

双月刊 1976年3月创刊
第37卷第4期 (总第164期)
2012年8月18日出版
ISSN 1005-8567
CN 44-1243/S

主管单位:广东省农业科学院
主办单位:广东省畜牧兽医学会
广东省农业科学院畜牧研究所
广东省农业科学院兽医研究所

主 编:蒋宗勇
副 主 编:孙彦伟
责任编辑:孙彦伟 岑俏梅
编委主任:蒋宗勇
编 委(排名不分先后):
蒋宗勇 余业东 王 浩 顾万军
曹俊明 辛朝安 屈源泉 廖 明
曾振灵 毕英佐 陈琴芬 舒鼎铭
孙彦伟 王贵平 蔡建平 王政富
刘彩霞 熊惠军 吴玄光 刘清神

特邀编委:
陈 峰 黄小建 陈小云 郑庆禄
李 岩 林旭桢 陈瑞爱

编辑出版:《广东畜牧兽医科技》编辑部
地 址:广州市先烈东路135号(510500)
电 话:020-37245052 37288167
传 真:020-37245052
网 址:http://www.gdaav.org
E-mail: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
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。凡被本刊刊登的稿件,将一次性支付作者著作权使用报酬。

·专题综述·
几种新出现的猪瘟病毒研究综述.....翁善钢(1)
猪瘟活疫苗生产工艺改进现状.....谢文强(5)
家禽免疫促进剂的研究进展.....吴悦赞,刘佑明(8)

·畜牧技术·
上半年全国生猪生产形势分析及后期走势判断.....虞 华,颜 艳,等(10)
猪场建设与经营的新变化.....邓淑娴,罗志锋,等(12)

·兽医临床·
泰国进口鲤鱼霍乱弧菌药敏试验.....陈冬娥,陈冠武,等(15)
一起白鹭鸭大肠杆菌病的诊治.....吴咏梅(17)
肾康宁对鸡尿酸盐沉积症的治疗效果实验.....晁利刚,臧 猛(18)

·试验研究·
广东地区5种优势血清型猪大肠杆菌的外膜蛋白型研究.....张丹琳,王文豪,等(21)
“增乳健牛散”对小鼠的亚急性毒性试验.....史秋梅,高光平,等(24)
猪口蹄疫0型合成肽疫苗诱导的免疫抗体的监测.....李儒曙,伍时达,等(27)
兔病毒性出血症病毒VP60基因真核表达载体的构建以及在真核细胞中表达...张夏兰(30)
氧氟沙星在乌骨鸡体内残留消除规律研究.....林海丹,方炳虎,等(33)

·华南宠物园地·
城市流浪犬猫的成因、危害与对策.....李嘉雯,黄群山(37)
一例犬心脏肿瘤的诊治.....罗倩怡,赵长荣(40)
沈阳某犬场犬皮肤病的药物疗效调查.....孙 宁(43)

·经验交流·
新形势下高校生产实习质量保证体系研究.....荆海阔,陈晓梅,等(47)
浅析社会化手段在犬类狂犬病免疫工作中的应用.....洪泽武(51)

·信息之窗·
2011“永顺杯”优秀论文评选启事.....(11)
我国首个食品业质量管理在线服务平台启用.....(29)

GUANGDONG JOURNAL OF ANIMAL AND VETERINARY SCIENCE

Established in march 1976(Bimonthly)

Aug.2012 Volume 37,Number 4 (Total No.164)

Main Content

- Research progress on several viruses new emerging in swine* Weng Shangang(1)
- The improvement on production technique of CSFV live vaccine*Xie Wenqiang(5)
- Research progress on immunopotentiator for poultry*Wu Yueyun, Liu Youming(8)
- The analysis on pig production situation in the first half of the year and the latter part of the trend* ...
.....Yu Hua, Yan Yan, et al(10)
- The new changes on the construction and operation of pig farms*.....Deng Shuxian, Luo Zhifeng, et al(12)
- Antibiotic resistance of Vibrio cholera strains isolated from imported crocodiles from Thailand*
.....Chen Donge, Chen Guanwu, et al(15)
- The diagnosis and treatment on colibacillosis of Baiwu duck*Wu Yongmei (17)
- The treatment effect of Shenkangning on urate deposition in chickens*.....Chao Ligang, Zang Meng(18)
- The outer membrane protein type of five dominant Escherichia coli serotypes in pigs in Guangdong area*
..... Zhang Danlin, Wang Wenhao, et al(21)
- Sub-acute toxicity test of Zengrujianni San in mice*.....Shi Qiumei, Gao Guangping, et al (24)
- Surveillance on the immune antibodies against synthetic peptide vaccine for O type FMDV*.....
.....Li Rushu,Wu Shida,et al(27)
- The construction of the rabbit hemorrhagic disease virus VP60 gene in the eukaryotic expression vector
and its expression in eukaryotic*Zhang Xialan(30)
- Studies on residues of Ofloxacin in black-bone silky fowl*.....Lin Haidan,Fang Binghu, et al(33)
- The cause, harm and solution of free-roaming dogs and cats in the cities*.....Li Jiawen, Huang Qunshan(37)
- The diagnosis and treatment on the cardiac tumor of a dog* Luo Qianyi, Zhao Changrong (40)
- AThe drug efficacy for dog dermatosis in a dog farm of Shenyang city*Sun Ning(43)
- Study on quality assurance system of productive practice in universities under new circumstances*
.....Yan Haikuo, Chen Xiaomei, et al(47)
- The application of socialization on the Rabies immunization of dogs* Hong Zewu(51)



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

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

Chief Editor:JIANG Zong-yong

Vice Chief Editor;SUN Yanwei

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

Post Code: 510500

Tel:(020)37245052 37288167

Fax:(020)37245052

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

几种新出现的猪源病毒研究综述

翁善钢

(外高桥出入境检验检疫局, 上海 200137)

摘要: 过去的20多年里,有多种新的猪病病毒出现。猪 Torque teno 病毒、猪博卡病毒以及其他新出现的猪细小病毒、猪淋巴细胞疱疹病毒以及猪札幌病毒等感染猪后,通常呈亚临床状态。本文主要讨论上述病毒的传播、流行以及致病情况。

关键词: 新出现病毒; 猪 Torque teno 病毒; 猪博卡病毒; 猪淋巴细胞疱疹病毒; 猪札幌病毒

中图分类号: S858.65

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)04-0001-04

过去的20多年中,有多种新的猪病病毒出现,给全世界养猪业带来了严重威胁。这些新出现的病毒通常并没有国境限制,广泛存在于世界各地的主要养猪国家。这些新出现的病毒主要有猪繁殖与呼吸综合征病毒(porcine reproductive and respiratory syndrome virus,PRRSV)、猪圆环病毒2型(porcine circovirus type 2,PCV2)、猪戊型肝炎病毒(swine hepatitis E virus,swine HEV)、猪 Torque teno 病毒(Torque teno sus virus,TTSuV)、猪博卡病毒(porcine bocavirus,PBoV)及其他新出现的猪细小病毒(porcine parvovirus,PPV)、猪淋巴细胞疱疹病毒(Porcine lymphotropic herpesviruses,PLHV)和猪札幌病毒(porcine sapovirus,porcine SaV)等。其中 PRRSV 和 PCV2 所引起的经济损失最为严重,国内外对其研究也较为深入。除此两种病毒外,其他病毒也具有潜在的威胁性,但迄今不少病毒的生物学特性以及致病机理尚不清楚。本文主要介绍了这些病毒流行、传播以及致病情况。

1 猪戊型肝炎病毒

自从1997年从美国的猪群中首次发现猪戊型肝炎病毒(swine hepatitis E virus,猪 HEV)之后,世界各地主要的养猪国家都陆续报道了该病毒的存在。猪 HEV 是肝炎病毒科(Hepeviridae)肝炎病毒属(Hepevirus)成员^[1]。HEV 为单股正链 RNA 病毒,基因组长度为 7.2 kb,病毒基因组含有 3 个 ORF,以及 5'端和 3'端的非编码区域(non-coding region,NCR)。ORF-1 编码非结构多肽蛋白,包含有几个功能性结构域和基序,如甲基转移酶、木瓜蛋白酶样半胱氨酸蛋白酶,一个非必需的

高度变异区和解螺旋酶。ORF-2 编码具有免疫原性的 Cap 帽结构。ORF-3 编码一个多功能的小蛋白。ORF-2 与 ORF-3 有部分重叠,但与 ORF-1 无重叠^[2]。现在至少有 4 种哺乳动物 HEV 基因型被确定了,分别是人、猪、鹿、猫的 HEV,还有 2 种基因型有待进一步确定,分别是兔和鼠 HEV^[3]。此外,鸡和鱼中也分离到了 HEV 的不同毒株^[3]。迄今,所有分离到的猪 HEV 都属于 HEV 基因型 3 或 4,遗传关系较近。最近,从日本的野猪中分离到了一种新的 HEV 毒株,与已知的各种基因型 HEV 的遗传关系较远,有可能是一种新的基因型^[4]。

如今猪 HEV 感染已经存在于世界各地的猪群中。美国的商业化猪场中,80%~100%的猪存在 HEV 感染,其他国家的情况与此类似。病毒通常感染 2-4 月龄的猪,会出现一个短暂的病毒血症期,持续 1~2 周,粪便向外排毒则可持续 3~7 周。猪 HEV 感染的发病机制尚未研究清楚,病毒有可能通过粪-口途径传播。带有感染性病毒的猪粪便是病毒传播的首要来源。病毒通过粪-口途径进入猪体内后,在胃肠道复制,然后进入血液,到达肝等靶器官。人工感染实验显示病毒除了在肝复制外,还能够在小肠、淋巴结等部位复制。猪 HEV 感染一般呈亚临床感染。自然或者人工感染所能观察到的病变比较相似。自然感染病例可观察到轻度至中度的多灶性淋巴浆细胞性肝炎。人工感染病例可观察到轻度至中度的肝脏肿大以及肠系膜淋巴结肿大,多灶性淋巴浆细胞性肝炎以及肝脏局灶性坏死^[5]。

当前对于猪 HEV 的关切主要是猪 HEV 具有人畜共患性,猪是 HEV 3 和 4 基因型的储藏宿主。实验条件下,人 HEV 的 3 和 4 基因型毒株可以感染

猪,而猪 HEV 的 3 和 4 基因型毒株可以感染非人类的灵长动物。因此,兽医以及猪饲养员对于 HEV 感染具有很高的风险性。HEV 感染的多处存在意味着猪肉以及其他组织中含有 HEV 污染是不可避免的,这也使公众对猪肉的安全性更加关切。市场上出售的猪肝中感染 HEV 的可能性也较大。有报道对印度以及美国市场上出售的猪肝样品进行了检测,结果两国猪肝的 HEV 阳性检出率分别为 1% 和 11%^[6]。尤为重要的是,肝脏中的 HEV 仍然具有传染性。对于猪肉采用适当的烹调方法,例如煮或者煎炒 5 min 以上一般是能够将 HEV 灭活的。因此,食用未煮熟的猪肉及其制品也是引起 HEV 食源性感染的潜在风险性因素。

尽管猪 HEV 感染对猪的健康而言并不具有威胁性,但与其他病原的共同感染可能具有协同作用,从而影响猪的健康。然而迄今尚无有效的疫苗用于防控猪或者人 HEV 感染。对于 HEV 的很多机制仍然尚未研究清楚。

2 猪 Torque teno 病毒

猪 Torque teno 病毒 (Torque teno sus virus, TTSuV), 以往被称为 Porcine torque teno virus (TTV), 目前尚无统一准确的中文译名, 有人译为猪细小病毒。TTSuV 最早于 2002 年从日本的猪群中发现。但回顾性的研究显示, 1985 年西班牙的猪群中已存在该病毒^[7]。TTSuV 是一种单股环状 DNA 病毒, 其先前被划为圆环病毒科的指环病毒属 (Anellovirus), 而 2009 年国际病毒分类委员会 (ICTV) 又把它划为指环病毒科 (Anelloviridae)。TTSuV 与同属指环病毒科的人输血传播病毒 (transfusion transmitted virus, TTV) 具有同源性。世界各地的猪群中已鉴别出两种不同的 TTSuV, 分别称为 TTSuV1 和 TTSuV2^[8]。TTSuV1 和 TTSuV2 基因组均为单链、环状、负股 DNA, 基因组长度为 2.8 kb, 由 4 个 ORF 组成, 还含有一段高 GC 含量的非编码区域。据认为, TTSuV 的 ORF1 编码核衣壳以及复制相关蛋白, 其他 ORF 的功能尚不清楚。

TTSuV 在世界各地的猪群中广泛存在, 病毒可以从受感染猪的血清、粪便、唾液、精液和组织样本中检测到, 病毒可以水平或者垂直传播。采用 PCR 检测方法显示, TTSuV1 和 TTSuV2 共同感染的概率较高。已有日本、美国、加拿大、巴西、西班牙、德国、中国、泰国以及韩国等报道了 TTSuV 感染在该国的存在^[9]。猪的日龄是影响 TTSuV2 感染

的重要因素。日龄较大的猪 TTSuV2 抗体水平较高, 也有可能发生病毒血症。检测不到 TTSuV2 DNA 的猪通常具有较低的 TTSuV2 抗体水平^[10]。

TTSuV 的致病性尚不清楚。含有 TTSuV1 的组织匀浆人工感染 SPF 猪实验显示, TTSuV1 也可以诱导产生猪圆环病毒 2 型 (PCV-2) 感染常见的猪皮炎肾病综合征 (PDNS) 和断奶仔猪多系统衰竭综合征 (PMWS)。西班牙的研究显示, 患 PMWS 的猪群中, TTSuV2 的阳性检出率较高^[11]。而韩国的研究却显示, 无论猪是否患 PMWS, TTSuV1 和 TTSuV2 阳性的检出率几乎没有区别^[12]。TTSuV 可垂直传播。

有报道称, 某些细胞系、人用药物以及一些兽医生物制品受到了 TTSuV 污染, 但污染是否会给相关制品带来影响尚不清楚。有多种猪支原体、伪狂犬病以及 PRRSV 的疫苗被检测出 TTSuV1 或 TTSuV2 阳性, 因此可以推测病毒有可能是通过疫苗或其他生物制品传染给猪的。还有报道称, 有 15 种不同的细胞系被检测出有 TTSuV1 或 TTSuV2 的 DNA^[13]。

由此可见, 疫苗以及生物制品污染可能是 TTSuV 感染普遍存在的一个重要原因。由于缺乏对 TTSuV 易感的细胞系以及很难获得 TTSuV 阴性的细胞, 这阻碍了对 TTSuV 致病性以及致病机理的研究。有限的致病性实验数据显示 TTSuV 可能具有潜在的致病性, 但这仍然需要作进一步的研究。TTSuV 感染是否对各种弱毒活疫苗免疫的效果具有负面作用, TTSuV 同其他病原体共同感染是否能够加重疾病的严重程度, 都是一个亟待研究的问题。

3 猪博卡病毒以及其他新出现的猪细小病毒

猪博卡病毒是细小病毒科 (Parvoviridae), 博卡病毒属 (Bocavirus) 的成员, 同属的成员还有牛博卡病毒 (bovine parvovirus, BPV), 犬微小病毒 (minute virus of canines, MVC) 以及人博卡病毒 (human bocaviruses, HBoV) 等^[14]。与细小病毒科其他病毒相似的是, PBoV 是一种无囊膜, 单链的 DNA 病毒。迄今, 已有 4 种不同的 PBoV 被鉴定出来。其中 PBoV1 和 PBoV2 从中国分离到^[15], PBoV3 和 PBoV4 从荷兰猪群中分离到^[16]。PBoV1 和 PBoV2 基因组长度约为 5.1 kb, 两者 NS1 基因的核苷酸序列的相似性高达 94%, 但与 MVC、BPV 以及 HboV 等其他博卡病毒属病毒的相似性仅在 37%~45% 之间。PBoV3 和 PBoV4 与博卡病毒属的

其他病毒基因序列相似性分别为 41%~49%和 36%~46%。PBoV3 和 PBoV4 两者序列的相似性约为 84%,但同 PBoV1 和 PBoV2 的相似性分别为 50%~51%和 41%~51%^[16]。除了 PBoV1 至 4,2008 年从香港的猪群中分离到一种新的猪细小病毒 (PPV),其核苷酸序列同 HBoV4 的相似性达 60%,被命名为猪 hoko 病毒 (porcine hokovirus,PHoV)。对香港猪的淋巴结、肝、血清、鼻咽部以及粪便样品检测,PHoV 感染的阳性率高达 44%。

最近,从具有 PCV2 感染引起的严重疾病的美国猪群中分离到了一种新的病毒,被命名为 PPV4^[17]。基因遗传分析显示,PPV4 与 PBoV 和 PHoV 的同源性较低,与 BPV2 具有有限的同源性,因此被认为是一种新的病毒,但仍然存在不少争议。有学者从中国猪群中也检测到了 PPV4,其核苷酸基因序列同美国分离到的毒株的相似性高达 99%^[18]。

上述的各种病毒也普遍存在于世界各地的猪群中,除中国、美国外,瑞典、爱尔兰等国也都有感染的报道。中国的一项研究显示,来源于健康猪的粪便样品中,PBoV 阳性率高达 13%^[19]。北爱尔兰的研究称,9%的猪血清样本 PBoV3 抗体阳性,9.5%的样本 PBoV4 抗体阳性^[16]。在瑞典,患有 PMWS 的猪除了感染有 PCV2 以及 TTSuV 外,46%的猪同时也可以检测到 PBoV。在香港,PHoV 可以在健康以及患病猪的组织中检测到,检出率同猪的健康状态并没有直接联系^[20]。在中国,PPV4 检测呈阳性的猪中,约 2%(12/573)的猪出现颤抖,发热,睾丸萎缩,流产和死亡,但也有约 0.8%(1/132)的健康猪被检测出 PPV4^[18]。因此,PBoV 是否具有潜在的致病作用及其机制尚待进一步研究。

4 猪淋巴细胞疱疹病毒

1999 年,德国科学家利用修改基因验证法,在屠宰后的猪脾脏和血液中发现两种新的疱疹病毒,这 2 种病毒命名为 PLHV-1 和 PLHV-2^[21]。2003 年,科学家又发现一种新的 PLHV,被命名为 PLHV-3^[22]。PLHV-1 和 PLHV-2 核苷酸序列的相似性在 93%以上,而 PLHV-3 的核苷酸序列与 PLHV-1 和 PLHV-2 的相似性仅为 66%。

有报道称,普通猪场猪脾脏样品 PLHV 检出率高达 80%,采用剖腹产方式出生的 SPF 猪脾脏 PLHV 检出率也有 13%。这表明,PLHV 既可以通过产前的胎盘垂直传播,也可通过产后的水平传播。

分子流行病学资料表明猪群中 PLHV 感染很

广泛,血液、脾、肺等组织中很容易检出 PLHV。除德国外,意大利、美国、爱尔兰等国都有从猪的脾脏以及血液等样本中检测到 PLHV 的报道,既有 PLHV-1 和 PLHV-2 也有 PLHV-3^[23]。

自然状态下,PLHV 感染猪引起的致病性尚不清楚。有报道称,PLHV 在形成 PMWS 的过程中不起作用^[23]。总之,目前对于 PLHV 的研究仍然十分有限。

5 猪 toro 病毒

猪 toro 病毒 (Porcine torovirus,PToV)最早于 1998 年从荷兰的仔猪中分离到,是冠状病毒科 (Coronaviridae) toro 病毒属的成员。PToV 同牛 toro 病毒 (bovine toroviruses,BToV)以及马 toro 病毒 (equine toroviruses)具有 60%~70%的序列同源性。

除了荷兰外,比利时、瑞士、匈牙利、韩国、西班牙以及意大利也都有 PToV 的报道^[24]。不同日龄仔猪以及不同国家来源的仔猪的 PToV 感染率不尽相同,在 50%~100%之间^[25]。西班牙的一项研究称,1 周龄的仔猪可以检测到 PToV 感染阳性。11 周龄以上的仔猪或者母猪可以检测到 PToV 抗体。仔猪通过粪便排毒的时间在 1 天以上,通常在断乳后 4~14 天时开始排毒。PToV 可能是引起仔猪腹泻的一种病原,但尚存在争议。

6 猪札幌病毒

猪札幌病毒 (SaV)最早于 1980 年发现,起初被认为是一种同仔猪腹泻有关的类轮状病毒或者类杯状病毒。直到 1999 年,才将该病毒正式命名为札幌病毒^[26]。札幌病毒为杯状病毒科 (Caliciviridae)札幌病毒属的成员。目前札幌病毒已确认的基因型共有 5 种。大多数猪 SaV 属于 SaV3^[27]。

猪 SaV 广泛分布于世界各地的猪群中。近些年,陆续从美国、丹麦、芬兰、匈牙利、委内瑞拉、意大利、西班牙、日本、斯洛文尼亚、加拿大、巴西、韩国等国的猪群中分离到猪 SaV。猪 SaV 在不同国家的感染率不尽相同。通常 2~8 周龄的仔猪感染率最高^[28]。病毒同仔猪腹泻性疾病有关。采用猪 SaV Cowden 毒株对 SPF 猪进行人工感染实验显示,SaV 可以引起腹泻以及肠道病变。不过,最近的一项流行病学研究称,在丹麦和瑞典,患有腹泻的仔猪与健康的仔猪的 SaV 感染率并没有多大区别^[28]。因此,札幌病毒的致病性,生物学特性以及致病机制等也尚待进一步研究。

参考文献:

- [1] Meng X J, Anderson D A, Arankalle V A, et al. Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses[M]. Elsevier, San Diego, 2011:991-998.
- [2] Ahmad I, Holla R P, Jameel S. Molecular virology of hepatitis E virus[J]. *Virus Res*, 2011, 161:47-58.
- [3] Meng X J. From barnyard to food table: the omnipresence of hepatitis E virus and risk for zoonotic infection and food safety[J]. *Virus Res*, 2011, 161:23-30.
- [4] Takahashi M, Nishizawa T, Sato H, et al. Analysis of the full-length genome of a hepatitis E virus isoate obtained from a wild boar in Japan that is classifiable into a novel genotype[J]. *J Gen Virol*, 2011, 92:902-990.
- [5] Halbur P G, Kasorndorkbua C, Gilbert C, et al. Comparative pathogenesis of infection of pigs with hepatitis E viruses recovered from a pig and a Human[J]. *J Clin Microbiol*, 2001, 39:918-923.
- [6] Kulkarni M A, Arankalle V A. The detection and characterization of hepatitis E virus in pig livers from retail markets of India[J]. *J Med Virol*, 2008, 80:1387-1390.
- [7] Segale's J, Urniza A, Alegre A, et al. A genetically engineered chimeric vaccine against porcine circovirus type2 (PCV2) improves clinical, pathological and virological outcomes in postweaning multisystemic wasting syndrome affected farms[J]. *Vaccine*, 2009, 27:7313-7321.
- [8] Huang Y W, Ni Y Y, Dryman B A, et al. Multiple infection of porcine Torque teno virus in a single pig and characterization of the full-length genomic sequences of four U.S. prototype PTTV strains: implication for genotyping of PTTV[J]. *Virology*, 2010, 396:289-297.
- [9] Aramouni M, Segale's J, Cortey J M, et al. Age-related tissue distribution of swine Torque teno sus virus 1 and 2[J]. *Vet Microbiol*, 2010, 146:350-353.
- [10] Huang Y W, Harrall K K, Dryman B A, et al. Expression of the putative ORF1 capsid protein of porcine Torque teno sus virus 2 (TTSuV2) and development of Western blot and ELISA serodiagnostic assays: correlation between TTSuV2 viral load and IgG antibody level in pigs[J]. *Virus Res*, 2011, 158:79-88.
- [11] Kekalainen T, Sibila M, Segale's J. Prevalence of swine Torque teno virus in post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS)-affected and non-PMWS-affected pigs in Spain[J]. *J Gen Virol*, 2006, 87:833-837.
- [12] Lee S S, Sunyoung S, Jung H, et al. Quantitative detection of porcine Torque teno virus in Porcine circovirus-2-negative and Porcine circovirus-associated disease-affected pigs[J]. *J Vet Diagn Invest*, 2010, 22:261-264.
- [13] Teixeira T F, Dezen D, Cibulski S P, et al. Torque teno sus virus (TTSuV) in cell cultures and trypsin[J]. *PLoS ONE*, 2011, 6:e17501.
- [14] Blomstrom A L, Bela'k S. Detection of a novel porcine bocavirus-like virus in the background of porcine circovirus type2 induced postweaning multisystemic wasting syndrome[J]. *Virus Res*, 2009, 146:125-129.
- [15] Zeng S, Wang D, Fang L, et al. Complete coding sequences and phylogenetic analysis of porcine bocavirus[J]. *J Gen Virol*, 2011, 92:784-788.
- [16] McKillen J F, McNeilly C, Duffy, et al. Isolation in cell cultures and initial characterization of two bocavirus species from swine in Northern Ireland[J]. *Vet Microbiol*, 2011, 152:39-45.
- [17] Cheung A K, Wu G, Wang D, et al. Identification and molecular cloning of a novel porcine parvovirus[J]. *Arch Virol*, 2010, 155:801-806.
- [18] Huang L, Zhai S L, Cheung A K, et al. Detection of a novel porcine parvovirus, PPV4, in Chinese swine herds[J]. *J Virol*, 2010, 7:333.
- [19] Cheng W X, Li J S, Huang C P, et al. Identification and nearly full-length genome characterization of novel porcine bocaviruses[J]. *PLoS ONE*, 2010, 5:e13583.
- [20] Lau S K, Woo P C, Tse H, et al. Identification of novel porcine and bovine parvoviruses closely related to human parvovirus4[J]. *J Gen Virol*, 2008, 89:1840-1848.
- [21] Ehlers B, Ulrich S, Goltz M. Detection of two novel porcine herpesviruses with high similarity to gammaherpesviruses[J]. *J Gen Virol*, 1999, 80:971-978.
- [22] Chmielewicz B, Goltz M, Franz T, et al. A novel porcine gammaherpesvirus[J]. *Virology*, 2003, 308:317-329.
- [23] McMahon K J, Minihan D. Infection of pigs in Ireland with lymphotropic gamma-herpesviruses and relationship to postweaning multisystemic wasting syndrome[J]. *Vet Microbiol*, 2006, 116:60-68.
- [24] Shin D J, Park S I, Jeong Y J, et al. Detection and molecular characterization of porcine toroviruses in Korea[J]. *Arch Virol*, 2010, 155:417-422.
- [25] Pignatelli J, Grau-Roma L, Jimenez M, et al. Longitudinal serological and virological study on porcine torovirus (PToV) in piglets from Spanish Farms[J]. *Vet Microbiol*, 2010, 146:260-268.
- [26] Guo M, Chang K O, Hardy M E, et al. Molecular characterization of a porcine enteric calicivirus genetically related to Sapporo-like human caliciviruses[J]. *J Virol*, 1999, 73:9625-9631.
- [27] Wang Q H, Souza M, Funk J A, et al. Prevalence of noroviruses and sapoviruses in swine of various ages determined by reverse transcription-PCR and microarray hybridization assays[J]. *J Clin Microbiol*, 2006, 44:2057-2062.
- [28] Reuter G, Zimsek-Mijovski J, Poljsak-Prijatelj M, et al. Incidence, diversity, and molecular epidemiology of sapoviruses in swine across Europe[J]. *J Clin Microbiol*, 2010, 48:363-368.

