

双月刊 1976年3月创刊
第37卷第2期 (总第162期)
2012年4月18日出版
ISSN 1005-8567
CN 44-1243/S

主管单位:广东省农业科学院
主办单位:广东省畜牧兽医学会

广东省农业科学院畜牧研究所
广东省农业科学院兽医研究所

主编:蒋宗勇
副主编:孙彦伟
责任编辑:孙彦伟 岑俏梅
编委主任:蒋宗勇

编委(排名不分先后):
蒋宗勇 余业东 王浩 顾万军
曹俊明 辛朝安 屈源泉 廖明
曾振灵 毕英佐 陈琴苓 舒鼎铭
孙彦伟 王贵平 蔡建平 王政富
刘彩霞 熊惠军 吴玄光 刘清神

特邀编委:
陈峰 黄小建 陈小云 郑庆禄
李岩 林旭堃 陈瑞爱

编辑出版:《广东畜牧兽医科技》编辑部
地址:广州市先烈东路135号(510500)
电话:020-37245052 37288167
传真:020-37245052
网址:http://www.gdaav.org
E-mail:gdixmsykj@163.com
印刷单位:广州市人杰彩印厂
发行单位:《广东畜牧兽医科技》编辑部
发行范围:国内外公开发行
每期定价:5.50元
广告经营许可证号:440000100037



本刊声明:本刊已加入“中国学术期刊(光盘版)”、“中文科技期刊数据库”、“万方数据—数字化期刊群”和“教育阅读网”。作者稿件一经本刊录用,将同时被上述数据库收录,进入因特网提供信息服务。作者如不同意,请在投稿时向本刊声明,否则本刊将视为同意收录。凡被本刊刊发的稿件,将一次性支付作者著作权使用报酬。

目 录

·专题综述·

- 鸚鵡常见DNA病毒性疾病研究综述.....翁善钢(1)
兽用联合疫苗的研究进展.....郭沈涛(5)
猪圆环病毒2型诊断方法的研究进展.....李结(8)
糊化淀粉尿素在反刍动物中应用的研究进展.....罗佳捷,张彬,等(11)

·畜牧技术·

- 季节和产蛋周龄对青脚麻鸡种蛋孵化性能的影响.....徐腾,谢和芳,等(14)
中药添加剂对海南文昌鸡免疫功能的影响.....姚茂忠,陈湛娟,等(16)
湖南浏阳市室外发酵床养猪考察启示.....赖贻奎,董闽鲜,等(20)

·兽医临床·

- 广东地区鸭黄病毒JM株的分离和初步鉴定.....苏伟桐,钟植文,等(23)
不同法氏囊病活疫苗对新城疫免疫效果影响的评估.....
.....鲁俊鹏,曾凡桂,等(27)

·试验研究·

- 三个厂家猪瘟活疫苗免疫效果比较试验.....孙彦伟,查云峰,等(29)
鸭瘟病毒UL35基因PCR方法的建立与初步应用.....董嘉文,孙敏华,等(33)
维康对肥育猪的饲喂试验.....任撑住,莫道来,等(37)
H5亚型禽流感病毒灭活疫苗免疫效果评价试验.....卢受昇,孔令辰,等(40)

·华南宠物园地·

- 犬结膜吸吮线虫病1例.....廖新权,刘领汉,等(44)
龟泄殖道助产一例.....刘汉斌,熊惠军(47)

·经验交流·

- 浅谈动物疫苗接种的注意事项.....张志宏,梁英华(49)
当前蛋价持续下跌原因分析及后期走势判断.....虞华,陈光亚,等(51)

·信息之窗·

- 2011“永顺杯”优秀论文评选结果.....(中一)
本刊征订启事.....(4)
2012“永顺杯”优秀论文评选启事.....(46)

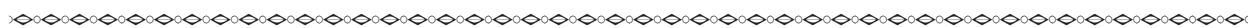
GUANGDONG JOURNAL OF ANIMAL AND VETERINARY SCIENCE

Established in march 1976(Bimonthly)

Apr.2012 Volume 37,Number 2 (Total No.162)

Main Content

- A review of DNA viral infections in psittacine birds*Weng Shangang(1)
- Research progress on combined vaccines for animals*Guo Shentao(5)
- Research progress on the detection methods for porcine circovirus type 2*.....Li Jie(8)
- Application of starea in ruminant production*.....Luo Jiajie, Zhang Bin, et al(11)
- Influence of seasons and age on the hatch performance of Cyan-shank partridge chicken*.....
.....Xu Teng, Xie Hefang, et al(14)
- Effects of traditional chinese herb additive on the immune function of Hainan Wenchang chicken*.....
.....Yao Maozhong1, Chen Zhanjuan, et al (16)
- The inspiration from observations of pig production on bio-fermentation bed in Liuyang city of Hunan
province*..... Lai Yikui, Dong Minxian, et al(20)
- Isolation and identification of duck flavivirus in Guangdong*Su Weitong, Zhong Zhiwen, et al(23)
- Influence of different IBDV live vaccine on the ND antibody titers in chickens*.....
.....Lu Junpeng, Zeng Fangui, et al(27)
- Comparison of vaccination results of different live vaccines against classical swine fever from three
biopharmaceuticals*..... Sun Yanwei, Zha Yunfeng, et al (29)
- Development and application of DPV UL35 gene PCR assay*.....Dong Jiawen, Sun Minhua, et al (33)
- Feeding experiments of Weik on finishing pigs*.....Ren Chengzhu, Mo Daolai, et al (37)
- Comparison of immune effects on six inactivated AIV-H₅ vaccines*
.....Lu Shousheng, Kong Lingchen ,et al(40)
- One case report of thelazia callipaeda in a dog*.....Liao Xinquan, Liu Linghan et al(44)
- The midwifery through urodaeum in turtle*..... Liu Hanbin, Xiong Huijun(47)
- The reasons for the continuous fall of the current price of eggs and the analysis of the coming trends* ...
..... Yu Hua, Chen Guangya, et al(51)



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

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

Chief Editor: JIANG Zong-yong

Vice Chief Editor: SUN Yanwei

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

Post Code: 510500

Tel: (020)37245052 37288167

Fax: (020)37245052

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

鸚鵡常見 DNA 病毒性疾病研究綜述

翁善鋼

(外高桥出入境检验检疫局, 上海 200137)

摘要: 鸚鵡常見的 DNA 病毒性疾病有鸚鵡喙羽病、禽多瘤病毒感染、鸚鵡疱疹病毒感染、鸚鵡腺病毒感染、痘病毒感染、乳頭瘤病毒感染等。本文對這些疾病的病原學、流行病學、臨床症狀以及診斷方法等進行了綜述。

关键词: DNA 病毒; 鸚鵡; 綜述

中图分类号: S852.659.1

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)02-0001-04

如今各類品種的鸚鵡 (psittacine birds) 已成為很多中國家庭的寵物。當然飼養並觀賞鸚鵡不僅在中國流行,在日本、新加坡等亞洲國家以及美國等歐美國家,鸚鵡也是一種常見的寵物鳥類。在過去的幾十年中,對於常見家禽的疾病的研 究有了很多突破,而對於籠養觀賞鳥類疾病的研 究卻很少。事實上,籠養鳥類也是很容易受到各類 疾病特別是病毒性傳染病影響的,一旦染病往往 病死率較高,且找不到合適的治療方法。鸚鵡常見 的病毒性傳染病可以分為 DNA 病毒傳染病和 RNA 病毒 傳染病兩種。前者包括鸚鵡喙羽病 (psittacine beak and feather disease, PBF D)、禽多瘤病毒 (avian polyomavirus, APV) 感染、鸚鵡 疱疹病毒 (psittacid herpesvirus, PsHV) 感 染、鸚鵡腺病毒 (psittacine adenovirus, PsAdV) 感 染、痘病毒 (poxvirus) 感染、乳頭瘤病毒 (papilloma virus) 感染等。後者包括呼腸孤病毒 (reovirus) 感染、冠狀病毒 (coronavirus) 感 染、副粘病毒 (paramyxovirus) 感染、流感病毒 (influenza virus) 感 染以及波納病毒 (bornavirus) 感 染等。相對於 RNA 病毒,有關鸚鵡 DNA 病毒性疾病的報道要相對多一些。本文對鸚 鵡常見的 DNA 病毒性疾病的病原學、臨床症狀、病 理學、流行病學以及診斷等進行了綜述。

1 鸚鵡喙羽病 (PBF D)

本病的特点是羽毛呈对称性地丢失以及营养 不良,鸟嘴畸形发育,最终导致死亡。该病最早于 上世纪 70 年代在澳大利亚的多种凤头鸚鵡 (cockatoo) 中发现^[1]。由于当时该病的主要特征

是掉毛以及鸟嘴变形,因此,该病在当时被命名为 鸚鵡喙羽病。从那时起,PBF D 已在多个国家和地 区发现,包括德国、意大利、新西兰、南非、中国台 湾、泰国、美国等^[2]。当前,PBF D 仍是影响鸚鵡健康 最重要的疾病。

PBF D 的病原喙羽病病毒 (beak and feather disease virus, BFDV) 属于圆环病毒科 (Circoviridae)。BFDV 的病毒粒子呈二十面体,无囊膜,直 径约 14~17 nm。病毒含有单链 DNA,基因组长度约 为 2 kb^[3]。BFDV 基因组 DNA 具有两个主要的开放 阅读框 (ORF),编码复制相关蛋白 (ORF V1 或 Rep) 以及衣壳蛋白 (ORF C1 or CP)^[4]。有人认为还存在 第三个阅读框 (ORF V2),但其功能尚不清楚。超过 60 种的野生或者笼养鸚鵡能够患 PBF D^[5]。本病可 分为特急、急性以及慢性 3 种形式。特急或者急性 形式的主要表现是突然死亡。而慢性形式是羽毛逐 渐脱落,鸟喙逐渐变形。羽毛脱落同表皮细胞坏死 以及增生有关。鸟喙变形的症状并不一定出现,这 可能与鸚鵡的品种以及其他一些因素有关。病理学 检查可以发现感染病毒的羽毛上皮细胞或巨噬细 胞内存在嗜碱性的细胞核内及胞浆内包涵体。PBF D 并不一定导致死亡,BFDV 感染后引起免疫抑制,继 发二次感染是导致鸟类死亡的主要原因。尽管掉羽 毛是 PBF D 的一个重要临床特征,但事实上,APV 感 染、PsAdV 感染、外伤、细菌性毛囊炎、营养不良、内 分泌异常及对青霉素和头孢菌素的药物反应也可以 引起类似的掉羽毛症状。因此,需要采用实验室 诊断的方法对 PBF D 进行诊断,已有报道的诊断方 法包括原位杂交、血凝和血凝抑制试验、电子显微

鏡觀察、PCR 及實時定量 PCR^[6]等方法。其中,PCR 是最為敏感、特異、快速的病毒檢測方法。

2 禽多瘤 (APV) 病毒感染

APV 感染可以引起急性死亡,腹脹,羽毛異常等症狀。日齡較小的虎皮鸚鵡 (*budgerigar*, *Melopsittacus undulatus*) 患有該病時常被稱為“法國蛻皮 (French molt)”病^[7]。該病也可以引起背部、腹部以及頭頸部的羽毛減少,幼齡虎皮鸚鵡皮下出血。其他品種鸚鵡也會發生 APV 感染,其症狀同虎皮鸚鵡類似。不過,該病的易感性以及嚴重性還是與鸚鵡的種類相關的。病理檢查可見心包擴張,心臟變大,肝臟腫脹,腎臟變硬,體腔內出血等現象^[8]。各種組織,特別是在脾、肝臟以及腎臟中可以觀察到較多輕微嗜鹼性的核包涵體。加拿大、中國、澳大利亞、德國、斯洛伐克、意大利、中國台灣^[9]等國家和地區都有過該病的報道。

多瘤病毒存在於多種哺乳動物以及禽類中,迄今所知的鳥類多瘤病毒主要有 4 種,分別是禽多瘤病毒、鵝出血性多瘤病毒 (*goose hemorrhagic polyomavirus*, GHPV)、雀多瘤病毒 (*finch polyomavirus*, FPyV) 以及烏鴉多瘤病毒 (*crow polyomavirus*, CPyV)。上世紀 80 年代早期,從虎皮鸚鵡中首次分離到了該病毒^[10]。起初該病毒被世界病毒分類學會 (ICTV) 命名為虎皮鸚鵡多瘤病毒,後來隨著該病毒的宿主範圍的逐漸擴大,改名為禽多瘤病毒。目前,尚無其他 3 種鳥類多瘤病毒感染鸚鵡的報道。APV 的病毒粒子為二十面體,無囊膜,直徑為 45~50 nm。APV 的基因組為環狀雙鏈 DNA,大小為 4 981 bp。在功能上,APV 的基因組可分為早期和晚期基因編碼區。早期編碼區編碼一個大腫瘤抗原和一個小的腫瘤抗原基因。在 APV 的晚期編碼區編碼主要結構蛋白 VP1,和三個次要結構蛋白 VP2、VP3 和 VP4。三個次要結構蛋白也存在于病毒衣殼中^[11]。VP2 蛋白 221 號位點的氨基酸可能是病毒在細胞中複製增殖的重要因素^[12]。APV 感染主要症狀是急性死亡以及羽毛粗亂、掉落等,當然很多疾病也會有類似的症狀。目前已有間接免疫熒光、原位雜交、電鏡觀察、病毒中和實驗、PCR^[13]等多種方法用於檢測 APV。

3 鸚鵡疱疹病毒 (PsHV) 感染

1929 年,巴西獸醫帕切科 (Pacheco) 在巴西的鸚鵡中發現了一種急性、致死性的肝炎性疾病。這種疾病因此也被稱為帕切科病 (Pacheco's

disease, PD)。1975 年,鸚鵡疱疹病毒 1 型 (PsHV-1) 被確定為 PD 的病原^[14]。患有 PD 的鸚鵡往往在沒有任何前驅症狀的情況下突然死亡。如果不死亡,則會出現精神沉鬱、厭食、腹瀉、震顫等症狀^[14]。由於病毒可以較快地導致鸚鵡死亡,因此,病鳥一般沒有特別明顯的大體病變。顯微病變主要是許多器官出現壞死,肝、脾、腎出血,腎、脾、胰腺和小腸出現核內包涵體。美國、英國、西班牙、肯尼亞、南非以及日本^[15]都有 PD 發生的報道。有研究人員從部分發生黏膜乳頭狀瘤的鸚鵡體內檢測到了 PsHV-1,因此 PsHV-1 被認為同腫瘤的發生有關^[16]。最近,從非洲灰鸚鵡 (*African grey parrots*) 分離鑑定出了 PsHV-2。但 PsHV-2 的流行以及致病情況尚不清楚^[17]。

PsHV-1 基因組長度為 163 025 bp, 包含有 73 個 ORF。PsHV-1 與傳染性喉氣管炎病毒 (*infectious laryngotracheitis virus*) 親源性較近,但同馬立克氏病病毒 (*Marek's disease virus*) 和火雞疱疹病毒較遠。根據 UL16 基因序列的不同,PsHV-1 可以分為 4 種基因型。不同基因型的生物學特性以及引起 PD 的能力不同^[18]。不同基因型的 PsHV-1 易感染的鸚鵡種類不盡相同。4 種基因型的 PsHV-1 均可以感染亞馬遜鸚鵡 (*Amazon parrots*)。非洲灰鸚鵡主要感染 2、3、以及 4 三種基因型的 PsHV-1。金剛鸚鵡 (*macaws*) 主要感染基因型 3 的 PsHV-1。患有 PD 的鸚鵡往往在沒有任何症狀的情況下突然死亡。然而,細菌性肝炎、中毒、APV 感染、PsAdV 感染以及呼腸孤病毒感染也可以引起類似的臨床症狀。顯微鏡下觀察 PsHV-1 引起的核內包涵體與 APV 以及 PsAdV 引起的包涵體很難區分。因此,確診需要採用電鏡觀察、細胞培養以及 PCR^[18]等方法進行。

4 鸚鵡腺病毒 (PsAdV) 感染

鸚鵡感染腺病毒後主要症狀有精神沉鬱、厭食,腹瀉,泄殖腔出血^[19]。病理剖解可見肝腫大,脾腫大,十二指腸和腺胃擴張,腎臟水腫、充血,肺部出血。肝臟腫大、易碎,可能有出血或者呈蒼白色。壞死的肝以及脾臟內可以觀察到嗜鹼性核內包涵體^[19]。包括哺乳動物、鳥類、爬行類、兩栖類以及魚類在內的多種脊椎動物都可以感染腺病毒。根據最新的分類,禽類的腺病毒分屬下列 3 個屬: *Aviadenovirus*, *Atadenovirus* 和 *Siadenovirus*。大多數禽類的腺病毒屬於 *Aviadenovirus* 屬。

腺病毒的基因组为线形双链 DNA,不同种病毒的基因组长度不太一致,在 25~45 kbp 之间。例如鸡腺病毒 CEL0 毒株的基因组长度为 43 804 bp,减蛋综合征病毒 (EDSV) 的基因组长度为 33 213 bp^[20]。腺病毒无囊膜,衣壳呈二十面体,直径约为 70 nm。六邻体蛋白(hexon protein)是腺病毒主要的核衣壳蛋白,包括 2 个功能性成分。六邻体蛋白被认为是病毒科、属、种、型的决定因素。因此,六邻体蛋白也经常被用作腺病毒的进化研究。鸚鵡腺病毒感染并非基于临床而是通过电镜观察确定的。包括虎皮鸚鵡、金刚鸚鵡和亚马逊鸚鵡在内的多种鸚鵡中都观察到了腺病毒或者类似腺病毒粒子样的病毒。然而对于感染鸚鵡的腺病毒的基因构成,多年来一直没有相关研究报道。最近,采用 PCR 检测的方法从一种塞内加尔鸚鵡 (Senegal parrots, *Poicephalus senegalus*) 中检测到了腺病毒。通过对其六邻体蛋白的基因测序显示其为一种新的禽腺病毒,ICTV 已批准将其命名为鸚鵡腺病毒 (PsAdV)^[21]。

5 鸚鵡痘病毒(PsPoV)感染

大约有 230 种鸟类被观察到存在禽痘病毒感染。鸚鵡感染禽痘病毒通常被称为鸚鵡痘病毒感染。某些种类的鸚鵡特别是亚马逊以及皮尔诺斯鸚鵡(pionus parrots)很容易受 PsPoV 感染。同其他痘病毒相似,禽痘病毒含有双股 DNA,长度在 230~300 kbp 之间。感染痘病毒的鸚鵡的临床变化包括有浆液流出、鼻炎、结膜炎和眼睑溃疡。PsPoV 对不同的宿主的毒力有所不同,亚马逊鸚鵡最为易感。感染的亚马逊鸚鵡容易出现严重的上呼吸道系统疾病。如果白喉样病变引起消化道以及呼吸道黏膜损伤造成细菌、真菌或者支原体等病原微生物继发感染,该病的死亡率将很高。组织学病变包括心脏和肝坏死、气囊炎、肺炎、腹膜炎、消化道表面有坏死性物质及碎片堆积。不过,外伤、真菌、细菌以及乳头瘤病毒感染也能够引起类似的症状和病变。因此,采用 PCR 检测是最好的诊断方法^[22]。此外,中和试验、ELISA 等方法已被用于诊断鸡以及火鸡等家禽的痘病毒感染。

6 鸚鵡乳头瘤病毒感染

鸚鵡乳头瘤病毒感染又被称为鸚鵡内部乳头瘤病 (internal papillomatosis of parrots, IPP)。该病的特征是在口腔以及泄殖腔逐渐出现乳头状瘤^[23]。泄殖腔的乳头瘤或大或小,有时会覆

盖整个泄殖腔的黏膜。出现这些病变后,会引起局部性的炎症反应,继发细菌或者真菌感染。在口腔或食道的乳头状瘤则会阻碍食物的摄入,导致厌食、体重减轻或者呕吐。乳头瘤病毒是能够引起多种脊椎动物肿瘤性疾病的重要病原体。对于鸚鵡的乳头瘤病毒的研究仍然较少。病理组织学检查以及活检是常用的诊断方法。此外,用于检测病原的 PCR 以及原位杂交方法也已被研制出来^[23]。

以上所述的鸚鵡疾病目前尚无特异的治疗方法以及有效的疫苗。因此,遇到疾病时只能采取对症治疗,或者使用抗生素做预防性治疗。有报道称阿昔洛韦可以减少患 PD 的鸟的死亡率,但其对某些品种鸟类的肾脏具有毒性,也不能够预防急性死亡。对于其他几种疾病也都有相关的治疗方法研究的报道,但都是实验性的,还有待于临床实践证实。目前,在美国已有针对 APV 和 PsHV-1 感染的商用疫苗,但效果不甚理想^[24]。因此,对于观赏鸟的饲养者或者主人来说,保持良好的饲养卫生条件仍是最为重要的。

随着人民生活水平的不断提高,如今国内饲养观赏鸟的人也越来越多,有些宠物医院也收治了相关的一些病例。但总体而言,国内对这类疾病的研究和诊治还很少见,需要广大科研人员以及临床兽医做好相关的研究工作。

参考文献:

- [1] Pass D A, Perry R A. The pathology of psittacine beak and feather disease[J]. *Aust Vet J*, 1984, 61:69-74.
- [2] de Kloet E, de Kloet S R. Analysis of the beak and feather disease viral genome indicates the existence of several genotypes which have a complex psittacine host specificity[J]. *Arch Virol*, 2004, 149:2393-2412.
- [3] Ritchie B W, Niagro F D, Lukert P D, et al. Characterization of a new virus from cockatoos with psittacine beak and feather disease[J]. *Virology*, 1989, 171:83-88.
- [4] Niagro F D, Forsthoefel A N, Lawther R P, et al. Beak and feather disease virus and porcine circovirus genomes: intermediates between the geminiviruses and plant Circoviruses[J]. *Arch Virol*, 1998, 143:1723-1744.
- [5] Todd D. Avian circovirus diseases: lessons for the study of PMWS[J]. *Vet Microbiol*, 2004, 98:169-174.
- [6] Katoh H, Ohya K, Fukushi H. Development of novel real-time PCR assays for detecting DNA virus infections in psittaciform birds[J]. *J Virol Methods*, 2008, 154:92-98.
- [7] Hirai K, Nonaka H, Fukushi H, et al. Isolation of a papovavirus-like agent from young budgerigars with

feather abnormalities[J]. J Vet Sci, 1984, 46:577-582.

[8] Bernier G, Morin M, Marsolais G. A generalized inclusion body disease in the budgerigar (*Melopsittacus undulatus*) caused by a papovavirus-like agent [J]. Avian Dis, 1981, 25:1083-1092.

[9] Hsu C M, Ko C Y, Tsaia H J. Detection and sequence analysis of avian polyomavirus and psittacine beak and feather disease virus from psittacine birds in Taiwan[J]. Avian Dis, 2006, 50:348-353.

[10] Davis R B, Bozeman L H, Gaudry D, et al. A viral disease of fledgling budgerigars [J]. Avian Dis, 1981, 25:179-183.

[11] Johne R, Muller H. Avian polyomavirus agnoprotein Ia is incorporated into the virus particle as a fourth structural protein VP4[J]. J Gen Virol, 2001, 82:909-918.

[12] Katoh H, Ohya K, Une Y, et al. Molecular characterization of avian polyomavirus isolated from psittacine birds based on the whole genome sequence analysis [J]. Vet Microbiol, 2009, 138:69-77.

[13] Ogawa H, Yamaguchi T, Fukushi H. Duplex shuttle PCR for differential diagnosis of budgerigar fledgling disease and psittacine beak and feather disease[J]. Microbiol Immunol, 2005, 49:227-237.

[14] Simpson C F, Hanley J E, Gaskin J M. Psittacine herpesvirus infection resembling pacheco's parrot disease [J]. J Infect Dis, 1975, 131:390-396.

[15] Tsai S S, Park J H, Hirai K, et al. Herpesvirus infections in psittacine birds in Japan[J]. Avian Pathol, 1993, 22:141-156.

[16] Johne R, Konrath A, Krautwald-Junghanns M E, et al. Herpesviral, but no papovaviral sequences, are detected in cloacal papillomas of parrots[J]. Arch Virol, 2002, 147:1869-1880.

[17] Tomaszewski E K, Wigle W, Phalen D N. Tissue distribution of psittacid herpesviruses in latently infected parrots, repeated sampling of latently infected parrots and prevalence of latency in parrots submitted for necropsy[J]. J Vet Diagn Invest, 2006, 18: 536-544.

[18] Tomaszewski E K, Kaleta E F, Phalen D N. Molecular phylogeny of the psittacid herpesviruses causing Pacheco's disease: correlation of genotype with phenotypic expression[J]. J Virol, 2003, 77:11260-11267.

[19] Lowenstine L J, Fry D M. Adenovirus-like particles associated with intranuclear inclusion bodies in the kidney of a common murre (*Uria aalge*) [J]. Avian Dis, 1985, 29:208-213.

[20] Pitcovski J, Muallem M, Rei-Koren, et al. The complete DNA sequence and genome organization of the avian adenovirus, hemorrhagic enteritis virus [J]. Virology, 1998, 249:307-315.

[21] Raue R, Gerlach H, Muller H. Phylogenetic analysis of the hexon loop 1 region of an adenovirus from psittacine birds supports the existence of a new psittacine adenovirus (PsAdV) [J]. Arch Virol, 2005, 150: 1933-1943.

[22] Jarmin S, Manvell R, Gough R E, et al. Avipoxvirus phylogenetics: identification of a PCR length polymorphism that discriminates between the two major clades[J]. J Gen Virol, 2006, 87:2191-2201.

[23] Sundberg J P, Junge R E, O'Banion M K, et al. Cloacal papillomas in psittacines [J]. Am J Vet Res, 1986, 47: 928-932.

[24] Ritchie B W, Vaughn S B, Leger J S, et al. Use of an inactivated virus vaccine to control polyomavirus outbreaks in nine flocks of psittacine birds [J]. J Am Vet Med Assoc, 1998, 212:685-690.

