

双月刊 1976年3月创刊

第36卷第3期 (总第157期)

2011年6月18日出版

ISSN 1005-8567
CN 44-1243/S
中国标准连续出版物号

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

广东省农业科学院畜牧研究所

广东省农业科学院兽医研究所

主编:蒋宗勇

副主编:孙彦伟

责任编辑:孙彦伟 岑俏梅

编委主任:蒋宗勇

编委(排名不分先后):

蒋宗勇 余业东 王浩 顾万军

曹俊明 辛朝安 屈源泉 廖明

曾振灵 毕英佐 王贵平 舒鼎铭

孙彦伟 蔡建平 王致富 刘彩霞

熊惠军 吴玄光 刘清神

特邀编委:

陈峰 黄小建 陈小云 郑庆祿

李岩 林旭堃 陈瑞爱

编辑出版:《广东畜牧兽医科技》编辑部

地址:广州市先烈东路135号(510500)

电话:020-37245052 37288167

传真:020-37245052

网址: <http://www.gdaav.org>

E-mail: gdxsyjkj@163.com

印刷单位:广州市人杰彩印厂

发行单位:《广东畜牧兽医科技》编辑部

发行范围:国内外公开发行

每期定价:5.50元

广告经营许可证号:440000100037

本刊声明: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”。作者稿件一经本刊录用,将同时被上述三个数据库收录,进入因特网提供信息服务。作者如不同意,请在投稿时向本刊声明,否则本刊将视为同意收录。凡被本刊刊登的稿件,将一次性支付作者著作权使用报酬。

目 录

·专题综述·

- 家禽坏死性肠炎疫苗的基础研究进展.....辜新贵,郑露,等(3)
- 有机硒在养猪生产中的应用研究概况.....白小明,姜清洪,等(7)
- 动物的能量代谢及锌在其中的作用.....赵必迁,周安国(11)
- 简述兽药注射剂在开发生产过程中应注意的几个问题.....郭善康(13)

·畜牧技术·

- 仙湖肉鸭B系肌内脂肪含量与屠体性能关系研究.....刘绍扬,黄得纯,等(15)
- 快慢羽品系贵妃鸡体尺性状及屠宰性能的比较分析.....徐嘉怡,王德成,等(18)

·兽医临床·

- 三例禽巴氏杆菌病的诊断.....巫月生,齐冬梅,等(21)
- 马的手术阉割法.....刘瑞鑫,黄光云(24)
- 一例黑猩猩志贺氏菌性痢疾的诊治.....陈晓明,赖文凤,等(25)

·试验研究·

- 不同蔗糖浓度、供体细胞保存温度和融合温度对小鼠体细胞克隆胚胎发育的影响.....彭礼繁,罗光彬,等(26)
- 广州动物园草食动物饲料植物的选择研究.....刘小青,吴其锐,等(31)
- 猪繁殖与呼吸综合征病毒BD株的分离及GP4基因的克隆.....王金凤,张会民,等(33)
- 一株鸽新城疫病毒的分离鉴定.....赵明秋,胡永明,等(36)

·华南宠物园地·

- 沈阳市某犬场附红细胞体感染的防治.....刘剑郁(39)
- 犬猫常见的人兽共患病.....林立峰,周秀蓉,等(41)
- 恒河猴辐射后的临床症状及护理.....黄振兴,李宏霞(43)

·经验交流·

- 风险评估制度在奶牛疫病防控中的运用.....岳海祥,贺小云,等(46)
- 抓住契机 全力推进 东莞市村级动物防疫员队伍建设.....张伟华(49)
- 浅谈规模化养鸡场生物安全体系的建立.....邓理主,龚中贵(51)

·信息之窗·

- 2011“永顺杯”优秀论文评选启事.....(6)
- 母猪存栏总量已降至三年低位.....(45)

GUANGDONG JOURNAL OF ANIMAL AND VETERINARY SCIENCE

Established in march 1976(Bimonthly)

Jun.2011 Volume 36,Number 3 (Total No.157)

Main Content

- Vaccine for necrotic enteritis in poultry* Gu Xingui, Zheng Lu, et al (3)
- Application of organic selenium on pig production* Bai Xiaoming, Jiang Qinghong, et al (7)
- Energy metabolism in animals and the role of zinc in it* Zhao Biqian, Zhou Anguo(11)
- Some attention in development and production of veterinary drug injections* Guo Shankang(13)
- The correlation between the carcass traits and the intramuscular fat in XianHu meat duck B strain*
..... Liu Shaoyang, Huang Dechun, et al(15)
- Comparison of body traits and dressed characters of fast /slow feathering royal chickens*
..... Xu Jiayi, Wang Decheng, et al(18)
- Diagnosis of three cases of pasteurellosis in poultry* Wu Yuesheng, Qi Dongmei, et al (21)
- Diagnosis and treatment of one case of dysentery caused by Shigella in chimpanzee*
..... Chen Xiaoming, Lai Wenfeng, et al(25)
- Effects of different sucrose concentrations, conserved temperatures for donor cells and electro-fusion
temperatures on the development of somatic cell nuclear transfer embryo in mouse*
..... Peng Lifan, Luo Guangbin, et al(26)
- Study on herbivore food selection in Guangzhou Zoo* Liu Xiaoqing, Wu Qirui, et al (31)
- Isolation of Strain BD and clone of ORF4 gene from porcine reproductive and respiratory syndrome virus*
..... Wang Jinfeng, Zhang Huimin, et al(33)
- Isolation and identification of a Newcastle disease virus from pigeon*..... Zhao Mingqiu, Hu Yongming, et al(36)
- The prevention and treatment of eperythrozoon infection in a dog farm in Shenyang*..... Liu Jianyu(39)
- Common zoonotic disease in dogs and cats* Lin Lifeng, Zhou Xiurong, et al(41)
- Clinical symptom and nursing of rhesus monkey after radiation*..... Huang Zhenxing, Li Hongxia (43)
- Application of risk assessment in the prevention and control of cows pestilence*.....
..... Yue Haixiang, He Xiaoyun, et al(46)
- Promoting the construction of village-level animal epidemic prevention workers team in Dongguan city*
..... Zhang Weihua(49)

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

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

Chief Editor: JIANG Zong-yong

Vice Chief Editor: SUN Yanwei

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

Post Code: 510500

Tel: (020)37245052 37288167

Fax: (020)37245052

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

家禽坏死性肠炎疫苗的基础研究进展

辜新贵¹, 郑露², 袁建丰³

(1. 常州立华畜禽有限公司生产技术部, 江苏 常州 213168; 2. 湖北省孝感市畜牧局, 湖北 孝感 432100; 3. 广东省农业科学院兽医研究所, 广东 广州 510640)

摘要: 家禽坏死性肠炎是由产气荚膜梭菌引起的家禽最重要的梭菌性肠炎。坏死性肠炎的主要致病因子、重要毒素成分的分子结构及毒株的免疫学特性研究是开发新型疫苗的基础, 本文就家禽坏死性肠炎疫苗的基础研究进展进行综述。

关键词: 产气荚膜梭菌; 坏死性肠炎; α 毒素; 疫苗

中图分类号: S851.347.2

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2011)03-0003-04

家禽坏死性肠炎 (*necrotic enteritis, NE*) 每年给全球的养殖业造成的损失达到数百万美元^[1], 已成为家禽业夏季最受关注的问题。临床中坏死性肠炎可导致严重的肠道坏死, 使肉禽的发病和死亡增多; 亚临床坏死性肠炎也十分普遍, 它可以减缓生长速度, 降低饲料转化率, 甚至引起继发感染。向饲料中添加抗生素促生长剂在一定程度上可以控制该病, 常用的抗生素添加剂有杆菌肽、维吉尼霉素、阿伏帕星、林可霉素等。然而耐药性和药物残留问题使抗生素在饲料中的使用逐渐受到限制, 所以寻找新的控制途径就显得更加重要。采用竞争性排斥、有机酸、酶、益生原、控制球虫病、改善饲料成分等措施都可以减少坏死性肠炎的发生, 但导致该病发生的因素十分复杂, 必须有更简单更便宜的控制方式。疫苗免疫在疾病控制中起着重要的作用, Heier 等^[2]发现母源 α 毒素抗体可以保护肉仔鸡不发生坏死性肠炎, 却没有验证 α 毒素是否是唯一的保护性抗原。随着对产气荚膜梭菌 (*Clostridium perfringens*) 及其毒素的反复研究, 新的保护性抗原不断被发现, 新型疫苗载体在不断尝试, 坏死性肠炎防控问题必将通过有效的疫苗免疫加以解决。

1 致病毒素

家禽坏死性肠炎的产生是由于产气荚膜梭菌可以产生多种外毒素和内毒素导致的。多种菌株能够导致人类、家畜和家禽疾病, 但每个菌株只能产生 4 种主要的毒素 (α -毒素, β -毒素, ϵ -毒

素, ι -毒素) 和 10 种左右的次要毒素, 这也是产气荚膜梭菌分型为 A、B、C、D、E 型的依据。外毒素可以制成类毒素, 具有很好的免疫原性。家禽坏死性肠炎的主要致病因子是 A 型和 C 型产气荚膜梭菌产生的, 以 α 毒素为主的外毒素, 其次是 C 型产生的 β 毒素。 α 毒素为 370 个氨基酸组成的单链多肽, 分子量约为 43 kD, 分为 2 个结构功能区, 氨基端具有磷脂酶 C 活性, 羧基端具有鞘磷脂酶活性。 β 毒素分为 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 毒素。 $\beta 1$ 毒素是一种强毒素, 具有细胞毒性和致死性。其中 $\beta 2$ 毒素是近年来确认的由 C 型产气荚膜梭菌产生的一种新的毒素。Keyburn 等^[3]利用基因敲除技术构建了无 α 毒素的突变体, 可以诱发坏死性肠炎, 因此通过实验推翻了过去的传统观点: 即 α 毒素是致病性必不可少的因素。此外, 他们还发现了新的与坏死性肠炎密切相关的毒素 NetB, 而且该毒素仅在导致家禽坏死性肠炎的 A 型产气荚膜梭菌中被发现。这一新发现为家禽坏死性肠炎疫苗的研制提供了新的思路。仅仅围绕 α 毒素研究疫苗是不能有效控制家禽坏死性肠炎的, 必须同时防止不同毒素的致病作用。

2 保护性抗原

除了研究致病菌的致病成分外, 更为重要的是研究致病菌入侵机理及保护性抗原成分。通过保护性抗原成分阻断病原菌的定植、增殖及毒力因子产生。Kulkarni 等^[4]应用免疫印迹和质谱技术, 从具有毒力的产气荚膜梭菌分析鉴定出 6 种

具有毒力和保护性抗原的蛋白,分别是:产气荚膜梭菌溶素、果糖二磷酸醛缩酶(FBA)、延伸因子G、甘油三磷酸脱氢酶(GAPDH)、假想蛋白、丙酮酸:铁氧化还原酶。这些蛋白能够与感染后获得免疫的肉仔鸡体内的血清和肠道抗体发生反应。已知溶菌素在产气荚膜梭菌中是一种毒力因子,其它5种蛋白抗原多数是产气荚膜梭菌糖酵解中的重要酶。它们在其它细菌或寄生虫(链球菌、肺炎球菌、血吸虫)中参与入侵或免疫反应。如果能够更好地了解这些蛋白在家禽坏死性肠炎发生中或机体免疫反应中的作用,将更有利于基因工程疫苗的开发。

3 疫苗

3.1 类毒素疫苗

Fukata 等^[5]在 1988 年分别用产气荚膜梭菌肉汤培养物上清液和纯化的 α 毒素对无菌鸡进行攻毒保护试验,攻毒后鸡只出现死亡并产生坏死性肠炎的特征性病变,而抗 α 毒素血清可以保护无菌鸡不受产气荚膜梭菌的侵袭,从而证明了 α 毒素是导致无菌鸡死亡的主要因素,同时 α 毒素类毒素可以刺激机体产生保护性抗体。

随后 Heier 等^[2]用酶联免疫吸附试验检测 61 群肉仔鸡体内抗产气荚膜梭菌 α 毒素(磷脂酶 PLC)抗体,分析了母源抗体与母鸡日龄之间,以及母源抗体与生长性能和死亡率之间的关系。结果发现老母鸡的后代体内 α 毒素抗体明显高于新开产母鸡的后代,饲养过程中 α 毒素抗体滴度高的肉仔鸡死淘率明显低于抗体滴度低的肉仔鸡。消化道分泌的 IgA 能够中和毒素、病毒和酶等生物活性抗原,具有广泛的保护作用,分泌的主要抗体成分有重要的作用。Lovland 等^[6]发现 IgG (IgY) 是坏死性肠炎疾病发生过程中免疫应答的重要成分。Kulkarni 等^[7]发现抗原免疫后肠道粘膜中占主导地位的是特异性抗体 IgY,推断粘膜抗体中的 IgY 在产气荚膜梭菌免疫应答中可能更重要。Lovland 等^[8]做了 3 个实验,发现给父母代种鸡肌肉注射 C 型和 A 型产气荚膜的类毒素氢氧化铝佐剂苗后,肉种鸡体内 IgG 抗体成分迅速升高,抗体还可以通过卵黄传递给商品代。3 个试验中商品代获得 C 型毒株母源抗体后,与对照组相比,发生亚临床症状肠炎概率分别为:0.23、0.33、0.56;获得 A 型毒株母源抗体发生的概率分别为:0.41、0.61、0.63。这项研究结果显示通过免疫预防坏死

性肠炎是一个不错的选择。

3.2 弱毒疫苗

产气荚膜梭菌的磷脂酶 C 即 α 毒素,是导致气性坏疽的主要致病因子,因此研究 α 毒素的结构和免疫原性具有非常重要的意义。 α 毒素羧基区结构中含有重要的氨基酸残基,例如:钙结合位点天冬氨酸残基,假定膜结合位点酪氨酸残基。Alberto Alape-GiroAn 等^[9]通过关键位点的定点突变,获得的 D269N 和 D336N 突变株,其溶血活性只有原来的 20%,细胞毒性比野生型毒素低 103 倍。而 Y275N、Y307F 和 Y331L 的苏氨酸被天冬酰胺、苯丙氨酸或亮氨酸取代后的突变株,它们的溶血性只有野毒株的 11%~73%,细胞毒性只有野毒株的百分之一到万分之一。综上所述,对 α 毒素分子结构和功能的解析可以为毒素的致病机理和疫苗开发提供新的思路。

Thompson^[10]从临床发生坏死性肠炎的肉仔鸡的肠道中分离了 6 株产气荚膜梭菌,通过回归试验证实其中 4 株具有毒力。通过分子生物学技术证实其毒力与质粒上 β 2 毒素基因无关。随后通过菌株口服感染 2 周龄的肉仔鸡,研究有毒力菌株和无毒力菌株与免疫原性的关系,结果表明:用有毒株口服感染免疫肉鸡,肉鸡可以抵抗强毒攻击;而肉鸡用无毒株免疫则不能产生免疫保护。在另外一个试验中,2 株无 α 毒素基因缺失的突变株毒力减弱后口服感染肉鸡,也可以保护肉鸡不发生坏死性肠炎,由此表明保护性抗原除了 α 毒素外还有更重要的抗原。该研究为开发口服弱毒活疫苗提供了良好的实验基础,同时也验证了口服感染免疫是弱毒疫苗很好的评价方式。另外,在其研究中肉仔鸡的最早免疫日龄可以是 7 日龄。

3.3 基因工程疫苗

刘家森等^[11]克隆表达 α 毒素的羧基末端的蛋白序列,并缺失去掉位于氨基末端内对 α 毒素起重要作用的 Trp1、His11、Asp56、His68 等氨基酸残基,研究结果表明表达的蛋白具有良好的反应原性,并且无毒性现象产生。Nagahama 等^[12]利用位点突变技术,研究了组氨酸残基在 α 毒素中的作用。突变后 α 毒素的生物活性不同程度地受到影响,甚至可使其生物活性完全丧失,但仍然保持着天然 α 毒素的部分或全部抗原性。

李明辉等^[13]构建 pBV220-cpa408 质粒在大肠

杆菌中成功表达了可溶性 A 型产气荚膜梭菌 α 毒素 C 端基因蛋白, 并将纯化的蛋白免疫昆明小鼠, 以 1.0 MLD₁₀₀ (最小 100% 致死量) 腹腔进行攻击, 被免疫小鼠获得了 100% 的保护。

1999 年 Bennett^[14] 通过重组牛痘病毒表达产气荚膜梭菌 α -毒素羧基端的无毒部分, 分别在牛痘 J2R (胸苷激酶基因) 和 B13R (抑制物 2 基因) 基因位点插入梭菌的 DNA, 对表达的外源蛋白免疫原性分别进行比较, 结果显示尽管 α -毒素表达存在差异, 但免疫小鼠后用毒素攻毒时重组牛痘疫苗都可以产生保护。

Cooper^[15] 将 α 毒素进行原核表达, 表达产物纯化后免疫 5 日龄和 15 日龄肉鸡, 25 日龄时用产气荚膜梭菌进行攻毒, 结果显示对照组发生坏死性肠炎的比例达 87.8%, 而免疫组有 54.9% 的肉鸡有病变; 对照组的平均病变记分 2.37, 免疫组的病变记分为 1.35。使用疫苗后抗 α 毒素的 IgG 抗体是对照组的 5 倍, 攻毒之后免疫组抗 α 毒素的 IgG 抗体是对照组的 15 倍。试验结果表明 α 毒素是重要的免疫原, 在致病机制中也起重要作用。

Kulkarni 等^[7] 分别将 α -毒素、甘油三磷酸脱氢酶、丙酮酸: 铁氧化还原酶、果糖 1,6 二磷酸醛缩酶和假定蛋白等基因分别进行克隆, 使用大肠杆菌表达, 应用组氨酸标签纯化后肌肉注射免疫肉仔鸡, 口服致病性产气荚膜梭菌评价抗原的保护性, 结果表明血清和肠道粘膜特异性的抗体滴度很高。各种蛋白免疫后都可产生明显的保护, 尤其 α -毒素、丙酮酸: 铁氧化还原酶、假定蛋白的保护效果更为突出。从而推断其它蛋白诱导的分泌型抗体和抗 α -毒素抗体共同参与了产气荚膜梭菌的免疫反应过程。大肠杆菌表达系统是基因表达技术中发展最早, 目前应用最广泛的经典表达系统, 目的基因表达水平高, 遗传复制、传代能力稳定。不同基因的原核表达能够分泌出病原菌的保护性抗原, 刺激机体产生免疫反应, 如果能够多个保护性抗原的串联组合, 提高表达的水平, 以实现更好的保护效率。

沙门氏菌为细胞内寄生菌。沙门氏菌能将真核质粒携带和释放入宿主细胞进行表达, 激发宿主的体液免疫反应和细胞免疫反应。因为经过减毒, 最终可被宿主消除。Kulkarni 等^[16] 分别将产气荚膜梭菌的果糖二磷酸醛缩酶、丙酮酸: 铁氧化还

原酶、假定蛋白等 3 个蛋白的基因克隆到沙门氏菌载体上进行表达, 表达产物中果糖二磷酸醛缩酶和假定蛋白通过肉鸡口服免疫后能够抵抗产气荚膜梭菌的攻毒, 免疫后家禽产生了抗梭菌和沙门氏菌抗原的血清抗体和粘膜抗体。该研究表明两个产气荚膜梭菌抗原通过弱毒沙门氏菌载体表达后, 通过口服让机体产生一定免疫力。Kulkarni 等^[17] 鉴定了 α -毒素和假定蛋白的 B 细胞表位, 随后将 B 细胞表位基因克隆到 pYA3493 载体上, 利用减毒沙门氏菌优化表达, 将由此产生的质粒引入到减毒沙门氏菌疫苗 x9532 中, 通过口服免疫, 可以产生很好的保护效果。

4 小结

只要养禽业存在, 就必须长期面对临床型和亚临床型坏死性肠炎的困扰。当利用抗生素促生长剂预防坏死性肠炎出现困难时, 就必须研究其它有效的方法来防止产气荚膜梭菌的感染。充分了解引起坏死性肠炎的致病因子、免疫机理、保护性抗原等, 将有助于人们利用经典的预防措施来控制坏死性肠炎的发生, 在美国已经有家禽坏死性肠炎疫苗的专利申请^[18], 在哺乳动物饲养场已有坏死性肠炎的应用^[19]。相信随着对该菌基因组和蛋白组学研究的进一步深入及饲养管理水平的提高, 家禽坏死性肠炎将被优质的疫苗控制, 家禽饲养的成绩会越来越越好。

参考文献:

- [1] Songer J G. Clostridial enteric diseases of domestic animals[J]. Clin Microbio Rev, 1996, (9): 216-234.
- [2] Heier B T, Lovland A, Soleim K B, et al. A Field study of naturally occurring specific antibodies against Clostridium perfringens alpha toxin in norwegian broiler flocks[J]. Avian Dis, 2001: 724-732.
- [3] Keyburn A L, John D, Boyce, et al. NetB, a new toxin that is associated with avian necrotic enteritis caused by Clostridium perfringens [J]. PLoS Pathog, 2008, (4): e26.
- [4] Kulkarni R R, Parreira V R, Sharif S, et al. Clostridium perfringens antigens recognized by broiler chickens immune to necrotic enteritis[J]. Clin Vaccine Immunol, 2006, 12(13): 1358-1362.
- [5] Fukata T, Hadate Y, Baba E, et al. Influence of Clostridium perfringens and its toxin in germ-free chickens [J]. Res vet sci, 1988, 64(1): 68-70.
- [6] Lovland A, Kaldhusdal M, Reitan L J, et al. Diagnosing

Clostridium perfringens-associated necrotic enteritis in broiler flocks by an immunoglobulin G anti-alpha-toxin enzyme-linked immunosorbent assay [J]. Avian Pathol, 2003, 32:527-539.

[7] Kulkarni R R, Parreira V R, Sharif S, et al. Immunization of broiler chickens against Clostridium perfringens-induced necrotic enteritis[J]. Clin Vaccine Immunol, 2007, (9):1070-1077.

[8] Lovland A, Kaldhusdal M, Redhead K, et al. Maternal vaccination against subclinical necrotic enteritis in broilers[J]. Avian Pathol, 2004, 33(1):83-92.

[9] Alberto Alape-Giroñ, Marietta Flores-Dóñez, Isabelle Guillouard, et al. Identification of residues critical for toxicity in Clostridium perfringens phospholipase C, the key toxin in gas gangrene [J]. Eur J Biochem, 2000(267):5191-5197.

[10] Thompson D R, Parreira V R, Kulkarni R R, et al. Live attenuated vaccine-based control of necrotic enteritis of broiler chickens[J]. Vet Microbio, 2006:25-34.

[11] 刘家森, 刘怀然, 陈洪岩. 产气荚膜梭菌 α 毒素亚单位基因的表达及表达产物活性分析[J]. 中国比较医学杂志, 2003, 6(13):332-335.

[12] Nagahama M, Okagawa Y, Nakayama T, et al. Site directed mutagenesis of histidine residues in Clostridium perfringens alpha toxin[J]. J Bacteriol, 2005, 177:1179.

[13] 林明辉, 荫俊, 邢洪光, 等. 重组 A 型产气荚膜梭菌 α 毒素保护性抗原的制备及初步免疫保护作用研究[J]. 生物工程学报, 2004, 20(1):63-65.

[14] Bennett A M, Lescott T, Phillpotts R J, et al. Recombinant vaccinia viruses protect against Clostridium perfringens alpha-toxin[J]. Viral Immunol, 1999, (12):97-105.

[15] Cooper K K, Trinh H T, Glenn Songer J. Immunization with recombinant alpha toxin partially protects broiler chicks against experimental challenge with Clostridium perfringens[J]. Vet Microbiol, 2009, 133:92-97.

[16] Kulkarni R R, Parreira V R, Sharif S, et al. Oral immunization of broiler chickens against necrotic enteritis with an attenuated Salmonella vaccine vector expressing Clostridium perfringens antigens [J]. Vaccine, 2008, 26:4194-4203.

[17] Kulkarni R R, Parreira V R, Jiang Y F, et al. A live oral recombinant salmonella enterica serovar typhimurium vaccine expressing Clostridium perfringens antigens confers protection against necrotic enteritis in broiler chickens[J]. Clin Vaccine Immunol, 2010, 17(2):205-214.

[18] Methods and compositions for vaccination of poultry [EB/OL]. United States Patent Application 20100136049, <http://www.avantilipids.com>.

[19] Richard W, Titball. Clostridium perfringens vaccines [J]. Vaccine, 2009, 27:44-47.

2011“永顺杯”优秀论文评选启事

为促进科学技术的进步与创新,活跃学术气氛,将畜牧兽医科技推向一个新的水平,本刊决定评选 2011 年度“永顺杯”优秀论文。本刊将组织评委会专家进行评审,对获奖的优秀论文作者颁发证书及奖金。评选结果将于本刊 2012 年第 1 期公布。

1、**评选范围:**本刊 2011 年度 1-6 期发表的文章。

2、**评选数量:**优秀论文 16 篇,分设一等奖 2 篇、二等奖 4 篇、三等奖 10 篇。其中以学术研究类为主,兼顾综述类与实用技术类。

3、**奖金来源:**总奖金 20000 元,由广东永顺生物制药有限公司赞助。其中一等奖奖金 2000 元 / 篇;二等奖奖金 1500 元 / 篇;三等奖奖金 1000 元 / 篇。

欢迎广大畜牧兽医工作者踊跃投稿

《广东畜牧兽医科技》编辑部
二〇一一年一月十四日

有机硒在养猪生产中的应用研究概况

白小明¹, 姜清洪¹, 杨帆²

(1. 建平县职教中心, 辽宁 建平 122400; 2. 华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

摘要: 硒为动物必需微量元素, 缺乏和过量都会对机体造成不利影响。硒的形式多种多样, 其中有机硒具有诸多优点, 成为近年来硒研究的热点。本文主要综述了硒的生物学功能和有机硒的来源及其在养猪生产中的应用。

关键词: 有机硒; 生物学功能; 猪; 应用

中图分类号: S816.72

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2011)03-0007-04

1957年, Schwarz和Foltz首次证明微量的膳食硒可预防大鼠因维生素缺乏而引起的肝坏死。随后, 研究者对硒元素展开了广泛研究。硒是谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的重要成分, 它还能活化碘化甲状腺素-5-脱碘酶的活性而影响甲状腺功能, 此外, 硒在保障雄性动物精子活力及改善生猪肉品质等方面具有重要作用。本文主要从硒的生物学功能、有机硒的来源及其在养猪生产中的应用等方面进行综述。

1 硒的生物学功能

1.1 抗氧化作用

硒作为动物体的必需微量元素之一, 具有多种生物学功能, 其中最主要的就是抗氧化作用。Spears等综述了硒等微量元素对奶牛健康和免疫的作用, 他认为硒主要是通过GSH-Px系统发挥抗氧化作用的。GSH-Px能够破坏过氧化氢和过氧化氢脂质, 此外硫氧化还原蛋白还原酶也是一种能够预防氧化应激的重要含硒酶。另有研究证明, 在微生物中, 甘氨酸还原酶、甲酸脱氢酶、黄嘌呤脱氢酶、硫解酶和尼克酸脱氢酶均属含硒酶类。蒋英子等^[1]对乳酸菌源有机硒保护肝损伤组织脂质过氧化反应及其机制进行了研究, 表明乳酸菌源有机硒提高了CCl₄负荷小鼠组织GSH-Px活性, 增强了组织清除自由基的能力, 使CCl₄负荷诱发产生的大量自由基得以清除, 从而保护组织细胞免受自由基的伤害。

1.2 抗癌作用

Pohl等^[2]研究了硒结合蛋白I(SBP I)在体外和小鼠模型中对结肠癌的调节作用。试验结果

表明SBP I能够通过外遗传沉默实现对结肠癌的体外抑制功能。Hatfield等^[3]全面综述了含硒蛋白质对癌症的预防作用。但同时文章中也提出含硒蛋白质(硫氧化还原蛋白还原酶1)在癌症的发展进程中可能具有双重作用——抑制和促进, 表明硒在癌症进程中作用复杂。张国蓉等^[4]对硒酸软骨多糖影响Hca-F实体瘤组织凋亡相关蛋白表达情况进行了研究。他通过对Hca-F实体瘤组织凋亡相关蛋白表达的检测, 说明硒酸软骨多糖能够有效地抑制小鼠肿瘤的生长, 能够在一定程度上预防癌症的发生, 对癌症的治疗有一定的效果。陈义朗等^[5]合成了两种新型有机硒化合物, 并研究其抗癌活性。试验结果表明合成的两种有机硒化合物对人肝癌细胞的生长抑制率分别为74.1%和61.4%。张蕾等^[6]进行了新型有机硒化合物Eb诱导舌癌细胞凋亡的实验研究。试验结果证实Eb能抑制Tca83细胞的增殖, 促进细胞凋亡, 且该作用具有浓度依赖性。