猪瘟活疫苗生产工艺改进现状

谢文强

(金宇保灵生物药品有限公司, 内蒙古 呼和浩特 010030)

中图分类号: S852.65

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)04-0005-03

猪瘟(classical swine fever, CSF)是由猪瘟病毒(CSFV)引起的猪的高致死性接触性传染病。CSFV属于黄病毒科(Flaviviridae)瘟病毒属(Pestivirus)成员之一,其囊膜糖蛋白E2是诱导机体产生中和抗体的主要抗原蛋白。CSFV与同属的牛病毒性腹泻病毒(Bovine viral diarrhoea virus, BVDV)、羊边界病病毒(Border disease virus, BDV)在病毒结构、抗原性和遗传特性等方面密切相关。猪瘟对养猪业的危害极其严重,被世界动物卫生组织(OIE)列为法定必报传染病。当前该病主要在南美和亚洲地区流行,养猪业发达的国家为了猪肉制品安全,采取的主要措施是一旦发现疑似猪瘟的病猪便立即捕杀^[1]。我国把猪瘟规定为强制免疫的重大动物疫病,进行猪瘟活疫苗免疫。

猪瘟弱毒疫苗株是由野毒株致弱而成。上世纪50年代我国开始对猪瘟病毒进行了兔体适应试验研究。1956年周泰冲、袁庆志等研制成功中国系(C系)猪瘟兔化弱毒疫苗。实践证明该疫苗株具有产生免疫力快、免疫力坚强、免疫谱宽、遗传稳定、无残毒、毒力不返强及不引起胎儿畸形等优点,因而曾被国际上公认为是比较理想的猪瘟疫苗株。另外,日本的GPE株、法国的Thiverval株也是最常用的猪瘟弱毒疫苗株,通常能提供终身保护^[2]。目前,在我国由于制造工艺的不同,利用猪瘟兔化弱毒株生产的常用猪瘟疫苗有:猪瘟活疫苗(I)(包括猪瘟淋脾苗和猪瘟乳兔苗)和猪瘟活疫苗(II)(猪瘟细胞苗)。猪瘟淋脾苗是猪瘟兔化弱毒株接种成年家兔,无菌收获含毒量高的淋巴结、脾脏制备而成的疫苗。其特点是免疫原性强,免疫效果最好;免疫后抗体产生快,持续时间长;淋脾苗中含有某些免疫相关因子,起到免疫增

强作用;可用于紧急预防接种,效果好于细胞苗;使用剂量相对较小;但由于需用活体动物生产,生产量非常小,所以成本较高。猪瘟乳兔苗是猪瘟兔化弱毒株接种乳兔,无菌收获乳兔的肌肉及实质脏器制备的疫苗。猪瘟细胞苗是猪瘟兔化弱毒株接种犊牛睾丸细胞培养,收获细胞培养物,冷冻干燥制成的疫苗。其特点是免疫后抗体产生慢于组织苗;一般使用剂量相对较大,2~4头份,甚至更多;利用细胞生产,其生产量大,价格便宜;断奶前仔猪可接种4头份疫苗,以防母源抗体干扰^[3]。

当前生物安全、动物福利越来越被人们重视;因动物的质量不易控制,而且存在外源性生物因子污染的风险,国际上不再提倡用活体动物组织制作疫苗,因此猪瘟组织活疫苗的发展受限。我国猪瘟兔化弱毒株脾淋苗和乳兔苗的生产工艺一直沿用50年代以来的传统工艺方法,虽然国内很多学者作了大量相关研究工作,并取得一定的成就,但是对于疫苗生产工艺方面的改进不多,使我国猪瘟疫苗的生产工艺相对落后。近年,我国猪瘟ST细胞苗开发取得突破。据了解,2008年国内某企业与中监所合作研制的ST苗获得农业部批准文号。采用猪睾丸传代细胞(ST)生产猪瘟细胞活疫苗,在安全性与效率方面优于牛睾丸细胞苗,而且生产工艺易于标准化。该公司获独家生产经营权,并且该技术在境内转让了多个疫苗厂家,可以预计将在近年内取代现有产品(牛睾丸细胞生产)。市场上还有一种猪瘟传代细胞疫苗是另一个企业所生产,该公司的猪瘟疫苗为猪睾丸克隆细胞苗,可以简称为STK苗,2009年已经获得了相关批文。

1 猪瘟弱毒株疫苗的生产工艺存在的问题

1.1 猪瘟病毒难培养,滴度低

猪瘟细胞毒转瓶生产中,病毒粒子成熟后从细

胞中释放到营养液里,会导致部分病毒粒子失活。在具体生产过程中,多次收获病毒的方法不易控制,多次收获病毒后总毒价降低;在体外培养的细胞中,CSFV以低水平增殖,产生的子代病毒滴度较低。从而配苗抗原很难达到稳定均一的质量标准。

1.2 猪瘟病毒抗原检测方法落后

目前增殖 CSFV 的有羊睾丸细胞、猪肾细胞(PK-15)、猪睾丸细胞(ST),一般培养细胞均不产生细胞病变(Cytopathic effect,CPE)。用兔体反应量(RID)来间接检测抗原,抗原的定量困难,严重影响当前生产的疫苗质量。

1.3 疫苗效力标准低

欧洲药典规定用C株疫苗免疫时,肌肉注射剂量为100 PD₅₀(400 RID)。我国猪瘟苗规定的标准免疫剂量为150 RID,折算为37 PD₅₀。这一剂量远低于国际标准。政府招标疫苗猪瘟细胞苗已经提高到了7 500 RID。

1.4 生产方法相对落后

用大兔脾脏、淋巴结或乳兔组织来生产抗原存在生物安全隐患。牛睾丸细胞苗有牛病毒性腹泻病毒(BVDV)污染的威胁;而兔脾淋苗则受到兔源的影响,存在质量不稳定的问题。抗原的质量控制及疫苗的效力检验采用较落后的兔体致热方法,需要大量的兔子,质量指标很难稳定,接种前的兔子只能观察2~3 d,体温不符合要求的先淘汰,人工接种操作时剂量有一定的差异,体温计误差及体温测量时间的掌握程度等均能影响体温曲线。接种后兔子是否出现发热反应不但与兔体对病毒的敏感性有关,还与其他各种外界因素有关。很明显,如果接种兔在观察期间刚好感染了其他病原,其发热反应就有可能不是接种猪瘟病毒引起的。此外,因脾淋苗的生产成本很高,疫苗生产厂家能否严格做到使用未曾接种过兔瘟疫苗的兔子来做脾淋苗,也是一个值得怀疑的问题。疫苗效力检验的判定方法繁琐,可疑的结果要求回归等检验操作。家兔品种、大小、健康状况都能影响猪瘟病毒的体内增殖。按照世界动物卫生组织(OIE)对猪瘟活疫苗的生产要求,组织苗的生产供体动物必须是同一品系,统一饲养条件的动物^[4]。使用动物原代细胞增殖病毒更存在外源性因子污染的威胁,凡组织苗及原代细胞苗免疫的猪及其相关产品不能打入国内市场,影响到国际贸易。

1.5 生产工艺全过程不能达到 GMP 标准

疫苗抗原的配制、冻干等下游工艺虽然在GMP环境下进行,但是兔子的接种饲养解剖等工作在非GMP环境内进行。而且配苗工序不是连续密闭的系统内生产,需要绞肉机、过滤机等独立分散的操作单元来完成,导致疫苗抗原在外环境中暴露及半暴露状态,增加了污染的可能性。新型基因工程疫苗在欧盟已经注册使用,就是猪瘟病毒亚单位成分E2蛋白在杆状病毒中表达的昆虫细胞培养的基因工程亚单位疫苗^[5-7],也叫标记疫苗(marker vaccine)^[8]。其特点是该苗免疫后的猪群可以用ELISA试剂盒鉴别野毒感染与疫苗免疫产生的血清抗体。这对于疫病的扑灭和根除有着非常重要的意义,也是流行病学分析必不可少的,常规猪瘟活疫苗则没有这种优势。目前我国还没有市场化的此类商品疫苗。

2 我国猪瘟活疫苗的改进方向

2.1 猪瘟疫苗生产抗原定量及效力检验方法的改进

刘建文等^[9]用原核表达的猪瘟病毒(CSFV)主要抗原E2蛋白和猪瘟基因疫苗免疫BAIB/c小鼠,通过CSFV单克隆抗体技术,建立的AC-ELISA方法,检测了CSFV细胞培养物、CSFV攻毒致死猪病料和猪瘟临床组织样品,认为该方法敏感、特异、重复性好。能够短时间内准确、快速地直接检测大批量样品中的CSFV抗原,明显优于病毒分离和免疫荧光等方法,而且具有半自动化的特点,能自动显示结果,更适合于各级兽医研究机构和生产单位应用。RT-PCR核酸检测方法也应用于猪瘟抗原的定量检测的相关研究^[10]。陆永干等^[11]将构建的质粒作为标准阳性模板进行荧光定量PCR(FQ-PCR)检测,该方法可以用于临床诊断。目前国内外已建立多种ELISA技术,用于猪瘟病毒抗体及抗原检测,然而大多数是抗体检测技术,应用于在血清学调查、流行病学研究、疫苗免疫效果评估等,还没有应用到疫苗生产抗原质量控制。采用单克隆抗体作为包被抗体或检测抗体建立的荧光抗体方法或抗原捕捉ELISA,具有高特异性,但是通常敏感性较低;采用多克隆抗体虽可获得高敏感性,但特异性较低。张富强等^[12]应用噬菌体肽库,建立依赖噬菌体拟位的竞争性ELISA方法,用于诊断和检测临床组织样品中的猪瘟病毒抗原。

竞争性 ELISA 具有高敏感性和高特异性的优点,在各种疫病抗体检测中发挥了重要作用,已开始对毒素蛋白和抗原检测中得到应用。

抗原的准确定量方法能使配苗中的抗原及成品疫苗的有效抗原量化更科学,准确。使猪瘟活疫苗的效力稳定均一,免疫剂量准确,避免免疫剂量不足问题,也可避免免疫过量抗原引起的免疫抑制现象。

2.2 病毒培养方式的改进及抗原的浓缩纯化

传代细胞方式生产病毒有效地避免或降低了由动物组织及原代细胞可能带来的生物安全风险,而且具有病毒培养液中病毒含量高,批间差异小,稳定性好等特点。应用 ST 细胞生物反应器微载体生产猪瘟病毒技术,可将 CSFV 的滴度提高几倍。这种微载体(Cytodex3R,GE 医疗集团)是一种多孔微珠,将其加于悬浮细胞培养物中,细胞即可贴附在微载体上生长。由于减少了培养基用量,同时扩大了细胞的培养量,从而使 CSFV 的滴度比一般贴壁培养的提高了 1.5 个滴度,且这种微载体经处理后仍可继续使用。因此,微载体细胞培养是提高 CSFV 滴度的一个比较好的方法。利用生物反应器自动控制参数,能使生产工艺更加先进,质量更稳定。在我国,猪瘟抗原的纯化浓缩方面报道并不多见,细胞培养抗原的纯化浓缩可用离心和超滤方法。刘劲松等^[13]用反向亲和和层析法纯化猪瘟病毒抗原,去除抗原中残留的牛犊丸细胞培养物成分,其总蛋白去除率达 76.9%;应用纯化前后抗原检测猪瘟免疫血清,纯化抗原可以去除猪瘟免疫血清中的非相关抗体反应,确保猪瘟免疫抗体检测的特异性。

3 新型猪瘟疫苗的开发

猪瘟病毒(CSFV)基因组为单股正链 RNA,长度为 12.3 kb。随着 HCVA fort 株(1989 年德国)和 Brescia 株(1990 年荷兰)RNA 全序列的发表,对 CSFV 的研究真正进入分子水平,其进展速度很快。包括由我国创立并完成的 C 株兔脾组织毒(疫苗种毒)RNA 的全序列,目前已有 10 余株强毒株和疫苗毒株的 RNA 全序列公开发表^[1]。有关基因工程重组疫苗、亚单位疫苗、标记疫苗、核酸疫苗等以分子生物学为基础的新型疫苗研究已经取得很大成就^[14-16]。然而,能够成为一种简单低廉的疫苗,在技术层面上还有很多问题亟待解决。

参考文献:

- [1] 韩雪清,刘湘涛,赵启祖,等.猪瘟病毒及猪瘟疫苗研究进展[J].动物医学进展,2000,21(2):1-7.
- [2] 朱良全,彭隽,王栋.猪瘟疫苗研究进展及我国传统疫苗的研究现状[J].中国兽药杂志,2005,39(2):36-40.
- [3] Qiu Huaji, Shen Rongxian, Tong Guangzhi. The Lapinized Chinese Strain Vaccine Against Classical Swine Fever Virus: A Retrospective Review[J]. *Spanning Half A Century Agricultural Sciences in China*, 2006, 5(1):1-14.
- [4] Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2008. CHAPTER 2. 8.3. CLASSICAL SWINE FEVER (hog cholera) [EB/OL]. http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.08.03_CSF.pdf.
- [5] Marcel M, Hulst, Rob J M. Moormann Classical swine fever virus diagnostics and vaccine production in insect cells[J]. *Cytotechnology*, 1996, 20:271-279.
- [6] Oliberto Sanchez, Maritza Barrerac, Maria P, et al. Classical swine fever virus E2 glycoprotein antigen produced in adenovirally transduced PK-15 cells confers complete protection in pigs upon viral challenge[J]. *Vaccine*, 2008, 26:988-997.
- [7] 陈振海,王琴,范学政,等.构建表达猪瘟病毒 E0 基因的重组杆状病毒[J].上海农业学报,2006,22(1):10-13.
- [8] Dong X N, Chen Y H. Marker vaccine strategies and candidate CSFV marker vaccines[J]. *Vaccine*, 2006, 25:205-230.
- [9] 刘建文,余兴龙,张丽颖,等.单克隆抗体捕捉猪瘟病毒抗原 ELISA 方法的建立[J].畜牧兽医学报,2006,37(5):474-479.
- [10] 桂棉,李琼,李彦兵,等.猪瘟病毒 RT-PCR 核酸检测与 ELISA 抗原检测试验应用研究[J].中国畜牧兽医,2009,36(7):184-186.
- [11] 陆永干,戴贤君,姚建红,等.猪瘟病毒荧光定量 PCR 标准阳性模板的构建[J].浙江农业学报,2009,21(1):35-38.
- [12] 张富强,李志华,张念祖.竞争性 ELISA 检测猪瘟病毒抗原[J].中国兽医杂志,2005,41(11):9-12.
- [13] 刘劲松,房德兴,王元伦,等.用反向亲和和层析法纯化猪瘟病毒抗原[J].中国畜禽传染病,1992,14(6):40-42.
- [14] de Smit A J, van Gennip H G P, Miedema G K W, et al. Recombinant classical swine fever (CSF) viruses derived from the Chinese vaccine strain (C-strain) of CSF virus retain their avirulent and immunogenic characteristics[J]. *Vaccine*, 2000, 18:2351-2358.
- [15] Marion Andrew, Kirsten Morris, Barbara Coupar, et al. Porcine interleukin-3 enhances DNA vaccination against classical swine fever [J]. *Vaccine*, 2006, 24:3241-3247.
- [16] 张森涛,刘湘涛,张彦明,等.猪瘟标记疫苗的研究进展[J].中国兽医科技,2003,33(8):26-31.

家禽免疫促进剂的研究进展

吴悦赟¹, 刘佑明²

(1. 汕头出入境检验检疫局, 广东 汕头 515041; 2. 佛山科学技术学院, 广东 佛山 528231)

摘要: 免疫促进剂是一类用来增进机体免疫应答、调节免疫功能、维持机体免疫功能相对稳定, 以达到防治疾病目的的物质。在动物医学上的应用将具有重要价值和作用。本文概述了家禽免疫促进剂的研究现状及其作用机理, 并展望其应用前景。

关键词: 家禽; 免疫促进剂; 研究进展

中图分类号: S851.347.2

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)04-0008-02

当前, 家禽接种疫苗后时有出现免疫应答水平低下, 甚至出现免疫不全、免疫失败。机体免疫能力的高低, 将直接影响到机体的抗病能力和生产能力。在临床上应用免疫调节剂是解决当前家禽免疫现状的有效途径之一。免疫促进剂是一类用来增进机体免疫应答、调节免疫功能、维持机体免疫功能相对稳定, 以达到防治疾病目的的物质。现已证明, 具有免疫促进作用的物质有八大类, 包括生物活性肽、多糖、皂甙、生物碱、功能性低聚糖、挥发油、黄酮体类、外源性核苷酸、茶多酚^[1]。常用的有黄芪多糖、灵芝多糖、蜂胶、人参皂甙、油佐剂、维生素、福氏佐剂、干扰素、有益菌制剂、丙种球蛋白等^[2]。关于免疫促进, 一直受到医学及兽医学领域的重视。以小鼠为实验动物, 较广泛开展的免疫促进研究, 在免疫促进药物筛选, 免疫促进指标的设定与检测及免疫促进机理的阐述方面, 起到了举足轻重的作用^[3,4]。而近十余年来对于家禽免疫促进研究也有诸多进展。

1 鸡免疫促进的研究进展

近十余年来, 关于家禽免疫促进方面的研究已受到普遍的关注, 其中对鸡的免疫促进研究最多。上世纪九十年代开始, 较多利用核苷酸、胸腺素、牛至油等物质作为免疫促进剂。研究表明, 核苷酸、胸腺素在鸡机体内能显著提高T淋巴细胞依赖性抗体水平, 提高NK细胞和巨噬细胞的活性, 促进免疫细胞因子(IL-2或IFN)的分泌^[5,6]; 计慧琴等^[7,8]曾系统研究胸腺素 $\alpha 1$ (T $\alpha 1$)对鸡免疫功能的影响, 结果表明低剂量的T $\alpha 1$ (15 μ g/kg)可显著提高鸡

脾脏、胸腺和法氏囊指数, 提高外周血液和脾脏T淋巴细胞的增殖转化反应和脾脏抗体形成细胞的数量; 牛至油能显著提高肉鸡新城疫的免疫抗体, 但对免疫器官没有明显的影响^[9]。随后, 很多都以微生态制剂和中草药及其提取物为研究对象, 更多的是利用中草药作为免疫促进剂。有选用复方中草药为免疫促进剂的, 如王福传等^[10]用人参、黄芪、党参等10味富含多糖、皂甙、黄酮类物质的中草药, 组方配伍成A、B、C三种剂型, 采用1%、1.5%、2%三个添加水平, 进行9个试验组和1个对照组比较研究, 对试验鸡的45d免疫器官质量和T、B淋巴细胞, 以及不同日龄鸡新城疫(ND)和传染性法氏囊病(IBD)免疫抗体效价等进行检测, 结果表明, 试验组的抗体效价、T淋巴细胞转化率高于对照组。李树鹏等^[11]用黄芪多糖和益生菌组成“合生元”饲喂雏鸡能极大地增强机体的细胞免疫功能, 特别是提高T淋巴细胞的活性作用。有选用单一中草药或其提取物为免疫促进剂的, 如邱妍等通过肌肉注射板蓝根多糖(IRPS)溶液, 结果表明, 高剂量板蓝根多糖能显著提高鸡CD₄⁺/CD₈⁺比值、免疫器官指数及抗体效价等; 司昌德等多名学者通过对鸡饲喂或注射黄芪多糖研究表明, 黄芪多糖能明显提高或增强鸡的细胞免疫与体液免疫^[12,13]。此外有学者进行了人参叶皂甙、灵芝多糖、杜仲提取物以及益生芽孢菌制剂、乳酸杆菌制等对鸡免疫促进的研究。

目前对鸡的免疫促进研究贡献主要在于: (1) 筛选出了一批对鸡有一定免疫促进作用的药物, 主

要集中于黄芪及其有效单体提纯物,如黄芪多糖、黄芪黄酮、黄芪皂甙,人参叶皂甙及有关复方的研究,并逐步延伸到姜黄素、杜仲、当归、鱼腥草、紫锥菊等中药及其复方的研究;有益菌制剂的研究;其他生物活性物质如抗菌肽、肌肽、谷氨酰胺、壳聚糖、生物素、玉米蜂花粉、鸡 γ 干扰素的研究;某些微量元素如氧化锌的研究等。(2)在研究的技术路线上,主要是着眼在器官、组织水平和细胞水平上阐述了免疫增强剂的作用机理,部分研究直接联系鸡新城疫、禽流感、传染性法氏囊病等急慢性传染病的免疫接种,阐明免疫增强剂对特异免疫促进的效果。

2 水禽的免疫促进研究

与鸡比较,水禽的免疫促进研究少得多,而在水禽中,鸭多一些,鹅次之,番鸭最少。目前对水禽的免疫促进研究贡献主要在于:(1)对水禽开展了部分药物的免疫促进作用研究,包括:在鸭(包括番鸭)方面,通过测定免疫器官发育变化情况来看待试药物的免疫促进作用,主要有溶菌酶、抗菌肽、白术。也开展了某些免疫促进剂对鸭免疫细胞、免疫因子、特异抗体代谢动态影响的研究,涉及的物质有维生素E、牛磺酸、有益菌制剂(包括异源乳酸菌)、微量元素(包括铜、锌等),包括中草药复方肠炎灵(黄连、黄芩等药材组成)^[14]。在鹅方面,曾研究的药物有维生素E+硒、亚麻木脂素、 β -葡聚糖酶。(2)研究在器官、组织水平和细胞水平上阐述了有关药物免疫增强的作用机理,部分研究直接联系禽霍乱、禽流感的免疫接种,阐明免疫增强剂对特异免疫促进的效果。

目前对水禽的免疫促进研究的不足在于:(1)在研究的力度方面,与鸡比较,水禽的免疫促进研究较少,虽然对鸭和鹅的研究已逐步受到关注,而对番鸭的研究仍然很少,与近年水禽养殖量不断扩大而水禽传染病种类日益增加、水禽尤其是幼禽发病、死亡率有上升倾向的状况甚不相应。(2)针对水禽筛选出的免疫促进有效药物仍然很少。尽管针对鸡或其他动物免疫增强药物筛选已经做了较多的工作,但同种药物在不同的动物体内的药动学特点会有不同的现象已经越来越为凸现。司兴奎等^[15]曾对在药理上对具有免疫促进作用的七种免疫调节剂作鸭的免疫促进试验,其免疫促进效果并不理想;王静等^[16]通过在AA肉鸡不同饲

养阶段的日粮中添加300 mg/kg、600 mg/kg两个浓度的抗菌肽粗提品来检测T淋巴细胞转化情况试验表明,抗菌肽能够促进肉鸡外周血淋巴细胞增殖转化;而陈晓生等^[17]在樱桃谷肉鸭的基础日粮中添加抗菌肽制剂(用量分别为3 L/T、2 L/T、1 L/T),结果显示各免疫器官重量指数均没有显著变化($P>0.05$)。同一免疫促进剂对不同家禽免疫促进效果存在差异,而水禽的品种较多,有必要对常用免疫促进剂在不同品种中的免疫促进效果进行比较,对免疫促进剂作用机理作更深层次探讨、阐述。(3)水禽传染病种类繁多,其中急慢性传染病逾十种,禽流感更是其中危害最大的水禽急性传染病之一。目前针对各品种水禽的几种急慢性传染病免疫接种的免疫促进研究仍然欠缺,加强阐明免疫增强剂对特异免疫促进的效果研究,无疑更有利于直接表达免疫促进理论的实际作用。

3 免疫促进剂对T、B淋巴细胞增殖的影响

淋巴细胞作为免疫系统的重要组成部分,在机体的免疫应答中起着极为重要的作用,其中T淋巴细胞和B淋巴细胞是参与机体特异性免疫反应的非常重要的白细胞。T细胞主要介导机体的细胞免疫,是机体抵抗侵入细胞内病毒、细菌和寄生虫的重要因素,也是机体免疫监视及抗肿瘤的重要因素;B细胞介导体液免疫,一般认为,B细胞是体内惟一能产生抗体(免疫球蛋白)的细胞。B细胞的特征性表面标志是膜表面免疫球蛋白,其作为特异性抗原受体(BCR),通过识别不同抗原表位而被激活,分化为浆细胞,进而产生特异性抗体,发挥体液免疫功能^[18]。T、B淋巴细胞增殖功能强弱能够显著反映机体细胞免疫和体液免疫功能状态。

T细胞和B细胞表面可表达多种识别丝裂原的膜分子,当丝裂原与相应膜分子上特定的糖基交联后,可直接使静止状态的T(或B)细胞活化、增殖并转化为淋巴母细胞。某些丝裂原有选择性地刺激T淋巴细胞或B淋巴细胞,如植物血凝素(PHA)和ConA刺激T细胞增殖;细菌脂多糖(LPS)、鼠伤寒沙门氏菌丝裂原(STM)以及PMA则刺激B细胞增殖。杨崇民等饲喂中药方剂(主要成份有黄连、黄芪等)9天后,AA肉仔鸡外周血液中B淋巴细胞明显增多,表明该中药方剂对鸡的体

(下转第14页)

上半年全国生猪生产形势分析及后期走势判断

虞华, 颜艳, 虞丽娜
(盐城国调队, 江苏 盐城 224005)

中图分类号: S81

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)04-0010-02

目前,相对而言吃猪肉比吃蔬菜还要“实惠”,这是当前全国许多地区老百姓对猪肉价格下跌最直观的反应。2012年生猪价格并未像很多人年初预测的那样,随着5月的到来而进入上升通道。统计监测的数据显示,生猪和猪肉价格仍在“探底”。一些地区养殖户开始出售能繁母猪,很可能为后市生猪价格波动又埋下伏笔。

1 国内生猪市场情况

1.1 猪价“跌跌不休”,肉价并未明显下降

2012年春节后,受生猪生产周期性波动影响,生猪价格“跌跌不休”(图1)。5月20日,全国生猪出场平均价格跌至13.69元/kg。按理说,生猪价跌了,肉价也应该跟着下降。可价格调查监测资料显示:直接影响CPI的猪肉零售价与生猪出栏价的联动性并不完全一致。肉价随着猪价下调的同时,猪肉零售价格依然坚挺。自去年9月以来,全国生猪出栏价已由高峰时19.56元/kg,下降至5月20日的13.69元/kg,降幅已经超过了30%,猪价已基本跌回到2011年初的水平。与此同时,全国猪肉零售价格由去年9月高峰时28.79元/kg,下降至5月20日的25.2元,降幅约为12.5%,但仍比去年同期高13%左右。和生猪价格相比,猪肉零售价格反应明显滞后。

1.2 生猪存栏略有减少,能繁母猪仍居历史较高水平

2011年下半年生猪价格增长较快,养猪户大

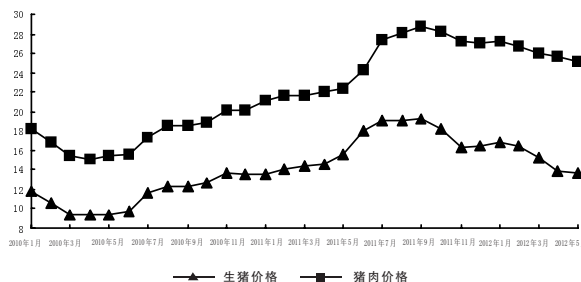


图1 2010年以来全国生猪、猪肉价格走势图(元/kg)

都赚了一笔钱,这也吸引了不少养殖户从2011年11月至12月开始大规模养殖,加之猪病形势较为平稳,成活率较高,造成今年生猪市场供应量持续增加。据农业部统计数据,截至2012年3月份生猪存栏46167万头,同比增长5.46%(图2),能繁母猪存栏4954万头,同比增长4.04%(图3)。2012年5月16日,农业部公布了2012年4月份4000个监测点生猪存栏信息,4月份生猪存栏较上个月增加0.3%,比去年同期增加5.5%。其中,能繁母猪与上月量持平,较去年同期增加6.4%。

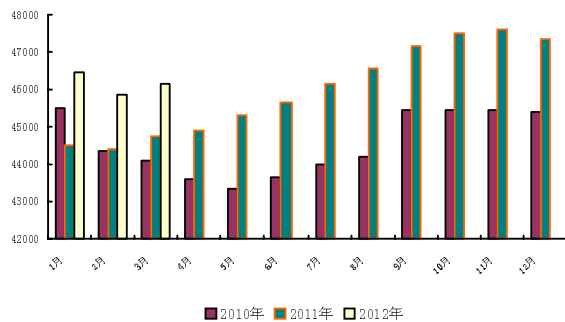


图2 2010年以来各月全国生猪存栏数比较(万头)

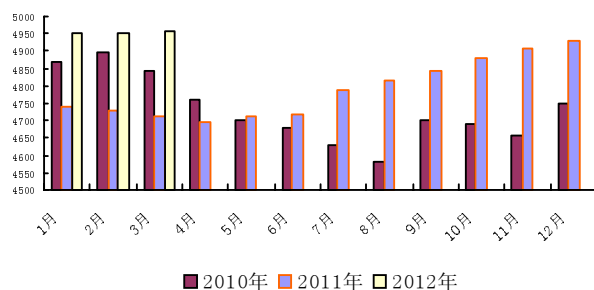


图3 2010年以来各月全国能繁母猪存栏数比较(万头)

从生猪生产关键要素来看,全国能繁母猪仍保持较高水平,如不发生重大疫情,能保证后期生猪生产发展动能。

1.3 猪粮比价跌破调控生猪市场预案中的盈亏平衡点,进入“蓝色区域”

2012年初以来,国内玉米、饲用小麦、豆粕价格逐月走高,目前均处于历史较高水平。与之形成

鲜明对比的是,猪肉及禽蛋价格持续走低。饲料用粮价格持续上涨增加了养殖成本,令养殖收益下降,养殖业也从去年的盈利高峰跌入亏损的困境。4月初猪粮比跌破了6:1的盈亏平衡点,标志着生猪养殖已经步入亏损区间(图4)。数据显示,5月18日全国玉米批发平均价格2.464元/kg,环比上涨6%,较年初上涨5.8%,同比上涨19.6%,较2011年9月28日的历史高点低1.4%。同期仔猪价格也在持续攀升。另外,油价上涨、雇工工资提高、水电费以及防疫费用增加等均推高养殖成本。5月20日猪粮比价已跌至5.56:1,同比下跌1.34个百分点,已低于调控生猪市场预案中的盈亏平衡点。根据国家发改委出台的《防止生猪价格过度下跌调控预案(暂行)》规定,当猪粮比价在6:1~5.5:1之间,表明生猪价格出现轻度下跌,处于“蓝色区域”,生猪生产效益下降,政府要适度采取措施。

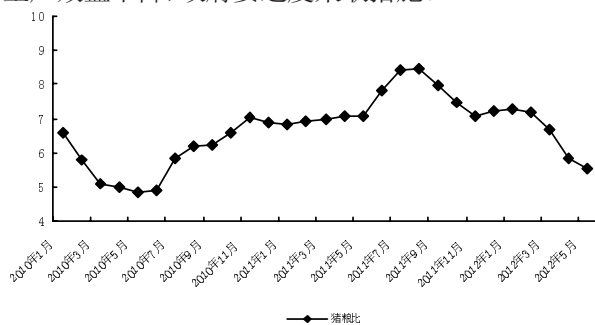


图4 2010年以来全国猪粮比走势图

2 生猪价格仍有下降空间

根据往年的猪价情况分析,端午节(6月23日)是猪价的分水岭。往年端午节前猪价都还比较稳定,端午节之后才会出现波动。目前因为生猪价格下跌,不少猪农正“囤积”生猪等待好价钱,接下来生猪出栏可能还会增多,生猪供应依然充足,价

格仍有继续下降的空间。有数据显示,2012年3月底全国千家养殖企业生猪总存栏量处于历史最高水平,且能繁母猪存栏比例高达10.66%,预示后期生猪供给充足;仔猪存栏比重32.98%,较2月底、1月底分别下降0.32个百分点、0.19个百分点,预示7月份育肥猪供给量较5、6月份小幅下降。

目前来看,饲料用粮价格上涨趋势还在持续。但是,随着饲料用粮供给的增加,饲料价格存在着回调的可能。5月底之后,全球小麦即将丰产上市,小麦供应增加趋势明确。在全球理想的天气下,全球玉米、大豆种植面积大幅增长令增产预期得到强化,国内大豆供给也将随着国内临储库存的轮出而增加。随着供给的增加,国内饲料用粮市场供需趋紧的状况将有所改善。

总体来看,在全国生猪存栏增加背景下,若不出现严重疫情,2012年猪价整体低于2011年,生猪养殖全年可实现盈利,不会出现大面积宰杀母猪现象。预计在这轮生猪抛售风波过后,生猪出栏量减少到一定程度或将支持生猪价格出现反弹。生猪价格取决于供求关系和饲料成本两大因素。受到人工成本及饲料涨价等因素的影响,猪价不可能一路下跌。按目前的形势来看,5月份猪价延续前期下跌态势,6月份受年初以来仔猪存栏比重下降影响,出栏的生猪或将减少。生猪价格可能出现阶段性反弹。7、8月份是传统消费淡季,猪价有转头下跌可能,加上饲料价格和人工成本的增加,导致养殖利润进一步压缩,养殖企业可能出现亏损。建议养殖户保持理性补栏,控制存栏量,防范价格下跌带来的经营风险。9月份后,随着天气转凉、节日增多,猪价有望小幅回升。11-12月份很可能是今年的峰值。

