

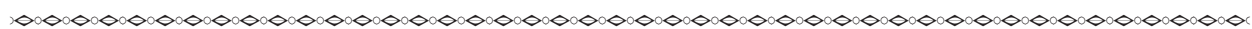
GUANGDONG JOURNAL OF ANIMAL AND VETERINARY SCIENCE

Established in march 1976(Bimonthly)

Feb.2012 Volume 37,Number 1 (Total No.161)

Main Content

- Annual Review 2011 and outlook 2012 for pig market*Yu Hua, Yu Lina(1)
- Research progress on vaccines against porcine reproductive and respiratory syndrome virus*
.....Zhong Wang, He Dongsheng(6)
- Research progress on Bluetongue disease*.....Weng Shangang(10)
- Roles of antioxidants and trace-elements in immune functions in transition of dairy cows*.....
.....Yang Fengli, Li Xiaoshan, et al(19)
- Applications of intelligent sow-herd management system*.....Yan Jianzhong, Feng Fangcao, et al(22)
- Investigations and countermeasures for high incidences of pig disease in some areas*.....
.....Cao Changren, Wu Tongshan (24)
- Preliminary study on the improvement of medium for Pasteurella multocida type A*
.....Wu Guosheng, Luo Zhenfan, et al(26)
- The influence of sterilized regular chicken feeds and sterilized special feeds for SPF chickens on the
jelly-like situation of serum*.....Pan Weilan(28)
- Development of the fluorescent quantitative PCR method for detecting Pseudorabies virus wild strains*
.....Tian Yun, Sun Yanwe, et al (31)
- The development of the trivalent inactivated vaccine in propolis-adjutant against Streptococcus groups
C, D and E*.....Yu Lingna, Huang Jie, et al (35)
- Effects of herb feed additive San Huang San on growth performance in AA broilers*.....
.....Wu Jianzhong, Li Lvxiang, et al (39)
- Comparison of two thoracic surgical approaches on the construction of canine right heart failure model*•••
.....Tan Wanhong, Xiong Huijun(41)
- One case report on cat saddle thrombus*.....Luo Qianyi, Lai Kongji, et al(44)
- Ultrasound diagnosis of one cat intestinal perforation by foreign bodies*.....
.....Wu Zhongheng, Zhang Yingying, et all(47)
- The development of ecological and healthy feeding model, pig-methane-fruits and its effects*.....
.....Cen Xinghong, Zhong Jianqiao (49)



Sponsored by:Guangdong Association of Animal Husbandry
and Veterinary Medicine,Institute of Animal
Science and Institute of Vererinary Medicine,
GuangdongAcademyof AgriculturalSciences.

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

Chief Editor:JIANG Zong-yong

Vice Chief Editor;SUN Yanwei
Editor Add;135 Xianlie Dong Lu, Guangzhou P.R. China
Post Code: 510500
Tel;(020)37245052 37288167
Fax:(020)37245052
E-mail:gdxmsy@163.com gdxmsy@163.com

2011年生猪市场回顾及2012年形势展望

虞 华, 虞丽娜

(国家统计局盐城调查队, 江苏 盐城 224005)

摘要:“猪粮安天下”。猪肉安全与粮食安全一样,始终是关系农村经济发展和社会安定的根本问题。但长期以来中国的生猪养殖和宏观经济都深陷“猪周期”,“一头猪拱伤宏观经济”可谓一语中的。作为世界养猪大国,养猪业在中国具有举足轻重的地位。探寻生猪供需的深层次因素,分析生猪的市场规律,研究其价格走势,无论对于生猪养殖业还是整体宏观经济来说,都有着非同寻常的意义。

关键词: 养猪业; 价格走势; 经济发展; 宏观调控

中图分类号: S8-1

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)01-0001-05

近年来,我国部分农产品价格先后出现全国范围的大幅异常波动,暴涨暴跌。这种价格的异常波动给农产品市场带来了极为不良的影响,也直接加重了百姓负担,在社会上引起了极大的关注。2010年,我国部分农产品先后上演“直上云霄”好戏,价格涨势凶猛,表现十分“威风凛凛”。部分网民纷纷调侃这些平常不起眼的小宗农产品,给它们冠上了极为“威风”又不失生动的名字:“豆你玩”、“蒜你狠”、“姜你军”……,2011年“花你钱”又横空出世。2011年下半年,犹如出了一部将2010年农产品价格猛涨情节倒过来再上演一遍的故事片,多宗农产品价格出现逆转,几度探底打破成本线。山东生姜从9元/kg跌至0.8元/kg,内蒙古土豆滞销卖难,海南、广西水果蔬菜销路不畅……农产品暴涨暴跌的怪圈依旧没有破除。

面对持续上扬的物价,2011年底的中央经济工作会议明确提出,2012年经济工作的总基调是“稳中求进”。要求保持物价总水平基本稳定,保持社会大局稳定。估计2012年农产品价格并不会失控。总体看,2012年猪价会比2011年平稳,仍将维持高位。呈季节性波动,两头略高,中间略低,养猪收益水平回归,符合正常年景走势。上半年生猪价格仍会保持在16元/kg左右波动,不会出现2010年上半年深度下跌局面。从各个层面分析,预测2012年生猪价格会维持在14元/kg以上。

1 2011年生猪生产呈现持续增长态势

2011年,全国生猪生产及其产品市场价格总

体向好,在价格的带动下生猪生产呈恢复性增长,并逐步恢复到2010年初水平,特别是春节过后一反往年节后价格渐次走低的规律,节前节后猪肉价格一路攀升,从2010年6月底开始生猪价格连续16个月呈增长走势,一举突破2008年2月的生猪及产品价格的最高纪录。但值得关注的是从2011年10月中旬开始生猪存栏及生猪价格出现波动,下降走势明显,特别是肥猪出栏价格急剧下降,引起养殖户普遍担忧。12月中旬随着冷空气过后,猪价又重拾涨势,开始逐日攀涨。

1.1 生猪养殖积极性逐步恢复

生猪价格持续上涨带动了部分养猪户的补栏热情。根据“前期的母猪补栏、存栏决定远期生猪供应”这一原理分析,从2010年2月份开始生猪存栏(包括能繁母猪)出现增长,许多养殖场(户)商品仔猪补栏积极性较高,大型养猪场扩大生产意愿强烈。据农业部统计数据,2011年12月我国生猪存栏量为47334万头,月环比下降0.61%,与2010年同期相比,增长5.09%;能繁母猪为4928万头,月环比增长0.47%,同比增长1.52%。从生猪生产关键要素来看,全国能繁母猪仍保持较高水平,如不发生重大疫情,能保证后期生猪生产发展动能。见图1。

1.2 价格高位回落

2011年全国肥猪出栏价格平均为16.59元/kg,同比上涨45.7%;其中11月份肥猪出栏价格平均为16.40元/kg,环比下降10.2%,连续2个

呈下降走势,但同比上涨 19.2%;价格最高点出现在 9 月份,均价达到 19.34 元 /kg,市场曾一度超过 20 元 /kg,创历史新高。猪肉价格走势基本一致:2011 年全国猪肉价格平均为 25.03 元 /kg,同比上涨 42.8%;其中 11 月份猪肉价格平均为 27.26 元 /kg,环比下降 3.7%,连续 2 个月下降,但同比上涨 35.2%,肉价最高点也在 9 月份,均价达到 28.79 元 /kg。见图 2。

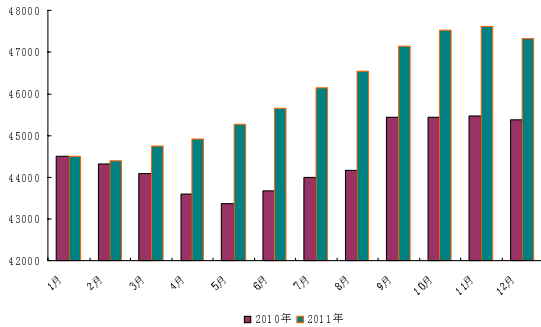


图 1 2010 年及 2011 年各月全国生猪存栏数比较 (万头)

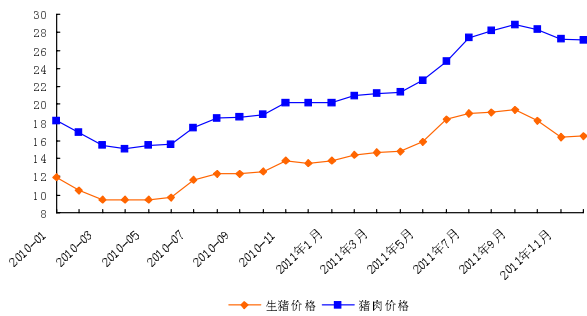


图 2 2010 年以来全国生猪、猪肉价格走势图 (元/kg)

1.3 保持良好盈利水平

2010 年上半年生猪价格持续下跌,养殖户开始亏损,下半年开始生猪价格保持上涨态势,生猪养殖盈利持续增加,至今保持良好的盈利水平。2010 年自 2 月跌破 6 : 1 的盈亏平衡点后持续下降,其中 4、5、6 月份连续 3 个月低于 5 : 1。6 月下旬后开始回升,7 月回升至 5.84,8 月重回盈亏平衡点后继续保持涨势,2011 年 3 月底后猪粮比价一直保持在 7 以上,8 月猪粮比达到了 8.48 : 1,11 月份虽然猪价下跌较多,让养殖户感到有些紧张,猪粮比价仍在 7 以上。据养殖户反映,11 月份的价格水平,每头出栏肥猪仍可盈利 300~500 元,特别是 8-9 月份,每头盈利在 800 元以上。见图 3。

2 2012 年整体走势平稳,猪价将维持高位

在成本和供需的拉动之下,猪肉价格和出栏肥

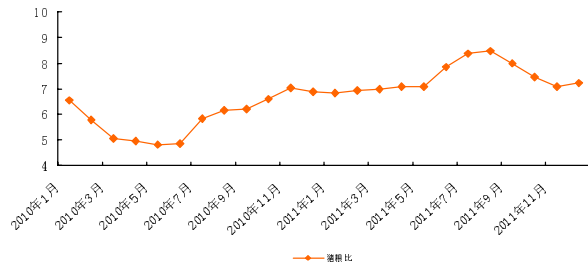


图 3 2010 年以来全国猪粮比走势

猪价格于 2011 年 9 月份创出历史新高后,在 10 月、11 月有所回落,但生猪养殖利润仍保持在 300~500 元 / 头,将极大提高广大饲养者的积极性。估计在目前母猪存栏量、农民养猪积极性以及新型养殖技术推广等因素的作用下,如果不发生大的疫情和自然灾害,2012 年虽处于大周期的下滑通道,整体价格以平稳下降为主,但不会出现 2010 年上半年深度下跌局面,波动幅度将远小于 2011 年,猪价仍将维持高位。从各个层面分析,预测 2012 年生猪价格会维持在 14 元 /kg 以上。但猪价走势究竟如何还是要看供求关系和生猪疫病防治。

预计在 2012 年春节前后本轮猪价或再度达到小高点而后调整,拐点最早或将出现在 2012 年 2 月。2012 年上半年,生猪市场供求关系将得到改善,价格将是持续下跌走势,二季度可能是全年价格的谷底,上半年育肥猪价格仍会保持在 16 元 /kg 左右波动,7 月底至 8 月初,市场可能走出底部并出现反弹,反弹的高点可能达到 18 元 /kg,但高价格持续的时间会非常短暂;三季度末价格将再次小幅下行;四季度随着节日及消费旺季的来临,猪价或将再度出现反弹。主要依据是:

2.1 生猪高价下养猪未出现“一哄而上”的现象

生猪供需关系变化是影响市场生猪价格出现波动的主要原因之一。2011 年 7-9 月份生猪价格连创新高,关键原因是生猪供应偏紧。一般而言,生猪存栏量较少,引发“价变”,指生猪价格的超预期攀升,带来高额的利润,必然刺激生猪生产的快速发展,养猪的增多,同时规模养殖户补栏增加。经过一个饲养阶段,生猪出现“量变”,指存栏、出栏量大幅增加。但从调查情况来看,从 2010 年下半年生猪价格回升以来,养殖户的数量并没明显增加,农户养殖更趋于理性,即使在前期高利润的刺激下,虽然有些新人加入养猪队伍,但并没出现“一哄而上”都去养猪的情况,养猪的积极性远没

有 2008 年那么高。能繁母猪增长并不明显,但仍处在一个合理水平范围之内,农业部统计数据显示,2011 年 12 月末我国能繁母猪为 4 928 万头,比上年末增长 1.52%。

2.2 规模养殖虽已占主导地位,控制市场价格能力还不是很强

规模化生猪生产是生猪养殖发展的趋势和方向,但规模化的推进需要一定的时间和过程,而散养这一传统养殖方式,有群众基础,今后很长一段时间内还将与规模化养殖并存。多年来,针对生猪生产的周期性波动,各地区和相关部门做了大量工作,最重要的是发展规模化养殖。为了提高规模化养殖比重,各地纷纷建立规模化养猪场,积极扶持“公司+农户”的合作关系。目前,家庭散养逐渐减少,规模饲养已成为主要生产方式,全国生猪规模养殖比例已达 60%以上。为什么规模化养殖迅速发展后,“猪周期”的波动仍不见降低呢?根据有关国家经验,当规模化养殖占到市场份额的 80%以上时,“猪周期”的波动幅度才会大大降低,因为只有把流通领域的问题一并解决了,特别是转变传统的流通方式,“猪周期”的波动才可能平缓下来。

2.3 养猪业的高成本时代已经来临,支撑猪价处于较高水平

14 元/kg 是一个微利价格,这个价格处于盈亏平衡点附近;2011 年 12 月 15 日玉米均价达到了 2.3 元/kg,与去年同期相比上涨 16.3%。与此同时,受全国用工荒影响,养殖业人工工资也不断上涨,再加上运输、保育等支出增加,造成养殖成本进一步增加。与上年比较,劳动力工资、水电、运输和药品等费用均高出了 20%~30%。此外,全国上下物价一片涨声,生猪价格在客观上也有上涨的内在要求。饲料紧缺和人力成本上升,导致综合生产成本高企,这正成为生猪养殖面临的一块坚冰。目前在生猪生产方面,对成本影响比较大的两个突出问题是“无料养”和“无人养”。未来我国畜牧业的总体形势是产需矛盾将更加突出,尽管未来需求继续刚性增长,但生产受到诸多棘手因素的困扰。所谓“无料养”,即饲料资源特别是粮食安全将长期困扰包括生猪在内的畜牧业的发展。2010 年,中国进口大豆达到 5 400 万吨,玉米 150 万吨,豆粕、鱼粉等主要蛋白饲料资源进口依存度超过 70%;饲用玉米供应已从供求平衡转向供应

偏紧,并在 2010 年开始表现为净进口。饲料粮问题将成为我国粮食安全的主要问题。而“无人养”即农村劳动力短缺对畜牧业的影响已经显现。据调查显示,农村劳动力经常面临从事畜牧业还是外出打工的选择。在城镇化和工业化加速发展的情况下,很多农村劳动力坚决选择进城,这导致散养户大量退出。以前养猪是看是否有钱赚,即“养猪不赚钱、回头看看田”,现在养猪则是看“和外出打工相比哪个更赚钱”。尽管每户养殖的生猪数量不多,但加起来的数量相当大。

2.4 国家对物价的调控已显成效,物价总体下跌的可能性也不大

2011 年稳定消费价格总水平、保障群众基本生活工作已取得初步成效,但引发价格上涨的根本原因仍未消除。今后一段时间,中国价格运行的环境将更趋复杂,面临的挑战将更为严峻,消费价格总水平上行压力仍然较大。

3 值得关注的问题

导致猪价高走的原因很多,而市场周期长,养殖中疫情困扰是生猪价格攀高的不容忽视的因素。

3.1 生猪疫病影响猪价

如果 2012 年春季疫情控制得不好,生猪价格仍有可能重新回到 20 元/kg 附近。生猪价格的大幅涨跌在很多时候都与生猪疫情相关。生猪养殖最敏感最头痛的就是疫病,近年来生猪疫病的频繁发生也成为影响生猪供给的幕后杀手。疫病在 2007 年引发了养猪行业生产关系的调整即散养户的快速退出,在 2011 年则引发了生产力的调整即供应量的下降。而在这两次调整之后,猪价分别突破其前期的历史高点。一次大的生猪疫病往往造成养殖户血本无归。目前规模养殖户防疫成本每头 40~100 元不等,而散养户则很少,有些疫病则是散养户防疫投入不足造成的。一般来说,疫情流行周期是 2~3 年,疫情发作时,政府和养殖户都加大防疫投入,疫情稳定或消失时,生猪存栏就会不断增长,生猪价格逐渐下跌,此阶段往往防疫投入减少,又造成生猪“死淘率”上升,市场短缺,猪价暴涨。可以说,生猪疫情周期是“猪周期”的主要原因。

3.2 生猪价格涨跌的周期明显缩短

从近几年情况分析:2006 年 5 月至 2009 年 4 月的一个周期(36 个月),生猪价格经历了谷底(2006 年 5 月)-顶峰(2008 年春节期间)-下滑

(2009年4月);2009年5月至2010年6月为调整阶段(14个月),经历了谷底(2009年5月)-恢复性上涨(2009年7-11月)-调整(2010年春节期间)-下滑(2010年4月)-止跌回稳(2010年6月);从2009年5月至2010年6月生猪价格走势来看,调整阶段仅为14个月,生猪生产周期中常见的谷底-恢复性上涨-顶峰-下滑的特点在调整阶段不是非常明显。但2010年6月作为一个生猪价格底部区域却较为明显。2010年7月-2011年6月为恢复上涨-加速攀升阶段(12个月),经历了恢复性上涨(2010年7月至2011年5月),加速攀升(2011年6月)过程。

3.3 正确有力的舆论导向作用不足,新闻媒体的作用还有待发挥

百姓对市场上猪肉价格的异常波动如何理性看待,这就需要有正确的舆论导向来引导,如果缺乏正确的引导,极易造成百姓恐慌,造成价格的不稳定。所以政府职能部门应当加强引导正确舆论导向,充分发挥新闻媒体的重要作用,在加大对与物价密切相关情况的宣传报道力度的同时,积极引导社会各方客观看待生猪及猪肉价格波动的影响,理性对待市场的变化。强化监督新闻媒体客观报导价格变动情况,坚决查处不负责任、失真的新闻报导。

4 构建和完善生猪产销稳定发展长效机制的设想

目前在我国养猪业是一个充满竞争的行业,同时也是一个比较特殊的行业。受人们生活习惯的影响,我国大多数居民有消费猪肉的习惯,决定了其是一个不可消失的行业;同时,它不像其它产业能说停产就停产,赔钱也得养下去;养猪的分散性决定了其不能形成垄断效应;当今养猪业的主体仍是农民,农民目前还是弱势群体。因此,生猪养殖过程不能完全市场化。生猪养殖政策应从生产、市场两方面构建和完善产销稳定发展的长效机制,避免猪价的大起大落。

4.1 建立和完善稳定生猪生产和流通的长效机制,转变“重生产、轻流通”的观念

一是要测算确立科学的生猪生产盈亏预警点,要根据生猪生产和市场波动的周期性规律以及国内外应对生猪波动的经验,对生猪波动实行反周期逆向调控政策,建立生猪生产预警机制,使国家启动生猪政策能有一个科学的依据。长期以

来国家设定生猪盈亏点是猪粮比价6:1,主要是指生猪出栏价与玉米批发价的比值。这一盈亏点有一定的缺陷。因为目前猪饲料一般由几种主要原料组成,从仔猪到成猪不同阶段需用不同的配料比例,每一比例所需的玉米、豆粕、麸皮、预混料的数量不等,仅以玉米为参考不能真实反映投入产出情况。另外,经常上涨的人工成本以及仔猪的成本未能包含在内。二是要积极探索有利于生猪生产稳定发展的调节机制。国家生猪收储政策应借鉴粮改经验,建立类似粮食收储机制,实行生猪保护价。当猪价下跌至盈亏线以下,采取保护价收购。当供应不足导致价格上涨时,养殖户可以获得更多收益。当猪肉价格高于政府支持价时,国家可将补贴这笔钱拿来补贴城镇居民。三是加快建立现代化肉类批发市场和购销体系,积极引导企业特别是国有企业参与肉类营销体系建设。长期以来,我国的生猪生产是“小而散”,生猪和猪肉的流通也是“小而散”。在生产问题引起重视、规模化养殖获得较快发展的同时,流通状况并没有多少改变。猪贩和农贸批发市场一直充当生产者、零售商与消费者对接的主要角色。现在这个角色已经越来越难以适应大生产与大市场,面对“猪周期”更是无能为力。国际经验表明,小流通只能带动小生产,大流通才能带动大生产,现代流通则带动现代生产。随着我国经济的发展特别是转入过剩经济状态之后,情况就变了,流通逐渐成为先导环节,流通带动生产,只要产品能够销售出去,生产不成问题。在解决“猪周期”的问题上,我们应当有全面和长远的考虑,统筹兼顾,制定科学的发展规划,并一以贯之地实施。不能等市场供求出了问题就关注,一旦市场平稳后就撒手不管。

4.2 建立稳定的持续的财政保障支持体系

国家和各级地方政府,要遵循市场经济规律,利用市场功能调节余缺,补贴和扶持政策应保持连续性,明确各方投资主体对生猪养殖预期。一是建立持续的能繁母猪补贴制度的政策。由于生猪生产链中能繁母猪是生猪产业健康发展的基础,加大对能繁母猪的财政补贴力度十分重要。从过去的实践中,可以看出,只要国家实行了这一政策,养殖户就像吃了颗定心丸,就有了养殖信心和积极性。保费的补贴标准也要提高,使赔付能力能达到3200元以上,要能基本含盖一头能繁母猪

的价值。二是扩大免费防疫的范围。目前我国只对生猪口蹄疫、蓝耳病、猪瘟三种疾病实行免费防疫, 免费防疫的面有些狭窄, 范围需要进一步扩大。三是国家应设立专项资金, 定向扶持种猪基地建设。养猪生产中, 成熟的原猪种保优与繁育及种猪质量才能保证生猪生产品种的优良性能。四是应将生猪养殖户所购置的固定资产纳入政策补贴范围。近些年来国家对种粮农民实行了各种补贴政策, 对农民购买家电也给予了一定比例 (13%) 的财政补贴, 这些政策的实施效果非常显著。但生猪养殖户购置固定资产 (显微镜、恒温箱、消毒机等), 国家却没有相关的扶持政策。国家财政可将支农惠农政策延伸到畜禽养殖, 以减轻或分担养殖户的经济负担。

4.3 推动生猪期货上市, 实行透明市场化, 化解价格“非理性”波动

生猪期货作为一种金融手段, 是实现农户和企业规模化、专业化生产的好办法, 能帮助养殖户、屠宰厂、加工企业有效规避价格波动风险, 锁定预期利润, 更可以吸引更多各层次的投资者积极入市参与交易, 活跃期货市场。从而为增强我国

在国际生猪贸易中的“话语权”, 甚至能为形成全球生猪定价中心提供推动力。同时, 生猪期货的推出与粮食期货形成有效互补, 形成涵盖主要农畜产品的较为完整的农产品期货体系, 从而进一步提升我国农业产业化水平。再者, 生猪期货可以通过对交割品种的标准化规定, 鼓励优良品种的推广, 并藉此助推生猪产业的升级。此外, 生猪期货的完全市场化定价机制对于淘汰规模不经济的生猪养殖户, 调整大型养殖场的养殖规模, 推进“公司+农户”等集约化生产模式具有促进作用。期货市场可以确保价格透明, 最终保护养殖者的利益, 使养殖户“先卖后养”锁定收益, 同时也增加了国家宏观调控的一个重要渠道, 避免“猪贱伤农”、“肉贵伤民”、“贵贱扰国”的猪周期出现。

从微观的视角来看, 农户和养殖场根据期货价格信号及时了解未来的生猪市场价格走势, 合理调整养殖规模和饲养周期, 以减少经营的盲目性, 提前锁定销售价格, 稳定养殖收益。另一方面, 加工商和贸易商通过期货交易, 分批购进生猪, 保障原料稳定供给, 提前锁定采购成本, 保证生产经营的正常开展。

2012“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 2012 年度“永顺杯”优秀论文。本刊将组织评委会专家进行评审, 对获奖的优秀论文作者颁发证书及奖金。评选结果将于本刊 2013 年第 1 期公布。

1、**评选范围:** 本刊 2012 年度 1-6 期发表的文章。

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

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

欢迎广大畜牧兽医工作者踊跃投稿

《广东畜牧兽医科技》编辑部
二〇一二年一月十六日

猪繁殖与呼吸综合征病毒疫苗研究进展

钟 望, 贺东生*

(华南农业大学兽医学院 广东省人畜共患病重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要: 猪繁殖与呼吸综合征是影响养猪业生产的重大传染病, 当今主要通过综合措施防控该病, 疫苗免疫是其中的重要一环。本文综述了目前主要使用的灭活疫苗、弱毒疫苗、活载体疫苗和基因疫苗4类疫苗, 并展望了未来 PRRS 疫苗的发展方向。

关键词: 猪繁殖与呼吸综合征; 疫苗; 研究进展

中图分类号: S852.65

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)01-0006-04

猪繁殖与呼吸综合征(Porcine reproductive and respiratory syndrome, PRRS)俗称“猪蓝耳病”,是由 PRRS 病毒(PRRS virus, PRRSV)引起的猪的一种烈性接触性传染病。其临床特征主要表现为母猪严重的繁殖障碍, 断奶仔猪肺炎的高发生率、生长的迟缓以及死亡率的增加等^[1]。猪是 PRRSV 的唯一自然宿主,且不同年龄、品种、性别的猪均可感染,妊娠母猪和哺乳仔猪受害最严重,育肥猪则较温和。目前尚未见其它家畜和动物发病的报道。感染动物和精液已经被确认为 PRRSV 的最主要传染源(LePotier, et al. 1997),其它如运输中猪只活动、缺乏生物安全措施的保障等亦是比较明显^[2]。该病最早于 1987 年发生于美国的北卡罗纳、衣阿华等州,随后在短短的几年时间内,迅速遍及全球各养猪业发达的国家和地区(北美洲,1987;欧洲,1990;亚洲,1991)。1991 年,荷兰科学家 Wensvoort 博士首次从感染猪体内分离到该病毒,并命名为 Lelystad 病毒(LV)。1992 年美国研究人员用 CL2621 细胞也分离到 PRRSV,并命名为 VR-2332 毒株^[3]。1996 年,郭宝清等^[4]首次在国内暴发 PRRS 猪群流产胎儿中分离到 PRRSV,从而证明 PRRSV 存在于我国。我国流行的 PRRSV 毒株主要为北美型。

PRRS 病毒为单股线性正链 RNA 病毒,有囊膜,直径 50~65 nm,其基因组全长约 15 kb,不分节段,有 9 个互相重叠的开放性阅读框(ORFs),其中 ORF6 编码的 M 蛋白为最保守蛋白(Mardassi 等, 1995),同时, M 蛋白也被证实有最强的细胞免疫原性(Rowland 等, 1999)。2006 年 6 月开始,我国多个省份暴发了“高热病”,据不完全统计,仅在当年的 6~9 月,即有发病猪约 200 万头,死亡 40

余万头,给我国养猪业造成了巨大的经济损失^[5]。通过分离株的全基因组测序分析,推测该病的病原——“高致病性 PRRSV”是由基因 II 型 PRRSV HB-1 毒株基因变异而来,且主要是 GP5 的广泛氨基酸突变和 Nsp2 的 30 个氨基酸的缺失所致。近年来,PRRSV 对我国养猪业的影响仍然巨大,严重制约了我国生猪养殖的发展。

由于至今仍没有治疗 PRRSV 感染猪的特效药,所以综合防控成为控制该病的主要手段,其中疫苗是其中重要的防控手段。但是近几年来,由于个别弱毒苗在某些国家的使用,可能造成了 PRRS 的暴发,一些学者对从这样的猪场分离到的 PRRSV 及疫苗毒进行了序列测定与分析,表明疫苗毒在选择压力的作用下,会发生毒力返强突变。目前用于预防 PRRS 的疫苗主要有经典株 CH-1a 灭活疫苗^[6]、经典株弱毒疫苗和美国的 RespPRRS/Repro 弱毒苗以及变异株弱毒苗如 JXA1-R 株等。但经典株(CH-1R)活疫苗对 HP-PRRS 的交叉免疫保护效果不甚理想,现今研究的焦点集中在基因工程疫苗和培育安全高效的弱毒疫苗上,且近几年来研究取得了很大的进展。

1 PRRS 灭活疫苗

PRRS 灭活疫苗主要用于预防母猪感染 PRRSV,因其有安全性好的优点。攻毒试验结果表明,母猪繁殖性能、产仔数、断乳后仔猪存活数明显提高,同时流产率、死胎数等指标都有明显下降^[7]。Plana-Duran 等(1997)报道应用西班牙毒株研制成一种灭活油剂疫苗,用于保护母猪,后续试验表明其对怀孕母猪的保护率达到了 70%,经 50 万头份的田间试验证明其安全有效。加拿大 Wootton 等

(2000)的研究发现使用 PRRSV 灭活苗免疫猪后,可以刺激猪产生针对 ORF5、ORF6 和 ORF7 编码蛋白的抗体,而且可以减少猪病毒血症,同时,剖检结果表明接种灭活苗后的试验猪肺部病变明显轻于未接种的试验猪。因此,他认为 PRRSV 灭活苗能为猪提供安全有效的保护。我国占松鹤等^[8]对 3 种国产灭活疫苗进行了比较,发现部分国产灭活苗副反应较大,抗体最早产生时间从 14~90 天不等,抗体维持时间在 15~30 d,可以看出国产灭活疫苗还不能提供稳定有效的保护。灭活苗以其不会返强,不散毒而普遍用于母猪,但是灭活苗也有其缺点,如免疫需要剂量大,次数多,免疫抗体产生需要的时间长,造成了其免疫效果不是很明显。灭活疫苗采用全病毒包被,不可避免存在的异体蛋白,易引起变态反应,家畜免疫注射后应激反应较大,养殖户也认为风险太大,所以一般不用来免疫仔猪,因此单靠灭活苗不可能清除猪场的 PRRS 病毒。