1.3 增强免疫力

陈龙等^[7]研究了乳酸菌源有机硒对肝损伤小鼠脾脏NK细胞活性的保护效应。他将60只健康成年小鼠随机分为4组, 即对照组(C组)、有机硒组(Se组)、CCl₄组和CCl₄-有机硒保护组(CC₄-Se组)。试验结果表明CCl₄组脾脏NK细胞活性均显著下降, 乳酸菌源有机硒对正常动物的NK细胞活性均有显著的促进作用, 且对CCl₄诱发肝损伤动物的脾脏NK细胞活性与CCl₄组比较也升高。提示乳酸菌源有机硒在增强NK细胞功能活动, 改善NK细胞活性方面发挥积极有效的作用。

李惠等^[8]从体外细胞水平探讨了有机硒对受 BCG 感染后的巨噬细胞产生 NO 的能力、生存能力和处理细菌能力的影响。该试验结果表明:有机硒对巨噬细胞的抗结核天然防御免疫功能有促进作用,且有剂量依赖关系。同时,硒对巨噬细胞有应激保护作用。催保安等^[9]研究了有机硒和某些中草药对鸡免疫功能的影响。试验结果表明:有机硒、黄芪、女贞子、淫羊藿对鸡体的免疫增强作用明显,但以黄芪组为最高。

2 有机硒的来源

2.1 植物来源

谷物中的硒元素多以有机物形式存在,如硒主要以蛋氨酸硒形式存在于小麦中,在豆芽中则主要以硒代蛋氨酸、硒代胱氨酸、硒代半胱氨酸和其他硒氨基酸及其衍生物的形式存在。目前有研究表明植物在吸收水分的同时,也大量吸收了溶解在水中的硒元素,使植物产品中含硒量大幅提高。

2.2 动物来源

动物体内有机硒主要以硒酶或硒蛋白形式存在。目前经证实的硒蛋白已超过 30 种,如细胞内谷胱甘肽过氧化物酶、血浆谷胱甘肽过氧化物酶、胃肠谷胱甘肽过氧化物酶、硫氧环蛋白还原酶、磷脂过氧化物谷胱甘肽过氧化物酶、硒蛋白 S、硒蛋白 P、硒蛋白 W 及精子被膜硒蛋白等^[10]。

2.3 微生物来源

有研究证实酵母、埃希氏菌、瘤胃微生物及海藻等都可利用培养物中的硒元素产生有机硒,其中对酵母硒的研究最多。酵母硒是酵母在发酵过程中通过生物转化作用制备的一类有机硒。酵母硒的生产原理是:选择特异性高硫需求量的酵母菌种,在发酵过程中为之提供缺乏硫元素而富含无机硒的培养基,由于硫和硒的化学相似性,硒可以被整合到酵母细胞的蛋白结构中,其本质是替代了其中的硫元素。通过水洗脱除细胞外的无机硒后,进而制得有机酵母硒^[11]。

3 有机硒在养猪生产中的应用

3.1 有机硒对仔猪的影响

Yoon 等^[12]比较了有机硒和无机硒从母猪转运至哺乳仔猪的效果。实验结果表明,饲喂酵母硒母猪所产仔猪在初生时血清硒含量比饲喂基础日粮母猪所产仔猪要高,而 14 日龄时,各处理组母猪所产仔猪的血清硒含量没有差异,同时,日粮中不同的硒源(亚硒酸钠和酵母硒)未影响仔猪血清 IgG

含量和 GSH-Px-I 活性,此外,不同硒源均能减少每窝仔猪中死胎数量。高建忠等^[13]研究了富硒益生菌对仔猪抗氧化和免疫功能的影响。试验中,24 头日龄相同个体相近的仔猪被随机分为 3 组,分别为空白对照组(C 组)、富硒益生菌组(T1 组)和亚硒酸钠组(T2 组),试验结果显示在持续 60 天饲喂后,T1 和 T2 组仔猪血液 GSH-Px 活性、血清 SOD 活性、血液及组织中的硒含量及血清中的猪瘟抗体水平均显著高于 C 组,血清丙二醛(MDA)水平显著低于 C 组;两个实验组间,T1 组效果明显优于 T2 组,但在增强免疫功能方面两者差异不显著。李光辉等^[14]报道了关于有机硒化合物 Cn-1 对仔猪免疫系统影响的研究。研究表明当向饲料内分别添加有机硒 0.1 mg/kg 和 0.3 mg/kg 时,断奶仔猪的 B 淋巴细胞数增加,且其机能活性增强。

3.2 有机硒对母猪繁殖性能的影响

Yoon 等^[12]的研究还表明母猪在分娩时,饲喂酵母硒的母猪相对于未补加硒组母猪血清硒含量有增加的趋势($P < 0.05$),此外,饲喂酵母硒组母猪初乳和奶(仔猪 14 日龄时)中硒含量增加($P < 0.01$),而饲喂亚硒酸钠组母猪不增加。魏长友^[15]报道了有机硒对母猪繁殖性能的影响。报道称,与饲喂亚硒酸钠型日粮的母猪相比,饲喂酵母硒日粮的母猪,其仔猪断奶前死亡率可降低 2.2%。埃利诺等综述了有机硒对母猪繁殖性能的影响。该综述表明酵母硒能显著提高平均胚胎重量和长度,胚胎蛋白质和 DNA 的含量。另外,酵母硒能显著提高仔猪的抗氧化水平,同时提高胚胎硒水平,降低仔猪 V_E 含量的差异,还能提高三价铁的还原抗氧化能力。

加拿大研究者为提高西方品种母猪的窝产仔数和均匀度,调查了母猪配种和怀孕早期的影响因素,研究结果表明,在母猪日粮中添加有机硒能促进胚胎在怀孕早期阶段的发育。这项措施能给种猪的生产力带来显著的影响。在加拿大学者的研究中,用西方杂种母猪,比较添加两种硒源饲喂效果,重点检测了怀孕早期的胚胎参数和抗氧化水平。研究者认为,有机硒通过增加血液中的硒含量显著提高了母猪的硒水平。另外,有机硒能提高怀孕早期甲状腺激素的活性。添加酵母硒的母猪能更好地将硒从子宫传递给胚胎,因此早期胚胎的发育更好。而且,有机硒在怀孕早期阶段的积极作用可能从排卵时就开始发挥了^[16]。

3.3 有机硒对种公猪繁殖力的影响

杭红仙等^[17]研究了日粮中添加有机硒对种公猪精液质量的影响。试验中年龄相同个体相近的10头种公猪被随机分为两组,分别为基础日粮对照组(I组)和有机硒组(II组),II组在I组日粮基础上每头每天添加有机硒90 mg。试验结果表明有机硒能有效提高种公猪精液质量,II组总有效精子数、精子存活时间和有效时间均显著高于对照组($P<0.05$),此外,II组与I组的精子畸形率分别为6.4%和18.4%,差异极显著($P<0.01$)。余良保等^[18]比较了不同硒和复合酶对猪精液质量的影响。试验结果表明各组对精子存活时间均无负面影响,但饲喂有机硒(添加0.3 mg/kg)及复合酶(添加0.15%)的效果最好,添加无机硒对存活时间的促进作用不及有机硒明显。

3.4 有机硒对生长肥育猪的影响

张巧娥等^[19]通过40 d喂养试验研究了有机硒对生长肥育猪生产性能的影响。试验结果表明有机硒虽然对肥育猪生长无显著影响,但它可降低背膘厚度,增加眼肌面积。占秀安等^[20]利用40 d饲养试验研究了不同硒源对肥育猪鲜肉肉色和滴水损失的影响。实验结果表明:硒代蛋氨酸使猪宰后第0.75、8、16 h肉色Hunter a值显著升高($P<0.05$),而亚硒酸钠仅使第0.75 h肉色Hunter a值明显提高($P<0.05$);硒代蛋氨酸使猪宰后第8、16 h鲜肉的滴水损失显著减少($P<0.01$),亚硒酸钠虽有这一作用趋势,但效果不明显($P>0.05$);硒代蛋氨酸和亚硒酸钠均使血清和组织中硒含量增加($P<0.01$),使肝脏、肌肉中GSH-Px活力增强($P<0.01$),MDA含量降低($P<0.01$),而硒代蛋氨酸的这一作用较亚硒酸钠明显。杨华等^[21]研究了有机硒对杜大长商品猪生产性能、胴体性状、肉质的影响。试验结果表明:与空白对照组相比,有机硒能提高各阶段(15~35 kg、15~60 kg和15~100 kg)杜大长商品猪的平均日增重,增加平均日采食量,降低料重比,但差异不显著;有机硒饲喂组的屠宰率、瘦肉率和眼肌面积分别比对照组提高1.9%、1.5%和4.1%,背膘厚下降16.7%,但差异均不显著($P>0.05$);有机硒饲喂组背最长肌的滴水损失比对照组下降52.9%($P<0.01$),腰大肌的熟肉率比对照组提高15.3%($P<0.01$),背最长肌的肌肉脂肪含量比对照组提高6.2%($P<0.01$)。

4 过量硒的副作用

任何元素的过量添加都会成为动物机体的负担,并对动物机体造成伤害,硒元素也不例外。Kim等^[22]比较了在日粮中添加高水平的无机硒和有机硒时,肥育猪对硒中毒的不同反应。该实验中,90头肥育猪被随机分为9组,亚硒酸钠和酵母硒在日粮中的添加量均分别为5、10、15和20 mg/kg,另一组则为空白对照组。以3周为一间隔,对每头肥育猪采血,并对血浆中的硒元素水平、GSH-Px和谷草转氨酶的活性,全血中的血红蛋白含量、红细胞压积,以及血细胞中的硒元素浓度进行了测定。持续饲喂12周之后,将所有肥育猪剖杀,并检测各组织及胆汁中的硒元素浓度。实验结果表明:不同形式的硒元素对肥育猪的体重、日增重及饲料摄入量等影响差异不显著,但不论饲喂何种形式的硒元素,随着饲料中硒含量的增加,以上3个指标均明显下降,而且无机硒组的下降趋势更明显。在无机硒组中,当硒元素添加量大于等于10 mg/kg时,肥育猪出现明显的脱毛和蹄冠脱落现象,而当有机硒添加量大于等于15 mg/kg时,才会出现类似的现象。与空白对照组相比,不论添加何种形式的硒,血浆中硒元素浓度和GSH-Px活性以及血细胞中的硒元素浓度均明显升高,且有机硒组升高更明显。此外无机硒组中随着添加量的增加,血细胞中的硒含量会出现一个平台,但有机硒组中未发现此现象。

Kim等^[23]还研究了母猪硒中毒时,有机硒和无机硒之间的区别。在该研究中,初始体重为25 kg的88头小母猪被随机分为9组,亚硒酸钠和酵母硒的添加量分别为0.3、3、7和10 mg/kg,当母猪体重达到105 kg时,每组中随机选择4头进行剖杀,取肝脏进行硒元素含量测定。8月龄时,每组中随机选择3头母猪进行繁殖,并继续饲喂原来的饲料,然后记录每头母猪随后的生殖能力及硒中毒反应。研究者在整个实验的不同阶段采集了母猪及仔猪的血液,并检测其硒元素浓度及GSH-Px活性。此外,还分析了母猪初乳及乳汁中硒元素含量。每组中,在仔猪吃到初乳前及仔猪断奶后,均剖杀一头母猪,采集各种组织进行硒含量检测。实验结果表明:不论饲喂何种形式的硒元素,随着饲料中硒含量的增加,小母猪的日增重及饲料摄入量均有所下降;血液及肝脏中的硒含量随着日粮中添加量的增加而增加;当饲料中硒添

加量大于等于 7 mg/kg 时, 母猪的孕期体重及哺乳期饲料摄入量均会下降。值得注意的是, 随着饲喂量的增加, 饲喂有机硒的母猪分娩时及断奶时的活仔数均少于对应的饲喂无机硒的母猪。这说明对母猪及仔猪而言, 高含量的有机硒的副作用要大于无机硒。

5 有机硒在养猪生产上的应用前景及存在的问题

有机硒较无机硒具有很多优势: 适口性好, 毒性小, 便于在饲料中应用; 其吸收利用率高, 可减少饲料中的添加量, 并进一步降低环境污染。目前, 许多欧美国家已大力倡导使用有机硒, 日本也已禁止在饲料中添加使用无机硒。

虽然推广使用有机硒的前景乐观, 但也存在一些问题: 比如有机硒的价格昂贵, 酵母硒通常为亚硒酸钠价格的几倍甚至十几倍; 目前在养猪生产上所使用的有机硒主要为酵母硒, 由于生物体固有的复杂性, 如何在大批量生产时仍使有机硒产品中硒含量和化学形态稳定, 性能良好, 也是当前国内生产有机硒需要解决的问题; 有机硒对猪肉品质影响的机理和在猪饲料中的最佳添加量和添加阶段也需进一步研究; 此外也应该注意硒元素的添加量及持续时间, 以防硒中毒。

参考文献:

[1] 蒋英子, 陈龙, 潘道东, 等. 有机硒保护肝损伤组织脂质过氧化反应及其机制研究[J]. 营养学报, 2005, 27(2): 105-109.

[2] Pohl N M, Tong C, Fang W F, et al. Transcriptional regulation and biological functions of selenium-binding protein 1 in colorectal cancer in vitro and in nude mouse xenografts[J]. PLoS One, 2009, 4(11): 1-6.

[3] Hatfield D L, Yoo M H, Carlson B A, et al. Selenoproteins that function in cancer prevention and promotion[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2009, 1790(11): 1541-1545.

[4] 张国蓉, 郎婧, 刘艳玲, 等. 硒酸软骨多糖对 Hca-F 实体瘤组织凋亡相关蛋白表达情况的研究[J]. 现代食品科技, 2009, 25(1): 6-10.

[5] 陈义朗, 李新生, 钟三子, 等. 两种新型有机硒化合物的合成及其抗癌活性的研究[J]. 化学试剂, 2004, 26(5): 261-262.

[6] 张蕾, 常怀广, 王稚英. 新型有机硒化合物 Eb 诱导舌癌细胞凋亡的实验研究[J]. 锦州医学院学报, 2005, 26(3): 31-33.

[7] 陈龙, 朱善良, 曹萌. 乳酸菌源有机硒对肝损伤小鼠脾脏脂质过氧化和 NK 细胞活性的保护效应研究[J]. 实验生物学报, 2005, 38(1): 1-6.

[8] 李惠, 卢贤瑜. 有机硒增强巨噬细胞处理 BCG 能力的初步探讨[J]. 现代预防医学, 2008, 35(3): 585-588.

[9] 崔保安, 杨明凡, 张素梅, 等. 有机硒和某些中草药对鸡免疫功能的影响[J]. 畜牧与兽医, 2003, 35(10): 37-38.

[10] 马文强, 冯江, 王科, 等. 不同有机硒在动物生产中的研究进展[J]. 饲料研究, 2008, (6): 40-42.

[11] 王学东, 戴晋军, 李彪. 酵母硒的特点及其在养猪中的应用[J]. 养猪, 2009, (5): 6-8.

[12] Yoon I, McMillan E. Comparative effects of organic and inorganic selenium on selenium transfer from sows to nursing pigs [J]. Journal of animal science, 2006, 84(7): 1729-1733.

[13] 高建忠, 秦顺义, 黄克和. 富硒益生菌对仔猪抗氧化和免疫功能的影响[J]. 营养学报, 2006, 28(2): 132-135.

[14] 李光辉. 有机硒化合物 Cn-1 对仔猪免疫系统的影响[J]. 动物医学进展, 1999, 20(2): 62-63.

[15] 魏长友. 有机硒有助于母猪和断奶前仔猪的生长[J]. 国外畜牧学(猪与禽), 2006, 26(5): 15-17.

[16] 邱玉朗, 张树敏. 有机硒在养猪生产上的研究与应用[C]. 吉林省畜牧兽医学学会 2007 学术年会论文集 // 吉林畜牧兽医增刊. 269-271.

[17] 杭红仙, 毛玉龙, 张金仙, 等. 日粮中添加有机硒对种公猪精液质量的影响[J]. 当代畜牧, 2003, (10): 24-25.

[18] 余良保, 黄建飞, 黄建国, 等. 有机硒、复合酶对猪精液质量影响的研究[J]. 中国畜禽种业, 2008, (6): 24-25.

[19] 张巧娥, 刘红霞, 杨库, 等. 有机硒对生长育肥猪生产性能的影响[J]. 宁夏农学院学报, 2002, 23(1): 28-29.

[20] 占秀安, 许梓荣. 不同硒源对肥育猪鲜肉肉色和滴水损失的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2004, 35(5): 505-509.

[21] 杨华, 傅衍, 陈安国. 有机硒对杜大长商品猪生产性能、胴体性状、肉质的影响[J]. 中国饲料, 2004, (6): 21-24.

[22] Kim Y Y, Mahan D C. Comparative effects of high dietary levels of organic and inorganic selenium on selenium toxicity of growing-finishing pigs[J]. Journal of animal science, 2001, 79(4): 942-948.

[23] Kim Y Y, Mahan D C. Prolonged feeding of high dietary levels of organic and inorganic selenium to gilts from 25 kg body weight through one parity [J]. Journal of animal science, 2001, 79(4): 956-966.

更正

2011 年第 36 卷第 2 期(总第 156 期)更正信息如下:

(1)P1:“目录”中 P33 文章的第一作者应为: 卢受昇

(2)P15: 所有作者的“工作单位”一栏应改为: 内蒙古呼和浩特市

(3)P42: 第 3. 3. 2 处第 6-7 行应为: “在股骨头和最后肋骨引一水平连线, 在连线的中点向下做一垂直切口, 长 8~12 cm, 依次切开……”; 右栏第 3-4 行应改为: “向子宫内放入 80 万~160 万 IU 青霉素、50 万~100 万 IU 链霉素或 0.5~2.5 g 土霉素”。

动物的能量代谢及锌在其中的作用

赵必迁^{1,2}, 周安国^{2*}

(1. 攀枝花市行远牧业有限公司, 四川 攀枝花 617061; 2. 四川农业大学动物营养研究所, 教育部抗病营养研究中心, 四川 雅安 625014)

摘要: 能量代谢包括能量合成代谢和能量分解代谢两方面。线粒体的电子呼吸链合成 ATP, 而线粒体解偶联蛋白形成质子漏极大地降低线粒体合成 ATP 效率, 同时机体的离子转移也消耗相当部分的 ATP。锌离子在线粒体与电子呼吸链复合体结合而影响酶活性, 也影响一些离子转移酶。

关键词: 电子呼吸链; 解偶联蛋白; 离子转移; 锌

中图分类号: S816.72

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2011)03-0011-02

动物的能量代谢伴随着机体物质代谢, 能量代谢率的高低是合成代谢和消耗代谢的综合表现, 与动物机体生长生产性能、物质和能量利用率等关系密切。锌作为动物机体必须的微量元素, 对能量的合成和消耗代谢有一定影响。本文就这两方面的内容做简要的综述。

1 能量代谢

1.1 能量合成代谢

能量代谢是能量合成代谢和能量消耗代谢两大过程的综合表现。能量合成代谢在动物体内主要是合成 ATP, 供组织细胞及一切生命活动能量的需要, 而发生在线粒体的氧化磷酸化途径为合成 ATP 的主要途径, 参与氧化及磷酸化的体系以复合体的形式分布在线粒体的内膜上, 构成呼吸链。其功能进行电子传递、H⁺ 传递及氧的利用, 产生 H₂O 和 ATP。

电子呼吸链复合体主要有复合物 I、II、III、IV、V 组成。复合物 I 催化氧化还原态的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH), 并捕获两个高能电子传递至辅酶 Q(CoQ), 同时泵出 4 个 H⁺ 进入膜间隙。复合物 II 催化两个低能电子传至 CoQ, 但是不具备泵出 H⁺ 到膜间隙的能力。复合物 III 催化 CoQ 氧化并将电子传递至细胞色素 C, 同时泵出 4 个 H⁺ 进入膜间隙。复合物 IV 催化细胞色素 C 并将电子传递至分子氧, 生成 H₂O。复合物 V 也称为 ATP 合成酶, 由头部 -F₁、膜部 -F₀ 两个基本部分构成, 通过头部旋转来开放或关闭催化位点, 催化 ATP 合成或水解的活性。众多研究表明细胞色素 C 氧化酶是线粒体氧化能力的关键氧化部位和限速酶, 在调节线粒体氧化

磷酸化功能和细胞的能量需求中起关键性作用, 其结构和活性的改变可影响电子传递链的功能, 导致能量生成障碍, 是线粒体氧化呼吸的限速酶^[1]。

1.2 能量消耗代谢

能量消耗主要包括线粒体质子泄漏, 离子转移等类型^[2], 其生理功能主要是机体基础代谢率的基本需要包括摄食、消化和食物代谢, 也包括细胞和分子水平上的温度调节功能, 运动、生长和繁殖等。

1.2.1 线粒体质子漏 解偶联蛋白(UCPs) 作为线粒体内膜的质子载体使氧化磷酸化产生的质子流通过 UCPs 进入基质, 而不参与 ATP 的合成, 即发生质子渗透, 从而导致储存在质子流中的自由能被消耗, 使氧化磷酸化解偶联, 而能量以热量形式消耗掉。目前, 线粒体产热量主要取决于线粒体上解偶联蛋白, 即位于线粒体内膜介导 H⁺ 内流的跨膜蛋白质形成的“质子漏”的程度。UCP 主要分为 UCP1、UCP2、UCP3、UCP4 和 UCP5 五类型。

UCP1 位于 BAT 线粒体内膜的外表面上, 是一种具有调节质子跨膜转运作用的转运蛋白, 对质子有较高的通透性。一般认为 UCP1 在维持啮齿类动物的体温中有很重要的作用, 但是其在大型动物中的分布却很少^[3]。

UCP2 普遍分布于在不同组织中, 解偶联 2 型蛋白的功能可能包括: 调节 ATP 生成、控制线粒体产生活性氧簇、应对寒冷和摄食控制适宜的生热作用以及调节脂肪酸的氧化作用^[4]。Bouchard 等^[5]运用 3 个覆盖 UCP2 基因区域的微卫星多态标志(D11S916、D11S321、D11S911)对 Quebec 家系的研

收稿日期: 2011-03-17

*: 通讯作者

基金项目: 教育部长江学者和创新团队发展计划(IRT0555)资助

究认为, D11S911 基因区与机体静息代谢率密切相关。Walder 等^[6]也报道 Pima 印地安人中, UCP2 Exon 8 Ins/Del 变异位点与睡眠期间代谢率有关, 在南印地安人中 UCP2 Exon8Ins/Del 变异与女性 BMI 有关。

UCP3 是主要存在于骨骼肌和啮齿类动物的棕色脂肪组织, 提供非颤抖的生热作用。UCP3 缺乏的小鼠显示出损害骨骼肌代谢的生化作用, 减少线粒体质子渗透和增加 ROS 产生, 增加 ATP 生成效率。Clamphan 等^[7]报道, 过量表达 UCP3 的转基因鼠比非转基因鼠增加了 77% 的能量消耗, 同时还增加了 25% 的静息氧消耗。Matsuda 等^[8]报道, 小鼠在饲喂高脂、高碳水化合物 4 周后其骨骼 UCP3 mRNA 水平显著增加。有研究认为, BMI 与 UCP2 无关联, 而与 UCP3 负相关。近来研究提示 UCP3 所表现出的与 BMI 的相关性可能是由于它与 UCP2 的连锁不平衡引起, 它单独作用的可能性不大^[9]。所以 UCP2 与 UCP3 可能联合调控能量代谢, 参与机体能荷水平的调控, 从而影响动物的生长速度、体格构成及饲料转化率。具体作用途径有待进一步研究。

UCP4 主要在脑组织表达, 参与脑细胞的的凋亡, 可能与脑组织的代谢和热量调节。UCP5 存在长型、短型和含插入片段三种亚型。其中脑和睾丸内表达量大, 其他组织表达量小。研究表明, UCP5 有降低线粒体膜电位, 清除体内 ROS 基因的能力。可能与组织特异性的温度调节和代谢调节相关。

1.2.2 离子转移 Na^+ - K^+ ATP 酶是生物体广泛存在的一种膜酶, 其基本功能是将 Na^+ 离子送到细胞外, K^+ 离子送到细胞内, 维持细胞内外渗透压平衡和跨膜电化学梯度, 同时催化 ATP 水解, 释放能量, 细胞产热约 50% 来自 Na^+ - K^+ ATP 酶^[10]。

2 锌的能量代谢作用

2.1 锌与线粒体

线粒体以膜结构为主, 其中多不饱和脂肪酸 (PUFA) 广泛存在于脂质双层结构的磷脂类分子中, 但其中的不饱和和化学键极易受自由基侵袭形成过氧化物而影响正常膜功能的发挥。当线粒体膜磷脂中 PUFA 发生脂质过氧化, 使其含量相对减少, 可导致膜流动性下降, 膜蛋白正常功能受损, 线粒体内膜和嵴中的脂双层中镶嵌的琥珀酸脱氢酶呼吸链和氧化磷酸化合成 ATP 酶类等成分酶活减弱或丧失, 呼吸链成分 ATP 酶的碰撞过程减弱, 呼吸链的电子传递和质子梯度偶联的磷酸化过程受到负面影响。

周琳等^[11]先用异丙肾注射 ISO, 心肌亚线粒体膜荧光偏振度值明显增高, 线粒体内膜流动性显著下降, 造成线粒体内膜功能受损。加锌后在 24 h 和 48 h 心肌亚线粒体偏振度值与异丙肾组相比显著改善。Senior^[12]证实牛心肌线粒体 ATPase 存在至少两个二级金属阳离子紧密结合位点。其中 Mg^{2+} 是 F1 亚单位结构完整所必需的, 如果除去 Mg^{2+} 导致酶的裂解伴随酶活的丧失, Zn^{2+} 可结合于第二结合位点, 与 F1 可较紧密结合。Daggett 等^[13]研究表明, 锌可与心肌线粒体 H^+ -ATP 合酶 F1 亚基的特异位点结合, 并认为锌可能对调节该酶的催化活性有一定的作用。

在高锌离子抑制电子呼吸链的试验中发现锌离子只对复合物 IV 和复合物 V 有高的亲和性^[14]。通过检测晶体方法发现复合物 IV 有两个锌结合位点^[15]。曹琰等^[16]观察铜锌对原代培养的神经元细胞色素氧化酶 (COX) 活力的影响。醋酸锌分别为 0.05、0.16、0.5 mmol/L 进行染毒, 用细胞化学方法图象处理定量分析细胞色素氧化酶的活力, 单独染锌组 COX 活力与对照组之间差异无显著性。铜组在 0.16、0.5 mmol/L 时, COX 活力降低, 与对照组差异有显著性, 说明铜能明显降低神经元能量代谢关键酶 -COx 的活力, 而锌则不能。这些报道都是在分子或细胞水平上, 研究高锌离子毒性作用。

2.2 锌与离子转移

韩军花^[17]从体内和体外两方面研究锌对红细胞膜 Na^+ , K^+ -ATP 酶的影响。健康雄性 Wistar 大鼠分别喂饲低锌、常量锌和高锌饲料 (饲料锌含量分别为 2.2、28、128 mg/kg), 25 d 后各组随机取 8 只动物腹主动脉取血后处死, 测定血清锌含量和红细胞膜 Na^+ , K^+ -ATP 酶活性; 各组剩余 6 只动物改变其锌摄入量后继续喂饲 7 d 后, 观察锌对红细胞膜 Na^+ , K^+ -ATP 酶活性影响的敏感性。体外实验用新鲜制备的人红细胞膜, 在不同浓度锌 (0、5、10、50、100 和 500 mmol/L) 溶液中温浴, 观察 Na^+ , K^+ -ATP 酶活性的变化趋势。结果表明, 锌对红细胞膜的 Na^+ , K^+ -ATP 酶活性均有影响, 锌浓度过低或过高可抑制酶活性。丁虹等^[18]在常规饲料 (锌含量 ≤ 100 mg/kg) 中加入硫酸锌制成高锌饲料 (锌含量为 1 500 mg/kg), 在小鼠上试验得知高锌组小鼠心、肺、肾、肝线粒体 Na^+ , K^+ -ATP 酶活性显著低于常量锌组。这些结果证明摄入过量的锌可以改

(下转第 23 页)

简述兽药注射剂在开发生产过程中应注意的几个问题

郭善康

(广西兽药研究所, 广西 南宁 530001)

中图分类号: S859.79'9.9

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2011)03-0013-02

随着畜牧业的迅速发展, 畜禽疫病呈现出越来越复杂的局面。为了治疗疫病, 人们需要疗效好、疗程短, 使用方便的各种新兽药制剂。因此, 兽药新产品的开发与研制, 在畜牧业发展中显得越来越重要。但是, 市面上有个别兽药注射剂, 在有效期内出现变色、混浊、沉淀的现象, 从而导致疗效降低, 达不到预期效果。为此, 本人就多年兽药新制剂开发研究工作中所碰到的几个应该注意的问题, 与同行探讨。