2012“永顺杯”优秀论文评选启事

为促进科学技术的进步与创新,活跃学术气氛,将畜牧兽医科技推向一个新的水平,本刊决定评选2012年度“永顺杯”优秀论文。本刊将组织评委会专家进行评审,对获奖的优秀论文作者颁发证书及奖金。评选结果将于本刊2013年第1期公布。

1、**评选范围:**本刊2012年度1-6期发表的文章。

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

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

欢迎广大畜牧兽医工作者踊跃投稿

《广东畜牧兽医科技》编辑部

二〇一二年一月十六日

猪场建设与经营的新变化

邓淑娴¹, 罗志锋¹, 吴云燕², 吴同山³

(1. 东莞市东城区农业技术服务中心, 广东 东莞 523121; 2. 华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642; 3. 东莞市畜牧科学研究所, 广东 东莞 523086)

中图分类号: S815.4

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)04-0012-03

随着社会的不断发展和人们生活方式的改变,养猪业也在适应形势的需要,不断发生变化,比如为追求快乐、无拘无束的生活,很多人特别是年轻人不愿意从事枯燥、又脏又累、出门都受限制的养猪业,从而导致从业人员数量减少,没人愿意养猪;土地越来越紧张,环保压力越来越大,能源不断紧张,如养猪不可能占用太多的能源等等,都促使养猪业自身要不断完善。现介绍近两年养猪业发生的几种变革和趋势。

1 工人紧缺引起饲喂方式的变化

近两年,各个养猪场到处找技术员和饲养员的现象成了常态。现在的工人,一般以外来人员为主。猪场工资水平不高,并且离家太远,工人也不能照顾家庭,因此,以前的壮劳力宁可在家乡打工也不愿再出来养猪;而年轻人的生活方式、人生追求目标等都比较现代化,工资多少不是他们追求的唯一目标,因此,养猪业对他们也没有吸引力,大都不愿从事单调、枯燥的养猪工作。在这种情况下,怎样用最节约人工的饲养方式养猪,就成了广大养猪户应思考的问题。目前,新的饲喂方式主要有以下几种。

1.1 全自动喂料系统

由于需投入的资金比较大,猪只全自动饲喂方式多在大型养猪企业、实力雄厚的新建养猪企业使用。根据实力的大小,有的是只在种猪舍(配种舍、怀孕舍、分娩舍)安装,有的在配种舍、怀孕舍、分娩舍、保育舍和育成育肥舍全部安装,配备完善的饲料运输车、饲料塔等,或直接将饲料由场内饲料厂输送到猪舍料槽。这样在饲喂方面,不但减少浪费,也节约了一定的人力。

1.2 半自动喂料方式

与全自动喂料方式相比,半自动喂料方式大

部分是配备饲料塔和饲料传送带,需要人工将饲料送入猪舍和饲料槽,喂料时进行人工放料。这种饲喂方式的成本相对较低,但节约人工方面比不上全自动喂料系统。

1.3 固定料槽饲喂肉猪

在我国的南方,以前大部分猪场养肉猪是不用饲料槽的,一般将干料或半干湿料直接撒在水泥地板上饲喂,这样既浪费饲料和水,又增加了人工成本。现在,包括中小型猪场在内,都设置了商品猪料槽,或自做水泥固定料槽,采用自由采食的方式进行饲喂。尽管人工节约不是最主要的目的,但也减少了饲料和水资源的浪费。采用这种饲喂模式,一定要经常清理料槽,否则,容易造成料槽发霉的现象。

2 能源紧张促使猪舍建筑的变化

随着全球气候的不断变暖和能源的日益减少,全世界的能源越来越紧张,这已经是不争的事实。作为养猪业,只有从节能降耗方面下功夫,才能有效地适应形势的发展,促进养猪业的可持续进步。

2.1 产房保育舍屋顶适当透光

在我国北方,猪舍基本上都是封闭式的,只有部分商品猪舍为半封闭式;南方相对温度高一些,大部分猪舍为半封闭式或全开放式,一半以卷帘为主。不论是封闭式的还是开放式的,特别是产房和保育舍,饲养员要经常到舍内进行清洁、接产、疾病预防等工作,如果不开灯,光线会比较暗,影响各项工作的开展。如果在每间猪舍屋顶利用透明塑胶板或有机玻璃做一个天窗,适当透进一些光线,不但可以增加舍内的亮度,还能节约一定的能源,达到既环保又经济的目的。

以前的卷帘,以深色为主,蓝色、绿色甚至黑色的都有,不利于猪舍采光,现在生产的卷帘,多以白色或透明的为主,使用起来比较方便,因此,卷帘要尽量使用浅色的。

2.2 猪舍有保温效能

以前的猪舍,多以瓦顶特别是石棉瓦或水泥瓦为主,由于下面大部分没有隔热层,夏季热气袭人,冬季透风,容易造成夏天比较热、冬天比较冷的局面,不利用猪只的保温。现在,很多地方使用双层屋顶,即铁皮下粘一层泡沫,有的泡沫下面还有一层防火材料,可以起到冬季保暖、夏季隔热的功能,特别是冬季,保温工作比较重要,相对可以节约一些能源。但是,这种屋顶如果用的材料质量比较差,3~5年可能就要换一次,因此,要尽量选质量好且厚实的材料。

3 环保压力引起粪污处理方式的改变

尽管养猪业内人士都知道猪场的污染对周围环境的影响远远没有工业污染大,没有工业污染严重,影响时间也没有工业污染长,但政府部门和周围的村民看到的和听到的是大部分猪场流出去的水是黑的,周围的空气是臭的,都不欢迎养猪场的到来。为了猪场的生存,为了行业的发展,尽管一部分猪场搬迁到了远离城市的地区或山区,但仍将面临周围环境保护问题,面临粪污的处理问题。国家相关部门也制定了猪场粪污处理的一些管理办法,大部分大型猪场也建立了自己的场内污水处理系统,但标准不统一,基础投资大,效果显著的不多,成功的范例在全国范围内或各个省域内进行大力推广的更不多见。虽然在建场前一般都进行了环境评估工作,但真正投产之后仍摆脱不了因排放的水质不达标而多次被投诉的困惑。因此,除了常规的猪场粪污处理方法外,业内人士已经着手从建筑改变方面来调整粪污处理方式。

3.1 发酵床法养猪

这种方式又称为“零排放”养猪技术,先从山东、福建等地开始,是2006年以来推广最快的粪污处理方式。但是,经过五年的实践,持适用与不适用观点的正反两方一直争论不休,无论是猪场经营者还是行业内的专家学者。如果有足够的资金、足够的土地面积可以建猪舍、充足的原材料来源、足够的废弃发酵垫料的处理场地,这种方式应

该是最环保的处理方法,可以使用。

3.2 水泡粪法养猪

水泡粪养猪的猪舍设计,一般猪栏上面与其他猪舍一样,只是栏内地板为漏缝地板,地板下0.6~1 m处还有一层水泥地面,中间为蓄水池。工艺流程是在蓄水池中注入0.1~0.15 m深左右的水,粪尿、冲洗用水通过缝隙地板进入蓄水池,储存一个月左右时间后,打开出口闸门,将蓄水池中的粪水排入地下贮粪池或沼气池再进行发酵。这种方式具有节约冲洗次数和用水量、减少粪水排出量、节约人工的优点。但也有缺点:由于粪便长时间在猪舍下蓄水池停留,将会产生大量的有害气体,如 H_2S (硫化氢), CH_4 (甲烷)等,使舍内空气质量下降。如果抽风换气设施不完善,会影响猪只的健康;且猪舍建筑成本加大。目前,很多大型猪场已经开始使用本法。

3.3 干清粪法养猪

规模化猪场的干清粪与水泡粪猪舍设计差不多,只是栏下部分不同:干清粪栏下部分是通透或半通透的,没有蓄水池,猪粪尿直接漏在水泥地板上;而水泡粪的粪尿是漏在蓄水池的水里面。该工艺的目的是及时、有效地清除猪舍内的粪便、尿液,保持畜舍干燥、环境卫生,减少粪污清理过程中的用水、用电,保持固体粪便的营养物,提高有机肥肥效,降低后续粪尿处理的成本。干清粪工艺分为人工清粪和机械清粪两种,人工清粪设备简单,不用电力,一次性投资少,还可以做到粪尿分离,便于后面的粪尿处理。机械清粪包括铲式清粪和刮板清粪,机械清粪的优点是可以减轻劳动强度,节约劳动力,提高工效;缺点是一次性投资较大,还要花费一定的运行维护费用,这种方式目前在国内猪场应用的不多。干清粪方式减少人工、节约冲洗猪栏用水等,但投资也比一般猪舍高1倍以上。人工清粪方式正在一部分猪场使用。

一些鱼塘面积不足、地方比较小的小规模猪场,虽然没有建复杂的漏缝猪栏,但为了生存,也一直采用干清粪的方式,不但节约了用水,清理出来的猪粪由于肥效好而更易销售出去,也起到了事半功倍的效果。

4 疾病复杂促进饲养模式的变化

猪病的复杂化,已经不是近两年的事情。以前一些季节性爆发的疾病现在不分季节都可能发

生, 原来经常发生的单一病原的疫病现在常混合感染。为了应对这些变化, 一些猪场在饲养模式上也作一些调整, 这里仅介绍两种。

4.1 相对的早期断奶

现在, 仔猪的断奶时间, 一般为 24~30 日龄左右。为了减少母源疾病的传播, 根据自身的条件, 一些猪场已经把断奶时间提前到力所能及的程度(主要是保温和补料问题)。有的 10 日龄左右断奶, 有的 18 日龄左右断奶, 小部分条件好的规

模化猪场, 一般 14 日龄左右断奶。

4.2 保育期延长

以前, 仔猪断奶后转至保育舍, 一般要养至 15~20 kg 出栏。要么出售猪苗, 要么转入生长育肥舍作商品猪饲养。但由于体重比较小, 小猪的适应能力差, 很容易发病。现在, 一些猪场为了提高商品猪的成活率和生产效率, 将保育期延长, 养至 25~30 kg 转栏, 这些猪就比较容易饲养。

(上接第 9 页)

液免疫功能有明显的增强作用^[19]。有学者研究表明高压正静电场对 1 日龄雏鸡外周血液和免疫器官 T、B 淋巴细胞有增殖功能, 而高压负静电场可使其功能减弱或降低^[20]。可见, 如何合理利用促进剂甚至是某些特定条件提高或增强家禽机体内的 T、B 淋巴细胞分泌与增殖, 是研究家禽免疫促进剂的重要一环。

4 小结

动物机体接种疫苗后产生主动免疫的原理是十分复杂的, 它受动物机体自身免疫系统和接种疫苗的免疫原性两方面影响。除此之外, 近几年来动物免疫促进剂或调节剂在家禽疾病防治中的研究与应用日益引起国内外的重视, 免疫促进剂与现代新技术相结合更能产生巨大的实用价值, 尤其是应用分子生物学的知识去认知免疫促进剂的有效因子和作用机理, 将给免疫促进剂的研究提供更为广阔的前景。

参考文献:

- [1] 李振. 免疫增强剂的作用机理及应用[J]. 辽宁畜牧兽医, 2004, (2): 29-30.
- [2] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海: 上海科技出版社, 1996.
- [3] 孙奕, 王景明, 骆永珍. 淫羊藿总黄酮促进免疫功能低下小鼠 IL-2 和 NK 活性的实验研究[J]. 中草药, 2002, 33(7): 635-637.
- [4] 郭志廷, 韦旭斌, 梁剑平, 等. 人参总皂苷及其衍生物对小鼠巨噬细胞吞噬功能的影响[J]. 中兽医医药杂志, 2008(1): 10-11.
- [5] 芦芝川, 史耀旭, 杨孝朴. 鸡 γ 干扰素基因的克隆及原核表达[J]. 中国畜牧兽医, 2012, 39(3): 47-50.
- [6] 毕小艳, 谭斌, 戴晋军. 日粮核苷酸对肠道黏膜免疫的作用及其在养鸡生产中的应用[J]. 国外畜牧学-猪与禽, 2012, 32

(2): 45-46.

- [7] 计慧琴, 王丙云, 陈志胜, 等. T 细胞的发育分化及胸腺激素的作用[J]. 动物医学进展, 2005, 26(4): 47-50.
- [8] 计慧琴, 孙圣兰, 朱小彤, 等. 胸腺素 $\alpha 1$ 对鸡生长性能及免疫器官发育的影响[J]. 佛山科学技术学院学报(自然科学版), 2003, 21(2): 70-73.
- [9] 胡晓飞, 林东康, 王利娜, 等. 牛至油对肉鸡生产性能和免疫功能的作用[J]. 中国畜牧兽医, 2004, 31(9): 15-16.
- [10] 王福传, 方昌阁, 张玉换, 等. 复方中草药免疫增强剂对蛋鸡免疫效果的研究[J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(2): 187-192.
- [11] 李树鹏, 郝艳霜, 陈福星, 等. 黄芪多糖和益生菌对雏鸡免疫机能的影响[J]. 粮食与饲料工业, 2007(2): 33-34, 42.
- [12] 司昌德, 闵亚宏. 黄芪多糖对肉仔鸡免疫功能的影响[J]. 中国预防兽医学报, 2008, 30(12): 978-980.
- [13] 罗燕, 邵永斌, 谷新利, 等. 黄芪多糖对鸡免疫功能及禽流感-新城疫重组二联苗免疫效果的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2009(2): 81-83.
- [14] 闭兴明, 杨斌, 杨静媛, 等. 肠炎灵对鸭免疫器官及免疫功能影响的研究[J]. 云南畜牧兽医, 1997(1): 5-7.
- [15] 司兴奎, 陈建红, 张济培, 等. 七种免疫调节剂对鸭接种禽流感疫苗后体液免疫应答的促进作用[J]. 养禽与禽病防治, 2007(10): 34-36.
- [16] 王静, 李同树. 抗菌肽对肉鸡外周血 T 淋巴细胞转化的影响[J]. 家畜生态学报, 2007, 28(03): 45-48.
- [17] 陈晓生, 温刘发, 张辉华, 等. 饲料中添加抗菌肽对肉鸭生产性能及免疫器官、内脏器官的影响[J]. 畜禽业, 2005(2): 12-13.
- [18] 张有聪, 刘淑英. T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的研究进展[J]. 畜牧与饲料科学, 2006(5): 75-78.
- [19] 杨崇民, 刘文生, 任凤兰. 中草药对鸡外周血液 TB 淋巴细胞数量影响和抗 IBV 试验研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 1995(4): 24-25.
- [20] 闵亚宏, 吴春艳, 郑世民, 等. 高压静电场对雏鸡血液和免疫器官 T、B 细胞功能的影响[J]. 动物医学进展, 2005, 26(10): 93-97.

泰国进口鳄鱼霍乱弧菌药敏试验

陈冬娥, 陈冠武, 苏建晖, 许先凯
(汕头出入境检验检疫局, 广东 汕头 515041)

摘要: 在某鳄鱼养殖场抽检的60份泰国进口鳄鱼肛拭子样品中, 有12份检出霍乱弧菌。通过生化试验和血清学分型等鉴定, 确认12株霍乱弧菌均为非O₁非O₁₃₉群霍乱弧菌。采用18种抗菌药物进行药敏试验, 结果显示所有菌株对大多数抗菌药物高度敏感, 对四环素等药物中度敏感, 对氨苄青霉素和氧哌嗪青霉素不敏感。

关键词: 鳄鱼; 霍乱弧菌; 分离; 鉴定; 耐药性

中图分类号: S852.61

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)04-0015-02

Antibiotic resistance of *Vibrio cholera* strains isolated from imported crocodiles from Thailand

Chen Donge, Chen Guanwu, Su Jianhui, Xu Xiankai
(Shantou Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shantou 515041, China)

Abstract: Twelve *Vibrio cholera* strains were isolated from sixty anal swabs in sampling inspection of the Crocodiles imported from Thailand. It was confirmed that the strains were non-O₁, non-O₁₃₉ *Vibrio cholera*s by biochemical test and serological identification. Eighteen drugs were used in the antibiotic resistance test. The test showed that all the strains were sensitive to most drugs, moderately susceptible to ampicillin and resistance to ampicillin and piperacillin.

Key words: Crocodile; *Vibrio cholera*; Isolation; Identification; Antibiotic resistance

2011年5月,在汕头市某鳄鱼养殖场对从泰国进口鳄鱼的抽样检验中,检出12株非O₁非O₁₃₉群霍乱弧菌,同时进行药敏试验,为养殖场选择药物进行防治提供重要依据。非O₁非O₁₃₉群霍乱弧菌是指除O₁群霍乱弧菌和O₁₃₉群霍乱弧菌以外的霍乱弧菌总称^[1],近年来国内外关于非O₁非O₁₃₉群霍乱弧菌致病的报告逐渐增多,在国内非O₁非O₁₃₉群霍乱弧菌是引起夏、秋季腹泻和食物中毒的主要病原菌,其发病率有超过沙门菌、志贺菌的趋势^[2]。随着O₁₃₉群霍乱弧菌通过抗原漂移获得毒力基因,以及霍乱弧菌毒力岛可水平传播的发现^[3],一旦非O₁非O₁₃₉群霍乱弧菌获得某些O₁群霍乱弧菌等毒力基因,增加了毒性,又可能成为另一种新的O₁₃₉群霍乱弧菌,暗示着该类细菌很可能是人类的一个新的病原菌库,其重要性应被人们所重新认识^[4]。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源 汕头市某鳄鱼养殖场抽检的60份从泰国进口鳄鱼肛拭子样品。

1.1.2 药敏质控菌株 金黄色葡萄球菌 ATCC25923、大肠埃希菌 ATCC25922、铜绿色假单胞菌 ATCC27853 为质控菌株。

1.1.3 主要培养基与试剂 碱性蛋白胨水、TCBS 琼脂、氯化钠三糖铁琼脂购自北京陆桥技术有限责任公司,弧菌显色培养基购自博赛-法国科玛嘉,血平板购自广东环凯微生物科技有限公司,O₁群和O₁₃₉群霍乱弧菌诊断血清购自宁波天润生物制药有限公司,API 20NE 生化试剂条、VITEK-GN 卡购自生物梅里埃中国有限公司。

1.1.4 药敏纸片 氨苄青霉素、庆大霉素、氧哌嗪青霉素、头孢呋肟、先锋必、菌必治、复达欣、先锋V、先锋噻肟、氯霉素、妥布霉素、卡那霉素、链

霉素、阿米卡星、环丙沙星、氧氟沙星、氧哌酸和四环素共 18 种, 购自杭州天和微生物试剂有限公司, 均在有效期限内使用。

1.2 方法

参照 SN/T 1239-2003 国境口岸霍乱检验规程^[5]和 SN/T 1022-2010 进出口食品中霍乱弧菌检验方法^[6], 以及法国生物梅里埃 API20NE 非苛养肠道革兰氏阴性杆菌试剂盒及 VITEK 2-GN 卡微生物鉴定试剂盒说明书。具体方法如下:

1.2.1 分离及纯化 将肛拭子置于 10 mL 的碱性蛋白胨水中, 42 °C 培养 18 h。转种于 TCBS 琼脂平板和显色平板进行分离培养, 37 °C 培养 24 h。挑取可疑菌落接种于氯化钠三糖铁和血平板上, 37 °C 培养 24 h。

1.2.2 显微镜观察 挑取可疑菌落进行革兰氏染色。同时接种碱性蛋白胨水, 在 37 °C 培养 1~6 h, 取菌悬液制片观察细菌的运动性。

1.2.3 氧化酶试验 以无菌白色滤纸蘸取纯培养物, 滴加氧化酶试剂进行试验。

1.2.4 生化试验 挑取血平板上的纯培养物接种 20 NE 生化试剂条, 于 30 °C 培养 24 h 后观察结果。同时接种生化鉴定卡, 通过 VITEK 2 微生物鉴定仪进行生化鉴定试验。

1.2.5 血清学分型 自血平板上挑取可疑菌落与 O₁ 群、O₁₃₉ 群霍乱弧菌诊断血清做玻片凝集试验, 同时以生理盐水做对照。

1.2.6 药敏试验 根据《纸片法抗菌药物敏感试验标准》^[7], 采用 Kirby-Bauer 纸片扩散法, 以金黄色葡萄球菌 ATCC25923、大肠埃希菌 ATCC25922、铜绿色假单胞菌 ATCC27853 为质控菌株。

2 结果

2.1 培养特征

可疑的霍乱弧菌在碱性蛋白胨水中形成菌膜; 在显色平板上呈蓝色; 在 TCBS 平板上呈黄色, 表面光滑, 直径约 2 mm; 在氯化钠三糖铁琼脂斜面上底层和斜面均呈黄色, 不产硫化氢, 不产气。

2.2 显微镜观察结果

革兰氏染色呈红色(阴性)、短小、稍弯曲的杆菌, 无芽孢, 菌体两端钝圆, 动力阳性。

2.3 氧化酶试验

滴加法国生物梅里埃产的氧化酶试剂后, 白色滤纸上菌苔立即呈现蓝色, 为阳性。

2.4 生化鉴定结果

通过 API20 NE 手工生化和 VITEK 2 微生物鉴定仪两种生化试验鉴定结果表明, 12 个菌株都符合霍乱弧菌的生化特征。

2.5 血清学检验

12 份霍乱弧菌菌株均不能与 O₁ 群、O₁₃₉ 群霍乱弧菌诊断血清发生凝集, 均判为非 O₁ 非 O₁₃₉ 群霍乱弧菌。

2.6 药敏试验结果

12 株霍乱弧菌阳性菌株对 18 种药物的敏感度完全一致, 其中 100%耐药的抗菌药物只有氨基青霉素和氧氟喹诺酮类 2 种, 约占 11%; 敏感的抗菌药物有 12 种: 头孢呋肟、先锋必、菌必治、复达欣、先锋 V、先锋噻肟、妥布霉素、卡那霉素、阿米卡星、环丙沙星、氧氟沙星、氧哌酸, 约占 67%; 中敏的抗菌药物有庆大霉素、四环素、链霉素、氯霉素 4 种, 约占 22%。

3 讨论

3.1 霍乱 是经口感染的肠道传染病, 经水是主要的传播途径^[8]。从养殖场抽取 60 份样品分离出来的 12 份阳性样品的培养特征与生化特征非常一致, 都属于非 O₁ 非 O₁₃₉ 群霍乱弧菌, 说明该养殖场带菌鳄鱼属于个体间相互感染。经对养殖场水体用 0.3 mg/L 二氧化氯进行消毒, 每天 1 次, 连用 10 d, 饲料按照 10% 的比例添加 100 mg/kg 大蒜素 10 d, 结果未见有鳄鱼发病, 说明防控措施可靠, 也可能该菌在鳄鱼只是带菌而不发病。

3.2 药敏试验 结果表明, 非 O₁ 非 O₁₃₉ 群霍乱弧菌对大多数抗菌药物敏感, 对氨基糖甙类、头孢菌素类和氟喹诺酮类等抗菌药物的敏感性较高, 可选择这类抗菌药治疗霍乱弧菌感染。由于头孢菌素类药物易诱导产生过量的染色体 β-内酰胺酶, 使菌株突变成耐药株, 在治疗上应首选氟喹诺酮类, 其次为氨基糖甙类药物^[9]。青霉素类对霍乱弧菌不敏感, 四环素类中度敏感, 说明非 O₁ 非 O₁₃₉ 群霍乱弧菌对四环素等药物的耐药性也在加大, 应减少其使用力度。在养殖生产中应掌握正确的药物使用方法, 防止乱用滥用药物。

3.3 非 O₁ 非 O₁₃₉ 群霍乱弧菌的致病性 虽然没有 O₁ 群、O₁₃₉ 群霍乱弧菌强, 其能否引起鳄鱼发病和死亡, 目前国内外未有详细的报道资料, 但其引起的食物中毒事件在国内已时有发生。要密切跟踪养殖鳄鱼的健康状况, 定期监测鳄鱼养殖场水体, 定期对鳄鱼进行肛拭子采样检验, 防止霍乱疫情的发生。

(下转第 23 页)

一起白鹮鸭大肠杆菌病的诊治

吴咏梅

(中山市农业科技推广中心, 广东 中山 528403)

中图分类号: S852.61*2

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)04-0017-01

白鹮鸭为珍稀鸭种,是迄今为止发现的我国唯一具有药用滋补和保健作用的鸭种。白鹮鸭饲养期越长,其药效越好,一般饲养4个月以上才具有药效。白鹮鸭通常较少生病,但是随着养殖量的扩大,集约化程度的加剧,疫病也相应增多,而且随着鸭种来源复杂、饲养环境恶化等原因变得越来越复杂,特别是由致病性大肠杆菌引起鸭的大肠杆菌病已成为鸭场的常见多发病,给养殖户带来的经济损失日益明显,必须引起我们足够的重视。

1 发病情况

2011年11月,中山某白鹮鸭场饲养的1200只215日龄的白鹮种鸭陆续发病,发病率高达50%,产蛋率迅速下降(由70%下降至50%左右),并出现较多的“沙”壳蛋和畸形蛋,孵化率亦显著下降(由90%降至50%)。至求诊时病死率约为4%。曾用土霉素、病毒灵等药物治疗,无效。

2 临床症状

病鸭主要表现为精神差、爱蹲伏、不愿下水,食欲减退,母鸭腹部膨大;拉灰白绿色或黄色稀粪,粪便腥臭,或粪便里混有蛋白、蛋清和小块卵黄样物;病鸭逐渐消瘦,多经7~10 d死亡。部分发病公鸭阴茎肿胀发红、“脱鞭”不收,严重者局部溃烂。

3 剖检变化

取病死和濒死白鹮鸭共8只,剖开腹腔,有腥臭味,并可见腹腔有浑浊的渗出液,色暗红或深黄色,部分病死鸭卵黄破裂,腹腔内有卵黄物质,腹腔液粘稠;腹膜有灰白色渗出物粘连,有的肠道与脏器严重粘连,呈广泛腹膜炎现象。卵子变形或变性、萎缩;输卵管病变表现为水肿,内有脓性分泌物。此外,病鸭有严重的气囊炎、心包炎和肝周炎。

其他脏器未见明显异常。

4 实验室诊断

4.1 显微镜检查

以灭菌拭子刮取病鸭的输卵管内分泌物,涂片、染色,镜检,可见少量,散在,单个或成堆存在的两端钝圆革兰氏阴性短杆菌。

4.2 病原分离鉴定

4.2.1 病原分离 无菌取病变输卵管内脓样物、腹腔卵黄液分别接种于麦康凯琼脂平板和营养肉汤。37℃培养20 h后观察,麦康凯琼脂平板上的菌落全部为红色、圆形、边缘整齐、湿润的菌落,直径约为1~2.5 mm。营养肉汤呈均匀浑浊。经革兰氏染色观察,与上述特性一致。从麦康凯培养基上挑取红色菌落纯化培养后供生化试验,再挑取红色菌落接种于普通肉汤,经18 h培养后供动物接种试验。

4.2.2 生化反应 该分离菌接种于三糖铁斜面37℃培养24 h,斜面和底部变黄产气;分离菌可以发酵葡萄糖、乳糖、甘露醇、阿拉伯糖和山梨醇,均产酸产气;M.R试验阳性,V-P试验阴性。

4.3 致病性及药敏试验

取肉汤培养物经腹腔注射昆明小鼠4只,剂量为0.1 mL/只(约为 1.8×10^8 cfu/只),注射后24 h有3只小鼠精神不振、耸毛、缩头、不食,48 h后2只小鼠死亡,另外2只耐过。从死亡小鼠的肝脏分离到与来自病鸭的细菌特性一致的病原。对分离到的细菌以纸片法进行药物敏感试验,结果该分离菌株对环丙沙星、头孢唑啉、呋喃妥因、链霉素、庆大霉素、丁胺卡那霉素敏感,对四环素、土霉素、复方新诺明、阿莫西林等耐药。

(下转第32页)

肾康宁对鸡尿酸盐沉积症的治疗效果

晁利刚, 臧 猛

(河南新正好生物工程有限公司, 河南 郑州 450011)

摘要: 采用高蛋白饲料和高钙水喂养鸡, 人工诱发鸡尿酸盐沉积症。将试验鸡分为肾肿治疗药对照组、肾康宁治疗组、肾肿对照组和健康对照组。通过鸡的体重变化、采食饮水量变化、血液中尿酸盐含量和死亡率等指标, 考察肾康宁的治疗效果。结果表明, 肾康宁治疗组的死亡率高于健康对照组而低于其他组, 血液中尿酸盐含量也高于健康对照组而低于其他组。肾康宁对鸡尿酸盐沉积症有较好的治疗效果。

关键词: 肾康宁; 尿酸盐沉积症; 血清尿酸; 鸡

中图分类号: S858.31

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)04-0018-03

The treatment effect of Shenkangning on urate deposition in chickens

Chao Ligang, Zang Meng

(Henan XinZhengHao Bio-engineering Co., Ltd., Zheng Zhou 450011, China)

Abstract: Urate deposition in chickens was developed by feeding the chickens with high protein and high calcium feed. The chickens were divided into four groups, which were renal swollen medications control group, Shenkangning treatment group, renal swollen control group and healthy control group. The weight change, feed intake, water intake, blood urate level and the mortality were measured to study the treatment effect of Shenkangning. The results showed that the mortality rate in Shenkangning treatment group was taller than that in the healthy control group, but was lower than that in other groups. The blood uric acid salt content in the chickens of Shenkangning treatment group was taller than that in the healthy control group, but was lower than that in other groups. So Shenkangning was effective for the treatment of urate deposition in chickens.