2 PRRS 弱毒疫苗

与灭活疫苗相比,弱毒疫苗诱导的免疫反应持续时间长且更有效,且弱毒苗产生抗体快速,能激活细胞免疫和体液免疫,在受 PRRS 威胁的区域或者老疫区可以有效控制病毒的蔓延。国内外很多公司都研制了 PRRS 弱毒疫苗并已成功商品化。弱毒疫苗在市场中的占有份额也在逐步上升,但个别弱毒疫苗的安全性令人担忧,不但有毒力返强的危险,还有可能在体内发生病毒重组变异,而且免疫猪可能会持续散毒,从而威胁其它健康猪只。Nielsen 等^[9]发现在应用 PRRS 弱毒疫苗的猪群中,从胎猪、死胎和死亡仔猪中均分离到了 PRRSV,且分离到的病毒与疫苗毒同源,这表明了免疫母猪可能向非免疫母猪散毒,扩散的病毒会引起母猪严重的繁殖障碍,其临床表现与自然 PRRSV 感染相一致。何玲等^[10]报道了将 PRRSV 变异株的核苷酸序列与古典美洲株 PRRSV 的核苷酸序列进行比较,获得 PRRSV 的缺失变异信息,在此基础上设计变异株的特异性检测引物;另外,根据 PRRSV 疫苗毒 JXA1-R 的遗传标志(Tian 等,2007)设计了 1 对疫苗毒的特异性检测引物。结合 RNA 抽提试剂和一步法 RT-PCR,建立了 PRRSV 变异野毒与疫苗毒的快速鉴别体系,该方法的建立对临床上区分 PRRSV 活疫苗免疫猪和野毒感染猪有重要意义。1995 年国外某公司推出第一款商品化弱毒疫苗 Resp PRRS,可供各阶段猪群使用。现国内

已有数种弱毒疫苗上市,如 V2332 株弱毒苗,CH-1R 株弱毒疫苗,高致病性蓝耳病(PRRS)活疫苗(JXA1-R 株),人工弱化的高致病性 PRRSV 毒株 HuN4-F112 等,其中 JXA1-R 毒株弱毒苗由于其安全性和交叉保护力强而在国内广泛使用。由于近年来 PRRSV 流行情况严重,弱毒疫苗能引发更好的免疫效果。因为疫苗毒能在猪体内繁殖,所以保护时间长,因此目前在暂时没有更好替代方法防控 PRRS 的情况下,PRRS 弱毒疫苗对于防控 PRRS 暴发有积极的作用。目前弱毒疫苗的部分研究方向还亟待推进,比如各种弱毒疫苗的效力、安全性、免疫机制以及最佳免疫程序等。同时,由于 PRRS 毒株变异情况较严重,所以导致致病毒株众多,不同异源性毒株的交叉保护性尚待解决^[11]。研究表明,母猪有通过胎盘传播疫苗病毒给仔猪的可能性。中国农业科学院特产研究所武华研究室在高致病性 PRRSV 的传代时,分离出 1 株自然基因缺失株(TJM-F92),与其亲代毒株相比,其致病力明显下降,在动物试验中发现此毒株不但能提供较好的免疫效果,而且不传染同舍的易感猪。

3 PRRS 活载体疫苗

活载体疫苗是通过在细菌或病毒(通常是弱毒株)上用基因工程技术添加某个外源基因使之可以在动物体内表达的活疫苗。PRRS 的活载体疫苗的载体主要有腺病毒和伪狂犬病病毒等,由修饰后的腺病毒或伪狂犬病病毒在体内不断表达 PRRSV 的目标蛋白从而使免疫动物产生对 PRRS 的抵抗力。该类疫苗免疫动物向宿主免疫系统提交免疫原性蛋白的方式与自然感染时的真实情况很接近,可诱导体液免疫和细胞免疫,甚至黏膜免疫,所以可以避免灭活疫苗和弱毒疫苗的很多缺点。如果载体中同时插入多个外源基因,就可以达到一针防多病的目的,因此成为 PRRS 疫苗的研究热点。李玉峰等^[12]用 RT-PCR 法将国内分离的 PRRSV S1 毒株的 GP5 基因插入腺病毒穿梭载体(pShuttle-CMV),经与人腺病毒血清 5 型载体(pAd-Easy-1)同源重组,成功构建 PRRSV GP5 蛋白的重组腺病毒。蒋文明等^[13]为了更好地发挥 PRRSV M、GP5 的抗原活性以及协同作用,将 PRRSV 的结构蛋白 M 与 GP5 串联插入腺病毒表达系统表达,为 PRRSV 的活载体疫苗研究提出了新的路径。仇玉等^[14]报道用 3 株构建好的分别表达猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)GP5 蛋白,M 蛋白和 GP5-M

融合蛋白的重组鸡痘病毒接种 BALB/c 小鼠进行免疫学实验, 对其诱导小鼠产生体液免疫和细胞免疫反应的潜力进行了评价。结果表明, 表达 GP5-M 融合蛋白的重组鸡痘病毒相对于其他各组能够刺激免疫鼠产生高水平的特异性中和抗体和 ELISA 抗体; 显著促进 IFN- γ 的分泌和特异性 T 淋巴细胞增殖, 提示表达 GP5-M 融合蛋白的重组鸡痘病毒可显著增强小鼠的体液免疫和细胞免疫, 这为防治 PRRSV 感染的新型疫苗研究提供了新的思路。活载体疫苗由于其克服了灭活苗和弱毒苗的部分缺陷, 可以同时启动机体细胞免疫和体液免疫, 有实现一苗防多病的可能性, 具有良好的研究和应用前景^[15]。

4 PRRS 基因疫苗

由于猪繁殖与呼吸综合征病毒的一些特性, 如侵害免疫系统、引起持续性感染、具有抗体依赖性增强作用、可以发生变异和重组等, 所以使 PRRSV 的常规疫苗难于发挥理想的作用。PRRSV ORF4、ORF5、ORF6 和 ORF7 的单基因 DNA 疫苗都能使猪产生免疫应答, 并能在一定程度上抑制 PRRSV 的复制^[16]。其中, ORF5 是研究的热点, ORF5 编码的 E 蛋白是 PRRSV 的 3 主要的种结构蛋白 (E、M、N) 中唯一的糖蛋白, 也是 PRRSV 最主要的保护性抗原蛋白。Pirzadeh 等^[17]在小鼠和猪体内接种 PRRSV GP5 蛋白的 DNA 疫苗证实此疫苗诱导产生了病毒特异性的体液免疫和细胞免疫, 接种猪产生了抗 ORF5 的特异性中和抗体; 攻毒试验中使用 PRRSV IAF-K1op 株攻毒, 使用此 DNA 疫苗免疫的猪没有出现广泛的病毒血症, 而且肺部病变明显轻于对照组的猪, 这项试验同时证明 GP5 有很好的免疫原性。程安春等^[18]将 PRRSV SC2 株 ORF5 基因插入 pcDNA3.1 载体, 构建了真核表达质粒 pcDNA-PRRSV-SC2-ORF5, 转染 Marc 145 细胞后, 第 26 h 检测到疫苗蛋白的特异性表达, 第 56 h 达到高峰。此疫苗免疫小鼠和仔猪后能迅速分布到各组织器官中, 使仔猪产生体液和细胞免疫应答, 免疫期持续 135 d 以上, 并有较好的安全性。除了上述的单基因疫苗, 很多科研工作者把目光转向了复合基因疫苗, 即将除 ORF1 以外的其它开放性阅读框基因与 ORF5 结合构建成真核表达质粒, 以增强 ORF5 的免疫原性。赵永刚等^[19]利用重组 DNA 分子技术分别构建 ORF4 与 ORF5、ORF6 与 ORF5、ORF7 与 ORF5 的真核表达质粒, 用这些复合

表达质粒免疫实验猪后可以检测到细胞免疫应答和体液免疫应答。任慧英等^[20]将表达 PRRSV GP5 的 DNA 重组质粒分别与表达猪 IL-2 和 IL-4 的重组质粒联合免疫实验猪, 检测发现重组质粒可提高诱导中和抗体的水平, 并明显增强细胞免疫反应。动物试验结果表明, 表达 PRRSV GP5 的 DNA 重组质粒可诱导一定免疫效力, 有开发成 DNA 疫苗的价值。这项研究表明白细胞介素 2 和白细胞介素 4 可作为 PRRSV GP5 DNA 重组质粒的免疫佐剂。陈希文等^[21]将实验室制备的 ORF5 基因疫苗 (pcDNA-PRRSV-ORF5) 以基因枪和肌肉注射两种免疫途径免疫实验小鼠, 结果表明小鼠在免疫后能产生良好的体液免疫和细胞免疫应答, 表现一定的剂量依赖性, 且基因枪法免疫较肌肉注射能更好地诱导体液免疫应答的产生。

5 展望

由于 PRRSV 感染后免疫反应的复杂性和它的免疫逃避能力, 造成了其疫苗开发上存在困难。一种理想的疫苗应该满足以下四点: 有效性、安全性、通用性和区分免疫和野毒感染。现在主要使用的 PRRS 疫苗中, 灭活苗虽然较安全, 但免疫的剂量大, 次数多, 造成应激较大, 且抗体产生需要时间长, 又由于疫苗毒不能在体内繁殖造成抗体维持时间短等缺点; 虽然如 JXA1-R 株弱毒疫苗有很好的安全性和交叉保护力, 但另外一些弱毒疫苗又有散毒, 毒力返祖, 与野毒基因整合变异等危险; PRRS 基因工程疫苗可以克服弱毒疫苗和灭活疫苗的部分缺点, 特别是核酸疫苗不仅能引起体液免疫和激发较强的细胞免疫, 而且其生产工艺简单, 稳定性好, 成本低, 便于贮藏, 不具有感染性, 不会出现毒力返强等安全问题, 但就目前看来, PRRS 基因工程疫苗还不太成熟。PRRSV 的保护性抗原中, ORF5 和 ORF4 基因编码的蛋白具有诱导产生中和抗体的能力, 其中又以 ORF5 编码的 GP5 蛋白为主要靶蛋白^[22]。由 ORF3、ORF6 主要编码的蛋白具有诱导产生细胞免疫的能力, 其中以 ORF6 编码的 M 蛋白激发最强的细胞免疫^[23]。但是单一的基因疫苗往往不能产生足够的保护力, 所以, 应选择适当的分子佐剂来刺激产生更强的免疫应答, 增强疫苗的免疫效力。继续研究寻求快速、准确、特异的诊断方法和安全高效的疫苗, 将是控制以至消灭 PRRS 的主要手段。

参考文献:

- [1] Straw B E, Zimmerman J J, D' Allaire S, et al. Diseases of swine[M]. 9th Edition. Blackwell Publishing, 2006.
- [2] 赵鹏. 猪繁殖与呼吸综合征病毒在抗体选择压下的变异[D]. 山东农业大学, 2010.
- [3] Collins J E, Benfield D A, Vhristianson W T, et al. Isolation of swine infertility and respiratory syndrome virus (isolate ATCC VR-2332) in North America and experimental reproduction of disease in gnotobiotic pigs[J]. J Vet Diagn Invest, 1992(4):117-126.
- [4] 郭宝清, 陈章水, 刘文兴, 等. 从疑似 PRRS 流产胎儿分离 PRRSV 的研究[J]. 中国预防兽医学报, 1996(2):3-7.
- [5] 侯丽丽, 赵铁柱, 遇秀玲, 等. 高致病性猪繁殖与呼吸综合征病毒分子流行病学调查[J]. 中国兽医学报, 2009, 29(6):677-682.
- [6] 王洪峰, 蔡雪辉, 刘永刚, 等. 猪繁殖-呼吸综合征活疫苗对仔猪的安全性试验[J]. 中国预防兽医学报, 2006, 28(3):341-343, 346.
- [7] 蔡宝祥, 姜平. 我国 PRRS 诊断技术与疫苗研究进展[J]. 畜牧与兽医, 2007, 39(8):1-4.
- [8] 占松鹤, 朱良强, 何长生, 等. 不同来源 PRRS 灭活疫苗(NVCD-JXA1株)对仔猪免疫效果比较[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(21):9065-9066.
- [9] Nielsen J, Botner A, Bille-Hansen V, et al. Experimental inoculation of late term pregnant sows with a field isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome vaccine-derived virus [J]. Vet Microbiol, 2002, 84(1-2):1-13.
- [10] 何玲, 裴仇福. 猪繁殖与呼吸综合征病毒变异野毒株与 JXA1-R 疫苗毒株快速鉴别方法的建立[J]. 中国畜牧兽医, 2011, 38(1):198-200.
- [11] 邢海云, 梅林, 赵建增, 等. 猪繁殖与呼吸综合征弱毒疫苗的安全性及新型疫苗的研究进展[J]. 中国生物制品学杂志, 2011, 24(2):237-240.
- [12] 李玉峰, 姜平, 蒋文明, 等. 猪繁殖与呼吸综合征病毒 GP5 蛋白重组腺病毒的构建与免疫原性测定[J]. 中国病毒学, 2006, 21(4):364-367.
- [13] 蒋文明, 姜平, 李玉峰, 等. 串联表达 PRRSVM 与 GP5 蛋白重组腺病毒的构建及其免疫特性研究[J]. 生物工程学报, 2006, 22(4):555-560.
- [14] 仇玉, 王明珍. 猪繁殖与呼吸综合征病毒三种不同基因活载体疫苗的免疫性研究[J]. 广东畜牧兽医科技, 2011, 36(1):28-31.
- [15] Huang Y W, Meng X J. Novel strategies and approach-esto develop the next generation of vaccines against porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) [J]. Virus Res, 2010, 154(1-2):141-149.
- [16] 赵永刚, 薛强, 周艳君, 等. 猪繁殖与呼吸综合征病毒双基因多组合 DNA 疫苗的构建[J]. 中国动物检疫, 2009, 26(5):33-37.
- [17] Pirzadeh B, Dea S. Immune response in pigs vaccinated with plasmid DNA encoding ORF5 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus [J]. J Gen Virol, 1998, 79:989-999.
- [18] 程安春, 汪铭书, 希尼尼根, 等. 猪生殖与呼吸综合征 ORF5 基因疫苗的构建及其安全性和免疫原性检测[J]. 中国兽医科技, 2005, 35(1):27-35.
- [19] 赵永刚. 猪繁殖与呼吸综合征基因免疫的研究[D]. 内蒙古农业大学, 2003.
- [20] 任慧英, 郭鑫, 杨汉春, 等. 猪繁殖与呼吸综合征病毒 GP5 基因对猪的免疫[J]. 中国农业科学, 2006, 39(8):1651-1658.
- [21] 陈希文, 程安春, 汪铭书, 等. 猪繁殖与呼吸综合征病毒 ORF5 基因疫苗肌肉注射诱导小鼠的细胞免疫[J]. 中国兽医学报, 2006(2):5-8.
- [22] Weiland E, Wiczorek-Krohmer M, Kohl D, et al. Monoclonal antibodies to the GP5 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus are more effective in virus neutralization than monoclonal antibodies to the GP4 [J]. Vet Microbiol, 1999, 66:171-186.
- [23] Bautisata E M, Suarez P, Molitor T W. T cell responses to the structural polypeptides of porcine reproductive and respiratory syndrome virus [J]. Arch Virol, 1999, 144:117-134.

《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、广东省农科院畜牧研究所、广东省农科院兽医研究所

订 价: 每期定价 5.5 元, 全年 33.00 元(含平寄邮费)。

订阅方式: 本刊实行自办发行。读者可通过邮局直接汇款至本刊编辑部。

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

地 址: 广州市先烈东路 135 号 《广东畜牧兽医科技》编辑部 (邮编: 510500)

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

欢迎订阅

欢迎投稿

欢迎刊登广告

蓝舌病研究综述

翁善钢

(外高桥出入境检验检疫局, 上海 200137)

摘要: 蓝舌病是由蓝舌病病毒引起的一种传染病, 主要通过库蠓叮咬在反刍动物和骆驼中间传播流行。本文对该病的流行历史, 传播, 病原学, 临床症状, 诊断方法以及防控措施进行了综述。

关键词: 蓝舌病; 蓝舌病毒; 防控

中图分类号: S852.65⁹.4

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)01-0010-07

蓝舌病(Bluetongue)是一种非接触性的传染病, 主要通过库蠓(Culicoides)叮咬在反刍动物和骆驼中间传播流行。蓝舌病由蓝舌病病毒(bluetongue virus, BTV)引起, 属于世界动物卫生组织(OIE)规定的各成员国需及时上报的目录内疾病。我国于1979年首次在云南师宗发现该病并分离到蓝舌病病毒。目前, 全国已有云南、新疆、甘肃、陕西、四川等29个省(市)区检出羊BTV抗体, 许多省份的牛群中亦发现BTV抗体阳性动物。由于病毒血清型、毒株的异同以及感染动物的年龄差异等原因使得该病的临床表现多样, 既可能不出现任何临床症状也可能最终导致死亡, 老龄动物更为易感^[1]。细毛绵羊以及白尾鹿(*Odocoileus virginianus*)通常在感染病毒后表现出下列临床症状: 发热, 面部水肿, 口腔黏膜溃疡或出血。当易感动物被引入有BTV毒株流行的地区或者BTV毒株传播到先前未发过蓝舌病的畜群中, 蓝舌病很容易发生^[2]。尽管尚无权威的统计数据报道蓝舌病对整个世界造成的经济损失, 不过, 据估算其每年造成损失在30亿美元以上^[3]。蓝舌病所带来直接的损失有死亡, 流产, 体重减轻, 产奶减少或者产肉量减少。更为严重的是一些间接的损失, 例如一个国家爆发蓝舌病后, 其他国家都会不同程度采取措施限制进口疫区的活体动物、精液或者胎牛血清等相关制品。此外, 防控以及预防该病也需投入不少财力、人力和物力。

1 流行史及其分布

关于蓝舌病最早的记录出现在18世纪末的南非, 当时有一头细毛羊从欧洲被引进到了南非^[4]。起初, 这种病被成为羊疟疾性卡他热(malarial

catarrhal fever)或者流行性恶性卡他热(epizootic malignant catarrhal fever)。1933年, 首次在牛中发现该病^[5]。由于其症状同口蹄疫类似, 因此当时把它称作伪口蹄疫(pseudo-foot-and-mouth)^[6]。现在所用的“蓝舌”名称来源于南非荷兰语“bloutong”, 当时南非的农民发现患病严重的动物舌头有发绀现象, 于是取名“蓝舌”^[7]。1906年, Theiler最早报道称该病的病原是一种滤过性病毒^[8]。当蓝舌病的易感宿主, 蓝舌病病毒和昆虫媒介同时存在的时候, 蓝舌病能够快速发展并传播。

一般认为该病毒的分布范围在北纬40°至北纬35°之间, 这刚好是传播媒介——某些种的库蠓的分布地域^[6]。但在美国和中国, 该病的分布范围可以一直扩展至北纬50°附近^[9]。1940年以前, 该病的发生地仅限于南非^[7], 发病的地区首次扩展到非洲大陆以外是1943年, 发生在塞浦路斯^[10]。不过也有学者报道, 塞浦路斯实际上自1924年起就有类似蓝舌病的疾病发生^[11]。1943-1944年间以色列发现了蓝舌病^[12]。1948年, 美国德克萨斯报道了一例蓝舌病^[13]。1956年至1957年间伊比利亚半岛发生了蓝舌病较大规模的流行。

不久, 在中东、亚洲以及南欧地区也陆续发现了蓝舌病^[10]。澳大利亚最早于1977年发现有蓝舌病^[14]。南美地区于上世纪80年代起陆续有蓝舌病病例的报道^[15]。此外, 该病还存在于中美洲, 墨西哥、巴布亚新几内亚、泰国、中国、日本, 南亚次大陆, 地中海地区(希腊、西班牙、意大利和法国科西嘉岛), 葡萄牙, 保加利亚^[16]。

南部欧洲: 在1998年之前, 南部欧洲地区(西班牙、葡萄牙、希腊以及塞浦路斯)蓝舌病的疫情

并不多^[17]。然而自从1998年开始,BTD开始出现在整个南欧和地中海地区,先前没有BTD的国家也出现了蓝舌病。阿尔卑斯北部地区出现BTD被认为同全球气候变暖以及主要传播媒介*Culicoides imicola*生活范围扩大有关^[18]。1998年,希腊出现了蓝舌病,接着1999年,土耳其、保加利亚、塞尔维亚、黑山、科索沃以及马其顿也陆续发生蓝舌病疫情。2001年,克罗地亚首次出现蓝舌病疫情。2002年,波黑和阿尔巴尼亚也爆发了蓝舌病疫情。迄今整个南部欧洲地区分离到的BTV的血清型为1、2、4、9和16^[16]。

北部欧洲:2006年8月,北部欧洲突然爆发了蓝舌病疫情。先是荷兰,紧接着比利时,德国和法国北部也相继发生了疫情^[19]。这些疫情均由BTV-8引起。这一血清型是肯尼亚,尼日利亚,苏丹,马拉维,南非,印度,中美洲和加勒比地区所常见的。事实上,在2006年以前欧洲尚无BTV-6的报道^[20]。而迄今,引起的这次爆发的原因尚未找到。对于病毒被带入欧洲的原因有多种猜测,例如在病毒感染初期引进动物,引进感染病毒的精液或胚胎,长途运输过程中植物或动物携带有媒介生物库蠓等^[21]。

2006年末,卢森堡发现了BTV-8。在经过一个冬天之后,2007年,卢森堡再次出现了BTV-8,接着病毒又传播到了英国、瑞士、丹麦和捷克^[17]。2008年,匈牙利、奥地利、瑞典也出现了疫情^[17]。2009年初,挪威也爆发了疫情。BTV-8毒株不仅对羊有高致病性的毒力,同时对牛和骆驼都有较强毒力,病毒可以穿越胎盘屏障,这是以往分离到的一些野毒所没有的特征^[22]。BTV-8在北部欧洲地区的流行造成的损失比以往任何一次蓝舌病疫情引起的损失都要大。2008年,荷兰和德国出现了BTV-6,比利时出现了BTV-11,基因序列研究表明两者均与疫苗毒株有同源性^[23]。因此,有学者认为这可能是有人非法使用弱毒疫苗引起的^[22]。2008年初,瑞士的山羊中发现了一种类似BTV的新病毒,这种病毒被命名为Toggenburg orbivirus^[24]。也有学者认为其可能是BTV-25。此外,2010年,在海湾国家科威特也发现了一种可能是BTV-26的病毒^[25]。

美国、澳大利亚和以色列:同南部欧洲类似,美国、澳大利亚和以色列在上世纪末也陆续发现了不少新的血清型的BTV。1999年之前,美国的BTV血清型有2、19、11、13、17型。1999年以后1、3、5、6、9、12、14、19、22和24型陆续被分离到。在澳大利

亚,2007年和2008年分别分离到了BTV-2和BTV-7。以色列的情况与此类似,除了以往有记录的2、4、6、10和16血清型的BTV外,2006年后陆续分离到了BTV-8、15和24^[22]。

2 病原学

蓝舌病病毒属于呼肠孤病毒科(*Reoviridae*)环状病毒属(*Orbivirus*)。其形态同其他环状病毒属的病毒诸如流行性出血热病毒(epizootic hemorrhagic disease virus),非洲马瘟病毒(African horse sickness virus)等相似。迄今已得到确认的血清型共有24种,分别命名为BTV-1到BTV-24^[26]。前文提到的分别发生在瑞士和科威特的BTV-25和BTV-26尚存在争议^[24,25]。

病毒粒子无囊膜,直径约90 nm,有三层的20面体衣壳蛋白^[27]。基因组结构包含有7个结构蛋白(VP1-VP7)以及4个非结构蛋白(NS1-NS3和NS3A)。外层由两个主要的蛋白组成,分别是VP2和VP5 VP2蛋白决定血清型,同受体结合、血凝以及引导宿主特异性免疫有关。VP5可以同宿主细胞的内膜反应,但在介导免疫反应方面作用较弱^[27]。衣壳的中间层由VP7蛋白组成,对血清型的特异性起主要决定作用^[28]。同时也为ELISA检测BTV抗体时提供了特定的表位。衣壳的最内层由VP3和3个较小的结构蛋白VP1、VP4和VP6组成,其主要作用是转录以及复制病毒的RNA^[26]。非结构蛋白NS1的作用尚不清楚,可能同病毒的形态形成有关。NS2蛋白是病毒包涵体的主要组成部分,同时与病毒mRNA复制有关。NS3蛋白可以作为病毒的孔蛋白(viroporin),提高细胞质膜的通透性,有利于病毒从哺乳动物和昆虫细胞中释放出来^[27]。此外,NS3还可以使病毒粒子通过出芽方式离开宿主细胞。BTV基因组由多段组成的特征也使得双股RNA片段容易重排。片段重排在病毒血清型的多样性中起着重要作用^[29],同时也使病毒的毒力强弱变化很难确定。病毒在有蛋白质存在的条件下可以存活数年,因此,可以将病毒保存在-20℃的血液中。病毒对3%氢氧化钠、碘酊和苯酚等敏感。

3 传播途径与媒介

3.1 库蠓属蠓类

蓝舌病通常是通过库蠓属(*Culicoides*)的蠓类(*biting midges*)传播的,因此疫情爆发取决于是否有昆虫媒介和易感家畜的存在。库蠓属包含的蠓种类在1 300~1 400种左右,其中只有约30种

是 BTV 的传播媒介。尽管蠓类无处不在,但它们通常在温暖、潮湿、泥泞的环境中生活,因为这样的环境可以提供其生存所需的有机质和宿主动物。蠓类活动比较活跃的时间在日出前 1 h 和日落后 1 h 之间^[30]。蠓类生活周期一般仅仅持续 2~6 w,包括卵、幼虫、蛹、成虫四个时期。成虫一般生活 10~20 d,但在较冷的天气中最长可以生存 90 d。部分种类的雌蠓在产卵前 3~4 d 需要吸食动物的血液,雄蠓则以植物汁液为食。通过吸食感染病毒的反刍动物的血液,库蠓获得病毒,病毒在其消化道复制。接着子代病毒从次级靶器官被释放到血腔,同时唾液腺也感染病毒。随着病毒在唾液腺内复制,病毒传播也就开始发生了。25 °C 的环境下,从感染到传播的周期大约在 10~15 d 左右。媒介生物一旦感染 BTV 往往便终生带毒^[30]。蠓类传播 BTV 的能力明显受环境温度、空气湿度和季节性降水总量影响。媒介中的病毒可以在 15 °C 以上的环境中复制,复制强度随温度升高而增长。随着全球气候变暖现象的出现,使得媒介生物传播 BTV 的能力进一步加强,传播范围扩大,传播时间也更长。此外,这几年欧洲北部地区气温升高也使得本土的库蠓属蠓类传播 BTV 能力增强^[22]。温带地区的库蠓成虫一般活不到第一次霜冻出现之前,因此蓝舌病有季节性的特征,春秋两季是发病高峰。

蠓类飞行距离通常不超过 2 km,但由于体小(仅 1~3 mm 长)很容易借助风力被带到较远的地方,有报道称其可被风带至 700 km 以外的地方^[31]。

在东半球,*Culicoides imicola* 种库蠓分布最广,也被认为是 BTV 的主要媒介。这是一种喜温的库蠓,生活环境需要在 12 °C 以上。13~35 °C 的环境中其活动最为活跃。目前在非洲、南亚、葡萄牙、西班牙、塞浦路斯、科西嘉、意大利、以色列、土耳其和也门等国家和地区都能发现 *Culicoides imicola* 种的库蠓^[30]。而在北欧以及中欧地区,并没有这种库蠓,学者认为这些地区的 BTV 媒介为 *C. obsoletus*, *C. Pulicaris* 种的库蠓。

北美地区,BTV 的主要传播媒介为 *C. Sonorensis*^[30]和 *C. insignis*^[32]。中美洲以及南美洲为 *C. Insignis* 和 *C. pusillus*, 澳大利亚为 *C. brevi-tarsis*, *C. fulvus*, *C. Wadai* 和 *C. Actoni*^[16]。

3.2 其他传播方式

除库蠓外,其他节肢类动物有时也可起到媒介的作用。研究人员从蝉^[33]和蚊子^[34]中也分离到 BTV。

公牛的精液也可以传播病毒,但前提是公牛出现病毒血症,且精液中含有红细胞^[35]。

BTV 通过胎盘屏障也是一种传播方式,牛、绵羊和狗^[36]都有有关的报道。

最近的研究显示,病毒也可以通过初乳感染新生牛^[37]。此外,食肉动物之间病毒可以经口传播^[38]。通过弱毒疫苗散毒也是一种重要的病毒传播方式。

4 宿主范围

所有反刍动物对蓝舌病毒都易感,但绵羊的临床症状表现最为明显。BTV 感染也可以引起白尾鹿发病。牛在 BTV 流行病学中起重要作用,由于其病毒血症的时间较长,以往的报道一般认为牛表现为亚临床症状^[16]。不过西欧和中欧出现的由 BTV-8 引起的疫情中,牛也显示临床症状。自然条件下,马鹿 (*Cervus elaphus canadensis*)、麋鹿 (*Antilocapra americana*)、非洲羚羊和其他野生动物也会发生蓝舌病。此外,骆驼以及大象也会感染 BTV^[34]。另外,蓝舌病也被记录在轴鹿 (*Axis axis*)、黇鹿 (*Dama dama*)、梅花鹿 (*Cervus nippon*)、狍以及圈养牦牛等动物也都有过蓝舌病的记录^[11]。

