

# 广东畜牧兽医科技

GUANGDONG XUMU SHOUYI KEJI

双月刊

1976年3月创刊

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 王贵平 舒鼎铭

孙彦伟 蔡建平 王政富 刘彩霞

特邀编委:

陈峰 余丽明 徐建浩 黄小建

陈小云 郑庆禄 贺湘仁 李岩

林旭堃

出版单位:《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

E-mail:gdxmsykj@163.com

印刷单位:广州市人杰彩印厂

发行单位:《广东畜牧兽医科技》编辑部

出版日期:10月18日

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》和“万方数据—数字化期刊群”。作者稿件一经本刊录用,将同时被上述三个数据库收录,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。凡被本刊发表的稿件,将一次性支付作者著作权使用报酬。

# 目 录

## · 牧业论坛 ·

- 我国动物福利立法探讨.....林利明, 吴松浩, 等(3)
- 当前生猪生产现状调查及后期走势判断.....虞丽娜, 陈光亚, 等(5)

## · 专题综述 ·

- 规模化猪场抗菌药物的正确使用.....王斌斌, 温黎俊(9)
- 玉米蛋白粉的质量及其在畜禽饲料中的应用概况.....晏家友(12)
- 环介导等温扩增技术在动物病原检测中的应用.....何玲, 罗满林, 等(14)
- PCR-DGGE 技术及其在微生物群落结构研究中的应用.....罗佳捷, 李丽立, 等(17)
- 半胱胺对动物机体的免疫调节及抗氧化作用的研究进展.....洪军, 胡建业, 等(20)

## · 畜牧技术 ·

- 惠州某猪场繁殖成绩分析.....李彦超(23)
- 桂牧一号杂交象草对奶牛生产性能影响的试验.....黄香, 文信旺, 等(27)
- 伟德山土著菌对育肥猪生产性能的影响.....王霞光, 陈丽芳, 等(29)

## · 兽医临床 ·

- 猪病毒性腹泻的防控措施.....李中兴, 毛雪红(30)
- 孔雀大肠杆菌病的防治体会.....刘东军(31)

## · 试验研究 ·

- 新型鸭肝炎病毒 FS 株全基因组序列分析.....何冉娅, 孙伟, 等(34)
- 中药双联法治疗鸡传染性喉气管炎的研究.....陈庆勋, 孙凌志, 等(39)
- 鸭病毒性肝炎精制蛋黄抗体保存期的测定.....史大庆, 陈君彦, 等(41)

## · 宠物园地 ·

- 不同缝合材料与方法在犬膀胱切开术中的应用效果.....张丽, 林玉萍(43)
- 犬的硬膜外麻醉.....刘吉贞, 熊惠军(46)

## · 经验交流 ·

- 四川会理驴的资源情况与保护利用.....李天海(49)
- 中西医结合治疗耕牛下痢.....唐亮华, 刘云飞, 等(51)

## · 信息之窗 ·

- 2009“永顺杯”优秀论文评选启事.....(42)
- 本刊征订启事.....(48)

# GUANGDONG JOURNAL OF ANIMAL AND VETERINARY SCIENCE

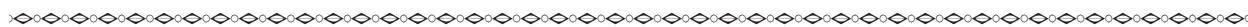
Established in march 1976(Bimonthly)

Oct.2009 Volume 34,Number 5 (Total No.147)

---

## Main Content

- Discussing on legislation of animal welfare in China* ..... Lin Liming, Wu Songhao, et al (3)
- Report on current pig production and its predicted trend in later period* .....  
.....Yu Lina, Chen Guangya, et al (5)
- Correct usage of antibiotic drugs in large scale pig farms* ..... Wang Binbin, Wen Lijun (9)
- Quality of corn gluten meal and its usage in livestock and poultry feeds* ..... Yan Jiayou (12)
- Application of loop-mediated isothermal amplification method in the detection of animal pathogens* .....  
..... He Ling, Luo Manlin, et al(14)
- PCR-DGGE method and its application on the research of microbial community profile* ..... Luo Jiajie, Li Lili, et al (17)
- Analysis on reproduction results in one pig farm of Huizhou district* .....Li Yanchao (23)
- Influence of hybrid napiergrass "Guimu 1" on production performance in dairy cow*.....  
..... Huang Xiang, Wen Xinwang, et al(27)
- Influence of "Weideshan" indigenous bacteria on production performance in finishing pigs* .....  
.....Wang Xiaguang, Chen Lifang, et al(29)
- Prevention and treatment on diarrhea of pigs caused by virus* ..... Li Zhongxing, Mao Xuehong(30)
- Prevention and treatment of Colibacillosis of peacocks* ..... Liu Dongjun(31)
- Complete genome sequence analysis of strain FS, a new serotype of duck hepatitis virus* ..... He Ranya,Sun Wei,et al (34)
- The treatment of Avian infectious laryngotracheitis using traditional Chinese herb medicine* ...Chen Qingxun,Sun Lingzhi,et al (39)
- Determination of the retention period of the fine egg yolk antibodies against duck hepatitis virus* .....  
..... Shi Daqing, Chen Junyan,et al(41)
- Application of different suture material and method in cystotomy of dogs* .....Zhang Li,Lin Yuping (43)
- The epidural anesthesia in dogs* .....Liu Jizhen, xiong Huijun(46)
- Variety of the resource of Sichuan Huili donkey and its protection and application* ..... Li Tianhai (49)



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

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

Chief Editor:JIANG Zong-yong

Vice Chief Editor;SUN Yanwei

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

Post Code: 510500

Tel:(020)37245052 37288167

Fax:(020)37245052

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

# 我国动物福利立法探讨

林利明, 吴松浩, 郭建红, 张健民, 吴悦赞  
(汕头出入境检验检疫局, 广东 汕头 515041)

中图分类号: S8-1

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2009)05-0003-02

动物福利法在西方已有一百多年的历史, 美国、欧盟、加拿大、澳大利亚等经济发达国家已为动物福利立法。西方发达国家常以自己国家的动物福利法案为法律依据, 要求进口动物产品必须满足其福利规定, 实质上形成了动物福利壁垒。随着经济和社会的进一步发展, 动物福利和动物福利立法在中国开始被提到议事日程中, 成为公众和知识界关注的话题。中国虽然在保护动物方面做出了不少的努力, 在动物卫生方面取得了巨大的成就, 但中国至今没有一部专门的、完整的动物福利保护的总括性法律, 尽快制定出适合国情的动物福利法, 提高我国的动物福利水平, 已显得十分紧迫和必要。

## 1 动物福利的基本概念

动物福利是指为了使动物能够康乐而采取的一系列行为和给动物提供相应的外部条件。现代意义的动物福利的概念最早源于英国, 按照现在国际上通认的说法, 动物福利被普遍理解为五大自由: 不受饥渴的自由; 生活舒适的自由; 不受痛苦伤害和疾病的自由; 生活无恐惧和悲伤感的自由; 表达天性的自由。

## 2 我国动物福利现状及各国立法实践

### 2.1 我国动物福利现状及立法状况

**2.1.1 我国动物福利现状** 我国动物福利状况比较差。民众对动物福利观念淡薄, 虐待动物及非人道屠宰常有发生, “生吞活剥”在我国饮食业和皮毛加工业中并非少见, 残杀动物的事件一波未平一波又起, 我们却没有相应的法律规范对这样的行为实施行之有效的制裁, 只能从道德层面进行谴责。近几年, 中国开始关注动物福利问题, 但是由于动物保护宣传教育留于表面, 动物福利观念未深入人心, 传统生产生活方式在人们的头脑

中根深蒂固, 动物福利观念难以占据一席之地, 我国比较薄弱的经济物质基础限制了动物福利的迅速改善等原因, 使我国的动物福利法的立法处于初步探索和启蒙阶段。

**2.1.2 我国动物福利立法现状** 我国现行的有关动物保护的法律寥寥可数。1988年我国颁布《实验动物管理条例》, 1989年颁布《野生动物保护法》, 此外, 我国还先后颁布了《动物防疫法》、《畜牧法》、《陆生野生动物保护实施条例》、《水生野生动物保护实施条例》等一系列法律法规。不过, 上述法律法规在动物保护方面与发达国家相比, 还存在一定的差距。如动物保护的范围过于狭隘, 法律条文原则性条款多, 可操作性不强等。

2004年修订实施的《实验动物管理条例》中, 新增加了“动物福利”的规定, 尽管内容只有短短不到200字, 但这是中国首次将“动物福利”的概念正式列入法规。该条例明确实验动物的法律地位, 提出爱护实验动物、不得虐杀实验动物、让实验动物安乐死等, 这标志着我国动物福利法制化的开始, 使解决涉及到实验动物福利问题时有法可依, 有章可循。

**2.2 世界主要国家和国际组织的动物福利立法实践** 目前, 世界上已有一百多个国家建立了完善的动物福利法律法规。还有一些国际性动物保护公约对各缔约国也有相当大的约束作用。目前国际上动物福利保护的水平在不断提高, 动物福利保护的法制化进程也在不断地加快。

英国最早的反虐待动物法律《马丁法令》于1822年通过, 它使虐待动物本身成为一种犯罪, 并在此后的增补法案及修正案中不断扩大保护动物的范围, 扩展动物的权利, 完善动物的福利, 并专门制定了一系列专项法律, 如《鸟类保护法》、

《宠物法》、《野生动植物及乡村法》、《动物园动物保护法》、《实验动物保护法》、《家畜运输法案》、《斗鸡法》、《动物麻醉保护法》、《动物遗弃法案》、《动物寄宿法案》、《兽医法》以及《动物园许可证法》等,对动物进行全面有效的保护。其他欧洲国家如德国、奥地利、比利时、荷兰等也在19世纪中期相继制定了反虐待动物的法律。美国的《动物福利法》于1966年制定,至1990年已进行了五次修订。澳大利亚、加拿大等国家也颁布了自己的动物福利法。亚洲的新加坡、菲律宾、日本、韩国以及我国的香港、台湾地区也纷纷仿效西方国家制定了各自的动物福利法。

WTO的规则中也写入了动物福利条款。2005年,世界动物卫生组织(OIE)的169个成员国全体投票一致赞同将动物福利方针补充到“国际陆地动物健康法规”中。新的指导方针给动物的陆地运输和海洋运输、人道屠宰以及疾病控制等提供了基本原则。

### 3 加快我国动物福利领域立法的必要性

**3.1 动物福利立法能更好地保障人类的健康**  
动物福利立法从表面上看是对人类权利和行为的限制,但实际上却是对人类自身发展的最终关怀。从医学角度来看,关注“动物福利”在很大程度上也是关注人类自身的健康。从维护人类健康的角度说,大量的科学试验证明,遭受痛苦和不人道方式屠宰的动物,其体内会产生毒素,危害人类的身体健康。因此,从维护人类健康的目的出发,应进行动物福利立法。同时,动物整体即物种对于生态平衡具有至关重要的作用,任何物种的灭绝都会危及人类的生存,从这个意义上说,维护物种的多样化是人类生存和发展的前提。因此,动物福利立法为动物提供适当的外部生存条件是必要的。

**3.2 动物福利立法是应对动物福利壁垒需要**  
动物福利壁垒是指一国通过设置对待动物的种种福利要求和标准,使得外国产品无法进口或进口受到严格的限制。目前,越来越多的发达国家已经开始运用动物福利条款对国际贸易施加影响,一些经不符合动物福利标准的方式饲养、运输和屠宰的牲畜产品被拒之于国门之外。我国虐杀动物的生产方法早已经遭到了海内外的强烈抗议,甚至引起了某些产品市场萎缩并导致产品停产。所以,我们必须正视这样一个现实:在动物保护和人

道主义温情的背后,动物福利的贸易壁垒作用已经显现,较大地影响我国动物及其产品的贸易。保护动物福利不仅是人与动物和谐的需要、人道的需要,也是加强食品安全的需要,更是应对国外动物福利壁垒的需要。

**3.3 动物福利立法是推进社会文明进程,提升我国的国际形象,构建和谐社会的需要**  
人如何对待动物,不仅反映了人对世界的认识,也表明了人对生命的态度。残酷地对待活着的动物,会使人道德堕落,一个民族不能阻止其成员残酷地对待动物,也将面临危及自身和文明衰落的危险。动物福利符合我国政府倡导的人与自然和谐发展的科学发展观,也是保持我国良好的国际形象和国际竞争力的需要。印度的思想家和独立运动领袖甘地说过:“从一个国家对待动物的态度,可以判断这个国家及其道德是否伟大与崇高”。因此,中国要真正成为一个伟大的国家和和谐的社会,必须提高社会的文明程度。

**3.4 动物福利立法关乎我国科技的发展**  
由于我国动物福利立法还不够完善,科学界现在已经感受到这方面的压力。比如,那些涉及动物实验的科研论文要想拿到国际刊物上发表,就必须出示由“动物伦理委员会”提供的证明,证明该研究符合动物福利的伦理准则。

在国外,动物保护者认为,人类有义务保护处于劣势的实验动物,虽然实验动物不是权利主体,人类依然有将道德原则延伸到动物身上的必要。目前,美国一些著名大学的医学院已经完全禁止使用动物做实验,因为医学教材目前已能提供人工制造的表皮、韧带、肌肉组织、血管等等,医疗实习亦可借助电脑科技来完成。即使在某些项目中取缔动物实验是不现实的,也应该致力于研究良好的替代方式来减轻或避免动物所受的折磨。

现在,中国有关科研机构开始设立动物伦理委员会,定期审查该机构的实验动物福利情况。

## 4 对我国动物福利领域立法的建议

**4.1 制定动物福利法要符合我国国情**  
我国与西方发达国家在经济发展水平、人民的觉悟程度上都有很大差异,如果照搬西方的动物福利标准,在当前社会根本行不通。

**4.2 应考虑中国传统文化的影响**  
中国有自己  
(下转第8页)

# 当前生猪生产现状调查及后期走势判断

虞丽娜<sup>1</sup>, 陈光亚<sup>2</sup>, 虞华<sup>2</sup>

(1. 江苏信息学院工商管理系, 江苏 无锡 214153; 2. 江苏省统计局盐城调查局, 江苏 盐城 224005)

**摘要:** 生猪价格的“跌跌不休”, 春节以来一直成为社会关注的焦点。由于金融危机的全球蔓延, 现在一些沿海地区外贸出口企业停工停业较多, 农民工大量返乡, 导致外调需求下降, 大量生猪只能在产地消化, 而产区的消化能力相对有限。而甲型 H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> 流感在全球蔓延使消费者对猪肉消费感到恐慌, 助推了生猪价格的下滑速度。尽管诸多专家指出食用烧熟的猪肉不会感染猪流感, 但还是有部分消费者担心疫病而减少消费猪肉及其产品, 从而在一定程度上影响了整个生猪产业。使原本低迷的猪市遭遇重创, 严重挫伤了养殖积极性, 生猪养殖形势不容乐观, 存在的问题值得关注。

**关键词:** 流感影响; 生猪生产; 调查

**中图分类号:** S8-1

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2009)05-0005-03

从2006年8月到2008年4月, 养猪业在长达21个月的高盈利期过去后, 价格开始一路下滑, 至今跌幅已超过50%。至今年6月初, 盐城市场猪后腿精肉价格一度跌至18元/kg以下, 五花肉一度跌至13元/kg, “一斤猪肉相当于一棵白菜”的形势压得养殖户们几乎喘不过气来。据了解, 猪价的持续下跌是目前我国生猪市场的普遍现象, 为防止生猪价格过度下跌, 6月13日, 商务部会同财政部、发改委启动了国产冻猪肉的收储工作。中旬以后, 受国家启动的国产冻猪肉收储工作的刺激, 猪肉价格出现了止跌反弹。最近国家统计局盐城调查队对生猪生产现状进行的调查研究结果表明: 目前生猪存栏数量仍然较多, 现在正是猪肉消费淡季, 市民对猪肉需求量减少, 再加上大中专院校放假, 集体消费也在减少, 所以猪肉价格在未来一段时间还有可能回落, 这一点要引起有关部门及生猪养殖户的注意, 因此建议, 生猪养殖户要适当减少母猪存栏量, 并控制生猪存栏量, 对于已经空栏的养殖户不要急于补栏。

## 1 近两年生猪价格波动情况及对生产的影响

近两年来, 随着国家对生猪养殖一系列补贴、优惠等政策的落实, 生猪养殖逐渐走出低迷的阴影, 养殖户信心提升, 积极性提高, 生猪和能繁母猪数量得以迅速恢复, 生猪养殖户大量涌现。从2007年下半年开始, 在近两年的时间里, 生猪的存栏量从“严重不足-供求平衡-供大于求”快

速转变。以盐城市为例, 2007年5月份开始, 生猪价格便直线上升, 特别是进入去年3月份, 生猪市场价格每50kg一度达到850元, 仔猪每头达400元左右, 养殖户获得了极大的效益。去年5月份生猪供应发生逆转, 猪价出现了拐点, 价格开始逐步回落。今年1月份, 生猪价格受“两节”、季节性因素影响有所反弹, 每50kg达650元左右, 2月份开始生猪价格持续大幅下滑, 4月初生猪出栏价已降到每50kg 420元左右, 降幅达35%。仔猪每头只有200元左右, 已经接近成本价格, 基本已经“见底”。4月下旬生猪出栏价略有回升, 每50kg在450元左右, 但由于“甲型H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>流感”影响, 刚有回升迹象的猪价再一次跌入谷底, 5月初规模养殖户出栏价每50kg只有390元, 散养户则更低, 每50kg只有350~360元。与此同时, 猪肉市场最低零售价格记录不断被刷新: 精肉价格从最高时的30元/kg跌至最低时的18元/kg, 降幅达40%; 肋条肉从最高时的20元/kg跌至最低时的13元/kg, 降幅达35%。而且, 猪肉价格还面临着“甲型H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>流感”的考验, 有些餐饮店已不让猪肉上桌, 居民家庭对猪肉的需求也在减少。6月下旬以来, 受国家启动的国产冻猪肉收储工作的刺激, 生猪价格虽出现反弹, 但反弹幅度不是很大(见图1)。

生猪收购价下跌已对生猪生产和养殖户产生了较大影响。一是对下季生猪出栏产生影响。目前规模化养殖已没有利润可赚, 而散养户已经处于

亏本的状态。特别在目前生猪价格不断下降, 利润空间逐渐缩小的情况下, 一些养猪户丧失信心, 不愿补栏、更不愿意扩大规模, 将直接导致下季生猪出栏减少。二是一些刚上马的规模养殖户将受到冲击, 因其规模不大, 又不能形成自繁自养, 成本较高, 只能以减少养殖数量来减低损失, 养殖数量减少, 造成市场上生猪来源减少, 必然导致后期生猪供应紧张, 从而会导致新一轮猪肉价格大幅上涨。三是给养殖户的心理预期和收入带来影响。生猪价格的周期性波动给养殖户带来巨大风险, 价格下跌, 养猪收入下降, 亏损导致猪贱伤农, 养殖户经济和心理承受能力降低。

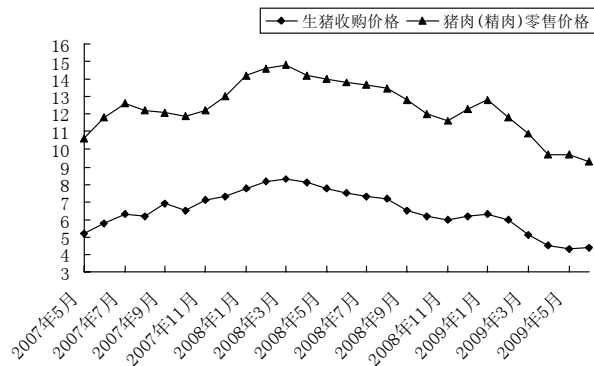


图1 2007年5月-2009年6月生猪及猪产品价格波动情况 (元/500g)

## 2 生猪生产现状

对于养猪专业户来说, 今年的经营情况很不理想, 由于肉猪供给市场能力呈逐月上升趋势, 加之“甲型 H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> 流感”影响, 猪肉价格一路下滑, 生猪养殖收益明显下降。当前, 生猪生产呈现“存栏增、价格跌、收益降、防病难”的特点。

**2.1 存栏增** 政府前期的鼓励政策是导致生猪存栏增加最直接的原因。近两年来政府出台了大量的优惠、奖励、补贴政策, 鼓励养殖户增加生猪存栏, 使得生猪存栏量大增。据有关部门统计: 截止5月底, 生猪大市——盐城市生猪存栏数达314万头左右, 比去年同期增长30%左右, 其中能繁母猪存栏40万头, 比去年同期增长20%以上。生猪养殖户能繁殖母猪存栏量在13.6%左右。到目前为止, 存栏量还在10%以上。

**2.2 价格跌** 生猪价格自去年4月份以来逐月回落, 从去年3月份的最高价850元/50kg一路下跌至2009年春节前的650元/50kg, 这时的

生猪价格虽有所下降, 但因受春节消费增加的推动, 价格仍在较高位运行, 节后2月份生猪大量出栏, 居民购买量减少, 猪价又快速下滑, 3月底已跌至每500元/50kg左右, 5月份的最低价只有390元/50kg, 四个月暴跌40%。6月份普通肥猪、普通苗猪、三元肥猪和三元苗猪均价分别为8.4元/kg、8元/kg、9.8元/kg和10元/kg, 比上年同月分别下跌35%、50%、25%和45%。生猪收购价格的持续下跌带动了农贸市场猪肉价格的不断下降, 精肉已由去年3月份的30元/kg一路跌至去年底的24.6元/kg, 降幅为18%。今年以来, 猪肉价格跌幅加快, 精肉由1月份25.5元/kg下降到6月份的18.6元/kg, 降幅为27%。

**2.3 收益降** 生猪出栏价格大跌和饲料价格上涨, 使得生猪养殖效益明显下降。玉米价格从年初的1.52元/kg上涨到现在的1.9元/kg, 涨幅为25%。按照自繁自养的养猪模式(规模养殖)计算, 小猪从出生到成熟出栏需要5-6个月的时间, 每头出栏重约95kg左右, 正常情况下饲料成本约800~900元/头, 以现在行情460~510元/50kg计算, 出栏销售收入约828~920元/头, 加上人工工资、防疫费用、水电费、贷款利息支出等, 养殖户已无利可图, 而去年3月份每头猪可获利400元左右。目前不少养殖户已处于亏损状态。有些规模养殖户已压缩养殖规模来防范价格下跌带来的经济损失。

**2.4 防病难** 目前已进入高温高湿季节, 各种病原微生物容易孳生和繁殖, 加上高温高湿引起的各种热应激反应, 极易引起高致病性蓝耳病、猪瘟、圆环病毒病等猪病的发生和流行, 加之甲型 H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> 流感疫情的影响, 生猪生产环境受到严重威胁, 疫病防控任务十分艰巨。

## 3 当前生猪生产存在的主要问题

这次猪价暴跌更深层次的原因, 是各级政府往往过于关注城市消费终端出现的价格上涨, 却忽视农村生产环节价格暴跌释放的供求信号, 失去了为养殖户提供弥足珍贵的信息和指导意见的有利时机, 从而导致生猪价格的大起大落。

**3.1 规模化总体水平低, 缺乏正确的信息引导养殖** 目前生猪养殖正处在一个由传统养殖向现代养殖转型的过程, 规模化养殖虽然得到较快发展, 但总体水平不高, 且缺乏正确的信息引导养殖。调

查中养殖户反映, 由于缺乏对市场的了解和深度分析, 与市场的有效对接能力差, 不能预判市场可能出现的变化, 只是简单地跟随市场价格作出生产决定。在市场形势好、养猪效益高的时候便一哄而上, 争相补栏, 养殖规模快速膨胀。一旦价格下跌就大量出栏, 出现亏损时, 又空栏罢养, 缺乏抵御市场冲击的能力, 难以保持生猪生产的相对稳定, 影响了生猪养殖产业的整体发展和收益。

**3.2 生猪产业各环节利益分配不均** 生猪生产、收购、屠宰加工、猪肉销售, 这中间存在各环节的利益关系。收购企业多以效益为中心, 猪少了抬价抢购, 猪多了压价收购, 不愿与生产者签订收购合同。不管生猪价格多低, 屠宰加工企业每加工一头生猪仍然获利 100 元以上, 卖肉的每卖一头猪要获利 150 元左右。企业在产业化经营链条中没有发挥组织者、带动者和市场开拓者的纽带作用, 没有与养殖户建立起风险共担、利益均沾、产销互补的利益联结机制, 导致生猪产业各环节的利润分配不合理性。

**3.3 生猪疫病风险较大, 防控力度不够** 在养殖业中, 生猪的疾病相对较多, 且新发疫病种类不断增多, 混合感染、多重感染、继发感染普遍, 对养殖户的饲养、管理、疫病防治、经营等技术要求越来越高, 部分养殖户尚不具备这些素质, 难以满足生产的需要, 同时, 在市场低迷的情况下, 部分猪场为节约成本而放松防疫工作, 疫病风险加大, 造成生猪死亡率相对较高, 经济损失较大, 成本增加, 效益下降。猪场防疫和社会化防疫工作力度有待进一步加强。

**3.4 养殖资金的不足成为制约生猪生产发展的重要因素** 生猪养殖在现代农业产业体系中是投资较大、利润较低的产业, 需要得到各方面资金的支持与扶持, 而多数养殖场(户)想扩大生猪规模养殖, 都因后续发展资金严重不足, 无法扩大再生产。特别是在养殖场(户)收益下降, 难以维持正常生产之时更需要金融部门的资金支持。目前, 农村金融体系所提供的金融支持和金融服务远远不能满足生猪规模养殖的需要, 养殖户贷款需求很难及时、方便、快捷地得到满足, 制约了生猪产业的发展。

**3.5 环境保护与生猪发展的矛盾日益突出** 生猪发展势必会增加环境保护的压力, 因粪水的无

害化处理投入成本较大, 规模养殖户根本无力承担, 小规模生猪养殖场基本无污染整治设备及措施, 有的中小型养殖场虽然在粪污处理中采取了一些措施, 但离零排放的标准相差很大, 对周边环境造成了污染, 也影响了农村居民的生活, 环境保护与生猪发展的矛盾日益突出。

#### 4 生猪生产后期走势判断

根据“前期的母猪补栏、存栏决定远期生猪供应”这一原理, 2009 年生猪市场将是一个“寒冬”。总体来看, 目前随着国家冻猪肉收储工作的启动, 生猪价格下跌速度放缓, 或进入“谷底”, 价格继续下探的可能性已不大。由于春节期间生猪集中出栏后, 大量仔猪投放补栏, 预计在今年第三季度会形成新的出栏高峰, 因此三季度供大于求的格局也不会出现根本性的转变, 猪价将维持在 480 元左右 /50 kg。从生猪饲养大村调查的情况来看, 近期毛猪供应量是供大于需。6 月份以后, 随着气温升高, 一方面市民猪肉消费需求平淡, 猪肉销售进入淡季, 另一方面是猪肉供应充足, 短期内肉价虽有“触底反弹”的迹象, 但不会出现“大幅反弹”的现象。由于金融危机和“甲型 H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> 流感”疫情的影响, 对养殖以及饲料行业将会带来多深打击, 目前尚难预测。正常情况下猪肉价格将在低位持续到 9 月份, 预计今年国庆后, 全国生猪的供大于求的情况将有所缓解, 随着几大节日和冬季制作腌腊食品的增多, 猪肉消费增长, 生猪需求总量将会上升, 猪价在第四季度有望重新回升, 行情走出亏损的可能性非常大, 新一轮的盈利周期又将到来。

#### 5 稳定发展生猪生产的政策建议

生猪价格的走势表明, 生猪价格正在迈向新一轮波动周期的谷底。按照生猪生产的一般规律, 随之而来的将是母猪存栏减少, 生猪出栏量萎缩, 生猪生产进入低谷。因此, 建议在“甲型 H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> 流感”这个特殊时期及时采取措施, 积极应对生猪生产的周期性波动。

**5.1 加强生猪疫病的防疫工作, 确保“放心肉”上市** 随着生产发展和物流加快, 生猪疫情发生频率增高。政府主管部门要高度重视生猪生产疫病的防疫工作, 建立生猪疫情监测、诊断、预防、监督体系, 积极为养殖户提供疫病防治帮助, 化解疫情风险, 建立定期消毒制度, 对染疫或疑似染疫生猪

进行火化、深埋等无害化处理,避免疫情传播,保证人畜安全,从根源上杜绝病死猪的存在,确保“放心肉”上市。

**5.2 简化贷款手续,全面推行生猪政策保险** 实践证明,在市场规律的作用下,生猪生产的周期性不可避免。生猪收购价格下降,导致养殖户收入减少,资金周转困难,为帮助养殖户顺利走出经营低谷,建议金融部门简化贷款手续,增加贷款额度,灵活执行利率浮动政策,减轻养殖户利息负担,以保证养殖户困难时期的资金需求。同时全面推行生猪政策保险。目前养殖户盼望能够全面推行包括母猪在内的所有生猪政策性保险,既保自然灾害损失,也保动物疫病损失,从根本上化解生猪养殖风险,彻底解决养殖户的后顾之忧。

**5.3 完善信息发布制度,引导养殖户适时调整养殖规模** 调查中发现养殖户对生猪价格频繁波动的担忧远大于生猪疫病防控,因价格不是养殖户自己可以掌控的,而生猪疫病完全可以自我预防和防治,因此,保证生猪价格的稳定,对养殖户更为重要。农牧业部门有必要对行业发展制定整体规划,实行总量控制。利用畜牧信息网,定期公布生猪养殖信息,及时为生产者和经营者提供有价值的产、供、销信息,增强生产者的市场意识,使他们及时掌握生产周期和市场规律,引导养殖户适时调整养殖规模,防范市场风险,保证生猪生产平稳发展。

**5.4 完善生猪活体和冻猪肉正常储备制度** 作

为有 10 多亿猪肉消费者的大国,建立生猪活体和冻猪肉正常储备制度很有必要。国家在肉品供过于求、价格下跌时,应采取收购方式储备猪肉;同时,在生猪供给短缺时,及时进行储备肉销售,以满足市场供应。6 月 13 日,商务部会同财政部、发改委启动了国产冻猪肉的收储工作。中旬以后,受国家启动的国产冻猪肉收储工作的刺激,猪肉价格出现了止跌反弹,一些地区猪粮比价又回到了 6:1 以上。这充分说明建立生猪活体和冻猪肉储备制度是政府实施宏观调控的重要手段,对于稳定市场,平稳物价,调节供应,应对突发灾害事件,保障战略储备和人民群众基本生活需要具有重要意义。

**5.5 加强环保资金投入,加大环保宣传力度** 因粪水的无害化处理投入成本较大,一般规模养殖户根本无力承担,中小规模养殖户更是无力,也不愿意出此资金。政府应加大对环保的资金投入,建立生猪养殖园区,便于建立无害化处理系统,并且出台政策鼓励养殖户建立粪污处理池(干粪池、发酵池、沉淀池、沼气池等)排污处理系统,努力实现达标排放,增加对建沼气池农户的财政补贴。强化养猪场生态环境控制,做好猪场排泄物、废弃物和病死畜禽的无害化处理,推行清洁生产,利用各种形式广泛宣传环境污染的危害性,开展环保警示教育,提高养殖户以及老百姓的环保意识,帮助养殖户走“环保、生态养殖”的生产发展道路。

(上接第 4 页)

的文化传统,中国人不会接受那种将动物置于和自己平等地位的观念,许多中国人还不习惯将动物看作是家庭中的成员。盲目地追求中国的动物保护立法与西方国家全面接轨,也是不可取的。

**4.3 应当借鉴和吸收国外成熟的经验** 国外有成熟的动物保护立法经验,我们应有选择性地借鉴和吸收国外一些区域化甚至全球化的立法经验。

**4.4 应分类处理与循序渐进** 遵循人与动物在法律地位上不能平等、分类处理和循序渐进的原则,发展和完善既符合中国国情与文化传统,又能促进经济和社会全面发展的动物福利保护法律体系。

综上所述,动物福利的提出与广泛传播,是生产力发展和社会进步的必然结果,是人类谋求自身发展与维持自然界可持续发展之间的一个平衡点,将成为一个不可避免的国际趋势。因此,我国应该积极主动地接纳动物福利。我国必须加快动物福利立法,只有这样才能使我国适应国际社会发展趋势的要求,促进我国的经济发展与和谐社会的建立。

#### 参考文献:

- [1] 常纪文. 动物福利与法治:焦点与难点[M]. 北京:法律出版社. 2008.
- [2] 常纪文. 动物福利法—中国与欧盟之比较[M]. 北京:中国环境科学出版社. 2006.



