



# GUANGDONG JOURNAL OF ANIMAL AND VETERINARY SCIENCE

Established in march 1976(Bimonthly)

Feb.2008 Volume 33,Number 1 (Total No.137)

---

## Main Content

- 2007 Guangdong annual report on animal husbandry and veterinary and 2008 scheme.....(3)
- Regulation of conjugated linoleic acid(CLA) content in butterfat by dietary nutrition.....Xu Shuling, Chen Liling, et al (6)
- Injury of intestinal barrier function.....Ge Na, Yuan Hui(9)
- Research progress on melanins from white silkie bantams .....Zhao Yanping, Huang Xiaohong, et al (12)
- Biological function of oligopeptides and its application on feeding practice in piglets .....Zhang Han(16)
- Research progress on lumpy skin disease .....Xu Libo, Zhao Yujun(19)
- Influence of different nursing methods on postpartum sow's reproductive performance .....He Xiangren, Zhen Zijie, et al(22)
- Nutrition and reproduction of replacement gilts..... Shan Mei,Wang Yanta(25)
- Feeding of New Zealand white rabbits in wencheng town and determination of its production performance.....  
.....Jiang Xuejun, Wu Yuehua, et al (28)
- One case report of pig colibacillosis ..... Zhang Yuanyuan, Yang Jianwei (32)
- Suspending and tamble culture in BHK-21 cell & FMD A type virus culture By Suspending Condition.....  
.....Xue Ying, Wang Yan, et al (35)
- Immunization effect of Avian Influenza recombinant Newcastle Disease Virus bialent vaccine on Shiqiza broilers .....  
.....Guan Jianxin, Deng Hongwen, et al (38)
- Detection of pseudorabies virus, porcine circovirus type 2 and parvovirus in semens of Guangxi boars by PCR method.....  
.....Huang Xia, Chen Yixiang, et al (41)
- One case report of renal failure in cats caused by vesical calculus.....Wang Fei, Li Yuling, et al (44)
- Establishing bio-safety system in pig farms ..... Li Jianhao (49)



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

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

Chief Editor:JIANG Zong-yong

Vice Chief Editor;SUN Yanwei

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

Post Code: 510500

Tel:(020)37245052 37288167

Fax:(020)37245052

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

# 广东省 2007 年畜牧兽医工作情况和 2008 年工作思路

广东省畜牧兽医局  
(广东省农业厅, 广东 广州 510500)

中图分类号: S8-1

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)01-0003-03

2007年,在各级党委、政府的正确领导下,我省各级农牧部门认真贯彻国家和省关于促进畜牧业发展的决策部署,全面落实各项扶持畜牧业发展、动物防疫和畜产品安全监管等政策措施,以动物防疫和保障畜产品安全供给为重点,采取了强有力的措施,有效地促进了畜牧业稳步健康发展。

## 1 2007 年畜牧业生产主要特点

2007年我省主导畜产品生猪、家禽以及牛羊等草食动物价格长时间坚挺,饲养户效益可观,促进了农民增收和农业农村经济发展。预计2007年全省肉类总产量404.8万吨,比上年增长3.1%;肉猪出栏3745.7万头,增长3.1%;家禽出栏10.8亿只,增长2.5%;出栏肉牛69.77万头,增长2.6%;出栏肉羊44.27万只,增长4.8%;禽蛋产量36.1万吨,增长4.1%;牛奶产量13.3万吨,增长8.9%;畜牧业总产值约820亿元,增长10%左右(扣除物价指数)。

**1.1 生猪生产** 受前几年生猪价格过低、2006年下半年以来部分地区发生猪蓝耳病疫情和饲养成本上升等因素的影响,2007年我省乃至全国生猪供应偏紧,价格一直保持高位。7月以后,国家和省陆续出台一系列扶持生猪生产、稳定市场供应的政策措施,养殖户养猪积极性得到了极大的提高,特别是规模养殖场和养殖大户积极补栏,母猪数量稳步增长。据行业统计,2007年9月底全省能繁母猪存栏达259.75万头,比2006年底增加77.2%。自8月中下旬开始,猪价上涨势头得到遏制,并慢慢回落,瘦肉型生猪价格从7月下旬16元/kg降至13~14元/kg,15kg体重三元杂良种猪苗价格从680元/头回落至570

元/头左右。

但是,从2007年10月下旬开始,我省生猪价格出现反弹,12月底瘦肉型猪价格回升至17元/kg左右,15kg体重三元杂良种猪苗价格也升至680元/头。据分析,生猪价格回升的主要原因有三方面:一是生猪供应仍然偏紧,市场供不应求。养猪业是生产周期较长的产业,尽管去年下半年以后母猪有较大幅度增长,但从新增母猪饲养至新增肉猪出栏约需一年半时间,因此短期内生猪供应量难以完全恢复,也是猪价回升的最主要因素。二是2007年第4季度饲料主原料价格上涨幅度较大,豆粕价格3800~4000元/吨,短期内上涨1500多元/吨,升幅达60%;玉米价格升至1950元/吨,升幅达15%。配合饲料综合生产成本升幅约23%,导致生猪生产成本急剧提高,自繁自养瘦肉型猪生产成本已由上年的8.5元/kg上升至2007年底的11~12元/kg,增幅30~40%;购入瘦肉型猪苗饲养,生产成本则高达13~14元/kg。三是柴油等燃料紧缺及价格上涨,导致我省从外省调进生猪运输困难及成本加大,调进生猪减少,供应偏紧。去年9月份以来,广州嘉禾畜禽交易中心日均生猪交易量只有6000余头,比之前约下降30%。

**1.2 家禽生产** 2007年家禽生产同样效益喜人,黄羽快大肉鸡(50天龄,每只均重1.6kg)上半年平均价格9.1元/kg(成本7.3元/kg),饲养盈利3元/只;下半年平均价格8.7元/kg(成本7.7元/kg),饲养盈利1.6元/只。肉鸭(42天龄,均重3.3kg/只)上半年平均价格7.8元/kg(成本6元/kg),饲养盈利5.9元/只;下半年平均价格8.1元/kg(成本7.4元/kg),饲养盈利

2.3 元/只。家禽价高主要原因:一是猪肉等副食品高价位的拉动;二是饲料价高导致生产成本加大;三是社会对禽流感恐惧心理已缓和,社会对肉禽消费基本恢复正常。

**1.3 草食动物生产** 受猪禽产品价格高的拉动,2007 年来牛羊产品价格不断攀升,牛肉、羊肉零售价分别从年初 24 元/kg、28 元/kg 上涨年底的 28 元/kg 和 36 元/kg。目前,一岁以上黄牛 9 元/kg(活重),农户饲养年获利 950 元/头,比去年同期增幅 19%;肉羊 15 元/kg(活重),农户饲养母羊年获利 600~700 元/头,比去年同期增 20%。我省奶业发展基本保持稳定,牛奶冬季平均收购价约 2 800 元/吨,夏季平均收购价 3 200 元/吨,与去年基本持平,但因饲料价高饲养成本增大,奶农实际生产效益有一定下降。

## 2 2008 年畜牧业生产走势分析

业内人士预测,2008 年畜牧业将会保持稳步发展,畜禽产品供应能够满足市场需求,畜禽产品价格仍将保持在较高水平,但饲养者饲养效益将会有所下降。具体分析:我省是生猪消费大省,本省生猪供应自给率不到 60%,每年需从外省调入生猪 2500 多万头,所以我省生猪市场走势相当程度上取决于省外生猪调入量和价格变化情况。2007 年生猪价格上涨是全国性的,据悉近期贵州等省生猪价格已与我省相近,这说明全国生猪供应偏紧的局面还没有根本性转变;其次,养猪业是典型的周期较长、资源依赖型产业,土地、人工、防疫等成本会越来越高,特别去年下半年来饲料价格上涨幅度过大,导致生产成本急剧提高;再次,当前我国经济继续保持快速增长势头,社会购买力较强,物价总体水平难以回落。据上分析,我省生猪供应偏紧的状况在短期内难有较大的改观,今年 6 月份前生猪价格仍将保持较高价位运行。

但我们认为,只要不出现大的疫情,生猪价格继续上涨的空间也不大。主要基于:一是去年下半年来我省生猪生产保持稳步健康发展,全省能繁母猪存栏快速增长,生猪生产力大幅提高;二是我省家禽等其他肉食品供应较为丰富,特别是近期家禽价格较低,群众选择替代性肉品消费会抑制猪价进一步上涨;三是畜禽产品价格在高位运行已长达 15 个月,不少饲养者以前的损失

已得到弥补,行业积蓄了进一步发展生产的力量,特别是今年下半年来国家高度重视生猪生产,制定优惠政策大力扶持,社会投资养猪业的热情日益高涨,我省生猪生产正在快速恢复之中。预计明年三季度起生猪出栏高峰陆续出现后,生猪价格将逐步回落。

家禽养殖业由于生产周期较短,去年以来饲养总量增幅较大,市场供求关系不时会有较大波动,饲养者有时会出现亏损;肉牛、肉羊生产虽有较大利润,但仍难以形成规模生产;奶业生产受制于乳制品加工,奶品价格仍将会在成本线上下徘徊。

## 3 畜牧业生产面临的突出问题

### 3.1 部分地方政府发展畜牧业的积极性不高

一是我省土地资源严重不足,一些地方政府没有将畜禽养殖用地纳入当地乡镇土地利用总体规划;二是认为发展畜牧业对地方财政贡献不大,地方政府普遍对投资、引进畜牧项目不积极,甚至拒绝;三是认为养猪业产生大量粪污,管理不好会影响地方生态环境,甚至造成环境污染。个别地方政府强行清理现有畜禽养殖场,近年来因畜禽养殖问题而上访的畜禽养殖户有增多趋势,主要是投诉当地政府清理畜禽养殖场,畜禽养殖户合法权益得不到保护;四是国家和省出台了一系列扶持猪禽生产发展政策,如疫苗补助、能繁母猪饲养和保险补贴等,但地方要配套部分资金,出现饲养猪禽越多、地方财政负担越重的情况。

### 3.2 防控重大动物疫病形势依然相当严峻

一是我省高致病性禽流感等重大动物疫病病原污染面大,短期内无法消除。二是目前国际高致病性禽流感仍呈频发、高发态势。近期南京出现人感染禽流感病例,全国防控形势紧张,防控压力不断加大;高致病性猪蓝耳病在全国 26 个省份散发。三是当前我省部分地方领导对防控工作重视还不够,投入还不能满足需要,防疫责任和措施还不够落实,防控工作还存在极大隐患。

### 3.3 畜产品安全存在隐患

虽然近几年各地在保障畜产品安全方面做了大量卓有成效的工作,但是全省畜产品安全仍然存在一定的隐患:饲料产品的卫生指标不合格和重金属超标问题依然存在;部分饲料原料中添加三聚氰胺等违禁物的情

况比较严重；兽药生产企业不能严格按照 GMP 规范组织生产，经营单位违规拆零销售原料药，养殖场直接使用原料药和自家苗的现象仍较普遍。此外，全省饲料、兽药行政管理、执法监督人员偏少，监管力量比较薄弱。

**3.4 基层动物防疫体制改革进展缓慢** 基层动物防疫体制改革进展缓慢。目前全省只有少数县出台了改革方案，乡镇兽医站人员经费和业务经费全额纳入县级财政预算难度较大，仍有部份地方未建立村级动物防疫员队伍，基层防疫能力亟待提高。

## 4 2008 年畜牧业生产主要对策

2008 年是全面贯彻落实党的十七大精神的第一年，省委十届二次全会对农业农村经济发展作出了新的部署，全省农业工作会议对发展现代畜牧业提出了新的要求。全面推进畜牧业发展任务艰巨，责任重大。2008 年将着力抓好以下几项工作：

**4.1 突出抓好生猪等主要畜禽产品生产，努力维护肉食品价格稳定** 一是继续贯彻落实国务院关于能繁母猪补贴、能繁母猪保险、生猪良种补贴、生猪规模养殖项目建设、生猪调出大县奖励等扶持生猪生产发展的系列政策；二是贯彻执行省政府《广东省种畜禽生产经营许可证发放和畜禽养殖备案办法》，切实加强种畜禽管理，积极实施畜禽养殖备案制度，督促养殖企业特别是生猪养殖场建立畜禽养殖档案，规范畜牧业生产经营行为，推进健康养殖；三是按照省国土资源厅、省农业厅《转发国土资源部农业部关于促进规模化畜禽养殖有关用地政策的通知》要求，争取当地政府及有关部门的支持，因地制宜，统筹规划，合理安排规模化畜禽养殖用地，促进规模化畜禽养殖发展；四是切实做好畜牧业统计监测工作，按照《农业部关于加强畜牧业统计监测工作的意见》要求，进一步加强畜禽生产动态监测和分析预警，适时调控生产，科学指导经营，促进生猪等畜禽生产持续健康发展。

**4.2 进一步强化重大动物疫病防控，为现代畜牧业发展提供有力保障** 2008 年全省重大动物疫病防控工作，各地务必突出重点，狠抓三个“不放松”，切实落实各项防控关键措施。一是狠抓常年

免疫不放松。“常年免疫、全面免疫、全年防控”是我省在全国率先提出的防疫工作制度，重大动物疫病强制免疫密度动态保持 100%。二是狠抓疫情监测预警预报不放松。各地要在做好免疫工作的同时，扩大监测范围，增加监测数量和频次，做到“以监定免、以监促防”。三是狠抓消毒灭原不放松。结合当地实际，制订方案，定期统一消毒，科学查源灭原，力求最大限度消除病原体。

**4.3 认真宣传贯彻新修订的《动物防疫法》，加大依法防疫力度** 新修订的《动物防疫法》已于今年 1 月 1 日开始实施，其针对性和可操作性强。各地要把学习、宣传和贯彻《动物防疫法》作为防控工作的重要任务，深刻领会其精神实质，准确把握其基本内容。要以贯彻新《动物防疫法》为契机，依法加大防控力度，切实把各项防控措施落到实处。

**4.4 继续强化饲料、兽药监管和动物防疫监督，保障畜产品质量安全** 强化饲料、兽药监管，是保障畜产品质量安全的前提。要继续深入贯彻落实《饲料和饲料添加剂管理条例》和《兽药管理条例》，依法强化饲料、兽药执法监督，进一步推动饲料、兽药生产、经营、使用向规范化发展。一是强化饲料质量安全监管，进一步提高饲料质量安全水平。二是进一步贯彻落实《饲料生产企业审查办法》和《广东省饲料生产企业设立审查和年度备案工作规范》。三是继续实施农业部提出的“大原料、大市场、大安全、大企业”战略，努力打造广东饲料强省。四是以清缴假冒伪劣产品为重点，严厉打击违法行为。五是强化动物防疫监督。切实加强监督执法，进一步加强产地检疫、屠宰检疫，加强对生产、经营、流通等环节的监督检查，严禁收购、贩运病死畜禽及其产品。

**4.5 加快兽医管理体制改革的进程，加强基层队伍建设** 全省兽医管理体制改革的进程已进入攻坚阶段，各地要按照省政府《关于加快推进我省兽医管理体制改革的意见》要求，进一步增强责任感和紧迫感，在当地政府的统一领导下，继续发挥主观能动性，加强与财政、编制等部门沟通，采取得力措施，加快推进改革工作。尚未制订兽医管理体制改革的县（市、区）必须尽快出台改革方案，已出台改革方案的地方要尽快落实到位。

# 日粮营养调控牛乳脂中共轭亚油酸 CLA 的含量

徐淑玲, 陈丽玲, 熊智辉

(江西农业大学动物科学技术学院, 江西 南昌 330045)

**摘要:** 共轭亚油酸(conjugated linoleic acids CLA)是亚油酸的一组构象和位置异构体, 是专一存在于反刍动物脂肪中的具抗癌活性的天然活性成分。日粮因素能影响并改变 CLA 的含量。本文主要阐述 CLA 的结构、生理作用以及影响牛乳脂肪中 CLA 含量的日粮因素。

**关键词:** 共轭亚油酸(CLA); 日粮; 调控

**中图分类号:** S821.5

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2008)01-0006-03

共轭亚油酸 (conjugated linoleic acid, CLA) 亦即亚油酸 (linoleic acid, LA), 是十八碳二烯酸异构体的总称。牛、羊等草食动物瘤胃微生物分泌的酶具有消化食物的作用, 反刍动物的 CLA 部分是由瘤胃微生物氢化 LA 产生, 也可以从瘤胃中吸收不饱和脂肪酸 (unsaturated fatty acid UFA) 代谢中间产物合成。影响反刍动物 CLA 合成的主要因素是日粮结构, 以及饲料中亚油酸、反式油酸及不饱和脂肪酸的含量。通过日粮进行营养调控, 添加富含不饱和脂肪酸的饲料, 尤其是含亚油酸高的油脂类饲料, 以稳定获得较高浓度的 CLA。

## 1 共轭亚油酸(CLA)的结构

共轭亚油酸(CLA)是指一系列含有共轭双键、空间位置和空间构型不同的十八碳二烯酸的同分异构体的混合物。一般认为 CLA 的双键开始于羟基端的第 8、9、10、11 个碳原子。理论上主要的位置异构有 4 种: 8, 10-; 9, 11-; 10, 12-; 11, 13-。但是, 由于共轭双键的碳原子所连接的氢原子存在着顺式(cis)和反式(tran)两种构型, 每个位置的异构就又有 4 种几何异构体。CLA 的立体异构体多达十几甚至几十种, 其中 c9, t11-CLA; t10, c12-CLA; c11, t13-CLA 是主要的异构体, 尤其以 c9, t11-CLA; t10, c12-CLA 最普遍<sup>[1]</sup>。

## 2 共轭亚油酸(CLA)的生物学作用

自 1961 年 Bartlett 和 Chapman 首次发现 CLA 是瘤胃微生物代谢的中间产物以来, 国内外学术界进行了大量研究。CLA 在不同的动物和人体的试验中表现出抗癌、抗糖尿病、抗过敏、抗动

脉粥样硬化、调节免疫、营养重分配和降低血脂等作用<sup>[2]</sup>。体内和体外试验表明 CLA 可诱导肿瘤细胞的凋亡<sup>[3,4]</sup>, 而且在某种固定的条件下, CLA 有抗氧化和加强免疫的作用。另外, CLA 还能降低动脉粥样硬化, 减少动脉粥样硬化模型动物的主动脉中的脂肪条纹形成<sup>[5]</sup>。其中, 对癌症的抑制作用是共轭亚油酸最引人注目的功能, 也是最早被发现的功能; CLA 可参与体内免疫系统调节, 提高机体免疫力, 这对于机体的抗病应激和生长发育具有非常重要的意义; CLA 可降低甘油三酯的合成, 加强脂肪酸的氧化和利用, 降低血液和肝脏中胆固醇含量, 抑制脂肪沉积、提高瘦肉率, 也因此正成为一种新的营养再分配剂, 有望成为人类的减肥食品; CLA 对动物的生长发育具有明显的促进作用, 对由于内毒素产生的生长障碍有抑制作用; CLA 的钾盐和钠盐能抑制霉菌生长, 可以作为饲料防霉剂使用。营养重分配作用是 CLA 在动物营养中重要的生物学功能, 它可提高饲料转化率, 提高动物生产性能, 改善肉品品质。

## 3 共轭亚油酸(CLA)的来源

CLA 存在于所有的食物中, 只是含量和生物活性存在着巨大的差异, 它的主要来源是反刍动物的乳脂和肉制品, 每克乳脂中 CLA 含 2~2.5 mg, 且 75%以上是 c9, t11-CLA。Jahreis 等<sup>[6]</sup>报道, 母羊奶中 CLA 较多, 为 1.1%; 而单胃动物乳中, 约为 0.09%。由于反刍动物肠道中的厌氧溶纤维丁酸弧菌异构酶能使亚油酸转化为共轭亚油酸, 所以动物食品中的 CLA 主要是微生物产物、海产品。植物性食品如豆油、亚麻油、菜籽油和向日葵油等

除含有较高的 CLA 外, 还含有较高的合成 CLA 的前体物——亚油酸。但是植物性食品中 CLA 异构体与动物食品截然不同, 特别是具有生物活性 c9, t11-CLA 含量更少。但从植物性饲料中获得共轭亚油酸是反刍动物获得 CLA 的有效途径。

#### 4 影响牛乳脂肪中 CLA 含量的日粮因素

##### 4.1 日粮影响牛乳脂中 CLA 含量的作用机理

早期讨论的乳脂中 CLA 含量在不同畜群间有很大的波动, 表明日粮是主要因素。许多日粮因子影响乳脂中 CLA 含量。根据它们作用的潜在机理分三类: 第一类向瘤胃提供生成 CLA 或 Trans-11C18:1 脂质底物; 第二类能够改变瘤胃环境, 进而影响与瘤胃生物加氢有关的细菌; 第三类既能提供脂质底物, 又能改变瘤胃菌群。

**4.2 影响牛乳脂中 CLA 含量的日粮分类** 根据作用机制将影响 CLA 的饲料因素分为 4 大类: 第 1 类是饲料成份中能够在瘤胃中产生 CLA 或“trans-11”十八碳烯酸的脂质质量分数; 第 2 类是能够改变瘤胃环境条件的饲料成份的质量分数, 如精饲料可以改变瘤胃 pH 值, 影响微生物生长代谢; 第 3 类是包括脂质等成份对氢化途径的影响, 不同的成份其氢化中间产物和 CLA 种类不同; 第 4 类是饲料“trans-11”十八碳烯酸质量分数等<sup>[8]</sup>。

##### 4.3 常见饲料成分对牛乳脂中 CLA 含量的影响

**4.3.1 植物油** 植物油 C18 PUFA 含量丰富, 是调控乳脂中 CLA 含量的主要脂肪饲料。不同植物油的脂肪酸组成各有特点, 亚麻籽油的亚麻酸含量丰富, 高达 553 g/kg, 其他植物油的亚麻酸含量较低。大豆油、葵花籽油、红花油和小麦油的亚油酸含量在 50% 以上; 橄榄油以油酸为主。棕榈油的亚油酸和亚麻酸总含量也已达 11%。不同植物油的油酸、亚油酸和亚麻酸的含量见表 1。

表 1 不同植物油的油酸、亚油酸和亚麻酸含量

单位: g/kg

种类	油酸	亚油酸	亚麻酸
菜籽油	560	103	93
椰子油	60	15	20
棉子油	170	501	10
玉米油	275	540	8
花生油	490	289	
棕榈油	375	108	20
米糠油	391	334	16
大豆油	208	515	73

不同油脂的添加效果不同, 这主要取决于脂肪酸的组成。Kelly 等(1998)给奶牛补饲 5.3% 花生油、葵花籽油和亚麻籽油时, 乳脂 CLA 浓度分别达到 13.3、24.4、16.7 mg/g。花生油和葵花籽油分别含有不足 30% 和 60% 的亚油酸, 亚麻酸几乎为 0。在相同添加水平下, 乳脂 CLA 含量的提高效果基本反映了这一组成差异。亚麻籽油的亚油酸和亚麻酸总含量与葵花籽油的亚油酸含量相差不大, 而对乳脂 CLA 含量的改善效果差异显著, 表明亚麻酸提高乳脂 CLA 的效率不如亚油酸。Dhiman 等<sup>[9]</sup>认为亚油酸和亚麻酸对提高乳脂 CLA 含量效果存在差异。可通过添加亚油酸含量高的油脂强化乳脂中的 CLA 浓度。郑会超等<sup>[7]</sup>研究表明, 添加植物油显著增加了牛奶中的 CLA 含量 ( $P < 0.01$ ), 从高到低依次顺序为豆油、玉米油、棉籽油。棉籽油的亚油酸含量最高, 但添加棉籽油组的 C9, t11-CLA 含量低于豆油组和玉米油组, 这可能与豆油较高的亚麻酸含量和玉米油的高油酸含量有关。

**4.3.2 油料籽实** 添加油料籽实对乳脂 CLA 的提高效果不如植物油。Dhiman 等<sup>[9]</sup>给奶牛补饲全脂膨化大豆和全脂膨化棉籽, 分别使 CLA 含量由 3.6 mg/g 提高到 8.6 mg/g 和 7.2 mg/g。补饲 18% 的破碎烘烤大豆和 3.6% 豆油后, 奶牛日粮中脂肪含量和脂肪中的亚油酸和亚麻酸组成很接近, 但乳脂肪酸中 CLA 含量差别很大, 分别为 7.7 mg/g 和 21.0 mg/g<sup>[10]</sup>。这种差异可能是由于大豆中的脂肪酸在瘤胃停留时间更长, 致使产生的乳脂 CLA 前体物减少而造成的。籽实饲喂前的加工调制也会影响其添加效果。未经处理的油料种子中的多不饱和脂肪酸 (PUFA), 难以被瘤胃微生物利用, 甚至有毒。而经过处理的油料种子 PUFA, 则有利于瘤胃微生物的转化, 这可能是油料种子经过加工处理, 有毒成份被减弱或消除, 也可能是 UFA 的结构发生变化而减轻氢化抑制作用的结果。Dhiman 等<sup>[9]</sup>补饲破碎生大豆对乳脂 CLA 无显著影响, 而补饲破碎烘烤大豆却使乳脂 CLA 提高 1 倍。不同加工处理方式可能改变了大豆脂肪酸在瘤胃释放的速率和比例。美国犹他州立大学的 Dhiman 等和威斯康星大学的 Pariza 等用压扁处理的全脂大豆 (ESB) 和压扁的全脂棉籽饲喂奶牛, 探讨对乳脂中 CLA 含量的影响。结果是经过压扁处理的全脂大豆和全脂棉籽使乳中的 CLA 含量及

每天每头牛分泌的 CLA 量增加。

**4.3.3 鱼油** 鱼油中十八碳烯酸的质量分数较低, 油酸质量分数一般在 10%~20% 之间, 而二十碳以上的 UFA 质量分数较高, 一般在 27%~48% 之间。

补饲鱼油可使牛乳脂 CLA 含量提高 (Jones 等, 2000)。Chouinard 等 (2002) 补饲鱼油 200 g/d, 使奶牛乳脂 CLA 从 6.2 mg/g 提高到 17.4 mg/g。Offer 等 (1999) 通过补饲鱼油使奶牛的乳脂 CLA 含量由 1.6 mg/g 提高到 15.5 mg/g。Borsting 等<sup>[1]</sup>和 Scollan 等报道补饲鱼油或鱼粉会导致 trans-11C18:1 在瘤胃聚集, Abu-Ghaalch 也发现鱼油可以增强其他来源亚油酸转化为 CLA 产品, 如膨化大豆等。鱼油的 C18PUFA 含量并不丰富, 尤其是亚油酸和亚麻酸, 总含量不超过 5%。但是鱼油中还含有少量的 C18:4, 油酸含量为 10%~20%, 由于鱼油的亚油酸和亚麻酸含量只比动物脂肪略高一点, 因此, 瘤胃聚集的 Trans-11 C18:1 来源尚不清楚。过去认为鱼油中的 PUFA 对瘤胃氢化有很强的抵抗作用, 但 Carro<sup>[12]</sup>的体外研究显示, 鱼油中 PUFA 被氢化的比例很高。

在奶牛日粮中添加 2% 鱼油或 1% 鱼油加 1% 豆油, 结果每 100 g 乳脂中 CLA 含量达到 2.039 g, 而对照组为 0.6 g。据报道, 用鱼油和葵花籽油的混合物饲养奶牛, 发现乳脂 CLA 含量增加了 6%, 有的个体甚至增加 8%, 同时乳脂中 tran s211C18:1 的浓度增加了 18%。这是由于鱼油中的长链脂肪酸改变了微生物群落, 高亚油酸含量的葵花油提供了合成 tran s211C18:1 的最大量底物<sup>[13]</sup>。

**4.3.4 新鲜牧草** 牧草中的脂质主要是糖脂和磷脂, 总质量分数占干物质的 2% 左右。新鲜牧草十八碳四烯酸质量分数较高, 约占一半以上, 其次是十八碳三烯酸; 与植物油不同, 牧草十八碳二烯酸的双键位于第 7 和第 9 位, 该结构脂肪酸在瘤胃中不能通过氢化转化成 CLA 以及“trans-11”十八碳烯酸。

采食青绿牧草有利于提高乳脂的 CLA 含量。Kelly 等 (1998) 发现全部营养来自优质牧草的奶牛乳脂 CLA 含量是配合饲料组奶牛的 2 倍。这主要是在夏季奶牛可获得新鲜牧草, 而新鲜牧草中含有大量的亚油酸。造成 CLA 含量差异的根源在于新鲜牧草采食量及其质量。Dhiman 等报道,

放牧而不补充其他饲料的乳脂 CLA 质量分数, 比饲喂典型日粮组乳脂 CLA 质量分数高 5 倍。houinard 等饲喂添加生长期收获的牧草, 其乳脂 CLA 质量分数高于饲喂成熟期及第 2 季收获牧草的乳脂 CLA 质量分数。这种差异可能是由于不同季节收获的牧草中脂质质量分数以及脂肪酸组成不同, 或脂质和牧草的其他成分影响氢化的结果。

#### 参考文献:

- [1] Ahn E Brodie, Viola A Manning. Conjugated linoleic acid inhibits differentiation of perand postconfluent 3T3LT preadipocytes but inhabits cell proliferation only inoreconfluent cell[J]. Nutr, 1999 (129): 602-606.
- [2] 晏和平. 共轭亚油酸对动物机体免疫机能的影响[J]. 广东饲料, 2004, 13 (5): 14-16.
- [3] 刘家仁, 陈炳卿, 薛英本, 等. 共轭亚油酸对人乳腺癌细胞生长的抑制作用[J]. 中华预防医学杂志, 2001, 35 (4): 244-247.
- [4] 刘家仁, 陈炳卿, 刘瑞海, 等. 共轭亚油酸对人胃腺癌细胞的抑制作用[J]. 卫生研究, 1999, 28 (6): 353-355.
- [5] Lee K N, Kritchevsky D, Pariza M W. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits[J]. Atherosclerosis, 1994, 108: 19-25.
- [6] Jahreis G, Fritsche J, Mockel P, et al. The potential anticarcinogenic conjugated linoleic acid, cis-9, trans-11 C18:2, in milk of different species: Cow, goat, ewe, sow, mare, woman[J]. Nutr Res, 1999, 19 (10): 1541-1549.
- [7] 郑会超, 刘建新, 姚建红, 等. 添加植物油对奶牛乳脂率及乳中共轭亚油酸含量的影响[J]. 营养学报, 2005, 27 (6): 523-524.
- [8] 冯有胜, 谢芳, 丁红梅. 影响反刍动物共轭亚油酸质量分数的因素[J]. 重庆工商大学学报 (自然科学版), 2005, 22 (6): 551-555.
- [9] Dhiman T R, Helminls E D, Mcmanon, et al. Conjugated linoleic acid content of milk and cheese from cows fed extruded oilseeds[J]. Dairy Sci, 1999, 82: 412-419.
- [10] Dhiman T R, Satter L D, Pariza M W. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid[J]. J Dairy Sci, 2000, 83: 1016-1027.
- [11] Borsting C F, Engherg R M. Inecusion of oxidized fish oil in mink diets[J]. J Anim Nutr, 1992, 72 (2-3): 132-145.
- [12] Carro D. Effect of Homoge niation pressure on the milk fat globule membrane proteins[J]. J Dairy Sci, 1997, 80: 234.
- [13] 薛秀恒. 饲料调控对奶牛共轭亚油酸合成的影响[J]. 饲料博览, 2004 (3): 28-32.



