒, 猪传染性萎缩性鼻炎, 伪狂犬, 蓝耳等, 具体驯化方法如下:

(1) 细小病毒: 疫苗在配种前2~3周免疫, 另外用生长猪(8~16周龄)的粪便与之接触, 每栏放3.3公斤, 一周3次, 连续2周。

(2) 传染性胃肠炎: 假如引进的后备猪是阴性, 而需要引种的猪场又携带了这种病毒或没有疫苗可用, 应该在到场后尽快用断奶后仔猪(保育猪)的粪便与之接触。

(3)先天性震颤(仔猪抖抖病):用产房母猪的粪便与后备母猪接触,3次/周,连续2周,严重的可用发病仔猪的内脏研碎后返饲后备母猪。同时用公猪的精清涂抹待配后备猪的阴户,并把精清涂撒在栏舍内,3次/周,连续2周。

(4)轮状病毒:用断奶后仔猪的粪便与后备母猪接触,3次/周,连续2周。

(5)PRRSV:尽可能从血清阳性的猪场引后备猪到血清阳性的猪群。假如后备猪是阴性的,既可以到达后做疫苗,同时隔离,也可以把它放在一个受蓝耳病毒污染的环境1~2个小时。猪只在6~12周龄进行PRRSV驯化是比较理想的。确保在配种前6周将阴性的后备猪与蓝耳病毒接触,以保留有足够时间的排毒和康复期。

(6)伪狂犬、猪丹毒、萎缩性鼻炎、口蹄疫等:到场后按免疫程序进行疫苗免疫驯化。

3.4 血清驯化

多用于蓝耳病的驯化。采集野毒阳性猪只的血液,离心出血清并测定病毒含量,稀释一定倍数后注射给后备猪以进行驯化。这种驯化效果确切,但难度较大且可能引起其它病原如猪瘟、伪狂犬等疾病的感染,一般只有大公司才有条件做好。

3.5 胎盘或病料驯化

用母猪的胎盘或残弱病仔猪病料返饲后备母猪,但一般不建议使用。因为胎盘和病料可能传播病毒,也可能增加母猪日后吃食仔猪的风险。

3.6 诱情公猪或淘汰母猪驯化

使用2~3头诱情公猪分别轮换对后备母猪充分接触的方法,也是一种驯化方法。或者用淘汰母猪1:10与后备母猪接触也可收到一定的效果。这两个方法简单易行,但驯化的整齐度稍差一些。

4 驯化结果的评估

驯化的成功与否通常有以下几种检查方法^[6-9]。

4.1 血清学检测抗体

在配种前对所有后备猪进行血清学抗体检测,可以监测一些疾病的驯化情况,如果驯化效果确切,应该90%以上的后备母猪的血清会呈现转

阳。

4.2 哨兵猪的使用

使用某种疾病的阴性猪(通常用刚断奶猪),与驯化过的后备猪混群饲养,一段时间后看临床表现,屠宰后进行血清学、病原学检查,以便了解后备猪是否存在排毒现象等。

4.3 一胎猪的繁殖成绩

一胎猪的繁殖成绩是衡量驯化是否成功的最重要的指标。如果驯化效果确切,一胎猪的繁殖成绩应该与经产猪差别不大;如果驯化不够成功,则可能增加后备母猪在配种后流产、返情、空怀的现象,同时产死胎、木乃伊、弱仔的现象增多,或者出现一胎猪的仔猪出生后死亡率明显较高的现象。

5 小结

后备种猪的健康是猪场健康的源头,合理的营养和专业化管理是提高种猪繁殖率的重要措施。合理的免疫程序和正确的操作规范是种猪健康的保证。所以,一定要按上述几点做好后备母猪的驯化管理,只有这样才能保证猪场稳定高效运营。

参考文献:

- [1] 金文,胡新刚,贺生中.规模化猪场后备母猪的免疫学驯化[J].黑龙江畜牧兽医,2013(12):79-81.
- [2] 孟庆利,胡文琴.后备猪的引进与驯化[J].今日养猪业,2014(8):23-25.
- [3] Marcoy collell S.L.no-infectious reproductive failure [M], Veterinarios,2013:1-4.
- [4] 莫家会,庄海燕.从三起病例探讨引种的风险及驯化[J].养殖与饲料,2013(7):11-13.
- [5] 陶莉.种猪的隔离与适应[J].国外畜牧学—猪与禽,2012,32(8):17-18.
- [6] 周德壮,于海航.后备母猪蓝耳病病原隔离适应程序的驯化[J].养殖技术顾问,2012(7):56-58.
- [7] 董联合,王晓峰.规模化猪场后备母猪的饲养管理[J].猪业科学,2013(1):106-107.
- [8] 姜卫峰.一胎母猪在实际生产中表现的问题及应对措施[J].中国猪业,2012(7):44-46.
- [9] 周平,林振营,罗才庆,王天芳.后备猪的培育和驯化[J].中国畜牧兽医报,2009(12):10-12.

肉狗不同养殖方式生产性能对比试验

陈琼, 廖三赛, 康晖, 肖玉梅

(湖南生物机电职业技术学院动科系, 湖南长沙 410127)

摘要: 试验通过对三组肉狗分别实施了圈养、立体笼养和拴养的不同养殖方式的研究, 对增重效果的影响进行了对比分析。结果表明, 采用立体笼养的试验一组和采用拴养的试验二组在生长期和育肥期的日增重极显著高于对照组 ($P < 0.01$), 两试验组的料重比极显著低于对照组 ($P < 0.01$), 而两试验组间的日增重和料重比都差异不显著 ($P > 0.05$)。

关键词: 肉狗; 养殖方式; 生产性能; 圈养; 立体笼养; 拴养

中图分类号: S815.2

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2016)01-0013-02

在我国养殖肉狗的传统方式是圈养, 一般是肉狗按品种、体重等的不同分圈饲养, 每圈舍饲养5~10只肉狗, 肉狗在圈舍内自由采食、自由饮水和自由运动。

立体笼养肉狗是近几年出现的一种新型养殖方式, 一般在肉狗的不同饲养阶段, 使用不同规格的狗笼, 狗笼分成大、小两种规格, 供3月龄以上肉狗使用的育肥笼分上、下两层, 每层笼长2 m、宽1 m、高0.8 m; 供3月龄以下肉狗使用的生长笼分上、中、下三层, 每层笼长1.8 m、宽0.6 m、高0.55 m。两种规格的狗笼每层均养狗4只左右, 确保每只狗都有足够的运动空间。2~3层的狗笼, 上、下两层笼之间安装滑粪板, 笼底设方形网眼, 让粪尿直接掉落到滑粪板上, 使狗与粪尿完全隔开, 食、水和狗笼均不受污染。

肉狗拴养也是新出现的一种养殖方式, 一般给每只狗提供1.4 m²的占地饲养舍, 采用拴柱拴养。拴柱用10号圆钢制作, 每只狗一柱, 相距1.5 m, 柱高0.6 m。依据狗舍宽度采用双列式拴养, 两列中间设排粪沟, 沟底宽0.18 m, 沟深0.12 cm, 两侧用水泥铺地面, 呈30°倾斜, 以便清扫冲洗。拴狗颈圈用皮带制作, 拴绳用长2 m的铁链。

本试验对肉狗采用圈养、拴养和立体笼养三种养殖方式进行比较, 旨在探索哪种养殖方式更

适于提高肉狗的增重性能。

1 材料与方法

1.1 试验动物分组

选择月龄相同(刚断奶一个星期, 49日龄)、体重接近(2.16 kg)、健康无病的36只本地土狗随机分为三组, 每组12只。肉狗圈养为对照组, 立体笼养为试验一组, 拴养为试验二组。试验开始前对每组的狗进行编号、称重。试验期150 d, 分生长期和育肥期两个阶段, 生长期60 d, 育肥期90 d。

1.2 试验时间与地点

试验于2015年3月10日在在怀化市溆浦县张家桥村一个体肉狗养殖场进行, 至8月7日结束, 共150 d。

1.3 饲养管理

试验动物由专人饲养, 生长期每天饲喂四次(8:00、12:00、16:00、20:00), 育肥期每天饲喂三次(8:00、13:00、18:00), 饲喂量按体重的3%供给, 自由饮水。笼舍每月大清除一次, 每月全面消毒一次, 春秋两季彻底消毒, 地面粪便天天清理。狗食熟喂, 每餐现吃现配, 每餐食毕, 食具要清洗干净, 食具和饮水器具每周消毒一次。定期用“虫克星”驱虫, 生长期每月驱虫一次, 育肥期每季度驱虫一次。幼犬断奶后接种两次“犬五联活疫苗”。

1.4 狗食日粮配方

生长期日粮配方为:玉米 40%、豆饼 10%、大米 10%、高粱 10%、麸皮 10%、肉骨粉 10%、鱼粉 8%、生长素和食盐各 1%。日粮中粗蛋白质含量超过 16%,其中动物饲料中的蛋白质含量要占日粮总蛋白质含量的 25%以上。

育肥期日粮配方为:玉米 50%、豆饼 15%、米糠 10%、麸皮 20%、鱼粉 2%、骨粉 2%、生长素和食盐各 0.5%,青饲料每日每只狗 150 g。日粮中粗蛋白质含量 24%,其中动物性蛋白质占 1/3 以上。

1.5 测定指标

测定开始体重、116 日龄体重、结束体重,计算全期增重、日增重、耗料量、料重比及成活率。

1.6 试验设计

对照组的肉狗在整个试验期分两个圈舍饲养,每个圈舍饲养 6 只;试验一组的肉狗在生长期采用生长笼饲养,每笼 4 只,育肥期饲养在育肥笼

中,每笼也是 4 只;试验二组的肉狗在整个试验期全部采用拴养。

2 结果与分析

2.1 对幼狗生长性能的影响

养殖方式对幼狗生长性能的影响见表 1。三组处理狗的初始体重差异不显著,而生长期末体重明显受到养殖方式的影响,试验一组生长期末平均体重 13.12 kg,平均日增重 182.33 g,比对照组分别高 24.0%和 29.9%,差异极显著($P < 0.01$);试验二组生长期末平均体重 12.89 kg,平均日增重 179.00 g,比对照组分别高 21.8%和 27.6%,差异极显著($P < 0.01$);料重比试验一组和试验二组比对照组分别低了 22.9% ($P < 0.01$) 和 20.5% ($P < 0.01$);而试验一组和试验二组之间的日增重和料重比都差异不显著 ($P > 0.05$),表明试验一组和试验二组的饲养效果明显好于对照组。

表 1 三种饲养方式的指标对比

| 组别 | 头数 /头 | 饲养天数 /d | 入试体重 /kg | 生长期末平均重 /kg | 平均日增重 /g | 料重比 | 发病头数 /头 | 发病率 /% | 生长期成活率 /% |
|------|----------|------------|-------------|----------------|-------------|--------|------------|-----------|--------------|
| 对照组 | 12 | 60 | 2.16±0.27 | 10.58±2.34 | 140.33±61 | 4.88:1 | 2 | 16.67 | 100 |
| 试验一组 | 12 | 60 | 2.18±0.62 | 13.12±2.75 | 182.33±47 | 3.97:1 | 1 | 8.33 | 100 |
| 试验二组 | 12 | 60 | 2.15±0.58 | 12.89±2.53 | 179.00±66 | 4.05:1 | 1 | 8.33 | 100 |

2.2 健康状况

由表 1 可见,对照组发病狗 2 头,发病率平均为 16.67%,疾病记录是拉稀、厌食、乏力;试验一组发病 1 头,发病率平均为 8.33%,疾病为咬伤;试验二组发病 1 头,发病率平均为 8.33%,疾病为拉稀、厌食、乏力,试验一组和试验二组的发病情况明显低于对照组。

2.3 对育肥效果的影响

由表 2 可见,试验一组在育肥期平均日增重为 199.56 g,比对照组提高了 25.7%,差异极显著 ($P < 0.01$);试验二组在育肥期平均日增重为 196.67 g,比对照组提高了 23.9%,差异极显著

表 2 育肥效果比较

| 组别 | 头数 /头 | 饲养天数 /d | 育肥期末 平均重/kg | 平均日 增重/g | 料重比 |
|------|----------|------------|----------------|-------------|--------|
| 对照组 | 12 | 90 | 24.87±3.52 | 158.78±39 | 5.19:1 |
| 试验一组 | 12 | 90 | 31.08±5.53 | 199.56±56 | 4.26:1 |
| 试验二组 | 12 | 90 | 30.59±4.87 | 196.67±73 | 4.38:1 |

($P < 0.01$);料重比试验一组和试验二组比对照组分别低了 21.8% ($P < 0.01$) 和 18.5% ($P < 0.01$);而试验一组和试验二组之间的日增重和料重比都差异不显著 ($P > 0.05$),表明试验一组和试验二组的饲养效果明显好于对照组。

试纸条检测 O 型 FMDV 疫苗免疫猪抗体消长规律

徐红蕊^{1*}, 张敏²

(1. 河南牧业经济学院, 河南 郑州 450008;

2. 河南省清丰县农技推广六塔区域站, 河南 清丰 457323)

摘要: 用口蹄疫 O 型灭活疫苗和多肽疫苗分别免疫 60 日龄的仔猪, 用所研制的猪 O 型 FMDV 抗体检测试纸条和商品 ELISA 试剂盒同步检测, 分析免疫猪的抗体变化规律。结果显示, 该试纸条检测结果与对照 ELISA 试剂盒的检测结果一致, 符合抗体产生规律, 能够应用于 O 型 FMDV 疫苗免疫猪的抗体检测。

关键词: 口蹄疫病毒; 试纸条; ELISA 试剂盒; 抗体

中图分类号: S851.3

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2016)01-0015-03

Antibody Occurrences of Porcine FMDV Type O Detected by Strip

Xu hongrui^{1*}, Zhang min²

(1. Henan Institute of Animal Husbandry Economy, Zhengzhou 450008, China;

2. agro-technical extension of six tower regional station in Qingfeng county, qingfeng 457323, China)

Abstract: To study the antibody occurrences of porcine FMDV type O, sixty days old pigs were immunized with inactivated vaccine and peptide vaccine of FMDV type O, and the sera were detected by strip and ELISA respectively. The results showed that the tested results of strip and ELISA were consistent, and accordance with the regulation of antibody production. This study proved that the strip can be used to detecting the antibody of FMDV type O immunized pigs.

Keywords: FMDV; strip; ELISA kit; antibody

口蹄疫(Foot-and-mouth disease, FMD)是一种世界性大流行的烈性传染病, 口蹄疫的爆发不仅会给发病国家带来难以估算的经济损失, 还会造成巨大的政治影响, 所以又有“政治经济病”之称^[1], 世界卫生组织已将口蹄疫列为 A 类传染病之首。疫苗免疫是我国控制口蹄疫的主要手段^[2], 因此, 必须对口蹄疫疫苗免疫动物进行抗体水平评估, 目前, 国内外采用的口蹄疫疫苗免疫抗体检测方法主要是液相阻断 ELISA 方法^[3]。这种方法虽然具有特异、敏感等优势, 但操作复杂、费时、费力, 操作周期需要 2 天, 且需专业技术人员、专门的实验室和仪器设备^[4-5]。因此, 河南省农业科学

院动物免疫学重点实验室研制了一种安全、简便、快速、高效、准确的评价动物免疫保护水平的试纸条方法。为评价该猪 O 型口蹄疫抗体检测试纸条的性能, 特开展猪口蹄疫抗体消长规律的检测试验。用口蹄疫 O 型灭活疫苗和多肽疫苗分别免疫 60 日龄的仔猪, 用所研制的试纸条和商品 ELISA 试剂盒同步检测, 分析免疫猪的抗体变化规律。

1 材料与方法

1.1 材料

洗板机 ELx50 型, 购自 BIO-TEK 公司; BioDot-TSR3000 读条仪购自美国 Biodot 公司; 酶标仪, 为 Bio-Rad 公司产品。猪 O 型口蹄疫病毒抗体免

收稿日期: 2016-01-11

*: 通讯作者

疫层析试纸由河南省动物免疫学重点实验室馈赠,批号为 20130108、20130122、20130128。按说明书进行操作。0 型口蹄疫液相阻断 ELISA 试剂盒(LPB ELISA)由中国农业科学院国家口蹄疫参考实验室研制,批号为:20121021。FMDV VP1 抗体检测 ELISA 试剂盒 为自上海优耐特生物医药有限公司产品,批号为:20120512。猪 0 型口蹄疫多肽疫苗由申联生物医药(上海)有限公司赠送;猪 0 型口蹄疫灭活疫苗由中牧实业有限公司兰州生物药厂馈赠。

1.2 方法

1.2.1 猪 0 型口蹄疫合成肽疫苗免疫 2 月龄的仔猪 10 只, 编号依次为 U1,U2,U 3,U4,U5,U6,U7,U8,U9,U10, 每只注射疫苗 2 ml, 首免后第 28 天进行二次免疫。在免疫前和免疫后的第 4、8、12、16、20、24、28、38、48、58、68 天分别采血, 常规方法分离血清, 用河南省动物免疫学重点实验室提供的的试纸条检测抗体产生情况, 操作方法按照说明书进行。同时, 用 FMD VP1 抗体检测试剂盒做平行检测, 并一一对比。按其使用说明书进行操作, 判断标准为: 阳性对照血清的 OD450nm 吸光值乘以 0.23 作为临界值, 被测样品 OD450nm 吸光值大于临界值的判为阳性, 被检样品 OD450nm 吸光值小于临界值的判为阴性。

1.2.2 猪 0 型口蹄疫灭活疫苗免疫 2 月龄的仔猪 10 只, 编号依次为 M1,M2,M3,M4,M5,M6,M7,M8,M9,M10。免疫和采血方法同 1.2.1。用所研制的试纸条检测抗体变化规律, 同时用中国农业科学院兰州兽医研究所 0 型口蹄疫液相阻断 ELISA 试剂盒做平行对比实验, 按其使用说明书进行操作和判断。

2 结果

2.1 试纸条检测合成肽疫苗免疫猪抗体消长规律

试纸条显色结果用读条仪扫描其 G/D×A 值。G/D×A 值大于 10 时肉眼可见一红色的检测线, 即当读条仪扫描试纸条检测线 G/D×A 值大于 10 的判为阳性。检测结果见图 1。合成肽疫苗免疫的 10 头猪, 免疫后第四天开始检出阳性, 第 12 天均为阳性, 第 16~20 天抗体水平达到高峰, 28~68 天内抗体水平稳定, 优耐特商品化的猪用 FMD VP1 抗体检测试剂盒检测结果与试纸条结果一致(图 2)。

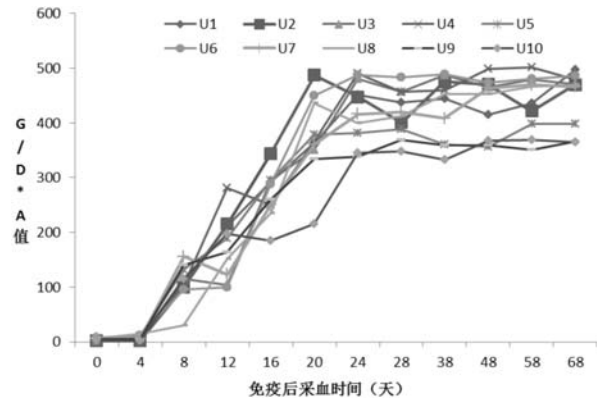


图 1 合成肽疫苗免疫猪血清试纸条检测结果

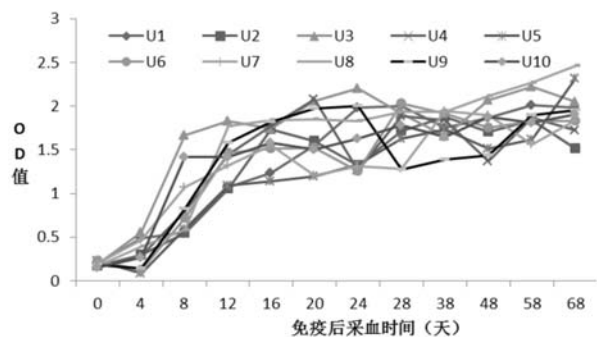


图 2 合成肽疫苗免疫猪血清 ELISA 检测结果

2.2 试纸条检测灭活疫苗免疫猪抗体消长规律

试纸条检测灭活疫苗免疫猪抗体消长规律见图 3。灭活疫苗免疫的 10 头猪, 免疫后第 12 天时开始检出阳性, 第 16 天时检出 8 份阳性 2 份阴性, 第 28 天抗体水平达到高峰, 28~68 天内抗体水平稳定, 中国农业科学院兰州兽医研究所 0 型口蹄疫液相阻断 ELISA 试剂盒 16 天时开始检出阳性检测结果, 第 20 天时检出 9 份阳性 1 份阴性, 第 28 天抗体水平达到高峰, 28~68 天内抗体

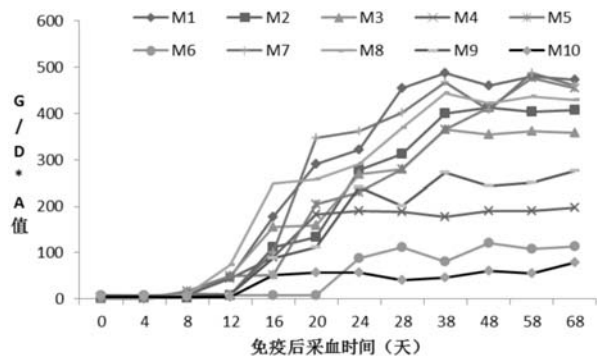


图 3 灭活疫苗免疫猪血清试纸条检测结果

水平稳定。ELISA 与试纸条结果有 1 份不一致,即 6 号猪 (M6), 免疫后第 24 天试纸条检出弱阳性结果,68 天内维持较低的抗体水平,液相阻断 ELISA 试剂盒检测结果一直为阴性(图 4)。