# 规模化猪场抗菌药物的正确使用

王斌斌<sup>1</sup>, 温黎俊<sup>2</sup>

(1. 郁南广东温氏家禽有限公司, 广东 郁南 527129; 2. 佛山市海纳川药业有限公司, 广东 佛山 511400)

中图分类号: S859.79:9.9

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2009)05-0009-03

抗菌药物是一类对病原菌有抑杀作用, 主用于全身感染的化学药物<sup>[1]</sup>。抗菌药在养猪业疾病防制及促生长等方面起着举足轻重的作用, 也是影响肉食品安全的主要因素。如果合理用药, 则能充分发挥药物的作用, 迅速有效地杀灭病原微生物, 使一些细菌感染所致的严重疾病得到控制; 用药不合理, 不但起不到防制疾病的作用, 反而会引起疗效下降或消失、产生耐药性、药物残留超标及机体中毒等多种不良后果。在规模化猪场使用抗菌药物时, 应该遵循以下几个方面原则及注意事项。

## 1 正确诊断病因, 科学选择药物

正确诊断病因是科学选择药物的前提, 而科学选用抗菌药是发挥药物疗效的重要保证。

**1.1 正确诊断病因** 猪发病后, 应尽可能采取各种诊断手段对病因进行确诊。猪群发病早期, 还只有个别出现临床症状时, 就应积极查找原因。及时将已死亡或重症猪进行临床剖检、实验室检查, 找出病因。有了确切的诊断, 方可了解其致病病原种类, 从而制定针对性强的用药方案, 及早控制疾病。

**1.2 科学选择药物** 在选择药物前, 必须先明确该药物的使用范围和适应症, 按照“高效、安全、经济、方便”的原则, 结合临床症状、致病微生物种类及其对药物的敏感性, 选择疗效较好、不良反应较少的抗菌药物。

选择的抗菌药一般是对病原具有高度敏感性的药物。例如, 抗菌药对于病毒性疾病一般都无效, 所以病毒感染不宜用抗菌药(控制细菌继发或混合感染除外)。病因不明者不要轻易使用抗菌药, 可以通过药敏试验有针对性地选择药物。在选择高敏抗菌药时, 应注意窄谱抗菌药可以解决问题的, 不选广谱抗菌药; 一种抗菌药可达到治疗

作用时, 不要用两种药物; 必须应用两种抗菌药时, 应选择联合应用具有协同作用的药物。未进行药敏试验的猪场发生细菌性疾病时, 应尽量选用本场甚至本地区不常用的药物<sup>[2]</sup>。当若干种药都对某个疾病有效时, 要分析经济效益指标, 考虑药物的等效价格, 老品种有效, 就不要使用新品种, 国产药好用, 就不要使用进口药。药物选择是否合适, 应以治疗效果为依据, 发病猪群用药 1~2 天后, 死亡明显减少, 精神、食欲好转或新病例不再出现, 均反映了药物治疗效果<sup>[3]</sup>。

选择药物时还要注意区分药物抗菌谱与适应症的偏差性, 切忌将二者完全等同, 产生用药不对症的失误。要了解药物的抗菌谱, 还要明了药物的作用机理以及药代动力学特性, 只有能使感染部位达到治疗所需的药物浓度, 才是该药物的最佳适应症。如猪链球菌感染用青霉素效果很好, 但若侵袭到脑部导致链球菌性脑膜炎, 则疗效不如磺胺嘧啶。因为磺胺嘧啶更容易通过血脑屏障进入脑脊髓液, 脑部药物浓度高; 而青霉素不易通过血脑屏障, 脑部药浓度很难达到最低抑菌(杀菌)浓度<sup>[3]</sup>。

## 2 药物剂量适宜, 给药途径恰当

抗菌药物要用到适当的剂量才能在机体内产生有效浓度, 发挥药物的治疗作用。给药途径直接关系到药物能否在体内达到并维持足够的有效浓度, 是药物取得疗效的保证。

**2.1 药物剂量适宜** 在使用抗菌药物前, 应先了解所选药物的有效成分和有效含量, 严格把握使用剂量。有效成分含量不足、有效药量过小, 药物在体内达不到有效浓度, 不仅起不到防制疾病的作用, 且易产生耐药菌株。超剂量使用不仅不会增加疗效, 浪费药物, 还可能产生毒副作用, 造成体

内菌群失调、微生态平衡破坏,进而引发内源性或外源性感染。

合理的用药应当是严重感染时剂量可适当大些(但应注意药物的毒性),待病情稳定控制后随即恢复常规用量。需注意的是,磺胺药在首次用药时宜使用突击量,以使血药浓度尽快达到抑菌浓度,然后使用正常有效治疗剂量,待症状消失后再给以2~3次最小维持量<sup>[4]</sup>。对于容易中毒的药物,应严格按说明书使用,其他药物应按推荐剂量使用。联合用药可适当减量,比如青霉素和链霉素合用,两药均可减量到原用量的2/3。

临床用药时要根据猪只的品种差异、生理差异、个体差异、机体机能状态、饲养管理水平、病理状态和机体对药物的敏感性等因素,适当调整使用剂量<sup>[5]</sup>。例如对肝肾功能不良的病猪,应按所用药物影响肝肾程度而酌减用量,主要经肾排泄的抗菌药物,在用于治疗泌尿系统感染时,用量不宜过大。还要考虑不同季节气候、疾病发生过程及猪只饲料采食量或饮水量的不同,适当调整药物的浓度。

**2.2 给药途径恰当<sup>[6]</sup>** 常用的给药途径有拌料、饮水和注射给药等。用药前仔细阅读产品说明书,了解使用方法,不要擅自改变给药途径。符合质量规范的药品,如果不按要求操作使用,也达不到防治疾病的目的,有时甚至会出现毒副作用。给药途径的选择应根据药物本身的特性,病猪的病情、食欲和饮水状况,以及应用的可操作性等因素而定<sup>[5]</sup>。

一般来说,易溶于水且水溶液稳定的药物可采用饮水给药,难溶或微溶于水的药物以及在水中易分解降效或不耐酸、不耐酶的药物则用拌料给药,对于胃肠道难吸收的药物则宜采用注射给药<sup>[7]</sup>。如氨基糖甙类、多肽类抗生素内服基本不吸收,以拌料或饮水给药治疗全身感染性疾病基本无效;青霉素能被胃酸破坏,成年猪不能内服给药,只能注射给药<sup>[3]</sup>。

给药途径的选择还要根据猪只的发病情况确定。注射给药适宜严重感染后的治疗,尤其是危重病症的紧急治疗。一般感染和消化道感染应选用肠道吸收率较低或不吸收的药物拌料或饮水。全身感染时则应选用肠道吸收较高的药物拌料或饮水。严重消化道感染并发败血症、菌血症应内服并

配合注射给药。猪群发病期间如食欲下降,饮水给药可获得有效药量。

结合实际应用的可操作性,对于用药较多的,口服给药较为方便;对于零星发病的猪只,注射给药疗效可靠。拌料给药多适宜长期预防性投药,饮水用药适宜短期投药、群体性紧急性治疗。

### 3 用药疗程适宜,治疗安全彻底

临床用药必须有足够的疗程,切忌病症刚见转好就停药,或者是不见效就立即换药。病原体在猪体内的生长、繁殖有一定的过程,药物对病原菌的治疗也需要一定的时间。疗程过短、停药过早,病原体只能被暂时抑制,受抑制的病原体在停药后又重新生长繁殖,其结果可能会贻误治疗最佳时机,导致疾病复发,并产生耐药性。一般的感染性疾病可连续用药3~5天,症状消失后再巩固治疗1~2天以彻底治愈。对于一些慢性感染,可适当延长疗程。磺胺类药的疗程要长一些,但也不宜超过7天<sup>[8]</sup>。

另一方面,用药时间过长,不但可能产生耐药菌株、造成药物浪费和药物残留,而且疗效会越来越差甚至无效,还可能对机体产生毒副作用,引起二重感染。如长期使用氟喹诺酮类药物会引起猪的肝、肾功能异常<sup>[9]</sup>。目前在一些集约化猪场普遍提倡采用重点阶段给药及脉冲式给药,效果较好。

### 4 科学配伍组合,适当轮换用药

配伍组合用药的目的在于获得药物协同或相加作用,而将有效的抗菌药物分期分批科学合理地交替使用,是防止耐药菌株形成的有效措施之一。

**4.1 科学配伍组合** 合理地配伍组合使用抗菌药物,能充分发挥药物的协同或相加作用,从而扩大抗菌范围、减少药物用量、降低或避免毒副作用,防止或延缓耐药菌株的产生,提高药物的抑菌或杀菌效果,对于混合感染或继发感染效果尤为显著。例如将青霉素配合链霉素肌注,磺胺药配合抗菌增效剂使用<sup>[10]</sup>。

多种药物合用时,要考虑不同药物的作用机制和理化性质之间是否有配伍禁忌,注射液之间的配伍更值得注意。产生配伍禁忌的结果往往是降低药物的疗效,甚至带来不良后果,严重时造成动物中毒。例如,碱性药物与酸性药物配伍使用易发生沉淀,若肌肉注射易造成药物吸收不良,静脉

注射则易阻塞血管造成局部血液循环障碍; 杀菌剂与抑菌剂配合应用可发生拮抗作用, 如青霉素不能与四环素类药物合用<sup>[10]</sup>。

在抗菌药物与疫苗的配合使用时, 不要随意在疫苗稀释液中加入抗菌药物, 在活菌苗或支原体弱毒苗接种的前3天和后5天内, 禁止使用对其有抑制或杀灭作用的抗菌药, 在免疫接种期间尽量不要使用具有免疫抑制作用的抗菌药。

**4.2 适当轮换用药<sup>[11]</sup>** 如果长期使用某种抗菌药, 病原微生物也易产生耐药性, 有必要选择几种有效药物交替使用, 避免或延缓病原微生物产生耐药性。在预防时用某种抗菌药, 发生疫情后应立即改用其它抗菌药。对于反复发生的疾病, 应更换长期未用过的药物或新品种, 从而有利于控制疾病发展。

## 5 贯彻预防为主, 注重综合防制

规模化猪场要贯彻预防为主的原则, 根据当时当地疫情发生与流行情况, 有目的地使用疫苗预防接种和药物预防保健, 而且要更加注重综合防制措施, 避免过份的药物依赖。

**5.1 贯彻预防为主** “预防为主、防重于治”是防制疾病的基本原则。有的疾病只能早期预防, 不能治疗, 有的即使能治疗, 一旦发生后也会有较大损失。规模化猪场应制定并落实科学的免疫计划、保健方案、消毒制度和生物安全体系。例如在长途运输、转群、气温突变及仔猪断奶等情况下进行抗应激保健, 以防止猪群发生应激和机体抵抗力下降, 进而诱发其他疾病。

**5.2 注重综合防制** 临床用药是防治细菌性疾病的重要手段, 但决非唯一的办法。机体的免疫力是协同抗菌药的重要因素, 过分强调抗菌药的功效而忽视机体内在因素, 往往是导致治疗失败的重要原因之一, 环境条件、饲养密度、猪舍温度、通风情况等均可影响药效的发挥。因此, 在应用抗菌药物进行对因治疗的过程中, 必须注重综合性的防治措施, 如采取适当的对症治疗、严格的消毒卫生工作、纠正电解质和酸碱平衡、增强机体的抵抗力等, 提高药物的治疗效果。例如, 对于呼吸道感染的疾病, 猪舍的通风程度、温度与猪群密度对药效的影响极大, 当猪舍通风不佳或猪群过密时, 药物对慢性呼吸道病的药效会大大降低<sup>[7]</sup>。

## 6 遵守休药期限, 关注食品卫生

随着无公害与绿色食品的不断发 展, 国家已禁止对畜禽使用氯霉素、痢特灵等对人体有影响的抗菌药物, 规定了允许使用抗菌药的休药期。对规模化猪场来说, 必须严格遵守兽药的使用范围、剂量以及休药期等。临床用药时, 禁止使用国家规定的违禁药物和未被批准的药物; 禁止使用人畜共用的抗菌药物; 尽量选择残留期短的药物, 提倡使用中草药、微生态、有机酸、酶制剂等绿色环保药物。对允许使用的兽药要遵守休药期限, 特别是药物添加剂, 严禁以预防疾病、促进生长为目的长期滥用抗菌药物添加饲料。根据药物在体内残留特性, 在屠宰前要有足够的时间停药, 以免兽药残留污染动物性食品, 威胁人类健康<sup>[12]</sup>。

### 参考文献:

- [1] 包鸿俊. 抗菌药的发展概况及其在兽医上的合理应用[J]. 畜牧与兽医, 2004, 36(8): 25-27.
- [2] 李引乾, 谢运, 杨亚军, 等. 掌握科学的药理知识, 已成养殖企业(户)降低成本的出路—滥用药物等于“自残”—抗菌药在猪、鸡、牛、羊上安全应用须注意的问题[J]. 中国动物保健, 2008, (4): 97-109.
- [3] 柴雪忠, 冯秀丽. 猪场抗菌药物使用失误分析及对策[J]. 养殖与饲料, 2009, (2): 30-33.
- [4] 唐式校, 孟宪武, 舒明刚. 畜禽使用磺胺类药物要点[J]. 中国禽业导刊, 2008, 25(14): 46.
- [5] 赵向红, 李玉环, 张宪琴. 猪场如何正确使用治疗药物[J]. 中国猪业, 2008, (3): 54-55.
- [6] 姜文娟. 动物健康、产品安全、保值的出路—正确把握对养殖动物的给药途径并遵守用药规范[N]. 中国畜牧兽医报, 2007-03-04, (012).
- [7] 衣婷婷, 蒋惠广. 猪场如何科学合理的使用药物[J]. 中国动物保健, 2007, (4): 60-61.
- [8] 赵景辉, 郦丽. 使用抗菌药防治畜禽疾病的原则[J]. 养殖技术顾问, 2009, (1): 104.
- [9] 路平. 哇诺酮类药物在动物体内残留及消除的研究进展[A]. 首届中国兽药大会动物药品学暨中国畜牧兽医学会动物药品学分会 2008 学术年会论文集[C], 2008.
- [10] 侯晋兰, 张运莲, 李汝英. 抗菌药联合应用可提高畜禽疾病治疗效果[J]. 山西农业(致富科技), 2006, (8): 25-26.
- [11] 王荣, 张启迪. 抗菌药的临床应用[J]. 中国畜牧业通讯, 2004, (3): 48-49.
- [12] 王楚端. 建立独立的肉猪休药期养殖经营 发展中国特色的安全无公害养猪[J]. 猪业科学, 2006, (8): 32-34.

# 玉米蛋白粉的质量及其在畜禽饲料中的应用概况

晏家友

(四川农业大学动物营养研究所、动物抗病营养教育部工程研究中心, 四川 雅安 625014)

**摘要:** 玉米蛋白粉是玉米加工的主要副产物之一, 除用作饲料外, 它还有很大的开发潜能。本文主要综述了玉米蛋白粉的生产工艺与化学组成、营养特性与饲用价值、掺假鉴定, 并阐述了玉米蛋白粉在畜禽饲料中的应用。

**关键词:** 玉米蛋白粉; 质量; 畜禽饲料

**中图分类号:** S816.4

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2009)05-0012-02

在我国, 玉米素有“饲料之王”的美称, 产量仅次于水稻和小麦。近年来, 随着玉米产量的持续增长, 其副产物——玉米蛋白粉 (Corn Gluten Meal, CGM) 也随之增多。玉米蛋白粉是玉米脱胚芽、粉碎、水选制取淀粉后的脱水副产品, 属有效能值较高的蛋白质饲料, 其氨基酸利用率可以与豆粕相媲美。然而, 由于玉米蛋白粉很细、口感粗糙、水溶性差、生物价值低, 因此在国内并没有得到合理地利用, 甚至被当作废物处理或排放。因而, 如何更好地利用玉米蛋白粉已成为当今玉米淀粉加工副产物综合利用的重要课题。本文就玉米蛋白粉的生产工艺与化学组成、营养特性与饲用价值、掺假鉴定, 以及玉米蛋白粉在畜禽饲料中的应用作一综述, 为实际生产中更合理地开发和利用玉米蛋白粉提供理论参考。

## 1 玉米蛋白粉的化学组成

玉米蛋白粉是湿磨法生产玉米淀粉过程中的主要副产品。在畜禽饲料中使用的玉米蛋白粉蛋白含量一般为 40%~60%。此外, 玉米蛋白粉中的淀粉、脂肪等含量也有一定程度的变化。饲用玉米

蛋白粉的常规化学组成见表 1。

玉米蛋白粉主要分为两种类型: 医用玉米蛋白粉和提醇玉米蛋白粉。医用玉米蛋白粉是医用工业中玉米加工的主要副产物, 其蛋白含量在 60%以上, 甚至高达 70%。医用玉米蛋白粉中除了含有丰富的蛋白类营养物质外, 还含有较多的类胡萝卜素, 主要包括玉米黄质、β-胡萝卜素、叶黄素等。提醇玉米蛋白粉是酿酒工业中玉米加工的副产品, 其蛋白含量低、粗纤维含量高, 营养价值不及医用玉米蛋白粉。医用玉米蛋白粉和提醇玉米蛋白粉的化学组成见表 2。

## 2 玉米蛋白粉的营养特性与饲用价值

玉米蛋白粉粗蛋白含量在 40~60%左右, 含有的蛋白质主要为: 玉米醇溶蛋白(Zein, 68%)、谷蛋白(Glutelin, 22%)、球蛋白(Globulin, 1.2%)和少量白蛋白(Albumin)<sup>[3]</sup>。玉米蛋白粉氨基酸组成不佳, Ile、Leu、Val、Ala、Pro、Glu 等含量高, 而 Lys、Trp 严重不足(见表 3)。王红菊等<sup>[5]</sup>报道, 虽然玉米蛋白粉的氨基酸组成不佳, 但这种独特的氨基酸组成通过生物工程来控制其水解度, 可以

表 1 玉米蛋白粉的化学组成<sup>[1]</sup>

蛋白 (%)	淀粉 (%)	脂肪 (%)	水分 (%)	纤维 (%)	灰分 (%)	类胡萝卜素 (mg/kg)	密度 (kg/L)
55~65	15~20	5~7	9~12	0.5~2.5	0.5~3.7	100~300	0.53~0.58

表 2 医用玉米蛋白粉和提醇玉米蛋白粉的化学组成<sup>[2]</sup>

类型	蛋白 (%)	淀粉 (%)	脂肪 (%)	水分 (%)	纤维 (%)	灰分 (%)	类胡萝卜素 (mg/kg)
医用玉米蛋白粉	65	15	7	10	2	1	200~400
提醇玉米蛋白粉	20.9	4.9	3		18.6	9.3	

表 3 玉米蛋白粉部分氨基酸组成<sup>[4]</sup>

氨基酸	Ile	Leu	Val	Ala	Pro	Glu	Lys	Trp
摩尔百分比(%)	2.05	8.24	3.00	4.81	3.00	12.26	0.96	0.20

获得具有多种生理功能的活性肽。需要注意的是：玉米蛋白粉的氨基酸总和高于豆粕和鱼粉，并且含硫氨基酸和亮氨酸含量也比豆粕和鱼粉更高，因此玉米蛋白粉可以与豆粕和鱼粉蛋白源相互补充。此外，玉米蛋白粉粗纤维含量低；代谢能与玉米相当或高于玉米；铁含量较多；维生素中胡萝卜素含量较高；富含色素。

玉米蛋白粉用作鸡饲料可以节省蛋氨酸，并且着色效果明显，特别适宜作家禽饲料原料。但由于玉米蛋白粉很细，因此它在鸡配合饲料中的用量不宜过大（一般在5%以下），否则会影响鸡的采食量。玉米蛋白粉对猪的适口性较好，它与豆粕合用还可以起到平衡氨基酸的作用，其在猪配合饲料中的用量一般在15%左右。玉米蛋白粉还可用作奶牛、肉牛的蛋白质饲料原料，但因其密度大，需要配合密度小的饲料原料使用，其在精料中的添加量以30%为宜。另外，在使用玉米蛋白粉的过程中，还应该注意对霉菌（尤其是黄曲霉毒素）含量的检测。

### 3 玉米蛋白粉的掺假鉴定

不法饲料厂商为了谋取暴利，对玉米蛋白粉这样的高蛋白、高能量饲料原料，通过掺入蛋白精、玉米粉、小米粉等来改变其商品外观；甚至掺入尿素来提高其蛋白含量。在玉米蛋白粉中掺假，不仅会降低产品内在的品质，还可能对畜禽的生长造成重大损害，因此有必要对玉米蛋白粉进行品质监控。通常，我们是通过显微镜镜检、感官鉴别及简单的物理检测或化学检测来识别掺假的玉米蛋白粉。近年来，傅立叶变换红外光谱扫描仪（Fourier Transform Infrared Spectrophotometer, FTIR）以绿色、快速、非破坏性的质量检测 and 在线控制技术，倍受饲料企业的欢迎，并被广泛地应用于饲料原料的定性鉴别和定量测定。因此可以采用傅立叶近红外分析仪对蛋白精、玉米粉、小米粉、尿素等掺假物质进行扫描，得到各物质的近红外光谱图，然后根据不同波数范围内各物质特征吸收峰的差异，可以初步对玉米蛋白粉进行掺假判断。

### 4 玉米蛋白粉在畜禽饲料中的应用

#### 4.1 玉米蛋白粉用作饲料蛋白源 玉米蛋白粉

的蛋白含量高，氨基酸种类丰富，可以用来替代鱼粉、豆粕等蛋白质饲料原料。刘燕强<sup>[6]</sup>研究结果表明，Lys 是玉米蛋白粉饲喂生长肥育猪的第一限制性氨基酸，因此用玉米蛋白粉替代豆粕作猪的蛋白质饲料源时，必须在其日粮中添加 Lys。玉米蛋白粉的蛋白含量高还与猪的表观消化能直接相关。秦旭东<sup>[7]</sup>研究结果表明，在育肥猪配合饲料中添加 50%提醇玉米蛋白粉，可以提高猪的平均日增重，并增加猪的体长和胸围。郭亮等<sup>[8]</sup>研究结果表明，生长猪对玉米蛋白粉（CP 32%）的表观消化能和能量消化率高于玉米蛋白粉（CP 52%）和玉米蛋白粉（CP 47.4%）。以玉米蛋白粉为主的蛋鸡配合饲料可以对蛋鸡起保健和促生长作用，从而提高蛋鸡的产蛋率和鸡蛋的蛋白品质。李佩华等<sup>[9]</sup>用不同量玉米蛋白粉代替等量豆粕喂蛋鸡的试验表明，用玉米蛋白粉替代 7%豆粕，可以提高蛋鸡产蛋率和饲料利用效率。

**4.2 玉米蛋白粉用作肉鸡着色品** 玉米蛋白粉中叶黄素含量高，能有效地被鸡的肠道吸收或沉积在鸡皮肤表面，使鸡蛋呈金黄色，鸡皮肤呈黄色。杨具田等<sup>[10]</sup>报道，在褐壳蛋鸡日粮中添加 6.5%玉米蛋白粉，可以提高蛋黄色泽级数。玉米蛋白粉中叶黄素的着色效果比加丽素红、加丽素黄等化工合成着色剂稍差，但通过添加阿散酸，可以促进动物机体代谢，提高叶黄素沉积率，从而改善玉米蛋白粉对鸡皮肤的着色效果。富伟林<sup>[11]</sup>报道，在肉鸡日粮中添加 2.5%玉米蛋白粉和 90 mg/kg 阿散酸，可以显著提高肉鸡胫色和屠宰肉鸡胫色。

**4.3 玉米蛋白粉的其他应用** 玉米蛋白粉含有丰富的亚油酸，可以促进鸡的脂质代谢，保证必须氨基酸的合成，从而有利于提高能量消化率。在养牛生产中，用玉米蛋白粉作精饲料，还可以使部分不能被瘤胃消化的蛋白在小肠被更好地消化吸收。郭亮等<sup>[12]</sup>研究不同种类玉米蛋白粉日粮纤维和能量对生长猪氮代谢的影响，结果表明，玉米蛋白粉日粮的 NDF 或 CF 含量降低，粪氮与日粮氮比值减少，即氮排出量减少，总氮利用效率提高，从而可以降低

（下转第 26 页）

# 环介导等温扩增技术在动物病原检测中的应用

何玲<sup>1</sup>, 罗满林<sup>1,2</sup>, 陈瑞爱<sup>1</sup>

(1. 广东大华农动物保健品股份有限公司, 广东 新兴 527400; 2. 华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510000)

**摘要:** 环介导等温扩增技术(LAMP)是一种依赖于自动循环的链置换技术, 在等温条件下, 不到1h就能扩增出 $10^9$ ~ $10^{10}$ 靶序列拷贝。该技术快速准确、操作简单、特异性强、灵敏度高, 已经被用于动物病原微生物的快速检测。本文就LAMP法的反应原理、技术特点及其在动物病原快速检测中的应用作一综述。

**关键词:** LAMP; 病原; 检测; 应用

**中图分类号:** S854.44

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2009)04-0014-03

随着现代分子生物学的迅速发展,新的核酸扩增技术不断出现。近年来,一种全新的恒温核酸扩增方法—环介导等温扩增法(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)已被开发应用<sup>[1]</sup>。该技术操作简单、特异性强、灵敏度高,已在动物病原快速检测中得到广泛的应用<sup>[2~4]</sup>。本文就LAMP技术及其在动物病原检测中的应用作简要的介绍。

## 1 LAMP技术简介

**1.1 反应原理** LAMP是由Notomi等在2000年发明的一种新颖的恒温核酸扩增方法<sup>[1]</sup>。它是一种灵敏的链置换技术,可以在恒温条件下和短时间内将目标DNA从几个拷贝扩增到 $10^9$ ~ $10^{10}$ 拷贝。LAMP的基本原理是针对靶基因的6个区域,设计4条特异性引物,利用一种具有链置换活性的DNA聚合酶-Bst(*Bacillus stearothermophilus*)DNA polymerase,在等温条件下进行反应。同一链上的一组引物顺序地退火到靶区域,在链置换DNA聚合酶作用下,后阶段退火的引物置换前面引物所形成的链。置换发生在两条链上,对引物设计的要求是能形成环状结构。反应在恒温条件下进行,链的变性是由链置换产生的。LAMP反应形成一系列不同长度茎环结构的DNA,再通过特定的方法判断扩增与否<sup>[5]</sup>。

**1.2 引物设计** LAMP的核心在于独特的引物设计,4条引物分别针对靶序列上的6个区域(图1)。

LAMP的引物设计可根据官方网站<http://loopamp.eiken.co.jp/lamp/index.html>或专业软件PrimerExplorerV3(<http://primerexplorer.jp/lamp3.0.0>)设计。正向内引物FIP,包含F1c区段(同靶基因的F1c区段完全相同)、TTTT连接子和F2区段(同靶基因的F2c区段完全互补);正

向外引物F3,同靶基因的F3c区段完全互补;反向内引物BIP,包含B1c区段(同靶基因的B1c区段完全相同),TTTT连接子和B2区段(同靶基因的B2c区段的完全互补);反向外引物B3,同靶基因的B3c区段完全互补。Loop引物(Loop F, Loop B)的引入有助于提高灵敏度,缩短反应时间<sup>[6]</sup>。

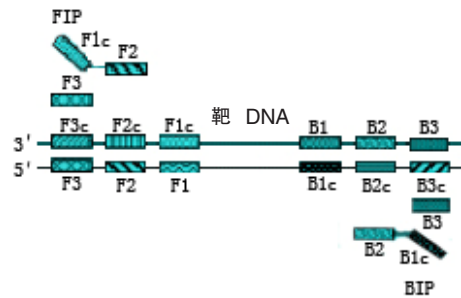


图1 LAMP法的引物设计

LAMP的引物设计规则要比PCR的复杂,其引物设计主要遵循以下原则<sup>[7]</sup>:

**1.2.1 引物间距** F2引物的5'端到B2引物的5'端的距离,最好控制在120~180 bp; F2引物和F3引物之间以及B2引物与B3引物之间的距离应该在20 bp以内; F2与F1或者B2与B1之间碱基数为40~60个。

**1.2.2 引物的T<sub>m</sub>值** T<sub>m</sub>值视模板GC含量而定。正常情况或者富含GC区域为60~65℃,富含AT区域为55~60℃。同时引物T<sub>m</sub>值应该满足F3/B3 < F2/B2 < F1/B1; F2 > 60℃; B2 < 65℃。

**1.2.3 GC含量与发卡结构** 引物GC含量约40%~60%,太高或太低都会影响结合效果。尽量避免在3'端形成互补的发卡结构。此外还要注意3'端不可出现富AT结构。

**1.2.4 引物末端的稳定性** F1c 与 B1c 的 5' 端以及 F2/B2, F3/B3 的 3' 端的 6 个碱基的自由能要小于  $-4 \text{ kal/mol}$ 。

**1.2.5 片段长度** 为了提高扩增效率, 缩短反应时间, 扩增的靶序列长度最好不要超过 300 bp。

**1.3 LAMP 技术的基本操作过程** LAMP 反应体系包含了引物、模板 DNA、Bst DNA 聚合酶、dNTP 和缓冲液。通常用 25  $\mu\text{L}$  反应体系, 其中内引物浓度为 0.8~2.0  $\mu\text{mol/L}$ , 外引物浓度为 0.2~0.8  $\mu\text{mol/L}$ , 内外引物浓度比一般在 4:1~10:1; 镁离子浓度为 2~10  $\text{mmol/L}$ 。其基本操作过程是将 LAMP 反应体系 (除 Bst DNA 聚合酶) 混合后, 在 95 $^{\circ}\text{C}$  加热 5 min, 使模板变性解链 (这个过程并不是必须的), 冷却后加入 8U Bst DNA 聚合酶, 此后在 60~65 $^{\circ}\text{C}$  保温 60 min, 然后在高于 80 $^{\circ}\text{C}$  的温度下加热 2 min 让 Bst 酶热失活, 反应终止, 或者冰浴降温终止反应。

## 2 LAMP 技术在动物病原检测中的应用

**2.1 LAMP 技术检测细菌病原体** 刘全英<sup>[8]</sup>等采用环介导的恒温扩增反应扩增大肠杆菌 O<sub>157</sub> 特异性基因, 并与 PCR 方法进行比较。大肠杆菌 O<sub>157</sub> DNA 经  $10^1\sim 10^8$  倍梯度稀释, PCR 法难以检测  $10^5$  倍稀释的产物, 而 LAMP 法可较好地检测  $10^8$  稀释的产物, 表明建立的 LAMP 方法比 PCR 方法灵敏 1 000 倍。用建立的 LAMP 法检测金黄色葡萄球菌和痢疾志贺菌, 未发现假阳性, LAMP 法特异性高达 100%。陈杨<sup>[9]</sup>根据猪胸膜肺炎放线杆菌 (APP) apvIV 基因序列设计 LAMP 引物, 以 APP 1~13 血清型菌株以及猪产毒多杀性巴氏杆菌、猪波氏杆菌、副猪嗜血杆菌制备模板, 进行 LAMP 方法检测。APP 所有血清型菌株经 LAMP 扩增后均检测到正确扩增产物, 而其他三种菌均未检测到目标产物。将浓度为  $10^6 \text{ CFU/mL}$  的 APP4074 菌株进行连续 10 倍倍比稀释, 分别进行 LAMP 和 Nested PCR 扩增, LAMP 法最低检测稀释度为  $10^{-6}$ , 而 Nested PCR 最低检测稀释度为  $10^{-5}$ 。试验结果显示 LAMP 法是一种简便、灵敏、高度特异性的基因扩增法。