尽管蓝舌病通常是反刍动物以及骆驼的疾病,但在一定条件下,也可以传播给食肉动物。例如,曾有狗因注射了 BTV 污染的疫苗而患病的报道。比利时一家动物园的猞猁因食用了附近农场的反刍动物胎儿尸体而感染 BTV^[39]。有学者曾从非洲的一些肉食动物诸如狮子、猎狗、鬣等动物血清中检测到 BTV 抗体。据猜测,其原因是这些动物食用了感染 BTV 的动物。而在美国,有实验从佛罗里达黑熊和豹以及家养的宠物狗中检测到 BTV 抗体^[40]。

5 发病机理

在通过感染 BTV 的库蠓叮咬之后,病毒从宿主皮肤表面的树突状细胞传递到了病毒起初复制的部位——淋巴结。接着,病毒通过血液循环传播,引起早期病毒血症。病毒在血管内皮细胞、巨噬细胞以及淋巴细胞内复制^[41]。早期病毒血症开始时,病毒存在于血液任何组成成分中,后来主要存在于红细胞中。病毒内嵌在红细胞膜中,这也使得在中和抗体存在的情况下仍然可以使病毒血症的时间延长。感染初期可以在血浆中检测到较低滴度病毒的存在^[31]。感染 BTV 后可以引起细胞坏死以及凋亡,通过活化 p38MAP 激酶,病毒可以增加血管的通透性^[41]。此外,病毒能够引起 TNF α 、IL-1、IL-8、IL-6、IFN-I 和 COX-2 的产生,提高前

列环素和血栓素的血药浓度,这往往可以导致过度的炎症反应产生,从而导致患病动物的细胞组织损伤^[41]。蓝舌病发病机制总的特征为靶组织的小血管损伤导致血管闭塞以及组织梗死。血小板,树突状细胞以及 BTV 感染的内皮细胞可以增加对血管内皮细胞的损害,干扰其功能以及增加血管通透性,这也可以导致水肿的形成^[41]。

受感染的动物的病毒血症往往会有一个较长的过程,但并不是持久存在的^[28],其持续时间同病毒侵入的红细胞的寿命有关^[33]。

不同种类动物的病毒血症持续时间也有所不同,绵羊在 14~54 d 左右,山羊为 19~54 d,牛的持续时间可达 60 d 以上,甚至 100 d,这也使牛成为了流行病学上的一个重要宿主。感染动物与 BTV 的作用表现为产生干扰素,体液以及细胞介导的免疫应答。针对 VP2 蛋白的血清型特异性的中和抗体对于同源毒株再次感染具有保护作用。VP5 蛋白也能在一定程度上诱导中和抗体的产生。感染病毒的反刍动物的血清中也包含有 VP7 蛋白诱导的血清型特异性抗体以及针对其他结构和非结构蛋白的抗体^[39]。对于 BTV 感染引起的细胞介导的免疫反应可以在早期感染时减少病毒的传播,但并不能完全消除病毒。CD₈⁺ T 淋巴细胞在感染细胞产生细胞毒性作用时起着最为重要的作用^[34]。

6 临床症状

绵羊蓝舌病通常表现为急性、慢性或者亚临床症状,其中细毛羊最为易感。病毒潜伏期约为 4~8 d^[17],接着出现发热、呼吸急促、过度流涎,有大量浆液性鼻分泌物,起初较为干净,后变为粘液脓性。干燥后在鼻孔周围留下结痂状物。嘴唇、舌头水肿,偶尔耳朵也会出现水肿,瘀斑逐步发展为结膜和口腔黏膜溃疡。很少病例会出现舌头发绀现象。有些病例中会发生出血性的腹泻或者呕吐而引起吸入性肺炎。在发热阶段结束时,有些绵羊会发生蹄叶炎,横纹肌麻痹或坏死;弓背,不愿走动;羊毛质量也会下降^[33]。怀孕母羊会导致流产、木乃伊胎,产下有先天性疾病的弱仔(如脑积水、脑囊肿、视网膜发育不良等)^[28],长期患病的羊很容易继发诸如细菌性肺炎等疾病^[29]。

山羊同绵羊相比,感染 BTV 几率相对较少,一般也不表现出明显的临床症状,即使有也比绵羊要轻得多。2006 年,荷兰爆发蓝舌病时,山羊的症

状有产奶量突然下降,体温高,头部和嘴唇水肿,鼻腔和嘴唇附近有分泌物,乳房皮肤出现红斑以及皮下有出血病变。

牛一般也不表现出临床症状,但 BTV-8 感染时,多种动物会有临床表现。临床感染通常被认为是 IgE 抗体介导的超敏反应。起初的症状是发热,精神沉郁,接着是口腔和鼻粘膜糜烂和坏死,鼻腔有分泌物出现,跛行,结膜炎,溃疡性皮炎,偶尔会出现血性腹泻,水肿和充血等。乳头皮肤发炎,甚至有皮肤易剥落、脱落的现象^[20]。奶牛的产奶量会明显下降。母牛怀孕早期感染病毒会导致胎儿早期死亡或者胚胎被溶解吸收,也有可能出现流产或者产畸形胎儿以及弱仔等情况^[20,37]。如果在妊娠期 70~130 d 之间感染病毒,胎儿即使存活,也会出现严重的中枢神经系统畸形(例如脑积水、脑缺陷等)。如果是产仔前几周感染病毒,幼仔往往只有轻度的脑炎^[31]。

白尾鹿患蓝舌病时,其症状同鹿流行性出血热病相似,表现出急性出血的过程,属于弥散性血管内凝血的后遗症^[7]。主要特点是遍及全身的广泛出血,头和颈部肿胀,鼻腔有大量血性分泌物和出血性腹泻^[19]。

7 病理学

患病动物剖检的结果显示头部皮下组织充满凝胶状液体,肺动脉以及主动脉充血,口腔黏膜有瘀点和瘀斑。嘴唇、舌头以及脸颊会出现坏死组织糜烂。瘤胃以及网胃有出血。脾、淋巴结、扁桃体增大、出血,偶尔会有瘀斑。舌根、心包囊、肾、肠道以及皮下组织有瘀斑。骨骼肌和心肌有坏死区。此外,还有上呼吸道炎症、肺水肿、胸膜炎、心包炎、肠炎等病变^[19]。

组织学观察可见毛细血管内皮肥大,血管周围水肿,骨骼肌以及心肌浸润有巨噬细胞、淋巴细胞,血管阻塞导致上皮组织缺氧,细胞脱落。急性病例中,心肌和骨骼肌出血、坏死。慢性病例中,单核细胞浸润以及纤维化^[7]。

8 诊断

根据临床症状、病例剖检以及流行病学调查进行的初步诊断,需要进一步通过实验室诊断来确诊。用于实验室诊断的样品包括非凝固的血液(用肝素为抗凝剂)、血清以及剖检获得的脾、淋巴结、肺、肝和骨髓等样品,如有必要也可采集心肌以及

骨骼肌样品,脑组织最好采集胎儿的脑组织^[19]。

血清样品在运输过程中最好保存在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的环境中,其他样品保存温度为 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。全血样品可在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存较长的时间,用于分离病毒的血细胞应该使用10%二甲基亚砜在 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

8.1 病毒分离

蓝舌病病毒可以在鸡胚、细胞以及绵羊身上增殖。9-12日龄的鸡胚可以用来分离BTV。将待检测病料采用静脉接种的方式分离病毒要比采用传统的卵黄囊接种敏感100至1000倍,但这种接种方式需要技术和经验。从鸡胚获得的尿囊液等材料可以继续用于细胞培养或者直接用于PCR检测^[42]。

蓝舌病病毒可以用昆虫源性的细胞诸如KC, C6/36细胞系分离,也可以用哺乳动物源性的BHK-21,CPAE或Vero细胞分离^[13]。

哺乳动物源性的细胞在接毒3~5d后可以观察到细胞病变,主要表现为细胞变圆,折光性增强。细胞分离病毒前往往先使用鸡胚分离,因为鸡胚对病毒的敏感程度要大于细胞系。直接采用绵羊也是敏感而有效分离病毒的方法,但一般不采用,除非样品所含病毒的量太低。

8.2 抗原鉴定

使用RT-PCR来直接检测血液或者其他样品中的BTV是可行的,同时也可以鉴定出不同的血清型。通常感染6个月后的样品中仍然可以用RT-PCR方法检测出抗原。实时定量RT-PCR检测BTV的方法也已有学者建立^[43]。可以采用病毒中和试验确定病毒的血清型。其他已有的检测方法还有抗原捕获ELISA、免疫印迹以及免疫荧光实验等,但这些方法很少使用。

8.3 抗体鉴定

检测针对BTV不同血清型的特异性抗体可以采用基于VP7蛋白的竞争ELISA方法。这种方法可以最早在感染后的第6天检测到抗体。现在已有多种商用的ELISA试剂盒用于抗体检测^[44]。也有人建立胶体金免疫反应的方法来检测不同血清型的抗体,但这种方法很容易同环状病毒属的其他病毒产生交叉反应,也有人建立了补体结合实验以及血凝抑制实验的方法来检测抗体。此外,血清中和实验的特异性和敏感性最强,但也是最花钱以及花时间的办法。

8.4 鉴别诊断

蓝舌病的临床症状很容易同其他反刍动物疾

病混淆,诸如传染性脓包性皮炎、口蹄疫、急性日光过敏症(acute photosensitisation)、捻转血矛线虫病、面部湿疹、肺炎、有毒植物中毒、绵羊痘、小反刍兽疫、恶性卡他热、牛瘟、牛传染性鼻气管炎、牛病毒性腹泻、牛流行性口炎、牛疱疹病毒病以及流行性出血热等疾病。因此,临床上需要采用实验室诊断的方法确诊。

9 防控

蓝舌病尚无特异的治疗方法。对症治疗主要有悉心照顾好患病动物,如果有必要可以投喂一些非甾体类消炎药^[16]。立即停止从有蓝舌病疫情爆发的国家进口动物是首要措施,接着加强对国内农场的监测,包括临床症状检查,血清学以及病毒学检测,加强媒介生物的监测。加强免疫接种工作,消除媒介生物以及防控媒介生物也是重要方法。

9.1 免疫预防接种

疫苗免疫可以防控蓝舌病,或者至少可以通过干预BTV在自然环境中的生存循环来改变疾病的发生过程。这可以大大减少因为蓝舌病而带来的损失,同时也使得蓝舌病疫区对外输出动物存在可能性^[39]。由于蓝舌病是血清型特异性的,因此,进行疫苗免疫时应该先了解环境中主要存在的BTV的血清型。目前已有灭活和弱毒两种类型的疫苗供临床使用。

9.1.1 弱毒疫苗 蓝舌病弱毒疫苗是最近才被允许商用的,起初在在多种血清型的BTV同时流行的国家(如南非)使用。这些国家目前仍在使用针对多种血清型的多价弱毒疫苗。通常免疫一次至少能够提供一年的保护。弱毒疫苗生产比较便宜,但 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以上温度的环境中会失去效力,此外对异源血清型BTV保护力较弱。但是,对于弱毒疫苗的担忧一直存在,因为弱毒苗有可能导致产生蓝舌病的临床症状,流产,减少牛奶产量,精液品质下降,怀孕母畜免疫后有可能产畸形胎儿。因此,通常建议母畜在交配前9~15周免疫疫苗,公畜则在交配后接种,且应该至少在下次配种6周之前。弱毒疫苗对部分绵羊会产生持续2周以上的病毒血症^[24]。此外,疫苗也有可能感染媒介生物恢复毒力。此外免疫动物或者媒介生物的疫苗毒和野毒通过基因重组有可能使得重组病毒产生新的特性^[13,19,30]。也有研究人员认为这实际上只是猜测,尚无确凿证据来支持这一猜测。

9.1.2 灭活疫苗 灭活疫苗也可产生有效的免疫

保护力,但需要重复免疫几次。尽管制备灭活疫苗成本相对较高,但考虑到安全以及有效性,其仍是较好的选择^[45]。好的灭活疫苗可预防宿主产生临床症状,减少由于感染造成的直接经济损失,有利于安全方便地进行动物贸易,预防病毒血症的发生,对于同源毒株的再次感染也有较好的保护力^[45]。1998年以后南欧地区爆发了BTV-2引起的蓝舌病,针对BTV-2的单价灭活苗最先被研制出来,接着又研制出了针对BTV-4的单价疫苗以及针对BTV-2和BTV-4的二价疫苗。现在,针对BTV-1, BTV-8和BTV-9的多价疫苗也已研制出来^[46]。

9.1.3 新型疫苗 现在各种针对蓝舌病的新型疫苗已有很多报道。例如重组载体疫苗、亚单位疫苗等。其优点是不存在病毒传播的风险,免疫效果产生较快等。但其缺点也是很明显,即成本很高^[45]。

9.2 媒介控制

很显然,在自然环境中要消除蠓类是不可能的,但将蠓类数量降到较低水平也是有可能的。由于蠓类喜欢夜间进食,因此可以采取(如马厩采用纱窗或者杀虫剂浸泡过的布料)防止蠓类夜间进入动物的圈舍^[29]。不要让牲畜到有昆虫休息活动的地带,地面尽量保持干燥以减少蠓类滋生。

对于蠓类成虫的控制可以使用杀虫剂,如:溴氰菊酯、氟氯氰菊酯、氯菊酯和氰戊菊酯^[29]。其一般的保护力在3~5周左右。杀虫剂既可以直接喷洒在畜体上,也可以喷洒于环境中,但用量不宜过大以免中毒。蠓类产卵的场所可以使用阿贝特(Abate,5%的双硫磷颗粒)。

无蓝舌病发病的地区应禁止从疫区引进易感动物。加强出入境检验检疫和运输检疫,严禁从有蓝舌病的国家或地区引进牛羊或冻精等动物产品。一旦有病传入,应该立即根据相关法律法规采取紧急、强制性的控制和扑灭措施,扑杀所有易感动物,对疫区以及受威胁区的动物进行紧急预防接种。

参考文献:

[1] Elbers A R W, Backx A, Mintiens K, et al. Field observations during the bluetongue serotype 8 epidemic in 2006 II. Morbidity and mortality rate, case fatality and clinical recovery in sheep and cattle in Netherlands[J]. Preventive Veterinary Medicine, 2008, 87:31-40.
 [2] Zientara S, MacLachlan N J, Calistri P, et al. Bluetongue vaccination in Europe. Expert Reviews[J]. Vaccines, 2010 (9):989-991.

[3] Tabachnick W J. The genetics of *Culicoides variipennis* and the epidemiology of bluetongue disease in North America[J]. Annual Review of Entomology, 1996, 45:20-40.
 [4] Spreull J. Malarial catarrhal fever (bluetongue) of sheep in South Africa[J]. Journal of Comparative Pathology and Therapeutics, 1905(8):321-337.
 [5] Bekker J G, de Kock G, Quinlan J B. The occurrence and identification of bluetongue in cattle—the so-called pseudo foot-and-mouth disease in South Africa[J]. Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry, 1934(2):393-507.
 [6] Vellema P. Bluetongue in sheep: Question marks on bluetongue virus serotype 8 in Europe[J]. Small Ruminant Research, 2008, 76:141-148.
 [7] Mellor P, Baylis M, Mertens P P C. Bluetongue[M]. London: Academic Press, 2009:285-293.
 [8] Mehlhorn H, Walldorf V, Klimpel S, et al. Outbreak of bluetongue disease (BTD) in Germany and the danger for Europe[M]. Parasitology Research, 2008, 103:79-86.
 [9] Mellor P S, Boorman J, Baylis M. *Culicoides*. Biting midges: Their role as arbovirus vectors[J]. Annual Review of Entomology, 2000, 45:307-340.
 [10] MacLachlan N J. Bluetongue: pathogenesis and duration of viraemia [J]. Veterinaria Italiana, 2004, 40:462-467.
 [11] Rodriguez-Sanchez B, Iglesias-Martin I, Martinez-Aviles M, et al. Orbiviruses in the Mediterranean Basin: updated epidemiological situation of bluetongue and new methods for the detection of BTV serotype 4[J]. Transboundary and Emerging Diseases, 2008, 55:205-214.
 [12] Shimshony A. Bluetongue in Israel—a brief historical overview[J]. Veterinaria Italiana, 2004, 40:116-118.
 [13] Hardy W T, Price D A. Soremuzzle of sheep[J]. Journal of American Veterinary Medical Association, 1952, 120:23-25.
 [14] Gibbs E P J, Greiner E C. The epidemiology of bluetongue [J]. Comparative Immunology and Microbiology and Infectious Diseases, 1994, 17:207-220.
 [15] Clavijo A, Sepulveda L, Riva J, et al. Isolation of bluetongue virus serotype 12 from an outbreak of the disease in South America[J]. Veterinary Record, 2002, 151:301-302.
 [16] Mellor P S, Carpenter S, Harrup L, et al. Bluetongue in Europe and the Mediterranean Basin: History of occurrence prior to 2006[J]. Preventive Veterinary Medicine, 2008, 87:4-20.
 [17] Hendrickx G. The spread of blue tongue in Europe[J]. Small Ruminant Research, 2009, 86:34-39.
 [18] Randolph S E, Rogers D J. The arrival, establishment and spread of exotic diseases: patterns and predictions [M]. Nature Reviews Microbiology, 2010(8):361-371.
 [19] Wilson A J, Mellor P S. Bluetongue in Europe: past,

- present and future[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 2009, 364: 2669-2681.
- [20] Mehlhorn H, Walldorf V, Klimpel S, et al. First occurrence of *Culicoides obsoletus*-transmitted Bluetongue virus epidemic in Central Europe[J]. *Parasitology Research*, 2007, 101: 219-228.
- [21] Saegerman C, Berkvens D, Mellor P S. Bluetongue epidemiology in the European union[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2008, 14: 539-544.
- [22] MacLachlan N J. Global implications of the recent emergence of bluetongue virus in Europe[J]. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practise*, 2010, 26: 163-171.
- [23] Eschbaumer M, Hoffmann B, Moss A, et al. Emergence of bluetongue virus serotype 6 in Europe-German field data and experimental infection in cattle[J]. *Veterinary Microbiology*, 2010, 143: 189-195.
- [24] Hofmann M A, Renzullo S, Mader M, et al. Genetic characterization of Toggenburg orbivirus, a new bluetongue virus from goats, Switzerland[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2008, 14: 1855-1861.
- [25] Maan S, Maan N S, Nomikou K, et al. Novel bluetongue virus serotype from Kuwait[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2011, 17: 886-889.
- [26] Schwartz-Cornil I, Mertens P P C, Contreras V, et al. Bluetongue virus: virology, pathogenesis and immunity[J]. *Veterinary Research*, 2008, 39: 46.
- [27] Roy P, Noad R. Bluetongue virus assembly and morphogenesis[C]. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, Berlin: Springer, 2006, 87: 116.
- [28] Nason E L, Rothagel R, Murkherjee S K, et al. Interactions between the inner and outer capsids of bluetongue virus[J]. *Journal of Virology*, 2004, 78: 8059-8067.
- [29] Carpi G, Holmes E C, Kitchen A. The evolutionary dynamics of bluetongue virus [J]. *Journal of Molecular Evolution*, 2010, 70: 583-592.
- [30] Mellor P S, Boorman J, Baylis M. *Culicoides*. Biting midges: Their role as arbovirus vectors [J]. *Annual Review of Entomology*, 2000, 45: 307-340.
- [31] Ducheyne E, De Denken R, Becu S, et al. Quantifying the wind dispersal of *Culicoides* species in Greece and Bulgaria[J]. *Geospatial Health*, 2007 (2): 177-189.
- [32] Tanya V N, Greiner E C, Gibbs E P. Evaluation of *Culicoides insignis* (Diptera: Ceratopogonidae) as a vector of bluetongue virus[J]. *Veterinary Microbiology*, 1992, 32: 1-14.
- [33] Bouwknegt C, van Rijn P A, Schipper J M, et al. Potential role of ticks as vectors of bluetongue virus[J]. *Experimental and Applied Acarology*, 2010, 52: 183-92.
- [34] Brown E S, Gorman B M, Tesh R B, et al. Isolation of bluetongue and epizootic hemorrhagic disease viruses from mosquitoes collected in Indonesia[J]. *Veterinary Microbiology*, 1992, 32: 241-251.
- [35] Wilson A J, Mellor P S. Bluetongue in Europe: vectors, epidemiology and climate change[J]. *Parasitology Research*, 2008, 103: 69-77.
- [36] Saegerman C, Bolkaerts B, Baricalla C, et al. The impact of naturally-occurring, trans-placental bluetongue virus serotype 8 infection on reproductive performance in sheep[J]. *Veterinary Journal*, 2011, 187: 72-80.
- [37] Mayo C E, Crossley B M, Hietala S K, et al. Colostral transmission of bluetongue virus nucleic acid among newborn dairy calves in California[J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2010, 57: 277-281.
- [38] Calvo-Pinilla E, Nieto J M, Ortego J. Experimental oral infection of bluetongue virus serotype 8 in type I interferon receptor-deficient mice[J]. *Journal of General Virology*, 2010, 91: 2821-2825.
- [39] Evermann J F. Accidental introduction of viruses into companion animals by commercial vaccines[J]. *Veterinary Clinics of North America-Small Animal Practise*, 2008, 38: 919-929.
- [40] Dunbar M R, Cunningham M W, Roof J C. Seroprevalence of selected disease agents from free-ranging black bears in Florida[J]. *Journal of Wildlife Disease*, 1998, 34: 612-619.
- [41] Drew C P, Heller M C, Mayo C, et al. Bluetongue virus infection activates bovine monocyte-derived macrophages and pulmonary artery endothelial cells[J]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2010, 136: 292-296.
- [42] Mecham J O. Detection and titration of bluetongue virus in *Culicoides* insect cell culture by an antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay[J]. *Journal of Virological Methods*, 2006, 135: 269-271.
- [43] Shaw A E, Monaghan P, Alpar H O, et al. Development and initial evaluation of a real-time RT-PCR assay to detect bluetongue virus genome segment 1[J]. *Journal of Virological Methods*, 2007, 145: 115-126.
- [44] Mars M H, van Maanen C, Vellema P, et al. Evaluation of an indirect ELISA for detection of antibodies in bulk milk against bluetongue virus infections in The Netherlands [J]. *Veterinary Microbiology*, 2010, 146: 209-214.
- [45] Bhanuprakash V, Indrani B K, Hosamani M, et al. Bluetongue vaccines: the past, present and future[J]. *Expert Reviews Vaccines*, 2009 (8): 191-204.
- [46] Zientara S, MacLachlan N J, Calistri P, et al. Bluetongue vaccination in Europe[J]. *Expert Reviews Vaccines*, 2010 (9): 989-991.

洛克沙肿、阿散酸对蚯蚓和鱼的生态毒理学指标影响的研究进展

赵海燕¹, 熊文广²

1. 广东温氏食品集团有限公司, 广东 云浮 527400; 2. 华南农业大学兽医学院药理教研室, 广东 广州 510642

摘要: 洛克沙肿和阿散酸作为畜禽添加剂应用极其广泛, 然而人们对其代谢残留对环境中各种生物的毒性影响却知之甚少。本文综述了洛克沙肿、阿散酸对蚯蚓和鱼的一些生态毒理学指标的影响, 包括对关键酶系的影响和细胞 DNA 的损伤情况, 并对以后的科研工作提出了新的思路。

关键词: 洛克沙肿; 阿散酸; 生态; 毒性

中图分类号: S853.74

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)01-0017-02

1 前言

砷是一种类金属元素, 多以化合物形式存在。由于某些有机砷类化合物具有抗菌与抗虫等作用, 故被广泛用作畜禽添加剂。常用的有阿散酸(parsanilic acid, 对氨基苯砷酸)和洛克沙肿(roxarsone, 3-硝基-4-羟基苯砷酸), 且在我国应用极其普遍。在目前有机砷添加剂仍被继续大量使用的情况下, 必须关注其环境效应及其早期监控与风险评估。近年来, 对动物饲喂有机砷饲料后经排泄物进入环境中的价态转化及随生物链迁移与富集、对生态系统的毒性的研究越来越引起重视。

2 洛克沙肿、阿散酸对蚯蚓和鱼的一些生态毒理学指标的影响

洛克沙肿、阿散酸的急性毒性早有报道。李银生等^[1]用4种方法研究了兽药洛克沙肿对安德爱胜蚓的急性毒性。结果表明, 用滤纸接触法测得洛克沙肿对蚯蚓的半数致死量(LC₅₀)为5.5g/kg; 人工土壤法、人造土壤法和自然土壤法测得洛克沙肿对蚯蚓的LC₅₀为3.23、2.99、3.45g/kg。结果表明, 洛克沙肿对蚯蚓的毒性较低。曲蔓蔓等^[2]研究了阿散酸对斑马鱼的急性毒性, 急性毒性试验表明, 阿散酸对斑马鱼96h的LC₅₀为520.747mg/L。表明, 阿散酸对蚯蚓的毒性更低。

任何有毒化学物质对机体的毒害作用始于分

子水平, 进而作用于细胞、组织、器官, 最后产生明显的毒性反应。近年来, 洛克沙肿、阿散酸在不同水平上的研究均有报道。

2.1 对重要酶系统的影响

由于洛克沙肿的应用比阿散酸更广, 所以实验选取洛克沙肿开展毒性作用研究。但是作为有机砷制剂, 毒性作用具有一定的相似性。关于有机砷制剂对酶系统和一些蛋白的影响研究较全面。

王志强等^[3]研究了洛克沙肿对鲫鱼鳃、肾脏和肝的Na⁺-K⁺-ATP酶活性。采用静态试验法, 将鲫鱼暴露于4、16、64mg/L洛克沙肿中48、96、144h后, 取样检测。结果表明, 在同一组织中, 随着处理浓度的提高, 洛克沙肿对鲫鱼各组织Na⁺-K⁺-ATP酶活性抑制作用增强。对于不同组织, 同一处理浓度的洛克沙肿对鲫鱼鳃中Na⁺-K⁺-ATP酶活性抑制作用更为明显, 其次是肝和肾(P<0.01)。在同一浓度下, 洛克沙肿对鲫鱼各组织Na⁺-K⁺-ATP酶活性抑制率呈明显的时间-效应关系, 暴露时间越长, 抑制率越高(P<0.01)。

孙永学等^[4]研究了洛克沙肿对鲫鱼暴露胁迫的毒性效应。将鲫鱼暴露于不同浓度的洛克沙肿后, 鲫鱼脑和肝乳酸脱氢酶受到显著抑制(P<0.05)并呈剂量-效应关系。鱼脑和肝的丙二醛含量显著升高(P<0.05)。鲫鱼脑、肝和鳃组织的超氧化物歧化酶活性在初期显著升高(P<0.05), 但

在试验后期随剂量增高而受到显著抑制 ($P < 0.05$)。鱼脑谷胱甘肽 S- 转移酶受到极显著的抑制 ($P < 0.01$)。结果表明:洛克沙肿对鲫鱼巯基酶和抗氧化功能有明显抑制, 鱼脑和肝脏氧化损伤最明显, 呈现剂量-效应关系。

李银生等^[5]研究了洛克沙肿污染胁迫对蚯蚓的抗氧化酶和几种 P450 酶活性的影响, 并且研究了对金属硫蛋白的诱导作用。结果表明, 酶活性具有一定的剂量-效应关系和时间-效应关系, 诱导出的金属硫蛋白与其他已知蚯蚓的金属硫蛋白具有较高的同源性。

2.2 对核酸的影响

一般采用彗星实验来研究有毒化合物对细胞 DNA 的损伤。有机砷制剂对蚯蚓、鱼的 DNA 损伤研究很多。在一定程度上, 都表现出明显的遗传毒性。

王志强等^[3]研究了洛克沙肿对鲫鱼 DNA 损伤情况, 单细胞凝胶电泳试验 (SCGE) 结果表明, 鲫鱼暴露于 0.5、1、2 mg/L 洛克沙肿中 72 h 能引起肾细胞明显的 DNA 损伤, 并在设定剂量范围内呈现一定的剂量-效应关系; 同时, 鲫鱼肾细胞于体外暴露于 1、10、100、500、1 000 mg/L 洛克沙肿 3、6、12 h 后, 可引起严重的 DNA 损伤。

孔志明等^[7]分别以红鲤鱼和赤子爱胜蚓为生物材料, 采用单细胞凝胶电泳技术从细胞水平上研究了阿散酸降解前后对鲤鱼肾细胞和蚯蚓体腔细胞 DNA 的损伤。鲤鱼肾细胞单细胞凝胶电泳试验结果表明, 阿散酸降解之前和降解的第 4 周对鲤鱼肾细胞 DNA 有显著损伤, 表现出明显的遗传毒性作用, 但第 2 周却不引起鲤鱼肾细胞 DNA 的任何损伤。蚯蚓体腔细胞单细胞凝胶电泳试验结果表明, 阿散酸降解之前不能诱导蚯蚓体腔细胞 DNA 的明显损伤, 不表现遗传毒性效应, 与对照组相比没有显著性差异 ($P > 0.05$); 但阿散酸降解开始后, 各浓度的降解混合物体系都能引起蚯蚓体腔细胞 DNA 的明显损伤, 表现出较强的遗传毒性作用。

徐韵等^[8]用彗星试验检测阿散酸降解液对赤子爱胜蚓体腔细胞 DNA 的损伤。结果表明, 所有降解液均具有遗传毒性, 可导致蚯蚓体腔细胞 DNA 明显损伤, 与对照相比具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

张雨梅等^[9]利用碱性单细胞凝胶电泳技术研究洛克沙肿对中国仓鼠肺细胞 (CHL) 的 DNA 损伤影响。结果表明, 彗星试验参数尾 DNA 含量、彗星全长、彗尾长、尾距和 Olive 尾距等表现出剂量-效应、时间-效应关系, 不同剂量洛克沙肿、不同暴露时间下对 CHL 细胞有不同程度的 DNA 损伤。

曲蕊蕊等^[2]采用鲫鱼作为生物材料研究了兽药添加剂阿散酸毒理学。结果表明, 阿散酸引起的 DNA 损伤较小, 与阴性对照相比无显著性差异 ($P > 0.05$)。

3 展望

有机砷制剂的生态毒性在酶、DNA 损伤等方面研究较多, 也较全面。但是具有一定程度的重复性, 没有深入进一步研究, 缺少创新性。在以后的实验设计中, 应该具有新的思路。比如: 在有机砷制剂污染胁迫下, 能否诱导出在正常体内没有的基因; 通过透视镜技术, 研究微结构的生态毒性变化; 运用反转录 real-time PCR 技术实时定量研究 RNA 是否具有浓度-效应和时间-效应依赖性; 运用蛋白质飞行时间质谱技术研究整个蛋白质组的变化, 筛选出具有新的蛋白质标示物等等。以后的科研应该多探索新思路新方法, 为进一步阐明有机砷制剂的生态毒性奠定基础, 为畜禽砷添加剂的合理应用提供依据, 也为兽药添加剂的环境安全性评价提供新的技术路线。

参考文献:

- [1] 李银生, 曾振灵, 陈杖榴, 等. 洛克沙肿对蚯蚓的急性毒性试验[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2004(2): 115-119.
- [2] 曲蕊蕊, 徐韵, 陈海刚, 等. 三种兽药添加剂对土壤赤子爱胜蚓的毒理学研究[J]. 应用生态学报, 2005(6): 1108-1111.
- [3] 王志强, 李浩, 张斌. 洛克沙肿对鲫鱼两种生态毒理学指标的影响[J]. 农业环境科学学报, 2009(7): 1374-1378.
- [4] 孙永学, 陈杖榴, 刘志昌, 等. 洛克沙肿在鲫鱼体内的残留及消除动力学研究[J]. 中国兽医杂志, 2004(8): 65-68.
- [5] 李银生. 洛克沙肿对蚯蚓的毒性及生态毒理学研究[D]. 华南农业大学, 2003.
- [6] 孔志明, 孔琛. 阿散酸及其降解产物对鱼和蚯蚓的遗传毒性[J]. 环境科学与技术, 2007(4): 11-13.
- [7] 徐韵, 陈海刚, 李兆利, 等. 蚯蚓体腔细胞彗星试验检测阿散酸在泥浆体系中降解前后的遗传毒性变化[J]. 应用与环境生物学报, 2007(1): 46-49.
- [8] 张雨梅, 陈军. 彗星试验检测洛克沙肿对 CHL 细胞的 DNA 损伤[J]. 中国兽医学报, 2008(11): 1335-1339.