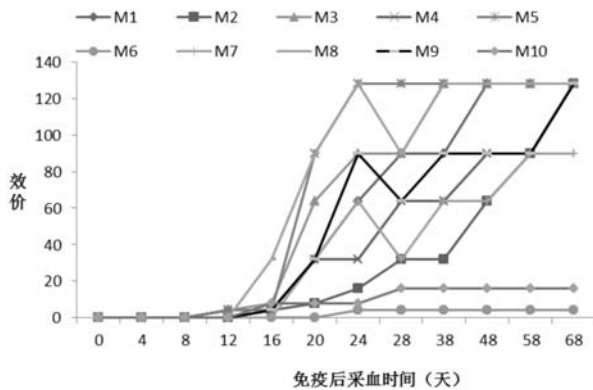


图 4 灭活疫苗免疫猪血清 ELISA 检测结果

3 结论

传统的 FMD 血清学检测方法主要有固相竞争酶联免疫吸附实验 (SPCE)^[9]、液相阻断酶联免疫吸附实验 (LPBE)^[6-7]、病毒中和实验 (VNT)^[8]。虽然这些方法都具有敏感、特异等优点,但是它们需要专业技术人员、专门的实验室和特殊的仪器设备。同时,病毒中和试验还需要病毒的参与,可能存在病毒灭活不全和病毒逃出实验室的危险,加之检测周期长,试验成本较高,因此,无法在广大基层养殖场推广使用。免疫层析方法是出现于 20 世纪 80 年代初期的一种免疫学分析方式,它是建立在免疫渗滤的基础上的一种简单、快速的免疫学检测方法。基于该技术的免疫层析快速诊断试纸利用抗原、抗体特异性结合的原理,将免疫检测技术、胶体金标记技术以及层析分析技术等多种技术方法有机地结合在一起,该技术具有快速、简便、准确和无污染等特点,不需要借助于任何仪器设备和专门的技术人员,因此被广泛应用于医学检测和临床诊断,成为目前进行快速诊断的主要方法之一。进十几年来,胶体金免疫层析技术已经广泛的被应用于环境污染、药品残留、疫病诊断以及食品安全等领域。猪繁殖与呼吸综合征病毒、禽流感病毒和法氏囊病毒抗原或抗体检测试纸已有

报道。河南省农业科学院动物免疫学重点实验室成功建立了猪 O 型口蹄疫抗体快速检测试纸条。为进一步分析该猪 O 型口蹄疫抗体快速检测试纸条的检测效果,本研究利用口蹄疫病毒灭活疫苗和合成肽疫苗免疫猪,分别在免疫后不同时间采集血清,用试纸条和商品的 ELISA 试剂盒同时检测,分析结果显示,该试纸条检测 O 型 FMDV 合成肽疫苗和灭活疫苗免疫猪抗体消长情况,符合抗体产生规律,且试纸的检测结果与对照 ELISA 试剂盒的检测结果基本符合。说明该试纸具有较强的特异性和敏感性,能够应用于 O 型 FMDV 疫苗免疫猪的抗体检测。

参考文献:

- [1] Yang SZ, Yang JF, Zhang GP, et al. Development of an immunochromatographic strip for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus serotype O [J]. Journal of Virological Methods, 2010, 165: 139-144.
- [2] Bachrach HL. Foot-and-mouth disease virus [J]. Ann Rev Microbiol, 1968, 22: 201-244.
- [3] Kitchin GRP. Foot-and-mouth disease: current world situation [J]. Vaccine, 1999, 17 (13-14): 1772-1774.
- [4] 杨苏珍, 李清州, 张改平, 等. 口蹄疫诊断技术研究进展 [J]. 河南农业科学, 2009 (10): 36-38.
- [5] 杨苏珍, 杨继飞, 李清州, 等. 口蹄疫抗体免疫层析试纸的临床应用及性能评价 [J]. 河南农业科学, 2012, 10 (41): 148-152.
- [6] Paek SH, Lee SH, Cho JH, et al. Development of rapid one-step immunochromatographic assay [J]. Methods, 2000, 22 (1): 53260.
- [7] Na G N, Tana KA R, Yu HT, et al. Gold nanoparticle-based novel enhancement method for the development of highly sensitive immunochromatographic test strips [J]. Science and Technology of Advanced Materials, 2006, 7 (3): 2702275.
- [8] Peng F, Wang Z, Zhang S, Wu R, Hu S, Li Z, Wang X, Bi D. Development of an immunochromatographic strip for rapid detection of H9 subtype avian influenza viruses [J]. Clin Vaccine Immunol, 2008, 15 (3): 569-574.
- [9] Cui SJ, Zhou SH, Chen CM, Qi T, Zhang CF, Oh JS. A simple and rapid immunochromatographic strip test for detecting antibody to porcine reproductive and respiratory syndrome virus [J]. Journal of Virological Methods, 2008, 152: 38-42.

新母鸡病的临床诊治

郭照成, 时鹏飞, 王英明

(哈药集团生物疫苗有限公司, 黑龙江 哈尔滨 150069)

中图分类号: S831.7

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2016)01-0018-02

“新母鸡病”是近几年来我国蛋鸡生产中较为突出的条件病之一, 给养鸡业带来很大的经济损失。刚开产的鸡群当产蛋率超过 20%时陆续爆发, 该病一年四季均能发生, 冬夏尤为严重^[1]。我公司技术服务部自 2015 年 7 月份以来对河南、安徽、黑龙江等地的开产蛋鸡出现的一个共性疾病, 到现地进行了诊治, 现将诊治情况作以下汇报。

1 发病地域

新母鸡病主要发生在长江以北的省份, 2015 年 4~5 月份发现于河南, 后在 6~7 月份漫延到了河北, 9~10 月份黑龙江、吉林等省开始出现。发病率占 15%~40%, 鸡只治愈后很难恢复到 85% 以上的产蛋率, 严重者只停留在 60%~70% 的产蛋率。

2 临床症状

主要是刚开产的商品蛋鸡, 新老养殖户都存在这种情况。主要症状: 开产鸡软蛋比率明显上升, 上升 10% 以上, 而且持续时间长; 产蛋近 200 日龄时还未进入高峰; 开产后零星死亡不断, 治疗后复发率高; 采食及饮水正常, 粪便及呼吸基本正常, 精神状态正常; 产蛋率不稳, 忽高忽低。

3 剖检病变

3.1 盲肠扁桃体一侧出血, 腺胃乳头环状出血, 腺胃乳头脓性分泌物。

3.2 小肠及十二指肠肉芽肿, 直肠及泻殖腔弥散性充血或出血。

3.3 气管内出现少量粘液, 个别出现轻微充血。支气管弹性变差、变脆。肺不同程度充血, 变性。显微镜下肺泡变性坏死。

3.4 花斑肾多见, 有白色尿酸盐沉积现象。

3.5 卵泡变性, 呈不规则形状, 也有一部分卵泡

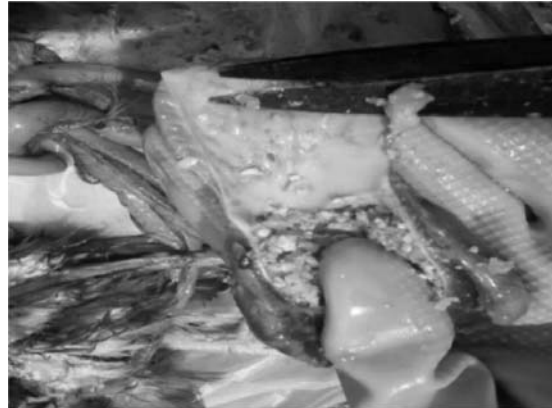


图 1 病死鸡剖检图示

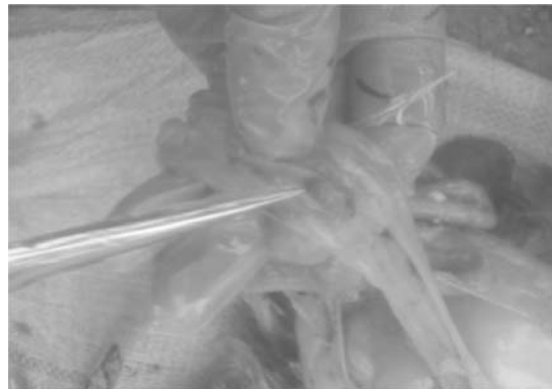


图 2 病死鸡剖检图示



图 3 病死鸡剖检图示



图4 病死鸡剖检图示

正常,输卵管后部及子宫水肿,严重者出现白色分泌物,个别鸡子宫内有成型蛋。

3.6 大鸡肝脏基本正常,胆汁充盈,个别花斑肝,或颜色变浅(尤其小鸡明显)。

3.7 心脏脂肪有轻微出血点,心肌内膜出血,心包不同程度积液。鸡体严重消瘦。

3.8 个别鸡气囊混浊,有白黄干酪附着(鸡死前气喘)。

上述是不同地区、不同鸡场的病死鸡剖检结果,但并不是所有的鸡剖检后都具有上面的病变。其中1、3、5项症状占剖检比例高达80%以上。

4 诊断

剖检发现上述1、2、3项症状,可初步诊断为

弱毒禽流感或非典型新城疫与大杆混合感染。

剖检发现上述1+2+3+8项症状,建议关注禽流感,做流感抗原全面检测。

剖检发现上述3+4+5+6项症状,建议关注肾传支及生殖型传支。

剖检发现上述5+7+8项症状,无死亡,各临床指标正常,产白、软、沙、畸形蛋,考虑是鸡减蛋下降综合征,60日龄以下雏鸡注意腺病毒引起的突然死亡。

5 防治措施

5.1 根据各地发病情况的不同做好免疫检测,尤其要做鸡新城疫、禽流感、鸡传染性支气管炎、腺病毒的检测,调整免疫程序。注射疫苗要选择高抗原低灭活剂疫苗,防止疫苗应激反应、吸收不全。勤换针头,防止创口感染。

5.2 使用SPF疫苗,防止苗毒感染。

5.3 防止霉变饲料,控制霉菌毒素中毒引起的免疫抑制^[2]。

5.4 在饲料内添加抗应激药物,防止由应激反应引起的免疫抑制。

参考文献:

- [1] 齐红杰. 夏季如何防治新母鸡病[J]. 家禽科技. 2009, 8: 31.
[2] 张红军, 崔献华, 孙红云, 等. 蛋鸡新母鸡病的诊治[J]. 河南畜牧兽医. 2015, 3: 49.

(上接第10页)

Vibrio vulnificus strains in raw oysters by quantitative loop-mediated isothermal amplification[J]. Appl Environ Microbiol, 2011 Apr, 77(8):2589-95.

[13] 邱霞琳, 蔡卓, 何晓良, 等. Fe³⁺-H₂O-钙黄绿素-邻菲啉化学发光体系测定左旋多巴分析方法研究[J]. 化学研究与应用, 2013, 25(5):701-705.

[14] Motoki Goto, Eiichi Honda, Atsuo Ogura, et al. Colorimetric detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by using hydroxy naphthol blue[J]. BioTechniques, 2009, 46:167-172.

[15] 廖红东, 陆剑, 刘选明, 等. Mn²⁺驱动的不同长度DNA片段PCR随机突变研究[J]. 湖南大学学报(自然科学版), 2013, 40(6):92-95.

[16] Yang BY, Liu XL, Wei YM, Wang JQ, et al. Rapid and sensitive detection of human astrovirus in water samples by loop-mediated isothermal amplification with hydroxynaphthol blue dye[J]. BMC Microbiol, 2014 Feb 14, 14:38.

[17] Sun YL, Yen CH, Tu CF. Visual detection of canine parvovirus based on loop-mediated isothermal amplification combined with enzyme-linked immunosorbent assay and with lateral flow dipstick[J]. J Vet Med Sci, 2014 May 1, 76(4):509-16.

[18] Yiyue Ge, Bin Wu, Xian Qi, Kangchen Zhao, Rapid and Sensitive Detection of Novel Avian-Origin Influenza A (H7N9) Virus by Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Combined with a Lateral-Flow Device[J]. PLoS One, 2013, 8(8).

饲料药物添加剂对鸡球虫病疫苗免疫效果的影响

吴乐铃¹, 翁亚彪²

(1. 广州市白云区农林局, 广东 广州 510640;

2. 华南农业大学, 广东 广州 510640)

摘要: 鸡球虫病是由艾美耳属 (*Eimeria*) 球虫引起的一种寄生性原虫病, 严重危害集约化养鸡场的疾病之一。全世界每年因球虫病造成的经济损失约为 20 亿美元, 其中每年用于抗球虫药的年支出约为 3 亿美元。本试验通过四种饲料药物添加剂, 比较其对鸡球虫疫苗免疫建立效果的影响。

关键词: 鸡四价活球虫疫苗; 抗球虫药; 球虫病; 鸡

中图分类号: S831.7

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2016)01-0020-04

鸡球虫病是集约化鸡场最常见、危害性大且防治困难的疾病之一。鸡球虫病暴发是由于鸡舍环境中球虫卵囊的污染所致, 大量孢子化卵囊的积累是发病的重要条件。单个卵囊感染鸡后, 其排出卵囊的总量与所造成的危害呈正比^[1-3]。球虫病鸡排出的卵囊不具有感染性, 在温暖潮湿的环境里, 经 1~2 天发育成孢子化卵囊。只有在孢子化后被吞食, 才能引发鸡球虫病, 未孢子化卵囊对鸡不致病^[4]。特别是在广东潮湿炎热的春夏季, 更适合球虫在外界孢子生繁殖, 每年都给养鸡业造成巨大经济损失^[5-7], 据统计, 我国每年用于防治鸡球虫病的药费达数亿元人民币, 占鸡病全部防治费用的近 1/3^[8]。我国发现的鸡球虫有柔嫩艾美球虫 (*Eimeria tenella*)、堆型艾美耳球虫 (*E. acervulina*)、毒害艾美耳球虫 (*E. necatrix*)、巨型艾美耳球虫 (*E. maxima*)、和缓艾美耳球虫 (*E. mitis*) 和早熟艾美耳球虫 (*E. praecox*) 等多种, 这些虫种的致病力和致病部位不同, 对药物的敏感性也不尽相同, 而且在临床上多为混合感染。鸡球虫病是属于寄生在鸡肠道内的一种原虫病, 随着集约化程度的提高, 球虫病的爆发也越来越严重, 而目前使用的药物由于耐药性和药残等原因, 能够有效防治球虫病的药物越来越少, 因而必须寻找一种能有效防治球虫病的办法, 而球虫病疫苗的出现为球虫病防治带来了一种新的希望。

鸡只接种球虫病疫苗后, 球虫卵囊在鸡体内经 3~5 天的发育繁殖即可刺激鸡体免疫应答, 免

疫力初步建立, 但还不能抵御野外大量强毒球虫卵囊的攻击。完成上述体内发育后随鸡粪排出体外的疫苗子代卵囊在垫料或其它物体上, 于适宜温度 (25℃左右)、湿度 (25%~30%) 和有氧条件下, 经 1~2 天发育成具有感染能力的孢子化卵囊, 再被鸡只食入而获得多次重复感染, 使抗球虫免疫力进一步加强, 从而能完全抵御野外强毒球虫卵囊的攻击。本次实验通过在饲料中分别以土霉素、洛克沙肿、强力霉素和不添加药物为对照, 使用不同的饲料作为药物添加剂, 从而判断出其各自对鸡球虫疫苗免疫效果的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

从广东省农科院畜牧研究所购进刚出壳 1 天龄岭南黄鸡 460 只, 所有鸡苗均为无菌环境中培育而成。

1.2 实验药物

兽用土霉素 (河南诺亚生物科技有限公司生产); 兽用洛克沙肿 (广州长宝饲料有限公司); 兽用强力霉素 (淄博万牧生物科技有限公司)。

1.3 鸡球虫活疫苗

鸡球虫四价活疫苗由佛山市正典生物技术研究所以研制、提供, 按 1000 羽份配好球苗, 每个免疫组量取 600 mL 供 100 羽鸡自由饮用。

1.4 强毒球虫卵囊

强毒堆型艾美耳球虫、强毒柔嫩艾美耳球虫、强毒毒害艾美耳球虫和强毒巨型艾美耳球虫卵

囊,由华南农业大学兽医学院分离、保存。

1.5 实验分组及处理

购进的鸡分成 5 组,前 4 组每组 100 只,地面垫料饲养,饲喂不添加任何抗球虫药物的全价

饲料;余 60 只隔离饲养于火焰消毒的铁丝笼上,在无球虫环境下饲养。所有试验鸡饮用新鲜自来水,待养到 4 日龄时按表 1 进行试验处理。

1.6 观察指标

表 1 实验方案

| 组别 | 鸡数 / 羽 | 免疫剂量及接种方式 | 饲养方式及药物添加剂的添加 |
|------------------------------|--------|---------------------------|----------------------------------|
| 第一组:土霉素+球苗免疫组 | 100 | 每鸡经不停水饮水免疫法接种 1 羽份鸡球虫病疫苗。 | 地面垫料平养,于免疫后第一天在饲料中按 0.05%添加土霉素。 |
| 第二组:洛克沙肿+球苗免疫组 | 100 | 每鸡经不停水饮水免疫法接种 1 羽份鸡球虫病疫苗。 | 地面垫料平养,于免疫后第一天在饲料中按 0.01%添加洛克沙肿。 |
| 第三组:强力霉素+球苗免疫组 | 100 | 每鸡经不停水饮水免疫法接种 1 羽份鸡球虫病疫苗。 | 地面垫料平养,于免疫后第一天在饲料中按 0.03%强力霉素。 |
| 第四组:球苗免疫,不添加药物 添加剂对照组 | 100 | 每鸡经不停水饮水免疫法接种 1 羽份鸡球虫病疫苗。 | 地面垫料平养,饲喂不添加药物添加剂的全价饲料。 |
| 第五组:不免疫+不添加药物, 为攻虫试验提供对照鸡 | 60 | - | 网上平养(即在无球虫环境下的饲养) |

1.6.1 临床观察 实验过程中,每天记录鸡群的健康状况,血便情况、死亡的鸡只数,耗料量等。

1.6.2 免疫鸡抗各种球虫免疫力建立情况 于免疫接种后第 21 天时,各免疫组,对照组和第五组各组随机取 40 只,平均分成 4 组,称重,每一组再分成 4 小组,每小组分别接种 10 万个堆型艾美耳球虫孢子化卵囊、5 万个柔嫩艾美耳球虫孢子化卵囊、5 万个毒害艾美耳球虫孢子化卵囊和 5 万个巨型艾美耳球虫孢子化卵囊,观察 6 日并作血便记分,每组鸡称重后将所有鸡扑杀,剖检所有鸡,检查每只鸡适宜部分(堆型艾美耳球虫——十

二指肠,毒害艾美耳球虫和巨型艾美耳球虫——小肠中部,柔嫩艾美耳球虫——盲肠)的病变并记分。同时,在第五组随机取出 20 只鸡作为阴性组。

2 结果与分析

2.1 各组攻堆型艾美耳球虫孢子化卵囊的结果比较

通过 2 表的各项分析比较可知:第 1~4 组的相对增重都比阳性组明显;前 4 组中第一组—土霉素的料肉比最高;肠道病变平均记分以第一组—土霉素(0.75)和第三组—强力霉素(0.45)比第四组(0.25)偏高,其中第 1 组偏高较多。

表 2 攻 10 万个堆型艾美耳球虫孢子化卵囊

| 组别 | 平均数±标准误 初重/g | 平均数±标准误 末重/g | 平均数±标准误 增重/g | 相对增重% | 料肉比 | 血便情况记分 | 肠道病变平均记分 | 死亡率% |
|-----|-----------------|-----------------|-----------------|-------|------|--------|----------|------|
| 第一组 | 391.5±9.79 | 514.5±12.86 | 123.0±3.08 | 69 | 3.11 | 无 | 0.75 | 0 |
| 第二组 | 410.0±10.25 | 575.0±14.38 | 165.0±4.13 | 92 | 2.09 | 无 | 0.25 | 0 |
| 第三组 | 415.5±10.39 | 566.0±14.15 | 150.5±3.76 | 84 | 2.27 | 无 | 0.45 | 0 |
| 第四组 | 380.5±9.51 | 502.5±12.56 | 122.0±3.05 | 69 | 2.56 | 无 | 0.25 | 0 |
| 阳性组 | 443.0±11.08 | 545.0±13.63 | 102.0±2.55 | 57 | 2.88 | 无 | 2.40 | 0 |
| 阴性组 | 451.5±11.29 | 629.3±15.73 | 177.8±4.45 | 100 | 2.14 | | | |

当鸡只攻 10 万个堆型艾美耳球虫孢子化卵囊后,通过相对增重、料肉比、血便情况和肠道病变平均记分四项分析来看,土霉素相比其它两种药物作为饲料药物添加剂对该球虫疫苗的免疫效果有一般的干扰作用。

2.2 各组攻柔嫩艾美耳球虫孢子化卵囊的结果比较

通过表 3 的各项分析比较可知:第 1~4 组的相对增重率都明显比阳性组要高;从前 4 组的料肉比,血便记分结果可知它们之间的差异不明显;在肠道病变平均记分方面,第二组—洛克沙肿(1.35)和第三组—强力霉素(1.15)要比第四组(0.55)稍大。

小结:当鸡只攻 5 万个柔嫩艾美耳球虫孢子

表 3 攻 5 万个柔嫩艾美耳球虫孢子化卵囊

| 组别 | 平均数±标准误 初重/g | 平均数±标准误 末重/g | 平均数±标准误 增重/g | 相对增重% | 料肉比 | 血便情况记分 | 肠道病变平均记分 | 死亡率% |
|-----|-----------------|-----------------|-----------------|-------|------|--------|----------|------|
| 第一组 | 380.5±9.51 | 517.5±12.94 | 137.0±3.43 | 77 | 2.30 | 1 | 0.85 | 0 |
| 第二组 | 397.0±9.93 | 575.0±14.38 | 178.0±4.45 | 99 | 1.78 | 1 | 1.35 | 0 |
| 第三组 | 399.0±9.398 | 566.0±14.15 | 167.0±4.18 | 93 | 2.15 | 1 | 1.15 | 0 |
| 第四组 | 384.5±9.61 | 502.5±12.56 | 118.0±2.95 | 66 | 2.92 | 1 | 0.55 | 0 |
| 阳性组 | 450.0±11.25 | 545.0±13.63 | 95.0±2.38 | 53 | 5.92 | 4 | 3.80 | 10 |
| 阴性组 | 451.5±11.29 | 629.3±15.73 | 177.8±4.45 | 100 | 2.14 | | | |