Key words: Shenkangning; Urate deposition; Serum uric acid; chicken

鸡尿酸盐沉积症又称为鸡痛风病, 是由于鸡体内蛋白质代谢障碍和肾脏受损伤, 使其代谢产物尿酸或尿酸盐大量在体内蓄积^[1], 引起以高尿酸血症、肾脏肿大、关节肿大等症状为特征的疾病。鸡尿酸盐沉积症分为两种, 一种是内脏型, 另一种是关节型。内脏型尿酸盐沉积症病鸡的主要表现是精神萎靡, 食欲减退; 剖检多见内脏表面散布有尖屑状或絮状的白色尿酸盐结晶; 肾脏肿胀, 输尿管扩张, 管腔内充满尿酸盐结晶^[2]。关节型尿酸盐沉积症表现在运动器官上, 病鸡跛行, 不能站立; 腿和翅关节肿胀, 切开有白色的浓稠液体流出, 内含大量尿酸盐结晶, 关节面有坏死及溃疡^[2]。鸡尿酸盐沉积症的病因有多种: 所喂饲料中蛋白质含量过高, 尤其是富含核蛋白成分的动物性饲料, 例如动物性内脏、鱼粉、肉屑、蚕蛹等^[3]; 饲料中缺乏充足的

维生素 A 和维生素 D, 或饲料中矿物质含量配合不当, 含钙过多^[4]; 疾病因素如肾炎、肾型传染性支气管炎、传染性法氏囊病、雏鸡白痢等均可引起肾损伤, 继发痛风; 磺胺类药物用量过大, 或用药时间过长, 会损害肾脏和产生结晶沉淀, 引起痛风^[5]; 饲养密度大, 运动不足, 禽舍阴暗、潮湿, 饲料变质、盐分过高, 缺水, 育雏温度过高或过低, 均可诱发本病^[5]。

尿酸盐沉积会使鸡生产性能受阻, 且死亡率较高, 经济损失严重。为评价肾康宁的对该症治疗效果, 给临床上合理选用药物提供参考, 进行了本试验。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 实验动物及分组 8 日龄时分组, 每只鸡的体重在 80.0~81.9 g 之间, 体重最大相差 <

2.0 g。选出符合条件 AA 鸡 60 只,分为肾肿治疗药对照组、肾康宁治疗组、肾肿对照组和健康对照组共 4 组,每组 15 只。

1.1.2 饲料和饮水的配制 鱼粉(蛋白质含量 60%, 秘鲁生产),全价饲料(郑州市红门饲料有限公司);肾肿治疗药对照组、肾康宁治疗组和肾肿对照组饲喂总蛋白含量为 44.0%的混合饲料(在全价配合饲料的蛋白基础上,每 50 kg 全价料中加入 13.65 kg 鱼粉配成),并给予含 0.5%钙(以钙含量计算,即称取无水氯化钙 1.39 g 溶于 100 g 水中)的饮水;健康组饲喂全价饲料,饮水正常。

1.1.3 药品 肾康宁、肾肿治疗药(主要成分小苏打)、尿酸对照品(来源于北京中西远大科技有限公司)。

1.1.4 仪器 TU-180 紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),TL80-1 型离心沉淀机(江苏姜堰市天力医疗器械有限公司)。

1.1.5 试剂 钨酸钠(成都市科龙化工试剂厂,生产批号:20081121),无水碳酸钠(天津科密欧化学试剂公司,生产批号:20100923),乙二醇(天津市凯通化学试剂有限公司,生产批号:20081106)。

1.2 方法

1.2.1 人工发病 8 日龄时,肾肿治疗药对照组、肾康宁治疗组和肾肿对照组饲喂总蛋白含量为 44%的混合饲料,并给予含 0.5%钙的饮水,健康对照组饲喂全价饲料,饮水正常。

1.2.2 用药 到 14 日龄时,试验鸡开始出现死亡。在饲喂高蛋白饲料和饮含高钙的水的同时,肾肿治疗药对照组和肾康宁治疗组分别用肾肿治疗药和肾康宁进行治疗,肾肿对照组和健康对照组不用药。

1.2.3 采食量、饮水量的计算 记录 24 h 内鸡自由采食和饮水总量,并计算每只鸡每天的平均采食和饮水量。

1.2.4 体重变化的计算 根据试验前及试验结束时每只鸡的体重,计算鸡的增重率。

1.2.5 死亡率统计 统计 4 组试验鸡在人工发病试验(8-13 日龄)、药物治疗实验(14-19 日龄)的死亡率。

1.2.6 血液中尿酸盐含量的测定^[6] 每组鸡随机抽 5 只,在鸡翅下静脉采血,每只鸡采血 1 mL,放入 1 mL 含有 3.8%的草酸钠的液体中,混合均匀。

12 h 内测定尿酸盐。每组实验鸡血混为一样品。取血样品、尿酸对照品和空白对照(蒸馏水)各 0.5 mL 于离心管中,加钨酸试剂(钨酸钠:0.019 mol/L)4.5 mL,静止 6 min,4 000 r/min 离心 10 min。每离心管取上清液 2.5 mL 放入试管中,每管加 0.5 mL 的 1 mol/L 碳酸钠溶液,混匀后,放置 10 min。加入 0.5 mL 磷钨酸应用液(磷钨酸:1.74 μmol/L),混合后室温放置 20 min。用分光光度计在波长 600 nm 上测量吸光度,以空白对照调零。记录各管的吸光度(λ)。血清尿酸(μmol/L)=(测定管吸光度/标准管吸光度)×300×2。实验结果取平均值。

2 结果与分析

2.1 实验鸡平均增重率

实验鸡的平均增重率见表 1。由表 1 可知,健康对照组的实验前后增重率为 4.05%,明显高于其他组,说明饲喂含高蛋白的饲料和饮含高钙的水能明显抑制鸡的生长。肾肿治疗药对照组和肾康宁治疗组的增重率分别为 2.38%和 2.44%,均高于肾肿对照组的 2.32%,但它们之间差异不显著($P>0.05$)

表 1 实验鸡的平均增重率

组别	实验前 (8 日龄)(g)	试验后 (19 日龄)(g)	增重率(%)
肾肿治疗药对照组	81.0	193	2.38
肾康宁治疗组	81.5	199	2.44
肾肿对照组	81.1	188	2.32
健康对照组	81.2	328.5	4.05

2.2 试验鸡的死亡率

试验鸡的死亡率见表 2。由表 2 可以看出,给药前,肾肿治疗药对照组和肾康宁治疗组的死亡数都为 1 只,肾肿对照组死亡数则为 5 只,健康对照组无死亡。给药后,肾肿治疗药对照组和肾康宁治疗组的死亡数分别为 6 只和 3 只,肾肿对照组为 9 只。肾肿治疗药对照组和肾康宁治疗组的死亡率分别为 43%和 21%,与肾肿对照组的 90%相比,差异显著($P<0.05$)。

2.3 实验鸡的血尿酸盐含量

实验鸡的血尿酸盐测定结果见表 3。健康对照组的含量最低,为 445.41 mmol/mL;其次为肾康宁治疗组,含量为 494.05 mmol/mL。而肾肿治疗药对

照组的含量为 521.08 mmol/mL, 比肾康宁治疗组的高 27.03 mmol/mL, 比健康对照组高 75.67 mmol/mL; 肾肿对照组的含量为 677.84 mmol/mL, 是含量最高的一组。

表 2 实验鸡的死亡率

组别	数量(只)	给药前死亡数(只)	给药前剩余数(只)	给药后死亡数(只)	死亡率(%)
肾肿治疗药对照组	15	1	14	6	43
肾康宁治疗组	15	1	14	3	21
肾肿对照组	15	5	10	9	90
健康对照组	15	0	15	0	0

表 3 实验鸡的血尿酸盐含量测定结果

组别	吸光度(λ)	尿酸盐含量(mmol/mL)
尿酸对照	0.111	
肾肿治疗药对照组	0.0964	521.08
肾康宁治疗组	0.0914	494.05
肾肿对照组	0.1254	677.84
健康对照组	0.0824	445.41

2.4 试验鸡采食量、饮水量

试验鸡采食量、饮水量见表 4。从表 4 可知, 在鸡尿酸盐沉积症给药期间(14-19 日龄), 健康对照组的饮水量先减少后增加, 采食量也呈相同趋势; 肾肿对照组的饮水量、采食量变化没有规律; 肾肿治疗药对照组的饮水量先减小后增加, 采食量则逐渐减小; 肾康宁治疗组的饮水量和采食量基本上是逐渐减少的。总体来看, 两个给药组实验鸡每天的平均采食量、饮水量虽明显低于健康组, 但高于肾肿对照组。说明给药能增加鸡的采食量和饮水量。

2.5 人工发病鸡的病理变化

对肾肿对照组的死鸡解剖并观察肾脏变化, 其结果见图 1。肾脏表面无光泽、发干, 颜色暗淡,

表 4 试验鸡采食量、饮水量

(单位:g)

组别	项目	鸡尿酸盐沉积症给药期间采食饮水				
		第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
肾肿治疗药对照组	水	94	56.7	39.2	50.5	54.2
	料	22.5	22.2	13.2	12.2	11.9
肾康宁治疗组	水	92.5	46.9	41.9	41.4	30.2
	料	21.8	21.9	17.9	13.8	7.1
肾肿对照组	水	12.8	33.7	27.3	42.5	42
	料	5.1	17.3	4	7.5	5
健康对照组	水	98.8	52.1	68.3	81.9	89.4
	料	38.8	35.8	34.9	40.3	42.2

肾脏肿大, 块状结构分布不明显, 肾脏内部结构呈不规则的花纹状, 血液颜色变深。从健康组中解剖 1 只鸡, 观察其肾脏变化, 结果如图 2。肾脏表面光滑, 有光泽, 颜色鲜润, 块状结构分布明显, 血液颜色鲜红。



图 1 人工发病死鸡肾脏(花斑肾)



图 2 健康鸡肾脏

3 小结与讨论

3.1 肾康宁对由高蛋白饲料和高钙饮水诱发的鸡尿酸盐沉积症有较好的治疗效果, 且其治疗效果比肾肿治疗药更佳。

3.2 高蛋白饲料和高钙饮水能有效地诱发鸡尿酸盐沉积症, 这与相关报道相符^[7]。

3.3 血清中尿酸盐含量测定结果说明肾康宁对降低鸡血尿酸盐含量的作用要优于肾肿治疗药。

参考文献:

- [1] 李晓玉. 鸡痛风病病因探讨与综合防治[J]. 中国动物检疫, 2008, 25(7): 46-47.
- [2] 马冬梅, 陶国栋, 张焕春. 鸡痛风发生的生理生化机制及防控措施[J]. 中国畜牧兽医, 2008, 35(11): 128-129.
- [3] 方桂凤, 赵新育, 蒋桂良. 鸡痛风症病因分析及防治措施[J]. 中国家禽, 2008, 30(9): 49.
- [4] 田夫林, 周元军. 鸡病防治技术问答[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2006: 259-260.
- [5] 李霞. 鸡痛风病综合防治[J]. 新农业, 2009(9): 33-34.
- [6] 叶应妩, 王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 第二版. 南京: 东南大学出版社, 1997: 265-266.
- [7] 李荣誉, 张桂云, 张国祖. 肾康宁对高蛋白饲料诱发鸡尿酸盐沉积症的预防效果[J]. 中国兽医杂志, 2001, 37(10): 10-11.

广东地区5种优势血清型猪大肠杆菌的外膜蛋白型研究

张丹琳, 王文豪, 贺东生*

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

摘要: 对从广东地区部分猪场分离的大肠杆菌进行血清型鉴定后, 选取优势血清型 O₉、O₂₆、O₆₀、O₁₀₁ 和 O₁₀₇ 的 8 个致病性较强的分离株, 采用超声波裂解、N-十二烷基肌氨酸钠处理和超速离心技术提取大肠杆菌的外膜蛋白 (OMP), 利用 SDS-PAGE 电泳进行 OMP 分型。结果 8 个菌株共有 3 个 OMP 型 (I ~ III 型), 其中 O₂₆、O₁₀₁、O₁₀₇ 型的 3 个分离株的外膜蛋白型由 1 条带组成, 为 OMP-I 型; O₆₀、O₁₀₁、O₁₀₇ 型的 4 个分离株的外膜蛋白型由 2 条带组成, 为 OMP-II 型; O₉ 型的 1 个分离株的外膜蛋白型由 3 条带组成, 为 OMP-III 型。这表明, 优势血清型 O₉、O₂₆、O₆₀、O₁₀₁、O₁₀₇ 的分离株 OMP 型不单一; 同一血清型的分离株, 存在不同 OMP 型; 而不同血清型的分离株却可有相同的 OMP 型。

关键词: 猪; 大肠杆菌; O 血清型; 外膜蛋白; 分型

中图分类号: S852.65

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)04-0021-03

The outer membrane protein type of five dominant Escherichia coli serotypes in pigs in Guangdong area

Zhang Danlin, Wang Wenhao, He Dongsheng*

(Guangdong Key Laboratory of Zoonoses, Department of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: After the Escherichia coli strains were serotyped, it was found that five serotypes O₉, O₂₆, O₆₀, O₁₀₁ and O₁₀₇ were the dominant serotypes. The outer membrane protein of eight strains from these five serotypes were extracted by ultrasonic cracking, N-twelve alkyl sodium sarcosinate treatment and ultracentrifugation. The method of SDS-PAGE electrophoresis was used for OMP separation. The results showed that there were three types in 8 strains (type I to type III). The OMP number of three strains from O₂₆, O₁₀₁ and O₁₀₇ was one and it was named type I. The OMP number of four strains from O₆₀, O₁₀₁ and O₁₀₇ was two and it was named type II. The OMP number of one strain from O₉ were three and it was named type III. The results showed that the OMP types of serotypes O₉, O₂₆, O₆₀, O₁₀₁ and O₁₀₇ were different. The OMP types of the same serotype could be different and the OMP types of different serotypes may be the same.

Key words: Pig; Escherichia coli; Serotype O; The outer membrane protein; Subtyping

猪大肠杆菌是条件性致病菌, 大肠杆菌病一年四季均可发生, 且各年龄段的猪均可发病, 但对仔猪危害异常严重。大肠杆菌主要根据其 O 抗原分型, 目前已确定的 O 抗原有 173 种, 血清型 O₈、O₉、O₂₀、O₆₀、O₁₀₁、O₁₄₁、O₁₄₉、O₁₅₇ 等菌株多引起猪发病^[1]。外膜蛋白 (OMP) 是存在于细菌外膜的一组蛋白的总称。主要 OMPs 的亚单位在 SDS-PAGE 中的相对分子质量大约在 30 000~40 000 之间^[2]。此外, OMP 具有免疫原性和保护性, 在菌株的致病过程中亦

起着重要作用^[3]。

单一或继发性大肠杆菌病给畜牧业带来了较大的经济损失, 对该病的防治除加强饲养管理外, 主要采用药物治疗和疫苗预防。但由于猪大肠杆菌血清型众多, 血清型间交叉免疫保护力低下, 疫苗不能在很大的范围内推广应用, 给该病的预防工作带来很大的困难。而大肠杆菌的 OMP 具有良好的免疫原性, 且对不同菌株有交叉保护能力, 是一种良好的保护性抗原^[4], OMP 疫苗将会有较好的

发展前景。本文通过对 5 种优势血清型的 8 株致病性猪大肠杆菌 OMP 型进行比较分析研究, 为研制大肠杆菌 OMP 亚单位疫苗奠定基础。

1 材料与方法

1.1 菌株

华南农业大学兽医学院传染病教研室对从广东地区部分猪场分离的大肠杆菌进行血清型鉴定, 从中选取 O_9 、 O_{26} 、 O_{60} 、 O_{101} 和 O_{107} 等优势血清型的致病性较强的 8 个分离株。分别编号为: 1、2、3、4、5、6、7、8。其中 1、2 号菌株为 O_{101} 血清型; 3 号菌株为 O_{60} 血清型; 4、5、6 号菌株均为 O_{107} 血清型; 7 号菌株为 O_9 血清型; 8 号菌株为 O_{26} 血清型。

1.2 主要化学试剂和仪器

1.2.1 主要化学试剂 2% 的十二烷基肌氨酸 (Sarkosyl), 纯度 $\geq 95\%$, 分析纯; 十二烷基硫酸钠 (SDS); 过硫酸铵; 四甲基乙二胺 (TEMED) 为 Sigma 公司产品。10 mmol/L 的 HEPES (N-2-羟乙基哌嗪-N'-2-乙磺酸), pH 7.4, 纯度 $\geq 99\%$, 分析纯; 丙烯酰胺; 甲叉丙烯酰胺为 Amresco 公司产品。考马斯亮蓝 R-250、Tris、溴酚蓝、甘油、 β -巯基乙醇等其他试剂均为国产试剂。低分子量标准蛋白 Marker 购于 Bio-Rad 公司。

1.2.2 主要仪器 超声波细胞粉碎仪 (FS300), 购于上海生析超声仪器有限公司。高速冷冻离心机 (6K15), 购于 Sigma 公司。超速离心机, 型号为 BECKMAN-L8-M, 贝克曼产品。气浴恒温振荡器 (摇床), SHZ-82 型, 江苏金坛中大仪器厂。稳压稳流电泳仪、电泳槽, 购于 Bio-Rad 公司。

1.3 方法

1.3.1 OMP 的提取 主要参照高崧等^[5]的方法进行。将菌株接种于普通营养琼脂平板上, 37 °C 培养 18~24 h; 挑取单个菌落接种于 6 mL 营养肉汤中, 于 37 °C 摇床振荡培养 18 h; 培养物于 4 °C、6 000 r/min 离心 10 min; 将沉淀悬浮于 5 mL HEPES (10 mmol/L, pH 7.4) 中, 78W 超声裂解 10 min; 裂解物 4 °C、6 000 r/min 离心 10 min, 弃去上清液; 加入约 5 倍体积的 2% N-十二烷基肌氨酸钠室温作用 30 min, 分装于 30 mL 超速离心管中, 4 °C、40 000 r/min 离心 1h; 将沉淀悬浮于 1 mL HEPES (10 mmol/L, pH 7.4) 中, 置 -20 °C 保存, 备用。

1.3.2 电泳检测

1.3.2.1 SDS-PAGE 制胶, 浓缩胶为 5%, 分离胶

为 10%。将步骤 1.3.1 中所得的 OMP 样品各取 15 μ L, 与等体积的 2 \times 样品缓冲液混合。样品缓冲液为含 4% SDS, 20% 甘油, 5% β -巯基乙醇, 0.002% 溴酚蓝和 0.1 mol/L Tris-HCl (pH 6.8) 缓冲液。100 °C 水浴加热 5 min, 取出冷却至室温。分别将标准蛋白 Marker 和上述已处理过的待测 OMP 样品加入至垂直电泳槽的样品孔中。电泳参数为: 在浓缩胶中用 100V, 在分离胶中用 120V。当溴酚兰指示剂迁移至凝胶下缘后停止电泳。

1.3.2.2 染胶 凝胶剥离后, 用染色液 (0.25% 考马斯亮蓝 R-250、10% 冰醋酸、50% 甲醇) 大约染色 5 h 后, 倒去染色液, 蒸馏水漂洗, 然后加入脱色液 (5% 甲醇、7% 冰醋酸) 在摇床上缓慢振荡脱色, 振荡过程中更换 3 次脱色液。待蛋白条带清晰、背景干净透明时, 拍照保存结果。

2 结果

5 种优势血清型 O_9 、 O_{26} 、 O_{60} 、 O_{101} 、 O_{107} 的致病性较强的 8 个猪大肠杆菌分离株 OMP 的 SDS-PAGE 电泳结果, 见图 1。

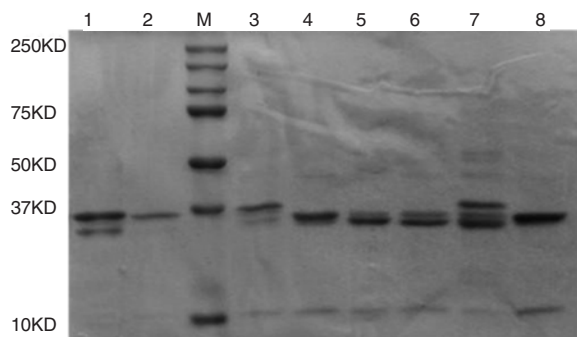


图 1 5 种血清型的 8 株猪大肠杆菌分离株 OMP 的 SDS-PAGE 电泳结果

M: 低分子量标准蛋白; 1: 1 号菌株 O_{101} ; 2: 2 号菌株 O_{101} ; 3: 3 号菌株 O_{60} ; 4: 4 号菌株 O_{107} ; 5: 5 号菌株 O_{107} ; 6: 6 号菌株 O_{107} ; 7: 7 号菌株 O_9 ; 8: 8 号菌株 O_{26} 。

分离的 8 株猪大肠杆菌的 OMP 经 SDS-PAGE, 考马斯亮蓝染色后, 主要蛋白带位于 31~40 kD 之间, 并且集中在 37 kD 上下, 这与报道的畜禽大肠杆菌主要 OMP 分子质量相符, 说明该实验成功提取了大肠杆菌 OMP。目前, OMP 的分型尚无统一标准, 研究者通常以 31~43 kD 间的蛋白条带多少来确定。

由图 1 可见, 各菌株位于 31~40 kD 之间的主要 OMP, 呈现 1~3 条条带。据此, 我们可将菌株

分为 3 个 OMP 型:31~40 kD 之间, 呈现 1 条带, 为 OMP-I 型; 呈现 2 条带, 为 OMP-II 型; 呈现 3 条带, 为 OMP-III 型。

2、4、8 号分离株主要 OMP 由分子量接近的 1 条带组成, 为 OMP-I 型; 1、3、5、6 号分离株主要 OMP 由分子量接近的 2 条带组成, 为 OMP-II 型; 7 号分离株主要 OMP 由分子量接近的 3 条带组成, 为 OMP-III 型。

3 讨论与分析

3.1 本试验主要借鉴了高崧等^[5]报道的禽源性大肠杆菌 OMPs 的快速提取方法, 对猪致病性大肠杆菌的 OMPs 进行初步提取。该方法能较快提取 OMP, 且效果较好。本试验针对广东地区猪大肠杆菌优势血清型 O₉、O₂₆、O₆₀、O₁₀₁、O₁₀₇ 菌株的 OMP 做了初步提取, 以期 OMP 亚单位疫苗研制的进一步研究提供基础性材料。

3.2 在 SDS-PAGE 电泳检测中, 要分别注意浓缩胶和分离胶中缓冲液的 pH 值, 不可将两者弄错。在整个电泳过程中, 也需注意电泳缓冲液的多少, 槽中电泳缓冲液量少也会影响分离效果。再者还应注意上样量的大小以及各种试剂是否需要现配现用。

3.3 通常采用多位点酶电泳法和 OMP 型测定法来衡量大肠杆菌的遗传相关性, 目前国内研究常采用后者。OMP 型测定法是通过测定主要 OMP 及其差异, 确定 OMP 型。每一 OMP 型也称 1 个克隆^[6]。OMP 型的划分尚无统一的标准, 有研究者以 OMP 在 SDS-PAGE 中出现的先后顺序来确定大肠杆菌 OMP 型, 笔者是以 OMP 出现的蛋白条带多少来分型。

由本试验结果可以看出, 5 个血清型的 8 个菌株共出现了 3 个 OMP 型。其中, 血清型 O₂₆、O₁₀₁、

O₁₀₇ 的分离株有相同的 OMP 型, 而同属血清型 O₁₀₁ 或 O₁₀₇ 的分离株亦有不同的 OMP 型。表明同一血清型的分离株可能属于完全不同的 OMP 型, 而血清学上毫不相关的分离株之间却具有相同的 OMP 型。其他研究者高崧等^[2]、鱼艳荣等^[6]、丁伯良等^[3]都对禽源性大肠杆菌的 OMP 做过研究, 也得出类似结论。

3.4 近年来, 控制猪大肠杆菌病多采用菌苗免疫。现行大肠杆菌灭活苗主要是 O 血清型多价苗, 但是多价苗在保护力与抗原含量上难以两全, 单价苗又仅对同型菌有保护力^[6], 因此 O 血清型菌苗免疫效果不甚理想, 以 OMP 型为基础选择优势免疫保护抗原研发亚单位疫苗, 将会有广阔的应用前景。国内对禽源、兔源大肠杆菌的 OMP 研究较多, 而对家畜大肠杆菌的 OMP 及其分型研究报道较少。本试验对广东地区 5 个优势血清型的 8 株猪大肠杆菌 OMP 型进行研究, 以期 OMP 亚单位疫苗奠定基础。

参考文献:

- [1] 陈溥言. 兽医传染病学[M]. 第 5 版. 北京: 中国农业出版社, 2006: 112-113.
 - [2] 高崧, 刘秀梵, 张如宽. 禽源性大肠杆菌 O2.078 分离株外膜蛋白型的研究[J]. 中国兽医学报, 1996, 16(3): 239-243.
 - [3] 丁伯良, 鄢明华, 王英珍, 等. 天津地区鸡致病性大肠杆菌血清型分布及其优势血清型的外膜蛋白型研究[J]. 动物医学进展, 2003, 24(2): 94-96.
 - [4] 高崧, 刘秀梵, 张如宽, 等. 我国部分地区禽源性大肠杆菌的外膜蛋白型[J]. 微生物学报, 1999, 39(3): 226-233.
 - [5] 高崧, 刘秀梵, 张如宽. 一种快速提取禽源性大肠埃希氏菌外膜蛋白的方法[J]. 微生物学通报, 1996, 23(2): 122-124.
 - [6] 鱼艳荣, 张彦明, 王晶钰. 陕西省部分禽源性大肠杆菌的外膜蛋白型[J]. 中国兽医学报, 2002, 22(5): 460-462.
-
- (上接第 16 页)
- 参考文献:**
- [1] Shimada T. Expanded serotyping scheme for *Vibrio cholerae*[J]. *Curr Microbiol*, 1994, 281: 175.
 - [2] 何小芹, 王国礼. 非 O₁ 群霍乱弧菌感染调查[J]. 上海医学检验杂志, 1999, 14(5): 274.
 - [3] Waldor M K, Mekalanos J J. LySogenic conversion by a filamentous phage encoding cholera toxin. *Science* [J]. 1996, 272(11): 910-914.
 - [4] 徐景野, 许国章. 非 O₁ 非 O₁₃₉ 群霍乱弧菌病原学研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2003: 13(5): 535.
 - [5] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1239-2003, 国境口岸霍乱检验规程[S].
 - [6] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1022-2010, 进出口食品中霍乱弧菌检验方法[S].
 - [7] 中华人民共和国卫生部. WS/T 125-1999, 纸片法抗菌药物敏感试验标准[S].
 - [8] 王秀茹. 预防医学微生物学及检验技术[M]. 第一版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 348.
 - [9] 李毅, 马雪莲, 章乐怡, 等. 郑文力食品中检出致病性弧菌的耐药性分析[J]. 现代预防医学, 2012: 39(3): 582.

“增乳健牛散”对小鼠的亚急性毒性试验

史秋梅¹, 高光平¹, 高桂生¹, 张艳英¹, 邵新华², 梁银聚²

(1. 河北省预防兽医学重点实验室 河北科技师范学院动物科技学院, 河北 昌黎 066600;

2. 河北新华科级兽药有限公司, 河北 栾城 051430)

摘要: 为了测定增乳健牛散(生乳散)的亚急性毒性反应, 取昆明小鼠为试验动物, 随机分组, 以临床应用剂量的2、4、8倍饲喂给药, 确定增乳健牛散(生乳散)在28 d内对小鼠的亚急性毒性反应。结果表明, 各试验组小鼠全部健活, 体征、体重、外观、行为、采食量及饲料利用率、脏器系数、血液生理生化指标、脏器结构均无异常。增乳健牛散(生乳散)对受试动物未见明显的亚急性毒性反应。

关键词: 增乳健牛散; 亚急性毒性; 小鼠

中图分类号: S853.7

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)04-0024-03

Sub-acute toxicity test of Zengrujianniu San in mice

Shi Qiumei¹, Gao Guangping¹, Gao Guisheng¹, Shao Xinhua², Zhang Yanying¹, Liang Yinju²

(1. Key Laboratory of Preventive Veterinary Medicine, Institute of Animal Science, Hebei Normal University of science and technology, Changli 066600, China; 2. Hebei Xin Hua Ke Ji Animal Medicine Co. Ltd, Luancheng 051430, China)

Abstract: Kunming mice were used to study the sub-acute toxicity of Chinese medicine powder Zengrujianniu San (Shengru San). The mice were grouped randomly and 2, 4 and 8 times doses were fed to them separately to study the sub-acute toxicity of Shengru San in 28 days. The results showed that all the mice lived well. The physical signs, body weight, appearance, behavior, food intake, feed efficiency, organ coefficient, the physiological and biochemical indexes of blood and organ structures all were normal. No obvious sub-acute toxicity was seen in tested animals.

