

双月刊 1976年3月创刊
第40卷第3期 (总第181期)
2015年06月18日出版
ISSN 1005-8567
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

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 徐志宏 舒鼎铭
孙彦伟 王贵平 张健骅 王致富
刘彩霞 熊惠军 吴玄光 刘清神

特邀编委:

陈 峰 谢志刚 林旭桢 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:广州市先烈东路135号(510500)
电 话:020-37245052 37288167
传 真:020-37245052
网 址:http://www.gdaav.org
E-mail:gdmsykj@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: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。本刊将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

·专题综述·

动物源食品中氟苯尼考及氟苯尼考胺残留检测方法的研究进展...刘传发, 杨帆(1)
维生素K的非凝血功能介绍.....党晓鹏, 宁明正(5)

·畜牧技术·

饲用酸化剂对1~63日龄黄羽肉鸡生长性能的影响.....艾琴, 方炳虎, 等(8)
蛋价春节后季节性超跌蛋鸡养殖由盈转亏——2015年1-4月我国禽蛋生产形势及后期走势分析.....虞华, 原娟娟, 等(13)
养兔是山区农民脱贫致富的好门路.....刘克俊, 周作集(16)

·兽医临床·

2012年广东猪群腹泻流行病学调查.....田云, 孙彦伟, 等(19)
不同毒株制备的两种猪口蹄疫O型灭活疫苗免疫效果对比试验.....黄兴国, 白挨泉, 等(23)
1株广西鸡H₉亚型禽流感病毒的分离鉴定和HA基因分析.....钟植文, 黎先伟, 等(26)

·试验研究·

贵妃鸡与隐性白羽鸡杂交后代产蛋性能及蛋品质研究....唐军, 刘胜洪, 等(31)
小鹅瘟病毒SYBR Green I荧光定量PCR检测方法的建立..李天芝, 于新友, 等(33)
高效液相色谱法测定癸氧喹酯含量试验方法的建立.....聂斌, 陈宝妮, 等(36)
小鹅瘟卵黄抗体效价与攻毒保护相关性试验.....藏玉婷, 张杨, 等(39)

·华南宠物园地·

实验用Beagle犬的繁殖性能分析.....胡敏华, 周治东, 等(41)
一例猫尿石症的诊断和尿道造口手术.....夏新萌, 刘承军, 等(45)

·经验交流·

仔猪腹泻的病因分析及防控措施探索.....田存锋, 吴同山, 等(48)
鸭病毒性肝炎活疫苗(CH60株)的田间免疫效果评价...丛秋实, 胡瑞鸿, 等(51)

·信息之窗·

欢迎订阅本刊.....(25)
2015“永顺杯”优秀论文评选启事.....(30)

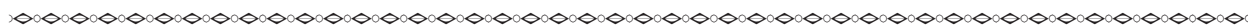
GUANGDONG JOURNAL OF ANIMAL AND VETERINARY SCIENCE

Established in march 1976(Bimonthly)

Jun.2015 Volume 40, Number 3 (Total No.181)

Main Content

- Review on Detection Methods for Florfenicol and Florfenicol Amine Residue in Animal-Derived Food •••
..... Liu Chuanfa, Yang Fan (1)
- Functions of Vitamin K in Addition to Blood Coagulation Action ••••• Dang Xiaopeng, Ning Mingzheng(5)
- Effects of Dietary Acidifiers on Growth Performance in Yellow Broiler of 1~63 day-old •••••
..... Ai Qin, Fang Binghu, et al(8)
- Price Reduction of Eggs Resulted in Loss of Egg Industry After Spring Festival •••••
..... Yu Hua, Yuan Juanjuan, et al(13)
- The Rabbits Feeding is a Worthy Industry in Mountainous Poverty Areas ••••• Liu Ke jun, Zhou Zuoji(16)
- Epidemiological Investigation of Diarrhea in Swine Herds in Guangdong 2012 •••••
..... Tian Yun, Sun Yanwei, et al(19)
- Efficacy of FMD Vaccines Produced from 2 Different FMDV Type O Strains •••••
..... Huang Xingguo, Bai Aiquan, et al(23)
- Identification and HA Gene Analysis of H₉ Subtype Avian Influenza Virus Isolated from Broiler
from Guangxi ••••• Zhong Zhiwen, Li Xianwei, et al(26)
- Determination of Laying Performance and Egg Quality in hybrid F3 of Royal Chickens×Recessive White
Feather Broiler ••••• Tang Jun, Liu Shenghong, et al(31)
- SYBR Green I Real-time Quantitative PCR Assay for Detection of Gosling Plague Virus
..... Li Tianzhi, Yu Xinyou, et al(33)
- High-performance Liquid Chromatographic (HPLC) Method for Concentration Scaling of Decoquinatate
Dry Suspension ••••• Nie Bin, Chen Baoni, et al(36)
- Correlation Analysis Between Antibody Titer to Gosling Plague and Virus Attack Protection •••••
..... Zang Yuting, Zhang Yang, et al(39)
- Analysis of Reproductive Ability of Experimental Beagle Dog ••••• Hu Minhua, Zhou Zhidong, et al(41)
- Diagnosis of Feline Urolithiasis and Cure with Urethrostomy ••••• Xia Ximeng, Liu Chengjun, et al(45)
- Disease Factors and Control strategy for Diarrheal in Piglets ••••• Tian Cunfeng, Wu Tongshan, et al(48)
- Field Efficacy of Attenuated Living Vaccine of *Duck Viral Hepatitis* (CH60 strain) •••••
..... Cong Qiushi, Hu Ruihong, et al(51)



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

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

Chief Editor: JIANG Zongyong

Vice Chief Editor: SUN Yanwei

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

Post Code: 510500

Tel: (020)37245052 37288167

Fax: (020)37245052

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

动物源食品中氟苯尼考及氟苯尼考胺残留 检测方法的研究进展

刘传发, 杨帆*

(河南科技大学动物科技学院, 河南 洛阳 471003)

摘要: 氟苯尼考是一种新型的酰胺醇类广谱抗菌药物。因其广谱、高效的抗菌特点, 在畜牧业及水产养殖中被广泛应用。与早期的酰胺醇类兽药相比, 氟苯尼考的毒性作用大大降低, 但如果长期摄入残留在动物性食品中的氟苯尼考, 仍会严重威胁消费者的健康。目前, 动物性食品中氟苯尼考及其残留标示物氟苯尼考胺的残留检测方法包括: 免疫分析法、气相色谱法、高效液相色谱法、色谱-串联质谱法和一些其他方法。本文对这些检测方法的研究进展进行综述。

关键词: 氟苯尼考; 氟苯尼考胺; 检测; 动物源食品

中图分类号: S859

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)03-0001-04

氟苯尼考(Florfenicol, FF)是一种动物专用的酰胺醇类广谱抗菌药, 其分子式为 $C_{12}H_{14}Cl_2FNO_4S$ 。在动物体内, FF的酰胺键会发生断裂, 转化为无活性的代谢物——氟苯尼考胺(Florfenicol Amine, FFA)。我国农业部确定的FF在动物体内的残留标示物即为FFA, 而欧洲药品管理局(EMA)确定的残留标示物则为FF+FFA。我国^[1]及EMA^[2]规定的FF在各靶动物组织中的最高残留限量(maximum residue limit, MRL)分别见表1和2。

FF抗菌谱广, 抗菌活性强, 价格低廉, 因此在畜牧业及水产养殖中应用广泛。但FF的消除半衰期长, 如果临床用药不合理, 很容易发生药物残留问题。与早期的酰胺醇类药物相比, FF虽不会引起再生障碍性贫血, 但却能够可逆性地抑制红细胞生成, 且具有胚胎毒性, 因此动物性组织中残留的FF或FFA会对消费者的健康造成巨大威胁。目前, 动物源食品中FF及FFA的残留检测方法包括免疫分析法、气相色谱法、高效液相色谱法、色谱-串联质谱法等。本文对这些检测方法的研究进展进行综述。

1 免疫分析法

1.1 酶联免疫吸附测定法(ELISA)

ELISA法可批量检测动物性食品中的FF和

表1 我国农业部规定的FF在不同动物各靶组织中的MRL

动物种类	靶组织	MRL(μ g/kg)	备注
家禽	肌肉	100	产蛋期禁用
	皮+脂	200	
	肝	2500	
	肾	750	
猪	肌肉	300	
	皮+脂	500	
	肝	2000	
	肾	500	
牛/羊	肌肉	200	泌乳期禁用
	肝	3000	
	肾	300	
鱼	肌肉+皮	1000	无
其他动物	肌肉	100	
	脂肪	200	
	肝	2000	
	肾	300	

FFA, 但其灵敏度稍低, 仅适用于定性或半定量分析。Tao等^[3]建立了一种化学发光ELISA方法, 用于同时检测鸡肉样品中的FF和FFA。研究人员利用甲醛将FFA与牛血清白蛋白(BSA)偶联制备成免疫原, 利用戊二醛将FF与卵清白蛋白偶联制备成包被抗原。该法检测鸡肉中的FF和FFA, 回收

收稿日期: 2015-02-04

*: 通讯作者

基金项目: 河南科技大学SRTP项目(2014267)

表2 EMA规定的FF在不同动物各靶组织中的MRL

动物种类	靶组织	MRL ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
鱼	肌肉+皮	1000
	肌肉	200
牛	肝脏	3000
	肾脏	300
	肌肉	300
猪	皮脂	500
	肝脏	2000
	肾脏	500
	肌肉	100
鸡	皮脂	200
	肝脏	2500
	肾脏	750
	肌肉	100

率分别为71.8%~102.0%和70.3%~100%;检出限分别为0.526 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和0.353 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (样本10倍稀释),及0.657 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和0.453 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (样本100倍稀释)。刘智宏等^[4]用碳二亚胺法将FFA与人血清蛋白偶联制得免疫原,免疫新西兰大白兔,建立了鱼肉和虾中FFA的间接竞争ELISA检测方法。该方法的回收率为40%~120%;鱼肉和虾中的FFA的检出限分别为6.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和6.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$,检测范围为0.2~125 ng/mL。Sheu等^[5]则利用竞争免疫ELISA法检测了猪肉、鸡肉和鱼肉中的FF。在0.3~9.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度范围内,3种肉产品中FF的平均回收率为87%~115%,检出限均为0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

1.2 化学发光免疫测定法(CLIA)

CLIA是用化学发光标记物标记抗体或抗原的一类检测方法。CLIA具有灵敏度高、线性范围宽、操作简单、经济快速、易实现自动化等优点。陶晓奇^[6]建立了猪肉中FF和鸡肉中FF与FFA的间接竞争CLIA。猪肉中FF的回收率为83.0%~102.2%,检出限为0.015 $\mu\text{g}/\text{kg}$;鸡肉中FF和FFA的回收率为70.3%~102.0%,检出限分别为0.17 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和0.12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (样本10倍稀释)及1.63 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和1.18 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (样本100倍稀释)。Tao等^[7]则建立了火腿肠中FF和FFA的CLIA检测方法,FF和FFA的检出限分别为2.8 g/kg和3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

1.3 胶体金免疫测定法(GIA)

GIA是一种用胶体金颗粒标记物标记抗体或

抗原的一类检测方法。其具有直观简单、快速方便的特点。但常用于定性分析,定量效果较差。Zhu等^[8]成功建立了基于单层膜结构的竞争胶体金免疫层析色谱法,用于快速检测动物组织样品中的FF。该技术对FF具有高度特异性,对其他抗生素无交叉反应现象。FF的检出限低至1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2 气相色谱法

气相色谱法(Gas chromatography, GC)是采用气体作为流动相的色谱分析方法。GC法具有选择性强、灵敏度高、分离效率高、分析速度快等特点。GC检测法的样品净化过程常使用固相萃取法,如分散固相萃取法^[9]和基于分子印迹聚合物微球的在线固相萃取法^[10]等。胡红美等^[9]建立了水产品(鲫鱼、青蟹、南美白对虾)中FF的GC检测方法。样品通过乙酸乙酯萃取、正己烷初步净化后,再用分散固相萃取法净化、硅烷化试剂衍生化。载气为高纯氮气,检测器为电子捕获检测器(ECD),色谱柱为DB-5MS型毛细管色谱柱(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μm)。利用该法检测鲫鱼、青蟹和对虾中FF的回收率分别为82%~106%、87%~111%和91%~98%;检出限为0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$,检测范围为6~400 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。孙丰云等^[11]建立了虾肉中FF和FFA的同步GC-微电子捕获测定法。样品经氨水-乙酸乙酯(2:98)重复提取3次,5%乙酸洗涤、正己烷净化后再经MCX固相萃取柱萃取,萃取液经5%乙酸洗涤、氨水-甲醇(10:90)洗脱,氮气吹干后用乙腈复溶,以sylon BFT试剂进行衍生化后进行GC检测。载气为高纯氮气,检测器为ECD检测器。FF和FFA的回收率分别为89.0%~93.3%和86.3%~119.6%;检出限分别为0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$;定量限分别为1.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和0.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$;检测范围为0.1~20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

3 高效液相色谱法

高效液相色谱(High performance liquid chromatography, HPLC)是以液体作为流动相的色谱分析法。因其具有高速、高压、高效和高灵敏度等特点而被广泛应用。谢恺舟等^[12]用丙酮、二氯甲烷提取,饱和正乙酯除脂、干燥浓缩,以乙腈-磷酸二氢钠溶液为流动相,建立了鸡肉中FF和FFA的荧光同步检测法。激发波长为225 nm,发射波长为290 nm,流动相速为1.0 mL/min,柱温30 $^{\circ}\text{C}$,进样量为200 μL 。该法FF和FFA的回收率

分别为 79.3%~82.5%和 80.5%~85.6%;检出限分别为 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$;定量限分别为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。Xie^[13]等用乙酸乙酯-乙腈-氨水(49:49:2)提取,正己烷除脂,采用多孔玻璃 C18 柱,以 A(乙腈)-B(0.01 mol/L 磷酸二氢钠、0.005 mol/L 十二烷基硫酸钠、0.1%三乙胺,以磷酸调 pH 至 4.8)(35:65)为流动相,建立了鸡蛋中 FF 和 FFA 的液相荧光同步检测法。激发波长为 224 nm,发射波长为 290 nm,流动相流速为 1.0 mL/min,柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,进样量为 200 μL 。该法对 FF 和 FFA 的检出限分别为 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$;定量限分别为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。谢玲玲^[14]以丙酮、二氯甲烷提取,饱和正乙酯除脂,以 A(乙腈)-B(0.04 mol/L 磷酸二氢钠、0.004 mol/L 十二烷基硫酸钠、0.1%三乙胺,以磷酸调 pH 至 3.8)(30:70)为流动相,建立了黄鳝血浆及组织(肝脏、肾脏和肌肉)中 FF 和 FFA 的同时检测方法。试验中采用紫外检测器,检测波长为 290 nm,流动相流速为 1.0 mL/min,柱温 40 $^{\circ}\text{C}$,进样量为 50 μL 。该方法 FF 和 FFA 在血浆和各组织中的平均回收率分别为 86.11%~92.08%和 85.80%~91.23%;各组织中 FF 和 FFA 的检测限为 10~30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

4 色谱-串联质谱法

4.1 GC-MS 法

Liu 等^[15]采用超临界流体萃取-原位衍生化处理虾组织样品。萃取液经氮气吹干后,以丙烯酸乙酯溶解,进一步用 GC-MS 法测定 FF 的残留量。载气为氦气,流速为 1 mL/min,检测器为 ECD 检测器,进样器温度为 260 $^{\circ}\text{C}$,气化室温度为 275 $^{\circ}\text{C}$ 。采用升温程序如下:150 $^{\circ}\text{C}$ 维持 0.5 min,之后以 60 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 290 $^{\circ}\text{C}$,维持 4 min。筛选质荷比在 300~520 原子量之间的合适质量进行选择离子检测。该法中 FF 的检出限为 15.8 ng/kg;检测范围为 8.7~17.4 ng/kg。Shen 等^[16]用乙酸乙酯-氨水(98:2)萃取,氮气吹干,甲醇溶解,4% NaCl 溶液稀释后加己烷除脂,萃取液过萃取柱后氮气吹干,以甲苯和氢氧化钠溶液为溶剂溶解,取上清进行 GC-MS 检测,建立了 GC-化学负离子化串联质谱法测定鸡和猪肌肉和肝脏中 FF 和 FFA 的浓度。采用 HP-5MS 色谱柱,氦气作载气,流速为 1.0 mL/min,进样器、气化室、离子源和四

极杆分析器的温度分别为 250、280、150 和 150 $^{\circ}\text{C}$ 。升温程序为 105 $^{\circ}\text{C}$ 维持 0.5 min 后以 30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温到 280 $^{\circ}\text{C}$,维持 5 min。该法中 FF 和 FFA 的回收率为 78.5%~105.5%,检出限均为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

4.2 LC-MS 法

目前,LC-MS 法广泛用于检测畜禽和水产类食品中的 FF 和 FFA。张伟玮等^[17]用乙酸乙酯提取鸡肉中 FF 和 FFA,经正己烷除脂后,以 MCX 柱净化,经进一步浓缩后用 HPLC-MS/MS 法检测 FF 和 FFA 的浓度。该法以 0.1%甲酸水溶液、0.1%的甲酸甲醇溶液、水及甲醇做流动相,采用梯度洗脱程序,流速为 300 $\mu\text{L}/\text{min}$,进样量为 20 μL ,柱温为 40 $^{\circ}\text{C}$;质谱离子源为 ESI 源,离子源温度为 550 $^{\circ}\text{C}$,雾化电压为 4.5 kV。该法中 FF 和 FFA 的平均回收率为 79.3%~97.3%;检出限分别为 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$;定量限分别为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。Sichilongo 等^[18]用四氢呋喃-水溶解系统,联合 LC-MS/MS 建立了牛肌肉中 FF 的检测方法。HPLC 中以 80%的四氢呋喃水溶液为进样溶剂;离子捕获质量分析仪中以氮气为雾化气体,氦气为载气,流速为 3 $\mu\text{L}/\text{min}$,毛细管温度为 300 $^{\circ}\text{C}$,雾化器电压为 4.5 kV。该法检出限为 4.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 12.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。Tao 等^[19]应用基质固相分散萃取技术处理小河虾和鲤鱼组织,进一步用 LC-MS/MS 法检测 FF 和 FFA。该法以 C18 做分散吸附剂与样品混合,以多种溶剂萃取,洗脱液在 50 $^{\circ}\text{C}$ 下经氮气吹干,残留物以 1 mL 上样溶液溶解,进样量为 10 μL ,试验中以 0.1%甲酸、5 mmol/L 乙酸铵和甲醇为流动相,采用梯度洗脱程序。该法中 FF 和 FFA 的平均回收率为 83.8%~98.8%,检出限分别为 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。Rezk 等^[20]建立了鱼组织样品中 FF 的 LC-ESI-MS/MS 检测技术。其向鱼肉中加入 0.25 mL 1%甲酸溶液、0.5 mL 乙腈和 0.5 mL 甲醇,经涡旋、震荡和离心处理后取上清液,蒸发干燥后以流动相和正己烷溶解脱脂,离心过滤后取 10 μL 上样检测。流动相为 0.1%甲酸水溶液-0.1%甲酸甲醇溶液(20:80),流速为 0.4 mL/min,柱温 25 $^{\circ}\text{C}$;质谱去溶剂气体流速 500 L/h,离子源温度 400 $^{\circ}\text{C}$,毛细管电压为 5.5 kV。该法的回收率为 95.48%~95.94%,定量限为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$,浓度线性

范围为 1~50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

现行的动物性食品中 FF 及 FFA 的检测标准^[21, 22]也多为 LC-MS 法,但这些标准一般是针对酰胺醇类兽药的多残留检测的。

5 其他方法

FF 上市以来,FF 和 FFA 的检测也出现了一些其他分析方法。如:朱力军^[23]的电位滴定法,余祥华等^[24]的旋光分析法等。但这些方法一般用于检测制剂产品中 FF 的含量,较少用于动物源食品中残留检测分析。

6 各种检测方法的优缺点比较

FF 及 FFA 的检测方法很多,不同方法各有优缺点。其中免疫分析法特异性强,检测成本低,但该方法需要提前制备标记抗原或标记抗体,操作繁琐,且抗原或抗体质量多不稳定,不同批次间会存在较大差异。这在一定程度上限制了该法在 FF 及 FFA 定量分析中的应用,因此该法更适合于定性分析。多用于定量检测前的广泛筛选。气相色谱及液相色谱法均常用于 FF 及 FFA 的定量分析。两者均有高效、灵敏和快速的优点。但因 FF 及 FFA 都不具有挥发性,在应用气相色谱法进行检测时,必须对样品进行衍生化处理。这无形中增加了样品处理过程的成本,且该过程繁琐耗时,这一缺陷限制了气相色谱法的应用范围。而在应用液相色谱法检测 FF 或 FFA 时,则不存在这个问题,且可以同时选用荧光检测器或紫外检测器。其中荧光检测器灵敏度高,更适合进行动物性食品中微量 FF 及 FFA 的检测。色谱-串联质谱法多用于酰胺醇类兽药的多残留检测及痕量物质分析。其灵敏度高、定量效果好。但所需仪器设备昂贵,操作及维护繁琐复杂,这一缺点在一定程度上限制了该方法的应用范围。

参考文献:

[1] 中华人民共和国农业部公告第 235 号. 动物性食品中兽药最高残留限量[S]. 2002 年 10 月.
 [2] Ema. Florfenicol (Extension to all food producing species) (6) [Z]. 2002:2015.
 [3] Tao X, Jiang H, Yu X, et al. Development and validation of a chemiluminescent ELISA for simultaneous determination of florfenicol and its metabolite florfenicol amine in chicken muscle[J]. Anal Methods, 2012, 4 (12): 4083-4090.

[4] 刘智宏,黄耀凌,汪霞,等. 水产品中甲砒霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺酶联免疫多残留测定[J]. 中国兽药杂志, 2010, 44 (12): 1-5.
 [5] Sheu S, Wang Y, Tai Y, et al. Establishment of a competitive elisa for detection of florfenicol antibiotic in food of animal origin[J]. Journal of Immunoassay & Immunochemistry, 2013, 34(4): 438-452.
 [6] 陶晓奇. 动物性食品中酰胺醇类残留化学发光检测技术研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2014.
 [7] Tao X, Jiang H, Yu X. Simultaneous determination of chloramphenicol, florfenicol and florfenicol amine in ham sausage with a hybrid chemiluminescent immunoassay[J]. Food Addit Contam, 2013, 30(5): 804-812.
 [8] Zhu A, Huo R, Zhou W, et al. Establishment of Colloidal Gold Immunochemistry Strip for Detection of Florfenicol Residues[J]. Curr Pharm Anal, 2014, 10(4): 263-270.
 [9] 胡红美,郭远明,雷科,等. 分散固相萃取净化-气相色谱法测定水产品中氯霉素和氟苯尼考[J]. 食品科学, 2014(08): 231-235.
 [10] 胡宇莉,何义刚,米自由,等. 分子印迹技术在兽药残留分析中的应用[J]. 动物医学进展, 2011, 32(1): 103-106.
 [11] 孙丰云,张素霞,沈建忠,等. 虾肉中氯霉素甲砒霉素氟苯尼考及氟苯尼考胺残留气相色谱-微电子捕获检测法[J]. 中国兽医杂志, 2006, 42(10): 66-68.
 [12] 谢恺舟,徐东,陈书琴,等. 高效液相色谱荧光检测法同时检测鸡肉中甲砒霉素、氟苯尼考及氟苯尼考胺残留[J]. 分析试验室, 2011, 30(7): 31-35.
 [13] Xie K, Jia L, Yao Y, et al. Simultaneous determination of thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine in eggs by reversed-phase high-performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. Journal of Chromatography B, 2011(879): 2351-2354.
 [14] 谢玲玲. 氟苯尼考在黄鳝体内的药物动力学和残留研究[D]. 华中农业大学, 2012.
 [15] Liu W, Lee R, Lee M. Supercritical fluid extraction in situ derivatization for simultaneous determination of chloramphenicol, florfenicol and thiamphenicol in shrimp[J]. Food Chem, 2010, 121(3): 797-802.
 [16] Shen J, Xia X, Jiang H, et al. Determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol, and florfenicol amine in poultry and porcine muscle and liver by gas chromatography-negative chemical ionization mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2009(887): 1523-1529.
 [17] 张伟玮,曾明华,许世富,等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定鸡肉中氯霉素类药物及其代谢物残留方法的建立[J]. 安徽农业大学学报, 2012(04): 641-645.
 [18] Sichilongo K F, Kolanyane P, Masesane I B. A sensitive

维生素K的非凝血功能介绍

党晓鹏¹, 宁明正²

(1. 陕西金冠牧业有限公司, 陕西 西安 710018; 2. 陕西省蒲城县龙阳畜牧兽医站, 陕西 渭南 715507)

摘要: 维生素K经典的生理功能主要是参与凝血酶原及凝血因子合成。随着对维生素K营养生理功能研究的不断深入, 发现其除促进凝血功能外, 还参与骨钙素合成, 调节骨骼代谢, 预防骨质疏松症, 促进糖代谢, 抗肿瘤, 维持心血管健康等非凝血功能。

关键词: 维生素K; 骨骼营养; 糖代谢; 抗肿瘤; 心血管健康

中图分类号: S852.4¹⁵

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)03-0005-03

维生素K自从上世纪30年代发现至今,其生理功能研究主要是在促进凝血因子合成方面^[1]。维生素K是凝血酶原(凝血因子II)、斯图尔特因子(凝血因子X)、转变加速因子前体(凝血因子VII)和血浆促凝血酶原激酶(凝血因子IX)等凝血因子激活所必需的营养物质,凝血因子激活后才能保证机体凝血功能正常发挥。随着对维生素K营养生理功能研究的不断深入,发现其除促进凝血功能外,还有参与骨骼代谢,预防骨质疏松症,促进糖代谢,抗肿瘤,维持心血管健康等等其它方面的诸多功能。

畜禽体内维生素K的转运主要依赖极低密度脂蛋白(VLDL)和低密度脂蛋白(LDL)。迄今尚未发现维生素K有血浆转运的特异性载体。

以家禽为例,美国NRC和我国《饲料添加剂安全使用规范》推荐的维生素K需要量均是0.5 mg/kg。但近年来有研究认为,家禽对维生素K的最低生理需求是1 mg/kg,但为保证种蛋的高孵化率和雏鸡的存活率,添加量需进一步加大,最高可添加至10 mg/kg。

维生素K缺乏引起畜禽凝血时间延长及出血症,严重时导致贫血发生。初生仔猪在断脐时会因流血过多而衰弱消瘦,生长缓慢,形成僵猪,甚至死亡。育肥猪缺乏维生素K会表现出全身充血性肿胀,耳部血肿等症状。妊娠母猪缺乏维生素K,常导致新生仔猪流产死亡等情况发生。

饲料工业中使用的维生素K,通常是维生素

K₃盐类。维生素K₃盐比维生素K₃稳定,且水剪性强,易被畜禽吸收。商品维生素K₃主要有亚硫酸氢钠甲萘醌(MSB),亚硫酸氢钠酰胺甲萘醌(MNB)和二甲基嘧啶醇亚硫酸甲萘醌(MPB),其活性成分含量分别为51%、43.7%和44%。

1 维生素K与骨骼代谢

传统的营养学知识认为,骨骼代谢主要与维生素A和维生素D₃有关。但近年来的研究表明,维生素K也是骨和钙代谢的必需物质和关键控制因子,特别是在促进骨骼矿物质沉积,提高骨密度,预防骨折和骨质疏松症方面,均有重要作用。维生素K以辅酶的形式参与骨羧基谷氨酸蛋白(BGP)的合成。BGP是由成骨细胞产生和分泌的一种非胶原蛋白,是一种具有调节骨骼代谢作用的类激素物质。维生素K调节骨骼代谢和预防骨质疏松症主要是通过谷氨酸蛋白羧化反应完成的。羧化反应使骨骼中的维生素K依赖性蛋白质(主要是骨钙素)活化,将无活性的谷氨酸残基(Glu)转化为有活性的羧基谷氨酸(Gla)。骨钙素可增强羟基磷灰石与血清中钙离子的结合能力,促进骨骼钙盐沉积和骨质矿化,提高骨密度,减少骨折,防止发生骨质疏松症^[2]。在大鼠成骨细胞培养液中加入维生素K,其分泌碱性磷酸酶和骨钙素的量增加,骨骼钙盐沉积增多,骨质密度加强^[3]。维生素K使体内骨钙素活性增强,钙体内滞留增加,排泄减少,骨钙沉积增加。畜禽维持正常骨骼代谢所需维生素K的量远高于促进血凝和防止出血贫

血的剂量。肉鸡试验研究结果表明,保持正常凝血状态对维生素 K 的需要量仅为 0.5 mg/kg, 而预防骨质疏松症, 保证骨骼良好发育则需 2~8 mg/kg。饲料中添加高剂量的维生素 K 后,0-3 周肉仔鸡血清骨钙素的羟基磷灰石结合力、骨骼折断力、骨骼挠度和骨灰分重等指标呈线性增加。骨矿密度和骨矿含量随着维生素 K 水平的添加呈二次曲线增加^[4]。维生素 K 可显著促进幼禽和幼畜的钙磷代谢及骨骼生长发育, 有效预防骨质疏松症。养殖生产中, 维生素 K 缺乏导致畜禽凝血障碍的例子并不多, 但影响钙磷代谢, 发生骨折和骨质疏松症的病例却并不鲜见。维生素 K 可有效预防骨折, 缺乏维生素 K 时钙质的流失比较严重, 骨折的危险性会加大。维生素 K 可以阻止过多破骨细胞的形成, 减少骨骼中钙的溶出和流失。另外一个机制是恢复骨蛋白在骨骼结构中的作用, 促进骨骼矿物质沉积, 提高骨质密度和强度。