化卵囊后,通过相对增重、料肉比、血便情况和肠道病变平均记分四项分析来看,洛克沙肿和强力霉素对该球虫疫苗的免疫效果有轻微的干扰作用。

2.3 各组攻毒害艾美耳球虫孢子化卵囊的情况对比表

通过表 4 的各项分析比较可知:第 1~4 组的相对增重基本保持一致,可以看出前 4 组与阳性组与阳性组有些非常显著的差别;料肉比方面,第二组—洛克沙肿(3.23)和第三组—强力霉素(3.14)都比第四组(2.84)稍高;血便情况和肠道病变平均记分,前 4 组则基本一样。

表 4 攻 5 万个毒害艾美耳球虫孢子化卵囊

| 组别 | 平均数±标准误 初重/g | 平均数±标准误 末重/g | 平均数±标准误 增重/g | 相对增重% | 料肉比 | 血便情况记分 | 肠道病变平均记分 | 死亡率% |
|-----|-----------------|-----------------|-----------------|-------|------|--------|----------|------|
| 第一组 | 411.5±10.29 | 523.5±13.09 | 112.0±2.80 | 63 | 2.50 | 1 | 3.15 | 0 |
| 第二组 | 426.0±10.65 | 516.5±12.91 | 90.0±2.25 | 51 | 3.23 | 1 | 3.85 | 0 |
| 第三组 | 411.0±10.28 | 514.0±12.85 | 103.0±2.58 | 58 | 3.14 | 1 | 3.95 | 0 |
| 第四组 | 394.0±9.85 | 496.0±12.40 | 100.0±2.50 | 56 | 2.84 | 1 | 3.85 | 0 |
| 阳性组 | 445.5±11.14 | 465.0±11.63 | 19.5±0.49 | 11 | 4.90 | 4 | 3.95 | 20 |
| 阴性组 | 451.5±11.29 | 629.3±15.73 | 177.8±4.45 | 100 | 2.14 | | | |

当鸡只攻 5 万个毒害艾美耳球虫孢子化卵囊后,通过相对增重、料肉比、血便情况和肠道病变平均记分四项分析来看,洛克沙肿和强力霉素两种药物对该球虫疫苗的免疫效果有轻微的干扰影响。

2.4 各组攻巨型艾美耳球虫孢子化卵囊的情况对比表

通过表 5 的各项分析比较可知:从第 1~4 组的相对增重来看,第一组—土霉素的相对增重都比其它 3 组要低,几乎与阳性组的相对增重持平;而料肉比、血便情况和肠道病变平均记分三项的结果则表明三种药物几乎对该球虫疫苗的影响大概一致。

表 5 攻 5 万个巨型艾美耳球虫孢子化卵囊

| 组别 | 平均数±标准误 初重/g | 平均数±标准误 末重/g | 平均数±标准误 增重/g | 相对增重% | 料肉比 | 血便情况记分 | 肠道病变平均记分 | 死亡率% |
|-----|-----------------|-----------------|-----------------|-------|------|--------|----------|------|
| 第一组 | 423.5±10.59 | 553.0±13.83 | 129.5±3.24 | 73 | 2.65 | 无 | 0.80 | 0 |
| 第二组 | 393.5±9.84 | 555.0±13.88 | 161.5±4.04 | 91 | 1.61 | 无 | 1.20 | 0 |
| 第三组 | 418.5±10.46 | 579.0±14.48 | 160.5±4.01 | 90 | 2.77 | 无 | 1.35 | 0 |
| 第四组 | 425.0±10.63 | 573.5±14.34 | 148.5±3.71 | 84 | 2.14 | 无 | 0.80 | 0 |
| 阳性组 | 467.5±11.69 | 592.5±4.81 | 125.0±3.13 | 70 | 2.97 | 无 | 1.00 | 0 |
| 阴性组 | 451.5±11.29 | 629.3±15.73 | 177.8±4.45 | 100 | 2.14 | | | |

小结:当鸡只攻 5 万个巨型艾美耳球虫孢子化卵囊后,通过相对增重、料肉比、血便情况和肠

道病变平均记分四项分析来看,土霉素对该球虫疫苗的免疫效果有比较明显地干扰影响。

3 讨论

实验结果表明,当土霉素作为饲料中的药物添加剂时,会对该球虫疫苗的免疫效果产生比较明显的干扰作用。当洛克沙朋作为饲料中的药物添加剂时,会对该球虫疫苗的免疫效果产生轻微的干扰作用。当强力霉素作为饲料中的药物添加剂时,会对该球虫疫苗的免疫效果产生轻微的干扰作用。实验中使用的球虫疫苗能有效地预防堆型艾美耳球虫、柔嫩艾美耳球虫、毒害艾美耳球虫和巨型艾美耳球虫。

综上所述,单独使用该鸡球虫四价活疫苗的效果要比分别加入土霉素、洛克沙朋、强力霉素实验组效果好。

参考文献:

- [1] Bhogal BS, Miller GA, Anderson AC, et al. Potential of a recombinant antigen as a prophylactic vaccine for day old broiler-chickens against *E. acervulina* and *E. tenella*[J]. *Vet Immuno Immunopathol*, 1992, 31:323-335.
- [2] Shirley M W. Research on avian coccidia: An up date in control of coccidiosis[J]. *Bri Vet J*, 1992, 148:6.
- [3] 张宏伟, 韩晓辉, 侯继勇, 等. 鸡球虫病暴发的流行病学因素[J]. *中国兽医科技*, 2004, 34(5):75-77.
- [4] Peter L Long. *The Biology of the Coccidia*[M]. University Park Press, US, 1982:453-487.
- [5] 孔繁瑶. *家畜寄生虫学*[M]. 北京: 农业出版社, 1991. P418.
- [6] 索勋, 李国清. *鸡球虫病学*[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1998:8-9.
- [7] Shirley M W. Research on Avian Coccidia: An Update in Control of Coccidiosis[J]. *British Veterinary Journal*, 1992, 148:6.
- [8] 孔爱云, 庞传文. 鸡球虫病及抗球虫药物的临床应用[J]. *养禽与禽病防治*, 2005(1):22.

关注:我国中兽药的研发方向

一、提高机体免疫力的中兽药

目前,网状内皮细胞、鸡传染性贫血病等免疫抑制病的发病率呈逐年上升趋势,这些免疫抑制病的发生常导致疫苗免疫失败,从而造成各种疾病多发,因此提高机体免疫力的中兽药将是未来的一个发展方向。河北科星动物药业的杨广平董事长说,他在有关资料上了解到,中国农业大学进行了一项有关传支的试验,用 SPF 鸡接种传支病毒,在没有受到外界应激或者鸡只抵抗力非常好的情况下,其仍然不会发病。此项试验证明如果我们能够很好地提高机体的抵抗能力,同样可以减少疾病的发生,因此,可以加强对提高动物免疫力的中兽药的研究。

二、治疗混合感染的中兽药

随着规模化养殖业的发展,畜禽疾病越来越复杂,单一发生的疾病很少,多以混合感染的形式出现,如,自 2006 年以来流行的高致病性猪蓝耳病,由于常以多种病原的混合感染出现,曾一度被认为是“无名高热”。西药多是直接作用于一种病原体,而中药多具有广谱的抗菌抗病毒作用,而且是针对机体整体机能的恢复,用于治疗混感性疾病比较好,而且在实践应用中还可以将两种中药方剂共同使用,在临床上效果较好,如治疗猪的病毒性疾病混合感染就用清瘟败毒散配合白虎汤。另外,还可以研发针对猪的呼吸道综合征和消化道综合征的中兽药产品。

三、改善机体微循环的中兽药

目前我国应用的中兽药多集中在清热解毒类防治病毒病方面,但是在古典中药中很多都是活血化瘀、改善机体微循环的药物,而且很多方剂里面都要加入这方面的药,所以除了清热解毒的中兽药外,增加改善机体微循环的药物,如当归散,也是未来的发展方向之一。

功能性恢复剂目前兽药市场上功能性恢复剂类的中兽药产品不多,但是市场需求不小。在我国兽药药典上此类方剂不少,如龙胆泻肝散,所以可参照药典增加开发此类药物的比例。

(信息来源:中国兽药信息网)

不同试剂盒检测猪口蹄疫 O 型合成肽疫苗免疫抗体的对比试验

廖美娜¹, 袁敏²

(1. 河源市龙川县动物卫生监督所赤光分所, 广东 河源 517349;

2. 河源市龙川县畜牧兽医渔业局, 广东 河源 517300)

摘要: 使用口蹄疫 O 型正向间接血凝抗体试剂盒 (IHA) 和 2 个厂家生产的猪口蹄疫病毒 VP1 结构蛋白抗体酶联免疫吸附试验诊断试剂盒 (VP1-ELISA) 分别检测接种猪口蹄疫 O 型合成肽疫苗免疫后不同时间的抗体合格率, 以探讨 3 种抗体检测试剂盒的相关性。结果显示, IHA 试剂盒与两种 VP1-ELISA 的符合率较差, 分别为 11.7%、12.5%, IHA 试剂盒不能用于检测合成肽疫苗免疫抗体; VP1-ELISA 试剂盒可以科学评价合成肽疫苗免疫抗体, 两种 VP1-ELISA 试剂盒的平均符合率为 93.6%, 但是 VP1-ELISA (UBI) 试剂盒的稳定性高于 VP1-ELISA (Z) 试剂盒。

关键词: 猪口蹄疫; O 型抗体; 试剂盒; 对比

中图分类号: S851.3

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2016)01-0024-03

口蹄疫 (Foot-and-mouth disease, FM) 是一种急性、热性、高度接触性传染病^[1], 严重危害我国畜牧业的发展^[2-3]。目前, 我国对口蹄疫实行预防为主、扑杀为辅的防控政策, 对口蹄疫实行强制免疫。免疫抗体检测是科学评价免疫质量的有效手段, 也是制定免疫程序的可靠依据。在实际工作中, 因受到检测方法、检测试剂的不同而导致检测结果常有差异。近几年, 猪口蹄疫 O 型合成肽疫苗作为一种新型疫苗在市场上得到广泛的应用^[4]。为了选择科学评估此种疫苗免疫质量的检测方法, 本试验通过使用猪口蹄疫 O 型合成肽疫苗免疫猪群后, 采集不同时间的血清, 分别使用正向间接血凝试验试剂盒 (IHA) 和 2 个厂家生产的猪口蹄疫病毒 VP1 结构蛋白抗体酶联免疫吸附试验诊断试剂盒 (VP1-ELISA), 进行了猪口蹄疫 O 型抗体检测的对比试验。

1 材料与方 法

1.1 疫苗

猪口蹄疫 O 型合成肽疫苗 (多肽 2600+2700+2800), 申联生物医药 (上海) 有限公司生产, 批号: 20150401。

1.2 试剂盒

口蹄疫 O 型正向间接血凝抗体试剂盒 (IHA)

购自中国农业科学院兰州兽医研究, 批号: 2015080604; 猪口蹄疫病毒 VP1 结构蛋白抗体酶联免疫吸附试验诊断试剂盒 (VP1-ELISA (Z)) 购自郑州中道生物技术有限公司, 批号: 20150801; 猪口蹄疫病毒 VP1 结构蛋白抗体酶联免疫吸附试验诊断试剂盒 (VP1-ELISA (UBI)) 购自上海优耐特生物医药有限公司, 批号: 20151012。

1.3 实验地点

随机选择本地 3 个免疫猪口蹄疫 O 型合成肽疫苗的规模化猪场。

1.4 样品采集

免疫后分别对每个试验猪场免疫猪只随机采血, 采血时间及数量见表 1。

1.5 抗体检测

对采集的血清样品分别使用 IHA 试剂盒和 2 个厂家生产的 VP1-ELISA 试剂盒进行抗体检测, 计算免疫后不同时间的抗体合格率, 比较 3 种试剂盒的检测符合率。

从合格样品中随机抽取 20 份血清, 做 2 倍系列倍比稀释, 按照 3 种试剂盒说明书操作步骤进行检测, 分别测定 20 份血清的抗体效价, 比较 3 种试剂盒检测合成肽疫苗的免疫抗体效价。

1.6 结果判定

表 1 猪场血清样品采集数量及时间

| 猪场 | 免疫剂量(ml/头) | 免疫途径 | 采血方式 | 采样时间 | 样品数量 |
|-----|------------|-----------|--------|-----------|------|
| A 场 | 1.0 | 耳根后颈部肌肉注射 | 前腔静脉采血 | 一次免疫后 14d | 25 |
| | 1.0 | | | 一次免疫后 28d | 21 |
| B 场 | 1.0 | | | 一次免疫后 14d | 22 |
| | 1.0 | | | 一次免疫后 28d | 24 |
| C 场 | 1.5 | | | 一次免疫后 14d | 25 |
| | 1.5 | | | 一次免疫后 28d | 23 |

参照 3 种试剂盒的说明书要求进行阴、阳性判定,当 VP1-ELISA 的抗体效价 ≥ 25 判定为免疫合格,当 IHA 的抗体效价 ≥ 25 判定为免疫合格。

2 结果

2.1 三种试剂盒检测抗体合格率

使用 3 种试剂盒分别对 3 个猪场一次免疫后第 14 d 和第 28 d 的血清样品进行抗体检测,结果如表 2、图 1 所示。VP1-ELISA (ZD) 试剂盒检测

抗体平均合格率分别为 34.7%、92.6%;VP1-ELISA (UBI) 试剂盒检测抗体平均合格率分别为 37.5%、98.5%;IHA 试剂盒检测抗体平均合格率分别为 1.4%、14.7%。

两种 VP1-ELISA 试剂盒检测 3 个猪场不同免疫时间抗体合格率较一致,符合口蹄疫疫苗免疫后抗体产生的一般规律。IHA 试剂盒检测抗体合格率较低,表明该试剂盒对口蹄疫合成肽疫苗免疫抗体的敏感性差。

表 2 三种试剂盒检测抗体合格率

| 猪场 | 抗体合格率 | | | | | |
|-------|----------------|---------------|-----------------|---------------|-------------|---------------|
| | VP1-ELISA (ZD) | | VP1-ELISA (UBI) | | IHA | |
| | 一免 14d | 一免 28d | 一免 14d | 一免 28d | 一免 14d | 一免 28d |
| A 场 | 7/25 (28.0%) | 19/21 (90.5%) | 8/25 (32.0%) | 21/21 (100%) | 0/25 (0%) | 3/21 (14.3%) |
| B 场 | 7/22 (31.8%) | 22/24 (91.7%) | 7/22 (31.8%) | 24/24 (100%) | 1/22 (4.5%) | 3/24 (12.5%) |
| C 场 | 11/25 (44.0%) | 22/23 (95.7%) | 12/25 (48.0%) | 22/23 (95.7%) | 0/25 (0%) | 4/23 (17.4%) |
| 平均合格率 | 25/72 (34.7%) | 63/68 (92.6%) | 27/72 (37.5%) | 67/68 (98.5%) | 1/72 (1.4%) | 10/68 (14.7%) |

图 1 三种试剂盒检测不同时间抗体平均合格率

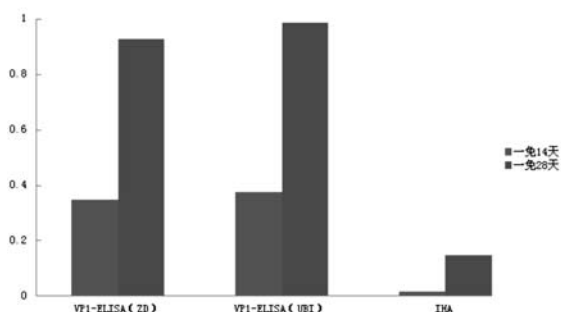


图 1 三种试剂盒检测不同时间抗体平均合格率

2.2 三种试剂盒检测抗体符合率

三种试剂盒检测 3 个猪场采集的同一批血清样品的符合率有所不同,统计结果见表 3。从表 3、图 2 可以看出:VP1-ELISA (ZD) 试剂盒和 VP1-

ELISA (UBI) 试剂盒之间合格抗体符合率较高,平均符合率为 93.6%;VP1-ELISA (UBI) 试剂盒和 IHA 试剂盒之间合格抗体平均符合率为 11.7%;IHA 试剂盒和 VP1-ELISA (ZD) 试剂盒之间合格抗体平均符合率为 12.5%。IHA 试剂盒与 2 种 VP1-ELISA 试剂盒之间的合格抗体符合率差距较大。

2.3 三种试剂盒检测合格样品抗体平均效价

从免疫后第 28 d 检测阳性的血清样品中抽取 20 份,做 2 倍系列倍比稀释,使用 3 种试剂盒检测血清样品的抗体效价。从表 4 可以看出,VP1-ELISA (ZD) 试剂盒和 VP1-ELISA (UBI) 试剂盒检测抗体平均效价分别为 1:300、1:352,均远高于 IHA 试剂盒检测结果 1:28。表明 VP1-ELISA (UBI) 试剂盒的敏感性稍高于 VP1-ELISA (ZD) 试剂盒,2 种 VP1-ELISA 试剂盒的敏感性远高于 IHA 试剂盒。

表 3 三种试剂盒检测抗体符合率

| 猪场 | 抗体符合率 | | |
|-------|-------------------------------|---------------------|---------------------|
| | VP1-ELISA(ZD)与 VP1-ELISA(UBI) | VP1-ELISA(UBI)与 IHA | IHA 与 VP1-ELISA(ZD) |
| A 场 | 89.7% | 3.4% | 11.5% |
| B 场 | 93.5% | 12.9% | 13.8% |
| C 场 | 97.1% | 11.8% | 12.1% |
| 平均符合率 | 93.6% | 11.7% | 12.5% |

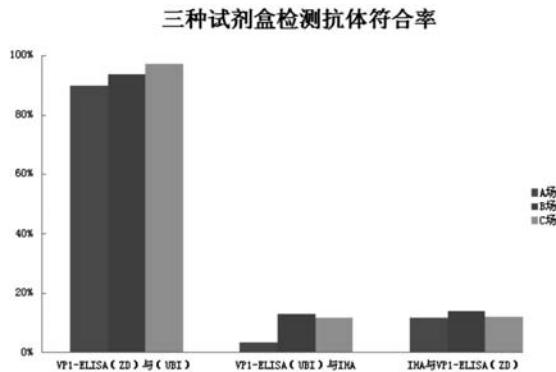


图 2 三种试剂盒检测抗体符合率

表 4 抽检阳性血清平均抗体效价

| 猪场 | 平均抗体效价 | | |
|-----|--------------|----------------|------|
| | VP1-ELISA(Z) | VP1-ELISA(UBI) | IHA |
| A 场 | 1:305 | 1:377 | 1:29 |
| B 场 | 1:311 | 1:351 | 1:22 |
| C 场 | 1:286 | 1:329 | 1:33 |
| 合计 | 1:300 | 1:352 | 1:28 |

2.4 三种试剂盒操作稳定性比较

在基层实验室检测过程中,不同技术员操作手法不同会导致检测结果有偏差。对此,笔者在实验过程中对结果判定时间和检测结果的影响做了试验。试验结果显示,IHA 试剂盒结果判定在 2 h 内保持一致。VP1-ELISA(UBI)试剂盒在 15 min 内阳性对照 OD450nm 值维持在 1.6~1.7 之间,变化不大,对临界值影响不大。VP1-ELISA(ZD)试剂盒在 10 min 内阳性对照 OD450nm 值从 3.0 以上迅速下降到 1.9 左右;被检血清样品 OD450nm 值在 2.5 以上者,下降约 0.5 个点;OD450nm 值在 2.0~2.5 者,下降约 0.2 个点;OD450nm 值在 2.0 以下者,10 min 内基本稳定。由此得出,VP1-ELISA(ZD)试剂盒检测 OD450nm 值越高,其稳定性越差,且阳性对照值的迅速下降引起临界值判定标准迅速下降,可导致阴阳性判定出现误差。此次实验结果表

明,VP1-ELISA(UBI)试剂盒和 IHA 试剂盒的稳定性较好。

3 分析与讨论

3.1 本试验中 2 个厂家生产的 VP1-ELISA 试剂盒检测猪口蹄疫 0 型合成肽疫苗免疫抗体的符合率为 93.6%,表明 VP1-ELISA 方法可以科学地评价口蹄疫合成肽疫苗的免疫抗体水平。但是不同厂家生产的 VP1-ELISA 试剂盒质量有所差异,主要表现在试剂盒的稳定性方面。稳定性差试剂盒会直接导致检验结果出现较大误差。因此,在选择检测试剂盒时应当选择正规厂家生产的符合国家相关标准的试剂盒;另外,在大量使用之前,最好先对试剂盒的敏感性、特异性进行试验验证,以确保检测数据的准确性。

3.2 IHA 试剂盒由于操作简单,在基层口蹄疫灭活疫苗免疫抗体检测中得到广泛应用,但应用该方法不能科学评价猪口蹄疫 0 型合成肽疫苗免疫后的血清抗体水平。这与占松鹤^[5]、秦荣香^[6]等人的报道相一致。本试验中个别血清样品经 IHA 试剂盒检测呈阳性,这可能是与所选实验猪日龄较小,可能还存在母源抗体有关^[7]。

3.3 动物口蹄疫抗体水平的高低与抵抗口蹄疫病毒的能力不是绝对呈正相关,这也是为什么至今全世界仍然采用攻毒而不采用血清抗体测定的方法来评价口蹄疫疫苗质量。但是,对群体抗体水平检测能反映出动物的免疫状态,对猪场的免疫程序制定有一定的指导意义。本实验中,一次免疫后第 14 d 检测抗体合格率在 35%左右,第 28 d 即达到 90%上,高于农业部规定的相关标准。表明口蹄疫合成肽疫苗免疫抗体产生需要一个时间过程,在 14 d 以内产生速度较慢,14 d 以后抗体水平迅速升高,符合疫苗抗体产生的一般规律^[8-9]。

3.4 抗体水平监测是对疫苗免疫效果的直接评估,选择正确的试剂盒进行科学评价尤为重要。农

(下转第 29 页)

牛精子低温打击影响元素的分析与研究

刘承军¹, 郭丙全²

(1. 聊城市畜牧兽医技术服务中心, 山东 聊城 252000;

2. 聊城市动物疫病预防与控制中心, 山东 聊城 252000)

