

广东畜牧兽医科技

GUANGDONG XUMU SHOUYI KEJI

双月刊 1976年3月创刊

第43卷第1期(总第197期)

2018年2月18日出版

中国标准连续出版物号 $\frac{\text{ISSN } 1005-8567}{\text{CN } 44-1243/S}$

主管单位:广东省农业科学院

主办单位:广东省农业科学院动物科学研究所

广东省农业科学院动物卫生研究所

广东省畜牧兽医学会

主 编:蒋宗勇

责任编辑:黄琳 马新燕 吕晓慧 张洁华

编委主任:蒋宗勇

编 委(排名不分先后):

蒋宗勇 顾万军 曹俊明 屈源泉

廖 明 曾振灵 毕英佐 徐志宏

舒鼎铭 王贵平 王政富 熊惠军

吴玄光 刘清神

特邀编委:

陈 峰 谢志刚 林旭堃 李 岩

陈瑞爱 罗满林 向 华 王 华

编辑出版:《广东畜牧兽医科技》编辑部

地址:广州市天河区五山大丰一街1号(510640)

电话:020-87576452

传真:020-87576452

网址: <http://www.gdaav.org>

E-mail: gdxmsykj@163.com

印刷单位:广州市德艺彩印有限公司

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

定价:10.00元

广告发布登记通知书编号:440000100012

本刊声明:凡向本刊所投稿件,一经刊用,稿件的复制权、发行权、信息网络传播权、汇编权等权利即转让给本刊。本刊一次性支付作者著作权使用报酬(包括印刷版式、光盘版和网络版各种使用方式的报酬)。如作者不同意转让版权,请于来稿时声明。

目前本刊已加入的数据库有:中国学术期刊(光盘版)、中文科技期刊数据库、万方数据——数字化期刊群。

目 录

·行业动态·

- 政策法规 (1)
- 科普:猪肉安全知多少 农业部新闻办公室(6)
- 消费需求拉动 猪价全线飘红 刘国信(8)

·专题综述·

- 猪瘟疫苗的研究进展 邹伟斌,林梓栋,等(11)
- 广东省农业种质资源共享利用服务平台建设研究 吴文栋,林伟君,等(15)

·畜牧技术·

- 集约化猪场脐疝处理方法 邓启伟,王衡,等(20)
- 种鸡场服务团队的转型与发展 韩文格(25)
- 浅谈马匹日常洗护技术 陈政谕,吴翠红,等(27)

·兽医临床·

- 一例猪圆环病毒3型的诊断 魏凤,李峰,等(29)
- 三例宠物绝育手术并发症病例的回顾与探讨 叶镜岳,李春艳,等(31)

·试验研究·

- UPLC-MS/MS法检测鸡蛋中磺胺间甲氧嘧啶残留研究 李毅财,韦强,等(35)
- 莜术油成分分析及体外抗伪狂犬病毒的作用研究 刘志昌,容庭,等(39)

·简报·

- 潮州市畜禽养殖污染整治的现状及对策 刘振贵,沈浩铎(42)
- 冀鲁豫三省交界地区肉鸡球虫感染情况调查报告 郝凤霞,刘承军(46)
- 三种聚维酮碘类消毒剂对猪场冲栏水粪便中大肠杆菌的杀菌效果比较试验 麻雨桥,江耀伦,等(49)

·信息之窗·

- 关于本刊2017年第5期封面中“卷”的勘误 (10)
- 欢迎订阅本刊 (51)

GUANGDONG JOURNAL OF ANIMAL AND VETERINARY SCIENCE

Established in March 1976(Bimonthly)

FEB.2018 Volume 43, Number 1 (Total No.197)

Main Content

- Government policy and regulation (1)
- Science popularization; knowledge about the pork safety Information Office of Ministry of Agriculture(6)
- Consumptive requirement makes the pork price overall rise Liu Guoxin(8)
- Research progress of classical swine fever vaccines Zou Weibin, Lin Zidong, et al(11)
- Research on the construction of agricultural germplasm resources sharing and utilization service platform in Guangdong Wu Wendong, Lin Weijun, et al(15)
- The treatment method of umbilical hernia in intensive feeding swine farm Deng Qiwei, Wang Heng, et al(20)
- Transformation and development of the technical service team in chicken breeder farm Han Wenge(25)
- Brief review on technology of daily washing and caring about horses Chen Zhengyu, Wu Cuihong, et al(27)
- The case of diagnosis in porcine circovirus type 3 Wei Feng, Li Feng, et al(29)
- The case review and discussion of sterilization surgical complication of pet animals in three cases
..... Ye Jingyue, Li Chunyan, et al(31)
- The study of testing sulfamonomethoxine residues in chicken eggs by UPLC- MS/MS
..... Li Yicai, Wei Qiang, et al(35)
- The study on component analysis and antiviral effect of *Rhizoma Curcumae* Oil on porcine pseudorabies virus in vitro
..... Liu Zhichang, Rong Ting, et al(39)
- Current situation and countermeasures for the treatment of pollution from animal husbandry in Chaozhou
..... Liu Zhengui, Shen Haoduo(42)
- The investigative report on coccidiosis infection condition of broilers in Ji - Lu - Yu provincial border regions
..... Hao Fengxia, Liu Chengjun(46)
- The comparative study on germicidal efficacy of three povidon-iodine disinfectants on *Escherichia coli* in flushing
fecal from pig farm Ma Yuqiao, Jiang Yaolun, et al(49)
-

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

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

Chief Editor: Jiang Zongyong

Editor Add: No. 1 Dafeng one Street, Guangzhou P.R. China

Post Code: 510640

Tel: (020)87576452

Fax: (020)87576452

E-mail: gdxmsykj@163.com

农业部关于饲料添加剂安全使用新规范的公告

中华人民共和国农业部公告 第2625号

来源:农业部 发布时间:2017年12月15日

为切实加强饲料添加剂管理,保障饲料和饲料添加剂产品质量安全,促进饲料工业和养殖业持续健康发展,根据《饲料和饲料添加剂管理条例》有关规定,农业部对《饲料添加剂安全使用规范》(以下简称《规范》)进行了修订。有关事项公告如下。

一、各省、自治区、直辖市人民政府饲料管理部门实施饲料添加剂(混合型饲料添加剂除外)生产许可应遵守本《规范》规定,不得核发含量规格低于本《规范》或者生产工艺与本《规范》不一致的饲料添加剂生产许可证明文件。

二、饲料企业和养殖者使用饲料添加剂产品时,应严格遵守“在配合饲料或全混合日粮中的最高限量”规定,不得超量使用饲料添加剂;在实现满足动物营养需要、改善饲料品质等预期目标的前提下,应采取积极措施减少饲料添加剂的用量。

三、饲料企业和养殖者使用《饲料添加剂品种目录》中铁、铜、锌、锰、碘、钴、硒、铬等微量元素饲料添加剂时,含同种元素的饲料添加剂使用总量应遵守本《规范》中相应元素“在配合饲料或全混合日粮中的最高限量”规定。

四、仔猪(≤ 25 kg)配合饲料中锌元素的最高限量为110 mg/kg,但在仔猪断奶后前两周特定阶

段,允许在此基础上使用氧化锌或碱式氯化锌至1600 mg/kg(以锌元素计)。饲料企业生产仔猪断奶后前两周特定阶段配合饲料产品时,如在含锌110 mg/kg基础上使用氧化锌或碱式氯化锌,应在标签显著位置标明“本品仅限仔猪断奶后前两周使用”,未标明但实际含量超过110 mg/kg或者已标明但实际含量超过1600 mg/kg的,按照超量使用饲料添加剂处理。

五、饲料企业和养殖者使用非蛋白氮类饲料添加剂,除应遵守本《规范》对单一品种的最高限量规定外,全混合日粮中所有非蛋白氮总量折算成粗蛋白当量不得超过日粮粗蛋白总量的30%。

六、如无特殊说明,本《规范》“在配合饲料或全混合日粮中的推荐添加量”“在配合饲料或全混合日粮中的最高限量”均以干物质含量88%为基础计算,最高限量均包含饲料原料本底值。

七、如无特殊说明,添加剂预混合饲料、浓缩饲料、精料补充料产品中的“推荐添加量”“最高限量”按其在配合饲料或全混合日粮中的使用比例折算。

八、本公告自2018年7月1日起施行。2009年6月18日发布的《饲料添加剂安全使用规范》(农业部公告第1224号)同时废止。

农业部关于增补《饲料原料目录》和扩大饲料添加剂焦亚硫酸钠适用范围等的公告

中华人民共和国农业部公告 第2634号

来源:农业部 发布时间:2017年12月28日

根据《饲料和饲料添加剂管理条例》有关规定,农业部对申请人提出的增补《饲料原料目录》和扩大饲料添加剂焦亚硫酸钠适用范围等申请进行了评审,公告如下。

一、增补辅酶Q10渣进入《饲料原料目录》,编号:12.3.4。特征描述:利用类球红细菌和由葡萄糖、玉米浆、无机盐等组成的主要原料发酵生产辅酶Q10后的固体副产物。菌体应灭活并经干燥处理。该产品仅限于畜禽饲料使用。强制性标识要求:粗蛋白质、粗灰分、铵盐、水分。

二、将辅酶Q10渣同时增补到《饲料原料目录》第四部分“单一饲料品种”中。

三、将饲料添加剂焦亚硫酸钠适用范围扩大至猪,在猪配合饲料中的最高限量为0.25%,质量标准暂按《食品安全国家标准 食品添加剂 焦亚硫酸钠》(GB 1886.7—2015)执行。

上述修订意见自本公告发布之日起执行。各级饲料管理部门在办理有关行政审批、监督执法事项时,凡涉及上述饲料原料和饲料添加剂的,均以本公告为准。

农业部关于调整亚洲I型口蹄疫防控策略的公告

中华人民共和国农业部公告 第2635号

来源:农业部 发布时间:2017年12月29日

2011年6月以来,全国未检出亚洲I型口蹄疫病原学阳性样品。经全国动物防疫专家委员会评估,我国亚洲I型口蹄疫已达到全国免疫无疫标准。农业部研究决定,从2018年起调整亚洲I型口蹄疫防控策略,实施以监测扑杀为主的综合防控措施。亚洲I型口蹄疫免疫退出有关事项公告如下。

一、自2018年7月1日起,在全国范围内停止亚洲I型口蹄疫免疫,停止生产销售含有亚洲I型口蹄疫病毒组分的疫苗。

二、除承担亚洲I型口蹄疫疫苗或抗原储备任务的企业外,疫苗生产企业、大专院校、科研单位应于2018年5月1日前将有保藏价值的亚洲I型口蹄疫疫苗生产和检验用毒交由中国兽医药品监察所(国家动物病原微生物菌毒种保藏中心)保存,其他有保藏价值的流行毒分离株或阳性血清交由中国

农业科学院兰州兽医研究所(国家口蹄疫参考实验室)保存;无保藏价值的活病毒及其相关材料应按有关规定销毁,不得自行保藏。

三、各地兽医主管部门要加强易感动物监测,对出现O型、A型口蹄疫免疫失败情形的,要进行亚洲I型口蹄疫检测,发现问题果断采取处置措施;养殖场(户)要认真履行动物疫情报告义务,发现动物染疫或者疑似染疫的,应立即向当地兽医部门报告,配合兽医主管部门采取隔离扑杀等控制措施,防止动物疫情扩散。

四、各级兽医主管部门要加强对疫苗生产、销售和使用,以及病毒保藏和相关实验活动的监督管理,对非法制售、使用疫苗,以及违法保藏病毒、违法开展实验活动的,依法从重处罚。

农业部关于停止在食品动物中使用 喹乙醇、氨苯胂酸、洛克沙胂等3种兽药的公告

中华人民共和国农业部公告 第2638号

来源:农业部 发布时间:2018年1月11日

为保障动物产品质量安全,维护公共卫生安全和生态安全,农业部组织对喹乙醇预混剂、氨苯胂酸预混剂、洛克沙胂预混剂3种兽药产品开展了风险评估和安全再评价。评价认为喹乙醇、氨苯胂酸、洛克沙胂等3种兽药的原料药及各种制剂可能对动物产品质量安全、公共卫生安全和生态安全存在风险隐患。根据《兽药管理条例》第六十九条规定,我部决定停止在食品动物中使用喹乙醇、氨苯胂酸、洛克沙胂等3种兽药。有关事项公告如下。

一、自本公告发布之日起,农业部停止受理喹

乙醇、氨苯胂酸、洛克沙胂等3种兽药的原料药及各种制剂兽药产品批准文号的申请。

二、自2018年5月1日起,停止生产喹乙醇、氨苯胂酸、洛克沙胂等3种兽药的原料药及各种制剂,相关企业的兽药产品批准文号同时注销。2018年4月30日前生产的产品,可在2019年4月30日前流通使用。

三、自2019年5月1日起,停止经营、使用喹乙醇、氨苯胂酸、洛克沙胂等3种兽药的原料药及各种制剂。

国务院办公厅关于加快推进畜禽养殖废弃物 资源化利用的意见

国办发〔2017〕48号

来源:农业部 发布时间:2017年5月31日

各省、自治区、直辖市人民政府,国务院各部委、各直属机构:

近年来,我国畜牧业持续稳定发展,规模化养殖水平显著提高,保障了肉蛋奶供给,但大量养殖废弃物没有得到有效处理和利用,成为农村环境治理的一大难题。抓好畜禽养殖废弃物资源化利用,关系畜产品有效供给,关系农村居民生产生活环境改善,是重大的民生工程。为加快推进畜禽养殖废弃物资源化利用,促进农业可持续发展,经国务院同意,现提出以下意见。

一、总体要求

(一)指导思想。全面贯彻党的十八大和十八届三中、四中、五中、六中全会精神,深入贯彻习近平总书记系列重要讲话精神和治国理政新理念新思想新战略,认真落实党中央、国务院决策部署,统筹推进“五位一体”总体布局和协调推进“四个全面”战略布局,牢固树立和贯彻落实创新、协调、绿色、开放、共享的发展理念,坚持保供给与保护环境并重,坚持政府支持、企业主体、市场化运作的方针,坚持源头减量、过程控制、末端利用的治理路

径,以畜牧大县和规模养殖场为重点,以沼气和生物天然气为主要处理方向,以农用有机肥和农村能源为主要利用方向,健全制度体系,强化责任落实,完善扶持政策,严格执法监管,加强科技支撑,强化装备保障,全面推进畜禽养殖废弃物资源化利用,加快构建种养结合、农牧循环的可持续发展新格局,为全面建成小康社会提供有力支撑。

(二)基本原则。

统筹兼顾,有序推进。统筹资源环境承载力、畜产品供给保障能力和养殖废弃物资源化利用能力,协同推进生产发展和环境保护,奖惩并举,疏堵结合,加快畜牧业转型升级和绿色发展,保障畜产品供给稳定。

因地制宜,多元利用。根据不同区域、不同畜种、不同规模,以肥料化利用为基础,采取经济高效适用的处理模式,宜肥则肥,宜气则气,宜电则电,实现粪污就地就近利用。

属地管理,落实责任。畜禽养殖废弃物资源化利用由地方人民政府负总责。各有关部门在本级人民政府的统一领导下,健全工作机制,督促指导畜禽养殖场切实履行主体责任。

政府引导,市场运作。建立企业投入为主、政府适当支持、社会资本积极参与的运营机制。完善以绿色生态为导向的农业补贴制度,充分发挥市场配置资源的决定性作用,引导和鼓励社会资本投入,培育发展畜禽养殖废弃物资源化利用产业。

(三)主要目标。到2020年,建立科学规范、权责清晰、约束有力的畜禽养殖废弃物资源化利用制度,构建种养循环发展机制,全国畜禽粪污综合利用率达到75%以上,规模养殖场粪污处理设施装备配套率达到95%以上,大型规模养殖场粪污处理设施装备配套率提前一年达到100%。畜牧大县、国家现代农业示范区、农业可持续发展试验示范区和现代农业产业园率先实现上述目标。

二、建立健全畜禽养殖废弃物资源化利用制度

(四)严格落实畜禽规模养殖环评制度。规范环评内容和要求。对畜禽规模养殖相关规划依法依规开展环境影响评价,调整优化畜牧业生产布局,协调畜禽规模养殖和环境保护的关系。新建或改扩建畜禽规模养殖场,应突出养分综合利

用,配套与养殖规模和处理工艺相适应的粪污消纳用地,配备必要的粪污收集、贮存、处理、利用设施,依法进行环境影响评价。加强畜禽规模养殖场建设项目环评分类管理和相关技术标准研究,合理确定编制环境影响报告书和登记表的畜禽规模养殖场规模标准。对未依法进行环境影响评价的畜禽规模养殖场,环保部门予以处罚。(环境保护部、农业部牵头)

(五)完善畜禽养殖污染监管制度。建立畜禽规模养殖场直联直报信息系统,构建统一管理、分级使用、共享直联的管理平台。健全畜禽粪污还田利用和检测标准体系,完善畜禽规模养殖场污染物减排核算制度,制定畜禽养殖粪污土地承载力测算方法,畜禽养殖规模超过土地承载能力的县要合理调减养殖总量。完善肥料登记管理制度,强化商品有机肥原料和质量的监管与认证。实施畜禽规模养殖场分类管理,对设有固定排污口的畜禽规模养殖场,依法核发排污许可证,依法严格监管;改革完善畜禽粪污排放统计核算方法,对畜禽粪污全部还田利用的畜禽规模养殖场,将无害化还田利用量作为统计污染物削减量的重要依据。(农业部、环境保护部牵头,质检总局参与)

(六)建立属地管理责任制度。地方各级人民政府对本行政区域内的畜禽养殖废弃物资源化利用工作负总责,要结合本地实际,依法明确部门职责,细化任务分工,健全工作机制,加大资金投入,完善政策措施,强化日常监管,确保各项任务落实到位。统筹畜产品供给和畜禽粪污治理,落实“菜篮子”市长负责制。各省(区、市)人民政府应于2017年底前制定并公布畜禽养殖废弃物资源化利用工作方案,细化分年度的重点任务和清单,并抄送农业部备案。(农业部牵头,环境保护部参与)

(七)落实规模养殖场主体责任制度。畜禽规模养殖场要严格执行环境保护法、畜禽规模养殖污染防治条例、水污染防治行动计划、土壤污染防治行动计划等法律法规和规定,切实履行环境保护主体责任,建设污染防治配套设施并保持正常运行,或者委托第三方进行粪污处理,确保粪污资源化利用。畜禽养殖标准化示范场要带头落实,

切实发挥示范带动作用。(农业部、环境保护部牵头)

(八)健全绩效评价考核制度。以规模养殖场粪污处理、有机肥还田利用、沼气和生物天然气使用等指标为重点,建立畜禽养殖废弃物资源化利用绩效评价考核制度,纳入地方政府绩效评价考核体系。农业部、环境保护部要联合制定具体考核办法,对各省(区、市)人民政府开展考核。各省(区、市)人民政府要对本行政区域内畜禽养殖废弃物资源化利用工作开展考核,定期通报工作进展,层层传导压力。强化考核结果应用,建立激励和责任追究机制。(农业部、环境保护部牵头,中央组织部参与)

(九)构建种养循环发展机制。畜牧大县要科学编制种养循环发展规划,实行以地定畜,促进种养业在布局上相协调,精准规划引导畜牧业发展。推动建立畜禽粪污等农业有机废弃物收集、转化、利用网络体系,鼓励在养殖密集区域建立粪污集中处理中心,探索规模化、专业化、社会化运营机制。通过支持在田间地头配套建设管网和储粪(液)池等方式,解决粪肥还田“最后一公里”问题。鼓励沼液和经无害化处理的畜禽养殖废水作为肥料科学还田利用。加强粪肥还田技术指导,确保科学合理施用。支持采取政府和社会资本合作(PPP)模式,调动社会资本积极性,形成畜禽粪污处理全产业链。培育壮大多种类型的粪污处理社会化服务组织,实行专业化生产、市场化运营。鼓励建立受益者付费机制,保障第三方处理企业和社会化服务组织合理收益。(农业部牵头,国家发展改革委、财政部、环境保护部参与)

三、保障措施

(十)加强财税政策支持。启动中央财政畜禽粪污资源化利用试点,实施种养业循环一体化工程,整县推进畜禽粪污资源化利用。以果菜茶大县和畜牧大县等为重点,实施有机肥替代化肥行动。鼓励地方政府利用中央财政农机购置补贴资金,对畜禽养殖废弃物资源化利用装备实行敞开补贴。开展规模化生物天然气工程和大中型沼气工程建设。落实沼气发电上网标杆电价和上网电量全额保障性收购政策,降低单机发电功率门槛。生物天然气符合城市燃气管网入网技术标准

的,经营燃气管网的企业应当接收其入网。落实沼气和生物天然气增值税即征即退政策,支持生物天然气和沼气工程开展碳交易项目。地方财政要加大畜禽养殖废弃物资源化利用投入,支持规模养殖场、第三方处理企业、社会化服务组织建设粪污处理设施,积极推广使用有机肥。鼓励地方政府和社会资本设立投资基金,创新粪污资源化利用设施建设和运营模式。(财政部、国家发展改革委、农业部、环境保护部、住房城乡建设部、税务总局、国家能源局、国家电网公司等负责)

(十一)统筹解决用地用电问题。落实畜禽规模养殖用地,并与土地利用总体规划相衔接。完善规模养殖设施用地政策,提高设施用地利用效率,提高规模养殖场粪污资源化利用和有机肥生产积造设施用地占比及规模上限。将以畜禽养殖废弃物为主要原料的规模化生物天然气工程、大型沼气工程、有机肥厂、集中处理中心建设用地纳入土地利用总体规划,在年度用地计划中优先安排。落实规模养殖场内养殖相关活动农业用电政策。(国土资源部、国家发展改革委、国家能源局牵头,农业部参与)

(十二)加快畜牧业转型升级。优化调整生猪养殖布局,向粮食主产区 and 环境容量大的地区转移。大力发展标准化规模养殖,建设自动喂料、自动饮水、环境控制等现代化装备,推广节水、节料等清洁养殖工艺和干清粪、微生物发酵等实用技术,实现源头减量。加强规模养殖场精细化管理,推行标准化、规范化饲养,推广散装饲料和精准配方,提高饲料转化效率。加快畜禽品种遗传改良进程,提升母畜繁殖性能,提高综合生产能力。落实畜禽疫病综合防控措施,降低发病率和死亡率。以畜牧大县为重点,支持规模养殖场圈舍标准化改造和设备更新,配套建设粪污资源化利用设施。以生态养殖场为重点,继续开展畜禽养殖标准化示范创建。(农业部牵头,国家发展改革委、财政部、质检总局参与)

(十三)加强科技及装备支撑。组织开展畜禽粪污资源化利用先进工艺、技术和装备研发,制修订相关标准,提高资源转化利用效率。开发安全、高效、环保新型饲料产品,引导矿物元素类饲料添加剂减量使用。加强畜禽粪污资源化利用技术集

科普:猪肉安全知多少

来源:农业部新闻办公室

近年来,随着经济快速发展,人们生活水平不断提高,猪肉消费逐渐增多,传统养殖方式已经不能满足需求,以适度集约化为特征的现代养殖业应运而生。但是,对现代养殖业,人们却有着一些似是而非的认识。为了澄清这些认识,让人们可以放心食用猪肉,小编请到了几位院士大咖来科普一下!

问题一:猪吃的饲料有管理要求吗?

中国工程院院士、中国科学院亚热带农业生态研究所畜牧健康养殖中心主任印遇龙:养殖中给猪饲喂营养均衡的饲料,是猪能健康生长的一个重要因素。饲料由饲料原料和饲料添加剂组成。我国使用的饲料原料和饲料添加剂均实行许可制,即批准允许的方可使用,未批准或禁用的均不可使用。农业部发布有《饲料原料目录》,并不定期进行更新。目录之外的物质用作饲料原料的,应当经过科学评价并由农业部公告列入目录后,方可使用。

饲料添加剂是饲料中用量少但作用很大的饲料成分,没有饲料添加剂,就无法配制出既满足动物需求又营养平衡的饲料。添加剂可分为营养性添加剂、一般性添加剂和药物添加剂三类,在饲料中比重一般不会超过4%,比例高了,饲养成本提高,对养殖户来说并不划算。传统的单一饲料只能解决生猪的“吃饱”问题,而营养性添加剂主要是解决生猪“吃好”的问题。在饲料中添加适量药物添加剂,可以有效防控生猪的常见性、多发性疾病,国家制定有严格的《饲料药物添加剂使用规范》,并依照《兽药管理条例》的规定执行。我国明令禁止在饲料中添加苯巴比妥等镇静催眠、抗惊厥类药物。通过添加安眠药让猪多睡少动、快速长肥是没有必要的,因为圈养的生猪本身活动量就很少,没必要使用镇静剂。

为了保证饲料的质量和安生,农业部每年都在全国开展饲料质量安全例行监测工作。2017年上半年抽检各类商品饲料合格率为96.43%。可以

说,我国饲料产品总体上是安全可靠的,畜牧养殖业可持续健康发展是有保障的。

有人说养猪的人会在饲料中添加尿素、砷制剂和铜,这种说法是不准确的。尿素、砷制剂和铜都有相应的限制性规定,不得使用。尿素,是一种高氮化肥,可以被牛、羊等反刍动物瘤胃微生物所分泌的脲酶分解,被合成蛋白质从而被吸收消化,而猪没有瘤胃,尿素中的氮不能被吸收利用,用量过大甚至会造成生猪中毒死亡。铜,在饲料中适量添加能促进猪的生长,具体标准为每1000公斤饲料中铜制剂添加量不能超过200克。此外,还有传言说在猪饲料中加入无机砷,猪会显得皮肤红润、毛发光亮,这种说法犯了常识性的错误。饲料中加入的是有机砷,而不是无机砷。有机砷对于提高饲料利用率、增强抗病能力有着明显作用。目前,除中国外,美国等很多国家也批准将其作为饲料添加剂。有机砷会从粪便排出,在生猪的机体组织中残留极低。而无机砷是剧毒物质,俗称砒霜,会造成生猪死亡,是不允许在饲料中添加的。

问题二:猪长得快,是被催肥的吗?

中国科学院院士、江西农业大学党委书记黄路生:现代猪长得快主要得益于种猪遗传育种科技的进步。在1万多年的驯养过程中,猪发生了许多变化:繁殖性能有了提高,生长速度变得更快,肉的品质有所改变。目前,我国绝大部分猪是从国外引进的杜洛克、长白和大白等品种杂交而生的,这类商品猪具有节省饲料粮食(土猪吃4斤饲料长1斤肉、现代杜长大商品猪吃2.8斤饲料长1斤肉)、生长速度快(土猪一般8个月能长到75公斤,杜长大商品猪6个月就能长到120公斤)、瘦肉产量高(土猪瘦肉产量比例一般在40%左右,而杜长大商品猪瘦肉产量比例可达60%以上)、体型大等优势。优质品种生猪160天左右出栏很正常,国外更好品种的猪出栏周期更短。

饲料质量的提高也起到了非常重要的作用。

现代饲料科学技术的应用推动我国配合饲料转化率明显提高,由4:1提高到3:1。过去养一头猪需要一年的时间,现在6个月就可出栏,这与营养均衡的饲料和养殖技术进步是分不开的。

此外,通过改善养殖环境,实施畜禽粪污无害化处理,逐步解决了重大疫病和抗生素残留等问题,猪的生长周期逐渐缩短,猪可以长到100公斤左右。

问题三:猪生病也要打针吃药吗?这些药安全吗?