## 2.2 LAMP 技术检测动物病毒

**2.2.1 对 DNA 病毒的检测** 江彦增等<sup>[10]</sup>利用环介导等温扩增技术建立了一种快速高效检测非洲猪瘟病毒的方法。该反应灵敏度是 OIE 标准 PCR 方法的 100 倍, 并且与其他常见猪 DNA 病毒 (猪细小病毒、猪圆环病毒 2 型、猪伪狂犬病病毒) 无交叉反

应。此反应在水浴锅中恒温进行, 不需要其他昂贵仪器, 30 min 即可得到阳性结果, 表明该方法适合在野外现场或缺乏试验条件的边远地区检测非洲猪瘟病毒。En 等<sup>[11]</sup>设计了六种针对伪狂犬病病毒 DNA 结合蛋白基因的特异性引物, 研究发现有 10 种蛋白原 DNA 样本的检出限是 100~1 000 倍稀释, 均高于 PCR 反应的检测限。何逸民<sup>[12]</sup>等设计了一套针对猪圆环病毒 2 型 cap 基因的 LAMP 检测引物, 优化 LAMP 的反应体系和反应条件, 结果 LAMP 在 63 $^{\circ}\text{C}$  1 h 内能够成功地检测猪圆环病毒 2 型基因; 通过 Real-time PCR 制定标准曲线测试 LAMP 方法的敏感性, 结果显示其敏感性可以达到 10 个拷贝的 DNA 分子; 通过临床样品的检测初步证明 LAMP 与 PCR 的检出结果符合率为 100%。

**2.2.2 对 RNA 病毒的检测** Imai 等<sup>[13]</sup>利用 RT-LAMP 技术建立了针对 H<sub>5</sub> 亚型高致病性 AIV 的检测方法。该方法简便快速、成本低、不需要特殊试剂, 敏感性比 RT-PCR 高 100 倍, 而且可以从 15 个血凝素亚型 HA 中检测出 H<sub>5</sub> 亚型, 具有很高的特异性, 在对高致病性禽流感的病原监测应用中具有很高的实用价值。秦智锋等<sup>[14]</sup>设计了 6 条针对 FMDV 3D 基因的 8 个位点的特异性引物, 建立了一套从核酸抽提到检测仪需要 75 min 的 LAMP 技术。该方法可以检测出口蹄疫 C 型、A 型和 Asia I 型病毒核酸, 但不能检测出猪水泡病病毒、繁殖与呼吸综合征病毒、猪水泡性口炎病毒等病毒核酸。建立的方法灵敏, 与实时荧光 RT-PCR 灵敏度相当, 而且简单, 不需要复杂的仪器, 常规水浴锅在 63.5 $^{\circ}\text{C}$  即可进行, 肉眼可直接观察检测结果。陈蕾等<sup>[15]</sup>建立了检测猪瘟疫病毒 (CSFV) 的 RT-LAMP 方法, 提取猪瘟石门血毒 (103.84TCID50) RNA 做  $10^1\sim 10^8$  倍梯度稀释, 进行灵敏度试验, 结果 RT-LAMP 的灵敏度比 RT-PCR 高 100 倍; 提取牛病毒性腹泻毒、猪繁殖与呼吸综合征病毒、伪狂犬病病毒、猪圆环病毒、猪细小病毒等基因组进行 RT-LAMP, 结果均为阴性。

**2.3 LAMP 技术检测寄生虫** 杨秋林等<sup>[16]</sup>成功设计了 4 条扩增日本血吸虫尾蚴钙结合蛋白基因的 LAMP 引物, 使用基因释放剂快速提取尾蚴基因组 DNA, 以华支睾吸虫基因组为对照进行 LAMP 反应。产物经 SYBR Green I 染色, 结果尾蚴检测管呈绿色 (阳性), 对照管呈棕色 (阴性); 尾蚴 LAMP 产物电泳后呈 LAMP 特征性梯状条带, 对照组无扩增产物。用细吸管在解剖镜下分别吸取 20、10、5、

1条尾蚴进行 LAMP 反应, 检测其敏感性, 结果 LAMP 可检测到尾蚴的最低数量为 1 条。说明 LAMP 方法敏感、特异、简便。杨帆等<sup>[17]</sup>用建立的 LAMP 方法对随机采样的骆驼血清进行伊氏锥虫病诊断, 结果阳性率为 35.7%, 表明 LAMP 可以用来检测伊氏锥虫病。

### 3 LAMP 技术的特点及应用前景

LAMP 技术具有如下特点<sup>[18~20]</sup>: ①操作简便、耗时短, 通常保温几十分钟即可完成, 不需要模板的热变性、退火、长时间温度循环等过程; ②扩增效率高, 45~60 min 内可扩增  $10^9 \sim 10^{10}$  倍; ③特异性强, 4 条引物分别针对 6 个不同的区域, 任何一个不匹配反应就无法进行; ④灵敏度高, 一般能检测到 10 拷贝以下的样品; ⑤成本低廉, 不需要精密的仪器或昂贵的耗材; ⑥鉴定方便, 可直接肉眼观察反应产物中是否产生白色沉淀或者 SYBR Green I 染色后观察颜色变化来定性检测; 可通过实时浊度计检测产物浊度的变化来定量检测; 也可以通过电泳鉴定有无扩增产物的产生。LAMP 技术也有局限性: ①LAMP 对于实验设计要求很高, 需要设计的引物数目多, 结构复杂; ②LAMP 的阳性反应并不只呈现单条带, 而出现拖尾和一些低分子质量的带, 一旦产生非特异性扩增, 则不易鉴别。

LAMP 操作简单、特异性强、灵敏度高、可在短时间内快速获得大量特异性扩增产物, 并且扩增产物易判断, 不需要昂贵的仪器和试剂, 非常适用于即时、现场、快速检测动物疫病大量样本的要求。LAMP 技术原理复杂, 并且还存在着一些缺点, 但若对其进行进一步优化、完善, 该技术必将成为核酸研究领域的重要工具, 可在动物疾病诊断领域发挥重要的作用。

#### 参考文献:

- [1] Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA[J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(12):E63.
- [2] 侯佳蕾, 罗开健, 樊惠英, 等. H5 亚型禽流感病毒 RT-LAMP 快速检测方法的建立[J]. *中国兽医科学*, 2008, 38(12):1070-1074.
- [3] Anne Lie B, Mikhayil H, Scott M R, et al. A one-step reverse transcriptase loop-mediated isothermal amplification assay for simple and rapid detection of swine vesicular disease virus[J]. *J Virological Methods*, 2008, 147(1):188-193.
- [4] Chen H T, Zhang J, Sun D H, et al. Short communication reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for the detection of highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus [J]. *J Virological Methods*, 2008, 153(2):266-268.
- [5] 匡艳云, 李思光, 罗玉萍. 环介导等温扩增核酸技术及其应用[J]. *微生物学通报*, 2007, 34(3):557-560.
- [6] Nagamine K, Hase T, Notomi T, et al. Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers[J]. *Mol Cell Probes*, 2002, 16(3):223-229.
- [7] Eiken Chemical Co. Ltd. The principles of LAMP method [EB/OL]. <http://loopamp.eiken.co.jp/e/tech/index.html>. 2003, 10.
- [8] 刘全英, 李延武, 高霞. 环介导恒温扩增技术快速检测大肠杆菌 O157 特异基因的建立[J]. *World Health Digest*, 2007, 4(7):59-61.
- [9] 陈杨. 胸膜肺炎放线杆菌血清 10 型弱毒株的构建和环介导的 APPapxIV 恒温扩增方法的建立[D]. 武汉:华中农业大学, 2007.
- [10] 江彦增, 朱鸿飞. 非洲猪瘟病毒环介导等温扩增快速检测方法的建立[J]. *中国畜牧兽医*, 2009, 36(2):72-74.
- [11] En F X, Wei X, Jian L, et al. Loop-mediated isothermal amplification establishment for detection of pseudorabies virus[J]. *J Virological Methods*, 2008, 151(1):35-39.
- [12] 何逸民, 邹国秋, 罗玉均, 等. 中国畜牧兽医学会 2008 年学术年会暨第六届全国畜牧兽医青年科技工作者学术研讨会论文集[C]. 广州:中国畜牧兽医学会, 2008. 335-336.
- [13] Imai M, Ninomiya A, Minekawa H, et al. Rapid diagnosis of H5N1 avian influenza virus infection by newly developed influenza H5 hemagglutinin gene-specific loop-mediated isothermal amplification method[J]. *J Virol Methods*, 2007, 141(2):173-180.
- [14] 秦智锋, 曾少灵, 阮周曦, 等. 口蹄疫病毒 RT-LAMP 检测方法的建立[J]. *中国预防兽医学报*, 2008, 30(5):375-378.
- [15] 陈蕾, 范学政, 王琴, 等. 中国畜牧兽医学会 2008 年学术年会暨第六届全国畜牧兽医青年科技工作者学术研讨会论文集[C]. 广州:中国畜牧兽医学会, 2008. 209-213.
- [16] 杨秋林, 许丽芳, 张愉快, 等. 环介导等温扩增技术检测日本血吸虫尾蚴的实验研究[J]. *中国血吸虫病防治杂志*, 2008, 20(3):209-211.
- [17] 杨帆, 王振宝, 王常汉, 等. 骆驼伊氏锥虫病 LAMP 实验诊断初报[J]. *中国兽医寄生虫病*, 2008, 16(3):23-25.
- [18] Thekisoe OM, Inoue N, Kuboki N, et al. Evaluation of loop-mediated isothermal amplification (LAMP), PCR and parasitological tests for detection of *Trypanosoma evansi* in experimentally infected pigs [J]. *Vet Parasitol*, 2005, 130(3):327-330.
- [19] Soliman H, Matbouli M. Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) for rapid detection of viral hemorrhagic septicemia virus (VHS) [J]. *Vet Microbiol*, 2005, 102(8):309-311.
- [20] 潘树德, 刘宝山, 刘金铃, 等. 环介导等温扩增技术及其在病原检测中的应用[J]. *动物医学进展*, 2009, 30(2):74-77.



# PCR-DGGE 技术及其在微生物群落结构研究中的应用

罗佳捷<sup>1,2</sup>, 李丽立<sup>1</sup>, 张彬<sup>2</sup>

(1. 中国科学院亚热带农业生态研究所, 湖南 长沙 410125; 2. 湖南农业大学经济动物研究所, 湖南 长沙 410128)

**摘要:** PCR- 变性梯度凝胶电泳 (PCR-DGGE) 技术具有可靠性强、重复性好、方便快捷等优点, 是一种被广泛应用于环境生态学中微生物群落多样性、动态性分析和功能细菌跟踪的指纹识别技术。本文介绍了 PCR-DGGE 分析技术的基本原理和方法, 并就该方法在对生态环境中、动物和人体内微生物群落结构的研究应用情况做了综述, 并对该技术自身存在的局限性和应用前景进行了评价。

**关键词:** PCR- 变性梯度凝胶电泳; 微生物群落; 指纹识别技术

**中图分类号:** S852.2

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2009)04-0017-03

变性梯度凝胶电泳 (PCR-DGGE) 分析技术最初是由 Lerman 等于 20 世纪 80 年代初期发明的, 起初主要用来检测 DNA 片段中的点突变。Muyzer 等在 1993 年首次将其应用于微生物群落结构研究, 后又发展出其衍生技术温度梯度凝胶电泳<sup>[1]</sup>。此后十几年间, 该技术被广泛用于土壤、活性污泥、生物膜、人体、动物肠道、湖泊等各个领域, 目前, 它与单链构象多态性 (SSCP) 和末端限制性片段长度多态性 (T-RFLP) 等方法一起, 已经发展成为研究微生物群落结构的主要分子生物学方法<sup>[2]</sup>。

## 1 DGGE 技术的基本原理与流程

**1.1 DGGE 技术的基本原理** PCR-DGGE 是利用尿素及甲酰胺两种变性物质制成一种由低至高浓度的变性梯度电泳胶, 由于变性物质的作用, 胶体上进行电泳的双股 DNA 序列会产生部分变性, 形成部分单链 (partial single strand)。随着每一个 DNA 样品核酸序列的不同, 部分变性解离的程度也不相同, 因此其在电泳胶中的移动速度也有所不同 (双股快、单股慢), 使得部分变性的 DNA 会在相同时间内, 在胶体上跑出不同的距离。而 DNA 变性的程度则与其解链温度 (melting point,  $T_m$ ) 有关, 不同序列的 DNA 会有不同的  $T_m$ , 低  $T_m$  的 DNA 会在低浓度的变性物质作用下产生变性形成部分单链, 而高  $T_m$  的 DNA 则必须在高浓度的变性物质作用下才会产生变性。因此, 利用 DGGE 可以将大小相同、序列组成不同的 DNA 鉴别开来。

PCR-DGGE 技术具有不依赖微生物培养、检测率高、结果准确可靠、分辨率高、重复性好、加样量小以及可与多种方法相结合等优点<sup>[3]</sup>。

**1.2 PCR-DGGE 技术的基本流程** PCR-DGGE 的基本流程是: 首先从环境中取得样本 (如地下水、活性污泥、生物膜、动物的肠道内容物等) 进行微生物总 DNA 的提取; 然后通过聚合酶链反应 (PCR) 将提取的总 DNA 中的特定序列进行扩增, 其扩增产物利用 DGGE 进行分离; 最后, 对 DGGE 带进行测序并鉴定分析或者被印渍在尼龙膜上与标记的寡核苷酸专一性探针进行杂交, 以鉴定群落成员。其中, 样品总 DNA 的提取和纯化是前提, 引物设计及其 PCR 是关键<sup>[4]</sup>。

## 2 PCR-DGGE 技术的应用

目前绝大多数关于 PCR-DGGE 技术的资料都是用它来进行微生物群落结构及功能的分析以及不同群落结构的比较。其中尤其以调查生态环境中以及动物和人体内细菌群落的构成及其影响为主。

**2.1 对生态环境中微生物群落结构及功能的研究** 在生态环境的应用方面, Chriatian 等<sup>[5]</sup>运用 PCR-DGGE 技术对多瑙河上的 73 个点及其主要支流上的 25 个点 (覆盖长度达到 2 581 km) 的水样中的微生物群落结构进行了分析, 他们发现微生物群落结构的变化与物理化学因素以及叶绿素  $\alpha$  的浓度差异紧密相关。Riemann 等<sup>[6]</sup>在一年时间内不间断的对波罗的海中心一个点的表面水样 (3 m 深) 进行 PCR-DGGE 分析, 以确定其微生物群落结构。他们发现这个点水样的微生物群落结构在整年中都在不断地变化, 虽然拟杆菌这种咸水菌种在群落中占据了主导地位, 但是却明显的受到放线菌、疣微菌以及变形菌等典型的淡水菌种的影响。对长期使用有机氮肥、无机氮肥、氮缺

乏以及对对照组的砂壤土中的氨氧化细菌进行 PCR-DGGE 分析,Chu 等<sup>[7]</sup>的结果表明,在使用了氮肥的砂壤土中,氨氧化细菌的多样性显著高于氮缺乏组和对照组,说明长期使用氮肥可以增加土壤中潜在的硝化作用,并显著的增加氨氧化细菌向土壤中的转移。

另外,Hilyard 等<sup>[8]</sup>对伊丽莎白河流沉积物中的多芳烃降解细菌进行了分离、系统发生鉴定以及 Perreault 等<sup>[9]</sup>对加拿大北极圈内寒冷的含盐活泉中的原核生物多样性进行分析的过程中都曾使用到 PCR-DGGE 分析技术。目前,PCR-DGGE 分析技术已经越来越多的运用到了生态环境中微生物群落结构和功能的研究中,这对于人们更多更深入的了解生态环境,更加有效的保护和利用它们起到了巨大的作用。

**2.2 对动物微生物群落结构及功能的研究** 在动物的应用方面,Karnati 等<sup>[10]</sup>曾运用 PCR-DGGE 技术对饲料中添加不同蛋氨酸源的奶牛瘤胃液及重瓣胃内容物样品进行分析,发现瘤胃中主要的细菌种群有乳酸菌、新月形单胞菌属、链球菌、颤螺菌属和梭菌属,而重瓣胃样品中除了这些菌种以外,还有丁酸弧菌属和巨型球菌属等菌种。他们分析造成这种差异的原因是瘤胃样品比重瓣胃样品含有更多的与固体相关的菌种。Lovanh 等<sup>[11]</sup>运用 PCR-DGGE 技术对鸡舍中不同位置的 44 个鸡粪样品进行了分析,结果表明革兰氏阳性菌乳杆菌目、芽孢杆菌目和放线菌类在鸡粪微生物群落结构中占主导地位,但是由于鸡舍中不同位置的物理化学因素存在差异,造成了同一批鸡粪中微生物群落结构也存在着一定的差异性。据报道<sup>[12]</sup>,通过对 96 只鸡的回肠内容物及粪便进行 PCR-DGGE 分析,结果表明日粮中抗生素对鸡肠道微生物群落结构的影响呈剂量和年龄依赖,这些发现为阐述抗生素对鸡肠道微生物群落结构的影响及更新抗生素的使用方法提供了依据。

此外,Manninen 等<sup>[13]</sup>在对 5 只摄入了潜在益生菌的猎犬小肠中乳酸菌组成的改变进行测定时也运用了 PCR-DGGE 技术。现在,PCR-DGGE 技术越来越多的运用到动物(特别是经济动物)体内尤其是胃肠道内的微生物群落结构分析,这对于人们了解动物胃肠道微生物环境,合理饲喂动物,取得更好的经济效益很有帮助。

**2.3 对人体微生物群落结构及功能的研究** 在

人体的应用方面,Ruth 等<sup>[14]</sup>运用 PCR-DGGE 技术对 47 名牙龈健康及有疾病的志愿者的牙龈下样品进行了分析,他们发现放线嗜血菌的存在与牙龈疾病明显相关,统计分析的结果则表明索氏密螺旋体和假单胞菌的存在是牙龈疾病的重要征兆,另外他们还发现牙龈健康者与患病者在真细菌种类多样性方面没有显著差异。Beatrice 等<sup>[15]</sup>运用了 PCR-DGGE 技术对健康妇女及患有阴道细菌感染和念珠菌病妇女的阴道内液体微生物群落结构进行分析,结果表明,健康妇女的阴道液体中乳酸菌占据着主导地位,而患有阴道细菌感染的妇女则有几种潜在的致病细菌,患念珠菌病的妇女阴道液体中乳酸菌也占主导地位,但乳酸菌种类之间的比例有所改变。患阴道细菌感染的妇女阴道液体中的乳酸菌比健康妇女及患念珠菌病妇女在统计学上有显著的下降。Shakil 等<sup>[16]</sup>对 26 名病人的回肠末端(n=6)、回肠上升段(n=8)、回肠横段(n=8)、结肠下降段(n=4)的健康粘膜组织进行了 DGGE 与 PCR 分析,结果表明,回肠末端的细菌种群密度最大,结肠各部分的细菌数量没有显著差异。大肠部分的双歧杆菌的数量要明显多于回肠末端,而乳酸菌在大肠末端占据了主导地位。他们推断,致病菌在肠道内的点特异性定殖可能是造成一些大肠疾病的原因。

此外,Nadal 等<sup>[17]</sup>也曾运用 PCR-DGGE 技术对乳糜泻患儿十二指肠微生物群落结构组成的不平衡性进行测定。随着 PCR-DGGE 分析技术在人类身上利用的增加,人们会对自身特别是胃肠道内微生物群落结构有更深入的了解,这对于我们更好的利用有益微生物,抑制有害种类以及合理的预防和治疗相关疾病大有裨益。

### 3 PCR-DGGE 技术存在的缺陷

PCR-DGGE 技术是一种快速可靠的比较细菌群落的方法,在具有许多独特优越性的同时也存在着一些缺陷。比如:由于不能确切了解样品中大量细菌的系统发育关系和群落的多样性,其敏感度相对较低。采样和样品处理可能会使 DNA 提取产生误差<sup>[18]</sup>,模板和扩增引物的选择、处理片段大小的限制(不超过 1 Kb)、电泳条件以及微生物不同序列 16S rDNA 基因多拷贝的存在,都会对 PCR-DGGE 分析结果产生影响。只有占整个群落细菌数量约 1%或以上的类群能够通过 DGGE 检测到。同时有些细菌具有多操纵子,DGGE 能将其在

PCR时形成的不同序列分离开,可能过高的估计环境中的微生物多样性<sup>[19]</sup>。Buchhol-eleven等<sup>[20]</sup>发现 DGGE 很难分离只有 2~3 个核苷酸不同的 rDNA 片段。此外,在总 DNA 提取过程中,如何评价细胞裂解和 DNA 的回收效率、提取的 DNA 能否代表微生物菌群中的优势菌群等都是研究的难点。

#### 4 PCR-DGGE 技术的应用前景

尽管还存在着一些缺陷,但不可否认的是 PCR-DGGE 技术在目前仍然是最好的分析微生物群落结构的工具之一。随着核酸测序技术的不断发展、数据库中核酸序列的不断丰富,用分子手段进行微生物群落结构分析以成为传统方法不可缺少的补充,而且必将得到更加广泛的应用。另外,随着 DGGE 技术不断的改进,比如:Cloning/DGGE、GC-DGGE、Nested PCR-DGGE、DG-DGGE 四种改进的 PCR-DGGE 分析方法的出现和应用<sup>[2]</sup>,它必然会在微生物群落结构调查,分析微生物与环境、宿主之间的关系方面发挥更大的作用。

#### 参考文献:

- [1] 项丽,唐建设. 变性梯度凝胶电泳(DGGE)在环境微生物生态中的应用[J]. 安徽农学通报, 2007, 13(15):28-30.
- [2] 徐玲玲,刘亚洁,李江,等. 变性梯度凝胶电泳在微生物多样性分析中的应用及其技术发展[J]. 华东理工学院学报, 2007, 30(3):279-282.
- [3] 朱南山,李丽立,张彬. 变性梯度凝胶电泳技术的原理及其在畜牧业中的应用[J]. 广东畜牧兽医科技, 2007, 32(2):14-16.
- [4] 单国彬,金文标,刑新会,等. 变性梯度凝胶电泳在环境微生物生态学中的应用[J]. 生态学杂志, 2006, 25(10):1257-1264.
- [5] Chriatian W, Thomas H, Gerhard K, et al. Longitudinal Changes in the Bacterial Community Composition of the Danube River: a Whole-River Approach[J]. Applied And Environmental Microbiology, 2007, 73(2):421-431.
- [6] Riemann L, Leitert C, Pommier T, et al. The Native Bacterioplankton Community in the Central Baltic Sea Is Influenced by Freshwater Bacterial Species[J]. Applied And Environmental Microbiology, 2008, 74(2):503-515.
- [7] Chu H, Fujii T, Morimoto S, et al. Community Structure of Ammonia-Oxidizing Bacteria under Long-Term Application of Mineral Fertilizer and Organic Manure in a Sandy Loam Soil[J]. Applied And Environmental Microbiology, 2007, 73(2):485-491.
- [8] Hilyard E, Jones-Meehan J, Spargo B, et al. Enrichment, Isolation, and Phylogenetic Identification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Degrading Bacteria from Elizabeth River Sediments[J]. Applied And Environmental Microbiology, 2008, 74(4):1176-1182.
- [9] Perreault N, Andersen D, Pollard W, et al. Characterization of the Prokaryotic Diversity in Cold Saline Perennial Springs of the Canadian High Arctic[J]. Applied And Environmental Microbiology, 2007, 73(5):1532-1543.
- [10] Karnati S, Sylvester J, Noftsger S, et al. Assessment of Ruminant Bacterial Populations and Protozoal Generation Time in Cows Fed Different Methionine Sources[J]. Journal Of Dairy Science, 2007, 90(2):798-809.
- [11] Lovanh N, Cook K, Rothrock M, et al. Spatial Shifts in Microbial Population Structure Within Poultry Litter Associated with Physicochemical Properties[J]. Poultry Science, 2007, 86:1840-1849.
- [12] Zhou H, Gong J, Brisbin J, et al. Appropriate Chicken Sample Size for Identifying the Composition of Broiler Intestinal Microbiota Affected by Dietary Antibiotics, Using the Polymerase Chain Reaction-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis Technique[J]. Poultry Science, 2007, 86:2541-2549.
- [13] Manninen T, Rinkinen M, Beasley S, et al. Alteration of the Canine Small-Intestinal Lactic Acid Bacterium Microbiota by Feeding of Potential Probiotics[J]. Applied And Environmental Microbiology, 2006, 72(10):6539-6543.
- [14] Ruth G, Peter G, Sharon A, et al. Molecular Analysis of the Subgingival Microbiota in Health and Disease[J]. Applied And Environmental Microbiology, 2007, 73(2):516-523.
- [15] Beatrice V, Ciro P, Elena B, et al. Dynamics of Vaginal Bacterial Communities in Women Developing Bacterial Vaginosis, Candidiasis, or No Infection, Analyzed by PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis and Real-Time PCR[J]. Applied And Environmental Microbiology, 2007, 73(18):5731-5741.
- [16] Shakil A, George T, Alemu F, et al. Mucosa-Associated Bacterial Diversity in Relation to Human Terminal Ileum and Colonic Biopsy Samples[J]. Applied And Environmental Microbiology, 2007, 73(22):7435-7442.
- [17] Nadal I, Donant E, Ribes-Koninckx C, et al. Imbalance in the Composition of the Duodenal Microbiota of Children with Coeliac Disease[J]. Journal Of Medical Microbiology, 2007, 56:1669-1674.
- [18] Zoetendal E, Ben K, Akkermans A, et al. DNA Isolation Protocols Affect the Detection Limit of PCR Approaches of Bacteria in Samples from the Human Gastrointestinal Tract[J]. Syst Appl Microbiol, 2001, 24(3):405-410.
- [19] Muyzer G, Waal E, Uttrilinden A. Profiling of Complex Microbial Populations by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis Analysis of Polymerase Chain Reaction Amplified Genes Coding for 16SrRNA[J]. Appl Environ Microbiol, 1993, 59(3):695-700.
- [20] Buchhol-Eleven B, Rattunde B, Straub K. Screening for Genetic Diversity of Isolates of Anaerobic Fe(II)-oxidizing Bacteria Using DGGE and Whole Cell Hybridization[J]. Syst Appl Microbiol, 1997, 20:301-309.

# 半胱胺对动物机体的免疫调节及抗氧化作用的研究进展

洪 军<sup>1</sup>, 胡建业<sup>2</sup>

(1. 华南农业大学动物科学学院, 广东 广州 510642; 2. 河南城建学院生物工程系, 河南 平顶山 467001)

**摘要:** 半胱胺是一种新型的饲料添加剂, 具有广泛的生物学功能。它能提高机体免疫球蛋白含量, 促进淋巴细胞增殖和细胞因子产生, 增强吞噬细胞的吞噬功能及改善机体的抗氧化功能。本文针对半胱胺对动物机体的免疫调节及抗氧化功能进行了阐述。

**关键词:** 半胱胺; 免疫; 抗氧化

**中图分类号:** S816.7

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2009)05-0020-03

近年来, 通过营养调控来增强动物机体的免疫力、提高动物的生长性能及改善胴体品质等成为饲料行业研究的热点。大量的研究表明半胱胺(CS)是一种有效的生长抑素(SS)耗竭剂<sup>[1-2]</sup>, 通过抑制体内SS的免疫活性和生物学功能来间接提高动物生长激素(GH)的浓度, 促进畜禽生长, 提高饲料转化率, 改善胴体品质, 提高动物的免疫力; CS还是一种重要的抗氧化剂<sup>[3]</sup>。本文针对CS对动物机体的免疫及抗氧化作用作一阐述。

## 1 CS对动物机体免疫功能的影响

大量研究表明, CS可直接或间接通过激素改变来影响机体的免疫功能。一方面, 免疫功能与体内生长轴密切相关, 由于CS可直接与SS作用, 通过改变SS的构型(二硫键)来耗竭体内SS免疫活性<sup>[1]</sup>, 从而解除SS对机体免疫的抑制作用, 提高生长激素(GH)、甲状腺素T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub>和胰岛素样生长因子(IGF)水平, 后者直接刺激淋巴因子释放(Bozzola, 2003); 另一方面, 通过CS解除SS与消化相关的一些激素或酶对营养物质的抑制作用, 来促进机体对营养物质的吸收和利用, 从而提高机体免疫功能<sup>[4]</sup>。

### 1.1 CS对动物机体的细胞免疫及体液免疫作用

CS能提高血清免疫球蛋白IgG、IgA水平, 促进淋巴器官的发育和淋巴细胞的转化及增殖, 缓解动物的术后应激, 从而提高机体的细胞免疫和体液免疫。王建峰等(2005)报道外源CS能改善衰老小鼠的细胞免疫和体液免疫应答。在体外培养大鼠免疫细胞研究中表明, 添加CS对淋巴细胞自然分

裂及PHA诱导的分裂均有较强的促进作用<sup>[5]</sup>。Bryant等<sup>[6]</sup>连续3d给小鼠灌服低剂量CS(12.5 mg/kg体重), 显著提高了淋巴细胞转化功能, 而高剂量CS(300~400 mg/kg体重)则抑制了小鼠淋巴细胞转化, 这可能与高剂量CS对细胞产生一定的细胞毒性有关。此结果表明, 添加CS对动物淋巴细胞转化功能的影响有双向调节作用, 与添加剂量密切相关。刘智等<sup>[7]</sup>在新生三元杂交仔猪进行的45天试验表明, 添加CS(200 mg/kg)显著提高了断奶后仔猪血清IgA、IgG含量及白细胞吞噬率和T-淋巴细胞转化率。金光明等<sup>[8]</sup>报道日粮中添加CS具有促进草杂鸡脾脏和法氏囊淋巴器官的发育作用。CS也能缓解动物的应激反应, 提高动物的免疫力。如解红梅<sup>[9]</sup>报道口服半胱胺盐酸盐可以阻止术后山羊的淋巴细胞转化能力和IL-2水平的下降, 从而缓解了由于手术创伤导致的细胞免疫抑制。

已有研究表明CS对免疫功能的调节与许多细胞因子有关, 如CS可以提高细胞因子IL-2、IL-6的浓度, 降低炎性细胞因子如TNF- $\alpha$ 的释放及巨噬细胞的吞噬功能。IL-2主要是促进T细胞的增殖分化及细胞因子的生成, IL-6能促进B细胞的分化。通过细胞因子的水平来改善机体的免疫能力。沈赞明等<sup>[10]</sup>报道在泌乳中后期奶牛中添加半胱胺盐酸盐不仅增加了奶牛的泌乳量, 也促进了淋巴细胞增殖、提高了淋巴因子IL-2和IL-6浓度。王恩秀等<sup>[11]</sup>对160gSD大鼠每周口服CS一次(100 mg/kg体重)处理后, 巨噬细胞吞噬

功能显著提高( $P < 0.05$ );白细胞介素-2(IL-2)水平略有上升,但肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )略有下降。Lian等<sup>[12]</sup>对肉鸡(NDV+CS20 mg/kg)处理后,与仅用NDV(新城疫弱毒疫苗)免疫的对照组肉鸡相比,脾脏和十二指肠中IL-2的水平显著增高,说明添加CS提高了肉鸡的细胞免疫作用。

**1.2 CS对动物机体粘膜免疫功能的影响** 有研究表明CS能提高机体的粘膜免疫功能。粘膜免疫系统是机体免疫系统的重要部分,sIgA在保护机体免受粘膜表面的微生物侵袭方面起着非常重要的作用,其合成与抗原递呈及周围环境中的细胞因子均有很大关系。iIEL参与免疫监视和第一线的防御,能杀伤对NK不敏感的靶细胞,也可杀伤病毒感染及肠道中外源性抗原的致敏作用。Yang等<sup>[13]</sup>对肉鸡经NDV和CS处理后3周和5周,发现十二指肠和空肠中IgA阳性细胞数量和iIEL细胞数量显著增加,此结果表明CS可通过提高小肠粘膜中sIgA阳性细胞和iIEL的分化和增殖来提高鸡的粘膜免疫力。同样地,杨倩(2002)和练高建(2005)等研究也得到类似结果。CS可增强动物粘膜免疫力,有望发展成为一种新型的粘膜免疫佐剂,在预防家禽传染病中应用。