# 肠道免疫屏障功能损伤的研究进展

戈娜, 袁慧

(湖南农业大学动物医学院, 湖南 长沙 410128)

**摘要:** 肠黏膜免疫屏障作为肠屏障中的第一道防线, 有效地保护肠黏膜的完整性, 使其不受有害病原体的感染。但在肠黏膜缺血、缺氧、肠道细菌移位、肠内营养障碍、细胞凋亡等状态下, 肠黏膜免疫屏障将出现一系列生理和病理变化, 导致肠黏膜萎缩和通透性增大。为此, 文章从几种损伤机制的角度, 对造成肠道免疫屏障损伤的因素及其作用机理作一综述。

**关键词:** 肠道; 免疫屏障; 损伤

**中图分类号:** S852.4<sup>3</sup>

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2008)01-0009-03

肠道除了消化、吸收、分泌功能外, 还具有重要的屏障功能<sup>[1]</sup>。肠道的屏障功能是指肠道上皮能够分隔肠腔内的物质, 防止致病性物质的侵入和阻止肠道内细菌及内毒素的移位。肠屏障包含肠黏膜的机械屏障、生物屏障、化学屏障及免疫屏障等多层含义。随着对肠黏膜屏障研究的深入, 近年来, 学者们发现肠道黏膜能够选择性地允许肠腔内容物中的食物、药物等进入, 而阻止细菌及毒素的进入, 这除了与肠黏膜机械屏障有关外还与肠相关淋巴样组织(Gut-associated lymphoid tissue, GALT), 即所谓的肠道免疫屏障密切相关。同时, 肠道黏膜免疫也是机体防止感染的第一道防线。因此, 研究肠道免疫屏障的损伤有助于我们能够更好地预防由于肠道屏障功能障碍所造成的脏器感染, 多器官功能障碍等疾病的发生。目前, 关于肠道免疫屏障的损伤作用已逐渐引起人们关注。

## 1 肠道免疫屏障的组成

肠道免疫屏障由肠上皮细胞(intestinal epithelial cell, iEC)、肠上皮内淋巴细胞(intestinal intraepithelial lymphocyte, iIEL)、固有层淋巴细胞(lamina propria lymphocyte, LPL)、派伊氏结(peyer' patch, PP)和肠系膜淋巴结等肠道组织及肠道浆细胞分泌型免疫球蛋白A(sIgA)构成<sup>[2]</sup>。其主要功能是由相关淋巴样组织通过分泌sIgA发挥抗感染的体液免疫以及细胞毒性的细胞免疫。在肠道免疫屏障中有一个特殊的GALT, GALT是由PP、肠系膜淋巴结(MLN)以及分散在黏膜固有层(LP)和肠上皮中的大量淋巴细胞组成。GALT既能抵御致病因子入

侵, 又可耐受肠道非致病菌群。其作用机制就是在抗原刺激下产生局部的免疫反应, 中和抗原物质(主要是产生大量的sIgA)<sup>[3]</sup>。sIgA是免疫球蛋白A(IgA)单体通过J链连结而成的二聚体, 主要由肠黏膜固有层浆细胞产生。sIgA进入肠道能选择性地包被革兰氏阴性菌, 形成抗原抗体复合物, 阻碍细菌与上皮细胞受体相结合, 刺激肠道黏液分泌并加速黏液层的流动, 有效地阻止细菌对肠黏膜的粘附, 并且其在穿胞过程中对于已潜入细胞内的病毒同样具有中和作用<sup>[4]</sup>。sIgA阻抑粘附的可能机制是: 使病原微生物发生凝集, 丧失活动能力而不能粘附于黏膜上皮细胞。与病原微生物结合后, 阻断了微生物表面的特异结合点, 因而使其丧失了粘附能力<sup>[5]</sup>。概括来说, 肠道免疫防御系统主要就是由存在于肠壁的GALT及其分泌的免疫球蛋白A、E、M(IgA、IgE、IgM)等构成。

## 2 肠道免疫屏障功能障碍的因素及作用机制

肠道免疫功能受损分为两方面。从体液免疫方面来说, 创伤后, 肠道产生sIgA的功能明显受到抑制, 主要表现为sIgA含量减少, 合成sIgA的浆细胞数量减少及被sIgA包被的革兰氏阴性菌数量减少, 肠道抗定植力下降, 促进肠内细菌移位<sup>[6]</sup>; 而从细胞免疫方面来说, 损伤机制除内毒素直接损伤细胞免疫功能外, 还与内毒素激活局部与全身炎症介质的级联反应、产生大量高浓度细胞因子、诱导免疫细胞对脂多糖(LPS)的耐受等有关<sup>[7]</sup>。

**2.1 肠黏膜缺血、缺氧** 在某些休克、创伤性失血等病理情况下, 机体为了保证心脑血管等重要器官的血

流供应,会调整全身血液的分布,使内脏血管张力增高,血流减少,肠道是最早发生缺血缺氧又是最迟得到恢复的部位,肠黏膜由于处于低灌注状态下而受到损伤。严重创伤、休克时,固有层浆细胞数量和质量下降,导致 IgA 双体和组配 sIgA 的能力也下降。B 淋巴细胞分泌免疫球蛋白减少,黏膜面 sIgA 含量的下降,有利于细菌、毒素侵入体内,同时还可引起氧自由基生成过多<sup>[8]</sup>。肠上皮细胞和浸润炎性细胞内的应激相关核转录因子被激活后刺激受其调控的多种致炎细胞因子和其他生物因子的转录与分泌,抑制细胞免疫,造成免疫屏障的损伤。Ding 等<sup>[9]</sup>的研究指出,缺氧时大肠杆菌可以产生以肠内细胞因子产物和 DNA 降解为特征的不可逆的肠黏膜损伤,最大程度地造成肠黏膜的损伤和肿瘤坏死因子(TNF)的增加,释放出更多的致炎细胞因子。

**2.2 肠内营养障碍** 肠道黏膜作为营养物质消化吸收的场所,通过营养来调控黏膜免疫功能的发挥。Hong 等<sup>[10]</sup>研究指出,在营养充足的情况时,iIEL 和 CD8<sup>+</sup> 细胞因子的数量明显高于营养缺乏的状态时,并且在营养充足的情况下,粘蛋白(mucin-2)阳性细胞和黏膜厚度均增加,说明肠内营养可有效地保护肠黏膜,提高肠上皮的免疫功能。肠内营养较肠外营养更优越:促使肠蠕动功能的恢复、加速门静脉系统的血液循环、促进胃肠激素的分泌、为肠黏膜细胞提供必需的直接养分、营养物质中的营养因子直接进入肝脏等。因此,肠内营养不但能直接供给营养,而且能改善肠道的各种功能,这是单纯肠外营养所不具备的作用<sup>[11]</sup>。因此当肠内营养障碍时,黏膜免疫功能就受到不同程度的损伤。举两个相关营养因子为例。

**2.2.1 谷氨酰胺** 此物质可阻抑各种因素引起的肠黏膜分泌 IgA 的浆细胞和其它淋巴细胞数量的减少,增强 GALT 的功能,改善肠道免疫功能,减少肠道细菌及内毒素的移位<sup>[12]</sup>。

**2.2.2 蛋白质** 蛋白质营养不良通过以下机制削弱免疫屏障:①干扰肠黏膜中 B 淋巴细胞分化,使 sIgA 分泌减少,降低肠黏膜抗感染的免疫功能。蛋白质营养不良的大鼠肠道集合淋巴组织的功能以及细胞数量均显著下降<sup>[13]</sup>。B 淋巴细胞数量下降 4~7 倍<sup>[14]</sup>,IgA 同型 B 淋巴细胞消失,表明蛋白质营养不良使集合淋巴组织中 B 淋巴细胞

分化受阻,sIgA 浆细胞成熟障碍,从而造成肠黏膜 sIgA 的分泌量降低。②T 淋巴细胞的功能障碍和经过再循环的淋巴母细胞在肠黏膜中的定位过程也受到损害。③破坏肠黏膜中杯状细胞的功能,使黏膜和黏蛋白减少,从而降低肠黏膜非特异性屏障功能。④直接抑制机体 T 淋巴细胞的免疫功能,削弱机体的全身抗感染防御能力<sup>[15]</sup>。

**2.3 肠道细菌微生态失衡** 肠内包含一个微生物生态系统,其中微生物的活动对于肠内免疫系统的功能有重要作用,平衡的微生物群对肠黏膜免疫系统健康发展有重要作用<sup>[16]</sup>。肠道内共生菌的作用主要是激活肠道免疫系统的活性,增加 sIgA、sIgM 抗体的活性<sup>[17]</sup>。肠道细菌微生态失衡导致肠道细菌移位,肠道细菌通过肠黏膜到达肠系膜淋巴结,并进一步侵犯远端脏器,引起免疫屏障的损伤。Andrew 等<sup>[18]</sup>指出,肠内细菌有丰富的免疫刺激分子,如果细菌大量穿透机体,可以引发免疫病理反应,这些特殊反应被认为是作为阻止细菌穿透机体的免疫屏障,他们研究发现在 SPF 小鼠正常肠道内菌群中有分泌型 IgA 应答阻止细菌膜蛋白和其他的细胞壁成分。细菌 DNA 是免疫刺激物质,其免疫活性与 DNA 中非甲基化的胞嘧啶-鸟嘌呤核苷酸(CPG)有关,这种 DNA 又称为 CPG-DNA,可激活树突样细胞,巨噬细胞参与免疫反应<sup>[19]</sup>。

**2.4 细胞凋亡** 正常情况下,小肠黏膜每日每根绒毛约有 900~1 200 个细胞发生凋亡,以维护肠道黏膜屏障的正常生理功能,保证衰老细胞的不断更新。肠黏膜免疫屏障损伤可能与大量过度的黏膜细胞凋亡有关。以肠黏膜上皮细胞和 Peyer 结淋巴细胞凋亡为例。

**2.4.1 肠上皮细胞凋亡** 由于某些因素诱导肠上皮细胞凋亡,肠蠕动减慢,肠上皮受损,细菌黏附并穿过肠上皮,引起炎症反应和细胞因子的产生,引发细胞免疫抑制。

**2.4.2 Peyer 结淋巴细胞凋亡** Peyer 结中 B 淋巴细胞分化为浆细胞,是 sIgA 的主要来源,sIgA 是肠腔上皮细胞表面所覆盖黏液的主要成分。Peyer 结接受肠源性抗原负荷的增加,可刺激未成熟的 B 淋巴细胞分化为浆细胞,分泌较多的 sIgA,同时有较多的 B 淋巴细胞出现凋亡。早期可起到代偿性分泌 sIgA 的作用,随后有可能使 B 淋巴细胞凋亡过多,使淋巴细胞产生与死亡失衡,以

致生成的 sIgA 减少, 最终损伤肠道的免疫屏障功能<sup>[20]</sup>。

**2.5 其它因素** 给大鼠注射糖皮质激素, 模拟创伤后糖皮质激素应激性升高, 进行完全胃肠外营养 (TPN) 或内毒素攻击, 不但能使胆汁中的 sIgA 明显减少, 肠道菌群中被 sIgA 包裹的革兰氏阴性杆菌数量也相应减少, 而且能吸附到肠上皮的细菌增多, 进而导致肠道细菌在肠上皮表面定植、繁殖, 以至于发生细菌移位。临床研究发现, 在创伤和烧伤患者血浆中分离出一种小分子蛋白多肽 (SPA), SPA 在体外能抑制淋巴细胞和中性粒细胞活性, 在体内可促进前列腺素 (PGE) 合成。用弹性蛋白酶水解纤粘蛋白 (FN) 得到一种小分子多肽, 性质与 SPA 相似, 推测创伤时纤维连结蛋白分解增多, 水解片段可抑制免疫反应。现已证明, 内毒素、血小板活化因子 (PAF)<sup>[21]</sup>, 肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素 1 (IL-1) 等均与创伤后免疫失调有关。另外, 化疗药物的应用、恶性肿瘤外照射以及糖皮质激素的长期应用均可损害动物机体的免疫防御功能<sup>[22]</sup>。

### 3 问题与展望

肠道免疫屏障受损的因素不是单一的, 它的作用机制研究还不深入, 至今未有一套反应肠道免疫功能受损的完整理论基础。目前, 大多数学者热衷于研究应激或肠道微生物与内毒素移位所引起的免疫屏障损伤, 却忽略了另一个可能引起损伤的重要因素—霉菌毒素中毒。霉菌毒素中毒对动物肠道免疫系统的抑制作用目前学者研究的较少, 霉菌毒素例如黄曲霉素素、青霉菌酸等都具有器官毒性、细胞毒性, 可引起细胞凋亡和对动物的免疫系统具有抑制作用。未来的研究可将重心转移到霉菌毒素 (如青霉菌酸) 对肠道免疫屏障的损伤作用。

#### 参考文献:

- [1] 黎介寿. 加强对肠屏障功能障碍的研究[J]. 中国临床营养杂志, 2003, 11(4): 243.
- [2] 徐凯进, 李兰娟. 肠道正常菌群与肠道免疫[J]. 国外医学·流行病学传染病学分册, 2005, 32(3): 181-183.
- [3] 曹珊. 胃肠道黏膜屏障与自身免疫性疾病[J]. 胃肠病学和肝病, 2007, 16(2): 198-200.
- [4] 彭乃宝. 维护肠道屏障功能的重要性及措施[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2005, 26(10): 1182-1184.
- [5] 何保健, 曹义战, 倪晓琴. 分泌型免疫球蛋白 A 在胃肠黏膜免疫

- 中的作用及意义[J]. 陕西医学杂志, 2005, 34(11): 1381-1382.
- [6] 李恒鑫. 胃肠道黏膜免疫与动物营养调控[J]. 饲料工业, 2005, 26(21): 51-53.
- [7] 石刚. 肠道黏膜屏障的损伤与保护[J]. 肠外与肠内营养, 2004, (11): 61-63.
- [8] 钟世顺. 肠黏膜屏障功能障碍与双歧杆菌[J]. 国外医学·生理、病理科学与临床分册, 2003, 23(4): 432-435.
- [9] Ding J, Magnotti LJ, Huang Q, et al. Hypoxia combined with *Escherichia coli* produces irreversible gut mucosal injury characterized by increased intestinal cytokine production and DNA degradation[J]. Shock, 2001, 16(3): 189-195.
- [10] Hong SJ, Gu GS, Ren JA, et al. Effects of enteral nutrition on intestinal intraepithelial lymphocytes of intestinal mucosal and the barrier of mucus in patients with stomal type enteric fistula[J]. Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi, 2006, 9(6): 527-529.
- [11] 陈双喜, 丁连安. 肠内营养对危重病及重症感染患者肠黏膜屏障的保护作用[J]. 实用临床医药杂志, 2004, 8(5): 9-11.
- [12] 于晓明, 金宏, 糜漫天. 肠屏障功能损伤与营养防护[J]. 解放军预防医学杂志, 2006, 24(1): 68-70.
- [13] Alverdy J, Zaborina O, Wu L. The impact of stress and nutrition on bacterial host interactions at the intestinal epithelial surface [J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2005, 8(2): 205-209.
- [14] 滕占庆, 张东萍, 曹建春. 肠黏膜屏障功能障碍研究进展[J]. 疑难病杂志, 2007, 6(3): 184-186.
- [15] 李永渝. 肠道屏障功能障碍的病理生理机制[J]. 胃肠病学, 2006, 11(10): 629-631.
- [16] Ouwehand A, Isolauri E, Salminen S. The role of the intestinal microflora for the development of the immune system in early childhood [J]. Eur J Nutr, 2002, 41(Suppl 1): 132-137.
- [17] 吴国豪. 肠道屏障功能[J]. 肠外与肠内营养, 2004, 11(1): 44-47.
- [18] ANDREW J, MACPHERSON, THERESE UHR. Compartmentalization of the Mucosal Immune Responses to Commensal Intestinal Bacteria [J]. Ann N Y Acad Sci, 2004, (1029): 36-43.
- [19] Dziarski R. Recognition of bacterial peptidoglycan by the innate immune system[J]. Cell Mol Life Sci, 2003, 60(9): 1793-1804.
- [20] 张喜平, 陈汉卿. 急性胰腺炎并发肠黏膜屏障损害机制与作用[J]. 医学研究杂志, 2006, 35(7): 78-80.
- [21] Wang LJ, Liu CY, Sun M, et al. Role of platelet activating factor in the injury of intestinal immuno-barrier function in young rats[J]. Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi, 2006, 8(1): 59-62.
- [22] Davidson MT, Deitch EA, Lu Q, et al. A study of the biologic activity of trauma hemorrhagic shock mesenteric lymph over time and relative role of cytokines [J]. Surgery, 2004, 136(1): 32-41.

# 乌骨鸡黑色素的研究进展

赵艳平<sup>1</sup>, 黄小红<sup>1</sup>, 李建喜<sup>2</sup>, 武 帅<sup>1</sup>

(1. 江西农业大学动物科技学院, 江西 南昌 330045; 2. 江西省家畜血吸虫防疫站, 江西 南昌 330045)

中图分类号: S831.4<sup>9</sup>

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)01-0012-04

黑色素包括真黑色素和浅黑色素, 两种色素的形成与酪氨酸酶有关, 黑色素细胞中黑色素的类型主要依赖于酪氨酸酶的活性。目前国内外对人及动物的黑色素进行了广泛的研究<sup>[1,2]</sup>, 本文旨在对乌骨鸡黑色素的分类、生物合成及沉积、生物学功能、调节机理、影响因素等方面的研究进展作一综述。

## 1 乌骨鸡黑色素的生理生化基础

**1.1 黑色素的分类** 黑色素包括天然黑色素与合成的黑色素, 天然黑色素包括真黑色素(Eumelanin)和浅黑色素(Pheomelanin, 又叫脱黑色素), 其区别主要在于颜色、化学组成(含氮量与含硫量不同)、可溶性及颗粒结构。真黑色素是黑色或棕色的含氮大分子, 主要存在于家禽黑羽或兰羽、眼、皮肤以及相关的组织中; 而浅黑色素是红色、黄色或棕色等颜色的含硫大分子, 主要存在于家禽红棕色、浅黄色羽毛等组织中。

**1.2 黑色素的结构、理化性质** 黑色素化学性质稳定, 具有难溶性、对金属离子有很强的亲和力; 电子自旋性, 即分子内含有大量的自由基。乌骨鸡中的黑色物质包括黑色素、紫色素、某些激素和黑色胶体物质等, 结构不规则。刘望夷(1982)、袁纒等(1993)对乌骨鸡黑色素的基本结构和特征研究表明: 黑色素是一种以吡啶环为主体, 其周围连接其他一些芳香或烯烃类及羧基等基团的化合物。乌骨鸡黑色素的EPR波谱为轻微不对称的典型单线一次微商波谱, 无超细结构。其报道与Reedy等(1998)、Muroya等(2000)的研究结果基本一致。Nozaiki等(1998)、Muroya等(2000)用红外光谱分析法研究进一步表明: 丝毛乌骨鸡卵巢和睾丸的特征光谱不同于骨膜和羽毛中的光谱

(普通的合成黑色素的光谱, 含更多的硫化物, 室温下不溶于酸, 微溶于碱), 其差异在于含硫量的不同, 这可能是由于黑素分子在某些器官有特化因子促使黑色素细胞合成浅黑色素, 如 $\alpha$ -黑色素细胞刺激素( $\alpha$ -MSH)<sup>[3]</sup>。

**1.3 生理功能** 医学认为, 乌骨鸡中的黑色素具有保护功效, 可以避免紫外线引起的急慢性改变, 具有清除自由基、抗氧化的功能, 从而预防癌症、抗衰老、提高免疫力等。

**1.3.1 对微量元素的富集作用**<sup>[4]</sup> 乌骨鸡黑色素具有对微量元素(铜、铁、锰、锌、钴、钼、镍)有富集作用, 其中锌、铁、铜、锰四种元素可直接参与人体的细胞免疫功能, 这说明乌骨鸡可以提高人体防病、抗病能力的作用。

**1.3.2 对体内自由基的清除作用** 在正常生理情况下, 自由基的产生和清除维持在一定浓度, 达到一种平衡, 但当这种平衡被打破, 机体就会出现某些病态。

人体内自由基的含量随着年龄增长而积累; 体内清除自由基的各种酶类(如SOD、CAT、GSH·PX、GSH·RED)和非酶系统的防御功能随年龄的增长而衰减。过多的自由基会导致核酶主链断裂、碱基缺失、氢键破坏, 蛋白质交联或多肽链断裂, 透明质酸解聚。发生脂质过氧化反应, 分解生成的丙二醛等与其他生物大分子之间发生交联, 生成异常的物质, 在溶酶体中堆积, 形成脂褐斑, 沉积于心、脑及肾等器官使其功能减弱, 导致机体出现一系列衰老现象。黑色素含有稳定的自由基, 能吸收可见光和紫外光<sup>[5]</sup>的辐射从而保护体内细胞免受辐射损伤。目前人们已将吡啶生物氧化合成的黑色素处理形成O/W的乳液, 应用于化妆品工业, 制

成防晒霜防止紫外线照射。徐幸莲等<sup>[6]</sup>曾对乌骨鸡黑色素在延缓果蝇衰老方面进行过研究, 结果表明: 乌骨鸡能够显著延长果蝇的平均寿命, 并提高果蝇的性活力, 显著降低脂褐素的含量, 具有一定的延缓衰老的作用, 这可能与黑色素在维持自由基平衡中所具有的巨大作用有关; 蔡华珍等<sup>[7]</sup>还发现黑色素浓度为  $1 \times 10^{-4}$  g/mL 时, 对 DPPH· 就具有较大的清除能力。

**1.3.3 抗氧化作用** Geremia 等<sup>[8]</sup>证明黑色素能捕获  $O_2^-$ , 有抗氧化作用, 之后又证实黑色素不仅充当类似歧化酶的作用, 同时还具有 GSH 的抗氧化功能, 并在活体中参与  $H_2O_2$  还原成  $H_2O$ <sup>[9]</sup>; 日本学者<sup>[10]</sup>对类黑色素作了一些研究, 证明黑色素有如下作用: ①对不饱和脂肪酸有抗氧化作用; ②抗氧化特性与黑色素的颜色程度成正比; ③黑色素具有清除自由基的功能。当类黑色素含量为 0.3% 和 0.03% 时, 可以清除 86% 和 47% 的  $OH\cdot$ 、85% 和 58% 的  $H\cdot$ ; Sichel 等<sup>[11]</sup>发现 Cu、Zn-SOD 在色素组织中含量低, Mn-SOD 检测不到, 得出黑色素可能部分充当 SOD 的作用; Ezzahir<sup>[12]</sup>通过研究黑色素对脂质过氧化作用的影响, 得出黑色素消除  $O_2^-$ , 具有假 SOD 功能, 防止脂质过氧化。由此可知, 乌骨鸡黑色素具有较强的抗氧化作用, 能够捕获  $O_2^-$ , 清除  $OH\cdot$ , 并能清除体内自由基富集对人体有益的微量元素, 能够有效地与活性物质作用, 从而防止这些活性物质对人体产生伤害, 进而提高人体的免疫力, 是一种很好的天然抗氧化剂。

**1.4 黑色素的分析方法** 黑色素由于常与蛋白质牢固结合及对可见光、紫外光吸收的性质, 研究较难, 常用化学降解法(如盐酸降解蛋白质法)提取, 放射性同位素示踪法研究合成, 仪器分析方法如 X 射线衍射法、红外光谱法、电子光谱学化学分析法(ESCR)、电子顺磁共振波谱法(EPR)等对其结构进行研究。

## 2 乌骨鸡黑色素的合成及沉积顺序

很多年以来, 人们一直认为在黑色素细胞中, 酪氨酸酶是唯一有助于黑素生成的酶, 它在黑色素形成过程中催化两步起始反应<sup>[13]</sup>。90 年代中期认为黑色素形成的新机理, 除酪氨酸酶外, 多巴色素互变酶和二羟吡啶羧酸氧化酶也影响黑色素的合成, 同时黑色素细胞外的内皮素也

刺激黑色素细胞的增殖、分化, 并激活酪氨酸酶的活性<sup>[2]</sup>。家禽中真黑色素的合成目前多认为遵循经典的 Mason-Raper 途径, 经过一系列的环化和氧化形成真黑色素的聚合物。黑素体的形成是两条控制路径相互协调的结果: 即前黑素体的合成与分布以及酪氨酸与酪氨酸酶复合物对它的作用。前黑素体产生于细胞的滑面内质网, 而粗面内质网合成酪氨酸酶, 在高尔基体完成组装后, 包上一层囊泡运到黑色素体的复合物中, 当囊泡接触到前黑素体膜, 酪氨酸酶即起作用, 黑色素聚合物即形成(Bowers, 1988)。因此, 禽类的黑色素常与蛋白质牢固结合, 这些蛋白质已经被分离纯化, 其中包括九种 TPA 敏感性的蛋白及酪氨酸酶。Ferguson 等(1997)明确阐述了家禽和哺乳动物中酪氨酸酶如何转录调控酶的活力(如 5' 调控区), 关于影响黑色素生物合成的因素已经取得一定的进展<sup>[14]</sup>; Wang 等(1995)从白丝毛乌骨鸡中分离纯化出酪氨酸酶, 其相对分子量为 66 000 道尔顿(Da), 其  $K_m$  值为  $1.19 \times 10^{-3}$  M。此外, 从酪氨酸-多巴-多巴醌-多巴胺, 最后除形成真、浅黑色素外, 还有神经系统的重要递质去甲肾上腺素和肾上腺素, 这些物质为前黑色素体, 类似于真黑色素。其中, 肾上腺素与松果腺分泌的褪黑激素(melatonin)有使色素集中的作用。虽然目前对黑色素集中和扩散的机制尚不完全清楚, 但已经知道控制黑色素的因素有属于神经的, 也有激素的, 或两者兼而有之<sup>[3]</sup>。Cardot 等(1998、1999)对禽类的黑色素细胞集中素(MCH)进行了探讨; Lecoin 等(1994)对丝毛乌骨鸡体外神经嵴细胞生长的机制进行了探讨。至于禽类的浅黑色素, 它在类黑素细胞中合成, 由于有半胱氨酸参与, 含硫量多。

另外黑色素的发生还有一定的组织学顺序, 即首先沉积于皮肤、骨膜和肌膜, 然后是肌间结缔组织, 最后沉积于肌肉。说明酪氨酸酶的启动受到其它修饰基因的作用, 但这些控制因素尚属未知<sup>[4]</sup>。

## 3 黑色素生物合成的调节与信号传导

黑色素的形成需经过一系列复杂过程: 黑色素细胞的成熟、黑色素的生物合成到合成后黑色素运输到特定部位, 每一阶段均受许多信号分子与特定成分的调节和限制。对黑色素的形成机制

与调节目前仍在探索之中。下面对部分调节的研究情况作简单介绍: (1) 信号分子与传导通路。目前已知至少有三种信号传导通路—腺苷酸环化酶、蛋白激酶 C 和酪氨酸激酶存在于黑色素细胞中, 活化其中一个通路可激化细胞增殖或黑色素合成。如黑色素皮质素受体 1 (MC1R) 在黑色素合成的信号途径中起关键作用, 其与兴奋剂 ( $\alpha$ -MSH,  $\alpha$ -黑色素细胞刺激激素) 或者与抑制剂 (Agouti Signal Protein, ASP, 鼠灰色蛋白) 的结合使真黑色素或脱黑色素的合成受激发或抑制, 导致哺乳动物皮毛颜色差异。(2) 酶与底物。酪氨酸酶活性高低可导致真黑色素与脱黑色素合成转换。高水平的酪氨酸酶活性导致真黑色素产生, 当活性降低时, 体内过量的谷胱甘肽 (GSH) 与多巴醌结合, 最后导致脱黑色素产生。(3) 激素与神经肽。如前列腺素和肾上腺素可通过激活 cAMP 系统刺激黑色素细胞的生长和分化。(4) 其它。色素过度合成常常伴随慢性或急性炎症, 许多炎症介质刺激人类黑色素细胞的黑色素合成, 如炎症因子组胺经 H-2 受体通过蛋白激酶 A 活化, 诱导培养的人类黑色素细胞的黑色素合成<sup>[15]</sup>。

#### 4 黑色素合成的影响因素

黑色素是在黑色素细胞中的黑色素体内合成的, 在黑色素细胞内, 黑色素与蛋白质基质结合形成黑色素粒。黑色素的合成受细胞内、外多种因素的影响。

**4.1 细胞内因素的影响** 黑色素的合成受细胞内多种酶的催化。但主要是酪氨酸酶 (Tyr)、TPR1 和 TRP2 等的影响。TPR1 在黑色素合成过程中的作用是稳定酪氨酸酶的活性<sup>[16]</sup>, 这一点是人体的酪氨酸酶与老鼠、蘑菇等的酪氨酸酶的不同之处。酪氨酸酶是黑色素合成的限速酶, 它的具体结构至今还不清楚, 只知道它的活性中心含有 2 个铜离子, 这 2 个铜离子能与周围的氮原子和氧原子形成 3 种不同的状态: 在黑色素细胞中, 大部分 (大于 85%) 的酪氨酸酶是处于铜离子态, 只有一小部分 (小于 15%) 处于氧-铜离子态, 在反应过程中还能形成一种亚铜离子态。酪氨酸酶有两个主要功能: 作为单酚酶羟基化单酚生成邻二酚, 作为双酚酶氧化邻二酚生成邻醌。

**4.2 细胞外因素的影响** 黑色素的合成也受细胞

外多种生理刺激物的影响。例如, 促黑素细胞激素 (MSH)、黑灰色信号蛋白 (ASP)、内皮素 (Endothelin)、促肾上腺皮质激素 (ACTH)、雌激素和紫外线等, 这些生理刺激物的作用机理到目前为止还不是十分清楚。

#### 5 展望

有人用火焰原子吸收法对肌肉中的钙铁含量测定表明, 乌骨鸡肉中钙 (400~450 mg/kg)、铁 (70~80 mg/kg) 显著高于 AA 鸡 (钙 250~300 mg/kg、铁 35~40 mg/kg)<sup>[17]</sup>。乌骨鸡的食用价值和药用价值在于体内的黑色素, 乌骨鸡黑色素是滋补、强身、健体、防止衰老、颐养天年的物质基础。对乌骨鸡的黑色素进行深入研究, 有利于提高乌骨鸡体内黑色素的沉积, 更有利于开发乌骨鸡的药用价值和食用价值, 推动“黑色食品”的发展。乌骨鸡黑色素可以添加到其他黑色食品中以改善黑色食品的色泽, 还可以应用于新型的保健食品的开发, 添加到饮料中或做成不同形式的天然保健品。但目前主要的难题是乌骨鸡黑色素的溶解性很差、热敏性强, 若能找到一种合适的溶剂, 增加它的溶解度, 以增强黑色素的稳定性, 乌骨鸡黑色素势必会有更广泛的用途。

随着人们生活水平的不断提高, 食品消费正朝着营养、保健的多元化发展, 乌骨鸡作为典型的黑色食品, 以其高营养、多功能的优势, 越来越受到广大消费者的青睐, 定将具有广阔的市场发展前景。

#### 参考文献:

- [1] 舒文, 毛华明. 黑色素的研究进展[J]. 国外畜牧学, 2003, (2): 31-34.
- [2] 江志洁, 朱育新, 吴奇英, 等. 黑色素形成机理的新概念及复合美白剂的应用[J]. 日用化学科学, 1998(4): 138-140.
- [3] Muroya S, Tanabe R, Nakajima I, et al. Molecular characteristics and site specific distribution of the pigment of the silky fowl[J]. J Vet Med Sci, 2000, 62(4): 391-395.
- [4] 贾青, 路兴中, 袁志发. 泰和鸡黑色素的发生初探[J]. 河北农业大学学报, 1998, (3): 72-74.
- [5] Patam M, Jin XP, Zhang YB, et al. Intervention of nicotinamide on skin melanin genesis after UVA exposed. Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi, 2007 25(8): 465-469.
- [6] 徐幸莲, 庄苏, 陈伯祥. 乌骨鸡黑色素对延缓果蝇衰老的作用

[J]. 南京农业大学学报, 1999, 22(2):105-108.

