

双月刊 1976年3月创刊  
第40卷第4期 (总第182期)  
2015年08月18日出版  
中国标准连续出版物号 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 廖 明 余业东 王 浩  
顾万军 曹俊明 屈源泉 曾振灵  
毕英佐 徐志宏 舒鼎铭 孙彦伟  
王贵平 张健骅 王政富 刘彩霞  
熊惠军 吴玄光 刘清神 卢受昇  
特邀编委:  
陈 峰 谢志刚 林旭埜 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:gdxmsykj@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·

- “猪周期”向上趋势确立 养猪业扭亏为盈——2015年上半年我国生猪生产形势分析及后期走势判断.....虞 华,唐瑞丰,等(1)
- 大蒜素抗菌及其在猪生产中的应用研究进展.....郭 蕊,姜中其(5)

### ·畜牧技术·

- 应用计算机辅助精子质量分析系统对猪常温精液的品质检验.....张 洁,陈敏恒,等(8)
- 夏季养猪的日常注意事项.....吴同山,田存锋(12)
- 狮头鹅空调室育雏技术.....刘思扬,林澄丰,等(15)

### ·兽医临床·

- 广东养禽场动物卫生状况调查报告.....万美梅,陈平洁,等(16)
- 猪流行性腹泻的新特点及其防控.....李乔晶,梁鹏帅,等(21)
- 卵黄抗体对不同日龄雏鹅小鹅瘟的治疗试验.....闫 妍(25)

### ·试验研究·

- 换液培养对猪卵母细胞的成熟及胚胎体外发育的影响....罗绿花,石俊松,等(27)
- 小柴胡汤与柴芩煎液对脂多糖致热大鼠解热作用的比较.....郭 曦,赵雪敏(31)
- 地衣芽孢杆菌 PCR 检测方法的建立与初步应用.....于新友,李天芝,等(35)
- 小鹅瘟卵黄抗体的理化特性研究.....藏玉婷,王 彬,等(38)

### ·华南宠物园地·

- 犬髌骨脱位手术治疗的探讨.....夏新萌(42)
- 犬子宫蓄脓症的诊治体会.....柳旭伟,葛文霞,等(46)

### ·经验交流·

- 马蹄修理的技术探讨.....刘克俊,王自豪,等(49)
- 祖代肉种父系母鸡的管理要点.....韩文格(51)

### ·信息之窗·

- 欢迎订阅本刊.....(14)
- 2015“永顺杯”优秀论文评选启事.....(45)

# GUANGDONG JOURNAL OF ANIMAL AND VETERINARY SCIENCE

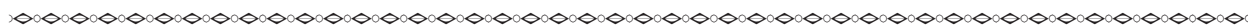
Established in march 1976(Bimonthly)

Aug.2015 Volume 40, Number 4 (Total No.182)

---

## Main Content

- Rising of Price Result in Earning or Pig Industry from Lossing — Analysis of Current Pig Production in First Half 2015 and its Later Trend ..... Yu Hua,Tang Ruifeng,et al (1)
- Anti-bacteria Function and Application of in Pig Allicin Production ..... Guo Rui,Jiang Zhongqi(5)
- Computer-assisted Sperm Analysis System for Detection of in Boars Fresh Semen Quality .....  
..... Zhang Jie,Chen Minheng, et al(8)
- Daily Notes to Pig Feeding in Summer .....Wu Tongshan,Tian Cunfeng(12)
- Brooding Techniques for Shitou Goose in Air-condition Cabinet ..... Liu Siyang,Lin Chengfeng,et al(15)
- Investigation on Animal Health Status in Poultry Farms in Guangdong .....  
..... Wan Meimei, Chen Pingjie, et al(16)
- New Clinical Characteristics and Control of Porcine Epidemic Diarrhea .....  
.....Li Qiaojing, Liang Pengshuai, et al(21)
- Therapeutic Test of Yolk Antibody Against Gosling Plague in Different Day-old Gosling ..... Yan Yan(25)
- Effects of Culture Medium on Porcine Oocyte Maturation and Embryo Development in Vitro.....  
..... Luo Lvhua,Shi Junsong,et al(27)
- Comparison of Anti-febrile Effects Between Xiao Chaihu Decoction Versus Chaiqin Decoction to Fevered Rats Induced by Lipopolysaccharides .....Guo Xi, Zhao Xuemin(31)
- PCR Assay for Detection of Bacillus Licheniformis ..... Yu Xinyou,Li Tianzhi, et al(35)
- Physical-chemic Property of Yolk Antibody Against Gosling Plague ..... Zang Yuting, Wang Bin, et al(38)
- Curation of Dog Patellar Dislocation.....Xia Xinmeng(42)
- Techniques of Horseshoe Repairation .....Liu Kejun,Wang Zihao,et al(49)
- Feeding Management of Hens from Grandfather line .....Han Wenge(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 gdxmsykj@163.com

# “猪周期” 向上趋势确立 养猪业扭亏为盈

## ——2015年上半年我国生猪生产形势分析及后期走势判断

虞 华<sup>1</sup>, 唐瑞丰<sup>2</sup>, 虞丽娜<sup>3</sup>

(1. 国家统计局盐城调查队, 江苏 盐城 224005; 2. 江苏省盐城市统计局, 江苏 盐城 224005;  
3. 中国邮政集团盐城分公司, 江苏 盐城 224005)

**摘要:**猪肉价格连续上涨已让不少市民感叹“猪坚强”重现。今年第二季度的猪市可以说是给2015年开了一个好头。6月底北方持续上涨劲头反超南方。在东北领涨的局势下,北方每千克突破16元的地区稍有增加,南北地区均有局部地区突破16元大关。虽说16元的价位并不是普遍行情,但养猪户在这种情况下压栏情绪日益严重。由于对9月份以后的行情走势抱有极大的信心,观望成为大部分养猪户的选择。目前,屠宰企业压价逼量作用不大,但提价空间也不大,养猪户与屠宰企业将继续保持对峙。不过当东北产能进入恢复期后,加上整体产能的恢复,猪价走势将趋于理性,后市猪价保持缓涨的概率较大。尽管猪肉价格已上涨两个多月,但其涨幅远低于生猪价格涨幅,这意味着国内市场的猪肉需求较为低迷。夏季是我国肉类消费的传统淡季,因此短期内猪肉价格难以出现大幅上涨。2015年是近年来的猪市高峰期,猪价步步高,猪市现状加快了猪价的上涨步伐,为今年猪价破8奔9奠定了基础。

**关键词:**生猪价格; 盈亏平衡点; 压缩产能; 消费乏力; 周期性波动

**中图分类号:** S828

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2015)04-0001-04

### 1 上半年国内生猪市场总体特点

2015年1-6月份生猪价格走势基本可以分为2个时期:跳水探底期和持续上行期。生猪价格延续上年行情呈现跳水探底期(1-3月中旬),2015年的春节行情让赌“节前效应”的养猪人再次落空。春节期间,原本是猪肉消费的旺季,但是2015春节期间生猪价格依然不旺,局部地区甚至出现暴跌。2015年“腊肉行情”对肉价的刺激并不明显,春节前多地猪肉价格出现大幅跳水。价格监测数据显示:2015年2月15日全国生猪平均出场价格跌破12元/kg,较年初下跌1.18元/kg,仅为11.94元/kg,跌幅达9%。而春节后的行情更是让人心碎,3月15日全国生猪平均出场价格已跌破11.50元/kg,仅为11.48元/kg,较年初下跌1.64元/kg,跌幅达12.5%。2015年3月中旬起,供应趋紧倒逼屠宰企业主动提高收购价,全国各地的猪价都出现了较为明显的涨势,羊年节后疲软期终于过去,生猪价格探底后进入持续上行期(3月中旬-6月底)。历时2年多的猪市寒冬终于迎来春暖花开的时刻,猪粮比价开始止跌回升,这让经历严重亏损的养猪户看到了希

望。他们对猪价上涨形成预期,期待猪价涨得更高,从而产生压栏惜售心理。压栏行为加剧了短期内的市场供应紧张,导致了猪价的持续上涨,养猪开始扭亏为盈。

#### 1.1 上半年猪价走势呈现“V”字型

可喜的是这个反弹点还比2013年的时间提前了1个月左右,而且反弹力也大于2013年的。价格监测资料显示:2015年上半年全国生猪出场价格平均每千克为13.05元,比上年同期的12.08元高0.97元;比2013年同期的14.05元低1元。其中6月份均价最高,达14.82元/kg;3月份均价最低,仅11.69元/kg(图1)。生猪出场价格从3月中旬的底部反弹至6月底,反弹幅度达37%。2015年上半年全国猪肉批发价格平均每千克为18.38元,比上年同期的19.77元便宜1.39元;比2013年同期的21.89元低3.51元。其中:6月份均价最高,达19.41元/kg;3月份均价最低,仅17.48元/kg,6月30日已回升到20.69元/kg(图2)。猪肉批发价格从底部(3月下旬)至6月底,反弹幅度仅为22%。

#### 1.2 猪粮比价经历了“蓝-黄-红-黄-蓝-绿”6个

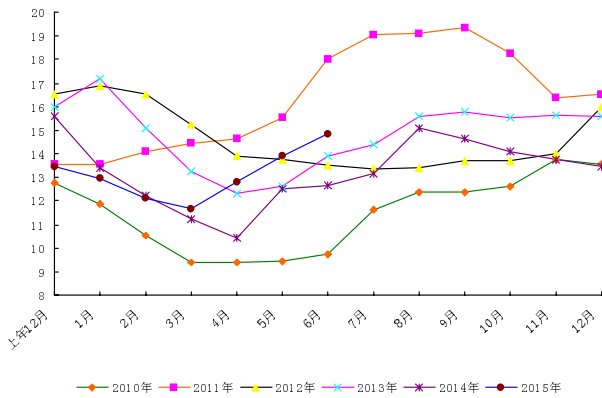


图1 2010年以来全国生猪月度平均出场价格走势(元/kg)

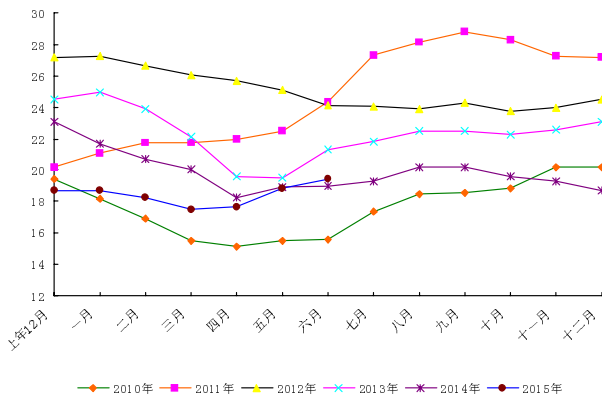


图2 2010年以来全国猪肉月度平均价格走势(元/kg)

### 预警区域,养猪开始扭亏为盈

2015年1月25日前猪粮比价还在5.5:1以上,1月30日已跌破5.5:1,为5.49:1,从“蓝色区域”跌入“黄色区域”,步入介于“5:1-5.5:1”之间的中度亏损时代;3月10日已跌到了4.95:1,跌进重度亏损时代的“红色区域”,3月15日已跌到了4.86:1;3月30日回升至5.11:1,重新返回到“黄色区域”;4月25日已回升至5.65:1,进入“蓝色区域”;6月10日猪粮比价回升至6.04:1,进入“绿色区域”,已高于盈亏平衡点,6月30日已达6.52:1。监测资料显示:2015年上半年全国平均猪粮比价为5.5:1,比2014年同期的5.17:1高0.33个点,高6.4%。其中:1月份比价为5.58:1;2月份比价为5.21:1;3月份比价最低,为4.96:1;4月份比价为5.34:1,5月份比价为5.77:1;6月份比价最高,为6.13:1(图3)。

### 1.3 能繁母猪持续性大量淘汰,生猪存栏持续减少

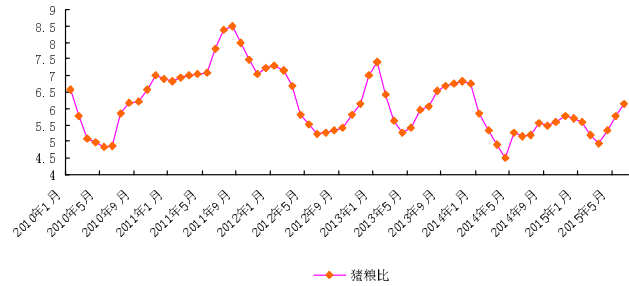


图3 2010年以来猪粮比价变化

国家统计局统计调查数据显示,2015年3月底生猪存栏43553万头,同比减少1.4%。农业部公布的2015年5月份4000个监测点生猪存栏信息显示,5月生猪存栏较上月减少0.2%,比2014年同月下降9.8%(图4)。其中,能繁母猪存栏较上月减少1.2%,较2014年同月减少15.5%,已经连续15个月低于《生猪调控预案》中下降5%的预警值;能繁母猪存栏自2013年9月份以来连续21个月下滑,降至近5年的最低点(图5)。

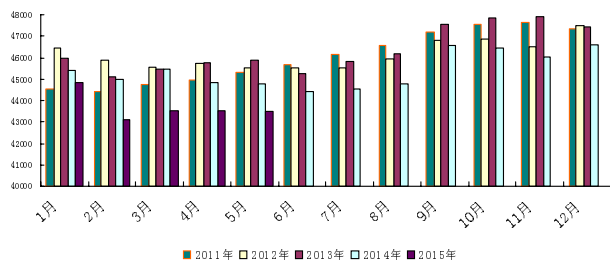


图4 2011年以来各月全国生猪存栏数比较(万头)

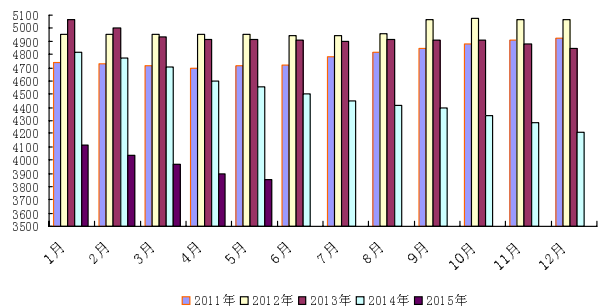


图5 2011年以来各月全国能繁母猪存栏数比较(万头)

### 1.4 玉米价格高位上涨,豆粕价格继续下滑

据国家统计局数据,2015年1-4月,全国配合饲料总产量共计4449.84万吨,同比增长

1.86%。其中,4月份达1 144.62万吨,同比增长2.71%。2015年1-4月,全国混合饲料产量共计1 897.67万吨,同比增长1.71%。其中,4月份达488.43万吨,同比增长1.25%。目前如果要在市场上购买优质国产玉米,价格达到每吨2 500~2 600元。与国产玉米相比,国际市场上的玉米价格虽然要便宜一半左右,但是为了保护国内农民的利益,国家对玉米进口进行配额管理。在配额内的进口玉米,关税税率仅为个位数,配额外的税率超过50%。但是能够拿到进口玉米配额的企业很少,因此进口的玉米数量仍然有限,从而导致玉米价格持续保持高位。2015年1-6月份全国玉米价格平均每千克为2.37元,比上年同期的2.34元贵0.03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月均价为2.40元/kg;5月均价为2.41元/kg;6月均价最高,为2.42元/kg。

随着南美大豆陆续上市,我国进口大豆到港量逐渐增加。在此背景下,我国偏紧的大豆库存得到改善,而且豆粕供给逐渐增加。目前虽然国内生猪价格持续上涨,但养殖存栏的数据并未出现提升,饲料消费需求的增幅明显低于产量端带来的供给增幅,使得国内豆粕市场一直延续弱势状态。2015年1-6月份全国豆粕价格平均每千克为3.14元,比上年同期的3.93元便宜0.79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月均价为3.18元/kg;5月均价为3.10元/kg;6月均价最低,为2.82元/kg(图6)。2015年6月第4周育肥猪配合饲料平均价格为3.24元/kg,同比下降2.7%。

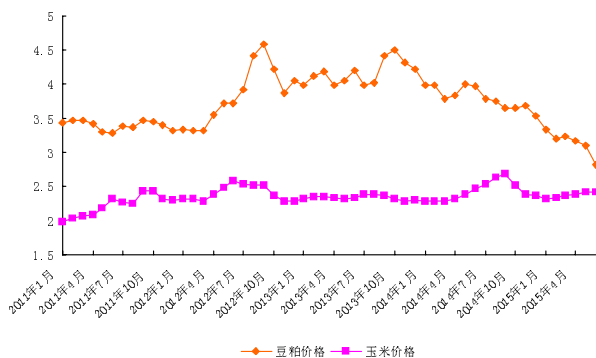


图6 2011年以来全国豆粕、玉米价格走势(元/kg)

## 1.5 养猪户普遍看好后市,仔猪价格强势持续上涨

受生猪价格持续上涨的影响,养猪户普遍看好后市行情,补栏积极性较高,仔猪需求量增加;加之能繁母猪的持续性大量淘汰,仔猪数量下降,造成仔猪供不应求,促使仔猪价格一路走高。目前各地猪苗价格普遍高企。农业部统计监测资料显示:2015年1-5月份农村集贸市场仔猪平均每千克为24.42元,比上年同期的23.11元便宜2.77元。其中:1月均价为19.29元/kg;2月均价最低,为19.21元/kg;3月均价为20.09元/kg;4月均价为22.76元/kg;5月均价为25.75元/kg;6月均价最高,达27.54元/kg。6月24日已涨至28.16元/kg(图7),半年不到时间仔猪价格已上涨了47%。

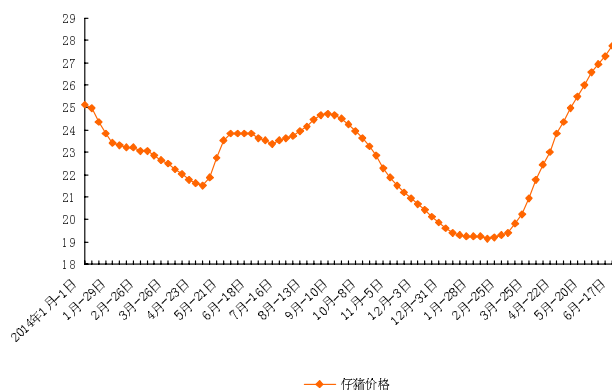


图7 2014年1月以来全国农村集贸市场仔猪价格走势(元/kg)

## 2 近期猪价持续上涨原因分析

据分析,生猪市场供应紧张是造成本轮价格持续上行的主要原因。此外,环保压力加大,养殖成本增加,养殖户惜售,部分地区出现“收猪难”,导致猪价整体快速反弹。

### 2.1 适重生猪偏少,阶段性供不应求

由于前期生猪价格持续低迷,亏损比较严重,养殖户积极性受挫,纷纷选择减少存栏或者弃养。适重生猪和能繁母猪存栏下降,造成阶段性供不应求,这是近期生猪价格上涨的主要原因。有数据显示,今年1-4月份我国规模以上生猪定点屠宰企业生猪屠宰量同比减少7.7%,其中3、4月份屠宰量同比减幅均在19%以上,供应量明显下降。

### 2.2 养猪户看好后市捂栏待涨

由于生猪价格持续上涨(图8),受“卖跌不卖

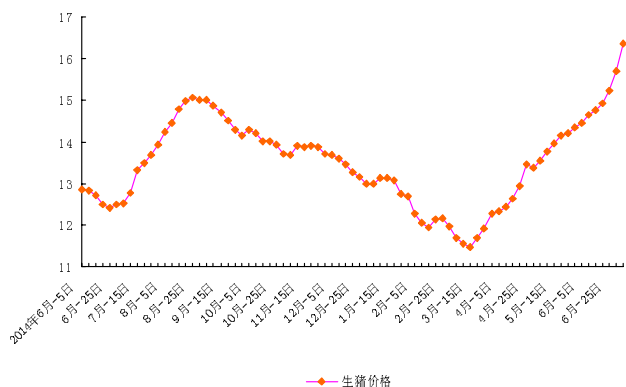


图8 2014年6月以来全国生猪价格变化(元/kg)

涨”心理的影响,部分养猪户对市场价格预期过高,减少出栏量,养猪户捂栏待涨心理加重,进一步加剧了猪源阶段性偏紧的局面。

### 2.3 生猪养殖成本增加

近期玉米、仔猪价格持续走高,加上人工、运输、环保等其他成本费用逐年提升,均在一定程度上增加了生猪的养殖成本。

## 3 后期猪市行情整体预判

猪价从3月下旬开始一路直上,就6月份的行情来看,虽然局部地区出现震荡回调,但是总趋势却未曾改变,生猪价格一直延续前期反弹势头。端午以后,东北地区依然保持着强劲的上漲势头,导致北方地区进入普涨阶段,自繁自养头均盈利已逼近200元大关。随着近一段时间以来南北行情的冲击和中和,南北差价几近消失。北方地区涨势好于南方,南方大部分地区处于高位盘整期,局部地区有回落迹象。但是北方的高价位并未完全被市场接受,端午节日过后,猪肉价格一度出现回落。虽然屠宰企业压价已经无力回天,但是下游需求不佳,养猪户与其再次开始博弈。预计北方达到15~16元的价位之后将会暂时进入调整期,涨速暂时放缓,加上上游价位到下游需求需要一个过渡期,北方猪价会越来越趋于持稳,而后南方地区将会再次迎来新一轮的上涨通道,其他低价区将会快速补涨跟进。

对于后市生猪价格的走势情况,从短期看,预计后期随着适重生猪存栏的下降,养猪户捂栏待涨的心理有所加重,加之补栏态度较为谨慎,生猪价格将延续前期上涨行情,但是在产能较为充足

的大背景下涨幅不会很大。目前生猪市场交易量比较理性,屠宰企业试探性调价,养猪户出栏量比较合理。二者相互博弈,猪价却保持住了稳定的上扬态势。但是不得不承认:今年的生猪行情无论从反弹力度还是上涨幅度上来看都是温和型的。在恢复性上涨行情的背景下,猪价尽管不会出现大幅下跌但是也难以持久上涨,所以猪价在达到8元的价位以后可能会暂时难以冲高进入缓冲期。那么部分等不及的养猪户以及压栏猪会开始选择出栏,但上扬大趋势不会改变。

第三季度猪市最大的特点就是处在高温笼罩之下。影响猪价的便是高温天气带来的肉类消费清淡的结果。夏季猪生长速度慢,疾病多发,生产管理很容易出问题;7-9月份养猪户压栏的情绪也将趋于理性,适时出栏的情况较多。这个时期的猪价主要看需求和供应这两大方面的博弈。这两者在7-9月份之间都是处在减少的过程中,7-9月份的生猪供应减少多来自于去年能繁母猪母猪存栏量的减少。两者博弈生猪供应稍占头筹,但不会导致猪价大幅度上涨,预计7-9月份猪价可能会达到17元/kg的价位。

从长期看,目前生猪价格随着产能逐步至合理水平,生猪价格将稳步回升,但难以达到2011年的19~20元/kg的较高水平。一是经过多年的扩张,我国生猪供应能力已大大增强,长期来看生猪产能依然充足。二是猪肉消费比重呈下降趋势,猪肉的需求量不会大幅增加。近年来猪肉消费步入低速增长阶段,且在全社会倡导节俭风气的影响下,餐饮行业受影响较大,猪肉的大宗采购量有所下降。随着收入提高以及对健康意识的增强,居民的消费结构也在发生变化,猪肉的潜在消费出现下降。根据国家统计局数据显示,猪肉产量占肉类产量比重从2004年的65.69%降至2013年的64.36%。农业部报告预计,未来10年中国猪肉产量占肉类产量比重将从66.4%降至64.9%。

对广大中小养猪户来说,进入夏季,首要做好的是猪舍的通风降温工作,注意调整养殖密度,防治高热病以及蓝耳病等可能发生的传染性疾病,冷静对待涨跌和震荡调整,时刻做好回笼资金的准备,戒骄戒躁。

# 大蒜素抗菌及其在猪生产中的应用研究进展

郭蕊, 姜中其\*

(浙江大学动物科学学院, 浙江 杭州 310013)

**摘要:** 大蒜的主要功能成分大蒜素对多种致病菌具有抑制或杀灭作用。本文对大蒜素的抗菌机理及其在养猪生产中的应用研究现状进行总结, 为大蒜素在养猪生产中的应用提供参考。

**关键词:** 大蒜素; 抑菌杀菌; 养猪生产; 应用

**中图分类号:** S859.79.9

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2015)04-0005-03

## 1 概述

近年来, 无论是抗生素还是化学合成抗菌药, 它们的广泛使用都导致了多种病原菌耐药性和药物残留等负面作用的产生, 不仅严重影响了肉制品的质量, 还危及到人类健康。随着人类对抗菌药的认识不断深入, 人们越来越谨慎地使用传统抗菌药, 一些欧盟国家甚至明令禁止使用抗生素。因此, 具有不易产生抗药性、安全有效等优点的各种抗菌药替代品的发现和使用引起了学者们的重视。目前, 已有多种抗菌药替代品出现在市场上, 如微生态制剂、化学益生菌、抗菌肽、中草药和各种植物提取物。

大蒜素是百合科葱属植物蒜的球形鳞茎中的提取物之一, 它作为抗菌药替代品效果好, 能提高动物生产性能、不产生耐药性、零残留, 而且价格低廉。自古以来人们就对大蒜的生物活性有所了解, 巴比伦人、埃及人、希腊人和罗马人很早就开始将大蒜作为肠道疾病, 呼吸道感染, 皮肤病, 蠕虫病, 创伤和肿瘤的药物。尤其是抗生素发现之前, 大蒜已被用于治疗阿米巴痢疾和流行性疾病, 如伤寒, 霍乱, 白喉和肺结核<sup>[1]</sup>。大蒜素可抑菌杀菌, 对大肠杆菌、沙门氏菌等多种病原菌有显著的抑制或杀灭作用, 对干酪乳杆菌等益生菌则无明显抑制作用<sup>[2-4]</sup>, 是生产绿色无公害产品的首选, 为畜牧业健康发展做出贡献。据报道, 大蒜的抗菌效果是青霉素的一百倍, 浓度为八万分之一的大蒜素可杀死伤寒沙门氏菌、链球菌等多种病原菌,

因此, 大蒜有“天然广谱抗菌素”之称<sup>[5]</sup>。近年来, 大蒜素不仅广泛应用于人类的医疗和保健领域, 还作为一种多功能绿色饲料添加剂应用于养猪业<sup>[6]</sup>。作为饲料添加剂其具有增加肉的风味、提高仔猪成活率和增加食欲等功能<sup>[7]</sup>。

大蒜素是大蒜中对人类或动物机体产生生理性影响的主要功能成分的总称。从大蒜中直接提取大蒜素最常用的方法是有机溶剂法, 此法提取大蒜素的一般工艺流程<sup>[8]</sup>是大蒜去皮洗净, 捣碎, 酶解, 加入乙醇萃取, 然后离心分离并对上清液减压浓缩后得到浓缩大蒜素溶液。文献报道, 新鲜的大蒜中无游离大蒜素, 只有蒜氨酸和蒜酶稳定存在于大蒜鳞茎中。蒜氨酸化学性质稳定, 无气味。大蒜经磨碎加工后, 蒜氨酸和蒜酶相互接触并激活蒜酶, 催化分解蒜氨酸, 生成强挥发性的大蒜素, 同时产生刺鼻蒜臭味。

大蒜中起抗菌作用的物质主要是大蒜素和挥发性的硫醚化合物(如二烯丙基单硫醚), 这些硫醚化合物具有很好的抗菌作用。研究发现, 大蒜素具有多种生物活性, 它不仅抑制细菌、抗病毒、提高免疫力, 还可抑制肿瘤细胞的增殖、抗衰老和记忆力下降, 其中对呼吸道和胃肠道细菌性传染病的预防效果极好。

## 2 大蒜素的抗菌特性

### 2.1 大蒜素抗细菌的作用和机理

大蒜素有很强的抗细菌效果, 而且抗菌谱广<sup>[9-10]</sup>。林真亭<sup>[11]</sup>探究了大蒜素的体外抗菌活性,

采用滤纸片法测定抑菌效果,二倍稀释法测定最小抑菌浓度(MIC)。结果显示大蒜素各受试菌的抑菌环直径范围为8.75~29.20 cm,大蒜素对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、痢疾志贺菌和枯草芽孢杆菌等9种细菌、真菌均有抗菌作用,其最低抑菌浓度范围为12.5~50 mg/mL。临床上用大蒜素抗菌,结果表明它对葡萄球菌、脑膜炎球菌等多种病原菌均有抑制杀灭作用,这些细菌虽然对青、链霉素,金霉素等容易产生抗药性,但对大蒜素制剂不易产生。梁静<sup>[12]</sup>等用大蒜素制剂治疗幽门螺旋菌感染引起的慢性萎缩性胃炎,通过采取胃黏膜病料活检,结果显示治疗后12周、24周后与治疗前相比,52例患者中治疗有效率为82.7%(43/52)。大蒜素浓度低至1:125000仍可降低大肠杆菌、伤寒杆菌、白喉杆菌等细菌的生长和增殖速度。