抗氧化剂和微量元素在围产期奶牛免疫中的作用

杨丰利, 李小杉, 梁贤威, 张秀芳, 杨炳壮*

(中国农业科学院广西水牛研究所, 南宁 广西 530001)

摘要:许多抗氧化剂和微量元素在围产期奶牛的免疫功能中起着极其重要的作用。维生素E和 β -胡萝卜素是重要的细胞抗氧化剂, 硒是谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)的必需成分, GPx保护细胞膜免受过氧化物的损害和干扰, 铜是铜-锌超氧化物歧化酶(SOD)和血浆铜蓝蛋白的组成成分, 铬在体内的作用主要表现为增强胰岛素的功能, 锌是合成DNA和RNA过程中许多酶的组成成分, 围产期奶牛如果缺乏这些抗氧化剂和/或微量元素将导致机体免疫功能下降。因此围产期奶牛日粮中应保证有足够的抗氧化剂和微量元素, 以增强机体对分娩和泌乳应激的抵抗能力。

关键词:围产期奶牛; 抗氧化剂; 微量元素; 免疫

中图分类号: S816.72

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)01-0019-03

奶牛分娩前的3周至分娩后的3周称为围产期, 是遭受应激最大的时期, 常发生免疫抑制, 对多种疾病易感。氧化应激是增加围产期奶牛对疾病易感性的重要因素, 当机体产生的活性氧簇超过抗氧化剂的防御机制时氧化应激就会发生。免疫细胞对氧化应激非常敏感, 首先是免疫细胞细胞膜含有高浓度、对过氧化反应高度敏感的不饱和脂肪酸; 其次是免疫细胞受到刺激时产生大量的活性氧簇^[1]。抗氧化防御系统包括多种维生素和微量元素, 围产期奶牛缺乏它们任何一种均会不同程度降低奶牛的免疫力。

1 维生素E (V_E)

V_E 是一种重要的抵抗脂质过氧化反应自由基的脂溶性抗氧化剂, 在免疫方面主要是增强嗜中性粒细胞功能。与不添加 V_E 的围产期奶牛相比, 每天添加3 000 IU V_E 可预防奶牛产后嗜中性粒细胞产生的超氧阴离子和白细胞介素(IL)-1的减少^[2], 嗜中性粒细胞的快速增多对最大限度地发挥宿主防御机制至关重要。

新鲜青饲料含有丰富的 V_E , 而浓缩料和贮藏料中含量普遍较低, 如青干草、窖藏半干草和青贮饲料。大量研究表明围产期奶牛饲喂贮藏饲料将

导致血浆 V_E 浓度显著降低。血浆 V_E 最低浓度通常发生在产前一后至产后两周之间, 饲喂贮藏饲料的奶牛需要添加 V_E (3 000~4 000 IU/d·头)才能预防围产期奶牛血浆 V_E 浓度下降^[3]。NRC^[4]建议奶牛 V_E 的需要量每天约为1.6 IU/kg体重(约80 IU/kg饲料)。然而, Heinrichs等^[5]建议干奶期奶牛 V_E 的饲喂量是1 000 IU/d。

2 β -胡萝卜素

β -胡萝卜素在体内不仅仅是维生素A(V_A)的来源, 还具有抗氧化剂和降低吞噬细胞内过氧化物形成的作用。 V_A 和 β -胡萝卜素都具有兴奋免疫细胞的作用。有研究发现类胡萝卜素也能增强机体的免疫应答^[6]。NRC^[4]建议奶牛产前一个月每天摄入 β -胡萝卜素3.2 g, 分娩当天摄入4.4 g, 产后一个月每天摄入7.68 g, 可见奶牛随着分娩和泌乳的进行对 β -胡萝卜素的需求逐渐增加。Heinrichs等^[5]推荐泌乳期奶牛和干奶期奶牛 V_A 的饲喂量是每天110 IU/kg体重。

3 硒

动物体内的硒有两种主要来源: 一是硒氨基酸形式的天然植物来源, 包括硒蛋氨酸和硒代半胱氨酸; 二是硒酸盐或亚硒酸盐形式的无机硒。

收稿日期: 2011-10-20

基金项目: 农业部948项目(2011-G26)

*: 通讯作者

硒在抗氧化系统中的作用体现在它是谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)的必需组成成分,GPx在体内破坏过氧化氢和过氧化氢脂质,保护细胞膜免受过氧化物的损害,与超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶及 V_E 在维持组织中低浓度过氧化物起着重要作用。硫氧蛋白还原酶是另一种含硒酶,具有防止氧化应激的作用^[7]。硒在体内还参与辅酶A和辅酶Q的合成,是与电子转移有关的细胞色素的组成成分。而且还可以促进蛋白质的合成,缺硒时使胰脂酶合成受阻,影响脂肪和 V_E 等脂溶性维生素的吸收。

大量研究表明,硒对机体的非特异性免疫、细胞免疫和体液免疫均具有重要影响。饲喂低硒(0.014 mg/kg)饲料26周后,奶牛血液中的中性粒细胞的杀菌能力降低至对照组(0.14 mg/kg)的60%,乳汁中的中性粒细胞杀菌的能力也有所下降。从缺硒奶牛分离的外周血淋巴细胞对分裂素和刀豆球蛋白A(Con A)的刺激反应性降低。Weiss等报道改善硒酵母的吸收并不能增强机体的免疫力,他认为这是由于奶牛吸收的是硒甲硫氨酸(硒甲硫氨酸在免疫系统中不起作用)而不是硒代半胱氨酸^[8]。

奶牛对硒的需要量约0.3 mg/kg饲料,尽管需要量较低,但世界很多地区饲料中硒的含量低于0.3 mg/kg,必须添加适量的硒才能满足机体需要。NRC^[4]建议奶牛产前一个月每天摄入硒2.4 mg,分娩当天为3.3 mg,产后一个月每天摄入7.2 mg。

4 铜

由于铜是铜-锌SOD和血浆铜蓝蛋白的组成成分,也包括在抗氧化系统中,在机体免疫过程中发挥了重要作用。铜-锌SOD的作用是歧化胞质溶胶中的过氧化氢的超氧自由基;血浆铜蓝蛋白是一种铜转运蛋白,也具有氧化酶活性,还原 Fe^{3+} 为 Fe^{2+} ,血浆铜蓝蛋白还是一种急性期蛋白质,在疾病期间升高,对清除超氧自由基非常重要。铜缺乏通常是由于奶牛日粮中存在对抗物如硫磺、钼和铁等,能够降低铜的生物利用度^[9]。Torre等评价了奶牛日粮铜对免疫功能的影响,从产前84 d开始每天饲喂含铜6~7 mg/kg饲料或添加铜20 mg/kg饲料,发现低铜日粮的奶牛产后35 d时中性粒细胞杀灭金黄色葡萄球菌

的能力下降,但吞噬活性没有受到影响。从低日粮铜的奶牛分离的单核细胞受Con A刺激时产生的干扰素少于每天添加铜20 mg/kg饲料的奶牛,但是单核细胞产生的IL-2不受日粮铜含量的影响^[10]。在生产中应注意铜和钼的拮抗作用,饲料中添加铜要考虑铜和钼的比例,一般应掌握在(4~5):1之间^[11]。NRC^[4]建议泌乳奶牛铜的添加量是8 mg/kg饲料。

5 铬

铬在体内的作用主要表现为增强胰岛素的功能。奶牛对铬的需要量尚未确定^[4],研究表明从产前21 d至产后35 d添加铬(10 mg/d,丙酸铬)可增加奶牛泌乳早期的采食量和产奶量^[12]。围产期奶牛添加铬可影响细胞介导的免疫应答和体液免疫应答,每天添加铬(铬氨基酸螯合物)0.5 mg/kg饲料的奶牛分离的淋巴细胞对Con A刺激的母细胞化反应增强^[13],分离的单核细胞受到Con A刺激后产生的细胞因子(IL-2、干扰素和TNF- α)浓度降低^[14]。Faldyna等^[15]研究发现奶牛接种破伤风毒素疫苗后每天添加铬5 mg/kg饲料能够增加抗体反应,但中性粒细胞功能不受铬的影响。

6 锌

锌是许多酶的组成成分,如DNA合成酶、RNA合成酶等,锌对奶牛免疫功能的影响是通过抑制过氧化物对细胞的损害,稳定细胞膜体现的^[16]。锌是胸腺素的组成成分之一,在抗氧化系统中锌是铜-锌SOD的组成成分。

胸腺素的主要作用是促进T细胞分化成熟,胸腺素能在不同环节上控制T细胞的发育、分化,诱导淋巴干细胞转化为T细胞,并使之进一步分化成熟为具有各种特殊功能的T细胞亚群,增强各T亚群细胞的反应能力,在调节机体免疫平衡中起着重要作用,缺乏锌可造成胸腺激素活性下降,从而导致机体免疫功能降低。

缺乏锌的奶牛表现为采食量和生长速度下降,长期缺锌将出现蹄角软弱及四肢、头部等皮肤角质化。Shankar等^[17]已经证明锌缺乏将导致免疫应答损伤和抗病能力降低。健康奶牛比严重锌缺乏症的奶牛更易发生边缘性营养缺乏症。但成长期的奶牛边缘性锌缺乏并不损伤细胞介导的免

疫应答或体液免疫应答^[18]。Meglia 等^[19]研究表明分娩当天血锌浓度最低, 平均浓度为 10.5 $\mu\text{mol/L}$, 低于参考值 11~23 $\mu\text{mol/L}$, 围产期奶牛缺乏锌可能导致奶牛免疫功能下降。NRC^[4]建议奶牛产前一个月每天摄入锌的量为 320 mg, 分娩当天摄入 440 mg, 产后一个月每天摄入 960 mg, 可见奶牛随着分娩和泌乳的进行对锌的需求逐渐增加。然而日粮锌对奶牛产前免疫功能的影响较少引起人们的注意。

在决定向奶牛日粮中添加一定量的抗氧化剂和 / 或微量元素之前, 必须检测饲料并做饲料评价以确定应该添加哪些营养元素, 添加多少的量。如果某些营养元素摄入和 / 或吸收不足, 将导致奶牛免疫机能下降; 如果某些营养元素添加过量, 不但饲养费用增加, 而且还有可能使动物发生中毒。

参考文献:

- [1] Spears J W, Weiss W P. Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows[J]. The Veterinary Journal, 2008, 176:70-76.
- [2] Politis I, Hidirolou M, Batra T R, et al. Effects of vitamin E on immune function of dairy cows[J]. American Journal of Veterinary Research, 1995, 56:179-184.
- [3] Weiss W P, Hogan J S, Todhunter D A, et al. Effect of vitamin E supplementation in diets with a low concentration of selenium on mammary gland health of dairy cows[J]. Journal of Dairy Science, 1997, 80:1728-1737.
- [4] NRC-National Research Council. Nutrient requirements of dairy cattle[M]. seventh revised edition. National Academic Press, Washington, DC, USA. 2001.
- [5] Heinrichs A J, Costello S S, Jones C M. Control of heifer mastitis by nutrition[J]. Veterinary Microbiology, 2009, 134:172-176.
- [6] Chew B P, Park J S. Carotenoid action on the immune response[J]. Journal of Nutrition, 2004, 134:257S-261S.
- [7] Mustacich D, Powis G. Thioredoxin reductase[J]. Biochemistry Journal, 2000, 346:1-8.
- [8] Weiss W P, Hogan J S. Effect of selenium source on selenium status, neutrophil function, and response to intramammary endotoxin challenge of dairy cows[J]. Journal of Animal Science, 2005, 88:4366-4374.
- [9] Spears J W. Trace mineral bioavailability in ruminants[J]. Journal of Nutrition, 2003, 133:1506S-1509S.
- [10] Torre P M, Harmon R J, Hemken R W, et al. Mild dietary copper insufficiency depresses blood neutrophil function in dairy cattle[J]. Journal of Nutritional Immunology, 1996(4):3-24.
- [11] 杜忍让. 奶牛微量元素需要量及中毒量[J]. 黄牛杂志, 2004(1):40-42.
- [12] McNamara J P, Valdez F. Adipose tissue metabolism and production responses to calcium propionate and chromium propionate[J]. Journal of Dairy Science, 2005, 88:2498-2507.
- [13] Burton J L, Mallard B A, Mowat D N. Effects of supplemental chromium on immune responses of periparturient and early lactation dairy cows[J]. Journal of Animal Science, 1993, 71:1532-1539.
- [14] Burton J L, Nonnecke B J, Dubeski P L, et al. Effects of supplemental chromium on production of cytokines by mitogen-stimulated bovine peripheral blood mononuclear cells[J]. Journal of Dairy Science, 1996, 79:2237-2246.
- [15] Faldyna M, Pechova A, Krejci J. Chromium supplementation enhances antibody response to vaccination with tetanus toxoid in cattle[J]. Journal of Veterinary Medicine (Series B), 2003, 50:326-331.
- [16] 姜淑贞, 杨在宾, 闰庆兵, 等. 奶牛微量元素锌营养研究进展[J]. 中国饲料, 2004(2):25-26.
- [17] Shankar A H, Prasad A S. Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection[J]. American Journal of Clinical Nutrition, 1998, 64:447S-463S.
- [18] Spears J W, Kegley E B. Effect of zinc source (zinc oxide vs. zinc proteinate) and level on performance, carcass characteristics, and immune response of growing and finishing steers[J]. Journal of Animal Science, 2002, 80:2747-2752.
- [19] Meglia G E, Johannisson A, Petersson L, et al. Changes in some Blood Micronutrients, Leukocytes and Neutrophil Expression of Adhesion Molecules in Periparturient Dairy Cows[J]. Acta Veterinaria Scandinavica, 2001, 42:139-150.

启事

经研究, 2011 年度“永顺杯”优秀论文评选结果将于本刊 2012 年第 2 期公布。敬请留意!

《广东畜牧兽医科技》编辑部

二〇一二年一月十六日

智能型母猪群养管理系统的应用体会

颜建中, 冯芳草, 黄永成*, 陈磊
(茂名农垦畜牧有限公司, 广东 化州 525100)

摘要: 限位栏的长期使用对母猪生产性能产生了较多的负面影响, 而且也剥夺了母猪的福利。为了提高母猪的生产性能, 猪场引进了智能型母猪群养管理系统, 以探讨新的母猪饲养管理模式。

关键词: 智能型; 母猪群养管理系统; 限位栏

中图分类号: S821.4

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)01-0022-02

母猪限位栏在养猪生产中应用较为广泛, 早在 19 世纪 40 年代就有学者提出分娩限位栏概念。最初是为了控制母猪的运动, 尤其是从站立到躺卧的运动, 以便减少由于母猪挤压而造成的仔猪死亡^[1]。后来为了方便观察母猪的发情状况和对配种后怀孕母猪的饲养管理, 生产者将限位栏应用到了母猪的配种及怀孕这两个生产环节。母猪限位栏虽然便于生产者对母猪群进行管理, 但也逐渐显现出一定的危害性。主要表现为: 因缺乏运动, 导致母猪心肺功能不全及肢蹄病发生率高; 限位栏难于保持清洁干燥, 导致母猪泌尿生殖道感染率高; 母猪在限位栏饲养易造成母猪长期处于高水平糖皮质激素状态, 导致母猪免疫力下降, 增加母猪对疾病的感染率^[2-4]。随着社会文明的发展, 越来越多的人开始重视动物福利。1999 年英国禁止将母猪单独限定在定位栏内, 并在 2003 年通过《饲养动物福利法规》, 规定母猪和青年母猪除了预产期的前 7 d 和哺乳期间外都应群养。另据报道, 到 2013 年, 欧盟将全面禁止使用限位栏。母猪使用限位栏的危害及人们对动物福利的重视, 推动了生产者改变母猪使用限位栏的饲养管理模式。母猪智能群养管理系统在欧美发达国家已经使用多年, 近年来, 国内也有不少规模化猪场使用该系统。本公司自 2011 年 4 月开始使用某公司生产的智能型母猪群养管理系统。现将使用该系统的体会报告如下。

1 智能型母猪群养管理系统的主要功能

智能型母猪群养管理系统是一种先进的智能化母猪生产管理方式, 取代了旧式工厂化母猪定

位饲养的方式, 是在母猪群体饲养环境下对包括妊娠、空怀和后备母猪的整个繁殖周期进行智能化饲养管理, 为每头母猪建立生产记录, 并为此向母猪提供与其生产进程和体况相适应的饲料和饲料量, 实现全面电子化、自动化高效率猪场管理和生产。该系统由精确下料的采食站、发情监测器和自动分离器三大部分组成, 每头母猪配有电子耳牌, 赋予唯一身份, 方便智能化管理和查询母猪的详细信息, 实行大栏群养, 母猪可以自由活动和自由选择采食时间, 不会因等待采食而产生采食应激和攻击行为。

1.1 电子耳牌确认身份

该系统为每头母猪配一个无线射频的耳标, 系统通过耳标确认每一头母猪的身份。

1.2 精准饲喂

通过电子耳牌确认母猪身份后, 根据母猪个体的年龄、体况、妊娠阶段和季节因素等确定每一头母猪的最佳饲喂量。

1.3 智能分离

自动分离器实现了对特殊个体(例如发情母猪、返情母猪、需要打疫苗的母猪等)的自动识别和分离, 从而减少应激, 还减少了饲养员工作量和主观性误差。

1.4 发情鉴定

发情监测器不间断监测母猪的发情状况, 并根据母猪拜访公猪的频率和时间准确判断母猪发情时间, 将达到系统设置的发情指标的母猪进行喷墨标记, 从而确定最佳配种时间, 提高母猪配种成功率和繁殖效率。

2 应用效果

2.1 精准饲喂的应用情况

由于智能分离和发情鉴定在实际操作中存在一定的困难,因此暂未利用这两项功能。母猪经发情配种后,在限位栏饲养一个月,经人工观察及B超检查确认怀孕后转入智能群养栏。在转群当天,每头怀孕母猪肌肉注射黄体酮 20 mg,预防合群时母猪打斗造成流产。转群后,通过电脑设置每头母猪的采食量。由于是初次使用,因此必须对每头母猪进行采食调教。经过两天的调教,首批 156 头母猪全部可以进入喂料站自行采食。

2.2 智能型母猪群养管理系统的应用效果

到目前为止,经过智能型母猪群养管理系统进行饲养管理的母猪已经分娩 232 窝。现将智能型母猪群养管理系统使用前后的相关生产数据总结如下表 1。

表 1 智能型母猪群养管理系统使用前后生产数据比较

项 目	使用前 (限位栏管理)	智能型群养管理
怀孕期流产率	5.5%	6%
产程(平均)	3 h	2.1 h
母猪死 / 淘率	4%	2%
母猪断奶至发情配种时间(平均)	6.5d	4.5d
仔猪平均初生重	1.22 kg	1.24 kg
初生仔猪活力	一般	良好
初生仔猪均匀度	一般	良好
25d 仔猪断奶重	7.1kg	7.8kg
哺乳仔猪成活率	92.5%	96%

3 讨论与分析

3.1 智能型母猪群养管理系统的应用效果分析

3.1.1 精准化饲喂效果分析 在以往使用限位栏的过程中,因饲养员很难做到母猪个体精确饲喂,因此在生产中母猪群的膘情差异较大,过肥或过瘦对母猪生产性能造成极大的负面影响。使用智能型母猪群养管理系统后,由于可以根据电子耳牌确认每一头母猪的身份,因此可以确定每一头母猪的最佳饲喂量,达到了节省饲料、改善母猪体况和提高生产性能的效果。

3.1.2 数据比较分析 经智能型母猪群养管理系统进行饲养管理的母猪分娩 232 窝,与之前限位栏饲养管理所统计的生产数据见表 1。由表 1

可知,母猪怀孕期流产率没有明显的差异,母猪的产程平均时间、母猪死 / 淘率和母猪断奶至发情配种平均时间差异较明显。在仔猪平均初生重方面,限位栏饲养管理和智能型母猪群养管理系统没有明显的差异,但在初生仔猪活力、初生仔猪均匀度、25 d 仔猪断奶重和哺乳仔猪成活率存在明显的差异。李剑虹等^[1]报道,经限位栏长期饲养的母猪经常出现创伤、青肿和疲劳,母猪分娩时间趋于增加。王景春等^[3]报道,由于限位栏饲养的母猪缺乏运动,导致母猪的体况下降,引起母猪分娩时间长,母猪出现子宫炎、阴道炎、胎衣不下的情况增多,产出死胎、弱胎和胎儿活力降低的情况也增多,从而影响了仔猪的日增重、断奶重,使弱仔增加和仔猪群整齐度差。杨明^[5]报道,利用智能型母猪群养管理系统可以明显提高母猪群的健康,减少母猪肢蹄病的发生率,初生仔猪均匀度高,弱仔率降低。通过表 1 的数据统计结果表明,与限位栏的使用比较,智能型母猪群养管理系统可以明显提高母猪和哺乳仔猪的生产性能,这与前人的的一些相关报道是一致的。

3.2 存在的问题

智能型母猪群养管理系统在猪场生产中尽管取得了较好的效果,但也存在一些问题需要改进。存在的问题主要有三方面:一是母猪在合群时产生打斗的现象,容易造成怀孕母猪流产;二是智能型母猪群养管理系统部分设备容易出现损坏,维修次数偏多;三是容易导致雷击,有可能由于猪场处于雷区和智能型母猪群养管理系统包含有较多的电子元件,因此尽管猪场做了防雷设施,但在不到半年的时间里,智能型母猪群养管理系统设备被雷击了 4 次,烧坏了 3 块电路板。

参考文献:

- [1] 李剑虹,于孝军,吕善良. 浅析限位栏的使用[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2001(3): 19-20.
- [2] 王学东,冯丽洁,谷文彬. 限位栏在母猪生产中的负面影响[J]. 养殖技术顾问, 2010(3): 36.
- [3] 王景春,李春华. 单体限位栏对母猪的影响[J]. 辽宁农业职业技术学院学报, 2009, 11(3): 33-34.
- [4] 芦惟本,黄川. 论限位栏对母猪的伤害及其解脱[J]. 养猪, 2007(4): 35-36.
- [5] 杨明. 母猪智能群养管理系统和国内定位栏饲养模式正处磨合期[N]. 南方农村报, 2011(5219): 11.

某地区猪病高发原因的调查与对策分析

曹长仁¹, 吴同山²

(1. 广东省畜牧技术推广总站, 广东 广州 510500; 2. 东莞市畜牧科学研究所, 广东 东莞 523086)

中图分类号: S821.4

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)01-0024-02

近年来,随着猪病的不断变化,猪的各种传染性疾病不时在不同地区爆发甚至大范围流行,如高致病性蓝耳病、传染性胃肠炎等,导致养殖场(户)损失惨重。而某一地区,传染性疾病更是频频发生,不分季节、不分周期,难以间断。笔者经走访部分养殖场(户)、兽药经销商,对造成该地区猪病长期流行的可能原因进行了调查和分析,并提出了相应解决措施,以期对广大养殖户及猪病防控工作有所裨益。

1 流行性病多发原因

1.1 饲养密度大

该地区的生猪养殖以中小规模养殖为主,养猪场数量非常多,但单个养猪场规模不是很大,存栏结构以50~400头肉猪为主。主要养殖模式采用“鱼塘+猪场”,即在鱼塘旁建猪舍配套养殖生猪,利用猪粪肥塘,并达到养鱼的良好效果。猪舍所在的鱼塘堤坝,有的被一个猪场老板单独承包,有的被几个人同时承包,猪舍连着猪舍,甚至两家猪场共用同一堵墙,有的则共用同一个进出口,所饲养的鸡、狗等动物更是常规性地不断“串门”。目前,该地区所在县每年出栏生猪超过一百万头,猪舍密度不可谓不大。

同样,猪舍内的饲养密度也很大。按照常规,同一个猪场内,一头商品猪约占0.8~1 m²的栏舍,但这个地区基本上都在0.8 m²/头以下。因此栏舍内的小猪转身还比较方便,但到出栏之前,大猪转身都变得比较困难。

1.2 猪苗来源复杂

该地区养殖户大部分没有饲养母猪,猪苗主要依靠从外地购买,这也是该地区生猪养殖的一个显著特点。除了购买本省猪苗外,甚至也从外省购买猪苗。而且,不但绝大部分猪场的猪苗不是来

源于同一个场,甚至同一个猪场饲养的小猪,也不是来源于同一个场,往往是在一个场的猪苗装不满车的情况下,再去其他猪场购买猪苗,或者想通过对比饲养来比较哪家的猪苗更好。虽然不同来源的猪苗不会放在同一个栏内饲养,但由于小猪经常相互交叉或只放在相邻猪栏,加上不同场家猪苗的体质、抗体水平等参差不齐,因此,交叉感染的机会特别大。

买猪苗只要价格便宜,而不讲究猪苗生产场的规模如何,是否正规,是该地区很多养猪户的惯性思维和常规做法。因此,某些发病的猪只便比较容易混入猪群,也为猪传染病的爆发创造了有利条件。

1.3 饲养管理不科学

由于饲养规模较小,每个猪场基本上都没有配备专门的技术人员。因此,这些猪场在饲养管理上存在很多漏洞,比如:冬天时,饲养户的保温意识很强,但未能正确处理保温与通风的关系,经常半个月以上都不打开卷帘,当人进入猪舍内,眼睛被刺激得难以睁开;冲洗栏舍次数过多,猪舍地面基本上没有干燥过,猪栏常年保持相当大的湿度,造成猪只发生皮肤病的几率较大;用鱼塘水(冲洗猪栏后的水排放至此)直接冲洗猪栏的情况较普遍,经常造成重复感染;猪只防疫工作不规范,饲养户多根据个人喜好,或怀疑猪只得的是哪种猪病就注射哪种疫苗,而且大多数情况下不是自行注射,而是由兽药店的技术员进入猪舍注射。因此,兽药店技术人员经常在各猪场之间穿行,极易造成病原的传播。结果,由于平常猪只保健工作不到位,一旦发生疫情就花大价钱购买昂贵的药物进行处理,即便有时效果比较理想,但经常会反复。总而言之,管理方法不科学。

1.4 不设出猪台,由客户进栏挑猪

受地理条件的限制,也出于规模不大的考虑,绝大部分养猪场没有专门的出猪台,销售猪只时基本上依靠人工抬猪过磅、上车。如果只是本猪场的员工操作,风险也相对较小;但当人手不够时,经常由猪贩来赶猪、过磅、上车。而且猪贩不换衣服、鞋子便直接进入猪舍,今天来这间猪场买猪,明天则去另一个猪场。另外,由于没有待售猪栏给客户挑猪,客户在买猪前往往不换衣服、鞋子便进入猪舍查看猪只状况,而且几乎是看遍、摸遍待售的猪只。只有当客户满意,买卖双方才定价成交;而如果对价格不满意,养猪户不同意卖猪,客户便离开猪场,另寻别家。这样一来,更加大了猪只染病的机会。

