

广东畜牧兽医科技

GUANGDONG XUMU SHOUYI KEJI

双月刊

1976年3月创刊

主管单位:广东省农业科学院

主办单位:广东省畜牧兽医学会

广东省农业科学院畜牧研究所

广东省农业科学院兽医研究所

主 编:蒋宗勇

副 主 编:孙彦伟

责任编辑:孙彦伟 岑俏梅

编委主任:蒋宗勇

编 委(排名不分先后):

蒋宗勇 余业东 王 浩 顾万军

曹俊明 辛朝安 廖 明 曾振灵

毕英佐 王贵平 舒鼎铭 孙彦伟

蔡建平 王政富 刘彩霞 岑俏梅

特邀编委:

陈 峰 余丽明 徐建浩 黄小建

陈小云 郑庆禄 贺湘仁 李 岩

林旭堃

出版单位:《广东畜牧兽医科技》编辑部

地 址:广州市先烈东路135号(510500)

电 话:020-37245052 37288167

传 真:020-37245052

E-mail:gdmsykj@163.com

印刷单位:广州市人杰彩印厂

发行单位:《广东畜牧兽医科技》编辑部

出版日期:10月18日

发行范围:国内外公开发行

每期定价:5.50元

广告经营许可证号:440000100037



本刊声明:本刊已加入《中国学术期刊(光盘版)》、《中文科技期刊数据库》和“万方数据—数字化期刊群”。作者稿件一经本刊录用,将同时被上述三个数据库收录,进入因特网提供信息服务。作者如不同意,请在投稿时向本刊声明,否则本刊将视为同意收录。凡被本刊发表的稿件,将一次性支付作者著作权使用报酬。

目 录

·专题综述·

警惕新型贸易壁垒—渐行渐近的动物福利壁垒.....许 军, 黄渊涛, 等(3)

梅州市畜牧业生态建设和环境保护的对策思考.....张千明, 刘英伟(6)

兽用狂犬病疫苗研究进展.....孙招金, 陈 晶, 等(7)

·畜牧技术·

樱桃谷肉鸭规模饲养管理技术要点.....陈志忠, 秦裕荣(9)

速可生在断奶仔猪上的应用试验.....岑健明, 黄如渠, 等(12)

徐州地区散养奶牛酮病的调查分析与防治对策.....张善芳, 王庆林, 等(13)

·兽医临床·

临床健康猪群猪繁殖与呼吸综合征病毒变异株存在情况调查与分析.....

.....王连想, 孙彦伟, 等(15)

鸡组织滴虫病的病理学诊断.....侯月娥, 罗敏意, 等(18)

猪宰后如何鉴别黄脂、黄脂病、黄疸.....黄泽辉, 冼理权, 等(19)

“禽出败”病原的分离鉴定及疫苗株的筛选.....何丽贤, 齐冬梅(21)

紫外可见分光光度法测定恩诺沙星原料中恩诺沙星的含量.....

.....谭胜国, 吴镇金, 等(23)

·试验研究·

4株PRRSV GP5蛋白编码序列的序列测定和特性分析.....

.....秦宏阳, 曹宗喜, 等(25)

冻存时间及冻融次数对PRRSV毒价的影响试验.....李春梅, 邓雨修, 等(29)

野生苜蓿草对育肥羊生产性能及营养物质消化率的影响.....郭万华, 魏昆鹏, 等(31)

体细胞克隆的小鼠胚胎在附植前后发育的研究.....彭礼繁, 罗光彬, 等(32)

猪链球菌病灭活疫苗(2型, HA9801株)的研制(IV).....杨 球, 游启有, 等(37)

猪瘟活疫苗(脾淋源)组织毒生产工艺改进试验.....鲁立柱, 张万春, 等(38)

·宠物园地·

犬脱卸式活动围栏设计与临床应用效果观察.....张忠传, 毛天翔, 等(40)

一例犬腹水症的诊治.....谢子茂(42)

·经验交流·

一起伪造检疫证明案引发的思考.....谭树波, 王 永, 等(44)

探讨对一起违章收购犊牛案件的处理.....彭丁应, 胡诗明, 等(46)

一例雏鸭曲霉菌病的诊疗.....温青泉, 侯碧琴(48)

·信息之窗·

2008“永顺杯”优秀论文评选启事.....(39)

广东省兴办规模化畜禽养殖场指南.....(50)

2009年期刊联合互登征订启事.....(52)

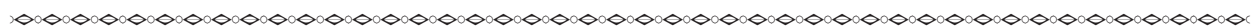
GUANGDONG JOURNAL OF ANIMAL AND VETERINARY SCIENCE

Established in march 1976(Bimonthly)

Oct.2008 Volume 33,Number 5 (Total No.141)

Main Content

- Be alert to the new kind of trade barrier— the coming animal welfare barriers*Xu Jun, Huang Yuantao, et al(3)
- Research progress in veterinary rabies vaccine*Sun Zhaojin, Chen Jing, et al (7)
- Key technical points for large-scale of Cherry Valley meat ducks*Chen Zhizhong, Qin Yurong (9)
- Investigations and analyses on production semi-domestic dairy cow's ketosis and the countermeasures to it in Xuzhou district*
.....Zhang Shanfang, Wang Qinglin, et al(13)
- Investigations and analyses on the mutant strains of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome virus in clinical healthy pigs*.....Wang Lianxiang, Sun Yanwei, et al(15)
- Pathological diagnosis of chicken histomoniasis leagridis*.....Hou Yuae, Luo Minyi, et al (18)
- Isolation and identification of fowl cholera strains and the selection of the vaccine strains*He Lixian, Qi Dongmei(21)
- The content determination of enrofloxacin in enrofloxacin raw material by the method of ultraviolet spectrophotometry*
.....Tan Shengguo, Wu Zhenjin, et al(23)
- Sequencing and analysis of four PRRSV strains' GP5 proteins* Qin Hongyang, Cao Zongxi, et al(25)
- The influences of frozen time and molten times on PRRSV's TCID₅₀*..... Li Chunmei, Deng Yuxiu, et al(29)
- The influence of wild humulus scandens (Lour.) Merr on fattening sheep's production performance and nutrient's digestibility*
..... Guo Wanhua, Wei Kunpeng, et al(31)
- Study on the preimplantation and postimplantation development of mice embryos cloned with somatic cells*
..... Peng Lifan, Luo Guangbin, et al(32)
- Manufacture of the inactivated vaccine(type 2, strain HA9801) against Streptococcus Suis disease (V)— vaccine's retention period*..... Yang Qiu, You Qiyou, et al(37)
- The improvement of tissue viruses' production engineering for the hog cholera live vaccine (manufactured used spleens and absorbent gland)*..... Lu Lizhu, Zhang Wanchun, et al(38)
- Design of canine active fences which could load and unload and its application results*.....
.....Zhang Zhongchuan, Mao Tianxiang, et al(40)
- Diagnosis and treatment of one case of canine ascites* Xie Zimao(42)



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

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

Chief Editor: JIANG Zong-yong

Vice Chief Editor: SUN Yanwei

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

Post Code: 510500

Tel: (020)37245052 37288167

Fax: (020)37245052

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

警惕新型贸易壁垒——渐行渐近的动物福利壁垒

许军,黄渊涛,李琳,陈素红

(汕头出入境检验检疫局,广东 汕头 515041)

摘要: 随着传统关税壁垒作用逐步减弱,非关税壁垒在国际贸易中扮演者越来越重要的角色。一种新的贸易壁垒——动物福利壁垒逐渐形成,并对我国畜禽产品的出口产生越来越大的影响。目前,动物福利壁垒在中国还是一个全新的领域。本文从动物福利壁垒的实例入手,分析动物福利壁垒及其特征,对比与发达国家的差异以及对出口企业带来的影响,提出了积极有效的应对措施。

关键词: 动物福利壁垒; 影响; 应对措施

中图分类号: S8-1

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0003-03

2002年,乌克兰向法国出售一批生猪,经过60多个小时的长途运输后到达,却被法方拒绝入境,理由是这批猪在途中没有得到充分的休息,没有考虑到动物福利,违反了法国有动物福利的规定。

2005年,在芬兰举行的毛皮拍卖会上,中国的水貂皮产品遭到集体抵制。事件的起因是由于国内某县一些水貂皮养殖户在水貂皮加工中,使用了活剥皮的方式,被曝光后在海内外引起了巨大的反响,国际动物福利组织通过各种渠道向各国政府施压,希望他们能够拒绝来自中国的水貂皮产品。

这些事件告诉了我们一个严峻的事实——动物福利壁垒已渐行渐近。

1 动物福利壁垒及其特征

动物福利壁垒是指在国际贸易活动中,一国以保护动物,或以维护动物福利为由,制定一系列动物保护或维护动物福利的措施,以限制甚至拒绝外国货物进口,从而达到保护本国产品和市场的目的^[1]。

动物福利壁垒可以说是绿色壁垒的扩展和深化。随着经济的发展和社会的进步,发达国家对食品的安全卫生要求越来越严格,利用动物福利名义设置非关税壁垒不仅易获得社会舆论的支持,还符合进口国本身的法律要求。同时动物福利法规标准制定得比较完善,容易界定,实际操作较方便简单。因此动物福利壁垒具备合法性、合理性、隐蔽性、易操作性、实用性和执法成本低等特征。当今国际市场竞争日益激烈、传统关税受到抵制,作用越来越弱。传统的非关税壁垒可利用的空间越来越小,西方发达国家就利用文化教育、传统习俗等方面的优势或影响力,以本国的动物福利法案为法律依据,要求各种进口动物源性食品必须满足其福利规定,否则不予

进口。于是动物福利就被“披上合法合理的外衣”——借动物保护之名,实行贸易保护之实。

2 我国与发达国家在动物福利的差异及其影响

近年来动物福利壁垒在国际贸易中的作用日益凸显,而我们对“动物福利”这一名词,却还处于陌生状态,与发达国家在动物福利之间的差异还没得到足够的重视,动物福利的影响还没有得到解决。

2.1 法律条文、标准体系的差异 西方的动物福利思想最早可以追溯到1789年英国哲学家提出的“保护动物权利”理念,到1822年英国颁布了世界上第一个关于动物福利里程碑式的法案——《马丁法令》。此后各国纷纷开始把动物福利条款写进各种保护动物的法律条文中。经过近几十年的发展和完善,西方动物福利已形成一套行之有效的法律条文和相关的标准体系。相对于西方的动物福利,我国的动物福利目前来说处于严重滞后的状态,有关动物福利的法律仅寥寥可数的《野生动物保护法》、《陆生动物保护法》、《水生动物保护法》等法律法规,及散见于《森林法》、《渔业法》和《海洋环境保护法》之中的个别条文。但因为所保护的动物范围过于狭小,且对处罚伤害动物的规定极为有限,故欠缺动物福利的实际操作意义。2006年5月,北京市法制办拟为“动物福利”立法,最终因有关专家“给‘动物福利’立法太早”的反对意见而不了了之,这形成了动物福利无法可依的被动局面。

西方动物福利标准体系以欧盟最具有代表性,1978年欧盟通过了《欧盟使用动物保护公约》(79/923/EEC指令)。公约详细具体的规定了与动物福利有关的人员应当遵守的“最低标准”^[2]。而我国

到目前为止未有系统的可操作的动物福利标准。

2.2 现状差异 动物福利措施的保护对象主要是畜牧业养殖动物,其主要涵盖饲养环节、运输环节和屠宰环节三部分。由于我国的畜牧业相对比较落后,无论是在饲养环节、运输环节还是屠宰环节都与动物福利存在重大差距。

2.2.1 饲养方式的差距 由于我国人口众多,人均用地面积小,所以我国的畜牧业大都是以密集型饲养方式进行,在没有“舒适自由的生活空间”前提下,为了提高动物的存活率就大量使用抗生素和各种兽药;为了提高产出率就盲目使用激素类促生长剂。这种违背自然规律,盲目追求最大利润的做法与动物福利要求相违背。而西方发达国家由于普遍人口少,人均用地面积大,所以能够为所饲养的动物提供足够大的饲养场所,达到有充足的光照和良好通风的要求;在“舒适自由的生活空间”里拥有足够的饮用水和营养全面的食物,动物机体免疫力自然提高,产出率也相应提高,同时还能有效减少使用各种抗生素和兽药。

2.2.2 运输方式的差距 作为传统运输方式,我们总是尽可能地把动物往格笼里装,尽可能地赶时间早点把它们运到目的地,以最大程度减少运输成本。想要达到动物福利规定的“运输工具要安装必要的温度、湿度和通风设备;运输途中必须保持运输车的清洁,对运输工具要及时进行消毒,并要按时喂食和供水,运输时间超过8小时就要休息24小时。”那简直会被认为是天方夜谭。

2.2.3 屠宰方式的差距 2001年中央电视台新闻节目曾报道的注水猪事件至今想起还让人心寒。屠宰环节是动物福利最重要的一部分,我国部分小型屠宰场(点)现在普通的屠宰流程对动物不仅没有福利可言还有些残忍,赶猪上砧板就是我们最常见的做法。试验证实动物在看到同伴被残忍屠宰时,由于恐怖会大量分泌肾上腺素,从而形成毒素,使成品肉的质量大大降低。按动物福利的规定是:屠宰动物时要有兽医在场进行监督,屠宰工人必须具备熟练的技术和专业知识;屠宰动物时必须先将动物致昏迷,在很短的时间内放血;屠宰时要采用危害分析关键控制点体系(HACCP)来衡量和检测屠宰过程^[3]。

2.3 我国与发达国家在动物福利上的差异带来的影响 由于我国在国情、文化、历史等方面的影响,中国的动物福利与西方发达国家存在着距离,而且这种距离在短期内难以迅速消除。这一差异将会对中国出口畜禽产品产生影响。

2.3.1 增加出口企业的成本 一些发达国家对动物从出生、养殖、运输到屠宰加工过程都制定了一系列具体、严格的标准,发展中国家要想向其出口动物源性产品就必须符合这些动物福利标准。目前我国出口企业在饲养、运输、屠宰方面达不到发达国家的动物福利的要求。为了达到要求,出口商需要投入额外的资金、技术和人力资源,去改善养殖条件,提高运输质量和完善屠宰设施,这必然会增加出口企业的成本,企业的价格优势降低,从而也降低了企业的国际竞争力。

2.3.2 加大国际贸易摩擦 发达国家在“动物福利”上制订了一些明确的要求并逐步推向市场化:欧盟在2004年要求市场上出售的鸡蛋必须在标签上注明是“自由放养的母鸡所生”还是“笼养的母鸡所生”;到2012年每只母鸡笼养面积将由现在通行的450 cm²扩大到750 cm²;到2013年欧盟各成员国必须停止圈养式养猪而必须采取放养式养猪……。我国是一个农业大国,畜牧业是农业增效、农民增收的一个重要来源。虽然许多品种的禽畜养殖加工数量已居世界前列,2003年的出口额也达到20亿美元,但是我国历来出口的动物源性产品都是以成本低、价格便宜来争取市场份额。现在西方国家以动物福利为贸易壁垒,抵制有倾销嫌疑的低廉产品,使得我国的出口产品遭受重挫。据报道,2005年欧盟一个畜产品进口贸易商到我国黑龙江某企业,欲采购金额达上亿元的活体肉鸡,但是欧盟厂商代表参观完该企业后,宣布取消交易,原因是该企业“不够宽敞的鸡舍”;2006年时欧盟销毁了一批从我国进口的肉食品,因为我国的肉用动物在运输过程中没有按照动物福利的标准执行……,残酷的现实容不得我们不接受,在日益抬高的市场准入门槛前,我们应正视在动物福利上的差距,规范饲养、运输和屠宰等环节,减少贸易摩擦。

3 应对动物福利壁垒的措施

随着我国在国际贸易中的地位不断提升,而动物福利又是一种国际贸易的趋势,动物福利壁垒将成为我国动物源性食品出口的主要障碍,因此我们必须从以下几方面着手,建立紧急的应对措施,尽量争取贸易主动权,打一场有准备的仗。

3.1 加快动物福利立法的脚步 据悉,世界动物卫生组织(OIE)已把动物福利作为未来几年的工作目标,措施包括制定可在国际上应用的动物福利问题指导和标准。这些表明动物福利已被提升到法律、标准的层面上来。我国现在处于WTO后过渡期,如果不

加快动物福利立法的脚步,将无法适应这一趋势。

鉴于 OIE 制定的标准或指南具有指导意义,各贸易国必须达到标准的要求才有市场准入的资格,因此我国在为动物福利立法时一定要结合我国的国情,尽量参照 OIE 的基本要求,有侧重、分阶段来建立与我国生产力、生产力水平相适应的法律法规体系。若完全按照 OIE 的要求立法,最终只能导致因为执法成本过高,而使动物福利法律法规无法推行,变得毫无意义。如果能尽量按 OIE 的要求制订动物福利相关法律法规,使之既能提高我国动物源性产品的质量,也符合动物福利的要求;既能争取更大的贸易主动权,也能达到逐渐跨越动物福利壁垒的目的。

加快动物福利立法的脚步在另一个层面上还有更深远意义:按照 WTO 规则,遵循动物福利条款是必须的,但在“目前 WTO 规则中还没对动物福利做出详细规定,TBT/SPS 协定也要求各成员国保护人类、动物或植物生命或健康的措施必须在‘必要的限度内实施’,‘不得构成对国际贸易的变相限制’”的前提下^[4],我国政府如果能尽快制定出我国的动物福利法案,充分发挥在世贸组织中的作用,加强区域间的合作,积极维护我国和其他发展中国家的利益;同时也可作为 OIE 的规划与实施提供可行性、建设性的意见。利用 WTO 中关于发展中国家的特殊和差别待遇条款,要求发达国家考虑发展中国家在实施动物福利方面存在的困难,从而抵制某些发达国家滥用动物福利壁垒。

3.2 加快动物福利标准体系及技术壁垒的建立

3.2.1 加快动物福利标准体系的建立 由于我国现在是社会主义初级阶段,国民素质比较普通,生产企业良莠并存,如果一个行业没有系统的法规标准将会严重制约其可持续发展。特别是加入 WTO 后,实施标准化管理肯定是势在必行,因此我们必须加快动物福利标准体系的建立。国外动物福利标准已很成熟,我们应该积极认真的借鉴,取其精华,结合我国的现实,给以转化,变为己用。同时建立标准体系数据平台,及时地维护更新各种标准信息,达到检企网络资源共享。只要各方重视,一定可以尽快形成我国自己的标准体系。

3.2.2 加快动物福利技术壁垒的建立 我们应该认识到技术壁垒是双方面的,在符合别人的要求时,也应该理直气壮的要求别人应该符合我们的要求,所以笔者建议国家应该组织专家学者做有针对性的研究,争取在某些新的未知领域里寻找突破口,制定动物福利壁垒。例如我国幅员辽阔,民族众多,生活习俗差异较大,是否可以考虑结合我国人

文地理、畜牧特点和各民族的生活饮食习惯等,制定出具有中国自主知识产权的技术壁垒。

3.3 关注 WTO 的最新动向,制定及时的应对措施 在 WTO 裁定的贸易争端结果,往往具有风向标的意义,故及时关注 WTO 的动向,能全面掌握各国的贸易动态,及时分析研究,可预判动物福利壁垒的重点,制定具有指导性的应对措施,方便检验检疫人员引导企业及时规避风险,提高出口企业的国际竞争力。

3.4 加大宣传力度,引导企业树立意识 一直以来我们在意识上还停留在传统的人类中心主义中,对动物主要是处在在自然资源利用的需求层次上,而保护动物、关爱动物的意识相对比较薄弱。对“动物福利”这一名词,也只是在专业的学术刊物上零星散见,而普通的报刊杂志几乎很少见到相关信息宣传报道。因此我们必须加大动物福利知识的普及宣传力度,特别是对从事动物源性产品生产的企业,引导他们树立动物福利意识。

从事动物源性生产加工的企业,应充分了解对应国家在动物福利上的相干法律法规,从动物的养殖、运输、加工工艺等方面建立一套与相关国家动物福利相适应的程序。国家这几年在大力推行品牌战略,扶优淘劣是必然的一个过程,生产加工企业只有树立起动物福利意识,并积极寻求利于自身发展的应对措施,努力提高产品质量,提高市场竞争力,从而达到企业品牌上档次的最终目的。

4 小结

在当今国际市场竞争日益激烈、传统关税和非关税壁垒可利用的空间越来越小,动物福利的壁垒作用就渐现重要,而且也是一种国际趋势。现在我国已进入 WTO 后过渡期,与动物福利之间存在比较大的差距,只有根据我国的国情和畜牧业的行业现状充分重视、积极应对,才能有效减少贸易摩擦。逐步建立完善动物福利方面的法律法规和标准体系;密切关注 WTO 的最新动向,制定相关措施;加大宣传力度,引导企业树立应有的意识,努力提高产品质量,增强自身竞争力,一同逐步跨越动物福利壁垒。

参考文献:

- [1] 段辉娜,王中英.动物福利壁垒——我国畜牧业发展对外贸易的新障碍[J].当代财经,2007,(5):92-96.
- [2] 王月永,昭愚.欧盟动物福利政策对农产品出口的影响及对策[J].国际经济合作,2007,(9):77-80.
- [3] 苏秋芬,刘录民,郑亚军.动物福利标准问题概述[J].财经界,2007,(4):228-229.
- [4] 李智.全球动物福利运动的发展趋势及应对建议[J].国际贸易,2008,(1):43-44.

梅州市畜牧业生态建设和环境保护的对策思考

张干明¹, 刘英伟²

(1. 兴宁市畜牧局, 广东 兴宁 514500; 2. 梅州市动物卫生监督所, 广东 梅州 514000)

中图分类号: S8-1

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0006-01

1 基本情况

畜牧业是一个承农启工的中轴产业, 其发展水平是一个国家农业发达程度的重要标志。1999年实施市人大《加快畜牧品种改良促进畜牧业发展议案》和2000年实施省人大《关于加强动物防疫网络建设议案》以来, 梅州市畜牧业取得了前所未有的快速发展。有一定规模的养殖基地(场)如雨后春笋, 蓬勃而起。至2007年底, 全市具有一定规模养殖场有9 000多个, 猪、牛、羊、家禽饲养量分别为397.5万头、17.23万头、12.86万头和7 306.54万只, 肉蛋奶产量分别达到25.39万吨、2.61万吨和0.28万吨, 全市畜牧业产值39.32亿元, 占农业总产值的30%, 农民畜牧业生产收入占种养收入的40%以上, 畜牧业成了农民脱贫致富的龙头支柱产业, 是农村经济新的增长亮点。

2 存在问题

随着畜牧业的迅速发展, 畜禽饲养量不断增加, 畜牧业生态建设和环境保护问题将成为今后发展畜牧业生产的重要课题, 必须把发展畜牧业和环境保护有机结合起来, 做到两者统一, 协调发展, 逐步形成无公害的绿色的生态型畜牧业。当前梅州市畜牧业生态建设和环境保护主要存在以下问题:

2.1 养殖场畜禽粪便污染环境 以前梅州市传统畜牧业规模小, 饲养量少, 仅作为一种家庭副业来经营, 对环境污染影响也较小。近年来, 随着畜牧业分散经营转为集约化经营, 以及珠三角地区养殖业生产链向山区转移, 现代化、集约化规模养殖场越来越多。目前有一定规模养殖场全市约有9 000多个, 这些养殖场进行“畜、沼、果”生态养殖的占60%左右。全市有18个养殖基地被国家农业部评为无公害畜产品生产基地。这些“畜、沼、果”生态养殖场有较完整配套达标的沼气化粪池, 但9 000多个规模养殖场中还有40%未进行“畜、沼、果”生态养殖。选址随意性大, 没有任何环保设

备、设施, 使畜禽粪便没有经过沼气化粪池的发酵净化利用, 直接排放到稻田、河流、鱼池等地, 成了巨大的污染源, 造成土地、河流、鱼塘、空气等生态环境遭到污染。它将严重影响梅州市提出“十一五”期间实施“生态梅州”发展战略目标的落实。

2.2 屠宰场畜禽废物、污水、废气污染环境及“人畜共患”传染病的危害 目前全梅州市共有170多个屠宰场(厂、点), 年宰杀牲畜约250万头。在活体加工过程中产生大量的排泄物和废弃物严重污染环境, 形成一个不可忽视的污染源。据调查, 170多个屠宰场中有(较完善的)环保设备设施进行无害化处理废物污水的仅2家, 其他由于环保意识淡薄和受资金不足等因素影响, 环保设施不配套, 使大量牲畜屠宰废弃物无法进行净化处置。这些未经环保净化处置的废弃物不仅可以污染土壤、空气、水, 而且往往很大程度上是人畜共患疾病的载体。据世界卫生组织和联合国粮农组织的资料介绍, 由动物传染给人的“人畜共患”的传染病至少有90多种, 其中可由猪传染的有25种, 由禽粪传染的24种, 牛、羊传染的25种, 马传染的13种。

2.3 畜禽产品有毒有害物质的残留带来的危害 由于滥用、泛用抗生素、激素、违法使用违禁药物等现象仍然存在, 造成畜禽产品药物残留及环境污染。人体通过食物链, 以进食畜禽产品形式蓄积大量有毒有害物, 这种由畜禽产品引起公害给人类带来的隐患将是难以估量。例如, 人们通常说的“瘦肉精”, 学名叫盐酸克伦特罗, 属肾上腺素类神经兴奋剂, 是 β -兴奋剂类激素, 人食用了含有残留该药物的畜禽产品可造成外周血管扩张, 肌肉震颤、心率加快等直接毒性作用, 给人的生命安全造成严重威胁。

3 建议

畜牧业的迅速发展为农村经济建设立下汗马功劳, 并极大地改善了农村居民的生活水平和为

(下转第11页)

兽用狂犬病疫苗研究进展

孙招金, 陈 晶, 梁红茹
(华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

中图分类号: S852.659.6

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0007-02

狂犬病是人类最古老的疾病之一,是由狂犬病病毒引起的一种人畜共患病,病死率几乎高达100%。目前,狂犬病尚无有效的治疗方法,及时接种疫苗是预防该病的最有效措施之一。狂犬病病毒宿主范围广,几乎所有的温血动物均易感,但犬是该病毒的主要宿主,在携带和传播狂犬病过程中起主要作用。据报道,狂犬病分布于世界100多个国家,全世界每年因狂犬病死亡的人数达55 000人,绝大多数病例发生在发展中国家,其中主要在亚洲。2007年11月12日,我国卫生部召开新闻发布会,介绍中国人狂犬病发病数仅次于印度,居全球第二,成为世界上狂犬病流行最严重的国家之一。

近年来,我国人狂犬病疫情持续上升,疫情波及范围不断扩大。从1950-2004年我国人狂犬病的死亡总人数约为103 200例,2005年全国共报告狂犬病死亡2 545例,2006年1-9月全国累计报告发病数已达2 254例,比前一年同期上升了29.7%。根据中国卫生部公布的最新数字显示,2007年全国共报告狂犬病死亡病例2 795例,较2006年(2 692例)上升了3.68%,高居37种法定传染病报告病死数之首。而我国人狂犬病约94%由家犬引起,6%由猫引起,另外还有为数不多的由猪和鼠引起^[1]。我国人狂犬病主要发生在农村,其主要原因是我国对于犬狂犬病监管力度不足,特别是农村从犬传染给人的事件连续发生^[2]。从病毒的传染源入手,对动物接种兽用狂犬病疫苗是预防人狂犬病最好的办法,兽用狂犬病疫苗的发展已逐渐引起人们的关注。

1 国外兽用狂犬病疫苗的研究进展

1.1 兽用灭活疫苗 早在1884年,Pasteur就应用由狂犬病固定毒制成的疫苗给50多只犬进行预防接种试验,结果发现这些犬能抵抗狂犬病病毒的攻击。1911年,Semple开始应用石炭酸灭活的神经组织疫苗,该疫苗对犬和其他动物都有较好的免疫

保护力,免疫期长达1年左右,但是疫苗中含有髓磷脂结合的蛋白物质,接种后有约0.05%的动物出现神经性麻痹。限于经济和技术条件,直至2005年前仍有不少国家使用这种疫苗,其中印度是主要的制造、应用和出口这种疫苗的国家^[4]。现在国外生产的兽用狂犬病灭活疫苗是由狂犬病疫苗株在体外细胞上繁殖,灭活后与佐剂按一定比例制备。常用的生产用疫苗株有1940年Koprowski等分离,鸡胚传代培养得到的Flury株以及由巴斯德派生的CVS、PM、Kissing、SAD、Unukovo、Kelev等毒株;常用繁殖病毒的细胞有仓鼠肾细胞(BHK-21)、犬肾、猪肾细胞和鸡胚成纤维细胞等;常用的免疫佐剂有氢氧化铝、磷酸铝。近年来,灭活疫苗的研制取得很大的进步。已经研制出ISCOM(免疫刺激复合物)、角鲨烯、脂质体等新型疫苗佐剂,克服了传统铝佐剂难以吸收、注射部位反应大等缺陷;灭活剂由 β -丙内酯、BEI(二乙烯亚胺)和维生素C取代了传统的甲醛和石炭酸灭活,克服了传统灭活剂灭活不彻底和副作用大等不足;疫苗的剂型也由传统的液体型发展到了冻干型,使狂犬病灭活疫苗的效力变得更加稳定。目前,国外较好的狂犬病灭活疫苗品牌有“英特威”、“维克”、“梅里亚”。狂犬病灭活苗可与犬瘟热、犬细小病毒病、犬传染性肝炎、犬副流感、犬腺病毒病和犬钩端螺旋体病等疫苗联合使用,预防犬的上述常见传染病。

1.2 兽用活疫苗 目前弱毒疫苗主要有1935年美国从狂犬病患犬的脑中分离到一个狂犬病街毒株经仓鼠肾细胞、鸡胚、牛肾细胞和猪肾细胞传代后育成的SAD苗、kelev苗;1940年Koprowski等从狂犬病致死的一个女孩脑内分离到的Flury鸡胚低代苗(也称LEP)和Flury鸡胚高代苗(也称HEP);1985年日本利用来源于兔传代的固定毒病原株,经鸭胚传294代,再经鸡胚细胞培养及

Vero细胞适应获得 RC-HL 株和狂犬病毒基因工程株等。许多国家已将 Flury 疫苗作为兽用狂犬病疫苗, LEP 活疫苗用于犬、猫, 牛则强调应用 HEP 活毒疫苗。应用 LEP 或 HEP 疫苗给狗、猫免疫后, 能抵抗致死剂量的街毒攻击, RC-HL 株应用于犬和猫得到了很好的免疫效果。

活疫苗分为肌肉注射和口服两种。活毒疫苗的免疫效果虽然比灭活疫苗好, 但是活疫苗存在引起动物狂犬病的潜在危险。近几年来一些发达国家人和家养动物的狂犬病发病率下降, 而野生动物的发病率上升。通过将这些活疫苗包在动物的食饵内是预防野生动物狂犬病的主要措施。用于预防野生动物狂犬病的新型狂犬病口服疫苗是近年来国外狂犬病疫苗研究的热点。安全有效的免疫原、疫苗载体和适宜的疫苗投放系统是国外兽用狂犬病活疫苗研究的几个主要方向。Kiény 等^[6]分别以痘苗病毒为载体, 构建了狂犬病病毒糖蛋白的重组疫苗, 在法国和美国进行了野外试验, 野生红狐免疫收到良好的效果; Prevec 等^[7]研制了人 5 型腺病毒载体狂犬病病毒糖蛋白重组疫苗, 小鼠、犬、狐狸、臭鼬等均能产生高水平的保护性抗体。由于发达国家已经基本消除人和家养动物的狂犬病, 对兽用狂犬病疫苗的研制主要致力于预防野生动物如浣熊的狂犬病, 以口服狂犬病疫苗为主。Xiang 等(1994)和扈荣良等(1994)用带有狂犬病病毒糖蛋白亚单位疫苗和重组活疫苗在小鼠、臭鼬、猴等进行试验, 均获得了满意的免疫效果。另外利用抗狂犬病病毒单克隆抗体制备的抗独特型抗体疫苗可以保护小鼠抵抗致死性狂犬病病毒的攻击。Yarosh 等^[8]以腺病毒为载体制备的狂犬病遗传重组疫苗。Yushibov^[9]以紫花苜蓿花叶病毒为载体构建重组病毒疫苗; Ashraf^[10]利用烟草作为载体, 高效表达了狂犬病病毒表达糖蛋白狂犬病基因工程疫苗。目前, 表达狂犬病病毒糖蛋白的重组痘苗病毒作为兽用疫苗, 在欧洲、美国已经取得了商业生产许可, 并成功应用于野生动物。Nel 等^[11]构建了狂犬病病毒相关病毒 Mokola 的 pCI-neo、pCI-neo-mokG、pSG-mokG 和 pBudCE4-mokG+N 4 种 DNA 疫苗; 2004 年 Shoji 等^[12]通过 Hep-Flury 株(缺失完全的 P 基因) cDNA, 利用反向遗传学的方法得到缺失 P 基因的狂犬病基因缺失疫苗。虽然这些新型的狂犬病疫苗存在许多的不足, 但是却为安全有效的狂犬病活疫苗的研究提供