2 维生素 K 与糖代谢

维生素 K 可有效改善胰腺功能, 促进胰岛素分泌, 稳定血糖水平^[5]。人类服用维生素 K 也能明显改善胰岛素的功能, 能促进外周组织血糖代谢^[6,7]。研究发现维生素 K 水平与胰岛素敏感指数 (ISI) 呈正相关。ISI 是一个评估胰岛素敏感性的指标, 其中包含了胰岛 β 细胞对血糖的反应以及肝脏对胰岛素的敏感性^[8,9]。维生素 K 缺乏会造成糖代谢紊乱, 抑制糖酵解过程, 并有可能最终导致糖尿病^[10,11]。维生素 K 与胰岛素抵抗及糖代谢相关的生理机制尚不完全清楚。实验证明: 维生素 K 依赖性骨钙素可以提高胰岛素的敏感性及改善胰岛细胞功能^[12,13]。维生素 K 对胰岛素抵抗有保护作用。

3 维生素 K 与抗肿瘤

维生素 K 是具有萘醌结构的化合物, 能抑制白血病、肝癌等肿瘤细胞的生长。维生素 K 的不饱和链对肿瘤细胞也有抑制作用。虽然维生素 K 抑制肿瘤细胞的作用机制还不十分清楚, 但维生素 K 化学结构中的萘醌核可通过氧化还原反应, 产生大量氧自由基, 诱导 DNA 片段化和半胱天冬酶活化。二者都是细胞凋亡的标志性物质。维生素 K 能对多种肿瘤细胞产生细胞毒性, 选择性地抑制线粒体 DNA 的复制和修复。表现出对癌症细胞独特的细胞毒性, 导致癌细胞凋亡和坏死。维生素 K 抗癌抗肿瘤的主要机理是通过产生自由基, 耗

竭细胞的 ATP 来抑制细胞增殖。甲萘醌类物质产生的氧自由基, 直接作用于细胞, 打破细胞内环境的稳定, 引起细胞内钙离子浓度升高, 能量缺失, 谷胱甘肽被氧化及 NADPH、蛋白巯基和脂质的氧化等。氧自由基是肿瘤细胞凋亡过程中起关键作用的中间体^[14]。多项研究表明维生素 K 有抑制癌症细胞增殖的作用。主要是通过抑制遗传信号传导途径, 破坏并引起 DNA 损伤, 阻止癌症细胞增殖。维生素 K 与血管紧张素转化酶抑制剂协同作用可显著降低实验性肝癌的发生^[15], 并具有抑制肿瘤生长及诱导其凋亡的作用^[16]。维生素 K 促肝癌细胞凋亡的试验研究表明, 维生素 K 对肝癌细胞的生长有明显抑制作用。并诱导肿瘤细胞发生凋亡, 细胞核固缩、核染色质聚集或断裂^[17]。在肝癌细胞凋亡过程中, 凋亡相关基因转录水平增强^[18]。维生素 K 对肝癌细胞凋亡的影响及其基因表达的变化表明, 维生素 K 能抑制肝癌细胞增殖。并诱导其发生凋亡^[19]。维生素 K 能诱导肿瘤细胞自噬和胞质自切, 增强癌症放疗和化疗的治疗效果。

4 维生素 K 与心血管疾病

维生素 K 对血管钙化具有强烈的抑制作用, 可彻底清除血管壁钙斑, 恢复血管弹性。动脉血管管壁钙化是导致心血管疾病最重要的危险因素。维生素 K 通过维生素 K 依赖的钙化抑制剂—基质 Gla 蛋白质 (Matrix Gla Protein, MGP) 发挥作用。不仅能抗氧化, 而且能促进血管壁平滑肌生长, 抑制血小板聚集, 阻止动脉血管钙化^[20]。体内敲除基质 Gla 蛋白的小鼠会发生机体广泛的动脉钙化的实验也证明维生素 K 有利于心血管健康, 可降低冠心病的发生率^[21]。

综上所述, 随着对维生素 K 生理功能和基因表达研究的不断深入, 维生素 K 对畜禽的生理功能丰富多样。除其经典的促进凝血因子合成, 防止出血贫血外, 还具有参与机体钙磷代谢, 促进骨矿沉积, 预防骨折及骨质疏松症, 促进糖代谢, 抗肿瘤, 维持心血管健康等生理功能。

参考文献:

- [1] Lee Russell McDowell. Vitamins in animal and human nutrition[M]. Iowa: Iowa state university press, 2000.
- [2] Vermeer C, Knapen MH, Schurgers LJ. Vitamin K and metabolic bone disease[J]. J Clin Pathol, 1998, 51(6): 424-426.

- [3] Koshihara Y, Hoshi K. Vitamin K enhances osteocalcin accumulation in the extracellular matrix of human osteoblasts in vitro[J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 1997, 12(3):431-438.
- [4] 张彩云. 维生素 K 影响肉仔鸡骨骼质量变化机理的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2003.
- [5] sakamoto N, wakabayashi I, sakamoto K. Low vitamin K intake effects on glucose tolerance in rats[J]. *Int J Vit Nut Res*, 1999, 69(1):27-31.
- [6] Sahmoto N, Nishiilke T, Iquchi H, et al. Relationship between acute insulin response and vitamin K intake in healthy young male volunteers [J]. *Dia Nut Met*, 1999, 12(1):37-41.
- [7] Sahnoto N, Nishiilke T, Iquchi H, et al. Possible effects of one week vitamin K tablets intake on glucose tolerance in healthy young male volunteers with different descarboxy prothrombin levels [J]. *Clin Nutr*, 2000, 19(4):259-263.
- [8] Yshida M, Booth S, Meiqs J, et al. Phylloquinone intake insulin sensitivity and glycemic status in men and women[J]. *Am J Clin Nutr*. 2008. 88(1):210-215.
- [9] Cutt M, Davis C, Spitzer S, et al. Validation of the insulin sensitivity index: comparison with other measure[J]. *Diabetes Res. Clin. Prac*, 2000, 47(3):177-184.
- [10] Lillioja S, Mott D, Spraul M, et al. Insulin resistance and insulin secretory dysfunction as precursors of noninsulindependent diabetes mellitus[J]. *N Eng J Med*, 1993, 329(27):1988-1992.
- [11] Weyer C, Tataranni P, Bogardus C, et al. Insulin resistance and insulin secretory dysfunction are independent predictors of worsening of glucose tolerance during each stage of type 2 diabetes development[J]. *Diabetes care*, 2001, 24(1):89-94.
- [12] Thijssen H, Driittij R, Eijnda M. Vitamin K status in human tissues: tissue specific accumulation of phylloquinone and menaquinone[J]. *Br J Nutr*, 1996, 75(1):121-127.
- [13] Lee N K, sawa H, Hilloi E, et al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton[J]. *Cell*, 2007, 130(3):456-469.
- [14] Nisllikawa Y, Carr B, Meifang W, et al. Growth Inhibition of Hepatom Cells Induced by Vitamin K and Its Analogs[J]. *Biol Chem*, 1995, 270(47):28304-28310.
- [15] Czerwicz E, Begley G, Bronstein M, et al. Expression and characterization of recombinant vitamin K-dependent γ -glutamyl carboxylase from an invertebrate[J]. *Eur J Biochem*, 2002, 69:6162-6172.
- [16] Yaguchi M, Miyazawa K, Katagiri T, et al. Vitamin K₂ and its derivatives induce apoptosis in leukemia cells and enhance the effect of all-trans retinoic acid[J]. *Leukemia*, 1997, 11(6):779-787.
- [17] 王彤, 王琛周雄. 维生素 K₃ 促肝癌细胞凋亡的实验研究[J]. *中华普通外科杂志*, 2005, 20(6):365-367.
- [18] Laux I, Nel A. Evidence that oxidative stress induced apoptosis by nadenone involves fas-dependent and fas-independent pathways [J]. *Clin Immuno*, 2001, 101:335-344.
- [19] 石亮, 林向阳, 陈晓东, 等. 维生素 K₃ 诱导肝癌细胞 SMMC-7721 凋亡及其 survivin 基因表达的变化[J]. *临床检验杂志*, 2007, 25(7):189-191.
- [20] Gast G, deroos N, Sluijs I, et al. A high menaquinone intake reduces the incidence of coronary heart disease[J]. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 2009, 19(7):504-510.
- [21] Geleijnse J, Vermeer C, Grobbee D, et al. Dietary intake of menaquinone is associated with a reduced risk of coronary heart disease[J]. *J Nutr*, 2004, 134(11):3100-3105.



(上接第 4 页)

- LC-MS/MS method employing a THF-water solvent system for the determination of chloramphenicol, thiamphenicol and florfenicol in bovine muscle[J]. *ANALYTICAL METHODS*, 2014, 6(17):7015-7021.
- [19] Tao Y, Zhu F, Chen D, et al. Evaluation of matrix solid-phase dispersion (MSPD) extraction for multi-phenols determination in shrimp and fish by liquid chromatography-electrospray ionisation tandem mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2014(150):500-506.
- [20] Rezk M R, Riad S M, Khattab F I, et al. Multi-residues determination of antimicrobials in fish tissues by HPLC-ESI-MS/MS method[J]. *Journal of Chromatography B*, 2015(978-979):103-110.
- [21] 中国标准. 河豚鱼、鳗鱼和烤鳗中氯霉素、甲砒霉素和氟苯尼考残留量的测定:液相色谱-串联质谱法[S]. 中国, 2008.
- [22] 中国标准. 可食动物肌肉、肝脏和水产品中氯霉素、甲砒霉素和氟苯尼考残留量的测定:液相色谱串联质谱法[S]. 中国, 2006.
- [23] 朱力军. 采用电位法测定氟苯尼考及其制剂的含量[J]. *中国兽药杂志*, 2000, 34(4):27-29.
- [24] 余祥华, 曾勇. 旋光法测定氟苯尼考含量[J]. *中国兽药杂志*, 2002, 36(7):53.

饲用酸化剂对 1~63 日龄黄羽肉鸡生长性能的影响

艾 琴*, 方炳虎, 陈瑞爱, 湛穗璋, 黎乃添, 梁惠莲, 袁照红
(广东大华农动物保健品股份有限公司, 广东 新兴 527400)

摘要: 本试验旨在评估饲用酸化剂对 1~63 日龄黄羽肉鸡生长性能、肠道损伤和盲肠微生物菌群变化的影响, 同时探讨壳寡糖对饲用酸化剂的增效作用。试验采用单因素完全随机区组设计, 设对照组 (Con.)、饲用酸化剂 (Trt. 1) 和饲用酸化剂 + 壳寡糖 (Trt. 2) 共 3 个处理。每个处理 5 个重复, 每个重复 50 羽。饲养周期为 63 天。试验结果表明, 从零日龄开始持续在黄羽肉鸡日粮中添加饲用酸化剂、饲用酸化剂 + 壳寡糖后, 对 1~21d 和 22~42d 阶段黄羽肉鸡生长性能的影响未达显著 ($P > 0.05$) 水平; 但在 43~63d 阶段时, 与对照组相比, 添加饲用酸化剂、饲用酸化剂 + 壳寡糖组的耗料增重比分别降低 0.11 和 0.14, 具有极大的生产意义; 且饲用酸化剂添加组盲肠大肠杆菌 / 乳酸杆菌值显著 ($P > 0.05$) 低于对照组, 饲用酸化剂 + 壳寡糖添加组盲肠大肠杆菌 / 乳酸杆菌值显著 ($P > 0.05$) 低于对照组和饲用酸化剂添加组。说明饲用酸化剂可通过维持肠道健康, 促进养分消化吸收, 从而提高饲料利用率; 而壳寡糖在平衡肠道菌群、维持肠道健康方面对饲用酸化剂有增效作用。

关键词: 饲用酸化剂; 壳寡糖; 黄羽肉鸡; 生长性能; 盲肠; 大肠杆菌; 乳酸杆菌

中图分类号: S813.24

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)03-0008-05

Effects of Dietary Acidifiers on Growth Performance in Yellow Broiler of 1~63 day-old

Ai Qin*, Fang Binghu, Chen Ruiai, Zhan Suizhang, Li Naitian, Liang Huilian, Yuan Zhaohong
(Guangdong Dahuanong Animal Health Products Co., Ltd., Yunfu 527400, China)

Abstract: This study was conducted to evaluate the effects of dietary supplementation with acidifiers on growth performance, intestinal health and cecum microbial flora of Yellow broiler of 1~63day-old. A synergistic effect of chit-oligosaccharides to acidifiers was evaluate at the same time. A total of 750 zero day-old Yellow Broilers were randomly allocated to 3 treatments with 5 replicates pen per treatment and 50 birds per pen. The control group was fed basal diet, the test groups were fed the diets with acidifiers and acidifiers plus chit-oligosaccharides, respectively. The experiment lasted for 63days. The results showed as follows: 1) No significant ($P > 0.05$) differences were found in growth performance of Yellow Broilers for 1~21 and 22~42 day-old. 2) Compared with the control group, the supplementation of acidifiers or acidifiers plus chi-oligosaccharides group decreased the F: G by 0.11 and 0.14 during 43~63 day-old, respectively. 3) Compared with the control group, the supplementation of acidifiers group decreased the ratio of enumeration of cecum coliforms to lactic acid bacteria significantly ($P > 0.05$), and the supplementation of acidifiers plus chit-oligosaccharides group had the minimum ratio ($P > 0.05$). In conclusion, the supplementation of acidifiers can enhance the nutrients absorptivity via decrease the ratio of enumeration of cecum coliforms to lactic acid bacteria, protecting the health of intestinal. And the chit-oligosaccharides had synergistic effect to acidifiers on maintaining the balance of micro ecological for intestinal tract.

Key words: Acidifiers; Chit-oligosaccharides; Yellow Broilers; Growth performance; Cecum; Coliforms; Lactic acid bacteria

饲用酸化剂是广东某动物保健品股份有限公司根据配方均匀设计、响应面设计等科学设计理

念, 结合大量文献报道研制的饲用新型酸度调节剂。其主要成分包括乳酸、柠檬酸、正丁酸、富马

收稿日期: 2015-04-27

*: 通讯作者

基金项目: 大华农科研基金项目《新型高效饲用酸化剂产品研发》

酸、磷酸等。壳寡糖是由壳聚糖解聚制成,是甲壳素、壳聚糖产品的升级产品。其通过调节动物肠道内微生物代谢活动,选择性地活化、增殖有益菌生长,降低胆固醇及血脂含量,提高机体免疫能力。为了验证饲用酸化剂配方结构的合理性以及壳寡糖对饲用酸化剂的增效作用,本研究室从生长性能、肠道健康评分和盲肠微生物菌群变化 3 方面出发,对饲用酸化剂及其增效剂对家禽生长性能和肠道健康的影响进行了研究。

1 材料与方 法

1.1 饲用酸化剂及壳寡糖

试验用饲用酸化剂为广东某动物保健品股份有限公司技术中心自主研发、配制的产品。主要成分为乳酸、柠檬酸、正丁酸、富马酸、磷酸、辅料等。壳寡糖为市购食品级壳寡糖,有效成分含量为 99%;使用时按照特定比例添加到饲用酸化剂中,同时减少饲用酸化剂中同质量的辅料用量。

1.2 试验动物与试验时间、地点

以矮脚黄 A 肉鸡为研究对象,于 2014 年 11 月 5 日-2015 年 1 月 18 日在广东温氏食品集团股份有限公司技术中心科研基地肉鸡试验场 3 号鸡舍进行。

1.3 试验设计

本试验选取健康、体重均匀的黄羽肉鸡 750 只,按照体重随机分为 15 个栏,每栏 50 只。试验设对照组(Con.)、饲用酸化剂(Trt. 1)和饲用酸化剂+壳寡糖(Trt. 2)共 3 个处理。每个处理 5 个重复,每个重复为 1 栏。饲养周期 1-63 日龄。

1.4 日粮组成及营养水平

采用三阶段饲养程序,基础日粮配方由广东温氏食品集团股份有限公司技术中心禽配方室提供,由科研基地生产,其组成及营养水平详见表 1。饲用酸化剂和饲用酸化剂+壳寡糖的添加量分别为小鸡阶段 0.1%、中、大鸡阶段 0.2%。

1.5 饲养管理

各处理组试验鸡除使用的日粮不同外,其它的饲养管理方法完全一致,均按广东温氏食品集团股份有限公司编制的《肉鸡饲养管理手册》严格执行。鸡只自由采食、饮水。

1.6 测定指标与方法

生长性能:测定 1~21 d、22~42 d 和 43~63 d 阶段各组的试初均重、试末均重、日均增重、

表 1 基础日粮配方组成及营养水平

原料	小鸡 (1~21d)	中鸡 (22~42d)	大鸡 (43~63d)
玉米	620.38	669.54	702.73
豆粕	248.65	147.42	75.71
玉米蛋白粉	30.00	49.42	60.00
棉粕	40.00	60.00	80.00
大豆油	14.60	26.60	36.50
磷酸氢钙	18.60	16.40	14.70
石粉	10.00	10.60	10.70
食盐	3.50	3.50	3.60
防霉剂	1.00	1.00	1.00
氯化胆碱(50%)	1.00		
氯化胆碱(60%)		0.80	0.80
0.4%预混料(小鸡)	4.00		
0.4%预混料(中鸡)		4.00	
0.4%预混料(大鸡)			4.00
赖氨酸 70%	4.73	6.92	7.48
固体蛋氨酸 98%	2.68	2.51	1.50
苏氨酸	0.86	1.29	1.28
合计	1000	1000	1000
营养水平(%)			
粗蛋白质	20.50	18.50	17.00
钙	0.90	0.85	0.80
非植酸磷	0.41	0.41	0.38
钠	0.16	0.16	0.16
鸡代谢能(kcal/kg)	2900.00	3050.00	3150.00
可消化赖氨酸	1.10	1.00	0.88

日均采食量、耗料增重比、成活率。

肠道健康:试验结束时每个重复组随机选取体重接近的 2 只肉鸡屠宰,进行小肠健康状态、脚底损伤和胸部损伤评分;采集盲肠,在实验室进行大肠杆菌菌落计数(GB 4789.3-2010)和乳酸菌菌落计数(GB 4789.35-2010)。

1.7 数据分析

采用 EXCEL 对数据进行初步整理,SPSS19.0 中的 ANOVA 程序包进行单因素方差分析。方差分析显著者以 DUNCAN 法进行多重比较,结果以平均数±标准误表示。以 $P<0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 饲用酸化剂对 1~21 d 阶段肉鸡生长性能的影响

饲用酸化剂对 1~21 d 小鸡生长性能的影响见表 2。由表 2 可见,在对照组(Con.)日粮基础上添加 0.1%的饲用酸化剂(Trt. 1)或饲用酸化剂+壳寡糖(Trt. 2)对 1~21 d 阶段的试末均重、日均增重、日采食量、耗料增重比和成活率影响均未达显著水平($P>0.05$)。

2.2 饲用酸化剂对 22~42 d 阶段肉鸡生长性能的影响

饲用酸化剂对 22~42 d 中鸡生长性能的影响见表 3。由表 3 可见,在对照组日粮基础上添加 0.2%的饲用酸化剂或饲用酸化剂+壳寡糖对 22~42 d 中鸡日采食量、耗料增重比和成活率间影响均未达显著水平($P>0.05$)。但饲用酸化剂组(Trt. 1)第 42 d 试末均重和 22~42 d 日均增重比饲用酸化剂+壳寡糖组(Trt. 2)分别高 4.45%和 7.12%($P<0.05$)。

2.3 饲用酸化剂对 43~63 d 阶段肉鸡生长性能的影响

饲用酸化剂对 43~63 d 大鸡生长性能的影响见表 4。由表 4 可见,饲用酸化剂(Trt. 1)添加组的日均增重比对照组提高 8.35%,耗料增重比降低 0.11。虽然饲用酸化剂+壳寡糖(Trt. 2)组的试末均重和采食量差异均不显著($P>0.05$),但由于试初均重比对照组(Con.)低 6.39%($P<0.05$),因此说明饲用酸化剂+壳寡糖组出现补偿性生长,表现在饲用酸化剂+壳寡糖(Trt. 2)添加组的日均增重比对照组(Con.)显著($P<0.05$)提高 8.74%,耗料增重比降低 0.14。

2.4 饲用酸化剂对 1~63 日龄阶段肉鸡生长性能的影响

饲用酸化剂对 1~63 d 肉鸡生长性能的影响见表 5。由表 5 可见,对照组(Con.)、饲用酸化剂(Trt. 1)和饲用酸化剂+壳寡糖(Trt. 2)三个处理组间肉鸡 1~63 d 试末均重、日均增重、日采食量、耗料增重比和成活率间差异均未达显著水平($P>0.05$)。

表 2 饲用酸化剂对 1~21d 小鸡生长性能的影响

处理	试初均重 (g/只)	试末均重 (g/只)	日均增重 (g/d.只)	日采食量 (g/d.只)	耗料增重比	成活率(%)
Con.	36.76±0.37	414.66±7.46	17.99±0.36	30.76±0.54	1.71±0.01	99.2±0.50
Trt. 1	36.60±0.00	403.17±4.51	17.46±0.21	30.02±0.40	1.71±0.02	99.2±0.80
Trt. 2	36.60±0.00	404.83±3.54	17.53±0.17	29.95±0.37	1.71±0.01	99.6±0.40
P 值	0.619	0.180	0.191	0.239	0.543	0.656

表 3 饲用酸化剂对 22~42d 中鸡生长性能的影响

处理	试初均重 (g/只)	试末均重 (g/只)	日均增重 (g/d.只)	日采食量 (g/d.只)	耗料增重比	成活率(%)
Con.	416.32±7.13	1260.91±6.98 ^{a*}	40.20±0.23 ^a	91.34±0.77	2.27±0.02	99.20±0.80
Trt. 1	409.14±5.08	1230.59±33.16 ^{ab}	39.12±1.47 ^{ab}	91.88±1.46	2.36±0.08	99.14±0.53
Trt. 2	411.21±3.18	1178.09±9.56 ^b	36.52±0.34 ^b	88.84±1.29	2.43±0.03	99.14±0.53
P 值	0.635	0.040	0.033	0.208	0.143	0.997

*:数据以平均值±标准误表示;同一列中具有不同肩标字母者表示差异显著($P<0.05$)。

表 4 饲用酸化剂对 43~63d 大鸡生长性能的影响

处理	试初均重 (g/只)	试末均重 (g/只)	日均增重 (g/d.只)	日采食量 (g/d.只)	耗料增重比	成活率(%)
Con.	1260.91±6.98 ^{a*}	2279.17±36.17	48.49±1.68 ^b	137.18±2.51	2.84±0.06	99.15±0.52
Trt. 1	1235.72±32.30 ^{ab}	2339.04±18.87	52.54±1.06 ^a	143.15±1.51	2.73±0.05	99.55±0.44
Trt. 2	1180.36±9.23 ^b	2287.73±15.09	52.73±0.83 ^a	142.39±2.20	2.70±0.01	99.54±0.45
P 值	0.038	0.231	0.055	0.136	0.095	0.791

*:数据以平均值±标准误表示;同一列中具有不同肩标字母者表示差异显著($P<0.05$)。

表 5 饲用酸化剂对 1~63 d 肉鸡生长性能的影响

处理	试初均重 (g/只)	试末均重 (g/只)	日均增重 (g/d、只)	日采食量 (g/d、只)	耗料增重比	成活率(%)
Con.	36.76±0.37	2279.17±36.17	35.57±0.57	86.42±1.08	2.43±0.02	97.62±1.15
Trt. 1	36.60±0.00	2339.04±18.87	36.37±0.31	88.35±0.94	2.43±0.04	98.00±1.09
Trt. 2	36.60±0.00	2287.73±15.09	35.59±0.21	87.06±1.02	2.44±0.02	98.40±0.75
P 值	0.619	0.231	0.295	0.417	0.833	0.865

2.5 饲用酸化剂对肉鸡肠道健康和体表损伤的影响

由屠宰试验(表 6)可见,饲用酸化剂或饲用酸化剂+壳寡糖组肠道结构紧致,肠壁较厚,弹性好。对照组肠道有明显的出血斑,空肠和回肠部位较饲用酸化剂组粗,且肠壁弹性较弱。各处理组间胸部损伤和脚底损伤未表现明显差异,这可能与

表 6 饲用酸化剂对肉鸡肠道健康和体表损伤的影响

组别	胸部损伤(个)	脚底损伤(个)	小肠健康状态评分(10只总分)
Con.	2/10	0/10	16.5
Trt 1	0/10	0/10	8.5
Trt 2	0/10	1/10	9.5

注:每组根据平均体重随机屠宰 10 只。肠道健康评分分为 0-4 分,0 分代表正常,4 分代表损伤严重。



图 1 小肠评分依据

试验期间季节干燥有关。

2.6 饲用酸化剂对 63 d 黄羽肉鸡盲肠大肠杆菌数量的影响

饲用酸化剂对第 63 d 黄羽肉鸡盲肠大肠杆菌数量的影响见表 7。由表 7 可见,饲用酸化剂+壳寡糖组的盲肠大肠杆菌数量显著低于对照组和饲用酸化剂组 ($P < 0.05$);饲用酸化剂组的乳酸菌菌落数显著高于对照组和饲用酸化剂+壳寡糖组的 ($P < 0.05$);大肠杆菌与乳酸菌比值可见,饲用酸化剂+壳寡糖组的值显著低于饲用酸化剂组的 ($P < 0.05$),且两组均显著低于对照组的 ($P < 0.05$)。

表 7 饲用酸化剂对 63 d 黄羽肉鸡盲肠大肠杆菌和乳酸菌数量的影响

组别	盲肠大肠杆菌, $\times 10^6$ CFU/g	盲肠乳酸菌, $\times 10^8$ CFU/g	盲肠大肠杆菌/ 乳酸杆菌
Con.	85.00±6.0 ^{a*}	0.99±0.03 ^b	85.75±3.46 ^a
Trt 1	105±18 ^a	2.29±0.03 ^a	47.52±3.67 ^b
Trt 2	3.55±0.75 ^b	0.36±0.05 ^b	10.03±2.25 ^c
P 值	0.014	0.008	0.017

*:数据以平均值±标准误表示;同一列中具有不同肩标字母者表示差异显著 ($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 饲用酸化剂对生长性能和肠道健康的影响

在提倡健康养殖的当代畜牧业中,复合酸化剂被认为是一种潜在的、可替代饲料中预防用抗生素和生长促进剂的绿色、健康添加剂之一。目前认为其作用机制主要为以下两方面:第一,酸化剂的添加可降低胃部 pH 值,增加胃蛋白水解酶活性和日粮在胃部的滞留时间,从而提高了蛋白消化率,同时可刺激胰腺分泌各种消化酶,提高养分的表观回肠消化率^[1]。第二,酸化剂的添加可抑制消化道中有害菌的生长增殖。Dibner 等^[2]认为,抗生素之所以具有促生长作用,是因为其改变了肠道微生物区系

的结构,抑制了有害菌的生长繁殖,从而表现为养分消化率和生长性能的提高。而有机酸中的甲酸、乳酸、山梨酸、丙酸、HMB 等同样具有抗菌活性^[3-7]。

本研发室开发的饲用酸化剂经过体外科学配比研究,筛选得到最优配方。经饲养试验验证,饲用酸化剂可通过改变盲肠大肠杆菌和乳酸菌的菌群结构、改善肠道环境,从而维护肠道健康,促进养分消化吸收,表现为从零日龄开始在黄羽肉鸡日粮中添加饲用酸化剂,到 43~63 d 阶段时,与对照组相比,饲用酸化剂添加组耗料增重比降低 0.11,具有极大的生产意义。这可能主要与配方中含有正丁酸有关。据报道,正丁酸可以改善小肠黏膜上皮细胞的形态结构,维持小肠黏膜结构的完整性,促进上皮内淋巴细胞、肥大细胞和杯状细胞等黏膜免疫相关细胞的增殖,维护仔猪小肠的消化吸收和黏膜屏障保护功能,提高其生长性能^[8]。

3.2 壳寡糖对饲用酸化剂的增效作用

壳寡糖(COS)是功能性寡糖的一种,学名 β-(1-4)-2-氨基-2-脱氧-D-葡萄糖,是氨基葡萄糖通过 2~10 个 β-1,4-糖苷键连接起来的物质,具有分子量小、毒性低、水溶性好、生物活性高的特点。目前,壳寡糖在家畜养殖业中的应用越来越广泛。研究表明,壳寡糖可以抑制肠道细菌增殖、改善微生态环境,并可增加小肠绒毛面积,提高养分消化率,从而起到促进动物健康、提高生长性能的作用^[9]。因此,本试验试图将其作为饲用酸化剂的增效剂。试验结果显示,日粮中添加饲用酸化剂+壳寡糖后,盲肠大肠杆菌/乳酸杆菌值显著低于对照组和饲用酸化剂单独添加组,因此壳寡糖在抑制有害菌增殖,维护肠道健康方面对饲用酸化剂具有良好的增效作用。

4 结论



广东省开展动物诊疗专项整治行动

近日,广东省农业厅下发了《关于开展全省动物诊疗专项整治行动的通知》,我省根据农业部的工作要求,开展为期 6 个月(从 2015 年 4 月 15 日至 10 月 15 日)动物诊疗专项整治行动。主要是针对近两年动物诊疗机构管理以及兽用处方药制度推进过程中反映的突出问题,对城市动物诊疗机构、乡村动物诊疗市场以及兽药经营场所进行专项整治。重点包括无证营业、无证行医问题;无害化处理问题;从事动物诊疗活动和动物诊疗辅助活动的人员注册或者备案问题;乡村兽医使用兽用处方药的问题。我省将集中力量办理一批案件,处理一批违法机构和人员,集中曝光非法从事动物诊疗活动的典型案例,目的就是规范动物诊疗市场秩序,促进动物诊疗行业健康发展。(供稿:广东省畜牧兽医局兽医处)

本次试验结果表明:饲用酸化剂可通过维持肠道健康,促进养分消化吸收,从而提高饲料利用率,使 43~63 日龄阶段黄羽肉鸡的耗料增重比降低 0.11;壳寡糖作为饲用酸化剂的增效剂可显著抑制有害菌的生长,进一步维持肠道健康。

参考文献:

- [1] 李鹏. 复合酸化剂配方的研制及其对断奶仔猪的作用[D]. 北京: 中国农业科学院饲料研究所, 2007.
- [2] Dibner, J. and P. Buttin, Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism [J]. The Journal of Applied Poultry Research, 2002, 11(4): 453-463.
- [3] Blank R, Mosenthin R, Sauer W, et al. Effect of fumaric acid and dietary buffering capacity on ileal and fecal amino acid digestibilities in early-weaned pigs [J]. Journal of Animal Science, 1999, 77(11): 2974-2984.
- [4] Boling S, Weibel D, Mavromichalis I, et al. The effects of citric acid on phytate-phosphorus utilization in young chicks and pigs [J]. Journal of Animal Science, 2000, 78(3): 682-689.
- [5] Eidelsburger U, Garnsworthy P, Wiseman J. Feeding short-chain organic acids to pigs [J]. Recent developments in pig nutrition, 2001: 107-121.
- [6] Falkowski J, Aherne F. Fumaric and citric acid as feed additives in starter pig nutrition [J]. Journal of Animal Science, 1984, 58(4): 935-938.
- [7] Gabert V, Sauer W, Schmitz M, et al. The effect of formic acid and buffering capacity on the ileal digestibilities of amino acids and bacterial populations and metabolites in the small intestine of weanling pigs fed semipurified fish meal diets [J]. Canadian Journal of Animal Science, 1995, 75(4): 615-623.
- [8] 王继凤. 丁酸钠对断奶仔猪肠粘膜结构及粘膜免疫相关细胞影响的研究[D]. 北京: 中国农业大学预防兽医学, 2005.
- [9] 王红卫. 不同分子量壳寡糖对蛋鸡生产性能及免疫功能的影响[D]. 山东: 山东农业大学动物营养, 2013.