1.5 饲料袋回收后重新使用

由于单个猪场需求量有限,饲料、药物运输车会在同一时间连续给多个猪场送货,期间根本不可能消毒,而且猪场饲料房一般就在猪舍旁边,接触传播的机会非常大。养猪户为了多赚钱,则将使用过的饲料袋卖给专门收饲料袋的客户,这些客户拿回袋子后,不是作别的用途,而是进行简单刷洗缝补之后,再直接卖给饲料商,而饲料商再将袋子装上饲料,又直接运输到了猪场。如此不断地循环,交叉地使用,也在不断地传递着病原。

1.6 养猪户聚会后不换衣服鞋子进猪舍

一般为了交流养猪经验,同一个地方的养猪户经常三五成群地聚在茶楼或酒店喝茶、吃饭。这本来是件好事,可以起到相互促进的作用。但养猪户并没有换衣服鞋子才进入猪舍的习惯,聚会后照样进出自己的猪舍工作。因此,有时一个场的猪只发病,其他几个猪场也都陆续出现疫情,说明这在一定程度上还是会影响到猪场正常生产。

2 解决措施

2.1 尽量统一猪只来源

一个猪场,不管猪苗供求关系是否紧张,最好固定从一个猪场购买猪苗。这样的话,猪只的健康水平没有太大的差异,基本上都处于同一个水平上,交叉感染的机会就会相对减少。相邻的几个猪场,如果规模较小,可以考虑同时从同一个猪场购进猪苗。规模较大的猪场,可以分批从同一个猪场购买猪苗,尽量避免多场引苗的情况出现。而且买猪苗前要向同行多打听了解,以便掌握猪苗生产场的健康水平。尤其是发生疫情后特别便宜的猪

苗,一定不能引进(有些地区发生猪病,因此会以很低的价格卖出猪苗;而很多养猪户在不了解疫情发生状况之前,认为越便宜越划算,去购买这些地区的问题猪苗)。

2.2 保持适宜的场内猪只密度

养猪场之外的情况,饲养者一般比较难以控制,因为不是自己的地,既不可能不让别人建猪舍,也不可能不让其他养殖户用同一个出口。在这种情况下,就要注意控制好猪舍内猪只饲养密度,每头猪占地面积不能少于 0.8 m^2 ,不能只顾追求利益,而一味地增加养殖数量,导致部分猪只吃不到饲料,造成同一批猪生产成绩跟不上的猪只增多,生产效益一样会受到影响。

2.3 完善饲养管理方法,注重“防重于治”的理念

一定要加强“防重于治”的观念,并且实实在在从每一件小事做起,比如:冬天在做好保温工作的同时,一定要加强通风。加强通风并不意味着随意打开卷帘,还要根据气温、风向、风力等适时打开,并根据具体情况确定打开多少。通常,人如果进入猪舍感觉到眼睛不舒服、中午太阳光线比较强、舍内比较热的时候,可以打开一半卷帘。正常情况下,每天要打开一次。尽量采用人工清粪,特别是冬天,冲洗栏舍次数不能太多,能喂料的前提下,最好2~3天冲洗一次,猪舍地面尽量保持干燥,以减少栏内的湿度。如果使用鱼塘水冲洗猪栏,要将鱼塘水先抽到一个水池中,用漂白粉处理后再用于冲洗猪舍。规范猪群防疫工作,根据本场的实际情况制定合理的免疫程序,或参考猪苗生产场家提供的免疫程序,并切实落到实处。坚持自己注射疫苗,做到心中有数、有的放矢。平常猪只保健工作要到位,该进行保健就进行保健。

2.4 养成进猪舍换衣服、鞋子的习惯

鞋子带菌、带病毒的几率非常大。因此,不论是养猪户还是外来人员,一定要坚持更换猪场自备的鞋子才能进出猪舍,有条件的话,衣服最好也要更换。多备几双雨鞋的花费并不多,但可以减少传播疾病的机会。只要养成习惯,对生产有益,这些所谓的“小事情”自然而然就会坚持下去。

2.5 配套各种消毒设施,必要的人员进出要严格消毒

没有出猪台的猪场,应在门口设置消毒盆、喷枪等,对送饲料、药物或买猪有关的进出人员及车

(下转第27页)

猪 A 型多杀性巴氏杆菌培养基改良的初步探讨

吴国胜, 罗镇藩, 李焯新, 林建新, 巫月生
(广东永顺生物制药有限公司, 广东 广州 511356)

摘要: 采用改良猪肺疫和常规猪肺疫疫苗用两种培养基培养猪 A 型多杀性巴氏杆菌, 对其培养液进行活菌数测定。实验结果表明, 运用改良猪肺疫培养基培养, 小批量与反应罐试验测得活菌数分别可达 $1.3 \times 10^9 \sim 1.7 \times 10^9$ CFU/mL、 $6.8 \times 10^8 \sim 7.5 \times 10^9$ CFU/mL; 运用常规猪肺疫培养基培养, 小批量与反应罐试验测得活菌数分别可达 $8.0 \times 10^8 \sim 1.0 \times 10^9$ CFU/mL、 $3.5 \times 10^9 \sim 3.7 \times 10^9$ CFU/mL, 可选择改良猪肺疫培养基替代常规猪肺疫培养基培养, 用于制备 A 型猪多杀性巴氏杆菌病疫苗。

关键词: A 型猪多杀性巴氏杆菌; 改良猪肺疫培养基; 活菌数

中图分类号: S852.61⁵ **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8567(2012)01-0026-02

猪 A 型多杀性巴氏杆菌病活疫苗是防治猪肺疫的新型活疫苗, 为广东永顺生物制药有限公司自主研发、生产、销售。制备该疫苗菌株与猪多杀性巴氏杆菌病 B 型活疫苗菌株同属巴氏杆菌, 其生产一直沿用培养 B 型菌株的培养基即猪肺疫培养基, 培养结果是 A 型菌株活菌数一直处于较低水平, 这将导致生产上难以配苗及严重影响疫苗的稳定性与均一性。鉴于猪 A 型多杀性巴氏杆菌生长的营养需求可能有别于传统的 B 型菌株, 笔者通过几次试验, 在常规猪肺疫培养基中添加部分其它营养成分制备成改良猪肺疫培养基用于培养, 提高该菌培养的活菌数, 取得显著效果。

1 材料

1.1 菌种

猪 A 型多杀性巴氏杆菌菌种由广东永顺生物制药有限公司保存、提供。

1.2 培养基及其他试剂

常规猪肺疫疫苗用培养基由广东永顺生物制药有限公司培养基组提供; 改良猪肺疫培养基由常规猪肺疫培养基中添加部分其它营养成分制成。其它培养基及试剂按常规方法制备。

1.3 试验用主要设备和仪器

300 L 反应罐, 购自上海理工大学高机实验总公司; pH S-3C 数字式 pH 计, 购自上海雷磁仪器厂。

2 方法

2.1 小批量试验

2.1.1 种子的制备

将猪 A 型多杀性巴氏杆菌

冻干菌种接种于含 0.1% 裂解血球全血的马丁肉汤中, 37 °C 培养 24 h, 然后将培养好菌液滴划在含 0.1% 裂解血球全血及 4% 健康动物血清的改良马丁琼脂平板上, 37 °C 培养 22 h。从中筛选 5 个以上典型菌落接种鲜血琼脂斜面若干支, 37 °C 培养 24 h, 用马丁肉汤洗下, 经纯检合格后作基本种子液。

2.1.2 菌液培养 以改良猪肺疫培养基 300 mL 作为试验培养基, 另取猪肺疫培养基 300 mL 作为对照培养基, 均按培养基量的 2% 将种子液分别接种到试验、对照培养基中, 37 °C、静止培养 12 h。培养结束时, 取样做纯粹检验并用倾注平板培养法^[1]测活菌数。共经 3 次对猪肺疫培养基通过添加不同比例营养成分进行改良, 均按同样试验方法试验。

2.2 反应罐试验

2.2.1 一级种子的制备

同 2.1.1

2.2.2 二级种子的制备 取一级种子按 2% 的量接种于含 0.1% 裂解血球全血的马丁肉汤中, 37 °C 培养 22 h, 取样用马丁琼脂作纯粹性检验合格后作为二级种子。

2.2.3 菌液培养 从小批量试验中筛选出最佳改良猪肺疫培养基作试验组, 同时以猪肺疫培养基作对照组, 均按培养基量的 2% 接种二级种子于培养基中, 同时加入 0.1% 裂解血球全血及适量消泡剂, 以逐渐增大通气量的方法在 37 °C 培养 12 h。培养结束时, 取样做纯粹检验并用倾注平板培养法^[1]测

活菌数,共重复培养 6 批次。

3 结果

3.1 小批量试验测得活菌数 (CFU/mL)

猪 A 型多杀性巴氏杆菌采用 3 种不同改良猪肺疫培养基及对照组常规猪肺疫培养基培养,测得其培养液的活菌数,如表 1 所示。

表 1 小批量试验测得活菌数 (CFU/mL)

试验次数	活菌数 (试验组 / 对照组) (CFU/mL)	菌数增幅 (%)	平均增幅 (%)
试验 1	$1.5 \times 10^9 / 9 \times 10^8$	66.67	66.39
试验 2	$1.7 \times 10^9 / 1.0 \times 10^9$	70.00	
试验 3	$1.3 \times 10^9 / 8 \times 10^8$	62.50	

3.2 反应罐试验测得活菌数 (CFU/mL)

猪 A 型多杀性巴氏杆菌采用最佳改良猪肺疫培养基 (即表 1 中试验 2) 及对照组常规猪肺疫培养基培养,共重复培养 6 批次,测得其培养液的活菌数,如表 2 所示。

表 2 反应罐试验测得活菌数 (CFU/mL)

批次 (试验组 / 对照组)	活菌数 (CFU/mL)	菌数增幅 (%)	平均增幅 (%)
1010/1004	$7.4 \times 10^9 / 3.7 \times 10^9$	100.00	96.79
1011/1005	$7.1 \times 10^9 / 3.6 \times 10^9$	97.22	
1012/1006	$6.8 \times 10^9 / 3.5 \times 10^9$	94.29	
1101/1007	$6.9 \times 10^9 / 3.6 \times 10^9$	91.67	
1102/1008	$7.5 \times 10^9 / 3.7 \times 10^9$	102.71	
1103/1009	$7.3 \times 10^9 / 3.7 \times 10^9$	97.30	

4 讨论

4.1 改良猪肺疫培养基培养,小批量与反应罐试验测得活菌数分别可达 $1.3 \times 10^9 \sim 1.7 \times 10^9$ CFU/mL、 $6.8 \times 10^8 \sim 7.5 \times 10^9$ CFU/mL;而采用常规猪肺疫培养基培养,小批量与反应罐试验测得活菌数分别可达 $8.0 \times 10^8 \sim 1.0 \times 10^9$ CFU/mL、

$3.5 \times 10^9 \sim 3.7 \times 10^9$ CFU/mL。说明无论是小批量试验或是大批量即反应罐试验,测得活菌数。前者培养基培养都远优于后者。所以采用改良猪肺疫培养基培养猪 A 型多杀性巴氏杆菌可大幅增加单位抗原量,活菌数平均增幅达 66.39~96.79%,为猪 A 型多杀性巴氏杆菌疫苗生产节约大量生产成本。

4.2 本试验改良猪肺疫培养基培养结果是根据《中华人民共和国兽用生物制品质量标准》^[2]中规定的培养猪 B 型多杀性巴氏杆菌所需时间进行收获测定的,培养更长时间未作试验,活菌数是否会随着培养时间的延长还会提高,有待进一步探讨。

4.3 目前对培养基营养成分检验手段比较落后,仪器设备简陋,化验项目过于简单,只包括氨基氮含量、氯化钠含量和酸碱度共三项,对于培养细菌培养基这样有着复杂成份的混合液来说,仅检测此三种参数显然是不够的^[3]。试验中经常出现前后二批培养基,检测其成分结果显示三种参数相同,培养时方法、时间等等都相同,但是培养结束时测得的活菌数却有很大差别,有时甚至相差一倍以上,可见现有对培养基成分化验手段有其局限性。为此,本试验没法检测改良猪肺疫培养基较之常规猪肺疫培养基有何关键成份上的差别,也就未能通过有针对性的添加手段来进行改良,只是作探讨性试验,最适合培养猪 A 型多杀性巴氏杆菌的培养基还需进一步摸索。

参考文献:

- [1] 王明俊. 兽医生物制品学[M]. 北京:中国农业出版社, 1996:296.
- [2] 中华人民共和国农业部. 中华人民共和国兽用生物制品质量标准[S], 2001 年版.
- [3] 俞俊棠,唐孝宣,郭行彦,等. 新编生物工艺学[M]. 北京:化学工业出版社, 2003.

(上接第 25 页)

辆尽量进行消毒,买猪的客户要洗手后再进猪舍。并且凡是客户摸过的猪只,尽量要卖出去;如果要留下来,消毒工作要到位。卖完猪后,要对车辆停留的地方、外来人员走过和触摸过的地方进行严格消毒。

猪舍内部,坚持每周带猪消毒 1~2 次,绝不能走过场。消毒前,一定要把栏舍、猪只清洗干净,

不要带粪消毒。

防微以杜渐,很多养殖户往往不注重平时管理而造成了极大损失。当前猪病比较复杂,本文提出的解决措施既不可能面面俱到,也不可能是处理问题的唯一标准,但希望能帮助广大养殖户在做好猪病防控时得以启发。对广大养殖户来说,很多细微的工作主要还在平时,为了自己的发展和利益,不可忽视猪场的细节管理。

高压蒸气灭菌的普通鸡饲料与 SPF 鸡专用饲料的营养差异及其对血清果冻样的影响

盘伟岚

(肇庆大华农生物药品有限公司, 广东 肇庆 526238)

摘要: 对普通鸡饲料、SPF 鸡专用饲料采用高压蒸气或钴 60 辐照灭菌, 对其灭菌后的灭菌效果、营养成分指标进行分析比较来探讨引起育成 SPF 鸡血清果冻样的原因。结果表明: 高压蒸气灭菌的普通的鸡饲料蛋白质含量和脂肪含量分别比钴 60 辐照灭菌的 SPF 鸡专用饲料高 2.94% 和 2.48%, 而种鸡多维采用高压蒸气灭菌可导致维生素 B₁ 缺失。本试验的结果提示饲喂经高压蒸气灭菌的普通饲料与种鸡多维可能会因营养物质配比不协调导致育成 SPF 鸡容易出现果冻样血清。

关键词: 鸡饲料; 果冻样; SPF 鸡; 灭菌; 血清

中图分类号: S831.4⁹

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)01-0028-02

The influence of sterilized regular chicken feeds and sterilized special feeds for SPF chickens on the jelly-like situation of serum

Pan Weilan

(Zhaoqing Dahuanong Biologic Pharmaceutical Co., Ltd, Zhaoqing 526238, China)

Abstract: The ordinary chicken feeds and special feeds for SPF chickens were sterilized with high pressure steam or irradiated by cobalt-60. The autoclaved results and nutrients index were analyzed to discuss the causes for the jelly-like situation of serum. The results showed that the protein content and the fat content in sterilized ordinary chicken feeds were 2.94% higher or 2.48% higher than those in the special feeds for SPF chickens and vitamin B₁ in multivitamins would decrease after steam sterilization. The jelly-like situation of serum would happen after the chickens were fed with sterilized ordinary chicken feeds and multivitamins.

Key words: Chicken feed; jelly-like situation; SPF chickens; sterilization; serum

SPF 鸡是指生长在屏障系统或隔离器中, 没有国际或国内鸡流行的主要传染病, 有良好的生长和繁殖性能的鸡群^[1]。影响 SPF 鸡群微生物状态和生产性能的重要因素之一是饲料^[2], 饲料的营养成分搭配不当易使育成鸡析出的血清出现果冻样, 影响血清学检测。本研究对普通鸡饲料、SPF 鸡专用饲料与种鸡多维采用高压蒸气或钴 60 辐照灭菌, 对其灭菌后的灭菌效果, 饲料的水分、蛋白质、脂肪、灰分、钙、磷等以及种鸡多维的 VitB₁、VitB₂、VitB₆、烟酰胺与叶酸等营养成分指标进行分析比较, 探讨引起育成 SPF 鸡血清果冻样的形成原因。

1 材料与方法

1.1 材料

普通鸡饲料: 温氏集团育成鸡饲料 (生产批

号:20110405); 钴 60 辐照灭菌的 SPF 鸡专用饲料: 北京科澳协力饲料有限公司育成鸡饲料 (生产批号:20110416); SPF 鸡: 白来航鸡, 来源: 广东大华农动物保健品有限公司; 蒸气灭菌柜: 千樱脉动真空蒸气灭菌器, 灭菌条件: 121 °C, 15 min; 培养基: 硫乙醇酸盐培养基 (T. G) 50 mL 小瓶、硫乙醇酸盐培养基 (T. G) 小管、酪冻琼脂 (G. A)、葡萄糖蛋白胨汤 (G. P); 生化培养箱: LRH-250A; 检验仪器: 日立 L-8900 氨基酸自动分析仪, 液相色谱。

1.2 方法

1.2.1 高压蒸气灭菌前、后的普通鸡饲料与钴 60 辐照灭菌的 SPF 鸡专用饲料分别取 3 个样本, 每个样本称 10 g 样品加入 10 mL 灭菌的生理盐水, 研磨后离心取上清液, 接种到 50 mL T. G 培养基中,

培养 3 日后移植, 分别接种 T.G 小管和 G.A 斜面各 2 支、G.P 小管 1 支, 将 1 支 G.A 小管、1 支 T.G 小管、1 支 G.P 小管置 25 °C 培养, 其余的置 37 °C 培养, 均培养 5 日, 观察并判断是否有菌落形成。

1.2.2 高压蒸气灭菌前、后的普通饲料与钴 60 辐照灭菌的 SPF 鸡专用饲料 随机各取 1 个样本测定水分、蛋白质、脂肪、灰分、钙、磷等成分, 利用 SPSS 软件对数据进行差异显著性分析。

1.2.3 用液相色谱法分别测定用钴 60 辐照和高压灭菌的种鸡多维 B 族维生素、烟酰胺、叶酸等成分变化情况, 利用 SPSS 软件对数据进行差异显著性分析。

1.2.4 用高压蒸气灭菌后的普通鸡饲料和钴 60 辐照灭菌的 SPF 鸡专用饲料, 分别喂养 100 只 4 周龄的 SPF 鸡, 到 20 周龄。为了使 SPF 鸡有充分的活动空间, 要求每台隔离器饲养 10 只, 分别在 7 周龄、10 周龄、13 周龄、16 周龄、20 周龄采血, 观察血清的颜色、清亮度及有无果冻样的结果, 同时解剖出现果冻样的 SPF 鸡。

2 结果

2.1 高压蒸气灭菌与钴 60 辐照对普通鸡饲料与 SPF 鸡专用饲料的灭菌效果

饲料样品在不同培养基中培养 5 日后, 均无长菌, 说明高压蒸气灭菌与钴 60 辐照灭菌均可分别保证普通鸡饲料与 SPF 鸡专用饲料无菌。(见表 1)。

2.2 高压蒸气灭菌与钴 60 辐照灭菌对普通鸡饲料与 SPF 鸡专用饲料的营养成分的影响

从表 2 可以看出, 高压灭菌对普通的鸡饲料的营养成分影响较大, 蛋白质减少了 1.49%、脂肪减少了 0.19%、水分增加了 1.28% ($P < 0.05$); 并且

表 1 高压蒸气灭菌与钴 60 辐照对普通鸡饲料与 SPF 鸡专用饲料灭菌效果比较

饲料样品种类	TG 小瓶	37°C 培养		25°C 培养		
		TG	GA	TG	GA	GP
普通鸡饲料(高压蒸气灭菌前)	+ ¹⁾	+	+	+	+	-
普通鸡饲料(高压蒸气灭菌后)	-	-	-	-	-	-
SPF 鸡专用饲料(钴 60 辐照后)	-	-	-	-	-	-

1): “+”: 表示长菌; “-”: 表示不长菌。

高压灭菌后普通的鸡饲料与钴 60 辐照灭菌的 SPF 鸡专用饲料相比较, 蛋白质多了 2.94%、脂肪多了 2.48% ($P < 0.05$)。

2.3 高压蒸气灭菌后的普通鸡饲料与钴 60 辐照灭菌 SPF 鸡专用饲料对 SPF 鸡血清形态的影响

从表 3 可以看出, 饲喂高压灭菌普通鸡饲料的 SPF 鸡从第 10 周龄开始血清出现黄色果冻样的情况, 出现的几率随时间的推移增加, 到 20 周龄时, 黄色果冻样达到 40%, 而饲喂 SPF 鸡饲料(钴 60 辐照)的 SPF 鸡从 7 周龄到 20 周龄出现果冻样只有 11%, 比饲喂高压灭菌普通的鸡饲料的 SPF 鸡低 29%。

2.4 剖检结果

对血清出现果冻样的 SPF 鸡进行解剖, 均见皮下脂肪厚, 腹内脂肪大量沉积, 肾脏和胃都被厚厚的脂肪层包围, 心脏和肠系膜也有多量脂肪分布; 60% 出现肝脏肿大色淡, 质脆, 有油腻感。

3 讨论

普通的鸡饲料经过高压蒸气灭菌后与钴 60 辐照灭菌的 SPF 鸡专用饲料的灭菌效果均为无菌。从营养成分来看, 虽然灭菌前、后普通的鸡饲料蛋白含量相差了 1.49%, 但与钴 60 辐照灭菌 SPF 鸡专

表 2 高压蒸气灭菌与钴 60 辐照对普通鸡饲料与 SPF 鸡专用饲料营养成分的影响

品 种	水分 (%)	蛋白 (%)	脂肪 (%)	灰分 (%)	钙 (%)	磷 (%)
普通的鸡料(灭菌前)	12.82±0.10	19.29±0.23	5.13±0.06	4.64±0.03	1.06±0.01	0.58±0.01
普通的鸡料(灭菌后)	14.1±0.26	17.8±0.20	4.94±0.09	4.54±0.03	0.76±0.01	0.46±0.02
SPF 专用鸡料(钴 60 辐照灭菌)	14.07±0.18	14.86±0.21	2.46±0.05	5.78±0.05	1.18±0.02	0.57±0.01

表 3 高压蒸气灭菌后的普通鸡饲料与钴 60 辐照灭菌 SPF 鸡专用饲料对 SPF 鸡血清形态的影响

灭菌方式	7 周龄	10 周龄	13 周龄	16 周龄	20 周龄
普通的鸡饲料(高压后)	100/100 黄色清亮, 0/100 黄色果冻样	90/100 黄色清亮, 10/100 黄色果冻样	75/100 黄色清亮, 25/100 黄色果冻样	68/100 黄色清亮, 32/100 黄色果冻样	60/100 黄色清亮, 40/100 黄色果冻样
SPF 鸡专用饲料(钴 60 辐照)	100/100 黄色清亮, 0/100 黄色果冻样	100/100 黄色清亮, 0/100 黄色果冻样	100/100 黄色清亮, 0/100 黄色果冻样	95/100 黄色清亮, 5/100 黄色果冻样	89/100 黄色清亮, 11/100 黄色果冻样

(下转第 38 页)

含霉菌毒素精糠致猪中毒的病例报告

万春云, 江涛, 龚大春

(长江大学动物科技学院, 湖北 荆州 434025)

中图分类号: S856.9

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)01-0030-01

近几年,猪场对霉菌毒素的控制已相当重视,但有时原料的选择不当和存储不善时,霉菌毒素仍会对猪只造成危害。湖北省枝江县仙女镇某养殖场,因饲喂精糠导致猪群霉菌毒素中毒。病猪出现黄疸、消瘦、消化不良、生殖器官变化为特征的症状。经过一段时间的处理与治疗,取得明显效果。现报告如下。

1 临床症状

该猪场共饲养大小猪只400余头,经熟人介绍,以比较便宜的价格购买一批精糠。场主自称明白精糠容易霉变,但考虑到气温已经下降(10月底),遂大批购进。饲料中添加量为20%,后发现精糠有结块,于是将精糠大量投喂给即将出栏的肥猪群,引起肥猪群大面积发病。

主要症状为:患猪精神沉郁、消瘦、被毛粗乱,生长缓慢,食欲下降甚至废绝;母猪外阴肿胀发红,类似发情外观,有爬跨行为;公猪(已去势)出现明显包皮积液,积液黄色,有骚臭味;大多数猪伴有黄疸,爱拱地,异嗜;腹泻病例前期很多,占近40%,后期明显减少,出现便秘;有少数猪出现排尿疼痛现象(排尿中多次出现超过3秒的停顿),尿液黄色。症状严重的猪重度消瘦,躺卧不起,个别急性死亡。病猪体温高者达到41.2℃,一般体温略微升高,在40℃左右。料槽内有大量剩余饲料,混有很多猪被毛,有霉味。

2 病理变化

主要变化发生在肝脏。肝脏色黄肿大,质脆,有的质地变硬,严重的有灰黄色坏死灶;胆囊萎缩,胆汁少而浓;心内、外膜出血;腹腔、胸腔和心包腔积有清亮带黄白色的渗出液;肺有气肿表现;部分猪胃部溃疡,肠道有出血性炎症;肾脏肿胀,苍白或淡黄色;有的肠系膜呈胶样水肿。

3 诊断

根据发病经过和临床表现,初步判定为霉菌毒

素中毒。取该猪场精糠样品50g,处理后乙腈抽提,展层,并设置赤霉烯酮和黄曲霉素B₁标准品对照,紫外灯下观察。经在紫外线灯下检查,发现有蓝绿色的荧光点,当用长波紫外线灯(450nm)照射时,所激发的光的强度较大,与赤霉烯酮标准品一致,可以判断样品中含有赤霉烯酮。黄曲霉毒素B₁用紫外360nm检测,呈现蓝绿色荧光,比标准品稍浅,可能因含有不同型的黄曲霉毒素所致,但其在360nm激发的荧光显示黄曲霉毒素阳性。

4 治疗处理

立即停喂该批精糠。经检查,这批精糠包装袋下层已明显结块,发热,有刺鼻霉味。扫除猪舍内所有霉变饲料,洗料槽,停食一餐后更换新料(该猪场育肥猪每天饲喂2次)。饲料中添加清热败毒散0.3%、脱霉剂0.4%、小苏打0.5%;饮水中添加电解多维和3%的葡萄糖。严重的猪只先停喂后给以适当青饲料,然后逐步转入正常饲喂。对严重的病猪注射肌苷、柴胡注射液,添加维生素C、E和高渗葡萄糖。处理2天后开始在饲料中添加氟苯尼考和强力霉素保健,控制继发感染。经处理,在2周左右的时间全部康复。

5 小结

饲料的霉菌毒素污染是一个世界性问题,据联合国粮农组织(FAO)估计,全世界谷物供应中有25%受霉菌毒素污染而不能食用。随着我国养猪业的发展,防止霉菌毒素中毒也被日益重视。该猪场场主也认识到这个问题,但他忽略了一些问题,比如认为气温低不易霉变,但饲料堆积时,湿度稍高的情况下就会由于呼吸和发酵作用产生热量,促使精糠发生霉变。在治疗时,要综合考虑各种因素,施行对症治疗。有些时候,还要考虑解痉、强心的问题,同时防止由于霉菌毒素中毒引起的继发性感染。从治疗周期来看,因为没有特效治疗药物,一般都需要比较长的治疗时间,投饲量也不能增加太快。

伪狂犬病病毒野毒荧光定量 PCR 检测方法的建立

田云, 孙彦伟, 任裕其, 查云峰, 王福广, 焦颖
(广东省动物防疫监督总所, 广东 广州 510230)

摘要: 根据伪狂犬病病毒 gE 基因的序列, 设计和合成了一对特异的可用于检测伪狂犬病病毒野毒的 PCR 引物和一条 Taqman 荧光探针, 采用 LightCycle[®] 480 荧光定量 PCR 仪, 建立了一种可实时定量检测伪狂犬病病毒野毒的荧光定量 PCR 技术。该方法的线性范围为 $1.0 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^{10}$ 拷贝, 灵敏度可达 4 拷贝。检测速度快, 仪器的运行时间仅为 1 h。对 13 株猪伪狂犬病病毒野毒进行了检测, 结果均为阳性; 与伪狂犬病 gE 基因缺失疫苗、猪细小病毒和鸭瘟病毒无非特异性反应。与病毒分离培养比较, 该方法具有快速、灵敏、特异、定量、重复性好等优点, 可望用于临床上伪狂犬病病毒野毒与疫苗毒的区分, 伪狂犬病病毒野毒的检测和病毒分布的研究等。

关键词: 猪伪狂犬病病毒野毒; 荧光定量 PCR; 临床检测

中图分类号: S852.65⁹.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8567(2012)01-0031-04

Development of the fluorescent quantitative PCR method for detecting Pseudorabies virus wild strains

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

Abstract: According to the sequences of gE gene of pseudorabies virus (PRV), one pair of primers and one Taqman probe were designed and synthesized for differentiating the wild strains of pseudorabies virus from the field samples by using LightCycle[®] 480 real-time PCR machine. The detectable linear range of this novel qPCR method was from 1.0×10^2 to 1.0×10^{10} copies with the lowest detectable DNA limit of 4 copies. This rapid and sensitive qPCR test could be run in one hour to acquire the results. Its specificity by detecting 13 wild strains of pseudorabies viruses isolated in our laboratory was confirmed in which no any positive amplification for swine parvovirus and duck plague virus (duck enteritis virus) were produced. This method was more highly rapid, sensitive, specific and repeatable than the classical virus isolation and culture methods, and could be used for the detection of wild type of PRV in the field samples.