[7] 蔡华珍, 陈守江, 张丽, 等. 乌骨鸡黑色素的酶法提取及其抗氧化作用初步研究[J]. 食品与发酵工业, 2006(1):99-102.

[8] Gereia E, et al. Eumelanins as free radicals trap and superoxidisedis-mutase activities in amphibia[J]. Comp. Biochem Physiol, 1984, (79):67-69.

[9] Gereia E, et al. Antioxidant enzymatic systems in pigment tissue ofinamphibia[J]. Pigment Cell Research, 1989, (2):208-212.

[10] Kifigaya N, et al. Studies on antioxidant activity of nonenaymic browning products Part I. Relations of color intensity and reductones with antloxidant activity of browning reaction products[J]. A Biol Chem, 1968, 32(3):287-290.

[11] Sichel L, Andrean H, et al. Flaky particles for cosmetics containing in situ•formed melanin pigment (Abs)[J]. Eur Pat Appl, 1992, 22(1):467.

[12] Ezzahir W, Yamaguchi N. Antioxidation properties of decoloured melanoidin[J]. New Food Industry, 1991, 33(1):76-80.

[13] 朱庆, 周海龙. 乌骨鸡黑色素生成的分子机理[J]. 中国家禽学报, 2003, (1):115-117.

[14] Ferguson CA, et al. The regulation of tyrosinase gene transcription[J]. Pigment Cell Res, 1997, 10(3):127-138.

[15] 伍革民, 彭光旭. 动物黑色素研究进展[J]. 甘肃畜牧兽医, 2005, (1):39-41.

[16] Take froKuzumakitAyakoMatsudat, K-umasaWakamastu, et al. Eumelanin biosynthesis regulated by coordinate e pression oftyrceinase and tyrosinas-related protein genes[J]. Experimental CeH Res, 1993, 207:33-40.

[17] 熊伟. 乌骨鸡与 AA 鸡肉中钙、铁含量的比较[J]. 中国家禽, 2001, 23(8):53-55.

## 2007“永顺杯”优秀论文奖揭晓

为促进科学技术的进步与创新,进一步活跃畜牧兽医界的学术气氛,努力把广东畜牧兽医科技推向新水平,本刊开展了 2007 年度“永顺杯”优秀科技论文评选活动。本刊组织了专家组对论文进行了初审和复审,最后评选出优秀论文 10 篇。现以表彰,并给获状作者颁发优秀科技论文证书及奖金,以资鼓励。本刊编委会向优秀论文作者致以崇高的敬意!

衷心感谢广东永顺生物制药有限公司为本次优秀论文提供赞助费人民币 10 000 元!

### 《广东畜牧兽医科技》杂志 2007 年度优秀论文榜

作者	第一作者单位	题目	刊期	等级(奖金)
谢水华、陈瑶生、李加琪 刘小红、张豪、王翀	华南农业大学动物科学学院	广东大花白猪种质特性及保护利用研究	1	一等奖(1500元)
司兴奎、陈建红、张济培	佛山科学技术学院	新城疫-禽流感重组二联活疫苗(rL-H5株)的免疫效果分析	3	一等奖(1500元)
江经纬、谭碧珊、徐建梅、 萧翠珍、廖明	华南农业大学兽医学院	克隆和表达传染性支气管炎 S 蛋白复合抗原表位作为制备单克隆抗体的免疫原	1	二等奖(1000元)
王连想、任裕其、卢洪芬 闫晓菊、梁红梅、孙彦伟	广东省动物防疫监督总所	广东省猪繁殖与呼吸综合征抗体十年检测结果分析	2	二等奖(1000元)
周联高、葛家根、章世元 严桂芹、俞路、吴蓉蓉	扬州大学动物科学技术学院	赖氨酸转基因水稻对肉仔鸡屠宰及血液生化指标的影响	5	二等奖(1000元)
黄俐晔、蒋宗勇	广东科贸职业学院	广东畜产品安全面临的问题与对策	4	三等奖(800元)
王延树、向华、 郑翠玲、严梯昆、宣华	广东省农科院兽医研究所	猫杯状病毒衣壳蛋白多表位抗原的原核表达	4	三等奖(800元)
吴同山、陈日秀	新丰板岭原种猪场	再议当前猪场生产管理存在的一些误区	5	三等奖(800元)
蔡弋、刘思伽、余双祥、 李胜、罗映霞	广东省家禽科学研究所	鸭疫里默氏菌和大肠杆菌二联油乳剂灭活苗的研究	5	三等奖(800元)
马合勤、谢青梅、马静云、 刘丽贞、林丽常、薛冰	佛山市顺德区农产品质量监督检验测试中心	高效液相色谱法测定水产品中孔雀石绿和隐性孔雀石绿的残留量	6	三等奖(800元)

二〇〇八年一月二十六日

# 小肽的功能及其在仔猪生产中的应用

张 含

(江西农业大学动物科技学院, 江西 南昌 330045)

**摘 要:** 小肽是蛋白质在猪消化道内降解的一种中间产物, 具有重要的作用。本文就小肽的分类和吸收机制、小肽的功能及在仔猪生产中的应用作一综述, 并提出了未来相关的研究方向。

**关键词:** 小肽; 吸收机制; 功能; 应用

**中图分类号:** S828.5

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2008)01-0016-03

经典的蛋白质代谢理论是蛋白质在消化道内, 由消化道中的蛋白质消化酶作用下降解成游离氨基酸和寡肽。其中寡肽在肽酶的作用下完全降解为游离氨基酸, 并以游离氨基酸的形式吸收, 进入血液循环。动物对蛋白质的需要归根结底就是对各种氨基酸的需要, 并建立了氨基酸的理想模型。但是近年来研究发现不同来源的饲料氨基酸利用率存在一定的差异。Pinchasov 等<sup>[1]</sup>报道, 动物喂以按理想氨基酸模式配制的纯合日粮或低蛋白质氨基酸平衡日粮时, 不能获得最佳生产性能。最早 Agar<sup>[2]</sup>研究表明, 肠道能完整地吸收转运双甘肽。此后研究者提供了关于小肽可被完整吸收的充足论据, 验证了完整的甘氨酸被转运吸收, 大量小肽可直接以肽的形式被吸收进入血液循环。Hara 等<sup>[3]</sup>实验结果表明, 蛋白质在消化道中的消化终产物大部分往往是小肽而不是游离氨基酸(FAA)。小肽能完整地通过肠粘膜细胞而进入体循环<sup>[4]</sup>。Rerat 等<sup>[5]</sup>报道, 小肽与游离氨基酸(FAA)在动物体内具有相互独立的吸收机制。小肽吸收系统在氨基酸的吸收中有很重要的作用。最近, 许多研究者在仔猪生产上做了大量的研究, 为小肽营养在仔猪生产中的应用积极探索, 并取得了许多可喜的成绩。

## 1 小肽的概念和分类

小肽是指含 2 或 3 个氨基酸残基的一类化合物<sup>[6]</sup>。根据所发挥的功能把小肽分为两大类, 即营养性小肽和功能性小肽。营养性小肽是指不具有特殊生理调节功能, 只为蛋白质合成提供氮架的小肽。功能性小肽指能参与调节动物的某些生理活动或具有某些特殊作用的小肽, 如抗菌肽、免疫

肽、抗氧化肽、激素肽、表皮生长因子等<sup>[7]</sup>。

## 2 小肽的功能

小肽与氨基酸运输体系相比, 小肽吸收具有吸收快、能耗低、效率高、载体不易饱和等优点。Rerat 等<sup>[8]</sup>报道, 小肽在肠道能与特殊受体结合, 促进动物胃肠道的生长发育, 提高胃肠道消化、吸收功能。部分小肽可被吸收进入血液循环系统, 调节机体免疫机能, 并通过生长轴调控动物生长, 充分发挥动物的生产潜能。

**2.1 促进氨基酸的吸收利用及机体蛋白质的沉积**  
小肽在动物体蛋白质周转代谢中的作用, 不仅表现在吸收上的优势, 饲料蛋白质肽的释放量与其完整吸收进入循环的程度, 也可能影响组织的蛋白质代谢。被吸收进入循环系统的肽可被水解为游离氨基酸, 作为合成组织蛋白的氮源。Boza 等<sup>[9]</sup>研究表明小鼠喂含肽日粮体蛋白合成效率比含相应氨基酸日粮组高 26%。以小肽形式提供部分或全部氮源时, 蛋白质沉积效率高于相应的合成氨基酸日粮和完整蛋白质日粮。萨仁娜等<sup>[9]</sup>报道应用那西肽对艾维茵肉仔鸡试验同样证明那西肽能够提高日增重, 其原因可能与小肽在体内能迅速吸收有关。另外, 蛋白质合成率与动、静脉氨基酸差值存在相关性, 在吸收状态下, 其差值越大, 蛋白合成率越高。由于小肽吸收速度快, 吸收峰高, 因此能快速提高动、静脉氨基酸差值, 从而提高蛋白质合成效率。

**2.2 提高矿物质元素的利用率** 无机盐进入消化道后, 微量元素呈阳离子态, 必须先是在胃肠道中与适当的内源或外源的有机体(配位体)结合形成络合物, 形成有机的脂溶性表面, 再以此形式吸收并通过粘膜细胞的类脂屏障转运入细胞。吸收后



的微量元素在血液中也必须与某些蛋白结合才能被运输到机体所需的部位产生功效<sup>[10]</sup>。微量元素可以与小肽为主要配体形成螯合物被转运,从而更有利于微量元素吸收。Du 等<sup>[11]</sup>研究表明,小肽螯合铜利用肽的吸收机制,与铁、锌、锰的普通吸收机制不形成竞争。Zambonino 等<sup>[12]</sup>报道,在鲈鱼苗日粮中添加小肽后,能极大减少骨骼的畸形现象,这可能是由于有些小肽具有与金属结合的特性,从而促进钙、铁、铜和锌的被动转运过程及在体内的储存。乔伟<sup>[13]</sup>的研究结果表明,以小肽为配体,与铬螯合后均能促进铬的吸收,提高血液中铬含量,吸收效果好于无机铬和两种有机铬;小肽铬的吸收效果优于氨基酸铬,心脏和肝门静脉全血中铬含量分别比氨基酸铬组的高 17.2%和 30.4%。

**2.3 提高生产性能** 小肽能提高动物的生产性能,其原因可能与肽链的结构及氨基酸残基序列有关。寡肽在消化酶的作用下降解产生具有特殊生理活性的小肽,能够直接被动物完整吸收,参与机体生理活动和代谢调节,从而提高动物生产性能。另一方面,小肽能消除游离氨基酸的吸收竞争,加快蛋白质的合成,也为提高生产性能奠定了基础。Pocius 等(1981)报道,荷斯坦牛吸收的谷胱甘肽在乳腺 GTPase 的作用下降解为 Gly、Gys,可作为乳蛋白合成的原料,促进乳蛋白合成。

**2.4 提高机体的免疫能力** 小肽能够加强有益菌群的繁殖,促进菌体蛋白的合成,增强机体抗病力;干扰素、白细胞介素等内源性肽可以刺激和调节免疫应答中心,具有免疫活性;另外某些活性小肽能令幼小动物的小肠提前发育成熟,并刺激消化酶分泌,提高机体免疫力。Jelle(1981、1982)研究表明, $\beta$ -酪蛋白水解产生的三肽和六肽可促进巨噬细胞的吞噬作用。Storia(1994)以猪骨髓的一段 cDNA 为模板合成的一种小肽,对革兰氏阳性、阴性菌都有抑制作用。Andeson(1995)从猪小肠中分离出一段 NK-赖氨酸寡肽对大肠杆菌等有抑制作用。

**2.5 生理调节作用** 小肽可直接作为神经递质,间接刺激肠道受体激素或酶的分泌而发挥作用。如  $\beta$ -酪蛋白水解生成的酪啡肽(7~10 个氨基酸残基),其氨基酸排列顺序与内源阿片肽的末端排列顺序相似。从  $\beta$ -酪蛋白水解产物中进一步纯化出的五肽(Tyr-Pro-Phe-Glv-Ile)和四肽

(Tyr-Pro-Phe-Pro),在体外均有阿片肽的活性。

### 3 小肽在仔猪中的应用

Rerat 等<sup>[5]</sup>报道,向仔猪十二指肠灌注小肽后,血浆胰岛素的浓度高于灌注 FAA 组。而血浆胰岛素的生理功能之一是参与蛋白质合成中肽链的延长,增加蛋白质的合成。Bamba 等<sup>[14]</sup>在断奶仔猪日粮中添加小肽制品,日增重和饲料转化率分别提高 7.85%~8.85%和 10.06%~11.06%。王碧莲等<sup>[15]</sup>用含有一定量小肽的饲料饲喂仔猪,试验组比对照组仔猪增重提高 12.93%,腹泻率降低 60%,经济效益比对照组提高 15.62%。高欣等<sup>[16]</sup>试验结果表明,用小肽能改善仔猪营养物质的消化吸收,提高生产性能,降低腹泻指数。汪梦萍等<sup>[17]</sup>研究表明,在断奶仔猪日粮中添加小肽制品,能够极显著地提高日增重和饲料转化率(分别为 7.85%, 8.85%; 10.06%, 11.06%)。李永富等<sup>[18]</sup>对 1-21 日龄的乳猪分别添加小肽铁和右旋糖苷铁,结果表明,小肽铁的补铁效果优于右旋糖苷铁,是一种很好的补铁剂。高萍等<sup>[19]</sup>研究表明,注射一定剂量的猪胰多肽,可提高仔猪的血清球蛋白水平,增强仔猪免疫力。王恬等<sup>[20]</sup>研究表明,在断奶仔猪日粮中添加小肽营养素可减轻断奶仔猪小肠绒毛萎缩和隐窝加深的程度,促进仔猪肠道组织与功能的发育;提高淀粉酶、脂肪酶与胰蛋白酶活性;促进免疫器官发育,提高免疫球蛋白 IgG 含量,降低腹泻发生率;提高仔猪的日增重和饲料转化率,且随着小肽营养素添加量的增大,断奶仔猪日增重逐渐增加,料重比与腹泻发生率呈现降低的趋势。李职等<sup>[21]</sup>研究表明,在乳猪教槽料中添加小肽,可较大幅度提高断奶仔猪的日采食量和日增质量,并有较低的耗料增质量比,且动物源小肽(鱼粉)比植物源小肽(大豆)效果更好。王彬等<sup>[22]</sup>试验组用 3%小肽制剂饲喂 24 d,结果发现:试验组比对照组平均日增重提高了 18.2%,差异显著( $P < 0.05$ );料肉比降低了 10.7%,差异显著( $P < 0.05$ );平均日采食量变化虽未达显著水平,但也有提高的趋势。王贤勇<sup>[23]</sup>报道添加 2%小肽制品的试验仔猪与对照组相比,日采食量和日增重分别提高了 15.5%和 17.3%( $P < 0.05$ ),而随着添加量的增加,试验仔猪的生长性能呈下降趋势。

### 4 小结

综上所述,小肽是一种安全的、无毒副作用的

新型绿色环保饲料添加剂。小肽在仔猪方面的研究报告较丰富,但是在母猪、肥育猪、种公猪上面的研究报告较少。笔者认为,种公猪在繁殖季节中,大量采精,消耗了大量的蛋白质,而小肽可以加快蛋白质的合成,这样可以提高公猪的利用率。这是今后的一个研究方向。

#### 参考文献:

- [1] Pinchasov Y. Broiler chick response to low protein diets supplemented with synthetic amino acids[J]. Poul Sci, 1990, (69):1950-1955.
- [2] Agar W T, Hird F J, Sidsu G S. The active absorption of amino acids by the intestine[J]. J Physiol, 1953, 121: 255-263.
- [3] Hara H R, Funabiki, Iwata M, et al. Proto laborption of small peptides in rats under undrestraied conditions[J]. J Nutr, 1984, 114:1122-1129.
- [4] 乐国伟, 寡肽在家禽蛋白质营养中的作用[D]. 四川农业大学, 1996.
- [5] Rerat A. Amino Acid Absorption and Production of Pancreatic Hormoned in Non-Anaesthetized Pigs After Duodenal Infusions of a Milk Enzymic Hydrolysate or of Free Amino Acids[J]. Brit J Nutr, 1988, 60:121-136.
- [6] 冯怀蓉, 张慧涛, 茆军. 多肽简介及应用[J]. 新疆农业科学, 2002, 39(1):38-39.
- [7] 郑云峰, 许云英, 徐玉娟. 蛋白质营养中小肽的研究新进展[J]. 饲料工业, 2006, 27(1):16-18.
- [8] Boza J J, Martinez-Augustin O, Baro L, et al. Protein v. enzymic protein hydrolysates. Nitrogen utilization in starved rats[J]. Br J Nutr, 1995, 73(1):65-71.
- [9] 萨仁娜, 佟建明, 黄美玉, 等. 那西肽对肉仔鸡维生素营养和生产性能的影响[J]. 饲料工业, 1997, 18(4):7-9.
- [10] Cousins R J. Regulation of zinc absorption: role of intracellular ligands[J]. Am J Clin Nutr, 1979, (32): 339-345.
- [11] Du Z R W, Hemken, Jackson J A, et al. Trammell Utilization of copper in copper proteinate, copper lysine, and cupric sulfate using the rat as an experimental model[J]. Anim Sci, 1996, (74):1657-1663.
- [12] Zambonino J, Cahu C, Peres A. Partial substitution of di- and tripeptides for native proteins in seabass diets improves dicent rarehus lab raxlarval development[J]. Nutr, 1997, 127:608-614
- [13] 乔伟. 小肽铬的制备及其吸收效应探讨[D]. 四川农业大学, 2004.
- [14] Bamba T, FUSE TK, OBATA H, et al. Effects Of small peptides as intraluminal abastrates on transport carriers for amino acids and peptides[J]. J clinic Biochem Nutri, 1993, (15):33-42.
- [15] 王碧莲, 汪梦萍. 肽制品喂大快在仔猪日粮中的应用[J]. 饲料研究, 2000, (8):38-39.
- [16] 高欣, 马秋刚. 肠膜蛋白粉对早期断奶仔猪生产性能及消化道发育的影响[J]. 中国饲料, 2000, (9):28-30.
- [17] 汪梦萍, 王碧莲. 小肽制品“喂大快”对断奶仔猪生长的影响[J]. 粮食与饲料工业 2000, (4):38-39.
- [18] 李永富, 施用晖, 潘茹芳. 小肽络合铁对新生仔猪补铁效果的研究[J]. 饲料研究, 2000, (2):11-13.
- [19] 高萍, 傅伟龙. 猪胰多肽粗品对断奶仔猪生长及血清蛋白质浓度的影响[J]. 华南农业大学学报, 2000, (4):65-67.
- [20] 王恬, 傅永明, 吕俊龙, 等. 小肽营养素对断奶仔猪生产性能及小肠发育的影响[J]. 畜牧与兽医, 2003, (4):4-8.
- [21] 李职, 秦江帆, 甘清云. 在乳猪教槽料中应用不同类型小肽对乳猪生产性能的影响[J]. 饲料研究, 2004, (10):5-6.
- [22] 王彬, 刘超良, 谭良溪. 小肽制剂饲喂断奶仔猪的效果观察[J]. 饲料工业, 2006, (11):9-10.
- [23] 王贤勇. 小肽制品对断奶仔猪生长性能和免疫机能的影响及机理研究[J]. 南方养猪, 2006, (207):16-18.

## 广东深圳市新增 20 个生猪生产基地

从广东深圳市农林渔业局了解到,近日深圳市的生猪生产基地队伍再次扩容,增加了 20 个新成员,为深圳市节日市场生猪回运数量和肉品供应提供了更强有力的保障。

据了解,光明畜牧有限公司、正顺食品有限公司、美丰食品有限公司、嘉康食品有限公司和金新农饲料有限公司 5 家公司 1 月 16 日和市农林渔业局签订合同,其自办或联营的 20 个生猪生产基地开始向深圳供应生猪。这 20 个生产基地的生猪年产量预计达到 48.7 万头。之前深圳市已经认定了四批主要农产品生产基地,其中生猪生产基地有 103 个,年出栏生猪 217.48 万头,上个月深圳市认定的前四批生产基地就向深圳回运生猪超过 92000 头,为保障深圳市场猪肉正常供应发挥了重要的作用。目前深圳市拥有认定的生猪生产基地总数达到 123 个,年出栏生猪 266.18 万头。(资料来源:广东农业信息网)

# 疙瘩皮肤病概述

许立博, 赵玉军

(沈阳农业大学, 辽宁 沈阳 110161)

**摘要:** 疙瘩皮肤病 (LSD) 又称结节性皮炎或块状皮肤病, 是世界动物卫生组织 (OIE) 规定的 A 类疫病之一。LSD 是由 LSDV 引起的, 以发热, 皮肤、粘膜、器官表面广泛性结节, 消瘦, 淋巴结肿大, 皮肤水肿为特征, 严重时会引起死亡。此病能大幅度降低产乳量, 损坏皮张, 常带来较大的经济损失。目前, 此病在非洲、以色列等国家和地区发生流行, 我国尚无此类疫病的发生。本文仅就疙瘩皮肤病的病原、流行病学、临床与病理、诊断、预防及控制等方面作一概述。

**关键词:** 疙瘩皮肤病; 流行状况; 病原; 实验室诊断; 预防控制

**中图分类号:** S857.5

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2008)01-0019-03

## 1 流行情况

**1.1 历史概况** 疙瘩皮肤病 (Lumpy Skin Disease, LSD) 于 1929 年在赞比亚首次发生<sup>[1]</sup>, 1943 年传播至波扎那, 然后传入南非, 引起 800 万牛只发病, 造成了重大的经济损失<sup>[2]</sup>。此后 1957 年于肯亚发生, 1977 年在毛利塔尼亚、加纳、利里比亚, 1981-1986 年间于坦桑尼亚、肯尼亚、津巴布韦、索马里、喀麦隆均先后发生流行, 其中 1981 年开始的流行死亡率为 20% 左右。但其真正的流行程度还不是很清楚。总的来说, 非洲中部多数地区均有此病发生。1989 年在以色列再次爆发流行, 说明该病已扩散至非洲之外的其他地区。为此以色列 1989 年建立了非洲之外的第一个 LSD 实验室。

**1.2 最新流行情况** 2006 年 4 月 19 日, 埃及农业部首席兽医官 Ahmed Tawfik Mohamed 博士在开罗宣布埃及爆发 LSD, 从 2006 年 1 月 7 日到 4 月 9 日共有 294 576 头牛感染此病, 其中死亡 771 头, 目前疫病发生原因尚不清楚, 用羊痘弱毒苗进行免疫接种, 疫情得到了有效的控制。

2006 年 9 月 4 日, 以色列农业部首席兽医官 Moshe Chaimovitz 博士宣布以色列发生 LSD 疫情, 6 月 20 日至 9 月 3 日共有 4 000 头牛发病, 截止到报道日期, 未出现新病例。

2007 年 2 月 27 日, 莫桑比克农业部首席执行官 Adolfo Paulo Mavale 宣布莫桑比克发生 LSD 疫情, 从 1 月 6 日到 1 月 17 日, 共有 2 856 头牛发病, 死亡 5 头。

## 2 病原学

该病的病原为皮肤疙瘩病病毒 (Lumpy skin disease virus, LSDV), 属于痘病毒科, 山羊痘病毒属。该属除皮肤疙瘩病病毒外, 尚包括绵羊痘病毒 (sheeppox virus, ShPV) 和山羊痘病毒 (goatpox virus, GPV)。LSDV 对人无致病力。病毒呈砖块样或短管样, 约  $290 \times 270$  nm<sup>[3]</sup>。在 55℃ 2 h, 65℃ 30 min 条件下就能将其灭活, 不耐强酸强碱, 对 12% 乙醚、1% 福尔马林、十二烷基硫酸钠等去污剂敏感。该病毒在正常环境温度下存活时间较长 (长达 40 d), 特别是在皮肤结痂中存活时间更长。2001 年美国科学家报道了 LSDV 的基因组序列, 其基因组长 151 kb, 由中央的编码区和两翼的长为 2.4 kb 的反向末端重复序列 (ITR) 组成, 有 156 个推测的基因<sup>[3]</sup>。

## 3 流行病学

**3.1 传染源** 传染源为患该病的病牛。

**3.2 易感动物** 本病的自然宿主是牛, 通常情况下牛只比较易感, 亚洲水牛, 奶牛也易感。感染率在 5%~85%, 死亡率不定。在同一条件下的牛群, 有隐形感染到死亡不同的临床表现差异, 这可能与传播媒介的状况有关<sup>[4]</sup>。在实验室条件下, 长角羚羊、长颈鹿、黑斑羚也能感染。病毒广泛存在于皮肤、真皮损伤部位、结痂、唾液、鼻涕、乳汁、精液、肌肉、脾脏、淋巴结等处。目前没有发现病原携带者。

**3.3 传播途径** LSD 经蚊蝇传播, 库蚊属、伊蚊属

和厩螫蝇在传播过程中起着很重要的作用。以前认为 LSD 是通过节肢动物媒介传播, 没有昆虫媒介疫病是不能传播的, 直到 1988 年, LSD 经撒哈拉沙漠由非洲传到埃及, 人们才对其产生思考。昆虫传播是本病的主要传播途径这是毋庸置疑的, 但是否可能还存在其他的传播途径呢? 目前, 认为在没有传播媒介的作用下, 怀疑可经过唾液传播<sup>[5]</sup>。

## 4 症状和病变

**4.1 临床症状** 该病临床表现从隐性感染到发病死亡不一, 死亡率变化也较大。表现有临床症状的通常呈急性经过, 初期发热达 41℃, 持续一周左右。鼻内膜炎, 结膜炎, 在头、颈、乳房、会阴处产生直径约 2~5 cm 的结节, 深达真皮, 两周后浆液性坏死, 结痂。由于蚊虫的叮咬和摩擦, 结痂脱落, 形成空洞。眼结膜、口腔粘膜、鼻粘膜、气管、消化道、直肠粘膜、乳房、外生殖器发生溃疡, 尤其是皱胃和肺脏, 导致原发性和继发性肺炎。再次感染的患畜四肢因患滑膜炎和腱鞘炎而引起跛行。乳牛产乳量急骤下降, 约四分之一的乳牛失去泌乳能力。患病母牛流产, 流产胎儿被结节性小瘤包裹, 并发子宫内膜炎。公牛暂时性或永久性不育<sup>[6]</sup>。

**4.2 病理变化** 结节处的皮肤、皮下组织及临近的肌肉组织充血、出血、水肿、坏死及血管内膜炎。淋巴结增生性肿大并充血或出血。口腔、鼻腔粘膜溃疡, 溃疡也可见于咽喉、会厌部及呼吸道。肺小叶膨胀、舒张不全。重症者胸膜炎。滑膜炎和腱鞘炎者可见关节液内有纤维蛋白渗出物。睾丸和膀胱也可能有病理损伤<sup>[7]</sup>。

## 5 实验室诊断

**5.1 病料采集** 病料采集自病畜活体或死后的皮肤结节、肺脏、淋巴结等, 用于病毒分离和抗原检测。用 ELISA 方法检测的样本应在出现临床症状的第一周采集, 即在中和抗体产生之前。用于 PCR 检测的样本应在产生中和抗体时采集, 也就是出现临床症状一周以后。病毒通常能在体内存活 35 天, 加入肝素或 EDTA 的发病前四天的血清可以用于病毒的分离。用于组织病理学检查的样本应放在 10% 的福尔马林溶液中保存<sup>[8]</sup>。

**5.2 细胞培养** LSDV 常用牛、山羊及绵羊的原代及传代细胞进行培养, 并认为从绵羊体内分离得到的病原在羔羊睾丸的原代及继代细胞培养最为敏感。有报道 LSDV 可在鸡胚尿囊膜和非洲绿猴

肾 (Vero) 细胞中生长<sup>[9]</sup>, 但在最初病原分离时不推荐使用此方法。

**5.3 镜检** 透射电镜是初步检查 LSDV 最直接快速的方法。将病料研磨制成悬浊液, 滴一滴悬浊液在蜡板上, 1 min 后, 滴加一滴 pH 7.8 的 Tris/ED-TA 缓冲液作用 20s, 然后滴加 pH 7.2 的 1% 的磷钨酸 10s。用滤纸吸干或自然干燥后镜检。该病毒呈砖块状或短管状, 大小约为 290×270 nm。

**5.4 血清学试验** 包括间接荧光抗体试验、病毒中和试验和 ELISA。病毒中和试验常用且有效, 但由于 LSD 感染主要引起细胞免疫, 因此, 对于再次感染或中和抗体水平低的动物, 该方法较难确诊。免疫扩散试验和免疫荧光抗体试验特异性较低, 这是因为该病抗体与其他痘病毒引起的牛丘疹性口炎、伪 LSD 等之间存在交叉反应<sup>[10]</sup>。蛋白印迹分析法用于检测 LSDV 的 P32 抗原具有很好的敏感性和特异性, 但由于耗费较大和操作困难使其应用上有一定的局限性<sup>[8]</sup>。将 P32 抗原在适当的载体上表达, 制成单克隆抗体用于 ELISA 检测具有较高的特异性, 给血清型检测带来希望<sup>[11]</sup>。

**5.5 核酸鉴定方法** 血清学检查方法不能鉴定山羊痘病毒、绵羊痘病毒和皮肤疙瘩病毒, 但可以通过 Hind III 酶对纯化的 DNA 进行酶切而产生的基因片断进行鉴定<sup>[12, 13]</sup>。

PCR 可用于检测来自活体或组织培养的山羊痘病毒属, 病毒吸附蛋白和病毒融合蛋白是山羊痘病毒属的特异性蛋白, 常用二者来设计引物。PCR 产物用限制性核酸内切酶的酶切鉴定来证实<sup>[14]</sup>。

## 6 鉴别诊断

要与伪疙瘩皮肤病、牛疱疹性乳房炎、藓菌病、昆虫或蜱叮咬, 以及牛肺疫、牛丘疹性口炎、荨麻疹、皮肤结核、盘尾丝虫病等病进行鉴别诊断。

## 7 防控措施

对于无此疫病的国家, 平时应做好预防措施。严格检验家畜、病尸、皮张和精液。一旦发生疫病, 应及时隔离患畜和可疑病畜, 疫区严格封锁, 一切用具和环境必须消毒。禁止有关的动物贸易, 控制传播媒介。目前无特异性疗法, 用抗生素治疗可以避免并发或继发感染。

**药物预防:** 用同源弱毒苗进行免疫接种, 一般皮内注射, 免疫力能持续 3 年<sup>[15, 16]</sup>。目前还没有绵羊和山羊种间传播的报道。

参考文献:

[1] Haig D. Lumpy skin disease. Bull[J]. Epizoot Dis Afr, 1957, (5):421-430.