蛋价春节后季节性超跌 蛋鸡养殖由盈转亏

——2015年1-4月我国禽蛋生产形势及后期走势分析

虞 华¹, 原娟娟², 彭 莉³

(1. 国家统计局盐城调查队, 江苏 盐城 224005; 2. 盐城工学院, 江苏 盐城 224000;
3. 江苏省统计局盐城调查局, 江苏 盐城 224005)

摘要: 2015年春节长假后, 鸡蛋需求持续低迷, 养殖户存货期难以消化, 鸡蛋现货价格开始进入下降通道, 清明节过后, 截止4月10日, 连降8周, 累计跌幅接近三成。继前期断崖式下跌后, 4月中旬以来, 鸡蛋期货主力1509合约上演了一场逆袭好戏, 合约价格从4 226元/500千克的低点快速反弹至4 493元/500千克, 区间累计涨幅约4%。综合分析, 鸡蛋供给总量增加、民众消费的萎缩、餐饮业对禽蛋的需求明显减少是导致春节后鸡蛋价格持续下跌的主要影响因素。近期鸡蛋价格上涨主要受清明节库存消耗及五一备货需求影响, 后市随着端午节、中秋节逐步来临, 鸡蛋需求也将获得一定提振, 蛋价有望继续上涨, 不过预计涨幅有限。

关键词: 禽蛋价格; 周期性波动; 消费萎缩; 有序发展

中图分类号: S8-1

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)03-0013-03

2015年春节长假后, 鸡蛋需求持续低迷, 养殖户存货期难以消化, 鸡蛋现货价格开始进入下降通道, 清明节过后, 截止4月10日, 连降8周, 累计跌幅接近三成。继前期断崖式下跌后, 4月中旬以来, 鸡蛋期货主力1509合约上演了一场逆袭好戏, 合约价格从4 226元/500千克的低点快速反弹至4 493元/500千克, 区间累计涨幅约4%。近期鸡蛋价格上涨主要受清明节库存消耗及五一备货需求影响, 后市随着端午节、中秋节逐步来临, 鸡蛋需求也将获得一定提振, 蛋价有望继续上涨, 不过预计涨幅有限。

1 1-4月国内禽蛋市场情况

正当人们对去年猛蹿至12元/kg的“火箭蛋”还记忆犹新时, 蛋价好像坐着过山车, 又一头猛跌下来。春节长假过后, 鸡蛋需求持续低迷, 终端市场走货无法放量。即便是大中专院校已经开学, 蛋品加工企业开工, 也未见鸡蛋库存消化加快的情况。终端零售只能依靠大幅下降价格, 以刺激鸡蛋需求回暖。

1.1 蛋价季节性超跌, 鸡价却逆势上涨

鸡蛋价格下滑已成为每年春节后鸡蛋市场的常态, 是一个正常的节日效应, 今年也不例外, 但像今年如此之大的降幅却很少见。全国监测数据显示, 4月10日鸡蛋全国主产区平均出场价格已

下跌到6.30元/kg, 不少地区鸡蛋零售价格已跌破6.6元/kg, 几乎是一天一个价, 跌得连蛋商都有些“心疼”。2015年前4个月, 全国鸡蛋出场价格从年初的8.44元/kg跌至4月10日的6.30元/kg, 跌幅达到25%。与此同时, 经过节前老鸡的集中淘汰, 节后老鸡存栏数量大减, 导致淘汰鸡身价提升。全国淘汰鸡出场价格由年初时的10.14元/kg涨至3月25日的10.56元/kg, 涨幅约为4%, 后小有回落, 4月30日已回落到9.54元/kg。2015年1-4月全国淘汰鸡平均出场价格为9.78元/kg, 比2014年1-4月的7.76元/kg高2.02元; 3月份均价最高, 达10.52元/kg; 2月份均价最低, 为9.16元/kg(图1)。2015年1-4月全国鸡蛋平均出场价格为7.77元/kg, 比2014年1-4月的7.59元/kg高0.18元; 1月份均价最高, 达8.20元/kg; 4月份均价最低, 仅6.54元/kg(图2)。

1.2 价格持续走低, 蛋鸡养殖由盈转亏

春节过后, 由于鸡蛋价格持续下跌, 产品积压, 加之饲料价格呈现涨价苗头, 蛋鸡养殖开始由盈转亏。4月10日全国鸡蛋平均出场价格跌落至6.30元/kg以下(图3), 经测算, 蛋鸡养殖每羽亏损15元左右, 每千克鸡蛋要亏损0.5元以上。

1.3 玉米价格稳中有涨, 豆粕价格继续下行

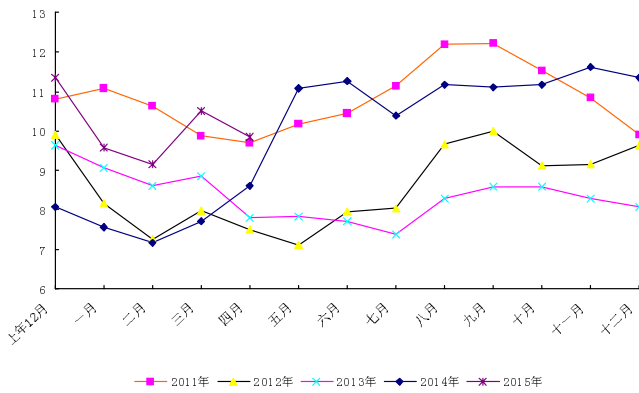


图1 2011年以来全国蛋鸡淘汰鸡出场价格走势(元/kg)

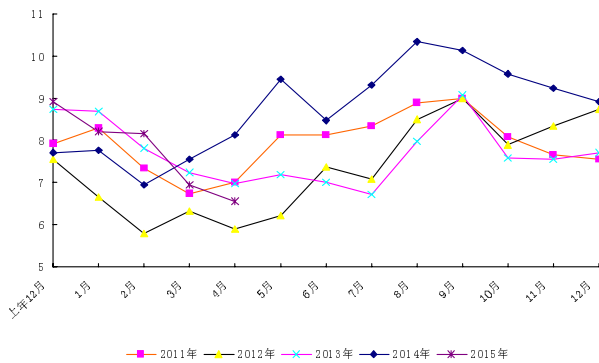


图2 2011年以来全国鸡蛋出场价格走势(元/kg)

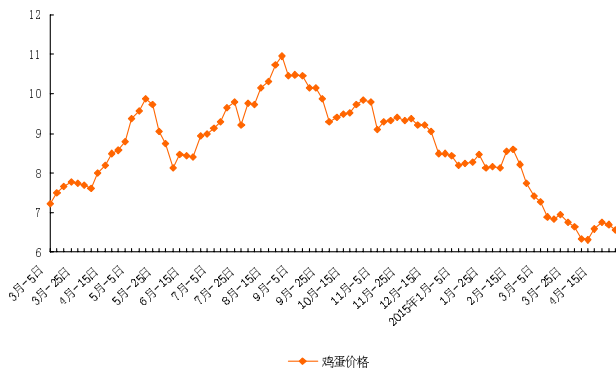


图3 2014年3月以来全国鸡蛋价格(元/kg)变化

2015年1-4月份全国玉米价格平均每千克为2.35元,比上年同期的2.30元涨0.05元。其中:1月均价最低,为2.32元/kg;2月均价为2.33元/kg;3月均价为2.36元/kg;4月均价最高,为2.40元/kg。2015年1-4月份全国豆粕价格平均每千克为3.24元,比上年同期的3.90元便宜0.66元。其中:1月均价最高,为3.34元/kg;2月均价为3.20元/kg;3月均价为3.24元

/kg;4月均价最低,为3.18元/kg(图4)。2015年4月第4周肉鸡配合饲料和蛋鸡配合饲料平均价格分别为3.36元/kg和3.08元/kg,同比分别下降0.6%和1%。

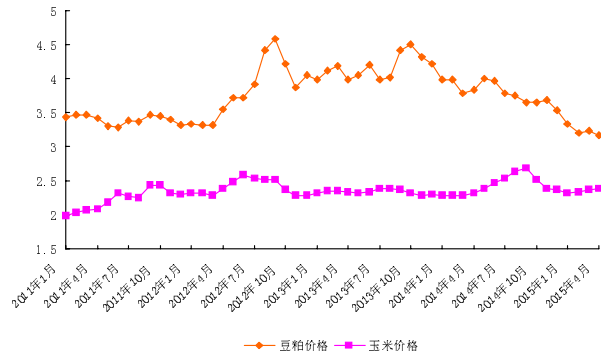


图4 2011年以来全国豆粕、玉米价格走势(元/kg)

1.4 补栏意愿增强,苗鸡价格趋涨

春节过后,随着鸡价上涨,养鸡户补栏积极性趋增,且当前处于补栏季节,空棚率较高,促进苗鸡价格继续上行,据农业部对全国480个集贸市场畜禽产品价格定点监测,3月份第2周全国商品代蛋雏鸡平均价格3.19元/只,比前一周上涨1.3%,比2月份第2周上涨2.6%,同比上涨11.5%;商品代肉雏鸡平均价格2.80元/只,比前一周上涨2.6%,比2月份第2周上涨10.2%,同比上涨24.4%。3月24日多数全国主产区肉苗鸡价格突破2.2元/羽,平均出场价为2.23元/羽,其中:辽宁2.2元/羽、山东2.2元/羽、河南2.05元/羽、河北2.4元/羽、江苏2.3元/羽。

2 春节后鸡蛋价格持续下跌主要影响因素分析

综合分析,鸡蛋供给总量增加、民众消费的萎缩、餐饮业对禽蛋的需求明显减少是导致春节后鸡蛋价格持续下跌的主要影响因素。

2.1 蛋鸡存栏增多,鸡蛋供给总量增加

由于前年禽流感的爆发,不少养鸡户都赔了钱,因此纷纷缩小养殖规模,导致去年蛋鸡因供应量减少而出现“火箭蛋”行情。而“火箭蛋”行情,又刺激了养殖户的补栏积极性,纷纷增加养殖量,导致蛋鸡存栏数量大幅增长,造成鸡蛋供给总量不断增加。据芝华数据,后备鸡存栏量从去年10月以来连续5个月增加,今年1月后备鸡存栏为

2.77亿只,2月为2.83亿只。

2.2 天气转暖,产蛋率提高

随着天气逐渐回暖,加之没有疫情病害,产蛋率提高,加大了鸡蛋市场供大于求的压力。

2.3 禽蛋销售渠道被垄断

城市中的大型超市对禽蛋销售已成为高门槛,形成通路垄断。沃尔玛、家乐福等国外大超市,凭借着店大连锁经营等规模优势,为了吸引人气,肆意挥舞“天天低价”的屠刀,在大走量、确保自身利润的前提下,靠通路垄断打压肉禽蛋奶等畜产品价格。

2.4 民众消费需求萎缩

春节、元宵节过后的3月份一般都是鸡蛋消费淡季,城乡居民家庭年前储备的鸡蛋货源以及腊肉、香肠等年货未消化完毕,消费需求萎缩,从而影响鸡蛋价格弱势运行。

2.5 餐饮业需求减少

近两年作风新政的实施,三公消费遏制政策的推行,使得下游终端特别是餐饮业受到剧烈影响。

3 后期禽蛋市场价格走势预判

从近几年全国禽蛋市场价格走势变化规律看,鸡蛋价格走势具有明显的季节性,每年春节后禽蛋价格一般都会回落,低点通常情况下出现在3月和4月,4-5月份都会上涨,9月份前后达到最高点(即使在2013年H₇N₉禽流感暴发之年禽蛋市场价格走势规律也未有大的变化),之后开始回落,到元旦、春节前又会出现一次短暂回升。

虽然目前鸡蛋交易已逐步恢复正常,但前期存货较多制约了蛋价的上涨,后市随着端午节、中秋节逐步来临,鸡蛋需求也将获得一定提振,蛋价有望继续上涨,不过目前在产蛋鸡尤其是在产高峰期蛋鸡存栏占比较多,鸡蛋供应十分充足,蛋价难以明显回升,短期内并无明显利好促进消费,近期蛋价将维持低位震荡运行。供应方面,长期来看,目前鸡龄结构处于“年轻化”的状态,随着后备鸡陆续开产,在产蛋鸡存栏量将逐步恢复。短期来看,4月份以来,贸易商收货依然正常偏易、库存正常偏少。后市随着天气逐步炎热,对蛋鸡产蛋率将有一定影响。需求方面,长期来看,随着端午节、中秋节逐步来临,对鸡蛋需求将有一定提振作用,但效果或不及往年。短期来看,五一过后鸡蛋需求

表现平淡,端午节备货还未启动,目前鸡蛋走货正常偏慢。随着天气转暖,禽蛋储存时间缩短,库存问题会持续凸显。当前蛋鸡存栏同比增加10%左右,今年春季补栏虽没有出现往年那种旺盛的补栏情况,养殖户普遍比较理性,但不少鸡苗到4月中旬已订满,鸡苗销量同比增25%左右。在这种补栏的水平下,九月价格也将受到压制,在没有禽流感爆发的现状下,去年的“火箭蛋”行情几乎不可能出现。短期在产蛋鸡存栏下滑,加上即将到来的五一需求预期,蛋价或小幅上扬,但长期来看,后期在需求仍无大的起色情况下,供给增加将会制约蛋价上涨,2015年春季补栏继续好转的话,预计到10月蛋鸡的总存栏量就会恢复至正常水平。此外,蛋鸡养殖规模化加之产蛋高峰期蛋鸡占比较大,高温对产蛋率的影响将减小。2015年7-8月面临供给与需求均集中释放的对峙,考虑到鸡蛋的节日效应在弱化,结合往年现货价格走势,预计2015年夏季鸡蛋现货价格高点在每千克8.8~9.2元之间。

随着春节期间可淘老鸡的集中淘汰,目前在产蛋鸡存栏结构逐步恢复正常,市场上可淘汰老鸡数目偏低,支撑鸡价维持高位,目前生猪价格已出现小幅上涨,或会支撑鸡价,但目前鸡蛋价格难以走高,将利空鸡价,预计短期内鸡价都处于震荡平稳期,后市等到清明节时,随着需求增加,鸡价有望小幅上涨。经过节前老鸡的集中淘汰,节后老鸡存栏数量大减,由此也可推断出当前存栏蛋鸡鸡龄结构偏于年轻化。后期新开产的蛋鸡数量将持续增加。而鸡龄结构偏于年轻化必将导致在产蛋鸡存栏总量持续增加,鸡蛋的供应压力将逐步放大。

据悉,为控制行业盲目扩张,促进产销平衡,近日中国白羽肉鸡联盟为调解过剩产能再次达成协议:2015年祖代鸡引种量继续下降,将控制在110万套内。如果能顺利实现的话,2015年下半年,父母代种鸡数量将继续下降,2016年白羽肉鸡商品鸡市场将实现因供应量减少而出现实质性好转。预计2015年下半年生猪行情将会出现较大反弹,2016年或将迎来高点,也将给肉鸡市场带来利好。同时,随着国家大力提倡“冰鲜鸡”消费,企业走深加工路线明确,也将进一步带动肉鸡业的有序发展。

养兔是山区农民脱贫致富的好门路

刘克俊¹, 周作集²

(1. 广西畜牧研究所, 广西 南宁 530001; 2. 广西畜禽品种改良站, 广西 南宁 530001)

摘要: 兔业生产属于典型的“短、平、快”产业, 也是高效、高价、优质、低耗、低成本、低污染的产业。值得在山区推广, 养兔应当成为农民致富的好门路。

关键词: 养兔; 致富; 对策

中图分类号: S829.1

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)03-0016-03

The Rabbits Feeding is a Worthy Industry in Mountainous Poverty Areas

Liu Ke jun, Zhou Zuoji

(1. Guangxi nstitute of Animal Science, Nanning 530001, China; 2. Guangxi institute of Animal breed improvement, Nanning 530001, China)

Abstract: The Rabbits Industry, is a typical industry because it is "short time, low investment and fast profitable". Moreover, this industry is high-efficient, high price, good quality, low cost and environmental friendly. We should popularize the rabbits industry to the farmers who live in mountainous district and help them to cast off poverty and set out on a road to prosperity.

Key words: Rabbits Industry; prosperity; strategy

兔子是舍饲笼养快速繁殖的经济型草食小动物。它具有饲养成本低、周期短、见效快的特点。饲养兔子的饲料以草为主, 还可以利用花生藤、玉米秆、红薯藤、菜叶等农副产品养兔, 只需补充少量精料。发展养兔业既有利于保护生态环境, 又可生产出营养丰富的兔肉, 一举两得。许多国家已把养兔作为解决食品短缺的有效途径。联合国粮农组织认为:“养兔是穷人的产业、是穷国解决饥荒问题的新招”。养兔是老、少、边、山、穷地区发展经济、脱贫致富奔小康的好产业, 在农业产业结构调整中, 已受到政府部门的重视。

1 发展兔业的现实意义

1.1 发展养兔业是解决肉食来源的有效途径

兔可称为产肉大王, 一般情况下, 一只成年兔可以产 1.5 kg 肉。根据 2005 年 7 月中央电视台报道: 澳大利亚把 24 只兔放归于大自然中, 在没有天敌的情况下, 经过 6 年时间的繁殖, 发展到

2 200 万只兔。按每只兔产 1 kg 肉计算, 共可产兔肉 2 200 万 kg 兔肉^[1]。可见发展养兔业是用草换肉, 解决肉食来源的一条重要途径。

1.2 兔肉是人类的保健品

目前, 食品安全已成为全球最关心的热点问题。疯牛病、猪链球菌病、瘦肉精、口蹄疫、布鲁氏杆菌病、禽流感、痒病等事件, 引起了人们对肉类食品的担忧, 甚至在局部地区导致“恐肉症”。国内也曾多次曝光“瘦肉精”事件, 肉类食品安全问题越来越受到关注。

兔肉营养丰富、肉质细嫩、味美香浓、久食不腻, 其营养成分是最贴近人体需要的。根据分析, 兔肉是一种其它畜禽肉类产品难予媲美的高蛋白、高赖氨酸、高磷脂、高消化率、低脂肪、低胆固醇、低热量、少尿酸的“四高三低一少的肉产品”。因此, 一些发展中国家及发达国家把兔肉称之为: 健康人的“保健肉”、患病者的“康复肉”、妇女的

“美容肉”、儿童的“益智肉”、男人的“延寿肉”。兔子易养,其食物种类繁多,来源于大自然。兔肉质优价廉,是人类珍贵、时兴的肉类保健食品。

1.3 家兔是节粮型的草食动物

养兔的饲料以草为主,各种野草、树叶、蔓藤、不发霉变质农副产品等均可作养兔饲料,只需补充少量精料,而且家兔对饲料的消化率远远高于其它畜禽。养成一只成年兔仅需12~15 kg的草料,不消耗粮食。为此,1992年在美国召开的世界养兔科学大会上,各国学者一致认为,今后各国养殖业应发展节粮型草食家畜为主,而草食家畜中,要优先发展养兔业。

1.4 兔粪是优质肥料

1只成年兔每年可积肥50 kg,20只成年兔的肥料相当于1头猪的肥料。兔粪是一种高效优质有机肥,无重金属超标,具有保持土质疏松不板结和一定的杀虫灭菌作用,有利于有机农业的可持续发展。发展养兔业可以促进绿色农畜产品和再循环养殖业的发展,是实现未来可持续发展农业的一个有效途径。

1.5 发展养兔业可以满足市场的需要

随着人们生活水平的不断提高及膳食结构的改善,人们对肉类食品的需求更加多样化。而发展兔业,可以满足人类对肉类多样化和蛋白质的需求。以前我国的肉类食品以猪肉、牛肉、羊肉、鸡肉等为主,而兔肉只是少数人能食用的贵族食品。随着养兔业的发展,市场对兔肉的需求量越来越多,兔肉大量进入市场,丰富了老百姓的餐桌。

1.6 发展养兔业符合中国的国情

中国是一个人多地少,粮食紧缺的国家,只有约全球7%的耕地,但要养活世界上22%的人口。人口不断增加,而耕地却不断减少。我国政府已经意识到不能再多发展耗粮型畜牧业,而是要大力发展节粮型畜牧业,其中以发展草食动物为主,特别鼓励发展养兔业。

1.7 兔子可作为试验动物

由于家兔小巧、性情温顺、繁殖快,试验过程容易观察、测试,是医学、生物工程科学较理想的试验动物,因此,兔子常被用于进行科学试验,是科学研究和制造预防动物传染病疫苗的常用试验动物。

2 兔业生产的特点

兔业生产属于典型的“短、平、快”劳动密集型

产业,具有投资少、见效快、发展迅速、辐射面大,带动能力强的高产、高效、高价、优质、低耗、低成本、低污染的“三高一优三低”产业。

2.1 高产

家兔群体的繁殖力强,生产周期短,妊娠期31天,分别是草食动物牛、羊妊娠期的1/9和1/5;从出生饲养到100天、体重2.5 kg可以出栏上市。在良好的饲养条件下,1只母兔年产8胎,每胎产6~8只,年产仔兔45~60只兔。肉兔屠宰率以55%计,每只兔产肉1.5 kg,产肉总量67.5 kg,相当于广西1头本地黄牛的产肉量。

2.2 高效

家兔的各种产品具有较高的经济价值,综合利用潜力很大。1只母兔年可产40只商品兔,每只体重2.5 kg,总重量100 kg;售价为20元/kg,产值2000元;平均每只成本费35元,每只纯利15元,纯收入600元。近年来,各地养兔致富的实例很多,已成为地方的经济支柱产业。如山东省蒙阴县,目前全县家兔存栏650万只,兔毛产量达3000吨以上,全年兔业收入突破4.2亿元。全县农民仅此一项人均收入达850元以上^[2]。

2.3 高价

肉兔的价格稳定在18~22元/kg,最高达28元/kg;种兔60~80元/kg。兔肉在国外市场上,价格均高于猪禽肉;兔毛是轻工业产品的好原料,是高级的床上用品,一床“兔绒被”价格约1.6万元,进入韩国市场可高达人民币2万元。

2.4 优质

我国俗语说“飞禽莫如鸽,走兽莫如兔”。据测定,兔肉含蛋白质40.15%,比鸡肉的31.62%、牛肉的24.61%分别高8.53%和15.54%。兔肉是一种有益于老年人和儿童的理想滋补品,食用兔肉对肥胖症、动脉粥样硬化、冠心病、高血脂患者有较好的保健作用。为此,兔可称为是大自然献给人类最好的礼物。

2.5 低耗

兔属于节粮型草食动物,能有效地利用植物的蛋白和部分粗纤维,养兔比养其它畜禽投资少。家兔小巧玲珑,养兔占地面积少,可以立体养殖。不论农区、牧区,还是山区、平原均可饲养,劳动强度低,笼舍要求也较为简单。由此可见,养兔是一种投资少、见效快的节能型养殖业。

2.6 低成本

养兔可以从1只公兔和5只母兔开始,三、五百元即可起家,每家每户都养得起,一年之后就可以发展到200只以上。然后逐年扩大规模,不断发展壮大。因此,养兔是低成本、收益大的致富门路。

2.7 低污染

养兔不像养猪那样饲喂饲料,没有重金属残留,不会造成环境污染;也不像养牛那样要冲水,不会造成水资源浪费和水污染。可以说,养兔属于环保型、节水型养殖行业。

3 目前广西兔业生产状况

目前养兔业得到了史无前例的迅速发展,商品肉兔的生产稳步上升。据广西畜牧兽医协会养兔分会的相关资料统计,2012年末广西家兔存栏量247.7万只,年内出栏商品肉兔621.6万只。比2011年分别增加7.58万只和66.9万只,增长3.16%和12.6%。兔肉产量1.09万吨,比2011年增加0.12万吨,增长12.3%。广西饲养兔规模较大的有广西亿丰新宇兔业公司种兔场,现有在产种兔3580只;梧州市英杰农业发展公司和玉林市中农联公司,各有在产种兔超过3000只。田东隆详兔业合作总社,2013年底种兔存栏量26000只、出栏肉兔80000只,比2012年分别增长73.3%和128.5%;联营户种兔存栏量53000只、出栏肉兔115000只,比2012年分别增长112%和69.12%。田阳县坡洪兔业合作总社2013年底种兔存栏7700只、当年出栏商品兔5.1万只,比2012年分别增加37.5%和21.43%。据全区7个种兔场的统计,平均每只母兔年产6.7胎,胎产7只,年提供活兔上市38.2只,其中3个场平均每只母兔年提供肉兔上市超过了40只。2013年春节前后活兔价格24~28元/kg,种兔60~80元/kg。

近些年来,兔肉逐渐受到消费者的青睐,兔肉产品内销迅速扩展,兔产品加工出口销路打开,且销量不断增加,从而促进我国兔肉深加工工业的兴起。山东、河南、四川等省先后兴起肉兔屠宰和深加工出口创汇,兔产品产值倍增,养兔经济效益十分显著。从而调动了当地农民养兔的积极性。规模化、规范化、标准化和产业化养兔业不断形成。在这种市场的导向下,广西亿丰新宇农业发展有限公司,于2007年9月在蒙山县组建,计划建设自动控温控湿兔舍18600M²,能养种兔10800

只,年生产种兔14.5万只,商品兔26万只;建设年屠宰加工700万只肉兔生产线。

4 广西养兔的资源条件

4.1 野生牧草

兔的饲料来源广,路边、沟边、果园、林下、田坎、房前屋后、野草、苕藤、植物根茎均是养兔的好饲料。兔能把牛、羊难以消化吸收的一些含木质纤维素高的野生牧草作为饲草,消化吸收。

4.2 人工种植牧草

山区可以充分利用门前房后的空闲土地来种植易生、易种植的银合欢、木豆等灌木科类、柱花草等豆科类高蛋白的牧草以及产量高的象草等,以弥补草料和蛋白质的不足。

4.3 农副产品的开发利用

以前,豆秆、花生藤、玉米秆、桑叶残枝(叶)、芭蕉叶、甘蔗叶、木茹叶(秆)、葛根藤、雍菜干、茉莉花枝条、红薯藤等丢弃不用或焚烧处理,造成资源浪费或环境污染。发展养兔业,可充分利用这些资源,将这些低质的农副产品进行加工,作为喂养家兔的草料,避免焚烧带来的污染和造成的资源浪费。

4.4 人力资源

农村有着大量富余的劳动力,每户可根据自己的财力、物力来确定养兔规模。可大可小。在家搞养兔,既可照顾老人、小孩,又可创业增收,一举两得。

4.5 销售渠道

肉兔的销售量很大、发展潜力也很大。肉兔可在当地乡、镇自行销售,也可运往外地销售。灵山县武利镇除了平均每天销售肉兔28~30只外,每年中秋至次年清明这段时间,肉兔的销售量成倍增加。田阳亿锋养兔合作社商品兔外调服务中心,实行保护价收购商品兔集中运往南宁、广东市场进行销售。

5 发展养兔业的优势

与其它养殖业和种植业相比较,养兔业具有明显优势。

5.1 与其它养殖业的比较

养牛投资大、风险大、生产周期长、劳动强度大;养羊虽然价格一直攀升,利润空间大,可是牧地少,圈养成本高,病情复杂;养猪竞争对手多、养殖规模大、养殖时间长、疾病多、猪的价格也长期处于平本或亏本状态,散养户已退出养殖市场;养

(下转第22页)

2012年广东猪群腹泻流行病学调查

田云, 孙彦伟, 王福广, 焦颖, 查云峰
(广东省动物卫生监督总所 广东 广州 510230)

摘要: 为了解2012年广东猪群腹泻的发病状况, 对全省19个地级市102个不同养殖规模的猪场进行了猪群腹泻的流行病学调查。采集236份肠道和粪便样品, 采用猪流行性腹泻病毒(PEDV)-猪轮状病毒(PrOV)-猪传染性胃肠炎病毒(TGEV)三重荧光RT-PCR方法进行病原检测。结果显示, 猪群腹泻的场阳性率高达68.63%, 发病率为37.76%, 病死率为50.26%。从规模看, 以存栏母猪100头以下的猪场群内发病率和病死率最高, 分别为63.55%和66.75%; 从生长阶段(用途)看, 以哺乳仔猪的发病率和病死率最高, 分别为47.74%和61.11%; 免疫率高、生物安全措施好的场发病率和病死率均较低。PEDV阳性率为33.05% (78/236), PrOV阳性率为17.8% (42/236), 未检测到TGEV。因此认为, 广东猪群腹泻流行面广, 导致猪病毒性腹泻的病原以PEDV为主, 且以哺乳仔猪发病和死亡最多。

关键词: 猪群腹泻; 流行病学调查; 猪流行性腹泻病毒

中图分类号: S851.31*3

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)03-0019-04

Epidemiological Investigation of Diarrhea in Swine Herds in Guangdong 2012

Tian Yun, Sun Yanwei, Wang Fuguang, Jiao Ying, Zha Yunfeng
(Guangdong Animal Health Supervision Institute, Guangzhou 510230, China)

Abstract: In order to understand the status of swine diarrhea in Guangdong pig herds in 2012, the epidemiological investigation was conducted in 102 different scale pig farms in 19 municipalities. 236 samples of intestinal tracts and feces were collected for detection by using the multiplex real-time RT-PCR method for porcine epidemic diarrhea virus(PEDV)-porcine rotavirus(PrOV)-porcine transmissible gastroenteritis virus(TGEV). Results showed that the positive farm rate was as high as 68.63%, the incidence rate was 37.76%, the case fatality rate was 50.26%. Looking from the breeding scale, the incidence rate and the case fatality rate of the pig farms less than 100 swines were the highest, the incidence rate and the case fatality rate was 63.55% and 66.75% respectively. Looking from the pig growth stage, the incidence rate and the case fatality rate of the suckling piglets were the highest, 47.74% and 61.11% respectively. The incidence rate and the case fatality rate were low in the pig farms with high immunization rates and good biological safety measures. PEDV positive rate was 33.05% (78/236), PrOV positive rate was 17.8% (42/236) and TGEV was not detected here. Therefore, it was believed that swine diarrhea was popular in Guangdong province herds and the main pathogen causing swine diarrhea was PEDV. The incidence rate and the case fatality rate was the highest in the suckling piglets.