大蒜素抗菌的机理是大蒜素及其分解产物阿霍烯,大蒜油中的多种硫醚成分能透过病原菌的细胞膜进入细胞质,而后与半胱氨酸反应导致细菌因缺乏半胱氨酸而不能进行生物氧化作用,进而导致病原菌的新陈代谢作用不能正常进行;另外大蒜素可降低细菌生长和繁殖所必需的巯基酶的活性,使细菌生长不能达到对数期,进而产生抗菌作用<sup>[13]</sup>。研究人员用透射电镜观察大蒜对核酸杆菌、牙龈卟啉菌和脆弱类杆菌的杀灭作用,结果显示,37℃作用15 min可使致病菌细胞壁破裂、变薄甚至消失,核糖体聚集出现沉淀,胞浆内容物溶解等现象。

## 2.2 大蒜素抗真菌的作用和机理

大蒜素具有很强的抗真菌活性,尤其对白色念珠菌属有较强的抵抗作用,也可以限制黄曲霉等真菌毒素的形成。吴玉华等<sup>[14]</sup>用荧光显微镜观察大蒜素对白假丝酵母菌生物膜形成过程的影响证明了大蒜素对白假丝酵母菌生物膜形成的抑制作用。马慕英<sup>[15]</sup>为了探究大蒜对真菌的作用,用不同浓度的大蒜水溶液与多种真菌(如霉菌)发生作用,并与苯甲酸和山梨酸的抗真菌作用效果作比较,结果显示大蒜水溶液对许多真菌MIC集中在0.16%~0.32%之间,MBC为0.32%~0.63%,证明了大蒜对腐败真菌的抗菌作用强度基本相当于化学防腐剂苯甲酸和山梨酸。另外Yamada和Azuma<sup>[16]</sup>发现较低浓度的纯化大蒜素就能明显抑制隐球菌

属、发癣菌和孢子菌属真菌的生长繁殖。

大蒜素对巯基具有氧化作用,因而和巯基化合物之间有竞争性抑制作用,降低真菌巯基酶的活性,影响真菌生长的迟缓期进而抑制真菌的新陈代谢,可杀灭白色念珠菌和烟曲霉等各种霉菌。其次,大蒜素可抑制酶的作用进而抑制脂类合成。大蒜素可阻止表达甘油三酯转移蛋白基因,减少脂蛋白化合物的合成与分泌<sup>[17]</sup>。另外,大蒜素的分解产物阿霍烯通过降低球孢子菌胞质膜的完整性而延缓菌体生长<sup>[18]</sup>。阿霍烯中二硫键的存在对其抗菌作用是必不可少的,但半胱氨酸可与二硫键结合而抑制阿霍烯的抗菌活性<sup>[19]</sup>。

## 3 大蒜素在养猪生产中的应用

由于引进的外来种猪数量增多,配合饲料营养丰富,近年来猪的生长速度明显加快,市场上肉制品的供应更加丰富了,然而现在肉制品的口感和风味远不如从前。植物提取物大蒜素作为饲料添加剂,不仅有抗菌作用,还有诱食、助消化、提高机体抗病力和改善猪肉品质的功效<sup>[20]</sup>。

研究发现适量大蒜素可降低仔猪腹泻率,改善血液生化指标并提高生长激素水平,同时可改善猪舍内环境,提高猪的生长性能和免疫力。刘超良等<sup>[21]</sup>通过在日粮中添加0.01%大蒜素与基础日粮组合添加0.04%杆菌肽锌+0.03%卡巴氧的抗生素组作对比来确定大蒜素对断奶仔猪生长性能和腹泻率的影响,结果表明大蒜素组的日增重比对照组明显提高,料肉比明显降低,腹泻率降低最明显为45.6%,同时大蒜素组各个测定指标均与抗生素组相近。杨振燕等<sup>[22]</sup>在莱芜黑猪断奶猪基础日粮中添加200 g/t的大蒜素,导致日增重提高16.5%,料重比降低了13%,而且猪舍内蚊蝇量明显减少;给断奶20天左右的猪添加含量为2%的大蒜,仔猪日增重提高6.9%,腹泻率降至0.34%。由此可得,大蒜素几乎可以代替抗生素治疗断奶仔猪腹泻,并提高仔猪生长性能。王建辉等<sup>[23]</sup>在仔猪饲料中添加含量为25%的大蒜素200 mg/kg,大蒜素组与对照组采食量差异不显著,但大蒜素组猪身体增重速度的变异系数明显大于对照组,由此可得大蒜素可提高饲料转化率。另大蒜素组的饲料和粪便周围的蚊蝇数量明显减少,且对照组有散在链球菌病发生,而大蒜素组未见发病。大蒜素可能在体内转变成大蒜辣素,粪尿中的大蒜辣



素减少了蚊蝇数量,有利于控制疾病的传播。张淑会等<sup>[24]</sup>在仔猪日粮中添加 25%大蒜素 200 g/t,结果表明,大蒜素不仅可替代抗生素,而且还能提高仔猪的日增重。Tatara MR 等<sup>[25]</sup>将 24 只断奶两天后的雄性仔猪随机平均分为四组,第一组为对照组,第二、三组饲料中每天分别添加 1.0 mL/kg 和 2.0 mL/kg 老化的大蒜提取物,第四组饲料中每天按 1.0 mg/kg 的剂量添加大蒜素,8 天后比较体重增加数、观察胃肠道形态特征、血液学检查和溶菌酶活性的测定。结果表明,与对照组相比,老化大蒜提取物和大蒜素均可明显提高日体重,并改善肠绒毛的形态学特性,提高猪的非特异性免疫力。据报道,大蒜素在野猪生产中也有明显效果,王银钱等<sup>[26]</sup>在生长性能相似的健康特种野猪断奶仔猪饲料中分别添加 20 mg/kg、40 mg/kg 和 80 mg/kg 的大蒜素,结果证明了随大蒜素含量的增加各组淋巴细胞刺激指数也相应提高,大蒜素含量与淋巴细胞刺激指数呈正相关,而且大蒜素明显提高了仔猪的免疫力。

大蒜素不仅可以改善仔猪生长状况,还可以提高其他生长期的猪的各种性能。涂兴强<sup>[27]</sup>在杜洛克、长白和大白三元杂交育肥猪日粮中添加 150 mg/kg、300 mg/kg 和 450 mg/kg 三种不同剂量的大蒜素,探究对猪生产性能、血清生化指标和肉质性状的影响,发现大蒜素能降低料重比,35~65 kg 体重的猪以 450 mg/kg 剂量效果最佳,而 65~110 kg 则以 300 mg/kg 剂量效果最佳,而大于 300 mg/kg 有可能减少饲料报酬,它以 300 mg/kg 剂量提高血清中蛋白含量的效果较好,并可提高瘦肉率和改善肉质鲜度。邢成军等<sup>[28]</sup>在育肥猪生长后期基础日粮中分别添加 5 mg/kg 黄霉素,100 mg/kg 和 200 mg/kg 大蒜素,结果表大蒜素可明显提高日增重重 ( $P<0.05$ ) 和日采食量 ( $P<0.05$ ),还可代替黄霉素明显提高饲料转化率。马丽娜等<sup>[29]</sup>也发现大蒜素有降血脂、抗氧化、清除自由基和抗肿瘤等多重作用。同时,大蒜素还可用于防治多种寄生虫病和病毒病,如蛔虫病和传染性胃肠炎等<sup>[22,30,31]</sup>。

#### 4 展望

大蒜素不仅可以抑制各种病原菌的生长繁殖,还可以部分代替易产生耐药性和药物残留的

抗菌药。但也有文献报道,高浓度的大蒜素对心脏有直接刺激作用,使心脏收缩力减弱,甚至停搏,因此我们需进一步探索不同阶段和不同品系的猪最适宜的添加量,尤其是仔猪的添加量更需谨慎把握。

另外,大蒜的产量不太高,而大蒜素的提取率又较低,通常在 0.2%左右,因此我们应该在大蒜素的化学合成法方面加大投入研究。大蒜素在细胞和分子水平研究其作用机制仍不够深入,如何提高其纯度,使其更加稳定,应用效果佳,这些问题还有待进一步探究。

#### 参考文献:

- [1] Lanzotti, Virginia, Scala, et al. Compounds from *Allium* species with cytotoxic and antimicrobial activity[J]. *Phytochemistry*, 2014, (13)4:769.
- [2] Bakri I M, Douglas C W. Inhibitory effect on oral bacteria[J]. *Arch Oral Biol*, 2005, 50(7):645-695.
- [3] 刘有旺,李雅林,方茜,等. 中药治疗白色念珠菌病研究进展[J]. *中国病原生物学杂志*, 2009, 4(8):620-621.
- [4] Ankri S, Mirelman D. Antimicrobial properties of allicin from garlic[J]. *Microbes Infect*, 1999, 1(2):129-137.
- [5] 苏凤贤,张宝善. 大蒜素的杀菌及其在食品中的防腐保鲜应用研究进展[J]. *中国调味品*, 2006(6):15.
- [6] 向泉. 大蒜素在水产动物营养中的作用[J]. *兽药与饲料添加剂*, 2000(2):15-16.
- [7] 师瑞梅. 浅谈大蒜素在畜禽养殖中的应用[J]. *中国畜牧兽医文摘*, 2013, (29)1:214.
- [8] 曾哲,灵熊伟,熊涛,等. 大蒜素的提取工艺研究[J]. *食品与发酵工业*, 2006, 32(2):121.
- [9] 陈晓月,赵承辉,刘爽,等. 大蒜素体外抗菌活性研究[J]. *沈阳农业大学学报*, 2008, 39(1):108-110.
- [10] 葛红莲,赵锦慧,李军伟. 大蒜液抗菌活性的研究[J]. *河南农业科学*, 2011, 40(10):102-104.
- [11] 林真亨. 大蒜素的提取及体外抗菌活性观察[J]. 2014, 26(4):64-65.
- [12] 梁静,杨建军. 大蒜素对幽门螺旋菌阴性慢性萎缩性胃炎的治疗效果[J]. *中国地方病防治杂志*, 2014, 29(8):218.
- [13] 宋卫国,李宝聚,刘开启. 大蒜化学成分及其抗菌活性机理研究进展[J]. *园艺学报*, 2004, 31(2):263-268.
- [14] 吴玉华,武伟,张妍. 大蒜素对白假丝酵母菌生物被膜的抑制作用[J]. *重庆医学*, 2014, (43)27:3582-3586.
- [15] 马慕英. 大蒜抗真菌作用的研究[J]. *食品科学*, 1993(1):8-11.
- [16] Yamada Y, Azuma K. Evaluation of the in vitro antifungal activity of allicin, Antimicrob[J]. *Agents Chemother*, 1997(11):743-749.

(下转第 20 页)

# 应用计算机辅助精子质量分析系统对猪常温精液的品质检验

张洁<sup>1</sup>, 陈敏恒<sup>2</sup>, 李宝红<sup>1</sup>, 王均亮<sup>1</sup>, 苏文昌<sup>2</sup>, 彭国良<sup>3</sup>, 李剑豪<sup>1\*</sup>

(1. 广东省农业科学院动物科学研究所, 畜禽育种国家重点实验室, 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东 广州 510640; 2. 清远市龙发种猪有限公司, 广东 英德 513057; 3. 粤北生猪生产及疫病防控协调创新中心, 广东 韶关 512005)

**摘要:** 计算机辅助精子质量分析 (computer-assisted sperm analysis, CASA) 系统具有快速、客观、精确等特点, 与传统人工分析法相比具有明显的优势。实验选择 3 个品种 9 头公猪的精液, 采用计算机辅助分析法和人工分析法同时分析精液密度和活力, 比较两种方法的差异。CASA 采用伟力彩色精子质量检测系统 (WLJY-9000), 人工分析法采用《种猪常温精液》(GB23238-2009) 规定的方法。结果表明, CASA 法和人工分析法对精子密度的检测结果差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 对杜洛克和大白公猪精子活力的检测差异不显著 ( $P > 0.05$ )。CASA 与人工分析法对精液密度和活力的检测结果较为一致, CASA 更能体现精子的运动状态, 对畸形率的观测更为清晰。

**关键词:** 计算机辅助精子质量分析 人工分析法 公猪精液 品质检测

中图分类号: S858.28

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)04-0008-04

## Computer-assisted Sperm Analysis System for Detection of in Boars Fresh Semen Quality

Zhang Jie<sup>1</sup>, Chen Minheng<sup>2</sup>, Li Baohong<sup>1</sup>, Yang Huaigu<sup>1</sup>, Su Wenchang<sup>2</sup>, Peng Guoliang<sup>3</sup>, Li Jianhao<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences. State Key Laboratory of Livestock and Poultry Breeding. Guangdong Key Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Guangzhou 510640, China; 2. Qingyuan Longfa Pig Breeding Co. Ltd., Qingyuan 513057, China; 3. Coordinated Innovation Center of Yuebei Pig Production and Disease Prevention, Shaoguan 512005, China)

**Abstract:** Computer-assisted sperm analysis (CASA) system, with fast, objective and accurate characteristics compared with the conventional manual analysis method has obvious advantages. The experiment chosen three varieties of nine boar semen, Using CASA and manual method to simultaneously analysis of sperm density and vitality. CASA used Weili color sperm quality inspection system (WLJY-9000). The manual analysis used the method of 《Boar fresh semen》(GB23238-2009). The results showed, the differences in sperm concentration was not significant ( $P > 0.05$ ) between CASA and the manual analysis methods. The differences in sperm motility of Duroc and Yorkshire boars was not significant ( $P > 0.05$ ). The results of semen density and vitality is more consistent between CASA and manual analysis method. CASA can better reflect the state of sperm motility and more clear observe abnormal sperm rate.

**Key words:** Computer-assisted sperm analysis; the manual analysis method; Boar semen; quality detection

2007 年国家开始实施生猪良种补贴项目, 大规模推广猪人工授精技术。它不仅提高良种猪覆盖率, 且增加农户收入, 受到一致好评。随着常温猪精液需求量的增加和精液国际贸易的频繁往来, 对精液品质的要求也越来越高。传统的精液品

质评价方法是人工分析法, 按照《种猪常温精液》(GB23238-2009) 国家标准对猪常温精液检验的各项参数做出评价。但人工分析法常受实验室条件、检验人员技术水平及经验的制约, 具有主观性强、准确性差、速度慢等缺陷, 且检测过程费时、费力。

收稿日期: 2015-06-01

\*: 通讯作者

基金项目: 国家科技型中小企业技术创新基金(国科发计[2013]583号); 广东省科技计划项目(2011A020102003, 2013B011201183, 2013B060400039); 清远市科技型中小企业技术创新资金(2013I005)

如精子密度大、运动速度快,在显微镜下肉眼很难准确分析。计算机辅助精子质量分析(computer-assisted sperm analysis,CASA)系统采用计算机技术和先进的图像处理技术对猪常温精液品质分析,弥补了人工分析法的缺陷。该系统包含动态学检测系统和形态学检测系统。前者可对精液中的精子总数、密度、活力、活率等定量分析,也可对精子运动速度和运动轨迹特征进行分析<sup>[1-2]</sup>;后者可对精子长轴、短轴、顶体比、精子面积进行定量分析。该系统分析速度快,可消除主观因素对试验结果的影响。本试验采用伟力彩色精子质量检测系统(WLJY-9000)全面分析猪常温精液品质,为今后种公猪精液品质检测提供有价值的参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

**1.1.1 精液样本采集及稀释** 精液样本采集于清远市龙发种猪有限公司公猪站。选择3个品种公猪各3头,采集精液后,按照国家标准对原精液进行稀释,常温精液剂量为80 mL(总精子数>40亿)储存于17℃恒温箱。

**1.1.2 主要试剂和仪器** 主要试剂:Diff-Quik法精子形态学快速染色液,伊红-苯胺黑法精子活体染色试剂盒与封片胶(珠海贝索生物技术有限公司)。

仪器及耗材:电子天平,伟力彩色精子质量检测系统(WLJY-9000型),Macro红宝石精子计数板,血球计数板,水浴锅,恒温载物台,高级载玻片及盖玻片。

### 1.2 方 法

**1.2.1 精液剂量检测** 将商品常温精液缓慢倾倒入量筒内,避免产生气泡。等待几分钟后读数,眼睛需与液面凹面平行,数值应估读在最小刻度数下1位。样品剂量取2次读数的平均数,误差应控制在2%以内。

**1.2.2 精子密度** CASA法:将Macro红宝石精子计数板在恒温载物台上预热至37℃,取5 μL精液于预热的精子计数板上,200倍下观察精子的活动情况。每个样片观察4个视野。观察动作要快,精子活力受检测的环境温度影响很大。计数包括完整结构的精子(有头和尾)和有缺陷的精子(尖头和无尾)<sup>③</sup>。

人工分析法:取50 μL样品,与3%氯化钠溶液0.95 mL混合均匀。将备好的血球计数板用盖片盖好计数室,取1滴于盖片边缘,让样品自行流

入并均匀充满整个计数室。不能有气泡或厚度过大。在显微镜下观察计数。

**1.2.3 精子活力** CASA法:精子活力是指精子直线运动的能力,计算机通过精子运动轨迹判断其是否呈直线运动,并计算直线运动精子个数。评估精子活力至少要系统地观察4个视野,分析精子不少于200个。

人工分析法:取25 μL于预热好的载玻片上并加盖玻片,保持37℃,200倍下观察精子的活动情况。每个样片观察3个视野,并观察不同液层内的精子运动状态<sup>[4-5]</sup>。

**1.2.4 精子存活率** 将50 μL新鲜精液与等量伊红-苯胺黑溶液在载玻片上混匀,覆以盖玻片,30秒钟后在400倍光镜下立即观察。活精子不着色,死精子因细胞膜通透性改变被伊红染成红色。计数至少200个精子,计算活精子所占百分比。

**1.2.5 精子畸形率** 涂片的制备:采用“拉薄”技术:取5~20 μL精液于清洁载玻片上,用第二张载玻片的边缘在第一张载玻片表面形成夹角向前推动,制成适当厚度涂片。若精子密度>20×10<sup>6</sup>/mL,取5 μL精液;如果精子密度<20×10<sup>6</sup>/mL,应取10~20 μL精液。

精子染色:采用WHO推荐的Diff-Quik法染色,按照精子形态学快速染色试剂盒(珠海贝索)的滴染法的步骤操作。染色后精子头部顶体后区呈蓝紫色,顶体区呈淡紫红色,中段和尾部淡红色。

精子计数:涂片经染色后,在100×的油镜下观察。选择涂片上多个区域进行形态学的评估,且区域没有重复。从一个视野到另一个视野系统地检查涂片,所有的正常精子都被评估和计数,同时记录异常精子的缺陷。精子畸形率分析至少连续分析并计数200个精子。

### 1.3 统 计 分 析

表1试验数据采用软件SPSS13.0进行One-way ANOVA分析,并用最小显著差数法(LSD)进行组间比较和差异显著性分析。数值用平均值±标准差表示,结果以 $P<0.05$ 为差异显著, $P<0.01$ 为差异极显著。

## 2 结 果 与 分 析

### 2.1 精液剂量检测结果

根据《种猪常温精液》(GB23238-2009)对精液量的要求,即地方品种40~50 mL,其它品种80~100 mL。按照国标,商品长白、大白及杜洛克

精液剂量小于 80 mL 均为不合格。试验随机选择 10 份精液检测其剂量均大于 80 mL。因目前市售输精瓶剂量规格多为 80 mL, 也可通过输精瓶的刻度快速判定精液量是否合格。

## 2.2 精液品质检测

3 个品种 9 头公猪的精液标本分别采用 CASA 与人工分析法进行测定, 得出人工分析法对精子密度的检测值略高于 CASA, 但差异不显著; 长白精子活力的检测值人工分析法显著高于 CASA。见表 1。

表 1 9 份精液标本 CASA 与人工分析法的主要参数分析

检测项目	品种	CASA	人工分析法
精子密度 (百万/mL)	大约克	55.27±5.26	56.19±3.47
	长白	61.79±5.40	62.39±4.34
	杜洛克	65.11±3.77	66.72±2.01
精子活力(%)	大约克	73.00±10.58	76.67±10.41
	长白	71.33±1.53	75.00±1.00a
	杜洛克	70.67±0.58	72.33±2.08

注: 同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 相同字母或者无字母表示差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

根据《种猪常温精液》国家标准, 精液外观应为乳白色、采精量  $> 100$  mL, 试验测定的 9 头公猪精液外观、pH 值及采精量均属正常范围。稀释后常温精液的密度平均为  $121.44 \times 10^6/\text{mL}$ , 直线运动精子数均大于 70%, 曲线运动精子均数 20.69%, 平均死精子数为 7.09%。详见表 2。

伟力彩色精子质量检测系统通过调节灰度阈值来识别精子, 并统计当前视野精子个数, 从而计算精液密度。图 1 和图 2 为计算机成像系统拍摄的精子识别前和识别后, 在动态分析系统软件中形成的图像。

## 2.3 精液畸形率测定结果

由表 2 得出, 试验测定的大约克、长白、杜洛克种公猪精液正常精子率均值为 91%, 畸形率均值为 9%, 低于国家标准规定的精液畸形率不得超过 18% 的标准<sup>[5]</sup>。畸形精子中以头部畸形、尾部畸形及发育不全的情况较常见。图 3 为正常精子, 精子尾部或头部有叠加, 但各部位完整无异常, 均定为正常精子。图 4 位于右侧的精子头部呈梨形, 头部染色较深, 定为头部畸形。图 5 位于最上侧的精子尾部带有原生质滴, 最下侧精子尾部严重卷曲,

表 2 CASA 方法检测 3 个品种公猪的精液品质情况

测定项目	大约克	长白	杜洛克	平均值
原精液				
精液外观	乳白	乳白	乳白	乳白
采精量(mL)	293.74	265.86	228.89	262.83
pH 值	7.07	7.07	7.33	7.16
常温精液				
被检精子总数(个)	808	702	720	743
精子密度(百万/mL)	55.27	61.79	65.11	60.72
精子存活率(%)	94.03	92.17	91.86	92.69
直线运动精子(%)	73.00	71.33	70.67	71.67
曲线运动精子(%)	21.08	20.25	20.75	20.69
死精子(%)	5.30	7.83	8.14	7.09
直线速度 VSL( $\mu\text{m/s}$ )	41.22	30.42	30.94	34.19
曲线速度 VCL( $\mu\text{m/s}$ )	62.56	44.10	44.55	50.40
平均路径速度 VAP( $\mu\text{m/s}$ )	46.44	33.90	34.39	38.25

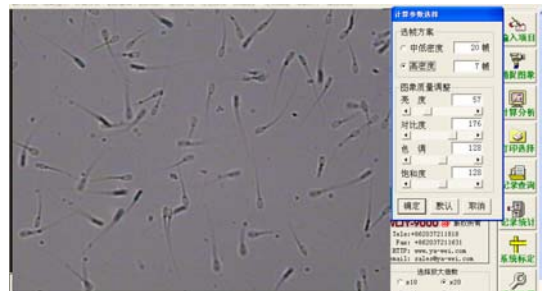


图 1 精子识别前

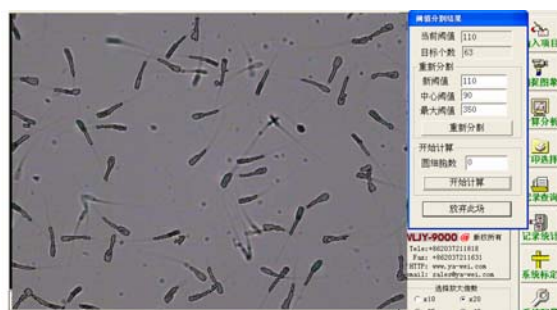


图 2 精子识别后

未呈现弧线状弯曲, 定为尾部畸形<sup>[6-7]</sup>。

## 3 讨论

精液品质检测是保证人工授精效果的关键环节, 精液密度和活力是影响受孕率和产仔数的重要因素之一, 在精液品质常规检测中这两项指标尤为重要。本次研究采用 CASA 法与人工分析法对精子密度检测的结果较为一致, 与王前等的研究结果相似<sup>[8]</sup>。CASA 法是通过计算机捕获精子运动图像, 如灰度和阈值参数设置准确, 精子即可清晰识别, 准

表3 CASA方法检测公猪精液畸形率情况

测定项目	大约克	长白	杜洛克	平均值
统计精子总数(个)	615	660	623	633
正常精子(%)	88	93	92	91
畸形精子(%)	12	7	8	9



图3 正常精子



图4 头部畸形



图5 尾部畸形及发育不全

表4 长白公猪正常精子形态分析

项目	样本1	样本2	样本3	平均值
长轴(μm)	8.65	8.81	8.55	8.67
短轴(μm)	4.57	4.55	4.35	4.49
周长(μm)	22.35	22.82	22.07	22.41333
面积(μm <sup>2</sup> )	30.7	31.5	29.2	30.46667
长:宽	1.87	1.93	1.96	1.92

确剔除图像上的非精子成分(白细胞、精原细胞和非细胞颗粒),其计数接近于人工计数。高彩凤、王军等<sup>[9-10]</sup>用CASA法与人工分析法做对比试验,结果显示精子密度在 $(5\sim 80)\times 10^6/\text{mL}$ 范围内时,两种方法测得精子活力及平均精子密度均无明显差异。据吴志平等报道<sup>[11]</sup>,CASA法对低密度精子( $<50\times 10^6/\text{mL}$ )及少白细胞、精原细胞和非细胞颗粒标本的测定结果更具可重复性和可信性。本实验所检测精液密度在 $(50\sim 70)\times 10^6/\text{mL}$ 范围内属于中低密度精液,两种方法的结果较接近。此外,CASA检测用量少,无需稀释直接测定,检测一个样品仅需1~2 min。自动检测系统可显示精子的运动轨迹,分析与精子运动相关的各类参数,并具有打印、存

储、查询检验报告的功能。CASA显示的直线速度(VSL)等反应精子运动状态的量化指标及动态图像更是人工分析法无法做到的。

在检测精子活力方面,CASA与人工分析法并不全部一致。CASA依据计算机分析精子运动轨迹来判断其是否呈直线运动;人工分析法依据《种猪常温精液》(GB23238-2009)中对精子活力的测定方法,完全依赖于检测者的经验和主观判断。如精子密度较大,无论是计算机还是肉眼观察都易产生误差,主要原因是运动精子带动死精子或移动速度慢的精子共同移动,难以分辨。在畸形率检测方面,9份精液样本均在18%以下,采用CASA法与人工分析检测方法并无差别,但CASA使用的伟力系统显微镜其清晰度更高,对畸形精子的观测更为细致准确。

CASA方法在精液品质检验中,具有用量少、成本低、检测速度快、节省人力、分析数据全面等优势,是人工分析无法比拟的。今后CASA将会凭借对精子运动的标准化、准确和精密的分析替代传统人工分析法,为家畜精液分析的研究提供更为科学的依据<sup>[12]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] 朱安定. 计算机图像处理技术辅助精子运动能力分析研究[D]. 浙江大学硕士学位论文, 2002.
- [2] Rupert P, Amann, Dagmar Waberski. Computer-assisted sperm analysis (CASA): Capabilities and potential developments[J]. Theriogenology, 2014, 81(1): 5-17.
- [3] 许栋, 刘炜, 曹建国, 等. 夏季种公猪精液质量监测与分析[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2014(3): 36-37.
- [4] 苏举鹏, 马永将. 种公猪精液品质检测操作方法[J]. 畜牧兽医杂志, 2013, 32(4): 48-50.
- [5] GB23238-2009, 种猪常温精液[S].
- [6] 杨浩宇, 张晓芳. 猪常温精液品质检验[J]. 畜牧兽医杂志, 2013, 32(3): 81-83.
- [7] 郑友明. 家畜精子形态学图谱[M]. 北京, 中国农业出版社, 2013: 83-93.
- [8] 王前. 应用全自动电脑“精子质量分析仪”对公猪精液品质检测的初步观察[J]. 黑龙江动物繁殖, 2006, 14(3): 7-8.
- [9] 高彩凤, 陈志云. 计算机辅助精子分析与常规精液分析的比较研究[J]. 检验医学, 2011, 26(1): 48-50.
- [10] 王军, 于灵. 人工常规精液分析与计算机辅助精子质量分析的比较研究[J]. 当代医学, 2012, 18(8): 155-157.
- [11] 吴志平, 吴祥林. 高精子密度精液标本质量分析方法探讨[J]. 临床输血与检验, 2006, 8(4): 288-290.
- [12] 胡庭溪, 朱化彬, 杜卫华. 计算机辅助精子分析系统的研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2014, 50(21): 73-76.