中国工程院院士、中国农业大学动物医学院教授沈建忠:生猪在养殖中发病,必要的治疗用药是不可避免的,在美国、欧盟等养殖技术发达国家也是如此。给猪用的是兽药,通常情况下,为了预防健康猪群感染传染性疾病风险,养殖者会针对具体病种注射预防用疫苗。针对口蹄疫等重大动物疫病,由国家采取强制免疫措施统一预防控制该类风险;在生猪发生群体细菌性疾病或其他群体疾病时,养殖者一般会在兽医指导下,饲喂治疗性兽药防治疾病;针对生猪个体如外伤、难产等情况,一般要由兽医进行专门治疗。

兽药是推进养殖业安全生产和健康发展过程中不可或缺的重要投入品。依据《动物防疫法》和《兽药管理条例》,动物养殖过程中用药须遵守相关规定。一是要使用国家批准的、质量符合要求的兽药,不得使用禁用兽药或化合物;二是不得使用

人用药,也不得在饲料或饮水中使用激素类药物;三是凭执业兽医处方使用兽用处方药;四是严格按照兽药使用说明书规定的动物品种、适应症、用法用量等内容使用兽药,严格执行停药期规定;五是养殖场/户要建立规范的用药记录。

目前,我国从未批准过激素类药物用于动物促生长,已批准的激素类药物主要用于治疗种畜繁殖和产科疾病,这与欧盟的规定是一致的。截至目前,农业部只批准了土霉素等10多种抗生素可作为药物饲料添加剂使用,并严格规定了使用的动物品种、用法用量、停药期等,规定内容与国际标准基本接轨。

问题四:猪肉到底可不可以放心吃?

农业部农产品质量标准研究中心研究员钱永忠:农业部每年对猪肉中可能存在的药物残留及瘦肉精等非法添加物开展国家农产品质量安全例行监测工作。2017年前三季度猪肉质量安全监测合格率为99.8%。针对人们担心的抗生素、瘦肉精、注水肉等问题,农业部门开展了兽用抗生素、瘦肉精等专项整治行动和生猪屠宰监管“扫雷行动”,重点打击兽药中非法添加、超范围超剂量使用兽药、私屠滥宰、屠宰环节添加“瘦肉精”、注水或注入其他物质等违法违规行为,严防、严管、严控质量安全风险。应该说,总体上我国猪肉产品质量安全是有保障的,消费者可以放心消费。

上接第5页

成,根据不同资源条件、不同畜种、不同规模,推广粪污全量收集还田利用、专业化能源利用、固体粪肥肥料化利用、异位发酵床、粪便垫料回用、污水肥料化利用、污水达标排放等经济实用技术模式。集成推广应用有机肥、水肥一体化等关键技术。以畜牧大县为重点,加大技术培训力度,加强示范引领,提升养殖场粪污资源化利用水平。(农业部、

科技部牵头,质检总局参与)

(十四)强化组织领导。各地区、各有关部门要根据本意见精神,按照职责分工,加大工作力度,抓紧制定和完善具体政策措施。农业部要会同有关部门对本意见落实情况定期进行督查和跟踪评估,并向国务院报告。(农业部牵头)

消费需求拉动 猪价全线飘红

刘国信

(山西省阳城县畜牧局, 山西 晋城 048100)

摘要:受天气、节日、存栏量和出栏量的影响, 笔者通过分析供应、需求、成本、国家政策导向等市场因素的影响, 提出自己的见解。笔者预测, 春节前猪市行情将整体维持在利好价位, 但“市场供需激烈博弈、猪价持续震荡僵持”或将是今后较长时期运行的主基调, 而以环保整治为契机, 加快供给侧结构性改革, 推动产业转型升级已是大势所趋。

关键词:市场; 猪价; 利好

中图分类号:S828.9*1 **文献标识码:**D **文章编码:**1005-8567(2018)01-0008-03

入冬以来, 寒潮侵袭雨雪天气增多, 运输受到一定影响, 生猪供应趋紧, 全国猪市呈现一轮久违了的上涨行情。近期, 随着天气进一步转冷, 冬季传统消费高峰到来, 加之南方“灌香肠、制腊肉”相继启动, 推动全国猪价全线飘红。从当前市场供需两端分析, 预计, 春节前猪市行情将整体维持在利好价位, 这有利于养殖场在年末岁尾回笼资金, 并收获些许希望。

1 冬季消费模式开启, 生猪价格全线飘红

2017年11月中旬以来, 由于寒潮侵袭, 不少地区遭遇雨雪天气, 运输受到一定影响, 生猪市场出现一轮反弹行情。随着气温进一步下降, 猪肉市场逐步开启冬季消费模式。由于出栏猪源偏紧, 养殖户流露惜售意愿, 屠企收购难度有所增加, 导致猪价全面反弹后稳步上行, 终于在“下行周期和环保政策”双重压力下, 依然坚持奋斗的养殖场在年末岁尾能够收获些许希望。

据生猪价格网统计数据, 2017年12月14日, 全国出栏瘦肉型猪均价14.92元/公斤, 其中, 最高价为重庆15.88元/公斤;最低价为新疆13.42元/公斤。目前, 全国南北主产区猪价齐飘红, 已经进入快速上涨模式。

市场调查表明, 从11月中旬开始, 国内猪价

加速反弹, 不仅刷新近3个月新高, 而且生猪均价距离15元/公斤大关只有一步之遥。这样的阶段新高和持续上涨行情在2017年内很少出现。据了解, 进入四季度之初, 尽管有国庆长假预期利好, 但消费提振作用并不给力, 期间虽然市场供需博弈非常激烈, 但行情涨跌调整难以企稳, 一直处于僵持状态, 对于养猪人和屠宰场而言都是非常难熬的时期。

直到11月中旬, 一轮强冷空气自北向南来袭, 全国大部分地区出现降温及雨雪天气, 导致生猪调运出现困难, 影响市场供应, 猪价才出现上涨迹象;同时, 全国大范围的寒冷天气, 对猪肉消费需求带来短期利好刺激, 促使猪价上涨预期形成。此后几天, 在中小散户“卖跌不卖涨”传统习惯左右下, 养殖户出栏意愿并不强烈, 导致屠宰企业采购难度有所增加, 供需博弈进一步加剧, 猪市终于走出长时间的僵持状态, 迎来一波反弹行情;11月下旬以来, 随着猪肉消费季节性回暖, 猪价在震荡调整中不断前行。此前, 北方市场在东北猪价先行上涨带动下, 从北到中东部递次上涨, 南方猪价受制于需求相对低迷, 猪价出现南北倒挂的现象。

进入12月以来, 随着气温的进一步下降, 西南等地腊肉制作逐步启动, 西南猪价快速领涨;随

后南方地区猪肉消费逐渐增加，整个市场出现较大的上涨空间，南价超过北价，导致南北差价逐步扩大，形成目前这种南北齐涨的态势。

2 短期利好依然可期，逢高出栏最为关键

当前，生猪价格全线飘红，养殖场户拍手叫好，那么，春节期间会不会持续呢？业内人士表示，12月份以后，基本上就是传统需求旺季的开启期了，在多重利好因素提振下，猪价走势总体向好，至少春节前将维持上涨态势。

首先，从消费需求方面分析。“灌香肠、做腊肉、杀年猪”等传统消费仍然是带动冬季猪肉消费增加的既定因素，且涉及范围广、需求量大，将带动猪价整体上行。据了解，12月初，虽然南方腊肉制作零星启动，但暂时需求量不大，整体来看，经过前几日的上涨后，屠宰企业对猪价上涨抵触心理较强，持续压价，短期内猪价涨势有所暂缓。但冬至过后，随着天气进一步转冷，“灌香肠、制腊肉”全面进入高峰，加之，元旦、春节相继来临，屠企年前备货，居民消费进入旺季。因此，2018年1月开始，猪价不仅已无下行可能，而且还存在较大的上涨空间，其间“破8”仍有可能。

其次，从供给情况分析。由于2017年以来，能繁母猪存栏并没有出现预期的大幅增长，目前生猪产能与正常水平尚存差距；加之，天气进入寒冷季，强冷空气袭击频率增加，导致生猪生长缓慢，发病率上升，出栏难度加大，收购运输成本增加，这些将会促进春节前全国猪价拉动上涨。

农业部最新存栏数据显示，2017年10月能繁母猪存栏为3487万头，环比下降0.3%，同比下降5.8%；生猪存栏量34921万头，环比下降0.2%，同比下降7.4%。可以预测，国内生猪存栏量持续低位且不断偏弱调整，将对后市猪价起到一定支撑。然而，12月份是传统生猪出栏旺季，需要密切观注某些养殖集团的出栏情况。特别是某些大公司为完成全年生猪出栏任务和经济指标，很可能在12月涨势良好的情况下增加出栏量，再加上部分养殖户在冬至到元旦间的出栏计划，一旦形成出栏高峰很容易形成踩踏效应，对猪价形成打压；同时，年前仍会有大量低价进口肉类进入市场，也在一定程度上制约后市猪价的上涨空间。

第三，从供需两端的当前形势和后期变化分析。2018年春节前猪价上涨趋势已经确定，预计这轮猪价反弹将在14~15元/公斤左右。尽管对于年末岁初猪市行情抱着乐观的态度，但兵无常势，水无常形，届时集中出栏的价格风险和极端严寒天气导致的疫情风险都在加大，不要被旺季需求冲昏头脑而过度追涨压栏，建议养殖户把握住时机，逢高顺势出栏，锁定合理利润。

3 畸高行情难以再现，微利经营将成常态

业内人士分析认为，本次猪价反弹为短线、季节性反弹，向上走势有望延续到2018年1月中旬，预计全国生猪均价不会突破16元/公斤；2018年第一季度，猪价可能在14~16元/公斤的高位区间震荡调整。

对于长线猪价，多数业内人士并不乐观。壹号土猪创始人陈生认为，猪价已经保持了连续3年的大牛市行情，历史上属于首次。国内环保风暴在推进，市场洗牌仍会继续，目前大企业大规模扩产，长线供给量增加，都在改变着猪周期的走势。由于人为干预市场、改变市场原本结构走向的行为太多，势必会对后期的价格走向产生不利影响。

然而，面对近期猪价全面开涨的情况，目前业内也有人预言：这是此轮猪价拐点的开始，预示下行周期快要结束，将迎来新一轮上涨周期。对此，笔者不敢苟同，更不想让这样的预测去误导广大养殖业者。笔者总的判断是：目前虽然生猪产能依然处于较低水平，但大幅上行的基础已不复存在，长远看明显的价格上行拐点很难很快到来。除非出现特别大的自然灾害或大范围疫情，否则像2015年、2016年那样的金猪年、银猪年，今后基本上不可能再现。这依然要从“供应、需求、成本”三要素来分析佐证。

首先，在生产供给方面，虽然目前生猪存栏水平离预期目标尚有距离，但是市场供给稳定性已经有所增强，以往广大散户主导下的产能“一轰而上、一轰而下”的局面已不会出现。

据调查，截止目前，生猪及能繁母猪存栏量降至历史偏低水平后已经持续近三年，但是在2015年、2016年超高利润刺激下，至今能繁母猪存栏量和生猪存栏量仍未明显增加。这说明了，

全国范围内的环境整治,已经导致大批不符合要求的中小型散养户退出;人们已经有了比较理性的心理,并没有像以往那样,在猪价高涨的情形下大肆扩张、盲目上马,而造成产能的剧烈波动;近年来资本大佬温氏、正大、双汇等上市公司及中粮、中棉等大型国有企业纷纷涉足养猪业,动辄就是数百万、上千万头的规模,且大多采用“公司+农户”、“公司+合作社”等高效运作模式,不仅为部分因环保拆迁失场的农民找到了出路,而且由于生产管理水平较高,单头母猪产仔成活率提升,其增量远大于散户退出造成的减少量,且出栏时间安排比较合理,出栏数量相对稳定,对稳定生猪市场供应将会起到一定的保障作用。

其二、在消费需求方面,近年来随着生活水平的提高,肉类消费结构已经多元化,对猪肉的需求呈现明显的递减趋势,导致以往“逢节必涨”的局面有所改变,进而促成了供求市场的相对平衡(也即:产能没有恢复至之前水平,需求也比以往减少)。

据分析,近年来,随着经济社会的快速发展和生活水平的不断提高,人们对饮食健康愈来愈重视,日常生活消费习惯也随之发展重大变化。猪肉作为一种脂肪含量相对较高而蛋白质含量相对较低的肉类,并不是一种性价比高的蛋白质来源,目前很多消费者食谱上猪肉已被鸡肉、鱼肉所替代,导致猪肉在家庭肉类消费中的比重有所下降。

相关统计数据显示,2016年,我国人均猪肉年消费量38.4公斤,比2014年的41.7公斤下降7.8%,至2017年已经连续3年回落。近年来社会猪肉需求总量因为反对“四风”、公款招待消费锐减而明显下降,导致长期以来形成的节前涨价、节后叠加的“节日效应”发生变化,节日消费需求对猪价的拉动作用逐渐减弱。

第三,生产成本基本保持稳定,难以对猪市行情形成较大支撑。近年来,国家调整产业政策,玉米生产向优势产区转移,作为主要饲料原料的玉米价格持续大幅度下跌,且与国际市场接轨,国外的优质廉价玉米进口增加,既保证了养殖需求,又使生产成本得到控制,为价格下行创造了条件。

据生猪价格网监测数据,2017年第48周,猪粮比为8.08:1,较上周上涨0.15。玉米价格为1.78元/公斤,较上周下跌0.01元/公斤。本周自繁自养盈利约372元/头,较上周上涨8.26元/头。当前仍处于新玉米集中上量阶段,库存维持历史高位,预计近期玉米现货价格上涨幅度还将受限。

事实上,2017年大部分时间猪价都低于14元/公斤,比2016年平均跌幅在13%以上,如在前些年肯定会出现“弃养抛售”现象,而人为造成市场波动,但在2017年由于玉米价格较低,对于这个价位大多数养殖户依然没有表现太大恐慌,养殖利润还是比较正常(当然,不能与行情超高阶段的利润同日而语)。

此外,进口猪肉增加,对市场发挥调节与弥补作用,限制了国内猪价的上涨高度。目前,随着进口政策的放开,不仅大型肉企在海外布局(如,双汇已经收购美国猪业巨头史密斯菲尔德),而且互联网公司也纷纷开展猪肉进口业务(如,京东已经着手在电商网购平台销售美国进口猪肉)。无疑,今后这样低价进口肉对国内市场的冲击将会越来越大,这些令国内猪价易跌难涨。

毋庸置疑,目前猪市依然处于此轮下行周期之中,“市场供需激烈博弈、猪价持续震荡僵持”或将成为今后较长时期运行的主基调。因此,以环保整治为契机,加快生猪产业供给侧结构性改革,推动转型升级已是大势所趋。

关于本刊2017年第5期封面中“卷”的勘误

本刊2017年第5期封面上“第43卷”更正为“第42卷”。由此给读者带来的不便,致以诚挚的歉意。

猪瘟疫苗的研究进展

邹伟斌, 林梓栋, 齐冬梅

(广东永顺生物制药股份有限公司, 广东广州 511356)

摘要:猪瘟(classical swine fever, CSF)是一种高度传染性猪病, 对动物健康和养猪业的发展影响巨大, 至今仍然是全球重要的猪病毒性疾病之一。目前, 疫苗接种仍然是防控猪瘟的主要有效手段。随着分子生物学的发展, 猪瘟疫苗的研究取得了显著进展。本文综述了猪瘟疫苗的最新研究进展, 为猪瘟疫苗的设计研发和猪瘟的控制和根除提供参考。

关键词:猪瘟; 疫苗; 标记; 控制

中图分类号:S852.65*1 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2018)01-0011-04

Research progress of classical swine fever vaccines

Zou Weibin, Lin Zidong, Qi Dongmei

(Guangdong Winsun Bio-pharmaceutical Co., Ltd., Guangzhou 511356, China)

Abstract: Classical swine fever (CSF) is a highly contagious disease of swine, and is still one of the most economically important viral diseases worldwide due to its impact on swine health and industry. Currently, vaccination is still an important and effective strategy for the control of CSF. With the development of molecular biology, the research of CSF vaccines has made significant progress in recent years. There is a review of the research progress for CSF vaccines, which aim is to supply reference for the development design of CSF vaccines and the control and eradication of CSF.

Keywords: classical swine fever; vaccines; marker; control

猪瘟(classical swine fever, CSF)是一种高度传染性疾病, 对世界养猪业造成了巨大的经济损失^[1]。猪瘟病毒(classical swine fever virus, CSFV)是引起猪瘟的病原体, 它属于黄病毒科(Flaviviridae)、瘟病毒属(Pestivirus), 与之关系密切的同属成员病毒还有牛病毒性腹泻病毒(Bovine viral diarrhea virus, BVDV)1型和2型以及边界病毒(Border disease virus, BDV)^[2]。囊膜蛋白E2是瘟病毒的主要免疫原性抗原蛋白, 能够诱导机体产生免疫保护性中和抗体。

为了控制CSFV, 安全和高效的猪瘟弱毒活疫苗被研制并被广泛应用了几十年。猪瘟弱毒活疫苗的强制使用使得一些国家的CSF被根除, 目前,

这些疫苗仍然在许多国家被广泛使用。虽然猪瘟弱毒活疫苗在免疫诱导和免疫持续时间方面都展现出突出的优点, 但活苗的主要缺陷是不能区分疫苗抗体和野毒抗体。新型的、安全高效的并且能够区分感染和免疫动物(differentiating infected from vaccinated animals, DIVA)的标记疫苗的研发已成为未来猪瘟的控制与根除的需要, 亦是生物制品产业发展的一种必然趋势。本文通过对现有的猪瘟疫苗和正在研发的新型猪瘟标记疫苗进行综述, 为CSF的防控和新型疫苗的研发提供参考。

1 现有的商业化猪瘟疫苗

1.1 传统CSF疫苗

收稿日期:2017-11-07

作者简介:邹伟斌(1989-), 男, 湖南衡阳人, 硕士研究生, 兽医师, 主要从事猪病疫苗相关研究. E-mail:weibinzousysu@126.com.

最早的CSF疫苗是20世纪早期研发的,由病毒和猪高免血清组成。随后,猪瘟结晶紫灭活疫苗于1936年问世,为此后很长时期内的全球范围内的猪瘟防控做出了不可估量的贡献。后来随着生物技术的快速发展,这些初级猪瘟疫苗的防治效果已不能满足生物制品产业发展的需求,因此升级的猪瘟弱毒活疫苗被研发。猪瘟弱毒活疫苗毒株有LPC猪、中国疫苗株(C株)或称中国猪瘟免化弱毒株(HCLV)、日本的GPE株、法国细胞培养适应株Thiverval株和墨西哥的PAV株,最常用的猪瘟疫苗毒株是C株。就安全性和有效性而言,猪瘟弱毒活疫苗树立了一个“金标准”,几乎满足了“完美疫苗”的所有需求,但是缺少一个血清学的DIVA概念,即现有的猪瘟弱毒活疫苗属于非标记疫苗,因此无法进行免疫后的鉴别诊断,这也是目前急需研发新型CSF疫苗的重要原因。

1.2 第一代猪瘟标记疫苗-E2亚单位疫苗

鉴于传统疫苗和减毒活疫苗的缺点,标记疫苗研发成为了猪瘟疫苗研究的方向。于是,CSFV-E2亚单位疫苗得到了研发。目前市场上只有一种猪瘟E2亚单位疫苗,是由默沙东动物保健生产的CSFV Alfort/Tübingen株的油包水疫苗制剂。大量的研究表明,E2亚单位疫苗安全性非常高,但与C株疫苗或其他减毒活疫苗相比,E2亚单位疫苗的免疫效果并不理想,在免疫后期表现出一些明显的缺点以及对垂直传播的防治效果不佳^[3]。

1.3 新一代猪瘟标记疫苗

2014年,新一代猪瘟标记疫苗的一个成员——CP7_E2alf疫苗获得了欧洲药品管理局(EMA)的注册许可并被投入市场应用^[4]。CP7_E2alf疫苗被证明同传统的猪瘟减毒活疫苗一样安全有效^[5-6]。另外,CP7_E2alf疫苗对于不同基因型的CSFV毒株感染有很好的交叉保护^[7],即使是在BVDV-1抗体存在的情况下,仍然具有很好的免疫保护效果^[8]。但是在DIVA的鉴别诊断方面,免疫CP7_E2alf疫苗的动物的检测会受到BVDV和BDV毒株与之存在交叉反应的影响,从而使样品检测的特异性降低^[9]。因此,还需要寻求其他方法和检测系统的结合来解决CP7_E2alf疫苗在实际应用中存在的问题。

2 研发中的猪瘟疫苗

2.1 猪瘟合成肽疫苗

最近十几年,研究者对CSFV合成肽疫苗也进行了许多研究,许多基于DIVA特性的猪瘟合成肽疫苗已被研发。这些猪瘟合成肽疫苗可以分为单一肽疫苗(mono-peptide vaccines, mPV)和不同合成肽混合的多肽疫苗(multi-peptide-vaccines, MPV)。该类疫苗的血清学标记原则可以基于E0或者NS3特异性抗体的检测,对于CSFV单一肽疫苗,还可以检测疫苗中不存在的E2结构域的抗体。合成肽疫苗不涉及完整病毒的复制,因此是安全性很高的一类疫苗。但是,目前研究的猪瘟合成肽疫苗的保护效果并不理想。Tarradas等^[10]研发的针对不同B细胞表位的猪瘟合成肽疫苗均不能对CSFV的攻击感染提供完全免疫保护,保护效果较经典的猪瘟E2亚单位疫苗差。Tian等^[11]研究的串联重复序列的猪瘟多肽疫苗也仅仅能够提供部分免疫保护。因此,免疫效果理想的CSFV合成多肽疫苗还有待进一步研发。

2.2 猪瘟亚单位疫苗

近年来,研究者利用多种表达系统对猪瘟E2亚单位疫苗进行了进一步的研究,如利用腺病毒表达外膜结构蛋白E2与人IFN α 的亚单位疫苗^[12],以及利用毕赤酵母表达^[13]、转基因哺乳动物细胞稳定表达^[14]、杆状病毒表达^[15]和基因工程乳杆菌表达^[16]的E2亚单位疫苗。然而,这些猪瘟亚单位疫苗与第一代E2亚单位疫苗相比,在免疫保护性能上并没有显著的改善。最近,Marisela等^[17]利用慢病毒基因传递系统获得了能够稳定表达CSFV E2和猪CD154融合蛋白的重组HEK293细胞系,由此得到的新型猪瘟亚单位疫苗E2-CD154免疫猪能够诱导产生抵抗CSFV强毒株的完全免疫保护。进一步实验表明,E2-CD154亚单位疫苗免疫怀孕母猪能够诱导产生强烈的中和抗体反应,两次免疫能够有效预防CSFV的垂直传播^[18]。此外,作为亚单位疫苗,E2-CD154疫苗具有很好的安全性和DIVA特性,由此可见,该疫苗初步展现了良好的应用前景。

2.3 猪瘟DNA疫苗

目前所有研发中的猪瘟DNA疫苗都是基于表

达CSFV囊膜糖蛋白E2的重组质粒构建体, DIVA标记原则也是基于E0或NS3蛋白特异性抗体的检测。为了提高猪瘟DNA疫苗的免疫效果, 通常将E2基因与一些细胞因子(如IL-12和IL-18等)或细胞表面因子(如CD154)基因共表达。最近的研究报道四跨膜蛋白分子CD81能够改善E2 DNA疫苗的免疫反应^[19]。然而, 临床上使用猪瘟DNA疫苗时往往需要免疫高剂量且同时接种多种疫苗才能保护免疫猪抵抗CSFV强毒的攻击感染。DNA疫苗制备的高成本和免疫后的低传递效率使得该类疫苗目前缺乏实际应用性。

2.4 病毒载体疫苗

以痘病毒和伪狂犬病毒为载体的猪瘟疫苗在20世纪90年代就已经开始进行了许多研究。该类疫苗通常是病毒载体表达CSFV的E2蛋白。共表达E2和小肠结肠炎耶尔森菌侵袭素的猪瘟腺病毒载体疫苗rAd-E2-Invc能够完全保护免疫猪抵抗致死性的CSFV攻击感染^[20]。最近报道的利用基因缺失突变毒株的伪狂犬病毒(PRV)作为载体表达CSFV E2的二价PRV/CSFV标记疫苗rPRVTJ-delgE/gI/TK-E2能够对两种疫病都具有良好的免疫保护效果^[21]。重组人腺病毒表达CSFV E2、E0和IL-2的猪瘟载体疫苗HAAdV-5(rAdV-E0-E2-IL2)的临床免疫保护效果良好^[22]。虽然目前有些猪瘟载体疫苗能够提供完全保护, 但是病毒载体的安全性有待进一步评价。此外, 一些病毒载体的使用可能会影响某些地区的相应疫病的血清学监测, 如PRV载体。

2.5 反式互补缺失突变体(复制子)疫苗

猪瘟的反式互补缺失突变体疫苗又称为猪瘟复制子疫苗, 通常是CSFV的E0或E2的反式互补缺失突变体, 也被称为嵌合病毒载体的猪瘟疫苗。由于不存在完整的猪瘟病毒基因组, 该类疫苗不会存在毒力返强的可能性。在所研发猪瘟复制子候选疫苗中, 最有应用前景的是哈尔滨兽医研究所研发的腺病毒甲病毒复制子嵌合载体疫苗rAdV-SFV-E2^[23], 该疫苗正在进行临床动物试验评价。由于临床试验的保护效果显著, 该疫苗具有被列入中国猪瘟根除计划中应用疫苗名单的良好潜力。

2.6 猪瘟嵌合疫苗

许多研究者认为, 猪瘟标记疫苗中最有前景

的是猪瘟嵌合疫苗。猪瘟嵌合疫苗是基于CSFV或BVDV的感染性cDNA通过反向遗传技术构建的嵌合瘟病毒。上述的已获得注册许可的商业化猪瘟疫苗CP7_E2alf属于猪瘟嵌合疫苗, 鉴于CP7_E2alf疫苗在实际应用中存在的一些问题, 一些相应的改进策略以及其他的猪瘟嵌合疫苗仍在研究中。其他报道的猪瘟嵌合疫苗, 如CP7_E2gif的动物试验结果表明该疫苗具有良好的临床免疫保护效果, 且有较好的DIVA特性^[24]。而嵌合疫苗CP7_E1E2alf_TLA的研究结果表明其免疫保护效果良好, 但是缺乏良好的DIVA标记特性, 且研究通过对E2抗原表位进行修饰突变的方法没有改进该疫苗的DIVA特性^[25]。