Key words: Wild-type pseudorabies virus; fluorescent quantitative PCR; clinical detection

猪伪狂犬病(Pseudorabies, PR)是由疱疹病毒科的猪伪狂犬病病毒(Pseudorabies virus, PRV)引起的猪、牛、羊等多种家畜、家禽及野生动物的一种以发热、奇痒(猪除外),呼吸和神经系统疾病为特征的急性传染病,又称 Aujeszky 病^[1]。

我国于 1947 年首次报道猪的伪狂犬病^[2],并于 1956 年开始陆续在我国各地的猪群中发生。为了控制伪狂犬病的发生及带来的危害,自 70 年代中期以来,在我国多省份采用基因工程疫苗(gE

基因缺失)来预防疾病的发生,但随之而来也带来了临床诊断上伪狂犬病病毒野毒和疫苗毒无法区分的问题,给伪狂犬病的诊断带来了困难。为解决上述问题,作者根据 GenBank 已发表的 gE 基因序列设计了一对保守的引物和一条探针,建立了鉴别 PRV 野毒和疫苗毒的荧光定量 PCR 方法。

1 材料和方法

1.1 毒株和细胞

伪狂犬病病毒 Min A 株等 13 株野毒为本实

实验室保存, 其中 MinA 株为伪狂犬病病毒标准毒株, 其它 12 个毒株由本实验室分离保存。伪狂犬病 gE 基因缺失疫苗、鸭瘟弱毒疫苗和猪细小病毒用于特异性检验。BHK 细胞由本实验室保存, 用于伪狂犬病病毒的增殖。

1.2 DNA 提取试剂盒、细胞培养基和主要试剂

DMEM 培养基购自 GIBCO 公司, 新生牛血清购自杭州四季青, TIANamp Genomic DNA Kit 购自天根生物技术有限公司, Wizard[®] SV Gel and PCR Clean-Up System 胶回收试剂盒购自 Promega 公司, Premix Ex Taq(perfect real time)试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司, DH5 α 感受态细胞购自广州科威生物工程有限公司。

1.3 引物和探针

根据 GenBank 已发表的 gE 基因序列设计了一对保守的引物和一条探针, 上游引物 PRV-1: 5'-CGGCTTCGACGTCTGGTT-3'; 下游引物 PRV-2: 5'-GCCATAGTTGGTCCATTCG-3'; 荧光探针 Probe1: 5' FAM-CGCGATCCGAGAAACCGGAAG-3', 荧光探针 5' 端标记的荧光报告基团是 FAM, 3' 端标记的淬灭基团是 ECLIPSE。引物和探针均由宝生物工程(大连)有限公司合成, 产物长度是 64 bp。

1.4 仪器

荧光定量 PCR 仪采用罗氏公司的 LightCycle[®]480 仪器, 紫外分光光度计采用基因公司的 NanoDrop ND-1000 分光光度计。

1.5 病毒 TCID₅₀ 的测定

采用微量法测定伪狂犬病病毒 HY-HL 株在 BHK 细胞上的感染力。病毒液做 10 倍系列稀释(从 10⁻¹ 至 10⁻¹¹)后, 分别接种于长满单层细胞的 96 孔微量细胞培养板上, 每个稀释度接种 8 孔, 每孔 100 μ L, 另 8 孔加维持液作为阴性对照, 于 37 $^{\circ}$ C 5%CO₂ 培养箱中培养。接毒 12 h 后开始, 每 6 h 观察 CPE, 培养 96 h 后判定结果。按照 Reed-Muench 氏法计算病毒的 TCID₅₀。

1.6 病毒 DNA 的提取

参照天根生物技术有限公司的 TIANamp Genomic DNA Kit 说明书进行, 并略作改进。

1.7 阳性标准品的构建

以标准株 MinA 株的 DNA 为模板, 用 PRV-1 和 PRV-2 引物进行 PCR 扩增 gE 基因, 电泳后切胶回

收 gE 基因, 回收产物经紫外分光光度计测量其 OD 值 >1.8 后用做标准品。随后用 TAKARA 的 EASY Dilution 将其稀释至 0.5 \times 10²~0.5 \times 10¹⁰ copies/ μ L, 用做标准品。将其克隆到 pMD18-T 载体, 转化大肠杆菌 DH5 α , 筛选阳性克隆, 送上海生物工程有限公司测序验证。

1.8 荧光定量 PCR 方法的建立

反应体系为 25 μ L, 其组成为: Premix Ex Taq 12.5 μ L, PRV-1 (10 μ mol/L) 0.5 μ L, PRV-2 (10 μ mol/L) 0.5 μ L, 探针 Probe1 (2 μ mol/L) 1.5 μ L, 标准品或待检样品 DNA 2 μ L, DEPC 水 8 μ L。

荧光定量在 LightCycle[®] 480 仪器上进行。检测条件为: 95 $^{\circ}$ C 8min 预变性; 95 $^{\circ}$ C 10s, 60 $^{\circ}$ C 20s。扩增 40 个循环, 在每个循环结束时检测荧光, 自动计算出 Ct 值并给出定量结果。

1.9 荧光定量 PCR 方法的特异性检测

采用上述已建立的荧光定量 PCR 方法, 对伪狂犬病病毒野毒、伪狂犬病病毒 gE 基因缺失疫苗毒、鸭瘟病毒和细小病毒进行荧光 PCR 特异性检测。

1.10 荧光定量 PCR 方法的重复性检测

采用上述已建立的荧光定量 PCR 方法, 对 3 株伪狂犬病病毒野毒进行重复性检测。

2 结果

2.1 标准曲线及荧光定量 PCR 的灵敏度

以 10 倍系列稀释的标准品 (0.5 \times 10¹⁰ copies/ μ L~0.5 \times 10² copies/ μ L) 为定量检测模板, 每个浓度 2 μ L, 各 4 个重复, 在 LightCycle[®] 480 仪器上检测, 得到动力学曲线(图 1)和标准曲线(图 2), 可知模板 DNA 浓度在 10¹⁰ copies~10² copies 范围内有很好的线性关系, 扩增效率为 2.008。

取 10⁻¹~10⁻⁸ 倍稀释的 PRV 的 DNA 做为检测样品, 进行荧光定量 PCR 检测, 结果 10⁻¹~10⁻⁵ 均能检出, 10⁻⁶ 开始超出定量范围。其中 10⁻⁵ 为 4 个拷贝, 表明此实验中建立的荧光定量 PCR 方法可以检测到 4 个拷贝的模板。

2.2 测序结果分析

MinA 株的 PCR 产物经 T 载体克隆后, 送上海生物工程有限公司测序, 测序结果经 GenBank 比对后, 证实确为伪狂犬病病毒的 gE 基因, 表明本

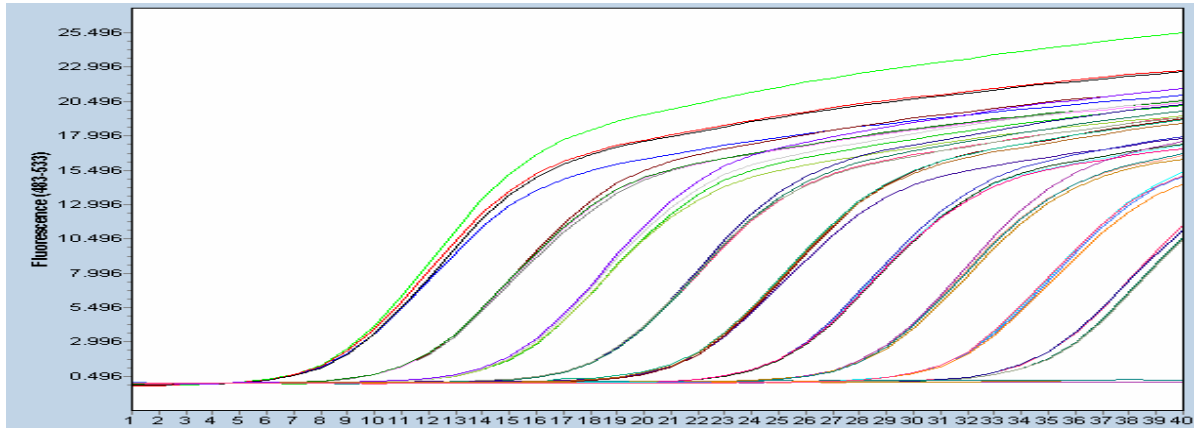


图 1 动力学曲线

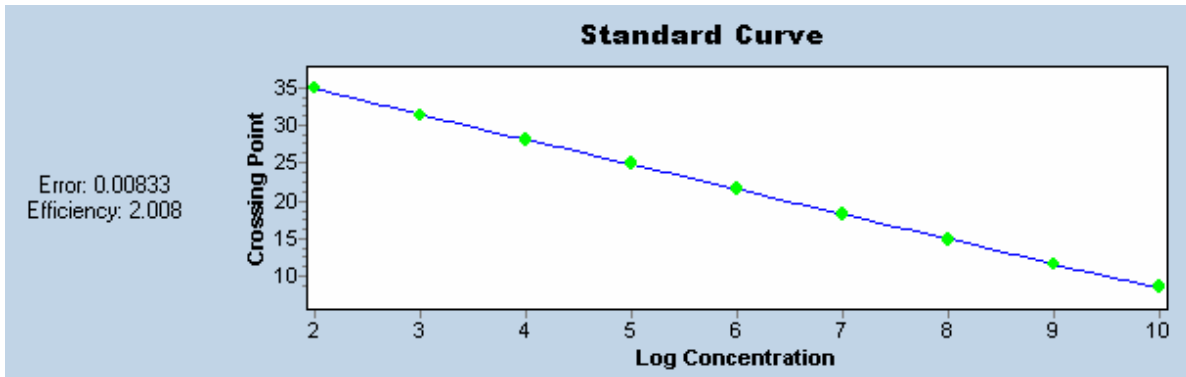


图 2 荧光定量标准曲线

文建立的方法可用于伪狂犬病病毒野毒的检测。

2.3 特异性

对包括 MinA 株在内的 13 株伪狂犬病病毒野毒进行了荧光 PCR 检测, 结果均为阳性; 对伪狂犬病 gE 基因缺失疫苗进行荧光定量 PCR 检测, 结果无荧光信号出现, 表明该方法具有较高的特异性, 可以有效区分 PRV 野毒株与疫苗株(图 3)。

对鸭瘟病毒和细小病毒进行荧光定量 PCR 检测, 结果均无荧光信号出现, 表明该 PCR 检测方法具有良好特异性。

2.4 重复性

对 3 份不同的 PRV 样品进行组间重复性检测, 结果重复性检测的组间变异系数 CV% 分别为 0.29%, 0.28% 和 0.20%, 远小于 5%, 表明该方法具有良好的重复性(表 1)。

2.5 细胞培养和荧光定量 PCR 检测方法的比较

将 PRV 在 BHK 细胞上测定 TCID₅₀, 结果 10⁻⁴、10⁻⁵ 和 10⁻⁶ 倍稀释毒各有 8 孔、7 孔和 1 孔出现 CPE, 该 PRV 的 TCID₅₀ 为 10^{-5.5}/0.1mL, 在 10⁻⁵ 时的检出率低于 100%, 比荧光定量 PCR 的灵敏度稍低。

表 1 三份不同 PRV 样品的组间重复性检测结果

Sample No.	Crossing Point(CP)			STDEV	AVERAGE	CV (%)
1	28.32	28.36	28.20	0.083267	28.29333	0.29
2	22.49	22.59	22.61	0.064291	22.56333	0.28
3	28.89	28.78	28.81	0.056862	28.82667	0.20

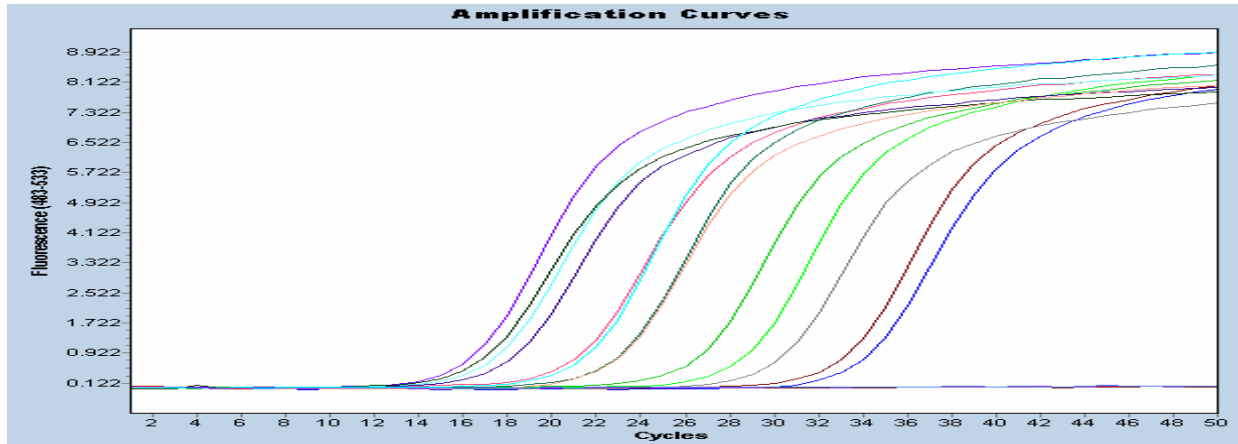


图3 13株猪伪狂犬病毒的荧光定量PCR检测结果

2 讨论

猪伪狂犬病是由猪伪狂犬病病毒引起的多种家畜和野生动物的一种传染病。猪是该病毒的贮存宿主和传染源,常常引起母猪出现繁殖障碍及初生仔猪大批死亡,成年猪则系隐性感染,长期带毒排毒,严重影响种猪场生产及优良品种的推广,给养猪业造成极大的损失^[3]。

gE 蛋白是一种糖蛋白,是 PRV 重要的毒力基因。它在介导感染细胞的融合,病毒在细胞间的扩散、病毒粒子的释放等方面均起着十分重要的作用,在影响 PRV 神经嗜性和毒力方面也具有一定的作用。伪狂犬病病毒活疫苗缺失 gE 基因,是一种标记疫苗,它具有足够多的抗原决定簇,可刺激机体产生保护性的免疫应答,使免疫猪群有效抵抗野毒的感染。由于缺失了 gE 基因,故 gE 基因的有无可作为区分伪狂犬病病毒野毒和疫苗毒的手段。

临床上的快速诊断是防治猪伪狂犬病的重要措施之一。虽然病毒分离^[4]、gE 抗体检测^[5]、常规 PCR 检测^[6,7]等方法均曾在伪狂犬病的检验过程中发挥了一定的作用,但是由于病毒分离时间长,gE 抗体仅证明曾经感染过,常规 PCR 检测敏感性低等原因,荧光定量 PCR^[8]在临床检测中的优势也就越加明显。

本实验根据 PRV 的 gE 基因设计了一对特异的可用于检测伪狂犬病病毒野毒的 PCR 引物和一条 Taqman 荧光探针,采用 LightCycle[®] 480 荧光定量 PCR 仪,建立了一种可实时定量检测猪伪狂

犬病病毒野毒的荧光定量 PCR 方法。该方法可有效区分伪狂犬病病毒野毒和疫苗毒,可以检测到低至 4 个拷贝的 PRV 野毒模板,可以实时监控检测结果,特异性强,时间短,且无 PCR 产物的污染和 EB 的污染,可保证实验结果的准确性和实验人员的安全性。有望用于伪狂犬野毒和疫苗毒的鉴别诊断,伪狂犬病病毒野毒的检测和病毒分布的研究等,对于伪狂犬病的净化起到一定的作用。

参考文献:

- [1] 斯特劳,阿莱尔,蒙加林,等.猪病学[M].第八版.北京:中国农业大学出版社.2000:239-253.
- [2] 刘永纯.阿杰斯基氏病在中国发生之一例[J].中华医学杂志,1947,34(1):501-502.
- [3] 殷震,刘景华.动物病毒学[M].第二版.北京:科技出版社,1997:998-1009.
- [4] 韩勇,李文刚,项朝荣,等.猪伪狂犬病病毒的分离和鉴定[J].动物医学进展,2007,28(3):43-45.
- [5] 柴虹,范忠军,陈义平,等.猪伪狂犬病血清抗体 gE-ELISA 检测方法的建立[J].中国兽药杂志,2007,41(7):9-12.
- [6] Huang C, Hung J J, Wu C Y, et al. Multiplex PCR for rapid detection of pseudorabies virus, porcine parvovirus and porcine circoviruses[J]. Veterinary Microbiology, 2004, 101(3):209-214.
- [7] Balascha M, Pujolsb J, SegaleÀsa J, et al. Study of the persistence of Aujeszky's disease(pseudorabies) virus in peripheral blood mononuclear cells and tissues of experimentally infected pigs[J]. Veterinary Microbiology, 1998, 62(3):171-183.
- [8] 田云,任裕其,屈源泉,等.伪狂犬病毒荧光定量 PCR 检测方法的建立[J].广东畜牧兽医科技,2009,34(4):31-33.

猪链球菌病 C、D、E 三价灭活蜂胶疫苗的研制

余玲娜, 黄捷, 司徒剑谋, 刘法连, 杨球*
(广东永顺生物制药有限公司, 广东 广州 511356)

摘要: 以 C、D、E 群猪链球菌强毒株经培养后灭活、浓缩、混合, 用蜂胶作佐剂 (10mg/头剂), 制成 C、D、E 三价蜂胶灭活疫苗, 并在实验室内进行安全性试验及免疫效果实验。结果表明, 该疫苗对实验猪、小鼠及家兔均安全; 小鼠免疫 21 天后攻毒, 对 C55138 株的保护率分别是 4/5、5/5、4/5; C55938 株的保护率分别是 3/5、4/5、4/5; C55914 株的保护率分别是 4/5、3/5、3/5, 对照组均 5/5 死亡; 猪免疫 21 天后以 C55138 株攻毒, 0401 试制疫苗保护率为 3/4 外, 其余均 4/4 保护; 对 C55938 株攻毒保护率三批分别为 4/4、2/4、3/4。对照猪均 4/4 死亡, 疫苗免疫保护效果良好。

关键词: 链球菌; 三价; 蜂胶灭活疫苗

中图分类号: S852.61+1

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)01-0035-04

The development of the trivalent inactivated vaccine in propolis-adjuvant against Streptococcus groups C, D and E

Yu Lingna, Huang Jie, Situ Jianmou, Liu FaLian, Yang Qiu*
(Guangdong WinSun Bio-Pharmaceutical Co., LTD., Guangzhou 511356, China)

Abstract: Tivalent inactivated vaccine against Streptococcus groups C, D and E were manufactured by inactivating, concentrating and mixing the cultured Streptococcus strains of group C, D and E with propolis-adjuvant (10mg/dose). The safety test and immunity test were done in the lab. The results showed that it was safe for pigs, mice and rabbits. The mice were attacked with stains on the 21th day after immunization. The protection ratio against C55138 was 4/5, 3/5 and 4/5. The protection ratio against C55938 was 3/5, 4/5 and 4/5. The protection ratio against C55914 was 4/5, 3/5 and 3/5. All the mice in the control group were dead(5/5). The pigs were attacked on the 21th day after immunization. The protection ratio against C55138 was 4/4, 3/4 and 4/4. The protection ratio against C55938 was 4/4, 2/4 and 3/4. All the mice in the control group were dead(4/4). The immunity results were good.

Key words: Streptococcus; trivalent; inactivated vaccine in propolis-adjuvant

猪链球菌病是由致病性链球菌感染引起猪的不同临床类型的传染病, 其急性型主要是败血症和脑膜炎(C群), 发病率与病死率极高; 其慢性型则主要引起关节炎、心内膜炎及局灶性组织化脓性炎症等, 其中最为常见是淋巴结脓肿(E群)^[1]。对养猪业危害较大。

致病性链球菌分为 6 大类, 用兰氏沉淀反应可分为 20 个血清群, 并且各血清群之间交叉反应甚

弱; 引起猪链球菌病的有 C、D、E、L、R、S、T 等多个血清群。在国外, 猪链球菌感染最初由荷兰的 Jansen 和 Van Dorssen(1951) 等报道, 其后在所有养猪业发达国家都有报道, 包括澳大利亚、美国、丹麦、日本、泰国、新加坡、加拿大以及欧洲和北美洲的其它 20 多个国家, 其主要菌株是荚膜 II 型(血清型为兰氏 R 群), 约占 62%, 其次为兰氏 D 群^[2]。在我国猪链球菌感染病例最早是由吴硕显(1949) 报道, 上世纪

60 年代以来,在广西、广东、福建、湖南、江西、安徽和江苏等地陆续发生,流行范围极广,造成严重的经济损失^[1]。据近 10 年来的流行病学调查,现国内流行者以兰氏 C、D 群为主^[3-5]。近年来江苏、四川、上海和广东等地则报道有猪链球菌 2 型病例出现。

1993 年中国兽药监察所对 19 个省、市、区的 126 株致病性链球菌进行分群鉴定统计,属 C 群兽疫链球菌的有 91 株,占 72.22%,D 群有 9 株,占 7.14%,S 和 R 群各 6 株,各占 4.76%,E、H、T 各 1 株,各占 0.79%,未定型 11 株^[3]。详见表 1。

表 1 中监所 126 株致病性链球菌分群鉴定统计

地区	C	D	E	H	R	S	T	未定
四川	28	-	-	-	-	-	-	-
广东	12	-	-	-	-	-	-	-
广西	7	-	-	-	-	-	-	-
福建	4	5	-	1	-	3	1	6
安徽	10	-	-	-	-	-	-	-
江西	4	-	-	-	-	-	-	1
江苏	10	-	-	-	-	-	-	-
吉林	6	1	-	-	-	-	-	-
湖南	4	-	1	-	-	-	-	-
北京	1	2	-	-	4	3	-	-
青海	-	1	-	-	-	-	-	-
陕西	5	-	-	-	-	-	-	-
河南	-	-	-	-	-	-	-	4
上海	-	-	-	-	2	-	-	-
合计	91	9	1	1	6	6	1	11
比例(%)	72.22	7.14	0.79	0.79	4.76	4.76	0.79	8.73

1999 年湖北农科院兽医所对湖北、湖南、河南、江西和辽宁送检的病料中分离的猪源致病性链球菌 63 株,进行血清学分群鉴定,鉴定结果 C 群有 40 株,占 63.49%,D 群有 8 株,占 12.69%,E 群有 11 株,占 17.46%,R 群有 4 株,占 6.34%^[4]。详见表 2。

表 2 湖北、湖南、河南、江西和辽宁 63 株链球菌分群鉴定结果

项目	C 群	D 群	E 群	R 群
合计	40	8	11	4
比例(%)	63.49	12.69	17.46	6.34

2001 年上海市畜牧兽医站对上海地区分离的 19 株猪源致病性链球菌,进行血清学分群鉴定,鉴定结果 C 群有 7 株,占 36.84%,A、B、D 群各

有 1 株,各占 5.26%,2 型有 4 株,占 21.05%,未定群有 5 株^[5]。详见表 3。

表 3 上海地区 19 株链球菌分群鉴定结果

项目	A	B	C	D	2 型	未定
合计	1	1	7	1	4	5
比例%	5.26	5.26	36.84	5.26	21.05	26.31

由于国家对抗生素的使用有越来越严格的规定,所以预防猪链球菌病的最有效手段是进行免疫预防。猪链球菌的流行血清型复杂,研制猪链球菌病多价灭活疫苗,才能较好地控制猪链球菌病的发生。目前猪链球菌病的灭活苗有铝胶苗、油佐剂苗以及裂解抗原苗等^[6],则多为分离的本地株进行培养灭活,加铝胶配制成铝胶苗进行局部的使用^[7,8],甚至是一些猪场自己进行“自家苗”的研究^[11]。

本课题组用 C 群、D 群和 E 群链球菌强毒标准株经培养后灭活、浓缩、混合,用蜂胶作为佐剂,制成猪链球菌 C、D、E 三价蜂胶灭活疫苗,经实验室试验,效果良好,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种:链球菌 C 群 C55138 株,D 群 C55914 株,E 群 C55938 株,均由中国兽药监察所提供,C 群 C55138 株是《兽用生物制品规程》^[9]中猪链球菌病活疫苗效力检验用强毒株,D 群 C55914 株是制备兰氏 D 群分群血清用参考毒株。各菌种由本课题组经敏感猪继代复壮后血毒保存。

1.1.2 缓冲马丁肉汤、鲜血马丁琼脂平皿、血红素等原材料均由本公司生产部提供。

1.1.3 实验猪:2 月龄,使用前经测定抗体阴性;家兔:约 3.5 kg;KM 系小鼠:18~22 g。均由本公司实验动物场提供。

1.1.4 试验所用的三价链球菌蜂胶佐剂苗、三价链球菌铝胶佐剂苗为本课题组制备,链球菌活疫苗(ST171 株)为本公司生产,批号 0405。市售猪链球菌病三价疫苗,由某生物药品厂生产,批号 20030414。

1.2 方法

1.2.1 蜂胶佐剂的制备:市售蜂胶,按沈志强报道的方法^[10]加以改良。制备蜂胶酒精溶液,2~8℃保存备用。使用剂量为 10 mg/头剂。

1.2.2 制苗用菌种的培养:用保存的 C55138、

C55914、C55938 血毒分别用加有绵羊全血的马丁琼脂平皿划线分离纯化, 37 °C 培养 18 h, 挑选菌落特征明显的菌落, 用含有适量血红素和葡萄糖的缓冲肉汤置 37 °C 中培养 18~24 h, 用作制苗用菌种。

1.2.3 细菌的培养: 在缓冲马丁肉汤中加入适量血红素、葡萄糖溶液, 3 株制苗用菌种液分别加进培养基中, 摇匀后置 37 °C 中培养 16~18 h; 培养结束后, 分别无菌取样进行活菌计数, 以确定培养菌数。

1.2.4 灭活: 在培养好的 3 种菌液中, 加入终浓度为 0.3% 福尔马林, 放置于 37 °C 灭活 24~48 h。灭活后, 取样进行灭活检验。经检验合格后, 4 000 r/m 离心沉淀, 弃上清, 取下层“菌泥”配苗。

1.2.5 根据活菌计数结果, 用 pH7.6 的 PBS 液稀释“菌泥”至 25 亿 /mL, 加入蜂胶酒精溶液, 最终用量为 10 mg/ 头剂, 在加入的过程中, 边加边振荡搅拌, 使混悬液能充分混合。2~8 °C 冷藏待用。制备的三批疫苗批号分别为 0401、0402、0403。

1.2.6 在制备蜂胶佐剂苗的同时, 取一部分“菌泥”用 20% 铝胶生理盐水稀释成同样为 25 亿菌 /mL, 以 2 mL 为 1 头剂的 20% 铝胶佐剂疫苗。2~8 °C 保存备用。三批疫苗的批号分别是 0401、0402、0403。

1.2.7 无菌检验: 按《规程》^[9] 有关方法进行, 应无菌生长。

1.2.8 安全性试验: 小鼠皮下注射 0.5 mL, 家兔皮下注射 2 mL, 猪肌肉注射 20 mL, 所有动物均观察 21 d。

1.2.9 效力试验: (1) 小鼠的效力试验: 随机选取 18~22 g 小鼠 15 只, 每只皮下注射三价蜂胶佐剂疫苗 0.2 mL; 21 d 后, 连同对照小鼠 15 只分为三组, 每组 5 只, 各攻 C、D、E 群强毒 1 MLD。攻毒前必须用 18~22 g 小鼠测定 MLD。记录结果。(2) 猪的效力试验: 随机选用猪 8 头(2 月龄), 分别肌肉注射三价蜂胶佐剂疫苗 2 mL; 21 d 后, 连同同等条件饲养的对照猪 8 头各随机分为 2 组, 分别攻 C、E 群强毒 1 MLD, 攻毒方式为静脉注射, 观察 14 d。攻毒前测定 MLD, 记录结果。

1.2.10 各种不同疫苗的效力对照试验: 选用蜂胶佐剂苗(0401 批)、铝胶佐剂苗(0401 批)、某单位产的链球菌三价苗(0305 批), 各免疫小鼠 15

只, 每只注射量为 0.2 mL; 链球菌活疫苗(C 群 ST171 株)(0401 批)免疫小鼠 5 只, 每只免疫 100 万活菌。21 日后, 连同同等条件饲养的小鼠 15 只, 分别攻毒 C、D、E 强毒各 1 MLD, 每组 5 只。活疫苗只攻 C 群强毒。记录结果。

2 结果

2.1 灭活检验

所有样品接种链球菌培养基和鲜血琼脂平皿, 均无菌生长, 所有培养物均完全灭活, 符合《规程》^[9] 要求。

2.2 安全性试验

所有试验动物在 21 d 内均健活。家兔在 2~3 d 时注射部位仅有轻微炎症反应; 中猪在注射后, 精神、食欲均未见异常, 体温正常, 只在注射的第 1 天体温升高 1 °C 左右, 注射部位未见炎症反应; 小鼠注射部位无炎症反应。符合有关规定。

2.3 效力试验

2.3.1 猪 在第三批疫苗的猪效力检验中, 攻毒 C55138 的免疫猪, 除了 0401 保护 3/4 外, 其余的均 4/4 保护; 攻毒 C55938 的, 三批分别保护为 4/4、2/4、3/4。对照猪均 4/4 死亡。详见表 4。

表 4 猪效力试验结果

批号	攻 C55138(1 MLD) ^D	攻 C55938(1 MLD)
0401	3/4 保护	4/4 保护
0402	4/4 保护	2/4 保护
0403	4/4 保护	3/4 保护
对照	4/4 死亡	4/4 死亡

1): 攻毒前进行 MLD 的测定。猪的攻毒途径是静脉注射。

2.3.2 小鼠 在第三批疫苗的小鼠效力检验中, C55138 攻毒 的保护分别是 4/5、5/5、4/5; C55938 攻毒 的保护分别是 3/5、4/5、4/5; C55914 攻毒 的保护分别是 4/5、3/5、3/5。详见表 5。

表 5 小鼠效力试验结果

批号	攻 C55138(1 MLD) ^D	攻 C55938(1 MLD)	攻 C55914(1 MLD)
0401	4/5 保护	3/5 保护	4/5 保护
0402	5/5 保护	4/5 保护	3/5 保护
0403	4/5 保护	4/5 保护	3/5 保护
对照	5/5 死亡	5/5 死亡	5/5 死亡

1): 攻毒前进行 MLD 的测定。小鼠的攻毒途径是皮下或腹腔注射。

2.4 各种疫苗效力对比试验

在疫苗的对比试验中, 以活疫苗的保护率最高(5/5), 蜂胶佐剂苗与铝胶佐剂苗的保护率相差不大, 分别是 4/5、3/5、4/5 和 4/5、4/5、4/5, 但市售的三价活疫苗保护率最低, 分别是 1/5、2/5、1/5。详见表 6。

表 6 各种疫苗免疫攻毒对照数据表

项目	蜂胶苗	铝胶苗	市售苗	活疫苗	对照组
攻 C55138 ^D	4/5 保护	4/5 保护	1/5 保护	5/5 保护	5/5 死亡
攻 C55938	3/5 保护	4/5 保护	2/5 保护	-	5/5 死亡
攻 C55914	4/5 保护	4/5 保护	1/5 保护	-	5/5 死亡

1): 攻毒前进行 MLD 的测定。小鼠的攻毒途径是皮下或腹腔注射。

3 小结及讨论

3.1 本课题所研制的蜂胶疫苗的安全性较好, 猪注射 10 头剂均未见不良反应, 注射部位也未见任何炎症反应; 小鼠 0.5 mL 安全, 注射部位不出现炎症反应。而铝胶苗在 0.2 mL 注射时, 约有 60% 小鼠在注射部位出现约黄豆大小的肉芽组织, 个别会出现严重炎症反应, 致注射部位糜烂。

3.2 在效力试验, 这 3 株链球菌经灭活后, 按适当菌数进行配苗, 具有较好的免疫效力, 可以经致死量的强毒攻击, 这与以往的资料报告符合。

3.3 从多种疫苗的免疫攻毒试验中, 活疫苗免疫保护最好, 有 100% 的保护率; 蜂胶苗与铝胶苗

的免疫保护没有明显的差异, 但蜂胶苗对动物体的刺激性较少, 并且蜂胶还是一种天然的抗菌药物, 有一定发展前景。而目前在售的一些三价灭活苗, 免疫效力则不明确。

3.4 本灭活疫苗的试验数据还有待进一步充实和完善。

参考文献:

[1] 蔡宝祥. 家畜传染病学[M]. 第四版. 北京: 中国农业出版社, 2001:91-95.