# 夏季养猪的日常注意事项

吴同山, 田存锋

(东莞市畜牧科学研究所, 广东 东莞 523086)

**摘要:** 针对南方夏季的气候特点, 对猪场养猪喂料时间、油脂添加、柠檬酸添加量、降温措施、青饲料使用、脱霉剂添加等管理措施提出合理化建议, 以促进养猪业健康发展。

**关键词:** 养猪; 夏季; 管理措施

**中图分类号:** S815

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2015)04-0012-03

炎热的夏天, 对南方的养猪业来说是一个难熬的季节。而 2015 年夏天更加特殊: 夏季来得早、气温高。刚刚进入 6 月份, 酷暑已经给了我们一个下马威, 最高气温 35℃ 很平常, 广东湛江地区还经常出现 37℃ 以上的天气; 8 月份的气温可能更高。在这种情况下, 广大个体养猪场户(大规模猪场情况好些, 很多都安装了水帘降温、自动温控设施等)的很多问题已经凸显: 各种猪只不正常吃料的增多; 公猪发热或精液品质急剧下降的多; 分娩舍、保育舍消瘦的仔猪小猪增多; 随之而来的, 生产成绩也开始下降。结合笔者看到的、了解到的夏季常出现的一些问题, 提出以下夏季养猪应注意的一些问题及相关处理办法, 以期对广大养猪场户有所帮助。

夏季, 在饮食方面, 猪和人有很多相通的地方: 天气热的时候不想吃东西; 不想吃太油腻的食物; 想在温度合适的舒适环境中生活; 食物里面最好有能够刺激味觉的(比如酸性); 经常想吃一些青绿多汁的食物; 想吃新鲜的食物。因此, 如果能从人的角度来考虑猪的饮食起居, 正常情况下, 猪就能养得非常好。

## 1 喂料时间的掌握

### 1.1 现实情况

春秋冬 3 个季节, 养猪场正常的猪只饲喂时间(完全自由采食的除外), 一般都是早上 7 点钟以后(有的猪场工人 7 点 30 分上班, 冲洗一下猪栏再喂猪, 一般要到 8 点多甚至 9 点)、下午 5 点左右(有的猪场工人 5 点到 5 点 30 分下班, 一般 3 点多至 4 点 30 分已经喂完了猪); 而在炎热的夏天, 一部分猪场调整了喂料时间, 早上尽量 6 点至 7 点、下午 6 点左右喂猪; 大部分的猪场, 还是原来的时间点喂猪, 猪只吃料情况就没有那么理

想, 饲料利用率不高。

### 1.2 现行做法对养猪的影响

早上 7 点钟以后、下午 6 点钟以前喂猪, 气温高的影响, 猪只的食欲非常差, 并且由于很多都是干的粉料, 适口性较差。这个时候喂料, 大部分猪只不想吃。另外, 由于喂料的时间间隔白天太短(多数只有 7~8 小时, 长的也就 10 小时)、晚上太长(长的 16~17 小时, 短的不少于 14 小时), 导致饱的时候料吃不完、饿的时候没有料吃, 即使有料, 也可能因为加了水变味变质或时间太长口感不好而吃不下去, 别说进行正常的生产(肉猪增重、母猪产奶), 能维持自身需要都很难了。

### 1.3 可行办法

设法说服饲养工人, 上午提早上班、提早下班; 下午推迟上班、推迟下班。早上 6 点上班开始先巡视一遍猪栏, 看看有无异常的猪只, 有的话就标记并处理、治疗, 然后喂料(饲料槽不是特别脏的情况下, 没必要先冲洗猪栏再喂猪), 喂完料再冲洗猪栏、清理粪便。下午 3 点上班以后, 需要冲洗猪栏的, 先冲洗猪栏, 即使有空了在猪舍休息, 也不要在这个时段喂猪, 要等到 6 点钟以后再喂。有时分娩舍的母猪需要喂 4 餐的, 中午、晚上 9 点可再添加一些饲料。喂料时要注意观察那些精神食欲差的猪只并及时进行处理。中午下班后下午下班前的一段时间, 可以安排人巡栏, 针对具体问题及时处理。

## 2 饲料中油脂的添加

**2.1** 笔者到过的一个猪场, 保育舍猪只被毛粗长杂乱, 猪只精神不好。老板说为了提高他们的食欲, 饲料里额外添加了 5% 的油脂粉。虽然食量略有增加, 但下痢的却很多。还有的猪场, 为了让猪只在夏天生长速度快些, 在饲料中大比例地添加

油脂或脂肪粉,多的添加到7%~8%。猪只采食几次后食欲急剧下降,得不偿失。

**2.2 饲料中添加太多油脂,吃得下去却难以消化,加上天气又热,导致猪只食欲下降甚至废食,达不到“采食量虽小但采食的能量够”的目的。因此,如果要添加,千万不能急功近利,一定要控制好添加量,辅助以其他管理方面的改善,才能起到较好的效果。另外,夏季气温高,最好现拌现用,不要在猪舍内存放太久,不然饲料容易酸败。**

### 3 饲料中柠檬酸的添加量

**3.1 为了提高猪只的食欲,在饲料中添加一水柠檬酸的做法在全国各地的猪场已经很普遍,并且也都取得了良好的效果。但是,有的猪场为了“好中更好”,随意加大了柠檬酸的添加量,甚至加大到2%~3%,等到猪只都不吃料时才意识到出了问题,此时已经影响到猪只的正常生产了。**

**3.2 根据笔者2003年的实验结果,柠檬酸水溶液的酸碱度见表1。2%~3%时的酸度已经严重超出食用的标准;而在饲料中添加1.0%的柠檬酸,可以使哺乳期母猪采食量提高29.39%,仔猪初生体重提高22.96%,21日龄仔猪体重提高29.50%;保育猪只日增重提高12.06%,料肉比降低7.74%,每出栏1头保育猪,少耗饲料1.71 kg,育成率提高0.86%;生长育肥猪日增重提高7.73%,料肉比降低5.15%,平均每出栏1头商品猪,节约饲料12 kg,育成率提高2.07%<sup>[1]</sup>。**

因此,一水柠檬酸在饲料中的添加量,一般为1%;夏季,为了提高猪只的食欲,可以适当提高添加量,但最多不要超过3%。

### 4 猪舍内降温措施

**4.1 在我国南方,夏天遇到的最大问题,应该就是各类猪舍的降温措施了。自动温控系统、水帘降温、喷淋水降温、风扇等等。根据自身不同的实际情况,各种各样的方式都有,降温方法越高级,效果越好。但降温措施越简单,操作越容易走样,甚至达不到降温的效果。猪舍屋顶喷淋水降温,房顶流下来的水比下大雨还大,浪费了大量的水资源;舍内喷淋水的,喷水次数太多或水量太大,空气中水分多,猪舍内既闷热又潮湿,空气不流动,人进去都感到难受;分娩舍安装壁扇,一天到晚不关,晚上凉快的时**

候,仔猪打堆甚至下痢;分娩舍母猪头顶的滴水龙头,长期大量流水而不是一滴一滴地滴水,导致产床潮湿、仔猪下痢等等。这些都是平常不注意细节的结果,将会影响到猪只的正常生长。

**4.2 屋顶喷淋水降温,就是在猪舍屋顶装一条胶管或铁管(最好是胶水管,可以根据需要进行调整)水管,在水管上各相距1米左右的距离钻一个小孔,从早上9点左右到晚上10点(要根据天气的具体情况而适当变化),每隔30分钟喷水5~10分钟或一直淋水,基本上要保持屋顶的湿润<sup>[2]</sup>,不能像下雨一样一直流水,浪费太大,效果也不好。舍内喷淋水,两个喷水的间隔,要以地面干为准,上次喷水后,中间过道的地面要干了一段时间后再喷水,效果好些;或者每天喷淋水2~3次,并且要辅以风扇吹风,效果更佳。分娩舍内,晚上如果不是太热,晚上10点左右风扇可以关一部分或都关掉(根据具体情况而定);母猪头上的滴水笼头,尽量装高一点,不要让母猪够得着去玩水;并且只能滴水,不能长时间流水,不然,达不到“滴颈降温”的目的。**

### 5 青饲料的使用

**5.1 夏天,猪的食欲不佳是很正常的现象,很多猪场也都想到通过饲喂青绿多汁的饲料来进行调节,并且效果良好。但有一部分猪场,饲喂青饲料不太注意卫生:路边的各种青草不经过处理,割下来就喂猪;水塘里的水浮莲,捞上来稍微冲洗一下连叶带根一起喂猪;吃不完的青菜瓜果,刚刚打完农药也喂猪等等。喂的时间久了,有的猪只开始慢慢消瘦,有的甚至很快拉稀下痢。主要的问题是—般的青草各种各样的寄生虫太多、水浮莲没有清洗干净或没有去掉根部、瓜果蔬菜类喷洒农药后未过停药期等。**

**5.2 喂猪用的青绿饲料,最好专门种植。鱼塘边可以种植象草、柱花草,猪场空地可以清理杂草后种植红薯藤、黑麦草、苜蓿<sup>[3]</sup>,其他季节可以不用或少用,而在炎热的夏天,青绿饲料却是上好的降暑增欲原料。不吃料的怀孕母猪、带仔的哺乳母猪、采精的公猪甚至生长育肥猪,只要适时给予一些青饲料(种猪最好每天每头保证有250克到500克的量),食欲就会有明显的改善(发生疾病的除外)。为了增加适口性,最好将各类青饲料用粉碎机粉**

表1 柠檬酸水溶液的酸度

浓度	1%	2%	3%	0.5%	1.0%	1.5%	2.0%	2.5%	3.0%	3.5%
pH值	2.175	2.060	1.912	2.980	2.767	2.653	2.583	2.534	2.517	2.447

碎一下,有条件的话,稍微发酵一下效果更好。饲喂青饲料时,最好隔一段时间驱一下虫;另外,太老的青饲料,比如象草,咬也咬不动,猪也不爱吃,因此,要尽量使用嫩一点的青绿多汁饲料。

### 6 待产母猪进分娩舍时间

6.1 一进入夏季,母猪分娩时产死胎的比例就会有所增加,有的平均每胎超过 1 头,有的每胎 3-4 头。笔者通过观察发现,这些死胎基本上都是临产前死亡的。究其原因,可能有几个:一是有的猪场分娩前 4-5 天就提前将母猪赶进分娩舍,而分娩舍的空间小、温度高;二是从怀孕舍赶进分娩舍的时候不是天气较凉爽的时候,而是上午 10 点以后或下午 5 点以前,运动和高温应刺激死胎的发生;三是从怀孕舍赶往分娩舍时,不是空腹时赶,而是母猪喂饱了饲料。这些原因,或与其它因素结合在一起,导致了分娩前死胎的增加。

6.2 配种怀孕舍预产期准或不准,会影响到赶往分娩舍的时间,因此,母猪的配种时间、预产期一定要做到精确、无误。在预产期准确的前提下,夏季分娩的母猪,最多只能提前 2~3 天进分娩舍,不能太早。已经知道要进分娩舍的母猪,在不喂饲料的前提下,最好早上 6-7 点赶进分娩舍。其他时间太热,怀孕母猪走动非常辛苦,容易造成流产、死胎。

### 7 脱霉剂的使用

7.1 很多猪场一发生问题,请专家教授过来指

导,或多或少都会涉及到饲料的质量问题。这种情况下,有些老师建议在饲料中添加脱霉剂,并且越贵的越好,因为越贵的质量越有保证。其实,饲料中的大众原料如玉米、麸皮、豆粕等都不会有问题(个别因为运输、贮存引起的除外),猪只也没有可见的霉菌毒素等引起的相关症状,添加脱霉剂有什么好处?专家教授的回答就是预防霉菌毒素引起的诸多不良影响,为了猪只的健康。对与不对,仁者见仁、智者见智吧。

7.2 夏天的饲料原料(新收获的除外,可能会有些水分过大),相对水分含量低一些,只要保存得当,一般少有发霉变质的现象,若不分情况地添加脱霉剂,明显增加成本是对猪场最直接的影响,没有必要;当然,若确实存在这方面的问题,那就应另当别论。

夏天的养猪,其实与其他季节一样,关键还是要细心观察并及时采取相应的有效措施,细节操作(责任心、细心)仍然是最重要的,千万不能忽视。

#### 参考文献:

- [1] 吴同山,张守全,陈日秀,等. 饲料中添加柠檬酸对猪场生产的影响研究[J]. 养猪,2005(3):5-6.
- [2] 陈日秀,吴同山. 猪场的降温方法[J]. 猪业在线,2005(8):16-17.
- [3] 胡成波. 青饲料喂猪的应用效果与关键技术[J]. 养猪,2012(1):9-12.

## 《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:gdmsy@163.com、gdmsykj@163.com

欢迎订阅

欢迎投稿

欢迎刊登广告



# 狮头鹅空调室育雏技术

刘思扬<sup>1</sup>, 林澄丰<sup>1</sup>, 刘继鹏<sup>1</sup>, 余晓青<sup>2</sup>, 余少营<sup>2</sup>

(1. 饶平县浮滨丰乐狮头鹅饲养有限公司, 广东 潮州 515700; 2. 饶平县农业局, 广东 潮州 515700)

**摘要:** 根据空调机具有调节温度、控制湿度、更换气体功能, 在 5m×2.4m×2m 的育雏间内安装 2 台相向的各 1 匹马力空调机, 用于狮头鹅育雏。通过合理调控温度, 使育雏栏内温度达到育雏要求。先后对 6 批 4 786 只雏鹅育雏, 成活率达到 96.3%。

**关键词:** 狮头鹅; 空调室; 育雏

**中图分类号:** S815.9

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2015)04-0015-01

长期以来, 民间多采用地面垫褥、炭炉(或电灯)保暖、箩框围养的方式进行狮头鹅育雏。这种育雏方式的缺点在于室温难以控制, 室内氨气浓烈, 育雏成活率偏低。2012 年以来, 我们根据空调机具有调节温度、控制湿度、更换气体功能, 在育雏室内安装空调机, 在每年 1-2 月低温生产季节进行空调室育雏。先后育雏 6 批共 4 786 只, 成活 4 609 只, 成活率 96.3%。现将该技术介绍如下:

## 1 育雏室设置

### 1.1 育雏室体积

在普通饲养间用尼龙薄膜隔成长 5 m, 宽 2.4 m, 高 2 m 的育雏间, 每间体积为 24 m<sup>3</sup>; 然后在左右两边离地面 0.6 m 处用木条搭起育雏架, 用铁丝网垫底, 围成长 1 m, 宽 0.6 m, 高 0.3 m, 面积为 0.6 m<sup>2</sup> 的育雏栏(格), 每栏(格)可容纳 20 只雏鹅。育雏栏(格)的粪便直接排于下边地面, 便于清理。育雏间中间为 1.2 m 宽的通道。

每个育雏间可设置双层共 20 个育雏栏(格), 能同时育雏 400 只。

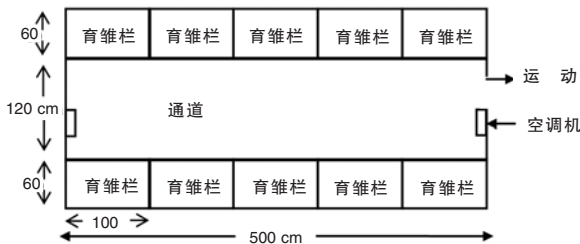


图 1 育雏室平面图



图 2 育雏室侧面图

### 1.2 空调机安装

体积为 25 m<sup>3</sup> 左右的育雏间可安装 1 匹马力的空调机 2 台。安装位置以育雏间前后两对侧离地面 1.5 m 处为宜。

## 2 育雏间的温湿度调节

### 2.1 温湿度计摆放

每层育雏栏(格)内各垂直摆放温湿度计 2 支, 育雏间空间垂吊温湿度计 1 支, 每天定期观察育雏间、栏(格)内的温湿度。

### 2.2 育雏间预热

雏鹅进栏前 1 天, 应开启空调机电源, 设定温度 30 ℃。

### 2.3 育雏间温湿度调节

雏鹅育雏间最适宜的温度: 1-5 日龄为 28~26 ℃, 6-10 日龄为 25~23 ℃, 11-15 日龄为 23~21 ℃, 16-20 日龄为 21~19 ℃, 21 日龄以后为 18 ℃。

育雏间温度可通过调整空调机温度来调节。

(下转第 30 页)

# 广东养禽场动物卫生状况调查报告

万美梅, 陈平洁, 薛念波, 林乃锋  
(广东省动物卫生监督总所, 广东 广州 510230)

**摘要:** 为了解广东不同类别、不同规模养禽场的动物卫生状况, 探讨动物疫病发生与动物卫生状况的关系。采用问卷调查方式对广东 722 个养禽场进行调查, 并对 477 份有效调查问卷进行统计分析。不同类别养禽场的发病率差异显著, 其中肉禽场(7.39%) > 蛋禽场(4.53%) > 种禽场(3.17%); 不同养殖规模的发病率差异显著, 养殖规模在 5 000 只以下养禽场的发病率(7.72%) > 养殖规模在 5 000 只以上养禽场的发病率(5.81%); 有自动给料设施养禽场的发病率(3.17%) 显著低于人工投料的场(6.86%); 有专职兽医养禽场的发病率(5.97%) 显著低于没有专职兽医的场(6.61%)。结果表明, 动物卫生状况与养禽场类别、养殖规模有关, 但与家禽种类无关; 生产区和生活区分开, 车辆入场区前有冲洗消毒等生物安全措施, 有自动给料设施、有专职兽医等饲养管理措施是动物卫生状况良好的保护性因素。

**关键词:** 广东; 养禽场; 动物卫生; 调查; 报告  
中图分类号: S851                      文献标识码: A                      文章编号: 1005-8567(2015)04-0016-05

## Investigation on Animal Health Status in Poultry Farms in Guangdong

Wan Meimei, Chen Pingjie, Xue Nianbo, Lin Naifeng  
(Animal Health Supervision Institute of Guangdong Province, Guangzhou 510230, China)

**Abstract:** To learn about the animal health status in different category and different scale poultry farms and master the relationship between animal health status and animal epidemics. Questionnaire survey was carried out in 722 poultry farms in Guangdong province and 422 questionnaires were valid for statistical analysis. Significant difference was found in the morbidity of different category poultry farms. The morbidity in meat poultry farms(7.39%) was the highest, the morbidity in egg poultry farms(4.53%) was the middle and the morbidity in breeding poultry farms(3.17%) was the lowest. Significant difference also was found in the morbidity in different scale farms. The morbidity in farms breeding less than 5 000 chickens(7.72%) was significantly higher than that in farms breeding more than 5000 chickens(5.81%). The morbidity in farms without automatic feeding facilities(6.86%) was significantly higher than that in farms with automatic feeding facilities(3.17%). The morbidity in farms without full-time veterinarians(6.61%) was significantly higher than that in farms with full-time veterinarians(5.97%). The results showed that animal health status was relevant with the farm's category and the farm's scale, but had nothing to do with poultry species. Biosecurity measures including wash water disinfection of vehicles before entering the farms, the separation between the production area and the living area, and management measures including automatic feeding facilities, full-time veterinarians are all the protective factors for animal health.

**Key words:** Guangdong; poultry farms; animal health; questionnaire survey; report

为了解广东不同地区、不同禽种、不同类别养禽场的动物卫生状况, 分析动物疫病发生与养禽场生物安全措施、饲养管理等因素的关系, 科学指导动物疫病防控工作, 保障禽类产品质量安全, 维护公共卫生安全和养禽业健康发展, 2014 年组织

开展了广东规模养禽场动物卫生状况调查。

### 1 资料与方法

#### 1.1 调查方式

本次调查采用问卷调查, 每个县(市、区)分别对存栏 1 万羽以下和 1 万羽以上 2 种类型规模养

殖场各选 5 个场(每个类型包括 1 个水禽场、1 个种禽场)进行调查。

## 1.2 调查内容

本次问卷调查内容主要有养殖场基本信息、生产情况、生物安全防护、饲养管理、疫苗免疫情况;以及与动物卫生相关的生物安全因素 14 项,包括:全进全出、位于村庄或居民区内、距离交通要道(县道)1 公里以上、养殖场有防鸟网等屏障设施,生活区和生产区分开、人员进入生产区前更衣消毒、栋舍之间的饲养人员和生产用具交叉、养殖场入口处有消毒池并能正常使用、禽舍入口有消毒盆(池)并能正常使用、饲料及其他物品进入生产区前有消毒、车辆入场区前有冲洗消毒、定期灭鼠灭虫、污水经过处理后才排放、饲养其它动物、有无病死禽处理设施等情况。

## 1.3 调查范围

共调查了 20 个地级以上市涉及 95 个县(市、区),按常规划分为珠三角、粤西、粤东、粤北 4 个区域。珠三角包括广州、深圳、珠海、佛山、东莞、中山、江门、惠州、肇庆,粤西地区包括湛江、茂名、阳江、云浮,粤东地区包括汕头、潮州、揭阳、河源、梅州、汕尾(注:汕尾未参加调查),粤北地区包括韶关、清远。

## 1.4 数据分析与统计

运用 EXCEL 和 SPSS 软件对数据进行分析 and 统计处理。总体方差为齐性的,运用方差分析;总体方差不齐的,用非参数检验。

## 2 调查结果

本次调查共回收养禽场调查问卷 722 份,有效调查问卷 477 份。以场的发病率作为动物卫生状况的考核指标,发病率越低,说明动物卫生状况越好;发病率越高,说明动物卫生状况越差。广东养禽场的平均发病率为 6.28%,发病率中位值为 2.00%。

### 2.1 养殖情况与动物卫生状况的关系

**2.1.1 各区域养禽场动物卫生状况比较** 将调查的 20 个地级以上市按常规划分为珠三角、粤西、粤东、粤北 4 个区域。各区域的发病率存在差异性( $p=0.01$ ):粤东(8.17%)>珠三角(7.70%)>粤北(5.54%)>粤西(3.95%)(见表 1)。

**2.1.2 各家禽种类动物卫生状况比较** 鸡和水禽间的发病率差异不显著,其中鸡的发病率为 6.07%,鸭为 7.60%,鹅为 6.20%。

表 1 不同区域的养禽场场区面积、养殖密度和发病率比较

区域	场区面积(亩)	养殖密度(只/亩)	发病率(%)
珠三角	127.02±420.90	1567.81±4181.41	7.70±16.93
粤西	112.81±371.83	2121.47±7265.60	3.95±6.09
粤东	98.53±303.20	1584.42±3065.49	8.17±8.72
粤北	131.66±169.79	1125.43±5190.08	5.54±8.35

**2.1.3 不同类别养禽场动物卫生状况比较** 在 477 个养禽场中,种禽场 93 家,占 19.5%;肉禽场 341 家,占 71.49%;蛋禽场 43 家,占 9.01%。与种鸡场所占比例(13.47%)相比,种鹅场占调查鹅场较大比例(46.55%)(见表 2)。不同养禽场类别的发病率差异显著( $P<0.01$ ),其中肉禽场(7.39%±13.16%)>蛋禽场(4.53%±5.73%)>种禽场(3.17%±5.83%)( $P<0.01$ )。

表 2 不同家禽种类的养禽场类别所占比例

品种	种禽场		肉禽场		蛋禽场	
	数量(家)	比例(%)	数量(家)	比例(%)	数量(家)	比例(%)
鸡	47	13.47	259	74.21	43	12.32
鸭	19	27.14	51	72.86	0	0
鹅	27	46.55	31	53.45	0	0

**2.1.4 不同规模养禽场动物卫生状况比较** 家禽养殖规模 5 000 只以下的有 134 家,占 28.09%;5 000 只以上的有 342 家,占 71.91%。养殖规模在 5 000 只以下养禽场的发病率(7.72%)>养殖规模在 5 000 只以上养禽场的发病率(5.81%)。

### 2.2 生物安全与动物卫生状况的关系

本次调查了与养禽场动物卫生相关的 14 项生物安全因素(见表 3)。将生产区和生活区分开的场占调查总数的 88.26%,其发病率(6.05%)显著低于未分区的发病率(8.27%);车辆入场区前有冲洗、消毒的场占调查总数的 77.73%,其发病率(5.75%)显著低于未消毒场的发病率(8.32%)。由此可见,在与动物卫生相关的生物安全因素中,将生产区和生活区分开、车辆入场区前有冲洗消毒是保护性因素。

### 2.3 饲养管理与动物卫生状况的关系

共调查了 9 项与养禽场动物卫生相关的饲养管理因素(见表 4)。有自动给料设施的场占 15.4%,其发病率(3.17%)显著低于人工投料的场

表 3 与动物卫生状况相关的生物安全因素

生物安全相关因素	是		否		发病率(%)		F 值 / Z 值	P 值
	数量(家)	比例(%)	数量(家)	比例(%)	是	否		
全进全出	173	37.28	291	62.72	7.17±13.37	5.84±10.73	2.39	0.12
位于村庄或居民区内	48	10.13	426	89.87	4.19±5.31	6.56±12.20	0.48	0.63
距离交通要道(县道)1公里以上	398	83.97	76	16.03	6.25±11.92	6.74±10.56	0.305	0.58
养殖场有防鸟网等屏障设施	172	36.06	305	63.94	5.98±11.95	6.49±11.53	0.143	0.71
生活区和生产区分区	421	88.26	56	11.74	6.05±11.25	8.27±14.43	-2.19	0.03
人员进入生产区前更衣、消毒	366	76.89	110	23.11	6.26±12.02	6.44±10.42	0.43	0.51
栋舍之间的饲养人员和生产用具交叉	166	34.87	310	65.13	6.07±9.87	6.42±12.56	0.40	0.53
养殖场入口处有消毒池并能正常使用	292	61.22	185	38.78	5.57±11.80	7.47±11.41	1.20	0.28
禽舍入口有消毒盆(池)并能正常使用	337	70.8	139	29.2	6.14±11.21	6.75±12.79	0.12	0.73
饲料及其他物品进入生产区前有消毒	296	62.18	180	37.82	6.64±12.77	5.8±9.64	3.62	0.06
车辆入场区前有冲洗、消毒	370	77.73	106	22.27	5.75±10.49	8.32±15.02	-2.671	<0.01
定期灭鼠、灭虫	445	93.49	31	6.51	6.22±11.81	7.76±9.72	0.00	0.98
污水经过处理后才排放	235	50.98	226	49.02	6.3±11.45	6.4±12.04	0.01	0.93
饲养其它动物	179	37.84	294	62.16	6.03±12.11	6.49±11.48	0.44	0.51
无病死禽处理设施	253	56.22	197	43.78	6.7±12.84	5.84±10.40	1.78	0.18

(6.86%);有专职兽医的场占 51.27%,其发病率(5.97%)显著低于没有专职兽医的场(6.61%);有老板驻场的场占 96.21%,其发病率(6.15%)低于无老板驻场的场(10.5%),但差异不显著。由此可见,在动物卫生相关的饲养管理因素中,有自动给料设施、有专职兽医是保护性因素。

## 2.4 免疫和监测情况与动物卫生状况的关系

### 2.4.1 开展高致病性禽流感等主要动物疫病免

疫与动物卫生状况的关系 调查了高致病性禽流感、新城疫、马立克氏病、H<sub>9</sub>亚型禽流感、鸡传染性支气管炎、鸡传染性法氏囊病等疫苗免疫与动物卫生状况的关系。由图 1 可见:100%的场接种了高致病性禽流感疫苗。98.28%的场接种了新城疫疫苗,免疫与未免疫的发病率分别为 6.13%和 2.59%。29.65%的场接种了马立克氏病疫苗,免疫与未免疫的发病率分别为 5.75%和 6.42%。42.79%

表 4 与动物卫生状况相关的饲养管理因素

饲养管理相关项目	是		否		发病率(%)		F 值 / Z 值	P 值
	数量(家)	比例(%)	数量(家)	比例(%)	是	否		
有自动给料设施	73	15.4	401	84.6	3.17±6.05	6.86±12.37	-3.45	0.01
详细记录本场禽只死亡淘汰情况	347	73.21	127	26.79	6.55±12.92	5.75±7.45	0.44	0.51
养禽场老板或场长驻场	457	96.21	18	3.79	6.15±11.61	10.5±13.40	2.41	0.12
每月平均驻场天数	均值=28.1天							
有专职兽医	243	51.27	231	48.73	5.97±11.95	6.61±11.38	-2.338	0.02
接受技术服务公司技术指导	355	75.05	118	24.95	6.48±11.98	5.98±10.90	0.16	0.69
畜用饮用水消毒	226	47.78	247	52.22	5.25±9.31	6.97±12.70	-1.11	0.26
自配饲料	145	30.53	330	69.47	7.15±15.07	5.90±9.84	-0.78	0.43
饮用水来源	来源	数量(家)	比例(%)	发病率(%)				
	自来水	226	47.78	5.25±12.12				
	地下水	93	15.17	6.63±10.94		1.23	0.29	
	山溪水	294	47.96	5.73±7.93				

的场接种了H<sub>9</sub>亚型禽流感疫苗,免疫与未免疫的发病率分别为6.89%和6.13%。50.22%的场接种了鸡传染性支气管炎疫苗,免疫与未免疫的发病率分别为6.54%和6.45%。60.95%的场接种了鸡传染性法氏囊病疫苗,免疫与未免疫的发病率分别为6.49%和6.32%。未发现疫苗免疫与动物卫生状况之间存在必然联系。

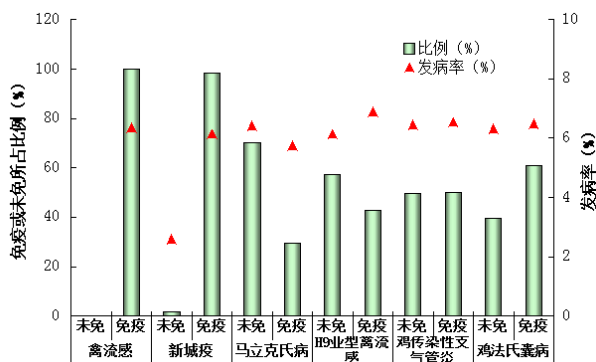


图1 不同动物疫病免疫与发病率的关系

**2.4.2 开展高致病性禽流感等主要疫病监测与动物卫生状况的关系** 对开展高致病性禽流感、新城疫监测与发病率的关系进行了调查。由图2可见:高致病性禽流感免疫抗体合格率达到农业部标准70%以上的场占70.44%,未监测高致病性禽流感抗体的占26.77%;新城疫免疫抗体合格率达到农业部标准70%以上的场占74.86%,未监测新城疫抗体的占24.85%。未开展高致病性禽流感免疫抗体监测的场发病率(7.38%±12.67)高于开展监测的场(5.90%±11.23, p=0.28)。