摘要: 选用利木赞种公牛的精液为研究对象, 分别研究卵黄含量, 不同的稀释液、所降温度和降温速度三个因素对牛精子低温打击的影响。结果表明: 添加不同卵黄含量的稀释液, 对精子活力影响差异不显著, 在常温情况下卵黄对精子, 作用时间越长, 其毒害作用越重, 温度不同, 对精子活力的影响差异极显著, 纱布层数降温速度时, 层数相差太少时, 差异不显著 ($F>0.05$)。结果表明要防止低温打击, 应全面考虑上述三个因素。

关键词: 牛精液; 稀释液; 卵黄; 温度; 低温打击

中图分类号: S814.3

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2016)01-0027-03

在畜牧业高度发展的国家, 多年来无不借助于人工授精; 人工授精的优点首先是扩大良种遗传基因的影响, 特别是在发展到利用冷冻精液的今天^[1]。冷冻保存的发展是基于甘油的低温保护作用而建立起来的冷冻保存技术^[2]; 在精液的低温保存中, 一个最重要的影响因素是稀释液, 同时, 有必要强调冷冻速度对解冻后精子活力有明显影响^[3]。为证实不同的稀释液、所降温度和降温速度三个因素对牛精子打击的影响。我们做了如下试验。

1 材料和方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验药物 柠檬酸钠, 分析纯, 含量不少于 99%, 沈阳试剂四厂; 果糖 (D-Fructose), 生化试剂, 上海试剂二厂; 甘油 (Glycerol), 分析纯, 含量不少于 99.0%, 色度 ≤ 10 黑管单位, 沈阳化学试剂厂; 注射用青霉素钾, 规格 160 万单位, 济南古塔兽药有限责任公司; 注射用硫酸链霉素, 规格 160 单位, 济南古塔兽药有限责任公司。

1.1.2 试验器材 HH. S21. Cu6 电热恒温水浴锅, 大连医疗器械厂; HC. TP12B1 架盘药物天平, 上海医疗器械八厂; BCD-208F/HC 容声电冰箱, 中国成都科龙冰箱有限公司; HG101-1 电热鼓风干燥箱, 南京实验仪器厂。

1.2 试验动物

选用山东省聊城市种牛繁育中心的利木赞牛

作为试验动物。

2 试验方法

2.1 试验时间和地点

本试验于 2014 年 6 月 1 日至 12 日在聊城大学畜牧实验室进行, 精液的采集在聊城市种牛繁育中心, 精子活力的测定在聊城大学畜牧实验室。

2.2 试验动物精液的处理

取少量第一液缓慢地加入精液中, 然后将初步稀释的精液倒入余下第一液, 均匀, 第一液的用量 = 所加稀释液总量 + 精液量 / 2 - 精液量; 经平衡后加入第二液, 稀释到最终用量。

2.3 试验设计

采用单因素方差分析, 纱布层数设为 4 层、8 层和 12 层三个处理, 最终温度设为 20℃、5℃、0℃和 -10℃四个处理, 在考虑稀释液的影响时, 对于相同层数, 相同的温度, 每个处理设三个重复, 在方差分析时, 数据采用三者的平均数。

2.4 稀释液配方

三种稀释液的分别在于卵黄含量不同, 卵黄含量设为 0 毫升、10 毫升和 20 毫升, 配方为: 第一液: 蒸馏水 100 毫升, 柠檬酸钠 2.97 g, 卵黄 0 毫升, 10 毫升和 20 毫升。第二液: 取第一液 41.75 毫升, 加入果糖 2.5 克, 甘油 7 毫升。

2.5 活力测定

精液稀释后, 立即测定其活力; 精液分装于 0.25 毫升钠管中, 经降温处理后, 在 37~38℃恒

温显微镜下测定其活力。

2.6 温度测定

测定降温处理前装于 0.25 毫升细管内的精液温度,测定精液降温的最终温度。

2.7 时间测定

用秒表测定细管内精液降低到最终温度时所用时间。

2.8 数据的统计分析

方差分析采用 F 检验,多重比较采用 q 检验法^[22]。

3 结果与分析

3.1 稀释的影响

不同稀释液对精子活力影响的观测值结果见表 1。

表 1 稀释液对精子活力影响的观测结果

| 处理 | 观测值 | | | | | | | | | | | | Xi | |
|----|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|---|---|----|------|
| A | 0.4 | 0.37 | 0.12 | 0.27 | 0.12 | 0.08 | 0.08 | 0.05 | 0.00 | 0.02 | 0 | 0 | 0 | 0.12 |
| B | 0.4 | 0.38 | 0.37 | 0.37 | 0.28 | 0.28 | 0.22 | 0.15 | 0.12 | 0.10 | 0 | 0 | 0 | 0.21 |
| C | 0.4 | 0.38 | 0.38 | 0.38 | 0.32 | 0.30 | 0.23 | 0.18 | 0.13 | 0.12 | 0 | 0 | 0 | 0.22 |

注:表中所示观测值(活力)均采用实际观测结果的平均数,数据保留两位小数。A:指 0ml/100ml, B:指 10ml/100ml, C:指 20ml/100ml。

$F > F_{0.05}(2, 36)$, 即 $P > 0.05$, 所以不同稀释液对精子活力的影响无差别。

3.2 不同温度的影响

方差分析,不同温度间的差异极显著($P <$

0.01),进一步分析,由多重比较(采用 q 法)最终温度 20℃时,与 0℃、-10℃之间差异极显著,与 5℃的差异显著,最终温度 5℃时与 0℃、-10℃之间差异极显著,0℃和 -10℃之间差异不显著,5℃

表 2 不同温度对精子活力影响的观测结果

| 处理 | 观测值 | | | | | | | | | | Ti | Xi |
|------|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 20℃ | 0.4 | 0.37 | 0.12 | 0.27 | 0.38 | 0.37 | 0.37 | 0.38 | 0.38 | 0.38 | 3.42 | 0.34 |
| 5℃ | 0.4 | 0.12 | 0.08 | 0.08 | 0.28 | 0.28 | 0.22 | 0.32 | 0.30 | 0.23 | 2.31 | 0.23 |
| 0℃ | 0.4 | 0.05 | 0.00 | 0.02 | 0.15 | 0.12 | 0.10 | 0.18 | 0.13 | 0.12 | 1.27 | 0.13 |
| -10℃ | 0.4 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.40 | 0.04 |

注:表中所示观测值(活力)均采用实际观测结果的平均数,数据保留 2 位小数。

与 0℃之间的差异也不显著。

3.3 不同降温速度(纱布层数)的影响

为了分析上的方便,降温速度用纱布层数表

示,能够反映与降温速度相同的规律。

由于 $F < F_{0.05}(2, 36)$, 即 $P > 0.05$, 所以纱布层数对精子活力的影响无差别。

表 3 不同纱布层数对精子活力影响的观测结果

| 处理 | 观测值 | | | | | | | | | | | | Xi | |
|----|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|---|---|----|------|
| A1 | 0.4 | 0.37 | 0.38 | 0.38 | 0.12 | 0.28 | 0.32 | 0.05 | 0.15 | 0.18 | 0 | 0 | 0 | 0.12 |
| B1 | 0.4 | 0.38 | 0.37 | 0.38 | 0.08 | 0.28 | 0.30 | 0.00 | 0.12 | 0.13 | 0 | 0 | 0 | 0.21 |
| C1 | 0.4 | 0.38 | 0.37 | 0.38 | 0.08 | 0.22 | 0.23 | 0.02 | 0.10 | 0.12 | 0 | 0 | 0 | 0.22 |

注:表中所示观测值(活力)均采用实际观测结果的平均数,数值保留两位 2 位小数。A1:指 4 层, B1:指 8 层, C1:指 12 层。

4 讨论

4.1 稀释液对精子活力的影响

由分析可以看出:稀释液中卵黄含量越高(在 30%的限度内),精子抗低温打击的能力越强,快速降温处理后的活力就越高;但表 1 和表 2 的结果

表明:卵黄含量越高,精子的平均活力越高,但对精子活力影响的差异不显著($P > 0.05$)。造成这种试验结果与理论不一致的原因可能有以下几个方面:一是采取了快速降温处理,可能是由于这种降温速度过快,超出了卵黄的保护能力,从而使差异

不显著,但平均活力的不同,又从一方面说明了卵黄对精子有一定的保护作用;另一方面的原因,可能是本试验为研究低温打击相对快速降温来说,所采用的降温速度过低,从而引起精子水分冰晶化的形成,冰晶的形成造成精子内外的溶质浓度和渗透压增高,引起细胞内脱水,原生质变干,酸碱度失去平衡,细胞膜和顶体以及整个组织结构破坏等致死性伤害,最后导致精子发生不可逆的变化而死亡,这方面的作用超过了卵黄的保护作用,从而使差异不显著($P>0.05$)。

4.2 温度的影响

由表2可以看出,随温度的降低,精子活力明显降低,由方差分析可以看出,最终温度对精子活力影响较大,不同温度之间的差异极显著($F<0.01$),出现这种情况的原因,可能不是低温打击引起的,极有可能是在降到 -10°C 的过程中,温度下降较慢,引起了冰晶化的产生,造成活力之间的差异极显著。

4.3 纱布层数(降温速度)对精子活力的影响

造成三个处理之间差异不显著的另一个原因可能是由于纱布层数差异较小,对降温速度的影

响不大,这使我们认识到,要用纱布控制降温速度产生显著差异,纱布之间要有足够大的差异。

综合本试验,释液中卵黄的含量对精子有保护作用,但是作用有限,受到多方面因素的影响;当以较快的速度降到 5°C 时,卵黄的低温保护作用受到影响,造成它们之间的差异不显著;另一方面,由试验结果和分析可以看出卵黄对精子有一定的毒害作用,在常温情况下,作用时间越长,其毒害作用越重。液所降温度对低温打击的影响差异极显著($F<0.01$),温度越低,低温打击越严重;在零摄氏度以上时,低温打击造成活力下降,部分精子死亡。由纱布层数控制降温速度时,层数相差应较大,否则效果不明显。

参考文献:

- [1] 谢成侠,刘铁铮. 家畜繁殖原理及其应用(第二版)[M],江苏科学技术出版社,1994,407,423.
- [2] K. F. Weize. 家畜精液保存技术的研究[J]. 国外畜牧科技, 1993, 20(1): 7-8.
- [3] P. I. Marinor, S. A. Bolo 等. 不同稀释液对冷冻后精子受精力影响的比较·家畜繁殖技术研究进展[M]. 科学技术出版社, 1980, 334-336.

(上接第26页)

业部免疫方案中规范免疫猪口蹄疫0型合成肽疫苗后使用VP1-ELISA试剂盒进行检测,免疫猪口蹄疫0型灭活疫苗后使用正向间接血凝试验、液相阻断ELISA试剂盒进行检测。从本次试验数据可以看出,IHA试剂盒不能用来检测合成肽疫苗免疫的抗体,VP1-ELISA试剂盒对合成肽疫苗免疫抗体敏感性高^[10],这也符合农业部免疫方案中的要求。

3.5 在基层防疫过程中,在同一个地区合成肽疫苗和灭活疫苗可能都在使用,这就要求基层防疫员在接种疫苗时一定要做好详细记录,在免疫效果监测时送检的血清样品一定要标记使用的是哪一类疫苗,以方便选择合适的试剂盒进行免疫抗体的科学评价。

参考文献:

- [1] 殷震,刘景华. 动物病毒学[M]. 北京:科学出版社,1997:

479-499.

- [2] 吴清民. 兽医传染病学[M]. 北京:中国农业出版社, 2000:109.
- [3] 陈妍,田宏,吴锦燕,等. 口蹄疫病毒各血清型的世界分布规律[J]. 中国兽医科学, 2011(41): 715-717.
- [4] 张春红,黄毓茂,等. 口蹄疫疫苗研究进展[J]. 畜牧与兽医, 2010, 42(2): 96-99.
- [5] 占松鹤,朱良强,刘华,等. 猪0型口蹄疫合成肽疫苗及猪0型口蹄疫高效灭活疫苗免疫效果对比试验[J]. 中国动物检疫, 2008, 25(10): 22-24.
- [6] 秦荣香,曹玉美,陆江,等. 不同口蹄疫疫苗免疫效果及检测方法评估[J]. 养猪, 2010(2): 62-63.
- [7] 孙龙,曹玉美,伍少钦,等. 3种方法检测猪0型口蹄疫母源抗体消长规律的研究[J]. 养猪, 2015(4): 107-200.
- [8] 项朝荣,王儒磊,赵建东,等. 猪0型口蹄疫疫苗免疫抗体消长动态研究[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(8): 109-111.
- [9] 赵福藏,陈能桥,毛以智,等. 猪口蹄疫0型合成肽疫苗免疫抗体消长规律研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2015(7): 99-100.
- [10] 赵灵燕,吴赞斌,王杭花,等. 0型口蹄疫抗体不同检测方法的检测结果比较分析[J]. 浙江畜牧兽医, 2015, 40(2): 4-6.

基于 16S rRNA 基因的枯草芽孢杆菌 PCR 快速检测方法的建立

李天芝¹, 于新友, 莫玲²

(1. 山东绿都生物科技有限公司, 山东 滨州 256600;

2. 山东省滨州畜牧兽医研究院, 山东 滨州 256600)

摘要: 参照 GenBank 中登录的枯草芽孢杆菌 16S rRNA 基因, 设计 1 对引物, 扩增片段大小为 460bp 的基因片段, 该方法对枯草芽孢杆菌检测的灵敏性为 1pg 总 DNA 量, 对枯草芽孢杆菌 DNA 的扩增结果为阳性, 对照菌株扩增结果均为阴性, 成功地建立了枯草芽孢杆菌 PCR 检测方法。该方法具有快速、灵敏度高、特异性强等优点, 为枯草芽孢杆菌的分离及鉴定奠定了良好的基础。

关键词: 枯草芽孢杆菌; 16S rRNA 基因; PCR; 方法; 建立

中图分类号: S816.7

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2016)01-0030-04

Establishment and Application of 16S rRNA Gene-based PCR Assay for Detection of Bacillus Suhtilis

Li Tianzhi¹, Yu Xinyou¹, Mo Ling²

(1.Shandong Lvdu Bio-Industry Co., Ltd., Binzhou 256600;

2.Animal Science and Veterinary Medicine Academy, Binzhou 256600)

Abstract: A PCR assay for detection of Bacillus Suhtilis was established using a pair of primers based on the 16S rRNA gene of Bacillus Suhtilis. the size of the amplified product was 460bp. and the specificity, sensitivity were studied. This method specifically amplify a fragment from Bacillus Suhtilis, but not from control bacteria. with a detection limit of 1pg DNA of Bacillus Suhtilis. Therefore the established PCR technique provided a sensitive, specific, fast and reliable method for diagnosis and epizootic study of the Bacillus Suhtilis.

Key words: Bacillus Suhtilis; 16S rRNA gene; PCR; method; establish

枯草芽孢杆菌(Bacillus Suhtilis)一种可形成芽孢的好氧革兰氏阳性菌^[1], 该菌具有生长条件简单、耐温度变化、快速复活、快速生长和较强分泌酶等特点。枯草芽孢杆菌是农业部允许作为饲料添加剂的两种芽孢杆菌之一, 在自然界中分布广泛, 易于分离培养, 对人畜无毒无害, 能产生脂肽类、氨基酸和磷脂类等多种抗菌素和酶, 具有广谱抗菌活性^[2], 可改善动物肠道菌群结构, 增强免疫力, 促进生长发育, 提高生产性能^[3]。近年来, 国内外对于枯草芽孢杆菌在饲料加工方面应

用方面有量相关报道。猪饲料中添加一定量的枯草芽孢杆菌, 能增强仔猪免疫力、提高生长性能^[4], 蛋鸡饲料中添加枯草芽孢杆菌, 即能增加种鸡的产蛋量和合格率, 还能提高蛋的受精率、孵化率和健雏率^[5], 肉鸡饲料中添加枯草芽孢杆菌改善其肠黏膜的抗氧化和免疫功能, 从而提高肉鸡的生长性能^[6], 枯草芽孢杆菌添加到奶牛饲料中, 能显著提高奶生产奶性能^[7]。枯草芽孢杆菌添加到兔饲料中, 能显著促进幼兔肠道免疫系统发育^[8]。16S rRNA 基因可作为细菌鉴定的一种靶基因, 在

收稿日期: 2015-11-24

基金项目: 山东省现代农业产业技术体系生猪产业创新团队项目(SDAIT-06-022-15); 山东省现代产业技术体系家禽创新团队生产与环境控制创新团队项目(SDAIT-13-011-10); 山东省现代产业技术体系牛创新团队项目(SDAIT-12-011-12); 山东省现代产业技术体系毛皮动物创新团队项目(SDAIT-18-011-15)

巴氏杆菌、蛭弧菌和链球菌^[9]等细菌种属鉴定方面均有相关报道,本研究根据 GenBank 登录的枯草芽孢杆菌 16S rRNA 基因,设计引物,建立了枯草芽孢杆菌的 PCR 快速检测方法,可快速鉴定临床分离细菌是否为枯草芽孢杆菌。

1 材料与方法

1.1 菌种和试剂

枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、蜡样芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、弗氏弧菌、地衣芽孢杆菌均由本实验室保存。DNA 回收试剂盒和质粒小量提取试剂盒购自生工生物工程(上海)股份有限公司,细菌基因组 DNA 快速提取试剂盒购自北京百泰克生物技术有限公司,马丁肉汤培养基购自北京中海生物科技有限公司,rTaq Polymerase 购自宝生物工程(大连)有限公司。

1.2 引物设计、合成

参照 Genbank 登录的枯草芽孢杆菌 16S rRNA 基因序列(KF641815),用 Primer primer5.0 软件分析后,设计 1 对引物:16S rRNA-F:5'-GGACGGCTGAGTAACACG-3',16S rRNA-R:5'-GACAACGCTT GCCACCTA-3'。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.3 PCR 模板制备

将枯草芽孢杆菌菌种接种马丁肉汤液体培养基,置 37℃ 培养箱中,培养 18~20 h 后,12000 r 离心 2 min,PBS 洗涤 2 次后,参照基因组 DNA 提取试剂盒说明书进行操作,提取细菌基因组 DNA。同时提取其它几种对照菌的 DNA 作为模板。

1.4 PCR 反应体系和程序

分别对 PCR 反应的所用的引物浓度(0.2~1.2 μmol/L,每 0.2 μmol/L 为 1 个梯度)和退火温度(48~58℃ 梯度温度,每 2℃ 为 1 个梯度)进行优化,最后确定的扩增体系为:10×buffer 5 uL,dNTP5uL,引物 16SrRNA-F 1uL、引物 16S rRNA-R 1 uL,rTaq Polymerase 0.5 uL,DNA 模板 1 uL,ddH2O

补至 50 uL。反应程序为:95℃ 5 min,94℃ 3 s,52℃ 30 s,72℃ 30 s,30 个循环。

1.5 PCR 产物电泳检测和测序分析

PCR 反应结束后,取产物 5 μL,进行 1.0%的琼脂糖凝胶电泳检测扩增情况,如果有目的基因扩增条带,用试剂盒回收后,与 pMD18-T 连接,转入大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞内。提取初步鉴定为阳性的重组质粒,并送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。将测得序列与参照的枯草芽孢杆菌序列进行相似性比较。

1.6 特异性检测

分别以提取的枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、蜡样芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、弗氏弧菌、地衣芽孢杆菌等 6 种细菌的基因组 DNA 作为模板,采用已建立的方法进行 PCR 检测。

1.7 敏感性检测

测定制备的枯草芽孢杆菌 DNA 浓度,然后做不同程度的稀释,使 DNA 的含量分别为 10 ng/uL、1 ng/uL、100 pg/uL、10 pg/uL、1 pg/uL 和 0.1 pg/uL,分别取 1 uL 作为模板,按 1.4 优化的方法进行样品的加样和扩增反应。

1.8 重复性检验

为验证该方法的重复性和稳定性,采用建立的方法,分别重复检测 3 次枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、蜡样芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、弗氏弧菌、地衣芽孢杆菌的等 6 种细菌基因组 DNA。

1.9 检测方法的应用

采用已经建立的方法对本实验室已经分离和保存的 42 株疑似枯草芽孢杆菌检测,将扩增的 PCR 产物全部测序,并与 GenBank 公布的序列进行比对和序列分析。并同时参考文献^[11]进行检验,比较二者的符合性。

2 结果

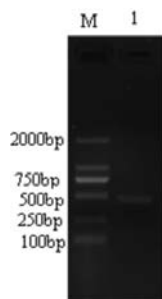
2.1 PCR 产物的检测和序列鉴定

将 PCR 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳检测,

表 1 扩增产物测序结果

```
GGACGGCTGAGTAACACGTTGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACC GGGGCTAA
TACCGGATGCTTGTGTTGAACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACC ACTTACAGATGG
ACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGA
GAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAA
TCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAA
AGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGA
AAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTC
```

结果显示, 在 460 bp 处可见一条特异性目的带(图 1)。PCR 产物与 pMD18-T 连接后, 送公司测序, 测序结果见表 1。将测得序列与 GenBank 登录的序列进行比对分析, 结果显示与枯草芽孢杆菌(登录号:KF641815)相应序列的相似性为 100%。

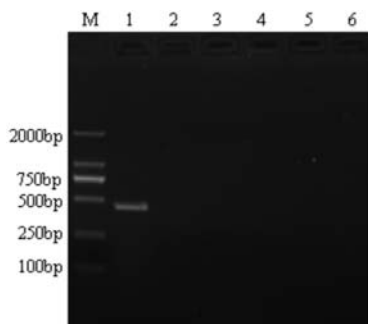


M:DL2000 MarKer, 1: 枯草芽孢杆菌 PCR 扩增

图 1 枯草芽孢杆菌 PCR 扩增结果

2.2 特异性检测

PCR 特异性扩增检测结果显示, 只有以枯草芽孢杆菌 DNA 为模板时才能扩增出 460 bp 的预期目的带, 而对照菌株均无任何条带扩增(图 2)。因此, 建立该 PCR 检测方法特异良好。