2.7 其他CSFV疫苗

通过突变E2特定抗原表位得到的猪瘟弱毒活疫苗FlagT4在仔猪上进行疫苗评价时会出现毒力返强, 进一步改变FlagT4的E1和E2易突变区的密码子选择而获得猪瘟弱毒疫苗FlagT4Gv免疫保护效果良好且遗传特性稳定^[26], 但是FlagT4Gv疫苗配套的DIVA检测方法还需要进一步研究。Velazquez-Salinas等^[27]利用对E2蛋白编码区的密码子去优化获得的猪瘟弱毒株也具有很好的免疫保护效果, 该疫苗同样很难建立配套的DIVA检测。猪瘟病毒缺失弱毒疫苗主要由E0或E2基因缺失的CSFV来研制。Widjoatmodjo等^[28]构建了CSFV E0基因缺失的突变毒株FLc22和FLc23, 利用组成性表达E0的SK6细胞进行培养。动物试验结果表明, FLc22和FLc23免疫猪均能产生很好的免疫保护, 并且还可以建立针对CSFV E0蛋白抗体检测的DIVA诊断方法。Maurer等^[29]通过同样的方法构建的CSFV E2基因缺失毒株免疫猪也能抵抗致死性CSFV强毒的攻击, 且能通过E2蛋白的血清学试验区别于正常毒株建立DIVA诊断。

3 结语

数十年来, 安全和高效的猪瘟弱毒活疫苗为CSFV的预防和控制做出了巨大贡献。然而, 由于传统的猪瘟兔化弱毒疫苗缺乏DIVA标记概念, 因此在猪瘟根除中的应用性受到了较大的限制。为了满足当前猪瘟控制和根除的需要, 新型的猪瘟DIVA标记疫苗得到了研发。第一代猪瘟E2亚单

位疫苗虽然安全性高,但免疫保护效果不佳。因此,免疫保护效果显著的猪瘟亚单位疫苗还有待进一步研发。第一个猪瘟标记活疫苗CP7_E2alf已获得EMA注册许可,这是猪瘟标记疫苗研发的重大进展,然而其DIVA诊断仍有待进一步改进。联合多个抗原表位的多肽疫苗虽然安全性高,但只能诱导部分免疫保护。病毒载体疫苗和猪瘟基因缺失弱毒疫苗可能存在潜在的安全性问题,应用前景有限。DNA疫苗免疫接种需要剂量大,免疫后传递效率低且成本高。尚在临床试验评价中的腺病毒/甲病毒复制子嵌合载体猪瘟疫苗rAdV-SFV-E2免疫保护效果好,安全性高,且具有良好的DIVA特性,应用前景良好。另外,DIVA诊断对疫病的控制和根除作用不容忽视。只有使用猪瘟标记疫苗,结合可靠的DIVA检测,才能更好地实现对猪瘟的控制和净化。

参考文献:

- [1] Tong C, Chen N, Liao X, et al. Continuous passaging of a recombinant C-strain virus in PK-15 cells selects culture-adapted variants that showed enhanced replication but failed to induce fever in rabbits[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2017, 27(9):1701-1710.
- [2] Blome S, Moss C, Reimann I, et al. Classical swine fever vaccines-State-of-the-art[J]. *Veterinary Microbiology*, 2017, 206:10-20.
- [3] van Aarle P. Suitability of an E2 subunit vaccine of classical swine fever in combination with the E(rns)-marker-test for eradication through vaccination[J]. *Developmental Biology (Basel)*, 2003, 114:193-200.
- [4] Blome S, Wernike K, Reimann I, et al. A decade of research into classical swine fever marker vaccine CP7_E2alf (Suvaxyn (R) CSF Marker): a review of vaccine properties [J]. *Veterinary Research*, 2017, 48(1):51.
- [5] Goller K V, Drager C, Hoper D, et al. Classical swine fever virus marker vaccine strain CP7_E2alf; genetic stability in vitro and in vivo[J]. *Archives of Virology*, 2015, 160(12):3121-3125.
- [6] Drager C, Petrov A, Beer M, et al. Classical swine fever virus marker vaccine strain CP7_E2alf: Shedding and dissemination studies in boars[J]. *Vaccine*, 2015, 33(27):3100-3103.
- [7] Blome S, Gabriel C, Schmeiser S, et al. Efficacy of marker vaccine candidate CP7_E2alf against challenge with classical swine fever virus isolates of different genotypes[J]. *Veterinary Microbiology*, 2014, 169(1-2):8-17.
- [8] Drager C, Schroder C, Konig P, et al. Efficacy of Suvaxyn CSF Marker (CP7_E2alf) in the presence of pre-existing antibodies against Bovine viral diarrhea virus type 1 [J]. *Vaccine*, 2016, 34(39):4666-4671.
- [9] Pannhorst K, Frohlich A, Staubach C, et al. Evaluation of an Erns-based enzyme-linked immunosorbent assay to distinguish Classical swine fever virus-infected pigs from pigs vaccinated with CP7_E2alf [J]. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2015, 27(4):449-460.
- [10] Tarradas J, Monso M, Munoz M, et al. Partial protection against classical swine fever virus elicited by dendrimeric vaccine-candidate peptides in domestic pigs [J]. *Vaccine*, 2011, 29(26):4422-4429.
- [11] Tian H, Hou X, Wu J, et al. A promising multiple-epitope recombinant vaccine against classical swine fever virus [J]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2014, 157(1-2):59-64.
- [12] Toledo J R, Barrera M, Farnos O, et al. Human alpha1FN co-formulated with milk derived E2-CSFV protein induce early full protection in vaccinated pigs [J]. *Vaccine*, 2010, 28(50):7907-7914.
- [13] Lin G J, Liu T Y, Tseng Y Y, et al. Yeast-expressed classical swine fever virus glycoprotein E2 induces a protective immune response[J]. *Veterinary Microbiology*, 2009, 139(3-4):369-374.
- [14] Hua R H, Huo H, Li Y N, et al. Generation and efficacy evaluation of recombinant classical swine fever virus E2 glycoprotein expressed in stable transgenic mammalian cell line [J]. *PLoS One*, 2014, 9(9):e106891.
- [15] Madera R, Gong W, Wang L, et al. Pigs immunized with a novel E2 subunit vaccine are protected from subgenotype heterologous classical swine fever virus challenge [J]. *BMC Veterinary Research*, 2016, 12(1):197.
- [16] Xu Y G, Guan X T, Liu Z M, et al. Immunogenicity in Swine of Orally Administered Recombinant *Lactobacillus plantarum* Expressing Classical Swine Fever Virus E2 Protein in Conjunction with Thymosin alpha-1 as an Adjuvant[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(11):3745-3752.
- [17] Suarez M, Sordo Y, Prieto Y, et al. A single dose of the novel chimeric subunit vaccine E2-CD154 confers early full protection against classical swine fever virus [J]. *Vaccine*, 2017, 35(34):4437-4443.
- [18] Munoz-Gonzalez S, Sordo Y, Perez-Simo M, et al. Efficacy of E2 glycoprotein fused to porcine CD154 as a novel chimeric subunit vaccine to prevent classical swine fever virus vertical transmission in pregnant sows [J]. *Veterinary Microbiology*, 2017, 205:110-116.
- [19] Li W, Mao L, Zhou B, et al. The swine CD81 enhances E2-

广东省农业种质资源共享利用服务平台建设研究

吴文栋, 林伟君, 陈燕苹, 凌焕枝, 梁远航, 周广洲*

(广东省农业科学院农业经济与农村发展研究所, 农业部华南都市农业重点实验室, 广东广州 510640)

摘要: 农业种质资源是动植物育种和农业生产的物质基础。本文根据广东省农业种质资源共享利用现状, 分析农业种质资源共享利用方面存在的问题, 提出构建广东省农业种质资源共享利用服务平台的方法与原理, 为促进广东省种质资源的信息化管理, 实现种质资源的共享利用, 充分发挥种质资源在农业科技创新中的作用。

关键词: 农业; 种质资源; 共享利用; 服务平台

中图分类号: S126 文献标识码: B 文章编号: 1005-8567(2018)01-0015-05

Research on the construction of agricultural germplasm resources sharing and utilization service platform in Guangdong

Wu Wendong, Lin Weijun, Chen Yanping, Ling Huanzhi, Liang Yuanhang, Zhou Guangzhou*

(Institute of Agricultural Economics and Rural Development, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Urban Agriculture in South China, Ministry of Agriculture, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Agricultural germplasm resources are the material basis of agricultural breeding and production. Based on the current situation of the sharing and utilization of agricultural germplasm resources in Guangdong province, this paper analysis the problems in the sharing and utilization of agricultural germplasm resources, and proffer the method and principle of constructing the sharing and utilizing service platform of agricultural germplasm resources in Guangdong Province. The aim is to promote the information management of germplasm resources in Guangdong province and realize the sharing and utilization of germplasm resources, that will play full role in germplasm resources in agricultural scientific and technological innovation.

Keywords: agricultural; germplasm resource; shared utilization; service platform

农业种质资源是作物育种的物质基础, 是农业发展的命脉, 农业种质资源的共享利用程度将决定我国农业的发展水平。农业种质资源的共享和利用是国家和地区可持续发展的迫切需要。农业种质资源共享是指农业种质资源的繁殖材料和信息可以为他人(社会公众)利用, 而不受地域和

时空的限制^[1]。近年来, 广东省科技厅及相关科研、教学单位为广东省农业种质资源的保护和共享利用做了大量工作。2015年由广东省科技厅组织, 广东省农业科学院承建的“广东农业种质资源共享利用服务平台构建与运行机制研究”项目, 构建了广东省农业种质资源共享利用服务平台。该

收稿日期: 2017-12-13

基金项目: 广东省科技计划项目(2013B0604000378)

作者简介: 吴文栋(1985-), 男, 广东广州人, 本科学士, 研究实习员, 主要从事农业信息化研究. E-mail: 393776117@qq.com.

*通讯作者: 周广洲(1982-), 男, 湖北咸宁人, 本科, 主要从事农业信息化研究. E-mail: 494882856@qq.com.

平台有效的促进了广东省种质资源的信息化管理, 实现了全省种质资源信息的共享利用。

1 广东省农业种质资源共享利用现状及存在问题

广东是国内开展生物种质资源库建设时间最早、规模最大、涉及生物门类最多的省份。自2002年至今, 广东省采取省市联动方式, 由广东省农科院、华南植物园、广东省林业研究院、华南农业大学等29家科研机构参与共建立种质资源库达24个, 共收集保存国内外种质资源总数达26万份, 并依托广东省农业科学院建设了广东省种质资源数据库和广东省生物种质资源网, 在建库时间、保存种类和数量、开发利用等方面走在了全国前列。

尽管广东省农业种质资源库及数据收录方面已取得显著成效, 但仍存在着种质资源机制不健全、共享服务水平及利用率偏低的问题。

1.1 种质资源数据管理机制不统一

种质资源数据库作为一种网络化载体的信息资源, 已成为各级物种研究单位资源的重要组成部分^[2]。广东省已完成了各类种质资源库(圃)的布局和建设任务, 但保存单位的资源评价指标参差不齐, 生物资源采集记录信息不完整, 典型性和关键性数据缺乏, 导致资源共享数量和质量较低, 生物资源采集记录信息不完整。目前, 广东省仍没有建立统一的、规范的种质资源数据管理体系, 以至于种质资源数据分散, 影响了资源共享工作开展。

1.2 种质资源共享服务水平偏低

尽管广东省建立了种质资源数据库和种质资源网, 但缺乏在共享利用领域的有效组织和管理, 目前广东省农业种质资源的保护基本上处于分散状态, 由于数据分散和资源共享并未完善, 对已收集的种质资源缺乏有效管理和评价, 存在重复或收集不全, 不能满足用户对有效资源的数据获取。

1.3 种质资源数据利用率低

据初步统计, 在广东省收集保存的农业种质资源中, 还有相当多一部分没有进行编目整理, 已经编目整理的却普遍存在数据不齐全、同名异

物、异物同名等问题。另外, 种质资源繁殖更新、开发利用等基础性工作薄弱, 可提供对外共享服务的种质资源并不多, 不能适应育种和生产发展的需要^[3]。

通过分析广东省种质资源共享利用的现状及存在问题, 反映了实现种质资源的合理共享, 提高种质资源的利用率, 是我们当前急需解决的关键问题^[4]。因此, 本文针对以上问题而提出建立广东省农业种质资源共享利用服务平台, 通过平台实现对农业种质资源信息的共享管理, 克服种质资源数据仅被个人或单位占有、互相封锁保密的状态^[5], 面向广大物种科研机构、教学机构、科研工作者、生产服务部门等提供多元化的农业种质资源数据共享服务, 为开发、利用和保护广东丰富的农业种质资源提供信息和依据^[6]。

2 农业种质资源共享利用服务平台建设

2.1 平台建设规划

广东省农业种质资源共享利用服务平台通过集成广东生物种质资源各级共建联盟单位丰富的数据资源, 进一步将数据库细分为农作物、林木、水产和家养动物种质资源数据库; 完善种质的共性和特性描述数据, 加强资源信息标准化建设, 提升资源信息利用效率。同时, 平台作为资源信息的交汇中心和展示窗口, 通过网络平台发布农业种质资源信息, 提供资源数据检索查询服务, 推进种质资源信息共享, 以满足广东动植物育种、基础研究和农业生产对农业种质资源的需求。

2.2 平台体系架构

2.2.1 三层B/S架构

为了使平台结构更加的明确, 利于平台的安全性、扩展性及维护性, 平台系统采用三层B/S架构。三层架构就是将整个业务应用从上至下划分为: 界面层、业务逻辑层及数据访问层。同时, 平台采用B/S结构(即浏览器和服务器结构), 用户工作界面通过WWW浏览器来实现, 其中极少部分事务逻辑在前端(Browser)实现, 主要事务逻辑在服务器端(Server)实现, 形成所谓三层3-tier结构。用户只要通过浏览器就能完成平台的功能操作。三层B/S架构见图1。

2.2.2 面向服务架构(SOA)

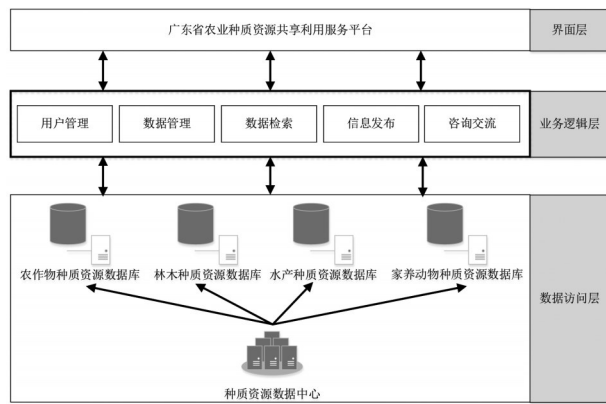


图1 三层B/S架构图

共享信息化平台将各类资源进行统一整合, 面向社会提供多样化的资源服务, 具有跨机构、跨平台和跨组织的业务特点^[7]。面向服务架构(SOA)是一个组件模型, 它将应用程序的不同功能单元(服务), 通过这些服务之间定义良好的接口和契约联系起来。平台基于标准SOA架构中开发, 使得构建在平台中的各种各样服务可以以一种统一和通用的方式进行交互。

2.3 平台功能模块

平台功能包括用户管理、数据管理、数据检索、信息发布、咨询交流5大功能模块, 平台通过这5大功能模块, 实现种质资源数据的共享服务及推广展示。平台功能模块结构见图2。

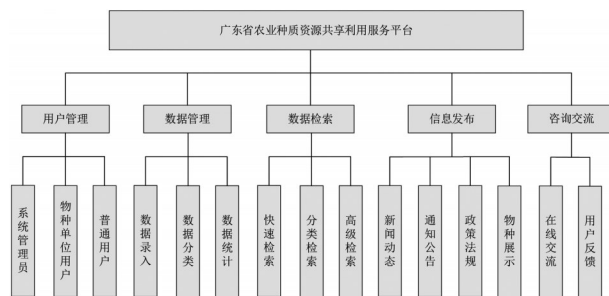


图2 平台功能模块结构图

2.3.1 用户管理

平台用户设置为3个类别, 分别为系统管理员、物种单位用户及普通用户, 不同的用户具有不同的权限, 用户根据平台授予的权限进行相应的操作。系统管理员拥有平台的最高权限, 可以操

作平台的所有功能, 包括发布信息、平台所有数据的检索、查看、添加、修改、删除等; 物种单位用户可以在平台上管理本单位的种质资源数据, 包括查看、添加、修改、删除本单位的数据及检索查看平台所有数据; 普通用户只拥有检索及查看平台数据的权限。用户权限的设立, 可以使平台种质资源数据实现共享的同时, 也能防止数据被任意上传和修改, 有效保障数据的可靠性和安全性。

2.3.2 数据管理

数据管理是对种质资源数据库进行数据的添加、修改、删除的操作, 各物种单位可根据最新采集的种质资源对相应的数据库进行添加、修改、删除操作, 以保证数据库的不断更新及数据的完整性。

2.3.3 数据检索

数据检索是用户查找所需数据内容的主要手段^[8], 用户可以通过浏览器进行单字段或组合字段检索, 浏览器随即发送请求到后台服务器, 通过PHP和MySQL数据库查询接口, 返回检索结果给用户。检索结果通过DataGrid控件以每页20条的形式显示, 用户可以点击DataGrid的Hyperlink接口, 逐条查看种质资源详细内容(包括种质名称、种质类型、保存单位、获取方式等)^[9]。

2.3.4 信息发布

系统管理员可以通过系统后台发布新闻动态、通知公告、政策法规、物种展示等信息, 用户可了解最新的种质资源信息及优异种质资源信息, 以促进农业种质资源的高效配置和综合利用, 提高农业科技创新能力。

2.3.5 咨询交流

平台开通咨询电话及QQ服务, 用户可以把相关的问题、意见及建议通过咨询电话或QQ与平台管理人员进行咨询交流。同时, 用户所反馈的信息将对平台的进一步优化及种质资源的共享利用服务提供有效的帮助。

2.4 数据库建设

2.4.1 数据库设计

数据库的设计采用面向对象的设计方法, 需求分析阶段的对象模型可以很自然地转为数据库的结构。所有数据表之间的实体-关系模型(ER图)都采用标准化的Visio数据库设计工具进行, 这样可以

围绕国家粮食安全、生态安全、农业增收、人类健康等重大需求,引导用户利用具有特异性状的农作物种质资源^[11]。进一步加强农业种质资源在支撑经济发展、改善民生以及保障国家安全中的作用。

4 结语

广东省农业种质资源共享利用服务平台的建立,在促进农业种质资源信息共享利用、政府宏观政策支持、科普教育等方面发挥十分重要的作用。随着农业种质资源共享利用服务平台建设、运行及服务机制的完善,提高了省内外育种单位对广东省各类农业种质资源的关注度,同时,显著提升了平台对外提供信息共享服务能力,有力促进种质资源实物共享,提高资源的利用效率。

参考文献:

- [1] 张卫明, 赵伯涛, 钱骅, 等. 我国重要野生植物种质资源共享机制探讨[J]. 中国野生植物资源, 2006, 25(2):1-3.
- [2] 李会萍, 谢惠芳, 赵馨, 等. 基于开放式访问的广东生物种质资源数据共享管理平台架构研究[J]. 科技管理研究, 2012, (9):180-183.
- [3] 张勇, 蔡士宾, 王才林, 等. 江苏省农业种质资源共享机制研究[J]. 江苏农业科学, 2008, (2):221-224.
- [4] 陈琴琴, 邱俊荣, 黄梅玉, 等. 广东省农作物种质资源平台建设与管理对策[J]. 广东农业科学, 2005, (2):8-11.
- [5] 李文化, 陈讨海, 陈业渊, 等. 热带作物种质资源e平台的建设与应用[J]. 热带作物学报, 2010(1): 25-30.
- [6] 曾庆钱, 蔡岳文, 严振, 等. 南药种质资源数据库信息系统构建[J]. 农业网络信息, 2006(2): 73-74.
- [7] 罗俊博, 陈树敏, 林珠. 广东省种质资源整合共享及信息化平台建设研究[J]. 现代计算机, 2016, (2):77-79.
- [8] 王立华, 孙璐, 孙英泽, 等. 渔业科学数据共享平台建设研究[J]. 中国海洋大学学报, 2010(10): 201-206.
- [9] 杨欣, 张勇, 林静, 等. 江苏农业种质资源信息服务系统的设计与构建[J]. 农业网络信息, 2008, (6):27-30.
- [10] 刘善文. 基于网络的作物种质资源共享管理平台研究[J]. 福建农业学报, 2009, (4): 365-367.
- [11] 曹永生, 方涛. 国家农作物种质资源平台的建立和应用[J]. 生物多样性Biodiversity Science, 2010, 18(5):454-460.
- based DNA vaccination against classical swine fever [J]. Vaccine, 2015, 33(30):3542-3548.
- [20] Li H, Ning P, Lin Z, et al. Co-expression of the C-terminal domain of Yersinia enterocolitica invasins enhances the efficacy of classical swine fever vectored vaccine based on human adenovirus[J]. Journal of Biosciences, 2015, 40(1):79-90.
- [21] Lei J L, Xia S L, Wang Y, et al. Safety and immunogenicity of a gE/gI/TK gene-deleted pseudorabies virus variant expressing the E2 protein of classical swine fever virus in pigs[J]. Immunology Letters, 2016, 174:63-71.
- [22] Li H, Gao R, Zhang Y. A Promising Trigenic Recombinant Human Adenovirus Vaccine Against Classical Swine Fever Virus[J]. Viral Immunology, 2016, 29(4):244-251.
- [23] Xia S L, Xiang G T, Lei J L, et al. Efficacy of the marker vaccine rAdV-SFV-E2 against classical swine fever in the presence of maternally derived antibodies to rAdV-SFV-E2 or C-strain[J]. Veterinary Microbiology, 2016, 196:50-54.
- [24] von Rosen T, Rangelova D, Nielsen J, et al. DIVA vaccine properties of the live chimeric pestivirus strain CP7_E2gif[J]. Veterinary Microbiology, 2014, 170(3-4):224-231.
- [25] Reimann I, Depner K, Utke K, et al. Characterization of a new chimeric marker vaccine candidate with a mutated antigenic E2-epitope[J]. Veterinary Microbiology, 2010, 142(1-2):45-50.
- [26] Holinka L G, Fernandez - Sainz I, Sanford B, et al. Development of an improved live attenuated antigenic marker CSF vaccine strain candidate with an increased genetic stability [J]. Virology, 2014, 471-473:13-18.
- [27] Velazquez - Salinas L, Risatti G R, Holinka L G, et al. Recoding structural glycoprotein E2 in classical swine fever virus (CSFV) produces complete virus attenuation in swine and protects infected animals against disease [J]. Virology, 2016, 494:178-189.
- [28] Widjoatmodjo M N, van Gennip H G, Bouma A, et al. Classical swine fever virus E (rns) deletion mutants: trans-complementation and potential use as nontransmissible, modified, live-attenuated marker vaccines[J]. Journal of Virology, 2000, 74(7):2973-2980.
- [29] Maurer R, Stettler P, Ruggli N, et al. Oronasal vaccination with classical swine fever virus (CSFV) replicon particles with either partial or complete deletion of the E2 gene induces partial protection against lethal challenge with highly virulent CSFV[J]. Vaccine, 2005, 23(25):3318-3328.