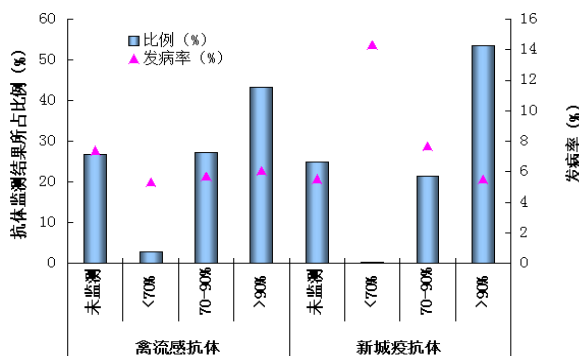


图2 不同动物疫病免疫抗体水平与发病率的关系

**2.5 疫病防治投入与动物卫生状况的关系**

调查了全年疫病防治费用投入与发病率的关系。全年每只家禽的平均防治总投入为1.68元,其

中自购疫苗的费用为0.74元/年·只,消毒药品的费用为0.32元/年·只,抗生素的费用为0.41元/年·只,其它费用为0.27元/年·只。比较不同种类养禽场防治总投入发现(见图3),鸡场(1.88元/年·只)>鹅场(1.45元/年·只)>鸭场(0.92元/年·只),其中鸡场用于自购疫苗的费用几乎占总投入的一半。比较不同类别养禽场防治总投入发现(见图4),种禽(3.13元/年·只)和蛋禽(3.91元/年·只)的防治总投入显著高于肉禽的总投入(1元/年·只);其中就自购疫苗而言,种禽(1.79元/年·只)>蛋禽(1.2元/年·只)>肉禽(0.4元/年·只);就消毒药和抗生素而言,均为蛋禽>种禽>肉禽。

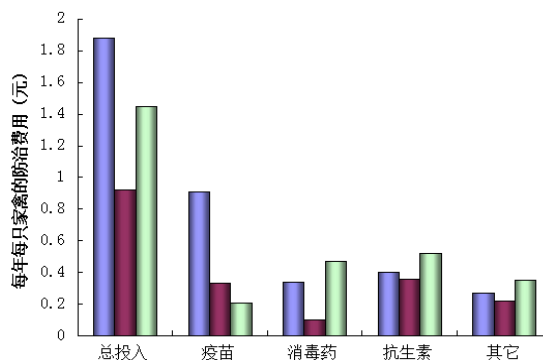


图3 不同种类家禽的防治投入

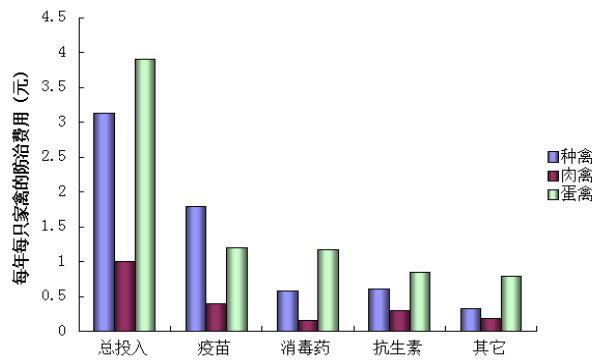


图4 不同类别家禽的防治投入

**3 分析与讨论**

动物卫生状况即发病率高与养禽场类别、养殖规模、生物安全措施、饲养管理等有比较大的关系。本次调查结果显示,种禽场及大型规模养禽场的动物卫生状况相对更好,发病率相对较低,发病率由高到低排序,肉禽场(7.39%)>蛋禽场(4.53%)

>种禽场(3.17%);养殖规模在5 000只以下养禽场的发病率(7.72%)>养殖规模在5 000只以上养禽场的发病率(5.81%);将生产区和生活区分开、车辆入场区前有冲洗消毒等生物安全措施是动物卫生状况的保护性因素,采用以上生物安全措施的养禽场发病率显著低于未采取相应措施的场;有自动给料设施、有专职兽医等饲养管理措施也是动物卫生状况的保护性因素,此结果与养猪场动物卫生状况调查结果(另文发表)一致。小型规模场饲养水平低,卫生状况较差,家禽发病率较高。种禽场、蛋禽场等大规模场相对更重视疫病防控,生物安全措施、饲养管理措施到位,疫病防控的程度也就会越高。养家场的家禽饲养数量直接影响着疫病防控的程度,养殖数量越多家禽的健康程度越高,其养殖行为越安全<sup>[1]</sup>。本次调查发现,费用投入与疫病防控的重视度和疫病的防控效果基本呈正比,种禽(3.13元/年·只)和蛋禽(3.91元/年·只)的防治投入显著高于肉禽场的投入(1元/年·只)。种禽场投入最多,疫病的防控效果也最好。各类别养禽场发病率,肉禽场

(7.39%)>蛋禽场(4.53%)>种禽场(3.17%)也证实了这一观点,并与有关调查结果相一致<sup>[2,3]</sup>。

养禽场对家禽的疫病防控行为涉及各个环节和方面。养禽场的养殖行为决定着养禽场动物卫生状况,决定禽群健康水平。而禽群疫病流行主要是由病原微生物传播造成的,加强禽群饲养管理、完善养禽场防疫条件,健全管理制度,严格落实消毒隔离措施,提高养禽场动物卫生状况和禽群健康水平,阻止病原微生物在场内繁殖生长及传播,从而降低禽只生长环境中的病原微生物数量,为禽群提供良好的环境保证。

(致谢:本次调查主要由广东各级动物疫控机构和动物卫生监督机构共同完成,在此感谢所有参与调查的人员!)

**参考文献:**

[1] 林伟坤. 规模养殖户家禽疫病防控行为的影响因素研究——基于山西省长治市的养殖户调查[D]. 南京农业大学, 2009.  
 [2] 王宏燕, 薛树山, 石霖, 等. 辽宁省鸡白痢流行现状的调查[J]. 现代畜牧兽医, 2014(6):44-50.  
 [3] 颜军. 淮安地区禽大肠杆菌病流行病学调查及综合防治的研究[D]. 南京农业大学, 2006.



(上接第7页)

[17] Lin M C, Wang E J, Le C, et al. Garlic inhibits microsomal triglyceride transfer protein gene expression in human liver and intestinal cell lines and in rat intestine[J]. The Journal Of Nutrition, 2002, 132(6):1165-1168.  
 [18] San Blas G, San Blas F. Inhibition of growth of the dimorphic fungus *Paracoccidioides brasiliensis* by ajoene [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1989, 33(9):1641-1644.  
 [19] Yoshida H, Katsuzaki H. An organosulfur compound isolated from oil macerated garlic extract, and its antimicrobial smooth muscle cell proliferation[J]. Br J Pharmacol, 2003, 138(5):811-818.  
 [20] 占今舜, 张彬, 赵越. 大蒜素在动物生产中的应用[J]. 中国饲料, 2012(18):38-39.  
 [21] 刘超良, 张石蕊, 谭良溪, 等. 大蒜素对断奶仔猪生长性能和腹泻率的影响[J]. 养殖与饲料, 2009(4):50-51.  
 [22] 杨振燕, 杨振波, 魏海峰, 等. 大蒜在莱芜猪等地方良种生产中的应用[J]. 中兽医医药杂志, 2013(2):61.  
 [23] 王建辉, 刘春芝. 大蒜素在断奶仔猪生产中作用及对周围环

境的影响[J]. 畜禽业, 2007, 221:17-18.  
 [24] 张淑会, 李秀丽. 大蒜素对断奶仔猪生长发育及其周围环境的应用效果[J]. 江西饲料, 2004(4):5.  
 [25] Tatara M R, Sliwa E, Dudek K, et al. Aged garlic extract and allicin improve performance and gastrointestinal tract development of piglets reared in artificial sow[J]. Ann Agric Environ Med, 2008, 15:63-69.  
 [26] 王银钱, 刘文科, 李存. 大蒜素对断奶特种野猪仔猪生产性能和免疫功能的影响[J]. 饲料工业, 2009, 30(9):53-54.  
 [27] 涂兴强. 糖萜素、大蒜素在生长育肥猪中的应用研究[D]. 广西大学, 2013.  
 [28] 邢成军, 隗金玲, 方琳. 大蒜素对育肥猪生产性能的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2005(2):32-33.  
 [29] 马丽娜, 李峰杰, 陈坚, 李贻奎. 大蒜主要活性成分及药理作用研究进展[J]. 中国药理学通报, 2014(6):760-763.  
 [30] 李翠, 何庆南, 陈海霞, 等. 大蒜素体外抗肠道病毒EV71的研究[J]. 中药药理与临床, 2011(5):23-26.  
 [31] 陈光, 马淑霞, 蔡连顺, 等. 中药大蒜素体外抗弓形虫效应及其机制的研究[J]. 中国微生态学杂志, 2009(9):812-821.

## 猪流行性腹泻的新特点及其防控

李乔晶<sup>1</sup>, 梁鹏帅<sup>2</sup>, 齐冬梅<sup>1</sup>, 宋长绪<sup>2</sup>

(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, 广东 广州 510642)

**摘要:** 自2010年底开始, 猪流行性腹泻在中国爆发并造成严重损失, 多种经典防控措施收效均不理想。自2013年以来, 发病有所减轻, 出现了一些新的临床特点, 极易造成养殖业者的误判。根据临床实践, 作者对该病的防控措施进行了总结, 以期能为养殖业者提供参考。

**关键词:** 猪流行性腹泻, 临床特点, 防控

中图分类号: S858.28

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)04-0021-04

## New Clinical Characteristics and Control of Porcine Epidemic Diarrhea

Li Qiaojing<sup>1</sup>, Liang Pengshuai<sup>2</sup>, Qi Dongmei<sup>1</sup>, Song Changxu<sup>2</sup>

(1. Guangdong Winsun Bio-pharmaceutical Co., Ltd., Guangzhou 511356, China; 2. South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** Porcine Epidemic Diarrhea outbreak in China and caused serious losses since the end of 2010. Various prevention and control measures for the disease were not ideal. The extent of the Porcine Epidemic Diarrhea has been reduced since 2013. But there were also some new clinical characteristics appeared which can easily cause misjudgment of the pig practitioners, and caused great losses to pig farms. Prevention and control measures for Porcine Epidemic Diarrhea were summarized according to the summary of clinical practice to provide a reference for the pig practitioners.

**Key words:** Porcine Epidemic Diarrhea; Clinical Characteristics; Prevention and control

猪流行性腹泻(Porcine epidemic diarrhea, PED)是由猪流行性腹泻病毒(Porcine epidemic diarrhea virus, PEDV)引起的猪的一种急性、高度接触性肠道传染病<sup>[1]</sup>。该病在1971年首次报道于英国,导致哺乳仔猪的腹泻、呕吐和脱水,造成了严重的损失<sup>[2]</sup>。1976年欧洲报道了该病毒的流行,导致所有年龄段的猪群均发病<sup>[3,4]</sup>,随后此病毒传入亚洲并在日本、韩国、越南、泰国和中国等多国流行,目前该病已成为亚洲多数国家引起仔猪死亡的重要疫病之一。从2010年开始,中国再次发生该病的流行。宋长绪等研究发现病毒发生了变异,而且临床表现为不分年龄、性别和品种的猪均可感染并发生腹泻,其中以哺乳仔猪发病和死亡最为严重<sup>[5]</sup>。

2010年至今,以PED为主的仔猪腹泻疫情持

续发生,给我国养猪业造成了极大的损失。采取商品疫苗免疫防控效果不佳甚至没有效果<sup>[6]</sup>,发病程度及发病规律也并不像一些资料所记载那样具有较为典型的表现,因而发生腹泻问题时很多猪场往往因为对各种要点的把握不准造成了误诊,从而造成处置失败。很多猪场因此蒙受巨大的经济损失。

### 1 近期猪流行性腹泻的发病特点

典型发病表现为仔猪出生后1天就开始出现呕吐(图1),继而发生水样腹泻。呕吐、腹泻的同时患病猪伴有精神沉郁、厌食、迅速消瘦等症状(图2),发病仔猪被提起时呈喷射状腹泻(图3)。发病程度与猪日龄大小有关,以2-3日龄发病最为严重。病猪往往在3日内脱水死亡。一周龄内发病仔猪死亡率可以高达100%,而10日龄以上仔猪视不同的管理措施其死亡率相对较低甚至不死

亡。该病毒传播迅速,往往在发现第一头腹泻仔猪后 1 天内扩大至整条生产线或者在短时间内发生全场范围的流行。断奶猪和育肥猪发病后症状较轻,出现精神沉郁,食欲不佳。腹泻一般持续 4~7 d,逐渐恢复正常;公猪及母猪感染后发生厌食伴随部分猪只呕吐,腹泻较少发生;大部分哺乳母猪出现奶水减少,奶包收缩等情况。如果没有继发感染其他疾病,中大猪极少发生死亡。

对于大部分猪场,猪流行性腹泻在典型发作后如不经及时有效处理,疾病造成的高发病率和死亡率往往可以持续 1-2 个月甚至更长的时间。之后出现短暂的平静期,然后多数猪场出现再次爆发,仍表现为高发病率及高死亡率。约有 40% 左右的猪场转为仔猪日龄界限不明显的零星发病,而且临床表现并不典型,使用抗生素灌服等措施可以起到一定效果,死亡率 10%~20%。二次发病往往造成猪场对该问题的误判。

在现场处置中也发现约 60% 的猪场从猪群感染发病伊始就没有特征性发病表现,猪群发病日龄随机,而以产房仔猪和断奶仔猪发病率最高。发病仔猪多表现为糊状腹泻,呕吐表现少见,极少表现出整窝严重发病的情况。发病较轻的猪只使用抗生素灌服后病情好转,经实验室检测可以检出 PEDV 感染阳性。而此类猪场具备的统一特点就是往往使用过多种猪流行性腹泻病毒疫苗进行了较高密度的免疫或是前期已经出现过发病情况。

## 2 猪流行性腹泻的诊断要点

现场诊断是开展诊断防控工作的重要一步。发生腹泻时,最为紧要的应当是第一时间进行现场诊断。对于发生仔猪腹泻的情况,其原因较为复杂,总体而言可以分为传染性因素及非传染性因素两种。其中传染性因素在近年来比较多见,主要



图 1 发病早期仔猪出现呕吐



图 2 发病 2 天仔猪严重脱水、消瘦



图 3 发病仔猪被提起时呈喷射状水样腹泻

以病毒性腹泻及细菌性腹泻为主,也存在寄生虫性腹泻。而非传染性腹泻往往由营养及环境因素造成。通过现场诊断可以确定疾病的大概原因,并为进一步的实验室确诊提供基础。此外,现场诊断的情况也可以用于分析实验室检测结果,从而找出真正的病因,为及时有效控制疾病提供依据。

### 2.1 现场诊断

进行腹泻现场诊断时首先要确定仔猪的发病日龄、体温、粪便状态、病程、用药情况、免疫情况等,初步评判可能发生的疾病。之后选取典型病猪剖检,根据病变情况筛查可疑病因。

典型的猪流行性腹泻发病仔猪剖检可见到胃部膨胀(图 4),充满未消化的乳糜(图 5),部分仔猪表现出胃底出血;几乎所有发病猪表现出小肠壁变薄,肠腔内充满黄色水样内容物(图 6);肠系膜充血,肠系膜淋巴结水肿明显,部分病例可见到肠系膜淋巴结出血(图 7)。

### 2.2 实验室诊断

猪流行性腹泻与传染性胃肠炎和猪轮状病毒腹泻在流行病学、临床症状和病理变化等方面很难区分,而且有些猪场混杂有猪伪狂犬病、猪瘟及



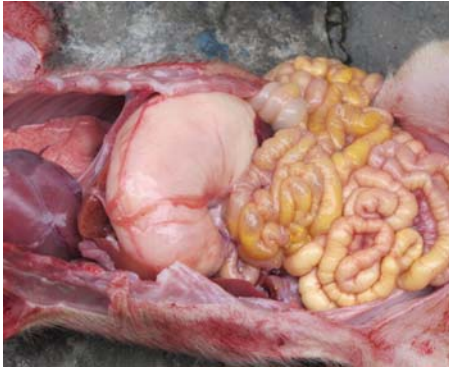


图4 病猪胃膨胀,肠道充满水样内容物



图5 病猪胃内充满乳糜



图6 发病仔猪肠道薄如蝉翼



图7 肠系膜淋巴结肿大、出血

其他细菌性疾病等,所以进行实验室鉴别诊断是防控该病的必然选择。目前有血清中和试验、免疫荧光技术、酶联免疫吸附试验、胶体金抗原检测、RT-PCR 及实时荧光定量 PCR 等检测方法可以准确检测 PEDV 的感染<sup>[7]</sup>,其中以胶体金检测最为快速,可以在几分钟内得到准确的检测结果(图8)。

### 3 猪流行性腹泻的防治

#### 3.1 疫苗预防

从2010年发生猪流行性腹泻变异病毒爆发式流行至今,虽然有多种灭活疫苗和弱毒疫苗可



图8 胶体金检测出猪流行性腹泻病毒

供选择,但至今尚无特别有效的疫苗可以有效预防或控制猪流行性腹泻的发生。然而根据猪场实践发现,合理的免疫可以降低猪群发病可能,同时对发病猪群仔猪的发病程度也有一定程度的减轻。在实践中许多猪场针对严重的发病情况采取给母猪免疫自家灭活疫苗的方法取得了快速有效的效果,这也从侧面说明开发出针对当前流行毒株的 PEDV 疫苗将可以有效控制该病的发生。

#### 3.2 治疗措施

仔猪发生猪流行性腹泻后尚无特别有效的治疗措施,但实施以下紧急治疗措施可以在一定程度降低发病仔猪死亡率:部分猪场使用高免卵黄抗体治疗病猪,可以将发病仔猪死亡率控制在50%以内,但难以阻止新发病例;使用口服补液盐配合一定比例的葡萄糖及恩诺沙星等抗生素对发病仔猪进行及时补液也可以取得一定的治疗效果,但腹腔注射补液要求较高,许多猪场不能规范操作,灌服补液盐水或自由饮水补液效果相对较差;有猪场使用康复母猪血清给发病仔猪灌服的方法进行治疗或预防,但防控效果并不理想,甚至在有些猪场表现相当大的副作用。

### 3.3 返饲的应用

猪场发生腹泻疫情后,对定位栏母猪迅速采取返饲的方法可以明显降低发病率,减少猪场损失。通常做法为:选取不超过7日龄典型发病仔猪,以发病时间在2天以内、解剖后肠壁变薄、肠腔内充满液体的病料为最佳。采取新鲜病料后按照200g仔猪肠道及内容物返饲10头母猪的用量进行调制。将收集到的病料剪碎后加入200mL预冷过的生理盐水(加入庆大霉素和恩诺沙星注射液各5mL),在组织捣碎机内捣碎,再加入适量脱脂奶粉调匀后置于冰箱保鲜层静置2h,之后进行母猪返饲。

返饲最好在全场范围内针对除哺乳母猪及临近预产期1周内母猪外的所有母猪集中进行。返饲后注意观察母猪腹泻发生情况,没有发生腹泻的母猪需进行2次甚至3次返饲。如仍无腹泻发生,则说明该母猪可能具备一定的抗体水平,不需继续返饲处理。对后备母猪进行多次返饲操作可以减少其进入繁殖群后疾病发生的可能。

需注意的是用于返饲的样品应该通过实验室检测,确定其他病毒如猪瘟、伪狂犬病等病毒为阴性方可进行返饲。

### 3.4 其他措施

PEDV以消化道传播为主,但也有经呼吸道传播的报道。因此猪场生物安全管控水平高低对于猪流行性腹泻的发生有着显著影响。受到病猪或其粪便污染的车辆、饲养员衣服、鞋子、用具等可以传播该病。Lowe等对6个猪场进出的车辆进行了监测,结果证实进入单个猪场的车辆中检测出PEDV的阳性率最高达到14.6%,最低为2.0%。对离开猪场的车辆检测发现最高10.8%的车辆离开猪场时携带病毒<sup>[8]</sup>。病猪污染的垫料等废弃物及饮水、饲料等也可以造成该病毒的传播。制定生物安全规范并严格执行可以尽可能降低疾病发生的几率。

宋长绪等<sup>[5]</sup>研究证实感染母猪通过奶水传播的方式导致仔猪发病及死亡,这也提示在该病的防控过程中通过寄养仔猪的方式可取得理想的效果。

产房温湿度控制对于猪流行性腹泻的防控具有较大意义。日常管理中注意猪舍保温,最好能将产房温度控制在26℃,保温箱温度保持在30℃以上。搞好猪舍的清洁卫生和消毒,经常清除粪便。但应注意在低温、潮湿的季节应尽量减少或避免用水冲栏,保持栏舍的干燥。当猪场发生该病时,做好消毒工作,对病猪治疗的同时配合使用干粉消毒对控制该病也有较好的效果。

### 参考文献:

- [1] Pritchard G C, Paton D J, Wibberley G, et al. Transmissible gastroenteritis and porcine epidemic diarrhoea in Britain[J]. Vet Rec, 1999, 144(22): 616-8.
- [2] Pensaert M B, Debouck P. A new coronavirus-like particle associated with diarrhea in swine[J]. Arch Virol, 1978, 58(3): 243-247.
- [3] Kang T J, Han S C, Yang M S, et al. Expression of synthetic neutralizing epitope of porcine epidemic diarrhoea virus fused with synthetic B subunit of Escherichia coli heat-labile enterotoxin in tobacco plants[J]. Protein Expr Purif, 2006, 46(1): 16-22.
- [4] Song D, Park B. Porcine epidemic diarrhoea virus: A comprehensive review of molecular epidemiology, diagnosis, and vaccines[J]. Virus Genes, 2012, 44(2): 167-175.
- [5] Sun R Q, Cai R J, Chen Y Q, et al. Outbreak of Porcine Epidemic Diarrhoea in Suckling Piglets, China[J]. Emerg Infect Dis, 2012, 18(1): 161-163.
- [6] 蔡汝健, 张乐宜, 宋长绪. 2010-2013年华南地区猪流行性腹泻病流行情况调查及防控效果[J]. 广东农业科学, 2013(11): 104-114.
- [7] 李思银, 杨亮宇, 杨玉艾. 猪流行性腹泻的实验室诊断方法[J]. 猪业科学, 2010(12): 54-57.
- [8] James Lowe, Phillip Gauger, Karen Harmon, et al. Role of Transportation in Spread of Porcine Epidemic Diarrhoea Virus Infection, United States [J]. Emerg Infect Dis, 2014, 20(5): 872-874.

## 如何减少肉鸡饲料浪费

### 1、科学配制饲料

一般0~4周龄子鸡的饲料,每公斤应含粗蛋白质20%~21%;5周龄以上的肉鸡饲料中,每公斤应含粗蛋白质18%~19%,钙占1%,磷0.65%,而且要注意日粮中各种氨基酸的平衡,以满足鸡生长发育的需要。

合理饲喂肉鸡最好饲喂颗粒饲料,如果饲喂干粉料,宜少吃多添。要有足够的料槽和饮水器。一般2周龄以上的鸡,每30~40只应有一个1米长的料槽,每70~80只应有1个1米长的饮水器,这样可以减少饲料消耗。

### 2、减少饲料浪费

饲喂肉鸡要做到少给勤添,尽量做到槽内不剩料或少剩料。选购全价颗粒饲料,可避免鸡挑食。饲料要求新鲜,一次购进或自配不要过多,以一周用完为宜。自配料时,在保证营养条件下,尽可能选择当地价格低的原料以降低成本。

搞好疫病防治要坚持“预防为主,防重于治”的方针。按当地疫病流行特点按时接种疫苗和进行预防投药,特别是对慢性疾病的防治,如体内外寄生虫病、轻度球虫病和吸收不良综合症以及慢性呼吸道疾病等。(来源:农民日报)

# 卵黄抗体对不同日龄雏鹅小鹅瘟的治疗试验

闫妍

(哈药集团生物疫苗有限公司, 黑龙江 哈尔滨 150069)

**摘要:** 本实验探讨小鹅瘟卵黄抗体对不同日龄雏鹅在小鹅瘟病毒攻击后的治疗试验。将小鹅瘟强毒(H株)病毒液接种1、4、7日龄健康易感雏鹅, 攻毒后将鹅按患病程度划分为轻度患病及重度患病组, 分别皮下注射琼扩效价为1:16的三批小鹅瘟卵黄抗体实验室产品(批号为: 201301、201302和201303), 雏鹅注射剂量为1.0 mL/只, 注射后观察10日, 记录雏鹅发病情况。结果表明, 在观察期内, 轻度患病雏鹅1日龄治愈率为97.44%, 4日龄治愈率为94.87%, 7日龄治愈率为90.48%; 未注射抗体对照组1日龄92.31%死亡, 4日龄91.67%死亡, 7日龄85.71%死亡; 重度患病雏鹅1日龄治愈率为6.06%, 4日龄治愈率为10.00%, 7日龄治愈率为9.52%; 未注射抗体对照组1日龄100%死亡, 4日龄100%死亡, 7日龄90.00%死亡。说明采用小鹅瘟精制卵黄抗体治疗不同日龄轻度患病雏鹅, 治疗剂量为1.0 mL/只, 治疗效果较好, 对不同日龄重度患病雏鹅治疗效果不佳。

**关键词:** 小鹅瘟卵黄抗体; 雏鹅; 治疗

**中图分类号:** S858.33

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2015)04-0025-02

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 小鹅瘟卵黄抗体** 哈药集团生物疫苗有限公司研发中心制备, 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 $\geq$ 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 $\geq$ 104.0LD<sub>50</sub>。

**1.1.3 雏鹅** 1、4、7日龄健康雏鹅购自哈尔滨郊区养鹅户; 试验前对同批雏鹅经琼脂扩散试验抽样检查呈阴性。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 1日龄雏鹅治疗试验** 取1日龄健康易感雏鹅100只, 每只颈部皮下注射小鹅瘟强毒(H株)病毒液0.2 mL(含100LD<sub>50</sub>), 攻毒72小时后, 按“小鹅瘟患病鹅发病程度判定标准”(见表1), 将试验鹅分为轻度患病、重度患病及未发病, 其中未发病弃用, 将轻度患病及重度患病雏鹅进行分组, 分别颈部皮下注射实验室试制的3批小鹅瘟精制卵黄抗体, 注射剂量1.0 mL/只, 各隔离饲养观察10日, 记录各组鹅发病和死亡结果。同时从轻度患病及重度患病组中取鹅不注射抗体作为对照。

表1 小鹅瘟患病鹅发病程度判定标准

发病程度	具体表现
未发病	鹅采食、饮水和精神状况良好, 为表现任何疾病症状。
轻度患病	鹅表现精神沉郁, 食欲减退、羽毛松乱、头颈缩起、闭眼呆立、离群独处和不愿走动等症状中的一种或几种
重度患病	鹅表现食欲废绝, 倒提鼻孔流出浆液性鼻液, 排灰白色或灰黄色水样稀便并带有气泡, 喙端和脚蹼色变暗(发绀), 颈部扭转或抽搐等症状中的一种或几种

**1.2.2 4日龄雏鹅治疗试验** 取4日龄健康易感雏鹅100只, 每只颈部皮下注射小鹅瘟强毒(H株)病毒液0.2 mL(含100LD<sub>50</sub>), 攻毒72小时后, 按“小鹅瘟患病鹅发病程度判定标准”, 见表1, 将试验鹅分为轻度患病、重度患病及未发病, 其中未发病弃用, 将轻度患病及重度患病雏鹅进行分组, 分别颈部皮下注射实验室试制的3批小鹅瘟精制卵黄抗体, 注射剂量1.0 mL/只, 各隔离饲养观察10日, 记录各组鹅发病和死亡结果。同时从轻度患病弃用, 将轻度患病及重度患病雏鹅进行分组, 分别颈部皮下注射实验室试制的3批小鹅瘟精制卵黄抗体, 注射剂量1.0 mL/只, 各隔离饲养观察10日, 记录各组鹅发病和死亡结果。同时从轻度患病及重度患病组中取鹅不注射抗体作为对照。

## 2 结果

### 2.1 1日龄雏鹅治疗剂试验结果

取1日龄健康易感雏鹅100只,每只颈部皮下注射小鹅瘟强毒(H株)病毒液0.2 mL(含100LD<sub>50</sub>),攻毒后按“小鹅瘟患病鹅发病程度判定标准”将试验鹅分为轻度患病、重度患病及未发病,其中未发病雏鹅4只,轻度患病雏鹅52只,重度患病雏鹅44只。结果见表2及表3。

### 2.2 4日龄雏鹅治疗剂试验结果

取4日龄健康易感雏鹅100只,每只颈部皮下注射小鹅瘟强毒(H株)病毒液0.2 mL(含100LD<sub>50</sub>),攻毒后按“小鹅瘟患病鹅发病程度判定标准”将试验鹅分为轻度患病、重度患病及未发病,其中未发病雏鹅9只,轻度患病雏鹅51只,重度患病雏鹅40只。结果见表4及表5。

### 2.3 7日龄雏鹅治疗剂试验结果

取7日龄健康易感雏鹅100只,每只颈部皮下注射小鹅瘟强毒(H株)病毒液0.2 mL(含100LD<sub>50</sub>),攻毒后按“小鹅瘟患病鹅发病程度判定标准”将试验鹅分为轻度患病、重度患病及未发病,其中未发病雏鹅13只,轻度患病雏鹅56只,重度患病雏鹅31只。结果见表6及表7。