**1.3 CS对动物机体的非特异性免疫作用** 在水生动物中也有报道适量添加CS能提高机体的血清溶菌酶含量。溶菌酶作为机体非特异性免疫因子之一,参与机体多种免疫反应,能提高机体抵抗力。如赵燕等<sup>[14]</sup>在中华鳖饲料中添加500 mg/kg CS时能显著提高血清溶菌酶含量( $P < 0.05$ ),但随着CS添加量的增高,血清溶菌酶活性呈下降趋势,此结果表明,适量添加CS能够提高中华鳖非特异免疫力。由此可见,CS通过增强机体天然免疫屏障和激发特异性和非特异性免疫应答,来提高动物的免疫力。

## 2 抗氧化作用

机体的氧化还原状态对机体的健康起重要作用,CS分子中含有游离的巯基,具有抗氧化作用,能清除机体产生的自由基,提高血液谷胱甘肽(GSH)和超氧化物歧化酶(SOD)的浓度,并能通过GSH作用清除氧自由基(ROS),抑制脂质过氧化(LPO)(Dringen等,2003),并对DNA的损伤起修复作用。GSH是体内重要的抗氧化物质,参与细胞内氨基酸转运、糖代谢和DNA合成调节,在拮抗外

源性毒物、氧自由基损伤、调节机体免疫功能、维持细胞蛋白质结构和功能、抑制细胞凋亡等方面发挥着重要作用。GSH也可以作为GSH-Px的反应底物或者直接反应消除过氧化产物。SOD是生物体内重要的抗氧化酶,具有特殊的生理活性,是生物体内清除自由基的首要物质。它可对抗与阻断因氧自由基对细胞造成的损害,并及时修复受损细胞,复原因自由基造成的对细胞伤害。CS也在防治动物心血管和中枢神经系统疾病,维护神经、免疫和生殖的正常功能等方面发挥着重要的生理作用。Sophia<sup>[15]</sup>报道表明CS是含巯基的小分子化合物,易进入细胞,羧化后形成半胱氨酸,为GSH的合成提供底物,提高了GSH与谷胱甘肽氧化型比值,从而提高机体的抗氧化能力。

有资料表明过多的自由基对机体的蛋白质、各种酶类、DNA、细胞膜等都有破坏作用,导致机体代谢混乱,加速机体衰老。而疾病、衰老、应激等因素均可引起细胞DNA损伤。据王建峰等<sup>[16]</sup>在D-半乳糖诱导的衰老小鼠试验中表明,在日粮中添加不同剂量的CS均能不同程度地降低由衰老导致的胸腺淋巴细胞DNA的损伤或加速DNA损伤的修复。添加剂量为45 mg/kg CS效果最好,但关于在日粮中添加外源CS能减轻胸腺淋巴细胞DNA损伤的作用很可能与其调节DNA损伤修复相关基因的表达有关,这有待于从分子水平作更深入的研究。

CS能通过有效提高胃粘膜抗氧化能力和线粒体内总腺苷酸含量,来抑制大鼠的胃黏膜损伤<sup>[17]</sup>,也能通过提高过氧化氢酶(CAT),SOD,GSH-PX的3种抗氧化酶的活力,来清除体内自由基,使机体的抗氧化酶避免损伤(王建峰,2005)。Holly等<sup>[18]</sup>表明CS能通过降低自由基的产生,提高体内巯基含量来改善机体氧化还原状况。同样,王海梅<sup>[19]</sup>报道日粮中添加80 mg/kg CS能显著提高肉仔鸡和贫血大鼠的抗氧化能力,添加适量CS也能提高中华鳖的抗氧化能力,但不同添加方式及剂量之间无显著性差异<sup>[13]</sup>。

有试验表明,在体外细胞培养中添加CS能通过提高细胞内GSH水平来促进细胞的发育。如He等<sup>[20]</sup>体外试验表明适量CS(0.01 g/L)能刺激山羊羔肠上皮细胞的DNA合成、提高了总抗氧化能力和GSH的浓度,此结果表明CS对断奶山羊的肠上皮

细胞的功能发育有调节作用。Mohammadi 等<sup>[21]</sup>在体外培养中添加 100  $\mu$  MCS 时能显著提高 ICR 小鼠的中期卵母细胞中 GSH 水平, 当添加高剂量 (500  $\mu$  M) CS 时 GSH 浓度较对照组低, 但无显著差异。此结果表明体外培养中添加 CS 能影响卵母细胞的发育并与剂量呈依赖关系。CS 作为一个重要的抗氧化剂在哺乳动物细胞中能通过 GSH 合成来提高胚泡破裂和中期卵母细胞发育。

但对添加外源 CS 对机体抗氧化能力的影响也有不一致的报道, 徐瑞雪等<sup>[3]</sup>在肉鸡实验中表明, 日粮添加一定量的 CS 可提高血浆中 SOD 和 GSH-PX 的活性, 但降低了血浆中总抗氧化能力及 GSH 含量, 此结果表明添加 CS 降低了机体的抗氧化能力, 可能原因是肉鸡体内 GSH-PX 和 SOD 活性增加不足以清除 CS 所诱导产生的过氧化产物, 严重消耗了体内的 GSH, 造成氧化损伤, 并且损伤程度与添加剂量有关, 添加剂量为 60 mg/kg 氧化损伤最重。朱建津等<sup>[22]</sup>也报道在高能日粮中添加 CS, 对大鼠血浆和肝脏中的氧化指标影响不明显。这些报道不一致的原因, 可能与添加方式、剂量及作用时间长短等有关。

### 3 展望及有待解决的问题

CS 是一种新型的饲料添加剂, 具有良好的应用前景。由于无种属差异性, 适用范围广, 应用方便, 成本低廉, 作为一种较好的生长调节剂已被广泛地应用到动物生产中。但对于动物机体免疫及抗氧化功能方面的报道仍需进一步更深入的研究, 如 CS 低剂量的抗氧化作用和高剂量的氧化作用; 低剂量的肝脏保护作用和高剂量的肝脏毒性作用。因此如何确定最佳剂量问题, 添加方式问题, 作用时间问题, 加工工艺问题以及从分子和细胞水平上研究免疫和抗氧化机制问题, 需要进一步研究。

#### 参考文献:

[1] 刘均利. 半胱胺耗竭体内生长抑素及其机制[J]. 生理科学进展, 1900, 21(3): 271-274.  
 [2] Szabo S, Reichlin S. Somatostatin in rat tissue depleted by cysteamine administration[J]. Endocrinology, 1981, 109(3): 2255-2257.  
 [3] 徐瑞雪, 李建亮, 李同树. 日粮中添加半胱胺对肉鸡血浆中抗氧化指标的影响[J]. 家畜生态学报, 2005, 26(6): 13-16.  
 [4] 刘贵莲, 王之盛, 周安国. 新型饲料添加剂—半胱胺[J]. 饲料工业, 2006, 27(22): 4-8.  
 [5] 王恩秀, 陈伟华, 李燕, 等. 半胱胺和几种激素对大鼠免疫功能

的影响[J]. 中国兽医杂志, 2003, 39(5): 10-11.  
 [6] Bryant H U, Holaday J W, Bernton E W. Cysteamine produces dose-related bidirectional immunomodulatory effects in mice[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1989, 249(2): 424-429.  
 [7] 刘智, 徐雪松, 刘丽, 等. 半胱胺对仔猪免疫机能的调节作用[J]. 中国畜牧兽医, 2007, 34(5): 18-21.  
 [8] 金光明, 于娟, 冯林, 等. 半胱胺对草杂鸡生长性能及淋巴器官发育的影响. 安徽科技学院学报[J], 2008, 22(6): 1-4.  
 [9] 解红梅. 半胱胺盐酸盐和两种必需氨基酸对山羊细胞免疫功能的影响[D]. 南京农业大学, 2004.  
 [10] 沈赞明, 张荣飞, 解红梅, 等. 半胱胺盐酸盐对泌乳 20~42 周奶牛产奶性能和部分免疫指标的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2005, 36(7): 667-673.  
 [11] 王恩秀, 陈伟华, 李燕, 等. 半胱胺对大鼠生长及免疫的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2002, 33(6): 555-558.  
 [12] Lian GaoJian, Yang Qian. Effects of cysteamine on the level of IL-2 in the spleen and duodenum of chicken[J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2005, 25: 49-51.  
 [13] Yang Q, Lian G, Gong X. Enhancement of Mucosal Immune Responses in Chickens by Oral Administration of Cysteamine[J]. Poultry Sci, 2007, 86(7): 1323-1328.  
 [14] 赵燕, 代兵, 李传普, 等. 半胱胺对中华鳖生长性能和非特异性免疫功能的影响研究[J]. 动物营养学报, 2007, 19(3): 305-310.  
 [15] Sophia Hober. Insulin-like growth factors I and II are unable to form and maintain their native disulfides under in vivo redox conditions[J]. FEBS Letters, 1999, 443: 271-272.  
 [16] 王建峰, 乐国伟. 半胱胺对衰老小鼠胸腺淋巴细胞 DNA 损伤的影响[J]. 饲料工业, 2006, 27(12): 36-38.  
 [17] 陈群, 乐国伟, 施用晖, 等. 半胱胺对吡啶美辛诱发的大鼠胃粘膜溃疡的保护与抗氧化研究[J]. 河北农业大学学报, 2007, 30(6): 86-93.  
 [18] Holly S, Sheldon RA, Ferriero DM. Cysteamine eliminates nitric oxide synthase activity but is not protective to the hypoxic-ischemic neonatal rat brain[J]. Neuroscience Letters, 1996, 213: 41-44.  
 [19] 王海梅. 半胱胺对机体抗氧化能力及血红蛋白含量、铁利用的影响研究. 江南大学的硕士论文, 2006.  
 [20] He Jun Shen ZanMing Yang Qian Effects of cysteamine on growth and antioxidation of small intestine in weaned goat lambs[J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2007, 27(6): 887-892.  
 [21] Mohammadi R A, Noori M M H, Pasbakhsh P, et al. Intracytoplasmic glutathione level in MII oocyte during in vitro maturation of germinal vesicle: effect of cysteamine[J]. DARU—Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, 2007, 15(1): 12-16.  
 [22] 朱建津, 乐国伟, 施用晖, 等. 半胱胺对大鼠血脂代谢和抗氧化能力的影响[J]. 浙江农业学报, 2007, 19(1): 25-28.

# 惠州某猪场繁殖成绩分析

李彦超

(博罗县温氏畜牧有限公司, 广东 惠州 516157)

**摘要:** 公猪精液、人工授精操作过程、妊娠母猪的饲养管理、产房母猪产前产后护理、人员稳定性等一系列因素, 均能影响到一个猪场的繁殖成绩。如果猪场的繁殖成绩长期低于正常水平, 那很有可能是某一关键环节出现重大问题; 但如果是成绩不稳定, 忽高忽低, 则很有可能是细节管理和人员管理不到位。本文对某猪场 18 个月的配种分娩率和窝均产总仔数, 以及 6 个月失配率原始数据的分析, 找出该猪场繁殖成绩差的主要原因, 并提出自己的一些建议。

**关键词:** 猪场; 繁殖成绩; 对策

中图分类号: S814

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2009)05-0023-04

该猪场坐落在惠州市龙门县境内, 存栏基础母猪 1 800 头, 共分两条生产线, 猪场饲养公猪自制精液, 采用人工授精方式输精。饲料为本公司生产的全价粉料, 妊娠猪分为 4 个生理阶段饲喂。种猪的疫苗免疫主要针对猪瘟、猪伪狂犬病、猪繁殖与呼吸综合征, 猪乙脑和猪细小病毒病采用季节性免疫。该猪场 2007 年 9 月份以前繁殖成绩一直较差, 之后逐渐好转, 但仍不理想。本文统计了猪场 2007 年 1 月至 2008 年 6 月的原始生产数据, 根据笔者的生产实践经验进行分析, 并提出针对性的对策。

## 1 分析方法与步骤介绍

本文所使用的分析方法和步骤, 参考了《用频率分布法分析母猪返情的主因素, 提高规模猪场的配种分娩率》一文(闫之春, 2005), 主要从原始数据的分析入手, 以期找出影响生产的关键因素。

### 1.1 查找猪场原始数据记录 具体原始记录主

要包括: 断奶后、初配时, 发情鉴定见到第一次安定发情的时间; 配种时间; 品种品系; 妊娠检查发现返情时, 距本次配种见到第一次安定发情的天数; 胎次; 返情时母猪有无外阴流脓或体温上升。

**1.2 发现失配时猪只的怀孕天龄和胎次分类** 怀孕天龄主要分为以下几个阶段: <18 天; 19~23 天(归为 21 左右正常返情); 24~39 天(异常返情); 40~44 天(42 天左右正常返情); 45~105 天(中期返情, 假孕、流产); 106 天后(假孕、流产、早产)。胎次分类: 1 胎初配; 2 胎; 3~5 胎; 6 胎以上。

**1.3 主要分析步骤** 原始数据按照以上方法分类; 计算出各类型(时间组、胎次)返情母猪的比例; 做频率分布表, 找出主要问题; 对存在主要问题进行分析, 并找出对策。

## 2 该猪场繁殖成绩分析

**2.1 2007-2008 年配种分娩率分析** 由图 1 可见, 2007 年全年配种分娩率为 82.07%, 其中 8 月

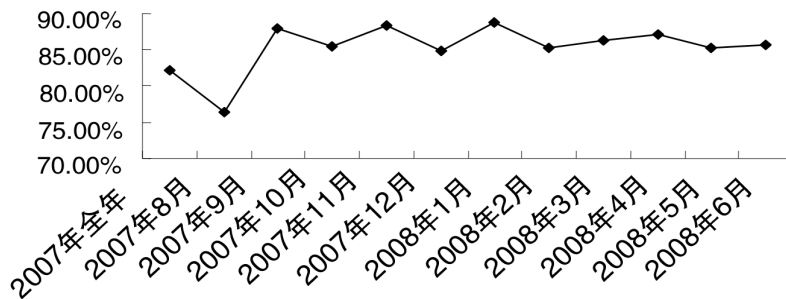


图 1 猪场 2007-2008 年配种分娩率情况

份为 76.41%，之前一直处于比较低的水平，直到 9 月份才恢复正常，达到 88.00%。从 2007 年 9 月份以来，一直处于相对正常水平，但是月份之间仍有不同程度的波动。

**2.2 2007 年 1 月~2008 年 6 月总仔数分析** 从图 2 可以看出，2007 年 9 月之前，窝均总仔一直处于 11.50 头 / 胎以下，特别是 5~7 月之间，总仔水平低于 11 头 / 胎，9 月份以后逐渐处于较高的水平，到 2008 年 3~6 月重新回落，但整体仍在 11 头 / 胎以上。

**2.3 2007 年 11 月~2008 年 4 月失配率分析** 从两条线统计的失配情况来看：①从胎次方面分析，头胎猪失配率都低于 10.00%，二胎猪都在 15.00% 以下，3~5 胎占到将近 80.00%，6 胎以上的为 0.00%，主要集中在繁殖能力最好的胎次 3~5 胎，说明失配的猪只跟胎龄过高没有关系。②从怀孕天龄来看，一线主要集中在怀孕后 19~23 天，比例占到 77.06%，怀孕后 45~105 天有 13.76% 的失配猪只；二线失配猪只主要集中在怀孕后 19~23 天、24~39 天和 45~105 天，特别是 19~23 天，比例达到 44.44%。

表 1 猪场一线失配率情况分析

项 目	胎次				合计	比例
	1胎	2胎	3~5胎	6胎以上		
怀孕天龄						
<18天	0	0	7	0	7	6.42%
19~23天	8	9	67	0	84	77.06%
24~39天	0	1	1	0	2	1.83%
40~44天	1	0	0	0	1	0.91%
45~105天	1	2	12	0	15	13.76%
106天以后	0	0	0	0	0	0.00%
合计	10	12	87	0	109	100.00%
比例	9.17%	11.01%	79.81%	0.00%	100.00%	-

表 2 猪场二线失配率情况分析

项 目	胎次				合计	比例
	1胎	2胎	3~5胎	6胎以上		
怀孕天龄						
<18天	0	1	3	0	4	7.41%
19~23天	3	6	15	0	24	44.44%
24~39天	0	0	14	0	14	25.93%
40~44天	0	0	3	0	3	5.56%
45~105天	1	0	7	0	8	14.81%
106天以后	0	0	1	0	1	1.85%
合计	4	7	43	0	54	100%
比例	7.41%	12.96%	79.63%	0.00%	100%	-

**2.4 猪场疾病情况分析** 该猪场于 2005 年底投产，投产以来，无重大流行性疾病发生，由于公司实验室于 2008 年正式运作，在此之前并无比较系统的抗体检测工作，2008 年 5 月进行了疾病抗体检测，主要对猪瘟、蓝耳病、口蹄疫三种疾病。从表中的检测结果可以看出，不同阶段猪只的猪瘟、蓝耳病、口蹄疫具有一定的抗体水平，但同时也存在有一定的隐患，主要表现在：①部分母猪猪瘟抗体水平不合格；②使用蓝耳弱毒苗的免疫，蓝耳病抗体阳性率虽高，但是抗体离散度偏高（按表 3 猪群顺序，分别为 47.15、53.12、45.47、33.27、88.75），抗体不均衡。

表 3 2008 年 4 月抗体监测结果

阳性率	断奶母猪	怀孕母猪	后备母猪	后备小母猪	成年公猪
CSFV (阻断率>40)	80.00%	85.00%	85.00%	100.00%	87.50%
PRRS (S/P>0.4)	92.50%	86.84%	90.00%	100%	50.00%
FMD (阻断率>50)	97.50%	100.00%	82.50%	100.00%	100.00%

### 3 原因分析及对策

**3.1 2007 年 8 月之前繁殖成绩分析** 该场

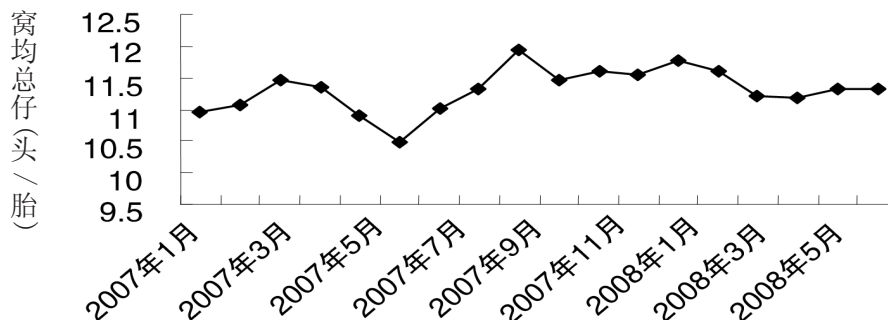


图 2 猪场 2007 年 1 月至 2008 年 6 月窝均总仔分析



2007年8月以前生产成绩较差,特别是从5~8月之间,窝均总仔在11.50头/胎以下,甚至低于11.00头/胎(5月份、6月份),配种分娩率8月份只有76.41%,怀疑与精液质量有关,就从公猪营养和青饲料方面入手改善,每天添加一定量的青饲料,另外添加一枚鸡蛋,采精后马上精检,无论是活力还是密度都保持较好的水平,但是繁殖成绩仍旧较差。

之后做一相关实验,将新鲜精液分为3份,一份使用常规稀释液(T1),一份将T1稀释液中抗生素剔除(T2),一份将T1组稀释液中的抗生素替换为另一厂家所生产(T3),采精后0 h、3 h、12 h、24 h分别进行精检,实验结果表明,在17℃恒温条件下,T1组精子3 h后基本全部死亡,T2和T3组24 h后活力和密度基本无变化,这说明抗生素的质量直接影响到精子活力。

因此,公猪精液对繁殖成绩的影响非常大,采用人工授精方式的规模化猪场,都会有比较完善的精液稀释、保存以及镜检设备,稀释液中使用抗生素的目的在于,杀灭稀释液中或在采精过程中所污染的细菌,但是如果质量不好,杂质太多,对精子则会变成一种毒药。这提示采用人工授精的一些规模化猪场,在精液稀释和保存过程中,应该不定时抽检抗生素质量稳定性。

**3.2 2007年9月份之后成绩不稳定分析** 从表1.2失配率分析结果来看,胎龄对该猪场的繁殖成绩影响不大,因为失配的种猪3~5胎龄占近80.00%,这个阶段是种猪繁殖能力最好的时期,这里不做阐述。该场失配猪只主要集中在怀孕后19~23天龄、怀孕后24~39天龄和45~105天龄,下面就这几个阶段猪只失配的原因进行分析。

**3.2.1 怀孕后19~23天失配分析** 怀孕后19~23天失配的母猪共120头,根据其原始记录,主要集中为空怀和返情。配种时猪只情况主要分为以下几个类型:①不明原因型:即配种时各种状态比较理想,从表面上看不出有什么问题,该类猪只共48头,占失配总数40.00%;②子宫有炎症的猪只共19头,占失配总数的15.83%;③断奶后超期不发情猪只,即断奶后10天以上仍没有表现出发情症状,需采用激素或物理处理的猪只,共12头,占10%;④配种时状态不好的猪只:主要有两种情况,即配时不定和配后精液倒流严重,共17头,占失

配总数14.16%;⑤其他:有返情猪只配种、超期断奶猪只配种、断奶后当天异常发情猪只配种等。

根据以上几种情况分析,导致失配率高的主要原因是:①配种舍配种人员,为了追求每个月的配种数(很多规模场有比较规范的月度配种计划),将状态不好的猪只强行配种,导致21天内返情或空怀;技术不过硬,配种时操作不过关,发情良好的母猪没有怀孕,21天后空怀或返情。②在配种猪只转入怀孕舍的21天内,猪只应激过大,例如过度驱赶、注射应激、整个喂料过程时间太长、舍内温度过高等,导致猪只流产或胎儿被吸收,从而表现出返情或空怀。③配种时已经有炎症的猪只,主要原因在产房。饲养员对母猪产中、产后护理不到位,分娩过程或分娩后感染细菌形成;另外一种情况是在断奶后4~7天内发情阶段,配种舍卫生太差,子宫开张而感染细菌形成。

**3.2.2 怀孕后24~39天失配原因分析** 该场怀孕后24~39天失配主要集中在二线,一线只有2头。根据记录分析:不明原因型共7头;疾病原因发烧、不吃料、流产共2头;配时有炎症的母猪3头;其他类型4头。

导致该场24~39天失配的主要原因有:①怀孕舍饲养员的妊娠鉴定疏漏,这部分体现在配时有炎症的猪只和部分不明原因型的猪只。配时有炎症的猪只,可能根本没有怀孕,而饲养员在做妊娠鉴定时却没有发现;②由于猪瘟疫苗免疫出现漏洞或母猪本身存在隐性感染,没有表现临床症状,但引起繁殖障碍,导致中期空怀、流产等。

**3.2.3 怀孕后45~105天失配原因分析** 该阶段失配猪只共23头,失配原因主要有:不明原因型共15头,占65.27%;发烧、流产、突然死亡5头,占21.73%;其他3头。

导致该场怀孕后45~105天失配的主要原因:①配种舍和怀孕舍饲养员的妊娠鉴定存在严重漏洞,因为空怀猪只不可能留到45天龄以后才鉴定;②发烧、流产等也占到该阶段失配总数21.73%,可能由于部分猪只疫苗注射漏洞,形成抗体空白点而造成。

### 3.3 对策

**3.3.1 规范配种操作** ①定期对配种员进行查情和人工授精的理论培训及现场考核,保证其在查情及配种时不存在技术问题。②要求一线管理人

员经常到现场监督，保证配种员在操作过程中能够按照人工授精规范严格执行。③在输精过程中应该注意：挑选好调情公猪，提高输精母猪的兴奋性，输精时充分按摩，尽可能地减少精液倒流。

**3.3.2 注意怀孕母猪饲养管理细节** ①每天要求怀孕舍管理人员认真检查猪群，及时发现空怀和返情猪只。②尽量缩短怀孕猪只喂料时间。因为喂料过程中，猪只会出现咬栏、嚎叫、剧烈活动等情况。在此过程中产生大量内积热，而导致怀孕前期胚胎吸收。

**3.3.3 减少子宫炎症的发生** ①配种舍确保母猪子宫颈开张期的栏舍清洁、干燥。②产房母猪产后7天内，用消毒水擦后驱及栏舍，同时饲料中添加利高霉素5g/头。③建议炎热季节和头胎母猪做好产后吊针：第一瓶：5%葡萄糖盐水500mL+3支阿莫西林+30mL鱼腥草，第二瓶：10%葡萄糖500mL+复合VB20mL，第三瓶：甲硝唑1瓶。难产母猪多加1瓶甲硝唑。

**3.3.4 做好免疫工作，及时淘汰繁殖障碍的母猪**

作为规模化的养猪场，应该做好猪瘟、蓝耳病、伪狂犬等疫苗注射工作。对员工操作过程，应严格监控，以免漏打、打飞针等，造成免疫失败。对流产、空怀、或病态母猪，要及时采集血样进行检测，尤其关注猪瘟。如果猪瘟抗体不合格，则应该及时补注，间隔21天以后，再次检测，如果抗体仍旧不理想，则要毫不留情的进行淘汰。因为该部分猪只在种群里面，对其他种猪是一种威胁。

#### 4 小结

影响猪场繁殖成绩的因素有很多种，在一些较大规模且有一定管理基础的猪场，往往技术并不是生产的瓶颈，对生产成绩影响最大的，是最容易被忽视的细节管理和人员管理。从该场的生产数据记录来分析，2007年9月之前成绩很差是由精液稀释液中使用的抗生素杂质太多造成，其后繁殖成绩不稳定，上下波动的主要原因是配种舍输精过程操作的规范性不够，种猪妊娠期间饲养管理细节较差，以及产房母猪产后的护理工作不到位。希望广大养猪生产者引以为戒，避免犯此类错误。



(上接第13页)

低环境污染。韩斌等<sup>[13]</sup>研究玉米蛋白粉替代部分鱼粉对凡纳滨对虾抗病力及非特异性免疫力的影响，结果发现，玉米蛋白粉用量不超过15%（替代25.8%鱼粉），不影响凡纳滨对虾抗病力及溶菌酶、超氧化物歧化酶活性，从而可以降低饲料成本。此外，人们已经开始用玉米蛋白粉制备蛋白发酵粉、氨基酸(L-谷氨酸、L-亮氨酸)、玉米醇溶蛋白、玉米黄色素、玉米蛋白活性肽等产品，这些玉米蛋白粉加工产品无毒副作用，并且具有成本低、来源广、价格便宜等特点，应用前景相当可观。

#### 5 结语

玉米蛋白粉蛋白质含量高、叶黄素含量丰富、着色效果显著，在家禽中具有很高的饲用价值。利用玉米蛋白粉开发功能性食品或肽类药物，既节约了饲料资源，又降低了环境污染。充分发掘玉米蛋白粉的潜力，对推动玉米蛋白粉的深加工和工业化生产具有重要意义。

#### 参考文献：

[1] 刘兴旺, 王华朗. 玉米蛋白粉的质量控制[J]. 饲料博览, 2006, (10): 28-30.

[2] 李维锋, 姜建国, 吴亚梅. 玉米蛋白粉的营养价值及二次开发的潜力[J]. 粮油加工, 2007, (6): 115-118.  
[3] Neumann P E, Wall J S, Walker C E. Chemical and physical properties of proteins in wet-milled corn gluten[J]. Cereal Chem, 1984, 61(4): 353-356.  
[4] 林峰, 蔡木易, 易维学. 玉米蛋白深加工现状与发展趋势[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(11): 123-127.  
[5] 王红菊, 张玮. 关于玉米蛋白酶解的研究概况[J]. 呼伦贝尔学院学报, 2006, 12(2): 54-56.  
[6] 刘燕强. 玉米蛋白粉饲喂生长育肥猪试验[J]. 江西畜牧兽医杂志, 1994, (3): 35-36.  
[7] 秦旭东. 提醇玉米蛋白粉饲料喂猪效果好[J]. 农业科技与信息, 2000, (2): 33.  
[8] 郭亮, 李德发. 玉米, 玉米蛋白粉, 菜籽粕和玉米干酒糟可溶物的猪消化能值测定[J]. 饲料工业, 2000, 21(10): 29-31.  
[9] 李佩华, 周太嫣. 玉米蛋白粉对产蛋鸡饲用价值的研究[J]. 辽宁畜牧兽医, 1994, (3): 15-17.  
[10] 杨具田, 蔡应奎, 臧荣鑫, 等. 不同日粮对蛋黄色泽与蛋品质质的影响[J]. 中兽医医药杂志, 2003, 22(5): 17-19.  
[11] 富伟林. 玉米蛋白粉对提高肉鸡着色度的应用试验[J]. 上海畜牧兽医通讯, 1998, (4): 28.  
[12] 郭亮, 李德发. 玉米蛋白粉日粮纤维和能量对猪氮代谢的影响[J]. 粮食与饲料工业, 2001, (4): 34-36.  
[13] 韩斌, 华雪铭, 周洪琪, 等. 玉米蛋白粉替代部分鱼粉对凡纳滨对虾抗病力及非特异性免疫力的影响[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(8): 3566-3569.