[2] Weiss KE. Lumpy skin disease[J]. Virol Monogr, 1968, (3):111-131.

[3] Tulman E R, Afonso C L, Lu Z, et al. Genome of Lumpy Skin Disease Virus[J]. J Virol, 2001, (75):7122-7130.

[4] Kitching R P, Smale C. Comparison of the external dimensions of capripoxvirus isolates[J]. Res Vet Sci, 1986, (41):425-427.

[5] Chihota C, Rennie L F, Kitching R P, et al. Mechanical transmission of lumpy skin disease virus by Aedes aegypti (Diptera: Culicidae)[J]. Epidemiol Infect, 2001, (126):317-321.

[6] Carn V M, Kitching R P. The clinical response of cattle following infection with lumpy skin disease (Neethling) virus. Arch[J]. Virol, 1995, (140):503-513.

[7] Prozesky L, Barnard B J H. A study of the pathology of lumpy skin disease in cattle[J]. Onderstepoort J Vet Res, 1982, (49):167-175.

[8] Carn V M. An antigen trapping ELISA for the detection of capripoxvirus in tissue culture supernatant and biopsy samples[J]. J Virol Methods, 1995.

[9] Davies F G, Krauss H, Lund L J, et al. The laboratory diagnosis of lumpy skin disease[J]. Res Vet Sci, 1971, (12):123-127.

[10] Kitching R P, Hammond J M, Black D N. Studies on the major precipitating antigen of capripoxvirus[J]. J Gen Virol. 1986, (70):485-489.

[11] Carn V M, Kitching R P, Hammond J M, et al. Use of a recombinant antigen in an indirect ELISA for detecting bovine antibody to capripoxvirus[J]. J Virol Methods, 1994, (49):285-294.

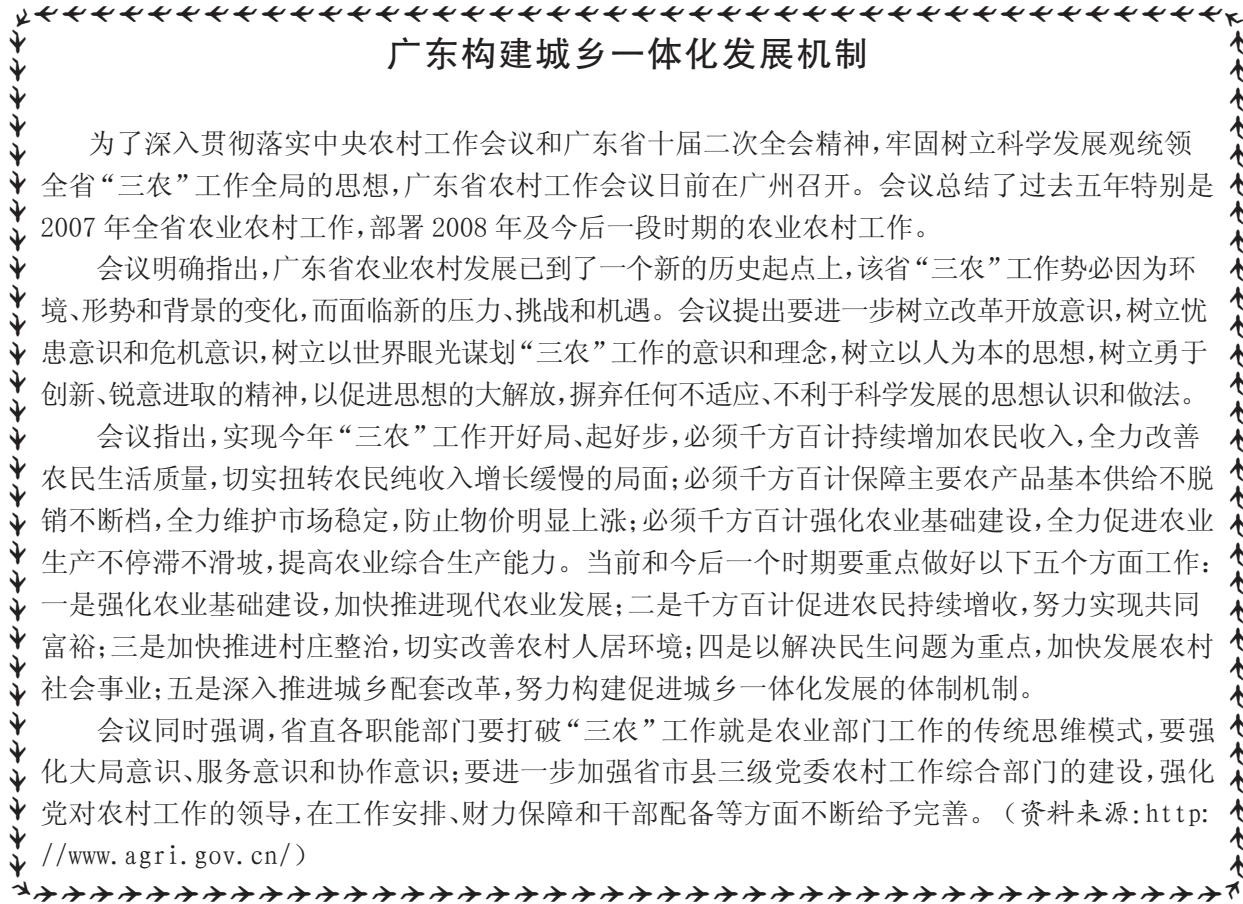
[12] Black D N, Hammond J M, Kitching R P. Genomic relationship between capripoxviruses[J]. Virus Res, 1986, (5):277-292.

[13] Carn V M, Kitching R P. The clinical response of cattle following infection with lumpy skin disease (Neethling) virus[J]. Arch Virol, 1995, (140):503-513.

[14] Ireland D C, Binopal Y S. Improved detection of capripoxvirus in biopsy samples by PCR[J]. J Virol Methods, 1998, (74):1-7.

[15] Capstick P B, Coakley W. Protection of cattle against lumpy skin disease. Trials with a vaccine against Neethling type infection Res[J]. Vet Sci, 1961, (2):362-368.

[16] Carn V M. Control of capripoxvirus infections[J]. Vaccine, 1993, (11):1275-1279.


**广东构建城乡一体化发展机制**

为了深入贯彻落实中央农村工作会议和广东省十届二次全会精神,牢固树立科学发展观统领全省“三农”工作全局的思想,广东省农村工作会议日前在广州召开。会议总结了过去五年特别是2007年全省农业农村工作,部署2008年及今后一段时期的农业农村工作。

会议明确指出,广东省农业农村发展已到了一个新的历史起点上,该省“三农”工作势必因为环境、形势和背景的变化,而面临新的压力、挑战和机遇。会议提出要进一步树立改革开放意识,树立忧患意识和危机意识,树立以世界眼光谋划“三农”工作的意识和理念,树立以人为本的思想,树立勇于创新、锐意进取的精神,以促进思想的大解放,摒弃任何不适应、不利于科学发展的思想认识和做法。

会议指出,实现今年“三农”工作开好局、起好步,必须千方百计持续增加农民收入,全力改善农民生活质量,切实扭转农民纯收入增长缓慢的局面;必须千方百计保障主要农产品基本供给不脱销不断档,全力维护市场稳定,防止物价明显上涨;必须千方百计强化农业基础建设,全力促进农业生产不停滞不滑坡,提高农业综合生产能力。当前和今后一个时期要重点做好以下五个方面工作:一是强化农业基础建设,加快推进现代农业发展;二是千方百计促进农民持续增收,努力实现共同富裕;三是加快推进村庄整治,切实改善农村人居环境;四是以解决民生问题为重点,加快发展农村社会事业;五是深入推进城乡配套改革,努力构建促进城乡一体化发展的体制机制。

会议同时强调,省直各职能部门要打破“三农”工作就是农业部门工作的传统思维模式,要强化大局意识、服务意识和协作意识;要进一步加强省市县三级党委农村工作综合部门的建设,强化党对农村工作的领导,在工作安排、财力保障和干部配备等方面不断给予完善。(资料来源: <http://www.agri.gov.cn/>)

# 几种护理方法对产后母猪繁殖性能影响的比较

贺湘仁<sup>1</sup>, 甄子杰<sup>2</sup>, 冯锦荣<sup>2</sup>, 刘宇<sup>1</sup>

(1. 广东省种猪场, 广东 广州 510520; 2. 华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

**摘要:** 本文通过对三种护理方法(生产过程补液、产后子宫灌注猪产康、产后子宫颈投放宫炎净片)对产后母猪恶露排净时间的长短、断奶-配种时间间隔、受胎率几项指标影响的分析, 从中找出有利于提高母猪繁殖能力的有效护理方法, 以提高猪场的经济效益。实验表明: 1. 产后对母猪全身和局部进行护理, 能提高母猪的抗感染能力, 促进子宫排出各种有害分泌物, 加快子宫复原; 2. 猪产康具有抗菌消炎, 促进子宫收缩的作用, 能使恶露迅速排出, 加快子宫复原。

**关键词:** 猪产康; 种畜; 繁殖性能

**中图分类号:** S857.2

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2008)01-0022-03

## 1 试验目的

对产后母猪进行及时的护理, 主要是为了预防母猪产后子宫炎的发生, 促进恶露排出和子宫复原, 缩短断奶-配种时间间隔, 从而达到提高母猪的受胎率和缩短母猪繁殖周期, 提高其利用效率的目的。

采用三种护理方法(生产过程补液、产后子宫灌注猪产康、产后子宫颈投放宫炎净片), 对产后母猪恶露排净时间的长短、断奶-配种时间间隔、受胎率几项指标影响的分析, 比较三种方法对上述繁殖指标影响的差异, 找出有利于提高母猪繁殖能力的有效护理方法。

## 2 试验材料

**2.1 试验动物** 长大二元杂妊娠后期(临产)健康母猪, 胎龄由后备猪至15胎不等。

**2.2 试验药物** 缩宫素注射液(1 mL/支, 购自宏业生化制药厂)、葡萄糖氯化钠生理盐水注射液(500 mL/瓶, 购自广东艾希德药业有限公司)、头孢唑啉粉(1 g/瓶, 购自上海科达动物保健品有限公司)、鱼腥草注射液(10 mL/支, 购自山西省芮城县红宝兽药有限责任公司)、维生素C注射液(10 mL/支, 购自上海公淀动物保健品有限公司公淀兽药厂)、维生素B注射液(2 mL/支, 万荣三九药业有限公司)和猪产康(500 mL/瓶)、宫炎净片(25粒/瓶, 购自广东广昌动物保健公司)。

**2.3 试验场地** 广州市某猪场。

**2.4 试验用饲料** 试验母猪所用饲料为该场自配全价配合饲料(包括自配的空怀母猪料、妊娠

母猪料和哺乳母猪料)。

## 3 试验方法

**3.1 试验分组** 选择妊娠后期(临产)母猪96头, 随机将它们分成4组, 分别设为A、B、C、D组, 每组24头。

**3.2 试验方法** A组: 在母猪生产过程中对其进行耳缘静脉输液。输液分两步进行, 首先输500 mL葡萄糖氯化钠生理盐水注射液和10 mL鱼腥草注射液与4 g头孢唑啉粉混合液; 然后输500 mL葡萄糖氯化钠生理盐水注射液与20 mL维生素C注射液、10 mL维生素B注射液混合液。B组: 在母猪产后12 h左右用50 mL猪产康对其进行子宫灌注, 产后流脓严重的母猪进行2~3次灌注。C组: 母猪在产后使用宫炎净1粒, 放至于宫颈深处, 重症者放2粒至于宫深处, 用药1~2次。D组: 对照组, 不用任何药物处理。试验于2007年6月同时进行。

**3.3 饲喂方式** 空怀母猪、妊娠母猪、哺乳母猪均采用限制饲养的方式, 每天喂料2次(早上8:00及下午3:00投料), 自由饮水。

**3.4 饲养管理** 空怀母猪、妊娠母猪采用限位栏饲养, 哺乳母猪采用分娩限位栏饲养。试验母猪在分娩前1周转至分娩舍。在分娩期间, 设专人观察母猪产仔情况, 并及时进行药物处理和助产。仔猪25-35日龄断奶, 断奶后母猪转至配种舍, 至试验母猪发情时进行人工受精。人工受精在早上进行, 发情期内连续输精2~3天, 如母猪在受精后30天没有出现返情现象, 即转入妊娠舍饲养, 母猪在临产前转入分娩舍准备下一胎产仔。猪场的防疫制

度、卫生管理等均按照该场正常规程进行。

### 3.5 试验观察与记录

**3.5.1 胎龄** 记录各组母猪的耳号、胎龄, 后备猪的胎龄看作为 0。

**3.5.2 产房温度** 记录早上 (7:30)、中午 (2:30) 和下午 (5:30) 的产房温度。

**3.5.3 产仔情况** 记录各组母猪分娩时间、窝总产仔数、窝产活仔数及助产母猪数。

**3.5.4 子宫分泌物排净情况** 观察各组母猪产后阴道分泌物的颜色、气味等性状, 记录 3 天后仍然有脓液排出的母猪数、淡白色絮状分泌物排净的时间和恶露完全排净的时间。

**3.5.5 断奶及断奶-发情配种情况** 记录各组母猪断奶时间和断奶-发情配种时间、发情母猪数、观察各组母猪发情期间的阴道分泌物性状及异常表现。

**3.5.6 配种后母猪受胎情况** 记录各组母猪第一情期和第二情期配种后受胎母猪数、返情母猪数、淘汰母猪数。

**3.5.7 第二胎产仔情况** 记录各组母猪分娩时间、窝总产仔数, 窝产活仔数和死胎数及助产母猪数。

**3.6 数据处理** 计算 4 组母猪在第一情期的受胎率。将各组母猪的恶露完全排净时间间隔、断奶

-发情配种时间间隔等数据输入到 Excel 数据处理工作表, 计算平均值。差异显著性检验使用单因素方差分析, 先进行 F 检验, 比较各处理间的差异显著性。若差异显著, 再进行 q 检验 (多重比较), 检验所有差异是否显著。另外, 根据各组母猪的成功受胎母猪数和未受胎母猪数进行卡方分析, 比较各组母猪的受胎情况的差异显著性。

## 4 结果与分析

**4.1 不同护理方法对母猪产后恶露排放情况的影响比较** 母猪产后恶露完全排净平均间隔是反映产后子宫是否存在炎症的重要指标。间隔延长, 则母猪产后可能受病原感染, 这样必然对子宫造成损伤。严重时, 病原或其产生的毒素经损伤部位吸收入血, 导致全身感染, 影响母猪正常机能, 甚至危害生命。从表 1 可以看出, 4 组母猪的恶露完全排净平均间隔分别为 6.83 d、6.13 d、6.71d 和 7.45d, 其中 A 组比 C 组延长 0.12 d, B 组比 C 组缩短 0.58 d, A 组比 B 组延长 0.7 d, D 组的时间间隔比其它三组都要长。根据单因素方差分析的 F 检验, A、B、C 三处理组间差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 这表明 3 组的护理方法对母猪恶露完全排净平均间隔的影响效果相似; 而 AD 组间、BD 组间、CD 组间差异均显著 ( $0.01 < P < 0.05$ )。说明

表 1 不同护理方法对母猪繁殖性能影响

组别	试验母猪 (头)	受胎母猪数 (头)	断奶-配种平均间隔 (d)	恶露完全排净间隔 (d)
A组	24	14	10.63	6.83
B组	24	16	6.92	6.13
C组	24	17	6.88	6.71
D组	24	13	13.55	7.45

产后护理有助于母猪恶露排出。

**4.2 不同护理方法对母猪产后发情配种情况的影响比较** 断奶-配种平均间隔可以反映母猪产后子宫复原情况。产后母猪的子宫需要一定营养的滋润, 经过一段时间的休养才能恢复到产前状态, 然后才能发情, 进而配种。因此, 断奶-配种平均间隔越短, 表明子宫复原越快, 反之亦然。4 组母猪的断奶-配种平均间隔分别为 10.63 d、6.92 d、6.88 d 和 13.55 d, 其中 A 组比 C 组延长 3.75 d, B 组比 C 组延长 0.04 d, A 组比 B 组延长 3.71 d, D 组平均间隔时间最长, 但根据单因素方差分析的 F 检验, A、B、C 处理组间差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 这表明 3 组的护理方法对母猪产后

断奶-配种平均间隔的影响效果相似。之所以出现三组断奶-配种平均间隔差异较大, 特别是 A 组与其它两组差较大, 但组间差异不显著的现象, 是由于 A 组中出现了几个偏离均值较大的数据, 但为了忠实于试验结果, 没有剔除这些数据, 因为它们不属于无效数据。而 AD 组间、BD 组间、CD 组间差异均显著 ( $0.01 < P < 0.05$ )。说明产后护理有助于缩短母猪的断奶-配种时间间隔。

**4.3 不同护理方法对母猪产后受胎情况的影响比较** 情期受胎率是指受胎母猪与参加配种的母猪数的比率, 是反映配种效果的指标。子宫存在炎症或产后子宫复原不全, 均可能影响情期受胎率。4 组母猪的受胎率分别为 58.33%、66.67%、70.83%和

54.2%。其中 A 组比 C 组低 8.34%,B 组比 C 组低 4.16%,A 组比 B 组低 12.50%,D 组最低。根据卡方分析,各处理组间差异不显著 ( $P>0.05$ ),而 AD 组间、BD 组间、CD 组间差异均显著 ( $0.01 < P < 0.05$ )。这表明 3 组护理方法对母猪产后受胎率的影响效果相似,但护理有助于提高母猪的受胎率。

### 5 讨论

由于夏季高温高湿对母猪繁殖性能有较大影响,这也可能是造成母猪在此期间受胎率较低的原因。

另外试验时间正是全国“高热病”肆虐的时期,不排除个别母猪隐性带毒的可能。3 种护理方法均有预防母猪产后子宫炎的发生,促进恶露排出和子宫复原的作用。

### 6 结论

产后对母猪全身和局部进行护理,能提高母猪的抗感染能力,促进子宫排出各种有害分泌物,加快子宫复原。

## 广东省对部分重要商品及服务实行临时价格干预措施

为防止和抑制重要商品及服务价格不合理上涨,维护市场价格秩序,保持社会稳定,1月21日,省物价局发出了《关于我省贯彻实施对部分重要商品及服务实行临时价格干预措施的通知》(粤价[2008]16号),经省人民政府同意,对部分重要商品及服务实行临时价格干预措施。

一、在我省范围内实行市场调节价的下列商品及服务实行提价申报和(或)调价备案。

(一)成品粮及粮食制品;(二)食用植物油;(三)猪肉及其制品;(四)乳品;(五)鸡蛋;(六)液化石油气(政府制定出厂价格和零售价格的除外);(七)其他重要商品及服务。

二、实行临时价格干预措施期间,列入提价申报的企业凡需提高价格,应当在拟提价10个工作日前按规定将提价申请书面报告(含提价申报表)送达省物价局。对申报材料齐全的,省物价局应当在受理之日起7个工作日内将审核结果告知申报企业;逾期不答复的,视为同意申报内容。列入提价申报的企业申请提价的单位商品提价额不得高于单位商品成本(含税)增加额。

三、在实行临时价格干预措施期间,下列经营者应当向所在地的市或县物价部门履行调价备案程序。

(一)零售商。在当地市场销售量大、市场占有率较高或者具有一定影响的大中型超市和连锁商店。

(二)批发商。在当地市场交易量较大或者具有一定影响的批发企业。

(三)列入调价备案名单的企业,符合下列情形之一的,应当在调价实施后24小时内将调价备案书面报告(含调价备案表)送达所在地的市或县物价部门。1、一次调高价格4%(含4%)以上的;2、十日内连续调高价格累计6%(含6%)以上的;3、三十日内连续调高价格累计10%(含10%)以上的。

(四)物价部门对备案价格有异议的,应当在受理之日起3个工作日内告知备案企业,并责令备案企业恢复原价或者降低调价幅度;逾期未告知的,视同对企业调价无异议。

(五)须履行调价备案程序的具体批发、零售企业名单由各地级以上市人民政府提出,报省物价局审核批准后公布。部分经营规模较大的批发、零售企业须直接向省物价局备案。

四、经营者应当遵循公平、合法和诚实信用的原则,依据生产经营成本和市场供求状况合理制定价格。

五、下列行为将受罚:

(一)未按规定履行申报或者备案程序的;(二)未在规定的时间内申报或者备案的;(三)经营者申报后提前提价的;(四)不执行价格主管部门作出的不予提价、降低提价幅度或者标准等决定的;(五)不按照规定说明理由或者虚构理由、提供虚假资料的;(六)违反价格干预措施的其他行为。

六、我省的临时价格干预措施自2008年1月21日起执行。当《价格法》规定的实施价格干预措施的情形消除后,省物价局将依法解除临时价格干预措施,并向社会公布。

附:广东省(第一批)提价申报商品种类及企业:

(一)方便面:广东顺德日清食品有限公司、广东锦丰实业有限公司。

(二)小包装食用植物油(大豆油、花生油、调和油):嘉里粮油(深圳)有限公司、深圳南顺油脂有限公司、番禺合兴油脂有限公司、中山市鹰唛食品有限公司。

(三)纯牛奶:广东燕塘乳业有限公司、深圳晨光乳业有限公司、广州风行牛奶有限公司。(资料来源:广东省农业厅市场与经济信息处)



# 后备母猪的营养与繁殖

单 妹, 王燕桃

(广东华农温氏畜牧股份有限公司, 广东 云浮 527438)

**摘 要:** 后备母猪的繁殖能力关系到整个猪场的经济效益, 其中营养水平和采食量在繁殖方面的影响不容忽视。本文简要叙述了有关营养在后备母猪各个阶段繁殖性能上的影响, 以期为我国的养猪生产实践提供一定的帮助。

**关键词:** 后备母猪; 营养; 繁殖

**中图分类号:** S828.3

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2008)01-0025-03

繁殖效率的高低, 除受品种和管理因素影响外, 营养因素的作用不可忽视。通过改善营养水平可提高母猪的繁殖能力。近年来, 随着集约化生产的发展, 后备母猪的营养需要和饲养管理已成为动物营养研究的新热点, 其中采食量及理想的营养水平作为影响其繁殖性能的重要因素, 引起了广泛的关注。现就营养对后备母猪各个繁殖阶段繁殖性能的影响作一简单叙述, 希望对养殖生产者有一定帮助。

## 1 配种前

后备母猪体重在 30 kg 前, 每 kg 配合饲料应含消化能 13 MJ, 粗蛋白 16%, 赖氨酸 0.8%, 钙 0.75%、磷 0.65%, 自由采食, 促其尽快生长。体重达 45 kg 以后, 日粮中的钙、磷水平可再提高 0.1%。5 月龄体重达 90 kg 左右时开始限饲, 以减少因过肥或体重过大导致的肢蹄疾病问题, 同时避免过肥引起的繁殖功能障碍。在采食上述日粮情况下, 日采食量根据体况控制在 2.2~2.8 kg。Den Hartog<sup>[1]</sup>和 Versteegen<sup>[2]</sup>等发现, 如果后备期间小母猪自由采食, 则所产仔猪窝数低于限饲组。Den Hartog<sup>[3]</sup>也发现后备期小母猪饲喂水平等于或高于 2.5 倍维持需要能量时会降低繁殖性能。但是, 限饲不当会导致初情期延迟和发情不规律, 同时对成年后的性功能造成不利影响。

6-7 月龄时对收腹较明显的后备母猪, 要求饲料粗纤维水平要高, 湿喂并投料要足, 尽量多喂青饲料, 使母猪腹线在短期内尽快发育, 呈一定弧度, 便于日后怀孕产仔, 还可延长母猪的利用年限。

配种前的营养水平可能影响卵泡发育, 从而影响卵母细胞的质量及其发育能力, 进而影响妊娠早期胚胎的存活率<sup>[4~5]</sup>。在保证能量和蛋白质的同时要保证氨基酸平衡, 每千克日粮应含赖氨酸 6.9 g, 蛋氨酸 2.4 g, 苏氨酸 5.4 g, 蛋 + 胱氨酸 5.5 g。

后备母猪配种前二周的催情补饲, 目的是通过提高采食量增加胰岛素的释放进而促进排卵, 从而达到最大产仔数<sup>[6]</sup>。一旦配种后应马上停止催情补饲, 这样有助于胚胎的存活。Ashworth 等<sup>[7]</sup>研究发现, 配种前两周饲喂 2.8 倍维持需要的青年母猪比饲喂 2.1 倍维持需要的母猪有较高的胚胎存活率, 而且收集的囊胚在体外培养过程中有较大的代谢和分泌能力, 同时同窝内的囊胚发育差异较小。

后备母猪对 Ca 供给较敏感, Ca、P 失衡可造成不易受胎、产仔数少等问题。110 kg 以上的母猪每千克日粮中应含 Ca 15 g, P 10 g, NaCl 15 g。Vqudey 等<sup>[8]</sup>发现母猪排卵前(第 2 情期第 15 天)注射维生素 A(1×1 IU)可提早卵母细胞减数分裂的恢复, 改变卵泡成熟期间卵泡内环境。叶酸也可提高胚胎存活率<sup>[9]</sup>。

## 2 妊娠阶段

尽管配种前较高营养水平会提高青年母猪的排卵数和卵母细胞的质量, 但配种后若继续高水平饲喂却会增加妊娠期胚胎死亡率, 尤其是初产母猪, 死亡率可达 30%~50%<sup>[10]</sup>。营养影响早期胚胎存活率的关键时期是在紧接配种后的时间内。Jin-

dal<sup>[11]</sup>研究发现在配种后第1天降低母猪采食量,比第3天降低采食量,胚胎的存活率提高8.58%。因为配种后3周内,受精卵形成胚胎几乎不需要额外的营养,给母猪低水平的饲料(DE<12.55 KJ/kg,粗蛋白<13.0%),喂量约1.8 kg/天即能维持正常的繁殖需要。相反摄入过高营养水平的饲料,配种后最初12~24 h内机体代谢旺盛,肾上腺激素分泌增加,从而影响孕激素的分泌,降低循环血液中黄体酮水平和极为重要的子宫异性蛋白质的分泌,从而造成胚胎死亡<sup>[12]</sup>。

在整个妊娠期间,如果用高能量水平日粮或过度饲喂,不仅会导致胚胎死亡和泌乳期间体重和体脂损失过多,还会影响母猪泌乳期间的采食量。研究表明,怀孕期间采食能量越高,哺乳期间采食量越低,从而影响断奶到发情间隔。妊娠前期每公斤饲料含消化能12.1 MJ,粗蛋白13%,赖氨酸0.6%、钙0.75%、磷0.65%。从怀孕84天开始,日粮营养水平可提高到每公斤含消化能12.5~13 MJ,粗蛋白14%,赖氨酸0.75%、钙0.80%、磷0.65%。整个妊娠阶段一般采取前高后低的饲喂方法,即妊娠前期,根据母猪体重大小、体况、健康水平和生产管理,确定饲喂量。早期日喂1.8~2.2 kg,5~12周喂2.3~2.5 kg,13~16周喂后期妊娠母猪料2.5~3.2 kg。分娩前2~3天,日喂量降到1.8 kg左右,以免引起难产。后备母猪与经产母猪相比,在怀孕期间必须摄入更多的蛋白质和赖氨酸来满足自身生长发育的需要。研究表明,赖氨酸由20 g提高为47 g,平均仔猪窝重从40.01 kg提高至49.99 kg,母猪体重损失由19.55 kg下降至4.49 kg,发情间隔由5.3天缩至4.6<sup>[13]</sup>。

母猪妊娠和泌乳期间补充生物素(0.2~0.5 mg/kg),可提高受胎率和窝产仔数,缩短断奶至发情间隔。在饲料中添加V<sub>E</sub> 44~66 mg/kg,可显著增加窝产仔数,降低乳腺炎、子宫增生、无乳症的发生率;维生素A、C及叶酸也可改善母猪繁殖性能<sup>[14]</sup>。母猪妊娠期间日粮中添加铬(0.2 mg/kg),可提高窝产仔数。

### 3 泌乳期间

怀孕是母猪营养的贮存,分娩和泌乳则是母猪营养的输出。泌乳期营养不足会导致初产母猪

损失过量的体重,将严重影响泌乳量和随后的繁殖性能,包括断奶至发情的间隔、下一胎的受胎率等。Koketsu等认为这是由于限制能量摄入减少了LH的分泌,他还提出泌乳期的采食量对于断奶日龄越来越早的窝产仔数越来越重要。

泌乳期的饲喂策略是最大限度地促进摄食量。母猪产仔后5~7天,要逐渐增加到最大喂量,并相应提高日粮的蛋白质含量,以保证泌乳充足,延长后备母猪使用年限和实现多胎高产。Aheme<sup>[15]</sup>研究发现,将初产母猪的采食量由4.5 kg/d增至5.5 kg/d,第2胎的平均窝产仔数可以增加1头。这一时期每公斤日粮应含消化能13~13.8 MJ,粗蛋白质16%~18%,赖氨酸0.7%~0.75%,钙0.84%、磷0.7%。提高泌乳期蛋白质水平和赖氨酸对母猪的采食量影响不大,但却显著提高了泌乳期间蛋白质和赖氨酸的摄入量,降低体失重,缩短断奶至发情的时间间隔。研究表明蛋白质水平从16%提高到18%,并添加0.2%的赖氨酸,蛋白质摄入量增加16.94%,赖氨酸摄入量增加46.9%,发情间隔缩短了1.75天。初产母猪哺乳期日粮赖氨酸水平从0.6%增至1.51%,下一窝产仔数可提高1头<sup>[16]</sup>。Koketsu研究还发现,泌乳早期和泌乳中期的采食量与母猪断奶后繁殖性能的相关性强于泌乳后期。

泌乳期间适当喂一些干净的青绿多汁饲料,可提高母猪的食欲,增加乳汁的分泌,减少便秘的发生。

### 4 小结

后备母猪的饲养管理是养猪生产的关键环节,只有对后备母猪进行科学选择和饲养,合理选配,才能提高养猪业的经济效益。营养水平对母猪的发情排卵、卵泡发育、卵母细胞质量和胚胎存活等各个环节都有重要的影响。在生产实践中,通过针对性地调整营养状态来提高后备母猪的繁殖力,是一条确实可靠的有效途径。

### 参考文献:

- [1] Den Hartog L A, Kirkwood R N, Aherne F X, et al. The effect of energy intake on development and reproduction of gilts and sows[D]. The Netherland: gLgricultural University of Wageningen, 2000.
- [2] Versteegen, Almeid F R C L, Cosgrove J R. Recent advances

- in amion acid and energy nutrition of prolific sow [J]. Anim sci, 1990, (78):365-370.
- [3] Den Hartog L A. The effect of energy and intake of sows on their longevity: A review [J], Reprod Fertil, 1990, (11):523.
- [4] Geisert R D, Schmitt R A M. Early embryonic survival in the pig: can it be improved [J]. J Anim Sci, 2002, 80 (E Supple): E54-E65.
- [5] Naden Brand. Study of leg weakness [M]. 56th Annu. Feeders Day Rep: University of Albert. 2000.
- [6] Cox N M, Etienne M. Control of follicular development and ovulation rate in pig [J]. J Reprod Fertil, 1997, 52 (Suppl): 31-46.
- [7] Ashworth C J, Antipatis C, Beattie L. Effect of pre-and post-mating nutritional status on hepatic function progesterone concentration, uterine protein secretion and embryo survival in Meishan pig [J]. Reprod Fertil, 1999, 11 (1): 67-73.
- [8] Van den Brand H, Williams I H, Mullan B P, et al. Effects of different patterns of feed restriction and insulin treatment during the luteal phase on reproductive, metabolic and endocrine parameters in cyclic gilts [J]. J Anita Sci, 2000, (78): 396-4134.
- [9] Davidson C E, et al. Energy utilization in pregnant and lactating sows: Modeling of energy requirements [J]. Anim sci, 2000, 34: 555.
- [10] Geisert R D, Schmitt R A M. Early embryonic survival in the pig: can it be improved [J]. J Anim Sci, 2002, 80 (E Supple): E54-E65.
- [11] 刘立文, 周虚, 于淼瑛. 短期限饲对初情期前母猪和初产母猪繁殖机能的影响 [J]. 中国畜牧兽医, 2004, (6): 27-31
- [12] 周虚. 营养对猪繁殖的影响 [J]. 中国畜牧杂志, 2002, (3): 21-24.
- [13] Jindal R, Cosgrove, Foxcroft, et al. Effect of nutrition on embryonal mortality in gilts: association with progesterone [J]. J Anim Sci, 1996, (74): 620-624
- [14] Laa Ada A, NTIPATIS C, Beattie L. Effect of pre-and post-mating nutritional status on hepatic function progesterone concentration, uterine protein secretion and embryo survival in Meishan pig [J]. Reprod Fertil DEV, 2000, 11 (1): 67-73.
- [15] Aheme F R C L, Kirkwood R N, Aherne F X, et al. Consequences of different patterns of feed intake during the estrous cycle in gilts subsequent fertility [J]. Anim Sci, 2001, 78: 1556-1563.
- [16] Campbell G R. Mechanisms mediating nutritional effects on embryonic survival in pig [J]. Reprod Fertil, 1995, 52 (Supple): 47-61.