Key words: Swine diarrhea; Epidemiological investigation; PEDV

自2010年底开始,广东部分地区猪群出现了严重的腹泻,以猪呕吐、腹泻、脱水为特征,给养猪业带来了巨大的经济损失^[1]。猪流行性腹泻病毒

(Porcine epidemic diarrhea virus, PEDV)、猪传染性胃肠炎病毒(Porcine transmissible gastroenteritis virus, TGEV)和猪轮状病毒

收稿日期: 2015-03-31

基金项目: 广东省科技计划项目(2012A020200014)。

(Porcine rotavirus, PRoV)是3种引起猪病毒性腹泻的重要病原,也是影响广东养猪业的主要腹泻病原。其中, PEDV和TGEV可感染各种年龄的猪,哺乳仔猪、架子猪或育肥猪的发病率可达100%,死亡率约为50%,有时可高达90%^[2]。PRoV则是一种条件性病原,一般情况下呈隐性感染。当环境因素发生变化、免疫力下降时可致腹泻爆发^[3]。目前临床上很难区分这3种疫病,且很多情况下呈混合感染状态。为了解广东2012年猪群腹泻的发生状况及其致病因子,为防控猪群腹泻提供科学依据,我们对19个地级市102个不同养殖规模的猪场,进行了猪群腹泻的流行病学调查分析。

1 材料与方法

1.1 调查对象

在广东19个地级市随机抽取102个猪场为调查对象,其中母猪存栏少于100头的32个,100~499头的40个,500头或以上的30个。

1.2 调查方法

通过现场问卷调查方式,对广东19个市102个猪场的腹泻发病情况、死亡情况和免疫情况进行调查。

1.3 病原学检测方法

根据PEDV、TGEV和PRoV三重实时荧光RT-PCR检测试剂盒(北京世纪元亨动物防疫技术有限公司)的操作步骤,对采自不同地区猪场的236份猪肠道和粪便样品进行PEDV、TGEV和PRoV病原学检测。

2 结果

2.1 猪群腹泻调查结果

对102个猪场的腹泻发生情况、死亡情况进行统计,结果70个猪场有腹泻发生,场阳性率为68.63%,发病率为37.76%,病死率为50.26%(表1)。

2.2 不同养殖规模猪场腹泻发生情况调查结果

对102个猪场按母猪存栏少于100头、介于100~499头、大于等于500头三个标准进行分析统计,结果发病率和病死率均以母猪存栏数少于100头的为最高,分别是63.55%和66.75%;以母猪存栏数大于等于500头的为最低,分别是32.85%和44.86%(表2)。猪场腹泻发病情况随着猪场的生物安全状况的升高有所下降。

2.3 不同年龄段猪群腹泻发生情况调查结果

对102个猪场,按哺乳仔猪、保育仔猪、育成猪和成年种猪调查统计不同年龄段腹泻发病情况,结果腹泻的发病率和病死率由低到高依序为成年种猪、育成猪、保育仔猪和哺乳仔猪。发病率和病死率均以哺乳仔猪最高,分别为47.74%和61.11%(表3)。

2.4 不同规模猪场母猪病毒性腹泻免疫情况

对102个猪场按母猪存栏少于100头、介于100~499头、大于等于500头三个标准,进行母猪病毒性腹泻(PEDV、PRoV、TGEV)免疫情况的统计分析。结果猪场免疫率高达51.96%。其中大于等于500头猪场的猪场免疫率和母猪免疫率为最高,分别是80%和69.06%;以母猪存栏数少于100头的为最低,分别是25%和28.95%(表4)。

2.5 病原学检测情况

对采自广东不同地区236份猪肠道和粪便样

表1 猪群腹泻发病情况统计结果

调查场数(个)	发病场数(个)	场阳性率(%)	猪群总头数	发病数(头)	死亡数(头)	发病率(%)	病死率(%)
102	70	68.63	44216	16698	8392	37.76	50.26

表2 不同养殖规模猪场腹泻发生情况调查结果

存栏母猪	<100头				100~499头				≥500头						
	猪群总头数	发病数	死亡数	发病率(%)	病死率(%)	猪群总头数	发病数	死亡数	发病率(%)	病死率(%)	猪群总头数	发病数	死亡数	发病率(%)	病死率(%)
哺乳仔猪	1908	1530	1278	80.19	83.53	6735	3278	2060	48.67	62.84	18646	8221	4624	44.09	56.25
保育仔猪	460	325	83	70.65	25.54	835	398	190	47.66	47.74	6483	1779	142	27.44	7.98
育成猪	735	159	1	21.63	0.63	596	192	0	32.21	0	5150	485	11	9.42	2.27
成年种猪	110	28	1	25.45	3.57	406	136	0	33.50	0	2152	167	2	7.76	1.20
合计	3213	2042	1363	63.55	66.75	8572	4004	2250	46.71	56.19	32431	10652	4779	32.85	44.86

表 3 不同年龄段猪群腹泻发生情况调查结果

猪	猪总头数	发病数(头)	死亡数(头)	发病率(%)	病死率(%)
哺乳仔猪	27289	13029	7962	47.74	61.11
保育仔猪	7778	2502	415	32.17	16.59
育成猪	6481	836	12	12.90	1.44
成年种猪	2668	331	3	12.41	0.91
合计	44216	16698	8392	37.76	50.26

表 4 不同规模猪场母猪病毒性腹泻免疫情况

存栏母猪(头)	猪场数量(个)	免疫猪场数量(个)	猪场免疫率(%)	存栏母猪数(头)	免疫母猪数量(头)	母猪免疫率(%)
<100	32	8	25	1216	352	28.95
100~499	40	21	52.5	10041	5870	58.46
≥500	30	24	80	36594	25272	69.06
合计	102	53	51.96	47851	31494	64.92

品进行检测,结果 PEDV 阳性率为 33.05%(78/236), PRoV 阳性率为 17.8%(42/236),未检测到 TGEV。其中,有 5 份样品为 PEDV、PRoV 混合感染。

3 讨论

自 2010 年底开始,广东部分地区出现了严重的腹泻疫病。为了解广东 2012 年猪群腹泻疫病的发生状况,开展了此次调查,结果表明:2012 年广东猪群腹泻的场阳性率高达 68.63%,流行面较广。

通过对 102 个不同养殖规模猪场猪群腹泻情况的调查,发现发病率和病死率均以存栏母猪 100 头以下的猪场为最高,分别是 63.55%和 66.75%;以母猪存栏数大于等于 500 头的为最低,分别是 32.85%和 44.86%。表明猪群腹泻主要以小型养猪场(母猪<100 头)为主。猪场腹泻发病情况随着猪场的生物安全状况的加强有所下降,表明猪群腹泻的发生与猪场的生物安全状况有一定的相关性。部分猪场卫生环境较差,饲养管理措施不到位,消毒措施不严格,特别是产房消毒不彻底,导致疫源持续存在;或者没有执行“全进全出”饲养制度,是导致腹泻发生的重要原因之一。

通过对群内不同生长阶段(用途)的猪群进行统计,腹泻的发病率和病死率由低到高依序为成年种猪、育成猪、保育仔猪和哺乳仔猪。哺乳仔猪的发病率和病死率最高,分别为 47.74%和 61.11%。调查结果表明,不同生长阶段(用途)的猪群都有腹泻性疾病发生,但以哺乳仔猪发病最为严重。

我国在很长一段时间内通过免疫接种 PEDV、

TGEV 和 PRoV 二联疫苗或三联疫苗来预防猪的腹泻,取得了一定的效果。但自 2006 年开始,腹泻灭活苗和弱毒苗广泛使用的猪场也暴发了严重的腹泻^[9],给我国的养猪业造成了巨大的损失。此次调查的 102 个场中有 53 个场进行了腹泻疫苗的免疫,猪场免疫率高达 51.96%,但是腹泻的场群流行率仍为 68.63%,部分免疫场仍然发生腹泻,表明疫苗的接种已无法完全避免腹泻的发生。此外,三种不同规模的猪场中,母猪存栏大于等于 500 头的猪场的免疫率最高,发病率和病死率也最低,从而进一步表明腹泻疫苗的免疫虽无法完全避免腹泻的发生,但在一定程度上可降低腹泻的发病率和病死率。

为进一步确诊导致猪群腹泻疫病的病原,对 236 份肠道和粪便样品进行 PEDV、TGEV 和 PRoV 病原学检测。结果 236 份样品 PEDV 的阳性率为 33.05%,PRoV 的阳性率为 17.8%,未检测到 TGEV。甘海霞等^[4]2011 年对广西不同养殖规模的猪场样品进行检测发现,PEDV 的阳性率为 27.78%,TGEV 的阳性率为 7.41%;陈强等^[5]对福建省 16 个规模化猪场的样品进行检测,结果 PEDV 阳性率为 18.75%,TGEV 阳性率为 6.25%;田小艳等^[6]对广东猪场样品的检测结果为,PEDV 阳性率为 33.7%,PRoV 阳性率为 20%,TGEV 阳性率为 4.2%。故有学者认为,当前造成生猪腹泻流行的主要病原是 PEDV 和 TGEV。但我们此次调查中,未检测到任何 TGEV 核酸,表明 TGEV 对 2012 年广东腹泻疫病的影响微乎其微,甚至可忽略不计。

PEDV 可引起猪的一种高度接触性肠道传染病即猪流行性腹泻^[7]。该病以猪水样腹泻、呕吐和脱水为特征,各种年龄和不同品种的猪均易感性,但对哺乳仔猪、架子猪或育肥猪的危害更大,尤其是哺乳仔猪受害最为严重^[8]。此次调查的腹泻发病猪多出现水样腹泻、呕吐和脱水等特征,且发病率和病死率以哺乳仔猪为最高。发病猪的临床症状、感染情况等均与 PED 的临床表现和流行规律高度一致,进一步表明 PEDV 是导致猪腹泻的主要致病因子。

通过调查,我们认为,广东 2012 年猪腹泻流行面广,哺乳仔猪发病和死亡较多,造成广东猪群爆发腹泻的主要病原是 PEDV。

参考文献:

[1] 蔡汝健,张乐宜,宋长绪. 2010-2013 年华南地区猪流行性腹

泻症流行情况调查及防控效果[J]. 广东农业科学, 2013(11): 104-105, 114.

[2] 殷震,刘景华. 动物病毒学[M]. 第二版. 北京: 科学出版社, 1997: 681-688.

[3] 王玲,蒲万霞,常惠芸,等. 仔猪轮状病毒性腹泻的研究进展[J]. 动物医学进展, 2006, 27(10): 50-54.

[4] 甘海霞,梁晟,韦显凯,等. 2011 年广西猪群猪流行性腹泻和猪传染性胃肠炎调查[J]. 动物医学进展, 2012, 33(10): 125-127.

[5] 陈强,曾丽莉,俞伏松,等. 规模化猪场仔猪腹泻 4 种病原的感染情况调查[J]. 福建农业学报, 2010, 25(1): 8-13.

[6] 田小艳,孙华,邓雨修,等. 3 种致猪腹泻病毒的多重 RT-PCR 检测[J]. 动物医学进展, 2009, 30(9): 54-57.

[7] Pensaert M B, Debouck P A. A new coronavirus-like particle associated with diarrhea in swine [J]. Arch Virol, 1978, 83(5): 243-247.

[8] 甘振磊,汤德元,李春燕,等. 猪流行性腹泻流行特点及流行现状的研究[J]. 猪业科学, 2010, 27(12): 24-28.

(上接第 18 页)

鸡的疫病多,成活率低,生产已供过于求,利润空间很小,每只商品鸡挣不到 2 元。

5.2 与种植业的比较

种水稻、甘蔗、玉米以及其它农作物,每亩平均要增收 100 元难度都很大。如果换一种方式,将一亩地种几种牧草和收集农作物加工养 50 只母兔,一年可繁殖出栏 1 500~2 000 只商品肉兔,纯利润可达 15 000~20 000 元。相比之下,养兔比养牛、养羊、养猪和种植业的投资风险低、回报率高、利润空间大、竞争对手少、市场的发展前景广阔,是贫穷落后山区脱贫致富的好项目、好门路。每家每户养 20 只母兔,利用早、晚空余时间不影响正常的上班,不出村可以自主创业,每年可出售商品兔 600~800 只,年纯收入可达 10 000 元。养兔投资风险低、规模可大可小、生产周期短、占劳动力少、适合千家万户的老、弱、妇、幼养殖,不但可以满足自己日常的肉食,而且可以解决家庭的经济来源、逐渐脱贫致富。前人的致富表明:“家养两只兔,不愁油盐醋;家养 5 只兔,不愁粮衣物;家养多只兔,脱贫能致富”。

6 扶贫的对策

6.1 建立长效的扶贫机制, 建立信息交流学习平台

养兔也应该象养猪、牛、羊那样得到国家财政

补贴,同时,地方财政也要适当的配套扶持。成立养兔协会,发布兔市场信息。定期举办养兔技术培训班,传授科学养兔技术,组织技术力量对饲养户进行定期的技术培训和巡回技术指导,解决养殖过程中所遇到的实际问题,逐步提高他们的科学文化知识,增强自我发展的能力和市场抗风险能力。以示范户带动其他农民养殖,确保养兔成功。

6.2 引导和帮助产品流通,解决产品销售难的后顾之忧

肉兔的销售也是农民最担忧的。在养兔行业内有几个专门上门收购运往广东的中介,我们可以通过他们帮助拓宽销售渠道。田阳亿锋养兔合作社成立了商品兔外调服务中心,实行保护价收购商品兔集中运往南宁、广东市场进行销售。

6.3 巩固和发展扶贫成果

以项目示范带动,稳步推进扶贫工作整村推进,脱贫一户巩固一户、脱贫一村巩固一村,连片开发和脱贫,实行一屯帮一屯、一村帮一村,帮助更多的贫困地区妇女、老人通过养兔实现脱贫致富。

参考文献:

[1] 周作集,骆长荣,何新武,等. 广西应大力发展养兔业[J]. 广西农学报, 2011(2): 60-63.

[2] 徐文发,曹永财,王立明,等. 农村应大力发展养兔业[J]. 农村养殖技术, 2006(23): 8-9.

不同毒株制备的两种猪口蹄疫 O 型灭活疫苗 免疫效果对比试验

黄兴国, 白挨泉, 黄汉光

(佛山科学技术学院生命科学学院, 广东 佛山 528231)

摘要: 本试验采用 2 种不同毒株的口蹄疫灭活疫苗分别对 120 头 35 日龄仔猪进行了免疫效果试验。结果显示: 首次免疫时, 猪口蹄疫 O 型灭活疫苗 (O/MYA98/BY/2010 株) 免疫组的抗体合格率和疫苗稳定性均优于使用猪口蹄疫 O 型灭活疫苗 (OZK/93 株 +OR/80 株) 免疫组。75 日龄二免时, 使用猪口蹄疫 O 型灭活疫苗 (OZK/93 株 +OR/80 株) 免疫组的抗体合格率和疫苗稳定性均优于使用猪口蹄疫 O 型灭活疫苗 (O/MYA98/BY/2010 株) 免疫组。表明两种疫苗各有其优缺点, 对不同日龄段仔猪的免疫效果存在一定的差异。

关键词: 猪口蹄疫; 口蹄疫 O 型灭活疫苗; 免疫效果

中图分类号: S855.3

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)03-0023-03

口蹄疫 (Foot-and-Mouth Disease, FMD) 是由口蹄疫病毒 (Foot-and-Mouth Disease Virus, FMDV) 引起的一种可感染猪、牛、羊等偶蹄动物的烈性传染病^[1]。由于口蹄疫病毒的高度变异性和对不同动物的适应性, 在流行中出现新的特点; FMDV 在动物体内和细胞中长期存在, 引发持续感染。使本病得不到有效控制, 在许多国家和地区重新爆发和流行^[2]。口蹄疫的自然发病率和死亡率都很高, 但随家畜的种类和年龄、流行毒株的毒力、季节、气温、地理环境、自然条件和社会因素的不同, 可以表现出极大的差异。免疫接种是口蹄疫防控最关键的技术措施。免疫效果往往受到疫苗毒株与流行毒株的抗原关系, 动物自身的免疫状况和对疫苗抗原的应答水平, 疫苗质量和效力的差异等因素影响, 因此必须对免疫效果和免疫密度进行定期检测。目前没有适用于各地区及饲养场的固定免疫程序, 在制定免疫程序时, 应考虑到本地区的疫病流行情况, 包括畜禽种类、年龄、饲养管理水平、母源抗体水平、疫苗的性质、类型、免疫途径等各方面的因素。本试验旨在寻找一种适合于广东省内的猪口蹄疫防疫工作的口蹄疫 O 型灭活疫苗毒株, 进一步优化猪口蹄疫疫苗免疫程序, 为口蹄疫的预防提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验用疫苗

I 苗: 猪口蹄疫 O 型灭活疫苗 (OZK/93 株 +OR/80 株), 国内某公司产品, 规格: 100mL/瓶, 批号: 2136056。

II 苗: 猪口蹄疫 O 型灭活疫苗 (O/MYA98/BY/2010 株), 国内某公司产品, 规格: 100mL/瓶, 批号: H110942J。

各疫苗均按说明书的条件要求进行保存、运输和使用。

1.2 检测试剂

韩国金诺 VDPPro FMDV-O 型抗体检测试剂盒, 北京金诺百特科技有限公司提供, 批号: 20131122。

1.3 试验猪的选择及分组

试验在广东省某规模化猪场选择 35 日龄的健康小猪 (体质健壮、体重大小均匀, 此前未免疫过口蹄疫疫苗, 其种猪群均是按程序常规免疫) 120 头。随机采取 20 份试验猪血清检测免疫前母源抗体水平, 后随机分为 3 组 (A、B、C 组), 每组 40 头。组间猪的大小基本一致, 公母不分。人工投料, 自由采食, 自由饮水, 饲养条件相同。

1.4 免疫试验与抗体检测方案

免疫试验方案见表 1。各组分别于 35 日龄和 75 日龄进行首免和二免, 并于 35 日龄首免前、42

表 1 试验方案

组别	A 组		B 组		C 组	
	首免	二免	首免	二免	首免	二免
疫苗	I 苗	I 苗	I 苗	II 苗	II 苗	II 苗
剂量	1mL	2mL	1mL	2mL	1mL	2mL

日龄、49 日龄、63 日龄、75 日龄二免前、82 日龄、89 日龄和 103 日龄分别随机采集血清 20 份, 做好标记, -20℃ 保存, 统一检测。待检血清按 VDPPro FMDV-0 型抗体检测试剂盒使用方法进行检测。

1.5 结果判定标准

①实验有效性判定: 阴性对照 OD 值 ≥ 0.6 ; 阳性对照 OD 值 ≤ 0.3 。

②判定标准: S/N 值的计算方程式: $S/N = \frac{\text{样品值}}{\text{阴性值}}$, $S/N \leq 0.60$ 判为阳性; $S/N > 0.60$ 判为阴性。

③国家标准要求口蹄疫抗体保护率 $\geq 70\%$ 。

④按农业部《2008 年高致病性禽流感 and 口蹄疫等主要动物疫病免疫方案》(农医发[2008]5 号) 进行, 猪 0 型抗体液相阻断 ELISA 的抗体效价 $\geq 2^6$ 判为合格。

1.6 数据处理

采用 EXCEL 进行数据处理, 计算抗体离散度, 比较组间差异。

2 试验结果

2.1 A 组抗体检测结果

使用 I 苗进行首免的 35 日龄仔猪, 保护性抗体在 35 日龄首免前、42 日龄、49 日龄、63 日龄和 75 日龄二免前的抗体合格率分别为 100%、100%、100%、75%和 70%; 其抗体效价离散度分别为 9.5%、13.6%、10.8%、24.9%和 12.6%。于 75 日龄使用 I 苗进行二次免疫, 免疫后 89 日龄和 103 日龄的抗体合格率分别为 90%和 60%; 其抗体效价离散度分别为 16.2%和 19.4%。A 组试验检测结果见图 1。

2.2 B 组抗体检测结果

使用 I 苗进行首次免疫的 35 日龄仔猪, 保护性抗体在 35 日龄首免前、42 日龄、49 日龄、63 日龄和 75 日龄二免前的抗体合格率分别为 100%、100%、100%、75%和 70%; 其抗体效价离散度分别为 9.5%、13.6%、10.8%、24.9%和 12.6%。于 75 日龄使用 II 苗进行二次免疫, 免疫后 82 日龄、89 日龄和 103 日龄的抗体合格率分别为 85%、70%和 55%; 其

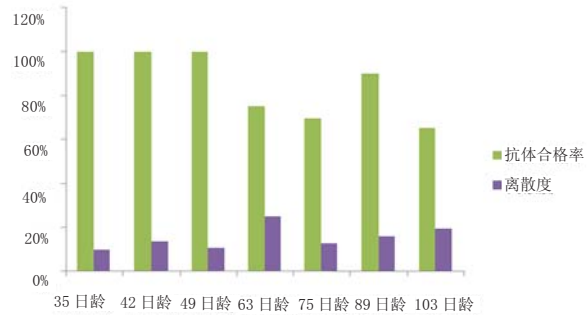


图 1 A 组试验检测结果

抗体效价离散度分别为 10.3%、12.1%和 14.7%。B 组试验检测结果见图 2。

2.3 C 组抗体检测结果

使用 II 苗进行首次免疫的 35 日龄仔猪, 保护性抗体在 35 日龄首免前、42 日龄、49 日龄、63 日龄和 75 日龄二免前的抗体合格率分别为 100%、100%、95%、100%和 75%; 其抗体效价离散度分别为 9.5%、11.4%、15.7%、13.9%和 16.4%。于 75 日龄使用 II 苗进行二次免疫, 免疫后 82 日龄、89 日龄和 103 日龄的抗体合格率分别为 80%、70%和 30%; 其抗体效价离散度分别为 16.1%、10.0%和 10.5%。C 组试验检测结果见图 3。

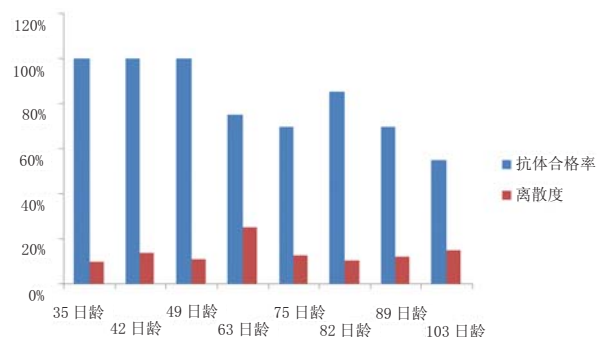


图 2 B 组试验检测结果

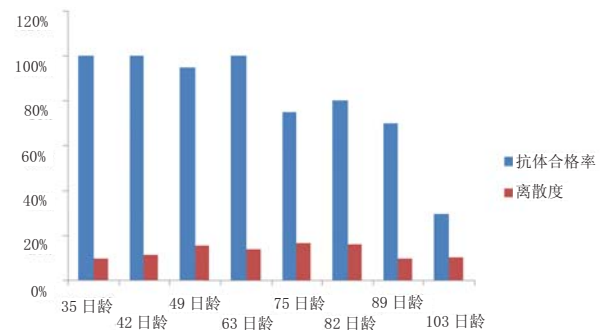


图 3 C 组试验检测结果

2.4 应激反应结果

由表 2 可见,注射 II 苗产生应激的头数为 0,死亡头数为 0,出现应激的比例为 0;注射 I 苗产生的应激头数为 2 头,死亡头数为 1 头,出现应激的比例为 2.50%,造成死亡的比例为 1.25%,应激反应均出现在 35 日龄首免仔猪。

表 2 不同猪口蹄疫疫苗免疫后出现的应激情况

项目	I 苗	II 苗
注射数(头)	80	80
出现应激数(头)	2	0
死亡数(头)	1	0
出现应激比例(%)	2.50	0
死亡比例(%)	1.25	0

3 讨论与结论

3.1 母源抗体与首免时间的分析

从图 1、图 2 和图 3 中 35 日龄首免的结果可以看出,35 日龄前,仔猪的母源抗体维持在较高的水平。在使用 I 苗进行首免的仔猪,免后 1 周,保护性抗体的合格率维持在 100%,抗体效价离散度则由免疫前的 9.5%上升到 13.6%;而使用 II 苗进行首免的仔猪,免后 1 周,保护性抗体的合格率也维持在 100%,抗体效价离散度由免疫前的 9.5%上升到

11.4%。说明口蹄疫保护性抗体水平在这阶段是呈下降趋势的,仔猪口蹄疫疫苗首免时间定在 35 日龄是合理的,这与黄卫平等^[3]的研究结果相一致。

3.2 两种疫苗免疫效果和应激反应比较

由试验结果可看出,35 日龄首免时,使用 II 苗免疫组的抗体合格率和疫苗稳定性均优于使用 I 苗免疫组,这与文崇利等^[4]的试验结果相一致。75 日龄二免时,使用 I 苗免疫组的抗体合格率和疫苗稳定性均优于使用 II 苗免疫组;而首次免疫使用 I 苗能够提高 II 苗的免疫效果。使用 I 苗产生的免疫应激明显高于 II 苗,说明 II 苗临床使用的安全性高于 I 苗。试验分析发现,B 组免疫效果最好。随着仔猪日龄增长和机体免疫系统的发育完善,选择使用不同的口蹄疫疫苗分别进行首免和二免,可能会提高其免疫效果和安全稳定性,这有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 蔡宝祥. 家畜传染病学[M]. 4 版. 北京:中国农业出版社, 2001: 383-388.
- [2] 杨素娟. 口蹄疫流行病学及感染机制的研究进展[J]. 畜牧·兽医, 2007(4): 43-49.
- [3] 黄卫平, 程晓. 规模化猪场仔猪口蹄疫免疫程序的制定[J]. 四川畜牧兽医, 2012(10): 18-20.
- [4] 文崇利, 兰家暖, 陈田娇, 等. 三种猪 0 型口蹄疫商品灭活疫苗免疫效果比较[J]. 广西畜牧兽医, 2014, 30(5): 251-254.