了广阔的前景。

2 国内兽用狂犬病疫苗的研究进展

我国生产上市的兽用狂犬病疫苗, 迄今为止都是活疫苗。从上世纪 50 年代到 80 年代先后采用了羊脑固定减毒苗、Semple 型疫苗和 LEP-Flury 疫苗。我国 1959 年版《狂犬病疫苗制造及检验方法》将接种狂犬病毒的绵羊脑组织加 0.5% 石炭酸、50% 甘油溶液做成 20% 脑悬液, 于 37℃ 中减毒 3 天制成疫苗。这种疫苗中允许有残余毒力存在, 因此安全性较差。为了提高疫苗的安全性, 减去残余毒力, 自 1965 年起参照 Semple 氏法生产狂犬病灭活疫苗, 实践证明疫苗有效, 但存在个别动物注射后出现麻痹症状, 对各种家畜的使用剂量大(5~50 mL)、免疫期短(6 个月)和疫苗生产工艺复杂等缺点。从 1977 年开始研制非神经组织的弱毒疫苗, 种毒为 LEP-Flury 株, 用 BHK-21 传代细胞生产疫苗, 仅限家犬使用, 免疫期为 1 年。80 年代初从国外引进了 ERA 株, 在 BHK-21 细胞上进行生产, 其对马、牛、羊和犬的免疫力可达一年以上。中国药品生物制品检定所利用 CTN-181 毒株在 BHK-21 传代细胞生产疫苗, 免疫性与 LEP-Flury 相似, 但安全性比 LEP-Flury 好。长春生物制品研究所制备的 aG 株原代仓鼠肾弱毒佐剂疫苗在给犬接种后, 中和抗体至少可保持一年, 加强免疫一次后, 免疫期可持续 2 年以上。中国军事兽医研究所、长春生物制品研究所分别从 SAD 株和 CTN-1 株中筛选制备了犬口服疫苗, 犬口服后抗体阳转率分别大于或等于 97% 和 80%。随着分子生物学和分子病毒学的发展, 基因工程疫苗、合成肽、抗独特型抗体疫苗及基因疫苗等狂犬病疫苗正在研究和发展中, 目标是生产免疫原性好和安全性高的兽用口服弱毒疫苗^[4, 13]。2003 年, 张云等^[14]应用 pAdEasy 载体系统, 构建了表达 GP 基因的重组腺病毒狂犬病疫苗。由于基因工程疫苗既保留有完整的狂犬病毒免疫原性, 又不具有狂犬病病毒的致病基因, 是我国兽用狂犬病疫苗的研究方向。近年来, 国内已经开始从事兽用狂犬病灭活疫苗的研究, 相信不久便可用于预防动物狂犬病的预防。

3 结语

欧美国家对家养动物进行强制性接种和捕杀
(下转第 20 页)

樱桃谷肉鸭规模饲养管理技术要点

陈志忠, 秦裕荣

(广东省普宁市畜牧水产局, 广东 普宁 515300)

中图分类号: S815.5

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0009-03

樱桃谷肉鸭是由美国林肯郡樱桃谷农场有限公司于1958年用四系杂交技术成功培育出来的优良品种。其具有生长速度快、饲料报酬高、成活率高、肉质佳、生长周期短、抗病力强等优良特性,在我市深受养殖户欢迎,并逐渐取代了麻鸭生产为主的地位。根据本人多年来的生产实践,从鸭苗选择、日常管理、饲养要求、疫病预防、适时上市等方面谈谈樱桃谷肉鸭规模饲养管理技术要点。

1 鸭苗选择

养鸭场(户)购买樱桃谷肉鸭苗时要进行个体选择。选择的标准包括:①肛门干净,无黄白色的稀粪粘着;②脐带吸收良好,无血痕存在;③腹部收缩良好;④喙、眼、腿、爪等不畸形。凡是符合以上四条标准的就是健康雏鸭。其中一条标准不符合就不能选用,因为弱雏成活率低,生长速度慢,不宜饲养。

2 育雏前准备

育雏舍要进行全面彻底消毒。先把地面和墙壁冲洗干净,然后用0.5%百毒杀溶液,0.5%抗毒威溶液或3%的烧碱热溶液进行交替喷雾消毒。密闭较好的育雏舍按1 M³空间用高锰酸钾20 g,福尔马林40 mL的比例进行熏蒸消毒12 h,熏蒸时可将饲料槽、饮水器和用具放入育雏舍内同时消毒,消毒完毕后打开门窗让其空气对流。育雏舍经消毒后,严禁未经消毒的用具搬入室内。

3 日常管理

3.1 温度 肉鸭各阶段的理想饲养温度为:第1周为30~33℃,第2周为25~30℃,第3周为21~25℃,第4周起随常温饲养。温度是否合适,可用温度计测量,也可以通过观察雏鸭的活动表现判定。若温度过高,则雏鸭远离热源,散开,饮水量增加;若温度过低,则雏鸭扎堆,拥挤在一起睡眠不安;若温度适宜,则雏鸭活泼自如,饮食正常,精神良好。

3.2 湿度 湿度对雏鸭生长发育影响较大。湿度过低,往往引起雏鸭轻度脱水,影响健康和生长,

造成均匀度差;湿度过高,则粪便分解加快,产生大量的氨和硫化氢等气体,病原微生物也大量繁殖,容易引起雏鸭发病。舍内湿度第1、2周以55%~70%为宜,第3、4周以65%~75%为宜。第5周起保持在70%~80%。鸭喜水而不喜湿,长期阴雨对鸭生长与健康不利。

3.3 饲养密度 合理的饲养密度是保证鸭群健康,生长发育良好的重要条件。因为密度与育雏舍内的空气、湿度、卫生以及恶癖的发生都有直接关系。雏鸭饲养密度大时,育雏舍内空气污浊,氨气气味大,温度高,环境卫生差,吃食拥挤,抢水抢料,饥饱不均,残次鸭增多,恶癖严重,容易发病。雏鸭饲养密度小时,对雏鸭生长发育有利,但不利于设备的充分利用和劳动力的合理使用,所以雏鸭饲养密度也不是愈小愈好。一般情况下,适宜的饲养密度为:第1周时30~40只/m²,第2周时15~30只/m²,第3周时10~15只/m²,第4周时8~10只/m²,第5周时6~8只/m²,第6周起至上市4~5只/m²。

3.4 鸭舍通风 在樱桃谷鸭的饲养管理过程中,切不可忽视鸭舍的通风换气。鸭新陈代谢旺盛,呼吸排出的二氧化碳和水分,粪便及潮湿垫料的发酵和腐败而产生有害气体,使得舍内空气污浊,氨气过浓,氧气不足。如果这些有害气体不能及时地排出舍外,当浓度较高且持续时间长时,就会严重影响鸭群的健康,降低抗病力,引起呼吸道疾病及其他疾病的发生。通风量的大小要根据季节、日龄和天气情况而定,舍内外温差大时,可在6~12日龄开始通风并逐步过渡到半通风,而基本不进行全通风。舍内外温差不大时,可在5日龄后开始通风,中后期全通风。舍外气温很高时要及时全通风,使鸭群感到凉爽。

3.5 光照 为促进雏鸭的采食和生长,一般要人工补充光照。光照对肉鸭的生长发育、物质代谢、运动等有重要作用,务必做好。应用光照时,雏鸭每50 m²面积配一个40 W灯泡,中成鸭每100 m²面

积配一个 40 W 灯泡。光照时间:5 日龄前采用 24 h 光照 (即整夜照明),5-10 日龄采用 23 h 光照,10 日龄以后,每天减少 1 h,直至采用自然光照。

3.6 巡群、分群 巡群是要把大群鸭中的病、弱、残分出单独饲养,加强护理和用药防治,减少传染机会。巡群是饲养管理中一项重要的日常工作,及时掌握鸭群的各种情况,为管理提供依据。分群是对鸭群进行强弱分群,这有利于弱群的生长,提高群体的整齐度,方便管理。巡群分群要求饲养员要及时观察鸭群,否则会带来不可避免的损失。

3.7 生产过程记录 在生产过程中,每个鸭场都应将鸭只来源、投入品来源与保存、饲料消耗、用药情况、免疫接种时间、鸭群发病情况、诊治情况、产品销售等记录清楚,详细建档。并由专人妥善保存,以利于建立起生产销售的规范化管理和追溯制度。

4 饲养要求

4.1 雏鸭饮水 雏鸭出壳后,进入育雏舍应先给予饮水,饮水要求时间早 (雏鸭在出壳 24 h 后便开始慢慢的脱水),位置足。位置足是要有足够的饮水器,可以按 150 只雏鸭共用一个 5 kg 的饮水器为标准。水温不能太凉,最好是室温。在饮水中添加青霉素 1 000 IU/只,3 h 后再饮 3% 红糖水,再过 5 h 换用洁净温水,在温水中添加适量的电解多维,连用 3 d,也可以加入适量的复合维生素 B 溶液。另外要防止缺水和间断给水,应该做到饮水不断,随时自由饮用,缺水、间断饮水使雏鸭干渴而造成抢水,容易引起雏鸭暴饮而导致死亡。

4.2 雏鸭开食 先饮水,后开食。当雏鸭群有 1/3 的雏鸭有寻食表现时就可开食,通常在雏鸭饮水后 2~3 h 喂料开食。开食的饲料颗粒要小,要有湿度 (加入适量的水拌匀),不可结块,这样方便雏鸭采食。第二天就可直接用颗粒饲料,采食位置跟饮水位置一样要充足。

4.3 饲喂方法 要饲喂全价配合饲料,定时定量。饲喂开始要适当控制,少食多餐,每次喂八九成饱,3 天后就要放开饲料供给量,每天都让雏鸭吃饱。饲喂次数一般是前两周每天喂 7 次,3-4 周龄时每天喂 6 次,5 周龄时每天喂 5 次。由于雏鸭消化机能差,故不可过食,过食会引起消化不良,造成消化道疾病,所以喂八成饱就足够了。从第 6 周至上市为育肥期,不要断料,要加强管理,减少运动量,提高采食量,促进育肥,适时上市。

4.4 换料 因为饲料营养水平不一样,换料对鸭的消化系统刺激很大,换料时鸭群已进入疫病多

发日龄 (2-4 周龄),所以换料一定要按比例进行旧料兑新料,1d 2:1,2d 1:1,3d 1:2,4d 全新料。换料时应在每 1 kg 饲料中添加琥珀酸盐 200 mg,以减少应激。换料期间要注意多观察鸭群,发现异常,及时采取相应措施。

5 疫病预防

5.1 减少应激反应 在生产过程中,应激因素是时时存在的,都有可能随时损害鸭的健康。所以,在平时的喂料中都加入维生素 C 或琥珀酸盐 (每 1kg 饲料中加入维生素 C 500 mg 或琥珀酸盐 200 mg),这样可消除由拥挤、转群、分群、换料、高温、寒冷、噪音、空气污浊、接种疫苗等引发的应激反应。

5.2 药物预防 用药的原则是掌握鸭群活动状况,采食情况等,把握时机,宜防不宜治。当大群鸭一次挑出 0.5% 不良鸭只时,就要预防用药。使用的药物凭兽医技术人员开具处方进行施药,并做好用药记录。在饲养过程中,需使用抗生素添加剂时,要严格按照《饲料和饲料添加剂管理条例》的规定执行休药期。要规范使用国家限用的兽药和饲料添加剂。上市前 7 天饲喂不含任何药物及药物添加剂的饲料,以确保鸭产品的质量安全。

5.3 免疫接种 免疫接种是人们长期以来对付畜禽传染病的有效措施之一,并已取得显著效果。每个养鸭场都应根据鸭场的实际情况,制订切实可行的免疫程序,适时进行鸭群的免疫接种。建议免疫程序为:1 日龄免疫接种雏鸭病毒性肝炎卵黄抗体,7 日龄和 24 日龄分别免疫接种鸭禽流感疫苗;12 日龄免疫接种鸭大肠杆菌病、鸭传染性浆膜炎二联灭活菌苗;20 日龄免疫接种鸭瘟弱毒疫苗;30 日龄免疫接种禽出败菌苗。

5.4 带鸭消毒及环境消毒 带鸭消毒剂要求刺激性小、无毒副作用、无腐蚀性,可用 0.3% 次氯酸钠或 0.3% 菌毒净溶液进行带鸭消毒,每周 1~2 次。环境消毒可选用两种以上不同类型的消毒剂,如 0.5% 百毒杀、0.5% 抗毒灵、3% 的 NaOH 等溶液,定期对鸭舍,用具、饲养场地、排污沟及路面进行轮流喷洒消毒,每周 1~2 次。此外,鸭场的主要通口和鸭舍的门口应设有消毒池,供出入车辆和人员消毒,采用多种消毒药液轮流使用,每周更换 2~3 次。

5.5 粪污物处理 建立与生产规模相适应的粪污物处理池,把粪污物进行无害化处理,后作为农业用肥。这既保护环境,又提高生态效益,满足生态环境保护的要求,使自然资源得到合理利用,实现生态与生产的良性循环。

6 全进全出制饲养管理制度

雏鸭、中鸭、成鸭均应采取“全进全出制”的饲养管理方法。因不同龄期的鸭只有不同的易发疾病, 龄期较大患病鸭只或已病愈但仍带菌的鸭只随时可将病原体传播给龄期较小的敏感雏鸭, 部分大龄鸭只还可能是隐性感染者, 多种龄期鸭只共养的鸭场加大了疾病发生的风险与几率。所以, 在樱桃谷鸭的整个生产过程中, 都严格实行“全进全出制”的饲养管理方法。生产实践证明: 实行“全进全出制”的饲养管理方法, 是预防疾

病、提高成活率和养殖效益的有效措施之一。

7 适时上市

适时上市, 是提高效益的最后一关。适时上市的质量关系到经济效益, 要把好上市质量, 防止人为损伤。通过近年来的实践, 樱桃谷肉鸭在正常饲养和防疫条件下, 50 日龄成活率为 96% 以上, 50 日龄平均体重为 3 kg 以上。为增加养殖效益, 樱桃谷肉鸭饲养 50 日龄要上市出售。肉鸭上市时我们安排在晚上进行, 晚上抓鸭不会引起鸭群骚动。同时必须做到轻抓、轻放、轻装, 尽量减少鸭只的惊动和损伤。

(上接第 6 页)

梅州市城市居民提供丰富多彩的肉类食品, 但由于部分养殖场、屠宰加工场(厂、点)环保意识淡薄和资金投入不足等因素影响, 环保设备设施不配套, 造成环境污染, 使梅州市的生态环境受到一定程度影响, 应引起各级领导的重视。现就关于梅州市畜牧业生态建设和环境保护提出几点建议:

3.1 加大宣传力度, 提高畜牧业环保意识 环境保护是我国基本国策之一, 国家在“十五”计划纲要强调要把改善生态环境作为经济发展和提高人民生活质量的重要内容。目前在环境保护方面我国已有很多法律法规, 并制定了可持续发展战略。但实际上, 我们看到的是, 这些法律法规有不少地方难以实行。因此我们要把发展畜牧业与环境保护问题作为同等重要课题来抓, 特别是要经常性在电视、报纸等宣传媒体多做公益性环保广告, 提高社会公众、畜牧业主和领导者的环境保护意识, 宣传教育人们树立一种以“环境保护为中心”的人生观与道德情操, 使人人懂得保护环境是每个现代公民不容回避的义务和责任。

3.2 加强领导, 落实责任, 长远规划与阶段性部署相结合 环境保护工作是一项长期复杂的系统工程, 必须把科学合理的长远规划同目标明确、责任落实、措施有力的阶段性部署相结合, 才能最终实现我市资源、环境、经济、社会诸要素的和谐统一发展, 实现区域整体效益最大化的目标, 因此我们在大力发展畜牧业同时, 要抓“以防为主、防治结合”的方针, 制订环保工作目标, 逐级签订“环境保护责任书”, 将环保目标层层分解, 责任到人, 确保人员到位, 措施到位, 把梅州的“青山绿水”当作城市名片来保护和珍惜。

3.3 政府扶持、变废为宝, 使可持续发展战略得到

落实 各级政府必须加大对畜牧业生态建设和环境保护的资金投入, 变废为宝, 出台一些优惠补助政策, 对实行“畜、沼、果”生态养殖的养殖场、屠宰场(厂)等给予扶持, 把养殖场畜禽粪便、屠宰场活体加工废物、污水实行多层次分级净化利用, 实现无废物、无污染生产。根据目前环保部门资料, 1 m³ 沼气池可对 3 头猪的粪便进行净化处理, 按现今沼气池造价约 270 元/m³, 建造沼气池每头猪的成本一次性投入需 90 元, 若按 10 年折旧, 每年栏两批猪计算, 每头猪的成本为 4.5 元。如果沼气池的沼气能合理利用, 所产生效益远远大于投入。沼气可供家庭生活做饭和养殖场照明等。有了沼气池, 不但可以保护环境, 还能为业主提供清洁卫生的生活燃料, 从而节约了能源(特别生活用煤、用柴), 保护了森林资源和减少山区的水土流失, 使整体生态得到良性循环, 使可持续发展战略真正得到落实。

3.4 合理规划, 正确选址, 形成优化的、多功能、高效益的花园式生态畜牧业基地 在交通便利、用水条件良好的情况下尽可能将畜牧场、屠宰场建在远离城市、工矿区和人口密集的地方, 远离江河及地下水源, 有规划、有步骤地建立畜牧业生态示范小区。在场地选择, 畜禽品种、饲养规模及生态保护上走向良性循环的轨道。力争全市 9 000 多个规模养殖场大部分能够成为省级甚至国家级无公害的生态绿色养殖基地。

3.5 严格执行国家有关饲料、兽药管理规定, 控制药物残留 在畜禽饲养环节中, 严禁使用国家明令禁止、国际卫生组织禁止使用的所有药物, 严格按照用药规程用药, 限制某些抗生素及药物的滥用、泛用, 加大执法整治力度, 不定期抽样检查, 确保产品的安全, 减少对人畜的污染。各级政府应对药物残留抽样监测给予资金支持, 确保此项工作的顺利开展。

速可生在断奶仔猪上的应用试验

岑健明¹, 黄如渠², 刘裔海¹, 周少斌¹

(1. 广东省湛江农垦畜牧有限公司海鸥分公司, 广东 湛江 524132; 2. 广东省湛江农垦畜牧有限公司, 广东 湛江 524022)

中图分类号: S859.79*9.9

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0012-01

近年来猪病逐渐趋向复杂化, 许多猪场普遍感到各阶段猪群的疾病防控难度越来越大, 特别是断奶仔猪, 受其母源抗体下降以及环境、饲料等内外应激因素的影响, 导致其抵抗力下降, 极易感染病原体, 从而造成死亡率和淘汰率上升。笔者根据对猪场内发病的断奶仔猪临床症状、发病特点的观察, 结合尸检解剖的病理变化, 发现继发细菌(如副猪嗜血杆菌、支原体、链球菌、胸膜肺炎放线杆菌等)感染是导致死亡率和淘汰率上升的一个重要原因。为了控制继发细菌感染, 降低死亡率, 筛选高敏药物, 本试验选用速可生(注射用头孢噻唑钠粉剂)作为断奶仔猪的预防保健用药, 来验证其实际效果。

1 材料和方法

1.1 试验目的 速可生的应用效果及探讨注射的最佳时间。

1.2 试验地点 湛江农垦畜牧公司海鸥分公司猪场。

1.3 试验时间 2008年3月17日至5月25日, 每个批次的试验时间为30天。

1.4 试验药物 速可生, 韩国 LG life science 生产, 规格是 1 g/瓶, 产品批号 AAA07009, 生产日期: 2007年10月25日。

1.5 用法和剂量 每瓶速可生用 100 mL 注射用水稀释后每头猪注射 1.5 mL, 即 15 mg/头。

1.6 试验方法 试验分 A、B、C 三个批次进行, 试验头数分别为 737 头、698 头和 747 头。A 组为对照组, 不肌注速可生; B、C 组为试验组, 每头断奶猪肌注速可生 1.5 mL。另外在 C 组中再分为三个不同日龄亚组, 分别做 35 日龄、40 日龄、45 日龄的肌注试验, 各组选取的头数分别是 246 头, 258 头, 243 头。记录试验过程中各组的死亡数、淘汰

数、日增重的数据进行统计。

1.7 试验组和对照组猪群均实行自由饮水, 按常规进行消毒, 免疫和饲养管理。

2 试验结果

从表 1 和表 2 的统计数据可看出, 肌注速可生的 B、C 组的成活率分别为 96.7%、95.7%, 比不肌注速可生的 A 组提高了 3.5%、2.5% (见表 1)。肌注速可生的 B、C 组的日增重比不肌注速可生的 A 组增加 0.08~0.1 kg (见表 2)。试验中肌注速可生的较佳日龄为 40 日龄, 此时期治愈率比 35 日龄和 45 日龄的分别提高 2.6%、1.8% (见表 2)。

表 1 三个组试验结果

分组	A组	B组	C组
入栏时间	3月17日-3月24日	3月24日-4月11日	4月18日-4月25日
处理	不处理	肌注速可生	肌注速可生
试验数量(头)	737	698	747
死亡数(头)	41	16	25
淘汰数(头)	9	7	7
成活率(%)	93.2	96.7	95.7
入栏均重(kg)	7.21	7.28	7.25
出栏均重(kg)	16.67	17.04	16.95
日增重(kg)	0.315	0.325	0.323

表 2 不同日龄肌注速可生的情况统计

不同日龄亚组	肌注头数	死亡头数	淘汰头数	治愈率 ¹⁾ (%)
35日龄	246	11	3	94.3
40日龄	258	2	5	97.2
45日龄	243	5	6	95.4

1): 治愈为无拉稀, 无喘气, 食欲正常, 精神状况较好等。

3 分析和讨论

3.1 从表 1 可以看出, 应用注射一次速可生的 B、C 组的成活率分别比 A 组提高 3.5 和 2.5 个百分点, 差异显著 ($P < 0.05$)。因此可以说明针对断奶仔猪的继发感染, 使用速可生有很好的效果。

(下转第 24 页)

徐州地区散养奶牛酮病的调查分析与防治对策

张善芳, 王庆林, 王海军

(徐州生物工程高等职业学校, 江苏 徐州 221006)

中图分类号: S858.23

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0013-02

随着奶牛养殖业的发展和奶牛产奶量的提高, 奶牛酮病的发病率呈上升趋势。散养奶牛群因饲养管理不当等原因, 此类问题更为严重。此次针对徐州铜山、贾旺两地 500 余头散养成年母牛进行酮病抽样调查, 以了解其发病情况、发病规律, 为及早防治、合理饲养提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 调查时间及血样来源 本试验于 2008 年 2 月 19 日至 5 月 11 日分三个阶段进行。第一阶段: 2 月 19 日至 3 月 6 日, 测定 61 头奶牛; 第二阶段: 3 月 24 日至 4 月 8 日, 测定 65 头奶牛; 第三阶段: 4 月 26 日至 5 月 11 日, 测定 54 头奶牛, 共计 180 头。采样分别来自徐州铜山、贾旺两地 23 个散户 500 余头成年母牛。将其分为高产牛、产后牛、干奶牛和患病牛四种类型。其中, 高产奶牛日产在 25 kg 以上, 产后牛为产后 14 d 以内的牛, 患病牛指存在胎衣不下、肢蹄病、产后瘫痪等疾病的奶牛。每次随机抽样, 并记录采样牛的具体情况和资料。采样一般于上午 7:15 开始, 通过尾静脉采血 5 mL, 肝素抗凝处理, 血浆分装于小塑料管中封口后作标记, 并置于冰盒内送实验室检测。未完成检测的血样置冰箱 4℃ 保存。

1.2 检测内容和方 法 血中酮体的检测采用快速全血酮体测试仪(北京怡成生物电子技术有限公司生产)快速检测。测试时间为 60 秒; 测量精密密度 CV(变异系数) < 7.5%; 测量精确度误差 ≤ 0.03 mg/DL。

1.3 正常参考值 健康奶牛的正常血酮含量在

10 mg/DL 以下。

2 结果与分析

2.1 血酮检测结果 从表 1 可见, 在全部 180 头被测试牛中, 共有 38 头被检出酮体阳性反应, 发病率为 21.11%。其中, 第一阶段测定的发病率最高, 第二阶段次之, 第三阶段为最低, 这可能与饲料和饲养管理的逐步改善有关。在 38 头酮体阳性牛中, 含量为 10~20 mg/DL 的占 39.47% (15/38), 含量为 20~30 mg/DL 的占 47.37% (18/38), 含量为 30~40 mg/DL 的占 7.89% (3/38), 含量为 40~50 mg/DL 的占 5.26% (2/38)。在各类型奶牛中, 阳性率最低的是干奶牛, 而产后奶牛的阳性率最高, 这符合奶牛酮病多发于奶牛产后第一个泌乳月的规律。这是因为奶牛产后早期的泌乳高峰出现快, 机体对糖的需求量也随之大大增加, 而奶牛食欲恢复较慢, 容易因为饲料或消化生理等原因导致糖的来源不够, 出现能量负平衡。此时, 奶牛会动用体内储备, 分解脂肪以补充糖的不足, 而产后催乳素的分泌也使脂肪、生糖氨基酸和糖原的动员和异生作用加强。如果此时从饲料中获得的生糖的丙酸供应不足, 就会加剧糖的缺乏, 最终引起体内酮体的蓄积而发病。

从表 2 可看出, 初产牛(即头胎牛)酮体阳性率最高, 二胎牛较高, 三、四胎次的牛阳性率较低, 而五胎和五胎以上的牛酮体阳性率基本相同。在 38 头酮体阳性牛中, 第一胎奶牛占 50% (19/38), 第二胎牛占 28.95% (11/38), 第三胎牛占 10.53% (4/38), 四胎牛占 5.26% (2/38), 五胎牛占

表 1 采样奶牛血酮的阳性率

组别	第一阶段	第二阶段	第三阶段	各类型牛的阳性率
高产牛	15.38%(2/13)	5.56%(1/18)	16.67%(2/12)	11.63%(5/43)
产后牛	70.59%(12/17)	28.57%(6/21)	23.08%(3/13)	41.18%(21/51)
干奶牛	12.50%(2/16)	0(0/10)	0(0/11)	5.41%(2/37)
患病牛	46.67%(7/15)	12.50%(2/16)	5.56%(1/18)	20.41%(10/49)
各阶段阳性率	37.70%(23/61)	13.85%(9/65)	11.11%(6/54)	21.11%(38/180)

表 2 不同胎次奶牛血中酮体的检测结果

胎次	一胎	二胎	三胎	四胎	五胎	五胎以上
头数	54	61	32	15	9	9
发病头数	19	11	4	2	1	1
酮体阳性率	35.19%	18.03%	12.5%	13.33%	11.11%	11.11%

2.63% (1/38), 五胎以上的牛占 2.63% (1/38)。本次测定初产牛的血酮阳性率最高, 这与其它描述有一定差异, 但类似现象在生产中并不少见。可能与散养育成牛 (6 月龄至分娩前的母牛) 饲养管理不当有关。具体原因有待进一步研究探讨。

另外, 在酮体阳性牛中, 有 3 头牛食欲精神极差, 7 头患有其它疾患, 占酮体阳性牛总数的 26.32% (10/38), 其中有 2 例胎衣不下, 2 例子宫炎症, 1 例产后虚脱, 2 例肢蹄病, 另有 3 例消化系统疾病。

2.2 分析 生产实践中, 无论在规模化的奶牛场还是散养户, 都有酮病发生, 该病可促进代谢性酸中毒和肢蹄病的发生, 又可导致机体代谢紊乱, 使奶牛产后繁殖力下降, 特别是会造成产奶量急剧下降, 从而对奶牛健康和养牛业经济效益构成威胁。大多数酮病奶牛, 在通过合理的治疗可以痊愈, 不过有时易复发, 尤其是继发性酮病更应注重治疗原发性疾病。

治疗酮病的方法有替代疗法和激素疗法。替代疗法即用 50% 葡萄糖溶液 500 mL, 静脉注射, 对大多数病牛有明显效果, 但为防止复发, 应重复注射 2~3 次。也有人采用口服丙二醇或甘油的做法, 经实践证明效果不佳。激素疗法即用 ACTH (促肾上腺皮质激素), 因其能兴奋肾上腺的皮质, 促进糖皮质类固醇激素的分泌, 动员组织蛋白的糖原异生作用, 从而使机体血糖维持适当的浓度。一般用量为 200~600 IU, 肌肉注射, 比较方便。

在生产中, 对于奶牛酮病应着重搞好预防工作。比如在奶牛产犊前提供能量较高的饲料, 分娩后适当再补充能量。这应视奶牛体况而定, 不要使其过肥或过瘦。同时, 日粮中蛋白质含量应适中, 约占 16%。此外, 所饲粗饲料必须适口性较好、易消化和富有营养。在饲料中适当添加丙酸钠也可有效预防酮病的发生。

邮订代号: 62-184

畜牧业

2009年

畜牧业

四川省民生药业有限责任公司
SICHUAN MINSHENG PHARMACEUTICAL CO., LTD.