Key words: Zengrujianniu San; Sub-acute toxicity; Mice

河北省规模化奶牛场规模较大, 设施较为先进。对场内发生的显性乳房炎曾采用不同方法治疗, 但因一些耐药菌株的出现, 未能达到令人满意的效果。由于缺乏奶牛隐性乳房炎以及优势致病菌种类的资料, 给防控带来了困难。我们在奶牛隐性乳房炎流行病学调查基础上, 进行了乳房炎病原菌的分离鉴定并进行了20种中药对奶牛隐性乳房炎主要病原菌体外敏感性实验, 根据实验结果进行中药组方, 研制出纯中药增乳健牛散。中药增乳健牛散(生乳散)由蒲公英、野菊花、鱼腥草、金银花、黄芪等组成。具有清热解毒、消肿散痛的功效。为了验证临床用药的安全性, 参照兽药试验技术规范^[1], 本文针对该药的亚急性毒性进行了实验研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验设备 TU-1901系列紫外/可见分光光度计。

1.1.2 药物与试剂 “增乳健牛散”(生乳散)方剂3, 谷丙转氨酶、谷草转氨酶等测定试剂盒均购于南京建成生物工程研究所。

1.1.3 实验动物 56只昆明系小鼠, 雌雄各半, 体重20±2 g。

1.2 实验方法

依据《兽药实验技术规范汇编》新兽药一般毒性试验技术要求, 并根据毒理学评价标准及相关参考文献^[2-3]设置高、中、低3个剂量以及1个阴

性对照组。“增乳健牛散”开水冲泡 20 min, 过滤, 低温浓缩成 4 g/mL 的中药液。56 只小鼠随机分成 4 组, 每组 14 只。1、2、3 组分别为中药液的高、中、低剂量组, 以临床应用剂量的 8、4、2 倍饲喂给药, 每组灌胃体积均为 0.3 mL, 4 组为对照组, 灌生理盐水 0.3 mL。

各组连续灌胃 14 d, 每天 1 次, 停药后再持续观察 14 d。

1.3 观察指标

1.3.1 临床观察 每天观察小鼠的一般状况, 每周测定体重变化情况。

1.3.2 血常规检查 参照文献^[4-5]进行, 于停药后 1 d 和 14 d, 各组随机抽取 7 只, 剪断眼球采血, 3.8%柠檬酸钠抗凝, 立即测定红细胞数、白细胞数、血小板数和血红蛋白含量。

1.3.2.1 红细胞目视计数 取中号试管 1 支, 加红细胞稀释液 2.0 mL, 用微量吸管取抗凝血 10 μ L 加至红细胞稀释液底部, 再轻吸上层清液清洗吸管 2 次, 立即混匀, 用微量吸管将红细胞悬液充入计数池, 充池后静置 2~3 min 后计数。

1.3.2.2 白细胞目视计数 取小试管 1 支, 加白细胞稀释液 0.38 mL, 用微量吸管准确吸取抗凝血 20 μ L, 将吸管插入小试管中稀释液的底部, 轻轻将血放出, 并吸取上清液清洗吸管 2 次, 混匀。待红细胞完全破坏, 液体变为棕褐色后, 再次混匀后充池, 静置 2~3 min, 待白细胞下沉后计数。

1.3.2.3 血小板目视计数 取 1 支小试管加入 1%草酸铵稀释液 0.38 mL, 准确吸抗凝血 20 μ L, 置于血小板稀释液内, 吸取上清液洗 2 次, 立即充分混匀, 待完全溶血后再次混匀 1 min。取上述均匀的血小板悬液 1 滴, 充入计数池内, 静置 10~15 min, 使血小板下沉。用高倍镜计数血小板数。

1.3.2.4 血红蛋白的测定 将 0.1 mol/L 盐酸加入测定管中至刻度“2”处, 用微量吸管准确吸取抗

凝血 20 μ L, 将血液立即吹入测定管的 0.1 mol/L 盐酸中, 再放置 10 min。以蒸馏水逐滴加入测定管中, 每次加蒸馏水后都要摇匀, 比色, 直至与标准比色板相同时为止。取出测定管, 读出其液体表面的刻度。

1.3.3 血清生化指标测定 参照文献^[6-8]进行, 于停药后 1 d 和 14 d, 每组随机取 7 只, 剪断眼球采血, 分离血清, 测定谷丙转氨酶、谷草转氨酶、碱性磷酸酶、黄嘌呤氧化酶、总胆红素含量。

1.3.4 脏器系数 于停药后 1 d 每组随机抽取 7 只, 停药后 14 d 对剩余所有小鼠剖检, 眼观脏器组织病变情况。取胸腺、肝脏、脾脏、肺脏及双肾称重, 计算脏器系数 (脏器重量 g/体重 g)。

1.3.5 组织学检查 参照文献^[9-10]进行, 对照组和高剂量组的实验动物及表现异常的实验动物详细检查, 捕杀后剖检, 进行肉眼病理学观察和组织学检查, 观察各脏器颜色、形状、大小等。取心脏、肝脏、脾脏、肾脏等脏器以波恩氏液固定, 石蜡包埋制作切片, 镜检。其它剂量组的实验动物在高剂量组检查有异常时才做检查。

1.4 数据处理

各项测定结果数据均以平均值 \pm 标准差表示, 各种数据间差异显著性比较采用 DPS V3.01 专业版软件进行统计学检验和方差分析。

2 结果与分析

2.1 临床表现

各组小鼠在灌胃给药后, 临床观察无异常表现。各试验组在给药 7 d、14 d 和停药后 7 d、14 d 时的体重增加幅度与对照组相比无显著差异 ($p > 0.05$)。结果见表 1。

2.2 血常规变化

试验组小鼠的红细胞总数、白细胞总数、血红蛋白含量、血小板数在停药后 1 d 及停药后 14 d 与对照组相比无显著差异 ($p > 0.05$)。结果见表 2。

表 1 各组灌药前后的平均体重

组别	中药液量(mL/只)	单位:g				
		给药 0d	给药 7d	给药 14d	停药后 7d	停药后 14d
高剂量组	0.3	20.16 \pm 1.74 ^a	21.02 \pm 1.30 ^a	22.23 \pm 1.16 ^a	22.86 \pm 1.53 ^a	23.20 \pm 2.04 ^a
中剂量组	0.2	21.21 \pm 0.85 ^a	22.28 \pm 1.34 ^a	22.35 \pm 1.46 ^a	22.75 \pm 1.29 ^a	22.84 \pm 2.28 ^a
低剂量组	0.1	20.43 \pm 1.65 ^a	21.26 \pm 1.01 ^a	21.91 \pm 1.58 ^a	22.29 \pm 2.07 ^a	23.31 \pm 1.36 ^a
对照组	生理盐水	20.97 \pm 1.28 ^a	21.40 \pm 0.78 ^a	22.34 \pm 1.67 ^a	22.54 \pm 1.82 ^a	22.61 \pm 1.91 ^a

注: 同列数据右上标相同字母者差异不显著 ($p > 0.05$); 同列数据右上标不同字母者差异显著 ($p < 0.05$)。下表同。

2.3 血清生化值变化

3个试验组小鼠的血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶、碱性磷酸酶、黄嘌呤氧化酶、总胆红素含量在停药后1d及停药后14d与对照组相比无显著差异($p>0.05$)。见表3。

2.4 脏器系数变化

在停药后1d和14d,剖检各组小鼠,其心、

肝、脾、肺、肾、胃和肠的形态、颜色、质地均正常。3个试验组小鼠的脏器系数在停药后1d及停药后14d与对照组相比无显著差异($p>0.05$)。见表4。

3 结论

3.1 对小鼠体重的影响

(下转第50页)

表2 各组血常规的变化

项目	组别	红细胞总数($\times 10^{12}/L$)	白细胞总数($\times 10^9/L$)	血小板数($\times 10^9/L$)	血红蛋白含量(g/L)
停药后第1d	高剂量组	10.12 \pm 1.59 ^a	7.01 \pm 0.93 ^a	140.25 \pm 32.45 ^a	149.88 \pm 16.60 ^a
	中剂量组	11.95 \pm 2.58 ^a	6.64 \pm 1.23 ^a	138.81 \pm 29.37 ^a	152.39 \pm 20.34 ^a
	低剂量组	10.61 \pm 3.05 ^a	6.59 \pm 1.49 ^a	136.55 \pm 30.43 ^a	146.09 \pm 19.75 ^a
	对照组	10.89 \pm 2.53 ^a	6.28 \pm 0.82 ^a	133.64 \pm 43.25 ^a	156.09 \pm 14.81 ^a
停药后第14d	高剂量组	11.58 \pm 2.95 ^a	7.16 \pm 0.78 ^a	138.64 \pm 33.38 ^a	161.21 \pm 22.35 ^a
	中剂量组	10.82 \pm 3.16 ^a	8.02 \pm 1.35 ^a	142.81 \pm 35.93 ^a	159.40 \pm 26.31 ^a
	低剂量组	9.65 \pm 4.52 ^a	7.01 \pm 2.00 ^a	150.04 \pm 40.15 ^a	148.44 \pm 21.54 ^a
	对照组	11.55 \pm 3.24 ^a	6.98 \pm 1.24 ^a	144.51 \pm 37.54 ^a	158.35 \pm 25.44 ^a

注:同列数据右上标相同字母者差异不显著($p>0.05$);同列数据右上标不同字母者差异显著($p<0.05$)。

表3 各组血清生化值的变化

项目	组别	谷丙转氨酶 ALT(U/L)	谷草转氨酶 AST(U/L)	碱性磷酸酶 ALP(U/L)	黄嘌呤氧化酶 XOD($\mu L/mL$)	总胆红素 TB($\mu mol/L$)
停药后第1d	高剂量组	22.10 \pm 6.41 ^a	154.37 \pm 34.69 ^a	117.42 \pm 28.83 ^a	4.14 \pm 0.75 ^a	2.85 \pm 0.19 ^a
	中剂量组	20.28 \pm 5.67 ^a	147.66 \pm 35.44 ^a	108.77 \pm 31.09 ^a	3.88 \pm 0.69 ^a	3.06 \pm 0.34 ^a
	低剂量组	21.85 \pm 4.59 ^a	169.83 \pm 40.62 ^a	113.52 \pm 24.41 ^a	4.23 \pm 0.81 ^a	3.11 \pm 0.25 ^a
	对照组	22.54 \pm 7.25 ^a	169.11 \pm 35.96 ^a	104.26 \pm 30.15 ^a	3.97 \pm 0.57 ^a	3.14 \pm 0.24 ^a
停药后第14d	高剂量组	22.10 \pm 6.41 ^a	150.71 \pm 36.88 ^a	112.22 \pm 25.54 ^a	3.95 \pm 0.76 ^a	2.97 \pm 0.28 ^a
	中剂量组	21.84 \pm 5.84 ^a	159.69 \pm 29.77 ^a	106.61 \pm 24.90 ^a	4.03 \pm 0.55 ^a	2.89 \pm 0.19 ^a
	低剂量组	20.45 \pm 7.29 ^a	156.60 \pm 31.44 ^a	110.21 \pm 22.85 ^a	4.16 \pm 0.92 ^a	3.17 \pm 0.30 ^a
	对照组	23.04 \pm 6.45 ^a	165.58 \pm 39.35 ^a	109.72 \pm 28.52 ^a	4.00 \pm 0.49 ^a	3.03 \pm 0.24 ^a

注:同列数据右上标相同字母者差异不显著($p>0.05$);同列数据右上标不同字母者差异显著($p<0.05$)。

表4 各组脏器系数的变化

项目	组别	单位:%				
		胸腺/体重	肝脏/体重	脾脏/体重	肺脏/体重	肾脏/体重
停药后第1d	高剂量组	0.55 \pm 0.07 ^a	6.05 \pm 0.7 ^a	0.48 \pm 0.06 ^a	0.74 \pm 0.13 ^a	0.75 \pm 0.12 ^a
	中剂量组	0.53 \pm 0.14 ^a	6.14 \pm 0.63 ^a	0.46 \pm 0.03 ^a	0.72 \pm 0.14 ^a	0.82 \pm 0.10 ^a
	低剂量组	0.46 \pm 0.11 ^a	6.37 \pm 0.88 ^a	0.50 \pm 0.04 ^a	0.69 \pm 0.08 ^a	0.77 \pm 0.11 ^a
	对照组	0.48 \pm 0.09 ^a	6.34 \pm 0.93 ^a	0.46 \pm 0.04 ^a	0.71 \pm 0.17 ^a	0.74 \pm 0.12 ^a
停药后第14d	高剂量组	0.50 \pm 0.07 ^a	6.11 \pm 1.02 ^a	0.44 \pm 0.05 ^a	0.76 \pm 0.22 ^a	0.69 \pm 0.08 ^a
	中剂量组	0.56 \pm 0.10 ^a	5.93 \pm 0.80 ^a	0.47 \pm 0.06 ^a	0.68 \pm 0.15 ^a	0.72 \pm 0.09 ^a
	低剂量组	0.49 \pm 0.08 ^a	6.22 \pm 0.77 ^a	0.45 \pm 0.06 ^a	0.74 \pm 0.14 ^a	0.73 \pm 0.11 ^a
	对照组	0.54 \pm 0.12 ^a	5.88 \pm 0.61 ^a	0.48 \pm 0.05 ^a	0.69 \pm 0.12 ^a	0.70 \pm 0.13 ^a

注:同列数据右上标相同字母者差异不显著($p>0.05$);同列数据右上标不同字母者差异显著($p<0.05$)。

猪口蹄疫 O 型合成肽疫苗诱导的免疫抗体的监测

李儒曙¹, 伍时达¹, 冷和平², 赵庆文¹, 游淼¹, 张健骝³

(1. 珠海市动植物防疫监督检验中心, 广东 珠海 519000; 2. 珠海经济特区农牧开发总公司, 广东 珠海 519000; 3. 广东省农业科学院兽医研究所, 广东 广州 510640)

摘要: 设 3 组猪群, 首免和二免分别注射生理盐水 1 mL、猪口蹄疫 O 型合成肽疫苗 1 mL (说明书推荐免疫剂量) 及猪口蹄疫 O 型合成肽疫苗 3 mL (说明书推荐免疫剂量 3 倍量), 二免 28 天后检测猪群的口蹄疫抗体, 结果显示 3 组猪群的抗体合格率分别为 33%、78% 和 100%, 疫苗诱导的抗体水平达到农业部规定的动物强制免疫标准。

关键词: 猪口蹄疫 O 型合成肽疫苗; 抗体; 监测

中图分类号: S855.3

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)04-0027-03

Surveillance on the immune antibodies against synthetic peptide vaccine for O type FMDV

Li Rushu¹, Wu Shida¹, Leng Heping², Zhao Qingwen¹, You Miao¹, Zhang Jianfei³

(1. Zhuhai Epidemic Prevention and Supervision Center for Animals and Plants, Zhuhai 519000, China; 2. Zhuhai Development Corporation of Agriculture and Animal, Zhuhai 519000, China; 3. Institute of Veterinary Medicine, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)

Abstract: All the pigs were divided into three groups. One milliliter of physiological saline, one milliliter of synthetic peptide vaccine or three milliliters of synthetic peptide vaccine were injected to the pigs in each group separately for two times. The immune antibodies against FMDV were detected at 28 days later from the second immunization. The results showed that the antibody passing rates were 33%, 78% or 100% separately. The antibody level induced by vaccines reached the compulsive immunity standard set by the Ministry of Agriculture.

Key words: Synthetic peptide vaccine for O type FMDV; Antibody; Surveillance

当前国内口蹄疫防控的形势严峻。在对珠海地区猪 O 型口蹄疫免疫抗体监测过程中, 发现部分规模化猪场和散养户存在猪 O 型口蹄疫免疫抗体持续低下的现象。为了查找原因, 从而探寻本地区防控猪口蹄疫的有效方法, 并为政府招标采购猪 O 型口蹄疫疫苗提供参考依据, 我们已经对不同来源的猪口蹄疫 O 型灭活疫苗的做了临床对比试验和效果评估^[1], 在灭活疫苗评价不理想的同时, 继而对当前已广泛使用的猪口蹄疫 O 型合成肽疫苗进行了严格的临床试验和免疫抗体水平的监测。

1 材料和方法

1.1 试验猪场

金津猪场, 年出栏 2 万头, 占地面积 1100 余亩, 该猪场地理环境优越, 技术力量雄厚, 防疫条件良好。

1.2 试验材料

1.2.1 试验猪 同一批次 63 日龄小猪 200 头。

1.2.2 试验用疫苗 政府采购的某厂家猪口蹄疫 O 型合成肽疫苗, 生产批号: 20110102。

1.2.3 检测试剂 猪口蹄疫病毒 VP1 结构蛋白抗体酶联免疫吸附试验诊断试剂, 为上海优耐特生物医药有限公司产品, 批号: 201012004。

1.3 试验方法和程序

1.3.1 试验猪挑选和试验前抗体检测 挑选同一批次的身体健康、精神正常的 63 日龄小猪 200 头, 逐头编号, 前腔静脉采血 5 mL, 进行猪 O 型口蹄疫合成肽疫苗抗体检测。

1.3.2 试验分组和首次免疫 根据抗体检测结果, 从 200 头小猪中挑选抗体检测值最接近平均值的小猪 99 头, 并根据抗体检测均值平均分成 3

组(每组抗体均值相同),每组 33 头,相应分为对照组、I 组的 II 组。颈部肌注,对照组每头注射生理盐水 1 mL,I 组每头注射合成肽苗 1 mL(说明书推荐免疫剂量),II 组每头注射合成肽苗 3 mL(说明书推荐免疫剂量 3 倍量)。

1.3.3 二次免疫 首次免疫 28 d 后,对照组每头注射生理盐水 1 mL,I 组每头注射合成肽苗 1 mL(说明书推荐免疫剂量),II 组每头注射合成肽苗 3 mL(说明书推荐免疫剂量 3 倍量)。

1.3.4 二免后检测抗体 二次免疫 28 d 后,逐

头前腔静脉采血 5 mL,分离血清,做好标记,进行抗体检测。

2 结果

试验前后对照组和各试验组免疫抗体检测结果见表 1。未作疫苗免疫或注射生理盐水前,对照组及各试验组抗体合格率均为 87.88%,此抗体为母源抗体。经两次相应疫苗免疫或两次注射生理盐水处理 28 d 后检测,对照组免疫抗体合格率为 33.33%(10/33),I 组和 II 组免疫抗体合格率依次为 78.13%(25/32),100%(29/29)。

表 1 猪 O 型口蹄疫合成肽疫苗诱导的免疫抗体检测结果¹⁾

序号	对照组				I 组				II 组						
	耳号	始值		终值		耳号	始值		终值		耳号	始值		终值	
		OD 值	+/-	OD 值	+/-		OD 值	+/-	OD 值	+/-		OD 值	+/-	OD 值	+/-
1	25	0.192	-	0.732	+	40	0.127	-	2.234	+	87	0.150	-	2.258	+
2	33	0.197	-	0.688	+	84	0.199	-	2.251	+	53	0.194	-	2.301	+
3	42	0.205	-	0.232	-	80	0.206	-	2.299	+	67	0.227	-		
4	95	0.242	-	0.104	-	100	0.231	-	2.295	+	48	0.242	-	2.097	+
5	4	0.255	+	0.196	-	30	0.256	+	2.236	+	24	0.246	-	2.241	+
6	68	0.267	+	0.124	-	41	0.269	+	2.155	+	58	0.272	+	2.254	+
7	96	0.304	+	0.109	-	70	0.272	+	2.096	+	72	0.272	+		
8	66	0.318	+	0.096	-	54	0.333	+	0.144	-	88	0.312	+	2.153	+
9	99	0.335	+			29	0.340	+	2.302	+	50	0.344	+	2.232	+
10	26	0.367	+	0.179	-	76	0.357	+	2.290	+	74	0.359	+	2.230	+
11	12	0.375	+	0.114	-	34	0.380	+	2.231	+	21	0.372	+	2.104	+
12	38	0.384	+	0.102	-	46	0.387	+	2.114	+	55	0.401	+	2.298	+
13	23	0.424	+	0.587	+	37	0.416	+	2.304	+	73	0.417	+	2.109	+
14	98	0.424	+			19	0.429	+	0.142	-	94	0.424	+	2.106	+
15	78	0.444	+	2.250	+	13	0.445	+	0.182	-	36	0.472	+	2.242	+
16	82	0.488	+	2.264	+	69	0.473	+	2.105	+	59	0.488	+	2.153	+
17	77	0.496	+	2.220	+	1	0.516	+	0.130	-	5	0.494	+		
18	9	0.526	+	2.254	+	16	0.526	+	0.177	-	22	0.534	+		
19	28	0.578	+	2.226	+	86	0.542	+	2.174	+	43	0.563	+	2.161	+
20	14	0.585	+			60	0.594	+	0.175	-	83	0.578	+	0.195	-
21	92	0.600	+	2.102	+	31	0.607	+	0.197	-	7	0.611	+	2.162	+
22	63	0.689	+	0.451	+	75	0.617	+	2.216	+	8	0.648	+	2.224	+
23	35	0.720	+	0.156	-	45	0.722	+	2.105	+	18	0.712	+	2.100	+
24	6	0.738	+	0.152	-	10	0.748	+			57	0.750	+	2.252	+
25	79	0.860	+	0.132	-	39	0.775	+	2.244	+	51	0.797	+	2.240	+
26	85	0.890	+	0.140	-	71	0.907	+	2.244	+	89	0.860	+	2.098	+
27	81	0.908	+	0.272	-	61	0.949	+	2.256	+	47	0.967	+	2.102	+
28	93	1.025	+	0.126	-	11	0.998	+	2.154	+	62	1.023	+	2.162	+
29	64	1.095	+	0.169	-	91	1.150	+	2.245	+	32	1.049	+	2.261	+
30	52	1.169	+	2.227	+	65	1.172	+	2.123	+	20	1.227	+	2.092	+
31	44	1.311	+	0.137	-	49	1.237	+	2.235	+	17	1.305	+	2.104	+
32	27	1.612	+	0.253	-	97	1.626	+	2.225	+	2	1.580	+	2.251	+
33	15	1.805	+	0.201	-	3	2.045	+	2.228	+	90	2.213	+	2.105	+
均值		0.631		0.700			0.632		1.766			0.639		2.113	
合格率(%)		87.88		33.33			87.88		78.13			84.85		100.00	

1): 对照组和各试验组 1~16 号样本始值 OD 值 ≥ 0.2094 为阳性,其它样本始值 OD 值 ≥ 0.2560 阳性;对照组和所有试验组样本终值 OD 值 ≥ 0.3655 阳性;OD 值空白者表示该试验猪在试验过程中死亡。

3 讨论

单纯从检测结果看,合成肽疫苗的免疫效果较为理想。按疫苗厂家推荐的免疫剂量经两次免疫后,抗体合格率大于 70%,符合农业部动物疫病强制免疫计划的控制标准。如果按照疫苗厂家推荐剂量的 3 倍免疫,则能达到非常理想的抗体水平(抗体合格率为 100%)。

但在临床实际使用中,我们会收到来自畜牧业生产第一线的不同声音。有时反映效果较好,时而

反映效果不甚理想。笔者分析,这可能与疫苗批次间的质量差异有关,厂家在造苗工艺上尚不完善,质量控制不稳定。至于被人们质疑的特定的体外表表达抗原的免疫效果相比全病毒抗原的天然免疫缺陷性,目前只能基于合成肽疫苗批次间质量稳定的前提下在大生产中得到检验和证实。

参考文献:

- [1] 李儒曙,赵庆文,游森,等.口蹄疫疫苗免疫对比试验及疫苗质量问题研究[J].养猪,2012(2):97-100.

我国首个食品业质量管理在线服务平台启用

我国食品企业 80%以上规模较小,从业人员缺乏质量管理的法律知识和专业技能。日前笔者获悉,为解决上述问题,国内首个食品业质量管理在线服务平台——质标通已正式启用,接下来还将在全国推广。

据了解,该平台由中国计量学院、中国标准化研究院、国家食品质量监督检验中心等国内十家行业机构历时两年多共同搭建而成。6月中旬开始试运行后,已有多家食品企业、检验机构、认证机构甚至政府部门申请成为会员。

近年来,三聚氰胺奶粉、“瘦肉精”等丑闻让行业形象严重受损,一些国内食品企业深陷诚信危机。但中国食品行业并非“无法可依”,据不完全统计,与食品企业相关的标准有两万多条,其中仅食品安全标准就已达到数千条,但为何在确保食品安全方面仍然面临很大问题呢?

一位不愿具名的小型食品企业负责人坦言:“食品安全的相关标准非常繁杂,且不断有新规出台,如果了解所有的规定及检测等内容,企业需要花费巨额资金让从事质量监测的工作人员接受培训。不仅如此,由于人员流动很快,企业经常需要在人员培训上重复投入。很多食品企业,特别是中小型食品企业为此非常头疼。”

质标通负责人介绍,国内食品企业确实大多规模较小,质量管理水平较差,企业内部质量管理人员的素质有待提升。质标通针对国家颁发生产许可的 28 类食品设定了几十个功能模块,企业可以对号入座,快速获得适用于自身的全部标准、法规、产品检测方法以及国内外发布的预警信息等。可以说,该平台提供的近 60 项服务涵盖了食品制造企业从原材料采购到产品出厂过程中与质量管理相关的各方面内容。另外,对于企业可能遇到的问题,质标通聘请了 100 多位食品业专家在线解答。“这个管理平台可以算是治疗食品行业安全顽疾的一剂药方。如果推广顺利,确实可以解决很多食品企业在内部质控方面的疑惑,也对行业的规定、标准起到了宣传作用。”东方艾格首席分析师陈树韦指出。不过他强调,在提升食品安全的过程中,仍有不少难题待解。现在国内食品生产商过多,要想让所有产品都能够达到较高安全标准比较困难。另外,食品安全管理体系非常错综复杂,且多头管理,“谁都管可能导致谁都不管”。“要让食品安全有明显提升,国家还应出重拳治理。”陈树韦说。(信息来源:农业部网站)

兔病毒性出血症病毒 VP60 基因真核表达载体的构建 以及在真核细胞中表达

张夏兰

(重庆市巴南区动物疫病预防控制中心, 重庆 巴南 401320)

摘要: 应用 RT-PCR 技术扩增编码兔出血症病毒衣壳蛋白 VP60 基因, 将 PCR 产物克隆到真核表达载体 pcDNA3.1 (+) 中, 获得重组质粒 pcDNA-VP60, 并将其转染 Vero 细胞。经间接免疫荧光试验, 证实 pcDNA-VP60 在体外细胞中能够成功表达具有免疫原性的 VP60 蛋白。

关键词: 兔出血症病毒; VP60; 表达

中图分类号: S855.3

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)04-0030-03

The construction of the rabbit hemorrhagic disease virus VP60 gene in the eukaryotic expression vector and its expression in eukaryotic

Zhang Xialan

(ChongQing.BaNan Animal Disease Prevention and Control Center, BaNan 401320, China)

Abstract: In this study, VP60 gene of the rabbit hemorrhagic disease virus (RHDV) strain was amplified and cloned into eukaryotic expression vector pcDNA3.1 (+), named pcDNA-VP60. The recombinant vectors were transcribed and expressed in Vero cells effectively through indirect immunofluorescence test.