上接第14页

集约化猪场脐疝处理方法

邓启伟, 王衡, 张桂红

(华南农业大学兽医学院, 国家生猪种业工程技术研究中心及广东省动物源性人畜共患病预防与控制重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要:集约化和规模化养猪生产中, 脐疝病例十分常见。为降低因脐疝导致的残次淘汰率, 减少饲料浪费和人力投入, 提高养殖效益, 针对集约化、规模化猪场中的脐疝问题, 经生产实践总结出一套包含病因简析、预防方法、筛查流程、价值评估、治疗方案、淘汰策略等易管理操作且实用的集约化猪场脐疝处理方案。

关键词:猪场; 脐疝; 处理

中图分类号:S852.35 **文献标识码:**B **文章编号:**1005-8567(2018)01-0020-05

由于集约化猪场的猪群基数大, 脐疝的发病数相应较多, 脐疝的类型也是多种多样。脐疝的发生往往不会直接引起猪只的死亡, 死亡多因肠管套叠, 肠道阻塞、黏连, 疝囊破溃等继发因素引起, 对猪场死淘率的影响不大。但它可导致病猪生长缓慢, 料肉比升高, 造成饲料的严重浪费, 屠宰出肉率降低, 胴体畸形, 仔猪卖相差等不良后果。小型猪场处理脐疝病猪的传统做法包括:手术治疗, 低价出售或留作自养。规模化大猪场, 通常的做法主要为低价出售或残次淘汰。笔者连续三个月分别在2500头和5000头可繁母猪场跟踪统计, 发现综合发病率为2%。如果一个年出栏10万头的猪场, 那么每年将有达到2000头左右的脐疝病猪, 对猪场效益的影响非常大。现阶段大部分猪场缺乏系统的、完整的针对脐疝的筛查流程和处理方案, 待脐疝临床症状十分明显时才受到重视, 此时仔猪多处于保育后期, 体重25 kg左右, 已经给养殖户造成了经济损失, 此时无论是按传统的低价出售或次淘, 还是按照小型场的手术治疗, 都不是一个经济、科学的处理方法。为此, 本文提出了一个针对集约化、规模化猪场脐疝处理的方案(见图1)和具体实施办法, 旨在降低脐疝给养殖户造成的损失。

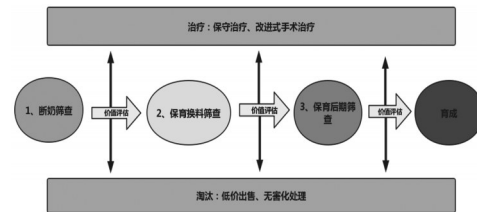


图1 方案流程图

1 病因简析与预防

1.1 先天病因和预防措施

由于先天的遗传缺陷, 部分仔猪出生就出现先天的脐孔愈合不全, 脐孔较大者, 出生后不久就表现为脐疝的临床症状;脐孔稍小者, 因管理不当, 如转栏运输时的动作粗暴、抓提不当、仔猪间的打斗、突然饲喂过饱等因素诱发脐疝。

针对先天遗传缺陷引起的脐疝, 可由遗传育种淘汰有缺陷的种猪而达到预防的目的。但这对于一般的扩繁场和养殖企业来说, 几乎不可能完成, 因为育种淘汰致病基因需要巨大的资金投入和技术支持。根据目前的研究进展, 种猪基因育种、脐疝致病基因筛选淘汰方面尚需进一步研究^[1, 2]。集约化猪场的工作重点是后备猪留选时不可选择有脐疝或同窝有脐疝的猪, 提高生产管

收稿日期:2017-11-29

资助项目:现代农业产业技术体系建设专项资金项目(CARS-35)

作者简介:邓启伟, 男, 四川泸州人, 硕士研究生, 主要从事猪传染性疾病的预防研究。E-mail:2396057288@qq.com

通讯作者:张桂红, 女, 教授, 博士生导师, 主要从事畜禽疫病诊断及分子生物学相关方面的研究。

理水平,减少诱发因素^[3]。

1.2 后天病因和预防措施

后天病因主要因断脐不当,暴力断脐,如徒手扯断脐带,剪刀不锋利时拉伤脐孔等造成。当断脐过长,脐带拖拉、踩踏,可造成脐孔拉伤,腹膜拉裂;当断脐过短时,易引起小猪间的互相吮吸,亦会引发脐疝。临床经验总结,断脐的长短,以小猪自然站立时,脐带断端离地1~2 cm为宜。此外,由于断脐后消毒措施做的不到位,引发感染和炎症,也可导致脐疝的发生。因此,断脐后做好消毒工作,使脐带快速干燥,避免感染。

转栏、运输时动作粗暴,操作不规范,多因员工缺乏培训,责任心欠缺等因素造成。如在转运仔猪的过程中,对仔猪拳打脚踢,惊吓和鞭打,运输车辆开的过急,运输道路曲折、坡度大,运输车辆过高,仔猪被粗暴的扔进车中,或从车中被推下跌落地面,尤其是吃饱后更易引发脐疝。预防的方法为减少不必要的转栏转运,改进运输设备和出猪台的设计,使仔猪能有序而平稳的转入和转离运输车辆,同时在转栏运输之前禁食一顿。提高员工福利,关心员工生活,使员工工作时心情愉快;重视入职培训工作,规范操作流程;加强监督等措施,减少和避免人为因素引发的脐疝。

2 脐疝的筛查

从脐疝治疗的效果来说,及时发现及时处理最好,但规模化猪场,一般统一筛查,统一处理,减少工作量。根据脐疝临床表现最集中的时间段,以及早发现早处理的原则,我们选择了3个筛查阶段,分别为断奶筛查、保育换料筛查和保育转育成的保育后期筛查。

2.1 断奶筛查

断奶筛查,即在仔猪断奶转保育时的筛查。此阶段筛查可以和转育工作以及其他疾病筛查同时进行,可减少工作量,目的是及时发现脐疝病猪,进行统一处理。该阶段的筛查,筛查出的多为断脐不当、脐带感染、拉伤和先天原因引起的脐疝,为脐疝发病的最早期,多数进行简单的手术治疗即可达到良好的效果。

在此阶段筛查出需淘汰的仔猪,对于养殖户来说是最经济的,避免了饲料在无价值或低价值

猪上的浪费。因此,断奶筛查是三个筛查阶段中最重要的,该阶段筛查工作做的越好,后期脐疝的发生率就会越低,给养殖户带来的损失就越小。

2.2 保育换料筛查

仔猪从产房进入保育后,第一周左右是对新环境和教槽料向保育料转换适应的过程。该阶段,多窝仔猪混合饲,仔猪为了获得在群体中饮水、采食、休息的优先权,它们之间会进行打斗。同时,在一个新的环境,仔猪因好奇、惊吓等因素,有的会出现撞栏、跨栏等异常行为。仔猪适应了保育舍的新环境及成功换料后的饲喂量增大,仔猪的采食量大幅度提高,易造成仔猪在饱食后腹压增大。在上述多重因素下,除了会造成脐疝的新生,还会诱发先天孔闭合不全形成脐疝。因此,保育换料阶段是脐疝临床表现突出的第二个时间节点。此时如能及时发现,并且没有继发感染或其它疾病同时发生,依旧是治疗和减少淘汰损失的最佳时间。

2.3 保育后期筛查

如果前两阶段的筛选工作到位,该阶段发现脐疝的仔猪数量会最少。由于很多养殖者对脐疝的发病了解不够,对前面筛选工作的忽视,而当前猪场脐疝临床凸显最多的就是该阶段。该阶段由于猪的体重较大,普遍在25 kg左右,疝囊较大,因猪采食量和运动量的增加,该阶段发现的脐疝出现黏连、肠套叠、肠梗阻的病例也将增多。保育后期脐疝病猪,手术治疗操作上难度会大幅提高,治疗花费时间也会增加,治疗的效果也不如前两阶段,所以该阶段价值评估后采取淘汰和低价销售所占比例会上升,而治疗的比例会下降。保育后期筛查,较前面两阶段筛查,是一个及时阻止饲料、人工浪费,减少损失的过程。

3 价值评估

3.1 断奶脐疝病猪的价值评估

断奶仔猪具有以下淘汰指标中的一条或一条以上者,均考虑淘汰。除患有脐疝外,还伴有其他先天性疾病,如腿脚畸形、皮肤发育不全、弓背、双生殖器、面部畸形、耳聋眼瞎等;除患有脐疝外,还有严重的弱病体质,皮肤苍白、走路不正,以及其他的传染病,寄生虫(猪癩),细菌性皮炎;脐疝

内容物过大, 疝囊皮肤薄, 疝囊皮肤有坏死, 疝内容物无法还纳; 透过触摸可发现疝内容物黏连、内部肠管套叠、坏死、出血。

除患有脐疝外, 且不满足上述淘汰指标的病猪, 可考虑改进式手术治疗, 如病猪没有其他先天性疾病或感染其他严重传染病, 寄生虫病, 细菌性疾病等; 病猪精神、运动与周围健康猪无异, 采食饮水各方面正常, 有的还比一般猪还健硕。

3.2 保育脐疝病猪价值评估

经过断奶阶段的筛查处理, 进入保育阶段淘汰的病猪主要为那些在翻栏、打斗、跳跃中引起的脐疝, 同时还引发了严重的其他外科疾病, 如骨折、脱臼、后肢瘫痪、不可恢复性跛行。此外, 在疝的类型上, 肠套叠、肠出血或坏死、严重黏连的, 整个疝囊破裂的, 疝孔过小, 必须手术切开腹膜拓宽疝孔的。凡有以上症状, 或其他严重疾病混合感染, 都应考虑淘汰处理。不要因觉得可惜, 而继续饲养, 这样将造成大量饲料的浪费。这些卖不掉的残次猪, 会因生长缓慢而影响猪群整齐度, 还会因体质弱而成为其他疾病的易感对象, 引起疾病的传播扩散。

有治疗价值的病猪指不患有以上提到的其他严重疾病, 且精神食欲都应良好。脐疝内容物易于还纳、无黏连、坏死、肠套叠和阻塞。第一次筛查工作到位, 到该阶段发生的脐疝, 多为饲养管理引起, 只要及时筛查, 大多都有治疗价值, 由于该阶段猪群的生长发育迅速, 治疗后的恢复也很快。

3.3 保育后期到育成的脐疝病猪价值评估

进入该阶段后, 在前面工作到位的情况下, 该阶段很少能筛查到脐疝病猪, 如发生也多为饲养管理不当或因外伤引起。该阶段的脐疝病猪由于体重较大, 治疗起来费时费力, 猪的运动和采食量也都较大, 会造成治疗后效果不理想, 又因为病猪数量少, 单独为几头病猪安排人员, 准备治疗, 费用会较高。对于该阶段的脐疝病猪, 除脐疝小易于治疗外, 一般都建议作淘汰处理或作为残次猪及时低价出售。同样忌讳管理者因觉得可惜或为了减少死淘率, 而对病猪迟迟不作处理。因为这类猪病猪养的时间越长, 对场里造成的亏损就越多, 及时淘汰反而是一种减少损失的办法。

4 治疗

4.1 保守治疗

简易手术疗法多适用于断奶阶段的病猪, 由于该阶段发现的脐疝病猪体重小, 发现时疝囊也小, 在评估后满足治疗的条件下, 经总结前人的经验^[4], 并集合实践总结创新得出以下两种简易手术疗法。

在疝囊只有鹌鹑蛋大小时, 一人配合将小猪倒立提起, 术者在疝孔周围先做一周的皮下荷包缝合(口袋缝合), 然后将疝囊内的肠系膜、肠管等内容物推进腹腔, 确保疝囊内没有内容物, 并在小猪吸气瞬间收紧缝线, 结扎牢固。手术针一般选用小号三棱针或圆针, 缝线可选用常规手术线或可吸收肠线。如用饲料口袋密封棉线, 洗净后需用酒精浸泡消毒使用, 这样在术后术部能引发轻微炎症, 刺激疝孔周围组织增生变厚, 阻止疝囊扩大, 随着小猪的生长, 疝孔就会渐渐填平。在手术时, 手术针一定不要刺穿腹膜, 以免扎到腹腔肠管或造成腹膜感染引发炎症。

对于疝囊只有蚕豆大小或更小的, 可不用缝线, 直接在疝囊、疝孔周围皮下注入75%的消毒酒精1~2 ml, 引起皮下水肿和炎症, 导致组织变厚增生, 从而防止脐疝的扩张, 在疝囊内没有内容物的情况下, 脐疝就会在小猪长大的同时变小或消失。

以上方法适用于最早期的脐疝, 越早越小治疗效果越好。但对于疝孔直径在2 cm以上, 疝囊直径大于乒乓球时, 则需手术切开皮肤, 分离疝囊, 内翻疝囊荷包缝合, 较严重的还需加强内翻缝合, 最后切除多余皮肤, 作伤口结节或十字缝合, 具体手术准备、注意事项、手术操作后文介绍。

4.2 改进手术治疗

本文介绍的手术治疗方法, 是一种改进的手术治疗方法^[5, 6], 没有具体猪龄和体重限制, 它适主要适用于疝孔直径在2~5 cm, 疝囊直径在3~15 cm大小的疝囊, 内容物易还纳, 无黏连、套叠、坏死等。经临床实践经验总结, 该类型脐疝采用该改进方法, 手术治疗效率高, 治疗效果也最佳。脐疝小于这个范围采用该法效果虽好, 但费时, 上述的保守治疗方法更为方便实用。

4.2.1 猪的术前管理

术前三天内不可对手术猪只进行疫苗免疫, 应将病猪从健康猪群中挑出, 集中放入单独的栏舍, 以方便统一管理。根据猪只的大小以及疝囊的大小, 对猪进行至少 12 h 的禁食, 以疝内容物易还纳腹腔为标准。单独饲养环境应安静, 环境卫生良好, 采光通风良好。禁食期间要保障充足的饮水, 尤其是在炎热的夏季, 避免猪只脱水。

4.2.2 手术材料准备

所选手术器械包括电动剃毛推子, 手术刀柄一把, 刀片数枚, 止血钳数把, 持针钳一把, 大、中、小手术三菱针数枚(根据猪的大小选择针的大小), 手术缝合线(可吸收肠线或棉线)若干, 纱布块数块等。除密封肠线, 刀片不适合高压的, 都应盛装于金属铝盒中经高压烘干备用, 没有条件的猪场, 可在术前将手术器械经电饭煲蒸煮后浸泡于消毒液中(如新洁尔灭), 消毒药浓度按手术器械消毒说明配比。在没有手术线的猪场, 可用饲料封口棉线, 经高压蒸煮或消毒浸泡后备用。

所需的手术药品主要包括 2% 盐酸普鲁卡因, 75% 消毒酒精, 生理盐水(或甲硝唑生理盐水), 消毒碘酊, 青霉素钠注射液, 氨苄西林等。为方便猪场手术中使用, 酒精和碘酊可用喷壶盛装。

4.2.3 对术者的要求

术者在手术当天应避免接触化脓性皮炎、患有链球菌、葡萄球菌病的猪只, 术前要修剪过长的指甲, 用洗手液或肥皂认真清洁双手。有条件的, 在对猪只进行保定时由助理或他人负责保定即可, 术者不必参与。术者参与保定手术后感染的几率会升高, 而且用力抓猪后会消耗术者体力, 手术中出现手抖、持针不稳等症状, 不利于同时大量实施多头猪的脐疝手术。手术时要更换手术服, 换上乳胶手套, 带上口罩。术者手部有外伤或其他不利于手术操作疾病不得执行手术操作。

4.2.4 手术环境和时间的选择

手术应尽量选择无风的下午, 避开大雨前的时间段, 有条件的可在单独治疗室中进行, 没有条件的可在地面平整, 光着良好, 易于清洗和打扫的空栏中进行。不可在有粪污的栏舍内进行, 不可在赶猪的过道, 料房和道路中央进行, 以及其他不利于手术治疗, 妨碍生产工作和易造成疾病传播的地方实施。除此之外, 具体手术时间安

排, 还需结合兽医和场里的工作安排作适当调整。

4.2.5 病猪的保定

病猪的保定总体采用仰卧保定, 后躯稍稍高于前躯, 以利于脐疝内容物的还纳。保定时可用保定架或 U 型槽保定, 没有条件的可借助料槽、栏柱等可用材料进行协助保定。对于挣扎剧烈的猪只, 可在猪的背部垫一个麻布口袋, 以免因挣扎而导致猪的头部、背部皮肤划伤。担心手术中由于猪的挣扎而松脱, 保定时四肢一定要保定稳固, 用不易打滑的麻绳, 结实的棉布条或绷带较好, 必要时可在猪的胸部加一条保定麻绳或绷带, 尤其是体重在 25 kg 以上的猪。最后绳子的结扎时, 尽量选择活结, 避免在猪挣扎的过程中将绳结拉的太紧, 以及手术后能及时解除保定。

4.2.6 手术操作

4.2.6.1 对小母猪的手术操作

(1) 术前 30 分钟肌肉注射推荐剂量 2 倍的青霉素钠(根据药物说明和猪的体重大小计算实际用量)。

(2) 进行猪的保定, 按仰卧姿势, 前躯低, 后躯略高, 易于疝内容物和疝囊还纳腹腔中。

(3) 对术部先进行剃毛, 清洗, 然后用喷壶喷洒碘酊消毒, 再喷洒酒精脱碘, 最后用干纱布块由中心向外螺旋擦干术部(有助手可由助手完成)。

(4) 在疝囊基部(疝孔周围)做一周环形皮下盐酸普鲁卡因浸润麻醉。

(5) 沿着或平行于腹中线, 做一条疝囊皮肤手术切口, 切口整齐, 手术深度为到达皮下组织即可, 不可切透或损伤腹膜。如果皮下有脓肿囊的, 要小心剥离摘除, 不可切破脓肿囊, 以免感染。

(6) 沿皮下组织层顿性分离出疝囊。

(7) 用生理盐水(甲硝唑生理盐水)冲洗疝囊, 除去血凝块和碎组织。

(8) 均匀的在裸露的疝囊上撒上氨苄西林粉。

(9) 用可吸收缝线, 没条件可用灭菌的饲料封口棉线, 在疝孔周围肌肉层与腹膜之间做一周的荷包缝合(口袋缝合), 缝合的针距不要太密, 使在随后的收线过程中能形成褶皱为好, 这样收紧线后中间就不会有空腔, 这样更有利于疝孔的愈合。然后一边收线一边将整个疝囊内翻推入腹腔, 直至疝囊完全推送至腹腔收紧缝线并打结。荷包缝合时针线不

可穿透损伤腹膜, 仅在腹膜和肌肉层之间, 以免造成腹膜炎和肠管和腹壁黏连, 延迟恢复时间。

(10)沿腹中线, 再作疝孔两侧组织的褥式缝合(内翻缝合), 在缝合时, 针线一定要扎入疝孔两侧的肌肉层中, 且不可刺穿腹膜。对于体重25 kg以下, 且疝孔小于3 cm的仔猪, 只要收紧手术线后疝孔闭合严密, 打结牢固, 可不必再做疝孔两侧的褥式缝合。而对于体重和疝孔都较大的猪, 腹压大, 在做褥式缝合时, 可多内翻缝合一些两侧肌肉, 起到减压针的作用, 同时使修补效果更牢靠。

(11)然后切除多余的皮肤组织, 用生理盐水冲洗干净, 伤口处撒上氨苄西林粉末, 对皮肤进行节结或十字缝合。

(12)最后手术切口和周围组织生理盐水冲洗, 碘酒消毒, 解开保定, 观察手术效果, 如果效果不佳, 分析原因并改善手术操作。

4.2.6.2 对小公猪的手术操作

对公猪的操作流程和母猪类似, 但在手术切口的选择时, 要避免阴茎, 在阴茎一侧开口, 避免手术刀切到阴茎, 损伤尿道, 以防止尿液渗入伤口, 导致感染。疝孔封闭后, 在对外层皮肤缝合时, 运针要避免阴茎, 不要扎到公猪尿道, 以免造成尿道炎症和阻塞。

4.2.7 术后管理

术后要及时对手术场地进行仔细的清洗消毒, 做好手术药品的回收, 手术器械的分类、清洗、消毒、高压灭菌、干燥, 以备下次使用。

刚做完手术的猪只, 至少要观察半小时, 留意是否有脱线, 流血不止等情况, 如有需及时处理。然后, 放入一个洁净、干燥、安静的栏舍中饲养, 避免和健康猪混养, 保障充足的饮水, 但又要防止地面的打湿。手术当天和第二天上午不要给饲料, 第二天晚上给以少量易消化饲料, 术后直至伤口完全愈合的一周内不可喂太饱, 为了避免争抢食物时的打斗, 喂料时尽量将饲料分散一些, 让每一头术后猪都能及时吃到饲料。术后视情况决定是否给以消炎针, 如果栏舍地面粗糙, 卫生状况差, 可在术后连续给以两日的消炎针(青霉素、链霉素即可)。夜间注意保温, 防寒受凉。

5 淘汰

淘汰通常可选择低价出售和无害化处理两种方案。

5.1 低价出售

这种处理方案通常适用于除患脐疝外, 猪只无严重传染性疾病、寄生虫病, 细菌病等病的临床表现, 只有常规的外伤, 畸形、跛行、瘫痪、骨折等。此外, 对已知患有或携带某种疾病, 但无临床症状的, 不能采用该办法处理, 以防止传播病原和导致传染性疾病的流行和爆发。低价出售的对象和淘汰猪的去向要合法, 比如可出售给正规的宠物饲料生产厂, 小龙虾等肉食水产动物饲养场等。重点防止淘汰猪流入不良肉制品商贩手中, 以次充好, 欺骗消费者。

5.2 无害化处理

无害化处理的对象, 多为携带或患有某些致病性传染病, 寄生虫病, 细菌病等的脐疝淘汰猪, 这类猪群销售出去会带来疫病的传播扩散, 具有生物安全隐患。此类病猪处理方法有深埋、焚烧炉焚烧、高温发酵后作为有机肥等。

6 总结

本文介绍的集约化猪场脐疝处理方案, 是结合猪场实际情况而提出的切实可行的处理措施。在内容上, 本方案主要涵盖了脐疝的病因简析, 预防措施, 筛查时间段的确定, 病猪的价值评估标准, 治疗的方法选择和淘汰办法。着重介绍了脐疝最佳筛查时间的选择, 病猪价值评估的标准, 以及各类治疗方法的具体操作步骤和注意事项。与以往有关处理脐疝的文章相比, 本文增加了病猪的筛查和价值评估, 即从脐疝高发的时间段中选择筛查的时间点, 并对脐疝病猪进行价值评估, 通过具体评估标准, 决定选择淘汰或是治疗, 最后综合治疗难度, 治疗效果, 以及治疗成本选择最优的治疗方案。在目的上, 本文通过解决实际生产中如何切实有效的预防, 如何及时的发现, 以及如何高效的, 具体的处理脐疝病猪等问题, 从而将脐疝给猪场带来的损失降到最低。在治疗方法上, 本文介绍的脐疝修补术, 是一种在前人的基础上经过临床经验总结和改进的, 有着操作简单, 高效省时, 治疗效果理想的实用的脐疝修补手术。虽不适用于所有类型的脐疝, 但其适用的脐疝类型为猪场最多也最为普遍的类型。因

种鸡场服务团队的转型与发展

韩文格

(河北飞龙家禽育种有限公司, 河北 石家庄 050091)

摘要:根据种鸡市场的需要, 作为一名技术服务人员必须紧跟形势, 及时总结过去的经验和教训, 发扬开拓创新精神, 完成其技术服务团队的转型, 发挥出最大的潜力, 更好的服务客户与公司。

关键词:服务; 技术; 营销; 转型

中图分类号:S815.5 **文献标识码:**C **文章编码:**1005-8567(2018)01-0025-02

随着养殖规模的发展, 技术服务的作用在种鸡销售中越来越重要, 它不仅提升客户养殖技术水平, 而且公司帮助客户的同时, 提高和壮大了自己, 因此可以带来双赢的效果。但是随着种鸡场之间的竞争加剧, 对技术服务的要求也越来越全面, 我们必须紧跟形势, 及时完成服务团队的转型, 才能在养殖业的大潮中勇往直前、立于不败之地。

1 以前的服务团队

服务部和营销部分开单独管理, 营销部门制定销售任务和奖励方案, 服务部门还是大锅饭, 没有任务和激励办法, 服务部只是销售上的辅助部门, 这种定位限制着服务部的发展, 人员得不到更新和提升。

1.1 管理经验少

服务部人员长期脱离生产和很少参加技术培训, 脑子中所装的知识陈旧落后, 就是到了现场也无法给客户提出新颖的技术方案, 这样就形成了恶性循环, 减少定期回访机会, 接触现场次数少, 管理经验越来越贫乏。

1.2 被动式服务为主

每天的工作就是客户有事情的时候, 服务部人员就打个电话, 出现投诉时就到现场看看, 无法解决的问题一推了之。平时上班无所事事、不求上进、循规蹈矩、滥竽充数, 这样的服务总是处于被动挨打的局面。

1.3 专家式服务频率很低

公司领导一直对服务部门的作用不重视, 服务部大部分是从生产上淘汰下来的、没有工作激情的人员, 这些人员的技术不很全面, 形不成专家团队, 在客户出现疑难问题时, 公司很少能够派出技术权威去现场解决。

2 现在转型

任何事物都不是独立存在, 是在相互作用下共同生存、发展的。随着种鸡场之间的竞争加剧, 我们应面对残酷的现实, 必须竭尽全力自己想办法提升服务团队进行转型。推出一两位技术权威来走访和解决棘手问题, 同时服务部除了对客户服务外, 主要的作用应对公司生产有指导意义, 更有利于形成信息资源共享的局面。

2.1 服务、营销合二为一

我们发现服务对营销起到关键作用, 本着以服务促营销的原则, 将服务和营销合二为一、一体化管理, 将二者结合起来制定销售任务和奖励章程。这样可以更好地提升服务效率及质量, 能更及时掌握客户信息, 为客户提供技术支持和帮助。

2.2 划分区域搭配人员

将公司的客户分成直销客户和分区销售客户, 并重新划分区域、合理搭配服务人员, 明确各个区域的责任。每个营销人员配备一名服务人员, 一起进行服务式销售, 这样可为客户提供更方便、更直接的服务。

2.3 提升服务团队技术力量

收稿日期: 2017-12-06

作者简介: 韩文格(1969-), 女, 河北石家庄人, 高级畜牧师, 主要从事种鸡饲养管理. E-mail: 739695930@qq.com

每月定期在内部进行专题技术培训交流，相互讨论服务心得达到资源内部共享。同时将一些行业的专家请进来，邀请管理、环控、疾病、营养、孵化等知名人士给我们进行技术培训指导。另外给服务人员创造机会，不定期安排人员参加外部技术培训会议。这样不断充电、更新知识，促进服务团队的技术力量迅速提升。

2.4 吸收新鲜血液提升综合水平

可以考虑从生产一线调入场长、种鸡生产经理、孵化经理等级别的人员，从事对外服务工作，增加种鸡技术服务力量，填充孵化服务空缺，提升我们整体综合服务水平。

2.5 服务工作的开展情况

与国内外大公司，如易帮、梅里亚等联合起来一起创办技术交流培训班，开展多次区域性专家式讲座会议，从通风、营养等客户比较关注的方面，分别在客户集中区进行巡讲。对客户发生的疑难情况，邀请专家到现场面对面分析、交流。根据客户需求安排有经验的服务人员协助育雏工作，并对主要客户进行定期回访。对于关键周龄，做到全程跟踪。总结公司饲养试验数据、技术要点、管理经验及时与客户共享。

2.6 产品质量提升与改进

以我公司为例，介绍如何进行产品质量提升与改进。公司在2006年顺利通过ISO9001质量管理体系认证，确保产品质量持续稳定，2015年公司实施全环节质量控制再提升计划，产品质量在第一周死淘，垂直传播性疾病检测及净化等方面得到重大突破，我们致力于为客户提供合格优质的种雏，因此在市场上也得到众多客户的好评，生产成绩得到明显改善。为促进产品质量提升所

做的重点工作如下：

2.6.1 建立化验室跟踪检测与雏鸡质量模型，借助试验室跟踪检测数据采取相应的公关措施，从而确保种鸡健康、垂直传播疾病的净化。

2.6.2 规范清洁场区工作的开展，为生物安全工作提供有利保障；种鸡场的有害生物“鼠、蝇、虫、鸟”得到有效控制，切断传播途径。

2.6.3 制定并实施严格的种蛋标准，做到种蛋分级入孵，提升雏鸡质量。重视雏鸡母源抗体，从种鸡免疫程序制定、疫苗的检测选择上严格控制。

2.6.4 提高雏鸡质量的基础保障是环控卫生监测，主要包括：孵化场微生物监测、种蛋消毒后卫生控制标准、种鸡场消毒池及鸡舍门口脚踏池监测操作规程、空舍消毒效果检测操作规程、鸡舍内空气中细菌含量检测操作规程、种鸡场日常抗体监测等。明确各项监测目的，确保监测结果达标。

3 服务团队的将来

我们应本着以质量求生存的原则，在保证种鸡健康、净化疾病工作上继续努力，为客户提供合格、优质的种雏。以服务为企业宗旨，通过人员力量的补充及内外培训，不断提升服务人员业务水平，以优质的服务为客户创造价值，赢得广大客户的信赖与支持。继续开展专家式讲座会议的组织，为客户提供技术支持。

整合整个行业的优势，作为信息的桥梁，及时传递给客户。客户鸡群跟踪，做到售前、售中、售后全程主动跟踪服务。同时鼓励客户为服务工作提出意见，这些将为服务团队的改进提供方向和动力。

上接第24页

此，原则上能满足集约化猪场高效、实用、易操作的工作要求，是对兽医技艺的一种传承和发展。

参考文献：

- [1] 宿英, 龙毅, 阮国荣, 等. 利用遗传不平衡分析在多群体中鉴别猪脐疝易感基因. 遗传[J]. 2014, 36(10):995-1005.
- [2] 崔庆刚, 项勋, 段纲, 等. 猪脐疝相关基因研究进展[J]. 中兽医医药杂志, 2017, 36(4):28-30.

- [3] 胡长敏, 高进东, 罗满玉. 规模化猪场脐疝的综合防治[J]. 湖北畜牧兽医, 2009(06):23.
- [4] 孟祥忠. 仔猪脐疝的结扎法治疗[J]. 中国畜牧业, 2015(06):82-83.
- [5] 张浩. 猪疝及其治疗措施[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2017, 9(33):191.
- [6] 王斌. 仔猪脐疝治疗方法的探讨[J]. 中国畜牧兽医, 2009, 36(02):141-143.