[2] B. E. 斯特劳等主编, 赵德明等主译, 猪病学[M]. 第八版. 北京: 北京农业大学出版社, 2000:579-590.

[3] 陈永林, 陈丽颖, 王亚宾, 等. 动物病原性链球菌的血清学分群鉴定[J]. 中国兽医杂志, 1993, 19(9):3-4.

[4] 姜天童, 徐涤平, 方雨玲, 等. 猪源致病性链球菌分群鉴定及血清学调查[J]. 中国兽医杂志, 1999, 25(11):8-10.

[5] 王永康, 张苏华, 刘佩红, 等. 上海地区猪链球菌病的流行病学调查[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2001(1):22-24.

[6] 王明俊. 兽医生物制品学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997:476-478.

[7] 王自振, 陈丽颖, 王亚宾, 等. 猪链球菌多价灭活苗研究及免疫效果观察[J]. 中国预防兽医学报, 2002, 24(2):148-149.

[8] 倪宏波, 王兴龙, 雷连成, 等. 猪链球菌三价灭活疫苗的研究[J]. 中国兽医科技, 2003, 33(5):38-40.

[9] 中华人民共和国农业部. 中华人民共和国兽用生物制品规程(二 000 版)[S].

[10] 沈志强. 动物疫苗用蜂胶的质量要求及工业化提取技术的研究[J]. 中国兽药杂志, 1997, 31(3):15-17.

[11] 杨玉坚, 陈福华. 猪链球菌自家灭活疫苗的制备和应用[J]. 畜禽业, 2001(12):22-23.



(上接第 29 页)

用饲料相比, 灭菌后普通的鸡饲料的蛋白质含量还是高出了 2.94%, 而且脂肪含量灭菌后普通的鸡饲料比钴 60 辐照灭菌 SPF 鸡专用饲料高出 2.48%, 相反钙和磷分别减少了 0.42% 和 0.11%。从营养成分的角度上看, 灭菌后普通的鸡饲料营养成分比较适合 SPF 雏鸡, 对育成的 SPF 鸡需要高钙、低蛋白、低脂肪来说就会造成营养过剩, 营养过剩使肝内由糖或蛋白质异生产生了多余的脂肪^③。家禽肝脏是合成体内脂肪的最主要场所, 合成后的脂肪以极低密度脂蛋白形式被输送到血液。其中载脂蛋白的合成需蛋氨酸、丝氨酸、V_B 族维生素等的参与。营养过剩会使多余糖或蛋白质在肝脏合成脂肪的能力增加, 肝脂也相应提高。若合成蛋脂的原料不足, 或肝脏合成的脂肪太多, 超出了脂蛋白的运输能

力, 可产生肝内脂肪蓄积, 使肝脏呈淡黄色或淡粉红色, 质地变脆, 血液的粘稠度增加, 导致血清呈果冻样。

本次试验也证实了饲喂高压蒸气灭菌的普通鸡饲料更容易导致 SPF 鸡出现果冻样血清, 并且果冻样血清与机体内脂肪过多紧密相关, 因此, 在 SPF 鸡饲养上, 应以使用经钴 60 辐照灭菌的 SPF 鸡专用饲料为宜。

参考文献:

[1] 杨红军, 时建忠, 艾琴, 等. SPF 实验动物饲料的灭菌[J]. 饲料工业, 2007, 28(3):61-64.

[2] 李新华, 牟建青, 李锋, 等. SPF 种鸡产蛋期的饲料的饲养管理[J]. 家禽科技, 2005(5):20-22.

[3] 李仙忠, 李伟伟. 蛋鸡脂肪肝综合症的防治[J]. 中国畜禽种业, 2008(16):50-51.

中草药饲料添加剂“三黄散”对AA肉鸡生产性能的影响

吴建忠, 李绿雄, 吴茂明

(仲恺农业工程学院健康农业研究所, 广东 广州 510225)

摘要: 为评定中草药饲料添加剂“三黄散”对AA肉鸡生产性能的影响, 本研究选用1日龄AA肉鸡300只, 随机分成2组, 每组设3个重复, 每重复50只。第一组为对照组, 基础日粮+50 mg/kg 土霉素; 第二组为试验组, 基础日粮+1%中草药饲料添加剂“三黄散”。饲养期为49 d。结果表明: 与对照组相比, 试验组日增重效果差异不显著 ($P>0.05$), 饲料转化率差异不显著 ($P>0.05$), 成活率提高1.20%, 差异不显著 ($P>0.05$)。

关键词: 三黄散; AA鸡; 生产性能

中图分类号: S816.3

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)01-0039-02

Effects of herb feed additive San Huang San on growth performance in AA broilers

Wu Jianzhong, Li Lvxiang, Wu Maoming

(Healthy Agriculture Research Institute, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)

Abstract: Three hundred one-day-old AA broilers were randomly divided into two groups to investigate the effect of San Huang San on the production performance of AA chickens. The chickens in control group was fed with supplementary Oxytetracycline(50 mg/kg) and there were 3 replicates with 50 chickens in each replicate. The chickens in experiment group were fed with 1% San Huang San. All the chickens were fed for 49 days. The results showed that there were no significant differences ($P>0.05$) on the average daily gain (ADG), the feed conversion (FC) and the survival rate between the control group and experiment group, although the survival rate in the experiment group were increased 1.20%.

Key words: San Huang San; AA broilers; performance

随着现代集约化养殖业的发展, 畜禽感染各种疾病的危险性大大增加。长期、大量的使用抗生素类添加剂, 其负面效应也日益显现。寻找抗生素替代品的难题迫切地摆在了人们的面前。天然中草药是我国的传统医学瑰宝, 因其天然、多效能、毒副作用小、无抗药性和无残留等独特优势, 已成为国内外饲料添加剂研究的热点^[1]。但有关中草药饲料添加剂“三黄散”对AA肉鸡生产性能的影响却未见报道。本研究探讨中草药饲料添加剂“三黄散”对AA肉鸡生产性能的影响, 以期中草药饲料添加剂“三黄散”在AA肉鸡生产中的应用提供一定的实践参考。

1 材料与方法

1.1 中草药饲料添加剂

自制的中草药饲料添加剂“三黄散”由黄连、黄柏、黄芩、大黄、柯子、甘草等中草药构成。各种成份粉碎后按表1比例配比。

表1 中草药饲料添加剂“三黄散”配方

中草药	黄连	黄柏	黄芩	大黄	柯子	甘草
比例(%)	10	20	20	10	20	20

1.2 试验动物及分组

2011年4月, 课题组在仲恺农业工程学院教学科研基地选用九江种鸡场1日龄AA肉鸡300

收稿日期: 2011-10-10

基金项目: 仲恺农业工程学院科研基金项目(G3100049)

只, 随机分成 2 组, 每组设 3 个重复, 每重复 50 只。第一组为对照组, 基础日粮 +50 mg/kg 土霉素; 第二组为试验组, 基础日粮 +1% 中草药饲料添加剂“三黄散”。

1.3 饲养管理

试验鸡采用平养方式, 自由采食, 自由饮水, 自然光照。免疫按常规程序进行: 7 日龄进行新城、传支疫弱毒疫苗免疫, 14 日龄进行法氏囊病弱毒疫苗饮水免疫, 21 日龄新城疫弱毒疫苗加强免疫。试验期共 49 天, 分为前、后二期, 前期 0~21 日龄, 后期 22~49 日龄。

1.4 测定指标

分别在第 1 天、第 22 天、第 50 天早晨喂料前称取个体重, 记录各组两个阶段的饲料消耗量及死亡淘汰数。

2 结果与分析

2.1 增重情况

试验鸡各阶段的增重情况见表 2。试验组与对照组 1 日龄重差异不显著 ($P>0.05$), 21 日龄重差异不显著 ($P>0.05$), 前期日增重和后期日增重均差异不显著 ($P>0.05$), 全期差异不显著 ($P>0.05$)。这说明饲料中添加中草药饲料添加剂“三黄散”与添加土霉素对养鸡增重效果差异不显著。

表 2 中草药饲料添加剂“三黄散”对 AA 肉鸡增重的影响

组别	单位: g						
	全期			前期		后期	
	1 日龄重	49 日龄重	日增重	21 日龄重	日增重	49 日龄重	日增重
对照组	39.5±0.76 ^{ab}	2106±32.6 ^a	42.17±0.53 ^a	610.2±17.2 ^a	27.18±0.82 ^a	2106±32.6 ^a	53.42±0.64 ^a
试验组	41.2±0.25 ^a	2213±55.3 ^a	44.32±0.81 ^a	625.6±11.8 ^a	27.82±0.75 ^a	2213±55.3 ^a	56.69±0.59 ^a

1): 同列中字母相同者表示差异不显著 ($P>0.05$)。

2.2 饲料报酬

试验鸡全期料肉比见表 3。对照组与试验组全期料肉比分别是 2.16±0.53 和 2.08±0.79, 差异不显著 ($P>0.05$)。这说明饲料中添加中草药饲料添加剂“三黄散”与添加土霉素对 AA 鸡饲料转化率差异不显著。

表 3 中草药饲料添加剂“三黄散”对 AA 肉鸡料肉比及成活率的影响

组别	全期料肉比	成活率 (%)
对照组	2.16±0.53 ^{ab}	94.30±8.52 ^a
试验组	2.08±0.79 ^a	95.50±5.27 ^a

1): 同列中字母相同者表示差异不显著 ($P>0.05$)。

2.3 成活率

试验鸡全期成活率见表 3。对照组与试验组全期成活率分别是 (94.30±8.52)% 和 (95.50±5.27)%, 差异不显著 ($P>0.05$)。试验表明, 给仔鸡添加中草药饲料添加剂“三黄散”可以提高仔鸡的免疫力和抗病力, 比添加土霉素提高 1.20% 成活率, 但差异不显著。

3 讨论与小结

中草药饲料添加剂“三黄散”由黄连、黄芩、黄柏、大黄、配以诃子、甘草等制成。原材料价廉、易得。黄连清热解毒燥湿, 含小檗碱及黄连碱等多种生物碱, 对大肠杆菌、葡萄球菌、伤寒杆菌等均有显著抑制作用, 还能增强白细胞吞噬能力。黄柏主含小檗碱, 清下焦湿热, 对多种细菌、真菌有较强的抑制作用, 其抗菌谱效力同黄连。黄芩清热解毒、利尿, 对痢疾杆菌、伤寒杆菌、溶血性大肠杆菌、绿脓杆菌及葡萄球菌、链球菌, 具有较强的抗菌抗毒作用^[2]。诃子有生津止渴, 涩肠止泻的作用; 甘草泻火解毒, 协调诸药。

王明录^[3]用自拟的“三黄散”治疗牛急性肠炎, 取得了较好的疗效。王盛库等^[2]试验表明, 母猪服用“三黄散”治疗仔猪黄痢病的治愈率达 95% 以上。贾海珍等^[4]用自拟中药“三黄散”治疗急性肠炎 30 余例, 治愈率为 92.3%。吴先福^[5]用自拟中药“三黄散”治疗 200 余头仔猪, 采用给母猪服药的方式, 治愈率达 95% 以上。

(下转第 51 页)

两种开胸术法建立犬右心衰模型的对比

谭婉虹, 熊惠军*

(华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

摘要: 通过4例胸骨正中手术通路和8例左胸侧壁手术通路, 连接心电极导线至犬右心室, 并与起搏器连接, 维持高频率起搏3周, 构建实验性心衰模型, 观察两种开胸术的切口愈合情况、以及起搏前后临床表现。结果表明, 通过开胸术给犬安装、连接快频率右心室起搏器, 成功构建犬右心室心衰病理模型。左胸侧壁手术通路比胸骨正中手术通路更适合。

关键词: 右心衰模型; 开胸术; 起搏; 犬

中图分类号: S857.14'5

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)01-0041-03

Comparison of two thoracic surgical approaches on the construction of canine right heart failure model

Tan Wanhong, Xiong Huijun*

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

Abstract: To establish canine heart failure model, 12 dogs were implanted and connected a rapid pacemaker by thoracotomy. The surgical approach was at the middle of manubrium of sternum in 4 dogs and on the left thoracic wall in 8 dogs. The dogs were underwent rapid pacing at 200 bpm for 3 weeks and were observed the wound healing as well as clinical symptoms pre-and post-onset rapid pacing in these two surgical approaches. As pacing prolonged, canine right heart failure model was established successfully. In the operation, the approach on the left thoracic wall was better than that at the middle of manubrium of sternum.

Key words: Right heart failure; thoracotomy; pacing; canine

1 前言

心力衰竭在临床上的发病率及病死率非常高, 是一种严重威胁人类健康的疾病。慢性心力衰竭是各种心血管疾病的终末阶段, 其发病率及病死率均高, 年病死率为5%~10%^[1]。为了深入研究此病, 需建立实验动物病例模型。犬常被用来制作成心衰动物模型, 进行相关实验研究。可应用外科手术或内科药物致心衰等方法。为建立犬右心衰病理模型。本文对12例犬作胸正中手术通路和胸侧壁手术通路开胸术探讨, 概述如下。

2 材料与方

2.1 实验动物

健康杂交犬12只(11只雄性, 1只雌性), 体

重15~20 kg, 年龄1~2岁。正常免疫。实验前喂养1周。实验随机分配4只犬施行胸骨正中手术通路, 8只犬施行左胸侧壁手术通路, 进行犬右心衰模型建立。

2.2 仪器设备

美国Medtronic公司心电极导线CAPSURE EPI, 广州市无线电工程院设计的额定电压3V起搏器; 医用气管插管, 成都泰盟科技有限公司; HX-300S动物呼吸机, 木村医科器械株式会社Cardell 9405监护仪; 常用手术器械和开胸术骨科器械; 美国强生公司的Ethicon Prolene 5-0, 可吸收缝合线3-0, 编织丝线; 药品包括头孢拉定、肾上腺素、尼可刹米、利多卡因、阿托品、速眠

收稿日期: 2011-11-16

*: 通讯作者

新Ⅱ、地塞米松、生理盐水等。

2.3 麻醉

实验犬术前禁食 12 h。术前皮下注射阿托品 0.05 mg/kg, 肌肉注射速眠新Ⅱ 0.2 mL/kg。建立静脉通道, 滴注头孢拉定 20 mg/kg 预防感染。进入麻醉状态, 待肌松完全后, 采用直径为 9 mm 的气管插管, 确定插入无误后连接呼吸机。呼吸频率为 15 次/min, 潮气量 15 mL/kg。连接监护仪监测血氧浓度。实验过程中, 根据血氧浓度调整呼吸机参数。动物取仰卧位或右侧卧位, 固定四肢, 连接心电图监护。

3 右心衰模型建立

3.1 胸骨正中手术通路

动物取仰卧位保定, 沿胸骨正中切开皮肤, 分离肌肉, 使用电动振荡锯锯开胸骨。由于振荡锯工作时产生极大热量, 灼伤胸骨, 宜在锯片上滴灌生理盐水降温, 同时注意胸骨碎末不被生理盐水冲入胸腔。在胸骨断层涂抹止血蜡, 避免断层面的出血影响术野, 并使用肋骨开胸器充分暴露胸腔。注意胸腔负压消失后, 动物的呼吸状态, 保证血氧浓度高于 85%。血氧浓度稳定后, 固定心基部, 剪开右心室外的心包膜。心电极导线接头与左冠状动脉的左前降支远端约 1/3 的右心室肌紧密接触, 使用 5-0 Prolene 线缝合固定心电极导线。

3.2 左胸侧壁手术通路

动物取右侧卧位保定, 行左胸侧壁第 5 肋间切开皮肤。逐层分离肋间外肌、肋间内肌, 打开胸膜, 进入胸腔。使用肋骨开胸器, 牵开肋间暴露术野。观察逐渐塌陷的左肺, 同时保持正压通气, 保证右肺正常通气, 监测血氧浓度。用湿润的纱布把左肺叶推向一侧, 暴露心脏, 轻度扭转心脏暴露右心室。剪开右心室外的心包膜 1~2 cm, 制作心包吊篮, 固定心包牵引线。心电极导线接头与左冠状动脉的左前降支远端约 1/3 的右心室肌紧密接触, 使用 5-0 Prolene 线缝合固定心电极导线。见图 1、图 2。

3.3 闭合手术通路

3.3.1 心包膜闭合 缝合固定心电极导线完毕, 连接起搏器与电极导线, 观察能否以设置频率进行起搏跳动。成功跳动后暂时断开起搏器与导线

的连接进行闭合手术。使用 3-0 可吸收缝合线连续缝合心包膜。在最后一针结束前, 把 10 cm 导线放置入心包膜, 避免心脏长期跳动致使导线接头撕拉和移位。在心电极导线固定缝合部位滴灌 0.5 mL 地塞米松, 避免形成炎性纤维组织使接头无法与心肌紧密接触。心包膜闭合后, 清理胸腔血块, 取出纱布块后, 准备胸腔闭合。

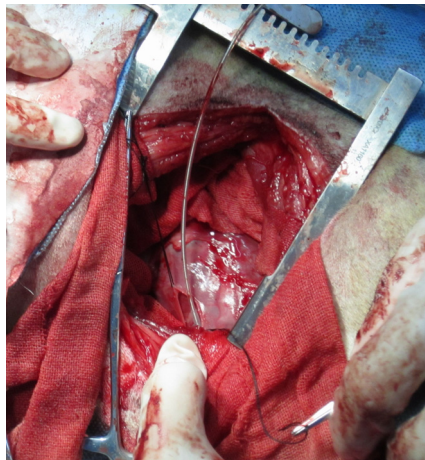


图 1 左胸侧壁手术通路

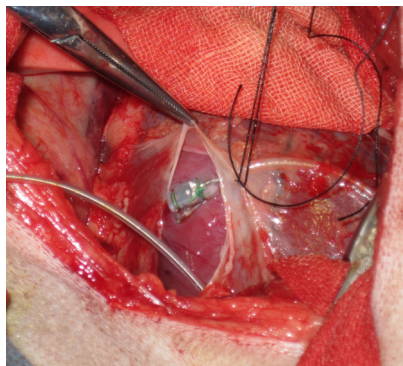


图 2 心电极导线在右心室肌上的缝合固定

3.3.2 胸骨正中手术通路的胸腔闭合 对合胸骨, 在第 2、第 5 和第 8 对胸骨用钢丝以十字环绕胸骨。闭合胸腔栓紧最后一环钢丝前, 延长人工正压通气时间, 以确保左肺充分充气并尽可能排出胸腔内的空气, 恢复左肺的呼吸功能。心电极导线末端经胸骨断层间隙置于胸腔外。结节缝合肌肉。

3.3.3 左胸侧壁手术通路的胸腔闭合 把导线末端置于胸腔外, 解除半圆叶片肋骨开胸器。由于没有破坏肋骨完整性, 只需采用 3 个钢丝环对两肋骨

进行环行固定。钢丝固定时钢丝穿过第4肋间后肌和第6肋间前肌。钢丝固定能使被扩张的两肋骨更好恢复原状。闭合胸腔栓紧最后一环钢丝前,延长人工正压通气时间,确保左肺充分充气并尽可能排除胸腔内的空气,使胸腔形成负压而恢复左肺的呼吸功能。然后逐层肌肉进行结节缝合。

3.4 安装起搏器

胸腔关闭后,选取犬颈背部皮下作为起搏器安装部位,切开皮肤5~6 cm,钝性分离皮下组织形成一空腔,大小约为起搏器体积。心电极导线通过皮下隧道与起搏器接头连接并固定,再次确定起搏器正常工作。在闭合囊袋前用抗生素溶液冲洗。然后结节缝合皮下组织,使起搏器被包裹起来形成囊袋。完毕,进行囊袋切口的皮下缝合,以及囊袋和开胸切口的皮肤结节缝合。术后持续正压通气,直至动物苏醒恢复自主呼吸再拔除气管插管。

3.5 术后护理

术后每日监测实验犬心率,连续7 d滴注20 mg/kg 头孢拉定抗生素溶液。观察实验犬的开胸切口和囊袋切口是否干燥,有否出现红肿热痛和感染等情况。注意其精神状态和饮食,四肢末梢是否出现水肿等症状。愈合良好者可在8~10 d拆线;发生感染后尽快做细菌分离培养和药敏测试,尽早选择敏感抗生素进行抗菌治疗。

4 结果

12只犬中有4例进行胸骨正中手术通路,8例进行左胸侧壁手术通路。前者切口长约15~20 cm,均伴发感染,属于二期愈合;囊袋均在3 d内发生感染,起搏不足7 d,心衰症状不明显。后者切口长约10 cm,7例切口愈合良好,干燥、无感染或少量感染但很快得到控制;尽管囊袋感染存在但发生时间比前者发生时间迟,起搏时间均在10 d以上,最长为21 d。8例左胸侧壁手术通路中,6例起搏持续超过2周。2周后逐渐出现心衰症状,如饮食欠佳、活动量明显减少、呼吸急促,且出现四肢末梢水肿。实验犬心脏解剖明显比正常心脏增大肥厚。

5 讨论

5.1 胸骨正中手术通路和左胸侧壁手术通路的对比
开胸术连接起搏器制作心衰模型,常使用胸

骨正中手术通路和左胸侧壁手术通路两种。胸骨正中手术通路能清楚暴露前降支,方便电极导线的缝制固定,但手术创伤大,破坏胸骨。有报道指胸骨是制造红血球不可缺少的一部分^[2]。胸骨的破坏必然影响血液学方面。在研究心力衰竭方面无法说明血液学上的变化是由于心衰引起或是胸骨破坏导致。另外,正常犬呈犬坐姿势,胸骨承受压力比较大,术后胸腔渗出液长时间浸润切口也使其难以愈合。

左胸侧壁手术通路手术创伤小,不破坏骨的正常结构,愈合较快。术后的胸腔渗出液不会长期湿润切口,而会慢慢被机体吸收。但术中心脏左冠状动脉的左前降支暴露差,特别是要暴露右心室部位必须轻度扭转心脏并进行心包吊篮,长时间使心脏处于紧张状态甚至翻转等操作。有研究指出,心脏的反复翻转和拨动大大增加了室颤乃至死亡的发生率,但术中心脏表面浸润利多卡因及术中补充钾、镁制剂,可明显减少恶性心律失常特别是室颤的发生^[3]。8例左胸侧壁手术通路中,对3例起搏时间不足3周且体况适合者施行二次开胸术。其中1例发生室颤抢救无效;1例室颤使用利多卡因抢救成功;1例二次开胸由于胸腔粘黏严重,分离过程中致使大出血而死亡。随后实验均准备利多卡因作为治疗室颤的急救药。

通过12例开胸法连接起搏器,快速持续起搏心脏,制作犬右心衰病理模型是可行的。左胸侧壁手术通路比胸骨正中手术通路更适合。

5.2 犬右心衰模型建立方法

本实验通过开胸术连接心电极导线至心外膜,以200次/min的频率刺激心脏,持续3周以上,造成血流动力学严重紊乱,建立特征为心排量下降、外周阻力升高、心房室增大的心力衰竭模型。此法多适用于大体动物,如犬、猪^[4]。此法能产生类似人类的收缩和舒张功能障碍,但在停止起搏1~2周后血流动力学、心功能和神经内分泌逐渐恢复到正常水平,这种心力衰竭造模稳定性差^[5]。本实验把时间设置在3周,以200次/min的频率持续刺激实验犬的心脏21 d,使其形成心衰模型。

此外,还可以把心电极导线连接在心内膜,连接起搏器,以额定频率刺激心脏。常规做法是分离

(下转第46页)

猫鞍状血栓 1 例

罗倩怡¹, 赖孔继^{2*}, 赵长荣²

(1. 华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642; 2. 深圳中心动物医院, 广东 深圳 518000)

中图分类号: S857.14²

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)01-0044-03

猫的鞍状血栓(主动脉血栓)是猫血栓病比较常见的一种,也是一个重要的和发生比较频繁的猫心肌病的并发症。猫鞍状血栓的栓子通常从左心房或左心室掉落,堵塞在腹主动脉远端的三分叉处,造成患猫在发生血栓事件的前期几小时中会极度的疼痛,双后肢及尾巴会慢慢变得苍白、冰冷,可能会有轻微的水肿。随着病程的发展,触诊不到股动脉,后肢僵硬,脚垫发绀,甚至在尾巴和后肢剪下一小块肉也不会流血。

1 病例介绍

1.1 动物情况

公猫,1岁,已免疫,体重3.5 kg。2009年12月10日到我医院就诊。

1.2 初诊

1.2.1 病史 主述该猫一向乖巧,性情温和,喜欢粘人。营养状况良好,活力四射,饮食和大小便正常。2009年12月6日在某宠物医院实施去势术。术后:7日有食欲,外观状况尚可;8日沉郁,9日无食欲,精神沉郁,乏力;9日到就近医院就诊,按常规消炎、输液;10日仍无食欲,症状加剧,行动迟缓,复诊时肛温36.6℃,于是在未用药情况下,转诊到我动物医院。

1.2.2 临床检查 患猫精神极度沉郁,烦躁,不时呻吟,走动缓慢。呼吸困难,听诊肺区有湿性啰音。多处触诊有疼痛反应,股动脉脉搏不明显。触诊体表温度(耳根)正常,但肛温小于35℃。

1.2.3 实验室检查 血常规及血生化检查结果见表1。

1.2.4 初诊治疗 肺水肿,轻微氮血症。进行对症诊断性治疗,利尿治疗和输液治疗。治疗进行几

小时后发现猫后肢逐渐僵硬,后趾逐渐苍白直至完全苍白、冰冷,下半身瘫痪,猫不时呻吟,肛温低于35.0℃。

此时高度怀疑猫鞍状血栓。加大利尿剂剂量,试用抗凝治疗,静滴抗凝剂,口服阿司匹林(17.5 mg),皮下注射痛立定。30 min后,双后肢僵硬症状逐步缓解,1 h后,后肢肌肉变软,但无知觉,脚垫由苍白逐渐变成淤血,继而发绀。呼吸逐渐平缓,猫表现较以前放松和平静。

表1 血常规及生化检查结果

项目	初诊结果	复诊结果	参考值	单位
RBC	14.32↑	13.17↑	5-10	10 ¹² /L
HGB	21.0↑	20.1↑	8-15	g/dL
HCT	53.93↑	50.54↑	24-45	%
PLT	804↑	517	300-800	10 ⁹ /L
BUN	45↑	31↑	10-30	mg/dL
CREA	1.2	1.4	0.3-2.1	mg/dL
Na ⁺	140↓	144	142-164	mmol/L
K ⁺	3.8	>12↑	3.7-5.8	mmol/L
ALT	215↑	311↑	20-100	U/L
Cl ⁻	104↓	108↓	112-126	mg/dL
tCO ₂	14↓	18	15-24	mmol/L