1 药物的溶解与溶剂的选择

药物在溶剂中能否很好地溶解, 其溶解量能否达到常用治疗剂量, 与药物本身的分子结构式和选用溶剂的分子结构式有关。我们知道, 几乎所有合成的兽药原料, 都是有机化合物, 其分子结构上均含有化学官能团, 从这些化学官能团中, 可以大概判断其溶解于那一类溶剂, 从而进行溶剂的选择。

1.1 凡含有羟基 (-OH), 亚氨基 (-NH-) 羰基 (=C=O) 的有机化合物, 它们均能与水、乙醇形成稳定的氢键而溶解于水和乙醇, 上述基团在有机化合物分子结构中呈现越多, 则该物质在溶剂中的溶解度越大^[1]。

1.2 含有酸性基团的有机化合物, 可溶解在碱性溶液中, 如: 羧基 (-COOH), 羟基 (-OH), 磺酸基 (-SO₃H), 巯基 (-SH), 碳酰磺酰亚胺基 (-SO₂NH-)。分子结构中含有上述基团越多, 溶解在碱性溶液中的溶解度越大。化合物中, 凡含有碱性基团的药物, 则可溶解在酸性溶液中, 如: OH⁻, -NH₂, CO₃²⁻, HCO₃⁻^[2]。

1.3 复合溶媒, 当选用某种溶剂溶解某一药物, 其溶解度还未达到治疗用浓度时, 可选择使用一

些增溶物, 组成复合溶媒。如在溶剂中加入部分聚山梨酯-80、丙二醇、甘油、二甲基亚砷、二甲基乙酰胺、油酸乙酯、乙醇、乳酸胺等。溶剂由单一溶剂改变为复合溶媒后, 对药物的溶解度大大增加^[3]。

2 延缓产品在保质期内的水解作用

有些药物产品, 在保质期内, 产品的主要成分与溶液中的水发生水解, 产生沉淀物。许多药物的水解速度, 随温度的升高而加快, 并且受热时间的长短, 直接影响水解速度。因此, 在产品生产过程中进行加热灭菌时, 在达到灭菌效果的前提下, 应选择流通蒸汽灭菌, 时间不宜太长, 尽量避免高压灭菌。另外, 某些金属离子如铜, 铁, 锌起到催化作用, 影响药物发生水解反应的速度。因此, 在生产过程中, 可加入络合剂依地酸二钠, 以减缓药物的水解速度。由于水解的本质是药液中的水分子电离出氢氧根离子和氢离子, 这两种离子与药物分子中的有关基团结合而生成无疗效或有害的新物质。所以, 在生产过程中, 加入强电解质氯化钠作稳定剂, 以降低药液中氢氧根离子和氢离子的浓度, 延缓水解。为减少药液中氢氧根离子和氢离子, 还可用乙醇、甘油、丙二醇部分或全部代替水溶媒。

3 生产过程中, 尽量避免引入二氧化碳

空气中平均含有 0.03% 体积的二氧化碳, 这些二氧化碳极易溶于水, 其溶解度随水温的升高而降低。当药液中含有二氧化碳时, 随着时间推移, 二氧化碳会和水慢慢地起化学反应而形成碳酸, 一部分碳酸与溶液中的某些金属离子起反应形成难溶于水的碳酸盐而产生沉淀, 部分碳酸又能电离出氢离子而改变溶液原来 pH 值, 使溶液酸

性增高,加快了药物的氧化、水解反应。而药液改变原来 pH 值后,往往也会发生沉淀。在生产过程中,为防止引入过多的二氧化碳,使用的注射用水要新鲜。常温下保存超过 24 h 的注射水,使用时要重新加热,以驱除水中的二氧化碳。药液配好后,要在 4 h 内灌装密封完毕,并且装量按要求应尽量装满容器。也可以在药液配制过程中加入少量碱,防止因水和二氧化碳反应形成碳酸,使溶液酸度上升而导致药物分解。

4 产品在存储过程中的氧化反应和预防方法

某些液体药品在存储过程中发生了变色,浑浊,沉淀的现象。这些情况的发生,绝大部分都是药物的氧化反应引起的。因此防止药物在存储过程中发生氧化反应,是开发生产兽药新制剂的一个重要问题。

药品制剂在存储过程中能否发生氧化反应,以及发生反应的难易程度,除与外界环境(溶液含氧量,温度,pH 值以及金属离子的浓度)有直接影响外,最重要的是取决于药物的分子结构。在有机化合物中,分子结构不饱和程度越高,也即双键越多,越容易氧化。在无机化合物中,越容易得到电子的物质越易氧化。为了防止药品在保质期发生氧化反应,可从以下几个方面着手:

4.1 在药液中添加抗氧化剂

在药液中加入了抗氧化剂之后,抗氧化剂即与溶液中的氧气起氧化反应,消耗了溶液中部分氧,使氧浓度降低。当药液偏酸性时,宜用焦亚硫酸钠作抗氧化剂,当药液偏碱性时,宜用亚硫酸钠作抗氧化剂^[4]。

4.2 在药液中添加络合剂

配制药液过程和使用注射用水时,总会引入一些金属离子。这些金属离子虽然不能直接和药液中药物成分起氧化反应,但它能促进氧化反应。因此在药液中加入一些络合物,它与金属离子结合成稳定的螯合物,使金属离子失去催化作用。当溶液偏酸或中性时,宜用依地酸钙钠作络合剂,当溶液偏碱性时,宜用依地酸二钠作络合剂^[5]。

4.3 生产中应尽量避免引入过多的氧

氧是由空气和注射用水带来的。措施与防 CO₂ 同。

5 药物组方时应考虑的因素

在当今畜禽治疗过程中,人们发现,由单一组份组成的药剂疗效不够理想。因此,人们在开发兽药新制剂时,通常把两种或两种以上的药物混合制成一个复方制剂,以期达到提高疗效,减少不良反应的效果。但是,如果药物配合得不适当,有时不但不能达到医疗上的预期目的,而且还可能产生不良后果。因为某些药物混合配成复方制剂后,虽然没有出现沉淀,变色,产生气体等外观变化,但在长期存储过程中,也发生了某种化学反应,只是这种化学反应的产物也能溶解在这一溶剂中。这些产物往往对治疗疾病是无疗效的,甚至是有毒有害的,所以在选择确定复方制剂的药物组份时,应从以下几方面考虑:

5.1 复方制剂中同时存在两个或两个以上组份的药物,若某组份药物的分子结构中含有酸性基团,另一组份的药物分子结构中含有碱性基团,产品在存储过程中会缓慢地发生中和反应而产生一种新物质,此时应调整制剂组份结构。

5.2 当复方制剂中某一组份的药物分子结构中含有不饱和双键,而另一组份药物的分子结构中含有供电子基团,则产品在长期存储过程中,发生氧化还原反应。此时也要调整制剂组份组成。

5.3 当复方制剂中各组份不存在上述化学反应,并且对疾病的治疗具有“相加作用”或“增强作用”,可选择作为复方制剂的组份。但应与药物的吸收,体内分布,排泄过程以及药液的 pH 值等一起综合考虑。

综上所述,兽药新制剂的开发与生产,要保证药品在保质期内不发生变质,达到预期疗效,必须综合考虑各方面因素,才能达到预期效果。

参考文献:

- [1] 孙积辉,徐鸣夏,杨华远,等. 药物化学[M]. 第一版. 北京:人民卫生出版社,1992:409-410.
- [2] 孙积辉,徐鸣夏,杨华远,等. 药物化学[M]. 第一版. 北京:人民卫生出版社. 1992:412.
- [3] 於传福,屠锡德. 药剂学[M]. 第一版. 北京:人民卫生出版社,1993:284-285.
- [4] 於传福,屠锡德. 药剂学[M]. 第一版. 北京:人民卫生出版社,1993:259-260.
- [5] 於传福,屠锡德. 药剂学[M]. 第一版. 北京:人民卫生出版社,1993:261.

仙湖肉鸭 B 系肌内脂肪含量与屠体性能关系研究

刘绍扬^{1,2}, 黄得纯³, 吕敏芝^{3*}, 麦白帆³, 黄祖洁³, 莫云靖³

(1. 广东佛山三水区农产品质量安全检测中心, 广东 佛山 528100; 2. 华南农业大学, 广东 广州 510642; 3. 佛山科学技术学院, 广东 佛山 528231)

摘要: 本研究对仙湖肉鸭 B 系的肌内脂肪含量与屠体性状关系进行分析。结果表明: 公鸭活重、屠体重、半净膛重、全净膛重与肌内脂肪含量均表现为中等正相关, 其中半净膛重与肌内脂肪含量的相关关系达到显著水平 ($P < 0.05$), 胸肌重、腿肌重、皮脂重、皮脂率均与肌内脂肪含量呈弱的正相关, 相关关系不显著; 母鸭腹脂重、腹脂率与肌内脂肪含量的相关系数高达 0.3660 和 0.4169, 均呈显著的中等正相关 ($P < 0.05$), 活重、腿肌率与肌内脂肪含量的相关系数虽为负值, 但很弱, 相关系数几乎为零, 其余屠体性能指标均与肌内脂肪含量为弱相关, 差异不显著。

关键词: 肌内脂肪; 屠体性状; 仙湖肉鸭

中图分类号: S834

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2011)03-0015-03

The correlation between the carcass traits and the intramuscular fat in XianHu meat duck B strain

Liu Shaoyang^{1,2}, Huang Dechun³, Lv Minzhi^{3*}, Mai Baifan³, Huang Zujie³, Mo Yunjing³

(1. The Center for Agri-Food Quality and Safety Inspection, Foshan 528100, China; 2. South China Agriculture University, Guangzhou 510642, China; 3. Foshan Science and Technology University, Foshan 528231, China)

Abstract: The correlation between the carcass traits and the intramuscular fat (IMF) in XianHu meat duck B strain was studied in this paper. The results showed that there was a moderate positive correlation between IMF and body weight, carcass weight, half-eviscerated weight and eviscerated weight in drakes, half-eviscerated weight had significant positive correlation with IMF ($P < 0.05$) and the correlations between IMF and breast muscle weight, leg muscle weight, sebum weight (rate) were low and not significant. In female ducks the correlation coefficient between IMF and abdominal fat weight, abdominal fat rate were 0.3660 and 0.4169 respectively and there was significant positive correlation ($P < 0.05$), body weight and leg muscle rate were negatively correlated to IMF and the correlation coefficients were near to zero. The correlations between IMF and the other carcass traits were insignificant also.

Key words: Intramuscular fat (IMF); carcass traits; Xianhu meat duck

沉积在肌肉中的脂肪是影响肉质和风味的一个重要因素。随着人们生活水平的不断提高, 畜禽肉质问题受到了广泛的关注, 同时也是育种专家们在不断提高畜禽生长速度及饲料转化率的同时孜孜以求的另一个指标, 是育种的重要参数。近年来, 国内外对鸭肉质的研究主要是对一些地方鸭种肉质进行屠体测定、肌肉组织学特性的评定和肌肉化学成分的分析, 对鸭肌肉内脂肪含量变

化与屠体性能的关系研究报道极少。仙湖肉鸭在多年选育中, 主要目标是提高生长速度, 提高胸肌、腿肌含量和降低腹脂、皮脂的含量, 而对于在提高瘦肉率的同时是否会降低肌内脂肪含量、影响肉质风味这一问题尚未深入研究。本文以仙湖肉鸭 B 系为试验素材, 对沉积在肌肉中的脂肪与屠体性状的关系进行初步探讨, 为仙湖肉鸭后继育种工作提供理论依据。

收稿日期: 2011-02-28

*: 通讯作者

基金项目: 广东省科技攻关项目(2008B020600004)

1 材料与方 法

1.1 试验材料

试验鸭为仙湖肉鸭 B 系, 由佛山科学技术学院科研禽场提供, 饲养时间为 2010 年 10 月 27 日至 12 月 15 日。1~10 日龄为育雏期, 采用稻草垫料、室内平养的方式, 饲喂广州穗平饲料公司生产的宝鼎牌 501 小鸭料; 11~49 日龄采用室内室外自由出入饲养, 改喂佛山市大智生物科技有限公司生产的 A215 配合饲料, 自由采食, 自由饮水, 按常规方法饲养管理。日粮的营养水平: ①1~10 日龄: 代谢能为 12.0 MJ/kg, 粗蛋白质为 19.2%, 蛋氨酸为 0.42%, 赖氨酸为 1.08%, 钙为 0.9%, 有效磷为 0.5%; ②11~49 日龄: 代谢能为 11.7 MJ/kg, 粗蛋白质为 14.5%, 蛋氨酸为 0.35%, 赖氨酸为 0.92%, 钙为 0.86%, 有效磷为 0.46%。至 49 日龄时随机抽取 60 只(公母鸭各 30 只)进行屠宰并取胸肌测定肌肉脂肪含量。

1.2 试验方法

1.2.1 屠体性能测定 根据家禽的屠宰方法, 分别测定屠体重、全净膛重、胸肌重、腿肌重、腹脂重、皮脂重, 并计算胸肌率、腿肌率、腹脂率和皮脂率(分别为该项指标的绝对重与全净膛重的比值, 用%表示)。

1.2.2 肌肉脂肪含量的测定 将胸肌样品剪碎后置 65 °C 烘箱中先烘 24 h 后研碎, 过 40 目筛(去除肌腱等杂质); 将脱脂滤纸在 105 °C 烘箱中烘 3 h 至绝干后称重; 取 1 g 左右过筛后的样品

包入滤纸中, 放入 105 °C 烘箱中, 烘 6 h, 取出(盖上盖)置于干燥环境中冷却 20 min 后称出脱脂前滤纸包的准确重量; 然后放入索氏抽提器中用乙醚抽提 24 h, 水浴温度 62~65 °C, 控制乙醚回流次数为 10 次/h(每秒 3~4 滴); 脱脂后的样品包烘至绝干后称重。

样品(绝干)脂肪含量(%)=100×(脱脂前样包重-脱脂后样包重)/(脱脂前样包重-绝干滤纸重)。

1.3 统计方法

所有数据均用 Excel 建立数据库, 再利用 SPSS17.0 统计分析软件对各性状进行描述统计、均值比较及性状间的相关分析。

2 结果与分析

2.1 仙湖肉鸭的屠体性能与肌肉脂肪含量测定结果

见表 1。经屠宰测定, 仙湖肉鸭 B 系的活重、肌肉脂肪含量都为公鸭大于母鸭, 且差异极显著($P < 0.01$), 这说明性别对肌肉中脂肪的沉积有明显的影响, 这可能是内分泌激素水平不同而造成的; 全净膛率和胸肌率公鸭略大于母鸭, 屠体率和腿肌率则公鸭略小于母鸭, 但均差异不显著; 腹脂率母鸭显著地高于公鸭, 皮脂率母鸭略大于公鸭, 说明母鸭对体脂的沉积能力比公鸭强, 但这两个指标的标准差较大, 变异系数也大, 说明体脂性状个体间差异较大, 有较大的选择空间。

表 1 公母鸭屠体性能及肌肉脂肪含量的比较

性别	活重/g	屠体率/%	全净膛率/%	胸肌率/%	腿肌率/%	腿肌率/%	皮脂率/%	肌肉脂肪含量/%
♂	3613.33 ^{***} ±167.40	88.00±2.10	73.15±1.73	9.72±0.66	12.05±0.62	2.80 ⁰¹ ±0.54	26.98±1.73	5.11 ^{**02} ±0.30
♀	3376.67±298.68	88.48±1.94	72.76±2.23	9.69±0.83	12.13±0.58	2.95±0.58	27.50±2.38	4.12±0.55
♂♀总计	3495.00±266.61	88.24±2.00	72.96±1.97	9.71±0.73	12.09±0.59	2.87±0.55	27.24±2.06	4.62±0.67

1): “*”表示同一指标公母间差异显著($P < 0.05$); 2): “**”表示同一指标公母间差异极显著($P < 0.01$)。

2.2 肌肉脂肪含量与屠体性能的相关分析结果

由表 2 可以看出, 仙湖肉鸭 B 系公鸭活重、屠体重、半净膛重、全净膛重与肌肉脂肪含量的相关均表现为中等正相关, 其中半净膛重与肌肉脂肪含量的相关关系达到显著水平($P < 0.05$), 胸肌重、腿肌重、皮脂重、皮脂率均与肌肉脂肪含量呈弱的正相关, 且相关关系不显著; 其余为弱的负相关。

母鸭腹脂重、腹脂率与肌肉脂肪含量的相关系数高达 0.3660 和 0.4169, 均呈显著的中等正

相关($P < 0.05$), 这表明母鸭的腹脂沉积与肌肉脂肪的沉积是一致的, 母鸭活重、腿肌率与肌肉脂肪含量的相关系数虽为负值, 但很弱, 相关系数几乎为零, 可认为活重、腿肌率对肌肉脂肪含量的影响极小, 其余屠体性能指标均与肌肉脂肪含量为弱相关, 差异不显著。

3 讨论

屠宰性能的测定结果反映了鸭的产肉性能, 一般认为屠宰率在 80%以上, 全净膛率在 60%以

表 2 肌内脂肪含量与屠体性状的相关性

项目	♂	♀
活重	0.3449	-0.0579
屠体重	0.3241	0.0401
全净膛重	0.3370	0.1199
半净膛重	0.3632 ^{*)}	0.1315
胸肌重	0.1452	0.1275
胸肌率	-0.0616	0.1124
腿肌重	0.0836	0.0702
腿肌率	-0.2776	-0.0635
腹脂重	-0.0057	0.3660 [*]
腹脂率	-0.0939	0.4169 [*]
皮脂重	0.2109	0.1393
皮脂率	0.0730	0.1605

1): “*”表示相关关系显著 $P < 0.05$, 相关系数临界值, $\alpha = 0.05$ 时, $r = 0.361$; $\alpha = 0.01$ 时, $r = 0.463$ 。)

上, 肉用性能良好。本次试验结果显示, 仙湖肉鸭 B 系 49 天龄活重达 $3\ 495.00 \pm 266.61$ g、屠体率 $88.24\% \pm 2.00\%$ 、全净膛率 $72.96\% \pm 1.97\%$ 、瘦肉率接近 22%, 腹脂率 $< 3\%$ 、皮脂率 $< 28\%$, 表明仙湖肉鸭 B 系产肉性能优良。

肌内脂肪的主要成分是磷脂, 富含不饱和脂肪酸, 特别是长链不饱和脂肪酸, 极易被氧化, 其氧化产物直接影响风味的组成^[1]。一般认为肉中脂肪含量与肉的嫩度呈正相关, 含脂率的多少是影响肌肉风味口感的重要因素之一, 在胴体的某个部位内, 可能需要有一定的脂肪含量才能使肉质嫩而多汁。张双杰等^[2]报道了培育的四世代高肌脂品系鸡胸肌内脂肪含量为 $4.0\% \pm 0.92\%$ 。曹斌等^[3]在研究 3 个品种鸭的屠宰性能及肌肉营养成分时, 测得番鸭、樱桃谷鸭、高邮鸭胸肌脂肪含量分别为 1.88%、3.59%、2.52%。另有研究证明五龙鹅的胸肌肌内脂肪含量为 4%^[4], 而樱桃谷肉鸭的肌内脂肪含量公鸭为 $1.62\% \pm 0.84\%$ 、母鸭为 $1.45\% \pm 0.52\%$ ^[5]。李同树等^[6]在研究山东地方鸭与北京鸭的产肉性能与肉质特性时, 测得北京鸭肌内脂肪含量公鸭为 $0.66\% \pm 0.30\%$ 、母鸭为 $1.47\% \pm 0.13\%$ 。本实验仙湖肉鸭 B 系公母鸭的肌内脂肪含量分别为 5.11% 和 4.12%, 均大于以上报道的禽类的肌内脂肪含量, 但与杨晓刚等^[7]报道的北京

鸭 Z2 系接近 (♂ 为 4.93%、♀ 为 4.46%), 比 Z4 系 (6.74%)、Z2×Z4 系 (5.53%) 低, 这与他人的研究结果差异较大, 可能是畜禽品种、品系不同, 遗传特性不一样, 也可能由于饲养方式的不同造成的。

本实验结果显示, 仙湖肉鸭 B 系公鸭活重、屠体重、半净膛重、全净膛重与肌内脂肪含量的相关均表现为中等正相关, 其中半净膛重与肌内脂肪含量的相关关系达到显著水平 ($P < 0.05$), 胸肌重、腿肌重、皮脂重、皮脂率均与肌内脂肪含量呈弱的正相关, 且相关关系不显著; 在公鸭的选育中, 提高生长速度、增加体重, 肌内脂肪含量有增加的趋势; 而降低腹脂、皮脂的同时, 不会降低肌内脂肪的含量。这与杨晓刚等^[7]报道的北京鸭 Z2 系 ♀、Z4 系 ♂ 和 Z2×Z4 系 ♀ 等接近。另一方面, 仙湖肉鸭 B 系母鸭肌内脂肪含量与腹脂重、腹脂率呈显著的中等正相关 ($P < 0.05$), 表明母鸭的腹脂沉积与肌内脂肪的沉积是一致的, 减少腹脂的沉积会显著降低胸肌的含脂率而影响肉质的风味。这与李俊英等^[1]对五个杂交组合优质鸡中的 4 个组合研究结果相似。

4 结论

仙湖肉鸭 B 系公母鸭肌肉中的脂肪与屠体性状的关系差异较大, 因此, 在降低体脂沉积的育种时, 要充分考虑到品系内公母鸭的实际情况, 综合平衡。在提高瘦肉率、降低体脂的同时尽量避免肌内脂肪含量的降低。

参考文献:

- [1] 李俊英, 侯卓成, 袁建敏, 等. 优质鸡肌内脂肪含量与屠体及肉质性状间的关系[J]. 中国畜牧杂志, 2004, 40(12): 12-15.
- [2] 张双杰, 葛庆联, 李慧芳, 等. 高肌脂品系选育研究[J]. 中国家禽, 2004, 8(1): 133-136.
- [3] 曹斌, 王健, 臧大存, 等. 3 个品种鸭的屠宰性能及肌肉营养成分比较[J]. 畜牧与兽医, 2009, 41(12): 13-15.
- [4] 李同树, 曾勇庆, 唐辉, 等. 五龙鹅产肉性能与肉质特性的研究[J]. 中国畜牧杂志, 2000, 36(4): 15-17.
- [5] 张军, 龚道清, 沈立权, 等. 鸭血浆极低密度脂蛋白 VLDL 的研究[J]. 扬州大学学报, 2003, 24(4): 23-26.
- [6] 李同树, 井文倩, 唐辉, 等. 山东地方鸭与北京鸭的产肉性能及肉质特性研究[J]. 山东农业大学学报, 2001, 32(1): 23-28.
- [7] 杨晓刚, 侯水生, 刘小林, 等. 北京鸭胸肌肌内脂肪含量与屠宰性能指标的关系[J]. 中国家禽, 2007, 43(9): 4-6.

快慢羽品系贵妃鸡体尺性状及屠宰性能的比较分析

徐嘉怡¹, 王德成², 杨曦¹

(1. 广东省微生物研究所, 广东 广州 510070; 2. 东莞市黄江兽医站, 广东 东莞 523770)

摘要: 对20周龄的6只快羽贵妃鸡与6只慢羽贵妃鸡的体尺性状与屠宰性能进行比较分析。结果表明, 两品系间的体尺性状与屠宰性能均为慢羽鸡大于快羽鸡, 且髌宽、半净膛率两品系间差异显著($P < 0.05$)。两品系间的内脏器官的体积大小和骨架结构大小存在一定的规律性, 骨架指数与睾丸重慢羽鸡均大于快羽鸡, 器官指数则是慢羽鸡小于快羽鸡。

关键词: 贵妃鸡; 快羽; 慢羽; 体尺性状; 屠宰性能

中图分类号: S831.4⁹ **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8567(2011)03-0018-03

Comparison of body traits and dressed characters of fast/slow feathering royal chickens

Xu Jiayi¹, Wang Decheng², Yang Xi¹

(1. Guangdong Institute of Microbiology, Guangzhou 510070, China; 2. Huangjiang Veterinary Station of Dongguan, Dongguan 523770, China)

Abstract: Body traits and dressed characters were measured between fast feathering royal chickens and slow feathering royal chickens (20-week-old). The results showed that body traits and dressed characters of slow feathering royal chickens were higher than that of fast feathering royal chickens. There was a significant difference on hip wide and half-eviscerated carcass ratio ($P < 0.05$). There were regularity on weight of organs and frame measurements in these two lines. It indicated that the body measurements and testicle weight of slow feathering royal chickens was higher than those of fast feathering and the organ measurements of slow feathering was lower than those of fast feathering.

Key words: Royal chicken; fast feathering; slow feathering; body trait; dressed character

通过称重和体尺测量, 可以比较客观地了解鸡的生长发育水平, 比较准确地分析鸡的体态结构特征和外形变化情况^[1]。相关研究表明体重、体尺性状与繁殖性能有一定的相关性。正常体重范围内, 体重与睾丸重呈正相关, 体斜长与睾丸重也有一定的相关规律^[2]。现阶段对贵妃鸡体尺性状与屠宰性能的研究比较少, 而快慢羽两品系间的体尺性状, 屠宰性能和繁殖性能中在其他品种鸡中有一定的研究, 所以本研究是为弥补贵妃鸡这些方面研究的空缺而设定的。

1 材料与方法

1.1 材料

试验鸡来自广东海洋大学育种中心贵妃鸡人工养殖场, 随机选择健康、饲养管理和营养条件一

致的20周龄快羽公鸡、慢羽公鸡各6只进行测定。

1.2 方法

按照全国家禽育种委员会1984年颁布的“家禽生产性能与计算方法”进行。运用SPSS统计软件计算各指标平均数、标准差并进行t-检验。

2 结果

2.1 体尺性状的测定

结果见表1。体尺性状中各指数均为慢羽鸡大于快羽鸡, 且髌宽差异显著($P < 0.05$)。

2.2 胸部结构的测定

结果见表2。由表2可见, 慢羽品系胸部结构指数大于快羽品系, 但差异不显著。

2.3 屠宰性能的测定

表3结果表明, 慢羽鸡各屠宰性能指数中除腹

表 7 慢羽品系活重与内脏器官的相关分析

项目	活重	心重	肝重	肌胃重	腺胃重	胰重	脾脏重	睾丸重
活重	1	0.40	0.13	0.17	0.07	0.46	0.27	-0.18
心重		1	0.86	-0.20	0.15	0.50	0.89	0.71
肝重			1	0.06	0.53	0.70	0.96	0.54
肌胃重				1	0.60	0.44	-0.09	-0.55
腺胃重					1	0.62	0.42	-0.18
胰重						1	0.76	-0.20
脾脏重							1	0.47
睾丸重								1

3.7 体尺性状与生殖器官的相关分析

表 8 数据显示, 快羽品系中活重与体斜长呈正相关, 且相关显著, 系数为 0.88。体斜长与睾丸、髌宽与睾丸相关均不显著。表 9 中慢羽品系中体斜长与睾丸、髌宽与睾丸相关均不显著。其他各性状间相关也不显著。

表 8 快羽鸡体尺性状与生殖器官的相关分析

项目	活重	睾丸重	体斜长	髌宽
活重	1	-0.71	0.88	0.24
睾丸重		1	-0.61	0.10
体斜长			1	-0.08
髌宽				1

表 9 慢羽鸡体尺性状与生殖器官的相关分析

项目	活重	睾丸重	体斜长	髌宽
活重	1	-0.18	0.34	0.32
睾丸重		1	0.49	-0.52
体斜长			1	0.27
髌宽				1

3 讨论与小结

3.1 讨论

本研究结果表明, 慢羽品系的贵妃鸡体尺性状均大于快羽品系, 且髌宽差异显著 ($P < 0.05$)。胸部结构指数也有慢羽品系大于快羽品系的现象, 但两品系间差异不显著。屠宰性能中除腹脂率是慢羽鸡小于快羽鸡外, 其余性状慢羽鸡均大于快羽鸡, 且快慢羽品系间的半净膛率差异显著 ($P < 0.05$)。本研究对内脏器官的指数进行比较分析, 结果显示内脏器官指数中, 除生殖器官睾丸指数在两品系间是慢羽鸡大于快羽鸡, 其他器官指数均为慢羽鸡小于快羽鸡。骨架部位^[3]指数则为慢羽鸡大于快羽鸡, 但两品系间内脏器官的指数差异均不显著。

活重、体尺性状均是可外观的性状, 在生产中常用活重、体尺与其他不能直观测定的性状进行相

关分析, 看是否有一定的相关规律, 可从外观指数推断不能直观的性状, 从而选择优秀的个体进行生产和繁殖^[4,5]。一些研究鸡繁殖性能的研究表明活重与睾丸, 体尺性状与睾丸有一定的规律关系, 正常范围内的活重与睾丸重呈正相关, 睾丸重与受精率呈正相关^[6], 髌宽与射精量呈正相关^[2,7], 从而推导活重与受精率呈正相关, 髌宽与受精率也呈正相关。

本研究对活重与内脏器官, 体尺性状与睾丸进行相关分析, 看是否具有一定的规律。但分析结果表明两品系中活重与内脏器官没有一定的规律, 体尺性状与睾丸也没有一定的规律, 但慢羽品系的睾丸重大于快羽品系。在相关研究中有表明睾丸重与受精率呈正相关^[2], 若运用这一规律比较两品系的繁殖性能, 则可得出慢羽品系略优于快羽品系。

3.2 小结

综上所述, 慢羽品系的体尺性状、体形指数、屠宰性能、繁殖性能和各指标均有慢羽品系大于快羽品系的现象, 且髌宽、半净膛率品系间的差异显著。分析表明, 在贵妃鸡中, 慢羽品系的屠宰性能和繁殖性能在一定指标中优胜于快羽品系。

参考文献:

- [1] 叶绍辉, 欧茶海, 丁自柏, 等. 60 和 90 日龄笼养腾冲雪鸡屠宰性能分析[J]. 云南畜牧兽医, 2000, (1): 14-15.
- [2] 韩枫. 睾丸重量、受精率与体重[J]. 家禽科学, 2005, (4): 39-40.
- [3] 杨宁. 现代养鸡生产[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1994: 89.
- [4] 包文斌, 周群兰, 吴信生, 等. 藏鸡和萧山鸡体尺及屠宰性能的比较分析[J]. 中国家禽, 2005, (7): 17-19.
- [5] 王得前, 陈国宏, 吴信生, 等. 仙居鸡的体尺测量及屠宰性能测定[J]. 浙江畜牧兽医, 2004, (3): 1-3.
- [6] 杜继红. 贵妃鸡的养殖技术[J]. 特种经济动植物, 2005, (11): 14-15.
- [7] 魏法山, 黄艳群, 孙桂荣, 等. 快、慢羽固始鸡体尺与繁殖性状间关系的研究[J]. 河南农业科学, 2005, (6): 39-41.