为顾客创造价值 我们永恒的追求

MS SCMSMS

阿群益加群 维生素 畜禽药品

★ 质量保证 ★ 价格合理 ★ 品种齐全 ★ 方便快捷 ★ 服务优良

成都地址: 成都市静瑜路2号沙湾农贸市场1区2幢2号 邮编: 610066
联系电话: 028-84792887 68259125 传真: 028-84670999
网址: http://www.scms.com Email: scms@126.com

为调整基层读者负担, 我刊单月为邮方差续版, 双月为邮方差续版, 请各养殖户在邮局订 (代号: 62-285), 畜牧饲料版直接汇款到编辑部订阅。订价均为48元。

● 全年12期订户可凭订阅手续, 发布4次分类广告

行业发展新思路、新经验; 产销行情新评述、新分析

育种繁殖、日粮配制、饲养管理、畜禽病诊断与治疗新技术

动物科学、动物医学、动物营养学研究新热点、新进展、新成果

搞畜牧养殖 订《畜牧业》实用 买畜牧药品 找“四川民生”可靠

地址: 中国成都市人民南路四段63号
嘉云乙8A 畜牧业杂志社
邮编: 610041 电话: (028) 85252331
Http: //www.xqyzs.cn

每月104页, 25万字。全年12期, 每月15日出版 国内外公开发行。零售每期10元。
邮订价: 每期8元, 全年96元。

临床健康猪群猪繁殖与呼吸综合征病毒变异株存在情况调查与分析

王连想^{1,2}, 孙彦伟¹, 田云¹, 孔令辰¹, 查云峰¹, 任裕其¹, 马静云², 毕英佐²

(1. 广东省动物防疫监督总站, 广东 广州 510230; 2. 华南农业大学动物科学学院, 广东 广州 510642)

摘要: 对华南地区 152 个规模场和 102 个个体养殖场 / 散养户临床健康猪群的 2934 份血清样品进行 PRRSV 变异株 (NSP2 1594-1680 bp 缺失) 核酸检测, 结果阳性 49 份, 阳性率为 1.67%。总计 254 个场 (户) 中 18 个 PRRSV 变异株核酸阳性, 场 (户) 阳性率为 7.09%。其中 152 个规模场中 5 个阳性, 场阳性率为 3.3%; 102 个个体养殖场 / 散养户中 13 个阳性, 场 (户) 阳性率为 12.8%。结果表明 PRRSV 变异株 (NSP2 1594-1680 bp 缺失) 在华南地区各种类型猪场中都存在, 其中在个体养殖场 / 散养户中存在的几率高于规模猪场。提取来源于 1 个规模场和 2 个个体养殖场 3 份阳性样品核酸进行 PRRSV NSP2 部分基因序列测定和分析, 所获得的氨基酸序列与 CH-1a、VR-2332 等经典美洲型毒株相比, 均在 481 位缺失 1 个氨基酸, 在 532-560 位连续缺失 29 个氨基酸, 与 2006 年以来国内分离的高致病性猪蓝耳病病毒 JXA1、HUN4、HPDEBV 等具有相同的缺失特性。鉴于 PRRSV 变异株 (NSP2 1594-1680 bp 缺失) 在生产中已造成很大损失, 各养殖生产场必须强化以有效免疫、消毒、生物安全措施为主的综合防控工作。

关键词: 猪繁殖与呼吸综合征病毒; 变异株; NSP2 基因; 调查

中图分类号: S856

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0015-03

猪繁殖与呼吸综合征 (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome, PRRS), 又称猪蓝耳病, 是由猪繁殖与呼吸综合征病毒 (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus, PRRSV) 感染引起的高度传染性免疫抑制性疾病, 是当前养猪生产中疫病控制的重点和难点^[1]。我国 1996 年首次报道本病, 关于该病发生、流行以及研究的报告日趋增多^[2-3]。2006 年以来在我国多个省份暴发流行并造成生猪大量死亡的猪“高热病”原病原被证实为 PRRSV 变异株 (NSP2 1594-1680 bp 缺失)^[4-5]。该毒株出现两个位点 30 个氨基酸缺失, 感染猪群可引起高发病率、高死亡率, 被认为是导致 2007 年猪肉价格大幅上涨的重要原因之一。NSP2 是各毒株间差异较大的一个编码区, 具有种特异性, 美洲株和欧洲株的氨基酸序列同源性仅为 40% 左右。NSP2 与 PRRSV 对细胞或组织的嗜性有关, 在遗传关系很近的毒株间也可有较大差异。加强对 NSP2 基因的研究, 对揭示病毒变异和毒力变化有很大帮助。

本研究采集华南地区各种类型猪场临床健康猪群血清进行 PRRSV 变异株 (NSP2 1594-1680 bp 缺失) 核酸检测, 调查该毒株在猪场 (群) 中的存在情况, 同时对部分阳性样品进行 NSP2 部分基因序列测定和分析, 确定检测方法的可靠性, 探讨

PRRSV 变异株的致病机理和感染发病规律, 为提高养殖生产者对 PRRSV 的认识, 以及提高疫病综合防控能力提供指导。

1 材料与方法

1.1 被检血清和载体、菌种、酶等试剂 2007 年 5-12 月, 无菌采集于华南地区 152 个规模场和 102 个个体养殖场 / 散养户临床健康猪群血清样品 2934 份, -20℃ 保存备用。临床健康猪群未表现明显临床症状。pMD18-T Vector, 一步法 RT-PCR 试剂盒、连接试剂盒、Ex Taq 酶, DNA Marker 2000, dNTPs 均为 Takara 公司产品; DNA 胶回收试剂盒、质粒提取试剂盒购自美国 Omega 公司; 大肠杆菌 DH5 α 由华南农业大学动物科学学院基因工程实验室保存; 其它试剂均为国产分析纯。

1.2 检测试剂盒与结果判定 PRRSV (NSP2 1594-1680 bp 变异株) RT-PCR 检测试剂盒 (农业部兽医诊断中心产品), 按说明书的要求和步骤操作。结果判断: 在阳性对照出现 400 bp 扩增带、阴性对照无扩增带出现时, 被检样品出现 400 bp 扩增带则为 PRRSV (NSP2 1594-1680 bp 缺失) 阳性, 否则为阴性。必要时, 对扩增产物进行序列测定。

1.3 NSP2 基因部分片段的克隆与鉴定 针对 PRRSV 设计 NSP2 基因引物, 优化反应条件, 用一步

法 RT-PCR 试剂盒扩增出 NSP2 基因部分片段。引物为上游 5' -AGCTTAAAGACCAGATGGA-3', 下游 5' -AAGATCCCCAGCACTTTT-3'。RT-PCR 反应体系: 提取的病毒 RNA 2.5 μL, 酶混合物 1 μL, 缓冲液 12.5 μL, 上游引物 0.5 μL, 下游引物 0.5 μL, 加 DEPC 水至 25 L。反应条件: 50°C 30min, 94°C 3min, 然后 94°C 45s, 55°C 45s, 72°C 2min, 30 个循环。PCR 产物经回收、连接 T 载体、转化和 PCR、酶切鉴定后送上海生工生物工程技术有限公司测序。

1.4 NSP2 部分基因序列分析 使用 DNASTar 和 NCBI BLAST 分析测序结果, 并与国内外主要美洲型 PRRSV 氨基酸序列进行比较分析。

2 结果

2.1 临床健康猪群 PRRSV 变异株 (NSP2 1594-1680 bp 缺失) 存在情况调查结果 对华南地区 152 个规模场和 102 个个体养殖户 / 散养户临床健康猪群血清样品 2 934 份进行 PRRSV 变异株 (NSP2 1594-1680 bp 缺失) 核酸检测, 结果阳性 49 份, 阳性率为 1.67%。254 个场 (户) 中 18 个 PRRSV 变异株核酸阳性, 场 (户) 阳性率为 7.09%。52 个规模场中 5 个阳性, 场阳性率为 3.3%; 102 个个体户 / 散养户中 13 个阳性, 场 (户) 阳性率为 12.8%。

2.2 NSP2 部分基因序列分析 测定并获得 1 个规模场 PRRSV NSP2 部分基因序列 (命名为

NSP2GM) 和 2 个体养殖场 NSP2 部分基因序列 (分别命名为 NSP2GT1、NSP2GT2), 基因序列均为 855 bp, 编码 285 个氨基酸, 与 CH-1a、VR-2332 等经典毒株相比 481 位缺失 1 个氨基酸、532-560 位连续缺失 29 个氨基酸, 与 2006 年以后国内分离的 PRRSV 变异株 JXA1、HUN4、HPDEBV 具有相同的缺失特性 (图 1)。3 个基因序列之间的相似性为 97.3%~97.8%, 与变异株 JX-A1、HUN4、HPDEBV 高度同源, 相似性 97.9%~99.4%, 与国内分离的经典株 CH-1a 相似性 88.9%~89.4%, 而与 BJ-4、MLV Resp PRRS-Repro、RespPRRS MLV、P129、VR-2332 等经典毒株相似性仅为 73.8%~77.4% (图 2)。根据 NSP2 基因编码产物氨基酸序列建立的遗传进化树分析表明, 3 个基因序列与 JX-A1、HUN4、HPDEBV 关系最近; 与 CH-1a、NVSL 等经典株关系较近, 同属一个大分支; 而与 BJ-4、MLV RespPRRS-Repro、P129、RespPRRS MLV、VR-2332 等经典毒株处于不同分支 (图 3)。

3 讨论

自 1996 年我国首次报道 PRRS 以来, PRRSV 对猪场的感染非常普遍, 王连想等^[6]已从血清学角度证实广东省猪场遭受 PRRSV 感染日益严重, 大部分猪场存在 PRRSV 感染。陈义祥等^[7]2004-2005 年对广西全区猪场进行 PRRSV 感染情况调查, 结果表明 PRRSV 感染在广西普遍存在, 已对当地养猪业造成

表 1 临床健康猪群 PRRSV 变异株 (NSP2 1594-1680bp 缺失) 存在情况调查结果统计表

地区	检测结果											
	血清			猪场			规模场			个体养殖场 / 散养户		
	血清数	阳性数	阳性率 (%)	猪场数	阳性数	阳性率 (%)	猪场数	阳性数	阳性率 (%)	场户数	阳性数	阳性率 (%)
A	200	3	1.50	15	2	14.29	6	1	16.67	9	1	11.11
B	244	0	0	14	0	0	8	0	0	6	0	0
C	190	0	0	9	0	0	9	0	0	0	0	0
D	134	6	4.48	15	1	6.67	10	0	0	5	1*	20.00
E	111	4	3.60	11	2	18.18	7	2	28.57	4	0	0
F	132	2	1.52	16	1	6.25	10	0	0	6	1	16.67
G	240	7	2.92	20	3	15.00	12	0	0	8	3	37.50
H	100	2	2.00	15	1	6.67	12	0	0	3	1	33.33
I	105	12	11.43	18	4	22.22	6	0	0	12	4	33.33
J	234	0	0	13	0	0	7	0	0	6	0	0
K	214	0	0	13	0	0	8	0	0	5	0	0
L	94	5	5.32	15	1	6.67	10	0	0	5	1*	20.00
M	217	0	0	15	0	0	8	0	0	7	0	0
N	215	0	0	16	0	0	11	0	0	5	0	0
O	110	5	4.55	15	1	6.67	11	1 ^{*)}	9.09	4	0	0
P	197	0	0	8	0	0	6	0	0	2	0	0
Q	92	2	2.17	11	1	9.09	5	1	20	6	0	0
R	105	1	0.95	15	1	6.67	6	0	0	9	1	11.11
合计	2934	49	1.67	254	18	7.11	152	5	3.28	102	13	12.75

1): * 测定 NSP2 部分基因序列的猪场来源。

13 Sequences	480	490	500	510	520	530	540	550	560	570	580
VR-2332	DVPNSWEDLAVSSPFDLPTPEPATPSSSELVIVSSPQCFRATPLSEPAIPAPRGTVSRPVTPLSEPIVVPAPRRKFQVKRLSSAAAIIPPYQNEPLDLSASSQTEYEASPPA										
CH1a	NVPNGWEDFAVGGPLDFTTPEPATPSSSELVIVSSPQCFRATPLSEPAIPAPRGTVSRPVTPLSEPIVVPAPRRKFQVKRLSSAAAIIPPYQNEPLDLSASSQTEYEASPPA										
NVSL	NVPDGRDLTVGGPLDFTTPEPATPSSSELVIVSSPQCFRATPLSEPAIPAPRGTVSRPVTPLSEPIVVPAPRRKFQVKRLSSAAAIIPPYQNEPLDLSASSQTEYEASPPA										
P129	DVPNSWEDLAVSSPFDLPTPEPATPSSSELVIVSSPQCFRATPLSEPAIPAPRGTVSRPVTPLSEPIVVPAPRRKFQVKRLSSAAAIIPPYQNEPLDLSASSQTEYEASPPA										
RespPRRS ML	DVPNSWEDLAVSSPFDLPTPEPATPSSSELVIVSSPQCFRATPLSEPAIPAPRGTVSRPVTPLSEPIVVPAPRRKFQVKRLSSAAAIIPPYQNEPLDLSASSQTEYEASPPA										
MLV RespPRR	DVPNSWEDLAVSSPFDLPTPEPATPSSSELVIVSSPQCFRATPLSEPAIPAPRGTVSRPVTPLSEPIVVPAPRRKFQVKRLSSAAAIIPPYQNEPLDLSASSQTEYEASPPA										
BJ-4	DVPNSWEDLAVSSPFDLPTPEPATPSSSELVIVSSPQCFRATPLSEPAIPAPRGTVSRPVTPLSEPIVVPAPRRKFQVKRLSSAAAIIPPYQNEPLDLSASSQTEYEASPPA										
HPBEDV	NVPNGSEE-TVGGPLNFTTPEPATPSSSELVIVSSPQCFRATPLSEPAIPAPRGTVSRPVTPLSEPIVVPAPRRKFQVKRLSSAAAIIPPYQNEPLDLSASSQTEYEASPPA										
HUN4	NVPNGSEE-TVGGPLNFTTPEPATPSSSELVIVSSPQCFRATPLSEPAIPAPRGTVSRPVTPLSEPIVVPAPRRKFQVKRLSSAAAIIPPYQNEPLDLSASSQTEYEASPPA										
JXA1	NVPNGSEE-TVGGPLNFTTPEPATPSSSELVIVSSPQCFRATPLSEPAIPAPRGTVSRPVTPLSEPIVVPAPRRKFQVKRLSSAAAIIPPYQNEPLDLSASSQTEYEASPPA										
NSP2GT1	NVPNGSEE-TVGGPLNFTTPEPATPSSSELVIVSSPQCFRATPLSEPAIPAPRGTVSRPVTPLSEPIVVPAPRRKFQVKRLSSAAAIIPPYQNEPLDLSASSQTEYEASPPA										
NSP2GM	NVPNGSEE-TVGGPLNFTTPEPATPSSSELVIVSSPQCFRATPLSEPAIPAPRGTVSRPVTPLSEPIVVPAPRRKFQVKRLSSAAAIIPPYQNEPLDLSASSQTEYEASPPA										
NSP2GT2	NVPNGSEE-TVGGPLNFTTPEPATPSSSELVIVSSPQCFRATPLSEPAIPAPRGTVSRPVTPLSEPIVVPAPRRKFQVKRLSSAAAIIPPYQNEPLDLSASSQTEYEASPPA										

图1 部分 NSP2 推导氨基酸序列与国内外毒株的序列比较

		Percent Identity												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Divergence	1	100	80.7	78.5	99.9	99.9	99.7	99.3	77.0	76.7	77.0	76.3	77.4	75.2
	2	20.1	100	93.5	80.6	80.6	80.4	79.8	89.7	89.7	88.9	89.4	88.9	2
	3	22.6	6.4	100	78.4	78.4	78.1	77.6	87.3	87.3	87.3	86.8	87.0	86.9
	4	0.1	20.3	22.8	100	99.8	99.4	76.7	76.5	76.7	76.0	77.2	75.0	4
	5	0.1	20.3	22.8	0.0	100	99.8	99.4	76.7	76.5	76.7	76.0	77.2	75.0
	6	0.3	20.6	23.1	0.2	0.2	100	99.2	76.6	76.4	76.6	75.9	77.1	74.9
	7	0.2	20.5	23.1	0.1	0.1	0.3	100	75.6	75.3	75.6	74.9	76.0	73.8
	8	23.2	9.0	11.6	23.4	23.4	23.5	23.6	99.8	100.0	98.4	99.4	98.1	8
	9	23.5	9.0	11.6	23.7	23.7	23.9	24.0	0.2	0.2	99.8	98.1	99.2	97.9
	10	23.2	9.0	11.6	23.4	23.4	23.5	23.6	0.0	0.2	98.4	99.4	98.1	10
	11	23.8	9.7	12.0	24.0	24.0	24.2	24.3	1.5	1.8	1.5	97.8	97.3	11
	12	23.0	9.4	12.0	23.2	23.2	23.4	23.5	0.6	0.8	0.6	2.1	97.5	12
	13	25.7	10.1	12.1	25.9	25.9	26.1	26.2	1.9	2.1	1.9	2.8	2.5	13
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13

图2 NSP2 推导氨基酸与国内外毒株的同源性分析

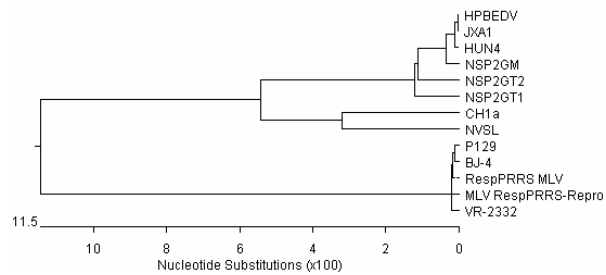


图3 NSP2 部分基因氨基酸进化树

较大的经济损失。近年来 PRRS 危害性不断加重, 所造成重大损失的报道屡见不鲜。

2006 年 Tian 等^[4]证实两个位点 30 个氨基酸缺失的 PRRSV 变异株 (NSP2 1594-1680 bp 缺失) 出现, 是造成华南地区多个省份大量生猪死亡的“高热病”疫情的原发病原, 并对养猪生产造成严重损失, 甚至造成民众恐慌。本研究结果表明 PRRSV 变异株 (NSP2 1594-1680 bp 缺失) 在华南地区各种类型猪场都存在, 包括个体养殖场、散养户和饲养管理相对严格的规模猪场, 且在个体养殖场和散养户中存在几率远高于规模场。鉴于 PRRSV 变异株 (NSP2 1594-1680 bp 缺失) 在生产中已造成巨大损失, 各养殖生产场必须强化以有效免疫、消毒、生物安全措施为主的综合防控工作。

PRRSV NSP2 基因序列 1594-1680 位核苷酸缺失是 2006 年我国暴发所谓“高热病”以来猪场 PRRSV 分离株的一个显著特征, 且不同省市猪场流行的 PRRSV 相互之间高度同源, 这些基因的缺失和结构蛋白基因序列的突变, 可能与毒力的改变具有非常重要的相关性^[5]。本研究提取 3 个来源于不同地区猪场血清样品中病毒核酸测定 PRRSV NSP2 部分基因序列, 结果表明所获得的 3 个 PRRSV NSP2 部分基因序列之间高度同源, 与经典美洲型 PRRSV 毒株 CH-1a、VR-2332 相比, 在 481 位和 532-560 位氨基酸发生缺失, 与 2006 年以来流行的高致病性 PRRSV JXA1、HUN4、HPBEDV 等高度同源。分析结果也

证实猪繁殖与呼吸综合征病毒 (NSP2 1594-1680 变异株) RT-PCR 检测试剂盒具有较高的特异性, 调查结果可靠。样品采集时猪场 (群) 临床健康, 未出现异常发病和死亡, 这可能与猪群处于早期感染状态有关, 也可能与该变异毒株对猪群的适应性有很大关系。因此在临床上并未造成重大损失的 PRRSV 变异株 (NSP2 1594-1680 bp 缺失) 是否适应某些猪场, 并在其中增殖值得进一步研究, 这些毒株是否存在其它部位变异而使毒力减弱也需要探讨。

参考文献:

- [1] Cho JG, Dee SA. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus[J]. Theriogenology, 2006, 66(3): 655-662.
- [2] 任向阳, 王川庆, 陈陆, 等. 猪繁殖与呼吸综合征病毒地方株的分离与鉴定[J]. 动物医学进展, 2007, 28(3): 16-19.
- [3] 黄伟坚, 卢桂娟, 陈樱, 等. 南方三省猪繁殖与呼吸综合征病毒分子流行病学调查研究[J]. 中国预防兽医学报, 2007, 29(2): 150-154.
- [4] Kegong Tian, Xiuling Yu, Tiezhu Zhao, et al. Emergence of Fatal PRRSV Variants: Unparalleled Outbreaks of Atypical PRRS in China and Molecular Dissection of the Unique Hallmark[J]. PLoS ONE, 2007, 2(6): e526
- [5] 童光志, 周艳君, 都晓芳, 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, 25(9): 323-327.
- [6] 王连想, 任裕其, 卢洪芬, 等. 广东省猪繁殖与呼吸综合征抗体十年检测结果分析[J]. 广东畜牧兽医科技, 2007, 32(2): 45-46.
- [7] 陈义祥, 胡丽萍, 刘翠权, 等. 广西猪繁殖与呼吸综合征病毒感染状况调查[J]. 畜牧与兽医, 2005, 37(12): 6-8.

鸡组织滴虫病的病理学诊断

侯月娥, 罗敏意, 于博, 秦先文, 庄庆均, 潘俊斌, 孔小明

(华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

中图分类号: S852.16*6

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0018-01

组织滴虫病也叫传染性盲肠肝炎或黑头病,是由组织滴虫属的火鸡组织滴虫 (*Histomonas meleagridis*) 寄生于禽类的盲肠和肝脏而引起的一种寄生性原虫病^[1]。火鸡、鸡、鹌鹑等禽类均可感染,鸡的组织滴虫病多发生在4~10周龄^[2]。该病除造成鸡只死亡等直接经济损失外,还会导致饲料报酬降低和继发其他疾病,给养鸡生产带来损害^[3]。2007年10月广东某养殖场蛋鸡发病,主要症状表现为绿色下痢、精神不振、鸡冠发紫,零星死亡。经采取相应的治疗措施,对症下药挽回了较大的经济损失。

1 材料与方 法

1.1 材料 病料来源于广州市某鸡场90日龄的病死鸡;显微镜、脱水机、包埋机、切片机、小型水浴箱、烘干机等;10%甲醛溶液、无水乙醇、二甲苯(99.0%)、石蜡(56~65℃)、苏木精、伊红、盐酸(36%~38%)、中性树胶。

1.2 方 法

1.2.1 发病情况调查 调查方法采取现场观察、组织技术员座谈、访问饲养员、临床检查、病理剖检等多种形式进行调查分析。

1.2.2 盲肠粘膜刮取物检查 剪开盲肠除去内容物及肠黏膜的坏死痂,取盲肠粘膜表面刮取物于载玻片上,滴加40℃生理盐水稀释,显微镜下观察。

1.2.3 组织学观察 将病理剖检后取出有典型病变的肝脏、盲肠置10%的中性福尔马林液中固定48h,经流水冲洗,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,常规石蜡包埋,4μm切片,HE染色,显微镜观察。

2 结 果

2.1 发病情况调查与临床诊断结果 该养殖场饲养3000只蛋鸡,90日龄起开始发病,1周后出现零星死亡,10d后每天死亡数增至50只,2周后就诊时死亡率已达5%。发病率约为15%。

发病初期症状不明显,逐渐精神不振、食欲减

退、蜷体缩颈、行动呆滞、羽毛松乱、翅下垂、排淡黄色或淡绿色稀粪。严重者粪便带血。鸡冠及髯部发紫,呈暗黑色,可视黏膜苍白。病鸡多在表现明显症状后2~4d内死亡。

2.2 病理剖检结果 剖检病变主要在盲肠和肝脏。盲肠一侧或两侧肿大,外观似腊肠样,内充满干燥、坚硬、干酪样的凝固栓子,剥离时肠壁只剩下菲薄的肠壁。有的病例可见盲肠粘膜出血、增厚及溃疡。肝脏肿大,质脆,表面分布大小不一,圆形或不规则,中间呈暗红色,边缘呈黄绿色的坏死灶。坏死灶中央下陷,边缘不整齐,隆起。脾、肺、肾等器官未见明显病变。

2.3 盲肠粘膜刮取物检查结果 可见液体中单个或成簇分布的虫体。虫体呈圆形或椭圆形,胞质中央或偏侧有一具折光性的囊泡状核。

2.4 病理组织学诊断结果 盲肠:盲肠黏膜充血、淤血,上皮细胞变性、坏死、脱落,纤维素渗出,固有层可见红色圆形或椭圆形虫体,并见淋巴细胞、异嗜性粒细胞和巨噬细胞浸润。病变严重部位,可在肌层内发现含虫体的病灶。肝脏:可见坏死灶中心部的肝细胞坏死、崩解,形成均质团块;外围区域的肝细胞索排列紊乱,肝细胞变性、坏死和崩解,其间有大量虫体分布;巨噬细胞,伴淋巴细胞浸润,巨噬细胞的胞浆内有组织滴虫。组织滴虫的包囊多沿门管区分布且着色较周围的肝组织浅,包囊大都形成了四叠体、五叠体或六叠体(图1、图2)。

2.5 治疗 每天二甲硝基咪唑40~50mg/kg体重投药,连续3~5d之后剂量改为25~30mg/kg,连喂2周;搞好环境卫生和器具清洗、消毒。尔后,死亡率降低,症状消失,鸡群状况明显好转。

3 讨论与小结

鸡组织滴虫病与球虫病、异刺线虫病等症

(下转第43页)

猪宰后如何鉴别黄脂、黄脂病、黄疸

黄泽辉¹, 洗理权¹, 傅永兴²

(1. 肇庆市端州区动物防疫监督所, 广东 肇庆 526060; 2. 肇庆市动物防疫监督所, 广东 肇庆 526060)

中图分类号: S852.69

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0019-02

宰后检疫是生猪检疫的重要环节。在宰后检疫过程中往往会有检疫员报告某某号猪胴体、器官等发“黄”的情况。这些猪皮肤、脂肪、肌肉、粘膜、内脏等呈黄色,程度、多少、深浅不一(俗称“黄腰猪”或“黄脂猪”)。黄脂、黄脂病、黄疸等都会可能出现呈黄色的现象,很易混淆。黄脂是可以食用的,而黄脂病、黄疸肉根据病情的轻重分别可作高温、食用油、工业用油、销毁等处理。要做到既不放过一头病猪,又不误判“冤枉”一头好猪,检疫中如何鉴别这些病呢?自1997年本市实行定点屠宰至今,共检出52头黄脂猪,89头黄脂病猪和134头黄疸病猪。我们认为,熟识黄脂、黄脂病、黄疸的眼观典型症状,从猪只来源、流行病学方面分析,辅以实验室检验,是可以鉴别区分这几种易混淆的病猪的。

1 黄脂

肉眼观察可见皮下、肠系膜、网膜、肾周围、腹膜等部位的脂肪组织呈深黄色,有的呈淡黄、浅黄、少数呈“南瓜黄”色,肌间的脂肪组织着色较浅,其他组织通常不染色。在显微镜观察未见脂肪组织发炎现象,也无粪腊质沉着,因此可与黄脂病区别。在一般情况下,黄脂放置时间越长颜色越淡,胴体放置24h后可褪色,在冷藏条件下更加容易褪色。黄脂与猪的遗传因素、地域因素有关。据资料介绍,长时间饲喂胡萝卜、玉米、紫云英及芜菁等含脂溶性植物黄色素的饲料时,饲料中的黄色素使脂肪组织发生异常的沉积黄染。由于该屠宰场的猪只来自河南、湖南、广西以及本地,我们通过询问猪只的来源,发现黄脂往往是外省源猪居多,这是因为外省有种植紫云英、胡萝卜、玉米等并常喂猪的习惯。

2 黄脂病(脂肪组织炎)

肉眼观察见皮下脂肪和腹部脂肪呈亮花色或

棕黄色,稍混浊,质地变硬,一般有鱼腥味,加温后更加明显。镜检,在脂肪细胞之间的间质内出现与脂肪细胞大小相似的类腊质颗粒,有时含存于巨噬细胞内。这类腊质颗粒抗酸染色呈深红色;苏木素-伊红(H.E)染色呈嗜碱性,不溶于脂肪溶剂。类蜡质的沉着、刺激引起脂肪组织发炎,脂肪细胞间有巨噬细胞、嗜中性细胞、嗜酸性细胞,有时出现多核巨细胞浸润,但不见脂肪坏死和纤维化。据有关资料介绍,该病常见于饲喂鱼粉,鱼制品残渣(鱼肝油渣、鱼皮、鱼头)、蚕蛹以及其他含不饱和脂肪饲料的情况下发生。据有关猪场调查,一般饲喂上述饲料一个月以后即可发生。

3 黄疸

肉眼观察可见除脂肪发黄外,皮肤、粘膜、浆膜、组织液、血管内膜、肌腱、骨骼以及实质器官均染成不同程度的黄色,尤其是组织液和皮肤发黄。这在黄疸的确定与黄脂病的鉴别上具有重要的证病性意义。80%以上的黄疸病肝脏和胆道都呈现病变。宰后黄疸的胴体越放越黄。这是与黄脂越放越淡的重要区别之一。黄疸是由于胆红素形成过多或排出障碍,导致血液中胆红素浓度过高,引起全身组织(神经和软骨外)染成黄色的病理现象。黄疸不是一种病,而是某些疾病的一种症状。如钩端螺旋、肝片吸虫、肝炎等都有肝黄疸症状。根据发生的原因不同,可分为实质性黄疸、阻塞性黄疸和溶血性黄疸。出现黄疸症状时,需查明黄疸的性质,是传染性的还是非传染性,特别要注意钩端螺旋体病的检查。

4 实验室检验

在眼观较难鉴别时,黄疸与黄脂可用实验方法鉴别。具体做法是:取被检脂肪,剪碎放入试管内,加5%氢氧化钠水溶液5mL,振荡煮沸1min后经流水冷却。加等量乙醚,充分振荡后静置。结

果, 胡萝卜素等黄色素溶于上层的乙醚层而呈黄色, 即为黄脂; 胆汁色素形成水溶性钠盐, 在下层的氢氧化钠层呈黄色, 即为黄疸。

5 黄脂、黄脂病和黄疸病的宰后处理

5.1 黄脂 无病变者可以食用。

5.2 黄脂病 脂肪组织化制, 胴体和内脏不受限制出场。

5.3 黄疸 脂肪可以炼油, 胴体高温处理, 内脏作化制或销毁。如果是传染性黄疸, 则应结合具体疾

(上接第 8 页)

流浪犬, 已经在数年前消灭了家养动物狂犬病, 同时也就降低了人的狂犬病发病率^[15]。而我国正好相反, 近 10 年来中国人狂犬病疫情逐年持续上升, 疫情形势十分严峻。英、美等发达国家的成功经验表明, 预防人类狂犬病的最有效措施是使犬、猫等易感动物获得有效的免疫。而我国狂犬病发生率居高不下的主要原因有: (1) 犬的饲养量在不断增加, 据不完全估计, 目前全国犬、猫饲养量达 2 亿只左右, 但免疫覆盖率却达不到标准。(2) 进口疫苗昂贵, 国产疫苗免疫效果不理想。广东东莞兽医防疫检疫站和北京某检测部门检测了部分国产兽用疫苗的实际免疫效果, 结果出人意料。有的疫苗免疫动物后, 并没有产生预期的抗体水平, 有的疫苗虽然产生了有保护作用的中和抗体, 但保护期只有几个月至半年。兽用狂犬病活疫苗免疫犬后, 在该犬唾液中狂犬病病毒抗原阳性率高, 带毒率达到 40%^[16]。(3) 大部分农村犬是散养犬或流浪犬, 难以管理。所以在我国, 兽用狂犬病疫苗还需解决很多问题, 例如要积极培育出具有更高免疫力的疫苗株, 优化生产工艺, 生产滴度高和安全性好的兽用口服弱毒疫苗; 新型疫苗在疫苗毒株稳定、免疫原性方面存在许多不足, 且研制和生产成本较高; 由于兽用灭活疫苗还处于研制阶段, 在病毒滴度、佐剂的选择、疫苗的剂型、对动物的保护期等方面都需要较长的时间才能完善。针对我国目前形势, 开发高效、安全、免疫方便且价格低廉的兽用狂犬病灭活疫苗, 对预防和控制我国狂犬病, 特别是农村地区的狂犬病有着重要的现实意义。

参考文献:

[1] Tang XC, Luo M, Zhang SY, et al. Pivotal role of dogs in rabies transmission, China[J]. Emerg Infect Dis, 2005,

病可作高温、工业用油、销毁处理。由钩端螺旋体引起的, 处理病畜及其产品、被尿液污染的废弃物时, 注意加强个人防护措施, 以防感染。

参考文献:

[1] 国家国内贸易局. 猪肉品质品质检验[M]. 1998.
[2] 动物检疫技术[M]. 第 1 版. 北京: 中国农业出版社. 1999.
[3] 动物疫病防治技术[M]. 第 1 版. 北京: 中国农业出版社. 2001.
[4] 张彦明, 余锐萍. 动物性食品卫生学[M]. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社. 2006.
11(12):1970-1972.
[2] Hu RL, Fooks AR, Liu Y. Inferior rabies vaccine quality and low immunization coverage in dogs (*Canis familiaris*) in China[J]. Epidemiol Infect, 2008, 1(4):1-8.
[3] Kathryn Senior. Rabies: a preventable killer[J]. The Lancet Infectious Diseases, 2008, 1(8):12.
[4] 殷震, 刘景华. 动物病毒学[M]. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 1997. 777-795.
[5] 俞永新. 国内外狂犬病疫苗的发展和现状[J]. 上海预防医学杂志, 2006, 5(18):216-218.
[6] Kiény MP, Lathe R, Drillien R, et al. Expression of rabies virus glycoprotein from a recombinant vaccinia-virus [J]. Nature, 1984, 312(5990):163-166.
[7] Prevec L, Campbell JB, Christie BS, et al. A recombinant human adenovirus vaccine against rabies[J]. Infect Dis, 1990, 161(1):27-30 .
[8] Yarosh OK, Wandeler AI, G raham FL, et al. Human adenovirus type 5 vectors expressing rabies glycoprotein [J]. Vaccine, 1996, 14(13):1257-1264.
[9] Yushibov V, Hooper DC, Spitsin S, et al. Expression in plants and immunogenicity of plant virus-based experimental rabies[J]. Vaccine, 2002, 20(25-26):3155-3164.
[10] Ashraf S, Singh PK, Yadav D K. High level expression of surface glycoprotein of rabies virus in tobacco leaves and its immunoprotective activity in mice [J]. J B intechol, 2005, 119(1):1-14.
[11] Nel LH, Niezgod M, Hanlon CA, et al. A comparison of DNA vaccines for the rabies-related virus[J]. Mokolavaccine, 2003, 21(19-20):2598-2606.
[12] Shoji Y, Inoue S, Nakamichi KM, et al. Generation and characterization of P gene-deficient rabies virus [J]. Virology, 2004, 318(1):295-305.
[13] 王绍华. 兽用狂犬病疫苗的进展及狂犬病的防制[J]. 中国人畜共患病杂志, 1989, 5(6):35-36.
[14] 张云, 李文辉, 王树惠, 等. 狂犬病毒 cvs-N2c 毒株糖蛋白基因的克隆和重组腺病毒的构建[J]. 基础医学与临床, 2003, 23(3):332-336.
[15] 刘涛, 王瑞. 狂犬病的流行现状及防治思考[J]. 现代畜牧兽医, 2006, (5):38-39.
[16] 周桂兰, 赵德明, 祝俊杰, 等. 兽用狂犬病疫苗免疫犬的效果评价[J]. 中国兽医杂志, 2007, 4(43):50-53.