《广东畜牧兽医科技》(双月刊)

(1976 年创刊, 大 16 开本, 正文 52 页)

ISSN 1005-8567

CN 44-1243/S

主管单位: 广东省农业科学院

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

订 价: 每期定价 5.5 元, 全年 33.00 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: 广州市先烈东路 135 号《广东畜牧兽医科技》编辑部(邮编: 510500)

电 话: 020-37245052、37288167 E-mail: gdxmsy@163.com、gdxmsykj@163.com

欢迎订阅

欢迎投稿

欢迎刊登广告

1 株广西鸡 H₉ 亚型禽流感病毒的分离鉴定和 HA 基因分析

钟植文¹, 黎先伟¹, 何柳芬¹, 李永红¹, 刘镇明², 杨傲冰^{1*}

(1. 广东永顺生物制药股份有限公司, 广东 广州 511356; 2. 华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

摘要: 从广西某鸡场的发病鸡群中采样病料, 接种 10 日龄 SPF 鸡胚后分离得到 1 株病毒, 并命名为 GL 株, 经微量血凝和微量血凝抑制检验为 H₉ 亚型禽流感病毒。测序结果分析显示, HA 蛋白裂解位点的氨基酸序列为 RSSR↓GLF, 与低致病性禽流感病毒的基序一致。HA 基因分型结果表明, GL 株属于 4.2.5 分支。BLAST 结果显示, HA 基因序列与 BJ0309 株相似性最高, 达 99%。相似性比较结果表明, HA 基因、蛋白与近年来国内流行的 GX55 等 4.2.5 分支 H₉ 亚型禽流感病毒相似性较高, 分别为 94.1%~98.8%和 96.4%~99.3%, 而与国内常用疫苗株 SS、F、SD696 等 4.2.3 分支 H₉ 亚型禽流感病毒相似性较低, 分别为 88.8%~89.8%和 91.2%~92%。由此可见, 分离的 GL 株属于 4.2.5 分支, 与近年来国内流行株类似, 并与常用疫苗株存在了一定的差异。

关键词: 鸡; 禽流感病毒; H₉ 亚型; HA 基因

中图分类号: S852.65

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)03-0026-05

Identification and HA Gene Analysis of H₉ Subtype Avian Influenza Virus Isolated from Broiler from Guangxi

Zhong Zhiwen¹, Li Xianwei¹, He Liufen¹, Li Yonghong¹, Liu Zhenming², Yang Aobing^{1*}

(1. Guangdong win-sun bio-pharmaceutical Co., Ltd, Guangzhou 511356, China; 2. College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Samples from sick broilers from Guangxi province, were inoculated with 10 day-old chicken embryos. A virus, named GL, was isolated. HA and HI tests result showed it was H₉ subtype avian influenza virus positive. The result of sequence analysis showed that the amino-acid sequence of the haemagglutinin protein cleavage site was RSSR↓GLF, a typical sequence of LPAIV strains. Phylogenetic analysis showed that the strain of H₉ hypotype AIV belonged to gene clade 4.2.5. The result of BLAST showed that HA gene nucleotides of the isolate were highest identities with BJ0309 H₉N₂ isolate, with 99% identity. And the homology analysis of HA gene nucleotides and protein amino acids showed that the isolate was high identities with the prevalent strains, such as GX55, with 90.9%~97% and 93.4%~99.5%, respectively, but low identities with the common vaccine strains, such as SS, F and SD696, only with 85.8%~88.1% and 88.4%~89.1%, respectively. As a result, the isolate belonged to gene clade 4.2.5, similar to the prevalent strains, which differed from the common vaccine strains belonged to gene clade 4.2.3.

Key words: Broiler; H₉ subtype avian influenza virus; HA gene

禽流感是由 A 型流感病毒引起的一种禽类的感染和 / 或疾病综合征, 分高致病性和低致病性两种, 低致病性以 H₉ 亚型禽流感为主^[1]。世界上, 1871 年首次在意大利报道, 而 H₉N₂ 亚型禽流感病毒最早从火鸡中分离得到^[2]。1994 年我国大陆首次报道分离到 H₉N₂ 亚型禽流感病毒以后^[3], 国内不

同地方都有分离到 H₉ 亚型禽流感病毒^[4]。国内养鸡场多常用 BJ94 类, 如 F、SS、SD696 等毒株的疫苗, 起到一定的预防作用, 但未能达到 100% 的完全保护, 仍有 H₉ 亚型禽流感发生^[5-6]。2014 年春, 广西某鸡场的 10 000 羽 4~6 周龄的笼养黄羽仔鸡开始发病, 发病率约 12%, 并出现死亡, 死

收稿日期: 2015-04-22

*: 通讯作者

淘率约1%。病鸡精神萎靡,羽毛松乱,并有咳嗽、张口呼吸、呼吸困难、啰音等呼吸道症状,剖检以气管出血,气管、支气管“三叉口”出现黄色干酪样物堵塞为特征。

本试验从发病仔鸡群中采样,经病毒分离、鉴定,确定为H₉亚型禽流感病毒。对分离株的HA基因进行序列测定和分析,并与近年来H₉亚型禽流感毒株和部分常用疫苗毒株HA基因的核苷酸序列、蛋白的氨基酸序列进行相似性比较和分析,旨在从分子水平上了解广西地区目前H₉亚型禽流感病毒的毒力特点,为该病的预防和控制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病料样本 于2014年春采自广西某鸡场的发病仔鸡群。

1.1.2 试验动物 10日龄SPF鸡胚由广东永顺生物制药股份有限公司提供。

1.1.3 试剂 新城疫病毒抗原、减蛋综合征病毒抗原、禽流感病毒H₉、H₇、H₅亚型抗原及标准阳性血清为中国兽药监察所和哈尔滨兽医研究所产品;MiniBEST Viral RNA Extraction Kit、M-MLV反转录酶、RNasin、dNTP和Premix Ex Taq购自TaKaRa(大连)公司。

1.2 方法

1.2.1 病毒分离和传代 取发病仔鸡群的气管、肺脏、脑等内脏组织,置于研磨器内,用含双抗(青霉素、链霉素各8 000 U/mL)的生理盐水充分研磨,反复冻融3次,4 000 r/min离心7 min,吸取上清液,4℃作用3 h,再经细菌过滤器过滤除菌,保留滤液。滤液经尿囊腔接种10日龄SPF鸡胚8只,0.2 mL/只,接种后置37℃温箱孵化,弃去24 h内死亡鸡胚,以后每天照胚3次,将死亡鸡胚置于4℃冰箱,至第96 h将全部鸡胚置于4℃冰箱。观察死亡鸡胚病变,收获死亡鸡胚和冻死鸡胚尿囊液,并作无菌检查,然后连续传代。

1.2.2 血凝试验和血凝抑制试验 参照文献^[7-8],

配制1%鸡红细胞悬液,取分离株鸡胚尿囊液进行微量血凝试验;具有血凝活性的鸡胚尿囊液分别与新城疫病毒、减蛋综合征病毒和禽流感病毒H₉亚型、H₇亚型、H₅亚型的标准阳性血清进行微量血凝抑制试验。

1.3 基因型鉴定

1.3.1 引物设计 根据该毒株的初步实验结果,从GenBank上获取多株H₉亚型AIV基因序列分析比较后,使用DNAStar(Verison4.0)和Primer Premier(Verison5.0)针对HA基因核苷酸序列的保守区域设计了1对特异性引物,用于扩增包含HA基因的核苷酸片段。所设计引物送上海英骏生物有限公司按照PAGE级别合成。引物序列如下,HA1:AGCAAAAGCAGGGG,HA2:AGTAGAAACAAGGTGTT,预计扩增1 700 bp。

1.3.2 RT-PCR反应 用Takara MiniBEST Viral RNA Extraction Kit提取分离株鸡胚尿囊液的病毒总RNA,用随机引物为反转录引物合成cDNA,再用针对H₉亚型禽流感病毒HA基因所设计的特异性引物进行PCR扩增检测,将RT-PCR扩增产物电泳检测结果。

1.3.3 序列测定和分析 扩增产物经回收纯化后送英潍捷基(上海)贸易有限公司进行序列测定,将测得的序列提交NCBI BLAST SERVER进行联机检索。应用DNAStar软件分析HA蛋白裂解位点的氨基酸序列、受体结合位点以及潜在的糖基化位点,并利用MEGA 5软件绘制系统进化树。从GenBank上获得BJ94、SS、F、SD696等疫苗毒株以及近年来流行毒株的HA基因核苷酸序列(见表1),结合本试验分离株的相应序列,利用DNAStar软件包中的MegAlign程序中Clustal W方法进行相似性比较。

2 结果

2.1 病毒分离和传代

经处理的病料接种10日龄SPF鸡胚,96 h内均未出现死亡,收获冻死鸡胚尿囊液,细菌检查

表1 各参考毒株及其登录号

登录号	KJ768984	KJ000710	KP414243	KM609599	KP416446	KP289304	EU086245	JF715025	JF715024
毒株简称	JJM02	WJ57	SZ1519	BJ0309	DG1674	HN28176	GX55	LYL	FZH
登录号	AF384557	AY743216	DQ064376	KF188294	AF156378	KF188366	KF188265	AF156376	CY087824
毒株简称	SS	F	SD696	BJ94	G1	G9	Y439	Y280	W166

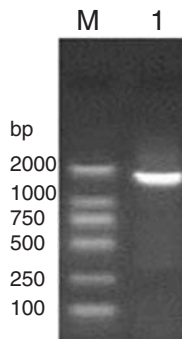
为阴性。

2.2 血凝试验和血凝抑制试验

分离株的鸡胚尿囊液能凝集鸡红细胞, 血凝效价 (HA) 为 $9 \log_2$; 这种血凝性被 H₉ 亚型禽流感标准阳性血清所抑制。而新城疫病毒、减蛋综合征病毒和禽流感病毒 H₇ 亚型、H₅ 亚型的标准阳性血清对分离株的血凝性无抑制作用。证明分离到的病毒株为禽流感病毒 H₉ 亚型, 命名为 A/chicken/Guangxi/GL/2014 (简称为 GL)。

2.3 RT-PCR 扩增结果

利用特异性引物对 GL 株的 RNA 进行 RT-PCR 扩增和琼脂糖凝胶电泳鉴定, 获得与预期大小一致的目的片段 (见图 1)。



注: M 为 DNA Marker DL2000; 1 为分离株 HA 基因的 RT-PCR 扩增产物。

图 1 分离株 RT-PCR 扩增产物

2.4 HA 基因序列的测定及遗传进化分析

序列测定后, 将 GL 株的 HA 基因序列经 NCBI BLAST SERVER 检索, 结果显示其与 GenBank 上的 BJ0309 株的核苷酸序列相似性最高, 达到 99%。利用 DNASTar 软件对 GL 株的 HA 基因序列进行分析, 结果表明其含有一个长度为 1683 个核苷酸的完整 ORF, 预计编码 560 个氨基酸。推导的氨基酸序列分析显示, 当中含有 8 个潜在的糖基化位点, 分别为: 29NST、141NVS、145NGT、298NTT、305NVS、313NCS、492NGT、551NGS, 相比 F、SS 等疫苗株缺少 218NRT 潜在糖基化位点, 但又增加 145NGT、313NGT 两个潜在糖基化位点。HA 蛋白受体结合位点的氨基酸分别为: 109Y、161W、163T、191N、198T、202L、203Y, 即除了 198 位氨基酸有所变化外, 其它位点均很保守; 而其 226 位氨基酸为 L, 为哺乳动物受体结合位点的特征氨基酸。HA 蛋白裂解位

点 (335~341 位) 的氨基酸序列为 RSSR↓GLF, 裂解位点附近均无连续碱性氨基酸插入, 符合低致病性禽流感病毒的分子特征 (见表 2)。

基于 GL 株与 GenBank 中的 H₉ 亚型禽流感病毒株分群参考毒株、国内常用疫苗株以及近年来流行毒株的 HA 基因核苷酸序列, 利用 MEGA5.2 软件绘制系统进化树 (见图 2, 菱形符号为分离株 GL; 圆形符号为常用疫苗株)。遗传进化分析结果表明, GL 株属于 4.2.5 分支, 与 BJ0309 株的亲缘关系最近, 与 GX55 株等近年来流行毒株处于同一进化分支; 而国内常用疫苗株 F 株、SS 株、SD696 株与 BJ94 株同属 4.2.3 分支。分离的 GL 株所处的 4.2.5 分支和 SS 株等常用疫苗株所处的 4.2.3 分支同属 4.2 这一大分支, 但两个分支之间有一定的遗传距离^[9-10]。

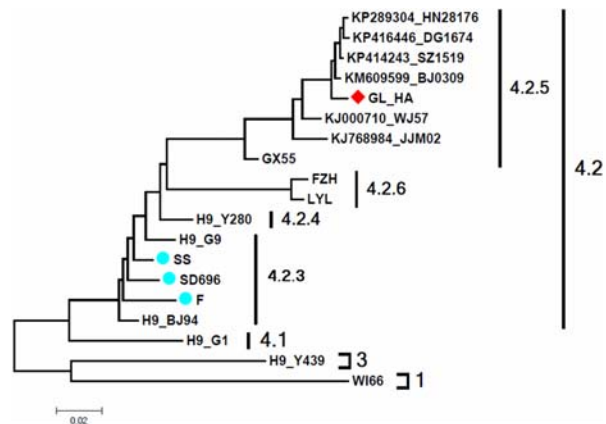


图 2 分离株的 HA 基因的系统进化树

2.5 HA 基因和蛋白序列相似性分析

利用 DNASTar 软件包中的 MegAlign 软件对 GL 株 HA 基因核苷酸、蛋白氨基酸序列与 GenBank 上获得毒株的相应序列进行相似性比较。结果表明, GL 株 HA 基因序列、蛋白序列与 BJ0309 株等国内近年流行的 4.2.5 分支 H₉ 亚型禽流感病毒的相似性较高, 分别为 94.1%~98.8% 和 96.4%~99.3%; 而与国内常用疫苗株 F、SS、SD696 等 4.2.3 分支毒株的相似性较低, 分别为 88.8%~89.8% 和 91.2%~92%。由此可见, 同属 4.2 分支的 4.2.5 分支 (GL 株等流行株为代表) 和 4.2.3 分支 (SS、F 株等常用疫苗株为代表) 之间存在了一定的差异。

3 小结与讨论

3.1 本试验从发病仔鸡群中分离得到 GL 株, 该

表 2 GL 株与各参考毒株 HA 蛋白关键位点的比较

毒株	受体结合位点								潜在的糖基化位点								裂解位点	
	109	161	163	191	198	202	203	226	29	141	145	218	298	305	313	492	551	335~341
GL	Y	W	T	N	T	L	Y	L	NST	NVS	NGT	NRT	NTT	NVS	NCS	NGT	NGS	RSSR ↓ GLF
JJM02	Y	W	T	N	V	L	Y	L	NST	NVS	S6F	NRT	NTT	NVS	NCS	NGT	NGS	RSSR ↓ GLF
WJ57	Y	W	T	N	V	L	Y	L	NST	NVS	S6F	NRT	NTT	NVS	NCS	NGT	NGS	RSSR ↓ GLF
SZ1519	Y	W	T	N	T	L	Y	L	NST	NVS	D6F	NRT	NTT	NVS	NCS	NGT	NGS	RSSR ↓ GLF
BJ0309	Y	W	T	N	T	L	Y	L	NST	NVS	NGT	NRT	NTT	NVS	NCS	NGT	NGS	RSSR ↓ GLF
DG1674	Y	W	T	N	T	L	Y	L	NST	NVS	D6F	NRT	NTT	NVS	NCS	NGT	NGS	RSSR ↓ GLF
HN28176	Y	W	T	N	T	L	Y	L	NST	NVS	D6F	NRT	NTT	NVS	NCS	NGT	NGS	RSSR ↓ GLF
GX55	Y	W	T	N	T	L	Y	L	NST	NVS	S6F	NRT	NTT	NVS	NCS	NGT	NGS	RSSR ↓ GLF
LYL	Y	W	T	N	A	L	Y	L	NST	NVS	S6F	NRT	NTT	NVS	NCP	NGT	NGS	RSSR ↓ GLF
FZH	Y	W	T	N	A	L	Y	L	NST	NVS	S6F	NRT	NTT	NVS	NCP	NGT	NGS	KSSR ↓ GLF
SS	Y	W	T	N	A	L	Y	Q	NST	NVS	S6F	NRT	NTT	NVS	NCP	NGT	NGS	GSSR ↓ GLF
F	Y	W	T	N	A	L	Y	Q	NST	NVS	S6F	NRT	NTT	NVS	NCP	NGT	NGS	RSSR ↓ GLF
SD696	Y	W	T	N	A	L	Y	Q	NST	NVS	S6F	DRT	NTT	NVS	NCP	NGT	NGS	RSSR ↓ GLF
BJ94	Y	W	T	N	V	L	Y	Q	NST	NVT	S6F	NRT	NTT	NVS	NCP	NGT	NGS	RSSR ↓ GLF
G1	Y	W	T	H	E	L	Y	L	NST	NVT	T6F	NRT	NST	NIS	T6P	NGT	/	RSSR ↓ GLF
G9	Y	W	T	N	A	L	Y	L	NST	NVS	S6F	NRT	NTT	NVS	NCP	NGT	NGS	RSSR ↓ GLF
Y439	Y	W	T	H	E	L	Y	Q	NST	NVT	T6F	NRT	NTT	NVS	NCP	NGT	NGS	ASNR ↓ GLF
Y280	Y	W	T	N	T	L	Y	L	NST	NVS	S6F	NRT	NTT	NVS	NCP	NGT	/	RSSR ↓ GLF
D996	Y	W	T	H	E	L	Y	Q	NST	NVT	S6F	NRT	NTT	NIS	NCP	/	/	ASNR ↓ GLF
W166	Y	W	T	H	E	L	Y	Q	NST	NVT	S6F	NRT	NTT	NIS	NCP	NGT	NGS	VSSR ↓ GLF

毒株对鸡红细胞有血凝性,且凝集可被 H₉ 亚型禽流感病毒标准阳性血清所抑制,而不能被新城疫病毒、减蛋综合征病毒和禽流感病毒 H₅ 亚型、H₇ 亚型的标准阳性血清所抑制,证明 GL 株为 H₉ 亚型禽流感病毒。

GL 株的 HA 基因测序结果分析显示,HA 蛋白裂解位点(335~341 位)的氨基酸序列为 RSSR ↓ GLF,裂解位点附近没有连续碱性氨基酸插入,仅能被有限的细胞蛋白酶识别,符合低致病性毒株的分子特征,这从分子水平上证实 GL 株为低致病力毒株^[11-12]。

3.2 血凝素 HA 蛋白在病毒吸附及穿膜过程中起关键作用,裂解为 HA1 和 HA2 是病毒感染细胞的先决条件^[13]。裂解位点、受体结合位点和抗原位点都位于 HA 蛋白中,因此选用 HA 基因来分析 H₉ 亚型禽流感病毒的致病性、宿主特异性、抗原性以及遗传变异等情况,均可得到较为可靠的分析结果。

GL 株及近年分离的流行株 HA 蛋白的第 226

位氨基酸均发生了谷氨酸 Q→亮氨酸 L 的突变,呈现出典型的人流感病毒受体结合特性,这一现象提示 H₉ 亚型禽流感病毒可以不经中间宿主适应就能直接感染人类的趋势更加明显,在未来可能对公共卫生安全构成巨大的威胁。至于潜在的糖基化位点,GL 株相比 F、SS 等疫苗株发生了 S145N、T220I、P315S 等突变。S145N 的突变可导致病毒致病性和抗原性的改变^[14]。

GL 株属于 4.2.5 分支,而国内常用疫苗株属 4.2.3 分支,当前使用的疫苗株不一定能够提供 100% 的完全保护^[5,9]。

3.3 一个 H₉ 亚型禽流感病毒株在同一鸡群中长期流行时可能会随着对宿主的适应导致抗原性改变和致病力增强^[15]。学者们在分子水平上对 H₉ 亚型禽流感病毒株的 HA 基因进行比较分析,从分子水平上证明了 H₉ 亚型禽流感病毒随着时间的推移确实是在发生变异。目前在国内外已有不少报道^[16-17]。本次分离的 GL 株,在分子水平上显示了

其与传统疫苗株的抗原性差异, 然而通过血清学交叉反应测出 R 值, 或者交叉免疫攻毒保护试验来衡量抗原性差异会更具说服力。

参考文献:

- [1] 甘孟侯. 禽流感[M]. 第二版. 北京: 中国农业出版社, 2004: 1-91.
- [2] 谢银禄, 张玉, 刁富花. 禽流感病毒 WUDI-H₉N₂ 株的分离鉴定及 HA 基因的分子特征研究[J]. 中国畜牧兽医, 2012, 39(8): 87-90.
- [3] 陈伯伦, 张泽纪, 陈伟斌. 鸡 A 型禽流感病毒的分离与血清学初步鉴定[J]. 中国兽医杂志, 1994, 20(10): 3-5.
- [4] 陈瑞爱, 赖汉漳, 贺东生, 等. 20 株鸡源 H₉N₂ 亚型禽流感病毒 HA 基因的变异分析[J]. 中国畜牧兽医学会禽病学分会第十六次学术研讨会论文集, 2012: 22.
- [5] 卢受昇, 高慧敏, 邓国东, 等. 广东地区近 2 年 H₉ 亚型禽流感的 HA 基因的序列分析[J]. 广东畜牧兽医科技, 2014, 39(6): 29-32.
- [6] 张晓娟, 刘媛媛, 王俊亚, 等. 河南部分地区 H₉ 亚型禽流感病毒的分离鉴定及交叉免疫攻毒保护试验[J]. 中国农学通报, 2012, 28(26): 67-70.
- [7] GB/T 18936-2003, 高致病性禽流感诊断技术[S].
- [8] 殷震, 刘景华. 动物病毒学[M]. 第二版. 北京: 科学出版社, 1997: 262-264.
- [9] 尚飞雪, 刘烁, 蒋文明, 等. 近年来中国 H₉ 亚型禽流感分离株谱系分析[J]. 中国动物检疫, 2012, 29(4): 51-53.
- [10] Wenming Jiang, Shuo Liu, Guangyu Hou, et al. Chinese and Global Distribution of H₉ Subtype Avian Influenza Viruses[J]. PLOS ONE, 2012, 7(12): 1-8.
- [11] Rohm C, Horimoto T, Kawaoka Y, et al. Do hemagglutinin genes of highly pathogenic avian influenza virus constitute unique phylogenetic lineages[J]? Virology, 1995, 209(2): 664-670.
- [12] Lin Y P, Shaw M, Gregory, et al. Avian-to-human transmission of H₉N₂ subtype influenza A virus: Relationship between H₉N₂ and H₅N₁ human isolates [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97: 9654-9658.
- [13] 塞弗 Y M. 禽病学[M]. 第十一版. 苏敬良, 高福, 索勋, 译. 北京: 中国农业出版社, 2005: 75-117.
- [14] 陈陆, 郑鹿平, 赵军, 等. H₉N₂ 亚型禽流感病毒 HA 蛋白 S145N 变异株致病性及抗原特性[J]. 畜牧兽医学报, 2012, 43(1): 82-89.
- [15] 甘孟侯. 全球禽流感的流行形势[J]. 中国预防兽医学报, 2004, 26(6): 468-471.
- [16] 王延树, 李建丽, 梁武, 等. 13 株 H₉N₂ 亚型禽流感病毒 HA 基因变异分析[J]. 中国家禽, 2011, 33(15): 9-12.
- [17] Huang Y Y, Hu B X, Wen X T, et al. Diversified reassortant H₉N₂ avian influenza viruses in chicken flocks in northern and eastern china [J]. Virus Res, 2010, 151(1): 26-32.
- [18] 杨式芹, 张彩云, 谢剑锋, 等. 福建省 2004-2008 年职业暴露人群 H₉ 亚型禽流感病毒抗体血清流行病学调查[J]. 中国人兽共患病学报, 2010, 26(12): 1145-1147.

2015“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 2015 年度“永顺杯”优秀论文。本刊将组织专家组进行评审, 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 2016 年第 1 期公布。

1、**评选范围:** 本刊 2015 年度 1-6 期发表的文章。

2、**评选数量:** 优秀论文 17 篇, 分设特等奖 1 篇、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 30000 元, 由广东永顺生物制药股份有限公司赞助。其中特等奖奖金 8000 元 / 篇; 一等奖奖金 3000 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

2015 年 1 月 24 日

贵妃鸡与隐性白羽鸡杂交后代产蛋性能及蛋品质研究

唐 军¹, 刘胜洪², 蔡柏林², 李仕新², 刘容珍^{2*}

(1. 广东高校水禽健康养殖工程技术研究中心, 广东 广州 510225; 2. 仲恺农业工程学院, 广东 广州 510225)

摘要: 试验选用隐性白羽鸡为母本、贵妃鸡为父本的杂交 F3 代母鸡, 测定其产蛋性能及蛋品质等有关指标。结果表明, 杂交 F3 代产蛋期存活率高, 耗料少, 种蛋合格率高; 具有良好的产蛋性能, 其蛋品质性状: 蛋重、蛋壳强度、蛋壳厚度、蛋黄颜色、蛋的相对密度、蛋形指数、蛋黄指数、蛋壳比例、蛋黄比例、蛋白比例、哈氏单位的测定结果平均值分别为 39.45 g、4.03 kg/cm²、323.43 μm、7.65、1.060、1.37、0.42、0.11、0.34、0.55、79.63。

关键词: 贵妃鸡; 隐性白羽鸡; 杂交 F3 代; 产蛋性能; 蛋品质

中图分类号: S813.22

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)03-0031-02

Determination of Laying Performance and Egg Quality in hybrid F3 of Royal Chickens × Recessive White Feather Broiler

Tang Jun¹, Liu Shenghong², Cai Bolin², Li Shixin², Liu Rongzhen^{2*}

(1. Waterfowl Healthy Breeding Engineering Research Center of Guangdong Higher Education Institutes, Guangzhou 510225, China; 2. Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)

Abstract: According to the regulations of the experimental design and index, a hybridization was carried out between royal chickens (♀) and recessive white feather broiler (♂). After the selection, having fixed the target traits by the backcross method and continued to cultivate until the hybrid F3. The laying performance and egg quality of hybrid F3 were measured and analyzed. The results showed that the hybrid F3 had a high survival rate, less material consumption and high pass rate, which means an excellent laying performance. Egg quality traits of the hybrid F3 were measured, including egg weight (EW), shell strength (SS), shell thickness (ST), yolk color (YC), the relative density of eggs (RDE), egg shape index (SI), yolk index (YI), eggshell proportion (EP), yolk proportion (YP), protein proportion (PP), Haugh unit (HU). The result showed that the means for EW, SS, ST, YC, RDE, SI, YI, EP, YP, PP and HU were 39.45g, 4.03kg/cm², 323.43 μm, 7.65, 1.060, 1.37, 0.42, 0.11, 0.34, 0.55 and 79.63 respectively.