浅谈马匹日常洗护技术

陈政谕¹, 吴翠红², 甘露¹, 黄春花¹, 王自豪¹, 刘克俊^{1*}

(1.广西畜牧研究所, 广西南宁 530001;

2.广西平乐县畜牧站, 广西桂林 542400)

摘要:马匹日常洗护工作是马匹饲养工作中非常关键的环节。做好洗护工作不仅能保证马匹健康并且能促进人马情感交流, 利于马术训练。本文就马匹日常洗护技术、注意事项及马匹日常洗护技术在南北方操作上的差异等作一归纳与探讨, 以供参考。

关键词:马匹; 洗护; 技术

中图分类号:S821.4+4 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2018)01-0027-02

凡是熟悉养马的人都懂得, 马匹在平日训练前, 特别是要参加马术比赛前都要进行全面的洗护, 这样可以保持马匹健康, 参赛过程状态最佳。马匹除了参赛前需要洗护打理外, 平日也要定期对马匹进行洗护。

马的生理特性较突出, 其汗腺发达, 日均油脂分泌量大。运动后如不及时清洗沾在身上的泥土和污垢, 极易引起皮肤病或者感染寄生虫。经常给马匹洗护不仅能保证马匹的健康, 了解它的身体状况, 还能和马匹进行沟通交流, 让马和骑手关系更紧密。根据我们多年饲养马的经验和体会, 浅谈马匹的洗护方法以及注意事项, 和马爱好者一起讨论、交流、学习。

1 洗护前的准备工作

1.1 各种工具和洗浴用品的准备

给马匹洗澡前必须准备的工具和洗浴物品有: 硬毛刷、软毛刷、锯齿梳、刮汗屨(刮水板)、马蹄钩、按摩刷、手掌刷、梳子、吸水海绵、吸水毛巾、马匹洗澡专用沐浴露、马用润肤露(有条件可以使用)、装温水的水桶。

1.2 马匹的安全保定

有条件的设立一个专用的洗澡间, 内设保定

架固定马匹, 防止马匹乱动, 提高洗护工作效率。地板以利于排水具有一定倾斜度的水泥地板为佳, 使洗澡时产生的污水能快速通过暗沟排走, 防止二次污染。洗澡间地板不宜太光滑, 防止马匹摔伤。如果没有条件的情况的下, 可以选择在干净的平地给马匹洗澡。注意不要选择在草地或者泥地、沙地上或附近给马匹洗澡, 防止马在地上打滚把身体弄脏, 还能够不让污水破坏生态环境。

2 刷马和洗马的操作流程

2.1 刷马的操作流程

刷马即对马匹进行全身的刷拭, 在洗澡前进行。这样可以把马身上的泥沙、小石子、结块的污垢和脱落的毛发刷掉, 避免骑乘时马匹身上的硬物与马鞍、肚带摩擦, 对马匹造成伤害, 利于增强马匹再次清洗的整洁度和便捷性。

首先应用锯齿梳把马身上的泥巴以及结块的污垢刷松散, 其次用硬毛刷把马全身刷一遍把毛发里的脏物清理干净。马的鬃毛和尾巴长毛发的部位则用梳子梳理, 要把打结的地方梳顺, 遇到梳不开的毛结则用剪刀剪一下打结的地方再梳顺。梳理毛发后, 用蹄钩把马蹄里的污垢钩出来, 再用刷子刷干

收稿日期:2017-11-20

基金项目:广西壮族自治区水产畜牧兽医局系统建设项目(桂渔牧科201452018)

作者简介:陈政谕(1990-), 女, 助理畜牧师, 从事特种动物研究与技术推广工. E-mail: 2425438085@qq.com

*通信作者:刘克俊(1962-), 男(汉族), 高级畜牧师, 从事特种动物研究与技术推广工作. E-mail: 472128498@qq.com

净。刷拭要按一定的顺序进行,先左到右,由前到后,从上到下依次进行。从马头开始,再到马的颈部、前肢、躯干、臀部和后肢。

2.2 洗马的操作流程

用水枪把马全身先冲洗一下,把皮毛浸湿。从马蹄开始冲洗,让马匹习惯水的温度和水枪的声音开始,然后到腿部,洗完腿后再从脖子开始冲洗全身,冲洗马匹身体的时候注意要先给身体降温,再冲洗背部,如果全身发热,腰部受凉,马匹很容易腰伤劳损;另外,用水枪的时候还需注意不可对着马的头部直接冲洗,由于头部对马来说比较敏感,而水枪水压较大,直接冲洗不仅会引起马匹的不安躁动,而且容易使水冲进它的鼻腔和眼睛,给它造成不适。因此,清洗马匹头部的话建议使用软胶水管,开启较小的水流清洗;或是使用毛巾浸水并擦拭清洗。

把马匹专用的沐浴露挤出适量放进装有温水的水桶里稀释。用海绵在桶里蘸取水擦拭马匹身体先是擦拭头部,清洗头部的时候手法要轻柔,注意不要让沐浴露进到马的眼睛里。擦拭完头部后,擦拭马的马背和肚子,随后顺着马匹的毛发用梳毛刷梳毛,容易打结的地方不要用梳毛刷梳,而是用手指解开,以免弄疼马匹。把污垢擦拭干净后,用温水冲洗干净。洗马尾巴的时候不能拽着马尾巴清洗,最好把尾巴放进等高的水桶里浸湿,用海绵慢慢擦拭一遍,再冲洗干净。全身用沐浴露擦拭过后用清水冲洗一遍就洗干净了。用刮水板将马身上多余的水刮干净即可。

把清洗干净的马匹牵到有阳光并且干净的地方栓好,绳子的长度控制在只能让它站立不能打滚乱走的长度。因为马匹体积较大,就算天气很好阳光充足光靠自然风干也要很长的时间。这样容易导致感冒,长时间潮湿还容易滋生细菌,引起皮肤病,所以清洗完后的马匹要用干燥吸水效果好的大毛巾把马身体仔细擦一遍,然后仔细涂上马专用护肤精油让太阳晒干皮毛的水分。

3 南北方马匹洗护技术的差异

由于南北方气候环境有差异的原因,洗护技术也是有所差别的。北方冬春季节气温能达到零下十几摄氏度,因此马在冬天的时候基本不洗

澡,一般就以定期刷马的方式来清洁护理马匹。对刷不掉的污垢,就用温热湿水的抹布浸湿毛发,停留几分钟后再刷干净。如果遇到马匹非洗不可的情况,必须在不通风的地方设立洗澡房。给马洗澡时避免用水龙头直接冲洗,必须使用马匹专用沐浴露和温水擦洗。洗完后应马上擦干马匹身上多余的水分,并在暖房烘干毛发后方能牵出。由于北方气候比较干燥,因此马匹在洗完澡之后还需涂上马专用润肤露。而南方冬季温度较高,而且冬天时常较短,所以在南方的冬天也可以给马洗澡。洗澡的时机应选择在温度较高、阳光充足的日子,时间选在一天当中气温最高的时段,上午11点至下午14点之间较为适宜。马匹洗完澡后刮干净身上的水,再用吸水力较强的干毛巾迅速擦干,然后将马拴在有阳光直照的地方。如果马匹身上的水干得慢,也可以使用噪音较小的吹风筒吹干,但要注意不能直吹马的头部。

4 注意事项

4.1 刷马环节上的注意事项

刷马的手法要轻柔,不能生拉硬拽。忌采取粗暴的方式、方法、手段;应顺着毛发生长方向梳理。在遇到打结的毛块要慢慢梳开,实在梳不开就用剪刀小心地剪掉。刷马的步骤应按照从上到下的顺序进行。

4.2 洗马环节上的注意事项

4.2.1 时间及地点的选取

最好选择晴朗、有阳光且温暖的天气给马洗澡,尽量不要选择在阴雨、寒冷或湿冷的天气;时间建议选择在一天中气温较高的时候,避开温度较低的早晨和傍晚。这样,马匹在洗完澡后就可以快速晾干毛发,便可避免因长时间在潮湿的状态下而生病。

4.2.2 冲洗中的禁忌

直接用水枪冲洗会让马受到惊吓,因此不能用水枪直接对准马匹冲洗,以防马的应激。清洗马的头部更要注意用水情况,马头部比较敏感,只能用毛巾湿水后擦洗。在使用水枪时,要将水压调节至人体手无疼痛感的程度。清洗马匹的步骤要按照从下到上的顺序,循序渐进地进行清洗工作能让马适应水温,可以避免引起感冒。

一例猪圆环病毒3型的诊断

魏凤¹, 李峰¹, 张文通², 王金良², 苗立中¹, 沈志强^{1, 2*}

(1. 山东省滨州畜牧兽医研究院, 山东 滨州 256600;

2. 山东绿都生物科技有限公司, 山东 滨州 256600)

摘要:山东省沾化县某养猪场部分仔猪出现腹泻、消瘦、皮炎等症状, 经PCR检测及序列测序分析, 诊断为猪圆环病毒3型。证实了沾化有该病存在, 需引起关注。

关键词:猪圆环病毒3型; PCR; 诊断

中图分类号:S852.65+1 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8567(2018)01-0029-02

The case of diagnosis in porcine circovirus type 3

Wei Feng¹, Li Feng¹, Zhang Wentong², Wang Jinliang¹, Miao Lizhong¹, Shen Zhiqiang^{1, 2}

(1. Shandong Binzhou Animal Science & Veterinary Medicine Academe, Binzhou 256600, China; 2. Shandong Lv

Du Biological Technology Co., Ltd, Binzhou 256600, China)

Abstract: Symptoms, such as diarrhea, emaciation and dermatitis, were showed by some piglets from a pig farm in Zhanhua county, Shandong Province. It was diagnosed as porcine circovirus type 3 by polymerase chain reaction and sequence sequencing analysis. It should be concerned that this disease had been existence in Zhanhua county.

Keywords: porcine circovirus type 3; polymerase chain reaction; diagnosis

2015年6月, 研究人员从美国北卡罗莱纳州某养猪场利用宏基因组测序技术发现了一种新型猪圆环病毒即猪圆环病毒3型(porcine circovirus type 3, PCV3)^[1]。2016年至今, 我国多个研究机构如华中农业大学动物传染病研究室、华南农业大学国家生猪育种工程中心、山东农业科学院畜牧兽医研究所等都报道了猪圆环病毒3型在我国流行的情况^[2]。

PCV3基因组有2000个碱基组成, 主要编码 cap 和 rep 两个基因。PCV3 cap 基因编码214个氨基酸残基, rep 基因编码297个氨基酸残基^[3]。PCV3 cap 基因编码的氨基酸残基较PCV2少19~20个。PCV3毒株主要分为3a和3b两群, 其中3a和美国报道PCV3毒株处于同一进化分支^[4]。

目前研究表明, PCV3在我国猪场抗原阳性率高达12.7%, 而血清阳性率高达48.02%^[4]。PCV3对猪致病性及PCV2疫苗能否阻止PCV3的侵袭已成为从事生猪疫病研究人员迫切需要研究的课题。笔者于2017年9月, 从山东省沾化县某猪场病死猪组织中, 利用PCR及测序, 确诊了该病死猪组织中含有PCV3。

1 材料与方法

1.1 病料

山东省沾化县某猪场病死猪(约60日龄)肺脏及腹股沟淋巴结。

1.2 主要试剂及毒株

病毒DNA基因组提取试剂盒购自北京百泰克

收稿日期:2017-10-11

基金项目:山东省现代农业产业技术体系生猪创新团队项目 SDAIT-08-17

作者简介:魏凤, 女(1979-), 河南遂平人, 硕士, 助理研究员, 主要从事兽用生物制品研究. E-mail:hzndzwt1@163.com

*通讯作者:沈志强(1963-), 男, 山东荣成人, 博士, 研究员, 主要从事预防兽医学研究. E-mail:bzshenzq@163.com

生物技术有限公司; TaKaRa Ex Taq、10 × Ex Taq Buffer、dNTP Mixture、pMD18-T、*Bam*HI、*Hind* III 载体均购自宝生物工程(大连)有限公司; UNIQ-10 柱式DNA胶回收试剂盒购自生工生物工程(上海)有限公司; DH5a 菌种由滨州畜牧兽医研究院保存。猪圆环病毒3型阳性对照及阴性对照由滨州畜牧兽医研究院保存。

1.3 发病情况调查

该场存栏约商品猪600多头(50多头母猪), 从2017年9月初出现仔猪腹泻、病死现象。发病仔猪普遍出现消瘦、腹泻、皮肤出现红斑等症状。发病率达45%, 病死率20%。

1.4 引物设计与合成

参照文献[5]由生工生物工程(上海)股份有限公司合成PCV3检测引物, PCR扩增核苷酸预期为338 bp。引物序列为:

P1: 5'-CCACAGAAGGCGCTATGTC-3'

P2: 5'-CCGCATAAGGGTCGTCTTG-3'

1.5 PCV3的PCR鉴定

将无菌采集的病料组织, 按照1:3比例添加灭菌的0.85%氯化钠溶液, 用匀浆器进行研磨; 悬液反复冻融3次; 然后以12000 r/min离心处理; 离心的上清用0.22微米滤器过滤除菌并保存备用。过滤后的菌液一部分用作提DNA基因组的模板。

取部分滤液用基因组DNA提取试剂盒提取基因组DNA, 具体操作按试剂盒说明书操作。以该基因组为模板, 用P1和P2引物进行PCR扩增。PCR扩增25 μL体系, 具体为: 10 × Ex Taq Buffer 2.5 μL、dNTP Mixture(20 mmol/L) 1 μL、P1和P2(引物浓度均20 μmol/L)各0.5 μL、TaKaRa Ex Taq 0.5 μL、模板DNA 5 μL, 添加水至25 μL。PCR反应条件为: 95 °C 5 min, 94 °C 45 sec, 62 °C 1 min, 72 °C 1 min, 35个循环后, 72 °C延伸10 min。扩增产物用0.8%琼脂糖凝胶电泳检测扩增结果。

1.6 PCV3的PCR产物克隆及序列分析

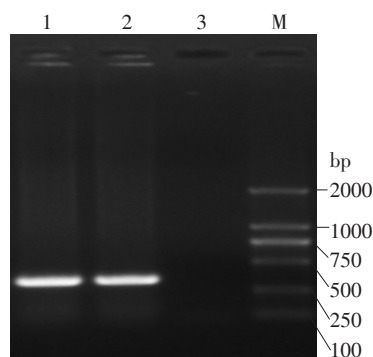
将扩增到的PCR产物用UNIQ-10柱式DNA胶回收试剂盒回收, 具体操作按试剂盒说明书操作。将回收到的PCR产物, 连接到pMD18-T载体上, 经*Bam*HI和*Hind* III双酶切鉴定正确后, 送往上海生物工程有限公司进行测序。用DNASar软件对测序结果与GenBank上报的PCV2基因核苷

酸序列及氨基酸同源性分析

2 结果与分析

2.1 PCV3的PCR鉴定结果

疑似PCV3感染病料的PCR产物经琼脂糖凝胶电泳检测, 扩增到了与预期大小338 bp相符的片段, 结果见图1。根据PCR鉴定结果初步判定该猪场的病料PCV3阳性。



注: M表示DNA分子质量标准; 1-病料; 2-阳性对照; 3-阴性对照

图1 PCV3的扩增结果

2.2 PCV3的PCR扩增产物测序结果

将鉴定正确克隆质粒送去上海生工测序。测序结果显示: PCV3的PCR扩增产物338 bp, 序列如图2所示; 将测序结果在NCBI里进行Blast, 该核苷酸序列与搜索到的其他PCV同源性在97~99%。

```
CGACGATTCACAGAAGGCGCTATGTCAGAGAAGAACTAATTCATTAGGAGGCCACAGCTGGCACAT
ACTACAAAGAAATCTCCACCATGAACGTCATTCGGTTGGAACCCCTCAGAATAACAAGCCCTGG
CAGCCAACCACTTCATACCCGCTTAAACGAATGGGAACTGCGAATAGCTTTGAATATTATAAGATA
CTAAAGATGAAAGTTACACTCAGCCCTGTAATTTCTCCGGCTCAGCAAAACAAAATAATGTTCCGGCA
CACAGCCATAGATCTAGACGGCGCTGGACCAAAAACACTTGGCTCCAAGACGCCCTTATGCGGA
```

图2 PCV3的PCR产物的核苷酸序列

3 讨论

该养猪场规模50多头母猪, 发病猪零星死亡, 多保育阶段仔猪死亡。剖检主要发现腹股沟淋巴结肿大, 切面严重出血; 肺脏间质性肺炎; 肾脏有坏死点。使用多种抗生素治疗, 无效。该猪场未进行PCV2苗的免疫。

采集病料进行PCR诊断。PCR检测了猪瘟、猪伪狂犬、猪繁殖与呼吸综合征、猪流行性腹泻、猪圆环病毒2型及猪圆环病毒3型, 检测结果为猪伪狂犬及猪圆环病毒3型阳性。

三例宠物绝育手术并发症病例的回顾与探讨

叶镜岳¹, 李春艳², 陈义洲³, 李加宇^{3*}

(1. 惠州工程职业学院, 惠州工程技术学校, 广东 惠州 516023;

2. 广州世嘉动物医院, 广东 广州 510000;

3. 华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

摘要:宠物卵巢子宫切除不尽是引起绝育手术并发症的主因, 切除不完整的根本在于兽医对生殖系统生理和解剖知识的匮乏。通过对绝育手术并发症的扼要梳理, 以及三例绝育手术并发症病例诊治过程的回顾, 探讨如何通过建立正确的绝育手术观念, 尽可能避免绝育并发症的出现。

关键词:卵巢子宫切除; 绝育; 绝育手术并发症

中图分类号:S857.12 **文献标识码:**B **文章编号:**1005-8567(2018)01-0031-04

绝育手术, 即为卵巢子宫摘除术(OVH), 已成为小动物临床中常见和相对简单的手术之一, 其作为减少生殖系统病变和终止发情和生育的手段, 在广大宠主中已得到高度认可和普及。然而, 简单并不意味着绝对安全, 大量需求出现的同时, 绝育并发症也随之出现, 包括出血、伤口愈合并发症、卵巢残体综合征^[1]、子宫残体积脓和子宫残体脓肿/肉芽肿^[2]等。绝育并发症的总体发生率很高, 甚至可达到约20%^[3]。

在诸多并发症中, 卵巢残体和子宫残体引发的疾病尤为危险。卵巢残体综合征是绝育后, 残留的功能性卵巢组织引起的以内分泌失调为特性的临床症状。残留的卵巢组织与大网膜或肠系膜发生血管重构, 继续维持卵巢分泌生殖激素的功能。最终导致包括卵巢、乳腺或阴道肿瘤, 以及子宫残体积脓^[4-6]。

在一些已进行绝育的病例中, 出现与卵巢残体综合征相似的临床特征时, 由于对该病症了解的匮乏, 使其很容易被忽略, 导致做出错误的诊断思路, 最终使得病情恶化。我院收治的三例绝育并发症病例中, 其中一例为绝育方式的错误导致的并发症。

因此, 本文旨在通过对三例绝育并发症病例的诊疗回顾, 探讨如何在绝育时最大限度避免并发症, 以及出现绝育并发症后的诊断和治疗策略, 希望能为小动物临床工作者提供有价值的诊疗思路。

1 发病情况

病例一: 猫(混血), 雌, 2岁, 体重4 kg, 定期驱虫免疫; 一年前完成绝育手术, 该猫绝育后仍然出现发情现象, 表现出随处排尿、夜间厉叫、异常兴奋, 以及喜欢以臀部主动接近主人等发情期特征, 同时出现食欲减退和精神萎靡。

病例二: 猫(混血), 雌, 1岁, 体重2.5 kg, 驱虫免疫完全; 绝育3个月后, 患猫异常活跃、挑食, 喜欢怪叫和四处排尿。

病例三: 犬(贵宾), 雌, 8岁, 绝育手术后, 每到发情季节按时发情, 表现为兴奋不安; 挑食、极度消瘦、排尿和排便困难, 入院前几天不再主动进食。

2 临床检查

病例一: 体温38.6℃; 呼吸30次/min; 心率145次/min, 外阴可见少量透明分泌物, 其余未见明

收稿日期: 2017-12-04

作者简介: 叶镜岳(1977-), 大学本科, 讲师, 研究方向为小动物疾病学与微生物学. E-mail: 13740550@qq.com

*通讯作者: 李加宇, 1992年2月, 华南农业大学兽医学院预防兽医博士, 执业兽医师, 研究方向为犬猫寄生虫病诊疗与防治. E-mail: 734130844@qq.com

显异常。

病例二:体温 38.9 ℃;呼吸 36 次/min;心率 160 次/min, 外阴可见少量浅红色分泌物, 其余未见明显异常。

病例三:体温 39.7 ℃;呼吸 28 次/min;心率 120 次/min, 可视粘膜苍白、鼻镜干燥和被毛杂乱无光泽, 触诊腹部敏感, 并有明显鸡蛋大小团块。

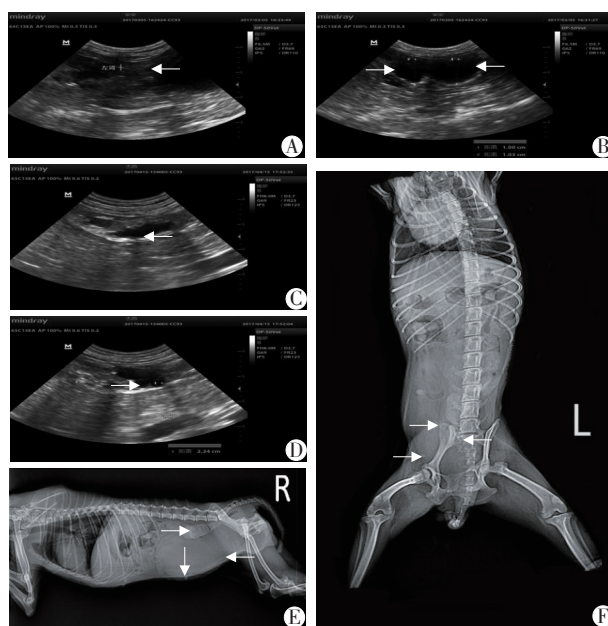
3 特殊检查

3.1 影像学检查

病例一:B超扫查显示, 肾后方出现边界清晰的低回声或无回声团块(图 1-A, 箭头所示), 其直径分别为 1.00 cm 与 1.03 cm(图 1-B, 箭头所示);初步怀疑为腹腔有囊肿。

病例二:B超扫查发现, 腹腔中部与左肾后方出现回声不均匀的异常团块, 边界清晰;初步怀疑为卵巢囊肿(图 1-C、D, 箭头所示)。

病例三:体腔外软组织偏薄, 肠管和脾脏向头侧移位, 后腹腔出现异常软组织密度团块, 呈长条状, 其大小长 8 cm × 3 cm, 与膀胱位置相似, 膀胱轮廓分辨不清, 软组织密度团块基部在骨盆腔内, 其背侧压迫直肠, 使直肠进入骨盆处明显变狭窄, 骨骼未受肿物侵袭(图 1-E、F, 箭头所示);X线初步怀疑为腹腔肿物。



注:A、B:病例一B超检查结果;C、D:病例二B超检查结果;E、F:病例三X线检查结果

图 1 三个病例 B 超和 X 线检查结果

3.2 血常规检查

血常规检查结果详见表 1 所示。

病例一:入院当天, 血常规检查结果显示患猫白细胞(WBC)总数和粒细胞百分比升高明显, 结合 B 超检查结果, 可能由腹腔内囊肿引起, 其余

表 1 血常规检查结果

检查项目	单位	检查结果			参考值	检查项目	单位	检查结果			参考值
		1	2	3				1	2	3	
WBC	10 ⁹ /L	23.5 ↑	11.6	23.2 ↑	C:8.0-17.0 F:5.5-19.5	PLT	10 ⁹ /L	411	316	559 ↑	C:200-500 F:300-800
RBC	10 ¹² /L	8.0	7.48	3.35 ↓	C:5.5-8.5 F:5.0-10	LY	%	10.9 ↓	20.2	3.3 ↓	C:12.0-30.0 F:20.0-55.0
HGB	g/L	106	125	76 ↓	C:120-180 F:80-150	MO	%	2.5	1.3	3.5	C:3.0-10.0 F:1.0-4.0
HCT	%	34.2	37.5	21.9 ↓	C:37.0-55.0 F:24.0-45.0	EO	%	6.2	2.3	4.0	C:2.0-10.0 F:2.0-12.0
MCV	fL	42.8	50.1	65.4	C:60.0-77.0 F:39.0-55.0	GR	%	80.4 ↑	76.2	89.2 ↑	C:60.0-80.0 F:35.0-78.0
MCH	pg	13.3	16.7	22.7	C:13.5-24.5 F:12.5-17.5	RDW	%	15.6	15.4	13.3	C:12.0-18.0 F:13.0-17.0
MCHC	g/L	310	333	347	C:320-360 F:300-380						

注:1、2和3依次分代表病例一、病例二和病例三;C:犬;F:猫

指标未见异常。

病例二:就诊时,患猫血常规检查未见明显异常。

病例三:就诊当天,血常规检查发现患犬白细胞(WBC)总数和粒细胞百分比显著升高,结合X线检查结果,可能由腹腔肿物引起的炎症;红细胞(RBC)总数、血红蛋白浓度(HGB)和红细胞压积(HCT)明显偏低,可能与长时间食欲不振有关;其余指标未见异常。

3.3 血清生化检查

血清生化检查结果详见表2所示。

血清生化检查显示,病例一和病例二未见明显异常;病例三,患犬白蛋白(Alb)偏低、乳酸脱氢酶(LDH)偏高,可能与患犬长时间进食减少有关。

4 初步诊断

综合B超、X线检查结果、开腹探查结果和组织病理学判读结果,病例一为绝育后残留子宫囊肿(图2-A),病例二为绝育后卵巢残留(图2-B,箭头所示为卵巢),病例三为子宫颈平滑肌瘤(图2-C、D)。图见第52页。

5 治疗及预后

5.1 开腹探查

三个病例均采用开腹探查方式,进行最终诊断和治疗。术前半小时内静脉推注乙酰丙嗪镇静,肌注曲马多止痛,使用丙泊酚进行诱导麻醉,异氟醚维持麻醉,术中静脉滴注头孢唑啉,并做好密切监护。3个病例均在肾后方发现卵巢残余部分,另外,病例一在卵巢后方发现鹌鹑蛋大小肿物,膀胱背侧发现子宫残体,病例三在膀胱背侧发现鸡蛋大小、质地结实,与肠壁和膀胱粘连的肿块。确定异常组织后,进行手术摘除,确认腹腔