表2 1日龄轻度患病鹅治疗试验结果

组别	抗体剂量(mL)	雏鹅数(只)	死亡数(只)	存活数(只)	治愈率(%)
201401	1.0	13	1	12	92.31
201402	1.0	13	0	13	100
201403	1.0	13	0	13	100
对照组	-	13	12	1	92.31%死亡

表3 1日龄重度患病鹅治疗试验结果

组别	抗体剂量(mL)	雏鹅数(只)	死亡数(只)		存活数(只)	治愈率(%)
			注射过程中	注射后10日内		
201401	1.0	11	3	8	0	0
201402	1.0	11	4	6	1	9.09
201403	1.0	11	3	7	1	9.09
对照组	-	11	2	9	0	100%死亡

### 2.4 卵黄抗体对不同日龄雏鹅治疗试验统计结果

2.4.1 对不同日龄轻度患病雏鹅治疗试验统计结果 从表8结果可看出,采用小鹅瘟精制卵黄抗体

表4 4日龄轻度患病鹅治疗试验结果

组别	抗体剂量(mL)	雏鹅数(只)	死亡数(只)	存活数(只)	治愈率(%)
201401	1.0	13	1	12	92.31
201402	1.0	13	0	13	100
201403	1.0	13	1	12	92.31
对照组	-	12	11	1	91.67%死亡

表5 4日龄重度患病鹅治疗试验结果

组别	抗体剂量(mL)	雏鹅数(只)	死亡数(只)		存活数(只)	治愈率(%)
			注射过程中	注射后10日内		
201401	1.0	10	4	5	1	10.00
201402	1.0	10	2	7	1	10.00
201403	1.0	10	3	6	1	10.00
对照组	-	10	3	7	0	100%死亡

表6 7日龄轻度患病鹅治疗试验结果

组别	抗体剂量(mL)	雏鹅数(只)	死亡数(只)	存活数(只)	治愈率(%)
201401	1.0	14	1	13	92.86
201402	1.0	14	2	12	85.71
201403	1.0	14	1	13	92.86
对照组	-	14	12	2	85.71%死亡

表7 7日龄重度患病鹅治疗试验结果

组别	抗体剂量(mL)	雏鹅数(只)	死亡数(只)		存活数(只)	治愈率(%)
			注射过程中	注射后10日内		
201401	1.0	7	2	4	1	14.29
201402	1.0	7	3	4	0	0
201403	1.0	7	2	4	1	14.29
对照组	-	10	3	6	1	90%死亡

治疗不同日龄轻度患病雏鹅,结果表明,1日龄治愈率为97.44%,4日龄治愈率为94.87%,7日龄治愈率为90.48%;未注射抗体对照组1日龄92.31%死亡,4日龄91.67%死亡,7日龄85.71%死亡。

2.4.2 对不同日龄重度患病雏鹅治疗试验统计结果 从表9结果可看出,采用小鹅瘟精制卵黄抗体治疗1、4、7日龄重度患病雏鹅,结果表明,

(下转第41页)

## 换液培养对猪卵母细胞的成熟及胚胎体外发育的影响

罗绿花<sup>1</sup>, 石俊松<sup>1</sup>, 周 荣<sup>1</sup>, 麦然标<sup>1</sup>, 纪红美<sup>1</sup>, 余婉娴<sup>1</sup>, 蔡更元<sup>2</sup>, 王青来<sup>1</sup>, 吴珍芳<sup>2\*</sup>  
(1. 广东温氏食品集团股份有限公司, 国家生猪种业工程技术研究中心, 广东 云浮 527439;  
2. 华南农业大学动物科学学院, 广东 广州 510642)

**摘要:** 通过后期去除激素培养比较了卵丘卵母细胞成熟及构建克隆胚后的发育情况, 同时孤雌胚胎和体外受精胚胎体外培养 48 h 后全量换液, 比较了其卵裂率和囊胚率之间的差异。结果显示, 卵丘卵母细胞培养 22h 后换成不含激素的成熟培养液继续培养至 44 h, 其成熟率与对照组无显著差异 ( $P > 0.05$ ); 后期克隆胚胎卵裂率和囊胚率与对照组均无显著差异 ( $P > 0.05$ )。孤雌胚胎换液培养卵裂率高于未换液组, 囊胚率低于未换液组, 但差异均不显著 ( $P > 0.05$ )。体外受精胚胎换液培养卵裂率以及囊胚率和未换液组差异不显著 ( $P > 0.05$ )。本实验结果说明换液培养对卵母细胞的成熟及后续的体细胞克隆胚发育无显著影响, 孤雌和体外受精胚胎换液培养对后期发育也无显著影响。

**关键词:** 猪; 卵母细胞; 胚胎发育

中图分类号: S814.6

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)04-0027-04

## Effects of Culture Medium on Porcine Oocyte Maturation and Embryo Development in Vitro

Luo Lvhu<sup>1</sup>, Shi Junsong<sup>1</sup>, Zhou Rong<sup>1</sup>, Mai Ranbiao<sup>1</sup>, Ji Hongmei<sup>1</sup>, Yu Wanxian<sup>1</sup>, Cai Gengyuan<sup>2</sup>, Wang Qinglai<sup>1</sup>, Wu Zhenfang<sup>2\*</sup>  
(1. Guangdong WENS Foodstuff Group Limited Company Research Institute, Yunfu 527400, China; 2. College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** This study examined the effects of the late removal of the hormone to the oocytes mature and the cloned embryos development, and parthenogenetic embryos and IVF embryos in vitro after 48 h full amount in the culture medium, compares the difference between the cleavage rate and blastocyst rate. Results showed that the Cumulus Cells continued to develop to 44 hours after changing to no hormone culture medium at 22 hours regular culture, the rate of maturity with no significant difference to the control group ( $P > 0.05$ ); the late cloned embryo cleavage rate and blastocyst rate and the control group had no significant difference ( $P > 0.05$ ). After changing the culture medium, parthenogenetic embryos cleavage rate is higher than regular culture medium group, blastocyst rate is lower than normal culture medium group, with no significant difference ( $P > 0.05$ ). To IVF embryos, culture medium changing were no significant difference ( $P > 0.05$ ). The experiment results show that changing the culture medium had no significant effect on oocytes maturation and subsequent somatic cell cloning embryos, parthenogenetic and IVF embryos.

**Key words:** pigs; Cumulus Cells; Embryo Development

猪卵母细胞和胚胎体外培养是进行克隆猪、“试管”猪等多项生物工程技术研究的基础。虽然猪卵母细胞体外成熟技术已经建立, 而且体外成熟的卵母细胞能够进行体外受精、克隆胚胎的制

作并能够发育到囊胚阶段, 但效率仍然较低<sup>[1]</sup>。因此优化卵母细胞和胚胎的体外培养条件, 是提高体外胚胎生产效率的途径之一。

猪卵母细胞成熟以及胚胎发育是一个极其复

收稿日期: 2015-04-15

\*: 通讯作者

基金项目: 广东省家畜分子与细胞工程育种技术研究团队(2011A020102003), 创建肉鸡、肉猪种业国家工程技术研究中心能力建设(2012B07071006)

杂的过程。虽然体外培养体系已进行许多优化,但目前仍无法完全模拟母体内的生理环境。母体内是一种自身可调的微环境,可以维持胚胎在不同阶段所需的营养物质。而胚胎在体外环境下培养,自身分泌的物质和消耗的物质难以达到动态平衡,从而导致环境改变,影响生长发育<sup>[2]</sup>。因此有研究认为,更换培养液可以弥补消耗的物质,提高胚胎发育效率<sup>[3,4]</sup>。

而在卵母细胞成熟培养液中添加激素可有效抑制颗粒细胞的凋亡并维持颗粒细胞之间的缝隙连接,促进颗粒细胞增殖、膨散,促进卵母细胞成熟<sup>[5]</sup>。因此卵母细胞成熟液中添加激素已形成共识,但激素的添加方式却存在着争议。本实验通过对比试验,研究卵母细胞培养后期去掉激素、胚胎(孤雌、体外受精胚胎)体外培养进行换液培养的方式对胚胎发育的影响,以期优化卵母细胞和胚胎的体外培养方式。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

实验所用试剂如未说明均购自 SIGMA 公司,卵母细胞成熟及胚胎培养所用耗材购自 NUNC 公司。成熟培养液 TCM-199 中分别添加了 10% 体积分数的卵泡液和胎牛血清,胚胎培养液为 PZM-3 培养液,体外受精采用了 PGM 受精液。

### 1.2 方法

**1.2.1 卵母细胞的采集及培养** 从屠宰场收集卵巢,利用保温瓶保存并在最短时间内运回实验室,放入加有 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的青霉素和链霉素的 37  $^{\circ}\text{C}$  左右的生理盐水中,冲洗 3~4 次。用配有 12 号针头的 10 mL 注射器抽取 2~6 mm 的卵泡,用尖底 50 mL 离心管收集。经重悬后在体视镜下挑取卵丘-卵母细胞包裹层至少两层且胞质均匀的进行培养。卵母细胞成熟培养在温度为 39  $^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ 、饱和湿度的培养箱内进行,培养 42~44 h。

**1.2.2 卵母细胞成熟及克隆胚胎生产** 将培养的卵丘-卵母细胞复合体随机分为两组。一组为换液组,在其培养 22 h 后换成不含 PMSG、hCG 的 TCM-199 液中继续培养;另一组为未换液组,使用含激素的培养液一直培养至成熟。终止成熟后加入到含有 1  $\text{mg}/\text{mL}$  的透明质酸酶的小离心管中,用 200  $\mu\text{L}$  枪头混匀轻轻吹除颗粒,用操作液清洗干净后放于体视镜下挑取已排出第一极体、胞

质均匀的卵母细胞备用,统计成熟率。

上述两种方法培养成熟的卵母细胞,使用同一供体细胞采用盲吸法分别构建克隆胚胎。构建成功的胚胎使用 1.6  $\text{kV}/\text{cm}$ 、100  $\mu\text{s}$ 、2DC 的参数进行融合激活。激活后的胚胎放在含 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  CB 的胚胎培养液里辅助激活 4 h,换液后放入四孔板内置于培养箱内培养至囊胚阶段。

**1.2.3 猪孤雌胚胎的生产** 猪孤雌胚胎的生产参照文献<sup>[6]</sup>的方法进行。生产出来的孤雌胚胎分为 2 组培养。一组每隔 48 h 将培养液更换为新鲜的培养液进行培养;另一组未更换培养液连续培养至囊胚阶段。

**1.2.4 体外受精胚胎的生产** 体外受精胚胎的生产参照文献<sup>[7]</sup>的方法进行。生产出来的体外受精胚胎分为 2 组培养。一组每隔 48 h 将培养液更换为新鲜的培养液进行培养;另一组未更换培养液连续培养至囊胚阶段。

**1.2.5 胚胎的体外培养及发育评价** 将克隆胚胎、体外受精和孤雌胚胎激活当天记为第 0 d,第 2 d 检查卵裂情况,第 6 d 检查囊胚发育情况。分别计算卵裂率和囊胚率。

### 1.3 统计分析

使用 SPSS 的进行卡方检验, $P < 0.05$  时即认为差异显著。

## 2 结果

### 2.1 卵母细胞培养换液对卵母细胞成熟及克隆胚胎发育的影响

由表 1 可知,卵母细胞成熟培养过程中,培养 22 h 换液组成熟率虽低于未换液组 (64.50% vs 65.13%),但其构建克隆胚胎的卵裂率和囊胚率均高于未换液组 (74.25% vs 70.70%, 22.27% vs 19.82%),不过差异均不显著 ( $P > 0.05$ )。

### 2.2 孤雌胚胎换液培养对胚胎发育的影响

由表 2 可知,孤雌胚胎在培养过程中每隔 48 h 进行换液,与未换液组相比,其卵裂数虽稍高 (84.30% vs 83.72%),但囊胚率却低于未换液组 (27.33% vs 32.56%),不过差异均不显著 ( $P > 0.05$ )。

### 2.3 体外受精胚胎换液培养对胚胎发育的影响

由表 3 可知,体外受精胚胎在培养过程中每隔 48 h 进行换液。与未换液组相比,其卵裂数稍高 (88.24% vs 86.87%),但囊胚率稍低于未换液组

表 1 卵母细胞培养换液对卵母细胞成熟及克隆胚胎发育的影响

组别	培养卵母细胞数	成熟卵母细胞数(%)	克隆胚胎数	卵裂数(%)	囊胚数(%)
换液	1048	676/64.50% <sup>ab</sup>	431	320/74.25% <sup>a</sup>	96/22.27% <sup>a</sup>
未换液	1061	691/65.13% <sup>a</sup>	454	321/70.70% <sup>a</sup>	90/19.82% <sup>a</sup>

1): 同一列相同小写字母表示差异不显著( $P > 0.05$ ), 不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。下同。

表 2 孤雌胚胎换液培养对胚胎发育的影响

组别	胚胎数	卵裂数(%)	囊胚数(%)
换液	172	145/84.30% <sup>a</sup>	47/27.33% <sup>a</sup>
未换液	172	144/83.72% <sup>a</sup>	56/32.56% <sup>a</sup>

表 3 体外受精胚胎换液培养对胚胎发育的影响

组别	胚胎数	卵裂数(%)	囊胚数(%)
换液	377	333/88.24% <sup>a</sup>	70/18.61% <sup>a</sup>
未换液	390	339/86.87% <sup>a</sup>	76/19.41% <sup>a</sup>

(18.61% vs 19.41%), 差异同样均不显著( $P > 0.05$ )。

### 3 讨论

#### 3.1 成熟培养换液及对后续克隆胚胎发育的影响

卵丘-卵母细胞复合体在 TCM-199 成熟培养液中培养 22 h 之后换成不含激素的培养液继续培养至 44 h, 和对照组相比其成熟率有所下降但并无显著差异; 将两组培养成熟的卵母细胞构建成克隆胚胎, 换液组卵裂率和囊胚率均高于未换液组, 但差异也不显著。

激素在卵母细胞体内成熟过程中, 起着非常重要的作用, 但体内激素水平是处于一个变化的过程, 因此对激素的添加方式进行了较多的研究, 所得到的结果也不相同<sup>[8,9]</sup>。Funahashi<sup>[10]</sup>和 De los Reyes<sup>[11]</sup>研究表明, 猪卵母细胞体外成熟培养的前 20 h 加入激素, 后 20 h 将激素去除, 可增加卵母细胞体外成熟率和促进卵母细胞的减数分裂和细胞质成熟。刘丽莉等<sup>[12]</sup>成熟培养前 24 h 添加 PMSG、HCG, 后 24 h 去除激素所得到的卵母细胞成熟率明显高于其它组, 差异显著( $P < 0.05$ )。而孟庆刚等<sup>[13]</sup>在猪卵母细胞培养的前 24 h 加入 PMSG、后 24 h 去除 PMSG, 发现其成熟率与含 PMSG 的培养液连续培养 48 h 的成熟率无显著差异。卢晟盛等<sup>[14]</sup>在猪卵丘细胞-卵母细胞复合体体外成熟培养 46~48 h 中的后 23~24 h 去除促性腺激素可有利于卵丘细胞的扩散, 但对卵母细胞的核

成熟无显著影响。Liu 等<sup>[15]</sup>的试验结果证明, 在猪卵母细胞成熟培养 44~48 h 的后 24 h 去除激素只影响早期胚胎发育, 对核成熟无显著影响。这些研究结果和本研究相同。因每个实验室所用的培养体系、激素的种类和来源各不相同, 造成了不同的试验结果。从本实验室的培养体系来看, 卵母细胞培养过程换不换液对卵母细胞及胚胎发育无显著影响。而换液不仅增加工作量, 也增加了一倍的成熟液使用量, 增加了试验成本, 因此并不可取。

#### 3.2 胚胎培养换液处理

由于胚胎生长都有代谢废物排出, 代谢废物达到一定浓度时就会对胚胎发育不利<sup>[4]</sup>。如添加氨基酸会导致培养液中胺离子的累积, 从而对胚胎产生一定的毒害作用<sup>[16]</sup>, 因此在胚胎培养过程中有研究采用更换培养液的方式。王金勇<sup>[17]</sup>探讨了胚胎培养 72 h 后更换培养液对孤雌发育胚胎的影响。结果显示, 培养液更换对卵裂率和囊胚细胞数的影响差异不显著( $P > 0.05$ ), 但更换组囊胚率显著下降( $P < 0.05$ )。吴中红等<sup>[18]</sup>使用猪 PA 胚胎用不同培养方式体外培养 7 d, 发现 7 d 不换液与第 5 d 换液其囊胚发育率无显著差异( $P > 0.05$ )。王媛等<sup>[2]</sup>的研究发现, 猪体外受精和孤雌胚胎换液组与对照组的卵裂率、囊胚率差异均不显著( $P > 0.05$ )。以上研究结果均与本试验结果相同, 说明换液培养对胚胎发育并不会产生促进性影响。主要原因可能是哺乳动物早期胚胎在发育过程中具有自分泌和旁分泌作用, 能够分泌一些生长因子<sup>[19]</sup>, 这些生长因子在胚胎发育中起着重要的作用<sup>[20]</sup>。因此更换胚胎培养液可能去除或是稀释了胚胎产生的这些生长因子<sup>[21]</sup>, 从而换液的培养方式不能提高猪早期胚胎的体外发育效率。

#### 参考文献:

- [1] Ye J, Campbell K H S, Craigon J, et al. Dynamic Changes in Meiotic Progression and Improvement of Developmental Competence of Pig Oocytes in Vitro by Follicle-

- Stimulating Hormone and Cycloheximide[J]. *Biology of Reproduction*, 2005, 72:399-406.
- [2] 王媛,孙爽,刘仲凤,等.猪植入前胚胎体外培养条件的优化[J]. *中国畜牧兽医*, 2009, 36(11):89-92.
- [3] 付博,房庆昌,任亮,等.培养基中能量底物对猪胚胎发育的影响[J]. *动物学杂志*, 2010, 45(40):164-170.
- [4] 吴曙限,李莉,孙世,等.不同换液体积和血清对黄牛孤雌胚胎体外发育的影响[J]. *湖北农业科学*, 2011, 50(7):1413-1419.
- [5] 包磊,周洪彬,李跃民.不同促性腺激素添加方式对猪卵母细胞的影响[J]. *猪业科学*, 2006, (5):14-17.
- [6] 石俊松,罗绿花,周荣,等.不同电激活参数及CB处理对猪卵母细胞孤雌发育的影响[J]. *华南农业大学学报*, 2012, 33(3):388-392.
- [7] 石俊松,赵云翔,罗绿花,等.卵巢生理状态、精子获能时间及精卵共孵育时间对猪体外受精及胚胎发育的影响[J]. *黑龙江动物繁殖*, 2011, 19(1):15-18.
- [8] Masayuki Shimada, Masahide Nishibori, Naoki Isobe, et al. Luteinizing Hormone Receptor Formation in Cumulus Cells Surrounding Porcine Oocytes and Its Role During Meiotic Maturation of Porcine Oocytes[J]. *Biol Reprod*, 2003, 68:1142-1149.
- [9] Guang-Ming Wu, Qing-Yuan Sun, Jiude Mao, et al. High Developmental Competence of Pig Oocytes after Meiotic Inhibition with a Specific M-Phase Promoting Factor Kinase Inhibitor[J]. *Butyrolactone I. Biol Reprod*, 2002, 67:170-177.
- [10] Funahashi H, Day B N. Effects of the duration of exposure to hormone supplements on cytoplasmic maturation of pig oocytes in vitro[J]. *J Reprod Fert*, 1993, 98:179-185.
- [11] De los Reyes M, Lapierre L, Saenz L, et al. Effect of the length of the hormonal supplementation on in vitro maturation of porcine oocytes [J]. *Theriogenology*, 2001, 55(1):468-472.
- [12] 刘丽莉,叶绍辉,严明理,等.不同培养条件对猪卵母细胞IVM、IVF的影响[J]. *生物技术通报*, 2008(2):202-206.
- [13] 孟庆刚,张成林,张永忠.猪小腔卵泡卵母细胞体外成熟研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2001, 32(3):213-219.
- [14] 卢晟盛,魏凤,房慧伶,等.猪卵泡液和促性腺激素处理时间对猪卵母细胞体外成熟的影响[J]. *安徽农业大学学报*, 2005, 32(3):289-292.
- [15] Liu L, Moor R M. Factors affecting electrical activation of porcine oocyte matured in vitro [J]. *Anim Reprod Sci*, 1997, 48(1):67-80.
- [16] Zander D L, Thompson J G, Lane M. Perturbations in mouse embryo development and viability caused by ammonium are more severe after exposure at the cleavage stages [J]. *Biology of Reproduction*, 2006, 74:288-294.
- [17] 王金勇,王震,曾申明,等.猪孤雌激活胚胎的体外培养[J]. *中国兽医学报*, 2006, 26(2):207-209.
- [18] 吴中红,邢凤英,刘国世,等.猪体外成熟卵母细胞的电激活及其激活后的体外培养[J]. *中国农业科学*, 2002, 35(12):1537-1542.
- [19] Lane M, Gardner D K. Effect of incubation volume and embryo density on the development and viability of mouse embryos in vitro [J]. *Hum Reprod*, 1992(7):558-562.
- [20] Paria B C, Dey S K. Preimplantation embryo development in vitro: Cooperative interactions among embryos and role of growth factors [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87:4756-4760.
- [21] Yoshioka K, Suzuki C, Iwamura S. Activin A and follistatin regulate developmental competence of in vitro-produced bovine embryos [J]. *Biol Reprod*, 1998, 59:1017-1022.

(上接第15页)

一般每5天空调机温度要降低1℃。空调机显示温度比育雏栏内的温度高3~4℃。当室外温度达到或超过育雏适宜温度时,应关闭空调机。育雏间内相对温度保持在55%~70%之间。

### 3 育雏期其它管理措施

#### 3.1 及时开饮与开食

雏鹅出壳后24h内应开饮。开饮的水要清洁卫生,并加入0.1%高锰酸钾,可预防肠道疫病。开饮后即可开食,开食可用小鸡料。开壳1-3天每天喂5~6次,5-10天每天喂7~8次,饲料中可加入切碎的青菜。10天后可喂小鸭料加青菜或切碎黑麦草、杂交狼尾草。每个育雏栏(格)应放进自动饮水器1个。

#### 3.2 适当减少饲养密度

1-5日龄育雏栏养雏鹅20只/m<sup>2</sup>,以后每5天减少2~3只。

#### 3.3 适时放牧

雏鹅在育雏栏(格)内饲养10-15天后,便可驱赶到运动场活动;当育雏间内温度符合其生长条件时,便可让其在地面上自由运动。

#### 3.4 加强防疫灭病

根据实际需要,育雏期4周内,可分别进行小鹅瘟(首免),鹅副粘病毒病、高致病性禽流感(H<sub>5</sub>)及小鹅瘟(二免)疫苗接种。

育雏期内,还要加强育雏间粪便、污物的处理和消毒。



# 小柴胡汤与柴芩煎液对脂多糖致热大鼠解热作用的比较

郭 曦<sup>1</sup>, 赵雪敏<sup>2</sup>

(1.扬州市邗江区畜牧兽医站, 江苏 扬州 225002; 2.扬州市邗江区农业委员会, 江苏 扬州 225002)

**摘要:** 柴胡、黄芩是古方小柴胡汤和解少阳的核心药对。为了考察小柴胡汤和柴芩煎液的解热作用, 以不同浓度脂多糖 (Lipopolysaccharides, LPS) (20 μg/kg, 80 μg/kg) 腹腔注射, 建立 SD 大鼠发热模型。将试验大鼠分为正常对照组、LPS 模型组、小柴胡汤组、柴芩煎液组, 每组 6 只。绘制各组平均体温变化 (ΔT) 曲线, 比较各组体温变化。结果显示: 小柴胡汤组和柴芩煎液组大鼠在给药后多个观察点的体温均较模型组明显降低 ( $P < 0.05$ ), 小柴胡汤组和柴芩煎液组的解热作用没有明显差异。这提示: 小柴胡汤的核心对药柴胡、黄芩的煎液在解热方面与全方的作用一致。

**关键词:** 小柴胡汤; 柴芩煎液; 大鼠; LPS; 解热

中图分类号: S853.72

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)04-0031-04

## Comparison of Anti-febrile Effects Between Xiao Chaihu Decoction Versus Chaiqin Decoction to Fevered Rats Induced by Lipopolysaccharides

Guo Xi<sup>1</sup>, Zhao Xuemin<sup>2</sup>

(1. Animal Husbandry and Veterinary Station of Hanjiang of Yangzhou, Yangzhou 225002, China; 2. Agriculture Committee of Hanjiang of Yangzhou, Yangzhou 225002, China)

**Abstract:** Bupleurum root and Scutellaria root are the core paired-components of the "Xiao Chaihu Decoction". To observe the effects of anti-febrile of the "Xiao Chaihu Decoction" and "Chaiqin Decoction", SD rats were modeled to be of fever by Lipopolysaccharides (LPS) intraperitoneally injection at the dose of 20 μg/kg and 80 μg/kg, respectively. The rats were divided into four groups: the normal group, the LPS group, the Xiao Chaihu Decoction group, and the Chaiqin Decoction group, six rats in each group. The curves of the average temperature change in each group were drawn in order to compare the body temperature changes of different group. The results indicated that the anti-febrile effects of the Xiao Chaihu Decoction group and the Chaiqin Decoction group were apparent in multiple timepoints after feeding drug, compared with the LPS group ( $P < 0.05$ ), and there was no significantly different between the both decoctions. The test showed that there were identical effects between the decoctions of Bupleurum and Scutellaria.