三例禽巴氏杆菌病的诊断

巫月生, 齐冬梅, 张毓金, 王卓明

(广东永顺生物制药有限公司, 广东 广州 511356)

摘要:通过对广州郊区3个发病鸡场进行病原菌的分离培养、涂片镜检、生化特性鉴定、致病性、药敏等试验,结果表明,分离的5株菌为多杀性巴氏杆菌,诊断为禽巴氏杆菌病。其对壮观霉素、呋喃妥因、头孢三嗪均高度敏感,对卡那霉素、红霉素、新霉素、痢特灵、头孢噻肟均中度敏感,对四环素、氟哌酸、杆菌肽、链霉素、林可霉素、青霉素、庆大霉素均低度敏感或完全耐药。

关键词:禽多杀性巴氏杆菌; 分离鉴定; 药敏试验

中图分类号: S852.61²

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2011)03-0021-03

禽霍乱(FC)又称禽巴氏杆菌病,禽出血性败血症(俗称禽出败),是由多杀性巴氏杆菌引起的家禽和野禽的急性败血性传染病,在世界各地均有不同程度的发生与流行。因其具有发病率和死亡率高的特点,常给养禽生产造成不可估量的经济损失,是美国农业部(USDA)兽医部门重点研究的四种传染病之一^[1],该病在我国亦同样存在和发生,给养殖户造成一定的经济损失。

2010年12月,广州郊区一些养鸡场,60~70天龄鸡只发生严重呼吸困难、口鼻流出粘液、体温升高至43~44℃、鸡冠与肉髯发钳及肿胀、腹泻,且伴随急性死亡。后经剖检,可见病死鸡的腹膜、皮下组织及腹部脂肪均有出血性小点,心外膜、心冠脂肪出血尤为明显,肺充血和出血。最为明显的是肝呈棕色或黄棕色,肝表面散布有许多灰白色、针尖状坏死点。笔者从3个鸡场分离鉴定了5株多杀性巴氏杆菌,同时进行药敏试验。现将试验报告如下:

1 材料

1.1 主要培养基及试剂

马丁肉汤,SPF鸡血清,马丁琼脂平皿,鲜血琼脂斜面,鲜血琼脂平皿,均由广东永顺生物制药有限公司培养基组提供,微量生化发酵管和药敏试纸购自杭州天和微生物试剂有限公司。

1.2 试验动物

试验鸡为2个月龄左右SPF鸡;试验小鼠为18~22g健康小鼠,均由本公司质检部提供。

2 方法

2.1 分离培养

无菌挑取病料接种到马丁琼脂平皿、鲜血琼脂

平皿中,37℃培养18~22h,挑取直径为1~2mm、灰蓝色、边缘整齐、隆起的菌落,划马丁琼脂平皿作进一步纯化和荧光观察,同时涂片染色镜检。

2.2 生化试验

将已分离纯粹的待检菌再划马丁琼脂平皿,37℃培养18~22h,然后挑取单个菌落接种到微量生化发酵管(预先加入SPF鸡血清至3%)中,37℃培养48h,观察结果。

2.3 致病性试验

2.3.1 对小鼠致病力试验 将纯菌的鲜血琼脂斜面培养物用生理盐水洗下制成菌悬液,用倾注平板培养法^[2]分别测定各菌株的活菌数(CFU),每株菌于腹部皮下注射小鼠6只,每只0.2mL(含活菌数2CFU)观察小鼠发病死亡情况,并从死亡小鼠肝脏中进行病原菌分离。

2.3.2 本动物试验 按2.3.1方法制备菌悬液,各于腿部肌肉注射鸡5只,每只2mL(含活菌数10CFU),观察鸡临床发病情况,并从死亡鸡心血及肝脏中进行病原菌分离。

2.4 药敏试验

将待检纯菌接种到马丁肉汤中(含3%SPF鸡血清),37℃、150r/min摇床培养18~22h,取菌液涂布于马丁琼脂平板,待液体稍干后,将药敏试纸平贴于琼脂表面,37℃培养24h,观察结果。

3 结果

3.1 分离培养

经马丁琼脂平皿作进一步纯化后,分离到5菌株。各菌株在马丁琼脂平皿上的菌落经45°折射光照射下,置低倍显微镜观察可见到:菌落的荧

光均呈桔红色;后经涂片、染色、镜检,可观察到各菌株形态均为革兰氏阴性,两端钝圆,中央微凸的球杆状菌,单个存在,有时成对排列;用瑞氏,姬姆萨氏染色、镜检,则可见各菌体均多呈卵圆形,呈典型的两极着色,中央部分着色较浅,很像两个并列的球菌,呈“冒号”样。

3.2 生化试验

将分离的 5 株菌在马丁琼脂平皿的单个菌落各自接种到 1 组微量生化发酵管中,37 °C 培养

48 h,试验结果表明 5 株菌均可分解葡萄糖、甘露糖、蔗糖、阿拉伯糖、果糖、木糖、甘露醇,产酸不产气;能还原硝酸盐;可形成靛基质,H₂S、氧化酶呈阳性;不发酵乳糖、麦芽糖、鼠李糖;甲基红试验(MR)、VP 试验、尿素酶均呈阴性。结果见表 1。

3.3 对小鼠致病力

将分离的 5 株菌纯培养物注射小鼠,隔日观察,小鼠全部死亡。取死亡小鼠的肝脏病料进行病原菌分离,均分离到较纯的同源菌。结果见表 2。

表 1 5 株菌生化试验结果

菌株	葡萄糖	乳糖	麦芽糖	甘露糖	蔗糖	阿拉伯糖	木糖	果糖	甘露醇	鼠李糖	硝酸盐	MR	VP	H ₂ S	尿素酶	靛基质	氧化酶
株 1	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+
株 2	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+
株 3	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+
株 4	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+
株 5	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+

1):“+”表示:阳性;“-”表示:阴性。

表 2 5 株菌对小鼠致病力试验

分离株	动物数量(只)	动物重量(g)	攻毒部位	剂量(CFU)	死亡数/攻毒数
株 1	6	18~22	腹部皮下	2	6/6
株 2	6	18~22	腹部皮下	2	6/6
株 3	6	18~22	腹部皮下	2	6/6
株 4	6	18~22	腹部皮下	2	6/6
株 5	6	18~22	腹部皮下	2	6/6

3.4 对 SPF 鸡致病力

将分离的 5 株菌纯培养物注射鸡,除菌株 3 在攻毒 24 h 后全部死亡外其余菌株 1、2、4、5 攻毒 48 h 后死亡 80%以上,剩下的鸡精神萎靡,排绿色稀粪;对死亡鸡只进行剖检,可见腹膜皮下组织及腹部脂肪有出血小点,心外膜、心冠脂肪出血尤为明显,肝脏表面散布有许多灰白色、针尖状坏死点;取死亡鸡只心血、肝脏等病料进行病原菌分离,均可分离到大量、较纯的同源菌。结果见表 3。

表 3 5 株菌对 SPF 鸡致病力试验

分离株	动物数量(只)	动物天龄(d)	攻毒部位	剂量(CFU)	死亡数/攻毒数		
					24 h	48 h	合计
株 1	5	67	腿部肌肉	10	4/5	1/5	5/5
株 2	5	67	腿部肌肉	10	2/5	2/5	4/5
株 3	5	67	腿部肌肉	10	5/5	-	5/5
株 4	5	67	腿部肌肉	10	3/5	1/5	4/5
株 5	5	67	腿部肌肉	10	3/5	2/5	5/5

3.5 药敏试验

共检测了 21 种药物,高度敏感的有:壮观霉素、呋喃妥因、头孢三嗪;中度敏感的有:卡那霉素、红霉素、新霉素、痢特灵、头孢噻肟;低度敏感或完全耐药的有:四环素、氟哌酸、杆菌肽、链霉素、林可霉素、青霉素、庆大霉素。结果见表 4。

3.6 诊断

根据病鸡剖检病变,分离菌的培养特性、生化特性、致病性等试验结果,诊断为禽巴氏杆菌病。

4 小结与讨论

4.1 通过对广州郊区 3 个发病鸡场进行病原菌的分离培养、涂片镜检、生化特性鉴定、动物回归等试验,分离的 5 株菌均为多杀性巴氏杆菌,结合其临床症状、解剖后的病理变化,诊断为禽巴氏杆菌病(禽霍乱)。

4.2 从表 1、2 可看出,5 株分离菌的生化特性完全一致,且 24 h 内全部致死小鼠。但表 3 结果显示菌株 1、3、5 与菌株 2、4 对 SPF 鸡的致病性存在一定差异,表明与禽霍乱相关的多杀性巴氏杆菌的致病力或毒力较复杂,且常发生变化。这主要取决于菌株差异、宿主的品种及个体、菌株或宿主内部的改变及二者之间接触的条件^[1]。由于我们未进行血清学分型,尚不明确各分离菌株的血清型是否一致。

4.3 过去常用的青霉素、链霉素、庆大霉素等对各菌株均不敏感,壮观霉素、呋喃妥因、头孢三嗪

表 4 5 株菌药敏试验结果

菌株	庆大霉素	壮观霉素	四环素	氟哌酸	头孢噻肟	痢特灵	杆菌肽	新霉素	红霉素	链霉素	卡那霉素	青霉素	林可霉素	头孢三嗪	呋喃妥因
株 1	7 ⁰	29	7	9	14	16	7	15	18	8	16	7	7	28	30
株 2	8	29	7	7	12	16	7	14	18	7	14	7	7	29	31
株 3	7	28	8	8	13	15	7	15	18	7	14	7	7	27	31
株 4	7	30	8	9	12	15	7	13	16	7	14	7	7	28	31
株 5	8	28	7	7	12	16	7	13	17	7	15	7	7	29	29

1): 以上测得各药剂数值为其溶菌圈的直径值。

等则高度敏感,卡那霉素、红霉素、新霉素、痢特灵等中度敏感。由于长期使用一些抗菌药,特别是有的鸡场大剂量滥用药物,致使大量菌株产生抗药性^[3],在抗菌药物治疗和预防方面效果不佳。因此,在选择抗菌药物时,最好先进行药敏试验。

参考文献:

- [1] [美]Saif Y M. 苏敬良,高福,索勋,译. 禽病学[M]. 第 11 版. 北京:中国农业出版社,2005:746-751.
 [2] 王明俊. 兽医生物制品学[M]. 北京:中国农业出版社,1996:296.
 [3] 王卓明,吴佩婵,李幼博,等. 42 株禽巴氏杆菌特性的研究[J]. 中国预防兽医学报,1999, (3):227.

(上接第 12 页)

变膜 ATP 酶活性。以上研究基本集中在 Zn²⁺ 对 Na⁺、K⁺-ATP 酶活性影响,但具体的作用途径还有待进一步研究。

3 有待进一步研究问题

目前锌对能量代谢的研究还比较少,当前在畜牧生产一线,高剂量的氧化锌用于断奶仔猪上防腹泻及促生长效果比较明显,但是具体作用机制不清,是否与能量代谢有关还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Ostermeier C, Iwatar S, Michel H. Distinct alterations in mitochondrial mass and function characterize different models of Apoptosis [J]. Curr Opin Struct Biol, 1996, 6(4):460-466.
 [2] Harper E, Antoniou A. Cellular energy expenditure and the importance of uncoupling [J]. J Anim Sci, 2002, 80: 90-97.
 [3] Ling Y H, Liebes L, Zou Y Y, et al. Reactive Oxygen Species Generation and Mitochondrial Dysfunction in the Apoptotic Response to Bortezomib, a Novel Proteasome inhibitor, in Human H460 Non-small Cell Lung Cancer Cells [J]. J Biol Chem, 2003, 278(36):33714.
 [4] Boss O, Muzzin P. The uncoupling proteins [J]. Eur J Endocrinol, 1998, 139:1-9.
 [5] Bouchard C, Perusse L, Chagnon YC, et al. linkage between markers in the vicinity of the uncoupling protein2 gene and resting metabolic rate in humans [J]. Hum Mol Genet, 1997, (6):1887-1889.
 [6] Walder K, Norman R A, Hanson R L, et al. Association between uncoupling protein polymorphisms and energy metabolism obesity in pima indians [J]. Hum Mol Genet, 1998, (7):1431-1435.

- [7] Clampham J C, Arch J R S. Mice overexpression human uncoupling protein-3 in skeletal muscle are hyperphagic and lean [J]. Nature, 2000, 406:415-418.
 [8] Matsuda J, Hosoda K. Cloning of rat uncoupling protein-2 and uncoupling protein-3 cDNAs: their gene expression in mice fed high fat diet [J]. FEBS Letters, 1997, 418:200-204.
 [9] Schrauwen, Xia, Bogardus, et al. Skeletal muscle uncoupling protein 3 expression is a determinant of energy expenditure in Pima Indians [J]. diabetes. 2007, 48 (4): 146-149.
 [10] 祁鸣. Na⁺-K⁺-ATP 酶特性研究与应用 [J]. 生物化学与生物物理进展, 1997, (3):23.
 [11] 周琳, 李哲泓. 锌对异丙基肾上腺素所致大鼠心肌损伤和线粒体膜流动性改变的保护作用 [J]. 医学研究, 2002, 21(1):20-22.
 [12] Senior A E. Tightly bound magnesium in mitochondrial adenosine triphosphatase from beef heart [J]. The Journal of Biological Chemistry, 1979, 254:11319-11322.
 [13] Daggett S G, Gruys K J, Schuster S M. Metal interactions with beef heart mitochondrial ATPase [J]. The Journal of Biological Chemistry, 1985, 260:6213-6218.
 [14] Brown A M, Kristal B S, Effron M S. Caspase-1 and-3 are sequentially activated in motor neuron death in Cu, Zn superoxide dismutase-mediated familial amyotrophic lateral sclerosis [J]. J Biol Chem, 2000, 275:13441-13447.
 [15] Berry E A, Zhang Z, Bellamy H D. Crystallographic location of two Zn²⁺-binding sites in the avian cytochrome bc1 complex [J]. Biochim Biophys Acta, 2000, 1459:440-448.
 [16] 曹琰, 白雪涛. 铜锌对大鼠神经元细胞色素氧化酶(复合物 IV)活力的影响 [J]. 环境与健康杂志, 2003, 20(6):331-333.
 [17] 韩军花. 锌对红细胞膜 ATP 酶活性影响的研究 [J]. 卫生研究, 2001, 30(1):47-49.
 [18] 丁虹, 陈建华, 彭仁秀. 锌对正常小鼠的脏器 Na、K-ATP 酶、Ca²⁺、Mg²⁺-ATP 酶活性的影响 [J]. 卫生研究, 1998, 27(1):44.

马的手术阉割法

刘瑞鑫, 黄光云

(广西畜牧研究所, 广西南宁 530001)

中图分类号: S857.12⁹

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2011)03-0024-01

马禀性温驯,有令则行,有禁则止;行走灵活,善于奔跑,适应性强。不但能耕、挽,而且能乘、运。但马尤其是公马也有烈性,发怒了会咬人,踢人,且伤害力极大。因此为了安全,有必要对公马实行阉割。阉割后的公马会变得更加温顺,性格更加稳定,较阉割前容易对待处理与调教,更适合骑、乘、驮。笔者受某跑马场委托,对该马场的成年公马进行手术法阉割,现将阉割情况总结如下:

1 术前准备

手术器械一套(刀柄一把、刀片一包、止血钳2把、持针钳1把、手术剪1把、大号三棱缝针2个、8号缝线2个),5%静松灵,抗破伤风毒素,5%碘酊,75%酒精棉球,花生油,锅底灰,安痛定,青霉素,棉绳2条,约10 m长横梁1根。锅底灰与花生油混合成糊状,手术器械、缝针、缝线等消毒好待用。

2 手术

2.1 麻醉

先由训马师将马牵进保定架,简单保定后,根据待阉公马体重,颈部肌肉注射5%静松灵10~15 mL(一般10 mL即可)。

2.2 保定

地上先垫一层厚稻草,约6 m²宽。公马肌注静松灵后牵至此,待马频眨眼睛,感觉很想睡觉时,用两根棉绳分别绑住前后脚,前脚一根内八字绑,后脚一根内八字绑,绑好后两根棉绳同时向左侧抽拉,让马向右侧卧倒,迅速将横梁穿过前后腿内侧,两根棉绳立即向马肚中央抽拉,将马的四脚抽拢,前后绳子交叉穿替、绑好。横梁可不绑,主要用于手术时两端分别由人踩住,起到压定马匹的作用,不让其起立。

2.3 手术

先用5%碘酊消毒整个睾丸及两腿内侧,再用75%酒精脱碘。术者手部酒精消毒,左手握住马的

阴囊使睾丸完全暴露,右手持手术刀在阴囊底部切一约5 cm的开口,开口时力求一刀见睾丸,然后用力把睾丸从切口挤出并向外拉,另一手则向里分离精索、输精管等。用止血钳夹住输精管,在离止血钳下方约1 cm处结扎,结扎时缝线要穿过输精管再打结。结扎好后离打结处下方约1 cm处把输精管剪断,取走睾丸,5%碘酊消毒切口。同样方法处理另一侧睾丸。睾丸切除完毕,向切口内放入青霉素320万IU,视开口大小可缝一针或不缝,以便渗出液能自行流出。最后在整个阴囊涂上锅底灰,颈部肌肉注射安痛定10 mL,青霉素480万IU,抗破伤风毒素4500 IU。最后给马松绑,赶其起立。

2.4 术后护理

手术法阉割后3 d内,严禁阉马淋雨、卧地打滚,马厩严禁冲洗。阉马每天早、晚各一次肌注青霉素800万IU予以消炎处理,连用3~5 d,5 d后创口一般可愈合。

3 术后回访

手术后1周回访,阉马愈合良好,未出现感染或马匹死亡情况。

4 注意事项

由于马匹烈性,会咬人、踢人,因此阉马时一定要注意安全,切记做好马匹的保定工作;阉马时最好对公马做全麻处理,5%静松灵的推荐用量以10 mL为宜,手术完毕后马匹即可自行起立;手术时力求一刀见睾丸,以免多次动刀,皮肤、肌肉、筋膜等开口不一,增加愈合难度;结扎时缝线一定要穿过输精管后再打结,以免手术后缝线滑脱,造成阉割不全;阉割完后整个阴囊最好涂上锅底灰或万花油,防止蚊蝇等叮咬,造成感染;手术完毕后要给马注射抗破伤风毒素,阉后5 d内注射抗生素消炎,3 d内不得冲洗马厩,马匹不得淋雨。

一例黑猩猩志贺氏菌性痢疾的诊治

陈晓明¹, 赖文凤², 谢建蒙²

(1. 广州市兴宠园贸易公司, 广东 广州 510520; 2. 深圳市野生动物园, 广东 深圳 518055)

摘要: 2007年12月27日和30日, 深圳市某野生动物园饲养的两只雄性黑猩猩, 先后出现粪便带血和脓液的水样腹泻, 经诊断为索氏志贺菌感染。经半个月的治疗和调养后该两只黑猩猩痊愈。

关键词: 黑猩猩; 痢疾; 志贺氏菌

中图分类号: S855

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2011)03-0025-01

1 前言

黑猩猩(*Pan troglodytes*), 灵长目, 猩猩科。是现存生物中同人类有着最近亲缘关系的物种, 其DNA结构同人类相比, 只有1%左右的差异。黑猩猩在野外栖息于非洲坦桑尼亚等地的热带雨林中, 喜群居, 模仿性强。

索氏志贺菌(*Shigella sonnei*)是肠道三大致病菌之一。人和灵长类是志贺氏菌的适宜宿主, 营养不良的幼儿、老人及免疫缺陷者更为易感。志贺氏菌能引起细菌性痢疾(简称菌痢), 通称痢疾杆菌。志贺氏菌有菌毛, 能粘附于回肠末端和结肠粘膜的上皮细胞上。继而穿入上皮细胞内生长繁殖, 一般在粘膜固有层内繁殖形成感染灶, 引起炎症反应。痢疾志贺氏菌感染患者病情较重, 宋内氏志贺氏菌多引起轻型感染。在野生动物当中, 发生志贺菌感染的报道甚少。

深圳市野生动物园饲养了两只雄性黑猩猩, 一只叫“吉良”, 另一只叫“晓晓”, 2007年12月27日和30日先后发生粪便带血和脓液的水样腹泻, 诊断为索氏志贺菌感染的痢疾, 经半个月的治疗和调养都完全康复, 现将治疗过程介绍如下, 供同行参考。

2 发病情况

2007年12月27日早上, “吉良”突然发生水样腹泻, 肉眼可见粪中带有血和脓液。粪便实验室检查白细胞、红细胞为阳性。采其粪便做细菌培养和药敏试验, 同时选用泻痢停为临时用药。“晓晓”住在“吉良”的旁边, 两笼舍隔着铁丝网, 12月

30日, “晓晓”出现与“吉良”一样的病情, 粪常规检查白细胞和红细胞也均为阳性。

3 诊断

3.1 细菌培养和镜检

将粪便标本直接划线接种于血平板和麦康凯平板上, 经35~37℃培养24h后, 在血平板上有中等大小、半透明的光滑型菌落生长; 在麦康凯平板上有无色、半透明菌落生长。革兰染色镜检该菌为G⁻杆菌、无芽孢、无鞭毛。将可疑菌落进行纯培养。

3.2 细菌生化鉴定

挑取生长24h的可疑纯培养单菌落接种于“32GN”鉴定板(氧化阳性), 然后用法国梅里埃公司生产的ATM型细菌鉴定仪进行鉴定和药敏试验。结果鉴定为: 索氏志贺氏菌。

3.3 药敏试验

药敏试验结果为: 环丙沙星、奈替米星、阿米卡星、亚胺培南、美洛培南、头孢吡肟、头孢他定、头孢噻肟、头孢西丁均敏感; 而阿莫西林、哌拉西林、头孢噻吩、头孢呋辛、复方新诺明、妥布霉素、庆大霉素均耐药。

3.4 诊断

通过临床症状, 实验室检验结果综合分析, 诊断为索氏志贺氏菌感染性痢疾。

4 治疗

4.1 “吉良”的治疗

由于“吉良”性格比较温驯, 有食欲, 愿意喝水、吃药, 故采用口服药物进行治疗。

(下转 30 页)

不同蔗糖浓度、供体细胞保存温度和融合温度 对小鼠体细胞克隆胚胎发育的影响

彭礼繁^{1,2}, 罗光彬^{*}, 白文林¹, 闻福安¹, 任建诚¹, 冷义福¹

(1. 沈阳农业大学动物胚胎工程实验室, 辽宁 沈阳 110161; 2. 深圳武警医院生殖中心, 广东 深圳 518023)

摘要: 以昆明小鼠为实验动物, 经过超数排卵后得到卵丘卵母细胞复合体 (COCs), 以卵丘细胞为核供体细胞, 卵母细胞为核受体细胞进行核移植, 分析比较了不同蔗糖浓度对小鼠卵母细胞去核时间、去核率及重构胚体外发育的影响, 并探讨了供体细胞的保存温度和融合温度对重构胚体外发育的影响。结果表明, 各蔗糖浓度组的去核率均达到 100%, 但 3%、4%、5%蔗糖浓度组的平均显微操作时间明显短于 0%、1%、2%蔗糖浓度组, 而 4%和 5%蔗糖浓度组的重构胚发育率均显著低于 1%、2%、3%蔗糖浓度组; 卵丘细胞保存在室温组的细胞融合率和体外发育率均显著高于高温组、低温组及温度变化组; 25℃组细胞融合率显著高于 37℃组。由此可见, 显微操作液中添加 3%蔗糖不仅使卵子的核明显, 而且大大缩短卵子在体外操作时间, 有利于重构胚的体外发育。卵丘细胞的室温保存和室温融合温度更有利于重构胚的体外发育。

关键词: 小鼠; 蔗糖浓度; 保存温度; 融合温度; 体细胞核移植

中图分类号: S814.6

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2011)03-0026-05

Effects of different sucrose concentrations, conserved temperatures for donor cells and electro-fusion temperatures on the development of somatic cell nuclear transfer embryo in mouse

Peng Lifan^{1,2}, Luo Guangbin^{*}, Bai Wenlin¹, Wen Fuan¹, Ren Jiancheng¹, Leng Yifu¹

(1. Animal Embryo Engineering Laboratory, Shenyang Agriculture University, Shenyang 110161, China; 2. Reproduction Medical Research Center, Shenzhen Border-control Police Hospital, Shenzhen 518023, China)

Abstract: KunMing mouse were used as experiment animals in this study. Cumulus-oocyte complexes were obtained after superovulation. Cumulus cells were used as donor cells and oocytes were used as recipient cells. Mouse reconstructed embryo were obtained by somatic cell nuclear transfer. The effect of the different sucrose concentrations on in vitro enucleating time, in vitro enucleating rate of mouse oocyte and in vitro development of mouse reconstructed embryo, the effect of the different conserved temperatures for donor cells and electro-fusion temperatures on the development of reconstructed embryo were analyzed and compared. The results showed that enucleate rates of different sucrose concentrations in micromanipulation medium were all 100%, the average micromanipulation time in this groups of 3%,4%,5% sucrose concentrations were more shorter than that of 0%,1%,2% sucrose concentrations groups. But in vitro development rate of reconstructed embryo in micromanipulation medium with 4%,5% sucrose concentrations were significantly lower than that of 1%,2%,3% sucrose concentrations groups. Fusion rate and in vitro development rate in the room temperatures were significantly higher than that in warm temperature groups, cool temperature groups and changing-temperature groups. Fusion rate at 25℃ were significantly higher than that at 37℃. In Conclusion, 3% concentration sucrose was the best to manifest DNA nuclear zone in the cytoplasm, shorten in vitro oocyte enucleate time and make enucleated operation quick for the in vitro development of reconstructed embryo. Room temperature for conservation of cumulus cells and fusion was good for in vitro development of reconstructed embryo.