无其他异常后逐层关闭腹腔。

对病例三肿物进行组织病理学检查,肿瘤细胞来源于平滑肌,在肿瘤组织内呈平行的束状排列,并可见胶原纤维穿插于扩张的血管之间。确诊为子宫平滑肌瘤,可能与荷尔蒙相关。

5.2 术后护理

术后均连续5天肌注曲马多止痛,静滴头孢唑啉抗感染。此外,病例三连续3天静脉给予白蛋白,持续静注甲硝唑5天。

5.3 预后

病例一和病例二预后良好;病例三因病程过长并发膀胱炎与肠炎,机体细菌产生耐药,术后20天治疗无效死亡。

6 讨论

子宫蓄脓和乳腺肿瘤是对生命危险最大的生殖系统疾病,而乳腺肿瘤绝大多数情况下均为恶性(犬>50%;猫>90%^[7, 8]),美国一项研究发现,犬猫乳腺肿瘤发生率分别达到3.4%和2.5%^[9-11]。怀孕和分娩可引起子宫炎、乳腺炎和难产。此外,性激素可诱发乳腺增生和阴道脱出等疾病^[12],我院曾接到一例未绝育犬发生阴道脱出的病例(图3,图见第52页),相比较于绝育手术,切除脱垂阴道手术后,因位置的特殊性,更容易引发细菌感和增加护理难度。虽然节育后可能会引起肥胖、行为改变(懒惰)等并发症,但相对于能控制子宫蓄脓和乳腺肿瘤等疾病的发生以及主人希望终止动物生育的需要,绝育已成为了多数国家的常规手术。虽然绝育是一个常规的外科手术,但在临床实践中,绝育手术后的并发症却常发生,其中术后出血、麻醉引起的死亡和术后伤口感染等最常见,这些并发症都能较早的发现和及时处理。但由于绝育手术的不彻底,常引发卵巢残

表2 血清生化检查结果

检查项目	单位	检查结果			参考值	检查项目	单位	检查结果			参考值
		1	2	3				1	2	3	
T-Pro	g/L	55	60	58	53-79	LDH	IU/L	155	149	334 ↑	<160
Alb	g/L	24	27	18 ↓	23-36	IP	mmol/L	0.88	0.91	0.67	0.58-1.68
T-Bil	3μmol/L	3	4	4	<5.13	BUN	mmol/L	4.0	6.55	3.1	2.14-11.78
GOT	IU/L	30	35	26	<41	Cre	3μmol/L	77	100.9	81	53.06-141.5
GPT	IU/L	34	46	33	<123						

注:1、2和3依次分代表病例一、病例二和病例三;C-犬;F-猫

体综合征, 以及因卵巢残体激素的持续分泌, 出现子宫残体积脓和子宫残体脓肿或肉芽肿在临床上也常的发生。本文介绍的三个病例, 均为对绝育手术理解不足造成的结果。病例一中, 仅仅是将子宫横断, 即谓之绝育, 病例二中, 将绝育理解为摘除孕育器官(子宫), 病例三中, 绝育并发症即源于卵巢切除不彻底引发的卵巢残体综合征。

因此, 进行绝育手术前, 术者应掌握生殖系统基本的生理知识和解剖结构, 充分了解手术的关键点。通常情况下, 手术本身的易操作性, 使得实施绝育手术的真正意义和产生的并发症往往被忽视。应明确并不是简单的终止生育就谓之绝育, 而是在解决生育问题的同时, 尽可能的避免手术并发症的出现, 从而达到解决生育问题和减少生殖系统疾病发生率的目的。本文所述三个病例的术后并发症, 简单理解可归咎于手术方法的错误, 但其根本原因则是因为对生殖系统生理认识不足, 以及缺乏对绝育手术的充分理解。因此, 绝育手术前, 应掌握基本的生殖系统生理知识和解剖结构, 理解手术本身的关键点, 即如何避免手术并发症的出现, 在手术过程中就会主次分明, 从而最大限度的达到手术目的。

参考文献:

- [1] Heffelfinger D J. Ovarian remnant in a 2-year-old queen [J]. Canadian Veterinary Journal. 2006, 47(2):165-167.
- [2] Kanazono S, Aikawa T, Yoshigae Y. Unilateral hydronephrosis and partial ureteral obstruction by entrapment in a granuloma in a spayed dog [J]. Journal of the American Animal Hospital

Association. 2009, 45(6):301-304.

- [3] Burrow R, Batchelor D, Cripps P. Complications observed during and after ovariohysterectomy of 142 bitches at a veterinary teaching hospital [J]. Veterinary Record. 2005, 157(26):829-833.
- [4] Denardo G A, Becker K, Brown N O, et al. Ovarian remnant syndrome: revascularization of free-floating ovarian tissue in the feline abdominal cavity [J]. Journal of the American Animal Hospital Association. 2001, 37(3):290-296.
- [5] Campbell B G. Omentalization of a nonresectable uterine stump abscess in a dog [J]. Journal of the American Veterinary Medical Association. 2004, 224(11):1799-1803, 1788.
- [6] Adin C A. Complications of ovariohysterectomy and orchietomy in companion animals [J]. Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice. 2011, 41(5):1023-1039.
- [7] Hayes H J, Milne K L, Mandell C P. Epidemiological features of feline mammary carcinoma [J]. Veterinary Record. 1981, 108(22):476-479.
- [8] Hampe J F, Misdorp W. Tumours and dysplasias of the mammary gland [J]. Bull World Health Organ. 1974, 50(1-2):111-133.
- [9] Richards H G, Meneil P E, Thompson H, et al. An epidemiological analysis of a canine-biopsies database compiled by a diagnostic histopathology service [J]. Preventive Veterinary Medicine. 2001, 51(1-2): 125-136.
- [10] Moe L. Population-based incidence of mammary tumours in some dog breeds [J]. Journal of Reproduction and Fertility Suppl. 2001, 57:439-443.
- [11] Tamada H, Kawate N, Inaba T, et al. Long-term prevention of estrus in the bitch and queen using chlormadinone acetate [J]. Canadian Veterinary Journal. 2003, 44(5):416-417.
- [12] Romagnoli S. Surgical gonadectomy in the bitch and queen: should it be done and at what age? Proceedings, Southern European Veterinary Conference and Congreso Nacional AVEPA, Barcelona Spain. 2008.

上接第30页

下一步工作:一是需要弄清该猪场PCV3的来源;二是跟踪调查附近区域猪场PCV3流行情况;三是开展PCV3分离及全基因组测序研究。开展下一步工作的同时,需向有关部门通报PCV3的研究结果,以引起猪场及行业主管的重视。

参考文献:

- [1] 翁善钢. 一种新的猪圆环病毒—猪圆环病毒3型[J]. 养猪, 2017, (04):64.
- [2] 贺会利, 李军, 潘艳, 等. 广西首例猪圆环病毒3型的发现

及其衣壳蛋白序列分析[J/OL]. 南方农业学报, 2017, (08):1499-1503.

- [3] 湛洋, 王东亮, 王乃东, 等. 猪圆环病毒3型检测及其Cap结构序列和抗原性预测分析[J]. 畜牧兽医学报, 2017, 48(06):1076-1084.
- [4] X.Ku, 咸文, 梁海英, 等. 猪圆环病毒3型的鉴定与遗传特征分析[J]. 猪业科学, 2017, 34(07):32-33.
- [5] Palinski R, Piñeyro P, Shang P, et al. A novel porcine circovirus distantly related to known circoviruses is associated with porcine dermatitis and nephropathy syndrome and reproductive failure [J]. Journal of virology, 2017, 91(1): JVI.01879-16.

UPLC-MS/MS 法检测鸡蛋中磺胺间甲氧嘧啶残留研究

李毅财^{1*}, 韦强², 廖味光³

(1. 灵川县动物疫病预防控制中心、广西 桂林 546100;

2. 柳州市鱼峰区洛埠镇水产畜牧兽医站, 广西 柳州 545011;

3. 来宾市动物疫病预防控制中心, 广西 来宾 546100)

摘要:通过参考 GB/T 20759-2006 方法与参考方法的前处理方法进行对比, 研究鸡蛋中磺胺间甲氧嘧啶的前处理技术, 采用 Acquity UPLC BEH (50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm 色谱柱以 0.1% 甲酸+乙腈和 0.1% 甲酸+水溶液为流动相进行洗脱, 经 MS/MS 检测在 0.64 min 出峰, 并通过 50.0、100、150 μg/kg 三个浓度的加标回收试验检查两种前处理方法的回收率。结果表明:采用 GB/T20759-2006 的方法回收率低于 65%, 回收率未能达到标准, 且在提取、浓缩、除脂、标准曲线绘制方面不适用蛋类检测;采用参考方法能够有效降低样品的基质效应, 最低定量限为 2.0 μg/kg, 在 0~150 μg/kg 范围内, 线性良好, $R^2 > 0.99$;在 78.3~85.7%, 可以满足检测的要求。

关键词:猪瘟; 疫苗; 标记; 控制

中图分类号:S879.3 文献标识码:A 文章编码:1005-8567(2018)01-0035-04

The study of testing sulfamonomethoxine residues in chicken eggs by UPLC- MS/MS

Li Yicai^{1*}, Wei Qiang², Liao Weiguang³

(1. Lingchuan county animal disease prevention and control center, Guangxi, GuiLin 546100, China;

2. The station of fishery and animal husbandry and veterinary in Liuzhou city Yufeng district Luobu town Guangxi, Liuzhou 545011, China;

3. Lai Bin City animal disease prevention and control center, Guangxi, Laibin 546100, China)

Abstract: Two different sample pretreatment methods, which were the national standard method GB/T 20759-2006 and reference method separately, were compared for their application to test sulfamonomethoxine residues in chicken eggs with UPLC-MS/MS. In this pretreatment methods, analyses were by Acquity UPLC BEH C18 column (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm) using 0.1% formic acid in water and acetonitrile with 1% acetic as the mobile phases. The sample could be well separated by a gradient program during 0.64 minutes, through the spiked recovery experiment of 50, 100 and 150 μg/kg (low, medium and high concentration). The results showed average recoveries was lower than 65% in GB/T 20759-2006, could not meet the requirements. Moreover, the method was not suitable for use in the extraction, concentration, defatting and standard curve preparation of egg foods. With the reference method, matrix effects were effectively removed and average recoveries of the reference method were 78.3~85.7%. While, it showed the minimum was LQD 2 μg/kg, that was a good linearity in the concentration range of 0.50~150 μg/kg ($r > 0.99$), which could meet the requirements for the test of sulfamonomethoxine residues in eggs.

Keywords: sulfamonomethoxine; UPLC-MS/MS; Reference method; GB/T20759-2006

收稿日期:2017-10-09

*作者简介:李毅财(1984-), 男, 汉, 广西临桂县人, 硕士, 兽医师职称, 研究方向:动物产品质量安全. E-mail: 244093883@qq

磺胺间甲氧嘧啶(sulfamonomethoxine, SMM), 别名磺胺-6-甲氧嘧啶, 主要用于治疗细菌感染, 具有药效广、疗效好、毒性反应低的特点^[1]。欧盟、美国^[2]和中国^[3]均规定动物组织中磺胺类药物总的最大残留限量(MRL)不得超过100 μg/kg。

2016年我国鸡蛋的产量为560万吨, 我国兽药使用指南规定蛋鸡产蛋期均禁止使用磺胺类药物, 但少数蛋鸡场仍旧违规使用磺胺类药物, 我国在《NY5039-2005无公害食品鲜禽蛋》^[4]中规定: 禽蛋中磺胺总量的最高残留限量不超过0.10 μg/kg。

目前钟子清^[5]研究发现GB/T 20759-2006在检测禽蛋类中磺胺类药物时存在以下问题: (1)使用无水硫酸钠时, 样品均质较困难; (2)因为乙腈沸点高, 蒸发耗时过长, 处理一个样品需要40~50 min; (3)蒸发过程中鸡心瓶溶液易爆沸, 造成损样品失; (4)鸡蛋含有丰富的卵磷脂, 使脂溶性较强磺胺类药物更易损失; (5)此标准未考虑到基质效应问题, 并没有要求使用空白基质配标样的问题。

本文通过改进鸡蛋中磺胺间甲氧嘧啶的提取条件, 建立了简单、快捷的样品前处理方法和快速检测鸡蛋中磺胺间甲氧嘧啶残留检测方法。

1 材料与方法

1.1 仪器

UPLC-TQD超高效液相色谱串联质谱仪(配电喷雾离子源), 美国Waters公司; TG16K台式离心机, 长沙东旺实验仪器有限公司; ULUP-II-20T纯水仪, 成都超纯科技有限公司; XHF-D型高速均质机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; KQ3200E超声清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; RE-2000型旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; AUW220D型电子天平(十万分之一), 岛津公司。

1.2 试剂

磺胺间甲氧嘧啶钠对照品(含量99.9%, 德国DR公司)、乙腈、甲酸、乙酸乙酯、正己烷均为色谱纯; Waters Oasis MCX SPE柱(150 mg, 6 mL); 无水硫酸钠(分析纯、650℃灼烧4 h, 置于干燥器中备用); 盐酸、氨水、异丙醇、乙酸铵、超纯水; 鸡蛋, 购于超市, 经过液质分析确认为阴性样品。

1.3 标准溶液配制

标准贮备液: 精密称取磺胺间甲氧嘧啶钠标准

品各10 mg置于100 mL容量瓶中, 以乙腈溶解、定容, 此时贮备液质量浓度为100 μg/mL, 量取合适的体积稀释成为0.5、2、5、20、50、75、150 ng/ml的标准曲线溶液。

1.4 样品处理技术

1.4.1 参考GB/T 20759-2006方法^[6]

准确称取已匀浆好的鸡蛋样品5.00 g于50 mL离心管中, 加入3 g氯化钠, 涡旋30 s, 超声提取20 min、8000 r/min离心5 min, 转移上清液于15 mL离心管, 加入8 mL乙酸乙酯复提一次, 合并2次上清液, 吸取8 mL上清液于50 mL离心管中, 40℃空气吹干浓缩。加入1 mL复溶液复溶, 2 mL正己烷除酯, 涡旋30 s, 4000 r/min离心5 min; 去掉正己烷层, 重复此除酯操作一次, 下清液经0.22 μm微孔滤膜过滤后进行MS检测。

1.4.2 参考刘洪斌^[7]样品处理技术

前处理: 准确称取均质好的鸡蛋5.00 g于50 mL离心管中, 加入20 mL磷酸盐提取液+20 mL乙酸乙酯, 涡旋2 min, 1000 r/min离心10 min, 取上层清液加入5 mL正己烷除酯, 1000 r/min离心5 min, 下层提取液转入50 mL离心管中, 重复提取1次, 合并提取液;

净化: 先用3 mL甲醇和3 mL 0.1 mol/L HCl活化MCX柱后, 用4 mL水淋洗, 控制水滴流速在1~2滴/s, 用3 mL(V(水):V(甲醇):V(乙腈):V(氨水))=75:10:10:5洗脱, 50℃氮气吹至近干, 用乙腈溶解定容到2 mL, 过0.22 μm微孔滤膜MS检测。

1.5 液相条件

色谱柱: Acquity UPLC BEH, (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相A: 0.1%甲酸+乙腈, B 0.1%甲酸+水溶液, 0~2 min, 10% A线性变化至10%; 2~3 min 90% A线性变化至10%, 柱温30℃, 进样量10 μL。

1.6 质谱条件

电离模式: ESI+; 毛细管电压: 2.47 kV; 锥孔电压: 36 V; 离子源温度: 150℃; 脱溶剂温度: 380℃; 锥孔气流速: 50 L/h; 脱溶剂气流速: 550 L/h; 采集模式: MRM; 母离子281.1, 定量离子155.91, 碰撞电压22 V。

2 结果

2.1 GB/T 20759-2006 法检测结果

图1采用GB/T 20759-2006法处理的鸡蛋空白样品的总离子图, 可见空白试样的基线高、干扰多, 标样的出峰时间为0.64 min, 标样的线性方程、相关系数见表1, 三个不同加标回收率低, 不符合国标的要求见表2。

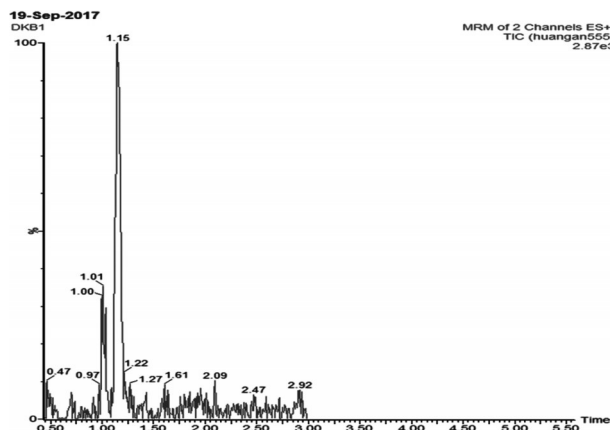


图1 采用GB/T 20759-2006法处理的鸡蛋空白样品的总离子图

表1 采用国标法检测鸡蛋的线性方程、线性范围、相关系数

名称	线性方程	线性范围(ng/ml)	r
磺胺间甲氧嘧啶	$Y=6392.4x+13018.5$	0.5~150	0.65

表2 方法的回收率与精密度

名称	加标量(50 μg/kg)		加标量(100 μg/kg)		加标量(150 μg/kg)	
	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)
磺胺间甲氧嘧啶	64.3	12.3	60.5	10.3	65.6	11.6

2.2 参考方法的检测结果

图2中结果表明鸡蛋的基质效应较小, 在0.64 min时产生的背景较低, 容易对结果产生较大的影响, 标样的线性方程、相关系数高、线性范围见表3。

2.1.1 方法检出限和定量限

采用空白组织中添加磺胺间甲氧嘧啶的方法进行检测, 以3倍信噪比(S/N)所对应的响应值作为方法的检出限, 以10倍S/N作为方法的定量

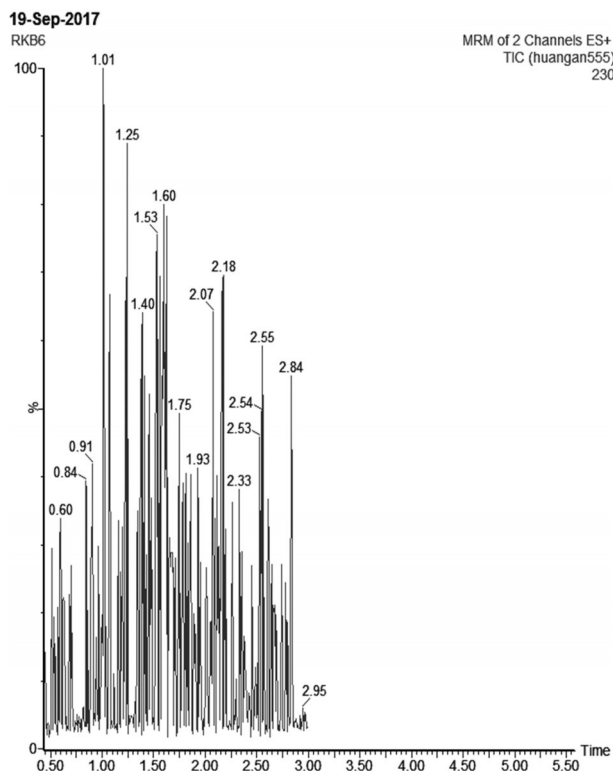


图2 采用新方法处理的鸡蛋空白样品的总离子图

表3 采用新的方法检测鸡蛋的线性方程、线性范围、相关系数

名称	线性方程	线性范围(ng/ml)	r
磺胺间甲氧嘧啶	$Y=5098.41x+1141.11$	0.5~150	0.99

限, 结果为: 检出限0.5 ng/ml, 定量限2.0 ng/ml。

2.1.2 方法的回收率与精密度

取一份已经检测过不含磺胺间甲氧嘧啶的空白鸡蛋样品, 分别添加50.0(见图3)、100.0、150 μg/kg, 3种不同浓度的标准品按照参考方法进行提取, 进行加标试验, 重复6次。结果表明, 本方法回收率较高, 详见表4。

表4 方法的回收率与精密度

名称	加标量(50 μg/kg)		加标量(100 μg/kg)		加标量(150 μg/kg)	
	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)
磺胺间甲氧嘧啶	82.6	5.3	78.3	3.2	85.7	4.2

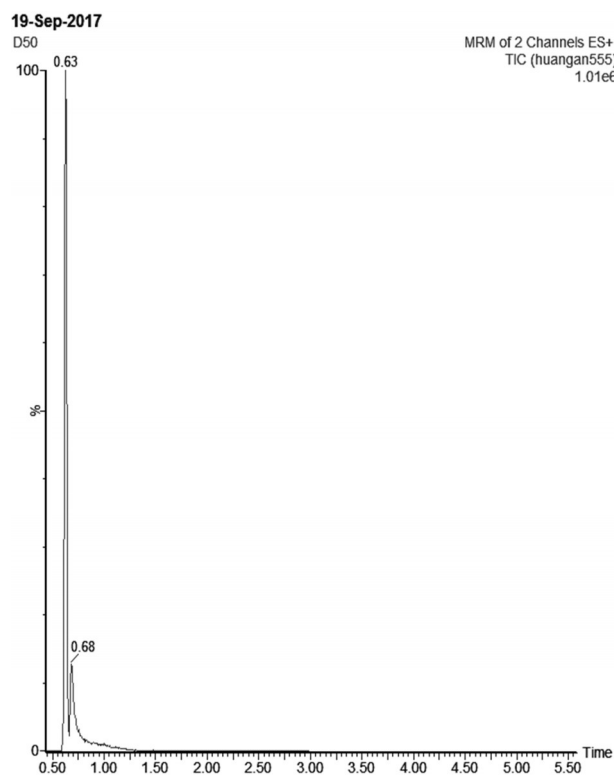


图3 加标为50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的鸡蛋总离子图

3 讨论

采用GB/T 20759-2006法处理的鸡蛋样品经过0.22 μm 的滤膜后,样品呈现蛋黄黄色,说明里面含有大量的色素,可能是叶黄素和玉米黄素等鸡蛋成份,这对于鸡蛋的检测结果的准确性是否有影响,还需要深入研究。在提取的过程中添加无水 Na_2SO_4 会与样品结合成较坚硬的块状,较难搅拌和混匀,会对前处理的操作带来一些麻烦,因此,在添加后应该迅速搅拌混匀。刘洪斌^[8]在研究中发现制备鸡蛋中磺胺药物的提取过程中,无水硫酸钠容易造成药物损失,且会增大基质噪声,而采用磷酸盐缓冲液加乙腈提取的回收率会比较高,这在今后的研究中值得深入探讨。

刘洪斌^[8]通过添加基质加标准溶液与溶剂加标准溶液比较时发现,鸡蛋对检测有不同程度的基质抑制作用,未加基质时检测结果为50 $\mu\text{g}/\text{kg}$,而添加基质后为38 $\mu\text{g}/\text{kg}$,造成约20%的误差。因此为减少基质对样品的影响,本研究采用空白

样品溶液来配置所需要的一系列基质标准工作液,绘制标准曲线,相关线性 $R^2 > 0.99$,具有较好的线性和线性范围。在今后的检测中,面对具有待测物质浓度低、样品基质复杂、干扰物多、兽药残留代谢产物多样或者不明确等特点的样品,最好是采用同位素内标法进行检测,以减少样品基质对检测的影响,提高检测方法的稳定性^[9]。

本次研究采用的MCX SPE柱属于混合型阳离子交换反相吸附剂,具有较高的选择性和灵敏度,能够较好的解决净化效果和吸附交换能力不足的问题,减少样品中杂质对质谱的影响,过柱后样品颜色清亮,比GB/T 20759-2006法有显著的提高,回收率提高到78%以上。但是在制备过程中需要的时间稍长,主要原因是过固相小柱需要耗费一定时间。刘洪斌^[8]采用QuEChERS方法对鸡蛋中16种磺胺类药物进行检测,检测耗时、定量限、线性均与采用传统前处理技术加过固相萃取小柱的制备模式相当,其前处理方法简单高效、检测灵敏,且应用于兽药残留检测相关研究较少,值得大力研究。

本文中所建立的检测鸡蛋中磺胺间甲氧嘧啶的UPLC-MS/MS方法,重现性好,灵敏度高,可以为监管部门制定和执行动物源性食品安全法律提供技术依据。

参考文献:

- [1] 陈杖榴. 兽医药理学[M]. 2版. 北京中国农业出版社, 2002: 227-231.
- [2] 杨秀娟, 张曦. 磺胺二甲嘧啶残留检测方法的研究进展[J]. 动物食品安全, 2004(11):17-18.
- [3] 中华人民共和国农业部.《动物性食品中兽药最高残留限量》(农业部2002年235号公告)[Z]. 2002.12.
- [4] NY5039-2005无公害食品鲜禽蛋.
- [5] 钟子清, 黄卓焕, 赖卫华. 鸡蛋中磺胺类残留物提取方法. 食品科学[J], 2012(33):154-158.
- [6] GB/T20759-2006. 畜禽肉中十六种磺胺类药物残留量的测定液相色谱-串联质谱法[S]. 北京:中国标准出版社, 2006.
- [7] 韦田, 章敏. 鸡蛋中磺胺嘧啶、磺胺氯噻嗪、磺胺间甲氧嘧啶残留消除规律研究. 实验技术[J], 2017(36).
- [8] 刘洪斌, 姚喜梅, 蔡英华, 等. UPLC-MS/MS检测鸡蛋中16种磺胺类药物残留. 分析试验室[J]. 2015(10):1141-1144.
- [9] 王伟, 刘占峰, 杜晓宁. 稳定性同位素在兽药残留检测中的应用. 原子能科学技术[J]. 2010(44):813-817.