欢迎订阅

ISSN1005-8567  
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

# 新西兰白兔在文成县饲养情况及其生产性能测定调查

蒋学军, 吴跃华, 夏邦才, 蔡一标  
(浙江省文成县畜牧兽医局, 浙江 文成 325300)

中图分类号: S829.1

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)01-0028-02

新西兰白兔原产于美国,由弗兰德兔、美国白兔、安哥拉兔杂交育成,是近代世界著名的肉兔品种之一,在世界各地广为饲养。我国曾多次从国外引进该品种,均表现良好,深受各地养殖者欢迎。为了解新西兰白兔在我县的饲养情况及遗传性能,我们于2006年11月到2007年6月对全县养殖户进行了调查,收集有关资料,测定有关数据。现将新西兰白兔在我县的饲养情况及遗传性能测定介绍如下,仅供科技人员参考。

## 1 饲养数量

文成县在1990年从温州市农业科学研究所引进新西兰白兔饲养,由于当时饲养条件及市场情况等诸多影响,推广面极少,因此数量逐年减少。自2000年开始,有关部门重视草食动物的发展,充分利用文成山区资源优势,帮助广大农户通过养兔实现勤劳致富,在全县大力推广肉兔生产。据调查,通过七年多的推广和发展,目前全县新西兰白兔存栏数已达183 647只,其中公兔89 462只,母兔94 185只,分布于全县33个乡镇,其中金炉乡、十源乡、二源乡为我县主产区,全县规模养殖户存栏数1 000只以上有2户,300~1 000只以上76户,100~300只以上557户。

## 2 体型外貌、特征、特性

新西兰白兔被毛白色,短而密,头圆额宽,两耳宽厚,短而直立,眼呈粉红色,颈粗短,肩宽,腰部肌肉丰满,后躯发达,臀圆,四肢强壮有力,脚底

有浓密的粗毛,耐磨,可防脚皮炎,适于笼养。该兔抗病力较强,适应性较好。

## 3 生产性能测定

3.1 体尺测定 各年龄段的体长及胸围测定结果见表1。

3.2 体重测定 各年龄段的体重测定结果见表2。

3.3 肉用性能测定 90日龄肉兔活体屠宰测定结果见表3。

3.4 杂交效果测定 利用新西兰白兔与德国大白兔、比利时兔进行正反杂交,测定增重效果及料肉比,具体数据见表4。

3.5 繁殖性能 新西兰肉兔具有性成熟早,繁殖能力强,断奶体重大,成活率高等特点。据调查,性成熟期公兔4-5月龄,母兔3-4月龄;适配年龄公兔5-6月龄,母兔4-5月龄;妊娠期30-31天,其它具体数据见表5。

## 4 小结与讨论

4.1 新西兰白兔遗传性能比较稳定。我县自1990年引入新西兰白兔以来,外貌、特征、特性没有发生大的改变,是良好的杂交亲本。该兔无论是与大型的品种杂交作母本,还是与中型小型品种杂交作父本,均表现出良好的生产性能。

4.2 在体重测定中,新西兰白兔的初生重、成年体重与有关文献报道基本相符。但1月龄、3月龄体重稍小,主要原因可能是被调查兔场饲养条件相对较差、有近亲杂交退化的可能。

表1 新西兰肉兔体尺测定结果

单位: cm

性别	测定数量 (只)	3月龄		6月龄		9月龄		12月龄	
		体长	胸围	体长	胸围	体长	胸围	体长	胸围
公	50	39.8±2.0	24.8±1.6	41.8±2.8	28.4±0.6	45.6±1.9	34.5±2.6	46.8±3.4	35.4±2.8
母	50	41.2±2.2	25.7±2.2	43.2±2.4	30.8±1.2	47.0±2.3	36.9±3.0	49.0±3.8	37.2±1.4
平均	100	40.5±2.1	25.2±1.9	42.5±3.6	29.8±0.9	46.8±2.1	35.7±2.8	47.9±3.6	36.3±2.6

表 2 新西兰肉兔体重测定结果

性别	测重数量(只)	初生均重(g)	1月龄均重(g)	3月龄均重(g)	6月龄均重(g)	9月龄均重(g)	12月龄均重(g)
公	50	53.29	698.3	1586.2	2488.6	3476.3	4082.4
母	50	53.45	716.9	1782.4	2761.0	3656.1	4476.4
平均	100	53.37	707.6	1684.3	2624.8	3566.2	4279.4

表 3 新西兰肉兔肉用性能测定结果

性别	日龄(天)	数量(只)	平均活体重(g)	平均屠宰重(g)	屠宰率(%)	半净膛(g)	半净膛(%)	全净膛(g)	全净膛(%)
公	90	60	1796.2	1054.3	58.7	898.9	50.0	810.6	45.1
母	90	60	1898.8	1078.5	56.8	894.4	47.0	802.6	42.3
平均	90	120	1847.5	1068.6	57.8	896.6	48.5	806.6	43.6

表 4 新西兰肉兔杂交效果测定

组别	测定数量(只)	始重(42日龄, g)	试末体重(90日龄, g)	总增重(g)	日增重(g)	精料(g)	料肉比
新×新	20	638.25±70.01	2017.19±154.08	1378.94	28.73	4812.50	3.49
新×德	20	554.25±118.69	2176.18±96.56	1621.93	33.79	5157.74	3.38
德×新	20	631.75±78.43	2277.50±88.14	1645.75	34.29	5249.94	3.19
新×比	20	566.75±59.96	2000.79±112.88	1439.04	29.98	5151.76	3.58
比×新	20	557.75±59.97	2007.11±101.66	1449.36	30.20	4956.8	3.42

表 5 新西兰兔繁殖性能测定

季节	测定窝数(窝)	窝均产仔数(只)	初生窝重(g)	21日龄窝重(g)	断奶体重(g)	断奶成活率(%)
春	60	7.78	439.21	2028.57	665.80	88.6
冬	60	7.15	415.86	1820.89	684.60	91.2
平均	120	7.46	427.35	1924.73	675.20	89.9

4.3 在体尺测定中,国内仅见浙江省农科院畜牧兽医研究所对新西兰白兔的成年兔体长、胸围的测定,而其它年龄段笔者没有找到可作参考数据,

因此无法与同一年龄段兔的作比较。

(致谢:文成县益民良种场、樟台乡桥坑村吴正微养兔场提供有关测室数据,特此致谢!)

## 农业部要求全面做好春季重大动物疫病防控工作

农业部部长孙政才1月22日表示,今年春季我国部分地区仍有发生重大动物疫情的可能,为此要全面做好春季重大动物疫病防控工作。

孙政才在北京召开的全国春季重大动物疫病防控工作视频会议上说,我国禽流感、高致病性猪蓝耳病等防控工作取得阶段性成果,目前疫情形势总体保持平稳。然而防控形势依然严峻,表现为重大动物疫病疫源广泛存在,个别地区免疫工作不到位,节日期间畜禽调运频繁和候鸟季节性迁徙,周边国家频发疫情等。

孙政才说,各级畜牧兽医部门要进一步加大防控力度,切实做好禽流感、高致病性猪蓝耳病等重大动物疫病防控,促进畜牧业稳定健康发展,确保畜产品有效供给和动物产品质量安全。春节前,特别要做好能繁母猪和仔猪的高致病性猪蓝耳病免疫工作。

他说,今年要提前开展春季集中免疫,5月底前完成春季集中免疫,6月上旬集中开展一次免疫效果监测,根据监测情况,对抗体达不到规定要求或接近临界值的畜禽开展集中补免。

他要求各地加强疫苗监管,健全疫情监测体系,抓疫病溯源,提高防疫管理能力和水平,并进一步完善应急预案,对春节、“两会”和奥运会期间分别制定专门预案。(资料来源:新华社)

# 仔猪感染 PRRSV 的病理组织学变化

秦先文, 官培英, 罗敏意, 于博, 庄庆均, 朱杰仪, 孔小明  
(华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

**摘要:** 对广东某集约化猪场确诊为 PRRSV 感染的病猪, 进行了病理组织学观察。结果显示, 仔猪感染 PRRSV 的主要显微病理变化为间质增生性肺炎, 非化脓性脑炎, 淋巴细胞性心肌炎及坏死性淋巴结炎。

**关键词:** PRRS; 病理组织学

**中图分类号:** S852.3

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2008)01-0030-02

猪繁殖与呼吸综合征 (porcine reproductive and respiratory syndrome, PRRS) 是一种引起猪繁殖障碍与呼吸道症状的主要疾病<sup>[1]</sup>, 我国于 1996 年首次报道此病的发生<sup>[2]</sup>, 该疾病对我国养猪业造成了较大损失。以 Nsp2 基因部分缺失为特征的 PRRSV, 可能是我国 2006 年部分猪场爆发“高热病”的主要病原<sup>[3]</sup>。

2007 年 10 月, 广东某集约化养猪场断奶前后的仔猪发病, 持续约 2 周, 死亡率超过 70%。其主要临床症状表现为精神沉郁、进行性消瘦、呼吸急促、被毛粗乱、皮肤发红、体温超过 41.5℃, 部分仔猪粪便呈黄色粥样。对猪群采用了多种药物治疗, 效果均不佳。通过分子生物学方法, 诊断为猪繁殖与呼吸综合征。本文对发病猪进行了病理组织学观察, 为相关研究提供一定的参考。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料采集** 选取 5 头具有典型症状的仔猪进行病理剖检并采集主要脏器。

**1.2 方法** 所取组织经 10% 中性福尔马林溶液固定 48 小时后, 修切成 2~3 mm 厚组织块, 经过流水冲洗, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 常规石蜡包埋, 制成 4 μm 切片, HE 染色, 光学显微镜下观察。

## 2 结 果

**2.1 病理剖检变化** 腹股沟淋巴结、肠系膜淋巴结及肺门淋巴结肿大 (3/5)、被膜下呈黄褐色 (3/5), 切面呈白色 (4/5), 未见明显出血及坏死变化; 脾脏淤血肿大 (2/5); 肾脏未见明显肿胀, 被膜易剥离, 被膜下散在肉眼可见的针尖大暗红褐色出血点 (5/5), 髓质淤血; 脑膜血管明显充血、扩张, 呈树枝状 (5/5); 肺脏肿大, 尖叶、心叶

及膈叶可见“肉样变”区域, 呈暗红色, 肺小叶间隔增宽、水肿 (4/5); 肝脏轻微淤血肿大 (3/5); 心冠脂肪呈胶冻样 (3/5), 全心衰 (4/5); 伴纤维素性胸膜炎及腹膜炎 (1/5); 胃肠道及其它组织器官未见明显病理损伤。

**2.2 病理组织学变化** 肺脏: 轻微淤血, 轻度或重度间质增生性肺炎 (图 1)。间质增宽, 肺泡隔显著增厚, 肺泡 II 型细胞增生, 巨噬细胞浸润, 可见少量嗜酸性粒细胞浸润, 部分肺脏支气管、血管周围淋巴组织的淋巴细胞减少。在病变严重的间质增生部位, 增生的间质中可见明显坏死, 坏死团块呈均质深红色, 结构紧密, 其间散在固缩、碎裂的细胞核残片 (图 2)。

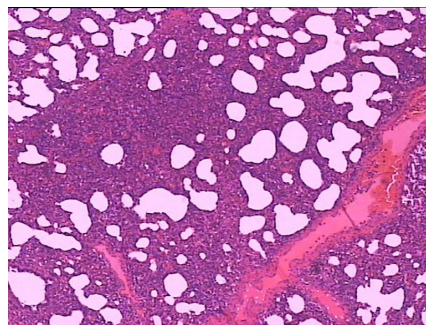


图 1 间质性增生性肺炎 HE ×40

大脑: 脑膜水肿, 血管充血、扩张; 淋巴细胞、单核细胞增生。脑实质可见神经胶质细胞结节 (图 3), 小血管及毛细血管周围淋巴细胞及单核细胞聚集形成“管套”现象, 还可见“噬神经”现象及“卫星”现象等非化脓性脑膜脑炎病变, 但较轻微。

淋巴结: 淋巴滤泡体积增大, 淋巴细胞增生; 生发中心减小; 呈多灶性坏死, 坏死区有大量的细胞坏死碎屑, 偶见髓质区淤血、出血 (图 4)。

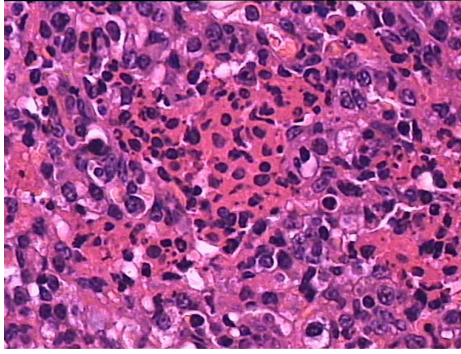


图2 间质增生的坏死碎屑 HE ×400

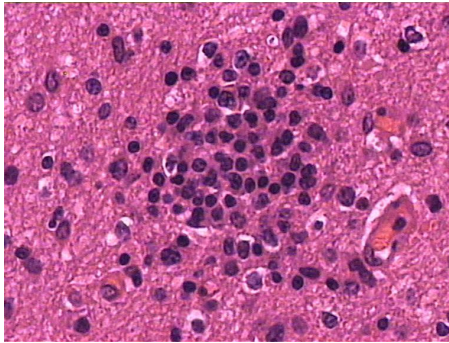


图3 大脑的胶质结节 HE ×400

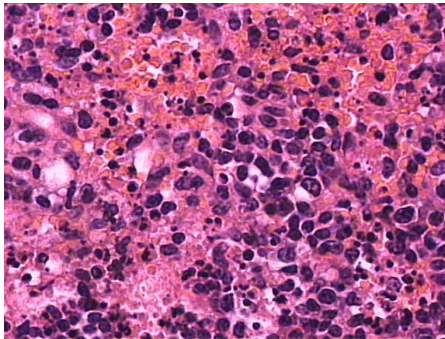


图4 淋巴结中的坏死碎屑 HE ×400

心脏: 心肌纤维间淋巴细胞浸润。肾脏: 皮质出血, 肾小球肿胀, 肾小管浊肿, 肾小管上皮细胞透明变性; 集合管尿潴留, 管腔增大。脾脏: 脾小体红髓淤血, 边缘区嗜中性粒细胞明显浸润。肝脏: 轻微淤血, 肝细胞浊肿, 可见淋巴细胞、嗜中性细胞弥漫性浸润。其它组织器官未见明显异常。

### 3 讨论

PRRSV毒力变化较大, 不同的毒株可能导致的不同临床症状和不同的大体病变, 大体病变较明显的主要在呼吸系统及淋巴组织<sup>[4]</sup>。PRRSV主要引起怀孕晚期的母猪流产, 死胎和弱胎增加, 仔猪死亡率增高, 感染猪体温升高等临床症状<sup>[5]</sup>。

PRRSV引起的病理组织学变化具有诊断价值<sup>[4]</sup>。此次病理组织学观察发现, PRRS的主要病变在肺脏、脑、心脏、淋巴结。由于PRRS病毒主要在巨噬细胞中复制, 使受损的巨噬细胞固缩, 在增生的间质中形成固缩的巨噬细胞和坏死团块, 具有较强的病理组织学诊断意义。虽然伪狂犬病、圆环病毒病等疾病也能够引起肺脏的间质性增生性肺炎, 但它们以间质增生为主。PRRSV能够引起神经胶质结节、管套等非化脓性脑炎的病变, 但变化较轻微, 所以临床上一般不表现类似伪狂犬病的神经症状。另外, 猪感染PRRSV后, 常出现淋巴细胞性心肌炎, 而其它猪病毒性疾病少见此种显微病变。本病例可见弥漫性淋巴结坏死, 说明PRRSV对猪的免疫系统具有较强的破坏作用。

值得注意的是, 此次病例中所剖检的5头仔猪, 肾脏皮质都出现点状出血, 而经分子生物学方法对其进行检测, 而排除猪瘟。在引起猪体温升高的疾病或者出现毒血症的动物都可能见到上述现象。在观察的所有组织中, 发现嗜酸性粒细胞浸润较少, 可以推测各病例继发感染细菌较少, 很可能是由于该场使用了大量抗菌药物而控制了细菌的继发感染。

兽医工作者在进行PRRS的诊断时, 应当综合多种因素进行恰当的诊断。比如根据该场的免疫程序、免疫方法、生产记录、病史、临床症状和大体剖检病理变化作出初步诊断。如果有条件, 应当进一步通过血清学、病理组织学、分子生物学的方法确诊。

### 参考文献:

- [1] Keffaber KK. Reproductive failure of unknown etiology[J]. Am Assoc Swine Pract News1, 1989, (1): 1-10.
- [2] 郭宝清, 陈章水, 刘文兴, 等. 从疑似PRRS流产胎儿分离PRRSV的研究[J]. 中国畜禽传染病, 1996, (2): 1-4.
- [3] 童光志, 周艳君, 郝晓芳, 等. 高致病性猪繁殖与呼吸综合征病毒的分离鉴定及其分子流行病学分析[J]. 中国预防兽医学报, 2007, 29(5): 323-327.
- [4] 斯特劳 BE, 阿莱尔 SD, 蒙加林 WL, 等. 猪病学[M]. 第八版. 赵德明, 张仲秋, 沈建忠主译. 北京: 中国农业大学出版社, 2000. 205-238.
- [5] 赵坤, 张智勇, 张慧辉, 等. 猪PRRS的综合防控措施[J]. 畜牧与兽医, 2005, 37(11): 37-39.

# 一例猪致病性大肠杆菌病的诊断

张媛媛, 杨建伟

(华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

中图分类号: S852.61\*2

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)01-0032-02

大肠杆菌的血清型有近千种, 致病性大肠杆菌也有 173 种之多, 不同地区和养殖场流行的血清型均不相同。猪感染大肠杆菌病后主要表现为三种类型, 即引起 1-3 日龄仔猪发生“黄痢”, 2-3 周龄猪发生的“白痢”和断奶仔猪发生的“水肿病”。断奶前后因大肠杆菌造成腹泻而死亡的仔猪占仔猪总死亡数的 34.38%<sup>[1,2]</sup>。作者从临床病例中分离到一株大肠杆菌, 现报告如下。

## 1 大肠杆菌的分离与鉴定

**1.1 病料采集** 某猪场疑似水肿病猪 5 头, 系断奶后 10-15 天的仔猪, 取其肠系膜淋巴结和小肠前段。

**1.2 直接涂片镜检** 取疑似水肿病猪肠系膜淋巴结, 在玻片上压印(触片)或涂抹成一薄层, 革兰氏染色, 镜检, 可见革兰氏阴性、两端钝圆、中等大小的杆菌, 多呈单个存在, 也有成双或聚集成团的。

**1.3 分离培养** 取患病猪的小肠前段, 用无菌盐水轻轻冲洗后刮取黏膜, 接种于麦康凯培养基, 于 37℃ 培养 18~24 h, 挑取红色菌落接种于 TSI 琼脂(三糖铁)培养基, 观察结果。可见分离菌为兼性厌氧菌, 有运动性, 在麦康凯培养基上形成中等大小、圆形、表面光滑、湿润、边缘整齐红色小菌落。在 TSI 培养基中变成黄色, 并有气泡产生。

**1.4 生化特性** 将分离的菌株, 移植于普通琼脂斜面上, 培养 24 h 后的菌苔用普通肉汤洗下, 适量地接种于微量发酵管(购自杭州天和微生物试剂有限公司), 放入灭菌培养皿中, 置 37℃ 培养 48 h, 结果表明, 该菌能够发酵葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露糖和蔗糖, 吲哚试验和 MR 试验为阳性, VP 试验和 H<sub>2</sub>S 试验为阴性<sup>[3]</sup>。生化试验结果表明该菌株符合大肠杆菌的生化特性。

**1.5 致病性实验** 取 24 h 肉汤培养物按 0.5 mL/只皮下接种不同窝 3 只断奶仔猪, 接种后分别在 48~72 h 死亡。剖检可见胃壁、结肠肠系膜、眼睑和面部以及颌下淋巴结水肿。胃粘膜潮红, 胃底区粘膜下有一层厚的红色胶冻样液浸润, 有时可厚达 2~3 cm。结肠的肠系膜呈透明胶冻样水肿。

经综合分析, 判定为大肠杆菌引发的仔猪水肿病。

## 2 药敏试验

取该菌的纯培养物, 用灭菌接种环致密划线于琼脂平板表面, 用无菌镊子将 9 种抗菌药物纸片(购自北京天坛药物生物技术开发公司), 分别贴于培养基表面。37℃ 培养 24 h 观察结果, 测量抑菌圈直径, 直径 > 20 mm 为高敏, 16~20 mm 为中敏, 11~16 mm 为低敏, 直径 ≤ 11 mm 为耐药。所分离的大肠杆菌对 9 种抗菌药物药敏纸片的敏感性测试结果见表 1。

表 1 大肠杆菌对 9 种抗菌药物的药敏试验结果

抗生素	抑菌圈直径 (mm)	结果
新霉素	21	高度敏感
氨苄西林	21	高度敏感
壮观霉素	20	中度敏感
庆大霉素	17	中度敏感
链霉素	12	低度敏感
青霉素	12	低度敏感
环丙沙星	13	低度敏感
卡那霉素	14	低度敏感
四环素	9	耐药

根据药敏试验结果, 得知该病原对壮观霉素、新霉素、氨苄西林高度敏感, 对庆大霉素中度敏感, 对环丙沙星、链霉素、卡那霉素、青霉素低度敏感, 对四环素具有耐药性。



### 3 小结

通过实验室诊断,发现病原的形态特征,培养及生化特性与大肠杆菌完全相符,从而进一步确诊为大肠杆菌引发的猪水肿病。

### 参考文献:

- [1] 兰罗勋. 仔猪腹泻综合防治初探[J]. 畜牧兽医杂志, 2006, 25(6): 80-821.
- [2] 陈世琼, 张麓, 李平兰. 特殊性能乳酸菌在治疗仔猪腹泻中的应用前景[J]. 饲料研究, 2003, (1): 20-221.

## 唱响 2008 年兽医工作主题曲

十七大报告明确指出,要“加强动植物疫病防控,提高农产品质量安全水平”。这充分表明党中央高度重视重大动物疫病防控工作,充分关注动物产品质量安全。去年以来,各级畜牧兽医部门认真贯彻落实党中央、国务院的决策部署,全面落实各项扶持畜牧业发展和防疫的政策措施,畜牧兽医工作取得积极成效。与此同时,我们还应当清醒地看到,当前国内外重大动物疫情形势依然严峻。面对 2008 年,我们既充满信心,也深感肩上的责任重大。

那么,今年唱响的兽医工作主题曲是什么?主战场在何方?在去年 12 月 24 日召开的全国农业工作会议畜牧兽医专业会上,农业部副部长尹成杰指出,2008 年兽医工作的任务是:深入贯彻落实党的十七大精神,以科学发展观统领兽医事业发展全局,进一步解放思想、转变观念,依靠科学、依靠法治、依靠群众,坚持把控制、扑灭重大动物疫病和维护公共卫生安全作为主题,把健全动物疫病防控体系作为主线,把加强动物疫病防控能力作为重点,把推进兽医管理体制和科技进步作为动力,加强对外交流与合作,为保障人民群众身体健康和生命安全,促进经济社会协调发展奠定坚实基础。围绕“改革、发展、提升”的工作目标要求,今年要重点做好以下几项工作。

### 切实加强重大动物疫病防控

各级畜牧兽医部门要在抓好春秋两季集中免疫的基础上,做好免疫效果监测和及时补免工作。继续加强疫情监测和报告工作,开展定时定点流行病学调查和监测。加强指导规模养殖场、养殖小区建立和完善综合防疫制度,规范养殖行为,提高防疫水平。加强边境地区防控,严防境外疫情传入。进一步完善应急机制,规范应急处置程序,加强应急队伍培训和演练,提高应急管理决策能力。强化科技支撑,加强高致病性猪蓝耳病和小反刍兽疫病毒的科研工作。组织实施血吸虫病农业综合治理重点项目建设,开展家畜血吸虫病查治。加强布病、结核病、炭疽、狂犬病、包虫病等人畜共患病防控。做好防疫政策和科普知识宣传工作,提高广大养殖者的防疫意识。

### 全面贯彻施行《动物防疫法》

新修订的《动物防疫法》于 1 月 1 日起实施,其配套规章也将相继出台。《动物防疫法》是加强当前高致病性禽流感、高致病性猪蓝耳病等防控工作的法制保障。认真学习《动物防疫法》的各项规定,深刻领会精神实质,准确把握基本内容,严格落实各项措施,建立健全相关配套制度,切实把《动物防疫法》落到实处。采取有效措施,通过举办培训班、召开研讨会和组织专题讲座等多种形式,扎实做好学习培训工作。同时,积极开展面向社会、面向养殖者和经营者的全方位多形式的宣传活动,使社会公众、农民群众熟悉了解《动物防疫法》的内容,以赢得社会各界的理解和支持,争取养殖者的配合,形成全社会共同防控的合力。

### 继续推进兽医体制改革,完善疫病防控体系

各级畜牧兽医部门要继续深化兽医管理体制和改革,建立健全科学防控动物疫病的组织体系。已经完成省级兽医管理体制和改革的地方,下一步重点要推进市、县两级改革,加强基层防疫体系建设,建立村级防疫员队伍必要的财政补助政策。没有落实改革措施的地方,要抓紧赶上。要进一步加强动物防疫基础设施建设,建立健全科学防控动物疫病的技术支撑体系。全国动物防疫体系规划(2004-2008 年)将于今年全部完成。各地要全面总结经验,分析存在的问题,结合本省实际制定下一期防疫体系建设规划,及早研究后续项目计划。要进一步推进动物标识及疫病可追溯体系建设,建立科学防控动物疫病的追溯体系。积极参与国际兽医事务,全面加强兽医工作能力建设。

### 加强动物卫生监督执法

组织开展全国动物卫生监督执法规范年活动,进一步完善动物卫生监督执法体系建设,优化执法队伍结构,提高兽医部门依法行政的能力。继续推进动物标识及疫病可追溯体系建设,加强产地、流通环节及到达地牲畜标识监督管理。特别要推进规模养殖场标识及疫病可追溯体系建设,准确掌握生猪生产数据。开展动物卫生风险评估工作,指导各地进一步完善无规定动物疫病区建设和管理有关工作,组织专家对各示范区进行国家评估。组织开展流通环节监管专项整治和证章标志专项整顿,加强动物卫生监督执法站监督管理。加强疯牛病等外来动物疫病研究和风险防范,维护国家生物安全。开展兽医实验室生物安全认证,加强高致病性动物病原微生物实验活动资格管理,提高兽医实验室生物安全水平。

### 继续强化兽药监管

进一步加强兽药行政审批工作,加大政务公开力度。加强兽药 GMP 认证、新兽药注册和进口兽药审批以及兽药产品文号审查工作。继续深入开展兽药市场集中整治,组织兽药质量抽检、兽药残留监测和全国兽药执法大检查,查处一批大案要案。继续完善飞行检查和驻厂监督制度,保证重大动物疫病疫苗质量。制定并实施《兽药经营质量管理规范(GSP)》,强化对兽药经营企业认证。完善兽药使用管理制度,加大兽药残留监控和治理力度。制定发布《处方药和非处方药管理办法》,明确用药责任,加强兽药使用管理。继续加大重大动物疫病疫苗、重点兽药品种再评价工作,保证用药安全。开展重点品种兽药风险评估工作,开展兽药耐药性调查和监测。制定并发布国家兽药行业发展规划,做好兽药行业布局规划和结构调整。积极推动兽药监管信息化建设,基本建成覆盖兽用生物制品的二维码信息追溯体系。继续加强兽药标准体系建设工作,完善兽药质量标准、兽药残留限量和兽药残留方法标准。(资料来源: <http://www.ivdc.gov.cn/>)

# 中西医结合防治猪高热病

梁雪英

(广西贺州八步区西湾渔牧兽医站, 广西 贺州 542601)