Key words: Mouse; sucrose concentrations; conservation temperature; fusion temperature; somatic cell nuclear transfer

自从 Wakayama 等^[1]利用卵丘细胞克隆小鼠取得成功,陆续有人利用成纤维细胞^[2]、滋养层细胞^[3]、脑细胞^[4]、间质细胞^[5]、胚胎干细胞^[6]等成功克隆出小鼠,这些研究者均采用盲吸法或荧光染色法去掉卵母细胞的核。如何缩短卵母细胞去核时间、提高去核率是影响核移植效率的重要因素之一。若不加任何处理,昆明小鼠 MII 期卵母细胞的核不容易在倒置显微镜下观察到,但用蔗糖处理昆明小鼠卵母细胞容易观察到卵子的核,使去核操作时间缩短,去核率和重构胚体外发育率均比盲吸去核法、化学去核法和荧光染色去核法好^[7]。然而有人报道,应用蔗糖辅助去核法却得到较差的去核率和重构胚体外发育率^[8,9]。在牛、羊、兔等动物的体细胞核移植中,将供体细胞用不同温度处理对重构胚的体外发育影响不大^[10-13],但在小鼠中尚未有这方面的报道。细胞融合的温度也会影响融合率^[14],在昆明小鼠中是否会提高融合率也未见该报道。因此,本试验通过比较分析不同蔗糖浓度、供体细胞保存温度和融合温度对小鼠体细胞克隆胚胎发育的影响,旨在优化影响小鼠克隆胚胎体外发育的各关键性因素,为转基因小鼠研究奠定试验基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

4~6 周龄雌性昆明小鼠购自大连医科大学实验动物中心[合格证号:SCXK(辽)2008-0002]。除特别说明外,所用试剂均购于 Sigma 公司。

1.2 受体卵母细胞和供体细胞的准备

小鼠腹腔注射 5IU PMSG, 间隔 48 h 再注射 5IU HCG (均购于宁波第二激素厂), 注射 HCG 12~14 h 后用颈椎脱臼法处死小鼠。用 1 mL 注射器针头划破输卵管壶腹部, 使卵丘卵母细胞复合体(COCs)流出, 将其置于 0.1%透明质酸酶中处理 3 min。再用拉制的吸卵管吹打 COCs, 分离出卵母细胞和卵丘细胞。挑选出形态正常含第一极体的卵母细胞移入 mCZB 培养基中, 在 37℃、5%CO₂ 下培养到去核前。卵丘细胞放入 mCZB 培养基中在不同温度下保存到注核前。

1.3 重构胚的构建

将卵母细胞放入含有 5 μg/mL CB 和不同蔗糖浓度的 HEPES-mCZB 操作液滴中, 培养 10 min 后, 卵子的核清晰可见时(图 1)用内径 15 μm 的斜口注射针轻轻刺入透明带达卵周隙, 将透明带刺破。用固定

针对准透明带的开口缓慢吸出卵子的核和少量胞质(图 2)。挑选不同温度处理组中的直径为 10 μm 表面光滑的卵丘细胞作为供体细胞, 用注射针沿透明带上原切口处将卵丘细胞注入到去核卵子的卵周隙中并紧贴于质膜。然后把供体核-卵母细胞复合体放入电融合液中(0.25 mol/L 甘露醇+0.1 mmol/L CaCl₂+0.1 mmol/L MgCl₂+0.5 mmol/L HEPES + 0.05% BSA)洗 3 次, 平衡 2 min。在电融合液滴中用针式电极使两细胞接触面与电场方向垂直, 设定好电参数(200 V/mm, 60 μs, 1 次)后, 在不同温度下进行电融合(ET-3 GOKU, Fujihira industry, Japan)。将融合后的重构胚用 mCZB 培养液洗 3 次, 再移入相同液滴中待激活。

1.4 重组胚的激活和培养

先将重构胚放于 Sr6D 中(10 mM SrCl₂·6H₂O 和 2 mmol/L 6-DMAP 的无 Ca²⁺、Mg²⁺ 的 mCZB), 激活 2 h; 然后将其放于 SrCB 中(10 mM SrCl₂·6H₂O 和 5 μg/mL CB 的无 Ca²⁺、Mg²⁺ 的 mCZB), 激活 2 h。将激活后的重构胚移入 mCZB 培养液中培养 48 h, 之后转移到含葡萄糖的 mCZB 培养液中继续培养至囊胚阶段(图 3)。培养条件为 37℃、5%CO₂、饱和湿度。

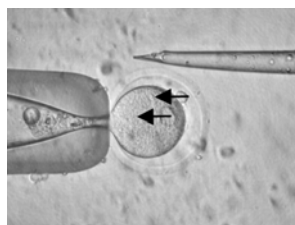


图 1 蔗糖处理后的受体卵子

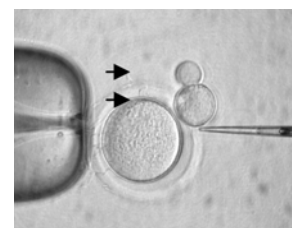


图 2 去核完成的卵子

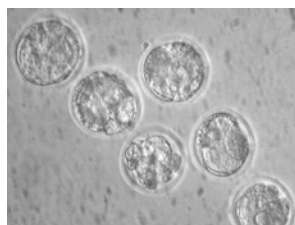


图 3 体外培养的囊胚

注:上箭头所示极体;下箭头所示卵子的核

1.5 数据统计与分析

所有试验重复 4 次, 采用 SPSS 16.0 中的卡方 (χ^2) 检验对试验结果进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同蔗糖浓度对小鼠卵母细胞体外去核时间和去核率的影响

由表 1 可知, 显微操作液中添加不同浓度的

表 1 不同蔗糖浓度对小鼠卵母细胞体外去核时间和去核率的影响

蔗糖浓度 (%)	卵母细胞数	操作时间 (s)	去核率 (%)
0	183	250	100(183/183) ^{ad)}
1	195	110	100(195/195) ^a
2	197	50	100(197/197) ^a
3	201	30	100(201/201) ^a
4	187	30	100(187/187) ^a
5	193	30	100(193/193) ^a

1): 同一竖行数值中不同字母标记者差异显著 ($P < 0.05$), 相同字母标记者差异不显著 ($P > 0.05$)。下同。

蔗糖时, 去核率均达到 100%。且随着显微操作液中蔗糖浓度的增加, 每个卵子的平均显微操作时间不断缩短, 其中 3%、4%、5%蔗糖浓度组的显微操作时间最短。

2.2 不同蔗糖浓度对小鼠重构胚体外发育的影响

由表 2 可知, 在显微操作液中添加蔗糖的各组其细胞融合率和卵裂率与不添加蔗糖组相比差异不显著 ($P > 0.05$)。显微操作液中加入 1%、2%、3%蔗糖组的囊胚发育率均显著高于 0%、4%及 5%蔗糖组 ($P < 0.05$)。综合表 1 和表 2 的结果可以看出, 卵母细胞去核之前用 3%蔗糖处理, 不仅缩短卵子的去核时间, 而且能提高重构胚的体外发育率, 故此后的试验均用 3%蔗糖处理卵母细胞。

2.3 不同卵丘细胞保存温度和融合温度对小鼠重构胚体外发育的影响

卵丘细胞保存在室温组的细胞融合率、2~4 细胞率、8~16 细胞率和囊胚率均显著高于低温组、高温组及变温组 ($P > 0.05$) (见表 3)。从表 4

表 2 不同蔗糖浓度对小鼠重构胚体外发育的影响

蔗糖浓度 (%)	卵母细胞数	融合率 (%)	2~4 细胞率 (%)	8~16 细胞率 (%)	囊胚率 (%)
0	183	65.3(119/183) ^a	53.1(63/119) ^a	10.1(12/119) ^a	1.1(1/119) ^b
1	195	59.2(115/195) ^a	53.6(62/115) ^a	31.2(36/115) ^c	14.5(17/115) ^c
2	197	58.1(114/197) ^a	58.9(67/114) ^a	32.6(37/114) ^c	16.2(18/114) ^c
3	201	58.4(117/201) ^a	59.8(70/117) ^a	31.7(37/117) ^c	15.7(18/117) ^c
4	187	57.2(107/187) ^a	56.5(60/107) ^a	20.2(22/107) ^b	9.4(10/107) ^b
5	193	57.5(111/193) ^a	52.6(58/111) ^a	7.6(8/111) ^a	0 ^a

表 3 不同供体细胞保存温度对重构胚体外发育的影响

温度 (°C)	卵母细胞数	融合率 (%)	2~4 细胞率 (%)	8~16 细胞率 (%)	囊胚率 (%)
室温组 (20~25°C)	78	55.3(43/78) ^b	51.2(22/43) ^b	39.8(17/43) ^b	20.6(9/43) ^a
低温组	-20	76	22.1(17/76) ^a	-	-
	-15	67	23.4(16/67) ^a	13.1(2/16) ^a	-
	-10	67	27.3(18/67) ^a	9.8(2/18) ^a	-
	-5	59	24.0(14/59) ^a	-	-
高温组	8	58	30.1(17/58) ^a	12(2/17) ^a	6(1/17) ^b
	30	65	23.6(15/65) ^a	7(1/15) ^a	-
	40	66	26.4(18/66) ^a	-	-
温度变化	40→-20	57	-	-	-
	-20→40	60	-	-	-

表 4 不同融合温度对重构胚体外发育的影响

温度 (°C)	卵母细胞数	融合率 (%)	2~4 细胞率 (%)	8~16 细胞率 (%)	囊胚率 (%)
37	57	53.7(30/57) ^a	47.6(14/30) ^a	29.1(9/30) ^a	20.6(6/30) ^a
25	66	64.1(42/66) ^b	52.1(22/42) ^a	30.2(13/42) ^a	19.8(8/42) ^a

可看出,25 ℃融合温度组的细胞融合率显著高于37 ℃融合温度组($P<0.05$),但重构胚的后续发育率均差异不显著($P>0.05$)。

3 讨论

卵母细胞去核是核移植的关键步骤之一,为了提高去核的效率,人们采用了多种去核方法。现行的去核方法一般多采用盲吸法结合Hoechst33342染色法,但由于卵子的核通常偏离第一极体,去核效果比较差,同时用Hoechst33342染色后紫外线照射超过15s则不利于重构胚的发育。借助Spindle View装置可提高去核的效率^[15],但该装置比较昂贵,一般实验室难以配备。Vajta等^[12]在牛的核移植中将卵母细胞用0.3M蔗糖处理后观察到卵母细胞的纺锤体形成透明突起,可使去核率达到95%,并且吸出的胞质量很少。Wang等^[16]报道用3%蔗糖处理小鼠MII期卵母细胞,可以清楚显示卵子的核,使去核率可达90%。Zhang等^[7]发现用适当浓度蔗糖处理卵母细胞时由于卵母细胞纺锤体的组分与胞质不同,诱导胞质中的纺锤体发生与胞质成分不同的变化,使纺锤体在倒置显微镜下容易观察到。

本试验分别用1%、2%、3%、4%和5%蔗糖处理小鼠卵母细胞时,均能使卵子的核显现出来。在1%和2%蔗糖浓度下虽然能观察到卵子的核但去核比较费时,而在3%、4%和5%蔗糖浓度下很容易观察到卵子的核,使去核省时、便利,但在4%和5%蔗糖处理组的重构胚体外发育率明显下降。从去核时间、去核率和体外发育率等方面考虑,笔者认为3%蔗糖为最佳处理浓度。这与Zhang等^[7]报道的一致,但与覃敏等^[8]和莫曾南等^[9]报道的应用蔗糖辅助去核法得到的较差的去核率和重构囊胚率明显不符。另外,卵子用蔗糖处理后可使卵周隙增大,有利于切开透明带,避免玻璃针对卵母细胞膜的损伤。这说明用适当浓度蔗糖处理卵母细胞来显示细胞核是一种安全的去核方法。

本试验还发现,在不含蔗糖的显微操作液下,由于胞质收缩很小不容易观察到卵子的核,需要用操作针对卵子不断地来回拨动加大视野中的阴影效果,才能隐约观察到卵子的核,但这使去核操作时间明显延长,致使重构胚的发育率明显下降。

Moore等^[10]在进行人-兔异种核移植构建克隆胚的试验研究中证实,冷藏是一种简便有效的

供体细胞准备方法。Baguisi等^[11]采用高温处理的山羊胎儿成纤维细胞来构建重构胚,其囊胚发育率比同期化处理细胞构建的核移植胚的发育率略高。据Vajta等^[12]的研究表明,牛供体细胞在4 ℃冷藏2周后用于核移植,对重构胚的融合率、分裂率、桑葚率和囊胚率均没有显著影响,移植后早期的妊娠率也没有差异。陈自洪等^[13]采用水牛供体细胞在4 ℃下保存一定时间后用于核移植,重构胚的体外发育率并没有受到影响。在本试验中,高温组、低温组和温度变化组中的重构胚体外发育率均明显低于室温组,该结果与其他研究人员的结果不同,其原因可能与试验中使用的受体卵母细胞的胞质特性有很大关联,这还有待于进一步研究和探讨。

Santos等^[14]发现室温融合温度能够明显加速供体细胞与受体卵子的融合过程,不易使附着在胞质上的供体细胞膜出现破损,从而能提高重构胚的融合效率。本试验结果也显示了室温融合温度有利于供体细胞与受体胞质的膜融合及其减小电脉冲对细胞造成的损伤。

综上所述,用3%蔗糖处理卵母细胞可使卵子的核更加明显,这不仅提高去核率,而且大大缩短卵子体外暴露的时间,有利于重构胚的后续发育;对卵丘细胞进行室温处理对重构胚的体外发育好;25 ℃下细胞融合有利于提高融合率。

参考文献:

- [1] Wakayama T, Perry A C F, Yanagimachi R, et al. Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei [J]. *Nature*, 1998, 384:370-374.
- [2] Wakayama T, Yanagimachi R. Fertilizability and development ability of mouse oocytes of reduced amount of cytoplasm [J]. *Biol Zygote*, 1998, (6):341-346.
- [3] Ogura A, Inoue K, Suzuki O, et al. Production of male cloned mice from fresh, cultured and cryopreserved immature sertoli cells [J]. *Biol Reprod*, 2000, 62:1579-1584.
- [4] Tsunoda Y, Kato M. Not only inner cell mass cell nuclei, but also trophectoderm nuclei of mouse blastocysts have a developmental totipotency [J]. *Reprod Fertil*, 1998, 113:181-184.
- [5] Wakayama T, Yanagimachi R. Cloning of male mice from adult tail-tip cells [J]. *Nat Genet*, 2000, 22:127-128.
- [6] Humperys D, Eggan K, Akutsu H, et al. Epigenetic instability in ES cells and cloned mice [J]. *Science*, 2001,

- 293:95-99.
- [7] Zhang G, Sun Q Y, Chen D Y. Effects of sucrose treatment on the development of mouse nuclear transplantation embryos with morula blastomeres as donors[J]. *Zygote*, 2008, 16(1):15-19.
- [8] 覃敏, 莫曾南, 何敏, 等. 不同核移植方法对小鼠体细胞核移植效率的影响[J]. *广西医科大学报*, 2009, 26(2): 187-190.
- [9] 莫曾南, 覃敏, 何敏, 等. 近交系小鼠体细胞核移植胚胎的构建和鉴定[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(31): 6001-6006.
- [10] Moore N W, Adams C E, Rowson L E A. Developmental potential of single blastomeres of the rabbit eggs [J]. *Reprod Fertil*, 1998, 17:527-531.
- [11] Baguisi A, Behboodi E, Melican D T, et al. Production of goats by somatic cell nuclear transfer [J]. *Nat Biotechnol*, 1999, 17(5):456-461.
- [12] Vajta G, Lewis I M, Trounson A O, et al. Handmade somatic cell cloning in cattle: analysis of factors contributing to high efficiency in vitro [J]. *Biol Reprod*, 2003, 68(2):571-578.
- [13] 陈自洪, 杨素芳, 罗婵, 等. 供体细胞低温冷藏处理对水牛体细胞核移植效果的影响[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2007, 22(1): 38-39.
- [14] Santos F, Peters A H, Otte A P, et al. Dynamic chromatin modifications characterise the first cell cycle in mouse embryos [J]. *Dev Biol*, 2005, 280:225-236.
- [15] Li G P, White K L, Bunch T D. Review of enucleation methods and procedures used in animal cloning: state of the art. *Cloning Stem Cells* [J]. 2004, 6(1):5-13.
- [16] Wang H W, Lee K H, Chuang C K. An alternative simple method for mass production of chimeric embryos by coculturing denuded embryos and embryonic stem cells in Eppendorf vials [J]. *Theriogenology*, 2007, 67: 228-237.

(上接 25 页)

4.1.1 12月27~28日口服: 泻痢停片2粒/次(27日为3粒/次), 2次/天; 酚磺乙胺注射液1g/次, 2次/天; 口服补液盐2包/天; 主要用糖水送服药物。27日绝食一天, 28日、29日给少量米饭、馒头。

4.1.2 2007年12月29日至2008年1月1日: 依据药敏结果选用环丙沙星3粒/次, 2次/天; 酚磺乙胺注射液1g/次, 2次/天; 思密达1包/次, 2次/天; 口服补液盐2包/天。12月30日还是排水样大便, 大便常规白细胞、红细胞为阳性; 2008年1月1日大便常规白细胞、红细胞阴性。

4.1.3 2008年1月2~3日: 环丙沙星3粒/次, 2次/天; 丽珠肠乐2粒/次, 2次/天; 口服补液盐2包/天。禁食水果, 食量有所增加, 精神明显好转, 两天未排大便。

4.1.4 2008年1月4日排稀烂粪便。治疗方案主要为调理胃肠道: 口服保济丸1.5支/次, 2次/天; 丽珠肠乐2粒/次, 2次/天。1月7日“吉良”完全康复, 停药。

4.2 “晓晓”的治疗

12月30日试图通过口服药物治疗, 但“晓晓”一整天不吃不喝, 故其治疗方法为肌肉注射给药为主。

4.2.1 2007年12月30日至2008年1月3日:

丁胺卡那霉素注射液3mL/次, 2次/天, 肌肉注射。禁食水果, 投喂米饭、馒头。

4.2.2 1月4~6日: “晓晓”1-5日没有排大便, 4日起“晓晓”愿意吃食、喝水了, 故改为口服给药: 环丙沙星3粒/次, 2次/天; 丽珠肠乐2粒/次, 2次/天。6日排出的大便成堆。

4.2.3 1月7~9日治疗方案主要为调理胃肠道: 丽珠肠乐2粒/次, 2次/天。10日完全康复, 停药。

5 预防

5.1 天气突然变冷, 增加动物保暖设施。

5.2 发病期间, 每天笼舍及周围环境消毒, 防止病原扩散。平时, 猿猴村每月进行一次大的消毒, 笼舍内外用消毒水彻底冲洗。

6 小结

6.1 这次黑猩猩发生志贺菌感染最可能的因素有: 一是黑猩猩的床是个卫生死角, 也是细菌滋长的摇篮; 二是可能游客投喂了带有病原的食物; 另外天气寒冷, 动物对病原菌的抵抗力相对较弱。

6.2 预防本病应着重从以下几方面入手: 彻底清除卫生死角, 加强消毒工作; 注意天气变化, 及时保暖; 加强日常监管, 防止游客投喂动物; 饲料投喂之前饲养员用0.1%的高锰酸钾溶液浸泡20min, 并用清水冲洗干净后才饲喂。

广州动物园草食动物饲料植物的选择研究

刘小青¹, 吴其锐¹, 王 静¹, 彭建宗^{2*}

(1. 广州动物园, 广东 广州 510070; 2. 华南师范大学生命科学学院, 广东 广州 510631)

摘要: 本文总结了1996年以来, 广州动物园草食类动物饲料植物选择方法和结果。广州动物园现有草食动物36种, 青草料选择当地的象草, 同时种植一些冬季生长快的牧草和树叶补充; 干草选择当地的禾秆、田基草、羊草和苜蓿草块。

关键词: 草食动物; 饲料选择; 草料; 动物园

中图分类号: S816

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2011)03-0031-02

Study on herbivore food selection in Guangzhou Zoo

Liu Xiaoqing¹, Wu Qirui¹, Wang Jing¹, Peng Jianzong^{2*}

(1. Guangzhou Zoo, Guangzhou 510070, China; 2. College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract: The selection method for forage plant in Guangzhou zoological garden since 1996 was showed in this paper. Now there were 36 kinds of herbivore in Guangzhou zoological garden. Pennisetum purpureum was the main fresh grass. Some growing-fast pastures and leaves in winter were planted as supplement feed. Otherwise straw, hypericum grass, aneurolepidium chinense and alfalfa were selected as hay.

Key words: Herbivore; food selection; fodder; zoological garden

在广州动物园的园林绿化树木中, 增加草食动物喜食的树木和植物种类, 使绿化和动物生态化驯养统一起来。把景观植物和饲用植物结合在一起, 既满足了动物的生长需要, 又符合动物园绿化和动物笼舍生态化的要求。根据动物园草食动物展览和休闲的特点, 广州动物园经过长期的驯养实践, 在饲料基地和动物园生态绿化建设中专门种植草食动物喜食的植物种类^[1,2], 特别是选择冬季生长快的植物, 大大改善了冬季青饲料不足的情况^[3,4]。

1 草食动物种类和饲养方法

1.1 广州动物园的草食动物

根据2009年12月的统计数据, 广州动物园草食动物共8科, 25属, 36种, 300余头。分为大型草食动物、鹿科动物、羚羊类和玩赏类。象科: 亚洲象、非洲象; 长颈鹿科: 长颈鹿; 马科: 蒙古野驴、斑马、驴、果下马; 犀牛科: 白犀; 骆驼科: 双峰驼; 河马科: 河马; 鹿科: 爪哇鹿、印度花鹿、坡鹿、梅花鹿、水鹿、麋鹿、黄鹿、狍、黠鹿、白黠鹿、马鹿; 牛科: 印度羚、

赤斑羚、山羊、岩羊、羚牛、白沙羚、斑鼻羚、剑羚、水羚、角马、牛、大羚羊、驼羊。

1.2 草食动物饲养方法

饲料主要分精料、青草和干草。精料中颗粒料为广东正大饲料厂生产。青草料主要是禾本科牧草和树木的嫩枝叶, 牧草以象草为主, 来自广州市郊区, 树木嫩枝叶以广州动物园饲用植物栽培基地和园内种植的树木为主。干草购自国内外的商品草和广东省内农民收割的山草和田草。另外, 日粮中还包括块茎、水果、维生素和矿物质等。主要饲料组成见表1。

精饲料按饲养动物体重的1%~2%供给, 每天上下午各投喂一次。青草料以新鲜的象草和树木幼嫩枝叶为主, 辅以少量干苜蓿草和羊草。在青草缺乏的冬末和春初季节, 由于象草短缺, 适当增加青绿树本枝叶的比例, 并添加足量的干禾草、羊草和苜蓿草等。草料日间多次投喂, 夜间足量投喂, 让动物自由采食, 每日保洁。自来水随意饮用, 在饮水槽

收稿日期: 2011-02-28

*: 通讯作者

基金项目: 广东省科技计划项目(2005B20901013)

边放置草食动物营养盐添砖,让动物自由舔食。

2 种植基地的建立与饲喂效果

2.1 建立饲用植物基地

从 1996 年开始,在广州动物园饲养场,建立了占地面积约 40 000 m² 的饲用植物基地。选择种植和培育动物园草食类动物喜食的植物种类属 20 个科,34 种,包括:羊蹄甲、旋扭山绿豆、异果山绿豆、台湾相思、朴树、蒲桃、柿、山指甲、土蜜树、乌桕、假柿树、潺稿树、苧麻、火炭母、鸡屎藤、团花(黄梁木)、三裂叶蟛蜞菊、五爪金龙、黄槿、苦楝、小叶米仔兰、芒果、构树、小叶榕、大叶榕、对叶榕、斜叶榕、桑、菠萝蜜、笔管榕、鸭跖草、象草、大黍、黄金间碧竹。

主要栽培的青饲料植物有:象草、羊蹄甲、小叶榕、山指甲和旋扭山绿豆。

表 1 草食动物主要饲料组成

类别	名称
精料	D19 颗粒料、小麦粉、米粉、炒豆粉、熟黄豆、熟玉米、麦麸
青草	象草、芒草、黑麦草、冬玉米秆、甘蔗顶、葛藤、大黍、鸭跖草、旋扭山绿豆、异果山绿豆、苧麻、火炭母、鸡屎藤、三裂叶蟛蜞菊、五爪金龙
嫩枝叶	羊蹄甲、台湾相思、朴树、蒲桃、柿、山指甲、土蜜树、乌桕假柿树、潺稿树、团花(黄梁木)、黄槿、苦楝、小叶米仔兰、芒果、构树、榕树、大叶榕、对叶榕、斜叶榕、桑、菠萝蜜、笔管榕、北仔树
干草	苜蓿草、苜蓿草块、白栏草、柱花草、羊草、铺地黍、田草
块茎	胡萝卜、蕃薯、洋葱
水果	苹果、香蕉、西瓜、甘蔗
维生素	鱼肝油、复合多维、畜禽生长素
矿物质	骨粉、石粉、食盐、营养盐添砖

注: D19 主要成分为玉米粉 61%、豆粕 33%、石粉和磷酸氢钙 3%、牛用预混料 1% 和添加少量食盐、赖氨酸、油脂等。

2.2 青饲料饲喂效果

饲喂效果主要从动物的喜食性和饲料植物在本地生长旺季、产量数量保证程度和对动物健康养殖的影响等几个方面来进行评价^[6-9]。见表 2。

动物园里饲养的草食动物,能繁殖则表明驯养成功;饲养时间长,生长健康,甚至寿命超过野生动物在自然环境中的平均寿命,则显示饲养技术水平高;在动物园能建立稳定的人工种群,则表明由野生动物驯化成了动物园园养动物。广州动物园动物繁殖状况分如下几种情况:可以繁殖、保持长期连续繁殖、形成稳定的人工种群、不断调出支援国内其它动物园、无地方存养及利用限制计划生育和由于种群小尚未繁殖的种类,包括了动

物园草食动物所有的人工种群。

表 2 广州动物园草食类动物对冬季青饲草的喜食性程度

名称	羊蹄甲	小叶榕	山指甲	桑	旋扭山绿豆	象草
象科	++ ^D	++	++	+++	++	+++
长颈鹿科	+++	+++	++	++++	++	+
马科	+	+	+	++	++	++
犀牛科	+	+	+	++	++	+++
骆驼科	++	++	++	++	++	+++
河马科	+	+	+	+	++	+++
鹿科	++	++	+++	+++	++	+++
牛科	++	++	+++	+++	++	++

1): “+”的数量表示各科动物的喜食程度。

3 讨论

动物园笼养草食动物青草饲料的选择,是依据动物的自然生物习性,结合动物园所在地植物生长种类,在长期饲养实践的基础上建立的^[5]。它有别于动物的自然选择,是人为的科学选择,与动物自身生理状态及生长发育密切相关^[7,8]。在人工饲养条件下,在饲养人员提供的种类繁多的牧草中,笼养草食动物的喜食性最终决定于饲养人员对牧草的选择。

青草饲料喜食性是指草食动物对给定青草饲料种类所表现出的选择食物 A 强于选择食物 B 的一种行为模式,与动物的遗传特性相关^[9]。动物对某种食物的偏爱性是持久存在的,无论这种食物在动物的取食生境中是否存在^[6,7]。食物的适口性是指由于食物本身所具有的某种特性而表现出对动物的吸引力^[10-12]。

在广州地区,春季至秋季象草供应充足,因此绝大多数青料为象草,其它植物种类只占极少的比例。进入冬季后,象草供应开始不足,而且这种状况一直会持续到翌年的早春,这时可逐步增加其它青饲料植物的比例。

红花羊蹄甲、小叶榕、山指甲、桑和旋扭山绿豆是我们筛选到的几种主要的冬用青料植物,这些植物虽然在入冬后都还能保持鲜绿的枝叶,但它们在入冬后先采收桑,因为该植物对冬季的低温和干旱较为敏感,进入 10 月其枝叶开始枯黄。随后即采收羊蹄甲,因为该植物的叶片在冬季能保

(下转第 38 页)

猪繁殖与呼吸综合征病毒 BD 株的分离及 GP4 基因的克隆

王金凤, 张会民, 袁万哲, 孙继国

(河北农业大学动物科技学院, 河北 保定 071001)

摘要: 从河北保定分离到一株疑似猪繁殖与呼吸综合征病毒, 接种 Marc-145 细胞, 经过两代盲传后, 出现细胞病变, 经鉴定为 PRRSV, 命名为 BD 株。根据 GenBank 公布的 PRRSV JXA1 株 ORF4 基因的核苷酸序列, 设计并合成一对特异性引物, 用 RT-PCR 方法扩增完整 ORF4 基因, 将扩增产物连接到 pMD19-T 载体并转化克隆菌, 将阳性重组质粒 PMD-GP4 进行测序分析。应用 DNA Star 软件, 将测序结果与国内外已发表毒株的 ORF4 基因进行序列比较, 并绘制系统进化树。结果表明, BD 株与 JXA1、HB-3 株遗传关系均较近。这为研制防治 PRRSV 的新型疫苗及诊断方法奠定了基础。

关键词: 猪繁殖与呼吸综合征病毒; BD 株; ORF4 基因

中图分类号: S858.28

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2011)03-0033-03

Isolation of Strain BD and clone of ORF4 gene from porcine reproductive and respiratory syndrome virus

Wang Jinfeng, Zhang Huimin, Yuan Wanzhe, Sun Jiguo

(College of Animal Science and Technology, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

Abstract: One porcine reproductive and respiratory syndrome virus strain BD was isolated from one pig of Hebei through cell culture. The full-length of ORF4 gene encoding the envelope glycoprotein (GP4) of PRRSV BD strain was amplified by RT-PCR with a pair of specific primers designed according to the relevant sequence of PRRSV JXA1 strain and then cloned into plasmid pMD19-T. The recombinant plasmid named as pMD-GP4 was subjected to sequencing and analysis. The sequence was compared with that of other PRRSV strains in GenBank by using software DNASTar and the phylogenetic tree was drew then. The results showed that strain BD exhibited high homology with strain JXA-1 and HB-3. It provided the basis for the research of new type PRRSV vaccines and the development of new diagnostic methods.