莪术油成分分析及体外抗伪狂犬病毒的作用研究

刘志昌, 容庭, 李贞明, 马现永, 彭广辉, 李书宏, 王刚*

(广东省农业科学院动物科学研究所, 畜禽育种国家重点实验室, 广东省动物育种与营养公共实验室, 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东广州 510640)

摘要:本文采用气相色谱-质谱联用仪进行分析测定, 结合计算机检索对相关的化合物进行结构鉴定, 应用色谱峰面积归一化法测定莪术油各成分的相对百分含量。采用四甲基偶氮噻唑蓝比色法(MTT法)测定了莪术油在幼年仓鼠肾细胞(BHK细胞)上的毒性和对伪狂犬病毒(pseudorabies virus, PRV)的灭活作用、对病毒感染的阻滞作用以及对被病毒入侵细胞的治疗作用, 同时与阳性对照药利巴韦林、金刚烷胺和金刚乙胺的抗病毒效果进行了比较。结果表明, 莪术油中35种成分被鉴定, 其峰面积占总峰面积的96.6%; 莪术油对BHK细胞具有较高的基本无毒剂量(LC₅)和半数致死浓度(LC₅₀), 对细胞毒性较低; 莪术油对PRV的抑制效果依次为: 预防作用(63.7%) > 直接杀灭作用(55.2%) > 治疗作用(48.7%), 可以认为, 莪术油主要在预防伪狂犬病毒病毒感染环节上发挥作用。

关键词:莪术油; 伪狂犬病毒; 细胞; 抑制作用

中图分类号:S852.65*5 **文献标识码:**A **文章编码:**1005-8567(2018)01-0039-03

伪狂犬病(pseudorabies)是由伪狂犬病毒引起的多种动物共患的一种急性传染病, 可引起妊娠母猪繁殖障碍、流产、死胎以及呼吸困难等症状。新生仔猪除出现神经症状外, 还可以侵害消化系统, 引起腹泻、呕吐、生长不良等^[1]。近年来, 规模化猪场伪狂犬病有逐渐加剧的趋势。目前单靠疫苗免疫显然已不能完全满足疫病控制的需要^[2], 抗病毒中药由于其预防作用, 在兽医临床上受到越来越大的应用。莪术油(*Rhizoma Curcumae Oil*)为姜科植物蓬莪术、广西莪术或温郁金的根茎水蒸气蒸馏得到的挥发油, 主要成分有吉马酮、莪术醇、莪术二酮等, 具有明显的抗病毒活性^[3]。本文通过体外试验测试药物对BHK细胞的保护率, 探讨莪术油对伪狂犬病毒的抑制作用, 以期莪术油在兽医临床的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 药物与试剂

莪术油(纯度>98%, 江西省吉水水南药用百草油提炼厂生产)。阳性对照药物利巴韦林(纯度≥98.5%, 广东肇庆星湖生物化学制药厂生产); 盐酸金刚乙胺(原料药, 纯度≥98%, 浙江康裕制药有限公司生产); 盐酸金刚烷胺(原料药, 纯度≥99%, 浙江康裕制药有限公司生产); DMEM (Invitrogen Corporation GIBCO); MTT和DMSO等均购自广州展晨生物有限公司。超纯水: Milli-Q Biocel超纯水系统制备, 电阻值为18.2 MΩ。

1.1.2 主要仪器

气相色谱-质谱联用仪(TurboMass 4.1), 美国PerkinElmer公司; 台式高速离心机, Centrifuge5804, 德国EPPENDORF公司; 旋涡混合器, XW-80A, 上海青浦沪西仪器厂; 电子分析天平, FA2004N型, 上海精密科学仪器有限公司。

收稿日期: 2017-12-28

基金项目: 广东省科技计划项目(2014A070713026)

作者简介: 刘志昌(1981-), 男, 广东南海人, 博士研究生, 助理研究员, 主要从事兽医药理学研究. E-mail: liuzhichang@126.com

*通讯作者: 王刚(1968-), 男, 湖北钟祥人, 硕士研究生, 高级兽医师, 主要从事预防兽医学研究. E-mail: 1322773418@qq.com

1.1.3 病毒和细胞

PRV-粤A毒株, 临床分离株, 华南农业大学兽医传染病教研室惠赠。

BHK细胞(幼年仓鼠肾细胞), 华南农业大学兽医微生物教研室惠赠。

1.2 试验方法

1.2.1 莜术油各组分含量的测定

取浓度为1 mg/mL的莜术油溶液, 使用气相色谱-质谱法测定莜术油溶液中各组分的含量。GC-MS分析条件为, HP-5MS毛细管柱(0.25 mm × 50 m, 0.25 μm); 进样量0.2 μL; 载气为氦气, 流速1 mL/min; 分流比20:1; 进样口温度为250 °C; 程序升温: 柱初始温度为45 °C, 保持2 min, 以5 °C/min升至150 °C, 再以3 °C/min升至240 °C, 保持1 min。溶剂延迟3 min。离子源为EI源; 离子源温度为250 °C; 四级杆温度为150 °C; 电子能量为70 eV; 倍增管电压为1.2 kV; 接口温度为280 °C; 全扫描模式采集, 质量范围为35~550 m/z, 质谱数据库为NIST14.0。

1.2.2 测定试验药物对BHK细胞的毒性

将BHK细胞制成每mL 5×10^6 个细胞的悬液, 接种于96孔培养板, 每孔0.1 mL, 5% CO₂培养箱内37 °C培养24 h。待细胞长成单层时, 弃去原培养液, 分别换入含不同浓度(1×10^{-2} ~ 1×10^{-11})的莜术油、利巴韦林、金刚乙胺和金刚烷胺等药物的细胞维持液, 在温箱中继续培养24 h, 然后每孔加入5 mg · mL⁻¹的MTT试剂20 μL, 孵育4 h后弃MTT上清液, 每孔加DMSO溶液100 μL, 待结晶完全溶解后, 置酶标仪中测定490 nm波长处的OD值, 计算药物对BHK细胞的LC₅和LC₅₀。

1.2.3 测定PRV对BHK细胞的TCID₅₀值

将BHK细胞悬液(5×10^6 个细胞/mL)接种于96孔细胞培养板, 每孔0.1 mL, 24 h长成单层细胞后弃上清液。每孔加入按10倍(1×10^{-1} ~ 1×10^{-11})递减稀释的病毒液0.1 mL, 每浓度设8个复孔, 同时设正常细胞对照组, 5% CO₂培养箱内37 °C培养2 h后, 吸出病毒稀释液弃去, 加入DMEM基础培养液继续培养48 h后, 以MTT法测定其OD值, Reed-Muench法计算其组织细胞半数感染量(TCID₅₀)。

1.2.4 试验药物对PRV病毒的抑制效果试验

1.2.4.1 药物在单层细胞上对PRV病毒的抑制作用

将0.1 mL PRV病毒液(100 TCID₅₀)加至单层BHK细胞(每组设16个复孔), 5% CO₂培养箱内37 °C孵育2 h后, 弃去病毒稀释液并加入0.1 mL的基本无毒浓度(LC₅)的药物, 5% CO₂培养箱内37 °C下继续培养。24 h后采用MTT法测定其OD值, 并计算药物对感染病毒的BHK细胞的保护率。

1.2.4.2 试验药物在单层细胞上对病毒的预防作用

先加入0.1 mL稀释好的药物至长满单层细胞的96空细胞培养板内, 5% CO₂培养箱内37 °C孵育2 h后, 加入100 TCID₅₀病毒0.1 mL, 37 °C培养24 h, 用MTT法测定其OD值并计算药物对细胞的保护率。

1.2.4.3 试验药物对病毒的直接杀伤作用

将0.1 mL PRV病毒液(100 TCID₅₀)与等体积的各药物混合, 摇匀, 37 °C孵育2 h后, 再将其加入长满单层细胞的96孔板中, 37 °C培养24 h, 用MTT法测定其OD值, 计算各组细胞的存活率及药物对病毒的抑制率。

2 结果

2.1 莜术油各组分含量的测定结果

根据分析的各组分质谱图, 用质谱数据库检索确定化合物; 以质谱离子峰面积归一化法确定各自的相对百分含量。如图1所示, 莜术油中35种成分被鉴定, 占总峰面积的96.6%。主要的成分为莜术烯(14.3%)、莜术二酮(11.4%)、柠檬油精(11.3%)、1, 8-桉叶素(9.74%)、吉马酮(7.99%)、β-榄香烯(7.71%)。单萜类化合物有12种, 占比32.3%; 倍半萜类有12种, 占比62.5%。

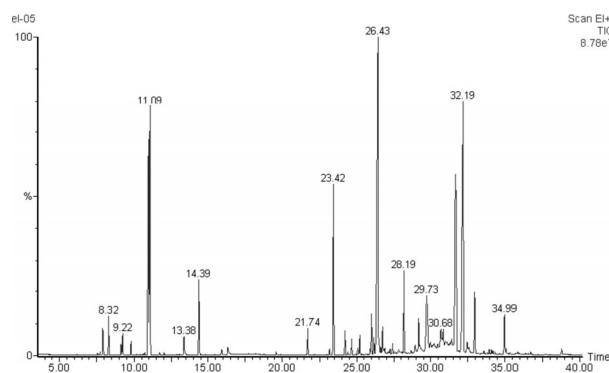


图1 莜术油的气相色谱-质谱图

2.2 试验药物对BHK细胞的毒性

BHK细胞可因药物的毒性作用而发生病变,表现为细胞单层裂解、脱离瓶底悬浮在培养液中。通过MTT法检测加入药物后的细胞存活情况,LC₅₀结果显示试验药物对BHK细胞的毒性浓度高低依次为:金刚乙胺>金刚烷胺>莜术油>利巴韦林(表1)。

表1 中西药在BHK细胞的毒性浓度

药物	莜术油	利巴韦林	金刚烷胺	金刚乙胺
LC ₅ (mg/mL)	7.68×10 ⁻³	2.09×10 ⁻³	5.41×10 ⁻³	5.72×10 ⁻³
LC ₅₀ (mg/mL)	1.84×10 ⁻¹	>2.5×10 ⁻¹	1.63×10 ⁻¹	7.91×10 ⁻²

2.3 PRV病毒在BHK细胞上的TCID₅₀测定结果

PRV对BHK细胞的生长抑制情况见表2(a, b), 50%终点处的2个稀释度的距离比例为0.23, 根据Reed-Muench公式得出PRV在BHK细胞上的

TCID₅₀=10^{-3.23}/0.1 mL。

2.4 试验药物对PRV的抑制效果

2.4.1 药物在单层细胞上对病毒的抑制效果

按先攻毒感染细胞再进行给药治疗的方式,利巴韦林对BHK细胞的保护率达到50%以上,莜术油次之保护率为48.7%,金刚乙胺和金刚烷胺对细胞的保护率分别为25.3%和20.3%(见表3)。

2.4.2 药物在单层细胞上对病毒的预防效果

按先给药再感染PRV病毒的方式,莜术油的抑制病毒效果最好,保护率达到63.7%;利巴韦林次之为55.2%,金刚乙胺和金刚烷胺对PRV病毒的抑制效果不明显,保护率分别仅为31.8%和23.6%(见表4)。

2.4.3 药物对病毒的直接灭活作用

药物对病毒的直接灭活作用,莜术油组对细胞的保护率最高为55.2%,利巴韦林对病毒的直接杀灭作用为50%,而金刚乙胺和金刚烷胺对病

表2(a) PRV对BHK细胞的生长抑制情况

稀释度	1:2 ¹	1:2 ²	1:2 ³	1:2 ⁴	1:2 ⁵	1:2 ⁶
平均OD值	0.153±0.016	0.282±0.038	0.332±0.018	0.363±0.020	0.397±0.019	0.459±0.013
生长抑制率	0.777±0.018	0.584±0.055	0.511±0.028	0.463±0.034	0.412±0.035	0.322±0.025

表2(b) PRV对BHK细胞的生长抑制情况

稀释度	1:2 ⁷	1:2 ⁸	1:2 ⁹	1:2 ¹⁰	1:2 ¹¹	空白对照
平均OD值	0.491±0.014	0.531±0.027	0.609±0.029	0.580±0.038	0.615±0.018	0.679±0.014
生长抑制率	0.274±0.027	0.213±0.047	0.099±0.048	0.137±0.070	0.094±0.017	0

表3 先攻毒感染细胞再给药对BHK细胞的保护作用(mean±S.E., n=16)

药物	浓度(mg/mL)	试验孔OD值	病毒对照孔平均OD值	正常对照孔平均OD值	保护率(%)
莜术油	7.68×10 ⁻³	0.678±0.029**	0.493±0.027	0.873±0.035	48.7
利巴韦林	2.09×10 ⁻³	0.705±0.058**	0.493±0.027	0.873±0.035	55.8
金刚乙胺	5.41×10 ⁻³	0.589±0.013*	0.493±0.027	0.873±0.035	25.3
金刚烷胺	5.72×10 ⁻³	0.570±0.024	0.493±0.027	0.873±0.035	20.3

注:*表示与病毒对照组比较, P<0.05;**表示与病毒对照组比较, P<0.01。下表同

表4 先给药再感染病毒后药物对BHK细胞的保护作用(mean±S.E., n=16)

药物	浓度(mg/mL)	试验孔OD值	病毒对照孔平均OD值	正常对照孔平均OD值	保护率(%)
莜术油	7.68×10 ⁻³	0.603±0.029**	0.312±0.037	0.756±0.023	63.7
利巴韦林	2.09×10 ⁻³	0.557±0.013**	0.312±0.037	0.756±0.023	55.2
金刚乙胺	5.41×10 ⁻³	0.453±0.058*	0.312±0.037	0.756±0.023	31.8
金刚烷胺	5.72×10 ⁻³	0.425±0.024*	0.312±0.037	0.756±0.023	23.6

潮州市畜禽养殖污染整治的现状对策

刘振贵, 沈浩铎

(潮州市农业科技发展中心, 广东 潮州 521000)

摘要:通过对潮州市畜禽养殖情况调查发现, 畜禽养殖粪污对环境造成了严重污染, 尽管已采取措施进行整治, 取得一定成效, 但问题依然存在。鉴于此, 作者结合潮州市畜禽养殖业的具体现状, 提出了治理养殖污染的具体措施, 供参考。

关键词: 畜禽养殖; 污染; 治理措施

中图分类号: S815 **文献标识码:** B **文章编码:** 1005-8567(2018)01-0042-04

近年来, 潮州市的畜禽养殖业取得了较快的发展, 标准化规模养殖场也得到长足的发展。在有效保障肉食品供给、丰富人民群众“菜篮子”、促进农业农村经济发展和农民增收的同时, 畜禽养殖场所产生的粪污对环境造成的污染日益严重, 已成为影响农村及城郊、镇村结合部环境污染的主要来源之一。因此, 加强畜禽养殖污染整治和畜禽养殖废弃物资源化综合利用已成为当前我市亟待解决好的一项重要工作, 也是建设社会主义新农村的一项民心工程。

1 当前潮州市畜禽养殖的现状

潮州市位于粤东地区韩江三角洲北部, 总面积3679平方公里, 2016年, 全市农业总产值约110亿元。为全面掌握我市畜禽养殖情况, 推进畜禽养殖污染整治工作的开展, 从2017年4月份开始, 全市组织对辖区内900多个村的规模化畜禽养殖场、畜禽养殖专业户、散养户进行全面清查登记。据各县区调查统计: 全市规模化养殖场共有134家(其中猪场110家、牛场6家、鸡场10家、鹅场5家、鸭场2家、肉鸽场1家); 专业户共有881户(其中猪场709户、牛场3户、鸡场61户、鹅场86户、鸭场22户); 散养户共有4288户(其中猪场1544户、牛场373户、鸡场1756户、鹅场396户、鸭场219户)。禁养区内规模化生猪养殖场有5家(其中饶

平县3家、潮安区1家、湘桥区1家), 专业户有125户(其中饶平县90户、潮安区35户)。

2 畜禽养殖粪污对环境造成的污染危害

畜禽养殖过程中会产生大量粪尿和污水, 其中尤以养猪场为甚, 养牛场次之。如果没有加强综合有效的治理, 会对养殖场周边及下游水域环境造成严重的影响。以规模化养猪场为例, 一个万头养猪场一年会产生粪尿等排泄量3万吨, 其中1.3万吨粪, 1.7万吨尿。在养猪生产过程中, 一个养殖场就是一个环境污染物的生产场, 造成的影响主要有几方面: 一是粪尿和污水的污染; 二是臭气对空气环境的污染; 三是氮、磷、铜、锌、砷、硒对环境的污染; 四是植酸以及病原性微生物、抗菌药物等方面的污染。

3 畜禽养殖污染整治和养殖废弃物资源化利用情况

2016年底, 中央第四环境保护督察组对潮州市开展环境保护督察, 并形成督察意见。当前我市在环境保护方面存在“农村畜禽养殖管理不力, 部分规模化生猪养殖场和专业户治污设施配套不到位; 畜禽养殖污染防治工作有待加强, 养殖废弃物资源化利用水平不高; 污染治理设施有待完善, 禁养区畜禽养殖清退须有序推进”等方面问题。对此, 市委、市政府高度重视, 把农村“散、乱、小”及

收稿日期: 2017-10-19

作者简介: 刘振贵(1975-), 男, 广东潮州人, 本科, 高级畜牧师, 主要从事畜禽新品种、新技术的推广应用以及畜禽疫病防治. E-mail: yxgual133@126.com

规模化畜禽养殖污染整治列为2017年“百团大战”和“农村五治理”的重要工作,强化责任落实,齐抓共管,狠抓各项污染治理措施的落实,在全市掀起畜禽养殖污染治理热潮。

2013年以来,全市共有109家规模化养殖场通过省环保厅污染减排认定,清理关闭了禁养区内19家畜禽养殖场(户)存栏生猪5.65万头,全面完成省下达的农业源主要污染物总量减排任务。2017年,我市确立了更高的目标要求,进一步加大畜禽养殖污染减排整治力度,全面部署畜禽养殖污染整治工作。加强宣传教育,耐心细致地做好群众的思想工作,积极劝导“散、乱、小”畜禽养殖户自觉改变零星养殖习惯,主动清退,共同营造卫生的农村环境。进一步加大清理整治力度,对严重污染的养殖企业依法予以查处,使整治工作严格按照时间节点推进,确保完成全年整治工作任务。

市政府先后出台了《关于开展农村畜禽养殖污染整治工作的通告》、《潮州市农村“散、乱、小”及规模化畜禽养殖污染整治工作方案》等文件,明确畜禽养殖禁养区、限养区和适养区“三区”划定、具体整治要求和采取措施,严格要求禁养区内的“散、乱、小”及规模化畜禽养殖场必须在规定期限内自行清理。环保、农业部门通力合作,切实加大畜禽养殖企业日常环保执法力度,对“未批先建”、“未验先投”、偷排、漏排、超标排放或擅自拆除、闲置防治污染设施等环境违法行为依法查处,并按污染整治方案的时间要求,组织做好清理整治工作。截至今年9月底,全市共查处畜禽养殖污染环境违法案件14宗,发出责令限期整改通知书14份,行政罚款110.4万元;清理畜禽养殖户684户,指导圈养、落实减排养殖户335户,落实减排措施规模化场24个;禁养区内清理专业户54户,规模化养殖场2个,清理完成率43%。

深入开展调研活动,积极探索废弃物资源化利用模式的研究,积极推介典型做法,逐步在全市开展以农用有机肥和农村能源为主要利用方向的先进适用技术,确保到2020年,全市畜禽粪污综合利用率达到75%以上,规模养殖场粪污处理设施装备配套率达到95%以上,大型规模养殖场粪污处理设施装备配套率达到100%,着力构建

起绿色畜牧业发展新格局。

4 当前存在的主要问题

通过一系列的专项整治活动,全市畜禽养殖污染整治工作取得一定成效,但仍存在一些问题:一是部分畜禽养殖户环保意识淡薄,责任意识不强,存在侥幸心理,对治污的资金投入不足,减排配套设施不到位;二是对照污染减排技术要求,部分畜禽养殖场的减排设施虽有配套,但存在不正常运行现象,无法维持减排效果;三是畜禽养殖散养户存在“散、乱、小”局面,涉及面广、任务重,整治难度大;四是养殖废弃物资源化利用率低。据报道,每头180天生产期的生猪日排泄系数分别为:猪粪2200克、猪尿2900克、总氮25.06克、总磷9.44克。每头猪产生的污水相当于7个人生活产生的废水,规模化养猪场一般每天冲洗粪污2次,每头猪日污水排放量为30千克,污水不经处理或处理不彻底,富营养化的污水排入河流,严重污染下游地区水源。全市110家规模化养猪场基本采用粪污沼气化处理方式,由于多数养猪场没有实现种养平衡,沼液储存池容积和土地消纳利用不够,果园、牧草地利用量远低于沼液产出量,养猪场偷排粪污现象时有发生,造成了严重的环境污染。目前,全市仅有一家规模化养猪场(潮州市雄盛种养有限公司)对污水进行物化处理。该技术通过采用混凝处理系统,在沼液中投配絮凝剂(如石灰、硫酸亚铁、碱式氯化铝、聚合三氯化铁、聚丙烯酰胺)进行处理,处理出水达到《污水综合排放标准》(GB8978-1996)一级标准,符合排放要求。但因物化处理工程建设要求高、投入资金大,目前尚未在全市范围内推广应用。

5 整治畜禽养殖污染的对策和措施

畜禽养殖业的发展,不能以牺牲生态环境和人民身体健康为前提,解决好养殖污染问题是当前农业生产工作的重中之重。今后的畜禽养殖将开启绿色环保、资源循环利用新格局,我们要按照习近平总书记提出的“绿水青山就是金山银山,保护环境就是保护生产力,改善环境就是发展生产力。坚定不移推进绿色发展,谋求更佳质量效益”的要求,着力抓好畜禽养殖污染整治工作。

5.1 要明确思路目标, 大打整治攻坚战

《国务院办公厅关于加快推进畜禽养殖废弃物资源化利用的意见》是我国畜牧发展史上第一个针对畜禽养殖废弃物处理和利用的指导性文件。今年的工作, 要以《意见》为指导, 走源头减量、过程控制、末端利用治理路径, 努力实现“三大目标”, 即: 到2020年建立科学规范、权责清晰、约束有力的畜禽养殖废弃物资源化利用制度, 全国畜禽粪污综合利用率达到75%以上, 规模养殖场粪污处理设施装备配套率达到95%以上。要把畜禽养殖污染整治列入全市“百团大战”和“农村五治理”工作, 统一部署, 上下联动, 以决战决胜的态度, 打赢全面整治农村“散、乱、小”及规模化畜禽养殖污染, 有效保护水资源、保障人民群众身体健康的攻坚战。

5.2 要加大宣传培训力度, 增强防污减污意识

据统计, 全市规模化养殖场共有134户、专业户881户、散养户有4288户。养殖户的饲养素质和环保意识良莠不齐, 普遍存在环保意识淡薄、自我解决污染能力差等问题。要通过广播电视、网络等媒体开展多种形式的宣传活动, 深入宣传畜禽养殖污染的危害, 以及整治畜禽养殖污染的重要性、必要性和紧迫性, 切实提高养殖户的环保意识。同时要充分发动群众力量, 积极举报违规偷排行为, 营造人人参与污染防治的氛围。通过举办培训班和召开现场会等形式, 组织对畜禽养殖业主进行培训, 普及环保政策、畜禽养殖污染防治技术、畜禽养殖减排台账、沼气安全使用等方面内容, 使养殖户充分认识到他们是污染治理的主体, 提高他们的环境责任意识和治污能力。

5.3 要加快推进禁养区养殖场清理, 淘汰落后产能

严格执行市政府《关于开展农村畜禽养殖污染整治工作的通告》, 进一步明确畜禽养殖禁养区、限养区和适养区“三区”的划定、具体整治要求和采取措施, 把重点流域沿岸和重要饮用水源地一定范围内的畜禽养殖场等禁养区内畜禽养殖列为整治重点, 把任务分解到各县区政府, 落实属地政府责任, 限期完成整治任务, 确保禁养区内已有的“散、乱、小”及规模化畜禽养殖场在规定期限内自行清理完毕。积极发动和引导小、散养殖户等落

后养殖方式退出养殖, 尽可能减轻养殖对环境造成的压力。

5.4 要发挥政策性导向作用, 发展规模化标准化养殖

组织开展畜禽养殖标准化示范场创建活动, 发动广大养殖场按照“五化”(畜禽良种化、养殖设施化、生产规范化、防疫制度化、粪污处理无害化)的要求开展标准化示范创建活动, 对在标准化创建活动中表现突出的养殖场在政策资金扶持方面给予倾斜。鼓励和扶持规模养殖企业强化品牌意识, 引导养殖企业开展狮头鹅、饶平乌猪等优良地方特色畜禽品种认证, 培育国家、省级农业名牌产品。

5.5 要大力推广污染防治技术, 加强养殖废弃物综合利用的指导和服

一是要推行清洁生产, 减少粪污产生量, 通过全面推广雨污分流和干清粪等清洁生产方式, 减少畜禽养殖产生的污水处理量和污水浓度。二是推广应用环保饲料, 提高畜禽的饲料利用率, 尤其应提高饲料中氮的利用率, 降低畜禽粪便中氮的污染。三是大力发展种养结合的生产模式, 鼓励有条件的养殖场采取以种定养的方式, 适当调整养殖存栏规模, 采取“猪—沼—果”、“猪—沼—菜”和“猪—沼—林”等模式实现种养平衡。四是积极组织科技人员, 指导养殖场结合实际选用适宜的污染治理和综合利用模式, 重点发展生态循环畜牧业, 采用节水养殖模式, 应用节水节料工艺, 通过粪肥还田利用, 推进种养循环发展。五是推广污水物化处理(化学氧化、活性炭吸附、混凝)等技术, 提高畜禽粪污处理能力和效率。全面推介潮州市雄盛种养有限公司“雨污分流—干清粪—固液分离—沼气池—沼液贮存池—废弃物农业利用”污染治理模式的典型做法, 提高养殖废弃物资源化利用率, 同时确保经过物化处理的污水达到《污水综合排放标准》要求。六是加强和优化病死畜禽无害化处理, 推广生物安全处理工艺(干法化制、湿法化制、生物发酵、化制+生物发酵)处理病死畜禽及胎盘, 在彻底杀灭病原微生物、防止疫病传播和保护环境的同时, 又能提供大量的有机肥料; 七是推广畜牧业生态工程技术, 采取生态综合防治措施, 对营养物质多层次的分级利用, 变废

为宝,从根本上解决畜禽养殖污染问题。

5.6 要加大执法力度,强力进行清理整治

针对畜禽养殖污染问题,各级环保、农业部门要通力合作,上下联动,强化监管,依法行政,发扬敢于碰硬的作风,切实加大畜禽养殖企业日

常环保执法力度,对偷排、漏排、超标排放或擅自拆除、闲置防治污染设施等环境违法行为,时刻保持高压态势,做到发现一起查处一起。对已被关停、拆除的养殖场,要加强跟踪监管,防止死灰复燃、再次污染环境。

上接第41页

表5 药物与病毒体外作用后对细胞的保护作用

药物	浓度(mg/mL)	试验孔OD值	病毒对照孔OD值	正常对照孔OD值	保护率(%)
莪术油	7.68×10^{-3}	$0.618 \pm 0.037^{**}$	0.374 ± 0.019	0.816 ± 0.045	55.2
利巴韦林	2.09×10^{-3}	$0.597 \pm 0.023^{**}$	0.374 ± 0.019	0.816 ± 0.045	50.5
金刚乙胺	5.41×10^{-3}	0.462 ± 0.031	0.374 ± 0.019	0.816 ± 0.045	19.9
金刚烷胺	5.72×10^{-3}	$0.493 \pm 0.047^*$	0.374 ± 0.019	0.816 ± 0.045	26.7

毒的杀灭作用很弱,对细胞的保护率很低(表5)。

3 讨论

细胞毒性是被认为是评价药物安全的一个重要指标,细胞毒性的结果不仅可以预测药物在动物体内的毒性,还能有助于给药剂量的优化^[4]。试验结果表明,莪术油对BHK细胞的毒性较阳性对照药物金刚烷胺和金刚乙胺低。

近年来畜禽病毒病逐渐增多,且防治越来越困难,抗病毒中药的试验和临床研究逐渐成为了研究的热点。目前已报道了莪术油具有抗禽流感病毒、新城疫病毒、鸡传染性法氏囊病病毒、蓝耳病病毒,猪细小病毒的作用^[5-9],但目前莪术油对严重危害妊娠母猪和仔猪健康的伪狂犬病毒的抗病毒作用尚未见报道。从莪术油对BHK细胞的保护率来看莪术油对PRV的抑制效果,是预防作用(63.7%)优于直接杀灭作用(55.2%)和治疗作用(48.7%)。

参考文献:

[1] 胡仁莉,盛水兴.规模化种猪场伪狂犬病防控和净化策略

[J]. 畜禽业, 2017, (6):12-13+15.