**摘要:**猪高热病传播快, 死亡率高, 使用多种西药治疗, 效果不理想。根据高热病的流行特点及复杂的病原, 采取中西医结合治疗取得显著效果。

**关键词:**猪高热病; 中西医; 防治

**中图分类号:** S858.28

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2008)01-0034-01

2006年夏秋之季,我国部分地区发生猪“高热病”疫情,该病传播速度快,仔猪发病率可高达100%,死亡率可达50%以上,母猪流产率可达30%以上,育肥猪也出现发病死亡,给猪场及养猪户造成严重的经济损失,有些猪场甚至因此而破产。笔者对本辖区的疑似病例采取中西药结合治疗,相邻乡镇用全西药治疗进行了对比试验,现报告如下:

## 1 发病情况

2007年4月,在我所辖区的周边乡镇,发现大批猪发病,其症状为:皮肤发红,精神沉郁,体温达41~42℃,食欲废绝,部份猪耳缘、四肢、臀部呈紫色,曾用多种抗菌药物治疗但效果不佳。5月26日在我辖区内一养殖户的65头小猪中有部分出现减食,由于当时早晚温差变化较大,加上小猪已注射过蓝耳病疫苗,故初步认为是感冒引起,遂用感冒抗菌消炎药治疗两天,效果不佳。当时部分小猪已出现皮肤发红,呼吸困难,严重的两头小猪耳背耳缘、四肢呈紫色,体温在40.5~41.5℃之间。此后几天,另8个养猪户的865头商品猪突然食欲废绝,体温41~42℃不等,皮肤发红,部分猪便秘或猪下痢,尿黄且少,整个猪栏有股腥臭味。

对病死猪进行了剖检:肺部呈弥漫性间质性肺炎,大理石样病变;全身淋巴结广泛肿大,特别是腹股沟淋巴结;肝肿大;脾有梗死灶;肾有针尖状出血点;胸腔有黄色积液,肺浆膜与胸膜纤维索性粘连;小肠轻度水肿;扁桃体肿大。

根据以上流行特点,临床症状及病理变化疑为高热病。采取中西药结合治疗(我辖区),全西药治疗(相邻乡镇)两种方法进行对比。

## 2 中西医结合治疗方案及效果

### 2.1 方一

**2.1.1 中草药** 板蓝根 30 g、金银花(藤) 30 g、鱼腥草 30 g、野菊花 25 g、白花菊 25 g、三姐妹(伤寒头) 30 g、野芝麻 25 g、苍耳 25 g、贯众 25 g。以上中草药是10头50 kg猪的份量(以干量计,鲜草量酌性增加至2~3倍),煲水,以饮水或混入饲料给药,直到痊愈。

**2.1.2 中西药** 用黄芪多糖粉和氟苯尼考粉拌入饲料中饲喂(按说明书要求使用),直到痊愈。严重的猪用黄芪多糖注射液和氟苯尼考注射液注射,每天1次,连用2天,病情好转。

使用此方法治疗5个猪场共625头猪,除了首先发病的65头小猪延误病情,死亡10头小猪外,其余4个猪场560头猪死亡6头。

### 2.2 方二

**2.2.1 中草药(孕畜忌用)** 金银花 45 g、板蓝根 45 g、紫苏 45 g、大青叶 30 g、冰片 15 g、石膏 15 g、甘草 30 g、黄芩 45 g、党参 30 g。以上中草药(为10头50 kg猪的份量)煲水,以饮水或混入饲料给药,直到痊愈。

**2.2.2 中西药** 用黄芪多糖粉和氟苯尼考粉拌入饲料中饲喂(按说明书要求使用),直到痊愈。严重的猪使用混感金针注射液,每天1次,连用2天,病情好转。

使用此方治疗4个猪场共305头猪,全部痊愈。

## 3 全西药治疗方案及效果

**3.1 应用病毒快克+强效阿莫西林治疗**,连用5天,治疗60头猪,死亡48头,死亡率达80%。

(下转 48 页)

# BHK-21 细胞的悬浮驯化及其在悬培条件下 对口蹄疫 A 型病毒的培养

薛英<sup>1,2</sup>, 王延<sup>1,2</sup>, 王玉红<sup>2</sup>, 黄炯<sup>1,2</sup>, 鲁立柱<sup>2</sup>, 马文戈<sup>2</sup>, 夏培倍<sup>2</sup>, 刘宏<sup>2</sup>, 郭惠玲<sup>1</sup>, 徐亚萍<sup>2</sup>

(1. 新疆畜牧科学院兽医研究所, 新疆 乌鲁木齐 830000; 2. 新疆天康畜牧生物技术股份公司, 新疆 乌鲁木齐 830013)

**摘要:** 选取 BHK-21 细胞株进行悬浮驯化培养, 通过对悬浮培养的培养液、PH、溶氧、罐压、搅拌等各种工艺条件的试验, 摸索出稳定的培养条件, 实现了连续传代 49 代。并通过接种口蹄疫 A 型鼠化弱病毒, 比较了单层贴壁细胞和悬浮 49 代细胞接种病毒后的毒价。结果显示两种培养条件下, BHK-21 细胞对口蹄疫 A 型病毒的培养没有明显差异。

**关键词:** BHK-21 细胞; 悬浮培养; 口蹄疫 A 型鼠化弱毒

**中图分类号:** S855.3

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2008)01-0035-03

转瓶培养系统的核心是采用摇动或转动的圆筒培养容器, 能使细胞交替接触培养液和空气, 从而使传质和传热比固定培养要好。但是转瓶培养也有其固有的缺点: 首先其表面积有限, 单位体积所提供的细胞生长表面积小, 细胞生长密度低; 其次是培养时监测和控制环境条件 (pH、溶氧等) 受到限制; 此外转瓶培养的劳动强度大, 占用空间大<sup>[1]</sup>。为了克服这些缺点, 1962 年 Capstick<sup>[2]</sup>成功地大规模悬浮培养小鼠肾细胞, 标志着动物细胞大规模培养技术的起步。

动物细胞大规模培养 (large-scale culture) 的生物反应器操作模式, 一般分为分批式操作 (batch)、流加式操作 (Fed-batch)、半连续式操作 (semi-continuous)、连续式操作 (continuous) 和灌注式操作 (perfusion) 五种操作模式<sup>[3]</sup>。

本试验采用分批式操作模式, 旨在探讨各种悬浮培养条件对 BHK-21 细胞悬浮培养的影响, 进而筛选出最佳悬浮培养条件。通过接种口蹄疫 A 型鼠化弱毒, 进行毒价测定, 同时与单层贴壁细胞相比较, 为悬浮培养细胞生产口蹄疫疫苗奠定基础。

## 1 材料与方 法

**1.1 主要试剂与材料** MEM 培养基, HyClone 公司产品; 新生牛血清, 山东劲牛公司产品; 胰酶, HyClone 公司产品; BHK-21 细胞, 本实验室保存; FMDV-A 鼠化弱毒株, 本实验室保存。

**1.2 主要仪器** 倒置显微镜, OLYMPUS 产品; CO<sub>2</sub> 培养箱, 德国 Hearcell 产品; 2.5 L 生物反应器, 日本产。

## 1.3 方 法

**1.3.1 BHK-21 细胞悬浮驯化** 选择 BHK-21 细胞 clone-123 株生长良好的单层贴壁细胞, 经 0.01% 胰酶-0.01% EDTA 消化液消化后, 悬浮成终浓度为 (2~5) × 10<sup>5</sup>/mL 的细胞液, 接种量视罐体大小及培养液的多少来确定<sup>[4]</sup>。悬浮培养液成分包括: 81%~88% MEM, 8%~15% 新生牛血清, 1% (3%) L- 谷氨酰胺和抗生素等, 然后用 (8.8%) NaHCO<sub>3</sub> 调 pH 值至 7.4 左右, 接种 2.5 L 生物反应器, 37℃, 100 r/min 搅拌培养。依此法传代直至 49 代, 每代细胞离心前取样计数并观察细胞形态。

**1.3.2 血清含量对悬培细胞的影响试验** 其他培养条件一致的情况下, 将 MEM 培养基中的血清含量分别调整为: 2%、5%、8%、15% 和 20% 五个浓度作为生长液, 用于培养 BHK-21 细胞, 37℃ 培养 48 h 后, 取样计数并观察细胞形态。

**1.3.3 培养液酸碱度对悬培细胞的影响试验** 其他培养条件一致的情况下, 将培养液的 pH 分别调节至 7.0~7.2、7.3~7.5 和 7.6~7.8, 37℃ 培养 48 h 后, 取样计数并观察细胞形态。

**1.3.4 溶解氧对悬培细胞的影响试验** 其他培养条件一致的情况下, 采用三种转速及通气方式

进行悬浮培养。第一种:80 转 /min,一孔通气;第二种:80 转 /min,两孔通气;第三种:120 转 /min,两孔通气。均在 37℃ 培养 48 h 后,取样计数并观察细胞形态。

**1.3.5 使用悬浮细胞与贴壁细胞培养口蹄疫病毒的比较试验** 选取经 BHK-21 细胞适应的口蹄疫 A 型弱毒 11 代,TCID<sub>50</sub>=10<sup>-9.75</sup>/0.1 mL,接种 47 至 49 代悬浮细胞。悬浮细胞经 1 000 rpm,15 min 离心后,用 0.5%水解乳蛋白 Earl's 液,pH 7.8,悬浮浓度为 3×10<sup>6</sup> 个 /mL,按 5%接毒量,移入日本产 2.5 L 生物反应器中,100 转 /min,37℃ 通空气条件下培养。每 6 h 取样,台盼蓝染色进行细胞活性检查。24 h 收获毒液并于 -70℃ 冻存,测定 TCID<sub>50</sub> 及 LD<sub>50</sub>。同时同型病毒接种 15~20 代单层贴壁细胞 6 瓶,维持液同上,每 6 h 取瓶观察 CPE,-70℃ 冻存 24 h 收获的毒液,测定 TCID<sub>50</sub> 及 LD<sub>50</sub>。

## 2 结果

**2.1 接种浓度对悬浮培养细胞的影响** 经不同接种浓度培养试验发现,接种浓度过低,小于 1.0×10<sup>5</sup>/mL 时,细胞生长增值缓慢,细胞数倍增时间由一般 24 h 延长至 48 h 或更多;若接种浓度过高,大于 1.0×10<sup>6</sup>/mL 时,则培养过程中培养液的 pH 值下降较快,抑制了细胞的生长,细胞倍增达不到正常状态下每 24 h 倍增 2~3 倍的速率。

**2.2 血清含量试验结果** 经培养液添加不同血清浓度的比较试验发现,高浓度的血清(20%)一般在悬浮传代 24 h 后培养液的 pH 下降较快,通过培养液中酚红显色剂指示的 pH 约在 6.5~6.8 左右,细胞形态较差,细胞内有颗粒状物质,上清液中杂质较多,如果换液不及时,细胞易出现老化现

象。浓度低的血清(2%、5%),细胞生长速度较慢,悬浮培养 48 h 后细胞数明显低于其他组。血清浓度为 8%、15%时,悬浮培养 48 h 后细胞生长较好,两者无显著差异。从成本考虑,最终选取牛血清的最佳含量为 8%。

**2.3 培养液酸碱度对悬浮培养细胞的影响** 试验发现:培养液 pH 值在 7.6~7.8 时,培养 48 h 后细胞生长缓慢,细胞计数明显低于 pH 值 7.0 和 7.4 两组;当 pH7.0~7.2 时,培养液的 pH 下降明显快于 pH7.4 和 7.8 两组,若不及时换液,细胞将老化死亡。所以在开始培养时,培养液理想的 PH 值为 7.4。

**2.4 溶解氧对悬浮培养细胞的影响** 日本产 2.5L 生物反应器有两个通气孔,一孔可与空气过滤器相连,另一孔不用时用螺帽封口,通气时用灭菌的外有牛皮纸包被的多层纱布扎口即可。不同方式培养细胞的结果详见表 1。其中在采用第二种以 80 转 /min 两孔通气的方式培养时发现:细胞团块较多,细胞贴覆在罐壁和罐底的情况较多。

表 1 不同转速与通气量对细胞生长的影响

组别	80转/min, 一孔通气	80转/min, 两孔通气	120转/min, 两孔通气
重复次数	3	4	8
48h细胞计数结果	40-50万/mL	50-60万/mL	80-120万/mL

**2.5 悬浮细胞与贴壁细胞培养口蹄疫病毒的毒价比较** 试验结果见表 2 和表 3。

## 3 分析与讨论

**3.1 悬浮培养驯化试验中发生的接种浓度过低,细胞生长缓慢的现象,可能是由于细胞间的相互作用及所分泌的各种促细胞生长因子等降低有关;反**

表 2 悬浮细胞与贴壁细胞接毒后细胞病变情况

组别	接毒后 6h	接毒后 12h	接毒后 18h	接毒后 21h	接毒后 24h
悬浮细胞	活细胞 231 万 /mL	活细胞 157 万 /mL	活细胞 80 万 /mL	活细胞 70 万 /mL	活细胞 43 万 /mL
	死细胞 69 万 /mL	死细胞 143 万 /mL	死细胞 220 万 /mL	死细胞 230 万 /mL	死细胞 257 万 /mL
贴壁细胞	25%~50%的细胞圆缩聚团发生 CPE	50%~75%的细胞圆缩聚团发生 CPE	100%的细胞圆缩聚团发生 CPE	少量细胞开始脱落	部分细胞开始脱落

表 3 悬浮细胞与贴壁细胞培养口蹄疫 A 型病毒的毒价比较

组别	收毒时间与 TCID <sub>50</sub> (10 <sup>x</sup> /0.1mL)					收毒时间与乳鼠 LD <sub>50</sub> (10 <sup>x</sup> /0.2mL)				
	6 h	12 h	18 h	21 h	24 h	6 h	12 h	18 h	21 h	24 h
悬浮细胞	7.0	8.0	8.5	7.5	7.0	6.5	7.25	8.25	7.0	6.5
贴壁细胞	6.75	7.75	8.5	7.25	7.0	6.0	7.5	8.0	7.25	6.25

之接种浓度过高,细胞倍增速率达不到正常值,则是由于营养液消耗过快,代谢产物积累较多等原因,使培养液的pH下降较快,从而抑制细胞的生长。随着BHK-21细胞培养的进程,培养液的pH会因细胞代谢所释放的CO<sub>2</sub>和代谢产物影响而下降,必须调控使培养过程中pH不能下降至7.0以下。虽然很多细胞生存环境的最佳pH在7.0左右,但当pH下降至6.8时,通常会抑制细胞的生长<sup>[5]</sup>。

**3.2 血清的质量对组织培养有较大的影响。**优良的血清外观应为透明、较少溶血、淡黄色,加热灭活后颜色较深,蛋白沉淀少。血清经检查无支原体和病毒污染以及无其它微生物污染后,还应进行细胞生物学方法的检测。主要通过连续传代培养测定,一般传代3次以上,才能确定它是否适宜该细胞系的长期生长。通过试验发现,通常血清浓度越高,细胞分化速度越快,但并非血清浓度越高越好<sup>[6]</sup>。本试验就发现当采用高浓度血清时,最初细胞生长较快,但随着细胞代谢物的增多及其血清中一些抑制因子作用的加强,使细胞生长减慢,同时细胞形态也受到影响。目前由于血清来源不稳定且价格昂贵、作用机制不明确及实验和生产的标准化困难等一系列原因,使得开发出经济适用的血清替代品和无血清培养基成为亟待解决的难题。

**3.3 大规模培养时,影响培养液的pH稳定性的主要因素有:**第一,缓冲液的缓冲能力及种类;第二,对流空间大小;第三,葡萄糖浓度。培养液中正常的缓冲系统是NaHCO<sub>3</sub>/CO<sub>2</sub>系统。它是一种弱缓冲系统,其pKa为6.1,低于生理学最佳要求。这种缓冲系统要求培养液上面的对流空间加入CO<sub>2</sub>以防止它的丢失及增加羟基离子。其他实验者也有使用磷酸缓冲液,但有资料报道磷酸对动物细胞有毒害作用,基于此原因未做该方面的尝试。另外HEPES生物缓冲剂也可加入NaHCO<sub>3</sub>/CO<sub>2</sub>系统,其pKa为7.0,其缓冲能力为pH 6.8~7.2。但当HEPES浓度高于25 mM时<sup>[7]</sup>,他对大多数动物细胞也有毒害作用。该方法可以在今后的进一步试验中考虑,但应用于生产还需考虑成本因素。

**3.4 在动物细胞大规模培养时,如何提供足够的氧是非常重要的。**同期搅拌的目的主要有两个:一是提供细胞代谢所需的足够氧气;二是使培养液处于均匀悬浮状态,有利于传质过程。对于一定的设备而言,增大搅拌速度、搅拌功率和通气量都能

提高溶氧水平。但三者之间相互关联。增加通气量虽能增加溶氧,但在转速不变下会降低搅拌功率,溶氧又会随后降低,第二组试验就出现这种状况。如果在增加空气流速的同时,仍保持原来的搅拌功率,就必须提高搅拌转速,氧的溶解速率就会大大提高。另外,生物反应罐的罐压及液柱的高度,培养过程中培养液的理化性质,反应器的高径比等都会影响溶氧速率<sup>[8]</sup>。

**3.5 从表2、表3的实验结果可以看出:**A型病毒接种悬浮细胞直至18 h后,TCID<sub>50</sub>和LD<sub>50</sub>持续增长,而18~24 h毒价开始下降。推测A型毒最佳产毒时间在18 h左右。最佳收毒时间在18~24 h左右。与单层贴壁细胞相比,检测的细胞TDID<sub>50</sub>和LD<sub>50</sub>没有明显差异。说明悬浮培养细胞可产生与贴壁细胞相当的毒价,而悬浮培养具有的规模培养、高浓度培养和系统的检测控制等多方面的优点,都是贴壁细胞培养所无法比拟的,所以悬浮培养细胞仍然是生产口蹄疫疫苗的最佳工艺。

#### 参考文献:

- [1] 薛庆善. 体外培养的原理与技术[M]. 北京: 科学出版社. 2001. 968-971.
- [2] Birch JR, Thompson PW, Boraston R, et al. The large-scale production of monoclonal antibodies in airlift fermenters. plant and animal cells: process possibilities[J]. chichester: Ellis Horwood. 1987: 162-171.
- [3] Katinger HW, Scheirer W, Kromer E. Bubble column reactor for mass propagation of animal cells in suspension culture[J]. Ger Chem Eng, 1979, (2): 31-38.
- [4] Lavery M. Animal cell fermentation. In: Mcneil B, Harvey LM, eds. Fermentation: A practical approach[M]. Oxford: Oxford university press. 1990. 205-220.
- [5] Lowrey D, Murphy S, Goffe RA. A comparison of monoclonal antibody productivity in different hollow fiber bioreactors[J]. Biotechnol, 1994, (36): 35-38.
- [6] Nilsson K, Buzsaky F, Mosbach K. Growth of anchorage-dependent cells on macroporous microcarriers[J]. Biotechnology, 1986, (34): 989-990.
- [7] Spier RE, Maroudas N. Microcarriers for animal cell Biotechnology: an unfulfilled potential[M]. in: Spier RE, Griffiths JB, eds. Animal cell bioreactors. Boston: Butterworth-Heinemann. 1991. 191-212.
- [8] Wu J. Mechanisms of animal cell damage associated with gas bubbles and cell protection by medium additives[J]. Biotechnology, 1995, (43): 81-94.

# 禽流感-新城疫重组二联苗对石岐杂快大型肉鸡免疫效果研究

关建新<sup>1</sup>, 邓洪文<sup>1</sup>, 林永坚<sup>1</sup>, 谢东<sup>2</sup>, 冯开容<sup>2</sup>, 张洪韧<sup>1</sup>, 甄润深<sup>1</sup>, 袁海峰<sup>1</sup>, 李瑞亭<sup>1</sup>, 许崇现<sup>1</sup>, 李国进<sup>1</sup>  
(1. 江门市动物防疫检疫站, 广东 江门 529000; 2. 江门市畜牧兽医科学研究所, 广东 江门 529000)

**摘要:** 对江门地区两个种鸡场的 H<sub>5</sub>、H<sub>9</sub> 及 ND 母源抗体进行了监测, 发现雏鸡 19 日龄时禽流感 H<sub>5</sub> 亚型母源抗体水平低于 4log<sub>2</sub>, 确定禽流感-新城疫重组二联苗首免日龄为 20 日龄; 经禽流感-新城疫重组二联苗免疫后, 肌肉注射和点眼滴鼻免疫的实验鸡组禽流感 (H<sub>5</sub>) 和新城疫 (ND) 抗体水平明显高于其它组群, 肌肉注射 2 头份组 H<sub>5</sub> 抗体可在六天内升至 4log<sub>2</sub> 以上; 肌肉注射 2 头份和点眼滴鼻组 2 头份组新城疫 (ND) 抗体水平达到 4log<sub>2</sub> 以上。

**关键词:** 禽流感-新城疫重组二联疫苗; 禽流感; 快大鸡; 免疫效果

**中图分类号:** S852.4

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2008)01-0038-03

禽流感(Avian Influenza, AI) 是严重危害养禽业的急性、高度接触性传染病。主要侵害禽类的呼吸系统、生殖系统和消化系统。根据血凝素的抗原性可将禽流感病毒分为 16 个亚型 (H<sub>1</sub>~H<sub>16</sub>), 各亚型之间缺乏交叉保护, 且在致病性上存在很大差异。按其致病力的不同, 可分为高致病力禽流感病毒(如 H<sub>5</sub>、H<sub>7</sub> 亚型)和低致病力禽流感病毒。其中高致病性禽流感还可感染人, 并引起人的死亡, 所以又具有重要的公共卫生意义。

目前对 AI 的防控主要是依靠疫苗进行免疫预防。我国用于高致病性禽流感防治的疫苗主要有三种: 第一种是 H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> 基因重组病毒灭活疫苗。该疫苗系利用反向遗传操作技术重组人源 H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> PR8 流感病毒的内部基因片段与在我国最早发生的鹅源 H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> 血凝素基因重配而成。在政府部门的指导下, 全国正在普及与推广。该疫苗在越南、蒙古等周围国家也进行了试用。第二种是重组禽流感灭活疫苗 (H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> 亚型, Re-4 株), 即变异株疫苗, 限于北方部分省市使用。第三种是禽流感-新城疫重组二联活疫苗, 该疫苗以新城疫 LaSota 系弱毒为载体, 将禽流感 H<sub>5</sub> 的 HA 基因片段插入到 LaSota 载体中研制的疫苗。该疫苗可以对禽流感、新城疫两种传染病产生免疫保护。

为了解和掌握禽流感-新城疫重组二联活疫苗在生产实践中的应用效果, 我们于 2006 年 5-12 月在广东省江门地区任意选择了两个种鸡场的鸡苗作为研究对象, 对免疫前后的鸡群进行

了抗体水平监测, 分析了重组禽流感-新城疫二联活疫苗的免疫抗体消长规律, 确定了该疫苗在本地区使用的最佳免疫程序, 为本地区禽流感和新城疫的预防控制提供必要的技术支持。

## 1 材料和方法

**1.1 实验动物** 石岐杂快大型肉鸡, 分别来自鹤山市国荣种鸡场和台山市科朗现代农业有限公司。1 日龄注射马立克氏病疫苗后运抵我站实验动物养殖场进行实验。混群后随机分为七组。一个为母源抗体测定组, 数量为 300 只, 六个试验组, 每组 200 只。

**1.2 禽流感-新城疫重组二联苗** 由哈尔滨维科生物技术开发公司生产, 批号为 200601。

**1.3 禽流感 H<sub>5</sub>、H<sub>9</sub> 和新城疫 (ND) 标准抗原及阳性血清** 禽流感 H<sub>5</sub> 亚型 HI 抗原、阳性血清和 H<sub>9</sub> 亚型 HI 抗原均为哈尔滨维科生物技术开发公司生产, 生产批号分别为 20060212、040322、20060405, ND 抗原为中国兽医药品监察所提供。H<sub>5</sub> 和 ND 阳性血清由本单位制备。

**1.4 动物分组与疫苗接种** 将 1 日龄雏鸡随机分为肌注 1 头份组、肌注 2 头份组、点眼滴鼻 2 头份组、饮水 2 头份组、饮水 5 头份组和空白对照组, 每组 20 只。于 20 日龄首免, 38 日龄进行二免, 二免剂量加倍。

## 1.5 抗体水平测定

**1.5.1 母源抗体水平测定** 1-19 日龄, 每天从母源抗体测定组中随机抽取 10 只雏鸡采血并分离

血清, 采用微量法 HI 试验测定母源抗体水平, 检测项目包括 H<sub>5</sub>、H<sub>9</sub> 和 ND。

**1.5.2 免疫抗体水平测定** 分别于 23、26、29、32、35、38、42、44、47、49、52、55、58 日龄测定各组的 H<sub>5</sub>、H<sub>9</sub> 和 ND 抗体水平, 每组测定 10 只鸡。

**2 结果与分析**

**2.1 母源抗体监测** 结果见表 1。从表中可以看出, H<sub>5</sub>、H<sub>9</sub> 和 ND 母源抗体水平随日龄增加, 呈明显下降趋势。到 19 日龄, H<sub>5</sub>、H<sub>9</sub> 和 ND 抗体滴度全部下降到 4log<sub>2</sub> 以下, 此时母源抗体不会严重影响疫苗免疫效果, 已适宜疫苗接种注射, 故选择在 20 日龄进行首免。

**2.2 H<sub>5</sub> 亚型禽流感免疫抗体监测结果** 结果如表 2。从表 2 可看出, 到 58 日龄为止各组平均值分别为 0.3、0.2、1.4、1.0、2.3, 其中以肌肉注射组 (D、E) 和点眼滴鼻组 (C) 免疫后抗体效价较高, 抗体效价明显要优于其它两组。经统计学 t 检验, C、D 两组与 A、B 两组分别差异显著 (p<0.05), E 组与 A、B 组差异极显著 (p<0.01), 与 C、D 组差异显著 (p<0.05)。从试验个体原始数据结果来看, 重组苗免疫效果有较大的个体差异, 效价离散度大。二免后, 以肌肉注射 2 头份组 (E) 效价有了一定的增长, 但能够维持 4log<sub>2</sub> 以上时间较短。

**2.3 ND 免疫抗体监测结果** 对上述实验血清进行 ND 抗体监测, 结果如表 3。ND 免疫后以肌肉注射 2 头份组 (E) 和点眼滴鼻组 (C) 效果比较好, 抗体滴度能够维持在 4log<sub>2</sub> 以上。但肌注组在 26~29

日龄和 38 日龄期间出现短时间的低抗体效价期。

**3 小结与讨论**

**3.1** 本试验检测了江门地区两个种鸡场的石岐杂快大型肉鸡的母源抗体水平, 其 1 日龄时 H<sub>5</sub>、H<sub>9</sub> 和 ND 母源抗体都处于 (7~9) log<sub>2</sub>; 在 1~15 日龄期间高于 4log<sub>2</sub>, 可以对鸡产生有效的保护力。而 H<sub>5</sub>、H<sub>9</sub> 和 ND 母源抗体下降并不同步, 若在 15 或 16 日龄使用二联苗进行免疫, 高水平的 ND 母源抗体容易造成免疫失败; 19 日龄时 H<sub>5</sub> 母源抗体在 4log<sub>2</sub> 以下, 而 ND 抗体为 4.0log<sub>2</sub>, 不会对疫苗造成影响。从防止受到禽流感威胁方面考虑, 故本试验选择于 20 日龄进行首免。

**3.2 H<sub>5</sub> 抗体效价:** 以肌肉注射 2 头份组免疫后能够取得较高的 H<sub>5</sub> 抗体滴度, 但其它组别出现较低的抗体滴度 (见表 2、图 1)。实验发现在所有免疫组中, 使用重组苗后, 鸡群抗体水平出现短时间上升后, 便很快下降, 不能像禽流感全病毒疫苗维持

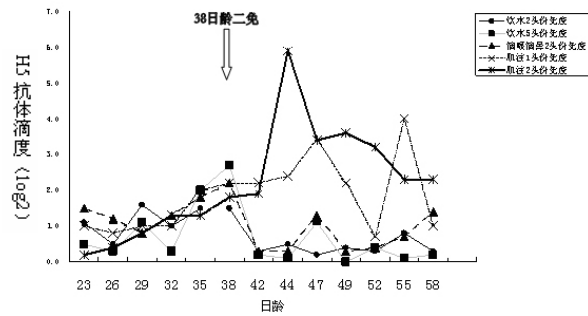


图 1 禽流感-新城疫重组二联活疫苗免疫后快大鸡 H<sub>5</sub> 亚型禽流感抗体水平变化

表 1 母源抗体测定结果(log<sub>2</sub>)

项目	日龄																		
	1	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
H <sub>5</sub>	7.6	6.4	5.9	6.9	6.6	6.0	6.5	6.2	4.8	5.3	5.4	5.5	4.3	3.9	3.9	3.5	2.1	2.9	
ND	9.1	8.4	7.4	8.4	7.5	6.6	6.5	6.7	6.7	6.5	6.0	6.2	5.8	5.3	5.3	6.0	5.1	4.0	
H <sub>9</sub>	8.1	8.5	6.9	7.1	7.1	6.7	5.5	6.8	6.2	5.7	6.0	5.6	5.4	4.5	3.0	5.5	3.6	3.1	

表 2 H<sub>5</sub> 亚型禽流感免疫抗体效价(log<sub>2</sub>)

组别 <sup>1)</sup>	23日龄	26日龄	29日龄	32日龄	35日龄	38日龄	42日龄	44日龄	47日龄	49日龄	52日龄	55日龄	58日龄
A	1.1	0.5	1.6	1.0	1.5	1.5	0.3	0.5	0.2	0.4	0.3	0.8	0.3
B	0.5	0.3	1.1	0.3	2.0	2.7	0.2	0.1	1.1	0	0.4	0.1	0.2
C	1.5	1.2	0.8	1.3	1.8	2.2	0.3	0.3	1.3	0.3	0.4	0.7	1.4
D	1.0	0.8	1.0	1.0	2.0	2.2	2.2	2.4	3.4	2.2	0.7	4.0	1.0
E	0.2	0.4	0.8	1.3	1.3	1.8	1.8	5.9	3.4	3.6	3.2	2.3	2.3
F		1.3		0.2		0		0		0.2		0	

1): A 为饮水 2 头份组, B 为饮水 5 头份组, C 为点眼滴鼻 2 头份组, D 为肌注 1 头份组, E 为肌注 2 头份组, F 为空白对照组。下同。

表 3 ND 抗体测定结果

组别	23日龄	26日龄	29日龄	32日龄	35日龄	38日龄	42日龄	44日龄	47日龄	49日龄	52日龄	55日龄	58日龄
A	3.4	3.3	3.8	4.4	4.9	3.4	3.1	3.6	3.5	3.4	4.8	3.1	2.5
B	2.5	3.1	3.3	3.4	4.3	2.9	3.0	3.5	4.1	2.8	4.0	2.6	2.7
C	3.1	4.1	4.4	5.5	5.6	3.7	3.7	5.5	5.5	4.8	5.2	4.7	3.8
D	3.7	3.4	2.7	3.5	3.7	2.8	4.5	6.1	4.9	4.0	2.8	5.3	2.8
E	4.1	3.8	2.4	4.0	3.9	2.9	5.0	7.9	6.0	7.0	7.1	5.8	5.4
F		3.3		2.9		2.5		3.1		3.6		3.4	