# 桂牧一号杂交象草对奶牛生产性能影响的试验

黄 香, 文信旺, 吴 亮, 黄 遵, 郑海华, 赖景涛, 吴柱月, 李秀良, 莫柳忠  
(广西畜牧研究所, 广西 南宁 530001)

**摘要:** 根据奶牛胎次、产奶量、泌乳日龄等相近的原则选择 33 头中高产水平澳洲型荷斯坦经产奶牛, 随机分成 3 组, 每组 11 头 (即对照组, 处理 I 组, 处理 II 组), 分别饲喂桂牧一号杂交象草占青绿类饲料比例分别为 0、50%、100% 的日粮。结果表明, 日粮的各类饲料含量相同而青绿类饲料中桂牧一号所占的比例不同对奶牛的产奶量有显著的影响 ( $P < 0.05$ ), 对乳脂率、干物质率和乳蛋白率没有显著影响 ( $P > 0.05$ ), 但乳干物质率和乳蛋白率均有上升的趋势而乳脂率有下降的趋势。

**关键词:** 桂牧一号象草; 奶牛; 生产性能; 影响  
**中图分类号:** S814 **文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2009)05-0027-02

桂牧一号杂交象草是广西畜牧研究所于 1992 年采用美国引进的杂交狼尾草为母本、矮象草为父本进行有性杂交, 经多年选育获得的杂交象草。该牧草广泛应用于奶牛, 但试验报道却比较少, 本次试验旨在进一步验证其对奶牛的饲养效果, 为生产提供参考和借鉴。

## 1 试验材料和方法

**1.1 试验动物的选择和分组** 本试验于 2008 年 4-5 月在广西畜牧研究所奶牛场进行。选择体重、年龄、胎次、产奶日龄、产奶量均相近的健康澳洲型荷斯坦奶牛 33 头, 试验牛处于高中产水平 (平均产奶量为 19~22 kg/天)。随机分成 3 组, 即处理 II 组、处理 I 组、对照组, 每组 11 头牛 (见表 1)。

表 1 试验奶牛分组情况

组别	处理 I 组	处理 II 组	对照组
体重(kg)	638±16.1	632±20.7	627±18.3
月龄	56	57	59
胎次	3	3	3
产奶日龄	102.3±9.9	109.8±7.1	105.4±10.8
产奶量(kg)	19.7±3.0	20.1±2.9	20.4±2.5

**1.2 试验设计和时间安排** 试验奶牛实行定位颈枷饲养, 每天上槽 2 次, 挤奶 2 次, 自由饮水, 各种饲料分开投喂奶牛。试验奶牛日粮包括玉米、小麦麸、豆粕、棉粕、玉米蛋白、鱼粉、矿物质元素添加剂、玉米全株青贮、桂牧一号、苜蓿干草块、普通象草等。三组奶牛苜蓿干草块、玉米全株青贮及精饲料的配方和喂量均相同。青绿饲料分别为桂牧

一号杂交象草全部代替普通象草、50%代替普通象草、普通象草构成 3 个日粮组, 分别饲喂 3 组试验奶牛。试验用的桂牧一号杂交象草来源于广西畜牧研究所牧草基地。整个试验期为 40 天, 预试期为 10 天, 期间对照组日粮搭配及营养水平与试验前一致, 处理组日粮中的变化采用循序渐进式过渡, 逐步增加桂牧一号杂交象草, 到正式试验期开始时日粮为计定的搭配水平。正式试验期为 30 天, 整个试验期饲养管理保持不变。

**1.3 采食量的观察和测定项目** 试验奶牛每次放牛运动前把牛吃剩的饲料扫出, 收集称量并做好登记, 试验最后一天登记每头奶牛泌乳量、采集每头试验奶牛的牛奶样品, 进行乳脂率、乳蛋白率、乳干物质率的测定。

**1.4 试验数据的统计** 采用方差分析和 F 检验来评定各组奶牛产奶量的差异显著性, 采用 LSD 法进行多重比较。

## 2 结果与分析

各组试验奶牛都按预定的日粮供给量采食, 剩余饲料很少, 绝大多数是难以消化利用的老草根和玉米青贮秸秆, 奶牛完全按预定的采食量采食。三组奶牛平均产奶量分别为 17.9、17.8、19.1。处理 II 组产奶量最高, 方差分析  $F$  值 = 4.20  $> F(0.05) = 3.32$ , 试验组间存在显著差异; 多重比较表明: 处理 II 与处理 I、处理 II 与对照组均差异显著, 处理 I 与对照组无显著差异 (见表 2)。各组样品的乳干物质率、乳脂率、乳蛋白率无显著差

异 ( $P>0.05$ ), 但随着桂牧一号杂交象草喂量的增加, 乳干物质率和乳蛋白率均有上升的趋势而乳脂率有下降的趋势(见表 3)。

表 2 试验奶牛产奶量

单位: kg

奶牛号	对照组	处理 I 组	处理 II 组	合计
1	17	17.1	18.6	
2	16.6	17.2	18	
3	17.2	17.8	18.5	
4	19.9	19.6	20.1	
5	18.5	17.3	19	
6	17.2	19	19.8	
7	16.5	15.7	17	
8	19.6	18.2	19.7	
9	18	18.1	21.2	
10	17	17.2	17.6	
11	19	18.2	20.3	
总和	196.5	195.4	209.8	601.7
平均	17.9	17.8	19.1	

表 3 样品测定项目结果

单位: %

项目	处理 I 组	处理 II 组	对照组
干物质率	12.21±0.08	12.24±0.04	12.20±0.05
乳脂率	3.68±0.05	3.68±0.05	3.70±0.05
乳蛋白率	3.25±0.04	3.28±0.03	3.25±0.03

### 3 讨论

奶牛乳腺合成牛奶成分所需的前体物均由日粮提供, 因此, 日粮能量和蛋白质的含量与类型都会影响牛奶乳蛋白浓度和产量<sup>[1]</sup>。此外, 日粮中各种饲料的组成和含量也有间接的影响。日粮中碳水化合物结构比是影响牛奶乳脂率的主要因素。据研究报道: 可溶性糖和淀粉要比中性洗涤纤维降解快得多, 快速降解可导致挥发性脂肪酸的积累, 使瘤胃 pH 值降低、渗透压升高, 从而纤维的降解速度降低, 造成瘤胃中乙酸比例减少, 而丙酸比例增加, 最终导致乳脂率的降低<sup>[2]</sup>。桂牧一号与普通象草比较, 其中的可溶性糖含量丰富, 随着桂牧一号在日粮中比例的增加, 纤维降解速度降低, 因而乳脂率有下降的趋势。但三种日粮中结构性碳水化合物和非结构性碳水化合物的比例相差不大, 因而乳脂率没有显著差异。桂牧一号杂交象草粗蛋白含量稍高于普通象草, 这可能是饲喂桂牧一号的奶牛所产的牛奶中含蛋白质略高些的原

因。奶牛产奶量的高低取决于日粮营养水平和饲养管理方法, 本次试验所在牛场虽未能采用全混合日粮饲养奶牛, 但仍重视日粮的搭配和饲养的方式。日粮的配合参照中国奶牛饲养标准, 在饲养时先粗后精, 然后各种粗饲料交替饲喂, 饲喂奶牛的牧草保证一定长度的纤维, 奶牛日粮中含有优质的青贮饲料、豆科干草等。桂牧一号杂交象草中丰富的粗蛋白质、糖、必需氨基酸、维生素、酶类物质、叶绿素等营养素是其他饲料无法替代的, 青粗饲料所供给的干物质占日粮干物质的 55%~60%。以上条件保证了产奶量和各种产奶性能指标的正常发挥。如果在此基础上更深入地研究日粮原料的选择和配比, 保证各养分的互补和平衡, 必能发挥奶牛的更大的生产潜力。

### 4 结论

采用三组日粮(桂牧一号杂交象草在日粮的青绿饲料中占的比例分别为 0.50%、100%) 分别饲喂三组同水平条件下的澳洲荷斯坦奶牛。三组间的平均产奶量水平为: 处理 II 组 > 处理 I 组, 处理 II 组 > 对照组, 处理 II 与对照组及处理 II 与处理 I 组之间均存在显著差异 ( $P<0.05$ ), 处理 I 组与对照组间无显著差异 ( $P>0.05$ ); 三组奶牛平均的乳干物质率、乳脂率、乳蛋白率无明显差异。试验结果表明: 与其他二组比较, 采用桂牧一号杂交象草全部替代普通象草, 其日粮的结构和所含的营养水平更适合奶牛的需要, 使其产奶性能得到了进一步的发挥。

### 参考文献:

- [1] 任鹏译. 合理调配奶牛日粮提高奶蛋白产量[J]. 国外畜牧科技, 1992, (1): 26-28.
- [2] 王加启. 现代奶牛养殖科学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006. 195-198.
- [3] 广西畜牧研究所. 广西畜牧研究所科技论文选[M]. (1996-2000): 198.
- [4] 梁英彩, 滕少花. 桂牧一号等三种牧草饲养山羊试验研究[J]. 草业科学, 2000, (3): 51-52
- [5] 滕少花, 梁英彩. 鹅的圈养效果和几种优质高产牧草[J]. 广西农业科学, 2003, (1): 44-45
- [6] 梁明振, 程红娜. 合浦灰鹅饲喂桂牧一号牧草的营养价值评定[J]. 中国草食动物, 2005, (1): 31.
- [7] 滕少花, 梁英彩. 桂牧一号杂交象草对乳牛产奶量的影响[J]. 草业科学, 2004, (10): 47-48.

# 伟德山土著菌对育肥猪生产性能的影响

王霞光, 陈丽芳, 初义刚, 刘 鹏, 李东阳  
(山东省荣成市畜牧兽医站, 山东 荣成 264300)

中图分类号: S814

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2009)05-0029-01

荣成市地处胶东半岛最东端, 属温带季风型湿润气候区, 四季分明, 伟德山是当地最大的山脉, 野生动植物资源丰富, 植被茂盛, 森林覆盖率达 80%, 生态环境保护较好, 在适宜的生态环境中采取土著菌作为母种, 扩繁后与其他材料配比制作发酵床用于育肥猪的饲养, 本试验旨在探讨用伟德山土著菌养猪与传统养猪对育肥猪生产性能的影响。

## 1 材料与方法

**1.1 试验材料** 试验中铺设发酵床所用菌种是以采自荣成市伟德山地区的土著菌为母种, 扩繁后按比例使用, 每克干物质含有益菌 35.6 亿以上。

**1.2 日粮饲料配方与营养水平** 日粮配方根据育肥猪营养需要, 结合猪场实际条件设计为玉米 65%、豆粕 11.3%、麸皮 16.3%、棉籽饼 3%、骨粉 3.1%、食盐 0.3%、预混料 1%; 营养水平为消化能 12.72 MJ/kg, 粗蛋白 13.82%。

**1.3 试验设计与试验动物** 本试验采用单因子完全随机设计, 试验设 2 个处理: 处理 1 为对照组, 采用传统饲养法; 处理 2 为试验组, 采用伟德山土著菌铺设发酵床饲养。

试验选用同一批次购进的体重基本一致、健康状况良好的 2 月龄仔猪 160 头, 随机分为两组, 每组 80 头, 平均分养在 10 个圈内。试验共分两个处理组, 分别为对照组和试验组, 每个处理组设 10 个圈即 10 个重复, 每个重复 8 头猪。经显著性检验两处理组猪初重无显著性差异(见表 1)。

**1.4 饲养管理** 两处理组试验猪饲养管理方法相同, 同样的饲料原料、同一饲料配方进行饲养, 饮水采用自动饮水器。试验猪的驱虫免疫按试验场的常规进行操作。

**1.5 数据采集与观测指标** 于试验的开始、试验结束时, 以圈为单位, 称猪重, 计算每圈猪平均体重, 同时对饲料消耗进行结算。

## 2 试验时间和地点

试验时间为 2009 年 1 月 15 日至 2009 年 4 月 19 日, 历时 94 天。试验地点是荣成市东山街道龙山后猪场。

## 3 试验结果与分析

所有的数据用 SPSS 软件进行分析。试验猪初重、末重、耗料及料肉比情况见表 1。

**3.1** 由表 1 中可知, 采用伟德山土著菌养猪, 试验组与对照组末重差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

**3.2** 由表 1 显示, 采用伟德山土著菌养猪, 整个育肥期试验组耗料显著低于对照组耗料, 差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

**3.3** 由表 1 显示, 采用伟德山土著菌养猪, 育肥期料肉比试验组为 2.928, 显著低于对照组为 3.252, 差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

## 4 结论

本试验发现利用伟德山土著菌为核心原料铺设发酵床饲养育肥猪, 可以使育肥猪的出栏体重显著增加, 饲料消耗与料肉比大幅度降低, 从而大大提高了育肥猪的生产性能, 值得推广应用。

表 1 试验猪初重、末重、耗料及料肉比情况分析

项目	初重 (kg)	末重 (kg)	耗料 (kg)	料肉比
对照组	30.02±0.7653	117.66±0.9640	285.66±1.2633	3.252±0.0098
试验组	29.96±0.7373	122.79±0.9421	270.63±1.0166	2.928±0.1252
P值	0.4827>0.05	4.82E-10<0.01	1.21E-16<0.01	9.84E-23<0.01

# 猪病毒性腹泻的防控措施

李中兴, 毛雪红

(广东省湛江农垦畜牧有限公司幸福分公司, 广东 雷州 524261)

中图分类号: S856.4

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2009)05-0030-01

在养猪业中,每年冬春寒冷季节,都有部分猪场发生病毒性腹泻,使养猪业造成极大损失。现将笔者在临床上诊治猪病毒性腹泻经验总结如下,供养猪同行参考。

## 1 猪病毒性腹泻病原及流行特点

猪病毒腹泻主要有三种病原:猪传染性胃肠炎病毒、猪流行性腹泻病毒和猪轮状病毒。三种病毒致病机理非常相似,临床上表现相近。其中最严重的为猪传染胃肠炎引起的腹泻,猪流行性腹泻仅次之,而猪轮状病毒比前两种病毒引起的腹泻,较缓和些。同时病毒性腹泻病原混合感染也普遍存在,很多病例同时发生传染性胃肠炎病毒与流行性腹泻病毒混合感染,或猪传染性胃肠炎病毒、猪流行性腹泻病毒与猪轮状病毒混合感染,有时与致病性大肠杆菌混合感染。

**1.1 猪传染性胃肠炎** 猪传染性胃肠炎是由冠状病毒科冠状病毒属的猪传染胃肠炎病毒引起的一种急性、高度接触性的肠道传染病,以厌食、呕吐、严重腹泻、脱水、导致2周龄内仔猪高死亡率为特征。各种年龄的猪均易感,新感染的猪场一旦发生本病,传播迅速,很快在全场猪群中流行。哺乳仔猪发病,会造成大批仔猪死亡。死亡率与年龄的关系甚为密切,日龄越小,病程越短,死亡率越高。如不采取有效措施,出生5天龄以内的仔猪死亡率可达100%,10日龄死亡率为50%左右,5周龄以上的猪死亡率较低,生长育成猪或种猪发病一般不会致死。本病呈地方性流行,有明显的季节性,尤其在秋冬、冬春换季,天气骤变时易发。主要通过呼吸道及消化道传播。南方的许多猪场,猪群往往在寒冷天气过后气温开始上升时发病。

**1.2 猪流行性腹泻** 猪流行性腹泻是一种冠状病毒所引起的胃肠道传染病,本病临床表现与猪传染性胃肠炎很相似。好发于冬末春初寒冷季节,以11

月至翌年3月间发生较多,夏季也偶有发生。各种年龄均可感染发病,其发病率和病死率随日龄增长而下降,1-5日内哺乳猪感染率最高,症状严重,病死率也最高,几乎100%,断奶猪、育肥猪、种猪症状轻微,病死率很低或无死亡。该病传播迅速,尤其猪只密集的猪场内,常在数日内波及全群。

**1.3 猪轮状病毒感染** 轮状病毒感染主要是多种幼龄动物的急性胃肠道传染病,婴幼儿可感染发病,临床上主要以腹泻为特征,成年人和动物一般呈隐性感染。本病分布范围广,世界各国都可发生,婴幼儿的“秋季腹泻”病就由本病感染所致。病原体为轮状病毒,在电子显微镜下各种动物轮状病毒的形态无法区别,其病毒粒子呈圆形,似车轮状,因而得名。各种年龄的动物都可感染,但幼龄期感染后症状明显,突发腹泻,而成年畜一般为隐性感染。疾病多发于晚冬至早春的寒冷季节。卫生条件不良或并发感致病性大肠杆菌或冠状病毒等加剧病情,致死率升高。

## 2 猪病毒性腹泻的防控措施

根据猪病毒性腹泻病原流行特点,必须采取综合防控措施。

### 2.1 预防

**2.1.1 猪病毒性腹泻极易传入猪场,猪场应坚持自繁自养的原则,如需要引种,则应避免从疫区或发病猪场引进,并对引进的种猪严格检疫,隔离观察1个月以上,确实无病时方可混群。禁止闲杂人员及车辆进入猪场,并做好猪场灭鼠、灭蝇等工作。**

**2.1.2 母猪在产前45天及15天左右各注射猪传染性胃肠炎与猪流行性腹泻(或猪轮状病毒)二联灭活苗,剂量为4 mL/头,要求在母猪后海穴注射,于每年10月份至翌年3月进行接种。让哺乳仔猪通过吃母乳获得抗体,有效防止该病的发**

(下转第33页)

# 孔雀大肠杆菌病的防治体会

刘东军

(新疆石河子 148 团农业科, 新疆 石河子 832048)

中图分类号: S855.1\*2

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2009)05-0031-03

孔雀大肠杆菌病是由病原性大肠埃希氏杆菌引起的传染病,各日龄孔雀均易感染。近年来随着我区孔雀养殖业的蓬勃发展,孔雀饲养量逐年提高,在马立克氏病、新城疫、法氏囊病等急性传染病普遍得到控制后,大肠杆菌病的流行显得日趋严重。孔雀大肠杆菌病导致孔雀死亡,母孔雀的产蛋率下降、种蛋孵化率降低、幼孔雀生长发育受阻,治疗费用增加等,成为困扰孔雀养殖业发展的主要障碍。由于抗生素的广泛使用,造成大肠杆菌的耐药菌株不断增加,抗生素的治疗剂量越用越大,治疗费用不断增加,给养孔雀户造成了较大的经济损失。因此及时预防和对症治疗,减少损失,有效做好大肠杆菌病的防治工作已经成为孔雀养殖户迫切需要解决的重要问题之一。

## 1 流行特点与病理变化

**1.1 脐炎型** 主要发生于新出壳的雏孔雀,多见脐孔闭合不全,脐孔周围红肿,有硬结。雏孔雀表现不活泼,抓在手中挣扎无力。时间较长者脐孔周围紫红色或紫黑色,后腹部肿大,皮肤发红或呈紫青色,拉黄白色或黄绿色稀粪,极为腥臭。病孔雀全身衰竭,闭眼垂翅不愿走动,食欲减退或废绝,出壳后3~5 d死亡率较高。剖检变化主要有:嗉囊空虚或有少量的液体。脐孔周围红肿、皮下有暗红色或黑红色液体。卵黄囊吸收不良,充满黄绿色稀薄液体;肝脏肿大,质脆,呈土黄色或暗红色,有斑驳状或点状出血。小肠胀气,粘膜充血或点状、条状出血;泄殖腔出血,充满黄白色或黄绿色稀粪。

**1.2 急性败血型** 多发于雏孔雀,以一周内的雏孔雀发病率最高。常与慢性呼吸道病混合感染。特征为发病急,病程长,死亡率高。临床症状:精神萎靡、缩颈呆立、两翅下垂、腹式呼吸、采食和饮水量减少。部分病孔雀拉灰白色、黄白色或黄绿色稀粪。有的孔雀临死前出现仰头、扭颈等神经症状。病程一般为3~25天不等,死亡率可达15%~20%;病理变化以典型的心包炎、肝周炎、腹膜炎为主要特征。

心包表面、肝脏表面和腹腔脏器的周围有黄白色、白色的坏死物。心脏表面附着纤维素性坏死增生物,表面粗糙不平。肝脏肿大、出血。肠道粘膜出血、坏死,肠管粘连,腹腔内有淡黄色或橙黄色腹水。

**1.3 卵巢、输卵管炎型** 多发于产蛋期的种孔雀,常常与沙门氏菌混合感染,呈慢性经过。病孔雀精神、食欲尚正常,拉黄白色或黄绿色粪便。孔雀群产蛋率降低,而沙壳蛋、破壳蛋、畸形蛋增多,蛋壳表面粗糙不平,蛋壳上有针尖至米粒大小不等的褐色斑点。部分病程较长的孔雀后腹部膨大、发硬、下垂,站立时成企鹅状。剖解可见卵巢发炎,卵泡变为暗红色,输卵管及泄殖腔发炎、出血,有的在输卵管内蓄积有大量硬实的干酪样卵黄物而阻塞输卵管。

**1.4 卵黄性腹膜炎型** 多见于产蛋孔雀,特征为病程长、死亡率不高但孔雀群产蛋率较低。临床表现:精神沉郁、食欲减退,后腹部膨大下垂蹲伏,手摸病孔雀腹部感觉到腹部涨满,腹压增大。剖检变化为:卵黄变稀、出血或破裂,在腹腔中弥漫着破裂的卵黄液,将腹腔内的肠管、脂肪染为蛋黄色。病程较长的病例腹腔脏器粘连,脏器间充满黄白色的干酪样坏死物。肝脏肿大,质地较硬,肠道肿胀坏死,肾脏肿大,有的肾脏充满尿酸盐结晶,呈花斑状。

## 2 诊断

根据流行病学、临床症状和剖检变化可做出初步判断。确诊需要进行实验室诊断。

### 2.1 实验室诊断

**2.1.1 细菌分离培养** 无菌采病死孔雀的肝脏、心血,接种在普通琼脂平板上,37℃培养20 h。可见形成圆形隆起、光滑、无色透明、边缘整齐的小菌落。挑取单个小菌落划线接种于麦康凯琼脂平板和伊红美兰琼脂平板,37℃培养20 h,可见麦康凯琼脂平板上长出粉红色菌落,伊红美兰琼脂平板上长出黑色带金属光泽的菌落。挑取菌落制作抹片,火焰固定染色镜检,可见两端钝圆,多数散在排列,偶尔有2~3个连在一起的革兰氏阴性短杆菌。

**2.1.2 生化试验** 选取麦康凯琼脂平板上长出的粉红色菌落或伊红美兰琼脂上长出的黑色带金属光泽的菌落,作 MR、V-P、靛基质、三糖铁、明胶液化、氧化酶、过氧化氢酶、尿素酶试验。生化试验结果各菌均对大多数糖类(葡萄糖、乳糖、麦芽糖、果糖、甘露糖、缓慢发酵蔗糖)产酸产气,MR 试验阳性、V-P 试验阴性、产生靛基质、三糖铁底层产酸、明胶液化试验阴性、氧化酶试验阴性、过氧化氢酶试验阳性、尿素酶试验阴性。

**2.2 药敏试验** 选取麦康凯琼脂上长出的红色菌落或伊红美兰琼脂上长的黑色带金属光泽的菌落,进行药敏试验。药敏纸片可购自杭州天和微生物科技有限公司。药敏实验结果为:一般对头孢哌酮钠、头孢呋辛、氧氟沙星、氟苯尼考高敏。对吉他霉素、强力霉素、丁胺卡那、恩诺沙星、环丙沙星、苯唑青霉素、庆大霉素中敏。对土霉素、氟派酸、痢菌净、复方新诺明、磺胺二甲氧苄胺嘧啶不敏感。

### 3 药物治疗

**3.1 抗生素疗法** 应用抗菌药物治疗大肠杆菌病仍是当前主要治疗措施,常用药物有:喹诺酮类、氨基糖甙类、大环内酯类等对大肠杆菌病都有一定的疗效。但由于长期小剂量预防性投药或大剂量滥用抗菌药物,尤其是低浓度的反复性预防用药诱导了大肠杆菌耐药菌株的出现。因此在治疗时应注意:(1)选择使用高度敏感的药物,最好的方法是通过药敏试验选择高敏药物。(2)没有条件进行药敏试验的饲养场,应根据以往的治疗经验选择合适的药物,同时还应避免选择单一的纯粉药物,而尽可能的选择一些复合药物进行治疗,以减少细菌耐药性产生。(3)要有足够的用药剂量和疗程,根据药物的用法选择适合的给药途径。

**3.1.1 新孵出的孔雀**注意检查脐孔周围有无红肿,发现脐孔红肿、精神萎靡的病例,用 5%碘酊消毒脐孔,2~3 次/天,连续使用 3~5 d。颈部皮下注射头孢哌酮钠 0.025~0.01 g/只,1 次/天,连用 5~7 d。病孔雀挑出组群饲养,饲养温度比同日龄的孔雀提高 1~2℃,饮水中添加电解多维。

**3.1.2 育成孔雀和成年孔雀**可以采用肌肉注射或口服抗生素治疗。胸部肌肉注射 0.25 g 头孢哌酮钠或 5 mL 10%氧氟沙星注射液或 3~5 mL 10%氟苯尼考注射液。也可以在饮水或饲料中添加氧氟沙星、替米考星等药物,同时使用大肠杆菌一次净(白头翁散)、大肠杆菌特号(主要成分:白头

翁、黄连、黄芪、茵陈等)等中药制剂作辅助治疗。

**3.2 益生菌制剂疗法** 使用抗菌素治疗疾病的同时也杀灭孔雀体内的生理性微生物,导致孔雀体内生理性微生物的平衡失调;某些细菌过度繁殖而出现定位转移,引起二重感染。采用益生菌疗法的目的是调整机体胃肠道内的微生物平衡,以达到防止疾病,同时还可避免产生耐药性。目前常用的微生态制剂有乳酸菌、产气荚膜杆菌、双歧杆菌等。这些微生态制剂有益生素、促菌生、调痢生、止痢灵等。在饲料中添加微生态制剂对肠道正常菌群失调所致的腹泻有明显的治疗效果。在使用微生态制剂时注意不能同时使用抗菌药物,以免影响效果。

### 4 注意事项

**4.1 孔雀的肝脏、肾脏较发达**,药物在体内代谢、转化较快。但肾脏的肾小球体积小,毛细血管分支少,结构较简单,有效滤过压较低,滤过面积小,有些肾单位缺乏髓袢,对以原形经过肾脏排泄的药物,易在血液中蓄积,对中枢神经造成不可逆的损害,如链霉素、卡那霉素、庆大霉素、新霉素等,故不宜选用,如确需使用时注意投药的剂量和疗程。

**4.2 当孔雀群出现肾肿综合症、痛风等疾病时**应使用肾肿解毒药对症治疗,还可用阿司匹林、丙磺舒、碳酸氢钠等药物,促进尿酸盐的排泄,缓解、减少尿酸盐的沉积。

**4.3 孔雀可以使用口服青霉素类药物**,因为青霉素在 pH 6.5 的溶液中,药性最稳定。而家禽的胆汁呈酸性,与胃液一起中和了碱性的胰液和小肠液,使肠内的 pH 值保持在 6 左右。口服青霉素,可使青霉素保持稳定的药性,疗效较好。在生产中孔雀群口服苯唑西林钠和氯唑西林钠可取得良好的效果。

**4.4 磺胺类药物可抑制肠道对 V<sub>K</sub>、V<sub>B</sub> 族的合成**,引起机体贫血、出血,同时损伤肾脏,孔雀群出现产软皮蛋、薄皮蛋、畸形蛋,产蛋率下降,孵化率下降,胚胎畸形等。故在产蛋期间,应慎用磺胺类药物。临床常用的磺胺类药物有:磺胺嘧啶、磺胺二甲氧嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺喹恶啉、复方新诺明、复方敌菌净等。

**4.5 肾上腺皮质激素类药物可使母孔雀推迟产蛋**,地塞米松、可的松影响孔雀的产蛋性能,使产蛋率下降,产蛋期孔雀避免使用地塞米松等药物。

### 5 预防

**5.1 加强饲养管理** 饲养环境对孔雀群健康状况和生产性能有着重要的影响。改善饲养环境,夏季



注意防暑降温,冬季注意保暖。孔雀舍注意合理通风,及时排出氨气、二氧化碳、硫化氢等有害气体。保持孔雀舍的清洁卫生,及时排除粪便、污水。孔雀舍每三天消毒一次,圈舍周围的环境每周消毒一次。加强日常饲养管理,及时消除各类应激因素。固定饲养人员,特别是产蛋期间除每天添加饲料、饮水和清扫粪便外,不要在圈舍中随意走动,以免孔雀群出现应激反应,使机体处于亚健康状态。

**5.2 控制其他疾病** 实践证明许多疾病可以造成免疫系统损伤,造成孔雀群处于亚健康状态,容易感染大肠杆菌病。如马立克氏病、细菌内毒素、霉菌毒素中毒等。在生产工作中注意加强生物安全体系建设,确保安全生产,尽可能防止其他疾病的发生,这样也就间接的起到预防和减少了大肠

杆菌病的发生。

**5.3 免疫接种** 目前多采用 O<sub>1</sub>、O<sub>2</sub>、O<sub>35</sub>、O<sub>78</sub> 等常见的致病性大肠杆菌血清型菌株混合制成的多价油乳剂灭活苗。由于没有孔雀专用的大肠杆菌灭活苗,在生产中我们采用蛋鸡大肠杆菌多价灭活苗用于蛋孔雀的预防接种,取得良好的效果。有条件的养殖户也可采用大肠杆菌自家灭活苗,对本场的健康孔雀群进行免疫。

大肠杆菌病是孔雀群中普遍存在的一种条件性疾病。孔雀群生存、生长的内外环境因素对该病的发生与传染有着重要的影响。只有把各种饲养管理因素控制在孔雀群所需的适宜范围内,才是积极有效的预防措施。因此对孔雀大肠杆菌病的防治应坚持预防为主、防治结合的综合防治措施。

(上接第 30 页)

生。对曾发生过病毒性腹泻的猪场,应在秋季和冬季对保育期仔猪进行免疫接种。

**2.1.3 加强饲养管理,实行全进全出和空栏清洗消毒原则。**产房应重视做好保温工作(最好为 28~30℃),特别是寒冷及冬春、昼夜温差大的季节,并保持栏舍干燥、清洁卫生,尽早让初生仔猪吃上初乳,并处理好猪舍保温与通风的关系。

**2.1.4 为了保证猪群免受病毒性腹泻的影响,可进行药物保健。**①母猪保健:母猪产后 24 h 内,肌注美国辉瑞产得米先 10~15 mL/头或上海公谊产阿莫西林油剂 20 mL/头。母猪产前、产后 1 周加 80% 支原净 125g+ 金霉素 300g+ 阿莫西林 250g 或 2% 纽弗罗 1 500g+ 泰乐菌素 250g/t 混饲。②仔猪保健:3、7、21 天龄注射得米先或广州燕唐产磺恩双杀 0.5~1 mL/头。仔猪出生后 72 h 内肌注富来血 1~2 mL/头。③其他猪群保健:每月定期加药 1 周或转栏前后 1 周加 80% 支原净 125 g+10% 盐酸多西环素 1 000 g/t 混饲,以提高猪群抗病能力。

**2.1.5 做好猪场的清洁卫生和消毒工作,切断传播途径,阻止疫病发生和蔓延。**待产母猪必须经严格清洗消毒后才能进入产房。临产母猪用 0.1% 高锰酸钾溶液清洗消毒母猪后躯、乳房和腹部。产后挤掉 1~2 滴奶,才能让初生仔猪吮吸。产房、生长育、成舍定期带猪消毒,要求 1 天 1 次。猪场生产区人员不能串栏,需严格洗手消毒后,换衣、换鞋、帽等,脚踏栏舍门口消毒盆,才能进入猪舍工作。

## 2.2 控制

**2.2.1 哺乳仔猪** 发病时死亡率很高,应采取得力措施,尽量减少死亡。①使用猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻二联弱毒苗对猪群实施紧急接种。怀孕母猪分娩前一个月接种,后海穴注射,免疫期为 6 个月;仔猪、育肥猪全群接种,公母猪 2~4 mL/头,哺乳和保育仔猪 1 mL/头;对未发病的 1~2 天龄仔猪注射 0.5 mL/头。接种部位为后海穴。②在饮水中加入口服补液盐普利健,以防仔猪脱水衰竭。③对患病仔猪,灌服强普生拓 1 天 2 次,1 mL/kg,连用 3 天,或肌注止痢败毒针 1 天 1 次,0.1 mL/kg,连用 3 天,有一定效果。④当哺乳母猪发病时,厌食无乳,可用诱食奶+口服补液盐灌喂仔猪,7~8 次/天,或将仔猪寄养于另 1 头未发病的母猪代哺,仔猪寄养前必须用温和消毒水清洗并擦干净后才能代哺。⑤产房必须做好保温工作。为仔猪提供暖和、舒适、干燥、卫生、无贼风的理想环境。⑥仔猪和母猪一同患病的,可用猪干扰素,肌注仔猪和母猪,可按说明使用或据实况用,效果较好。

**2.2.2 保育生长猪** ①发病时应立即封锁发病猪场和猪舍,隔离病猪,对猪舍内外环境及用具等进行严格消毒。②在饮水中添加口服补液盐,饲料中加入土霉素或痢菌净 200 g/t 饲料,可缓解病情。③尽量少喂饲料,可注射抗生素防继发感染(如恩诺沙星 0.1 mL/kg,1 天 1 次,连用 3 天),减少死亡损失,也可用猪干扰素。

**2.2.3 育成猪及种猪** 此类猪群一般不予治疗。加强饲养管理,减少喂料或不喂,饮水中添加补液盐,同时注意卫生和消毒工作,一周后可自行康复。

# 新型鸭肝炎病毒 FS 株全基因组序列分析

何冉娅<sup>1</sup>, 孙伟<sup>2</sup>, 罗玉均<sup>1</sup>, 何逸民<sup>1</sup>, 张桂红<sup>1\*</sup>

(1. 华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642; 2. 西南大学药学院, 重庆 400715)

**摘要:** 本试验参考 GenBank 中已公布的新型鸭肝炎病毒全基因组序列, 应用 Primer Premier 5.0 软件, 在序列保守区域分别设计了 7 对引物, 通过 RT-PCR 方法对本实验室已鉴别纯化的新型鸭肝炎病毒 FS 株进行了分段扩增, 经过测序拼接整理, 获得 FS 株全基因组序列 (GenBank 中登录号为 EU877916)。序列分析表明, FS 株全长 7792 个碱基, 一个大的开放阅读框编码 2251aa。将各基因与国内国外已发表的新型鸭肝炎病毒参考毒株进行相似性分析, 结果表明, 与 G 株 (GenBank 登录号为 EU755009) 核苷酸相似性最高, 为 99.2%, 而 FS 株与 G 株和 C-GY 株 (GenBank 登录号为 EU352805) 的氨基酸相似性最高, 均为 99.6%, 与 DHV-HS 株和 DHV-HSS 株的相似性最低, 均为 83.6%。系统发育树分析发现, 与 G 株亲缘关系最近。

**关键词:** 新型鸭肝炎病毒; 全基因组; 序列分析

中图分类号: S858.32

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2009)05-0034-05

## Complete genome sequence analysis of strain FS, a new serotype of duck hepatitis virus

He Ranya<sup>1</sup>, Sun Wei<sup>2</sup>, Luo Yujun<sup>1</sup>, He Yimin<sup>1</sup>, Zhang Guihong<sup>1</sup>

(1. College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. College of Pharmacy Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

**Abstract:** The complete genome sequence of strain FS, a new serotype of duck hepatitis virus was determined by RT-PCR assay using seven pairs of primers designed with Primer Premier 5.0 software according to the conserved regions of complete genome sequence of the new serotype duck hepatitis virus deposited in GenBank. Sequence analysis showed that the genome of FS was 7792 nucleotides in size constituting one large open reading frame (GenBank accession number EU877916). Compared with the sequences of the new serotype duck hepatitis virus in GenBank, the genome of FS had 99.2% identity with that of strain G, the amino acid sequences of FS had 99.6% identity with that of G strain and C-GY strain and had the lowest identity with that of strain DHV-HS and DHV-HSS. Phylogenetic analysis showed that it had the closest relationship with strain G.