《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

兽用联合疫苗的研究进展

郭沈涛

(广东永顺生物制药有限公司, 广东 广州 511356)

摘要:复杂的疾病经常给养殖业造成很大的经济损失。由于疾病的多样性、复杂性,采用单一的疫苗防控,并不能带来很好的效果。多次的免疫又带来极大的不便,造成肉质质量下降,影响人类健康。采用联合疫苗进行免疫,可减少疫苗接种次数,增加可预防疾病的数量。本文结合动物疾病的特性,阐述了联合疫苗在养殖场中应用的好处。

关键词:疫苗;联合;预防

中图分类号: S859.797

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)02-0005-03

联合疫苗就是数种疫苗抗原联合制成的疫苗。它包括两大类:多联疫苗和多价疫苗。多联疫苗由多种病原的抗原组成,用来预防多种疾病,如“百白破”疫苗等。多价疫苗是包含同一种细菌或病毒的不同亚型或血清型的疫苗,如7价肺炎链球菌疫苗。针对各种疾病,一般有两种处理方法:一是日常的预防管理;二是发病后的治疗。随着生物技术的发展,在处理疾病方面越来越倾向于预防,防患于未然。现代畜牧业走向集约化养殖,这样的管理模式,不但有利于投资者的管理、规划,而且更有利于节约成本、提高市场竞争力。但是,从另一方面来看,这样的管理模式也为动物疾病的发生埋下安全隐患,一旦管理不好,疾病便大范围爆发,给投资者造成极大的损失。本文将在疫苗预防方面着重阐述联合疫苗的应用。

1 病原的复杂性

1.1 疾病感染的复杂性

当前,临床上严重的疾病很少是由单一病原引起的,大部分是由几种病原共同作用的结果。例如猪被猪圆环病毒2型(PCV2)感染后会出现断奶仔猪多系统消耗综合征(PMWS)^[1],但临床上这些猪群并不显示明显的临床症状,一般暴发PMWS的猪场还会存在其他感染和疾病^[2]。

临床上的继发感染机理主要是由于第一种病原通过降低宿主局部或者全身的防御能力为第二种病原感染创造了条件。一般来说,第一种病原通常为病毒或支原体,发生继发感染的是细菌。Scatozza等^[3]发现感染流感、PRRS或伪狂犬病毒

后,猪对胸膜肺炎放线菌的易感性明显增高。Van Reeth等^[4]也发现流感病毒和PRRS病毒双重感染的致病力比单独一种病毒感染的致病力强。许多病毒只靠其本身的毒力并不一定会导致动物死亡,有的甚至不发病。当畜群免疫力低下或应激情况下,或者发生细菌感染时,会促使混合感染和继发感染发生,使多种疾病并发,使畜群大量死亡。有研究发现,鼻炎支原体感染可以加重PRRSV感染肺部的病变,肺炎支原体合并感染可以使感染PRRSV的猪无论是临床症状和还是病理变化都更严重^[5]。Yagihashi等^[6]也发现猪感染肺炎支原体后对胸膜肺炎放线杆菌的抵抗力降低。Iglesias等^[7]亦证明:伪狂犬病毒的混合感染可以加重猪链球菌2型感染的临床症状。因此,单独使用只针对一种病原的疫苗,很难达到预期的效果,尤其是一些历史悠久、病原复杂的养殖场。针对上述这种情况,目前人们所采取的方法主要是注射多种疫苗,以保证动物的健康养殖。

1.2 同一病原的多样性

很多病原分为很多个亚型或血清型,且各个亚型或血清型之间的免疫交叉保护能力不一,这样导致采用单一的抗原制作的疫苗接种往往不能达到理想的免疫效果。例如鸡传染性支气管炎(IB)的血清型至少可分为29种,并且新的血清型和变异株不断出现。Gough等^[8]1977年就报道了用油乳剂灭活疫苗控制IB,但由于IBV血清型的多样性,单价灭活疫苗并没能阻止IBV变异株引起的暴发。又如猪流感病毒(SIV),可分为H₁N₁、

H₁N₇、H₃N₂、H₃N₁、H₁N₂ 等亚型,实验研究表明,目前欧洲的 H₁N₁、H₃N₂ 和 H₁N₂ 等 SIV 之间的交叉保护作用有限^[9]。

2 国内外研究状况

联合疫苗的研制成功,始于 20 世纪 40 年代三价流行性感疫苗的研究。随后,联合疫苗的发展越来越快,越来越多的联合疫苗成功用于人类或动物的疫病防控。

在禽用疫苗方面,1983 年,Thayer 用鸡新城疫(ND)、传染性法氏囊病(IBD)二联灭活疫苗免疫 20 周龄种鸡,免后 40 周 ND 及 IBD 的抗体均很高^[10]。赵化民等^[11]应用鸡败血支原体国际标准株(MGOR)和鸡副嗜血杆菌(HPG)国际标准株 A 型(HPG221)和 C 型(HPG668)制备了抗鸡支原体病(AM)和鸡传染性鼻炎(IC)的双价二联油乳剂灭活疫苗,通过多批次 SPF 鸡免疫试验表明该疫苗安全性良好,疫苗接种后可产生 MG 和 HPG 血清抗体,对强毒攻击的免疫保护率为 91%~100%;各项试验的指标不低于各自的单苗,具有很好的推广应用价值。杨秀文等^[12]用 ND Lasota 弱毒株、NDV 地方分离株(F 基因 VII 型)-HD1 制备成二价油乳剂灭活疫苗,免疫雏鸡 3 周后产生免疫保护,攻毒保护率为 100%,免疫后 2 周 HI 抗体效价达 8log₂。该疫苗在河南汤阴一些种鸡场和蛋鸡场应用,获得了满意效果,有效地控制了 ND 的发生与流行。唐文彪等^[13]制备的鸡新城疫 Lasota 株和传染性支气管炎 H₁₂₀(或 H₅₂)株以及传染性法氏囊弱毒株三联弱毒疫苗安全性可靠,实验室免疫后抗鸡新城疫、鸡传染性支气管炎、鸡传染性法氏囊病三株强毒攻击的保护率均为 100%。

猪用疫苗方面,王建等^[14]以马链球菌兽疫亚种 ATCC35246 株和猪链球菌 2 型 HA9801 株作为生产菌株,试验制备的氢氧化铝胶二联灭活菌苗对仔猪安全,并具有较好的免疫保护效果。牛小迎等^[15]用猪传染性胃肠炎病毒(TGEV)、猪流行性腹泻病毒(PEDV)和猪轮状病毒(PRV)制备成猪病毒性腹泻三联疫苗,该疫苗在实验室免疫仔猪,主动免疫保护率为 92.7%,被动免疫保护率为 89%,田间免疫保护率为 90%。

在针对同种病原的不同血清型的预防方面,国内的研究取得一定的效果。在已知的口蹄疫病毒中,包括 A、O、C、Asia-1、SAT I、SAT II 和 SAT III 7

个没有交叉免疫保护的血清型,在长期的相互传播感染中又形成 60 余个亚型。王永录等对此研制的牛 O-A 型口蹄疫双价灭活疫苗在预防口蹄疫方面取得不错的效果^[16]。许兰菊等^[17]研制的鸡大肠杆菌多价灭活疫苗,用于预防多个血清型的大肠杆菌。胡清海等^[18]研制的鸭疫里氏杆菌病三价油乳剂灭活疫苗,对 1、2、10 型的鸭疫里氏杆菌起到很好的预防作用。沈志强等^[19]以禽多杀性巴氏杆菌强毒株 C48-1、C48-2 和禽致病性大肠杆菌常见血清型 O₁/O₁₅₄、O₂/O₈₆、O₇₈、O₁₈、O₈/O₉₃ 等为制苗菌株制备的禽霍乱与大肠杆菌病多价蜂胶二联灭活疫苗安全可靠,对禽霍乱和鸡大肠杆菌病的近期保护率均为 100%,该疫苗在全国 30 个省、市、自治区应用逾 2 亿羽份,疫苗安全可靠,产生免疫力时间早、保护率高、免疫期长,有力地控制了禽霍乱与大肠杆菌病的发生,取得了显著的经济效益。

近年来,多价的 DNA 基因工程疫苗研究发展也很迅猛。例如 Ben Peeters 等^[20]将猪瘟病毒的 E2 基因插入到伪狂犬病毒基因中,构建重组病毒,将该重组病毒制备成疫苗并免疫猪,接种该疫苗的猪能够同时抵抗猪瘟病毒和伪狂犬病毒的攻击。马鸣潇等^[21]构建 2 种口蹄疫基因佐剂多价 DNA 疫苗在实验室取得不错的效果。王新^[22]构建的重组伪狂犬病毒 SA215(D)作为预防猪 2 型圆环病毒、猪细小病毒和伪狂犬病的三价基因工程疫苗候选株,其制成的 PCV2-PPV-PRV 三价基因工程疫苗能成功诱导小鼠产生细胞免疫和体液免疫应答,产生较高的抗 PRV、PCV2 和 PPV 的抗体水平,并能完全抵抗致死剂量 PRV 强毒的攻击。在寄生虫病方面,Samykutty 等^[23]构建的淋巴丝虫病多价 DNA 疫苗,免疫小鼠后对多种淋巴丝虫的保护率达到 90%。

总之,目前国内外在联合疫苗的研究上已经取得了一定的成绩,但由于病原的不断变异,疫苗也需不断更新,以针对新的病原。

3 存在问题

首先,两种以上的抗原混合后,要注意是否可能产生相互免疫抑制。联合疫苗并不是简单地将几种不同的抗原混在一起,而是由病原的特性、抗原之间的相互作用及各自的含量来决定。

其次,如前面所述,许多病毒只靠其本身的毒力并不一定会导致动物发病或死亡。当畜群免疫

力低下,或者继发细菌感染时,才促使多种疾病并发,导致发病、死亡。对这些疾病病原,很难找一种合适的方法,来对其毒力进行验证。因此在对该类疫苗的研究中,疫苗的效力评定存在一定的难度。如副猪嗜血杆菌、传染性胸膜肺炎放线杆菌及链球菌的一些血清型的毒力非常弱,在正常猪体中并不表现临床症状或试验重复性差^[24]。有条件相同的对照时,通常要结合猪群的生长状况和生产成绩进行综合评定。

4 结语

采用不同疫苗多次免疫的方法,其存在的问题是劳动成本增加,接种动物的应激反应大,药物残留多(主要指佐剂残留),疫苗之间的免疫抑制作用的几率也会增加。联合疫苗的应用,可以达到“一针防多病”的效果。用户采用较少的免疫次数,就可以使畜群免受各种疾病的困扰,健康成长得以保证。

由于近代微生物学、免疫学、生物化学、分子生物学和遗传学等学科的发展,人工自动免疫预防品种日益增多。精制提纯工艺的改进,使疫苗质量不断提高;对新的培养基、佐剂、新的免疫途径的探讨以及亚单位疫苗的研制,为多联多价疫苗的研究创造了非常有利的条件。

参考文献:

[1] Clark E. Post-weaning multisystemic wasting syndrome [J]. Proc West Can Assoc Swine Pract, 1996, pp:19-20.

[2] Eliis J, Clark E, Haines D, et al. Porcine circovirus-2 and concurrent infections in the field [J]. Vet Microbiol, 2004, 98:159-163.

[3] Pol J M, van leengoed L A, Stockhofe N, et al. Dual infections of PRRSV/influenza or PRRSV/Actinobacillus pleuropneumonia in the respiratory tract [J]. Vet Microbiol, 1997, 55:259-264.

[4] Van Reeth K, Koyen A, Pensaert M. Clinical effects of dual infections with porcine epidemic abortion and respiratory syndrome virus [J]. Proc Int Pig Vet Soc, 1994, 13:51.

[5] Thacker E L, Halbur P G, Ross R F, et al. Mycoplasma hyopneumoniae potentiation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced pneumonia [J]. J Clin Microbiol, 1999, 37:620-627.

[6] Yagihashi T, Nunoya T, Mitui T, et al. Effect of Mycoplasma pleuropneumoniae pneumonia in pigs [J]. Jpn J Vet Sci, 1984, 46:705-713.

[7] Iglesias J G, Trujano M, Xu J. Inoculation of pigs with Streptococcus suis type 2 alone or in combination with pseudorabies virus [J]. Am J Vet Res, 1992, 53:364-

367.

[8] Gough R E, Spackman. Studies with inactivated duck virus hepatitis vaccines in breeder ducks [J]. Avian Pothol, 1981, 10:471-479.

[9] Van Reeth K, Gregory V, Hay A, et al. Protection against a European H₁N₂ swine influenza virus in pigs previously infected with H₁N₁ and/or H₃N₂ subtypes [J]. Vaccine, 2003, 21:1375-1381.

[10] Thayer S G, Eidson S H. Multivalent inactivated virus oil emulsion vaccines in broiler breeder chickens I. Newcastle disease virus and infection bursal disease virus bivalent vaccines [J]. Poultry Sci, 1983, 62:1978-1983.

[11] 赵化民, 周方红, 曲立新, 等. 鸡支原体、鸡传染性鼻炎双价二联油乳剂灭活疫苗的研究 [J]. 中国预防兽医学报, 1999 (3): 187-190.

[12] 杨秀文, 边传周. 鸡新城疫二价油乳剂灭活疫苗的研制及免疫效果观察 [J]. 河北畜牧兽医, 2004, 20(10): 21, 41.

[13] 康文彪, 张述斌. 鸡新城疫、传染性支气管炎、传染性法氏囊病三联弱毒疫苗的试制 [J]. 畜牧兽医杂志, 2009 (5): 1-4.

[14] 王建, 刘佩红, 陆承平, 等. 猪链球菌病二联灭活疫苗的研制 [J]. 南京农业大学学报, 2003, 26 (1): 70-73.

[15] 牛小迎, 叶成玉, 张君, 等. 猪病毒性腹泻三联疫苗的免疫研究 [J]. 青海畜牧兽医杂志, 2000, 30 (3): 7-8.

[16] 王永录, 张永光, 方玉珍, 等. 牛 O-A 型口蹄疫双价灭活苗研究: 效力试验和最小免疫剂量试验 [J]. 中国兽医科技, 1999, 29 (9): 3-4.

[17] 许兰菊, 蒋大伟, 方丽云, 等. 鸡大肠杆菌多价灭活疫苗的研制和应用 [J]. 安徽农业科学, 2007, 35 (34): 11105-11106.

[18] 胡清海, 刘晓文, 赵世华, 等. 鸭疫里氏杆菌病三价油乳剂灭活疫苗的研究 [J]. 中国兽医科技, 2002, 32 (7): 6-8.

[19] 沈志强, 刘吉山, 李峰, 等. 禽霍乱与大肠杆菌病多价蜂胶二联灭活疫苗的研究 [J]. 中国预防兽医学报, 2004, 26 (4): 290-297.

[20] Ben Peeters, Krystyna Bienkowska-Szewczyk, Marcel Hulst, et al. Biologically safe, non-transmissible pseudorabies virus vector vaccine protects pigs against both Aujeszky's disease and classical swine fever [J]. Journal of General Virology, 1997, 78: 3311-3315.

[21] 马鸣潇, 金宁一, 尹草芬, 等. 口蹄疫病毒三价复合多表位佐剂 DNA 疫苗构建及其免疫原性 [J]. 生物工程学报, 2009, 25 (4): 514-519.

[22] 王新. 猪 2 型圆环病毒、猪细小病毒核酸疫苗及猪 2 型圆环-猪细小-伪狂犬病三价基因工程疫苗研究 [D]. 雅安: 四川农业大学. 2007.

[23] Abhilash Samykutty, Gajalakshmi Dakshinamoorthy, Ramaswamy Kalyanasundaram. Multivalent Vaccine for Lymphatic Filariasis [J]. Vaccinology, 2010 (3): 12-18.

[24] Francisco J Pallarés, Patrick G H, Cameron S S, et al. Comparison of experimental models for Streptococcus suis infection of conventional pigs [J]. The Canadian Journal of Veterinary Research, 2003, 67: 225-228.

猪圆环病毒 2 型诊断方法的研究进展

李 结

(华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

摘要: 猪圆环病毒 2 型是断奶仔猪多系统衰竭综合征(PWMS)的主要致病因子, 此外, 猪皮炎肾病综合征(PDNS)、仔猪先天性震颤(CT)等疾病也证实与 PCV-2 有关。在临床上 PCV-2 相关疾病也严重地制约着全世界养猪业的发展, 现已成为国内外学者研究的热点。根据实验室的具体情况采取合适的诊断方法是诊断该病的关键, 本文就其近年来诊断方法的研究进展进行了简要综述。

关键词: 猪圆环病毒 2 型; 诊断方法; 研究进展

中图分类号: S852.659.2

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)02-0008-03

猪圆环病毒 (Porcine circovirus, PCV) 是 1974 年德国学者 Tischer 等^[1]首次从 PK-15 细胞中分离出来的。该病毒属于圆环病毒科、圆环病毒属, 为无囊膜的单股负链闭环状 DNA 病毒。根据其致病性、抗原性及核酸序列的不同, 可分为 PCV-1 和 PCV-2 两个型。PCV-1 不会导致疾病的发生, 而 PCV-2 所引起的断奶仔猪多系统衰竭综合征 (PMWS) 则在猪群中频繁发生。此外, 猪呼吸道疾病综合征 (PRDC)、猪皮炎肾病综合征 (PDNS)、猪先天性震颤 (CT) 等也证实与 PCV-2 感染密切相关。此外, 它能导致猪生长缓慢, 饲料报酬降低, 同时导致免疫机能下降, 诱发其他疾病混合感染, 给养殖户造成巨大的经济损失, 也严重制约着养猪业的快速发展。本文就近年来国内外 PCV-2 诊断方法的研究进展作一综述。

1 病毒的分离培养

采集发病猪淋巴结和肺脏组织, 经研磨、冻融、离心后取上清, 将上清用氯仿抽提后接种于无 PCV 污染的猪肾细胞 (PK-15), 24 h 后用氨基葡萄糖处理, 用 PBS 洗涤后继续培养, 一般在病料接种后 3 d 可采用间接荧光试验 (IFA)、电镜观察来确认病毒分离情况。但该方法费时费力, 不适于临床上该病的快速诊断。

2 电镜观察

依据病毒自身的形态结构等特征, 在电镜下可以直观准确的鉴别病毒。Stevenson 等^[2]首次利

用透射电镜在感染 PCV-2 的 PK-15 细胞中观察到 PCV 的包涵体。郎洪武等^[3]则从病猪的淋巴结组织和脾脏切片中发现了直径约 17 nm、无囊膜、圆形的 PCV-2 病毒颗粒。

3 免疫学检测

3.1 免疫荧光技术

免疫荧光技术 (Immunofluorescence assay, IFA) 是将感染有待检病毒的 PK-15 细胞或病变组织冰冻切片后用丙酮固定, 然后加入单抗或抗血清, 反应约 30 min, 经 3 次洗涤后, 再加入荧光素标记的二抗继续反应 30 min, 洗涤吸干后用荧光显微镜观察。芦银华等^[4]利用 PK-15 细胞增殖猪 PCV-2 制备抗原, 建立了能够有效检测 PCV 抗体的免疫荧光诊断方法。利用该方法检测 64 份血清样品, 结果显示, 38 份为阳性。该方法快速准确, 且操作简单, 主要用于病变组织的感染情况及病毒分离效果的检测。

3.2 酶联免疫吸附试验

酶联免疫吸附试验 (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 法既可以检测抗体, 也可以检测抗原。据春梅等^[5]利用 PCV-2-ORF2 基因原核表达产物建立了 ELISA 检测方法。崔尚金等^[6]以重组杆状病毒表达 PCV 衣壳蛋白作为 ELISA 抗原, 提高了 HRP 标记的二抗的稀释倍数, 有效增强了其特异性。Shang 等^[7]利用在大肠埃希菌中表达的核酸定位衣壳蛋白建立了间接 ELISA 方法。应

用该方法检测 1 080 份血清,相比 IFA 方法,其特异性、敏感性及准确性分别为 84.2%、93.35% 和 91.1%;相比 ELISA 方法,临床检测 79 种血清,其特异性、敏感性及准确性分别为 84.2%、93.3% 和 91.1%;且无交叉反应。该方法适用于临床上 PCV-2 大规模流行病学调查。

2000 年, Walker 等^[8]建立的竞争性酶联免疫吸附试验 (c-ELISA),其特异性和敏感性分别为 97.14% 和 99.58%,c-ELISA 也适用于大范围猪群的 PCV 快速检测。Mcneily 等^[9]建立的抗原捕获 ELISA 方法可快速检测 PWMS 与 PCV-2 的亚临床感染。该方法且具有灵敏度高、操作简单等优点。

3.3 免疫胶体金技术

免疫胶体金技术 (Immune colloidal gold technique, ICGT) 的原理是用红色胶体金为标记物,以微孔滤膜为载体,通过渗滤而逐步反应,3~5 min 即可完成整个反应。王慧杰等^[10]通过克隆和表达 Cap 蛋白基因的羧基端,结合胶体金标记技术,建立了 PCV-2 Cap 抗体胶体金检测方法。采用 ELISA 验证,结果显示,表达蛋白免疫原性较强,且能准确区分 PCV-2 的阳性血清和标准阴性血清。

3.4 免疫过氧化物酶单层细胞试验

免疫过氧化物酶单层细胞试验 (Immunoperoxidase monolayer assay, IPMA) 方法基本原理是将生长有 PCV 的 PK-15 细胞在 96 孔板上长成单层后再检测血清中的抗体。黄立平等^[11]建立了一种检测 PCV-1 血清抗体的 IPMA 方法。利用该方法对 257 份血清样品进行检测,结果显示,PCV-1 和 PCV-2 阳性率分别为 19.1% 和 80.5%,且 PCV-1 阳性血清中有 95.9% 为 PCV-2 阳性,表明临床上 PCV-1 与 PCV-2 在猪群中混合感染程度高。刘长明等^[12]将 IPMA 方法改进后,研制出一种新的 IPMA 抗体检测试剂盒,适用于猪血清中 PCV-2 抗体检测,且该方法具有特异性强、敏感性高、操作简便等优点。

4 PCR 检测

4.1 常规 PCR

2007 年,王宪文等^[13]建立了一种快速检测 PCV-2 的 PCR 方法,以猪伪狂犬病毒、猪细小病毒、猪瘟病毒为对照,结果均无交叉反应,其检测

极限为 2×10^{-5} ng/mL。该方法具有特异性强,敏感性高及快速简便等优点。

4.2 多重 PCR

崔尚金等^[14]建立的多重 PCR 方法能有效检测和区分 PCV-2 和 PCV-1。全滢平等^[15]利用多重 PCR 方法,对我国多个省市的 30 份样品进行检测,结果显示,阳性率为 53.3%,能有效检测出 PCV-2。且其敏感性高、特异性强,适用于临床样品的快速检测。

4.3 实时定量 PCR

实时定量 PCR (Real-time PCR) 技术是指用 SYBR Green 荧光染料或荧光探针通过连续监测荧光信号强弱的变化来测定特异性产物的量,以此达到精确定量起始模板数的目的,且不需要取出 PCR 产物进行分离。该技术不仅实现了 PCR 从定性到定量的飞跃,且与常规 PCR 相比,它具有特异性更强、有效解决 PCR 污染问题、自动化程度高等特点,目前已被广泛地应用于分子生物学检测研究的各个领域。Mcintosh 等^[16]利用建立的 Real-time PCR 方法,在临床血清、肝脏、肾脏、粪便、心肌层、肠系膜淋巴结组织中均能成功检测出 PCV-2。

4.4 PCR-RFLP 检测

PCR-RFLP 是通过设计保守引物,PCR 扩增某些基因序列片段,然后用限制性内切酶酶切,由于同种生物不同个体的 DNA 分子用同一种酶切,会产生不同长度的片段,在凝胶电泳时呈现不同的条带。通过观察其酶切片段差异即可鉴定不同种或不同基因型的方法。Fenaux 等^[17]利用仅在 PCV-2 上存在的限制性酶切位点 Nco I 采用 PCR-RFLP 对 PCV-2 和 PCV-1 进行检测和分型。结果显示,PCV-2 的 PCR 产物被切成两个片段,而 PCV-1 不能被切割。电泳分析结果 PCV-2 呈现两条带,而 PCV-1 则只呈现一条带。

4.5 环介导等温扩增技术

环介导等温扩增技术 (Loop-mediated isothermal amplification, LAMP) 基本原理是利用能够识别靶序列上 6 个特异区域的 2~3 对引物和一种具有链置换特性的 Bst DNA 聚合酶,在等温条件 (65 °C 左右) 下可高效、快速、高特异地扩增靶序列。何选民等^[18]建立了 PCV-2 LAMP

检测方法,结果显示,PCV-2 LAMP 在 63℃ 1 h 内能够成功地检测 PCV-2 基因;其敏感度可以达到 10 个拷贝的 DNA 分子,LAMP 与 PCR 的阳性检出率比较结果为 94%。Chen 等^[19]利用 Cap 蛋白基因设计 6 对特异引物建立了 PCV-2 LAMP 检测方法,整个反应在 64℃ 1h 内完成,其 DNA 检测极限为 5 个拷贝;灵敏度是 PCR 的 10 倍,且与 PCV1、PPV、PRV 及 PRRSV 无交叉反应。利用该方法对 86 份样品进行检测,检出率为 96.5%,高于常规 PCR 检出率。与传统的 PCR 技术相比,该方法具有灵敏度高、特异性强、操作简便快速、不需要复杂仪器设备、扩增结果可以凭肉眼直接观察等优点,为临床检测 PCV-2 提供了一种快速简便的新方法。

4.6 基因芯片检测技术

基因芯片(DNA chip)技术是指将许多特定的寡聚核苷酸或 DNA 片段(称为探针)固定在芯片的每个预先设置的区域内,将待测样本标记后同芯片进行杂交,利用碱基互补配对原理进行杂交,通过检测杂交信号并进行计算机分析,从而检测对应片段是否存在、存在量的多少,以用于疾病的临床诊断和检测等。是近年来分子生物学与微电子学等多学科交叉融合而成的一项高新技术。肖驰等^[20]根据 PCV-2、PRRSV 和 CSFV 的基因序列选取靶标,制备相应的探针并构建 DNA 芯片,能同时检测出 PCV-2、PRRSV 和 CSFV 感染。该方法除了特异性强、灵敏度高等优点外,还具有高通量、并行性和结果判读客观、准确和信息化的特点。但该方法目前费用较高,限制了其实际应用。

4.7 寡聚糖核酸杂交检测技术

核酸杂交是指核酸分子单链之间由互补的碱基顺序,通过碱基对之间非共价键形成稳定的杂交双链。姜永厚等^[21]应用该技术建立了一种快速检测及鉴定 PCV 基因型的方法。临床检测结果表明该技术能准确鉴定 PCV 的基因型,且其灵敏度较凝胶电泳高。因此该技术适用于 PCV 临床检测及分子流行病学调查。

5 小结

国内外对 PCV-2 检测方法进行了大量的研究,已经建立了多种 PCV-2 检测方法,但各种方法

都有其局限性;我国虽然在 PCV-2 的研究方面有了较大的进展,但检测体系尚不够完善。因此有必要进一步加强对 PCV-2 的检测尤其是分子生物学检测和免疫学检测的研究,实现检测试剂商品化,这将对 PCV-2 的防控带来极大便利。

参考文献:

- [1] Tischer I, Rasch R, Tochtermann G, et al. Characterization of papovavirus and picornavirus-like particles in permanent pig kidney cell lines[J]. Zentralbl Bakteriolog Orig A, 1974, 226(2):153-167.
- [2] Stevenson G W, Kiupel M, Mittal S K, et al. Ultrastructure of porcine circovirus in persistently infected PK-15 cells[J]. Vet Pathol, 1999, 36(5):368-378.
- [3] 郎洪武, 王力, 张广川, 等. 猪圆环病毒分离鉴定及猪断奶多系统衰弱综合症的诊断[J]. 中国兽医科技, 2001, 31(3):3-5.
- [4] 芦银华, 谈国蕾, 华修国, 等. 应用间接免疫荧光试验检测猪圆环病毒抗体[J]. 中国兽医科技, 2002, 32(8):19-20.
- [5] 琚春梅, 陈焕春, 刘正飞, 等. 应用在大肠杆菌中表达的猪 2 型圆环病毒 ORF2 蛋白建立一种 ELISA 诊断方法[J]. 畜牧兽医学报, 2004, 35(6):689-693.
- [6] 崔尚金, 全滢平, 李曦, 等. 猪断奶后多系统衰竭综合征诊断方法的系列研究[J]. 中国预防兽医学报, 2004, 26(2):146-149.
- [7] Shang S B, Li Y F, Guo J Q, et al. Development and validation of a recombinant capsid protein-based ELISA for detection of antibody to porcine circovirus type 2[J]. Res Vet Sci, 2008, 84(1):150-157.
- [8] Walker I W, Konoby C A, Jewhurst V A, et al. Development and application of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of serum antibodies to porcine circovirus type 2[J]. J Vet Diagn Invest, 2000, 12(5):400-405.
- [9] Meneilly F, McNair I, O'Connor M, et al. Evaluation of a porcine circovirus type 2-specific antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs: comparison with virus isolation, immunohistochemistry and the polymerase chain reaction [J]. J Vet Diagn Invest, 2002, 14(2):106-112.
- [10] 王慧杰, 乔宏兴. 胶体金免疫层析法检测猪圆环病毒 2 型 Cap 抗体方法的建立及应用[J]. 中国兽医杂志, 2007, 43(8):23-25.
- [11] 黄立平, 刘长明, 威艳武, 等. 猪圆环病毒 1 型抗体 IPMA 检测方法的建立及应用[J]. 中国兽医科学, 2008, 38(9):738-742.
- [12] 刘长明, 张超范, 威艳武, 等. 猪圆环病毒型免疫过氧化物酶单层细胞试验抗体检测试剂盒的研制及应用[J]. 中国预防兽医学报

(下转第 13 页)

糊化淀粉尿素在反刍动物中应用的研究进展

罗佳捷¹, 张彬¹, 王洁²

(1. 湖南农业大学动物科学技术学院, 湖南长沙 410128; 2. 长沙市动物防疫监督站, 湖南长沙 410013)

中图分类号: S816.79

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)02-0011-03

摘要: 糊化淀粉尿素是一种缓释尿素的非蛋白氮类饲料添加剂。本文综述了糊化淀粉尿素的概念及特性、生产工艺、质量安全评价方法、在反刍动物生产中的应用及其存在的问题,并展望了其应用前景。

关键词: 糊化淀粉尿素; 缓释尿素; 反刍动物; 应用

中图分类号: S816.79

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)02-0011-03

130多年前,Weiske等^[1]就发现反刍动物瘤胃中的微生物能将非蛋白氮(NPN)物质转化为菌体蛋白。经过多年的发展,NPN已经在反刍动物养殖业中被广泛应用,为解决蛋白质饲料资源短缺的现状贡献了重大的力量。尿素作为一种最常见的NPN,一直被普遍地使用,但由于其在瘤胃内的降解速率过快,远远超过了微生物对其利用的速率,用量或用法不正确便极易造成动物氨中毒,甚至死亡。在这种情况下,碳水化合物与尿素联合使用的产物—糊化淀粉尿素(Starea)便应运而生,随着对其研究和推广程度的不断加深,它在反刍动物生产中也扮演着越来越重要的角色。

1 糊化淀粉尿素的概念及特性

糊化淀粉尿素是一种能起到缓释尿素作用的NPN类饲料替代品,由尿素和粉碎的高淀粉谷物均匀混合后经膨化挤压而成,有时也在其中均匀混入一定量的粘结剂、缓释剂或添加剂等以制成不同类型的产品。

糊化淀粉尿素主要通过两条途径来实现对尿素的缓释:1、糊化淀粉包被尿素;2、尿素的氨基与淀粉的糖醛基生成复合物来延缓尿素的过早释放。糊化淀粉尿素不但能起到缓释尿素的作用,而且糊化后的淀粉在瘤胃内很容易降解,因此能提高能量的供给速率,有利于微生物合成菌体蛋白^[2-3];同时,糊化淀粉尿素对小肠内蛋白质流量及氮存留的

增加很有帮助,能有效延长小肠的吸收时间,提高蛋白质的利用率^[4-5]。

2 糊化淀粉尿素的生产工艺

目前生产糊化淀粉尿素产品的方法主要有干法挤压和湿法挤压。此两种方法在工艺流程基本相似的基础上因挤压糊化设备和糊化工艺参数上的不同而使产品间存在着一定的差异^[6]。王敏^[7]经研究发现,生产玉米糊化尿素最好的原料配比为玉米:尿素:膨润土:食盐=74:20:5:1,混合料的含水率应控制在15%~20%,膨化腔温度应在135~145℃之间,玉米淀粉的糊化度应达到80%~90%,工作中空气湿度以70%为宜。

3 糊化淀粉尿素的质量安全评价方法

近年来,随着研究的不断深入,糊化淀粉尿素的优点也日益显现,在反刍动物养殖业中的应用也是越来越广泛,但我国对糊化淀粉尿素的研究仍处于起步阶段,尚缺少一个完善的质量安全评价体系。目前,我国对糊化淀粉尿素产品进行质量安全评价的方法主要包括:常规检测法^[7-8]、体外法^[9-10]和体内法^[11-12]。常规检测法主要用来检测糊化淀粉尿素的糊化度,糊化度越高则说明其缓释效果越好。体内法和体外法对糊化淀粉尿素质量的评价主要看两个方面,一是尿素的释放速度;二是瘤胃微生物对它的使用效率。相比于常规检测法,体内法与体外法的测定结果较准确,