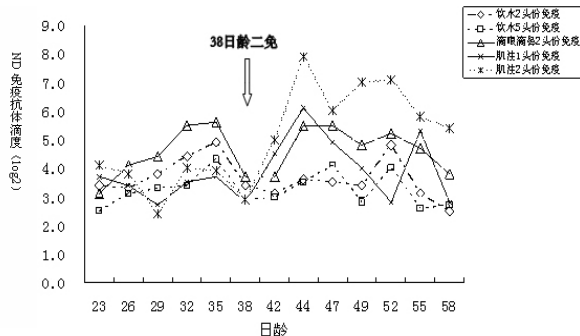


图 2 禽流感-新城疫重组二联苗免疫后快大鸡新城疫抗体变化

长时间高水平抗体效价。虽然肌注 2 头份组抗体水平较高,但抗体滴度极不稳定,出现较长时间的 HI 抗体空白期,易受到野毒感染导致发病。从本试验结果看,禽流感-新城疫重组二联苗不能对石岐杂鸡产生较高水平的 H<sub>5</sub> 亚型 HI 抗体。至于 HI 抗体在较低水平时能否保护动物抵抗 H<sub>5</sub> 亚型 AIV 野毒的感染,还需要进一步证实。

**3.3 ND 抗体效价:**ND 抗体滴度要明显优于 H<sub>5</sub>,以肌肉注射 2 头份组和点眼滴鼻 2 头份组滴度最高,而且稳定。按照 4log<sub>2</sub> 以上才能达到有效保护标准,禽流感-新城疫重组活疫苗能够达到保护鸡群抵抗新城疫的目的。

**3.4** 就本实验所测得的抗体效价来说,该重组活疫苗对禽流感不能达到规定的保护水平。据报道<sup>[5]</sup>,使用全病毒苗进行免疫的鸡,当 HI 效价为 6log<sub>2</sub> 左右时,其保护率为 100%;在 4log<sub>2</sub> 时,保护率仅为 50%;在 2log<sub>2</sub> 左右时,保护率只有 20%。由此说明,能使雏鸡对 AIV 的攻击获得保护的临界值范围在 (4~6) log<sub>2</sub>。而重组苗的临界值可能为 3log<sub>2</sub> 左右<sup>[6]</sup>,但重组苗仍然不能达到所要求的水平,试验鸡群 HI 抗体水平长期低于 3log<sub>2</sub>。禽流感痘病毒重组苗也不能激发高滴度的抗体应答,但能够抵御同亚型禽流感病毒的致死性攻击,保护效果达到或优于灭活苗<sup>[7]</sup>。因此本实验得到的 HI

抗体效价是否能保护 H<sub>5</sub> 亚型 AIV 野毒的攻击,还需要进一步的试验证明。但该疫苗能诱导细胞免疫,可作为传统疫苗免疫的有益补充。

### 参考文献:

- [1] Beard C W, Schnitzlein W M, Tripathy D N. Protection of chickens against highly pathogenic avian influenza virus (H<sub>5</sub>N<sub>2</sub>) by recombinant fowlpox viruses[J]. Avian Dis, 1991, (35):356-359.
- [2] Webster R G, Kawaoka Y, Taylor J, et al. Efficacy of nucleoprotein and hemagglutinin antigens expressed in fowlpox virus as vaccine for influenza in chickens [J]. Vaccine, 1991, (9):303-308.
- [3] Hunt L A, Brown D W, Robinson H L, et al. Retrovirus expressed hemagglutinin protects against lethal influenza virus infections[J]. J Virol, 1988, (62):3014-3019.
- [4] Taylor J, Weinberg R, Kawaoka Y, et al. Protective immunity against avian influenza induced by a fowlpox virus recombinant[J]. Vaccine, 1988, (6):504-508.
- [5] 吴庭才,张春杰,郭向鹏. 禽流感母源抗体消长规律和免疫保护抗体临界值的测定[J]. 洛阳农业高等专科学校学报, 2002, (9):223-224.
- [6] 张许评,任涛,刘秀梵,等. 免疫程序与母源抗体对 H<sub>5</sub> 禽流感疫苗免疫鸭和鹅 HI 抗体水平的影响[J]. 中国兽医科技, 2005, 35(8):638-642.
- [7] 贾立军,张艳梅,李军伟,等. I6 亚型禽流感重组鸡痘病毒活载体疫苗的免疫效力[J]. 扬州大学学报(农业与生命科版), 2004, 35(3):22-25.

### 2008中国畜牧业暨饲料工业展览会

举办日期: 2008年5月18-20日  
 举办地点: 西安曲江国际会展中心  
 主办单位: 中国畜牧业协会 中国饲料工业协会  
 联系人: 杨平 裴海岚 赵一宁  
 电话: 010-58677700 80628857 (24小时)  
 传真: 010-58677809  
 网址: <http://www.caaa.com.cn>  
 E-mail: cahe@caaa.cn  
 地址: 北京市朝阳区曙光西里甲6号时间国际大厦  
 A座9层(100028)



# 应用 PCR 方法对广西公猪精液的伪狂犬病、圆环病毒 2 型和细小病毒混合感染情况的检测

黄 夏, 陈义祥, 磨龙春, 胡丽萍, 覃芳芸, 黄胜斌, 陈芳芳, 赵国明  
(广西兽医防疫检疫站, 广西 南宁 530001)

**摘 要:**应用 PCR 技术, 2006 年对广西 11 个猪场的公猪精液 235 头份进行猪伪狂犬病 (PRV)、圆环病毒 2 型 (PCV2) 和猪细小病毒 (PPV) 混合感染情况的检测。结果, 235 份样品中 PRV 阳性率为 5.53%, PCV2 阳性率为 17.02%, PPV 阳性率为 13.62%; PRV 与 PCV2、PPV 均存在不同的混合感染现象。结果表明, 我区公猪精液 PRV、PCV2 和 PRV 带毒情况比较严重, 成为当前造成母猪繁殖障碍和规模猪场发病的主要原因, 这将为今后种猪场对 PRV、PCV2 和 PRV 的控制与净化工作提供了依据。

**关键词:**种公猪; 精液; 猪伪狂犬病病毒; 猪圆环病毒 2 型; 猪细小病毒; 混合感染; 检测

**中图分类号:** S854.44

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2008)01-0041-03

猪伪狂犬病病毒 (PRV)、圆环病毒 2 型 (PCV2) 和猪细小病毒 (PPV) 是目前危害我国养猪生产的主要疫病, 以仔猪高发病率和死亡率与母猪繁殖障碍等为特征, 给养猪业造成了很大经济损失<sup>[1]</sup>。这些疫病不但能通过接触传播, 还能通过公猪精液扩散。目前规模猪场普遍采用人工授精技术, 如果公猪健康带毒或精液带毒, 则很容易通过精液传播, 这可能是当前规模猪场猪伪狂犬病、圆环病毒病和猪细小病毒难以得到有效控制的重要原因。贾斌等<sup>[2]</sup>对病料中猪圆环病毒 2 型、猪繁殖与呼吸综合征病毒及猪细小病毒的感染情况进行了流行病学调查, 陈义祥、赵国明等<sup>[3,4]</sup>曾对广西病猪样本进行猪伪狂犬病病毒、圆环病毒 2 型调查, 但未进行公猪精液带毒状况的检测。为了解广西种公猪精液的带毒情况, 为种猪场疫病的控制和净化提供科学依据, 我们应用 PCR 技术对广西部分种猪场的公猪精液进行了猪伪狂犬病毒、圆环病毒 2 型 (PCV2) 和猪细小病毒 (PPV) 的检测。现将结果报道如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 种公猪精液样品** 来自广西 11 个猪场的公猪, 235 份(头)。

**1.2 主要试剂** Tris-饱和酚、氯仿为国产试剂; TaqDNA 聚合酶、dNTPs 购自北京天为时代科技有限公司; 蛋白酶 K 和 DL2000 DNA Marker 购自 TaKaRa 公司。

**1.3 引物** 检测 PRV 参考《中华人民共和国猪伪狂犬病诊断技术标准》, 预期扩增目的片段长

度 217 bp<sup>[4]</sup>; 检测 PCV2 的引物参考芦银华<sup>[7]</sup>, 预期扩增目的片段长度为 1 154 bp; 参考赵俊龙等<sup>[6]</sup>设计的 PPV 特异性引物和方法, 预期扩增的片段长度为 445 bp。以上引物由北京赛百盛基因技术有限公司合成。

**1.4 主要仪器** PCR 仪 (Biometra)、凝胶成像分析系统 (Uvitec)、电泳仪等。

**1.5 病毒总 DNA 抽提** 将精液反复冻融 2 次, 8 000 rpm 离心 10 min, 取上清液 500  $\mu$ L, 加 40  $\mu$ L 10% SDS 和 5  $\mu$ L 20 mg/mL 蛋白酶 K, 50 $^{\circ}$ C 水浴 1~2 h, 中间摇动几次。加入等量 Tris 饱和酚, 12 000 rpm 离心 5 min。取上清液, 加入等量 Tris 饱和酚: 氯仿 (1:1), 涡旋 20s, 12 000 rpm 离心 10 min。取上清液, 加入等量的氯仿, 振荡混匀, 12 000 rpm 离心 5 min。取上清液, 加入 2 倍体积的预冷无水乙醇和 1/10 体积的 3 mol/L NaAc (pH 5.2), 使其混匀。-20 $^{\circ}$ C 放置 30~120 min, 12 000 rpm 离心 10 min。弃上清液, 再加入 75% 酒精 1 000  $\mu$ L, 洗涤沉淀, 12 000 rpm 离心 5~10 min。弃上清液, 晾干 EP 管中的 DNA, 加入 20  $\mu$ L 双蒸水溶解, -20 $^{\circ}$ C 冻干备用或即用。

**1.6 目的基因片段的扩增** PCR 反应体系和 PCR 反应参数参照文献<sup>[3,6,7]</sup>进行。反应结束后取 5  $\mu$ L PCR 产物在 1.5% 的琼脂糖凝胶上电泳, 在凝胶成像系统上观察。

## 2 结果

**2.1 不同猪场公猪精液 PRV、PCV2 和 PPV 的**

**检测结果** 从表 1 可以看出, 11 个猪场的公猪精液均存在不同程度的带毒情况, PRV 平均阳性率达 5.53% (X~Y), PCV2 为 17.02% 类同, PPV 为 13.67% 类同, PCV2 带毒最为严重。共有 7 个场的公猪精液中存在 PRV 的污染, 其中 B 场和 D 场阳性率分别达 13.33% 和 12.50%; 共有 10 个场的公猪精液中存在 PCV2 的污染, 其中 H 场和 B 场阳性率分别达 27.27% 和 26.67%; 共有 9 个场的公猪精液中存在 PPV 的污染, 其中 J 场和 B、K 场阳性率分别达 26.09% 和 20.00%、20.00%。

**2.2 公猪精液 PRV、PCV2 和 PPV 的混合感染检测情况** 从表 2 可以看出, 235 份公猪精液中存在 PRV、PCV2 和 PPV 混合带毒现象, 混合带毒样品占总样品数的 13.19%, 其中 PRV+PCV2 占 2.55%, PRV+PPV 占 3.40%, PCV2+PPV 占 5.96%, PRV+PCV2+PPV 占 1.28%。

### 3 小结与讨论

**3.1 PCR 技术具有敏感性高、特异性好、快速简便的特点**, 目前已广泛应用于动物疫病的快速诊断与流行病学调查, 对 PRV、PCV2 和 PPV 也有成熟的 PCR 检测方法<sup>[5,6,7]</sup>。本次通过运用 PCR 技术对广西 11 个种猪场 235 份公猪精液进行 PRV、PCV2 和 PPV 检测, 结果表明 PRV、PCV2 和 PPV 在广西公猪精液中带毒现象比较普遍, PRV、PCV2 和 PPV 的平均阳性率分别达到 5.53%、17.02% 和 13.62%, 11 个场的公猪精液均不同程度存在 PRV 或 PCV2、PPV 的带毒现象, 有的场 PRV 阳性率高达 13.33%, PCV2 和 PPV 分别高达 27.27% 和 26.09%, 须引起

兽医部门和猪场的高度重视。

**3.2 目前我国规模场猪病十分复杂**, 以病原体的多重感染、混合感染或继发感染为主要流行形式。本次检测结果表明种猪场公猪精液中均存在混合感染的现象。这可能是引起很多猪场猪群繁殖障碍和较高的发病率与死亡率的重要原因。

**3.3 PCV2 是猪的免疫抑制性疫病**, 除直接对猪产生危害外, 还可破坏机体免疫系统, 引起细胞免疫和体液免疫抑制, 造成机体抵抗力下降, 使猪容易受到其它疫病的感染或继发感染。一些猪场疫病复杂, 难以控制, 可能与猪场本身存在 PCV2 的感染有关。

**3.4 人工授精技术的推广促进了养猪业的发展**, 但也在疫病的防治上带来了一定的困难, 很多疫病如猪瘟、猪繁殖与呼吸综合征、猪细小病毒病、伪狂犬病、圆环病毒病布氏杆菌等病都较容易通过精液垂直传播。因此, 必须加强对公猪的管理和公猪疫病的控制与净化, 对公猪群强化监测, 对带毒的种公猪只采取强制性扑杀(淘汰)措施, 从源头上控制传染源, 避免疫病通过人工授精的途径而传播与扩散, 造成疫病的流行。

表 2 公猪精液 PRV、PCV2 和 PPV 的混合感染检测情况

病名	阳性样品数(份)	样品阳性率(%)
PRV+PCV2	6	2.55
PRV+PPV	8	3.40
PCV2+PPV	14	5.96
PRV+PCV2+PPV	3	1.28
合计	31	13.19

表 1 不同猪场公猪精液 PRV、PCV2 和 PPV 的检测情况

场名	精液份数	阳性样品数(份)			样品阳性率(%)		
		PRV	PCV2	PPV	PRV	PCV2	PPV
A	23	0	5	2	0	21.74	8.70
B	15	2	4	3	13.33	26.67	20.00
C	31	3	7	5	9.68	22.58	16.13
D	24	3	5	4	12.50	20.83	16.67
E	18	0	3	0	0	16.67	0
F	21	1	0	2	4.76	0	9.52
G	16	0	4	2	0	25.00	12.50
H	22	1	6	3	4.55	27.27	13.64
I	17	0	2	0	0	11.76	0
J	23	1	1	6	4.35	4.35	26.09
K	25	2	3	5	8.00	12.00	20.00
平均	235	13	40	32	5.53	17.02	13.62

## 参考文献:

- [1] 郭欣怡, 陈亚丽, 沈文正, 等. 母猪繁殖障碍病的原因分析与防治[J]. 猪病防制, 2003, 98(8): 58-60.
- [2] 贾斌, 芦银华, 张素芳, 等. 猪圆环病毒 2 型、猪繁殖与呼吸综合征病毒及猪细小病毒混合感染的流行病学调查[J]. 中国病毒学, 2004, 19(5): 467-470.
- [3] 陈义祥, 黄夏, 刘翠权, 等. 猪瘟病毒与猪圆环病毒 2 型混合感染的检测[J]. 动物医学进展, 2005, 26(9): 90-92.
- [4] 赵国明, 陈义祥, 胡丽萍, 等. 猪繁殖与呼吸综合征和猪伪狂犬病混合感染的诊断[J]. 中国畜牧兽医, 2005, 32(3): 53-55.
- [5] 方立, 徐辉, 陈伟杰, 等. 猪圆环病毒 2 型猪伪狂犬病病毒和猪细小病毒三重 PCR 检测方法的建立[J]. 中国兽医科技, 2005, 35(12): 954-958.
- [6] 赵俊龙, 陈焕春, 吕建强, 等. 猪细小病毒 PCR 检测方法的建立与应用[J]. 中国兽医学报, 2003, 23(2): 142-144.
- [7] 芦银华, 许立华, 陈溥言, 等. 猪圆环病毒 2 型及猪繁殖与呼吸综合征病毒快速检测[J]. 中国病毒学, 2003, 18(2): 184-186.

## 2007年全国畜牧富民功勋人物揭晓

由农民日报、中国畜牧兽医报牵头中央各新闻媒体推举宣传的“2007年全国畜牧富民功勋人物”1月12日在北京揭晓。原全国人大副委员长布赫、农业部副部长张宝文、全国政协经济委员会副主任陈耀邦等出席了揭晓仪式。

10位功勋人物是：山东信得科技集团总裁李朝阳、河北廊坊燕北畜牧机械集团公司董事长兼总经理刘永怀、福建省龙岩市龙马畜牧饲料有限公司董事长魏泉龙、河南省遂平县委书记杨汝北、江苏镇江天和生物技术有限公司董事长栾必荣、山东省平度市畜牧局长刘作文、重庆市畜牧科学院副院长王金勇、浙江雪舫工贸有限公司董事长吴荣仁、北京资源集团董事长兼总裁刘钧贻、河南正阳诸美种猪育种有限公司董事长兼总经理赖登明。

改革开放以来,我国畜牧业在保障城乡食品价格稳定、促进农民增收方面发挥了至关重要的作用,许多地方畜牧业已经成为农村经济的支柱产业,成为增加农民收入的主要来源,一大批畜牧富民的功勋人物不断涌现,为促进农村经济、富裕农民作出了自己的贡献。此次推选出的功勋人物,是发展现代畜牧业的领头人,是传统畜牧业向现代畜牧业转变的探索者和实践者,尤其对恢复和发展生猪生产,保障猪肉消费安全作出了新的贡献。

布赫在揭晓仪式上说,随着国民经济的发展,我国畜产品消费总量日益增长,消费结构日益改善,对做好畜牧业工作,保障畜产品的有效供给提出了新的目标。如何为人民群众提供质量优、数量足、品种多、结构合理的畜产品,是我国畜牧业发展的首要目标。经过近30年的改革与发展,畜牧业已经发展成为一些地区农业农村经济的支柱产业和地区经济的基础产业,畜牧业对农民增收的贡献率不断提高,当前一些地区畜牧业收入已占农民收入的半壁江山。必须从全局的高度深刻认识畜牧业发展和畜产品供求发生的深刻变化,加快建设现代畜牧业,不断提升畜牧业综合生产能力,实现畜牧业持续健康发展。

张宝文指出,2007年是畜牧业经受前所未有考验的一年,是畜牧业稳定恢复和发展的一年。各级畜牧兽医部门认真贯彻落实党中央、国务院关于促进畜牧业发展的决策部署,全面落实各项扶持畜牧业发展和防疫的政策措施,以促进生猪恢复发展为重点,不断加大工作力度,着力解决畜牧兽医工作面临的新问题、新矛盾,有力促进了畜牧业生产稳定健康发展,为确保农产品供给、保持国民经济和社会持续发展做了大量扎实有效的工作。目前,我国肉类产量稳定增长,预计2007年全国肉类总产量达8130万吨,比上年增长1.0%;奶类产量3650万吨,增长2.9%;禽蛋产量3030万吨,增长10.5%。畜牧业总产值1.5万亿元,增长10%左右。全年工业饲料产量1.17亿吨,增长5.8%。畜牧业发展有力促进了农民增收,农民收入中来源于畜牧业的比重不断提高,国家统计局公布的去年前三季度农村居民人均出售畜牧业产品收入为557.1元,同比增长27.8%,占农村居民现金收入的16.8%,比上年提高1个百分点,成为农民收入增长的亮点。

在谈到生猪生产的问题时,张宝文表示,在政策推动和市场拉动下,当前,生猪生产正在全面恢复。近几个月后备母猪增幅较快,母猪补栏增加。目前,能繁母猪补贴已全部到场到户,参保能繁母猪2459.2万头,覆盖率达52.4%。从近期农业部对16个省48个县960个场户督导情况分析,预计今年第二季度后生猪生产有望恢复到正常生产水平,供应偏紧的状况将逐步缓解。全国233个生猪原种场和扩繁场建设项目正抓紧实施,900万头能繁母猪人工受精补贴也在有序开展,253个生猪调出大县生产积极性得到有力调动,10791个生猪标准化规模养殖场(小区)建设全面启动。

农民日报社党委书记、社长沈镇昭告诉记者,2007年是畜牧业工作倍受中央和全国人民关注的一年,是畜牧业发展和畜产品供求形势发生深刻变化的一年,是畜牧业稳定恢复和发展的一年,更是一个畜牧业英雄辈出的一年。农民日报和中国畜牧兽医报牵头举办“年度畜牧富民功勋人物”的宣传活动,正是瞄准有“三农”背景、在我国畜牧业发展中做出突出贡献的人,通过他们在过去一年里生动真实的经历,来重点宣传、展示畜牧业的蓬勃发展。(资料来源:中国农业信息网)

# 猫膀胱结石所致肾功紊乱一例

王飞<sup>1</sup>, 李玉岭<sup>2</sup>, 李儒曙<sup>1</sup>, 熊惠军<sup>1</sup>

(1. 华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642; 2. 广州市海珠区金穗动物医院, 广东 广州 510220)

中图分类号: S858.293

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)01-0044-02

猫慢性肾衰是指肾脏的基本单位——肾单位受到损伤、肾小球滤过率下降并造成肾功能紊乱, 从而导致机体出现一系列的代谢紊乱综合症。引起慢性肾衰的因素很多, 其中膀胱结石是较常见的原因之一。2007年6月, 我院接诊了一例患有泌尿道疾病的波斯猫, 经过综合诊断和分析, 确诊为膀胱结石并发慢性肾衰。现将诊疗过程报告如下。

## 1 病史

该猫为雄性, 6岁, 体重5.4 kg, 未施行绝育手术。主诉该猫平常以猫粮和自备食物为主, 大概一个月前开始表现多饮多尿, 但精神和食欲均很正常, 所以并未留意。一周前发现食欲欠佳, 不爱活动, 偶有呕吐, 排尿姿势也出现异常, 如尿淋漓、血尿等。曾到其它宠物医院治疗并行导尿, 但是效果不佳, 遂经推荐转至我院。

## 2 临床症状

该猫精神沉郁, 被毛凌乱无光泽, 皮肤弹性较差, 嗜饮, 排尿困难和有血尿, 多日未见大便。体温38.8℃。听诊心音轻快, 伴有轻微的心律不齐。触诊腹部紧张, 膀胱胀大, 压之坚实无弹性, 双侧肾脏略大。依据以上表现, 初步怀疑该猫患有膀胱结石。

## 3 影像学检查

**3.1 X线检查** 常规摄片显示, 双肾明显肿大, 膀胱胀大, 其内有一个不透性物, 膀胱底壁亦可看到一些高密度阴影, 分析应为细小沙石类物质。见图1、图2。

**3.2 B超检查** 膀胱充盈, 膀胱壁明显增厚, 显示出三层结构, 其中黏膜层增生较为严重, 底壁处有强回声光团, 与X线影像显示位置吻合。将探头抖动后再行扫描, 可见膀胱内充满了强回声光团, 似满天繁星。见图3、图4。

## 4 血液尿液检验

血液常规检查: RBC为 $6.8 \times 10^{12}/L$ , WBC为

$12.7 \times 10^9/L$ 。尿液检查: 尿蛋白为“+++”, 尿涂片镜检可见大量红细胞。血液生化检验: 总蛋白、球蛋白、肌酐、尿素氮和血磷均升高, 且肌酐、尿素氮和血清磷升高显著, 而白蛋白和血钙则降低(表1)。

表1 血液生化检验结果

项目	检测结果	参考范围
总蛋白(g/L)	85.5 ↑	50-70
白蛋白(g/L)	20.5 ↓	22-35
球蛋白(g/L)	65.0 ↑	28-43
白/球比	0.31 ↓	0.79-0.81
肌酐( $\mu\text{mol/L}$ )	542.7 ↑	20-110
尿素氮(mmol/L)	72.6 ↑	3-9
钙(mmol/L)	1.32 ↓	2.2-2.9
磷(mmol/L)	5.30 ↑	0.5-2.6

## 5 诊断结果

根据影像学和生化学检查结果诊断为膀胱结石并继发“肾功能紊乱”, 膀胱结石可引起排尿障碍, 因结石刺激而引起膀胱黏膜发炎和结缔组织增生, 结果造成膀胱出血和膀胱壁增厚。血常规检查结果表明, 该猫轻度贫血, 血液生化检验显示血液尿素氮、肌酐和血磷等均升高, 血钙偏低, 表明肾脏排泄和调节机能紊乱。生化指标尚不能证明是肾衰, 只能反映肾功能紊乱。

## 6 治疗措施

首先应当解决膀胱结石的问题, 但鉴于该猫已有一周时间没有进食, 机体极度虚弱, 先行强心补液, 增强体质。当天, 静脉注射5%葡萄糖盐水60 mL, 10%葡萄糖60 mL, ATP 20 mg, 肌苷50 mg, 地塞米松2 mg, 维生素C 2 mL。针对泌尿器官的出血和炎症, 给予安络血、止血敏、VK<sub>3</sub>等止血药, 并给予氨苄西林等药物进行对症治疗。鉴于肾衰会引起机体酸中毒, 采用5%葡萄糖水稀释5%碳酸氢钠进行静脉滴注。之后, 对该猫导尿、冲洗膀胱和留置导尿管。次日, 静脉输液同前一天, 并实施膀胱切开术。

患猫术前肌注阿托品 0.3 mL, 10 min 后按 0.06 mL/Kg 肌注速眠新, 同时肌注曲马多 0.5 mL, 腹底部常规无菌处理。依次打开腹腔、膀胱后, 可见膀胱壁厚达约 0.5 cm, 黏膜严重充血、出血, 有大量凝血块和淤血, 用药匙轻轻除去凝血块和十多粒结石颗粒, 并用生理盐水反复冲洗膀胱和尿道, 确保没有结石残留。

常规缝合膀胱切口, 并关闭腹腔。术后采取输液维持和抗感染疗法, 一周后患猫情况明显好转, 拆除导尿管后排尿较为通畅, 于术后 10 天拆除皮肤缝线。术后 20 天电话回访, 主人称其精神、食欲均恢复正常, 但仍有多饮多尿现象。

## 7 小结与讨论

**7.1 病因** 猫的慢性肾衰病因比较复杂, 是由多种慢性疾病引起肾脏损害和进行性恶化的结果, 最终导致肾功能逐渐丧失, 能够承担滤过功能的肾单位越来越少, 机体在排泄代谢废物和调节水、电解质、酸碱平衡等方面出现紊乱, 最终导致机体处于严重的氮质血症。按照发病原因, 可将肾衰分为肾前性、肾性和肾后性三类, 其中肾前性肾衰主要见于充血性心衰竭、休克或输血反应等引起潜在性肾局部缺血; 肾性肾衰可因肾小管间质纤维化、肾小球病变、肾脏肿瘤、慢性非特异性肾盂肾炎、传染性

腹膜炎和肾盂积水等引起; 肾后性肾衰则是由于泌尿道结石、肿瘤和血凝块等原因造成尿液排泄受阻而造成。本文中的患猫即是一例肾后性肾衰, 由于长期存在膀胱结石而被忽视, 最终导致慢性肾衰。

**7.2 诊断** 肾衰的诊断一般是先行临床检查, 包括精神状态、食欲、大小便、肾脏和膀胱的触诊, 此外也要了解患猫的病史和饲喂方式, 因为长期饲喂高蛋白食物会加重肾脏负担。遇到疑似病例时, 应当进行实验室检查, 如血液生化指标测定和尿常规检查, 尤其测定血液尿素氮、肌酐、钙和磷等指标是诊断肾衰的重要依据。此外, X 线和超声检查也十分必要, 是观察肾脏和膀胱状态的有效手段。

**7.3 治疗** 慢性肾衰是不可逆的, 治疗原则为控制病情继续发展、恢复代偿、延长动物生命, 同时消除引起病情加重的诱发因素, 积极治疗原发病。为此, 应对患猫加强护理, 提供优质低蛋白食物, 保证足够的热量和维生素摄取, 限制食物中磷的含量。对于慢性肾衰引起的代谢紊乱, 如电解质失调、营养缺乏、酸中毒、贫血和高血压等, 主要通过静脉途径进行纠正。然而, 药物治疗虽然有效, 但疗效可能只是暂时性的, 最好的方法当然是进行肾脏移植, 国外已有成功的报道。

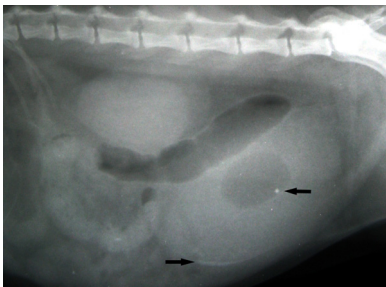


图 1 X 线摄片显示: 肾脏、膀胱体积增大, 膀胱内有高密度细粒状结石阴影

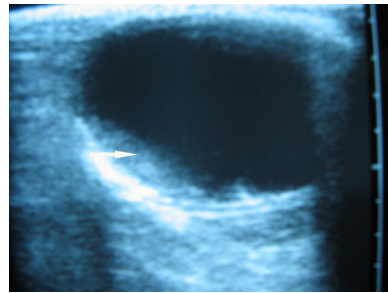


图 2 B 超影像显示: 膀胱壁明显增厚, 基底处有细粒状结石的强回声光团

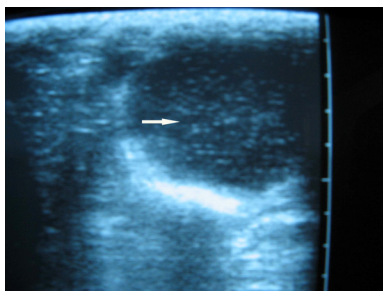


图 3 B 超影像显示: 膀胱内有许多细粒状结石的强回声光点

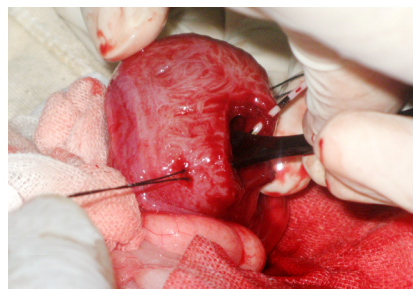


图 4 手术中可见膀胱壁充血、增厚

# 血管内皮生长因子在犬乳腺肿瘤中的表达

程 浩, 黄群山

(华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

**摘要:** 血管内皮生长因子是一种同源二聚体多肽, 能够刺激血管上皮细胞迁移和增值, 是血管发生的关键, 它在肿瘤的生长和转移中起重要作用。血管内皮生长因子不仅可以作为临床上判断犬乳腺肿瘤预后的有效指标, 而且为犬乳腺肿瘤的治疗开创了新途径。