M:DL2000 MarKer, 1: 枯草芽孢杆菌, 2: 大肠杆菌,

3: 蜡样芽孢杆菌, 4: 解淀粉芽孢杆菌,

5: 弗氏弧菌, 6: 地衣芽孢杆菌

图 2 特异性试验

2.3 敏感性检测

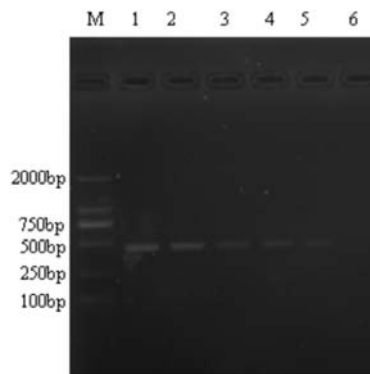
通过 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 扩增产物, 分别取 5 μ L 样品电泳, 结果显示, 该 PCR 方法可检测的枯草芽孢杆菌的 DNA 的最低量为 1 pg(图 3)。

2.4 重复性检验

重复性试验结果显示, 3 次重复试验结果无任何差别, 说明该方法重复性好(图 4)。

2.5 检测方法的应用

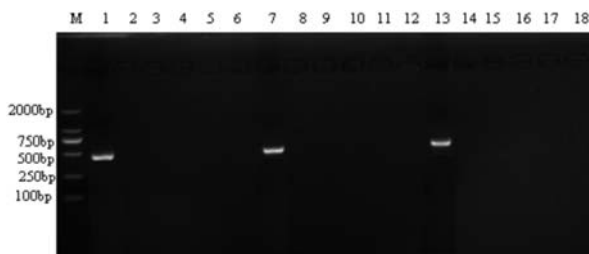
经 PCR 检测和测序知 42 株疑似枯草芽孢杆



M:DL2000 MarKer, 1:10ng DNA, 2:1ng DNA,

3:100pg DNA, 4:10pg DNA, 5:1pg DNA, 6:0.1pg DNA

图 3 敏感性试验



M:DL2000 MarKer, 1: 枯草芽孢杆菌, 2: 大肠杆菌, 3: 蜡样芽

孢杆菌, 4 解淀粉芽孢杆菌, 5: 弗氏弧菌, 6: 地衣芽孢杆菌,

7: 枯草芽孢杆菌, 8: 大肠杆菌, 9: 蜡样芽孢杆菌, 10: 解淀粉

芽孢杆菌, 11: 弗氏弧菌, 12: 地衣芽孢杆菌, 13: 枯草芽孢

杆菌, 14: 大肠杆菌, 15: 蜡样芽孢杆菌, 16: 解淀粉芽孢杆菌,

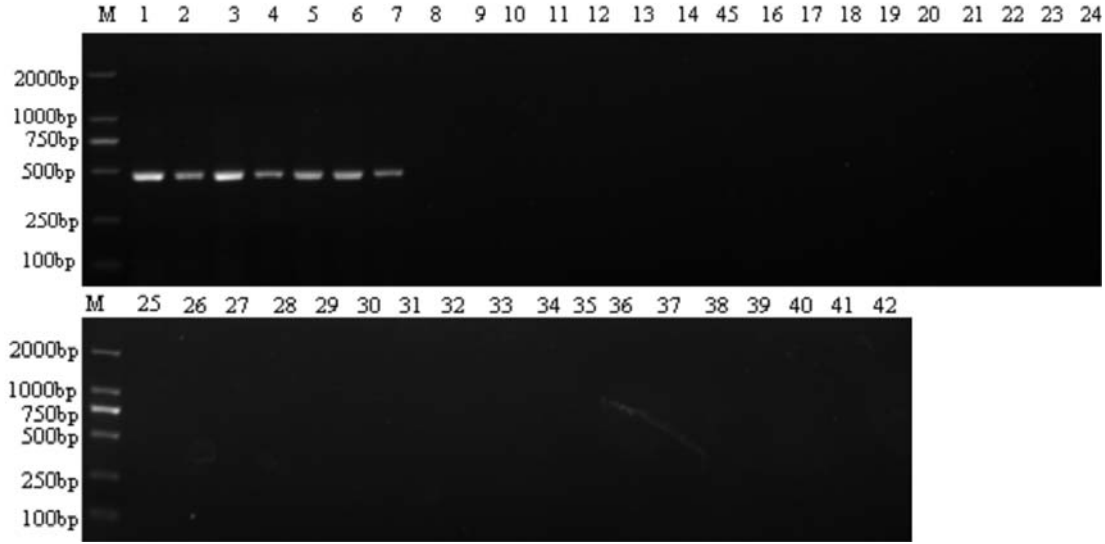
17: 弗氏弧菌, 18: 地衣芽孢杆菌

图 4 重复性试验

菌分离菌中有 7 株为枯草芽孢杆菌, 与采用相关国家标准的检测结果完全一致(图 5)。

3 讨论

传统的枯草芽孢杆菌实验室检测方法(病原分离与生化鉴定等)操作烦琐、耗时长、费用高、准确性差, 不能满足基层工作者对枯草芽孢杆菌的快速和准确鉴定的需求。PCR 方法以其特异性好、敏感性高和快速的特点已经广泛用于细菌菌种鉴别、疾病临床诊断和土壤微生物等多种领域。本研究通过对 Genbank 中枯草芽孢杆菌 16SrRNA 基因序列分析, 设计引物, 建立了检测枯草芽孢杆菌 PCR 方法。该法特异性好, 只对枯草芽孢杆菌 DNA 有扩增反应, 对枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、蜡样芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、弗氏弧菌、地衣芽孢杆菌等 6 株对照菌的均无扩增反应。敏感性高, 可检测的枯草芽孢杆菌的 DNA 的最低量为 1 pg。应用该法对 42 株临床分离菌进行检测, 结果检测出 7



M:DL2000 MarKer,1-7:1-7 号分离菌,8-42:8-42 号分离菌

图 5 检测方法应用

株枯草芽孢杆菌,与参照国家标准的结果完全相同,该方法具有检测速度快、灵敏度高、特异性强、成本低等优点,采用该法可对畜禽饲料中添加的枯草芽孢杆菌的快速检测和鉴别,能快速地从事体和复杂环境分离的多种细菌中鉴定出枯草芽孢杆菌。

参考文献:

[1] 惠明, 窦丽娜, 田青, 等. 枯草芽孢杆菌的应用研究进展[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(27): 11623-11624.
 [2] 宫宇飞, 乔红萍, 魏国荣, 等. 内生枯草芽孢杆菌 E1R-J 发酵条件的优化[J]. 西北农业学报, 2008, 17(1): 61-64.
 [3] 李晶, 杨谦. 生防枯草芽孢杆菌的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(1): 106-111.
 [4] 祝天龙, 李奎, 邵强, 等. 枯草芽孢杆菌制剂对仔猪生长及免疫的影响[J]. 饲料研究, 2015(3): 26-31.
 [5] 刘影, 田国民, 张峥, 等. 枯草芽孢杆菌对蛋鸡生产性能的影响[J]. 饲料工业, 2010, 31(16): 33-34.
 [6] 李卫芬, 文静, 吴红照, 等. 枯草芽孢杆菌对肉鸡生长性能和肠黏膜抗氧化及免疫功能的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2011,

47(9): 58-61.
 [7] 王振华, 潘康成, 张均利, 等. 枯草芽孢杆菌制剂在奶牛生产上的应用研究[J]. 饲料广角, 2005, 19: 31-32.
 [8] 汤际亮, 张煜坤, 孙得发, 等. 獭兔盲肠中枯草芽孢杆菌和解淀粉芽孢杆菌的分离鉴定[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2013(19): 149-151+179.
 [9] 侯晓丽, 陈智. 分类及鉴别细菌的新靶标-16SrRNA 基因[J]. 国外医学流行病学传染病学分册, 2005, 32(2): 38-41.
 [10] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T26428-2010 饲用微生物制剂中枯草芽孢杆菌的检测[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
 [11] 陈江, 冉雪琴, 王嘉福. 香猪肺源性枯草芽孢杆菌的分离鉴定及体外抑菌作用[J]. 贵州农业科学, 2015, 43(6): 108-112.
 [12] 王彬, 曹允考, 魏亚松, 等. 鸡肠道枯草芽孢杆菌的分离鉴定及生物特性研究[J]. 饲料博览, 2014(2): 1-6.
 [13] 温建新, 任慧英, 刘文华, 等. 荷斯坦成年奶牛枯草芽孢杆菌的分离与鉴定[J]. 青岛农业大学学报(自然科学版), 2015, 32(1): 19-21+26.
 [14] 李桂杰, 张钧利. 动物微生态制剂的研究进展[J]. 饲料工业, 2000, 21(11): 16-18.
 [15] 张以芳. 微生物饲料的应用现状及前景[J]. 中国饲料, 2001, 1(3): 12-13.

关于《广东畜牧兽医科技》新增主办单位的公告

因期刊发展需要,《广东畜牧兽医科技》杂志新增主办单位 1 个,原组成主办单位变更后为:广东省农科院彩田农业科技信息中心、广东省畜牧兽医学会、广东省农业科学院动物科学研究所、广东省农业科学院动物卫生研究所;原地址变更为广州市天河区五山金颖路 31 号。为本刊的编辑、出版、发行等工作能顺利开展,现已按新的变更事项执行工作。特此公告!

观赏龟的家庭健康饲养

刘清神, 钟智康, 韦泽欧

(华南农业大学动物科学学院, 广东 广州 510642)

摘要: 龟是我国传统的观赏动物, 具有独特的形态和憨厚稳重的姿态, 温顺的性情和耐饥渴的习性, 饲养起来比猫狗等哺乳类宠物更为方便省钱。龟不但有很高的观赏价值, 还有食用价值、药用价值、文化价值、研究价值, 此外龟在中国传统文化中象征着长寿与祥瑞, 因此广受欢迎, 开始走进千家万户。由于龟的新陈代谢慢, 寿命较长, 能长时间忍受饥渴而不死亡, 所以许多人的认识里龟都是生命力极强的生物, 饲养起来并不难。但实际上大部分龟的生命力并没有人们想得那么强悍, 环境温湿度的不合适或剧烈变化, 食物变质或营养不均衡, 过度把玩等因素, 都会造成龟生病甚至死亡。养龟好处多, 但要养好龟还是有学问的, 本文介绍观赏龟的家庭一般饲养管理方法与常见疾病的防治, 助你养好爱龟。

关键词: 龟; 家庭饲养; 疾病防治; 挑选; 误区

中图分类号: S966.5

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2016)01-0034-05

观赏龟具有体型较小, 性情温顺, 色泽艳丽且养护方便等特点。龟饲养简单, 打理方便, 占用空间少, 是作为家庭宠物的不二选择。龟虽然容易饲养, 但并不代表饲养者就能缺少对龟的了解。想养好龟, 必须下一番功夫。

此外, 家庭养龟好处多多。一是观赏怡情, 提高人们的生活趣味; 二是以龟会友, 目前我国已有众多的龟友交流会, 龟友们通过龟为媒介, 共同拥有爱龟、养龟、护龟的信念, 促成深厚的友谊; 三是科普教育, 养龟对龟的各种知识的掌握和交流, 能起到很好的传播和教育作用; 四是增加收入, 龟不仅具有观赏价值, 更有食用药用以及科研等价值, 是一项理想的投资项目, 家庭饲养观赏龟能增加收入^[1]。

1 认识龟类

1.1 龟的身体结构

龟整体结构可分为头颈部, 躯干部, 四肢和尾部。龟四肢粗壮, 有坚硬的龟壳, 头、尾和四肢都有鳞。从外观看, 龟最特别的莫过于它的壳, 这其实是它们在进化过程中, 骨骼发生变化而形成的一种保护结构。

龟的头部较小, 略呈三角形。口内无齿, 但上下有角质颚缘, 质地坚硬, 可用于撕咬食物。有上下眼睑, 无外耳道, 仅有鼓膜, 位于眼后。

躯干部主要包括“龟壳”, 壳由腹甲、背甲和甲

桥构成。龟的壳由盾片和骨板组成, 较为坚硬、厚实。

龟的尾部长短与形态各不相同, 多数龟尾部细而短, 呈圆锥形, 少数龟尾部较长, 如鳄龟和鹰嘴龟。此外尾部也区分雌雄的一个重要标志, 雄性尾巴粗且长, 泄殖孔离尾巴根部较远, 且腹甲内凹。雌性尾巴细短, 泄殖孔位于或靠近尾巴根部, 腹甲平坦。

因栖息地的不同, 龟的四肢也为适应环境而演化出不同的形状, 因此可利用这点来判断龟的栖息环境。根据龟的自然生态类型、生活习性把龟分为海龟、水栖龟、半水栖龟、陆龟。海龟四肢呈桨状。陆龟四肢呈圆柱状。水栖龟指间有蹼, 且发达, 用于划水。半水栖龟指间蹼较小。

1.2 龟的习性

龟是变温动物, 对环境温度的变化敏感。环境的温度会影响它们的活动与摄食, 环境温度的不合适会导致龟生病, 甚至死亡, 因此控制饲养环境的温度显得尤为重要。一般龟最适温度为 28~30℃。大部分龟有冬眠的习性, 少部分生活在热带的龟类则没有。当温度降低至 15℃时, 龟停止进食, 活动减少; 当温度降至 10℃, 龟则进入冬眠状态。大部分龟有晒背的习惯, 有利于龟对钙质的吸收利用, 促进生长。龟生性胆小, 喜欢安静的环境, 环境嘈杂容易令龟紧张, 出现拒食现象, 饲养时应

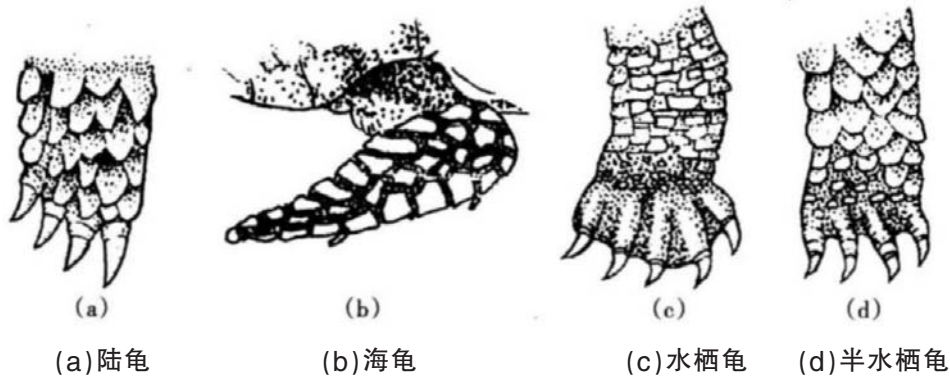


图 1 不同龟类的四肢形态

注意尽量保持饲养环境安静。

2 饲养准备

2.1 龟品种的选择

市面上有售的龟鳖种类很多,应挑选适合自己家庭条件饲养的种类。作为一名合格的饲主,在购买前应做足功课,对要购买的龟有充分的认识,考虑自身条件能否满足其生长所需,了解其成体后的体形,以便判断能否给它足够的空间。如亚洲巨龟,生长迅速,短短几年便可长成长 40 cm,重 10 kg 的体型,一般家庭无条件饲养。因此切勿图一时新鲜,购买不适合一般家庭环境饲养的龟鳖种类。

2.2 饲养环境的设置

2.2.1 家庭饲养观赏龟的主要形式 家庭饲养观赏龟的主要形式有室内饲养、庭院饲养和楼顶饲养。室内饲养观赏龟。水栖龟和半水栖龟可用观赏玻璃鱼缸饲养,可在缸内铺底石、种植水草和布置固定景物,增加观赏性;庭院饲养观赏龟。可在庭院里建造龟池,建造龟池时首先要考虑到龟池的安全性,注重防护措施,观养池内设泄洪口,以免大雨时池水溢出,让龟顺水逃跑。其次是美观,龟池建造时考虑水陆景观的设置,可在其中栽种植物,建假山,修小水塘,增加观赏性;楼顶饲养观赏龟。利用楼顶的空闲空间建龟池进行饲养,其建造龟池与庭院饲养类似,可用于饲养大型的陆龟^[1]。

2.2.2 饲养环境 水栖龟饲养环境。水栖龟是市面上最常见的一类龟,意为终生生活在水里的龟,如枯叶龟,用鱼缸或水池饲养,到繁殖产蛋时再移到半沙半水的环境中饲养。多数水龟都有上岸晒背的习惯,可设置陆地或晒背台。要求水质相对清

洁,水温稳定和适宜的光照。

半水栖龟饲养环境。饲养环境设置为水区与陆区,大部分半水栖龟水性不佳,水区处最大水深以刚刚没过背甲为宜。需要相对清洁的水质,适宜的光照和稳定的温度,同时定期清理陆区底材。

陆龟饲养环境。陆龟终生生活在陆地,不会游泳,但这并不代表陆龟不喜欢水,相反大部分陆龟都很喜欢泡澡,所以应提供泡澡盆和水盘。此外陆龟需要较大的饲养空间,利于生长发育,同样需要稳定的温度与适宜的光照。

3 龟的挑选

能否养好龟,挑选一只健康的龟是第一步。以下是一些挑龟的要点,满足所有要点的龟,就是一只健康的龟。(1)首先检查整体外观完整性,以无外伤、溃烂、寄生虫者为佳;(2)用手指轻捏龟的四肢、尾巴,以反应敏捷,四肢收缩迅速、有力者为佳;(3)看龟的尾巴和大腿骨边的肌肉和皮肤,以丰润、饱满者为好;(4)看龟的眼睛是否转动自如、清晰透明,以灵敏有神者为佳;(5)将龟翻转,腹部朝上,以能伸出头来灵活翻身恢复原位者为好;(6)将龟置于水中,反复多次,浮在水面不动者欠佳,而沉在水底划游者为最好;(7)龟体外形美观、色实者为佳,要提防使用颜色涂料以假充真者;(8)手感龟的重量未减轻,爬动生猛者为佳;(9)龟腹板皮下无充血、无淤血斑点为好^[4]。

4 饲养与管理

4.1 新龟的“驯化”

刚刚买回来的龟由于运输途中的颠簸以及对陌生环境的惧怕,一般会缩在壳中,拒绝进食。因此龟需要一个适应期,时间长短不一,一般在两周内。在适应期期间,尽量减少对龟的打扰,为龟设

置一个较暗而安静的环境,增加龟的安全感。放入少量适合其食性的食物,耐心观察其进食情况,一般一周内,龟就会主动进食,到时可以亲手喂食龟,让其熟悉主人。若两周内仍不主动进食,可进行填食,强行把食物塞入龟的嘴中,然后把龟放下,让其自行吞咽,每次三块较小的食物,一天一次,一般填喂一周后可自行进食,但也有时间更长的。填食时应注意手法,不能伤及龟的口腔,最好在有经验的饲养者的指导下进行填食。刚买回来的龟要隔离饲养两周,确认无疾病和寄生虫后,方可放入龟池中与其他龟一起饲养。同时注意不同种类龟的混养问题,不同种类的龟性情存在差异,所以性情凶猛的龟不宜与其他种类的龟混养,避免撕咬造成的不必要损失,比如鳄龟就不适合与其他品种的龟混养。

4.2 龟的喂食管理

水栖龟和半水栖龟可投喂瓜果蔬菜、鱼虾和生肉,陆龟则投喂蔬菜水果。为保持营养的均衡,可投喂人工配合饲料。投喂的食物要新鲜卫生,喂食量应以半小时内食净为宜,并及时清理出没吃完的食物。稚龟和幼龟可一天一喂或一天两喂,成龟可两天一喂。

4.3 龟的饲养环境管理

龟是变温动物,新陈代谢受环境温度影响。因此,环境管理因素中,温度的控制最为重要,温度的不适宜或剧烈变化,都会造成龟生病甚至死亡。 $28\sim 30^{\circ}\text{C}$ 是多数龟最佳的适宜温度。龟的饲养环境不可忽冷忽热,否则容易引起感冒及消化道疾病,要保持相对稳定的温度。可用日光灯或UVA灯进行加热。

适宜的光照可以促进龟对钙的吸收,有利于生长发育,同时能起到杀菌作用。应至少确保每天有 $30\sim 60$ 分钟的适宜光照,因条件不足不能提供适宜光照的,可以用UVB灯提供龟所需紫外线。切记不可把龟置于正午阳光底下曝晒,曝晒会令龟体温过高而亡。

饲养水栖龟和半水栖龟的水要保持相对的干净,需要定期换水,但不能过于频繁。夏天3天一换,春秋季节 $5\sim 7$ 天一换即可,如果池中饲养的龟数量较多,可以酌情增加换水次数,但切勿一天多换。换水时要注意龟池中的水与注入的新水温度不能相差太大,防止水温大幅度变化,造成龟感冒。其次自来水中含有各种化学物质会对龟造成

刺激,尤其是幼龟,使龟患上皮肤病。所以自来水需要在阳光下曝晒3天或加入净水剂,除去水中的氯后,方可注入龟池。

4.4 龟的繁殖管理

多数龟要4年以上才性成熟,陆龟甚至需要10年以上。每年 $5\sim 10$ 月为繁殖季节。交配期间,雄龟会在水中追逐雌龟。交配时雄龟会爬到雌龟背甲上,用前爪钩住雌龟的背甲前缘进行交配。龟一般在夜晚于沙地中挖坑产卵。待龟产卵离去后,轻轻挖开沙土,取出龟卵。用蛭石或沙土作为孵化材料,用水混湿,润湿孵化材料,以用力挤压而不出水为宜。将采回的龟卵排放在铺有 $5\sim 10\text{ cm}$ 孵化材料的容器中,再向卵上撒放 3 cm 左右厚的孵化材料,箱内湿度调节到 $80\%\sim 90\%$,保持温度 $28\sim 30^{\circ}\text{C}$ 。条件允许,可用专业爬宠孵化箱进行精密控温孵化。3天过后,可检查龟卵是否受精。龟的正常受精卵外表可见一个椭圆形或带状白色亮区(即受精斑),及时清理出没受精的龟卵。龟的种类不同,蛋的孵化时间也存在差异,一般需要 $55\sim 110$ 天的时间。此外孵化温度对孵化时间亦有影响,一般温度较高,孵化时间缩短,而孵化温度较低则孵化时间延长。

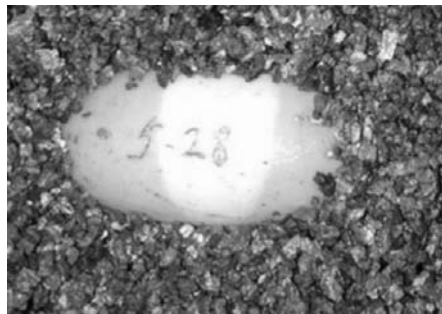


图2 白色带状区域为受精斑

一些顾客在挑选小龟时成双成对,满足了他们对于宠物的热爱和想要自己孵化繁殖的需求。根据龟类属于温度依赖型性别决定^[6],在孵化时使用专业的孵化箱并通过调节温度来决定幼龟的性别,能很大程度上解决幼龟无法断定公母的问题。