**Key words:** New serotype duck hepatitis virus; genome; sequence analysis

鸭病毒性肝炎(Duck viral hepatitis, DVH)简称鸭肝炎,是由鸭肝炎病毒(Duck hepatitis virus, DHV)引起雏鸭的一种急性、高度接触性和致死性的传染性疾病。该病一年四季均可发生,自然暴发时仅发生于雏鸭,对养鸭业造成了巨大经济损失。鸭肝炎病毒(DHV)有3种血清型,分别为DHV-I型、II型和III型。3个血清型之间无抗原相关性,无交叉保护和交叉中和作用,与人肝炎病毒、鸭乙型肝炎病毒(属嗜肝病毒科)和犬传染性

肝炎病毒无抗原相关性。1949年在美国纽约长岛首先报道了I型鸭病毒性肝炎的发生,随后加拿大、西德、意大利、印度、法国、匈牙利、日本等国均有报道。II型鸭病毒性肝炎是1965年在英国发现的,但至今尚无其他国家有该病的报道。III型1969年发现于美国纽约长岛地区。在我国,最早于1963年由黄均建等报道了I型DHV感染的发生,随后在北京、福建、浙江等地都报道了鸭肝炎病例。刘兆宇等在1998年报道了III型DHV感染的发

生,但我国主要流行的是 I 型鸭病毒性肝炎<sup>[1]</sup>。

近年来,印度<sup>[2]</sup>、埃及<sup>[3]</sup>和美国相继报道了 DHV- I 型的变异情况,Barnhardt 株是明显的血清学变异株,与 DHV- I 型呈部分交叉中和反应。美国 Sandhu T S 等<sup>[4]</sup>将 1 株分离到的 DHV 变异株命名为 DHV- I  $\alpha$  型。在我国,林世棠等<sup>[5]</sup>最早报道了福州地区存在的 DHV- I 型变异株,其血清中和试验结果与 Sandhu T S 的报道相似。随后,陈建红等<sup>[6]</sup>也报道了珠江三角洲地区部分 DHV 毒株的毒力与抗原性发生了变异。许力干等<sup>[7]</sup>又报道了广西近年来流行的雏鸭肝炎疫情的新变化,该病不能被传统的 I 型 DHV 疫苗及抗体所控制,并暂命名为“新型”鸭病毒性肝炎。苏敬良等<sup>[8]</sup>从北京和广西两地的疑似鸭肝炎的病死鸭体内分离到 2 株各与 DHV- I 型、III 型鸭肝炎病毒阳性血清无交叉免疫反应的小 RNA 病毒,也将其称为新型鸭肝炎病毒。郑献进等<sup>[9]</sup>报道了 DHV- I 型变异株 Iv 的存在,该毒株亦与 DHV- I 型呈部分交叉中和反应,并比较了 DHV 分离株与 I 型 DHV 参考株的血清学相关性。刘建等<sup>[10]</sup>分析了不同地区的 9 株 DHV 的中和试验及攻毒保护试验结果,表明其中有 7 株是新型鸭肝炎病毒。2004 年台湾学者 Tseng<sup>[11]</sup>从 1 周龄俄罗斯雏白鹅中分离到 1 株病毒,经中和试验证明该毒株与在 20 世纪 90 年代分离到的病毒同属为新型鸭肝炎病毒 (NDHV)。

本实验室已分离鉴定了一株新型鸭肝炎病毒 FS 株(何冉娅,2008),现对其全基因组进行了克隆及序列分析,旨在从分子水平弄清其基因特征,深入了解其致病机理,为流行病学调查和疫苗的研制打下一定的基础。

## 1 材料和方法

**1.1 主要试剂和参考毒株** 新型鸭肝炎病毒 FS 株由华南农业大学传染病教研室提供;Trizol 试剂购于 Invitrogen 公司;10 mmol/L dNTP、AMV 反转录酶、RNA 酶抑制剂 (Rnasin)、DNA Marker DL2000、pMD18-T 载体、高保真 DNA 聚合酶 Prmer-Star<sup>®</sup> HS DNA Polymerase 均购自 TaKaRa 公司;2×Go Taq<sup>®</sup> Green Master Mix,胶回收试剂盒为 Promega 公司;其他试剂均为国产分析纯。

**1.2 引物** 参照 GenBank 中发表的新型鸭肝炎病毒全基因组序列,应用生物学软件 Primer Premier 5.0 分别设计了 7 对引物,进行分段扩

增,引物由广州英骏公司合成。

**1.3 病毒 RNA 的抽提** 参照 Trizol 法,按照试剂说明书提取。

**1.4 RT-PCR** RT 反应:取 10  $\mu$ L 抽提 RNA 样品进行反转录。25nmol/L 随机引物 1  $\mu$ L,第 7 段用如上的反转引物 (NDHV 反转),10mmol/L dNTP 2  $\mu$ L,5×AMV 4  $\mu$ L,40U/ $\mu$ L AMV 酶 1  $\mu$ L,RNA 酶抑制剂 (Rnasin)0.5  $\mu$ L,最后用 DEPC 水补至 20  $\mu$ L。混匀后 42℃水浴 1 h,获得 cDNA,置 -20℃保存备用。

PCR 反应:分别用 cDNA 为模板,根据扩增目的片段的不同,选用不同段的引物对,进行分段 PCR 扩增。50  $\mu$ L 反应体系:5×PrimeStar buffer (含 Mg<sup>2+</sup>)10  $\mu$ L,25 nmol/L 的上、下游引物各 1.5  $\mu$ L,模板 2  $\mu$ L,2.5 mmol/ $\mu$ L dNTP 4  $\mu$ L,PrimeStar DNA 聚合酶 (5U/ $\mu$ L)0.5  $\mu$ L,加灭菌水补足体积至 50  $\mu$ L。充分混匀后置于 PCR 仪中扩增。反应程序为:94℃ 3 min;94℃ 1 min、退火温度根据表 1 所示不同段设置,72℃ 1 min,30 个循环;72℃延伸 5 min;4℃保存。PCR 产物于 1% 琼脂糖凝胶 (0.5  $\mu$ g/mL EB) 中电泳检测。

## 1.5 产物克隆、测序和分析

**1.5.1 PCR 产物的纯化** 将各扩增片段分别参照试剂盒说明书进行胶回收。

**1.5.2 PCR 产物的克隆和鉴定、测序** 将 PCR 回收产物参照 Fermentas 公司 CloneJET<sup>™</sup> PCR Cloning Kit 的使用说明书进行连接。10  $\mu$ L 连接体系:2×Rapid Ligation Buffer 5  $\mu$ L,T4 DNA Ligation 1  $\mu$ L,pJET1.2 (50ng/ $\mu$ L)0.5  $\mu$ L,PCR 产物 3.5  $\mu$ L。混匀,16℃连接过夜,转化 DH5a 感受态细胞,在含 Amp、IPTG、X-gal 的 LB 培养基上挑选可疑阳性菌,摇菌,并进行 PCR 鉴定。20  $\mu$ L 反应体系:2×Go Taq<sup>®</sup> Green Master Mix 10  $\mu$ L,上、下游引物 (20pmol/ $\mu$ L) 各 0.5  $\mu$ L,可疑菌液 2  $\mu$ L,加无 RNA 酶水 7  $\mu$ L。提取阳性菌液质粒进行酶切鉴定,将经过双重鉴定确定为阳性的菌液送上海英骏公司测序。

**1.5.3 序列分析** 应用 DNA Star 5.07 基因分析软件包对 7 个片段的测序结果进行拼接整理,确定新型鸭肝炎 FS 株的全基因组序列。将测序结果提交 NCBI BLAST SERVER (Version 2.0) 进行在线相似性比对,同时运用 DNA Star5.07 基因分

析软件包和 MEGA 4.0 基因序列分析软件的 Clustal W 算法进行核苷酸和推定氨基酸的相似性比较。采用 Neighbor-Joining 法建立系统发育树,并用 Bootstrap 验证进化树的可行性。

### 2 结果

2.1 RT-PCR 结果 对新型鸭肝炎病毒 FS 株进行 RT-PCR,用设计的 7 对引物均扩增出与预期结果一致的目的片段(图 1)。

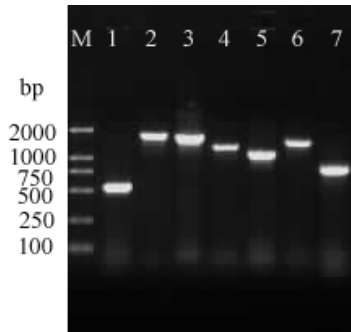


图 1 各片段分段扩增结果

2.2 克隆鉴定及测序 将获得的 7 个目的片段分别克隆到 pJET1.2 载体,所获得的重组质粒分别进行 PCR 鉴定,酶切鉴定,能获得相应的特异性的目的条带(图略)。将筛选出的重组阳性菌的测序结果拼接整理,获得全长基因组序列(GenBank 登录号为 EU877916)。

### 2.3 序列分析

2.3.1 基因特征与聚合蛋白序列分析 分析结果表明该 FS 株新型鸭肝炎病毒的基因组序列全长 7792 个碱基。FS 株全基因组序列比 I 型鸭肝炎病毒的全基因组长 80~90 nt。5' UTR 长 652nt,3' UTR 长 384 nt,一个大的开放阅读框 ORF 长 6 756 nt (653~7 408),表达一个聚合蛋白,编码 2 251aa。全基因组结构分为 5' UTR (652nt)-VP0 (256aa)-VP3 (231aa)-VP1 (246aa)-2A1 (20aa)-2A2 (161aa)-2A3 (124aa)-2B (119aa)-2C (333aa)-3A (93aa)-3B (34aa)-3C (181aa)-3D (453aa)-3' UTR (384 nt),有一个由 18 个 A 组成的 poly (A) 尾。全基因包括 A%=27.49%,G%=22.46%,C%=20.61%,U%=29.43,GC%为 42.81%,与其他小 RNA 病毒科的病毒的组成基本一致。聚合蛋白裂解位点为:VP0/VP3 裂解位点 Q/G,VP0/VP3 裂解位点 Q/M,VP1/2A1 裂解位点 E/S,2A1/2A2 裂解位点为 NPG ↓ P,与 Tseng、Liu、Kim、Ding<sup>[11~15]</sup>报道

的相符。典型的 apthovirus-like 裂解位点,2A2/2A3 裂解位点 A/H,而 I 型 DHV03D 株为 S/H,新型 DHV 90G 株为 G/H。Tseng<sup>[11~12]</sup>分析 2A2 蛋白可能是引起宿主免疫反应的功能蛋白,并且两个相关 DHV 血清型的 2A2 蛋白的高度差异会引起抗体选择压力的不同。2A3/2B 裂解位点 Q/S,2B/2C 裂解位点 Q/S,2C/3A 裂解位点 Q/G,I 型的 03D 为 Q/S,3A/3B 裂解位点 Q/S,3B 蛋白编码 34 个氨基酸,是小 RNA 病毒科中最长的。3B/3C 裂解位点 Q/G,而 I 型的 03D 为 Q/S,新型 DHV 中除 C-GY 株和 G 株为 Q/G,其余毒株均为该处裂解位点均为 Q/S,3C/3D 裂解位点 Q/G。

2.3.2 氨基酸相似性和核苷酸相似性比较 将 FS 株的全基因序列及其推定的氨基酸序列与国内外已发表的 11 株新型鸭肝炎序列进行相似性分析,结果见表 1。FS 株与 11 株新型鸭肝炎的全基因组序列的核苷酸相似性结果分析,其中 FS 株与 AP-03337、AP-04009、AP-04203、AP-04114、G 株的核苷酸相似性分别为 95.3%、95.1%、95.2%、95.3%和 99.2%。试验结果显示,FS 株与 G 株的核苷酸相似性最高,与 DHV-HSS 相似性最低,为 25.1%。FS 株与 11 株新型鸭肝炎的全基因组氨基酸相似性比较见图 3。FS 株与 G 株和 C-GY 株的氨基酸相似性最高,均为 99.6%,与 AP-03337、AP-04009、AP-04203、AP-04114 株的氨基酸相似性分别为 98.1%、98.1%、98.2%、98.0%,氨基酸相似性较高,与核苷酸相似性比较结果一致;FS 株与 DHV-HS 株和 DHV-HSS 株的相似性最低,均为 83.6%。结果表明,氨基酸相似性比较与核苷酸相似性比较结果基本一致。

2.3.3 系统发育树 全基因组核苷酸系统发育树分析结果见图 2。表明进行比较的新型鸭肝炎病毒分为 2 个基因群(群 I 和群 II),群 I 的 10 株新型鸭肝炎病毒比群 II 的 2 株分离时间要近些。由图可见,FS 株与 C-GY 株的亲缘关系最近,与 AP-03337、AP-04009、AP-04203、AP-04114 亲缘关系次之,与

		Percent Identity													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
Divergence	1	■	99.6	99.5	83.6	99.6	83.4	89.5	89.6	97.9	98.3	98.0	98.1	1	DO256132 AP-03337
	2	0.4	■	99.5	83.5	99.5	83.3	89.4	89.5	97.9	98.2	98.0	98.1	2	DO256133 AP-04009
	3	0.5	0.5	■	83.7	99.4	83.4	89.5	89.6	98.0	98.3	98.0	98.2	3	DO256134 AP-04203
	4	18.4	18.6	18.4	■	83.6	97.9	81.6	81.8	83.6	83.3	83.5	83.6	4	DO812092 DHV-HSS
	5	0.4	0.5	0.6	18.5	■	83.3	89.4	89.6	97.8	98.4	97.9	98.0	5	DO812094 AP-04114
	6	18.7	18.8	18.7	2.2	18.8	■	81.6	81.8	83.5	83.2	83.5	83.6	6	DO812094 DHV-HS
	7	11.2	11.3	11.2	21.0	11.2	21.1	■	89.5	89.6	89.2	89.6	89.8	7	EF067923 04G
	8	11.0	11.1	11.0	20.8	11.1	20.8	0.5	■	89.9	89.4	89.9	90.0	8	EF067924 90D
	9	2.1	2.1	2.1	18.6	2.2	18.7	11.1	10.8	■	97.6	99.4	99.6	9	EU352805 C-GY
	10	1.8	1.8	1.7	19.0	1.7	19.1	11.5	11.3	2.4	■	97.7	97.8	10	EU747974 B63
	11	2.0	2.0	2.0	18.7	2.1	18.7	11.1	10.8	0.6	2.3	■	99.6	11	EU755009 G
	12	1.9	1.9	1.8	18.5	2.0	18.6	10.9	10.6	0.4	2.2	0.4	■	12	EU877916 FS
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		

表 1 全基因组氨基酸相似性比较结果

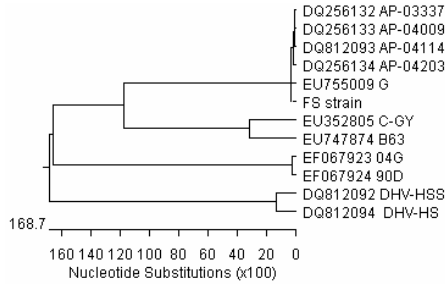


图 2 全基因组核苷酸系统发育树

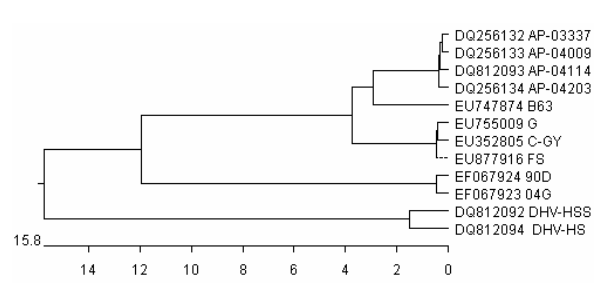


图 3 VP1 基因氨基酸系统发育树

表 2 FS 株与 11 株参考新型鸭肝炎病毒的聚合蛋白各编码蛋白大小

Gene	Size (amino acids)											
	FS	AP-03337	AP-04009	AP-04203	AP-04114	HSS	HS	04G	90D	C-GY	G	B63
Polyprotein	2251	2251	2251	2251	2251	2249	2249	2249	2249	2251	2251	2252
P1	733	733	733	733	733	731	731	731	731	733	733	733
P2	757	757	757	757	757	757	757	757	757	757	757	758
P3	761	761	761	761	761	761	761	761	761	761	761	761
VP0	256	256	256	256	256	256	256	256	256	256	256	256
VP3	231	231	231	231	231	231	231	231	231	231	231	231
VP1	246	246	246	246	246	246	246	246	246	246	246	246
2A1	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
2A2	161	161	161	161	161	161	161	161	161	161	161	161
2A3	124	124	124	124	124	124	124	124	124	124	124	124
2B	119	119	119	119	119	119	119	119	119	119	119	120
2C	333	333	333	333	333	333	333	333	333	333	333	333
3A	93	93	93	93	93	93	93	93	93	93	93	93
3B	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34
3C	181	181	181	181	181	181	181	181	181	181	181	181
3D	453	453	453	453	453	453	453	453	453	453	453	453

表 3 FS 株与 11 株参考新型鸭肝炎病毒聚合蛋白氨基末端裂解位点预测结果

Gene	Size (amino acids)											
	FS	AP-03337	AP-04009	AP-04203	AP-04114	HSS	HS	04G	90D	C-GY	G	B63
Polyprotein	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P2	E/S	E/S	E/S	E/S	E/S	E/S	E/S	E/S	E/S	E/S	E/S	E/S
P3	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/S	Q/S	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G
VP0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VP3	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G
VP1	Q/M	Q/M	Q/M	Q/M	Q/M	Q/M	Q/M	Q/M	Q/M	Q/M	Q/M	Q/M
2A1	E/S	E/S	E/S	E/S	E/S	E/S	E/S	E/S	E/S	E/S	E/S	E/L
2A2	G/P	G/P	G/P	G/P	G/P	G/P	G/P	G/P	G/P	G/P	G/P	G/P
2A3	A/H	A/H	A/H	A/H	A/H	S/H	S/H	G/H	G/H	A/H	A/H	A/H
2B	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S
2C	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S
3A	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/S	Q/S	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G
Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S
3C	Q/G	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/S	Q/G	Q/G	Q/S
3D	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G	Q/G

分离时间早的 HSS、HS 株的亲缘关系最远。

### 2.3.4 聚合蛋白各蛋白大小和裂解位点比较结果

表 2 表明,各毒株聚合蛋白分别编码 2 249、2 251 或 2 252 个氨基酸。各蛋白大小差异主要发生在 VP1 基因上,HSS、HS、04G、90D 株 VP1 蛋白编码 244 个氨基酸,其他毒株 VP1 蛋白编码 246

个氨基酸。B63 株 2B 蛋白编码 120 个氨基酸,比其他株多 1 个氨基酸。

表 3 结果表明,各蛋白裂解位点差异主要发生在 VP1/2A1、2A2/2A3、2C/3A、3B/3C,除 B63 株在 VP1/2A1 处的裂解位点为 E/L 外,其余毒株在该处的裂解位点为 E/S。2A2/2A3 处除 HSS、HS 株在该处

裂解位点为 S/H,04G,90D 株在该处裂解位点为 G/H 外,其余毒株在该处裂解位点均为 A/H。HSS 株和 HS 株在 2C/3A 处裂解位点为 Q/S,其余毒株在该处裂解位点均为 Q/G。FS 株和 C-GY,G 株在 3B/3C 处裂解位点为 Q/G,其余毒株在该处裂解位点均为 Q/S。

**2.3.5 VP1 基因氨基酸相似性分析结果和进化树分析** FS 株与 11 株参考毒株 VP1 基因氨基酸相似性分析结果见表 4。FS 株 VP1 基因氨基酸与 G 株和 C-GY 株相似性最高,均为 99.6%,与 AP-03337、AP-04009、AP-04203、AP-04114、B63 株氨基酸相似性次之。与 DHV-HS 和 DHV-HSS 株相似性最低,分别为 77%和 77.9%。

FS 株与 11 株参考毒株 VP1 基因氨基酸系统发育树结果见图 3。结果显示,FS 株与 G 株和 C-GY 株亲缘关系最近,与 DHV-HSS 株和 DHV-HS 株亲缘关系最远。结果与氨基酸相似性分析结果和全基因组氨基酸相似性分析结果一致。

表 4 FS 株与 11 株参考毒株 VP1 基因氨基酸相似性比较

		Percent Identity													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
Divergence	1	■	99.6	99.6	76.0	99.6	75.2	92.7	92.3	94.3	92.3	77.6	77.6	1	DQ256132 AP-03337
	2	0.4	■	99.2	76.0	99.2	75.2	93.1	92.7	93.9	92.7	78.0	78.0	2	DQ256133 AP-04009
	3	0.4	0.8	■	76.4	99.2	75.6	93.1	92.7	94.7	92.7	77.2	77.2	3	DQ256134 AP-04203
	4	27.6	27.6	27.0	■	76.6	97.1	77.0	77.0	76.2	77.0	70.5	70.9	4	DG612082 DHV-HSS
	5	0.4	0.8	0.8	27.6	■	75.2	92.7	92.3	94.3	92.3	77.6	77.6	5	DG612093 AP-04114
	6	28.8	28.8	28.2	2.9	28.8	■	77.9	77.9	76.2	77.5	70.9	71.3	6	DG612084 DHV-HS
	7	7.7	7.3	7.3	27.0	7.7	25.8	■	99.6	94.3	99.6	79.7	79.3	7	EU677916 FS
	8	8.2	7.7	7.7	27.0	8.2	25.8	0.4	8.4	93.9	99.2	79.3	78.9	8	EU755009 G
	9	5.9	6.4	5.5	28.2	5.9	28.2	5.9	6.4	93.9	93.9	76.8	76.4	9	EU747874 B63
	10	8.2	7.7	7.7	27.0	8.2	26.4	0.4	0.8	6.4	99.2	79.3	78.9	10	EU352805 C-GY
	11	24.8	24.2	25.4	36.5	24.8	35.9	22.0	22.5	26.0	22.5	99.2	99.2	11	EF067924 90D
	12	24.8	24.2	25.4	35.9	24.8	35.2	22.5	23.1	26.5	23.1	0.8	0.8	12	EF067923 04G
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		

### 3 结论与讨论

**3.1** 本实验选取 11 株 GenBank 上已发表的新型鸭肝炎病毒全基因组参考序列,运用生物学软件,分别设计了 7 段特异性的分段扩增引物,采用 5' RACE 和 3'-RACE 方法,测序分析整理,获得了新型鸭肝炎病毒 FS 株全基因组序列。

**3.2** 将 FS 株与 GenBank 中所公布的 11 株新型鸭肝炎病毒全基因组参考序列进行核苷酸和氨基酸相似性比较,并建立系统发育树。分析的结果表明,FS 株与 C-GY 株和 G 株相似性最高,亲缘关系最近。而 C-GY 株和 G 株是 GenBank 中最新公布的毒株,且 C-GY 株也是近年来在广东新分离的毒株,以上结果分析表明,FS 株具有中国广东地区流行毒株的特征。各蛋白相似性比对分析表明,各毒株的相似性差异主要发生在 VP1,推测 VP1 基因的变异可能影响病毒的致病机制,因此,弄清其机理还需要进一步研究。

**3.3** 目前尚无新型鸭肝炎病毒疫苗的相应报道,试验结果分析表明,我国新型鸭病毒性肝炎有流行的趋势,该试验结果也可指导疫苗的研发,对疾病的防控具有重要意义。

### 参考文献:

- [1] Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE. Diseases of Poultry, 11th ed. American Association Avian Pathologists: Iowa State University Press, 2003:343-354.
- [2] Rao S B V, Gupta B R. Studies on a filterable agent causing hepatitis in ducklings, and biliary cirrhosis and blood dyscrasia in adults[J]. Indian J poul Sci, 1967, 7(2):18-30.
- [3] Shalaby M A, Ayoub M N K, Reda I M, A study on a new isolate of duck hepatitis virus and its relationship to other duck hepatitis virus strains[J]. J Vet Med, 1978, 26:215-221.
- [4] Sandhu T S, Calnek B W, Zeman L. Patyologic and serologic characterization of a variant of duck hepatitis type I virus[J]. Avian Dis, 1992, 36(4):932-936.
- [5] 林世堂, 黄瑜, 黄纪铨, 等. 一种新的鸭传染性肝病研究 1. 流行情况与初步诊断[J]. 中国畜禽传染病, 1996, (4):14-17.
- [6] 陈建红, 张济培, 司兴奎, 等. 鸭肝炎流行动态分析与展望[J]. 中国家禽, 2001, 23(9):L40-44.
- [7] 许力干, 赵武, 陈泽祥, 等. 广西部分地区鸭肝炎流行及防治现状调查[J]. 广西农业科学, 2002(3):142.
- [8] 苏敬良, 黄瑜, 贺荣莲, 等. 新型鸭肝炎病毒的分离及初步鉴定[J]. 中国兽医科技, 2002, 32(1):15-16.
- [9] 郑献进, 张大丙, 曲丰发等. I 型鸭肝炎病毒变异株的鉴定[J]. 中国兽医杂志, 2006, 42(5):15-16.
- [10] 刘建, 苏敬良, 张克新, 等. 新型鸭肝炎病毒流行病学调查及免疫防治试验[J]. 中国兽医杂志, 2006, 42(2):3-6.
- [11] Tseng C H, Tsai H J, Molecular characterization of a new serotype of duck hepatitis virus[J]. Virus Res, 2007, 126(2):190-203.
- [12] Tseng C H, Knowles N J, Tsai N J, et al. Molecular analysis of Duck hepatitis virus type I indicates that it should be assigned to a new genus [J]. Virus Research, 2007, 123(2):190-203.
- [13] Kim M C, Kwon Y K, Joh S J, et al. Molecular analysis of Duck hepatitis virus type I reveals a novel lineage close to the genus Parechovirus in the family Picornaviridea[J]. Journal of General Virology, 2006, 87:3307-3326.
- [14] Ding C Y, Zhang D B. Molecular analysis of Duck hepatitis virus type 1 [J]. Virology, 2007, 361:9-17.
- [15] Liu G Q, Wang F, Ni Z, et al. Complete Genomic Sequence of a Chinese Isolate of Duck hepatitis virus[J]. Virol Sinica, 2007, 22(5):353-359.

## 中药双联法治疗鸡传染性喉气管炎的研究

陈庆勋<sup>1</sup>, 孙凌志<sup>1</sup>, 高慧军<sup>2</sup>, 高君峰<sup>2</sup>, 马 军<sup>1</sup>

(1. 河南省南阳市城区动物卫生监督所, 河南 南阳 473009; 2. 南阳市动物卫生监督所, 河南 南阳 473009)

**摘要:** 通过采用内服中药、中药散直接喷贴咽喉病灶处的内外齐攻的双联法治疗病鸡。人工发病试验结果表明, 该方法有缓解和治疗鸡传染性喉气管炎作用, 其中双联法组存活率比西药泰乐菌素注射液组高 27.71%、比攻毒对照组高 50.96%; 双联法组的存活率明显高于其他组。存活率与攻毒不给药组比较, 存活率统计学有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 和空白对照组比较, 存活率差异不显著 ( $P > 0.05$ ); 且试验组与空白对照组体重无明显差异, 说明该药不影响雏鸡的正常生长发育。临床试验结果也表明, 治疗鸡喉气管炎效果显著, 治愈率达 95% 以上。

**关键词:** 双联法; 中药散喷贴法; 传染性喉气管炎

中图分类号: S856.3

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2009)05-0039-02

## The treatment of Avian infectious laryngotracheitis using traditional Chinese herb medicine

Chen Qingxun<sup>1</sup>, Sun Lingzhi<sup>1</sup>, Gao Huijun<sup>2</sup>, Gao Junfeng<sup>2</sup>, Ma Jun<sup>1</sup>

(1. District animal health supervision institute of Nanyang city of Henan province, Nanyang 473009, China; 2. Nanyang animal health supervision institute, Nanyang 473009, China)

**Abstract:** The diseased chickens were treated by a duplex process of taking traditional Chinese drugs orally and spraying traditional Chinese drugs on the focus of disease of laryngopharynx. The artificial infection experiments showed that this method could relieve and treat Avian infectious laryngotracheitis and the chicken livability using duplex process was 27.71% higher than that using tylosin and was 50.96% higher than that of the control. So the livability of the duplex process group was obviously higher than that of other groups. The difference of livability between the duplex process group and the control group was significant ( $P < 0.05$ ) and there was not difference for the chicken weight of experiment group and control group which showed that the drug did not influence the growing development of chicken. Clinical experiment also showed that this method could treat Avian infectious laryngotracheitis effectively and the curative ratio was more than 95%.