Key words: RHDV; VP60; DNA vaccine; expressing

目前广泛应用的兔病毒性出血症(以下简称 RHDV)商品疫苗仅通过活兔攻毒来制备脏器组织灭活苗,该途径存在因攻毒过程控制不严或病毒灭活不彻底而散毒,体内的副反应多,抗原量难以把握等诸多缺点。国内外大量研究表明^[1],兔出血症病毒在体外表达的基因工程疫苗,因其容易被降解、免疫原性不好等缺陷而无法推广应用。大量的研究证明^[2-4],用真核表达载体 pcDNA3.1 (+) 构建的核酸疫苗可以诱导机体产生免疫应答,隋慧^[5]及原冬伟^[6]等研究表明,兔出血症病毒 VP60 基因真核表达重组质粒能够诱导机体免疫应答。本研究克隆了 VP60 基因,构建真核表达重组载体 pcDNA-VP60,并将其转染真核细胞,检测其在真核细胞中的表达情况。

1 材料

病料采自某兔场的兔病毒性出血症(以下简称 RHD)病死兔。载体 PMD18-T、pcDNA 3.1 (+)、E. coli JM109 和 DH5a 感受态细菌购自宝生物工程(大连)有限公司;主要试剂:RNA 抽提试剂盒、反转录酶 AMV、Oligo (dt)、RNA 酶 A、Taq 酶、d NTP、EcoR I、HindIII、RNA 酶抑制剂、T 连接酶、质粒抽提试剂盒均购自宝生物工程(大连)有限公司。兔抗 RHDV 高免血清自制。

2 方法

2.1 引物设计与合成

根据 GenBank 中 RHDV 参考毒株 VP60 基因序列多重比较,设计 1 对扩增 VP60 基因的上下游引物,p1、p2 引物由宝生物工程(大连)有限公司合成,在引物的 5' 端分别加入 Hind III 和 EcoR I 酶

切位点。两引物预期扩增长度为 1 762 bp。

P1: 5' -GTGAAGCTTATGGAGGGCAAAGC-3';

P2: 5' -CCGGAATTCTCAGACATAAGAAAAGC-3'

2.2 VP60 基因的克隆

2.2.1 RHDV 病毒 RNA 的提取 采集病死兔肝组织, 研磨后提取 RNA, RNA 提取按照 Viral RNA/DNA Mini Kit 的说明书进行操作。

2.2.2 VP60 基因 RT-PCR 扩增 30 μ L 的 RT 反应体系, 总 RNA 9 μ L, 10mmol/LdNTP 2 μ L, Oligo dT 1 μ L, RNAsin 0.5 μ L 混匀, 70 $^{\circ}$ C 4min, 再加入 5 \times RT buffer 4 μ L, Mg₂⁺ 3 μ L, 反转录酶 AMV 0.5 μ L, RNAsin 0.5 μ L。混匀后按以下程序进行 RT 反应: 30 $^{\circ}$ C 10min, 42 $^{\circ}$ C 45min, 95 $^{\circ}$ C 5min。反应产物进行 PCR 反应。PCR 的反应体系为 50 μ L: 10 \times PCR Buffer 5 μ L, Mg₂⁺ 3 μ L, 10mmol/L dNTP 1 μ L, 上游引物 (30pmol/L) 1 μ L, 下游引物 (30pmol/L) 1 μ L, 反转录产物 cDNA 1 μ L, Taq DNA 聚合酶 0.3 μ L, H₂O 补至 50 μ L, 混匀。95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min 后按以下条件进行 PCR 反应: 94 $^{\circ}$ C 30s, 54 $^{\circ}$ C 50s, 72 $^{\circ}$ C 60s, 35 个循环之后, 72 $^{\circ}$ C 延伸 10min, 4 $^{\circ}$ C 10min 后结束反应。

2.2.3 VP60 基因的克隆 PCR 产物用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳, 参照 DNA Marker2000 切取并回收目的条带, 按照《分子克隆》(第三版) 将目的片段连入 pMD18-T 载体, 转化 JM109 宿主菌, 菌落 PCR 及质粒双酶切筛选 pMD-VP60 阳性重组质粒。

2.3 真核表达质粒 pcDNA-VP60 的构建

将 pMD-VP60, 用 HindIII 与 EcoR I 酶切后回收, 与同样经过双酶切处理的 pcDNA3.1(+) 真核表达载体进行连接后转化, 对重组质粒进行酶切及 PCR 鉴定, 重组质粒命名为 pcDNA-VP60。将阳性重组质粒送宝生物工程(大连)有限公司进行序列测定, 以确定真核表达重组质粒 pcDNA-VP60 是否构建成功。

2.4 真核表达质粒 pcDNA-VP60 的转染及表达检测

根据曲连东^[7] 的方法进行。纯化后的真核表达质粒 pcDNA-VP60, 在脂质体的介导下转染长成单层的 Vero 细胞, 脂质体介导法转染严格按其试剂盒说明书进行, 转染后继续培养。培养 48 h 后收获细胞, 分别用 RHDV 阳性血清和 DyLight549 标记的羊

抗兔 IgG 及 HRP 标记羊抗兔 IgG 抗体进行间接免疫荧光 (IFA) 试验, 检测 VP60 蛋白的表达情况。同时以真核质粒 pcDNA3.1(+) 转染 Vero 细胞作为对照。

3 结果

3.1 兔出血症病毒 VP60 基因的扩增

从病死兔的肝脏总 RNA 中, 应用 RT-PCR 方法扩增得到约 1 760 bp 的核酸条带, 其大小与上下游引物预期扩增片段长度一致 (见图 1)。

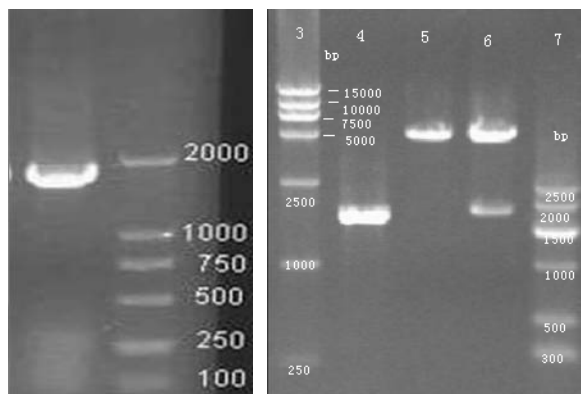


图 1 VP60 基因 RT-PCR 和 pcDNA-VP60 鉴定结果

1. VP60 基因 RT-PCR 结果; 2. DNA Marker2000; 3. DNA Marker15000; 4. pcDNA-VP60 菌落 PCR 结果; 5. pcDNA-VP60 质粒; 6. pcDNA-VP60 质粒双酶切结果; 7. DNA Marker 2500;

3.2 真核表达质粒 pcDNA-VP60 的鉴定

酶切、菌落 PCR 及测序结果显示, 真核表达质粒 pcDNA-VP60 构建成功 (见图 1)。在真核表达质粒 pcDNA-VP60 中, VP60 基因按照正确的阅读框架插入了 pcDNA3.1(+) 质粒中。

3.3 间接免疫荧光检测结果

pcDNA3.1(+) 和 pcDNA-VP60 两种质粒分别转染 Vero 细胞后, 进行间接免疫荧光试验 (IFA), 通过荧光显微镜可以观察, 转染了质粒 pcDNA-VP60 的 Vero 细胞可以看到明显的特异性荧光 (见图 2); 而转染了质粒 pcDNA3.1(+) 的 Vero 细胞未见荧光。

4 小结

真核表达载体 pcDNA3.1(+) 是研制基因疫苗普遍采用的一种载体, 带有巨细胞病毒早期启动子 (hCMV), 该启动子含有一段迄今为止发现的最强的增强子序列, 可保证外源基因的高效起始表达及有效终止, 表达外源基因时几乎没有细胞特

异性,适于大多数哺乳动物细胞。本研究扩增出了 RHDV VP60 基因,并将其成功克隆到真核表达载体 pcDNA3.1 (+) 中,构建了 pcDNA-VP60 重组质粒。初步研究表明,本研究构建的真核表达质粒 pcDNA-VP60 能够在体外细胞中表达,从而可能作为 RHD 核酸疫苗,在兔病毒性出血症病的预防和治疗中发挥重要的作用。但真核表达质粒 pcDNA-VP60 在动物体内的表达和免疫应答情况还需要进一步研究。

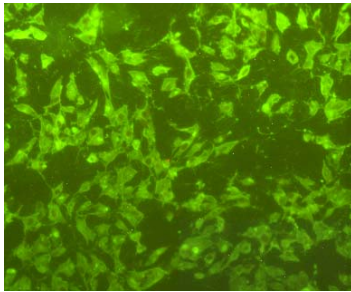


图2 重组质粒 pcDNA-VP60 转染 Vero 细胞免疫荧光结果

参考文献:

- [1] 张夏兰,王红宁,张昌菊,等.兔病毒性出血症基因工程疫苗的研究进展[J].中国预防兽医学报,2007,29(10):821-824.
- [2] 秦晓光,金宁一,沈国顺,等.猪繁殖与呼吸综合征病毒 GP5 蛋白实验性核酸疫苗的构建及其免疫原性的初步研究[J].病毒学报,2006,22(5):375-378.
- [3] 何煦,赵连三,周陶友,等.四种乙肝核酸疫苗质粒的构建及在真核细胞中的表达[J].华西医学,2006,21(3):461-461.
- [4] 吴丹,郭瀛军,王庆敏,等.猪白细胞介素 4 的基因克隆及其在囊尾蚴 DNA 疫苗中的应用[J].第二军医大学学报,2002,23(11):1192-1194.
- [5] 隋慧,杨金生,等.兔出血症病毒 VP60 主要抗原表位的原核表达及其免疫原性[J].安徽农业科学,2010,38(28):15660-15661.
- [6] 原冬伟,刘家森,郭东春,等.兔出血症病毒 VP60 基因真核表达质粒的构建及初步评价[J].中国兽医学报:2011,31(11):1582-1586.
- [7] 曲连东,蒋良丰,刘家森,等.仙台病毒 F 基因在昆虫/杆状病毒系统中的表达及抗原性分析[J].中国预防兽医学报,2010,32(5):347-350.

(上接第 17 页)

5 诊断

根据发病症状、解剖病理变化和实验室检查结果,确诊为鸭大肠杆菌病。

6 治疗

淘汰病重鸭;对发病鸭群加强饲养管理,添加电解多维增加营养,搞好环境卫生,降低饲养密度;鸭舍每天用 0.05%百毒杀进行消毒;放养白鹅鸭的鱼塘用漂白粉按 0.01%的浓度进行消毒。全群鸭用敏感药物 5%环丙沙星混饮(50 mg/L 水),每日 2 次,连用 5 d。3 d 后死亡率明显下降,5 d 后全群痊愈;经治疗后 1 个月,复诊,该群鸭已恢复健康,产蛋率回升至 58%。

7 体会

大肠杆菌病是一种条件性传染病,血清型较多,免疫效果很难保证;饲养密度大、通风不良、环境卫生差以及各种应激等,均易诱发大肠杆菌病。

该场虽然在发病前接种过大肠杆菌灭活苗,但是可能是血清型不一致,加上管理不善,养殖条件差,饲养密度大,种鸭群与肉用鸭群紧邻放养,放养鱼塘水质污浊,导致该病的发生。

加强饲养管理、注意环境卫生,尤其是饮水和饲料的保洁,同时定期进行全面的消毒,包括鸭舍、运动场、放鸭鱼塘等进行全面消毒和鱼塘换水等,对预防大肠杆菌等这一类疫病均有积极的意义。已发生污染的鸭场,应当用本场分离的大肠杆菌菌株制作灭活菌苗对鸭群进行免疫接种,才能取得理想的免疫效果。适当增加营养,如初产母鸭饲料中适当增加电解多维,添加抗菌药物如黄连合剂、禽菌灵、复方穿心莲等,可以提高鸭群的抵抗力,对预防本病的发生有一定作用。另外大肠杆菌易产生耐药性,必须进行药敏试验,根据药敏试验结果选用高敏药物进行治疗,才能取得较好疗效。

氧氟沙星在乌骨鸡体内残留消除规律研究

林海丹¹, 方炳虎², 袁照红³, 湛穗璋³, 刘小艳³

(1. 广东省兽药与饲料监察总所, 广东 广州 510230; 2. 华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642; 3. 广东大华农动物保健品股份有限公司, 广东 新兴 527400)

摘要: 采用高效液相色谱法分析氧氟沙星在乌骨鸡体内各组织中的残留消除规律。荧光检测器的激发波长为 280 nm, 发射波长为 450 nm。色谱柱为 Hypersil ODS-C18, 柱温 40℃, 以磷酸(以三乙胺调 pH 至 2.5) - 乙腈(82:18) 为流动相, 流速 1.0 mL/min, 进样量为 20 μL。氧氟沙星在乌骨鸡肌肉、肝脏、肾脏中的平均回收率分别为 86.3%、83.2%、82.5%。检测限为 10 ng/g。当组织中氧氟沙星浓度在 10~2000 μg/kg 范围时, 线性关系良好。利用该方法对氧氟沙星在乌骨鸡体内的残留消除规律进行了研究, 结果表明, 氧氟沙星在乌骨鸡体内的残留消除速度极为缓慢。40 天休药期后, 2 日龄使用组可在肌肉、肝脏和肾脏中分别检出氧氟沙星 146.8 μg/kg、20.6 μg/kg 和 437.4 μg/kg; 28 日龄使用组分别检测出 193.5 μg/kg、45.0 μg/kg 和 425.5 μg/kg。2 日龄使用组休药 78 天时(即停药 71 天), 肌肉和肝脏中还能分别检出氧氟沙星 11.2 μg/kg 和 12.0 μg/kg。实验表明乌骨鸡使用氧氟沙星仅适用于 10 日龄以下给药并休药 70 天以上, 或不给予该类药物。

关键词: 氧氟沙星; 乌骨鸡; 残留

中图分类号: S859.79*6

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)04-0033-04

Studies on residues of Ofloxacin in black-bone silky fowl

Lin Haidan¹, Fang Binghu², Yuan Zhaohong³, Zhan Suizhang³, Liu Xiaoyan³

(1. Guangdong Institute for Veterinary Drug and Feedstuffs Control, Guanzhou 510230, China; 2. Department of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guanzhou 510642, China; 3. Guangdong Dahua Animal Health Products Co., Ltd, Xinxing 527400; China)

Abstract: A reversed-phase high performance liquid chromatographic method has been developed for the determination of ofloxacin residues in black-bone silky fowl. After being extracted with phosphate buffer, ofloxacin was analyzed by HPLC (Hypersil BDS-C18) and detected by FLD ($\lambda_{ex} = 280 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 450 \text{ nm}$). The mobile phase was acetonitrile-phosphoric acid/triethylamine (18 : 82). The linear range was 10~2 000 μg/kg. The average recovery of ofloxacin was 86.3%, 83.2% or 82.5% in muscle, liver or kidney respectively. The minimal detectable concentration of ofloxacin was 10 ng/g. Results of this experiment showed that the depletion of ofloxacin in muscle and kidney was slow. After 40 days of withdrawal, the concentration of ofloxacin in the chickens used at 2 days old were 146.8 μg/kg, 20.6 μg/kg or 437.4 μg/kg in muscle, liver and kidney respectively. The concentration of ofloxacin in the chickens used at 28 days old were 193.5 μg/kg, 45.0 μg/kg or 425.5 μg/kg respectively. After 71 days of withdrawal, the concentration of ofloxacin in the chickens used at 2 days old were 11.2 μg/kg or 12 μg/kg in the muscle and liver respectively. This experiment showed that Ofloxacin should only be applied to the chickens younger than 10 days old with more than 70 days of withdrawal or should not be used in raising.

Key words: Ofloxacin; Black-bone silky fowl; Residues

乌骨鸡是我国特有药用鸡种, 是一种营养丰富、滋补强壮的珍品。乌骨鸡的养殖在我国具有较长的历史, 近年来兴起的高产、高效的集约化、规模化饲养方式, 使该类鸡的疾病也明显增多, 使用

的兽药种类与使用量也明显增多。为保证其食品安全, 有必要开展相关的药物残留研究。氧氟沙星(Ofloxacin), 属于氟喹诺酮类药物, 对葡萄球菌、链球菌、大肠杆菌、螺旋杆菌等有良好的抗菌作

用。口服吸收良好,使用方便,兽医临床上也常用于治疗乌骨鸡的呼吸道、肠道疾病。然而,不同动物对同一类药物残留消除规律不一样,休药期也差别很大。据文献报道,氧氟沙星用于吉富罗非鱼,其体内的休药期为 8 d^[1];用于鲤鱼休药期为 9 d^[2]。在 22 日龄健康肉仔鸡中按 500 mg/L 氧氟沙星溶液连续饮用 5 d,其推荐的休药期为 25 d^[3];而农业部制定的氧氟沙星各剂型休药期规定为 28 d^[4]。本试验开展了乌骨鸡在不同时段应用氧氟沙星后其体内消除规律研究,建立了高效液相色谱法检测乌骨鸡组织中的氧氟沙星残留的方法,为休药期的制订及临床用药提供了一定的依据。

1 材料

1.1 仪器

Agilent1200 高效液相色谱系统,配备四元梯度泵、自动进样器、柱恒温系统、荧光检测器、色谱工作站,美国安捷伦公司。

1.2 药品与试剂

氧氟沙星口服液,含量 4%,批号为 20110503,由广东大华农动物保健品股份有限公司提供;氧氟沙星对照品,含量 98.8%,批号为 130455-201005,购自中国药品生物制品检定所。乙腈、正己烷均为色谱纯,乙酸、无水硫酸钠等均为分析纯,水符合国家实验室用水规格(GB6682-92)。

1.3 流动相

磷酸/三乙胺液(量取 85%磷酸适量,用水稀释到一定体积,边搅拌边滴加三乙胺适量使 pH 值调至 2.5):乙腈(82:18,V/V)。

1.4 提取液

肌肉、肾脏组织提取液采用 2%的乙酸乙腈,净化液采用乙腈饱和正己烷。

1.5 实验动物

1 天龄的健康乌骨鸡 200 只,由广东某养殖公司的孵化场提供。

2 方法

2.1 给药与采样

2.1.1 分组与饲养 实验鸡随机分成 3 组,实验 I 组 100 只、实验 II 组 50 只,空白对照组 50 只。实验组和对照组均采用自由采食与自由饮水,饲喂不含药物的全价日粮,按常规进行饲养管理。

2.1.2 给药 按每升水添加 4%氧氟沙星溶液 2.5 mL 即每 1 L 水中添加 100 mg 的剂量进行自由饮

用,每天二次,每次饮用 3 h,连续给药 5 d。实验 I 组在 2 日龄给药,实验 II 组在 28 日龄给药。

2.1.3 采样 实验 I 组:在停药 15 天(即 16 日龄),28 天(即 29 日龄),40 天(即 41 日龄),78 天(即 79 日龄)分别宰杀 5 只鸡,分别采取胸部肌肉、肝脏和肾脏共 3 种样品,采集后立刻做好标记、包装,于 -20 °C 冰箱中保存待测。实验 II 组:在停药 28 天(即 61 日龄)、40 天(即 73 日龄)分别宰杀 5 只鸡,分别采取胸部肌肉、肝脏和肾脏共 3 种样品,采集后立刻做好标记、包装,于 -20 °C 冰箱中保存待测。对照组:按各实验组停药相同时间每次宰杀 5 只鸡,采样与样品保存同实验组。

2.2 样品前处理

提取:在室温下将组织样品解冻,取样品约 20 g 放入匀浆杯中,10 000 r/min 匀浆约 2 min 至组织成浆状,备用。称取 5 g(精密称定)匀浆好后的组织于 50 mL 的离心管中,加入 2%的乙酸乙腈 20 mL,3 000 r/min 涡旋 1 min,至组织全部分散于提取液中,再加入 5 g 无水硫酸钠,再次用 3 000 r/min 涡旋 30s。涡旋完成后用振荡器 500 r/min 震荡 20 min。震荡完成后,3 000 r/min 离心 5 min。

吹干:取离心后的组织上清液 5 mL 于 20 mL 的离心管中,用氮气水浴 40 °C 吹干。

溶解净化:待组织提取液全部吹干后,向离心管中加入 2 mL 流动相,3 000 r/min 涡旋 1 min,待组织物完全溶解后,再加入 5 mL 乙腈饱和正己烷,涡旋 30s,超声 5 min,500 r/min 震荡 10 min,4 000 r/min 离心 5 min,去除上层正己烷。再次加入 5 mL 乙腈饱和正己烷二次净化,重复前面的操作。离心后取下层流动相,用 0.45 μm 有机相滤头过滤后作为试样溶液,供高效液相色谱法测定。

2.3 色谱条件

色谱柱:采用 Hypersil ODS-C18 (美国 Agilent 公司);以磷酸(以三乙胺调 pH 至 2.5)-乙腈(82:18)为流动相;检测波长:激发波长 280 nm,发射波长 450 nm;柱温 40 °C;流速 1.0 mL/min;进样量 20 μL。

2.4 各组织标准曲线与线性范围

准确称取 5 g 已匀浆的胸部肌肉、肝脏和肾脏空白组织,加入氧氟沙星标准品溶液,使得各样

品中氧氟沙星的浓度为 10~2 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。按第 2.2 方法处理, 进行 HPLC 分析, 将测得的色谱峰面积 (S) 与药物浓度 (C) 作直线回归, 求得标准曲线的回归方程和相关系数。

2.5 样品回收率和变异系数的测定

准确称取 5 g 已匀浆的胸部肌肉、肝脏和肾脏, 添加标准贮备液分别制成 30 ng/g、50 ng/g、100 ng/g 的标准添加样品, 按第 2.2 方法处理, 测定回收率和变异系数。

3 结果

3.1 色谱图

氧氟沙星对照品液、空白添加、空白组织、给药后样品色谱分析如图 1- 图 4。

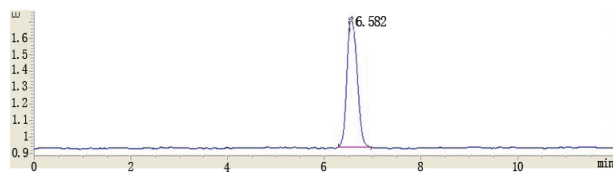


图 1 50ng/mL 对照品溶液

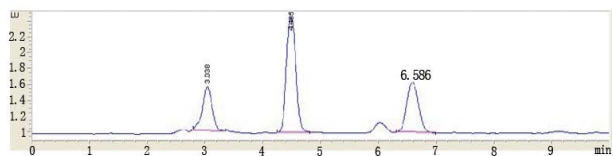


图 2 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 肌肉添加

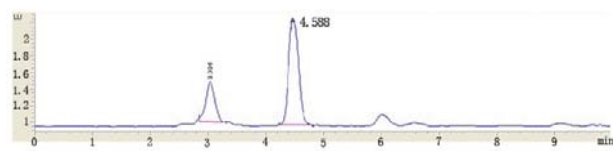


图 3 空白肌肉

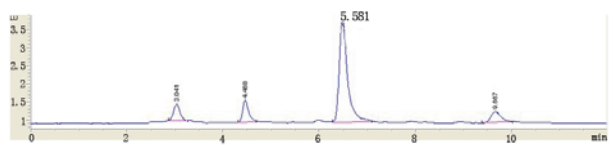


图 4 肌肉样品 (休药 28 天)

在上述色谱条件下, 氧氟沙星与组织中的其它组分分离度好, 干扰少, 氧氟沙星保留时间为 6.5 min 左右。本实验条件下其最低检测限为 10 ng/g。

3.2 各组织氧氟沙星标准曲线与线性范围

组织中氧氟沙星在 10~2 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围内线性关系良好, 其中肌肉标准曲线方程为 $C=4.0413S-5.8490$ ($r=0.9994$), 肝脏曲线方程为 $C=4.3343S-7.4723$ ($r=0.9993$), 肾脏曲线方程为 $C=4.0319S-5.6574$ ($r=0.9991$)。

3.3 回收率与变异系数测定

按 30 ng/g、50 ng/g、100 ng/g 添加浓度, 氧氟沙星在肌肉、肝脏和肾脏中的平均回收率分别为 86.3%、83.2%、82.5%, 变异系数小于 6%。表明该方法准确可靠。

3.4 各组织中氧氟沙星残留测定

乌骨鸡 3 种组织中氧氟沙星残留量测定结果见表 1。表 1 表明, 乌骨鸡按 100 mg/L 氧氟沙星溶液连续饮用 5 d, 氧氟沙星在 3 种组织中的残留消除缓慢。

表 1 乌骨鸡 3 种组织中氧氟沙星残留量

实验组别	停药时间 (d)	实测浓度 / ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
		肌肉	肝脏	肾脏
实验 I 组 (2 日龄用药)	15	481.0	98.8	1488.2
	21	374.6	59.4	546.7
	28	300.2	63.4	887.3
	40	146.8	20.6	437.4
	71 (78 日龄)	11.2	12.0	ND
实验 II 组 (28 日龄用药)	28	383.7	100.6	850.2
	40	193.5	45.0	425.5

4 讨论与小结

4.1 色谱条件的选择: 激发波长和发射波长均会极大地影响氧氟沙星的峰形和响应值。经过多次试验, 选用采用荧光检测法, 激发波长设为 280 nm, 发射波长设为 450 nm。柱温 40 $^{\circ}\text{C}$ 时分离效果最佳。

4.2 本实验表明, 氧氟沙星在乌骨鸡残留消除时间很长或难以消除。按 100 mg/L 氧氟沙星溶液连续 5 d 饮用, 2 日龄鸡使用休药 40 d 后, 肌肉和肝脏中均能检出氧氟沙星, 肾脏组织残留更高达 437.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 而 28 日龄鸡使用后休药 40 d 即接近上市日龄时, 肌肉组织和肝脏中的药物残留量比 2 日龄鸡更高, 肌肉与肝脏分别高达 193.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 45.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 肾脏中药残则基本相同。美国 FDA 和欧共体 (EEC) 规定的氟喹诺酮类药物在鸡食用组织中的最高残留限量 (MRL) 标准规定为 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 而日本肯定列表规定, 氧氟沙星在鸡的可食用组织中的最大残留限量 (MRL) 为 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。我国农业部暂未制定氧氟沙星在动物体内的 MRL。按照这些相关标准, 乌骨鸡使用氧氟沙星后即使休药 40 d 也难以达到美国、日本要求的 MRL。建议在乌骨鸡饲养过程中, 尽量不使用氧氟沙星进行疾病防治; 若确实因临床疾

病防治需要, 氧氟沙星的应用也仅适用于 10 日龄以下乌骨鸡使用, 且需停用该药 70 天以上方可出栏。

参考文献:

[1] 王贤玉, 宋洁, 王伟利, 等. 氧氟沙星在吉富罗非鱼体内的药

代动力学及残留的研究[J]. 大连海洋大学学报, 2011, 26(2): 144-148.

[2] 葛建. 氧氟沙星在鲤鱼体内的药物动力学和残留研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2004.

[3] 施祖灏, 朱良强, 祁克宗, 等. 氧氟沙星在肉鸡体内残留的研究[J]. 中国兽药杂志, 2007, 41(5): 10-13.

[4] 兽药质量标准[S]. 2003 年版.

亘农科技
GENNONG-TECH

诚招各市县独家代理

免费发放样品

中国农业大学技术
战影灭蝇专家

1% 残杀威粉剂
5-10 秒 击毙
长效 15-30 天

亘农 (北京) 科技有限公司

地址: 北京海淀圆明园西路 2 号中国农业大学
电话: 010-62820698 82895508 (兼传真)
网址: www.gennong.cn
全国统一客服: 400-6655-891 (免长途费)

城市流浪犬猫的成因、危害与对策

李嘉雯, 黄群山*

(华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

摘要: 根据城市流浪犬猫的成因与危害, 提出慎养、绝育、收容收养、捕捉-绝育-放归等控制流浪犬猫数量的方法。解决流浪犬猫问题的关键在于从源头上减少流浪犬猫的数量, 为此, 科学地传播爱护动物与尊重生命的意义是极为重要的。

关键词: 捕捉; 绝育; 放归; 流浪犬猫

中图分类号: S858.99

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)04-0037-03

The cause, harm and solution of free-roaming dogs and cats in the cities

Li Jiawen, Huang Qunshan*

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

Abstract: Careful raising, sterilization, sheltered adoption and trap-neuter-return, etc should be the good methods for controlling the numbers of free-roaming dogs and cats considering the cause and harm of free-roaming dogs and cats. The key to solve the problem is to prevent the occurrence of free-roaming dogs and cats from the source. Therefore, it is very important to spread the meaning of protecting life and respecting life.

Key words: Trap; Neute; Return; Free-roaming dogs and cats

随着人们生活水平的提高, 越来越多的家庭饲养犬猫。由于不负责任的饲养行为和犬猫无序繁殖导致的遗弃, 使得近年来城市流浪犬猫不断增多。由此引发的疾病传播、犬猫被虐待甚至捕杀、社区环境卫生等方面的问题正严重地危害着人与动物的和谐^[1]。本文将从成因、危害与对策三个方面商讨解决城市流浪犬猫的问题。

1 产生原因

1.1 走失

犬猫走失通常有以下原因: 主人带犬猫外出时疏忽大意, 导致走失; 主人搬家, 犬猫对新环境不熟悉离家后很容易走失; 犬猫发情时为了寻找配偶, 特别容易离家而走失^[2]。

1.2 弃养

责任心不强的主人, 只要感觉到麻烦或厌倦, 总能找到理由弃养自家的犬猫。例如, 犬猫随地大小便, 犬猫经常乱吠叫, 要搬家、怀孕、过敏、工作调动等不方便继续饲养犬猫。上述是非常普遍的

理由, 更有担心受到道德谴责而不敢说明的理由——犬猫患病。犬猫不可能用言语表达身体不舒服, 主人不一定察觉到犬猫的病情, 有些主人认为带犬猫去动物医院看病是麻烦的事情而且花费不菲, 慢慢地病情恶化, 病重的犬猫不讨人喜欢, 于是主人就把它遗弃。

1.3 繁衍

犬猫的繁殖能力非常强, 7、8月龄时就具备生育下一代的能力, 生育期长达6年。若不绝育, 犬猫一年繁殖两次, 每胎平均生5只, 一年下来就是10只。如果放任犬猫自由繁育后代, 主人不会有那么多时间、精力和金钱去好好照顾它们, 最后很可能遗弃它们。在流浪状态下幼犬猫的成活率较低, 成年后流浪犬猫也很少能存活到老年, 但流浪会致繁殖无序进行, 犬猫数量呈几何级数增长^[3]。

2 社会危害

2.1 传播疾病

流浪犬猫生活环境恶劣, 更没有定期免疫驱

虫,携带病毒、细菌和寄生虫的几率远远高于家养的犬猫。犬猫可以传播的人兽共患病主要有:狂犬病、弓形虫、布鲁氏菌病、钩端螺旋体病和跳蚤病等^[4],人们感染这些疾病均与犬猫接触或被犬猫咬伤有关。

2.2 影响环境

流浪犬猫的排泄物会影响城市卫生;死亡后如果没被妥善处理,尸体会腐烂发臭;为了寻找食物把垃圾袋弄破,影响社区环境。

社区对流浪犬猫的数量有一个限度。当流浪犬猫数量超出社区的承载限度后,犬猫的生存质量就会下降。流浪犬猫过多会干扰人们的正常生活,引起社区居民的反感,不时会有人伤害流浪犬猫。有的业主常用剩菜剩饭喂养社区的流浪犬猫,大量的流浪犬猫会集中出现,让社区里某些业主更加厌恶。

2.3 恶意扑杀

专供食用犬猫的养殖场很少,可以吃到狗肉猫肉的餐馆却较多。肉贩子经常开着摩托或者面包车走村串寨,用绳索网套或发射麻药,甚至用烈性毒药浸泡烧鹅烧鸡诱毒犬猫,三五秒内改就可以捉走犬猫。这些犬猫没有经过卫生检疫,健康状况无人知晓,更何况有些犬猫是被毒死的,进入餐馆后被烹制成所谓的“美食”,其安全卫生没有任何保证^[5]。

2.4 虐待动物

有的人以虐待犬猫为乐或宣泄压力,经常有媒体报道虐待伤害动物的事情。虐待动物是对生命的藐视,欺负弱小是反社会的征兆。这种人的性格有偏颇,心理不健康,为社会安定留下隐患。

3 减控对策

3.1 慎养

饲养犬猫必须三思而后行。主人要供给它们较好的生活环境,要训练它们不要随地拉屎尿,不要乱吠叫,不要抓家具;主人带犬猫外出一定要使用牵引带,防止走失,而且最好在犬猫的颈圈刻上主人的信息。

当主人因搬家、怀孕、过敏、工作调动等原因不能继续饲养犬猫的时候,请务必妥善安置它们。很多犬猫在长期被人类驯养的同时已经失去了野外生存的能力,所以家养的犬猫一旦失去主人就意味着死亡。特别是有些主人为了减少麻烦干脆

给猫去爪,可是家猫去爪后,丧失了自卫能力,一旦走失或被遗弃而流浪在外,无法抢食物争地盘,很难在生存竞争中存活。

做好免疫驱虫可以减少患病(特别是宠物源人兽共患病)的几率,从而减少它们被遗弃的几率。宠物源人兽共患病以狂犬病最为危险,发达国家的犬猫狂犬病免疫率达70%以上,而我国现阶段的免疫率只有20%~30%,流浪犬猫基本没有注射疫苗。狂犬病疫苗的免疫接种是第一年至少打3针,之后每年打1针,使其体内产生具有保护力的抗体(≥ 0.5 IU/mL)^[6,7]。只有机体产生足够的抗体才能真正抵御狂犬病病毒的攻击,起到控制狂犬病的作用。

3.2 绝育

发情阶段走失的犬猫有可能成为流浪动物,它们在外面无序地繁衍后代,产生越来越多的流浪犬猫,绝育是很好的解决方法。

一般来说母犬猫要在它们第一次发情之前进行手术。第一次发情大约会在6月龄左右发生,不过有些特定品种(例如暹罗猫、银狐犬)的个体会早在4.5月龄时就开始发情。有的母犬猫则会迟至9月龄,甚至更晚才开始第一次发情。