“禽出败”病原的分离鉴定及疫苗株的筛选

何丽贤¹, 齐冬梅²

(1. 清远市清城区畜牧水产服务中心, 广东 清远 511500; 2. 广东永顺生物制药有限公司, 广东 广州 510500)

中图分类号: S852.69

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0021-02

禽出败即禽霍乱(*fowl cholera, FC*), 又称禽巴氏杆菌病、禽出血性败血症, 是由多杀性巴氏杆菌(*Pasteurella multocida*)引起的家禽和野禽的急性败血性传染病。通常呈急性败血性经过和剧烈下痢, 死亡率高。近年来在清新县的高田、清城区的东城、源潭、石角等地养鸡场陆续发生禽出败, 用药治疗可以控制鸡的死亡, 停药2~3 d后鸡又出现死亡。作者对清远地区的部分鸡场的发病或病死鸡进行禽出败病原的分离鉴定, 结果如下:

1 材料与方 法

1.1 标准菌株 C4821 株购自中国兽药监察所。

1.2 试验动物 1~3个月龄SPF鸡; 体重16~20 g小鼠(昆明系)。

1.3 培养基及主要试剂 特制马丁肉汤、琼脂斜面小管、普通琼脂斜面小管、含8%血清及裂解血球全血琼脂平板、麦康凯培养基等自制。微量生化试验管及药敏纸片购自杭州天和微生物试剂有限公司。

1.4 细菌分离纯化 无菌取病鸡及病死鸡的心血、肝脏、脑、脾等组织, 分别接种于牛鲜血琼脂、巧克力琼脂、含8%牛血清的营养琼脂、营养琼脂、麦康凯培养基, 37℃培养18~22 h。用低倍镜45°折光观察菌落荧光, 挑选疑似菌落, 接种血液琼脂斜面培养基进行生化和药敏试验。对分离纯化的细菌按常规方法进行涂片。革兰氏和瑞氏染色, 镜检。

1.5 生化试验 在微量发酵管内接种分离纯化的细菌, 37℃培养3~10 d, 观察并记录发酵管的颜色变化。同时设空白培养基阴性对照和标准菌的阳性对照。

1.6 药敏试验 常规方法进行药敏试验, 37℃培养24 h, 观察记录结果。

1.7 毒力测定 ①小鼠毒力测定: 各菌株的肉汤培养菌液, 按常规方法计数, 倍比稀释后, 每只皮下注射0.2 mL。每一菌株接种5只。观察小鼠发病死

亡情况10 d。②鸡的毒力测定: 各菌株的肉汤培养菌液, 按常规方法计数, 倍比稀释后, 按1 mL/只皮下注射2月龄SPF鸡。各菌株接种5只。观察鸡发病死亡情况10 d。

1.8 免疫原性试验

1.8.1 小鼠免疫保护试验 将各株肉汤培养菌液, 用0.3%福尔马林灭活, 按20%的量加入铝胶佐剂, 去上清液后, 每只小鼠皮下注0.5 mL, 每组5只, 14 d后用本株菌攻毒, 观察15 d。

1.8.2 鸡的免疫保护试验 选用小鼠免疫原性较好的灭活抗原, 按0.5 mL/只的剂量注射鸡, 每组5只, 14 d后用强毒菌株攻毒, 攻毒后观察15 d。

2 试验结果

2.1 细菌的分离 共分离到疑似禽出败病原多杀性巴氏杆菌12株。血琼脂斜面上生长旺盛, 多数菌株不溶血, 4株菌可见轻微溶血。普通琼脂斜面生长, 菌苔较薄, 浅灰色。抹片染色镜检为革兰氏阴性, 短小杆菌, 菌体大小有差异。在琼脂平皿上培养, 各株菌落表面光滑、滋润、灰兰色、隆起、大小差异不一。45°折光观察荧光, 荧光鲜艳呈桔红色, 属于F₀型有8株; 荧光呈兰绿色, 一边有狭窄红黄光带, 近于F_g型有4株^[1]。菌株在肉汤培养24 h时呈均匀混浊, 不产生菌膜, 大部分菌株的陈旧肉汤培养物有沉淀, 个别菌株未见沉淀物。

2.2 生化试验 所分离的12株菌均可分解葡萄糖、蔗糖、甘露醇, 产酸不产气。有8株菌可发酵山梨醇, 4株菌发酵阿拉伯胶糖。全部菌株不发酵乳糖、木糖、鼠李糖, 产生靛基质^[2]。

2.3 药敏试验 对分离菌进行药物敏感性试验, 结果表明, 分离菌对头孢三嗪、菌必治、头孢噻肟、壮观霉素、红霉素和卡那霉素等敏感。庆大霉素、强力霉素、多粘菌素B、氟哌酸、新霉素和卡那霉素等中度敏感。四环素、复方新诺明、万古霉素、杆

表 1 小鼠、鸡毒力测定试验结果

分组	小白鼠		鸡		
	(攻毒菌数)	(死亡数 / 试验动物数)	(攻毒菌数)	(死亡数 / 试验动物数)	
F0	Qy1	(5 cfu/0.2mL)	(5/5)	(5 cfu/mL)	(5/5)
	Qy4	(5 cfu/0.2mL)	(5/5)	(5 cfu/mL)	(5/5)
	Sy1	(5 cfu/0.2mL)	(5/5)	(5 cfu/mL)	(5/5)
	Sy8	(5 cfu/0.2mL)	(5/5)	(5 cfu/mL)	(5/5)
	Sy6	(5 cfu/0.2mL)	(5/5)	(5 cfu/mL)	(5/5)
	Qy9	(5 cfu/0.2mL)	(5/5)	(5 cfu/mL)	(5/5)
	Qy12	(5 cfu/0.2mL)	(5/5)	(5 cfu/mL)	(5/5)
	Qy11	(5 cfu/0.2mL)	(5/5)	(5 cfu/mL)	(5/5)
Fg	Qy14	(5 cfu/0.2mL)	(5/5)	(10cfu/mL)	(5/5)
	Qy17	(5 cfu/0.2mL)	(5/5)	(5 cfu/mL)	(5/5)
	Qy19	(5 cfu/0.2mL)	(5/5)	(5 cfu/mL)	(5/5)
	Wy1	(5 cfu/0.2mL)	(5/5)	(5 cfu/mL)	(5/5)

表 2 免疫保护试验结果

分组	小鼠攻毒结果		鸡攻毒结果		
	(攻毒菌数)	(成活数 / 试验动物数)	(攻毒菌数)	(成活数 / 试验动物数)	
F0	Qy1	(5cfu/mL)	(5/5)	(10cfu/mL)	(5/5)
	Qy4	(5cfu/mL)	(5/5)	(10cfu/mL)	(5/5)
	Sy1	(5cfu/mL)	(2/5)	(10cfu/mL)	(1/5)
	Sy8	(5cfu/mL)	(5/5)	(10cfu/mL)	(5/5)
	Sy6	(5cfu/mL)	(4/5)	(10cfu/mL)	(4/5)
	Qy9	(5cfu/mL)	(5/5)	(10cfu/mL)	(4/5)
	Qy12	(5cfu/mL)	(3/5)	(10cfu/mL)	(5/5)
	Qy11	(5cfu/mL)	(5/5)	(10cfu/mL)	(5/5)
Fg	Qy14	(5cfu/mL)	(5/5)	(10cfu/mL)	(5/5)
	Qy17	(5cfu/mL)	(1/5)	(10cfu/mL)	(4/5)
	Qy19	(5cfu/mL)	(5/5)	(10cfu/mL)	(5/5)
	Wy1	(5cfu/mL)	(5/5)	(10cfu/mL)	(5/5)

菌肽、链霉素、氨基青霉素和林可霉素等不敏感。

2.4 动物毒力测定 小鼠皮下注射 5、10、50 个活菌, 鸡肌肉注射 5、10、50 个活菌, 可在 24~48 h 内致死。表明多数菌株毒力较强。所分离的 12 株菌株中荧光类型 F₀ 的 8 株, F_g 的 4 株, 均表现很强毒力(见表 1)。

2.5 免疫保护试验 将上述分离鉴定的 12 株菌分别制备成灭活疫苗, 免疫小鼠和鸡, 免疫后 14 天用相应的各分离菌进行强毒攻击免疫。结果显示有 10 组的免疫小鼠保护率为 60% 以上。有 11 组的免疫鸡可达 80% 以上的保护率(见表 2)。

3 讨论

在生产实际中, 禽出败多呈局部暴发与地方流行, 在初期多为急性暴发, 而且地方性传播很快。因此, 在流行地区, 常规的兽医防疫措施与药物防治、疫苗预防就显得同等重要, 而且往往采取多方面综合措施才能达到理想效果。

禽出败的免疫预防主要是应用活疫苗和灭活疫苗进行免疫。而且禽出败免疫预防最关键的是选

择针对当地流行血清型的疫苗。活疫苗接种期间使用抗菌药物会抑制疫苗菌的增殖, 从而影响活疫苗的免疫效果。故使用活疫苗的前 3 d 至后 4 d 禁用抗菌药物。禽出败弱毒活疫苗仍具有一定毒力, 不宜加大剂量使用。同时, 为减弱注射疫苗产生的应激反应, 弱毒疫苗适宜于 2 月龄以上的鸡只使用。灭活疫苗接种后一般需要 14 d 才能产生较好的免疫力。目前, 禽出败灭活疫苗 1 次免疫保护率约 80%, 应同时结合采取清场、消毒、空场净化等综合防治措施。建议首免后 20 d 再进行加强免疫。灭活疫苗不受抗菌药物的干扰, 在流行地区可结合抗菌药物进行综合控制。

此次分离的 12 株菌株制备的疫苗免疫效果很好, 可以用于该地区的免疫。

参考文献:

- [1] 高福, 刘文军, 译. B W 卡尔尼克. 禽病学[M]. 第九版. 北京: 北京农业大学出版社, 1991. 134-136.
- [2] 韩文瑜, 何昭阳, 刘玉斌. 病原细菌检验技术[M]. 长春: 吉林科学技术出版社, 1992. 176-177.

紫外可见分光光度法测定恩诺沙星原料中恩诺沙星的含量

谭胜国¹, 吴镇金², 印怀文², 刘水喜²

(1. 湖南生物机电职业学院动物科技系, 湖南 长沙 410127; 2. 长沙金方堂生物科技有限公司, 湖南 长沙 410147)

摘要: 依据被测物质在特定波长处的发光强度与物质质量浓度呈正比的关系, 应用紫外分光光度法测定恩诺沙星原料中恩诺沙星的含量。恩诺沙星的检测波长为 271 nm, 与高氯酸滴定法做比较, 表明本法可有效消除基体影响。具有操作简便, 快速准确等特点, 适用于原料药质量快速检验。

关键词: 紫外分光光度法; 恩诺沙星; 测定

中图分类号: S859.79^{9.9}

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0023-02

恩诺沙星为微黄色粉末, 无臭, 遇光色渐变为橙红色, 在氢氧化钠试液中易溶。它对细菌、支原体等引起的疾病的疗效一般要优于环丙沙星、诺氟沙星等抗生素类药。其含量测定通常为高氯酸滴定法。该方法操作复杂, 在操作过程中高氯酸容易结冰, 步骤特别繁琐, 不利于中间体的检验^[1]。本文用紫外可见分光光度法测定其含量, 操作简单, 快速准确。现将具体操作过程报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 恩诺沙星对照品: 含量 100%, 来源于中国兽药监察所; 恩诺沙星原料药: 批号 Z05721-2, 含量 99.98%, 来源于湖南麓谷医药制品有限公司; 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液等所用试剂为分析纯试剂。

T6 新世纪 04-1650-03-0109 型紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; 万分之一电子天平 AR2140 型, 奥豪斯国际贸易(上海)有限公司生产; 十万分之一电子天平 ESJ182-4 型, 长沙湘平科技发展有限公司生产。

1.2 方法

1.2.1 检测波长的确定 标准液的配制: 用十万分之一的电子天平精密称取恩诺沙星对照品 0.0250 g (两份, M1、M2, 以保证精确度), 置 250 mL 棕色容量瓶中, 加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 10 mL, 振摇使溶解, 用水稀释至刻度, 若溶解不完全, 经超声处理 5 min, 冷至室温。然后, 精密量取 5 mL 置 100 mL 棕色量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 备用。波长的选择: 根据《中国兽药典》规定,

确定为 271 nm^[2]。

1.2.2 样品含量的测定 精密称取恩诺沙星粉 0.0251 g, 方法同标准液的配制。置 250 mL 棕色量瓶中, 加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 10 mL, 振摇使溶解, 用水稀释至刻度, 然后, 精密量取 5 mL 置 100 mL 棕色量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 用紫外分光光度法在波长为 271 nm 处, 可得样品吸收度。在 271 nm 处测定标准溶液与样品溶液的吸收度后, 根据两者的吸收度来计算恩诺沙星的含量。试验共检测 5 个批号样品, 每个批号同时检测 2 个平行样品, 取平均值。结果见表 1。

表 1 样品含量紫外分光光度法测定结果

样品取样	M1	M2
样品取样量(g)	0.0255	0.0256
吸收度 A 对	0.568	0.568
吸收度 A 样	0.564	0.565
空白(水)吸收度	0.000	0.000
含量	99.69%	99.87%
平均值	99.78%	
相对偏差	0.09%	

1.2.3 重复性试验 精密量取恩诺沙星粉 1 份, 按 1.2.2 的方法配制溶液, 以纯化水作空白, 在 271 nm 处分别测定标准溶液和样品溶液的吸收度, 重复操作 3 次。

1.2.4 稳定性试验 取 1.2.3 的样品溶液, 常温下放置 0、1、2、6 h, 在 271 nm 处分别测定样品溶液的吸收度, 并观察其变化。

1.2.5 测定方法比较试验 用万分之一电子天平精密称取 5 批恩诺沙星约 0.3 g 各 1 份, 分别

表 2 2 种检验方法结果比较

批号	占标示含量百分比	
	紫外分光光度法	高氯酸滴定法
20020216	99.01%	98.98%
20050517	99.06%	99.01%
20050518	99.05%	98.97%
20050520	98.91%	98.88%
20050526	98.82%	98.79%

用紫外可见分光光度法和高氯酸滴定法测定恩诺沙星含量,比较检验结果。其中,高氯酸滴定法为:取恩诺沙星约 0.3 g,精密称定,加冰醋酸 30 mL 溶解后,加橙黄 IV 指示液 10 滴,用高氯酸滴定液 (0.1 mol/L) 滴定至淡红色,并将滴定液的结果用空白试验校正^[3]。

2 结果分析

2.1 重复性、稳定性试验结果 用紫外分光光度法对同一批号样品重复检测 3 次,其恩诺沙星含量占标示含量百分比分别为 99.80,99.83,99.80, RSD (相对偏差)为 0.03%,表明该方法重现性好。

用紫外分光光度法对 5 个不同批号样品分别检测,其恩诺沙星含量占标示含量百分比分别为 100.2%,99.91%,99.98%,99.93%,100.5%,RSD 为

(上接第 12 页)

3.2 从表 1 的结果看,试验组 B、C 分别比 A 组高 0.08~0.1 kg,差异不显著 ($P>0.05$)。从 A 组增重比 B、C 组的小,可以预知 A 组在生长阶段已经遭受继发细菌的侵袭,这与我们在临床上观察到 A 批次部分断奶仔猪严重腹泻的现象比较吻合,从另一个侧面也说明了 B、C 组在应用了速可生后对于继发细菌感染的控制,同时这些数据也充分说明了现阶段断奶仔猪普遍受到免疫抑制,断奶应激,造成其生长减慢。

3.3 从表 2 显示本场采取 40 日龄注射效果较好,而在 35 日龄和 45 日龄中的治愈率和 40 日龄的比较,都有 2%~3%的差距,试验过程中笔者也对 50 日龄、60 日龄、70 日龄甚至出栏后的猪零星治疗,但效果参差不齐,特别对病重仔猪的治疗结果不够理想。同时 40 日龄也未必是最佳的时间,因不同猪场的断奶仔猪发病时间不同。已有很多试验表明,预防药物能在断奶前使用 1~2 次,然后在出现临床症状之前一周加强使用一次效果最佳。

0.25%,表明该方法精密度高,所得数据精确。在 6 h 内 4 个时间段,分别对样品溶液进行紫外扫描和测定吸收度,结果显示其谱图峰形不变,表明恩诺沙星样品溶液能在 6 h 内保持稳定^[4]。

2.2 样品测定及两种方法的比较 采用紫外分光光度法 (见表 1) 和高氯酸滴定法分别测定恩诺沙星粉样品含量,结果显示,两种方法的分析结果基本一致,表明该方法结果准确 (见表 2)。

3 讨论与小结

试验结果表明,紫外分光光度法用于测定恩诺沙星粉中恩诺沙星含量,具有操作简单,快速准确,实用性强等特点。在实际应用中,可以大大提高工作效率,有利于兽药生产过程的中间体质量检验和企业内控质量标准检验。

参考文献:

- [1] 张之,孟申南. 药物含量测定方法的比较[J]. 中国药理学通报, 2003, 10(5): 32-36.
- [2] 中华人民共和国兽药典[S]. 2000 年版二部. 北京: 化学工业出版社. 2000. 220-255.
- [3] 张龙翔. 生化实验方法和技术[M]. 北京: 高等教育出版社出版, 1998. 188-212.
- [4] 上海市医学化验所. 临床生化检验[M]. 上海: 上海科学出版社. 1982. 55-74.

3.4 据有关文献报道,目前有不少猪场存在副猪嗜血杆菌、放线杆菌、巴氏杆菌、链球菌等细菌感染,而头孢噻唑钠在临床上对上述细菌较敏感,因而本次试验有较好的效果^[1-3]。

3.5 通过试验我们可以清楚知道速可生作为一种预防药物,对于猪场现阶段来说还是有比较好的作用,但它到达某一阶段不可避免就会表现出耐药性,因此我们要通过不断地观察整体猪群的体态特征,收集和分析猪群的各种生产数据,及时的筛选出高敏的药物,这样才能克服药物耐药后带来的难题。

参考文献:

- [1] 黄剑华,陈健雄. 华南地区规模化猪场副猪嗜血杆菌病的调查及防治[J]. 养猪, 2008, (2): 34.
- [2] 陈健雄. 猪传染性胸膜肺炎及其混合感染性疾病的综合防治[J]. 养猪, 2007, (3): 49-51.
- [3] 中国兽药信息网, 当前我国猪传染病防制现状和发病特点 [OL]. http://www.ivdc.gov.cn/xinwen/syi/t20060104_22188.html.

4株PRRSV GP5蛋白编码序列的序列测定和特性分析

秦宏阳¹, 曹宗喜¹, 汤国凯², 张得玉¹, 于淼¹, 孔维立¹, 张桂红¹

(1. 华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642; 2. 江门市新会区畜牧局, 广东 江门 529100)

摘要: 针对PRRSV ORF5基因组设计了1对特异性引物, 利用RT-PCR的方法, 对在南方地区分离的4株PRRSV ORF5基因进行了基因扩增, 克隆到pMD18-T载体后测序, 获得了4株PRRSV ORF5基因全长603bp的核苷酸序列。利用生物信息学软件对4株PRRSV ORF5基因序列进行了遗传进化分析, 结果显示GD1、GD2、GD3、GD4株与美洲型参考株(VR-2332)的核苷酸序列同源性分别为87.1%、87.2%、87.1%和86.9%。利用系统进化树分析表明GD1、GD2、GD3、GD4株均属于美洲型。进一步采用序列分析软件对病毒结构蛋白推导糖基化位点比较, 结果表明不同毒株GP5糖基化位点在基序和位置上均有所不同, 这可能与毒株的毒力、免疫原性的差异相关, 这些为更好地了解PRRSV的分子流行病学特征和抗原变异规律提供依据, 同时为研制基因工程疫苗奠定了基础。

关键词: 猪繁殖与呼吸综合征; GP5蛋白; 序列测定; 特性分析

中图分类号: S854.4³

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0025-04

猪繁殖与呼吸综合征(Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome, PRRS)是由猪繁殖与呼吸综合征病毒(Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome virus, PRRSV)引起猪的一种高度传染性疾病。该病自1987年首次发现以来, 已遍及世界各个养猪国家^[1]。它所引发的母猪流产和仔猪的呼吸障碍给养猪业造成了灾难性的打击。特别是2006年以来, 变异株PRRSV的出现给我国养猪业的发展产生了巨大的影响^[2,3]。

PRRSV为不分节段、有囊膜的单股正链RNA病毒。其RNA基因组长度约为15 kb, 包含有9个开放阅读框(open reading frame, ORFs)。从5'到3'依次为ORF1a/1b、ORF2a/2b和ORF3-ORF7, 每个ORF(ORF1a-ORF7)和相邻的ORF部分重叠。在其5'端和3'端分别有一非编码区。在5'非编码区前有一个“帽子”结构, 3'非编码区后有多聚腺苷酸(PolyA)尾巴。ORF1a和ORF1b组成了80%的病毒基因组, 编码病毒的复制酶、RNA聚合酶。ORF2a/2b和ORF3-ORF7编码病毒结构蛋白, 其中ORF2a和ORF3-ORF5编码病毒的糖基化蛋白, ORF6编码膜基质蛋白(M蛋白), ORF7编码核衣壳蛋白(N蛋白)^[4,5]。根据抗原性的不同, PRRSV分离株可分为欧洲型(原型毒株为LV)和北美洲型(原型毒株为VR-2332)。其中囊膜蛋白GP5是PRRSV

的主要结构蛋白和主要免疫保护性蛋白之一, 有许多独特的免疫学和生物学特性, 在病毒的致病和机体的抗病毒免疫中发挥着重要的作用。

本研究对从南方部分地区疑似高热病例中分离到的4株PRRSV ORF5基因序列进行分析, 参考国内外已发表的基因序列构建基因系统发育树, 以阐明所分离株的基因型和遗传进化地位; 同时, 对这4株PRRSV分离毒株的GP5蛋白抗原性、亲水性、表面抗原位点和糖基化位点进行分析, 并与国内外毒株GP5蛋白的抗原性进行比较分析, 为更好地了解PRRSV的分子流行病学特征和抗原变异规律提供依据, 同时为研制基因工程疫苗奠定了基础。

1 材料和方法

1.1 材料 GD1、GD2、GD3和GD4四株PRRSV分别从南方地区几个疑似猪无名高热症状的猪场病料中采集得到, 阳性对照XH-GD株(EU624117)由华南农业大学兽医学院禽病教研室分离保存。

1.2 引物设计 参考Genbank上注册的PRRSV基因组序列, 应用Primer Premier 5.0软件, 设计覆盖整个ORF5基因的一对特异性引物P1: 5'-GTTT TAGCCTGTCTTTTGGCC-3', P2: 5'-TATATCATCACTGG CGTGTAGG-3', 其预计扩增长度为731 bp。各引物均由上海英骏生物技术有限公司合成。

1.3 四株病毒ORF5基因的扩增 按常规方法

收稿日期: 2008-06-12

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)项目(2006AA10A204);

国家生猪现代农业产业技术体系; 广东省农业类计划项目(2007A020300006-4)

提取 RNA 后,用设计好的引物 (P1/P2) 进行 PCR 扩增,PCR 产物经 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳,用凝胶成像分析系统观察结果。

1.4 PCR 产物的克隆及 PCR 鉴定 用凝胶回收试剂盒回收特异的扩增片段,将回收的 PCR 产物连接到 pMD-18T 载体上。反应体系为:pMD18-T 载体 1 μL, 连接缓冲液 (solution I)5 μL,PCR 产物 4 μL,16℃水溶 2 h。取 5 μL 连接产物加入融化的 DH5 α 感受态细胞,轻轻旋转混匀,置冰浴上 30 min,42℃水浴热休克 90 s 后迅速置冰浴 3~5 min。加入 700 μL LB 培养液,37℃摇床振荡培养 30~45 min。10 000 r/mim 室温离心 3 min,弃掉 400 μL 上清。以余液再悬细胞,涂于 Amp 抗性的 LB 琼脂培养基,室温中正面放置,待液体被吸收后,倒置平皿于 37℃培养过夜。挑取生长出的白色菌落,进行小量培养,做菌液 PCR 鉴定。

1.5 序列分析 将 PCR 鉴定为阳性的菌液进行测序。由上海英骏生物技术有限公司完成。测序后与 GenBank 中的 PRRSV 对应序列进行比较并绘制系统进化树。

1.6 GP5 蛋白的特性分析 应用 DNASTar5.0 软件对本研究分离毒株的 GP5 蛋白抗原性、亲水性及表面抗原位点进行分析,并与国内外毒株 GP5 蛋白的抗原性进行比较分析。

1.7 GP5 蛋白的糖基化位点预测 利用 Prosite 数据库 (http://www.expasy.org/prosite) 提供的蛋白质 motif 数据库分析预测本研究分离毒株 PRRSV GP5 蛋白的糖基化位点。

2 结果

2.1 基因组各片段 cDNA 的 RT-PCR 扩增 以抽提得到的病毒总 RNA 为模板,进行反转录,获得基因组各片段 cDNA。以基因组各片段 cDNA 作模板,用上游引物 P1 和下游引物 P2 进行 PCR 扩增。经 1%琼脂糖凝胶电泳,可见相应的条带,且片段长度与理论长度一致。本研究中采集的 4 株 PRRSV ORF5 基因的 RT-PCR 扩增结果见图 1。

2.2 4 株 PRRSV-ORF5 基因序列分析及其遗传进化分析 应用 DNASTar 序列分析软件对分离株的核苷酸全序列及 GenBank 中登录的国内外 11 株 PRRSV-ORF5 的核苷酸序列相比较,结果表明(见图 2):GD1-GD4 株四株与国内部分地区分离株的核苷酸序列相似性在 99.3%~99.5%之间,其中与先前已经上传的 GD-ORF5 株 (EU109503) 及 XH-GD-ORF5

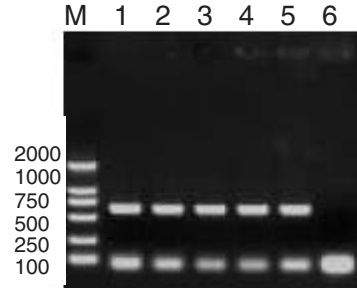


图 1 4 株 PRRSV-ORF5 基因的 RT-PCR 扩增结果 M:DNA 标准 DL2000;1-4:GD 株 1-4 的 ORF5;5:阳性对照;6:阴性对照

		Percent Identity																
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
Divergence	1		84.9	90.9	90.5	93.7	86.7	95.0	94.9	94.7	94.2	94.7	94.7	94.9	94.5	56.4	1	AY032626 CH-1a
	2	5.0		87.6	87.2	89.2	86.1	97.0	96.8	96.7	96.2	96.8	96.7	96.8	96.7	54.9	2	AY150312-PRRSV HB-1
	3	8.5	11.6		99.7	99.7	84.7	87.4	87.2	87.4	86.7	87.1	87.2	86.9	56.7	3	AY150564 VR-2332	
	4	8.9	12.0	0.3		99.4	84.7	87.1	86.9	87.1	86.2	86.7	86.7	86.9	56.6	4	EF442774-MLV	
	5	6.5	10.3	10.3	10.7		99.4	84.9	89.6	89.4	89.2	88.6	89.6	89.1	89.4	56.1	5	EF442777-MN184
	6	13.8	14.6	15.3	15.3	15.3		86.1	85.9	86.1	84.9	86.1	85.7	85.9	85.6	55.1	6	EU097707-BJsy06
	7	4.6	3.1	11.6	12.0	10.1	14.1		99.8	99.7	99.2	99.8	99.7	99.8	99.7	55.6	7	EU200962-Henan
	8	4.8	3.2	11.8	12.2	10.3	14.3	0.2		99.5	99.0	99.7	99.5	99.7	99.5	55.6	8	EU109503-GD
	9	5.0	3.4	11.6	12.0	10.5	14.1	0.3	0.5		99.8	99.5	99.3	99.5	99.3	55.7	9	EU24117-XH-GD
	10	5.6	3.9	12.4	12.9	11.1	15.2	0.8	1.0	1.2		99.0	98.8	99.0	98.9	56.1	10	GD-3
	11	4.9	3.2	11.8	12.2	10.1	14.1	0.2	0.3	0.5	1.0		99.5	99.7	99.5	55.7	11	GD-1
	12	5.0	3.4	12.0	12.4	10.5	14.5	0.3	0.5	0.7	1.2	0.5		99.5	99.3	55.6	12	GD-2
	13	4.8	3.2	11.8	12.2	10.3	14.3	0.2	0.3	0.5	1.0	0.5		99.5	99.3	55.4	13	GD-4
	14	5.0	3.4	12.0	12.4	10.1	14.5	0.3	0.5	0.7	1.2	0.5	0.7		99.5	55.4	14	GD-4
	15	46.0	46.9	45.7	46.4	48.0	50.1	45.9	46.2	45.5	45.9	45.9	46.2	45.8			15	M96262 LV

图 2 PRRSV-ORF5 基因核苷酸序列相似性比较

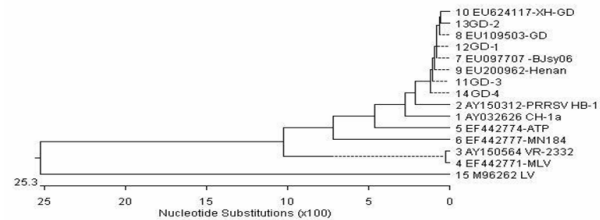


图 3 PRRSV-ORF5 基因核苷酸序列的遗传进化树

株 (EU624117) 的相似性在 99.3%~99.7%之间,与美洲株 (AY150564 VR-2332-ORF5) 的相似性在 86.9%~87.2%之间,与欧洲株 LV (M96262-ORF5) 的相似性在 55.2%~55.7%之间,与以 AY032626 CH-1a-ORF5 株为代表的中国株的 PRRSV 的相似性在 94.5%~94.9%之间,与中国中北部地区代表株 (AY150312-PRRSV HB-ORF5,EU097707-BJsy 06-ORF5,EU200962-Henan-ORF5) 的序列相似性在 96.7%~99.8%之间。这些结果说明了本文在南方地区分离的 GD1-GD4 株属于美洲株,与国内流行的 PRRS 毒株的相似性较高,变异性不大。

遗传进化树显示 (见图 3):GD1-GD4 株四株亲缘关系比较近,处在同一支上;与国内不同地区分离的毒株 (AY032626 CH-1a,EU109503-GD,EU200962-Henan 等) 相比,亲缘关系也比较近,处于同一分支;与国外以 AY150564 VR-2332 株为代

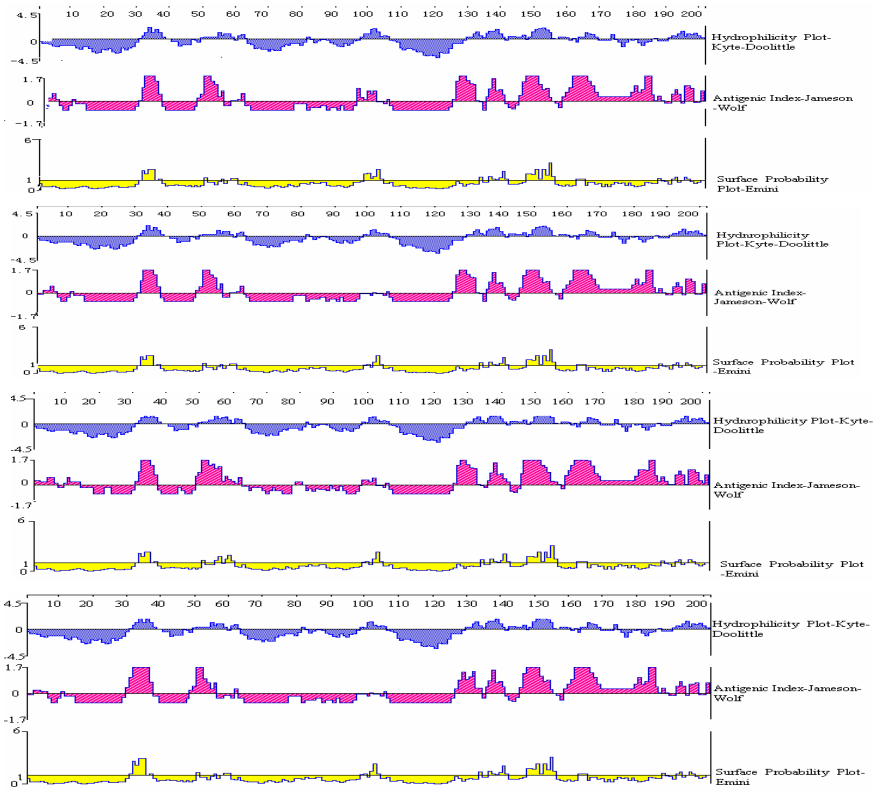


图 4 GD1-GD4 株 PRRSV- GP5 蛋白的抗原性、亲水性及表面抗原位点

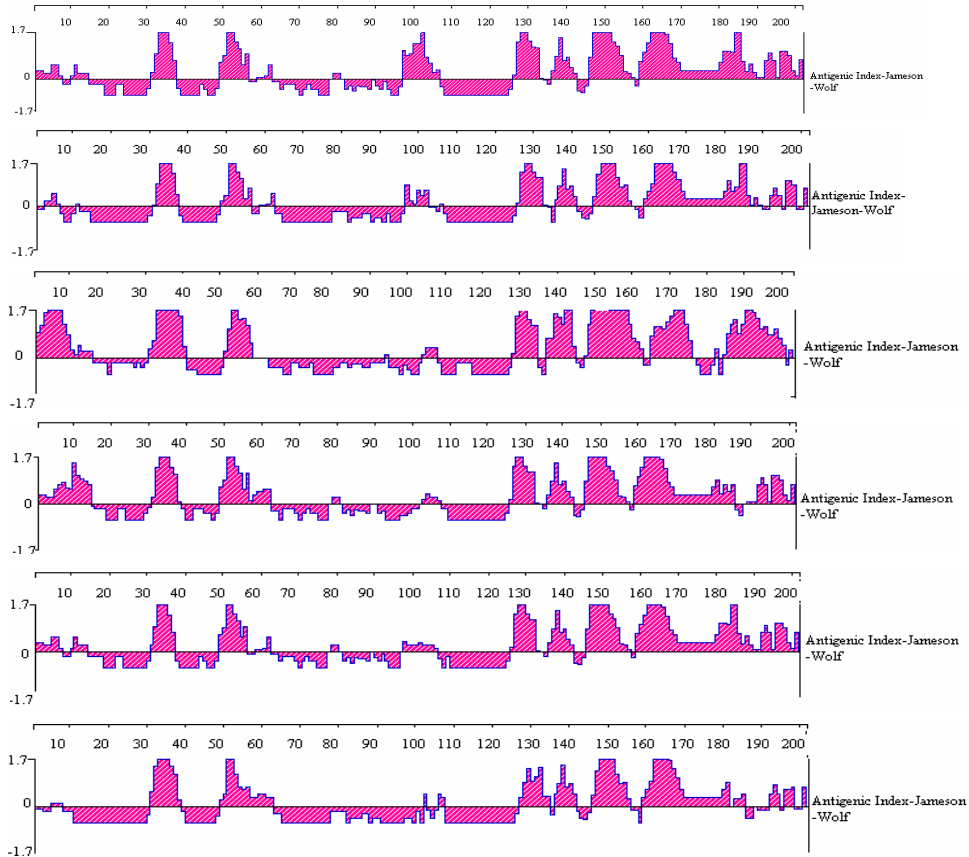


图 5 GD1 株和国内外五株 PRRSV GP5 蛋白的抗原性

表的美洲型 PRRSV 毒株处于同一主干的另一分支上, 与以 M96262 LV 欧洲株为代表的欧洲株相比亲缘关系最远, 处于不同的分支上。这说明这四株 PRRSV 可能来源于同源性相对较远的美洲株。