Key words: Royal chickens; recessive white feather broiler; hybrid F3; laying performance; egg quality

贵妃鸡全身羽毛艳丽, 头上有一华丽毛冠, 形似欧洲贵妃的帽子^[1]。贵妃鸡集观赏、美食、滋补于一身, 风味浓, 营养丰富, 其肉质细嫩, 油而不腻, 美味可口, 富含人体所需的 17 种氨基酸, 10 多种微量元素和多种维生素, 特别是被称为抗癌之王的硒和锌的含量是普通禽类的 3~5 倍, 是当代最为理想的食用珍禽。

隐性白羽鸡属于快大白羽肉鸡, 鸡种体质健壮, 性情温驯, 早期生长速度适中, 繁殖性能较好。

用隐性白羽鸡作配套母本与地方鸡杂交, 其后代不仅生长速度快、饲料转化率高, 而且鸡的外貌、体型及肉质都酷似所杂交的有色羽地方鸡种^[2]。

本试验选择以隐性白羽鸡为母本、贵妃鸡为父本的杂交 F3 代母鸡为研究对象, 测定其产蛋性能及蛋品质, 旨在揭示杂交后代的产蛋特点, 为贵妃鸡与隐性白羽鸡的杂交育种和生产提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

收稿日期: 2015-03-27

*: 通讯作者

基金项目: 广东省农业厅 2012 年动物防疫专项资金项目(粤财农[2013]26 号); 广东省农业厅 2011 年动物防疫专项资金项目(粤财农[2013]543 号); 2011 年广州市海珠区科技计划项目(2011-KG-24)。

在仲恺农业工程学院番禺钟村教学科研基地,选用贵妃鸡和隐性白羽鸡,以隐性白羽鸡为母本、贵妃鸡为父本进行杂交,选育杂交后代,再以回交方法固定目标性状,随机选择 F3 代 120 只杂交后代母鸡为试验对象。

1.2 试验方法

1.2.1 饲养方式 120 只杂交 F3 代贵妃鸡,以 18-45 周龄为试验期。整个饲养期采取育雏阶段笼养,后期平地圈养,产蛋期个体单笼饲养方式。试验全过程采用全价颗粒饲料。自由采食和饮水。常规免疫接种,试验期鸡舍内严格消毒。

1.2.2 测定项目

1.2.2.1 产蛋性能 参照农业部发布的家禽生产性能度量统计方法(NY/T 823-2004)^[3]。测定项目包括:产蛋数、产蛋率、蛋重、种蛋合格率。

1.2.2.2 蛋品质 参照农业部发布的家禽生产性能度量统计方法 (NY/T 823-2004)。测定项目包括:蛋形指数、蛋壳强度、蛋壳厚度、蛋的比重、蛋黄色泽(用罗氏比色扇)、哈氏单位、蛋黄比率等。

1.3 数据处理和统计分析

将实验所得数据在 Excel 中建表及绘制曲线图,用 SPSS19.0 软件对实验数据进行处理和分析。

2 结果与分析

2.1 试验鸡产蛋性能测定

试验鸡 18-45 周龄产蛋性能统计见表 1,试验鸡 18-45 周龄产蛋曲线图见图 1。

由表 1 及图 1 可知,试验鸡产蛋期的整体饲养状况良好。在整个测试阶段,除 45 周龄外,存活率均保持 100%;平均产蛋个数和产蛋率从开产日龄 18 周龄开始,呈现急剧上升至 22 周龄,持续图

表 1 试验鸡 18-45 周龄产蛋性能统计

周龄	成活率 (%)	平均产蛋个数(个)	产蛋率 (%)	平均蛋重(g)	种蛋合格率 (%)	耗料(g)
18-19	100	10.3	34.3	36.2	86.3	87.1
20-21	100	16.5	55.0	38.8	94.8	88.1
22-23	100	23.7	79.0	40.9	96.9	90.6
24-25	100	24.1	80.3	42.5	97.6	91.3
26-27	100	23.7	78.9	43.1	98.4	90.9
28-29	100	22.7	75.5	43.0	98.4	91.0
30-31	100	21.1	70.3	43.4	98.8	90.7
32-33	100	19.7	65.7	43.9	98.5	90.5
34-35	100	18.0	60.0	44.1	98.6	90.2
36-37	100	17.0	56.7	44.5	98.3	89.8
38-39	100	16.2	53.9	44.7	98.2	89.4
40-41	100	15.4	51.3	45.0	98.1	88.9
42-43	100	14.3	47.7	45.6	97.9	88.8
44-45	98.3	12.6	42.7	45.7	97.6	88.0



约 8 周后,以平稳速度缓慢下降,高峰期最高产蛋率达 81%;平均蛋重随母禽周龄变化,刚开产时蛋重较小,随着年龄的增加,蛋重迅速增加,经过约 10 周急剧增长后,蛋重增长率下降,增量逐渐减少,趋于稳定,后期蛋重保持于 45 g 左右;种蛋合格率在整个产蛋阶段状况良好,除前 4 周外,均保持 97%以上的高水平;耗料始终保持平稳状态,阶段耗料基本维持 86~91 g。

1 试验鸡 18-45 周龄产蛋曲线图

(下转第 44 页)

小鹅瘟病毒 SYBR Green I 荧光定量 PCR 检测方法的建立

李天芝¹, 于新友¹, 李书光², 沈志强^{1,2*}

(1. 山东绿都生物科技有限公司, 山东 滨州 256600; 2. 山东省滨州畜牧兽医研究院, 山东 滨州 256600)

摘要: 采用 PCR 方法扩增 GPV VP1 基因 173 bp 的基因片段, 克隆到 PMD18-T 载体上, 将纯化后的质粒做为模板, 建立扩增反应的标准曲线, 最终建立了小鹅瘟病毒 (GPV) SYBR Green I 荧光定量 PCR 检测方法。该方法检测灵敏度高, 可检测 2×10^1 拷贝 / μL 的模板量; 特异性好, 与鹅副黏病毒、鹅流感病毒、鹅源鸭瘟病毒、大肠杆菌、沙门氏菌、曲霉菌均不发生交叉反应。建立的 GPV 荧光定量 PCR 具有特异性好、敏感度高、检测时间短、结果重复性好等优点, 可用于小鹅瘟的临床诊断和流行病学调查。

关键词: 小鹅瘟病毒; SYBR Green I; 荧光定量 PCR

中图分类号: S858.33

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)03-0033-03

SYBR Green I Real-time Quantitative PCR Assay for Detection of Gosling Plague Virus

Li Tianzhi¹, Yu Xinyou¹, Li Shuguang², Shen Zhiqiang^{1,2*}

(1. Shandong Lvdu Bio-Industry Co., Ltd., Binzhou 256600, China; 2. Animal Science and Veterinary Medicine Academy, Binzhou 256600, China)

Abstract: To develop a SYBR Green I real-time quantitative PCR assay for detection of Gosling plague virus, a 173bp region of the Gosling plague virus VP1 gene was amplified using polymerase chain reaction assay, then subcloned to PMD18-T Vector and acquired the recombinant plasmid, which served as template to construct standard curve of the SYBR Green I real-time PCR. The results showed that the SYBR Green I real-time PCR was established and could be used to detect GPV gene. The PCR method could detect 2×10^1 copy/ μL of targeted plasmid. And the specificity and repeatability of this method were very good. All the results suggested that the SYBR Green I real-time PCR method was established and could be used in clinical diagnosis and epidemiological investigation for GP.

Key words: Gosling plague virus; SYBR Green I; real-time PCR; gosling plague virus

小鹅瘟 (Gosling Plague, GP) 是由小鹅瘟病毒 (Gosling Plague Virus, GPV) 所引起的雏鹅的一种急性或亚急性败血性传染病。病鹅临床表现为下痢、腿瘫痪、精神萎靡、食欲废绝。主要病理学特征为小肠中后段黏膜坏死、脱落、有纤维素性渗出物凝固形成腊肠状栓子^[1]。该病主要危害 3-20 日龄小鹅, 特别是 10 日龄之内的雏鹅更易感染。发病率和死亡率高达 100%, 且传播速度快, 是对养鹅业产生严重危害的一种重要传染病^[2]。1956 年我国科研工作者首先报道了小鹅瘟这种疾病^[3], 此后世界上

许多国家都有该病的报道。目前, GPV 诊断方法有病毒的分离和鉴定、酶联免疫吸附试验^[4]、反向间接凝集试验^[5]、免疫酶琼脂扩散试验^[6]和 PCR 方法^[7]等。但是上述方法均存在不同的缺点, 或检测灵敏度低, 或检测时间长, 或操作复杂。近年来, 荧光定量 PCR 检测方法以其特有的优势已经广泛应用于动物疾病的检测。笔者通过不断优化反应条件, 建立了检测小鹅瘟病毒 SYBR Green I 荧光定量 PCR 方法, 为小鹅瘟的临床诊断和流行病学调查提供了一种简便、快速、有效的方法。

收稿日期: 2014-11-25 修回日期: 2015-01-19

*: 通讯作者

基金项目: 山东省现代农业产业技术体系家禽生产与环境控制创新团队项目 (SDAIT-13-011-10)

1 材料和方法

1.1 病毒和菌株

小鹅瘟病毒、鹅副黏病毒、鹅流感病毒、鹅源鸭瘟病毒、大肠杆菌、沙门氏菌和曲霉菌均由山东省滨州畜牧兽医研究院重点实验室保存;小鹅瘟临床疑似病料采自山东各养鹅场。

1.2 试剂、试剂盒和仪器

Premix Tag, DL2000 MarKer, pMD18-T 载体和 SYBR Green I 购自大连宝生物公司; AxyPrep 液体病毒 DNA/RNA 小量试剂盒购自爱思进生物技术(杭州)有限公司; DNA 凝胶回收和小量质粒提取试剂盒购自生工生物工程(上海)股份有限公司; 细菌基因组 DNA 提取试剂盒购自北京百泰克生物技术有限公司; Light Cycler 480 型荧光定量 PCR 仪购自罗氏公司, 普通 PCR 仪购自 Bio-Rad 公司。

1.3 引物设计与合成

参照 GenBank 登录的 GPV VP1 基因序列 (AY382889), 用 Primer primer5.0 引物设计软件分析, 设计 1 对引物, 扩增 GPV VP1 基因部分片段, 长度为 173 bp。上游引物: 5'-CGTGGCG-GAATCTGAAAG-3', 下游引物: 5'-CTTATTAACGGGTG-GCCCT-3'。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.4 基因组 DNA 的提取

用 AxyPrep 液体病毒 DNA/RNA 小量试剂盒, 按使用说明提取小鹅瘟病毒、鹅副黏病毒、鹅流感病毒、鹅源鸭瘟病毒的核酸; 用细菌基因组 DNA 提取试剂盒, 按使用说明提取大肠杆菌、沙门氏菌和曲霉菌的基因组 DNA。

1.5 GPV VP1 基因的 PCR 扩增

以提取的小鹅瘟病毒的 DNA 为模板进行 PCR 扩增。体系如下: Premix Taq 12.5 μ L, 模板 1 μ L, 上游引物 1 μ L (20 μ mol/L), 下游引物 1 μ L (20 μ mol/L), 加灭菌纯化水至 25 μ L。反应程序为: 95 $^{\circ}$ C 3min; 94 $^{\circ}$ C 15S, 53 $^{\circ}$ C 15S, 72 $^{\circ}$ C 15S, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10min。1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增结果。

1.6 重组质粒标准品的制备

按凝胶回收试剂盒的说明书操作, 回收 GPV VP1 基因; 连接 pMD18-T 载体, 转化 DH5 α ; 挑菌、摇菌、提取重组质粒; 将经 PCR 鉴定正确的重组质

粒, 送生工生物工程(上海)股份有限公司测序; 测序正确后测定重组质粒浓度和纯度, 10 倍比稀释重组质粒, 作为荧光定量 PCR 反应的模板。

1.7 荧光定量 PCR 标准曲线的建立

优化 GPV SYBR Green I 荧光定量 PCR 反应条件, 最终确定的最佳反应体系为: SYBR Green PCR Master Mix 12.5 μ L、上游引物 1 μ L (5 μ mol/L)、下游引物 1 μ L (5 μ mol/L)、模板 1 μ L, 加去离子水至 25 μ L。最佳反应参数为 95 $^{\circ}$ C 3min; 94 $^{\circ}$ C 15S, 53 $^{\circ}$ C 15S, 72 $^{\circ}$ C 15S, 40 个循环。对扩增结果分析, 获得扩增反应的标准曲线。

1.8 荧光定量 PCR 的特异性、敏感性和重复性试验

用已建立的 GPV 荧光定量 PCR 方法对鹅副黏病毒、鹅流感病毒、鹅源鸭瘟病毒、大肠杆菌、沙门氏菌和曲霉菌进行检测, 以灭菌水作为阴性对照, 以检验检测方法的特异性。10 倍比稀释制备的重组质粒, 分别作为模板, 进行荧光定量 PCR 扩增, 以检验检测方法的敏感性。对同一批次和不同批次的重组质粒标准品分别选择 A、B、C 等 3 个不同的浓度作为模板, 同时设立 D 为阴性对照。

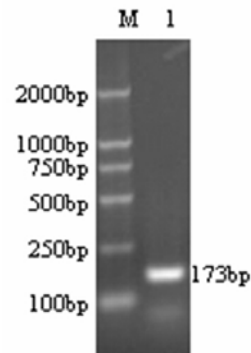
1.9 临床样品的检测

用已建立的 GPV 实时荧光定量 PCR 法进行检测山东各地送检的 GP 疑似病料 25 份, 同时用常规 PCR 方法检测, 对比、分析两种检测方法得到的结果。

2 结果

2.1 GPV VP1 基因 PCR 扩增和克隆

提取 GPV DNA 作为模板进行 PCR 扩增, 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物, 可见 173 bp 的特异性条带(图 1)。扩增产物测序结果见表 1。测得



M: DL2000 Marker, 1: PCR 扩增结果
图 1 GPV VP1 基因 PCR 扩增结果

表 1 扩增产物测序结果

CGTGGCGGAATCTGAAAGCTGGAGCCCCTCACCCAAAACCAAACCAGCAGACTCAGT
 CTGTGTCTCCAGCCAGAGAACCCGAACGAAGAGATAATAACCGGGGCTTTGTACTTCC
 TGGCTATAAGTATCTTGGCCCTGGTAACGGCCTTGATAAAGGGCCACCCGTTAATAAG

的序列与参照的 GPV VP1 基因 (AY382889) 系列的相似性为 100%。

2.2 荧光定量 PCR 标准曲线的建立

以 10 倍比稀释重组质粒作为模板, 分别取 $8 \times 10^7, 8 \times 10^6, 3 \times 10^5, 8 \times 10^4, 8 \times 10^3, 8 \times 10^2$ 拷贝 / μL 等 6 种不同浓度重组质粒进行荧光定量 PCR 扩增反应, 得到扩增反应的标准曲线 (图 2)。线性回归方程为 $Ct = -3.512 \times \lg \text{copies} + 33.41$ ($R^2=0.9964$)。

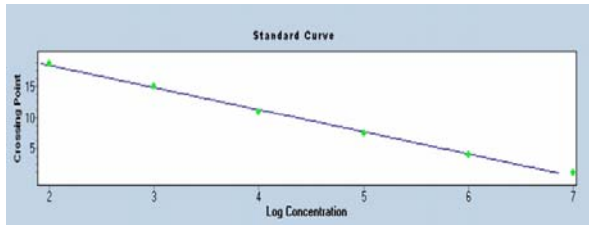


图 2 GPV 荧光定量 PCR 标准曲线

2.3 熔解曲线分析

通过对扩增反应的熔解曲线分析, 可知没有引物二聚体及非特异性产物等峰值出现, 扩增产物的溶解温度 T_m 为 $88.1-88.5^\circ\text{C}$ (图 3)。

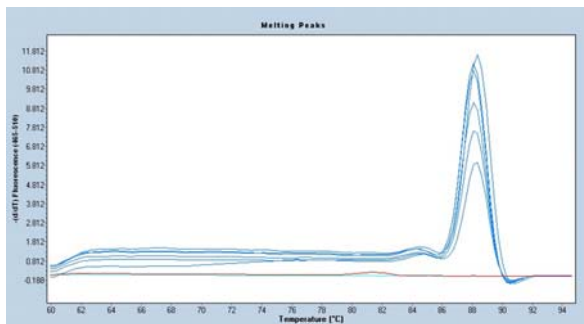


图 3 GPV 荧光定量 PCR 熔解曲线

2.4 特异性试验

分别以提取的小鹅瘟病毒、鹅副黏病毒、鹅流感病毒、鹅源鸭瘟病毒、大肠杆菌、沙门氏菌和曲霉菌核酸作模板, 采用已经建立的 GPV SYBR Green I 荧光定量 PCR 方法进行扩增, 仅 GPV 出现了扩增反应, 其它均无扩增 (图 4)。

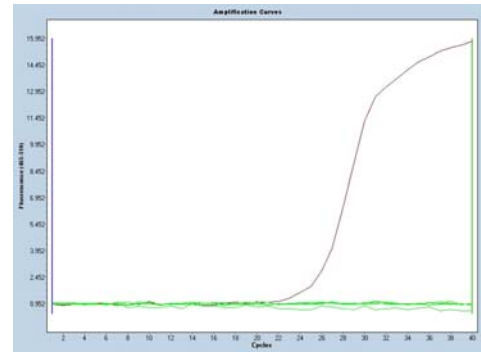


图 4 GPV 荧光定量 PCR 特异性试验

2.5 敏感性试验

将制备的质粒模板 10 倍比稀释, 并分别以此作为模板进行荧光定量 PCR 扩增, 得到不同浓度的质粒标准模板的 real-time PCR 扩增曲线。重组质粒模板浓度分别为 $2 \times 10^5, 2 \times 10^4, 2 \times 10^3, 2 \times 10^2, 2 \times 10^1, 2 \times 10^0$ 拷贝 / μL 。结果显示其检测的灵敏度为 2×10^1 拷贝 / μL , 荧光定量 PCR 的灵敏度比常规 PCR 高 100 倍。

2.6 重复性检验

样品的 Ct 值批内重复性试验 CV 值不大于 1.0%, 批间重复性试验 CV 值也不大于 1.0% (表 2)。

表 2 GPV 荧光定量 PCR 的重复性 (Ct 值)

样品 标号	批内试验 Ct 值				批间试验 Ct 值			
	1	2	3	CV	1	2	3	CV
A	13.91	13.97	14.02	0.39	14.52	14.39	14.49	0.47
B	19.11	19.24	18.95	0.76	17.51	17.47	17.75	0.86
C	23.91	24.11	24.01	0.41	27.22	27.15	26.98	0.46
D	-	-	-	-	-	-	-	-

2.7 临床样品检测

同时用建立的 GPV SYBR Green I 荧光定量 PCR 和常规 PCR 方法对送检的 25 份 GP 疑似病料检测。结果表明, 荧光定量 PCR 检测到 10 份阳性样品、15 份阴性样品, 而普通 PCR 检测到 7 份阳 (下转第 38 页)

高效液相色谱法测定癸氧喹酯含量试验方法的建立

聂 斌, 陈宝妮, 武 力*, 王昌库, 涂玉蓉, 黄惠平
(广州华农大实验兽药有限公司, 广东 广州 510642)

摘要: 本试验建立了高效液相色谱法测定癸氧喹酯干混悬剂含量的方法。采用 XTerra C18 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相: 水 + 乙腈 + 甲醇 (20:3:77); 检测波长为 265 nm。实验表明在 10 ~ 60 μg/mL 的浓度范围内, 峰面积与浓度呈良好线性关系, 相关系数 $r=0.9999$; 平均回收率为 99.8%; RSD=0.64%。该方法简便、快速, 能准确、有效地测定癸氧喹酯干混悬剂的含量。

关键词: 高效液相色谱法; 癸氧喹酯; 含量测定

中图分类号: S859.79⁵

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)03-0036-03

High-performance Liquid Chromatographic (HPLC) Method for Concentration Scaling of Decoquinate Dry Suspension

Nie Bin, Chen Baoni, Wu Li*, Wang Changku, Tu Yurong, Huang Huiping
(Guangzhou Huanongda Experimental Veterinary Drug Co., LTD., Guangzhou 510642, China)

Abstract: The study established the method to scale the concentration of Decoquinate dry suspension by HPLC. XTerra C18 column(150 mm× 4.6 mm, 5 μm) was used under the wave length 265nm, The ratio of Water:Acetonitrile: Methyl alcohol was 20:3:77. The results showed that the linearity was well under the range of 10 ~ 60 μg/mL ($r = 0.9999$), the average recovery rate was 99.8 % and the RSD was 0.64%. The method is simple, rapid, accurate and reliable to determine the concentration of Decoquinate dry suspension.

Key words: HPLC; Decoquinate; Concentration determination

癸氧喹酯(Decoquinate)是一种有效的喹啉(Quinolone)类化学抗球虫药,其化学名称为6-癸氧基-7-乙氧基-4-羟基喹啉-3-羧酸乙酯。它在临床上具有独特的抗球虫作用,可用于防治鸡的柔嫩、巨型、堆型、毒害和布氏艾美耳球虫等引起的球虫病。与其他常用抗球虫药物相比,癸氧喹酯具有较高的化学活性和较低的毒性,对多种鸡球虫都有良好的抗虫效果。其分子结构式见图1。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

(1) AUV-120D 十万分之一电子天平(日本岛津); (2) LC-10Avp plus 高效液相色谱仪(日本岛津); (3) UV-2501PC 紫外分光光度计(日本岛津)。

1.2 试剂

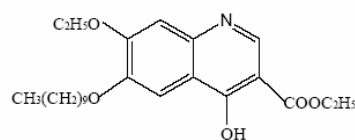


图1 癸氧喹酯分子结构式

癸氧喹酯对照品批号:00324, 德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司, 含量 98.5%。癸氧喹酯干混悬剂批号:09031101、09031102、09031103, 广州某公司研制。

1.3 试剂

乙腈、甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

1.4 溶液的配制

氯化钙乙醇溶液:称 0.5 g 无水氯化钙,加无水乙醇适量,超声使其溶解,定容至 100 mL,摇匀,即得。

对照品溶液:精密称定癸氧喹酯对照品 50 mg 于 100 mL 量瓶中,加 10 mL 热氯仿,超声 15 min,用氯化钙乙醇溶液定容,摇匀。精密量取续滤液 10 mL 至 100 mL 量瓶,加 0.1 mol/L 的盐酸溶液 10 mL,用氯化钙乙醇溶液稀释至刻度,摇匀,即得^[3]。

供试品溶液:精密称定样品适量(约相当于癸氧喹酯 50 mg)置 50 mL 量瓶中,加 10 mL 热氯仿,超声 15 min,用氯化钙乙醇溶液稀释至刻度,摇匀。过滤,精密量取续滤液 2 mL 至 50 mL 量瓶,加 0.1 mol/L 的盐酸溶液 4 mL,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

固定相:十八烷基硅烷键合硅胶(4.6mm×150mm,美国 Waters);流速:1.0 mL/min;流动相:水+乙腈+甲醇(20:3:77)^[4];检测波长为 265 nm;进样量 20 μL。

2.2 波长的选择

以氯化钙乙醇溶液为空白,在 200~400 nm 处扫描得吸收光谱。另取所用辅料同法测定,癸氧喹酯在 265 nm 处有最大吸收。而所用辅料在 265 nm 处无吸收,故选定 265 nm 作为测定波长。见图 2。

2.3 标准曲线的绘制^[2]

分别精密量取癸氧喹酯对照品溶液 1mL、2 mL、4 mL、6 mL、8 mL、10 mL 至 100 mL 量瓶中,加 0.1 mol/L 的盐酸溶液 8 mL,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,制成 0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、

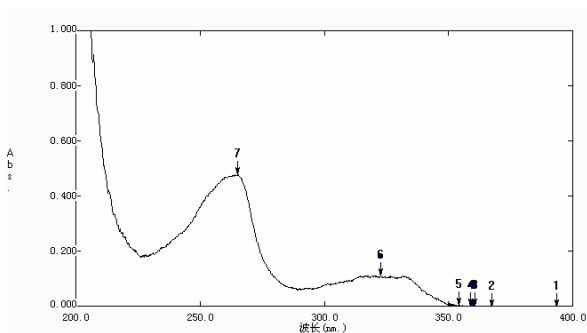


图 2 癸氧喹酯对照品紫外图谱

0.10 mg/mL 的对照品溶液。按 2.1 项色谱条件,分别精密量取 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱峰面积,对药物浓度和其相应的峰面积进行回归。以药物浓度(x)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标作标准曲线,得回归方程 $y=115303789x-61710$, $R^2 = 0.9999$ 。见图 3。

结果表明,癸氧喹酯在 10~60 μg/mL 浓度范围内与峰面积呈良好线性关系。

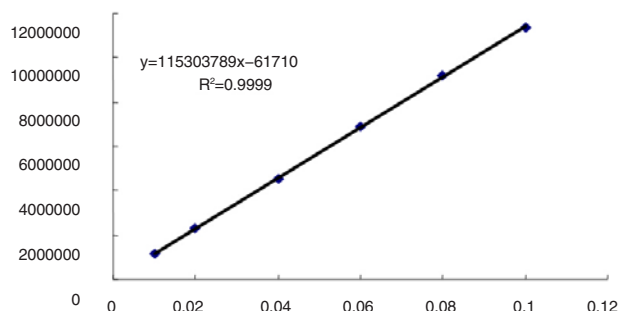


图 3 癸氧喹酯对照品标准曲线

2.4 精密度试验^[2]

精密吸取癸氧喹酯对照品溶液(0.04 mg/mL) 20 μL,一日内连续进样 6 次,按 2.1 项色谱条件测定,记录色谱图峰面积,得其 RSD(相对标准偏差)为 0.32%。表明该方法精密度良好。

2.5 稳定性试验^[2]

取癸氧喹酯干混悬剂批号:09031101,配制成样品溶液(0.04 mg/mL)分别在 0、1、2、4、6、8、12 h 精密吸取 20 μL 进样,记录色谱图峰面积,得其 RSD 为 0.15%。可见供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.6 重复性试验^[2]

取同一批癸氧喹酯干混悬剂(批号:09031101),配制成 6 份 0.04mg/mL 的溶液,精密吸取 20 μL 进样,记录色谱峰峰面积,得其 RSD 为 0.17%。

2.7 回收率试验^[2]

精密称取已知含量癸氧喹酯干混悬剂(09031101)适量,分别加入一定量的癸氧喹酯对照品,置 50 mL 量瓶中,加 10 mL 热氯仿,超声 15 min,用氯化钙乙醇溶液,稀释至刻度,摇匀。过滤,精密量取续滤液 2 mL 至 50 mL 量瓶,加 0.1 mol/L 的盐酸溶液 4 mL,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀。精密量取 20 μL,注入液相色谱仪,进行

测定,计算回收率。本法测得 9 批样品的平均回收率为 99.79%,RSD 为 0.64%。试验结果表明此法准确度高,符合定量分析的要求。见表 1。

2.8 样品含量测定

精密量取供试品溶液 20 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图;另取癸氧喹酯对照品,同法测定。按外标法以癸氧喹酯峰面积计算,即得。本法测得 3 批样品的平均含量为 99.82%,RSD 为 0.42%^[1]。见表 2。

表 1 加样回收率试验结果

样品量(mg)	加入量(mg)	测得值(mg)	回收率(%)	平均(%)	RSD(%)
25.96	20	19.7820	98.91		
26.06	20	19.8718	99.36		
25.81	20	20.0887	100.44		
26.10	25	24.9546	99.82		
25.97	25	25.0854	100.34	99.79	0.64
26.03	25	25.0641	100.26		
26.19	30	29.7587	99.20		
26.26	30	29.7554	99.18		
25.84	30	30.1714	100.57		

表 2 中试样品含量测定结果

样品批号	含量(%)	平均值(%)	RSD(%)
09031101	100.24		
	100.35		
09031102	99.25	99.82	0.42
	99.81		
09031103	99.58		
	99.71		

3 小结

本实验制定了癸氧喹酯干混悬剂中癸氧喹酯

的高效液相色谱测定方法。本方法分离度好,结果准确,精密度高,重现性好,回收率高,操作简便。该方法可作为癸氧喹酯干混悬剂中癸氧喹酯含量的质量控制方法。

参考文献:

- [1] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典 2010 年版[S]. 2010:55-56.
- [2] 兽药试验技术规范汇编[M]. 2001
- [3] 进口兽药质量标准 2006 年版[S]. 2006:55-56.
- [4] 畜禽肉中癸氧喹酯残留量的测定 液相色谱-荧光检测法[S]. GB/T20745-2006.

(上接第 35 页)

性样品、18 份阴性样品。

3 小结

本试验根据 GPV VP1 基因设计了 1 对特异性引物,建立了检测 GPV 的 SYBR Green I 荧光定量 PCR 检测方法。该方法特异性好、敏感性高,可作为 GP 的临床诊断和流行病学调查方法。

参考文献:

- [1] Calnek B W. 禽病学[M]. 10 版. 高福,苏敬良,译. 北京:中国

农业大学出版社,1999:988-995

- [2] 盘磊,李福伟,李惠敏. 小鹅瘟的生物学特性研究概况[J]. 水禽世界,2007(2):49-52.
- [3] 殷震,刘景华. 动物病毒学[M]. 2 版. 北京:科学出版社,1997:165-168.
- [4] 李新华. 应用斑点酶免疫吸附试验快速诊断小鹅瘟[J]. 中国兽医科技,1998,28(1):13-18.
- [5] 徐为燕,周阳生. 小鹅瘟病毒反向间接血球凝集实验的初步报告[J]. 畜牧兽医学报,1981,12(1):23.
- [6] 秦爱建. 免疫鹅琼脂扩散实验在小鹅瘟诊断中的应用[J]. 中国预防兽医学报,1993,15(1):30-31.
- [7] 胡桂学,逢博,高凤山,等. 小鹅瘟 PCR 诊断方法的建立和初步应用[J]. 经济动物学报,2003,7(2):50-53.

小鹅瘟卵黄抗体效价与攻毒保护相关性试验

藏玉婷, 张 杨, 王 彬, 宋 扬, 孙德君, 丁国杰*
(哈药集团生物疫苗有限公司研发中心, 黑龙江 哈尔滨 150069)

摘要: 将实验室试制的3批小鹅瘟卵黄抗体, 琼扩效价为1:16, 分别稀释成琼扩效价为1:4、1:8, 分别按每只0.5 mL接种3日龄易感雏鹅, 24 h后, 试验组与对照组攻击小鹅瘟病毒。结果显示: 雏鹅注射相同剂量不同琼扩效价的卵黄抗体, 随着卵黄抗体琼扩效价的升高, 对雏鹅的保护率也随之升高。

关键词: 小鹅瘟卵黄抗体; 雏鹅; 抗体效价; 攻毒保护; 相关性

中图分类号: S858.33

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)03-0039-02

Correlation Analysis Between Antibody Titer to Gosling Plague and Virus Attack Protection

Zang Yuting, Zhang Yang, Wang Bin, Song Yang, Sun Dejun, Ding Goujie*
(Harbin Pharmaceutical Group Co Ltd Biological Vaccine, Harbin 150069, China)

Abstract: 3 batches of Gosling Plague Antibodies were produced in laboratory with the titer of AGAR diffusion test 1:16. The Gosling Plague Antibodies were diluted respectively to 1:4 and 1:8. The experiment groups were injected with 0.5 mL Gosling Plague Antibodies for goslings of 3 days of age. After 24 hours, both of the experimental groups and the control group were attacked with Goose Parvovirus. The results showed that As the titer of Gosling Plague Antibodies increased, the virus attack protection rate of goslings also increased. The correlation was positive.