公犬猫在6月龄时可以施行绝育手术,以阻止它们完成公犬猫个性的发展,比如到处流浪或者打架。选择这个时间段绝育还可以让公猫连接膀胱以及阴茎的尿道部分有更多的时间发育成熟,减少尿道发生阻塞,例如猫下泌尿道疾病^[8,9]。

对于捕捉到的流浪犬猫,不论公母,只要达到6周龄就可以进行绝育手术^[10]。幼龄犬猫的生殖器官比较小,手术中出血少,术后的恢复比较快速。

绝育手术的主要方式是摘除子宫卵巢或睾丸,使激素分泌减少,从而预防生殖系统疾病的发生。对母犬猫而言,绝育可以消除子宫蓄脓、卵巢囊肿、假孕等,若能在幼年时进行还可预防乳腺肿瘤的发生;对公犬猫而言绝育可预防睾丸及围肛腺肿瘤的发生。

此外,绝育手术一定要选择在犬猫健康的时候,最好避开发情、假孕和怀孕的时期,犬猫的生殖器官在这三个阶段大量充血,绝育手术时失血比较多,对犬猫的伤害较大。

3.3 收容收养

尽管收容收养是一种很被动的补救方法,也

能起到减少流浪犬猫作用。动物救助机构的具体做法如下: 在固定的时间地点提供一些食物和清水, 培养流浪犬猫定时出现的习性。捕捉前 24 小时停止喂食, 饥饿的流浪犬猫禁不住食物的诱惑进入笼子, 触碰到机关笼子就会自动关闭。此时受到惊吓的犬猫会躁动不安, 用布把笼子遮盖起来送往动物医院。兽医根据犬猫的健康状况安排绝育手术和免疫驱虫。为来得及驯养的幼龄犬猫以及亲近人的成年犬猫找合适的收养家庭。收容所的犬猫已经绝育并且免疫驱虫, 性格温顺, 比较适合被收养。

如果被收容的的犬猫年老且病重, 很可能被施行安乐死^[1], 也存在由于动物救助机构的犬猫数量过多而只能选择安乐死处理的现实。安乐死本应是对那些饱受疾病痛苦的动物施行的, 冠冕堂皇的“人道”处理流浪犬猫问题的背后, 其实已经严重地违反了动物求生本能与天性。有些人很难接受对流浪犬猫进行安乐死, 于是他们不愿意提供流浪犬猫的线索, 使收容工作难以开展。所以收容收养并不是解决流浪犬猫问题最好的方法。此外, 收容安置一只流浪犬猫的价格不菲, 需要为其日常开销、绝育手术和免疫驱虫等支付费用, 建立完善的流浪犬猫收容安置管理体系, 需要大量的人力与资金, 国家财政无力完全承担起收容收养流浪犬猫的所有责任。我国流浪犬猫的收容收养几乎全由民间动物救助机构担当, 然而资金、场地、医疗设施以及法律的缺失让这些民间动物救助机构举步维艰。因此, 向社会募集资金是许多救助组织的必经之路。募集到的资金必须纳入规范管理, 绝不可以让救助流浪犬猫成为不法分子敛财的幌子。

热心人士在街上或社区里遇到比较温顺的流浪犬猫, 可先在它经常出现的放一些食物和清水, 慢慢地它也会对你表示友好。如果真的想收养它, 应先把它带到动物医院做一次全面的健康检查和免疫驱虫, 综合考虑兽医的建议, 选择合适的时间完成绝育手术。不管你是出于何种目的去救助流浪犬猫, 没有持续的善心是拯救不了任何生命的。

3.4 捕捉—绝育—放归

如果只把本地的流浪犬猫捉走, 马上会有外来的流浪犬猫进驻, 流浪犬猫数量并不会减少。捕捉

—绝育—放归行动的重点在于绝育, 由于失去繁殖力, 社区内流浪犬猫数量才会得到控制。在进行绝育手术时剪去耳翼的侧面一部份(三角形)^[13], 让人们在不靠近就可以观察出该流浪犬猫已经绝育, 避免不必要的捕捉。原地放归的犬猫由于有志愿者长期跟踪与照料, 生存质量也会大大提高。

洛杉矶在 1971 年处理 11 万只流浪犬, 低成本的绝育方式推出后, 到 1986 年数目下降到只剩一半。温哥华 8 年间, 流浪犬的处理由 8 万只降到 0.9 万只以下。捕捉—绝育—放归是经过证实能有效控制流浪犬猫数量的办法^[14]。

4 总结

慈善救助并不是纵容人类随意弃养犬猫或漠视犬猫的生命。为了从源头上减少流浪犬猫, 应科学地传播爱护动物与尊重生命的意义。

参考文献:

- [1] 陈红岩, 图何琳, 图李萌. 城市流浪动物——亟待安置的生命[J]. 生命世界, 2008(12): 22-25.
- [2] 刘岩奇, 景锐, 彭金山. 无主动物收容处置工作的探讨[J]. 北京农业, 2009(24): 82-84.
- [3] 何元元. 生存是一种天赋的权利——流浪动物生存权利的社会学探析[J]. 中国动物保健, 2010, 12(12): 7-9.
- [4] 谢海燕, 朱燕秋, 杨德胜, 等. 犬猫人畜共患病的防控[J]. 畜牧兽医杂志, 2011, 30(2): 94-95.
- [5] 刘国信. “流浪犬猫”上餐桌, 危险[J]. 科学养生, 2010(3): 26.
- [6] 许芳, 田淑君, 郭响勇. 冻干人用狂犬病疫苗(Vero 细胞)的临床观察和护理[J]. 当代护士(学术版), 2011(6).
- [7] Dodet B. Antigen content versus volume of rabies vaccines administered intradermally [J]. Biologicals, 2011, 39(6): 444-445.
- [8] Lekcharoensuk C, Osborne CA, Lulich JP. Epidemiologic study of risk factors for lower urinary tract diseases in cats [J]. J Am Vet Med Assoc, 2001, 218(9): 1429-1435.
- [9] Saevik BK, Trangerud C, Ottesen N. Causes of lower urinary tract disease in Norwegian cats[J]. J Feline Med Surg, 2011, 13(6): 410-417.
- [10] 黄庆荣. 犬猫早期绝育问题[J]. 动物医学进展, 1997(4): 17-22.
- [11] 凌凤俊, 马贵平, 谷强, 等. 宠物收容管理研究[J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(11): 137-141.
- [12] 子言. 美国社区的“街猫行动”——TNR 方法和社区义工[J]. 社区, 2006(9X): 10-11.
- [13] 美国动物保护政策[J]. 中国动物检疫, 2010, 27(2): 64-65.
- [14] 张思雅, 张运祝. 用 TNR 方法控制流浪猫数量的可行性分析[J]. 北京农业, 2007(24): 75-77.

一例犬心脏肿瘤的诊治

罗倩怡, 赵长荣

(深圳中心动物医院, 广东 深圳 518001)

中图分类号: S858.292

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)04-0040-03

心脏肿瘤在犬中比较罕见,有数据显示,犬的发生率只有0.17%,一般在中年至老年犬中出现(7~15岁),德国牧羊犬和金毛寻回猎犬发生率较其他品种高。在犬中比较常见的心脏肿瘤是血管瘤,其次是主动脉体瘤(化学感受器瘤)和异位甲状腺癌。犬心脏肿瘤最常见及最致命的异常是严重的心包积液导致心脏填塞和右心衰^[1]。

1 病例介绍

1.1 基本情况

金毛寻回猎犬(唤名:Porter),6岁,雄性,已免疫,体重33 kg。主述:2011年12月11日该犬突然喘气严重,深呼吸,张口呼吸。

1.2 初诊

1.2.1 临床检查 体温:38.7℃,心率:180~200次/min,喘气。眼窝下陷,牙龈苍白,舌头发绀,伸长颈部,张口呼吸;肺部听诊有湿啰音,胸廓下1/3处,胸骨旁听不到呼吸音,心音仅在二尖瓣的位置可听及;触诊股动脉脉搏减弱。

1.2.2 特殊检查 血常规:轻微贫血,白细胞计数轻微升高(见表1);综合生化:碱性磷酸酶升高,其它未见明显异常(见表1);IDEXX 4Dx(犬型埃里克、马型埃里克、莱姆病、心丝虫)测试:阴性;X线:肺部影像模糊,心前三角区有积液,心脏轮廓不可见(见图1、图2)。

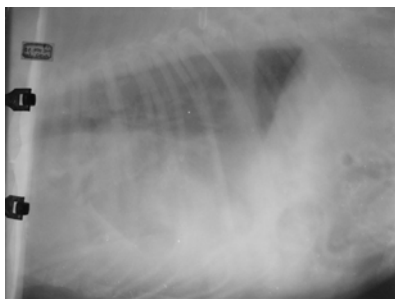


图1 肺部影像模糊,心前三角区有积液



图2 肺部影像模糊,心脏轮廓不可见

1.2.3 初诊意见 肺部有急性渗出,具体原因未明,待患畜体况稳定之后再作进一步诊断。

1.2.4 治疗方案 (1)吸氧;(2)吠塞米30 mg,皮下注射,2次/d,连用3 d;(3)氨苄西林钠1.5 g,皮下注射,2次/d,连用3 d;(4)地塞米松6 mg,皮下注射,1次/d,连用3 d;(5)氨茶碱200 mg,皮下注射,2次/d,连用3 d。

1.3 复诊

主述该犬喘气情况有所好转。

1.3.1 临床检查 体温:正常;心率:168~180次/min,呼吸:喘;可视黏膜较苍白,可视黏膜再充盈时间大于3秒;听诊肺部仍有湿啰音,但较之前明显好转,听诊心音时发现有很轻微的震动音。

1.3.2 X线检查 胸部侧位片可见心脏的头侧方向有一肿块(见图3、图4)。



图3 在心脏头侧方向有一肿块



图4 在心脏头侧方向有一肿块 (Mass: 肿块, Heart: 心脏)

1.3.3 B超结果 右侧胸骨旁声窗可见在心脏旁有一至少 5.8 cm×6.1 cm 大的肿块 (见图5及图6), 明显的心包积液 (见图7)。肝脏和脾脏未发现异常。

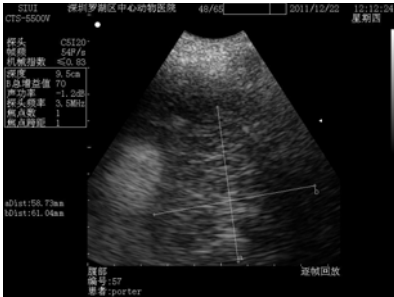


图5 右侧胸骨旁声窗可见肿块(5.8 cm×6.1 cm)

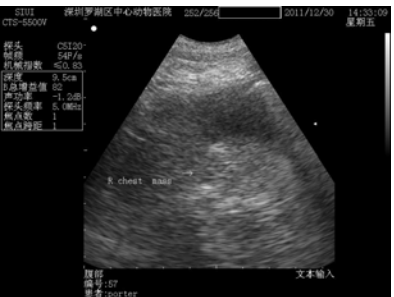


图6 右侧胸骨旁声窗可见一肿块(箭头所指)

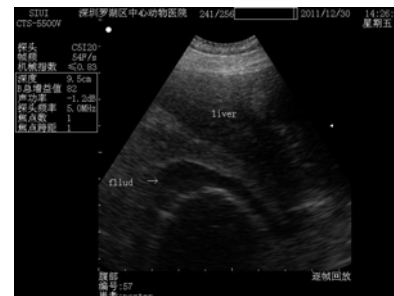


图7 明显的心包积液(箭头所指)

表1 血常规及生化检查结果

项目	2011年 12月11日	2011年 12月14日	2012年 1月6日	参考 范围 ¹⁾	单位
RBC	5.00 ↓	5.05 ↓	5.73	5.50-8.50	10 ¹² /L
HGB	156	145	171	120-180	g/L
HCT	36.6 ↓	34.4 ↓	41.0	37.0-55.0	%
MCV	73.2	68.3	71.6	60.0-77.0	fL
MCH	31.2 ↑	28.7 ↑	29.8 ↑	16.5-24.5	pg
MCHC	426 ↑	421 ↑	417 ↑	31-34	g/L
WBC	19.1 ↑	13.1	13.3	6.0-17.0	10 ⁹ /L
LYM%	6.8 ↓	18.4	11.6 ↓	12.0-30.0	%
MID%	2.0	3.9	3.2	0.1-14.0	%
GRAN%	91.2 ↑	77.7	85.2	62.0-87.0	%
LYM	1.3	2.4	1.5	1.0-4.8	10 ⁹ /L
MID	0.4	0.5	0.4	0.2-2.7	10 ⁹ /L
GRAN	17.4 ↑	10.2	11.4	3.0-12.0	10 ⁹ /L
PLT	247	212	216	200-500	10 ⁹ /L
MPV	8.8	8.7	8.5	7.0-12.0	fL
PDW	11.3	10.2	10.5	0.1-30.0	%
ALB	3.3		3.8	2.5-4.4	g/dL
ALP	206 ↑		385 ↑	20-150	U/L
ALT	31		23	10-118	U/L
AMY	859		722	200-1200	U/L
TBIL	0.5		0.5	0.1-0.6	mg/dL
BUN	14		12	7-25	mg/dL
CA	9.6		10.5	8.6-11.8	mg/dL
PHOS	5.8		4.5	2.9-6.6	mg/dL
CRE	0.7		0.9	0.3-1.4	mg/dL
GLU	152 ↑		112 ↑	60-110	mg/dL
Na+	139		146	138-160	mmol/L
K+	3.8		4.2	3.7-5.8	mmol/L
TP	5.6		6.6	5.4-8.2	g/dL
GLOB	2.3		2.7	2.3-5.2	g/dL

1):生化数值参考范围参照美国 Abaxis VS2 生化仪参考范围;血常规数值参照深圳普康 PE-6800 血球仪参考范围。

1.3.4 治疗方案 (1)呋塞米 30 mg,口服,2次/d,连用 30 d;(2)氨茶碱 200 mg,口服,2次/d,连用 30 d;(3)螺内酯 12 mg,口服,2次/d,连用 30 d;(4)心安(法国威隆)1.5 mL,口服,1次/d,连用 30 d。

1.3.5 诊断 心包积液,心脏肿瘤(疑为血管瘤)。

1.4 回访

该犬于 2012 年 1 月 6 日复诊,主述:1 月 5 日发现犬颈部下水肿,6 日不进食,平时多饮多

尿。临床检查:体温:40℃,心率:204次/分;呼吸:喘。发现该犬前半身水肿(头颈部及双前肢),后半身无明显水肿,未发现腹水,提示该肿瘤压迫前腔静脉,出现右心衰竭。听诊心音有明显的金属音,提示心包积液比之前增多。触诊股动脉未见如缺。特殊检查:CBC及综合生化未见明显异常(见表1)。建议吠塞米用量增加至60mg/次,口服,2次/d;饲喂犬心脏病处方粮。随后,主述该犬于2012年1月14日左右开始出现呕吐,食欲不振,精神萎靡,尿少,前半身仍然水肿。之后主人寻求中医疗法,中西医结合。最终该犬于2012年2月3日凌晨死亡,未进行剖检。

2 讨论

在小动物临床上,心脏肿瘤比较少见,并且鉴于目前小动物诊疗水平,对于心脏肿瘤还是比较难诊断。本例犬心脏肿瘤的临床症状出现很突然,初诊时X光影像上很难发现,前段治疗虽然病犬有所好转,但对于发病原因、该如何治疗以及预后都是比较迷茫。在复诊时,综合发病过程、听诊发现、临床检查,经B超发现此心脏肿瘤。根据病犬的品种、年龄、发病经过(突然发病),倾向怀疑是血管瘤,但B超检查未发现肝脏及脾脏的肿块。

犬血管瘤好发在中年至老年犬,德国牧羊犬及金毛寻回猎犬最常见^[1]。

血管瘤是最常见的犬原发性心脏肿瘤。长在右心房的肿瘤占犬血管瘤病例的3%~25%,其他常见位置包括皮下组织(13%~17%),肝脏(5%~6%)。非皮肤血管瘤有强的转移力,80%以上的病例在临床诊断时已经出现转移了,右心房的血管瘤最容易转移到肺脏^[2]。

血管瘤破裂出血很常见,在心脏的血管瘤突然破裂出血,血液积聚在心包腔中,造成犬只出现急性心脏填塞,呼吸困难,突然粘膜苍白等。心包积液一直存在,很快造成心力衰竭,但是抽取完心包积液,如血管瘤继续有破例,一直出血,心包积液会继续形成^[1]。本文中的金毛寻回猎犬没有进行心包穿刺,很快该犬就出现心力衰竭的现象,如果当时进行心包穿刺术,缓解心脏填塞的状况,可能可以延长该犬的存活时间。但是考虑

到这种情况的心包积液抽走后会继续产生,而且操作过程中可能出现各种并发症,与宠主沟通后,最终没有进行心包穿刺。在1月6日的复诊中,该犬的前半身都出现水肿,提示着肿瘤一直压迫前腔静脉,导致血液回流不良。在之后的回访中,该犬出现尿少的症状,提示肾功能可能已经受到影响;而出现呕吐,可能与肾功能下降出现氮血症有关,亦有可能是因为肿瘤太大,压迫心脏、大血管、甚至迷走神经的外周感觉受体,进而刺激呕吐中枢。

犬血管瘤的治疗主要是切除肿瘤和化疗。切除术除了对于浅表皮肤的血管瘤是比较理想的治标方法之外,对于内脏的血管瘤治疗,预后还是比较差。而且对于右心的血管瘤来说,切除术虽然在某些病例可行,可以解除某些心脏堵塞的症状,但是始终显得风险太大,预后亦差。对于内脏的血管瘤,化疗成为了治疗的主要部分,一般采用阿霉素或者阿霉素联合长春新碱和环孢霉素。两种治疗方法的存活率没有显著差异。免疫调节治疗可能可以延长存活时间,尤其与化疗结合。免疫调节治疗涉及到非选择性地激活巨噬细胞系进入到肿瘤位置。有人使用混合细菌疫苗和胞壁酰三肽脂质体治疗血管瘤,并显示用此方法处理的病例比只做手术切除的病例存活时间长。如果再加上化疗,存活时间更长^[3]。

心脏血管瘤的病例即便是接受治疗,预后仍是十分差。有报道只进行心脏肿瘤切除的血管瘤病例的平均存活时间是3-5个月^[2]。

参考文献:

- [1] Mark D, Kittleson, Richard D, et al. Small Animal Cardiovascular Medicine[M]. United States of America: Mosby Inc, 1998:413-432.
- [2] Stephen J, Withrow David M, Vail Withrow, et al. Small Animal Clinical Oncology[M]. 3rd ed. W. B. Saunders Co, Philadelphia, PA, 2001:639-645.
- [3] Smith Annette N. Hemangiosarcoma in dogs and cats. In: The Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice, Advances in Medical Oncology[M]. W. B. Saunders Co, Philadelphia, 2003: 533-552.

沈阳某犬场犬皮肤病的药物疗效调查

孙 宁

(公安部警犬技术学校, 辽宁 沈阳 110034)

摘要: 犬的皮肤病是临床发病率较高、病理过程长、类症鉴别难度大的疾病。本文通过查阅沈阳某犬场 10 年间的病历记录, 确定了该场犬常见皮肤病的种类有: 蝉感染皮肤病、蠕形螨皮肤病、真菌性皮肤病、湿疹、脓皮症和甲状腺功能减退性皮肤病等。对每种皮肤病使用的药物疗效进行调查、统计, 表明: 治疗真菌病时, 盐酸特比萘芬安全有效; 治疗犬蠕形螨和蝉感染时, 使用癣螨净 886 擦剂, 同时按 1 mL/50kg 注射伊维菌素; 治疗犬湿疹时, 中西医结合治疗和据急性湿疹的不同发病时期治疗; 治疗甲状腺功能减退性皮肤病时, 不要忽视原发病治疗; 治疗犬脓皮症时, 香波擦洗是最适宜的局部治疗方法。

关键词: 犬; 皮肤病; 药物疗效; 调查

中图分类号: S852.65

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)04-0043-04

随着人们防疫意识的增强, 犬被广泛接种各种疫苗, 犬传染病逐渐得到了控制, 但犬皮肤病的发生仍较为突出。据不完全统计, 其发生率占犬疾病总数的 28.26%^[1]。因受诊断设备和方法, 尤其是治疗药物等因素的影响, 犬皮肤病的防治并不乐观。本旨在对某犬场犬皮肤病及其使用药物的疗效进行调查, 归纳并分析每种皮肤病成功治疗的主要影响因素, 总结筛选出安全、有效的药物, 规范药物使用剂量、疗程及用药梯队等治疗技术, 为进一步完善皮肤病治疗提供有益参考。

1 调查方法与内容

1.1 调查对象与时间

调查临床就诊病例的记录资料, 共 300 份, 其中 95 例为犬皮肤病。病例记录取材时间范围为 2002-2011 年。对各项数据进行统计分析, 结合门诊病例资料, 收集、整理相关数据。

1.2 调查内容

1.2.1 犬皮肤病种类的调查 对犬皮肤病进行调查和分析, 集中 2002-2011 年共 10 个年度的病例资料, 主要调查内容包括犬品种、年龄、性别、发病时间、就诊时间、治愈时间、病史病程、是否复发、发病部位、症状、诊断与治疗方案。

1.2.2 药物治疗调查 为比较各种犬皮肤病的药物治疗效果, 对上述已确诊某种皮肤病的患犬采用的药物治疗情况进行调查。

1.3 调查方法

采用回顾性调查的方法对犬皮肤病病历记录进行收集、整理, 按犬的皮肤病的种类等进行分类, 并对药物疗效进行调查, 评价。

2 结果与分析

2.1 皮肤病种类调查结果

根据调查结果显示, 确诊的皮肤病种类主要为犬蝉侵染、犬蠕形螨病、犬真菌性皮肤病、犬湿疹和犬脓皮症和甲状腺功能减退引起的皮肤病等 6 种(表 1)。

表 1 犬皮肤病发生情况及发病率

病名	犬总数	发病数	发病率
蝉感染	95	13	13.6%
蠕形螨感染	95	31	32.6%
真菌感染	95	25	26.3%
湿疹	95	7	7.3%
脓皮症	95	17	18.4%
甲状腺功能减退皮肤病	95	2	1.7%

2.2 常用药物及使用方法

具体见表 2。

2.3 治疗效果评估

根据临床病例记载, 将使用某种药物的临床疗效分为痊愈(症状完全消失)、显效(症状有好转迹象)和无效, 同时记录病犬在用此药期间有无不良反应。

表 2 2002-2011 年犬皮肤病常用药物及使用方法

病名	使用药物	使用方法
蠕形螨感染	伊维菌素+敌百虫	伊维菌素:每 50kg 犬注射 1 mL,每周 1 次,连用 3 次。 取敌百虫片剂配制成 0.1% 的溶液,给患犬进行药浴,每周 1 次,连用 5 周。
	5~10%硫磺软膏	涂抹患处。与其他治疗痤疮药、脱屑药、清洁剂、维甲酸、以及其他含酒精的制剂并用,可增加对皮肤的刺激,使皮肤干燥。
	5%溴氢菊脂油剂	按 1:200 的浓度稀释后药浴或喷洒,间隔 5 日用药 1 次。
	蝉螨净(886 擦剂)	患处涂擦
	灭虫丁(阿维菌素)	注射液以 0.6 mg/kg 的剂量皮下注射,间隔 5-7 日用药 1 次。
真菌感染	盐酸特比萘芬溶液(10mg/mL)	直接涂于患处,一日 2 次,连用 3 周。
	斯皮仁诺胶囊	3 mg/kg 口服,每次 1 次,连用 4 周,巩固两周。
	克霉唑软膏	将软膏直接涂于患处,一日 2 次,连用 3 周。
	舒服擦剂(酮康唑)	将软膏直接涂于患处,一日 2 次,连用 3 周。
湿疹	达克宁软膏	将软膏直接涂于患处,一日 2 次,连用 3 周。
	2%的明矾溶液+赛庚啶软膏	2%的明矾溶液:将溶液直接涂于患处,一日 2 次,连用 2 周。 赛庚啶软膏:将溶液直接涂于患处,一日 2 次,连用 2 周。
	甲紫液	患处涂抹。
	抗生素与类固醇药	醋酸氟轻松或醋酸去炎松软膏。为防止皮肤感染,和红霉素软膏交替涂抹。脱敏止痒:强力解毒敏、扑尔敏。
	局部药用香波	用温水作 200 倍稀释药浴。
癣感染	伊维菌素	每 50 kg 犬注射 1 mL,每周用 1 次,连用 3 次。
	12.5%双甲脒	在剪毛后漂洗用;一般 125~250 mg/kg,每 7~14 天一次。
	5%溴氢菊脂油剂	稀释成 1:2000 的溶液,给患犬进行药浴,每周 1 次,连用 5 周。
脓皮症	0.1%除癞灵	每支 10 mL,加水 3~9 kg,稀释涂擦即可,1 次/天,连用 2~4 次。采用涂擦、浇注于犬皮肤或浸浴、环境杀虫采用喷洒施药。
	全身抗感染、脱敏治疗、抗寄生虫	1、地塞米松,1 mL, im; 马来酸氯苯那敏,0.5 mL, im; 林可霉素,2 mL, im; 0.1%伊维菌素,0.4 mL, sc; 局部 0.1%高锰酸钾清创,75%酒精脱脂,5%碘酊消毒。0.01%阿维菌素药浴,1 次/2 日;连续一周治疗。 2、苯海拉明,1 mL, im; 庆大霉素,2 mL, im; 局部 0.1%高锰酸钾清创,75%酒精脱脂,5%碘酊消毒。连续两周治疗。
甲状腺功能减退性皮肤病	醋酸氟轻松或醋酸去炎松软膏	患处涂抹。
	湿疹药物	局部药用香波、甲紫液、2%的明矾溶液+赛庚啶软膏等。
	驱虫药外涂蝉螨洗剂	5%溴氢菊脂油剂、0.1%除癞灵等。
	抗生素药	红霉素软膏涂抹。
	甲状腺素片	口服,每天 1 次,每次 40 mg,服药 4 周。

表 3 抗真菌感染药物的临床疗效

病名	使用药物	痊愈	显效	无效	不良反应
真菌感染	酮康唑		√有复发		
	伊曲康唑		√		有
	克霉唑		√		
	特比萘芬	√			

2.3.1 真菌病用药的评估 见表 3。

皮肤真菌病可分为浅部和深部真菌病两大类,对于犬浅部真菌病较为常见。斯皮仁诺(伊曲康唑)也是一种治疗皮肤癣的特效药,只是价格昂

贵,临床应用较少。

舒服擦剂(酮康唑)是一种外用抗真菌药,为广谱真菌药。作用主要是抑菌,该药不经皮肤吸收,不会引起全身副作用,具有很好的安全性。但

有的病例在治愈后还会复发。

1%克霉唑软膏也是一种抗菌谱广的药物,对皮肤真菌和念珠菌有效,局部联合用药可提高疗效^[2];新药盐酸特比萘芬为第2代丙烯胺类的抗真菌药,与咪唑类药物无交叉耐药性,其突出的特点是具有抑菌和杀菌双重功效。经过国外临床验证表明盐酸特比萘芬对浅部真菌疗效好、疗程短、复发率低^[3]。有报道也指出,盐酸特比萘芬喷雾剂治疗犬皮肤真菌病程短、疗效好,效果明显高于克霉唑、酮康唑和咪康唑^[4]。在本文的药效调查中也显现出盐酸特比萘芬的治疗效果较为突出。

2.3.2 皮肤蠕形螨病的评估 见表4。表4说明治疗犬蠕形螨的药物绝大部分是杀虫剂,在杀灭寄生虫的同时,对犬自身也将产生一定的危害。

表4 抗蠕形螨感染药物的临床疗效

病名	使用药物	痊愈	显效	无效	不良反应
蠕形螨感染	伊维菌素+5%溴氢菊脂油剂	√			
	硫磺软膏			√	
	敌百虫		√		有
	灭虫丁(阿维菌素)				有
	伊维菌素+癬螨净886擦剂	√			

这几类药物中,有机磷农药类能使寄生虫和犬的胆碱酯酶失去活性,故对犬的毒性最强;5%溴氢菊脂油剂类农药也是一种神经毒剂,但这类农药在哺乳动物肝脏酶的作用下能水解和氧化,对犬毒性低;伊维菌素是干扰寄生虫的神经传导递质γ-氨基丁酸的释放,而对犬等哺乳动物的胆碱酯酶无作用,故毒性低^[1],但浓度掌握不好,临床上也出现过中毒现象。

鉴于在选择治疗犬体外寄生虫和皮肤病的药物时必须遵循“低毒、高效”的原则。目前有很多人采用内外兼治的中西医结合法。可使用癬螨净886擦剂或887洗剂,这是一种中药复合方剂,主要组方有苦参1份,百部2份,土荆皮2份,地肤子1份^[5]加适量水煮沸15 min,过滤出液体,即为擦剂;再用文火煮30 min后倒出全部液体,为洗液。此为解放军军需大学军事兽医研究所研制。

在药物疗效上可以看出,采用注射伊维菌素

的同时用中药药浴的治愈率比单用伊维菌素或中药都要高。这种中西医结合的方法,可杀死寄生于体表的螨虫,也可以杀死皮肤深层和体内的螨虫,从而提高了治疗效果。

该犬场使用伊维菌素要求1次/周,必须连用3周,主要是因犬体外寄生虫抵抗力强,宿主范围广,在短时间很难彻底清除在犬体上和环境中的寄生虫。此类皮肤病是比较顽固的,需要长时间耐心治疗。若短时间或未严格按疗程用药,很有可能前功尽弃。

2.3.3 脓皮症的评估 见表5。

表5 抗脓皮症药物的临床疗效

病名	使用药物	痊愈	显效	无效	不良反应
脓皮症	全身抗感染、脱敏治疗、抗寄生虫		√		
	伊维菌素			√	
	局部药用香波	√			

在脓皮症患犬中治疗4只犬,痊愈3只,治疗时间为2~3周。单一用抗寄生虫药物伊维菌素效果较差,最后形成败血症死亡。

全身用药治疗脓皮症的关键是抗感染。犬皮肤原发性和继发性化脓性感染的主要致病菌是中间型葡萄球菌,掌握和监测其对抗菌药物的敏感性直接关系到抗菌药物的治疗效果。

用香波擦洗是最适宜用于犬脓皮症的局部治疗方法。香波除了含有的抗菌物质可直接作用于皮肤的病原微生物外,还可局部治疗去掉皮肤碎屑,使皮肤干燥,重建表皮的正常菌群。香波中的抗菌物质有过氧化苯甲酚、洗必泰、乙基乳酸、三氯生。其中过氧化苯甲酚抗菌作用最强。