能更直观的反应糊化淀粉尿素产品的使用效果,但对各方面的要求较高,因此,在实际生产中要酌情使用。

4 糊化淀粉尿素在反刍动物生产中的应用

糊化淀粉尿素作为一种缓释尿素复合物,一方面能控制氮的释放速率,另一方面使碳水化合物的降解、供能速率增快,几乎达到氮能同步释放的地步^[13],从而能提高氮利用率,有效解决饲喂尿素存在的问题。高民等^[14]用玉米糊化淀粉尿素饲喂羯羊,发现其能明显改善碳水化合物在瘤胃内的消化水平,延缓氮在瘤胃内的释放,刺激内源氮的有效再循环,从而增加瘤胃内微生物氮产量,并能促进瘤胃后营养物质间的平衡,有效提高氮源在小肠部分的吸收利用效率。李宝林^[15]给肉牛饲喂6种糊化度为0~75.87%的糊化淀粉尿素,发现肉牛瘤胃氨浓度峰值与糊化度呈显著负相关,当糊化度为最高的75.87%时,瘤胃氨浓度在饲喂后2h达到峰值,且瘤胃液氨浓度下降缓慢并稳定在一个较理想的水平上。马威等^[16]在利木赞杂交牛日粮中添加不同水平的糊化淀粉尿素,观察其对牛生产性能和血浆生化指标的影响,认为生长育肥牛饲料中糊化淀粉尿素占饲料总氮的25%,或来源于糊化淀粉尿素的尿素占饲料干物质的比例在1.27%以内是安全的添加水平。顾炳龙等^[17]在山羊日粮中分别加入等氮水平的豆粕、糊化淀粉尿素和尿素,结果发现糊化淀粉尿素能在一定程度上改善日粮的适口性,能获得最高的平均日增重,并能使每公斤增重的饲料成本比尿素组下降20.38%。

此外,孙惠贤^[18]和应如海^[19]研究发现,一定量的糊化淀粉尿素可以显著改善肉牛的平均日增重和料肉比,并能降低肉牛血清碱性磷酸酶活性;在奶牛日粮中添加1.5%和2%水平的糊化淀粉尿素能使奶牛的产奶量和奶料比显著优于对照组^[20]。何学谦^[21]在建昌黑山羊精补料中加入不同水平的糊化淀粉尿素,发现2%~8%的添加水平对山羊的肝脏无不良影响,4%水平为最适添加量。单达聪等^[22]用玉米糊化淀粉尿素代替全舍饲繁殖母羊日粮中2.2%的可消化粗蛋白,发现其作为NPN补充物使用在生产中具有安全性和有效性。虽然在哺乳期

使用存在一定的局限性,但总体上对其进行推广还是具有重要意义。

5 糊化淀粉尿素存在的问题

尽管糊化淀粉尿素已经被广泛接受并应用,但不可否认,糊化淀粉尿素的使用还存在几个问题:(1)目前还没有专门生产糊化淀粉尿素的膨化机组,还只能运用粉碎机、搅拌机等设备进行小规模生产,产量非常低;(2)没有相应的产品生产和质量检测标准,难以大力推广;(3)国内对尿素产品研究多集中在延缓尿素分解速度方面,产品成分及功能单一,针对性差^[23]。这些都是亟待解决的问题,应大力学习和引进国外的先进技术和设备,使我国糊化淀粉尿素产品的质与量都上升到一个全新的高度,再配合完善的质量安全评价系统,使糊化淀粉尿素的使用更加的趋于规范合理,达到更好的实际运用效果。

6 小结

糊化淀粉尿素既能缓释尿素,又能改善碳水化合物的分解利用效率,实为一种优质的蛋白质饲料替代产品。随着它在反刍动物养殖业中利用的逐渐增加,其产生的巨大养殖经济效益也越来越明显,引起了人们的广泛关注。因此,尽管糊化淀粉尿素的使用和推广还存在不少问题,但随着对其重视程度的增加,以及对其研究的不断深入,糊化淀粉尿素更多有益的特性也会随之体现出来,糊化淀粉尿素也必将在反刍动物养殖领域发挥更大的作用。

参考文献:

- [1] Weiske H, Schrod H, Danger S V. Uber die bedeutung es asparagin fair die thierische ernahrung[J]. Zeit Biol, 1879, 15:261.
- [2] Colenbrander V F, Bartley E E, Morrill J L, et al. Feed processing. Ii. Effect of feeding grain and finely ground hay on milk composition, yield, and rumen metabolism [J]. Journal expanded of Dairy Science, 1967, 50(12):1966-1972.
- [3] Helmer L G, Bartley E E, Deyoe C W. Feed processing. Vi. Comparison of starea, urea, and soybean meal as protein sources for Lactating dairy cows[J]. Journal of Dairy Science, 1970, 53(7):883-887.
- [4] Oltjen R R, Putnam P A. Plasma amino acids and nitrogen

- retention by steers fed purified diets containing urea or isolated soy protein[J]. *Journal of Nutrition*, 1966, 89(66):385-391.
- [5] 陈喜斌. 不同氮源日粮在瘤胃发酵和消化规律的研究[D]. 北京农业大学, 1994.
- [6] 成广仁. 前苏联含尿素高蛋白浓缩饲料的开发应用[J]. *中国饲料*, 1994(2):44-46.
- [7] 王敏. 糊化淀粉尿素-膨化加工技术的研究与实践[J]. *饲料与畜牧*, 2005(3):9-10.
- [8] 田培育, 李杰. 糊化淀粉缓释尿素质量影响因素及品质评定[J]. *饲料博览*, 2005(4):28-30.
- [9] 刘光利, 曹兰花, 丁雪红, 等. 尿素的氨化速度与缓释性能研究[J]. *石化技术与应用*, 2000, 18(4):209-211.
- [10] 辛杭书, 任朋萍, 孙长勉, 等. 包被尿素与蒸汽压片玉米组合对活体外瘤胃氨氮释放和发酵参数的影响[J]. *中国农业大学学报*, 2007, 12(3):41-45.
- [11] 陈喜斌, 冯仰廉. 糊化淀粉对尿素的缓释效果的研究[J]. *饲料博览*, 1995(3):5-7.
- [12] Taylor-Edwards C C, Elam N A, Kitts S E, et al. Influence of slow-release urea on nitrogen balance and portal-drained visceral nutrient flux in beef steers [J]. *Journal of Animal Science*, 2009, 87(1):209-221.
- [13] Pinos-Rodriguez J M, Pena L Y, Gonzalez-Munoz S S, et al. Effects of a slow-release coated urea product on growth performance and ruminal fermentation in beef steers [J]. *Italian Journal of Animal Science*, 2010, 9(1):16-19.
- [14] 高民, 卢德勋, 冯宗慈, 等. 糊化淀粉和缓释尿素产品对营养物质消化部位的影响[J]. *内蒙古畜牧科学(增刊)*, 1997:298-303.
- [15] 李宝林, 莫放, 冯仰廉, 等. 不同糊化度的糊化淀粉尿素在瘤胃中氮的释放规律的研究[J]. *中国畜牧杂志*, 1996, 32(3):9-11.
- [16] 马威, 任丽萍, 王黎文, 等. 淀粉糊化尿素对生长育肥牛生长性能和血浆生化指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2011, 23(10):1710-1715.
- [17] 顾炳龙, 王福全, 卫龙兴, 等. 糊化淀粉尿素对山羊饲喂效果的研究[J]. *畜牧与兽医*, 1996, 28(5):203-205.
- [18] 孙惠贤. 糊化淀粉尿素对肉牛生长性能的影响[J]. *畜禽业*, 2009(8):44-46.
- [19] 应如海, 程郁昕, 宁康健, 等. 饲喂糊化淀粉尿素对肉牛血液几项生化指标的影响[J]. *安徽农业技术师范学院学报*, 2001, 15(1):32-34.
- [20] 李朝琼. 糊化淀粉尿素对奶牛产奶性能的影响[J]. *畜禽业*, 2009(8):43-44.
- [21] 何学谦. 在凉山州建昌黑山羊精补料中添加糊化淀粉尿素应用效果试验[J]. *饲料工业*, 2010, 31(11):40-42.
- [22] 单达聪, 熊六飞. 糊化淀粉尿素在圈养母羊日粮中的应用效果[J]. *中国草食动物*, 2007, 27(5):19-21.
- [23] 王红云, 高占峰, 付才. 糊化淀粉缓释尿素研究进展[J]. *河北农业科学*, 2008, 12(10):56-59.

(上接第 10 页)

- 学报, 2007, 29(8):621-624.
- [13] 王宪文, 刘兴友, 梁美兰, 等. 猪圆环病毒 2 型 PCR 检测方法的研究[J]. *中国农学通报*, 2007, 23(9):28-31.
- [14] 崔尚金, 全滢平, 李曦, 等. 猪圆环病毒多重 PCR 诊断方法的建立[J]. *中国预防兽医学报*, 2006, 28(5):581-584.
- [15] 全滢平, 崔尚金, 蔡阳, 等. 猪圆环病毒多重 PCR 诊断方法的建立[J]. *动物科学与动物医学*, 2005(3):50-53.
- [16] McIntosh K A, Tumber A, Harding J C, et al. Development and validation of a SYBR green real-time PCR for the quantification of porcine circovirus type 2 in serum, buffy coat, feces, and multiple tissues[J]. *Vet Microbiol*, 2009, 133(1-2):23-33.
- [17] Fenaux M, Halbur P G, Gill M, et al. Genetic characterization of type 2 porcine circovirus (PCV-2) from pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome in different geographic regions of North America and development of a differential PCR restriction fragment length polymorphism assay to detect and differentiate between infections with PCV-1 and PCV-2 [J]. *J Clin Microbiol*, 2000, 38(7):2494-2503.
- [18] 何选民, 邹国秋, 张桂红, 等. 猪圆环病毒 2 型环介导等温扩增 (LAMP) 检测方法的研究[J]. *中国兽医杂志*, 2009, 45(12):7-10.
- [19] Chen H T, Zhang J, Sun D H, et al. Rapid detection of porcine circovirus type 2 by loop-mediated isothermal amplification [J]. *J Virol Methods*, 2008, 149(2):264-268.
- [20] 肖驰, 曹三杰, 文心田. PRR-CSF-PCV2 诊断 DNA 芯片构建研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2006, 37(8):799-803.
- [21] 姜永厚, 商晗武, 陈伟杰, 等. 猪圆环病毒检测与分型寡核苷酸片的建立与应用[J]. *中国兽医学报*, 2008, 28(10):1174-1181.

季节和产蛋周龄对青脚麻鸡种蛋孵化性能的影响

徐 腾¹, 谢和芳¹, 尹华贵^{1,2}

(1. 西南大学荣昌校区, 重庆 402460; 2. 重庆特驱家禽养殖公司, 重庆 402460)

摘要: 试验选择 600 只青脚麻种母鸡, 按 24-28 周龄、29-35 周龄、36-42 周龄及 43 周龄以上 4 个不同产蛋周龄和春夏秋冬 4 个不同季节分别收集种蛋进行孵化, 研究不同季节和不同产蛋周龄对种蛋受精率和孵化率的影响。结果发现, 不同产蛋周龄对青脚麻鸡种蛋的孵化性能有一定的影响, 处于产蛋期 29-35 周龄的种鸡所产种蛋孵化性能最好; 不同季节对青脚麻鸡种蛋的孵化性能也有一定的影响, 秋季的孵化性能最好。

关键词: 青脚麻鸡; 受精率; 孵化率

中图分类号: S831.2

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)02-0014-02

Influence of seasons and age on the hatch performance of Cyan-shank partridge chicken

Xu Teng¹, Xie Hefang¹, Yin Huagui^{1,2}

(1. Southwest University Rongchang Campus, Chongqing 402460, China; 2. Chongqing Tequ Poultry Breeding Company, Chongqing 402460, China)

Abstract: The eggs of 600 Cyan-shank partridge chicken at the age of 24-28 weeks, 29-35 weeks, 36-42 weeks or 43 weeks were selected for studying the influence of the age and seasons on the fertility and hatchability. The results showed that the different egg-laying age had certain effects to the hatching performance of the Cyan-shank partridge chicken and the hatch performance of eggs from 29-35 weeks old chicken was the best. The seasons also could influence the hatch performance of the eggs and the hatch performance was the best in autumn.

Keywords: Cyan-Shank Partridge Chicken; Fertility; Hatchability

随着养禽业生产的发展, 如何提高种蛋的孵化率早已为人们所关注。种鸡所产种蛋, 在产蛋期的不同阶段其蛋重、蛋壳质量及蛋内容物成分含量有明显差别。季节的不同, 也会影响到种鸡的生产性能。在重庆地区, 夏季特别炎热, 冬季湿冷。我们根据重庆四季变化以及青脚麻鸡产蛋期不同阶段种蛋的特点, 探讨了不同日龄青脚麻鸡的种蛋在不同季节的受精情况和孵化效果, 以便今后在家禽孵化及蛋鸡生产中应用。

1 材料和方法

1.1 试验种鸡及种蛋收集与保存

从重庆特驱家禽育种有限公司和重庆特驱家禽养殖有限公司永川种场选择 600 只青脚麻鸡种母鸡, 按不同产蛋周龄和不同季节收集 2010

年 1 月到 2011 年 1 月所产种蛋。种蛋保存温度为 15~18 ℃, 相对湿度 75%~85%, 保存时间不超过 5 d。

1.2 种蛋分组与入孵准备

按产蛋周龄不同将青脚麻鸡所产种蛋分为 A、B、C、D 四个组。其中, 24-28 周龄种鸡所产种蛋为 A 组, 29-35 周龄种鸡所产种蛋为 B 组, 36-42 周龄种鸡所产种蛋 C 组, 43 周龄以上种鸡所产种蛋为 D 组。各组每个季节的每一批次入孵种蛋作为一个重复, 共重复 5 次。入孵前, 将种蛋由冷的贮存室移至 22~25 ℃ 的室内预热 5~6 h, 除去蛋表面的冷凝水, 然后按每立方米空间用 42 mL 福尔马林加 21 g 高锰酸钾, 熏蒸 20 min 消毒种蛋。

1.3 孵化管理及测定指标

孵化器和出雏器均为青岛兴仪电子设备有限责任公司生产, 分别为依爱汉显智能巷道式孵化器(型号:EIFD)、依爱汉显单箱式出雏器(型号:E-ICD)。孵化温度为 37.35~37.85 °C, 湿度为 60%。出雏温度为 36.9~37.1 °C, 湿度为 67%。

每一批次孵化至 18 d 时照检, 记录白蛋数量(即光蛋数)、活胚蛋数量、出雏完毕后的毛蛋数量、健雏数等, 以此为基础计算受精率、受精蛋孵化率(简称孵化率)、健雏率、光蛋率、活胚率。

受精蛋数 = 入孵种蛋数 - 白蛋数量。

受精率 = (18 天照检受精蛋数 / 入孵种蛋数) × 100%。

孵化率 = [(受精蛋数 - 死胚蛋数量) / 受精蛋数] × 100%。

健雏率 = (健雏数 / 出雏数) × 100%

光蛋率 = (18 天照检未受精蛋 / 入孵种蛋数) × 100%。

活胚率 = (活胚数 / 受精蛋数) × 100%。

1.4 数据分析

本次试验的数据分析采用 excel 2003 和 spss 11.0 软件进行。

2 结果与分析

2.1 青脚麻鸡不同产蛋周龄对种蛋孵化性能的影响

青脚麻鸡不同产蛋周龄种蛋的孵化性能指标见表 1。由表 1 可以看出, B 组的活胚率和受精率极显著高于 D 组 ($P < 0.01$), 显著高于 A 组和 C 组 ($P < 0.05$), A 组和 C 组的活胚率和受精率差异不显著 ($P > 0.05$)。B 组的光蛋率极显著低于 D 组 ($P < 0.01$), 显著低于 A 组和 C 组 ($P < 0.05$)。四个不同产蛋周龄健雏率差异不显著 ($P > 0.05$)。B 组的孵化率显著高于 A、C 和 D 组 ($P < 0.05$), A、C 和 D 组孵化率差异不显著 ($P > 0.05$)。结果表明, 虽然各个产蛋周龄的光蛋率、孵化率、健雏率差异不显著, 但是, 随着产蛋周龄的增加, 受精率和活胚率逐步上升达到峰值后逐步下降, 以 28-35 周龄的种母鸡所产种蛋的孵化性能为最佳。

2.2 青脚麻鸡产蛋不同季节对种蛋孵化性能的影响

不同季节青脚麻鸡种蛋的孵化性能见表 2。从表 2 可以看出, 青脚麻鸡在春季所产种蛋的活

胚率显著低于秋季 ($P < 0.05$), 其余各季节的活胚率之间差异不显著 ($P > 0.05$)。春季的受精率显著低于其他季节 ($P < 0.05$), 光蛋率显著高于其他季节 ($P < 0.05$), 其余各季节的受精率和光蛋率之间均差异不显著 ($P > 0.05$)。夏季的健雏率与春季的健雏率差异极显著 ($P < 0.01$), 与秋冬两季的差异显著 ($P < 0.05$), 春季的健雏率也与秋冬的健雏率差异显著 ($P < 0.05$)。秋季的孵化率显著高于其他季节 ($P > 0.05$), 春、夏、冬季的孵化率之间差异不显著 ($P > 0.05$)。总的来说, 在本次试验中, 秋季的受精率和孵化率都较其他季节高, 春季的受精率和活胚率最差, 光蛋率最高, 但是健雏率较其他季节高。夏季的健雏率最低。

表 1 不同产蛋周龄青脚麻鸡的种蛋孵化性能

年龄段	活胚率	受精率	光蛋率	健雏率	孵化率
A	87.48 ^a	90.36 ^a	9.64 ^a	97.12 ^a	93.57 ^a
B	91.13 ^b	93.74 ^b	6.25 ^b	97.44 ^a	94.73 ^b
C	87.86 ^a	90.97 ^a	9.02 ^a	97.18 ^a	93.92 ^a
D	84.9 ^c	87.96 ^c	12.0 ^c	97.30 ^a	93.63 ^a

表 2 不同季节青脚麻鸡种蛋的孵化性能

季节	活胚率	受精率	光蛋率	健雏率	孵化率
春	85.81 ^a	88.33 ^a	11.66 ^a	97.78 ^a	93.40 ^a
夏	88.07 ^{ab}	91.40 ^b	8.59 ^b	96.67 ^c	93.58 ^a
秋	90.05 ^b	93.00 ^b	6.99 ^b	97.06 ^b	94.87 ^b
冬	88.07 ^{ab}	90.98 ^b	9.01 ^b	97.37 ^b	93.99 ^a

3 讨论

3.1 青脚麻鸡产蛋不同阶段与种蛋孵化性能的关系分析

本实验显示, 24-28 周龄青脚麻鸡所产种蛋的孵化性能比较差, 这和何艳丽等^[1]对美国七彩雉鸡的产蛋周龄与种蛋受精率和孵化率的相关性分析研究。结果产蛋初期的种蛋受精率低于进入产蛋高峰期的受精率相一致。这是因为种鸡产蛋初期, 种蛋大小不一, 双黄蛋和畸形蛋较多, 合格种蛋很少; 种公鸡前期精液量较少, 而且稀薄, 粪尿污染严重, 这是造成前期受精率低的一个重要原因。解决这一问题的关键是加强种公鸡的饲养管理。刘爱巧^[2]研究发现“京红 1 号”父母代种鸡在 28-40 周龄时所产种蛋的孵化性能最好, 本试验也证明, 从 24-28

(下转第 19 页)

中药添加剂对海南文昌鸡免疫功能的影响

姚茂忠¹, 陈湛娟², 马建升^{3*}

(1. 海南医学院 海南省药物安全性评价研究中心, 海南 海口 571101; 2. 海南师范大学化学与化工学院, 海南 海口 570216; 3. 广州龙沙有限公司, 广东 广州 510288)

摘要: 将180只雌性文昌鸡随机分为5组, 每组3个重复, 每重复12只。第1组为空白对照组, 饲喂基础日粮; 第2组为抗生素对照组, 在基础日粮中按600 mg/kg添加金霉素; 第3、4、5组分别在基础日粮中添加0.1%、0.2%和0.3%的中药添加剂。试验共进行6 w, 每周称重, 计量采食量。分别于28、35 d时接种禽流感疫苗。第49 d、56 d时每组随机取8只鸡, 翅静脉采血制备血清, 血凝抑制试验检测禽流感疫苗抗体滴度。56 d时将各组已采血8只鸡屠宰后打开腹腔, 取胸腺、法氏囊称重并计算免疫器官指数。结果表明, 0.2%中药添加剂能显著提高文昌鸡日增重 ($P < 0.05$), 提高法氏囊指数 ($P < 0.05$); 0.2%和0.3%中药添加剂均能提高禽流感疫苗抗体滴度 ($P < 0.05$)。结果提示, 本中药添加剂能够提高海南文昌鸡生产性能和免疫功能。

关键词: 中药添加剂; 文昌鸡; 免疫功能; 生产性能

中图分类号: S831.5

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)02-0016-04

Effects of traditional chinese herb additive on the immune function of Hainan Wenchang chicken

Yao Maozhong¹, Chen Zhanjuan², Ma Jiansheng^{3*}

(1. Research Center for Drug Safety Evaluation of Hainan Province, Hainan Medical College, Haikou 571101, China; 2. College of Chemistry and Chemical engineering, Hainan Normal University, Haikou 571158, China; 3. Guangzhou Lonza Co. LTD, Guangzhou 510288, China)

Abstract: 180 female Wenchang chickens were randomly assigned to 5 groups with 3 replications in each group and 12 chickens in each replication. Diets containing 0, 600mg aureomycin, 0.1% TCMA, 0.2% TCMA or 0.3% TCMA kg-1 were fed to group 1, group 2, group 3, group 4 or group 5 respectively. The test lasted for 6 weeks. The body weight and feed intake of chicken were measured per 7 days. All the chickens were inoculated Avian Influenza vaccine twice at the age of 28 days and 35 days respectively. When they were 49 or 56 days old, 8 chickens from each group were randomly selected to collect blood samples respectively. Serum was separated and assessed for HI antibody titers to Avian Influenza virus. At the age of 56 days, 8 chickens from each group which were collected blood samples were slaughtered to get thymus gland and bursa of fabricius. Then the organ weight was got to calculate index of the immune organ. The results showed that the daily weight gain was improved significantly in the group containing 0.2% TCMA ($P < 0.05$), feed conversion ratio of 0.2% TCMA group was decreased ($P > 0.05$) and index of bursa of fabricius in the group of 0.2% TCMA was increased significantly ($P < 0.05$). Avian Influenza antibody titers was increased significantly in both 0.2% and 0.3% TCMA group ($P < 0.05$). These results indicated that the immune function and the production performance of Hainan Wenchang chicken was increased.

Key words: Traditional chinese medicine additive; Wenchang chicken; Immune function; Production performance

海南文昌鸡原产于海南省文昌市,是我国最佳肉用型地方鸡种之一,位居海南“四大名菜”之首,因其皮薄、骨酥、肉质细滑和肉味香浓等特性而闻名于世^[1]。中药饲料添加剂具有安全无残留等功效,为抗生素类化学添加剂的潜在替代品,其对海南文昌鸡免疫功能的影响,尚未见报道。本试验就一种中药添加剂对文昌鸡免疫功能影响作初步研究,为其替代抗生素应用于海南文昌鸡的生产提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 中药添加剂 由神曲、大蒜、女贞子、淫羊藿等组成。经40目粉碎后,按照比例配制,蒸馏水浸提,减压浓缩,干燥后冷藏备用。

1.1.2 试剂与药品 禽流感疫苗(H₅亚型,N₁株)购自内蒙古生物药品厂;禽流感H₅亚型抗原购自中国农业科学院哈尔滨兽医研究所。

1.2 方 法

1.2.1 中药添加剂对海南文昌鸡生产性能影响试验 1 d雌性文昌鸡180只,采用基础日粮育雏2 w后,按体重随机分成5组,每组3个重复,每个重复12只鸡。第1组为空白对照组,饲喂基础日粮;第2组为抗生素对照组,在基础日粮中添加600 mg/kg的金霉素;第3、4、5组分别在基础日粮中添加0.1%、0.2%和0.3%的中药添加剂。网笼饲养,自由采食、自由饮水,常规免疫。试验共进行6 w,每周称重。基础日粮配方及营养水平见表1。

表1 基础日粮配方及营养水平

日粮组成	配比(%)		营养水平	0-4周	4-8周
	0-4周	4-8周			
玉米	58.00	61.59	代谢能(MJ/kg)	12.19	12.76
油脂	2.52	3.50	粗蛋白(%)	21.24	19.56
进口鱼粉	4.00	3.00	钙(%)	1.07	0.93
大豆粕	26.62	24.50	有效磷(%)	0.47	0.42
花生粕	5.00	4.00	蛋+胱(%)	0.88	0.73
CaHPO ₄	1.40	1.30	赖氨酸(%)	1.10	0.96
石粉	1.40	1.20	NaCl(%)	0.37	0.35
NaCl	0.31	0.31			
Met	0.21	0.10			
Lys	0.04	0			
预混料	0.50	0.50			
合计	100.00	100.00			

1.2.2 中药添加剂对海南文昌鸡免疫功能影响试验

1.2.2.1 样品采集 于28 d、35 d时2次接种禽流感灭活疫苗。试验第49 d、56 d时每组随机取8只鸡,翅静脉采血3 mL,倾斜试管,待血清析出后,迅速以3 000 r/min离心10 min,取上清液,置于冰箱内-20 ℃保存备用。56 d时将各组采血8只鸡屠宰后打开腹腔,取出胸腺(去结缔组织、脂肪)、法氏囊。

1.2.2.2 免疫器官指数测定 取出胸腺和法氏囊后即刻称重。计算器官系数。器官指数=器官重量(mg)/体重(g)。

1.2.2.3 禽流感疫苗抗体滴度测定 将待测血清于56 ℃水浴灭活补体。96孔“V”型反应板的第1孔内加入0.9%生理盐水175 μL,第10孔内加入生理盐水50 μL,其余每孔加生理盐水25 μL。取待测血清25 μL,加入第1孔,混匀,取25 μL加入第11孔,并弃去125 μL。另取25 μL加入第2孔,混匀后依次作倍比稀释至第9孔,从第9孔取25 μL弃去。将4单位禽流感抗原25 μL加入除10、11孔外其余各孔中。放微量震荡器上震荡2 min,室温感作30 min,然后每孔加入1%鸡红细胞25 μL。再放微量震荡器上震荡2 min,室温感作30 min左右观察。

2 结 果

2.1 中药添加剂对海南文昌鸡生产性能的影响

如表2,整个试验期间,第4组平均日增重比第1组提高7.59%($P<0.05$),表明0.2%的添加量效果明显,第3组、第5组与第1组相比均无显著性差异;与第2组相比,第3组、第5组日增重均显著性降低($P<0.05$),但第4组与第2组间无显著性差异,表明第4组(0.2%添加组)提高日增重作用与抗生素(金霉素)近似。第3组料重比比第1组稍有升高,第4组和第5组分别降低8.07%和4.35%,但差异不显著($P>0.05$);与第2组相比,第3组、第4组和第5组则分别升高,但差异不显著($P>0.05$)。

2.2 中药添加剂对海南文昌鸡免疫功能的影响

2.2.1 对免疫器官指数的影响 如表3,与第1组相比,第3、4和5组胸腺指数均升高,但差异不显著($P>0.05$),第3、4和5组胸腺指数均低于第

2组($P>0.05$)。表明中药添加剂能够提高胸腺指数;第3、4和5组法氏囊指数分别比第1组提高11.84%($P>0.05$)、25.30($P<0.05$)和17.55%($P>0.05$),表明中药添加剂能够显著提高法氏囊指数。

表2 中药添加剂对文昌鸡生产性能的影响

组别	日增重(g/d)	料重比
1	10.15±0.12 ^{ad}	3.22±0.18 ^a
2	11.01±0.25 ^c	2.85±0.09 ^b
3	9.92±0.24 ^a	3.34±0.07 ^a
4	10.92±0.08 ^{bc}	2.96±0.21 ^{ab}
5	10.46±0.12 ^{ab}	3.08±0.12 ^{ab}

1): 同列肩注不同者表示差异显著($P<0.05$),下同。

表3 中药添加剂对海南文昌鸡免疫器官指数的影响

组别	胸腺(mg/g)	法氏囊(mg/g)
1	5.01±1.89 ^a	2.45±1.28 ^a
2	6.18±2.11 ^a	2.40±1.12 ^a
3	5.40±1.40 ^a	2.74±0.86 ^a
4	5.19±0.91 ^a	3.07±1.75 ^b
5	5.88±3.20 ^a	2.88±0.6 ^a

2.2.2 对禽流感疫苗抗体滴度影响 如表4,第49 d时,第3、4、5组分别与第1组和第2组相比,抗体滴度均提高,其中第5组均达到显著水平($P<0.05$);第56 d时,第3、4、5组分别与第1组和第2组相比,抗体滴度均提高,其中第4、5组均达到显著水平($P<0.05$);第3、4、5组抗体滴度从第49 d到56 d有升高的趋势。表明中药添加剂具备提高禽流感疫苗抗体滴度的功能。

表4 中药添加剂对海南文昌鸡禽流感疫苗抗体滴度的影响

组别	49 d 抗体滴度(\log_2)	56 d 抗体滴度(\log_2)
1	5.32±0.19 ^a	5.38±0.60 ^a
2	5.32±0.33 ^a	5.54±0.60 ^a
3	5.46±0.26 ^a	5.95±0.55 ^{ab}
4	5.75±0.30 ^a	6.78±0.40 ^b
5	6.83±0.31 ^b	7.12±0.37 ^b

3 讨论

海南岛属热带和亚热带季风气候,四面环海,自然环境相对封闭,特有的自然地理、生态环境条件和长期的封闭状态,形成了海南文昌鸡生长慢、

体矮小、体宽、羽色深、性早熟等热带特征^[2]。其以体型圆小、早熟易肥、皮薄骨酥、肉质滑嫩、肉味香浓的特色^[3],不仅享誉于海南、广东、广西、香港和澳门,且外销至东南亚的新加坡、马来西亚等地。为保护具备海南岛热带生物资源特色的文昌鸡,开发绿色高效中药饲料添加剂以保证食品安全,不仅具备经济效果,且具有重要的社会和科学意义。

中药饲料添加剂提高肉鸡的生产性能作用,在快大型肉鸡上研究较多^[4,5],但其对于肉质鲜美,深受国内外市场青睐的海南文昌鸡的作用,尚未见研究报道。本试验发现,中药添加剂0.2%的添加量能够降低文昌鸡料重比,并提高日增重达到显著水平($P<0.05$),提高生产性能作用与抗生素近似。

免疫器官作为机体免疫力的物质基础,在动物免疫力中发挥着巨大的作用。胸腺和法氏囊是鸡的重要免疫器官。有学者报道,复方中草药添加剂能够显著提高鸡胸腺和法氏囊指数^[6],本中药添加剂能够提高文昌鸡胸腺指数,且能显著升高法氏囊指数($P<0.05$),表明其能促进文昌鸡免疫器官的生长发育,进而提高鸡的免疫力。对于中药饲料添加剂的免疫增效作用,有研究发现中草药添加剂能够促进鸡新城疫抗体效价^[6,7],但中药添加剂对于应用于文昌鸡的禽流感疫苗的免疫增效作用,鲜见报道。本研究发现,0.2%和0.3%的中药添加剂能够显著提高禽流感疫苗抗体效价($P<0.05$),表明其具备对禽流感疫苗的免疫增效作用。已有研究认为女贞子、淫羊藿具有提高动物免疫力的功能^[8,9],本中药添加剂组分中含女贞子和淫羊藿,其所含的多糖、黄酮、皂甙类有效成分可能为其对禽流感疫苗免疫增效作用的物质基础。

本研究结果表明,0.2%的中药添加剂不仅能促进文昌鸡生产性能,而且能提高文昌鸡免疫功能,具备作为抗生素替代品应用于文昌鸡饲料的潜力。故值得对中药添加剂应用于海南文昌鸡生产的可行性做深入研究。

参考文献:

- [1] 严虹羽,王学梅,李笑春,等. 1~35日龄海南文昌鸡适宜饲料能蛋白质水平的研究[J]. 热带农业工程, 2009, 33(2): 4-6.