1.3 复诊

1.3.1 临床检查 12月11日(治疗后次日),患猫呼吸较平缓,但后肢瘫痪,脚垫发绀,逐步硬化。触诊体温较正常,但肛温小于35℃。

1.3.2 实验室检查 血常规及血生化检查结果见表1。

1.3.3 X线检查 X线片显示患猫有肺水肿,左

心增大。见图 1、图 2。



图 1 肺水肿



图 2 左心增大及肺水肿

1.3.4 治疗 检测发现患猫有严重的高钾血症, 紧急进行降钾治疗 (10%葡萄糖 + 10%NaHCO₃, 静脉注射), 抗凝治疗。给予按摩后肢, 局部理疗灯 (TDP) 照射, 局部加热保温。

1.4 随后病情及治疗

1.4.1 病情 随后几天患猫没有出现呼吸困难, 体温上升到正常范围, 精神状态逐渐恢复, 开始有食欲。

一周后猫猫尾巴可以灵活运动, 后肢大腿可以活动, 但是膝盖以下的肌肉僵硬, 跗关节以下僵硬没知觉, 脚垫发黑、变硬, 开始萎缩, 以膝关节开始越往远端的皮肤越紫黑。图 3 是该猫前肢和后肢脚垫的比较 (此猫之前四只脚垫都是粉红色的)。

1.4.2 X 线检查 X 线片示患猫肺水肿情况好转, 但左心室有增大迹象。见图 4、图 5。

1.4.3 治疗 主要为对症和控制肥大性心脏病: 阿司匹林 6.25 mg, 口服, 1 次 /3d; 卡托普利 6.25 mg, 口服, 1 次 /d; Tolfedine (痛立定) 0.8 mL 皮

下注射, 1 次 /d; 支持疗法, 后趾局部理疗; 配合使用肝素钠注射液 200 IU/kg, 静脉注射, 1 次 /d; 建议对坏死的后肢进行截肢术 (但主人未同意)。



图 3 前肢 (右图) 和后肢 (左图) 脚垫的比较

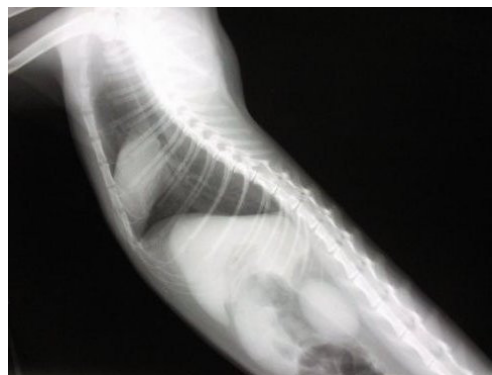


图 4 左心室有增大迹象 (侧位)



图 5 左心室有增大迹象 (正位)

1.5 治疗效果及预后

经过半个月的治疗, 患猫整体情况理想, 有食欲和大小便, 肛温上升至正常范围。呼吸平稳, 听诊肺音正常, 猫能依靠前肢进行一定范围的活动。

猫精神良好,开始主动亲近人和有撒娇举动。尾巴能主动摆动,双后肢(特别是大腿部分)能挣扎和有一定运动能力。但是由于双后肢膝关节以下干性坏死,完全瘫痪。

考虑到经济原因和截肢后猫生活质量问题,最后猫主人放弃治疗,要求于 12 月 26 日予以安乐死。

2 讨论

猫鞍状血栓是猫血栓病较为常见的,其他较少的血栓发生位置在前臂、肾、腹腔和脑动脉。血栓经常是潜在心肌病的第一症状,血栓事件提示着心肌病的潜在,经典的心肌病和左心房扩大是存在的,所以治疗血栓病的同时要注意心肌病的处理。然而,某些疾病如甲状腺机能亢进、肿瘤等也会继发血栓病的发生。对于本病例的患猫,怀疑是本来潜在患有肥大性心肌病,发病前做去势术时麻醉诱发其发病的,这可能跟血流动力学有关。

猫血栓病的早期发现(开始发病的 5 h 内)是至关重要的,发现越早,治疗越有希望。本病例发

病后及时处理,在予以安乐死前,患猫也存活了半个多月,期间精神状态良好。治疗本病的过程中,能控制高钾血症亦是很关键的,同时要密切检测肾功能。

对症治疗是血栓病的基本要求,患猫有可能出现呼吸困难、DIC(弥漫性血管内凝血)、高钾血症、代谢性酸中毒、急性肾功能衰竭、瘫痪等,要及时地对症治疗。本病例患猫后肢因供血不足引起干性坏死,建议对坏死部分进行截肢以保全生命,但宠物主人未能接受。

能控制到病程的发展后,针对原发病因治疗是管理该病的重要手段,例如肥大性心肌病的控制,甲状腺功能亢进的治疗等。

血栓的复发率很高,特别在发病后的六个月以内。进行抗凝治疗时要检测凝血功能,随时调整抗凝药剂量及给药间隔。

然而,无论如何治疗,还是有很大比例的患猫在治疗期间死亡。即使暂时得到控制的病例,其存活时间也很短。进行安乐死,是该病治疗中高比例的选择。

(上接第 43 页)

并切开右侧颈外静脉,在 X 线引导下将心内膜起搏电极插至右心室心尖处^[6]。但此法制作过程要求有 X 线透射,跟踪电极导线接头的走向。对于初次操作者容易把导线送进奇静脉而非右心室,或者多次插入右心室使心内膜受损。

5.3 左胸侧壁手术部位的选择

暴露不同病灶选择的肋间切口不同。通常第 2、3 肋间用于纵隔前部手术,第 4、5 肋间用于心脏以及肺门的手术。第 8 肋间用于食道末、横膈的手术。本实验行第 5 肋间切开,但由于个体差异,心脏的位置不尽是相同。每次实验前宜听诊确定心尖部位,再定位所需切开的肋间。

(致谢:本实验得到中山大学孙逸仙纪念医院心内科博士生麦憬霆帮助,在此表示谢意!)

参考文献:

- [1] Shinichi Okuda, Masafumi Yano, Masahiro Doi, et al. Val-sartan restores sarcoplasmic reticulum function with no appreciable effect on resting cardiac function in pacing induced heart failure[J]. Circulation, 2004, 109(7):911-919.
- [2] Robert J, Berndt. 犬种评审的科学与技术[J]. 宠物世界, 2007(12):43.
- [3] 汤成春, 马根山, 黄峻, 等. 提高开胸结扎法建立猪心肌梗死模型成功率探讨[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2009, 29(6):779-783.
- [4] Williams R E, Kass D A, Kawagoe Y, et al. Endomyocardial gene expression during development of pacing tachycardia-induced heart failure in the dog[J]. Circ Res, 1994, 75(4):615-623.
- [5] 李宗斌. 右心衰竭动物模型建立的研究进展[J]. 医学研究生学报, 2008, 21(10):1105-1108.
- [6] 陈筱潮, 张旭明, 刘英梅, 等. 快速右心室起搏致充血性心力衰竭犬可控性动物模型的建立[J]. 岭南心血管病杂志, 2001, 7(1):45-47.

一例猫肠道异物性穿孔的超声诊断

吴仲恒, 张盈盈, 曾健滢
(广州 yy 宠物医院, 广东 广州 510260)

中图分类号: S857.14'6

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)01-0047-02

胃肠道穿孔和开裂是指异物迁移、深溃疡,或术后裂开导致继发胃肠穿孔。超声探查下,可观察到胃肠患壁增厚、呈低回声并且壁层局部缺失。有时候,由于局限性脂肪增多症或腹膜炎,透过胃壁可以看到高回声的管腔,并且邻近的肠系膜回声显著增加。

穿孔的附近或开裂部位经常可以观察到积水或腹腔游离气体。当产生游离腹腔气体时,在最上方有时呈现短而明亮,线状界面,并且有彗星尾的强回声带。

单纯性 X 线检查胃肠道异物具有不确定性,对 X 性可透过异物通常无法辨认,而腹部 X 线检查配合钡餐灌服有时可显示异物形状、大小和位置,但对怀疑胃肠道穿孔的病例必须审慎进行。超声诊断则有助于肠道异物的进一步确诊。

1 病例资料

1.1 病例来源

2011年1月在广州丫丫宠物医院,通过腹腔探查确诊的一例猫肠道异物穿孔。

1.2 基本信息

品种:狸花猫。性别:母。年龄:6岁。体重:5 kg。

1.3 病史

主诉猫咪为户外散养,会外出。有一周呕吐史,进食后大概7 h后出现呕吐,临诊前食欲废绝,饮水亦会发生呕吐现象。约1年半前在本院进行了绝育手术。

2 临床检查

2.1 基本检查

结膜充血,口干,心跳加快,皮肤弹性差,中重度脱水,毛细血管再充盈时间延长,体温正常,腹部触诊,腹壁紧张,在前腹部触诊到一个轻度游离团块,硬度中等偏软,形状与触感有如肾脏,但表面不光滑。左右侧肾脏位置、大小触诊正常。初步

诊断该团块为腹部异物,进行超声检查结合 X 线检查,根据结果进行急诊剖腹探查。

2.2 特殊检查

2.2.1 血液检查及 X 线平片检查 生化 12 项检查与血常规检查,除白细胞升高至 25×10^9 个/L 外,其他未见明显异常。

2.2.2 超声检查 全腹侧部剃毛,患猫左侧卧位,将待检查区域洁净湿布擦净,用酒精去脂,干透后涂布耦合剂,选用中心频率为 5.0 MHz 和 7.5 MHz 的凸阵和线阵探头对腹部脏器进行扫查。重点扫查怀疑区域。将最清晰图像冻结并存档。因为检查前已经绝食 12 h 以上,故不必停食。

2.3 急诊剖腹探查

术前 15 min 皮下注射乙酰丙嗪 0.05 mg/kg 镇静,20% 的利多卡因 0.2 mL 滴于喉部进行局部麻醉,气管插管,进行异氟醚呼吸麻醉后沿腹中线剖开,根据排除法检查各脏器。

3 结果

X 线检查中,可发现部分肠管鼓气,下腹部有白色块状软组织图像,但未能确诊(见图 1)。

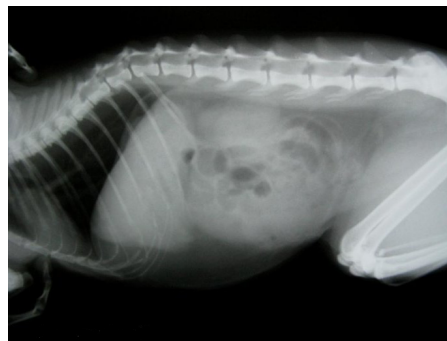


图 1 猫左侧卧位腹部 X 线片

而在超声诊断中,能清晰观察到不规则异物,异物内部呈实性低回声不规则液性暗区,后方不伴声影,有轻度后方增益(见图 2、3),部分随体位改变

或探头加压而移动,前达幽门,后达膀胱,位于右前腹部。其他主要脏器未见明显病变。根据其位置及对其它脏器的排查,初步断定并非肝脏、肾脏、膀胱和脾脏等脏器的肿瘤或赘生物。估计与胰腺、大网膜、肠系膜和肠管有关。鉴别诊断有可能是胰腺肿瘤、肠系膜肿瘤、肠道肿瘤、肠道异物等。



图2 猫腹部异物 B 型超声声像图 (线阵扫查)



图3 猫腹部异物 B 型超声声像图 (凸阵扫查)

最后进行急诊剖腹探查,探查结果如下:胰腺充血,升结肠中段被大网膜包裹,并部分黏连。包裹部隆起呈肿瘤样(见图4)。将网膜与结肠分离后,发现结肠段穿孔,从肠段内找到若干段纱布(见图5)。继常规冲洗缝合,消炎治疗。

4 讨论与小结

首先,由于猫的习性,猫喜欢与线状异物玩耍,撕咬毛巾,舔毛等。在本病例中,该患猫结肠内异物经确认为纱布,穿孔的原因很可能是由于猫撕咬并吞食纱布后,纱布在胃肠道迁移,在通过结肠时滞留并引起穿孔。

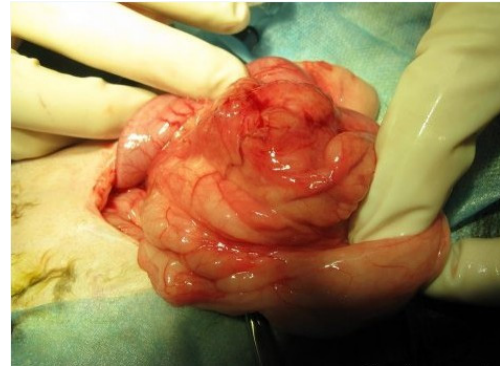


图4 猫升结肠穿孔后被大网膜包裹



图5 被取出的纱布

其次,胃肠道异物在大小、形状和回声方面的改变都非常大。分段的液体或者胃里或者肠道积累的气体是机械类肠梗阻指征。当出现异物时,不正常的液体扩张有利于检测外物。在这个病例中,X线检查可发现部分肠管出现气体累积,但却不能通过X线平片检查确诊是否存在异物及其性质,具有一定的局限性。由于考虑到肠道穿孔的可能性,如进行X线造影检查,需使用非离子型显影液,价格较高。

而先触诊结合采用超声诊断,可清晰观察到异物的形状、大小、位置以及估计其性质,并且排除其他脏器的病变可能。在对猫腹腔进行B超检查时,适合使用10~12 KHz高频浅表探头,可获得比较精细的图像。而本病例可观察到胃肠道蠕动较亢进,并朝异物方向进行,在异物旁的肠壁层次缺失,提示异物与消化道有一定的相关性。

最后,虽然发病时间较长,但是这个病例未能通过超声发现腹腔内液体积聚等指征,可能是由于大网膜对穿孔部位的包裹紧密而肠管未能从肠管溢出液体或出现炎性渗出液有关,但可见异物内有一定区域的液性暗区。

广东肇庆“猪-沼-果”生态健康养殖发展与成效

岑兴洪¹, 钟建桥²

(1. 肇庆市畜牧兽医局, 广东 肇庆 526040; 2. 肇庆市农业机械研究所, 广东 肇庆 526040)

中图分类号: S811.5

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)01-0049-03

肇庆市是广东省畜牧业生产大市,“十一五”期间全市畜牧业保持较快发展,畜牧业产值不断增加,标准化规模养殖水平持续提高,2010年全市生猪出栏量达405万头,位居全省前列。但是,随着全市社会经济的持续发展,工业化城镇化逐步加快,生态环境保护要求不断提高,畜牧业发展受土地和环保制约的问题日益显现。破解畜牧业发展与环境保护这一“两难”的问题,出路便在生态与健康养殖。积极探索经济效益、社会效益和生态效益相统一的“猪-沼-果”生态与健康养殖模式,对地处西江北岸的肇庆市来说,则应当适应其发展,市内广宁县、德庆县、封开县、怀集县、高要市和四会市等地逐步形成颇具产业规模的西江北岸柑桔产业带,而柑桔果园施用沼肥可以提高土壤有机质含量,使土壤容重变小,耕层加厚,改善耕作性,提高柑桔的产量和质量。近年来,我市通过“四轮驱动”大力发展果园养猪,成效显著,为全市发展生态与健康养殖创造了经验,提供了范例。

1 四轮驱动,“猪-沼-果”生态与健康养殖迅猛发展

1.1 政策推动,确保工作落实到位

一是狠抓组织领导,成立以县镇领导为组长,相关部门负责人为成员的果园养猪工作领导机构,下设办公室,并分设宣传发动、场地规划、防疫及饲料配方和沼气建设管理等4个专责小组,为推动“猪-沼-果”生态与健康养殖提供有力的组织保障。二是狠抓责任落实,制定工作实

施方案,层层签订责任状,明确职责任务,并设立奖惩激励措施。三是狠抓建设资金配套,充争利用上级扶持发展生猪养殖的相关政策,及时将省、市、县有关能繁母猪饲养补贴、沼气池建设补助和果园养猪示范场建设补助等资金足额发放到果园养殖户手中,同时把发展果园养猪与做强做优柑桔产业、扶贫开发“双到”工作紧密结合,积极地协助果园养殖户筹措建设资金,调动其积极性,以推动“猪-沼-果”生态与健康养殖加快发展。

1.2 宣传发动,创造良好发展氛围

通过广播电视、网络短信、横幅标语和科技下乡活动宣讲,广泛宣传优惠政策、重要意义和先进典型;认真组织开展“猪-沼-果”技能培训班,发放沼气池建设、沼气池综合利用技术光盘,印发有关沼气池使用技术和沼肥施用技术宣传单张;深入果园养猪户了解发展情况,及时总结成功做法,宣传推动成功经验,积极引导更多的果农发展“猪-沼-果”生态与健康养殖。

1.3 示范带动,发挥典型辐射作用

以养猪环境优良化、农业生产无害化和家居清洁温暖化为目标,坚持果园养猪与改圈、改厨和改厕相结合,狠抓果园养猪标准化示范场建设。积极组织有意向发展“猪-沼-果”生态与健康养殖的果农到示范场参观学习,现场了解果园养猪的基本流程和技术要求,亲身感受果园养猪带来的实惠,以点带面,示范带动更多养殖户发展“猪-沼-果”生态与健康养殖。

1.4 协调联动, 建立完善服务体系

政府部门之间应加强联系沟通, 积极做好“猪-沼-果”生态与健康养殖的配套服务工作, 悉心指导新发展的养猪户科学规划配置、规范搭建栏舍、制定防疫规程, 提供科学的饲养管理技术、饲料配方、适宜的免疫程序和品种配备; 加强跟踪服务, 主动帮助养猪户解决发展过程中的各种问题, 形成“建后有人管、咨询有人答和沼气池故障有人修”的长效机制; 积极进行沼气池物业化管理探索, 完善制度和引入市场机制, 健全沼气池服务体系, 建立服务站网点, 为养殖户常年提供有偿技术指导服务, 使“猪-沼-果”生态与健康养殖的发展具有更强的生命力, 更具可持续发展。

通过政策推动、宣传发动、示范带动和协调联动, 目前全市已建立的“猪-沼-果”生态健康养殖示范场达 206 个, 养猪果园面积多达 3 万亩, 年产沼气近 500 万立方米, 年产肥料 2 600 万千克, 粪污养鱼近 6 000 亩, 年增收超 1 000 万元。“十二五”时期, 肇庆市畜牧业采用生态与健康养殖的比例平均每年增长 10%, 到 2015 年, 力争全市畜牧业生态与健康养殖的比例达 80% 以上, 其中 95% 以上的规模养殖场实现生态与健康养殖, 散养户养殖污染得到有效治理与利用, 农村生态环境明显改善, 畜牧业产值占农业总产值的比重达到 40% 以上, 畜牧业收入占农民人均纯收入的比重进一步提高。

2 发展“猪-沼-果”生态与健康养殖成效显著

2.1 实现了生态养殖, 保护了生态环境

“猪-沼-果”生态与健康养殖模式, 构建了良性循环的生产系统, 养猪所产生的粪污全部由沼气池收集, 对周边环境零排放, 粪污在沼气池经发酵后变废为宝。产生的沼液无毒无异味, 是农作物的优质有机肥; 产生的沼气热值高, 用量少, 燃烧后产生的二氧化碳也比煤、柴大大减少, 而且作为一种可再生能源, 不仅可以解决用户的照明、煮饭、烧水问题, 关键在于节制了乱砍滥伐

和对薪材的索取, 从而提高森林覆盖率, 防止水土流失, 促进农村生态环境良性循环^[1]。实践证明, 采用该模式养猪能有效地做到废物减量化、生产无害化、资源节约化, 避免了猪粪尿对水体及农田的直接污染, 避免污水横流、臭气熏天等弊端。

2.2 有利于健康养殖, 壮大了养殖规模

“猪-沼-果”生态与健康养殖的果园猪场空气清新, 环境安静, 为生猪生长营造了舒适的环境。粪污流入沼气池发酵, 大部分寄生虫和病菌得到及时杀灭, 减少了养猪场之间的疫病传播, 降低了生猪养殖的疾病风险, 果园猪场的生猪存栏量不断提高, 生猪生长快、疫病少、肉质口感好和市场满意度高。

2.3 降低了生产成本, 增加农民收入

推广“猪-沼-果”生态与健康养殖模式进行养猪, 拓宽了农民增收渠道, 降低了种养生产成本, 增加了农户综合收益, 还可作为日常生活和猪舍保温能源, 为果园养猪户节省开支增加收入, 同时果园科学施用沼肥, 所产柑桔产量高质量好, 挂果色泽艳丽, 果味纯正清甜, 果价也有所提高。如一个 8~10 m³ 的沼气池, 一年可节约燃料费 600~800 元, 节约化肥、农药开支 300 余元, 带来增产效益近 1 000 元^[2]。

2.4 提升了农民素质, 更新了种养观念

在发展“猪-沼-果”生态与健康养殖过程中, 不仅提高了农民的种养技术, 农民的农业生产经营观念也发生了很大变化。不少种养户既掌握了生猪养殖、沼气利用、柑桔种植等生产知识, 又懂得使用系统管理、规模经营的方法, 改变了单一种养、粗放种养的传统落后观念, 逐步树立了立体种养、精细规模种养和生态健康养殖等新观念, 自觉地加快养殖模式转变, 有力地促进了农村经济发展。

3 发展生态健康养殖存在的突出问题

当前“猪-沼-果”生态健康养殖发展中存在的突出问题主要是: 一是认识不到位。部分养殖场户将粪污治理与生产发展对立起来, 片面地认为

畜牧业的粪污治理是政府方面的事情, 与自己无关或对自己无益, 对发展生态养殖持消极抵触情绪。二是监管机制有待完善。面对畜禽养殖场户的超标准排放, 主管部门的监管制度、措施和手段仍缺乏, 对违规违法行为的查处力度不够。三是治污投入严重不足。“重发展、轻治理”的观念根深蒂固, 急功近利的心态盛行, 严重制约了整个行业对生态健康养殖方面的投入。四是畜禽粪污处理率严重偏低。从所掌握的情况分析, 目前全市生猪养殖场中沼气池配套比例不到三成, 甚至有的大型养殖也未配套建设沼气设施。

4 精心组织、强化措施、加快推进生态健康养殖步伐

4.1 加强规划布局 围绕全市畜牧业发展“十二五”规划和“2008-2020年生猪生产发展总体规划”, 优化畜牧业区域布局, 加快提升中心区板块产业档次, 拓宽山区板块发展空间。按照畜禽排泄量与外部消纳量相适应的原则, 全面科学制定畜牧业用地规划, 合理确定畜牧业用地选址和面积。在充分调查摸底的基础上, 在各镇村选定有条件的畜禽养殖场, 予以重点引导和推动, 力争做到县级有典型、镇级有基地、村级有示范, 从而起到以点带面的作用。

4.2 突出发展重点 在组织实施畜禽标准化示范创建活动中, 要重点支持省重点生猪养殖场完善基础设施建设, 开展养殖污染物无害化处理, 努力将其建设成为标准化规模养殖的样板, 示范带动全市生态健康养殖发展。

4.3 探索创新模式 全市辖区的地形地貌比较复杂, 各地农村的种养方式、养殖场户的种养习惯也各不相同, 需要在现有的工作基础上, 探索创新适应新时期高效生态畜牧业的发展模式, 总结推广一些不同形式的生态健康养殖模式。

4.4 加大资金投入 发展生态健康养殖, 归根到底要靠经费投入。在整合现有生猪调出大县奖励资金、生猪标准化规模养殖场改扩建项目资金和农村沼气工程项目等资源的情况下, 充分利用省与世界银行开展治理农业污染项目合作的契机, 认真谋划申请项目资金, 加大力度推进规模化畜禽养殖场户的粪污处理设施建设。

参考文献:

- [1] 吴德峰, 陈佳铭, 邱汉权, 等. “猪-沼-果”生态健康养猪工程技术研究[J]. 家畜生态学报, 2008, 29(3): 59-64.
- [2] 修金生, 吴顺意, 周伦江, 等. 福建省猪-沼-果(草、林、菜)生态养殖模式与应用[J]. 福建畜牧兽医, 2010, 32(5): 49-52.



(上接第 40 页)

本试验组肉鸡在 7 周龄时, 平均体重超过对照组, 全期饲料转化率也高于对照组, 且减少了肉鸡消化道疾病的发生。添加中草药饲料添加剂“三黄散”试验组成本低、效益高, 可以替代部分饲用抗生素的使用。

中草药饲料添加剂“三黄散”在应用过程中, 若能结合空气电净化技术, 改善鸡舍内部环境条件, 减少鸡只交叉感染的几率和防止呼吸道疾病的发生, 则有望能达到无公害养殖的要求^[6]。

在现代医药学理论的指导下, 结合现代生物工程学技术, 若能工厂化生产“三黄散”提取物做为饲料添加剂, 将使添加剂更加安全方便。

参考文献:

- [1] 于辉, 廖洁丹, 尚秀国, 等. 中草药饲料添加剂对仙湖肉鸭生产性能和肠道微生物影响的研究[J]. 中国畜牧杂志, 2008, 44(15): 29-32.
- [2] 王盛库, 周爱倩. 母猪服用“三黄散”治疗仔猪黄痢病[J]. 当代畜牧, 2008(5): 21.
- [3] 王明录. 三黄散加减治疗牛急性肠炎[J]. 中国牛业科学, 2008, 34(1): 28.
- [4] 贾海珍, 王亚明. 中药三黄散治疗急性肠炎[J]. 青海畜牧兽医学杂志, 2007, 34(1): 16.
- [5] 吴先福. 母猪服用“三黄散”治疗仔猪白痢[J]. 畜牧兽医杂志, 2005, 24(1): 35.
- [6] 吴建忠, 杜冰, 冯定远. 乳酸芽孢杆菌制剂对 AA 肉鸡生产性能的影响[J]. 饲料工业, 2007, 28(12): 35-36.

山羊疥螨病的诊治

王 兵

(徐州生物工程高等职业学校, 江苏 徐州 221006)

中图分类号: S855.9*1

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)01-0052-01

2011年2月接诊徐州市某小型羊场27只山羊疑似羊疥病发病病例。随即建议采取病羊隔离和圈舍消毒等措施。经实地调查,该羊场环境较差,圈舍阴暗潮湿,饲养密度较大。该场引进山羊200只,因其它原因已死亡8只,现有的192只为不同时间引进,来自不同地区,个体差异较大。据羊场负责人介绍,现用羊圈是借来的,新建羊场尚未竣工,春节前已发现部分羊到处蹭痒,根据经验采取涂抹方法驱虱,未能见效,个别羊只已出现明显消瘦和精神沉郁等症状。

1 临床症状

发病羊只到处蹭痒,并可见嘴唇、口角、眼圈、鼻面及耳根部皮肤发痒、增厚、结痂和脱毛等症状,继而出现丘疹、水疱。以头部和颈部症状较明显,严重的病羊精神沉郁,发育停滞,逐渐消瘦。其中一只羔羊病症已蔓延至全身,食欲废绝。

2 病原检查

2.1 材料与方

2.1.1 材料 外科用小刀、塑料袋、50%甘油溶液、胶头滴管、载玻片、显微镜。

2.1.2 方法 选择消瘦、贫血、剧痒等症状明显的病羊,用已消毒的外科用小刀在皮肤患处和健康部交界处,使刀刃与皮肤表面垂直,反复刮取表皮,直到稍微出血为止。将刮下的皮屑集中于塑料袋中备检。将皮屑放于载玻片上,滴加50%甘油溶液,覆以另一张载玻片,搓压玻片使病料散开。镜检。

2.2 检查结果

显微镜视野中看到似圆形虫体,有的背面可看到小刺,有的腹面看到四对肢,确诊为羊疥病。

3 治疗

颈部皮下注射伊维菌素,按0.2 mg/kg剂量给药,同时准备0.025%~0.03%林丹乳油水溶液为整群羊药浴。为防止复发,首次注射10天后再注射同等剂量伊维菌素。并对未发病的羊只用辛硫酸乳

油水溶液药浴。

4 结果

注射3天后病羊蹭痒现象逐渐消失,10天后痂皮逐渐脱落,15天后患处已有新毛长出。健康羊群中未出现新病例。27只病羊中痊愈26只,1只羔羊因感染严重死亡,治愈率96%。2个月后回访,现有羊群中未发现该病,治愈羊亦未复发。

5 讨论

5.1 病原

羊疥病是由疥螨引起的羊的慢性寄生虫性皮肤病,多为接触性传染,主要寄生在山羊皮肤深层,临床上以剧痒,患处皮肤渗出、脱毛、老化、形成痂皮及逐渐向外周扩散蔓延为特征。本病常发于冬季,秋末和春初也有发生。圈舍卫生条件差、阴暗潮湿、饲养密度过大、营养缺乏、体质瘦弱等不良条件下易发本病。

5.2 预防措施

每年定期药浴。经常检查羊群有无发痒和掉毛现象,早发现、早隔离、早治疗。引进羊只应先隔离观察,确定无病后再混群。羊舍应宽敞、明亮、通风好。饲养密度适中。注意消毒和清洁卫生。

5.3 治疗注意事项

5.3.1 注射治疗时应考虑药物毒性与患羊体质之间的关系,并在应用特效驱虫药的同时结合对症治疗。给药剂量不宜过大。

5.3.2 本次治疗未采用药物体表涂擦法,因考虑到涂擦法操作较复杂,需剪毛、清洗,去除痂皮,易造成患羊疼痛不安,应激反应强烈,且治愈后易复发。

5.3.3 药浴注意事项: 应选择无风或风小晴天进行,药液温度25~30℃;药浴前羊只禁食半日,给予充足清洁的饮水;注意对药液量进行补充,以保持药量和浓度;为防止中毒,最好先让几只质量较差的羊试浴,安全后再全群药浴;药浴时严禁羊只误饮药浴液;做好必要保护措施,以防羊只感冒。