用 DNASTar 5.0 软件对本研究中采集的 4 株 PRRSV-ORF5 基因推导氨基酸序列进行分析, 预测到本研究毒株 GP5 蛋白的一些特性(见图 4 和图 5)。

由图 4 可知 4 株 PRRSV GP5 蛋白抗原性、亲水性及表面抗原位点分布具有极高的相似性。抗原分析表明 GP5 蛋白 32-40 位氨基酸、50-58 位氨基酸、130-170 位氨基酸抗原性较强; GP5 蛋白第 32-33 位氨基酸和第 108-131 位氨基酸分别为信号序列和跨膜区。分析表明, 本研究采集的 4 株毒株在信号序列和跨膜区氨基酸均未发生变异。表面抗原位点分析表明本研究毒株 GP5 蛋白含有 4 个潜在抗原位点, 分别位于 32-36 位氨基酸, 101-104 位氨基酸, 140-142 位氨基酸和 147-156 位氨基酸。

由图 4 可知本研究的 4 株毒株之间的抗原性十分相似, 因此只选 GD1 株与国内外其他具有代表性的五株分离毒株 GP5 蛋白(图中毒株依次为: GD1, VR-2332; LV, CH-1a; XH-GD, HB-1)的抗原性进行对比分析。分析结果表明, 本研究的 4 株 PRRSV 与中国分离毒株 HB-1, XH-GD 和 CH-1a 等的抗原性非常相似, 仅在 97-103 位氨基酸的抗原性稍有差异, 与美洲标准株 VR-2332 抗原性差异较大, 而与欧洲标准株 LV 仅有个别氨基酸抗原性相同。总之, 所有中国分离毒株的 PRRSV 的 GP5 蛋白的 65-128 位氨基酸抗原性相对保守。

3 讨论

根据有关资料显示, PRRSV 是我国猪群的严重传染病病原之一, 目前我国已有 20 多个省份有此病的发生或流行。由于 PRRSV 存在高度的变异, 即使在同一基因型内, 结构基因序列之间也存在着差异。GP5 为 PRRSV 主要的免疫原性蛋白, 存在高度的变异性, 且 GP5 可能与宿主细胞表面的唾液酸黏附素受体相结合从而介导病毒的吸附^[6]。国内外对此的研究已有很多, Israrul^[7]等对 NVSL 毒株进行反向遗传研究发现 GP5 蛋白 N44 位糖基化位点的缺失可导致 PRRSV 丧失感染性; N34、N51 糖基化位点的缺失可导致病毒滴度的降低, 并且使其对体外中和试验更为敏感。Plagemann 等^[8]研究发现 PRRSV 北美株 VR-2332 和欧洲株 LV 以及 LDV 的 GP5 外结构域有 77% 的氨基酸同源性, 而美洲株 V-R2332 的原

始中和表位位于 GP5 外结构域中部 (As36-52), 这与在同一个区域 LDV 的中和表位有着相当高的氨基酸同源性, 这个表位可以被抗 PRRSV 中和单抗和其他两个北美株的超免血清识别。王玉娥等^[9]用 PRRSV 阳性血清检测重组噬菌体, 结果显示噬菌体展示的表位可被 PRRSV 感染血清所识别, 从而证明 GP5 羧基末端的 11 个氨基酸是 PRRSV 的一个抗原表位。

本研究通过对不同地方毒株 ORF5 基因的序列分析及其遗传进化分析, 为更好地了解 PRRSV 的分子流行病学特征和抗原变异规律提供依据, 同时为研制基因工程疫苗奠定了基础。

本研究通过对 GD1-GD4 株与其它毒株的 GP5 糖基化位点的预测, 结果显示 GP5 中 N30、N44、N51 糖基化位点均较为保守; 与以往毒株相比, GP5 N35 糖基化位点在基序和位置上均有所不同, 这可能与毒株的毒力、免疫原性的差异相关。

参考文献:

- [1] Wensvoort G, Terpstra C, Pol JM, et al. Mystery swine disease in the Netherlands: The isolation of Lelystad virus[J]. *Vet Microbiol*, 1991, (13): 121-130.
- [2] Tian K, Yu X, Zhao T, et al. Emergence of fatal PRRSV variants: unparalleled outbreaks of atypical PRRS in China and molecular dissection of the unique hallmark[J]. *Plos one*, 2007, 2(6): 526.
- [3] Tong GZ, Zhou YJ, Hao XF, et al. Highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome, China[J]. *Emerg Infect Dis*, 2007, 13(9): 1434-1435.
- [4] Snijder E J, Meulenber J J. The molecular biology of arteriviruses[J]. *J Gen Virol*, 1998, 79(5): 961-979.
- [5] Lee Changhee, Yoo Dongwan. The small envelope protein of porcine reproductive and respiratory syndrome virus possesses ion channel protein-like properties[J]. *Virology*, 2006, (355): 30-43.
- [6] Delputte PL, Nauwynck HJ. Porcine arterivirus infection of alveolar macrophages is mediated by sialic acid on the virus[J]. *J Virol*, 2004, (78): 8094-8101.
- [7] Ansari I H, Kwon B, Osorio F A, et al. Influence of N-Linked Glycosylation of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus GPS on Virus Infectivity, Antigenicity, and Ability To Induce Neutralizing Antibodies[J]. *J Virology*, 2006, 80(8): 3994-4004.
- [8] Plagemann P G, Rowland R R, Faaberg K S. The Primary neutralization epitope of Porcine Reproductive and respiratory syndrome virus strain VR-2332 is located in the middle of GP5 ectodomain[J]. *Arch Virol*, 2002, 147(12): 2327-2347.
- [9] 王玉娥, 杨汉春, 等. 猪繁殖与呼吸综合征病毒 GP5 羧基端抗原表位的鉴定[J]. *畜牧兽医学报*, 2004, 35(4): 439-442.

冻存时间及冻融次数对 PRRSV 毒价的影响试验

李春梅, 邓雨修, 田小艳, 徐贵娟, 苏润环, 杨明柳, 宋延华

(广东省温氏集团研究院, 广东 新兴 527400)

摘要: 本试验对 PRRSV-ShB₆(P60) 株进行了不同冻存时间和冻融次数对其毒价影响的评估。将病毒在 -20℃ 冻存时间为 90 天, 每隔 15 天进行毒价测定, 结果发现其毒价下降趋势不明显, 但病毒连续反复冻融 12 次, 每次取样进行了病毒含量分析, 结果发现其毒价整体呈波动性下降, 前后变化较明显。结果表明, 该毒株在科学合理的条件下保存, 避免反复冻融, 病毒活力相对稳定。

关键词: 冻存时间; 反复冻融; PRRSV-ShB₆ 株; 毒价

中图分类号: S856.9

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0029-02

猪繁殖与呼吸综合征 (PRRS), 又称蓝耳病, 是目前困扰世界各国养猪业的重要疾病。该病主要表现为妊娠母猪中后期流产、产死胎和弱仔, 哺乳仔猪和保育猪呼吸道感染, 导致产房和保育舍猪只的死淘率升高。高致病性猪蓝耳病的出现, 更是给养猪业造成了重大的经济损失^[1,2]。疫苗接种是预防控制 PRRS 的主要措施, 由于弱毒疫苗能充分参与宿主免疫反应, 因而在控制和消灭 PRRS 过程中发挥重要的作用。但是 PRRSV 对温度比较敏感, 在生产中不合理的保存会影响病毒的毒价; 反复冻融也会使病毒丧失感染力^[3]。因此选择合适的保存条件、保存时间及避免反复冻融病毒, 是保证病毒最强活力的基本条件。

1 材料与方法

1.1 病毒 PRRSV-ShB₆(P60) 株为本院分离鉴定^[4], 并传至 60 代。

1.2 方法

1.2.1 不同冻存时间对病毒毒价的影响 将 PRRSV-ShB₆(P60) 分离株分装于灭菌的 1.5 mL 离心管, 1 mL/管, 置 -20℃ 保存, 每次取 2 管测其 TCID₅₀, 每隔 15 天测定一次, 以评价冻存时间对病毒毒价的影响。

1.2.2 冻融次数对病毒毒价的影响 将 PRRSV-ShB₆(P60) 分离株 40 mL 分装于 1 个灭菌好的 100 mL 蓝盖瓶中, 分别在反复冻融 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 和 12 次时抽取 2 份病毒样品行 TCID₅₀ 测定, 观察每次冻融后病毒毒价的变化情况。

1.2.3 数据分析 每个试验重复一次, 病毒 TCID₅₀ 计算参照 Reed-Muench 法进行^[5]。用 t 检验法对数

据进行统计学分析, 比较病毒毒价的差异是否显著。

2 结果

2.1 冻存时间对病毒毒价的影响 将 PRRSV-ShB₆(P60) 分离株置 -20℃ 保存 90 天期间, 病毒的 TCID₅₀/mL 在 10^{-7.33} 到 10⁻⁷ 变化, 期间的几次病毒毒价有波动, 但经 t 检验显示第 0 天与第 90 天之间差异不显著 (P>0.05), 而且两次重复试验对应的时间点之间差异也不显著 (P>0.05), 表明 90 d 内其毒价下降不明显, 结果见表 1 和图 1。

表 1 冻存时间对病毒含量的影响试验

单位: TCID₅₀/mL

时间(d)	试验一	试验二
0	7.33±0.21	7.33±0.32
15	7.67±0.18	7.00±0.28
30	7.33±0.25	6.67±0.19
45	7.00±0.16	7.00±0.25
60	7.50±0.17	7.33±0.21
75	7.33±0.31	7.33±0.18
90	7.00±0.22	7.00±0.23

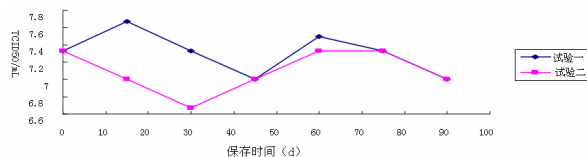


图 1 冻存时间对病毒含量的影响曲线

2.2 冻融次数对病毒毒价的影响 第一次试验, 将 PRRSV-ShB₆(P60) 分离株在反复冻融 12 次, 经 t 检验显示从第 1 次到第 9 次间病毒 TCID₅₀ 变化不明显 (P>0.05), 但从整体看第 1 次到第 12 次病毒 TCID₅₀ 变化较明显 (P<0.05)。同样, 第二次试验

中前 9 次反复冻融病毒毒价变化不显著 ($P > 0.05$), 从整体看病毒 TCID₅₀ 变化较明显 ($P < 0.05$)。从两次的试验结果可以看出, 第 9 次冻融开始病毒毒价开始明显下降, 第 9 次与第 12 次冻融的毒价差异较为显著 ($P < 0.05$)。从图 2 可见, 两条曲线都呈整体下降趋势, 表明反复冻融 12 次或以上对 PRRSV-ShB₆(P60) 分离株毒价影响较明显。

表 2 冻融次数对病毒含量的影响试验

单位: (lgTCID₅₀/mL)

次数	试验三	试验四
1	8.00±0.22	7.67±0.16
2	8.50±0.24	7.00±0.25
3	7.67±0.21	7.33±0.21
4	8.00±0.15	8.00±0.23
5	7.50±0.19	7.00±0.17
6	8.00±0.34	7.67±0.18
7	8.00±0.25	7.67±0.23
8	7.67±0.27	7.33±0.31
9	7.67±0.23	7.33±0.18
10	7.33±0.26	7.00±0.19
11	7.33±0.28	6.50±0.19
12	7.00±0.17	6.50±0.26

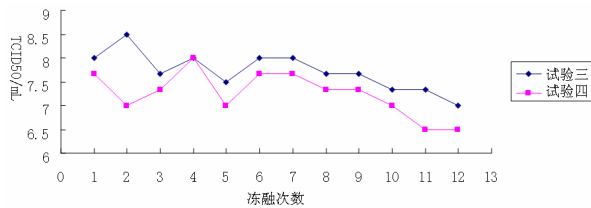


图 2 冻融次数对病毒含量的影响曲线

3 讨论

PRRSV 是一种有囊膜的 RNA 病毒, 对热和干燥敏感, 但在特定的温度、湿度、pH 值条件下可保持长时间的感染力, 在 -20°C 能存活约 6 个月到 2 年。在 4°C 时, 约 90% 的病毒在 1 周内失去感染力, 但在第 30 天时仍能检测到低滴度的感染性病毒^[3]。反复冻融可破坏病毒相关蛋白成分, 使病毒失去感染力。完整的病毒结构是保证病毒对本体动物或适应性细胞侵蚀力的首要条件。从试验结果看, PRRSV-ShB₆(P60) 分离株在 -20°C 保存 90 天, 病毒毒价下降, 但前后变化不显著, 这与许多研究报道相符^[6,7]。将病毒反复冻融 12 次, 前 9 次对病毒的活力影响不太明显, 但冻融 12 次或以上病毒毒价呈较明显下降的趋势, 表明反复冻融病毒, 将破坏病毒的完整结构, 从而影响病毒的活力。当

然, 由于病毒毒价的测定受细胞的状态、血清质量及人为主观因素等多方面影响, 故每次试验结果会存在一定的误差。

PRRSV 对温度比较敏感, 一般情况下温度越高, 病毒失活越快, 其毒价也随着冻存时间的延长逐渐下降, 而且病毒不宜反复冻融, 所以需要比较合理科学的贮存和使用方法。本试验结果表明在使用 PRRSV-ShB₆(P60) 分离株过程中, 如在 -20°C 保存的条件下 90 天内重复使用 5 次, 对病毒的感染力影响不太明显, 这为生产贮存及使用该病毒提供一定的理论依据。

参考文献:

- [1] 仇华吉, 童光志. 猪生殖呼吸道综合征[M]. 吉林: 吉林科技出版社, 2000.
- [2] Kegong Tian, Xiuling Yu, Tiezhu Zhao, et al. Emergence of Fatal PRRSV Variants: Unparalleled Outbreaks of Atypical PRRS in China and Molecular Dissection of the Unique Hallmark[J]. Plos One, 2007, (6):1-10.
- [3] Barbara E. Straw, Jeffery J. Zimmerman, David J. Taylor et al. 赵德明, 张仲秋, 沈建忠译. 猪病学[M]. 第九版. 北京: 中国农业出版社. 2008.
- [4] 宋延华, 邓雨修, 李春梅, 等. 猪繁殖与呼吸综合征病毒的分离与鉴定[J]. 畜牧与兽医, 2008, 40(3):27-30.
- [5] 殷震, 刘景华. 动物病毒学[M]. 第二版. 北京: 科学出版社. 1997. 329-330.
- [6] Wens woort G. Porcine reproductive and respiratory syndrome[C]. Proc, 13th Int Pig Vet Soc Congr, 1994, 11-14.
- [7] Hopper S A, White M E C, Twiddy N. An outbreak of blue-eared pig disease (porcine reproductive and respiratory syndrome) in four pig herds in Great Britain[J]. J Vet Rec, 1992, (15):140-144.

专家指出保障食品安全要把握好九个“度”

第十届中国科协年会 9 月 17 日在郑州开幕。在此期间举行的一场食品产业发展的论坛上, 有关专家指出, 要想保障食品安全, 必须解决涉及食品生产、政府监管等九个关键的“度”。

中国农业大学教授、中国食品科学技术学会副理事长胡小松分析说, 从目前的情况来看, 食品安全主要受困于三个主要环节中的三种危害因素, 即农牧生产中的生物危害、食品加工中的化学危害、流通消费中的物理危害。

胡小松指出, 要想保障食品安全, 必须要解决九个关键的“度”。这九个“度”分别是食品生产的诚信度、食物供应的可溯度、政府监管的公信度、科学技术的支撑度、法律标准的保障度、风险评估的危害度、信息交流的透明度、健康饮食的普及度、公众消费的信心度。(信息来源: 河南农业信息网)

野生葎草对育肥羊生产性能及营养物质消化率的影响

郭万华¹, 魏昆鹏¹, 谷子林^{1,2}, 刘亚娟², 王增利³, 孙国强⁴

(1. 河北农业大学动物科技学院, 河北 保定 071001; 2. 河北省山区研究所, 河北 保定 071001; 3. 河北省动检站, 河北 石家庄 050000; 4. 河北省清河县畜牧局, 河北 清河 054800)

摘要: 研究自由采食条件下, 新鲜葎草对育肥羊生产性能的影响。选用 36 只健康小尾寒羊 × 萨福克 F2 代杂种育肥羊, 随机分为两组 (试验组、对照组), 每个组 3 个重复, 每个重复 6 只。试验组每天饲喂 2.5 公斤新鲜葎草, 对照组饲喂等量新鲜苜蓿; 另外补加精料补充料 0.5 kg/ 只。结果表明: 试验组的采食量和料肉比分别降低了 18.1% 和 15.71%, 均达到了显著水平 ($P < 0.05$); 试验组粗蛋白的消化率比对照组低 10.82%, 但差异不显著 ($P > 0.05$), 粗脂肪和粗纤维的消化率分别比对照组高 9.92% 和 2.69%, 均没达到显著水平 ($P > 0.05$)。

关键词: 野生葎草; 育肥羊; 生产性能; 试验研究
中图分类号: S816.5+3 **文献标识码:** A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0031-01

饲料资源的匮乏已成为制约饲料工业发展的瓶颈, 因此开发非粮型饲料资源是发展饲料工业的必然趋势^[1-2]。中草药饲料能够促进动物某种生理作用, 改善机体内环境, 提高动物的生产性能^[3], 同时具有抗应激、促生长、提高动物免疫力的作用, 并且能提高动物生长速度、降低饲料消耗^[4]。

葎草 [*Humulus scandens* (Lour.) Merr] 为桑科、葎草属一年生蔓生性植物。野生葎草在我国分布范围很广。葎草喜阴耐湿, 生存竞争能力极强, 能适应多种土壤质地和气候条件的生态环境。葎草的这些生物学性状和生长特点为它作为饲料原料提供了保证。葎草还是一种含有丰富蛋白质的传统中草药, 具有较高的饲用价值和药用价值, 因此开发野生葎草资源具有重大意义。

1 材料与试验方法

1.1 试验时间和地点 2007 年 7-11 月, 河北省石家庄井陘垌畜牧业养殖有限公司。

1.2 试验材料

1.2.1 葎草和苜蓿 葎草在当地采集, 苜蓿由井陘垌畜牧业养殖有限公司栽培收割。葎草和苜蓿营养物质含量见表 1。

1.2.2 试验动物 4 月龄 (小尾寒羊 × 萨福克) F2 代杂种育肥羊 36 只。

1.3 试验方法

1.3.1 饲养试验 将选出的 4 月龄 (小尾寒羊 ×

表 1 葎草和苜蓿营养物质含量 (风干基础)

葎草营养物质	含量%	苜蓿营养物质	含量%
粗蛋白	16.44	粗蛋白	16.70
粗脂肪	2.69	粗脂肪	2.4
粗纤维	17.2	粗纤维	25.7
粗灰分	16.49	粗灰分	8.74
无氮浸出物	34.16	无氮浸出物	36.38
钙	2.11	钙	2.0
磷	0.35	磷	0.28

表 2 精料补充料配方和营养水平

原料	含量 (%)	营养水平	含量
玉米	65	消化能 / (MJ/kg)	13.30
豆粕	20	粗蛋白 (%)	15.7
麸皮	12.7	粗纤维 (%)	3.55
食盐	0.7	钙 (%)	0.44
磷酸氢钙	1.5	磷 (%)	0.67
添加剂	0.1		

萨福克) F2 代杂种育肥羊按照年龄体重相近的原则随机分为两组, 每组 3 个重复, 每个重复 6 只。采用单因素随机区组试验设计, 同一饲养环境, 先进行 15 d 预饲期, 然后进入试验期, 正试期为 45 d。试验组每天饲喂新鲜葎草 2.5 kg/ 只, 对照组饲喂同等重量的新鲜苜蓿; 另外补加精料补充料 0.5 kg/ 只。精料补充料配方和营养水平见表 2。

1.3.2 消化试验 消化试验在饲养试验末期进

(下转第 45 页)

收稿日期: 2008-05-19

基金项目: 石家庄市科技局科技支撑计划 (07150082A)

公益性行业 (农业) 科研专项 (Nyhyzx07-040) 资助

体细胞克隆的小鼠胚胎在附植前后发育的研究

彭礼繁¹, 罗光彬¹, Philip Iannaccone², 陈自洪³

(1. 沈阳农业大学动物胚胎工程实验室, 沈阳 辽宁 110161; 2. 美国西北大学医学院儿科系, 芝加哥 美国; 3. 广西大学动物繁殖研究所, 广西 南宁 530005)

摘要: 采用成年小鼠的卵丘细胞核、胎儿成纤维细胞作核供体细胞来进行核移植, 研究小鼠卵母细胞的去核程序和影响重构胚附植前发育的激活条件; 随后将重构胚与供体细胞系共培养后获得囊胚阶段的小鼠重构胚, 并将其移植到受体鼠体内后获得了 24% 克隆胚胎。结果表明, 小鼠卵母细胞质能够进行重编程来支持早期的胚胎发育。

关键词: 克隆; 胚胎培养; 核移植; 小鼠

中图分类号: S814.1

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0032-05

目前, 大多数研究在胚胎干细胞中采用同源受体来进行基因敲除, 以研究其基因功能^[1,2]。创造功能突变性缺失的同源受体, 在大鼠中已普遍使用, 但在其他哺乳动物上还没有得到应用, 尤其是在小鼠上^[2]。先天性突变的小鼠是人类疾病的重要模型^[3]。使用小鼠作为动物模型来进行的基因研究, 已经在活跃的染色体组织中得到了证实^[4]。小鼠模型基因研究中的主要限制性因素是, 难以制造出功能突变性缺失的同源受体 (基因克隆)。迄今, 小鼠的胚胎干细胞还无法产生生殖系嵌合体, 因此就无法进行基因敲除。

目前, 用胚胎干细胞来生产克隆后代, 主要是将培养过的细胞核转移入去核的卵母细胞中, 并让这种重构胚在体外发育^[5], 进而获得经过基因修饰的克隆动物。导入突变基因的供体核经核移植也能得到具有相同的突变基因的后代。在一些物种中提供供体核的细胞通常是经过培养的细胞, 用这种方式可以生产基因敲除克隆动物^[6], 而要达到这个目标首先要生产出核移植小鼠。已报道的小鼠核移植多采用小鼠胚胎中卵裂球的细胞核^[7], 随着小鼠基因敲除技术的发展, 目前又采用其他大量的细胞或培养过的细胞来生产克隆动物个体。

本试验采用成年小鼠的卵丘细胞核和胎儿成纤维细胞来进行核移植, 经体外培养使这些重构胚从 1- 细胞阶段发育到囊胚阶段。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 实验动物 6~8 周龄昆明白系雌鼠 (KM),

购自大连医科大学实验动物中心, 合格证号: SCXK (辽)2004-0017; 普通级近交系 615 雌鼠, 本实验室饲养。

1.1.2 主要仪器设备 拉针仪 (PUL-1)、锻针仪 (MF-900)、电融合仪 (BTX-830)、芯入哨子管 (G-100), 均为日本 Narishige 生产; 荧光显微镜 (VANOX-1000)、生物显微镜附显相系统 (JVC KY-1900E)、实体生物显微镜 (M37610-26), 均为 OLYMPUS 生产。CO₂ 培养箱 (BB5060UV, 香港); 倒置显微镜及显微操作系统 (DMIRB, 德国 Leica 公司); 电子天平 (BS210S, 德国赛多利斯公司); 生物超净工作台 (BCM-1000, 中国江苏苏净集团安泰公司); 酸度计 (A19-0031-10, 美国 ORION 公司); 多管架自动平衡离心机 (TDZ5-WS, 湘仪离心机有限公司); 立式自动电热压力蒸汽灭菌器 (LEZX-40BI, 上海申安医疗器械厂); 自动三重纯水蒸馏器 (SZ-97, 上海亚荣生化仪器厂)。

1.1.3 药品与试剂 M2、M16、KSOM、透明质酸酶、胰酶、EDTA、Hank's 缓冲液、胎牛血清 (FBS)、DMEM (高糖)、G-418、PVP (聚乙烯吡咯烷酮) 等, 均购于 Sigma 公司。孕马血清促性腺激素 (PMSG), 人绒毛膜促性腺激素 (hCG), 购于宁波第二激素厂。其它试剂均购于沈阳化学试剂厂。

1.2 方 法

1.2.1 MII 卵母细胞的收集 小鼠自由采食和饮水, 控光 (光照 12 h/d), 经一周的适应性饲养后, 腹腔注射 PMSG 5 IU/ 只, 48 h 后注射 hCG 5 IU/ 只, 进行超数排卵。于 hCG 注射后 12.5~13 h 处死

小鼠,摘取输卵管,置实体显微镜下观察,撕开输卵管膨大部,收集卵丘卵母细胞复合体(COCs)。将COCs移入含0.1%透明质酸酶的M2溶液中处理5~6 min,机械吹打将卵丘细胞去除,将带有第一极体的卵母细胞或胞质中有突起的卵母细胞全都移入新鲜的M16溶液中,在37℃,5%CO₂培养箱中培养到去核前。注意:在M16中不能含有磷酸盐成分,否则将会对随后的胚胎发育产生毒害作用,使其发育停滞于第一次卵裂^[8]。

1.2.2 MII 卵母细胞的去核 用把持针吸住培养后的卵母细胞,使卵母细胞的第一极体或胞质中的突起位于12点的位置,再用玻璃微管对准12点的位置并刺穿透明带,调节把持针的压力将卵母细胞和刺入透明带的玻璃微管一同释放。然后,调节玻璃微管将刺穿透明带在把持针下部来回轻微摩擦直至出现少许破裂,再将玻璃微管拔出。调节把持针的压力对准该卵母细胞中透明带破裂的位置轻微的吸取,使卵母细胞的第一极体或胞质中的突起被吸入管中。最后,使卵母细胞从把持针上释放。在该过程中,不要使用细胞松弛素B(CB)。将去核的卵母细胞放于M2中,在培养箱中培养到注核前。

1.2.3 供体细胞的准备 卵丘细胞:收集方法同MII卵母细胞收集。将收集到的卵丘细胞置于4℃的M2培养基中,并在1 h内使用。注射前,使用注射针将其来回吹吸连同Piezo装置的电脉冲压力来获得卵丘细胞核^[9]。

胎儿成纤维细胞:将妊娠15 d的雌鼠处死,取出子宫角,置于含有青霉素(100 IU/mL)和链霉素(100 μg/mL)PBS缓冲溶液的表面皿。依次取出胎儿,剪碎,去掉内脏。将剪碎后的胎儿组织在PBS中清洗两次,置于含2 mL胰酶(0.05% w/v)和EDTA(0.53mM)的Hank's平衡盐液滴的60 mm表面皿

中,37℃、5% CO₂条件下培养5 min后,再用5%FBS的5 mL DMEM消化数分钟,转入15 mL锥形瓶中。经过2 min沉淀得到大组织碎块,将这些悬浮物移入到另一个10%FBS的DMEM 10mL试管中,800 rpm离心10 min。在该新鲜培养基中得到悬浮细胞。将其放置在直径10cm的培养皿中,在37℃,5% CO₂培养条件下培养24 h。为了得到可使用的供体细胞,在使用前5 d,在不含血清的0.5%FBS的胰酶中消化5 min,再用M2培养基清洗两遍。清洗后的细胞在0.5 mL的M2培养基中悬浮,此时温度维持在4℃。这些细胞转移到10%FBS的DMEM中培养24 h后,转入G-418(200 μg/mL)溶液中培养5~6 d。挑选其中的活细胞,进行传代培养。

1.2.4 供体核的注入 将供体细胞和受体卵母细胞放置在M2微滴中。用内径10 μm的注射针将供体核注入去核的卵母细胞中(该注射针在30% HF中浸泡后用0.2 μm过滤器过滤的去离子水清洗过。该注射针吸取少量的汞柱后,在使用前置于10%PVP的M2培养液中)。在Piezo装置的推动力下,吸入了供体核的注射针先穿透受体卵母细胞的透明带,再进入卵母细胞中。该注射针进入到受体中3/4处,胞质膜在注射针尖端出现了明显的向内凹陷。利用Piezo装置的推动力或轻微的吸力使注射针穿透胞质膜,再将注射针中的供体核放入其受体中(图2)。以上操作都在含CB(5 μg/mL)的M2培养基中进行。注核完毕后,将这些重构胚放在M2培养基中恢复30 min。然后,放在5 mM SrCl₂和5 μg/mL CB的无Ca²⁺、Mg²⁺的M16培养基中激活3~6 h,37℃,5%CO₂下进行培养。最后,将这些重构胚放在KSOM中进行培养。

2 结果

2.1 用于核移植试验的小鼠品系选择 本试验各

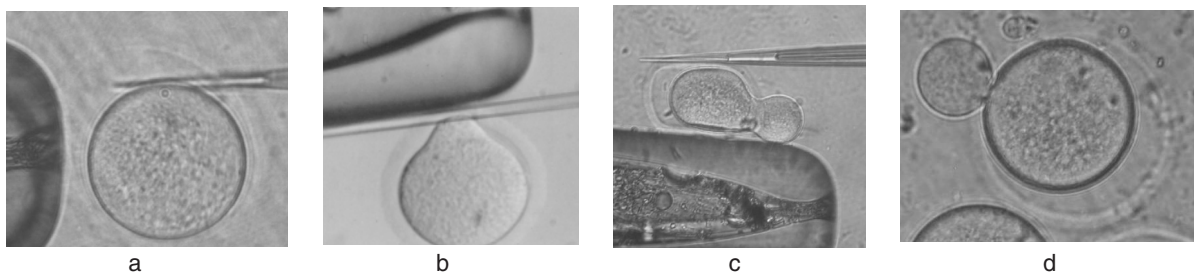


图1 小鼠卵母细胞的去核

(a)用把持针轻微吸住卵母细胞,再用玻璃微管刺破其透明带;(b)玻璃微管连同透明带在把持针下部摩擦直至该透明带出现破裂;(c)调节去核针轻微压力把胞质突起从透明带下吸出;(d)含有MII核物质的胞质外溢到透明带外。

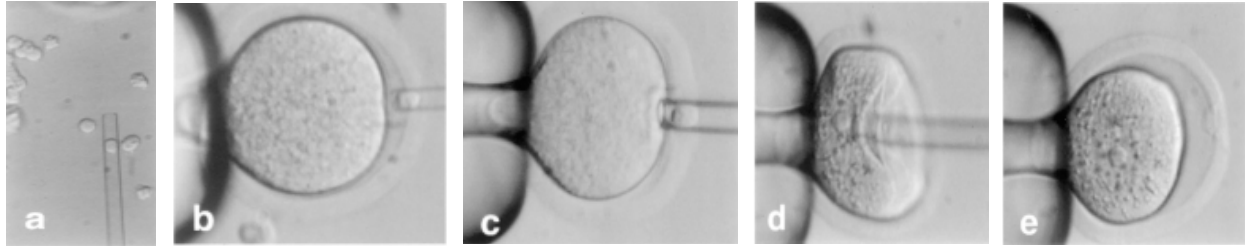


图2 利用 piezo 装置推力将卵丘细胞注入

(a) 将卵丘细胞吸入注射管中, 反复吸吐以破坏其细胞膜; (b) 通过 piezo 装置的推力将含有卵丘细胞核的注射针插入到透明带下; (c) 不用 piezo 装置, 缓慢将注射针推入卵胞质中; (d) 将注射管继续向内推进, 胞质膜在注射管尖端出现向内凹; (e) 注射管在胞质膜上打孔后, 供体核被推入到卵胞质中。piezo 装置高频率低振幅对注射管进行了震荡。