4.5 龟的越冬管理

冬眠是龟抵抗冬天恶劣环境的自我保护机制,也是诱发发情的必经阶段,但并不是所有龟都

需要冬眠。生活在热带的龟,没有冬眠的习性,冬天需要加温饲养。而对于有冬眠习性的龟,当温度降至 15°C 时,龟停止进食,活动减少,当温度降至 10°C ,龟进入冬眠状态。龟在冬眠前要储备足够的脂肪越冬,冬眠前三个月可以增加喂食次数和喂食量。在冬眠前10天左右停止喂食,最后三四天泡温水刺激龟排便,清空肠道,把留在肠道内的粪便排干净,以免长时间停留在肠道里引起肠道疾病。切记在冬眠期间,如出现气温回升使龟类苏醒的情况,切勿喂食,需直至气温回暖稳定才能恢复喂食。龟的冬眠窝可以用湿润的沙子(沙土混合物更好)或湿润的椰土,并保持湿润。冬眠温度为 $5\sim 10^{\circ}\text{C}$ 。对于病龟、幼龟或虚弱的龟,由于抵抗力差,不进行冬眠,需要加温饲养。

5 龟的常见疾病与防治

对于龟的疾病,以预防为主,治疗为辅。保持环境清洁,水质洁净,温度稳定与提供适宜的光照。以下是一些常见的疾病:

5.1 腐皮病

龟类常见疾病之一,因外伤或长期浸泡于污水中,龟的皮肤不适应水质而导致皮肤腐烂、组织坏死等现象,患病严重的龟带有一股腐臭味。主要在皮肤表面,若不及时处理,会蔓延为腐甲、肌肉腐烂、骨骼外露、内脏溃烂,最终导致死亡^[2]。首先清除息处的病灶,用金霉素软膏涂抹,每天1次。若龟自己进食,可在食物中填加土霉素粉;若龟已停食,可以把病龟放在有少量土霉素的水里,水不要太多,浸泡半小时后干养,或者用金霉素软眼药膏涂抹。保持水质干净,适宜的饲养密度即可预防腐皮病。

5.2 烂甲病

龟类常见疾病之一,由于甲壳受磨损,细菌侵入或龟不适应水体而造成甲壳溃烂。病龟的盾甲片下部出现软组织感染腐烂,甲壳的表面溃烂。严重者形成孔洞甚至可见到肌肉,个体带有腐臭味。治疗不及时会导致甲片脱落,骨骼受损,直至内脏感染而亡。将病龟的病灶剔除,用双氧水擦洗患处,再用红霉素软膏涂抹患处。

5.3 白点病

由水体中真菌感染所致。病龟体表有点状白色突起,剔去白点突起后,突起下面有小坑洞。该病后期病龟全身布满白点,并引发腐皮、烂甲等病症^[2]。该病多发于稚龟且死亡率高。先除去白点,

然后把龟浸泡在抗生素溶液中,每次浸泡30分钟,一天1~2次,再用紫药水涂抹患处。保持饲养环境的清洁,可用紫外线灯进行定期杀菌。

5.4 感冒

温度骤变是诱发该病的主要原因。病龟鼻内有黏液流出,常张口呼吸,食欲下降,应及时治疗,以免引发肺炎^[2]。将环境温度稳定在适宜温度范围内或略高于适宜温度,可用抗生素与维生素溶液浸泡病龟。严重的可进行肌肉注射抗生素,每天一次,连续三天。

6 常见观赏龟介绍

6.1 中华草龟

中华草龟又叫乌龟、草龟、金线龟,是我国分布范围最广,数量最多的龟种。中华草龟体为长椭圆形,背甲稍隆起,有三条纵棱,脊棱明显。头顶黑橄榄色,前部皮肤光滑,后部其细鳞。腹甲平坦,后端具缺刻。颈部、四肢及裸露皮肤部分为灰黑色或黑橄榄色。雄性体型较小,尾长,有臭味。雌性背甲由浅褐色到深褐色,腹甲棕黑色,尾较短,体无异味。头、颈侧面有黄色线状斑纹,有三条纵向的隆起,后缘不呈锯齿状;雄性背部为黑色或全身黑色,雌性为棕色,腹面略带一些黄色,均有暗褐色斑纹;四肢比较扁平,有爪子,趾间具有全蹼。杂食性,能很好适应人工环境。

6.2 中华花龟

中华花龟又称花龟、斑龟、珍珠龟、长尾龟。它的头部,颈部和四肢暴露的皮肤上都长着亮绿色和黑色的细条纹,故称“花龟”。腹甲棕黄色,每一甲片具有一块大墨渍状斑块,两侧有圆珠状圈斑,故名“珍珠龟”^[5]。花龟水栖性强,喜欢生活在水里,容易出现皮肤及龟壳的溃烂,因此花龟对水质的要求相对较高,自来水需要晾晒或烧开后再使用。

6.3 密西西比红耳龟

密西西比红耳龟又称为红耳龟、巴西龟,原产地在于美国南部及墨西哥东北部。被称作红耳龟是因为其头顶后部两侧有2条红色粗条纹。有许多人都觉得很奇怪为何原产于美国的红耳龟竟然称为巴西龟。它们与巴西毫不相干。其实台湾最早期进口的龟类确实是原产南美的巴西龟,牠们的体色外型几乎与红耳龟相同,只是少了红耳龟的红斑。后来因为成本过高及运输问题而被红耳龟取代,但名称上就仍沿用巴西龟至今^[5]。

巴西红耳龟的头部宽大,头颈处有数条黄色纵条纹,眼后有一对红色条纹。背甲扁平,呈绿色,腹甲淡黄色,幼年时有圈状斑纹,成年则变为大块黑斑。四肢淡绿色,有灰褐色纵条纹,指、趾间具蹼。有群居习性,喜阳光,晒背习性较其它龟类强。巴西红耳龟繁殖能力与适应能力强,生长迅速,食性广。因大量掠夺本土龟种的生存资源被列为世界最危险入侵物种之一。饲养此龟不能放生。

6.4 小鳄龟

小鳄龟又叫蛇鳄龟、美国蛇龟、平背龟,是一种大型龟,一般背甲长可达 50 cm,是常见肉用龟。小鳄龟头部呈三角形,颈部有棘状,头部不能完全缩入壳内。背甲宽短,成体背甲棕褐色而幼体则呈黑色,每块盾片都有棘状突起,背甲后缘呈锯齿状。腹甲较小,呈十字状,四肢肥大且粗壮,表皮不规则的散布小的疣粒,趾、指间具有蹼。尾部较长,覆有环状鳞片,尾中央有刺状棘,似鳄鱼的尾。小鳄龟完全水栖,只有产卵才上陆地活动。小鳄龟生长速度快,体型大,食量大,性情凶猛,饲养前应认真考虑,不可放入野生环境中,以免造成物种入侵。

6.5 缅甸陆龟

缅甸陆龟,主要栖息于热带和亚热带山地、丘陵地区,耐热性强。主食植物性的饵料,以植物的茎、叶、果实等为食^[5]。缅甸陆龟属体形较大的龟类,成体体长可达 20 cm 以上。头部黄色,背甲淡黄色带有黑色斑纹,背甲高拱。四肢粗壮,圆柱形,

有爪无蹼,适于陆地行走。

6.6 黄喉拟水龟

黄喉拟水龟,又叫石金钱,产于中国、越南、日本等地,因产地不同其底板黑斑有所区别,头背从金色到褐色都有,头小,头顶平滑,橄榄绿色,上喙正中凹陷,鼓膜清晰,头侧有两条黄色线纹穿过眼部,喉部淡黄色。背甲扁平,棕黄绿色或棕黑色,具三条脊棱,中央的一条较明显,后缘略呈锯齿状。腹甲黄色,每一块盾片外侧有大墨渍斑。四肢较扁,外侧棕灰色,内侧黄色,前肢五指,后肢四趾,指趾间有蹼,尾细短。龟甲长大约 15~20 cm,饲养简单,民间认为该品种龟与金钱龟一样拥有助饲养者提升财运与事业运的风水功效,深受玩家的喜爱。

参考文献

- [1] 赵春光,黄利权.观赏龟饲养与防病手册[M].北京:中国农业大学出版社,2012(12).
- [2] 赵润龙,林向博,张斌.图说观赏龟的饲养[M].上海:上海科学技术出版社,2011(8).
- [3] 周婷,陈如江,林海燕.轻轻松松学养龟[M].北京:中国农业出版社,2010(8).
- [4] 抓住这一点,让你选到好龟苗:http://mp.weixin.qq.com/s?__biz=MjM5MDI2MTIwMQ==&mid=200432243&idx=1&sn=6311793f581ca5914b10f005f1c864a9#rd.
- [5] 常见观赏龟介绍:<http://www.xhjinqiangui.com/shownews.asp?bc=%E9%BE%9F%E6%96%87%E5%8C%96&id=195>.
- [6] 龚世平,史海涛,徐汝梅.龟类温度依赖型性别决定的保护生物学意义[J].生物学通报,2005,03:8-9.

维生素对家兔的作用

维生素对家兔的营养有至关重要的作用。

维生素 A:是维持呼吸、消化、生殖系统上皮细胞健康,增强对传染病抵抗力,促进生长,刺激食欲,有助于繁殖和泌乳,维持正常视力,防止夜盲症所必需的。

维生素 D:参与钙、磷代谢的调节,增加钙、磷吸收,促进骨骼和牙齿正常发育,包括胎儿骨骼发育所必需。

维生素 E:维持正常生殖机能,防止肌肉萎缩,参与组织细胞的呼吸过程以及磷酸化反应,核酸代谢和维生素 C 的合成,具有抗氧化作用,保护红细胞免于溶血。

维生素 K:形成凝血酶原,是凝血所必需的,对减少球虫病的危害有积极作用。

维生素 B1:主要功能是维持神经正常机能,参加蛋白质代谢的氨基酸转移过程,在抢救治疗下痢病兔时,有辅助作用。

(信息来源:中国农业推广网)

一例猫胸腰联合椎体粉碎性骨折的探讨

李少川¹, 石达友², 吴玄光³, 陈义州^{*}
(华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

摘要: 随着伴侣宠物的饲养数量越来越多, 椎体骨折疾病也随之增长, 本文结合临床病例, 阐述了骨螺钉结合骨水泥新型技术的生物力学原理、手术方案及其临床应用前景等内容, 为临床上治疗椎体骨折病例提供参考。

关键词: 椎体骨折; 生物力学; 骨水泥

中图分类号: S857.16+4

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2016)01-0039-03

胸腰联合椎体粉碎性骨折属于完全性椎体骨折, 本型骨折的骨折片易侵入椎管, 椎体的稳定性结构受到了破坏, 导致了脊髓和脊神经根受到压迫, 表现出本体反射减弱或者消失, 压力性尿失禁。椎体粉碎性骨折多因创伤所致, 创伤的方向可以通过 X、Y、Z 轴, 脊柱有六种运动, 在 Y 轴上有压缩、牵拉和旋转, 在 X 轴上有屈、伸和侧方移动, 在 Z 轴上则有侧屈和前后方向移动。有三种力量可以作用于中轴: 轴向的压缩, 轴向的牵拉和在横面上的移动。现通过骨螺钉做椎体融合结合骨水泥固定的手术方案治疗, 病例介绍如下。

1 病例介绍

家猫, 1 岁, 公猫, 未绝育, 疫苗免疫记录全。2015 年 4 月, 就诊前一天上午, 与猫追逐时从 7 楼掉落, 无法站立, 一直疼痛嚎叫, 双后肢深层痛觉消失, 无法控制排尿和排粪, 皮下出血。

2 临床检查

2.1 理学检查

触诊检查发现, T11-L3 附近区域, 疼痛明显, 有骨摩擦音, 腹围变大, 膀胱胀大出现尿滞留, 神经学基本检查发现, 后肢深层痛觉消失, 肌张力消失, 肛门反射消失。

2.2 影像学检查

X 线侧卧位摆位拍摄和仰卧正位拍摄, 使脊椎自然成直线(见图 1 和图 2)。

3 诊断结果

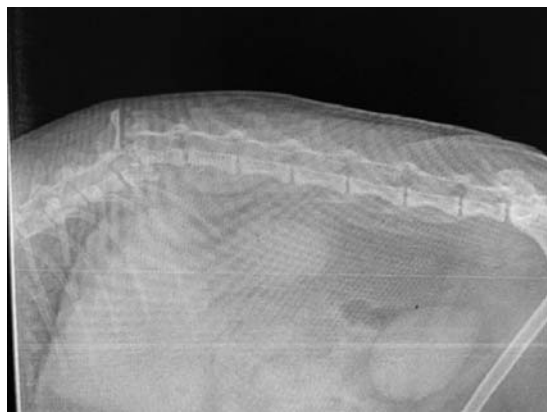


图 1 侧卧位拍摄影像结果



图 2 仰卧位拍摄影像结果

根据其理学检查和影像学检查结果, 椎体碎裂成 3 片, 后一椎体骑跨在前一椎体上, 胸腰联

合区域出现骨摩擦音、疼痛明显、膀胱内尿潴留、双后肢深层痛觉消失,诊断为胸腰联合椎体性骨折。

4 治疗

4.1 术前准备和检查

术前检查给予止痛处理,由于该病是高空坠落引起,使用超声扫查内脏器官的完整性,脾脏、肝脏、膀胱,采集血液样本做CBC和血液生化检查,调整离子等生理指标到正常可以手术操作的条件。使用无菌记号笔,标记手术的位置,定位准备切口位置。

4.2 术前用药

动物在手术前,建立静脉通路同时给予类固醇药物,泼尼松 30 mg/kg,保护脊髓在手术中操作时引起的损伤。术前1小时静脉通路输液,防止术中出现低血压的情况。

4.3 手术过程

动物腹卧位保定,使用柔软的棉布卷固定脊椎,使整个椎体保持一条直线,并使用胶带前后粘合,使胶带前与T1及棉布卷贴紧,胶带后与T7及棉布卷贴紧,备皮长度从T1-L7,宽度到胸腹部交界位置,清洗消毒,手术刀口选择,延T10平行脊突至L3。使用高频电刀切开脂肪,在切口的同时使用吸引器吸引出血点,切开外层筋膜,延脊突垂直发力^[1],使用骨膜剥离器贴皮质骨分离到椎体侧椎板的关节面和小关节突的位置,使用椎体前路牵开器,在T12处和L3处,放置两个牵开器暴露出最大的术野,使用咬骨钳咬掉L1的脊突,取出椎体碎片,取出椎体碎片的同时,避免破坏神经根及血管窦,当黄韧带被破坏后,椎体会变的更加不稳定,使用点式的持骨钳,夹住T12中部位,使用椎板钳,把前后椎体的背侧椎板完全清理干净,暴露出脊髓(见图3),并融合T12与T13,使用点式持骨钳夹住L2椎体中部位,先反方向牵引,然后解剖结构复位,助手保持复位位置,使用电钻在椎体小关节突下,与椎体成45度的角度,选用0.8系统钻头打孔,使用1.5系统螺钉拧入椎体孔内,螺钉留出5~8 mm长度,在T12与L2的椎体的两侧,以同样的方式安装两对螺钉。使用骨针折弯成钩状卡在螺钉上,因跨椎体融合,单纯的使用骨水泥,不易复位,搅拌骨水泥,在椎体的两侧固定螺钉,形成桥联结构(见图4),在粘合骨水泥后,要使用生

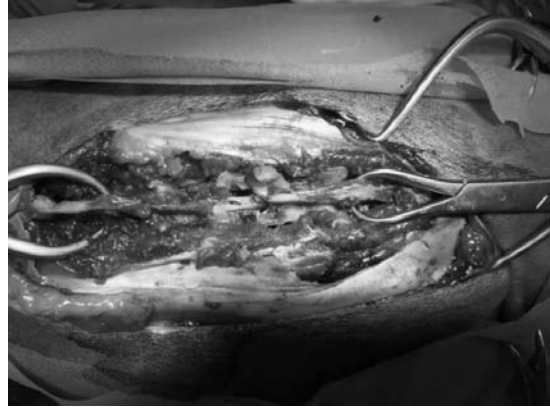


图3 深椎板切除后的脊髓

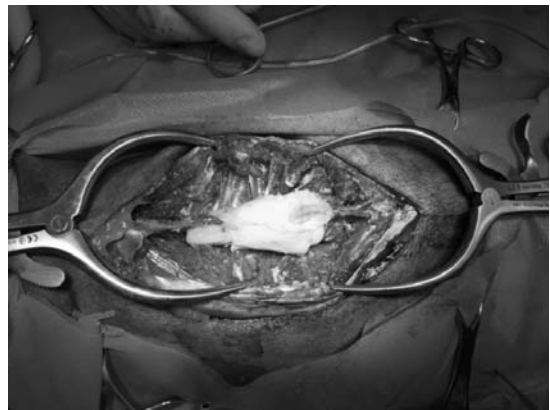


图4 骨水泥桥联结构

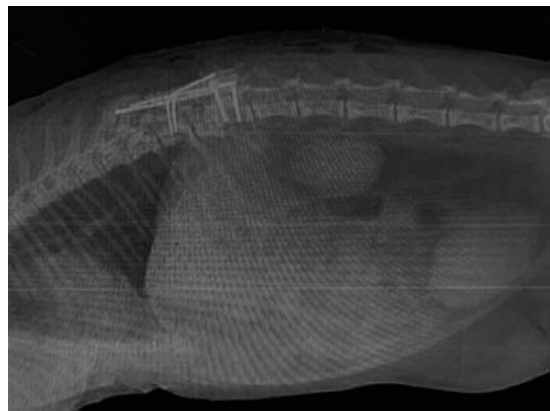


图5 术后侧卧位拍摄影像结果

理盐水降温,以免热损伤脊髓。

4.4 术后影像学检查

4.5 术后护理与恢复情况

术后,使用外固定夹板辅助椎体的稳定性(见图7),连续使用一周抗生素头孢唑啉 30 mg/kg,泼尼松 5 mg/kg,痛立定 0.1 ml/Kg,每天观察尿量尿色及粪便情况和变化。术后半个月复诊,在辅助吊带的牵引下可以缓慢站立行走,尿液排出控制好转(见图8)。



图6 术后正位拍摄影像结果



图7 辅助夹板



图8 复诊情况

5 小结与讨论

脊髓损伤是椎体粉碎性骨折后最常见的并发症,脊髓损伤常常是局部的,而损伤后在局部有大量儿茶酚胺类神经递质如去甲肾上腺素、多巴胺等的释放和蓄积,使脊髓局部微血管痉挛、缺血,血管通透性增加,小静脉破裂,产生出血性坏死。所以在整个治疗过程中应该注意以下几个方面,首先,脊髓减压是治疗椎体粉碎性骨折的重要组成部分,单纯的固定、融合椎体,是无法达到理想的治疗效果,可能会让病情进一步恶化,一般采用背侧深椎板减压的术式,因此这种术式可以尽可能多的曝露出脊髓及神经根,解除

椎体碎片对脊髓的压迫情况。其次,在植入骨螺钉之前,应该准确的测量椎体的长度和宽度,以往采用的骨针植入椎体的固定方式,因骨针没有螺纹,常常会出现脱针松动的现象,植入骨螺钉时,要找到合适的入针位置及角度,胸椎 25~30 度左右,腰椎 40~60 度左右,根据实际情况调整方案。最后,骨水泥是一种常用的骨科植入材料,但是其副作用会产生细胞毒性,如进入血液会导致血压下降,脉搏加快,甚至心脏聚停的情况出现,在植入骨水泥时,密切监控动物机体的生理指标。骨水泥的凝固过程,是从液态到固态的过程,在液态时,应注意避免水泥流入椎管内,造成对脊髓的压迫,在水泥凝固时会产热,使用大量的灭菌生理盐水喷洒降温,避免对脊髓产生热损伤。

参考文献:

- [1] Deramond H, Depriester C, Toussaint P, et al. Percutaneous Vertebroplasty[J]. *Semin Musculoskelet Radiol*, 1997, 1(2): 285-296.
- [2] Gregg H, Zoarski, Paige Snow, Wayne J. Olan, et al. Percutaneous Vertebroplasty for Osteoporotic Compression Fractures: Quantitative Prospective Evaluation of Long-term Outcomes[J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2002 Feb, 13(2): 139-48.