**Key words:** "Xiao Chaihu Decoction"; "Chaiqin Decoction"; rat; LPS; anti-febrile

小柴胡汤源自仲景《伤寒论》, 具有和解少阳之功效, 主治往来寒热, 胸胁苦满, 默默不欲饮食, 心烦喜呕, 口苦, 咽干, 目眩等伤寒少阳证<sup>[1]</sup>。临床常用于治疗感冒、疟疾、肝炎、胸膜炎、中耳炎等多种疾病<sup>[2]</sup>, 具有抗炎、解热、免疫调节等多种药理作用<sup>[3]</sup>。柴胡、黄芩是小柴胡汤的核心药对, 柴胡苦平升散, 黄芩降泄, 二者配伍, 为和解少阳的基

本结构。本试验比较了小柴胡汤与柴芩煎液对 LPS 致热大鼠解热作用, 并对其作用特点进行了分析。

### 1 材料与方法

#### 1.1 动物

健康雌性清洁级 SD 大鼠 30 只, 55 日龄, 200~250 g, 购自扬州大学比较医学中心。试验

前适应环境饲养 1 w,每日光照 12 h,自由取食、饮水。

## 1.2 试剂

纯化脂多糖 (Escherichia coli Endotoxin 055B5, L2880, Sigma Co, LPS), 购自北京夏斯生物技术有限公司。用无菌生理盐水稀释, 配成  $20 \mu\text{g/mL}$  的溶液,  $-20^\circ\text{C}$  保存。

## 1.3 药物

中药材七味: 柴胡、黄芩、甘草、生姜、人参、半夏、大枣, 购自扬州红太阳药店。小柴胡汤与柴芩煎液的制备过程如下:

**1.3.1 小柴胡汤** 柴胡 12 g、黄芩 9 g、甘草 6 g、生姜 9 g、人参 9 g、半夏 9 g、大枣 12 g<sup>[4]</sup>, 以纯净水浸泡 40 min, 加 8 倍量的水煎煮, 加热至微沸, 保持 30 min, 过滤; 将药渣加 5 倍量的水进行第二次煎煮, 加热至微沸, 保持 30 min, 过滤。合并 2 次滤液, 滤液浓缩至折合原药材浓度  $1 \text{ g/mL}$ 。

**1.3.2 柴芩煎液** 柴胡 16 g、黄芩 12 g。按上法提取、浓缩。

## 1.4 试验分组

每日于固定时间 9:00 和 17:00, 测量大鼠体温 (肛温) 2 次, 连续 2 d。取 4 次测量的平均值记作基础体温。单次体温超过  $39^\circ\text{C}$  或是 4 次测量中有温差超过  $0.5^\circ\text{C}$  的大鼠剔除。将符合试验条件的大鼠 25 只随机分为 4 组, 每组 6 只, 1 只替补。设正常对照组、模型组 (LPS 组)、小柴胡汤组和柴芩煎液组。

## 1.5 动物处理及观察指标

试验从上午 9:00 开始。

试验 1: 试验前 6 h 禁食不禁水。模型组、小柴胡汤组、柴芩煎液组各组大鼠以  $20 \mu\text{g/kg}$  剂量腹腔注射浓度为  $20 \mu\text{g/mL}$  的 LPS 生理盐水溶液; 正常对照组注射同体积生理盐水。造模后 120 min, 给药组分别灌胃给予小柴胡汤和柴芩煎液, 剂量为  $10 \text{ g/kg}$  体重; 正常对照组与模型组给予同体积生理盐水。注射 LPS 后每隔 30 min 测 1 次体温, 连续监测 300 min。

试验 2: 试验方法和设计同试验 1。不同点是: 模型组、小柴胡汤组、柴芩煎液组各组大鼠以  $80 \mu\text{g/kg}$  剂量腹腔注射浓度为  $20 \mu\text{g/mL}$  的 LPS 生理盐水溶液。注射 LPS 后连续监测体温 480 min。

## 1.6 数据处理

记录体温上升高度  $\Delta T$  (发热时的体温与基础体温的差值), 绘制各组平均  $\Delta T$  变化曲线。各组数据用  $\pm\text{SE}$  表示, 多组数据采用  $q$  检验, 全部数据使用 office2003 处理。

## 2 结果

### 2.1 小柴胡汤、柴芩煎液对 $20 \mu\text{g/kg}$ 剂量 LPS 致热大鼠的解热作用比较

从表 1 可以看出, 与正常对照组相比, 模型组大鼠在注射 LPS ( $20 \mu\text{g/kg}$ ) 30~300 min 中的 10 个观察点的体温明显升高, 差异显著 ( $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 小柴胡汤组大鼠在注射 LPS 并给药后 180~300 min 中的 5 个观察点的体温明显下降 ( $P < 0.05$ ); 柴芩煎液组大鼠在注射 LPS 并给药后 180~300 min 中的 5 个观察点的体温也明显下降 ( $P < 0.05$ ); 小柴胡汤组和柴芩煎液组之间无明显差异 ( $P > 0.05$ )。

从图 1 可以看出, 在注射 LPS 60 min 后各组大鼠体温迅速上升; 给药 30 min 后, 小柴胡汤组和柴芩煎液组的体温开始下降; 未给药的模型组体温仍持续上升。模型组大鼠在注射 LPS 后  $\Delta T$  曲线持续上升, 60 min 后较正常对照组明显上移, 在 150 min 和 270 min 处有 2 个发热峰, 第二峰达最高值, 模型组体温上升时间持续到 270 min。与模型组相比, 小柴胡汤组和柴芩煎液组  $\Delta T$  曲线均明显下移。由于是 120 min 后给小柴胡汤和柴芩煎液, 小柴胡汤组和柴芩煎液组的  $\Delta T$  曲线中的第一个发热峰均正常, 第二个发热峰均完全消失。

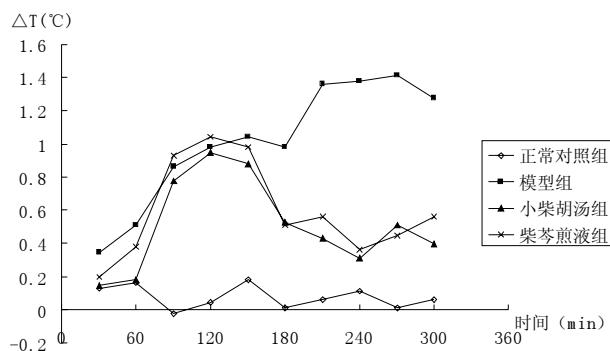
### 2.2 小柴胡汤、柴芩煎液对 $80 \mu\text{g/kg}$ 剂量 LPS 致热大鼠的解热作用比较

从表 2 可以看出, 与正常对照组相比, 模型组大鼠在注射 LPS ( $80 \mu\text{g/kg}$ ) 60~480 min 中的 15 个观察点的体温明显升高, 差异显著 ( $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 小柴胡汤组大鼠在注射 LPS 并给药后 210~480 min 中的 10 个观察点体温明显下降 ( $P < 0.05$ ); 柴芩煎液组大鼠在注射 LPS 并给药后 180~480 min 中的 11 个观察点体温明显下降 ( $P < 0.05$ ); 小柴胡汤组和柴芩煎液组之间无明显差异 ( $P > 0.05$ )。

从图 2 中可以看出, 在注射 LPS 60 min 后各组大鼠体温迅速上升; 给药 30 min 后, 小柴胡汤组和柴芩煎液组的体温开始下降; 未给药组的体温仍持续上升。模型组大鼠在注射 LPS 后  $\Delta T$  曲线持续上升, 60 min 后较正常对照组明显上移, 在 150

表 1 小柴胡汤与柴芩煎液对大鼠腹腔注射 20 $\mu$ g/kg LPS 后不同时间点  $\Delta T$  的影响单位:  $^{\circ}\text{C} \times 0.1$ 

时间	正常对照组	模型组	小柴胡汤组	柴芩煎液组
30min	1.3 $\pm$ 0.4	3.5 $\pm$ 0.4 <sup>1)</sup>	1.5 $\pm$ 0.3	2.0 $\pm$ 0.4
60min	1.6 $\pm$ 0.4	5.1 $\pm$ 0.4*	8.0 $\pm$ 0.4	3.8 $\pm$ 0.3
90min	-0.2 $\pm$ 0.4	8.6 $\pm$ 0.5*	7.8 $\pm$ 0.3	9.3 $\pm$ 0.3
120min	0.4 $\pm$ 0.4	9.8 $\pm$ 0.5*	9.5 $\pm$ 0.3	10.4 $\pm$ 0.4
150min	1.8 $\pm$ 0.3	10.5 $\pm$ 0.3*	8.8 $\pm$ 0.4	9.8 $\pm$ 0.4
180min	0.1 $\pm$ 0.6	9.8 $\pm$ 0.5*	5.3 $\pm$ 0.2 <sup>2)</sup>	5.1 $\pm$ 0.3 <sup>#</sup>
210min	0.6 $\pm$ 0.7	13.6 $\pm$ 0.4*	4.3 $\pm$ 0.3 <sup>#</sup>	5.6 $\pm$ 0.2 <sup>#</sup>
240min	1.1 $\pm$ 0.5	13.8 $\pm$ 0.4*	3.1 $\pm$ 0.2 <sup>#</sup>	3.6 $\pm$ 0.3 <sup>#</sup>
270min	0.1 $\pm$ 0.5	14.1 $\pm$ 0.4*	5.1 $\pm$ 0.2 <sup>#</sup>	4.5 $\pm$ 0.3 <sup>#</sup>
300min	0.6 $\pm$ 0.4	12.8 $\pm$ 0.4*	4.0 $\pm$ 0.3 <sup>#</sup>	5.6 $\pm$ 0.3 <sup>#</sup>

1): 与正常对照组比较 ( $P < 0.05$ ); 2): 与模型组比较 ( $P < 0.05$ )。图 1 小柴胡汤和柴芩煎液作用于 LPS (20 $\mu$ g/kg) 大鼠发热模型的  $\Delta T$ -时间曲线

min、240 min 和 330 min 处有 3 个发热峰。模型组体温上升时间持续到 330 min。与模型组相比,小柴胡汤组和柴芩煎液组  $\Delta T$  曲线均明显下移。由于是 120 min 后给小柴胡汤和柴芩煎液,小柴胡汤组和柴芩煎液组的  $\Delta T$  曲线中的第一个发热峰均正常。柴芩煎液组的  $\Delta T$  曲线在 240 min 处有一个很不明显的发热峰,认为第二个发热峰消失。柴芩煎液组的  $\Delta T$  曲线在 330 min 处有一个发热峰,但相对于模型组,这个发热峰的峰值下降较多。小柴胡汤组的  $\Delta T$  曲线中第二个发热峰完全消失,其第三个发热峰出现在 390 min 处,但峰值很小。还可以发现小柴胡汤组  $\Delta T$  曲线比柴芩煎液组  $\Delta T$  曲线下降了一点,但不是很明显。

综合表 1、2 和图 1、2,可以发现,小柴胡汤组和柴芩煎液组大鼠在注射不同剂量 LPS (20  $\mu$ g/kg, 80  $\mu$ g/kg) 120 min 后给药, 给药 30

min 后, 两组大鼠的体温在多个观察点均较模型组有明显降低, 差异显著 ( $P < 0.05$ ), 但两组之间的解热作用没有明显差异。同时还可以发现 LPS 按 20  $\mu$ g/kg 剂量腹腔注射, 模型组大鼠体温上升时间持续到 270 min, 且引起大鼠发热曲线为两相; LPS 按 80  $\mu$ g/kg 剂量腹腔注射, 模型组大鼠体温上升持续时间较长, 持续到 330 min, 且引起大鼠发热曲线为三相。

### 3 讨论

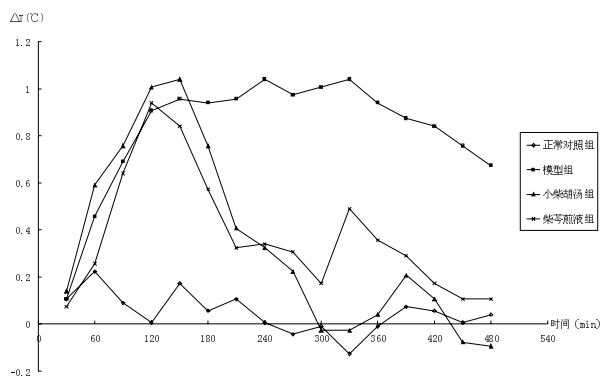
#### 3.1 不同剂量 LPS 诱导发热模型的差异

LPS 是革兰氏阴性细菌细胞壁中的一种水溶性活性成分, 能激活受体单核巨噬细胞, 诱导其释放出内生致热源, 引起受体发热。LPS 诱导的大鼠发热模型常用来试验药物的解热作用<sup>[5]</sup>。研究表明, 注射不同剂量的 LPS 能引起动物不同程度的体温升高<sup>[6]</sup>, 大鼠经腹腔或静脉注射 10~100  $\mu$ g/kg 剂量的 LPS 可引起双相或三相热, 更低的剂量则表现为单相热<sup>[7]</sup>。

用于诱导发热模型所用的 LPS 剂量范围较大, 从 10~1000  $\mu$ g/kg 不等, 常用的三种剂量为 10、20、100  $\mu$ g/kg<sup>[8]</sup>。不同的试验需要根据试验要求和动物特点选择适宜的剂量。本试验考察了 20  $\mu$ g/kg 和 80  $\mu$ g/kg 这两种剂量所致发热模型的特点。试验中观察到大鼠在腹腔注射 20  $\mu$ g/kg 剂量的 LPS 后 180~300 min 内体温显著升高, 270 min 达到峰值 40.01  $^{\circ}\text{C}$ , 最高增幅为 1.41  $^{\circ}\text{C}$ 。按 80  $\mu$ g/kg 剂量腹腔注射, 大鼠在注射后 180~480 min, 观察点体温显著增高, 240 min 和

表 2 小柴胡汤与柴芩煎液对大鼠腹腔注射 80 $\mu$ g/kg LPS 后不同时间点  $\Delta T$  的影响单位:  $^{\circ}\text{C} \times 0.1$ 

时间	正常对照组	模型组	小柴胡汤组	柴芩煎液组
30min	1.1 $\pm$ 0.4	1.1 $\pm$ 0.3	1.4 $\pm$ 0.4	0.7 $\pm$ 0.2
60min	2.2 $\pm$ 0.2	4.6 $\pm$ 0.2 <sup>1)</sup>	5.9 $\pm$ 0.3	2.6 $\pm$ 0.2
90min	0.9 $\pm$ 0.3	6.9 $\pm$ 0.2*	7.6 $\pm$ 0.2	6.4 $\pm$ 0.3
120min	0.06 $\pm$ 0.3	9.1 $\pm$ 0.2*	10.1 $\pm$ 0.4	9.4 $\pm$ 0.2
150min	1.7 $\pm$ 0.3	9.6 $\pm$ 0.2*	10.4 $\pm$ 0.3	8.4 $\pm$ 0.4
180min	0.6 $\pm$ 0.2	9.4 $\pm$ 0.4*	7.6 $\pm$ 0.3	5.7 $\pm$ 0.4 <sup>‡</sup>
210min	1.0 $\pm$ 0.3	9.6 $\pm$ 0.3*	4.1 $\pm$ 0.2 <sup>2)</sup>	3.2 $\pm$ 0.2 <sup>‡</sup>
240min	0.06 $\pm$ 0.3	10.4 $\pm$ 0.5*	3.2 $\pm$ 0.2 <sup>‡</sup>	3.4 $\pm$ 0.2 <sup>‡</sup>
270min	-0.4 $\pm$ 0.2	9.7 $\pm$ 0.5*	2.2 $\pm$ 0.3 <sup>‡</sup>	3.1 $\pm$ 0.2 <sup>‡</sup>
300min	-0.1 $\pm$ 0.4	10.1 $\pm$ 0.6*	-0.3 $\pm$ 0.3 <sup>‡</sup>	1.7 $\pm$ 0.2 <sup>‡</sup>
330min	-1.3 $\pm$ 0.2	10.4 $\pm$ 0.3*	-0.3 $\pm$ 1.0 <sup>‡</sup>	4.9 $\pm$ 0.9 <sup>‡</sup>
360min	-0.1 $\pm$ 0.3	9.4 $\pm$ 0.5*	0.4 $\pm$ 0.5 <sup>‡</sup>	3.6 $\pm$ 0.3 <sup>‡</sup>
390min	0.7 $\pm$ 0.2	8.7 $\pm$ 0.6*	2.1 $\pm$ 0.4 <sup>‡</sup>	2.9 $\pm$ 0.5 <sup>‡</sup>
420min	0.6 $\pm$ 0.3	8.4 $\pm$ 0.6*	1.1 $\pm$ 0.5 <sup>‡</sup>	1.7 $\pm$ 0.4 <sup>‡</sup>
450min	0.06 $\pm$ 0.3	7.6 $\pm$ 0.3*	-0.8 $\pm$ 0.5 <sup>‡</sup>	1.1 $\pm$ 0.5 <sup>‡</sup>
480min	0.4 $\pm$ 0.4	6.7 $\pm$ 0.3*	-0.9 $\pm$ 0.2 <sup>‡</sup>	1.1 $\pm$ 0.4 <sup>‡</sup>

1): 与正常对照组比较( $P < 0.05$ ); 2): 与模型组比较( $P < 0.05$ )。图 2 小柴胡汤和柴芩煎液作用于 LPS (80 $\mu$ g/kg) 大鼠发热模型的  $\Delta T$ -时间曲线

330 min 达到峰值 39.64  $^{\circ}\text{C}$ , 增高 1.04  $^{\circ}\text{C}$ 。本试验选择的两种剂量的 LPS 均能诱导出大鼠发热, 表现为多相热, 但发热开始时间、峰值出现时间点以及发热的持续时间都有所不同。试验中 20  $\mu$ g/kg 剂量的 LPS 引发大鼠出现双相热, 发热曲线中第二峰较高; 80  $\mu$ g/kg 剂量的 LPS 引发大鼠出现三相热, 发热曲线中三个峰的峰值相差无几, 虽然其最高峰值比 20  $\mu$ g/kg LPS 引起大鼠发热曲线的峰值低一点, 但总体发热水平较高。

### 3.2 小柴胡汤和柴芩煎液对 LPS 发热模型解热作用的比较

试验中, 20  $\mu$ g/kg LPS 诱导的发热模型在造模后 120 min 给予小柴胡汤和柴芩煎液灌胃, 观察到两给药组 30 min 后开始显著退热, 两给药组间无显著差异; 80  $\mu$ g/kg LPS 诱导的发热模型在造模后 120 min 给予小柴胡汤和柴芩煎液灌胃, 观察到两给药组在给药 30 min 后,  $\Delta T$  曲线相对于模型组明显下移, 模型组所表现出来的三相热的后二相发热峰在两给药组中消失, 显示出明显的退热效果。表明小柴胡汤和柴芩煎液对 LPS 诱导的发热具有明显的解热作用, 两者之间差异不明显。试验表明小柴胡汤确有退热效用, 其中核心药对柴胡、黄芩合煎就有明显的解热效用, 作用与全方一致。试验中也观察到小柴胡汤和柴芩煎液对 20  $\mu$ g/kg 剂量 LPS 所致热模型解热效应差异不明显, 而对 80  $\mu$ g/kg LPS 剂量所致热模型来看, 小柴胡汤的解热效应比柴芩煎液的解热效应要略微好一点。可以看出半夏、生姜、人参、甘草、大枣这些佐药还是有一定的作用。

(下转第 52 页)

# 地衣芽孢杆菌 PCR 检测方法的建立与初步应用

于新友<sup>1</sup>, 李天芝<sup>1</sup>, 沈志强<sup>1,2\*</sup>

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

**摘要:** 参照 GenBank 中登录的地衣芽孢杆菌促旋酶 B 亚单位 (gyrB) 基因, 设计 1 对引物, 扩增片段大小为 507 bp 的基因片段。该方法对地衣芽孢杆菌检测的灵敏性为 1 pg 总 DNA 量, 对地衣芽孢杆菌 DNA 的扩增结果为阳性, 对照菌株扩增结果均为阴性, 成功地建立了地衣芽孢杆菌 PCR 检测方法。该方法具有快速、灵敏度高、特异性强等优点, 为地衣芽孢杆菌的分离及鉴定奠定了良好的基础。

**关键词:** 地衣芽孢杆菌; gyrB 基因; PCR; 方法; 建立

中图分类号: S852.61\*6

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)04-0035-03

## PCR Assay for Detection of *Bacillus Licheniformis*

Yu Xinyou<sup>1</sup>, Li Tianzhi<sup>1</sup>, Shen Zhiqiang<sup>1,2\*</sup>

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

**Abstract:** PCR assay for detection of *Bacillus licheniformis* was established using a pair of primers based on the gyrB gene of *Bacillus licheniformis*. The amplified product was 507 bp, and the specificity, sensitivity were studied. This method specifically amplified a fragment from *Bacillus licheniformis*, but not from control bacteria, with a detection limit of 1 pg DNA of *Bacillus licheniformis*. Therefore the established PCR technique provided a sensitive, specific, fast and reliable method for diagnosis and epizootic study for the *Bacillus licheniformis*.

**Key words:** *Bacillus licheniformis*; gyrB gene; PCR; method; establish

广泛存在于自然界中的地衣芽孢杆菌是一种益生菌, 俗称整肠生, 是一种革兰氏染色阳性菌, 是土壤和植物微生态优势种群。它可产生脂肽类、多烯类、磷脂类、肽类等多种抗生素, 能抑制多种动物病原菌的生长, 还具有很强的蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活性<sup>[1]</sup>。近年来, 国内外对于地衣芽孢杆菌在饲料加工方面应用的报道日益增多。饲料中添加地衣芽孢杆菌, 能明显抑制仔猪肠内葡萄球菌和大肠杆菌的生长<sup>[2]</sup>; 将地衣芽孢杆菌添加到蛋鸡饲料中, 能提高蛋鸡免疫性能<sup>[3]</sup>; 肉鸡饲料中添加地衣芽孢杆菌能促进其肠道的生长发育, 抑制有害细菌在盲肠的生长<sup>[4]</sup>; 地衣芽孢杆菌添加到奶牛饲料中, 能显著提高奶牛产奶性能<sup>[5]</sup>。

细菌中的单拷贝 gyrB 基因, 是编码促旋酶 B

亚单位 (gyrase subunit B, gyrB) 的基因。gyrB 基因非常保守, 替换 0.7%~0.8% 的碱基约需 100 万年, 因此该基因可作为细菌鉴定的一种靶基因。这一点已得到国内外专家学者的认可<sup>[6,7]</sup>。目前, 已广泛应用于多种细菌种属的快速鉴定, 如巴氏肺炎球菌、芽孢杆菌属、苯酚分解菌和蛭弧菌属<sup>[8]</sup>。笔者参照地衣芽孢杆菌 gyrB 基因序列, 设计 1 对引物, 对 PCR 反应条件进行优化, 建立了地衣芽孢杆菌的 PCR 快速检测方法, 可用于地衣芽孢杆菌的鉴定。

### 1 材料与方法

#### 1.1 菌株、试剂和试剂盒

地衣芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、弗氏弧菌均由山东省滨州畜牧兽医研究院预防兽医学与动物生物技

收稿日期: 2015-01-26

\*: 通讯作者

基金项目: 山东省现代农业产业技术体系生猪产业创新团队项目 (SDAIT-06-011-14)

术重点开放实验室保存。马丁肉汤培养基购自北京中海生物科技有限公司, Taq DNA 聚合酶购自大连宝生物工程有限公司, 细菌基因组 DNA 快速提取试剂盒从北京百泰克生物技术有限公司购买。

## 1.2 PCR 用引物设计、合成

参照 Genbank 登录的地衣芽孢杆菌 gyrB 基因序列(DQ309295), 用 Primer primer5.0 软件分析后, 设计 1 对引物:

gyrB-F: 5'-GCCGGCTTCATGGGTCCG-3',

gyrB-R: 5'-GCGTCGGTGCTTCTGTTG-3',

引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

## 1.3 PCR 模板制备

将地衣芽孢杆菌接种于马丁肉汤, 37 °C 培养 18~20 h, 离心, 沉淀菌体用磷酸盐缓冲液离心洗涤 2 次后, 提取其基因组 DNA。按照百泰克细菌基因组 DNA 提取试剂盒说明书提供的方法进行操作, 同时提取其它几种对照菌的 DNA 作为模板。

## 1.4 PCR 反应体系和条件的优化

PCR 反应体系: 10 × 缓冲液 2.5 μL, dNTP 2 μL, 引物上、下游各 1 μL, DNA 模板 1 μL, Taq DNA 聚合酶 0.25 μL, ddH<sub>2</sub>O 补至 25 μL。然后对退火温度进行优化(48~58 °C 梯度温度, 每 2 °C 为 1 个梯度), 最后确定反应程序为: 95 °C 5 min; 94 °C 30s, 54 °C 30s, 72 °C 30s, 从 94 °C 开始 30 个循环。最后 72 °C 延伸 10min。

## 1.5 PCR 产物电泳检测和测序分析

取 5 μL PCR 产物, 用 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测, 回收目的基因, 连接 pMD18-T 载体, 转化感受态 DH5 α。提取经 PCR 鉴定阳性的细菌质粒, 送生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序鉴定。将测出的序列与 GenBank 中参照的地衣芽孢杆菌 gyrB 基因序列进行相似性比较。

## 1.6 特异性检测

分别提取地衣芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、弗氏弧菌等 6 种细菌的基因组 DNA 作为模板, 用已建立的方法进行 PCR 扩增。

## 1.7 敏感性检测

用核酸浓度测定仪测定制备的地衣芽孢杆菌基因组 DNA 的浓度后, 10 倍系列稀释 DNA, 使其分别相当于含有 10ng、1ng、100pg、10pg、1pg、0.1pg DNA 的量, 分别作为模板, 做 PCR 扩增, 检验检测方法的敏感性。

## 1.8 重复性检验

用建立的 PCR 检测方法, 对地衣芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、弗氏弧菌的 DNA, 重复检测 3 次, 以验证本方法的重复性和稳定性。

## 1.9 检测方法的应用

取从自然环境中分离的 30 株疑似地衣芽孢杆菌, 利用建立的 PCR 方法进行检测, 对扩增产物全部进行测序鉴定, 并利用生物学软件 BLAST 进行序列分析。

## 2 结果

### 2.1 PCR 产物的检测和序列鉴定

用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳方法检测 PCR 扩增产物, 结果在 507 bp 出现一条特异性条带(图 1)。将 PCR 产物连接 pMD18-T 载体后, 进行测序, 测序结果见表 1。

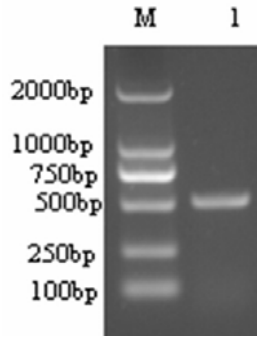
将该序列与 GenBank 登录的地衣芽孢杆菌(登录号: DQ309295)的序列进行比对分析, 结果显示两序列的相似性为 100%。

### 2.2 特异性检测

PCR 扩增结果显示, 只有地衣芽孢杆菌出现了 507 bp 的扩增条带(预期大小为 507 bp), 对照菌的 PCR 扩增均无条带。因此, 该引物对地衣芽孢杆菌具有较强的特异性(图 2)。

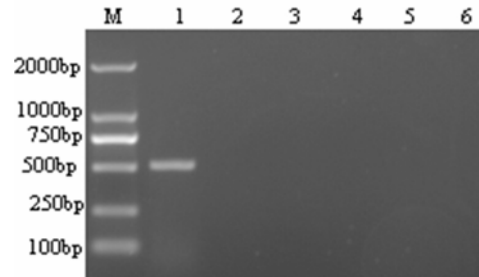
表 1 扩增产物测序结果

```
CGGCTTCATGGGTTCGCTTCATACGTATGAATGTTGTTAGCAAATGAATAAATGTTGC
TTGTATAGCTGTCAATTGTATTGAAGAGCCACCTCGACTGTAATGCCGCTTTGGATCCTT
CAATATAGACCGGCTCTTCATGAATAACTTCCCGGAACGGTTCAAGTGTCAACATAG
CTTTTAATACCGCTTCATAGCAGTATTCATTCTTGCGTTCCTTTCTCTCGCTTGCTT
CGATCGTGATTTTGACGCCTTTTGTC AAGAAAGCGAGTTCGCGGACACGAGTGGCGAG
CGTATCATAGTCGTATTCAGTCGTTTCCGTAATATTTCCGGATCAGGCTTGAAGTGTGT
GGTCGTTCCCGTCACTTCCGTATCTCCAATGACTTTCAAATCAGCTTTCGGAACGCCAC
GTTCAAATTCCTGATAATGGATTTTCCATCTCTGTAAACCGTTACATCCAGCTCGGTTG
AAAGGGCGTTAAACAACAGAAGCACCGACGC
```



M:DL2000 MarKer,1:地衣芽孢杆菌 PCR 扩增

图 1 地衣芽孢杆菌 PCR 扩增结果

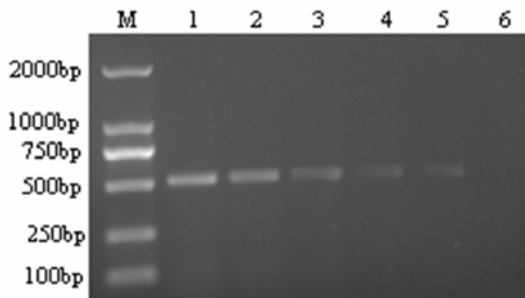


M:DL2000 MarKer,1:地衣芽孢杆菌,2:枯草芽孢杆菌,3:解淀粉芽孢杆菌,4:金黄色葡萄球菌,5:大肠杆菌,6:弗氏弧菌

图 2 特异性试验

### 2.3 敏感性检测

分别取 5  $\mu$ L PCR 扩增产物,用 1.2%琼脂糖凝胶电泳检测。由检测结果可知该 PCR 方法最低可检测 1  $\mu$ g 地衣芽孢杆菌的基因组 DNA 的量(图 3)。



M:DL2000 MarKer,1:10ng DNA,2:1ng DNA,3:100pg DNA,4:10pg DNA,5:1pg DNA,6:0.1pg DNA

图 3 敏感性试验

### 2.4 重复性检验

3 次重复性的试验结果均相同,无差别。表明建立的检测方法稳定,具有很好的可重复性。

### 2.5 检测方法的应用

用建立的 PCR 检测方法检测出 5 株分离菌为地衣芽孢杆菌。

## 3 讨论

传统的地衣芽孢杆菌实验室检测方法(病原分离与生化鉴定等)操作复杂,耗时长;多位点可变分析法<sup>[9]</sup>、real-time PCR<sup>[10]</sup>等方法相对普通 PCR 有很高的要求,需要特殊的仪器设备,不能满足基层工作者对地衣芽孢杆菌的快速检测鉴定的需求。

本实验参照 Genbank 中登录的地衣芽孢杆菌 gyrB 基因,设计 1 对引物,建立了地衣芽孢杆菌 PCR 检测方法。该方法只对地衣芽孢杆菌的核酸有

特异性扩增条带,对枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、弗氏弧菌的扩增结果均为阴性,特异性强。其检测灵敏度达到 1  $\mu$ g DNA,敏感性高。该方法实用性强,能快速地复杂环境分离的多种细菌中鉴定出地衣芽孢杆菌。

### 参考文献:

- [1] 蒙显英,黎起秦,冯家勋,等.芽孢杆菌产生的抗菌物质的研究进展[J].中国植保导刊,2004(12):13-15.
- [2] 李福彬,陈宝江,梁陈冲,等.地衣芽孢杆菌对蛋鸡生产性能、蛋品质及血清相关指标的影响[J].中国饲料,2010(13):5-8.
- [3] 戴国俊,段忠进,谢恺舟,等.不同剂量地衣芽孢杆菌对断奶仔猪腹泻的影响[J].上海畜牧兽医通讯,2007(3):40-41.
- [4] 陈家祥,张仁义,王全溪,等.地衣芽孢杆菌对麻羽肉鸡肠道组织结构及盲肠微生物区系的影响[J].动物营养学报,2010,22(3):757-761.
- [5] 周振峰.地衣芽孢杆菌对奶牛泌乳性能的影响[J].中国奶牛,2006(5):13-14.
- [6] Fukushima M,Kakinuma K,Hayashi H, et al.Detection and identification of Mycobacterium species isolates by DNA microarray[J].Journal of Clinical Microbiology, 2003, 41(6):2605-2615.
- [7] 李献梅,王小芬,杨红岩,等.促旋酶 B 亚单位基因 gyrB 在鉴别细菌近缘种中的应用[J].微生物学报,2008,48(5):701-706.
- [8] 侯晓丽,陈智.分类及鉴别细菌的新靶标-gyrB 基因[J].国外医学流行病学传染病学分册,2005,32(2):38-41.
- [9] Rajat D,Kanika C,Brent Seale R, et al.Genotyping of dairy Bacillus licheniformis isolates by high resolution melt analysis of multiple variable number tandem repeat loci [J].Food Microbiology, 2013, 34: 344-351.
- [10] De Clerck E,Vanmol K,Jannes G, et al.Design of a 5, exonuclease-based real-time PCR assay for simultaneous detection of Bacillus licheniformis,members of the 'B.cereus group' and B.fumarioli in gelatine [J].Applied Microbiology, 2004, 39(1):109-115.