- [2] 耿照玉, 张云芳. 海南文昌鸡若干种质特征和遗传多样性研究[J]. 应用生态学报, 2003, 14(4): 562-564.
- [3] 于吉英, 陈宽维, 肖小君, 等. 文昌鸡产蛋性能及蛋白质研究[J]. 中国家禽, 2007, 29(13): 23-25.
- [4] 张美英, 王志祥. 山楂提取物对肉仔鸡生产性能、养分消化率及消化酶酶活的影响[J]. 饲料工业, 2009, 30(14): 7-11.
- [5] 雷小军, 段小卫. 中草药饲料添加剂对肉仔鸡生长性能和免疫器官指数的影响[J]. 畜牧与饲料科学, 2010, 31(5): 42-44.
- [6] 吴植, 袁维峰, 周广生, 等. 复方中草药添加剂对林下生态鸡生长性能和免疫功能的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2011, 38(8): 16-18.
- [7] 戴必胜, 蒋林, 陈少雄. 中草药和芦荟多糖对肉仔鸡肠道微生物、免疫功能及生产性能的影响[J]. 中国家禽, 2007, 29(16): 21-24.
- [8] 周红波. 氟苯尼考和中草药黄芪淫羊藿合剂对鸡体液免疫反应的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2003.
- [9] 赵兴. 中草药提取物对肉仔鸡生产性能及部分血液生理生化指标的影响[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2003.



(上接第 15 页)

周龄过渡到 29-35 周龄, 青脚麻鸡所产种蛋的孵化性能提高。Alsobayel^[3]报道产蛋母鸡在 7-11 月龄时种蛋受精率、受精蛋孵化率和胚胎死亡率均无明显差异, 本次试验的结果与其相一致。而 Alsobayel 研究发现 11-15 月龄时则随月龄增加受精率和受精蛋孵化率明显逐步降低, 死胚率逐步增加, 但是在本试验中, 43 周龄后种蛋的受精率有明显的降低, 但是受精蛋孵化率并没有显著的降低。王和中等^[4,5]对种蛋受精率和受精蛋孵化率的研究中发现, 种蛋受精率与受精蛋孵化率有一定的相关性, 种蛋受精率高时, 孵化率也高, 种蛋受精率低时, 受精率也低。本试验 D 组的种蛋受精率低, 但其受精蛋孵化率并没有相应降低, 这可能与试验种鸡的品种、营养水平、健康状况、孵化技术水平及条件以及种蛋品质有关。

3.2 青脚麻鸡产蛋不同季节与种蛋孵化率的关系分析

从本实验可以看出, 季节对青脚麻鸡种蛋的孵化性能有一定的影响。本试验中, 春季的孵化性能较其他季节差, 秋季的孵化性能较其他季节好, 气温较高的夏季孵化性能较差。本试验与陆雪林^[6]对罗曼种鸡孵化性能的研究结果基本一致, 但是陆雪林等发现春秋两季罗曼种鸡的孵化性能较夏冬两季好。本试验却发现春季的孵化性能较夏冬两季都较差, 这可能与重庆地区特殊的气候环境有关。重庆处于我国西南方, 春季的气温比其他地区高, 春季时间较短。特别是 2010 年, 重庆春季整体气温波动很大, 极端最高气温为 40.3 ℃, 极端最低气温为 -0.6 ℃, 对本试验也有一定的

影响。

4 小结

本试验结果显示, 青脚麻种鸡父母代在 29-35 周龄时所产种蛋受精率及孵化性能较好, 从 24-28 周龄过渡到 29-35 周龄, 种蛋的受精率及孵化率有明显的提高。在 43 周龄到淘汰时种蛋受精率较低。青脚麻鸡种蛋在秋季的孵化性能较好, 春季最差。综合季节和不同种鸡日龄的影响, 秋季的 29-35 周龄的青脚麻鸡种蛋孵化性能最好, 而春季的老龄青脚麻鸡种蛋孵化性能最差。在生产实践中, 我们要注意及时淘汰老龄鸡, 充分利用 29-35 周龄的青脚麻鸡所产的种蛋, 并在这个阶段加强鸡的饲养管理, 以达到最大的经济效益。在不同的季节, 要注意控制鸡舍的环境温度, 使鸡少受环境温度的应激, 达到最佳的孵化效果。

参考文献:

- [1] 何艳丽, 吴锦. 美国七彩雉鸡的产蛋周龄与种蛋受精率和孵化率的相关性分析[J]. 特产研究, 1997(3): 53-54.
- [2] 刘爱巧. 蛋种鸡产蛋期不同阶段对种蛋孵化性能的影响[J]. 中国家禽, 2010, 32(16): 52-54.
- [3] Alsobayel A A. Effect of protein rearing diet and age fertility and hatchability parameters of Saudi Arabian Baladi chickens[J]. Journal of King Saud University, 1992, 4(1): 47-54.
- [4] 王和中. 浅析种蛋受精率与受精蛋孵化率的关系[J]. 江西畜牧兽医杂志, 2006(4): 19.
- [5] 沈东, 陶秀利. 种蛋受精率与受精蛋孵化率的相关性讨论[J]. 上海畜牧通讯, 2000(2): 38.
- [6] 陆雪林. 不同季节和种鸡日龄对种蛋孵化率的影响[J]. 山东家禽, 2001(3): 7-9.

湖南浏阳市室外发酵床养猪考察启示

赖贻奎¹, 董闽鲜¹, 周永生¹, 欧阳克蕙²

(1. 吉安市畜牧兽医局, 江西 吉安 343000; 2. 江西农业大学, 江西 南昌 330045)

中图分类号: S815.2

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)02-0020-03

近年来, 国家对畜禽养殖污染问题日益重视, 并每年安排资金用于畜禽养殖场粪污治理, 特别是生猪养殖安排的项目和资金最多, 如生猪规模养殖场(小区)标准化项目、大中型沼气项目等, 这些项目在设计 and 建设时要求大部分资金用于粪污治理设施建设。各项目场在项目实施过程中, 对栏舍、污水沟进行改造, 实现干湿分离、雨污分离, 建造了厌氧发酵池、沼液贮存池等, 污水进行厌氧发酵, 这些猪场的环境污染问题与项目实施前相比有了明显改善。但建了厌氧发酵池、沼液贮存池并不意味着猪场的污染问题就一劳永逸地解决了, 厌氧发酵后的沼液甚至是沼液经曝氧后仍达不到排放标准, 还对周边环境造成一定的污染。

为了找到解决畜禽养殖污水和沼液有效处理的办法, 实现养猪零排放或污水达标排放, 笔者一行实地到湖南省浏阳市参观学习室外发酵床养猪技术后启发很大, 认为具有巨大的学习和推广价值, 是解决养猪沼液(污水)污染的有效途径之一。

室外发酵床法是指养猪与粪污发酵分开, 猪不接触垫料, 猪舍外另建垫料发酵舍, 垫料铺在发酵舍内, 上面不养猪, 猪场粪污收集后利用潜泵均匀喷在垫料上进行生物菌发酵的粪污处理方法。

1 考察情况

2011年9月, 江西省吉安市畜牧兽医局组织部分县(区)畜牧兽医局局长及一些大型猪场负责人到湖南省浏阳市考察室外生物发酵床养猪技术, 实地参观了浏阳市裕丰强生态良种扩繁场, 并与当地畜牧兽医局领导、部分猪场负责人进行交流。浏阳市裕丰强生态良种扩繁场是浏阳市环保局、畜牧局从外地考察并引进日本洛东生物发酵舍养猪技术, 建设了第一个试验场。该场能繁母猪存栏 600 多头, 2007年9月该场引进洛

东生物发酵床技术, 并对该技术进行多次探索和比较, 最后选择舍外发酵法。从该场生物发酵舍的养猪过程, 笔者总结先后经历了舍内生物发酵床和舍外生物发酵床两个阶段。

1.1 舍内生物发酵床阶段

舍内生物发酵床技术是该场引进洛东生物发酵技术首先试验使用的技术, 就是我们平常看到最多的生物发酵床技术, 或叫零排放养猪技术。即在猪舍内铺上锯末、谷壳、洛东生物菌种混合成的垫料——发酵床。猪饲养在垫料上, 利用垫料中特定的微生物将猪粪尿迅速降解、消化, 不再需要对猪的排泄物进行人工清理, 也不需要建厌氧发酵池、沼液贮存池的一种现代养猪技术, 垫料使用三年后可以做有机肥料。这样基本上可以做到养猪粪污零排放、无污染, 所以许多人称发酵床养猪为零排放养猪。

1.1.1 优点

1.1.1.1 有效解决养猪对环境的污染。与传统养猪法对大气、土壤、水源的污染相比, 生物发酵床养猪粪污不外排(垫料可利用)、猪场基本无臭味, 大大降低了对环境的污染问题。

1.1.1.2 降污省工省地, 提高效率。由于生物发酵床技术不需要用水冲猪舍, 猪场产生污水就大大减少。由于不用水冲栏, 不用每天清除猪粪, 在劳动力价格不断上涨的情况下, 发酵床养猪具有省工省力的优势。此外, 生物发酵床养猪不需要建造沼气池等污水处理设施, 可省地。由于垫料肥料是固体, 比污水运输更方便, 提高了劳动效率。

1.1.1.3 变废为宝, 提高经济效益。发酵床养猪的垫料一次投入可用 3 年, 因垫料中不断加入猪粪尿, 三年后, 它是天然的可适用果蔬、水稻等作物的有机肥料。它不仅能改良土壤, 而且能促进农作

物生长,所以垫料也有较高的经济价值。

1.1.2 缺点

1.1.2.1 增加投入。发酵床养猪需要锯末、谷壳、洛东微生物作为垫料,而且锯末、谷壳需要量相对较大,而有的地方这些材料相对稀缺,可能造成材料不足;另外,舍内发酵床猪舍高度要求更高,在旧猪舍的基础上进行改造的模式较难达到生物发酵舍的要求。如果推倒旧猪舍重新建新猪舍,又会造成浪费,增加养殖户投资成本。

1.1.2.2 增加养猪技术难度。首先是发酵床养猪通风透气要求更高,特别是夏季高温时,更应注意通风降温,否则造成猪热应激;其次是为避免垫料结块、板结,垫料要经常要翻动,增加了工人劳动强度;再次饲料中不能添加抗生素,要求平时饲料营养平衡,加强管理,增强猪体质。

1.2 舍外生物发酵床法阶段

舍外生物发酵床法是该场在总结室内发酵床技术基础上的改进方法。该方法是舍内养猪与粪污发酵分开,粪污在另一发酵舍利用发酵床进行发酵。该方法的舍内养猪对栏舍、技术的要求与传统养猪一样,只不过是猪舍外要另建垫料发酵舍,粪污经预处理区再到发酵区进行生物发酵处理。其中预处理区包括集污池、调节池、污水管道。污水经潜污泵通过污水管道喷洒在发酵舍内已经按比例配比、调节好的垫料上。发酵舍垫料与室内生物发酵床的垫料配比一样,谷壳与锯末为(0.3~0.5):(0.7~0.5),洛东酵素U洁0.3 kg/m³,垫料床高度由于上面不养猪可适当提高到1.3~1.5 m。垫料床根据发酵舍的面积可分成4~8个小单元,每隔3~4天将粪污喷洒到1~2个单元垫料中,每个单元发酵运行3~4天后可再次喷洒。

舍外发酵床与舍内发酵床相比,也有优缺点。

1.2.1 优点

1.2.1.1 效率更高。由于舍外生物发酵的垫料没有猪只在上面活动,垫料不易板结,垫料不需每天翻动,而且没有猪只影响,更方便翻动,也适合机械翻动,垫料运出更方便,效率更高。

1.2.1.2 操作方便。舍外生物发酵法对猪舍的要求没有舍内生物发酵高,可以是简易栏舍,污水可轮流喷洒,有利于垫料管理和维护。

1.2.2 缺点 主要是需要另外建发酵舍、集污池,对一些用地紧张的猪场来说比较困难。虽然建集污池和发酵舍增加了投入,但是舍外发酵与舍内发酵

相比,舍内发酵每栋猪舍都需加高,需增加通风降温设备,所以舍外发酵床法养猪总投入更少。

2 吉安市养猪粪污处理情况

近些年,随着群众环保意识的提高和国家在环境污染治理投入的加大,特别是近5年来国家生猪规模养殖场(小区)标准化项目和大中型沼气项目的实施,该市养猪场粪污治理得到明显改善,各场探索出了多种粪污处理模式。

2.1 散养积肥模式

主要是年出栏50头以下的小规模猪场,绝大部分为农村散养户,这些养猪户把养猪作为家庭副业,养猪为积肥,养猪户建有小型粪污池,粪污用于种田或种菜等,由于养殖规模小,分布广,猪粮结合,粪污基本不对周边环境造成污染。

2.2 厌氧发酵模式

主要是年出栏50~5000头的中型猪场,这些猪场大部分建有沼气池。但由于受理念、资金、技术、管理等因素限制,猪场或不搞干清粪,或雨污未分离,或沼气池体积小,不与养猪规模配套,造成粪污无法彻底处理、储存,粪污仍有部分向外排放,特别是大部分猪场的沼液还是向外排流。这也是该市畜禽养殖粪污治理的重点和难点。

2.3 综合利用模式

主要是年出栏5000头以上的大型猪场,进行立体养殖,实行猪-沼-果(菜、鱼)立体养殖模式。这些大型猪场相当部分在大型水库边建造,实行的是猪沼鱼模式,猪场粪污向水库排放,用于养鱼。最有推广价值的是猪-沼-果(菜)模式,这些猪场有较大面积的果树地、蔬菜地,如万安县嘉山农庄的猪-沼-果模式、吉安春兴马山猪场的猪-沼-菜模式。

2.4 工业处理模式

主要是近年新建的万头以上大型猪场,如井冈山华富公司、吉安县正邦有限公司凤凰猪场等,借鉴工业污水处理模式,建有大型沼气池,沼液在曝氧池通过鼓风进行曝氧,尽量做到达标排放,这种模式适合超大规模猪场,粪污处理效果也较好,但是存在投入大、运行成本高等不足。

2.5 发酵床模式

这是近年一些中、大型猪场学习和借鉴别人经验,正在探索的一种新模式。主要是利用锯末、稻谷壳等做发酵床垫料,添加生物发酵菌,猪在垫料上饲养。如遂川嘉裕牧业有限公司、吉安红牧畜

禽有限公司。这种模式由于不用清粪、冲栏,粪污不外排,在环保方面应该是个好模式,特别适合锯木屑丰富的南方省份的中型猪场。但由于容易受垫料资源、栏舍投入、饲养技术等因素限制,不适合大型猪场大面积推广。

3 考察启示

笔者一行本次到湖南省浏阳市考察生物发酵床技术,特别是参观了裕丰强生态良种扩繁场,该场的室外发酵床技术给我们很多启示,该技术值得各地借鉴和推广,有利于解决目前畜禽粪污治理的难点和重点。

3.1 生物床发酵法是一种值得推广和应用的养殖新法

生物床发酵法是对沼液后处理,实现零排放(或达标排放)的有效途径之一,具有广阔的推广价值。生物发酵床法主要利用微生物发酵,将粪污中的粗蛋白、粗脂肪、残余淀粉、尿素等进行降解或分解成氧气、二氧化碳、水,同时产生热量,热量又将水蒸发,从而实现粪污的零排放。此外不产生沼气,减少了温室气体的排放,垫料又可以作肥料用,应该说生物发酵床养猪法是种绿色养猪法。该市中型规模猪场的污水(沼液)一直是造成环境污染的重要来源之一,特别是对那些周边没有林地、果园、菜地的猪场,生物发酵床法是一种非常值得推广的方法,具有广阔的推广和运用价值。如果沼气池和室外发酵床法结合,这样既利用了沼气,又对沼液进行了无害化处理,是一举两得的方法。

3.2 室外发酵床技术是室内发酵床养猪技术的提高

室外发酵床技术是养猪与粪污发酵处理分开,是生物发酵床技术的一种,是室内发酵床技术的提高。首先是每立方米垫料处理粪污量增加。原因是一方面由于室外发酵法避免了猪只在垫料上活动,垫料更不容易板结。另一方面,中间垫料温度在50~60℃发酵效果最好,四周及上下垫料温度较低,发酵效果较差。由于室外发酵床法垫料可加高,室内发酵床一般垫料高度为1.0 m,室外发酵床法可增加至1.3~1.5 m,中间层垫料增加,垫料发酵更有利,这样同样规模的养猪场,需要的垫料就可减少30%~50%。其次舍外发酵床法操作更简单。主要原因是舍外发酵床法的垫料上面不养猪,垫料翻动不会受猪只影响,也有利于机械化

操作,也不需每天去翻动。再次由于舍外发酵床法猪舍高度不用加高,猪舍建设总投入更少,舍外发酵床法更经济实惠。

3.3 室外发酵床技术是一项系统工程,要抓住以下几个条件

3.3.1 前提条件 即雨污分离。雨污分离是从源头上控制和减少粪污的处理量,使需要处理的粪污量降到最低。在做到雨污分离的前提下,最好实行干清粪,不要用水冲粪;其次猪栏地面为漏缝地板,采用水泡粪的模式,也可大大降低水的用量,从而达到减少粪污量的目的。没有实行雨污分离,任何粪污处理模式都难取得好的效果。

3.3.2 必要条件 要有充足的锯末、稻谷壳和发酵菌。锯末、稻谷壳是粪污发酵所需的“战场”,发酵菌是粪污发酵“战场”中的士兵,它的作用是消化粪污中尿素、粗蛋白等物质而自身大量繁殖。好的发酵菌就象训练有素、装备精良的士兵,它的对粪污的降解、消化能力就更强。结合各地发酵床养猪探索和实践,大家普遍认为日本洛东的生物菌效果较好,但价格较贵。

3.3.3 充分条件 垫料管理科学,沼液喷洒均匀。垫料中锯末和稻谷壳比例要合理,一般锯末占垫料比例要大于50%,小于80%,每立方米垫料添加0.2~0.3 kg生物菌种(洛东酵素),垫料每周进行一次深翻,保持垫料中心功能层温度应不低于55℃,每月对垫料补充一次菌种,根据垫料沉降,必要时增加垫料;沼液均匀喷洒在垫料上,沼液渗到垫料功能发热层下0.40~0.50 m即可,含水量45%~50%,经过4~5 h下渗后用旋耕机进行翻抛表层0.30 m,每个单元喷洒后3~4天再次喷洒;发酵舍地面应水泥硬化,应稍有坡度,不利于积水,要在低处建小池,方便在粪污喷洒过量时溢流的粪污收集重新喷洒在垫料上,要注意防止雨水渗入。

3.3.4 补充条件 污水与垫料合适比例,即每吨污水需要多少立方垫料才能处理和分解。根据国家环保局推荐的猪排尿系数656.7 kg/头·年,一个存栏万头猪场每年排尿量6 567吨,平均每天的排尿量为18吨。据试验每天处理一吨污水一般要用垫料45~50 m³,则一个万头猪场需要垫料为810~900 m³,按每栋发酵床垫料高1.3 m计算,需要建发酵舍面积620~690 m²。

广东地区鸭黄病毒 JM 株的分离和初步鉴定

苏伟桐¹, 钟植文¹, 赵金旺¹, 杨傲冰¹, 刘镇明², 张毓金^{1*}

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

摘要: 2010年4月以来, 我国部分地区陆续发生以产蛋鸭产蛋急剧下降为特点的疾病。从广东省江门地区某鸭场的发病鸭群采集样品, 接种鸭胚后分离到一株病毒, 并命名为 JM 株, 经 RT-PCR 检测为黄病毒核酸阳性。序列测定后分析显示, 该分离株 JM 株与黄病毒属 Tembusu 病毒的对应序列相似性最高, 其中与 Tembusu 病毒 JS804 株相似性最高达 98%。结果表明, JM 株为黄病毒, 与该病鸭产蛋急剧下降有关。

关键词: 鸭黄病毒; 产蛋下降; 分离; 鉴定

中图分类号: S852.659.6

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)02-0023-04

Isolation and identification of duck flavivirus in Guangdong

Su Weitong¹, Zhong Zhiwen¹, Zhao Jinwang¹, Yang Aobing¹, Liu Zhenming², Zhang Yujin^{1*}

(1. Guangdong Winsun Bio-Pharmaceutical Co., LTD, Guangzhou 511356, China; 2. Department of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Since April 2010, a new duck infectious disease characterized by sharp decrease in egg production emerged in some areas in China. Some samples were collected from the diseased ducks in Jiangmen city of Guangdong province. Virus JM was isolated from one sample through duck embryo inoculation and was detected positive by duck flavivirus RT-PCR method. Sequence analysis based on NS5 sequence showed that strain JM was most closely related to flavivirus strain Tembusu and had great similarity (98%) with strain JS804. The results showed that strain JM belonged to flavivirus and might be the reason for the sharp decrease in egg production.

Key words: Duck flavivirus; Sharp decrease in egg production; Isolation; Identification

2010年4月以来,我国部分地区陆续发生以产蛋鸭产蛋量急剧下降、病理剖检以卵泡变性、卵泡膜出血为特征性疾病,目前有报道确定为由鸭黄病毒引起的^[1-3]。广东江门地区某肉用种鸭场,27周龄樱桃谷种鸭存栏2630只,2011年7月2日鸭群开始发病,数天内采食量急剧下降,体温升高,排草绿色稀粪,产蛋种鸭出现软脚、站立不稳;产蛋大幅下降,6月30日产蛋率为90.1%,10d左右产蛋率下降至34.7%;开始发病时每天死亡2~4只,至发病后6~13d死亡鸭数增至每天9~18只,最高一天死亡18只,以后死亡数迅速下降,每天只死亡1~3只。从发病开始至产蛋率开始回升约16d左右,共死亡种蛋鸭104只,淘

汰种蛋鸭243只,死亡率为3.95%,淘汰率为9.24%。至8月2日产蛋回升到75.5%,前后共经历了一个月时间,整个月的产蛋率曲线(见图1);一直到8月15日始终达不到原来的高峰水平,产蛋率均维持在73%~76%之间。共剖检10只病死蛋鸭,病变主要在卵巢,卵泡变性、变形,卵泡膜充血、出血(见图2),占90%;卵黄性腹膜炎;心肌变性,外观苍白,有条纹状坏死病灶,占60%;有的心外膜出血,占30%;也有部分心内膜出血,占20%。该场在发病期间曾使用板蓝根、维生素C、黄芪多糖、氟苯尼考等药物进行防治,提高鸭群抵抗力,预防细菌性继发感染。本文对广东江门地区某肉用种鸭场该病的发生与流行情况展开调查研究。

收稿日期: 2011-11-15

*: 通讯作者

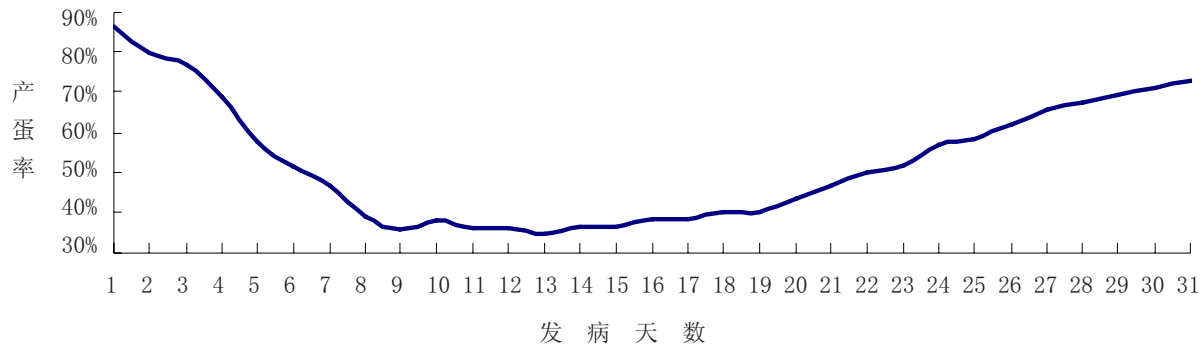


图1 发病期间鸭群产蛋率曲线



图2 发病鸭卵泡充血、出血

1 材料与方法

1.1 细菌分离

无菌采取该种鸭场罹病或死亡产蛋种鸭的肝脏、脾脏、心血等,接种于普通营养琼脂、麦康凯琼脂、鲜血琼脂等培养基,置 37 °C 温箱培养。

1.2 病毒分离和传代

采取该种鸭场罹病或死亡产蛋种鸭的肝脏、脾脏、肺、卵巢等内脏组织,按常规方法制成匀浆后,反复冻融 3 次,3 500 r/min 离心 10 min,吸取上清液,加入青链霉素,终浓度均为 10 000 IU/mL,4 °C 作用 3 h,再经细菌滤器过滤除菌,保留滤液。滤液经尿囊腔接种 10 日龄鸭胚(由广东永顺生物制药有限公司提供)8 只,0.3 mL/只,接种后置 37 °C 温箱孵化,每天照胚 4 次,连续观察 7 d。观察死亡鸭胚病变,收获死亡鸭胚尿囊液,并作无菌检查,然后连续传代,同时开始进行鸡胚传代,并将该分离到的病毒株命名为 JM 株。

1.3 血凝试验

参照文献^[4],配制 1%鸭、鸡红细胞悬液,分别进行微量血凝试验。

1.4 PCR 检测

根据该毒株的初步实验结果,针对鸭瘟病毒 UL6 基因设计引物,引物由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成。用 Takara Universal Genomic DNA Extraction Kit 提取接种 JM 株的鸭胚尿囊液的病毒总 DNA,再用针对鸭瘟病毒 UL6 基因所设计的特异性引物进行 PCR 扩增检测。

1.5 RT-PCR 检测

根据该毒株的初步实验结果,分别针对禽流感病毒 M 基因、禽副粘病毒 I 型 F 基因、鸭肝炎病毒 VP1 基因和黄病毒属 Tembusu 病毒的非结构蛋白 NS5 基因设计引物,引物由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成。用 Takara MiniBEST Viral RNA Extraction Kit 提取接种 JM 株的鸭胚尿囊液的病毒总 RNA,用随机引物为反转录引物合成 cDNA,再分别用针对禽流感病毒 M 基因、禽副粘病毒 I 型 F 基因、鸭肝炎病毒 VP1 基因和黄病毒属 Tembusu 病毒 NS5 基因所设计的特异性引物进行 PCR 扩增检测。另外,用 Takara MiniBEST Viral RNA Extraction Kit 提取健康鸭胚尿囊液的病毒总 RNA,随机引物为反转录引物合成 cDNA,针对黄病毒属 Tembusu 病毒 NS5 基因所设计的特异性引物进行 PCR 扩增,并作为对照。

1.6 PCR、RT-PCR 鉴定和序列测定分析

将所有的 PCR 和 RT-PCR 扩增产物一起电泳检测,扩增产物经回收纯化后送英潍捷基(上海)贸易有限公司进行序列测定。用 BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 进行检索,用 CLUSTALW 比较序列相似性,用 MEGA 4.0 构建系统进化树。