一例年轻母猫膀胱结石的探讨

谢文辉

(广州市宠物研究中心, 广州 白云区 510405)

摘要: 随着人们的生活水平不断提高以及各种工作压力的增大, 宠物渐渐走进了人们的生活中, 对于家居生活, 宠物这一贴心的伴侣是人们的不二之选。但正是人们对宠物的喜爱越来越强烈, 对宠物的生活饮食饲养的种类也多种多样, 所以宠物们出现的问题也越来越常见。膀胱结石在犬的身上较为常见, 在许多发表的文献中也多有记载。但对于猫的膀胱结石却比较少见, 特别对于尿道短又宽的母猫来说更是少有听闻, 但随着各种饲养条件和环境的改变, 母猫的膀胱结石的病例正在逐年上升。

关键词: 膀胱结石; 诊断; 治疗; 预防

中图分类号: S829.3

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2016)01-0042-03

1 病例的介绍

患猫品种为三色猫, 亦称玳瑁猫, 母猫, 已绝育, 2岁, 3 kg。体温正常: 38.9℃。触摸膀胱少尿, 猫敏感, 挤压有少量尿液排出, 暗红色。主诉: 患猫最近两天尿频尿急, 长时间蹲在猫砂盆处, 猫砂不成团, 只见尿液成滴状排出或无尿(尿液带血), 猫表情痛苦, 常会不经意在猫砂盆其他处把尿排出, 4个月前曾有过此症状, 当时怀疑为膀胱炎, 用药后一星期痊愈。

2 临床检查

2.1 实验室检查

取猫尿液进行尿液检查与分析, 尿八项试纸显示, 潜血明显, 尿液 pH 值属于正常范围, 蛋白呈阳性, 其余均属正常范围之内。尿液离心后去除上清液取最底下尿液与沉渣少量滴加于玻片上施加载玻片镜检, 在显微镜下发现三种结晶, 分别为磷酸铵镁结晶和两种不同类型的草酸钙结晶(图 1、图 2、图 3)。

2.2 X 光检查

进行 X 光片检查的诊断: 发现膀胱有好几颗高密度物质(石头), 为膀胱结石(图 4)。

3 诊断结果

根据实验室检查和 X 光检查结果: 尿液分析尿液出血明显, 镜检发现大量不同类型的晶体和

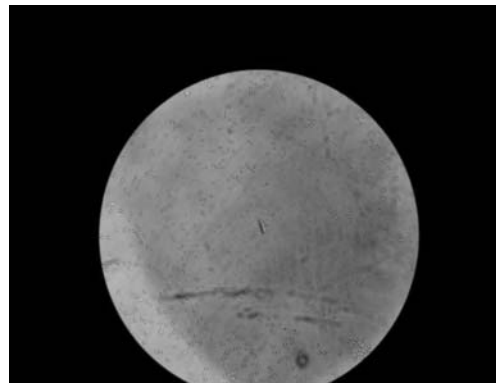


图 1 磷酸铵镁结晶



图 2 单水草酸钙结晶

X 光检查发现膀胱结石, 诊断为膀胱结石并导致的一系列泌尿系统综合症。

4 手术治疗

4.1 术前检查

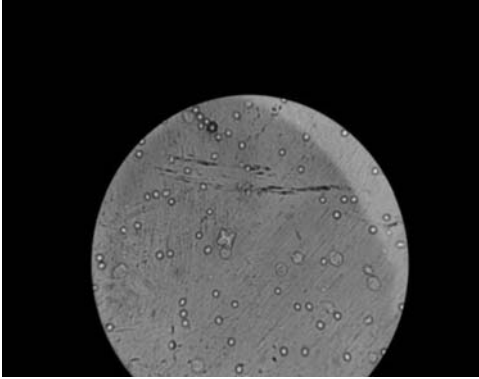


图3 双水草酸钙结晶



图4 膀胱结石

术前血常规、生化六项检查、X光的检查：血常规血象显示炎症与脱水，生化各指标均属正常范围，猫目前身体状尚可，可以进行手术（表1、表2、图5）。

表1 血液常规检查指标

| | 检测值 | 参考值 |
|-----------|--------|---------------|
| 红细胞 RBC | 4.53 | 5.50~8.50 |
| 红细胞压积 HCT | 0.76 | 0.37~0.56 |
| 血红蛋白 HGB | 192.00 | 120.00~180.00 |
| 白细胞 WBC | 23.50 | 6.00~17.00 |

表2 生化检验结果

| 生化项目和单位 | 结果 | 参考值 |
|----------------------|--------|--------------|
| 总蛋白 (TP) g/L | 70.50 | 50.00~80.00 |
| 丙氨酸氨基转移酶 (ALT) U/L | 36.80 | 10.00~50.00 |
| 碱性磷酸酶 (ALP) U/L | 26.70 | 10.00~100.00 |
| 血糖 (Glu) mol/L | 5.09 | 3.90~8.00 |
| 尿素 (BUN) mmol/L | 6.30 | 5.00~10.00 |
| 肌酐 (Cre) μ mol/L | 122.70 | 50.00~180.00 |



图5 术前 X 光检查

4.2 术前用药

术前静脉输液 0.9%氯化钠 100 ml，静注氨苄西林钠抗菌，皮下注射止血敏止血，皮下注射安痛定镇痛。

4.3 麻醉方案

舒泰配合静灵静脉推注镇静麻醉，初期观察眼球的位置和口腔打开的松软程度控制好麻醉的用量，术中用监护仪时刻监测血氧、血压、心率和心电等做好麻醉的监护。

4.4 手术的过程

手术的切口于肚脐下开口，切开皮肤，分离脂肪，找到腹白线切开。于腹腔找到膀胱并用两根可吸收线牵引膀胱，把干净消毒纱布盖于膀胱的四周，于膀胱靠腹腔面血管最少处切开，把膀胱里面的石头一一取出，期间要防止其他小的石头掉进腹腔，留置小号猫专用导尿管于膀胱至尿道口牵出，用可吸收线缝合好膀胱并于缝线表面滴加数滴抗菌药，解开牵引线还纳于腹腔，最后用可吸收线进行缝合。术后 X 光检查与对比（图6、图7）。

4.5 膀胱的结石的讲解

膀胱的结石经检查为草酸钙结石，草酸钙结石是猫最常见的泌尿道结石成分之一，且无法通



图6 术后 X 光片

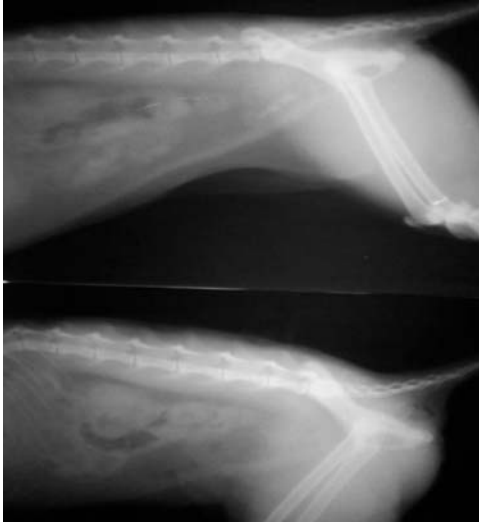


图7 术后X光检查与术前的对比



图8 草酸钙结石

过处方食品溶解,本身具有一定的品种倾向性。猫发生草酸钙结石的平均年龄为7.8岁。但从2~16岁的范围内皆可发生。草酸钙结石形成的风险会随着年龄的增长而不断增加,这还可能跟尿液的PH值的不断降低有关系。如尿液的过度酸化(长期服用尿路酸化剂),高钙血症,低蛋白的饮食,食物中的草酸盐过多,饮用自来水(离子杂质较多)(图8)。

5 术后的护理与恢复情况

术后对伤口包扎并穿上手术服。住院5天进行止痛消炎,并密切关注猫的排尿情况。初期3天猫还会有少量尿频尿急的情况,3天后把导尿管拆除,猫排尿正常,食欲恢复,10天后进行拆线,并建议主人严格注意好平时的饮食情况、让猫多喝水和定期回诊检查。

6 小结与讨论

猫的膀胱结石在现实中比犬的要少见得多,其中母猫更少见。但随着人们饲养方式和饮食管理的改变,猫的结石也越来越常见。本病例为2岁年轻的母猫,虽说年纪轻,但做手术需接受麻醉的风险,所以术前一定要做好检查,确诊好猫的情况后才开展手术,术中的无菌操作、细节各方面一定要做到位,以免术后继发感染。术后的护理以及主人接回家后的居家生活也是非常重要的环节,一定要让猫尽量多喝水并根据结石类型慎重考虑饮食的情况,并定期回诊复查猫的身体状况。对于结石,我们还是着重预防大于治疗,并且要及早发现和治理。膀胱结石是不可忽视的疾病,有一些病例把治疗的时机拖了,会并发其他一些更加严重的泌尿系统和全身疾病,如结石导致尿液的堵塞引起肾后性的急性肾衰、尿毒、膀胱劈裂、更严重的败血症和休克。所以当发现猫咪出现类似的状况,应及时带去专业的医院进行确诊,力求让猫咪们有一个健康的生活。

参考文献:

- [1] 刘振轩. 猫常见疾病临床指引[M]. 台湾爱思唯尔, 2013: 207-213.
- [2] 林政毅. 猫博士的猫病学[M]. 中国农业大学出版社, 2015: 159-163.
- [3] 浦萌德. 母猫膀胱结石诊治实例[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2010(5): 98-99.
- [4] 李建基, 王亨. 兽医临床外科诊疗技术及图解[M]. 北京: 化学工业出版社, 2012: 206-209.

春节期间小规模猪场存在的管理问题及预防措施

陈永康¹, 刘海¹, 吴同山^{2*}

(1. 东莞市莞城兽医站, 广东 东莞 523000;

2. 华南农业大学动物科学学院, 广东 广州 510642)

中图分类号: S858.28

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567-(2016)01-0045-02

与2008年春节前后的寒冷相比,2016年的春节也是多年才会出现一次的寒冷,继1月24~26日罕见低温天气之后,不要说北方,广东的大部分地区最低气温也都接近0℃,好在持续时间不长,对养猪生产没有造成太大的影响。但通过对广东一些小规模猪场的实地观察和了解,发现春节这段时间,由于老板忙于应酬,工人请假等,在生产管理方面还是存在很多本来可以避免的问题:种猪舍和大猪舍的保温工作不到位,导致母猪发情不正常、即将上市的商品猪下痢;最冷的时候,瓶装精液在输精前没有注意保暖,直接用手拿到配种舍或放在空的泡沫箱中备用;人手紧张,分娩的仔猪缺少照顾,冻死压死的比例增加;猪舍的卫生状况直线下降,分娩床、水泥地板的母猪定位栏肮脏不堪;仔猪补铁、剪牙剪尾滞后,影响仔猪健康成长;最为危险的是,每天出去吃饭、聚会,回到猪场后,消毒工作不到位,不换衣服和鞋子直接进入猪舍。以上的问题,虽然都不是大事,但积累起来,肯定会一定程度上影响猪场的生产,应该引起重视。

1 保温工作

有的小规模猪场现在设施设备也先进了很多,比如采用高床漏缝地板养猪,这本来是很好的条件,卫生、通风情况与水泥地面养猪明显改善,但最冷的那几天,有的猪场只在漏缝地板以上至猪舍滴水(也就是猪舍的上半部分)挂起了卷帘,而漏缝地板至地面的部分(猪舍的下半部分)却没有挂卷帘或用其他东西遮挡,造成冷空气直接从漏风处进入舍内或直接吹向猪身,三四百斤重的母猪或两百多斤重的即将上市的肉猪都要靠挤在

一起才能取暖,这样一来,吃的饲料可能连自身的维持需要都不够,难有多余的能量用来发情或长膘呢。因此,造成了大部分断奶母猪长时间不发情和大的商品猪下痢的结果。

高床漏缝地板猪舍,同样需要保温,无论是什么类型的猪只。根据猪舍的高度和漏缝板的位置,可以安装两层卷帘,分别独立:上半段卷帘布在漏缝板以上,主要对舍内进行直接保温;下半段在漏缝板与地面之间,简陋一些都没有问题,主要防止大风和极寒天气对猪只的影响,但不是特别冷的时候(10℃以上),下半段可以不用。在保温的同时,对于种猪和大的商品猪,在中午这段温度比较高的时段,适当注意一下通风,将上半部分卷帘卷起一些(高度、卷起时间可以根据当时气温而定,无需一概而论)并将舍内的臭气排出。

2 输精前精液的保温

一般情况下,母猪输精前,从恒温冰箱里将精液拿出来以后,可以直接放在泡沫箱或一般的疫苗袋里,在拿到猪舍进行输精,不需要怎样进行保温。但春节的几天,广东的大部分地区接近于甚至低于0℃,有的小规模猪场技术人员或配种员还是这样运送精液,对精子很容易造成强的冷应激:原本17℃左右的恒温冰箱,如果没有在精液处理室安装冷暖两用空调,周围环境低于10℃时,自身的保温效果已经很差,拿出来后如果没有检查精子活力,再到室外0℃左右的环境中,很快应激死亡,这样配种的效果,绝对好不到哪里去:母猪受胎率低、胎产仔数少,还不如不配。

在极冷的天气或时段,运送精液要注意保温:从恒温冰箱拿出来的精液,用多层干毛巾或棉布

包裹起来,再放到泡沫箱里面;或在泡沫箱里先放入预热到 37℃ 左右的恒温袋,再放入经过检查合格的精液;有的配种员更加敬业,直接将精液瓶装到自己的内衣袋里,这也是最好的保温方法。在输精的过程中,最好用毛巾包裹住精液瓶进行输精,以避免 4~5 分钟的输精过程中精液瓶一直裸露在低温的环境中,从而减少对精子的冷应激。

3 初生仔猪的照料

过年的时候,人一开心就容易喝多(包括老板和工人),特别是小规模猪场,人手本来就比较有限,喝多的睡觉去了,有时母猪生产(特别是晚上分娩的母猪)根本得不到照料:出生的仔猪身上的羊水、胎衣膜没人清理,冷的时候在母猪尾部因冻致死;一些仔猪找不到保温箱,靠在母猪身边取暖,生产的母猪有时会翻一下身,稍微不注意就将仔猪压在了身下,压死的仔猪也明显增多;母猪分娩出来 5~6 头仔猪后,开始无力(没有静脉注射葡萄糖),仔猪与仔猪产出的时间间隔拉长(产程延长),产前死胎的比例明显增加(特别是一些个体稍微大一点的胎儿更容易产不出来),这样弄来弄去,本来总产仔数 11、12 头的,那几天每胎最后成活的仅有 6、7 头。

养猪人的忙忙碌碌,就是为了母猪正常产仔、把猪养大、卖钱。配种效果再好,如果人为原因造成母猪产出来的正常仔猪数量不够(每胎低于 8 头),后期的成活率再高,也不会赚到太多的钱。因此,知道有母猪分娩的情况下,一定要保证有人在分娩舍(特别是寒冷的时候),及时对仔猪和母猪进行护理。酒什么时候都可以喝,但母猪不是你想它什么时候产仔就什么时候产仔的,作为老板,要保持清醒的头脑。

4 猪舍的卫生

春节期间人手紧的情况,十几年前也有,但最近这几年表现得特别突出,工人宁愿不要猪场的加班费和其他的补贴,也要回去过年。这样一来,如果安排不当,留场的人员再偷一下懒,就更麻烦了:分娩舍母猪的猪粪在漏缝栏上堆积很厚,待产母猪后躯脏得看不见毛和皮肤,分娩是明显增加了子宫炎的发病机会;配种怀孕舍、商品猪舍的猪粪几天都没人理,地面、猪身肮脏不说,舍内的空气污浊不堪,人一进去,刺激得泪流满面,还有的工人为了应付老板规定的每周两次消毒制度,不但带猪消毒,而且“带粪带尿”一起消毒!既欺了自

己也欺了老板,还不如不做。

猪舍的卫生是一项长期的工作,有时没有那么快看到效果,即使一周不清理,估计也不会太大程度地影响猪只的生长和生活,但会为疾病的发生埋下导火线,猪只抗体水平一下降,就容易出现问题了。因此,长命功夫长命做,千万不能偷懒。

5 仔猪补铁与剪牙剪尾

仔猪的补铁与剪牙剪尾工作,根据很多猪场的饲养管理规程,一般都是在出生 24 小时内完成。由于人手少的原因,春节这段时间,有的猪场分娩舍饲养员推迟 3~4 天甚至一周才做这项工作,造成一些仔猪由于贫血死亡,一些仔猪后来再剪牙剪尾失血多,加上比较匆忙消毒不严,导致断奶猪只的链球菌病发生比较多(明显的就是保育舍开始四肢关节肿大,行走困难),成活率有所降低。

初生仔猪在 24 小时内完成补铁和剪牙剪尾工作,是专家和生产一线技术人员根据猪只的生长特点和生理周期而制定的,是有充分科学依据的,尽量不要因为人为的因素而随意改变。为了猪只的健康和后期的容易饲养,实在腾不出人手的,最迟也不要超过两天就要完成这项工作。

6 外出后回场的消毒

春节期间,走亲访友、请客吃饭是再正常不过的事情了,与养不养猪没有太大的关系,但作为养猪人,稍不注意,会对猪场造成不可估量的损失,特别是消毒工作。有的老板或者工人从外面吃饭回来,剩饭剩菜也打包带回猪场,这其中可能有猪肉或与猪相关的食品;从外边回来不换衣服和鞋子直接进入猪舍,没有一点消毒防疫的意识,很多传染性疾病,就是在这种不知不觉中逮到了自己的猪场,只是没有当时发病,在其它条件诱发他时,一发病就不得了。

消毒防疫工作是悬在猪场上面的一把利剑,只有平时做到位了,才能保护猪场的平安。无论猪场规模大小,都不应该忽视。

以上提到的,只是春节这段时间经常会碰到的一些问题,只要大家的责任心增强了,均是可以避免的。这正是:人要过年享清闲,不能影响猪生产;一个环节出问题,弥补起来很困难;细节虽小不放松,高峰低谷都赚钱;人养猪来猪养人,相互努力促发展。

畜牧兽医专业校内创业型实训基地建设研究

石浪涛, 吴佳新

(黄冈职业技术学院, 湖北 黄冈 438002)

摘要: 校内创业型实训基地是高等职业教育培养创业型人才的重要场所, 校内创业型实训基地的建设是高职院校培养创业型人才的重要举措。本文就畜牧兽医专业校内创业型实训基地的建设意义、思路和重点建设内容进行了探讨, 旨在为高职生物类专业校内创业型实训基地建设提供参与与借鉴。

关键词: 畜牧兽医专业; 校内创业型实训基地; 建设

中图分类号: S8-05

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2016)01-0047-03

2010年4月22日, 教育部下发了《关于大力推进高等学校创新创业教育和大学生自主创业工作的意见》, 该文件要求各地大力推进创新创业教育, 加强学生创新创业思想和精神培育, 加强创新创业基地建设。高职院校作为创新创业人才培养的主阵地, 实训基地的建设与管理如何适应创新创业教育的需要, 如何为培养具有创新精神和创业能力的高素质生物类专门人才提供平台, 是一个亟待探索的实际问题。

黄冈职业技术学院畜牧兽医专业实训基地于2013年通过省级验收, 之后我们开始探索建设一个畜牧兽医校内创业型实训基地, 为畜牧兽医专业学生提供创业教育和创业锻炼的平台, 边建设边探索该基地的运行机制。旨在为高职生物类专业校内创业型实训基地建设与运行提供借鉴。

1 畜牧兽医专业校内创业型实训基地的建设意义

实训基地的首要作用是提高人才培养质量, 为高职教育培养高素质技能型人才提供条件保障。实训基地能够将理论知识与实践教学相联系, 但畜牧兽医专业现有省级实训基地还不能够将实践教学与职业岗位需求完全有机结合起来。

其原因主要是校内实训基地生产化程度不高, 与畜牧企业环境的真实性不能完全一致, 不能将校内实践教学和畜牧生产一线完全对接, 现有实训基地可以将畜牧兽医理论知识进行实践体现和畜牧行业职业岗位模拟, 但与实际职业岗位还

有一定的差别。

因此, 建设一个校内创业型实训基地能够完全的体现职业岗位需求, 保证畜牧兽医专业实践教学完善的体现, 将抽象空洞的养殖和疫病防治理论知识转化为操作技能, 并且将操作技能还原于工作环境中。创业型实训基地对学生系统的培训, 让学生提前适应职业环境, 成为企业和社会所需要的技能人才, 实现高等职业教育人才培养目标。

另外, 黄冈作为一个农业大市, 每年都有很大的农业培训需求。黄冈职业技术学院连续多年承担着农业阳光工程培训项目, 畜牧兽医专业校内创业型实训基地还可以提供农业阳光工程培训, 为当地畜牧行业提供培训支持, 服务于社会, 促进黄冈区域经济的发展。

2 畜牧兽医专业校内创业型实训基地的建设思路

高职院校校内创业型实训基地的建设不仅要保证能够开展创业型实训, 还要保证具有真实性的职业环境, 要从深入实施工学结合的人才培养模式, 实现高素质技能型人才培养目标出发。

首先, 教学实训功能是根本。校内创业型实训基地要利用其现实创业型、职业性等优越的实训条件, 为专业教师的教学提供素材, 为学生的实训提供良好的职业化环境。校内创业型实训基地利用高技能人员、公司化的规范管理和现实的生产环节将理论教学和实践紧密结合, 在生产岗位中提高学生的实践技能, 提高学生的技能应用能力,

收稿日期: 2015-10-29

基金项目: 生物类专业校内创业型实训基地建设和运行机制研究与实践(ZJGB201404), 湖北省职业技术教育学会科学研究课题

管理能力和创新能力。

其次,学生职业高认可度和优质就业是目标。校内创业型实训基地建设的目的是为了培养学生,是为了提高学生在社会企业的认可度,提高学生就业质量。校内创业型实训基地以真实的创业型实训环节对学生进行职业技能培训和实践生产锻炼,使学生能实现“零适应期”就业顶岗,让企业得到满意的员工,高素质技能人才。因此,校内创业型实训基地起到了企业岗前培训的职能,为企业培训了优质的技术人员,降低了社会企业的风险和培训成本,势必得到社会和企业的好评,提高社会企业对学生的认可度,提高学校的知名度。

第三,社会服务作用是延伸。校内创业型实训基地除了完成教学实训,培训学生职业技能的作用外,还应当担当社会服务功能。在黄冈职业技术学院承担黄冈市农业阳光工程培训的过程中,畜牧兽医专业校内创业型实训基地可以承担实践技能部分的培训工作,另外还能起到行业示范作用。

黄冈职业技术学院一直是黄冈市职业技能鉴定点,每年都对大量的专业人员和学生进行了职业技能鉴定,承担大量社会人员和学生的职业资格鉴定工作。畜牧兽医专业校内创业型实训基地利用其设备和生产环节模块,可以进行职业资格鉴定培训工作,提高社会人员和学生的职业资格鉴定的过关率,保证学生获得多种畜牧兽医职业资格证书,提高学生的就业能力。

另外,畜牧兽医专业校内创业型实训基地其他建设思路。校内创业型实训基地还可以利用其基地设备、资金等生产出相关产品,从而获得经济效益,把学校纯粹消耗性的教学实训变成具有创造效益的生产经营活动,起到降低教学成本,促进学校实训基地可持续发展的作用。校内创业型实训基地还可以利用于应用性和技术性专业课题研究以及专利发明,为学校科研课题研究搭建平台,将科研成果转化为生产力,更好的为基地的运行提供技术保障,起到良性循环作用,从而更好的创造经济和社会效益。对于学校教师队伍建设来说,校内创业型实训基地可以提高教师的“双师”素质,促进教师的职业技能水平提高,优化教师的“双师”结构。