**关键词:** 血管内皮生长因子; 乳腺肿瘤; 犬

**中图分类号:** S858.292

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8567(2008)01-0046-03

血管生成是肿瘤生长的必要条件, 如果没有血管生成, 肿瘤生长直径不会超过 2 mm, 只有血管化的肿瘤才能生长到具有临床意义的大小。新生的血管为肿瘤提供营养并带走代谢产物, 为肿瘤生长创造有利条件。在肿瘤生长过程中会产生一些血管因子, 如血管内皮生长因子、成纤维细胞生长因子、转移生长因子、血小板衍生生长因子等, 刺激肿瘤周围血管的生长, 其中血管内皮生长因子是刺激血管内皮细胞增殖中最重要、最直接的因子, 它在肿瘤的生长和转移中起重要作用。

血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 于 1989 年由 Ferrara 等人率先从培养的牛垂体滤泡星状细胞中纯化并命名, 又被称作血管渗透因子。迄今为止, VEGF 的研究多集中在人类医学上, 特别是癌症方面的研究, 而关于动物方面的研究较少。

## 1 VEGF 及其受体

**1.1 VEGF** VEGF 是两个相同的多肽链通过二硫键连接构成的同源二聚体多肽, 多肽链的 N 端是一段信号肽, 具有独特的氨基酸序列, 总蛋白分子量 46 kd。编码 VEGF 的基因由 8 个外显子和 7 个内含子组成, 这些基因通过在转录水平上的不同剪切方式形成一系列同分异构体产物<sup>[1]</sup>。

VEGF 是在所有脊椎动物均存在的高度保守基因, 犬 VEGF164 蛋白与人 VEGF165 蛋白的氨基酸序列同源性达 94%, 仅缺少一个氨基酸<sup>[1]</sup>。这种基因结构的保守性说明, VEGF 在生物胚胎发育和生长方面具有重要的生物学意义。VEGF 分布广泛, 生理情况下在血供丰富的肺脏、脾脏、肾脏、心

脏有较高表达, 在垂体、脑、卵巢等组织也可检测到 VEGF。病理情况下, 如肿瘤、创伤愈合、迟发性超敏反应等, VEGF 过量表达。缺氧、细胞因子、生长因子、炎症因子、激素及癌基因(原癌基因及抗癌基因的表达产物)等, 对 VEGF 含量及表达均有影响。

**1.2 VEGF 受体** VEGF 的生物学效应是通过表达在特定细胞表面的受体介导的。VEGF 受体主要有两种: Flt-1 和 KDR-1, 均为酪氨酸激酶受体, 与血管形成有关。Flt-1 仅在血管内皮细胞表达, KDR-1 主要在血管内皮细胞表达, 但在巨噬细胞、某些血液细胞和肿瘤细胞也能检测到 KDR-1 出现表达。如小鼠胚胎干细胞基因靶向处理, 使 KDR-1 和 Flt-1 受体缺乏, 结果小鼠胚胎血管生成障碍。Flt-1 缺乏的小鼠主要表现为血管内皮细胞损害, 其分化正常; KDR-1 缺乏的小鼠主要表现为血管内皮细胞成熟障碍, 造血干细胞严重减少<sup>[2]</sup>。因此可以推测, 血管内皮细胞分裂增殖、通透性增加可能是 KDR-1 诱导的。VEGF 受体基因显形阴性(dominant negative)表明, KDR-1 与血管形成和造血有关; Flt-1 在内皮细胞排列形成管腔时起主要作用<sup>[2]</sup>。

**1.3 VEGF 及其受体的生物学功能** VEGF 是一种高度特异的血管内皮细胞有丝分裂原, 在体外可促进内皮细胞生长, 在体内可诱导血管生长, 它的两个主要生物特性就是促进血管生成和增加血管通透性, 其所具有的血管渗透性比组胺作用还要强 5 万倍。VEGF 在肝素作用下与其受体结合, 诱导受体自身磷酸化, 活化蛋白激酶, 实现 VEGF 的

丝裂原特性,诱导内皮细胞增殖,从而促进新生血管生成。VEGF 使血管内皮细胞通透性增加,同时导致血浆蛋白溢出,进入细胞外基质。纤维蛋白成分在血管外凝结,形成促进血管生成的基质环境,支持细胞迁移,为进一步的血管新生奠定基础。

VEGF 能与其在细胞表面的受体快速结合,增加内皮细胞胞浆钙离子浓度,刺激 IP<sub>3</sub> 形成并介导信号传导。微量 VEGF 就能使培养的内皮细胞胞质中的钙离子浓度在几秒中内达正常浓度的四倍。

## 2 VEGF 在犬乳腺肿瘤中的表达

VEGF 在许多肿瘤中均有表达,在乳腺癌中呈高表达。采用免疫组化技术检测 50 例犬乳腺肿瘤标本,发现良性乳腺肿瘤中含有少量弱阳性 VEGF 细胞,而恶性乳腺肿瘤中含有大量强阳性 VEGF 细胞;恶性乳腺肿瘤中微血管密度大大高于良性乳腺肿瘤。经统计学分析,VEGF 与肿瘤中微血管密度呈正相关,证明血管生成和犬恶性乳腺肿瘤增生密切相关<sup>[3]</sup>。患乳腺肿瘤的犬与健康犬相比,血浆和血清中 VEGF 含量都有明显的升高。在乳腺肿瘤患犬中,恶性乳腺肿瘤组血浆和血清中 VEGF 含量明显高于良性乳腺肿瘤组。另外,手术切除肿瘤后有转移灶的病例的血浆和血清中 VEGF 显著高于无转移灶的。这说明循环血液中的 VEGF 可以作为临床上判定犬乳腺肿瘤预后的指标<sup>[4]</sup>。

肿瘤生长有两个明显不同的阶段,即无血管期或血管前期(此期肿瘤生长缓慢,不发生转移)和血管形成期。在血管形成期内,新生的血管为肿瘤细胞提供充足的营养,使其进入快速增殖阶段,同时新生的血管使肿瘤细胞易于进入血液循环并获得转移的能力。血管生成指源于已存在的毛细血管和毛细血管后微静脉的新的毛细血管性生长。肿瘤组织的血管生成是肿瘤发生、发展过程中的一种病理失衡<sup>[5]</sup>,VEGF 主要是通过促进肿瘤新生血管形成来促进肿瘤的生长。为了证实活体中 VEGF 对肿瘤血管增殖的作用,Bruce 等将 VEGF 低水平表达的 PANCI 细胞转导 VEGF 表达载体注入裸鼠,与空载体转导后的 PANCI 注射裸鼠比较,结果前者肿瘤体积的增长明显大于后者,这说明 VEGF 可以促进肿瘤血管新生,从而导致肿瘤生长<sup>[6]</sup>。与生理性或非肿瘤性 VEGF 的促血管生成作用不同,肿瘤组织中 VEGF 的分泌、血管通透性的增高、血浆蛋白的外渗及纤维蛋白胶滞体的沉积作用具有持续性。肿瘤组

织血管新生丰富,新生血管参与输送氧气、营养、转运代谢产物,满足肿瘤组织无限生长的需要;肿瘤组织血管通透性提高及新生血管基底膜不完整,加速了肿瘤细胞进出血管,为肿瘤的浸润、转移提供便利条件。

VEGF 及其受体在动物和人的许多恶性肿瘤中均有表达<sup>[7]</sup>。VEGF 受体不仅表达于血管内皮细胞表面,还表达于肿瘤细胞表面。说明 VEGF 一方面作用于基质血管内皮细胞,诱导肿瘤血管新生,增加血管通透性,促进肿瘤生长、转移;另一方面直接作用于肿瘤细胞,促进肿瘤细胞分裂增殖<sup>[3,8]</sup>。

肿瘤中严重坏死区的 VEGF 表达最高,犬乳腺肿瘤低氧坏死区 VEGF 发生增量调节。低氧能够引起 VEGF 编码基因转录增强,并能稳定生成它的 mRNA 产物,这是 VEGF 免疫标记阳性细胞主要位于恶性肿瘤组织的边缘和坏死组织周围的原因<sup>[3]</sup>。Michael 等在研究中也发现了同样的结果<sup>[9]</sup>。坏死组织周围缺氧最明显,提示缺氧是 VEGF 分泌的调节因素。

## 3 VEGF 在肿瘤治疗中的应用

血管新生是肿瘤生长、侵袭及转移扩散中的一个关键环节,抑制 VEGF 及其受体的表达或干扰其信号的转导等就可以有效地抑制肿瘤生长、转移及复发。

**3.1 阻断 VEGF 与其受体的结合** 利用抗 VEGF 及其受体的单克隆抗体,可封闭已分泌的 VEGF 及其受体,阻断 VEGF 诱发的血管内皮细胞的信号传导,抑制肿瘤血管的形成。VEGF 抗体抑制血管生成和肿瘤生长的作用已被众多的动物试验所证明。Bauer 等应用 VEGF 单克隆抗体治疗甲状腺癌 6 周,治疗组裸鼠体内肿瘤的体积明显小于对照组,治疗组体重明显高于对照组<sup>[10]</sup>。

**3.2 反义 VEGF** 采用反义寡核苷酸或反义 RNA 技术,可在基因水平或翻译水平抑制 VEGF 表达,从而达到抗肿瘤血管生成的目的。Shi 等用 VEGF 反义寡核苷酸处理培养中的肾癌细胞,选择性抑制肾癌细胞 VEGF 表达,在裸鼠肿瘤模型中,可明显减低肿瘤中 VEGF 的表达和微血管密度,显著抑制肿瘤生长<sup>[11]</sup>。

**3.3 VEGF 信号传导阻断剂** VEGF 与受体结合后,VEGF 受体首先通过酪氨酸激酶活化,诱导自身磷酸化和转磷酸化,然后触发信号传递。阻断这

一传导途径就可以达到抑制 VEGF 作用的目的。

目前, 兽医临床治疗犬乳腺肿瘤主要采用保守疗法和手术切除法。VEGF 作为肿瘤生长和转移的促进因子, 循环血液中的 VEGF 可以作为临床判定犬乳腺肿瘤预后的有效指标。随着对 VEGF 研究的进一步深入, 研制血管生长抑制剂来阻断新生血管的形成, 有望成为犬乳腺肿瘤治疗的新途径。

参考文献:

[1] 胡志伟, Joachim von Benin. 犬血管内皮细胞生长因子蛋白质和基因序列分析[J]. Acta Univ Med Tongji, 2001, 30(6): 556-558.

[2] 李启明, 李宁, 陈正堂. 血管内皮生长因子与肿瘤转移[J]. 重庆医学, 2006, 35(22): 2085-2087.

[3] Restucci B, Papparella S, Maiolino P et al. Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Canine Mammary Tumors[J]. Vet Pathol, 2002, 39: 488-493.

[4] Kato Y, Asano K, Mogi T, et al. Clinical significance of circulating vascular endothelial growth factor in dogs with mammary gland tumors[J]. J Vet Med Sci, 2007, 69: 77-80.

[5] Restucci B, De Vico G, Maiolino P. Evaluation of Angiogenesis in Canine Mammary Tumors by Quantitative

Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule Immunohistochemistry[J]. Vet Pathol, 2000, 37: 297-301.

[6] Bruce I Terman, Konstantin V Stoletov. VEGF and tumor angiogenesis[J]. J Biol and Med, 2001, 18(2): 59-66.

[7] Anan K, Morisaki T, Katano M. Vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor are potential angiogenic and metastatic factors human breast cancer[J]. Surgery, 1996, 119(3): 333-339.

[8] Van Trappen PO, Steele D. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-C and VEGF-D, and their receptor VEGFR-3, during different stages of cervical carcinogenesis[J]. J Pathol, 2003, 201(4): 544-554.

[9] Michael D, Paula V, Lisa R. Expression of vascular endothelial growth factor induces an invasive phenotype in human squamous cell carcinomas[J]. J Pathol, 2000, 156: 159-67.

[10] Bauer AJ, Terrell R, Doniparthi NK. Vascular endothelial growth factor monoclonal antibody inhibits growth of anaplastic thyroid cancer xenografts in nude mice[J]. Thyroid, 2002, 12(11): 953-961.

[11] Shi W, Siemann DW. Inhibition of renal cell carcinoma angiogenesis and growth by antisense oligonucleotides targeting vascular endothelial growth factor [J]. J Cancer, 2002, 87(1): 119-126.

(上接 34 页)

3.2 乐美星 + 多效附弓亡连用 5 天, 治疗 45 头猪, 死亡 41 头, 死亡率达 91%。

3.3 复方硫酸安普霉素 + 乐美星连用 3 天, 治疗 20 头猪, 死亡 10 头, 死亡率 50%。

3.4 长效土霉素 + 黄芪多糖连用 3 天, 治疗 52 头, 死亡 28 头, 死亡率 53.8%。

4 消毒措施

每天清洗干净猪栏后用新王消毒药按比例进行猪栏、猪体、空气消毒, 早、晚各一次, 及时消灭从畜体排出的病原, 避免从粪、尿、空气中重复感染。做好猪舍周边环境的灭蚊、灭虫工作, 防止因蚊虫叮咬造成交叉感染。

5 中西医结合治疗分析

方一侧重于清热泻火解毒凉血, 利尿, 杀虫, 消积。配以黄芪多糖粉增强体质, 提高机体抵抗力, 氟苯尼考粉抗菌消炎控制并发症。方二中的金银花、大青叶、板蓝根、紫苏、黄芩清热解毒、泻火燥湿、利尿、凉血、止温疫; 冰片提神开窍; 党参补气滋阴、益气健脾、利尿; 甘草润肺止咳调和诸药。

以中药为主配以西药治疗, 中药清热解毒, 凉血利尿, 抗病毒, 配以黄芪多糖和氟苯尼考, 以提高机体抵抗力及抗菌消炎控制并发症。以饮水和混饲的方式给药减少病猪应激而加重病情。另外, 药物经胃肠吸收作用缓慢而持久, 刚好适应此病病程长, 从而达到治疗效果。

6 全西药治疗分析

6.1 注射给药, 引起病猪应激加重病情, 肌注部位肌注次数过多, 引起肌注部位的组织坏死, 注入的药物无法吸收, 达不到治疗目的。

6.2 高热病是破坏机体免疫系统, 抑制免疫功能, 导致并发多种疾病。使用的西药比较复杂, 治标不治本, 反复发病, 使用的药物越多肝的解毒和分解药物的能力越低, 部分药物变成毒素, 损害肝脏加快病变, 药物经肾排泄引起肾病变。因此使用各种西药治疗效果不佳, 用药越多的猪场死亡越多。

6.3 由于大型养猪场在配饲料时, 配有多种抗菌药物, 在这种情况下, 单纯的以注射西药的方式治疗, 机体容易产生耐药性, 影响治疗效果。



# 猪场生物安全体系的建立

李剑豪

(广东省农业科学院畜牧研究所, 广东 广州 510640)

中图分类号: S828.4\*6

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)01-0049-02

2007年,我省的猪存栏量大幅下降,猪肉供不应求,价格大幅上升,其中一个主要原因是猪的疾病很复杂,种猪繁殖性能低,猪的死亡率高,生产水平低,养猪成本大,经济效益差。在众多病因中,高致病性蓝耳病是主要病原。据了解,高致病性蓝耳病主要发生在分散饲养的中小型猪场,这部分猪场的生物安全设施差,防疫体系不健全,容易感染各种疾病。生物安全体系比较好的大型猪场,感染高致病性蓝耳病的机率较少。因此,猪场生物安全体系的建立是猪场建设和管理的重要环节,也是政府主管部门必需关注的问题。

## 1 猪场的选址、布局和设计

**1.1 猪场的选址** 猪场要远离村庄和交通要道,距离在1 km以上,周边1 km内没有猪场。猪场周边有水库或鱼塘,一方面起到自然隔离,作为生物屏障作用,另一方面起到污水处理作用,减少污水处理成本,同时可增加养猪的经济效益。

**1.2 猪场布局** 从生物安全角度考虑,猪场最好采用两阶段饲养或三阶段饲养。种猪群应放在最偏僻的地方,断奶仔猪通过内部交通工具运到下一阶段饲养。没有条件的猪场,采用一点式连续饲养,种猪群应放在远离猪场生活区、销售区、饲料厂,地势最高、靠近北边的位置,尽量减少种猪感染各种致病菌的机会。

**1.3 猪场的设计** ①分娩舍和保育舍采用全进全出式设计,有条件的地方,种猪也采用全进全出式设计,可有效控制病原的交叉感染。②在全进全出设计中,每间猪舍的排粪沟要独立,不能相通,确保细菌、病毒不能通过粪沟从一间猪舍传到另一间猪舍。③消毒设施:消毒设施是生物安全体系的一个重要环节。消毒设施不好,细菌、病毒可通过人、交通工具带入猪场,为此应在猪场大门口设置消毒池,人员进入猪场的通道设置喷雾消毒设

备,从猪场办公室进入猪栏前要设置更衣室,在每幢猪舍门口设置较小型消毒池。④病死猪处理设施。病死猪不能乱丢或外卖,否则会造成疾病的大面积传播。应该设置尸井或购买焚烧设备,对所有病死猪进行无害化处理。⑤粪水往往也是一个传染源,搞好污水处理,可降低疾病通过粪水传播的机会。目前最好的方法是建沼气池,通过厌氧发酵杀死细菌和病毒,同时沼气可作为能量来源,节省猪场能源开支,提高经济效益。

## 2 猪场生物安全管理制度

**2.1 消毒制度** 勤消毒是消灭病原的重要手段。外大门消毒是隔绝外来病原的主要步骤,执勤负责人要尽忠职守,严格把关,严格管制人员车辆,切实做好消毒工作,消毒药水要保持有效浓度。栏舍消毒每周1~2次,猪只出栏后要经清洗消毒后方可再进猪。①手消毒:进入场内必须用消毒水洗手,消毒液每天更换一次;②平时消毒,全场统一每周一次做全场大消毒,产房及保育前期猪舍于3 d补加消毒一次,每次清洗及消毒需在记录簿上填上清洗时间或所使用的消毒药种类及稀释倍数。③若场内有疾病发生或外界有传染性疾病流行时,可经加强消毒次数。④外来人员离开接待室后用消毒水擦拭桌椅及拖地。车辆离场后在所经路线作消毒并于车辆进出登记簿上纪录进出场时间以利追踪管制。⑤外来运猪车辆经严格消毒后,在外出猪台等候,猪只由本公司车辆运到猪台,转运到装猪区后装猪。⑥外来运猪粪车辆,消毒后只能在污水处理池附近活动,不得接近生产线。⑦运送饲料车辆经外大门门卫消毒后进场,再经消毒池(保持2%烧碱消毒液,消毒液深度在15 cm以上)进入饲料仓库。

**2.2 建立疫情监测制度** ①严格按照猪场制定的免疫程序注射,并做好记录。②种猪采用一个针

头一头猪,仔猪注射疫苗时最好一头猪一个针头,也可同一窝猪一个针头,尽量减少通过针头传染的几率。③确保疫苗的剂量。注射疫苗时要观察注射部位,如果出现倒流应及时补注。④疫苗的保存。严格按照要求保存疫苗,如果出现较长时间停电,要及时将疫苗转移到有电的地方。⑤疫苗选择。要选用有正式批文的疫苗,选用疫苗毒株与本场毒株相同的疫苗。

**2.3 疫苗注射制度** ①严格按照猪场制定的免疫程序注射,并做好记录。②种猪采用一个针头一头猪,仔猪注射疫苗时最好一头猪一个针头,也可同一窝猪一个针头,尽量减少针头的传染。③确保疫苗的剂量。注射疫苗时出现倒流是常见现象,因此每注射一头猪,都要观察注射部位,如果出现倒流应及时补注。④疫苗的保存。严格按照要求保存疫苗,如果出现较长时间停电,要及时将疫苗转移到有电的地方。⑤疫苗选择。要选用有正式批文的疫苗,选用疫苗毒株与本场毒株相同的疫苗。

**2.4 控制病原通过引种进入猪场** ①引种要集中在 1-2 个种猪场,不要从多个猪场引进种猪;②要从多方面了解供种猪场的健康情况,因为一般种猪场都不如实告知疾病的实际情况;③选猪时要注意观察猪的健康状况,如有拉稀、皮肤红点、泪斑、喘气、皮肤变色、蹄病等都不能选用;④注意运输工具和运输途中感染疾病,对运输工具要严格消毒,运输途中不在有猪的地方停留;⑤猪到猪场后不能立刻混群,而是先放在隔离舍,观察期内没有疾病、完成抽血检查和疫苗注射,确诊没有重大疾病才能混群。

**2.5 药物预防制度** 建议分娩前后 7 天的母猪,在每吨饲料中添加泰乐菌素 200 g+ 阿莫西林 300 g;断奶前后 7 天的仔猪在每吨饲料中添加枝原净(泰妙菌素)100 g+ 金霉素 200 g。

**2.6 其它制度** ①猪场禁止养狗、猫,加强毒鼠工作,防止寄生虫、细菌和病毒通过野生动物进入猪场。②禁止从外地购入猪肉、牛肉等,猪场可适当提供本场猪肉给员工。③收款员不能与猪接触,也不能进入猪场。④赶到上猪台准备卖的猪不能赶回猪舍。⑤在猪场生产管理过程中严格执行全出全进制度,不能将弱小猪留在猪栏,与下一批猪混栏饲养。

### 3 政府主管部门的工作措施

**3.1 做好宣传工作。**养猪户在发生疫病前后不知

道采取什么预防措施来降低损失,政府主管部门可在电视报纸等重要媒体宣传预防传染病知识,可邀请有关专家在电视特别节目中介绍各种传染病的预防技术。

**3.2 组织做好大环境的消毒工作。**因为猪场内、家庭内的消毒可由农户自行清洁和消毒,但周围环境、江河的清洁消毒农户是无能为力的。必要时政府主管部门应组织力量对江河、人群居住地、猪场周围的环境进行彻底的清洁消毒。

**3.3 组织清理病死猪。**有些猪场将死猪乱丢,病毒细菌会大量繁殖扩散,污染水源、空气及周围环境,造成疾病的大面积流行,猪瘟和高致病性蓝耳病等可迅速传到其它猪场,造成难以控制的局面,因此应及时收集病死猪。有的地方政府为了鼓励养殖户收集病死猪,采取每头死猪补偿 30 元,这样可大大刺激农户收集死猪的积极性,收集到的病死猪要做无害化处理如焚烧、深埋等。

**3.4 组织疫苗和消毒药供应。**有关部门应登记当地猪的饲养数量,计算各种疫苗和消毒药的用量,组织有关疫苗和消毒药的有效供给。制定防疫计划,组织当地畜牧兽医防治人员现场指导防疫工作。村防治员应对防疫工作进行跟踪记录,确保打疫苗时不漏一个猪场,不少一种必要的疫苗,使防疫工作全面彻底。

**3.5 建立养猪准入制度。**有的养猪户在大猪场附近建一个小型猪场,从外地购买猪苗,专门饲养湍水猪,没有防疫设施和防疫制度,给大型猪场造成防疫困难。因此不能随意批准建猪场,应规定养猪规模、防疫设施、防疫制度、污水处理方法和猪场间距离等的养猪准入条件。

**2008广州畜牧业+饲料工业展览会**

**时 间:** 2008 年 3 月 15—17 日

**地 点:** 广州新体育馆会展中心

**组委会联系方式:**

广州中威展览服务有限公司

地址:广州市燕岭路 138-142 号华资大厦 5 层

电话:020-62217960、62860589、62860588

传真:020-62860589

E-mail: gzxmz@126.com

联系人:付 兵 先生 020-31953338

曾凡刚 先生 013430238086

# 制作猪肾冷冻切片的体会

袁海峰, 李瑞亭, 林永坚, 关建新  
(江门市兽医卫生监督所, 广东 江门 529000)

中图分类号: S852.13

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)01-0051-02

冰冻切片是借助低温冷冻将活体组织快速冻结达到一定的硬度进行制片的一种方法。采取猪瘟病猪的肾脏组织, 通过免疫荧光方法检测猪瘟病毒, 是一种简便、快速、准确的诊断法, 然而制作肾脏冷冻切片步骤较繁琐。本文就如何制作一张高质量仔猪肾脏冷冻切片并进行准确观察诊断, 以及影响切片质量的因素总结几点体会。

## 1 操作方法

**1.1 仪器** 采用德国 Leica cm 1850 冰冻恒温切片进行切片。提前将温度设置为  $-25\sim-18^{\circ}\text{C}$  (可根据组织类型适当增减)。

**1.2 取材** 新鲜或经解冷后的猪肾样品, 切忌将样品浸入甲醛酒精、生理盐水。肾脏取材大小为  $1.0\text{ cm}\times 1.0\text{ cm}$ , 用吸水纸将组织块的水分充分吸干。

**1.3 速冻温度设定** 一般调至  $-22\sim-18^{\circ}\text{C}$ 。根据组织性质不同, 冷冻温度的选择各异: 实质性肿块组织温度适中 ( $-22\sim-18^{\circ}\text{C}$ ); 淋巴结、肝、脑、肾、脾等组织温度要偏高 ( $-20\sim-16^{\circ}\text{C}$ )。组织速冻时间一般要达到  $3\sim 5\text{ min}$ 。

**1.4 冷冻** 在冻头上滴入专用的速冻剂 (包埋剂), 未经任何固定处理的将肾组织块直接放在冻头的中央, 迅速用专用速冻剂包埋, 置于冷冻切片机的速冻台上, 放下速冻头,  $1\text{ min}$  后置固定托架上并锁紧固定螺丝, 准备切片。

**1.5 切片** 冷冻切片与常规切片一样, 刀角度的调节与防卷板的正确调整, 是切制优良的冷冻切片最重要的因素, 直接影响切片的质量。Leica cm 1850 冷冻切片刀座调整倾斜度范围小, 主要是靠样品头方位变化来选择角度, 调至所需角度后固定, 不要轻易改变, 否则影响切片速度和质量。切片厚度为  $3\sim 7\mu\text{m}$ , 将切片展贴于  $0.8\sim 1\text{ mm}$  厚的洁净载玻片上。

**1.6 固定** 将制好的切片迅速置于预冷的纯丙酮 ( $4^{\circ}\text{C}$ ) 中固定  $30\text{ min}$ 。丙酮要放在  $-4^{\circ}\text{C}$  保存, 确保使用的是低温丙酮。

**1.7 染色** 用一次性的  $1\text{ mL}$  注射器吸取荧光抗体, 在晾干的切片表面滴加一滴荧光抗体, 然后把针头与切片平衡, 把荧光抗体扫平, 使抗体薄薄地覆盖在切片上。置于湿盒内于  $37^{\circ}\text{C}$  作用  $30\text{ min}$ 。

**1.8 洗涤** 在固定和染色后都要进行洗涤。采用漂洗的方法, 载玻片正面朝上放入平皿中, 倒入的 PBS 液要完全盖过载玻片, 然后水平地摇晃平皿, 每次  $2\sim 3\text{ min}$ 。洗完后用镊子取出载玻片, 倒出洗液。再按上述步骤漂洗, 漂洗  $4\sim 5$  次后取出自然干燥或风干。

**1.9 封固** 切片晾干后, 用  $0.5\text{ mol/L pH } 9.0\sim 9.5$  碳酸盐缓冲甘油封固。然后用约  $0.17\text{ mm}$  厚的盖玻片盖在切片上, 盖片时要缓慢, 避免玻片之间出现气泡。

**1.10 镜检** 将染色后的载玻片置于荧光显微镜下观察, 先用低倍镜选择适当的染色区, 然后换高倍镜在暗视野下进行观察, 在暗视野下用激发光为蓝紫光或紫外光进行观察。

## 2 结果

在荧光显微镜视野中, 清晰地看到肾曲小管上皮细胞浆内呈现明亮的黄绿色、翠绿色荧光, 而且细胞轮廓清楚, 细胞核不着色, 判断为猪瘟病毒感染阳性。在荧光显微镜视野中, 可看到肾小管的横断面, 但不呈现荧光, 细胞轮廓也不清楚, 判断为猪瘟病毒感染阴性。

## 3 体会

冷冻切片是免疫组织化学染色中最常用的一种切片方法。其最突出的优点是能够较完好地保存多种抗原的免疫活性。冷冻时, 组织中的水份易形成冰晶, 往往影响抗原定位。一般认为冰晶少而

大时,影响较小,冰晶小而多时,对组织结构损害较大。新鲜采集的猪肾含水量较少,不易出现上述现象。而经冷冻保存的样品,会出现有冰晶,但影响不大。为防止冰晶的形成,可采用速冻的方法如:液氮法,使组织温度骤降,缩短从 $-43\sim-33^{\circ}\text{C}$ 的时间,减少冰晶的形成。

在制作切片的过程中应力求保持组织切片的完整性,并在染色、洗涤和封埋过程中不发生溶解和变性,也不扩散至临近细胞或组织间隙中去。

在进行组织切片时,要确保冷冻切片机内的温度适合该组织器官的切片温度,其中肾脏进行冷冻切片的最佳温度为 $-30\sim-20^{\circ}\text{C}$ 。切片的厚度以 $3\sim 7\mu\text{m}$ 为宜,而且不能起褶,要平整。要求尽量薄些,以利于抗原抗体接触和镜检。切出薄片后,拿做好标记的洁净载玻片的正面贴近该组织薄片,使组织薄片自然展贴在载玻片上,整个动作要轻缓、快速才能使切片完整地取出。使用的载玻片与盖玻片的厚度应尽可能薄,玻面光洁,厚度均匀,无明显自发荧光。

在对切片进行固定时可适当把时间延长至30 min,确保标本完全固定。切片中干扰抗原抗体反应的物质要充分洗去,认真按每一步骤的时间要求和试剂的剂量进行操作。

荧光抗体染色要求有合适的温度、必要的时间、适当的pH值和充分的抗体量。反应温度一般为 $37^{\circ}\text{C}$ ,pH值为 $7.0\sim 7.2$ ,但随抗原、抗体要求不同应适当改变。反应时还要求充分的湿度,以免反应过程中抗体溶液干涸,抗体非特异地附着于玻片上,造成非特异性荧光。染色时,荧光液不能过厚或过薄。

常用缓冲甘油封固染色好的切片,由于甘油的荧光亮度在pH为 $8.5\sim 9.5$ 时较亮,不易很快褪去,故常用甘油和 $0.5\text{ M}$  pH为 $9.0\sim 9.5$ 的碳酸盐缓冲液的等量混合液作封裱剂。

切片最好在染色当天即作镜检,以防荧光消退。切片中的荧光素被显微镜的蓝紫外光或紫外光激发后,显示出黄绿色或翠绿色荧光。荧光素中的荧光分子的辐射能力在受到激发光较长时间的照射后会减弱甚至猝灭,因此对荧光切片的观察最好在短时间内完成,避免因时间过长而做出错误的判断。在同一标本区不宜连续观察3 min以上,以免荧光猝灭。

此外,荧光物质的保存应注意避光(特别是紫外光),防止与其他化合物的接触。荧光染色液中的荧光素是有害物质,因此镜检完要对切片进行安全处理。

## 2008“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,经广东省畜牧兽医学会七届六次常务理事扩大会议研究决定,在《广东畜牧兽医科技》杂志中评选2008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2009年第1期公布。

- 1、**评选范围:**本刊2008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  
二〇〇八年一月二十六日