Key words: Porcine reproductive and respiratory syndrome virus; strain BD; ORF4 gene

猪繁殖与呼吸综合征(Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome, PRRS) 又称猪蓝耳病, 是由猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)引起的一种高度接触性传染病, 主要引起怀孕母猪后期流产、早产、产死胎和木乃伊胎等繁殖障碍, 仔猪出现呼吸道症状和断奶前死亡率增高, 同时它能引起免疫抑制、继发感染及其他疾病的免疫失败等。1996年我国首次报道本病后^[1], 关于该病发生、流行以及研究的报告日益增多。深入研讨 PRRSV 才能从根本上掌握病毒的分子特征, 从而为研制更有效的疫苗及建立更为准确的诊断方法提供科学依据。

PRRSV 为有囊膜的单股正链 RNA 病毒, 基因组全长约 15 kb, 含有 9 个开放阅读框(ORF)。

ORF4 基因长 537 bp, 共编码 178 个氨基酸, 具有 4 个糖基化位点。在 GP4 蛋白的氨基端和羧基端都有高度的亲水区域, 氨基端的 17 个疏水氨基酸被认为是该蛋白的信号肽序列, 而羧基端的疏水氨基酸区域(165aa-183aa)可以将该蛋白锚定到病毒的囊膜上。由此可以推测两疏水区之间的区域为主要抗原区^[2]。对欧洲分离株的 PRRSV 研究发现, GP4 蛋白至少含有 3~5 个线性表位和 2 个构象表位, 其中包括至少 2 个线性中和表位和 1 个构象中和表位^[3]。而且经比较发现, 所鉴定出的中和表位在欧洲型 PRRSV 的不同分离株间高度变异, 这些变异均可造成 GP4 蛋白抗原性的变化, 由此人们推测该区域可能易受免疫选择压力的影响。而 Oleksiewicz 等^[4,5]应用噬菌体展示技术对

欧洲型 PRRSV 进行抗原表位鉴定时发现, 该蛋白在第 48 位氨基酸与第 76 位氨基酸存在一个反应性很强的抗原性表位, 而且该表位在各分离株间高度保守。这些资料均表明, 在研究 PRRSV 感染与免疫机制方面 GP4 蛋白的作用不容忽视。本实验从河北省分离到 PRRS BD 株, 并对其 GP4 基因进行了克隆及序列分析, 这将为河北 PRRSV 的监测提供科学依据, 并为 PRRSV 分子病毒学补充数据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

PRRSV BD 株由本实验室从保定某发病猪场的病料中分离、保存; Marc-145 细胞由中国农业大学馈赠; pMDTM19-T vector、Top10 菌株购自大连宝生物公司。

1.2 试剂

TRIZOL 总 RNA 提取试剂、反转录酶 (M-MLV)、RNA 酶抑制剂均购自全式金公司; DMEM 为 GIBCO 公司出品; 犊牛血清购自杭州四季青生物工程公司; Taq DNA 聚合酶、Marker III 等均购自天根生化科技 (北京) 有限公司。

1.3 引物的设计与合成

根据 GenBank 已发表的 2006~2009 年流行的高致病性 PRRSV 变异毒株的基因序列, 分别设计 1 对包含完整 ORF4 基因上、下游引物序列, 并由上海生物工程技术有限公司合成。

P1: 5' -AATTGGTTTCACCTGGAATGG-3'

P2: 5' -TTGAACATTCAAATTGCCAGT-3'

1.4 病毒的增殖

将处理好的病毒悬液反复冻融 3 次, 接种于单层的 Marc-145 细胞, 每隔 12 h 观察一次细胞病变, 直到出现细胞病变为止。

1.5 病毒总 RNA 的提取

取 F3 细胞毒上清液 250 μ L, 加入 750 μ L TRIZOL, 剧烈震荡, 室温放置 5 min; 加入 250 μ L 氯仿, 震荡, 室温放置 10 min; 4 $^{\circ}$ C 12 000 r/min 离心 15 min, 取上清 550 μ L 转入到 1.5 mL Eppendorf 管中, 加入等体积异丙醇颠倒混匀, 室温沉淀 15 min; 4 $^{\circ}$ C 12 000 r/min 离心 20 min; 弃上清, 用 75% 的乙醇 1 mL 洗涤沉淀, 干燥 20~30 min, 用 10 μ L 溶解液溶解 RNA 沉淀, 溶解后于 -20 $^{\circ}$ C 储存备用。

1.6 PRRSV GP4 基因片段的扩增

将提取的 RNA 进行 RT-PCR, 反转录条件: 42 $^{\circ}$ C

30min, 85 $^{\circ}$ C 5min; PCR 条件: 94 $^{\circ}$ C 5min; 94 $^{\circ}$ C 45s, 54 $^{\circ}$ C 45s, 72 $^{\circ}$ C 1min, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10min。取 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳检测。

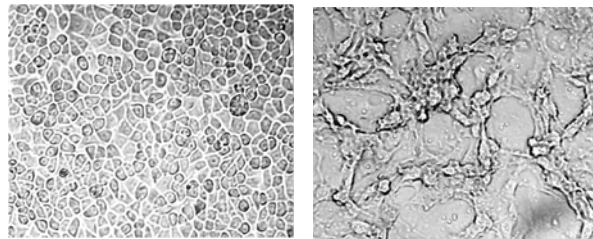
1.7 PCR 产物的克隆及序列测定

将回收的 GP4 基因 PCR 产物与 pMDTM19-T 载体连接, 重组载体命名为 pMD-GP4, 转化 Top10 感受态细胞, 提取质粒进行 PCR 鉴定。阳性菌液送上海生物工程技术有限公司测序。利用 DNASTar 分析软件对测序结果与国内外流行毒株序列进行比较, 并绘制系统发育树。

2 结果

2.1 病毒分离

将病毒悬液接种于 Marc-145 细胞后, 在 36 h 出现约 70% 的 CPE (见图 1), 一代即可适应。



A. 正常的 Marc-145 细胞

B. 培养 36h 出现 CPE 的 Marc-145 细胞

图 1 PRRSV BD 株在 Marc-145 细胞的病变

2.2 PRRSV ORF4 基因的扩增

经检测, 得到与预期大小相符的 ORF4 基因目的片段, 大小为 562 bp (见图 2)。

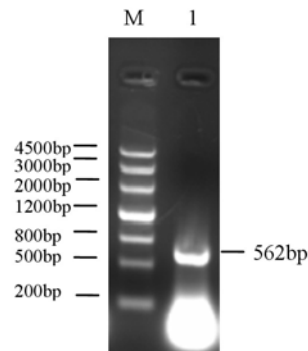


图 2 RT-PCR 扩增 BD 株 ORF4 基因结果

1: ORF4 基因片段 M: Marker III

2.3 目的基因的克隆与鉴定

将回收的 ORF4 基因克隆到 pMDTM19-T 载体, 提取质粒并进行质粒 PCR 鉴定, 分别得到约 2 kb 的 pMD 空载体和目的条带, 结果与预期相符。

2.4 序列测定

经序列测定, 获得 BD 株 GP4 基因序列, 全长 537 bp, 编码 179 个氨基酸。

2.5 氨基酸相似性分析

运用 DNASTAR 分析软件对所获得的基因序列进行比较, 结果显示 (见表 1), BD 株与 LV 株氨基酸相似性为 69.8%, 与 VR-2332 株氨基酸相似性为 89.4%, 与国内高致病性 HB-1、HB-2、HB-3、CH-1a、JXA1、GD 的相似性在 93.9%~96.6%

之间。

2.6 系统进化树分析

遗传进化树分析表明 (图 3), PRRSV BD 株与 VR-2332、MLV、CC-1 关系较远, 而与 HB-1、HB-2、HB-3、CH-1a、GD、JXA1 关系非常近, 同属于一个亚群, 属于美洲型毒株。

表 1 PRRSV GP4 基因推导的氨基酸序列的比较

毒株号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
1	***	96.1	97.2	90.5	99.4	89.9	89.9	69.8	94.4	96.6	96.6	HB-1(sh)
2	3.4	***	95	87.7	96.1	88.3	88.3	69.3	92.2	94.4	95.5	HB-2(sh)
3	2.3	4.6	***	88.3	97.2	89.4	89.4	70.4	95.5	97.8	96.6	HB-3(cz)
4	9.5	12.8	12.1	***	90.5	97.8	97.8	66.5	87.7	87.7	88.8	CC-1
5	0	3.4	2.3	9.5	***	89.9	89.9	69.8	94.4	96.6	96.6	CH-1a
6	10.2	12.1	10.8	1.7	10.2	***	99.4	66.5	88.8	88.8	89.4	RespPRRS MLV
7	10.2	12.1	10.8	1.7	10.2	0	***	66.5	88.8	88.8	89.4	VR-2332
8	35.8	35.8	35.8	40.4	35.8	40.4	40.4	***	67	69.3	69.8	LV
9	5.2	7.7	4	12.8	5.2	11.5	11.5	40.4	***	95	93.9	JXA1
10	2.8	5.2	1.7	12.8	2.8	11.5	11.5	36.7	4.6	***	96.1	GD
11	2.8	4	2.8	11.5	2.8	10.8	10.8	34.9	5.8	3.4	***	BD

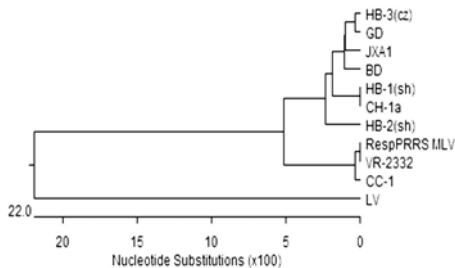


图 3 PRRSV ORF4 基因遗传进化树

3 讨论

本研究从河北保定某发病猪体内分离到一株 PRRSV, 将其命名为 BD 株, 并克隆了 PRRSV 的 ORF4 基因。通过与 LV 和 VR-2332 株等国内外代表毒株进行氨基酸的相似性比较, 发现此分离株与 VR-2332 株相似性为 89.4%, 相似性较高, 而与 LV 株存在较大差异, 相似性仅为 69.8%。与国内分离株 JXA1、HB-1、HB-2、HB-3、CH-1a、GD 氨基酸的相似性均在 90% 以上, 据此可以推测 BD 株属于美洲株。

河北省自 2006 年发生高致病性 PRRS 以来, 大中型猪场不断采取积极措施进行预防, 疫苗仍然是主要防治办法, 但 PRRSV 的高变异及重组的特性, 这要求我们应不断研究病毒的遗传变异趋势, 从而筛选出一株适应本地流行的优势毒株。笔者对 BD 株的 Nsp2 基因及其它结构基因序列也进行了扩增 (论文另发), 发现均与 JXA1 株高度相似, 说明

JXA1 株仍可以预防我省正在流行的 PRRS。关于 PRSSVGP4 蛋白, 目前很多问题未能解释清楚, 如 GP4 感染后诱导产生中和抗体存在一定争议, 需待进一步研究。本研究为进一步研制表达 ORF4 基因的新型疫苗及诊断试剂盒奠定了基础。

参考文献:

- [1] 郭宝清, 陈章水, 刘文兴, 等. 从疑似 PRRS 流产胎儿分离猪繁殖与呼吸综合征病毒 (PRRSV) 的研究[J]. 中国畜禽传染病, 1996, 87(2): 1-5.
- [2] Mardassi H, Mounir S. Molecular analysis of the ORF3-7 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus Quebec reference strain[J]. Arch Virol, 1995, 140: 1405-1418.
- [3] Weiland E, Wiczorek-Krohmer, Kohl D, et al. Monoclonal antibodies to the GP5 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus are more effective in virus neutralization than monoclonal antibodies to GP4[J]. Vet Microbiol, 1999, 66: 171-186.
- [4] Oleksiewicz M B, Botner A, Toft P, et al. Epitope mapping porcine reproductive and respiratory syndrome virus by phage display: the nsp2 fragment of the replicase polyprotein contains a cluster of B-cell epitopes[J]. J Virol, 2001, 75(7): 3277-3290.
- [5] Oleksiewicz M B, Botner A, Normann P. Porcine B-cells recognize epitopes that are conserved between the structural proteins of American-type and European-type porcine reproductive and respiratory syndrome virus[J]. J Gen Virol, 2002, 83(Pt 6): 1407-1418.

一株鸽新城疫病毒的分离鉴定

赵明秋*, 胡永明, 许丽娜, 易琳
(华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

摘要: 对广东地区疑似发生鸽新城疫感染的鸽病料进行病毒分离, 通过血凝试验 (HA)、中和试验、F 基因扩增及序列测定。结果分离到 1 株血凝效价为 $4\log_2$, 且能被 NDV 阳性血清中和的病毒; 用针对 NDV F 基因设计的特异性鉴定引物对该分离株进行 PCR 扩增, 可扩增出相应的目的片段; 测序及 Blast 分析表明其与山东分离株 chicken/China/SD5/2008 相似性高达 95%, 系统进化树分析表明该分离株属于基因 VI 型。由此, 该分离株为鸽新城疫病毒, 并命名为 GD2010。

关键词: 新城疫病毒; 分离; 鉴定; 鸽; 广东

中图分类号: S852.69

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2011)03-0036-03

Isolation and identification of a Newcastle disease virus from pigeon

Zhao Mingqiu*, Hu Yongming, Xu Lina, Yi Lin

(College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: A Newcastle disease virus (NDV) was isolated from the pigeon in Guangdong. It was identified NDV with hemagglutination test, neutralization test, PCR and sequence analysis. The HA titer was $4\log_2$ and this virus could be neutralized by the standard antibody of NDV. The F gene was amplified by RT-PCR by the specific identification primers of NDV F and sequenced. The homology of F gene was 95% with that of chicken/China/SD5/2008. Phylogenetic analysis showed that this virus was clustered into genotype VI. So this isolate was identified as NDV and named GD2010.

Key words: Newcastle disease virus (NDV); isolation; identification; pigeon; Guangdong

鸽新城疫又称鸽瘟、鸽 I 型副粘病毒病, 是由鸽 I 型副粘病毒 (Pigeon Paramyxovirus 1, PPMV-I) 引起的一种高度接触性急性传染病, 以肠炎、严重腹泻和神经症状为特征。PPMV 是新城疫病毒 (Newcastle disease virus, NDV) 的一种变异株, 两者在流行病学、发病症状、剖检变化等方面有很大的相似性, 但在发病率、死亡率及死亡时间等方面有一定的差异^[1,2]。该病于 1981 年首次在苏丹和埃及的信鸽中发现, 现已广泛流行于世界各地^[3-4]。近年来, 随着人民生活水平的不断提高, 我国肉鸽养殖业迅猛发展, 各地陆续有发生鸽瘟的报道^[5-7]。

2010 年 11 月, 广东某肉鸽养殖场鸽群发生以肝脏出血与脑膜充血为特征的急性传染病。10 日龄前后乳鸽开始发病, 病鸽食欲下降, 体温升高, 羽毛蓬松; 精神萎靡; 排黄绿色稀粪; 病鸽消瘦。18~20 日龄乳鸽开始出现死亡, 死亡率约为 10%。主要病变为肝脏有点状出血点、脑膜充血。为了解其发

病原因, 从病鸽群中采集病料进行病毒分离鉴定, 并对该病毒进行生物学特性的研究, 为进一步了解广东地区鸽瘟的发生及流行情况提供数据。

1 材料

1.1 病料

于 2010 年从广东某鸽场采集病死鸽的肝、脑。

1.2 试验用鸡胚

7~11 日龄 SPF 鸡胚, 由北京梅里亚维通技术有限公司提供。

1.3 试剂

NDV 标准阳性血清由农业部动物疫病防控重点开放实验室提供; TRizol、A-MLV 反转录酶、RNasin、dNTP、Ex Taq 购自 TaKaRa (大连) 公司。

2 方法

2.1 病毒的分离鉴定

2.1.1 病料的采集与处理 无菌采集死亡鸽的脑、肝脏病料混合研磨, 用含双抗 (2 000 U/mL) 的

收稿日期: 2011-01-17

*: 通讯作者

基金项目: 广东省科技计划项目 (粤科规划字【2009】198 号)

生理盐水,将病料作 1:3 稀释制成悬液。冻融 2 次后,3 000 r/min,离心 30 min,取上清经 0.22 μm 滤膜过滤,将滤过液置于 -20 °C 以下保存作为病毒分离用。

2.1.2 细菌培养 将上述滤过液分接种于营养肉汤培养基培养,37 °C 培养 96 h,观察细菌生长情况。

2.1.3 病毒的鉴定 取上述滤过液接种 7 日龄 SPF 鸡胚,每胚 0.2 mL。接种后置 37 °C 温箱孵育,弃去 24 h 内死亡鸡胚,以后每 12 h 照胚一次,将死亡胚置 4 °C 冰箱过夜,72 h 后收集鸡胚尿囊液,测定其血凝效价。将具有血凝活性的尿囊液与等量 NDV 阳性血清混合,37 °C 作用 30 min 后,接种 7 日龄 SPF 鸡胚,0.2 mL/胚,37 °C 继续孵育,每日照蛋 2 次,观察鸡胚死亡情况,并收取 24 h 后死亡胚及 120 h 未死亡鸡胚的尿囊液,检测 HA 效价。

2.2 引物设计

根据 GenBank 中 NDV F 基因序列,用 Primer 5.0 设计了 1 对扩增 NDV F 基因第 94~375 位核苷酸片段,大小为 282 bp 的特异性引物。引物由上海博尚生物技术有限公司合成。

上游引物(PF1):5'-CTTGATGGCAGGCCTTTC-3',
下游引物(PF2):5'-TACACTGCCGATAATGG-3'

2.2.1 病毒 RNA 的提取与 RT-PCR 按照 TRIzol 试剂说明提取病毒 RNA。RT 反应体系按宝生物工程(大连)有限公司(TaKaRa)提供的 A-MLV 反转录酶的使用方法操作。采用 25 μL 反应体系(cDNA3 μL,10 μmol/L 上、下游引物各 1 μL,2.5 mmol/L dNTP 2 μL,5 U/TaqDNA 聚合酶 0.125 μL,10 ×PCR buffer 2.5 μL,超纯水补足 25 μL),以下述条件扩增 vNDV F 基因片段:95°C 5min,94°C 30s,52°C 30s,72°C 30s,共 35 个循环,72°C 延伸 10 min,12°C 结束反应。

2.2.2 序列测定及分析 将 PCR 产物送往上海英骏生物技术有限公司进行序列测定。将测得序列登录 GenBank 利用 BLAST 搜索获取该基因的相似信息,并利用 Lasergene 7.0 软件绘制该分离株系统进化树。

3 结果

3.1 病料细菌培养

病料上清液所接种的细菌培养基经 37 °C 培养 96 h,无细菌生长。

3.2 病毒的鉴定

从病鸽中分离到有血凝性的病毒,血凝价达

到 4log₂; 将具有血凝活性的尿囊液与等量 NDV 阳性血清混合,37 °C 作用 30 min 后,接种 7 日龄 SPF 鸡胚后,鸡胚未出现死亡,其 HA 为阴性。

3.3 F 基因特异性引物 PCR 扩增结果

利用针对 F 基因设计的特异性引物从分离病毒的 RNA 中扩增出一条约 282 bp 的条带,与预期一致,见图 1。

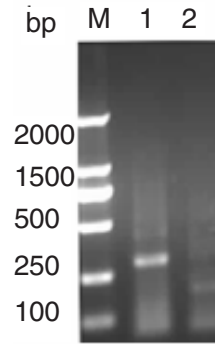


图 1 分离株 F 基因鉴定的 RT-PCR 扩增产物

M:DNA Marker DL 2000;1:为分离株 F 基因的 PCR 扩增产物;2:为以高纯水为模板的阴性对照

3.4 F 基因的序列测定及分析

3.4.1 核苷酸序列相似性分析 将该分离株 F 基因片段 94-375 核苷酸序列登录 GenBank,利用 BLAST 搜索,发现它与 chicken/China/SD5/2008 相似性最高,达到 95%。结果表明,该分离毒株是一株鸽源 NDV。

3.4.2 基因型分析 将该分离株和一些 NDV 代表毒株的 F 基因片段 94-375 序列,利用 Lasergene 7.0 绘制该分离株的系统进化树(图 2)。由图 2 可见,GD2010 株属于基因 VI 型。

4 小结与讨论

本实验根据临床症状,结合分离病毒的特征、血凝特性及序列分析可以判定该分离株为鸽新城疫病毒。经 Blaast 分析该毒株与分离株 chicken/China/SD5/2008 相似性达 95%,系统进化树分析表明该分离株属于基因 VI 型,与目前流行的新城疫主要基因型(VI 和 VII 型)一致。与国内常用的新城疫弱毒疫苗 La sota (II 型)、V4 (I 型)、强毒灭活疫苗 F48E9 (IX 型)等都有较大差异,提示这些疫苗可能难以提供有效的免疫保护^[8]。

鸽新城疫病毒可感染家禽,且经鸡胚传代可增强其致病性。由于养鸽业流动性大,特别是信鸽的饲养,一旦发病,容易造成病原的扩散而感染其他易感禽类,甚至传播到多个国家^[9],并呈地方性流行形式存在^[10]。因此,我们必须密切留意鸽新城

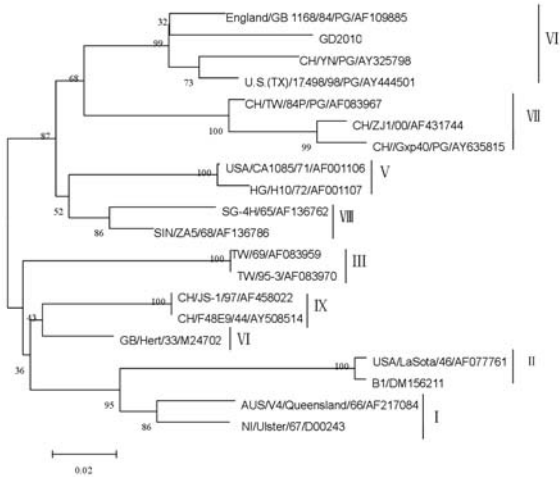


图 2 F 基因系统进化树

疫病毒流行动态, 做好鸽舍的消毒, 及时隔离患鸽, 才能控制鸽新城疫的流行与发生。

通过对该分离株的分离鉴定, 丰富了广东地区鸽源新城疫病毒的流行病学资料, 为鸽新城疫的防控奠定了基础。

参考文献:

[1] Abolnik C, Gerdes G H, Kitching J, et al. Characterization of pigeon paramyxoviruses (Newcastle disease virus) isolated in South Africa from 2001 to 2006

[J]. Onderstepoort Journal of veterinary research, 2008, 75(2):147-152.
 [2] Irvine R M, Aldous E W, Marvell R J, et al. Outbreak of Newcastle disease due to pigeon paramyxovirus type I in grey partridges (*Perdix perdix*) in Scotland in October 2006 [J]. Veterinary record, 2009, 165(18):531-535.
 [3] 谢青梅, 毕英佐, 曹永长. 鸽 I 型副黏病毒的分离鉴定 [J]. 中国兽医科技, 2000, 30(7):8-10.
 [4] 蔡绍鑫, 焦培荣, 高诗敏, 等. 一株鸽源新城疫病毒的分离鉴定 [J]. 动物医学进展, 2010, 31(5):23-25.
 [5] 邹永新, 余双祥, 刘思伽, 等. 广东地区鸽禽 I 型副黏病毒分离株生物学特性研究 [J]. 中国家禽, 2008, 30(16):42-43.
 [6] 顾海, 王永坤. 鸽源副黏病毒及其单克隆抗体的研究进展 [J]. 动物医学进展, 2002, 23(4):34-38.
 [7] 杨吉才, 石国芳. 鸽新城疫最新研究进展 [J]. 中国动物保健, 2005, 9:34-36.
 [8] 任涛, 孔令辰. NDV 基因型与病毒毒力和疫苗免疫保护之间的关系 [J]. 养禽与禽病防治, 2005(2):12-15.
 [9] Ujva 'ri D, Wehmann E, Kaleta E F, et al. Phylogenetic analysis reveals extensive evolution of avian paramyxovirus type I strains of pigeons (*Columba livia*) and suggests multiple species transmission [J]. Virus Res, 2003, 96:63-73.
 [10] Aldous E W, Fuller C M, Mynn J K, et al. A molecular epidemiological investigation of isolates of the variant avian paramyxovirus type I virus (PPMV-1) responsible for the 1978 to present panzootic in pigeons [J]. Avian Pathol, 2004, 33:258-269.

(上接第 32 页)

持鲜绿, 但到早春时其叶开始发黄, 导致幼嫩枝叶比例大幅下降。接下来即可采收旋扭山绿豆、小叶榕和山指甲了, 因为这几种植物在整个冬季至早春都能保持叶的鲜绿, 所以把它们安排在最后阶段采收^[4]。这样可以充分利用动物园饲用植物基地的植物资源。

参考文献:

[1] 李俊年, 刘季科. 植食性哺乳动物食物选择的生态学意义及行为机制 [J]. 应用生态学报, 2003, 14(3):439-442.
 [2] 马建章, 陈华鹏, 孙中武, 等. 马鹿和狍饲料植物的营养质量 [J]. 生态学报 1996, 16(3):269-275.
 [3] 杨翕雯, 李安兴, 郭俊成. 台北市立动物园有蹄类动物饲料调整与寄生虫防治 [J]. 动物园学报(台), 2001, 13:69-79.
 [4] 彭建宗, 刘小青, 吴其锐, 等. 广州动物园草食动物饲用木本植物的筛选 [J]. 野生动物, 2010, 31(1):39-41.
 [5] 刘小青, 吴其锐, 黄翠莲, 等. 广州动物园草食类动物的饲养及其效果评价 [J]. 野生动物, 2007, 28(5):50-53.

[6] 宋延龄, 李善元. 海南坡鹿的食性研究 [J]. 兽类学报, 1992, 12(4):248-254.
 [7] 曾治高, 宋延龄, 钟文勤, 等. 秦岭羚牛的食性 [J]. 动物学杂志, 2001, (36)36-34.
 [8] 李俊生, 宋延龄, 曾治高. 有蹄类动物营养状况的测定方法及其评价 [J]. 动物学杂志, 2003, 38(2):90-95.
 [9] Boulter D. Insect pest control by copying nature using genetically engineered crops [J]. Phytochemistry, 1993, 34:1453-1466.
 [10] Owen-Smith N. Control of energy balance by a wild ungulate, the kudu (*Tragelaphus strepsiceros*) through adaptive foraging behaviour [J]. Proceedings of the Nutrition Society, 1997, 56:15-24.
 [11] Jildmalm R, Amundin M, Laska M. Food preferences and nutrient composition in captive white-handed gibbons, *Hylobates lar* [J]. International Journal of Primatology, 2008, 29:1535-1547.
 [12] Farnsworth K D, Illius A W. Optimal diet choice for large herbivores: an extended contingency model [J]. Functional Ecology, 1998, (12):74-81.

沈阳市某犬场附红细胞体感染的防治

刘剑郁

(中国刑警学院警犬技术系, 辽宁 沈阳 110034)

摘要: 2010年5月, 沈阳市某规模化犬场出现以腹泻、发热、贫血、黄疸和阴道出血等症状的病例。笔者根据实验室诊断结果, 结合病犬发病情况和临床症状诊断为犬附红细胞体感染, 并对感染病例进行治疗, 对犬场进行综合防控, 使疫情得到有效控制。本文对该病的诊断、治疗与预防进行了详细的阐述, 并得出一定的体会, 以供同行参考。

关键词: 犬; 附红细胞体; 预防; 治疗

中图分类号: S852.69

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2011)03-0039-02

The prevention and treatment of eperythrozoon infection in a dog farm in Shenyang

Liu Jianyu

(Dept. of Police Dog Technology, Criminal Police College of China, Shenyang 110034, China)

Abstract: One disease with the symptoms of diarrhea, fever, anemia, jaundice and vaginal bleeding occurred in a large-scale dog field of Shenyang in May 2010. It was determined as dog eperythrozoon infection through the laboratory diagnostic, the incidence and the clinical symptoms. The epidemic disease had been controlled effectively through the treatment of infection and the integrated prevention of the dog field. This paper provided the methods for treatment and prevention for dog eperythrozoon infection.