Key words: Gosling Plague Antibodies; Goslings; Antibody titer; Virus attack protection; Correlation

小鹅瘟是由鹅细小病毒(Goose Parvovirus, GPV)引起的雏鹅急性或亚急性败血性传染病^[1]。该病主要侵害出壳后4~20天的雏鹅。传播速度快,发病率和死亡率高达90%~100%^[2-3]。早期预防对控制本病十分重要,使用卵黄抗体做紧急预防接种有较大的实践意义^[4-6]。为此,本实验对制备的小鹅瘟卵黄抗体进行了抗体效价与靶动物攻毒保护相关性研究,确定小鹅瘟卵黄抗体质量。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 小鹅瘟卵黄抗体 本实验室制备,批号:201301、201302、201303,共计3批,瓶装量100 mL,2~8℃保存,有效期为18个月。琼扩效价≥1:16。

1.1.2 小鹅瘟病毒 自行分离的小鹅瘟病毒H

株,经鹅胚传代培养的鹅胚毒,每0.2 mL病毒含量 $\geq 10^{3.0}LD_{50}$ 。

1.1.3 雏 鹅 3日龄健康雏鹅购自哈尔滨市郊区养鹅户。试验前对同批雏鹅抽样,经琼脂扩散试验检测,小鹅瘟抗体呈阴性。

1.1.4 小鹅瘟琼扩抗原 参照“小鹅瘟诊断技术”^[7],制备20倍浓缩抗原。

1.2 方 法

1.2.1 稀 释 取3批实验室试制的小鹅瘟精制卵黄抗体,分别作2倍、4倍稀释。

1.2.2 琼扩效价测定 按常规方法应用小鹅瘟琼扩抗原和小鹅瘟卵黄抗体原液、2倍稀释液及其4倍稀释液进行琼脂扩散试验。

1.2.3 靶动物攻毒保护试验 用3批小鹅瘟卵黄抗体原液、2倍稀释液及其4倍稀释液,分别颈

收稿日期:2015-03-16

*:通讯作者

部皮下接种 3 日龄健康易感雏鹅,每个稀释度 10 只,0.5 mL/只;24 h 后,雏鹅分别颈部皮下接种小鹅瘟病毒,每只 0.2 mL(含 100LD₅₀);设同批 3 日龄健康易感雏鹅 10 只作为攻毒对照组,颈部皮下接种小鹅瘟病毒 0.2 mL(含 100LD₅₀)/只。观察 10 d,比较不同效价抗体的预防效果。

2 结果

2.1 靶动物攻毒保护试验结果

结果见表 1。

2.2 不同效价小鹅瘟抗体对雏鹅攻毒保护试验统计结果

表 1 不同效价小鹅瘟抗体对 3 日龄雏鹅攻毒保护试验结果

批号	稀释倍数	抗体效价	雏鹅数(只)	抗体量(mL)	攻毒剂量(0.2 mL)	存活数(只)	死亡数(只)
201301	原倍	1:16	10	0.5	100LD ₅₀	10	0
	2 倍	1:8	10	0.5	100LD ₅₀	9	1
	4 倍	1:4	10	0.5	100LD ₅₀	6	4
201302	原倍	1:16	10	0.5	100LD ₅₀	9	1
	2 倍	1:8	10	0.5	100LD ₅₀	8	2
	4 倍	1:4	10	0.5	100LD ₅₀	5	5
201303	原倍	1:16	10	0.5	100LD ₅₀	10	0
	2 倍	1:8	10	0.5	100LD ₅₀	8	2
	4 倍	1:4	10	0.5	100LD ₅₀	6	4
对照组	/	/	10	/	100LD ₅₀	1	9

表 2 不同效价小鹅瘟抗体对雏鹅攻毒保护试验统计结果

组别	雏鹅数(只)	存活数(只)	死亡数(只)	保护率
1:16 抗体组	30	29	1	96.67%
1:8 抗体组	30	25	5	83.33%
1:4 抗体组	30	17	13	56.67%
对照组	10	9	1	90%死亡

在比较不同效价抗体的预防效果时,雏鹅注射相同剂量不同琼扩效价的卵黄抗体,随着卵黄抗体琼扩效价的升高,对雏鹅保护率也随之提升。攻毒效果提示小鹅瘟卵黄抗体预防小鹅瘟具有良好的效果,且抗体琼扩效价高低与攻毒保护呈正相关。琼扩抗体效价可代替雏鹅效价试验。其中抗体效价为 1:16 时,小鹅瘟卵黄抗体对雏鹅保护率

小鹅瘟卵黄抗体接种 3 日龄雏鹅,当抗体效价为 1:16 时,攻毒保护率为 96.67%;抗体效价为 1:8 时,攻毒保护率为 83.33%;抗体效价为 1:4 时,攻毒保护率为 56.67%;对照组 90%死亡。结果见表 2。

3 小结与讨论

小鹅瘟卵黄抗体的效价与预防效果密切相关。小鹅瘟卵黄抗体接种 3 日龄雏鹅,当抗体效价为 1:16 时,攻毒保护率为 96.67%;抗体效价为 1:8 时,攻毒保护率为 83.33%;抗体效价为 1:4 时,攻毒保护率为 56.67%。

达到 95%以上。确定抗体效价 \geq 1:16 时为小鹅瘟卵黄抗体血清学效价标准。

参考文献:

- [1] 殷震,刘景华. 动物病毒学[M]. 第二版. 北京:科学出版社, 1997:294, 328, 335.
- [2] 方定一. 鹅瘟的介绍[J]. 中国兽医杂志, 1962(8):19-20.
- [3] 黄奇昌,王红宁,程安春,等. 抗小鹅瘟异源高免血清的研制和应用[J]. 四川农业大学学报, 1997, 15(1):99-101.
- [4] 费恩阁,李德昌,丁壮,等. 动物疫病学[M]. 北京:中国农业出版社, 2004:586.
- [5] 王永坤. 如何预防小鹅瘟[J]. 中国禽业导刊, 2004, 21(5):31-32.
- [6] 张玉树,熊吉环,由善智,等. 抗小鹅瘟血清及卵黄抗体的制备及其免疫试验[J]. 黑龙江畜牧兽医, 1989(12):1-3.
- [7] 中国标准出版社第一编辑室. 动物防疫标准汇编[M]. 北京:中国标准出版社, 2004:473-478.

实验用 Beagle 犬的繁殖性能分析

胡敏华¹, 周治东¹, 王晓民², 龙海斌¹, 倪庆纯¹, 刘运忠¹

(1. 广州医药研究总院有限公司(国家犬类实验动物种子中心), 广东 广州 510240;

2. 南京大学模式动物研究所, 江苏 南京 210061)

摘要:通过分析某犬类实验动物种子中心2011-2014年200~300只Beagle犬的繁殖记录,并对发情母犬进行手术取卵,以推测排卵数。结果表明,Beagle犬全年均可繁殖,且犬只分娩高峰集中在春夏两季,冬季最少,大部分种母犬胎产子数在5~7只之间;手术取卵结果平均每只母犬可获得4.95枚卵子。

关键词: Beagle犬; 繁殖; 产子数; 分析

中图分类号: S814

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)03-0041-04

Analysis of Reproductive Ability of Experimental Beagle Dog

Hu Minhua¹, Zhou Zhidong¹, Wang Xiaomin², Long Haibin¹, Ni Qingchun¹, Lui Yunzhong¹

(1. Guangzhou General Pharmaceutical Research Institute Co., Ltd.(National Seed Center of Experimental Dogs), Guangzhou 510240, China; 2. Model Animal Research Center of Nanjing University, Nanjing 210061, China)

Abstract: We analyzed reproduction records of Beagle dogs (the number of parturition, the average litter size, the proportion of male and female) which bred in our experimental animal center from 2011 to 2014, and surgically obtained oocytes from the oestrus female dogs to presume ovulation ratio. The results showed that Beagle dogs can breed at all the year round, spring and summer was the peak of parturition, but parturition rate of winter was the lowest. Averagely the female dog gave birth to 5-7 puppies, and the average number of oocytes surgically obtained from the the oestrus female dogs was 4.95.

Key words: Beagle dog; Reproductive ability; Average litter size

Beagle犬因其性情温顺,体格适中,遗传背景清晰,生长良好,在医药、公共卫生、生命科学和军事医学研究领域发挥着重要的作用。但目前,我国Beagle犬种群内的不发情或发情不孕、休情期延长、停发情、窝产仔数少等情况比较常见,一定程度上制约着Beagle犬的生产效率,因此,针对Beagle犬的生殖生理规律研究具有重要的理论与实际意义^[1-2]。本文通过统计分析国家犬类实验动物种子中心的种母犬繁殖生理记录,揭示Beagle犬繁殖规律,为Beagle犬的生产及医药研究提供科学数据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

繁殖数据来自广州某医药研究院国家犬类实验动物种子中心[SCXK(粤)2013-0007, SYXK(粤)2014-0099]2~6岁种母犬;取卵实验用犬来自该中心普通实验用母犬,饲养管理严格按照该中心制定的SOP进行。

1.2 方法

从该中心Beagle犬信息管理系统导出2011-2014年种母犬生产繁殖数据,然后对数据进行统计分析。统计春季(3-5月)、夏季(6-8月)、秋季(9-11月)、冬季(12-2月)各季节分娩母犬的只数;每只母犬胎产仔数。利用母犬阴道上皮细胞涂片法确定实验犬排卵时间后,对实验犬进行麻醉并手术取卵,统计每只母犬取卵数。

收稿日期: 2015-01-16

基金项目: 国家科技支撑计划(2013BAK11B02); 广州市科研条件建设项目(穗科信字[2011]233-16)

1.3 数据分析

Beagle 犬繁殖数据用 Excel 2003 进行整理, 用 SPSS 软件进行显著性分析。数据用平均数±标准误表示。

2 结果

2.1 种母犬分娩的季节性规律

由表 1 可以看出, Beagle 犬全年均可发情交配、分娩幼犬; 平均分娩数随季节的变化而变化, 呈现先上升后下降趋势。经过分析统计, 2011-2014 年春、夏、秋三季平均分娩数要极显著地高于冬季 ($P < 0.01$), 夏季显著地高于秋季 ($P < 0.05$), 其中夏季平均分娩数比冬季高出一倍多。2012 年和 2014 年夏季分娩的犬只数所占比例分别达到了 35% 和 32%。而 2013 年春季分娩的犬只数所占比例 34%, 略高于夏季。纵观 4 年各季节的分娩情况, 分娩高峰主要集中在春夏两季, 秋冬两季分娩率较低。

2.2 胎产子数及其仔犬性别比例

分析 2011-2014 年共计 1 007 胎次 Beagle 犬的胎产仔数, 2011 年平均每胎产子数为 5.9 只, 2012 年 5.8 只, 2013 年 5.3 只, 2014 年 5.5 只, 4 年平均胎均产仔数为 5.7 只。由表 2 也可以看出, 2011-2014 年大部分种母犬的胎产子数在 5~7 只之间, 分别占总生产母犬的 60%、56%、57%、64%, 其中胎均产子数为 6 只所占比例最高, 分别为 22%、22%、23%、24%。少数胎产子数可以达到 10 只以上。另根据数据管理系统每年产子的公母比例记录情况分析, 2011-2014 年所产仔犬的公母比例分别为 0.98:1、1:0.99、1:0.99、1:0.97, 其公母比例相对平衡。

2.3 平均取卵数

为推测母犬平均每次发情排卵数, 科研人员对发情母犬进行麻醉取卵, 统计平均取卵数。每天观察母犬, 如发现有阴道滴血, 则挑出, 此为发情前期第一天。当滴血第 8-12 天开始每天做阴道涂片检查, 当阴道上皮细胞角质化程度达到

表 1 2011-2014 年 Beagle 犬各季节的分娩情况

季节	2011		2012		2013		2014		平均分娩数
	分娩数	比例	分娩数	比例	分娩数	比例	分娩数	比例	
春季	60	27%	91	29%	82	34%	63	27%	99.33±3.84 ^{abd}
夏季	67	30%	107	35%	71	29%	77	32%	105.33±9.91 ^{aa}
秋季	52	24%	74	24%	49	20%	66	28%	80.33±4.26 ^{ab}
冬季	42	19%	37	12%	39	16%	30	13%	50.67±3.67 ^{bc}
总计	221	100%	309	100%	241	100%	236	100%	1007

1): 数据右上肩不同小写字母表示差异显著 ($0.01 < P < 0.05$), 不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$); 相同字母表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

表 2 2011-2014 年 Beagle 犬胎产子数统计

项目	2011		2012		2013		2014	
	犬只数	比例	犬只数	比例	犬只数	比例	犬只数	比例
≤3	25	11%	39	13%	46	19%	26	11%
4	20	9%	35	11%	20	8%	25	11%
5	47	21%	59	19%	41	17%	45	19%
6	48	22%	67	22%	56	23%	56	24%
7	37	17%	46	15%	40	17%	49	21%
8	30	14%	32	10%	28	12%	25	11%
≥8	14	6%	31	10%	10	4%	10	4%
总计	221	100%	309	100%	241	100%	236	100%
公母比例	0.98:1		1:0.99		1:0.99		1:0.97	

80%以上时,即可确定为排卵时间,第三天可做取卵手术。从表 3 可看出,冲卵成功率较低,母犬发情判定准确率不到一半(45.98%);对 40 只母犬

进行手术取卵,总获得 198 枚卵母细胞,其中成熟卵母细胞占 71.72%,平均每只母犬取卵数为 4.95 枚。

表 3 手术取卵详情

供体母犬数(只)	冲卵成功母犬数(只)	冲卵成功率(%)	总卵数(枚)	成熟卵母细胞数	成熟率	平均取卵数(枚)
87	40	45.98%	198	142	71.72%	4.95

3 讨论

近年的研究表明犬属于非季节性发情动物^[3-5],日本学者星修三等指出,正常家犬一年有 2 次发情,大多数犬在 3-5 月的春天和 9-11 月的秋天各发情 1 次,而群居犬的发情则与季节没有明显关系^[3-6],本中心 2011-2014 年 Beagle 犬的分娩数据也可以看出全年均有幼犬出生,但春、夏、秋三季的分娩率显著高于冬季,上半年分娩率高于下半年,且夏季 Beagle 犬的出生率优于冬季的出生率,此与苏州地区的 Beagle 犬繁育情况的研究报道一致^[6]。本中心的 Beagle 犬种犬房按照一室 1 只种公犬和 3 只种母犬自由交配的方式进行繁殖,公母混养的方式在一定程度上也可诱导母犬发情,这也说明了全年均可对 Beagle 犬进行配种繁育分娩幼犬。

Beagle 犬在高温季节的受孕率明显低于其他季节,推测由于犬在配种前处于热应激之下,降低了受精率,环境温度高时卵子结构发生异常卵子受损伤所致,导致配种率低,秋冬季的分娩率低于春夏季。潘寿文、徐汉坤等对狼种犬的发情生理特性变化规律的研究认为,狼种犬在一年四季中的发情变化差异不明显,但在高温季节有所降低。这一结果反映出在自然环境中,特别是环境温度的变化,对于犬配种季节、受精率、胚胎死亡和胚胎发育等都会产生显著的影响^[7-11]。

Tedor 及 Okkens 等认为,大多数犬种的平均窝产保持在 3-7 只,个头最小的品种和最大的品种在窝产规模上相关性很大,窝产规模与犬的个头大小也存在着较大差异^[12-13]。本研究结果显示本中心 Beagle 犬年度平均产子数在 5~7 之间,其结果与 Tedor 及 Okkens 等报道的基本一致,对于多胎动物而言,窝产子数的多少受遗传,环境,营养,种母犬适配年龄、胎次及性格等多方面的因素影响,其产子数的多少对 Beagle 犬选种育种也

具有一定的指导意义。

犬的发情期一般分为发情前期、发情期、发情后期。发情前期以阴道分泌血样分泌物为第一天直到接受公犬爬跨为止,一般持续 8~9 天;发情期以接受公犬爬跨为第一天到不接受公犬爬跨,一般持续 10 天左右;之后为发情后期。整个发情过程一般持续 1~2 个月,之后进入间情期^[14]。确定犬的排卵时间方法有公犬试情法、阴道涂片法、孕激素测定法等。犬排出的卵子是 GV 期的卵,要在输卵管内停留 48~72 h^[15]才能成熟。由于犬生殖生理的特殊性,犬的发情鉴定、促排卵技术等都滞后于其它家畜。单靠阴道涂片法不足以正确判定母犬发情时间,最好联合其它方法一并判定。实验中平均每只母犬取卵数仅为 4.95 枚,可能在取卵时没有将输卵管内卵母细胞全部冲出。

综上所述,Beagle 犬属于全年均可发情配种的非季节性发情的多胎动物,冬季的分娩率极显著低于其它季节,因此,Beagle 犬生产繁育单位在实际生产中,在冬季到来前需要提前做好种母犬的饲养管理工作,如增强营养,补充矿物质和维生素,加大运动量等以提高种母犬冬季繁殖率。

参考文献:

- [1] 施新猷. 现代医学实验动物学[M]. 第 1 版. 北京:人民军医出版社, 2000, 60-61.
- [2] 杨幼明, 庄云发, 林远夫, 等. Beagle 犬繁育性能及血液学生化学测定[J]. 上海实验动物科学, 1994, 14(3, 4): 144-147.
- [3] 柳公卿, 李向党, 张文才, 等. 季节对德国牧羊犬母犬繁殖指标的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2010(7): 152-153.
- [4] 柳公卿. 德国牧羊犬繁殖相关规律的研究[D]. 南京:南京农业大学, 2009.
- [5] 张洪海, 马承宝, 刘国世, 等. 犬科动物繁殖生物技术研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2005, 41: 55-56.
- [6] 邢华. 创建转基因犬的相关基础研究[D]. 扬州:扬州大学图书馆, 2008: 60-70.
- [7] 星修三. 犬繁殖生理[M]. 文永堂出版社. 1977: 8-13.

[8] 潘寿文, 徐汉坤. 狼种犬发情期生理特性变化规律的研究[J]. 畜牧与兽医, 1997, 29:115-117.

[9] 罗维光, 臧玉琦. 实验用犬的繁殖研究[J]. 安徽农业科学, 1996, 103:110-112.

[10] 张忠诚. 家畜繁殖学[M]. 第三版. 中国农业出版社, 2000, 95-100.

[11] Hoffmann B, Riesenbeck A, Klein R. Reproductive endocrinology of bitches[J]. Animal Reproduction Science, 1996, 42:275-288.

[12] Tedor J B, Reif J S. Natal patterns among registered dogs in the United States[J]. J Am Vet Med Assoc,

1978, 172:1179-1185.

[13] Okkens A C, Teuuisen J M, Van Osch W, et al. Influence of litter size and breed on the duration of gestation in dogs[J]. J Reprod Fertil Suppl, 2001, 57:193-197.

[14] Holst P A, Phemister R D. Onset of diestrus in the Beagle bitch: definition and significance[J]. Am J Vet Res, 1974, 35:401-406.

[15] Tsutsui T. Gamete physiology and timing of ovulation and fertilization in dogs[J]. J Reprod Fertil Suppl, 1989, 39:269-75.

(上接第 32 页)

2.2 试验鸡蛋品质测定

试验鸡蛋品质性状测定值见表 2, 试验鸡蛋品质测定统计分析见表 3。

表 2 试验鸡蛋品质性状测定值

性状	测定值
蛋重(g)	39.45±2.89
蛋壳重(g)	4.36±0.43
蛋壳纵径(cm)	5.16±0.18
蛋壳短径(cm)	3.75±0.09
蛋壳强度(kg/cm ²)	4.03±1.02
蛋壳厚度(μm)	323.43±27.76
平均浓蛋白高度(mm)	0.53±0.04
蛋黄直径(cm)	4.07±0.14
蛋黄高度(cm)	1.72±0.09
蛋黄重(g)	13.31±0.95
蛋白重(g)	21.77±2.53
蛋黄色泽	7.65±0.47
蛋的相对密度	1.060±0.01

表 3 试验鸡蛋品质测定统计分析

项目	统计值
蛋形指数(纵/短径)	1.37±0.04
蛋黄指数(高/宽度)	0.42±0.03
蛋壳比率	0.11±0.01
蛋黄比率	0.34±0.03
蛋白比率	0.55±0.03
哈氏单位	79.63±2.88

3 小结与讨论

3.1 试验鸡产蛋性能优秀, 18-45 周龄间其产蛋率基本高于 50%以上, 最高可达 81.0%, 蛋重和产蛋数符合产蛋期蛋重的变化规律, 同时, 产蛋期存活率高, 耗料少, 种蛋合格率水平高。

3.2 试验鸡蛋重适宜, 为 39.45±2.89 g, 符合正

常鸡蛋蛋重。蛋壳强度达 4.03±1.02 kg/cm², 具有较高的强度, 有利于规模化、工业化、集约化的生产模式。如果未去除蛋壳内、外壳膜, 则为表观厚度, 一般在 370 μm^[4], 而试验鸡的蛋壳厚度为 323.43±27.76 μm, 略低于一般指标, 说明试验鸡蛋壳偏薄。蛋黄色泽良好, 颜色艳丽, 达 7.65±0.47, 符合消费市场的需求方向。蛋的相对密度为 1.060±0.01, 基本符合普通鸡蛋 1.080 以上的相对密度^[4]。

蛋形指数通常被作为种质分类的指标之一, 特定的鸡种往往具有一定的蛋形指数, 理想的蛋形指数在 1.31~1.35 之间^[5], 而试验鸡的蛋形指数为 1.37±0.04, 说明试验鸡蛋形指数合理, 符合理想指数。蛋黄比例受遗传因素的影响, 不同品种的鸡在蛋黄比率方面显著不同, 优质鸡往往具有较高的蛋黄比率^[6]。本试验中, 测得试验鸡蛋黄比率高达 0.34±0.03, 表明该鸡为非常优秀的鸡种。哈氏单位是衡量鸡蛋新鲜度的重要指标, 新鲜蛋哈氏单位在 75~85 之间, 蛋的等级为 AA 级^[4]。而试验测得试验鸡的哈氏单位为 78.65±2.59, 完全符合新鲜蛋的要求。

参考文献:

[1] 林斌, 张爱华. 贵妃鸡的特性和饲养技术[J]. 福建畜牧兽医, 2002, 24(2):29.

[2] 周新初, 姚红. 宫廷鸡与隐性白羽鸡杂交试验效果研究[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2001(5):24-25.

[3] 中华人民共和国农业部. NY/T823-2004 家禽生产性能名词术语和度量统计方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.

[4] 杨宁. 家禽生产学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2013. 267-271.

[5] 张慧君, 李福林. 蛋形指数对孵化效果的影响[J]. 内蒙古农业科技, 2008(2):65-66.

[6] 魏清宇, 李培峰, 崔少华, 等. 右玉边鸡配套系产蛋性能及蛋品质比较研究[J]. 山西农业科学, 2011, 39(7):723-725.

一例猫尿石症的诊断和尿道造口手术

夏新萌 刘承军 李 海

(山东省聊城市畜牧兽医局, 山东 聊城 252000)

摘要: 我处接诊1例猫尿石症疑似病例, 经过问诊、视诊、触诊、尿道探查等常用临床检查手段, 结合B超检查和尿常规检查等实验室检查方法, 确诊为猫尿石症。根据患病猫的机体状况和病情发展阶段, 确定采取尿道造口手术治疗。通过术后治疗和护理, 该患病猫表现良好。

关键词: 猫; 尿石症; 尿道造口手术

中图分类号: S858.293

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)03-0045-03

猫尿石症是猫类常见的疾病之一。它是由尿中的盐类结晶析出, 逐渐增长形成颗粒, 在尿道滞留而造成的。在临床病例中主要分为尿道结石和膀胱结石^[1]。常因结石颗粒增大造成尿路损伤性炎症或阻塞。患病猫容易出现频尿、尿淋漓、血尿和尿闭等典型症状。治疗不及时, 可引起患病猫死亡。因此需要引起猫主人和临床医生的高度重视。笔者对1例患尿石症的猫, 采取尿道造口手术治疗, 术后良好。现总结该病例诊断治疗过程, 为临床诊断治疗猫尿石症提供参考。

1 材料和方法

1.1 病例

2014年12月9日, 我处接诊的雄性折耳猫, 10月龄, 体重4.2 kg, 于7月龄时做过去势手术。

1.2 器材与试剂

无锡祥生 CHISON 600VET 数字化超声诊断仪, 日本 ARKRAY SPOTCHEM EZ SP-4430 自动干式生化分析仪, 中国迈瑞 BC-2600 全自动血液细胞分析仪, 日本 OLYMPUS CX-21 光学显微镜, 美国 MIDMARK 监护仪, 美国 MATRX-VME 型动物麻醉机, 中国迈瑞 UA-66 尿液分析仪, 台湾 Sky1aTM 天亮 VB1 兽医专用生化分析仪, 外科手术器械。

1.3 诊断

1.3.1 基本诊断 主诉近日患病猫饮食废绝, 有呕吐症状, 无尿, 精神沉郁; 视诊可见腹围增大; 触诊膀胱积尿明显; 尿道探查, 导尿管不能通过尿道, 尿道完全堵塞。

1.3.2 超声探查 动物行仰卧保定, 5.0 MHz 频

率 B 型超声探查, 可见膀胱充盈, 有大片液性暗区, 内有沙粒状亮点并随体位变化而下沉。膀胱壁侧边缺如, 远场强回声淤积影像下声影并伴有声影两侧声尾(图 1)。膀胱内漂浮的回声光点为炎性产物或微小的血凝块(图 1)。检查结果: 膀胱结石和尿道结石, 尿道完全阻塞。



膀胱存有较多强回声型光斑(图中箭头所示)

图 1 膀胱声像图

1.3.3 血液细胞检验 血常规检查结果显示红细胞、血红蛋白、平均红细胞血红蛋白浓度均升高, 其他项目未见异常, 因此推测患病猫严重脱水。

1.3.4 血液生化检验 血液检查结果显示 BUN、CREA、PHOS、K、LDH 及 Glu 升高, 可能是阻塞尿道、尿液无法排除所致。存在高钾血症、肾后性氮质血症。Na 升高可能由于病猫轻度脱水和呕吐所致, 并导致 Cl 的降低。LDH 升高表明该猫存在着因尿毒症引起的一般性损伤。Glu 升高可能是由动物不适、精神紧张所致的肾上腺皮质激素分泌增加而引起的。由 K 升高推断机体存在代谢性酸中毒。

1.4 尿道造口手术因该患病猫尿道完全堵塞,建议进行手术治疗。由于猫已经 2d 没有饮食,精神沉郁,血液分析情况严重,在征得主人同意并签订手术协议后,当天进行会阴部尿道造口手术。

1.4.1 术前准备 手术器械消毒,埋置留置针,建立静脉通路。根据体重,皮下注射阿托品 0.15 mg、痛立定 0.4 mL、止血敏 220 mg,计时 15 min。

1.4.2 麻醉 15 min 后,通过留置针静脉推注丙泊酚 2 mL 诱导麻醉。迅速进行气管插管,通入氧气和异氟烷的混合气体麻醉。使用监护仪监测心率和心动和血氧。开始时加大麻醉气体量(4 字节),等到患病猫心率降到 120 次/min 左右,血氧浓度接近 100%,且状态稳定后,减少异氟烷的通入量(2.5 字节),进行维持麻醉^[2]。在手术过程中根据猫的心率、血氧浓度的变化不断调节异氟烷的通入量,保证手术的顺利进行。

1.4.3 膀胱穿刺 由于患病猫 2 d 未排尿,膀胱肿胀,为便于手术,同时防止尿道疏通时膀胱内的尿液喷出,污染切口或将结石冲到其他地方,影响结石的清理,进行膀胱穿刺,排出膀胱内滞留的尿液^[3]。

1.4.4 保定备皮及消毒 患病猫俯卧保定,将会阴部稍微垫高。剃除股部、会阴部和尾部的被毛。术部清洗消毒,铺设创巾。

1.4.5 术式 沿阴囊和包皮做一椭圆形切口,将包皮和阴茎分开,彻底剥离包皮(图 2)。用镊子或止血钳夹住阴茎龟头向背侧翻转,切除阴茎周围结缔组织,暴露肌肉。切断坐骨海绵体肌、阴茎退缩肌、坐骨尿道肌和阴茎背侧韧带,继续剥离直至完全暴露尿道球腺(图 3)。用手术剪沿尿道口剪开尿道,至结石阻塞处。小心取出结石(图 4),确认清理干净后继续扩大尿道切口至刚好超过尿道球腺,用止血钳探查尿道开口是否足够大,保证不会再堵塞。膀胱插入导尿管导出尿液(图 5),清理创口。用可吸收缝线将尿道黏膜与皮肤间断缝合(图 6)。至阴茎有 2/3 的组织缝入皮肤内,贯穿结扎阴茎,切除多余部分,缝合剩余皮肤。可以向膀胱内注入大量生理盐水冲洗膀胱,将结石残渣冲出,剩余结石可由新造尿道口排出。将导尿管缝合到皮肤上,连接一次性引流袋贮存尿液。

手术后取出大小不一的结石若干块。洗净后呈灰白色,质地软,易碎;镜下检查如图 8,判断为磷酸铵镁结石(鸟粪石)。



图 2 切开皮肤



图 3 分离阴茎周围组织

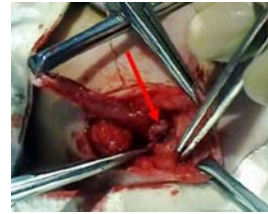
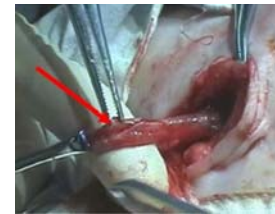
图 4 暴露尿道球腺
(箭头所示)图 5 取出结石
(箭头所示)

图 6 尿道插管



图 7 缝合创口



图 8 尿道结石显微镜下检查(×400)

1.5 手术后护理

手术完毕,关闭麻醉,不要马上抽掉气管插管,继续通入氧气 10 min,待复苏后抽出插管。术后注意保暖,患病猫要佩戴伊丽莎白圈防止咬导尿管或舔舐伤口。术后 8 h 禁食禁水,静脉输液补充能量。

1.6 术后治疗

术后连续 3 d 静脉输液 (0.9%氯化钠 100

mL、NaHCO₃ 0.2g、0.9%氯化钠 50 mL、头孢唑林 200 mg、10%葡萄糖 100 mL、ATP 20mg、CoA 100IU、维生素 C 200 mg)。而后继续静脉输液 2d(0.9%氯化钠 100 mL+NaHCO₃ 0.2g、复方氯化钠 100 mL+NaHCO₃ 0.2g)。第 6 d 出院,服用猫泌尿道处方粮,每日注意清理伤口。第 11 d 拆线,伤口愈合良好,正常排尿,继续佩戴 2 w 伊丽莎白圈。同时建议主人更换猫粮,食用泌尿道处方粮 1 个月以上。

2 小结

通过该病例诊断治疗过程发现,尿道造口手术治疗猫尿石症效果明显。但是尿道造口手术可以治疗尿道阻塞,不能解决猫尿石症的形成。该病

应以预防为主。加强饲养管理,避免尿路感染;改善饮食结构,使用猫泌尿道处方粮,减少食物中钙、磷、镁等矿物质的含量;增加饮水量;定期服用尿液酸化药物。这些都可以减少盐类结晶的生成,减少猫尿石症的发病率。

参考文献:

- [1] 彭勃,谢富强,李秋明. 猫尿石症研究概况[J]. 中国兽医杂志, 2004(4):37.
- [2] 林德贵. 兽医外科手术学[M]. 第五版. 北京:中国农业出版社, 2011:44.
- [3] 潘庆山,薛琴,郑兰华. 尿道造口术治疗公猫顽固性尿道阻塞[J]. 中国兽医杂志, 2005, 41(9):44.