表1 小鼠受精卵在培养基中的发育情况

小鼠品系	受精卵发育情况		
	2-细胞 (after 2 days) (%)	4-细胞 (after 3 days) (%)	囊胚 (after 5 days) (%)
KM	88 (73.9%)	63 (71.5%)	31 (49.2%)
615	23 (45.1%)	9 (39.1%)	0 (0)

表2 核移植后小鼠重构的体外发育情况

日期	供体细胞	2-细胞	4-细胞	8-细胞	8-细胞以后	囊胚
第一天	卵丘细胞	30/98 (31%)	0	0	0	0
	胎儿成纤维细胞	21/65 (32%)	0	0	0	0
第二天	卵丘细胞	40/98 (41%)	0	0	0	0
	胎儿成纤维细胞	31/65 (42%)	0	0	0	0
第三天	卵丘细胞	15/98 (15%)	19/98 (19%)	0	0	0
	胎儿成纤维细胞	12/65 (18%)	16/65 (25%)	0	0	0
第四天	卵丘细胞	12/98 (12%)	6/98 (6%)	7/98 (7%)	4/98 (4%)	0
	胎儿成纤维细胞	9/65 (14%)	6/65 (9%)	8/65 (12%)	1/65 (2%)	0
第五天	卵丘细胞	11/98 (11%)	6/98 (6%)	2/98 (2%)	1/98 (1%)	8/98 (8%)
	胎儿成纤维细胞	18/65 (12%)	5/65 (8%)	2/65 (3%)	2/65 (3%)	5/65 (8%)

用了3只KM和3只615系实验小鼠来进行超排, 再与同品系的公鼠交配。KM鼠冲出了119个原核胚, 615鼠冲出了51个原核胚。然后将这些原核胚放在M16中培养。从表1中看到: 交配后2天, 从输卵管中冲出的2-细胞胚数量有明显的差异。KM冲出88个2-细胞胚, 而615系只冲出了23个。3天后, KM有63个4-细胞胚, 而615系只有9个4-细胞胚。5天后, KM有31个囊胚, 而615系则无囊胚。二者间存在有明显的差异。这也说明了: KM鼠的排卵情况和受精卵在培养基中的发育情况要明显好于615系鼠, 可用于下一步的试验研究。

2.2 M II 卵母细胞的去核 用透明质酸酶将卵丘细胞分离后, 在M II 卵母细胞的透明带下进行显微去核操作(图1)。用去核针在有胞质突起的透明带下划破一个裂缝, 再从该部位拔出。然后, 用去核

针对准胞质突起的透明带轻微的挤压, 将含有M II 纺锤体的少许胞质挤出。去除细胞核, 卵细胞快速的恢复原形。最后用 aceto-orcein 试剂对挤出的少许胞质进行着色, 来证明该去核操作的可靠性。

2.3 KM 小鼠卵丘细胞核组成的重构胚在植入前的体外发育情况 卵丘细胞是通过超数排卵获得的, 它是核质比率中核偏大的一种小细胞, 可用作供体细胞^[10]。将该供体细胞在注射针中来回吹吸, 使其细胞膜松散而获得卵丘细胞核, 再将其注入到去核的卵母细胞的卵胞质下(图2)。这些重构胚再放在激活液中激活3~6 h, 再培养在KSOM培养基中。这些重构胚的体外形态的正常发育率比较高(表2)。本试验将141个卵进行了去核和注核操作, 其中在体外培养基中有98个重构胚存活。存活的重构胚中, 有31%重构胚经24 h培养发育到2-

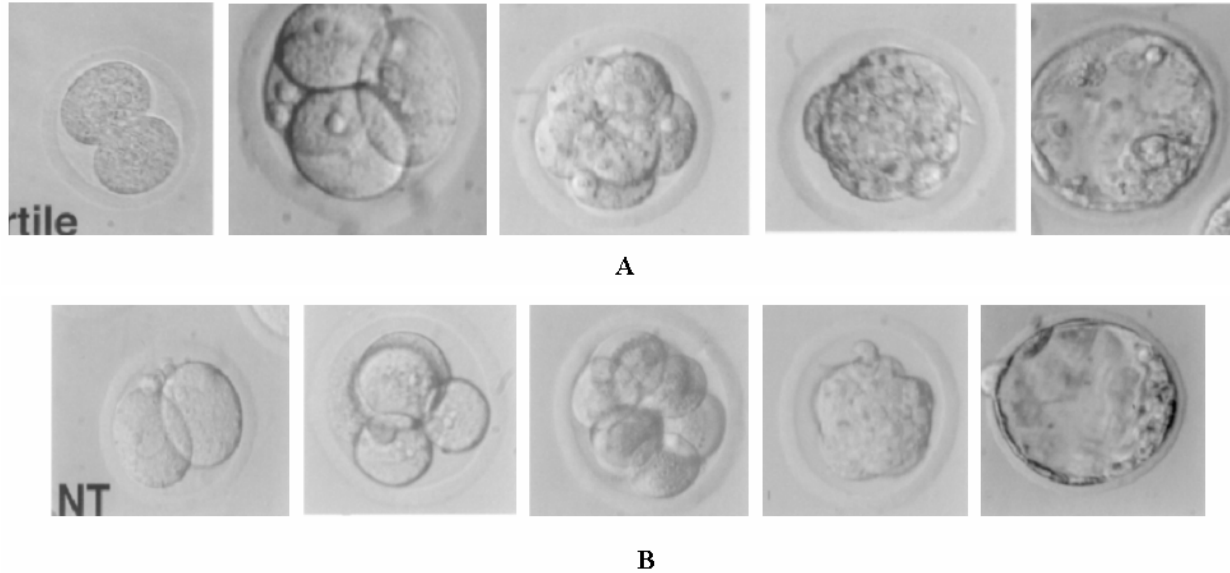


图3 卵丘细胞作为核供体的核移植重构胚的体外发育情况

这些重构胚经激活后在KSOM中培养5天。A显示了在培养基中培养了1,3,4,4.5,5天后所观察到的2-细胞,4-细胞,8-细胞,8-细胞后和囊胚阶段的重构胚形态;B显示了在培养基中培养了1,3,4,4.5,5天后所观察到的2-细胞,4-细胞,8-细胞,8-细胞后和囊胚阶段的受精卵形态。

细胞期,同时有41%重构胚经48 h培养发育到2-细胞期。体外培养3天后,有19%的重构胚发育到4-细胞期;4天后,有11%的重构胚发育到8-细胞期。5天后,有8%的重构胚发育到囊胚阶段(图3)。

2.4 KM小鼠胎儿成纤维细胞核组成的重构胚在附植前的体外发育情况 胎儿成纤维细胞作为核移植的核供体。这些胎儿成纤维细胞传2~3代后,在无血清的培养基中培养5天获得大量的间期细胞。将这些胎儿成纤维细胞核注入去核卵母细胞中,再放在含有SrCl₂激活液中激活。本试验对107个卵进行了去核和注核操作,其中在体外培养基中有65个重构胚存活。存活的重构胚中,有32%的重构胚经24 h培养发育到2-细胞期,同时有42%的重构胚经48 h培养发育到2-细胞期(表2)。体外培养了3天后,有25%的重构胚发育到4-细胞期;4天后,有14%的重构胚发育到8-细胞期。5天后,有8%的重构胚发育到囊胚阶段(图4)。

本实验采用正常的卵母细胞作为对照组,采用同条件的处理方法,但是没有注入外来核物质。这些卵母细胞置于M2培养基中一段时间后,又进行SrCl₂激活操作。在本试验中,94个没有经过SrCl₂激活的卵母细胞中有35个卵发育到2-细胞期,但是不能继续向后发育。这些卵母细胞不经其他处理,最后放在KSOM培养基中培养。26个没

有经过激活的卵有2个发育到2-细胞期,但是这些卵中却不能继续向后发育。但是,如果这些裸卵从COCs中被分离后立即进行激活,这些卵孤雌发育到囊胚阶段的比例显著提高。72个正常排卵后获得的卵立即进行3~6 h的激活处理,有37个卵(51%)在培养基中发育到囊胚阶段,而超排处理后获得的卵也经过同样的激活处理,54个卵中有30个卵(56%)在培养基中发育到囊胚阶段。

3 讨论

在本实验中,用卵丘细胞和胎儿成纤维细胞核进行重构,获得的重构胚在体外能够发育到囊胚阶段。这些重构胚发育到囊胚阶段,主要是取决于注入的细胞核来源。卵丘细胞和胎儿成纤维细胞都能够重编重构胚的体外发育,这种发育潜力不会由标记基因的转染和供核细胞的选择与传代等因素的影响而减弱。因此,培养后的小鼠细胞核能够支持重构胚的体外发育。

小鼠的卵母细胞在分离后将会立即被激活^[11]。从本试验中可以看出:未受精的卵母细胞也可以发育到2-细胞期,但发育率比较低,说明未受精的卵母细胞发生自发激活。这种2-细胞发育率会由于化学激活的影响而得到进一步的提高,这些卵的随后发育潜力也会受到化学激活时间的制约,因为分离后立即对这些卵进行化学激活,会使

其体外孤雌发育能力得到提高。有学者认为:为了进行重编程,将供体核注入后必须立即进行激活,才有利其随后的体外发育^[12~14]。这种鼠卵母细胞的立即激活或许是不完全的,或许它受化学激活的影响比较小。另一方面,我们使用体外培养的方法来使受精的KM鼠胚发育到2-细胞阶段,待其发育到囊胚阶段时,将其移植到受体母鼠中,且其产子率比较高。同时,重构胚的体外发育还没开始。这种情况的发生可能是由于将供体核移入受体卵中使激活效应在移植前就发生了。这种结果可能与供体核重编中所涉及到的基因印记重构有关。如果这种印记效应不完全或者不准确的话,就可能出现囊胚发育率低或植入受体后的胚胎不发育等情况。这也说明了阻止这种过早的自发激活有利于重构胚的后续发育。

对模式动物进行基因的修改有助于完全利用模式动物生理机能来了解在正常的发育和生理疾病中起关键性的基因功能作用。这对于小鼠来说尤为重要,因为引入的基因带有不同品系细节上的表型信息,这对于研究人类疾病也是非常重要的。到目前为止,胚胎干细胞还不能证明是完全有用的,而核移植能提供一种途径来克服这种缺陷及其有可能导致小鼠的突变。总之,核移植能够提供一种途径来获得不同品系的目的基因。采用所培养细胞的细胞核进行重编程,进而支持克隆动物的体外发育。该结论在其他物种上已经得到了证实^[11~16],但在小鼠上的报道还比较少。对于这些细胞的基因操作对研究突变基因也是非常重要的。

在体外培养的重构胚,使其从原核胚发育到囊胚阶段,这对观察其纵向的发育过程是非常关键的。目前,在KSOM培养基中培养受精卵的方法只是局限在少数的品系上。这可能是在小鼠胚胎的体外培养液中,还需要添加磷酸盐,而其具体的添加量还需要进一步的研究。这不但是在正常受精过程及随后发育中所需要,在重构胚的第一次卵裂中也是非常重要的。

参考文献:

- [1] Harrison S, Boquest A, Grupen C, et al. An efficient method for producing alpha(1,3)-galactosyltransferase gene knockout pigs[J]. Cloning Stem Cells, 2004, (6): 327-331.
- [2] Yin X J, Cho S K, Park M R, et al. Nuclear remodeling and the developmental potential of nuclear transferred porcine oocytes under delayed-activated conditions[J]. Zygote, 2003, (11): 167-174.
- [3] Sung L Y, Shen P C, Jeong B S, et al. Premature chromosome condensation is not essential for nuclear reprogramming in bovine somatic cell nuclear transfer[J]. Biol Reprod, 2007, (76): 232-240.
- [4] Chatot C L, Ziomek C A, Bavister B D, et al. An improved culture medium supports development of random-bred 1-cell mouse embryos in vitro[J]. Reprod Fertil, 2005, (86): 679-688.
- [5] Lee G S, Hyun S H, Kim H S, et al. Improvement of a porcine somatic cell nuclear transfer technique by optimizing donor cell and recipient oocyte preparations[J]. Theriogenology, 2003, (59): 1949-1957.
- [6] Cohen-Tannoudji M, Babinet C. Beyond 'knockout' mice: new perspectives for the programmed modification of the mammalian genome[J]. Mol. Hum. Reprod, 2004, (4): 929-938.
- [7] Fitchev P, Taborn G, Garton R, et al. Nuclear transfer in the mouse: potential access to the Germline[J]. Transplant Proc, 2004, (31): 1525-1530.
- [8] Jacob H J. Functional genomics and rat models[J]. Genome Res, 2003, (9): 1013-1016.
- [9] Kimura Y, Yanagimachi R. Intracytoplasmic sperm injection in the mouse[J]. Biol. Reprod, 2003, (52): 709-720.
- [10] Kono T, Shioda Y, Tsunoda Y. Nuclear transplantation of rat embryos[J]. Exp. Zool, 2003, (248): 303-305.
- [11] Ogura A, Inoue K, Takano K, et al. Birth of mice after nuclear transfer by electrofusion using tail tip cells[J]. Mol. Reprod, 2000, 12(57): 55-59.
- [12] Rideout R, Wakayama W M, Wutz A, et al. Generation of mice from wild-type and targeted ES cells by nuclear cloning[J]. Nature Genet, 2000, (24): 109-110.
- [13] Onishi A, Iwamoto M, Akita T, et al. Pig cloning by microinjection of fetal fibroblast nuclei[J]. Science, 2000, (289): 1188-1190.
- [14] Lee G S, Hyun S H, Kim H S, et al. Improvement of a porcine somatic cell nuclear transfer technique by optimizing donor cell and recipient oocyte preparations[J]. Theriogenology, 2003, (59): 1949-1957.
- [15] Jaenisch R, Eggan K, Humpherys D, et al. Nuclear cloning, stem cells and genomic reprogramming[J]. Cloning Stem Cells, 2002, (4): 389-396.
- [16] Hoshino Y, Uchida M, Shimatsu Y, et al. Developmental competence of somatic cell nuclear transfer embryos reconstructed from oocytes matured in vitro with follicle shells in miniature pig[J]. Cloning Stem Cells, 2005, (7): 17-26.

猪链球菌病灭活疫苗(2型, HA9801株)的研制(IV) ——疫苗保存期的研究

杨 球, 游启有, 以体强, 王少英, 林旭堃, 张毓金
(广东永顺生物制药有限公司, 广东 广州 511356)

摘要: 分别取保存了6、9、12、16个月的疫苗, 进行无菌检验、物理性状、安全检验和效力检验, 疫苗各项指标均合格, 疫苗的保存期暂定为12个月。

关键词: 猪链球菌2型; 疫苗保存期; 安全试验; 效力试验

中图分类号: S852.61*1

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0037-01

1 材料和方法

1.1 试验用疫苗 本公司实验室研制的猪链球菌病灭活疫苗(2型, HA9801株), 批号为200501、200502、200503。按中华人民共和国兽药典(2005年版)的要求, 经物理性状、无菌、效力、安全检验合格后用于试验。保存温度为2~8℃。

1.2 试验动物 猪链球菌2型ELISA抗体阴性的健康广东土猪X。

1.3 攻毒菌株 猪链球菌2型SC-6株, 2005年分离于四川省猪链球菌病疫区病死猪, 由中国兽药药品监察所分离、鉴定, 本课题组保存。

1.4 物理性状检验 取保存了6、9、12和16个月的猪链球菌病灭活疫苗(2型, HA9801株), 肉眼观察疫苗的物理性状。

1.5 无菌检验 取保存了6、9、12和16个月的猪链球菌病灭活疫苗(2型, HA9801株), 按《中国兽药典》(2005年版)附录第15页方法进行, 应无菌生长。

1.6 安全检验 取保存了9、12、16个月的疫苗, 各肌肉注射3~8周龄猪链球菌2型ELISA抗体阴性的健康易感猪4头, 观察并测温10天。

1.7 效力检验 取保存了6、9、12、16个月的疫苗, 各肌肉注射5头猪, 每头2 mL, 免疫21天后, 连同条件相同的对照猪3头, 静脉攻击致死剂量的SC-6株活菌1 mL(含2个致死剂量), 观察10天。

2 结果

2.1 物理性状 肉眼观察2~8℃保存的疫苗, 物

表1 200501批保存期安全性试验结果

猪只 编号	保存期			
	6个月	9个月	12个月	16个月
1	- ¹⁾	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-

1): (-)表示正常; (+)表示轻微反应; (++)表示严重反应; (+++)表示死亡。下表同。

表2 200502批保存期安全性试验结果

猪只 编号	保存期			
	6个月	9个月	12个月	16个月
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-

表3 200503批保存期安全性试验结果

猪只 编号	保存期			
	6个月	9个月	12个月	16个月
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-

理性状没有变化, 上层为淡黄或无色澄明液体, 下层为灰白色沉淀, 振摇后呈均匀混悬液, 没有结块。

2.2 无菌检验 所有产品均无菌生长, 符合《中国兽药典》(2005年版)附录第15页要求。

2.3 安全检验 各批次试验猪均4/4健活, 在整个试验期间, 全部试验猪体温正常, 猪只增重正常, 未见不良反应。

2.4 效力检验 从200501、200502、200503三批疫
(下转第47页)

收稿日期: 2008-05-28

基金项目: 粤港关键领域重点突破项目(编号2005A10905006)

广东省科技攻关重点项目(编号2006Z2-E0071)

猪瘟活疫苗 (脾淋源) 组织毒生产工艺改进试验

鲁立柱, 张万春, 王玉红, 贺 笋

(新疆天康畜牧生物技术股份有限公司, 新疆 乌鲁木齐 830032)

摘要: 脾淋源猪瘟活疫苗使用的脾淋组织毒生产繁琐, 家兔热型判定中测温次数多, 工作量大。通过统计、对比, 试验在大量测定取得基础体温的基础上, 使用 48 h、72 h 两个时间点测温的方法, 进行热型判定, 与规程^[1]要求生产方法比较, 取得较好的一致性, 并对最终产品进行效力对比, 结果无差异。

关键词: 猪瘟活疫苗 (脾淋源); 工艺; 改进
中图分类号: S852.5 **文献标识码:** A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0038-02

猪瘟是由猪瘟病毒引起的一种以出血、高热和免疫抑制为主要特征的疫病, 具有高发病率和死亡率高, 是国际兽医局要求申报的重要动物疫病之一, 我国也将其列为一类传染病。猪瘟呈世界范围流行, 我国是流行国家之一, 常造成重大的经济损失。目前猪瘟没有有效的治疗药物, 最有效的办法就是疫苗接种。随着养猪业的不断发展, 猪瘟疫苗的需求量越来越大, 尤其是脾淋源猪瘟活疫苗。因其免疫效果良好, 深得广大消费者青睐。脾淋源猪瘟活疫苗的生产是使用猪瘟种毒接种健康状况良好的家兔, 以测定热型的方法, 收取热型反应良好的家兔脾脏和肠系膜淋巴结, 经过碾磨、配苗、分装、冻干而成。这就意味着需要大量的家兔, 并对每只兔进行热型判定, 以确定其脾、淋含毒量是否达到规程要求。热型判定工作需要大量的人力、物力, 从而消耗大量的生产成本。为了在不影响热型判定准确性的基础上, 减少家兔测温次数, 降低生产成本, 进行了此项试验, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 猪瘟兔化弱毒 由本厂猪瘟班组提供。

1.1.2 健康家兔 由新疆鄯善县绿洲兔业养殖场提供。

1.2 方法

1.2.1 基础体温的测定 按照规程要求测定家兔常温。即家兔在接种前, 测温观察 3 日, 每日上下午各测温 1 次, 所测体温的平均温度为家兔常

温。测定 5 批家兔, 共计 5 000 只, 求取所得常温的平均温度, 作为试验基础体温。

1.2.2 温度曲线图的绘制及分析 按规程要求对接种后家兔进行测温。即接种后上、下午各测温一次, 24 h 后, 每隔 6 h 测体温 1 次。根据所得体温绘制温度曲线图。测定 3 批, 共计 3 000 只家兔。根据所得曲线分析热型的高峰与低谷时间段, 获得试验测温时间点。

1.2.3 试验测温 根据曲线分析所得时间点, 对接种后家兔测温, 判定, 取得收获比例。测定 1 批, 共 1 000 只家兔。

1.2.4 冻干产品对比 用按规程要求测温收取的脾淋组织冻干产品一批, 另用试验方法测温收取的脾淋组织冻干产品一批, 分别进行效力检验, 对比效力检验结果。

2 结果

2.1 通过对 5 000 只家兔常温的测定, 最后取得试验基础体温为 39.0℃。

2.2 按规程要求对接种后 3 000 只家兔进行温度测定, 取得定型热反应及轻热反应家兔 2 340 只(定型热 1 440 只, 轻热反应 900 只), 总收获率为 78%; 无反应、可疑反应及死亡家兔 660 只。

所有家兔中接种后 48 h 的体温均高于 40℃, 而接种后 72 h 的体温低于 40℃的家兔 2 241 只。其中定型热反应家兔 1 392 只, 轻热反应家兔 806 只, 无反应、可疑反应或死亡家兔 43 只。

由上可见符合接种后 48 h 的温度高于

40℃,接种后72 h的温度低于40℃的条件收取的家兔,占按规程要求收取的家兔的93.9%,符合大批量生产的要求。因此选取接种后48 h及72 h作为试验测温的时间点。

2.3 根据上面的结果,以39℃作为试验常温,试验测温方法为测定接种后48 h与72 h两个时间点。在48 h的体温高于40℃,72 h的体温低于40℃的家兔可判为合格家兔。试验测定一批1000只家兔,最后收获率为74.1%,与按规程方法测定的收获率相近。

2.4 试验组收取脾淋组织按规程要求配苗、分装、冻干一批产品,按规程要求测定温度收获的脾淋组织也同样冻干一批产品,按规程效检方法稀释150倍进行效检,结果两批产品均合格,无差异。

3 讨论

脾淋组织毒的生产是脾淋源猪瘟活疫苗生产中最为重要的一环,也是整个过程中,工作量最大,投入最多的一个环节。根据国家最新政府采购专用猪瘟活疫苗(脾淋源)制造及检验实行规程(暂行)规定脾淋毒生产中,家兔在接种后上、下午各测温一次,24 h后,每隔6 h测温一次,观察至96 h。根据体温绘制温度曲线判定热型。家兔在整个病毒繁殖过程中共需测温21次(包括接种前3 d测定基础体温的6次和接种后用于热型判定的15次),并且有6个温次是在夜间测定。

大批量的脾淋毒生产,家兔的使用量巨大,减少测温次数,能够有效的降低这方面成本。

从试验结果看,使用试验方法判定,定型热反应家兔损失48只,占定型热反应家兔总量的0.33%,所占比例极低,这些多为高敏感或反应较慢的家兔;轻热反应家兔损失占轻热反应家兔总量的10.44%,主要是因为轻热反应的判定标准是潜伏期48~96 h,至少2个温次升高0.5℃以上,并稽留12~36 h,可判为轻热反应。试验方法使用常温为39℃,确定升温点为40℃,是为了更好的满足定型热反应和一些温度超过常温1℃以上,但不足3个温次只能判为轻热反应的家兔。所以对温度超过常温不到1℃的轻热反应家兔有较大的损失。总的来说试验方法造成了一定比例的损失,也误判了极少比例的不合格家兔,但考虑到在规模化生产中,在保证产品质量的前提下,能大量的节省劳动时间,降低劳动强度,控制产品成本,可见本方法具有较高的可行性。

在生产过程中,家兔的体温随着季节、地域的变化会有一定的波动,不同品种的家兔正常体温也有差异,所以常温的设定必须经常修订,同时更改温度上限,以减少误差。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国农业部,中华人民共和国兽用生物制品制造及检验规程.二〇〇二版[s].

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

犬脱卸式活动围栏设计与临床应用效果观察

张忠传,毛天翔,卢小虎

(浙江省余姚市禽畜病防治研究所小动物医院,浙江 余姚 315400)

摘要:为了解决宠物门诊中的烈性犬保定问题,以Φ6'镀锌自来水管为主要材料设计、焊制脱卸式活动围栏,并在临床实践中不断改进和观察应用效果。结果表明,该围栏对于各种体格的烈性犬均具有可靠的保定效果,对人和犬均十分安全,而且操作简单,容易清洗和消毒。

关键词:犬;保定;脱卸式活动围栏

中图分类号: S812.93

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0040-02

如何有效地控制烈性犬在免疫、检查与治疗中的攻击性行为,是基层兽医站和宠物医院经常遇到的问题,历来受到基层兽医或宠物医生的关注。理想的犬保定器材应具备使用安全、可靠、简便、容易消毒和可重复使用等优点,但常规的犬保定器材用于敏感性和攻击性较强的烈性犬时往往不甚理想,无法获得预期的保定效果。近年来我们在总结同行经验和临床实践的基础上,通过不断设计和改进,研制出一种对于烈性犬具有确切保定效果的脱卸式活动围栏,在日常宠物门诊中发挥了积极有效的作用。

1 材料与方 法

1.1 材料 Φ6'镀锌自来水管、不锈钢板(厚度1 mm)、钢筋(直径6 mm)、膨胀螺丝等。

1.2 方 法

1.2.1 设计 首先采用Φ6'镀锌自来水管焊制长方形围栏,其长为230 cm,高为40 cm,中部的

70 cm宽度用不锈钢板封闭,不锈钢板前后两端各加焊成“田”字状方格,该方格宽为35 cm。围栏中部上端加焊70 cm×8 cm的“U”框,用不锈钢板封闭,并向内折转75°角。围栏中部下端另加焊140 cm×15 cm的“U”框,仍用不锈钢板封闭,使此处围栏高度达到55 cm。将围栏一端约20 cm长弯曲出一定的弧度,上下各焊接一个六角空心螺母,以便与墙壁上的围栏固定栓相扣(见图1)。

接着选择240 cm长的墙面,如带90°墙角更佳。在墙面中部接地处安装一个用钢筋焊制的36 cm×5 cm的方框,此方框内加焊两条横档,将其均分为上、中、下三格,每格高度为12 cm,以适应于不同体格犬的颈链(绳)穿入。为避免犬在保定中碰伤,将方框外上角弯成圆角。在墙面一端安装两个围栏固定栓,其高度为当围栏六角螺母插入后,围栏底部距地7 cm。如选择的墙面带有90°墙角,可在一墙面上安装围栏固定栓,即可省去

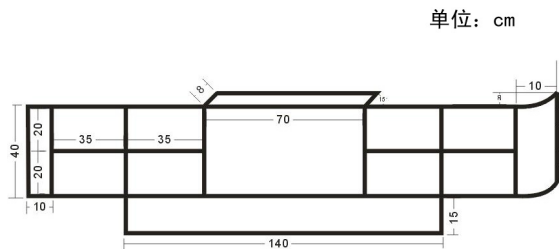


图1 可脱卸活动围栏设计尺寸

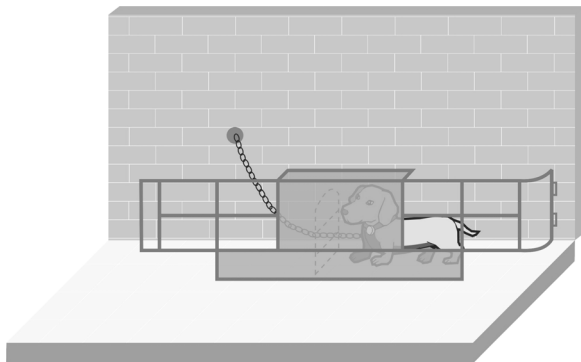


图2 犬脱卸式活动围栏保定法

围栏一端的弧形设计。

1.2.2 应用 临床诊疗需要时将围栏六角空心螺母套入墙壁固定栓,根据犬的体格大小,将颈链(绳)穿过墙面中部接地方框内的适宜方格,由主人将颈链(绳)收紧,诊疗人员即可合拢围栏完成保定,开始检查、治疗等措施(见图2)。

2 结果

该围栏在本院数百次的临床应用中,均能使大型烈性犬得到可靠的保定,极大地方便了临床各项诊疗工作的进行,有效地防止了烈性犬在诊疗、免疫注射中的伤人事件。结果显示,该围栏的适用性较广,可用于体长在70 cm以上大、中型犬的保定;且制作比较简单,操作简便,使用安全、可靠。

3 讨论

3.1 临床常用的犬保定器材及效果比较 当前临床用于大、中型犬或烈性犬保定的器材主要由不锈钢管、锌管或钢筋等焊制而成,多为长方形犬笼或各种项圈等,其外形大体相同,而细微构造各异。最常见的是两端有门、中间有活动挡板的犬笼,将犬牵入笼内后,诊疗人员推动活动挡板即可将犬夹紧,同时迅速关闭前、后门,即可完成保定。但最常见的问题是,往往无法将灵敏度极高的烈性犬牵入笼内,致使此种犬笼不能发挥作用。另外常见的一种犬笼是体积较小,一般将笼门开在顶上或为活动顶盖,而两端或开门、或封闭。使用时主人将犬抱起,由犬笼上方放入笼内,诊疗人员推动挡板将犬夹紧,再盖(关)上笼门就达到保定目的。但此种犬笼应用范围有限,仅适用于小型犬或体型较小、性格温顺的中型犬。还有一种类似于大动物的柱栏保定法,在前面两柱间安置由两条中部呈半弧形弯曲的锌管构成的颈圈,其高度与犬头颈高度相适应,下面的锌管固定,上面的锌管可上下活动。主人可强行牵拉将犬颈部拉入锌管凹弧,上下锌管合拢即可将犬头部保定。为了有效地限制犬的后躯活动,最好侧面有矮墙,并事先在墙壁上安装腹带,这样即可用腹带兜住犬的腹部,必要时将犬的四肢拉离地面,就可以获得满意的保定效果。但此种方法一般需要2~3人协同操作,容易引起犬的高度警觉;而且当主人牵拉时,犬常用前肢撑住两侧立柱以抗拒前行;若牵拉用力过

猛或犬自带项圈稍大,极易发生项圈脱出现象而给诊疗人员造成伤害。临床实践表明,以上几种保定器材虽各有优点,但均不能有效地解决烈性犬的保定问题。

3.2 脱卸式活动围栏的设计与应用效果 犬脱卸式活动围栏的设计吸取了以上几种临床常用保定器材的优点,并在巧妙结合的基础上有所创新。其中围栏与墙面的设计扩大了犬体表的受力面,同时又适应于烈性犬的各种体格,而围栏中部上、下端的辅助设计更具实用性,可以有效地防止犬从上方跳出或从下方钻出,增强了对大小不同体格的烈性犬实施保定的可靠性,提升了保定操作中人和犬的安全系数。在墙壁接地处设计的钢筋方框,减小了犬对保定器材的恐惧与警觉,提高了脱卸式活动围栏的临床重复使用率。在多年的临床应用中,没有发生过被保定的烈性犬从围栏上方跳出或下方钻出现象。然而在设计早期发现,当围栏底部距地面 >20 cm时,约有一定数量的犬只会从围栏下端钻出,因此围栏的安装高度十分重要,即墙壁上的固定栓高度必须准确。经过多次试验认为,围栏下部距地面应有7 cm空间,如此既可保证犬不从围栏下方钻出,也能避免围栏底部与地面摩擦。临床应用中该器材的清洗消毒十分方便,但要避免使用对锌管有腐蚀性的消毒剂。需要指出的是,烈性犬颈部的铁链或脖圈必须大小适宜,确保在牵拉保定过程中不会脱落,否则一旦发生烈性犬挣脱铁链或脖圈后便非常危险。所以,确保犬颈部铁链或脖圈牢靠是完成保定任务的先决条件,只有满足了这个条件,后面的保定工作才能顺利地完成。目前犬脱卸式活动围栏保定法仍在不断改进中,相信日常的临床应用实践会促进该保定方法更加完善。

4 小结

犬脱卸式活动围栏保定法适用于各种体格的大、中型烈性犬保定,效果确实可靠,十分安全,容易操作。

(致谢:文中脱卸式活动围栏的设计得到任祖伊高级兽医师、研究员的大力支持和上海鹏峰宠物诊所陈鹏峰先生的帮助指导,插图由宁波大学艺术与传媒学院陈煜老师协助绘制,全文得到佛山科学技术学院动物医学系周庆国副教授的审阅与修改,在此一并致以诚挚的谢意!)