Key words: Canine; eperythrozoon; prevention; treatment

犬附红细胞体病由犬附红细胞体寄生于红细胞表面、血浆及骨髓中所引起的人犬共患病^[1]。患犬常呈隐性感染, 感染率高, 在应激条件下出现急性临床症状, 以高热、贫血和黄疸为主要特征, 可伴发呕吐、腹泻、便血等急性出血性胃肠炎症状^[2,3]。该病一年四季均可发生, 多发于夏秋时高热、多雨且蚊虫繁殖孳生季节, 且南方发病率高于北方。主要通过接触传播、昆虫媒介传播、血源传播和垂直传播。笔者临床上遇到该病例, 现将防治情况报告如下。

1 基本情况

该犬场地处沈阳市北郊, 交通便利, 面积约15亩, 犬群数量约260余头, 主要为德国牧羊犬, 以自繁自养为主。定期进行预防接种和驱虫, 平时以商品化犬粮为主, 不定期添加熟鸡蛋、熟鸡肉等。

2 发病情况

2010年5月, 该犬场相继有两头母犬不同程

度地出现腹泻、发热、贫血、黄疸和阴道出血等症状。品种为德国牧羊犬, 年龄分别为22月龄、3.5岁。其中3.5岁的犬症状重, 曾有空怀、流产史; 两犬均无其他病史。

3 临床症状

病犬主要表现精神不振, 体温升高至39.5~40.5℃; 四肢无力, 食欲不振, 饮水增多; 粪便稀薄恶臭, 混有粘液和血液, 尿呈黄色; 后期病症严重时, 眼结膜黄染, 被毛粗乱, 明显消瘦, 可视黏膜苍白。听诊肺部有杂音, 肠音弱, 心率不齐, 有间歇。

4 实验室诊断

用一次性真空负压采血管, 采取患犬前肢静脉血5 mL, 分别进行镜检和细菌分离。

4.1 血涂片检查

采患犬血滴于载玻片上, 制成血液涂片, 用瑞-姬姆萨染色后在1 000倍的油镜下可观察到许

多圆形、椭圆形、短杆状蓝色小体,附着在红细胞上,部分红细胞变成空泡状。

4.2 血压片检查

采患犬血液加入等量生理盐水稀释,取其一滴压片后用油镜 1 000 倍暗视野镜下观察,可见到游离在血液中的呈环状、球状、短杆状、半月状等多形态的折光小体在血浆中呈现摆动、伸曲、翻滚等运动,另外可观察到一个或多个被附红小体吸附到红细胞上表面,以及若干变形的红细胞。

4.3 细菌学检查

将血液接种于普通肉汤、麦康凯、营养琼脂培养基上,37℃培养 24 h,未见有微生物菌落生长。

4.4 病毒学检查

采取患犬粪便和鼻汁,采用韩国安捷公司生产的 Rapidtest+CPV Ag、Rapidtest+CCV Ag、Rapidtest+CDV Ag 试纸卡分别进行检测,结果均为阴性。

5 诊断

根据发病情况、临床症状以及实验室检验,诊断两头犬为附红细胞体感染。

对犬场 260 余头犬按不同年龄段随机采血,镜检,结果表明该犬场普遍存在附红细胞体感染,呈隐性感染。

6 治疗

对两头病犬采取以下治疗措施:三氮脒 4 mg/kg,深部肌肉注射,隔天注射 1 次,连用 3 次;长效土霉素 0.1~0.2 mL/kg,肌肉注射,1 次/d,连用 3 次; α -干扰素,肌肉注射,每天 200 万单位;安痛定、止血敏、维生素 B₁₂,皮下注射,2 次/d。对重症犬,静脉滴注 5%葡萄糖-生理盐水 250 mL,2.5% V_C 10 mg,10%安钠咖 5 mL;复方氨苄西林 0.05 g/kg,生理盐水 250 mL,适时补充 ATP、ConA,1 次/日。经治疗,22 月龄的犬康复,3.5 岁的重症犬死亡。

7 防治

7.1 加强饲养管理

加强犬的饲养管理,减少各种应激,增强机体抵抗力。对重症犬进行隔离,由专人治疗、护理,治疗参考上述方案。对疑似犬进行密切观察,适当隔离、治疗。对病犬或疑似犬的分泌物、排泄物、污染的用具、环境及时消毒。对病犬或疑似犬在治疗或预防过程中使用的注射器等专犬专用,进行无害

化处理,涉及到的其他医疗器械及时消毒。对病原的实验室诊断与监测中所涉及的环境、仪器、用具等及时进行消毒、无害化处理。对犬舍及犬运动场搞好环境卫生,定期消毒,杀灭蚊蝇、跳蚤、虱子、蜱和鼠等。接触过病犬或疑似犬的工作人员加强卫生消毒。

7.2 做好药物预防

对犬场所有犬在饲料中适量添加土霉素原粉,进行全群预防性投药,连续饲喂 7 d;然后停药一周,再按上述方法重复喂药 7 d。

7.3 防治效果

经过对典型病例的治疗和犬群的防治,按犬的不同年龄段随机采血进行显微镜观察,结果表明附红细胞体感染的病例明显减少;感染病例的严重程度明显减轻。

8 讨论

8.1 病因分析

近年来,动物附红细胞体病在兽医临床上频繁发生且呈逐年扩大趋势。犬附红细胞体病的报道也与日俱增,该病的发生无明显的季节性,以夏秋季发病较多,可发生于各种年龄的犬。应激是引起本病发生的主要原因,抵抗力下降的犬,如分娩、过度拥挤、长途运输、饲养管理不良等,都可能引发此病。在非应激状态下多呈隐性感染,较少表现临床症状^[4];但隐性感染的犬一旦受应激因素影响而抵抗力下降时,附红细胞体在体内急剧增殖,使大量红细胞受到破坏,导致机体出现急性过程而呈现显性感染,并且往往与其他细菌性或病毒性疾病并发或继发感染,使病情加剧和复杂化,对宿主威胁极大^[5]。

该犬场常年养犬,饲养规模较大,工作人员相对固定,犬的饲养和疾病防治有专业人员指导,对各种疾病的预防相对科学。但由于业务需要,常有犬的调出与调入,可能存在外来附红细胞体病原传入的可能,但不能排除犬场长期隐性感染的可能,也不能排除以前未准确诊断出病原,造成疫情蔓延的可能。因此,对该犬场附红细胞体的发病原因和流行病学有待于进一步调查与分析。

8.2 治疗体会

对该病的治疗应“早发现、早诊断、早治疗”,早期的治疗效果显著,疗程短,而一旦延误治疗,

(下转 48 页)

犬猫常见的人兽共患病

林立峰, 周秀蓉, 吕殿红, 袁洁, 魏文康*

(广东农业科学院兽医研究所动物医院, 广州 510640)

摘要: 本文对犬和猫的人兽共患病进行了分类、统计, 并通过对各个疾病的临床症状和传播途径的分析总结, 阐述其在公共卫生领域中的重要地位和意义。加强了大众对犬猫人兽共患病的认识和为公共卫生政策的制定提供依据和参考。

关键词: 犬猫; 人兽共患病; 公共卫生

中图分类号: S851.2

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2011)03-0041-02

公共卫生是通过评价、政策发展和保障措施来预防疾病、延长人寿命和促进人的身心健康的一门科学和艺术。我国城市犬猫已从看家护院、消灭鼠害的功能, 逐渐转变成为人“生活伴侣”、“家庭成员”。同时, 城市犬猫数量的急剧增长和人与宠物“零距离”的接触也给社会、环境、卫生等带来一系列隐忧, 引发诸多社会问题, 其中核心的问题可能还是人兽(犬猫)共患病的问题。

1 概述

目前, 在我国关于犬猫在人兽共患病的研究较少, 主要集中在狂犬病、弓形虫病的研究。在犬猫的传染病中, 有相当多的疾病可以传染给人, 如布鲁氏菌病、弓形虫病、结核病、皮肤真菌病、巴贝斯虫病、新丝虫病、利什曼原虫病、流感等。这些人兽共患疾病未得到城市相关主管部门、兽医从业人员和宠物饲养者的重视。这样会加大犬猫的人兽共患疾病在人群中的传播。

2 种类和危害

如表1~表3所示, 犬猫的人兽共患病的病原体主要包括细菌、寄生虫、病毒、真菌、立克次体和衣原体。一般以细菌和寄生虫所占的比例最高, 病毒和立克次体所造成的危害最大。在犬猫常患的18种细菌病中, 人可感染的有16种, 接近90%; 32种寄生虫病中, 人可感染的有16种, 占50%; 25种病毒病、立克次体病和衣原体病中, 人可感染的有3种, 约10%; 11种真菌病中, 人可感染的有5种, 接近50%。在这86种病原体中, 人可感染的接近50%^[6]。

3 主要症状

如表1、表2和表3所示, 犬猫的人兽共患病可引起多系统、器官、组织或功能障碍的疾病, 表

表1 犬猫重要人兽共患细菌病

病原	主要症状	传播途径
布鲁氏菌	流产、睾丸肿	尿液、精液
钩端螺旋体	黄疸、血尿	尿液、吸血昆虫
结核分支杆菌	咳嗽	痰液
沙门氏菌	腹泻	粪便、饲料
大肠杆菌 O ₁₅₇ :H ₇	腹泻	粪便
弯曲杆菌	腹泻、流产	粪便、尿液
破伤风弧菌	身体强直痉挛	粪便
肉毒梭菌	肢体麻痹	粪便、饲料
诺卡氏菌	脓肿、蜂窝织炎	脓汁
牛放线菌	脓肿、蜂窝织炎	脓汁
伯氏疏螺旋体(莱姆病)	关节肿胀、跛行	蜱
链球菌	肺炎、关节炎	痰液、脓汁等
支气管败血博代氏菌	咳嗽	鼻液
魏氏梭菌	猝死	粪便、环境
小肠结肠炎耶氏菌	腹泻	粪便
鼠疫杆菌	皮肤出血、尿血	跳蚤

现出多种的临床症状。

4 主要传播媒介

如表1、表2和表3所示, 在40种常见的人兽共患病中, 通过粪便传播的有21种, 约50%; 通过吸血昆虫(跳蚤、牛蜱等)传播的有8种, 占20%, 其它的可通过尿液、唾液等方式传播。可见, 粪便和吸血昆虫在疾病的传播中发挥着重要的作用。

5 重要的犬猫人兽共患病

5.1 狂犬病

狂犬病是由狂犬病毒引起的一种人兽共患传染病, 临床症状以恐水、畏光、异嗜、狂躁等为主要特征, 主要通过咬伤的皮肤、黏膜而感染, 是迄今为止人类唯一病死率高达100%的传染病。狂犬病病毒可感染所有温血动物, 犬是人类感染的最主要传

染源,约占 85%左右,其次是猫及狼、狐狸等野生动物。在欧洲约有 33 种蝙蝠可在无任何异常下长期携带病毒,并从唾液中排毒。更为严重的是,新发现了包括老鼠、禽类等动物也可携带狂犬病毒^[1]。

我国是受狂犬病危害最为严重的国家之一,近年的年报告狂犬病死亡人数均在 2400 人以上,仅次于印度,居全球第二位。2009 年全国报告狂犬病发病数为 2 213 例。广东、广西、湖南和贵州等省区最为严重^[2]。

表 2 犬猫重要人兽共患寄生虫病

病原	主要症状	传播媒介
刚地弓形虫	流产	粪便、肉类
巴贝斯虫	黄疸	蜱
华支睾吸虫	黄疸	粪便
并殖吸虫	咳嗽	粪便
棘球绦虫	腹泻	粪便
犬复孔绦虫	腹泻	粪便、跳蚤
孟氏迭宫绦虫	腹泻	粪便
多头带绦虫	腹泻	粪便
弓首蛔虫	腹泻、呕吐	粪便
钩虫	腹泻、呕吐	粪便
旋毛虫	腹泻、肌肉疼痛	生肉
类圆线虫	腹泻、咳嗽、皮炎	粪便
犬恶丝虫	呼吸困难、腹水	蚊子
隐孢子虫	腹泻、呕吐	粪便
贾第虫	大多隐性感染	粪便
利什曼原虫	大多隐性感染	白蛉
等孢球虫	腹泻	粪便
阿米巴原虫	腹泻	粪便
疥螨	剧痒、结痂、脱毛	皮肤

表 3 其它犬猫重要人兽共患病

病原	主要症状	传播媒介
狂犬病病毒	恐水、畏光、狂躁	唾液
犬埃立克体病	高热、出血	蜱
鹦鹉热衣原体	猫结膜炎、肺炎	眼鼻分泌物
犬小孢子菌	脱毛	毛发、皮屑
石膏状小孢子菌	脱毛	毛发、皮屑

5.2 弓形虫病

弓形虫病是由弓形虫感染,以猫为终末宿主而引起的人兽共患传染病,临床症状以高热、流产为主要特征,主要通过食入含感染性卵囊或包囊而感染,弓形虫对妊娠妇女危害较大,会引起流产、胎儿畸形等。弓形虫可以广泛寄生于人、哺乳物、鸟类以及某些水生动物。动物感染多数为潜伏感染或无症状的隐性感染。弓形虫是专性细胞内寄生虫,包括滋养体、包囊、裂殖体、配子体和卵囊五种发育阶

段。滋养体和包囊存在于中间宿主体内,裂殖体、配子体和卵囊出现在终末宿主猫体内。猫作为弓形虫的终末宿主,弓形虫在其体内可以完成全部发育阶段,并经粪便排出卵囊。

弓形虫呈世界性分布,估计全世界有 1/3 的人感染弓形虫。我国人弓形虫平均感染率为 7.88%,在一些特殊人群,如孕妇、肿瘤患者等感染率明显偏高^[3]。世界上猫弓形虫的平均感染率为 30%~40%^[4]。据报道,广州犬、猫感染率达 20%以上^[5]。

6 防治措施

6.1 加强宣传教育,建立正确的养宠观

当我们把一只可爱的小猫或小狗带回家的时候,最好先带到宠物医院进行详细的身体检查,在确定健康的情况下,才把它们带回家,并且要做到定期接种疫苗、驱虫、防虱。教育小狗如何与人相处,最好做到定时定点大小便,尽量减少与人过分亲密的行为(亲吻、同食、同睡),当然,外出散步牵狗绳,保护社区环境的清洁卫生也是非常必要的。

6.2 加强犬猫的人兽共患疾病的诊断技术和防治手段的研究

目前,在犬猫的人兽共患疾病的诊断方面的研究比较薄弱,主要侧重于狂犬病的研究。加大投入,不断摸索掌握犬猫的人兽共患病的发病规律及特点,研究开发快速、廉价、操作简便的检测方法,对犬猫的人兽共患病的防控是相当必要的。

6.3 建立完善的犬猫的人兽共患疾病防控体系

过去在人兽共患病的防控上,主要侧重于经济动物。但随着城市宠物数量的不断增长,人饲养犬猫方式的改变,犬猫的人兽共患疾病问题将会越来越突出,尽早确立一套完善的防控体系,可以为我国宠物行业的健康发展,人类的健康和社会的稳定提供可靠的保障。

参考文献:

- [1] 杨松涛,王铁成,胡桂秋. 宠物狂犬病及其防控[J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(11-12): 117-118.
- [2] 郭绶衡,唐清,李浩,等. 中国 31 省 1991-2005 年狂犬病流行情况比较分析[J]. 中华流行病学杂志, 2007, 17(4): 374-376.
- [3] 刘全,金洪涛. 宠物弓形虫的感染及其防控[J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(11-12): 105.
- [4] Dubey J P. Toxoplasmosis of animals and humans(2nd) [M]. CRC Press, 2009.
- [5] 陈代雄,谭嘉庆,胡颖,等. 广州地区猫、犬弓形虫感染的唾液流行病学调查[J]. 热带医学杂志, 2005, 5(5): 639-641.
- [6] 何英,叶俊华. 宠物医生手册[M]. 第二版. 沈阳:辽宁科学技术出版社, 2009.

恒河猴辐射后的临床症状及护理

黄振兴, 李宏霞*

(成都华西海圻医药科技有限公司 国家成都中药安全性评价中心, 成都 610041)

摘要: 经 5-7Gy 的钴-60 多向辐射后, 恒河猴表现出食欲废绝, 精神不振, 活动性降低, 呕吐, 腹泻, 脱水, 易感染, 易出血, 最后死亡。这主要是因为辐射损伤了动物的造血机能和消化系统。临床上对症护理, 减轻动物疼痛。

关键词: 恒河猴; 多向辐射; 临床症状; 护理

中图分类号: S854.7

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2011)03-0043-03

Clinical symptom and nursing of rhesus monkey after radiation

Huang Zhenxing, Li Hongxia

(WestChina-Frontier Pharmatech Co, Chengdu 610041, China)

Abstract: After multi-directional radiation of Co-60 at the dose of 5-7Gy, rhesus monkey appeared anorexia, listlessness, low reactivity, vomiting, diarrhea, dehydration susceptible, hemorrhagic and finally dead. It was because that animal's hematopoietic system and digestive system was damaged by the radiation. The nursing was done to relieve animal's pain.

Key words: Rhesus monkey; multi-directional radiation; clinical symptom; nursing

最近的日本里氏 9 级地震牵动人心。而由地震引起的核泄漏危机持续扩大, 继福岛核电站爆炸后, 女川和东海核电站都面临紧急情况。核辐射对人体危害问题再次引起国际社会高度关注。

笔者曾多次参与剂量为 5-7Gy 钴-60 多向辐射后的恒河猴护理救治。期间, 对辐射猴进行了持续性的观察, 现将动物临床表现和护理心得介绍如下。

1 临床症状

1.1 呕吐

动物受辐射后, 一般会出现呕吐, 呕吐物多为食物残渣, 个别呕吐胆汁样浅黄色泡沫液体。为了避免呕吐物逆流阻塞气道, 所以辐射前最好禁食 12 h。辐射后至动物苏醒前, 以侧卧或者俯卧放置动物, 保持气道畅通。

1.2 红斑

个别动物体表局部被毛稀疏的皮肤有红斑出现。这可能与辐射损伤有关。

1.3 腹泻

最常出现的症状就是腹泻。按症状轻重分为软便、稀便(或水样便)、棕色稀便和血样便等。其中个别动物不一定出现血样便, 棕色稀便后粪便量开始减少, 粪便形态逐步转好, 之后动物可能恢复或者形成便秘。

1.3.1 软便 开始是粪便量增多, 颜色正常, 粪便不成形。此时动物表现正常, 偶尔还能与试验人员进行交流。

1.3.2 稀便 大量稀便、食糜残渣平铺于底盘上。往往是越能吃的稀便越多, 但此类动物病程发展也较快。此时动物表现正常, 仍可在笼中上下跳跃, 精神未见异常。

1.3.3 棕色稀便 粪便颜色开始变成棕褐色, 粪便内容物减少, 偶尔可见肠粘膜。动物精神不振, 采食减少, 活动性降低。

1.3.4 血样便 体况越好的出现血便的时间越久, 血便量越大。一般而言, 出现血便的往往意味

着急性病程, 动物通常接连 3~4 d 血便后死亡。动物此时一般不喜欢采食饲料, 而是喜吃水果。动物饮欲增加。而当某个动物开始大量喝水时, 则该动物第二天往往就会死亡。解剖一般会见肠胀气。

1.4 脱水

轻度脱水时表现不明显, 一般见口唇略微干燥; 中度时皮肤弹性降低, 牙龈粘膜干燥, 口周发青, 眼眶凹陷, 四肢发凉, 呼吸急促, 萎靡或烦躁, 血压降低, 脉搏快、弱, 血管不充盈; 重度脱水时精神沉郁, 对外界反应冷淡, 眼球凹陷, 结膜干涩, 角膜无光, 心跳较快, 血压不易测出, 尿极少或无尿, 嗜睡, 甚至昏迷。

1.5 其它

灵长类动物给人的印象是灵活机敏, 所以它们的行为活动对于评判病程具有重要意义。当动物活动性下降时, 往往意味着疼痛, 疾病正在加重, 对此类动物应该给予重视。另外, 动物的精神状态, 采食量, 刺激反应等也是临床上的重点观察指标。

2 护理

2.1 外伤处理

辐射后常见病症, 多为化脓创。首先用剪刀或宠物剃毛器将伤口周边的毛发和痂皮清理干净, 生理盐水冲洗, 棉球蘸干, 接着用 3% 的双氧水冲洗。必要时用棉签轻轻擦拭掉伤口表面脓汁, 露出粉红的肉芽组织时即可。之后生理盐水冲洗伤口, 清除残留双氧水。蘸干伤口后, 喷涂碘酒, 每天一次, 连用 3 d。对于伤口面积较大的, 可采用龙胆紫喷涂伤口。

2.2 吸氧处理

当个别动物出现面色苍白, 局部皮肤发绀, 肢端较冷时, 应提供吸氧。有条件的可测定血氧浓

度, 低于 85% 时吸氧, 3 L/min, 达到 90% 即可。

2.3 补液处理

严重的脱水需要按照 40 mL/kg·d 的剂量缓慢静脉滴注乳酸林格氏液。补液速度宜先快后慢, 具体速度的调节应根据动物现场的呼吸、心跳等实际情况而定。

2.4 营养补充

应给予动物一些新鲜可口的食物, 比如饼干酱、水果、豆奶汁和麦片等热量较高的食品。食物应尽量柔软, 便于吞噬。一些坚硬的食物, 如坚果等应避免给予, 以防止对消化道的刺激。

2.5 镇痛处理

根据实际情况, 由兽医判定是否给予镇痛处理。一般采用芬太尼, 0.04 mg/kg, 肌肉注射, 每天 2 次。

2.6 人道终结

即安乐死。当动物出现以下任一症状时即可判定为濒死。

2.6.1 移动困难或者无法移动, 导致动物无法自由采食、饮水。不能或者极度不愿站立, 表现为长时间 (>24 h) 的斜靠, 俯卧, 无法保持直立 (排除麻醉)。

2.6.2 长期食欲废绝 (>3 d) 或恶体质, 极度消瘦或者脱水, 快速的体重丢失 (3 d 内体重下降 \geq 正常体重的 20%)。

2.6.3 对刺激反应小或者无反应, 缺乏身体的部分反射 (痛觉反射、光反射) 和精神警惕 (排除麻醉)。

2.6.4 呼吸困难或急促, 严重发绀; 严重的腹泻 (>3 d, 甚至出现血便); 镇痛无效的疼痛。以上症状持续较长时间而无好转迹象。

2.6.5 渐进性的体温降低, 四肢厥冷, 核心温度降低 (<35.9 °C)。

表 1 疾病发展及相应表现

疾病发展	每天采食量	行为活动	精神状态	刺激反应	社会化行为
正常	正常 (采食多为饲料)	动物上下跳跃, 行动迅速	正常	正常	时而鸣叫, 种群之间适时交流
轻度	采食量略减, 约为正常量的 80%	跳跃或悬挂行为减少, 多数时间在笼底徘徊	正常或精神不振	刺激后跳上栖杆或悬挂	鸣叫次数减少, 种群偶尔交流
中度	多采食水果, 约为正常量的 40%~80%	跳跃或悬挂行为极少或没有, 在笼底蹲坐, 偶尔走动	精神萎靡	刺激后退缩于笼子一角, 偶尔做鬼脸	无鸣叫, 与群体的互动较少
重度	只吃水果, 低于正常量的 40%	蹲坐, 弓背, 垂头, 四肢收于腹下	精神倦怠	刺激仅微微抬头, 叹气	无鸣叫, 没有任何互动
濒死 (安乐死)	食欲废绝	长时间俯卧, 四肢厥冷	嗜睡	对外界刺激无反应	无互动

2.6.6 伤口经久不愈,反复的自伤,严重感染导致严重的器官系统功能障碍,预后不良^[1]。

安乐死一般采用戊巴比妥钠(50~60 mg/kg, iv)麻醉后股动脉放血^[2]。

3 体会

3.1 辐射后,动物骨髓造血系统损伤,白细胞和红细胞减少,HCT降低,血小板减少,临床表现为易感染,易出血。个别动物在日常注射后,注射孔化脓感染,影响皮下组织,造成溃疡或皮肤坏死,常常在伤口消毒擦拭时皮肤脱落,形成较大面积的创面。为此,必须要注意注射时的消毒,止血。为了减少造成溃疡和感染的几率,最好在四肢轮换进行注射。当伤口面积达3 cm×3 cm以上时,笔者一般采用龙胆紫来喷涂伤口。不采用碘酒的原因是因为猴子常常用手指挠伤口,之后再蘸有碘酒的手指放进嘴里舔,一来一往,伤口上的碘酒就被稀释或没有了,不能起到消毒作用;而龙胆紫喷涂后,动物抓挠次数明显减少。另外,龙胆紫会在伤口表面形成一层牢固的保护膜,产生持久的保护作用。对于需要长时间恢复的伤口,可以减少处理频率,降低劳动量。由于免疫力低下,动物极易继发感染,这是加速动物死亡的主要原因。

由于血红蛋白减少,血液运载氧气能力降低,动物出现发绀,呼吸急促或困难。解剖时动物血液稀薄,黏性降低,甚者如清水样。皮下组织、胃粘膜、大网膜、肠系膜淋巴结、肠道等有出血点,牙龈有溃疡灶,严重的在心脏、肺脏、膀胱、脑膜等处都有出血现象。

3.2 辐射后,动物消化系统(胃肠道特别是小肠)损伤,隐窝严重破坏,失去增殖更新能力,绒毛受损,肠粘膜脱落,失去屏障作用;肠道的消化吸收发生障碍,水分、电解质和营养成分等从肠腔流失,水、电解质失衡;肠道内菌群紊乱,有害菌大量繁殖,产生毒素。临床上动物表现呕吐、严重腹泻、脱水、酸中毒。由于肠道有害菌产生毒素、气体,导致肠道自身蠕动异常,解剖时发现急性死亡动物中约有1/2的动物有肠套叠。

辐射后动物自身合成蛋白的能力降低,血液中胶体渗透压下降,水分丧失,循环血量减少,解剖时所有动物的组织器官都很干燥,没有光泽。

3.3 在辐射后存活的动物中,笔者观察到一个有趣的现象。约有10只恒河猴在不同时间出现腿部肌肉对称性萎缩,形成翼状腿,不能拉直,动物始终呈蹲坐姿势。行走时骨盆向两侧摇摆,呈鸭步态,俯卧起立时需扶物。查阅资料发现与进行性肌营养不良症^[3]有许多相似之处,但要确诊还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Marky P, Lynn C A, Kathryn B, et al. Institutional Animal Care and Use Committee Guidebook (2nd Edition) [M]. OLAW, 2002: 105.
- [2] Gregory N G, Wotton S B. Time to loss of brain responsiveness following exsanguination in calves [J]. Res Vet Sci, 1984, 37: 141-143.
- [3] 曹俊娟. Duchenne 肌营养不良症的研究进展 [J]. 重庆医科大学学报, 2007, 32 (12): 1347.