脱敏类药物对于脓皮病的治疗效果也不佳,只能是针对病犬的搔痒进行对症治疗。无此症状后,应当停止使用。

2.3.4 湿疹的评估 见表6。

表6 抗湿疹药物的临床疗效

病名	使用药物	痊愈	显效	无效	不良反应
湿疹	甲紫液			√	
	抗生素与类固醇药			√	
	2%明矾溶液+赛庚啶软膏			√	

湿疹患部是最容易被忽视的,继发细菌性感染而恶化的病例在临床上时有发生,应加以重视。湿疹不易治疗,病情反复发作,常拖延半年之久。表中的药物治疗效果均不理想。

有资料^[7]记载,根据急性湿疹的不同发病时期治疗效果不错:(1)红斑或丘疹期:用氧化锌淀粉(氧化锌 2 g、滑石粉 4 g、淀粉 4 g 混合)撒布在皮肤表面;(2)水疱、脓疱或糜烂期:用收敛剂、糊剂、水剂,促进炎症消散。如复方粉(水杨酸 3 g、滑石粉 87 g、淀粉 10 g 混合)、2%明矾液或醋酸铅(醋酸铅 5 g、明矾 10 g 加水至 100 g),此时不能用油性软膏;(3)脓胞期:用青霉素、庆大霉素肌肉注射,防止感染。症状较重的病例,可和地塞米松注射液混合肌肉注射,2 次/天;(4)结痂、脱屑期:用防腐性药物,如白色洗剂(硫酸锌 24 g,醋酸铅 30 g,加水至 500 g);(5)皮肤增厚、角化过度及苔癣样变期:用软膏或乳剂,使药物能渗透到深部。如碘仿鞣酸软膏(碘仿 10 g、鞣酸 5 g、凡士林加至 100 g)。

2.3.5 蟬感染的评估 见表 7。由表 7 可知,目前使用双甲脞、菊酯类、0.1%除癞灵给犬直接进行药浴都可收到一定的效果,但常采用局部和全身用药相结合来提高犬皮肤病治愈率。

表 7 抗蟬感染药物的临床疗效

病名	使用药物	痊愈	显效	无效	不良反应
蟬感染	双甲脞		√		有
	5%溴氢菊脂油剂 + 伊维菌素	√			
	5%溴氢菊脂油剂		√		
	0.1%除癞灵		√		有

2.3.6 甲状腺功能减退性皮肤病的评估 见表 8。由表 8 可见,使用抗虫、抗湿疹、抗真菌药物均无效,犬皮肤病实际上为多种病因的一种外在症候群。只有找到原发病,才能标本兼治。犬甲状腺功能减退症是指甲状腺激素合成和分泌不足引起的全身代谢减慢的征候群,临床上会表现为皮肤增厚、脱毛等皮肤病特征。此病的确诊必须要测定体内相关激素的变化,不是常规检测项目,实验室检测难度较大。此病例初期按单纯皮肤病治疗,诊断思维局限,由于时间长而忽视并发症发生,结果造

成误诊。因此详细询问病史,在进行完病史调查和一般的皮肤病检查之后,建立皮肤病临床化验制度对于皮肤病的临床诊断是极为必要的。

表 8 抗甲状腺功能减退药物的临床疗效

病名	使用药物	痊愈	显效	无效	不良反应
甲状腺功能减退性皮肤病	皮质激素类药			√	
	甲状腺素片		√		
	湿疹药物			√	
	驱虫药			√	
	外涂蜱螨洗剂			√	

3 结论

通过对某犬场犬皮肤病的病历资料进行调查统计,确定了犬场内犬常见皮肤病的种类有:蟬感染皮肤病、蠕形螨皮肤病、真菌性皮肤病、湿疹、脓皮症和甲状腺机能减退引起的皮肤病等。

治疗犬真菌病时,首选盐酸特比萘芬;治疗犬蠕形螨和蟬感染时,首选使用蜱螨净 886 擦剂,同时按 1 mL/50kg 注射伊维菌素;治疗犬湿疹时,建议尝试中西医结合治疗和据急性湿疹的不同发病时期治疗;治疗甲状腺功能减退性皮肤病时,建议不要忽视原发病治疗;治疗犬脓皮症时,首选香波擦洗。以上是针对该犬场中犬自身皮肤免疫系统和犬场环境,对皮肤病用药加以总结归纳,旨在为今后该犬场临床治疗用药提供参考。

参考文献:

- [1] 贺星亮. 某犬场犬主要体外寄生虫和皮肤病调查及采取的措施[D]. 南京:南京农业大学, 2003:4.
- [2] Katz Hl. Bard, J: SCH370 (clotrimazole-betamethasone dipropionate) cream in patients with rinea cruris or tinea corporis[J]. Cutis. 1984;34:183.
- [3] Stiller M J. Sanguenza O P, Shapack J L. Systemic drugs in the treatment of dermatophytoses[J]. Int J Dermatol, 1993, 32:16.
- [4] 黄家章, 许信亚, 刘延. 国产特比萘芬对鼠皮肤真菌病的疗效观察[J]. 中国抗生素杂志, 1996, 21(5): 396-397.
- [5] 李天伟. 犬皮肤真菌病和蠕形螨病的流行病学调查与临床研究[D]. 南京:南京农业大学, 2006:67.
- [6] 林德贵, 潘庆山. 犬脓皮病诊治中一些临床问题的分析与研究[J]. 中国动物保健, 2002(2): 28-29.
- [7] 王力光, 董君艳. 新编犬病临床指南[M]. 吉林科学技术出版社. 2000:602-603.

新形势下高校生产实习质量保证体系研究 ——以华南农业大学兽医学院为例

剡海阔, 陈晓梅, 薛晓丽, 林远超, 范小龙, 马勇江, 郭霄峰*
(华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

摘要: 生产实习是兽医人才培养的关键环节, 华南农业大学兽医学院通过选择和建设合理的校外实习基地, 完善实习管理制度, 改革实习程序, 建立合理的考核方式及激励机制, 重视实习反馈及评价总结等方面构建了生产实习质量保证体系, 为培养实用型、创新型兽医人才奠定基础。

关键词: 兽医; 生产实习; 质量保证体系

中图分类号: S85

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)04-0047-04

Study on quality assurance system of productive practice in universities under new circumstances

——Taking College of Veterinary Medicine of South China Agricultural University as an example

Yan Haikuo, Chen Xiaomei, Xue Xiaoli, Lin Yuanchao, Fan Xiaolong, Ma Yongjiang, Guo Xiaofeng*
(College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Productive practice is a key step in training veterinary personnels. In South China Agricultural University, College of Veterinary Medicine has founded quality assurance system on productive practice through selecting and constructing of reasonable off-campus practice bases, improving the practice management system, reforming practice program, founding reasonable assessment and incentives, paying attention to practical feedback and evaluation summary. The quality assurance system played an important role on cultivating practical and innovative veterinary personnels.

Key words: Veterinary medicine; Productive practice; Quality assurance system

在现今社会激烈的竞争中, 大多数动物养殖企业、宠物医院、饲料加工企业、兽药生产企业或技术服务部门在选用人才时均把实践技能作为一项十分重要的考察内容, 希望得到既具备扎实的专业基础知识又具有熟练操作能力的实用型人才。学生在毕业前进行生产实习, 是培养应用型人才的有效途径。通过生产实习, 学生能将所学的专业理论知识应用到工作中去, 对所学专业的认识会更加具体, 实现学以致用; 能够加强学生吃苦耐劳精神和意志的培养, 提升团队意识和合作精神; 帮助学生了解企业管理和运作模式, 使学生能更好地适应企业工作岗位的要求, 帮助学生增加就

业机会。在整个实习环节中, 需要学校、企业及学生三方共同密切配合完成。本文以华南农业大学兽医学院为例(以下简称“本院”), 结合以往学生实习中出现的各种问题, 研究和探索学生实践实习教学质量保证体系的建设, 取得较好的效果。

1 打破传统模式, 选择和建设合理的校外实习基地

实习基地的规模、主营业务、企业文化、实习环境、实习条件等直接影响实习质量, 关系到实习大纲中人才培养目标的实现。因此, 应避免实习基地建设的盲目性, 根据人才培养方案, 结合本专业特点, 通过深入考察, 选择性地设立校外实习基

收稿日期: 2012-06-18

*: 通讯作者

基金项目: 华南农业大学 2011 年度教育教学改革与研究自筹项目(JG11103); 华南农业大学 2011 年度教育教学改革与研究重点项目(JG11015); 2010 年度广东省高等教育教学成果奖培育项目[粤教高函(2011)55号]

地。其中一个重要的原则就是该企业能专业对口, 能根据实习大纲安排具体实习内容。另外企业必须有意愿和学校进行合作, 有高度的责任感培养学生。例如同样是选择动物医院作为实习基地, 有的愿意与高校建立联系, 希望一方面拓展动物医院的知名度, 另一方面希望高校能为其业务开展提供一定的专业支持。而有些动物医院则对这样的业务合作不感兴趣, 甚至觉得是一种累赘。两种态度下的动物医院提供的实习场所、实习条件、实习机会当然截然不同, 实习效果也会大相径庭。在实习基地选择过程中, 要始终坚持事先确定的原则和条件, 以使实习基地的建设不流于形式。经实地考察、筛选和最终确定实习基地后, 和企业签订合作协议, 对各自的责任和义务进行约束。经过几年的学生实习实践总结, 对操作比较规范、管理完善的企业可以挂牌, 确定为华南农业大学校外实习基地。有潜力的基地还可以进一步申报示范教学基地, 甚至农科教合作人才培养基地, 如华南农业大学中山白石猪场校外实习基地已被教育部、农业部批准通过国家级农科教合作人才培养基地并挂牌。下一步我们将重点对几个比较大型的动物医院和兽药厂进行培育, 使之成为示范实习基地。

以往由于本院学生人数少, 少量的校外基地完全可以满足学生的实习需求, 但随着高校扩招以及近年来报考本院学生人数的增加, 迫切需要建立多种类型的校外实习基地。经过近几年的努力, 本院已经建立了近 60 个校外实习基地, 涉及动物医院、养猪场、养鸡场、动物园、兽药及生物制品厂、动物疫控中心和检验检疫部门等多个相关行业。另外, 为满足 2010 年广州亚运会马术比赛对从事赛马保健、疾病预防和诊疗工作的兽医人才需求, 针对我国南方地区大动物如马、牛、驴、骡等饲养比较少见的特点, 2009 年本院与甘肃农业大学动物医学院本着南北畜牧业优势互补、现代畜牧业技术互动的宗旨, 签订了“互换实习生”计划^[1]。华南农业大学派出实习生到甘肃农业大学学习马、牛、骡等大动物的保健与常见疾病的诊疗知识与技能, 甘肃农业大学派出实习生来华南农业大学学习小动物疾病诊疗技术。目前该项目已顺利执行 3 年。通过互派学生实习, 加深了我校学

生对兽医行业的认识, 拓宽了视野, 了解了北方农村的兽医现状, 大动物的多发病及治疗方法, 为学生的就业打下了坚实的基础。通过两个学校的交流, 相互借鉴, 取长补短, 整体提高兽医本科教学工作水平的提高, 也得到了农业部兽医局的充分肯定和同行高校的效仿。本院继续拓展该类基地, 已经和内蒙古农业大学兽医学院达成合作意向, 即将付诸实施。

2 完善管理制度, 改革实习管理程序

企业“管理出效益”, 而学校实习管理必然影响实习质量。衡量学校这项工作管理成功与否, 一看制度, 二看考评。通过制度规范师生行为, 经过考评激励师生。实习质量最终如何, 归根结底, 根本因素还是管理^[2]。

首先, 对于实习过程中出现敷衍、逃避, 擅自离岗的学生, 本院专门制定了《兽医学院实习管理条例》进行约束。条例中明确了请假制度, 以及擅自离开实习点的处理规定, 情节较轻者学院通报批评, 取消当年评优资格; 情节较严重者, 取消当年实习学分, 次年再和下届学生一起实习, 直到取得实习学分。每位学生有《兽医学院学生实习出勤考核登记表》, 由校外指导老师负责考勤, 而不是由学生自己签到, 避免有些学生作弊。实习结束后由校外指导老师签名后寄回学院。校外指导老师负责考勤的做法, 可以解决校外指导老师无权约束学生的尴尬局面。

其次, 本院根据近几年的实践, 总结出以下实习操作程序: 第一, 在实习前 1 个月召开实习工作筹备会。对当年实习工作进行部署, 成立实习领导小组, 由主管教学的副院长任组长, 成员有主管学生工作的副书记及辅导员、教学秘书、各位校内指导老师, 并对各自负责的工作进行提前部署。第二, 由教学秘书对学生进行初次实习动员。讲解实习工作的具体操作规范、规章制度等, 让学生对顶岗实习的重要性、实习的目的及意义有一定的了解, 并指导学生填报志愿, 根据自己的兴趣及可能的就业方向选择实习单位类型。第三, 教学秘书根据学生填报的第一志愿分配给指导老师进行面试, 以确定学生是否真的有意愿去相关单位实习。通过面试, 最终确定并安排学生去比较感兴趣的实习单位实习, 这样很大程度上避免了以往有些

学生对安排的实习单位类型不感兴趣的情况。第四,进行实习前动员。教学副院长讲解实习的重要性、实习中的注意事项及安全教育;主管学生的副书记讲解考勤制度;教学秘书讲解实习的操作规范、病例报告的撰写规范等;各指导老师对自己指导的学生进行面对面沟通。每位在动物医院或养殖场实习的学生要求必须提交实习总结报告和病例报告,其中比较完整的病例报告可以作为本科论文进行答辩,一举两得。第五,学院统一派车送学生去实习单位报到,并进行实习过程的监控。学院会给每个校外实习基地发一封介绍信,说明到该基地实习的学生人数、实习时间、指导老师及学院相关负责人联系电话等信息。要求各基地制定学生实习计划并发到学院教学秘书电子邮箱备查。实习过程中由校内指导老师进行随机查访,了解各实习基地对实习计划的执行情况以及学生的具体表现。第六,实习结束后,进行实习总结汇报。第七,教学秘书归档。对所有学生的成绩评定表、考勤表、实习总结及病例报告以班级为单位进行归档。

最后,鉴于本行业的特点,为了防止学生过多给企业带来的不便及负担,提高实习效果,我们规定一般每个实习基地接收2~8位学生实习,聘请校外实习基地1~2位负责人作为华南农业大学兽医学院学生实习校外指导老师,并颁发聘书,激励他们能为学生的实习提供及时的帮助和解决遇到的问题。同时,配备一位校内指导老师,实行“双师制”,并且规定每位校内指导老师指导不超过15名学生,以保证校内指导老师有精力在各实习基地巡查,详细了解每位学生的实习过程,做到有效管控。

3 建立合理的考核评定方式

考核的总体原则是校外指导老师和校内指导老师各自负责,考核内容相对独立,各自评分。以前学生的实习成绩是由校内指导老师统一评定的,往往会出现与实际不符的情况,实习表现好的不一定成绩高。校外指导老师也反应,在实际监管学生的过程中没有实权,无法有效约束学生的行为。另外,在全国高校中,也没有统一的标准去认定学生的实习成绩。

针对以上问题,本院制定了《兽医学院学生实习成绩记录统计表》,该表的前两项内容在学生实习结束后由校外指导老师填写并签名,与考勤表一起直接寄回学院。其中第一项内容是考勤,满分20分,校外指导老师可根据每个学生的考勤表打分;第二项内容为实习单位评分,满分20分,由校外指导老师根据学生的具体表现进行综合评价得分。这样校外实习指导老师总共有40分的权力,实习满分100分,占40%,应该说权力比较大,也得到了校外指导老师的普遍赞同,认为这样可以有效约束那些不认真实习的学生。另外,各实习基地的学生考勤表及学生成绩统计表由校外实习指导老师直接寄回学院,不让学生知道,避免中间环节,尽量做到公平公正。

学院收到考勤表及成绩统计表之后,交由校内指导老师进行评分。其中第三项实习报告质量得分,满分20分;第四项是根据学生表现评分,和第二项内容相同,只不过是由不同的指导老师负责评分;最后一项是创新分10分,是给与善于提出问题,并通过实践学习解决,或具有创新意识,创造性地开展工作,或为实习单位做好事,或提出合理化建议被采纳的学生的奖励分,有利于学生在实习中培养善于思考,勇于创新的能力。

4 建立激励机制

学生实习除在学校动物医院实习的学生外,基本都远离校园,学校无法掌握其实时表现。因此,在实习管理中开展评先争优,对在实习过程中表现较好的学生给予奖励,根据《兽医学院学生实习成绩记录统计表》进行评定,评选优秀实习生,并将优秀实习生作为优秀毕业生的准入条件。对实习指导教师进行差旅补贴,并对表现突出的进行奖励,以鼓励教师多参与生产教学实习。从2010年开始,本院与广州达元公司合作,对到甘肃实习的学生给予经费支持,并对表现较好的学生进行奖励。从2011年开始,本院与大连三仪动物药品有限公司合作成立了“大连三仪-华农兽医实习奖励金”,三仪公司每年向学院提供2.4万元人民币作为学生的奖励金,奖励15~20名刻苦认真、积极实习并提供建设性意见的实习学生及2名优秀实习指导老师。这在同学之间反响强烈。

除实习结束后的奖励外,在实习过程中,实习指导老师常去巡点,从实习单位及小组长处获取信息,对表现良好的学生进行及时的口头表扬与鼓励,对表现不好的学生批评教育。即便是简单的奖励方式,也可以提高学生的实习热情。因为激励机制的作用,一方面是对实习生及指导教师某种符合学院期望的行为具有反复强化、不断增强的作用,另一方面也对实习生起到一定的约束作用^[3]。

5 重视实习反馈及评价总结

不管哪个教学阶段,教学反馈都是确保教学质量的重要因素,在校外学习的实习阶段更为重要。这就要求实习管理者主动获取与实习相关的反馈信息^[4]。首先,通过不定期进行巡查收集信息。从实习单位、学生、指导教师多方收集反馈信息。其次,利用问卷或座谈的方式收集信息。我们已经对毕业班的学生进行过3次座谈,收集经历者的建议,发现实习中存在的问题。今年也召开一次校外实习指导老师座谈会,对学生在实习单位的表现、学生缺乏的知识和技能等都进行了讨论和反馈,也对校外实习指导老师在管理学生方面

的具体操作要求进行了讲解,受到合作各方的广泛好评。再次,利用实习总结汇总信息。学生在实习结束后,每个实习点的学生组长都要进行汇报,包括实习点情况介绍,实习内容及出现的问题和建议。最后,必须及时整理反馈信息,分析存在问题,落实整改措施,进一步改善管理模式。

总之,生产实习是学生理论联系实际,进行综合训练的重要环节,其质量好坏直接影响着人才培养目标的实现。本院对实习质量保证体系的建设尚属起步阶段,很多环节需要在实践中不断完善,逐步缩短教育与社会需求之间的差距,真正培养社会需要的实用型、创新型人才。

参考文献:

- [1] 陈晓梅, 刘海阔, 刘红斌, 等. 兽医专业实践实习模式的改革与创新[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(1): 546-548.
- [2] 王中林. 高职经管类专业顶岗实习质量影响因素与对策分析[J]. 中国职业技术教育, 2012(14): 31-33.
- [3] 谢丽莎, 梁天坚, 黄茂春, 等. 独立学院药学类专业学生实习质量监控体系探索[J]. 卫生职业教育, 2012, 30(9): 33-34.
- [4] 刘海阔, 邓衔柏, 郭霄峰, 等. 动物医学专业生产实习的教学改革[J]. 现代农业科技, 2010(20): 35-36.

(上接第26页)

不同剂量组和对照组小鼠的增重差异不显著。

3.2 对小鼠血常规、血清生化指标的影响

高、中、低三个灌胃剂量均高于推荐的临床给药剂量(1 mL/kg),给药时间14 d,也大大长于临床给药时间,连续给药14 d后和停药后14 d,试验组小鼠的血常规、血清生化值与对照组相比均未发生显著性变化,说明“增乳健牛散”对小鼠的生长和各项生理指标无显著影响。

3.3 对小鼠内脏器官的影响

剖检观察各组小鼠胸腺、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、胃脏和肠道均正常,组织学检查也未见异常;试验组小鼠的各器官脏系数值与对照组相比均未发生显著性变化,且均在正常范围内。

以上结果表明,“增乳健牛散”按照推荐的给药剂量和给药疗程无亚急性毒性,临床应用安全。

参考文献:

- [1] 兽药试验技术规范汇编[Z]. 农业部兽药审评委员会办公室, 2001.
- [2] 饲料安全性评价. 亚慢性毒性试验[Z]. 中华人民共和国农业部.
- [3] 袁伯俊, 顾长虹. 新药长期毒性试验的剂量设计[J]. 国外医学药学分册, 1997, (24)2: 97-101.
- [4] 李建科, 卢健雄, 杨具田, 等. 甘肃棘豆饲喂小白鼠的亚慢性毒性试验的血液学分析[J]. 中兽医医药杂志, 1996, (3): 6-9.
- [5] 中华人民共和国卫生部医政司. 全国临床检验操作规程[M]. 第三版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 132, 136.
- [6] 许巧丽, 王加才, 张宗和, 等. N, O- 羧甲基壳聚糖对小鼠的亚慢性毒性试验[J]. 畜牧与兽医, 2006, (38)9: 40-43.
- [7] 关立增. 中药壮阳促孕散的毒性试验研究[D]. 延吉: 延边农业大学, 2004.
- [8] 关建红, 薛征, 任晋斌. 豨签草水煎剂小鼠急性毒性及亚急性毒性的试验研究[J]. 中国试验方剂学杂志, 2007, 11(13): 50.
- [9] 刘宗平. 动物中毒病学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 142-145.
- [10] 丁伯良. 动物中毒病理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 122-127.

浅析社会化手段在犬类狂犬病免疫中的应用

洪泽武

(深圳市南山区动物防疫监督所, 广东 深圳 518052)

摘要:基层动物防疫监督机构在进行犬类狂犬病免疫时,受人员编制、技术力量、物资保障等方面所限,存在行政资源不足的问题。在短期内难以从体制上做出重大调整提高的情况下,试探引入新公共管理理论的社会化管理办法来加以改善。社会化手段强调防机构、动物诊疗机构、社区工作站、市民的多方参与,充分地利用社会资源,互动推进犬类狂犬病免疫工作。笔者以深圳市南山区犬类狂犬病免疫工作社会化为例进行分析。

关键词: 社会化手段; 狂犬病; 免疫

中图分类号: S851.33

文献标识码: A

文章编号: 1005-8567(2012)04-0051-02

狂犬病俗称“疯狗病”,是由狂犬病病毒引起的人兽共患中枢神经系统传染病,临床表现以恐水、畏光、吞咽困难、狂躁等为主要特征,是迄今为止人类唯一病死率高达100%的急性传染病。“接种狂犬病疫苗是预防狂犬病最有效的手段之一”,自2008年起,根据农业部与卫生部关于加强狂犬病免疫的联合发文,各媒体解读为犬类狂犬病列入国家强制免疫,农业部的重大动物疫病免疫计划中,关于狂犬病的提法是“全面免疫”。对于犬类狂犬病免疫的重视已经是普遍的共识,各地也通过各种办法积极推进。因此,对千家万户家养犬的免疫就形成了庞大的工作量,构成对动物防疫监督机构执行力的考验。

1 犬类狂犬病免疫工作遇到的问题

深圳市南山区内无规模养犬场,存栏1万多只犬均为散养,多为市民家养宠物犬,形成免疫点“分散、点多”的免疫工作实际困难。2006年以前,免疫工作依靠动物防疫监督机构独立开展,主要有两种免疫工作方式,一是设置免疫服务点接受市民带犬上门免疫注射,二是指定月份派出免疫小组挨家挨户免疫。第一种方式在工作中碰到的问题是:辖区内仅南山区动物防疫监督所是有关免疫单位,辖区百余平方公里内的犬主须自带犬上门免疫,考虑到交通、便利等实际因素,市民积极性不高。第二种方式遇到的困难是:人手不足;消耗行政资源较大;外出后疫苗存在失效风险;犬

主不在家时,重复上门服务;耗时长等。

以上种种因素导致免疫工作效率低下,2000-2005年年均免疫注射率为65%,免疫合格率为60%。

2 免疫工作“社会化”的实践探索

2006年起,南山区动物防疫监督所与辖区内正规合法的动物诊疗机构签订委托协议,授权其开展犬类狂犬病免疫,作为第三种工作方式补充原有工作模式,并着力抓好日常动物卫生监督管理工作。日常各宠物医院可接受市民带犬上门免疫,全市统一的4月、9月份强制免疫行动月期间,则由动防所与各街道办事处、社区工作站进行沟通协调,按社区划片由宠物医院与社区工作站联系协同运作开展此项业务,因社区工作站对社区情况比较熟悉,工作开展较为顺利。2006年南山区共有13家宠物医院,至2012年已增加到24家,相当于在南山辖区内开设了24个“免疫注射点”,并且分散于各个社区中。通过划片管理,市民带犬免疫相当便利,积极性大为提高,进而提高了全区的免疫工作成效,2011年免疫注射率超过90%、免疫合格率达到85%,同时极大地减轻了动物防疫监督机构的行政资源负担。经过数年的经验积累和制度建设,南山区初步建立了如下免疫工作体系:

2.1 加强宣传

通过报纸、网络、宣传册等方式,使市民了解

合法有权开展犬类狂犬病免费免疫注射业务的动物诊疗机构名称、联系方式、具体地址,严禁非法宠物医院开展此业务项目。专门设置投诉热线,动物防疫监督机构必须及时处置投诉举报事件,做好沟通协调工作。

2.2 行政监督

将犬类狂犬病强制免疫工作情况与《动物诊疗许可证》行政许可审核挂钩,兽医行政主管部门严格执行动物诊疗行政许可的监管,动物防疫监督机构负责做好日常监督执法工作,实行《动物诊疗许可证》年检制,特别将犬类狂犬病强制免疫工作开展绩效纳入考核指标,量化指标体系使其涵括群众投诉案件数、服务满意度、免疫注射抗体水平等。督促诊疗机构做好免疫档案、免疫合格证明、诊疗记录等书面材料,及时收集和报送免疫数据信息。

2.3 技术指导

严格审核动物诊疗机构技术人员专业素质,非兽医专业技术人员禁止从事免疫注射工作,开具的免疫合格证明必须签字确认;定期开展技术培训和评估,高度重视实务操作考核。

2.4 疫苗管理

疫苗统一配备供应,做好疫苗保存、运输、使用等方面的管理,避免疫苗因外环境条件影响而失效的情况。做好疫苗申报领用、保存使用的制度设计和规范落实,实行“签名负责制”,认真做好疫苗进出盘点台帐,防止疫苗流失,严格落实犬类狂犬病疫苗管理工作制度。

3 “社会化”符合基层免疫工作实际

“上面千条线,下面一根针”,任何科学决策都需要基层单位强有力执行和迅速的落实来实现。而实际工作中,基层动物防疫监督机构负责包括屠宰检疫、市场监管、样品抽检、疫病监测、消毒灭源、动物卫生监督执法、疫病普查、强制免疫注射等大量的实务性工作,部分单位甚至要负担水产品、农产品检测工作任务,实行“三检合一”、“一套人马、三块牌子”。如此工作重负与机构人员编制定额产生了难以短期解决的矛盾,不利于各项工作的正常有序开展,也不符合“依法检疫”的法理要求。同时,动物防疫监督机构单一提供强制免疫服务的行政资源有限,特别是对散养为主的市民宠物犬提供优质服务较为困难,影响犬主带犬免

疫的积极性,进而降低免疫注射率。

4 工作应用的注意事项

实行“动物诊疗机构参与”的社会化管理方法可以起到高效便民的作用,同时也应注意到动物诊疗机构是企业性质,主要以营利为目的,因此需要动物防疫监督机构对其进行有效监管,以取得良好的社会效益。

4.1 重视沟通协调

动物诊疗机构具有点多、分散性特点,相对于单一动物防疫监督机构来说,更具有地理位置的辐射覆盖优势,特别是在都市里散养宠物犬多、养殖场少的实际情况尤其具针对性,弥补市民带犬上门免疫路程远产生不便的缺陷,提高犬主积极性。正因为此优势,更突显了沟通协调的难度,动物防疫监督机构要针对各宠物医院、街道办、社区工作站互相流畅的业务联系建立良好的协调机制,设立热线电话,指定专门信息员负责联系。

4.2 机构资质把关

合法的动物诊疗机构均通过动物防疫监督机构现场审核,符合相关技术、人员、仪器、管理上的要求,经过有效的指导和监管,具备狂犬病免疫注射技术能力。

4.3 引导服务愿望

“为民、便民、利民”是公权力机构办事的出发点,犬类狂犬病强制免疫业务是完全免费为民服务的项目。而企业的天性是逐利,争取市场占有率,为犬主提供犬只免疫服务可以吸引到潜在客户群。开展免费免疫注射服务也对动物诊疗机构有利益驱动力,这也是“动物诊疗机构参与”社会化管理手段的基础条件,即实现“多赢”,达到动物防疫监督机构减轻行政资源负担、动物诊疗机构赢得潜在客户、市民带犬免疫便利、街道社区降低狂犬病疫情风险的多种良好效果。

4.4 技术监督指导

加强防疫员免疫技术培训,严格按照免疫规程操作;严格做好疫苗管理,完善疫苗申领、发放、使用、报废、核销和监督检查的制度管理;完善免疫注射点建设,要有独立的免疫注射间和必要的免疫注射用器材设备,专人负责;做好免疫证发放和建档工作,对已免疫的犬只登记造册,建立免疫档案,强化免疫工作的监督检查。