1.7 病毒对鸭胚的 ELD₅₀ 测定

参照文献^[5], 将 JM 株第 4 代病毒液以灭菌生理盐水配制成 10^{-5} ~ 10^{-1} 滴度的病毒液, 每个稀释度分别经尿囊腔途径接种 8 只 10 日龄鸭胚, 0.2 mL/ 只。每天照胚 4 次, 24 h 内死亡胚弃去不计数, 之后每天记录死胚情况, 连续观察 7 d, 按 Reed-Muench 法计算病毒的 ELD₅₀。

2 结果

2.1 细菌分离

病料接种的普通营养琼脂、麦康凯琼脂、鲜血液琼脂等培养基均无菌落生长, 初步排除细菌感染的可能性。

2.2 病毒分离和传代

经处理的病料接种 10 日龄鸭胚, 孵化 61 h 开始出现死亡, 死亡时间集中在 61~89 h。死亡胚体全身出血, 尤其是头、颈、脚出血明显, 卵黄囊膜出血 (见图 3)。收获死亡鸭胚尿囊液, 无菌检查为阴性。取死亡鸭胚尿囊液, 接种 9 日龄鸡胚, 64 h 开始出现死亡, 死亡胚体严重出血, 而死亡时间不集中, 在 64~135 h 之间。初步确定为病毒感染。



图 3 接种 JM 株后的鸭胚
(左: 对照组; 右: 感染组)

2.3 血凝试验

每一代鸭胚尿囊液和鸡胚尿囊液均不能凝集鸭和鸡红细胞, 表明该病毒对鸭和鸡红细胞无血凝性。

2.4 PCR、RT-PCR 鉴定和序列测定分析

用针对黄病毒属 Tembusu 病毒 NS5 基因所设计的特异性引物进行 RT-PCR 扩增, 结果显示扩增片段大小约为 400 bp, 而针对禽流感病毒 M 基因、禽副粘病毒 I 型 F 基因、鸭肝炎病毒 VP1 基因和鸭瘟病毒 UL6 基因, 所设计的特异性引物均未能扩增

出任何预期片段 (见图 4)。将目的条带回收纯化后, 经测序后对获得序列进行分析, 扩增片段为 422 bp。用 Blastn 进行比较分析, 发现与黄病毒属中的 Tembusu 病毒的对应序列相似性最高, 与 Tembusu 病毒 JS804 株相似性高达 98%, 与 THCAr 株、Sitiawan 株和 MM1775 株相似性可达 86%~92%。基于 NS5 基因序列比对结果建立系统进化树, JM 株和 Tembusu 病毒多个毒株均处于同一分支, 而 Tembusu 病毒 note N2 revived 14/6/82 株处于另一分支 (见图 5), 这些都表明 JM 株与 Tembusu 病毒亲缘关系很近, 同属于黄病毒属。

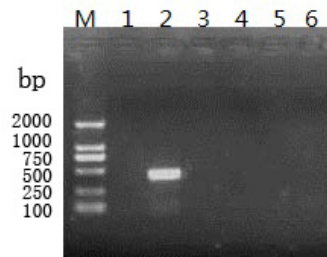


图 4 JM 株病毒 PCR 和 RT-PCR 检测结果

M: DNA Marker DL2000; 1: 健康鸭胚尿囊液, Tembusu 病毒引物 RT-PCR 检测; 2-5: 接种 JM 株的鸭胚尿囊液, 各种病毒的引物 RT-PCR 检测, 其中 2 为 Tembusu 病毒, 3 为禽流感病毒, 4 为禽副粘病毒 I 型, 5 为鸭肝炎病毒; 6: 接种 JM 株的鸭胚尿囊液, 鸭瘟病毒引物 PCR 检测。

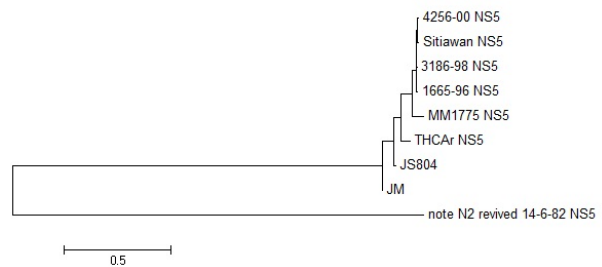


图 5 基于 NS5 基因序列比对结果建立系统进化树

2.5 病毒对鸭胚的 ELD₅₀ 测定

该毒株 JM 株的鸭胚尿囊液稀释后接种鸭胚, 10^{-1} 和 10^{-2} 稀释度的毒液接种的 8 只鸭胚, 死亡率均 8/8, 10^{-3} 稀释的毒液接种的, 死亡率为 5/8, 10^{-4} 稀释的毒液接种的死亡率为 0/8。按 Reed-Muench 法计算, 该毒株 JM 株对鸭胚的 ELD₅₀ 为: $10^{-3.25}/0.2\text{mL}$ 。

3 讨论

3.1 从接种鸭胚的死亡情况及 PCR、RT-PCR 鉴定和序列测定分析结果显示: 本次从产蛋种鸭产蛋急

剧下降的病死鸭中分离的病毒 JM 株与黄病毒属中的 Tembusu 病毒亲缘关系很近,同属于黄病毒属。

3.2 JM 株对鸭和鸡红细胞均无血凝性,表明该病毒不是 AIV、NDV、EDSV^[5,6]。

3.3 该病在临床上以产蛋鸭产蛋下降为主要特征。该鸭场发病鸭群正处于产蛋高峰期,采用了提高鸭群抵抗力,预防细菌性继发感染的防治方法,用板蓝根、维生素 C、黄芪多糖、氟苯尼考等药物进行防治,收到较好的效果。从发病开始至产蛋率开始回升约 16 d 左右,死亡率也不高。从产蛋降至最低点的 34.7%回升到 75.5%,前后共经历了 19 d,但始终达不到应有的高峰水平。如果在产蛋高峰期过后才开始发病,产蛋率可能难以恢复到较高水平,淘汰鸭群也是一种方法。

3.4 该病给养鸭业造成严重的经济损失,对该病的病原分离和鉴定具有重要意义,本研究为建立该病的快速诊断和防控技术奠定了基础。

参考文献:

[1] 万春和,施少华,程龙飞,等.一种引起种(蛋)鸭产蛋骤降新病毒的分离与初步鉴定[J].福建农业学报,2010,25(6):663-666.

[2] 李玉峰,马秀丽,于可响,等.一种新病原——鸭黄病毒的分离与初步鉴定[J].家禽科学,2011(5):12-14.

[3] 曹贞贞,张存,黄瑜,等.鸭出血性卵巢炎的初步研究[J].中国兽医杂志,2010,46(12):3-7.

[4] GB/T 18936-2003,高致病性禽流感诊断技术[S].

[5] 辛朝安.禽病学[M].北京:中国农业出版社,2003:40-84.

[6] 殷震,刘景华.动物病毒学[M].第二版.北京:科学出版社,1997:262-264,351-354,632.

广东 81%兽药经营企业通过 GSP 验收

3月24日,广东省农业厅在广州召开“全省兽药监管和兽药GSP工作会议”,总结2011年和“非兽药GSP经营企业清理月”工作情况。省农业厅党组成员、副厅长郑惠典,省农业厅党组成员、总畜牧兽医师蔡树淦与全省地级以上市、县(市、区)兽药GSP主管部门负责人等200多人参加会议。会议上,蔡树淦表示,截止2月底,全省4882家兽药经营企业(店)中共有3942家企业通过兽药GSP验收,通过率为81%。会上,江门、梅州、茂名、东莞相关领导作了兽药GSP工作汇报以及清查行动的交流。

据悉,从3月1日起,广东拉开“非兽药GSP经营企业清理月”行动帷幕,旨在清理大限后没有通过GSP验收的兽药经营企业。郑惠典表示,广东兽药监管工作任务艰巨,兽药使用环节遍布千家万户,涉及范围广,监管难度大。虽然如此,我省兽药GSP各项工作取得积极进展和显著成绩,管理亮点纷呈,很多工作受到农业部充分肯定。“兽药GSP工作还被南方报业传媒集团评选为2011年度服务与管理大奖。”

蔡树淦表示,2011年度兽药监管和GSP工作成绩显著,到2月底,全省共有兽药经营企业(店)4882家,比原来的7696家减少2814家,其中有3942家企业通过兽药GSP验收,通过率为81%。茂名、珠海、韶关、揭阳、潮州、阳江等市通过率位居全省前列。

据江门市畜牧兽医局副局长许均喜介绍,到3月12日,全市通过兽药GSP验收的企业有390家,另有34家近期递交了GSP验收申请材料。截至3月21日,江门市取消经营资格的兽药企业201家(户),已关门、找不到业主的经营户近100家。

此外,许均喜还指出了在清理过程中遇到的一些问题。比如:一、兽药产品标签说明书不规范的情况较为普遍,但工作人员一时间找不到标准以对。对此,他建议国家建立可查询的兽药产品标签、说明书数据库。二、非兽药产品名目繁多,其中不乏具有兽药治疗作用的产品;为避免清查,有部分经营者转而经营非药品和水产养殖投入品,监管难度加大。对此,许均喜建议国家制定兽药生产厂家GMP证号和生产许可证号使用规范,也可以制定兽药产品条形码管理办法,执法人员只要一扫苗条形码就可以知道相关信息,并且经营企业也免去了资料录入的繁琐工作。

同样,在GSP清查工作中,地方兽医执行部门还遇到了其他困难。梅州市畜牧兽医局副局长陈洪广介绍,梅州市兽药经营企业多数地处城乡,分散面广,隐蔽性强,造成执法监管的难度较大。“截至3月20日,全市共取缔非兽药GSP经营企业(店)110家。”

茂名市畜牧兽医局副局长余学明也表示兽药监管难度大,兽药监管经费没有保证,当地缺乏专业的兽药残留检测机构等给兽药监管工作带来一定的困难。“截至2月底,茂名市474家兽药经营企业全部实施GSP改造,全市组织督察检查18次,清查了500家兽药经营门店。”

“从4月1日至7月1日,我们将对通过兽药GSP验收合格的每一家兽药经营企业开展监督检查。”蔡树淦称,届时将对不执行兽药GSP规定、经营假劣兽药、超范围经营兽药等违法违规的GSP经营企业严肃处理。(信息来源:南方农村报)

不同法氏囊病活疫苗对新城疫免疫效果影响的评估

鲁俊鹏, 曾凡桂, 黄宁海, 刘 闯

(广东温氏食品集团有限公司 技术中心禽病室, 广东 新兴 527439)

摘要: 为了评估不同毒力鸡传染性法氏囊病(Infectious Bursal Disease, IBD)活疫苗是否会对鸡的免疫应答产生影响, 本实验选用A、B、C三种商品化IBD活疫苗免疫商品肉鸡, 以鸡新城疫(Newcastle Disease, ND)疫苗抗体的消长规律为模型, 评估3种IBD疫苗对ND抗体产生的影响。免疫后ND抗体检测结果显示, 三种疫苗对ND抗体产生的影响差异不明显。结果提示, 临床上选用IBD疫苗不必过于关注其毒力。

关键词: 法氏囊活疫苗; 毒力; 新城疫; 抗体

中图分类号: S852.4

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)02-0027-02

Influence of different IBDV live vaccine on the ND antibody titers in chickens

Lu Junpeng, Zeng Fangui, Huang Ninghai, Liu Chuang

(Poultry Disease Laboratory of Technology Center, Guangdong Wen's Food Co. Ltd., Yunfu 527439, China)

Abstract: In order to evaluate the influence of different IBD live vaccine on the immune response of chickens, three commercial IBD live vaccines named A, B and C were selected to vaccinate chickens. The ND antibody titer was detected. The results showed that there was no obvious difference in the ND antibody titers in the chickens after vaccination with different IBD vaccines. This suggested that it was not necessary to pay too much attention to the virulence of the IBD live vaccines.

Keywords: IBD live vaccine; Virulence; ND; Antibody titer

鸡传染性法氏囊病(IBD)是由鸡传染性法氏囊病毒(IBDV)引起的鸡和火鸡的一种高度接触性传染病。该病主要侵害3~12周龄的雏鸡与青年鸡,破坏法氏囊中的B淋巴细胞,导致不同程度的免疫抑制,从而增加感染鸡对其他病毒或细菌的易感性。目前市售的IBD活疫苗较多,毒力也不尽相同。养殖场在选用该类疫苗时尽管了解其毒力差异,但对其对其他疫苗免疫的影响就不得而知。当某些其他疫苗免疫后抗体水平较低时,就会怀疑是否为IBD疫苗毒力太强所致。

本试验选用A、B、C 3种市售商品化IBD活疫苗,其中A、B疫苗为中等偏强毒力,C为中等毒力,三种疫苗毒力的差异为B>A>C。以鸡新城疫(ND)疫苗抗体的消长规律为模型,评估3种IBD疫苗对ND抗体产生的影响,为生产单位选用IBD

疫苗提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

A、B、C为市售的商品化IBD活疫苗;1天龄三黄商品肉鸡由广东温氏集团孵化场提供;ND抗体检测所用抗原为广东大华农动物保健品股份有限公司生产。

1.2 鸡群免疫及采血

商品肉鸡分成3个试验组和1个对照组,每组30只,于隔离器中饲养。5d时,新支二联苗进行1.5羽份免疫。10d时,试验组分别用3种IBD疫苗经口免疫,每只鸡各1羽份,对照组不进行IBD疫苗免疫;各组同时进行新支二联苗2羽份免疫,ND灭活苗0.1mL免疫。20d时,各组每只鸡接种ND I系活苗2羽份免疫,ND灭活苗0.1

mL 免疫。各组采血天龄为 10 d、17 d、22 d、31 d、41 d、45 d, 每组 16 只。具体方案见表 1。

表 1 疫苗接种与采血方案

免疫天龄	疫苗名称	接种剂量	免疫方式	采血天龄
5d	新支二联苗	1.5 羽份	点眼	
	ND 灭活苗	0.1mL	颈部皮下注射	
10d	新支二联苗	2 羽份	点眼	10d、17d、 22d、31d、 41d、45d
	IBD 活苗	1 羽份	滴口	
20d	ND I 系活苗	2 头份	肌注	
	ND 灭活苗	0.1mL	颈部皮下注射	

1.3 ND 抗体检测

至 45 d 采血结束后, 对所有血样进行 ND HI 抗体检测^[1], 用 Excel 软件进行分析, 比较各组差异性, 对不同 IBD 疫苗对 ND 免疫效果的影响进行比较。

2 结果和分析

2.1 不同免疫组、不同天龄 ND HI 水平

不同 IBD 疫苗免疫后, 分别于 10 d、17 d、22 d、31 d、41 d、45 d 采血检测 ND HI 抗体, 结果如表 2。

表 2 不同免疫组、不同天龄 ND HI 水平

组别	10d	17d	22d	31d	41d	45d
对照组	4.44	3.88	6.60	9.00	7.94	8.31
A 组	5.00	4.38	6.13	8.06	9.06	8.69
B 组	4.25	3.44	5.88	7.56	9.06	8.60
C 组	4.69	4.13	5.88	8.06	8.75	8.88

2.2 各组各天龄抗体水平变化规律

不同 IBD 疫苗免疫组鸡只各时间点的 ND 抗体消长规律见图 1。由图可见, 和对照组相比, 3 种 IBD 疫苗免疫组对抗体产生速度存在一定影响, 但不会影响抗体所能达到的最高水平; 3 种疫苗在影响 ND 抗体产生方面差异不大。

3 小结与讨论

法氏囊是鸡的中枢免疫器官, 是 B 细胞发育成熟的场所, 对鸡的免疫有重要意义, IBDV 以法氏囊为靶器官, 破坏鸡只免疫系统, 造成免疫抑

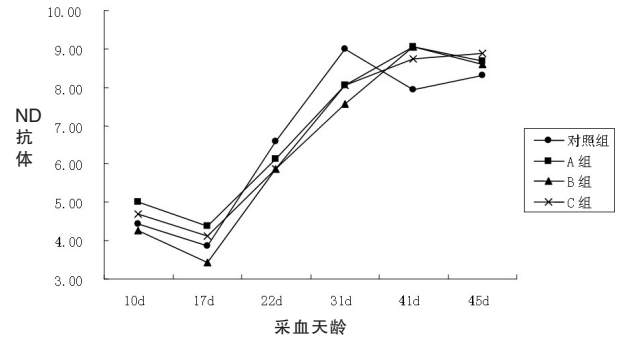


图 1 各组各天龄抗体水平变化情况

制。临床上应用毒力较强的 IBDV 毒株疫苗时, 往往会影响 H₉ 亚型 AI 灭活苗、新城疫灭活苗等疫苗的免疫应答^[2,3]。

本实验 3 种 IBD 疫苗免疫 10 日龄商品肉鸡后, A、B、C 三组试验鸡 ND 抗体均呈快速上升趋势, 但是上升速度方面与对照组相比稍微慢些, 而在所能达到的最高抗体滴度方面则和对照组差异不明显。三种疫苗对 ND 抗体产生的影响差异不明显。可见肉鸡免疫不同毒力的 IBD 疫苗对免疫系统的影响并不像在 SPF 鸡上那么明显。所以临床上选用 IBD 活疫苗时, 不必过于关注其为中等毒力还是中等偏强毒力。在 IBD 的高发季节、高发区域可以放心选用中等偏强毒力疫苗进行免疫, 而在疾病防控压力不大的地方则可以选用中等毒力疫苗。

本试验没有对 3 种 IBD 疫苗的免疫抗体水平进行检测, 但笔者在另一 SPF 鸡的 IBD 免疫试验中检测其抗体变化情况, 结果是 3 种疫苗免疫后 IBD 抗体产生良好, 差异不明显, 但中等毒力疫苗的抗体上升速度会稍微慢一些。

参考文献:

- [1] 世界动物卫生组织. 哺乳动物、禽类和蜜蜂 A 类和 B 类疾病诊断试验和疫苗标准手册[M]. 农业部畜牧兽医局译. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2002: 136-139.
- [2] 吴旭锦, 朱小甫, 尤永君. 不同法氏囊病活疫苗对鸡法氏囊发育的影响和对新城疫免疫效果影响的评价[J]. 西北农业学报, 2009, 18(6): 43-46.
- [3] 杨恒东, 刘学贤, 高崧. 鸡传染性法氏囊病中等毒力活疫苗对 H₉ 亚型禽流感灭活疫苗体液免疫应答影响的研究[J]. 中国畜牧兽医, 2009, 36(9): 144-146.

三个厂家猪瘟活疫苗免疫效果比较试验

孙彦伟, 查云峰, 田云, 任裕其, 万美梅, 王福广, 薛念波, 焦颖
(广东省动物防疫监督总所, 广东 广州 510230)

摘要: 在同一条件下对3个厂家生产的猪瘟细胞源活疫苗进行了免疫效果评价试验, 并与猪瘟传代细胞苗免疫效果进行比较。结果发现3个厂家生产的猪瘟细胞源活疫苗存在一定差异, 2个厂家的免疫效果较好, 1个厂家的免疫效果较差。猪瘟传代细胞苗免疫效果优于猪瘟细胞源活疫苗, 猪瘟传代细胞苗免疫1次, 抗体合格率高, 持续时间长, 猪瘟细胞源活疫苗要免疫两次才能获得比较好的效果。同时, 我们发现高致病性猪蓝耳病活疫苗(JXA1-R株)对猪瘟抗体产生有一定影响。

关键词: 猪瘟疫苗; 免疫; 抗体; 比较

中图分类号: S852.4

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)02-0029-04

Comparison of vaccination results of different live vaccines against classical swine fever from three biopharmaceuticals

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

Abstract: In order to investigate the vaccination results of different live vaccines against classical swine fever (CSF) produced by different veterinary biopharmaceuticals, 3 vaccines manufactured using bull testicular (BT) culture and one vaccine produced using swine testicular (ST) culture were used for the experiments in selected swine farms. Our results showed that the vaccination results revealed by the titers and durations of specific antibody, of ST cell-originated live CSF vaccine is, as the whole, more effective than those of three BT cell-originated live CSF vaccines, in which two of those BT cell-originated CSF vaccines are superior to another one. The effective antibody titers preventing CSF virus infection were reached in pigs after only one vaccination with ST cell-originated live vaccine, however, this protective antibody levels can only be reached by twice vaccinations when the BT cell-originated vaccines were used. Furthermore, we also found that vaccinating the attenuated live highly pathogenic PRRS vaccine in pigs could potentially interfere the production of antibodies against CSF virus.

Keywords: Classical swine fever vaccine; Immunization; Antibody; Comparison

猪瘟(Classical Swine Fever, CSF)是由猪瘟病毒引起猪的一种高度致死性、接触性传染病^[1]。该病仍然是危害我国养猪业发展的一种重要疫病。疫苗免疫一直是控制猪瘟最为有效的方法。我国从1954年开始使用猪瘟兔化弱毒疫苗,该疫苗在我国猪瘟防控工作中发挥了重要的作用^[2]。

近几年,部分市、县动物防疫监督机构以及养殖户反映我省政府招标的个别厂家生产的猪瘟弱毒活疫苗免疫效果不佳,不足以保护猪群。为了解2011年政府招标的猪瘟活疫苗的免疫效果,我们于2011年4~8月在江门某猪场,在同一条件下对3个厂家生产的猪瘟细胞源活疫苗(牛睾丸原代细

胞)进行了免疫效果评价试验,并与猪瘟传代细胞苗(猪睾丸传代细胞系)免疫效果进行比较。同时在猪瘟疫苗接种前或后接种高致病性猪蓝耳病活疫苗(JXA1-R株),观察两种疫苗间的干扰情况。现将试验情况报告如下:

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 江门某猪场30日龄健康仔猪115头。

1.1.2 受试疫苗 随机抽取2011年政府招标的3个厂家生产的猪瘟细胞源活疫苗,采用双盲方式进行编号,末次编码为E、F、G;随机抽取猪瘟传

代细胞苗, 编码为 H。

1.1.3 试剂 猪瘟抗体阻断 ELISA 检测试剂盒, 由美国 IDEXX 公司生产。

1.2 方法

1.2.1 猪群分组 115 头健康仔猪, 随机分为 4 组, 打耳号, 前三组 (A、B、C) 每组 25 头; 另一组 (D) 40 头, 分为 D1、D2 组, 每组 20 头。

1.2.2 免疫程序 用 E、F、G 苗分别接种 A、B、C 组猪只, 36 天龄首免, 60 天龄进行二免, 接种剂量均为 1 头份, 耳后颈部肌肉注射。D1 组 32 天龄接种高致病性猪蓝耳病活疫苗 (JXA1-R 株), 36 天龄接种猪瘟传代细胞苗; D2 组 32 天龄接种猪瘟传代细胞苗, 36 天龄接种高致病性猪蓝耳病活疫苗 (JXA1-R 株)。D1、D2 组每组选 10 头, 60 天龄进行二免, 另外 10 头只免疫一次。两种疫苗接种剂量均为 1 头份, 耳后颈部肌肉注射。

1.2.3 采血、分离血清 免疫前采血一次, 免疫后 25d 进行第 2 次采血, 以后每隔 20d 左右采血, 直至试验结束, 共采血 7 次。每次采血 3~5 mL/

头, 分离血清。

1.2.4 抗体检测和判断标准 按照 IDEXX 公司猪瘟抗体阻断 ELISA 试剂盒的操作说明书进行检测。阻断率大于或等于 40% 判定为阳性; 阻断率小于或等于 30% 判定为阴性; 阻断率在 30%~40% 之间, 判为可疑。

2 结果

2.1 免疫后猪瘟抗体变化情况

免疫前, 不同组猪瘟母源抗体水平基本一致。4 种猪瘟活疫苗一次免疫后 25 d, 抗体合格率在 40%~75% 之间, 其中 H 苗最高, 为 75%, G 苗次之, 为 72%, E 苗为 52%, F 苗最低, 为 40%。二次免疫后 18d, 猪群抗体水平明显上升, 抗体合格率分别为: H 苗 95%, G 苗 92%, E 苗 88%, F 苗 52%。免疫后 6 次抗体平均合格率: H 苗 92.5%, G 苗 86.67%, E 苗 74.67%, F 苗 52%。猪瘟传代细胞苗免疫 1 次后抗体上升很快, 维持时间也比较长, 到 160 天龄抗体合格率为 78.95%, 免疫后 6 次抗体平均合格率为 83.33%。详细结果见表 1、图 1。

表 1 猪瘟活疫苗免疫效果试验检测结果统计

项目		30 天龄	60 天龄	80 天龄	100 天龄	120 天龄	140 天龄	160 天龄	免疫后 6 次样品 平均阳性率 (%)
		免疫前 阳性率 (%)	一免后 25 天 阳性率 (%)	二免后 18 天 阳性率 (%)	二免后 35 天 阳性率 (%)	二免后 57 天 阳性率 (%)	二免后 77 天 阳性率 (%)	二免后 97 天 阳性率 (%)	
A 组	E 苗	36 (9/25)	52 (13/25)	88 (22/25)	92 (23/25)	72 (18/25)	76 (19/25)	68 (17/25)	74.67 (112/150)
B 组	F 苗	36 (9/25)	40 (10/25)	52 (13/25)	56 (14/25)	60 (15/25)	52 (13/25)	52 (13/25)	52 (78/150)
C 组	G 苗	36 (9/25)	72 (18/25)	92 (23/25)	88 (22/25)	92 (23/25)	92 (23/25)	84 (21/25)	86.67 (130/150)
D1 组 H 苗	免疫二次		80 (8/10)	100 (10/10)	100 (10/10)	100 (10/10)	90 (9/10)	100 (10/10)	93.33 (112/120)
	免疫一次	35 (7/20)	70 (7/10)	90 (9/10)	100 (10/10)	100 (10/10)	90 (9/10)	100 (10/10)	
D2 组 H 苗	免疫二次		70 (7/10)	90 (9/10)	100 (10/10)	100 (10/10)	100 (10/10)	88.89 (8/9)	83.19% (94/113)
	免疫一次	35 (7/20)	66.67 (6/9)	77.78 (7/9)	77.78 (7/9)	77.78 (7/9)	88.9 (8/9)	55.56 (5/9)	

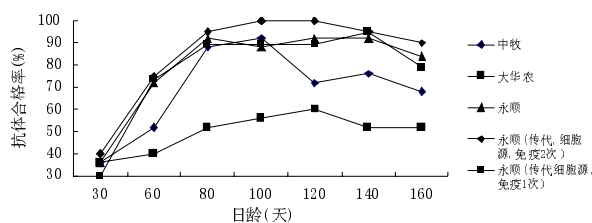


图 1 猪瘟疫苗免疫后抗体合格率变化情况

2.2 母源抗体阴性猪免疫后抗体变化情况

4 个试验组, 免疫前每组分别有阴性猪 15 头、15 头、11 头和 22 头 (不包括可疑头数)。从图 2 可以看出, 免疫后抗体水平迅速上升, 一次免疫后 24 d 猪瘟细胞源活疫苗抗体合格率在 33.33%~45.45% 之间, 彼此间差距不是很明显, 猪瘟传代细胞苗一次免疫后抗体合格率为 72.72%。二次免疫后 18 d (80 日龄), E 苗和 G 苗抗体水平迅速上

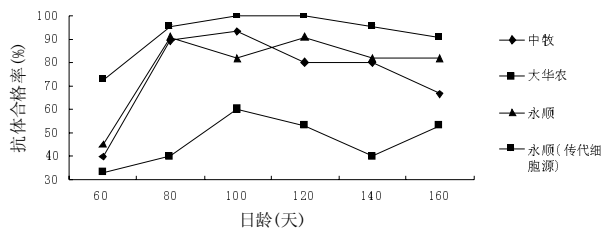


图2 猪瘟抗体阴性猪免疫后抗体合格率变化情况

升,合格率分别为 89.33%、90.91%,与 H 苗接近; F 苗免疫 2 次,整个试验过程抗体合格率均在 60% 以下。

2.3 高致病性猪蓝耳病活疫苗 (JXA1-R 株)对猪瘟疫苗免疫的影响

检测发现,先免疫高致病性猪蓝耳病 (JXA1-R 株)活疫苗,后免疫猪瘟传代细胞苗,对猪瘟抗体产生无明显影响,免疫一次和二次后,猪群猪瘟抗体合格率和持续时间差异不大,160 天龄抗体合格率均为 100%。先免疫猪瘟传代细胞苗,后免疫高致病性猪蓝耳病 (JXA1-R 株)疫苗,对猪瘟抗体的产生有一定影响,特别是猪瘟疫苗免疫一次的猪只。免疫一次和二次猪群猪瘟抗体合格率和持续时间差异较大,免疫一次,160 天龄猪只抗体合格率为 55.56%,免疫二次 160 天龄猪只抗体合格率为 88.89%。详细结果见表 1。

2.4 母源抗体对猪瘟活疫苗免疫的影响不大

免疫前 A、B、C 3 个组试验猪 75 头,母源抗体阳性 27 头,阴性 48 头。母源抗体阳性猪一免后,有 7 头转为可疑,1 头转为阴性,可疑的猪只二免后全部转为阳性,阴性猪只二免后仍为阴性。48 头母源抗体阴性猪一次免疫后 24d 有 35 头转为阳性,阳性率 72.92%,二免后 18d 有 40 头猪转为阳性,阳性率 88.89%。试验结果显示,该日龄免疫猪瘟活疫苗受母源抗体干扰不大,但仍有 8 头阴性猪一免和二免后都没有抗体产生,可能与免疫抑制因素有关。

3 讨论

3.1 猪瘟细胞源活疫苗免疫效果

据文献报道^[3],猪瘟兔化弱毒疫苗免疫接种猪可完全有效地抵抗我国流行的各种不同基因亚型猪瘟野毒株攻击,猪瘟兔化弱毒疫苗仍然是我国控制猪瘟的有效疫苗。但在生产中,由于我们用牛睾丸原代细胞生产猪瘟疫苗生产工艺不稳定,