母猪存栏总量已降至三年低位

据新华社全国农副产品和农资价格行情系统监测,目前全国猪肉价格同比上涨43.5%。分地区来看,辽宁、吉林、河北、山西、安徽、湖北、湖南、四川、青海等省区市的同比涨幅已超过50%,其余省区市同比涨幅多在40%~50%之间。尽管如此,我们的研究显示,在饲料价格居高不下、母猪存栏总量持续下降的背景下,国内猪肉价格仍有望上涨。

研究显示,养殖成本提升直接导致了国内猪肉价格走高。饲料成本占养猪成本约60%,玉米占饲料成本约60%。统计数据显示,2010年6月以后,国内猪肉价格持续上涨,2011年4月与2010年6月相比,涨幅为40%。主要原因为2010年下半年以来国内玉米、小麦、稻谷等主要粮食品种价格大幅上涨,推高饲料等养猪成本。

当前玉米供应基本保持平稳,而采购需求有所增加,尤其进入5月份之后,虽然国家调控政策较强,但玉米市场走势仍有望由政策调控型向需求主导型转变,预计近期玉米价格仍将保持坚挺态势推高饲料价格,养猪成本上升,推动猪肉价格上涨。

此外,存栏不足、供需趋紧也是猪肉价格走高的重要原因。我们得到的数据显示,3月份国内的生猪存栏量为44750万头,环比上涨0.77%,生猪存栏止跌回升,同比上涨1.40%;能繁母猪4710万头,环比下跌0.42%,连续下跌3个月,同比下跌2.69%,3月份全国母猪存栏总量已经降至三年来的低位,从母猪补栏到对应商品猪出栏需要一年左右时间,因此我们认为,2011年生猪供应总体紧张,猪肉价格将维持高位。(信息来源:全国食品网)

风险评估制度在奶牛疫病防控中的运用

岳海祥, 贺小云, 云慧卿

(石家庄市动物卫生监督所, 河北 石家庄 051051)

中图分类号: S851.2

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2011)03-0046-03

2009年我们承担了石家庄市科技局下达的“石家庄市奶牛养殖动物卫生监督长效管理机制研究”科研课题(石市科软评字[2010第161号]),以风险评估制度为分析手段,以奶牛饲养、生产、流通环节的全过程监管为主线,通过建立奶牛养殖防疫监管制度、疫病防控工作监管制度、防疫人员监管制度、奶牛养殖检疫模式和奶牛养殖自主反馈体系,建立适合本地区的奶牛养殖动物卫生监督长效管理模式。使奶牛养殖场可能存在的动物卫生风险得到有效控制。最终在全市规模奶牛养殖场推广,实现奶牛养殖场的动物卫生和畜产品安全“零风险”控制,形成奶牛动物卫生的良性环境。笔者现将风险评估的运用和研究结果介绍如下:

1 制定动物卫生风险评估方案

奶牛养殖场的动物卫生工作涉及很多方面,通过风险评估,实现奶牛养殖监管的科学分类及模块化管理。风险评估方案包括风险评估指导原则、风险评估模块的建立、风险评估技术方法、风险危害程度、风险评估专家库设立等内容。

1.1 奶牛养殖场动物卫生风险评估原则遵循“依靠科学、依靠技术、实事求是、客观公正、数据准确”的方针。

1.2 风险评估模块的建立。对奶牛场动物卫生工作和相关环节进行系统归纳、总结,科学分析,分门别类,排列组合,形成“奶牛疫病防疫,养殖场防疫条件及检疫监督,动物疫情处置,从业人员监管,信息自主反馈机制”5个系统。进一步细分为:计划免疫、消毒、无害化处理、两病净化、疫病检测,养殖档案管理,动物卫生防疫条件、动物以及

动物产品检疫、饲养饲料和兽药使用、动物疫情解析预警、口蹄疫、布鲁氏菌病、结核病等疫病监测,动物疫情报告、监督人员管理、养殖场兽医监督管理、科普宣传等18个评估模块。

1.3 风险评估方法。建立专家风险评估制度,广泛搜集国内外奶牛疫情动态,根据我市奶牛养殖特色,结合已经掌握的本辖区奶牛养殖场分布状况、环境优劣情况、饲养条件、疫情普查、流行病学调查、疫病检测与监测信息,对可能发生的危害因素进行系统分析,对潜在的风险进行综合评估,对流行趋势进行预测预警,制定防控措施和对策,为动物卫生监督长效机制的建立提供翔实的技术数据。

1.4 风险危害程度的确立。总风险危害程度分为轻度危害、轻度危害、中度危害、重度危害、重大危害等5个梯度;子系统的风险程度分为轻度危害、轻度危害、中度危害、重度危害等4个梯度;每个模块的风险程度分为轻度危害、轻度危害、中度危害、重度危害等5个梯度。总风险程度与子系统风险程度、子系统风险程度与模块系统风险程度的计算为二进制方法。

1.5 总风险危害程度与子系统风险程度以及与模块系统风险的危害形成一种树型数据结构。每个分支系统的风险程度变化,最终都能在总系统中体现出来。以后各个监管方案的制定,行政措施的落实,技术手段的应用,自主反馈系统的建立都要以系统风险评估数据为依据,并随着数据的变化而做动态的修改、调整和完善。

1.6 风险评估专家库的建立。成立动物卫生风险评估专家库,实施动态风险评估制度,每季度定期召开风险评估会议,紧急情况随时召开,对潜在的风

险进行综合评估,为制定防控措施提供依据。

2 根据风险评估结果制定相关的制度和措施

2.1 制定疫病防疫监管方案

根据《河北省全面实施畜禽养殖场(小区)动物疫病科学防控与依法监管工作实施方案》和有关的技术规范,制定了《石家庄市奶牛养殖场(小区)动物疫病科学防控实施方案》。该方案对科学免疫、科学消毒、无害化处理、养殖档案及奶牛场布鲁氏菌病、结核病控制等8个方面举措进行了详细规定。通过方案实施,提高了奶牛绿色、生态饲养管理能力和水平,提高了奶牛抵抗疾病的能力,有效防控疫病的发生发展。

2.1.1 在免疫方面,确定了强制免疫与计划免疫病种,实施程序化免疫,并根据免疫抗体检测结果及时调整免疫程序,以及在发生疫情时的紧急免疫要求。同时规定了管理部门和管理相对人在疫病免疫方面各自的责任和义务。

2.1.2 消毒方面,指导养殖场制定动物卫生消毒制度,建立科学的消毒程序。采取适宜的消毒方法,筛选合适的消毒药品,应用科学的消毒技术,定期对养殖环境进行全面消毒。

2.1.3 在无害化处理方面,按照无害化、资源化的原则,采取深埋、焚烧、发酵的方法,对病死动物尸体、粪便、污水等及时进行无害化处理。

2.1.4 防疫档案管理方面,指导养殖场规范填写防疫档案,包括免疫、检疫、消毒、发病、死亡、无害化处理、标识以及兽药来源、名称、使用对象、时间和用量等情况。

2.1.5 “两病”净化方面,按照《布鲁氏菌病防治技术规范》、《牛结核病防治技术规范》和《河北省2007-2011年畜间布病防治方案》,从布鲁氏菌病免疫、“两病”常态检测、污染牛群检测及隔离饲养、扑杀、无害化处理及引进等方面做好布鲁氏菌病、结核病防控和净化工作。

2.2 制定防疫条件审查及检疫监督工作方案

根据《动物防疫法》、《动物防疫条件审查办法》、《动物检疫管理办法》及产地检疫规程等法律法规,制定了有关动物卫生监督检疫等方面的方案及制度。通过方案实施,最大限度地加大奶牛养殖场的动物防疫条件监管及检疫监管力度。

2.2.1 制定了《养殖场动物防疫监督行动实施方案》,其内容涵盖了动物防疫条件审查监管及检疫监督两方面的内容,明确了工作内容及目标。

2.2.2 制定了《科技支持行动方案》,主要包括专业技术的研究、试验、示范和管理工作的创新推广,涵盖了规模养殖场病死动物及粪便无害化处理技术、奶牛场人畜共患病监测技术与综合净化技术、免疫程序的建立、消毒程序的建立、违禁药物的检测、新技术的推广和创新。

2.2.3 制定了《规模养殖场监督管理制度》、《石家庄市规模养殖场巡查监督制度》、《规模养殖场动物防疫制度》、《规模养殖场动物检疫报检管理制度》、《规模养殖场兽药使用制度》、《规模养殖场卫生消毒制度》、《石家庄市产地检疫备案管理办法》、《石家庄市产地检疫申报管理制度》、《石家庄市病死畜禽无害化处理管理办法》、《石家庄市规模饲养场动物防疫条件验收审查制度》及《石家庄市规模饲养场动物防疫条件标准》等项制度。全面规范监管内容和监管过程。

2.3 制定了疫情处置管理方案

制定了《2009年石家庄市动物疫情防控方案》,明确了监测目的,任务与分工及监测计划、监测点的选择、监测项目及数量、监测的方法及监测结果,疫情预警解析和处置要求。

2.3.1 成立动物疫情解析预警专家委员会,建立专家解析预警制度,每季度定期召开专家解析预警会议,紧急情况随时召开。根据国内外疫情动态,准确掌握本辖区疫情普查、流行病学调查、疫病诊断与监测信息,对已发生的疫情进行分析,对潜在的风险进行综合评估,对流行趋势进行预测预警,为制定防控措施提供依据。

2.3.2 动态监测方面确定了口蹄疫免疫学检测、病原学检测以及布鲁氏菌病、结核病等疫病监测方案,按照农业部有关监测技术规范,开展动态监测工作。

2.3.3 在疫情处理方面。确定了报告主体、处理程序及疫情追溯追踪制度。

2.4 建立人员监管机制

制定了《石家庄市规模养殖场标准化兽医室建设方案》,明确了场方兽医人员配备要求及防护用品、仪器设施设备的配备,明确了规模养殖场兽

医职责,工作规范。确立执业兽医、乡村兽医及基层防疫工作从业人员的资格监管、培训教育等制度,明确监管处理处罚措施,建立了防疫工作人员长效管理机制。

2.5 开展科学知识普及,建立自主反馈机制

在全市动物规模饲养场内制作大字标语、科普宣传栏、警示牌、责任公示牌。同时向管理相对人发放“明白纸”及各类宣传材料。使养殖人员知法懂法,了解相关动物疫病防控知识,及时准确的反馈养殖及疾病信息。

2.6 强化领导,组织实施推广

为了推进方案的实施,市畜牧水产局成立领导小组,2009年相继下发《开展养殖场(小区)依法监管通知》、《关于开展消毒月活动的通知》、《关于做好规模养殖场病害动物和病害动物产品无害化处理工作的通知》、《关于开展奶牛“两病”监测工作的通知》、《关于实施动物健康合格证制度的

通知》等文件。实行监管责任制度、养殖户承诺制度、奶牛调运监管制度、“两病”检测阳性奶牛处置制度、奶牛养殖场日常监管制度,市局在藁城专门召开了奶牛“两病”净化现场会,在全市进行示范和推广。

3 风险评估制度运用的结果

两年来,通过课题组人员的共同努力,运用风险评估技术方案,对奶牛养殖动物卫生的监管环节进行风险评估,成功的制定出各项监管工作方案,并对实施前后奶牛监管工作进行对照分析,表明长效监管机制的实施,使得规模饲养场疫病得到有效防控,尤其“两病”得到净化,降低奶牛疾病的发病率和死亡率,使奶牛的死淘率降低5%,使产奶量提高3%,经济效益增加4%。同时,通过项目的实施,提高了奶源质量,确保市民喝上“放心奶、优质奶”,圆满地完成了课题规定的任务指标。



(上接 40 页)

疗效则无法保证。由于该病临床上缺乏特征性病征,仅凭一般性临床检查难以作出确切的诊断,因此采取实验室诊断是非常必要的,临床上常因诊断不准确而延误治疗时机。据有关资料报道,使用复方三氮脒、长效土霉素治疗效果明显;根据病情可进一步采取抗贫血,促进机体造血功能的恢复,纠正酸碱平衡,补充维生素,抗菌消炎防止继发感染等综合措施。

8.3 预防体会

犬附红细胞体的传播方式有接触性传播、血源性传播、垂直传播、媒介昆虫传播等,预防难度较大,必须进行综合预防^[6]。加强环境卫生管理,在夏秋蚊蝇季节定期驱灭环境中的蚊蝇;犬只定期皮下注射或肌注阿维菌素或伊维菌素等;避免与患犬的接触;避免各种应激因素以及机械传播。犬一旦感染可长期隐性携带病原体,药物根除十分困难,在加强预防措施的同时,提高机体抗病力非常重要^[7,8]。

该犬场发现感染病例后,按照上述的预防原

则,对病犬迅速隔离、治疗,对疑似犬适当隔离、治疗,对犬群采取预防性投药,对环境、用具和工作人员做出一系列要求。所采取的措施及时有效,为防止疫情的蔓延提供了有力保障。

参考文献:

- [1] Gresham A, Rogers J, Tribe H, et al. Eperythrozoon suis in weaned pigs[J]. Vet Rec, 1994, 134(3):71-73.
- [2] 董君艳, 王力光, 张守发, 等. 附红细胞体感染犬主要血液生理生化指标[J]. 中国兽医学报, 2004, 24(1):34-36.
- [3] 扬子强, 扬宏军, 李建基. 动物附红细胞体病的研究进展[J]. 动物科学与动物医学, 2002, 19(7):21-24.
- [4] 华修国. 人工复制附红细胞体病的研究[J]. 上海农学院学报, 1998, 16(2):132-140.
- [5] 周勇志, 李庄, 石磊, 等. 犬附红细胞体 PCR 检测方法的建立[J]. 中国兽医寄生虫病, 2008, 16(4):1-4.
- [6] 李龙, 郁传峰, 宋小敬, 等. 犬附红细胞体病[J]. 动物医学进展, 2005, 26(3):109-111.
- [7] 赵昌亭, 郑梅冬, 刘芳美. 犬附红细胞体病的诊疗体会[J]. 特种经济动植物, 2002, 30(11):43.
- [8] 郑丽艳, 商好现, 张衍俊, 等. 附红细胞体病的研究进展[J]. 山东畜牧兽医, 2005, 36(1):44-45.

抓住契机 全力推进 东莞市村级动物防疫员队伍建设

张伟华

(广东省东莞市农业局, 广东 东莞 523888)

中图分类号: S851.63

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2011)03-0049-02

根据《中华人民共和国动物防疫法》、农业部《关于加强村级动物防疫员队伍建设的意见》(农医发(2008)16号)和广东省政府办公厅《转发省农业厅关于加强村级动物防疫员队伍建设的意见的通知》(粤办函(2010)63号)精神,东莞市抓住时机,统筹安排,强力推进基层动物防疫体系建设,夯实了动物防疫基础,有效地提高重大动物疫病的防控能力,全市没有发生重大动物疫病。

1 深刻领会上级精神,准确把握时机

近年来,东莞市不断加强村防疫员队伍建设,特别是谢岗、东坑、凤岗、大岭山等镇积极探索村防疫员队伍建设,取得了一定成效,积累了一些经验。但是,随着东莞市畜禽养殖状况发生变化和动物防疫形势日益严峻,村防疫员队伍建设也存在一些不足。一是防疫职责不明确,责任难落实。多数镇街的村防疫员以兼职居多,个别镇甚至没有村防疫员,或临时聘请人员参加紧急防疫工作。由于职责不明确,村防疫员缺乏动力和压力去履行职责,未能体现村(居)委会对本村(社区)动物防疫负总责的职责。二是人员老龄化,专业素质较低。现有村防疫员中50岁以上的占43%,不少已年过六旬,身体状况难以适应正常的动物防疫工作;95.4%的村防疫员没有兽医专业学历或技术职称,近一半的防疫员基本专业技术不熟练,业务素质难以满足工作要求。三是工资待遇差,难以调动积极性。村防疫员的工资主要由村(居)委会支付,月工资在300元至1500元不等。一些村防疫员按日计酬,收入无保障,较低的报酬与其肩负的重大防疫责任不对等,难以调动防疫员工作积极性,更难吸引年轻、有技术水平的新人加入,面临后继

乏人的困境。四是兼职种类繁多,难以集中管理。83.7%的村防疫员由村治安员、文秘人员、治保员、邮递员、护林员等兼任,还有一些防疫员属于自由职业者,给实施集中统一管理带来一定困难,影响了动物防疫工作任务的落实。村级动物防疫员队伍薄弱,影响了东莞市动物防疫措施落实,成为困扰东莞市多年的问题,也是农业部门积极寻求突破的重要一环。

《中华人民共和国动物防疫法》要求县级人民政府和乡级人民政府应当采取有效措施,加强村级防疫员队伍建设。2008年农业部下发了《关于加强村级动物防疫员队伍建设的意见》(农医发(2008)16号)。2010年广东省政府办公厅转发了省农业厅《关于加强村级动物防疫员队伍建设的意见》(粤办函(2010)63号),对新形势下如何加强村防疫员队伍建设,提出具体指导意见。省政府也将村防疫员队伍建设,纳入对各地级以上市政府的动物防疫责任制考核。国家和省十分重视并采取行之有效的措施推进村级防疫员队伍建设。与此同时,广东省内一些市县也积极探索。例如,河源市出台了《河源市村防疫员管理办法(暂行)》,明确规定了村防疫员的工作职责、选聘资格条件、经费补助机制和实施专职化管理,大大提升了该市动物防疫工作水平,取得了明显成效。

我们深刻地领会到农业部、省政府和省农业厅加强村级动物防疫员队伍建设的高瞻远瞩;同时,我们也意识到加强村级动物防疫员队伍建设的“东风”已到,务必抓住时机,加快推进村级动物防疫员队伍建设,补齐动物防疫之“短板”,夯实动物防疫基础,提升重大动物疫病防控能力。

2 形成对加强村级动物防疫员队伍建设重要性的共识

长期以来,社会公众上对村级动物防疫员的认识停留在“远看象要饭的、近看是兽医站的”,兽医就是给人“打猪针”、“打鸡针”。能否对村级动物防疫员重要性形成共识,事关能否出台加强村级动物防疫员队伍建设的意见,事关村级动物防疫员队伍建设能否取得突破。

经过多次征求意见和座谈,东莞市镇两级农业、财政等部门形成了如下共识,为意见的顺利出台奠定了基础。

2.1 加强村级动物防疫员队伍建设是抓好动物防疫工作的基本要求

加强村级动物防疫员队伍建设是《中华人民共和国动物防疫法》赋予县级人民政府和乡级人民政府的责任。切实抓好村级动物防疫员队伍建设也是省政府对各地级以上市政府动物防疫责任制考核的内容。

2.2 加强村级动物防疫员队伍建设是充实动物防疫力量的有效手段

村级动物防疫员工作在农村,与养殖户联系密切,是动物疫病的“观察员”,是动物防疫工作的“信息员”和“联络员”,也是动物防疫知识“宣传员”,更是动物强制免疫、畜禽标识加挂、建立免疫档案的“操作员”。村级动物防疫员队伍是市镇两级畜牧兽医部门工作力量的重要补充。

2.3 加强村级动物防疫员队伍建设是保障社会和谐稳定的重要举措

东莞市常住人口多,经济总量大,对外贸易交往频繁,国际国内关注度高,一旦发生重大动物疫情等公共事件,将直接影响东莞投资环境和社会稳定大局。通过加强村级动物防疫员队伍建设,有利于夯实动物防疫工作基础,有效落实动物防疫措施,最大限度地避免重大动物疫情发生。

3 出台加强村级动物防疫员队伍建设的意见

2010年5月,东莞市政府办公室转发了东莞市农业局关于加强村级动物防疫员队伍建设的意见(东府办函〔2010〕177号),要点如下:

3.1 明确目标原则,统筹队伍建设

以科学发展观为指导,坚持“因地制宜、按需

设置、明确责任、择优选用、注重素质、创新机制”的原则,把村级动物防疫员队伍建设纳入动物防疫体系建设的整体规划,统筹安排,扎实推进。各镇街根据畜禽犬猫等动物饲养量、养殖方式、场点分布等因素科学评估辖区内动物防疫任务,合理配备村级动物防疫员。原则上,每个行政村配备1名村级动物防疫员,动物防疫任务相对较轻的镇街可设置若干个防疫片区,每个片区配备1名村级动物防疫员。通过建立和完善选拔录用、责任考核、定期培训、经费保障等制度,力争两年内建成一支由镇街农业技术服务中心(畜牧兽医站)统一管理、业务素质良好、工作尽责高效、工资待遇有保障的村级动物防疫员队伍。

3.2 严格资质条件,规范录用程序

严格人员资质条件审查,逐步建立和完善村级动物防疫员选拔录用机制。采取以村(社区)推荐和自愿报名相结合,统一考试录取的形式,由镇街组织办、农办和畜牧兽医站组织统一考核,择优录用,公开选拔符合资质的人员。村级动物防疫员必须身体健康、思想正派、责任心强、遵纪守法、爱岗敬业,掌握动物防疫政策和法律法规,熟悉辖区内畜禽养殖情况,具有一定群众基础,熟练掌握动物免疫注射和监测抽样技能,能够独立开展动物防疫工作。新招聘的村级动物防疫员必须符合以下条件之一:(1)取得中专以上畜牧兽医专业学历;(2)取得初级以上动物疫病防治员技能鉴定证书或乡村兽医登记证;(3)从事动物诊疗服务1年以上且无不良记录;(4)经市农业部门组织的动物防疫技术培训合格。已从事村动物防疫员工作且表现优秀的优先选录。

3.3 落实职责任务,强化责任追究

村级动物防疫员的主要职责:定期开展辖区巡查,及时掌握辖区畜禽养殖及免疫情况;承担动物防疫法律法规宣传、动物强制免疫注射、畜禽标识加挂、散养户动物免疫档案建立、动物疫情报告等工作;承接镇街畜牧兽医站交办的任务。

村级动物防疫员由镇街农业技术服务中心(畜牧兽医站)统一管理,并相互签订《动物防疫工作责任书》,划定工作责任区,制订量化考评制度,强化监督管理,定期组织考评。将村级动物防疫员工资报酬与工作量和工作绩效挂钩,调动其工作

(下转 52 页)

浅谈规模化养鸡场生物安全体系的建立

邓理主, 龚中贵

(韶关市动物卫生监督所, 广东 韶关 512026)

中图分类号: S815.9

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2011)03-0051-02

近些年来,随着畜牧业的不断发展,家禽养殖规模不断扩大,养鸡规模化、集约化程度不断提高,家禽养殖所面临的问题也越来越多,风险在加大,其中疾病的发生严重地影响了家禽养殖业的生产和发展。面对养鸡生产规模的不断扩大及日益复杂的疫病,采用疫苗免疫、消毒等常规的疫病防控方法,对疫病的有效防控难以发挥作用。对此,针对新形势下家禽疫病的防控,采用生物安全的综合防控措施变得尤为重要。生物安全是一项针对家禽集约化养殖疫病防控的系统性工程,下面针对规模化家禽养殖生产有关生物安全综合防疫措施的建立,分以下几个方面阐述。

1 合理选址

1.1 养殖场选址应考虑远离水禽饲养场、活禽交易市场、家禽屠宰场、闹市区、居民生活区及公共交通主干道,一般距离至少在500 m以上。在坚持此项原则的基础上再合理兼顾饲料、肉鸡等物资运输成本及生产的便利性。

1.2 鸡舍环境周围应有充足干净的水源,能保证鸡饮水卫生及饲养用水需求。

1.3 鸡舍应建在通风向阳的地方,且地势不能太低,尤其应避免潮湿的洼地。

1.4 养殖区域多栋鸡舍的排列方向应考虑疫病发病特点。冬春季节,疫病较多,而风向一般为北风或西北风,因此各鸡舍的排列方向应避免沿北向或西北方向排列,且各栋鸡舍之间应保持合理距离,一般鸡舍与鸡舍之间的距离应至少保证在5 m以上。

2 科学布局

2.1 养殖场应建有生活区、办公区、养殖生产区、隔离区及病死禽无害化处理区等分区,且各区应

严格分开,尤其是进入生产区时,要有缓冲、消毒专用通道,进出生产区的出入口应分别设置,且隔离区及无害化处理区要与生产区保持一定距离。

2.2 在生产区应根据不同饲养阶段,分育雏、育成、育肥等饲养区域,且各区域鸡舍避免交叉。区域分布需遵从由育雏区到育成区再到育肥区,采用单一物流方向。

3 执行严格的饲养制度

3.1 执行专一化养鸡生产。一个饲养场只准饲养一种家禽,严禁同时饲养其他动物,尤其是水禽。如果需饲养多品种也尽量分舍或分片区进行饲养,以利于饲养管理和饲料的实时调整。

3.2 严格实行全进全出管理制度,尤其要避免不同日龄鸡群混养或共存同一鸡舍。由于不同日龄鸡对疾病的易感性不同,携带的病原也不一样,因此容易造成疾病的传播。同时,不同日龄鸡混养也不利于料量的控制、疫苗的免疫等一系列的饲养管理,从而也容易引发疫病。

3.3 执行空栏制度。各批次的鸡应保证足够的饲养间隔。一般鸡舍至少要空栏两周以上,尤其对有病史的鸡舍,要适当延长空栏时间;养殖年限越长,空栏时间亦适当延长。空栏间隔期间对鸡舍要进行彻底的清洗、消毒。

4 加强饲养员及相关人员的管理

4.1 饲养人员要专职。应尽量避免饲养员从事公司销售部,搬鸡出鸡及场外活禽搬运或交易等兼职工作。

4.2 各鸡舍饲养员之间应避免相互走串鸡舍,尤其应避免做集体工时未经严格消毒而进行相互帮扶饲养工作。

4.3 对“公司+农户”模式中的养户,运输饲料、

鸡苗或病死鸡时,出门前及回来后均要进行更衣、换鞋、消毒;外出回来后进入鸡舍也要进行换鞋、更衣,做到进出鸡舍都要洗手、脚踏消毒盆。

4.4 技术员或养户管理员进行养户指导时,应穿雨鞋并脚踏消毒池。按一定次序如先到健康养户最后到发病养户;去了发病养户或疫区,当天就不要再去其它鸡舍,晚上冲凉换衣后第二天再去其它鸡舍。

4.5 尽量避免外来人员或闲杂人员随意进入生产区。

5 严防中间媒介物传播疾病

5.1 加强对用具、器械等物理媒介的清洁消毒,如鸡笼、饮水器、饲料桶等用具,在使用前均要进行清洁消毒;同时还要加强对进入的车辆及人员的消毒。

5.2 防止活的媒介物,如飞鸟、老鼠、蚊蝇等进入鸡舍与鸡群直接接触造成疫病流行,因此在日常饲养过程中应加强灭鼠、灭蚊蝇,设防鸟网等措施。

6 加强日常的卫生防疫

6.1 保持鸡舍合理的温度及湿度,雏鸡阶段尤其要注意加强保温。如鸡舍在进苗前提前预温,进苗后第

一天舍内温度应控制在 33 ± 1 °C,此后根据雏鸡的群体状况,每周实时略降 $1 \sim 2$ °C直到 23 °C左右的常温,到中大鸡时适当加强鸡舍环境的通风换气。

6.2 鸡群饲养密度要适宜。一般地面平养育雏期在 $30 \sim 50$ 只/ m^2 ,并根据鸡群的大小实时扩栏;大鸡阶段保持在 10 只/ m^2 左右,尤其要保持合理的饲养密度,避免鸡群在饲养过程中密度过大。

6.3 保证鸡群饮水的卫生。避免使用混浊的污水,最好使用山塘水或深井水并尽量符合饮用水卫生标准。

6.4 做好鸡舍及环境的清洁卫生及消毒工作。清扫灰尘、羽毛等垃圾,并及时更换垫料、清鸡粪。根据天气情况,每周实施 $2 \sim 3$ 次的定期带鸡消毒及鸡舍环境的喷洒消毒。带鸡消毒药物可选用 $0.2\% \sim 0.3\%$ 过氧乙酸或百毒杀;鸡舍环境喷洒消毒可选用 0.5% 左右的碱性消毒药或酚类消毒剂。

6.5 执行科学的免疫程序并定期做好抗体监测。应根据当地的饲养环境、疫病流行特点及季节等因素科学制定免疫程序。定期进行抗体监测,根据抗体的变化规律实时进行免疫程序的调整。

(上接 50 页)

积极性。对考评结果优秀的人员进行表彰,对考评不合格的人员予以批评并限期整改。对不服从工作安排、无法适应防疫工作要求以及存在违法违规行为的一律解聘;造成严重后果的还将依法追究其责任。

《意见》还要求加强组织领导,落实保障措施。要求制订村级动物防疫员队伍建设实施方案,有计划有步骤推进村级动物防疫员队伍建设,确保如期实现建设目标;将村级动物防疫员队伍建设纳入市政府对镇政府(街道办事处)防控重大动物疫病工作量化考核;建立岗前培训和在岗定期培训制度,村级动物防疫员上岗前必须参加市农业部门组织的岗前培训;为村级动物防疫员配备必要的疫苗冷藏、交通运输设备以及防疫器械,切实提高村级动物防疫员队伍的装备水平;建立村级动物防疫员经费保障机制,确保村级动物防疫员的工资待遇不低于当地村(居)委会聘用人员的工资标准,由镇街财政和村两级承担,由镇街财政统筹安排,统一支付,建立专帐,专人管理。

4 全力推进,成效明显

2010年东莞市农业局印发了《东莞市村级动物防疫员队伍建设实施方案》,对推进村级动物防疫员队伍建设做出更为细致的要求,提供了《东莞市村级动物防疫员责任书(样稿)》和《东莞市村级动物防疫员基本配备指引》,最大限度为镇街提供支持。为加快建设进度,防止走过场,东莞市农业局要求镇街每月报送工作进展,局职能科室负责收集镇街进展并予以通报。另一方面,还将村级动物防疫员队伍建设成效纳入市政府对镇政府(街道办事处)的动物防疫工作年度量化考评,有效鞭策镇街加快推进建设进度。至2011年1月底,全市32个镇街中已有27个镇街印发村动物防疫员队伍建设方案,其中13个镇街已按要求全面完成队伍建设任务。此外,协调市农业技术推广管理办公室开展村级动物防疫员职业资格证书培训,已对全市29个镇街的482名村级防疫员进行了相关知识技能培训和鉴定。通过培训、鉴定,全市村级动物防疫员的技能大多提高,有力地促进了动物防疫工作。

《兽医临床难病新解》简介

兽医临床工作者廖斌发、廖启武编著的《兽医临床难病新解》一书已于近期由湖北科学技术出版社出版，面向全国公开发行。

书中就当前流行或散发的猪瘟、疑似猪瘟、圆环病毒病、蓝耳病、伪狂犬病、链球菌病、水肿病、附红细胞体病、无名高热等病毒、细菌、原虫病以及其混合感染的温热病等一百多个热门话题，运用中兽医模糊黑箱理论，通过病例，新解难病，治法独特，疗效灵验，且具有现代科学性、时髦实用性、简单操作性。可谓是一书在手，解难不愁。可供养猪场、养殖专业户及广大农村基层畜牧兽医技术人员在兽医临床实践中参考，也可作为农业大专院校师生和科技人员启迪资料。



售价35元/本（含包装邮费）

附言该书售价35元/本需要从邮局汇款到湖北省天门市根瘟灵研究所（马湾）廖斌发收，邮编：431715
汇单附言栏内注明“难病新解”和购书人电话

联系电话：0728—4561354（兼传真）

手机：13872992321

13707222763

为中国养猪开拓健康之路 全力打造现代兽医新传奇



猪高热简单了

通过多年努力，我公司采用逆向思维，整合了国内外最先进的技术和经验，针对目前常规药物不能解决的猪混合感染、高热和疑难杂症等研制了一整套治疗方案（注射+口服），已经在大中型猪场进行了长期实验，取得了令人满意的效果。本方案的问世，结束了过去一直困扰着养殖户盲目用药多用药的历史，为今后在猪高热病治疗领域少走弯路开辟了一条崭新的道路。

面向全国招聘销售副总、业务经理

诚征乡镇，县级代理

山东启发药业有限公司

联系人：杜经理 13854921522 电话：0539—2191319

短信发送（资料）：13426253859 客服QQ：1399960906