**Key words:** Duplex process; traditional Chinese drugs; Avian infectious laryngotracheitis

鸡传染性喉气管炎 (ILT) 是由传染性喉气管炎病毒 (ILTV) 引起的一种急性、高度接触性传染性呼吸道病。其病原属疱疹病毒 I 型, 其典型症状为呼吸困难, 张口喘气, 咳出带血液的粘液。特征性病理变化为喉头气管黏膜水肿、出血, 气管内堵塞黄色或暗红色渗出物凝块, 发病早期患部细胞可形成核内包涵体。主要发病特点是: 雏鸡发病严重, 死亡率高, 最高可达 85%; 未免疫鸡群发病严重, 免疫鸡群发病较轻。主要发生于春、秋、冬季节, 传播迅速, 产蛋鸡患病后产蛋率下降 15%~20%, 多经 2~3 周后方能回升。该病是危害养鸡业的主要疾病之一。

目前尚无特效治疗药物, 主要以疫苗预防为主, 西药治疗效果不佳, 容易反复, 不易根治。2006 年以来, 我市许多鸡场曾流行过传染性喉气管炎, 由于防治措施不佳, 发病率和死亡率一直居高不下, 给养鸡业造成重大的经济损失, 为了探索防治鸡传染性喉气管炎的新途径, 我们根据该病的发病特点、症状表现和病理特征, 运用双联法治疗鸡传染性喉气管炎, 取得了较好的效果。现报告如下:

### 1 人工发病治疗实验

1.1 实验时间 2006 年 4 月 8 日至 4 月 14 日。

1.2 试验材料

收稿日期: 2009-05-12

基金项目: 南阳市 2006 年科技攻关项目 (XH200603-4)

**1.2.1 中药内服方** 鲜石斛 30 g、栀子 30 g、丹皮 20 g、生地 20 g、赤芍 30 g、黄连 18 g、玄参 30 g、生石膏 240 g、生甘草 60 g、连翘 20 g、苦参 20 g。用法:将上药放入药罐,加入 5 000 mL 的开水,浸湿 30 分钟后,武火烧开 10 min 后改为文火煎,至剩下 1 000 mL 药液时,离火,滤汁备用。

**1.2.2 中药散喷贴方(硼黛散)**:硼砂 30 g、青黛 50 g、冰片 30 g、黑栀子 40 g、土茯苓 30 g, 上药混匀粉碎,过 100 目筛(当然越细越好),装于带喷射头的药瓶内备用。用法:使用时,将鸡的嘴巴张开,用喷射器对准鸡的咽喉部喷射药末即可。

**1.2.3 对照药物** 酒石酸泰乐菌素注射液(北京生泰尔生物科技有限公司生产,批号:041018-1;规格:0.2 g/10 ML·支),购于南阳市兽药市场。

**1.2.4 病毒株** 传染性喉气管炎标准毒株 - 美. ILT. V158IFF,由某生物制药有限公司提供,生产日期为 2005 年 9 月 27 日。

**1.2.5 试验鸡** 20 日龄三黄鸡 240 只,由南阳市富康种鸡场提供。

**1.2.6 饲料** 正大肉鸡饲料 510,购自南阳市正大饲料厂。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 试验分组** 将 240 只三黄鸡随机平均分为 6 组,每组 40 只。第 1 组为“中药内服方”组;第 2 组为“中药散喷贴方”组;第 3 组为“泰乐菌素注射液”对照组;第 4 组为双联法组;第 5 组为空白对照组,不攻毒、不给药;第 6 组为攻毒对照组,只攻毒,不用药。所有组的饲料、管理和环境条件均一致。

**1.3.2 种毒的复壮与感染方法** ILT 标准毒株 0.1 mL 接种于 9 日龄 SPF 鸡胚的绒毛尿囊膜上,观察 5 d,收集 72 h 以后死亡鸡胚的绒毛尿囊膜,连续继代两次。取第二代鸡胚的 ILT 毒液,按每只鸡 0.1 mL 涂擦于鸡的喉部。

**1.3.3 给药途径** 当攻毒出现症状时,试验组开始用药,连用 5 天。第 1 组按 2 mL/ 只的剂量,用针筒经口注服中药内服方,或用水稀释 2 倍,让鸡自由饮用;第 2 组用喷射器对准鸡的咽喉部喷射中药散喷贴方药末,剂量为 0.5 mg/ 只;第 3 组按 0.25 mL/ 只肌肉注射泰乐菌素注射液,1 天 1 次;第 4 组综合 1~2 组方法给药,先服用或注服中药汁,然后用喷射器对准鸡的咽喉部喷射药末。

**1.3.4 临床观察** 攻毒后每天观察记录临床症状、鸡群发病情况,剖检病死鸡。试验结束时,逐只

称试验鸡体重,计算平均体重。

**1.3.5 药效判定标准** 用药后 3~5 d,受试验鸡群精神好转,食欲正常,无明显症状者为痊愈;用药后 3~5 d,受试验鸡群有精神、食欲好转,但仍有明显呼吸道症状者为显效;用药后 3~5 d,受试验鸡群精神食欲未见好转,症状加重或死亡或改用其他药者为无效。

### 1.4 结果

**1.4.1 感染结果** 攻毒 48 h 后,鸡只开始发病,表现张口呼吸、喘气,并伴有湿啰音、打喷嚏和流鼻涕等症状。96 h 出现死亡。对病死鸡剖检,可见喉头、气管有粘液性、出血性渗出物,部分喉头有黄白色干酪样物,部分喉头粘膜上有针尖大小的出血点。

**1.4.2 试验结果** 用药的各组鸡用药后先后于 24~48 h 后症状开始有所缓解,其中双联法组疗效最明显,于 24 h 后症状开始明显缓解,第 2 天症状基本消失,第 3 天症状完全消失(见表 1)。

表 1 试验结果

组别	试验数 (只)	发病数 (只)	死亡数 (只)	存活数 <sup>1)</sup> (只)	存活率 <sup>2)</sup> (%)	平均体重 (g)
1	40	28	7	21	75.00	420±5%
2	40	26	5	21	80.77	415±5%
3	40	29	9	20	68.96	395±5%
4	40	30	1	29	96.67	435±5%
5	40	0	0	0	100	425±5%
6	40	35	19	16	45.71	387±5%

1): 存活数 = 发病数 - 死亡数;

2): 存活率 = 存活数 / 发病数 × 100%

**1.5 结果分析** 人工发病试验结果表明:双联法组存活率比中药内服方组高 21.67%,比中药散喷贴方组高 15.9%,比西药泰乐菌素注射液对照组高 27.71%,比攻毒对照组高 50.96%;中药内服方组比西药泰乐菌素注射液对照组高 6.04%,比攻毒对照组高 29.29%;中药散喷贴方组比西药泰乐菌素注射液对照组高 11.81%,比攻毒对照组高 35.06%。双联法组的存活率明显高于其他组。

## 2 临床应用

**2.1 病例一** 南阳市高新区某专业户饲养三黄雏鸡 15 000 羽,2006 年 6 月 18 日,鸡群(20 日龄)中有 100 只雏鸡出现呼吸困难、喘气、咳嗽、眼炎等症状。6 月 20 日,病鸡开始间歇性咳出带血的渗出物,鸡场兽医诊断为鸡传染性喉气管炎。用红霉素、病毒灵治疗,效果不明显。至 6 月 23 日,疫情进一

(下转第 52 页)



# 鸭病毒性肝炎精制蛋黄抗体保存期的测定

史大庆, 陈君彦, 刘海霞, 齐冬梅, 张毓金

(广东永顺生物制药有限公司, 广东 广州 511356)

**摘要:** 将3批(0501、0502、0503)鸭病毒性肝炎精制蛋黄抗体, 置于不同温度条件下保存, 间隔一定的时间抽取样品, 测定样品的中和抗体效价和攻毒保护率。结果表明: 3批病毒性肝炎精制蛋黄抗体在-20℃保存24个月, 在2~8℃保存18个月, 25℃保存6个月, 均达到标准规定的要求。

**关键词:** 鸭病毒性肝炎; 蛋黄抗体; 保存期

**中图分类号:** S855.3

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2009)05-0041-02

广东地处亚热带, 海岸线长、水网面积大, 其水禽的养殖量在全国处于前列。但是随着近几年的养殖模式改变, 饲养密度的进一步加大, 鸭病发生的形式和种类出现了很大的变化。特别是鸭I型肝炎病毒引起的雏鸭病毒性肝炎, 也从以前的散养零星发病转为集中爆发。它具有传染快、感染性强、死亡率高特点, 成为养鸭业的重要传染病之一。

参照相关文献<sup>[1]</sup>, 并对鸭病毒性肝炎抗体的生产工艺进行了相应的改进, 解决了蛋黄液本身带菌带毒的一系列问题, 成功研制了鸭病毒性肝炎精制蛋黄抗体。生产了三批样品, 对其在不同温度条件下的保存效果进行了测定, 为制定合理的保存条件和保存期提供技术数据。测定结果如下:

## 1 材料与方法

**1.1 试验材料** ①鸭病毒性肝炎精制蛋黄抗体: 3批鸭病毒性肝炎精制蛋黄抗体, 批号分别为: 0501、0502和0503, 用于保存期试验。②鸭病毒性肝炎病毒GD株: 由本公司分离、鉴定。③鸭病毒性肝炎抗体阴性鸭、10日龄易感鸭胚: 由本公司动物场提供。④鸭病毒性肝炎精制蛋黄中和抗体效价测定: 按文献<sup>[2]</sup>附录(315页)进行。

**1.2 试验方法** 将三批(0501、0502、0503)鸭病毒性肝炎精制蛋黄抗体分别放于-20℃、2~8℃、25℃条件下保存, 每隔一定的时间随即抽样, 分别测定抗体中和效价, 并在负压隔离器进行攻毒保

护试验。攻毒方法: 取7~14日龄的易感雏鸭10只, 分为试验组和对照组, 每组5只。试验组先胸部肌肉注射鸭病毒性肝炎精制蛋黄抗体0.5 mL/只, 注射6 h后连同对照组全部攻击鸭肝炎GD株强毒(注射100 LD<sub>50</sub>/只), 注射后观察记录结果。

## 2 结果

**2.1 -20℃条件下保存结果** 三批样品在-20℃条件下保存36个月, 分别在6、12、18、24、30、36个月时抽取样品测定其中和效价和攻毒保护试验。结果表明, 其在-20℃保存至24个月时, 中和抗体效价仍然符合规定要求, 而保存至30个月时抗体水平下降, 0502批抗体中和效价已达不到规定要求; 攻毒保护结果表明, -20℃保存36个月, 对雏鸭仍有80%以上保护, 对照鸭100%死亡(见表1)。

**2.2 2~8℃条件下保存结果** 在2~8℃保存24个月, 每隔一定的时间(见表2)抽取样品测定其中和效价和攻毒保护试验。结果表明, 2~8℃条件下保存18个月, 其抗体中和效价仍然达到规定的要求; 至24个月时0502批抗体中和效价达不到规定的要求; 攻毒保护结果表明, 2~8℃条件下保存24个月, 对雏鸭有80%以上保护, 对照鸭100%死亡。

**2.3 25℃条件下保存结果** 三批样品在25℃条件下保存12个月, 每隔2个月抽取样品测定其中和效价和攻毒保护试验。结果表明, 在25℃保存6个月, 三批精制蛋黄抗体中和效价均达到规定要求,

表1 -20℃条件下保存期及攻毒保护试验结果

保存时间 (月)	0501批			0502批			0503批		
	中和效价	攻毒保护	对照组	中和效价	攻毒保护	对照组	中和效价	攻毒保护	对照组
0	1:680	100%	0%	1:612	100%	0%	1:652	100%	0%
6	1:632	100%	0%	1:506	80%	0%	1:564	100%	0%
12	1:650	80%	0%	1:512	100%	0%	1:580	80%	0%
18	1:550	80%	0%	1:424	100%	0%	1:487	80%	0%
24	1:434	100%	0%	1:308	80%	0%	1:356	100%	0%
30	1:280	80%	0%	1:247	80%	0%	1:256	80%	0%
36	1:187	80%	0%	1:155	80%	0%	1:147	100%	0%

表 2 2~8℃条件下保存期及攻毒保护试验结果

保存时间 (月)	0501批			0502批			0503批		
	中和效价	攻毒保护	对照组	中和效价	攻毒保护	对照组	中和效价	攻毒保护	对照组
0	1:680	100%	0%	1:612	100%	0%	1:652	100%	0%
4	1:606	100%	0%	1:550	100%	0%	1:632	100%	0%
8	1:580	100%	0%	1:437	80%	0%	1:650	100%	0%
12	1:512	80%	0%	1:356	100%	0%	1:554	80%	0%
16	1:424	100%	0%	1:308	100%	0%	1:487	80%	0%
18	1:356	80%	0%	1:256	80%	0%	1:366	100%	0%
24	1:258	80%	0%	1:153	80%	0%	1:268	80%	0%

表 3 25℃条件下保存期及攻毒保护试验结果

保存时间 (月)	0501批			0502批			0503批		
	中和效价	攻毒保护	对照组	中和效价	攻毒保护	对照组	中和效价	攻毒保护	对照组
0	1:680	100%	0%	1:612	100%	0%	1:652	100%	0%
2	1:610	100%	0%	1:512	100%	0%	1:508	100%	0%
4	1:632	100%	0%	1:424	80%	0%	1:516	100%	0%
6	1:545	80%	0%	1:286	100%	0%	1:460	80%	0%
8	1:424	100%	0%	1:238	80%	0%	1:326	80%	0%
10	1:308	80%	0%	1:158	80%	0%	1:256	100%	0%
12	1:238	60%	0%	1:74	50%	0%	1:206	80%	0%

至 8 个月时 0502 批抗体中和效价降低到 1:238, 低于标准规定的最低值。攻毒保护结果表明, 25℃ 保存 10 个月, 对雏鸭有 80% 以上保护, 对照鸭 100% 死亡。0501 批、0502 批到 12 个月时攻毒保护率下降到 60%、50%, 达不到标准规定的要求(见表 3)。

### 3 小结与讨论

**3.1** 我们通常确定抗体中和效价达到 1:256, 攻毒保护达到 80% 以上认为产品合格。根据这一标准, 鸭病毒性肝炎精制蛋黄抗体在 -20℃ 保存 24 个月, 2~8℃ 保存 18 个月, 25℃ 保存 6 个月, 其抗体中和效价和攻毒保护都可以达到规定标准的要求。

**3.2** 根据生物制品的特性, 通常保存条件在 -20℃、2~8℃, 而室温保存的比较少, 室温下保存期的测定只作为参考意义。但是 -20℃ 保存对于一般用户比较困难, 所以一般选择 2~8℃ 保存制

品, 对于实际的生产应用具有一定的参考价值。

**3.3** 保存期测定过程中, 0502 批的抗体中和效价均首先达不到规定的要求, 其原始的抗体中和效价为 1:612, 低于 0501 批(1:680)、0503 批(1:652) 原始抗体中和效价, 在相同的保存条件下, 其原始抗体中和效价越高, 保存期是否越长, 保存时间与抗体中和效价之间的关系有待于进一步试验研究。

**3.4** 鸭病毒性肝炎的中和抗体效价随着保存时间的延长, 抗体效价逐步降低, 其保存温度、保存时间与抗体中和效价之间的关系, 有待于进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 于洪勋. 鸡源抗鸭病毒性肝炎病毒蛋黄抗体液的制备和应用试验[J]. 畜牧兽医杂志, 2004, 23(6): 12-14.
- [2] 中华人民共和国兽药生物制品质量标准[S]. 2001 年版. 北京: 中国农业科技出版社, 2001.

## 2009“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 2009 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 2010 年第 1 期公布。

- 1、**评选范围:** 本刊 2009 年度 1-6 期发表的文章。
- 2、**评选数量:** 优秀论文数篇, 分设一、二、三等奖。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:** 奖金 20000 元, 由广东永顺生物制药有限公司赞助。

**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  
二〇〇九年一月二十六日

# 不同缝合材料与方法在犬膀胱切开术中的应用效果

张 丽, 林玉萍

(佛山市先诺宠物医院, 广东 佛山 528000)

**摘要:** 为了探索不同缝合材料与方法在犬膀胱切开术中的应用效果, 选择8只5~7月龄、7~8kg体重的家犬进行实验性膀胱切开术。术后观察动物精神、食欲和泌尿状态, 并分别于术后1个月、2.5个月解剖观察施术膀胱的外部形态及其切口处组织学变化。结果显示: 多数实验犬术后膀胱的形态、位置可恢复正常, 且表面光滑湿润; 膀胱内壁切口处光滑, 仅见淡淡瘢痕, 部分实验犬膀胱壁有不吸收丝线或吸收不完全肠线残留。结果表明: 膀胱切口缝合材料应当采用可吸收缝线; 第一层缝合宜采用全层穿透缝合或仅缝黏膜层, 第二层即浆膜肌层缝合宜用丝线行间断内翻缝合或用肠线行Cushing氏缝合。

**关键词:** 犬; 膀胱切开术; 外科丝线; 铬制肠线

**中图分类号:** S858.292

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2009)05-0043-03

## Application of different suture material and method in cystotomy of dogs

Zhang Li, Lin Yuping

(Xiannuo Pet Hospital of Foshan city, Foshan 528000, China)

**Abstract:** In order to know the application results using different suture materials and methods in cystotomy of dogs, eight dogs at the age of five to seven month and weighing seven to eight kilograms were selected for cystotomy. The spirit, appetite and urination of the dogs were observed after operation. The external form of bladder and the histological changes on the incision were observed by dissecting the dogs 1 month and 2.5 month after operation. The results showed that the form and position of the bladders of most dogs could recover to be normal, the surface of the bladders was smooth and humid, the incision was smooth and only light scar could be seen, there were non absorbent silk thread or not well absorbed catgut in the wall of urinary bladder in some dogs. The results showed that absorbent catgut should be used in cystotomy, whole layer suture or only stitching mucous layer was better during the first suture, interrupted inversion suture using the silk or Cushing suture using the catgut was better during the second suture.

**Key words:** Dog; cystotomy; silk; catgut

膀胱切开术是治疗膀胱结石和肿瘤等疾病的主要手段,也是小动物临床的重要手术。传统的膀胱缝合法是主张不穿透全层的两层连续内翻缝合,缝合材料采用铬制肠线。通常第一层为浆膜肌层连续内翻水平褥式缝合(Cushing氏缝合),以避免将缝线暴露于膀胱内,诱发结石形成或感染;第二层为浆膜肌层连续内翻垂直褥式缝合(连续Lembert氏缝合),并且应把线结埋藏于组织内,防止缝线和线结与内脏器官或腹壁粘连。但临床也见其他缝合法用于膀胱手术,如第一层为全层连续内翻水平褥式缝合(Connel氏缝合)或全层螺旋缝合,第二层为浆膜肌层间断内翻垂直褥式缝合(间断

Lembert氏缝合)。在医学临床上,膀胱造瘘或结石取出术的缝合方法又有所不同,短的裂口第一层可采用铬制肠线行全层结节缝合,第二层则采用丝线间断内翻缝合浆膜肌层;而长的裂口第一层可用铬制肠线连续锁边缝合,以防止黏膜下出血,第二层再用丝线行间断内翻缝合浆膜肌层。

为了探索不同缝合材料与方法在犬膀胱切开术中的应用效果,观察其对膀胱壁组织愈合及排尿机能的影响,本实验以幼龄家犬为动物模型,采用不同缝合材料与方法进行膀胱切开后的缝合实验,通过术后观察动物的精神、食欲与泌尿状态,以及施术膀胱的外部形态及膀胱壁切口处的组织学变

化,旨在筛选出适合于犬膀胱切口缝合的良好材料与方

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物 5~7月龄的家犬8只,体重7~8 kg,购自本地宠物市场。按购买顺序分别编为1~8号,常规单笼饲养商品颗粒狗粮。每天观察其精神、食欲状态,10 d后未发现任何异常即开始实验。

1.1.2 缝合材料 1号、4号和7号外科丝线,3/0中度铬制肠线。

1.1.3 实验药品 静松灵、盐酸氯胺酮、硫酸阿托品、氨苄青霉素、庆大霉素、止血敏、5%葡萄糖氯化钠溶液、生理盐水、复合维生素B、维生素C、新洁而灭、2%碘酊、75%酒精等。

1.1.4 实验器材 常规手术器械一套,术前高压蒸汽灭菌后备用。生物显微镜,切片机,一次性注射器(1 mL、5 mL、10 mL)等。

### 1.2 方法

1.2.1 术前准备 实验犬术前24 h禁食,仅喂与充足饮水。术前以0.05 mL/kg皮下注射硫酸阿托品,5 min后以4 mg/kg肌肉注射静松灵,使犬安静,仰卧保定,术部周围5 cm范围常规无菌准备。接着将2 mL(100 mg)氯胺酮加入到5%葡萄糖溶液100 mL中缓慢静脉滴注以维持麻醉。

1.2.2 手术过程 选实验犬脐下2~3 cm处至耻骨前缘腹中线为手术切口(公犬切口绕开阴茎一指宽左右),切开皮肤5~7 cm。避开主要血管并向下分离皮下组织,充分显露腹中线。沿腹中线切开腹壁,打开腹腔,将膀胱牵出创口外,周围垫以生理盐水浸湿的灭菌纱布(膀胱积尿时先用注射器穿刺排尿)。接着,避开膀胱表面血管切开膀胱2~4 cm,在切口两侧作牵引线,以便于固定、缝合切口。按照实验设计,采用不同缝合材料及方法对膀胱切口缝合后,将线结埋好,用温生理盐水冲洗膀胱表面,拆除牵引线,将膀胱还纳回腹腔。然后使用4号和7号外科丝线常规闭合腹壁,皮肤切口处用碘酊棉球消毒,装置腹绷带。实验犬膀胱切口缝合材料与方法设计见表1。

1.2.3 术后护理 术后3 d内,每天静脉滴注5%葡萄糖溶液250 mL,以维持基础能量代谢;配合应用氨苄青霉素、止血敏等,以预防感染和止血;酌情应用维生素B和维生素C等,以调节营养代谢和促进

创口愈合。每天中午、傍晚测量体温,观察实验犬精神、食欲及创口愈合状态、尿液颜色等。每天对术部进行碘酊消毒,并于术后7~10天拆除皮肤缝线。

表1 实验犬膀胱切口缝合材料与方法设计

犬号	性别	缝合层数	缝合材料	缝合方法
1	♂	第一层	肠线	全层连续螺旋缝合
		第二层	肠线	浆膜肌层Cushing氏缝合
2	♂	第一层	肠线	全层Connel氏缝合
		第二层	肠线	浆膜肌层连续Lembert氏缝合
3	♂	第一层	肠线	浆膜肌层连续螺旋缝合
		第二层	肠线	浆膜肌层Cushing氏缝合
4	♂	第一层	肠线	黏膜层连续螺旋缝合
		第二层	肠线	浆膜肌层Cushing氏缝合
5	♂	第一层	肠线	黏膜层连续螺旋缝合
		第二层	肠线	浆膜肌层Cushing氏缝合
6	♀	第一层	丝线	全层连续螺旋缝合
		第二层	肠线	浆膜肌层Cushing氏缝合
7	♂	第一层	肠线	全层连续锁边缝合
		第二层	丝线	浆膜肌层间断Lembert氏缝合
8	♂	第一层	丝线	浆膜肌层连续螺旋缝合
		第二层	丝线	浆膜肌层间断Lembert氏缝合

1.2.4 剖检观察 对实验犬术后观察一段时间,静脉快速推注10%氯化钾10~20 mL致死、剖检。观察膀胱切口的愈合状态、肠线吸收情况、以及是否与腹腔发生粘连等。其中5号犬于术后1个月剖检,其余实验犬的剖检时间为术后2.5个月。

1.2.5 病理切片 取膀胱切口处组织用10%福尔马林溶液固定,再用石蜡包埋、切片、染色和封片,置视频生物显微镜下观察该组织的修复状态。

## 2 结果

2.1 临床观察 术后1周内,多数实验犬体温维持在38.6~39.1℃之间。少数实验犬体温于术后明显升高,其中7号犬达到39.3℃,5号犬达到39.8℃,两天后恢复到正常范围。术后第1天,实验犬尿液呈不同程度的茶色,其中3号、8号犬尿液为明显浓茶色,并持续2天。之后,所有实验犬尿液逐渐转为黄色至淡黄色。实验犬术后精神、食欲良好,术部取第一期愈合。

2.2 剖检所见 所有实验犬膀胱切口愈合良好,色泽偏白,质地与周边正常组织相比略为硬实。多数实验犬膀胱形态正常,表面光滑湿润,膀胱切口处可见有略透明的浆膜层形成,已看不到对膀胱切口行第二层缝合的肠线,但此浆膜层下的丝线仍清晰可见。2号犬膀胱壁与周边组织发生粘连。

将实验犬膀胱切开后观察,多数犬膀胱内壁光滑,仅见切口处有淡淡瘢痕,其中6号犬膀胱内壁有丝线残端,7号、8号犬浆膜肌层间的丝线依然存在。5号犬为术后1个月剖检,见膀胱内壁切口已经愈合,但黏膜层不平滑。

**2.3 组织学观察** 实验犬膀胱切口的组织学结构已基本恢复到正常形态,膀胱壁浆膜层、肌层纤维和黏膜层对合良好,切口间有多少不定的结缔组织填充。5号犬膀胱浆膜肌层间可见未完全吸收的肠线。

### 3 讨论

**3.1 不同缝合材料在犬膀胱切口愈合中的转归** 在兽医领域,一般主张膀胱缝合全部采用可吸收缝线。本实验在多数犬的膀胱第一层缝合中使用了3/0铬制肠线,剖检结果显示膀胱内壁切口处均可恢复到光滑程度,切口愈合良好,无肠线残余,也无漏尿或感染现象。正如有关报道,膀胱壁愈合能力强,尿液本身造成的污染也轻,不会导致切口感染。同时发现,5号犬膀胱组织内仍可见吸收不完全的肠线,表明中度铬制肠线植入体内1月后未能被完全吸收。丝线是用蚕茧连续性蛋白纤维制成,属非吸收性缝线,理论上不用于空腔器官黏膜层缝合。本实验试用丝线对7号、8号犬膀胱施行了间断Lembert氏缝合,剖检发现在膀胱表面可生成一层略透明的浆膜组织,将线结包埋其中,使膀胱表面光滑湿润,未见线结与内脏器官或腹壁粘连的情况。结合术后动物整体及排尿表现正常,表明使用丝线间断缝合膀胱浆膜肌层完全可行。本实验还试用丝线对母犬(5号犬)膀胱施行了全层螺旋缝合,以了解第一层缝合的丝线是否容易引起感染、或脱落且排出体外。结果显示,术后2.5个月膀胱内的丝线仍未脱落,但膀胱腔亦无感染和结石形成迹象。由此看来,用丝线缝合膀胱全层短期内不一定能诱发感染或结石,但附着在膀胱壁上的丝线确实难以脱落,或许需要更长时间。为避免丝线残端引起不良情况,缝合膀胱全层不应使用丝线。

**3.2 不同缝合方法在犬膀胱切口缝合时的选用** 膀胱切开术是治疗膀胱疾病的重要方法之一,该手术必然造成膀胱损伤,而缝合方法的优劣是影响损伤愈合速度及膀胱功能恢复正常的关键,也直接影响着手术成功率。一般说来,膀胱第一层缝合可以选择全层穿透缝合、仅缝黏膜层或仅缝浆膜肌层3

种方式。依据空腔器官手术的传统理论及实验体会,全层穿透缝合和仅缝黏膜层的优点是止血快、操作迅速,缺点是短期内可能对膀胱扩张有一定影响,对某些品种的犬也许有诱发膀胱结石的可能;而仅缝浆膜肌层,其优点是缝线不暴露于膀胱腔内,可以有效避免缝线诱发结石形成,但缺点是黏膜出血较多或时间较长。本实验在3号、8号犬膀胱切口第一层缝合时采用仅缝浆膜肌层的方法,发现术后这两只犬的尿液颜色明显比其他犬的尿色深且持续时间长,表明术后膀胱黏膜有较多或较长时间的出血。考虑到临床需要手术的患犬膀胱基本为病理状态,常见的结石、肿瘤等因素已引起膀胱不同程度的充血、出血变化,如果不缝合黏膜层,显然在术后将会出现持续几天的血尿症状,所以在临床实践中对膀胱切口还是选择可吸收缝线行全层缝合或先缝黏膜层为好。关于膀胱切口第一层缝合的方法,一般可选全层螺旋缝合或锁边缝合,其中螺旋缝合节省缝线和时间,切口密闭性好,临床上较多采用;锁边缝合能使创缘对合良好,并使每一针缝线在进行下次缝合前就得到固定,在人类医学临床使用最多。而膀胱切口的第二层缝合可选择浆膜肌层Cushing氏缝合法、连续或间断Lembert氏缝合法,理论上主张采用间断Lembert氏缝合法,以适应膀胱扩张对缝线施加的张力。实验结果显示,膀胱第二层缝合采用间断Lembert氏缝合法比较费时、耗线,而采用Cushing氏缝合法或连续Lembert氏缝合法的操作速度明显加快,且对犬膀胱切口愈合及术后排尿机能未见不良影响。但从剖检结果看,采用连续Lembert氏缝合法的2号犬膀胱发生了粘连,而采用Cushing氏缝合法的膀胱无一例发生粘连,其原因可能是Lembert氏缝合法对膀胱表面的损伤较大。所以认为,膀胱第二层即浆膜肌层采用Cushing氏缝合法最好。

### 4 小结

犬膀胱切口的第一层缝合宜采用全层穿透缝合或仅缝黏膜层的缝合方法,它们具有制止切口出血的良好效果,并应使用可吸收缝线。膀胱切口的第二层缝合即浆膜肌层缝合,宜用丝线行间断内翻缝合或用肠线行Cushing氏缝合,它们具有操作速度快且减少粘连的优点。

# 犬的硬膜外麻醉

刘吉贞<sup>1</sup>, 熊惠军<sup>2</sup>

(1. 广东医学院实验动物中心, 广东 湛江 524023; 2. 华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

**摘要:** 麻醉效果的好坏直接影响到相应的手术及其操作的成败。本文通过对硬膜外麻醉机理、犬脊椎解剖结构、硬膜外麻醉药物的介绍, 对临床上硬膜外麻醉的适用情况、药物选择进行介绍。

**关键词:** 犬; 硬膜外麻醉

**中图分类号:** S858.292

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2009)04-0046-03

将局麻药注射于硬脊膜外间隙麻醉, 阻滞脊神经根, 使其所支配的区域产生暂时性的麻痹, 称为硬膜外间隙阻滞麻醉, 简称为硬膜外麻醉<sup>[1]</sup>。硬膜外麻醉具有安全性高、操作性强、所需设备简便易行而具有独特的优越性。

## 1 硬膜外麻醉机理

硬膜外麻醉的广泛应用已有几十年, 但作用机理仍不清楚。目前大多数学者支持的理论是椎旁阻滞学说。其主要依据为椎间孔内的神经鞘膜远较椎管内的鞘膜为薄, 易于为局部麻醉药所渗入, X线造影剂极易随神经根扩散出椎间孔<sup>[2,3]</sup>。另有学者支持脊神经后根神经节被阻滞的理论, 其主要依据为神经节被根膜所包裹, 根硬膜最薄, 易为局部麻醉药所穿透, 而传入神经的神经节细胞特别容易被局部麻醉药所阻滞。但根据用同位素标记局部麻醉药的实验, 证明神经节内局部麻醉药的含量极微, 仅为脊神经含量的1/5, 透过根硬膜的局部麻醉药, 并未把神经节作为阻滞的主要靶组织。

随着近年来对神经根及神经膜的解剖学研究的不断发展, 人们对其机理的研究也在不断地得到深入。当局麻药被注入硬膜外间隙后, 沿硬膜外间隙进行上下扩散, 部分经过毛细血管进入静脉; 一些药物渗出椎间孔, 产生椎旁神经阻滞, 并沿神经束膜及软膜下分布, 阻滞脊神经根及周围神经; 有些药物也可进入蛛网膜下腔, 从而阻滞脊神经根; 尚有一些药物直接透过硬膜及蛛网膜, 进入脑脊液中。所以目前多数意见认为, 硬膜外麻醉时, 局麻药经多种途径发生作用, 其中以椎旁阻滞、经根蛛网膜绒毛阻滞脊神经根以及局麻药通过硬膜进入蛛网膜下腔产生延迟的脊麻为主要作用方

式, 但不是硬膜外麻醉的唯一作用机理<sup>[1~3]</sup>。

鉴于局麻药在硬膜外腔中要进行多处扩散分布, 需要比蛛网膜下腔麻醉大得多的容量才能导致硬膜外麻醉, 所以容量是决定硬膜外阻滞量的重要因素, 大容量局麻药使阻滞范围广。而浓度是决定硬膜外麻醉质的重要因素, 高浓度局麻药使神经阻滞更完全, 包括运动、感觉及自主神经功能均被阻滞。相反, 可通过稀释局麻药浓度, 获得分离阻滞。这种分离阻滞尤其适用于术后镇痛, 即仅阻滞感觉神经而保留运动神经功能。理论上, 硬膜外麻醉可在任何脊神经节段处穿刺, 通过调节局麻药的量和浓度来达到所需的阻滞平面和阻滞程度<sup>[4]</sup>。

## 2 犬腰椎解剖结构与穿刺方式的选择

对于动物来说, 由于其麻醉区域的控制比较粗放, 不小心可能将药物注射入蛛网膜下腔, 引起全脊麻, 很快引起呼吸、心跳的停止, 故对其进行高位麻醉存在一定的风险性。另外, 由于犬的脊椎骨解剖结构的特殊性, 其腰椎骨的后突长, 在垂直方向上覆盖了椎间隙, 且在L6-L7处, 脊髓已经停止, 脊髓发出的神经形成一马尾状束丝向后延伸, 所有的近尾部神经、荐骨部神经、第七腰椎神经, 均从腰骶连接处的椎间孔发出<sup>[5-6]</sup>。这样, 如果选择在腰荐椎间隙进行穿刺, 向前置导管, 则可以防止操作失误而穿刺至蛛网膜下腔, 导致全脊麻。所以国外较常用的方法是选择间隙较大的L7~S1进行穿刺<sup>[7]</sup>。刘德义等<sup>[8]</sup>报道, 可对犬采取弓背、侧卧位方式进行腰椎间隙(L1-L7)穿刺插管, 行连续硬膜外麻醉。但此方式对操作者熟练性及动物本身要求较高。

## 3 常用药物

**3.1 利多卡因** 应用范围极广, 又被称作“万能

麻醉药”。应用于硬膜外麻醉时,起效时间快,麻醉作用时间约为 30 min~2 h。犬静脉注射的最大耐受剂量为 2~4 mg/kg,不良反应可为呕吐、挣扎、心律失常等。