每次制造疫苗的细胞来源于不同的牛,批间差异大,疫苗中病毒含量较低,造成免疫效果不佳^[4]。试验发现,猪瘟细胞源活疫苗免疫两次,才会取得比较好的免疫效果。3 个厂家的猪瘟细胞源活疫苗免疫试验猪,一次免疫后,抗体合格率在 33.33%~45.45%之间,差异不是很明显。二次免疫后,有 2 个厂家疫苗抗体合格率迅速上升,达到 90%,另一厂家仅为 40%。该厂家的疫苗抗体合格率后期虽有一定幅度的上升,但免疫两次后,高峰期抗体合格率仍低于 60%。跟踪调查发现,可能是由于运输期间的保温措施不确实造成病毒部分失活。试验结果表明,三个厂家试验批次的猪瘟疫苗存在一定差异。猪瘟疫苗质量好坏,保管运输环节的低温保存措施,直接影响猪瘟的免疫效果。因此,必须加强对疫苗的质量监控。

3.2 猪瘟传代细胞苗免疫效果

猪瘟传代细胞苗是采用猪睾丸传代细胞系 (ST 细胞系)生产的猪瘟疫苗。猪睾丸传代细胞系 (ST 细胞系)与猪同源,适合猪瘟病毒增殖,有效提高病毒滴度。据报道,它比牛睾丸原代细胞生产的疫苗提高了 20 多倍。猪睾丸传代细胞系 (ST 细胞系)可以建立细胞库控制细胞质量,生产工艺稳定,有效解决了疫苗中 BVDV 外源病原污染的问题。猪瘟细胞源活疫苗免疫猪后平均抗体阻断率在 45.51%~65.66%之间,猪瘟传代细胞苗免疫后阻断率在 65%左右,抗体的阻断率高,离散度较低。我们试验过程中免疫的是健康仔猪,由于目前猪场普遍存在多种免疫抑制效果因素,如免疫抑制性疾病、霉菌毒素的影响,建议在生产实际中进行两次免疫。

3.3 猪瘟疫苗与高致病性猪蓝耳病 (JXA1-R)株疫苗间的相互影响

试验发现,先接种高致病性猪蓝耳病 (JXA1-R)株活疫苗,后免疫猪瘟活疫苗,对免疫后猪瘟和猪蓝耳病抗体产生均没有明显影响。先免疫猪瘟传代细胞苗活疫苗,后免疫高致病性猪蓝耳病活疫苗 (JXA1-R 株),对猪瘟抗体的产生有一定影响,特别是免疫一次的猪只。但如果进行二次免疫,则对猪瘟抗体产生和持续时间影响不大。由于猪瘟传代细胞苗和高致病性猪蓝耳病 (JXA1-R 株)疫苗均为活苗,短期内同时感染机体,在机体内增殖过程中有竞争效应,会相互干扰,影响病毒

增殖效率和抗体产生。根据病毒特性和试验结果, 我们建议在生产实际中, 先接种高致病性猪蓝耳病活疫苗(JXA1-R 株), 后接种猪瘟疫苗, 并适当延长免疫的间隔时间至 7d 以上, 以减少这种干扰的产生。

3.4 引起猪瘟疫苗免疫失败的因素

目前不少猪场在进行免疫时, 总认为猪瘟苗效价不高, 盲目加大免疫剂量, 认为剂量越大越好^[5]。但实际情况是: 免疫剂量过小, 不能产生足够的免疫力; 免疫剂量过大则易产生免疫耐受和免疫麻痹。我们在一次调查中发现, 同是免疫同一公司的猪瘟细胞苗, 其中一个猪场一免猪瘟疫苗 5 头份, 二免多达 15 头份, 第二次免疫后 20 d 抗体阳性率仅为 13.33%。另一猪场两次免疫均为 1 头份, 但抗体合格率为 73.3%。因此, 生产中免疫效果不好并不一定是疫苗质量问题, 不排除免疫麻痹等因素引起的免疫失败。引起猪瘟疫苗免疫失败的因素还有很多, 例如猪只的健康状况, 猪场免疫抑制性疾病的存在; 疫苗运输、保存、使用不当; 疫苗稀释后,

超过 4 h 或更长时间仍然继续使用; 或免疫注射时打飞针, 导致实际注入猪体内疫苗剂量不足等。优质高效的疫苗也需要正确合理的使用方法, 因此必须加强培训, 提高猪场免疫技术水平。

(致谢: 本试验得到江门鸿利畜牧养殖有限公司猪场及广东永顺生物制药有限公司、广东大华农动物保健品股份有限公司和中牧实业股份有限公司等 3 个疫苗生产厂家的大力支持, 一并致谢!)

参考文献:

- [1] 殷震, 刘景华. 动物病毒学[M]. 第二版. 北京: 科学出版社, 1997: 652-664.
- [2] 宁宜宝, 吴文福. 我国猪瘟流行新特点与疫苗免疫研究[J]. 中国兽药杂志, 2011, 45(8): 33-37.
- [3] 张平, 孙惠玲, 孙继国. 5 种商品化猪瘟疫苗免疫猪后的抗体水平监测比较[J]. 动物医学进展, 2010, 31(10): 113-115.
- [4] 仇华吉, 童光志, 沈荣显. 猪瘟免疫弱毒疫苗—半个世纪的回顾[J]. 中国农业科学, 2005, 38(8): 1675-1685.
- [5] 王琴, 宁宜宝. 猪瘟免疫失败的主要原因分析[J]. 猪世界, 2003(7): 7-9.

“限饲不当”会给母猪养殖带来损害

为了提高怀孕母猪的胚胎着床率, 也为了通过控制怀孕母猪的体况, 来提高母猪哺乳期的采食量, 我们对怀孕母猪实行“限饲”的饲喂模式。怀孕母猪料的设计其实是一个难点, 一方面, 母猪怀孕的前期、中期和后期的营养需要有所差异, 经过哺乳期营养消耗重新怀孕的母猪的体况又各有差异, 用统一的标准来饲喂怀孕母猪显然是不恰当的。由于实践操作的限制, 一般用不同的饲喂量来应对不同营养阶段怀孕母猪的营养需要。另一方面, 饲养者对怀孕母猪实行“限饲”的饲喂模式存在认识的误区, 因“限饲不当”而带来的母猪后继繁殖性能的损害已越来越严重, 这应引起养猪经营者的注意。

怀孕母猪“限饲”的程度一般是以母体况的评分来判断。在传统的 5 分评分标准中, 3 分的体况被认为是恰当的。目前应引起养猪界关注的是对“限饲不当”的新认识, “限饲不当”不一定以体况指标来表现, 既可能是体内脂肪的沉积不足, 以“背脂的厚度”来体现, 也有可能由于营养配方和营养浓度没有顾及在“限饲”的情况下, 怀孕母猪的营养需要, 使到与繁殖性能、免疫功能的正常表达相关的营养物质的补给不足。正是由于不一定以背脂的厚度不足来表现而容易使到饲养者忽视。因而饲养者、营养学家要对母猪妊娠期由于限饲引起体内特殊营养的补给不足而带来的危害要有重新认识的需要。

母猪妊娠期体内蛋白质和特特殊营养的补给不足, 除了影响胎儿的发育之外, 目前特别要引起我们关注的是母猪免疫应答所需的营养支撑。养猪现况中, 母猪被迫承担了过重的猪群免疫责任。母猪配前、产前注射的疫苗的种类和次数越来越多。饲养者和营养学家并没有给母猪免疫应答所需的营养支撑有足够的关注。这有可能是猪群整体健康水平下降的原因之一。

另外, 怀孕期限饲的母猪, 由于饲喂量较少, 吃进的食糜长期对肠胃道的充盈不足, 一方面不利于肠道的蠕动, 容易产生母猪便秘, 另一方面, 也会影响母猪哺乳期采食量的提高, 因而在母猪怀孕期饲料配方中要特别注意纤维类饲料的补给。(信息来源: 南方农村报)

鸭瘟病毒 UL35 基因 PCR 方法的建立与初步应用

董嘉文, 孙敏华, 吕殿红, 胡奇林*

(广东省农业科学院兽医研究所, 广东省兽医公共卫生公共实验室, 广东 广州 510640)

摘要: 本研究建立了检测鸭瘟病毒(Duck plague virus, DPV)的PCR方法, 并运用建立的检测方法对分离毒株和人工感染样品进行临床应用检测。根据 GenBank (登录号为 EF643558) 中的 DPV UL35 基因保守区域, 设计合成了一对引物, 以 DPV 疫苗株为模板, 优化 PCR 反应条件, 建立了一种快速、有效的 DPV PCR 方法。结果显示: 该方法能从 DPV 中扩增到与预期大小相符, 长度为 354 bp 的特异性片段, 而对禽流感病毒(AIV)、番鸭呼肠孤病毒(MDRV)、新城疫病毒(NDV)、番鸭细小病毒(MPV)、鹅细小病毒(GPV)等样品的扩增结果均为阴性; 检测灵敏度达到 470 ng 病毒 DNA。应用该方法对 3 株 DPV 分离株和 6 份由 DPV BL8 毒株人工感染鸭的肝脏和脾脏等组织进行 PCR 检测均为阳性。表明所建立的 DPV PCR 方法特异性强、灵敏度高, 可用于 DPV 的临床诊断和流行病学调查。

关键词: 鸭瘟病毒; PCR; 检测

中图分类号: S852.659.1

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)02-0033-04

Development and application of DPV UL35 gene PCR assay

Dong Jiawen, Sun Minhua, Lv Dianhong, Hu Qilin*

(Institute of Veterinary Medicine, Guangdong Academy of Agriculture Sciences, Guangdong Open Laboratory of Veterinary Public Health, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The PCR assay for the detection of Duck plague virus (DPV) was developed and was applied to detect the isolated strains and the artificial infected samples. According to the sequences of DPV UL35 gene available in GenBank (GenBank: EF643558), a pair of primers were designed and synthesized for the detection of DPV. PCR method for the rapid detection of DPV was developed by optimizing some reaction factors. The results showed that a 354 bp specific fragment could be amplified from the DPV DNA and the sensitivity of PCR was 470 ng DPV-DNA. The negative results were detected from other viruses including AIV-H9, MDRV, NDV, MPV and GPV. The positive rate of PCR method for detecting viral pathogens in 3 field isolates and 6 samples of the liver and spleen tissues of ducklings which were artificially infected by DPV BL8 strain was 100%. The results indicated that this PCR method was sensitive and specific for detecting DPV and could be used for DPV clinical diagnosis and epidemiology investigation.

Keywords: Duck plague virus; PCR; Detection

鸭瘟(Duck plague, DP), 又名鸭病毒性肠炎(Duck viral enteritis, DVE), 是由疱疹病毒科鸭瘟病毒(Duck plague virus, DPV)引起的鸭、鹅和天鹅等水禽的一种急性、热性、接触传染性、败血性传染病, 其病变的主要特征是食道有假膜性坏死性炎症, 泄殖腔充血、水肿, 血管损伤和组织

出血等^[1-2]。目前, 鸭瘟的主要防治方法是免疫鸭瘟弱毒疫苗, 但由于某些厂家疫苗质量不稳定、免疫剂量不足等问题造成免疫失败, 以及隐性带毒的水禽和野生水禽成为病毒的传递者, 使鸭瘟在禽群中传播, 导致水禽的产蛋率下降以及死亡, 给养殖户带来了巨大的经济损失^[3]。

收稿日期: 2012-02-14

基金项目: 广东省科技计划项目(2008B020700001), 广东省兽医公共卫生公共实验室开放基金(GSKJ090201)

*: 通讯作者

由于 DPV 与其它许多病原引起的疾病有相似的临床特征,特别是继发感染或与其他细菌、病毒混合感染时,更增加了临床诊断的难度。目前,鸭瘟的实验室诊断方法主要采用病毒分离和鉴定、病毒中和试验、限制性内切酶分析、免疫扩散试验、PCR 反应和荧光抗体等方法。

DPV UL35 基因编码 VP26 蛋白,参与组成病毒的核衣壳,同时其基因产物又作为重要的功能蛋白,该蛋白在疱疹病毒的感染中起着非常重要的作用^[4-5]。本研究利用 DPV 中高度保守的 UL35 基因,设计了一对 DPV 特异性引物,建立 PCR 方法,为 DPV 的临床检测提供了一种快速、高效的诊断方法。

1 材料与方法

1.1 试剂

反转录酶 M-MLV 购自 Invitrogen 公司, dNTPs、TakaRa EXTaq DNA 聚合酶、MiniBEST Viral RNA/DNA 抽提试剂盒、DL2000 DNA Marker 均购自宝生物工程(大连)有限公司,胶回收试剂盒、质粒小提纯化试剂盒、感受态细胞大肠杆菌(*Escherichia coli*) DH5 α 购自 Tiangen 公司。

1.2 毒株

鸭瘟病毒(DPV)疫苗株、DPV BL8 株、H₉ 亚型禽流感病毒(H₉-AIV)、新城疫病毒(NDV)、番鸭呼肠孤病毒(MDRV)、番鸭细小病毒(MDPV)和鹅细小病毒(GPV)等毒株均由广东省农业科学院兽医研究所禽病研究室保存。

1.3 实验方法

1.3.1 引物设计 根据 GenBank (登录号为 EF643558) 中的 DPV UL35 基因保守区域^[9],设计了一对引物,预期扩增片段为 354 bp。引物由上海英潍捷基生物有限公司合成。

上游引物:5'-ATGTCTAATTCTGGAGGTTTC-3'

下游引物:5'-TTATCGCTGATCGTCTG-3'

1.3.2 病毒的核酸提取 根据宝生物工程(大连)有限公司 MiniBEST Viral RNA/DNA 抽提试剂盒说明对鸭瘟病毒疫苗株的鸭胚尿囊液、DPV BL8 株 DEF 细胞液等进行 RNA/DNA 抽提。cDNA 的反转录按照 Invitrogen 公司的 M-MLV 说明进行。

1.3.3 PCR 方法的建立 25 μ L PCR 反应体系: 10 \times ExTaq buffer 2.5 μ L, dNTPs (2.5 mM) 2.0 μ L, P1 (10 pmol/ μ L) 1.0 μ L, P2 (10 pmol/ μ L) 1.0 μ L, ExTaqDNA 聚合酶 (5 U/ μ L) 0.125 μ L,

DNA 2 μ L, 加双蒸水至 25 μ L。

94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 然后再开始以下循环: 94 $^{\circ}$ C, 30 s; 50 $^{\circ}$ C, 40 s; 72 $^{\circ}$ C, 30s; 循环 35 次。最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。反应结束后,取 5 μ L PCR 产物用 1%的琼脂糖凝胶(含 0.5 μ g/mL EB) 进行电泳检测。

1.3.4 PCR 方法退火温度的优化 在其他反应条件不变的情况下,PCR 扩增的退火温度分别应用 47 $^{\circ}$ C、48 $^{\circ}$ C、49 $^{\circ}$ C、50 $^{\circ}$ C、51 $^{\circ}$ C、52 $^{\circ}$ C、53 $^{\circ}$ C 进行优化。

1.3.5 PCR 方法的特异性 利用建立的 PCR 方法扩增 H₉-AIV、MDRV、NDV、MPV 和 GPV, 以检测该方法的特异性。

1.3.6 PCR 方法的灵敏性 将抽提的 DPV DNA 用紫外分光光度计进行 DNA 浓度测定。然后将 DPV DNA 按 10 倍比稀释至 10⁻⁶, 用 PCR 方法进行灵敏度检测。

1.3.7 重复性测定 用引物对 H₉-AIV、MDRV、NDV、MPV 和 GPV 病毒尿囊液所抽提的核酸分别进行 3 次 PCR 扩增。

1.3.8 DPV PCR 方法的临床应用 将人工感染 DPV BL8 毒株的病鸭心脏、肝脏和脾脏等病料研磨(与 PBS 1:5)后,冻融 3 次,8 000 r/min 离心 10 min, 取上清 -20 $^{\circ}$ C 备用。用已建立的 DPV PCR 检测方法对 3 株 DPV 分离毒和 7 份人工感染鸭肝脾组织匀浆进行检测。

2 结果与分析

2.1 PCR 扩增产物

将 DPV 疫苗株的扩增产物于 1%琼脂糖凝胶上电泳,结果获得了 354 bp 的片段,与预期大小相符(图 1)。

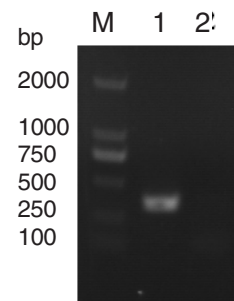


图 1 DPV 疫苗株 UL35 基因 PCR 扩增

M:DNA Marker DL2000;1:DPV 疫苗株 UL35 基因 PCR 产物;2:阴性对照

2.2 PCR 方法退火温度的优化

经过不同退火温度的扩增,如图 2 所示,DPV PCR 在 47~53℃之间的扩增条带都非常明显和特异,在考虑特异性和灵敏度的情况下选择 50℃为其最佳退火温度。

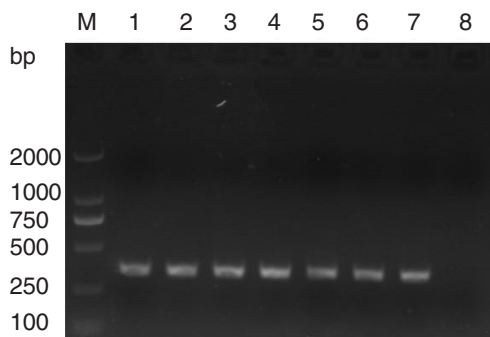


图 2 退火温度的优化

M:DL2000 DNA Marker;1-7:分别为 47℃、48℃、49℃、50℃、51℃、52℃、53℃;8:阴性对照

2.3 PCR 方法的特异性检测

DPV DNA 在进行 PCR 反应后出现了特异性的电泳带,与预期结果相符;而对 H₉-AIV、MDRV、NDV、MPV 和 GPV 的核酸进行检测,相应的泳道没有特异性的电泳条带出现。上述结果表明,本研究所建立的 PCR 方法能够特异地扩增 DPV,而对其他常见的禽类病毒均无扩增作用(图 3)。

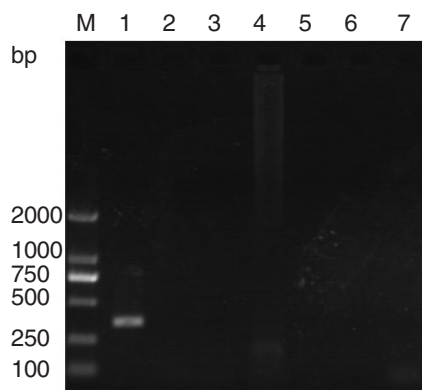


图 3 DPV UL35 基因的特异性检测

M:DL2000 DNA Marker;1-6:分别为 DPV BL8 株、AIV、MDRV、NDV、MPV、GPV;7:阴性对照

2.4 PCR 方法的灵敏性检测

用紫外分光光度计对 DPV DNA 进行 DNA 浓度测定,其 DNA 浓度为 23.51 μg/mL。将提取的 DPV DNA 按 10 倍倍比稀释至 10⁻⁶,每个稀释度取 2 μL

进行 PCR 扩增,发现该方法的检测灵敏度为 10⁻⁵,即 DPV PCR 方法能检出 470 ng 的 DPV DNA(图 4)。

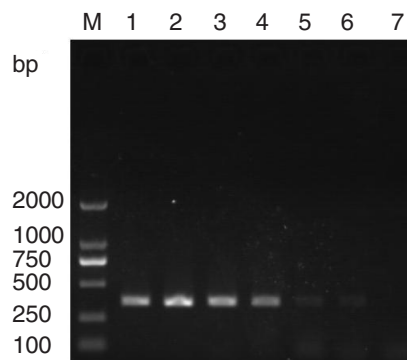


图 4 DPV DNA 灵敏度检测

M:DL2000 DNA Marker;1-7:分别为 10⁰、10⁻¹、10⁻²、10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶

2.5 PCR 的重复性检测

用 DPV UL35 基因的引物对 H₉-AIV、MDRV、NDV、MPV 和 GPV 病毒尿囊液所抽提的核酸分别进行 3 次 PCR 扩增,结果均一致。表明该 PCR 方法具有良好的重复性。

2.6 DPV PCR 方法的临床应用

应用该方法检测 3 株 DPV 分离株和 6 份 DPV BL8 毒株人工感染鸭脏器组织匀浆,结果均为阳性(图 5)。表明该方法可用于鉴定鸭瘟病毒以及对临床发病鸭的快速诊断。

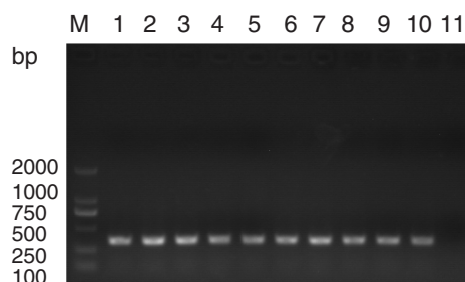


图 5 DPV 分离株和感染鸭脏器的 PCR 检测

M:DL2000 DNA Marker;1:DPV 疫苗株;2-4:DPV 分离株;5-10:感染鸭脏器样品;11:阴性对照

3 讨论

DPV UL35 基因为 354 bp,编码 117 个氨基酸。对疱疹病毒 α 亚科成员 HSV UL35 的研究表明:UL35 基因编码一个小核衣壳蛋白 VP26,它能够与核衣壳表面的病毒 DNA 相互作用,但是对病毒衣壳的形成或者病毒在细胞培养中的复制繁殖不是必需的,而对病毒在神经系统中的复制产

量是必需的,其缺失会导致感染病毒在三叉神经节的产量减少 100 倍^[6-9]。另外,突变的 VP26 蛋白除了会导致病毒的复制效率降低之外,还会减少病毒突变体衣壳在细胞核内的聚集^[10]。所以,该蛋白在 DPV 等疱疹病毒的感染中起着十分重要的作用。

因此,本研究根据 DPV UL35 基因保守区域设计了 1 对特异性引物,建立了针对鸭瘟病毒 DPV UL35 基因的快速 PCR 检测方法,能够从接种病毒的 DEF 培养物、鸭胚尿囊液和病死鸭脏器中扩增出目的片段,而在相同条件下 H₉-AIV、MDRV、NDV、MPV 和 GPV 均为阴性;经灵敏度的检测表明,该方法最低可检出 470 ng 的病毒 DNA。这表明本研究所建立的 DPV PCR 检测方法特异性强、敏感性高,具有较高的临床应用价值,可用于鉴定 DPV 分离株和临床快速诊断以及流行病学调查。

参考文献:

- [1] 殷震,刘景华.动物病毒学[M].第2版.北京:科学出版社,1997:456,990,1073-1079.
- [2] Shawky S, Sandhu T, Shivaprasad H L. Pathogenicity of a low-virulence duck virus enteritis isolate with apparent immunosuppressive ability[J]. Avian Dis, 2000, 44(3):590-599.
- [3] Huixin Li, Shengwang Liu, Xianggang Kong. Characterization of the genes encoding UL24, TK and gH proteins from duck enteritis virus (DEV): a proof for the classification of DEV[J]. Virus Genes, 2006, 33:221-227.
- [4] Newcomb W W, Homa F L, Thomsen D R, et al. Assembly of the herpes simplex virus procapsid from purified components and identification of small complexes containing the major capsid and scaffolding proteins[J]. J Virol, 1999, 73(5):4239-4250.
- [5] 蔡铭升,程安春,汪铭书.鸭瘟病毒 UL35 基因克隆、原核表达及在病毒感染宿主中的亚细胞定位[J].病毒学报,2010,26(2):143-149.
- [6] Mcnabb D S, Courtney R J. Identification and characterization of the herpes simplex virus type 1 virion protein encoded by the UL35 open reading frame[J]. J Virol, 1992, 66(5):2653-2663.
- [7] Desai P, Deluca N A, Person S. Herpes simplex virus type 1 VP26 is not essential for replication in cell culture but influences production of infectious virus in the nervous system of infected mice[J]. J Virol, 1998, 247(1):115-124.
- [8] Antinone S E, Shubeita G T, Collier K E, et al. The herpesvirus capsid surface protein, VP26, and the majority of the tegument proteins are dispensable for capsid transport toward the nucleus[J]. J Virol, 2006, 80(11):5494-5498.
- [9] 蔡铭升,程安春,汪铭书.鸭瘟病毒 VP26 基因克隆和分子特性分析[J].畜牧兽医学报,2009,40(7):1112-1119.
- [10] Lei Wang, Longding Liu, Yanchun Che, et al. Egress of HSV-1 capsid requires the interaction of VP26 and a cellular tetraspanin membrane protein[J]. J Virol, 2010, 156(7):1-12.

养殖场如何科学储存兽药

1. 由于药品的性质不同,应选用不同的瓶塞,如氯仿、松节油,宜用磨口玻璃塞,禁用橡皮塞,氢氧化钠则相反。另外,用纸盒、纸袋、塑料袋包装的药品,要注意防止鼠咬及虫蛀。
2. 易燃、易爆、有腐蚀性和有毒药品,应单独置于低温处或专库内加锁储放,并注意不得与内服药品混合储存。
3. 对于受热易挥发、易分解和易变质的药品,需在 3℃~10℃ 条件下保存。
4. 化学性质作用相反的药品应分开存放,如酸类与碱类药品。
5. 具有特殊气味的药品应密封后与一般药品隔离储存。
6. 专供外用的药品应与内服药品分开储存。杀虫、灭鼠药有毒,应单独存放。
7. 有效期药品应分期、分批储存,并专设卡片,近期先用,以防过期失效。
8. 名称容易混淆的药品要注意分别储存,以免发生差错。
9. 在空气中易变质的兽药,如遇光易分解、易吸潮、易风化的药品应装在密封的容器中,于遮光、阴凉处保存。(信息来源:三农在线)

维康对肥育猪的饲喂试验

任撑住¹, 莫道来², 陈木其¹, 李剑锋³

(1. 广州绿洲生物技术有限公司, 广东 广州 510445; 2. 阳江市动物防疫监督所, 广东 阳江 529500; 3. 广东阳江市海陵建丰农牧场, 广东 阳江 529505)

摘要: 本研究旨在观察比较不同饲料添加剂对肥育猪生产性能的影响。选用体重 20 kg 左右的杜长大三元杂交(杜洛克×长白×大约克)瘦肉型商品猪 100 头, 随机分为 5 组, 每组设 2 个重复, 每个重复 10 头。每组使用相同基础日粮, 分别使用四种不同饲料药物添加剂进行了饲喂试验, 即在基础饲料中添加 A 组喹烯酮 25% 预混料 300 mg/kg、B 组维康 200 mg/kg、C 组维康 300 mg/kg、D 组北里霉素 10% 预混料 300 mg/kg 的添加剂, 空白对照组不添加任何添加剂。饲养时间为 83 d。本试验饲养效果观察结果表明: 全期日增重试验 A、D 组和空白对照组差异不显著 ($p > 0.05$), B、C 组和空白对照组差异显著 ($p < 0.05$), B 组维康按照 200 mg/kg 添加日增重最高, 饲料报酬最高, 经济效益最好。

关键词: 维康; 肥育猪; 饲喂试验

中图分类号: S831.5

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)02-0037-03

Feeding experiments of Weik on finishing pigs

Ren Chengzhu¹, Mo Daolai², Chen Muqi¹, Li Jianfeng³

(1. Guangzhou Green Biotechnical Co., Ltd, Guangzhou 510445, China; 2. Yangjiang Animal Health Supervision Institute, Yangjiang 529500, China; 3. Jianfeng Farm of Yangjiang Hailing, Yangjiang 529505, China)

Abstract: This experiment was conducted to study the effect of feed additive on growth performance in finishing pigs. 100 crossed-bred (Duroc× Landrace× Yorkshire) pigs weighing an average of 20kg were randomly assigned to five dietary treatments with two replicates and ten pigs in each replicate. All the pigs in the groups were received the same basal diet and the basal diet were supplemented with 300mg/kg premix(25% quinocetone) in group A, 200mg/kg Weik in group B, 300mg/kg Weik in group C, 200mg/kg premix(10% kitasamycin) in group D or nothing in the control group. The feeding trial lasted for 83 days. The results showed that there was no significant difference in group A, D with the control group on daily gain (ADG) ($p > 0.05$) and there was significant difference in group B, C with the control group on daily gain (ADG) ($p < 0.05$) in the whole period. The effects on daily gain (ADG), feed efficiency and economic benefits in group B (200 mg/kg Weik) were the best.