- [2] 南文金,黄健强,吴静波,等.2014-2016年粤北地区规模化猪场伪狂犬病血清学调查与分析[J].韶关学院学报,2017,38(9):71-74.
- [3] 李瑶,吴建华,谢艳华.莪术油的研究进展[J].陕西中医药大学学报,2017,40(3):118-121.
- [4] Jose S, Mohandas A, Philip R, et al. Primary hemocyte culture of *Penaeus monodon* as an in vitro model for white spot syndrome virus titration, viral and immune related gene expression and cytotoxicity assays [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2010, 105(3):312-321.
- [5] 黄亚东,李燕梅,项琪,等.复方莪术油溶液抗H5N1亚型禽流感病毒的作用研究[J].中国药科大学学报,2009,40(2):166-172.
- [6] 王学理,鄢长庆,刘珂飞,等.莪术油注射液鸡胚接种抗新城疫病毒的研究[J].江苏农业学报,2012,28(3):683-684.
- [7] 裴天云,侯顺利,赵改敏,等.莪术油及莪术浸出液的抗病毒效果试验[J].中国兽医科技,1995,25(12):28-29.
- [8] 徐端红,崔保安,王学兵,等.莪术油注射液的制备及体外抗PRRSV作用试验[J].江苏农业学报,2010,(10):683-684.
- [9] 徐端红,况玲,张红英,等.莪术油注射液体外抗猪细小病毒的试验[J].畜牧与兽医,2011,43(1):69-72.

冀鲁豫三省交界地区肉鸡球虫感染情况调查报告

郝风霞^{1*}, 刘承军²

(1. 山东省聊城市畜牧站, 山东 聊城 252000;

2. 山东省聊城市畜牧兽医技术服务中心, 山东 聊城 252000)

摘要:为进一步摸清冀鲁豫三省交界地区肉鸡球虫感染及发病情况, 课题组在三省交界地区各选一个县(市区)作为调查对象, 以当地饲养的杂家肉鸡为试验对象, 通过临床观察、病理分析以及实验室检查确诊的方式, 对肉鸡球虫的感染、区系等重点开展系统调查, 综合各县(市区)的感染状况, 为科学防控提供参考。结果显示, 球虫在气温高的季节感染率明显高于其他季节, 在感染周龄上以3~7周龄普遍较高, 饲养条件差的地区球虫感染率较高, 三省交界地区不同县(市区)的球虫感染率差异不明显。

关键词:肉鸡; 球虫; 感染; 调查

中图分类号:S851.34*7.1 **文献标识码:**D **文章编号:**1005-8567(2018)01-0046-03

前言

鸡球虫病是由艾美耳属的多种球虫寄生于鸡的肠道引起的高度传染性的疾病^[1], 临床主要表现为精神沉郁、消瘦、便血、肌肉苍白。肉鸡球虫病具有高发病率、高死亡率的特点, 主要发生在2~6周龄的肉鸡, 1周龄的肉鸡发病率非常低。近年来, 随着规模化集约化肉鸡养殖发展, 球虫病呈现逐年升高的态势, 是影响鸡群健康的主要传染病之一。一般来说, 肉鸡球虫病多发生在空气潮湿、气温较高的季节, 特别是连续阴雨季节; 另外鸡群密度过大、免疫、转群、气温变化大、更换饲料等应激条件均会增加球虫的发病率和死亡率。肉鸡球虫病是造成肉鸡经济损失的重要疾病之一, 可使鸡群生长缓慢, 死亡率增加, 生产力下降。我国每年因球虫病所致养鸡业的经济损失高达50亿元以上, 在没有有效防控措施或防治不当的情况下, 可导致高达60~80%以上的死亡率^[2]。

1 材料与方法

1.1 调查鸡群

在三省交界地区分别选取馆陶、莘县、大名三

县的鸡群作为调查对象, 每个县选取存栏杂交肉鸡5000~10000只的中小规模养殖场作为调查的对象, 调查鸡群日龄为28~35日龄, 饲养模式采用厚垫料地面平养的方式。

1.2 临床检查

病程为2~3周, 该病发生之初表现为: 精神沉郁, 羽毛耸立, 食欲减退, 渴欲增加, 嗉囊中充满了液体, 粪如水样并有血液、重者全血, 泄殖腔周围羽毛被排泄物污染连在一起, 最后严重的死亡。有的病鸡肠粘膜被损伤, 给病原微生物和肠道有毒物质侵入机体打开门户, 导致各种继发感染。

1.3 剖检病死鸡

重点观察肠道变化, 不同球虫类型的寄生虫所寄生的位置和对肠道的损伤程度不同。

1.4 样品采集

实验室检查以群体混合的方法进行。从各养殖场采取新鲜粪便后, 以每200只鸡的粪便为一混合样品, 装入无菌塑料袋中, 并放置在4度左右的冰箱中备用。

1.5 实验室检查

冰箱中取出样品, 按照每个样品取10克混合至

收稿日期: 2017-11-15

作者简介: 郝风霞(1969-), 女, 本科, 助理畜牧师, 主要从事动物疫病防控。E-mail: 18863029296@163.com

50毫升水中,充分混合。用60目的细筛过滤,取10毫升移至离心管,用3000转/分钟离心速度离心10分钟。倒掉上清液,在沉淀物中加入饱和食盐水,用盖玻片盖在离心管口,放置漂浮20分钟后,取盖玻片,放置在载玻片上,用显微镜观察。

2 调查结果

2.1 发病的肉鸡临床症状及剖检结果

2.1.1 调查发现临床症状表现为:精神不振,食欲降低,羽毛蓬松,生长迟缓,拉稀,粪便带有血丝,严重者便血。

2.1.2 剖检发现盲肠比正常的膨大许多,外观充血。剖检后可见粘膜增厚,内容物为血便。

2.2 实验室检查结果

2.2.1 球虫感染受到季节影响情况。由表1和表2可见,肉用仔鸡球虫病发病有明显的季节性,其中以华东地区高温潮湿的7~9月份,发病率最高;其次是寒冷干燥的4~6月份,发病率明显降低。7~9月份调查的17个饲养场,16个饲养场检测球虫阳性,阳性场达到94%;其次是4~6月份,调查的15个饲养场,9个饲养场检测球虫阳性,阳性场达到60%。

2.2.2 球虫感染受区域影响情况见表3。在检测的3400份样品中,馆陶、莘县、大名三地球虫阳性率分别为2.92%,3.5%,2.69%。

2.2.3 球虫感染受防控方法影响情况。表4表明,

在检测的3400个样品中,采用抗球虫药和疫苗免疫配合防控的阳性样品10份,单纯使用抗球虫药阳性样品80份,阳性率分别为0.2%、2%。采用抗球虫药和疫苗免疫配合防控效果明显好于单纯使用球虫药预防。

表3 球虫感染受区域影响情况

县(市区)	检查数(份)	阳性数(份)	阳性率(%)
馆陶	1200	35	2.92
莘县	600	21	3.5
大名	1600	43	2.69
合计	3400	99	2.91

表4 球虫感染受防控方法影响情况

县(市区)	调查数(份)	阳性数(份)	
		抗球虫药	抗球虫药+疫苗免疫
馆陶	1200	31	3
莘县	600	14	3
大名	1600	45	4
合计	3400	80	10

2.2.4 球虫感染受日龄影响情况。由表5可见,29~42日龄检查的1150份样品,其中阳性为54份,阳性率4.7%;15~28日龄检查850份样品,阳性样品43份,阳性率5.1%,1~14日龄检查了

表1 球虫感染受到季节影响情况

县(市区)	调查数(份)	2016年1~3月份		2016年10~12月份		2016年4~6月份		2017年7~9月份	
		检查数(份)	阳性数(份)	检查数(份)	阳性数(份)	检查数(份)	阳性数(份)	检查数(份)	阳性数(份)
馆陶	1200	300	6	300	2	300	12	300	18
莘县	600	150	4	150	1	150	7	150	10
大名	1600	400	7	400	1	400	18	400	22
合计	3400	850	17	850	4	850	37	850	50

表2 球虫感染受到季节影响情况

县(市区)	2016年1~3月份		2016年10~12月份		2016年4~6月份		2017年7~9月份	
	调查场数(个)	阳性场(个)	调查场数(个)	阳性场(个)	调查场数(个)	阳性场(个)	调查场数(个)	阳性场(个)
馆陶	7	1	6	0	5	3	5	5
莘县	4	0	8	1	5	4	5	5
大名	3	0	4	0	5	2	7	6
合计	14	0	18	0	15	9	17	16

表5 球虫感染受日龄影响情况

县(市区)	调查数(份)	1~14日龄		15~28日龄		29~42日龄	
		检查数(份)	阳性数(份)	检查数(份)	阳性数(份)	检查数(份)	阳性数(份)
馆陶	1200	600	0	300	15	400	17
莘县	600	350	0	150	8	250	12
大名	1600	800	0	400	20	500	25
合计	3400	1750	0	850	43	1150	54

1750份样品, 阳性样品0份, 阳性率为0。15~42日龄球虫病发病率较高。

3 讨论

课题组主要是在馆陶、莘县、大名3县选取调查对象, 不同季节、不同日龄、不同地区都有养殖场发生球虫病, 这表明球虫病在冀鲁豫三省交界地区的杂交肉鸡中发生的较为普遍, 应该引起足够的重视。

3.1 季节对球虫的影响

研究不同季节杂交肉鸡球虫感染情况, 可有针对性的制定相应防控措施。通过表1和表2可以看出冀鲁豫三省交界地区球虫病有4~6月份、7~9月份两个高发期。7~9月份调查的17个规模养殖场, 发病率达到94%, 4~6月份调查了15个养殖场, 发病率为60%, 1~3月份和10~12月份发病率较低。球虫病属于条件性致病因素, 特别是在高温高湿的情况下易发。7~9月份是三省交界地区夏季, 气温高, 雨水多, 造成球虫病发病率高, 这与球虫病的发病特点相符。

3.2 区域对球虫病的影响

三省交界地区的自然条件基本相同, 通过表3

可以看出, 三个县球虫的感染率差异不明显, 因这些地区的饲养条件、消毒条件、免疫条件等基本相同, 所以球虫病的发病率基本相同。

3.3 治疗方法对球虫感染的影响

通过表4可以看出, 抗球虫药结合球虫免疫的治疗方式明显优于单纯使用抗球虫药治疗的方式, 主要因为抗球虫药普遍存在抗药性的弊端, 导致单纯使用药品难以控制球虫病发生。

3.4 日龄对球虫感染的影响

通过表5可以看出, 杂交肉鸡的球虫病主要发生在15~42日龄之间, 1~14日龄的杂交肉鸡发生球虫的概率非常小, 主要因为球虫都有一定的发育期。若鸡舍消毒不彻底, 则会残留部分卵囊。1~7日龄雏鸡入舍后, 在鸡舍、污染的饮水或饲料中采食了卵囊, 卵囊在鸡体内发育2~3期, 将导致鸡只发病。因此, 临床上表现为杂交肉鸡15日龄以后球虫发病率较高。

参考文献:

- [1] 全春兰. 肉鸡球虫病的防控措施[J]. 畜禽业, 2013, 4:7-8.
- [2] 蔡建平. 详解鸡球虫病和坏死性肠炎[A]. 第三届兽医大会报告, 2012.

上接第28页

清洗马匹时注意对其腿部冲洗的时间须长些, 特别是障碍马匹在运动后腿部很容易发热, 在此时给腿部冲水降温对马的韧带和筋腱保健很重要, 可以防止胀筋。马头不能用水枪冲洗, 只能用湿水毛巾擦洗。沐浴露一定要稀释过后才能使用, 不能直接涂抹在马身上。

4.2.3 洗马中其他注意事项

控制水温, 按步骤清洁, 手法轻柔并且要细心。处理打结毛发时不能生拉硬拽, 以免弄疼马使它造成心理阴影, 往后对洗护产生抗拒心理。在清洗过程中我们需要时刻注意马的情绪, 当发现马不配合时, 我们要马上抚摸它的脖颈, 安抚它的情绪, 让马匹慢慢习惯洗护的过程。

三种聚维酮碘类消毒剂对猪场冲栏水粪便中大肠杆菌的杀菌效果比较试验

麻雨桥, 江耀伦, 武力*

(广州华农大实验兽药有限公司, 广东省现代养猪数据化工程技术研究中心, 广东 广州 510642)

摘要:评价三种市售聚维酮碘类消毒剂的杀菌效果, 为临床应用作指导。本文采用悬液定量试验程序对三种消毒剂的杀菌效果作出评价。三种消毒剂的评价试验, 在稀释倍数为1:500时, 只有一种产品对冲栏水中大肠杆菌的杀菌效果较好;在稀释倍数分别为1:250和1:500时, 只有一种产品对冲栏水粪便中大肠杆菌具有杀菌效果;而在稀释倍数为1:1000时, 三种消毒剂产品均未显示出杀菌效果。试验结果表明, 在稀释倍数分别为1:250和1:500时, 只有一种消毒剂产品对冲栏水粪便中大肠杆菌具有杀菌效果, 推荐此产品的稀释度为1:250;在稀释倍数为1:1000时, 三种消毒剂均无杀菌效果。

关键词:消毒剂; 聚维酮碘类; 冲栏水粪便; 杀菌效果

中图分类号:S859.79+9.1 **文献标识码:**C **文章编码:**1005-8567(2018)01-0049-03

The comparative study on germicidal efficacy of three povidon-iodine disinfectants on Escherichia coli in flushing fecal from pig farm

Ma Yuqiao, Jiang Yaolun, Wu Li*

(Guangzhou Huanongda Experimental Veterinary Drug Co., LTD.,

Guangdong Province Modern Pig Data Engineering Technology Research Center, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The germicidal efficacy of three commercially povidon-iodine disinfectants were compared, that would be play role in clinical application. Suspension quantitative germicidal test was used to observe the germicidal efficacy of three commercially povidon-iodine disinfectants. A total of three disinfectants were evaluated, in the dilution ratio of 1:500, only one product have better germicidal efficacy on Escherichia coli in flushing. One product have better germicidal efficacy on Escherichia coli in flushing fecal in the dilution ratio of 1:250 and 1:500. At the dilution ratio of 1:1000, the three disinfectant products did not show the germicidal efficacy. At the dilution ratio of 1:250 and 1:500, only one product has the germicidal efficacy on Escherichia coli in flushing fecal, especially in the dilution ratio of 1:250. When the dilution ratio is 1:1000, three kinds of disinfectant products have no germicidal efficacy.

Keywords: disinfectant; Polyvidone iodine; flushing fecal; germicidal efficacy

收稿日期:2017-11-08

基金项目:2016年广州市产学研协同创新重大专项(201604020051)

作者简介:麻雨桥(1988-),女,河南三门峡人,硕士研究生,助理执业兽医师,主要从事药理学研究. E-mail:545140548@qq.com

*通讯作者:武力武力(1970-),男,博士研究生,高级兽医师,主要从事兽药研究. E-mail:1187131629@qq.com

随着养猪业的快速发展, 规模化程度不断提高, 养殖密度也随之加大, 在提高养殖效益的同时, 疫病的多发也成为困扰养猪场的重要问题。病原的感染不但会引起动物死亡、生产性能降低, 造成严重的经济损失^[1], 而且一些人兽共患病原及高度传染性的病原还会对公共安全造成危害。消毒剂主要用于杀灭病原微生物, 在防病中的主要作用是将病原微生物消灭于动物体之外, 切断传染病的传播途径, 达到控制传染病的目的^[2]。依据消毒剂的有效成分类型不同, 本试验主要是针对三种聚维酮碘类消毒剂的杀菌效果进行的比较试验, 并为临床试剂应用提供依据。悬液定量杀菌试验法是消毒试验研究、消毒剂杀菌效果评价和消毒产品抽检中最常用的试验方法, 并在2002年版《消毒技术规范》中进行规范^[3]。所谓悬液定量杀菌试验, 主要在试管内进行。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验器材: 无菌麦康凯琼脂平板、试管、量筒、锥形瓶、塑料杯、钥匙、玻璃棒、无菌棉签。

试验稀释液: 冲栏水。

试验菌: 猪场保育舍粪便(主要含大肠杆菌)。

试验用消毒剂: 3个不同生产厂家生产的聚维酮碘消毒剂, 聚维酮碘含量10%, 分别称为样品一、样品二、样品三。

1.2 试验方法

1.2.1 菌悬液制备

取黄豆粒大小粪便, 加入20 ml冲栏水, 混合均匀, 备用。同时在混合好的菌悬液中放入10

根无菌棉签, 待棉签完全渗透吸收, 制成带菌棉签, 备用。

1.2.2 消毒剂稀释

根据产品使用说明, 用稀释液分别配制三个稀释倍数。其中, 稀释液与消毒剂之比分别为: 1:250、1:500、1:1000, 混合均匀, 放置20 min, 备用。

1.2.3 试验分组

分别设定对照组和样品组, 其中对照组主要设定冲栏水组、冲栏水+粪便组; 样品组分别为样品一、样品二、样品三组, 每个样品组的稀释度分别为1:500、1:250+粪便、1:500+粪便、1:1000+粪便四个处理, 在恒温培养箱连续培养24 h后进行细菌计数。具体如表1所示。

表1 试验组设计

对照组	样品组		
	样品一组	样品二组	样品三组
冲栏水	1:500	1:500	1:500
冲栏水+粪便	1:250+粪便	1:250+粪便	1:250+粪便
冲栏水+粪便	1:500+粪便	1:500+粪便	1:500+粪便
冲栏水+粪便	1:1000+粪便	1:1000+粪便	1:1000+粪便

细菌计数: 24 h后观察结果, 计数平板上大肠杆菌菌落数。计算公式: 每ml细菌总数(CFU/ml)=平板上的菌落数×2求平均值。

2 结果

具体结果如表2所示。

结果显示, 当稀释浓度为1:500时, 三种样品

表2 不同处理大肠杆菌计数结果(单位: CFU/ml)

对照组	样品组						
	样品一组		样品二组		样品三组		
组别	计数	组别	计数	组别	计数	组别	计数
名称	结果	名称	结果	名称	结果	名称	结果
冲栏水	24.5	1:500	13.5	1:500	3.5	1:500	9
冲栏水+粪便	无法计数	1:250+粪便	无法计数	1:250+粪便	1	1:250+粪便	无法计数
冲栏水+粪便	无法计数	1:500+粪便	无法计数	1:500+粪便	17	1:500+粪便	无法计数
冲栏水+粪便	无法计数	1:1000+粪便	无法计数	1:1000+粪便	无法计数	1:1000+粪便	无法计数

注: 无法计数即冲栏水及粪便中大肠杆菌过多, 超出计数范围

均具有较好的杀菌效果, 其中样品二优于其余两种。在样品中加入粪便时, 只有样品二1:250和1:500组显示出杀菌效果, 其余两种样品无杀菌效果, 且样品二的推荐稀释度为1:250。当稀释浓度为1:1000时, 三种样品均无杀菌效果。

3 分析与讨论

当稀释浓度为1:500时, 三种样品均具有较好的杀菌效果, 其中样品二优于其余两种。在样品中加入粪便时, 只有样品二1:250和1:500组显示出杀菌效果, 其余两种样品均无杀菌效果, 且样品二的推荐稀释度为1:250。当稀释浓度为1:1000时, 三种样品均无杀菌效果。

从三种消毒剂的杀菌结果比较, 此三种消毒剂对冲栏水中的大肠杆菌具有一定的杀菌效果, 且推

荐稀释度为1:500。但是对于畜禽冲栏水粪便中大肠杆菌的杀菌效果均较差, 其中当稀释度为1:250、1:500及1:1000时, 样品一与样品三均未达到杀菌效果。而样品二对粪便具有一定的杀菌效果, 且推荐稀释度为1:250。但是样品二用量巨大, 成本较高, 从实际生产角度而言, 适用性较差。

参考文献:

- [1] Nauwynck H J, Glorieux S, Favoreel H, Pet al. Cell biological and molecular characteristics of pseudorabies virus infections in cell cultures and in pigs with emphasis on the respiratory tract [J]. Veterinary Research, 2007, 38(2):229-241.
- [2] 王继. 四种消毒剂对六种病原微生物的杀灭实验[D]. 硕士学位论文. 雅安:四川农业大学, 2012
- [3] 卫生部卫生法制与监督司. 消毒技术规范[S]. 中华人民共和国卫生部, 2002.

《广东畜牧兽医科技》(双月刊) ISSN 1005-8567
(1976年创刊, 大16开本, 正文52页) CN 44-1243/S

主管单位: 广东省农业科学院

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

定 价: 每期定价10.00元, 全年60.00元(含平寄邮费)

订阅方式: 本刊实行自办发行。读者可通过邮局直接汇款至本刊编辑部。

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

地 址: 广州市天河区五山大丰一街1号103室《广东畜牧兽医科技》编辑部(邮编:510640)

电 话: 020-87576452

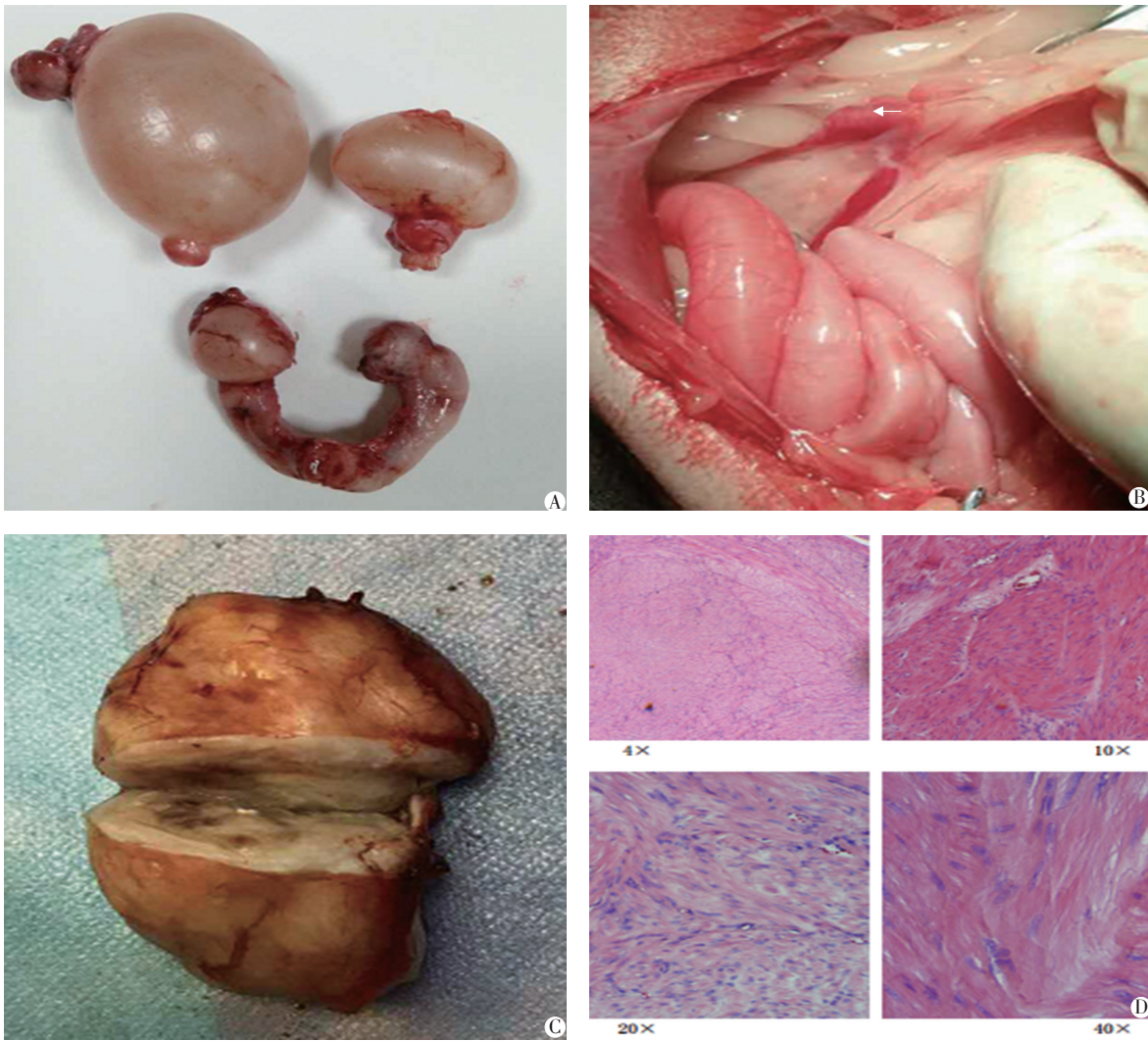
传 真: 020-87576452

E-mail: gdxmsykj@163.com

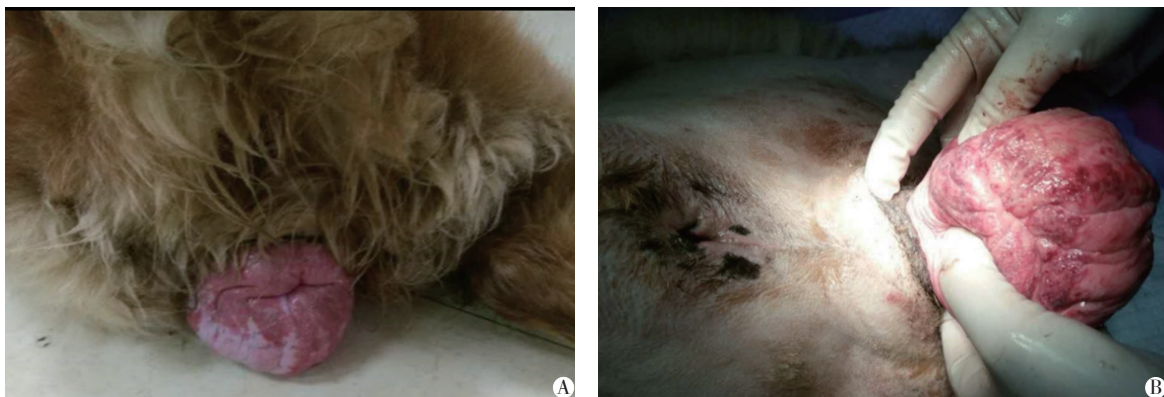
欢迎订阅

欢迎投稿

欢迎刊登广告



叶镜岳等图2 手术取出异常组织与组织病理学检查结果



叶镜岳等图3 犬阴道脱出