注意啦:2015 年执业兽医资格考试时间表出炉!

2015 年全国执业兽医资格考试时间表出炉啦,要参加考试的朋友们请留意时间。

请注意以下时间点:

报名时间为 2015 年 5 月;

现场确认时间为 2015 年 6 月;

准考证打印时间为 2015 年 9 月起;

考试时间为 2015 年 10 月;

成绩查询时间 2015 年 12 月;

资格证领取时间为 2016 年 1 月。

2015 年全国执业兽医资格考试报名条件

符合下列条件之一的,可以报名参加 2015 年全国执业兽医资格考试:

1. 具有兽医、畜牧兽医、中兽医(民族兽医)和水产养殖专业大学专科以上学历的人员。
2. 2009 年 1 月 1 日前,不具有兽医、畜牧兽医、中兽医(民族兽医)和水产养殖专业大学专科以上学历,但具有兽医师以上专业技术职称的人员。

3. 2015 年兽医、畜牧兽医、中兽医(民族兽医)和水产养殖专业应届大学专科以上学历。

兽医全科类考试分为基础、预防、临床和综合应用四张试卷,每张试卷 100 道题,每张试卷分值为 100 分,四卷总分为 400 分。

预计 2015 年执业兽医考试各卷的具体科目为:

试卷一:基础科目。

包括兽医法律法规与职业道德、动物解剖学、组织学与胚胎学、动物生理学、动物生物化学、兽医病理学和兽医药理学;

试卷二:预防科目。

包括兽医微生物与免疫学、兽医传染病学、兽医寄生虫学和兽医公共卫生学;

试卷三:临床科目。

包括兽医临床诊断学、兽医内科学、兽医外科与外科手术学、兽医产科学和中兽医学;

试卷四:综合应用科目。

包括猪、牛、羊、鸡、犬、猫和其他动物疾病的临床诊断和治疗。(文章来源:中国执业兽医网)

仔猪腹泻的病因分析及防控措施探索

田存锋, 吴同山, 王敬军, 李 岩

(东莞市畜牧科学研究所, 广东 东莞 523086)

摘 要: 针对养猪生产中常见的仔猪腹泻疾病, 从腹泻的传染性、非传染性因素等方面分析原因, 结合实际养殖经验提出防治措施, 以期达到有效防控仔猪腹泻的目的。

关键词: 仔猪腹泻; 病因; 防控

中图分类号: S858.28

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)03-0048-03

仔猪因肠道微生态系统尚不稳定, 自身抵抗力低, 对外界刺激较敏感, 易受各种病原微生物侵害和有害因素刺激的影响而诱发腹泻。猪的品种对仔猪腹泻发病率有一定影响, 通常国内地方猪种比国外纯种和杂交瘦肉型品种猪的抗逆性和耐粗性强, 仔猪腹泻发病率相对较低。以新丰板岭原种猪场为例, 地方品种的蓝塘猪、大花白猪仔猪腹泻率远低于杜、长、大等纯种和杂交瘦肉型猪。仔猪腹泻可引起仔猪生长缓慢、发育停滞或成为僵猪甚至死亡, 从而导致成活率下降, 给养猪生产造成重大损失。引起仔猪腹泻的因素很多, 可分为传染性和非传染性两大类。传染性因素主要指疾病性因素, 常危害哺乳仔猪; 非传染性因素包括营养性和环境性因素, 常危害保育仔猪。

1 传染性病因

传染性因素主要是指细菌、病毒等病原微生物和寄生虫。细菌通常有大肠杆菌、沙门氏菌、魏氏梭菌和猪痢疾短螺旋体等主要致病菌; 病毒常见有猪传染性胃肠炎病毒 (TGEV)、猪轮状病毒 (RoV)、猪流行性腹泻病毒 (PEDV) 等, 另外球虫、蛔虫、线虫等均可导致仔猪腹泻。

1.1 病毒性腹泻

猪传染性胃肠炎 (TGEV) 是一种急性高度接触性肠道传染病, 主要是由 TGEV 感染而引起的。各日龄段仔猪均可感染, 10 日龄哺乳仔猪感染率最高, 5 周龄以上仔猪死亡率较低。又因其通过母乳获得免疫力, 故断奶后又成易感猪。该病多发于秋冬寒冷季节, 1~2 月份为发病高峰期。发病仔猪体温升高; 呕吐, 腹泻, 排黄、绿或白色腥臭粪便; 脱水。该病传染性较强, 可通过母乳和呼吸道传播, 一旦有猪发病很快传染全群。

轮状病毒感染是一种表现为消化道机能紊乱的急性肠道传染病, 主要发生于寒冬早春季节^[1]。

2~5 周龄仔猪易感, 发病率高达 80%, 死亡率 10%~30%。临床症状与 TGE 相似, 发病 24h 内出现厌食和腹泻, 排黄白色或暗灰色水样或糊状稀粪, 易发生脱水和死亡。剖检胃内可见乳凝块; 小肠壁变薄, 肠内充满液体, 大小肠黏膜呈弥漫性出血。

猪流行性腹泻 (PED) 是由 PEDV 引起的一种急性肠道传染病。与 TGE 症状相似但相对温和, 死亡率较 TGE 低。各品种、年龄猪均可感染, 日龄越小症状越严重。仔猪的临床症状多表现为腹泻, 以拉水样粪便、呕吐、脱水为特征, 仔死亡率较成年猪高^[2]。

另外一些常见传染病如猪瘟、伪狂犬病等也可能引起仔猪腹泻。感染猪瘟的仔猪有腹泻和便秘交替的症状, 排黄色油状粘性稀粪, 该症状在慢性猪瘟中更常见; 伪狂犬病病毒可引起 15 日龄内的哺乳仔猪顽固性腹泻, 出现神经症状, 精神萎靡、运动失调、发抖、痉挛等。

1.2 细菌性腹泻

引起仔猪细菌性腹泻的致病性大肠杆菌主要有仔猪黄痢 (早发性) 和仔猪白痢 (迟发性)。仔猪黄痢主要发生于 1 周龄内仔猪, 以 1~3 日龄最为常见。排黄色或黄白色水样粪便, 内含凝乳小块; 脱水, 消瘦, 直至死亡。发病率和死亡率均较高。仔猪白痢主发于 10~30 日龄仔猪, 发病率高, 死亡率低。多发于寒冷、炎热季节, 气候突变、阴雨潮湿, 母猪饲料差和母乳含脂过高等均是本病诱因。临床上以排灰白色浆状、糊状腥臭味稀粪为特征。猪痢疾, 俗称猪血痢。仔猪感染后出现不同程度腹泻, 粪便内含大量黏液、血液、血块或纤维素性渗出物。有的粪便为棕红、黑红色油脂状或胶冻状。仔猪精神不振, 厌食, 脱水, 甚至死亡。急症常见出血性下痢, 慢性以黏液性腹泻为主。仔猪副伤寒是由猪霍乱沙门氏菌和猪伤寒沙门氏菌引起的细菌性传染病。1~2 月龄仔猪易感, 多发生于寒冷、多

雨及气温多变季节。卫生条件差、仔猪免疫力低易成诱因。急性型常呈败血症症状,体温升高,皮肤出现紫斑;亚急性或慢性表现为肠炎、消瘦和顽固性下痢,粪便恶臭,有时带血。仔猪红痢是由C型魏氏梭菌外毒素引起的急性传染病,主发于7日龄内仔猪,多见于1~3日龄新生仔猪,2~4周龄仔猪偶有发生。病程短促,多数当天或5天内死亡,死亡率高。排红、褐色稀粪,含少量坏肠组织。

1.3 寄生虫性腹泻

寄生虫性疾病以孢子球虫引起的腹泻最为常见。球虫主要感染5~15日龄仔猪,以7~10日龄仔猪居多。主要临床症状是腹泻,粪便多见黄色糊状,继而水样腹泻。多发于阴雨潮湿季节。饲养密度过大或猪舍消毒不力易成诱因。该病病原感染比较普遍,部分仔猪虽然能自行康复,但会持续排出球虫卵囊,成为传染源。线虫多寄生于猪消化道,主要侵害20日龄以上仔猪,可引起呕吐、腹泻、贫血、粘液性或出血性下痢;另外还有皮下水肿,胸腹水增多,磨牙、空嚼等现象。仔猪因腹痛会出现忽然停止采食,离槽卧地,不久又吃食的现象,偶见排出虫体。土源性肠道线虫可引起仔猪十二指肠和空肠感染,再发和散发性大量腹泻是重度感染症状之一。线虫引起的轻度肠炎则表现为短期腹泻,也可能引发溃疡性肠炎并常伴有细菌感染。

2 非传染性病因

2.1 消化机能不全

仔猪出生后的几个小时内,肠道由无菌环境变成有双歧杆菌、乳酸杆菌、大肠杆菌、消化球菌和酵母菌等定居的微生态系统。一方面仔猪胃腺不发达,断奶后胃内pH值随乳糖发酵产物—乳酸含量下降而升高,促进了致病性微生物的繁殖,抑制了有益菌—乳酸杆菌生长;另一方面,消化不完全的蛋白质进入大肠后,在致病菌作用下易发生腐败、分解,造成胃肠道内菌群失衡,机能紊乱,导致仔猪因消化不良而腹泻。另外,仔猪断奶后以食饲料为主,小肠绒毛萎缩、脱落,且绒毛表面由高密度指头状变为平舌状或宽叶状,这些变化均可能导致仔猪消化不良而腹泻。也有资料表明,仔猪断奶后1周,胃肠内消化酶活性降低也会导致大分子营养物质分解不全而引起腹泻。

2.2 日粮抗原过敏

一般断奶仔猪更换为固体饲料后3~5天出现腹泻,1周左右病情得以缓解。这是由于仔猪消化道及其酶系统尚未发育健全,尤其6~8周龄仔

猪的胃蛋白酶活性较低,饲料中的抗原物质(如大豆抗营养因子、豆粕中的球蛋白等),包括无害蛋白质都有可能激发系统的免疫反应,在获得免疫耐受之前,通常会发生饲料抗原诱发的细胞介导的超敏反应(迟发性超敏反应),使仔猪肠道组织损伤。主要表现为小肠绒毛萎缩,隐窝增生,消化酶分泌不足导致肠道吸收障碍而引起腹泻。

2.3 营养因子缺乏

胎儿期营养状况对仔猪腹泻有间接影响。若母猪妊娠期间尤其是妊娠后期采食饲料中的蛋白质、维生素和某些微量元素不足,其仔猪发育不良及抗病能力弱。仔猪缺乏烟酸、 V_{B12} 等蛋白和碳水化合物代谢辅酶会导致消化不良而腹泻,另外叶酸、泛酸、锌、硒、铁和铜等营养物质在一定程度上能预防贫血、增强免疫力,从而有助于抵御细菌、病毒的侵袭。

2.4 饲养管理和应激因素

仔猪神经系统发育不完善,体温调节等机能不健全,抗寒力差。当天气突变,贼风入侵或保温不当,加上猪舍卫生差时,可致仔猪免疫力下降,消化功能紊乱,病原微生物增殖而造成腹泻。饲喂过饱或不足同样是饲养管理中常见的腹泻因素。若仔猪吃得过饱,饮水过多,会造成营养性下痢;若母猪产前营养过剩,产后又摄入过多蛋白,造成乳汁过浓、营养过剩,引起仔猪脂肪性下痢;母猪营养不良,奶水不足,会造成仔猪饥饿性下痢,甚至有仔猪因吃不到足够母乳而去喝生水导致下痢。仔猪对断奶后母仔分离、换料、分群并窝、伙伴及环境温度湿度变化等应激因素也会产生不同程度不适,可能因采食量下降或消化不良而腹泻^[3]。

3 仔猪腹泻的综合防治

防治仔猪腹泻,应该按照防重于治的方针,根据导致仔猪腹泻的具体病因,采取及时且有效的措施来防控仔猪腹泻疾病。

3.1 病毒性腹泻防控

对于TGE、PED的防治,主要从疫苗免疫和饲养管理两方面加强。免疫疫苗既可以通过免疫母猪使得哺乳仔猪获得被动免疫,也可直接免疫仔猪,使其得到主动免疫能力。应用猪传染性胃肠炎—流行性腹泻(TGE—PED)二联灭活苗后海穴注射仔猪,预防TGE、PED效果较好;仔猪也可从母乳中获得一定的轮状病毒抗体提高免疫力。国外有报道可在母猪怀孕前2周和仔猪出生后1周使用猪轮状病毒弱毒苗;何家惠等^[4]在春秋两季给母猪同时免疫用弱毒株Na86F90制成的疫苗与大肠杆

菌疫苗,可基本控制仔猪腹泻发生。

饲养管理中应注意猪舍环境卫生,保持猪舍及用具清洁卫生及防寒保暖工作,尤其保证仔猪吃到初乳以增强抵抗力。一旦发病,病猪应立即隔离到清洁、干燥的猪舍中,加强护理并及时清除粪便等污染物,防止病原传播。

3.2 细菌性腹泻防控

对于细菌性腹泻,主要从饲养管理、疫苗预防和药物治疗三方面防控。在饲养管理方面,首先应坚持自繁自养,严格控制引种。其次要抓好产房母猪和仔猪的护理工作,新生仔猪尤其注意防寒保暖和及时吃到初乳,保证饲料和饮水卫生等;预防仔猪黄、白痢,可对妊娠母猪在产前14~21天注射1次仔猪腹泻K88-K99双价基因工程苗或仔猪腹泻K88-K99-987P-F41四价基因工程苗进行预防;对发病严重的猪场在仔猪出生后1~2天和12~20天接种本地疫苗;对已发病仔猪,可用诺氟沙星与微生态制剂并配合补液治疗。彭健等^[5]认为通过特异性免疫生产的鸡卵黄抗体是预防仔猪大肠杆菌性腹泻的新方法,可有效降低仔猪腹泻发生率,同时可以提高仔猪日增重。

猪痢疾可用痢菌净防治。如有发病,应立即对病猪隔离治疗或淘汰并做无害化处理,对圈舍彻底清扫消毒。在仔猪副伤寒常发地区,可对1月龄以上仔猪或断奶仔猪,用仔猪副伤寒冻干弱毒苗进行免疫接种;对病猪可用抗生素治疗,同时配合其他辅助措施。对仔猪红痢,用仔猪红痢氢氧化铝菌苗对母猪在分娩前28天肌注5 mL,产前14天加注10 mL,可使初生仔猪通过吃初乳和母乳获得被动免疫。经产母猪如前胎已接种过该菌苗,于分娩前15天注射1次即可,剂量为3~5 mL。有报道称给新生仔猪肌肉注射C型魏氏梭菌抗血清,可以使仔猪获得主动免疫。

3.3 寄生虫性腹泻防控

防治寄生虫原则是保证环境清洁卫生,加强圈舍、饲养用具及养殖场周边环境的消毒工作;制定合理的驱虫程序及定期全群驱虫是防治寄生虫病的基础。翁亚彪等^[6]提出选用“虫力黑”作首选驱虫药,同时实施“四加一”驱虫模式效果良好。其中“四”指种猪一年驱虫4次,“一”则是仔猪在保育舍或生长舍阶段驱虫1次,以及引进种猪并群前驱虫1次。即空怀母猪、怀孕母猪、哺乳母猪、种公猪间隔3个月驱虫1次;仔猪在保育阶段后期或生长舍阶段驱虫一次;引进种猪并群前10天驱虫1次。

3.4 非传染性腹泻防控

仔猪因年幼消化系统发育不全导致消化机能弱,可在仔猪日粮中添加外源性酶制剂,如淀粉酶、蛋白酶等来填补仔猪体内欠缺的多种消化酶以促进消化^[7];在饲料中添加有机酸,如乳酸、延胡索酸和柠檬酸可在一定程度上抑制大肠杆菌等有害菌繁殖。闻爱友等^[8]建议对日粮中的豆粕进行加工处理或减少抗原物质或添加一定比例的发酵豆粕来改善仔猪肠道菌群。

为避免仔猪营养缺乏可合理添加 V_E 和有机硒来调节体液免疫和细胞免疫反应;利用牛初乳饲喂仔猪,可提高仔猪免疫力和成活率;用全价饲料饲喂妊娠母猪,也可对母猪使用补铁制剂并在仔猪生后2~3天肌肉注射右旋糖苷铁、生血素或铁钴合剂。

在饲养管理方面,猪舍温度28~30℃,湿度60%~70%为宜,避免仔猪因温湿度骤变引起腹泻。保持产房和保育舍清洁卫生,为仔猪创造一个安静舒适的环境,避免不必要的刺激。提高仔猪应激适应性,如采取逐步断奶、早期补料及逐渐换料等措施;另外可在仔猪饮水或饲料中添加 V_C 、 V_E 等抗应激添加剂。及时清理余料,用石灰粉及时处理仔猪拉出的稀粪。补饲期间少量多次饲喂,防止仔猪吃得过饱。

4 小结

綜前所述,仔猪腹泻与多种因素相关,包括疾病、生理、饲养管理和环境等。养殖应从多角度、多层次采取措施来防治仔猪腹泻。养好妊娠母猪是前提,做好猪场饲喂管理是基础。需制定合理的饲管程序并规范养猪操作,最大程度地降低仔猪腹泻的发病率和死亡率。

参考文献:

- [1] 王玲,蒲万霞,常惠芸,等.仔猪轮状病毒性腹泻的研究进展[J].动物医学进展,2006,27(10):50-54.
- [2] 甘振磊,汤德元,李春燕,等.猪流行性腹泻流行特点及流行现状的研究[J].猪业科学,2010(12):24-28.
- [3] 程学慧.早期断奶仔猪的营养需要研究进展[J].畜禽业,2000(8):12.
- [4] 何家惠,丁再棣,侯吉波.猪轮状病毒弱毒苗免疫研究[J].中国兽医学报,1996(5)13-14.
- [5] 彭健,王劼,詹志春,等.预防仔猪大肠杆菌性腹泻卵黄抗体的研究进展[J].饲料工业,2005(6):47-50.
- [6] 翁亚彪,胡毅军,李岩,等.集约化猪场常用驱虫方案及其驱虫效果探讨[J].养猪,2004(2):32-35.
- [7] 杨雪峰,聂芙蓉,王月影,等.酶制剂对仔猪早起断奶后腹泻的影响[J].河南畜牧兽医,2002,23(3):6-7.
- [8] 闻爱友,柳卫国,何邦国,等.发酵豆粕对早期断奶仔猪生长、肠道微生物菌群及腹泻的影响[J].安徽科技学院学报,2009,23(5):1-6.

鸭病毒性肝炎活疫苗 (CH60 株) 的田间免疫效果评价

丛秋实, 胡瑞鸿, 李叔伟

(哈药集团生物疫苗有限公司, 黑龙江 哈尔滨 150069)

摘要: 鸭病毒性肝炎(Duck Hepatitis, DH) 是雏鸭的一种高度致死性疾病, 可对养鸭业造成严重的经济损失。为了解鸭病毒性肝炎活疫苗的免疫效果, 在山东某种鸭场采用鸭病毒性肝炎活疫苗(CH60 株)对种鸭进行免疫接种, 在免疫后 2w、3w、1m、3m 和 6m 分别采血检测其中和抗体。结果表明, 种鸭免疫后中和抗体维持时间长; 在种鸭免疫后 6m, 其中和抗体仍然可以达到 1:94。

关键词: 鸭病毒性肝炎; 疫苗; CH60 株; 中和抗体; 保护率。

中图分类号: S858.32

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)03-0051-02

Field Efficacy of Attenuated Living Vaccine of Duck Viral Hepatitis (CH60 strain)

Cong Qiushi, Hu Ruihong, Li Shuwei

(Harbin Pharmaceutical Group Bio-vaccine Co. Ltd. Harbin 150069, China)

Abstract: Duck viral hepatitis is a highly mortality disease that infects ducklings, which brings significant economic losses in the duck industry. To understand immune effect of DHV vaccine, breeder ducks were vaccinated with attenuated living vaccine of DHV (CH60 strain) in Shandong, the blood was collected at 2w, 3w, 1m, 3m, 6m post inoculation and detected by Virus-neutralization Test. The results showed that the DHV vaccine can last for a long period of immunity; the titers of antibodies can sustain 1:94 six months later.

Key words: Duck Viral Hepatitis; Vaccine; CH60 strain; Neutralizing antibody; Survival rate

鸭病毒性肝炎(DH)是由鸭肝炎病毒(DHV)引起的一种传播迅速、高度致死性疾病。该病潜伏期短,多发于3周龄以内雏鸭;鸭群日龄越小,死亡率越高。主要表现食欲废绝、排黄绿色稀便、运动失调,并有角弓反张等神经症状。病理变化以肝脏肿胀出血为主。成年鸭以隐性感染为主,不影响产蛋率,但能够排毒^[1,2]。

DHV分为血清I型(小RNA病毒)、血清II型(星状病毒)和血清III型(小RNA病毒)。我国以DHV I型流行为主^[3]。四川农业大学动物医学院程安春教授研发了DHV活疫苗(CH60株),对我国DH的防控起到了积极的作用。该疫苗可以对种鸭和雏鸭进行免疫,对种鸭免疫后使其所产种蛋孵出的雏鸭具有高水平母源抗体,以防控该病的早期

感染,降低经济损失。

为进一步证实该产品在实际生产中的免疫效果,同时验证1个剂量/羽份免疫后的抗体效价,进行了如下试验,希望能够为广大养殖业者提供实验数据。

1 试验动物和材料

1.1 试验时间为2014年11月。

1.2 试验动物为28周龄樱桃谷种鸭1万羽,由山东某大型种鸭场提供,常规饲养管理。

1.3 DHV I型弱毒活疫苗(CH60株),批号:201401,由哈药集团生物疫苗有限公司提供。

1.4 10日龄SPF鸡胚,由哈药集团生物疫苗有限公司SPF种鸡场提供。

2 试验方法

2.1 对1万羽28周龄种鸭,采用1羽份/只剂量的DHV I型弱毒活疫苗(CH60株)进行腿部肌肉接种1次。接种后2 w、3 w、1 m、3 m、6 m分别随机采血40份,分离血清。通过抗体中和试验,测定DHV I型中和抗体水平,求其平均值,以评价疫苗免疫效力。

2.2 中和试验:试验血清进行2倍倍比稀释;将DHV-I型病毒稀释成每单位含200ELD₅₀,然后与等量倍比系列稀释的血清混合,置37℃ 1 h;每一稀释度接种10日龄SPF鸡胚5枚,0.2 mL/胚,观察144 h。

在观察期间记录胚的存活数和死亡数,计算距离比,然后按照Reed-Muench两氏法计算病毒的PD₅₀,最后计算出中和抗体平均值。

$$\text{距离比} = \frac{\text{高于50\%的百分率} - 50\%}{\text{高于50\%的百分率} - \text{低于50\%的百分率}}$$

$\lg PD_{50} = \text{高于50\%死亡百分率稀释度对数} - \text{距离比} \times \text{稀释系数的对数}$

3 试验结果

3.1 中和抗体

自接种2 w后,抗体即可达到高峰,最高可达1:186,随即逐渐下降,免疫后6 m抗体仍可达1:94。结果见表1、图1。

表1 中和抗体随时间变化

免疫后时间	中和抗体
2w	1:186
3w	1:166
1m	1:162
3m	1:132
6m	1:94

3.2 免疫后状态观察

免疫后观察鸭群精神、食欲良好,注射部位无肿胀感染,产蛋率稳步增长,至30 w达产蛋高峰。

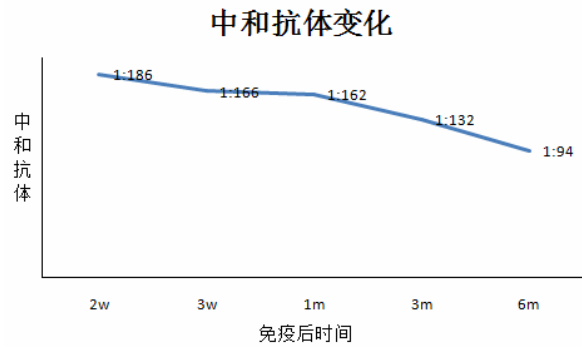


图1 中和抗体随时间变化折线

4 分析与讨论

4.1 根据四川农业大学的相关研究,雏鸭中和抗体达到1:64即可使鸭群抵抗1万倍ELD₅₀的DHV强毒攻击,并可100%保护;种鸭免疫后血清中和抗体达到1:97,其所产种蛋孵化的后代在1日龄以1万倍ELD₅₀的DHV强毒攻击,结果100%保护;种鸭免疫后血清中和抗体达到1:64,其所产种蛋孵化的后代在1日龄以1万倍ELD₅₀的DHV强毒攻击,仍可达80%以上的保护率^[4]。

4.2 通过本试验不难看出,免疫后2 w至免疫后6 m,中和抗体水平平均在1:94以上,推测对其子代雏鸭基本可以达到100%的保护效果。

4.3 实验结果证明,鸭病毒性肝炎弱毒活疫苗(CH60株)采用1倍剂量/羽份免疫接种,能够产生坚强的抗鸭肝炎中和抗体。

4.4 本试验只在28周龄进行1次鸭肝炎活疫苗的免疫接种,而根据程安春教授的相关研究,如果在22 w进行初次免疫,24 w加强免疫,将会产生更为坚强的免疫效力^[4]。

参考文献:

- [1] 路振香,李国东.中药提取物抗鸭肝炎病毒试验[J].中国试验方剂学杂志,2009(6):88-89.
- [2] 李飞凤.鸭病毒性肝炎的机理与防治[J].山东畜牧兽医,2014(1):40-41.
- [3] 石蓉.鸭病毒性肝炎的诊治[J].畜牧兽医科技信息,2012(6). DOI:10.3969/J. ISSN.1671-6027.2012.06.089.
- [4] 程安春,汪铭书,崔恒敏,等.鸭瘟鸭病毒性肝炎二联弱毒疫苗的研究:IV.疫苗的田间免疫试验[J].四川农业大学学报,1996(1):128-134.