Keywords: Weik; Finishing pigs; Feeding experiment

抗菌素作为饲料药物添加剂^[1], 给畜牧业的发展带来了巨大的经济效益。但是长期使用易产生耐药性和药物残留。虽然目前市场上微生物制剂、多糖、寡糖、抗菌肽等添加剂也在使用, 但促生长作用都不如传统的抗菌素, 从经济角度来说完全应用这些新产品也是不现实的。抗菌素的滥用已经引起人们的关注, 而改善肠道的益生菌等制剂的使用并没有降低饲料成本, 并且效果评价一般。因此寻找新型的促生长添加剂势在必行。

我国中药资源丰富, 中药作为绿色产业已经成为养殖业广泛关注的焦点。中药及个别中药提取物作为饲料添加剂已经在畜牧业养殖中广泛使用, 例如杜仲叶提取物(有效成分为绿原酸、杜仲多糖、杜仲黄酮)^[2], 还有蒲公英、陈皮、山楂、甘草复合提取物(有效成分是黄酮)^[2]。单纯中药添加成本很高, 同时市场上各种中药复方的产品很多, 但是质量也良莠不齐。因此笔者尝试将下述中药提取物和西药复方做成复方制剂, 作为饲料添加

剂验证其效果,理论上中西复方,标本兼治。中药为何首乌制、刺五加、绵马贯众、麦芽、黄豆。采用的中药何首乌制,具有补肝肾,益精血,壮筋骨功能^[3];刺五加具有益气健脾,补肾安神的功能^[4];绵马贯众具有清热解毒,止血,驱虫的功能^[5];麦芽生用行气消食,健脾开胃,炒用回乳消胀的功能^[6];黄豆中的大豆黄酮为异黄酮类植物雌激素的一种,对反刍动物具有弱雌激素样生理活性。诸药合用,共奏开胃、驱虫、催肥之效^[7]。通过中药提取技术提取浓缩上述中药有效成分,并辅以增效剂,复配成中西复方产品—维康(简称维康,下同),用于猪饲料中添加观察其促生长效果。试验证明:维康具有较明显的促生长作用和较好的经济效益。现将试验结果报告如下:

1 材料和方法

1.1 试验动物与试验设计

选择体重相近、品种相同的70日龄瘦肉型外三元杂交商品猪(杜洛克×长白×大约克),共100头,随机分为5组。空白对照组用基础日粮,试验A组中按照300 mg/kg添加25%喹烯酮预混料;试验B组中按照200 mg/kg添加维康;试验C组中按照300 mg/kg添加维康;试验D组中按照300 mg/kg添加10%北里霉素预混剂。5组均饲喂至153日龄时结束试验。试验设计分组情况以及入试时的日龄平均体重如表1。本试验地点在广东阳江市海陵建丰农牧场,该规模养殖场存栏能繁母猪1200头以上,年出栏商品猪约20000头,2010年被纳入第二批广东省重点生猪养殖场名单。

1.2 试验用的饲料添加剂及其添加量

以下各试验组在试验用基础饲料中添加相应的添加剂。饲料生产过程中,各添加剂按照如下标准添加于饲料中,混合均匀使用。

喹烯酮25%预混料:北京某公司生产,从市场

上购买提供(批号:20110105),价格:60元/kg。

维康:由广州某公司生产提供(批号:110328),价格:60元/kg。

北里霉素10%预混料:由广州某公司生产提供(批号:110320),价格:60元/kg。

1.3 试验日粮与管理

试验日粮组成及营养水平见表2。试验按照常规饲养方式管理。

1.4 测定指标

包括平均日增重、成活率、饲料报酬。

2 试验方法

2.1 饲料添加剂的添加方法

先按饲料配方配制基础饲料,然后按组别分别加入添加剂(即A、B、C、D组),按倍比逐级稀释法,充分搅拌均匀,制成粉料,装袋贴上组别标签。

2.2 分组方法

选取断奶后进入保育舍饲养至70日龄的育成小猪进行试验。考虑到小猪日龄、体况差异,可能会影响试验结果,分组时进行了适当调配。

测定指标:生长指标;试验开始时(70日龄)以每个重复为单位空腹称重,进入试验后分别在70、98、153日龄以每个重复为单位空腹称重,记录每阶段的采食量,计算平均个体体重、平均日增重和饲料报酬(耗料与增重之比)。

2.3 饲喂方法

干喂法,自由采食,自动饮水器供饮水。

3 试验期

2011年4月3日正式开始试验,6月25日试验结束。试验期共83d。

4 试验的基本条件

5个试验组全在同一栋猪舍饲养。每个猪栏12m²饲养10头。各组猪栏的环境条件和饲养条件基本相同。进入试验前10天,已对试验猪按场方的免疫程序进行了猪瘟、链球菌、猪肺疫、口蹄

表1 试验分组情况

组别	头数	入试日龄	入试平均体重(kg)	日粮组合	药物添加量	免疫情况
A组	20头	70	19.75±0.92	基础日粮+25%喹烯酮预混剂	300 g/T	按常规
B组	20头	70	18.50±0.77	基础日粮+维康	200 g/T	按常规
C组	20头	70	20.00±0.95	基础日粮+维康	300 g/T	按常规
D组	20头	70	21.00±0.73	基础日粮+10%北里霉素预混剂	300 g/T	按常规
对照组	20头	70	24.80±0.53	基础日粮	-	按常规

疫、伪狂犬病的免疫注射。

5 试验观察的主要内容

包括增重情况、饲料报酬、经济效果及适口性。

6 试验结果

6.1 增重情况 从表 3、表 4 看出, B 组头均日增重最高, 其次是 C 组。

6.2 饲料报酬 从表 5 看出, B 组头均增重与耗料之比最好。其次是 C 组。

6.3 经济效益 从表 6 看出: B 组扣除添加成本后, 头均增加收入最高, 其次是 C 组。

表 2 试验用基础日粮配方和营养水平

日粮配方	比例	营养成分	含量
玉米 (%)	57.68	消化能 (MJ/Kg)	13.38
小麦 (%)	8.50	粗蛋白 (%)	13.00
细米糠 (%)	9.71	钙 (%)	0.52
麦麸 (%)	10.12	磷 (%)	0.50
菜籽饼 (%)	11.24	赖氨酸 (%)	0.60
碳酸钙 (%)	0.67	蛋氨酸 (%)	0.19
磷酸氢钙 (%)	1.03	蛋氨酸 + 胱氨酸 (%)	0.67
赖氨酸 (%)	0.21	色氨酸 (%)	0.13
蛋氨酸 (%)	0.01		
食盐 (%)	0.30		
碳酸氢钠 (%)	0.20		
预混料 ¹⁾	0.33		

1): 预混料中含有多种维生素及微量元素等。

表 5 饲料报酬

组别	试验期头均耗料量 (kg)	头均增重与耗料之比 (%)	排次
A 组	231.5	1:3.29	4
B 组	210.5	1:2.90	1
C 组	214.5	1:3.00	2
D 组	222.5	1:3.20	3
对照组	228.5	1:3.20	3

表 6 经济效益

组别	头平均添加成本 (元) ¹⁾	头均收入 (元)	试验组比对照组头均增加收入 (元) ²⁾
A 组	4.17	1039.7	-21.17
B 组	2.53	1073.0	+13.77
C 组	2.57	1058.2	-1.07
D 组	4.00	1028.6	-32.8
对照组		1056.7	/

1): 头平均添加成本是指在试验期间使用添加剂而增加的费用, 其计算方式为: 头均添加成本 = (添加剂的购进价 × 添加剂的使用量) / 头数。

2): 头均增加收入 = 试验组头均收入 - 头均添加成本 - 对照组头均收入。

6.4 适口性

各组均未见明显不适。

7 小结与分析

7.1 本次试验初步结论: 全期日增重试验 A、D 组和空白对照组差异不显著 ($p > 0.05$), B、C 组和空

表 3 第一阶段 (70-98 日龄) 增重情况

组别	始重 (kg)	第一阶段试验天数	第一阶段末重 (kg)	第一阶段增重 (kg)	日增重 (kg)
A 组	19.75 ± 0.92	28	36.75 ± 0.58	17.00 ± 0.57	0.60 ± 0.02
B 组	18.50 ± 0.77	28	37.60 ± 0.65	19.10 ± 0.63	0.68 ± 0.03
C 组	20.00 ± 0.95	28	37.25 ± 0.57	17.25 ± 0.59	0.61 ± 0.09
D 组	21.00 ± 0.73	28	36.25 ± 0.79	15.25 ± 0.89	0.54 ± 0.20
对照组	24.80 ± 0.53	28	40.18 ± 0.89	15.30 ± 0.88	0.54 ± 0.05

表 4 全期增重情况

组别	始重 (kg)	末重 (kg)	试验期头均增重 (kg)	头日均增重 (kg)	日增重排次
A 组	19.75 ± 0.92	90.00 ± 1.02	70.25 ± 0.78	0.85 ± 0.76	3
B 组	18.50 ± 0.77	91.00 ± 0.89	70.50 ± 0.68	0.87 ± 0.69	1
C 组	20.00 ± 0.95	91.50 ± 1.20	71.50 ± 0.92	0.86 ± 0.89	2
D 组	21.00 ± 0.73	90.50 ± 0.58	69.50 ± 0.79	0.84 ± 0.76	4
对照组	24.80 ± 0.53	96.25 ± 0.90	71.30 ± 0.74	0.86 ± 0.76	2

(下转第 43 页)

H₅ 亚型禽流感病毒灭活疫苗免疫效果评价试验

卢受昇, 孔令辰, 罗晶璐, 孙彦伟, 张翰, 姚栢连, 万美梅, 薛念波
(广东省动物防疫监督总所, 广东 广州 510230)

摘要: 选取我省中标的两种类型 6 个批次的 H₅ 亚型禽流感病毒灭活疫苗, 双盲条件下, 在黄羽肉鸡中进行免疫效果对比试验。于 14、35 天龄进行两次免疫, 在 21、28、35、42、49、56、63、77、91、105 和 113 d 进行抗体检测, 结果全期平均免疫抗体水平超过 6log₂, 各批次疫苗间的免疫抗体水平略有差异。本次试验初步明确了 H₅ 亚型禽流感灭活疫苗接种后的抗体消长规律, 为疫苗选择和免疫程序的制定提供依据。

关键词: H₅ 亚型禽流感; 疫苗; 免疫评价

中图分类号: S852.65/9.5

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)02-0040-04

Comparison of immune effects on six inactivated AIV-H₅ vaccines

Lu Shousheng, Kong Lingchen, Luo Jinglu, Sun Yanwei, Zhang Han, Yao Bailian, Wan Meimei, Xue Nianbo
(Guangdong Animal Health Supervision Institute, Guangzhou 510230, China)

Abstract: Commercial chickens were vaccinated twice with each of 6 inactivated aiv-H₅ vaccines at 14 and 35-day-old. Serum samples were collected from the vaccinated chickens at the age of 21d, 28d, 35d, 42d, 49d, 56d, 63d, 77d, 91d, 105d and 113d. The hemagglutinin-inhibition(HI) antibody against avian influenza H₅ was detected. The results showed that all six vaccines had induced strong immuno-responses. The average HI titer was all above 6log₂. The difference on HI titer was very small among six vaccines. This study showed what the dynamics of antibodies against avian influenza H₅ was and it would be useful for the selection of vaccines and the formulation of vaccination schedule.

Keywords: Avian influenza H5 vaccine; Vaccination; Evaluation

高致病性禽流感(HPAI)是由 A 型流感病毒引起的禽类烈性传染病, 严重威胁着养禽业生产和公共卫生安全, 当前, 使用疫苗对家禽进行强制免疫是我国防控本病的基本策略。为了解各厂家禽流感疫苗的免疫效果, 给广东省禽流感疫苗的选择提供参考, 于 2011 年 4-7 月份, 对当年中标的四个厂家生产的 6 种禽流感疫苗, 进行免疫效果的对比试验。现将有关结果报告如下, 供读者参考。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 受试疫苗 (1)广东永顺生物制药有限公司生产的禽流感病毒灭活疫苗 (H₅N₁ 亚型, Re-5 株, 批号: 2011019), (2)肇庆大华农生物药品有限

公司生产的禽流感病毒灭活疫苗 (H₅N₁ 亚型, Re-5 株, 批号: 010410), (3)哈药集团广生生物制品有限公司生产的重组禽流感病毒灭活疫苗 (H₅N₁ 亚型, Re-5 株, 批号: 2010079), (4)乾元浩生物股份有限公司郑州生药厂生产的禽流感病毒灭活疫苗 (H₅N₁ 亚型, Re-5 株, 批号: 110101), (5)广东永顺生物制药有限公司生产的重组禽流感病毒 H₅ 亚型二价灭活疫苗 (H₅N₁ 亚型, Re-4 株 + Re-5 株, 批号: 2010088), (6)肇庆大华农生物药品有限公司生产的重组禽流感病毒 H₅ 亚型二价灭活疫苗 (H₅N₁ 亚型, Re-4 株 + Re-5 株, 批号: 011002)。

1.1.2 实验动物 在饲养管理水平较高的某鸡场的一个肉鸡群中, 选取 300 羽, 带上翅号, 随机

分成 6 组, 进行试验。

1.1.3 主要试剂 H₅ 亚型禽流感 HI 标准抗原 Re-4、Re-5 以及相应的标准阳性血清均购于国家禽流感参考实验室。

1.2 方法

1.2.1 疫苗盲样的准备 疫苗样品从广东省动物疫苗供应站随机抽取上述批次中标产品, 双盲编号后交实验人员进行免疫测试。末次编号以 A、B、C、D、E、F 表示。

1.2.2 免疫程序 每组随机选用一种疫苗进行免疫。第一次免疫在 14 天龄进行, 免疫剂量 0.4 mL/只; 第二次免疫在 35 天龄进行, 每组选编号的前 35 只进行免疫, 免疫剂量 0.5 mL/只。

1.2.3 实验方案 所有试验鸡每次采血量为 0.5~1.0 mL/只。14 天龄分组前随机抽取 20 只鸡血清, 以了解母源抗体水平; 第一次免疫后每间隔 7 d 采血一次 (35 天龄时在免疫前抽血); 77 天龄 (二免抗体高峰后) 起每 2 w 采血一次, 每次每组采 30 份 (编号靠前的 30 只), 直至 12 w。

1.2.4 检测方法 按照国标《高致病性禽流感诊断技术》(GB/T 18936-2003) 中血凝和血凝抑制试验 (HA-HI) 进行。单价疫苗免疫血清应用 Re-5 株抗原检测; 双价疫苗免疫血清分别用 Re-4、Re-5 株抗原进行检测, 取二者的平均值。

1.2.5 数据处理 结果以平均滴度几何平均值±标准差表示。单价苗间的显著性检验采用 q 检验, 双价苗间的显著性检验采用 t 检验^[1]。

2 结果与分析

2.1 母源抗体水平

对 22 份 14 日龄雏鸡 (首免时) 的血清样品进行检测, 结果母源抗体水平范围介于 (0~5) log₂, 其中有 18 份介于 (2~4) log₂, 平均抗体滴度为 (2.91±1.23) log₂。

2.2 禽流感病毒灭活疫苗免疫结果

2.2.1 单价疫苗免疫抗体水平的消长规律 本次 4 种单价疫苗的免疫效果非常理想, 全期抗体水平平均超过 6 log₂, 介于 (6.02±1.46) log₂~(6.54±1.85) log₂ 之间, 均达到了国家规定的质量标准, 各疫苗间免疫效果仅有较小的差异。总体消长情况为: 一免后 3 w (35 日龄) 达到合格标准 (4 log₂), 此时进行第二次免疫, 二免后抗体水平迅速上升, 二免后 4~5 w (63~70 日龄) 为抗体水

平高峰期, 平均达 9 log₂ 左右, 其后缓慢下降, 直到 113 天龄鸡上市时, 抗体水平仍维持在 7 log₂ 左右。详见表 1 和图 1。

表 1 各日龄鸡免疫抗体的检测结果 (log₂)

日龄	抗体滴度 (log ₂)			
	A	B	C	D
21d	0.92±1.19	0.60±0.88	0.74±0.88	0.55±0.89
28d	2.48±2.53	2.33±2.24	2.76±1.72	2.30±1.82
35d	4.60±2.69	3.98±2.30	5.00±1.59	4.74±1.96
42d	6.34±2.46	6.00±1.77	6.60±1.54	6.91±1.47
49d	8.29±1.64	8.40±1.17	8.77±0.97	8.29±1.19
56d	8.97±1.81	9.00±1.35	8.80±1.10	8.80±1.13
63d	9.57±1.17	8.78±1.29	8.86±1.25	8.55±0.87
70d	9.34±0.90	8.77±1.06	8.91±0.98	8.16±1.11
77d	8.94±1.74	9.12±1.36	8.55±1.33	8.10±1.09
91d	8.62±1.05	8.41±1.21	8.30±1.26	7.97±1.35
105d	7.59±1.10	7.36±1.31	7.62±1.68	6.93±1.34
113d	7.47±1.24	7.10±1.30	7.23±1.54	6.59±1.27
平均	6.43±1.85 ⁽¹⁾	6.16±1.63	6.37±1.47*	6.02±1.46

1): 经 q 检验, A 组与 D 组、B 组与 D 组比较, 抗体水平差异显著 ($P < 0.05$); 其他各组间差异不显著。

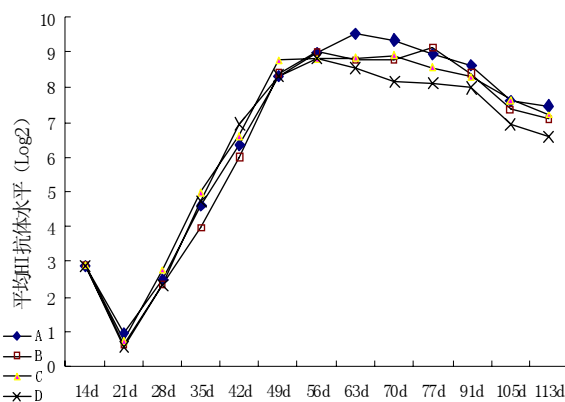


图 1 单价疫苗免疫抗体的消长曲线

2.2.2 单价疫苗免疫合格率随日龄变化情况 全期免疫合格率较高。一免后 3 w (35 日龄), 除 B 组外, 均达到 $\geq 70\%$ 的群体合格标准 (合格标准为 $\geq 4 \log_2$, 下同), 1 w 后 (42 日龄) 合格率迅速上升到 84%~98%, 至鸡只上市 (113 日龄), 免疫合格率均维持在 93.8%~100%。实验中还发现有极个别鸡存在抗体水平不上升的现象 (如 A 组的 33 号鸡, 实验全程未出现免疫反应, 抗体水平均未超过

3 log₂), 由于生产实际中存在这种免疫抑制问题, 客观上对免疫合格率造成了一定的影响, 免疫合格率能达 95% 以上, 已是较高的水平。详见图 2。

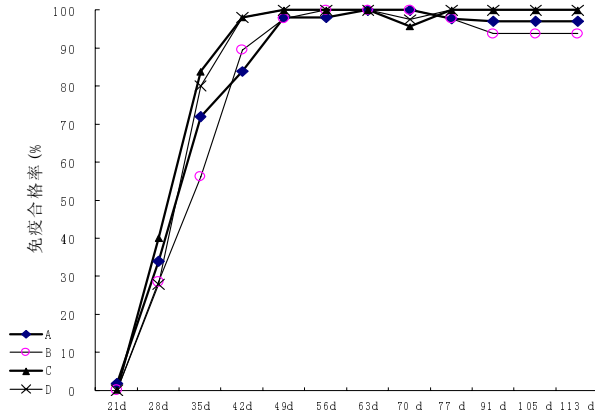


图 2 单价疫苗各日龄免疫合格率

2.2.3 二价疫苗免疫抗体水平的消长规律 本次 2 种双价疫苗的免疫效果也非常理想, E 组和 F 组全期平均抗体水平分别为 $(6.54 \pm 1.51) \log_2$ 和 $(6.44 \pm 1.75) \log_2$, 两种疫苗免疫效果仅有微小的差异。总体消长规律表现为: 一免后 3 w (35 日龄) 达到合格标准 ($4 \log_2$), 此时进行第二次免疫, 二免后抗体水平迅速上升, 二免后 4~5 w (63~70 日龄) 为抗体水平高峰期, 平均接近 $9 \log_2$, 其后缓慢下降, 到 113 天龄鸡上市时, 抗体水平仍维持在 $7.50 \log_2$ 以上。详见表 2 和图 3。

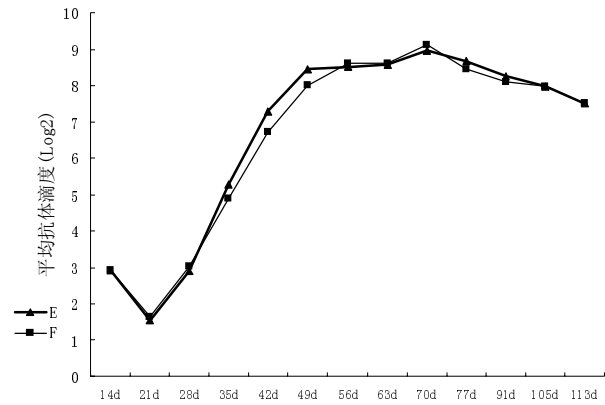


图 3 二价疫苗免疫抗体的消长曲线

2.2.4 二价疫苗免疫合格率随日龄变化情况 全期免疫合格率较高。一免后 3 w (35 日龄), E 组和 F 组平均免疫合格率分别为 79% 和 71%, 1 w 后 (42 日龄) 迅速上升到 98% 和 94.8%, 至鸡只上市 (113 日龄) 免疫合格率均维持在 96.8%~100%。详见图 4。

2.2.5 二价疫苗 Re-4 与 Re-5 组分抗体水平的比较 实验全期 Re-4 免疫抗体水平平均明显高于 Re-5。E、F 两组 Re-4 全期抗体平均水平为 $7.59 \log_2$, 较 Re-5 的 $6.28 \log_2$, 高出 $1.31 \log_2$ 。并且 Re-4 抗体产生速度较快, 一免后 2 w 平均抗体就超过 $4 \log_2$, 而 Re-5 平均抗体水平在一免后 3 w 才接近 $4 \log_2$ 。详见图 5。

表 2 二价疫苗各日龄免疫抗体的检测结果 (\log_2)

日龄	E 组抗体滴度 (\log_2)			F 组抗体滴度 (\log_2)		
	Re-5	Re-4	平均	Re-5	Re-4	平均
21d	0.62±1.01	2.4±1.29	1.51±1.15	0.70±0.95	2.56±1.11	1.63±1.03
28d	1.68±2.15	4.1±2.00	2.89±2.08	1.29±1.78	4.76±2.32	3.03±2.06
35d	4.36±2.14	6.16±2.12	5.26±2.13	3.48±2.37	6.32±2.20	4.90±2.28
42d	6.77±1.21	7.77±1.03	7.27±1.12	5.97±1.81	7.40±1.63	6.69±1.72
49d	8.11±1.08	8.74±1.08	8.43±1.08	7.46±2.00	8.49±1.66	7.97±1.83
56d	8.26±0.92	8.74±1.12	8.50±1.02	8.26±1.44	8.94±1.41	8.60±1.42
63d	8.17±0.95	9.00±1.05	8.57±1.00	8.07±1.16	9.34±1.37	8.59±1.27
70d	8.60±1.00	9.33±1.03	8.97±1.02	8.70±1.12	9.53±1.28	9.12±1.20
77d	8.34±1.18	8.97±1.18	8.66±1.18	8.09±1.33	8.82±1.45	8.45±1.39
91d	8.03±1.28	8.71±1.19	8.37±1.23	7.67±1.29	8.55±1.37	8.11±1.33
105d	7.50±1.57	8.43±1.33	7.97±1.45	7.17±1.67	8.76±1.60	7.97±1.63
113d	6.81±1.35	8.16±1.46	7.48±1.40	6.67±1.47	8.33±1.53	7.50±1.50
平均		6.54±1.51 ^{*)}			6.44±1.75	

1): 经 t 检验, E 组和 F 组抗体水平差异不显著 ($P < 0.05$)。

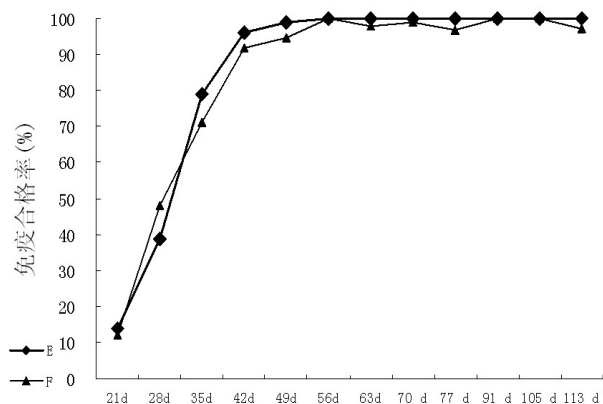


图4 二价疫苗各日龄免疫合格率

3 结论与讨论

3.1 本次6种疫苗的免疫效果非常理想,全期抗体均维持在较高水平,国家禽流感疫苗免疫效果要求。

3.2 对当前疫苗,采用2周龄进行首免,5周龄进行二免的免疫程序,从首免疫后4w起至113天龄出栏,无论是平均抗体水平,还是免疫合格率都显著高于保护标准,该程序对黄羽肉鸡的免疫具有参考价值。

3.3 本次实验因经费等条件所限,只在鸡群中进行,未对鸭、鹅等水禽进行试验,所以结果仅说明当

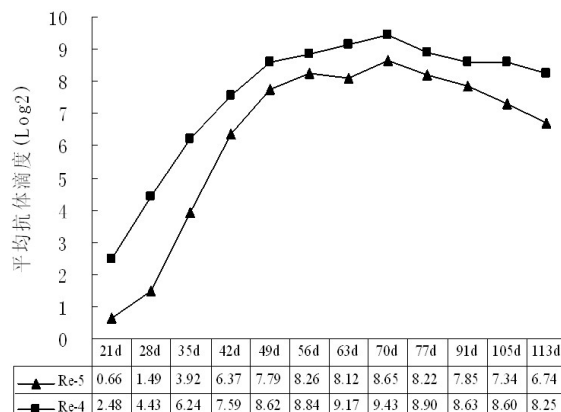


图5 二价疫苗 Re-4 和 Re-5 组分免疫抗体的比较

前疫苗对鸡的免疫效果良好。近年我所对鸭、鹅免疫抗体的监测,结果显示当前疫苗对水禽的免疫效果并不十分理想,确切免疫效果需进一步证实。

3.4 开展疫苗比对试验可促进中标疫苗质量的提高。本次实验以双盲的方式进行,即保证了比对的公平性、公正性,又促使疫苗厂家更加注重产品质量的提高。

参考文献:

[1] 贵州农学院. 生物统计附试验设计[M]. 第二版. 北京: 农业出版社, 1993:59-94.

(上接第39页)

白对照组差异显著($p < 0.05$), B组维康按照200 mg/kg添加日增重最高, B组在增重效果、饲料报酬和经济效益方面比其他各组好。

7.2 试验组与对照组比较, 头均增加收入差距大的原因: 一是因为添加成本的差异。如: A、D的添加成本都高于B、C组50%以上。二是增重的差异。如: D组的净增重较其它组少; 三是耗料差异。如A组耗料较其他组多。

参考文献:

[1] 中华人民共和国农业部公告第168号. 饲料药物添加剂使用规范[S].
[2] 中华人民共和国农业部公告第1126号. 饲料添加剂品种目

录(2008)(附录二)[S].

[3] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典(二部)2010年版[S]. 北京: 中国农业出版社, 2010:238-239.
[4] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典(二部)2010年版[S]. 北京: 中国农业出版社, 2010:278.
[5] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典(二部)2010年版[S]. 北京: 中国农业出版社, 2010:447-448.
[6] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典(二部)2010年版[S]. 北京: 中国农业出版社, 2010:212-213.
[7] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典(二部)2010年版[S]. 北京: 中国农业出版社, 2010:619-620.
[8] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典兽药使用指南(中药卷)2010年版[S]. 北京: 中国农业出版社, 2010:155-156.
[9] 李建勇, 李金善, 徐忠赞, 等. 喹烯酮在猪、鸡体内的药代动力学研究[J]. 北京. 畜牧兽医学报, 2002, 34(1):94.