# 小鹅瘟卵黄抗体的理化特性研究

藏玉婷, 王彬, 宋扬, 孙德君, 张杨, 丁国杰\*  
(哈药集团生物疫苗有限公司研发中心, 哈尔滨 150069)

**摘要:** 对实验室试制的3批小鹅瘟卵黄抗体(IgY)进行了理化性质测定。结果表明,电泳出现2条电泳带(67 kD和22 kD左右),证明提取的IgY纯度较高;IgY在2.0 mg/mL的胃蛋白酶以及2.5 mg/mL的胰蛋白酶环境下,37°C作用3h,其抗体效价均无明显下降;IgY在60°C作用30min,其抗体效价也无明显下降;在pH 4~11时稳定;反复冻融5次,抗体效价稳定。该研究为小鹅瘟卵黄抗体的使用奠定基础。

**关键词:** 小鹅瘟; 卵黄抗体; 理化特性

中图分类号: S858.33

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2015)04-0038-04

## Physical-chemic Property of Yolk Antibody Against Gosling Plague

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

**Abstract:** 3 batches of the gosling plague IgY were produced in laboratory with the titer of AGAR diffusion test 1:16. Physical-chemic Property of the gosling plague IgY was identified. The result showed that there were mainly two electrophoresis banding on electrophoresis diagram, about 67kD and 22kD, proving that IgY was high purity. Under the environment of pepsin 2.0 mg/mL and trypsin 2.0 mg/mL, 37°C for 3 hours, the antibody titer of the gosling plague IgY was no significant decline. The IgY was stable after some time exposed in pepsin and trypsin and was tolerant to high temperature up to 60°C. The IgY was also stable in the pH4~11 and Repeated freezing and thawing 5 times. These results suggest that provide a solid experimental basis for the preparation of antibody against GPV infection.

**Key words:** Gosling plague, Yolk antibodies, Physical-chemic property

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<sup>[1]</sup>。该病主要侵害出壳后4~20日龄的雏鹅,也感染雏鸭。该病传播速度快,发病率和死亡率可高达90%~100%<sup>[2]</sup>。早期预防对控制本病十分重要。通过抗原免疫产蛋鸡获得的小鹅瘟特异性卵黄抗体(IgY),用于预防和治疗小鹅瘟取得了很好的效果。同时,IgY具有不激活补体、不结合类风湿因子等优点,可避免补体系统的干扰及检测过程中假阳性的出现。因此使用IgY做紧急预防接种有较大的实践意义<sup>[3-4]</sup>。有研究显示,IgY能通过经口被动免疫途径,有效地发挥其免疫学活性或生物学活性<sup>[5]</sup>。本研究对小鹅瘟IgY的理化特性、

酶解特性及其抗胃酸能力进行了研究,旨在为制备小鹅瘟免疫生物制剂提供一定的理论依据。

### 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:201401、201402、201403,共计3批,瓶装量100 mL。2~8 °C保存,有效期为18个月。琼扩效价均≥1:16。

**1.1.2 检验抗原及血清** 小鹅瘟琼扩抗原,批号为GPV-KY201401;小鹅瘟阳性血清,批号为GPV-YXQ-201401;小鹅瘟阴性血清,批号为GPV-XQ-201401。均由哈药集团生物疫苗有限公司制备、鉴定、保管和供应。

收稿日期:2015-05-04

\*:通讯作者



**1.1.3 主要试剂** 胃蛋白酶、胰蛋白酶购于美国 Sigma 公司; 蛋白 Marker 购自大连宝生物有限公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 小鹅瘟 IgY 效价测定** 以琼脂扩散法<sup>[6]</sup>进行。

**1.2.2 蛋白含量测定** 以考马斯亮蓝染色法<sup>[7]</sup>进行。

**1.2.3 小鹅瘟 IgY 纯度鉴定** 3 批小鹅瘟 IgY 采用 SDS-PAGE 电泳法<sup>[8]</sup>测定。分离胶浓度 12%, 浓缩胶浓度 5%, 电压 120V, 考马斯亮蓝 R-250 染色。

**1.2.4 温度对小鹅瘟 IgY 活性的影响** 取 3 批小鹅瘟 IgY 分别置于 25、37、45、50、55、60、65、70、75、80℃ 的水浴锅中温浴 30 min, 立即置冰浴中冷却。3 批小鹅瘟 IgY 各留 1 瓶置 4℃ 冰箱内, 作为对照。温浴后, 观察 IgY 状态, 测定每瓶小鹅瘟 IgY 的琼扩效价。

**1.2.5 酸碱稳定性试验** 取 3 批小鹅瘟 IgY 各分装 6 瓶, 3 mL/瓶, 分别用 0.1mol/L HCl 和 0.1mol/L NaOH 溶液, 将其 pH 调为 3、4、7、11 和 12, 作用 2h 后, 各瓶均调至 pH 7.0 左右; 1 瓶不经酸碱作用的 IgY 作为对照。测定每组小鹅瘟 IgY 的琼扩效价。

**1.2.6 胃蛋白酶对小鹅瘟 IgY 活性的影响** 取 3 批小鹅瘟 IgY, 调 pH4.0, 加入 0.3 mL 浓度为 20 mg/L 的胃蛋白酶溶液, 置 37℃ 水浴 6、8、10 h, 再用 0.25mol/L pH8.0 Tris-HCl 缓冲液, 调 pH 至 7.0; 对照组不加酶处理。测定每组小鹅瘟 IgY 琼扩效价。

**1.2.7 胰蛋白酶对小鹅瘟 IgY 活性的影响** 取 3 批小鹅瘟 IgY, 加入胰蛋白酶(活力 1:2500), 使得胰蛋白酶的终浓度分别为 2.5 mg/mL 和 5.0 mg/mL, 震荡混合均匀, 于 37℃ 放置 1~5 h 后, 然后加入 1/10 体积的犊牛血清终止酶作用, 再用 2 mol/L 的 HCl 将 pH 调至 7.0; 对照组不加酶处理。测定各组小鹅瘟 IgY 琼扩效价。

**1.2.8 冻融试验** 取 3 批小鹅瘟 IgY, 置 -20℃ 冰箱内分别作 1~5 次冻融; 1 瓶置 4℃ 作对照。测定各组小鹅瘟 IgY 琼扩效价。

## 2 结果

### 2.1 小鹅瘟 IgY 效价和蛋白含量测定结果

取 3 批小鹅瘟 IgY, 并将原液 2 倍稀释, 测定琼扩效价及其蛋白含量。结果见表 1。

表 1 IgY 效价和蛋白含量测定结果

批号	样品	效价	蛋白含量(mg/mL)
201401	原倍	1:16	7.69
	2 倍稀释	1:8	3.12
201402	原倍	1:16	6.52
	2 倍稀释	1:8	2.69
201403	原倍	1:16	7.64
	2 倍稀释	1:8	3.49

### 2.2 小鹅瘟 IgY 纯度测定结果

取 3 批小鹅瘟 IgY 作 SDS-PAGE 电泳分析, 结果从电泳图上可看到在 67kD 和 22kD 呈现清晰电泳条带, 分别为鸡 IgY 的重链和轻链。表明提取的 IgY 纯度很高。见图 1。

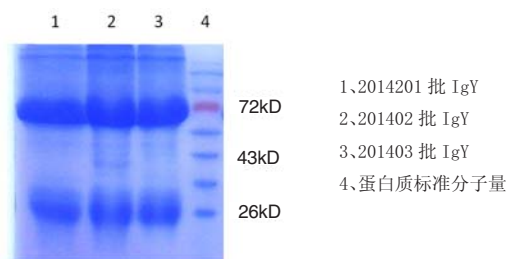


图 1 小鹅瘟 IgY 的 SDS-PAGE

### 2.3 温度对小鹅瘟 IgY 活性的影响结果

3 批小鹅瘟 IgY 在 25~60℃ 时, 随着温度升高, IgY 抗体效价并没有下降, 60℃ 作用 30 min 后抗体效价仍为 1:16。显示小鹅瘟 IgY 具有较好的热稳定性。而在 65℃ 作用 30 min 后, 效价下降至 1:8, 75℃ 作用 30 min 后, 抗体活性基本丧失。详见表 2。

### 2.4 耐酸碱试验结果

小鹅瘟 IgY 在 pH 4~11 时稳定; pH 3 时活性丧失, 未检出琼扩效价; pH 12 时活性降低。详细结果见表 3。

### 2.5 胃蛋白酶对小鹅瘟 IgY 活性的影响结果

小鹅瘟 IgY 经胃蛋白酶作用 6 h 后琼扩效价无变化; 8 h 后效价开始下降, 10 h 时效价下降明显。表明 IgY 对胃蛋白酶具有一定抵抗力。详细结果见表 4。

### 2.6 胰蛋白酶对小鹅瘟 IgY 活性的影响结果

胰蛋白酶在最适 pH 8.0 时, 作用不同时间后, 用琼脂扩散试验测定小鹅瘟 IgY 抗体效价。结

表2 温度对 IgY 活性的影响结果

批号	对照	25℃	37℃	45℃	50℃	55℃	60℃	65℃	70℃	75℃	80℃
201401	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:8	1:2	0	0
201402	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:8	1:2	0	0
201403	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:8	1:4	0	0

表3 耐酸碱试验结果

批号	对照	pH 值			
		3	4	11	12
201401	1:16	0	1:16	1:16	1:4
201402	1:16	0	1:16	1:16	1:2
201403	1:16	0	1:16	1:16	1:4

表4 胃蛋白酶对小鹅瘟 IgY 活性的影响结果

批号	对照	作用时间		
		6 h	8 h	10 h
201401	1:16	1:16	1:8	1:4
201402	1:16	1:16	1:8	1:4
201403	1:16	1:16	1:8	1:4

果表明,小鹅瘟 IgY 在 pH 8.0 时,胰蛋白酶浓度为 2.5 mg/mL 的环境下,37 ℃作用 3 h 后琼扩效价无变化;作用 4 h 后效价开始下降,5 h 之后效价下降明显。胰蛋白酶浓度为 5.0 mg/mL 的环境下,37 ℃作用 1 h 后琼扩效价无变化;作用 2 h 后效价开始下降,4 h 之后抗体基本失活。见表 5。

## 2.7 冻融试验结果

3 批小鹅瘟 IgY 经 1~5 次反复冻融后,活性未丧失,琼扩效价未降低。详细结果见表 6。

表5 胰蛋白酶对小鹅瘟 IgY 活性的影响结果

批号	对照	浓度 (mg/mL)	作用时间				
			1	2	3	4	5
201401	1:16	2.5	1:16	1:16	1:16	1:8	1:4
		5.0	1:16	1:8	1:4	0	0
201402	1:16	2.5	1:16	1:16	1:16	1:8	1:2
		5.0	1:16	1:8	1:2	0	0
201403	1:16	2.5	1:16	1:16	1:16	1:8	1:2
		5.0	1:16	1:8	1:2	0	0

表6 IgY 冻融试验结果

批号	对照	冻融次数				
		1	2	3	4	5
201401	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16
201402	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16
201403	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16

## 3 讨论

### 3.1 使用考马斯亮蓝法测定 IgY 的蛋白含量,蛋

白回收率很高,试验结果与其他试验报道<sup>[9]</sup>相一致。至于 IgY 的效价与蛋白量的关系,试验中进行了初步整理和统计,一般蛋白含量 $\geq 5$  mg/mL 时效价为 1:16,但并不是蛋白量愈高,抗体效价就愈高。对于他们之间的相关性,尚需进一步试验。

**3.2** IgY 的分子量约为 180 kD,在电泳图上于 67 kD 和 22 kD 左右呈现 2 条带,分别是鸡 IgY 的重链和轻链条带。结果与相关文献相符<sup>[10]</sup>。电泳分析的结果也表明,卵黄液经酸化水除脂和辛酸除去杂蛋白后提取的  $\gamma$ -球蛋白,含有杂蛋白明显减少,纯度显著提高。

**3.3** 温度对 IgY 活性的影响试验中,3 批小鹅瘟 IgY 在 25~60 ℃时,随着温度升高,IgY 抗体效价没有下降,60 ℃作用 30 min 后抗体效价仍为 1:16,显示小鹅瘟 IgY 具有较好的热稳定性。而在 65 ℃作用 30 min 后,效价下降至 1:8,75 ℃作用 30 min 后,抗体活性基本丧失。提示 60 ℃作用 30 min 可能是小鹅瘟 IgY 保持活性的临界值。为此,卵黄抗体应避免在过热的条件下保存。

**3.4** 以不同 pH 条件处理 IgY,在 pH 4~11 范围内,IgY 的活性几乎不受影响。说明鸡 IgY 在中性与碱性(pH<11)条件下十分稳定。

**3.5** 将 IgY 置于冻结状态,经 1~5 次反复冻融后,测定 IgY 的琼扩效价不受影响。这样就为卵黄抗体在生产应用中提供了较多的便利。

**3.6** 大量研究表明,口服高免 IgY 可以对人和动物的许多细菌和病毒性疾病进行有效的预防和治疗<sup>[11]</sup>。然而,耐消化酶试验结果表明,虽然 IgY 有一定的抗胃蛋白酶和胰蛋白酶的作用,但是长

时间暴露于消化酶中,IgY 的活性会逐渐下降,直至消失。因此,对于如何在消化道中保护高免 IgY 的活性,还需要进一步研究。如采用明胶微囊化技术<sup>[12]</sup>、添加抗酸剂和添加糖醇化合物等方法保护其活力。

**参考文献:**

[1] 殷震,刘景华. 动物病毒学二版[M]. 北京:科学出版社,1997: 294, 328, 335.  
 [2] 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.  
 [3] 王永坤. 如何预防小鹅瘟[J]. 中国禽业导刊,2004,21(5):31-32.  
 [4] 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.  
 [5] 李春畔,郭立君,于洪涛,等. 胃蛋白酶对抗狂犬病毒 IgY 活

性的影响[J]. 中国生物制品学杂志,2002(1):45-47.  
 [6] 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.  
 [7] 宋宏新,李敏感. 现代生物化学实验技术教程[M]. 西安:陕西人民出版社,2002.  
 [8] 杨安纲,毛积芳,药立波. 生物化学及分子生物学实验技术[M]. 北京:高等教育出版社,2001:248.  
 [9] 那红,杨曜中,表勤生. 鸡卵黄免疫球蛋白的研究进展[J]. 中国生化药物杂志,1997,18(3):151-155.  
 [10] Leslie G A,Clem W L. Phylogeny of immunoglobulin structure and function III:Immunoglobulins of the chicken[J]. J Exp Med,1969,130:1337-1352.  
 [11] Larsson A,Carlander D. Oral immunotherapy with yolk antibodies to prevent infections in humans and animals[J]. Ups J Med Sci,2003.108(2):129-140.  
 [12] 纵伟,杨超英. 蛋黄免疫球蛋白明胶微囊的制备及性能研究[J]. 山西食品工业,1999,6(2):5-7.



(上接第 26 页)

1 日龄治愈率为 6.06%,4 日龄治愈率为 10.00%,7 日龄治愈率为 9.52%;未注射抗体对照组 1 日龄 100%死亡,4 日龄 100%死亡,7 日龄 90.00%死亡。说明小鹅瘟精制卵黄抗体对不同日龄重度患病雏鹅治疗效果不佳。

**表 8 对不同日龄轻度患病雏鹅治疗试验统计结果**

组别	试验日龄	雏鹅数 (只)	死亡数 (只)	存活数 (只)	治愈率 (%)
治疗组	1	39	1	38	97.44
	4	39	2	37	94.87
	7	42	4	38	90.48
对照组	1	13	12	1	92.31%死亡
	4	12	11	1	91.67%死亡
	7	14	12	2	85.71%死亡

**3 讨论**

采用 1.0 mL 小鹅瘟精制卵黄抗体治疗不同日龄轻度患病雏鹅,结果表明,1 日龄治愈率为 97.44%,4 日龄治愈率为 94.87%,7 日龄治愈率为 90.48%,不同日龄都能起到较好治疗效果。

**表 9 对不同日龄重度患病雏鹅治疗试验统计结果**

组别	试验日龄	雏鹅数 (只)	死亡数 (只)	存活数 (只)	治愈率 (%)
治疗组	1	33	31	2	6.06
	4	30	27	3	10.00
	7	21	19	2	9.52
对照组	1	11	11	0	100%死亡
	4	10	10	0	100%死亡
	7	10	9	1	90.00%死亡

对于不同日龄雏鹅,应用小鹅瘟精制卵黄抗体治疗不同病程的小鹅瘟时,效果是不同的。本试验结果表明,对于轻度患病雏鹅效果良好,采用小鹅瘟精制卵黄抗体治疗 1、4、7 日龄重度患病雏鹅,1 日龄治愈率为 6.06%,4 日龄治愈率为 10.00%,7 日龄治愈率为 9.52%,对重度患病治疗作用不显著,治愈率明显降低。

**4 结论**

使用小鹅瘟精制卵黄抗体治疗小鹅瘟时应坚持早期治疗的原则。采用小鹅瘟精制卵黄抗体治疗 1、4、7 日龄轻度患病雏鹅,治疗剂量为 1.0 mL/只,治疗效果较好。

# 犬髌骨脱位手术治疗的探讨

夏新萌

(聊城市动物疫病与控制中心, 山东 聊城 252000)

**摘要:** 犬髌骨脱位是临床上常见的一种膝关节疾病, 是引起犬跛行的原因之一。只有少数轻度髌骨脱位可采取保守治疗, 大多患犬都需要手术治疗。手术治疗主要可分为软组织重建术和骨组织重建术两类。临床上, 两类手术常联合应用或多种手术方法配合使用。笔者收集 6 例犬髌骨脱位手术治疗病例, 手术术式为两种不同手术方法的联合应用。手术治疗效果良好, 均无出现复发或其他并发症。通过这些手术病例和治疗效果, 分析探讨采用手术治疗犬髌骨脱位的优点。

**关键词:** 犬; 髌骨脱位; 手术治疗

**中图分类号:** S857.12

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2015)04-0042-04

2014年7月到2014年10月期间, 山东聊城某宠物医院对6例髌骨脱位患犬进行手术治疗(表1)。治疗方法为滑车软骨下切除成形术和人造髌骨侧韧带术的联合应用。

表1 病例情况

编号	品种	年龄	体重(Kg)	患病情况 <sup>1)</sup>
1	贵宾	3Y	2.2	跛行, 两后肢均发生习惯性髌骨脱位, 右侧较为严重。
2	贵宾	2Y	3.4	跛行1个月, 右后肢发生髌骨脱位。
3	博美	8M	2.7	跛行, 左后肢发生髌骨脱位, 不可复位。
4	巴哥	3Y	10.6	拖拽走路, 左后肢不着地, 发生髌骨脱位。
5	博美	3Y	2.0	跛行, 两后肢均发生髌骨脱位, 右后肢较为严重。
6	贵宾	10M	2.3	跛行, 后肢双侧均发生髌骨脱位, 左侧较严重。

1): 两侧均发生髌骨脱位的患犬, 手术治疗为较严重的一侧。



图1 正常膝关节正位X线

## 1 犬髌骨脱位诊断

根据临床症状可作出初步诊断。随髌骨脱位严重程度出现不同程度的跛行; 急性髌骨脱位触摸关节时有疼痛感。检查膝关节时, 一手握着胫骨, 前后摆动膝关节, 同时另一手放着髌骨上, 触摸髌骨的活动情况, 并注意是否有响声和疼痛。屈伸膝关节, 用拇指和食指握住髌骨, 并向内、向外滑动髌骨, 观察其是否脱位<sup>[1]</sup>。

X线检查观察髌骨的位置, 以及髌骨滑车沟的深浅和滑车嵴的高低, 查明髌骨是否脱位(图1、图2)。

## 2 犬髌骨脱位手术治疗

手术目的是调整膝关节的受力方向, 稳定髌骨在正常位置上<sup>[2]</sup>。手术方法包括软组织重建和骨组织重建两类。软组织重建术有外侧或内侧支持带重叠术、人造髌骨侧韧带术、韧带切开术、胫骨和髌骨抗旋转缝合韧带术等。骨组织重建术主要有胫骨粗隆移位术、滑车沟成形术、股骨切开术等。



图2 髌骨脱位X线片

## 2.1 术前准备

术前 15 min, 根据患犬体重, 皮下注射硫酸阿托品 0.03 mg/kg, 酚磺乙胺 0.025 mg/kg。将患犬以仰卧姿势保定于手术台上, 患肢悬放, 便于手术操作。用丙泊芬 (4 mg/kg) 静脉注射进行诱导麻醉, 气管插管, 打开呼吸麻醉机, 调整并连接。术部剃毛, 用碘伏消毒, 酒精脱碘。消毒充分后, 用无菌创巾覆盖好术部, 并暴露手术通路切口部位。

## 2.2 手术通路

触摸髌骨和外侧滑车嵴后, 伸展膝关节, 从患肢股骨近心端 1/3 处沿髌骨旁, 经过外侧滑车嵴至胫骨嵴远心端作一长 10~15 cm 的纵向切口

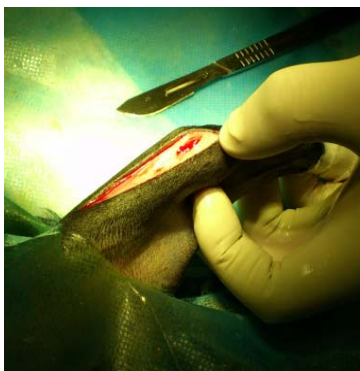


图3 手术切口

(图3)。沿皮肤切口切开皮下筋膜, 钝性分离皮下组织和筋膜, 与皮肤一起牵开, 显露阔筋膜和膝关节的外侧筋膜。切开深筋膜与关节囊, 充分显露滑车(图4)。

## 2.3 手术操作

2.3.1 沟成形术: 暴露膝关节滑车沟后, 将滑车软骨表面呈 U 形切开, 并小心剥离软骨瓣, 保持其远心端游离, 近心端仍与关节软骨相连(图5)。掀开软骨瓣游离端, 用医用骨科电钻去除部分软骨下组织, 使滑车沟加深(图6)。再利用手术刀, 将滑车沟侧面切割平整。将软骨瓣覆盖滑车沟上, 用手术刀切除其游离末端多余部分, 将游离的软



图4 显露滑车

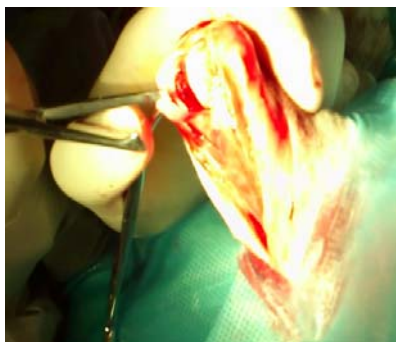


图5 剥离的滑车软骨瓣

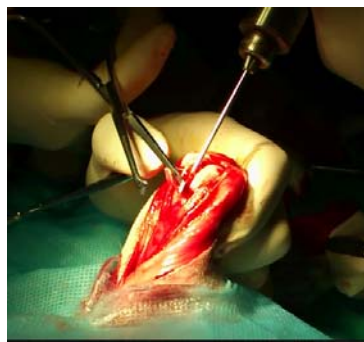


图6 去除软骨下组织



图7 形成新滑车沟



图8 分离阔筋膜



图9 分离后的阔韧带



图10 人造侧韧带绕行



图11 人造侧韧带

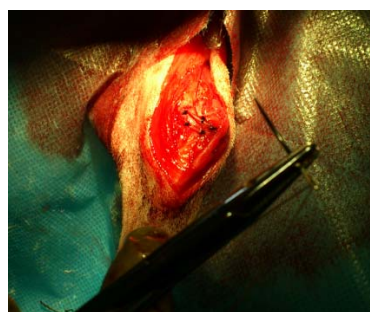


图12 人造侧韧带的缝合

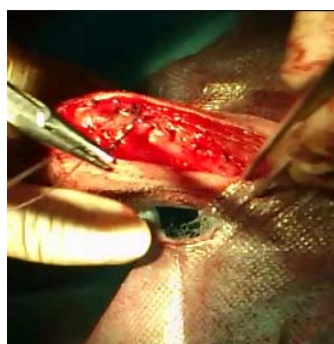


图13 缝合阔筋膜



图14 皮肤缝合

骨瓣覆盖回软骨上,形成新的滑车沟(图7)。

**2.3.2 造髌骨侧韧带术:**从髌骨外侧近心端开始向上沿股四头肌外侧分离出一条宽3~5 mm的阔筋膜,取代断裂的外侧韧带,即人造髌骨侧韧带,其长度大概从髌骨上端分离至股骨远心端1/3处(图8,图9)。在滑车复位和关节囊壁重叠缝合之后,将人造髌骨侧韧带从外侧腓肠肌近心端的肌腱处绕行回转(注意不要扭转),并收紧人造髌骨侧韧带(注意松紧适宜),将回转并靠拢的韧带缝合在一起,尤其是游离缘要与韧带根部进行简单结节缝合(图10、图11、图12)。

**2.3.3 术口闭合:**使用单股医用羊肠线,结节缝合将阔筋膜闭合。用单股不可吸收缝线结节常规

缝合皮肤(图13、图14)。

**2.3.4 术后护理** 术后静脉注射适量葡萄糖,12 h后才可以进食,饲喂有营养易消化的食物。保证饲养环境温暖、干燥,较少术后并发症。根据术后伤口情况,可注射酚磺乙胺控制出血,给予5~7 d的抗生素及碘伏擦拭伤口来控制感染,并注意纠正酸碱平衡、补充电解质。时刻观察患肢情况,术后2~3 d可能会开始出现肿胀,随后逐渐恢复正常。术后8 d左右拆线,4 w内保持静养,避免剧烈运动。

### 3 病例治疗结果与分析

人造髌骨侧韧带术配合滑车软骨下切除成形术方法成功医治患犬6只。术后患犬伤口均I期愈合,未发生感染。其中4只患犬术后3~5 d就

能下地缓慢行走,另2只1~2 w后能下地缓慢行走。6只患犬4 w后能正常行走,未发现缩腿等跛行现象。8 w后对术后所有犬进行回访,无髌骨脱位再次发生。术后膝关节稳定性增加,运动功能恢复良好。

犬的髌骨脱位根据不同的脱位程度临床上有不同的治疗方法。一般使用手术复位固定来治疗髌骨脱位可以获得良好的效果。一般的手术复位方法根据脱位的程度各有不同,脱位程度不同手术难度也不同。通常采用软组织重建术和骨组织重建术配合使用。如对于犬的脱位,同时存在滑车沟变浅时,可以采用滑车沟成形术、髌骨和胫骨抗旋转缝合韧带术以及侧韧带重叠术配合来治疗。

髌骨脱位通过手术治疗术后产生并发症以及发生再次脱位的病例仍占一定比例。临床上髌骨脱位术后产生并发症的比例约为18%,需要外科矫正整复术治疗占13%,髌骨再次脱位的比例为8%<sup>[3]</sup>。

滑车成形术可以加深滑车沟,从而提高髌骨活动的稳定性。幼年动物实施这种矫正可以减少作用于股骨远端生长板的异常作用力和由此继发的骨骼异常。老龄动物及时地进行手术治疗,可以

减少变形性关节炎的发生。

在临床手术处理髌骨脱位过程中,大多数脱位都可以配合应用人造髌骨侧韧带术,并且本手术方法可以降低髌骨发生再次脱位的概率。在手术治疗犬髌骨脱位过程中有较好的应用效果。

人造髌骨侧韧带术的创新之处在于人造髌骨侧韧带的材料取自自身的组织,极大降低了手术后的并发症;本方法还可以配合其他的手术整复方法,很大程度上降低了手术后髌骨再次脱位的概率,临床应用过程中也未见其他并发症的产生;可以弥补修复因外伤而引起的侧韧带的断裂或松弛。本方法可靠,适用范围广,可以在临床髌骨脱位的手术治疗中进一步研究适用。

#### 参考文献:

- [1] 李玲,于志海.手术治疗犬髌骨外方脱位[J].中国兽医杂志,2008,44:62-62.
- [2] 黑牙斯丁,郭庆勇,赛福丁,等.犬膝盖骨先天脱位的诊断及外科调整[J].新疆农业科学,2003,40:236-237.
- [3] Arthurs G I,Langley-Hobbs S J.complications associated with corrective surgery for patellar luxation in 109 dogs[J].Veterinary Surgery,2006,35:559-566.