一例犬腹水症的诊治

谢子茂

(广州市黄埔区动物防疫监督所, 广东 广州 510700)

中图分类号: S858.292

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0042-02

腹水症是指腹腔内液体非生理性贮留的状态。引起腹水症的原因很多,如心肾功能不全、肝硬化、低蛋白血症、腹膜炎和癌性腹膜炎等均可引起。笔者曾诊治一例因饲养管理不善和体内外寄生虫寄生而引起的犬低蛋白性腹水症,现报告如下:

1 病史

一洛威公犬,12月龄,体重约25 kg,于2007年9月送我所就诊。主诉:该犬在工厂饲养,无专人管理,平时多喂食馒头、剩饭菜等。近一个月来发现犬只腹部逐渐鼓胀,食欲减退,精神沉郁,极度消瘦,两后腿无法站立。

2 症状

患犬精神萎靡,被毛粗乱,全身体表有蜱寄生。腹壁触诊可感水状波动,两后腿肿胀,阴囊水肿,直肠温度40.5℃,心跳145次/分钟,呼吸急促。

3 诊断

B超检查发现,腹腔内充满大量液体,肠管悬浮于腹腔液中,膀胱、肝脏、肾脏未见异常。侧位X光检查可见,腹腔呈均匀白色影像,膀胱空虚,未发现其它异常。取粪便约50 g检查,有绦虫节片16个。

血常规检查显示(见表1),白细胞总数偏高,嗜酸性粒细胞增多,红细胞数偏低,平均红细胞容积、平均红细胞血红蛋白、平均红细胞血红蛋白浓度都较低。血液生化检查显示(见表2),肝肾功能指标基本正常,总蛋白和白蛋白明显下降,血清尿素氮降低,肌酐下降。腹水检查显示(见表3),腹水为漏出液,非炎性渗出液。

依据以上临床检查、B超与X光影像学检查、血常规检查、血液生化检查及腹水检查等结果分析,诊断该犬为体内外寄生虫寄生和营养不良引起低蛋白性腹水症。

4 治疗

采用如下综合治疗方法:(1)于脐和耻骨前缘之间的腹部正中线消毒,用18号注射针放液,

表1 患犬血常规检查结果

项目	单位	检查结果	参考值
白细胞数	10 ⁹ /L	29.0	13.26±3.81
红细胞数	10 ¹² /L	3.6	5.87±0.53
血红蛋白	g/L	76.8	136.1±10.8
红细胞体积	%	34.6	40.25±3.81
平均红细胞容积	fL	65.0	67.01±3.02
平均红细胞血红蛋白	pg	16.0	23.15±2.03
平均红细胞血红蛋白浓度	g/L	201.8	330.6±18.68
血小板计数	10 ⁹ /L	205.0	382±105
嗜酸性粒细胞计数	%	12.0	3.03±2.69
嗜碱性粒细胞计数	%	0	0.50±0.50
中性粒细胞计数	%	72.0	68.01±7.21
淋巴细胞计数	%	8.0	18.13±6.04
单核细胞计数	%	8.0	6.0±3.0

表2 患犬血液生化检查结果

项目	单位	检查结果	参考值
谷丙转氨酶	U/L	70.0	38.68±7.86
谷草转氨酶	U/L	56.3	35.32±6.35
碱性磷酸酶	U/L	94	80.28±20.38
血清总蛋白	g/L	28.5	57.58±4.84
白蛋白	g/L	12.8	31.96±3.81
总胆红素	umol/L	2.3	4.12±1.16
谷氨酰转肽酶	U/L	8	2.06±0.94
尿素氮	umol/L	1.5	4.08±1.18
肌酐	umol/L	30.4	70.21±14.72
总胆醇	mmol/L	2.9	3.11±0.65

表3 患犬腹水检查结果

项目	检查结果
外观和颜色	清亮,无色
透明度	透明
气味	无
pH值	7.5
比重	1.013
李凡他试验	阴性
凝固性	不凝固

刺入深度不宜过深,以防伤及肠管,速度不可太快,也不可一次放净,防止犬虚脱。(2)使用福来恩喷剂(梅里亚公司产品)喷洒全身,每日1次,连喷3日;口服丙硫咪唑0.6 g,隔日1次,连服2

次。(3) 静脉滴注 10% 葡萄糖 100 mL、ATP 20 mg、辅酶 A 200 单位、Vc 0.5 g、B₆ 100 mg; 5% 葡萄糖 100 mL、头孢曲松钠 1 g; 0.9% 氯化钠注射液 100 mL、犬用白蛋白 10 mL。均为每日 1 次, 连用 3 日。

(4) 口服速尿 100 mg、抗醛固酮剂 100 mg、维生素 B₁ 10 mg、地塞米松 10 mg, 每日 2 次, 连服 5 日。(5) 给予高蛋白低钠的食物, 限制饮水。治疗 5 天后患犬腹水消失, 水肿也消失, 基本恢复正常。两星期后回访, 该犬已完全康复。

5 小结

5.1 各项检查方法对于确定本病的病因起到了关键作用。白细胞总数升高提示体内有炎症, 估计是寄生虫造成肠道及皮肤损伤; 而嗜酸性粒细胞增多, 则提示寄生虫感染。红细胞偏低, 平均红细胞容积、平均红细胞血红蛋白、平均红细胞血红蛋白

浓度都较低, 证明为较严重的贫血状态。肝肾功能指标基本正常, 排除了肝硬化和肾病引起的腹水。腹水的检验结果为漏出液, 非炎性渗出液, 可以排除腹膜炎或癌性腹膜炎。血清尿素氮和肌酐降低, 表明低蛋白性饮食和肌营养不良症。血清总蛋白和白蛋白明显减少, 表明血浆胶体渗透压下降是引起腹水的主要原因。过度的腹水症状又会影响心、肾功能, 进而导致两后腿及阴囊水肿。

5.2 腹水不是一种疾病, 而是许多疾病所表现出的一种体征。小动物临床常见犬腹水病例, 而诱发原因很多, 应尽量采用动物医学现代检查结果分析, 确定腹水的性质, 进而积极寻找并确定病因, 因为只有针对病因的治疗才有可能消除或减少腹水。通过对本例腹水患犬静脉滴注犬用白蛋白, 并配合其他对症、对症治疗措施, 取得了明显的疗效。

(上接第 18 页)



图 1 鸡肝脏组织滴虫形成的坏死 (HE. ×100)

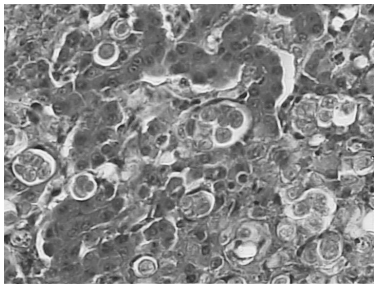


图 2 鸡肝脏组织滴虫的包囊 (HE. ×400)

很相似, 在诊断时要注意鉴别。此次临床症状显示鸡冠及髯部发紫, 呈暗黑色, 剖检盲肠病理变化为纤维素性坏死性肠炎, 肝脏出现黄绿色的坏死灶, 是组织滴虫病初步诊断的典型特征。可以通过盲肠粘膜刮取物显微检查以及病理组织学方法确诊, 特别是盲肠固有层和肝脏中观察到具有典型形态学特征的虫体对本病具有确诊意义^[6]。

本病的感染途径主要为鸡直接吞食排出的虫体^[4]或带有组织滴虫的异刺线虫卵^[5]或是鸡吞食

的蚯蚓中含异刺线虫卵, 而这些虫卵又带有组织滴虫, 故散养的火鸡和棚养鸡易发, 笼养鸡感染组织滴虫的机率较低。但是, 如果笼养鸡卫生条件差, 饮水或饲料被组织滴虫污染, 也会给本病的传播创造有利条件。故除了对危害较大的传染性疾病作好免疫防控外, 更应该搞好环境卫生并合理用药驱虫, 避免常见寄生虫病造成的经济损失。如把粪便及时清出鸡舍, 堆积发酵^[7]; 加强阳光照射, 饲槽、水槽每隔 2~3 d 在阳光下曝晒 1~2 h 或每天用 0.2% 高锰酸钾水刷洗 1 次, 保持舍内干燥等可有效的减少组织滴虫的危害^[8]。对于患病的鸡要及早诊断, 及时进行隔离治疗。

参考文献:

- [1] 林青, 王晶钰. 肉鸽组织滴虫病的诊治[J]. 中国家禽, 2004, 26(24): 45.
- [2] 管艳庆. 一起肉鸡组织滴虫病的诊疗报告[J]. 禽业导航, 2006, (10): 36-37.
- [3] 席克奇. 鸡组织滴虫病与其他症状相近鸡病的鉴别诊断与防治[J]. 中国兽医寄生虫病, 2005, 13(2): 48-49.
- [4] 赵朝霞. 鸡组织滴虫病的综合防控[J]. 中国动物检疫, 2007, 24(6): 35.
- [5] 张铁, 王春光, 张庆茹, 等. 禽组织滴虫病[J]. 禽病防治, 2002, (8): 31-32.
- [6] 卡尔尼克 BW. 禽病学[M]. 第 10 版. 北京: 中国农业出版社, 1999, 1124-1129.
- [7] 张秀江. 鹧鸪组织滴虫引起仔鸪死亡的报告[J]. 河南畜牧兽医, 1994, 15(4): 32-33.
- [8] 张玲, 魏爱枝, 张文建. 鸡组织滴虫病的流行特点与防治[J]. 河南农业科学, 2005, (7): 100.

一起伪造检疫证明案引发的思考

谭树波, 王永, 梁容根, 李小军, 王峰
(东莞市动物卫生监督所, 广东 东莞 523007)

中图分类号: S851.33

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0044-02

1 案由

2007年8月17日,我市东城检疫组检疫员在东城三鸟批发市场检疫时,发现一张盖有“长安镇某三鸟批发市场”的《动物产品检疫合格证明》为疑似伪造检疫证明,东城检疫组立即上报我所。我所稽查科执法人员赶到现场后发现该张检疫证的确有伪造的嫌疑,遂对东城三鸟批发商贩进行调查。

2 立案调查

8月22日,我所稽查科执法人员到长安镇某三鸟批发市场进行调查,在该市场办公室查获5本涉嫌伪造的检疫证明(100张/本)和一本存根。经对该市场负责人询问调查,该市场在没有办理任何相关证照的情况下经营三鸟,但三鸟要在全市各市场上流通就必须持有《动物产品检疫合格证明》,而该市场因不符合动物防疫条件,当地检疫分所未在该市场设立报检点出证。在这样的情况下,该市场擅自印制6本《动物产品检疫合格证明》,并且使用“长安镇某三鸟批发市场检疫组”公章,让场里的人充当检疫员出证。该市场负责人承认这些类似检疫证明由该市场印制并使用,但不承认为伪造检疫证明。

3 处理

长安镇某三鸟批发市场擅自印制检疫证明的行为,是属于未经国务院兽医主管部门批准,仿制法定检疫证章的式样,擅自制作检疫证章的行为,违反了旧《动物防疫法》第四十条第一款规定“检疫证明不得转让、涂改、伪造”。根据旧《动物防疫法》第五十一条规定,我所根据情况对长安镇某三鸟批发市场作出“收缴6本伪造的《动物产品检疫合格证明》和罚款25000元”的处理意见,并于2007年11月15日对该市场作出《行政

处罚事先告知书》。该市场负责人对于以伪造检疫证明进行处罚不能接受,于2007年11月19日提交申辩材料,认为其只是在印制证明时并没有在证明上印制“农业部统一监制”的证章,与真检疫证明不完全相同,且这些证明只是内部使用,并据此认为按伪造检疫证明处罚他们不能接受,证据不够充分。

关于当事人申辩材料的有关问题,我所请示了市农业局政策法规科和畜牧办,并于2007年12月3日共同对申辩材料进行讨论研究,一致认定长安镇某三鸟批发市场的《动物产品检疫合格证明》为伪造检疫证明,虽然其印制的检疫证明与真检疫证明不完全相同,但其已经充当真的检疫证明用途在市场上流通,以假充真;同时,虽然当事人为初犯,但案件情节严重,造成了动物疫病传播的严重安全隐患。与会人员一致认为,应当维持予以当事人25000元罚款的处理意见,对当事人关于从轻处罚的申辩请求不予支持。

同时我所将情况上报广东省动物防疫监督总所。12月13日广东省动物防疫监督总所认定长安镇某三鸟批发市场印制类似检疫证明属伪造检疫证明的行为,可依据《动物防疫法》的相关规定进行处罚。2007年12月18日我所稽查科执法人员再到长安镇某三鸟批发市场说明情况,并下达了《行政处罚决定书》。2008年1月3日,长安镇某三鸟批发市场负责人到银行缴交了罚款。

4 讨论与思考

从这个案件我们可以看到当事人对伪造检疫证明的无知,以及法律意识的淡薄。这不仅仅是个人的问题,也有我们监督部门的责任。伪造检疫证明在全市流通,一方面扰乱正常的检疫管理秩序,更为严重的是逃避检疫,使大量未经检疫的动物

及动物产品披着“检疫合格”的外衣上市流通, 这些实际未经检疫的动物及动物产品可能造成动物疫病传播的严重安全隐患, 更可能对消费者的身体健康构成严重的威胁。

这个案件对于如何加强检疫证明的监督与管理, 提供了有益的启示。今后, 我们一是加大《动

物防疫法》及有关法律法规的宣传力度, 使广大经营者知法守法。二是加大执法力度, 打击造假行为, 确保人民群众吃上“放心肉”。三是强化监督, 严格执法。四要加强检疫证明管理。建立严格的证明管理制度, 实行专人负责制, 切实做到对口管理, 保障人民群众身体健康。

(上接第 31 页)

行, 预试 5 d 正试期 7 d。每组选取有代表性的 (小尾寒羊×萨福克) F2 代杂种羊 6 只置于消化代谢笼内, 自由饮水, 采用全收粪法计算营养物质的利用率。

1.4 测定指标 在试验过程中, 精确测定每个重复的采食量。试验始末, 空腹称量每只羊的体重。

2 数据处理与分析

试验数据以平均值±标准误表示, 采用 SAS 统计软件对数据进行方差分析和比较。

3 结果与分析

3.1 苜蓿对育肥羊生产性能的影响 由表 3 可知, 与对照组相比, 试验组的采食量降低了 18.1%, 并且达到了显著水平 ($P < 0.05$); 料肉比降低了 15.71%, 达到了显著水平 ($P < 0.05$); 平均日增重差异不显著 ($P > 0.05$)。

表 3 苜蓿对育肥羊生产性能的影响

项目	对照组	试验组
初重 (kg)	20.83±0.93	20.67±0.71
末重 (kg)	24.08±1.08	23.83±0.71
平均日增重 (kg)	0.130±0.014	0.127±0.013
干物质采食量 (kg/d)	1.16±0.12	0.95±0.002 ¹⁾
料肉比	8.91±0.48	7.51±0.09*

1): 同行右肩标无标注者, 差异不显著 ($P > 0.05$); “*”表示差异显著 ($P < 0.05$)。

表 4 苜蓿对营养物质消化率的影响

项目	对照组	试验组
粗蛋白	78.62±3.83	70.11±6.26
粗脂肪	54.03±15.06	59.39±17.31
粗纤维	68.87±1.19	70.72±1.70

3.2 苜蓿对营养物质消化率的影响 由表 4 可以看出, 试验组粗蛋白的消化率比对照组低 10.82%, 但差异不显著 ($P > 0.05$); 粗脂肪和粗纤维的消化率分别比对照组高 9.92% 和 2.69%, 均没达到显著水平 ($P > 0.05$)。

4 讨论与结论

4.1 苜蓿对育肥羊生产性能及营养物质消化率的影响 陈国胜等^[5]将苜蓿粉应用于生长肥育猪, 显著提高了日增重, 说明苜蓿能满足生长肥育猪的营养需要。本试验条件下, 试验组干物质采食量和料肉比显著下降而日增重没有显著差异, 表明自由采食苜蓿不但能满足育肥羊正常生长发育需求, 而且还能提高饲料转化率和经济效益。这可能与苜蓿中含有多种抗病、抑菌、抑病毒的活性物质有关。

由表 4 可知, 试验组粗蛋白的消化率要低于对照组, 说明虽然苜蓿中粗蛋白的含量与苜蓿相当, 但是蛋白质品质不如苜蓿; 而对于粗脂肪和粗纤维的消化率却要高于对照组。综合以上数据可以看出, 虽然苜蓿的蛋白质品质可能不如苜蓿, 但是它能满足育肥羊营养需要, 降低饲料成本, 提高经济效益, 符合当前市场的需求。

4.2 结论 苜蓿作为一种传统的中草药, 含有比较丰富的蛋白质和脂肪, 但国内外对它的饲用价值研究相对较少。通过试验研究发现, 自由采食苜蓿能够满足育肥羊正常生长发育需要, 表现出与等量苜蓿相同的饲喂效果, 提高了饲料转化率降低了饲料成本。所以进一步研究开发利用苜蓿资源, 对解决因饲料资源的匮乏而制约饲料工业发展的难题具有积极的意义。

参考文献:

- [1] 吴常信. 为建立安全、优质、高效的饲料生产体系而努力[J]. 中国饲料, 2007, (1): 9-11.
- [2] 丁国文. 扩大非粮食饲料原料供给[J]. 中国饲料, 2006, (22): 22-24.
- [3] 王彦波, 许梓荣. 前景广阔的饲料添加剂——中草药[J]. 饲料博览, 2003, (6): 34-35.
- [4] 贾仁勇. 中草药作为绿色饲料添加剂研究与应用新进展[J]. 畜禽业, 2004, (1): 28-30.
- [5] 陈国胜, 赵聘, 陈廷国. 苜蓿粉饲喂生长育肥猪试验[J]. 河南农业科学, 2001, (2): 23-25.

探讨对一起违章收购犍牛案件的处理

彭丁应¹, 胡诗明¹, 唐耀平²

(1. 湖南省城步县动物卫生监督站, 湖南 城步 422500; 2. 湖南省邵阳市家畜疫病防检站, 湖南 邵阳 422000)

中图分类号: S851.33

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0046-02

犍牛产地检疫是确保犍牛产品质量的基础, 是犍牛检疫工作的第一关。为保证产地检疫工作的正常开展, 加强对违章收购案件的查处里得尤为重要。

1 案情调查

1.1 2007年2月10日, 湖南省城步县动物卫生监督站所接到群众举报, 反映有外县车辆正在本县某农户家准备收购犍牛运往外地, 我所随即与当地镇兽医站联系。镇兽医站工作人员先进行调查, 我所立即派多名动物卫生监督人员, 分乘两辆执法车前往现场处理。

1.2 到达现场后, 发现运载犍牛车已经离开。根据群众提供的信息, 运载犍牛的车辆为农用三轮车车牌号码湘EXXX。于是, 我们加紧追赶, 大约追逐3 km左右发现了一辆农用三轮车, 车牌号码、车辆颜色与群众提供的相符。我们执法车加速前进, 并超过农用三轮车, 就在超车时候我们仔细查看车上的情况, 确实装的是犍牛。我们通过电话联系, 安排下一步方案, 准备就在经过茅坪兽医站时对其进行检查, 大约行驶10多分钟, 茅坪兽医站就要到了。我们执法的车辆一前一后放慢速度, 就在到达茅坪兽医站门口时, 前面的执法车突然停下后面的车也停下, 农用车被夹在其中, 不得不接受检查。

1.3 我们在出示了执法证件以后, 要求货主出示检疫证明, 三名货主及介绍人未能出示有效的检疫证明, 因此我们认定该车犍牛属违章收购的。为避免影响交通, 当即要求货主将车开进检疫所隔离观察, 接受对违章收购犍牛的处理。但三名货主态度蛮横, 拒不移动车辆。由于我们无移动车的权利, 在万般无奈的情况下, 我们只能将前车尾紧靠

其车头, 后车靠其尾, 将其控制, 以防止逃逸。

1.4 在对当事人调查过程中, 货主及介绍人等始终避重就轻, 不愿意接受询问。后在当地派出所民警的协助下, 终于取得了四名当事人的询问笔录, 对违章的经过了详细的了解。怀化的“小刀手”李某, 张家界的“小刀手”杨某、陈某一行人经本镇罗某介绍, 到茅坪镇收购犍牛, 在未见到检疫证明的情况下, 将该镇的8头犍牛以每头1500元的价格收购, 准备运往武冈销售, 介绍人获得每头20元的介绍费。

2 案件处理

2.1 由于当日气温很高, 为了防止车上犍牛出现异常反应, 在调查结束后, 我们立即通知驻茅坪镇兽医站检疫人员到场检疫, 并对8头犍牛进行测温, 检查后情况正常, 全为健康犍牛。

2.2 在取得《询问笔录》和《现场检查笔录》等一系列证据的基础上, 我们最终认定: 三名当事人收购依法应当检疫而未经检疫的犍牛违事实清楚, 证据确凿, 根据《中华人民共和国动物防疫法》第49条及《湖南省实施〈中华人民共和国动物防疫法〉办法》第31条规定, 做出以下处理决定: 1、责令其停止违法运输行为; 2、对8头犍牛补检, 加倍收取检疫费; 3、处以1000元罚款。当事人最初对此不接受, 不愿意交纳罚款, 后经说服教育, 最终履行了决定。我所也出具了《出县境动物合格证明》, 对车辆消毒后出具了《动物卫生产品运载工具消毒证明》后放行。

3 探讨问题

3.1 在执法过程中对违章车辆的控制问题如何解决。由于动物卫生监督机构对运输车辆无控制权力, 一旦发生事故将承担相应责任。然而若不对

车辆实施拦截, 此类违章案件又得不到查处。在我所参与的违章查处中, 就多次发生贩子和“小刀手”等无证收购, 然后驾驶摩托、汽车逃逸的情况。因此在执法过程中要与交警部门取得联系, 交警能赶到现场最好, 或者与交警协作, 取得交警部门的挡车检查权力, 在此案实际工作中采取前挡后追夹击, 迫使车辆停车检查, 进行监督执法。

3.2 违法当事人拒不配合调查取证的问题如何解决。在此案过程中违章人员是外来人, 有“我不配合, 你就拿我没有办法”的侥幸心理。这时需要多方的协调, 对他们说明违章收购的利害关系, 讲解动物卫生有关法律法规。如果违法当事人蛮横、不讲理, 可以通过当地派出所调解人员出面调解。

3.3 对外来人员违章罚款的执行问题解决。在此案的处理过程中, 按《行政处罚法》的规定, 50 元

以上罚款必须履行行政处罚的一般程序, 从立案开始到最终结案前后至少要经历一周时间。但在本案中, 三名主要当事人为外地人, 在进行调查取证后, 未发现病犍牛经补检后当事人可将犍牛运回销售。为确保违法处理通知书及处罚决定书等送达到位, 保证此案件的顺利结案, 我们采取收取保证金 1 000 元现金, 待结案时替当事人交纳银行。在动物卫生监督行政执法中, 这类现象可以说是经常碰到, 在证据登记保存时, 当事人态度良好, 但事后对执法机关邮寄送达的告知书和决定书, 一概拒收, 原件退回。执法机关不可能为了几百元或者几千元的罚款多次异地奔波, 最后只能不了了之。这是我们执法工作中面临的一大难题, 采取先收取保证金办法也只能是权宜之计。



(上接第 37 页)

表 4 200501 批保存期效力试验结果

保存期	免疫头数(头)	攻毒剂量	免疫保护(头)	对照死亡(头)
6个月	5	2个致死剂量	4/5	3/3
9个月	5	2个致死剂量	5/5	2/3
12个月	5	2个致死剂量	4/5	2/3
16个月	5	2个致死剂量	4/5	3/3

表 5 200502 批保存期效力试验结果

保存期	免疫头数(头)	攻毒剂量	免疫保护(头)	对照死亡(头)
6个月	5	2个致死剂量	4/5	3/3
9个月	5	2个致死剂量	5/5	2/3
12个月	5	2个致死剂量	4/5	2/3
16个月	5	2个致死剂量	4/5	3/3

表 6 200503 批保存期效力试验结果

保存期	免疫头数(头)	攻毒剂量	免疫保护(头)	对照死亡(头)
6个月	5	2个致死剂量	4/5	3/3
9个月	5	2个致死剂量	5/5	3/3
12个月	5	2个致死剂量	5/5	2/3
16个月	5	2个致死剂量	4/5	3/3

苗保存 6、9、12、16 个月的效力试验结果可以看出, 疫苗保存 16 个月免疫猪, 采用攻毒试验可使 4/5 或以上的免疫猪得到保护, 对照猪 2/3 或以上死亡。

3 结论

3.1 猪链球菌病灭活疫苗 (2 型, HA9801 株) 在

保存 16 个月以后, 各个检验项目均符合《试行规程》的标准。

3.2 根据以上试验结果, 猪链球菌病灭活疫苗 (2 型, HA9801 株) 在 2~8℃ 保存, 保存期暂定为 12 个月。

一例雏鸭曲霉菌病的诊疗

温青泉, 侯碧琴

(广东省梅县畜牧兽医站, 广东 梅县 514000)

中图分类号: S858.32

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2008)05-0048-02

2006年5月20日, 我县某乡镇农户王某购进北京鸭苗200羽。5月23日有10羽鸭苗发病死亡之后到我单位求诊。现场检查发现其采用地面铺木屑平养, 部分垫料潮湿, 室内气温较高, 通风不良, 有较重的氨味和霉味, 用作垫料的木屑已经发霉, 部分发黑, 有刺鼻霉味。主诉曾用土霉素饮水治疗未见疗效。据现场检查、临床症状和病理剖检, 初步诊断为曲霉菌病。取病料(肺、气囊等病变器官)进行实验检查, 最后确诊为曲霉菌感染。

1 临床症状

5月23日到现场后发现部分雏鸭精神萎顿、缩颈、拉灰白色稀粪。部分雏鸭流泪, 眼睑周围羽毛及翅膀处羽毛湿润, 眼角有黄白色干酪样分泌物, 眼睑粘连。部分雏鸭张口呼吸, 呼吸困难, 口腔和鼻腔有多量浆液分泌物。病雏鸭食欲下降, 饮欲增加、频频喝水。雏鸭死亡之前两脚瘫痪, 蹠无刺痛感, 不能站立, 常翻倒、四脚朝天, 死后角弓反张, 喙和蹠明显发黑, 呈暗红色。

2 病理剖检

现场取已死亡雏鸭和部分濒临死亡的病鸭解剖。发现少部分鸭仅见气管粘膜有出血点、肺部明显充血, 呈鲜红色, 其它器官未见异常; 大部分病死鸭可见肺和胸腔气囊处有大量针头大到粟米大的黄白色结节, 部分结节连成片, 结节硬度似橡皮样或软骨样, 切开有层次结构。部分气囊有淡黄色纤维素渗出, 呈浑浊状。肝脏淤血, 有暗红色出血斑和中等程度脓肿。胆囊肿大, 充满胆汁。其它器官未见异常。

3 实验室检查

3.1 紫外线检查 取部分发霉木屑, 置于紫外线

灯下照射, 可见木屑表面有呈圆斑点状黄绿色荧光, 可确定垫料已被曲霉菌污染。

3.2 直接镜检 取肺、气囊上黄白色结节, 用剪刀剪碎, 置于载玻片上, 加20%氢氧化钾溶液1~2滴, 混匀, 在酒精灯上稍微加热, 加盖玻片后镜检, 可见有大量霉菌孢子, 并有多个菌丝形成的菌丝团, 分隔的菌丝排列成放射状可以确诊为曲霉菌感染。

3.3 分离培养镜检 无菌操作取肺、气囊处组织标本, 点播接种于萨布罗琼脂平板培养基上, 37℃培养36h, 肉眼可见中心带有烟绿色稍凸起、周围呈放射状灰白色菌落, 随着培养时间的推移, 菌落变成淡绿色, 最后变为灰黑色。挑取单个菌落置于载玻片上镜检, 可见典型霉菌样结构, 分生孢子头呈柱状排列, 顶囊膨大呈倒立烧瓶样, 菌丝分隔, 孢子呈圆形, 淡绿色。

根据上述的现场检查、临床症状和病理剖检及实验室检验结果, 该病例诊断为曲霉菌感染。

4 防控措施

4.1 立即清除栏舍内潮湿发霉的垫料, 用水清洗栏舍的地面和墙角, 并用1:2 000硫酸铜水溶液喷洒场地, 更换新鲜未发霉的垫料。对已发霉的垫料用1:2 000硫酸铜水溶液喷洒并晒干。

4.2 对所有雏鸭用制霉菌素按5 000~8 000 IU/羽拌料, 一日2次, 连用5 d; 同时用0.05% (1:2 000)硫酸铜水溶液饮水, 连用5 d。对个别病情较严重的雏鸭用制霉菌素按10 000 IU/羽, 灌服, 一日1次。用药4 d后雏鸭停止死亡。

5 讨论与小结

5.1 小鸭入舍前, 鸭舍可用福尔马林熏蒸消毒或用0.5%新洁尔灭喷洒消毒。加强小鸭饲养管, 保



图1 鸭喙紫黑

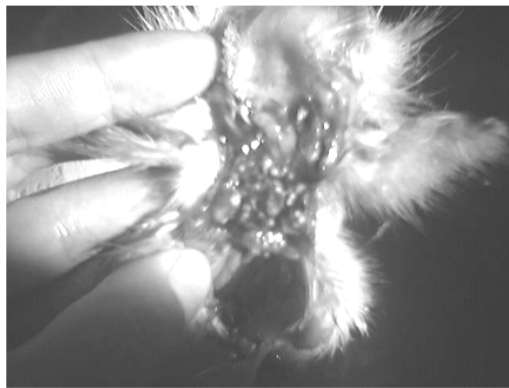


图2 霉菌结节

持合理的密度和温湿度,搞好环境卫生,保证鸭舍的清洁干燥和空气新鲜。

5.2 不购进已感染霉菌的鸭苗,禁止用已发霉的垫料和饲料,采取预防为主方针。

5.3 高温高湿的气候环境中曲霉菌容易生长。小鸭的曲霉菌病多发生于14日龄前的雏鸭,该病发病急、死亡率高,通常在感染2h后即可发病死亡,死亡率可达50%~100%,应引起广大养殖户的

重视。

5.4 用0.05%(1:2 000)硫酸铜溶液饮水对治疗曲霉菌病有一定辅助作用,但硫酸铜溶液饮水连续使用时间不能过长,一般在用药5d后必须停1~2d,总共用药时间最好不超过10d,否则容易引起小鸭慢性铜中毒,小鸭表现消瘦、发育不良、严重的可导致死亡。

《中国饲料添加剂》杂志

欢迎订阅

欢迎刊登广告

《中国饲料添加剂》杂志是由中国饲料工业协会饲料添加剂专业委员会主办,全国饲料添加剂信息网编辑出版的一份综合性科技信息刊物。该杂志1997年创刊(月刊),主要设“专家论坛”、“科研开发”、“应用技术”、“分析测试”、“国内外动态”、“技术转让”等栏目。

《中国饲料添加剂》杂志是集饲料添加剂行业的科研开发、生产应用研究、信息交流于一体的专业性杂志,学术性强,信息面广,发行量大,覆盖全国各地。读者对象:从事饲料、饲料添加剂及其相关行业的企业管理者、主管部门决策者、科研教育、技术推广单位、畜牧养殖企业,以及饲料原料、饲料添加剂、兽药、饲料机械供应商、广大养殖户等相关人员。

订费:杂志为月刊,大16开本。每本单价6元,全年定价72.00元(含邮寄费)。

征订办法:

请直接将对订费通过邮寄或银行汇款到杂志社订阅。

注意事项:

读者在邮汇订费用时,请注明订阅份数、邮政编码、地址、单位名称、收件人姓名、电话等相关资料,以免误投。

地址:济南市文化东路80号(《中国饲料添加剂》杂志社收) 邮编:250014
电话:0531-82663150 传真:0531-82663150
联系人:刘宝胜 王雪欣 周恩华 邮箱:sltjj@vip.sohu.com
网址: <http://www.chinafeedadditive.com>

关于印发《广东省兴办规模化畜禽养殖场指南》的通知

各地级以上市农业（畜牧兽医）局、国土资源局、环保局：

为贯彻落实国务院和省政府有关文件精神，大力发展畜禽规模养殖，进一步规范畜禽生产行为，维护畜禽饲养者合法权益，促进我省畜牧业持续健康稳步发展，我们依据国家和省有关政策法规制定了《广东省兴办规模化畜禽养殖场指南》。现印发给你们，请认真贯彻执行。

广东省农业厅 广东省国土资源厅
广东省环境保护局
二〇〇八年四月二十八日

广东省兴办规模化畜禽养殖场指南

一、总体要求

在我省境内从事规模化畜禽养殖，必须遵守《中华人民共和国土地管理法》、《中华人民共和国农村土地承包法》、《中华人民共和国环境保护法》、《中华人民共和国畜牧法》、《中华人民共和国动物防疫法》、《中华人民共和国环境影响评价法》、国务院《建设项目环境保护管理条例》、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》、农业部《动物防疫条件审核管理办法》、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（试行）》等相关法律法规和政策文件。