犬结膜吸吮线虫病 1 例

廖新权, 刘领汉, 杨仕珍, 谢光平
(深圳布吉佰佳动物医院, 广东 深圳 518054)

中图分类号: S852.73¹

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)02-0044-03

结膜吸吮线虫是一种寄生于犬猫等动物眼结膜囊内的一种线虫,也可寄生于人眼,引起结膜吸吮线虫病(thelaziasis)。因本病多流行于亚洲地区,故又称东方眼虫病。我国南方地区由于气候暖和,该病较北方地区多发。

结膜吸吮线虫成虫主要寄生于犬、猫等动物的眼结膜囊及泪管内,以吸食泪液为生。该虫幼虫需要一次中间宿主的传递并经过2次蜕皮发育才会转变成成虫。在我国绕眼果蝇为最常见的中间宿主^[1],舐吸终末宿主眼部分泌物时会把幼虫吸入果蝇体内,经2次蜕皮发育为感染期幼虫后进入蝇的头部口器。当蝇再舐吸犬或人等其他动物眼部时,感染期幼虫自蝇口器逸出并侵入宿主眼部,经15~20天发育为成虫^[2]。成虫寿命可达2年以上。

2011年11月本院接诊一例结膜吸吮线虫感染的病例,现将治疗情况报告如下:

1 基本情况

蝴蝶犬,雄性,3岁,5.6 kg。2011年未进行常规免疫,从未做过驱虫措施。平时多以米饭、肉类为主食。2011年11月22日犬主发现该犬的右眼突然出现睁不开的情况,还偶尔用爪子抓挠眼睛。至24日眼结膜仍红肿充血,曾到附近的一家宠物店诊治,但疗效不佳,后转至本医院就诊。犬主诉说犬只一直关在家里,家里卫生条件较好,几无蚊虫,但该犬一直有在小区内大小便的情况。

2 临床检查

体温 38.6 °C、心跳 144 次/min、呼吸 48 次/min、痛疼感(+)、身体肥胖度评分(2/5)。双眼红肿,双侧结膜充血、红肿,羞明,有较多眼分泌物。右眼角膜干燥,存在严重眼睑痉挛,但眼睑边缘结

构未见异常,眼睑对光反射未见异常。在扩瞳后用眼底镜检查时,偶尔可发现角膜和第三眼睑附近有一白色线状物在一堆眼分泌物内蠕动。

3 实验室检查

在使用2%利多卡因2滴局麻后,用异物剔除笔及眼科镊取出6条线虫(见图1、图2)。

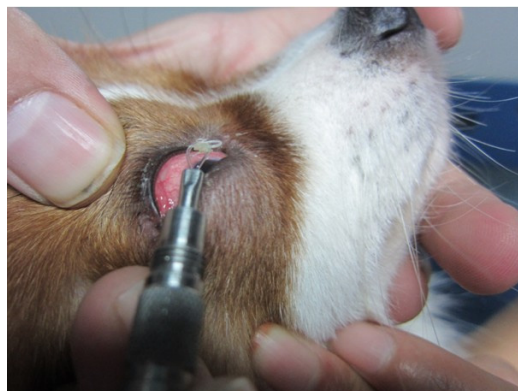


图1 局麻后剔除虫体



图2 取出的虫体

经实验室显微镜检查虫体结构并经对比^[3],证实为结膜吸吮线虫。



图 3 线虫头部 40X



图 4 线虫生殖孔 40X

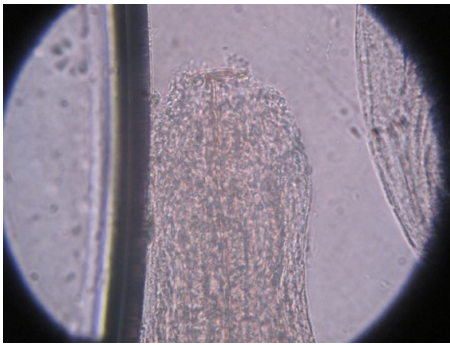


图 5 线虫头部 100X



图 6 存在于雌虫生殖孔的胎生幼虫 100X

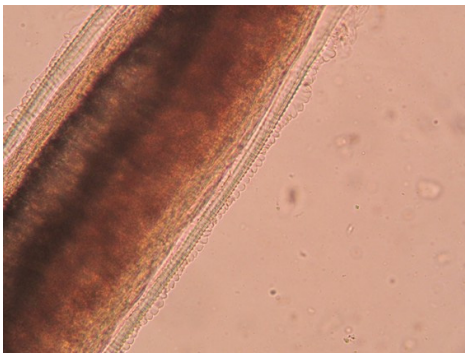


图 7 锐利的环状皱褶 40X

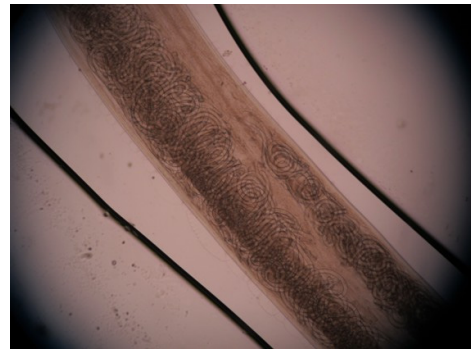


图 8 充满幼虫的雌虫 40X



图 9 自行溢出的幼虫 40X



图 10 成虫虫体

该种属线虫特点为虫体长约 7~19 mm^[4], 虫体表面具有锐利环形皱折(见图 7)、头端仅有口囊, 缺少唇部(见图 3)。雌虫体内及生殖孔开口附近会存有大量孵化成形虫体。(见图 6、8)。

4 临床症状

该虫会引起动物羞明、结膜炎、结膜红肿、角膜水肿、角膜溃疡, 严重的甚至会导致失明^[2]。

5 鉴别诊断

通常在结膜囊内发现有成虫并经显微镜检查虫体特征即可确诊。

6 治疗

在清除掉结膜内虫体后, 可使用伊维菌素 0.2 mg/kg 皮下注射^[5]或 2%左旋咪唑眼药水 / 眼膏点眼, 可起到治疗作用。本病例在剔除成虫及使用伊维菌素皮下注射后, 眼部症状消除, 恢复良好。

7 讨论

在我国南方气候温暖, 较适宜绕眼果蝇的繁

殖, 故在南方较为多发。迄今为止, 我国的病例数为世界上最多的国家^[1]。此病为人畜共患病, 值得大家重视。如发现该病的情况下, 建议饲主做好家里卫生消毒工作, 定期给宠物驱虫, 不应让小孩或老人接触患犬的眼睛, 以防止发生感染。

参考文献:

- [1] 王红岩, 王增贤, 王可灿. 人体结膜吸吮线虫病与犬类感染的关系[J]. 国际眼科杂志, 2010, 10(11):2086-2087.
- [2] Parasite and health. <http://dpd.cdc.gov/dpdx/html/Thelaziasis.htm>.
- [3] EYEWORMS (THELAZIASIS)-Life Cycle&Treatment, Morgellons, Zoonotic Disease, Parasites:Skin, Eyes Problems. <http://curezone.com/forums/fm.asp?i=1757314>.
- [4] Georgi J R, Georgi M E. Canine Clinical Parasitology [J]. Lea & Febiger, Philadelphia PA, 1992:202-205.
- [5] Merck veterinary manual. <http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/30402.htm>

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

龟泄殖道助产一例

刘汉斌, 熊惠军*

(华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

中图分类号: 865.3²

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)02-0047-02

龟属于爬行类动物, 每1 600例爬行类动物难产病例中, 龟难产的病例就占有39%。但国内接诊龟难产病例虽多, 但相关文献报道较为鲜见。由于龟解剖结构上有龟板结构, 不像小动物那样能够触诊内脏异常情况, 只能通过X线或B超等特殊检查手段, 才能确诊。在一些难产情况严重的病例中, 需要通过切开腹部龟板, 进行开腹手术, 才能取出龟卵。我们曾经接诊一例龟难产的病例, 在此介绍其麻醉、助产过程以及术后护理情况。

1 病史与临床检查

一雌性龟, 4 kg, 6岁, 长约30 cm, 宽约23 cm, 体温25℃。主诉近日该龟食欲减少, 不爱动, 排便情况正常。进一步问诊得知, 该龟1个月前曾经产卵, 而且是初次产卵。建议进行X线检查, 摄影条件为45kV, 2mAs。检查确诊腹部后段有两颗未排出的卵, 而且一颗卵已经破裂(图1)。



图1 龟腹部X线检查结果

由于考虑到卵已经破裂, 以及已经有一个月的时间, 不建议使用催产素。因为可能由于产道收缩, 破裂卵壳会刺穿泄殖道, 而且已经错过了使用催产素的最佳时间。考虑到难产的卵不多, 而且靠近泄殖口, 所以建议从泄殖口取出卵的助产方案。

2 助产

2.1 助产通路

手术部位选择在泄殖口, 用直的止血钳、刀柄、组织钳、组织镊等钝头手术器械, 经泄殖口探入, 进行取卵。

2.2 麻醉

考虑到不需要进行打开腹腔手术通路, 所以选择了局部麻醉。用0.9%生理盐水100 mL与利多卡因配制成5%的溶液。用5 mL注射针筒向泄殖腔冲洗, 作表面麻醉。冲洗时, 适当抬高泄殖口, 并每次冲洗后, 适当让麻醉药停留30 s。重复5次后, 过5 min后进行助产。

2.3 助产方法

用组织镊作为一个简易的泄殖口扩张器, 轻轻的扩张泄殖口, 注意不要弄伤泄殖道内皮。由于X线片显示破裂了的卵与未破裂的卵紧靠在一起, 相互影响取出, 所以可以用组织钳稍微把未破裂的卵向一侧拨动。但在泄殖道中打开组织钳子时, 可借助X线片大概估计打开的幅度, 防止过分打开组织钳, 刮伤泄殖道内皮。

拨开后, 用组织钳轻轻地钳着破裂的卵, 试探性拉出来。由于未破裂的卵, 不容易用组织钳夹紧, 可以通过闭合的止血钳或刀柄, 多次轻轻地敲打卵壳。待有一破裂口后, 可以用止血钳夹持洞口边缘, 把卵壳破裂处扩大。然后用组织钳或止血钳, 试探性拉出体外。

由于未破裂的卵里面可能含有液体, 所以要注意用纱布吸取流出液, 而且泄殖口尽量朝下, 方便液体流出。取出卵后, 用纱布包裹组织钳, 伸进泄殖道, 把卵的液体尽量吸走。然后用氧氟沙星冲洗泄殖道, 减少感染概率。

收稿日期: 2011-11-04

*: 通讯作者

3 护理

助产后,根据情况,给予 0.1 mL/kg 的恩诺沙星皮下注射,连续 5 d。用糖水 50 mL、维生素 C 100mg、ATP 5mg、辅酶 A 25U 多点皮下注射,1 次/d,连续 3 d。注射完药物、拔出注射针头后,用手轻微按紧龟皮肤注射针口 1 min,防止因龟皮肤松弛的原因,药液通过皮肤注射针口流出。术后第 2 d,龟开始食欲恢复,第 4 d 恢复正常。抗生素疗程结束后 1 周复诊,未见异常。

4 讨论

本病例中,可以不通过开腹手术是因为卵的位置靠近泄殖口,且数量不多。但如果卵数量较多,而且位置更深入,不适宜通过泄殖道取出。遇到该情况时,只能通过切开腹部的龟板,进行开腹取出。这

种方法对龟的伤害更大,而且愈合情况更长,危险性更高。但剖腹产相对于经泄殖口助产术来说,能够较彻底地清除泄殖道里面的卵及卵壳碎片。如果难产的卵不多,但在泄殖道里面碎裂了较多碎片,难以通过用镊子夹持和冲洗把泄殖道里面的碎片彻底清除干净,这就需要进行剖腹产手术。

在临床上,动物医院主要接诊的病例是猫和犬,许多临床兽医对龟的疾病了解并不深入,容易忽略了许多病例细节。在本病例中,龟的第一次排卵,到发现症状确诊,时间间隔达 1 个多月,这就容易使兽医忽略了产卵和龟发病的联系性。在接诊龟类的病例中,要注意询问龟的性别,以及相关排卵的时间。必要时,要进行 X 线诊断,防止误诊危害动物生命。

国外饲料防霉技术

饲料在储存、运输、销售和使用过程中,极易发生霉变,大量生长和繁殖的霉菌污染饲料,不仅消耗饲料中的营养物质,使饲料质量下降,饲料报酬降低,而且畜禽食用后会引发腹泻、肠炎从而消化能力降低、淋巴功能下降等症状,严重的可造成死亡,因此国外的饲料生产厂商和科研人员,十分重视防霉技术的研究和应用。近年来,中外采用的饲料防霉技术主要有以下几种。

一、辐射灭菌

饲料经粉碎或颗粒化加工后,都会感染一些致病菌如沙门氏菌和大肠杆菌等。美国科研人员将雏鸡饲料 10GP 射线辐照后,将其置于 30℃、相对湿度 80% 的环境中储藏一个月,霉菌没有繁殖;而未经辐射的雏鸡饲料,在同样的条件和相同时间储藏后发生霉变,辐照饲料可达到灭菌效果,可长期储藏而不变质。

二、添加防霉剂

国外使用的饲料防霉剂较多,如碘化钾、碘酸钙、丙酸钙、甲酸、海藻粉、柑桔皮乙醇提取物等。据日本科技人员研究,将多种防霉剂混合使用效果较好,他们将 92% 的海藻粉(裙带菜粉或海带粉)和 4% 碘酸钙、4% 丙酸钙混合,按 8% 的添加量添加于饲料中,将其置于 30℃、100% 相对湿度的环境下,一个月内不会生霉;而未添加防霉剂的饲料,5d 即会生霉;添加其中一种防霉剂的饲料,10~15d 会发霉,因此日本将海藻粉、碘酸钙混合后制成高效饲料防霉剂。

三、使用防霉包装袋

日本科研人员发明的饲料防霉包装袋,可保证所包装的饲料长期不发生霉变,这种饲料防霉包装袋,由聚烯烃树脂构成,其中含有 0.01%~0.50% 的香草醛或乙基香草醛。由于聚烯烃树脂膜可以使香草醛或乙基香草醛慢慢蒸发,而渗透到饲料中去,不仅能防霉,而且因有芳香味,还可使饲料适合动物的口味,袋的外层,还覆盖能防止香草醛或乙基香草醛扩散的薄膜,在聚烯烃树脂中香草醛或乙基香草醛含量至少为 0.01%,最佳为 0.50% 左右。若含量偏低,防霉性能较差;若含量过高,会影响薄膜成型。

四、化学消毒和辐射结合防霉

前苏联的科研人员认为,对饲料先进行化学消毒,然后进行辐射,不仅灭菌、防霉效果好,而且能提高饲料中维生素 D 的含量。他们将饲料粉碎到 0.2mm,再加进相当于饲料重量 1.2% 的氨水或 2.0% 的丙酸或 2.0% 的甲酸进行化学处理,并在不断翻动的条件下,用强度为 120kJ/m 的紫外线进行照射,可使饲料中微生物的生长繁殖能力降低 99.8%,长期储存不会霉变,饲料中维生素 D 的含量也提高到 180mg/kg,其效果比单独进行化学消毒或单独进行辐射灭菌都好得多。

五、控制真菌遗传密码

饲料霉变往往是受到黄曲霉毒素两种真菌素和寄生曲霉的污染,为防止黄曲霉毒素的生物合成,可用遗传学方法改变真菌,使其失去产生黄曲霉毒素的酶类。那些被改变厂的真菌,能成功地与未改变的曲霉进行竞争,以控制黄曲霉毒素对饲料的污染。(信息来源:农业科技报)

浅谈动物疫苗接种的注意事项

张志宏, 梁英华

(江门市动物疫病预防控制中心, 广东 江门 529000)

中图分类号: S852.5*2

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)02-0049-02

在动物传染病防治中,疫苗免疫是提高动物机体免疫力、预防动物疫病发生和流行的关键措施。但在疫苗接种的操作过程中,仍有不少养殖场(户)没按程序操作,导致免疫失败。笔者根据多年基层工作经验以及养殖场(户)反映的情况,认为主要是对疫苗免疫认识不够,操作不规范所致。现总结如下,供基层防疫人员和养殖场(户)技术员参考。

1 疫苗的种类和特点

凡接种动物后能产生自动免疫和预防疾病的一类生物制品均称为疫苗。目前市场上常见的疫苗有灭活疫苗、活疫苗和生物技术疫苗等。

1.1 灭活疫苗

灭活疫苗具有良好的免疫原性,优点是使用安全和易于保存,免疫效果好,对母源抗体的干扰不敏感,容易制成多价苗或多联苗;缺点是机体免疫后产生抗体慢,难以产生局部免疫力,需加入佐剂以增强免疫效果。免疫效果一般次于活疫苗,必须逐只(头)注射,接种剂量大,接种后免疫反应也较大。通常有氢氧化铝胶灭活疫苗和油佐剂灭活疫苗以及蜂胶佐剂灭活疫苗等,其中大多数细菌性灭活疫苗采用铝胶佐剂,大多数病毒性灭活疫苗采用油佐剂。灭活疫苗 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 保存,禁止冻结。

1.2 活疫苗

按微生物的培养方式可分为组织苗和细胞苗。市面上应用最多的为弱毒疫苗。动物接种活疫苗后,活疫苗能继续在动物体内生长繁殖,持续刺激机体产生抗体。因此相对灭活疫苗而言,活疫苗具有接种量小,免疫效果好,不需要添加佐剂,抗体产生快,免疫期较长以及不影响动物产品品质等优点。其缺点是稳定性较差,毒力存在突变、返强可能,疫苗储存与运输不方便。大多数活疫苗通

常在 -15°C 以下冷冻保存。

1.3 生物技术疫苗

生物技术疫苗是新型疫苗,包括基因工程疫苗、合成肽疫苗、抗独特型疫苗及核酸疫苗等。其特点是:安全性高,不存在毒力返强的问题;免疫原性好,产生的免疫力坚实,免疫期长。

生物技术疫苗还处于技术的快速成熟阶段,所以这类疫苗还未能大规模使用。

2 接种前应注意的事项

2.1 制订合理的免疫方案

动物免疫接种前要制订好合理免疫方案,包括制订免疫程序、拟用的疫苗、免疫动物数量、人员安排、免疫物品准备、免疫后可能出现问题的解决措施等。在实际生产中,免疫程序不是固定不变的,必须根据本场与当地疫病实际流行情况合理制定免疫程序。有条件的养殖场最好根据抗体水平监测结果决定免疫程序。接种时间过早,则影响免疫接种的效果,应在抗体水平较低时才接种。如果动物感染强毒,则可能造成免疫失败。

2.2 注意全面检查

免疫接种前,必须充分了解接种动物的健康状况与年龄、饲养管理水平、营养水平、环境卫生以及天气情况,确定动物是否适合接种和合适的接种时间。如动物患病或怀疑患病、瘦弱、处于怀孕后期、刚产仔、病后恢复期未滿、隔离观察期未滿,应待动物恢复健康后再进行补免。正在发病的动物群,除紧急预防接种外,不应进行常规的接种免疫。

2.3 选购合适的疫苗

疫苗质量是决定动物接种免疫成败的重要因素。每种疫苗都有特定的适用范围,因此必须根据疫病的血清型鉴定或本地区正在流行血清型来选

择疫苗,对多种血清型的疫病应选择多价苗。不能使用无生产批文或超过保质期的疫苗,应该选用信用良好厂家的疫苗以及具有良好储存、运输条件的经销商,才能确保疫苗的质量。疫苗可以提前购买,但必须要按照说明要求进行运输与储存,若无合适的储存条件,应该现买现用。

2.4 选择合适接种时间

大多数动物对热敏感。天气炎热时接种疫苗,动物容易产生应激反应。因此,当天气炎热时应尽量将接种时间安排在早上或晚上,在温度较低时进行。接种前喂饲应半饱,可以减轻接种的应激反应。

2.5 接种前后慎用药物

捕捉或疫苗接种对动物都有不同程度的刺激,可能导致动物发生应激反应。为减轻应激反应,可在接种前后3天,给动物喂饲或饮用抗应激作用药物,如维生素C、电解多维等。为防止药物抵消疫苗效力,接种活菌疫苗前4天、后5~7天不能使用抗菌药物,包括含抗生素的饲料。抗生素对细菌性灭活疫苗的免疫效果一般无影响,可以同时使用,但要分点使用。接种病毒性疫苗的前后各4天内不准使用干扰素等抗病毒药物,可灵活使用一些抗菌药物,但要分点使用。口服免疫时不能进行饮水消毒。无论用何种疫苗,接种前后一周,都不要用肾上腺皮质酮类等抑制免疫应答的药物。在任何情况下,疫苗绝不能和药物混合使用。使用药物应在兽医的指导下进行。

3 接种时应注意的事项

3.1 严格检查疫苗质量

疫苗接种前,要仔细检查疫苗瓶外部包装和内部质量,若发现瓶身破裂、瓶塞松动,或疫苗出现变色、有异物、发霉、发臭等现象,不能接种。另外还要认真阅读瓶签和使用说明,严格按照说明使用,不得随意改变。

3.2 选择合适疫苗稀释液

相同的疫苗,不同的接种方法,其使用的稀释液也不尽相同。一般情况,病毒性活疫苗接种时,应用灭菌的生理盐水或蒸馏水稀释;细菌性活疫苗一般使用铝胶生理盐水稀释;口服免疫可用冷开水或深井水稀释。不使用含有电解多维的稀释液,防止其凝聚蛋白质而影响疫苗效价。某些疫苗还需使用厂家专配的稀释液。

3.3 适当添加佐剂

采用饮水免疫法时,许多亲水型病毒疫苗如传染性法氏囊病疫苗、鸭病毒性肝炎疫苗、病毒性关节炎疫苗等都可以加入0.2%脱脂奶粉等佐剂,其作用可以阻止病毒粒子的聚合,延长病毒灭活的半衰期,促进疫苗的吸收和转化。但有些疫苗如新城疫等亲脂性病毒疫苗则不需加脱脂奶粉。

3.4 免疫剂量合理

动物产生抗体水平的高低与疫苗接种剂量有一定的相关性。接种时一定要按说明书推荐的剂量应用,不能随意增大剂量,超大免疫剂量会使动物产生免疫抑制。疫苗应严格按使用说明书的浓度稀释,如果稀释的浓度不准确,疫苗的用量就相对难把握。

3.5 注意无菌操作

免疫接种人员应剪短指甲,用消毒液洗手,穿消毒工作服、鞋。对所有接种器具采用高温等灭菌法进行消毒,消毒前要将注射器拆松,器具应待冷却后再用。不能用消毒液对器具进行消毒,因器具残留的消毒液会杀死疫苗或降低疫苗效价。注射免疫时要做到一畜换一针头;家禽一笼换一针头,最多不超过100只家禽,否则容易造成交叉感染。饮水器、喷雾器等用具,也必须清洗干净。吸取疫苗时,先用75%酒精棉球擦拭消毒瓶盖,再用注射器抽取疫苗。如果一次抽取不完,应另换一个消毒针头进行免疫接种,插在疫苗瓶上的针头可不拔出,以便继续吸取疫苗,但是要干的酒精棉球盖好。注射完后,也要用挤干的酒精棉球包住,以防受污染。

3.6 疫苗稀释后要尽快使用

疫苗要现配现用、快速使用。活疫苗稀释后必须在2小时内用完,灭活疫苗开启后必须在当天用完。另外,在使用疫苗的过程中,应避免阳光直接照射和高温环境。

3.7 接种操作方法恰当

捕捉动物时动作要轻柔,不要轰赶,尽量做到轻提轻放,打针动作要轻,注射环境保持安静,以免造成损伤、加重应激反应。

动物的免疫方法主要有饮水、皮下注射、肌肉注射、滴鼻点眼、气雾、刺种、涂肛等。每种疫苗都有最佳的接种方法,应严格按照说明使用。弱毒疫苗应尽量模仿自然感染途径接种,灭活疫苗均应皮

(下转第52页)

当前蛋价持续下跌原因分析及后期走势判断

虞 华, 陈光亚, 程 鑫

(国家统计局盐城调查队, 江苏 盐城 224005)

中图分类号: S8-1

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)02-0051-02

最近半年多来,鸡蛋价格犹如坐上过山车,每500 g鸡蛋价格从2011年的“5元时代”跌回“2元时代”。国家统计局盐城调查队连日来对盐城大型农贸市场、超市的价格调查资料显示,农贸市场鸡蛋零售价多数在6.4元/kg左右,而市区一超市正常售价为5.96元/kg,甚至有的超市促销价只有5.4元/kg,这样的低价只在3年前才出现过。市区蛋价跌破6元,2月20日全国良种鸡蛋平均出场价格在5.6元/kg上下,一般在5.2~6.2元之间。分析鸡蛋价格持续走低的原因,鸡蛋零售商及养殖户普遍认为,目前市场上鸡蛋数量供大于求是价格下降的主因,同时他们预测近期蛋价将以弱势震荡为主。

1 蛋价重返“2元时代”

据中国禽病网资料,自2月中旬以来,全国各地鸡蛋价格持续下滑,为3个月以来鸡蛋价格降幅最大的一次,有些地区的超市鸡蛋价格甚至已经降到了6元/kg以下。分地区来看,除青海与西藏外,其余省区市鸡蛋价格均下降。天津、河北、山西、吉林、河南的价格降幅尤为明显,均在20%以上。监测数据显示,近五成省区市鸡蛋价格已降至8元以下。在很多大型农贸市场,随处可见成筐成筐的鸡蛋被摆在门口最显眼的位置,市场鸡蛋售价平均较低,与春节期间的鸡蛋价格相比下降幅度明显,而这种情况在一些大型超市更为突出。鸡蛋价格下滑严重造成了鸡蛋滞销严重的现象。

盐城国调队价格调查监测资料显示:春节过后,盐城农贸市场鸡蛋价格出现明显回落,2月18日农贸市场良种鸡蛋零售价最低已卖到6.2元/kg。与1月5日相比较,农贸市场良种鸡蛋平均零售价格从8.50元/kg下降到6.50元/kg,下跌23.5%。

调查员在一处连锁超市内看到,店内销售的鸡蛋挂牌价格仅为2.98元/500g,即便如此低的价格也未出现居民排队购买现象。调查监测资料显示,2011年盐城市场上鸡蛋价格不断刷新纪录,零售价最高时超过10元/kg,个别区域高达11元/kg。按照10元/kg计算,当时花10元钱只能买1kg鸡蛋,而现在能买1.5kg多。

2 蛋价持续下跌的原因分析

2.1 养殖扎堆供过于求

目前市场上鸡蛋供大于求是蛋价持续走低的主要原因。据分析,现在鸡蛋价格大幅跳水,是市场变化的一种体现。一是节前集中消费,家庭储存量大,节后购买力下降,导致市场供过于求。二是2010年下半年开始到2011年12月,鸡蛋价格一路走高,达到历史最高点。2011年三、四季度,鸡蛋始终保持在4元以上较高价位,截至2011年12月,蛋鸡养殖户的盈利时间达19个月。这样就刺激了养殖户的增加,存栏数量多,表现为中级鸡苗价格一直呈上升趋势,个别种鸡户鸡苗供不应求,蛋鸡存栏量和产蛋量维持在较高水平,鸡蛋供应充足。

2.2 蛋价大跌养鸡赔了

对于近期鸡蛋价格大幅下跌,多年从事蛋鸡养殖的东台某养鸡场王场长并不感到意外。2011年是养鸡最赚钱的一年,10元/kg的高价让许多养鸡户赚得“盆满钵满”,2011年秋天一些养鸡户扩大养鸡数量,还有不少农户看到有赚头也加入了养殖行列,这批鸡目前刚好进入产蛋期,鸡蛋产量大幅增加,导致如今市场上鸡蛋严重过剩,所以鸡蛋价格才会大幅“跳水”。

说起鸡蛋价格“直线”回落,不少养鸡户们愁眉苦脸。王场长给算了一笔账:就饲料而言,每只

鸡每天约饲喂 125 g 饲料,按照 2.4 元 /kg 计算,饲料费用大约为 0.3 元左右,此外还有水、电、防疫及人工费等,鸡蛋成本大约在 6.8 元 /kg 左右。如果按照鸡蛋出场价 6 元 /kg 计算,就要赔 0.8 元 /kg,再说现在还卖不到 6 元。

3 蛋价后期走势判断及对策

3.1 后期走势震荡为主

据了解,春节后鸡蛋价格下降的现象往年也会出现,但没有像今年这样落差如此之大。对于今年上半年鸡蛋价格的走势,鸡蛋零售商及养殖户们普遍认为,因为鸡蛋消费量比较稳定,加之鸡蛋生产周期相对较长,所以预计鸡蛋近期价格难上涨。目前产区和销区鸡蛋走货速度都较为缓慢,蛋价上涨缺乏有力支撑。以当前蛋价,养殖户已亏损严重,蛋价进一步下降的空间有限,加之节后务工流、学生流返程,将对蛋品消费起到一定的促进作用。

用,预计近期蛋价将以弱势震荡为主。估计到了四五月份,蛋价还会高起来。因为鸡易生病,养殖户的成本会增加,去年蛋价高就跟此有关。从较长一段时间来看,夏季蛋鸡下蛋量会急剧减少,加上一些养鸡户由于“伤心”了,可能会减少苗鸡饲养量,这都会导致鸡蛋价格出现一定程度的回升。

3.2 专业合作抵御风险

由于受多种因素的共同影响,目前蛋鸡养殖散户仍然占据很大比例。由于养殖数量有限,造成养殖成本较高,病害防疫能力不强,抵御市场风险的能力差。目前急需有关部门从政策、资金、技术等方面大力扶持,使他们组成较大规模的养殖专业合作社,共同抵御养殖病害风险和市场销售的价格风险。众多农产品批发市场和大型超市也应该逐步和养殖户签订收购合同。



(上接第 50 页)

下或肌肉注射,才能取得最佳的免疫效果。

3.8 注意隔离检查

接种过程中,要注意检查动物的精神状态。遇有精神沉郁、反应迟钝、捉拿后挣扎无力者,应隔离观察。要有适当的场地或用具进行群体分隔,防止标识不清或混群后导致重复接种或遗漏接种。

4 接种后应注意的事项

4.1 正确处理废物

完成接种工作后,用过的酒精棉球、注射器和疫苗空瓶等废物应收集焚烧或深埋处理,接触过活毒疫苗的器具及未用完的活毒疫苗应进行消毒处理,以防散毒。

4.2 观察群体反应和加强饲养管理

免疫接种后,要密切注意被接种动物至少 10 min,观察动物的精神、饮食、大小便等情况,并抽查体温,对有副反应的动物应予以登记,副反应严重者应及时治疗和抢救。动物接种疫苗后,会有一段时间的应答期,在此时间内不但不会产生足够的抗体,而且有些时候机体抵抗力还有所下降。因此,动物接种后需加强饲养管理。

4.3 免疫接种反应的处理

疫苗接种反应可以分为一般反应和严重反

应。一般反应表现为减食、精神不振、卧地嗜睡、体温稍高、产奶量或产蛋量下降等,一般不需治疗,1~2 d 后可自行恢复,产蛋量下降一般不会超过 1 周。个别动物会出现严重反应,表现为呼吸加快、可视黏膜充血、水肿、发抖、肌肉震颤、口吐白沫、倒地抽搐等,此时首选用 1% 盐酸肾上腺进行皮下注射或肌注,视病情缓解程度,20 min 后可以相同剂量重复注射一次。亦可选用地塞米松、苯海拉明等抗过敏药物,也有一定的效果。对曾有过疫苗反应病史的动物,建议在注射疫苗前,先皮下注射 1% 盐酸肾上腺后再注射疫苗,可减少不良反应发生。对可视黏膜发绀及有全身瘀血症状的,可注射强心药如安钠咖等辅助治疗。使用新型疫苗前应小范围试用,无异常反应再全面使用。

4.4 做好免疫记录工作

免疫接种的整个操作过程以及动物免疫后的反应,都要详细记录,以备出现问题时能够及时追查原因,采取应对措施,同时也可以积累经验,更好地指导以后的免疫工作。

免疫应答是一个复杂生物学过程,免疫的成败还与遗传、动物的营养状况、环境卫生等因素有关。所以各个环节都应给予足够的重视,免疫动物才能产生较高的抗体水平。