**3.2 布吡卡因** 局部麻醉中较为常用,起效较慢,但作用时间较长(3~10 h),静脉注射最大耐受剂量建议不超过 2.2 mg/kg。过量时会产生心律失常及挣扎表现。还具有一定的中枢神经系统毒性及心血管毒性。除此之外,布吡卡因还能直接导致心肌细胞的损伤<sup>[9]</sup>。

**3.3 罗哌卡因** 在兽医临床上还未广泛应用,但在人医上应用已较为普及。Tanya Duke<sup>[10]</sup>等在对犬进行硬膜外麻醉时,其 Lh5-Lh7 部位的麻醉效果可以达到手术要求。另有实验发现用罗哌卡因进行麻醉时,其感觉阻滞时间与布吡卡因相当,甚至稍弱(决定于其浓度)。其运动阻滞相对较弱,心血管毒性也相对较弱。其具有中枢神经系统和心血管系统低毒性、作用时间长的特点<sup>[11~12]</sup>。

由于三种药物均属于酰胺类局部麻醉药物,主要从肝脏代谢,而其代谢产物则主要从肾脏排泄,并且呈速率限制性,因此在肾脏损害的患者中不延长给药时间可造成代谢物蓄积<sup>[13]</sup>。

## 4 使用方法

**4.1 麻前用药** 可以使用静脉注射异丙酚、氯胺酮、安定,静脉或肌肉注射乙酰丙嗪等药物。如先行静脉注射 5 mg/mg 剂量异丙酚,使犬倒地,随后进行消毒、备皮、穿刺,在犬复苏之前就可以完成整个穿刺工作。

**4.2 加肾上腺素** 硬膜外麻醉中,应用肾上腺素可减慢局部麻醉药的吸收,延长其作用时间。在 Abboud<sup>[14]</sup>的实验中,用 0.45% Bupi 加 1:300 000 肾上腺素进行剖腹产,其平均麻醉时间为 186±11 min,而对照组的平均麻醉时间为 85±6 min,差别非常明显。临床推荐剂量为 1:200 000~300 000。

剖腹产中局部麻醉药中加用肾上腺素要考虑对胎儿和母体子宫收缩的影响,因子宫血管仅有  $\alpha$  受体,兴奋时使血管收缩,造成胎儿缺氧。子宫肌具有  $\beta$  受体,兴奋时使子宫松弛,收缩无力、出血增多。肾上腺素具有  $\alpha$  和  $\beta$  受体作用,故在剖腹产中不建议使用。而罗哌卡因具有一定的缩血管作用<sup>[4,15,16]</sup>,故临床上不必同时使用肾上腺素。

**4.3 麻醉药物的复合应用** (1) 吗啡的使用:可

以在硬膜外注射时,与吗啡类药物进行联合使用,可减少酰胺类局麻药物的使用。吗啡在进入硬膜外腔后,脑池脑脊液中浓度较高,消除半衰期长,使镇痛效果确切<sup>[17]</sup>。(2) 布吡卡因与利多卡因联合使用:可以根据临床手术的需要,利用利多卡因起效快、布吡卡因麻醉时间长的特点,适当调整二者比例,来达到所需的麻醉效果。(3) 配合吸入麻醉:硬膜外麻醉与吸入麻醉两种方法结合使用,可以减少麻醉药物的使用,提高麻醉效果,减少药物副作用,达到满意手术效果。

虽然在对犬行硬膜外麻醉时,也有将药物混入血管的潜在危险,但 Hals<sup>[19]</sup>实验中发现:对犬静脉注射的惊厥剂量为布吡卡因 4.3 mg/kg,罗哌卡因 4.9 mg/kg。当对其注射两倍此剂量时,如果能在犬发生中枢神经及心血管毒性的初期就采取相应干预措施,可以控制其致死率。此外,硬膜外麻醉时很难达到此惊厥剂量。

## 5 硬膜外麻醉的适应症和禁忌症

适应症主要有:(1) 肛门和会阴部手术,如犬肛门腺手术、犬尿道造口术等;(2) 后肢手术,如骨折手术、截肢手术等。

硬膜外麻醉的禁忌症主要有:(1) 严重的全身性感染,穿刺部位有炎症或感染,穿刺有可能将致病菌带入硬膜外腔。(2) 脊椎外伤或严重变形。因脊椎外伤极易造成硬膜受损,硬膜外注药后大量药物进入蛛网膜下腔,而造成全脊麻,因而慎用硬膜外麻醉;脊柱畸形使穿刺针进入椎管较困难。(3) 严重脱水、血容量不足、休克等慎用硬膜外麻醉术<sup>[4,18]</sup>。

总之,对于犬来说,硬膜外麻醉操作方法简便易行,可控性强,安全性高,具有独特的优点。在临床上可以根据不同的手术需要,进行不同药物及穿刺部位的选择,达到满意的效果。

## 参考文献:

- [1] 刘俊杰,赵俊.现代麻醉学[M].第二版.北京:人民卫生出版社,1997.
- [2] 陈锡明译.硬膜外阻滞的现代观念和展望[J].国外医学麻醉学与复苏分册,1988,4(2):153-156.
- [3] Bromage PR.Mechanism of action of extradural analgesia[J].Br J Anaesth,1975,(47):199-211.
- [4] 庄心良,曾因明,陈伯銮.现代麻醉学[M].第三版.上册.北京:人民卫生出版社,2003.
- [5] Alexander de Lahunta,Robert E.Habel.Applied Veterinary

nary Anatomy[M]. W B Saunders Company, 1986.

[6] Donald R, Adams. Canine Anatomy[M]. fourth edition. Iowa State Press:Blackwell Publishing Company, 2004. 397-409.

[7] Alan M, Klide, Lawrence R, et al. Epidural Analgesia in the Dog and Cat[J]. Journal of the American Veterinary Medical Association, 1968, (7):15.

[8] 刘德义, 侯加法, 邓益锋, 等. 犬连续硬脊膜外阻滞方法的研究[J]. 安徽农业技术师范学院学报, 2001, 15(2):33-35.

[9] Ho Yoel Ryu, Jang-Young Kim, et al. Bupivacaine Induced Cardiac Toxicity Mimicking an Acute Non-ST Segment Elevation Myocardial Infarction[J]. Yonsei Medical Journal, 2007, (48):331-336.

[10] Tanya Duke, Nigel A Caulkett, Stephanie D Ball, et al. Comparative analgesic and cardiopulmonary effects of bupivacaine and ropivacaine in the epidural space of the conscious dog[J]. Veterinary Anaesthesia and Analgesia, 2000, (27):13-21.

[11] Feldman H S, Arthur G R, Covino BG. Comparative systemic toxicity of convulsant and supraconvulsant doses of intravenous ropivacaine, bupivacaine, and lidocaine in the conscious dog[J]. Anesth Analg, 1989, (69):794-801.

[12] Wildsmith J A W, Brown D T, Paul D, et al. Structure-activity relationship in differential nerve block at high and low frequency stimulation[J]. Br J Anesth, 1989, (63):52.

[13] Bader AM, Datta S, Flanagan H, et al. Comparison of bupivacaine and ropivacaine induced conduction in block in the isolated rabbit vagus nerve[J]. Anesth Analg, 1989, (68):724.

[14] Abboud TK, Sheik-ol-Eslam A. Safety and efficacy of epinephrine added to bupivacaine for lumbar epidural analgesia in obstetrics[J]. Anesth Analg, 1985, (64):585-591.

[15] Tadahiko Ishiyama, Shuji Dohi, Hiroki Iida, et al. The Effect of Topical and Intravenous Ropivacaine on Canine Pial Microcirculation[J]. Anesth Analg, 1997, (85):75-81.

[16] Lida, Hiroki, Watanabe, et al. Direct Effects of Ropivacaine and Bupivacaine on Spinal Pial Vessels in Canine: Assessment with Closed Spinal Window Technique[J]. Anesthesiology, 1997, 87(7):75-81.

[17] 沈金芳, 王金平. 硬膜外注射吗啡在犬体内的药物动力学[J]. 中国临床药理学杂志, 1998, 7(5):230-233.

[18] Diane McKelvey, Hollingshead K Wayne. Small Animal Anesthesia & Analgesia[M]. Second Edition. Mosby Inc, 2000.

[19] Hals Feldman, Per Hartvig, Lars Wiklund, et al. Regional Distribution of <sup>11</sup>C-labeled Lidocaine, Bupivacaine, and Ropivacaine in the Heart, Lungs, and Skeletal Muscle of Pigs Studied with Positron Emission Tomography[J]. Biopharmaceutics & Drug Disposition, 1997, 18(2):151-164.

欢迎订阅

ISSN 1005-8567  
CN 44-1243/S

《广东畜牧兽医科技》 (双月刊)

(1976年创刊, 大16开本, 正文52页)

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

读者对象: 畜牧兽医行政管理人员、科研人员、技术推广人员, 大专院校师生, 种畜禽、兽药和饲料生产厂家技术人员, 基层畜牧兽医工作者和饲养专业户等相关人员。

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

欢迎订阅

欢迎投稿

欢迎刊登广告



# 四川会理驴的资源情况与保护利用

李天海

(四川省会理县畜牧局, 四川 会理 615100)

中图分类号: S858.22

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2009)05-0049-02

会理驴至少已有1 000余年的驯养史,属小型驴种和役肉兼用型地方品种,性温驯,毛色多为灰色。1987年版《四川家畜家禽品种志》将会理驴归类为川驴,1996年凉山州家畜家禽品种资源补充调查时因主产于会理县而得名。为了科学合理地保护、开发、利用这一优良的地方品种资源,发展地方经济,笔者对会理驴的种质资源进行了调查,并提出了保护利用建议。

## 1 资源情况

**1.1 产区的自然条件** 会理县地处四川省凉山彝族自治州最南端,位于北纬 $26^{\circ}5'$ 至 $27^{\circ}12'$ ,东经 $101^{\circ}52'$ 至 $102^{\circ}38'$ 。境内地形由东北到西南呈狭长状,南北长140 km,东西宽55 km。全县幅员面积4 521.53 km<sup>2</sup>,其中有天然草地20.53万公顷(其中有宜牧草地8.53万公顷)。饲草饲料除天然牧草和丰富的农副秸秆外,近年来全县大力推广种植光叶紫花苕、紫花苜蓿等一年生或多年生优质人工牧草,年均种植人工牧草0.87万公顷,丰富的饲草饲料资源为会理驴的发展提供了坚实的物质基础。这些有利的自然条件为会理驴的生长、繁衍提供了适宜的环境。

**1.2 会理驴的分布** 会理驴主产于会理县海拔1 300~2 600 m的河谷和中山地区。主要分布于会理县南端的黎溪、通安2个区共21个乡镇。2007年末存栏2.27万匹,其中,公驴1.03万匹,母驴1.14万匹。

**1.3 会理驴的形成和发展** 会理驴在会理县的驯养至今至少已有1 000余年的历史。会理驴的集中产区因属中亚热带半湿润气候区,气候较干燥,地形为浅丘和河谷类型,幅员辽阔,交通不便,运输困难,需要大量的廉价运输工具来解决群众在生产生活上的运输困难问题。通过劳动人民长

期的选育和培养,形成了具有很好的忍耐性和对当地条件适应性强的品种。在很早以前会理驴的群体数量很少,是多年来通过繁育繁殖而逐渐增多的。特别是近年来,随着生产的不断发展和人民群众生活水平的不断提高以及党的农村各项经济政策的落实,受市场需求的推动,会理驴的发展更为迅速。2007年末全县驴存栏达到2.27万匹,与1949年的1 578匹相比,增长了14.39倍。

**1.4 外貌特征** 会理驴属小型驴种和役肉兼用型品种,全身结构紧凑匀称,各部结合良好协调,体型宽而深,体质干燥结实,肌肉丰满,筋腱坚实,轮廓明显,骨质致密坚实。头大小适中,方正,额宽突出,眼大有神,耳长,竖立而灵敏,颜面部长而直,鼻孔大,口方,牙齐整。颈呈斜颈,肌肉丰满宽厚而坚实,与头、肩结合良好。髻甲低、宽而短。前胸宽,胸廓深广,肩部长而稍斜,肋骨圆拱。腹部大而充实。背腰平直,结合良好协调。尻部长而宽,稍倾斜,肌肉丰满。四肢短而强壮,肢势直立端正,关节大呈“竹节型”,筋腱明显,蹄呈园形,蹄质坚实耐磨,行走轻快而脚步紧。尾细毛少,尾长中等。被毛细,密而短,有光泽。灰色驴的被毛呈现鼠灰色,长毛为黑色或接近黑色,眼圈、鼻端、腹下及四肢内侧色泽较淡,有背线和鹰膀等特征。粉黑驴全身被毛呈黑色,口、眼、鼻及腹下呈粉白色,黑白之间界线分明,称“粉鼻、亮眼、白肚皮”,又称黑画眉。还有栗色驴,全身被毛呈红褐色。皮肤紧密而富有弹性。

**1.5 体尺和体重** 据调查测定资料分析:成年公驴平均体高96.2 cm、体长95.8 cm、胸围122.2 cm、管围16.2 cm、体重190 kg;成年母驴平均体高94.8 cm、体长94.84 cm、胸围112.08 cm、管围14.32 cm、体重184.96 kg。成年公驴体长指数99.58%,胸围指数127.03%,管围指数16.84%;成

年母驴体长指数 100.04%，胸围指数 118.23%，管围指数 15.11%。

**1.6 役用性能** 会理驴的役用性能最大优点是能吃苦耐劳，适宜在浅山丘陵的坡路上行走，在产区主要用于驮运、乘骑和拉架车等役用，而且一年四季均可役用。成年驴无论公、母一般驮运 50~70 kg，体质健壮的可驮 80~100 kg 左右，并在 3 h 内走完 15~20 km 的路程。幼驴调教役用较早，一般 1~1.5 岁开始调教驮运东西，可驮 30~40 kg，到 2~2.5 岁时可驮 50 kg 以上。一般驮 50 kg 物资可行走 30 km 以上不休息。役用年限较长，一般 20 岁左右还可役用。

**1.7 繁殖性能** 驴的性成熟较早，1.5~2.5 岁即达性成熟进行配种，体成熟多在 5 岁左右。母驴发情周期约 20~30 d，发情持续期 5~7 d（平均 6 d），怀孕期 345~365 d。春季初期开始发情，3、4 月份为发情旺季，可持续到 6 月份，饲养管理好的一年四季均可发情。多数母驴产仔后 1~2 个月即发情配种，这种驴 7 年可产 6 胎，有少数因饲养管理和生长发育较好的，产仔后 6 d 左右就进行配种，也叫“配血窝”，可一年产一胎。年平均受胎率 72.62%，年产驹率 70.62%。母驴种用年限一般为 15~20 岁，母驴一生可产仔 8~12 胎。幼驴平均成活率达 93.18%，平均初生重 14.43 kg，平均断奶重 70.76 kg。公驴 1 岁零 3 个月即有性欲表现，2.5~3 岁达到性成熟时开始配种，公驴种用年限为 14 岁左右。自然交配的公、母比例一般为 1:30~50，即自然交配每头公驴每年配种母驴 30 至 50 头。

**1.8 产肉性能** 据驴的屠宰测定资料分析：驴的平均屠宰率为 44.67%，净肉率为 33.94%。其中母驴平均屠宰率为 42.51%，净肉率为 32.99%，最高屠宰率达 50.5%，最高净肉率达 39.36%。公驴平均屠宰率为 45.61%，净肉率为 34.59%，最高屠宰率达 52.8%，最高净肉率达 41%。驴肉品质好，营养丰富，素有“天上龙肉，地下驴肉”之赞誉。

**1.9 饲养管理** 会理驴主产区由于地处山区，农户养驴以散养为主。主要采取舍饲和放牧相结合的饲养管理方法。役用期间以舍饲为主，非役用时以放牧为主。舍饲时多将草料铡碎饲喂，每天晚上九点上夜草一次，役用期间适当补饲一些精料，还

要补饲一些食盐和饮水。驴的消化力强，饲料量少，日饲喂量 30 kg 左右，还耐饿，在役用中经常间隔 6~8 h 不食草料。

**1.10 抗病、耐粗情况** 因会理驴的役用时间长，对粗饲料的消化力强，产区气候条件适宜，体质健壮结实。因此，耐粗饲、抗病力较强。尚未发现比较严重的传染病和寄生虫病，只是偶有炭疽、皮癩、疝痛、下鼻病发生，但治疗及时可痊愈。一般寄生虫的感染发病情况较少发生。

## 2 对会理驴的评价

会理驴具有体质结构良好，性情温顺无恶癖，役用性能好，遗传性能稳定，繁殖力、抗病力强，耐粗饲和适应性强等特点，尤其是驴肉品质好，营养丰富，滋补性强等显著优良性能，是优良的地方畜禽品种之一。但也存在近亲繁殖严重、饲养管理粗放、生长缓慢等不足。有待在保护中改良和提高。会理驴是目前我县保护较好的生物资源，具有重要的经济利用价值。随着社会的进步和农业机械化水平的提高，会理驴的役用功能将被逐步替代。但是，会理驴肉以绿色、无公害，肉质好，低脂肪，高蛋白，营养丰富，滋补性强著称，是目前广大消费者十分喜爱的珍贵的美味佳肴，市场供应紧俏，市场前景十分广阔。

## 3 保护利用建议

**3.1 对本品种的保护利用** 会理驴分布不广，饲养管理粗放，近亲交配比较普遍，致使驴的体质、役用和繁殖性能下降。要改变粗放的饲养管理方法，实行科学养驴，推行种公驴异地交换配种，推行舍饲饲养技术，防治各种疾病的发生，适当使役，不断提高驴的繁殖率和幼驴的成活率，进一步扩大分布区域和提高其体质与役用能力。

**3.2 选育方向** 会理驴的选育方向应坚持本品种选育为主。避免近亲繁殖，选留优良公、母驴作种用，积极选育提高。开展育种繁育工作，在保持现有役用性能的基础上，通过本品种选育提纯复壮和杂交等方法，将会理驴培育成体质结实匀称，肌肉强健，筋腱明显，骨骼坚实，体躯宽大深广，发育良好，背腰平直，肋骨开张，四肢肢势端正粗壮，役用性能更好，繁殖力更强，具有优良体质的役肉兼用型驴，在当地国民经济建设中发挥更大的作用。

# 中西医结合治疗耕牛下痢

唐亮华<sup>1</sup>, 刘云飞<sup>2</sup>, 李玉祥<sup>3</sup>

(1. 江西省广昌县塘坊乡畜牧兽医站, 广西 广昌 344900; 2. 江西省广昌县盱江镇畜牧兽医站, 广西 广昌 344900; 3. 江西省广昌县农业局畜牧兽医站, 广西 广昌 344900)

中图分类号: S858.23

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2009)05-0051-02

耕牛痢疾,按中医属肠黄,是由湿热毒邪郁积胃肠道所致。以下痢腹痛、里急后重、频频努责、泄而不畅、排红白色胶冻样脓血恶臭稀粪等为特征。耕牛多发病,夏秋高温季节多发病。若诊治不当,常造成经济损失。2001年以来笔者参考有关资料,采用“白头翁汤加减”结合西药抗菌消炎补液等措施,治疗耕牛下痢28例,全部治愈。

## 1 致病病因

主要是夏秋暑热炎天饲养管理失调,耕牛采食了霉烂变质饲料或因饥渴喝了污秽变质的饮水(如饲喂了餐饮店的变质泔水、地沟中的污水等)或采食其它有毒植物(如江河岸边及农田曾被洪水淹没过的染毒(菌)青草)等,以致湿热毒邪侵入脾胃,郁积于肠道,湿热郁蒸,气血阻滞,化为脓血而成痢疾。

## 2 主要症状

病初患牛精神沉郁,食欲减退,反刍减少;体温升高至39~41℃,鼻镜干燥无汗;口腔干热涎少,口色鲜红,舌苔黄厚粘滞;眼结膜潮红;低头拱背,四肢无力,不愿行走;大便稀少带血和粘液,恶臭,频频努责,常作排粪状,里急后重,泄而不畅;小便短赤。后期精神疲倦,眼无神;肛门失禁,有红白色胶冻样或带粘膜样稀粪自肛门流出,气味恶臭;病牛排便时表现痛苦呻吟,腹痛,常回头望腹;四肢及耳尖发凉,病牛迅速消瘦,眼球下陷呈脱水症状;口色转暗红或紫红,脉搏沉细无力。若治疗不及时或治法不当,最终病牛因自体中毒,心力衰竭倒地不起而死亡。

## 3 治疗方法

**3.1 中药** 湿热毒邪主要郁积于肠道,应以清热解毒,凉血止痢为治则。用白头翁汤加减:白头翁、黄连、黄柏、秦皮煎水服用,每天1剂,连用3~4天。

**3.2 西药** 以抗菌消炎、补液强心、解除酸中毒、及抗过敏、增强机体抵抗力等为主。取庆大霉素60~100万IU(或恩诺沙星等肠道消炎药),5%葡

萄糖盐水2000~3000mL, V<sub>C</sub> 20~30mL, 10%安钠咖20~30mL, 地塞米松磷酸钠注射液60~100mg, 混合静脉注射; 5%碳酸氢钠500~800mL, 单独静脉注射。连用3~4天。

## 4 病例介绍

**4.1 病例一** 本县塘坊乡村里村唐某饲养的水牛母犊1头,4月龄,2007年7月20日发病后求治。主述牛犊下泻2天,减食,粪带脓血有粘液,一天排粪10余次,喜饮水。临床检查:牛犊精神萎顿,疲倦乏力,形体消瘦,被毛粗糙,常作起卧的痛苦状,腹部紧缩,眼匡下陷,脱水明显,口腔干涩,舌苔黄燥,体温40.1℃,呼吸46次/min;听诊肠音亢进,肛门松弛,常流出脓血恶臭稀粪,粘污肛门四周;叩诊下腹部拒闪。根据症状和现场检查诊断为湿热下痢。治疗:①中药,以清热解毒、凉血止痢为治则,用白头翁汤加味:白头翁60g,黄连、黄柏、秦皮各30g,山楂、木香、槟榔、白芍各25克煎汁灌服,每天1剂。②西药:以抗菌消炎、补液强心、解除酸中毒、抗过敏为主。取庆大霉素60万IU,5%葡萄糖生理盐水1500mL, V<sub>C</sub> 20mL, 10%安钠咖10mL, 地塞米松注射液40mg, 混合一次静注。另5%碳酸氢钠300mL静脉注射。加强饲养管理,喂以米粥之类易消化饲料,并加入少量食盐调味。第2天复诊精神大有好转,体温38.8℃,食料增加。减去安钠咖继用上法治疗2天后痊愈。

**4.2 病例二** 本县盱江镇小港村刘某饲养水牛犊1头,3岁,患病3天。于2005年6月25日请诊。检查见病牛精神不振,眼无神,眼窝下陷,常举尾努责,仅排出少量混有粘液和血液或胶冻样恶臭稀粪,呈里急后重,泄而不畅之状。体温39.8℃,呼吸35次/min,脉搏53次/min。听诊肠音亢进,望诊舌苔黄腻,暖气酸臭,尿少短赤。据此诊断为湿热下痢。治疗:①白头翁100g,黄连、黄柏各50g,秦皮、赤芍各40g,炒地榆30g,葛根、金银花、连翘各40g,煎

汁灌服,每日 1 剂。②庆大霉素 100 万 IU,5%葡萄糖生理盐水 2 500 mL,10%安钠加 20 mL,V<sub>c</sub> 30 mL,地塞米松注射液 100 mg,混合静注。另 5% NaHCO<sub>3</sub> 800 mL 静脉注射。第 2 天明显好转,体温 38.5℃,粪便粘血减少,症状减轻,按上法(5%NaHCO<sub>3</sub> 减为 500 mL,地塞米松减为 60 mg,安钠咖减为 10 mL)再用 3 天后治愈。1 个月后回访未见复发。

### 5 诊疗小结

5.1 白头翁汤由白头翁、黄连、黄柏、秦皮四味药组成。方中白头翁清热解毒、凉血治痢为主药,黄连、黄柏、秦皮协助白头翁清热解毒、燥湿治痢为辅药。故四味药合用,有清热、解毒、凉血止痢之效。在实践中

可依据症状轻重、患牛大小、体质强弱等进行加减。下痢恶臭,可重用黄柏以助清泻下焦湿热之力;腹痛里急后重明显,可加木香、槟榔、白芍以行气缓急止痛;赤痢较多者加赤芍、丹皮、地榆以活血凉血;怕冷发热重者可加葛根、荆芥、银花、连翘以解表清热。

5.2 西药主要有抗菌消炎、补液、强心、解毒、抗炎、抗毒、抗过敏,增强机体抗病力和回阳救急之作用,尤其对危重病牛意义重大。中西药相结合取长补短,提高疗效,加速病畜康复。同时要加强对牛的饲养管理,不要喂霉烂变质的饲料,不让饮污秽的水。一旦发现耕牛发病,要尽早诊治,有利于提高疗效。

(上接第 40 页)

步扩大,先后共有 570 多只鸡发病,死亡 80 只鸡,遂来我所求诊。现场剖检死鸡 6 只,发现鼻腔内都含有大量粘稠状分泌物。其中 4 只鸡喉头见有团块状黄白色干酪样物、血样物,另外 2 只鸡喉头、气管充血、出血,并充满大量粘性分泌物,喉头粘膜有针尖大小的出血点。综合其发病情况、临床症状、病理变化,诊断为鸡传染性喉气管炎。

治疗:中药内服方水煎成取汁,按 2 mL/只用水稀释 2 倍,让鸡自由饮用,1 天 1 次,连用 3 d;中药散喷贴方(硼黛散)喷射病鸡咽喉部,1 天 1 次,连用 3 d。在用药诊疗的同时,加强饲养管理,清洁和消毒鸡舍,用 0.5%百毒杀带鸡消毒,1 天 1 次,连用 3 d。24 日复诊:除 39 只症状特别严重者死亡外,其它鸡只精神、食欲均已好转,呼吸道症状明显好转;中药按原方继续使用。25 日复诊:鸡只精神、食欲恢复如常,病症完全消失,中药内服方继续服用 1~2 d。

2.2 病例二 南阳市新野县某养鸡户饲养海兰褐壳产蛋鸡 2 万余只,2008 年 10 月 15 日起,鸡群中先后有近 800 只鸡出现明显的呼吸道症状,咳嗽、张口呼吸、甩头、精神沉郁、采食量减少、不产蛋或产蛋量下降,养鸡户用泰乐菌素、氟苯尼考等多种药物治疗效果不佳,至 10 月 20 日,疫情更加严重,症状进一步加重,先后又有 1 200 只鸡发病,死亡近 500 只。用双联法治疗,3 d 后病鸡全部恢复正常,用药 7 d 后产蛋开始回升如常。

### 3 临床数据

自 2006 年以来,我们在南阳市高新区、卧龙区、宛城区、邓州市、新野县、唐河县等 13 个县(市、区)推广应用双联法防治鸡传染性喉气管炎,统计

病例近 700 例,治疗病鸡约 300 万余只,经临床治疗效果追踪观察,有效率达 100%,治愈率达 95.5%。

### 4 讨论与小结

4.1 人工发病试验和临床治疗结果表明,双联法治疗传染性喉气管炎的疗效显著。在药物配伍方面,双联法强调内外配合,以清热解毒,调整内环境阴阳平衡,增强机体免疫力为主,方中鲜石斛、栀子、连翘、黄连清热解毒;赤芍、丹皮、生地、玄参活血散瘀消痈肿;生石膏清热,收敛生肌;苦参杀虫。外以硼砂、青黛、土茯苓等制成中药散直接挂贴咽喉病灶处,渗入病变组织,直接杀菌灭毒,消肿去翳为辅;里应外合,内外齐攻,共同发挥标本兼治的作用。

4.2 抗生素和抗病毒等药物的滥用或长期使用,易产生抗药性及毒副残留,影响禽产品质量安全,而双联法中的中草药具有高效、毒副作用小、无残留,不产生抗药性,不污染环境,能增加机体抵抗力,疗程短,作用迅速,价格低廉的特点,是目前治疗鸡传染性喉气管炎的有效方法。

4.3 目前缺乏治疗鸡传染性喉气管炎的特效药物,疫苗免疫接种仍然是预防和控制鸡传染性喉气管炎的主要措施,但由于疫苗的局限性,很难从根本上解决鸡传染性喉气管炎的暴发与流行,治疗不及时或误诊误治,容易造成鸡的大量死亡。早发现,早治疗,对症下药是治疗本症的关键。在应用双联法的同时,如结合紧急接种疫苗,防控效果更理想。

4.4 鸡传染性喉气管炎的防控除采取科学的免疫程序、严格的隔离等综合性防控措施外,还要认真落实防疫措施,加强消毒,加强饲养管理,同时鸡场要严格按照《动物防疫法》有关规定进行规划建设,鸡舍要具备防寒、防湿功能,确保通风良好。

# 关于举办全省畜牧兽医行业 2009 年度 第五届“迈高杯”乒乓球比赛的通知

各有关单位：

为了传承“团结、拼搏、进取、创新”的迈高杯比赛宗旨，为了支持 2010 年广州亚运会的举办，同时展现广东省畜牧兽医行业蓬勃向上的精神风貌，营造健康、稳定、和谐发展的氛围，2009 年度全省畜牧兽医行业第五届“迈高杯”乒乓球大赛将于今年 11 月 22 日在广东奥林匹克体育中心隆重举行。

本次比赛在已有的经验基础之上，邀请了更多的赞助和参赛单位、有专门媒体对赛事进行全程报道，扩大其影响范围、制定了更为规范的比赛体系、增加了更有娱乐性和趣味性的晚宴，使参赛的各位同行在娱乐身心的同时，又能加强彼此的交流合作，共同促进畜牧兽医行业的繁荣发展。现将大赛的有关事项通知如下：

## 一、时间、地点

**报到时间：**2009 年 11 月 21 日

**报到地点：**广州市广东奥林匹克大酒店（大观路科学城附近）

**竞赛时间：**2009 年 11 月 22 日

**竞赛地点：**广东省奥林匹克体育中心

## 二、组织机构

**主办单位：**广州迈高化学（科技）有限公司

**承办单位：**广东永顺生物制药有限公司 中牧实业股份有限公司

**协办单位：**《绿色食品》杂志社

## 三、参赛人员资格及名额分配

1. 参赛人员资格：全省畜牧兽医行业行政主管部门、养殖、饲料、动保等本行业相关企事业单位及个人。

2. 选手资格审查：审查方法：各地级市养猪行业协会或相关管理部门对本地参赛人员资格进行初审，对不符合上述条件的不予报名（报名后不能参加比赛的，不能派代表参加比赛）。组委会一经发现冒名顶替者将取消其比赛资格，已参赛的将取消名次及奖品。

3. 报名时间：请各地级市养猪行业协会或相关管理部门认真组织，确定选手名单后填写报名表，于 2009 年 10 月 30 日前汇总至竞赛组委会，以便安排落实有关事宜，逾期不再受理。

4. 参赛人员名额：①省农业厅及直属事业单位；②各地级市选派 5 名选手参加；③各相关畜牧兽医行业协会、省内规模以上畜禽养殖场选派 2 名选手参加；④省农业科学研究院畜牧所、兽医所各选派 2 名选手参加；⑤华南农业大学动物科学学院、动物医学学院、佛山科技学院、广东海洋大学、仲恺农业技术学院、韶关学院各选派 2 名选手参加。

## 四、比赛规则

1. 本次比赛只设男子组和女子组（不分年龄段）单打比赛，采取国际通用的 11 分制，比赛用球为 40mm 白色球，执行中国乒协最新审定的《乒乓球竞赛规则》。

2. 比赛均采用五局三胜制。第一阶段分组采取循环赛，每组取前二名，第二阶段小组出线的进行淘汰赛。

## 五、联系方式

本届比赛设立了比赛组委会，如有疑问者可咨询筹委会秘书处：

联系人：郭茂志 电 话：13826242918 020-85636388

广州迈高化学（科技）有限公司：李晓东 电 话：13922134288 020-85636588

广东永顺生物制药有限公司：林建新 电 话：13903000130

中牧实业股份有限公司：黄明立 电 话：13911226128

■ 报名表格请向筹委会秘书处索取。