二、规模化畜禽养殖概念

在同一地点、达到以下规模之一的畜禽养殖行为称为规模化畜禽养殖：生猪存栏 100 头以上，肉禽存栏 1000 只以上，蛋禽存栏 500 只以上，奶牛存栏 20 头以上，肉牛存栏 10 头以上，肉羊存栏 50 只以上，肉兔存栏 100 只以上，其他畜禽的饲养规模标准参照执行。

三、养殖用地的申请

畜禽规模化养殖用地要符合乡（镇）土地利用总体规划，办理土地承包（转包）或有关用地手续。国家禁止占用基本农田发展畜禽规模养殖，鼓励利用废弃地和荒山荒坡等未利用地；规模化畜禽养殖用地确定后，不得擅自将用地改变为非农业建设用途。国家区别不同情况，对畜禽规模化养殖用地采取不同的扶持政策：

（一）本农村集体经济组织、农民和畜牧业合作经济组织按照乡（镇）土地利用总体规划，兴办规模化畜禽养殖所需用地按农用地管理，作为农业生产结构调整用地，不再办理农用地转用审批手续。

（二）其他企业和个人兴办或与农村集体经济组织、农民和畜牧业合作经济组织联合兴办规模化畜禽养殖所需用地，实行分类管理。畜禽舍等生产设施及绿化隔离带用地，按照农用地管理，不再办理农用地转用审批手续；管理和生活用房、疫病防控设施、饲料储藏用房、硬化道路等附属设施，属于永久性建（构）筑物，其用地按建设用地管理，需依法办理农用地转用审批手续；也可同时办理征收土地手续。

申请规模化畜禽养殖用地程序：

1. 申请规模化畜禽养殖的企业或个人，无论是农村集体经济组织、农民和畜牧业合作经济组织还是其他企业或个人，需经乡

（镇）人民政府同意。

2. 本农村集体经济组织、农民和畜牧业合作经济组织申请规模化畜禽养殖的，乡（镇）国土所要积极帮助协调用地选址，并到县级国土资源管理部门办理用地备案手续或依法办理建设用地审批手续。涉及占用耕地的，要签订复耕保证书，原则上不收取保证金或押金；原址不能复耕的，要依法另行补充耕地。

3. 其他企业或个人申请规模化畜禽养殖的，县（市、区）、乡（镇）国土资源管理部门要积极帮助协调用地选址，并到县级国土资源管理部门办理用地备案手续。其中，生产设施及绿化隔离带用地占用耕地的，应签订复耕保证书，原址不能复耕的，要依法另行补充耕地；附属设施用地涉及占用农用地的，应按照规定的批准权限和要求办理农用地转用审批手续，也可同时办理征收土地手续。

4. 规模化畜禽养殖用地要依据《中华人民共和国土地管理法》、《中华人民共和国农村土地承包法》等法律法规和有关规定，以出租、出让、转包等合法方式取得，切实维护好土地所有权人和原使用权人的合法权益。县级国土资源管理部门在规模化畜禽养殖用地有关手续完备后，及时做好土地变更调查和登记工作。因建设确需占用规模化畜禽养殖用地的，应结合规划布局 and 养殖企业或个人要求，重新相应落实新的养殖用地或协商一致后依法给予补偿，依法保护养殖企业和个人的合法权益。

四、养殖场的建设要求

畜禽规模化养殖场应当具备下列条件：

- （一）有与其饲养规模相适应的生产场所和配套的生产设施；
- （二）有为其服务的畜牧兽医技术人员；
- （三）具备法律、行政法规和国务院畜牧兽医行政主管部门规定的防疫条件；
- （四）有按经批复的环评要求的对畜禽粪便、废水、废气和其他固体废弃物进行综合利用的沼气池等设施及其他污染防治和无害化处理设施；
- （五）具备法律、行政法规规定的其他条件。

养殖场兴办者应当将养殖场的名称、养殖地址、畜禽品种和养殖规模，向养殖场所在地县级人民政府畜牧兽医行政主管部门备案，取得畜禽标识代码。

五、养殖场的生产经营要求

（一）畜禽养殖者应当按照国家关于畜禽标识管理的规定，在应当加施标识的畜禽的指定部位加施标识。标识由县级畜牧兽医行政主管部门免费提供。

(二) 畜禽养殖场应当建立养殖档案,载明以下内容:1. 畜禽的品种、数量、繁殖记录、标识情况、来源和进出场日期;2. 饲料、饲料添加剂、兽药等投入品的来源、名称、使用对象、时间和用量;3. 检疫、免疫、消毒情况;4. 畜禽发病、死亡和无害化处理情况;5. 国务院畜牧兽医行政主管部门规定的其它内容。

(三) 从事畜禽养殖,应当依照《中华人民共和国动物防疫法》的规定,做好畜禽疫病的防治工作。

(四) 畜禽养殖场批量出售或者运输动物、动物产品的,必须提前一至二日向动物防疫监督机构申报检疫,动物防疫监督机构派动物检疫员在动物、动物产品出售或者运输前二小时进行现场检疫;非批量出售或者运输动物、动物产品的,必须把动物或者动物产品送到动物防疫监督机构设置的检疫点检疫。

(五) 从事种畜禽生产经营或者生产商品代仔畜、雏禽的单位、个人,应当取得种畜禽生产经营许可证。申请人持种畜禽生产经营许可证依法办理工商登记,取得营业执照后,方可从事生产经营活动。种畜禽的生产经营许可证由县级以上人民政府畜牧兽医行政主管部门审核发放。销售种畜禽时,应当附具种畜禽场出具的种畜禽合格证明、动物防疫监督机构出具的检疫合格证明,销售的种畜还应当附具种畜禽场出具的家畜系谱。生产家畜卵子、冷冻精液、胚胎等遗传材料,应当有完整的采集、销售、移植等记录,记录应当保存二年。种畜禽场和孵化场(厂)销售商品代仔畜、雏禽的,应当向购买者提供其销售的商品代仔畜、雏禽的主要生产性能指标、免疫情况、饲养技术要求和有关咨询服务,并附具动物防疫监督机构出具的检疫合格证明。

六、养殖场的环保要求

(一) 兴办规模化畜禽养殖场,建设前应由有资质的环评单

位编制环境影响评价文件,并获得有审批权的环境保护行政主管部门的审批。

(二) 畜禽养殖场的建设应符合国家环保总局《畜禽养殖污染防治管理办法》、《畜禽养殖业污染防治技术规范》(HJ/T81-2001),并严格执行环境保护“三同时”制度。项目建成后,其配套建设的环境保护设施必须通过审批该项目环境影响评价文件的环境保护行政主管部门的验收。

(三) 畜禽养殖场应加强环境保护设施的管理和维护,确保畜禽粪便、废水、废气及其他固体废弃物综合利用或无害化处理等环保设施正常运转、各项污染物长期稳定达标排放并符合总量控制的要求。

(四) 符合环境保护有关法律法规的要求。

七、养殖场的动物防疫条件要求

畜禽养殖场应符合下列动物防疫条件,取得《动物防疫条件合格证》:

(一) 选址、布局符合动物防疫要求,生产区与生活区分开;

(二) 畜(禽)舍的设计、建筑符合动物防疫要求,采光、通风和污物、污水排放设施齐全,生产区清洁道和污染道分设;

(三) 有患病动物隔离圈舍和病死动物、污水、污物无害化处理设施、设备;

(四) 有专职防治人员;

(五) 出入口设有隔离和消毒设施、设备;

(六) 饲养、防疫、诊疗等人员无人畜共患病;

(七) 防疫制度健全;

各类种畜禽场的动物防疫条件应符合国家和省有关法律、行政法规的特别规定。

中华人民共和国农业部主管 中国动物卫生与流行病学中心主办

2009年《中国动物检疫》订阅中……

CHINESE JOURNAL OF ANIMAL HEALTH INSPECTION

全新扩版 精彩呈现

本刊扩版至80页

标准16K, 月刊, 每期10元, 年订价120元

全国中文核心期刊

信息量更大 时效性更强

更高……

更快……

更全……

电话: (0532) 85642906
 (0532) 85623545
 传真: (0532) 85623545

地址: 青岛市南京路369号
 邮编: 266032
 E-mail: cjaq@public.qd.sd.cn

刊号: ISSN 1005-944X
 CN37-1246/S
 邮发代号: 24-112

中国畜牧兽医学会期刊编辑学分会

2009年期刊联合互登征订启事

期刊名称	邮发代号	刊期	年定价(元)	地址	邮编	电话
江西畜牧兽医	44-109	双月刊	36.00	江西省南昌市文教路 395 号	330077	0791-8503157
当代畜牧	82-338	月刊	60.00	北京市西城区德外冰窖口 75 号	100088	010-62014549
兽医导刊	80-328	月刊	120.00	北京市朝阳区百子湾路 16 号后现代城 5A208 室	100124	010-87732679
浙江畜牧兽医杂志	自办发行	双月刊	30.00	浙江省杭州市凯旋路 268 号	310029	0571-86971701
今日养猪业	80-261	双月刊	48.00	北京市海淀区板井北京市农林科学院信息所	100097	010-51503821
广东畜牧兽医科技	自办发行	双月刊	33.00	广州市先烈东路 135 号	510500	020-37288167
饲料与畜牧	82-612	月刊	96.00	北京市海淀区中关村南大街 12 号农科院 103 信箱	100081	010-62123962
畜牧兽医学报	82-453	月刊	240.00	北京市海淀区圆明园西路 2 号中国农业科学院北京畜牧兽医研究所	100193	010-62815987
贵州畜牧兽医	66-58	双月刊	36.00	贵州省贵阳市龙洞堡	550005	0851-5400593
现代畜牧兽医	8-75	月刊	84.00	辽宁省沈阳市和平区南四经街 143 号	110003	024-23264599
中国禽业导刊	28-153	半月刊	192.00	江苏省扬州市桑园路 46 号	225003	0514-87254376
草业科学	54-51	月刊	144.00	甘肃省兰州市 61 号信箱《草业科学》编辑部	730020	0931-4865889
国外畜牧学——猪与禽	4-361	双月刊	36.00	上海市闵行区北翟路 2901 号	201106	021-62209279
四川畜牧兽医	62-43	月刊	84.00	四川省成都市武侯祠大街 4 号附 1 号	610041	028-85571780
福建畜牧兽医	34-81	双月刊	30.00	福建省福州市鼓屏路 153 号	350003	0591-87807454
中国家禽	28-87	半月刊	192.00	江苏省扬州市桑园路 46 号	225003	0514-87200013
畜牧兽医科技信息	14-48	月刊	96.00	黑龙江省哈尔滨市南岗区马端街 427 号	150001	0451-85935051
中国畜牧兽医报	1-155	周报	102.00	北京市朝外八里庄北里 1 号 85839926	100025	010-85835613
云南畜牧兽医	自办发行	双月刊	30.00	云南省昆明市盘龙区金殿省畜牧兽医科学院	650224	0871-5017073
中国草食动物	54-57	双月刊	48.00	甘肃省兰州市小西湖硷沟沿 335 号	730050	0931-2656124
中国兽药杂志	2-924	月刊	108.00	北京海淀区中关村南大街 8 号	100081	010-62103602
甘肃畜牧兽医	54-49	月刊	15.00	甘肃省平凉市崆峒东路 143 号	744000	0933-8635625
中国乳业	82-764	月刊	120.00	北京市海淀区中关村南大街 12 号	100081	010-62110875
养猪	8-100	双月刊	72.00	辽宁省沈阳市东陵路 120 号	110161	024-88412371
中国猪业	80-493	月刊	96.00	北京市海淀区中关村南大街 12 号	100081	010-62110875
农村养殖技术	82-742	半月刊	96.00	北京市农展馆南里 11 号农业部内	100026	010-85965193
中国牧业通讯	82-855	半月刊	192.00	北京市朝阳区麦子店街 20 号农业部北区农牧大楼	100125	010-59194617
青海畜牧兽医杂志	56-10	双月刊	30.00	青海西宁市生物园南区二一路 1 号青海省牧科院	810016	0971-5318387
中国动物检疫	24-112	月刊	120.00	山东省青岛市南京路 369 号	266032	0532-85642906
中国养兔	28-85	月刊	60.00	江苏省南京市草场门大街 124 号	210036	025-86263458
动物医学进展	52-60	月刊	120.00	陕西杨凌西北农林科技大学动物医学院	712100	029-87092574
中兽医学杂志	44-46	双月刊	30.00	江西省南昌市福州支路 2 号	330006	0791-6360234
中国兽医杂志	2-137	月刊	120.00	北京市海淀区圆明园西路 2 号中国农大动物医学院	100193	010-62733040
黑龙江动物繁殖	14-264	双月刊	30.00	黑龙江省哈尔滨市哈平路 243 号	150069	0451-86644242
北方牧业	18-323	半月刊	96.00	河北省石家庄市翟营南大街 385 号	050031	13931175960
兽药市场指南	18-354	月刊	84.00	河北省石家庄市建设南大街与槐安路交叉口东岗怡园 6-1-1103	050021	13932123869
奶牛杂志	18-261	月刊	84.00	河北省石家庄市翟营南大街 389 号卓达书香园二区 11-5-101	050031	13231119624
今日畜牧兽医	18-339	月刊	84.00	河北省石家庄市翟营南大街 385 号	050031	13933839536
中国动物保健	82-991	月刊	117.60	北京海淀圆明园西路 2 号中国农业大学图书馆 103 室	100193	010-62899836
上海畜牧兽医通讯	4-393	月刊	45.00	上海市北翟路 2901 号农科院畜牧所	201106	021-62206294

期刊名称	邮发代号	刊期	年定价(元)	地址	邮编	电话
畜牧市场	78—207	月刊	96.00	重庆渝中区双钢路3号科协大厦	400013	023-63659833
湖南畜牧兽医	42-276	双月刊	24.00	湖南省长沙市远大二路泉塘畜牧兽医研究所内	410131	0731-4615356
畜禽业	62-184	月刊	96.00	四川省成都市人民南路4段53号嘉云台乙8A	610041	028-85256716
中国兽医寄生虫病	4-748	双月刊	30.00	上海市闵行区紫竹科学园区紫月路518号	200241	021-54081818
中国畜牧杂志	82-147	半月刊	360.00	北京市海淀区上地信息路1号国际创业园1号楼1305室	100085	010-82893959
广东饲料	自办发行	月刊	60.00	广州市先烈东路135号2号楼606	510500	020-37288820
乳业科学与技术	自办发行	双月刊	48.00	上海市闸北区万荣路467号	200072	021-36030471
中国畜牧兽医	2-215	月刊	96.00	北京市海淀区中国农科院北京畜牧兽医研究所	100094	010-62816020
动物营养学报	80-591	双月刊	90.00	北京市海淀区圆明园西路2号动科院《动物营养学报》编辑	100093	010-62817823
猪业科学	6-149	月刊	144.00	北京市朝阳区望京西园222号星源国际C座3A05	100102	010-64719434
中国兽医科学	54-33	月刊	72.00	甘肃省兰州市盐场堡徐家坪1号	730046	0931-8342195
河南畜牧兽医(综合版)	36-193	月刊	96.00	河南省郑州市经三路91号	450008	0371-65778792
河南畜牧兽医(市场版)	36-352	月刊	96.00	河南省郑州市经三路91号	450008	0371-65778792
兽药与饲料添加剂	28-180	双月刊	30.00	江苏省南京市北京西路17号化工大厦九楼	210024	025-83328117
中国畜禽种业	80-222	月刊	96.00	北京市中关村南大街12号图书馆楼103室	100081	010-82106255
中兽医医药杂志	54-55	双月刊	36.00	甘肃省兰州市小西湖硷沟沿335号	730050	0931-2656034
饲料博览	14-184	月刊	120.00	黑龙江省哈尔滨市香坊区东北农业大学内	150030	0451-55190639
吉林畜牧兽医	12-75	月刊	72.00	吉林省长春市西安大路4558号	130062	0431-86814288
饲料研究	2-216	月刊	96.00	北京市右安门外东滨河路4号	100069	010-63538760
畜牧与兽医	28-42	月刊	117.60	江苏省南京市卫岗1号南京农业大学内	210095	025-84395701
肉类工业	自办发行	月刊	80.00	武汉市江岸路12号	430011	027-82319036
粮食与饲料工业	38-151	月刊	60.00	武汉市卓刀泉南路3号	430079	027-87406138
中国农业科学(中文版)	2-138	月刊	840.00	北京中关村南大街12号	100081	010-82109808
中国农业科学(英文版)	2-851	月刊	240.00	北京中关村南大街12号	100081	010-82109808
中国畜牧兽医文摘	80-282	双月刊	60.00	北京市中关村南大街12号中国农科院农业信息研究所	100081	010-82109897
养殖与饲料	38-381	月刊	60.00	武汉市洪山区华中农业大学校内	430070	027-87287369
湖北畜牧兽医	38-352	月刊	60.00	武汉市武昌南湖瑶苑2号湖北省农科院内	430064	027-87389001
家畜生态学报	52-112	双月刊	36.00	陕西杨凌西北农林科技大学动物科技学院	712100	029-87091130
经济动物学报	自办发行	季刊	24.00	吉林省长春市吉林农业大学	130118	0431-84533130
中国预防兽医学报	14-70	月刊	120.00	哈尔滨市南岗区马端街427号	150001	0451-85935050
东北饲料信息	14-18	半月刊	150.00	哈尔滨市南岗区宣化街412号恒润家园A栋503室	150009	0451-87521432
草食家畜	58-71	季刊	32.00	乌鲁木齐市克拉玛依东街151号新疆畜牧科学院	830000	0991-4843824
中国奶牛	80-401	月刊	96.00	北京德胜门外清河山镇北京奶牛中心院内	100192	010-62948051
黑龙江畜牧兽医	14-28	半月刊	240.00	哈尔滨市南岗区宣西小区70栋	150008	0451-82335820
家禽科学	24-146	月刊	60.00	山东省济南市交校路1号	250023	0531-85990243
山东畜牧兽医	自办发行	月刊	60.00	山东省泰安市山东农业大学转	271018	0538-8242644
中国兽医学报	12-105	月刊	120.00	吉林省长春市西安大路5333号	130062	0431-87836531
养殖技术顾问	14-304	月刊	120.00	黑龙江省哈尔滨市道外区红旗大街518号	150050	0451-86823517
当代畜禽养殖业	16-49	月刊	120.00	内蒙古呼和浩特市赛罕区乌兰察布东街70号	010010	0471-6652216
广西畜牧兽医	48-107	双月刊	30.00	广西南宁市秀灵路广西大学东校园	530005	0771-3235650
畜牧与饲料科学	16-101	双月刊	60.00	内蒙古呼和浩特市鄂尔多斯西街内蒙古农牧业科学院西区	010030	0471-3958171
中国牛业科学	52-113	双月刊	48.00	陕西杨凌西北农林科技大学	712100	029-87091423
畜牧兽医杂志	52-56	双月刊	54.00	陕西杨凌西北农林科技大学	712100	029-87092806
草原与草坪	54-13	月刊	36.00	甘肃省兰州市安宁区甘肃农业大学	730070	0931-7631885

复合干扰素注射液

生立康

Interferon for injection 欢迎进入网址查询www.china-dingjian.com或www.taihetai.com

生立康 —— 对病毒性及细菌性疾病的防治方案

目前流行的猪疾病中，一般不是单一的细菌性或病毒性疾病，而是病毒性和细菌性混合感染引发的疾病(如猪无名高热综合征)。该病往往不易治疗，在治疗过程中应首选生立康注射液，作为治疗病毒性、细菌性疾病的首选药物，亦可作为混合感染等疾病的辅助治疗药物，再采用相应的抗菌疗法，在疾病感染的各个阶段都能发挥特定的作用，不仅能提高机体的免疫力，而且能显著的增强抗生素的抗菌效果。

病毒性疾病的治疗方案:

(1) 猪无名高热综合征(蓝耳病)

方案一：生立康 + 头孢拉定，按每 50 公斤体重注射生立康复合干扰素 2 毫升，头孢拉定 0.5 ~ 1 克，混合后肌肉注射。一天 1 次，连用 3 天。

方案二：如伴有弓形虫、附红细胞体感染的猪群，生立康 + 磺胺 -6- 甲氧嘧啶 + 血虫净，用生立康复合干扰素按每 50 公斤体重 3 毫升，同时辅以磺胺 -6- 甲氧嘧啶 1 克，血虫净 0.2 克，混合后肌肉注射。一天 1 次，连用 3-5 天。

方案三：对支原体感染的猪群，生立康 + 乳酸环丙沙星，用生立康复合干扰素按每 50 公斤体重 2 毫升，乳酸环丙沙星 0.1-0.2 克，混合后肌肉注射。一天 1 次，连用 3-5 天。

为防止大流行区域继发感染，用药后可在饲料中添加阿莫西林 140 克 / 吨或氟苯尼考 50-100 克 / 吨。(如伴有喘气、厌食等症状，则应通过饮水投用土霉素 300 克 / 吨)。

(2) 猪瘟

治疗方案：生立康 + 头孢拉定 + 乳酸环丙沙星，生立康复合干扰素按每 50 公斤体重 3 毫升，同时辅以头孢拉定 0.5 ~ 1 克，乳酸环丙沙星 0.05 ~ 0.1 克，混合后肌肉注射。一天 1 次，连用 3-5 天。

饲料添加：磺胺 -6- 甲氧嘧啶 500 克 / 吨 + 小苏打。

饮水：0.5% 电解多维 + 10% 葡萄糖 + 0.5 食盐

(3) 猪流行性腹泻

方案一：生立康 + 乳酸环丙沙星，生立康复合干扰素按每 50 公斤体重 3 毫升，同时辅以乳酸环丙沙星 0.1 ~ 0.2 克，混合后肌肉注射。一天 1 次，连用 3 天。

方案二：生立康 + 恩诺沙星，生立康复合干扰素按每 50 公斤体重 3 毫升，同时辅以 2.5% 恩诺沙星 0.1 克(以恩诺沙星的有效含量计)，混合后肌肉注射。一天 1 次，连用 3 天。

饮水：氯化钠 3.5 克 + 氯化钾 1.5 克 + 碳酸氢钠 2.5 克 + 葡萄糖 20 克溶于 1000 毫升水中。

(4) 猪传染性胃肠炎

方案一：生立康 + 乳酸环丙沙星 + 痢菌净，生立康复合干扰素按每 50 公斤体重注射本品 2 毫升，同时辅以乳酸环丙沙星 0.1 ~ 0.2 克，痢菌净 0.1 ~ 0.2 克，混合后肌肉注射。一天 1 次，连用 3-5 天。

方案二：生立康 + 葡萄糖盐水 + 维生素 C，该方案适用于病程较短的猪只，生立康复合干扰素按每 50 公斤体重 3 毫升，5% 葡萄糖盐水 20 毫升，维生素 C-10 毫升，混合注射，一天 1 次，连用 3-5 天。

饮水：每 1000 毫升水内加磺胺咪 2 克，食盐 3.5 克，小苏打粉 2.5 克，葡萄糖 20 克。

(5) 流行性感冒

方案一：生立康 + 土霉素，生立康复合干扰素按每 50 公斤体重 3 毫升，同时辅以土霉素 0.2 ~ 0.5 克，混合后肌肉注射。一天 1 次，连用 3-5 天。

方案二：生立康 + 阿莫西林 + 维生素 C 该方案适用于防止继发感染，生立康复合干扰素按每 50 公斤体重 3 毫升 + 阿莫西林 0.2-0.5 克 + 5% 葡萄糖盐水 20 毫升 + 维生素 10 毫升，混合注射，一天 1 次，连用 3-5 天。

(6) 猪传染性脑脊髓炎

方案一：生立康 + 磺胺嘧啶钠 + 乳酸环丙沙星，生立康复合干扰素按每 50 公斤体重 2 毫升，同时辅以 20% 磺胺嘧啶钠注射液 10 毫升 + 乳酸环丙沙星 0.1 ~ 0.2 克，混合后肌肉注射。一天 1 次，连用 3-5 天。

四川鼎尖动物药业有限责任公司生产

四川泰合太企业营销策划有限公司 策划推广

销售电话：028-85305701 85305710 13980777200 15882258005(张经理) 技术咨询：028-85305224

欢迎进入网址查询 www.china-dingjian.com 或 www.taihetai.com

Interferon for injection

复合干扰素注射液

生立康

Interferon for injection 欢迎进入网址查询www.china-dingjian.com或www.taihetai.com

方案二：生立康 + 乌洛托品 + 葡萄糖注射液，该方案适用于病程较短的猪只，生立康复合干扰素按每 50 公斤体重 2 毫升 + 40% 乌洛托品 10 毫升 + 10% 葡萄糖注射液 30 毫升，混合注射，一天 1 次，连用 3-5 天。

饮水：溴化钾 3 克 + 溴化钠 3 克 + 碘化钾 3 克，溶于 50 毫升水中，一次性灌服，连用 2 天。

(7) 猪伪狂犬病

方案一：猪伪狂犬弱毒疫苗 + 生立康，用猪伪狂犬灭活疫苗或者弱毒疫苗进行免疫，免疫用药四天后，用生立康复合干扰素能起到协同免疫作用，该方案也可作为疫苗免疫失败后的补救治疗。每 50 公斤注射 2 毫升。一天 1 次，连用 3 天。

方案二：生立康 + 乳酸环丙沙星，生立康复合干扰素按每 50 公斤体重 2 毫升 + 乳酸环丙沙星 0.05 ~ 0.1 克，混合后肌肉注射。一天 1 次，连用 3 天。饲料添加：母猪产前产后各 1 周，按每公斤饲料添加，泰乐菌素 0.1 克 + 阿莫西林 0.2 克。繁殖猪群在每公斤饲料中添加 0.6-0.8 克金霉素或土霉素，连续使用 1 周。

(8) 猪圆环病毒病

治疗方案：生立康 + 林可霉素 + 复合维生素 B，用生立康复合干扰素按 50 公斤体重 3 毫升 + 林可霉素 1 克 + 复合维生素 B2 毫升，深度给药治疗。一天 1 次，连用 5 天。

饲料添加：每公斤饲料添加阿莫西林 0.2 克。

细菌性疾病的防治方案：

(1) 仔猪红痢

方案一：生立康 + 葡萄糖，按 10-20 公斤使用生立康复合干扰素 1 毫升 + 20% 葡萄糖 20 毫升，一天 1 次，连用 2 ~ 3 天。

方案二：对病情较重的用，生立康 + 磺胺嘧啶 + 葡萄糖，按 10 ~ 20 公斤体重使用生立康复合干扰素 1 毫升 + 10% 磺胺嘧啶 2 ~ 4 毫升 + 20% 葡萄糖 20 毫升。一天 1 次，连用 2 天。

(2) 仔猪黄白痢

治疗方案：生立康 + 恩诺沙星或环丙沙星，用生立康复合干扰素按 50 公斤体重 2 毫升 + 恩诺沙星 0.1 克或环丙沙星 0.1 克。一天 1 次，连用 2 ~ 3 天。

(3) 仔猪副伤寒

治疗方案：生立康 + 环丙沙星，按 50 公斤使用生立康复合干扰素 3 毫升 + 环丙沙星 0.05 ~ 0.1 克，混合后肌肉注射，一天 1 次，连用 2 ~ 3 天。

(4) 猪痢疾

治疗方案：生立康 + 环丙沙星 + 恩诺沙星，按 50 公斤使用生立康复合干扰素 2 毫升 + 环丙沙星 0.1 克，隔日生立康复合干扰素 2 毫升 + 恩诺沙星 0.12 克，一天 1 次，连用 2 ~ 3 天。

(5) 猪肺炎

方案一：生立康 + 环丙沙星，按 50 公斤使用生立康复合干扰素 2 毫升 + 环丙沙星 0.05 ~ 0.1 克，混合后肌肉注射，一天 1 次，连用 2 ~ 3 天。

方案二：对皮肤上有淤血性出血斑，采用生立康复合干扰素 + 磺胺嘧啶，按 50 公斤体重使用生立康复合干扰素 2 毫升 + 10% 磺胺嘧啶 10 毫升。一天 1 次，连用 3 天。

(6) 猪水肿

方案一：生立康 + 维生素 B12，按 50 公斤体重使用生立康复合干扰素 2 毫升 + 生立康 + 维生素 B12，混合后肌肉注射，一天 1 次，连用 2 ~ 3 天。

方案二：对皮肤上有淤血性出血斑，采用生立康复合干扰素 + 磺胺嘧啶，按 50 公斤体重使用生立康复合干扰素 2 毫升 + 10% 磺胺嘧啶 10 毫升。一天 1 次，连用 3 天。

(7) 猪链球菌

方案一：对败血型采用生立康 + 阿莫西林，按 50 公斤体重使用生立康复合干扰素 2 毫升 + 阿莫西林 0.5 克，混合后肌肉注射，一天 1 次，连用 2 ~ 3 天。

方案二：对脑膜炎型采用生立康 + 林可霉素，按 50 公斤体重使用生立康复合干扰素 2 毫升 + 林可霉素 0.6 ~ 0.8 克。一天 1 次，连用 3 天。

(8) 猪附红细胞体

治疗方案：生立康 + 贝尼尔（血虫净），按 50 公斤体重使用生立康复合干扰素 3 毫升 + 血虫净 1.5 克，混合后肌肉注射，一天 1 次，连用 3 天。同时采取辅助方法，静注 10% 葡萄糖生理盐水和维生素 C，隔日一次，共两次。

饲料添加：每吨饲料添加土霉素 600 克，连用一周。

(9) 猪嗜血杆菌病

治疗方案：生立康 + 头孢拉定，用生立康复合干扰素按 50 公斤体重 3 毫升 + 头孢拉定 1 克。一天 2 次，连用 3 天。

饮水伴料：每升水中添加阿莫西林 0.2 克，或在每公斤饲料中添加氟苯尼考 0.1 克，连用 5-7 天。

四川鼎尖动物药业有限责任公司生产

四川泰合太企业营销策划有限公司 策划推广

销售电话：028-85305701 85305710 13980777200 15882258005(张经理) 技术咨询：028-85305224

欢迎进入网址查询 www.china-dingjian.com 或 www.taihetai.com

Interferon for injection

《广东畜牧兽医科技》征稿简则

来稿要求

- (1) 文稿内容应具有科学性、先进性、实用性,要求主题明确、文字精炼、数据准确、文理通顺。一般不超过 5000 字(含图、表和参考文献所占的版面)。
- (2) 文稿一般书写顺序:文题(应以简明和确切为原则,一般不超过 20 个字)、作者姓名、作者单位、所在地和邮编、摘要(学术研究类文章请附英文摘要)、关键词、正文和参考文献。请附第一作者简介(包括姓名、出生年份、性别、民族、学历或职称、主攻方向;获得基金资助的科技论文需注明基金项目名称及编号)。
- (3) 正文的各级标题应层次分明,要求用阿拉伯数字连续编号,如“1”、“1.1”、“1.2”等。
- (4) 文中的图表应简洁、规范、清晰、大小适中。表格一律用三线开放表,表中无竖线。图和表的序号一律用阿拉伯数字编排,如图 1、图 2、表 1、表 2 等。
- (5) 计量单位和符号一律采用国家法定计量单位和有关规定。
- (6) 参考文献的标注格式采用顺序编码制,具体要求请参考 GB / T7714-1987《文后参考文献著录规则》。

声明和约定

- (1) 请优先选择以发送 E-mail 或邮寄光盘的方式投稿。通过文稿形式投稿的要求打印。
- (2) 本刊已加入《中国学术期刊(光盘版)》和《中文科技期刊数据库》,如不同意将文章编入该数据库,请在来稿时声明。
- (3) 来稿文责自负。本刊编辑部根据需要有权对来稿进行修改、删节。不需修改的稿件,请作者在来稿中注明。
- (4) 请勿一稿多投,来稿一律不退,请作者自留底稿。
- (5) 稿件一经刊用,将按有关规定付给稿酬(第一作者收,含著作权使用费),并赠当期杂志 1~3 册。
- (6) 来稿时请注明作者详细地址、邮政编码和联系电话,以便联系。

来稿请寄:广州市先烈东路 135 号《广东畜牧兽医科技》编辑部

邮 编:510500

联系电话:020-37245052、37288167

传 真:020-37245052

E-mail:gdmsy@163.com

网刊联动 塑造兽医专业传媒品牌



中国执业兽医网
www.zgzysy.com



兽医导刊
VETERINARY ORIENTATION



邮发代号: 80-328
月刊/全年定价: 120元
订阅: 010-87732679

服务内容: ■ 形象宣传 ■ 出版发行 ■ 广告制作发布 ■ 会议培训 ■ 新闻发布 ■ 产品销售

地 址: 北京市朝阳区百子湾路16号后现代城5号楼A座208室

邮 编: 100124

编辑部: 010-87765385转13、12

发行部: 010-87732679

广告部: 010-87766387

传真: 010-87765385转11

编辑部邮箱: sydk2007@263.net

广告部邮箱: sydk2007@126.com

网址: www.zgzysy.com