## 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

# 犬子宫蓄脓症的诊治体会

柳旭伟, 葛文霞, 杨力伟, 叶生强

(新疆农业职业技术学院动物科技学院, 新疆 昌吉 831100)

**摘要:** 子宫蓄脓症是母犬生殖系统的一种常见病, 也是对犬有生命危险的疾病。实践证明 X 光检查、B 超检查和血液学检查在该病的诊断上有重要意义, 而手术治疗才是根除此病的关键治疗方法。

**关键词:** 犬; 子宫蓄脓; 诊断; 治疗

**中图分类号:** S858.292

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2015)04-0046-03

犬子宫蓄脓症是指犬子宫腔内有大量的脓液积聚, 并伴有子宫内膜异常增生和细菌感染的情形。严重的细菌感染, 会引发一连串的生理反应, 如细菌内毒素导致心脏衰竭; 肾脏血液灌流量下降, 导致尿毒症; 严重的造成多器官衰竭而死亡<sup>[1]</sup>。作者对犬子宫蓄脓的发病原因、临床表现、诊断和治疗方法进行了梳理, 并通过 1 病例的治疗介绍, 以加深读者对犬子宫蓄脓症的认识。仅供参考。

## 1 发病原因

犬子宫蓄脓分开放性和封闭性 2 种表现。开放性犬子宫蓄脓犬除外观上可以在外生殖器官上发现黄色脓样的分泌物外, 对犬的生理功能影响比较小, 不容易出现子宫破裂或导致器官衰竭进而死亡。而封闭性子宫蓄脓患犬外观上不会发现分泌物, 常见到犬腹部膨大。发病犬子宫体膨大, 容易出现子宫破裂, 造成腹膜炎, 而严重时细菌内毒素会导致器官衰竭死亡<sup>[2]</sup>。

究其发病原因, 主要为病原微生物感染引起的。

### 1.1 发情后感染

犬发情后外阴肿胀, 子宫内膜脱落, 出血, 从而使生殖道抵抗力下降, 同时由于犬常站立于地面, 往往会使犬阴部被地面的细菌等病原微生物污染。如果主人此时不注意清洗极易造成感染从而发病。

### 1.2 配种时感染

犬在配种时, 犬主人往往在配种前不注意清洗公犬和母犬的生殖器官, 从而造成配种时细菌感染, 进而引起子宫化脓。

### 1.3 母犬激素失调及卵巢疾病引发

母犬长时间处在激素失调的状态下, 由于刺

激性激素分泌过多, 子宫内膜分泌也相应增加, 而分泌液中含有大量的白细胞和蛋白, 白细胞分解后形成的脓球会积存于母犬子宫内进而造成子宫积脓。

### 1.4 产后感染

母犬生产不洁, 或者死胎、胎衣滞留等均可造成母犬子宫感染引起化脓性炎症<sup>[4]</sup>。

### 1.5 继发感染

母犬子宫周围组织器官的炎症进一步发展造成子宫感染, 从而继发子宫蓄脓。如化脓性腹膜炎、盆腔炎、阴道肿瘤、膀胱炎、脓胸等化脓性炎症, 化脓性细菌会由血液进入子宫造成子宫蓄脓。

### 1.6 药物使用不当引起感染

在某些疾病治疗过程中, 大剂量的应用地塞米松以及其它类固醇药物时, 也会造成子宫蓄脓的发生<sup>[3]</sup>。

## 2 临床症状

病犬在发病初期往往全身症状不明显, 一般在感染 15~30 天后全身症状明显。表现以下症状: 病犬精神沉郁, 食欲不振, 渴欲增加, 排尿次数增多, 渐进性消瘦, 腹围增大, 营养不良, 结膜苍白; 外阴部红肿, 常可见有粘性分泌物, 并有腥臭气味。此时若不及时确诊治疗, 往往会造成败血症而死亡<sup>[5]</sup>。

## 3 诊断

### 3.1 临床检查

通过病犬的发病情况以及发病时的临床症状, 可以初步进行判断。同时通过腹腔触诊, 可以触诊到膨大的子宫。但如果是开放型的子宫蓄脓, 通常子宫不会太大, 应结合其它诊断方法进行综



合性的判定。仔细进行腹部的触诊,可以了解子宫的大小,对于子宫蓄脓的诊断有很大的帮助。但在检查过程中动作不能太粗鲁,避免引起子宫破裂使病犬急性死亡。

### 3.2 血液检查

随着科技的进步,通过对病犬的血液进行血常规和血生化的检查,可以判断病犬的炎症情况等。在犬发生子宫蓄脓时,随着病情的变化,血液检查上的变化也不同。早期白血球会急速上升而后会下降;如果出现败血症,ALT(丙氨酸转氨酶)肝脏指数有时会上升<sup>[6]</sup>。

### 3.3 B超检查

B超检查可评价子宫壁的厚度和子宫腔的大小,这是诊断犬子宫蓄脓最准确而快速的方法。病犬发生子宫蓄脓时,子宫区可见有多个圆形低回声区,子宫壁比膀胱壁要厚,非常容易区别。

### 3.4 X光检查

X光检查可见膨大的子宫。由于胚胎在45天内,在X光影像下并不明显,对于是否为怀孕或是子宫蓄脓就不容易进行早期诊断。此时腹腔超声波检查就显现出早期诊断的优势,因为胚胎成长到24天后就可以借超声波来诊断,相对的,也可以更早区分怀孕(怀孕24天以后)与子宫蓄脓<sup>[7]</sup>。

## 4 治疗

犬子宫蓄脓的治疗方法有保守治疗和手术治疗两种。保守治疗一般是对于早期轻度子宫蓄脓的病犬,可先采用保守治疗,以开张宫颈、促进脓液排出、抗菌消炎为治疗原则。闭合型子宫蓄脓,往往病情发现较晚,腹部膨大明显,此时若采用如穿刺疗法、从阴道注入抗生素、注射雌激素开张子宫颈等保守疗法,往往容易造成子宫渗出物排出不彻底,病犬体质较弱,易造成反复发作。在实际诊治过程中,犬一旦发生子宫蓄脓,多采用手术疗法,手术治疗是根治犬子宫蓄脓的有效措施。

## 5 病例

2015年3月28日,1只雌性雪纳瑞犬来院就诊,8岁,体重8千克。主诉:发情后2周有过交配行为,发生交配后犬不吃,有时呕吐,喜饮水,喜卧。

### 5.1 诊断

5.1.1 临床检查 体温:39.0℃;心率:132次/分钟;呼吸:22次/分钟。外生殖器有粘稠、腥臭的脓性分泌物,外阴肿胀。眼观腹围微微增大,喜

卧,腹部触诊可感觉腹部有明显肿胀感,且触诊时犬有明显不适感。

5.1.2 血常规检查 利用血常规分析仪进行血液常规检查,检查结果见表1。

5.1.3 血液图片镜检 血液涂片镜检结果见图1。

根据血常规和血液涂片镜检结果可见,白细胞数目及中性粒细胞数目增多。白细胞数目上升即说明犬有脓毒血症迹象,且为闭合型子宫蓄脓。而中性粒细胞数目升高则说明有严重的细菌感染且是机体可抵抗的,中性粒细胞百分比升高,二者结合可以看出患犬此为有败血症血象。

5.1.4 B超检查 该犬仰卧保定,腹部剃毛均匀涂抹耦合剂,用探头在子宫部移动。在子宫区可见多个圆形低回声区,见图2。

5.1.5 X射线检查 对病犬进行了X光检查,其检查结果见图3。

依据X光检查的图像显示,发现子宫内充满云雾状液体。

根据病犬的发病情况,一般检查、血常规检查、B超检查和X光检查,该患犬诊断为开放型子宫蓄脓。

## 5.2 治疗

采用手术治疗的方法进行。

5.2.1 麻醉 麻醉前20分钟给予皮下注射止血敏1.6 mL;丙泊酚10 mL,静脉注射做诱导麻醉;气管插管,异氟烷吸入麻醉。

5.2.2 术部准备及术式 病犬仰卧保定,腹部剃毛消毒,切口定位于从脐带孔向下3~5 cm。腹部线常规切开,打开腹腔。手指进入腹腔小心将膨大的子宫角取出与切口之外,分别将两侧的卵巢动静脉进行双重结扎,在结扎的交接处剪断,分离子宫阔韧带,在子宫体部位3钳固定进行双重结扎,将子宫摘除。子宫体的断端用剪刀将黏膜剪除,用酒精纱布块擦净,最后将子宫断端的浆膜、肌层进行包埋缝合,送回腹腔,常规闭合腹腔。

5.2.3 术后护理 术后消炎,皮下注射可牧喜0.8 mL。待苏醒后,给予脖圈,防止舔伤口。7天后拆线,病犬恢复健康。

## 6 小结

子宫蓄脓主要发生在3岁以上的母犬,是由于体内激素代谢紊乱,微生物感染等造成的。临床上大多数都是体内激素代谢紊乱为第一诱因,仅

表 1 血常规检查结果

参数	结果	参考范围	结果变化
WBC(白细胞数目)	$55.7 \times 10^9/L$	6.0-17.0	高于参数值
Lymph#(淋巴细胞数目)	$5.1 \times 10^9/L$	0.8-5.1	正常
Mon#(单核细胞数目)	$1.0 \times 10^9/L$	0.0-1.8	正常
Gran#(中性粒细胞数目)	$46.7 \times 10^9/L$	4.0-12.6	高于参考值
Lymph%(淋巴细胞百分比)	16.20%	12.0-30.0	正常
Mon%(单核细胞百分比)	4.10%	2.0-9.0	正常
Gran%(中心粒细胞百分比)	81.70%	60.0-83.0	正常
RBC(红细胞数目)	$8.06 \times 10^{12}/L$	5.50-8.50	正常
HGB(血红蛋白)	160g/L	110-190	正常
HCT(红细胞压积)	59.30%	39.0-56.0	高于参考值
MCV(平均红细胞体积)	73.6fl	62.0-72.0	高于参考值
MCH(平均红细胞血红蛋白含量)	22.3pg	20.0-25.0	正常
MCHC(平均红细胞血红蛋白浓度)	303g/L	300-380	正常
RDW(红细胞分布宽度变异系数)	14.80%	11.0-15.5	正常
PLT(血小板数目)	$126 \times 10^9/L$	117-460	正常
MPV(平均血小板体积)	10.3fl	7.0-12.0	正常
PDW(血小板分布宽度)	16.7	/	正常
PCT(血小板压积)	0.13%	/	正常

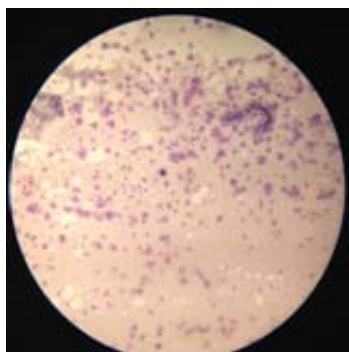


图 1 患犬血液涂片镜检结果

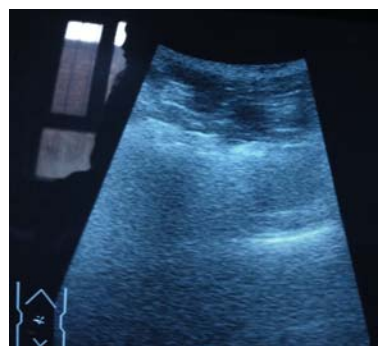


图 2 病犬子宫蓄脓 B 超显示结果



图 3 患犬侧位影像

发生在未做绝育手术的母犬。

子宫蓄脓的根本治疗方法是子宫、卵巢一起切除。对主人不愿意手术或体况不允许的病例要采取药物治疗。此法只是一时缓解,不可根治,要与畜主讲清楚。子宫、卵巢摘除术不是复杂手术,

但对于子宫蓄脓来说要严格避免子宫内容物进入腹腔,不然会引起腹腔炎症。

#### 参考文献:

- [1] 侯加法. 小动物疾病学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996:78-79.
- [2] 王树林. 兽医临床诊断学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 94-95.
- [3] 高德仪. 犬猫疾病学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001:147-153.
- [4] 孟召聚. 犬子宫蓄脓的诊治[J]. 中国养犬杂志, 1995:53-54.
- [5] 梁永春, 李长安. 宠物犬假孕诊断治疗[J]. 动物医学进展, 2008:75-76.
- [6] 丁法祥. 宠物皮肤病的综合防治[J]. 医学动物防治, 2008: 34-35.
- [7] 李锡太. 宠物喂养及传播疾病的认识[J]. 现代预防医学, 2008: 47.
- [8] 陈俊, 李之付, 郑新永. 城区宠物防疫管理[J]. 中国动物检疫, 2009:58-59.

# 马蹄修理的技术探讨

刘克俊, 王自豪, 李秀良  
(广西畜牧研究所, 广西 南宁 530001)

**摘要:** 定期给马修蹄, 是有效预防马蹄病的一项措施。通过修蹄, 能够促进马的新陈代谢, 保证马的健康; 修蹄也算是我们给马提供一个福利待遇。

**关键词:** 马蹄; 修马蹄; 方法; 事项

**中图分类号:** S858.21

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2015)04-0049-02

随着人民生活质量的改善和生活水平的提高, 业余的娱乐项目不断丰富。老板用敏锐的市场眼光瞄准马利好发展时机。进入 20 世纪 80 年代, 广西南宁、桂林、北海等城市的体育部门及个体老板从国内、外选购多品种马匹, 进行以运动马旅游性质为主的马术活动。开始都是从十几匹马慢慢扩大, 发展到规模的几十匹。马术运动竞赛逐步兴起, 丰富的马上活动(健身)深受马术爱好者的青睐; 宠物马也开始受到小朋友喜爱。骑马运动逐渐成为一种活动及运动时尚, 马的农耕文化科普教育逐步得以推广, 经营者从中获得经济效益。许多马的爱好者开始养马, 推动广西养马“热”潮。但是喜欢马爱马养马容易, 要养好马就难。2014 年 4 月, 笔者所在单位科技人员对广西区内养马进行情况排查, 对 265 匹进行有关数据普查统计。普查发现, 有矮马 67 匹、西南马 17 匹的蹄部出现不同程度变形、畸形, 有的马行走困难, 面临淘汰。经分析得知: 一是马的原始自然放牧方式改变为圈养方式。对 200 多匹马群统计发现, 马蹄畸形率达到 33.5%; 二是圈养场所用硬化水泥地面, 活动场所又没有铺上厚沙, 加上管理粗放, 马群居住环境非常恶劣, 饲用牧草单一; 三是没有制定马的修蹄制度, 忽略了马蹄保养工作, 长期不修蹄所致。

## 1 修蹄的原因

马的主要技能靠的是马四肢表现, 四肢的蹄只有具备坚实的角质壳才能保护知觉和支持马的体重。马蹄甲犹如人的指甲, 久不修剪就会自然长长。为了纠正蹄的过度生长, 所以要定期给马修蹄。马足蹄好, 四肢呈现受力均匀、行走起来非常轻松自如; 修蹄能够促进马的新陈代谢, 马运动不

容易疲劳。古人云: 足蹄好马, 方行万里路。

通过修蹄检查蹄部情况, 发现蹄的疾病可以及早治疗。马的蹄病主要有腐蹄、蹄变形、蹄皮炎、蹄肉赘生、糜烂和蹄底创伤等。在这些蹄病中, 以腐蹄病和蹄变形最为常见。马得了蹄病, 因为疼痛, 它的腿就站立不直, 膝盖弯曲, 有的不敢站立。我们可从马站立姿势能感受到它的痛苦。马蹄出现病变, 会造成蹄不同程度变形、畸形, 马表现行走困难, 有的最后被淘汰。只有通过修蹄, 作蹄型修正, 蹄部护理, 能够促进马的新陈代谢, 确保马匹健康; 马长期为我们工作、服务, 修蹄也算是我们给马提供一个福利待遇。

## 2 修蹄前准备工作

### 2.1 必要的准备工作

马也是大型动物, 给马修蹄要多人一起配合, 需要掌握和熟悉操作马情况人员 3~4 人; 准备套马龙头 2 个, 用来牵马和保定用的绳子如拇指粗 2~4 根, 长度在 3~4 米; 消毒、配备齐全的修蹄工具 2 套; 已经消毒好的金属注射器 2 副、12# 针头 20 枚, 消毒、消炎和镇静药品、毛巾等。

### 2.2 修蹄前马要作保定

修蹄使用的都是特殊铁质利器, 修蹄过程容易造成马的过度紧张, 马会受惊、不安定而极力挣扎、反抗。挣扎和反抗时活动幅度大, 力气也很大, 粗心大意可能造成马腿部骨折、刀割伤蹄部, 甚至踢伤操作人员。为了避免修蹄过程造成马的不必要的伤害和出于对马及工作人员安全考虑, 应该根据马的情况选择采取不同的保定方法。

**2.2.1** 对于调教过、训练好、性情又温驯的马可以采用简单站立保定方法。即很友好地把马牵到

指定的地方,将马龙头绳固定好,尽量绑紧绑短,以防止修蹄过程马不安定会起昂;也可以将马的身体一侧靠住墙,一人固定其头,一人抬起蹄,一个人主刀修理,一个人专做助手,前蹄、后蹄起蹄方向均向后方。

**2.2.2** 而对于那些还没有调教过或者还没有调教好的,性情又不温驯的烈性马,在修蹄前5~10分钟可以注射镇静药物,耐心等马安静后做简单站立保定再进行修蹄。

**2.2.3** 性情不温驯的烈性马还采用麻醉放倒方式的保定方法。根据马的大小、体重注射静松灵,约等10分钟后,前后蹄用绳采取“8”字放倒方法将马放倒,并使四个蹄靠近,然后用一根长4~5米的木头穿过四蹄固定绳,压过马胸部形成十字形固定好。一人固定其头,一人固定木头,一人抬起蹄,一个人主刀,一个人专做助手,进行修蹄。

### 3 修蹄顺序

**3.1** 抬起马蹄,用修蹄钩清除蹄底污秽,仔细检查蹄底是否有溃疡和潜洞。然后使用修蹄专用强力钢钳剪去蹄尖及尖部蹄壁边缘角质,以第一蹄白线为基准,蹄尖与蹄冠皮肤和蹄角交界处削薄角质缘,切削定形。如果是正常修过蹄的,前蹄只需用钳或挫刀,锉其边缘,修正蹄尖整形就可以了。

**3.2** 对于那些蹄形较好,蹄底较薄的马,先按“标准尺寸”将蹄修平,将蹄弓中部内侧削成凹陷,成双半月形,这样能够避免粪便、烂泥积留在蹄内。

**3.3** 对于有患肢疼痛的马,患肢常呈减负或免负体重,不敢着地,这样就造成另外健肢过度承担体重,将会给马匹的整体平衡性造成影响。发现马前腿站立不直,膝盖呈现弯曲的,或者脚不敢站立的,在处理时,以减少蹄肿和易患病蹄底中部的负重为宜;不然容易造成活肉组织再度挫伤和瘀血。马要放在干燥地方,促进新的角质形成和角质变硬,加快患蹄康复。

**3.4** 修马蹄要彻底削去蹄底四周的松散角质,并清除表面渗出物,还要注意不损伤活肉层。对蹄内处有炎症的,可涂擦上碘酊;蹄肿处有溃烂,应将溃疡处彻底修干净,让其暴露活肉组织。可涂擦10%金霉素凡士林软膏,能够自行康复。

### 4 注意事项

用来修蹄的工具主要有:修蹄钢钳、刮钩、修蹄刀、挫刀等。“电刨子”使用过程操作方便,有些

人喜欢使用(但使用“电刨子”发出声音,会造成马的不安定,建议少采用)。无论采用哪种修蹄方法,都需要注意以下几个方面:

**4.1** 针对修蹄使用的都是特殊铁质利器,修蹄过程可能会造成马的过度紧张,马容易受惊、不安定而极力挣扎、反抗。所以修蹄过程从开始牵马都应该和善、友好态度,动作要轻,耐心,切忌出现粗暴。为保证人畜安全起见,根据马的性情等特殊情况,酌情选择保定方法。

**4.2** 规模马场要根据自己本场具体情况,从实际出发建立规范确实可行的修蹄制度,建议选择在每年的春、秋季季节进行。平时注意观察马匹的行走步样,站立时四肢姿势,从外观看蹄形情况等,这些工作看起来很平常,小事,但它能确保马匹健康。

**4.3** 经常放牧,用于娱乐或者是在山区劳作的马,由于地方、活动环境、马的用途等不同,每匹马的蹄形情况都会有差异,在修蹄前必须先给蹄部作全面检查,准确判断蹄形,防止过削。把蹄底修成向内轴中心倾斜呈现凹陷型,就是蹄中部弓修成双半月形,这样能够避免粪便、烂泥积留在蹄内。马修过蹄后,放开让马自然站立,行走,观察它的蹄面与趾骨、长轴的角度是否合适,马表现舒适即为理想的。

**4.4** 对于已经发生角质病灶的马,应把将病灶中粪便彻底抠出,削除腐烂角质,并以第一蹄白线为基准削薄角质缘。发现马蹄内有真皮增生的,可能看到真皮明显突出,如果不将肉芽组织整个切除,会给马行走造成影响。

**4.5** 遇到跛行病马,应该对蹄部进行全面检查,查找引起跛行的原因,以采取相应的处理措施。考虑负重平衡,应先修病蹄,这样可确保蹄形恢复正常。个别马可能会出现修蹄后几天或者超过一个星期,不但没有变好,而是跛行更严重,就要考虑跛行是其他原因造成的,须再找其他方面的原因。因蹄病修整后的病马,应该放置在清洁卫生、干净干燥、地面松软的舍饲环境,这样才利于保证蹄部的清洁,减少感染机会,加速病愈。

**4.6** 对于伤蹄的马要及时注射抗破伤风类毒素。视马大小,一般按每公斤马体重0.02~0.03 mg注射,隔7天再注射1次;同时给伤口涂抗菌消炎药,预防感染破伤风。

# 祖代肉种父系母鸡的管理要点

韩文格

(河北飞龙家禽育种有限公司, 河北 石家庄 050091)

**摘要:** 本文针对祖代肉种父系母鸡的发育特点, 将父系鸡与母系鸡在育雏、育成、产蛋这三个时期的管理不同点进行总结, 以其促使祖代场管理者的重视, 从而达到提高父系母鸡生产性能的目的。

**关键词:** 种鸡; 管理; 均匀度; 体重; 光照; 减料

**中图分类号:** S831.4

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2015)04-0051-02

肉用祖代和父母代种鸡都是从商品代选育出来的, 承受着来自肉鸡生产性能提高的压力, 所以需要关注更多的细节。而父系母鸡的管理要求相对于母系母鸡来讲有以下差异: 饲养密度低、采食空间大、每栏群体小、采食时间短、胸肌容易过大、均匀度要求更高、高峰料量不能太高、每周需要观察2次等。由此可见父系母鸡的管理要求更加严格。

## 1 育雏期

### 1.1 及时给水给料

温度非常重要, 雏鸡入舍后应及时观察雏鸡状况, 根据其分布情况随时调节舍温。因为雏鸡从出壳到鸡舍经过免疫注射、剪冠断趾、长途运输等大约40多个小时, 入舍第1天应用垫纸, 先喝10分钟水后再给饲料, 以防止雏鸡脱水。前7天用小的真空饮水器, 并放到水线附近让鸡逐渐学会用水线饮水(水线中放水)。

### 1.2 重视均匀度管理

根据曾祖代的区别, 将不同体重的雏鸡分开放置在不同的栏内。入舍时测定100只雏鸡的均匀度, 并计算出变异系数, 在第7天再测1次。如果变异系数没有什么变化, 管理非常优秀; 如果变异系数增加1%, 管理得非常好; 如果增加2%, 管理的还可以; 增加3%, 管理一般; 增加到4%时, 管理较差; 增加5%时管理则非常差; 超过5%表明管理很糟糕。

### 1.3 棚架上育雏时应放垫料

我们一般不建议直接在棚架上育雏, 应放一些垫料。实验证明直接在棚架上育雏死淘率高达5%, 死淘率高往往会影响到以后的均匀度, 应以鸡群

的舒适度来管理鸡群。

### 1.4 尽快分群

为了骨骼和骨架的良好生长发育, 17-21日龄分群最重要。最好在14日龄时做第1次分群。如果均匀度不好, 在20天或30天才分群就太晚了。希望尽早给小鸡一个机会, 给它额外饲喂蛋白较高的饲料, 促进这些较小的鸡群适当的生长发育, 如果体重达标了就可以留下作为种用。以后每2-3周做1次100%分群, 这样后期就可以不用做人工受精了。应在每次进行疫苗接种时将小鸡挑出分群。

## 2 育成期

育成期的管理为生产性能的发挥奠定基础, 而获取种鸡良好生产性能的最佳途径是: 制定合理的饲喂与体重管理程序, 使鸡群对光照刺激产生均匀一致的反应。管理中应做到: 提高并保持鸡群均匀度; 始终考虑鸡群对光照刺激的要求; 了解如何运用饲料使鸡群达到适当的体况, 而不是只考虑达到目标体重; 15周后为了体重的增长, 有必要加快饲喂量的增加以满足鸡群胸肌发育以及开始沉积足够的脂肪; 18-25周应及时触摸鸡群, 确保耻骨开张大小和耻骨上脂肪沉积情况, 只有达标后才可以进行光刺激。

### 2.1 维持生长阶段(6-15周)

只有体重有标准, 因为饲喂量可能会受到饲料营养水平、原料的变化以及环境条件的不同而改变, 所以应根据体重来饲喂, 给以正确的料量以达到目标体重。控制胸肌发育, 每周触摸鸡群, 了解6-15周的体况与体重情况。

### 2.2 体重出现问题后的调整

不应仅根据目标体重或饲喂量来制定管理程序,对鸡群管理人员来说,问题的分析与解决也应是培训的内容之一, 根据需要应对如何纠正体重生长曲线问题制定明确的措施。当早期体重出现偏差时,应在 12 周前将体重拉回标准,因在 12 周时骨架发育已经基本完成。15 周时如果体重和均匀度还达不到标准, 以后的生产性能就会受到影响。必须关注这个不可逆转的关键周龄,因为 15 周后母鸡开始性成熟发育, 没有时间再进一步把体重调整回标准体重。到了这个点只能接受之前所犯的错误, 如果这个时候体重超标也只能做顺应的管理。15 周的目标是: 体重和骨架的均匀度达标、正确的胸肌丰满度、鸡群健康, 这样鸡群会呈现出规律而均匀的换羽状态。

### 2.3 光刺激反应

母鸡对光照的刺激反应取决于鸡只的体况与体重。母鸡需要正确的胸肌发育、脂肪沉积、羽毛更换及耻骨开张状态, 才能对光照刺激有适当的反应。如果鸡群中仍存在体重不足的鸡只, 不用对鸡群进行光刺激, 另外也不应在 154 日龄前开始光刺激, 因为鸡群还未发育成熟。一般在 22 周龄时, 母鸡耻骨开到 4 厘米或大约 2 指(最好用厘米来表示, 因手指有粗细之分), 耻骨间有一定的脂肪沉积, 用手触摸鸡只可以感到耻骨间是柔软的、不发硬。

### 2.4 不用预产料

我们不建议使用预产料, 因为宽胸型品种不必使用预产料。如果 18-19 周开始更换预产料的话, 胸肌发育快、脂肪沉积少。应在见蛋时从育成料直接转换为产蛋料。有的等到产蛋率达 1%时才换料, 这种做法也是不正确的, 因为这样缩短了鸡群对钙的沉积时间, 开产后容易产生软皮蛋。

## 3 产蛋期

良好产蛋性能的基础是: 与周龄同步的体重; 适宜的脂肪沉积 (大多数鸡群都被忽视脂肪沉积); 良好的胸肌发育、耻骨发育等。

### 3.1 必须使用两种不同的产蛋期饲料

产蛋初期使用产蛋 1 号料, 蛋白水平不应超过 15%; 35 周龄后转换为产蛋 2 号料, 蛋白质水平不能超过 14%。因为蛋白质含量过高, 鸡只体重很易超标, 且主要是生长肌肉, 从而降低产蛋率, 影响生产效益。

### 3.2 高峰后减料

一般情况下在产蛋率达 60%时用到高峰料量 (165~166 g), 高峰后减料应根据以下具体情况来确定: 高峰料量、高峰产蛋率、每天保证每只摄取 470 大卡的能量、鸡只体重、体重增降趋势、母鸡体况、采食时间、季节等。在减料前应先触摸鸡群了解其处于什么状态, 往往没有足够的触摸鸡只是我们生产上最常见的错误做法, 如果过早的减料会造成鸡群生产性能的降低。

(上接第 34 页)

### 3.3 LPS 所致大鼠发热特征与少阳证“往来寒热”症状相似

试验大鼠在腹腔注射 LPS 后体温迅速升高, 但不是一直维持在高热水平, 而是呈现上下较大幅度的波动, 表现为双相和三相热。同时观察到, 试验大鼠出现精神不振、寒颤、毛发卷缩等症状, 这与少阳证“往来寒热”症状相似, 提示 LPS 发热模型可用于少阳病证的研究。

#### 参考文献:

[1] 向仿君, 胡陵静. 小柴胡汤在急症治疗中的应用[J]. 中国中医急诊, 2013, 22(8): 1430-1431.

[2] 袁常津, 卢芳国, 朱应武. 小柴胡汤及其加减方体外抗流感病毒的研究[J]. 中华中医药杂志, 2006(21): 41-43.  
[3] 贺玉琢译. 小柴胡汤对败血症性休克的作用[J]. 国外医学(中医中药分册), 2005, 27(4): 230-231.  
[4] 苗瑛, 杨忠杰. 小柴胡汤临床应用体会[J]. 现代中西医结合杂志, 2002, 11(21): 2163.  
[5] 唐晓峰, 薛漫清, 王晖. 大鼠发热模型及发热机制的研究进展[J]. 广东药学院学报, 2009, 25(3): 327-330.  
[6] 张福利, 许宏连, 马艳春, 等. 脂多糖对寒体、热体、常体大鼠攻毒发热后体温曲线、一氧化氮的影响[J]. 中医药学报, 2007, 35(1): 17-19.  
[7] 左泽平, 王志斌, 郭玉东, 等. 常用大鼠发热模型研究[J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(2): 52-57.  
[8] 孙明瑜, 高琳, 谢鸣, 等. 小柴胡汤合煎液与分煎液对 LPS 诱导大鼠发热模型的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2003, 10(12): 17-19.