3 畜牧兽医专业校内创业型实训基地的建设内容

3.1 校内创业型实训基地的管理机构建立

黄冈职业技术学院畜牧兽医专业省级实训基地的管理组织机构是由生物化工学院实训室统一组织管理。当承担学生具体实训项目时,专业老师会配合实训中心人员共同运行维护,没有实训项目任务时则由实训中心人员单独维护,而实训中心组织机构人员都是非畜牧兽医专业人员。这种管理组织机构显然不适合校内创业型实训基地的管理,因此,为适应校内创业型实训基地建设和管理的科学化、合理化,充分发挥实训基地在教学实践、社会服务和科研开发中的作用,实训基地的管理体制也应相应改革,实行学院、专业两级管理。成立校内创业型实训基地理事会,其主要职责是设计校内创业型实训基地的建设与规划工作、做好生产安排、实践教学安排等事务,以及处理运营中存在的困难与问题。校内创业型实训基地理事会是宏观管理、把握方向、指导基地的领导性组织机构。畜牧兽医专业团队成立技术指导小组,负责校内创业型实训基地的生产指导、技术支持、实践问题处理、指导学生实践、职业鉴定等工作,是主要的技术支持服务力量。理事会进行宏观管理,制订相应的管理办法和措施,技术指导小组负责实践教学的组织与实施。

3.2 校内创业型实训基地的管理规章制度建立

完善的管理制度是保障校内创业型实训基地正常运作的基础。实训基地的管理组织机构应当结合基地的建设目的和任务要求,制订符合基地实际的管理制度。有效的管理规章制度,能保证实训基地建设与管理工作的正常进行,也能保证实训基地有条不紊的运作。如《校内创业型实训基地管理规章制度》、《校内创业型实训基地8S管理》、《校内创业型实训基地仪器设备管理制度》、《校内创业型实训基地安全管理条例》等。

3.3 校内创业型实训基地的硬件条件建设

校内创业型实训基地的建设离不开国家、学校等部门的资金支持。畜牧兽医专业校内创业型实训基地的建设需要厂房、设备的投入,资金的投入是实训基地建设的前提。在实训基地的建设中,通过整体规划与分段实施相结合的方法逐步完成基地建设。基地的建设也需要整合现有资源,积极拓展建设渠道。

3.4 校内创业型实训基地的“双师型”教师队伍建设

具有过硬企业实践管理能力的“双师型”教师

队伍建设是校内创业型实训基地运行的关键,因此需要建设一支具有现代高职教育理念,师德师风正派,具有奉献精神和创业精神、熟悉行业、业务能力过硬的高素质“双师型”教师队伍。一方面,通过有计划的选派教师进行企业锻炼,获得过硬一线实践技能和经验。另一方面,也可以从企业聘任工程师,技能高手,以及“楚天名师”担任兼职指导教师,通过教学任务培训,也可以成为实训老师。

3.5 校内创业型实训基地内学生队伍建设

校内创业型实训基地建设的核心宗旨是服务学生、培训学生,学生才是实训基地的主体。除了规定实践教学安排外,鼓励学生主动参与到生产实践中,开放校内创业型实训基地,让更多学生有机会接触了解行业生产,掌握实践岗位技能。学生的主动参与需要建设一支梯度学生队伍,高年级

学生胜任生产岗位能够给予低年级学生信心,同时也起到传帮带的作用,鼓励更多学生参与进来,形成良好的循环。

参考文献:

- [1] 教育部. 关于全面提高高等职业教育教学质量的若干意见. 教高(2006)16号.
- [2] 石令明. 高等职业教育办学体系探索[M]. 北京:中国农业科学出版社,2008.
- [3] 连纯华. 高职高专实训基地建设探讨[J]. 教育评论,2007(3):38-40.
- [4] 刁瑜. 国家示范性高职院校校内生产性实训基地建设探析[J]. 教育与职业,2010(29):152-153.
- [5] 胡重庆. 对我国职业教育实训基地建设的思考[J]. 江西社会科学,2007(7):233-236.
- [6] 何燕, 刘国联. 高职实训基地建设方案开发研究及基地建设模式分析[J]. 大众科技,2011(1):104-105.

农业部: 畜禽标准化示范场将扩容 500 个

近日,农业部下发《2016年畜禽养殖标准化示范创建活动工作方案》,《方案》中明确将在浙江、福建、江西、山东、湖北、广西、四川和青海8省区启动兔、水禽和蜜蜂养殖标准化示范创建试点,以生态养殖场示范创建为重点,通过集中培训、专家指导、现场考核,2016年再创建500个畜禽标准化示范场。

创建的要求为:必须遵守《畜牧法》《动物防疫法》《畜禽规模养殖污染防治条例》等相关法律法规,具备养殖场备案登记手续和《动物防疫条件合格证》,养殖档案完整,两年内无重大动物疫病和质量安全事件发生。

1、生猪:能繁母猪存栏300头以上,且年出栏肥猪5000头以上。

2、奶牛:存栏奶牛300头以上。

3、蛋鸡:产蛋鸡养殖规模(笼位)在1万只以上。

4、肉鸡:单栋饲养量5000只以上,年出栏量10万只以上。

5、肉牛:年出栏育肥牛500头以上,或存栏能繁母牛50头以上。

6、肉羊:农区存栏能繁母羊250只以上,或年出栏肉羊500只以上的养殖场;牧区存栏能繁母羊400只以上,或年出栏肉羊1000只以上的养殖场。

7、兔、水禽、蜜蜂:具体要求由各试点省结合本地实际自行确定。

创建的主要内容有:

1、畜禽良种化。因地制宜,选用高产优质高效畜禽良种,品种来源清楚、检疫合格。

2、养殖设施化。养殖场选址布局科学合理,畜禽圈舍、饲养和环境控制等生产设施设备满足标准化生产需要。

3、生产规范化。制定并实施科学规范的畜禽饲养管理规程,配备与饲养规模相适应的畜牧兽医技术人员,严格遵守饲料、饲料添加剂和兽药使用有关规定,生产过程实行信息化动态管理。

4、防疫制度化。防疫设施完善,防疫制度健全,科学实施畜禽疫病综合防控措施,对病死畜禽实行无害化处理。

5、粪污无害化。畜禽粪污处理方法得当,设施齐全且运转正常,实现粪污资源化利用或达到相关排放标准。

(信息来源:农业部办公厅)

农业部印发 2016 年兽医工作要点

2016 年是全面建成小康社会决胜期的开局之年,全国兽医系统要认真贯彻落实党的十八大和十八届三中、四中、五中全会,以及中央农村工作会议、全国农业工作会议精神,深入学习贯彻习近平总书记系列重要讲话精神,以“提质增效转方式、稳粮增收可持续”为主线,紧密围绕“防风险、保安全、促发展”的目标任务,全面加强从养殖到屠宰全链条兽医卫生风险管理,切实保障养殖业生产安全、动物源性食品安全、公共卫生安全和生态安全。

1 科学谋划“十三五”兽医事业发展

1.1 编制实施兽医卫生事业“十三五”规划

用“创新、协调、绿色、开放、共享”新理念引领兽医事业发展,按照“四个全面”的战略部署,规划“十三五”时期兽医卫生事业发展目标、思路和重点任务,务实提出促进兽医卫生事业健康发展的政策措施,力争在动物疫病防治、兽医卫生风险监管、社会化服务体系建设和兽药和屠宰产业发展等方面做出科学可行、系统全面的制度安排,促进解决重点难点问题,推动形成与全面建成小康社会相适应的现代化兽医卫生治理体系和治理能力。

2 大力加强兽医体系能力建设

2.1 强化兽医队伍建设

严格官方兽医管理,制定官方兽医管理规章制度,健全教育培训和综合考评机制。优化执业兽医队伍发展环境,探索建立兽医执业条件标准,做好 2016 年执业兽医资格考试工作。加强乡村兽医考核、培训,严格乡村兽医登记备案管理。规范村级防疫员管理,制定村级防疫员参与动物防疫工作的管理办法,提高村级防疫员组织化水平。支持开展动物疫病防治比武等活动,营造兽医工作人员加强业务学习实践、提高综合素质的良好氛围。

2.2 抓好兽医机构核心能力建设

针对各级动物卫生监督、动物疫病预防控制、兽医药品监察、畜禽屠宰行业管理等机构,研究制定与职责任务相匹配的人员配置、经费保障、设施条件标准,促进核心能力建设,为兽医机构履职尽责,规范开展动物防疫、动物和动物产品检疫和兽医行政执法等兽医工作提供有力保障。

2.3 优化兽医机构协作关系

加强兽医行政管理、行政执法和技术支撑机构之间的衔接配合,健全基层动物疫病防控和监督执法工作的协调联动机制,确保信息互通、资源共享、协调联动、相互促进,以严格的监督执法保障动物疫病防控措施的有效落实,以强有力的技术支持促进兽医卫生监督执法工作科学开展。

3 切实强化动物疫病防治

3.1 加强重点疫病防控

深入贯彻落实《国家中长期动物疫病防治规划(2012—2020 年)》,组织开展执行情况中期评估。强化 16 种国内优先防治动物疫病防控,加强 13 种重点外来动物

疫病风险防范。实施动物疫病监测与流行病学调查计划,强化监测结果的分析应用,全面掌握重点动物疫病病原分布和流行态势。全面实施口蹄疫、禽流感、布病、狂犬病、血吸虫病、包虫病防治计划和小反刍兽疫消灭计划,出台高致病性猪蓝耳病、猪瘟、新城疫、奶牛结核病、种禽场疫病净化、种猪场疫病净化指导意见,指导各地科学开展相关疫病防控工作。严格动物疫情报告和疫情举报核查制度。突出抓好种畜禽场主要垂直传播疫病控制,推动实施种源正向监测净化,从源头控制动物疫病风险。

3.2 落实重点马病消灭净化措施

严格马属动物移动监管,加强马属动物特别是竞技娱乐用马、高风险区马属动物的重点疫病监测。巩固马鼻疽防治成效,维持无疫状态。指导做好国礼马疫病防治工作。落实马传贫消灭工作实施方案,持续开展马传贫历史无疫和消灭达标地区监测,加快推进内蒙古、云南和新疆等 3 个省区马传贫消灭达标验收工作。

3.3 防范外来动物疫病传入风险

制定实施非洲猪瘟等外来动物疫病防控应急预案、疯牛病风险防范计划,开展技术培训,完善应急处置工作机制。加强跨境动物疫病联防联控,积极探索跨境动物疫病防控工作新模式,强化风险监测预警和物资技术储备,严密防范境外疫情传入风险。

3.4 加强动物疫病区域化管理

加快推进无规定动物疫病区 and 生物安全隔离区建设。支持有条件的地区开展无疫区建设评估工作,鼓励现有无疫区增加规定动物疫病病种,鼓励无疫区申请国际无疫认证;支持符合条件的企业提升生物安全水平,建设生物安全隔离区(无疫企业)。

4 进一步强化兽医卫生监督执法

4.1 加强监督执法规范化建设

认真落实《中共中央关于全面推进依法治国若干重大问题的决定》,严格规范公正文明执法。落实行政执法责任制,严格执行《农业部畜牧兽医行政执法六条禁令》和屠宰检疫“五不得”,坚决惩治不作为、乱作为和执法腐败现象。严格落实《农业行政处罚信息公开办法》,及时公开有关行政处罚案件信息,接受社会监督。以法律法规和执法实务为重点,加强执法人员培训考核,提高执法人员的政治素质和业务能力。

4.2 严格养殖运输屠宰环节监督执法

强化养殖档案管理,掌握辖区内动物疫病防控、病死动物无害化处理等方面的动态变化情况。严格落实动物检疫申报和产地检疫制度。进一步研究规范犬猫检疫监管。严格落实跨省调运种用动物、乳用动物检疫审批制度,开展跨省调运种用动物、乳用动物专项整治行动。探索建立以动物防疫条件、动物疫病区域化管理和动物疫病检测结果为前提的活畜禽跨省调运产地准出制度。完善原产地、

目的地检疫监管信息共享机制,严防动物疫病跨区域传播。严格屠宰检疫,强化生猪屠宰专项整治,组织开展生猪屠宰监管“扫雷行动”,加大对乡镇小型屠宰场点“代宰”行为和屠宰废弃物无害化处理的整治力度。积极推行网格化监管、黑名单管理制度,严格管理薄弱环节和问题场所,推动落实企业主体责任。

4.3 规范动物诊疗场所监督管理

完善动物诊疗机构和兽医执业管理制度,强化动物诊疗机构日常监管和执法检查,进一步规范动物诊疗市场。

4.4 强化兽医实验室监督管理

严格动物病原微生物高级别生物安全实验室资格和实验活动审批,规范动物病原微生物菌(毒)种保存使用监管。组织做好兽医系统实验室考核、检测能力比对工作。开展辖区内兽医实验室基本情况及生物安全管理情况摸底调查。严厉打击违反实验室生物安全管理法律法规的行为。

4.5 完善病死畜禽无害化处理机制建设

贯彻落实《国务院办公厅关于建立病死畜禽无害化处理机制的意见》,完善保障措施,创新工作模式,加快病死畜禽无害化处理机制建设,对养殖、运输、屠宰等环节产生的病死畜禽严格进行无害化处理,确保不出现大规模乱扔病死畜禽危害环境和食品安全现象。

5 促进兽药和屠宰产业发展

5.1 推动兽药产业健康发展

以转变兽药产业发展方式为主攻方向,完善兽药研制、生产、经营和使用管理制度,加快产业结构调整 and 科技创新,促进兽药产业健康发展。贯彻实施新修订的《兽药产品批准文号管理办法》(农业部令 2015 年第 4 号),推动解决产品同质化严重问题。完善宠物用药审批制度。健全兽药行政管理、技术支撑和执法监督体系。严格兽药生产经营使用监管,落实日常监督检查、专项整治和飞行检查等管理措施,加大对风险大、隐患高的兽药监督抽查力度,严厉打击违法添加、制假售假、违规使用等兽药违法违规行为。深入开展动物及动物产品兽药残留监控工作,加大抗菌药物残留抽检覆盖面,提高抽检频率,追溯阳性样品。持续强化动物源细菌耐药性监测,开展抗菌药物风险评估,淘汰存在风险隐患的兽药品种。组织开展“全国兽用抗菌药综合治理五年行动”,采取多种形式宣传畜禽安全用药规定,引导养殖户自觉规范兽药使用行为。

5.2 引导屠宰产业转型升级

研究出台促进畜禽屠宰产业健康发展指导意见,明确产业发展方向,引导产业转型升级。加强畜禽屠宰统计监测,及时、准确报送屠宰政务信息和监测信息。强化屠宰行业发展研究,及时预警处置行业潜在风险。加快技术升级和产业转型,加大屠宰技术人员培训力度,健全屠宰检验检疫体系,提高屠宰企业质量自控能力。继续做好生猪定点屠宰资格审核清理工作,从严掌握生猪定点屠宰企业清理标准,符合生猪定点屠宰企业法定设立条件的,及时核发新证;不符合法定设立条件的,限期整改,整改仍达不到要求的,坚决依法取缔。对新设立的畜禽屠宰企业,严格审核把关。推进“厂场对接”“厂超对接”,促进一二三产业融合。推

进畜禽屠宰标准化生产,促进屠宰企业标准化改造。指导畜禽屠宰行业安全生产,督促畜禽屠宰企业落实安全生产主体责任,加强畜禽屠宰安全生产隐患排查。

6 加快兽医领域信息化建设步伐

6.1 推进从养殖到屠宰全链条兽医卫生风险追溯监管信息体系建设

坚持资源共享、信息互通,建立健全动物疫病防治、兽医卫生监督、机构队伍管理以及兽医药品和畜禽屠宰统计监测等关键信息系统。推进动物标识及动物产品追溯体系建设。加快动物检疫合格证明电子出证中央级平台和各省现有平台对接,2016 年 6 月底前实现全国跨省调运畜禽检疫数据互联互通。全面推行兽药“二维码”追溯管理,加快地方兽药产品追溯监管系统与国家兽药追溯信息管理平台对接,推进兽药生产经营使用环节电子追溯工作。

7 强化综合保障

7.1 完善财政支持政策

积极争取有关部门支持,健全兽医工作财政支持保障机制。推动优化动物防疫补助政策,探索实行强制免疫疫苗规模养殖场自主采购、强制免疫补助“先打后补”等政策措施。加强与银行、保险等机构合作,深入推进病死畜禽无害化处理等兽医工作与养殖业保险联动机制建设,放大财政资金杠杆撬动作用,建立财政投入与金融保险、社会资本组合利用,兽医卫生工作与金融服务互相促进的新机制。

7.2 加强技术支撑

充分发挥企业和教学、科研、技术支持单位科技创新的主体作用,加强动物疫病防治技术、安全高效兽药、快速实用诊断技术研究和储备。利用各级各类兽医机构和人才队伍,抓好科学技术推广应用,促进科技成果在从养殖到屠宰全链条兽医卫生风险控制、管理工作中的转化应用。

7.3 加大宣传工作力度

充分利用电视、广播、报刊、网络、手机客户端等多种形式,加大兽医卫生工作日常宣传力度,打造兽医宣传品牌,深挖地方典型经验、先进做法、模范人物,进一步提升兽医工作者的社会形象,营造社会关注兽医、理解兽医、支持兽医的良好氛围。加强与协会、学会等社会组织合作,推进兽医网络社群建设,培养一批兽医领域意见领袖,有效提高重大兽医公共卫生问题的舆论引导能力。

7.4 加强行风建设

坚持“管行业必须管行风”,持续开展行风建设工作。集中整治兽医队伍中存在的作为、慢作为、乱作为问题。继续做好取消下放行政审批事项的衔接落实工作,确保平稳过渡,防止“中梗阻”和“一放了之”。切实强化权力监督,确保公正公开、透明高效地行使权力。

7.5 强化工作督导落实

用好绩效管理工具,将重点工作充分体现在加强重大动物疫病延伸绩效管理指标体系中,明确工作要求、时间进度和责任分工,形成常态化督查机制,进一步提高督查工作科学化水平,推动各项工作落到实处。(信息来源:农业部)

《广东畜牧兽医科技》征稿启事

《广东畜牧兽医科技》杂志是国内外公开发行的农业科学类学术期刊,统一刊号为 ISSN1005-8567/CN44-1243/S,双月刊,大 16 开本。办刊宗旨是加强国内畜牧兽医科技情报交流,报道国内外畜牧和兽医的科技动态、新成果及先进经验,为促进畜牧生产发展和本学科的科研、教学事业服务。主要栏目有牧业论坛、专题综述、畜牧技术、兽医临床、试验研究、华南宠物园地、经验交流、信息之窗等。

1 征稿要求

本刊主要刊登畜牧兽医领域的原创性研究论文和临床生产经验,择优刊登阐述新观点、新方法、新概念的综述及专论。文稿内容应具有科学性、先进性、实用性,要求主题明确、文字精炼、数据准确、文理通顺。

2 文稿书写格式

2.1 文稿书写顺序 题目、作者(署名)、作者单位及所在地和邮编,摘要、关键词,中图分类号、文献标识码,正文、结论和参考文献。对于综述和研究类文章,需增加英文的题目、作者(拼音)、作者单位及所在地、摘要和关键词。

2.2 题目 文章标题应与内容贴切,一般不超过 20 字。必要时可加副标题。

2.3 作者署名及单位 书写格式参照以下范例。请在文末附第一作者及通讯作者的简介(包括姓名、性别、出生年月、学历或职称、主攻方向、通讯地址、联系电话及电子邮箱);获得基金资助研究所产生的论文需注明基金项目名称及编号。例:

张 xxx¹, 李 xxx²

(1. 沈阳农业大学动物胚胎工程实验室, 辽宁 沈阳 110161; 2. 广西大学动物繁殖研究所, 广西 南宁 530005)

2.4 摘要 摘要须充分反映论文的研究目的、方法、结果和结论,用第三人称方式书写(不使用“本文”、“作者”、“笔者”等作为主语),不分段,不用图、表、公式和参考文献的序号。英文摘要应与中文摘要保持实质性内容的一致性。

2.5 关键词 一般选用 3~8 个能反映论文主要内容的单词或术语。

2.6 标题序号 要简明扼要、层次分明,要求用阿拉伯数字连续编号,如“1”、“1.1”、“1.1.1”等。各层次标题的序号均左顶格书写。

2.7 图表 图和表应具有自明性,切忌与文字表述重复。图表应简洁、规范、清晰、大小适中。表格一律用三线开放表,图和表的序号一律用阿拉伯数字编排,如图 1、图 2、表 1、表 2 等。

2.8 计量单位 采用国家法定计量单位。

2.9 参考文献 采用顺序编码制。在论文中按引用文献出现的先后顺序用阿拉伯数字连续编序(上标形式)。文后参考文献按文章中引用的顺序排列,著录参考格式如下:

期刊: [1] 孙勇, 赵永成, 王继先, 等. 环境镉暴露时人胎盘组织金属硫蛋白表达及其意义[J]. 中国自然医学杂志, 2005, 7(3): 185-198.

专著: [2] 殷震, 刘景华. 动物病毒学[M]. 第二版. 北京: 科学出版社, 1997: 1148-1150.

学位论文: [3] 刘伟. 汉字不同视觉识别方式的理论和实证研究[D]. 北京: 北京师范大学心理系, 1998.

论文集: [4] 辛希孟. 信息技术与信息服务国际研讨会论文集: A 集[C]. 北京: 中国社会科学出版社, 1994.

文献类型标识: M- 专著, C- 论文集, N- 报纸文章, J- 期刊文章, D- 学位论文, R- 报告, S- 标准, P- 专利; 对于不属于上述的文献类型, 采用字母“Z”标识。

3 声明和约定

3.1 来稿一经刊用, 将按规定支付稿酬(第一作者收, 含著作权使用费), 并赠送样刊 2 本。

3.2 本刊已加入“中国学术期刊(光盘版)”、“中文科技期刊数据库”和“万方数据-数字化期刊群”, 如不同意将文章编入上述数据库, 请在来稿时声明。

3.3 来稿文责自负。编辑部对来稿有权作技术性或文字性修改, 不同意删改的稿件请在来稿时声明。

3.4 请勿一稿多投, 若 4 个月后未接到刊用通知者可改投他刊。来稿一律不退, 请作者自留底稿。

3.5 来稿时请注明作者详细地址、邮政编码和联系电话, 以便联系。

地 址: 广州市天河区五山金颖路 31 号《广东畜牧兽医科技》编辑部 邮 编: 510640

电 话: 020-38319211 传 真: 020-38319211 E-mail: gdxmsykj@163.com